การเพิ่มกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก(กาบา) ในข้าวกล้องเพาะงอก ด้วยกรดกลูตามิก

นายอธิป บุญศิริวิทย์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ENHANCEMENT OF GAMMA AMINO-BUTYRIC ACID (GABA) IN GERMINATED BROWN RICE WITH GLUTAMIC ACID

Mr. Athip Boonsiriwit

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพิ่มกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก (กาบา) ในข้าวกล้องเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิก
โดย	นายอธิป บุญศิริวิทย์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กีรติพิบูล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กีรติพิบูล)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ดริษ กวักเพชรย์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(สมบูรณ์ ฐิตินันท์สมบูรณ์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อธิป บุญศิริวิทย์ : การเพิ่มกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก(กาบา) ในข้าวกล้องเพาะงอก ด้วยกรดกลูตามิก (ENHANCEMENT OF GAMMA AMINO-BUTYRIC ACID (GABA) IN GERMINATED BROWN RICE WITH GLUTAMIC ACID) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร.สุวิมล กีรติพิบูล, 67 หน้า

สาร GABA เป็นผลิตผลจากการ metabolismของ glutamic acid โดยเอนไซม์ GAD (glutamic acid decarboxylase) ในงานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตข้าวกล้องเพาะงอกให้ได้ปริมาณสาร GABA สูงโดยใช้วิธีการเติม glutamic acid โดยในขั้นแรกเป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นของ glutamic acid ต่อกระบวนการงอกและลักษณะปรากฏของข้าวกล้อง โดยแปรความเข้มข้นของ glutamic acid ในช่วง 5-70 mM จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 5-30 mM ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นการงอกและลักษณะปรากฏของข้าว ที่ความเข้มข้น 35-45 mM ไม่มีผลเปอร์เซ็นการงอก แต่ข้าวกล้องงอกที่ได้จะมีลักษณะเปื่อยเล็กน้อย และที่ความเข้มข้นมากกว่า 45 mM เปอร์เซ็นการงอกของข้าวกล้องจะลดลง ข้าวที่ได้จะเปื่อย จากผลการศึกษาในตอนต้นนำมาศึกษาร่วมกับปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการผลิต GABA ในข้าวปทุมธานี 1 และ ข้าวเหนียว กข 6 ได้แก่ pH และอุณหภูมิ โดยแปร pH 3 ระดับ คือ 4, 5 และ6 , อุณหภูมิ แปร 3 ระดับคือ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของ glutamic acid แปร 3 ระดับคือ 5, 15 และ 25 mM หาปริมาณสาร GABA ในข้าวกล้องเพาะงอกที่ได้ และวิเคราะห์ผลด้วยวิธี response surface เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้อให้ได้ปริมาณสารGABA มากที่สุดด้วยวิธีการเติม glutamic acid พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวปทุมธานี1 และ ข้าว กข. 6 คือ pH 5, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของ glutamic acid 15 mM โดยมีปริมาณสาร GABA เท่ากับ 155.14±8.01 และ 154.34±30.63 mg/100g ข้าวกล้องงอก (dry basis) ตามลำดับ ปริมาณ เชื้อทั้งหมด ของข้าวปทุมธานี 1 และ ข้าว กข. 6 เท่ากับ 6.78±0.45 log CFU/g และ 6.15±0.34 log CFU/g ตามลำดับ และ yeast และ mold ของข้าวปทุมธานี 1 และ ข้าว กข. 6 เท่ากับ 97.65±9.35 CFU/g และ 102.38±12.77 CFU/g ตามลำดับ

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2553.....

5272614823 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS : Glutamic acid / Gamma amino butyric acid / GABA / Germinated brown rice

ATHIP BOONSIRIWIT : ENHANCEMENT OF GAMMA AMINO-BUTYRIC ACID (GABA) IN GERMINATED BROWN RICE WITH GLUTAMIC ACID. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUWIMON KEERATIPIBUL, Ph,D., 67 pp.

GABA is an amino acid produced by decarboxylation of L-glutamic acid and catalyzed by the enzyme glutamate decarboxylase. The purpose of this study was to determine the effect of glutamic acid solution at various concentrations (5-70 mM) on GABA accumulation in RD6 and Pathum Thani1 brown rice grains during germination. From this study, the means of germination percentage of brown rice grains soaked in glutamic acid solution at concentrations from 5-45 mM were significantly no difference; but the surface of the grains being soaked in 35-45 mM glutamic acid solution were pervious. Meanwhile, the means of germination percentage of brown rice soaked in glutamic acid solution at concentrations higher than 45 mM were significantly less than those obtained from the grains soaked at 5-45mM.

The highest GABA contents accumulated in RD6 and Pathum Thani1 grains were 154.34±30.63 mg/100g and 155.14±8.01 at 15 mM glutamic acid concentrations, respectively.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department :.....Food Technology..... Student's Signature.....

Field of Study....Food Technology..... Advisor's Signature.....

Academic Year : .....2010.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กีรติพิบูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กกรุณาสละเวลาอันมีค่าเพื่อให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนความเอาใจใส่ดูแลและให้ความช่วยเหลืออย่างใกล้ชิดมาโดยตลอดรวมถึงกรุณาช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.ดริษ กวักเพชรย์ และคุณสมบูรณ์ ฐิตินันท์สมบูรณ์กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูงที่กรุณาเสียสละเวลามาตรวจสอบ พร้อมทั้งชี้แนะแนวทางในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคุณสุนันท์ เจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ช่วยให้คำแนะนำและคอยช่วยชี้แนะในการใช้เครื่อง HPLC

ขอบขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สกว. (TRF-MAG) ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณบริษัท อินโนฟู้ด (ไทยแลนด์) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เข้าร่วมกับงานวิจัยนี้และขอขอบคุณคุณแสงอรุณ ที่ให้ความช่วยเหลือในการติดต่อประสานงานกับทางบริษัท

ขอบคุณเพื่อน พี่ และน้องๆ ปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดการทำงานวิจัย

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ได้สั่งสอนให้ผู้วิจัยมีความอดทนให้กำลังใจ และความห่วงใยพร้อมทั้งสนับสนุนในด้านทุนทรัพย์ให้แก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

บทที่

1 บทนำ..... 1

2.วารสารปริทัศน์..... 3

2.1 ข้าว..... 3

2.2 ข้าวกล้องเพาะงอก..... 13

2.3 กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก..... 15

3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 22

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี..... 22

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย..... 22

3.2.1 เตรียมวัตถุดิบสำหรับการเพาะงอก..... 22

3.2.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดกลูตามิกต่อร้อยละการงอกและลักษณะปรากฏของข้าวกล้องเพาะงอก..... 23

3.2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยวิธีการเติมกรดกลูตามิก..... 25

3.2.4 ศึกษาปริมาณ Total Plate Count และ Yeast and Mold ในข้าวกล้องเพาะงอก..... 27

4 ผลการทดลองและวิจารณ์..... 28

4.1 การวิเคราะห์ข้าวกล้อง..... 28

4.2 ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้องทั้งสองสายพันธุ์..... 28

บทที่ หน้า

4.3 สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยการเติมกรดกลูตามิก..... 34

4.4 ปริมาณ Total Plate Count และ Yeast และ Mold..... 40

5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 45

5.1 สรุปผลการทดลอง..... 45

5.2 ข้อเสนอแนะ..... . 46

รายการอ้างอิง..... 47

ภาคผนวก..... 56

ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์..... 57

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ผลทางสถิติ..... 63

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 67

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	Coded level ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณสารกาบาในข้าวกล้องเพาะงอก……..	27
4.1	ร้อยละการงอกของข้าวกล้องปทุมธานี 1 จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกความเข้มข้น 0-70 mM และลักษณะปรากฏ……..	31
4.2	ร้อยละการงอกของข้าวกล้อง กข 6 จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกความเข้มข้น 0-70 mM และลักษณะปรากฏ……	32
4.3	ปริมาณสารกาบาในข้าวกล้องเพาะงอก ที่เพาะงอกด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่างๆ	35
4.4	ร้อยละการงอกของข้าว ปทุมธานี 1 จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ และลักษณะปรากฏ……	38
4.5	ร้อยละการงอกของข้าว กข 6 จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ และลักษณะปรากฏ……	39
ข 1	1 ความแปรปรวน ANOVAจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของร้อยละการงอกของข้าวกล้องปทุมธานี 1เมื่อแปรความ เข้มข้นของกรดกลูตามิก ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95……..	63
ข 2	ความแปรปรวน ANOVAจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของร้อยละการงอกของข้าวกล้อง กข 6 เมื่อแปรความ เข้มข้นของกรดกลูตามิก ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95…….	64
ข 3	ความแปรปรวน ANOVA จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณสารกาบาในข้าวปทุมธานี 1 เมื่อ แปรอุณหภูมิ (A), pH (B) และ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก (C) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95…….	65
ข 4	ความแปรปรวน ANOVA จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณสารกาบาในข้าวกข. 6 เมื่อ แปรอุณหภูมิ (A), pH (B) และ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก (C) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95…….	66

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างของเมล็ดข้าว.....	4
2.2	โครงสร้างของแกมมาอะมิโนบิวทีริก.....	16
2.3	GABA shunt.....	18
2.4	กลไกการตอบสนองต่อความเครียดและการสังเคราะห์สารกาบาในเซลล์พืช....	19
3.1	ขั้นตอนการหาร้อยละการงอกของข้าวกล้องเพาะงอก.....	24
3.2	ขั้นตอนการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยวิธีการเติมสารละลายกรดกลูตามิก.....	26
4.1	ลักษณะการงอกของรากข้าวกล้องงอก (ก) รากฟูรอบจมูกข้าว (ข) รากบางส่วนฟูบางส่วนโหย่ง (ค) รากยาวโหย่ง.....	33
4.2	Contour plot ของปริมาณสารกาบาของข้าวปทุมธานี 1 (ก) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 5mM (ข) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก15mM (ค) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 25mM.....	41
4.3	Contour plot ของปริมาณสารกาบาของข้าว กข 6 (ก) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 5mM (ข) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก15mM (ค) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 25mM.....	42
4.4	Overlay plot ของปริมาณสารกาบาของข้าว ปทุมธานี 1 (ก) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 5mM (ข) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก15mM (ค) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 25mM	43
4.5	Overlay plot ของปริมาณสารกาบาของข้าว กข 6 (ก) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 5mM (ข) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก15mM (ค) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 25mM.....	44
ก 1	Chromatogram ของสารกาบาบริสุทธิ์.....	61
ก 2	Chromatogram ของสารกาบาในข้าวกล้องเพาะงอก.....	61

บทที่ 1

บทนำ

ข้าวกล้อง คือ ข้าวเปลือกที่ผ่านการกะเทาะเอาเปลือกออก โดยที่ยังมีจมูกข้าวหรือคัพภะ และเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวอยู่ ซึ่ง 2 ส่วนนี้จัดว่าเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วย โปรตีน, น้ำมัน , dietary fiber และสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายต่างๆ เช่น vitamin B , E , beta-carotene เป็นต้น ในข้าวกล้องมีโปรตีนประมาณ 7-12% ซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวแต่ละสายพันธุ์ นักวิจัยชื่อ โรสเดล (Rosedale) ได้วิจัยพบว่า การขัดสีข้าวกล้องจนมีสีขาว จะทำให้โปรตีนที่เมล็ดข้าวสูญหายไปประมาณ 30% ดังนั้นข้าวกล้องจึงมีปริมาณสารอาหารที่มากกว่าข้าวขาว แต่ถึงแม้ว่าข้าวกล้องจะมีคุณค่าทางอาหารสูง แต่ก็ได้รับความนิยมในหมู่ผู้บริโภคน้อยกว่าข้าวขาวเนื่องมาจากลักษณะของเนื้อสัมผัสที่แข็ง เคี้ยวยาก และไม่ค่อยมีรสชาติ แต่สามารถแก้ปัญหานี้ได้ด้วยการเพาะงอก ซึ่งกระบวนการการเพาะงอกจะสามารถช่วยปรับปรุงในเรื่องของเนื้อสัมผัสของข้าวกล้อง โดยการงอกจะทำให้ข้าวกล้องนุ่มขึ้น ง่ายต่อการรับประทาน เหมือนกับข้าวขาว (Ito et al., 2004) และนอกจากจะเป็นการปรับปรุงลักษณะของเนื้อสัมผัสแล้วการเพาะงอกยังช่วยในการเพิ่มปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิด (กาบา) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่ไม่ใช่โปรตีนที่ผลิตโดยกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ของกรดกลูตามิก มีบทบาทสำคัญในการเป็นสารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง ประเภทยับยั้ง สารนี้มีประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย เช่น ช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ ควบคุมความดันโลหิต ผ่อนคลายความเครียด ทำให้จิตสงบ ช่วยการเผาผลาญไขมัน เพื่อสร้างกล้ามเนื้อ เป็นต้น

แต่เนื่องจากในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอกที่ผลิตโดยทั่วไปในท้องตลาดยังไม่หลากหลายส่วนมากจะอยู่ในรูปของข้าวกล้องงอกสาร ภาพที่ 1.1 ซึ่งอาจมีปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดที่ผลิตได้มีปริมาณไม่สูงและไม่คงที่ในแต่ละครั้งที่ผลิตจึงไม่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหาร อาหารเสริมและเครื่องสำอางได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจุดมุ่งหมายของงานวิจัยนี้คือ จะช่วยทำให้ข้าวกล้องเพาะงอกในปัจจุบันมีปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดที่

ต่ำอยู่ ให้สูงขึ้น ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวไทย ทำให้สามารถใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่มีข้าวเป็นส่วนผสมหลัก เช่น เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ขนมอบ เครื่องสำอาง หรือใช้ในการปรับให้ข้าวกล้องงอกในแต่ละครั้งการผลิตมีปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดที่คงที่ เนื่องจากข้าวกล้องงอกที่ได้จากงานวิจัยนี้จะมีปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดสูงกว่าข้าวกล้องงอกที่เพาะงอกด้วยวิธีทั่วไป นอกจากการแปรรูปเป็นข้าวกล้องงอกที่มีปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดสูงนั้นจะสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับข้าวไทยแล้ว ยังเป็นการสร้างผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่ๆที่มีส่วนผสมของข้าวกล้องงอกเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้แก่ประเทศไทย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ข้าว

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า (วงศ์ Graminae) ซึ่งเป็นพืชล้มลุก (annual) มีลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อน มีใบชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon) และมีระบบรากฝอย (fibrous root system) สามารถเจริญเติบโตได้ดี ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น และสามารถปลูกได้ทั้งในที่ราบไปจนถึงพื้นที่ที่มีความสูง 2,500 เมตรจากระดับน้ำทะเล สามารถปลูกในที่ที่มีน้ำขัง (ซึ่งอาจลึกถึง 4 เมตร) หรือปลูกในที่ซึ่งไม่มีน้ำขังเลยก็ได้ นอกจากนี้ยังเจริญเติบโตได้ในดินหลายประเภทที่มีความเป็นกรดด่างและความเค็มต่างๆกัน ในประเทศไทยมีพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกอยู่ประมาณ3,500 พันธุ์ปัจจุบันข้าวที่เพาะปลูกเพื่อใช้ในการบริโภคแบ่งออกเป็น 2 ชนิด (species)คือ Oryza sativa ซึ่งปลูกในทวีปเอเชีย และ Oryza glaberrima ที่ปลูกในทวีปแอฟริกา Oryza sativa มีจำนวนพันธุ์และความแตกต่างในลักษณะของพันธุ์มากกว่า Oryza glaberrima มาก และข้าวที่ปลูกในแถบเอเชียและมีการซื้อขายกันในตลาดโลกในปัจจุบันนี้เป็น Oryza glaberrima เกือบทั้งหมด ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ชนิดย่อย (Subspecies) ตามแหล่งที่ปลูก (อัมมาร์ สยามวาลา และ วิโรจน์ ณ ระนอง, 2533) ได้แก่

Indica type เป็นข้าวที่มีลักษณะเมล็ดยาวเรียว มีขนาดกว้างประมาณ 2.8 มิลลิเมตร ยาว 9-11 มิลลิเมตร และหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร ต้นสูง ไวต่อช่วงแสง ใบมากและโค้งงอ มีการตอบสนองต่อปุ๋ยน้อย ให้ผลผลิตที่ค่อนข้างต่ำ แต่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้ง่ายปลูกมากในประเทศเขตร้อนและเขตมรสุม เช่น ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย เวียดนาม ลาว กัมพูชา พม่า จีน อินเดีย และสหรัฐอเมริกา

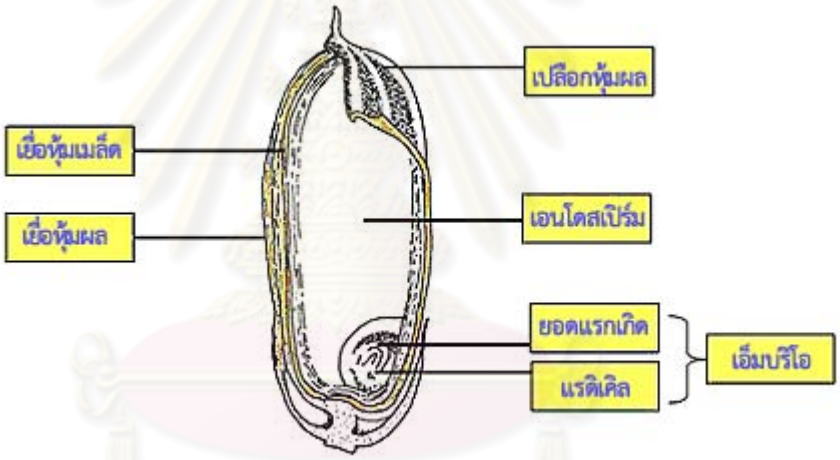
Japonica type หรือ Sinica type เป็นข้าวที่มีลักษณะเมล็ดป้อมสั้น มีขนาดกว้างประมาณ 3.5 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 7 มิลลิเมตร และหนาประมาณ 2.5 มิลลิเมตร ต้นเตี้ย ใบตั้งและสั้น ไม่

ค่อยไวต่อช่วงแสง มีการตอบสนองต่อปุ๋ยดีมากให้ผลผลิตสูง ปลูกมากในประเทศเขตอบอุ่น เช่น ประเทศจีน เกาหลี ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา

Javanica type เป็นข้าวที่มีลักษณะอยู่ระหว่าง Indica type และ Japonica typeกล่าวคือ เมล็ดป้อมใหญ่เหมือน Japonica type แต่ให้ผลผลิตต่ำกว่า Indica type และไม่ค่อยตอบสนองต่อปุ๋ย มีปลูกเฉพาะในประเทศอินโดนีเซีย เป็นข้าวที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

2.1.1 **โครงสร้างของเมล็ดข้าว** (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547)

เมล็ดข้าวประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ ส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าว เรียกว่าแกลบ และส่วนเนื้อผล (caryopsis grain) หรือข้าวกล้อง โดยมีส่วนประกอบต่างๆดังภาพที่2.1



