วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 26 (ฉบับที่ 2) พฤษภาคม – สิงหาคม พ.ศ. 2564
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 26 (No.2) May – August 2021
บทความวิจัย

สมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดโดยไม่ใช้และใช้เอนไซม์ สำหรับอุตสาหกรรมอาหารสุขภาพ

Functional Properties of Beta-Glucan Gum from Khao Dawk Mali 105 Rice Bran by Non-Enzymatic and Enzymatic Extractions for Healthy Food Industry

พัตราพร ภูวดลไพศาล*
Pattraporn Phuwadolpaisarn*
สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chandrakasem Rajabhat University

Received : 7 July 2020
Revised : 1 September 2020
Accepted : 16 September 2020

บทคัดย่อ

เบต้ากลูแคนจากรำและเมล็ดธัญพืชเป็นเส้นใยอาหารละลายน้ำที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสุขภาพ สำหรับควบคุมน้ำหนัก รำข้าวเป็นธัญพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีปริมาณเส้นใยอาหารสูง จึงสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดเบต้ากลูแคน ซึ่งเป็นอีกทางเลือกในการนำรำข้าวกลับมาใช้ประโยชน์ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลผลิต ลักษณะโครงสร้าง และสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดแบบไม่ใช้เอนไซม์ (RBG_{NE}) และใช้เอนไซม์ (RBG_{E}) จากการทดลองพบว่า RBG_{NE} มีลักษณะเป็นผงหยาบสีขาวปนน้ำตาลอ่อน ขณะที่ RBG_{E} เป็นผงสีขาวเนื้อละเอียด ปริมาณผลผลิตและเบต้ากลูแคนทั้งหมดของ RBG_{NE} เท่ากับ 1,018.90±13.32 mg/100 g rice bran และ 20.48±0.38 mg/kg rice bran ตามลำดับ ซึ่งมากกว่า RBG_{E} ที่มี 114.80±1.19 mg/100 g rice bran และ 1.63±0.00 mg/kg rice bran ตามลำดับ ($p<0.05$) น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของเบต้ากลูแคนที่ตรวจพบใน RBG_{NE} และ RBG_{E} หลังจากย่อยสลายด้วยเอนไซม์ลิชิเนส (Lichenase) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) คือ 1,3:1,4-เบต้า-กลูโค-เตตระโอส (1,3:1,4-beta-gluco-tetraose; G4) และ 1,3:1,4-เบต้า-กลูโค-ไตรโอส (1,3:1,4-beta-gluco-triose; G3) เช่นเดียวกับที่พบในสารสกัดเบต้ากลูแคนจากธัญพืชอื่น การสกัดเบต้ากลูแคนด้วยเอนไซม์น่าจะช่วยกำจัดคาร์โบไฮเดรตบางชนิด จึงทำให้สมบัติเชิงหน้าที่ของ RBG_{E} และ RBG_{NE} แตกต่างกัน ($p<0.05$) ความสามารถในการละลายของ RBG_{E} มากกว่า RBG_{NE} ความสามารถในการเกิดโฟมและการอุ้มน้ำของ RBG_{NE} มากกว่า RBG_{E} ข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นว่าการสกัดเบต้ากลูแคนโดยไม่ใช้เอนไซม์น่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารมากกว่าการสกัดโดยใช้เอนไซม์

คำสำคัญ : สมบัติเชิงหน้าที่ ; สารสกัดเบต้ากลูแคน ; รำข้าว ; การสกัด ; อุตสาหกรรมอาหารสุขภาพ

Abstract

Beta-glucans obtained from bran and starchy cereals, are soluble dietary fiber that have been used in health products as a diet food. Rice bran is a kind of cereal that contained high dietary fiber, thus it able to use as raw material for beta-glucan extraction which is another choice for its recycling. Therefore, this research is aim to compare yields, structures and functional properties of beta-glucan gum from Khao dawk mali 105 rice bran by non-enzymatic (RBG_{NE}) and enzymatic (RBG_{E}) extractions. Results showed that appearance of RBG_{NE} is mix of coarse white and light brown powder whereas RBG_{NE} is fine white powder. Yield and total beta-glucan contents of RBG_{NE} is 1,018.90±13.32 mg/100 g rice bran and 20.48±0.38 mg/kg rice bran, respectively that is higher than such of RBG_{E} is 114.80±1.19 mg/100 g rice bran and 1.63±0.00 mg/kg rice bran, respectively. Sugar compositions of beta-glucan structure after hydrolysis of RBG_{NE} and RBG_{E} by lichenase analyzed using HPLC were 1,3:1,4-beta-gluco-tetraose (G4) and 1,3:1,4-beta-gluco-triose (G3), also found in other cereal beta-glucans. The enzymatic extraction of beta-glucan might be help to remove some carbohydrates affecting on difference functional properties of RBG_{NE} and RBG_{E} ($p<0.05$). The solubility of RBG_{E} is higher than RBG_{NE} whereas the whippability and water binding capacity of RBG_{NE} are higher than RBG_{E}. The data revealed that the non-enzymatic extraction may be better method for food industrial application than enzymatic extraction.

Keywords : functional property ; beta-glucan gum ; rice bran ; extraction ; healthy food industry

***Corresponding author. E-mail :** pattraporn.p@chandra.ac.th

บทนำ

ปัจจุบันอาหารสุขภาพเป็นที่นิยมอย่างมากของผู้บริโภค โดยเฉพาะอาหารสุขภาพที่มีแคลอรี่ต่ำ ซึ่งมักใช้เส้นใยอาหารจากธัญพืชมาทดแทนสารอาหารที่ให้พลังงานสูง จำพวกคาร์โบไฮเดรตและไขมัน รำข้าวเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีปริมาณเส้นใยอาหาร (dietary fiber) สูง ประมาณร้อยละ 34-62 เช่น เบต้ากลูแคน (beta-glucan) อะราบิโนไซแลน (arabinoxylan) เป็นต้น อีกทั้งยังมีกากใยอาหาร (fiber) อยู่ประมาณร้อยละ 7-11 เช่น เซลลูโลส (cellulose) ลิกนิน (lignin) เป็นต้น (Alauddina *et al*., 2017) เบต้ากลูแคนเป็นเส้นใยอาหารละลายน้ำ (soluble dietary fiber) ชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน (Kaur *et al*., 2020) พบในธัญพืช เห็ด และยีสต์ เบต้ากลูแคนในแต่ละแหล่งเป็นโฮโมพอลิแซ็คคาไรด์ (homopolysaccharide) ที่มีน้ำตาลเบต้า-กลูโคส (beta-glucose) เป็นหน่วยย่อยในโครงสร้างเหมือนกัน แต่ชนิดของพันธะแตกต่างกัน ทำให้เบต้ากลูแคนแต่ละชนิดมีสมบัติทางกายภาพ เคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกัน (Zhu *et al*., 2016) นอกจากนี้แล้วปริมาณเบต้ากลูแคน ขนาดโครงสร้าง สมบัติทางกายภาพและเคมีต่าง ๆ ของสารสกัดเบต้ากลูแคนจากวัตถุดิบเดียวกัน แตกต่างกันตามวิธีและสภาวะในการสกัด (Kofuji *et al*., 2012) เบต้ากลูแคนจากธัญพืชพบในข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี ข้าวไรย์ รวมไปถึงข้าว มีลักษณะโครงสร้างเป็นเส้นตรง ประกอบด้วยน้ำตาลเบต้า-กลูโคส (β-glucose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1,4 ไกลโคซิดิก (β-1,4-glycosidic bond) ในโครงสร้างหลัก และพันธะเบต้า-1,3 ไกลโคซิดิก (β-1,4-glycosidic bond) คั่นอยู่ระหว่างเบต้า-กลูโคสที่เชื่อมต่อกันจำนวน 3 หน่วย (G3) หรือ 4 หน่วย (G4) ทำให้โครงสร้างของเบต้ากลูแคนมีลักษณะคล้ายขั้นบันไดสั้น ๆ โดยสัดส่วนของ G3 และ G4 มีมากกว่าเบต้า-กลูโคสที่เชื่อมต่อกันจำนวน 5-9 หน่วย (G5-G9) (Lazaridou & Biliaderis, 2007) ด้วยเหตุนี้เบต้ากลูแคนจากธัญพืชจึงมักเรียกว่า mixed-linkage beta-glucan

