





## รายงานการวิจัย

ศึกษาการสร้างสารหอม (2-อะเซทิล-1-ไพโรลีน) เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิต  
ข้าวไร้ลีม้วน โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2

**The study of the inhibition of enzyme (BAD2) to the fragrance  
(2-Acetyl-1-pyrroline) synthesis of Leumpua Purple Sticky Rice  
for value adding to the rice production**

เสาวภา ชุมณี และคณะ  
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2558

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ศึกษาการสร้างสารหอม (2-อะเซทิล-1-ไพโรลีน) เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิต  
ข้าวไร้ลิ้มฟัว โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2

The study of the inhibition of enzyme (BAD2) to the fragrance  
(2-Acetyl-1-pyrroline) synthesis of Leumpua Purple Sticky Rice  
for value adding to the rice production

เสาวภา ชุมณี	สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สมพงษ์ แสนเสนา	สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ชนากานต์ วิญญกุล	สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนโดย มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์  
งบประมาณแผ่นดินที่พิจารณาจากโดยผ่านความเห็นชอบจาก  
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ  
ประจำปีงบประมาณ 2558

<b>ชื่องานวิจัย</b>	ศึกษาการสร้างสารหอม (2-อะเซทิล-1-ไพโรลีน) เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวไร้ลิ้มฟัวโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2
<b>ผู้วิจัย</b>	เสาวภา ชุมณี
<b>ผู้ร่วมวิจัย/ที่ปรึกษา</b>	นายสมพงษ์ แสนเสนา และนางสาวชนากานต์ วิญญกุล
<b>สาขาวิชา</b>	เคมี
	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีเสร็จวิจัย 2558

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2 เพื่อเพิ่มปริมาณสารหอมในข้าวไร้ลิ้มฟัวเพื่อใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มปริมาณสารหอม และเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวไร้ลิ้มฟัวในงานวิจัยนี้ใช้เทคนิคการฉายรังสีแกมมาในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ โดยเทคนิคการฉายรังสีแกมมาเป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการทดลองพบว่า ปริมาณของสารหอมในช่วงการเจริญเติบโตของข้าวไร้ลิ้มฟัวตั้งแต่ช่วงอายุ 7 วัน ถึงช่วงการเก็บเกี่ยว (101 วัน) พบปริมาณสารหอมสูงสุดในช่วงอายุ 14 วัน มีปริมาณเท่ากับ 55.52  $\mu\text{g/g}$  และหลังจากข้าวอายุ 14 วันปริมาณสารหอมมีแนวโน้มลดลงและเพิ่มปริมาณขึ้นอีกครั้งเมื่อเข้าสู่ช่วงเก็บเกี่ยว เมื่อนำเมล็ดข้าวไร้ลิ้มฟัวไปผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นรังสีต่างๆ และทำการวัดปริมาณสารหอมในต้นข้าว พบว่าปริมาณสารมีแนวโน้มหอมเพิ่มขึ้นเมื่อข้าวผ่านการฉายรังสีแกมมา โดยเฉพาะข้าวในช่วงอายุ 14 วันปริมาณสารหอมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และปริมาณรังสีที่ทำให้ปริมาณสารหอมสูงสุดอยู่ที่ 20 Gy ซึ่งทำให้ปริมาณสารหอมสูงสุดที่ 52 วัน (67.13  $\mu\text{g/g}$  เพิ่มขึ้นประมาณ 4.8 เท่า เมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา)

จากการผลการศึกษาของงานวิจัยนี้ เป็นครั้งแรกที่ค้นพบสารหอมที่อยู่ในรากของข้าวซึ่งไม่มีรายงานการค้นพบสารหอมในรากของข้าวมาก่อน ซึ่งปริมาณสารหอมที่พบในรากของข้าวมีปริมาณมากที่สุดเมื่อข้าวอายุได้ 7 วัน (30.67  $\mu\text{g/g}$ ) และเมื่อนำข้าวไปผ่านการฉายรังสีแกมมาแล้ววัดปริมาณสารหอมในรากพบว่า แนวโน้มของปริมาณสารหอมลดลงในข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา และปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ปริมาณสารหอมในรากลดลงต่ำสุดมีค่าเท่ากับ 200 Gy ปริมาณสารหอมที่วัดได้เมื่อข้าวอายุได้ 14 วัน มีค่าเท่ากับ 2.51  $\mu\text{g/g}$

( ข )

นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของข้าวด้วย ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาการเจริญเติบโตของต้นข้าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ต้นข้าวมีความยาวสูงสุดคือ 150 Gy ซึ่งเมื่อวัดความยาวของต้นข้าวเมื่อข้าวอายุได้ 74 วัน พบว่ามีความยาวของต้นเท่ากับ  $59.28 \pm 0.84$  cm ซึ่งมีความยาวของลำต้นยาวกว่าข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา ( $40.96 \pm 1.06$  cm) และเมื่อหาน้ำหนักของเมล็ดข้าวของข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา พบว่าปริมาณรังสีที่ทำให้น้ำหนักของเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา มีค่ามากกว่าข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมาคือ 150 Gy โดยน้ำหนักอยู่ที่ 7.12 g (เป็นน้ำหนักของเมล็ดข้าว 100 เมล็ด) ซึ่งมากกว่าน้ำหนักของเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมาซึ่งมีน้ำหนักอยู่ที่ 6.52 g

จากผลการศึกษา และข้อมูลทั้งหมดของงานวิจัยนี้น่าจะเป็นแนวทางในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวไร้ลิ้มฟัวที่มีคุณภาพดี โดยมีปริมาณสารหอมที่มากขึ้น และได้ผลผลิตที่ดีขึ้น โดยการใช้เทคนิคการฉายรังสีแกมมาต่อไป

คำสำคัญ : สารหอม (2-acetyl-1-pyrroline), เอนไซม์ BAD2, การฉายรังสีแกมมา (gamma-irradiation), ข้าวไร้ลิ้มฟัว

<b>Research Title</b>	The study of the inhibition of enzyme (BAD2) to the fragrance (2-Acetyl-1-pyrroline) synthesis of Leumpua Purple Sticky Rice for value adding to the rice production
<b>Name</b>	Miss Saowapa Chumanee
<b>Co – Researcher</b>	Mr. Sompong Sansenya and Miss Chanakan Winyakul
<b>Faculty</b>	<b>Chemistry</b> Phetchabun Rajabhat University
	<b>Year</b> 2015

### ABSTRACT

This research was investigated the inhibitory of BAD2 enzyme by gamma-irradiation technique for synthesis of rice fragrance (2-Acetyl-1-pyrroline) of Leumpua Purple Sticky Rice and for development of value adding to the rice production. Gamma rays, the type of ionizing radiation the technique that used for induced mutation of many organisms. The result show that 2-acetyl-1-pyrroline content of Leumpua Purple Sticky Rice during growth stage (7 old days to 101 old days) likely to increased and the highest amount of 2-aetyl-1-pyrroline at 14 old days (55.52  $\mu\text{g/g}$ ) and then lower until rice into harvested stage. The 2-aetyl-1-pyrroline content of gamma-irradiated rice were increased than non gamma-irradiated rice and the highest amount of 2-aetyl-1-pyrroline was found when rice subjected to 20 Gy gamma ray the content obtained at 52 old days of 67.13  $\mu\text{g/g}$

Here is the first report for investigation of 2-acetyl-1-pyrroline from root of rice, the highest amount of 2-acetyl-1-pyrroline was obtained from 7 old days rice (30.67  $\mu\text{g/g}$ ). The trends of 2-acetyl-1-pyroline content of gamma-irradiated rice likely to decreased when compared with non gamma-irradiated rice. The gamma ray at 200 Gy given the lowest of 2-acetyl-1-pyrroline content at 14 old days of 2.51  $\mu\text{g/g}$

The  $\gamma$ -irradiation treatment caused to rice shoot length significant increased ( $p < 0.05$ ) and the increased of rice shoot length was highest when the rice subjected to  $\gamma$ -dose rate at 150 Gy during growth stage and obtained from 74 old days ( $59.28 \pm 0.84$  cm). For  $\gamma$ -irradiation

treatment caused a reduction of 100-grain weight of all gamma dosed with the range of 3.37-5.68  $\mu\text{g.g}^{-1}$  except for 150 Gy (7.12  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) when compared to 0 Gy plant (6.52  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ).

Off all this result of research should be suggested to development of rice varieties with good quality by more amount of 2-acetyl-1-pyrroline and improved productivity By using gamma-irradiation technique.

Keywords : 2-acetyl-1-pyrroline, BAD2, gamma-irradiation, Leumpua Purple Sticky Rice

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่างๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัย  
ราชภัฏเพชรบูรณ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี และจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี  
ซึ่งได้เสียสละเวลาให้คำปรึกษา และให้ข้อเสนอแนะกับคณะผู้วิจัยตลอดระยะเวลาของการทำวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.หยานหลิน ห้ว เป็นอย่างสูงที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ  
ให้แก่ผู้วิจัยเกี่ยวกับเทคนิคการสกัด และการวิเคราะห์สารหอมในข้าว และนอกจากนี้  
ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย  
ครั้งนี้มา ณ ที่นี้ด้วย

เสาวภา ชุมณี และคณะ

18 เมษายน 2559

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฅ
บทที่ 1      บทนำ	1
1.1    ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2    วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
1.3    สมมติฐานการวิจัย	6
1.4    ระเบียบวิธีวิจัย	7
1.5    นิยามศัพท์เฉพาะ	7
1.6    ประโยชน์ของการวิจัย	8
บทที่ 2      เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3      วิธีการดำเนินการวิจัย	12
3.1    การเตรียมเมล็ดข้าวเพื่อฉายรังสีแกมมา	12
3.2    การศึกษาการเจริญเติบโตของข้าวไร้ลิ้มฟัว	12
3.3    การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ 2-acetyl-1-pyrroline	12
3.4    การสกัด 2-acetyl-1-pyrroline จากต้น และรากของข้าวไร้ลิ้มฟัว	13
3.5    การวิเคราะห์หาปริมาณ 2-Acetyl-1-pyrroline	13
3.6    การวิเคราะห์ทางสถิติ	13
บทที่ 4      ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	14
4.1    ผลของรังสีแกมมาต่อความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มฟัว	14
4.2    การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารหอมระหว่างการเจริญเติบโตของข้าวไร้ลิ้มฟัว	27
4.3    ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์จากต้นและรากของข้าว	28
4.4    ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอมในเมล็ดข้าวและต่อน้ำหนักของเมล็ด	31

( ข )

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5	
สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	35
5.1	
สรุปผลการวิจัย	35
5.2	
อภิปรายผล	35
5.2	
ข้อเสนอแนะ	38
บรรณานุกรม	39
ประวัติคณะผู้วิจัย	44

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4-1	ผลของรังสีแกมมาต่อความสูงของต้นข้าวไร้ลิมฝั้ว	15
4-2	ปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากลำต้น และรากของข้าวไร้ลิมฝั้ว ระยะ 7 วัน ถึง 101 วัน	28
4-3	ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอมในข้าวที่วิเคราะห์จากลำต้น ของข้าวไร้ลิมฝั้ว	30
4-4	ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอมในข้าวที่วิเคราะห์จากรากของข้าวไร้ลิมฝั้ว	30
4-5	ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline และน้ำหนักของ เมล็ดข้าวไร้ลิมฝั้ว	32

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1-1 แสดงวิธีการสังเคราะห์ $\gamma$ -Aminobutyraldehyde (GABald) โดยใช้กรดอะมิโนโพกลินเป็นสารตั้งต้นและแสดงการเปลี่ยนแปลงในสองทิศทางของสาร GABald ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์ betaine aldehyde dehydrogenase (BAD2) โดยในสภาวะที่มีเอนไซม์นี้ สาร GABald จะเปลี่ยนไปเป็นสาร $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) และในขณะที่เดียวกันในสภาวะที่ไม่มีเอนไซม์นี้สาร GABald จะเปลี่ยนไปเป็นสาร 2-Acetyl-1-pyrroline (2AP) (Bradury et al. 2008)	4
4-1 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 20 Gy และไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา เมื่อข้าวอายุ 7 วัน	15
4-2 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 40 Gy และ 60 Gy เมื่อข้าวอายุ 7 วัน	16
4-3 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 80 Gy และ 100 Gy เมื่อข้าวอายุ 7 วัน	16
4-4 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 150 Gy และ 200 Gy เมื่อข้าวอายุ 7 วัน	17
4-5 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 250 Gy เมื่อข้าวอายุ 7 วัน	17
4-6 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 20 Gy และไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา เมื่อข้าวอายุ 14 วัน	18
4-7 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 40 Gy และ 60 Gy เมื่อข้าวอายุ 14 วัน	18
4-8 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 80 Gy และ 100 Gy เมื่อข้าวอายุ 14 วัน	19
4-9 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 150 Gy และ 200 Gy เมื่อข้าวอายุ 14 วัน	19
4-10 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 250 Gy เมื่อข้าวอายุ 14 วัน	20



## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4-24	แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลุ่มน้ำที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 200 Gy และ 250 Gy เมื่อข้าวอายุ 74 วัน	27
4-25	แสดงลักษณะของรวงข้าวและเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นเท่ากับ 40 Gy และข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา	32
4-26	แสดงลักษณะของรวงข้าวและเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นเท่ากับ 60 Gy และ 80 Gy	33
4-27	แสดงลักษณะของรวงข้าวและเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นเท่ากับ 100 Gy และ 150 Gy	33
4-28	แสดงลักษณะของรวงข้าวและเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นเท่ากับ 250 Gy	34

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวเป็นอาหารหลักของคนไทยและยังเป็นสินค้าส่งออกที่สร้างรายได้และชื่อเสียงให้กับประเทศไทยมาอย่างยาวนาน ข้าวที่เกษตรกรปลูกมีอยู่ด้วยกันหลายสายพันธุ์ โดยเฉพาะปัจจุบันกรมการข้าวมีการวิจัยและปรับปรุงพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้มีความเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมและเป็นที่ต้องการของตลาดมากขึ้น ล่าสุดมีพันธุ์ข้าวที่กรมการข้าวได้ปรับปรุงพันธุ์มาเป็นอย่างดีและสามารถรับรองพันธุ์เพื่อขยายผลสู่เกษตรกร ได้แก่ ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลิ้มผิว เป็นพันธุ์ข้าวที่มีความโดดเด่นและคุณลักษณะที่น่าสนใจอย่างมาก ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่ปลูกโดยกลุ่มชาติพันธุ์ชาวม้ง ด้วยลักษณะเด่นของข้าวกล้องเมื่อหุงสุกจะมีกลิ่นหอม สัมผัสเมื่อแรกเคี้ยวจะกรุบ หนึบ ภายในนุ่มเหนียว เมื่อกรรยชาวม้งหุงจึงรับประทานหมดเพราะอร่อยมากจนลืมเหลือไว้ให้สามี จึงเป็นที่มาของชื่อข้าวพันธุ์ลิ้มผิวนั่นเอง ทั้งนี้ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกได้ทำการเก็บข้าวพันธุ์นี้มาทำพันธุ์บริสุทธิ์ครั้งแรกตั้งแต่ปี 2533 และมีการศึกษาวิจัยและปรับปรุงพันธุ์อย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งปีนี้กรมการข้าวมีมติให้เป็นพันธุ์รับรองเนื่องจากมีคุณลักษณะเด่น โดยเฉพาะคุณค่าทางโภชนาการสูง ทั้งโอเมกา 3 โอเมกา 6 โอเมกา 9 แอนโทไซยานิน แกมมาโอไรซานอล วิตามินอี ธาตุเหล็ก แคลเซียม แมงกานีส ที่สำคัญคือเป็นข้าวเหนียวดำพันธุ์เดียวที่มีความหอม ทำให้เป็นที่สนใจของเกษตรกรและผู้ประกอบการจำนวนมาก

ในปัจจุบัน ข้าวไร่ลิ้มผิวได้มีการปลูกกระจายในหลายพื้นที่ในประเทศไทย นอกจากจะปลูกในที่สูงแล้วยังมีปลูกในพื้นที่ราบด้วย เช่น พบปลูกในจังหวัดเพชรบูรณ์ พิษณุโลก อุตรดิตถ์ น่าน แพร่ เป็นต้น และลักษณะเด่นอีกอย่างหนึ่งของข้าวไร่ลิ้มผิว คือ เมื่อหุงสุกจะมีกลิ่นหอม สัมผัสเมื่อแรกเคี้ยวจะกรุบ หนึบ ภายในนุ่มเหนียว เมื่อกรรยชาวม้งหุงจึงรับประทานหมดเพราะอร่อยมากจนลืมเหลือไว้ให้สามี จึงเป็นที่มาของชื่อข้าวลิ้มผิวนั่นเอง ความหอมของข้าวเกิดจากสารให้กลิ่นหอมซึ่งสามารถพบในข้าวหอมทุกชนิด โดยกลิ่นหอมนี้จะเรียกว่า กลิ่นหอมข้าวโพค ซึ่งกลิ่นหอมนี้อาจพบตั้งแต่ในระยะที่เป็นต้นกล้า ระยะแตกกอ ระยะออกรวง เมล็ดสุกแก่ จนถึงนำไปหุงต้มเพื่อบริโภค ลักษณะดังกล่าวนี้มีเฉพาะในข้าวบางพันธุ์เท่านั้น ดังนั้น ข้าวที่มีคุณสมบัติให้กลิ่นหอมได้ จึงเรียกว่า “ข้าวหอม” สารที่ให้กลิ่นหอมในข้าวมีอยู่มากมายหลายชนิด โดยพบว่ามีมากกว่า 200 ชนิด โดยผันแปรไปตามชนิดของพันธุ์และพื้นที่เพาะปลูกข้าว (Champagne 2008, Maga 1984, Tsugita 1985) สารหอมที่มีลักษณะเด่นและพบในทุกสายพันธุ์ของข้าวคือ 2-Acetyl-1-

