Agricultural Sci. J. 38 : 5 (Suppl.) : 164-167 (2007) ว. วิทย. กษ. 38 : 5 (พิเศษ) : 164-167 (2550)

ผลของกระบวนการแช่ต่อปริมาณสารแกมมาอะมิโนบิวเทอริกเอซิดในข้าวกล้องงอก (หอมมะลิ 105)

Effect of soaking process on Gamma-aminobutyric acid (GABA) content in germinated brown rice (Khom mali 105)

จารุรัตน์ สันเต[1] วรนุช ศรีเจษฎารักษ์[1] และ รัชฎา ตั้งวงค์ไชย[1]
Jarurat Sunte[1],Voranuch Srijesdaruk[1] and Ratchada Tangwongchai[1]

Abstract

Effects of pH, temperature and time of a soaking process on Gamma-aminobutyric acid (GABA) and glutamate content in germinated Brown rice (Khom mali 105) were investigated. The Brown rice was soaked in various pH solutions (pH 4, 4.5, 5, 5.5, 6 and 6.5) at 40°C for 3 hrs. Results indicated that the germinated brown rice soaking in the solutions of pH 4, 5 and 5.5 had no significant differences in GABA contents ($p>0.05$). The highest GABA content (21.93 mg/100g dry basis.) was found in the germinated brown rice soaked in the solution of pH 5. Effects of temperature and soaking time were conducted by soaking the Brown rice in 0.1 mM $CaCl_2$, pH 5 at the temperature of 30, 40, and 50 °C and various soaking time of 3, 8 and 12 hrs. Results showed GABA content obtained from the soaking conditions of 40°C at 8 hrs was similar to those obtained from 50°C at 8 hrs ($p>0.05$). In addition, these conditions gave the GABA content higher than others conditions ($p\leq0.05$). The soaking condition of 40 °C for 8 hrs resulted in the highest GABA content (31.18 mg/100g dry basis.) and calcium content (2.77 mg/100g dry basis.) while lowest in the glutamate content (580.88 mg/100g dry basis.) It is worth noting that the soaking in 0.1 mM $CaCl_2$ pH 5, at 40°C for 8 hrs increased GABA content and calcium content in germinated brown rice for 3 and 0.5 times respectively in comparison to the non-treated brown rice (GABA content of 10.55 mg/100 g dry basis. and calcium content of 1.9 mg/100g dry basis.)

Keywords: Gamma-aminobutyric acid(GABA), glutamate, germinated brown rice

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ และเวลาในกระบวนการแช่ต่อปริมาณแกรมมาอะมิโนบิวเทอริกเอซิค(GABA) และปริมาณกลูตาเมตของข้าวกล้องงอก โดยนำข้าวกล้องหอมมะลิ 105 แช่ในสารละลายที่มี pH แตกต่างกัน (pH 4, 4.5, 5, 5.5, 6 และ 6.5) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง พบว่า ข้าวกล้องงอกหอมมะลิ 105 ที่แช่ในสารละลาย pH 4, 5 และ 5.5 มีปริมาณ GABA ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยการแช่ในสารละลายที่ pH 5 มีปริมาณ GABA สูงสุด (21.93 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) เมื่อนำข้าวกล้องหอมมะลิ 105 มาแช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (1 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร, pH 5) ที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส นาน 3, 8 และ 12 ชั่วโมง พบว่า การแช่ข้าวกล้องที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง มีปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอกหอมมะลิ 105 ที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะเดียวกันมีปริมาณ GABA สูงกว่าสภาวะในการแช่ที่อุณหภูมิและเวลาอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ($p\leq0.05$) โดยการแช่ที่อุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง มีปริมาณ GABA สูงสุด (31.18 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) มีปริมาณแคลเซียม 2.77 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ในขณะที่มีปริมาณกลูตาเมตน้อยที่สุด (580.88 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) โดยพบว่า การแช่ข้าวในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (1 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร, pH 5) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง มีผลทำให้ปริมาณ GABA และมีปริมาณแคลเซียมสูงขึ้นประมาณ 3 เท่า และ 0.5 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกล้องหอมมะลิ 105 ที่ไม่ผ่านการแช่ (GABA ~10.55 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และปริมาณแคลเซียม 1.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

