องค์ประกอบของออริซานอลในรำข้าวหอมมะลิ

นางสาว เล็ก เวชชานุเคราะห์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-17-4203-7

CONSTITUENTS OF ORYZANOLS IN JASMINE RICE BRAN

Miss Lek Vejjanukroh

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Acadamic Year 2005

ISBN 974-17-4203-7

Thesis Title	CONSTITUENTS OF ORYZANOLS IN JASMINE RICE BRAN
By	Miss Lek Vejjanukroh
Field of study	Biotechnology
Thesis Advisor	Associate Professor Somchai Pengprecha, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Mr. Pravit Santiwattana

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

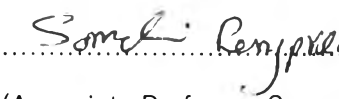
.....Dean of the Faculty of Science

(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

.....Chairman

(Professor Sophon Roengsumran, Ph.D.)

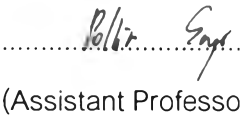


.....Thesis Advisor

(Associate Professor Somchai Pengprecha, Ph.D.)

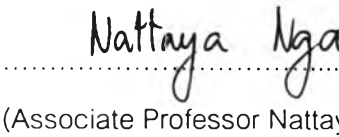
.....Thesis Co-advisor

(Mr. Pravit Santiwattana)



.....Member

(Assistant Professor Polkit Sangvanich, Ph.D.)



.....Member

(Associate Professor Nattaya Ngamrojnavanich, Ph.D.)

เล็ก เวชชานุเคราะห์: องค์ประกอบของออริซานอลในรำข้าวหอมมะลิ (CONSTITUENTS OF ORYZANOLS IN JASMINE RICE BRAN) อ.ที่ปรึกษา: รศ.ดร. สมใจ เพ็งปรีชา, อ.ที่ปรึกษาร่วม: นายประวิทย์ สันติวัฒนา 174 หน้า. ISBN 974-17-4203-7.

การศึกษาและเปรียบเทียบองค์ประกอบของออริซานอลที่สกัดได้จากรำของข้าว 4 พันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ ปทุมธานี 1, ขาวดอกมะลิ 105 (ข้าวหอมมะลิ), สันป่าตอง 1 (ข้าวเหนียว) และ กข ชัยนาท 1 (ข้าวขาว) เมื่อนำรำข้าวแต่ละพันธุ์มาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมจะได้น้ำมันรำข้าวชนิดหยาบ (Crude Rice Bran Oil) แล้วจึงสกัดแยกองค์ประกอบของออริซานอลจากน้ำมันรำข้าวโดยใช้ Silica Column Chromatography และ Preparative TLC หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบของออริซานอลโดยใช้เทคนิค mass spectrometry/ mass spectrometry (MS/MS) จากการทดลองพบองค์ประกอบของออริซานอลจำนวน 10, 7, 5 และ2 ชนิดในน้ำมันรำข้าวที่ใช้ทำการทดลองทั้ง 4 ชนิดตามลำดับ 24-methylenecycloartanyl ferulate และ cycloartenyl ferulate ทั้ง 2 ชนิดนี้ พบในน้ำมันรำข้าวทุกชนิด sitosteryl และ/หรือ Δ^7-sitosteryl ferulate, campesteryl ferulate และ stigmastanyl ferulate พบในน้ำมันรำข้าวสันป่าตอง 1, ขาวดอกมะลิ 105 และ ปทุมธานี 1 นอกจากนี้ยังพบอีกว่า cycloartenyl caffeate, campestanyl ferulate และ 24-methylenecholesteryl ferulate พบได้ในน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ และปทุมธานี 1 ส่วนองค์ประกอบอื่น ๆ นั้นคือ campesteryl caffeate, 24-cycloart-25-ene-3 β,24-diol-3β ferulate และ 24-hydroxy-24-methylcycloartanyl ferulates พบเฉพาะในรำข้าวปทุมธานี 1 จากนั้นนำออริซานอลที่สกัดได้มาศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) เปรียบเทียบกับ α-tocopherol และออริซานอลมาตรฐาน โดยทำการตรวจสอบในระบบที่เร่งปฏิกิริยาโดย 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) พบว่า ออริซานอลที่สกัดได้จากข้าวทุกพันธุ์มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะ ออริซานอลที่สกัดได้จากรำข้าวสันป่าตอง 1 มีประสิทธิภาพสูงที่สุดและมีค่า IC_{50} 25.00 μg/ml ในขณะที่ออริซานอลมาตรฐาน, ออริซานอลที่สกัดได้จากรำข้าว กข ชัยนาท 1, ปทุมธานี 1 และ ขาวดอกมะลิ 105 มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระลดลงตามลำดับ

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....เล็ก เวชชานุเคราะห์.....

ปีการศึกษา.....2548.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4572462723: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORD: ORYZANOL/ JASMINE RICE/ RICE BRAN/ THAI RICE CULTIVARS

LEK VEJJANUKROH: CONSTITUENTS OF ORYZANOLS IN JASMINE RICE BRAN. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SOMCHAI PENGPRECHA, Ph.D., THESIS COADVISOR: MR. PRAVIT SANTIWATTANA, 174 pp. ISBN 974-17-4203-7.