รำข้าวในประเทศไทยส่วนใหญ่ขัดสีมาจากเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งมากกว่าข้าวพันธุ์อื่น ๆ 2-10 เท่า เนื่องจากข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ มีผลผลิตเก็บเกี่ยวต่อปีสูงถึง 10 ล้านตัน นอกจากนี้ยังมีปริมาณการส่งออกมากที่สุด ประมาณ 2.3 ล้านตัน ในแต่ละปีรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณไม่น้อยกว่า 1.2-2 ล้านตัน (ประมาณร้อยละ 12-20 ของน้ำหนักข้าวเปลือก) ส่วนใหญ่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ จังหวัดที่มีการเพาะปลูกมาก คือ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ และบุรีรัมย์ ซึ่งแต่ละจังหวัดมีผลผลิตต่อปีเกือบ 1 ล้านตัน (Koto, 2017; Thai Rice Exporters Association, 2018) รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวพันธุ์อื่น ๆ ทั่วประเทศส่วนใหญ่นำมาเพิ่มมูลค่า โดยนำมาสกัดน้ำมัน เช่น น้ำมันรำข้าวสุรินทร์ น้ำมันรำข้าวคิง เป็นต้น จนทำให้ประเทศไทยกลายเป็นหนึ่งในประเทศที่ประสบความสำเร็จจากการผลิตน้ำมันรำข้าว (Nagendra Prasad *et al*., 2011) ถึงแม้ว่าจะมีงานวิจัยจำนวนมากศึกษาสารสำคัญในรำข้าว เพื่อหาแนวทางในการนำรำข้าวกลับมาใช้ประโยชน์ แต่ส่วนใหญ่ศึกษาสารสำคัญในวัฏภาคน้ำมันมากกว่าวัฏภาคน้ำ (Alauddina *et al*., 2017; Henderson *et al*., 2012) ทั้งที่ในรำข้าวมีเส้นใยอาหารละลายน้ำที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ นั่นคือ เบต้ากลูแคน ซึ่งใช้น้ำหรือตัวทำละลายที่มีขั้วในการสกัด ปัจจุบันมีงานวิจัยอยู่ไม่มากที่ศึกษาเบต้ากลูแคนจากรำข้าว ได้แก่ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในจังหวัดบุรีรัมย์ พบว่ามีปริมาณเบต้ากลูแคนร้อยละ 0.22 โดยน้ำหนัก (Rungsardthong, 1999) รำข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic) ในสภาวะด่างอ่อนร่วมกับการใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (amyloglucosidase) และโปรติเอส (protease) พบว่ามีปริมาณเบต้ากลูแคนร้อยละ 0.88-4.63 (Natcha *et al*., 2017) ปริมาณเบต้ากลูแคนในรำข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในประเทศเกาหลี ที่บ่มด้วยเมทานอลร่วมกับการใช้

เครื่องอัลตราโซนิก พบว่าพันธุ์แดนมิมีปริมาณเบต้ากลูแคนสูงสุด (ร้อยละ 0.57 โดยน้ำหนัก) ขณะที่รำข้าวพันธุ์มิโซมิที่หมักด้วยเชื้อรา *L. edodes* มีปริมาณเบต้ากลูแคนสูงสุด (ร้อยละ 0.40 โดยน้ำหนัก) (Jung *et al*., 2017)

งานวิจัยที่ผ่านมาส่วนใหญ่ศึกษาสารสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวโอ๊ตและข้าวบาร์เลย์ ทำให้ทราบว่าเบต้ากลูแคนจากธัญพืชเป็นเส้นใยอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของคนและสัตว์ อีกทั้งยังมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ จึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารสุขภาพได้หลากหลาย (Lazaridou & Biliaderis, 2007; Ahmad *et al*., 2012; Sofi, 2017) เช่น การใช้สารสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวโอ๊ตทดแทนไขมันในโยเกิร์ตปราศจากไขมัน การใช้สารสกัดจากรำข้าวผสมกับแป้งข้าวบาร์เลย์ทดแทนกะทิจากมะพร้าวในขนมไทย (Inglett *et al*., 2004) การใช้สารสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวโอ๊ตเป็นส่วนผสมในไส้กรอกและนักเก็ตกุ้งแช่แข็ง เพื่อช่วยเพิ่มปริมาณเส้นใยอาหาร ช่วยต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้นานขึ้น โดยที่ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (Sarteshnizi *et al*., 2017; Haghshenas *et al*., 2015) เป็นต้น วิธีการสกัดเบต้ากลูแคนจากธัญพืช โดยเฉพาะการสกัดโดยใช้เอนไซม์ ซึ่งสามารถช่วยกำจัดสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ในสารสกัดได้อย่างจำเพาะ ส่งผลให้ปริมาณเบต้ากลูแคน สมบัติเชิงหน้าที่และฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกัน (Natcha *et al*., 2017; Gamel *et al*., 2014; Ahmad *et al*., 2010)

ปัจจุบันยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาลักษณะโครงสร้างและสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าว ดังนั้นเพื่อให้ทราบแนวทางในการนำสารสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวไทยไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารสุขภาพ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นแหล่งวัตถุดิบในการสกัดเบต้ากลูแคนโดยไม่ใช้และใช้เอนไซม์ และศึกษาเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตของสารสกัด ปริมาณเบต้ากลูแคน องค์ประกอบทางเคมี ลักษณะโครงสร้างของเบต้ากลูแคน รวมทั้งตรวจสอบสมบัติเชิงหน้าที่ของ RBG_{NE} และ RBG_{E} เพื่อหาวิธีการสกัดที่เหมาะสมสำหรับนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ เนื่องจากต้นทุนการสกัดเป็นอีกปัจจัยที่ต้องคำนึงในการนำรำข้าวกลับไปใช้ประโยชน์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมรำข้าว

นำรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการขัดสีข้าวเปลือกด้วยเครื่องสีข้าวของชุมชน จังหวัดบุรีรัมย์ มากำจัดเอนไซม์เอนโด-กลูคาเนส (endo-glucanase) เพื่อยับยั้งการย่อยสลายพันธะเบต้า-1,3:1,4 ไกลโคซิดิก (β-1,3:1,4 glycosidic bond) ในโครงร้างของเบต้ากลูแคน (Li *et al*., 2006) โดยนำรำข้าวมาต้มในเอทานอลร้อยละ 70 ที่อัตราส่วนรำข้าว 100 กรัมต่อเอทานอล 1 ลิตร ต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง กรองด้วยระบบสุญญากาศ จากนั้นล้างด้วยเอทานอลความเข้มข้นและปริมาตรเดิม อีก 2 ครั้ง นำรำข้าวไปอบให้แห้ง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ร่อนผ่านตะแกรงให้เป็นผงละเอียด เก็บรักษาไว้ในถุงซิปล็อคที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาสกัดเบต้ากลูแคน

2. การสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวโดยไม่ใช้และใช้เอนไซม์

นำรำข้าวมาสกัดเบต้ากลูแคนในสภาวะที่เหมาะสม (Phuwadolpaisarn, 2016) คือ อัตราส่วนน้ำ (มิลลิลิตร) ต่อรำข้าว (กรัม) เท่ากับ 25/2 พีเอช 10 (ปรับด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 10) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที นาน 3 ชั่วโมง นำไปบ่มในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาปรับพีเอชเท่ากับ 5 เพื่อตกตะกอนโปรตีน นำปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แยกกากรำข้าวทิ้งไป นำส่วน

สารละลายมาปรับพีเอชเท่ากับ 7 และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที อีกครั้ง เพื่อแยกตะกอนที่เหลืออยู่ออกให้หมด จากนั้นนำส่วนสารละลาย มาตกตะกอนเบต้ากลูแคนด้วยเอทานอลเข้มข้น (absolute ethanol) ที่อัตราส่วน 1 : 1 ผสมให้เข้ากันโดยเร็ว ทิ้งให้เบต้ากลูแคนตกตะกอนอย่างสมบูรณ์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เพื่อแยกตะกอนเบต้ากลูแคน อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จะได้สารสกัดเบต้ากลูแคนที่สกัดโดยไม่ใช้เอนไซม์ (RBG_{NE})

สำหรับการสกัดเบต้ากลูแคนโดยใช้เอนไซม์ (Li *et al*., 2006) ทำการทดลองเช่นเดียวกับการสกัดแบบไม่ใช้เอนไซม์ จนถึงขั้นตอนที่นำส่วนสารละลายมาปรับพีเอชเท่ากับ 7 แต่สารสกัดเบต้ากลูแคนที่สกัดโดยใช้เอนไซม์ จะนำมาปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 แทน จากนั้นปั่นเหวี่ยง เพื่อแยกส่วนที่เหลือออก นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ชนิดทนร้อน (Thermostable α-amylase จากเชื้อ *Bacillus licheniformis*; 1,500 ยูนิตต่อลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (เขย่าทุก ๆ 10 นาที) ปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำสารละลายมาปรับพีเอชเท่ากับ 4.5 และเติมเอนไซม์เบต้า-ไซลาเนส (β-xylanase จากเชื้อ *Trichoderma viride*; 50 ยูนิตต่อ 280 มิลลิลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เขย่าทุก ๆ 15 นาที นำไปต้มในน้ำเดือด 15 นาที เพื่อทำให้เอนไซม์เสียสภาพ ปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ปรับพีเอชเท่ากับ 7 ก่อนลดปริมาตรสารละลายให้เหลือ 300 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporatory) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นำไปตกตะกอนเบต้ากลูแคนด้วยเอทานอลเข้มข้น (absolute ethanol) ที่อัตราส่วน 1:1 ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน นำตะกอนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที มาละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 50-100 มิลลิลิตร ต้มที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง เขย่าทุก ๆ 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำมาไดอะไลซิส (dialysis) ที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง (เพื่อแยกน้ำตาลกลูโคส ไซโลส และโอลิโกเมอร์สายสั้นที่เกิดจากการย่อยแป้งและไซแลนด้วยเอนไซม์) จากนั้นตกตะกอนเบต้ากลูแคนด้วยไอโซโพรพานอลเข้มข้น (absolute isopropanol) ที่อัตราส่วน 1:1 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน แยกตะกอนเบต้ากลูแคน โดยการปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที จากนั้นนำตะกอนมาแขวนลอยในเอทานอลเข้มข้น (absolute ethanol) ที่อัตราส่วน 1:1 เขย่าเบาๆ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน แยกตะกอนเบต้ากลูแคนด้วยการกรองเอทานอลออก และนำไปอบที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน จะได้สารสกัดเบต้ากลูแคนที่สกัดโดยใช้เอนไซม์ (RBG_{E})

3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

3.1 ปริมาณเบต้ากลูแคนในสารสกัด

วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานของ McCleary & Glennie-Holmes (1985) จัดจำหน่ายในรูปชุดทดสอบ Mixed-Linkage Beta-Glucan (Megazyme, 2016) โดยบริษัท Megazyme International (Bray, Co. Wicklow, Ireland) ซึ่งเป็นชุดทดสอบที่ใช้เอนไซม์ลิชิเนส (Lichenase) ที่มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายพันธะเบต้า-1,3:1,4 ไกลโคซิดิก ในโครงสร้างของเบต้ากลูแคน ร่วมกับเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส (beta-glucosidase) ที่ช่วยย่อยสลายเบต้ากลูแคนในรูปโอลิโกเมอร์ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส จากนั้นเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส/เปอร์ออกซิเดส (glucosidase/oxidase) ที่ทำหน้าที่ร่วมกันในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นสารละลายสีชมพู เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน โดยใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน และหลอดควบคุมใช้แป้งข้าวโอ๊ตและแป้งข้าวบาร์เลย์ แทนสารสกัดเบต้ากลูแคน

ปริมาณเบต้ากลูแคน คำนวณได้จากสูตร

$$\text{ปริมาณเบต้ากลูแคน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times 8.46 \quad (1)$$

เมื่อ ΔA คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ย่อยด้วยเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส (น้ำตาลดี-กลูโคสจากเบต้ากลูแคน) *ลบ* ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ไม่ได้ย่อยด้วยเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส (น้ำตาลดี-กลูโคสเริ่มต้น)

F คือ 100/ค่าการดูดกลืนแสงของดี-กลูโคสปริมาณ 100 ไมโครกรัม

W คือ น้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ใช้วิเคราะห์ (มิลลิกรัม)

8.46 คือ แฟคเตอร์ (เปลี่ยนหน่วยไมโครกรัมเป็นมิลลิกรัม เปลี่ยน ดี-กลูโคสอิสระ (ที่วิเคราะห์ได้) เป็นแอนไฮโดร-ดี-กลูโคส (anhydro-d-glucose) ซึ่งเป็นรูปที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของเบต้ากลูแคน และเปลี่ยนหน่วยให้อยู่ในรูปร้อยละโดยน้ำหนัก)

3.2 ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์หาปริมาณความชื้นตามวิธีในชุดทดสอบเบต้ากลูแคน (Megazyme, 2016) ชั่งสารสกัดเบต้ากลูแคน 500 มิลลิกรัม ใส่ภาชนะที่อบไล่ความชื้นและทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง นำออกมาเก็บในโถแก้วดูดความชื้น ทิ้งให้เย็นประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องแล้ว นำไปชั่งน้ำหนัก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ปริมาณความชื้น คำนวณได้จากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)} - \text{น้ำหนักหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100 \quad (2)$$

