สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

# รายงานผลการวิจัย

**เรื่อง อิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงเบสของยีน *SSIIa* และสภาพแวดล้อมต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวไทย**

**Influences of Base Substitution in *SSIIa* Gene and Environment on Gelatinization Temperature of Thai Rice**

**ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย: ประจำปี 2559**

**จำนวน 289,700 บาท**

**หัวหน้าโครงการ** นางสาวยุพเยาว์ คบพิมาย

**ผู้ร่วมโครงการ** นายศรัณย์ จีนะเจริญ

นางสาววราภรณ์ แสงทอง

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

26 / กันยายน / 2560

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง อิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงเบสของยีน *SSIIa* และสภาพแวดล้อมต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวไทย (Influences of Base Substitution in *SSIIa* Gene and Environment on Gelatinization Temperature of Thai Rice) ได้ดำเนินการโดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2559 ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยบางส่วน และขอขอบคุณ ดร.กฤษณะ ลาน้ำเที่ยง ที่ช่วยให้คำปรึกษาเรื่องการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| สารบัญตาราง | ข |
| สารบัญภาพ | ค |
| บทคัดย่อ | 1 |
| Abstract | 2 |
| คำนำ | 3 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 4 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 4 |
| การตรวจเอกสาร | 5 |
| อุปกรณ์และวิธีการวิจัย | 10 |
| ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย | 18 |
| สรุปผลการวิจัย | 41 |
| เอกสารอ้างอิง | 42 |
| ภาคผนวก | 45 |

# สารบัญตาราง


หน้า

**ตารางที่ 1** รายชื่อพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดลอง 10

**ตารางที่ 2** ส่วนประกอบของสารในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ 13

**ตารางที่ 3** อุณหภูมิและระยะเวลาในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *SSIIa* 13

**ตารางที่ 4** ระดับการสลายของเมล็ดข้าวในด่าง 14

**ตารางที่ 5** ปริมาณผลผลิตของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง (กรัม) 18

**ตารางที่ 6** ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *SSIIa* และระดับการสลายตัวในด่างของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ 23

**ตารางที่ 7** ปริมาณอะไมโลสของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง 29

**ตารางที่ 8** ระยะทางการไหลของแป้งสุกของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง 32

# สารบัญภาพ

หน้า

**ภาพที่ 1** โครงสร้างของอะไมโลเพคติน ประกอบด้วยสาย A B และ C 6

**ภาพที่ 2** ระดับการสลายของเมล็ดข้าวในด่าง 15

**ภาพที่ 3** ผลการสกัดดีเอ็นเอจากข้าว 6 พันธุ์ 20

**ภาพที่ 4** ผลผลิตพีซีอาร์จากการเข้าเกาะของไพรเมอร์ NF1 และ S2AR1 ที่อุณหภูมิ (Ta) ต่างกัน ของข้าวตะเภาแก้ว 161 21

**ภาพที่ 5** ผลผลิตพีซีอาร์จากข้าว 6 พันธุ์ Lane 3, 5 และ 6 พบดีเอ็นเอ 2 ขนาด 22

**ภาพที่ 6** เปรียบเทียบค่าการสลายตัวในด่างระหว่างข้าวจีโนไทป์ GC และ TT ในข้าวนาปี (A) และนาปรัง (B) 26

**ภาพที่ 7** ค่าการสลายตัวในด่างของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี (วงกลม) และนาปรัง (ดอกจัน) 27

**ภาพที่ 8** เปรียบเทียบค่าปริมาณอะไมโลสระหว่างข้าวจีโนไทป์ GC และ TT ในข้าวนาปี (A) และนาปรัง (B) 31

**ภาพที่ 9** ปริมาณอะไมโลสของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี (วงกลม) และนาปรัง (ดอกจัน) 32

**ภาพที่ 10** เปรียบเทียบค่าปริมาณอะไมโลสระหว่างข้าวจีโนไทป์ GC และ TT ในข้าวนาปี (A) และนาปรัง (B) 35

**ภาพที่ 11** ระยะทางการไหลของแป้งสุกของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี (วงกลม) และนาปรัง (ดอกจัน) 36

**ภาพที่ 12** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่าง ๆ ของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี 37

**ภาพที่ 13** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่าง ๆ ของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง 38

# อิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงเบสของยีน *SSIIa* และสภาพแวดล้อมต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวไทย

# Influences of Base Substitution in *SSIIa* Gene and Environment on Gelatinization Temperature of Thai Rice

ยุพเยาว์ คบพิมาย ศรัณย์ จีนะเจริญ และวราภรณ์ แสงทอง

**Yuppayao Kophimai[1], Saran Cheenacharoen[2] and Varaporn Sangtong[1]**

[1] สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[2] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50300

---

## บทคัดย่อ

ยีน *SSIIa* ควบคุมอุณหภูมิแป้งสุกของข้าว จากการศึกษาความผันแปรของนิวคลีโอไทด์ของยีน *SSIIa* ในตำแหน่ง 4,198 และ 4,329-4,330 ในข้าวไทย 49 พันธุ์ พบว่าตำแหน่ง 4,198 มีนิวคลีโอไทด์เป็น G เท่านั้น ส่วนตำแหน่ง 4,329-4,330 มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น GC หรือ TT เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *SSIIa* กับคุณสมบัติด้านการหุงต้มของข้าว ได้แก่ อุณหภูมิแป้งสุก ปริมาณอะมิโลส และความคงตัวของแป้งสุก พบว่ารูปแบบนิวคลีโอไทด์ของยีน *SSIIa* มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิแป้งสุกของข้าว ($p < 0.01$) และปริมาณอะไมโลส ($p < 0.01$) โดยข้าวที่มีจีโนไทป์ GC มักมีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลาง และมีปริมาณอะไมโลสสูง ส่วนข้าวที่มีจีโนไทป์ TT มักมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ และปริมาณอะไมโลสต่ำ และพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างอุณหภูมิแป้งสุกกับปริมาณอะไมโลส ($p = 0.016$) โดยข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำมักมีปริมาณอะไมโลสต่ำ ส่วนข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลางมักมีปริมาณอะไมโลสสูง เมื่อศึกษาข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรังพบความแตกต่างของอุณหภูมิแป้งสุก ($p = 0.047$) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อมในการปลูก และระยะเวลาในการเก็บรักษาข้าว

คำสำคัญ: ข้าว ความคงตัวของแป้งสุก ปริมาณอะไมโลส อุณหภูมิแป้งสุก ยีน *SSIIa*

**Abstract**

*SSIIa* gene controls gelatinization temperature in rice. Nucleotide variations at position 4,198 and 4,329-4,330 of *SSIIa* gene were investigated in 49 cultivars of Thai rice. At position 4,198, only nucleotide G was found, whereas nucleotide GC or TT were found at positions 4,329-4,330. When study correlations between *SSIIa* gene and cooking and eating quality indices such as gelatinization temperature, amylose content and gel consistency revealed that nucleotide patterns of *SSIIa* gene correlated with gelatinization temperature ($p < 0.01$) and amylose content ($p < 0.01$). Cultivars harbouring GC tended to have medium gelatinization temperature and high amylose content, while TT-genotype cultivars were inclined to have low gelatinization temperature and amylose content. In addition, a positive correlation between gelatinization temperature and amylose content was found ($p = 0.016$). Cultivars showing low gelatinization temperature tend to have low amylose content and vice versa. Gelatinization temperatures of rice cultivated in season and off season were significantly different ($p = 0.047$) this may attribute to environmental effect during growing season and storage period.

Keywords: Rice, Gel consistency, Amylose content, Gelatinization temperature, *SSIIa* gene

## คำนำ

ข้าวเป็นพืชอาหารหลักและเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้มีลักษณะที่ดีหลายด้าน เช่น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิต ได้แก่ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้นเตี้ยเพื่อไม่ให้หักล้มง่าย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ไม่ไวต่อช่วงแสงเพื่อให้ปลูกได้ตลอดปี ฯลฯ นอกจากนี้ยังมีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้มีสารอาหารเพิ่มขึ้น ได้แก่ การทำให้ข้าวมีแอนโทไซยานิน แต่การปรับปรุงพันธุ์ข้าวในด้านคุณภาพการหุงต้ม เช่น อุณหภูมิแป้งสุก ยังไม่ได้รับความสนใจมากนัก ทั้งที่อุณหภูมิแป้งสุกมีผลต่อปริมาณพลังงานที่ใช้ในการหุงข้าว ข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำจะใช้พลังงานในการหุงต้มน้อยกว่าข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูง ดังนั้นหากปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำจะเป็นการลดการใช้พลังงาน นอกจากนี้อุณหภูมิแป้งสุกยังมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุก โดยข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูงจะใช้เวลาในการหุงต้มนาน มีการดูดน้ำมาก จึงมีความแน่นเนื้อ (firmness) ต่ำ ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีคุณสมบัติในการหุงต้มและลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีหรือตามที่ตลาดต้องการจึงควรพิจารณาอุณหภูมิแป้งสุกเป็นสำคัญ

ยีนหลักที่ควบคุมอุณหภูมิแป้งสุกของข้าวคือ *SSIIa* โดยความผันแปรของลำดับเบสบริเวณเอกซอน 8 มีผลมากต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าว (Bao *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษายีนนี้ในข้าวไทย นอกจากอิทธิพลของยีน *SSIIa* แล้ว สภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ แสง ความชื้น ยังอาจมีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวด้วย (Bao *et al.*, 2009)

จากรายงานของ Gao *et al.* (2011) พบว่ายีน *SSIIa* นอกจากจะมีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกแล้ว ยังมีผลต่อความคงตัวของแป้งสุกและปริมาณอะไมโลสอีกด้วย ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงต้องการศึกษาอิทธิพลของยีน *SSIIa* และสภาพแวดล้อม ต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวไทย และยังศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิแป้งสุก ความคงตัวของแป้งสุก และปริมาณอะไมโลส ซึ่งผลจากการศึกษาจะเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวไทยให้มีคุณภาพการหุงต้มและรับประทาน (Cooking and eating quality) ที่ดีตามที่ตลาดต้องการ และยังเป็นข้อมูลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกยีน *SSIIa* ซึ่งทำให้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวทำได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *SSIIa* กับอุณหภูมิแป้งสุกของข้าวไทย

2. เพื่อศึกษาอิทธิพลของสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงตามฤดูการปลูกต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวไทย

3. เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิแป้งสุกกับความคงตัวของแป้งสุก และปริมาณอะไมโลสในข้าวไทย

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบความสัมพันธ์ระหว่างลำดับเบสแบบต่าง ๆ ของยีน *SSIIa* กับอุณหภูมิแป้งสุกของข้าวไทยทั้งข้าวเหนียวและข้าวเจ้า
2. ทราบอิทธิพลของสภาพแวดล้อมของการปลูกในฤดูนาปีและนาปรังต่ออุณหภูมิแป้งสุก ปริมาณอะไมโลส และความคงตัวของแป้งสุกในข้าวไทย
3. ทราบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิแป้งสุก ปริมาณอะไมโลส และความคงตัวของแป้งสุกในข้าวไทย
4. ได้ตีพิมพ์และเผยแพร่ผลงานวิจัยที่มีประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีคุณภาพการหุงต้มและลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีตามที่ตลาดต้องการ ซึ่งข้าวที่มีคุณภาพดีจะมีราคาสูง ดังนั้นจะเป็นการช่วยเหลือชาวนาให้มีรายได้มากขึ้น สามารถประกอบอาชีพทำนาได้อย่างไม่เป็นหนี้

# การตรวจเอกสาร

## ข้าวและคุณภาพเมล็ดข้าว

ข้าวเป็นพืชอาหารและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการปลูกข้าวทุกภาคในประเทศ และมีผลผลิตข้าวประมาณปีละ 25 ล้านตัน (สมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย, 2560) ข้าวยังเป็นพืชอาหารที่สำคัญของโลก โดยพลังงานจากข้าวคิดเป็น 21% ของปริมาณพลังงานที่ได้จากการบริโภคอาหารของคนทั้งโลก และคิดเป็น 76% ของชาวเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ คุณภาพของเมล็ดข้าวมีผลมากต่อผู้บริโภคและราคาของข้าว ซึ่งลักษณะที่กำหนดคุณภาพของข้าวมีหลายลักษณะ ได้แก่ การแตกหักของเมล็ดข้าวหลังจากการสีข้าว รูปร่างเมล็ด ลักษณะผิวเมล็ด ระยะเวลาในการหุงต้ม ความหอม ปริมาณสารอาหารในเมล็ดข้าว ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุก ความเหนียว ความนุ่ม การขยายปริมาตรของเมล็ดข้าว (Fitzgerald *et al.*, 2009) คุณภาพของเมล็ดข้าวแตกต่างกันไปตามชนิดพันธุ์ข้าว สภาวะการปลูก การเก็บเกี่ยว และการแปรรูปเป็นข้าวสาร (ละมุน, 2555) จากการทดสอบความชอบของผู้บริโภคชาวไทยจำนวน 300 คน ต่อข้าวหอมมะลิ 8 ยี่ห้อที่จำหน่ายในประเทศไทย โดยพรพรรณ และคณะ (2553) พบว่า ชาวไทยชอบข้าวหอมมะลิที่เมื่อหุงสุกแล้วมีสีขาว และมีความเหนียวมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มข้าวหอมมะลิที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูง

## องค์ประกอบของเมล็ดข้าวและผลต่อคุณภาพของเมล็ดข้าว

เอนโดสเปร์มของข้าวประกอบด้วยแป้งเป็นหลักประมาณ 84-93% มีโปรตีนประมาณ 5-14% และสารอื่น ๆ เช่น ไขมัน และเส้นใย เป็นต้น เนื่องจากแป้งเป็นองค์ประกอบหลักของเมล็ดข้าวจึงมีบทบาทมากในการกำหนดคุณภาพของข้าวสุก แป้งในข้าวมี 2 ประเภทคือ

1. อะไมโลส (Amylose) เกิดจากการต่อกันเป็นสายยาวไม่แตกแขนงของกลูโคส เมื่อทดสอบด้วยสารละลายไอโอดีนจะให้สีน้ำเงิน ปริมาณอะไมโลสมีผลต่อความแข็งของข้าวสุกโดยข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูงจะแข็งกว่าข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ

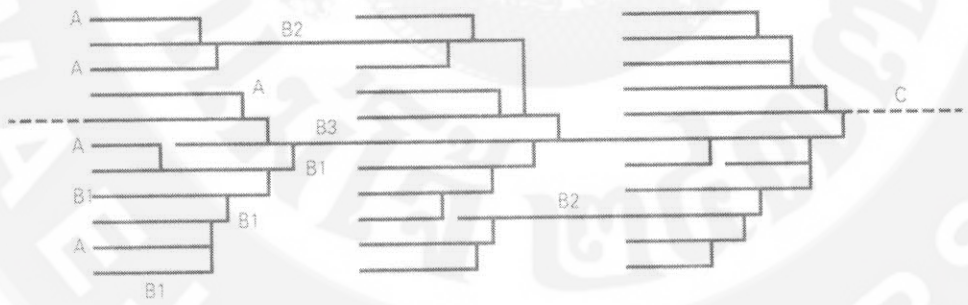
ปริมาณอะไมโลสในเมล็ดข้าวแบ่งออกเป็น 4 ระดับ คือ 0-9 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวเหนียว 10-19 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวเจ้าอะไมโลสต่ำ เมื่อหุงสุกจะเหนียวนุ่ม แต่แฉะง่าย 20-25 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวเจ้าอะไมโลสปานกลาง เมื่อหุงสุกข้าวค่อนข้างอ่อน ถ้ามีอะไมโลสมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวเจ้าอะไมโลสสูง เมื่อหุงสุกข้าวจะร่วนแข็ง (เชาวนีพร และคณะ, 2558)

ปริมาณอะไมโลสยังมีผลต่อการหุงต้ม เนื่องจากข้าวที่มีอะไมโลสสูงจะดูดน้ำมากขณะหุงต้ม ส่วนข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำจะดูดน้ำน้อย ดังนั้นปริมาณน้ำที่ใช้ในการหุงข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำจึงควรน้อยตามด้วย ไม่เช่นนั้นข้าวจะแฉะ (งามชื่น, 2547) ปริมาณอะไมโลสแปรผกผันกับ

ความหนืดของข้าว (Tong *et al.*, 2014) ในด้านระยะเวลาในการหุงต้ม ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูงจะใช้เวลาในการหุงนานกว่าข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ (ละมุน, 2555)

แม้ว่าปริมาณอะไมโลสจะมีผลต่อความแข็งของข้าวสุก แต่ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสเท่ากันอาจมีความแข็งแตกต่างกันเนื่องจากแป้งสุกมีอัตราการคืนตัวไม่เท่ากัน ค่าที่ใช้เปรียบเทียบระดับความแข็งของข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสเท่ากันคือ ความคงตัวของแป้งสุก (Gel consistency) โดยพิจารณาจากระยะทางที่แป้งสุกไหลในขณะที่แป้งเย็นตัว ข้าวที่มีระยะทางไหลของแป้งมากจะอ่อนกว่าข้าวที่มีระยะทางไหลของแป้งน้อย ความคงตัวของแป้งสุก แบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ ระยะทางแป้งไหลน้อยกว่า 40 มม. จะมีความคงตัวแป้งสุกแข็ง ระยะทางแป้งไหล 40- 60 มม. ความคงตัวแป้งสุกปานกลาง และหากแป้งไหลมากกว่า 60 มม. จัดเป็นความคงตัวแป้งสุกอ่อน (Cuevas and Fitzgerald, 2012)

2. อะไมโลเพคติน (Amylopectin) เกิดจากการต่อกันของกลูโคสเป็นเส้นแตกแขนง โมเลกุลของอะไมโลเพคตินประกอบด้วยสาย 3 ชนิด คือ A B และ C สาย A เชื่อมต่อกับสายอื่นที่ตำแหน่งเดียว ไม่มีกิ่งเชื่อมต่อออกจากสายชนิดนี้ สาย B เชื่อมต่อกับสายอื่น ๆ 2 สาย หรือมากกว่า สาย C เป็นสายแกน ในอะไมโลเพคติน 1 โมเลกุลจะประกอบด้วยสาย C หนึ่งสายเท่านั้น ดังภาพที่ 1 (กล้า ณรงค์ และเกื้อกูล, 2546)