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

ที่มา จากหนังสือเรียนสาระการเรียนรู้พื้นฐานและเพิ่มเติมชีววิทยา เล่ม4 สสวท.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.1.1.1 แกลบ (hull หรือ husk) เป็นส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าว (ประมาณ 20 ของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด) ประกอบด้วยเปลือกใหญ่ (lemma) เปลือกเล็ก (palea) ขน (pubescence) หาง (awn) ขั้วเมล็ด (racilla) และกลีบของเมล็ด (sterile lemmas) ซึ่งเชื่อมต่อกับก้าน (pedicel) เปลือกใหญ่ เป็นเปลือกหุ้มเนื้อผลด้านท้อง (dorsal side) มีขนาดใหญ่ลักษณะของเปลือกใหญ่จะเป็นรอยเส้น (nerves) ตามความยาวของเปลือกประมาณ 5 เส้นเปลือกใหญ่จะห่อหุ้มเปลือกเล็กไว้ทั้ง 2 ด้าน ในลักษณะขบอยู่ข้างบนอย่างแน่นสนิท ประมาณ 2/3 ของเปลือกทั้งหมดตามแนวยาวของเมล็ด เปลือกเล็ก เป็นเปลือกหุ้มเนื้อผลด้านหลัง (ventral side) ที่มีขนาดเล็กกว่าเปลือกใหญ่ประมาณ 1/3 ของเปลือกทั้งหมด จะยึดแน่นอยู่ใต้เปลือกใหญ่ตามแนวยาวด้วย ทำให้เปลือกข้าวปิดสนิทจึงช่วยป้องกันเมล็ดข้าวจากเชื้อราและแมลงได้ในระดับหนึ่งแกลบจะมีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 20% ของน้ำหนักเมล็ดข้าวเปลือก และที่ชั้นนอกของเปลือกมี trichomes ซึ่งมีองค์ประกอบภายในส่วนใหญ่เป็นลิกนิน (30%) เซลลูโลส (25%) เพนโตเซน (15%) และเถ้า (21%) ดังนั้นส่วนนี้จึงมีคุณค่าทางโภชนาการต่ำ

2.1.1.2 ข้าวกล้อง (brown rice หรือ dehulled rice) เป็นส่วนที่ใช้บริโภคประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้

ก) เยื่อหุ้มผล (pericarp หรือ caryopsis) มีน้ำหนักประมาณ 1.2% ของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด มีความหนาประมาณ 10 ไมครอน มีรงควัตถุอยู่ทำให้ข้าวกล้องมีสีต่างๆ เช่น น้ำตาลอ่อน เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีโปรตีน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส เป็นองค์ประกอบสำคัญ เยื่อหุ้มผลนี้สามารถแบ่งย่อยได้เป็น 3 ชั้น ได้แก่ เยื่อชั้นนอก (epicarp หรือ exocarp) เยื่อชั้นกลาง mesocarp หรือ hypoderm) และเยื่อชั้นใน (endocarp)

ข) เยื่อหุ้มเมล็ด (tegmen หรือ seed coat) อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มผลเข้ามา ประกอบด้วยเซลล์ 2 ชั้น รูปยาว เรียงตามขวางและมีผนังบางกั้น มีน้ำหนักประมาณวัตถุเช่นเดียวกับเยื่อหุ้มผล ทำให้ข้าวกล้องมีสี

ค) เยื่อโปร่งแสง (nucellus) เป็นเซลล์ชั้นที่ติดกับเยื่อหุ้มเมล็ด แต่พันธะระหว่างเยื่อโปร่งแสงกับเยื่อหุ้มเมล็ดไม่ติดแน่น จึงแยกออกจากกันได้ง่าย มีความหนาประมาณ 0.8 - 2.5 ไมครอน

ง) เยื่อชั้นแอลิวโรน (aleurone layer) เป็นเนื้อเยื่อชั้นถัดจากเยื่อหุ้มเมล็ด ประกอบด้วยเซลล์ 1-7 ชั้น โดยเยื่อหุ้มด้านหลังของเมล็ดจะหนากว่าเยื่อหุ้มด้านท้อง เซลล์แอลิวโรนจะไม่เชื่อมติดกับคัพภะในส่วนของใบเลี้ยงด้านท้องของเมล็ดลงมาถึงจุดเชื่อมระหว่างใบเลี้ยงด้านท้องของเมล็ดลงมาถึงจุดเชื่อมระหว่างใบเลี้ยงกับเยื่อหุ้มรากอ่อน ซึ่งอยู่ภายในเมล็ด จึงแบ่งเซลล์ แอลิวโรนเป็น 2 ลักษณะ คือเซลล์ส่วนที่ห่อหุ้มรอบเนื้อของเมล็ดจะมีรูปร่างสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ส่วนเซลล์แอลิวโรนที่ห่อหุ้มคัพภะจะบาง มีรูปร่างยาว ที่ผนังเซลล์มีโปรตีน เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ไขมัน และวิตามินต่างๆ

จ) คัพภะ หรือ จมูกข้าว (embryo หรือ germ) เป็นส่วนที่อยู่ติดกับส่วนที่เป็นแป้งทางด้านท้องของเมล็ด (ventral side) เป็นแหล่งสะสมอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของต้นอ่อน จึงมีโปรตีน เอนไซม์ ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามินในปริมาณสูง แต่ไม่มีแป้งประกอบด้วย ต้นอ่อน (plumule) รากอ่อน (radicle) เยื่อหุ้มต้นอ่อน (coleoptiles) เยื่อหุ้มรากอ่อน (coleorhiza) ท่อน้ำท่ออาหาร (epiblast) และใบเลี้ยง (scutellum) มีน้ำหนักประมาณ 2.4% ของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด

ฉ) เนื้อเมล็ด (endosperm) มีมากที่สุดในเมล็ดข้าว คือประมาณ 80% ของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด อยู่ชั้นในสุดของเมล็ด มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก แป้งข้าวจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (starch compound) กลุ่มแป้งหลายๆ กลุ่มจะอยู่รวมกันเป็น micelles โดยมีกลุ่มโปรตีน (protein bodies) แทรกอยู่ภายใน เมล็ดข้าวสารนี้มีแป้งอยู่ประมาณ 84-93% โดยน้ำหนัก

2.1.1.3 **คุณลักษณะของข้าว**

ก) ระยะพักตัวของเมล็ด (seed dormancy) เมล็ด ที่เก็บเกี่ยวมาจากต้นใหม่ ๆ เมื่อเอาไปเพาะมักจะไม่งอกทันที มันจะต้องใช้เวลาสำหรับพักตัวอยู่ระยะหนึ่ง ประมาณ 15-

30 วัน จึงจะมีความงอกถึง 80 หรือ 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาหลังจากเก็บเกี่ยวที่เมล็ดไม่งอกนี้ เรียกว่า ระยะพักตัวของเมล็ด ข้าวพวกอินดิคาแทบทุกพันธุ์มีระยะพักตัวของเมล็ด แต่ข้าวพวกจาปอนิคานั้น ไม่มีระยะพักตัว ระยะพักตัวมีประโยชน์มาก โดยเฉพาะเป็นประโยชน์สำหรับชาวนาในเขตร้อน ซึ่งมีฝนตกและมีความชื้นของอากาศสูง ในฤดูเก็บเกี่ยว เพราะ ข้าวที่ไม่มีระยะพักตัวของเมล็ดจะงอกทันทีเมื่อได้รับความชื้น หรือเมล็ดเปียกน้ำฝน ส่วนข้าวที่มีระยะพักตัวมันจะไม่งอกในสภาพดังกล่าว ซึ่งชาวนาจะได้รับผลิตผลเต็มที่ตามที่เก็บเกี่ยวได้ ระยะพักตัวของเมล็ดข้าวส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในเมล็ด ยังไม่สมบูรณ์ ฉะนั้น เมื่อได้เก็บเกี่ยวมาแล้ว เมล็ดจึงไม่งอกและต้องรอไปจนกว่าเมล็ดนั้นได้มีการเปลี่ยนทางสรีรวิทยาครบ สมบูรณ์เสียก่อน มันจึงจะงอก สำหรับข้าวป่านั้นมีระยะพักตัวนานกว่าพันธุ์ข้าวที่ชาวนาปลูก บางครั้งเป็นเวลานานประมาณ 5-6 เดือน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะระยะพักตัวใน 30 วันแรก เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา และหลังจากนั้นเนื่องมาจากเปลือกนอกใหญ่ที่ห่อหุ้มเมล็ดประสานกันแน่นมากจน อากาศและน้ำเข้าไปไม่ได้ ฉะนั้น จะต้องแกะเปลือกนอกใหญ่ออกเสียก่อน แล้วจึงเอาเมล็ดไปเพาะในจานแก้วเพื่อให้งอกตามปกติ ดังนั้น ระยะพักตัวของเมล็ดข้าวอาจเกิดขึ้นได้ด้วยสาเหตุทางสรีรวิทยา และลักษณะทางกายภาพของเมล็ด

ข) ความไวต่อช่วงแสง (sensitivity to photoperiod) ระยะ ความยาวของกลางวันมีอิทธิพลต่อการออกดอกของต้นข้าว ดังนั้น พันธุ์ข้าวจึงแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด โดยถือเอาความไวต่อช่วงแสงหรือระยะความยาวของกลางวันเป็นหลัก คือ ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง และข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง

1) **ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง** ข้าวพวกนี้ออกดอกเฉพาะในเดือนที่มีความยาวของกลางวันสั้น ปกติเราถือว่ากลางวันมีความยาว 12 ชั่วโมง และกลางคืน มีความยาว 12 ชั่วโมง ฉะนั้น กลางวันที่มีความยาวน้อยกว่า 12 ชั่วโมง ก็ถือว่าเป็นวันสั้น และกลางวันที่มีความยาวมากกว่า 12 ชั่วโมง ก็ถือว่าเป็นวันยาวและพบว่า ข้าวที่ไวต่อช่วงแสงในประเทศไทยมักจะเริ่มสร้างช่อดอกและออกดอกในเดือนที่มี ความยาวของกลางวันประมาณ 11 ชั่วโมง 40 นาที หรือสั้นกว่า

นี้ ดังนั้น ข้าวที่ออกดอกได้ในเดือนที่มีความยาวของกลางวัน 11 ชั่วโมง 40-50 นาทีจึงได้ชื่อว่า เป็นข้าวที่มีความไวน้อยต่อช่วงแสง (less sensitive to photo period) และพันธุ์ที่ออกดอกเฉพาะในเดือนที่มีความยาวของกลางวันประมาณ 11 ชั่วโมง 10 - 20 นาที ก็ได้ชื่อว่าเป็นพันธุ์ที่มีความไวมากต่อช่วงแสง (strongly sensitive to photoperiod) ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์ จึงเรียกข้าวว่า พืชวันสั้น (short-day plant) พันธุ์ข้าวในประเทศไทยที่เป็นพันธุ์พื้นเมือง ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่มีความไวต่อช่วงแสง โดยเฉพาะข้าวที่ปลูกเป็นข้าวนาเมืองหรือข้าวขึ้นน้ำ

การปลูกข้าวพวกที่ไวต่อช่วงแสงจะต้อง ปลูกในฤดูนาปี (โดยอาศัยน้ำฝน บางครั้งจึงเรียกว่า ข้าวนาน้ำฝน) เพราะในฤดูนาปรังกลางวันมีความยาวกว่า 12 ชั่วโมง เดือนที่มีกลางวันสั้นที่สุด ได้แก่ เดือนธันวาคม และเดือนที่มีกลางวันยาวที่ได้สุด ได้แก่ เดือนมิถุนายน ความยาวของกลางวันจะเริ่มสั้นจนมากพอที่จะทำให้ข้าวพวกไวต่อช่วงแสงออกดอก ได้นั้น คือ วันในเดือนกันยายน ตุลาคม พฤศจิกายน และธันวาคม ข้าวที่มีความไวน้อยต่อช่วงแสงจะออกดอกในเดือนกันยายน ตุลาคม ซึ่งเรียกว่า ข้าวเบา ข้าวที่ออกดอกในเดือนพฤศจิกายน เรียกว่าข้าวกลาง และข้าวที่ออกดอกในเดือนธันวาคม มกราคม เรียกว่า ข้าวหนัก ด้วยเหตุนี้ ข้าวพวกที่ไวต่อช่วงแสงจะออกดอกในเดือนดังกล่าวนี้เท่านั้น ไม่ว่าจะปลูกในเดือนอะไรก็ตามมันจึงมีระยะการเจริญเติบโตมากพอสมควร เนื่องจากข้าวพวกไวต่อช่วงแสงจะออกดอก เฉพาะในเดือนที่มีความยาวของกลางวันที่ต้องการเท่านั้น ข้าวพวกไวต่อช่วงแสงจึงมีประโยชน์สำหรับชาวนาในบางท้องที่ เช่นในจังหวัดต่าง ๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่มีฝนตกไม่สม่ำเสมอ ซึ่งหมายความว่า บางปีฝนก็มาเร็วและบางปีฝนก็มาล่า แต่การสิ้นสุดของฤดูฝนนั้นค่อนข้างแน่นอน ปกติในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะหมดฤดูฝนในต้นเดือนพฤศจิกายน เพราะฉะนั้น การปลูกข้าวด้วยพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสง และเป็นข้าวเบาหรือข้าวกลาง ถึงแม้จะปลูกล่ากว่าปกติ มันก็จะออกดอกให้เก็บเกี่ยวได้ แต่ผลิตผลอาจลดต่ำลงบ้าง นี่คือข้อดีของข้าวที่มีความไวต่อช่วงแสง

2) **ข้าวที่ไม่ไวต่อแสง** การออกดอกของข้าวพวกนี้ไม่ขึ้นอยู่กับความยาวของกลางวัน เมื่อต้นข้าวได้มีระยะเวลาการเจริญเติบโตครบตามกำหนด ต้นข้าวก็จะออก

ดอกทันทีไม่ว่าเดือนนั้นจะมีกลางวันสั้นหรือยาว พันธุ์ข้าว กข..1 เป็นพันธุ์ที่ไม่ไวต่อช่วงแสง เมื่อมีอายุเจริญเติบโตนับจากวันตกกล้าครบ 90-100 วัน ต้นข้าวก็จะออกดอก ฉะนั้น พันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง จึงใช้ปลูกได้ผลดีทั้งในฤดูนาปรังและนาปี อย่างไรก็ตาม พวกไม่ไวต่อช่วงแสงมักจะให้ผลิตผลสูงเมื่อปลูกในฤดูนาปรัง ปกติระยะการเจริญเติบโตของต้นข้าวทั้งไวและไม่ไวต่อช่วงแสง แบ่งออกได้เป็น2ระยะดังนี้

(1) ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (basic vegetative growth phase) เป็นระยะเวลานับตั้งแต่วันตกกล้าจนถึงวันที่แตกกอและต้นสูงเต็มที่ ในระยะนี้ ต้นข้าวมีการเจริญเติบโตทางความสูงและแตกเป็นหน่อใหม่จำนวนมาก

(2) ระยะการสร้างช่อดอก (panicle initiation phase) เป็นระยะเวลาที่ต้นข้าวเริ่มสร้างช่อดอกจนถึงรวงข้าวเริ่มโผล่ออกมาให้เห็น ซึ่งใช้เวลาประมาณ 30 วัน สำหรับพันธุ์ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง อาจเรียกระยะนี้ว่า ระยะที่มีความไวต่อช่วงแสง (photoperiod sensitive phase) ดังนั้น ข้าวที่ไวต่อช่วงแสงเมื่อได้ครบระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นแล้ว ต้นข้าวจะไม่สร้างช่อดอกจนกว่าต้นข้าวจะได้รับช่วงแสงที่มันต้องการ ส่วนข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง จะเริ่มสร้างช่อดอกทันที หลังจากที่ต้นข้าวได้ครบระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นแล้ว ดังนั้น การปลูกในระยะเวลาที่ไม่เหมาะสมจึงทำให้พันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงมีเวลามากหรือ น้อยเกินไป สำหรับการเจริญเติบโตทางลำต้นโดยเฉพาะการใช้พันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงปลูกล่า กว่าปกติจะทำให้ต้นข้าวมีระยะเวลาน้อยไป ทำให้ได้ผลิตผลต่ำ

ค) ความสามารถในการขึ้นน้ำและการทนน้ำลึก (floating ability and tolerence to deep water) ข้าว ที่ปลูกในประเทศไทย ชนิดข้าวไร่และข้าวนาสวน ไม่จำเป็นต้องมีความสามารถในการขึ้นน้ำหรือการทนน้ำลึก เพราะพื้นที่ปลูกนั้นไม่มีน้ำลึก แต่พันธุ์ข้าวที่ปลูกเป็นข้าวนาเมืองนั้น จำเป็นต้องมีความสามารถในการขึ้นน้ำและต้องทนน้ำลึกด้วย เพราะระดับน้ำในนาเมืองในระยะต้นข้าวกำลังเจริญเติบโตทางลำต้นและออกรวง มีความชื้นประมาณ 80 - 100 เซนติเมตร โดยเฉพาะในระหว่างเดือนกันยายนและต้นเดือนธันวาคม ปกติชาวนาที่ปลูกข้าวนาเมืองจะต้องลงมือไถนาเตรียมดินและหว่านเมล็ดพันธุ์ในเดือนเมษายนหรือพฤษภาคม เพราะในระยะนี้ดิน

แห้งน้ำไม่ขังในนา ซึ่งเหมาะสำหรับการเตรียมดินและหว่านเมล็ดพันธุ์ เมื่อฝนตกลงมาหลังจากที่ได้หว่านเมล็ดแล้ว เมล็ดข้าวที่หว่านลงไปจะงอกเป็นต้นกล้า และเจริญเติบโตในดินที่ไม่มีน้ำขังนั้น จนถึงเดือนกรกฎาคมหรือสิงหาคม ฉะนั้น ข้าวพวกนี้จึงมีสภาพคล้ายข้าวไร่ในระยะแรก ๆ ต่อมาในเดือนสิงหาคมฝนจะเริ่มตกหนักขึ้น ๆ และระดับน้ำในนาก็จะสูงขึ้น ๆ จนมีความลึกประมาณ 80 - 100 เซนติเมตร ในเดือนกันยายนแล้วระดับน้ำลึกนี้ก็จะมีอยู่ในนาอย่างนี้ไปจนถึงกลางเดือนธันวาคม หลังจากนั้นระดับน้ำก็จะเริ่มลดลงกระทั่งแห้งในเดือนมกราคม ด้วยเหตุนี้ ต้นข้าวจะต้องเจริญเติบโตทางความสูงในระยะที่ระดับน้ำเพิ่มสูงขึ้น เพื่อ ให้มีส่วนของลำต้นและใบจำนวนหนึ่งอยู่เหนือระดับน้ำ ความสามารถของต้นข้าวในการเจริญเติบโตให้มีต้นสูง เพื่อหนีระดับน้ำที่เพิ่มขึ้นนี้ เรียกว่า ความสามารถในการขึ้นน้ำของต้นข้าว เนื่องจากต้นข้าวจะต้องอยู่ในน้ำที่มีความลึกมากอย่างนี้เป็นเวลา 2 -3 เดือนก่อนที่ต้นข้าวจะออกรวงจนแก่เก็บเกี่ยวได้ในต้นหรือกลางเดือนมกราคม ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ระดับน้ำในนาได้ลดลงเกือบแห้ง ฉะนั้น ความสามารถของต้นข้าวที่เจริญเติบโตอยู่ในน้ำลึกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวนี้จึง เรียกว่า การทนน้ำลึก ดังนั้น การขึ้นน้ำและการทนน้ำลึก จึงเป็นลักษณะที่จำเป็นยิ่งของพันธุ์ข้าวนาเมืองหรือข้าวขึ้นน้ำ

