สัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวกับปริมาณไทอามีนในเมล็ดข้าวไทย (*Oryza sativa* L.)
Grain Morphology and Thiamine Content in Thai Rice (*Oryza sativa* L.) Grains

มณฑนี โพธิ์แสง[1/] ภาคภูมิ พระประเสริฐ[*]
Monthani Phosaeng[1/] Phakpoom Phraprasert[*]

Received 30 Jan 2019/Revised 01 April 2019/Accepted 14 May 2019

ABSTRACT

Rice is a nutritious cereal which contains several vitamins especially vitamin B1 or thiamine. There were reports of thiamine present in parts of rice grain particularly in bran, but samples analyzed were usually contaminated by starch from endosperm which caused thiamine estimation to be lower than its real value. This research reports the investigations of morphology and thiamine contents in grain parts of 6 rice cultivars; RD11, RD29, RD41, RD43, Suphunburi 1 and Phitsanulok 2. Grain size and weight were measured and the results showed statistically significant difference ($P<0.05$). Width, length, and weight were between 1.82-2.05 mm, 6.89-7.46 mm, and 17.66-20.74 g/1,000 grains, respectively. The volume of endosperm, embryo and bran were 10.70-14.55, 0.58-1.08 and 1.19-1.73 mm^3, respectively. Thiamine in endosperm, embryo and bran were extracted by deionized water and analyzed by HPLC. Thiamine contents were 0.4-0.8, 13.8-21.2, 30.4-54.8 ng/mm^3, respectively. The results showed the highest thiamine concentration in bran of each variety and demonstrated the importance of bran as a site of thiamine storage. Thiamine concentration in bran per volume varied among varieties up to 1.5 times suggested that other factors might be involved in thiamine accumulation in addition to bran volume. Varieties RD11 and Suphunburi 1 had the highest thiamine content in brown rice. They might be used as genetic resources to develop high-thiamine rice cultivars in the future.

Key words: rice bran, bran volume, seed volume, vitamin B1

[1/] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

[1/] Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Saensook, Mueng, Chonburi 20131

* Corresponding author: phakpoom@go.buu.ac.th

บทคัดย่อ

ข้าวเป็นธัญพืชที่เป็นแหล่งวิตามินที่ดี โดยเฉพาะวิตามินบี 1 หรือไทอามีน (thiamine) ซึ่งสะสมอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดข้าว และมีการศึกษาปริมาณไทอามีนในส่วนต่าง ๆ ของข้าวจำนวนมากโดยเฉพาะในส่วนรำข้าว แต่ตัวอย่างในการศึกษามีแป้งจากเอ็นโดสเปิร์มเจือปน ซึ่งทำให้ปริมาณไทอามีนที่วิเคราะห์ได้น้อยกว่าความเป็นจริง ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด ได้แก่ ขนาด น้ำหนัก และปริมาตรของส่วนต่าง ๆ ได้แก่ เอ็นโดสเปิร์ม เอ็มบริโอ และชั้นรำ เพื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณไทอามีนในส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ได้แก่ กข11 กข29 กข41 กข43 สุพรรณบุรี 1 และพิษณุโลก 2 พบว่า ข้าวทั้ง 6 พันธุ์ มีขนาดและน้ำหนักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีขนาดความกว้าง ความยาวและน้ำหนักอยู่ระหว่าง 1.82-2.05 มม. 6.89-7.46 มม. และ 17.66-20.74 กรัม/1,000 เมล็ด ตามลำดับ ข้าวทั้ง 6 พันธุ์ มีปริมาตรของเอนโดสเปิร์ม 10.70-14.55 ลบ.มม. ปริมาตรเอ็มบริโอและปริมาตรชั้นรำ 0.58-1.08 และ 1.19-1.73 ลบ.มม./เมล็ด ตามลำดับ เมื่อทำการหาปริมาณไทอามีนโดยการสกัดด้วยน้ำและวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า เอนโดสเปิร์มมีไทอามีน 0.4-0.8 นาโนกรัม/ลบ.มม. เอ็มบริโอมีไทอามีน 13.8-21.2 นาโนกรัม/ลบ.มม. ชั้นรำมีไทอามีน 30.4-54.8 นาโนกรัม/ลบ.มม. ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ชั้นรำเป็นชั้นที่มีไทอามีนมากที่สุด อย่างไรก็ตามปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรชั้นรำมีความผันแปรระหว่างพันธุ์มากถึง 1.5 เท่า แสดงให้เห็นว่าชั้น รำมีความสำคัญในการเป็นพื้นที่สะสมไทอามีน แต่อาจมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการสะสมไทอามีนในชั้นรำด้วย ทั้งนี้ พบว่า ข้าวพันธุ์กข11 และสุพรรณบุรี 1 มีปริมาณไทอามีนในชั้นรำมากที่สุด ดังนั้น จึงอาจใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงข้าวที่มีไทอามีนสูงต่อไป