**ภาพที่ 1** โครงสร้างของอะไมโลเพคติน ประกอบด้วยสาย A B และ C

เมื่อทดสอบอะไมโลเพคตินด้วยสารละลายไอโอดีนจะให้สีน้ำตาลแดง อะไมโลเพคตินเป็นส่วนที่ทำให้แป้งเหนียว โดยข้าวเหนียวมีองค์ประกอบของอะไมโลเพคตินประมาณ 98% ส่วนข้าวเจ้ามีปริมาณอะไมโลเพคตินเป็นส่วนประกอบมากกว่าอะไมโลส (งามชื่น, 2547; Xu *et al.*, 2013) ในด้านการหุงต้มโครงสร้างของอะไมโลเพคตินมีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุก โดยขึ้นอยู่กับระดับการเกิดพอลิเมอร์ (Degree of polymerization, DP) ถ้าแขนงของสายโพลิเมอร์สั้น (DP ≤ 10) ส่งผลให้มีอุณหภูมิ

แป้งสุกต่ำ แต่ถ้าสายพอลิเมอร์ยาวขึ้น (DP12 ≤ 24) อุณหภูมิแป้งสุกก็จะสูงตามไปด้วย (Nakamura *et al.*, 2005)

**อุณหภูมิแป้งสุก (Gelatinization temperature)**

โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมากซึ่งมีคุณสมบัติชอบน้ำ แต่เนื่องจากเม็ดแป้งมีการจัดเรียงตัวเป็นร่างแห ทำให้เม็ดแป้งละลายน้ำเย็นได้ยาก แต่เมื่อให้ความร้อนพันธะไฮโดรเจนที่ยึดโมเลกุลของแป้งคลายตัวลง ทำให้เม็ดแป้งสามารถดูดน้ำได้มากและพองตัว โมเลกุลน้ำอิสระที่เหลืออยู่รอบ ๆ เม็ดแป้งเหลือน้อยลง ทำให้เม็ดแป้งเคลื่อนไหวได้ยากขึ้นจึงเกิดความหนืด อุณหภูมิที่แป้งเกิดความหนืดนี้เรียกว่า อุณหภูมิแป้งสุก (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2546) อุณหภูมิแป้งสุกของข้าวอยู่ระหว่าง 55-85 องศาเซลเซียส (Fitzgerald *et al.*, 2009) และมีผลต่อระยะเวลาการหุงต้มของข้าว ระยะเวลาการต้มเมล็ดข้าวให้สุกคือประมาณ 12-24 นาที หรือมากกว่านั้น (งามชื่น, 2547) ข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูงจะใช้ระยะเวลาในการต้มให้สุกนาน ส่วนข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำจะใช้ระยะเวลาในการทำให้สุกน้อย การลดอุณหภูมิแป้งสุกให้ต่ำลงจะช่วยประหยัดเวลาในการหุงต้มเฉลี่ยประมาณ 4 นาที ซึ่งช่วยลดการใช้พลังงานได้เป็นอย่างมากเมื่อคำนึงถึงการหุงข้าวในหลายล้านครัวเรือนทั่วโลก (Fitzgerald *et al.*, 2009)

อุณหภูมิแป้งสุกของข้าวสามารถวัดจากการสลายของเมล็ดข้าวสารในด่าง (Alkali test) โดยแช่เมล็ดข้าวสารในสารละลาย KOH 1.7% นาน 23 ชั่วโมง ซึ่งสามารถใช้ค่าการสลายของเมล็ดในด่างมาประมาณระดับอุณหภูมิแป้งสุกได้ ดังตารางข้างล่าง (งามชื่น, 2547)

| อุณหภูมิแป้งสุก (° C) | ระดับ | ค่าการสลายเมล็ดในด่าง | ระยะเวลาหุงต้ม (นาที) |
|---|---|---|---|
| ต่ำกว่า 69 | ต่ำ | 6-7 | 12 - 17 |
| 70-74 | ปานกลาง | 4-5 | 17-24 |
| มากกว่า 75 | สูง | 1-3 | มากกว่า 24 |

อย่างไรก็ตามแม้ว่าระยะเวลาหุงต้มจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิแป้งสุก แต่ความหนาของเมล็ดข้าวก็มีผลทำให้ต้องยืดเวลาหุงต้มออกไปอีก ดังนั้นข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกเท่ากัน ข้าวที่มีเมล็ดหนาจะต้องใช้เวลาหุงต้มนานกว่าข้าวเมล็ดบาง นอกจากนี้โปรตีนที่บริเวณผิวนอกของเมล็ดยังเป็นอุปสรรคในการซึมผ่านของน้ำ และทำให้เวลาหุงต้มนานออกไปอีก

อุณหภูมิแป้งสุกยังมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุกโดยข้าวที่ใช้เวลาในการหุงต้มนานก็จะดูดน้ำมากและทำให้ความแน่นเนื้อ (Firmness) ของข้าวต่ำด้วย ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำควรจะมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำด้วย จะไม่ทำให้ข้าวแฉะ (งามชื่น, 2547) อุณหภูมิแป้งสุกของข้าวถูกควบคุมด้วยยีน *SSIIa* (Nakamura *et al.*, 2005) Bao *et al.* (2009) ได้เสนอว่าสภาพแวดล้อมน่าจะมีอิทธิพลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวด้วย

**ยีน *SSIIa***

ยีน *SSIIa* ประกอบด้วย 8 เอกซอน 7 อินทรอน มีความยาวทั้งสิ้น 4,422 คู่เบส (Bao *et al.*, 2006) จากการศึกษาของ Shu *et al.* (2006) พบว่ายีน *SSIIa* มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกทั้งในข้าวจาโปนิกาและอินดิกา และจากการศึกษาอิทธิพลของยีน *SSIIa* ในข้าวเหนียวโดย Xu *et al.* (2013) พบว่ายีนนี้มีอิทธิพลต่ออุณหภูมิแป้งสุกในข้าวเหนียวเช่นกัน จากการศึกษาลำดับเบสของยีน *SSIIa* บริเวณอินทรอนที่ 6 ถึงเอกซอนที่ 8 ในข้าว 30 พันธุ์ โดย Bao *et al.* (2006) พบความแปรปรวนของนิวคลีโอไทด์ (สนิปส์; SNP) หลายตำแหน่ง แต่เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิแป้งสุกกับความแปรปรวนของนิวคลีโอไทด์ในตำแหน่งต่าง ๆ พบว่าการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสจาก A เป็น G ในตำแหน่ง 4,198 และ GC เป็น TT ในตำแหน่ง 4,329-4,330 (เทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์หมายเลข AY423717 ในฐานข้อมูล GenBank) ในเอกซอน 8 มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวมากที่สุด โดยถ้าในตำแหน่ง 4,198 มีเบส A ข้าวจะมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ ไม่ว่าเบสในตำแหน่ง 4,329-4,330 จะเป็น GC หรือ TT ก็ตาม แต่ถ้าลำดับเบสในตำแหน่ง 4,198 เป็นเบส G อุณหภูมิแป้งสุกของข้าวจะขึ้นอยู่กับลำดับเบสในตำแหน่ง 4,329-4,330 ถ้าเป็น GC ข้าวจะมีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลางถึงสูง แต่ถ้าเป็น TT ข้าวจะมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ เนื่องจากลำดับเบสในตำแหน่ง 4,198 ในข้าวส่วนใหญ่เป็น G (มีการตรวจพบเบส A ในตำแหน่งนี้น้อยมาก) ดังนั้นลำดับเบสในตำแหน่ง 4,329-4,330 จึงมีอิทธิพลมากต่ออุณหภูมิแป้งสุกในข้าว การเปลี่ยนแปลงลำดับเบสในตำแหน่ง 4,198 จาก G เป็น A ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนจากวาลีนเป็นเมทไธโอนีน ส่วนการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสในตำแหน่ง 4,329 ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโน แต่การเปลี่ยนแปลงลำดับเบสในตำแหน่ง 4,330 จาก C เป็น T ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนจากลิวซีนเป็นฟีนิลอะลานีน

จากการศึกษาของ Bao *et al.* (2009) พบว่าการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสจาก GC เป็น TT ในตำแหน่ง 4,329-4,330 มีผลต่อปริมาณโปรตีน SSIIa และโครงสร้างของอะไมโลเพคตินโดยข้าวที่มีลำดับเบสเป็น GC จะมีปริมาณโปรตีน SSIIa เฉลี่ย 1.076 เท่าของโปรตีนมาตรฐาน และพบแขนง

ของสายพอลิเมอร์ที่มีความยาวปานกลาง (DP 12-24) ในอัตราส่วนที่สูงกว่าสายพอลิเมอร์ที่มีความยาวน้อย (DP 6-11) ส่วนข้าวที่มีลำดับเบส TT จะมีปริมาณโปรตีน SSIIa เฉลี่ย 0.681 เท่าของโปรตีนมาตรฐานและพบแขนงของสายพอลิเมอร์ที่มีความยาวปานกลาง (DP 12-24) ในอัตราส่วนที่ต่ำกว่าสายพอลิเมอร์ที่มีความยาวน้อย (DP 6-11)

Nakamura *et al.* (2005) พบว่าโปรตีน SSIIa ทำหน้าที่ในการต่อสายพอลิเมอร์ A และ B1 ในอะไมโลเพคตินให้ยาวขึ้น

นอกจากยีน *SSIIa* จะมีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวแล้วยังมีผลต่อความคงตัวของแป้งสุก และปริมาณอะไมโลสในข้าว Nipponbare ด้วย (Gao *et al.*, 2011)

จากการค้นพบตำแหน่งเบสที่มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวทำให้มีการออกแบบไพร์เมอร์เพื่อช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกที่ต้องการ โดยมีการออกแบบไพร์เมอร์เพื่อใช้คัดเลือกลำดับเบสที่ตำแหน่ง 4,329-4,330 เพียงอย่างเดียว (Jin *et al.*, 2010) และไพรเมอร์ที่ใช้ในการคัดเลือกทั้งตำแหน่ง 4,198 และ 4,329-4,330 (Lu *et al.*, 2010)

## อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

### การปลูกข้าว

#### การปลูกข้าวฤดูนาปรัง

ปลูกข้าวทั้งหมด 50 พันธุ์ ณ แปลงทดลองที่ ต.ป่าไผ่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ประกอบด้วยข้าวไวต่อช่วงแสง 31 พันธุ์ และไม่ไวต่อช่วงแสง 19 พันธุ์ ดังตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** รายชื่อพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดลอง

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ลักษณะการไวต่อช่วงแสง |
|---|---|---|
| 1 | ขาวดอกมะลิ 105 | ไวต่อช่วงแสง |
| 2 | กข 15 | ไวต่อช่วงแสง |
| 3 | เล็บมือนาง 111 | ไวต่อช่วงแสง |
| 4 | กข 51 | ไวต่อช่วงแสง |
| 5 | กู้เมืองหลวง | ไวต่อช่วงแสง |
| 6 | ขาวตาแห้ง 17 | ไวต่อช่วงแสง |
| 7 | นางมลเอส 4 | ไวต่อช่วงแสง |
| 8 | เหลืองประทิว 123 | ไวต่อช่วงแสง |
| 9 | ปราจีนบุรี 2 | ไวต่อช่วงแสง |
| 10 | ปิ่นแก้ว 56 | ไวต่อช่วงแสง |
| 11 | พลายงามปราจีนบุรี | ไวต่อช่วงแสง |
| 12 | เสาไห้ | ไวต่อช่วงแสง |
| 13 | ดอกพยอม | ไวต่อช่วงแสง |
| 14 | สินเหล็ก | ไวต่อช่วงแสง |
| 15 | สังข์หยดพัทลุง | ไวต่อช่วงแสง |
| 16 | หอมมะลิแดง | ไวต่อช่วงแสง |
| 17 | แก่นจันทร์ | ไวต่อช่วงแสง |
| 18 | เข็มทองพัทลุง | ไวต่อช่วงแสง |
| 19 | หันตรา 60 | ไวต่อช่วงแสง |
| 20 | ตะเภาแก้ว 161 | ไวต่อช่วงแสง |
| 21 | เหลือง n0.1 | ไวต่อช่วงแสง |

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ลักษณะการไวต่อช่วงแสง |
|---|---|---|
| 22 | กข 19 | ไวต่อช่วงแสง |
| 23 | กข 6 | ไวต่อช่วงแสง |
| 24 | ลืมผัว | ไวต่อช่วงแสง |
| 25 | หางยี 71 | ไวต่อช่วงแสง |
| 26 | เหนียวเขี้ยวงู | ไวต่อช่วงแสง |
| 27 | นางฉลอง | ไวต่อช่วงแสง |
| 28 | ขาวโป่งไคร้ | ไวต่อช่วงแสง |
| 29 | ซิวแม่จัน | ไวต่อช่วงแสง |
| 30 | เหมยนอง 62 เอ็ม | ไวต่อช่วงแสง |
| 31 | กข 16 | ไวต่อช่วงแสง |
| 32 | ปทุมธานี 1 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 33 | สุพรรณบุรี 1 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 34 | พิษณุโลก 2 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 35 | ชัยนาท 1 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 36 | ชัยนาท 80 (กข 29) | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 37 | กข 39 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 38 | กข 43 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 39 | กข 49 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 40 | กข 21 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 41 | ปทุมธานี 80 (กข 31) | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 42 | หอมสุพรรณ | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 43 | กข 33 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 44 | กข 41 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 45 | กข 47 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 46 | หอมนิล | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 47 | Riceberry | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 48 | สันป่าตอง 1 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 49 | กข 10 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |
| 50 | กข 14 | ไม่ไวต่อช่วงแสง |

เนื่องจากไม่ทราบช่วงเวลาการออกดอกที่แน่นอนของข้าวที่ไวต่อช่วงแสงในฤดูนาปรัง จึงปลูกข้าวที่ไวต่อช่วงแสงในฤดูนาปรัง 4 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 ปลูกเมื่อวันที่ 9 ธันวาคม 2558 ช่วงที่ 2 วันที่ 23 ธันวาคม 2558 ช่วงที่ 3 ปลูกวันที่ 6 มกราคม 2559 และช่วงที่ 4 วันที่ 20 มกราคม 2559 ส่วนข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง ปลูกในช่วงที่ 4 พร้อมข้าวที่ไวต่อช่วงแสง โดยปลูกข้าวแต่ละพันธุ์จำนวน 3 ซ้ำ ในแต่ละช่วงของการปลูกข้าว

ปลูกข้าวโดยมีส่วนผสมของดินดำ 3 ลิตร ปุ๋ยหมัก 1 ถ้วยตวง และปูนขาว 1/3 ช้อนชา เติมน้ำแล้วคนให้เข้ากัน ทิ้งไว้อย่างน้อย 1 สัปดาห์ เพื่อให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ จากนั้นโรยเมล็ดข้าว แล้วปิดทับด้วยแกลบดำ เพื่อรักษาความชื้นของดิน เมื่อกล้าสูงประมาณ 15 เซนติเมตร จึงถอนต้นกล้า ให้เหลือกระถางละ 1 ต้นเท่านั้น บำรุงต้นกล้าด้วยปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และปุ๋ยหมัก

เนื่องจากข้าวที่ไวต่อช่วงแสงที่ปลูกในฤดูนาปรังให้ผลผลิตน้อยกว่าการปลูกในฤดูนาปี จึงเก็บเมล็ดข้าวพันธุ์เดียวกันรวมกัน ไม่ว่าจะได้มาจากการปลูกช่วงใดก็ตาม

**การปลูกข้าวฤดูนาปี**

ปลูกข้าวที่ไวต่อช่วงแสงและไม่ไวต่อช่วงแสงพร้อมกัน คือ วันที่ 27 กรกฎาคม 2559 โดยปลูกพันธุ์ละ 5 ซ้ำ

**การศึกษาลำดับเบสของยีน *SSIIa***

**การสกัดดีเอ็นเอ**

สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง พันธุ์ละ 1 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GF-1 (Vivantis, Malaysia) และ Plant genomic DNA kit (TianGen, China)

**การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ**

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *SSIIa* บริเวณที่คร่อมลำดับเบสที่มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวโดยวิธีพีซีอาร์ โดยใช้ไพร์เมอร์ NF1 มีลำดับ 5'CGAGGCGCAGCACAACAG3' และไพร์เมอร์ S2AR1 มีลำดับ 5'GCGGGCGGACATGGTCTC3' (Lu *et al.*, 2010) ปริมาณสารต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบแสดงดังตารางที่ 2 ส่วนอุณหภูมิและระยะเวลาในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 2** ส่วนประกอบของสารในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์

| สาร | ปริมาตร (ul) |
|---|---|
| น้ำ | 2 |
| สารละลาย 2x Phusion | 10 |
| ไพร์เมอร์ NF1 (5 uM) | 2 |
| ไพร์เมอร์ S2AR1 (5 uM) | 2 |
| ดีเอ็นเอต้นแบบ | 4 |
| **รวม** | 20 |

**หมายเหตุ** สารละลาย 2x Phusion คือ Thermo Scientific Phusion High-Fidelity PCR Master Mix (ThermoFisher Scientific, USA)

**ตารางที่ 3** อุณหภูมิและระยะเวลาในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน *SSIIa*

| อุณหภูมิ | เวลา | จำนวนรอบ |
|---|---|---|
| Initial denaturation 98 °C | 30 วินาที | 1 รอบ |
| Denature 98 °C | 10 วินาที | 30 รอบ |
| Annealing 58 °C | 10 วินาที | |
| Extension 72 °C | 30 วินาที | |
| Final extension 72 °C | 2 นาที | 1 รอบ |

**การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์**

ส่งดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยีน *SSIIa* ไปหาลำดับเบสที่ First base laboratories (Malaysia) จากนั้นตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลโดยดูโครมาโตแกรมของนิวคลีโอไทด์ที่มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกในข้าว คือนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง 4,198 และตำแหน่ง 4,329-4,330 ซึ่งโครมาโตแกรมจะต้องมีความสูงต่างจากเส้นรบกวนอย่างชัดเจน และมีความกว้างที่เหมาะสมสำหรับแต่ละนิวคลีโอไทด์