ง) คุณภาพของเมล็ด (grain quality) คุณภาพ ของเมล็ดแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทด้วยกัน คือ คุณภาพเมล็ดทางกายภาพ ซึ่งหมายถึง ลักษณะรูปร่างและขนาดของเมล็ดที่มองเห็นได้ และคุณภาพทางเคมี ซึ่งหมายถึง องค์ประกอบทางเคมีที่รวมกันเป็นเม็ดแป้งของข้าวที่หุงต้มเพื่อบริโภค

1) **คุณภาพเมล็ดทางกายภาพ** เป็นลักษณะที่เกี่ยวกับ ความยาว ความกว้าง และความหนาของเมล็ดข้าวกล้อง ตลอดจนถึงการมีท้องไข่ของข้าวเจ้า นอกจากนี้คุณภาพในการสีเป็นข้าวสารก็ถือว่าเป็นคุณภาพทางกายภาพของเมล็ดด้วย เมล็ดข้าวที่ตลาดต้องการและถือว่ามีเมล็ดได้มาตรฐานนั้น เมล็ดข้าวกล้องจะต้องมีความยาวประมาณ 7-7.5 มิลลิเมตร ความกว้างและความหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร และมีหน้าตัดของเมล็ดค่อนข้างกลม ถ้าเป็นข้าวเจ้าเมล็ดจะต้องใส ไม่มีท้องไข่ การมีท้องไข่ของเมล็ดข้าวกล้องนั้นทำให้เมล็ดหักง่ายเมื่อเอาไปสีเป็นข้าว สาร

ซึ่งทำให้ได้เมล็ดข้าวสารที่หักมาก ดังนั้น พันธุ์ข้าวที่รัฐบาลไทยส่งเสริมให้ชาวนาปลูกจะต้องมีคุณภาพเมล็ดได้มาตรฐาน ซึ่งเรียกว่าข้าวพันธุ์ดี

2) **คุณภาพเมล็ดทางเคมี** เป็นลักษณะขององค์ประกอบของแป้งในเมล็ดข้าวกล้อง ข้าวเหนียวและข้าวเจ้าแตกต่างกันในชนิดของแป้งที่รวมกันเป็นเอ็นโดสเปิร์ม เมล็ดข้าวเหนียวประกอบด้วยแป้งชนิดอะมิโลเพกทินเป็นส่วนใหญ่ และมีแป้งอะมิโลสน้อยมาก คือ ประมาณ 5-7 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ส่วนเมล็ดข้าวเจ้าประกอบด้วยแป้งชนิดอะมิโลส ประมาณ 15-30 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ของอะมิโลสในเมล็ดข้าวเจ้าของพวกอินดิคาและจาปอนิคาก็แตกต่างกันด้วย ข้าวอินดิคามีแป้งอะมิโลสประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวพวกจาปอนิคามีเพียง 15-20 เปอร์เซ็นต์ ข้าวไทยที่มีเปอร์เซ็นต์ของแป้งอะมิโลสต่ำ ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105 (22 เปอร์เซ็นต์) ส่วนข้าวไทยที่มีเปอร์เซ็นต์แป้งอะมิโลสสูง ได้แก่ กข..1 (30 เปอร์เซ็นต์) เปอร์เซ็นต์แป้งอะมิโลสในเมล็ดของข้าว มีความสัมพันธ์กับคุณภาพในการหุงต้มและการบริโภค ข้าวเหนียวมีแป้งอะมิโลสน้อยกว่าข้าวเจ้า ข้าวเหนียวจึงหุงสุกเร็วกว่าข้าวเจ้า และข้าวเหนียวที่หุงสุกแล้วจะเหนียวกว่าข้าวเจ้าด้วย ในจำพวกข้าวเจ้าด้วยกัน เมล็ดของพันธุ์ที่มีปริมาณแป้งอะมิโลสสูง เมื่อหุงสุกแล้ว เมล็ดข้าวสุกจะแข็งกว่าข้าวที่มีปริมาณแป้งอะมิโลสต่ำ ดังนั้น ผู้บริโภคที่ชอบรับประทานข้าวที่อ่อนนิ่ม จะต้องเลือกพันธุ์ที่มีปริมาณแป้งอะมิโลส ประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ นอกจากชนิดของแป้งอะมิโลสเพกทิน และแป้งอะมิโลส ที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของแป้งเอ็นโดสเปิร์มแล้ว ปริมาณโปรตีนในเมล็ดข้าวสารก็มีความสำคัญด้วย เพราะโปรตีนเป็นชนิดของอาหารที่ร่างกายต้องการมาก สำหรับการเจริญเติบโตปกติเมล็ดข้าวจะมีปริมาณโปรตีนประมาณ 7-10 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณของโปรตีนนี้จะผันแปรไปตามสภาพแวดล้อมที่ปลูกข้าว เช่น การใส่ปุ๋ยทำให้มีปริมาณโปรตีนในเมล็ดเพิ่มขึ้น และรวงข้าวที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงน้อยเมล็ดก็มักจะมีปริมาณโปรตีนสูง

จ) ลักษณะรูปต้น (plant type) รูปต้นของข้าวมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการให้ผลิตผล และการให้ผลิตผลของข้าวขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่สำคัญ 3 อย่าง คือ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวงและน้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด การที่จะได้

องค์ประกอบที่ดีทั้งสามอย่างนี้อยู่ในต้นเดียวกันนั้นเป็นการยาก มาก เพราะองค์ประกอบเหล่านี้ขึ้นอยู่กับสรีรวิทยาภายในต้นข้าว และสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น การเปลี่ยนแร่ธาตุอาหารให้เป็นแป้ง แล้วส่งไปสร้างส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าวที่กำลังเจริญเติบโต อาหารจำนวนหนึ่งจะต้องเปลี่ยนเป็นจำนวนรวง จำนวนเมล็ดและน้ำหนักของเมล็ด ถ้าอาหารส่งไปเลี้ยงและสร้างจำนวนรวงเป็นส่วนใหญ่ อาหารก็เหลือน้อยสำหรับสร้างจำนวน เมล็ดและน้ำหนักเมล็ด ฉะนั้น ต้นข้าวต้นนี้จึงมีจำนวนรวงมาก จำนวนเมล็ดต่อรวงน้อย และน้ำหนักข้าวเปลือกของเมล็ดเบา จึงเป็นสิ่งที่ทำไม่ได้ที่จะให้มีต้นข้าวที่มีเมล็ดในรวงมากและเมล็ดข้าว เปลือกมี น้ำหนักมาก ทำได้เพียงให้ได้องค์ประกอบทั้งสามอย่างในจำนวนที่พอดี ๆ เท่านั้น ต่อ มานักวิชาการเรื่องข้าวได้ศึกษาพบว่า ต้นข้าว จะให้ผลิตผลสูงหรือต่ำนั้น ขึ้นอยู่กับลักษณะรูปต้นของข้าว เพราะรูปต้นของข้าวมีความสัมพันธ์กับการใช้ปุ๋ย หรือที่เรียกว่า การตอบสนองต่อปุ๋ยและการเปลี่ยนแร่ธาตุอาหารจากปุ๋ยให้เป็นแป้ง ซึ่งใช้ในการสร้างส่วนต่าง ๆ ของต้นและเมล็ดข้าว พันธุ์ข้าวที่ให้ผลิตผลสูงจะต้องมีลักษณะรูปต้นที่สำคัญ ๆ ดังนี้

1) ใบมีสีเขียวแก่ ตรง ไม่โค้งงอ แผ่นใบไม่กว้าง และไม่ยาวจนเกินไป ลักษณะใบอย่างนี้ ทำให้ทุกใบในต้นข้าวได้รับแสงแดดตลอดเวลา และเป็นปริมาณเท่า ๆ กัน นอกจากนี้ ใบสีเขียวแก่ก็จะมีจำนวนคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ในใบมากกว่าใบสีเขียวอ่อนด้วย จึงทำให้มีการสังเคราะห์แสง เพื่อเปลี่ยนแร่ธาตุเป็นแป้งได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าใบที่โค้งงอ ดังนั้น ต้นข้าวที่มีลักษณะใบดังกล่าวจึงมีปริมาณอาหารไปสร้างส่วนต่าง ๆ ของต้นและเมล็ดมาก จนทำให้ได้ผลิตผลสูง

2) ความสูงของต้นประมาณ 100-130 เซนติเมตร ความสูงของต้นเป็นระยะตั้งแต่พื้นดินถึงปลายของรวงที่สูงที่สุด ต้นข้าวที่มีความสูงขนาดนี้จะไม่ล้มง่าย และมีขนาดของใบพอเหมาะกับการสังเคราะห์แสง

3) ลำต้นแข็ง ไม่ล้มง่าย เมื่อใส่ปุ๋ยลงในนามากขึ้น ต้นข้าวที่ไม่ล้มจะมีการสร้างอาหารและเมล็ดได้ตามปกติ จึงทำให้มีผลิตผลสูง

4) แตกกอมากและให้รวงมาก ต้นข้าวที่แตกกอมากและตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ย จะ

มีจำนวนรวงต่อกอมาก จึงทำให้มีจำนวนรวงต่อเนื้อที่ปลูกมาก ซึ่งเป็นองค์ประกอบอย่างหนึ่งของการให้ผลิตผลสูง

ฉ) ความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูข้าว (resistance to diseases and insects) พันธุ์ ข้าวที่มีลักษณะรูปต้นดี ตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยสูงก็ไม่สามารถที่จะให้ผลิตผลสูงได้ ถ้าพันธุ์นั้นไม่มีความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูที่ระบาดในขณะนั้น ด้วยเหตุนี้ ลักษณะต้านทานต่อโรคและแมลงจึงเป็นสิ่งที่สำคัญยิ่ง ความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูของต้นข้าวนั้น เป็นผลที่เกิดจากปฏิกิริยาทางพันธุศาสตร์ระหว่างพันธุกรรมของต้นข้าวและ เชื้อโรคหรือแมลง ซึ่งเป็นวิชาการอีกแขนงหนึ่งที่แตกต่างไปจากเรื่องอื่น

ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และข้าว กข. 6 เป็นข้าวในกลุ่ม อินดิคา และเป็นข้าวกลุ่มที่ต้องการระยะในการพักตัว ซึ่งสำหรับประเทศไทยที่เป็นประเทศในเขตร้อนชื้นจึงถือเป็นข้อดีสำหรับข้าวในกลุ่มนี้ เพราะข้าวจะไม่งอกในทันทีที่ได้รับความชื้น ทำให้สามารถเก็บข้าวให้อยู่ในรูปของเมล็ดพันธุ์ได้นาน ในข้าวสายพันธุ์ที่แตกต่างกันคุณสมบัติเฉพาะตัวและองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวก็จะแตกต่างกันไป ดังนั้นสภาวะที่ใช้ในการเพาะงอกของข้าวแต่ละสายพันธุ์จึงมีความแตกต่างกันด้วย

2.2 ข้าวกล้องเพาะงอก

แม้ว่าข้าวกล้องจะมีคุณค่าทางอาหารสูงและมีประโยชน์มาก แต่กลับได้รับความนิยมในหมู่ผู้บริโภคน้อยกว่าข้าวขาวเนื่องมาจากลักษณะของเนื้อสัมผัสที่แข็ง เคี้ยวยาก และไม่ค่อยมีรสชาติ ซึ่งกระบวนการการเพาะงอกจะช่วยในเรื่องของการปรับปรุงเนื้อสัมผัสของข้าวกล้อง โดยการงอกจะทำให้ข้าวกล้องนุ่มขึ้นง่ายต่อการรับประทาน เหมือนกับข้าวขาว (Ito et al., 2004) ซึ่งข้าวกล้องเพาะงอกตามนิยามของ Tsukahara (2004) คือ ข้าวที่ผ่านกระบวนการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 30 – 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 วันเพื่อกระตุ้นให้เกิดการงอกรากของข้าวกล้อง ซึ่งในระหว่างกระบวนการงอก จะเกิดการเปลี่ยนแปลงแป้งและสารอาหารต่างๆในเมล็ดข้าวซึ่งทำให้ร่างกายสามารถดูดซึมสารต่างๆอาหารได้ง่ายขึ้น ตัวอย่างเช่น วิตามิน เกลือแร่ และ กรดอะมิโนต่างๆ

ในกระบวนการงอกของข้าวกล้องนั้น จะมีผลทำให้เกิดการกระตุ้นให้เอนไซน์หลายชนิดทำงาน เอนไซม์จะเปลี่ยนแป้งและสารต่างๆในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาลและกรดอะมิโนจำนวนมาก (Bhattacharya, 1985) ซึ่งสามารถติดตามการทำงานของเอนไซม์ในข้าวกล้องเพาะงอกได้จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น (Anthoni et al., 1980) ในกระบวนการแช่ข้าวกล้องเพาะงอกให้ได้คุณภาพดีนั้น ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิในการแช่ ถ้าต่ำเกินไปการทำงานของเอนไซม์ก็จะลดลงและก็จะทำให้แบคทีเรียมีโอกาสในการเจริญเติบโตมากขึ้น แต่หากอุณหภูมิในการแช่สูงเกินไปก็จะไปหยุดการงอกของข้าวกล้องและทำให้แป้งในข้าวสุก โดยปกติการแช่ข้าวนั้นจะแช่อยู่ประมาณ 1-2 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่ นอกจากนี้ในการหยุดการงอกข้าวกล้องเพาะงอกก็มีความสำคัญ เพราะหากไม่มีการควบคุมข้าวกล้องเพาะงอกก็จะมีการดึงเอาสารอาหารในเมล็ดพืชไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต โดยปกติจะหยุดการเจริญเติบโตของข้าวกล้องเมื่อมีการงอกรากออกมาประมาณ 1 mm (Tsukahara และ Ichikawa, 2004) ในข้าวกล้องเพาะงอกมีปริมาณสารอาหารมากกว่าข้าวกล้อง(Ohtsubo, 2005) และยังมีกรดแกมมา อะมิโนบิวทีริก (กาบา) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน

2.2.1 **วิธีการเพาะงอก**

วิธีการการเพาะงอกข้าวกล้องที่นิยมใช้กันอยู่ทั่วไปในปัจจุบัน จะเป็นการนำเอาข้าวกล้องมาแช่ในน้ำเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ซึ่งวิธีการเพาะงอกแบบนี้นอกจากจะให้ปริมาณสารกาบาที่ต่ำแล้ว ยังเป็นการสิ้นเปลืองปริมาณน้ำที่ใช้ในการแช่ เพราะจะต้องมีการหมุนเวียนน้ำอยู่ตลอดเวลาเนื่องจากเป็นการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ นักวิจัยหลายคนพยายามคิดวิธีการเพาะงอกเพื่อให้ได้ปริมาณสารกาบาที่สูงและเป็นการลดต้นทุนการผลิต Komatsuzaki และคณะ (2007) ได้ศึกษาผลของวิธีการเพาะงอกด้วยการแช่ข้าวกล้องในน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมงและบ่มในอากาศเป็นเวลา 21 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการแช่ในน้ำเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อปริมาณการสร้างสารกาบา พบว่าการเพาะข้าวกล้องด้วยวิธี แช่ในน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมงและบ่มในอากาศเป็นเวลา 21 ชั่วโมงให้ปริมาณ

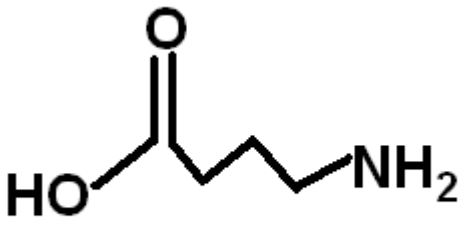
สารกาบาที่มากกว่าการเพาะข้าวกล้องด้วยวิธีแช่ในน้ำอย่างเดียวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถึง 2.5 เท่าและมากกว่าข้าวกล้องที่ยังไม่ผ่านกระบวนการเพาะงอกถึง 6 เท่า

วิธีการเพาะงอกแบบ Moongngarm และ Saetung (2010) ทำการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยการแช่ข้าวในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง(28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และเปลี่ยนน้ำกลั่นใหม่ทุกๆ 4 ชั่วโมง เมื่อครบ 12 ชั่วโมงแล้วข้าวที่แช่แล้วจะนำมาห่อในผ้าขาวบางเก็บภาชนะปิดที่ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90-95% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าข้าวที่เพาะงอกด้วยวิธีนี้มีปริมาณสารกาบามากกว่าข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการเพาะงอกอยู่ 2.6 เท่า

2.3 กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก (กาบา)

กาบาถูกค้นพบครั้งแรกในพืชและแบคทีเรียใน ค.ศ. 1883 ซึ่งเป็นผลิตผลจากกระบวนเมตาบอลิซึม ต่อมาพบสารกาบาในระบบประสาทส่วนกลางของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Roth et al., 2003) กาบาพบได้ทั้งในสิ่งมีชีวิต พวกโปรคาริโอตและยูคาริโอต (Akama et al., 2001) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมสารกาบานั้นทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งสารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลางโดยพบมากถึง 30-40 % ของไซแนบ (Best, 1990) แต่ในพืชถึงแม้จะไม่ทราบผลที่แน่ชัดของบทบาทของสารกาบา จากงานวิจัยที่มีการศึกษาผลของกาบาต่อพืชนั้นพบว่าสารกาบาสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้กับ สตอเบอร์รี่ แอปเปิ้ล และมะเขือเทศ (Deewatthanawong, 2006)

กาบาเป็นสารที่ประกอบด้วย 4 อะตอมของคาร์บอน ซึ่งกาบาไม่ใช่โปรตีน (Shelp, 1999) ชื่อ IUPAC คือ4-aminobutyric acid โดยมีหมู่อะมิโนบริเวณแกมมาคาร์บอน ที่ 25 องศาเซลเซียส ความดัน 100 kPa มีมวลโมเลกุล 103.12 g/mol จุดหลอมเหลว 203 องศาเซลเซียส กาบาเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายน้ำสูง และเป็นสารที่สามารถเป็นได้ทั้งสารที่มีประจุบวกและประจุลบเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง pH (pK เท่ากับ 4.03 และ10.56) (Shelp, 1999)



Y-Aminobutyric acid (GABA)

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก

ที่มาhttp://www.nnikolce.netfirms.com/Gaba%20milk.htm

โดยปกติในเนื้อเยื่อของพืชจะมีปริมาณสารกาบาที่ต่ำ (อยู่ในช่วง 0.03 ถึง 2.00 μmol g^{-1} น้ำหนักเปียก)(Rhodes, D. et al.,1986; Fougere et al, 1991) แต่สามารถเพิ่มปริมาณหลายเท่าตัวขึ้นได้จากการตอบสนองจากสิ่งเร้าต่างๆหลายปัจจัย เช่น ช๊อคเนื่องจากความร้อน การกระตุ้นเชิงกล การขาดปริมาณออกซิเจน เป็นต้น (Perez et al, 1994; Bown A.W. and Shelp B.J.,1997; Satyanaratan et al., 1990) Wallace และคณะ (1984) ได้ทำการศึกษาผลของการให้ความเย็นกับใบถั่วเหลืองต่อปริมาณการสะสมสารกาบาในใบถั่วเหลืองพบว่า ภายใน 5 นาทีหลังจากที่ให้ความเย็นปริมาณสารกาบาเพิ่มขึ้นจากเดิมมากถึง 20 - 40 เท่า สภาวะขาดออกซิเจนในเมล็ดพืชสามารถทำให้เมล็ดพืชเพิ่มปริมาณสารกาบาจาก 8 μmol /g น้ำหนักสด เพิ่มเป็น 6 ถึง 39 mM (Reggiani et al., 1988) นอกจากนี้สภาวะการขาดน้ำ หรือภัยแล้ง จะทำให้เกิดความเครียดในเซลล์พืช (Rhodes, D. et at.,1986; Handa et al, 1983; Binzel et al, 1987) ซึ่งสารมารถทำให้พืชเพิ่มปริมาณสารกาบาในเซลล์ถึง 230% (Serraj et al, 1998).