คำสำคัญ: รำข้าว ปริมาตรชั้นรำ ปริมาตรเมล็ด วิตามินบี 1

บทนำ

ข้าวเป็นธัญพืชที่สำคัญ เนื่องจากเป็นแหล่งอาหารที่ให้คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักจากอาหารที่ได้รับสำหรับประชากรกว่าครึ่งโลก (Radanielson *et al*., 2018) รวมทั้งเป็นพืชอาหารและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย (J. X. Liu *et al*., 2017) และนอกจากคาร์โบไฮเดรตแล้ว ข้าวยังให้วิตามิน เกลือแร่และสารอินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น ไทอามีน (thiamine) โทโคฟีรอล (tocopherol) เหล็ก ออไรซานอล (oryzanol) และแอนโธไซยานิน (anthocyanins) เป็นต้น (Boonyaves *et al*., 2016; Pengkumsri *et al*., 2015) มีรายงานว่าข้าวกล้องมีคุณค่าทางอาหารสูงกว่าข้าวที่ผ่านการขัดสี ส่วนของรำที่ถูกขัดสีออกมานั้น ประกอบด้วย เอ็มบริโอ ชั้นผนังผล (pericarp) เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) ชั้นแอลิวโรน (aleurone layer) และบางส่วนของเอนโดสเปิร์มที่สะสมแป้ง (starchy endosperm) (K. Liu *et al*., 2017)

ไทอามีน หรือวิตามินบี 1 เป็นวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกาย เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ ไทอามีนได้ เมื่อร่างกายได้รับไทอามีนจากอาหาร เซลล์ในร่างกายจะเปลี่ยนไทอามีนเป็นไทอามีนไพโรฟอสเฟต (thiamine pyrophosphate) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเป็นโมเลกุลที่ทำงานร่วมกับเอนไซม์ (coenzyme) ในการเร่งปฏิกิริยาในวิถีเพนโทสฟอสเฟต (pentose phosephate pathway)

การเปลี่ยนไพรูเวท (pyruvate) เป็นอะซิติลโคเอ (acetyl CoA) และวัฏจักรเครป (Krebs cycle) และยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างสารสื่อประสาท ผู้ที่ขาดไทอามีนจะมีอาการชา เบื่ออาหาร และอ่อนล้า เป็นต้น และอาจมีอาการรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Hifer *et al*., 2016) ซึ่งข้าวเป็นธัญพืชชนิดหนึ่งที่เป็นแหล่งอาหารที่ให้ไทอามีน โดยมีรายงานว่า ข้าวมีปริมาณไทอามีนประมาณ 0.14-0.61 มก./100 กรัม (ผาณิต และคณะ, 2555; มณฑนี และคณะ, 2561) อย่างไรก็ตาม วิธีการวิเคราะห์หาไทอามีนจะนำเมล็ดข้าวมาบดให้ละเอียด แล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไทอามีน ข้อมูลที่ได้เป็นข้อมูลปริมาณไทอามีนเฉลี่ยของทุกส่วนของเมล็ด ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในด้านโภชนาการ แต่โดยความเป็นจริงส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดมีการสะสมไทอามีนไม่เท่ากัน โดยในส่วนของเอนโดสเปิร์มมีไทอามีนเพียงประมาณร้อยละ 3-10 เท่านั้น (Lebiedzinska and Szefer, 2006) ดังนั้น ข้อมูลแบบเดิมอาจไม่เพียงพอสำหรับนักวิทยาศาสตร์หรือนักปรับปรุงพันธุ์พืช เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพิจารณาพัฒนาพันธุ์ข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพัฒนาพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณไทอามีนสูง

ปัจจุบันแนวคิดการพัฒนาพันธุ์ข้าวจำแนกได้เป็น 3 เป้าหมายหลัก ได้แก่ การเพิ่มความแข็งแรงสมบูรณ์ของต้นข้าวเพื่อต้านทานต่อปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ (Bernier *et al*., 2008) การเพิ่มผลผลิต (Zhou *et al*., 2017) และการเพิ่มคุณค่าทางอาหาร (Paine *et al*., 2005) แนวคิดการพัฒนาพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิตแนวคิดหนึ่ง คือ การเพิ่มขนาดเมล็ด โดยเฉพาะการเพิ่มการสะสมแป้งในเอนโดสเปิร์ม ซึ่งแม้การเพิ่มได้เพียงเล็กน้อย แต่เมื่อพิจารณาผลผลิตต่อพื้นที่แล้วย่อมได้ผลผลิตสูงขึ้น แต่หากนำเมล็ดดังกล่าว ไปวิเคราะห์หาปริมาณไทอามีนอาจพบว่า มีปริมาณไทอามีนต่ำลง (Myers *et al*., 2014) ทั้งนี้ อาจเกิดจากการวิเคราะห์รวมทั้งเมล็ดเมื่อขนาดและน้ำหนักเอนโดสเปิร์มเพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณไทอามีนของเมล็ดลดลง รวมทั้งข้อเท็จจริงที่ว่าวิตามินและเกลือแร่สะสมมีอยู่มากในชั้นรำ (ชั้นผนังผล เยื่อหุ้มเมล็ดและชั้นแอลิวโรน) และเอ็มบริโอ ดังนั้น ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการอาจต้องพิจารณาถึงสัณฐานของเมล็ดดังกล่าวด้วย

Chen and McClung (2019) รายงานว่า รำข้าวที่ได้จากการขัดสีมีแป้งจากเอ็นโดสเปิร์มเจือปน ดังนั้น หากนำข้าวที่ผ่านการขัดสีมาใช้ในการหาปริมาณไทอามีน จะพบว่า เมล็ดข้าวขาวซึ่งเป็นส่วนของเอนโดสเปิร์มที่สะสมแป้งที่ได้มีขนาดเล็กกว่าขนาดจริง เนื่องจากการขัดสีทำให้มีแป้งจากเอนโดสเปิร์มติดไปด้วย หรือการนำรำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไทอามีน จะพบว่า รำที่ได้มีน้ำหนักเกินจริง เนื่องจากมีแป้งจากเอนโดสเปิร์มเจือปน ดังนั้น ปริมาณไทอามีนที่วิเคราะห์ได้จึงขึ้นกับคุณภาพการขัดสีทำให้มีแป้งจากเอ็นโดสเปิร์มเจือปนมากน้อยเพียงใด หากมีการเจือปนมาก จะทำให้การคำนวณหาไทอามีนมีปริมาณน้อยกว่าความเป็นจริงของปริมาณในชั้นรำข้าว ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการใช้วิธีการหาปริมาณที่สามารถลดความคลาดเคลื่อนจากการเจือปนของแป้งเพื่อให้ได้ปริมาณไทอามีนในชั้นรำข้าวที่มีความแม่นยำมากขึ้น ซึ่งในการทดลองนี้ได้อาศัยการคำนวณหาปริมาณไทอามีนบนพื้นฐานความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนัก ความหนาแน่นและปริมาตรของเอ็นโดสเปิร์ม

ในการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาในข้าวจำนวน 6 พันธุ์ ซึ่งเป็นข้าวไม่ไวแสงสามารถปลูกได้ตลอดปี มีผลผลิตสูง มีลักษณะของเมล็ดที่เป็นที่

นิยมของตลาด และมีศักยภาพในการเป็นแหล่งพันธุกรรมที่ดี โดยทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ด ได้แก่ ขนาด น้ำหนัก ปริมาตรของส่วนต่าง ๆ และความหนาแน่นของเอนโดสเปิร์ม เพื่อนำไปสู่การหาปริมาณไทอามีนในแต่ละส่วนของเมล็ดได้แก่ เอ็มบริโอ เอนโดสเปิร์ม และชั้นรำ เพื่อให้ได้ข้อมูลปริมาณไทอามีนของเมล็ดข้าวที่สะท้อนความเป็นจริงมากขึ้น และเป็นข้อมูลสำหรับนักพัฒนาพันธุ์ข้าวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. พันธุ์ข้าวและวิธีการปลูก