**การศึกษาคุณภาพหุงต้มของข้าว**

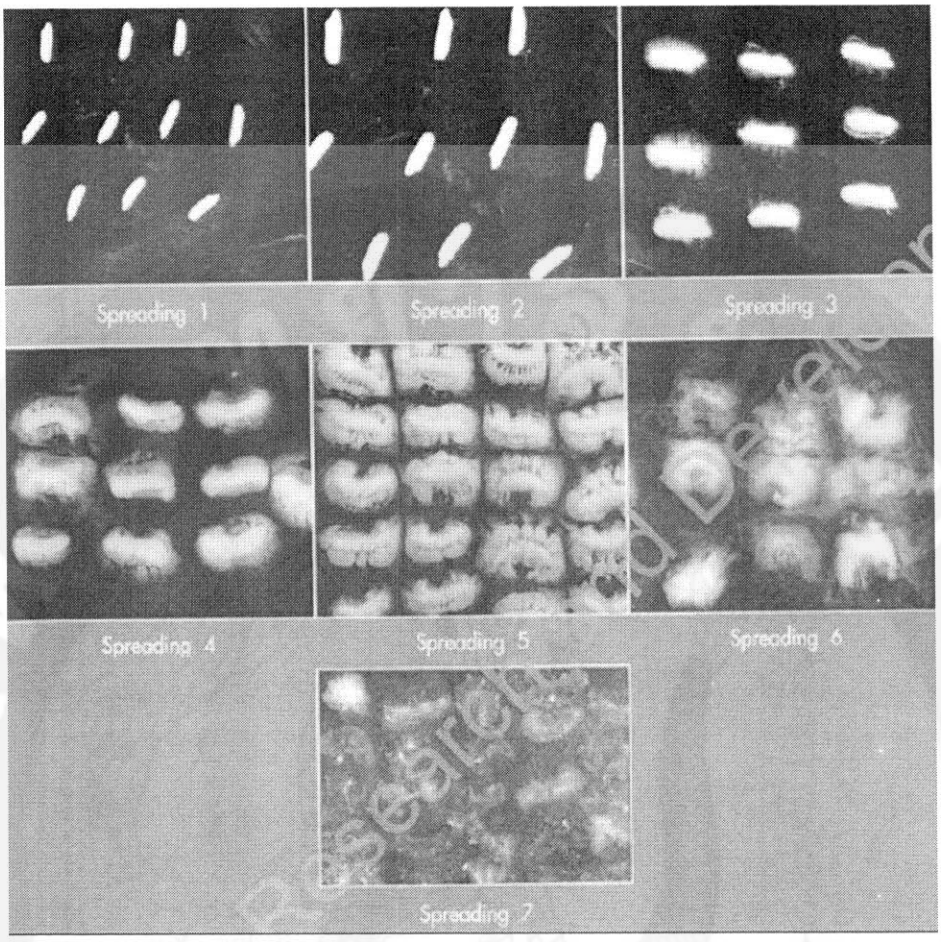
**การวัดอุณหภูมิแป้งสุก**

ดัดแปลงจากวิธีของมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่องข้าวหอมไทย (มกอช 4000-2546) มีขั้นตอนดังนี้

1. สุ่มเมล็ดข้าวขาวมา 18 เมล็ด แบ่งใส่ในจานพลาสติกใส จำนวน 3 จาน ๆ ละ 6 เมล็ด
2. เติมสารละลายโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 1.7% ลงในจานพลาสติกตามข้อ 1 จานละ 25 มล. ให้เมล็ดข้าวทุกเมล็ดจมอยู่ในสารละลาย และให้แต่ละเมล็ดอยู่ห่างกันพอสมควร แล้วปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่ขยับเขยื้อนเป็นเวลา 23 ชั่วโมง
3. ตรวจระดับการสลายของเมล็ดข้าวในด่าง โดยแบ่งเป็น 7 ระดับ ดังตารางที่ 4 และภาพที่ 2

**ตารางที่ 4** ระดับการสลายของเมล็ดข้าวในด่าง

| ระดับการสลายของเมล็ดข้าว | ลักษณะการสลายของเมล็ดข้าวในด่าง |
|---|---|
| 1 | ลักษณะของเมล็ดข้าวไม่เปลี่ยนแปลงเลย |
| 2 | เมล็ดข้าวพองตัว |
| 3 | เมล็ดข้าวพองตัวและมีแป้งกระจายออกมาจากบางส่วนของเมล็ดข้าว |
| 4 | เมล็ดข้าวพองตัวและมีแป้งกระจายออกมารอบเมล็ดข้าวเป็นบริเวณกว้าง |
| 5 | ผิวของเมล็ดข้าวปริทางขวางหรือทางยาวและมีแป้งกระจายออกมารอบเมล็ดเป็นบริเวณกว้าง |
| 6 | เมล็ดข้าวสลายตัวตลอดทั้งเมล็ด มีลักษณะเป็นเมือกขุ่นขาว |
| 7 | เมล็ดข้าวสลายตัวตลอดทั้งเมล็ดและมีลักษณะเป็นแป้งเปียกใส |




**ภาพที่** 2 ระดับการสลายของเมล็ดข้าวในด่าง (งามชื่น, 2547)

**การวัดปริมาณอะไมโลส**

ดัดแปลงจากวิธีของมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่องข้าวหอมไทย (มกอช 4000-2546) มีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งแป้ง 0.100 ± 0.0005 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล.

2. เติมเอธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 มล. และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มัล จำนวน 9 มล.

3. ผสมตัวอย่างบนเครื่องผสมโดยใช้แท่งแม่เหล็ก เป็นเวลา 10 นาที

4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มล.

5. นำขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล. ใบใหม่เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มล. เติมกรดอะซิติก เข้มข้น 1 นอร์มัล จำนวน 2 มล. และเติมสารละลายไอโอดีน 2 มล. ดูดตัวอย่างสารละลายน้ำแป้งที่ได้จากข้อ 4 จำนวน 5 มล. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มล. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

6. ทำ blank ตามวิธีในข้อ 5 แต่ไม่ต้องใส่ตัวอย่างสารละลายน้ำแป้ง

7. วัดความเข้มข้นของสารละลายด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยใช้ข้อ 6 เป็น blank

8. วิธีทำกราฟมาตรฐาน

8.1 ชั่งอะไมโลส 0.400 กรัม ในขวดแก้วปริมาตร 100 มล. และดำเนินการตามข้อ 2 – 4 เป็นสารละลายมาตรฐาน

8.2 เตรียมขวดแก้วปริมาตรความจุ 100 มล. จำนวน 5 ขวด เติมน้ำกลั่นขวดละ 70 มล. เติมกรดอะซิติก ปริมาตร 0.4 มล. ในขวดที่ 1 ปริมาตร 0.8 มล. ในขวดที่ 2 ปริมาตร 1.2 มล. ในขวดที่ 3 ปริมาตร 1.6 มล. ในขวดที่ 4 และปริมาตร 2.0 มล. ในขวดที่ 5 ตามลำดับ แล้วเติมสารละลายไอโอดีน 2 มล. ลงในแต่ละขวด

8.3 ดูดสารละลายในข้อ 8.1 ปริมาตร 1 2 3 4 และ 5 มล. ซึ่งเทียบเท่าปริมาณอะไมโลสร้อยละ 8 16 24 32 และ 40 ตามลำดับ ใส่ขวดที่เตรียมไว้ในข้อ 8.2 ตามลำดับ เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร หลังปรับเครื่องด้วย blank ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับศูนย์ เช่นเดียวกับข้อ 7

8.4 นำค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณอะไมโลสในสารละลายมาตรฐานมาเขียนเส้นกราฟมาตรฐาน

9. คำนวณหาปริมาณอะไมโลสของข้าวแต่ละตัวอย่าง กับกราฟมาตรฐานของอะไมโลส

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำวัดค่าการดูดกลืนแสง 2 ครั้ง

**การวัดความคงตัวของแป้งสุก**

ดัดแปลงจากวิธีของ Cagampang *et al.* (1973) มีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งแป้ง 0.100 ± 0.0005 กรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 16 × 150 มม.
2. เติม Thymol blue 0.025 % ปริมาตร 200 ไมโครลิตร
3. เติม KOH ความเข้มข้น 0.2 นอร์มัล ปริมาตร 2 มล.
4. เขย่าด้วย vortex ประมาณ 10 วินาที ให้สารเข้ากันไม่ตกตะกอน
5. ปิดปากหลอดทดลองด้วยลูกแก้ว ต้มในน้ำเดือด 8 นาที
6. เขย่าด้วย vortex ประมาณ 10 วินาที ให้สารเข้ากันไม่ตกตะกอน
7. แช่หลอดทดลองในน้ำแข็ง 20 นาที
8. วางหลอดทดลองแนวนอนในกระดาษกราฟ 30 นาที
9. บันทึกระยะทางการไหลของแป้งเป็นมิลลิเมตร

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม R (R core team, 2013) ทดสอบความแตกต่างของค่าการสลายในด่าง ปริมาณอะไมโลส และระยะทางการไหลของแป้งสุก ระหว่างข้าวที่มีจีโนไทป์ต่างกัน รวมถึงความแตกต่างของค่าต่าง ๆ ระหว่างข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรังด้วยวิธี Wilcoxon

ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างค่าการสลายในด่าง ปริมาณอะไมโลส และระยะทางการไหลของแป้งสุกโดยใช้วิธี Spearman

## ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

### การปลูกข้าว

#### ผลผลิตของข้าวในฤดูนาปรัง

เมื่อปลูกข้าวไวและไม่ไวต่อช่วงแสงในฤดูนาปรัง พบว่าข้าวขาวโป่งไคร้ไม่งอกเลย อาจเป็นเพราะเมล็ดข้าวถูกเก็บไว้เป็นเวลานาน ความงอกจึงลดลง ทำให้จำนวนพันธุ์ข้าวที่สามารถทำการศึกษาได้เหลือเพียง 49 พันธุ์ ข้าวไวต่อช่วงแสงทุกพันธุ์สามารถออกดอกได้ในฤดูนาปรัง แต่ข้าวบางพันธุ์ให้ผลผลิตน้อยมาก ได้แก่ ขาวตาแห้ง 17 ข้าวพันธุ์เหลืองประทิว 123 ปิ่นแก้ว 56 พลายงามปราจีนบุรี เสาไห้ สังข์หยดพัทลุง เข็มทองพัทลุง และหันตรา 60 (ตารางที่ 5) ซึ่งเมล็ดมีลักษณะลีบ ดังนั้นต้องรอผลผลิตของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ เหล่านี้จากฤดูนาปี

**ตารางที่ 5** ปริมาณผลผลิตของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง (กรัม)

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ปลูก 9 ธ.ค. 58 | ปลูก 23 ธ.ค. 58 | ปลูก 6 ม.ค. 59 | ปลูก 20 ม.ค. 58 | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | ขาวดอกมะลิ 105 | 53.916 | 58.077 | 46.776 | 26.468 | 185.237 |
| 2 | กข 15 | 72.648 | 80.969 | 66.399 | 165.016 | 385.032 |
| 3 | เล็บมือนาง 111 | 8.367 | 4.419 | 1.619 | 0.00 | 14.405 |
| 4 | กข 51 | 171.554 | 157.532 | 190.563 | 224.407 | 744.056 |
| 5 | กู้เมืองหลวง | 52.785 | 90.119 | 79.666 | 29.298 | 251.868 |
| 6 | ขาวตาแห้ง 17 | 1.638 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.638 |
| 7 | นางมลเอส 4 | 13.872 | 48.727 | 76.355 | 28.697 | 167.651 |
| 8 | เหลืองประทิว 123 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 9 | ปราจีนบุรี 2 | 15.904 | 8.175 | 1.612 | 0.00 | 25.691 |
| 10 | ปิ่นแก้ว 56 | 0.00 | 0.00 | 1.846 | 0.00 | 1.846 |
| 11 | พลายงามปราจีนบุรี | 1.471 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.471 |
| 12 | เสาไห้ | 16.798 | 14.839 | 4.133 | 0.00 | 35.77 |
| 13 | ดอกพยอม | 106.156 | 87.025 | 145.166 | 175.846 | 514.193 |
| 14 | สินเหล็ก | 39.814 | 64.225 | 102.738 | 20.294 | 227.07 |
| 15 | สังข์หยดพัทลุง | 1.968 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.968 |
| 16 | หอมมะลิแดง | 30.225 | 45.706 | 50.440 | 24.699 | 151.07 |

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ปลูก 9 ธ.ค. 58 | ปลูก 23 ธ.ค. 58 | ปลูก 6 ม.ค. 59 | ปลูก 20 ม.ค. 58 | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 17 | แก่นจันทร์ | 22.778 | 30.832 | 33.978 | 44.183 | 131.771 |
| 18 | เข็มทองพัทลุง | 2.960 | 4.165 | 1.763 | 0.00 | 8.888 |
| 19 | หันตรา 60 | 2.255 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.255 |
| 20 | ตะเภาแก้ว 161 | 21.459 | 5.115 | 1.912 | 0.00 | 28.486 |
| 21 | เหลือง n0.1 | 20.715 | 19.030 | 10.018 | 0.00 | 49.763 |
| 22 | กข 19 | 23.630 | 16.514 | 3.811 | 0.00 | 43.955 |
| 23 | กข 6 | 30.157 | 78.126 | 69.147 | 41.732 | 219.162 |
| 24 | ลืมผัว | 64.561 | 60.524 | 51.975 | 0.00 | 177.06 |
| 25 | หางยี 71 | 30.979 | 63.190 | 63.717 | 33.914 | 191.8 |
| 26 | เหนียวเขี้ยวงู | 21.788 | 8.495 | 1.565 | 34.892 | 66.74 |
| 27 | นางฉลอง | 21.888 | 7.210 | 2.483 | 0.00 | 31.581 |
| 28 | ขาวโป่งไคร้ | ไม่งอก | ไม่งอก | ไม่งอก | ไม่งอก | 0.00 |
| 29 | ซิวแม่จัน | 49.339 | 77.222 | 91.465 | 63.602 | 281.628 |
| 30 | กข 16 | 20.963 | 41.460 | 68.3 | 14.346 | 145.069 |
| 31 | เหมยนอง 62 เอ็ม | 25.566 | 48.502 | 81.860 | 35.380 | 191.308 |
| 32 | ชัยนาท 1 | 61.483 | 171.078 | 189.851 | 290.887 | 713.299 |
| 33 | สันป่าตอง 1 | 99.231 | 182.109 | 169.516 | 280.387 | 731.24 |
| 34 | ปทุมธานี 1 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 295.233 | 295.233 |
| 35 | สุพรรณบุรี 1 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 294.840 | 294.840 |
| 36 | พิษณุโลก 2 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 241.719 | 241.719 |
| 37 | ชัยนาท 80 (กข 29) | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 325.888 | 325.888 |
| 38 | กข 39 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 281.340 | 281.340 |
| 39 | กข 43 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 170.285 | 170.285 |
| 40 | กข 49 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 371.950 | 371.950 |
| 41 | กข 21 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 250.456 | 250.456 |
| 42 | ปทุมธานี 80 (กข 31) | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 247.004 | 247.004 |
| 43 | หอมสุพรรณ | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 280.084 | 280.084 |
| 44 | กข 33 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 46.526 | 46.526 |

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ปลูก 9 ธ.ค. 58 | ปลูก 23 ธ.ค. 58 | ปลูก 6 ม.ค. 59 | ปลูก 20 ม.ค. 58 | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 45 | กข 41 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 297.940 | 297.940 |
| 46 | กข 47 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 226.880 | 226.880 |
| 47 | หอมนิล | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 167.691 | 167.691 |
| 48 | Riceberry | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 150.913 | 150.913 |
| 49 | กข 10 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 183.366 | 183.366 |
| 50 | กข 14 | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | ไม่ได้ปลูก | 241.613 | 241.613 |

**ผลผลิตของข้าวในฤดูนาปี**

การปลูกข้าวในฤดูนาปี พบว่าข้าวทั้ง 49 พันธุ์ สามารถออกดอกได้ แต่เกิดการระบาดของโรคและแมลง ทำให้เมล็ดของข้าวบางพันธุ์ลีบ ได้แก่ พลายงามปราจีนบุรี เล็บมือนาง 111 หอมมะลิแดง ปราจีนบุรี 2 นางฉลอง สินเหล็ก เหลืองประทิว 123 ขาวดอกมะลิ 105 และสังข์หยดพัทลุง

**การศึกษาลำดับเบสของยีน *SSIIa***

**การสกัดดีเอ็นเอ**

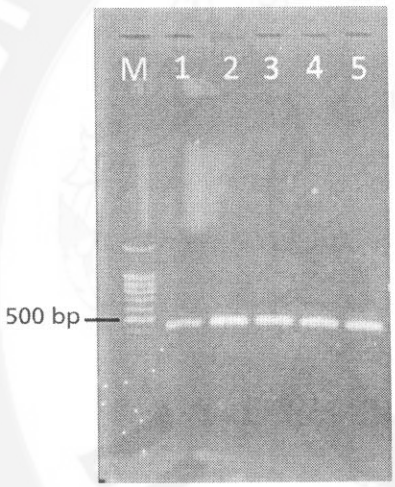
การสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของข้าวทั้ง 49 พันธุ์ พบว่า ได้ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพและปริมาณที่เพียงพอต่อการเพิ่มปริมาณยีน *SSIIa* ดังภาพที่ 3

**ภาพที่ 3** ผลการสกัดดีเอ็นเอจากข้าว 6 พันธุ์

M : ดีเอ็นเอมาตรฐาน , Lane 1 : ข้าวหอมนิล, Lane 2 : ข้าวปทุมธานี 1, Lane 3 : ข้าวกข 39, Lane 4 : ข้าวสันป่าตอง 1, Lane 5 : ข้าวกข 16, Lane 6 : ข้าวกข 19 ปริมาตรสารในแต่ละ Lane เท่ากับ 2 ไมโครลิตร ทำอิเล็คโทรโฟรีซิสโดยใช้เจลอะกาโรสความเข้มข้น 1% บัพเฟอร์ TBE 0.5% ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 40 นาที

**การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์**

หาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเข้าเกาะของไพร์เมอร์กับลำดับเบสบริเวณยีน *SSIIa* โดยการทำพีซีอาร์เกรเดียน (Gradient PCR) ซึ่งมีอุณหภูมิในการเข้าเกาะของไพร์เมอร์อยู่ในช่วง 52.7 -58.1 องศาเซลเซียส ได้ผลดังภาพที่ 4

