บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอก โดยใช้สารละลายกรดกลูตามิกแทนน้ำในขั้นตอนการแช่เมล็ดทานตะวัน โดยในงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีการเพาะงอกแบบ Komatsuzaki และคณะ (2007) คือการแช่เมล็ดทานตะวันในสารละลายเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นเทสารละลายออก บ่มต่อในภาชนะปิดเป็นเวลาอีก 16 ชั่วโมง แล้วจะนำมาศึกษาหาความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เหมาะสมในการเพาะงอก โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดกลูตามิกนั้น จะต้องไม่ทำให้อัตราการงอกของเมล็ดทานตะวันเพาะงอกลดลง และไม่ทำให้ลักษณะปรากฏของเมล็ดทานตะวันเปลี่ยนแปลง เมื่อได้ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกแล้วจะนำมาศึกษาร่วมกับปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการสังเคราะห์สารกาบาในพืช คือ เวลา อุณหภูมิ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะปลูกต้นอ่อนทานตะวันงอก

4.1 ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่เหมาะสมในการเพาะงอกเมล็ดทานตะวัน

จากการเตรียมสารละลายกรดกลูตามิกโดยแปรปริมาณความเข้มข้นของกรดกลูตามิกเป็น 5, 10, 15, 20 และ 25 mM พบว่าอัตราการงอกของเมล็ดทานตะวันอยู่ในช่วงร้อยละ 92-97 ตามลำดับ และลักษณะปรากฏของทานตะวันงอกก็แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดโดยเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.1) คือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดกลูตามิก เมล็ดทานตะวันจะมีลักษณะเปื่อยยุ่ยบริเวณผิวนอกมากขึ้น

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกมีอิทธิพลต่ออัตราการงอกของทานตะวัน พบว่าความเข้มข้น 5-20 mM ไม่มีผลต่ออัตราการงอก และลักษณะปรากฏของข้าว ที่ความเข้มข้น 25 mM ไม่มีผลอัตราการงอก แต่ทานตะวันงอกที่ได้จะมีลักษณะเปื่อย โดยเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นการเปื่อยของเมล็ดทานตะวันก็จะเพิ่มขึ้นด้วย เมล็ดทานตะวันที่ได้มีกลิ่นฉุนคล้ายแอมโมเนีย ทั้งนี้การเกิดกลิ่นฉุนคล้ายแอมโมเนียน่าจะเกิดจากการที่มีปริมาณกรดกลูตามิก มากเกินไปทำให้เกิดการผันกลับของปฏิกิริยา เกิดการเปลี่ยนกรดกลูตามิกให้กลายเป็นแอมโมเนียและ แอลฟา คีโตกูตาเรท โดยเอนไซม์ ทรานซามิเนส (ภาพที่ 2.1)

ในช่วงความเข้มข้น 5-25 mM ลักษณะการงอกของรากของเมล็ดทานตะวันจะแตกต่างกันคือที่ความเข้มข้น 0-5 mM รากของทานตะวันจะมีลักษณะฟูรอบๆ จมูก (ภาพที่ 4.1) ความเข้มข้น

10-20 mM รากของทานตะวันมีลักษณะฟูโหย่งรอบจมูก (ภาพที่ 4.2) ที่ความเข้มข้น 25 mM ราก จะยาวโหย่งออกมาจากจมูก (ภาพที่ 4.3)

ตารางที่ 4.1 อัตราการงอกของเมล็ดทานตะวัน จากการเพราะงอกด้วยกรดกลูตามิกความเข้มข้น 0-25 mM และลักษณะปรากฏ

ความเข้มข้น	อัตราการงอกครั้งที่			เฉลี่ย	ลักษณะปรากฏ
	1	2	3		
0	95	95	95	95	เมล็ดปกติ รากฟูรอบๆ จมูก
5	96	96	96	96	เมล็ดปกติ รากฟูรอบๆ จมูก
10	97	96	98	97	เมล็ดปกติ รากฟูโหย่ง
15	98	96	97	97	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
20	99	99	99	99	เมล็ดปกติ รากโหย่ง
25	96	90	90	92	เมล็ดเปื่อย รากโหย่ง

จากผลการทดลอง ทำให้สามารถเลือกความเข้มข้นของกรดกลูตามิกที่ไม่มีผลต่ออัตราการงอกและลักษณะปรากฏของทานตะวันงอก ซึ่งความเข้มข้นของกรดกลูตามิกอยู่ในช่วง 5-25 mM โดยในการวิจัยนี้เลือกแปรความเข้มข้นของกรดกลูตามิก เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไปเป็น 5 ระดับ คือ 5, 10, 15, 20 และ 25 เนื่องจากความเข้มข้นทั้ง 5 ระดับนี้มีลักษณะการงอกของรากเมล็ดทานตะวันที่แตกต่างกัน