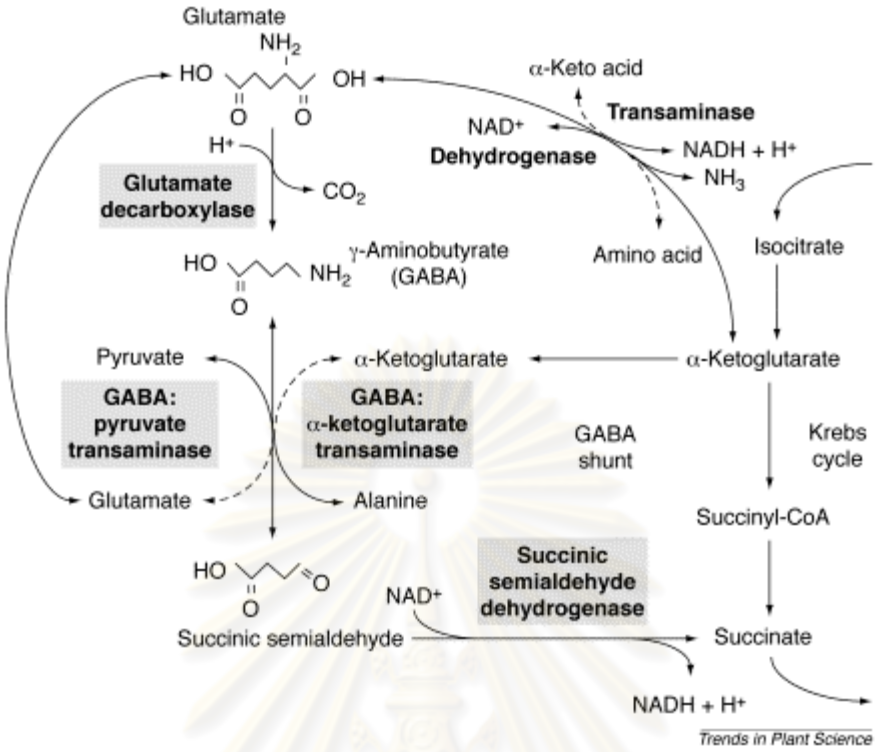
2.3.1 กระบวนการการเผาผลาญสารกาบา (GABA metabolism)

2.3.1.1 GABA shunt

กระบวนการการสังเคราะห์ สารกาบามีความเชื่อมโยงกับวัฏจักรเครป วัฏจักรการเปลี่ยนกรดกลูตามิกให้เป็นกรดซัคซินิคโดยมีสารกาบาเป็นสารระหว่างกลางเรียกว่า GABA shunt (ภาพที่ 2.2). GABA shunt ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกเริ่มต้นจากปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ ของปฏิกิริยา **α**-decarboxylation ของกรดกลูตามิก โดยเอนไซม์ glutamate decarboxylase (GAD, EC 4.1.1.15). โดยมีวิตามิน บี6 และอนุพันธ์เป็นโคเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์สารกาบา ด้วยเช่นกัน(Messer, 2000) มีการทดลองการเปลี่ยนกรดกลูตามิก (C_{14}) โดยเอนไซม์ GAD พบว่าผลิตผลที่ได้คือ $^{14}CO_2$ และสารกาบา ซึ่งเป็นการพิสูจน์ว่าเอนไซม์ GADเป็นปฏิกิริยา decarboxylation (Tuin L.G. and Shelp B.J., 1994; Chung et al, 1992)

ในสิ่งมีชีวิตเอนไซม์ GAD จะมีค่าความเหมาะสมในการทำงาน ค่ากิจกรรม แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ (Bown and Shelp, 1989; Satyanarayan et al, 1990) เอนไซม์ GAD มีความจำเพาะต่อ **L**-glutamate ซึ่งสามารถระงับการทำงานของเอนไซม์นี้ได้ด้วยการเติมสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับ หมู่ sulfhydryl สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ GAD อยู่ที่ประมาณ 5.8. (Baum et al, 1993; Gallego et al, 1995; Yu and Oh, 1998; Turano et al, 1998)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 2.3 GABA shunt

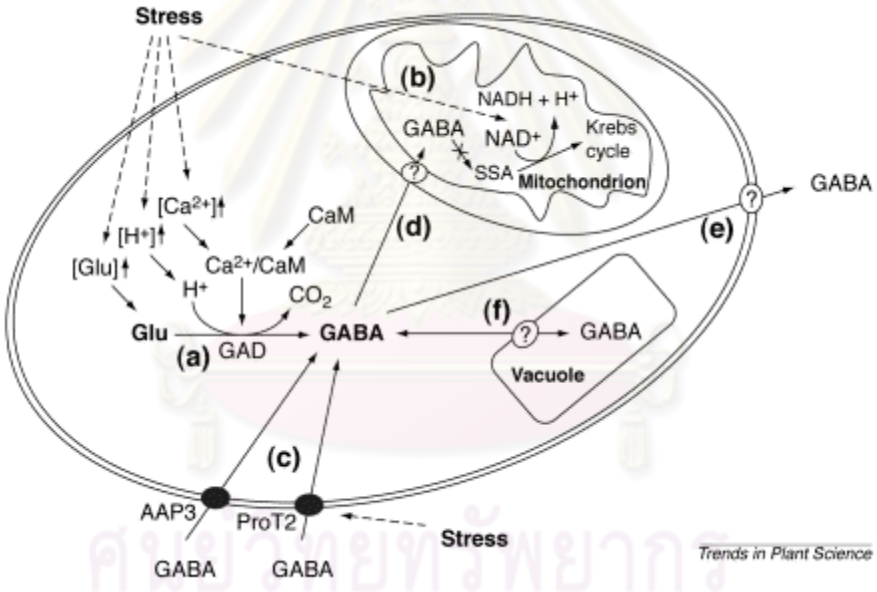
ที่มา Trend in Plant Science (2011)

ขั้นที่สอง สารกาบาจะถูกเปลี่ยนให้เป็น ซัคซินิกเซมิแอลดีไฮด์ โดยเอนไซน์ GABA transaminase (GABA-T, EC 2.6.1.19) ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้เป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ (ภาพที่ 2.2) เอนไซม์ GABA-T มีช่วงค่า pH ที่เหมาะสมที่ค่อนข้างกว้างคือ อยู่ในช่วง 8 – 10 (Shelp et al, 1995)

ขั้นตอนสุดท้ายของ GABA shunt คือ ซัคซินิกเซมิแอลดีไฮด์ จะถูกเปลี่ยนให้เป็น ซัคซิเนต โดย succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH; EC 1.2.1.16) ซึ่งค่าความเหมาะสมของ pH เอนไซม์นี้อยู่ในช่วง ประมาณ 9 (Bouchereau et al, 1999)

2.3.1.2 **การควบคุมการทำงานของเอนไซม์** GAD

เอนไซม์บริสุทธิที่สกัดได้จากต้นเพทูเนีย ในสภาวะที่ไม่มี calmodulin จะทำงานได้ดีที่ pH 5.5 แต่ถ้าเพิ่ม pHมาเป็น 7 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์สกัดจากต้นเพทูเนียก็จะลดลง (Snedden และคณะ, 1996) นอกจากนี้ความเครียดยังสามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ GAD ทำให้เกิดการสะสมสารกาบาภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Snedden et al, 1992) จากการทดลองของ Carroll และคณะ (1994) และ Crawford และคณะ (1994) แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเป็นกรดภายในเซลล์พืช ส่งผลให้ปริมาณสารกาบาในเซลล์พืชมีการสะสมเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่ง Carroll และคณะ (1994) กล่าวว่าการที่ปริมาณสารกาบาเพิ่มขึ้นนั้นเป็น กลไกการควบคุมปริมาณ H^+ ภายในเซลล์ เพราะเมื่อสารกาบาเพิ่มปริมาณมากขึ้น ความเป็นกรดภายในเซลล์ของพืชก็จะลดลง (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.4 กลไกการตอบสนองต่อความเครียดและการสังเคราะห์สารกาบาในเซลล์พืช

ที่มา Trend in Plant Science (2011)

ภาพที่ 2.4 แสดงให้เห็นถึงกลไกการสะสมของสารกาบาในสิ่งมีชีวิตเพื่อตอบสนองต่อความเครียดที่เพิ่มขึ้น โดยความเครียดที่เพิ่มขึ้นนั้นอาจเกิดขึ้นภายในเซลล์หรือภายนอกเซลล์ก็ได้โดย

ความเครียดจะไปกระตุ้นให้ปริมาณ Ca^{2+} เพิ่มขึ้น หรือ กลูตาเมต เพิ่มขึ้น หรือ ปริมาณ H^+ เพิ่มขึ้น โดยสารเหล่านี้จะไปกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ decarboxylation (ภาพที่ 2.4 a) นอกจากนั้น ความเครียดยังไปลดอัตราส่วน NAD:NADH ในไมโตครอนเดีย ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการหยุดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสารกาบาให้เป็น ซักซิเนตเซมิแอลดีไฮด์ เป็นผลให้สารกาบาภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น

2.3.1.3 **ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สารกาบา**

ก) สารชีวเคมี และ pH

เนื่องจากเอนไซม์ GAD ต้องใช้ H^+ (ภาพที่ 2.3) ในการสังเคราะห์สารกาบา ซึ่งสามารถทำให้ควบคุมค่า pH ภายในเซลล์พืชเมื่อเกิดความเครียดได้(Brown, A.W and Shelp, B.J., 1997) จากข้อมูลการทดลองติดตามปริมาณ H^+ ด้วยเครื่อง NMR spectroscopy ในรากข้าวโพดที่สภาวะขาดออกซิเจน พบว่ามีความสอดคล้องกันระหว่างปริมาณ H^+ ที่ลดลงกับปริมาณกาบาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Crawford และคณะ (1994) ที่ศึกษาการเพิ่มปริมาณ pH ในเซลล์หน่อไม้ฝรั่ง พบว่า pH มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของสารกาบาโดย pH ในเซลล์ลดลงครึ่งหนึ่งภายใน 2 วินาทีแรก แต่สารกาบาเพิ่มขึ้น 200-300% ภายใน 15 วินาที (Shelp et al, 1999)

ข) ปริมาณไนโตรเจน

โดยปกติแล้วปริมาณกลูตาเมตในเซลล์จะเพิ่มขึ้นได้ก็ต่อเมื่อ ปฏิกิริยาของการสังเคราะห์กลูตามีนหยุด และกระบวนการการสังเคราะห์โปรตีนลดลง หรือปริมาณการสลายโปรตีนมากขึ้น (Satyanarayan et al, 1990) ดังนั้นการจะเพิ่มปริมาณสารกาบาด้วยวิธีการเพิ่มกลูตาเมตภายในเซลล์จึงขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตียนที่มีอยู่ด้วย คือ เมื่อมีปริมาณโปรตีนในเซลล์มากก็จะสามารถผลิตกลูตาเมตได้มาก (Chang et al, 1992)

ค) อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ GAD ซึ่งเอนไซม์ GAD ที่ได้จากแหล่งที่มาต่างกัน จะมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน เช่น เอนไซม์ GAD ในถั่วฝักยาว ทำงานได้ที่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่วน เอนไซม์ GAD ในข้าว ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 35 – 45 องศาเซลเซียส เป็นต้น (Zhang et al, 2002)

ในปัจจุบันสารกาบาได้ถูกกล่าวถึงอย่างกว้างขวาง โดยสารกาบามีผลต่อการบรรเทาอาการผิดปกติต่อร่างกาย เช่น โรคลมบ้าหมู และอาการนอนไม่หลับ แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากสารกาบาไม่ใช่สารจำเป็น ดังนั้นการบริโภคกาบาเป็นประจำทุกวันจึงไม่ได้รับอนุญาต ในเด็กสารกาบาจะช่วยเสริมการทำงานของระบบประสาทให้เป็นไปอย่างปกติ และมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยขนาดที่แนะนำในเด็กนั้นแนะนำ 10 -100 มิลลิกรัม ก็เพียงพอ สำหรับผู้ใหญ่จะแนะนำ 250 – 1000 มิลลิกรัม เพื่อให้ร่างกายได้รับสารกาบาให้เพียงพอต่อความอ่อนเพลีย เมื่อยล้า ซึ่งเป็นผลมาจากความเครียด (Medicor, 2007)

ผลการศึกษาในเชิงคลินิกวิทยานั้น พบว่าผลข้างเคียงจากการได้รับสารกาบามากเกินไปนั้นอาจจะนำไปสู่อาการผิดปกติเช่น ท้องอืด อาการเหน็บชาตามปลายมือปลายเท้า หายใจเหนื่อยหอบ (The winds of change, 2000)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ และ สารเคมี

- ข้าวเปลือกพันธุ์ปทุมธานี 1 และ กข.. 6 ซื้อจากศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าว จังหวัดปทุมธานี โดยข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ ต้องมีอัตราการงอกไม่ต่ำกว่าร้อยละ 80 ความชื้นไม่เกิน 13% พักตัวมาแล้วอย่างน้อย 3 เดือน

- กรดกลูตามิก(L-glutamic acid) (Ajax Chemical)

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (Ajax Chemical)

- กระดาษกรอง (Whattman เบอร์ 1)

- petri dish 15x90 mm (Hycon)

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 เตรียมวัตถุดิบสำหรับการเพาะงอก

ก่อนวันทำการทดลอง 1 วัน ข้าวเปลือกทั้ง 2 สายพันธุ์จะถูกทำการกะเทาะ และ คัดแยกสิ่งเจือปนต่างๆ เช่น ข้าวเมล็ดลีบ ข้าวเสีย ออกจากข้าวเมล็ดดีก่อน จากนั้นบรรจุข้าวเมล็ดดีลงในถุงพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิห้อง เพื่อรอใช้ในการทดลองในวันถัดไป (ขั้นตอนการกะเทาะเปลือกและคัดแยกข้าว ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อินโนฟู้ด (ไทยแลนด์) จำกัด)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิเคราะห์ตัวอย่างวัตถุดิบที่ได้ดังต่อไปนี้

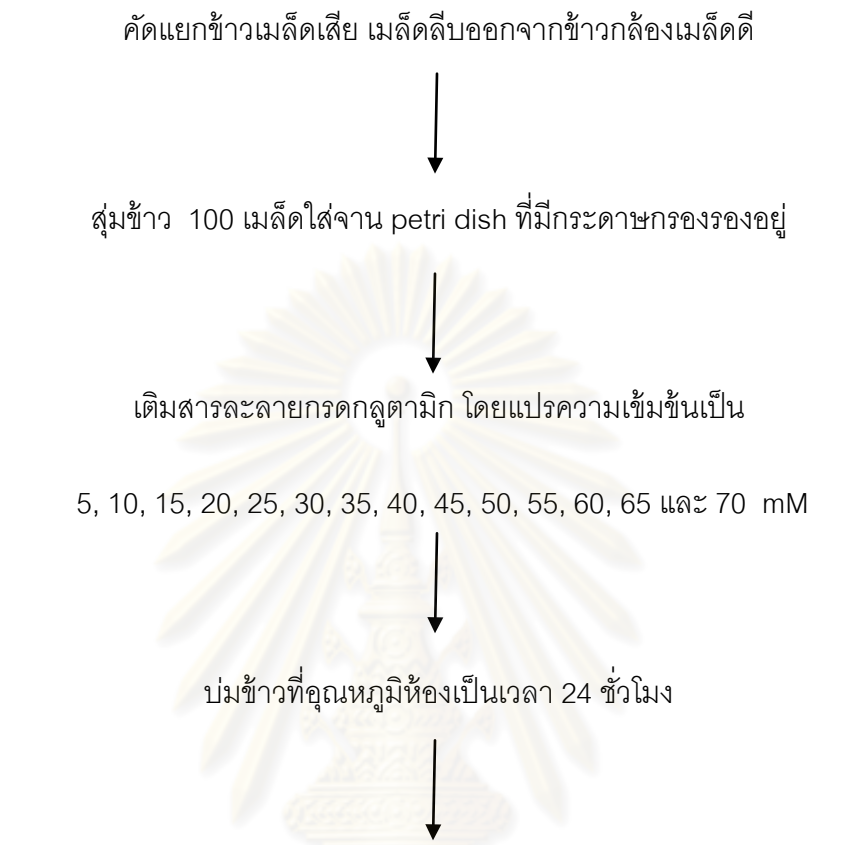
- อัตราการงอก ตามวิธีของ ISTA (2003) (ภาคผนวก ก1)
- ปริมาณสารกาบา ด้วยวิธี HPLC ตามวิธีดัดแปลงของ Lindroth และ Mopper (1979) (Varian, Inc. Scientific Instruments, CA, USA) (ภาคผนวก ก 3)

3.2.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดกลูตามิกต่ออัตราการงอกและลักษณะปรากฏของข้าวกล้องเพาะงอก

ข้าวเมล็ดดีทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ผ่านการคัดแยกมาจากข้อ 3.2.1 นำมาหาอัตราการงอกของข้าว ด้วยวิธี top of paper ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ ISTA (International Seed Testing Association) โดยสุ่มข้าว 100 เมล็ดเพาะบน petri dish ที่มีกระดาษกรอง Whattman เบอร์ 1 รองอยู่ด้านใต้ จากนั้นเติมสารละลายกรดกลูตามิก 3 มิลลิลิตร โดยแปรความเข้มข้นเป็น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 และ 70 mM ปิดฝาและบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับข้าวที่งอกในแต่ละ plate เพื่อหาอัตราการงอกโดยรายงานผลเป็นอัตราการงอก เพาะ 4 ซ้ำ ออกแบบการทดลองแบบ CRD เพาะ 4 ซ้ำต่อความเข้มข้น สังเกตลักษณะปรากฏของเมล็ดข้าว

นำค่าอัตราการงอกทั้ง 4 ซ้ำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าพิสัย โดยนำค่าเฉลี่ยที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นไปเทียบกับตารางช่วงการยอมรับของ ISTA ซึ่งจะได้ค่าช่วงการยอมรับ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่จะนำมาใช้ในการเพาะงอกข้าวได้จะต้องมีค่าพิสัยของอัตราการงอกอยู่ในช่วงการยอมรับของ ISTA (ภาคผนวก ก1)

วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของอัตราการงอกด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรม SPSS (version 16.0) จากนั้นเลือกความเข้มข้น 3 ระดับที่ไม่ผลต่ออัตราการงอก และ ไม่ทำให้เกิดความผิดปกติกับเมล็ดข้าวและลักษณะปรากฏ เช่น เมล็ดข้าวไม่ร้าว ไม่มีกลิ่นฉุนของแอมโมเนีย เมล็ดข้าวไม่เปื่อยยุ่ย เป็นต้น มาศึกษาต่อในตอนถัดไป



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการหาอัตราการงอกของข้าวกล้องเพาะงอก