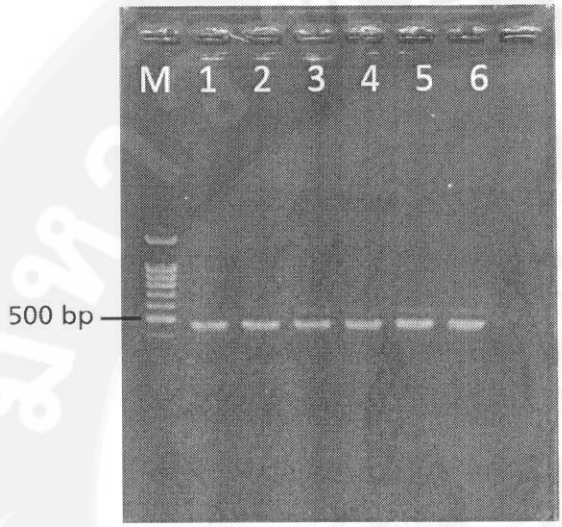



**ภาพที่ 4** ผลผลิตพีซีอาร์จากการเข้าเกาะของไพรเมอร์ NF1 และ S2AR1 ที่อุณหภูมิ (Ta) ต่างกันของข้าวตะเภาแก้ว 161

M : ดีเอ็นเอมาตรฐาน , Lane 1 : Ta 58.1 °C , Lane 2 : Ta 56.7 °C, Lane 3 : Ta 55 °C, Lane 4 : Ta 53.6 °C, Lane 5 : Ta 52.7 °C ปริมาตรผลผลิตพีซีอาร์ในแต่ละ Lane เท่ากับ 10 ไมโครลิตร ทำอิเล็คโทรโฟรีซิสโดยใช้เจลอะกาโรสความเข้มข้น 1% บัพเฟอร์ TBE 0.5% ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 40 นาที

จากภาพที่ 4 จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเข้าเกาะของไพร์เมอร์ NF1 และ S2AR1 คือ ประมาณ 58 องศาเซลเซียส เนื่องจากได้ผลผลิตพีซีอาร์เพียงขนาดเดียว ส่วนอุณหภูมิอื่น ๆ ทำให้ได้ผลผลิตพีซีอาร์มากกว่า 1 ขนาด โดยเฉพาะอุณหภูมิต่ำ คือ 52.7 องศาเซลเซียสทำให้ได้ผลผลิตพีซีอาร์ถึง 4 ขนาด

หลังจากทราบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเข้าเกาะของไพรเมอร์ คือ 58 องศาเซลเซียส จึงเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน *SSIIa* โดยใช้สภาวะที่เหมาะสม ตามที่กล่าวมาข้างต้น ในข้าวทั้ง 49 พันธุ์ ข้าวส่วนใหญ่ให้ผลผลิตพีซีอาร์เพียง 1 ขนาด คือ ขนาดประมาณ 450 คู่เบส แต่ข้าว 10 พันธุ์ให้ผลผลิตพีซีอาร์มากกว่า 1 ขนาด คือ ขนาดประมาณ 450 คู่เบส และขนาดใหญ่กว่า 450 คู่เบส ดังภาพที่ 5




**ภาพที่ 5** ผลผลิตพีซีอาร์จากข้าว 6 พันธุ์ Lane 3, 5 และ 6 พบดีเอ็นเอ 2 ขนาด

M : ดีเอ็นเอมาตรฐาน , Lane 1 : ข้าวหอมนิล , Lane 2 : ข้าวปทุมธานี 1 , Lane 3 : กข 39, Lane 4 : สันป่าตอง 1 , Lane 5 : กข 16 , Lane 6 : กข 19 ทำอิเล็คโทรโฟรีซิสโดยใช้เจลอะกาโรสความเข้มข้น 1% บัพเฟอร์ TBE 0.5% ความต่างศักย์ 100 โวลต์นาน 40 นาที

ปรับสภาวะการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอสำหรับข้าวที่ให้ผลผลิตพีซีอาร์ 2 ขนาด โดยการทำพีซีอาร์เกรเดียนอีกครั้ง และอุณหภูมิในการเข้าเกาะของไพรเมอร์อยู่ในช่วง 59-67 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส ได้ผลผลิตพีซีอาร์เพียงขนาดเดียว คือประมาณ 450 คู่เบส จึงใช้สภาวะนี้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของข้าว 10 พันธุ์ที่ให้ผลผลิตพีซีอาร์ 2 ขนาด และพบว่าข้าวทุกพันธุ์ให้ผลผลิตพีซีอาร์เพียงขนาดเดียว

**ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุก และอุณหภูมิแป้งสุกของข้าวนาปรังและนาปี**

หลังจากส่งผลผลิตพีซีอาร์ไปหาลำดับเบสแล้ว วิเคราะห์โครมาโตแกรมของนิวคลีโอไทด์บริเวณที่มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าว คือ ตำแหน่ง 4,198 และ 4,329-4,330 (ตำแหน่งเมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์หมายเลข AY423717 ในฐานข้อมูล GenBank) พบว่าตำแหน่ง 4,198 ของข้าว

ทุกพันธุ์เป็น G ส่วนในตำแหน่ง 4,329-4,330 มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น GC หรือ TT ส่วนในข้าวพันธุ์ชัยนาท 80 (กข 29) พบว่าในตำแหน่ง 4,329 มีนิวคลีโอไทด์ทั้งแบบ G และ T ส่วนในตำแหน่ง 4,330 พบนิวคลีโอไทด์ทั้งแบบ C และ T ซึ่งแสดงถึงการเป็นข้าวลูกผสม (ตารางที่ 6)

ลำดับนิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง 4,198 และ 4,329-4,330 มีความสอดคล้องกับรายงานของ Bao *et al.* (2006) ซึ่งพบว่า ตำแหน่ง 4,198 จะพบลำดับนิวคลีโอไทด์ 2 แบบ คือ A หรือ G โดยพบ G บ่อยกว่า A และตำแหน่ง 4,329-4,330 จะพบลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ 2 แบบ เช่นเดียวกัน คือ GC หรือ TT ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกมากที่สุดคือ 4,198 โดยถ้าเป็น A ข้าวจะมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ ไม่ว่าเบสในตำแหน่ง 4,329-4,330 จะเป็น GC หรือ TT ก็ตาม แต่ถ้าลำดับเบสในตำแหน่ง 4,198 เป็นเบส G อุณหภูมิแป้งสุกของข้าวจะขึ้นอยู่กับลำดับเบสในตำแหน่ง 4,329-4,330 ถ้าเป็น GC ข้าวจะมีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลางถึงสูง (ระดับการสลายตัวในด่างต่ำ) แต่ถ้าเป็น TT ข้าวจะมีอุณหภูมิ แป้งสุกต่ำ (ระดับการสลายตัวในด่างสูง) (Bao *et al.*, 2006)

**อุณหภูมิแป้งสุก**

เมื่อวัดอุณหภูมิแป้งสุกของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง พบว่ามีค่าการสลายตัวในด่างในช่วง 4-7 ดังตารางที่ 6

**ตารางที่ 6** ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *SSIIa* และระดับการสลายตัวในด่างของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิดข้าวสาร | นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง | | ระดับการสลายตัวในด่างเฉลี่ย | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4,198 | 4,329-4,330 | นาปรัง | นาปี |
| 1 | ขาวดอกมะลิ 105 | เจ้า | G | TT | 6 | NA |
| 2 | กข 15 | เจ้า | G | TT | 6 | 7 |
| 3 | เล็บมือนาง 111 | เจ้า | G | GC | 5 | NA |
| 4 | กข 51 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 5 | กู้เมืองหลวง | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 6 | ขาวตาแห้ง 17 | เจ้า | G | GC | NA | 5 |
| 7 | นางมลเอส 4 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 8 | เหลืองประทิว 123 | เจ้า | G | GC | NA | NA |

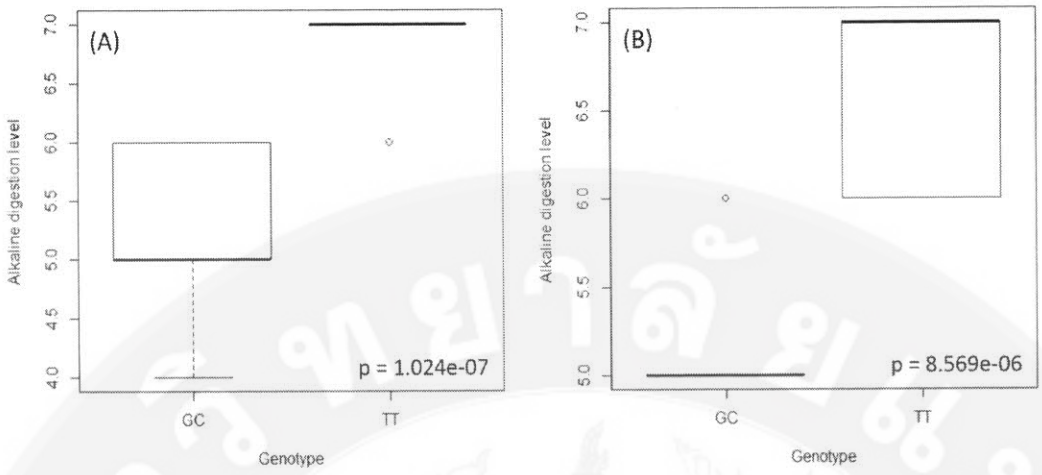
| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิดข้าวสาร | นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง | | ระดับการสลายตัวในด่างเฉลี่ย | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4,198 | 4,329-4,330 | นาปรัง | นาปี |
| 9 | ปราจีนบุรี 2 | เจ้า | G | GC | 5 | NA |
| 10 | ปิ่นแก้ว 56 | เจ้า | G | GC | NA | 6 |
| 11 | พลายงามปราจีนบุรี | เจ้า | G | GC | NA | NA |
| 12 | เสาไห้ | เจ้า | G | GC | NA | 6 |
| 13 | ดอกพะยอม | เจ้า | G | GC | 5 | 5 |
| 14 | สินเหล็ก | เจ้า | G | TT | 7 | NA |
| 15 | สังข์หยดพัทลุง | เจ้า | G | GC | NA | NA |
| 16 | หอมมะลิแดง | เจ้า | G | TT | 6 | NA |
| 17 | แก่นจันทร์ | เหนียว | G | TT | 6 | 7 |
| 18 | เข็มทองพัทลุง | เจ้า | G | TT | NA | 6 |
| 19 | หันตรา 60 | เจ้า | G | GC | NA | 4 |
| 20 | ตะเภาแก้ว 161 | เจ้า | G | GC | 6 | 6 |
| 21 | เหลือง n0.1 | เจ้า | G | TT | 6 | 7 |
| 22 | กข 19 | เจ้า | G | GC | 5 | 5 |
| 23 | กข 6 | เหนียว | G | TT | 7 | 7 |
| 24 | ลืมผัว | เหนียว | G | TT | 6 | 7 |
| 25 | หางยี 71 | เหนียว | G | TT | 7 | 7 |
| 26 | เหนียวเขี้ยวงู | เหนียว | G | TT | 7 | 7 |
| 27 | นางฉลอง | เจ้า | G | GC | 5 | NA |
| 28 | ซิวแม่จัน | เจ้า | G | TT | 6 | 7 |
| 29 | กข 16 | เหนียว | G | TT | 7 | 7 |
| 30 | เหมยนอง 62 เอ็ม | เหนียว | G | TT | 6 | 7 |
| 31 | ปทุมธานี 1 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 32 | สุพรรณบุรี 1 | เจ้า | G | GC | 5 | 5 |
| 33 | พิษณุโลก 2 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 34 | ชัยนาท 1 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิดข้าวสาร | นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง | | ระดับการสลายตัวในด่างเฉลี่ย | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4,198 | 4,329-4,330 | นาปรัง | นาปี |
| 35 | ชัยนาท 80 (กข 29) | เจ้า | G | G/T, T/C | 5 | 6 |
| 36 | กข 39 | เจ้า | G | TT | 6 | 7 |
| 37 | กข 43 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 38 | กข 49 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 39 | กข 21 | เจ้า | G | TT | 7 | 6 |
| 40 | ปทุมธานี 80 (กข 31) | เจ้า | G | GC | 5 | 5 |
| 41 | หอมสุพรรณ | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 42 | กข 33 | เจ้า | G | TT | 6 | 7 |
| 43 | กข 41 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 44 | กข 47 | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 45 | หอมนิล | เจ้า | G | TT | 6 | 7 |
| 46 | Riceberry | เจ้า | G | TT | 7 | 7 |
| 47 | สันป่าตอง 1 | เหนียว | G | TT | 6 | 7 |
| 48 | กข 10 | เหนียว | G | TT | 7 | 7 |
| 49 | กข 14 | เหนียว | G | TT | 6 | 6 |

หมายเหตุ NA หมายถึงเมล็ดข้าวลีบจึงไม่ได้ทำการทดลอง

**ความสอดคล้องระหว่างจีโนไทป์ของยีน *SSIIa* กับค่าการสลายตัวในด่าง**

เมื่อเปรียบเทียบค่าการสลายตัวในด่างระหว่างข้าวที่มีรูปแบบนิวโคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 4,329-4,330 เป็น GC กับ TT พบว่า ข้าวที่มีนิวคลีโอไทด์ TT มีระดับการสลายตัวในด่างสูงกว่าข้าวที่มีนิวคลีโอไทด์ GC อย่างมีนัยสำคัญ (Wilcoxon test ) ทั้งในข้าวนาปีและนาปรัง ดังภาพที่ 6




**ภาพที่ 6** เปรียบเทียบค่าการสลายตัวในด่างระหว่างข้าวจีโนไทป์ GC และ TT ในข้าวนาปี (A) และนาปรัง (B)

ดังนั้นแสดงว่านิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 4,329-4,330 มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าวไทยที่ศึกษาโดยจีโนไทป์ GC ทำให้ข้าวมีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลาง แต่จีโนไทป์ TT ทำให้ข้าวมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ

**ความแตกต่างของอุณหภูมิแป้งสุกระหว่างข้าวนาปีและนาปรัง**

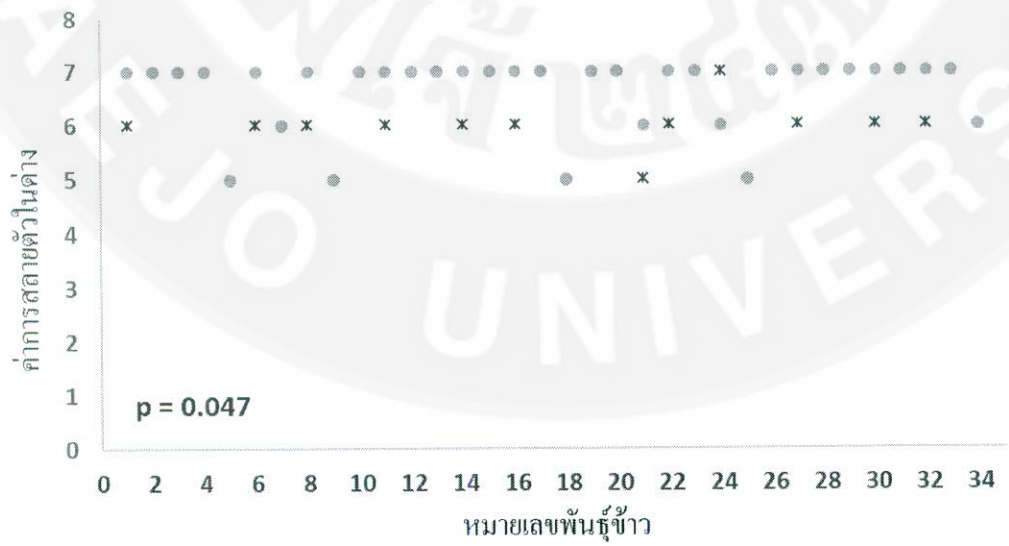
เมื่อเปรียบเทียบค่าการสลายตัวในด่างของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง พบว่าข้าว 12 พันธุ์ มีความแตกต่างของค่าการสลายตัวในด่าง และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าค่าการสลายตัวในด่างระหว่างฤดูนาปีและนาปรัง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพที่ 7 ความแตกต่างของอุณหภูมิแป้งสุกระหว่างฤดูของข้าวบางพันธุ์อาจเกิดจากอายุในการเก็บรักษาข้าว เนื่องจากข้าวแต่ละตัวอย่างมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันจึงเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงในเมล็ดข้าวแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ อลิษา และคณะ (2556) ซึ่งพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์มีการเปลี่ยนคุณสมบัติทางเคมีตามระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่เหมือนกัน และอุณหภูมิในการเก็บรักษาก็มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของข้าวเช่นเดียวกัน ยิ่งเก็บอุณหภูมิสูง การเปลี่ยนแปลงจากข้าวใหม่เป็นข้าวเก่าจะเกิดเร็วขึ้น (เพลงพิณ, 2541; อลิษา และคณะ, 2556) ซึ่งในการทดลองนี้ได้ปลูกข้าวนาปรังเร็วกว่าข้าวนาปี 6 เดือน และเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 9 เดือน ส่วนเมล็ดข้าวนาปีถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน ดังนั้นระยะเวลาในการเก็บและอุณหภูมิในการเก็บจึงน่าจะส่งผลให้ข้าวบางพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมี

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้



นอกจากนี้สภาวะการปลูกที่แตกต่างกันระหว่างข้าวทั้ง 2 ฤดู ก็อาจจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของข้าวบางตัวอย่างเช่นเดียวกัน เนื่องจากข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรังมีปริมาณน้ำฝน ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ อุณหภูมิ และระยะเวลาการได้รับแสงแดดต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาของ Laenoi *et al.* (2017) ปลูกข้าว 4 พันธุ์ ได้แก่ สุพรรณบุรี 1 ชัยนาท 1 ปทุมธานี 1 และกข 21 ในฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน ในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่า การตอบสนองของค่าการสลายตัวในด่างต่อฤดูปลูกในข้าวแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน โดยข้าว กข 21 มีค่าการสลายตัวในด่างของข้าวที่ปลูกในฤดูฝนและฤดูหนาวเท่ากัน แต่มีค่าต่ำในฤดูร้อน ส่วนข้าวสุพรรณบุรี 1 ชัยนาท 1 และปทุมธานี 1 มีค่าการสลายตัวในด่างสูงที่สุดในฤดูหนาว ฝน และร้อนตามลำดับ ในการทดลองนี้พบว่าข้าว 22 พันธุ์ มีค่าการสลายตัวในด่างไม่ต่างกันระหว่างฤดูปลูก ในจำนวนนี้มี ชัยนาท 1 ปทุมธานี 1 และสพรรณบุรี 1 รวมอยู่ด้วย ข้าว 11 พันธุ์มีค่าการสลายตัวในด่างของข้าวนาปีสูงกว่านาปรัง และข้าวเพียง 1 พันธุ์ คือ กข 21 มีค่าการสลายตัวในด่างในข้าวนาปีต่ำกว่านาปรัง Chen *et al.* (2012) รายงานว่าปริมาณน้ำในการปลูกข้าวมีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกของข้าว โดยข้าวที่ปลูกในที่สูง น้ำน้อย จะทำให้ข้าวมีอุณหภูมิแป้งสุกสูงกว่าข้าวที่ปลูกในที่ลุ่ม แต่ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน โพแทสเซียม และความเค็มของดินไม่มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุก

ความแตกต่างของการตอบสนองของค่าการสลายตัวในด่างของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ต่อฤดูปลูกน่าจะเป็นผลมาจากองค์ประกอบทางพันธุกรรมแตกต่างกัน ซึ่งทำให้สรีรวิทยาของข้าวแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน




**ภาพที่ 7** ค่าการสลายตัวในด่างของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี (วงกลม) และนาปรัง (ดอกจัน)

**ปริมาณอะไมโลส**

**กราฟมาตรฐานสำหรับวัดปริมาณอะไมโลส**

จากการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณปริมาณอะไมโลสจากค่าการดูดกลืนแสงได้กราฟมาตรฐานดังข้างล่าง สมการที่ได้คือ

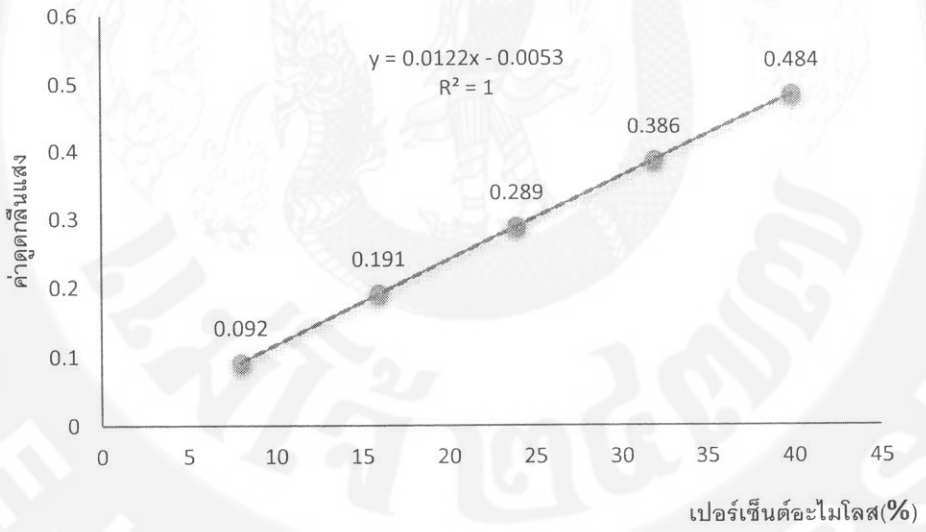
$y = 0.0122x - 0.0053$

เมื่อ y คือ ค่าการดูดกลืนแสง

x คือ เปอร์เซ็นต์อะไมโลส

ดังนั้นจึงสามารถคำนวณปริมาณอะไมโลสได้จากสมการดังนี้

เปอร์เซ็นต์อะไมโลส = (ค่าการดูดกลืนแสง+0.0053) / 0.0122




เมื่อวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสทั้งข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง พบว่า ข้าวเหนียวมีปริมาณอะไมโลส 4.396 - 8.522 เปอร์เซ็นต์ ข้าวเจ้า 12.402 - 31.801 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าข้าวที่ศึกษามีทั้งข้าวนุ่มไปถึงข้าวร่วนแข็ง

**ตารางที่ 7** ปริมาณอะไมโลสของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง

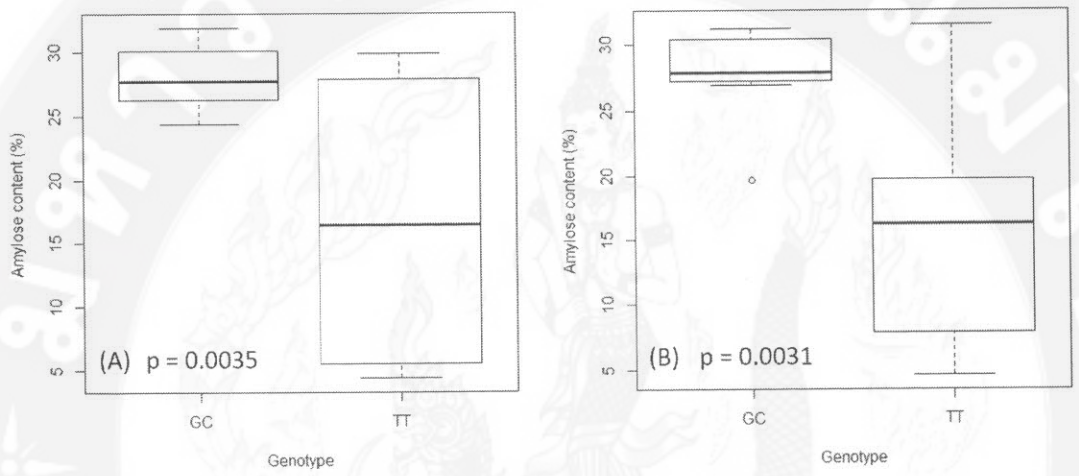
| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิดข้าวสาร | นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง | | ปริมาณอะไมโลสเฉลี่ย (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4,198 | 4,329-4,330 | นาปรัง | นาปี |
| 1 | ขาวดอกมะลิ 105 | เจ้า | G | TT | 16.336 | NA |
| 2 | กข 15 | เจ้า | G | TT | 12.402 | 15.844 |
| 3 | เล็บมือนาง 111 | เจ้า | G | GC | 27.566 | NA |
| 4 | กข 51 | เจ้า | G | TT | 30.79 | 29.369 |
| 5 | กู้เมืองหลวง | เจ้า | G | TT | 27.101 | 28.636 |
| 6 | ขาวตาแห้ง 17 | เจ้า | G | GC | NA | 26.322 |
| 7 | นางมลเอส 4 | เจ้า | G | TT | 18.549 | 24.068 |
| 8 | เหลืองประทิว 123 | เจ้า | G | GC | NA | NA |
| 9 | ปราจีนบุรี 2 | เจ้า | G | GC | 26.91 | NA |
| 10 | ปิ่นแก้ว 56 | เจ้า | G | GC | NA | 30.079 |
| 11 | พลายงามปราจีนบุรี | เจ้า | G | GC | NA | NA |
| 12 | เสาไห้ | เจ้า | G | GC | NA | 27.73 |
| 13 | ดอกพะยอม | เจ้า | G | GC | 19.669 | 25.27 |
| 14 | สินเหล็ก | เจ้า | G | TT | 14.97 | NA |
| 15 | สังข์หยดพัทลุง | เจ้า | G | GC | NA | NA |
| 16 | หอมมะลิแดง | เจ้า | G | TT | 17.046 | NA |
| 17 | แก่นจันทร์ | เหนียว | G | TT | 6.391 | 4.396 |
| 18 | เข็มทองพัทลุง | เจ้า | G | TT | NA | 29.423 |
| 19 | หันตรา 60 | เจ้า | G | GC | NA | 24.423 |
| 20 | ตะเภาแก้ว 161 | เจ้า | G | GC | 27.593 | 27.429 |
| 21 | เหลือง n0.1 | เจ้า | G | TT | 19.874 | 18.972 |
| 22 | กข 19 | เจ้า | G | GC | 28.01 | 28.69 |
| 23 | กข 6 | เหนียว | G | TT | 7.469 | 5.338 |
| 24 | ลืมผัว | เหนียว | G | TT | 4.656 | 8.194 |

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิดข้าวสาร | นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง | | ปริมาณอะไมโลสเฉลี่ย (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4,198 | 4,329-4,330 | นาปรัง | นาปี |
| 25 | หางยี 71 | เหนียว | G | TT | 5.51 | 5.14 |
| 26 | เหนียวเขี้ยวงู | เหนียว | G | TT | 5.762 | 5.243 |
| 27 | นางฉลอง | เจ้า | G | GC | 30.038 | NA |
| 28 | ซิวแม่จัน | เจ้า | G | TT | 13.303 | 13.003 |
| 29 | กข 16 | เหนียว | G | TT | 8.522 | 5.27 |
| 30 | เหมยนอง 62 เอ็ม | เหนียว | G | TT | 5.626 | 6.145 |
| 31 | ปทุมธานี 1 | เจ้า | G | TT | 18.658 | 18.44 |
| 32 | สุพรรณบุรี 1 | เจ้า | G | GC | 30.762 | 31.801 |
| 33 | พิษณุโลก 2 | เจ้า | G | TT | 30.762 | 28.549 |
| 34 | ชัยนาท 1 | เจ้า | G | TT | 29.11 | 27.34 |
| 35 | ชัยนาท 80 (กข 29) | เจ้า | G | G/T, T/C | 30.707 | 30.175 |
| 36 | กข 39 | เจ้า | G | TT | 17.606 | 16.158 |
| 37 | กข 43 | เจ้า | G | TT | NA | 28.112 |
| 38 | กข 49 | เจ้า | G | TT | 31.44 | 27.86 |
| 39 | กข 21 | เจ้า | G | TT | 16.281 | 17.784 |
| 40 | ปทุมธานี 80 (กข 31) | เจ้า | G | GC | 31.172 | 30.708 |
| 41 | หอมสุพรรณ | เจ้า | G | TT | 19.573 | 16.677 |
| 42 | กข 33 | เจ้า | G | TT | 14.888 | 13.986 |
| 43 | กข 41 | เจ้า | G | TT | 21.725 | 29.86 |
| 44 | กข 47 | เจ้า | G | TT | 31.27 | 29.1 |
| 45 | หอมนิล | เจ้า | G | TT | 16.609 | 17.183 |
| 46 | Riceberry | เจ้า | G | TT | 14.59 | 16.26 |
| 47 | สันป่าตอง 1 | เหนียว | G | TT | 6.227 | 4.779 |
| 48 | กข 10 | เหนียว | G | TT | 8.331 | 5.489 |
| 49 | กข 14 | เหนียว | G | TT | 6.62 | 4.779 |

หมายเหตุ NA หมายถึงเมล็ดข้าวลีบจึงไม่ได้ทำการทดลอง

**ความสอดคล้องระหว่างจีโนโทป์ของยีน *SSIIa* กับปริมาณอะไมโลส**

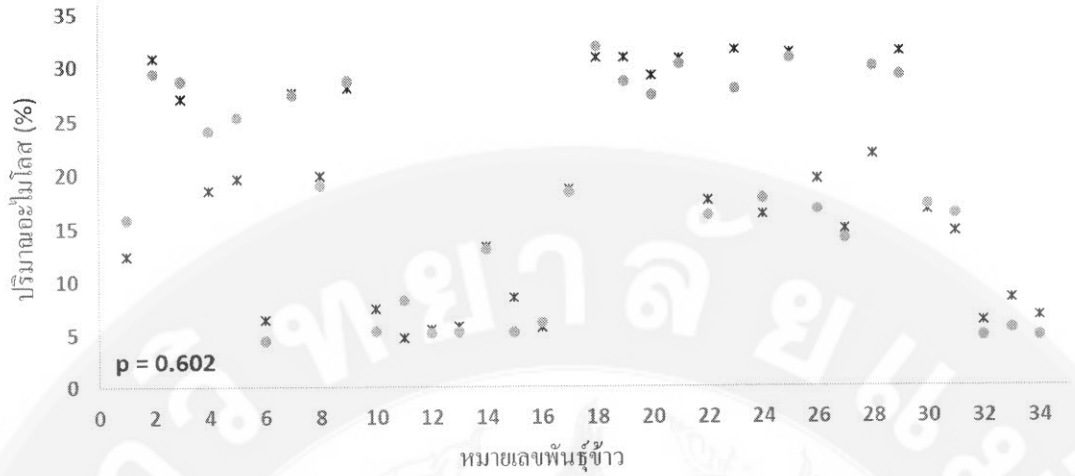
เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณอะไมโลสของข้าวที่มีจีโนไทป์ต่างกัน พบว่าข้าวที่มีจีโนไทป์ GC มีปริมาณอะไมโลสสูงกว่าข้าวที่มีจีโนไทป์ TT อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นแสดงว่านิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 4,329-4,330 มีผลต่อปริมาณอะไมโลสของข้าวไทยที่ศึกษา โดยข้าวที่มีจีโนไทป์ GC มักจะมีปริมาณอะไมโลสสูง แต่ข้าวที่มีจีโนไทป์ TT มักมีปริมาณอะไมโลสต่ำ




**ภาพที่** 8 เปรียบเทียบค่าปริมาณอะไมโลสระหว่างข้าวจีโนไทป์ GC และ TT ในข้าวนาปี (A) และนาปรัง (B)

**ความแตกต่างของปริมาณอะไมโลสในข้าวนาปีและนาปรัง**

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณอะไมโลสของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์มีปริมาณอะไมโลสใกล้เคียงกัน และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพที่ 9 ความแตกต่างของปริมาณอะไมโลสในข้าวพันธุ์เดียวกันแต่ปลูกต่างฤดู น่าจะเป็นผลมาจากระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยข้าวนาปรังถูกเก็บรักษาไว้ 9 เดือน ส่วนข้าวนาปี ถูกเก็บไว้ 3 เดือน ก่อนนำมาทดลอง และอาจเกิดจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมในการปลูกข้าวแต่ละฤดู ซึ่งมีปริมาณน้ำฝน ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ อุณหภูมิ และระยะเวลาการได้รับแสงแดดแตกต่างกัน Chen *et al.* (2012) รายงานว่า ปริมาณน้ำ ปริมาณไนโตรเจน ในการปลูกมีผลต่อปริมาณอะไมโลส นอกจากนี้แร่ธาตุในเมล็ด ได้แก่ K Na Mg Cu และ Mn ในเมล็ดข้าวมีผลต่อปริมาณอะไมโลส ซึ่งสภาพแวดล้อมในการปลูกข้าว เช่น ดิน ปริมาณปุ๋ย และสภาพอากาศ ล้วนมีผลต่อการการสะสมแร่ธาตุเหล่านี้ในเมล็ดข้าว




**ภาพที่ 9** ปริมาณอะไมโลสของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี (วงกลม) และนาปรัง (ดอกจัน)

**ความคงตัวของแป้งสุก**

เมื่อวัดความคงตัวของแป้งสุกโดยวัดระยะทางการไหลของแป้งสุกที่เย็นตัวทั้งในข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง พบว่า ระยะทางการไหลของแป้งสุกมีค่า 27.67 - 126.67 มม. นั่นแสดงว่าข้าวที่ศึกษามีความคงตัวของแป้งสุกอ่อนจนถึงแข็ง

**ตารางที่ 8** ระยะทางการไหลของแป้งสุกของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิดข้าวสาร | นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง | | ระยะทางการไหลของแป้งสุกเฉลี่ย (มม.) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4,198 | 4,329-4,330 | นาปรัง | นาปี |
| 1 | ขาวดอกมะลิ 105 | เจ้า | G | TT | 88 | NA |
| 2 | กข 15 | เจ้า | G | TT | 95.33 | 95.67 |
| 3 | เล็บมือนาง 111 | เจ้า | G | GC | 27.67 | NA |
| 4 | กข 51 | เจ้า | G | TT | 101.33 | 92.33 |
| 5 | กู้เมืองหลวง | เจ้า | G | TT | 54.5 | 30 |
| 6 | ขาวตาแห้ง 17 | เจ้า | G | GC | NA | 106.67 |
| 7 | นางมลเอส 4 | เจ้า | G | TT | 73.67 | 86 |
| 8 | เหลืองประทิว 123 | เจ้า | G | GC | NA | NA |
| 9 | ปราจีนบุรี 2 | เจ้า | G | GC | 80 | NA |

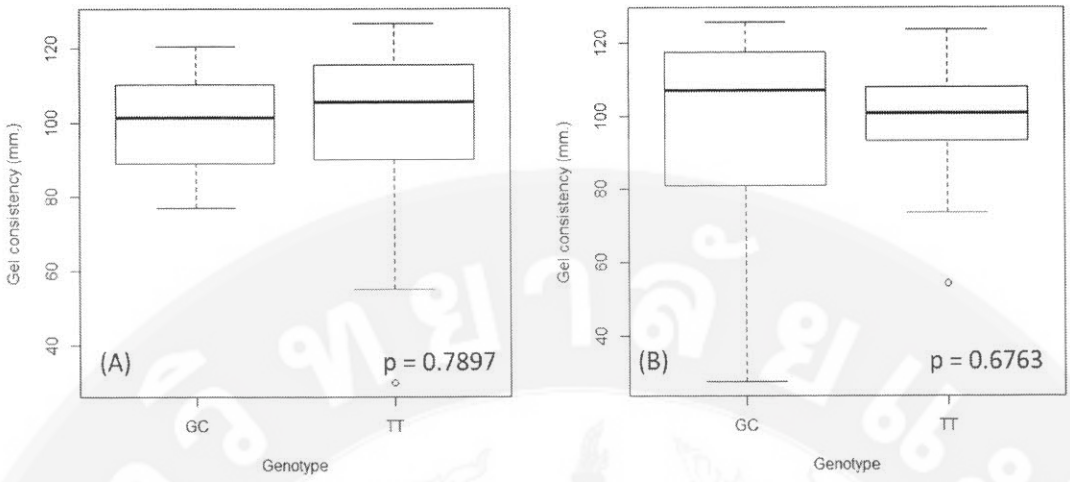
| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิดข้าวสาร | นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง | | ระยะทางการไหลของแป้งสุกเฉลี่ย (มม.) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4,198 | 4,329-4,330 | นาปรัง | นาปี |
| 10 | ปิ่นแก้ว 56 | เจ้า | G | GC | NA | 97.67 |
| 11 | พลายงามปราจีนบุรี | เจ้า | G | GC | NA | NA |
| 12 | เสาไห้ | เจ้า | G | GC | NA | 89 |
| 13 | ดอกพะยอม | เจ้า | G | GC | 81.67 | 83.67 |
| 14 | สินเหล็ก | เจ้า | G | TT | 92.67 | NA |
| 15 | สังข์หยดพัทลุง | เจ้า | G | GC | NA | NA |
| 16 | หอมมะลิแดง | เจ้า | G | TT | 108.67 | NA |
| 17 | แก่นจันทร์ | เหนียว | G | TT | 100 | 106.33 |
| 18 | เข็มทองพัทลุง | เจ้า | G | TT | NA | 60.67 |
| 19 | หันตรา 60 | เจ้า | G | GC | NA | 110.33 |
| 20 | ตะเภาแก้ว 161 | เจ้า | G | GC | 108.33 | 77 |
| 21 | เหลือง n0.1 | เจ้า | G | TT | 90.66 | 55.33 |
| 22 | กข 19 | เจ้า | G | GC | 106 | 101.33 |
| 23 | กข 6 | เหนียว | G | TT | 95 | 112 |
| 24 | ลืมผัว | เหนียว | G | TT | 123.67 | 121.67 |
| 25 | หางยี 71 | เหนียว | G | TT | 107 | 116.67 |
| 26 | เหนียวเขี้ยวงู | เหนียว | G | TT | 94.67 | 105.33 |
| 27 | นางฉลอง | เจ้า | G | GC | 117 | NA |
| 28 | ซิวแม่จัน | เจ้า | G | TT | 80 | 101.33 |
| 29 | กข 16 | เหนียว | G | TT | 92 | 105.67 |
| 30 | เหมยนอง 62 เอ็ม | เหนียว | G | TT | 94 | 105.33 |
| 31 | ปทุมธานี 1 | เจ้า | G | TT | 102.67 | 78 |
| 32 | สุพรรณบุรี 1 | เจ้า | G | GC | 125.67 | 120.67 |
| 33 | พิษณุโลก 2 | เจ้า | G | TT | 121 | 116 |
| 34 | ชัยนาท 1 | เจ้า | G | TT | 75 | 86.67 |

| ลำดับที่ | ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิดข้าวสาร | นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง | | ระยะทางการไหลของแป้งสุกเฉลี่ย (มม.) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 4,198 | 4,329-4,330 | นาปรัง | นาปี |
| 35 | ชัยนาท 80 (กข 29) | เจ้า | G | G/T, T/C | 115 | 128 |
| 36 | กข 39 | เจ้า | G | TT | 102.67 | 118 |
| 37 | กข 43 | เจ้า | G | TT | NA | 86.33 |
| 38 | กข 49 | เจ้า | G | TT | 110.33 | 126.67 |
| 39 | กข 21 | เจ้า | G | TT | 105 | 92 |
| 40 | ปทุมธานี 80 (กข 31) | เจ้า | G | GC | 118 | 115.33 |
| 41 | หอมสุพรรณ | เจ้า | G | TT | 123.33 | 90 |
| 42 | กข 33 | เจ้า | G | TT | 106.67 | 96 |
| 43 | กข 41 | เจ้า | G | TT | 94 | 108.67 |
| 44 | กข 47 | เจ้า | G | TT | 123 | 115.67 |
| 45 | หอมนิล | เจ้า | G | TT | 112.67 | 113 |
| 46 | Riceberry | เจ้า | G | TT | 101 | 118.33 |
| 47 | สันป่าตอง 1 | เหนียว | G | TT | 103.67 | 106 |
| 48 | กข 10 | เหนียว | G | TT | 99.33 | 108.33 |
| 49 | กข 14 | เหนียว | G | TT | 112.67 | 116.33 |

หมายเหตุ NA หมายถึงเมล็ดข้าวลีบจึงไม่ได้ทำการทดลอง

**ความสอดคล้องระหว่างจีโนไทป์ของยีน *SSIIa* กับความคงตัวของแป้งสุก**

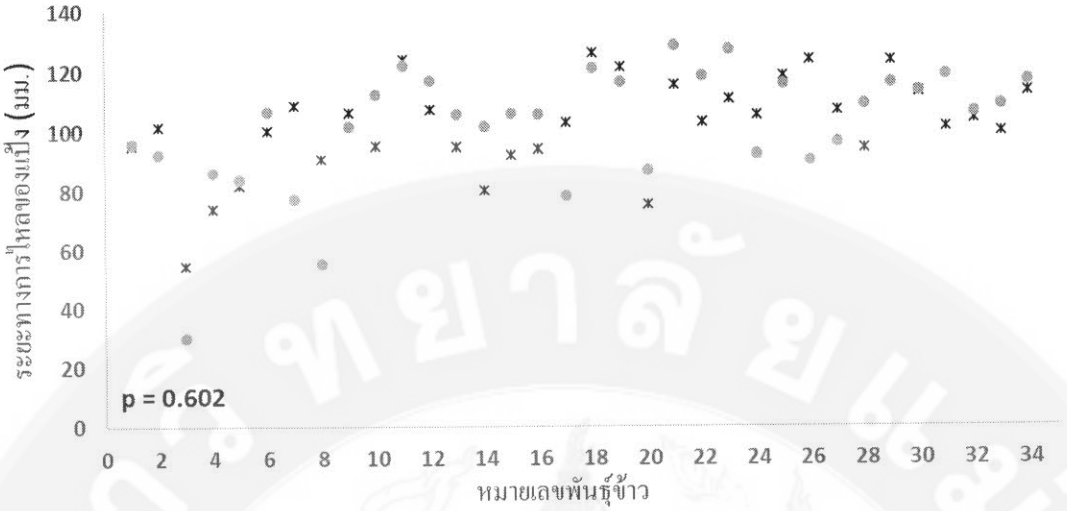
เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณอะไมโลสของข้าวที่มีจีโนไทป์ GC และ TT พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นแสดงว่านิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 4,329-4,330 ไม่มีผลต่อความคงตัวของแป้งสุกของข้าวไทยที่ศึกษา




**ภาพที่** 10 เปรียบเทียบค่าปริมาณอะไมโลสระหว่างข้าวจีโนไทป์ GC และ TT ในข้าวนาปี (A) และนาปรัง (B)

**ความแตกต่างของความคงตัวของแป้งสุกในนาปีและนาปรัง**

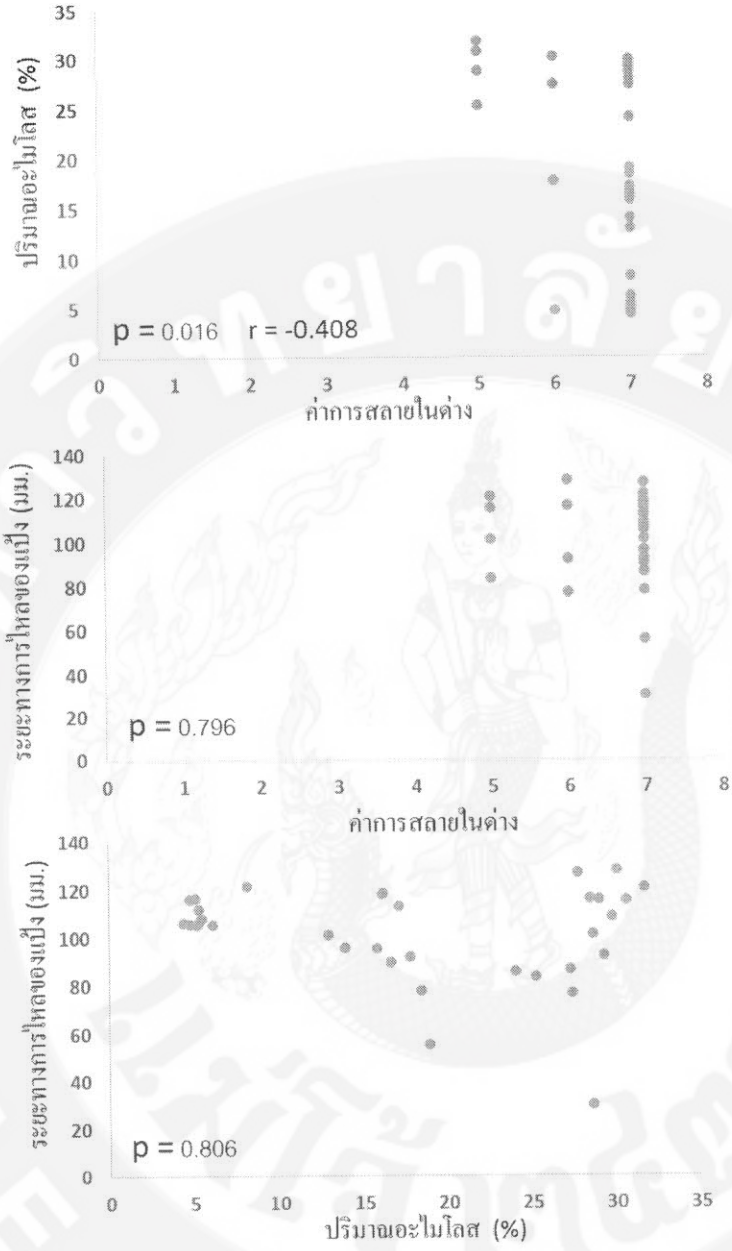
เมื่อวัดระยะทางการไหลของแป้งสุกของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรัง พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังภาพที่ 11 ความแตกต่างของความคงตัวของแป้งสุกในข้าวพันธุ์เดียวกันแต่ปลูกต่างฤดู น่าจะเป็นผลมาจากระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยข้าวนาปรังถูกเก็บรักษาไว้ 9 เดือน ส่วนข้าวนาปี ถูกเก็บไว้ 3 เดือน ก่อนนำมาทดลอง และอาจเกิดจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมในการปลูกข้าวแต่ละฤดู ซึ่งมีปริมาณน้ำฝน ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ อุณหภูมิ และระยะเวลาการได้รับแสงแดดแตกต่างกัน Chen *et al.* (2012) รายงานว่า ปริมาณน้ำ ปริมาณไนโตรเจน ในการปลูกมีผลต่อความคงตัวของแป้งสุก นอกจากนี้แร่ธาตุในเมล็ด ได้แก่ K Cu และ Mn ในเมล็ดข้าวมีผลต่อความคงตัวของแป้งสุกซึ่งสภาพแวดล้อมในการปลูกข้าว เช่น ดิน ปริมาณปุ๋ย และสภาพอากาศ ล้วนมีผลต่อการการสะสมแร่ธาตุเหล่านี้ในเมล็ดข้าว




**ภาพที่ 11** ระยะทางการไหลของแป้งสุกของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี (วงกลม) และนาปรัง (ดอกจัน)

**ความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่าง ๆ ของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี**

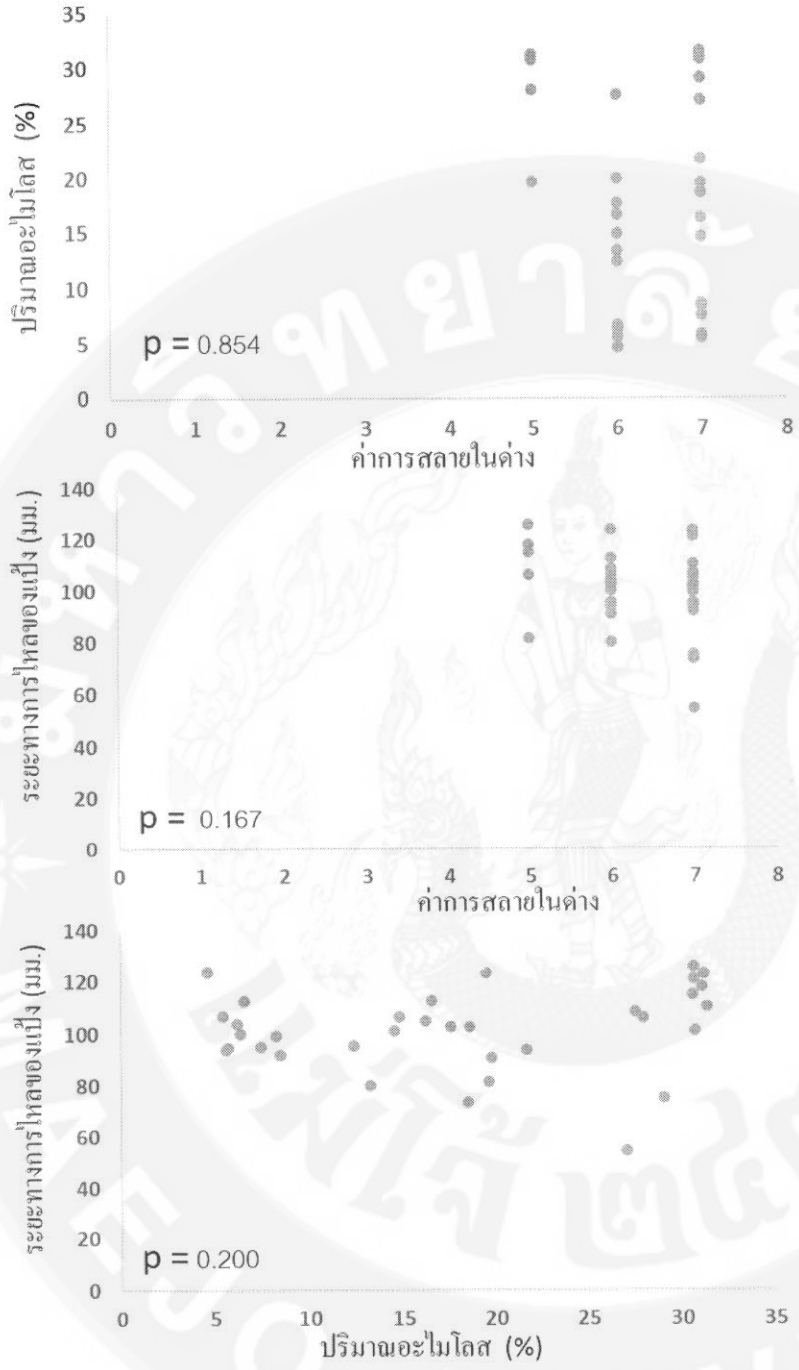
เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่าง ๆ พบความสัมพันธ์เพียงคู่เดียว คือ ค่าการสลายตัวในด่างกับปริมาณอะไมโลสมีความสัมพันธ์เชิงลบ ดังภาพที่ 12 นั่นแสดงว่าข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูงมักจะมีค่าการสลายตัวในด่างต่ำ ดังนั้นจึงหุงสุกช้า สอดคล้องกับละมุน (2555) ที่รายงานว่าข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูงจะมีอุณหภูมิแป้งสุกสูงด้วย




**ภาพที่ 12** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่าง ๆ ของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี

**ความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่าง ๆ ของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง**

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่าง ๆ ของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างค่าใดเลย ดังภาพที่ 13




**ภาพที่ 13** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่าง ๆ ของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าพบความสัมพันธ์ระหว่างค่าการสลายตัวในด่างกับปริมาณอะไมโลสในข้าวนาปีเท่านั้น แต่ไม่พบความสัมพันธ์นี้ในข้าวนาปรัง ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะแวดล้อมในการปลูก และระยะเวลาในการเก็บรักษาข้าวที่ไม่เท่ากัน ทำให้ค่าการสลายตัวในด่าง และปริมาณอะไมโลสแตกต่างกันระหว่างฤดูปลูก จึงมีผลต่อการพบ และไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว

**การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์**

จากผลการทดลองพบว่ายีน *SSIIa* มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกในข้าวไทย ซึ่งตำแหน่งที่มีผลมากคือ ตำแหน่ง 4329-4330 (เทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์หมายเลข AY423717 ในฐานข้อมูล GenBank) ซึ่งพบว่ามีนิวคลีโอไทด์ 2 แบบ คือ GC ซึ่งจะทำให้อุณหภูมิแป้งสุกปานกลางถึงสูง ส่วน TT จะทำให้ข้าวมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำเพื่อลดปริมาณการใช้พลังงานในการหุงข้าว และปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัสของข้าว จึงสามารถใช้ SNP ในตำแหน่งนี้ช่วยในการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกได้ ซึ่งสามารถใช้ไพร์เมอร์ 4 เส้น ในการคัดเลือกที่รายงานโดย Lu *et al.* (2010) ดังนี้

| **Primer** | **PCR product size (bp)** | |
|---|---|---|
| **Forward primer** | **GC** | **TT** |
| NF1: CGAGGCGCAGCACAACAG | 540 และ 843 คู่เบส | 341 และ 843 คู่เบส |
| F22: CAAGGAGAGCTGGAGGGGGC | | |
| **Reverse primer** | | |
| NR2: GGCCGTGCAGATCTTAACCAT | | |
| R21: ACATGCCGCGCACCTGGAAA | | |

เมื่อทำพีซีอาร์แล้วแยกขนาดแถบดีเอ็นเอโดยใช้เจลอะกาโรสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ก็สามารถบอกความแตกต่างของ SNP แต่ละตำแหน่งได้อย่างชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการยืนยันว่า SNP ในยีน *SSIIa* เชื่อมโยงกับลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกในข้าวไทยจริง ควรศึกษาความสัมพันธุ์ของยีนนี้กับลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกในประชากรข้าวรุ่น $F_2$ ด้วย

**ข้อเสนอแนะสำหรับงานที่ควรทำต่อไป**

1. ทำการศึกษา SNP ของยีน *SSIIa* ในข้าวหลายพันธุ์มากกว่านี้ เพื่อศึกษาความหลากหลายของยีนนี้ในข้าวไทย ทั้งในตำแหน่ง 4198 และ 4329-4330 เนื่องจากยังไม่พบ SNP ชนิด A ในตำแหน่ง 4198 ซึ่งถ้าศึกษาพันธุ์ข้าวมากกว่านี้ก็อาจจะพบ SNP ชนิด A ได้
2. ศึกษาการถ่ายทอด SNP ของยีน *SSIIa* และลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกในประชากรรุ่น $F_2$ เพื่อยืนยันว่ายีน *SSIIa* และ SNP ทั้งสองตำแหน่งเชื่อมโยงกับลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกในข้าว

ไทยจริงหรือไม่ ถ้าจริงจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือก

3. ทดสอบผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อคุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ อุณหภูมิแป้งสุก ความคงตัวของแป้งสุก และปริมาณอะไมโลสของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ และควรให้ข้าวทุกพันธุ์มีความชื้นเท่ากันก่อนวัดคุณสมบัติทางเคมี

## สรุปผลการวิจัย

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *SSIIa* บริเวณที่มีผลต่ออุณหภูมิแป้งสุกในข้าวไทยทั้ง 49 พันธุ์ พบว่าตำแหน่ง 4,198 มีนิวคลีโอไทด์เป็น G เท่านั้น ส่วนตำแหน่ง 4,329-4,330 มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น GC หรือ TT

รูปแบบนิวคลีโอไทด์ของยีน *SSIIa* มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิแป้งสุกของข้าว และปริมาณอะไมโลสโดยข้าวที่มีจีโนไทป์ GC มักมีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลาง และมีปริมาณอะไมโลสสูง ส่วนข้าวที่มีจีโนไทป์ TT มักมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ และปริมาณอะไมโลสต่ำ นอกจากนี้ อุณหภูมิแป้งสุกมีความสัมพันธ์กับปริมาณอะไมโลส โดยข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำมักมีปริมาณอะไมโลสต่ำ ส่วนข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลางมักมีปริมาณอะไมโลสสูง

ข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรังไม่มีความแตกต่างของปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุก แต่มีความแตกต่างของอุณหภูมิแป้งสุก ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อมในการปลูก และระยะเวลาในการเก็บรักษาข้าว

## เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปียะจอมขวัญ. 2546. **เทคโนโลยีของแป้ง**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ.