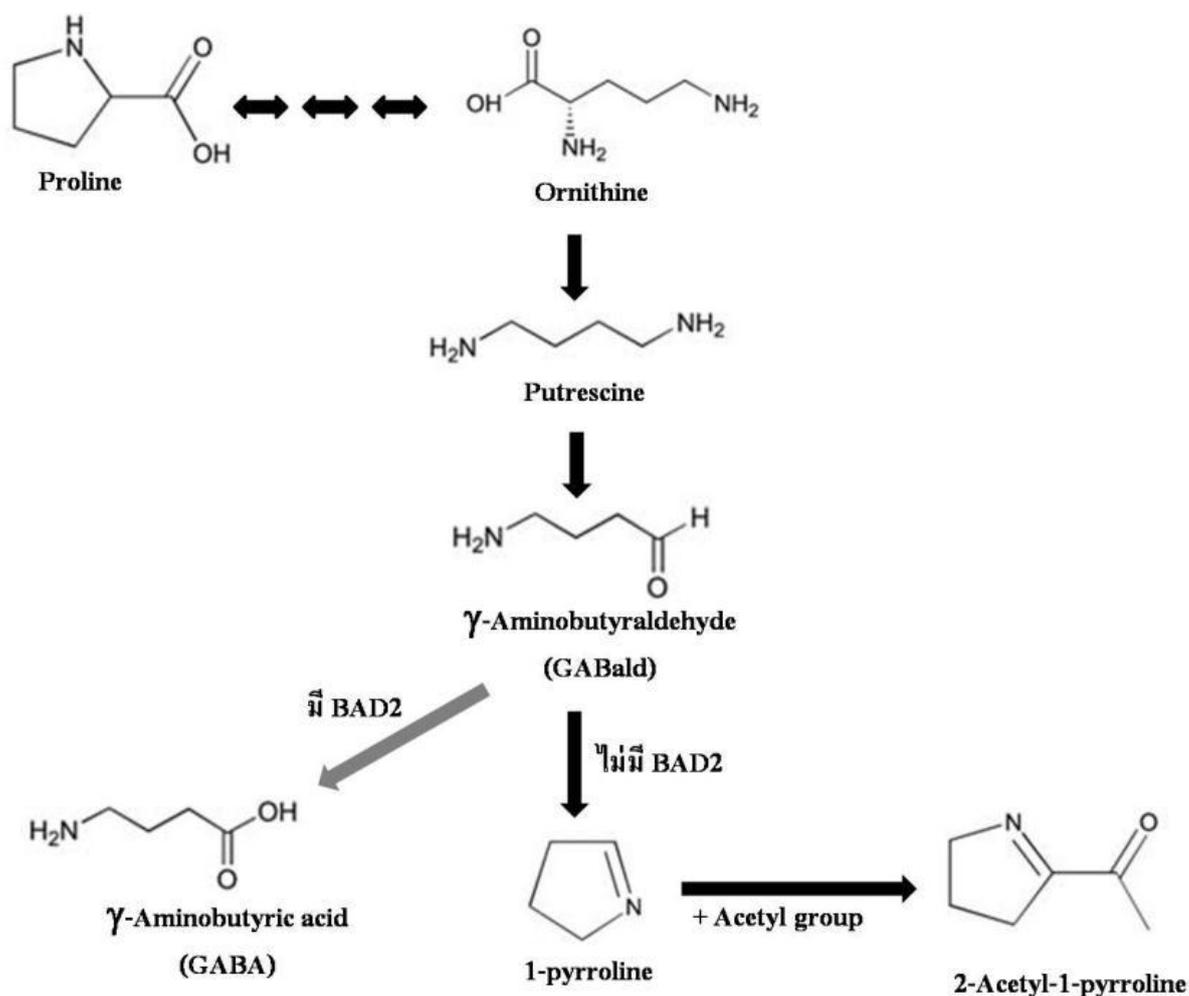
pyrroline (2-AP) แต่ในงานวิจัยที่ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณสาร 2-AP ที่พบในข้าว พบว่ามีความแปรปรวนมาก โดยในพื้นที่เพาะปลูกต่างกันข้าวชนิดเดียวกันจะมีการผลิตสารหอมในปริมาณที่แตกต่างกัน เช่น ในกรณีศึกษาข้าวหอมดอกมะลิ 105 ในเขตพื้นที่ที่แตกต่างกัน 40 แห่ง ในเขตพื้นที่ปลูกข้าวหอมดอกมะลิ 105 บริเวณทุ่งกุลาร้องไห้ พบว่าในเขตพื้นที่เพาะปลูกที่ต่างกันข้าวจะมีการผลิตสารหอม 2-AP ในปริมาณที่แตกต่างกัน ไม่เฉพาะสารหอมเท่านั้นที่แตกต่างกันในด้านปริมาณ แต่องค์ประกอบทางเคมีอื่นก็มีปริมาณที่แตกต่างกัน เช่น ปริมาณไขมัน ปริมาณโปรตีน และปริมาณอะไมโลส เป็นต้น (บัณฑิต, 2548)

กลิ่นหอมในข้าวเกิดจากการผสมผสานระหว่างสารหอมระเหยมากมายหลายชนิด ทำให้เกิดกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ จากการศึกษาเรื่องสารระเหยที่มาจากข้าวในช่วงแรกๆ ด้วยวิธี GC-MS ของ Bullard และ Holguin, 1977 พบว่าสามารถตรวจวัดสารระเหย (aroma compound) จากข้าวได้ 70 ชนิด จากนั้น Yajima และคณะ 1978 ได้ศึกษาชนิดของสารระเหยที่พบในข้าวที่หุงสุก โดยสามารถพบสารระเหยจากข้าวที่หุงสุกแล้วมากกว่า 100 ชนิด ซึ่งประกอบไปด้วย 13 ชนิดของกลุ่ม hydrocarbons 16 ชนิดของกลุ่ม aldehydes 14 ชนิดของกลุ่ม ketones 14 ชนิดของกลุ่มกรด 8 ชนิดเป็น ester 5 ชนิดเป็นสารประกอบ phenol 3 ชนิดเป็น pyridine 6 ชนิดเป็น pyrazines นอกจากนี้ในข้าวที่สุกแล้วยังมีการปล่อยแก๊สจำพวก hydrogen sulfide, ammonia และแก๊ส CO<sub>2</sub> อีกด้วย ซึ่งมาจากผลการศึกษาของ Obata และ Tanaka, 1965 ต่อมาได้มีการศึกษากลุ่มของสารหอมระเหยที่พบในข้าว พบว่ามีมากกว่า 114 ชนิด (Tsuzuki และคณะ 1981 และ Buttery และคณะ 1983b) ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารระเหยและสารหอมระเหยที่พบในข้าวมีหลากหลายชนิด แต่จากการศึกษาของ Yajima และคณะ 1979, Buttery และคณะ 1983a, Suvamalatha และคณะ 1984, Tsugita 1995 และ 1996 และ Widjaja และคณะ 1996 พบว่าจะมีสารหอมระเหยตัวหนึ่งที่จะพบในข้าวหอมทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นข้าวหอม Basmati ของอินเดีย ข้าวหอม Goolarah และข้าวหอม YRF9 ของออสเตรเลีย และข้าวหอม Jasmine ของไทย สารตัวนั้นก็คือ 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) ซึ่งเป็นสารตัวเดียวกับที่พบในใบเตย แต่ในใบเตยจะมีความเข้มข้นสูงกว่าข้าวประมาณ 10 เท่า (วาสนา, 2538) สาร 2-AP สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด และสามารถพบได้ในอาหารบางชนิด เช่น ข้าวฟ่าง (Prasada and Murty, 1979 and Yundaenget al., 2013), ใบเตย (Buttery et al., 1983a) เมล็ดของมะม่วงป่า (*Irvingiagabonensis*) (Tairu et al., 2000) ชาเขียว (Japanese Kamairi-cha and Chinese Longing tea) (Kumazawa and Masuda, 2002) ขนมนึ่งที่มีส่วนประกอบจากดอกไม้ (*Vallisglabra*Ktze) (Wongpornchai et al., 2003) ถั่วเหลืองสด (*Glycine max* L.) (Wu et al., 2009) ถั่วลิสง (Kaneko et al., 2013) เฮเซลนัท (*Corylusavellana* L.“Tonda Gentile”) (Kiefl et al., 2013) เห็ดสีข้าวทอด (*Agaricusbisporus* L.) (Grosshauser and Schieberle, 2013) เมล็ดฟักทองทอด (*Cucurbita-peposubsp. Pepo* var. *Styriaca*) สารสกัดจากยีสต์ (Lin et al., 2013) กุ้งลอบสเตอร์

(*Homarus americanus*) กุ้ง (*Pandalus borealis*) (Lee et al., 2001 and Rochat et al., 2009) แมงคานา ต้มเค็ม (*Lethocerus indicus*) (Kiatbenjakul et al., 2015) ขนมปังโฮลวีด (Moskowitz et al., 2012) แฮม (Song and Cadwallader, 2008) นมผงและนมถั่วเหลือง (Karagul-Yuceer et al., 2001 and Lozano et al., 2007) ชี้อั่ว (Steinhaus and Schieberle, 2007) และขนมน้ำมันฝรั่ง (Majcher, 2005)

สาร 2-acetyl-1-pyrroline หรือ 2-AP เป็นสารในกลุ่ม pyrroline สาร 2-AP จะถูกสังเคราะห์ ในวิถี polyamine และมีกรดอะมิโน proline เป็นสารตั้งต้น การเปลี่ยนจากกรดอะมิโนโพรลีนไป เป็น 2-Acetyl-1-pyrroline (รูปที่ 1-1) ต้องผ่านหลายขั้นตอน โดย Bradury et al. (2008) ได้อธิบายถึง ขั้นตอนการเปลี่ยน  $\gamma$ -Aminobutyraldehyde (GABald) ไปเป็นสารสำคัญสองตัวคือ  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) และ 1-pyrroline ซึ่งในขั้นตอนนี้ถูกควบคุมด้วยเอนไซม์ Betaine Aldehyde Dehydrogenase (BAD2) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Amino Aldehyde Dehydrogenase ในสถานะที่มี เอนไซม์ BAD2 สาร GABald จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสาร  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) แต่ใน ขณะเดียวกันในสถานะที่ขาดเอนไซม์ BAD2 หรือเอนไซม์นี้อยู่ในรูปที่ทำงานไม่ได้ inactive form สาร GABald จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสาร 1-pyrroline และก็จะเปลี่ยนไปเป็นสาร 2-Acetyl-1-pyrroline ในที่สุด

ซึ่งการแสดงออกของเอนไซม์ดังกล่าวถูกควบคุมด้วยยีนคือ *badh2* (betaine aldehyde dehydrogenase homologue 2) หรือยีน *Os2AP* (*Oryza sativa* 2-acetyl-1-pyrroline) โดยปกติยีน *Badh2* จะเปลี่ยนสาร  $\gamma$ -aminobutyraldehyde (GABald) เป็น  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) แต่เมื่อ ยีนดังกล่าวเกิดการกลายพันธุ์เป็นยีน *badh2* ข้าวจะเปลี่ยนสาร GABald เป็นสาร 2-AP จึงทำให้ข้าว มีกลิ่นหอม (Bradbury และคณะ 2008, Vanavichit และ Yoshihashi, 2010) ปริมาณสาร 2-AP จะมีความแปรปรวนเป็นอย่างมาก โดยการศึกษาของ (บัณฑิต, 2548) พบว่าปริมาณของสาร 2-AP ใน ข้าวหอมดอกมะลิ 105 ที่ถูกเก็บมาจาก 40 แห่งในเขตทุ่งกุลาร้องไห้มีปริมาณสาร 2-AP ที่แตกต่างกัน ดังนั้นปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมและคุณภาพของแหล่งที่ปลูกมีผลต่อปริมาณสารหอมในข้าว โดย จากการศึกษาของ Yoshihashi และคณะ 2004 พบว่าข้าวหอมดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในเขตทุ่งกุลาร้องไห้จะมีความหอมมากกว่าที่ปลูกในบริเวณอื่นของประเทศ โดยบริเวณที่เป็นเขตของทุ่งกุลาร้องไห้จะมีสภาพของดินเป็นดินทราย และแห้งแล้ง มีความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำ ซึ่งน่าจะเป็น ปัจจัยทำให้ข้าวมีการสะสมของ proline มากขึ้น ซึ่ง proline เองเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สาร 2-AP และข้าวหอมต่างประเทศอีกชนิดหนึ่งที่มีลักษณะเดียวกันคือ ข้าวหอม Basmati ของอินเดีย และปากีสถาน ซึ่งเป็นข้าวหอมที่มีปริมาณของสาร 2-AP สูงด้วยเช่นกัน ก็พบว่าข้าวชนิดนี้ถ้าปลูก ในบริเวณที่เรียกว่า Punjab จะมีปริมาณสารหอมสูงกว่าปลูกในบริเวณอื่นของประเทศ (Singh, 2000, Itani และคณะ 2004)



**รูปที่ 1-1** แสดงวิธีการสังเคราะห์  $\gamma$ -Aminobutyraldehyde (GABald) โดยใช้กรดอะมิโน โพรลีน เป็นสารตั้งต้น และแสดงการเปลี่ยนแปลงในสองทิศทางของสาร GABald ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีเอนไซม์ betaine aldehyde dehydrogenase (BAD2) โดยในสภาวะที่มีเอนไซม์นี้ สาร GABald จะเปลี่ยนไปเป็นสาร  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) และในขณะเดียวกันในสภาวะที่ไม่มีเอนไซม์นี้สาร GABald จะเปลี่ยนไปเป็นสาร 2-Acetyl-1-pyrroline (2AP) (Bradury et al. 2008)

เทคนิคการฉายรังสีแกมมาเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (Kovacs and Keresztes 2002) และเทคนิคนี้ได้ใช้แพร่หลายในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ในพืชที่ใช้เป็นอาหารหลัก เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น (Maluszynski et al., 1995 and Ahloowalia and Maluszynski, 2001) ในข้าวเทคนิคการฉายรังสีแกมมานิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ดีขึ้น เช่น ทนต่อโรค ทนต่อสภาพที่ไม่เหมาะสมต่างๆ เช่น ร้อนเกินไป เย็นเกินไป หรือทนเค็ม

เป็นต้น (Jain et al. 1998) หรือบางรายงานว่าผลของรังสีแกมมามีผลต่อการงอกของเมล็ด การเจริญของลำต้น และรากของข้าวด้วย (Sasikala and Kalaiyarasai, 2010) นอกจากนี้ในข้าวบางสายพันธุ์ เช่น ข้าว Japonica rice รังสีแกมมาทำให้ปริมาณแป้งในเมล็ดเพิ่มขึ้น แต่ทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระลดลง (Chen et al., 2015) และนอกจากนี้ในข้าวสายพันธุ์ MRXII (ซึ่งเป็นข้าวที่ทำให้กลายพันธุ์โดยใช้รังสี) ยังพบปริมาณ tocopherol เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับข้าวไม่ได้รับการฉายรังสี DA (Hwang et al., 2014) ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline และการเจริญเติบโตของข้าวไร้ลิ้มรส เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนา ปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวชนิดนี้ต่อไป