พันธุ์ข้าวที่ทำการศึกษาจำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ กข11 กข29 กข41 กข43 สุพรรณบุรี 1 และพิษณุโลก 2 (RD11, RD29, RD41, RD43, Suphanburi 1, and Phitsanulok 2) (ได้รับความอนุเคราะห์จาก กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์) โดยนำเมล็ดมาเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ดที่มีความชื้นที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเมล็ดงอกและต้นกล้ามีอายุ 10 วันหลังงอก ทำการย้ายต้นกล้าข้าวลงปลูกในกระถางพลาสติกบรรจุดิน 1 กก. ที่ผสมกับปุ๋ยละลายช้า สูตร 13-13-13 จำนวน 10 ก. ปลูกต้นข้าวจำนวน 1 ต้น/กระถาง นำกระถางไปใส่ในอ่างซีเมนต์ที่มีน้ำ ควบคุมให้น้ำอยู่ที่ระดับผิวดิน และเก็บเกี่ยวเมื่อรวงสุกเต็มที่ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยแต่ละพันธุ์ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

2. การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าว

ในการศึกษานี้ขอจำกัดนิยามศัพท์ที่ใช้ ดังนี้ *เมล็ดข้าว* หมายถึง ผลข้าวที่นำส่วนของเล็มมา (lemma) พาเลีย (palea) ออก *ข้าวกล้อง* หมายถึง เมล็ดข้าวที่นำเอ็มบริโอหรือจมูกข้าวออก *เอ็มบริโอ* หมายถึง คัพภะหรือส่วนที่จะเจริญต่อไปเป็นต้นข้าวเมื่อเกิดกระบวนการงอก หรือเรียกทั่วไปว่าจมูกข้าว *เอนโดสเปิร์ม* หมายถึง ส่วนที่สะสมอาหารสำหรับใช้เมื่อเกิดกระบวนการงอก และมีการสะสมแป้งเป็นหลักและอาจเรียกว่า *ข้าวขาว* และ*ชั้นรำ* (bran layer) หมายถึง ชั้นที่ประกอบไปด้วย ชั้นผนังผล เยื่อหุ้มเมล็ด และชั้นแอลิวโรน (Figure 1) โดยทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนี้

2.1 การวัดขนาดและน้ำหนักของเมล็ดข้าว

นำเมล็ดข้าวจำนวน 50 เมล็ด มาสแกนด้วยเครื่องสแกนแนวราบ แล้วนำไปวัดขนาดความกว้าง และความยาวโดยใช้โปรแกรม imageJ (version 1.52a, National Institutes of Health, USA) จากนั้น นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักของเมล็ด

2.2 การศึกษาความหนาและปริมาตรของชั้นรำข้าว

หาปริมาตรของชั้นรำข้าวด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Dalen (2005) โดยนำเมล็ดข้าวต้นละ 10 เมล็ด มาตัดตามขวาง (cross section) บริเวณกลางของเมล็ดย้อมตัวอย่างเนื้อเยื่อด้วยสารละลายไอโอดีน เพื่อกำหนดส่วนของเอนโดสเปิร์ม จากนั้น นำตัวอย่างที่ได้ถ่ายรูปภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วัดความหนาของชั้นรำด้วยโปรแกรม imageJ ใช้ไมโครมิเตอร์ในการตั้งค่าการวัด (calibrate) ของโปรแกรม วัดความหนาของชั้นรำของแต่ละเมล็ดทั้งหมด 10 ตำแหน่ง จากนั้น นำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยเพื่อใช้ในการคำนวณต่อไป โดยปริมาตรชั้นรำหาได้จากสมการ (1-5) (Figure 1)

$V_b = V_{br} - V_{end}$ ----- (1)

$V_{br} = 0.66 \times A_{br} \times W$ ----- (2)

$A_{br} = \pi \times (W/2) \times (L/2)$ ----- (3)

$V_{end} = 0.66 \times A_{end} \times (W - 2bt)$ -----(4)

$A_{end} = \pi \times ((w/2) - bt) \times ((l/2) - bt)$ -----(5)

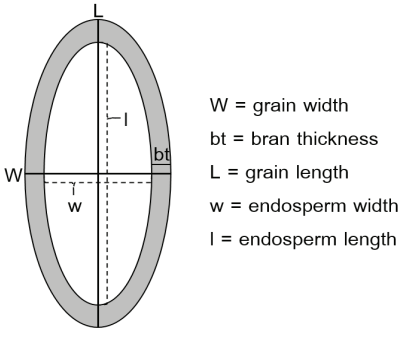
เมื่อกำหนดให้ V_b แทน ปริมาตรชั้นรำ (ลบ.มม.)

V_{br} แทน ปริมาตรเมล็ดข้าวกล้อง (ลบ.มม.)

