บทคัดย่อ

T165399

เนื่องจากข้าวเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย และมีจำนวนมากมายหลากหลายชนิด ทำให้เกิดความยุ่งยากในการจำแนกสายพันธุ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งการยืนยันสายพันธุ์ข้าวเพื่อการส่งออก ด้วยวิธีที่ถูกต้องแม่นยำและเชื่อถือได้ ดังนั้นงานวิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์เทคนิคแคลปิลลารีอิเลคโตรโฟรีซีสมาใช้ในการแยกโปรตีนจากข้าว เพื่อให้ได้รูปแบบกราฟและนำมาใช้เพื่อการจำแนกสายพันธุ์ข้าวชนิดต่างๆ หลักการคือการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกโปรตีนโดยแบ่งเป็น (1) สภาวะในการสกัดและเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ ตัวทำละลายในการสกัดโปรตีน เวลาในการสกัด ปริมาณและความเข้มข้นของตัวอย่างที่สกัดและ (2) ระบบการทำงานของแคลปิลลารีอิเลคโตรโฟรีซีส ได้แก่ อุณหภูมิในการแยก ขนาดของแคลปิลารี ปริมาณสารตัวอย่างที่ฉีด บัฟเฟอร์ที่ตัวกลางในการแยก และ ระบบการล้างแคลปิลลารี เป็นต้น จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมได้แก่ การสกัดโปรตีนจากข้าวด้วยสารละลาย propanol 50% เวลา 5 นาที จากนั้นผ่านการเย่าและเหวี่ยงตกตะกอนแล้วนำสารสกัดที่ใสมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องแคลปิลลารีอิเลคโตรโฟรีซีส Beckman MDQ โดยใช้แคลปิลลารีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 ไมครอน ยาว 20 เซนติเมตร และบัฟเฟอร์ iminodiacetic acid พบว่าสามารถแยกโปรตีนข้าวได้อย่างดี และเมื่อนำมารูปกราฟโปรตีนที่ได้จากแคลปิลลารีอิเลคโตรโฟรีซีสมาเปรียบเทียบระหว่างข้าวสายพันธุ์ต่างๆ สามารถแยกความแตกต่างได้ดี งานวิจัยประสบความสำเร็จในการแยกข้าวสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันซึ่งไม่สามาถแยกได้ง่ายด้วยตาเปล่า ได้แก่ ข้าวหอมมะลิ 105 กข 15 และ ปทุมธานี1 เป็นต้น นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังพบว่าสิ่งแวดล้อมหรือสภาวะการปลูกไม่มีผลต่อรูปแบบกราฟโปรตีนที่ได้จากข้าวสายพันธุ์เดียวกันแต่ปลูกในที่ต่างกัน ซึ่งผลการทดลองทำให้เราแน่ใจว่าการใช้รูปแบบกราฟของโปรตีนโพรลามีนที่สกัดข้าวสามรถนำมาใช้ในการบ่งบอกสายพันธุ์ข้าวได้โดยไม่ขึ้นอยู่กับถึงสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่าเทคนิคแคลปิลลารีอิเลคโตรโฟรีซีสเป็นเทคนิคที่ใช้การแยกโปรตีนจากข้าวและนำมาใช้เพื่อการจำแนกสายพันธุ์ข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว และง่ายต่อการนำไปใช้

Abstract

TE165399

Capillary electrophoresis (CE) has been adapted for the identification of rice varieties, suiting this method for the first time to the needs of the rice industry in Thailand. This study aimed to evaluate this technique for the fractionation of rice proteins and thus for distinction between rice genotypes. The conditions of sample preparation and CE used were optimised to suit Thai requirements. Factors considered the optimisation of the CE system were capillary size, cartridge temperature, voltage and current supply, injection volume, detection wave length and capillary clean-up protocol. In addition, samples treatment and concentration were varied to provide best results. The optimised condition was that rice prolamins were extracted with 50% propanol for 5 minutes, the mixture was vortexed and centrifuged. The protein composition of the supernatant was analysed on a Beckman MDQ CE equipment, using a 20-cm (detective length) fused silica capillary (50 or 75 μm i.d.) at 40°C in iminodiacetic acid buffer. Fifty rice varieties were analysed using the optimised conditions each analysis taking only 10 minutes. The results showed that CE could differentiate all these varieties effectively and rapidly. Application of CE to differentiation between close lines of rice such as Hom Mali 105 (KDML 105) Ko-Kho 15 (RD15) and Pathumtani 1(PTT1), has been successfully achieved. This study has also extended the results from previous reports that common environmental factors have no effect on the electrophoretic patterns of prolamin proteins. Therefore the stability of prolamin CE patterns with respect to environmental factors provides the CE procedure as a promising method for varietal identification. This study complements our previous studies to demonstrate that CE is an effective tool for cereal variety identification.