

ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอม (2-acetyl-1-pyrroline) และปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (กาบา) ในข้าวไร่พญาลิ้มแกง

The Effect of γ -irradiation on 2-acetyl-1-pyrroline content and γ -aminobutyric acid (GABA) content of Pa-yah Leum Gaeng Rice

สมพงษ์ แสนเสนยา^{1*}, หยานหลิง หัว², เสาวภา ชูมณี³, ดลนภา แก้วภา⁴, ชاکอร์ ชินอมรวงศ์¹ และ กรรณิกา ภาไสย¹
Sompong Sansenya^{1*}, Yanling Hua², Saowapa Chumanee³, Dolnapa Kaewpa⁴, Chakorn Chinwongamorn¹
and Kannika Phasai¹

¹ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

²ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา 30000

³สาขาวิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ เพชรบูรณ์ 67000

⁴สาขาวิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

*ผู้ประสานงานหลัก Sompong_biochem@yahoo.co.th

บทคัดย่อ

ข้าวพญาลิ้มแกงจัดเป็นข้าวไร่ประเภทข้าวเหนียวเป็นข้าวที่ปลูกมากในเขตพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยข้าวไร่พญาลิ้มแกงจัดเป็นข้าวที่มีกลิ่นหอม ปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) ของข้าวไร่พญาลิ้มแกงที่เก็บตัวอย่างข้าวจากสองแหล่งเพาะปลูกคือ จากอำเภอน้ำหนาวจังหวัดเพชรบูรณ์ และอำเภอเขาค้อจังหวัดเพชรบูรณ์ มีแนวโน้มเพิ่มสูงสุดเมื่อข้าวอายุได้ 14 วันและลดต่ำลงจนถึงข้าวเข้าสู่ระยะการเก็บเกี่ยวปริมาณสารหอมจึงเพิ่มขึ้น โดยปริมาณสารหอมสูงที่สุดเก็บมาจากแหล่งเพาะปลูกที่ 1 ของอำเภอน้ำหนาวเมื่อข้าวอายุได้ 14 วัน มีปริมาณสารหอมเท่ากับ 620 ng/g ปริมาณ GABA ของข้าวไร่พญาลิ้มแกงจากสองแหล่งเพาะปลูกมีปริมาณใกล้เคียงกันโดยพบปริมาณ GABA สูงสุดที่แหล่งเพาะปลูกที่ 5 ของอำเภอเขาค้อมีปริมาณเท่ากับ 50.9 ± 0.58 mg/100g จากการศึกษาเวลาของการออก ความเข้มข้นของเกลือ และรังสีแกมมา ต่อปริมาณสารหอม และ GABA พบว่าเวลาการออกและความเข้มข้นของเกลือที่ทำให้ปริมาณของ GABA สูงสุดคือ 24 ชั่วโมง และความเข้มข้นของเกลือที่ 180 mM โดยมีปริมาณของ GABA เท่ากับ 62.50 ± 0.60 mg/100g และ 92.53 ± 0.91 mg/100g ตามลำดับ ปริมาณสารหอมที่พบในข้าวที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาพบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกความเข้มข้นของรังสีแกมมา ในทางกลับกันปริมาณรังสีแกมมาที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณของ GABA ลดลงโดยปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้สารหอมเพิ่มขึ้นสูงสุดคือ 20 Gy โดยมีปริมาณสารหอมเท่ากับ 10,160 ng/g เพิ่มขึ้น 23 เท่าเมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา

คำสำคัญ: ข้าวพญาลิ้มแกง 2-อะเซทิล-1-ไพโรลีน กรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (กาบา) การฉายรังสีแกมมา

Abstract

Pa-yah Leum Gaeng rice is the upland rice and as the sticky rice and most favorite cultivars at Phetchabun province. Pa-yah Leum Gaeng as the fragrant rice variety, two different cultivar region (Nam Nao and Khao Kho) were cultivated for quantified of 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP). The 2-AP content from two different cultivar region are likely to increased and the highest amount 2-AP at 14 old days and then lower until rice into harvested stage. The highest concentration of 2-AP obtained from Nam Nao first field (620 ng/g) of 14 old days rice. The GABA concentration of Pa-yah Leum Gaeng from two different cultivar region are similar amount and the highest amount of GABA obtained from Khao Kho fifth field (50.9 ± 0.58 mg/100g). Germination time, salt concentration and γ -irradiation were studies according to the GABA content and 2-AP content. The suitable germination time and salt concentration for highest amount of GABA at 24 hour (62.50 ± 0.60 mg/g) for germination time and at 180 mM (92.53 ± 0.91 mg/100g) for salt concentration respectively. The increased of 2-AP contents was found in the irradiated rice but the gamma ray was reduced the amount of GABA contents when compared with non-irradiated rice. The highest of 2-AP contents was found when Pa-yah Leum Gaeng rice subjected to gamma dose at 20 Gy with the amount of 10,160 ng/g and higher 23 fold than non-irradiated rice.

Keywords: Pa-yah Leum Gaeng rice, 2-acetyl-1-pyrroline, γ -aminobutyric acid (GABA), γ -irradiation.