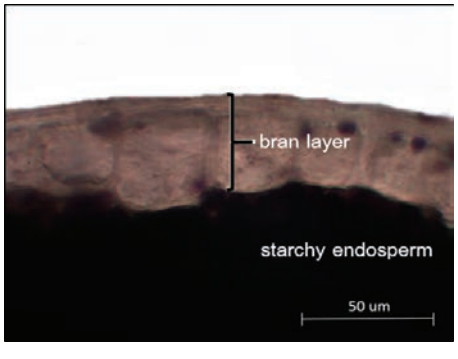
V_{end} แทน ปริมาตรเอนโดสเปิร์ม (ลบ.มม.)

A_{br} แทน พื้นที่หน้าตัดของข้าวกล้อง (ตร.มม.)

A_{end} แทน พื้นที่หน้าตัดของเอ็นโดสเปิร์ม (ตร.มม.)



(A)



(B)

Figure 1 Measurement of rice grain width, and length (A), bran thickness was measured under light microscope at 400X from grain section which stained by iodine solution (B)

2.3 การศึกษาความหนาแน่นของเอนโดสเปิร์ม

นำปิเปตขนาด 5 มล. อุดด้วยพาราฟินบริเวณปลาย เติมน้ำที่ผ่านการไล่อากาศด้วยเครื่องอัลตราโซนิคที่ความถี่ 40 kHz อุณหภูมิ 25°ซ. เป็นเวลา 15 นาที บันทึกปริมาตรน้ำเริ่มต้น จากนั้นนำเมล็ดข้าวกล้องจำนวน 20 เมล็ด มาขัดส่วนของรำออก โดยใช้กระดาษทรายชนิดละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ได้เมล็ดข้าวขาวที่ไม่มีชั้นรำ นำไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นใส่ลงในปิเปตที่อุดปลายด้วยซิลิโคน นำปิเปตที่มีเมล็ดข้าวจุ่มลงในเครื่องอัลตราโซนิค เพื่อไล่อากาศที่ติดอยู่บริเวณผิวเมล็ดข้าวเป็นเวลา 1 นาที ที่ความถี่ 40 kHz อุณหภูมิ 25°ซ. บันทึกปริมาตรเมล็ดข้าว นำข้อมูลที่ได้ไปหาความหนาแน่นของเอ็นโดสเปิร์ม จากสมการ (6) โดยค่าความหนาแน่นของเอ็นโดสเปิร์มที่ได้จะนำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณไทอามีนในเอ็นโดสเปิร์มของข้าวต่อเมล็ด โดยใช้สมการ (8)

$$\text{ความหนาแน่น (มก./ลบ.มม.)} = \frac{\text{มวล (มก.)}}{\text{ปริมาตร (ลบ.มม.)}} \text{---(6)}$$

3. การสกัดและศึกษาปริมาณไทอามีนในแต่ละส่วนของเมล็ดข้าวกล้อง

นำเมล็ดข้าวมาเก็บส่วนของเอ็มบริโอ โดยนำกระดาษทรายชนิดละเอียดมาขัดชั้นรำออก เพื่อให้เหลือแต่ส่วนของเอนโดสเปิร์ม จากนั้นนำเมล็ดข้าวกล้อง เอ็นโดสเปิร์ม และเอ็มบริโอ จำนวนอย่างละ 20 เมล็ด ชั่งน้ำหนัก บดตัวอย่างให้ละเอียด แล้วนำไปสกัดไทอามีนด้วยน้ำ (deionized water) ปริมาตร 2.5 มล. บดตัวอย่างให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4°ซ. เป็นเวลา 25 นาที จากนั้น กรองผ่าน membrane ltered ที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน นำสารละลายที่ได้ไปหาปริมาณไทอามีนด้วยเทคนิค HPLC

(high-performance liquid chromatography) ด้วยวิธีการที่ดัดแปลงจาก Moongngarm and Saetung (2010) ใช้คอลัมน์ C-18 (Innity Lab Poroshell 120 EC-C18, 4.6x150 mm, 4 um Agilent) ควบคุมอุณหภูมิที่ 30°ซ. ฉีดสารละลายตัวอย่างที่ได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร โดยใช้ 50 mM phosphate buffer pH 5.6 และ acetonitrile ในอัตราส่วน 80:20 (v/v) เป็น mobile phase กำหนดอัตราการไหลที่ 0.75 มล./นาที ใช้ UV detector ที่ความยาวคลื่น 233 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ (thiamine-HCl) เพื่อหาปริมาณไทอามีนในตัวอย่าง