คำสำคัญ: แกมมาอะมิโนบิวเทอริกเอซิด (GABA) กลูตาเมต ข้าวกล้องงอก

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
[1] Department of Food Technology, Faculty of Technology, Khon kean University, Khon kean 40002

คำนำ

จากการบริโภคข้าวที่ต่ำลงและผู้บริโภคต้องการอาหารที่เป็นธรรมชาติมากขึ้น จึงควรมีการพัฒนาการผลิตข้าวที่อุดมด้วยสารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ข้าวกล้องงอกถูกนำมาผลิตอาหารเพื่อสุขภาพเนื่องจากอุดมด้วยสารที่มีประสิทธิภาพ (effective component)เช่น inositols ferulic acid Gamma-aminobutyric acid (GABA) tocotrienols γ-oryzanol และ prolylendopeptidase inhibitor ซึ่ง GABA เป็นกรดอะมิโนที่เป็นสารสื่อในระบบประสาท ป้องกันเส้นโลหิตในสมองแตก ช่วยลดความดันโลหิต ป้องกันโรคหัวใจ (Kayahara and Tsukahara ,2000) ปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอกมีมากกว่าข้าวขัดขาวถึง 10 เท่า GABA เกิดขึ้นโดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ glutamate decaboxylase เปลี่ยนกลูตาเมตไปเป็น GABA ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์นี้ถูกเร่งได้ด้วยแคลเซียม(Shelp *et al*., 1999) เกิดขึ้นมากในระหว่างกระบวนการแช่และกระบวนการงอกของข้าวกล้องดังนั้นควรศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทั้งสองเพื่อให้ได้ข้าวกล้องงอกที่มี GABA ปริมาณมาก การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเป็นกรดด่าง(pH) อุณหภูมิ ระยะเวลา และปริมาณแคลเซียม ในระหว่างกระบวนการแช่ข้าวกล้องหอมมะลิ 105 ต่อปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอก เพื่อให้ได้ข้าวที่มีสารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้นหรือเพิ่มระดับการบริโภคข้าวและพัฒนาเศรษฐกิจการส่งออกข้าวในรูปแบบผลิตภัณฑ์อื่นๆได้ในระยะยาวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำข้าวเปลือกหอมมะลิ 105 ที่มีความชื้น 13-14 % ไปกะเทาะเปลือกให้เป็นข้าวกล้องแล้วนำไป แช่ในสารละลายที่ปรับ pH ด้วยสารละลาย citrate buffer 0.1 โมลาร์ ให้มี pH แตกต่างกัน (pH 4, 4.5, 5, 5.5, 6 และ 6.5) โดย ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณ GABA และกลูตาเมต วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการทดลองด้วยวิธี (Duncan's multiple rang test) และคัดเลือกสภาวะ pH ที่ให้ปริมาณ GABA สูงที่สุด จากนั้นนำข้าวกล้องหอมมะลิ 105 มาแช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (1 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร, ในสภาวะ pH ดังกล่าว) ที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส นาน 3, 8 และ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณ GABA กลูตาเมต และปริมาณแคลเซียม วางแผนการทดลองแบบ Factorial experiment in CRD เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการทดลองด้วยวิธี (Duncan's multiple rang test)

การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ GABA และกลูตาเมต โดยนำข้าวที่ผ่านการแช่มาอบที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จะได้ความชื้น 6-8% จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งมาบดละเอียด 5 กรัม และไฮโดรไลส์ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (6 โมลาร์ต่อลิตร) 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยใช้คอลัมม์ Phenomenex Reverse-phase C18 (4 μm ;4.6x 250 mm) ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมม์ 40 องศาเซลเซียส ใช้ฟลูออเลสเซนต์ดีเทคเตอร์ ความยาวคลื่นกระตุ้น (λexcited) 270 นาโนเมตร และความยาวคลื่นกระจาย (λemission) 315 นาโนเมตร Gradient elution อัตราการไหลของสารตัวพา 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที inject sample 10 ไมโครลิตร ใช้สาร 9-fluorenylmethyl chloroformate (FMOC) เป็นสารเดอลิวาไทร์

ผล

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ GABA และกลูตาเมตด้วย HPLC ที่มีสาร FMOC เป็นสารเดอลิวาไทร์นั้นจะมีกราฟของ FMOC ปรากฏขึ้นทุกครั้ง ดัง(Figure 1)ซึ่งได้แสดงระยะเวลาที่สารมาตรฐานทั้งสามชนิดเคลื่อนที่ออกจากคอลัมม์ (Retention Time : RT) โดย RTของ กลูตาเมต GABA และ FMOC เท่ากับ 12.767 15.925 และ18.311 ตามลำดับ

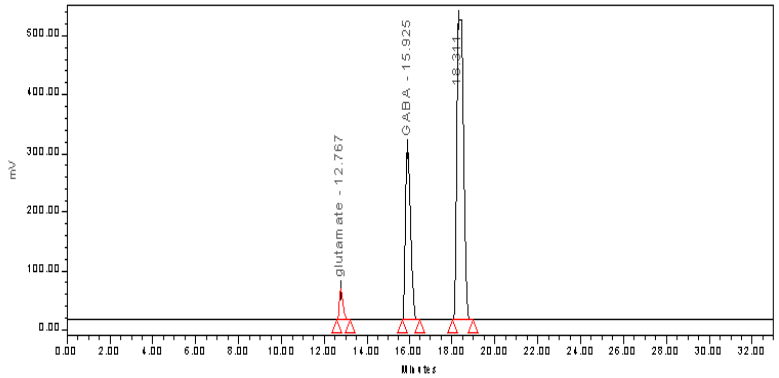

Figure 1 Graph showed Retention Time (RT) of standards GABA glutamate and FMOC

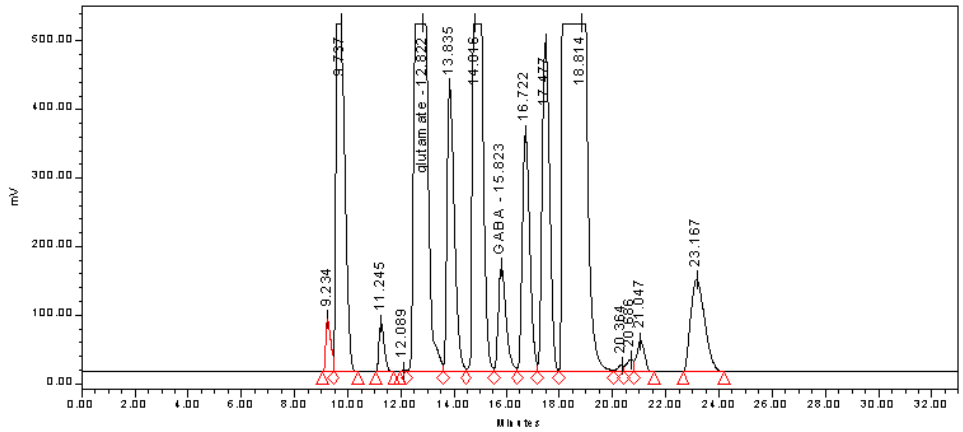

Figure 2 Graph showed RT of GABA glutamate and others amino acid in germinated Brown rice

ผลการศึกษาผลของ pH ในระหว่างการแช่ข้าวกล้องหอมมะลิ 105 ต่อปริมาณ GABA และ กลูตาเมตดังแสดงใน Table1

Table1 Effect of soaking Brown rice in various pH solution at 40°C for 3 hrs.on GABA and glutamate content

Treatment (pH)	GABA content (mg/100g) dry basis	glutamate content (mg/100g) dry basis
4	$20.72^{c} \pm 1.53$	$515.89^{a} \pm 6.38$
4.5	$15.84^{b} \pm 1.80$	$531.15^{ab} \pm 25.56$
5	$21.93^{c} \pm 1.32$	$538.13^{ab} \pm 24.12$
5.5	$20.94^{c} \pm 1.08$	$533.29^{ab} \pm 20.06$
6	$13.02^{a} \pm 0.43$	$563.06^{b} \pm 23.09$
6.5	$13.46^{a} \pm 0.34$	$550.53^{ab} \pm 10.93$

^{a,b,c} Mean with difference superscripts in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$) (Duncan's)

ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิ ระยะเวลาและสารลายละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในการแช่ข้าวกล้องหอมมะลิ 105 ต่อปริมาณ GABA และ กลูตาเมต ดังแสดงใน Table2

Table2 Effects of soaking Brown rice in 0.1 mM $CaCl_2$, pH 5 at the temperature of 30, 40, and 50 °C and soaking time of 3, 8 and 12 hrs. on GABA glutamate and calcium content.

Temperature (°C)	Time (hr)	GABA content (mg/100g)dry basis	Glutamate content (mg/100g)dry basis	Calcium content (mg/100g)dry basis
30	3	$23.04^{a} \pm 0.96$	$612.61^{bc} \pm 12.40$	$2.50^{ab} \pm 0.017$
	8	$23.08^{a} \pm 0.50$	$629.07^{c} \pm 3.64$	$2.68^{bc} \pm 0.003$
	12	$23.02^{a} \pm 1.11$	$619.89^{c} \pm 0.60$	$2.45^{a} \pm 0.003$
40	3	$23.98^{a} \pm 1.13$	$583.96^{a} \pm 15.55$	$2.75^{c} \pm 0.08$
	8	$31.18^{b} \pm 1.61$	$580.88^{a} \pm 19.76$	$2.77^{c} \pm 0.08$
	12	$23.62^{a} \pm 0.77$	$620.77^{c} \pm 15.08$	$2.47^{a} \pm 0.005$
50	3	$23.93^{a} \pm 2.55$	$581.36^{a} \pm 10.79$	$2.69^{c} \pm 0.12$
	8	$29.22^{b} \pm 1.67$	$596.19^{ab} \pm 10.79$	$2.87^{c} \pm 0.05$
	12	$22.77^{a} \pm 0.01$	$612.96^{bc} \pm 13.88$	$2.80^{c} \pm 0.06$

^{a,b,c} Mean with difference superscripts in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$) (Duncan's)

วิจารณ์ผล

จาก (Table 1)เมื่อนำข้าวกล้องหอมมะลิ 105 แช่ในสารละลายที่มี pH แตกต่างกัน (pH 4, 4.5, 5, 5.5, 6 และ 6.5) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง พบว่า ข้าวกล้องงอกหอมมะลิ 105 ที่แช่ในสารละลาย pH 4, 5 และ 5.5 มีปริมาณ GABA ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยการแช่ในสารละลายที่ pH 5 มีปริมาณ GABA สูงสุด (21.93 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) ในขณะที่ปริมาณกลูตาเมต ที่ pH 5 กับ 5.5 ก็ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Horino *et al*., (1994) ที่ได้นำข้าวพันธุ์ Koshihikari แช่ในสารละลายที่มี pH แตกต่างกัน ด้วยอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง พบว่า pH ที่เหมาะสมเท่ากับ 5.5 โดย GABA จะเพิ่มขึ้นในสภาวะที่เป็นกรดอ่อนและจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในสภาวะที่เป็นเบสซึ่งก็ตรงกับ pH-activity responses ที่ Wallace *et al*., (1995) ศึกษาจากใบถั่วเหลืองพบว่ากลูตาเมตจะเปลี่ยนเป็น GABA โดยเอนไซม์ glutamate decarboxylase(GAD) ซึ่งเอนไซม์นี้มี pH ที่เหมาะสมอยู่ที่ 5.9 จาก (Table 2) การแช่ข้าวกล้องในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (1 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร, pH 5) ที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส นาน 3, 8 และ 12 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลามีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณ GABA โดยที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง มีปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอกหอมมะลิ 105 ที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งการแช่ที่อุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง มีปริมาณ GABA สูงสุด (31.18 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) มีปริมาณแคลเซียม 2.77 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ในขณะที่มีปริมาณ กลูตาเมตน้อยที่สุด (580.88 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Horino *et al*., (1994)ที่ใช้จมูกข้าวพันธุ์ Koshihikari แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 30 40 50 60 70 องศาเซลเซียส นาน 0 1 2 4 8 และ 24 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมมากที่สุด คือ 40 องศาเซลเซียส การแช่ข้าวในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (1 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร, pH 5) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง มีผลทำให้ปริมาณ GABA และมีปริมาณแคลเซียมสูงขึ้นประมาณ 3 เท่า และ 0.5 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกล้องหอมมะลิ 105 ที่ไม่ผ่านการแช่ (GABA ~10.55 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และปริมาณแคลเซียม 1.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)ดังนั้นเมื่อแคลเซียมสูงขึ้น ปริมาณ GABA ก็สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu *et al*., (2005)ได้ใช้ส่วนของจมูกข้าวพันธุ์ Haiminori แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (0.5 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร) ระยะเวลาในการแช่ 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง พบว่ากิจกรรมของ GAD สูงขึ้นมากกว่าการแช่ในน้ำ 58% และปริมาณ GABA ก็สูงขึ้น ซึ่งค่าความสัมพันธ์ของปริมาณ GABA กับ กิจกรรมของ GAD เท่ากับ 0.902 (r =0.902) ดังนั้น แคลเซียมช่วยกระตุ้นกิจกรรมของ GAD ได้จึงส่งผลให้ปริมาณ GABA สูงขึ้น

สรุป

การแช่ข้าวกล้องหอมมะลิ 105 ในสารละลายที่มี pH5 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมงมีปริมาณ GABA มากที่สุด (21.93 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) และการแช่ข้าวในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (1 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร, pH 5) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง มีผลให้ GABA สูงที่สุด (31.18 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) กลูตาเมตน้อยที่สุด(580.88 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) มีปริมาณแคลเซียม 2.77 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งปริมาณ GABA และแคลเซียมสูงขึ้นประมาณ 3 และ 0.5 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกล้องหอมมะลิ 105 ที่ไม่ผ่านการแช่

เอกสารอ้างอิง

Horino T, Mori Y, Saikusa T. 1994. Distribution of Free Amino Acids in the Rice Kernel and Kernel Fractions and the Effect of Water Soaking on the Distribution. Journal Agric Food Chem 42:1122-1 125.

Kayahara H, Tsukahara K. 2000. Flavor Health and Nutritional Quality of Pre-germinated Brown Rice International Chemical Congress of Pacific Basin Societies in Hawaii.

Lui LL, Zhai Q, Wan JM. 2005. Accumulation of γ-aminobutyric acid in giant-embryo grain in relation to glutamate decaboxylase acivity and it gene expression during water soaking. Cereal Chem 82(2):191–196.

Shelp BJ, Bown AW, Mclean MD. 1999. Metablism and function of γ-aminobutyric acid. Trends Plant Sci 4:446-452

Wallace W, Secor J, Schrader LE. 1984. Rapid accumulation of γ-aminobutyric acid and alanine in soybean leaves in response to an abrupt transfer to lower temperature darkness or mechanical manipulation. Plant Physiol 75:170-175.