ภาพที่ 4.1 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากฟู

ภาพที่ 4.2 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากบางส่วนฟูบางส่วนโหย่ง

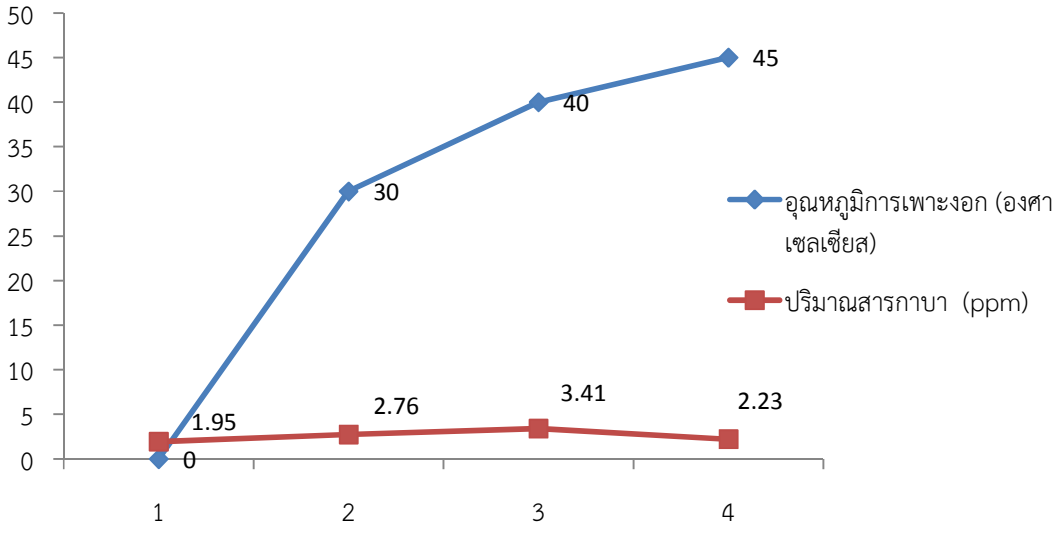
ภาพที่ 4.3 ลักษณะการงอกของรากทานตะวันงอก รากยาวโหย่ง

4.2 สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะงอกเมล็ดทานตะวันด้วยการเติมกรดกลูตามิก

จากการศึกษาเพาะงอกเมล็ดทานตะวัน โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเพาะงอกควบคุมและแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะงอก 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ดทานตะวัน แต่เมื่อใช้อุณหภูมิเพาะงอกเป็น 45 องศาเซลเซียส พบว่าเมล็ดทานตะวันมีอัตราการงอก เท่ากับ 0 ซึ่งเมื่อนำเมล็ดทานตะวันที่ได้จากการเพาะงอกที่อุณหภูมิต่างๆ มาวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา พบว่าปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวันที่ผ่านการเพาะงอกแล้วมีปริมาณสูงกว่าซึ่งผลการทดลองที่ได้ขัดแย้งกับอัตราการงอกของเมล็ดทานตะวัน คือในเมล็ดทานตะวันที่มีอัตราการงอกเป็น 0 มีปริมาณสารกาบามากกว่าทานตะวันเมล็ดแห้ง (ตารางที่ 4.2) แสดงให้เห็นว่าถึงแม้เมล็ดทานตะวันจะไม่งอก ก็สามารถสร้างสารกาบาได้เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 4.5)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวันงอก ที่เพราะงอกด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิการเพาะงอก (องศาเซลเซียส)	**ปริมาณสารกาบา** (ppm)
ทานตะวันเมล็ดแห้ง	1.95
30	2.76
40	3.41
45	2.23



ภาพที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิกับปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวันงอกที่เพาะงอกด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่างๆ

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวัน ที่เพราะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ

ความเข้มข้น (mM)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารกาบา (ppm)
5	30	0	3.75
		12	4.04
		16	4.13
		20	4.28
		24	4.13
	40	0	4.08
		12	4.54
		16	4.59
		20	4.69
		24	4.86
	45	0	2.32
		12	2.48
		16	2.59
		20	2.74
		24	2.99
10	30	0	3.84
		12	4.03
		16	4.60
		20	4.77
		24	4.97
	40	0	4.41
		12	4.75
		16	4.77
		20	4.89
		24	5
	45	0	3.43