3.3 ปริมาณเถ้า

วิเคราะห์หาปริมาณเถ้าตามวิธีมาตรฐาน AOAC International (2000) ชั่งสารสกัดเบต้ากลูแคน 500 มิลลิกรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแล้ว นำไปเผาบนเตาไฟฟ้าจนหมดควัน จากนั้นจึงนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสังเกตเห็นเฉพาะสีเทาอ่อนหรือสีขาว ปล่อยให้เย็นในโถแก้วดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนัก เผาซ้ำอีกครั้ง จนน้ำหนักของคงที่ ปริมาณเถ้า คำนวณได้จากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า (กรัม)}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100 \quad (3)$$

4. การวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลในโครงสร้างของเบต้ากลูแคน

4.1 การเตรียมสารสกัดเบต้ากลูแคนก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ลิชิเนส

นำสารสกัดเบต้ากลูแคน 8 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องผสมสารละลาย ต้มในน้ำเดือด 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.25 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลที่พบในสารสกัด

4.2 การเตรียมสารสกัดเบต้ากลูแคนที่ย่อยด้วยเอนไซม์ลิชิเนส

นำสารสกัดเบต้ากลูแคน 8 มิลลิกรัม มาละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 20 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6.5 เขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องผสมสารละลาย ปิดฝาให้สนิท นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเอนไซม์ลิชิเนส ปริมาณ 50 ยูนิต บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง (Megazyme, 2016) เขย่าเบาๆ ทุก 15 นาที จากนั้นนำมาต้มในน้ำเดือด 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.25 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลในโครงสร้างของเบต้ากลูแคน

4.3 การวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

นำสารสกัดเบต้ากลูแคนที่เตรียมไว้ (ข้อ 4.1 และ 4.2) 20 ไมโครลิตร มาหาชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบด้วยเครื่อง HPLC ที่มี Refractive index detector (RID-10A Shimadzu, Japan) ซึ่งใช้คอลัมน์ Aminex®HPX-87H ขนาด 300x7.8 มิลลิเมตร (Bio-rad, USA) และใช้สารละลายกรดซัลฟูริคเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ เป็นตัวชะ ที่อัตราเร็ว 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที สารละลายน้ำตาลมาตรฐานที่ใช้ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส (glucose) อะราบิโนส (arabinose) ไซโลส (xylose) ไซโลไบโอส (xylobiose) เซลโลไบโอส (cellobiose) 1,3:1,4-เบต้า-กลูโค-เตตระโอส (Glcβ1→4-Glcβ1→4-Glcβ1→3-Glc; G4) และ 1,3:1,4-เบต้า-กลูโค-ไตรโอส (Glcβ1→4-Glcβ1→3-Glc; G3) (Megazyme, 2016)

5. การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดเบต้ากลูแคน

5.1 ความสามารถในการละลาย

ความสามารถในการละลายของสารสกัดเบต้ากลูแคน ดัดแปลงจากวิธีของ Du *et al.* (2012) นำสารสกัดเบต้ากลูแคน 1 กรัม มาละลายในน้ำเดือด 100 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องผสมสารละลายนาน 5 นาที กรองขณะร้อนโดยใช้แรงสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ซึ่งอบและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว จากนั้นล้างด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียสอีกครั้ง นำตะกอนบนกระดาษกรองไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ชั่งหาน้ำหนักส่วนที่ไม่สามารถละลายน้ำ ความสามารถในการละลาย คำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความสามารถในการละลาย (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)} - \text{น้ำหนักที่ไม่ละลาย (กรัม)}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100 \quad (4)$$

5.2 ความสามารถในการเกิดโฟม

นำสารสกัดเบต้ากลูแคน 2.5 กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องผสมอาหารที่ความเร็วสูงสุด (hand held food mixer) นาน 2 นาที บันทึกปริมาตรของสารสกัดเบต้ากลูแคนก่อนและหลังการเกิดโฟม เพื่อคำนวณหาความสามารถในการเกิดโฟมจากปริมาตรที่เพิ่มขึ้น (Ahmad *et al*., 2010) ได้จากสูตร

$$\text{ปริมาตรที่เพิ่มขึ้น (ร้อยละโดยปริมาตร)} = \frac{\text{ปริมาตรหลังเขย่า (มิลลิลิตร)} - \text{ปริมาตรก่อนเขย่า (มิลลิลิตร)}}{\text{ปริมาตรหลังเขย่า (มิลลิลิตร)}} \times 100 \quad (5)$$

5.3 ความคงตัวของโฟม

นำโฟมของสารสกัดเบต้ากลูแคนจากข้อ 5.2 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง เทใส่ในกระบอกตวง บันทึกปริมาตรที่ลดลงของโฟม เพื่อนำมาคำนวณความคงตัวของโฟมสารสกัดเบต้ากลูแคน (Ahmad *et al*., 2010) ได้จากสูตร

$$\text{ความคงตัวของโฟม (ร้อยละโดยปริมาตร)} = 1 - \left(\frac{\text{ปริมาตรหลังเขย่าที่ 0 ชั่วโมง (มิลลิลิตร)} - \text{ปริมาตรหลังเขย่าที่ 2 ชั่วโมง (มิลลิลิตร)}}{\text{ปริมาตรหลังเขย่าที่ 0 ชั่วโมง (มิลลิลิตร)}}\right) \times 100 \quad (6)$$

5.4 ความสามารถในการยึดจับกับน้ำ

นำสารสกัด 200 มิลลิกรัม ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยง เติมน้ำ 20 มิลลิลิตร นำไปวางในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที แยกสารละลายส่วนใสทิ้ง หาปริมาณน้ำที่ยึดจับในสารสกัดเบต้ากลูแคน โดยนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักสารสกัด เพื่อนำไปคำนวณหาน้ำหนักของน้ำที่ยึดจับต่อสารสกัดเบต้ากลูแคน 1 กรัม (Ahmad *et al*., 2010) ได้จากสูตร

$$\text{ความสามารถในการยึดจับกับน้ำ (กรัม/สารสกัดเบต้ากลูแคน 1 กรัม)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100 \quad (7)$$

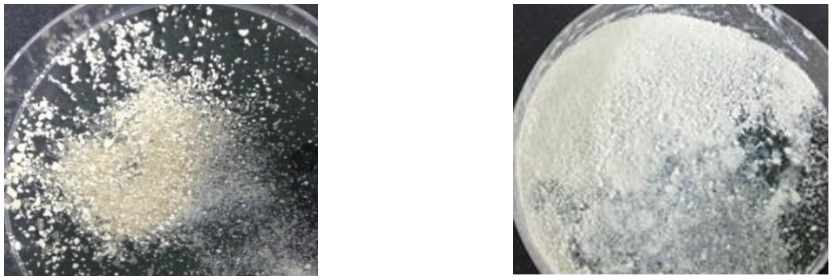
6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS statistic software (version 24 for Window, SPSS Inc., Chicago, USA) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และรายผลในรูปค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

ผลการวิจัย

1. ปริมาณผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของ RBG_{NE} และ RBG_{E}