บทนำ

กลิ่นหอมของข้าวเกิดจากการผสมผสานระหว่างสารระเหยมากมายหลายชนิดทำให้เกิดกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ โดยพบว่ามีมากกว่า 100 ชนิด ผันแปรไปตามชนิดของพันธุ์และพื้นที่เพาะปลูกข้าว (Tsugita, 1985) ตัวอย่างเช่น Bullard และ Holguin, 1977 พบว่าสามารถตรวจวัดสารระเหย จากข้าวได้ 70 ชนิด จากนั้น Yajima *et al*, 1978 ได้ศึกษาชนิดของสารระเหยที่พบในข้าวที่ทุ่งสกุ โดยสามารถพบสารระเหยจากข้าวที่ทุ่งสกุแล้วมากกว่า 100 ชนิด ซึ่งประกอบไปด้วยกลุ่มของhydrocarbon 13 ชนิด กลุ่มของ aldehydes 16 ชนิด กลุ่มของ ketones 14 ชนิด กลุ่มของกรด 14 ชนิด กลุ่มของ ester 8 ชนิด กลุ่มของ phenol 5 ชนิด กลุ่มของ pyridine 3 ชนิด และกลุ่มของ pyrazines 6 ชนิด นอกจากนี้ในข้าวที่สกุแล้วยังมีการปล่อยแก๊ส จำพวก hydrogen sulfide, ammonia และ แก๊ส CO₂ อีกด้วย (Obata และ Tanaka, 1965) นอกจากนี้ในข้าวบางสายพันธุ์พบว่ามีจำนวนชนิดของสารระเหยมากกว่า 114 ชนิด (Tsuzuki *et al*, 1981 และ Buttery *et al*, 1983b) แต่จากการศึกษาของ Yajima *et al*, 1979; Suvamalatha *et al*, 1984; Widjaja *et al*, 1996 และ Vanavichit และ Yoshihashi, 2010 พบว่าจะมีสารหอมระเหยตัวหนึ่งที่จะพบในข้าวหอมทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นข้าวหอม Basmati ของอินเดีย ข้าวหอม Goolarah และ ข้าวหอม YRF9 ของออสเตรเลีย และข้าวหอม Jasmine ของไทย สารตัวนั้นก็คือ 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) ซึ่งเป็นสารตัวเดียวกับที่พบในใบเตย แต่ในใบเตยจะมีความเข้มข้นสูงกว่าข้าวประมาณ 10 เท่า (วาสนา, 2538) สาร 2-AP เป็นสาร ในกลุ่ม pyrrole สาร 2-AP จะถูกสังเคราะห์ในวิถี polyamine และมีกรดอะมิโน proline เป็นสารตั้งต้น ซึ่งการแสดงออกดังกล่าวถูกควบคุมด้วยยีน *badh2* (betaine aldehyde dehydrogenase homologue 2) หรือยีน *Os2AP* โดยปกติยีน *Badh2* จะเปลี่ยนสาร γ -aminobutyraldehyde (GABald) เป็น γ -aminobutyric acid (GABA) แต่เมื่อยีนดังกล่าวเกิดการกลายพันธุ์เป็น *badh2* ข้าวจะเปลี่ยนสาร GABald เป็นสาร 2-AP จึงทำให้ข้าวมีกลิ่นหอม (Bradbury *et al*, 2008 และ Vanavichit และ Yoshihashi, 2010) โดยปริมาณสาร 2-AP จะมีความแปรปรวนเป็นอย่างมาก จากการศึกษาของ (บัณฑิต, 2548) พบว่าปริมาณของสาร 2-AP ในข้าวหอมดอกมะลิ 105 ที่ถูกเก็บมาจาก 40 ที่ในเขตทุ่งกุลาร้องไห้มีปริมาณสาร 2-AP ที่แตกต่างกัน ดังนั้นปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมและคุณภาพของแหล่งที่ปลูกมีผลต่อปริมาณสารหอมในข้าว จากการศึกษาของ Yoshihashi *et al*, 2004 พบว่าข้าวหอมดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในเขตทุ่งกุลาร้องไห้จะมีความหอมมากกว่าที่ปลูกในบริเวณอื่นของประเทศ โดยบริเวณที่เป็นเขตของทุ่งกุลาร้องไห้จะมีสภาพของดินเป็นดินทราย และแห้งแล้ง มีความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำซึ่งน่าจะเป็นปัจจัยทำให้ข้าวมีการสะสมของ proline มากขึ้น ซึ่ง proline เองเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สาร 2-AP และข้าวหอมต่างประเทศอีกชนิดหนึ่งที่มีลักษณะเดียวกันคือ ข้าวหอม Basmati ของอินเดีย และปากีสถาน ซึ่งเป็นข้าวหอมที่มีปริมาณของสาร 2-AP สูงด้วยเช่นกัน ก็พบว่าข้าวชนิดนี้ถ้าปลูกในบริเวณที่เรียกว่า Punjab จะมีปริมาณสารหอมสูงกว่าปลูกในบริเวณอื่นของประเทศ (Singh, 2000 และ Itani *et al*, 2004) และในกรณีศึกษาข้าวสายพันธุ์ Aychade (*Oryza sativa* L.) ของประเทศฝรั่งเศสพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารหอม และ GABA ในทุกช่วงอายุของข้าวโดยปริมาณสารหอมสูงสุดเมื่อข้าวเข้าสู่ช่วงการเก็บเกี่ยว และปริมาณ GABA สูงสุดเมื่อข้าวอายุได้ 47 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อปลูกข้าวในสภาวะที่มีเกลือความเข้มข้นสูงทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น (Poonlaphdecha *et al*, 2012)