งามชื่น คงเสรี. 2547. *คุณภาพข้าวสวย*. หน้า 41-62. *ใน* **คุณภาพและการตรวจสอบข้าวหอมมะลิไทย**. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ.

เชาวนีพร ชีพประสพ ฤทัยทิพย์ อโนมุณี และหาสันต์ สาเหล็ม. 2558. **องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณอะไมโลสในข้าวพันธุ์พื้นเมือง จังหวัดพัทลุง**. 40 น. *ใน* รายงานผลการวิจัย. สงขลา: มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

พรพรรณ กอมนชัย พิสิฎฐ์ ธรรมวิถี นันทวัน เทิดไทย และ วาสินี จันทร์นวล. 2553. คุณลักษณะของข้าวหอมมะลิไทย 8 ยี่ห้อ: คุณภาพทางเคมี เคมีเชิงฟิสิกส์ และกายภาพกับคะแนนความชอบของผู้บริโภคโดยใช้แผนภาพความชอบ. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 41(พิเศษ): 476-479.

เพลงพิณ ศิวาพรรักษ์. 2541. **ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณอะไมโลสคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 56 น.

ละมุน วิเศษ. 2555. ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพด้านการหุงต้มของข้าว. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา** 1: 172-180.

สมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย. 2560. **ผลผลิตข้าว**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.thairiceexporters.or.th/ production.htm (14 สิงหาคม 2560).

อลิษา ชมพูพล้อย เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม ศันสนีย์ จำจด และชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย. 2556. ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืดของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ. **แก่นเกษตร** 41(4): 411-418.

Bao J., Xiao P., Hiratsuka., Sun M. and Umemoto T. 2009. Granule-bound SSIIa protein content and its relationship with amylopectin structure and gelatinization temperature of rice starch. **Starch/Stärke** 61: 431-437.

Bao J.S., Corke H. and Sun M. 2006. Nucleotide diversity in starch synthase IIa and validation of single nucleotide polymorphism in relation to starch gelatinization temperature and other

physicochemical properties in rice (Oryza sativa L.). **Theoretical and Applied Genetics** 113: 1171-1183.

Cagampang, G.B., Perez CM. and Juliano B.O. 1973. A gel consistency test for eating quality in rice. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 24:1598 -1594.

Chen, Y., Wang M. and Ouwerkerk P. B. F. 2012. Molecular and environmental factors determining grain quality in rice. **Food and Energy Security** 1(2): 111–132.

Cuevas, R.P. and Fitzgerald M. A. 2012. Genetic Diversity of Rice Grain Quality. Pp. 285-310. *In* ÇaliŞkan, M. (ed.). **Genetic Diversity in Plants.**

Fitzgerald M.A., McCouch S.R. and Hall R.D. 2009. Not just a grain of rice: the quest for quality. **Trends in Plant Science** 14: 133-139.

Gao Z., Zeng D., Cheng F., Tian Z., Guo L., Su Y., Yan M., Jiang H., Dong G., Huang Y., Han B. and Li J. 2011. *ALK*, the key gene for gelatinization temperature is a modifier gene for gel consistency in rice. **Journal of Integrative Plant Biology** 53: 756-765.

Jin L., Lu Y., Shao Y., Zhang G., Xiao P., Shen S. and Corke H and Bao J. 2010. Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (Oryza sativa L.). **Journal of Cereal Science** 51: 159-164.

Laenoi S., Rerkasem B., Lordkaew S. and Prom-u-thaia C. 2017. Seasonal variation in grain yield and quality in different rice varieties. **Field Crops Research**, http://dx.doi.org/10.1016/j. fcr .2017.06.006.

Lu Y., Xiao P., Shao Y., Zhang G., Thanyasiriwat T. and Bao J. 2010. Development of new markers to genotype the functional SNPs of *SSIIa*, a gene responsible for gelatinization temperature of rice starch. **Journal of Cereal Science** 52: 438-443.

Nakamura Y., Francisco Jr. P.B., Hosaka Y., Sato A., Sawada T., Kubo A. and Fujita N. 2005. Essential amino acids of starch synthase IIa differentiate amylopectin structure and starch quality between *japonica* and *indica* rice varieties. **Plant Molecular Biology** 58: 213-227.

R Core Team. 2013. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Shu X.L., Shen S.Q., Bao J.S., Wu D.X., Nakamura Y. and Shu Q.Y. 2006. Molecular and biochemical of the gelatinization temperature characteristics of rice (*Oryza sativa* L.) Starch granules. **Journal of Cereal Science** 44: 40-48.

Tong C., Chen Y., Tang F., Xu F., Huang Y., Chen H. and Bao J. 2014. Genetic diversity of amylose content and RVA pasting parameters in 20 rice accessions grown in Hainan, Chaina. **Food Chemistry** 161: 239-245.

Xu F., Zhang G., Tong C., Sun X., Corke H., Sun M and Bao J. 2013. Association mapping of starch physicochemical properties with starch biosynthesizing genes in waxy rice (Oryza *sativa L.)*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry** 61: 10110-10117.

# ภาคผนวก

ผลงานตีพิมพ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยชิ้นนี้กำลังอยู่ในระหว่างการพิจารณาเพื่อตีพิมพ์ในงานประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปี 2560

# ปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวไทย

# Amylose Content and Gel Consistency of Thai Rice

ยุพเยาว์ คบพิมาย[1*] ปณิธาน คงเทศ[2] อรพิณ พะเก่พอ[2] เจษฎา สายสุภา[2] ศักรินทร์ ชัยทา[2] ภานุวัฒน์ สะทองปา[2] ศิริกัญญา สวัสชัย[2] กฤษฎา โนวะ[2] สิริมา สุวรัตน์[1] วิวัฒน์ หวังเจริญ[3] วราภรณ์ แสงทอง[1] และศรัณย์ จีนะเจริญ[4]

Yuppayao Kophimai[1*] Panitan Kongted[2] Orrapin Pakaepor[2] Jessada Saisupa[2] Sakkarin Chaita[2] Panuwat Sathongpa[2] Sirikanya Sawatchai[2] Kritsada Nowa[2] Sirima Suwarat[1] Wiwat Wangcharoen[3] Varaporn Sangtong[1] and Saran Cheenacharoen[4]

[1]สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

[2]สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

[3]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

[4]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ ประเทศไทย 50300

[1]Department of Genetics, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

[2]Department of Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

[3]Department of Science and Food Science, Faculty of Engineering and Ago-Industry, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

[4]Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai, Thailand 50300

*Corresponding author: yuppayao@mju.ac.th, kophimai@yahoo.com

## บทคัดย่อ

ปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกเป็นตัวกำหนดคุณภาพการหุงต้มและเนื้อสัมผัสของข้าว งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาปริมาณอะไมโลส ค่าความคงตัวของแป้งสุก และความสัมพันธ์ระหว่างสองลักษณะนี้ ในเมล็ดข้าวพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 114 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบปริมาณอะไมโลสและค่าความคงตัวของแป้งสุกระหว่างข้าวที่ปลูกฤดูนาปีและนาปรังจำนวน 35 ตัวอย่าง พบว่าข้าวเหนียวมีปริมาณอะไมโลสต่ำ และค่าความคงตัวของแป้งสุกอ่อน ส่วนข้าวเจ้ามีการกระจายตัวของค่าทั้งสองมาก (ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างมาก) ปริมาณอะไมโลสกับค่าความคงตัวของแป้งสุกมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก (ข้าวเหนียว $r=0.359$, $p=0.0137$ และข้าวเจ้า $r=0.135$, $p=0.0258$) และปริมาณอะไมโลสและค่าความคงตัวของแป้งสุกระหว่างฤดูปลูกนาปีและนาปรังไม่แตกต่างกันทางสถิติ ผลการวิจัยดังกล่าวสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวสำหรับการศึกษายีนที่ควบคุมปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวไทยต่อไป

**คำสำคัญ:** ข้าว อะไมโลส ความคงตัวของแป้งสุก

## Abstract

Amylose content and gel consistency influence on cooking quality and texture of cooked rice. This work wanted to study amylose content, gel consistency and a correlation between amylose content and gel consistency among 114 rice samples. Moreover, we also compared those two traits among 35 rice samples between in season and off season. The results showed that waxy rice samples had low amylose content and soft gel consistency, while the two traits vary among samples of non-waxy rice. The correlations between amylose content and gel consistency were positive with r=0.359 (p=0.0137) in waxy rice and r=0.135 (p=0.0258) in non-waxy rice. Moreover, amylose content and gel consistency of rice grown in season and off season were not significantly different. These common data are helpful in selecting of rice samples for determining gene controlling amylose content and gel consistency of Thai rice.

**Keywords:** Rice, Amylose content, Gel consistency

## คำนำ

ข้าวเป็นพืชอาหารหลักและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และมีผลผลิตประมาณปีละ 25 ล้านตัน (สมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย, 2560) ข้าวยังเป็นพืชอาหารที่สำคัญของโลก โดยพลังงานจากข้าวคิดเป็น 21% ของปริมาณพลังงานที่ได้จากการบริโภคอาหารของคนทั้งโลก และคิดเป็น 76% ของชาวเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

คุณภาพการหุงต้มและการรับประทานของข้าวแต่ละพันธุ์ เป็นปัจจัยสำคัญต่อการตัดสินใจเลือกบริโภคของผู้ซื้อและเป็นตัวกำหนดราคาข้าว โดยเฉพาะปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกเป็นตัวกำหนดลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุก ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูง เมื่อหุงต้มต้องการน้ำมาก เมล็ดข้าวขยายตัวมาก ข้าวร่วนไม่ติดกัน จึงหุงขึ้นหม้อ ส่วนข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำต้องการน้ำน้อยเมื่อหุง เมล็ดข้าวขยายตัวน้อย ข้าวนุ่มเหนียว หุงขึ้นหม้อน้อยกว่าข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูง (งามชื่น, 2547)

ปริมาณอะไมโลสในเมล็ดข้าวแบ่งออกเป็น 4 ระดับ คือ 0-9 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวเหนียว 10-19 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวเจ้าอะไมโลสต่ำ เมื่อหุงสุกจะเหนียวนุ่ม แต่แฉะง่าย 20-25 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวเจ้าอะไมโลสปานกลาง เมื่อหุงสุกข้าวค่อนข้างอ่อน ถ้ามีอะไมโลสมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวเจ้าอะไมโลสสูง เมื่อหุงสุกข้าวจะร่วนแข็ง

ความคงตัวของแป้งสุก (เชาวนีพร และคณะ, 2558) แม้ว่าปริมาณอะไมโลสจะมีผลต่อความแข็งของข้าวสุก แต่ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสเท่ากันอาจมีความแข็งแตกต่างกันเนื่องจากแป้งสุกมีอัตราการคืนตัวไม่เท่ากัน ค่าที่ใช้เปรียบเทียบระดับความแข็งของข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสเท่ากันคือ ความคงตัวของ

แป้งสุก โดยพิจารณาจากระยะทางที่แป้งสุกไหลในขณะที่แป้งเย็นตัว ข้าวที่มีระยะทางไหลของแป้งมากจะอ่อนนุ่มกว่าข้าวที่มีระยะทางไหลของแป้งน้อย ความคงตัวของแป้งสุก แบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ ระยะทางแป้งไหลน้อยกว่า 40 มม. จะมีความคงตัวแป้งสุกแข็ง ระยะทางแป้งไหล 40- 60 มม. ความคงตัวแป้งสุกปานกลาง และหากแป้งไหลมากกว่า 60 มม. จัดเป็นความคงตัวแป้งสุกอ่อน (Cuevas and Fitzgerald, 2012)

Zhang *et al*. (2012) รายงานว่ายีน *Waxy* ควบคุมลักษณะปริมาณอะไมโลสในข้าว และมี 5 รูปแบบ (อัลลีล) คือ $Wx^a$ $Wx^b$ $Wx^{op}$ $Wx^{in}$ และ wx โดยปริมาณอะไมโลสในข้าวจะมีมากเมื่อมีอัลลีล $Wx^a$ $Wx^{in}$ $Wx^b$ $Wx^{op}$ และ wx ตามลำดับ (Mikami *et al*., 2008) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Su *et al*. (2011) และ Tran *et al*. (2011) พบว่ายีน *Waxy* ยังควบคุมลักษณะความคงตัวของแป้งสุกในข้าวอีกด้วย โดยบริเวณที่มีผลมากต่อความคงตัวของแป้งสุกคือการแทนที่เบสในเอกซอนที่ 10 ของยีน *Waxy* (G/T) นอกจากปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกจะถูกควบคุมด้วยยีนตำแหน่งเดียวกันแล้ว ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวต่างประเทศอีกด้วย (ละมุน, 2555)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวตัวอย่างต่าง ๆ ของประเทศไทย ทั้งข้าวพันธุ์การค้า ข้าวพื้นเมือง และข้าวไร่ รวมถึงศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวไทย เพื่อเป็นข้อมูลในการเลือกข้าวเพื่อศึกษายีนที่ควบคุมปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวไทยต่อไป และเนื่องจากสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ปริมาณแสง ความชื้น มีผลต่อคุณภาพเมล็ดข้าว (Chen *et al*., 2012) จึงได้ศึกษาผลของสภาพแวดล้อมในการปลูกข้าวต่อปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุก โดยปลูกข้าวในฤดูนาปรังเทียบกับฤดูนาปีอีกด้วย

## อุปกรณ์และวิธีการ

**ตัวอย่างข้าวที่ศึกษา**

ศึกษาข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี พ.ศ. 2559 จำนวน 114 ตัวอย่าง เป็นข้าวเหนียว 49 ตัวอย่าง ข้าวเจ้า 65 ตัวอย่าง และข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2559 จำนวน 35 ตัวอย่าง เป็นข้าวเหนียว 10 ตัวอย่าง และข้าวเจ้า 25 ตัวอย่าง สีข้าวและขัดข้าวให้เป็นข้าวสารขาว จากนั้นจึงบดข้าวด้วยโกร่งแล้วร่อนแป้งด้วยตะแกรงร่อนขนาด 80 เมช (mesh)

**การวัดปริมาณอะไมโลส** ดัดแปลงจากวิธีของมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช 4000-2546)

1. ชั่งแป้ง 0.100 ± 0.0005 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล.
2. เติมเอธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 มล. และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มัล จำนวน 9 มล.
3. ผสมตัวอย่างบนเครื่องผสมโดยใช้แท่งแม่เหล็ก เป็นเวลา 10 นาที
4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มล.

5. นำขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล. ใบใหม่เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มล. เติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1 นอร์มัล จำนวน 2 มล. และเติมสารละลายไอโอดีน 2 มล. ดูดตัวอย่างสารละลายน้ำแป้งที่ได้จากข้อ 4 จำนวน 5 มล. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มล. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

6. ทำ blank ตามวิธีในข้อ 5 แต่ไม่ต้องใส่ตัวอย่างสารละลายน้ำแป้ง

7. วัดความเข้มข้นของสารละลายด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยใช้ข้อ 6 เป็น blank

8. คำนวณหาปริมาณอะไมโลส กับกราฟมาตรฐานของอะไมโลส

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำวัดค่าการดูดกลืนแสง 2 ครั้ง

**การวัดความคงตัวของแป้งสุก** ดัดแปลงจากวิธีของ Cagampang *et al.* (1973)

1. ชั่งแป้ง 0.100 ± 0.0005 กรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 16 × 150 มม.
2. เติม Thymol blue 0.025 % ปริมาตร 200 ไมโครลิตร
3. เติม KOH ความเข้มข้น 0.2 นอร์มัล ปริมาตร 2 มล.
4. เขย่าด้วย vortex ประมาณ 10 วินาที ให้สารเข้ากันไม่ตกตะกอน
5. ปิดปากหลอดทดลองด้วยลูกแก้ว ต้มในน้ำเดือด 8 นาที
6. เขย่าด้วย vortex ประมาณ 10 วินาที ให้สารเข้ากันไม่ตกตะกอน
7. แช่หลอดทดลองในน้ำแข็ง 20 นาที
8. วางหลอดทดลองแนวนอนในกระดาษกราฟ 30 นาที
9. บันทึกระยะทางการไหลของแป้งเป็นมิลลิเมตร

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม R (R core team, 2013) ทดสอบค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกโดยใช้วิธี Spearman ทดสอบความแตกต่างระหว่างข้าวนาปีและนาปรังโดยใช้วิธี Wilcoxon

## ผลการวิจัย

### ข้าวที่ปลูกฤดูนาปี

จากการศึกษาปริมาณอะไมโลสของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีพบว่า ข้าวเหนียวมีปริมาณอะไมโลสต่ำกระจายตัวอยู่ในช่วงแคบคือ 4.15 – 8.19 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวเจ้ามีปริมาณอะไมโลสกระจายตัวในช่วงกว้างคือ 13.74 – 31.80 เปอร์เซ็นต์ ความคงตัวของแป้งสุกของข้าวเหนียวมีค่าระยะทางการไหลของแป้งมากโดยมีค่ากระจายตัวอยู่ในช่วงแคบคือ 97.67 – 125.67 มิลลิเมตร ส่วนข้าวเจ้ามีการกระจายตัวของค่าระยะทางการไหลของแป้งเป็นช่วงกว้างคือ 24.67 – 150.67 มิลลิเมตร ดังแสดงในรูปที่ 1

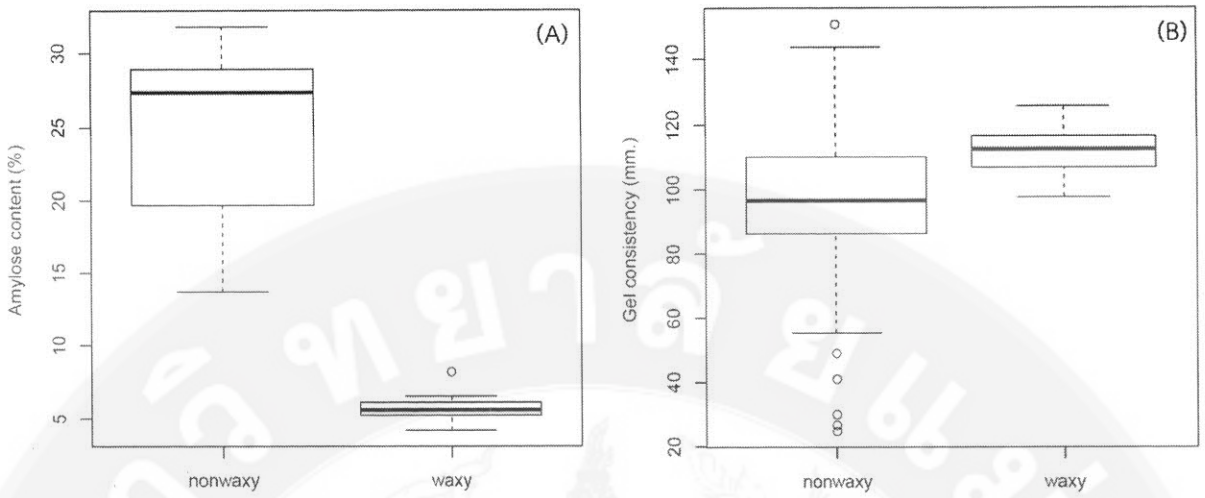



**Figure 1** Boxplot of amylose content (A) and gel consistency (B) in 114 Thai rice samples grown in season 2016.

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวนาปี โดยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์เชิงเส้นตรงพบว่าปริมาณอะไมโลสกับค่าความคงตัวของแป้งสุกสัมพันธ์กันเชิงบวกในระดับต่ำ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.359 และ 0.135 และค่า p เท่ากับ 0.0137 และ 0.0258 ในข้าวเหนียวและข้าวเจ้าตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2

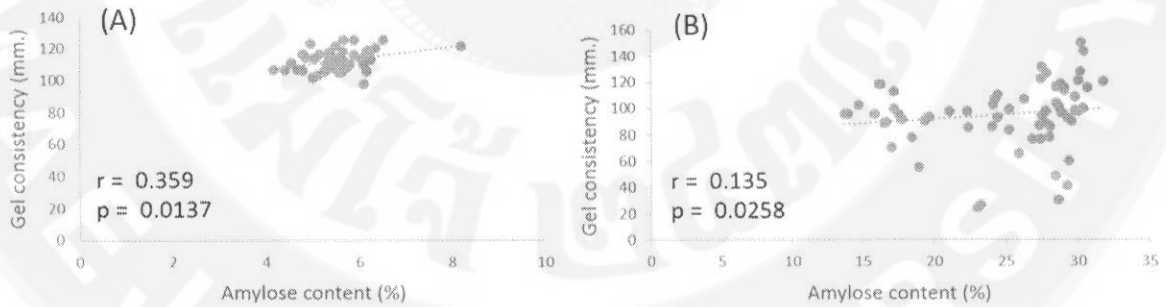



**Figure 2** Correlation between amylose content and gel consistency of Thai rice samples grown in season 2016. Data of 49 waxy rice samples (A) and 65 nonwaxy rice samples (B).

**ข้าวที่ปลูกฤดูนาปรัง**

ปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกของข้าวที่ปลูกในฤดูนาปรังมีรูปแบบการกระจายตัวคล้ายกับในข้าวนาปี คือ ปริมาณอะไมโลสของข้าวเหนียวมีค่าน้อยและมีการกระจายตัวในช่วงแคบ คือ 4.65-8.52 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวเจ้ามีกระจายตัวของปริมาณอะไมโลสกว้างคือในช่วง 12.40 – 31.44 เปอร์เซ็นต์ ค่า

ความคงตัวของแป้งสุกในข้าวเหนียวมีค่าระยะทางการไหลของแป้งมาก คือในช่วง 92-123.67 มม.ส่วนข้าวเจ้ามีการกระจายตัวของระยะทางการไหลของแป้งมากกว่าข้าวเหนียว คือในช่วง 46-125.67 มม. ดังแสดงในรูปที่ 3

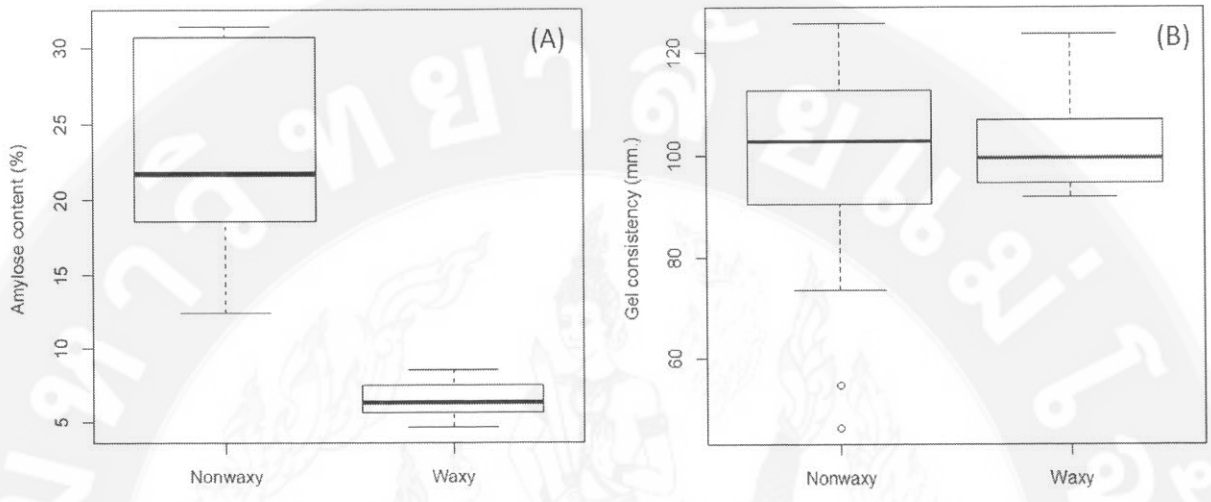



**Figure 3** Amylose content (A) and gel consistency (B) in 35 Thai rice samples grown off season in 2016.

**ความสอดคล้องของปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกระหว่างข้าวที่ปลูกฤดูนาปีกับนาปรัง**

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณอะไมโลส (รูปที่ 4A) และค่าความคงตัวของแป้งสุก (รูปที่ 4B) ระหว่างข้าวที่ปลูกในฤดูนาปีและนาปรังจำนวน 35 ตัวอย่าง พบว่าโดยส่วนใหญ่มีค่าใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p = 0.6135$) และ $p = 0.7026$ ตามลำดับ)

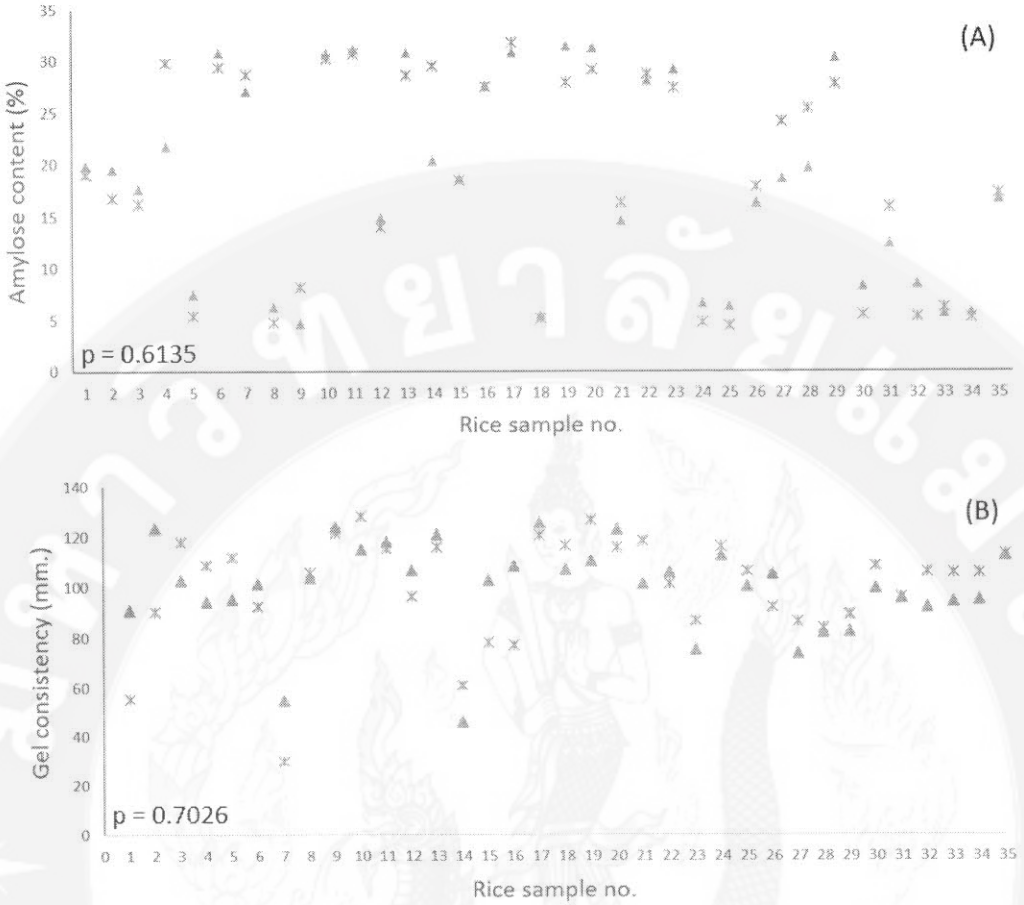



**Figure 4** Differences in physiochemical properties between 35 Thai rice samples grown in season (asterisk) and off season (triangle). Amylose content (A) and gel consistency (B).

## วิจารณ์ผลการวิจัย

ข้าวที่ทดลองมีทั้งที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ (0-9%) ซึ่งเป็นข้าวเหนียว ข้าวเจ้าอะไมโลสต่ำ (10-19%) ข้าวเจ้าอะไมโลสปานกลาง (20-25%) และข้าวเจ้าอะไมโลสสูง (>25%) และความคงตัวของแป้งสุกก็มีทั้งข้าวที่มีความคงตัวของแป้งสุกแข็ง (<40 มม.) ความคงตัวของแป้งสุกปานกลาง (40-60 มม.) และความคงตัวของแป้งสุกอ่อน (>60 มม.)

ในการทดลองนี้พบว่าข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสน้อย เช่น ข้าวเหนียวทุกตัวอย่างมีความคงตัวของแป้งสุกอ่อน แต่ในข้าวเจ้าซึ่งมีปริมาณอะไมโลสแตกต่างกันเป็นช่วงกว้างมีความคงตัวของแป้งสุกเป็นช่วงกว้างตั้งแต่แข็งไปถึงอ่อน และพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกทั้งในข้าวเหนียวและข้าวเจ้า ซึ่งแตกต่างจากการรายงานของ ละมุน (2555) ที่พบว่าข้าวที่มีอะไมโลสสูงมีแนวโน้มที่จะมีค่าความคงตัวของแป้งสุกแข็ง แต่สอดคล้องกับรายงานของ Cuevas and Fitzgerald (2012) ที่พบว่าข้าวเจ้ามีค่าความคงตัวของแป้งสุกตั้งแต่แข็งไปถึงอ่อน ทั้งนี้ความสัมพันธ์ทางสถิติที่ตรวจพบ

อาจเนื่องจากข้าวที่นำมาทดลองเป็นข้าวที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์หรือคัดเลือกพันธุ์ข้าวให้เหมาะกับความชอบของผู้บริโภค ดังนั้นแม้ว่าจะมีปริมาณอะไมโลสมากแต่ข้าวหุงสุกไม่แข็งเนื่องจากมีความคงตัวของแป้งสุกอ่อน และถึงแม้ว่าจะพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกแต่ค่าความสัมพันธ์อยู่ในระดับต่ำดังนั้นจึงไม่ควรใช้ปริมาณอะไมโลสทำนายค่าความคงตัวของแป้งสุก

จากการเปรียบเทียบค่าปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกระหว่าง 2 ฤดูปลูก พบว่าไม่แตกต่างทางสถิติ ดังนั้นความแตกต่างระหว่างข้าวแต่ละตัวอย่างน่าจะเป็นผลจากพันธุกรรม ซึ่งน่าจะมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่เกี่ยวข้องกับปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุก ความแตกต่างของปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกระหว่างฤดูของข้าวบางพันธุ์อาจเกิดจากอายุในการเก็บรักษาข้าว เนื่องจากข้าวแต่ละตัวอย่างมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันจึงเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงในเมล็ดข้าวแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ อลิษา และคณะ (2556) ซึ่งพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์มีการเปลี่ยนคุณสมบัติทางเคมีตามระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่เหมือนกัน และอุณหภูมิในการเก็บรักษาก็มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของข้าวเช่นเดียวกัน ยิ่งเก็บอุณหภูมิสูง การเปลี่ยนแปลงจากข้าวใหม่เป็นข้าวเก่าจะเกิดเร็วขึ้น (เพลงพิณ, 2541; อลิษา และคณะ, 2556) ซึ่งในการทดลองนี้ได้ปลูกข้าวนาปรังเร็วกว่าข้าวนาปี 6 เดือน และเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 9 เดือน ส่วนเมล็ดข้าวนาปีถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน ดังนั้นระยะเวลาในการเก็บและอุณหภูมิในการเก็บจึงน่าจะส่งผลให้ข้าวบางตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางแคมี นอกจากนี้สภาวะการปลูกที่แตกต่างกันระหว่างข้าวทั้ง 2 ฤดู ก็อาจจะส่งผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของข้าวบางตัวอย่างเช่นเดียวกัน (Chen *et al.*, 2012)

## สรุปผลการวิจัย

ข้าวไทยที่ศึกษามีความหลากหลายทั้งในปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุก และสิ่งแวดล้อมไม่มีผลหรือมีผลน้อยต่อปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุกในข้าวไทย ข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์ในการเลือกตัวอย่างข้าวเพื่อศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุก เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ 2559 ขอขอบคุณ ดร.กฤษณะ ลาน้ำเที่ยง ที่ช่วยให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

## เอกสารอ้างอิง

งามชื่น คงเสรี. 2547. คุณภาพข้าวสวย. หน้า 41-62. *ใน* กรมวิชาการเกษตร. **คุณภาพและการตรวจสอบข้าวหอมมะลิไทย**.

เชาวนีพร ชีพประสพ ฤทัยทิพย์ อโนมุณี และหาสันต์ สาเหล็ม. 2558. **องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณอะไมโลส ในข้าวพันธุ์พื้นเมือง จังหวัดพัทลุง**. 40 น. *ใน* รายงานผลการวิจัย. สงขลา: มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

เพลงพิณ ศิวาพรรักษ์. 2541. **ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณอะไมโลสคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 56 น.

ละมุน วิเศษ. 2555. ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพด้านการหุงต้มของข้าว. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา** 17(1): 172-180.

สมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย .2560. **ผลผลิตข้าว**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.thairiceexporters.or.th/ production.htm (14 สิงหาคม 2560).

อลิษา ชมพูพล้อย เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม ศันสนีย์ จำจด และชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย. 2556. ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืดของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ. **แก่นเกษตร** 41(4): 411-418.

Cagampang, G.B., CM. Perez and B.O. Juliano. 1973. A gel consistency test for eating quality in rice. **J. Sci. Food Agr**. 24:1598 -1594.

Chen, Y., M. Wang and P. B. F. Ouwerkerk. 2012. Molecular and environmental factors determining grain quality in rice. **Food and Energy Security** 1(2): 111–132.

Cuevas, R.P. and M. A. Fitzgerald. 2012. Genetic Diversity of Rice Grain Quality. Pp. 285-310. *In* Çalişkan, M. (ed.). **Genetic Diversity in Plants.**

Fitzgerald M.A., S.R. McCouch and R.D. Hall. 2009. Not just a grain of rice: the quest for quality. **Trends in Plant Science** 14: 133-139.

Mikami I., N. Uwatoko, Y. Ikeda, J. Yamaguchi, H.Y. Hirano, Y. Suzuki and Y. Sano. 2008. Allelic diversification at the wx locus in landraces of Asian rice. **Theor. Appl. Genet**. 116:979-989.

R Core Team. 2013. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Su Y., Y. Rao, S. Hu, Y. Yang, Z. Gao, G. Zhang, J. Liu, J. Hu, M. Yan, G. Dong, L. Zhu, L. Guo, Q. Qian and D. Zeng. 2011. Map-based cloning proves qGC-6, a major QTL for gel consistency of japonica/indica cross, responds by Waxy in rice (Oryza sativa L.). **Theor.Appl. Genet**. 123:859-867

Tran N.A., V.D. Daygon, A.P. Resurreccion, R.P. Cuevas, H.M. Corpuz and M.A. Fitzgerald. 2011. A single nucleotide polymorphism in the Waxy gene explains a significant component of gel consistency. **Theor Appl Genet**. 123:519-525.

Zhang Z., M. Li, Y. Fang, F. Liu, Y. Lu, Q. Meng, J. Peng, X. Yi, M. Gu and C. Yan. 2012. Diversification of the Waxy gene is closely related to variations in rice eating and cooking quality. **Plant Mol. Biol. Rep**. 30: 462-469