บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1. ข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

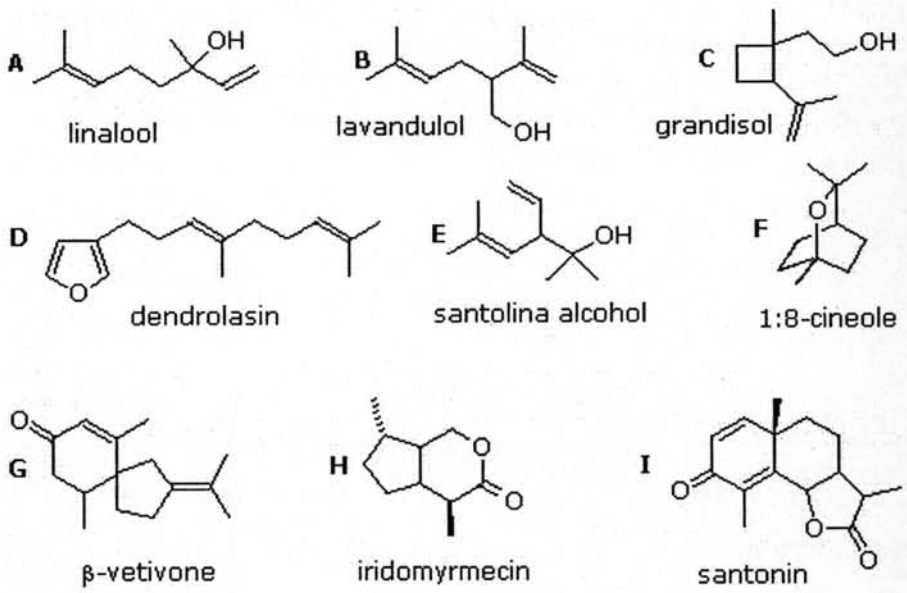
ข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวหอมพันธุ์พื้นเมือง ได้เริ่มทำการเก็บรวบรวมพันธุ์จากอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ในปี พ.ศ. 2493 – 2494 เป็นจำนวน 199 รวง ต่อมาในปี พ.ศ. 2498 ได้ทำการคัดพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line selection) ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง และทำการปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ท้องถิ่นในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือในปี พ.ศ. 2500 และในวันที่ 25 พฤษภาคม พ.ศ. 2502 ได้ให้ชื่อว่า ขาวดอกมะลิ 4-2-105 หรือที่เรียกกันว่า ขาวดอกมะลิ 105 (วรวิทย์ พาณิชพัฒน์, 2529)

ข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีลักษณะทั่วไป คือ เป็นข้าวเจ้าไวต่อช่วงแสง ต้นสูงประมาณ 140 - 150 เซนติเมตร ช่วงอายุเก็บเกี่ยว ข้าวจะออกดอกประมาณวันที่ 20 ตุลาคม และสุกแก่เก็บเกี่ยวได้ประมาณวันที่ 20 พฤศจิกายนของทุกปี โดยมีระยะพักตัวของเมล็ด ประมาณ 8 สัปดาห์ ขนาดเมล็ดข้าวกล้อง ยาว 7.5 มิลลิเมตร กว้าง 2.1 มิลลิเมตร หนา 1.8 มิลลิเมตร และมีลักษณะเมล็ดข้าวเปลือกที่เมล็ดเรียวยาว ก้นงอน และมีสีฟาง

ลักษณะเด่นของข้าวพันธุ์นี้ คือ มีกลิ่นหอม เมล็ดอ่อนนุ่มเมื่อนำมาหุงต้ม ทนต่อสภาพแล้ง ทนต่อดินเปรี้ยว และดินเค็ม คุณภาพการขัดสีดี เมล็ดข้าวสารใส แข็ง มีท้องไข่น้อย นวดง่าย เนื่องจากเมล็ดหลุดร่วงจากรวงได้ง่าย เป็นที่ต้องการของตลาด เนื่องจากมีผู้นิยมบริโภคมาก และขายได้ราคาดี แต่มีลักษณะด้อย คือ ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง โรคใบสีส้ม โรคใบจุดสีน้ำตาล และโรคไหม้ และโรคใบหงิก ไม่ต้านทานแมลงบั่ว เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ต้นอ่อนล้มง่ายถ้าปลูกในบริเวณที่ดินมีความอุดมสมบูรณ์สูง