γ -Aminobutyric acid (GABA) นอกจากจะเกิดจากวิถี polyamine แล้วยังเกิดจากกระบวนการ decarboxylation ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) โดยใช้เอนไซม์ cytosolic glutamate decarboxylase (GAD; EC 4.1.1.15) (Bouche *et al*, 2003) ในพืชพบว่า GABA เกี่ยวข้องกับกระบวนการตอบสนองหลายอย่างของพืช เช่นในสภาวะที่มีความเป็นกรด หรือเป็นเบสสูง ในสภาวะที่พืชมีความเครียด หรือในสภาวะอากาศเย็นเป็นต้น (Baum *et al*, 1996; Shelp *et al*, 1999; Bouche Fromm, 2004 และ Renaul *et al*, 2011) GABA สามารถพบได้ในหลายส่วนของต้นข้าว ในเมล็ด และเมล็ดข้าวที่กำลังงอกจากงานวิจัยของ Kuo *et al*, 2003 และ Chan-Ho Oh และ Suk-Heung Oh, 2004 พบว่าปริมาณของ GABA จะเพิ่มสูงขึ้นในเมล็ดข้าวที่กำลังงอก และนอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่สนับสนุนถึงระดับ GABA ที่เพิ่มสูงขึ้นของข้าวกล้องที่ผ่านกระบวนการออก เปรียบเทียบกับข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการออกโดยการศึกษากomatsuzaki *et al*, 2007 และ Ohtsubo *et al*, 2005

จะเห็นว่าปริมาณสารหอม 2-AP และ GABA มีการเปลี่ยนแปลงในทุกช่วงอายุของข้าว การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารทั้งสองในข้าวยังมีผลมาจากสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันของแหล่งเพาะปลูกด้วย ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณสารหอม 2-AP ในระหว่างการเจริญเติบโตของข้าวไร่พญาลิ้มแวง และผลของรังสีแกมมา ต่อปริมาณสารหอม และ GABA ของข้าวชนิดนี้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ตัวอย่างของข้าวไรฟลูกลิมแวง ในการศึกษาปริมาณสารหอมในช่วงอายุต่างๆ

ตัวอย่างของข้าวจากแหล่งเพาะปลูกอำเภอน้ำหนาว และอำเภอเขาค้อจังหวัดเพชรบูรณ์ โดยเก็บข้าวในช่วงอายุ 7 วัน, 14 วัน, ระยะแตกกอ, ระยะตั้งท้อง, ใบธงคลี่เต็มที่, ระยะออกรวง (ดอก), และระยะสุกแก่ทางสรีระ (เมล็ด)

1.2 การศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณกาบา ปริมาณสารหอม และชนิดของสารระเหยของข้าวไรฟลูกลิมแวง

เมล็ดของข้าวไรฟลูกลิมแวงผ่านการทำความสะอาดด้วย 0.1% sodium hypochlorite เป็นเวลา 30 min และหลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น นำตัวอย่างเมล็ดข้าวที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว (ความชื้นน้อยกว่า 13%) ไปผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 0 (control), 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200, 250 และ 300 Gy โดยใช้ตัวอย่างเมล็ดข้าว 50 g ต่อหนึ่งความเข้มข้นของรังสี ที่หน่วยบริการการฉายรังสีแกมมา ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (แหล่งกำเนิดรังสีแกมมา เป็น ¹³⁷-cesium และ dose rate เท่ากับ 3 Gy/min)

2. การหาปริมาณสารหอม ของข้าวไรฟลูกลิมแวง

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 2-AP

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

2.2 การสกัด 2-AP จากข้าว

ตัวอย่างของข้าวทำให้ละเอียดโดยใช้ไนโตรเจนเหลวด้วย CryoMill (Retsch, Germany) จากนั้นชั่งตัวอย่างประมาณ 0.3 g นำไปละลายด้วย 760 μ L ของสารละลายที่มี 0.01 mg/mL ของ TMP ใน ethanol ทำให้สารผสมกันเป็นเนื้อเดียวโดยเครื่อง vertex mixer นำตัวอย่างไปปั่นที่ความเร็วต่ำด้วย Bio RS-24 vertical rotator mixer (BIOSAN, Latvia) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง หลังจากครบสองชั่วโมงนำไปปั่นที่ 13,000 rpm 10 นาที แล้วเก็บเอาส่วนใสสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารหอม

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณ 2-AP ด้วย Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS)

การวิเคราะห์หาปริมาณของ 2-AP โดยใช้ Gas Chromatograph 450-GC และ TQ mass Spectrometer 320-MS โดยใช้สารละลายตัวอย่างข้าวที่ผ่านการสกัดจากหัวข้อ 2.2 ปริมาตร 4 μ L สำหรับการวิเคราะห์ โดยใช้ DB-Wax capillary column ขนาด 60 m $\times$ 0.25 mm i.d. $\times$ 0.25 μ m film thickness ของ J&W Scientific, Folsom, CA สำหรับการหาปริมาณของ 2-AP โดยการหาพื้นที่ใต้กราฟระหว่างไอออนของ 2-AP (m/z 83) และ 2,4,6-trimethylpyridine (m/z 79) และคำนวณปริมาณจากกราฟมาตรฐานของ 2-AP

