

**ผลของการงอกต่อปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส กรดไฟติกและ
กรดแกมมา-แอมิโนบิวทิริก (กาบา) ของข้าวไทยพันธุ์กข 41**
**Effect of Germination on Inorganic Phosphorous, Phytic Acid and
Gamma-aminobutyric Acid (GABA) Contents of RD41 Thai Rice**

ธิดา อมร

Tida Amon

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

วันที่ส่ง : 26 เมษายน 2559 วันที่แก้ไข : 21 กรกฎาคม 2559 วันที่ตอบรับ : 22 ธันวาคม 2559

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณของอนินทรีย์ฟอสฟอรัส กรดไฟติก และกรดแกมมา-แอมิโนบิวทิริก (กาบา) ของข้าวไทยพันธุ์กข 41 ในระหว่างการงอกที่ระยะเวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 และ 40 ชั่วโมงพบว่าข้าวที่เพาะงอกเป็นระยะเวลา 28, 32 และ 36 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไฟติก ลดลงและปริมาณของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกในเมล็ดเดี่ยวพบว่าในระยะเวลา 36 ชั่วโมงให้ผลระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงและระดับกรดไฟติกต่ำ ดังนั้นผลการวิเคราะห์อนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณให้ผลสอดคล้องกัน สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณกาบาในข้าวกข 41 ที่เพาะงอกในระยะเวลา 0-12 ชั่วโมงพบว่าให้ปริมาณกาบาต่ำ และมีปริมาณเพิ่มขึ้นที่ระยะเวลา 16 ชั่วโมง จากผลการวิจัยพบว่าปริมาณกาบาสูงที่สุดในการเพาะงอกที่ระยะเวลา 28 ชั่วโมงโดยมีปริมาณเท่ากับ 15.93 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกาบาและกรดไฟติกของข้าวพันธุ์กข 41 ในระหว่างการงอกที่ระยะเวลา 28 ชั่วโมงให้ผลปริมาณกาบาสูง และกรดไฟติกต่ำ

คำสำคัญ : กรดไฟติกกรดแกมมา-แอมิโนบิวทิริกกาบาอนินทรีย์ฟอสฟอรัส

Abstract

The purpose of this research was to study the effect of germination on inorganic phosphorous, phytic acid and gamma-aminobutyric acid (GABA) contents of RD 41 Thai rice. The rice seeds were allowed to germinate for 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 and 40 hours. Inorganic phosphorous increased during germination at 28, 32, 36 hours while phytic acid decreased. These findings correlated with high inorganic phosphorous and low phytic acid levels of single seed germination at 36 hours. Therefore, the qualitative and

*ที่อยู่ติดต่อ. E-mail address : tidaamon@hotmail.com

quantitative analyses of inorganic phosphorous and phytic acid contents were consistent. During germination, GABA content of germinated RD 41 seeds was low at 0-12 hours, started to increase at 16 hours and reached its highest level at 28 hours. GABA content observed in this study was between 15.93 mg/100 g. The relation of GABA and phytic acid contents in this research showed that germinated seed of RD 41 for 28 hours resulted in increase in GABA and decrease in phytic acid contents.

Keywords: phytic acid, gamma-aminobutyric acid, GABA, inorganic phosphorous

1. บทนำ

เมล็ดธัญพืชหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด ถั่ว มีกรดไฟติก (phytic acid) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า ไมโอ-อินซิทอล (1,2,3,4,5,6) เฮกซะคิสฟอสเฟต (myo-Inositol (1,2,3,4,5,6) hexakisphosphate; InsP6) เป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 1 ถึง 2 โดยน้ำหนักของเมล็ด [1] กรดไฟติกเป็นสารประกอบที่สะสมฟอสฟอรัสในเมล็ดธัญพืชจัดเป็นสารคีเลเตอร์ (chelator) ที่แรง เนื่องจากโครงสร้างประกอบด้วย ไมโออินซิทอลที่มีหมู่ฟอสเฟตจับกันถึง 6 หมู่ หมู่ฟอสเฟตมีประจุเป็นลบจึงสามารถจับกับธาตุที่มีประจุบวกอยู่ในรูปเกลือเชิงซ้อนขนาดใหญ่ในรูปไฟเทต (phytate) ทำให้ดูดซึมได้ยากในระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal tract) จึงเป็นตัวการหนึ่งที่ทำให้การดูดซึมธาตุอาหารลดลง [2] ในอาหารที่มีกรดไฟติกสูงพบว่ามีผลทำให้การดูดซึมของธาตุสังกะสี เหล็ก และแคลเซียมในลำไส้ลดลง [3] มีหลายรายงานวิจัยได้พยายามลดกรดไฟติกในเมล็ดโดยการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ตัวอย่างเช่นในข้าวโพด (*Zea mays* L.) ข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare* L.) และข้าว (*Oryza sativa*) พบว่าเมื่อคัดแยกกลุ่มกลายพันธุ์ที่ให้ปริมาณกรดไฟติกต่ำ (low phytic acid, lpa) ให้ผลเป็น 2 ลักษณะที่ปรากฏ (phenotypic) คือ กลุ่ม lpa1 จะมีปริมาณกรดไฟติกลดลงร้อยละ 50 ถึง 95 และมีการเพิ่มของอนินทรีย์ฟอสเฟต และกลุ่ม lpa2 จะมีปริมาณกรดไฟติกลดลงร้อยละ 50 ถึง 75 และมีการเพิ่มทั้งอนินทรีย์ฟอสเฟตและไมโอ-อินซิทอล ฟอสเฟตที่ประกอบด้วยหมู่ฟอสเฟต 5 หมู่ หรือต่ำกว่า 5 หมู่ โดยที่กลุ่มเมล็ดที่กลายพันธุ์ทั้ง 2 กลุ่ม (lpa-1 และ lpa-2) ยังคงมีผลรวมของไมโอ-อินซิทอลฟอสเฟต กรดไฟติกและอนินทรีย์ฟอสเฟตคงที่ใกล้เคียงกับเมล็ดปกติ [4] การศึกษาปริมาณกรดไฟติกในระหว่างการงอกของเมล็ดพบว่ากรดไฟติกถูกสลายโดย เอนไซม์ไฟเทส (phytase) ได้เป็นไมโอ-อินซิทอลหมู่ฟอสเฟต และธาตุอาหารที่ใช้ในการเจริญระหว่างเป็นต้นอ่อน [5] มีรายงานวิจัยศึกษาเอนไซม์ไฟเทสในพืชหลายชนิดพบว่าเอนไซม์ไฟเทสจัดอยู่ในกลุ่ม ฟอสฟาเทส (phosphatase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสลายหมู่ฟอสเฟตจากกรดไฟติกเป็นลำดับขั้นได้เป็นออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate) ไมโอ-อินซิทอลฟอสเฟตที่มีหมู่ฟอสเฟตลดลง เช่น ไมโอ-อินซิทอลเพนตะคิสฟอสเฟต (myo-inositol pentakisphosphate) ไมโอ-อินซิทอลเทตระคิสฟอสเฟต (myo-inositol tetrakisphosphate) ไมโอ-อินซิทอลทริสฟอสเฟต (myo-inositol trisphosphate) ไมโอ-อินซิทอลบิสฟอสเฟต (myo-inositol bisphosphate) ไมโอ-อินซิทอลมอนอฟอสเฟต (myo-inositol monophosphate) และสลายต่อจนเหลือเป็นไมโอ-อินซิทอล [6] ดังนั้นในระหว่างการงอกของเมล็ดมีผลให้กิจกรรม (activity) ของเอนไซม์ไฟเทสสูง จึงเกิดการสลายกรดไฟติกทำให้ปริมาณกรดไฟติกลดลงและมีปริมาณหมู่ฟอสเฟตสูงขึ้น