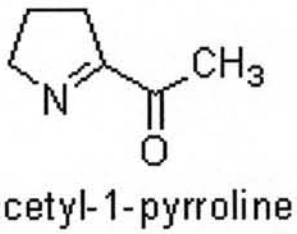
2.2. 2-Acetyl-1-pyrroline

2-Acetyl-1-pyrroline (2AP) เป็นสารหอมระเหยชนิดหนึ่งในกลุ่มเทอร์พีน (Terpene) ดังแสดงในรูปที่ 1 โครงสร้างของ 2AP ประกอบด้วยอะตอมของไนโตรเจนและมีโครงสร้างเป็นวงแบบเฮทเทอร์โลไซค์คริก (Heterocyclic) ดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งเป็นต้นกำเนิดของกลิ่นหอมที่คล้ายข้าวหอมที่หุงสุก ใบเตยหอม ข้าวโพดคั่ว หรือกลิ่นของขนมปังอบ



รูปที่ 1 โครงสร้างของสารต่าง ๆ ในกลุ่มเทอร์พีน

ที่มา : Reusch, 2000



2-acetyl-1-pyrroline

รูปที่ 2 โครงสร้างของ 2-Acetyl-1-pyrroline

ที่มา : Yoshihashi และคณะ, 2002

2AP เป็นสารหอมระเหยที่มีลักษณะความหอมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว กล่าวคือ มีกลิ่นหอมจาง ๆ แต่หอมยาวนานทั้งกลางวันและกลางคืน กลิ่นหอมคล้ายกลิ่นของข้าวหอมมะลิหุงสุก (Mahatheeranont และคณะ, 2001) หรือกลิ่นของใบเตยหอม (Buttery และคณะ, 1983) และกลิ่นของขนมปังอบ (Rychlik และ Gnosch, 1996)

แหล่งที่พบสารหอม 2AP

สารหอม 2AP สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลาย ๆ ชนิดทั้งในพืชและในสัตว์ แต่ปริมาณที่พบจะไม่เท่ากัน กล่าวคือ ปริมาณสารหอม 2AP ในพืชจะมีปริมาณมากกว่าในสัตว์ ตัวอย่างของแหล่งที่พบสารหอม 2AP แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของแหล่งที่พบสารหอม 2AP

แหล่งที่พบสารหอม 2AP	เอกสารอ้างอิง
Pandanus amaryllifolius Roxb	Buttery และคณะ, 1982
Fragrant rice (*Oryza sativa* L.)	Buttery และคณะ, 1983, 1986; Paule และ Powers, 1989; Bergman และคณะ, 2000
Oryza sativa L. cultivar KDML 105	Mahatheeranont และคณะ, 2001
Blue crab claw meat (*Callinectes sapidus*)	Chung และ Cadwallader, 1994; Chung และคณะ, 1995
Iberian dry-cured ham	Carrapiso และคณะ, 2002
Extrusion cooking of maize flour	Bredie และคณะ, 1988
Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott)	Wong และคณะ, 1998

พืชที่นิยมนำมาศึกษาเกี่ยวกับสารหอม 2AP ได้แก่ ใบเตย (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) (Buttery และคณะ, 1983) และดอกชมนาด (Mahatheeranont และคณะ, 2001) เนื่องจากพบว่าพืชทั้ง 2 ชนิดนี้มีกลิ่นของสารหอม 2AP ในปริมาณที่มากกว่าพืชชนิดอื่น ๆ

มีหลาย ๆ การทดลองที่สนับสนุนว่าการเกิดสารหอม 2AP มีผลมาจากปัจจัยความเครียดต่าง ๆ ได้แก่ ปริมาณเกลือ NaCl และกรดอะมิโนบางชนิด จากการที่ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์ข้าวหอมที่นิยมปลูกมากที่สุด (Singh และคณะ, 2000) และมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ของข้าวพันธุ์นี้ จึงมีการศึกษาถึงสารหอมชนิดนี้