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวัน ที่เพราะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้น (mM)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารกาบา (ppm)
	45	12	3.54
		16	3.64
		20	3.65
		24	3.74
15	30	0	4.11
		12	4.20
		16	4.35
		20	4.65
		24	4.68
	40	0	4.31
		12	4.58
		16	4.61
		20	4.68
		24	4.77
	45	0	3.44
		12	3.73
		16	3.74
		20	3.94
		24	4.02
20	30	0	4.11
		12	4.20
		16	4.30
		20	4.40
		24	4.59
	40	0	4.60
		12	4.95
		16	5.20
		20	5.07
		24	5.08
	45	0	3.99

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารกาบาในเมล็ดทานตะวัน ที่เพราะงอกด้วยกรดกลูตามิกที่สภาวะต่างๆ (ต่อ)

ความเข้มข้น (mM)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารกาบา (ppm)
	45	12	4.10
		16	4.11
		20	4.11
		24	4.12
25	30	0	4.12
		12	4.38
		16	4.4
		20	4.49
		24	4.71
	40	0	4.21
		12	4.42
		16	4.51
		20	4.66
		24	4.67
	45	0	3.74
		12	4.02
		16	4.02
		20	4.13
		24	4.21

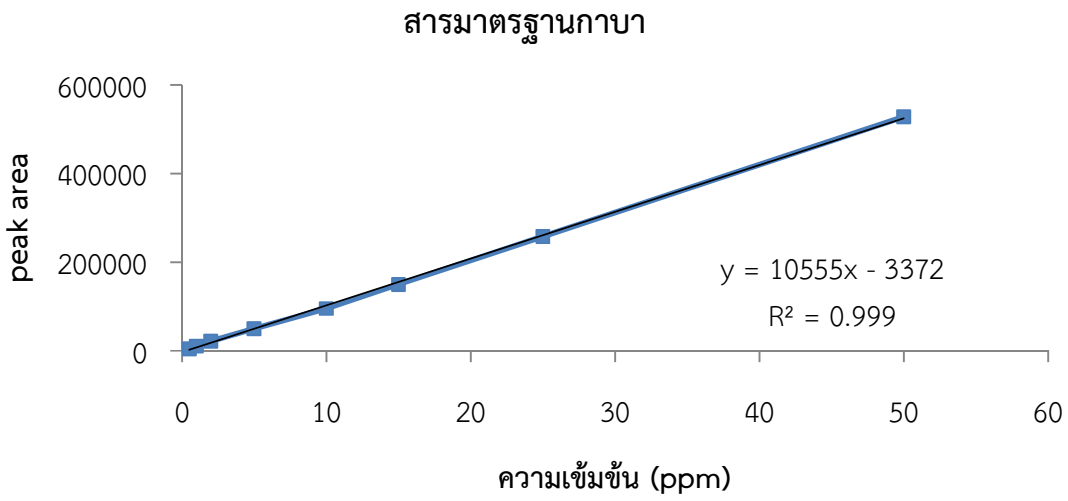
อุณหภูมิ และระยะเวลามีอิทธิพลต่อปริมาณสารกาบา ซึ่งพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 30 เป็น 40 องศาเซลเซียส และระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะงอกเพิ่มขึ้นจาก 12 ชั่วโมง เป็น 16 ชั่วโมง ปริมาณสารกาบาก็จะเพิ่มขึ้น เช่น ในเมล็ดทานตะวันงอกที่ความเข้มข้นของกรดกลูตามิกเท่ากับ 10 mM อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12, 16 ชั่วโมง มีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 4.03, 4.60 ppm ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 12, 16 ชั่วโมง มีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 4.75, 4.77 ppm แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 45 องศาเซลเซียส และระยะเวลาเป็น 12, 16 ชั่วโมง ปริมาณสารกาบากลับลดลง เหลืออยู่ 3.54, 3.65 ppm

4.3 ปริมาณสารกาบาในตัวอย่างทานตะวันงอก

การศึกษาปริมาณสารกาบา ที่ได้โดยนำพื้นที่ใต้กราฟไปเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานกาบา จะพบว่ามีความเป็นเส้นตรงที่ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.25-50 ppm (ตารางที่ 4.4) และจะได้สมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์เป็น y = 10555x -3372 (R^2 = 0.999)

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นของ standard กับ peak area

ความเข้มข้นของ standard (ppm)	Peak area			
	ครั้งที่ 1	**ครั้งที่ 2**	**ครั้งที่ 3**	**เฉลี่ย**
0.5	4100	4000	4500	4200
1	10400	10000	10400	10270
2	22000	23500	20700	22070
5	53400	49300	48000	50230
10	95000	95800	95300	95370
15	152300	146900	150100	149770
25	261300	254400	259000	258230
50	535000	521200	528000	528070



ภาพที่ 4.5 แสดงความเข้มข้นของ standard กับ peak area