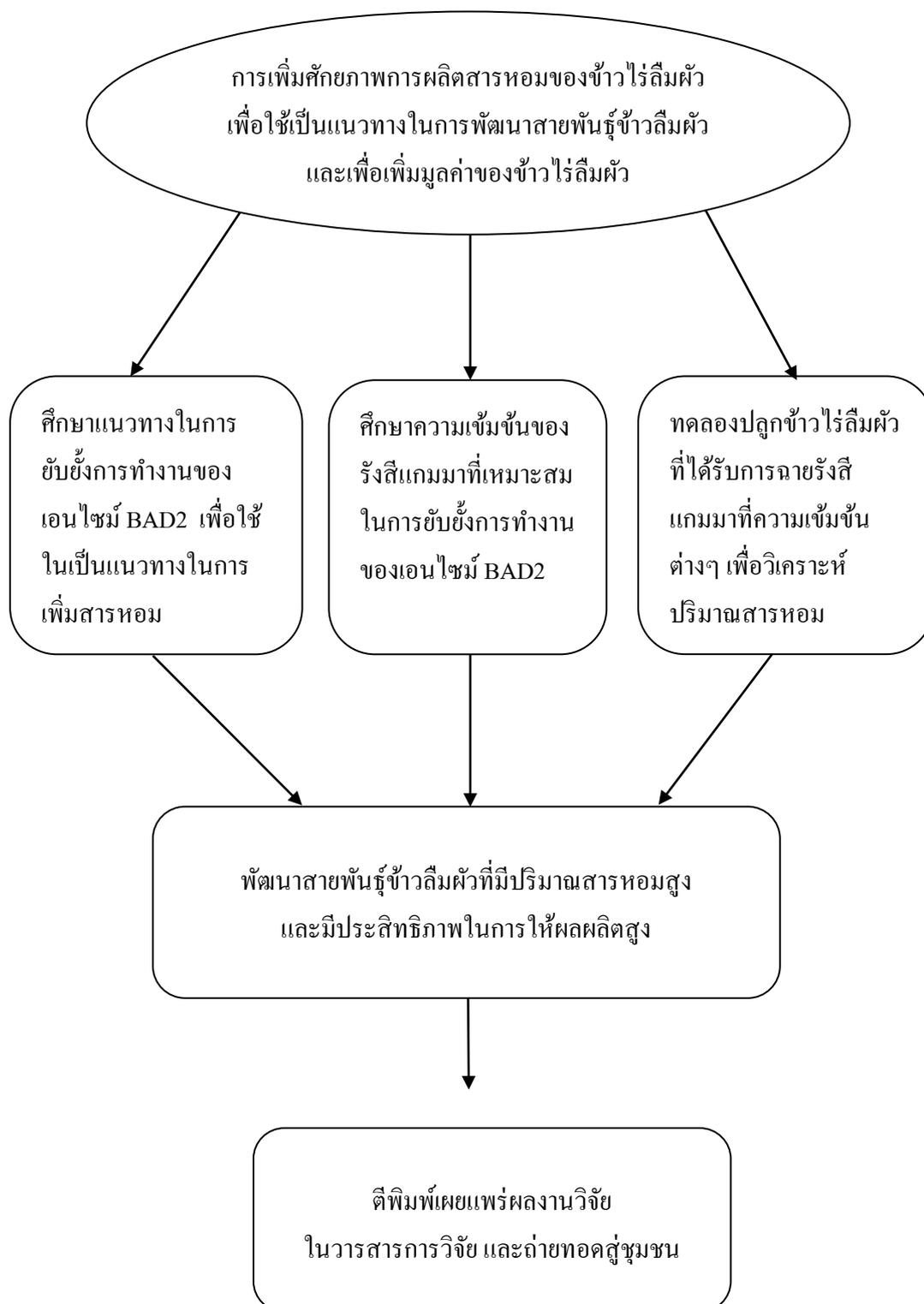
## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณสารหอมในการเพิ่มมูลค่าข้าวไร้ลิ้มรส โดยวิธียับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2 ด้วยเทคนิคการฉายรังสีแกมมา

1.2.2 เพื่อศึกษาความเข้มข้นของรังสีแกมมาที่เหมาะสมในการยับยั้งเอนไซม์ BAD2 ต่อการเพิ่มปริมาณสารหอม

1.2.3 เพื่อนำสายพันธุ์ข้าวไร้ลิ้มรสที่มีปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้นไปพัฒนา และถ่ายทอดสู่เกษตรกรต่อไป

### 1.3 สummation การวิจัย



## 1.4 ระเบียบวิธีวิจัย

### 1.4.1 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ตรวจเอกสาร และเอกสารรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารหอม วิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 1.4.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างของข้าวในแหล่งเพาะปลูกต่างๆ เช่น แหล่งเพาะปลูกจังหวัดเพชรบูรณ์ ประชากร ได้แก่ เกษตรกรที่ปลูกข้าวในจังหวัดที่กล่าวมา

### 1.4.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน

การวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยมีขั้นตอนการดำเนินการดังต่อไปนี้

1. ประชุมทำความเข้าใจกับทีมวิจัยทั้งในมหาวิทยาลัย ให้เห็นเป้าหมายและแนวทางเดียวกัน
2. ติดต่อประสานงานเพื่อขอความร่วมมือกับองค์กรภาครัฐ เช่น โรงเรียน อบต. เอกชน องค์กรชุมชน ประชาชนและภูมิปัญญาท้องถิ่นที่เกี่ยวข้อง เพื่อสร้างความร่วมมือ เพื่อทำให้งานวิจัยบรรลุวัตถุประสงค์
3. ดำเนินการวิจัย สืบรวบรวม ระดมความคิดร่วมกันทำงาน ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับการสกัด การวิเคราะห์ปริมาณสารหอมของข้าวไร้ลิ้มผิว
4. ถ่ายทอดเทคโนโลยีในรูปแบบวารสารงานวิจัย
5. สรุปและรวบรวมผลงานวิจัย

## 1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

2-AP	2-acetyl-1-pyrroline
BAD2	Betaine Aldehyde Dehydrogenase2
°C	Degree(s) Celsius
cm	(centre) Meter
g	Gram
GABA	Gamma-Aminobutyric acid
GABald	Gamma-Aminobutyraldehyde
Gy	Gray
mg	(milli) Gram
min	Minute

mL	(milli) Liter
m/z	mass-to-charge ratio
uL	(micro) Liter

## 1.6 ประโยชน์ของการวิจัย

1.6.1 ได้ผลการศึกษาเพิ่มปริมาณสารหอมในการเพิ่มมูลค่าข้าวไร้ลิ้มฟัว โดยวิธียับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2 ด้วยเทคนิคการฉายรังสีแกมมา

1.6.2 ได้ผลการศึกษาความเข้มข้นของรังสีแกมมาที่เหมาะสมในการยับยั้งเอนไซม์ BAD2 ต่อการเพิ่มปริมาณสารหอม

1.6.3 ได้นำสายพันธุ์ข้าวไร้ลิ้มฟัวที่มีปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้นไปพัฒนา และถ่ายทอดสู่เกษตรกรต่อไป

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

**เกษม สุนทรจารย์ (2556)** พบว่าข้าวหอมเป็นข้าวเฉพาะที่มีราคาสูงในตลาดการค้าข้าวโลก ลักษณะความหอมจึงเป็นเป้าหมายสำคัญของการผลิตและการปรับปรุงพันธุ์ ยีนควบคุมความหอม ยีนด้อยอยู่บนโครโมโซม 8 มีลำดับเบสตรงกับยีนที่มีเอนไซม์ betaine aldehyde sehydrogenase (BADH2) โดย exon 7 เกิด 8 bp deletion จึงมีการสะสมของสาร 2-acetyl-1-pyrroline (1AP) ในการทดลองนี้ได้ทำการทดสอบ BADEX 7-5 primer ซึ่งเฉพาะเจาะจงต่อยีนควบคุมความหอมของข้าว (BADH2) ด้วยวิธี PCR แบบดั้งเดิม และวิธี Real-time PCR พบว่าได้ PCR products ของข้าวหอมและไม้หอมขนาด 95 และ 103 bp ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับเบส พบว่าในกลุ่มข้าวหอมทุกพันธุ์มี 8 bp deletion และพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 แตกต่างจากข้าวหอมปทุมธานี 1 ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี 1 ข้าวเจ้าหอมพิษณุโลก 1 และข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 เนื่องจากพบ bade deletion ในตำแหน่งที่ 9 ในขณะที่ตำแหน่งนี้พบ SNP ในข้าวหอมที่เหลืออีก 4 พันธุ์ เมื่อวิเคราะห์ High Resolutions Melting พบว่าข้าวหอมและไม้หอมให้ค่า Tm ต่างกันประมาณ 1 องศาเซลเซียส อย่างชัดเจน การทดลองสามารถปรับสภาพการทำปฏิกิริยา Real-time PCR ที่เหมาะสมจนถึงปริมาณ 10 ไมโครลิตร เมื่อนำวิธีการนี้มาใช้ตรวจสอบข้าวจากศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติที่มีคำว่า “หอม” อยู่ในชื่อพันธุ์จำนวน 339 พันธุ์ พบว่าสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ตามขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกเพิ่มปริมาณตรงตามตำแหน่งของยีน BADH2 โดยกลุ่มข้าวที่มีขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอ 95 bp มีจำนวน 243 พันธุ์และกลุ่มข้าวที่มีขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอ 103 bp มีจำนวน 96 พันธุ์ วิธี Real-time PCR สามารถทำได้รวดเร็ว แม่นยำ และทำได้จำนวนมาก (high-throughput) ดังนั้น จึงอาจประยุกต์ใช้วิธีค้นหา ยีนควบคุมความหอมของเชื้อพันธุ์กรรมข้าว ในศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ

**ศรีสวัสดิ์ ชันทอง (2553)** พบว่าความหอมเป็นปัจจัยหนึ่งที่กำหนดคุณภาพและราคาของข้าว ส่งผลให้ข้าวหอมถูกจัดอยู่ในกลุ่มข้าวที่มีคุณภาพสูง ด้วยความหอมที่เป็นเอกลักษณ์ จึงทำให้ข้าวหอมเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภคโดยทั่วไป ดังนั้น บทความสามมมนานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่ออภิปรายถึงยีนความหอมและลักษณะพื้นฐานทางอนุพันธุศาสตร์ของข้าวหอม ความหอมของข้าวเกิดจากสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) ซึ่งถูกสังเคราะห์ในวิถี polyamine โดยมีกรดอะมิโน proline เป็นสารตั้งต้น และถูกควบคุมด้วยยีนด้อย *badh* ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 4 และ 8 ในสภาพปกติ ยีน *Badh* จะเปลี่ยนสาร gamma-aminobutyraldehyde (GABald) เป็นสาร gamma-

aminobutyric acid (GABA) แต่ถ้ายีนดังกล่าวเกิดการกลายพันธุ์ ข้าวจะเปลี่ยนสาร GABA เป็น สาร 2AP จึงทำให้ข้าวมีกลิ่นหอม จากองค์ความรู้ดังกล่าว นำมาซึ่งแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ ข้าวไม่หอมให้มีกลิ่นหอม ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การก่อให้เกิดการกลายพันธุ์บริเวณยีน *Badh* ด้วยการฉายรังสีหรือการใช้สารเคมี การใช้เทคโนโลยี RNAi เพื่อยับยั้งการแสดงออกของยีน *Badh* และการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก

**สุปรีดา หอมกลิ่น และคณะ (2555)** พบว่าลักษณะความหอมในข้าวเป็นลักษณะที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ถูกควบคุมด้วยยีน *Os2AP* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 8 งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะตรวจสอบความหอมในเชื้อพันธุ์กรรมข้าวไร่ของไทยจำนวน 618 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ 4 ตำแหน่งที่จำเพาะต่อยีน *Os2AP* ได้แก่ Aromarker, 3In2AP, 3'Indel-UTR และ 5'SSR ตลอดจนวิเคราะห์คุณภาพหุงต้มและ ความหนาแน่นของธาตุเหล็กในเมล็ด จากผลการตรวจสอบ จีโนไทป์พบว่า Aromarker สามารถคัดแยกข้าวไร่ที่มีความหอมออกจากข้าวไร่ไม่หอมได้ โดยมีข้าวไร่หอมจำนวน 78 ตัวอย่าง แบ่งเป็นข้าวเจ้า 20 ตัวอย่าง ข้าวเหนียว 57 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่เป็นเฮเทอโรไซกัส จำนวน 1 ตัวอย่าง ส่วน 3In2AP marker ไม่สามารถคัดแยกข้าวไร่หอมในประเทศไทยออกมาได้ นอกจากนี้ยังพบข้าวไร่ 1 ตัวอย่าง ที่มีความหอม แต่ Aromarker และ 3In2AP marker ไม่สามารถแยกจีโนไทป์ได้ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสาร 2AP โดยวิธี Headspace-GC/MS พบว่ามีปริมาณสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) เท่ากับ 2.52 ppm เมื่อวิเคราะห์ความหลากหลายของยีน *Os2AP* พบว่าตำแหน่ง 'Indel-UTR มี 3 แอลลีล และ 'SSR มี 9 แอลลีล เมื่อวิเคราะห์คุณภาพหุงต้มของข้าวไร่ พบว่าประชากรข้าวไร่ชนิดข้าวเจ้าส่วนใหญ่มีปริมาณแป้งอะไมโลสต่ำ (10-19%) โดยมีจำนวนถึง 223 ตัวอย่าง ค่าอุณหภูมิแป้งสุกส่วนใหญ่จะต่ำกว่า 70 °C เมื่อตรวจสอบความหนาแน่นของธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวไร่ โดยใช้วิธี Perls' Prussian blue พบว่าข้าวไร่ส่วนใหญ่มีระดับธาตุเหล็กอยู่ที่ระดับคะแนน 2 (334 ตัวอย่าง) และพบข้าวไร่ที่มีปริมาณธาตุเหล็กสูง (คะแนน 3) จำนวน 57 ตัวอย่าง จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมและคุณค่าทางเศรษฐกิจของข้าวไร่ในประเทศไทย สามารถนำไปส่งเสริมให้เกษตรกรบนพื้นที่สูงปลูก เพื่อเพิ่มความหลากหลายของข้าวพันธุ์ปลูกต่อไป

**นภาพร ธรรมชูเชาวรัตน์ (2554)** ศึกษา Betaine Aldehydehydrogenase 2 (BADH 2) เกี่ยวข้องกับการสร้างสารหอมหลักชนิดหนึ่งในข้าว นั่นคือ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) โดยพบยีน BADH2 อยู่ในบริเวณที่เกี่ยวข้องกับความหอม (*fgr* gene) บนโครโมโซมคู่ที่ 8 ยีนดังกล่าวพบได้ในข้าวหอมและข้าวไม่หอม โดยในข้าวหอมพบว่าเกิดการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ 8 นิวคลีโอไทด์และเกิดการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 3 ตำแหน่งในเอกซอนที่ 7 ทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ของยีนไป ส่งผลให้ข้าวนี้มีการผลิตสารหอม 2AP ขึ้น

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาเอนไซม์ BADH2 กลายพันธุ์ในข้าว โดยทำการกลายพันธุ์ด้วยวิธี Site Directed Mutagenesis โดยการเพิ่มกรดอะมิโนไทโรซีนในตำแหน่ง 420 (Y420 insertion) และทำการกลายพันธุ์แบบแทนที่ด้วยกรดอะมิโนอะลานีนที่ตำแหน่ง 162 260 และ 294 ( N162A E260A และ C294) ตามลำดับ พบว่าการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Y420 N162A และ E260A ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการจับกับโคแฟกซ์เตอร์  $NAD^+$  และ  $NADH$  แต่ทำให้การจับกับเอนไซม์กลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง C294A มีประสิทธิภาพลดลง เมื่อจับกับโคแฟกซ์เตอร์  $NAD^+$  และมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น เมื่อจับกับ  $NADH$  เมื่อเทียบกับ BADH2 ดั้งเดิม การศึกษาสมบัติทางจลนศาสตร์ของเอนไซม์ BADH2 กลายพันธุ์ต่อสับสเตรท aminobutyraldehyde (AB-ald) และ Betaine aldehyde ( Bet-ald) ( $K_m$  และ  $k_{cat}/K_m$ ) พบว่าเอนไซม์ BADH2 ดั้งเดิมทำปฏิกิริยากับสับสเตรททั้ง 2 ชนิดได้ดีกว่าเอนไซม์ BADH2 กลายพันธุ์ทั้ง 4 แบบ

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การเตรียมเมล็ดข้าวเพื่อฉายรังสีแกมมา

ข้าวไร้ลิ้มผิวเก็บมาจากอำเภอหนองแม่นา จังหวัดเพชรบูรณ์ เมล็ดข้าวที่ได้นำมาทำความสะอาดด้วย 0.1% sodium hypochlorite เป็นเวลา 30 min หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น นำไปอบที่ 40 °C จนให้เหลือความชื้นน้อยกว่า 13 % นำข้าวที่ได้ประมาณ 25 g ใส่ถุงพลาสติกไปทำการฉายรังสีที่หน่วยบริการฉายรังสีแกมมา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงเป็น <sup>137</sup>-cesium โดยใช้ความเข้มข้นของรังสีดังต่อไปนี้ 0 (control), 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200 and 250 Gy ที่ dose rate เท่ากับ 3 Gy/min.