RBG_{NE} มีลักษณะเป็นผงหยาบสีขาวปนน้ำตาลอ่อน ขณะที่ RBG_{E} มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว แสดงในภาพที่ 1 ปริมาณผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเบต้ากลูแคนทั้ง 2 วิธี ดังตารางที่ 2 พบว่า RBG_{NE} ได้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดเท่ากับ 1,018.90±13.32 มิลลิกรัมต่อรำข้าว 100 กรัม ซึ่งมากกว่า RBG_{E} ที่มีปริมาณเท่ากับ 114.80±1.19 มิลลิกรัมต่อรำข้าว 100 กรัม อยู่เกือบ 9 เท่า ขณะที่ปริมาณเบต้ากลูแคนใน RBG_{NE} เท่ากับร้อยละ 0.20±0.04 มากกว่า RBG_{E} ซึ่งมีอยู่ร้อยละ 0.14±0.01 ($p<0.05$) เมื่อคำนวณปริมาณเบต้ากลูแคนทั้งหมด พบว่าวิธีสกัดแบบไม่ใช้เอนไซม์ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนทั้งหมดเท่ากับ 20.48±0.38 มิลลิกรัมต่อรำข้าว 1 กิโลกรัม ซึ่งมากกว่าวิธีสกัดแบบใช้เอนไซม์ที่ได้ปริมาณเบต้ากลูแคนทั้งหมดเท่ากับ 1.63±0.00 มิลลิกรัมต่อรำข้าว 1 กิโลกรัม ($p<0.05$) สำหรับปริมาณความชื้นและปริมาณเถ้าของ RBG_{NE} มีค่ามากกว่า RBG_{E} ($p<0.05$)



(ก) (ข)

ภาพที่ 1 ลักษณะปรากฏของผงสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 (ก) RBG_{NE} (ข) RBG_{E}

ตารางที่ 1 ปริมาณผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของ RBG_{NE} และ RBG_{E}

ปริมาณผลผลิตและองค์ประกอบทางเคมี	RBG_{NE}	RBG_{E}
ปริมาณผลผลิต[A] (mg/100 g rice bran)	1,018.90±13.32[a]	114.80±1.19[b]
เบต้ากลูแคน (%w/w)	0.20±0.04[a]	0.14±0.01[b]
ปริมาณเบต้ากลูแคนทั้งหมด[B] (mg/kg rice bran)	20.48±0.38[a]	1.63±0.00[b]
ความชื้น (% dry basis)	10.72±0.10[a]	6.40±0.17[b]
เถ้า (%w/w)	12.50±1.73[a]	6.17±0.29[b]

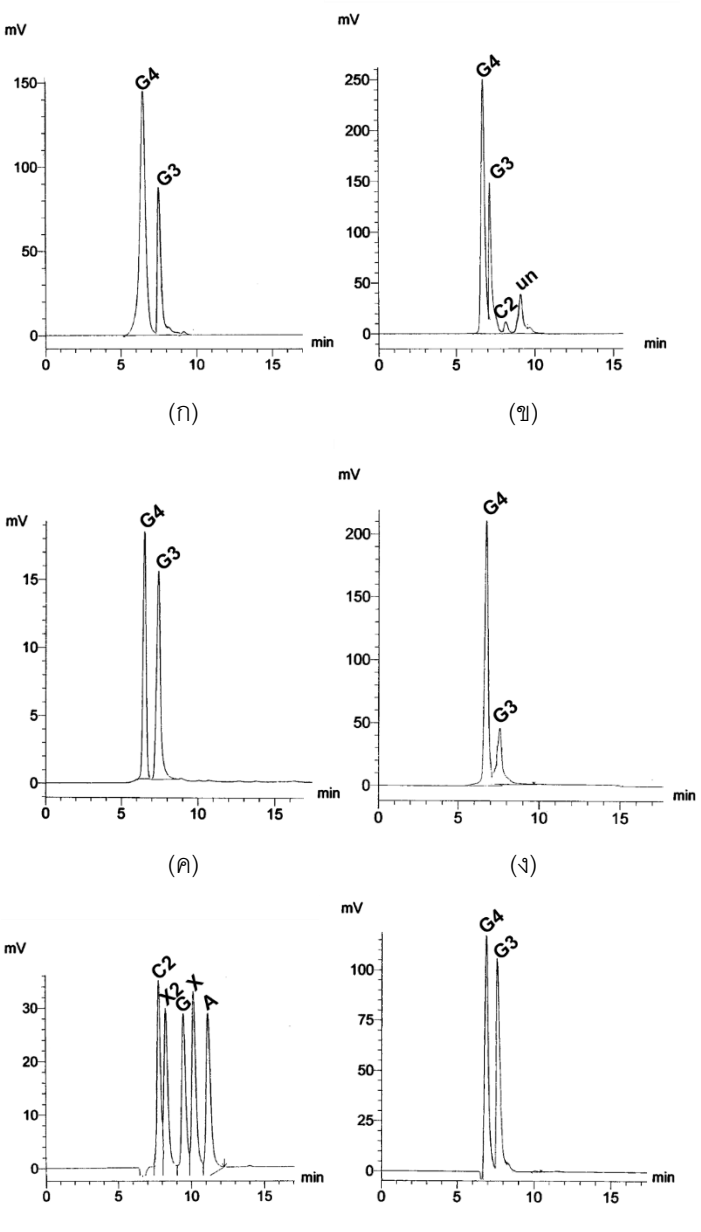
[A]ปริมาณผลผลิต = น้ำหนักของสารสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวปริมาณ 100 กรัมที่สกัดโดยใช้เอนไซม์หรือไม่ใช้เอนไซม์, [B]เบต้ากลูแคนทั้งหมด = ปริมาณสารสกัด (mg/kg rice bran) x ปริมาณเบต้ากลูแคน (%w/w)/100, [a-b] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2. การศึกษาลักษณะโครงสร้างของเบต้ากลูแคนใน RBG_{NE} และ RBG_{E}

ลักษณะโครงสร้างของเบต้ากลูแคนในสารสกัด สามารถศึกษาได้จากการเปรียบเทียบชนิดของน้ำตาลที่พบในสารสกัดเบต้ากลูแคนก่อนและหลังย่อยสลายด้วยเอนไซม์ลิชิเนสและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ชนิดของน้ำตาลที่พบใน RBG_{NE} และ RBG_{E} ก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ลิชิเนส ดังภาพที่ 2 (ก) และ (ค) มี 2 ชนิด คือ G4 และ G3 ซึ่ง RBG_{E} พบในปริมาณน้อยมาก เมื่อนำ RBG_{NE} และ RBG_{E} มาย่อยด้วยเอนไซม์ลิชิเนส ดังภาพที่ 2 (ข) และ (ง) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะβ-1,3:1,4 ไกลโคซิดิกในโครงสร้างของเบต้ากลูแคน (Ghotra *et al.*, 2008) ทำให้ปริมาณ G4 และ G3 ในสารสกัดทั้งสองเพิ่มขึ้น โดยปริมาณที่พบใน RBG_{NE} สูงกว่า RBG_{E} สัมพันธ์กับปริมาณเบต้ากลูแคนที่พบใน RBG_{NE} มากกว่า RBG_{E} (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ใน RBG_{NE} พบสาร unknown (UN) ซึ่งเวลาหน่วง (retention time) ไม่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐานที่นำมาเปรียบเทียบ แต่ไม่พบในสารสกัด RBG_{E} คาดว่า UN น่าจะหายไปในระหว่างการสกัดโดยใช้เอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตามทั้งในสารสกัด RBG_{NE} และ RBG_{E} ไม่พบน้ำตาลไซโลส น้ำตาลอะราบิโนส รวมทั้งน้ำตาลโมเลกุลคู่ชนิดอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่าการสกัดเบต้ากลูแคนแบบใช้หรือไม่ใช้เอนไซม์ ได้สารสกัดเบต้ากลูแคนที่มีชนิดของน้ำตาลในสารสกัดไม่แตกต่างกัน

3. การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของ RBG_{NE} *และ* RBG_{E}

สมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดเบต้ากลูแคนดังตารางที่ 2 ความสามารถในการละลายน้ำของ RBG_{NE} เท่ากับร้อยละ 77.10±1.64 ซึ่งน้อยกว่า RBG_{E} ที่มีความสามารถในการละลายอยู่ร้อยละ 88.70±1.32 ($p<0.05$) ความสามารถในการเกิดโฟมของ RBG_{NE} มีค่ามากกว่า RBG_{E} เล็กน้อย คือ มีค่าเท่ากับร้อยละ 48.00±1.00 และ 39.30±0.58 ตามลำดับ ($p<0.05$) ขณะที่ความคงตัวของโฟม เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง พบปริมาตรโฟมของ RBG_{NE} และ RBG_{N} ที่ยังคงฟอร์มตัวอยู่คิดเป็นร้อยละ 89.30±1.32 และ 88.00±1.07 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ความสามารถในการยึดจับกับน้ำ พบว่า RBG_{NE} 1 กรัม สามารถยึดจับกับน้ำปริมาณ 9.80±1.45 กรัม ซึ่งมีค่าสูงกว่า RBG_{E} ที่สามารถยึดจับน้ำได้ปริมาณ 6.00±0.42 กรัม ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่าการสกัดโดยไม่ใช้เอนไซม์และใช้เอนไซม์ ส่วนใหญ่ทำให้สมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดเบต้ากลูแคนแตกต่างกัน



ภาพที่ 2 ชนิดของน้ำตาลที่พบในสารสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ก่อนและหลังย่อยสลายด้วยเอนไซม์ลิชิเนส และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (ก) RBG_{NE} ก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ (ข) RBG_{NE} หลังย่อยด้วยเอนไซม์ (ค) RBG_{E} ก่อนย่อยด้วยเอนไซม์ (ง) RBG_{E} หลังย่อยด้วยเอนไซม์ (จ) สารละลายน้ำตาลมาตรฐาน ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส (G), น้ำตาลไซโลส (X), น้ำตาลอะราบิโนส (A), น้ำตาลไซโลไบโอส (X2) และน้ำตาลเซลโลไบโอส (C2) (ฉ) สารละลายน้ำตาลมาตรฐาน ได้แก่ น้ำตาล 1,3:1,4-เบต้า-กลูโค-เตตระโอส (G4) และน้ำตาล 1,3:1, 4-เบต้า-กลูโค-ไตรโอส (G3)

ตารางที่ 2 สมบัติเชิงหน้าที่ของ RBG_{NE} และ RBG_{E}

สมบัติเชิงหน้าที่	RBG_{NE}	RBG_{E}
ความสามารถในการละลาย (%w/w)	77.10±1.64[b]	88.70±1.32[a]
ความสามารถในการเกิดโฟม (%w/v)	48.00±1.00[a]	39.30±0.58[b]
ความคงตัวของโฟม (%w/v)	89.30±1.32[a]	88.00±1.07[a]
ความสามารถในยึดจับกับน้ำ (g/g)	9.80±1.45[a]	6.00±0.42[b]

[a-b] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

วิจารณ์ผลการวิจัย

การสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวโดยไม่ใช้เอนไซม์และใช้เอนไซม์ พบว่าลักษณะปรากฏของ RBG_{NE} มีสีน้ำตาลปนมา แตกต่างจาก RBG_{E} ที่มีสีขาวเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเกิดจากการสกัดเบต้ากลูแคนด้วยน้ำในสภาวะด่าง มักจะมีอะราบิโนไซแลน (arabinoxylan) ซึ่งเป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์พืชที่มีสีน้ำตาลปนออกมา (Bender *et al.*, 2017) จึงทำให้พบสีน้ำตาลใน RBG_{NE} แต่เมื่อใช้เอนไซม์เบต้า-ไซลาเนสที่มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายอะราบิโนไซแลน และกำจัดออกด้วยวิธีไดอะไลซิส จึงทำให้ไม่พบสีน้ำตาลใน RBG_{E} เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Li *et al.* (2006) ที่ใช้เอนไซม์เบต้า-ไซลาเนสช่วยกำจัดไซแลนที่ปนมาในสารสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวสาลี แต่ไม่นิยมใช้ในการสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวโอ๊ตและรำข้าวบาร์เลย์ (Vasanthan & Temelli, 2008) การสกัดแบบไม่ใช้เอนไซม์ได้ปริมาณผลผลิต ปริมาณเบต้ากลูแคน และปริมาณเบต้ากลูแคนทั้งหมดมากกว่าการสกัดแบบใช้เอนไซม์ ($p<0.05$) เนื่องจากการสกัดแบบใช้เอนไซม์มีหลายขั้นตอนและใช้ระยะเวลานาน จึงทำให้เกิดการสูญเสียสารสกัด ทั้งในขั้นตอนการย่อยสลายพอลิแซ็คคาไรด์ด้วยเอนไซม์ ขั้นตอนกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยการปั่นเหวี่ยงและไดอะไลซิสเช่นเดียวกับการสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวสาลี (Li *et al.*, 2006) สำหรับปริมาณเบต้ากลูแคนใน RBG_{NE} เท่ากับร้อยละ 0.20±0.04 ใกล้เคียงกับปริมาณเบต้ากลูแคนจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 (Rungsardthong, 1999) แต่มีปริมาณน้อยกว่ารำข้าวสังข์หยดพัทลุงไฮโดรไลเซท (Natcha *et al.*, 2017) และรำข้าวพันธุ์ที่ปลูกในประเทศเกาหลี (Jung *et al.*, 2017) เนื่องจากรำข้าวสังข์หยดพัทลุงสกัดในสภาวะด่างอ่อนร่วมกับการใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสและโปรติเอส ขณะที่รำข้าวเกาหลีบ่มด้วยเมทานอลร่วมกับการใช้เครื่องอัลตราโซนิก นอกจากนี้ชนิดของพันธุ์ข้าวส่งผลให้ปริมาณเบต้ากลูแคนในรำข้าวแตกต่างกันด้วย ปริมาณความชื้นและปริมาณเถ้าของสารสกัดโดยใช้เอนไซม์มีค่าน้อยกว่าไม่ใช้เอนไซม์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Li *et al.* (2006)

การศึกษาลักษณะโครงสร้างของเบต้ากลูแคนจากธัญพืช นิยมใช้เครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเบต้ากลูแคนในสารสกัดด้วยเอนไซม์ลิชิเนส ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายพันธะเบต้า-1,3:1,4-ไกลโคซิดิก (Megazyme, 2016) มักได้ผลิตภัณฑ์หลัก คือ น้ำตาล G3 และ G4 ซึ่งเป็นหน่วยย่อยที่สำคัญในโครงสร้างของเบต้ากลูแคนจากธัญพืช (Johansson *et al.*, 2000) เมื่อนำ RBG_{NE} และ RBG_{N} มาย่อยสลายเบต้ากลูแคนด้วยเอนไซม์ลิชิเนส พบปริมาณน้ำตาล G3 และ G4 เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่พบก่อนย่อยสลายด้วยเอนไซม์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Petersen *et al.* (2013) สำหรับน้ำตาลชนิดอื่น ๆ ที่ไม่พบในสารสกัดเบต้ากลูแคน เช่น