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยพบว่าในระหว่างการงอกของเมล็ดพืชหลายชนิดพบกรดแกมมา-แอมิโนบิวทีริก (gamma-amino butyric acid) หรือเรียกว่า กาบา (GABA) โดยเกิดจากกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ของกรดกลูตามิกซึ่งเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลส (glutamate decarboxylase) กาบามีบทบาทสำคัญโดยเป็นตัวนำสัญญาณประสาท (neurotransmission) และรักษาสสมดุลในสมอง [7] Patil และ Khan ได้รายงานประโยชน์ของกาบาว่าช่วยส่งเสริมการลดไขมันโดยไปกระตุ้นการผลิตโกรทฮอร์โมน (growth hormone) ในมนุษย์ ทำให้ผ่อนคลายช่วยบรรเทาอาการนอนไม่หลับทำให้นอนหลับได้ดีขึ้น ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ลดความดันโลหิต ยับยั้งการก่อตัวของเซลล์มะเร็ง ป้องกันโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และโรคที่เกิดจากความผิดปกติอื่น ๆ ที่เกี่ยวกับสมอง เช่น โรคสมองเสื่อมความจำเสื่อม [8] ในปัจจุบันการผลิตข้าวกล้องงอก (germinated brown rice) เป็นที่นิยมเนื่องจากเป็นอาหารที่มีคุณภาพและให้คุณค่าทางโภชนาการสูงมีหลายงานวิจัยพบว่าผลการงอกของเมล็ดข้าวชักนำให้เกิดการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) หลายชนิด ตัวอย่างเช่นกาบา โดยพบว่าข้าวกล้องที่ผ่านการแช่และทำให้งอกจะมีปริมาณของกาบาสูงขึ้นในระหว่างการงอก [9] ดังนั้นการผลิตผลิตภัณฑ์ข้าวที่มีปริมาณกาบาสูงจะเป็นการส่งเสริมสุขภาพให้ดีขึ้น

เนื่องจากข้าวเป็นอาหารหลักที่สำคัญในชีวิตประจำวันของประชากรในหลายประเทศ ดังนั้นการผลิตข้าวให้มีคุณค่าทางโภชนาการและมีสารที่มีประโยชน์สูงจึงเป็นสิ่งที่ทำให้สุขภาพของผู้บริโภคดีขึ้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จึงนำตัวอย่างข้าวพันธุ์กข 41 ที่ได้จากเกษตรกรจังหวัดสุพรรณบุรี มาเพาะงอกที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันและวิเคราะห์หาปริมาณกรดไฟติกและอนินทรีย์ฟอสฟอรัสทั้งเชิงคุณภาพในระดับเมล็ดเดี่ยวและเชิงปริมาณพร้อมทั้งหาปริมาณกาบาในข้าวตัวอย่างที่เพาะงอกในระยะเวลาต่าง ๆ เพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมของข้าวที่เพาะงอกที่มีระดับของปริมาณกรดไฟติกลดลงและมีปริมาณของกาบาเพิ่มขึ้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวของเกษตรกรที่อยู่ตามชนบทต่อไป

2. วิธีทดลอง

2.1 การทดสอบการมีชีวิตโดยวิธีการทดสอบด้วยเตตระโซเลียม (tetrazolium test)

ตัวอย่างเมล็ดข้าวที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ได้แก่ ข้าวพันธุ์กข 41 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี ในการศึกษาการมีชีวิตของเมล็ดด้วยวิธีการทดสอบด้วยเตตระโซเลียม (tetrazolium testing) ทำโดยนำเมล็ดข้าวตัวอย่างมาแกะเปลือกแล้วแช่น้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6, 12, 16, 20, 24 และ 28 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นนำมาผ่าเมล็ดตามแนวยาวแล้วไปแช่ในสารละลายเกลือเตตระโซเลียม (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride : $C_{19}H_{15}N_4Cl$) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สังเกตสีของเมล็ดข้าว ถ้าติดสีแดงแสดงว่ากลุ่มเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจ (respiratory enzymes) สามารถทำงานได้ เปรียบเทียบร้อยละของการติดสีแดงของเมล็ดข้าวที่แช่ในชั่วโมงต่าง ๆ โดยเมล็ดที่ติดสีแดงถือว่าเป็นเมล็ดที่มีชีวิต

2.2 การวิเคราะห์ระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัส และกรดไฟติกในข้าวเมล็ดเดี่ยว

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างเมล็ดข้าว

เตรียมตัวอย่างเมล็ดข้าวโดยนำมาล้างให้สะอาดแล้วนำไปแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเพาะงอกที่ระยะเวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44 และ 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำ

เมล็ดข้าวที่เพาะงอกในระยะเวลาต่าง ๆ ไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงกะเทาะเปลือกออกและชั่งน้ำหนักของเมล็ดข้าวแต่ละเมล็ดโดยมีน้ำหนักแต่ละเมล็ดประมาณ 15 – 20 มิลลิกรัมใส่ลงในไมโครเพลท 96 หลุม ทำเป็น 2 ชุดในการวิเคราะห์หาระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกของเมล็ดข้าวตัวอย่างที่เพาะงอกที่ชั่วโมงต่าง ๆ

2.2.2 การวิเคราะห์ระดับของอนินทรีย์ฟอสฟอรัส(เชิงคุณภาพ)

การวิเคราะห์ระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสดัดแปลงจากวิธีของ Wilcox และคณะ [10] โดยนำเมล็ดข้าวที่ชั่งน้ำหนักแล้วจากข้อ 2.2.1 มาสกัดด้วยกรดไตรคลอโรแอซิก (trichloroacetic acid : CCl_3COOH) ความเข้มข้นร้อยละ 12.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร : แมกนีเซียมคลอไรด์ (magnesium chloride : MgCl_2) ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์โดยเติมที่ปริมาตรเป็น 10 เท่าของน้ำหนักเมล็ด บดเมล็ดข้าวให้ละเอียดแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดคืน จากนั้นวิเคราะห์ระดับของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสโดยเติมสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide : H_2O_2) ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตรต่อปริมาตรลงในไมโครเพลทหลุมละ 1 ไมโครลิตรดูดสารสกัดเมล็ดข้าวใส่ในแต่ละหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นลงไป 79 ไมโครลิตร รอให้สารละลายใสประมาณ 30 นาที แล้วเติมสารละลายโคโลรีเมทริก รีเอเจนต์ (colorimetric reagent) ที่ประกอบด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid: H_2SO_4) ความเข้มข้น 3 โมลาร์ : สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate: $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร: สารละลายกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid: $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1:1:2 ลงไปปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที สังเกตสีโดยเปรียบเทียบกับสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐาน

เตรียมสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานโดยเตรียมจากสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium hydrogenphosphate : K_2HPO_4) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ แล้วทำการเจือจางสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่ให้ความเข้มข้น 0, 0.15, 0.46, 0.93 และ 1.39 ไมโครกรัมต่อ 100 ไมโครลิตร ตามลำดับและทำการทดลองเหมือนข้างต้นโดยเติมสารละลายโคโลรีเมทริก รีเอเจนต์ลงไป ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที สังเกตสีของสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และนำไปเปรียบเทียบกับสีของสารสกัดเมล็ดข้าวตัวอย่าง โดยถ้าสารสกัดจากเมล็ดข้าวตัวอย่างให้ระดับสีสูงกว่าหรือเท่ากับระดับสีของสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.46 ไมโครกรัมต่อ 100 ไมโครลิตร ถือว่ามีระดับของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสสูง

2.2.3 การวิเคราะห์ระดับของกรดไฟติก (เชิงคุณภาพ)

การวิเคราะห์ระดับกรดไฟติก ดัดแปลงจากวิธีของ Guttieri และคณะ [11] ทำโดยนำเมล็ดข้าวที่ชั่งน้ำหนักแล้วจากข้อ 2.2.1 มาเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid: HCl) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์โดยเติมที่ปริมาตรเป็น 10 เท่าของน้ำหนักเมล็ด บดเมล็ดข้าวให้ละเอียดแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดคืน ดูดสารสกัดเมล็ดข้าวปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ นำไปเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ปริมาตร 400 ไมโครลิตรและเติมสารละลายแอมโมเนียมไอรอน(III) ซัลเฟตโดเดคาไฮเดรต (ammonium iron (III) sulfate dodecahydrate: $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 415 ไมโครโมลาร์ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปวางบนน้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 15 นาที เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที จากนั้นดูดสารตัวอย่างมา 120 ไมโครลิตรใส่ในไมโครเพลท 96 หลุม เติมสารละลายไปไพริดีน (2,2'-bipyridine: $C_{10}H_8N_2$) ลงไปปริมาตร 180 ไมโครลิตร วิเคราะห์ระดับกรดไฟติกของข้าวตัวอย่างที่เพาะงอกที่ระยะเวลาต่าง ๆ โดยเปรียบเทียบกับระดับปริมาณสารละลายกรดไฟติกมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ถ้ามีสีแสดงว่ามีระดับกรดไฟติกต่ำ แต่ถ้ามีสีชมพูจางหรือไม่มีสี แสดงว่ามีระดับกรดไฟติกสูง

2.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส และกรดไฟติกในข้าวเพาะงอกที่ชั่วโมงต่าง ๆ

นำตัวอย่างเมล็ดข้าวมาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะงอกที่ระยะเวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 และ 40 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่เพาะงอกแต่ละช่วงเวลาไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาหะเทาะเปลือกออกและวิเคราะห์ปริมาณของอนินทรีย์ฟอสฟอรัส และกรดไฟติก ในการวิเคราะห์ปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสดัดแปลงจากวิธีของ Joyce และคณะ [12] โดยนำเมล็ดข้าวมาบดและชั่งน้ำหนักประมาณ 250 มิลลิกรัม แล้วสกัดด้วยกรดไทรคลอโรอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 12.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร : แมกนีเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ในปริมาตร 2 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส ตลอดคืน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ดูดส่วนใสมา 500 ไมโครลิตร เติมน้ำลงไป 3.5 มิลลิตร และเติมสารละลายโคโลรีเมทริกหรือเจเนตประกอบด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 3 โมลาร์ : สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร : สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1:1:2 ลงไป 4 มิลลิตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 820 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

วัดปริมาณกรดไฟติกของเมล็ดข้าวที่เพาะงอกที่ระยะเวลาต่าง ๆ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Haug และ Lantzsch [13] นำตัวอย่างเมล็ดข้าวมาบดและชั่งน้ำหนักประมาณ 250 มิลลิกรัม แล้วทำการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสมา 1 มิลลิตร และเติมสารละลายแอมโมเนียมไอร์ออน(III) ซัลเฟตโดเดคะไฮเดรตลงไป 1 มิลลิตร นำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 15 นาที แล้ววางบนน้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที ดูดส่วนใสมา 1 มิลลิตร และเติมสารละลายไปไพริดีนปริมาตร 2 มิลลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับระดับปริมาณสารละลายกรดไฟติกมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณกาบาของข้าวที่บ่มในชั่วโมงต่าง ๆ

วิเคราะห์ปริมาณกาบาของเมล็ดข้าวในระหว่างการงอกดัดแปลงจากวิธีของ Kitaoka และ Nakano [14] และ Karladee และ Suriyong [15] โดยนำเมล็ดข้าวมาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะงอกที่ระยะเวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 และ 40 ชั่วโมง นำข้าวที่ผ่านการเพาะงอกแต่ละช่วงเวลามาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หะเทาะเปลือกออกแล้วนำไปบด

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเมล็ดข้าวประมาณ 800 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล (ethanol: C_2H_5OH) ความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตรต่อปริมาตร นำไปกรองและระเหยเอทานอลออก เติมน้ำกลั่นลงไปปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดของเหลวส่วนบนมาเติมสารละลายบัฟเฟอร์บอเรต (borate buffer) ที่มีความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายฟีนอล (phenol: C_6H_5OH) ความเข้มข้นร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรลงไป 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและวางบนอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที นำไปเติมโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (sodium hypochlorite: $NaOCl$) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยปริมาตรต่อปริมาตรปริมาณ 0.4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันประมาณ 1 นาทีและนำไปวางบนอ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียสประมาณ 5 นาที จากนั้นนำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จุ่มในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 630 นาโนเมตร และเปรียบเทียบปริมาณกาบาของตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐานกาบาที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาความมีชีวิตของเมล็ดข้าวพันธุ์ กข41 โดยนำข้าวมาแช่น้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6, 12, 16, 20, 24, และ 28 ชั่วโมง และศึกษาการมีชีวิตด้วยวิธีการทดสอบด้วยเทระโซเลียม พบว่าส่วนเอมบริโอของข้าวจะติดสีแดงจางจนสีแดงเข้มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการแช่น้ำเนื่องจากน้ำเป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่าง ๆ ภายในเมล็ด การติดสีแดงเกิดจากกลุ่มเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจ (respiratory enzymes) เกิดการเร่งปฏิกิริยาและปลดปล่อยไฮโดรเจน ไอออน (hydrogen ions) ซึ่งไฮโดรเจน ไอออนจะไปรีดิวซ์สารละลายเกลือเตตระโซเลียมได้เป็นสารประกอบฟอร์มาซาน (formazan) ทำให้ย้อมติดสีแดงในเซลล์ที่ยังมีชีวิตถ้าเมล็ดติดสีแดงแสดงว่ากลุ่มเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจสามารถทำงานได้ ดังนั้นข้าวที่แช่น้ำเป็นเวลานานขึ้นจะเกิดการติดสีแดงเพิ่มขึ้นแสดงว่ามีกระบวนการหายใจเพิ่มขึ้น งานวิจัยนี้จึงทดลองแช่ข้าวที่ระยะเวลาต่าง ๆ เพื่อดูการมีชีวิตของข้าวและหาระยะเวลาที่ข้าวเกิดกระบวนการหายใจดีที่สุดโดยพิจารณาผลจากการย้อมติดสีแดงของสารประกอบฟอร์มาซาน จากผลการทดลองพบว่าเมื่อแช่ข้าวที่เวลา 6 ชั่วโมงจะให้สีแดงจาง แต่เมื่อเพิ่มชั่วโมงในการแช่จะติดสีแดงของฟอร์มาซานเข้มขึ้นเมื่อคิดร้อยละของการติดสีแดงของเมล็ดข้าวที่แช่ในชั่วโมงต่าง ๆ พบว่าเป็นร้อยละ 76, 88, 92, 100, 100, 100 ตามลำดับดังตารางที่ 1 ซึ่งในระยะเวลาที่ข้าวตัวอย่างพันธุ์ กข 41 แช่น้ำเป็นเวลา 20, 24 และ 28 ชั่วโมงจะมีการติดสีแดงร้อยละ 100 แสดงว่าข้าวเกิดกระบวนการหายใจโดยสมบูรณ์และอัตราความมีชีวิตสูงในการทดลองนี้จึงเลือกเวลาแช่ข้าวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทดลองในขั้นตอนต่อไปเนื่องจากมีกระบวนการหายใจที่สมบูรณ์และระยะเวลาในการแช่ไม่นานเกินไป

การศึกษาระดับของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในข้าวเมล็ดเดี่ยวที่เพาะงอกเป็นเวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44 และ 48 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) โดยเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 0.15, 0.46, 0.93 และ 1.39 ไมโครกรัมต่อ 100 ไมโครลิตรที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายโคโลรีเมทริกเรเจนต์ (ประกอบด้วยกรดซัลฟิวริก : สารละลายแอมโมเนียม-โมลิบเดต : สารละลายกรดแอสคอร์บิก และน้ำกลั่น) กับระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่สกัดจากข้าวตัวอย่างที่เพาะงอกในแต่ละระยะเวลา พบว่าระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสจะมีค่าประมาณ 0.93 ไมโครกรัมต่อ 100

ไมโครลิตรที่เวลา 16 และ 36 ชั่วโมงเมื่อเทียบกับสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อวิเคราะห์ระดับของกรดไฟติกในข้าวเมล็ดเดียวโดยการตกตะกอนกรดไฟติกกับไฮดรอกไซด์ (III) ไอออน (Fe^{3+}) และวิเคราะห์ปริมาณของ Fe^{3+} ที่เหลือโดยทำปฏิกิริยากับ 2,2'-ไบไพรีดินพบว่าข้าวเพาะงอกที่เวลา 28, 32 และ 36 ชั่วโมงจะให้ระดับสีแดงจนถึงสีแดงเข้มแสดงว่าระดับของกรดไฟติกลดลงดังตารางที่ 2 การที่ระดับของกรดไฟติกลดลงเนื่องจากในระหว่างการงอกของเมล็ดจะมีเอนไซม์ไฟเทส (phytase) เร่งปฏิกิริยาการสลายกรดไฟติกได้เป็นออร์โทฟอสเฟต และไมโอ-อินซิทอลฟอสเฟตชนิดต่าง ๆ ที่มีหมู่ฟอสเฟตต่ำกว่า 6 หมู่ ตามลำดับ เช่น ไมโอ-อินซิทอลเพนทาคิสฟอสเฟต (InsP5), ไมโอ-อินซิทอล-เททราคิสฟอสเฟต (InsP4) จนสุดท้ายได้เป็นไมโอ-อินซิทอล [6] การที่ระดับของกรดไฟติกลดลงในระหว่างการงอกสอดคล้องกับในรายงานวิจัยของ Azeke และคณะได้ศึกษาผลของการงอกต่อปริมาณของกรดไฟติกในข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และข้าวสาลีพบว่าในระหว่างการงอกของเมล็ดธัญพืชเหล่านี้จะมีระดับของกรดไฟติกลดลงและระดับของฟอสฟอรัสสูงขึ้นเล็กน้อย และพบว่าการลดลงของกรดไฟติกในระหว่างการงอกมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเทสที่สูงขึ้น [16]

จากผลการทดลองในตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกในข้าวเมล็ดเดียวพบว่าเมื่อบ่มที่ระยะเวลา 36 ชั่วโมง ระดับของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสจะสูงขณะที่ระดับของกรดไฟติกต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Larson และคณะ [17] ที่พบว่าข้าวกลายพันธุ์ที่ระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงจะมีระดับของกรดไฟติกลดลง ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในเมล็ดเดียวเป็นวิธีแบบทางอ้อมที่สามารถใช้ประมาณช่วงเวลาของระดับกรดไฟติกที่ลดลงได้

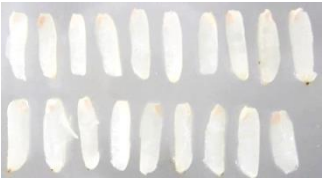
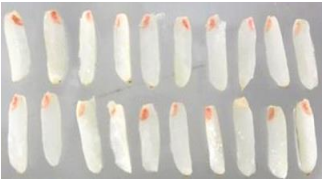
ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติกและอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในข้าวพันธุ์กข 41 ที่เพาะงอกในระยะเวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 และ 40 ชั่วโมง พบว่าปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสของข้าวเพาะงอกที่เวลา 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมงจะมีค่าใกล้เคียงกันโดยมีปริมาณเท่ากับ 1.47, 2.11, 2.62 และ 2.43 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ และมีปริมาณเพิ่มสูงสุดที่ 16 ชั่วโมงโดยมีปริมาณเท่ากับ 4.29 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จากนั้นปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสจะค่อย ๆ ลดลงที่ระดับปริมาณใกล้เคียงกับข้าวที่เพาะงอกในระยะเวลาช่วงแรก ๆ พอถึงระยะเวลาที่ 28, 32 และ 36 ชั่วโมงพบว่าปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณเท่ากับ 3.39, 3.14 และ 3.46 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับแต่เมื่อข้าวเพาะงอกจนถึงชั่วโมงที่ 40 พบว่ามีระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสลดลงส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติกพบว่าระยะเวลาในการเพาะงอกของข้าวตั้งแต่ 0 – 24 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไฟติกเท่ากับ 25.52, 26.08, 26.12, 27.26, 25.96, 26.22 และ 26.30 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ จากนั้นปริมาณของกรดไฟติกจะลดลงที่ระยะเวลา 28, 32 และ 36 ชั่วโมงโดยมีปริมาณเท่ากับ 12.74, 12.82 และ 12.04 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงดังกล่าว (รูปที่ 1) การที่กรดไฟติกมีปริมาณลดลงและมีปริมาณของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นอาจเกิดจากในกระบวนการงอกของเมล็ดจำเป็นต้องใช้ ATP (adenosine triphosphate) จึงมีการสลายกรดไฟติกเพื่อให้ได้อนินทรีย์ฟอสฟอรัสในการสังเคราะห์ ATP ในกระบวนการเมแทบอลิซึม [5] เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณของกรดไฟติกและอนินทรีย์ฟอสฟอรัสของข้าวเพาะงอกที่ระยะเวลาต่าง ๆ กับการวิเคราะห์ระดับกรดไฟติกและอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในเมล็ดเดียวพบว่าให้ผลใกล้เคียงกัน แต่การวิเคราะห์ในเมล็ดเดียวต้องเทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยประเมินด้วยสายตา ซึ่งอาจแยกแยะระดับของสารที่

ความเข้มข้นแตกต่างกันเล็กน้อยไม่ได้ อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกในเมล็ดเดียว จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการนำไปหาระยะเวลาในการเพาะข้าวกล้องงอกที่ให้ผลปริมาณกรดไฟติกลดลงเบื้องต้นได้ จากผลการวิจัยเป็นที่น่าสังเกตว่าข้าวที่เพาะงอกตั้งแต่ชั่วโมงที่ 40 ทั้งผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกให้ผลสอดคล้องกัน โดยพบว่าระดับของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสจะลดลง ขณะที่ระดับของกรดไฟติกเพิ่มขึ้นโดยผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของข้าวที่เพาะงอกในชั่วโมงที่ 40 ให้ผลปริมาณของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสเท่ากับ 1.38 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมและปริมาณของกรดไฟติกเท่ากับ 26.32 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับรายงานวิจัยการศึกษาอิทธิพลของการงอกต่อปริมาณของกรดไฟติกในถั่วลูกไก่ (*Cicer arietinum* L.) พบว่ากระบวนการงอกของเมล็ดที่ระยะเวลานานขึ้นมีผลทำให้ปริมาณของกรดไฟติกลดลง แต่หลังจากชั่วโมงที่ 48 พบว่าปริมาณกรดไฟติกจะเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นช่วงที่เมล็ดกำลังเจริญเป็นต้นอ่อน (sprouting) [18] ดังนั้นเป็นไปได้ว่าข้าวตัวอย่างในการทดลองที่เพาะงอกตั้งแต่ 40 ชั่วโมงมีปริมาณกรดไฟติกสูงขึ้นเป็นระยะที่กำลังจะเจริญเป็นต้นอ่อน

ผลการวิจัยเมื่อนำข้าวพันธุ์ข 41 มาเพาะงอกที่ระยะเวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 และ 40 ชั่วโมง แล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณกาบาพบว่าข้าวตัวอย่างที่เพาะงอกตั้งแต่ 0 – 12 ชั่วโมงให้ปริมาณกาบาต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมและที่เวลา 16 ชั่วโมงให้ปริมาณกาบาสูงขึ้นเท่ากับ 6.41 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ข้าวที่เพาะงอกเป็นระยะเวลา 28 ชั่วโมงพบว่าให้ปริมาณของกาบาสูงที่สุดถึง 15.93 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เมื่อบ่มต่อไปที่ 32, 36 และ 40 ชั่วโมง จะมีปริมาณกาบาลดลงเล็กน้อย (รูปที่ 2) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Karladee และ Suriyong [15] ที่ได้ศึกษาปริมาณกาบาในข้าว 21 สายพันธุ์ โดยเพาะข้าวกล้องงอกที่ระยะเวลา 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง และพบว่าในการบ่มข้าวกล้องงอกที่ 24 ชั่วโมงให้ปริมาณกาบาเฉลี่ยสูงสุดที่ 17.87 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เมื่อบ่มต่อไปที่ระยะเวลา 36 และ 48 ชั่วโมงจะมีปริมาณกาบาลดลงในรายงานวิจัยของ Khwanchai และคณะ [19] ได้ทำการศึกษาข้าวไทย 5 สายพันธุ์ได้แก่ข้าวดอกมะลิ 105 (KhaoDawk Mali 105) ปทุมธานี 1 (PathumThani 1) ชัยนาท 1 (Chai Nat 1) สุพรรณบุรี 1 (SuphanBuri 1) และพิษณุโลก 2 (Phitsanulok 2) โดยนำข้าวกล้องไปแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมงและนำไปเพาะงอกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำข้าวกล้องงอกตัวอย่างไปหาปริมาณกาบาพบว่าข้าวกล้องงอกทุกสายพันธุ์ให้ปริมาณกาบาสูงกว่าข้าวกล้องที่ไม่ได้ทำให้งอก จากผลการวิจัยพบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ให้ปริมาณกาบาสูงที่สุดถึง 40.17 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ส่วนข้าวพันธุ์อื่น ๆ ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 และสุพรรณบุรี 1 ให้ปริมาณกาบาเป็น 15.62, 13.15, 13.03 และ 7.11 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตามลำดับ

ดังนั้นในการศึกษาการมีชีวิตด้วยวิธีการทดสอบด้วยเทอเรโซเลียม การศึกษาระดับของกรดไฟติกและอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในเมล็ดเดียว และการหาปริมาณกรดไฟติกอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกาบาของข้าวพันธุ์ข 41 ในครั้งนี้จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการหาข้อมูลของช่วงเวลาที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวให้ได้คุณค่าทางโภชนาการที่มีปริมาณของตัวขัดขวางทางโภชนาการ (antinutrient) อย่างเช่นกรดไฟติกลดลงและมีปริมาณกาบาเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 1. การติดสีแดงของสารประกอบฟอรัมาซานในเมล็ดข้าวที่แช่ที่ชั่วโมงต่าง ๆ

ระยะเวลาการแช่ข้าว (ชั่วโมง)	ผลการวิเคราะห์	
	ผลการติดสีแดงของสารประกอบฟอรัมาซาน	ร้อยละของการติดสีแดงของเมล็ด
6		76
12		88
16		92
20		100
24		100
28		100

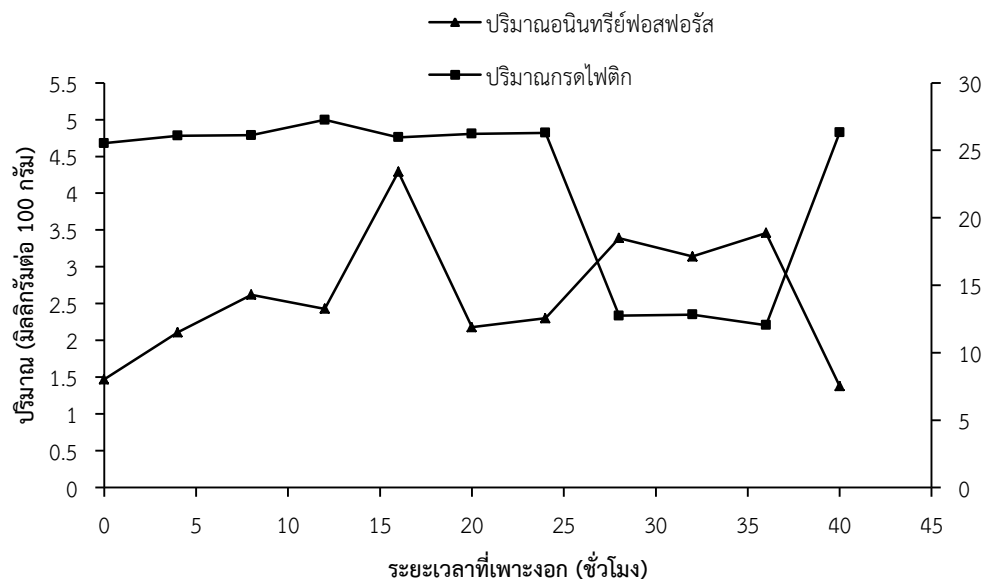
ตารางที่ 2. ผลการวิเคราะห์ระดับนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกในข้าวเมล็ดเดี่ยวพันธุ์กข 41

ระยะเวลาที่บ่มข้าว (ชั่วโมง)	ระดับนินทรีย์ฟอสฟอรัส*	กรดไฟติก	
	(ไมโครกรัมต่อ 100 ไมโครลิตร)	ระดับสี	ระดับกรดไฟติก**
0	0.15	ชมพูจาง	สูง
4	0.15-0.46	ชมพูจาง	สูง
8	0.15	ชมพูจาง	สูง
12	0.15-0.46	ชมพูจาง	สูง
16	0.93	ชมพูจาง	สูง
20	0.15-0.46	ชมพูจาง	สูง
24	0.46	ชมพู	ค่อนข้างสูง
28	0.15-0.46	แดง	ต่ำ
32	0.15-0.46	แดง	ต่ำ
36	0.93	แดงเข้ม	ต่ำ
40	0.15-0.46	ชมพู	ค่อนข้างสูง
44	0.15	ชมพู	ค่อนข้างสูง
48	0.46	ชมพู	ค่อนข้างสูง

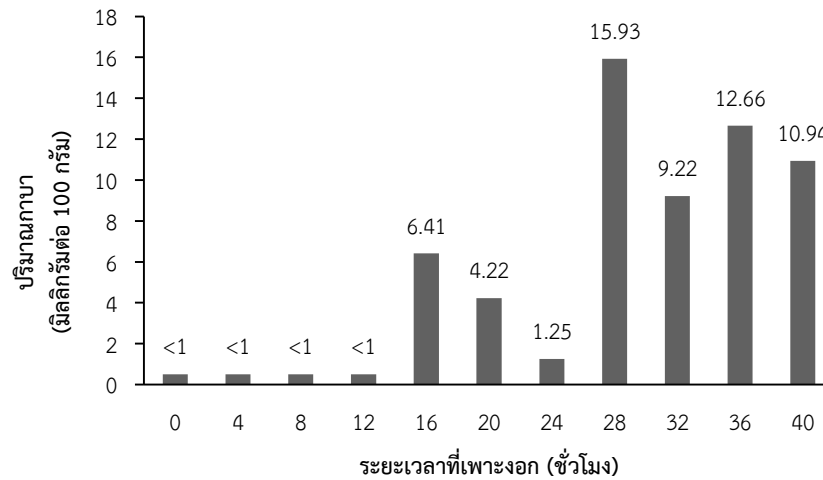
หมายเหตุ * ระดับนินทรีย์ฟอสฟอรัสเมื่อเทียบกับสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 0.15, 0.46, 0.93 และ 1.39 ไมโครกรัมต่อ 100 ไมโครลิตร

** ระดับกรดไฟติก

กรดไฟติกต่ำให้ระดับสีแดง กรดไฟติกค่อนข้างสูงให้ระดับชมพู กรดไฟติกสูงให้ระดับสีชมพูจาง



รูปที่ 1. ปริมาณนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกของข้าวกข 41 ที่เพาะงอกในระยะเวลาต่าง ๆ



รูปที่ 2. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกาบากับระยะเวลาในการเพาะงอกของข้าวข 41 ที่ชั่วโมงต่าง ๆ

4. สรุปผลการทดลอง

การศึกษากาบาที่มีชีวิตของเมล็ดข้าวพันธุ์ข 41 ด้วยวิธีการทดสอบด้วยเทระโซเลียม พบว่าข้าวที่แช่น้ำที่ระยะเวลา 20, 24 และ 28 ชั่วโมง จะมีอัตราการหายใจร้อยละ 100 โดยจะมีการติดสีแดงของฟอร์มาซานเข้มมากขึ้นเมื่อเพิ่มชั่วโมงในการแช่น้ำนานขึ้น งานวิจัยนี้จึงนำเมล็ดข้าวพันธุ์ข 41 มาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดกระบวนการหายใจโดยสมบูรณ์ก่อนนำไปเพาะงอกที่ชั่วโมงต่าง ๆ และข้าวไม่ต้องแช่น้ำนานเกินไป ผลการวิเคราะห์ระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกในเมล็ดเดี่ยวพบว่าในการเพาะงอกที่ระยะเวลา 36 ชั่วโมงให้ผลระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงและระดับกรดไฟติกต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ปริมาณของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกของข้าวที่เพาะงอกที่ระยะเวลาต่างๆพบว่าที่ระยะเวลา 28, 32 และ 36 ชั่วโมงให้ปริมาณกรดไฟติกลดลง และปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงขึ้นกว่าในช่วงชั่วโมงแรก ๆ ดังนั้นการวิเคราะห์ระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและกรดไฟติกในเมล็ดเดี่ยวจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการนำไปหาระยะเวลาของข้าวเพาะงอกที่ให้ผลปริมาณกรดไฟติกลดลงเบื้องต้นได้

ผลการศึกษาปริมาณกาบาในเมล็ดข้าวพันธุ์ข 41 ที่เพาะงอกในระยะเวลาต่าง ๆ พบว่ากาบาจะมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเพาะงอกเป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง และที่ระยะเวลา 28 ชั่วโมงให้ปริมาณของกาบาสูงที่สุดเท่ากับ 15.93 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการงอกของข้าวพันธุ์ข 41 ที่ให้ปริมาณกาบาสูงและกรดไฟติกลดลงจากงานวิจัยนี้พบว่าระยะเวลาการเพาะงอกที่ 28 ชั่วโมงจะให้ปริมาณกาบาสูงและปริมาณกรดไฟติกลดลง ผลที่ได้รับจากงานวิจัยนี้เป็นแนวทางหนึ่งที่นำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวที่ให้คุณค่าทางโภชนาการสูงต่อผู้บริโภค และเป็นแนวทางในการศึกษาในข้าวสายพันธุ์อื่น ๆ ได้

เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] Lott, J.N.A., Ockenden, I., Raboy, V. and Batten, G.D. 2000. Phytic acid and phosphorous in crop seeds and fruit: a global estimate. *Seed Science Research*, 10 ; 1-33.
- [2] Harland, B.F. and Narula, G. 1999. Food phytate and its hydrolysis products. *Nutrition Research*, 19(6), 947-961.
- [3] Lopez, H.W., Leenhardt, F., Coudray, C. and Remesy, C. 2002. Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition?. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 727-739.
- [4] Raboy, V., Young, K.A., Dorsch, J.A. and Cook, A. 2001. Genetics and breeding of seed phosphorus and phytic acid. *J. Plant Physiol.*, 158, 489-497.
- [5] Raboy, V. 2001. Seeds for a better future: 'low phytate' grains help to overcome malnutrition and reduce pollution. *Trends Plant Sci.*, 6(10), 458-462.
- [6] Brinch-Pedersen, H., Sørensen, L.D. and Holm, P.B. 2002. Engineering crop plants: getting a handle on phosphate. *Trends Plant Sci.*, 7(3), 118-125.
- [7] Bouche, N. and Fromm, H. 2004. GABA in plants: just a metabolite. *Trends Plant Sci.*, 9(3), 110-115.
- [8] Patil, S.B. and Khan, M.K. 2011. Germinated brown rice as a value added rice product: A review. *J. Food Sci. Technol.*, 48(6), 661-667.
- [9] Cho, D.H. and Lim, S.T. 2016. Germinated brown rice and its bio-functional compounds. *Food Chemistry*, 196, 259-271.
- [10] Wilcox, J.R., Premachandra, G.S., Young, K.A. and Raboy, V. 2000. Isolation of high seed inorganic P, low-phytate soybean mutants. *Crop Sci.*, 40, 1601-1605.
- [11] Guttieri, M.J., Peterson K.M., and E.J. Souza. 2006. Milling and baking quality of low phytic acid wheat. *Crop Sci.*, 46, 2403-2408.
- [12] Joyce, C., Deneau, A., Petreson, K., Ockenden, I., Raboy, V. and Lott, J.N.A. 2005. The concentrations and distributions of phytic acid phosphorus and other mineral nutrients in wild-type and low phytic acid Js-12-LPA wheat (*Triticum aestivum*) grains parts. *Can. J. Bot.*, 83, 1599-1607.
- [13] Haug, W. and Lantzsch, H.J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.*, 34(12), 1423-1426.
- [14] Kitaoka, S. and Nakano, Y. 1969. Colorimetric determination of α -amino acids. *The Journal of Biochemistry*, 66(1), 87-94.
- [15] Karladee, D. and Suriyong, S. 2012. γ -Aminobutyric acid (GABA) content indifferent varieties of brown rice during germination. *Science Asia*, 38, 13-17.

- [16] Azeke, M.A., Egielewa, S.J., Eigbogbo, M.U., and Ihimire, I.G. 2011. Effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of rice (*Oryza sativa*), maize (*Zea mays*), millet (*Panicum miliaceum*), sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Food Sci. Technol.*, 48(6), 724-729.
- [17] Larson, S.R., Rutger, J.N., Young, K.A., and Raboy, V. 2000. Isolation and genetic mapping of a non-Lethal Rice (*Oryza sativa* L.) low phytic acid 1 Mutation. *Crop Sci.*, 40, 1397-1405.
- [18] Khattak, A.B., Zeb, A., Bibi, N., Khalil, S.A., and Khattak, M.S. 2007. Influence of germination techniques on phytic acid and polyphenols content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food Chemistry*, 104, 1074-1079.
- [19] Khwanchai, P., Chinprahast, N., Pichyangkura, R., and Chaiwanichsiri, S. 2014. Gamma-aminobutyric acid and glutamic acid contents, and the GAD activity in germinated brown rice (*Oryza sativa* L.): Effect of rice cultivars. *Food Sci. Biotechnol.*, 23(2), 373-379.