ความผันแปรของปริมาณไทอามีนในข้าวไทย

Variability of Thiamine Concentration in Thai rice

มณฑนี โพธิ์แสง, เกศราภรณ์ จันทร์ประเสริฐ และ ภาคภูมิ พระประเสริฐ*

Monthani Phosaeng, Ketsaraporn Junprasert and Phakpoom Phraprasert*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Biology Department, Faculty of Science, Burapha University

Received : 22 May 2018

Accepted : 6 July 2018

Published online : 1 August 2018

บทคัดย่อ

การศึกษาความผันแปรของปริมาณไทอามีนในพันธุ์ข้าวไทยและศึกษาปริมาณไทอามีนในระยะการพัฒนาต่าง ๆ ของเมล็ดข้าว พบว่าปริมาณไทอามีนรวม (ไทอามีน ไทอามีนโมโนฟอสเฟสและไทอามีนไพโรฟอสเฟส) ในข้าวไทยทั้ง 30 พันธุ์ มีความผันแปรอยู่ระหว่าง 0.144-0.447 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันมากถึง 0.303 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม แสดงให้เห็นว่าการสร้างและสะสมไทอามีนขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของข้าวแต่ละพันธุ์ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณไทอามีนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้เมล็ดข้าวที่พัฒนาในระยะต่าง ๆ มีปริมาณไทอามีนที่สะสมในเมล็ดแตกต่างกัน ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่าระยะดอกบานมีปริมาณไทอามีนน้อยที่สุด จากนั้นมีการสร้างและสะสมไทอามีนเพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจนในระยะน้ำนมและคงที่ในระยะข้าวเม่าถึงระยะเก็บเกี่ยวซึ่งเป็นระยะที่พบปริมาณไทอามีนมากที่สุด โดยพบว่าข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีอัตราการสร้างไทอามีนเพิ่มขึ้นมากที่สุดโดยเพิ่มขึ้นถึง 0.054 ไมโครกรัมต่อเมล็ดจากระยะดอกบานถึงระยะเก็บเกี่ยว ดังนั้นปริมาณไทอามีนที่สะสมในเมล็ดจึงขึ้นอยู่กับอัตราการสร้างและสะสมไธอามีนระหว่างพัฒนาการของเมล็ด

คำสำคัญ : ไทอามีน, วิตามินบี 1, การพัฒนาของเมล็ด, ข้าว

***Corresponding author. E-mail:** phakpoompp@yahoo.com

Abstract

The study of variation in thiamine content in Thai rice and the changes of thiamin-levels in developing grains were evaluated. The variation of total thiamine contents (free thiamine, thiamine monophosphate and thiamine pyrophosphate) in 30 cultivars of rice were between 0.144-0.447 mg/100 g. The variability of total thiamine among these cultivars was 0.303 mg/100g. This demonstrated that thiamine biosynthesis and accumulation were depended on genetic traits of each cultivar thus this showed the possibility to improve thiamine contents via breeding programme. In addition, the thiamine contents of rice grains at different stages of grain development were significantly difference which at flowering stage had the lowest of thiamine and then thiamine tended to clearly increase at milky stage and constant at dough stage and maturity stage demonstrated the highest of thiamine. Suphan Buri 1 was the highest synthesized and accumulated of thiamine from flowering stage to maturity stage (0.054 μg/seed). Therefor, the thiamine contents in grains were depended on rate of biosynthesis and accumulation during grain development.

Keywords: thiamine, vitamin B1, grain development, rice

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นธัญพืชที่มีความสำคัญต่อมนุษย์ เป็นอาหารหลักของคนไทยและอีก 50 เปอร์เซ็นต์ของประชากรโลก นอกจากบทบาทในด้านอาหารแล้วข้าวถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สร้างรายได้ให้กับประเทศ ในปี 2015 ถึง 2018 ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการส่งออกข้าวเป็นอันดับที่สองรองจากประเทศอินเดีย (USDA, 2018) นอกจากข้าวเป็นแหล่งสำคัญของคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานแล้วยังมีสารโภชนาการกลุ่มอื่นด้วย เช่น วิตามิน แร่ธาตุ โปรตีน และไขมัน เป็นต้น (Cho & Lim, 2016) ซึ่งสารอาหารและวิตามินส่วนใหญ่จะพบได้มากในเยื่อหุ้มเมล็ดและจมูกข้าว มีรายงานทางโภชนาการจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่าข้าวกล้องมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าข้าวขาวที่ขัดเอาส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดและจมูกข้าวออกจนหมด (Juliano, 2016; Kyritsi *et al*., 2011; Lebiedziǹska & Szefer, 2006; Li *et al*., 2007) ซึ่งในปัจจุบันมีการส่งเสริมให้ประชาชนบริโภคข้าวกล้องมากขึ้นเพื่อประโยชน์ต่อสุขภาพ

ข้าวกล้องเป็นแหล่งที่ดีของไทอามีน (thiamine) หรือวิตามินบี 1 ซึ่งเป็นวิตามินที่พบได้มากในธัญพืช อยู่ในกลุ่มวิตามินที่ละลายน้ำ ไทอามีนเป็นสารตั้งต้นของโคเอนไซม์ไทอามีนไพโรฟอสเฟส (Thiamine pyrophosphate) ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างพลังงานให้กับร่างกาย (Champe *et al*., 2008) ส่งเสริมการทำงานของเนื้อเยื่อและระบบประสาท เนื่องจากมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ในการสังเคราะห์ไทอามีน ไทอามีนจึงเป็นวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ที่ต้องได้รับจากอาหาร 95-98 % ของไทอามีนในร่างกายมนุษย์ คือ อนุพันธุ์ของไทอามีน ได้แก่ ไทอามีนโมโนฟอสเฟต ไทอามีนไพโรฟอสเฟตและไทอามีนไตรฟอสเฟต (Eijkman & Grijns, 2012) ร่างกายจะดูดซึมไทอามีนที่ตัดเอาหมู่ฟอสเฟตออกจากการทำงานของเอนไซม์ฟอสฟาเตสที่ลำไส้เล็กและส่งไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย พบมากที่บริเวณหัวใจ ตับ ไต และสมอง (Sriram *et al*., 2012) ปัจจุบันพบว่าประชากรที่มีการบริโภคข้าวที่ผ่านการขัดสีเป็นหลักมักเกิดอาการขาดไทอามีน (Goyer, 2010) เนื่องจาก

ไทอามีนถูกสะสมอยู่มากบริเวณชั้นรำ (bran layer) ในผู้ใหญ่ควรได้รับไทอามีน 1.0-1.5 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งจะถูกสะสมในร่างกายเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ไทอามีนยังสลายไปกับการล้างและให้ความร้อนทำให้พบอาการขาดไทอามีนได้บ่อยครั้ง ซึ่งจะส่งผลต่อระบบประสาทและกล้ามเนื้อทั่วร่างกาย ทำให้เกิดอาการเหน็บชา กล้ามเนื้อไม่มีแรงและอาจส่งผลรุนแรงถึงเสียชีวิตได้ ซึ่งการเพิ่มคุณภาพของข้าวโดยการเพิ่มปริมาณไทอามีนเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

จากการศึกษาปริมาณไทอามีนรวม (ไทอามีน ไทอามีนโมโนฟอสเฟสและไทอามีนไพโรฟอสเฟส) และไทอามีนในธัญพืชที่ผ่านมาแสดงให้เห็นถึงความผันแปรของปริมาณไทอามีนรวมและไทอามีนอย่างชัดเจน มีรายงานการศึกษาปริมาณไทอามีนในข้าวสาลี 49 พันธุ์ พบว่าพันธุ์ที่ต่างกันทำให้ปริมาณไทอามีนรวมมีความผันแปรอยู่ในช่วง 0.26-0.61 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Batifoulier *et al*., 2006) ปริมาณไทอามีนรวมในข้าวทริทิเคลี 7 พันธุ์มีความผันแปรประมาณ 0.02 มิลลิกรัม/100 กรัม (Witten & Aulrich, 2018) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าในธัญพืชพันธุ์ต่าง ๆ มีการสร้างและสะสมไทอามีนรวมในปริมาณที่ต่างกัน นอกจากความผันแปรที่เกิดจากพันธุ์ที่แตกต่างกันแล้วเมล็ดในแต่ละระยะการพัฒนาส่งผลต่อปริมาณของไทอามีนในเมล็ดด้วย Buchholz *et al*. (2012) พบว่าไทอามีนมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นขณะที่เมล็ดพัฒนาระยะต่าง ๆ ในธัญพืช 5 ชนิด ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวทริทิเคลี ข้าวไรน์ ข้าวโอ๊ตและข้าวบาร์เลย์ โดยมีอัตราการสร้างมากที่สุดในช่วงแรกของการพัฒนาจากนั้นจะคงที่ถึงระยะเก็บเกี่ยว ซึ่งการศึกษาปริมาณไทอามีนรวมและไทอามีนในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ และในแต่ละระยะการพัฒนาของเมล็ดข้าวเป็นสิ่งที่น่าสนใจเนื่องจากอาจเป็นข้อมูลที่นำไปสู่ความสามารถในการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณไทอามีนเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งยังไม่พบข้อมูลปริมาณไทอามีนในข้าวระยะต่าง ๆ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจศึกษาปริมาณไทอามีนในพันธุ์ข้าวไทย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ให้ได้ข้าวพันธุ์ใหม่ที่มีคุณภาพทางด้านโภชนาการต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

พันธุ์ข้าวและวิธีการปลูก

เมล็ดข้าว 30 พันธุ์ ได้แก่ กข1 กข3 กข7 กข9 กข11 กข15 กข23 กข29 กข31 กข41 กข43 กข49 สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 2 สุพรรณบุรี 3 สุพรรณบุรี 60 สุพรรณบุรี 90 ชัยนาท 1 ชัยนาท 2 ปทุมธานี 1 ขาวดอกมะลิ 105 ข้าวเจ้าหอมสุพรรณ ข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 เหลืองปะทิว พิษณุโลก 2 (ได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์) ล้นยุ้ง เหลืองอ่อน ขาวตาหวิน พัทลุง และหอมแดง (เก็บจากพื้นที่จังหวัดจันทบุรี) นำเมล็ดเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ดที่มีความชื้นที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นย้ายต้นกล้าข้าวลงปลูกในกระถางพลาสติก 1 ต้นต่อ 1 กระถางที่บรรจุดิน 1000 กรัม และปุ๋ยออสโมโคส (Osmocote) สูตร 13-13-13 จำนวน 10 กรัม โดยปลูกพันธุ์ละ 4 ต้น นำกระถางแช่ลงในอ่างซีเมนต์รักษาให้น้ำอยู่ที่ระดับผิวดิน ดูแลรักษาจนกระทั่งถึงระยะเก็บเกี่ยว ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ต่อไป

การหาปริมาณไทอามีนรวมในเมล็ดข้าวกล้อง

การหาปริมาณไทอามีนรวมจากเมล็ดข้าว 30 พันธุ์ ทำด้วยวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีของ Liu *et al*. (2002) โดยนำตัวอย่างเมล็ดข้าวต้นละ 5 เมล็ด บดให้ละเอียด นำไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ใส่ในโกร่ง เติมน้ำกลั่น 750 ไมโครลิตร บดจนเป็นเนื้อเดียวกัน ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ในหลอดทดลอง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 rpm อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 25 นาที นำสารละลายส่วนใสปริมาตร 30 ไมโครลิตร มาเติม NH_4Cl-$NH_3{\cdot}H_2O$ buffer pH 7.7 ปริมาตร 240 ไมโครลิตร 1% polyvinyl alcohol ปริมาตร 80 ไมโครลิตร และ 0.05% bromothymol blue ปริมาตร 240 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น

ปริมาตร 1410 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร หาปริมาณไทอามีนรวมในตัวอย่างโดยนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ (thiamine hydrochloride, Sigma)

การหาปริมาณไทอามีนในแต่ละระยะการพัฒนาของเมล็ด

คัดเลือกข้าวที่มีปริมาณไทอามีนรวมมาก ปานกลาง และต่ำอย่างละ 2 พันธุ์ มาทำการปลูกตามวิธีการข้างต้น จากนั้นเก็บตัวอย่างเมล็ดข้าว 4 ระยะ คือ ระยะดอกบาน (flowering stage) ระยะข้าวน้ำนม (milky stage) ระยะข้าวเม่า (dough stage) และระยะเก็บเกี่ยว (maturity stage) เพื่อศึกษาปริมาณไทอามีนในแต่ละระยะการพัฒนาของเมล็ด โดยสกัดไทอามีน จากเมล็ดข้าวทั้ง 4 ระยะที่ประกอบด้วย lemma และ palea จำนวนต้นละ 20 เมล็ด ด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วสกัดด้วยน้ำ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร โดยใช้โกร่งบดให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 25 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้กรองผ่าน membrane filtered ขนาด 0.45 ไมครอน หาปริมาณไทอามีนด้วยเทคนิค HPLC ดัดแปลงจากวิธีของ Moongngarm and Saetung (2010) ใช้คอลัมน์ C-18 (Infinity Lab Poroshell 120 EC-C18, 4.6x150 mm, 4 um Agilent) ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลซียส ฉีดสารละลายตัวอย่างที่ได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใช้ 50 mM phosphate buffer pH 5.6 และ acetonitrile ในอัตราส่วน 80:20 v/v เป็น mobile phase กำหนดอัตราการไหลที่ 0.75 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ UV detector ที่ความยาวคลื่น 233 nm นำข้อมูลที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ (thiamine hydrochloride, Sigma)

แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design, CRD) โดยแต่ละทรีทเมนต์ทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี One-Way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การหาปริมาณไทอามีนรวมในเมล็ดข้าวกล้อง 30 พันธุ์

จากการนำเมล็ดข้าวกล้องในระยะเก็บเกี่ยวจำนวน 30 พันธุ์ มาสกัดและศึกษาปริมาณไทอามีนรวมด้วยวิธีการทางสเปกโตโฟโตเมตรี แสดงให้เห็นว่าข้าวกล้องทั้ง 30 พันธุ์มีปริมาณไทอามีนรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งเมล็ดข้าวกล้อง 5 พันธุ์มีปริมาณของไทอามีนรวมมากที่สุด คือกข41 กข43 กข7 กข15 และกข23 รองลงมาได้แก่พันธุ์กข1 พัทลุง สุพรรณบุรี 90 ชัยนาท 2 กข49 ปทุมธานี 1 สุพรรณบุรี 3 สุพรรณบุรี 60 ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 1 กข29 กข3 สุพรรณบุรี 2 ข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 ล้นยุ้ง เหลืองอ่อน ขาวตาหวิน หอมแดง กข9 เหลืองประทิว ชัยนาท 1 และข้าวกล้อง 3 พันธุ์มีปริมาณไทอามีนรวมน้อยที่สุด คือ กข31 กข11 และพิษณุโลก 2 (ภาพที่ 1) โดยข้าวกล้องทั้ง 30 พันธุ์มีปริมาณไทอามีนรวมอยู่ในช่วง 0.144-0.447 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งมีไทอามีนรวมเฉลี่ยเท่ากับ 0.274 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จากรายงานของ Rujirapisit *et al.* (2012) ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของข้าวไทย 9 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวสังข์หยด ข้าวหอมนิล ข้าวเหนียวดำ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ข้าวหอมอุบล ข้าวสินเหล็ก ข้าวหอมมะลิแดง ข้าวเล้าแตกและข้าวหอมกัญญา พบความผันแปรของไทอามีนรวมอยู่ในช่วง 0.16-0.32 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และ Prasad *et al.* (2018) ศึกษาในข้าวอินเดีย

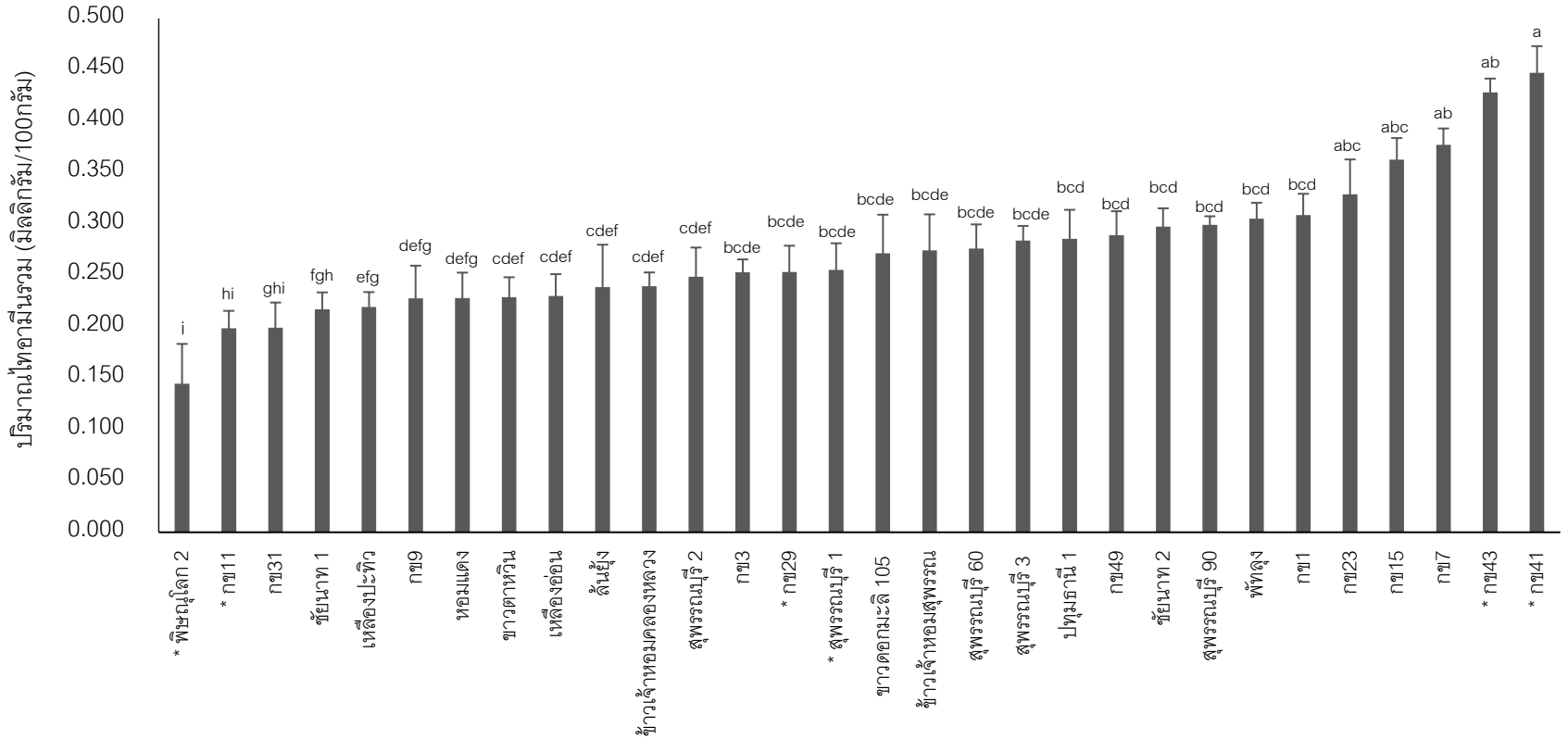
11 พันธุ์ พบความผันแปรของไทอามีนรวมในช่วง 0.12-0.19 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งจากการศึกษาปริมาณไทอามีนรวมในข้าวไทยทั้ง 30 พันธุ์ พบว่ามีความผันแปรอยู่ระหว่าง 0.144-0.447 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันมากถึง 0.303 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งจากความผันแปรของปริมาณไทอามีนที่พบในข้าว 30 พันธุ์ที่ได้ทำการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการสร้างและสะสมไทอามีนขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของแต่ละพันธุ์ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการผสมระหว่างพันธุ์ที่มีลักษณะที่ดีกับพันธุ์ที่มีปริมาณไทอามีนมากเพื่อปรับปรุงพันธุ์ให้มีการสร้างและสะสมไทอามีนเพิ่มขึ้น เช่น ถ้าใช้แหล่งพันธุกรรมจากข้าวพันธุ์ กข 41 มาปรับปรุงการสร้างและการสะสมไทอามีนของข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 อาจสามารถทำให้ข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 มีปริมาณไทอามีนสูงขึ้นได้ถึง 3 เท่า นอกจากแสดงให้เห็นความเป็นไปได้ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มปริมาณไทอามีนแล้ว ความแตกต่างของปริมาณไทอามีนในข้าวแต่ละพันธุ์ยังแสดงให้เห็นว่า หากต้องการบริโภคข้าวกล้องเพื่อให้ได้รับไทอามีนในปริมาณที่ควรได้รับต่อวันคือ 1-1.5 มิลลิกรัม ต้องบริโภคข้าวกล้องพันธุ์พิษณุโลก 2 ถึง 1000 กรัม ขณะที่พันธุ์กข41 บริโภคเพียง 300 กรัมเพื่อให้ได้ปริมาณไทอามีนที่เท่ากันขณะที่ปริมาณแป้งที่ได้รับต่างกันอย่างมาก ดังนั้นหากสามารถเพิ่มไทอามีนในข้าวให้มีปริมาณที่มากขึ้น ไม่เพียงแต่นำไปสู่การพัฒนาพันธุ์ข้าวไทยที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่โดดเด่นยังเป็นอีกหนึ่งทางเลือกให้กับผู้บริโภคที่ใส่ใจในสุขภาพและผู้ป่วยที่ต้องการควบคุมการบริโภคแป้งให้น้อยลงได้ อย่างไรก็ตามความผันแปรของไทอามีนสามารถเกิดได้หลายปัจจัย ได้แก่ ชนิด ความผันแปรทางพันธุกรรม พันธุ์ สภาพแวดล้อมในการปลูก (Witten & Aulrich, 2018) และความเครียดจากปัจจัยต่าง ๆ Rapala-Kozik *et al.* (2008) รายงานว่าความเครียดจากความเค็ม การขาดน้ำและจากออกซิเดชั่นทำให้ไทอามีนมีการสร้างมากขึ้นในข้าวโพด ดังนั้นการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ อาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มปริมาณไทอามีนในข้าวให้สูงขึ้นได้

จากการศึกษาปริมาณไทอามีนรวมสามารถแบ่งกลุ่มพันธุ์ข้าวด้วยวิธีทางสถิติและสามารถเลือกพันธุ์ที่มีปริมาณไทอามีนรวมในกลุ่มสูง ปานกลางและต่ำอย่างละ 2 พันธุ์ คือพันธุ์ กข41 (0.447 mg/100g) กข43 (0.428 mg/100g) สุพรรณบุรี 1 (0.255 mg/100g) กข29 (0.253 mg/100g) กข11 (0.198 mg/100g) และพิษณุโลก 2 (0.144 mg/100g) ตามลำดับ

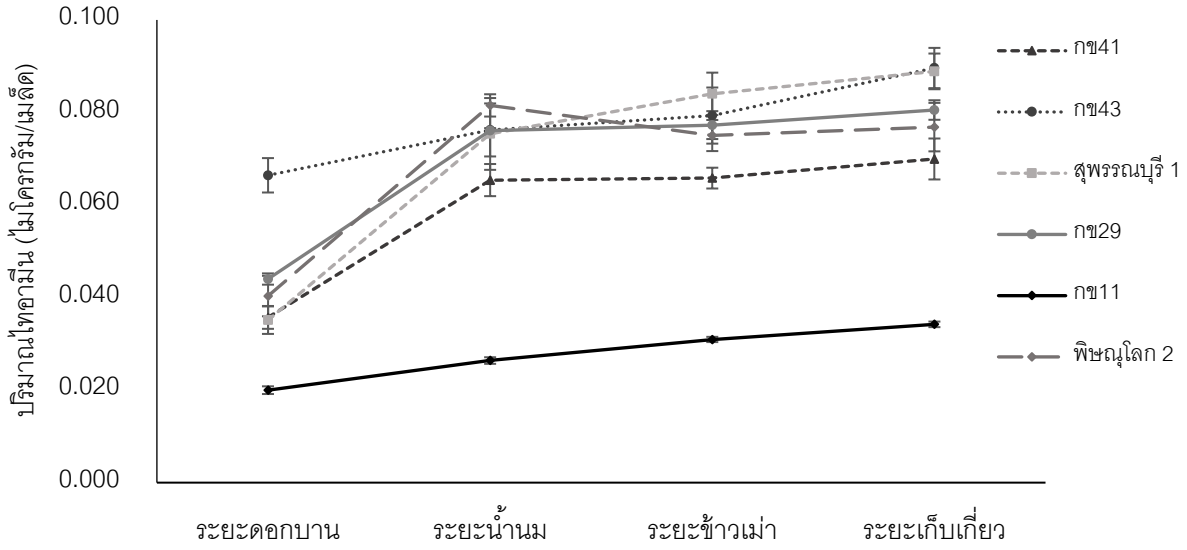
การหาปริมาณไทอามีนในแต่ละระยะการพัฒนาของเมล็ด

การศึกษาปริมาณไทอามีนในเมล็ดข้าวทั้งสี่ระยะ ได้แก่ ระยะดอกบาน ระยะน้ำนม ระยะข้าวเม่าและระยะเก็บเกี่ยว พบว่าเมื่อเมล็ดมีการพัฒนาและสะสมแป้งมากขึ้นการสะสมไทอามีนในเมล็ดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่าระยะดอกบานมีปริมาณไทอามีนน้อยที่สุด และหลังจากนั้นจึงมีการสร้างและสะสมปริมาณไทอามีนเพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจนในระยะน้ำนม จากนั้นจะค่อนข้างคงที่จนถึงระยะเก็บเกี่ยวซึ่งเป็นระยะที่พบปริมาณของไทอามีนมากที่สุดในข้าว 5 พันธุ์คือ กข41 กข43 สุพรรณบุรี 1 กข29 และกข11 ขณะที่พันธุ์พิษณุโลก 2 มีปริมาณไทอามีนสูงที่สุดในระยะน้ำนม จากนั้นลดลงในระยะข้าวเม่าและคงที่จนกระทั่งถึงระยะเก็บเกี่ยว (ภาพที่ 2) สอดคล้องกับรายงานของ Shimizu *et al.* (1990) ที่พบว่าการสร้างของไทอามีนในเมล็ดข้าวพันธุ์ Nihonbare ที่ช่วงการพัฒนาหลังจากดอกบาน พบว่าปริมาณไทอามีนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วประมาณ 50 นาโนกรัม/เมล็ดตั้งแต่ 10 วันหลังจากดอกบานจนถึง 30 วันหลังดอกบานจากนั้นจะเริ่มคงที่จนกระทั่งถึง 50 วันหลังจากดอกบาน ทั้งนี้มีรายงานว่ากระบวนการสังเคราะห์ไทอามีนเกิดขึ้นในพลาสติดเนื่องจากพบการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ไทอามีน (Roje, 2007) จึงทำให้พบการสะสมของไทอามีน

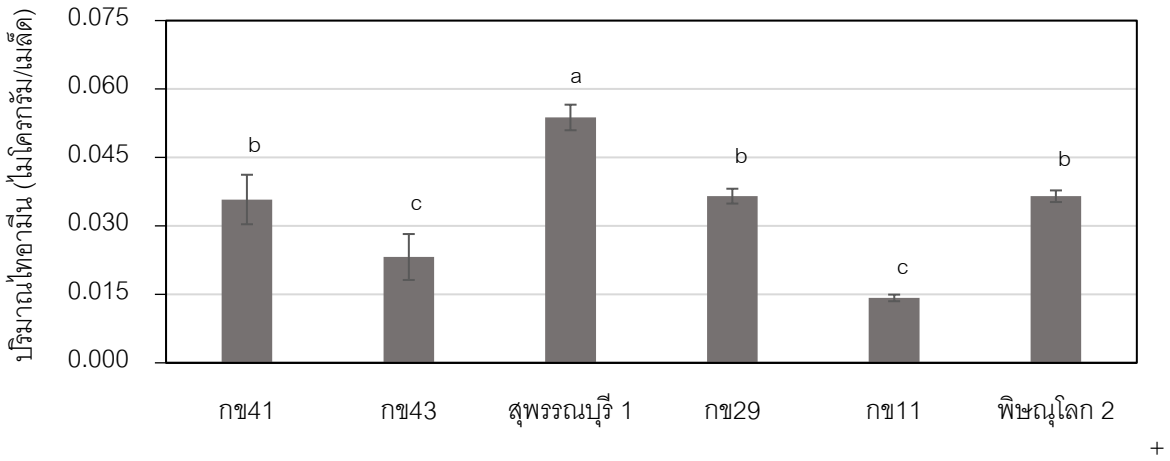
มากในช่วงที่เมล็ดเป็นสีเขียว (Phraprasert, 2015) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Buchholz *et al.* (2012) พบว่าไทอามีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเมล็ดมีการพัฒนาในช่วงต้นและเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วงปลายของการพัฒนาของเมล็ด ขณะที่ปริมาณไทอามีนโมโนฟอสเฟสและไทอามีนไพโรฟอสเฟสซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของไทอามีนมีแนวโน้มลดลงและการศึกษาในเมล็ดงาโดย Watanabe *et al.* (2003) พบว่าปริมาณไทอามีนเพิ่มขึ้นเมื่อเมล็ดงาเริ่มมีการพัฒนาและสูงที่สุดในระยะที่เมล็ดแก่เต็มที่ ซึ่งเมล็ดจะสะสมไทอามีนมากที่สุดเมื่อพัฒนาเต็มที่จนเข้าสู่ระยะพักตัว โดยไทอามีนจับอยู่กับ thiamin-binding protein เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการงอกของเมล็ด (Ampo *et al*., 2007) เมื่อเกิดการดูดน้ำของเมล็ดไทอามีนจะถูกเปลี่ยนเป็นไทอามีนไพโรฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญในวิถีเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต การสังเคราะห์พลังงานเคมีในรูป NADH, NADPH และ ATP เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาลซึ่งเป็นองค์ประกอบของสารพันธุกรรมรวมถึงการสร้างสารตัวกลางในวิถีไกลโคไลซีส (Rapala-Kozik, 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าระยะดอกบานมีปริมาณไทอามีนแตกต่างจากระยะน้ำนม ระยะข้าวเม่าและระยะเก็บเกี่ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในข้าวพันธุ์กข41 สุพรรณบุรี 1 และพิษณุโลก 2 ขณะที่พันธุ์กข43 กข29 และกข11 ทั้ง 4 ระยะมีปริมาณไทอามีนไม่แตกต่างกันและในแต่ละระยะการพัฒนาของเมล็ดข้าวทั้ง 6 พันธุ์มีปริมาณไทอามีนแตกต่างกันที่นัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยในระยะดอกบานของข้าวทั้ง 6 พันธุ์มีปริมาณไทอามีนอยู่ในช่วง 0.020-0.066 ไมโครกรัมต่อเมล็ด ระยะน้ำนมมีไทอามีนอยู่ในช่วง 0.026-0.082 ไมโครกรัมต่อเมล็ด ระยะข้าวเม่าและระยะเก็บเกี่ยวมีไทอามีนอยู่ในช่วง 0.031-0.084 และ 0.034-0.090 ไมโครกรัมต่อเมล็ดตามลำดับ (ภาพที่ 2) แสดงให้เห็นว่าปริมาณไทอามีนในแต่ละระยะการพัฒนาของเมล็ดมีความผันแปรค่อนข้างสูงในข้าวพันธุ์ต่างกัน นอกจากนี้พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์มีอัตราการสร้างไทอามีนในเมล็ดไม่เท่ากันส่งผลให้ปริมาณไทอามีนในระยะเก็บเกี่ยวของข้าวทั้ง 6 พันธุ์แตกต่างกัน โดยหากพิจารณาจากปริมาณไทอามีนในระยะเก็บเกี่ยวจะเห็นได้ว่าข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีปริมาณไทอามีนสูงถึง 0.089 ไมโครกรัมต่อเมล็ด ขณะที่ในระยะดอกบานมีปริมาณไทอามีนเพียง 0.035 ไมโครกรัมต่อเมล็ด แสดงให้เห็นว่าปริมาณไทอามีนในระยะเก็บเกี่ยวไม่ได้มีผลมาจากปริมาณไทอามีนตั้งต้นในระยะดอกบานแต่อาจเกิดจากอัตราการสร้างไทอามีนของข้าวแต่ละพันธุ์มีไม่เท่ากัน ซึ่งพันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีอัตราการสร้างไทอามีนเพิ่มขึ้นมากที่สุดโดยเพิ่มขึ้นถึง 0.054 ไมโครกรัมต่อเมล็ด รองลงมาได้แก่พันธุ์กข29 พิษณุโลก 2 กข41 กข43 และกข11 มีการสร้างไทอามีนเพิ่มขึ้นเพียง 0.037, 0.037, 0.036, 0.023 และ 0.014 ไมโครกรัมต่อเมล็ดตามลำดับ (ภาพที่ 3) ซึ่ง Watanabe *et al.* (2004) รายงานว่าเมล็ดข้าวสาลีที่กำลังพัฒนา 0-6 สัปดาห์หลังจากดอกบานมีไทอามีนเพิ่มขึ้นประมาณ 0.028 ไมโครกรัมต่อเมล็ด ดังนั้นอัตราการสร้างไทอามีนของข้าวแต่ละพันธุ์เป็นเรื่องที่ควรศึกษาต่อไป เนื่องจากเป็นไปได้ว่าข้าวพันธุ์ที่มีอัตราการสังเคราะห์ไทอามีนสูงเป็นเพราะความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ไทอามีน เช่น 4-methyl-5-β-hydroxyethylthiazole phosphate synthase และ 4-amino-2-methyl-5-hydroxymethylpyrimidine monophosphate kinase (Phraprasert, 2015) สามารถทำงานได้มากกว่าพันธุ์ที่มีอัตราการสร้างที่ต่ำกว่า จากข้อมูลดังกล่าวอาจนำไปสู่ความก้าวหน้าในการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณไทอามีนในเมล็ดเพิ่มขึ้น เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับข้าวไทยต่อไป



ภาพที่ 1 ปริมาณไทอามีนรวมในเมล็ดข้าวกล้อง 30 พันธุ์ (แถบแสดงความคลาดเคลื่อนบนกราฟแสดงค่า standard error; SE; ตัวอักษร abc แสดงความแตกต่างของข้อมูลที่ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT); *, พันธุ์ข้าวที่มีปริมาณไทอามีนรวมในกลุ่มสูง ปานกลางและต่ำ และนำไปใช้เพื่อศึกษาในการทดลองที่ 2)



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไทอามีนระหว่างการพัฒนาของเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ (▲) กข41 (●) กข43 (■) สุพรรณบุรี 1 (●) กข29 (◆) กข11 และ (◆) พิษณุโลก 2 (แถบแสดงความคลาดเคลื่อนบนกราฟแสดงค่า standard error; SE)



ภาพที่ 3 ปริมาณไทอามีนที่เพิ่มขึ้นจากระยะดอกบานถึงระยะเก็บเกี่ยว (ไมโครกรัม/เมล็ด) (แถบแสดงความคลาดเคลื่อนบนกราฟแสดงค่า standard error; SE) ตัวอักษร abc แสดงความแตกต่างของข้อมูลที่ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาความผันแปรของไทอามีนรวมในข้าวไทยทั้ง 30 พันธุ์พบว่ามีความผันแปรอยู่ระหว่าง 0.144-0.447 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งต่างกันมากถึง 0.303 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม นอกจากนี้ระยะการพัฒนาของเมล็ดที่ต่างกันส่งผลให้การสร้างไทอามีนและปริมาณไทอามีนที่สะสมในเมล็ดแตกต่างกันด้วย พบว่าระยะดอกบานมีปริมาณไทอามีนน้อยที่สุด จากนั้นมีการสร้างและสะสมไทอามีนเพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจนในระยะน้ำนมและคงที่ในระยะข้าวเม่าถึงระยะเก็บเกี่ยวซึ่งเป็นระยะที่พบปริมาณไทอามีนสะสมมากที่สุด ซึ่งความผันแปรนี้อาจนำไปสู่การพัฒนาพันธุ์ข้าวไทยให้มีปริมาณไทอามีนสูงขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 83/2558

เอกสารอ้างอิง

Ampo, M., Asada, E., Takebayashi, M., Shibata, K., Mitsunaga, T., & Watanabe, K. (2007). Biosynthesis of thiamin-binding proteins in developing sesame seeds. *Plant Biotechnology, 24*, 331–334.

Batifoulier, F., Verny, M. A., Chanliaud, E., Remesy, C., & Demigne, C. (2006). Variability of B vitamin concentrations in wheat grain, milling fractions and bread products. *European Journal of Agronomy, 25*(2), 163-169.

Buchholz, M., Drotleff, A. M., & Ternes, W. (2012). Thiamin (vitamin B1) and thiamin phosphate esters in five cereal grains during maturation. *Journal of Cereal Science, 56*, 109-114.

Champe, P. C., Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. (2008). *Biochemistry* (4 ed.). U.S.A: Lippincott Williams and Wilkins.

Cho, D. H., & Lim, S. T. (2016). Germinated brown rice and its bio-functional compounds. *Food Chemistry, 196*, 259-271.

Eijkman, C., & Grijns, C. (2012). Thiamin. In G. F. Combs (Ed.), *The Vitamins* (4th ed., pp. 261-275). USA: Academic Press.

Goyer, A. (2010). Thiamine in plants: Aspects of its metabolism and functions. *Phytochemistry, 71*(14-15), 1615-1624.

Juliano, B. O. (2016). Rice: Overview. In C. Wrigley, H. Corke, Seetharaman, K., & J. Faubion (Eds.), *Encyclopedia of Food Grains* (Vol. 1, pp. 125-129): Oxford: Academic Press.

Kyritsi, A., Tzia, C., & Karathanos, V. T. (2011). Vitamin fortified rice grain using spraying and soaking methods. *LWT - Food Science and Technology, 44*(1), 312-320.

Lebiedzińska, A., & Szefer, P. (2006). Vitamins B in grain and cereal–grain food, soy-products and seeds. *Food Chemistry, 95*(1), 116-122.

Li, X., Huang, K., He, X., Zhu, B., Liang, Z., Li, H., & Luo, Y. (2007). Comparison of nutritional quality between Chinese indica rice with sck and crylAc genes and its nontransgenic counterpart. *Journal of Food Science, 72*(6), S420-S424.

Liu, S., Zhang, Z., Liu, Q., Luo, H., & Zheng, W. (2002). Spectrophotometric determination of vitamin B1 in a pharmaceutical formulation using triphenylmethane acid dyes. *J Pharm Biomed Anal, 30*(3), 685-694.

Moongngarm, A., & Saetung, N. (2010). Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated. *Food Chemistry, 122*, 782-788. (in Thai)

Phraprasert, P. (2015). The Role of Thiamine (Vitamin B1) in Plants. *Burapha Science Journal, 20*(2), 221-231. (in Thai)

Prasad, V. S. S., Hymavathi, A., Babu, V. R., & Longvah, T. (2018). Nutritional composition in relation to glycemic potential of popular Indian rice varieties. *Food Chemistry, 238*, 29-34.

Rapala-Kozik, M. (2011). Vitamin B-1 (Thiamine): A Cofactor for Enzymes Involved in the Main Metabolic Pathways and an Environmental Stress Protectant. *Biosynthesis of Vitamins in Plants: Vitamins a, B1, B2, B3, B5, Pt A, 58*, 37-91.

Rapala-Kozik, M., Kowalska, E., & Ostrowska, K. (2008). Modulation of thiamine metabolism in Zea mays seedlings under conditions of abiotic stress. *J Exp Bot, 59*(15), 4133-4143.

Roje, S. (2007). Vitamin B biosynthesis in plants. *Phytochemistry, 68*(14), 1904-1921.

Rujirapisit, P., Sangkaeo, W., & Leowsakulrat, S. (2012). Nutritional Value of 9 Rice Cultivars. *Agricultural Science Journal, 43*(2), 173-176. (in Thai)

Shimizu, M., Mitsunaga, T., Inaba, K., Yoshida, T., & Iwashima, A. (1990). Accumulation of Thiamine and Thiamine-binding Protein during Development of Rice Seed. *Plant Physiology, 137*, 123-124.

Sriram, K., Manzanares, W., & Joseph, K. (2012). Thiamine in nutrition therapy. *Nutr Clin Pract, 27*(1), 41-50.

United States Department of Agriculture. (2018). *Grain: world markets and trade*. Retrieved from https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade. (30 June 2018).

Watanabe, K., Nishida, N., Adachi, T., Ueda, M., Mitsunaga, T., & Kawamura, Y. (2004). Accumulation and degradation of thiamin-binding protein and level of thiamin in wheat seeds during seed maturation and germination. *Biosci Biotechnol Biochem, 68*(6), 1243-1248.

Watanabe, K., Takahashi, H., Ampo, A., & Mitsunaga, T. (2003). Change of thiamin-binding protein and thiamin levels during seed maturation and germination in sesame. *plant physiol Biochemistry, 41*, 973-976.

Witten, S., & Aulrich, K. (2018). Effect of variety and environment on the amount of thiamine and riboflavin in cereals and grain legumes. *Animal Feed Science and Technology, 238*, 39-46.