น้ำตาลไซโลส น้ำตาลอะราบิโนส และน้ำตาลโมเลกุลคู่ เป็นต้น น่าจะมีปริมาณน้อยมากและคาดว่าน่าจะอยู่ในรูปของพอลิแซ็คคาไรด์ สัมพันธ์กับลักษณะปรากฏของ RBG_{NE} ที่มีสีน้ำตาลปนมา น่าจะเกิดจากสีของอะราบิโนไซแลน อย่างไรก็ตามอาจมีสีของลิกนินปะปนมา ซึ่งเป็นรงควัตถุโทนสีน้ำตาลเช่นเดียวกัน แต่พบในปริมาณน้อยมาก

เมื่อทดสอบสมบัติเชิงหน้าที่ของ RBG_{NE} และ RBG_{E} พบว่า RBG_{E} สามารถละลายน้ำได้ดีกว่า RBG_{NE} อาจจะเกิดจากการสกัด RBG_{E} ใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและเบต้า-ไซลาเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายแป้งและอะราบิโนไซแลน จึงช่วยกำจัดสิ่งปนเปื้อนจำพวกพอลิแซ็คคาไรด์ขนาดใหญ่ ที่มักละลายน้ำได้ยาก ส่วนประกอบทั้งสองนี้เป็นส่วนหนึ่งที่ส่งผลต่อความสามารถในการละลายของสารสกัดเบต้ากลูแคน (Ahmad & Khalid, 2018) ความสามารถในการเกิดโฟมและการยึดจับกับน้ำของ RBG_{E} น้อยกว่า RBG_{NE} ($p<0.05$) น่าจะเกี่ยวข้องกับการใช้เอนไซม์เบต้า-ไซลาเนส จึงทำให้อะราบิโนไซแลนใน RBG_{E} ถูกกำจัดออกไป เนื่องจากอะราบิโนไซแลนเป็นพอลิแซ็คคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่เช่นเดียวกับเบต้ากลูแคน แต่โครงสร้างมีกิ่งก้านสาขาที่ซับซ้อนมากกว่า เมื่ออยู่ร่วมกันทำให้โมเลกุลเกาะเกี่ยวเชื่อมโยงกัน จนเกิดช่องว่างที่อากาศหรือน้ำสามารถกระจายตัวแทรกเข้าไปได้ จึงมีส่วนช่วยให้สารสกัดเบต้ากลูแคนเกิดโฟมและยึดจับกับน้ำได้ดีขึ้น (Ren *et al*., 2018) ด้วยเหตุนี้ RBG_{NE} จึงมีความสามารถในการเกิดโฟมได้ดีกว่า RBG_{E} ขณะที่ความคงตัวของโฟมใน RBG_{NE} และ RBG_{E} ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบสมบัติเชิงหน้าที่ของ RBG_{NE} และ RBG_{E} กับสารสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวโอ๊ต (Ahmad *et al*., 2010) พบว่าความสามารถในการละลายน้ำของเบต้ากลูแคน รวมทั้งอะราบิโนไซแลน โปรตีนและโมเลกุลที่มีขั้วอื่น ๆ ใน RBG_{NE} และ RBG_{E} ใกล้เคียงกับสารสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวโอ๊ต แต่มีความสามารถในการเกิดโฟมน้อยกว่า มีความคงตัวของโฟม และความสามารถในการยึดจับกับน้ำสูงกว่า แสดงให้เห็นว่า RBG_{NE} และ RBG_{E} น่าจะสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพได้เช่นเดียวกับสารสกัดเบต้ากลูแคนจากข้าวโอ๊ต (Sarteshnizi *et al*., 2017; Haghshenas *et al*., 2015; Nikoofar *et al*., 2013) แต่อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวมาใช้ประโยชน์ในระดับอุตสาหกรรม ต้องคำนึงถึงต้นทุนการสกัด จากผลการเปรียบเทียบระหว่างการสกัดโดยไม่ใช้และใช้เอนไซม์แสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยวิธีไม่ใช้เอนไซม์น่าจะเหมาะสมมากกว่า เนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นกว่า ค่าใช้จ่ายน้อยกว่า แต่ได้ปริมาณผลผลิตมากกว่า อีกทั้งสมบัติเชิงหน้าที่บางประการดีกว่า โดยที่ลักษณะโครงสร้างไม่แตกต่างกัน การนำรำข้าวมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดเบต้ากลูแคนในงานวิจัยนี้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาเพิ่มมูลค่าให้เกิดประโยชน์ เพื่อลดปริมาณรำข้าวอีกจำนวนมากที่ไม่ได้นำกลับมาใช้

สรุปผลการวิจัย

การสกัดเบต้ากลูแคนจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดโดยไม่ใช้เอนไซม์และใช้เอนไซม์ พบว่าการสกัดโดยไม่ใช้เอนไซม์ได้ปริมาณผลผลิต ปริมาณเบต้ากลูแคน และปริมาณเบต้ากลูแคนทั้งหมดมากกว่าการสกัดโดยใช้เอนไซม์ ชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลักในเบต้ากลูแคนไม่แตกต่างกัน นั่นคือพบทั้งน้ำตาล G3 และ G4 นอกจากนี้สมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดเบต้ากลูแคนที่ไม่ใช้เอนไซม์ อาทิ ความสามารถในการละลายน้ำมีค่ามากกว่า แต่ความสามารถในการเกิดโฟมและการยึดจับกับน้ำมีค่าน้อยกว่าสารสกัดเบต้ากลูแคนที่ใช้เอนไซม์ ทั้งนี้อาจเกิดจากการใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและเบต้า-ไซลาเนส ช่วยย่อยสลายแป้งและอะราบิโนไซแลนขนาดใหญ่ ส่งผลให้สารสกัดละลายน้ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้อะราบิโนไซแลนที่ถูกกำจัดออกไป น่าจะมีส่วนสำคัญที่ช่วยส่งเสริมให้สารสกัดสามารถเกิดโฟมและการยึดจับกับน้ำได้ดี ดังนั้นการสกัด

เบต้ากลูแคนโดยไม่ใช้เอนไซม์ จึงมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่เหมาะสมมากกว่าการสกัดโดยใช้เอนไซม์ อีกทั้งกระบวนการสกัดไม่ยุ่งยาก ใช้ระยะเวลา และค่าใช้จ่ายน้อยกว่า ทำให้ได้สารสกัดเบต้ากลูแคนที่เหมาะสมสำหรับนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.) สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการเอนไซม์ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่อนุเคราะห์เครื่อง HPLC และสาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการปฏิบัติงาน พร้อมวัสดุ อุปกรณ์

เอกสารอ้างอิง

Ahmad, A., Anjum, F.M., Zahoor, T., Nawaz, H., & Ahmed, Z. (2010). “Extraction and characterization of β-d-glucan from oat for industrial utilization”. *International Journal of Biological Macromolecules*, *46*(3), 304–309.