3. หาปริมาณ γ -Aminobutyric acid (GABA) ของข้าวไรฟลูกลิมแวง

การวิเคราะห์หาปริมาณใช้วิธีการทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับ Phenol และ Borate buffer โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ (Zhang et al, 2014) โดยใช้ตัวอย่างข้าว 0.4 mL และ 0.2 mL ของ 0.2 M Borate buffer pH 9.0 1 mL ของ 6% Phenol และ 0.4 mL ของ 9% sodium hypochlorite ต้มที่ 90 °C 10 นาที จากนั้นแช่ในน้ำแข็ง 20 นาทีจนสารละลายเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีน้ำเงิน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 645 nm หาปริมาณ GABA ของข้าวตัวอย่างได้จากการสร้างกราฟมาตรฐานของ GABA และใช้สูตรคำนวณปริมาณ GABA จากกราฟมาตรฐานคือ $y = 1.28x - 0.024$ ($R^2 = 0.994$)

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ GABA นำตัวอย่างข้าวไปผ่านกระบวนการงอกที่เวลาต่างกันคือ 0, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง จากนั้นหยุดการงอกโดยการนึ่งเป็นเวลา 5 นาทีและนำไปหาปริมาณ GABA ตามวิธีที่กล่าวมา เวลาของการงอกที่ทำให้ปริมาณ GABA สูงสุดนำไปศึกษาถึงความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) ที่มีผลต่อปริมาณ GABA โดยใช้ความเข้มข้นของเกลือที่ 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 และ 200 mM NaCl เวลาในการงอก และความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมที่ทำให้ปริมาณ GABA สูงสุดนำไปใช้ในการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารหอม และปริมาณ GABA

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ปริมาณสารหอม 2-AP ในช่วงอายุต่างๆ ของข้าวไรฟลูกลิมแวง

ปริมาณของ 2-AP ในช่วงอายุต่างๆของข้าวไรฟลูกลิมแวง ในแหล่งปลูกข้าวม่อนน้ำหนาว (ตารางที่ 1. และรูปที่ 1.) และที่เก็บมาจากแหล่งเพาะปลูกอำเภอเขาค้อ (ตารางที่ 2. และรูปที่ 1.) โดยพบว่าปริมาณของสารหอม 2-AP มีปริมาณสูงสุดในช่วงข้าวอายุได้ 14 วัน และหลังจากนั้นปริมาณของสารหอมจะลดลง และเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อข้าวอยู่ในช่วงเมล็ดสุกทางสรีระ ซึ่ง

เป็นไปในทิศทางเดียวกันของตัวอย่างข้าวจาก 3 แหล่งเพาะปลูกของอำเภอน้ำหนาวและจากแหล่งเพาะปลูกที่ 1 ของอำเภอเขาค้อ แต่ตัวอย่างข้าวที่เก็บมาจากแหล่งเพาะปลูกที่ 2 ของอำเภอเขาค้อมีปริมาณสารหอมสูงสุดในช่วงข้าวอายุได้ 64 วัน (610 ng/g) (ใบธงคลี่) และต่ำสุดในช่วงข้าวอายุได้ 7 วัน (210 ng/g) และแหล่งเพาะปลูกข้าวที่ให้ปริมาณสารหอมสูงสุดพบในแหล่งเพาะปลูกที่ 1 ของอำเภอน้ำหนาว (620 ng/g) และแหล่งเพาะปลูกข้าวที่ให้ปริมาณสารหอมต่ำสุดพบในแหล่งเพาะปลูกที่ 3 ของอำเภอน้ำหนาวเช่นเดียวกัน (20 ng/g)

2.ปริมาณ GABA ของข้าวไร้พญาลิมแกง

ในการหาปริมาณ GABA ของตัวอย่างข้าวที่เก็บมาจากแหล่งเพาะปลูก 5 แหล่งของอำเภอน้ำหนาว และอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่าปริมาณของสาร GABA อยู่ในช่วง 42.3 ± 1.23 ถึง 59.7 ± 0.23 mg/100g (ตารางที่ 3.) โดยพบว่าปริมาณ GABA ของแหล่งปลูกข้าวไม่มีความแตกต่างกันมาก สูงสุดที่ปริมาณ 59.7 ± 0.23 mg/100g ซึ่งพบที่แหล่งปลูกข้าวแหล่งที่ 5 ของอำเภอเขาค้อ

ตารางที่ 1. แสดงปริมาณของ 2-AP จาก 3 แหล่งเพาะปลูกของอำเภอน้ำหนาว

ช่วงอายุ (วัน)	แหล่งปลูกที่ 1 2-AP ng/g	แหล่งปลูกที่ 2 2-AP ng/g	แหล่งปลูกที่ 3 2-AP ng/g
7	140	130	170
14	620	430	550
37	310	110	340
64	51	140	300
82	90	120	20
110	140	300	180

ตารางที่ 2. แสดงปริมาณของ 2-AP จาก 3 แหล่งเพาะปลูกของอำเภอเขาค้อ

ช่วงอายุ (วัน)	แหล่งปลูกที่ 1 2-AP ng/g	แหล่งปลูกที่ 2 2-AP ng/g
7	240	210
14	280	470
37	230	510
64	160	610
82	80	250
110	120	350

3.ผลของเวลาการงอก และความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) ต่อ ปริมาณ GABA ของข้าวไร้พญาลิมแกง