#### 3.2 การศึกษาการเจริญเติบโตของข้าวไร้ลิ้มผิว

เมล็ดข้าวไร้ลิ้มผิวที่ได้รับและไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมาจำนวน 100 เมล็ดต่อความเข้มข้นของรังสี นำมาปลูกในกล่องโฟม และกระดาชเพาะเมล็ด ให้น้ำ 1 ครั้งต่อวัน เมื่อข้าวอายุได้ 7 วัน และ 14 วัน (seedling stage I) และ (seedling stage II) ทำการวัดความสูงของต้นข้าว และเก็บส่วนของลำต้น และส่วนของรากไว้วิเคราะห์สารหอมต่อไป เมื่อข้าวอายุได้ 14 วัน นำข้าวประมาณ 25 ย้ายต้นข้าวลงปลูกในกระถาง ให้น้ำ 1 ครั้งต่อวัน ประมาณ 500 mL ต่อวัน ทำการวัดความสูงของต้นข้าว เมื่อข้าวมีอายุ 37 วัน (Middle tillering stage) 52 วัน (Panicle initiation stage) 74 วัน (Flowering stage) และ 101 วัน (harvested stage) และทำการเก็บลำต้นข้าว และส่วนของรากข้าว เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สารหอมต่อไป

#### 3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ 2-acetyl-1-pyrroline

2-Acetyl-1-pyrroline (95% purity) จากบริษัท BOC Sciences (New York, USA) เตรียมความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 5mg/mL ได้จากการเติม 2 mL ของ methanol : toluene (1 : 1) เข้าไปใน 10 mg ของ 2-Acetyl-1-pyrroline หลังจากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 mg/mL ด้วย ethanol การเตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ 10 µL ของแต่ละความเข้มข้นของ 2-acetyl-1-pyrroline และ 10 µL ของ 2,4,6-trimethylpyridine (TMP) (internal standard) และปรับปริมาตรเป็น 760 µL ด้วย ethanol

### 3.4 การสกัด 2-acetyl-1-pyrroline จากต้น และรากของข้าวไร่ล้มผัว

ตัวอย่างของข้าวทำให้ละเอียดโดยใช้ในโตรเจนเหลวด้วย CryoMill (Retsch, ermany) จากนั้นตัวอย่างของข้าวที่บดละเอียดประมาณ 0.3 g นำไปละลายด้วย 760  $\mu$ l ของสารละลายที่มี 0.01 mg/ml ของ TMP ใน ethanol (ใน 1.5 *micro centrifuge*tubes) หลังจากนั้นผสมสารตัวอย่างด้วย vertex mixer และหลังจากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นที่ความเร็วต่ำด้วย Bio RS-24 vertical rotator mixer (BIOSAN, Latvia) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากครบสองชั่วโมงนำไปปั่นที่ 13,000 rpm 10 นาที แล้วเก็บเอาส่วนใสสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารหอม และชนิดของสารระเหยต่อไป

### 3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณ 2-Acetyl-1-pyrroline

การวิเคราะห์หาปริมาณของ 2-Acetyl-1-pyrroline และชนิดของสารระเหยโดยใช้ Gas Chromatograph 450-GC และ TQ mass Spectrometer 320-MS โดยใช้สารละลายตัวอย่างข้าว 4  $\mu$ l สำหรับการวิเคราะห์ (ที่ผ่านการสกัดจากหัวข้อ 2.3) โดยใช้ silica capillary column ของ (J&W Scientific, Folsom, CA) (DB-Wax (60 m  $\times$  0.25 mm i.d.  $\times$  0.25  $\mu$ m film thickness) สำหรับการหาปริมาณของ 2-acetyl-1-pyrroline โดยการหาพื้นที่ใต้กราฟระหว่างไอออนของ 2-acetyl-1-pyrroline ( $m/z$  83) และ 2,4,6-trimethylpyridine ( $m/z$  79) และคำนวณปริมาณจากกราฟมาตรฐานของ 2-acetyl-1-pyrroline

### 3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่า means  $\pm$  standard deviation (means  $\pm$  SD) การคำนวณค่าทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS version 22.0 (IBM customer no.441840, Phetchabun Rajabhat University) ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มใช้วิธีวิเคราะห์แบบ one-way analysis of variance (ANOVA) โดยค่าความแตกต่างอยู่ที่  $p < 0.05$

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 ผลของรังสีแกมมาต่อความสูงของต้นข้าวไร้มันม่วง

จากผลการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อความสูงของต้นข้าวไร้มันม่วง พบว่ารังสีแกมมามีผลต่อความสูงของต้นข้าว โดยทุกความเข้มของรังสีทำให้ความสูงของต้นข้าวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา ยกเว้นที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 20Gy ความสูงของต้นข้าวมีค่าลดลง เมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาพบว่าแนวโน้มความสูงของต้นข้าวเพิ่มขึ้นจากความเข้มข้นของรังสี 40 Gy ถึง 150 Gy และหลังจากนั้นความสูงของต้นข้าวมีแนวโน้มลดลงที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 200 Gy และ 250 Gy และพบว่าความสูงของต้นข้าวสูงที่สุดเมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นเท่ากับ 150 Gy (ตารางที่ 4-1 และรูปที่ 4-2 ถึง 4-25)

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของข้าวไร้มันม่วงที่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสีแกมมา พบว่าความสูงของต้นข้าวเพิ่มขึ้นจากระยะต้นกล้าอายุ 7 วัน จนถึงระยะ ออกดอก 74 วัน ( $4.43 \pm 0.83$  (7 วัน) cm to  $40.96 \pm 1.06$ cm (74 วัน) (ตารางที่ 4-1 และรูปที่ 2 ถึง 25) และเมื่อศึกษาแนวโน้มความสูงของต้นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมา พบว่ามีแนวโน้มความสูงเพิ่มขึ้นจากระยะต้นกล้าคือ 7 วัน ถึงระยะออกดอก ยกเว้นที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 20 Gy ความสูงของต้นข้าวมีความสูงเพิ่มขึ้นจากระยะต้นกล้าถึงช่วงอายุ 32 วัน (ระยะแตกกอ) ( $3.99 \pm 0.42$ cm ถึง  $20.20 \pm 0.69$  cm) หลังจากนั้นที่ระยะตั้งท้อง (52 วัน) ความสูงของต้นข้าวไม่เพิ่มขึ้น ( $20.81 \pm 0.60$  cm) และหลังจากระยะนี้ต้นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นรังสีเท่ากับ 20 Gy ก็ตาย และนอกจากนี้ต้นข้าวที่ได้รับการความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 40 Gy มีความสูงลดลงเล็กน้อย เมื่อข้าวเข้าสู่ช่วงออกดอก (74 วัน) ( $47.91 \pm 0.51$  cm) เทียบกับต้นข้าวที่อยู่ในช่วงตั้งท้อง (52 วัน) ( $49.67 \pm 0.96$ cm) (ตารางที่ 4-1 และรูปที่ 2 ถึง 25)

ตารางที่ 4-1 ผลของรังสีแกมมาต่อความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มผัว

$\gamma$ -doses (Gy)	Shoot length (cm)				
	7 days	14 days	37 days	52 days	74 days
0	4.43 ± 0.83 <sup>ef</sup>	8.91 ± 0.49 <sup>e</sup>	30.37 ± 0.46 <sup>e</sup>	38.03 ± 0.97 <sup>d</sup>	40.96 ± 1.06 <sup>c</sup>
20	3.99 ± 0.42 <sup>f</sup>	8.72 ± 0.43 <sup>c</sup>	20.20 ± 0.69 <sup>h</sup>	20.81 ± 0.60 <sup>h</sup>	ND
40	6.46 ± 0.28 <sup>d</sup>	9.61 ± 0.06 <sup>d</sup>	45.26 ± 0.95 <sup>b</sup>	49.67 ± 0.96 <sup>b</sup>	47.91 ± 0.51 <sup>b</sup>
60	7.36 ± 0.39 <sup>c</sup>	9.64 ± 0.24 <sup>d</sup>	21.37 ± 0.49 <sup>g</sup>	28.80 ± 0.95 <sup>g</sup>	29.89 ± 0.86 <sup>f</sup>
80	8.79 ± 0.19 <sup>b</sup>	11.93 ± 0.15 <sup>c</sup>	33.72 ± 0.56 <sup>c</sup>	35.03 ± 0.86 <sup>e</sup>	36.48 ± 0.76 <sup>e</sup>
100	9.07 ± 0.40 <sup>ab</sup>	12.89 ± 0.24 <sup>b</sup>	31.04 ± 0.71 <sup>ed</sup>	36.30 ± 0.89 <sup>e</sup>	38.39 ± 0.87 <sup>d</sup>
150	9.64 ± 0.39 <sup>a</sup>	14.13 ± 0.40 <sup>a</sup>	47.69 ± 0.59 <sup>a</sup>	58.94 ± 0.89 <sup>a</sup>	59.28 ± 0.84 <sup>a</sup>
200	9.44 ± 0.64 <sup>ab</sup>	12.61 ± 0.13 <sup>b</sup>	31.82 ± 0.43 <sup>d</sup>	47.70 ± 0.79 <sup>c</sup>	47.22 ± 0.93 <sup>b</sup>
250	4.83 ± 0.23 <sup>e</sup>	9.94 ± 0.15 <sup>d</sup>	25.14 ± 0.79 <sup>f</sup>	33.08 ± 0.38 <sup>f</sup>	37.33 ± 1.02 <sup>de</sup>

<sup>a-h</sup> Same letters under the same column indicate no significant difference ( $p > 0.05$ ).

ND, mean not determine .



รูปที่ 4-1 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลิ้มผัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 20 Gy และไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา เมื่อข้าวอายุ 7 วัน



40 Gy



60 Gy

รูปที่ 4-2 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลุ่มผ้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 40 Gy และ 60 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 7 วัน



80 Gy



100 Gy

รูปที่ 4-3 แสดงความสูงของต้นข้าวไร่ลุ่มผ้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 80 Gy และ 100 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 7 วัน



**รูปที่ 4-4** แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลี้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 150 Gy และ 200 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 7 วัน



**รูปที่ 4-5** แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลี้มฝั้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 250 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 7 วัน



Control



20 Gy

รูปที่ 4-6 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลีมพัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 20 Gy และไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา เมื่อข้าวอายุ 14 วัน



40 Gy



60 Gy

รูปที่ 4-7 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลีมพัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 40 Gy และ 60 Gy เมื่อข้าวอายุ 14 วัน



80 Gy



100 Gy

รูปที่ 4-8 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มฟัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 80 Gy และ 100 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 14 วัน

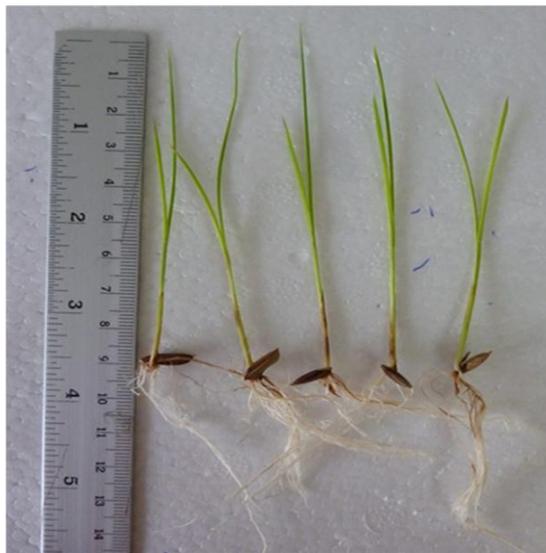


150 Gy



200 Gy

รูปที่ 4-9 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มฟัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 150 Gy และ 200 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 14 วัน



250 Gy

รูปที่ 4-10 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลี้มผ้วที่ไ้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 250 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 14 วัน

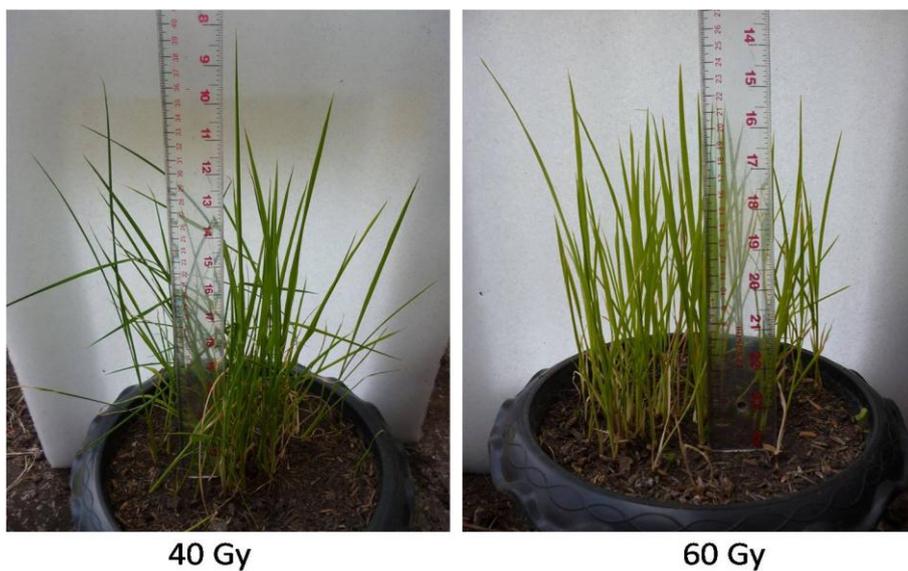


Control

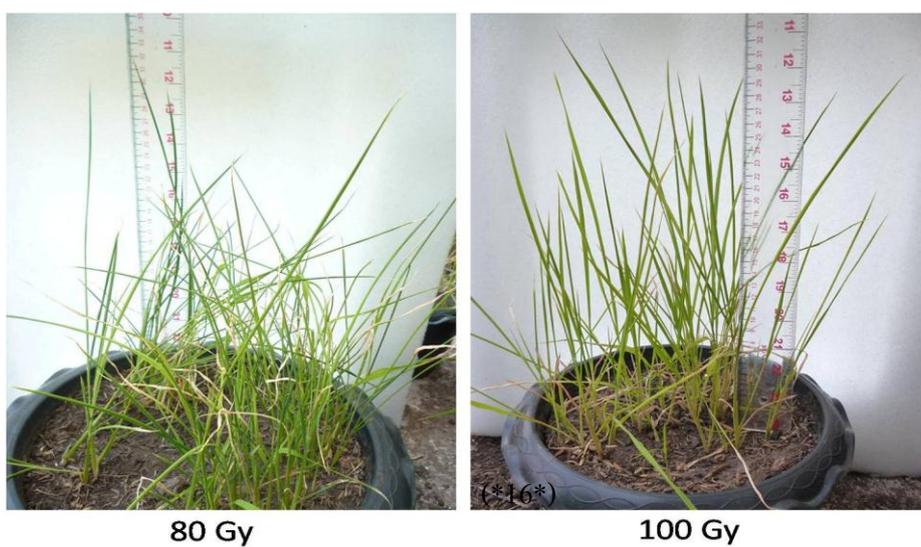


20 Gy

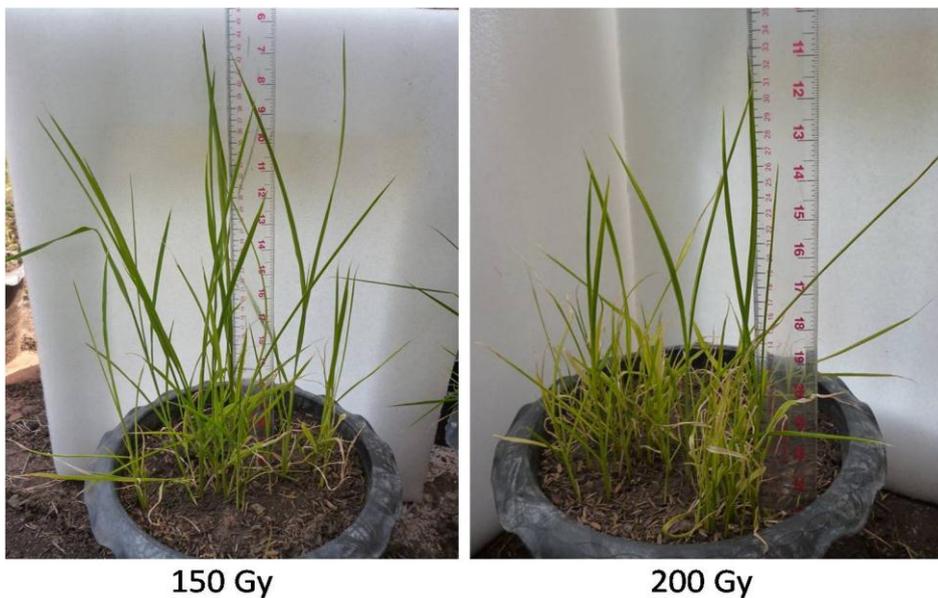
รูปที่ 4-11 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลี้มผ้วที่ไ้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 20 Gy  
และไ้ไม่ไ้รับการฉายรังสีแกมมา เมื่อข้าวอายุ 37 วัน



รูปที่ 4-12 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ล้ิมฝั้วที่ใ้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 40 Gy และ 60 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 37 วัน



