การระบุแหล่งที่มาของตัวอย่างงาช้างและข้าวโดยการวิเคราะห์ลายนิ้วมือธาตุ และการศึกษาโปรตีนที่มีธาตุซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบในข้าว ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางแมสสเปกโทรเมทรี

SOURCE IDENTIFICATION OF ELEPHANT IVORY AND RICE BASED ON MULTI-ELEMENT FINGERPRINTING AND SELENOPROTEOMIC ANALYSIS OF RICE USING MASS SPECTROMETRY BASED APPROACHES

ประชา เจียเจษฎากุล 5338219 SCAC/D

ปร.ด. (เคมีวิเคราะห์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: อทิตยา ศิริภิญญานนท์, Ph.D., ยุวดี เชี่ยววัฒนา, Ph.D., โจแอนนา สปุนา, Ph.D., วเรศ วีระสัย, Dr.rer.nat.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้นำเสนอการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ทางแมสสเปกโทรเมทรี เพื่อใช้ในการระบุแหล่งที่มาของตัวอย่างงาช้างและข้าวโดยการวิเคราะห์ลายนิ้วมือธาตุ และการศึกษาโปรตีนที่มีธาตุซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบในข้าว

ในงานวิจัยส่วนแรก เป็นการพัฒนาเทคนิคอินดัคทีฟลีคัพเพิลพลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรีแบบใช้แสงเลเซอร์ สำหรับการตรวจหาแหล่งที่มาของตัวอย่างงาช้างเอเชียและตัวอย่างงาช้างแอฟริกา ตัวอย่างงาช้างทั้งที่ทราบและไม่ทราบแหล่งที่มา ทั้งหมด 37 ตัวอย่าง ถูกนำมาวิเคราะห์โดยตรงหลังจากทำความสะอาดพื้นผิว จากนั้น ตัวอย่างงาช้างจะถูกนำมายิงด้วยแสงเลเซอร์เพื่อสะกิดผิวก่อน เพื่อหลีกเลี่ยงสิ่งปนเปื้อนที่อยู่บนพื้นผิวของตัวอย่างงาช้างก่อนทำการวิเคราะห์จริง องค์ประกอบธาตุที่พบอยู่ในตัวอย่างงาช้าง ถูกนำมาประมวลผลในเทอมของอัตราส่วนค่าของสัญญาณ ธาตุแคลเซียม ซึ่งเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลักในงาช้าง ถูกใช้เป็นธาตุมาตรฐานภายในสำหรับการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ เพื่อปรับค่าสัญญาณของธาตุให้ได้ค่าที่ปกติและเพื่อแก้ไขความแปรปรวนของสัญญาณที่เกิดจากประสิทธิภาพของการยิงสะกิดผิวและความแปรปรวนของพลาสมา ในงานนี้ การวิเคราะห์จำแนกประเภท ถูกนำมาใช้ในการจำแนกตัวอย่างงาช้าง โดยใช้ตัวแปรข้อมูล 11 ตัวแปร ในการศึกษานี้บ่งชี้ว่า ลายนิ้วมือธาตุนั้น สามารถนำมาใช้ประโยชน์เพื่อตรวจหาแหล่งที่มาของตัวอย่างงาช้างได้