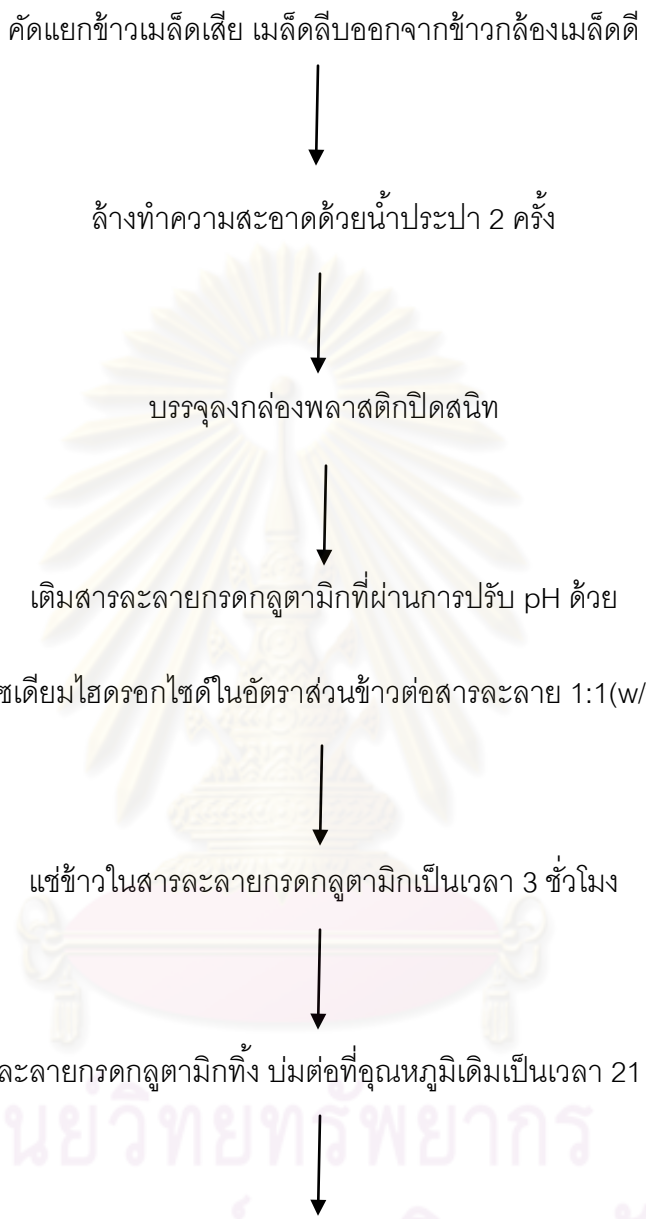
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยวิธีการเติมกรดกลูตามิก

เพาะงอกด้วยวิธีการดัดแปลงจากวิธีของ Komatsusaki และคณะ(ภาคผนวก ก 2) โดยเปลี่ยนจากน้ำกลั่นที่ใช้ในขั้นตอนการแช่ข้าว 3 ชั่วโมง เป็นสารละลายกรดกลูตามิก เทสารละลายกรดกลูตามิกออก บ่มข้าวต่อในภาชนะปิดสนิทเป็นเวลา 21 ชั่วโมง อบข้าวกล้องเพาะงอกที่ได้จนมีความชื้นประมาณ 12% ด้วยตู้อบลมร้อน ในขั้นตอนการทดลองนี้จะแปรความเข้มข้นของกรดกลูตามิกตามความเข้มข้นที่เลือกได้ในข้อ 3.2.2 3 ระดับ แปรอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเป็น 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส และ pH ที่ใช้ในการแช่ข้าวเป็น 4, 5 และ 6 โดยในขั้นตอนการปรับ pH จะปรับด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 M ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ออกแบบการทดลองแบบ 3x3x3 factorial วิเคราะห์ตัวอย่างข้าวกล้องเพาะงอกที่ได้ดังต่อไปนี้

- อัตราการงอกของข้าวกล้องเพาะงอกตามวิธีดัดแปลงของ ISTA (2003) (ภาคผนวก ก1)
- ลักษณะปรากฏของข้าวกล้องเพาะงอก (สังเกตด้วยสายตา)
- ปริมาณสารกาบา ด้วยวิธี HPLC ตามวิธีดัดแปลงของ Lindroth และ Mopper (1979) (Varian, Inc. Scientific Instruments, CA, USA) (ภาคผนวก ก 3)

วิเคราะห์ตัวอย่างอย่างละ 3 ซ้ำ กำหนด coded level สำหรับแต่ละสภาวะการทดลองตามตาราง 3.1 เพื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และพิจารณาเลือกสภาวะในการผลิตข้าวกล้องเพาะงอกด้วยวิธีการเติมกรดกลูตามิกที่เหมาะสมด้วย Response Surface Method (RSM) โดยใช้โปรแกรม Design-Expert (version 6) จากปริมาณสารกาบา วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรม SPSS (version 16.0)



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยวิธีการเติมสารละลายกรดกลูตามิก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 3.1 Coded level ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณสารกาบาในข้าวกล้องเพาะงอก

Factor	Coded variable	Code level		
		-1	0	1
อุณหภูมิ(องศาเซลเซียส)	A	30	40	50
pH	B	4	5	6
ความเข้มข้นของสารละลายกรดกลูตามิก (mM)	C	5	15	25

สมการที่ใช้ในการคำนวณหา Coded level ของแต่ละปัจจัย แสดงดังนี้

Coded A = (A-40)/10 เมื่อ A คือ 30, 40 และ 50

Coded B = (B-5)/1 เมื่อ B คือ 4, 5 และ 6

Coded C = (C-15)/10 เมื่อ C คือ 5, 15 และ 25

3.2.4 ศึกษาปริมาณ Total Plate Count และ Yeast and Mold ในข้าวกล้องเพาะงอก

ตัวอย่างข้าวกล้องเพาะงอกทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ได้จากการเพาะงอกด้วยสภาวะที่เหมาะสม ในข้อ 3.2.3 และผ่านการอบแห้งแล้ว นำมาวิเคราะห์ปริมาณ Total Plate Count (TPC) และ Yeast and Mold ด้วย 3M Petrifilm Aerobic Count Plates และ 3M Petrifilm Yeast and Mould Count Plates (ภาคผนวก ก 4)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษางานวิจัยหลายงานวิจัยที่พยายามคิดค้นวิธีการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยวิธีต่างๆ แสดงให้เห็นว่าวิธีการเพาะงอกที่แตกต่างกันนั้น ให้ปริมาณสารกาบาที่ข้าวกล้องงอกสังเคราะห์ขึ้นแตกต่างกันออกไปด้วย โดยในงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีการเพาะงอกแบบ Komatsuzaki และคณะ (2007) คือ การแช่ข้าวในสารละลายเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นเทสารละลายออก บ่มข้าวต่อในภาชนะปิดเป็นเวลาอีก 21 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณสารกาบามากกว่าข้าวกล้องถึง 6 เท่า และให้ปริมาณสารกาบามากกว่าวิธีการเพาะงอกแบบแช่ในน้ำอย่างเดียวถึง 2.5 เท่า

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอก โดยใช้สารละลายกรดกลูตามิกแทนน้ำในขั้นตอนการแช่ข้าวตามวิธีการเพาะงอกแบบ Komatsuzaki และคณะ (2007) ในข้าว 2 สายพันธุ์คือ ข้าวปทุมธานี 1 และ ข้าว กข. 6 ในขั้นแรกจะเป็นการศึกษาคุณสมบัติของวัตถุดิบ โดยจะกำหนดมาตรฐานของวัตถุดิบ ไว้คือ ความชื้นของวัตถุดิบต้องไม่เกิน 13% เป็นข้าวที่พ้นระยะพักตัวมาแล้ว สำหรับในงานวิจัยนี้เลือกใช้ข้าวที่พักหลังจากเก็บเกี่ยวมาแล้วเป็นเวลา 4 เดือน เมื่อได้วัตถุดิบที่เหมาะสมแล้วจะนำมาศึกษาหาความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เหมาะสมในการเพาะงอก โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดกลูตามิกนั้น จะต้องไม่ทำให้อัตราการงอกของข้าวกล้องเพาะงอกลดลงและไม่ทำให้ลักษณะปรากฏของข้าวกล้องเปลี่ยนแปลง เมื่อได้ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกแล้วจะนำมาศึกษาร่วมกับปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อการสังเคราะห์สารกาบาในพืช คือ อุณหภูมิ และ pH เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้องปทุมธานี 1 และ ข้าว กข. 6 โดยใช้ Response Surface Method

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.1 การวิเคราะห์อัตราการงอก ปริมาณความชื้น และปริมาณสารกาบาในข้าวกล้อง

เมื่อนำข้าวกล้องปทุมธานี 1 และ ข้าวกล้อง กข. 6 ที่ผ่านการกะเทาะเปลือกและคัดแยกสิ่งเจือปน ข้าวเมล็ดลีบ ข้าวเมล็ดเสีย แล้ว มาวิเคราะห์หาอัตราการงอก, ความชื้นเริ่มต้น และปริมาณสารกาบาเริ่มต้น พบว่า ข้าวกล้องปทุมธานี 1 และข้าวกล้อง กข. 6 มีอัตราการงอกเท่ากับ 96.25 และ 99.5 ตามลำดับ โดยค่าพิสัยของการงอกอยู่ที่ 2 และ 1ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1 และ 4.2) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ ISTA มีปริมาณความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 11.68 % และ 12.10% ตามลำดับ และปริมาณสารกาบาเริ่มต้นอยู่ที่ 2.87±0.75 และ 5.83±1.72 mg/100 g น้ำหนักข้าวแห้ง(ตารางที่ 4.3) ตามลำดับ จากผลการหาอัตราการงอกพบว่าข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์มีอัตราการงอกที่สูง เป็นการแสดงให้เห็นว่าการกะเทาะเปลือกข้าวออกนั้นไม่มีผลต่ออัตราการงอก ซึ่งอัตราการงอกที่สูงนั้นมีความเกี่ยวโยงกับหลายปัจจัย เช่น ระยะพักตัวของข้าวซึ่งข้าวในกลุ่มอินดิคาแทบทุกสายพันธุ์มีระยะพักตัวของเมล็ด (Yoshida,1981) โดยระยะพักตัวของเมล็ดข้าวส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในเมล็ดยังไม่สมบูรณ์ ฉะนั้น เมื่อได้เก็บเกี่ยวมาแล้ว เมล็ดจึงไม่งอกและต้องรอไปจนกว่าเมล็ดนั้นได้มีการเปลี่ยนทางสรีรวิทยาครบสมบูรณ์เสียก่อน (ประพาส วีรแพทย์, 2520) สำหรับข้าวปทุมธานี 1 มีระยะพักตัวอยู่ที่ 3-4 สัปดาห์ ส่วนข้าว กข. 6 มีระยะพักตัวอยู่ที่ 4-5 สัปดาห์ (กรมการข้าว, ม.ป.ป.) โดยข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ใช้ในการวิจัยในครั้งนี้พักตัวมาแล้วเป็นเวลา 4 เดือนซึ่งผ่านระยะเวลาการพักตัวมาแล้ว จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการนำมาใช้เพาะงอก

4.2 ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้องทั้งสองสายพันธุ์

จากการเตรียมสารละลายกรดกลูตามิกโดยแปรปริมาณความเข้มข้นของกรดกลูตามิกเป็น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 และ 70 mM พบว่าอัตราการงอกของข้าวกล้องปทุมธานี 1 และ ข้าวกล้อง กข. 6 อยู่ในช่วงร้อยละ 83.00 - 96.5 และ 91.5 – 99.25 ตามลำดับ และลักษณะปรากฏของข้าวกล้องเพาะงอกก็แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดโดยเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.1 และ 4.2) คือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดกลูตามิกข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีลักษณะเปื่อยยุ่ยบริเวณผิวนอกมากขึ้น

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกมีอิทธิพลต่ออัตราการงอกของข้าวกล้องปทุมธานี 1 และ ข้าวกล้อง กข. 6 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาในข้าวปทุมธานี 1 พบว่า ที่ความเข้มข้น 5-30 mM ไม่มีผลต่ออัตราการงอก และลักษณะปรากฏของข้าว ที่ความเข้มข้น 35-45 mM ไม่มีผลอัตราการงอก แต่ข้าวกล้องงอกที่ได้จะมีลักษณะเปื่อยเล็กน้อยบริเวณผิวด้านนอก และที่ความเข้มข้นมากกว่า 45 mM อัตราการงอกของข้าวกล้องจะลดลง และเปื่อยยุ่ยที่บริเวณผิวด้านนอกของเมล็ดข้าว และมีกลิ่นฉุนคล้ายแอมโมเนีย

สำหรับข้าว กข. 6 พบว่า ที่ความเข้มข้น 5-30 mM ไม่มีผลต่ออัตราการงอก และลักษณะปรากฏของข้าว ที่ความเข้มข้น 35 mM ไม่มีผลอัตราการงอก แต่ข้าวกล้องงอกที่ได้จะมีลักษณะเปื่อยเล็กน้อย และ ที่ความเข้มข้นมากกว่า 40 mM อัตราการงอกของข้าวกล้องจะลดลง และมีการเปื่อยยุ่ยที่ผิวด้านนอกของเมล็ดข้าว โดยเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นการเปื่อยของเมล็ดข้าวก็จะเพิ่มขึ้นด้วย ข้าวที่ได้มีกลิ่นฉุนคล้ายแอมโมเนียเช่นเดียวกันกับข้าวปทุมธานี 1 ทั้งนี้การเกิดกลิ่นคล้ายแอมโมเนียน่าจะเกิดจากการที่มีปริมาณกรดกลูตามิกมากเกินไปทำให้เกิดการผันกลับของปฏิกิริยา เกิดการเปลี่ยนกรดกลูตามิกให้กลายเป็น แอมโมเนียและ แอลฟา คีโตกูตาเรท โดยเอนไซม์ ทรานซามิเนส (ภาพที่ 2.2)

ในช่วงความเข้มข้น 5-30 mM ของข้าวกล้องเพาะงอกทั้ง 2 สายพันธุ์ ลักษณะการงอกของรากข้าวจะแตกต่างกันคือ ที่ความเข้มข้น 0-5 mM รากของข้าวจะมีลักษณะฟูรอบๆจมูกข้าว (ภาพที่ 4.1 ก) ความเข้มข้น 10-15 mM รากของข้าวมีลักษณะฟูโหย่งรอบจมูก (ภาพที่ 4.2 ข) ที่ความเข้มข้น 20-30 mM รากจะยาวโหย่งออกมาจากจมูกข้าว (ภาพที่ 4.3 ค) โดย Bewley และ Black (1978) กล่าวว่าลักษณะการงอกรากของเมล็ดพืชบ่งบอกถึงสภาวะ และความเหมาะสมในการหยั่งรากเพื่อเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากพืชไม่สามารถเคลื่อนที่ได้เมื่อสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมจึงจำเป็นต้องปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อม โดยการปรับให้รากโหย่งหรือยืดรากไปหาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการหยั่งราก

ตารางที่ 4.1 อัตราการงอกของข้าวกล้องปทุมธานี 1 จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกความเข้มข้น 0-70 mM และลักษณะปรากฏ

ความเข้มข้น	อัตราการงอกครั้งที่					พิสัย	ISTA	ลักษณะปรากฏ
	1	2	3	4	เฉลี่ย			
0	95	97	97	96	96.25[f]	2	8	เมล็ดปกติ รากฟูรอบๆจมูก
5	95	96	95	96	95.5[f]	1	9	เมล็ดปกติ รากฟูรอบๆจมูก
10	97	96	98	95	96.5[f]	3	8	เมล็ดปกติ รากฟูโหย่ง
15	96	97	95	96	96[f]	2	8	เมล็ดปกติ รากฟูโหย่ง
20	95	97	96	96	96[f]	2	8	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
25	96	97	95	94	95.5[f]	3	9	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
30	97	98	96	95	96.5[f]	3	8	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
35	97	96	95	95	95.75[f]	2	9	เมล็ดเปื่อยเล็กน้อย รากโหย่ง
40	98	95	96	96	96.25[f]	3	8	เมล็ดเปื่อยเล็กน้อย รากโหย่ง
45	97	96	95	97	96.25[f]	2	8	เมล็ดเปื่อยเล็กน้อย รากโหย่ง
50	94	93	92	93	93[e]	2	10	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง
55	90	93	92	89	91[d]	4	11	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง
60	87	89	88	86	87.5[c]	3	13	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง
65	86	85	84	88	85.75[b]	4	14	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง
70	83	84	83	82	83[a]	2	15	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 อัตราการงอกของข้าวกล้อง กข. 6 จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกความเข้มข้น 0-70 mM และลักษณะปรากฏ

ความเข้มข้น	อัตราการงอกครั้งที่					พิสัย	ISTA	ลักษณะปรากฏ
	1	2	3	4	เฉลี่ย			
0	100	100	99	99	99.5^{e}	1	5	เมล็ดปกติ รากฟูรอบๆจมูก
5	99	98	100	99	99de	2	5	เมล็ดปกติ รากฟูรอบๆจมูก
10	99	97	99	100	98.75^{de}	3	6	เมล็ดปกติ รากฟูโหย่ง
15	99	100	98	99	99de	2	5	เมล็ดปกติ รากฟูโหย่ง
20	100	99	98	98	98.75^{de}	2	6	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
25	99	98	100	99	99de	2	5	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
30	99	98	99	98	98.5^{de}	1	6	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
35	98	99	98	98	98.25^{de}	1	6	เมล็ดเปื่อยเล็กน้อย รากโหย่ง
40	99	98	98	97	98^{cd}	2	6	เมล็ดเปื่อยเล็กน้อย รากโหย่ง
45	99	97	98	98	98^{cd}	2	6	เมล็ดเปื่อยเล็กน้อย รากโหย่ง
50	98	97	95	97	96.75^{c}	3	8	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง
55	96	95	94	94	94.75^{b}	2	10	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง
60	95	94	93	93	93.75^{b}	2	10	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง
65	93	92	92	93	92.5^{a}	1	11	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง
70	91	91	92	92	91.5^{a}	1	11	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ก)

(ข)

(ค)

ภาพที่ 4.1 ลักษณะการงอกของรากข้าวกล้องงอก (ก) รากฟูรอบจมูกข้าว (ข) รากบางส่วนฟูบางส่วนโหย่ง (ค) รากยาวโหย่ง

จากผลการทดลองในตอนต้น ทำให้สามารถเลือกความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่ไม่มีผลต่ออัตราการงอกและลักษณะปรากฏของข้าวกล้องเพาะงอกทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งได้ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกอยู่ในช่วง 5-30 mM โดยในงานวิจัยนี้เลือกแปรความเข้มข้นของกรดกลูตามิกเพื่อใช้ในการศึกษาต่อในขั้นตอนต่อไปเป็น 3 ระดับ คือ 5, 15 และ 25 เนื่องจากในความเข้มข้นทั้ง 3 นี้มีลักษณะการงอกของรากของข้าวกล้องที่แตกต่างกัน