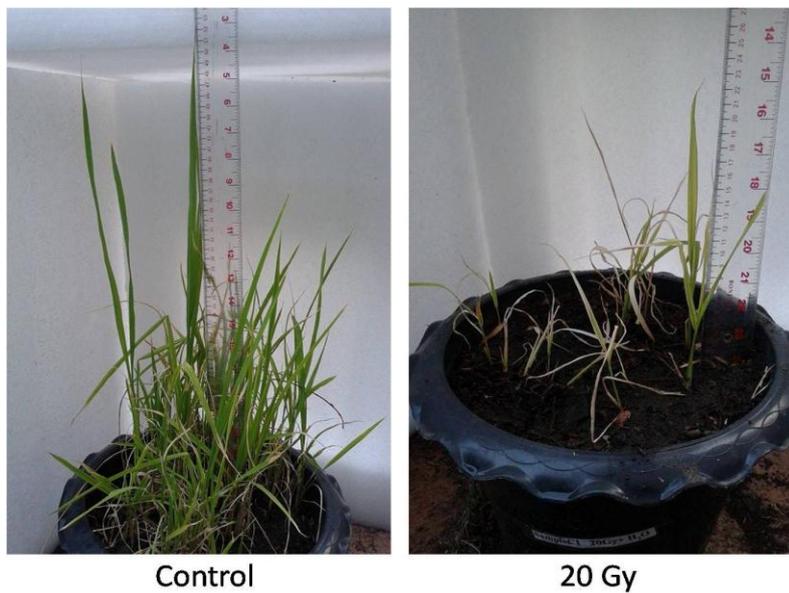
รูปที่ 4-13 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ล้ิมฝั้วที่ใ้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 80 Gy และ 100 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 37 วัน



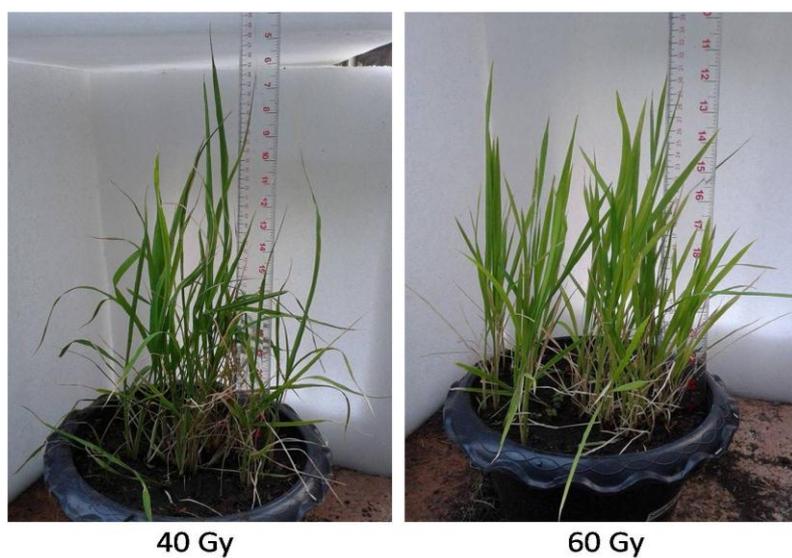
รูปที่ 4-14 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มฟัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 150 Gy และ 200 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 37 วัน



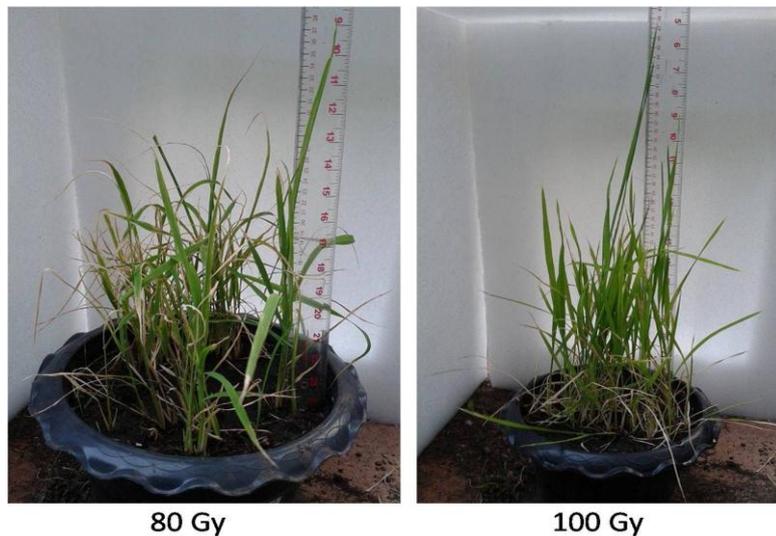
รูปที่ 4-15 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มฟัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 250 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 37 วัน



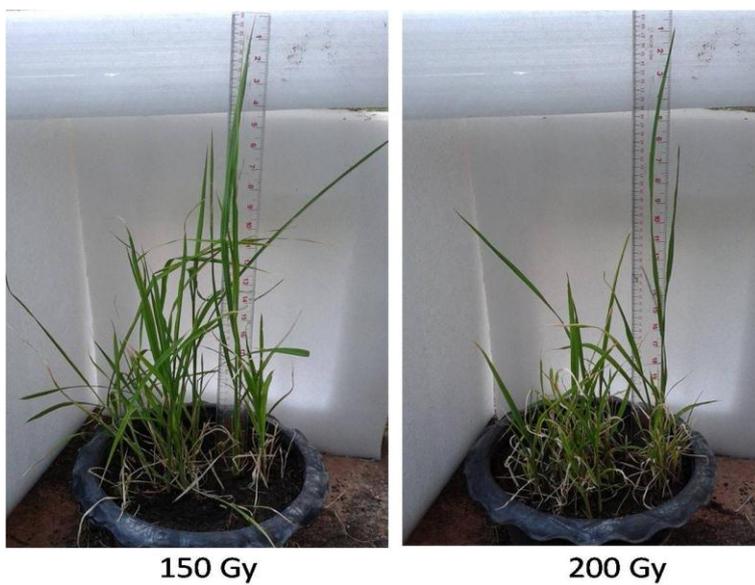
รูปที่ 4-16 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มฟัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 20 Gy และไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา เมื่อข้าวอายุ 52 วัน



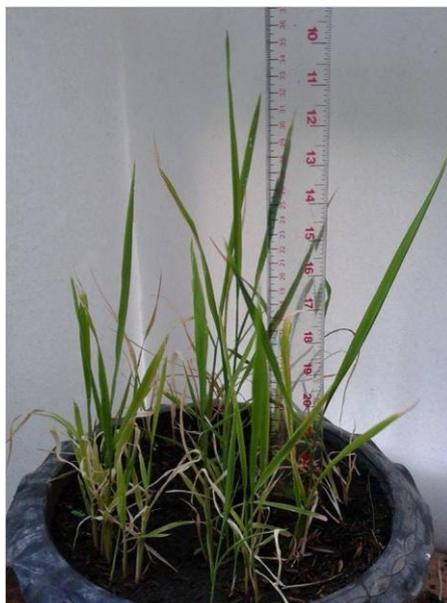
รูปที่ 4-17 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มฟัวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 40 Gy และ 60 Gy เมื่อข้าวอายุ 52 วัน



รูปที่ 4-18 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลุ่มผ้วที่ไ้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 80 Gy และ 100 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 52 วัน

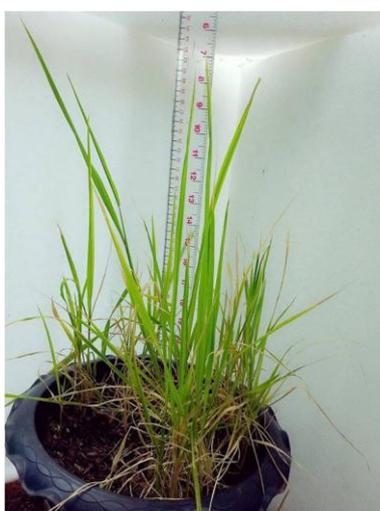


รูปที่ 4-19 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลุ่มผ้วที่ไ้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 150 Gy และ 200 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 52 วัน



250 Gy

รูปที่ 4-20 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มผ้วที่ใ้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 250 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 52 วัน

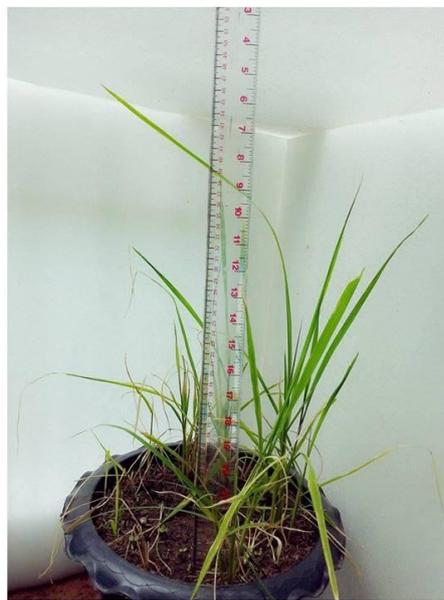


Control



40 Gy

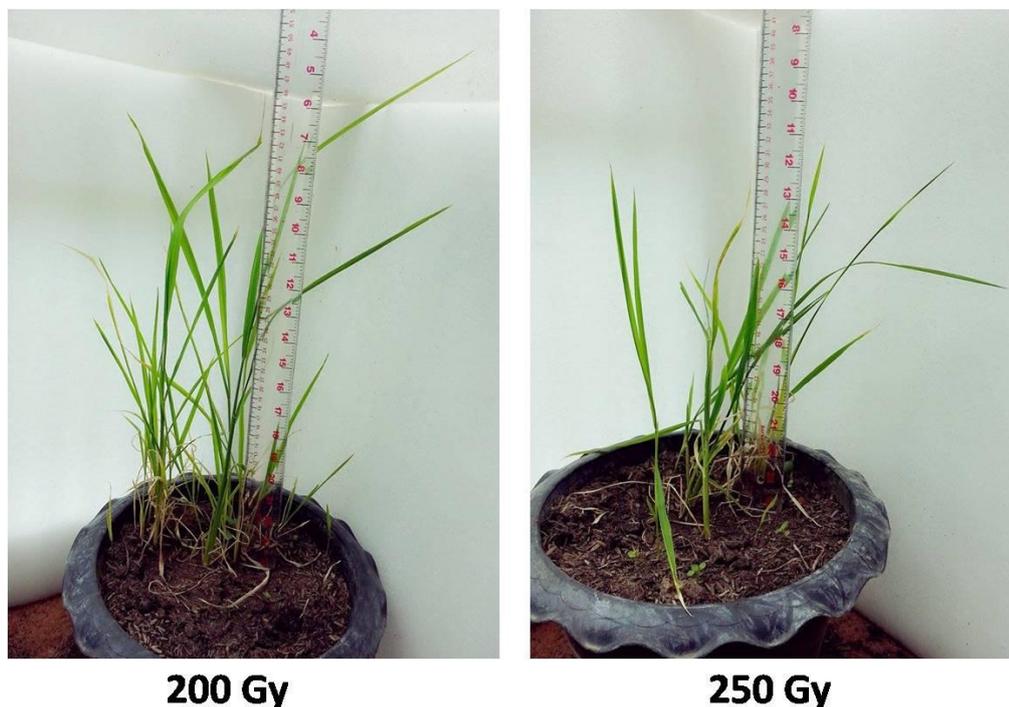
รูปที่ 4-21 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มผ้วที่ใ้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 40 Gy  
และไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา เมื่อข้าวอายุ 74 วัน

**60 Gy****80 Gy**

รูปที่ 4-22 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มผ้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 60 Gy และ 80 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 74 วัน

**100 Gy****150 Gy**

รูปที่ 4-23 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มผ้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 100 Gy และ 150 Gy  
เมื่อข้าวอายุ 74 วัน



รูปที่ 4-24 แสดงความสูงของต้นข้าวไร้ลิ้มผ้วที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 200 Gy และ 250 Gy เมื่อข้าวอายุ 74 วัน

#### 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารหอมระหว่างการเจริญเติบโตของข้าวไร้ลิ้มผ้ว

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารหอม 2-AP ในข้าวไร้ลิ้มผ้ว ได้ศึกษาจากปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากต้นข้าว และรากข้าว ตั้งแต่ช่วงอายุ 7 วัน จนถึงการเก็บเกี่ยว 101 วัน seedling stage I (7 วัน) seedling stage II (14 วัน) middle tillering (37 วัน) panicle initiation (52 วัน) flowering (74 วัน) และ harvested stage (101 วัน) (ตารางที่ 4-2) จากการศึกษพบว่าปริมาณสารหอมสูงสุดวิเคราะห์ได้จากส่วนของลำต้นข้าวเมื่อข้าวอายุได้ 14 วัน ( $55.52 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) และส่วนของรากข้าวเมื่อข้าวอายุได้ 7 วัน ( $30.67 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) และปริมาณสารหอมต่ำสุดวิเคราะห์ได้จากส่วนของลำต้นเมื่อข้าวอายุได้ 52 วัน ( $14.31 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) และ ส่วนของรากข้าวเมื่อข้าวอายุได้ 14 วัน ( $1.54 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) แนวโน้มปริมาณสารหอมในช่วงการเจริญเติบโตของข้าวค่อนข้างไม่แน่นอน โดยพบว่าปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์จากลำต้นของข้าวในช่วงอายุ 14 วัน มีปริมาณมากกว่าปริมาณสารหอมในช่วงอายุ 7 วัน ประมาณ 3.9 เท่า และหลังจากข้าวอายุได้ 14 วัน ปริมาณสารหอมลดลงในช่วงอายุของข้าว 37 วัน และ 52 วัน และปริมาณสารหอมกลับเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อข้าวเข้าสู่ช่วงตั้งท้องคืออายุ 74 วัน (ตารางที่ 4-2) ปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากรากของข้าวก็มีแนวโน้มที่คล้ายกับปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากลำต้นของข้าว โดยพบว่าปริมาณสารหอมในช่วงอายุ 14 วัน มีปริมาณน้อยกว่าช่วง

อายุ 7 วัน ประมาณ 19.9 เท่า หลังจากข้าวอายุได้ 14 วัน ปริมาณสารหอมมีค่าเพิ่มขึ้นจนเมื่อข้าวอายุได้ 52 วัน ปริมาณสารหอมมีปริมาณลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับข้าวในช่วงอายุ 37 วัน (ตารางที่ 4-2)

ตารางที่ 4-2 ปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากลำต้น และรากของข้าวไร้ลิ้มฟัว  
ระยะ 7 วัน ถึง 101 วัน

Growth stage (days)	2-Acetyl-1-pyrroline content ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	2-Acetyl-1-pyrroline content ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )
	shoot	root
7	14.12	30.67
14	55.52	1.54
37	31.43	6.83
52	14.31	5.30
74	20.40	ND
101	32.4	ND

#### 4.3 ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์จากต้นและรากของข้าว

การศึกษาผลของรังสีต่อปริมาณสารหอมในช่วงการเจริญเติบโตของข้าวไร้ลิ้มฟัวที่วิเคราะห์จากลำต้นและรากของข้าวในช่วงอายุตั้งแต่ 7 วัน ถึงช่วงการเก็บเกี่ยว 101 วัน (seedling stage I (7 วัน) seedling stage II (14 วัน) middle tillering stage (37 วัน) panicle initiation stage (52 วัน) flowering stage (74 วัน) and harvested stage (101 วัน) ผลการทดลองดังตารางที่ 4-3 ปริมาณสารหอมของข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่วิเคราะห์จากลำต้นของข้าวในช่วงอายุต่างๆ พบว่ามีปริมาณอยู่ระหว่าง  $14.12\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  -  $55.52\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ในขณะที่ปริมาณสารหอมของข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่วิเคราะห์จากลำต้นของข้าวในช่วงอายุต่างๆ มีปริมาณอยู่ระหว่าง  $11.88\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  -  $67.13\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  จากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 20 Gy ปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์จากต้นของข้าวมีปริมาณมากที่สุดที่ช่วงอายุ 52 วัน และปริมาณสารหอมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงอายุ 7 วันจนถึงช่วงอายุ 52 วัน ( $21.92\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  -  $67.13\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) และหลังจากนั้นข้าวที่ได้รับปริมาณรังสีในความเข้มข้นนี้ก็ตาย ในความเข้มข้นของรังสีอื่น (40-150 Gy) ปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากลำต้นของข้าวมีแนวโน้มที่ไม่แน่นอน ดังตารางที่ 4-3 ข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้น 20-250 Gy ในช่วงอายุของการตั้งท้อง (52 วัน) และช่วงการเก็บเกี่ยว

(101 วัน) ปริมาณสารหอมเพิ่มมากขึ้นในข้าวที่ได้รับการฉายรังสีเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแถมมา ซึ่งปริมาณสารหอมจะอยู่ในช่วง  $14.51 \mu\text{g.g}^{-1}$ - $67.13 \mu\text{g.g}^{-1}$  (20-250 Gy) เมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแถมมา  $14.31 \mu\text{g.g}^{-1}$  (0 Gy) ในช่วงอายุ 52 วัน และปริมาณสารหอมจะอยู่ในช่วง  $33.50 \mu\text{g.g}^{-1}$ - $53.60 \mu\text{g.g}^{-1}$  สำหรับข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแถมมาที่ 20-250 Gy ในขณะที่ข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแถมมาจะมีค่าเท่ากับ  $32.40 \mu\text{g.g}^{-1}$  (0 Gy) ซึ่งวัดจากข้าวในช่วงอายุ 101 วัน

การวิเคราะห์ปริมาณสารหอมที่พบในรากข้าว พบว่าในงานวิจัยนี้เป็นครั้งแรกที่มีการตรวจพบปริมาณสารหอมในรากของข้าว โดยจากผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารหอมที่พบในรากของข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแถมมาอยู่ในช่วง  $1.54$ - $30.67 \mu\text{g.g}^{-1}$  และปริมาณสารหอมที่พบในรากของข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแถมมา (20-250 Gy) อยู่ในช่วง  $0.72$ - $19.80 \mu\text{g.g}^{-1}$  ปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากรากของต้นข้าวที่พบปริมาณสูงสุดพบช่วงอายุ 7 วันของข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแถมมา  $30.67 \mu\text{g.g}^{-1}$  โดยในข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแถมมาปริมาณสารหอมพบมากที่สุดในช่วงอายุ 7 วันเช่นเดียวกัน และพบที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 20 Gy ปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากรากของต้นข้าว พบว่ามีแนวโน้มลดลงหลังจากข้าวอายุได้ 7 วันในทุกความเข้มข้นของรังสีแถมมา รวมทั้งข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแถมมาด้วย รังสีแถมมาทำให้ปริมาณสารหอมในข้าวลดลง โดยพบว่าปริมาณสารหอมลดลงประมาณ 1.5 ถึง 4.2 เท่า ในข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแถมมาเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแถมมาในระยะต้นกล้า 7 วัน และในขณะเดียวกันปริมาณสารหอมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นประมาณ 1.6 ถึง 7.1 เท่า เมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแถมมาในช่วงอายุของข้าวเท่ากับ 14 วัน

ตารางที่ 4-3 ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอมในข้าวที่วิเคราะห์จากลำต้นของข้าวไร้ลิ้มข้าว

Growth stage (days)	2-Acetyl-1-pyrroline content ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) of Shoot								
	0 (Gy)	20 (Gy)	40 (Gy)	60 (Gy)	80 (Gy)	100 (Gy)	150 (Gy)	200 (Gy)	250 (Gy)
7	14.12	21.92	15.25	14.46	6.79	31.41	37.90	18.14	17.87
14	55.52	47.94	26.20	16.85	22.45	21.59	24.15	26.41	62.02
37	31.43	51.96	22.89	11.88	13.13	14.83	23.24	29.04	34.27
52	14.31	67.13	38.07	16.99	35.33	14.51	15.80	21.69	19.25
74	20.40	ND	23.35	14.48	35.73	17.56	16.11	24.60	29.53
101	32.4	ND	40.2	35.7	33.5	34.5	53.6	35.4	45.9

ND, mean not determine.

ตารางที่ 4-4 ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอมในข้าวที่วิเคราะห์จากรากของข้าวไร้ลิ้มข้าว

Growth stage (days)	2-Acetyl-1-pyrroline content ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) of Root								
	0 (Gy)	20 (Gy)	40 (Gy)	60 (Gy)	80 (Gy)	100 (Gy)	150 (Gy)	200 (Gy)	250 (Gy)
7	30.67	19.80	7.80	10.16	7.36	11.40	17.53	15.59	12.87
14	1.54	2.65	5.07	2.95	2.74	10.91	4.00	2.51	3.36
37	6.83	5.03	10.72	3.64	8.89	6.57	5.62	6.73	8.44
52	5.30	ND	ND	7.03	6.27	0.72	5.59	7.23	5.87
74	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
101	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND, mean not determine

#### 4.4 ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอมในเมล็ดข้าวและต่อน้ำหนักของเมล็ด

ปริมาณสารหอมที่พบในเมล็ดข้าวไร้ลุ่มฝั่วอยู่ในช่วง 7.76-25.10  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  โดยปริมาณสารหอมที่พบปริมาณมากที่สุด พบเมื่อข้าวได้รับรังสีที่ความเข้มข้น 80 Gy (25.10  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) โดยปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากเมล็ดข้าวที่ได้รับรังสีที่ความเข้มข้นนี้มีปริมาณมากกว่าปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากเมล็ดข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีประมาณ 3 เท่า (8.90  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) และจากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารหอมที่วิเคราะห์ได้จากเมล็ดข้าวไร้ลุ่มฝั่วที่ผ่านการฉายรังสีแกมมามีปริมาณมากกว่าที่พบในเมล็ดข้าวไร้ลุ่มฝั่วที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ยกเว้นที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 100 Gy ปริมาณสารหอมมีปริมาณน้อยกว่าที่พบในเมล็ดข้าวไร้ลุ่มฝั่วที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ดังตารางที่ 4-5 ข้าวไร้ลุ่มฝั่วเป็นข้าวเหนียวมีสีชนิดหนึ่ง เมื่อนำปริมาณสารหอมไปเปรียบเทียบกับข้าวเหนียวมีสีชนิดอื่นที่มีรายงานก่อนหน้านี้ พบว่าปริมาณสารหอมที่พบในเมล็ดข้าวไร้ลุ่มฝั่วมีปริมาณมากกว่าประมาณ 13 เท่าที่พบในข้าว (Lower Land Black Glutinous rice from Lao PDR) ยกตัวอย่างเช่น ปริมาณสารหอมที่พบในข้าวไร้ลุ่มฝั่ว มีค่าเท่ากับ 8.90  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  แต่ที่พบในเมล็ดข้าว Lower Land Black Glutinous rice from Lao PDR มีค่าเท่ากับ 0.688  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Bounphanousay et al., 2008) ซึ่งความแตกต่างตรงนี้อาจจะมาจากวิธีของการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันก็เป็นได้

รังสีแกมมามีผลทำให้น้ำหนักของเมล็ดข้าวไร้ลุ่มฝั่วมีน้ำหนักที่น้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ดังตารางที่ 4-5 ซึ่งน้ำหนักของเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาจะอยู่ในช่วง 1.37-5.68 g (100-grain weight) เปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมาซึ่งอยู่ที่ 6.52 g (100-grain weight) ยกเว้นเมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นเท่ากับ 150 Gy น้ำหนักของเมล็ดข้าวมีค่ามากกว่าน้ำหนักเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา โดยน้ำหนักของเมล็ดข้าวอยู่ที่ 7.12 g (100-grain weight)

ตารางที่ 4-5 ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline และน้ำหนักของเมล็ดข้าวไร้ลีมั่ว

$\gamma$ -doses (Gy)	100-grain weight (g)	2-Acetyl-1-pyrroline ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ )
0	6.52	8.90
20	ND	ND
40	5.68	13.50
60	4.87	18.50
80	4.62	25.10
100	5.61	7.76
150	7.12	11.59
200	ND	ND
250	1.37	18.14

ND, mean not determine.



**Control**



**40 Gy**

รูปที่ 4-25 แสดงลักษณะของรวงข้าวและเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นเท่ากับ 40 Gy และข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา



60 Gy



80 Gy

รูปที่ 4-26 แสดงลักษณะของรวงข้าวและเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้น  
เท่ากับ 60 Gy และ 80 Gy



100 Gy



150 Gy

รูปที่ 4-27 แสดงลักษณะของรวงข้าวและเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้น  
เท่ากับ 100 Gy และ 150 Gy



**250 Gy**

รูปที่ 4-28 แสดงลักษณะของรวงข้าวและเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นเท่ากับ 250 Gy

## บทที่ 5

### สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

ข้าวเมื่อได้รับการฉายรังสีแกมมาที่มีความสูงของต้นข้าวเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 150 Gy ทำให้ความสูงของต้นข้าวสูงสุด และที่ความเข้มข้นของรังสีนี้ด้วยที่ทำให้น้ำหนักของเมล็ดข้าวมีน้ำหนักมากกว่าข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา โดยที่ความเข้มข้นของรังสีอื่น ทำให้ข้าวมีน้ำหนักของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา ปริมาณสารหอมในข้าวไร้ลิ้มผัวมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาในช่วงของการเจริญเติบโตของข้าวโดยช่วงอายุที่มีปริมาณสารหอมสูงสุดอยู่ที่ช่วง 14 วัน การฉายรังสีแกมมาส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารหอม โดยพบว่าบางความเข้มข้นของรังสีแกมมาทำให้ปริมาณสารหอมลดลง และบางความเข้มข้นทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา โดยปริมาณสารหอมสูงสุดเมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 20 Gy ในงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ได้มีการรายงานเกี่ยวกับปริมาณสารหอมที่อยู่ในรากของข้าว โดยพบว่าปริมาณสารหอมในรากของข้าวมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา โดยพบปริมาณสารหอมมากที่สุดช่วงข้าวอายุ 7 วันแล้วหลังจากนั้นปริมาณของสารหอมมีปริมาณลดลง ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ที่ปริมาณสารหอมมีการเคลื่อนที่จากรากไปส่วนอื่นของข้าว โดยเฉพาะส่วนที่โพล่พื้นดิน

#### 5.2 อภิปรายผล

จากงานวิจัยที่มีรายงานก่อนนี้ในข้าวสายพันธุ์ (M<sub>2</sub>-2 line) ซึ่งเป็นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 50 Gy พบว่าลำต้นของต้นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีมีความยาวเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา (Kim et al., 2004) และในข้าวที่ทำให้กลายพันธุ์ด้วยรังสีสายพันธุ์ MRXII ซึ่งเมื่อวัดความยาวของต้นข้าวที่ระยะเวลา 7 วัน พบว่าลำต้นของข้าวมีความยาวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสี (DA) (Hwang et al., 2014) ซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวไร้ลิ้มผัวซึ่งเป็นข้าวเหนียวมีสี โดยพบว่าในระยะที่ข้าวอายุได้ 7 วัน และ 14 วัน ความยาวของลำต้นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมา มีความยาวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา ซึ่งลักษณะการเจริญเติบโตคล้ายกับที่พบในข้าวสายพันธุ์ Donganbyeon (Kim et al., 2004 and Hwang et al., 2014)

และนอกจากข้าวแล้วในพืชที่ใกล้เคียง เช่น ข้าวโพด (*Zea mays*), Marcu et al., 2013 โดยเมื่อนำข้าวโพดไปฉายรังสีที่ 100, 200, 300, 500, 700, 1000 Gy โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของรังสีมากกว่า ( $\leq 500$  Gy) ข้าวโพดไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ภายในเวลา 10 วัน ในข้าวไร้ลิมฟ์ก็เช่นกัน เมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีที่ 200 และ 250 Gy ทำให้ลำต้นของข้าวมีความสูงน้อยลง และน้ำหนักของเมล็ดข้าวก็มีน้ำหนักลดลง เมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมาและต้นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 200 Gy ข้าวไม่สามารถออกรวงได้ และจากการศึกษาของ Sansenya et al., 2016 unpublishe ในข้าวไร้พญาลิมแวง พบว่าส่วนของลำต้นของข้าวมีความยาวลดลงเมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีมากกว่า 250 Gy แต่ที่น่าสนใจที่พบว่าเมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 20 Gy ความยาวของต้นข้าวกับมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มของรังสีอื่น และเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้ฉายรังสีด้วย และข้าวก็ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ถึงระยะออกรวง ในกรณีนี้ข้าวเมื่อได้รับการฉายรังสีแกมมาซึ่งรังสีจะทำให้อนุมูลอิสระเกิดขึ้นภายในเซลล์ ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้อาจจะทำให้เกิดการเสียหายของออร์แกเนลล์ที่อยู่ในเซลล์หรือทำให้เกิดความเสียหายต่อวิถีเมตาบอลิซึม ซึ่งทำให้พืชไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ (Al-Salhi et al., 2004; Damian et al., 2005 and Hameed et al., 2008)

ปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ของข้าวมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม และช่วงอายุของต้นข้าว (Gay et al, 2010 และ Poonlaphdecha et al, 2012) ยกตัวอย่างเช่น ปริมาณของ 2-acetyl-1-pyrroline ที่เก็บตัวอย่างจากใบข้าว เพิ่มขึ้นในช่วงที่ข้าวแตกกอถึงระยะเก็บเกี่ยวจาก 4444.60  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  ถึง 4729.80  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  Aychade (*Oryza sativa* L.) (Poonlaphdecha et al, 2012) ในกรณีศึกษาข้าวสายพันธุ์ Aychade ของประเทศฝรั่งเศส พบว่าเมื่อมีการปลูกข้าวสายพันธุ์นี้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกัน จะทำให้ปริมาณสารหอมของข้าวสายพันธุ์นี้แตกต่างกันไปด้วย โดยเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นปริมาณสารหอมจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย จาก 592  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  เป็น 733-998  $\mu\text{g}/\text{K}$  (Poonlaphdecha et al, 2012) และในกรณีข้าวหอมดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นข้าวที่มีแหล่งเพาะปลูกกระจายอยู่ทั่วประเทศไทย แต่บริเวณที่ทำให้ข้าวหอมดอกมะลิ 105 มีปริมาณสารหอมสูงที่สุดคือที่แหล่งเพาะปลูกในพื้นที่ทุ่งกุลาร้องไห้ โดย Yoshihashiet al, 2004 อธิบายว่าในเขตพื้นที่ทุ่งกุลาร้องไห้มีปริมาณความชื้นต่ำ และมีคุณภาพของดินที่ใช้ในการเพาะปลูกต่ำ ซึ่งน่าจะเป็นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณสารหอมสูงกว่าบริเวณอื่นที่มีความชื้นสูง และมีคุณภาพของดินที่ดีกว่า จากงานวิจัยของ Yoshihashiet al, 2004 ได้แนะนำว่าในช่วงที่ข้าวกำลังออกดอกและเป็นเมล็ดเมื่อข้าวขาดน้ำ จะให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น และในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณของสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในช่วงอายุ 7 วัน 14 วัน ระยะแตกกอ ระยะตั้ง

ห้อง ใบชงคลี่เต็มที ระยะออกรวง (ดอก) และระยะสุกแก่ทางสรีระ (เมล็ด) ของข้าวไร้ลิ้มฟัว ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนแปลงของสารหอมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดในแต่ละช่วงอายุของข้าว โดยพบว่าปริมาณสารหอมมีปริมาณสูงสุดเมื่อข้าวอยู่ในช่วงอายุ 14 วัน แล้วปริมาณสารค่อยลดลง และเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อข้าวตั้งท้องและเพิ่มขึ้นในเมล็ดหลังจากเก็บเกี่ยว เมื่อนำเมล็ดข้าวไร้ลิ้มฟัวไปผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา แล้วนำไปหาปริมาณสารหอมของข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา และไม่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา พบว่าปริมาณรังสีที่ทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมาคือ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 20 Gy และช่วงของเวลาที่ทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้นคือ ช่วงอายุของข้าวเท่ากับ 52 วัน สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ถูกสร้างผ่านวิถี polyamine โดยมีกรดอะมิโน proline เป็นสารตั้งต้น โดยสาร GAbald จะมีการเปลี่ยนในสองทิศทางคือ เมื่อเอนไซม์ Badh2 ทำงานได้จะเปลี่ยนสาร GAbald เป็นสาร GABA แต่ในขณะเดียวกันถ้ากรณีที่เอนไซม์ Badh2 ทำงานไม่ได้สาร GAbald จะถูกเปลี่ยนเป็นสาร 2-acetyl-1-pyrroline ในที่สุด โดยเอนไซม์ Badh2 ถูกควบคุมการแสดงออกด้วยยีน *Badh2* (Bradbury et al, 2008 และ Vanavichit และ Yoshihashi, 2010) จากกรณีที่มีการเพิ่มขึ้นของสารหอมในข้าวที่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา อาจเนื่องจากเกิดความผิดปกติขึ้นกับยีน *Badh2* ซึ่งส่งผลทำให้เอนไซม์ Badh2 ไม่สามารถทำงานได้ ทำให้มีปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น ซึ่งในกรณีการเพิ่มขึ้นของสารหอมอาจจะทำให้เกิดการเสียหายของดีเอ็นเอทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ ซึ่งวิธีนี้จึงทำให้เกิดทิศทางการสร้างสารหอมเพิ่มมากขึ้น

นอกจากนี้ในรายงานการวิจัยเล่มนี้ยังเป็นครั้งแรกที่ได้มีการค้นพบสารหอมที่อยู่ในรากของข้าว โดยไม่มีรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีรายงานว่ามีการพบสารหอมที่อยู่ในข้าว ในรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ออกว่ามีการพบสารหอมในทุกส่วนของข้าวยกเว้นราก (Buttery et al., 1983b และ Yoshihashi et al., 1999) แต่เมื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมเกี่ยวกับการสร้างสารหอมในข้าว พบว่ายีนนี้มีการแสดงออกในทุกส่วนของข้าว โดยเฉพาะเนื้อเยื่อที่เจริญเติบโตใหม่ๆ ยีนนี้จะมีการแสดงออกมากขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าเมื่อมีการสร้างสารหอมในส่วนของรากแล้วสารหอมมีการเคลื่อนที่จากรากขึ้นมาตรงส่วนอื่นของข้าว เช่น ส่วนที่โผล่พ้นดิน เป็นต้น (Chen et al., 2008 และ Niu et al., 2008)

### 5.3 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยเรื่อง ศึกษาการสังเคราะห์ฮอร์โมน (2-อะเซทิล-1-ไพโรลิดีน) เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวไร้ลิ้มผั่ว โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2 เป็นงานวิจัยในห้องปฏิบัติการ สภาวะที่เหมาะสมในการทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น และข้าวไร้ลิ้มผั่วยังให้ผลผลิตสูงนั้นต้องมีการปลูกในแปลงทดลอง เพื่อพัฒนาเป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์ต่อไป

## บทที่ 5

### สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

ข้าวเมื่อได้รับการฉายรังสีแกมมาที่มีความสูงของต้นข้าวเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 150 Gy ทำให้ความสูงของต้นข้าวสูงสุด และที่ความเข้มข้นของรังสีนี้ด้วยที่ทำให้น้ำหนักของเมล็ดข้าวมีน้ำหนักมากกว่าข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา โดยที่ความเข้มข้นของรังสีอื่น ทำให้ข้าวมีน้ำหนักของเมล็ดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา ปริมาณสารหอมในข้าวไร้ลิ้มผัวมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาในช่วงของการเจริญเติบโตของข้าวโดยช่วงอายุที่มีปริมาณสารหอมสูงสุดอยู่ที่ช่วง 14 วัน การฉายรังสีแกมมาส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารหอม โดยพบว่าบางความเข้มข้นของรังสีแกมมาทำให้ปริมาณสารหอมลดลง และบางความเข้มข้นทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา โดยปริมาณสารหอมสูงสุดเมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 20 Gy ในงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ได้มีการรายงานเกี่ยวกับปริมาณสารหอมที่อยู่ในรากของข้าว โดยพบว่าปริมาณสารหอมในรากของข้าวมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา โดยพบปริมาณสารหอมมากที่สุดช่วงข้าวอายุ 7 วันแล้วหลังจากนั้นปริมาณของสารหอมมีปริมาณลดลง ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ที่ปริมาณสารหอมมีการเคลื่อนที่จากรากไปส่วนอื่นของข้าว โดยเฉพาะส่วนที่โพล่พื้นดิน

#### 5.2 อภิปรายผล

จากงานวิจัยที่มีรายงานก่อนนี้ในข้าวสายพันธุ์ ( $M_2-2$  line) ซึ่งเป็นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 50 Gy พบว่าลำต้นของต้นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีมีความยาวเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา (Kim et al., 2004) และในข้าวที่ทำให้กลายพันธุ์ด้วยรังสีสายพันธุ์ MRXII ซึ่งเมื่อวัดความยาวของต้นข้าวที่ระยะเวลา 7 วัน พบว่าลำต้นของข้าวมีความยาวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสี (DA) (Hwang et al., 2014) ซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวไร้ลิ้มผัวซึ่งเป็นข้าวเหนียวมีสี โดยพบว่าในระยะที่ข้าวอายุได้ 7 วัน และ 14 วัน ความยาวของลำต้นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมา มีความยาวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา ซึ่งลักษณะการเจริญเติบโตคล้ายกับที่พบในข้าวสายพันธุ์ Donganbyeon (Kim et al., 2004 and Hwang et al., 2014)

และนอกจากข้าวแล้วในพืชที่ใกล้เคียง เช่น ข้าวโพด (*Zea mays*), Marcu et al., 2013 โดยเมื่อนำข้าวโพดไปฉายรังสีที่ 100, 200, 300, 500, 700, 1000 Gy โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของรังสีมากกว่า ( $\leq 500$  Gy) ข้าวโพดไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ภายในเวลา 10 วัน ในข้าวไร้ลิมฟ์ก็เช่นกัน เมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีที่ 200 และ 250 Gy ทำให้ลำต้นของข้าวมีความสูงน้อยลง และน้ำหนักของเมล็ดข้าวก็มีน้ำหนักลดลง เมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมาและต้นข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ 200 Gy ข้าวไม่สามารถออกรวงได้ และจากการศึกษาของ Sansenya et al., 2016 unpublishe ในข้าวไร้พญาลิมแวง พบว่าส่วนของลำต้นของข้าวมีความยาวลดลงเมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีมากกว่า 250 Gy แต่ที่น่าสนใจที่พบว่าเมื่อข้าวได้รับการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีเท่ากับ 20 Gy ความยาวของต้นข้าวกับมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มของรังสีอื่น และเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้ฉายรังสีด้วย และข้าวก็ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ถึงระยะออกรวง ในกรณีนี้ข้าวเมื่อได้รับการฉายรังสีแกมมาซึ่งรังสีจะทำให้อนุมูลอิสระเกิดขึ้นภายในเซลล์ ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้อาจจะทำให้เกิดการเสียหายของออร์แกเนลล์ที่อยู่ในเซลล์หรือทำให้เกิดความเสียหายต่อวิถีเมตาบอลิซึม ซึ่งทำให้พืชไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ (Al-Salhi et al., 2004; Damian et al., 2005 and Hameed et al., 2008)

ปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ของข้าวมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม และช่วงอายุของต้นข้าว (Gay et al, 2010 และ Poonlaphdecha et al, 2012) ยกตัวอย่างเช่น ปริมาณของ 2-acetyl-1-pyrroline ที่เก็บตัวอย่างจากใบข้าว เพิ่มขึ้นในช่วงที่ข้าวแตกกอถึงระยะเก็บเกี่ยวจาก 4444.60  $\mu\text{g/Kg}$  ถึง 4729.80  $\mu\text{g/Kg}$  Aychade (*Oryza sativa* L.) (Poonlaphdecha et al, 2012) ในกรณีศึกษาข้าวสายพันธุ์ Aychade ของประเทศฝรั่งเศส พบว่าเมื่อมีการปลูกข้าวสายพันธุ์นี้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกัน จะทำให้ปริมาณสารหอมของข้าวสายพันธุ์นี้แตกต่างกันไปด้วย โดยเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นปริมาณสารหอมจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย จาก 592  $\mu\text{g/Kg}$  เป็น 733-998  $\mu\text{g/Kg}$  (Poonlaphdecha et al, 2012) และในกรณีข้าวหอมดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นข้าวที่มีแหล่งเพาะปลูกกระจายอยู่ทั่วประเทศไทย แต่บริเวณที่ทำให้ข้าวหอมดอกมะลิ 105 มีปริมาณสารหอมสูงที่สุดคือที่แหล่งเพาะปลูกในพื้นที่ทุ่งกุลาร้องไห้ โดย Yoshihashiet al, 2004 อธิบายว่าในเขตพื้นที่ทุ่งกุลาร้องไห้มีปริมาณความชื้นต่ำ และมีคุณภาพของดินที่ใช้ในการเพาะปลูกต่ำ ซึ่งน่าจะเป็นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณสารหอมสูงกว่าบริเวณอื่นที่มีความชื้นสูง และมีคุณภาพของดินที่ดีกว่า จากงานวิจัยของ Yoshihashiet al, 2004 ได้แนะนำว่าในช่วงที่ข้าวกำลังออกดอกและเป็นเมล็ดเมื่อข้าวขาดน้ำ จะให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น และในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณของสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในช่วงอายุ 7 วัน 14 วัน ระยะแตกกอ ระยะตั้ง

ห้อง ใบชงคลี่เต็มที ระยะออกรวง (ดอก) และระยะสุกแก่ทางสรีระ (เมล็ด) ของข้าวไร้ลิ้มฟัว ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนแปลงของสารหอมมีการเปลี่ยนแปลงตลอดในแต่ละช่วงอายุของข้าว โดยพบว่าปริมาณสารหอมมีปริมาณสูงสุดเมื่อข้าวอยู่ในช่วงอายุ 14 วัน แล้วปริมาณสารค่อยลดลง และเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อข้าวตั้งท้องและเพิ่มขึ้นในเมล็ดหลังจากเก็บเกี่ยว เมื่อนำเมล็ดข้าวไร้ลิ้มฟัวไปผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา แล้วนำไปหาปริมาณสารหอมของข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา และไม่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา พบว่าปริมาณรังสีที่ทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมาคือ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 20 Gy และช่วงของเวลาที่ทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้นคือ ช่วงอายุของข้าวเท่ากับ 52 วัน สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ถูกสร้างผ่านวิถี polyamine โดยมีกรดอะมิโน proline เป็นสารตั้งต้น โดยสาร GAbald จะมีการเปลี่ยนในสองทิศทางคือ เมื่อเอนไซม์ Badh2 ทำงานได้จะเปลี่ยนสาร GAbald เป็นสาร GABA แต่ในขณะเดียวกันถ้ากรณีที่เอนไซม์ Badh2 ทำงานไม่ได้สาร GAbald จะถูกเปลี่ยนเป็นสาร 2-acetyl-1-pyrroline ในที่สุด โดยเอนไซม์ Badh2 ถูกควบคุมการแสดงออกด้วยยีน *Badh2* (Bradbury et al, 2008 และ Vanavichit และ Yoshihashi, 2010) จากกรณีที่มีการเพิ่มขึ้นของสารหอมในข้าวที่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา อาจเนื่องจากเกิดความผิดปกติขึ้นกับยีน *Badh2* ซึ่งส่งผลทำให้เอนไซม์ Badh2 ไม่สามารถทำงานได้ ทำให้มีปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น ซึ่งในกรณีการเพิ่มขึ้นของสารหอมอาจจะทำให้เกิดการเสียหายของดีเอ็นเอทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ ซึ่งวิธีนี้จึงทำให้เกิดทิศทางการสร้างสารหอมเพิ่มมากขึ้น

นอกจากนี้ในรายงานการวิจัยเล่มนี้ยังเป็นครั้งแรกที่ได้มีการค้นพบสารหอมที่อยู่ในรากของข้าว โดยไม่มีรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีรายงานว่ามีการพบสารหอมที่อยู่ในข้าว ในรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ออกว่ามีสารหอมในทุกส่วนของข้าวยกเว้นราก (Buttery et al., 1983b และ Yoshihashi et al., 1999) แต่เมื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมเกี่ยวกับการสร้างสารหอมในข้าว พบว่ายีนนี้มีการแสดงออกในทุกส่วนของข้าว โดยเฉพาะเนื้อเยื่อที่เจริญเติบโตใหม่ๆ ยีนนี้จะมีการแสดงออกมากขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าเมื่อมีการสร้างสารหอมในส่วนของรากแล้วสารหอมมีการเคลื่อนที่จากรากขึ้นมาตรงส่วนอื่นของข้าว เช่น ส่วนที่โผล่พ้นดิน เป็นต้น (Chen et al., 2008 และ Niu et al., 2008)

### 5.3 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยเรื่อง ศึกษาการสังเคราะห์ฮอร์โมน (2-อะเซทิล-1-ไพโรลิโน) เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวไร้ลิ้มผิว โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2 เป็นงานวิจัยในห้องปฏิบัติการ สภาวะที่เหมาะสมในการทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น และข้าวไร้ลิ้มผิวยังให้ผลผลิตสูงนั้นต้องมีการปลูกในแปลงทดลอง เพื่อพัฒนาเป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์ต่อไป

## บรรณานุกรม

- เกษม สุนทรจารย์ และคณะ. การตรวจสอบยืนยันควบคุมความหอมของข้าวด้วยวิธีปฏิกิริยาถูกลูโซโพลีเมอเรสแบบเวลาจริง. ปทุมธานี. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี.
- นภาพร ชรรณชูเชาวรัตน์. การศึกษาเอนไซม์ BADH2 กลายพันธุ์จากข้าว (*Oryza sativa* L.). ปริญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเคมี) สาขาวิชาชีวเคมี ภาควิชาชีวเคมี, Ph.D. 166 หน้า, 2554.
- บัณฑิต ลิพรัตน์รักษ์. ความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบและสารหอม 2 -แอสีติล-1-ไพโรโรลีน และการเปลี่ยนแปลงของสมบัติเพสติงของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ระหว่างการเก็บรักษา. วิทยานิพนธ์ มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2548.
- ศรีสวัสดิ์ ชันทอง. ยีนความหอมและลักษณะพื้นฐานทางอนุพันธุศาสตร์ของข้าวหอม. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553.
- สุปรีดา หอมกลิ่น และคณะ. การตรวจสอบความหอมในเชื้อพันธุกรรมข้าวไร่ไทยโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อยีน *Os2AP* และการวิเคราะห์คุณภาพหุงต้มและความหนาแน่นของธาตุเหล็กในเมล็ด. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ : วิทยาเขตกำแพงแสน, 2555.
- Al-Salhi, M., Ghannam, M.M., Al-Ayed, M.S., El-Kameesy, S.U., Roshdy, S. **Effect of gamma irradiation on the biophysical and morphological properties of corn.** Nahrung 48, 95-98, 2004.
- Bradbury LMT, Gillies SA, Brushett DJ, Waters DLE and Henry RJ. **Inactivation of anaminoaldehyde dehydrogenase is responsible for fragrance in rice.** Plant MolBiol. 68 : 439-449, 2008.
- Bullard, R.W. and Holguin, G. **Volatile components of unprocessed rice (*Oryza sativa* L.).** J. Agric. Food Chem. 25 : 99., 1977.
- Buttery, R.G. and Ling, L.C. **2-Acetyl-1-pyrroline: An important aroma component of cooked rice.** ChemInd (London) 958-959, 1982.
- Buttery, R. G., Juliano, B.O. and Ling, L.C. **Identification of rice aroma compound 2-acetyl-1-pyrroline in Pandan leaves.** ChemInd (London). 23 : 478-479, 1983a.
- Buttery, R.G, Juliano, B.O. and Ling, L.C. **Identification of rice aroma compound 2 acetyl-1-pyrroline in pandan leaves.** Chem. Ind. (Lond.) 23 : 478-479, 1983b.

- Damian, G., Mičáková, V. **Study of free radicals in gamma-irradiated metoclopramide using spin trapping ESR spectroscopy.** Rom. J. Biophys. **15**, 121-126, 2005.
- Gay, F., Maraval, I., Roques, S., Gunata, Z., Boulanger, R., Audebert, A. and Mestres, C. **Effect of salinity on yield and 2-acetyl-1-pyrroline content in the grains of three fragrant rice cultivars (*Oryza sativa* L.) in Camargue (France).** Field Crops Res. **117**, 154-160, 2010.
- Grosshauser, S. and Schieberle, P. **Characterization of the Key Odorants in Pan-Fried White Mushrooms (*Agaricus bisporus* L.) by Means of Molecular Sensory Science : Comparison with the Raw Mushroom Tissue.** J. Agric. Food Chem. **61** : 3804-3813, 2013.
- Hameed, A., Mahmud, T.S., Atta, B.M., Haq, M.A., Sayed, H. **Gamma irradiation effects on seed germination and growth, protein content, peroxidase and protease activity, lipid peroxidation in desi and kabuli chickpea.** Pak. J. Bot. **40**, 1033-1041, 2008.
- Itani T, Tamaki M, Hayata Y, Fushimi T and Hashizume K. **Variation of 2-acetyl- 1- pyrroline concentration in aromatic rice grains collected in the same region in Japan and factors affecting its concentration.** Plant Prod Sci **7** : 178-183, 2004.
- Kaneko, S., Sakai, R., Kumazawa, K., Usuki, M. and Nishimura O. **Key Aroma Compound in Roasted In-shell Peanuts.** Biosci. Biotechnol. Biochem. **77(7)** : 1467-1473, 2013.
- Karagül-Yüceer, Y., Drake, M. A. and Cadwallader, K. R. **Aroma-Active Components of Nonfat Dry Milk.** J. Agric. Food Chem. **49** : 2948-2953, 2001.
- Kiatbenjakul, P., Intarapichet, K.O. and Cadwallader, K.R. **Characterization of potent odorants in male giant water bug (*Lethocerus indicus* Lep. and Serv.), an important edible insect of Southeast Asia.** Food Chem. **168** : 639-647, 2015.
- Kiefl, J., Pollner, G. and Schieberle, P. **Sensomics Analysis of Key Hazelnut Odorants (*Corylus avellana* L. 'Tonda Gentile') Using Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography in Combination with Time-of-Flight Mass Spectrometry (GC×GC-TOF-MS).** J. Agric. Food Chem. **61** : 5226-5235, 2013.
- Kovacs E, Keresztes A. **Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells.** Micron **33** : 199-21, 2002.

- Kumazawa, K. and Masuda, H. **Identification of Potent Odorants in Different Green Tea Varieties Using Flavor Dilution Technique.** J. Agric. Food Chem. 50 : 5660-5663, 2002.
- Lee, G.H., Suriyaphan, O. and Cadwallader, K. R. **Aroma Components of Cooked Tail Meat of American Lobster (*Homarus americanus*).** J. Agric. Food Chem. 49 : 4324-4332, 2001.
- Lin, M., Liu, X., Xu, Q., Song, H., Lib, P. and Yaob, J. **Aroma-active components of yeast extract pastes with a basic and characteristic meaty flavour.** J. Sci Food Agri. 94 : 882-889, 2013.
- Lozano, P.R., Drake M., Benitez D. and Cadwallader, K.R. **Instrumental and Sensory Characterization of Heat-Induced Odorants in Aseptically Packaged Soy Milk.** J. Agric. Food Chem. 55: 3018-3026, 2007.
- Majcher, M.A. and Jelen, H.H. **Identification of Potent Odorants Formed during the Preparation of Extruded Potato Snacks.** J. Agric. Food Chem. 53 : 6432-6437, 2005.
- Maraval, I., Mestres, C., Pernin, K., Ribeyre, F., Boulanger, R., Guichard, E. and Gunata, Z. **Odor-Active Compounds in Cooked Rice Cultivars from Camargue (France) Analyzed by GC-O and GC-MS.** J. Agric. Food Chem. 56(13) : 5291-8, 2008.
- Moskowitz, M. R., Bin, Q., Elias, R. J. and Peterson, D.G. **Influence of Endogenous Ferulic Acid in Whole Wheat Flour on Bread Crust Aroma.** J. Agric. Food Chem. 60: 11245-11252, 2012.
- Obata, Y. and Tanaka, H. **Studies on the photolysis of L-cysteine.** Agric. Biol. Chem. 19 : 191, 1965.
- Poonlaphdecha, J., Maraval, I., Roques, S., Audebert, A., Boulanger, R., Bry, X. and Gunata, Z. **Effect of timing and duration of salt treatment during growth of a fragrant rice variety on yield and 2-acetyl-1-pyrroline, proline, and GABA Levels.** J. Agric. Food Chem. 60(15) : 3824-30, 2012.
- Poehlmann, S. and Schieberle, P. **Characterization of the Aroma Signature of Styrian Pumpkin Seed Oil (*Cucurbitapepo* subsp. *pepo* var. *Styriaca*) by Molecular Sensory Science.** J. Agric. Food Chem. 61 : 2933-2942, 2013.

- Prasada, K.E. and Murty, D.S. **A basmati (scented) sorghum from Madhya Pradesh.** *Curr Sci.* 48 : 824-826, 1979.
- Rochat, S., Egger, J. and Chaintreau, A **Strategy for the identification of key odorants : Application to shrimp aroma.** *J Chromatogr A.*1216: 6424-6432, 2009.
- Singh VP. **Basmati Rice of India. In: Singh RK, Singh US and Khush GH (eds.) Aromatic Rices.** Oxford and IBH Publishing, New Delhi, Calcutta. pp. 135-151, 2000.
- Song, H. and Cadwallader, K.R. **Aroma Components of American Country Ham.** *J Food Sci.* 73(1) : C29-35, 2008.
- Steinhaus, P. and Schieberle, P. **Characterization of the Key Aroma Compounds in Soy Sauce Using Approaches of Molecular Sensory Science.** *J. Agric. Food Chem.* 55 : 6262-6269, 2007.
- Suvamalatha, G., Narayan, MS., Ravishankar, G.A. and Venkataraman, L.V. **Flavour production in plant cell cultures of Basmati rice.** *J. Sci. Food Agric.* 66 : 439-442, 1994.
- Tairu, A. O., Hofmann, T. and Schieberle, P. **Studies on the Key Odorants Formed by Roasting of Wild Mango Seeds (Irvingiagabonensis).** *J. Agric. Food Chem.* 48 : 2391-2394, 2000.
- Tsugita, T. **Aroma of cooked rice.** *Food Rev. Intl.* 1 : 497-520, 1985.
- Tsuzuki, E., Tanaka, K. and Shida, S. *Bull. Fac. Agric. Miyazaki Univ.* 28 : 31-37, 1981.
- Vanavichit A and Yoshihashi T. **Molecular aspects of fragrance and aroma in rice.** *AdvBotan Res* 56 : 49-73, 2010.
- Widjaja, R.I., Craske, J.D. and M. Wootton. **Comparative studies on volatile components of non-fragrant and fragrant rices.** *J. Sci. Food Agric.* 70 : 151-16, 1996.
- Wongpornchai, S., Sriseadka, T. and Choonvisase, S. **Identification and Quantitation of the Rice Aroma Compound, 2-Acetyl-1-pyrroline, in Bread Flowers (*Vallisneria spiralis* L.).** *J. Agric. Food Chem.* 51 : 457-462, 2003.
- Wu, M.L., Chou, K.L., Wu, C.R., Chen, J.K and Huang, T.C. **Characterization and the possible formation mechanism of 2-acetyl-1-pyrroline in aromatic vegetable soybean (*Glycine max* L.).** *J Food Sci.* 74(5) : 192-7, 2009.

- Yajima, I., Yanai, T. and Nakamura, M. **Volatile flavour components of cooked rice.**  
Agric Biol. Chem. 42 : 1229-1233, 1978.
- [Yajima, I., Yanai, T., Nakamura, M., Sakakibara, H. and Hayashi, K. **Volatile flavor components of cooked Kaorimai scented rice.** Agric. Biol. Chem. 43 : 2425-2430, 1979.
- Yoshihashi, T., Nguyen, TTH and Kabaki, N. **Area dependency of 2-acetyl-1-pyrroline content in an aromatic rice variety, KhaoDawk Mali 105.** JARQ 38 : 105-109, 2004.
- Yundaeng, C., Somta, P., Tangphatsornruang, S., Wongpornchai, S. and Srinives, P. **Gene discovery and functional marker development for fragrance in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench).** TheorAppl Genet. 126 : 2897-2906, 2013.

## ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวเสาวภา ชุมณี

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Saowapa Chumanee

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-9501-00563-95-0

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ ระดับ 7

4. ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์ ระดับ 7

5. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ (056) 717122 ต่อ 2713 โทรสาร (056) 717123 โทรศัพท์มือถือ 088-272-3349 e-mail : SaowapaChumanee@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา

ปีที่สำเร็จ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	ชื่อสถานการศึกษา	ประเทศ
2532	ตรี	วท.บ. (เคมี)	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	ไทย
2538	โท	วท.ม. (เคมี)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2550	เอก	PhD. (เคมีวิเคราะห์)	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ-

สาขาวิชาเคมีสิ่งทอ เคมีสิ่งแวดล้อม การวิเคราะห์สารตกค้างที่อยู่ในอาหาร

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

1. ทำงานวิจัย เรื่อง สังเคราะห์และศึกษาสเปกโทรโฟโตเมตริก 3-[(2-ไฮดรอกซี-5-ไนโตรฟีนอล)เอโซ] และ 3,6-บิส-[(2-ไฮดรอกซี-5-ไนโตรฟีนอล)เอโซ] อนุพันธ์ของกรดโครโมโทรปิก เป็นรีเอเจนต์วิเคราะห์หาปริมาณบิสมีธ (III) ได้รับทุนวิจัยจากสำนักวิจัยและบริการวิชาการ สถาบันราชภัฏเพชรบูรณ์ ในปี พ.ศ.2544

2. นำเสนอผลงานวิจัยโดยปากเปล่าของโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและการวิจัยทางเคมี ครั้งที่ 4 ปี พ.ศ.2548 (PERCH Congress VI 2005, AC-O10: 60) เรื่อง Chromatographic determination of nitrofurans metabolites using a new derivatising reagent โดย S. Chumanee and P. Sutthivaiyakit.

3. สิทธิบัตรไทย เลขที่คำขอ 0601004341 วันที่ยื่นคำขอ 8 กันยายน 2549 เรื่อง สารอนุพันธ์ เมตาบอไลต์ของไนโตรฟูรานชนิดใหม่สำหรับตรวจวัดแบบคัดกรองเมตาบอไลต์ของไนโตรฟูราน โดย รศ.ดร.ภควดี สุทธิไวยกิจ, รศ.ดร.สมยศ สุทธิไวยกิจ และเสาวภา ชุมณี

4. ทำงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาวิธีการตรวจวัดหาปริมาณยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในกุ้ง เป็นงานวิจัยระดับปริญญาเอก ปี พ.ศ.2550

5. ทำงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารกันเสีย (กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิลพาราเบน และ โพรพิลพาราเบน) ในอาหารและเครื่องสำอาง โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ในปี พ.ศ.2552

6. ทำงานวิจัย เรื่อง การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยน้ำชีวภาพและปุ๋ยอินทรีย์พื้นเม็คของกลุ่มเกษตรกรอินทรีย์และชีวภาพ ได้รับทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการ IRPUS ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2552 เลขที่โครงการ I152C02001

7. ทำงานวิจัย เรื่อง ศึกษาผลกระทบจากการใช้ปุ๋ยในทางเกษตรกรรมที่มีต่อคุณภาพน้ำและดินในพื้นที่ลุ่มน้ำป่าสักตอนบน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา ผ่านการพิจารณาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2553 มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

8. ทำงานวิจัย เรื่อง การศึกษากระบวนการผลิตและคุณภาพปุ๋ยน้ำหมักมูลสุกรของเกษตรกรอินทรีย์ ตำบลกองทูล อำเภอหนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ในปี พ.ศ.2554

9. ทำงานวิจัย เรื่อง การศึกษาการย่อยสลายฝ้ายด้วยจุลินทรีย์ธรรมชาติ ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ในปี พ.ศ.2555

งานวิจัยที่ตีพิมพ์ระดับประเทศ เรื่อง

1. เสาวภา ชุมณี, สนธยา พิงศิริ, ชะหน่าย มังคลารัตนศรี, บุรณา เกศาอาด และเกรียงไกร เกศาอาด. การศึกษากระบวนการผลิตและคุณภาพปุ๋ยน้ำหมักสุกรของเกษตรกรอินทรีย์ ตำบลกองทูล อำเภอหนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์ วารสารราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2555 หน้า 11-17

### งานวิจัยที่ตีพิมพ์ระดับนานาชาติ เรื่อง

1. P. Sutthivaiyakit, S. Achatz, J. Linlelmann, T. Aungpradit, R. Chanwirat, S. Chumane, and A. Kettrup. LC-MS/MS method for the confirmatory determination of aromatic amines and its application in textile analysis., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, 381: 268-276.

2. S. Chumane, S. Suttivaiyakit, and P. Suttivaiyakit. New Reagent for Trace Determination of Protein-Bound Metabolites of Nitrofurans in Shrimp Using Liquid Chromatography with Diode Array Detector , *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, 1752–1759.

### ประวัติผู้ร่วมวิจัย 1

1. ชื่อ -นามสกุล (ภาษาไทย) นายสมพงษ์ แสนเสนยา  
ชื่อ -นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Sompong Sansenya
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-4501-00582-48-7
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
4. ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์
5. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ตำบลคลองหก  
อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110 โทรศัพท์ 02-549-3529 โทรสาร 02-549-3526

โทรศัพท์มือถือ 09-0564-8177 E – mail : sompong\_biochem@yahoo.co.th

### 6. ประวัติการศึกษา

ปีที่สำเร็จ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	ชื่อสถานการศึกษา	ประเทศ
2548	ตรี	วท.บ. (เคมี)	มหาวิทยาลัยแม่โจ้	ไทย
2552	โท	วท.ม. (ชีวเคมี)	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	ไทย
2556	เอก	วท.ด. (ชีวเคมี)	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	ไทย

### 7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

เอนไซม์วิทยา อนุชีววิทยาพฤกษศาสตร์ของโมเลกุล โปรตีน

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าแผนงานวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

1. ศึกษาการสร้างสารหอม (2-อะเซทิล-1-ไพโรลีน) เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวไร้ลิ้มฟัว โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ BAD2 (The study of the inhibition of enzyme (BAD2) to the fragrance (2-acetyl-1-pyrroline) synthesis of Leumpua Purple Sticky Rice for value adding to the rice production) งบประมาณแผ่นดิน ปี 2558

2. The study of the inhibition of enzyme (BAD2) to the fragrance (2-acetyl-pyrroline) synthesis of Leumpua Purple Sticky Rice for value adding to the rice production) งบประมาณแผ่นดิน ปี 2558 (หัวหน้าโครงการ)

3. จัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอมะขามเพื่อหาความสัมพันธ์กับยีนต้านเชื้อราด้วยเทคนิค ไมโครแซทเทลไลท์ งบประมาณแผ่นดิน ปี 2558 (ผู้ร่วมวิจัย)

งานวิจัยที่ตีพิมพ์ระดับนานาชาติ เรื่อง

1. **Sansanya, S.,** Maneesan, J, and Ketudat Cairns, J.R. (2012). Exchanging a single amino acid residue generates or weakens a +2 cellooligosaccharide binding subsite in rice beta-glucosidase. *Carbohydrate Research*. 351,130-133.

2. **Sansanya, S.,** Opassiri, R., Kuaprasert, B., Chen. C.J. and Ketudat Cairns, J.R. (2011). The crystal structure of rice (*Oryza sativa* L.) Os4BGlu12, an oligosaccharide and tuberonic acid glucoside-hydrolyzing beta-glucosidase with significant thioglucohydrolase activity. *Arch. Biochem. Biophys.* 510, 62-72.

3. **Sansanya, S.,** Ketudat Cairns, J.R, and Opassiri, R. (2010). Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of rice (*Oryza sativa* L.) Os4BGlu12 beta-glucosidase. *Acta. Cryst* F66. 320-323-801.

4. Kutadat Cairns, J.R., Pengthaisong S., Luang S., **Sansanya S.,** Tankrathok, A. and Svasti J. (2012). Protein-carbohydrate interactions leading to hydrolysis and transglycosylation in plant glycoside hydrolase family 1 enzyme. *J. Appl. Glycosci.* 59, 51-62.

5. Himeno, N., Saburi, W., Wakuta, S., Takeda, R., Matsuura, H., Nabeta, K., Sansenya, S., Ketudat Cairns, J.R., Mori, H., Imai, Ryozo., and Matsui, H. (2013). Identification of rice beta-glucosidase with high hydrolytic activity towards salicylic acid beta-D-glucosidase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 77 (5), 120889-1-6.

6. Hua, Y., Sansenya, S., Saetang, C., Wakuta, S., and Ketudat Cairns, J.R. (2013). Structural and enzymatic characterization of Os3BGlu6 and its mutants hydrolyzing gibberellin glucosyl ester to release free Gibberellin GA<sub>4</sub>. *Arch. Biochem. Biophys.* 537, 39-48.

7. Sansenya, S., Wakuta, S., Matsui, H. and Ketudat Cairns, J.R. (2013). The structure basis of natural substrate binding in rice Os4BGlu12 beta-glucosidase. (Manuscript in preparation).

## ประวัติผู้ร่วมวิจัย 2

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวชนากานต์ วิญญกุล

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Chanakan Winyakul

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1-6799-00146-25-8

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์

5. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ (056) 71722 ต่อ 2713 โทรสาร (056) 717123

E - mail : chanakanwnkn@gmail.com

## 6. ประวัติการศึกษา

ปีที่สำเร็จ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	ชื่อสถานการศึกษา	ประเทศ
2553	ตรี	วท.บ. (เคมี)	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2556	โท	วท.ม. (เคมีอินทรีย์)	มหาวิทยาลัยศิลปากร	ไทย

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

เคมีอินทรีย์สังเคราะห์

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าแผนงานวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

1. ปัญหาพิเศษ เรื่อง Synthesis of cyclopentenedione derivatives ด้วยเงินอุดหนุนงานวิจัยจาก สาขาวิชาเคมี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นครปฐม, 2552

2. วิทยานิพนธ์เรื่อง Synthesis of bioactive indole fused azepine derivatives, ด้วยเงินอุดหนุนงานวิจัยจาก สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม, 2556

3. ผลงานวิจัยในชั้นเรียน เรื่อง การพัฒนาการเรียนการสอนวิชาเคมีที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญ กรณีศึกษา : การเตรียมความพร้อมในการเรียนปฏิบัติการทางเคมีอินทรีย์, ด้วยเงินอุดหนุนงานวิจัยจาก คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์, 2557

งานวิจัยที่ตีพิมพ์ระดับประเทศ เรื่อง

W. Phudthawong, C. Winyakul and W. S. Phudthawong. (2014). "Synthesis of -indolylacetamide derivatives and evaluation of their plant growth regulator activity" **Maejo Int. J. Sci. Technol.** 8(2): 181-189. ด้วยเงินอุดหนุนงานวิจัยจาก สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม, Thailand Toray Science Foundation (TTSF), Kasetsart University Research and Development Institute and the National Research Council of Thailand, 2555