ในงานวิจัยส่วนที่สอง เป็นการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ลายนิ้วมือธาตุโดยใช้เทคนิคอินดัคทีฟลีคัพเพิลพลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรี ร่วมกับการวิเคราะห์เชิงสถิติหลายตัวแปร เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบความถูกต้องของตัวอย่างข้าว ตัวอย่างข้าวหอมมะลิไทยทั้งหมด จำนวน 31 ตัวอย่าง และตัวอย่างข้าวจากต่างประเทศ จำนวน 5 ตัวอย่าง (ฝรั่งเศส, อินเดีย, อิตาลี, ญี่ปุ่น และปากีสถาน) ถูกนำมาวิเคราะห์หลังจากผ่านการย่อยด้วยกรด ตัวแปรข้อมูล 21 ตัวแปร ถูกนำมาประมวลผลโดยใช้กราฟใยแมงมุมและการวิเคราะห์เชิงสถิติหลายตัวแปร ซึ่งประกอบไปด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักและการวิเคราะห์จำแนกประเภท ทำให้สามารถจำแนกตัวอย่างข้าวที่สอดคล้องกับแหล่งที่มาทางภูมิศาสตร์นั้นๆ ได้ ในงานวิจัยนี้ ข้าวหอมมะลิไทยสามารถจำแนกออกจากข้าวจากต่างประเทศได้อย่างชัดเจน อีกทั้งเทคนิคการวิเคราะห์จำแนกประเภท สามารถที่จะใช้จำแนกข้าวหอมมะลิไทยที่มาจากภูมิภาคต่างๆในประเทศไทยได้ ซึ่งประกอบไปด้วย ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง นอกจากนี้ ยังได้ทำการเปรียบเทียบการใช้เทคนิคอินดัคทีฟลีคัพเพิลพลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรีที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อการวิเคราะห์ธาตุเชิงปริมาณกับเทคนิคอินดัคทีฟลีคัพเพิลพลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรีเพื่อการวิเคราะห์ธาตุเชิงกึ่งปริมาณ ในงานนี้อีกด้วย

ในงานวิจัยส่วนที่สาม เป็นการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์โปรตีน โดยใช้เทคนิคอินดัคทีฟลีคัพเพิลพลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรีเพื่อช่วยในการระบุชนิดของโปรตีนที่มีธาตุซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบในข้าว ที่เจริญเติบโตในดินที่มีธาตุซีลีเนียมสูง โปรตีนในข้าว ถูกแยกด้วยวิธีเจลอิเล็คโทรโฟริซิสแบบ 2 มิติ ตำแหน่งของโปรตีนที่มีธาตุซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบในตัวอย่างข้าวที่แยกได้นั้น ถูกระบุได้คร่าวๆ บนเจล ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างวิธีไอโซอิเล็คทริคโฟกัสซิงอิเล็คโทรโฟริซิสแบบ 1 มิติ (1D IEF) และวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็คโทรโฟริซิสแบบ 1 มิติ (1D SDS-PAGE) จากนั้น ทำการยืนยันตำแหน่งของโปรตีนบนเจล ด้วยการสร้างภาพไอโซโทปของธาตุซิลิเนียมโดยใช้เทคนิคอินดัคทีฟลีคัพเพิลพลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรีแบบใช้แสงเลเซอร์ เมื่อได้ทำการย่อยโปรตีนแล้ว โปรตีนจะถูกระบุชนิด ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูงชนิดความดันสูงแบบคาปิลลารี ร่วมกับการตรวจวัดแบบควบคู่ ด้วยเทคนิคอินดัคทีฟลีคัพเพิลพลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรีและอิเล็คโทรสเปรย์ออบิแทร็ป-แมสสเปกโทรเมทรี พบว่า ธาตุซีลีเนียมปรากฏในรูปของกรดอะมิโนซีลีโนเมทไธโอนีน (SeMet) และกรดอะมิโนซีลีโนซิสทีอีน (SeCys) อยู่ในกลุ่มของโปรตีนในข้าว ซึ่งประกอบไปด้วย โปรตีน 19 กิโลดัลตันโกลบูลิน, โปรตีนกรานูล-บาวด์สตาร์ชซินเตส และกลุ่มของโปรตีนกลูเตลิน-ไทป์ซีดสโตเรจ อัตราส่วนการแทนที่ของธาตุซีลีเนียมในธาตุซัลเฟอร์พบว่าสามารถเกิดการแทนที่ในกรดอะมิโนซีลีโนเมทไธโอนีนได้มากกว่ากรดอะมิโนซีลีโนซิสทีอีน ประมาณ 2 เท่า

196 หน้า