The steryl ferulate (γ-oryzanol) contents of rice bran of 4 different Thai rice varieties, i.e., Pathumthani 1 and Kao Dok Mali 105 (Jasmine rice), Sunpatong 1 (glutinous rice) and Go Ko Chai Nat 1 (white rice) were extracted individually by appropriate solvents, and crude rice bran oils, the products, were further purified using silica column chromatographic and preparative thin-layer chromatographic methods. Mass spectrometry/ mass spectrometry (MS/MS) was used for identification of individual oryzanol constituents. From those tested crude rice bran oils, 10, 7, 5 and 2 components of oryzanol were extracted, respectively. Both 24-methylenecycloartanyl ferulate and cycloartenyl ferulate were found commonly in all tested varieties. Also, sitosteryl and/or Δ^7-sitosteryl ferulate, campesteryl and/or Δ^7-campesteryl ferulate and stigmastanyl ferulate, were found in Sunpatong 1, Kao Dok Mali 105 and Pathumthani 1. In addition, cycloartenyl caffeate, campestanyl ferulate and 24-methylenecholesteryl ferulate were found in Kao Dok Mali 105 and Pathumthani 1. Other components, i.e., campesteryl caffeate, 24-cycloart-25-ene-3β,24-diol-3β ferulate and 24-hydroxy-24-methylcyclo-artanyl ferulate found in Pathumthani 1 only. Compare with α-tocopherol and standard oryzanol, antioxidant activities of those extracted oryzanol were performed individually in 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical system. Oryzanol extracted from Sunpatong 1 rice bran, IC_{50} 25.00 μg/ml, possessed the highest antioxidant activity among the tested oryzanols.

Field of study..... Biotechnology.....Student's signature.....

Academic year.....2005.....Advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I have many for help in my achievement of this Master of Science Thesis.

First and foremost, I wish to express my deep and heartfelt gratitude to Associate Professor Dr. Somchai Pengprecha, my supervisor, for his continuous guidance, his valuable advice, his generous help and his continuous encouragement which has enabled me to carry out my study successfully. Also, I owe my most hearty gratitude to Mr. Pravit Santiwattana, Thai Edible Oil, Co. Ltd., my co-supervisor, for his valuable advice, his generous help, and providing γ-oryzanol standard.

It was most thoughtful and generous of Assistant Professor Dr. Polkit Sangvanich, of Associate Professor Dr. Nattaya Ngamrojnavanich, and of Associate Professor Dr. Amorn Petsom, to give helpful suggestions and provide facilities for special experiments, i.e., mass spectroscopy, and cytotoxicity tests.

I am indebted to Assistant Professor Wichien Tupprasert, former Vice President, Bansomdejchaopraya Rajabhat University and his colleagues, to Pakdee Panit Rice Mill, Supanburi Province, to Miss Pattamaporn Sontikul and Mr. Thosaphon Krutha, who provided rice bran samples.

I would like to express my sincere appreciation to Professor Dr. Sophon Roengsumran for his valuable advice and to other staff members of the Institute of Biotechnology and Genetic Engineering, to the staffs and the students of Program of Biotechnology and Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University for their support, and the stimulating atmosphere. Financial support from Graduate School of Chulalongkorn University is also gratefully acknowledged.

Special appreciation is given to Mr. Sunchai Payungporn, to Miss Siriporn Sangsuthum and to Mr. Jatupol Liangsakul for their cordial and helpful cooperation during the course of my work.

To my parents, I owe unending gratitude for their devotion, support, encouragement and love.

CONTENTS

Page

Page

LIST OF TABLES

Table Page

Table Page

LIST OF FIGURES

Figure Page

Figure Page

Figure Page

LIST OF SCHEMES

Scheme Page

LIST OF ABBREVIATIONS

AAPH	= 2,2'-azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride
br s	= broad singlet (for NMR spectral data)
°C	= degree Celsius
^{13}C-NMR	= carbon-13 nuclear magnetic resonance
$CDCl_3$	= deuterated chloroform
$CHCl_3$	= chloroform
CH_2Cl_2	= dichloromethane
cm	= centimeter
COSY	= ^{1}H-^{1}H correlation spectroscopy
δ	= chemical shift
°C	= degree of Celsius
DPPH	= 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical
d	= doublet (for NMR spectral data)
dd	= doublet of doublet (for NMR spectral data)
dt	= doublet of triplets (for NMR spectral data)
ε	= molar absorptivity
EIMS	= electron impact mass spectroscopy
EtOAc	= ethyl acetate
g	= gram
HMBC	= Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HPLC	= high performance liquid chromatography
HSQC	= Heteronuclear Single Quantum Coherence
^{1}H-NMR	= Proton Nuclear Magnetic Resonance
Hz	= hertz
IR	= infrared spectroscopy
i.g.	= intragastric
i.p.	- intraperitoneal
LDL	= low density lipoprotein
l	= liter

kg = kilogram

LC-MS/MS = liquid chromatography-mass spectrometry/ mass spectrometry

µl = micro liter

λ_{max} = wavelength of maximum absorption

$[M+H]^+$ = protonated molecular ion

m = multiple (for NMR spectral data)

MeOH = methanol

mg = milligram

µg = microgram

µm = micrometer

MHz = megahertz

ml = milliliter

mm = millimeter

MS = mass spectrometry

ν_{max} = wave number at maximum absorption

ng = nanogram

NMR = nuclear magnetic resonance

No. = Number

ppm = part per million

q = quartet (for NMR spectral data)

s = singlet (for NMR spectral data)

t = triplet (for NMR spectral data)

TLC = thin layer chromatography

UV = Ultraviolet

VLDL = very low density lipoprotein

Vis = visible

V = volume

H_2O = water

W = weight