4.3 สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยการเติมกรดกลูตามิก

จากการทดลองเพาะงอกข้าวกล้อง ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเพาะงอกควบคุมและแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอก 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียสไม่มีผลต่ออัตราการงอกของข้าวกล้อง แต่เมื่อใช้อุณหภูมิเพาะงอกเป็น 50 องศาเซลเซียส พบว่าข้าวกล้องมีอัตราการงอก เท่ากับ 0 ซึ่งเมื่อนำข้าวที่ได้จากการเพาะงอกที่อุณหภูมิต่างๆมาวิเคราะห์ปริมาณสารกาบาพบว่า ปริมาณสารกาบาในข้าวที่ผ่านการเพาะงอกแล้วมีปริมาณสูงกว่าข้าวกล้องสารอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.3) ซึ่งผลการทดลองที่ได้ขัดแย้งกับอัตราการงอกของข้าว คือในข้าวที่มีอัตราการงอกเป็น 0 มีปริมาณสารกาบามากกว่า ข้าวกล้องสารอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าถึงแม้ข้าวจะไม่งอก ข้าวก็สามารถสร้างสารกาบาได้เช่นเดียวกัน โดยปกติข้าวกล้องหรือเมล็ดพืชต่างๆ เมื่อได้รับความชื้นหรือน้ำ เอนไซม์และสารชีวเคมีต่างๆ ในเมล็ดพืชจะถูกกระตุ้นให้ทำงาน (Bewley และ Black, 1978) ซึ่งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนั้นอาจเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมกับการงอกของข้าวกล้อง แต่เอนไซม์ GAD ในเมล็ดข้าวยังคงสามารถทำงานได้ หรือข้าวกล้องอาจงอกแต่ไม่สามารถสังเกตุได้ด้วยตา

การเพาะงอกข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์โดยการแปรความเข้มข้นของสารละลายกรดกลูตามิกที่ใช้ในการแช่ข้าวกล้องเป็น 3 ระดับคือ 5, 15 และ 25 mM อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเป็น 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส และ pH ของสารละลายกรดกลูตามิกที่ใช้ในการแช่ข้าวกล้องเป็น 4, 5 และ 6 พบว่าอัตราการงอกของข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่สภาวะต่างๆอยู่ในช่วงการยอมรับของ ISTA (ตารางที่ 4.4 และ

4.5) ยกเว้นข้าวที่เพาะงอกที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสในทุกสภาวะนั้น พบว่าข้าวกล้องไม่การงอกจากการสังเกตด้วยตา เช่นเดียวกันกับการเพาะงอกด้วยน้ำกลั่น

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารกาบาในข้าวกล้องเพาะงอก ที่เพาะงอกด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิการเพาะงอก(องศาเซลเซียส)	ปริมาณสารกาบา(mg/100g ข้าวแห้ง)	
	ข้าวปทุมธานี 1	ข้าว กข. 6
ข้าวกล้องสาร	2.87±0.75[a]	5.83±1.72[a]
30	37.79±8.79[b]	49.38±4.87[b]
40	43.12±8.79[c]	57.15±3.99[c]
50	18.39±9.53[c]	22.58±4.98[c]

ปริมาณสารกาบาในข้าวปทุมธานี 1 และ ข้าว กข. 6 มีปริมาณตั้งแต่ 31.24±15.72 ถึง 155.14±8.01 mg/100g ข้าวแห้ง และ 55.33±10.27 ถึง 154.34±30.63 mg/100g ข้าวแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4 และ 4.5) จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าความเข้มข้นของกรดกลูตามิก และ อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอกข้าวกล้อง มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ปริมาณสารกาบาอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.4 และ 4.5) แต่ปริมาณ pH ไม่มีผลต่อปริมาณการสังเคราะห์สารกาบาอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นข้าวปทุมธานี 1 ที่ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 15 mM อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอก 40 องศาเซลเซียส pH มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ปริมาณสารกาบา ($p<0.05$)

เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิซึ่งมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ปริมาณสารกาบาอย่างมีนัยสำคัญนั้น พบว่า เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอกข้าวกล้องเพิ่มขึ้น จาก 30 เป็น 40 องศาเซลเซียส ปริมาณสารกาบาที่ข้าวสังเคราะห์ขึ้นก็จะเพิ่มขึ้น($p<0.05$) เช่น ในข้าวปทุมธานี 1 ที่ pH 4 ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกเท่ากับ 5 mM ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 69.37±8.10 mg/100g ข้าวกล้องงอก ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 107.37±5.70

mg/100g ข้าวกล้องงอก แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอกเป็น 50 องศาเซลเซียสปริมาณสารกาบากลับลดลงอย่างมาก เหลืออยู่ 41.77±3.39 mg/100g ข้าวกล้องงอก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2007) ที่ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ GAD บริสุทธิ์ที่สกัดได้จากข้าวนั้น พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์อยู่ในช่วง 35-40 องศาเซลเซียส pH อยู่ในช่วง 5.5-5.8 Limure และคณะ (2009) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนกรดกลูตามิกให้เป็นสารกาบาโดยการใช้จมูกข้าวบาร์เล่ย์ พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเปลี่ยนกรดกลูตามิกให้เป็นสารกาบาของข้าวบาร์เล่ย์ คือ 20 องศาเซลเซียส โดยที่ปริมาณสารกาบาที่เพิ่มขึ้นแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เติมลงไป นอกจากนี้ยังนำสภาวะเดียวกันที่ได้มาเปรียบเทียบการสร้างสารกาบาของจมูกข้าวสาลี และจมูกข้าวเจ้า โดยแช่ในสารละลายกรดกลูตามิกแล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารกาบาที่ธัญพืชทั้ง 3 ชนิดสร้างขึ้น โดยในงานวิจัยนี้พบว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ข้าวบาร์เล่ย์ ให้ปริมาณสารกาบาสูงที่สุด นอกจากนี้พบว่าเอนไซม์ GAD ที่มาจากพืชต่างชนิดกันค่าความเหมาะสมของการทำงานของเอนไซม์ก็จะแตกต่างกันออกไปด้วย นอกจากนี้ผลการวิจัยที่ได้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Oh (2003) ซึ่งได้ทำการทดลองเปรียบเทียบแช่ข้าวกล้องในสารละลายกรดกลูตามิก สารละลายกรดแลคติก สารละลายกรดแลคติกร่วมกับไคโตซาน สารละลายกรดกลูตามิกร่วมกับไคโตซาน และน้ำกลั่น โดยใช้เวลาในการแช่เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส พบว่าข้าวที่แช่ในสารละลายกรดกลูตามิกร่วมกับไคโตซานให้ปริมาณสารกาบาสูงที่สุด รองลงมาคือแช่ในสารละลายกรดกลูตามิก สารละลายกรดแลคติกร่วมกับไคโตซาน สารละลายกรดแลคติก และแช่ในน้ำได้ปริมาณสารกาบาน้อยที่สุด

จากการหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของความเข้มข้นของกรดกลูตามิก, อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอก และ pH ของสารละลายกรดกลูตามิกที่ใช้ในการแช่ข้าวกล้อง ต่อปริมาณสารกาบาที่ข้าวกล้องสังเคราะห์ขึ้นในข้าวปทุมธานี 1 และ กข. 6 ด้วย RSM ดังสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งสามารถสร้าง contour plot ได้ดังภาพที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยกำหนดว่าต้องมีปริมาณสารกาบามากกว่า 130 mg/100g (ข้าวแห้ง) ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการ

เพาะงอกข้าวปทุมธานี 1 และข้าว กข. 6 คือ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก เท่ากับ 15 mM (coded value = 0) อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอก เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส (coded value = 0) และ pH ของสารละลายกรดกลูตามิก เท่ากับ 5 (coded value = 0) ภาพที่ 4.4 ข และ 4.5 ข ตามลำดับ เนื่องจากเป็นสภาวะที่ให้ปริมาณสารกาบามากกว่า 130 mg/100 g ข้าวแห้งแล้วยัง ใช้ปริมาณกรดกลูตามิกที่ต่ำทำให้ช่วยลดต้นทุนในการผลิต

ปริมาณสารกาบาในข้าว ปทุมธานี 1 = -964.6134 + (44.1420xT) + (74.7469xA) + (8.7460xC) - (0.5764xT^2) - (8.3545xA^2) - (0.3149xC^2) + (0.1639xTxA) - (0.0203xTxC) + (0.2819xAxC)

(R^2 = 0.9410) สมการที่ 1

ปริมาณสารกาบาในข้าว กข. 6 = -739.0001 + (32.6478xT) + (95.6312xA) + (5.0814xC) - (0.4338xT^2) - (9.2063xA^2) - (0.1630xC^2) - (0.0953xTxA) + (0.0107xTxC) + (2.3333E-03xAxC)

(R^2 = 0.9511) สมการที่ 2

สัญลักษณ์ในการคำนวณแสดงได้ดังนี้

A = pH เมื่อ pH อยู่ในช่วง 4-6

T = อุณหภูมิ เมื่อ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 30 – 50 องศาเซลเซียส

C = ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก เมื่อ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกอยู่ในช่วง 5-25 mM

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 อัตราการงอกของข้าว ปทุมธานี 1 จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ และลักษณะปรากฏ

ความเข้มข้น	อุณหภูมิ	pH	อัตราการงอกครั้งที่					พิสัย	ISTA	ปริมาณสารกาบา
			1	2	3	4	เฉลี่ย			
5	30	4	97	95	95	95	95.5	2	9	69.37±8.10^{f}
		5	98	94	95	95	95.5	4	9	61.86±3.61^{def}
		6	95	93	96	96	95.0	3	9	62.99±3.79^{def}
	40	4	95	95	95	97	97.5	2	7	107.37±5.70^{g}
		5	95	95	95	98	97.3	3	7	97.87±1.29^{g}
		6	95	96	96	95	97.3	1	7	94.06±1.18^{g}
	50	4	0	0	0	0	0.0	0	-	41.77±3.39^{abc}
		5	0	0	0	0	0.0	0	-	48.23±9.54^{abcde}
		6	0	0	0	0	0.0	0	-	45.96±3.22^{abcd}
15	30	4	96	95	96	96	95.8	1	8	93.47±3.15^{g}
		5	95	98	94	94	95.3	4	8	96.38±3.59^{g}
		6	96	95	94	94	94.8	2	9	95.84±11.38^{g}
	40	4	96	96	96	96	96.0	0	8	109.47±27.97^{g}
		5	96	94	94	95	94.8	2	9	155.14±8.01^{i}
		6	94	94	94	96	94.5	2	9	134.52±13.48^{h}
	50	4	0	0	0	0	0.0	0	-	52.38±10.95^{bcdef}
		5	0	0	0	0	0.0	0	-	58.97±16.10^{cdef}
		6	0	0	0	0	0.0	0	-	53.04±0.55^{bcdef}
25	30	4	97	97	93	93	95.0	4	9	65.38±7.46^{ef}
		5	96	94	94	94	94.5	2	9	64.04±4.79^{def}
		6	95	95	95	95	95.0	0	9	63.08±1.27^{def}
	40	4	94	93	93	97	94.3	4	9	99.45±3.06^{g}
		5	93	94	94	96	94.3	3	9	96.61±8.72^{g}
		6	94	95	95	95	94.8	1	9	111.57±13.46^{g}
	50	4	0	0	0	0	0.0	0	-	35.01±5.17^{ab}
		5	0	0	0	0	0.0	0	-	31.24±15.72^{a}
		6	0	0	0	0	0.0	0	-	43.52±9.23^{abc}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.5 อัตราการงอกของข้าว กข. 6 จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ และลักษณะปรากฏ

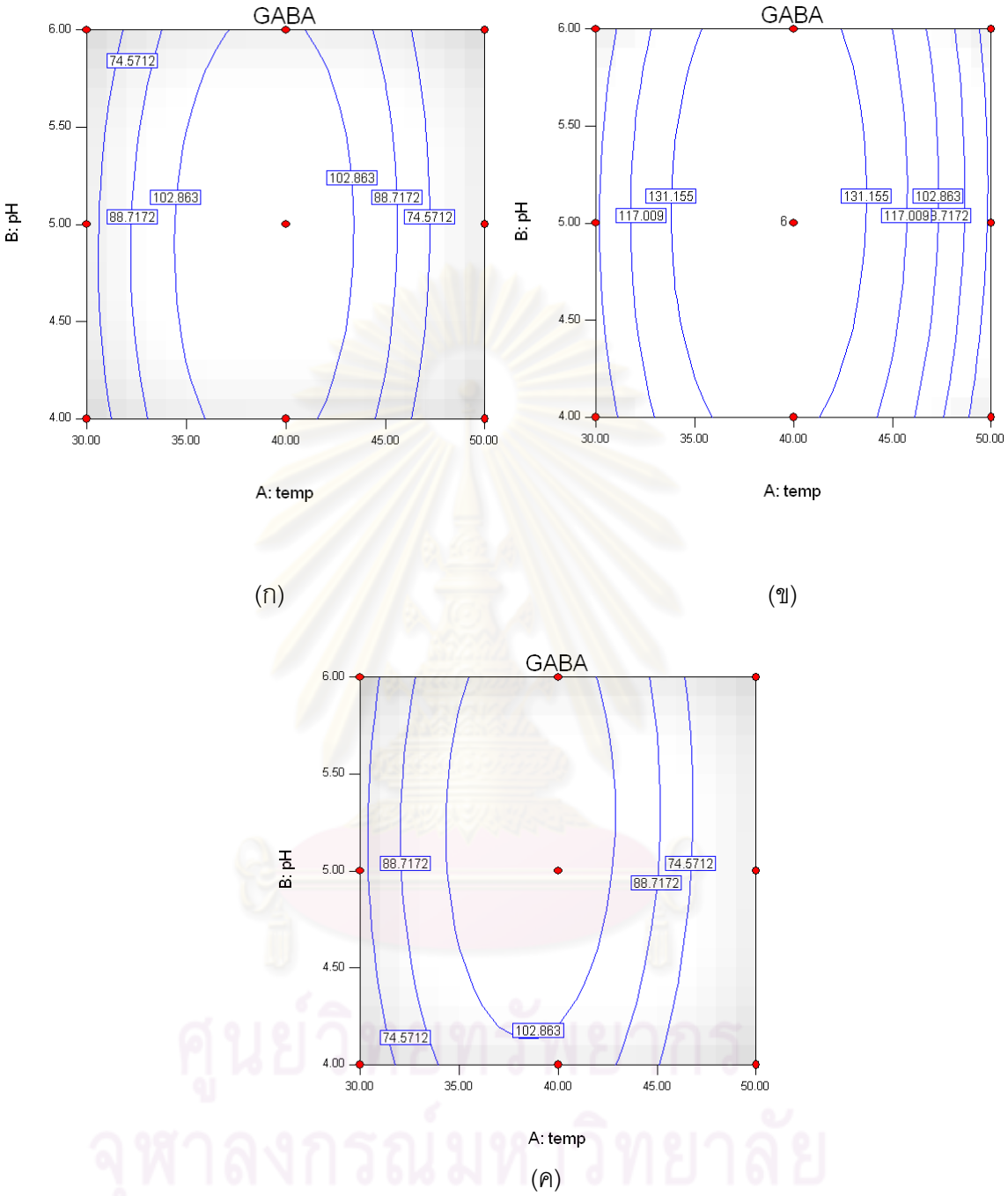
ความเข้มข้น	อุณหภูมิ	pH	อัตราการงอกครั้งที่					พิสัย	ISTA	ปริมาณสารกาบา
			1	2	3	4	เฉลี่ย			
5	30	4	98	96	98	98	97.5	2	7	100.83±3.54[b]
		5	99	97	99	99	98.5	2	6	103.36±12.17[b]
		6	99	93	99	99	97.5	7	7	110.10±22.28[bc]
	40	4	98	98	95	99	97.5	4	7	101.35±12.09[b]
		5	97	99	95	98	97.3	4	7	114.30±3.21[bcd]
		6	98	98	96	97	97.3	2	7	101.58±11.57[b]
	50	4	0	0	0	0	0.0	0	-	55.33±10.27[a]
		5	0	0	0	0	0.0	0	-	62.64±4.96[a]
		6	0	0	0	0	0.0	0	-	57.53±4.11[a]
15	30	4	98	95	98	98	97.3	3	7	124.47±17.49[bcd]
		5	97	98	97	97	97.3	1	7	122.39±17.63[bcd]
		6	98	95	98	98	97.3	3	7	114.34±24.63[bcd]
	40	4	96	99	96	98	97.3	3	7	136.64±16.70[cde]
		5	98	99	94	96	96.8	5	8	154.34±30.63[e]
		6	99	98	94	97	97.0	5	7	131.24±25.68[cde]
	50	4	0	0	0	0	0.0	0	-	67.26±0.47[a]
		5	0	0	0	0	0.0	0	-	68.75±4.91[a]
		6	0	0	0	0	0.0	0	-	63.32±4.30[a]
25	30	4	98	97	96	96	96.8	2	8	101.19±16.99[b]
		5	99	94	97	98	97.0	5	7	109.13±1.41[bc]
		6	99	95	97	99	97.5	4	7	114.66±11.11[bcd]
	40	4	99	97	96	97	97.3	3	7	135.29±7.74[cde]
		5	99	98	94	97	97.0	5	7	139.61±19.94[de]
		6	97	97	98	97	97.3	1	7	126.89±21.17[bcd]
	50	4	0	0	0	0	0.0	0	-	65.27±5.34[a]
		5	0	0	0	0	0.0	0	-	65.15±5.11[a]
		6	0	0	0	0	0.0	0	-	68.18±1.49[a]

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 ปริมาณ Total Plate Count และ Yeast และ Mold