Buttery และคณะ (1983) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารที่เป็นสารให้ความหอมในข้าว พบว่า สารระเหยที่เป็นสารให้ความหอมในข้าว คือ 2AP

Mahatheeranont และคณะ (2001) ได้ศึกษาสารอินทรีย์ที่เป็นสารให้ความหอมของข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบว่า สารระเหยมากกว่า 140 ชนิดที่เป็นองค์ประกอบของสารสกัดที่มีกลิ่นหอมที่ได้จากการสกัดข้าวกล้องพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยวิธีการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลาย และมีเพียงสาร 2AP เท่านั้นที่เป็นสารที่มีบทบาทมากที่สุดในความหอมของข้าวขาวดอกมะลิ 105

สารหอม 2AP มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเป็นสารประกอบในกลุ่ม pyrrole คือ วงแหวน 5 เหลี่ยมที่มีไนโตรเจนอยู่ในวงแหวนและมีหมู่ acetyl เกาะอยู่กับคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของวงแหวน (รูปที่ 2) มีสูตรโมเลกุล คือ C_6H_9NO มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 111.143 สารหอม 2AP มีลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มีสี และเนื่องจากเป็นสารประกอบไนโตรเจนทำให้สารนี้มีคุณสมบัติเป็นเบสเล็กน้อย นอกจากนี้ยังเป็นสารหอมที่ระเหยได้ง่าย และไม่เสถียร (Mahatheeranont และคณะ, 2001)

Mahatheeranont และคณะ (2001) ได้ทำการเปรียบเทียบปริมาณ 2AP ที่สกัดได้จากส่วนเมล็ดของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ข้าวหอมพันธุ์คลองหลวง ข้าวหอมพันธุ์พม่า และข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกต่างบริเวณ (ตารางที่ 2) พบว่า ข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ก.พ.ส.) ซึ่งเป็นข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่นำไปปลูกในพื้นที่อื่น มีปริมาณ 2AP มากกว่าข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เล็กน้อย แต่มากกว่าข้าวหอมพันธุ์คลองหลวง และข้าวหอมพันธุ์พม่าอย่างเห็นได้ชัด

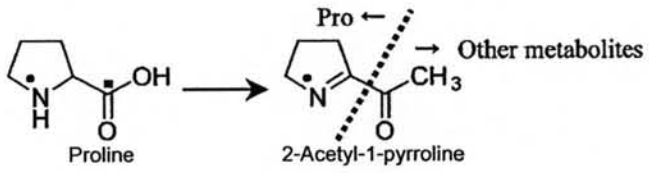
ตารางที่ 2 ปริมาณสารหอม 2AP ที่ได้จากข้าวพันธุ์ต่าง ๆ

ข้าวสายพันธุ์	ปริมาณสารหอม 2AP (ppm)
ขาวดอกมะลิ 105	0.352
คลองหลวง	0.022
พม่า	0.288
ขาวดอกมะลิ 105 (ก.พ.ส.)	0.443

ที่มา : Mahatheeranont และคณะ (2001)

Yoshihashi และคณะ (2002) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารหอม 2AP ในแคลลัส และต้นกล้าของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่มีการติดฉลากด้วยสาร isotope analogues ลงไปในสารละลายกรดอะมิโนต่าง ๆ เพื่อติดตามว่ากรดอะมิโนตัวใดมีผลต่อการสังเคราะห์สารหอม 2AP ในข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสามารถพิสูจน์ได้ชัดเจนว่า L-Proline เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารหอม 2AP (รูปที่ 3) ในแคลลัส และต้นกล้าของข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทำให้สามารถสรุปได้ว่า L-Proline มีส่วนสัมพันธ์กับกระบวนการสังเคราะห์สารหอม 2AP ในข้าว

พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดย L-Proline อาจจะเข้าสู่วิถีเมตาบอลิซึมจนเกิดการสังเคราะห์ได้เป็นสารหอม 2AP