จากตารางที่ 4. พบว่าเมื่อเวลาของการงอกเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณ GABA เพิ่มขึ้นและสูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง (62.50 ± 0.60 mg/100g) จากนั้นปริมาณ GABA ลดลงและต่ำสุดที่เวลา 96 ชั่วโมง (26.80 ± 0.66 mg/100g) ในการศึกษาความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) ที่มีผลต่อปริมาณ GABA ของเมล็ดข้าวไร้พญาลิมแกงเมื่อผ่านกระบวนการงอกที่เวลา 24 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นของเกลือดังตารางที่ 4. พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นปริมาณ GABA เพิ่มขึ้น และเพิ่มสูงสุดที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 180 mM โดยมีปริมาณ GABA เท่ากับ 92.53 ± 0.91 mg/100g และที่ความเข้มข้นของเกลือเป็น 200 mM จะมีปริมาณ GABA น้อยที่สุด (54.10 ± 0.61 mg/100g)

4. ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณ GABA และ ปริมาณสารหอมของข้าวไร้พญาลิมแกง

เมื่อนำเมล็ดข้าวไร้พญาลิมแกงไปผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้นของรังสีต่างกัน พบว่าปริมาณสารหอม 2-AP ของข้าวไร้พญาลิมแกงเพิ่มขึ้นทุกความเข้มข้นของปริมาณรังสีแกมมา (20 Gy ถึง 300 Gy) เมื่อเทียบกับปริมาณของสารหอมของ

ข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา (0 Gy) และความเข้มข้นของรังสีที่ทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มมากที่สุดคือ 20 Gy (10,160 ng/g) ในขณะที่ปริมาณ GABA กับพบว่าทุกความเข้มข้นของรังสีแกมมา (20 Gy ถึง 300 Gy) ทำให้ปริมาณ GABA ลดลงเมื่อเทียบกับเมล็ดข้าวไร้พญาลิ้มแกงที่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสีแกมมา (0 Gy) โดยความเข้มข้นของรังสีแกมมาที่ทำให้ปริมาณ GABA ต่ำที่สุดคือ 200 Gy (33.31 mg/100g) ตารางที่ 5.

ตารางที่ 3. แสดงปริมาณ GABA ของข้าวไร้พญาลิ้มแกง

ตัวอย่างข้าว	ปริมาณของ GABA mg/100 g ของตัวอย่างอำเภอหนองหาน	ปริมาณของ GABA mg/100 g ของตัวอย่างอำเภอเขาค้อ
1	43.7±0.93	50.2±0.55
2	50.9±0.58	42.3±1.23
3	54.5±0.55	55.9±0.55
4	47.4±0.49	47.8±0.46
5	49.7±0.45	59.7±0.23

ตารางที่ 4. แสดงผลของเวลาการงอก (ชั่วโมง) และผลของความเข้มข้นของ NaCl (mM) ต่อปริมาณ GABA ของข้าวไร้พญาลิ้มแกง

เวลาของการ งอก (ชั่วโมง)	ปริมาณของ GABA mg/100 g	NaCl (mM)	ปริมาณของ GABA mg/100 g	NaCl (mM)	ปริมาณของ GABA mg/100 g
0	42.90 ± 0.30	0	41.00 ± 0.62	100	61.97 ± 0.15
12	47.20 ± 0.79	10	42.80 ± 0.26	120	64.27 ± 0.45
24	62.50 ± 0.60	20	48.80 ± 0.36	140	69.00 ± 0.79
48	46.33 ± 0.47	40	54.57± 0.74	160	82.43 ± 0.57
72	39.87 ± 0.21	60	56.20 ± 0.72	180	92.53 ± 0.91
96	26.80 ± 0.66	80	61.03 ± 1.10	200	54.10 ± 0.61

ตารางที่ 5.แสดงปริมาณสารหอม 2-AP และ ปริมาณ GABA ของข้าวไร้พญาลิ้มแกงที่ความเข้มข้นของรังสีต่างๆ

γ-doses (Gy)	ปริมาณของ 2-AP (ng/g)	ปริมาณของ GABA mg/100 g
0	440	64.56
20	10160	51.28
40	3570	59.35
60	9120	57.79
80	4850	57.79
100	4940	51.80
150	5570	35.92
200	7410	33.31
250	5580	40.86
300	6870	48.68