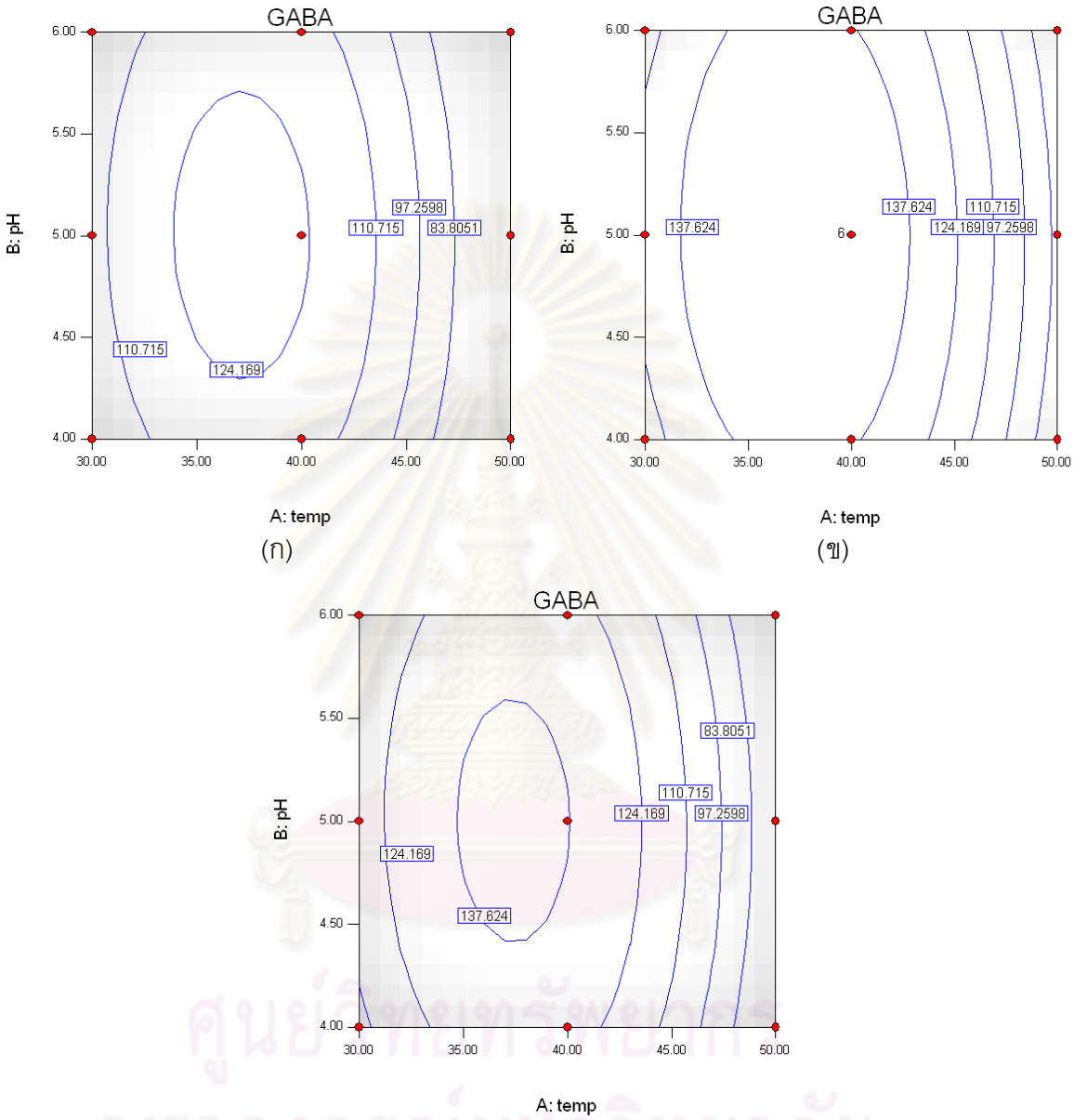
ปริมาณเชื้อ Total Plate Count จากในข้าวกล้องเพาะงอกปทุมธานี 1 และ ข้าวกล้องเพาะงอก กข. 6 ที่ผ่านการเพาะงอกด้วยสภาวะที่เลือก (อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส, pH 5, ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 15 mM) เท่ากับ 6.0±23.81 x 10^6 และ 1.41±2.18 x10^6 CFU/g ตามลำดับ ในขณะที่ Yeast และ Mold เท่ากับ 97.65±9.35 และ 102.38±12.77 CFU/g ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Komatsuzaki (2005) ที่ทำการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยวิธีแช่ในน้ำ3 ชั่วโมงและบ่มในภาชนะปิด อีก 21 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณเชื้อ Total Plate Count เพิ่มจาก 4.23 log CFU/g เป็น 8.27 log CFU/g เนื่องจากสภาวะที่ใช้ในการเพาะงอกเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเช่นเดียวกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



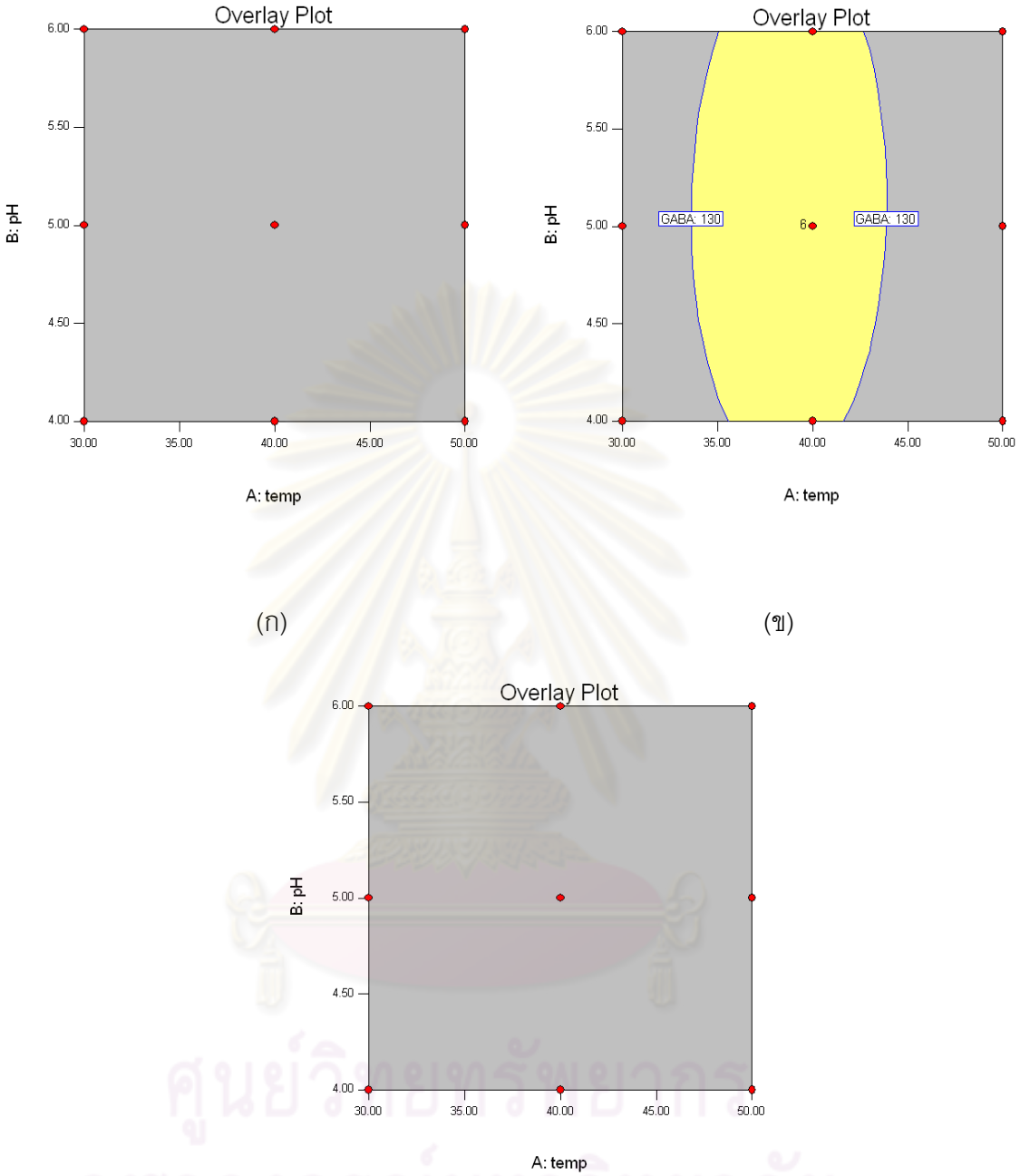
ภาพที่ 4.2 Contour plot ของปริมาณสารกาบาของข้าวปทุมธานี 1 (ก) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 5mM (ข) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก15mM (ค) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 25mM

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



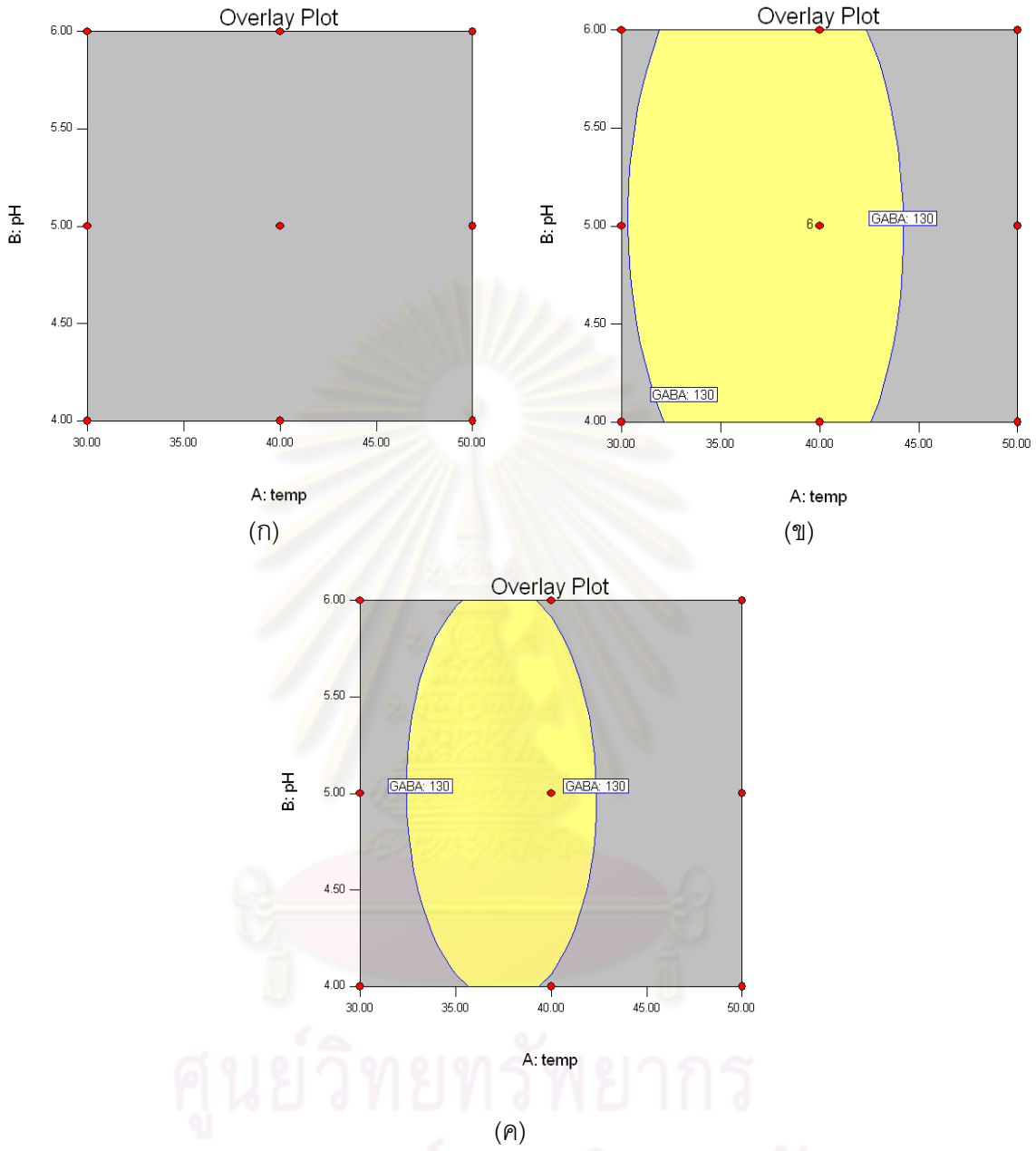
ภาพที่ 4.3 Contour plot ของปริมาณสารกาบาของข้าว กข. 6 (ก) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 5mM (ข) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก15mM (ค) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 25mM

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.4 Overlay plot ของปริมาณสารกาบาของข้าว ปทุมธานี 1 (ก) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 5mM (ข) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก15mM (ค) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 25mM

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.5 Overlay plot ของปริมาณสารกาบาของข้าว กข. 6 (ก) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 5mM (ข) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก15mM (ค) ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 25mM

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ข้าวปทุมธานี 1 และข้าวเหนียว กข. 6 มีอัตราการงอกเท่ากับ 96.25 และ 99.5 มีปริมาณความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 11.68 % และ 12.10% และปริมาณสารกาบาเริ่มต้นอยู่ที่ 2.87±0.75 และ 5.83±1.72 mg/100 g น้ำหนักข้าวแห้งตามลำดับ

ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่สามารถนำมาใช้เพาะงอกข้าวกล้องโดยที่ไม่มีผลต่ออัตราการงอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และลักษณะปรากฏของข้าวกล้องงอก คือ ช่วง 5 – 30 mM ซึ่งงานวิจัยนี้เลือกใช้ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก 3 ระดับ คือ 5, 15 และ 25 mM ตามลักษณะการงอกของรากของข้าวกล้อง

จาก Response Surface Method พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกข้าวกล้องด้วยการเติมกรดกลูตามิก ของข้าวปทุมธานี 1 และข้าว กข. 6 คือ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่ 15 mM อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอก 40 องศาเซลเซียสและ pH 5 โดยข้าวกล้องเพาะงอกที่ได้มีลักษณะปรากฏไม่แตกต่างจากข้าวกล้องเพาะงอกที่เพาะด้วยน้ำเปล่า ปริมาณสารกาบาที่ได้จากข้าวปทุมธานี 1 และข้าว กข. 6 ที่เพาะงอกด้วยสภาวะนี้คือ 155.14±8.01 และ 154.34±30.63 mg/100g ตามลำดับ จากการศึกษาปริมาณเชื้อปริมาณเชื้อ Total Plate Count จากในข้าวกล้องเพาะงอกปทุมธานี 1 และ ข้าวกล้องเพาะงอก กข. 6 เท่ากับ 6.78± 0.45 และ 6.15±0.34 log CFU/g ตามลำดับ ในขณะที่ Yeast และ Mold เท่ากับ 97.65±9.35 และ 102.38±12.77 CFU/g

ในงานวิจัยนี้สามารถเพิ่มปริมาณสารกาบาในข้าวกล้องเพาะงอกได้มากกว่าข้าวกล้องเพาะงอกในท้องตลาดในประเทศไทย (ประมาณ10 – 20 mg/100g ข้าวแห้ง) ถึง 7.5 - 15 เท่า ซึ่งสามารถ

นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในอุสาหกรรมอาหาร อาหารเสริม และเครื่องสำอาง หรือใช้ในการปรับให้ข้าวกล้องงอกในแต่ละครั้งการผลิตมีปริมาณสารกาบาคงที่

5.2 **ข้อเสนอแนะ**

- ควรมีการนำสภาวะที่ได้จากการทดลองมาศึกษากระบวนการการเพาะงอก โดยการเปลี่ยนจากกรดกลูตามิกบริสุทธิ เป็น กรดกลูตามิกที่เหลือจากของเหลือใช้ในอุตสาหกรรม เช่น กากของโรงงานอุตสาหกรรมผงชูรส เป็นต้น เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต และเป็นการลดปริมาณทิ้งกากของอุตสาหกรรมผงชูรส

- จากการสังเกตพบว่าข้าวกล้องเพาะงอกที่ได้เมื่อเก็บเป็นระยะเวลานานเกิน 3 เดือนจะเริ่มมีกลิ่นหืน จึงควรเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษา เพื่อติดตามอายุการเก็บและการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารกาบา และการเกิดกลิ่นหืน เพื่อหาวิธีการป้องกันการเกิดกลิ่นหืนของข้าวกล้องเพาะงอกต่อไป

- เนื่องจากในงานวิจัยนี้ข้าวกล้องที่ได้ยังมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สูง จึงควรมีการศึกษาวิธีการลดปริมาณเชื้อในข้าวกล้องเพาะงอกให้ลดลง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

การข้าว,กรม. ข้าวกล้อง:Brown rice. กรุงเทพ:สำนักพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าว กรมการข้าว, ม.ป.ป.

นิดา หงษ์วิวัฒน์. ข้าวกล้อง ข้าวงอก มหัศจรรย์อาหารต้านโรค .พิมพ์ครั้งที่ 2 . สำนักพิมพ์แสงแดด กรุงเทพ:สำนักพิมพ์แสงแดด, 2552.

ประพาส วีระแพทย์. ข้าว. สารานุกรมฉบับเยาวชน เล่มที่ 3 .กรุงเทพ:กรุงเทพ, 2520

สุวิมล กีรติพิบูล. กระบวนการผลิตโมโนโซเดียมกลูตาเมต หนึ่งในวัตถุเจือปนอาหาร.บรรหาร ก่ออนันตกูล และ ปรียา ลีฬหกุล, โมโนโซเดียมกลูตาเมต, หน้า 2-3. กรุงเทพ: เอราวัณการพิมพ์, 2549.

อัมมาร์ สยามวาลา และวิโรจน์ ณ ระนอง. ประมวลความรู้เรื่องข้าว. สถาวันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศไทย. 2553.

อรอนงค์ นัยวิกุล. ข้าว:วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2547.

ภาษาอังกฤษ

Akama, K., Akihiro, T., Kitagawa, M., and Takaiwa, F. 2001. Rice (*Oryza sativa*) contains a novel isoform of glutamate decarboxylase that lacks an authentic calmodulin-binding domain at the C-terminus. Biochimica et Biophysica Acta, *1522*, 14.

Anthoni Raj, S., and Singaravadivel, K. 1980. Influence of soaking and steaming on the loss of simpler constituents in paddy. Journal Food Science Technology *17*: 141-143.

Arazi, T. 1995. Molecular and biochemical analysis of calmodulin interactions with the calmodulin-binding domain of plant glutamate decarboxylase. Plant Physiol. 108 : 551–561.

Augustin, H., Grosjean, Y., Chen, K., Sheng, Q., and Featherstone, DE. 2007. Nonvesicular release of glutamate by glial xCT transporters suppresses glutamate receptor clustering in vivo. Journal of Neuroscience 27: 111–123.

Baum, G. 1993. A plant glutamate decarboxylase containing a calmodulin-binding domain. Journal Biol. Chem. 268: 19610–19617.

Best, B. 1990. Brain neurotransmitters. [online]. Available From Website: http://www.benbest.com/science/anatmind/anatmd10.html [2009,October]

Bhattacharya, K.R. 1985. Parboiling of rice. In B.O. Juliano (Ed.), *Rice:* Chemistry and Technology pp. 289-348. St. Paul: AACC International

Binzel, M.L. 1987. Solute accumulation in tobacco cells adapted to NaCl. Plant Physiol. 84 : 1408–1415.

Bown, A.W., and Shelp, B.J. 1989, The metabolism and physiological roles of 4-aminobutyric acid. Biochem (Life Sci. Adv.) 8: 21–25.

Bown, A.W., and Shelp, B.J. 1997. The metabolism and functions of γ-aminobutyric acid. Plant Physiol. 115: 1–5.

Cholewa, E. 1997. Cold shock-stimulated γ-aminobutyric acid synthesis is mediated by an increase in cystolic Ca2+ , not by an increase in cytosolic H+ . Can. Journal Botany. 75: 375–382.

Chung, I. Bown A.W. and Shelp, B.J.1992. The production and efflux of 4-aminobutyrate in isolated mesophyll cells. Plant Physiol. 99: 659–664.

Deewatthanawong, R. 2006. Possible roles of gamma aminobutyric acid. [online]. Available From :http://www.oeade.org/scholars/thesis_abstracts/agriculture/plonearticle.2006-07-18.5302346848 [2009,October]

Fougère, F., Le Rudulier, D., and Streeter, J.G. 1991 Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (Medicago sativa L.). Plant Physiol. 96: 1228–1236.

Gallego, P.P. 1995. A role for glutamate decarboxylase during tomato ripening: the characteristics of a cDNA encoding a putative glutamate decarboxylase with a

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

calmodulin-binding site. Plant Mol. Biol. 27: 1143–1151.

Handa S., 1983. Solutes contributing to osmotic adjustment in cultured plant cells adapted to water stress. Plant Physiol. 73 : 834–843.

ISTA (International Seed Testing Association). International rules for seed testing. Zurich : Switerzerland,2003

Ito, S. and Ishikawa, Y. 2004. Marketing of value-added rice products in Japan: Germinated brown rice and rice bread. In Proceedings of the FAO rice conference 2004: Rice in global markets (pp. 62-68).

Jeffery, E., and Stanlay, M. 1995. Bacteriological Analytical Manual. 8 Edition. Published and Distributed by AOAC International

Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N., and Kimura, T. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. Journal of Food Engineering *78.* : 556-560.

Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N. and Kimura, T. 2003. Effect of soaking and gaseous phase sprout processing on the GABA content of pre-germinated brown rice. [online]. Available From: www.asabe.org [2009,October]

Limure, T., Kihara, M., Hirota, N., Zhou, T., Hayashi, K., and Ito, K. 2009. A method for production of gamma-amino butyric acid (GABA) using barley bran supplemented with glutamate. Food research International *42* : 319-323.

Lindroth, P., and Mopper, K. 1979. High performance liquid chromatographic determination of supicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivertization with o-pthaldialdehyde. Analytical Chemistrry,51(11):1667-1674

Medicor Labs Corporation. 2007. *GABA.* [online]. Available From: http://www.theclarocetstore.com/ingredients/GABA.php [2009,October]

Messer, W.S. 2000. MBC 3320 GABA systems. [online]. Available From http://www.neurosci.pharm.utoledo.edu/MBC 3320/GABA.htm [2009,October]

Oh, S. 2002. Stimulatiom of gamma aminobutyric acid Synthesis Activity in Brown Rice by a Chitosan/Glutamic acid Germination Solution and Calcium/Calmodulin. Journal of Biochemistry and Molecular Biology. : 319-325.

Ohtsubo, K., Suzuki, K., Yasui, Y. and Kasumi, T. 2005. Bio-functional components in the processed pre-germinated brown rice by a twin-screw extruder. Journal of Food Composition and Analysis *18*: 303-316.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Park, K., and Oh, S. 2007. Production of yogurt with enhanced levels of gamma–aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. Bioresource Technology98 : 1675-1679.

Pérez-Alfocea ,F. 1994. NaCl stress-induced organic solute changes on leaves and calli of Lycopersicon esculentum, L. pennelli and their interspecific hybrid. Journal Plant Physiol. 143, pp. 106–111.

Reggiani, R. 1988. Accumulation and interconversion of amino acids in rice roots under anoxia. Plant Cell Physiol. 29: pp. 981–987.

Renton, A .2005. If MSG bad for you why doesn't everyone in Asia have a headache?. [online]. Available From: http://observer.guardian.co.uk/foodmonthly/story/0,,1522368,00.html [2009,October]

Rhodes, D., Handa, S., and R.A. Bressan, 1986. Metabolic changes associated with adaptation of plant cells to water stress. Plant Physiol. 82: 890–903.

Roth, R.J., Cooper, J.R. and Bloom, F.E. 2003. The biochemical basis of neuropharmacology. Oxford: Oxford University Press. Cited in Wikipedia. 2007. *Gamma-aminobutyric acid*. [online]. Available From: http://en.wikip [2009,October]

Satyanarayan, V. and Nair, P.M. 1990. Metabolism, enzymology and possible roles of 4-

aminobutyrate in higher plants. Phytochemistry 29: 367–375.

Serraj, R., Shelp, B.J. and Sinclair, T.R. 1998. Accumulation of γ-aminobutyric acid in nodulated soybean in response to drought stress. Physiol. Plant. 102 (1998), pp. 79–86.

Shelp, B.J. 1995. GABA shunt in developing soybean seeds is associated with hypoxia. Physiol. Plant. 94 : 219–228.

Shelp, B.J., Bown, A.W., and McLean, M.D. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. Trends Plant Sci. *4* : 446.

Snedden, W.A. 1995. Calcium/calmodulin activation of soybean glutamate decarboxylase. Plant Physiol. 108: pp. 543–549.

Snedden, W.A. 1996. Activation of a recombinant petunia glutamate decarboxylase by calcium/calmodulin or by a monoclonal antibody which recognizes the calmodulin-binding domain. Journal Biol. Chem. 271: pp. 4148–4153.

The Winds of Change. 2000. Alternative treatments III – Nutritional approaches. [online]. Available From: http://www.thewindsofchange.org/altern2.html [2009 ,October]

Tsukahara, K. 2004. Sprouted brown rice. [online]. Available From : http://www.hatsuga.com/DOMER/english/index.html [2009,October]

Tsukatani, T., Higuchi, T., and Matsumoto, K. 2005. Enzyme-based microtiter plate assay for gamma-aminobutyric acid: Application to the screening of gamma-aminobutyric acid-producing lactic acid bacteria. Analytica Chimica Acta *540*: 293-297.

Tuin L. G., and Shelp, B.J. 1994. In situ [14C]glutamate metabolism by developing soybean cotyledons. I. Metabolic routes. J. Plant Physiol. 143 : 1–7.

Turano, F.J., and Fang, T.K. 1998 Characterization of two glutamate decarboxylase cDNA clones from Arabidopsis. Plant Physiol. 117: 1411–1421.

Wallace, W., Secor, J. and Schrader, L. 1984 Rapid accumulation of **γ**-aminobutyric acid and alanine in soybean leaves in response to an abrupt transfer to lower temperature, darkness, or mechanical manipulation. Plant Physiol. 75 : 170–175.

Yoshida, S. 1981. Seed and germination. Fundamental of rice crop science. Los Banos, Philipines. International Rice Research Institute (IRRI)

Yu, S.J. and Oh, S-H. 1998. Cloning and characterization of a tobacco cDNA encoding calcium/calmodulin-dependent glutamate decarboxylase. Mol. Cell 8: . 125–129.

Zhang, Xi., Baker, DA., Shen, H., Carson, DS., and Kalivas, PW . 2002. Group II metabotropic glutamate receptors modulate extracellular glutamate in the nucleus

accumbens. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 300 : 162–171.

Zik, M. 1998. Two isoforms of glutamate decarboxylase in Arabidopsis are regulated by calcium/calmodulin and differ in organ distribution. Plant Mol. Biol. 37: 967–975.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

ก 1 การวิเคราะห์อัตราการงอก (ISTA, 2003)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. กระดาษกรอง
2. จานเพาะเชื้อ
3. น้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

1. สุ่มข้าว 100 เมล็ดวางบนจานเพาะเชื้อที่มีกระดากรองรองอยู่
2. เติมน้ำจนกระดาษกรองเปียกทั่วทั้งแผ่น
3. ปิดฝาจานเพาะเชื้อ
4. บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง
5. นับจำนวนข้าวที่งอก เพาะงอก 4 ซ้ำ
6. หาค่าเฉลี่ยอัตราการงอกจากการเพาะงอกทั้ง 4 ซ้ำ
7. ค่าเฉลี่ยที่ได้ไปหาค่าช่วงการยอมรับจากตารางของ ISTA

ตัวอย่างการหาช่วงการยอมรับ

อัตราการงอกของข้าวตัวอย่างทั้ง 4 ซ้ำ คือ 96, 95, 97 และ 96 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยคือ 96

ค่าพิสัย = ค่าอัตราการงอกที่มากที่สุด – ค่าอัตราการงอกที่น้อยที่สุด = 97 - 95 = 2

จากตารางช่วงการยอมรับของ ISTA ค่าพิสัยของค่าเฉลี่ยที่ 96 ต้องมีค่าไม่เกิน 8

ดังนั้นอัตราการงอกของข้าวชุดนี้อยู่ในช่วงการยอมรับของ ISTA

ก 2 วิธีการเพาะงอก (ดัดแปลงKomatsuzaki และ คณะ, 2007)

วิธีทดลอง

1. ล้างข้าวกล้อง 2 ครั้งด้วยน้ำประปา
2. แช่ข้าวในน้ำอัตราส่วน 1:1 w/v ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
3. เทน้ำทิ้งบ่มต่อในภาชนะปิดที่อุณหภูมิเดิมอีก 21 ชั่วโมง
4. อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 – 60 องศาเซลเซียส จนข้าวมีความชื้นประมาณ 12%
5. บรรจุในถุงพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา

ก 3 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา

สารเคมี

1. เอทานอล 99.5%
2. o – phthaldialdehyde (OPT)
3. 2 – mercaptoethanol
4. 0.4M borate buffer pH 9.5
5. 0.1 M phosphate buffer
6. 0.1 M sodium citrate
7. Methanol 99.5%
8. สารกาบามาตรฐาน (Fluka Analytical,China)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก 3.1 ขั้นตอนการสกัดสารกาบา (ดัดแปลงKomatsuzaki และ คณะ, 2007)

1. บดข้าวตัวอย่าง 50 g ให้ละเอียดด้วยเครื่อง cyclone mill (Udy Corporation, Germany)
2. ชั่งตัวอย่างข้าวที่บดแล้ว 5 g ใน centrifuge tube ขนาด 50 ml เติม เอทานอล 80% 25 ml เขย่าเป็นเวลา 2 นาที
3. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ส่วนใสเก็บใส่ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 ml สกัดซ้ำอีกครั้ง ด้วยเอทานอล 80% 20 ml
4. รวมส่วนใสทั้ง 2 ส่วน ในขวดปรับปริมาตร 50 ml ปรับปริมาตรด้วย เอทานอล 80%
5. กรองสารละลายตัวอย่างที่สกัดแล้วด้วย 0.45 ไมครอน micro syringe filter
6. เก็บสารละลายที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอการตรวจปริมาณ GABA ด้วย HPLC

ก 3.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณสารกาบาด้วย วิธี HPLC (ดัดแปลงจาก Lindroth และ Mopper, 1979)

สาร darivatize

1. ผสมเอทานอล 99.5%1 ml กับ o – phthaldialdehyde o.054g และ 2 – mercaptoethanol 40 µl ในขวดปรับปริมาตร 10 ml
2. ปรับปริมาตรด้วย 0.4M borate buffer pH 9.5
3. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนการใช้งาน

Mobile phase

1. เตรียม Mobile phase A โดย ผสม 0.1 M phosphate buffer : 0.1 M sodium citrate ในอัตราส่วน 4:1 pH 6.8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ใช้ Methanol 99.5% เป็นMobile phase B

วิเคราะห์ปริมาณสารกาบาด้วยเครื่อง HPLC

1. สารละลายตัวอย่าง 20 µl ผสมกับสาร darivatize 100 µl ทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยากัน 2 นาที
2. ฉีดสารผสมเข้าเครื่อง HPLC (Varian, Inc. Scientific Instrument, CA, U.S.A) โดยใช้ Prevaill C_{18} คอลัมน์ (250x4.6µm. 5µm, Alltech, U.S.A) 10 µl ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการแยกสารกาบาเป็นดังนี้

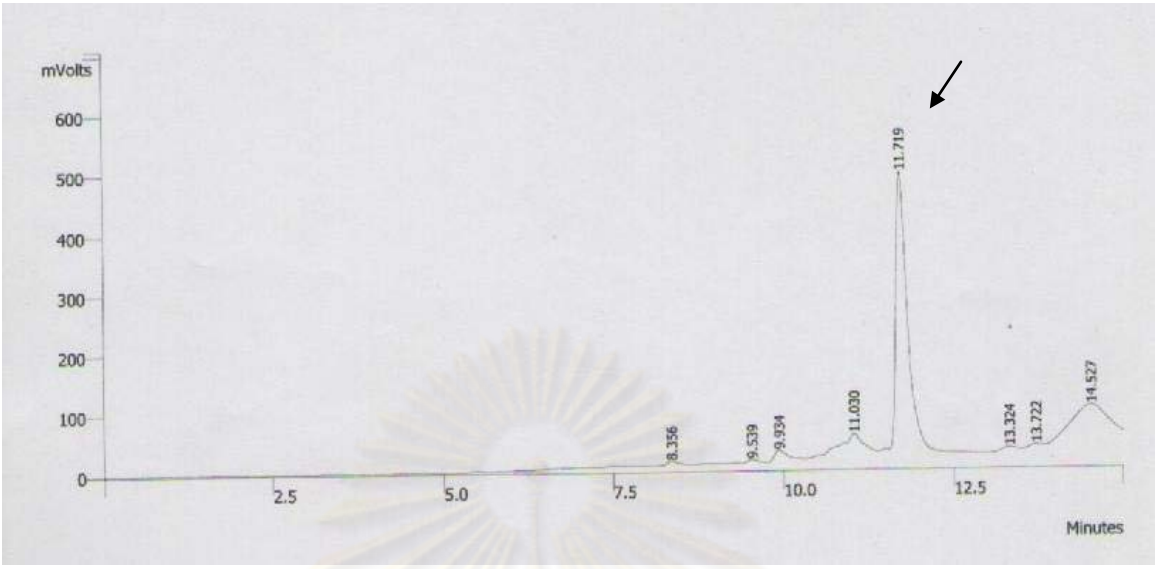
   อุณหภูมิ คอลัมน์ = 40 องศาเซลเซียส

   0 นาที mobile phase A: mobile phase B เป็น 80:20

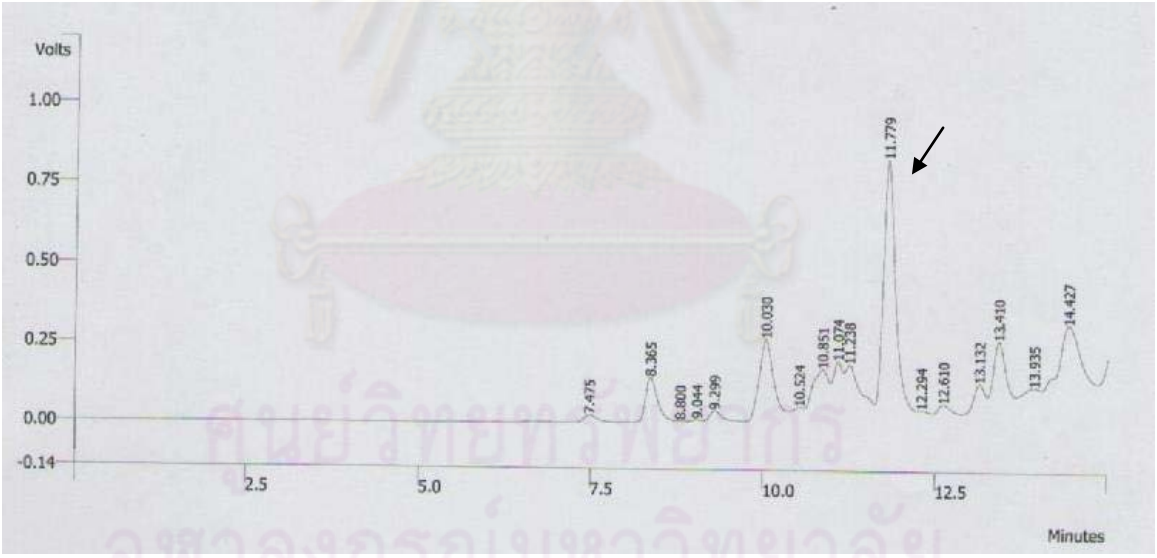
   10-20 นาที mobile phase A: mobile phase B เป็น 80:20

   Flow rate = 1ml/นาที
3. วิเคราะห์ปริมาณสารกาบาที่ได้โดยนำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้ไปเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของ สารกาบามาตรฐาน (Fluka Analytical,China)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ ก 1 Chromatogram ของ สารกาบาบริสุทธิ์



ภาพที่ ก 2 Chromatogram ของ สารกาบา ในข้าวกล้องเพาะงอก

ก 4 วิธีตรวจเชื้อ TPC และ Yeast & Mold (3M™ Petrifilm™ Plate methods)

สารเคมี

1. สารละลายน้ำเหลือ 0.85%

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างข้าว 25 g ในถุง stomacher เติม สารละลายน้ำเหลือ 0.85% 225 ml ตีปั่นเป็นเวลา 1 นาที
2. ทำ serial dilution
3. ดูดสารละลาย1 ml ของแต่ละความเข้มข้นลงใส่ใน 3M Petrifilm Aerobic Count Plate และ 3M Petrifilm Yeast & Mold
4. สำหรับ3M Petrifilm Aerobic Count Plate บ่มที่อุณหภูมิ37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับและรายงานผลเป็น log cfu/g
5. สำหรับ 3M Petrifilm Yeast & Mold บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-5 วัน นับจำนวนเชื้อและรายงานผลเป็น cfu/g

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ ข 1 ความแปรปรวน ANOVAจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของอัตราการงอกของข้าวกล้องปทุมธานี 1เมื่อแปรความ เข้มข้นของกรดกลูตามิก ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Souce	SS	df	MS	F	Sig.
Model	1115.433	14	79.674	59.018	.000
Intercept	523226.817	1	523226.817	387575.42	.000
Concentration	1115.433	14	79.647	59.018	.000
Error	60.750	45	1.350		
Total	524403.000	60			
Cor. Total	1176.183	59			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข 2 ความแปรปรวน ANOVAจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของอัตราการงอกของข้าวกล้อง กข. 6 เมื่อแปรความ เข้มข้นของกรดกลูตามิก ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Souce	SS	Df	MS	F	Sig.
Model	385.233	14	27.517	38.100	.000
Intercept	565316.267	1	565316.267	782745.60	.000
Concentration	385.233	14	27.517	38.100	.000
Error	32.500	45	0.722		
Total	565734.00	60			
Cor. Total	417.733	59			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข 3 ความแปรปรวน ANOVA จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณสารกาบาในข้าวปทุมธานี 1 เมื่อ แปรอุณหภูมิ (A), pH (B) และ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก (C) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Souce	SS	df	MS	F	Sig.
Model	48201.07	9	5355.67	39.01	<0.0001
A	3822.00	1	3822.00	27.84	<0.0001
B	53.08	1	53.08	0.39	0.5405
C	21.34	1	21.34	0.16	0.6972
A^2	23768.70	1	23768.70	173.12	<0.0001
B^2	499.32	1	499.32	3.64	0.0697
C^2	7096.68	1	7096.68	51.69	<0.0001
AB	32.24	1	32.24	0.23	0.6328
AC	49.90	1	49.90	0.36	0.5528
BC	95.37	1	95.37	0.69	0.4135
Residual	3020.56	22	137.30		
Lac of Fit	3020.56	17	177.68		
Error	0.00	5	0.00		
Cor. Total	51221.63	31			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข 4 ความแปรปรวน ANOVA จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณสารกาบาในข้าว กข.. 6 เมื่อ แปรอุณหภูมิ (A), pH (B) และ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก (C) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Souce	SS	df	MS	F	Sig.
Model	33169.85	9	3688.54	47.59	<0.0001
A	10155.03	1	10155.03	131.03	<0.0001
B	0.80	1	0.80	0.010	0.9201
C	720.10	1	720.10	9.29	0.0059
A^2	13465.19	1	13465.19	173.74	<0.0001
B^2	606.34	1	606.34	7.82	0.0105
C^2	1901.41	1	1901.41	24.53	<0.0001
AB	10.91	1	10.91	0.14	0.7112
AC	13.89	1	13.89	0.18	0.6762
BC	6.533E-03	1	6.533E-03	8430E-05	0.9928
Residual	1705.04	22	77.50		
Lac of Fit	1705.04	17	100.30	6.018E+06	<0.0001
Error	8.333E-05	5	1.667E-0.05		
Cor. Total	34901.89	31			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอธิป บุญศิริวิทย์ เกิดเมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม พ.ศ. 2529 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2551 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2552

การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

อธิป บุญศิริวิทย์, สุวิมล กีรติพิบูล และ สมบูรณ์ ฐิตินันท์สมบูรณ์. 2554. ผลของการแช่ข้าวกล้องในสารละลายกรดกลูตามิกต่ออัตราการงอกและปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก(กาบา) ในข้าวกล้องเพาะงอก ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ วิศวกรรม และการจัดการสิ่งแวดล้อม ครั้งที่ 3 (ภาคบรรยาย). วันที่ 14 – 15 มีนาคม 2554 ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย