รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มสารกาบาในเมล็ดต้นอ่อนทานตะวันด้วยกรดกลูตามิก

Enhancement of GABA in Germinated sunflower sprout by Glutamic acid

นางสุดใจ ผุดผาด

นายศักรินทร์ บุญล้ำ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ประเภทส่งเสริมนักวิจัย ประจำปี งบประมาณ พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มสารกาบาในเมล็ดต้นอ่อนทานตะวันด้วยกรดกลูตามิก

Enhancement of GABA in Germinated sunflower sprout by Glutamic acid

นางสุดใจ ผุดผาด

นายศักรินทร์ บุญล้ำ

สพม.....
เลขทะเบียน 148537
วัน.เดือน.ปี 31 ต.ค. 2560

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ประเภทส่งเสริมนักวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

b.00266431
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การเพิ่มสารกาบาในเมล็ดต้นอ่อนทานตะวันงอกด้วยกรดกลูตามิก

ได้รับทุนสนับสนุนจาก ทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ประเภทส่งเสริมนักวิจัย

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 จำนวนเงิน 50,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559

หัวหน้าโครงการวิจัย นางสุดใจ ผุดผาด **ผู้ร่วมวิจัย** นาย ศักรินทร์ บุญล้ำ

หน่วยงาน ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โทร 02-3268100-11 ต่อ 402

บทคัดย่อ

สารกาบา เป็นผลิตผลจากการ metabolism ของ glutamic acid โดยเอนไซม์ GAD (glutamic acid decarboxylase) ในงานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตทานตะวันเพาะงอกให้ได้ปริมาณสาร GABA สูง โดยวิธีการเติม glutamic acid โดยในขั้นแรกเป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นของ glutamic acid ต่อกระบวนการงอกและลักษณะปรากฏของเมล็ดทานตะวัน โดยแปรความเข้มข้นของ glutamic acid ในช่วง 5-25 mM จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 5-20 mM ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นการงอกและลักษณะปรากฏของเมล็ดทานตะวัน ที่ความเข้มข้น 25 mM ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นการงอกแต่เมล็ดทานตะวันที่ได้มีลักษณะเปื่อยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น จากผลการศึกษาในขั้นต้นนำมาศึกษาร่วมกับปัจจัยทางกายภาพ ที่มีผลต่อการผลิต GABA ในเมล็ดทานตะวัน ได้แก่ ระยะเวลาและอุณหภูมิ โดยระยะเวลาแปร 5 ระดับคือ 0, 12, 16, 20 และ 24 ชั่วโมง แปรอุณหภูมิ 3 ระดับคือ 30, 40 และ 45 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของ glutamic acid แปร 5 ระดับคือ 5, 10, 15, 20 และ 25 mM หาปริมาณสาร GABA ในทานตะวันงอกที่ได้ด้วยเครื่อง gas chromatograph mass spectrometer (GC-MS) ผลการวิเคราะห์พบว่า ระยะเวลา 16 ชั่วโมง อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและความเข้มข้นของ glutamic acid 20 mM มีปริมาณสาร GABA มากที่สุดเท่ากับ 5.20 ppm

คำสำคัญ : สารกาบา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title : Enhancement of GABA in Germinated sunflower sprout by Glutamic acid

Researcher : Mrs.Sudjai Phutphat[1] and Mr.Sakrin Boonlum[2]

Faculty : Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Chalongkrung Rd., Ladkrabang, Bangkok 10520

Abstract

GABA is an amino acid produced by decarboxylation of L-glutamic acid and catalyzed by the enzyme glutamate decarboxylase. The purpose of this study was to determine the effect of glutamic acid solution at various concentrations (5-25 mM) on GABA accumulation in Germinated sunflower sprout during germination. From this study, the means of germination percentage of germinated sunflower sprout soaked in glutamic acid solution at concentrations from 5-20 mM were significantly no difference; but the surface of the grains being soaked in 25 mM glutamic acid solution were pervious. Meanwhile, the means of germination percentage of germinated sunflower sprout soaked in glutamic acid solution at concentrations higher than 25 mM were significantly less than those obtained from the grains soaked at 5-25 mM. Analyzing the GABA by Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). The highest GABA contents accumulated in germinated sunflower sprout grains were 5.20 ppm at 20 mM glutamic acid concentrations.

Keyword : GABA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากได้รับการสนับสนุนเงินวิจัย ทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ประเภทส่งเสริมนักวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2559 และได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งให้ความสะดวกเรื่องสถานที่ และอุปกรณ์บางส่วนสำหรับใช้ทำวิจัย

คณะผู้วิจัย ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้

สุดใจ ผุดผาด

ศักรินทร์ บุญล้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 หลักการและเหตุผลการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.5 คำสำคัญของการวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	3
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	8
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	8
3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 ศึกษาปริมาณสารกาบาในตัวอย่างเมล็ดทานตะวันงอก	11
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	13
4.1 ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เหมาะสมในการเพาะงอกเมล็ดทานตะวัน	13
4.2 สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกเมล็ดทานตะวันด้วยการเติมกรดกลูตามิก	16
4.3 ปริมาณสารกาบาในตัวอย่างเมล็ดทานตะวันงอก	20
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	21
5.1 สรุปผลการทดลอง	21
5.2 ข้อเสนอแนะ	21
เอกสารอ้างอิง	22
ภาคผนวก	24
ภาคผนวก ก	25
ประวัตินักวิจัย	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	อัตราการงอกของเมล็ดทานตะวัน จากการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิก ความเข้มข้น 0-25 mM และลักษณะปรากฏ	14
4.2	ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวัน ที่เพาะงอกด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่างๆ	16
4.3	ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวัน ที่เพาะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ	17
4.4	ความเข้มข้นของ standard กับ peak area	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก	5
3.1 ขั้นตอนการหาอัตราการงอกของเมล็ด	9
3.2 ขั้นตอนการเพาะงอกเมล็ดทานตะวันด้วยวิธีการเติมสารละลายกรดกลูตามิก	10
3.3 gas chromatograph mass spectrometer	11
3.4 โครมาโทแกรมของ gamma amino butyric acid ในเมล็ดทานตะวันงอก	12
4.1 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากฟู	15
4.2 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากบางส่วนฟูบางส่วนโหย่ง	15
4.3 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากยาวโหย่ง	15
4.4 แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิกับปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวันงอก ที่เพาะงอกด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่างๆ	16
4.5 แสดงความเข้มข้นของ standard กับ peak area	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ต้นอ่อนของเมล็ดทานตะวันเป็นพืชอีกชนิดหนึ่ง ที่ผู้บริโภคกำลังให้ความสนใจกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นอ่อนทานตะวันงอก ที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหาร ต้นอ่อนของเมล็ดทานตะวัน มีโปรตีน มีวิตามินเอ และวิตามินอี บำรุงสายตา ผิวพรรณและชะลอความชรา มีวิตามินบี 1, 2 โอเมก้า 3, 6 และ 9 ซึ่งบำรุงเซลล์สมอง นอกจากนี้ต้นอ่อนทานตะวันงอก ยังมีสารอาหารอื่นๆ เช่น สาร gamma amino butyric acid เป็นกรดอะมิโนจากกระบวนการ decaboxylation ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) ซึ่งมีความสำคัญในการทำหน้าที่ สารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง และสาร gamma amino butyric acid ยังเป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้ง โดยทำหน้าที่รักษาสมดุลสมอง ช่วยทำให้สมองผ่อนคลายและนอนหลับสบาย อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ ซึ่งทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโต ทำให้กล้ามเนื้อกระชับ ในวงการแพทย์จึงนำสาร gamma amino butyric acid มารักษาโรคหลายชนิด เช่น โรควิตกกังวล โรคนอนไม่หลับ โรคลมชัก เป็นต้น สาร gamma amino butyric acid จะเกิดขึ้นในระยะที่เมล็ดทานตะวันมีการงอกสาร gamma amino butyric acid ที่เกิดขึ้นในกระบวนการงอกของเมล็ดทานตะวันนั้นจะมีปริมาณน้อย และไม่คงที่ในแต่ละครั้งที่ผลิตจึงไม่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหาร อาหารเสริมและเครื่องสำอางได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เทคนิคการวิเคราะห์ หาปริมาณ gamma amino butyric acid เช่น electrochemical sensor, fluorimetric, spectrophotometric, liquid chromatography (LC), capillary electrophoresis (CE) และ gas chromatography (GC) เป็นต้น

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงให้ความสนใจที่จะศึกษาหาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณสารกาบาในต้นอ่อนทานตะวันงอก เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะปลูกต้นอ่อนทานตะวันงอก ต่อปริมาณ gamma amino butyric acid และเพื่อศึกษาความเข้มข้นของกรดกลูตามิก ที่มีผลต่อปริมาณ gamma amino butyric acid โดยสนใจเทคนิค gas chromatography (GC) ที่มี mass spectrometry (MS) เป็นตัวตรวจวัด เนื่องจากเป็นเทคนิคที่วิเคราะห์ได้รวดเร็ว มีประสิทธิภาพในการแยกสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อวิจัยระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะปลูกต้นอ่อนทานตะวันงอก ต่อปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิด

1.2.2 เพื่อวิจัยความเข้มข้นของกรดกลูตามิก ที่มีผลต่อปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิด

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ได้ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะปลูกต้นอ่อนทานตะวันงอก ต่อปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิด

1.3.2 ได้ความเข้มข้นของกรดกลูตามิก ที่มีผลต่อปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิด

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

ครอบคลุมตั้งแต่ ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะปลูกต้นอ่อนทานตะวัน ปริมาณความเข้มข้นต่างๆของกรดกลูตามิก ที่มีผลต่อปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอ

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.5.1 การงอกของเมล็ดพันธุ์ หมายถึง การงอกและพัฒนาการของต้นอ่อนถึงขั้นที่โครงสร้างที่สำคัญของส่วนต่างๆของต้นอ่อน ที่สามารถบ่งชี้ได้ว่าจะสามารถเจริญเติบโตต่อไปเป็นต้นพืชที่ปกติภายใต้สภาพแวดล้อมในดินที่เหมาะสม (ISTA, 1999) การให้คำจำกัดความหรือการให้ความหมายการงอกของเมล็ดพันธุ์ของบุคคลในแต่ละสาขาอาชีพมีความแตกต่างกัน บุคคลโดยทั่วไปอาจจะมองว่าต้นอ่อนโผล่พ้นขึ้นมาเหนือดินก็แสดงว่าเมล็ดนั้นงอก สำหรับนักสรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์ได้ให้ความหมายว่าเมื่อใดก็ตามที่เห็นรากโผล่ออกมา แสดงว่าเมล็ดพันธุ์งอก ส่วนนักวิทยาศาสตร์ทางด้านเมล็ดพันธุ์และนักวิชาการเกษตรที่เกี่ยวข้องกับการปลูกพืชกล่าวว่า การงอกของเมล็ดพันธุ์หมายถึง เริ่มตั้งแต่เมล็ดพันธุ์มีกระบวนการต่างเกิดขึ้นในเมล็ดที่กำลังอยู่ในระยะพัก จนถึงระยะที่ต้นอ่อนเจริญเติบโต และพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่แข็งแรง

1.5.2 สารกาบา หมายถึง gamma amino butyric acid เรียกย่อว่า GABA เป็นสารที่เกิดจากกระบวนการ decarboxylation ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) ซึ่งเป็นกรดแอมิโน (amino acid) ชนิดหนึ่งเป็นสารที่มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ

1.5.3 decarboxylation หมายถึง ปฏิกิริยาการกำจัดหมู่ -COOH ออกจากสารประกอบทำให้ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในบทนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาแนวคิด ทฤษฎี และงานวิเคราะห์ งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มสารกาบาในเมล็ดต้นอ่อนทานตะวันงอกด้วยกรดกลูตามิกดังนี้

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

ต้นอ่อนทานตะวัน เป็นผักชนิดใหม่ที่กำลังแพร่หลาย ด้วยคุณสมบัติของพืชงอกที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ที่ผ่านมารู้จักเมล็ดทานตะวันในแง่ของเมล็ดพืชให้น้ำมัน ที่มีคุณค่าทางอาหารมากมาย แต่ข้อมูลจากการศึกษาและวิจัยพบว่า ต้นอ่อนของเมล็ดทานตะวัน มีโปรตีนสูงกว่าถั่วเหลือง มีวิตามินเอและวิตามินอีสูง บำรุงสายตา ผิวพรรณและชะลอความชรา มีวิตามิน บี ๑ บี ๒ โอเมก้า ๓ โอเมก้า ๖ โอเมก้า ๙ ซึ่งช่วยบำรุงเซลล์สมอง ป้องกันโรคสมองเสื่อม (อัลไซเมอร์) และธาตุเหล็กสูง นอกจากนี้ต้นอ่อนทานตะวัน ยังมีสารอาหารอื่นๆ อีกหลายตัวด้วยกัน เช่น วิตามินเอ วิตามินอี โปรตีน ฯลฯ ขั้นตอนในการเพาะเมล็ดทานตะวันจะมีการให้รับแสงทำให้เกิดการสังเคราะห์แสง ในใบของต้นอ่อนทานตะวันจึงมีคลอโรฟิลล์สูงกว่าถั่วงอกธรรมดา ต้นอ่อนทานตะวันจึงเหมาะในการนำมาปรุงเป็นอาหารสุขภาพอีกชนิดหนึ่ง สารกาบามีความสำคัญในการทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท (Neurotransmilter) ประเภทสารยับยั้ง (Inhibitor) ในระบบประสาทส่วนกลาง หลักการทำงานของสารกาบาคือ เมื่อสมองหรือระบบประสาทของมนุษย์มีความเครียดมากๆ โดยอาจเกิดจากนอร์เอพิเนฟริน (norepinephrine) หรืออิพิเนฟริน (epinephrine) สารจำพวกนี้เป็นสารที่ทำให้ตื่นเต้น เกิดความเครียด ความวิตกกังวล หรือความกลัว และเพื่อลดอาการเหล่านี้สมองจึงผลิตสารสื่อประสาท ซึ่งเป็นหนึ่งในสารกาบา มีผลยับยั้งการกับระบบประสาท โดยจะทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมอง ทำให้สามารถต้านทานคลื่นกระตุ้นประสาทได้ดี ช่วยทำให้สมองผ่อนคลายและนอนหลับสบาย หากในสมองมีสารกาบาน้อยเกินไป สมองก็จะคิดปรุงแต่งมากขึ้น เพราะขาดการยับยั้ง อาจทำให้มีอาการวิตกกังวล เพราะหยุดหรือควบคุมความคิดของตนเองไม่ได้ดีอีกด้วย จากการศึกษาและวิจัย พบว่าการบริโภคข้าวกล้องงอกซึ่งมีสารกาบามากกว่าข้าวกล้องปกติ 15 เท่า จะสามารถป้องกันการทำลายสมองและโรคสูญเสียความทรงจำได้ ดังนั้น จึงได้มีการนำสารกาบามาใช้ในวงการแพทย์เพื่อการรักษาโรคเกี่ยวกับระบบประสาทหลายโรค เช่น โรควิตกกังวล โรคนอนไม่หลับ โรคลมชัก เป็นต้น รวมทั้งผลการวิจัยด้านสุขภาพ ระบุว่าข้าวกล้องงอกที่ประกอบด้วยสารกาบา ทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ (Anterior Pituitary) ซึ่งทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโต ทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระชับ ป้องกันการสะสมไขมัน มีผลช่วยลดความดันโลหิต ลดไลโปโปรตีนโคเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำ (low Density Lipoprotein, LDL) ในเลือด ลดน้ำหนัก ทำให้ผิวพรรณดีอีกด้วย ระบบประสาทถูกสร้างขึ้นจากเซลล์ประสาท ที่เรียกว่าเซลล์ประสาทของแต่ละบุคคล ซึ่งทำหน้าที่เป็นสายไฟของร่างกาย สัญญาณประสาทจะถูกส่งผ่านความยาวของเซลล์ประสาท ในฐานะที่เป็นแรงกระตุ้นไฟฟ้า เมื่อแรงกระตุ้นเส้นประสาทที่มาถึงจุดสิ้นสุดของเซลล์ประสาท ที่จะสามารถกระโดดข้ามไปยังเซลล์ถัดไปโดยใช้สารเคมีที่เรียกว่าสารสื่อประสาท ในระบบประสาทส่วนกลางซึ่งประกอบด้วยสมอง และเส้นประสาทไขสันหลังที่สารสื่อประสาท ผ่านจากเซลล์ประสาทไปยังเซลล์ประสาท ในระบบประสาทซึ่งถูกสร้างขึ้นจากเส้นประสาท ที่วิ่งออกมาจากระบบประสาทส่วนกลางกับส่วนที่เหลือของร่างกาย สัญญาณทางเคมีผ่านระหว่างเซลล์ประสาท และกล้ามเนื้อ อยู่ติดกันหรือเซลล์ ต่อมกลูตาเมต และกาบาเป็นสารสื่อประสาทที่มีมากที่สุด ในระบบประสาทส่วนกลางและโดยเฉพาะในเปลือกสมองซึ่งเป็นที่ที่ความคิดและความรู้สึกที่เกิดขึ้นจะถูกตีความ

กาบาถูกค้นพบครั้งแรกในพืชและแบคทีเรีย ในค.ศ. 1883 ซึ่งเป็นผลิตผลจากกระบวนการเมตาบอลิซึมต่อมาพบว่า สารกาบาในระบบประสาทส่วนกลางของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Roth et al., 2003) กาบาพบได้ทั้งในสิ่งมีชีวิต พวกโปรคาริโอตและยูคาริโอต (Akama et al.,2001) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม สารกาบานั้นทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งสารสื่อประสาทในประสาทส่วนกลาง โดยพบมากถึง 30-40 % ของไซแนบ (Best, 1990) แต่ในพืชถึงแม้จะไม่ทราบผลที่แน่ชัดของบทบาทของสารกาบา จากงานวิจัยที่มีการศึกษาผลของกาบาต่อพืชนั้นพบว่าสารกาบาสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้กับสตรอเบอร์รี แอ้ปเปิ้ล และมะเขือเทศ (Deewatthanawong, 2006)

กาบาเป็นสารที่ประกอบด้วย 4 อะตอมของคาร์บอน ซึ่งกาบาไม่ใช่โปรตีน (Shelp, 1999) ชื่อ IUPAC คือ 4-amino butyric acid โดยมีหมู่อะมิโนบริเวณแกมมาคาร์บอน ที่ 25 องศาเซลเซียส ความดัน 100 kPa มีมวลโมเลกุล 103.12 g/mol จุดหลอมเหลว 203 องศาเซลเซียส กาบาเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายน้ำสูง และเป็นสารที่สามารถเป็นได้ทั้งสารประจุบวก และประจุลบเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง pH (pH เท่ากับ 4.03 และ 10.56 (Shelp, 1999)

2.1.1 กระบวนการการเผาผลาญสารกาบา (GABA metabolism)

กระบวนการสังเคราะห์ สารกาบามีความเชื่อมโยงกับวัฏจักรเครป วัฏจักรการเปลี่ยนกรดกลูตามิกให้เป็นกรดซัคซินิคโดยมีสารกาบาเป็นสารระหว่างกลาง เรียกว่า GABA shunt ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกเริ่มจากปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ ของปฏิกิริยา α-decarboxylation ของกรดกลูตามิกโดยเอนไซม์ glutamate decaboxylase (GAD, EC 4.1.1.15) โดยมีวิตามินบี 6 และอนุพันธ์เป็นโคเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์สารกาบา ด้วยเช่นกัน

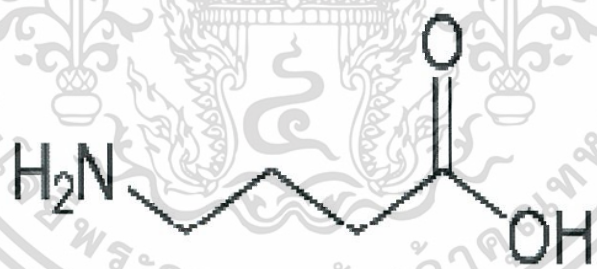
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Messer, 2000) มีการทดลองการเปลี่ยนกรดกลูตามิก (C_{14}) โดยเอนไซม์ GAD พบว่าผลิตผลที่ได้คือ $^{14}CO_2$ และสารกาบาซึ่งเป็นการพิสูจน์ว่าเอนไซม์ GAD เป็นปฏิกิริยา decarnoxylation (Tuin L. G. and Shelp B.J., 1994; Chung et al, 1992)

ในสิ่งมีชีวิตเอนไซม์ GAD จะมีค่าความเหมาะสมในการทำงาน ค่ากิจกรรมแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ (Bown and shelp, 1989; Satyanarayan et al, 1990) เอนไซม์ GAD มีความจำเพาะต่อ L-glutamate ซึ่งสามารถระงับการทำงานของเอนไซม์นี้ได้ด้วยการเติมสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ sulfhydryl สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ GAD อยู่ที่ประมาณ 5.8 (Barum et al. 1993; Gallego et al, 1995; Yu and Oh, 1998; Turano et al, 1998)

ขั้นที่สอง สารกาบาจะถูกเปลี่ยนให้เป็น ซัคซินิกเซมิแอลดีไฮด์ โดยเอนไซม์ GABA transaminase (GABA-T. EC 2.6.1.19) ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้เป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ เอนไซม์ GABA-T มีช่วงค่า pH ที่เหมาะสมที่ค่อนข้างกว้าง คืออยู่ในช่วง 8-10 (shelp et al. 1995)

ขั้นตอนสุดท้ายของ GABA shunt คือซัคซินิกเซมิแอลดีไฮด์ จะถูกเปลี่ยนให้เป็น ซัคซิเนตโดย succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH; EC 1.2.1.16) ซึ่งค่าความเหมาะสมของ pH เอนไซม์นี้อยู่ในช่วงประมาณ 9 (Bouchereau et al, 1999)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก

ที่มา http://en.wikipedia.org/wiki/Gamma-Aminobutyric_acid

2.1.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สารกาบา

(1) สารชีวเคมีและ pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

(2) ปริมาณไนโตรเจน

โดยปกติแล้วปริมาณกลูตาเมตในเซลล์ จะเพิ่มขึ้นได้ก็ต่อเมื่อปฏิกิริยาของการสังเคราะห์กลูตามีนหยุด และกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนลดลง หรือปริมาณการสลายโปรตีนมากขึ้น (Satyanarayan et al, 1990) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณสารกาบา ด้วยวิธีการเพิ่มกลูตาเมตภายในเซลล์จึงขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ คือเมื่อมีปริมาณโปรตีนในเซลล์มาก ก็จะสามารถผลิตกลูตาเมตได้มาก (Chang et al, 1992)

(3) อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ GAD ซึ่งเอนไซม์ GAD ที่ได้จากแหล่งที่มาต่างกัน จะมีสภาพที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ที่แตกต่างกัน เช่น เอนไซม์ GAD ในถั่วฝักยาว ทำงานได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่วนเอนไซม์ GAD ในข้าวทำงานได้ดีที่ อุณหภูมิ 35-45 องศาเซลเซียส (Zhang et al, 2002)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง กับการเพิ่มสารกาบาในเมล็ดต้นอ่อนทานตะวันงอก ด้วยกรดกลูตามิก พบว่าจากการศึกษาของ

จารุรัตน์ สันเต และคณะ (2550) ในการหาปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก ในผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอก (หอมมะลิ105) ที่สภาวะแตกต่างกัน พบว่าการแช่ข้าวกล้องหอมมะลิ 105 ในสารละลาย pH 5 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 3 ชั่วโมง มีปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริกมากที่สุด (21.93 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) และการแช่ข้าวในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (1 mM, pH 5) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริกสูงที่สุด (31.18 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

นอกจากนี้จากการศึกษาของ ปริชาติ หิรัญพงษ์ และวรรณา ตั้งเจริญชัย (มปป) ซึ่งใช้สาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ข้าวที่แตกต่างกัน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ105 กข 23 และชัยนาท 1 พบว่าหลังจากแช่ข้าวกล้องในน้ำที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง มีปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริกเท่ากับ 76 77 และ 186 มิลลิกรัมต่อจมูกข้าว 100 กรัม ตามลำดับ พัชรี ตั้งตระกูล และคณะ (มปป) ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก ในคัพภะข้าวเจ้าและข้าวเหนียว รวม 14 สายพันธุ์ โดยการแช่น้ำ พบว่าข้าวเหนียวมีปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก โดยเฉลี่ยสูงกว่าคัพภะข้าวเจ้า แม้ว่าข้าวเหนียวจะมีคัพภะน้อยกว่าข้าวเจ้า แต่เมื่อเทียบเป็นสัดส่วนของกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก ที่มีในเมล็ดข้าวทั้งหมด พบว่าข้าวเจ้ามีกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก ในสัดส่วนที่สูงกว่าข้าวเหนียว และผลที่ได้พบปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริกเพิ่มขึ้น หลังจากการแช่คัพภะในน้ำนาน 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

Varanyanond *et al.* (2005) ศึกษาการแช่คัพภะข้าวในน้ำที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 0.5 1.0 1.5 และ 4 ชั่วโมง ต่อปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริกของข้าว 6 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105 ประทุมธานี 1 ชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 หลวงประทิว 123 และพลายงาม พบว่าข้าวพันธุ์พลายงามมีปริมาณคัพภะสูงสุด ในขณะที่พันธุ์ประทุมธานี 1 มีปริมาณคัพภะต่ำสุด ระยะเวลาในการแช่ข้าวในน้ำและสายพันธุ์ข้าว มีผลต่อปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริกในคัพภะ โดยเมื่อระยะเวลาในการแช่ข้าวเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในข้าวดอกมะลิ 105 ประทุมธานี 1 ชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 และหลวงประทิว 123 และพบปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก สูงสุดในข้าวประทุมธานี 1 หลังจากแช่ข้าวในน้ำนาน 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก เท่ากับ 555.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมคัพภะ ปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก สามารถวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC ซึ่งมีงานวิจัยจำนวนมากใช้เครื่องดังกล่าว วิเคราะห์หาปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวเทริก โดยมีการใช้ column และ detector ที่แตกต่างกันออกไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ศึกษาถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะปลูกต้นอ่อนทานตะวันงอก รวมถึงศึกษาความเข้มข้นของกรดกลูตามิก ที่มีผลต่อปริมาณสาร gamma amino butyric acid ดังต่อไปนี้

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

- เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน
- กรดกลูตามิก (L-glutamic acid)
- กระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1)
- Petri dish 15x90 mm
- สารกาบามาตรฐาน
- ถาดเพาะ ดิน วัสดุในการปลูก

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 เตรียมวัตถุดิบสำหรับการเพาะงอก

ก่อนการทดลอง เมล็ดพันธุ์ทานตะวันจะถูกคัดแยกสิ่งเจือปนต่างๆ เช่น เมล็ดลีบ เมล็ดเสีย ออกจากเมล็ดดีก่อน จากนั้นบรรจุเมล็ดพันธุ์ดีลงในถุงพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิห้อง เพื่อรอใช้ในการทดลองถัดไป

3.2.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดกลูตามิกต่ออัตราการงอก และลักษณะปรากฏของเมล็ดทานตะวันงอก

เมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่ผ่านการถูกคัดเลือกมาจากข้อ 3.2.1 นำมาหาอัตราการงอกด้วยวิธี top of paper ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ ISTA (International Seed Testing Association) โดยสุ่มเมล็ดทานตะวัน 100 เมล็ดเพาะบนจานเลี้ยงเชื้อ ที่มีกระดาษกรองเบอร์ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองอยู่ด้านใต้ จากนั้นเติมสารละลายกรดกลูตามิก 5 มิลลิลิตร โดยแปรความเข้มข้นเป็น 5, 10, 15, 20 และ 25 mM. ปิดฝาและบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนับเมล็ดทานตะวันที่งอกในแต่ละ plate เพื่อหาอัตราการงอกโดยรายงานผลเป็นอัตราการงอก

นำค่าอัตราการงอกทั้ง 3 ซ้ำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าพิสัย โดยนำค่าเฉลี่ยที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นไปเปรียบเทียบกับตาราง ช่วงการยอมรับของ ISTA ซึ่งจะได้ค่าช่วงการยอมรับ ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่จะนำมาใช้ในการเพาะได้จะต้องมีค่าพิสัยของอัตราการงอกอยู่ในช่วงการยอมรับของ ISTA (ภาคผนวก ก 1) จากนั้นเลือกความเข้มข้น 3 ระดับที่ไม่มีผลต่ออัตราการงอกและไม่ทำให้เกิดความผิดปกติกับเมล็ดทานตะวันและลักษณะปรากฏ เช่น เมล็ดทานตะวันร้าว ไม่มีกลิ่นฉุนของแอมโมเนีย เมล็ดไม่เปื่อยยุ่ย เป็นต้น มาศึกษาต่อในตอนถัดไป

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการหาอัตราการงอกของเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกเมล็ดทานตะวัน ด้วยวิธีการเติมกรดกลูตามิก

เพาะงอกด้วยวิธีการดัดแปลงจากวิธีของ Komatsusaki และคณะ (ภาคผนวก ก 2) โดยเปลี่ยนจากน้ำกลั่นที่ใช้ในขั้นตอนการแช่เมล็ดทานตะวัน 3 ชั่วโมง เป็นสารละลายกรดกลูตามิก เทสารละลายกรดกลูตามิกออก บ่มเมล็ดทานตะวันต่อในภาชนะปิดสนิทเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ในขั้นตอนการทดลองนี้จะแปรความเข้มข้นของกรดกลูตามิก ตามความเข้มข้นที่เลือกได้ในข้อ 3.2.2 5 ระดับคือ 5, 10, 15, 20 และ 25 mM แปรอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเป็น 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ตัวอย่างเมล็ดทานตะวันงอกที่ได้ดังต่อไปนี้

ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการเพาะงอกเมล็ดทานตะวันด้วยวิธีการเติมสารละลายกรดกลูตามิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ศึกษาปริมาณสารกาบาในตัวอย่างเมล็ดทานตะวันงอก

3.3.1 ขั้นตอนการสกัดสารกาบา

1) บดตัวอย่างเมล็ดทานตะวันงอก 50 กรัมให้ละเอียด

2) ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 15 กรัม ใน centrifuge tube ขนาด 50 ml ทำการกำจัดไขมันออกจากเมล็ดทานตะวันงอกใช้ dichloromethane และ n-Hexane โดยสกัดในกรวยสกัดด้วยการเติม dichloromethane ก่อน 3 ครั้ง ครั้งละ 15 ml จากนั้นจะพบว่าไขมันจะไปรวมอยู่ที่ชั้นของ dichloromethane ให้ไขชั้น dichloromethane ออกก่อน หลังจากนั้นเก็บชั้นน้ำซึ่งมีสารกาบาอยู่ไปสกัดต่อด้วย n-Hexane 2 ครั้ง ครั้งละ 10 ml ถ้าไม่มีการกำจัดไขมันด้วย dichloromethane และ n-Hexane จะไม่พบ peak ของอนุพันธ์ของสารกาบาในการตรวจวัดเนื่องจาก sample matrix

3) ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ส่วนใสเก็บใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 20 ml

4) กรองสารละลายตัวอย่างที่สกัดแล้วด้วย 0.45 ไมครอน micro syringe filter

5) เก็บสารละลายที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจปริมาณสารกาบา ด้วย gas chromatograph mass spectrometer

3.3.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา

ภาพที่ 3.3 gas chromatograph mass spectrometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำตัวอย่างสารจากการสกัดมาทำการตรวจวิเคราะห์สารกาบาโดยใช้เครื่อง gc-ms (GC : Agilent Technologies รุ่น 6890N MS : Agilent Technologies รุ่น 5973 inert) ซึ่งความสามารถของการตรวจวิเคราะห์สารของเครื่อง gc-ms สามารถวิเคราะห์ได้ไม่ต่ำกว่า 0.002 ppm โดยสภาวะที่ใช้ในการแยกสารกาบาเป็นดังนี้

Oven เริ่มต้น 100°c ค้างไว้ 1 นาที เพิ่ม 35°c/min จนถึง 290°c ค้างไว้ 3 นาที เพิ่ม 40°c/min จนถึง 310°c ค้างไว้ 10 นาที

Injector 250°c

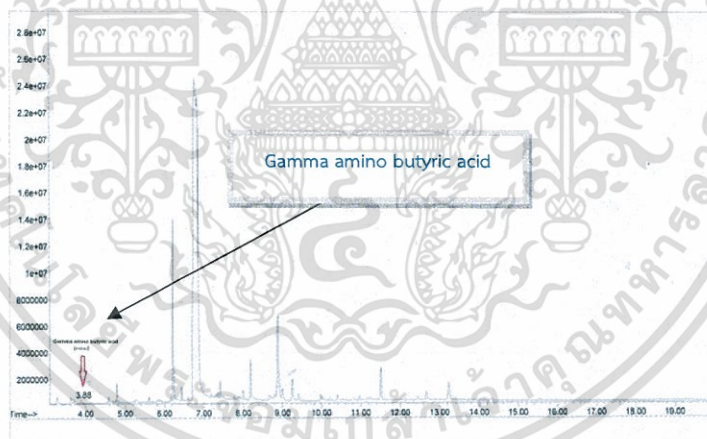
Split 10:1 Flow 1 ml/min Pressure 10.35 psi

Column HP-5ms ยาว 30 เมตร ID 0.25 mm. Film 0.25 um.

Detecter 320°c

Solvent delay 3 min

Scan parameter 30-500 atomic mass unit (amu)



ภาพที่ 3.4 โครมาโทแกรมของ gamma amino butyric acid ในเมล็ดทานตะวันงอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอก โดยใช้สารละลายกรดกลูตามิกแทนน้ำในขั้นตอนการแช่เมล็ดทานตะวัน โดยในงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีการเพาะงอกแบบ Komatsuzaki และคณะ (2007) คือการแช่เมล็ดทานตะวันในสารละลายเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นเทสารละลายออก บ่มต่อในภาชนะปิดเป็นเวลาอีก 16 ชั่วโมง แล้วจะนำมาศึกษาหาความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เหมาะสมในการเพาะงอก โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดกลูตามิกนั้น จะต้องไม่ทำให้อัตราการงอกของเมล็ดทานตะวันเพาะงอกลดลง และไม่ทำให้ลักษณะปรากฏของเมล็ดทานตะวันเปลี่ยนแปลง เมื่อได้ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกแล้วจะนำมาศึกษาร่วมกับปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการสังเคราะห์สารกาบาในพืช คือ เวลา อุณหภูมิ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะปลูกต้นอ่อนทานตะวันงอก

4.1 ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เหมาะสมในการเพาะงอกเมล็ดทานตะวัน

จากการเตรียมสารละลายกรดกลูตามิกโดยแปรปริมาณความเข้มข้นของกรดกลูตามิกเป็น 5, 10, 15, 20 และ 25 mM พบว่าอัตราการงอกของเมล็ดทานตะวันอยู่ในช่วงร้อยละ 92-97 ตามลำดับ และลักษณะปรากฏของทานตะวันงอกก็แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดโดยเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.1) คือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดกลูตามิก เมล็ดทานตะวันจะมีลักษณะเปื่อยยุ่ยบริเวณผิวนอกมากขึ้น

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกมีอิทธิพลต่ออัตราการงอกของทานตะวัน พบว่าความเข้มข้น 5-20 mM ไม่มีผลต่ออัตราการงอก และลักษณะปรากฏของข้าว ที่ความเข้มข้น 25 mM ไม่มีผลอัตราการงอก แต่ทานตะวันงอกที่ได้จะมีลักษณะเปื่อย โดยเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นการเปื่อยของเมล็ดทานตะวันก็จะเพิ่มขึ้นด้วย เมล็ดทานตะวันที่ได้มีกลิ่นฉุนคล้ายแอมโมเนีย ทั้งนี้การเกิดกลิ่นฉุนคล้ายแอมโมเนียน่าจะเกิดจากการที่มีปริมาณกรดกลูตามิก มากเกินไปทำให้เกิดการผันกลับของปฏิกิริยา เกิดการเปลี่ยนกรดกลูตามิกให้กลายเป็นแอมโมเนียและ แอลฟา คีโตกูตาเรท โดยเอนไซม์ ทรานซามิเนส (ภาพที่ 2.1)

ในช่วงความเข้มข้น 5-25 mM ลักษณะการงอกของรากของเมล็ดทานตะวันจะแตกต่างกันคือที่ความเข้มข้น 0-5 mM รากของทานตะวันจะมีลักษณะฟูรอบๆ จมูก (ภาพที่ 4.1) ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10-20 mM รากของทานตะวันมีลักษณะฟูโหย่งรอบจมูก (ภาพที่ 4.2) ที่ความเข้มข้น 25 mM ราก จะยาวโหย่งออกมาจากจมูก (ภาพที่ 4.3)

ตารางที่ 4.1 อัตราการงอกของเมล็ดทานตะวัน จากการเพราะงอกด้วยกรดกลูตามิกความเข้มข้น 0-25 mM และลักษณะปรากฏ

ความเข้มข้น	อัตราการงอกครั้งที่			เฉลี่ย	ลักษณะปรากฏ
	1	2	3		
0	95	95	95	95	เมล็ดปกติ รากฟูรอบๆ จมูก
5	96	96	96	96	เมล็ดปกติ รากฟูรอบๆ จมูก
10	97	96	98	97	เมล็ดปกติ รากฟูโหย่ง
15	98	96	97	97	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
20	99	99	99	99	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
25	96	90	90	92	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง

จากผลการทดลอง ทำให้สามารถเลือกความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่ไม่มีผลต่ออัตราการงอกและลักษณะปรากฏของทานตะวันงอก ซึ่งความเข้มข้นของกรดกลูตามิกอยู่ในช่วง 5-25 mM โดยในการวิจัยนี้เลือกแปรความเข้มข้นของกรดกลูตามิก เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไปเป็น 5 ระดับ คือ 5, 10, 15, 20 และ 25 เนื่องจากความเข้มข้นทั้ง 5 ระดับนี้มีลักษณะการงอกของรากเมล็ดทานตะวันที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.1 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากฟู

ภาพที่ 4.2 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากบางส่วนฟูบางส่วนโหย่ง

ภาพที่ 4.3 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากยาวโหย่ง

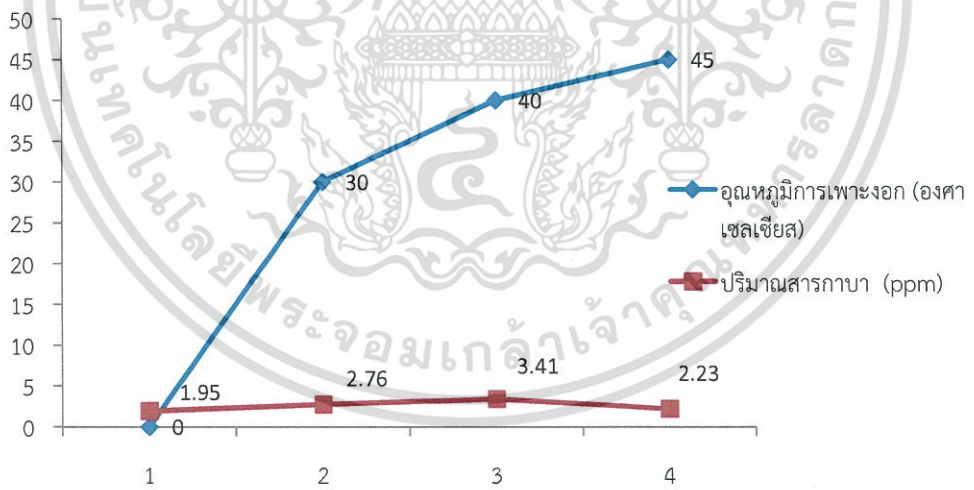
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกเมล็ดทานตะวันด้วยการเติมกรดกลูตามิก

จากการศึกษาเพาะงอกเมล็ดทานตะวัน โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเพาะงอกควบคุมและแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอก 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ดทานตะวัน แต่เมื่อใช้อุณหภูมิเพาะงอกเป็น 45 องศาเซลเซียส พบว่าเมล็ดทานตะวันมีอัตราการงอก เท่ากับ 0 ซึ่งเมื่อนำเมล็ดทานตะวันที่ได้จากการเพาะงอกที่อุณหภูมิต่างๆ มาวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา พบว่าปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวันที่ผ่านการเพาะงอกแล้วมีปริมาณสูงกว่าซึ่งผลการทดลองที่ได้ขัดแย้งกับอัตราการงอกของเมล็ดทานตะวัน คือในเมล็ดทานตะวันที่มีอัตราการงอกเป็น 0 มีปริมาณสารกาบามากกว่าทานตะวันเมล็ดแห้ง (ตารางที่ 4.2) แสดงให้เห็นว่าถึงแม้เมล็ดทานตะวันจะไม่งอก ก็สามารถสร้างสารกาบาได้เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 4.5)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวันงอก ที่เพราะงอกด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิการเพาะงอก (องศาเซลเซียส)	ปริมาณสารกาบา (ppm)
ทานตะวันเมล็ดแห้ง	1.95
30	2.76
40	3.41
45	2.23



ภาพที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิกับปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวันงอกที่เพาะงอกด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวัน ที่เพราะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ

ความเข้มข้น (mM)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารกาบา (ppm)
5	30	0	3.75
		12	4.04
		16	4.13
		20	4.28
		24	4.13
	40	0	4.08
		12	4.54
		16	4.59
		20	4.69
		24	4.86
	45	0	2.32
		12	2.48
		16	2.59
		20	2.74
		24	2.99
10	30	0	3.84
		12	4.03
		16	4.60
		20	4.77
		24	4.97
	40	0	4.41
		12	4.75
		16	4.77
		20	4.89
		24	5
	45	0	3.43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

148537

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวัน ที่เพราะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้น (mM)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารกาบา (ppm)
	45	12	3.54
		16	3.64
		20	3.65
		24	3.74
15	30	0	4.11
		12	4.20
		16	4.35
		20	4.65
		24	4.68
	40	0	4.31
		12	4.58
		16	4.61
		20	4.68
		24	4.77
	45	0	3.44
		12	3.73
		16	3.74
		20	3.94
		24	4.02
20	30	0	4.11
		12	4.20
		16	4.30
		20	4.40
		24	4.59
	40	0	4.60
		12	4.95
		16	5.20
		20	5.07
		24	5.08
	45	0	3.99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวัน ที่เพราะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้น (mM)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารกาบา (ppm)
	45	12	4.10
		16	4.11
		20	4.11
		24	4.12
25	30	0	4.12
		12	4.38
		16	4.4
		20	4.49
		24	4.71
	40	0	4.21
		12	4.42
		16	4.51
		20	4.66
		24	4.67
	45	0	3.74
		12	4.02
		16	4.02
		20	4.13
		24	4.21

อุณหภูมิ และระยะเวลามีอิทธิพลต่อปริมาณสารกาบา ซึ่งพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 30 เป็น 40 องศาเซลเซียส และระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะงอกเพิ่มขึ้นจาก 12 ชั่วโมง เป็น 16 ชั่วโมง ปริมาณสารกาบาก็จะเพิ่มขึ้น เช่น ในเมล็ดทานตะวันงอกที่ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกเท่ากับ 10 mM อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12, 16 ชั่วโมง มีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 4.03, 4.60 ppm ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 12, 16 ชั่วโมง มีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 4.75, 4.77 ppm แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 45 องศาเซลเซียส และระยะเวลาเป็น 12, 16 ชั่วโมง ปริมาณสารกาบากลับลดลง เหลืออยู่ 3.54, 3.65 ppm

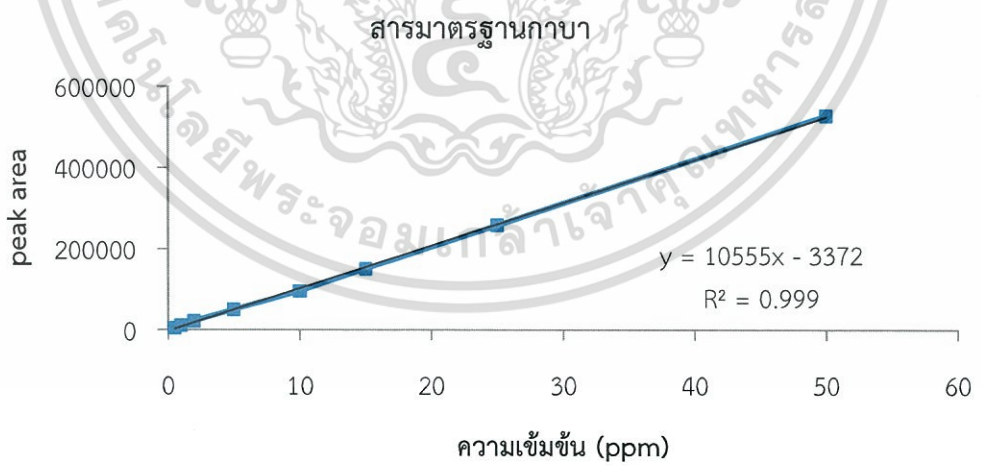
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ปริมาณสารกาบาในตัวอย่างทานตะวันงอก

การศึกษาปริมาณสารกาบา ที่ได้โดยนำพื้นที่ใต้กราฟไปเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานกาบา จะพบว่ามีความเป็นเส้นตรงที่ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.25-50 ppm (ตารางที่ 4.4) และจะได้สมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์เป็น $y = 10555x - 3372$ ($R^2 = 0.999$)

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นของ standard กับ peak area

ความเข้มข้นของ standard (ppm)	Peak area			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.5	4100	4000	4500	4200
1	10400	10000	10400	10270
2	22000	23500	20700	22070
5	53400	49300	48000	50230
10	95000	95800	95300	95370
15	152300	146900	150100	149770
25	261300	254400	259000	258230
50	535000	521200	528000	528070



ภาพที่ 4.5 แสดงความเข้มข้นของ standard กับ peak area

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จารุรัตน์ สันเต. 2550. ผลของกระบวนการแช่และกระบวนการงอกของข้าวกล้อง (หอมมะลิ 105) ต่อปริมาณสาร แกมมาอะมิโน บิวเทอริกเอซิดในข้าวกล้องงอก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อธิป บุญศิริวิทย์. 2553. การเพิ่มกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก(กาบา) ในข้าวกล้องเพาะงอก ด้วยกรดกลูตามิก. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อิงฟ้า คำแหง, อรพิน เกิดชูชื่น และ ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2552. "การเปลี่ยนแปลงสารอาหารของข้าวและธัญพืชในระหว่างการงอก." วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่40, ฉบับที่3 (พิเศษ) กันยายน-ธันวาคม 2552 : 341-344.

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

Baum, G. 19993. A plant glutamate decarboxylase containing a calmodulin-binding domain. Journal Biol, Chem. 268: 19610-19617.

Best, B. 1990. Brain neurotransmitters. [online}. Available From Webside: http://www.benbest.com/science/anatmind/anatmd 10.html [2009,October]

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

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

Deewatthanawong, R.2006. Possible role of gamma aminobutyric acid. [online]. Available From

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

:http://www.oeade.org/scholars/thesis_abstracts/agriculture/plonearticle.2006-07-18.5302346848 [2009,October]

Gallega, P.P 1995. A role for glutamaye decarboxylase during tomato ripening: the characteristics of a cDNA encoding a putative glutamate decarboxylase with a calmodulin-binding site. Plant Mol. Biol. 27: 1143-1151.

Jorgensen, E.M. 2005. GABA. WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.14.1, http://www.wormbook.org. Book Chapter.

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

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

Shelp, B.J, Bown, A.W., and Mclean, M.D., 1999, Metabolism and Function of Gamma-Amino Butyric Acid, Trendsin Plant Science, 4: 446-452.

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ก 1 การวิเคราะห์อัตราการงอก (ISTA, 2003)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. กระดาษกรอง
2. จานเพาะเชื้อ
3. น้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

1. สุ่มทานตะวัน 100 เมล็ดวางบนจานเพาะเชื้อที่มีกระดาษกรองรองอยู่
2. เติมน้ำจนกระดาษกรองเปียกทั่วทั้งแผ่น
3. ปิดฝาจานเพาะเชื้อ
4. บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง
5. นับจำนวนทานตะวันที่งอก เพาะงอก 3 ซ้ำ
6. หาค่าเฉลี่ยอัตราการงอกจากการเพาะงอกทั้ง 3 ซ้ำ
7. ค่าเฉลี่ยที่ได้ไปหาค่าช่วงการยอมรับจากตารางของ ISTA

ตัวอย่างการหาช่วงการยอมรับ

อัตราการงอกของทานตะวันตัวอย่างทั้ง 3 ซ้ำ คือ 96, 95, 97 และ 96 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยคือ 96 ค่าพิสัย = ค่าอัตราการงอกที่มากที่สุด – ค่าอัตราการงอกที่น้อยที่สุด = 97-95 = 2 จากตารางช่วงการยอมรับของ ISTA ค่าพิสัยของค่าเฉลี่ยที่ 96 ต้องมีค่าไม่เกิน 8 ดังนั้นอัตราการงอกของทานตะวันชุดนี้ อยู่ในช่วงการยอมรับของ ISTA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก 2 วิธีการเพาะงอก (ดัดแปลง Komatsuzaki และคณะ, 2007)

วิธีการเพาะงอกด้วยน้ำ

1. ล้างเมล็ดทานตะวัน 2 ครั้งด้วยน้ำประปา

2. แช่เมล็ดทานตะวันในน้ำ DI water อัตราส่วน 1:1 w/v ที่อุณหภูมิ 30-45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3. เทน้ำทิ้งบ่มต่อในภาชนะปิดที่อุณหภูมิเดิมเป็นเวลา 16 ชั่วโมง

4. อบแห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

5. บรรจุในถุงพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา

วิธีการเพาะงอกด้วยกรดกลูตามิก

1. เตรียมกรดกลูตามิกเข้มข้น 5-25 mM เช่น การเตรียมที่ความเข้มข้น 5 mM โดยชั่งสาร 0.368 กรัม ละลายด้วย DI water จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1000 ml

2. ล้างเมล็ดทานตะวัน 2 ครั้งด้วยน้ำประปา

3. แช่เมล็ดทานตะวันในกรดกลูตามิกอัตราส่วน 1:1 w/v ที่อุณหภูมิ 30-45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

4. เทกรดกลูตามิกทิ้งบ่มต่อในภาชนะปิดที่อุณหภูมิเดิมเป็นเวลา 16 ชั่วโมง

5. อบแห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

6. บรรจุในถุงพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ(ภาษาไทย) นางสุดใจ ผุดผาด

(ภาษาอังกฤษ) Ms. Sudjai Phutphat

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์

หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์ 02-329-8000 ต่อ 402, 086-3848769
โทรสาร 02-3298419
E-mail : kksudjai@kmitl.ac.th

ประวัติการศึกษา

วุฒิการศึกษา	สาขาวิชา	ปีที่สำเร็จ	ชื่อสถาบัน
วท.บ (วิทยาศาสตร์)	เคมี	2544	สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช

หัวหน้าโครงการวิจัย

- โครงการ การสลายตัวของสารฆ่าแมลงมาลาไธออน ที่ตกค้างในเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนู

โครงการวิจัยร่วม

- โครงการ เครื่องเก็บสารละลายจากคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบอัตโนมัติ
- โครงการ การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาคอปเปอร์(II) ซิงค์(II) ไพโรฟอตเฟต ($Cu(II)Zn(II)P_2O_7$) สำหรับการสังเคราะห์พลังงานทางเลือก
- โครงการ ปริมาณสารกำจัดแมลงตกค้างในเห็ดจากตลาดกรุงเทพฯ และระยะเวลาการเป็นพิษตกค้าง

การเสนอผลงาน

- งานพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 15 เรื่อง “การสลายตัวของสารฆ่าแมลงมาลาไธออน ที่ตกค้างในเห็ดนางฟ้าและเห็ดหูหนู”

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

ชื่อ(ภาษาไทย) นายศักรินทร์ บุญล้ำ

(ภาษาอังกฤษ) Mr. Sakrin Boonlum

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย

หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์ 02-329-8000 ต่อ 402
โทรสาร 02-3298419
E-mail kbsakrin@kmitl.ac.th

ประวัติการศึกษา

วุฒิการศึกษา	สาขาวิชา	ปีที่สำเร็จ	ชื่อสถาบัน
ปริญญาโท	(วท.ม เทคโนโลยีชีวภาพ)	พ.ศ. 2552	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปริญญาตรี	(วท.บ พืชสวน)	พ.ศ. 2546	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปริญญาตรี	(วท.บ วิศวกรรมไฟฟ้า)	พ.ศ. 2556	มหาวิทยาลัยราชภัฏราชนครินทร์

หัวหน้าโครงการวิจัย

- โครงการ เครื่องเก็บสารละลายจากคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบอัตโนมัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

T148537

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้