รูปที่ 3 การเปลี่ยน proline ไปเป็น 2-acetyl-1-pyrroline

ที่มา : Yoshihashi และคณะ, 2002

2.3. ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อ 2-acetyl-1-pyrroline และ L-proline

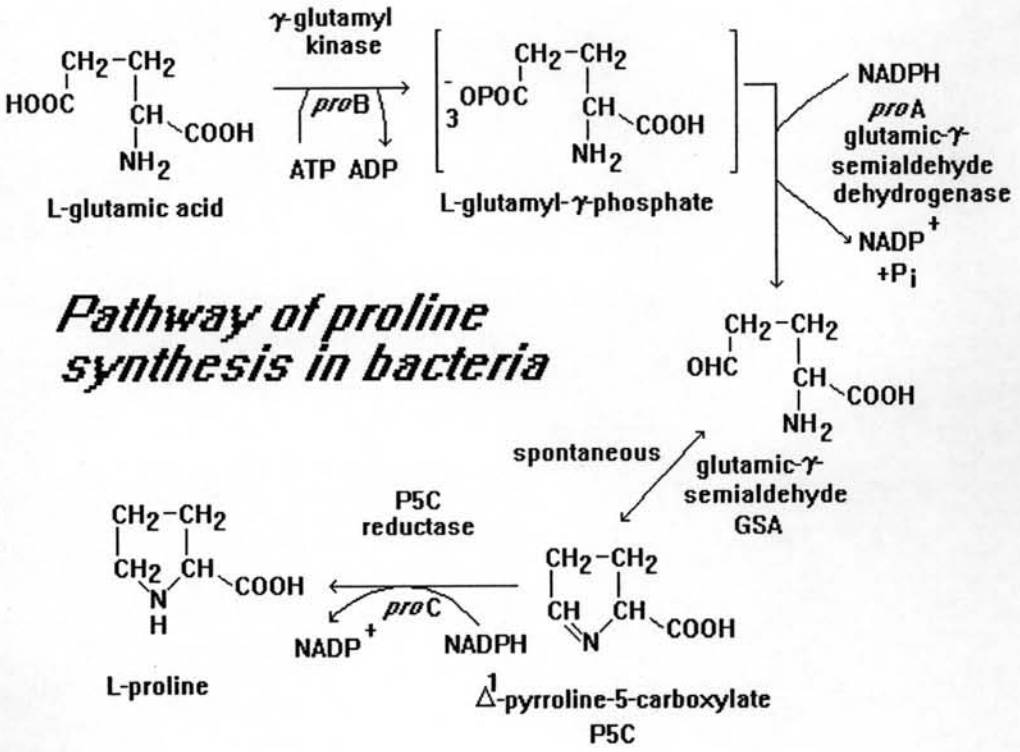
Sahoo และ Sahu (1993) ได้เปรียบเทียบการปลูกในภาวะที่มีและไม่มีแสง และนำใบข้าวที่ปลูกไปวิเคราะห์ปริมาณ L-Proline พบว่าการปลูกในสภาวะที่มีแสงมีปริมาณ L-Proline มากกว่าในที่ไม่มีแสง นอกจากแสงจะเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสาร 2AP ของข้าว ปริมาณของเกลือ NaCl ก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารหอม 2AP ในข้าวขาวดอกมะลิ 105

Sultana และคณะ (1999) ได้ศึกษาข้าวที่ได้รับความเครียดเกลือในระหว่างปลูก พบว่าในช่วงระยะออกดอก (flowering stage) และในช่วงที่ข้าวอยู่ในระยะข้าวอ่อน (milking stage) เมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นโปรตีนที่ละลายได้ พบว่าลดลง การสะสม proline เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในข้าวทั้ง 2 ระยะ และที่ความเข้มข้นเกลือ 200 มิลลิโมลาร์ การสะสม proline จะมีค่าเป็น 2.66 และ 4.73 เท่าของตัวอย่างควบคุมที่ระยะออกดอก และระยะข้าวอ่อน ตามลำดับ

Rahman และคณะ (2001) ศึกษาการงอก (germination) และการเกิด seedling ของข้าว 7 วันในสารละลายเกลือ 0 – 0.1% (water culture) และ 14 วัน ที่ความเข้มข้นเกลือ 0 – 3% (soil culture) พบว่าในช่วงการงอกสามารถทนเกลือได้มากกว่าข้าวในช่วง seedling และความเข้มข้นของเกลือถึง 0.3% ช่วยชะลอการงอกของเมล็ด แต่ไม่ได้ลดร้อยละของการงอก

นอกจากนี้ยังมีภาวะเครียดอื่น ๆ ก็มีผลกระทบด้วย โดย Hajduch และคณะ (2001) ได้ทำการเปรียบเทียบปัจจัยความเครียดจากความเข้มข้นของโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ต่อใบข้าวโดยเทคนิค 1-dimensional gel electrophoresis และสามารถแยกโปรตีน RuBisCo ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง ทั้งชนิดโมเลกุลขนาดใหญ่ (LSU, 49 kDa) และชนิดโมเลกุลขนาดเล็ก (SSU, 15 kDa) และจากนั้นก็นำไปทำการคัดแยกและหาลำดับการจัดเรียงตัวโปรตีนและเอนไซม์ที่สนใจด้วยเทคนิค 2-dimensional gel electrophoresis พบว่าปัจจัยความเครียดจากโลหะหนักชนิดต่าง ๆ มีผลต่อการผลิตโปรตีน RuBisCo

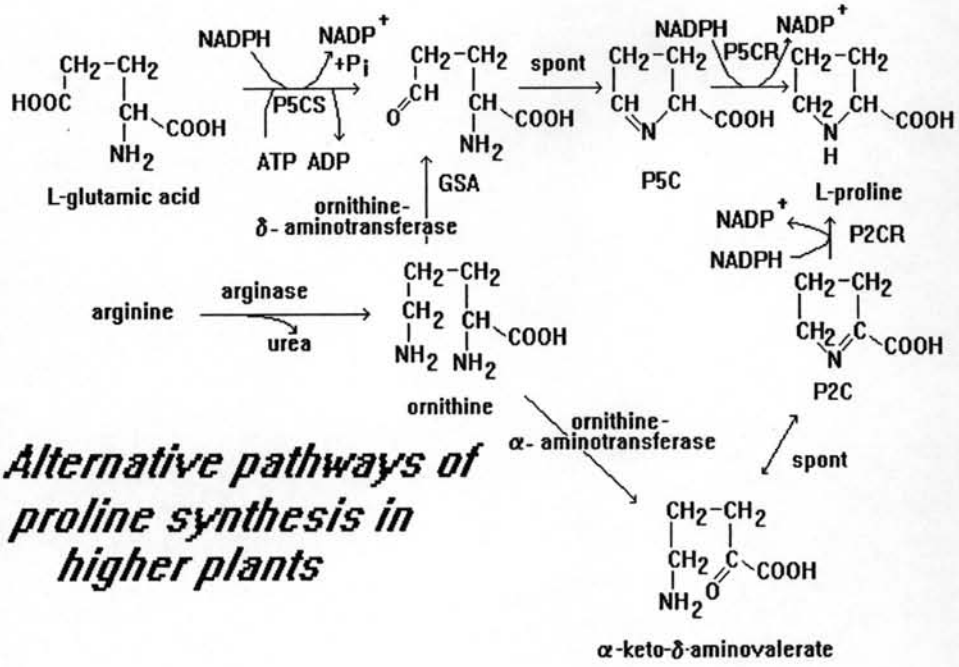
มีงานวิจัยหลายฉบับที่รายงานเกี่ยวกับกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโน โดยเฉพาะกระบวนการสังเคราะห์ proline ในจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรีย (Baich, 1969, 1971; Gamper และ Moses, 1974; Hayzer และ Moses, 1978ab; Krishna และ Leisinger, 1979; Krishna และคณะ, 1979; Adams และ Frank, 1980; Hayzer และ Leisinger, 1980; 1981; 1982; Deutch และคณะ, 1982; 1984; Smith และคณะ, 1984) ซึ่งสามารถอธิบายวิถีของกระบวนการสังเคราะห์ proline ได้ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 วิถีของกระบวนการสังเคราะห์ L-proline ในแบคทีเรีย