Ahmad, A., & Khalid, N. (2018). Dietary fibers in modern food production: A special perspective with β-glucans. In A.M. Grumezescu, & A.M. Holban (Eds.), *Biopolymers for Food Design*. (pp. 125–156). United Kingdom: Academic Press.

Alauddina, M., Islama, J., Shirakawaa, H., Koseki, T., Ardiansyahc, & Komai, M. (2017). Rice bran as a functional food: An overview of the conversion of rice bran into a superfood/functional food. In. V.Y. Waisundara, & N. Shiomi (Eds.), *Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization*. (pp. 291–305). London: InTechOpen.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2000). *Official Method of Analysis* (17th ed.). Washington, DC: AOAC.

Bender, D., Schmatz, M., Novalin, S., Nemeth, R., Chrysanthopoulou, F., Tömösközi, S., Török, K., Schoenlechner, R., & D’Amico, S. (2017). Chemical and rheological characterization of arabinoxylan isolates from rye bran. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *4*, 1–8.

Du, L., Zhang, X., Wang, C., & Xiao, D. (2012). Preparation of water soluble yeast glucan by four kinds of solubilizing processes. *Engineering*, *5*, 184–188.

Gamel, T.H., Aldel-Aal, El-S.M., Ames, N.P., Duss, R.D., & Tosh, S.M. (2014). Enzymatic extraction of beta-glucan from oat bran cereals and oat crackers and optimization of viscosity measurement. *Journal of Cereal Science*, *59*(1), 33–40.

Ghotra, B.S., Vasanthan, T., & Temelli, F. (2008). Structural characterization of barley β-glucan extracted using a novel fractionation technique. *Food Research International*, *41*(10), 957–963.

Haghshenas, M., Hosseini, H., Nayebzadeh, K., Kakesh, B.S., Mahmoudzadeh, M., & Fonood, R.K. (2015). Effect of beta glucan and carboxymethyl cellulose on lipid oxidation and fatty acid composition of pre-cooked shrimp nugget during storage. *LWT - Food Science and Technology*, *62*(2), 1192–1197.

Henderson, A.J., Ollila, C.A., Kumar, A., Borresen, E.C., Raina, K., Agarwal, R., & Ryan, E.P. (2012). Chemopreventive properties of dietary rice bran: Current status and future prospects. *Advances in Nutrition*, *3*(5), 643–653.

Inglett, G.E., Carriere, C.J., Maneepun, S., & Tungtrakul, P. (2004). A soluble fibre gel produced from rice bran and barley flour as a fat replacer in Asian foods. *International Journal of Food Science and Technology*, *39*(1), 1–10.

Johansson, L., Virkki, L., Maunu, S., Lehto, M., Ekholm, P., & Varo, P. (2000). Structural characterization of water soluble β-glucan of oat bran. *Carbohydrate Polymers*, *42*, 143–148.

Jung, T.-D., Shin, G.-H., Kim, J.-M., Choi, S.-I., Lee, J.-H., Lee, S.J., Park, S.J., Woo, K.S., Oh, S.K., & Lee, O.-H. (2017). Comparative analysis of γ-oryzanol, β-glucan, total phenolic content and antioxidant activity in fermented rice bran of different varieties. *Nutrients*, *9*(6), 571.

Kaur, R., Sharma, M., Ji, D., Xu, M., & Agyei, D. (2019). Structural features, modification, and functionalities of beta-glucan. *Fibers*, *8*(1), 1–29.

Kofuji, K., Aoki, A., Tsubaki, K., Konishi, M., Isobe, T., & Murat, Y. (2012). Antioxidant activity of β-glucan. *International Scholarly Research Network*, 1–5.

Koto, S. (2017). *In-season rice cultivars: Annual report for the year 2016-17 about plants production situation at district level*. Retrieved July 20, 2018, from http://www.production2.doae.go.th/ (in Thai)

Lazaridou, A., & Biliaderis, C.G. (2007). Molecular aspects of cereal β-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *Journal of Cereal Science*, *46*(2), 101–118.

Li, W., Cui, S.W., & Kakuda, Y. (2006). Extraction, fractionation, structural and physical characterization of wheat β-d-glucans. *Carbohydrate Polymers*, *63*(3), 408–416.

McCleary, B.V., & Glennie-Holmes, M. (1985). Enzymic quantification of oat (1→3)(1→4)-β-d-glucan in barley and malt. *Journal of Institute of Brewing*, *91*(5), 285–295.

Megazyme International Ireland. (2011). *β-Glucan assay kit (mixed linkage)*. Retrieved March 10, 2017, from https://www.megazyme.com/documents/Booklet/K-BGLU_DATA.pdf

Nagendra Prasad, M.N., Sanjay, K.R., Shravya Khatokar, M., Vismaya, M.N., & Nanjunda Swamy, S. (2011). Health benefits of rice bran - A review. *Journal of Nutrition and Food Science*, *1*(3), 1–7.

Natcha, P., Chakree, T., & Chutha, T.Y. (2017). Enzymatic hydrolysis on protein and β-glucan content of Sang-yod rice bran hydrolysates and their anti-inflammatory activity on raw 264.7 cells. *Functional Foods in Health and Disease*, *7*(12), 958–971.

Nikoofar, E., Hojjatoleslamy, M., Shakerian, A., Molavi, H., & Shariaty, M.A. (2013). Surveying the effect of oat beta glucan as a fat replacer on rheological and physicochemical characteristics of non fat set yoghurt. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, *2*(20), 790–796.

Petersen, B.O., Olsen, O., Beeren, S.R., Hindsgaul, O., & Meier, S. (2013). Monitoring pathways of β-glucan degradation by enzyme mixtures in situ. *Carbohydrate Research*, *368*, 47–51.

Phuwadolpaisarn, P. (2016). The influence of conditions on beta-glucan extraction from Thai rice bran cultivars and their biological properties. In *Proceedings of 95th The IIER International Conference*. (pp. 1–6). Japan: Semantic Scholar.

Ren, Y., Xie, H., Liu, L., Jia, D., Yao, K., & Chi, Y. (2018). Processing and prebiotics characteristics of β-glucan extract from Highland barley. *Applied Sciences*, *8*, 1481.

Rungsardthong, V. (1999). The extraction of beta-glucan, the ingredient used in functional food, from rice bran. *[Research Report]* Department of Agro-Industrial Technology, King Mongkut's University of Technology North Bangkok. (in Thai)

Sarteshnizi, R.A., Hosseini, H., Khosroshahi, N.K., Shahraz, F., Khanegha, A.M., Kamran, M., Komeili, R., & Chiavaro, E. (2017). Effect of resistant starch and β-glucan combination on oxidative stability, frying performance, microbial count and shelf life of prebiotic sausage during refrigerated storage. *Food Technology and Biotechnology*, *55*(4), 475–482.

Sofi, S.A., Singh, J., & Rafiq, S. (2017). β-Glucan and functionality: A review. *ECronicon open access*, *10*(2), 67–74.

Thai Rice Exporters Association. (2018). *NEW: Price of export milled rice cultivars*. Retrieved May 23, 2019, from http://www.thairiceexporters.or.th (in Thai)

Thava, V., & Feral, T. (2008). Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration. *Food Research International*, *41*, 876–881.

Zhu, F., Du, B., & Xu, B. (2016). A critical review on production and industrial applications of beta-glucans. *Food Hydrocolloids*, *52*, 275–288.