ปริมาณสารหอม 2-AP และปริมาณสาร GABA ของข้าวมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม และช่วงอายุของต้นข้าว (Gay *et al*, 2010 และ Poonlaphdecha *et al*, 2012) ยกตัวอย่างเช่นในกรณีศึกษาในข้าวสายพันธุ์ Aychade (*Oryza sativa* L.) ปริมาณของ 2-AP ที่เก็บจากใบข้าว เพิ่มขึ้นในช่วงที่ข้าวแตกกอถึงระยะเก็บเกี่ยวจาก 4444.60 $\mu\text{g/Kg}$ ถึง 4729.80 $\mu\text{g/Kg}$ ปริมาณของ GABA ก็เหมือนกันในระยะแตกกอของข้าวปริมาณ GABA ที่พบในต้นข้าวมีปริมาณ 1002.3 $\mu\text{g/g}$ และเมื่อข้าวตั้งท้องปริมาณของ GABA ลดลงมาที่ 682.7 $\mu\text{g/g}$ และเพิ่มขึ้นอีกเมื่อเข้าสู่ช่วงสุกแก่ทางสรีระ มีปริมาณเท่ากับ 855.9 $\mu\text{g/g}$ (Poonlaphdecha *et al*, 2012) และในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณของสารหอม 2-AP ในข้าวอายุ 7 วัน, 14 วัน, ระยะแตกกอ, ระยะตั้งท้อง, ใบธงคลี่เต็มที่, ระยะออกรวง (ดอก), และระยะสุกแก่ทางสรีระ (เมล็ด) ของข้าวไร่ พญาลิ้มแกงโดยเก็บตัวอย่างมาจากอำเภอน้ำหนาว (3 แหล่งเพาะปลูก) และอำเภอเขาค้อ (2 แหล่งเพาะปลูก) ในจังหวัดเพชรบูรณ์ จากตัวอย่างข้าวทั้งสองอำเภอมิมีปริมาณของสารหอม 2-AP มีการเปลี่ยนแปลงในทุกช่วงอายุของข้าวโดยช่วงอายุที่มีปริมาณสารหอมสะสมมากที่สุดคือช่วงอายุ 14 วัน ปริมาณ 620 ng/g จากแหล่งปลูกข้าวที่ 1 ในอำเภอน้ำหนาว (ตารางที่ 1.) โดยจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารหอม 2-AP มีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกันใน 3 แหล่งเพาะปลูกของอำเภอน้ำหนาว และจากแหล่งเพาะปลูกที่ 1 ของอำเภอเขาค้อ (ตารางที่ 1. และ ตารางที่ 2.) โดยปริมาณสารหอมมีการเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่ออายุได้ 14 วันหลังจากนั้นปริมาณลดลงจนต่ำสุดในช่วงข้าวออกดอก (อายุ 82 วัน) และปริมาณสารหอมกลับเพิ่มขึ้นในช่วงข้าวสุกแก่ทางสรีระ แต่แนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารหอมในแหล่งเพาะปลูกที่ 2 ของอำเภอเขาค้อมีแนวโน้มแตกต่างจากแหล่งเพาะปลูกทั้ง 4 แหล่ง โดยปริมาณสารหอมของแหล่งเพาะปลูกที่ 2 ของอำเภอเขาค้อมีปริมาณสารหอมสูงสุดเมื่อข้าวอายุได้ 64 วันซึ่งเป็นช่วงที่ข้าวกำลังตั้งท้อง และปริมาณสารหอมต่ำสุดอยู่ในช่วงอายุ 7 วัน จะเห็นได้ว่าปริมาณสารหอมของข้าวไร่พญาลิ้มแกงที่เก็บจากแหล่งเพาะปลูกที่แตกต่างกันมีปริมาณสารหอมที่แตกต่างกัน และมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงของปริมาณที่แตกต่างกันในบางแหล่งเพาะปลูก ในกรณีศึกษาข้าวสายพันธุ์ Aychade ของประเทศฝรั่งเศสพบว่า เมื่อมีการปลูกข้าวสายพันธุ์นี้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกันจะทำให้ปริมาณสารหอมของข้าวสายพันธุ์นี้แตกต่างกันไปด้วยโดยเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นปริมาณสารหอมจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย จาก 592 $\mu\text{g/Kg}$ เป็น 733-998 $\mu\text{g/Kg}$ (Poonlaphdecha *et al*, 2012) และในกรณีข้าวหอมดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นข้าวที่มีแหล่งเพาะปลูกกระจายอยู่ทั่วประเทศไทย แต่บริเวณที่ทำให้ข้าวหอมดอกมะลิ 105 มีปริมาณสารหอมสูงที่สุดคือแหล่งเพาะปลูกในพื้นที่ พุทธรักษา โดย Yoshihashi *et al*, 2004 อธิบายว่าในเขตพื้นที่พุทธรักษาให้มีความชื้นต่ำ และมีคุณภาพของดินที่ใช้ในการเพาะปลูกต่ำซึ่งน่าจะเป็นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณสารหอมสูงกว่าบริเวณอื่นที่มีความชื้นสูง และมีคุณภาพของดินที่ดีกว่า ซึ่งจากเหตุผลนี้ทำให้อธิบายได้ถึงความแตกต่างกันของปริมาณสารหอมของข้าวไร่พญาลิ้มแกงที่เก็บมาจากแหล่งเพาะปลูกที่แตกต่างกันซึ่งมีสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน และคุณภาพของดินของแต่ละแหล่งเพาะปลูกก็แตกต่างกันด้วยทำให้มีปริมาณสารหอมที่แตกต่างกันไป และในกรณีแหล่งเพาะปลูกที่ 2 ของอำเภอเขาค้อที่มีแนวโน้มของปริมาณสารหอมแตกต่างจากแหล่งเพาะปลูกอื่นอาจเนื่องมาจากในแต่ละช่วงอายุของข้าวในแหล่งเพาะปลูกนี้ได้รับปริมาณน้ำแตกต่างจากแหล่งเพาะปลูกอื่นและจากงานวิจัยของ Yoshihashi *et al*, 2004 ได้แนะนำว่าในช่วงที่ข้าวกำลังออกดอกและเป็นเมล็ดเมื่อข้าวขาดน้ำจะทำให้ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น

ปริมาณ GABA ของข้าวไร่พญาลิ้มแกงที่เก็บมาจากสองแหล่งเพาะปลูกคือ จากแหล่งเพาะปลูกอำเภอน้ำหนาว และอำเภอเขาค้อพบว่ามีค่าแตกต่างกัน แต่มีค่าใกล้เคียงกันโดยปริมาณของ GABA สูงสุดได้จากแหล่งเพาะปลูกที่ 5 ของอำเภอเขาค้อมีค่าเท่ากับ $54.10 \pm 0.61 \text{ mg/100g}$ (ตารางที่ 3.) ปริมาณ GABA ที่แตกต่างกันในแต่ละแหล่งเพาะปลูกสามารถอธิบายได้ในทำนองเดียวกับปริมาณสารหอมโดยข้าวที่ปลูกในแหล่งเพาะปลูกที่แตกต่างกันมีสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน และมีคุณภาพของดินที่แตกต่างกันทำให้ปริมาณของสาร GABA แตกต่างกัน โดยในงานวิจัยของ Poonlaphdecha *et al*, 2012 พบว่าเมื่อปลูกข้าว Aychade ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือแตกต่างกันทำให้มีการสะสมของสาร GABA ในเมล็ดของข้าวสายพันธุ์นี้แตกต่างกันไปด้วย

เมื่อนำเมล็ดข้าวไร่พญาลิ้มแกงไปผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา แล้วนำไปหาปริมาณสารหอม 2-AP และปริมาณ GABA ของข้าวที่ผ่าน และไม่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมาพบว่า ปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้นทุกปริมาณความเข้มข้นของรังสีแกมมา แต่ปริมาณของ GABA กับมีค่าลดลง เมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา (ตารางที่ 5.) โดยพบว่าที่ปริมาณรังสีเท่ากับ 20 Gy ให้ปริมาณสารหอมสูงสุดคือ 10,160 ng/g ซึ่งสูงกว่าเมล็ดของข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมา 23 เท่า สารหอม 2-AP ถูกสร้างผ่านวิถี polyamine โดยมีกรดอะมิโน proline เป็นสารตั้งต้น โดย GABAld จะมีการเปลี่ยนในสองทิศทางคือเมื่อเอ็นไซม์ Badh2 ทำงานได้จะเปลี่ยนสาร GABAld เป็น GABA แต่ในขณะเดียวกันถ้ากรณีเอ็นไซม์ Badh2 ทำงานไม่ได้ GABAld จะถูกเปลี่ยนเป็นสาร 2-AP ในที่สุด โดยเอ็นไซม์ Badh2 ถูกควบคุมการแสดงออกด้วยยีน Badh2 (Bradbury *et al*, 2008 และ Vanavichit และ Yoshihashi, 2010) จากกรณีที่มีการเพิ่มขึ้นของสารหอมในข้าวที่ผ่าน

กระบวนการฉายรังสีแกมมาอาจเนื่องมาจากเกิดความผิดปกติขึ้นกับยีน *Badh2* ซึ่งส่งผลทำให้เอ็นไซม์ *Badh2* ไม่สามารถทำงานได้ทำให้มีปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้น และในทางตรงกันข้ามเมื่อปริมาณสารหอมเพิ่มขึ้นในวิถีเดียวกันก็ทำให้ปริมาณ GABA ลดลงนั่นเอง แต่ในกรณีของ GABA ที่ลดลงนั้นเมื่อเทียบกับปริมาณของ GABA ในข้าวที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการฉายรังสีแกมมาการลดลงไม่มากเท่ากับปริมาณสารหอมที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจาก GABA มีวิถีอื่นในการสร้างด้วย เช่นสามารถสร้างมาจากกระบวนการ decarboxylation ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) โดยใช้เอ็นไซม์ cytosolic glutamate decarboxylase (GAD; EC 4.1.1.15) (Bouche *et al*, 2003)

สรุป

ปริมาณสารหอม 2-AP สูงสุดในข้าวไร่พญาลิ้มแดงได้จากแหล่งเพาะปลูกที่ 1 ของอำเภอน้ำหนาวโดยมีปริมาณเท่ากับ 620 ng/g และปริมาณสารหอมมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงการเจริญเติบโตของข้าวโดยปริมาณสูงสุดพบเมื่อข้าวอายุได้ 14 วัน ปริมาณ GABA ของข้าวไร่พญาลิ้มแดงที่เก็บมาจากทุกแหล่งเพาะปลูกมีปริมาณใกล้เคียงกัน โดยสูงสุดที่แหล่งเพาะปลูกที่ 5 ของอำเภอน้ำหนาวมีปริมาณเท่ากับ 59.7 ± 0.23 mg/100g จากผลการศึกษาเวลาการงอก ความเข้มข้นของเกลือ ต่อปริมาณ GABA พบว่าเวลาการงอกที่เหมาะสมที่ทำให้ปริมาณ GABA สูงสุดคือ 24 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเกลือที่เวลาการงอก 24 ชั่วโมงทำให้ปริมาณ GABA เพิ่มขึ้น และเพิ่มสูงสุดที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 180 mM (NaCl) และจากการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณของสารหอม 2-AP และปริมาณ GABA พบว่าทุกความเข้มข้นของรังสีแกมมามีผลทำให้ปริมาณสารหอมของข้าวไร่พญาลิ้มแดงเพิ่มขึ้น แต่ทำให้ปริมาณ GABA ลดลง

กิจกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากสำนักบริหารโครงการการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาประจำปีงบประมาณ 2558 และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

เอกสารอ้างอิง

- บัณฑิต ลิหัตถ์นรงค์. (2548). ความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบและสารหอม 2 -แอซิติล-1-ไพโรลีน และการเปลี่ยนแปลงของ สมบัติพืชของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ระหว่างการเก็บรักษา. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วาสนา วรมิศรี. (2538). การปรับปรุงพันธุ์ข้าวหอมของไทย. ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก สถาบันวิจัยข้าว กรม วิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Baum, G., Lev-Yadun, S., Fridmann, Y., Arazi, T., Katsnelson, H., Fromm, H. (1996). Calmodulin binding to glutamate decarboxylase is required for regulation of glutamate and GABA metabolism and normal development in plants. EMBO Journal. 15, 2988–2996.
- Bouch, N. and Fromm, H. (2004). GABA in plants: just a metabolite. Trends in Plant Science. 9, 110–115.
- Bradbury LMT, Gillies SA, Brushett DJ, Waters DLE and Henry RJ. (2008). Inactivation of an aminoaldehyde dehydrogenase is responsible for fragrance in rice. Plant Mol Biol. 68: 439–449.
- Bullard, R.W. and Holguin, G. (1977). Volatile components of unprocessed rice (*Oryza sativa* L.). J. Agric. Food Chem. 25: 99.
- Buttery, R.G, Juliano, B.O. and Ling, L.C. (1983b). Identification of rice aroma compound 2 acetyl-1-pyrroline in pandan leaves. Chem. Ind. (Lond.) 23: 478-479.
- Gay, F., Maraval, I., Roques, S., Gunata, Z., Boulanger, R., Audebert, A. and Mestres, C. (2010). 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
- Itani T, Tamaki M, Hayata Y, Fushimi T and Hashizume K. (2004). 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.

- Komatsuzaki, N. K., Tsukahara, H., Toyoshima, T., Suzuki, N. and T. Kimura. (2007). **Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice.** *Journal of Food Engineering*.78 : 556-560.
- Kuo, Y.H., Rozan, P., Lambein, F., Frias, J. and Valverde, C.V. (2004). **Effects of Different Germination Conditions on the Contents of Free Protein and non- Protein Amino Acids of Commercial Legumes.** *Food Chem.* 86: 537–545.
- Obata, Y. and Tanaka, H. (1965). **Studies on the photolysis of L-cysteine.** *Agric. Biol. Chem.* 19: 191.
- Ohtsubo, K., Suzuki, K. and T. Kasum. (2005). **Bio-functional components in the processed pregerminated brown rice by a twin-screw extruder.** *Journal of Food Composition and Analysis*.18:303-316.
- Oh C.H. and Oh S.H. (2004). **Effects of Germinated Brown Rice Extracts with Enhanced Levels of GABA on Cancer Cell Proliferation and Apoptosis.** *J. Med Food.* 7(1): 19-23.
- Poonlaphdecha, J., Maraval, I., Roques, S., Audebert, A., Boulanger, R., Bry, X. and Gunata, Z. (2012). **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.
- Renaul, H., El Amrani, A., Palanivelu, R., Updegraff, E.P., Yu, A., Renou, J.P., Preuss, D., Bouchereau, A., Deleu, C. (2011). **GABA accumulation causes cell elongation defects and a decrease in expression of genes encoding secreted and cell wall-related proteins in Arabidopsis thaliana.** *Plant and Cell Physiology.* 52, 894–908.
- Shelp, B.J., Brown, A., McLean, M.D. (1999). **Metabolism and functions of gamma aminobutyric acid.** *Trends in Plant Science.* 4, 446–452.
- Singh VP. (2000). **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.
- Suvamalatha, G., Narayan, MS., Ravishankar, G.A. and Venkataraman, L.V. (1994). **Flavour production in plant cell cultures of Basmati rice.** *J. Sci. Food Agric.* 66: 439-442.
- Tsugita, T. (1985). **Aroma of cooked rice.** *Food Rev. Intl.* 1: 497-520.
- Tsuzuki, E., Tanaka, K. and Shida, S. (1981). *Bull. Fac. Agric. Miyazaki Univ.* 28: 31-37.
- Vanavichit A and Yoshihashi T. (2010). **Molecular aspects of fragrance and aroma in rice.** *Adv Botan Res* 56: 49-73.
- Widjaja, R.I., Craske, J.D. and M. Wootton. (1996). **Comparative studies on volatile components of non-fragrant and fragrant rices.** *J. Sci. Food Agric.* 70: 151-161.
- Yajima, I., Yanai, T., Nakamura, M., Sakakibara, H. and Hayashi, K. (1979). **Volatile flavour components of cooked Kaorimai scented rice.** *Agric. Biol. Chem.* 43: 2425-2430.
- Yang, DS., Lee, KS., Jeong, OY., Kim, KJ. and Kays, SJ. (2008). **Characterization of volatile aroma compounds in cooked black rice.** *J Agric Food Chem.* 2008 Jan 9;56(1):235-40.
- Yang, DS., Shewfelt, RL., Lee, KS. and Kays, SJ. (2008). **Comparison of odor-active compounds from six distinctly different rice flavor types.** *J Agric Food Chem.* 56(8):2780-7.
- Yoshihashi, T., Nguyen, TTH and Kabaki, N. (2004). **Area dependency of 2-acetyl-1-pyrroline content in an aromatic rice variety, Khao Dawk Mali 105.** *JARQ* 38: 105–109.
- Zhang, Q., Xiang, J., Zhang, L., Zhu, X., Evers, J., Wopke van der Werf, W.V.D. and Duan, L. (2014). **Optimizing soaking and germination conditions to improve gamma-aminobutyric acid content in japonica and indica germinated brown rice.** *J Funct Foods.* 10: 283–291.