ที่มา : Delauney และ Verma (1993)

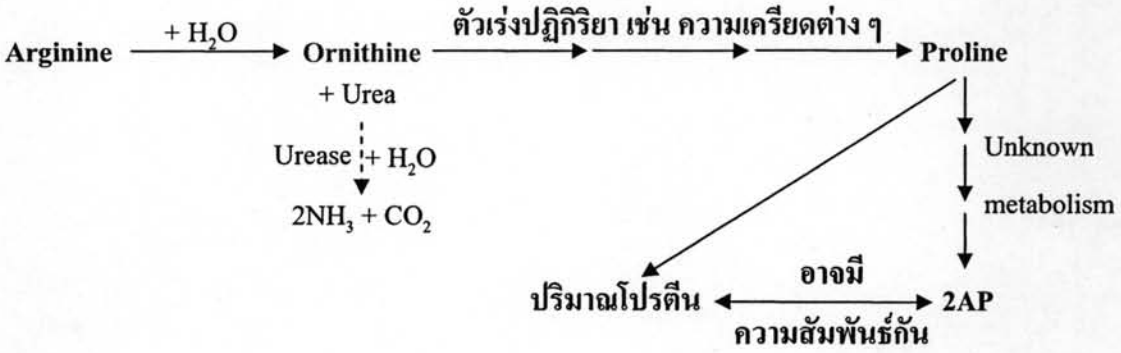
และต่อมาก็มีรายงานหลายฉบับที่ค้นพบวิถีของกระบวนการสังเคราะห์ proline ในพืชชั้นสูงหลายชนิด (Krueger และคณะ, 1986; Treichel, 1986; Larosa และคณะ, 1991) และสามารถอธิบายวิถีของกระบวนการสังเคราะห์ proline ในพืชชั้นสูงได้ ดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 วิถีของกระบวนการสังเคราะห์ L-proline ในพืชชั้นสูง

ที่มา : Delauney และ Verma (1993)

จากรูปแบบของกระบวนการสังเคราะห์ proline ในพืชชั้นสูง (Delauney และ Verma, 1993) ในรูปที่ 5 อาจสามารถนำมาเสนอเป็นรูปแบบของกระบวนการสังเคราะห์ proline ในข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้ และเพิ่มสมมติฐานในงานวิจัยนี้ คือเพิ่มความสัมพันธ์เชิงซ้อนของปัจจัยความเครียดต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณ proline ปริมาณสารหอม 2AP และปริมาณโปรตีน และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารหอม 2AP ปริมาณ proline และปริมาณโปรตีนอาจสามารถอธิบายได้ตามสมมติฐาน ดังแสดงในรูปที่ 6 ดังนี้



รูปที่ 6 รูปแบบสมมติฐานของกระบวนการสังเคราะห์ 2-acetyl-1-pyrroline ในข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ในกระบวนการต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึม และการสังเคราะห์สารประกอบใด ๆ ในพืชต้องอาศัยสารสำคัญที่เรียกว่า "เอนไซม์" ซึ่งเกิดจากโปรตีนเฉพาะบางชนิดรวมตัวกัน ดังนั้น โปรตีนจึงมีบทบาทต่อกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในเมล็ดข้าว รวมทั้งกระบวนการสังเคราะห์สารหอม 2AP ที่น่าจะเกิดจากเอนไซม์ (โปรตีน) พิเศษบางตัวที่สามารถกระตุ้น L-Proline เข้าสู่วิถีเมตาบอลิซึมของกระบวนการสังเคราะห์สารหอม 2AP แต่เนื่องจากยังมีรายงานการวิจัยด้านโปรตีนน้อยมาก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปัจจัยความเครียดบางประการต่อรูปแบบของโปรตีนในเมล็ด และใบข้าว โดยอาศัยการศึกษารูปแบบของโปรตีนในใบข้าว และเมล็ดข้าวด้วยเทคนิคเจลอิเล็คโทรฟอเรซิส แบบ 1 มิติ โดยจะทำการแยกโปรตีน และเปรียบเทียบรูปแบบของโปรตีนที่ได้ (Laemmli, 1970)