คำนวณหาปริมาณไทอามีนในชั้นรำด้วยสมการที่ (7) ทำโดยการแทนค่าปริมาณไทอามีนในข้าวกล้อง เอ็นโดสเปิร์ม และเอ็มบริโอ ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

$$TB = TG - TEnd - TEmb \quad \text{----- (7)}$$

เมื่อกำหนดให้ TG แทน ปริมาณไทอามีนในเมล็ดข้าว (นาโนกรัม/เมล็ด)
TB แทน ปริมาณไทอามีนในชั้นรำ (นาโนกรัม/เมล็ด)
TEnd แทน ปริมาณไทอามีนในเอ็นโดสเปิร์ม (นาโนกรัม/เมล็ด)
TEmb แทน ปริมาณไทอามีนในเอ็มบริโอ (นาโนกรัม/เอ็มบริโอ)

โดยปริมาณไทอามีนในเอ็นโดสเปิร์มของ 1 เมล็ด หาได้จากสมการ (8)

$$TEnd = TEnd_{wr} \times \rho \times V_{seed} \quad \text{----- (8)}$$

เมื่อกำหนดให้ $TEnd_{wr}$ แทน ปริมาณไทอามีนในเอ็นโดสเปิร์มที่ได้จากการขัดสี (นาโนกรัม/กรัม)
ρ แทน ความหนาแน่นของเมล็ด (กรัม/มิลลิลิตร)
V_{seed} แทน ปริมาตรของเมล็ด 1 เมล็ด (มิลลิลิตร)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี One-Way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าว

1.1 ขนาดและน้ำหนักเมล็ดข้าว

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ได้แก่ กข11 กข29 กข41 กข43 สุพรรณบุรี 1 และพิษณุโลก 2 พบว่า มีความกว้างและความยาวของเมล็ดข้าวกล้องแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพันธุ์ กข11 มีความกว้างของเมล็ดมากที่สุด (2.05 มม.) รองลงมาไปได้แก่ พันธุ์ กข43 กข11 พิษณุโลก 2 สุพรรณบุรี 1 และ กข 41 มีความกว้างเมล็ด 2.01 1.93 1.91 1.84 และ 1.82 มม. ตามลำดับ ขณะที่ข้าวพันธุ์ กข 43 มีความยาวเมล็ดมากที่สุด คือ 7.46 มม. รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ กข11 กข 29 พิษณุโลก 2 กข41 และ สุพรรณบุรี 1 มีความยาวเมล็ด 7.28 7.20 7.16 7.02 6.89 มม. ตามลำดับ เมื่อนำเมล็ดข้าวมาชั่งเพื่อหาน้ำหนัก 1,000 เมล็ด พบว่า เมล็ดข้าวจากพันธุ์ที่ต่างกันมีน้ำหนักเมล็ดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมล็ดข้าวพันธุ์ กข43 มีน้ำหนักมากที่สุด (20.74 ก.) รองลงไป ได้แก่ พิษณุโลก 2 กข11 กข29 สุพรรณบุรี 1 และ กข41 มีน้ำหนัก 20.07 19.68 19.35 18.80 และ17.66 ก. ตามลำดับ (Table 1) จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ที่ปลูกในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน พบว่า ความกว้าง และความยาวของเมล็ดข้าว น้ำหนัก และปริมาตรของเมล็ดข้าวแตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ

Wang *et al.,* (2011) ที่พบว่าข้าวกลุ่มอินดิกามีปริมาตรเมล็ดประมาณ 14.7-15.9 ลบ.มม.

1.2 ความหนาของชั้นรำข้าว

จากการศึกษาความหนาของชั้นรำข้าวของข้าว 6 พันธุ์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพันธุ์ กข43 มีชั้นรำหนาที่สุด คือ 0.051 มม. รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ กข41 กข11 พิษณุโลก 2 สุพรรณบุรี 1 และ กข29 มีความหนาชั้นรำเท่ากับ 0.048, 0.043, 0.041, 0.041 และ 0.036 มม. ตามลำดับ (Table 1 and Figure 2)

Table 1 Width, length, bran thickness, and weight of brown rice of 6 cultivars of Thai rice grains

Cultivars	Size and weight of rice grains (mean)			
	width (mm)	length (mm)	bran thickness (mm)	1,000 grain weight (g)
RD11	1.93 c	7.28 b	0.043 c	19.68 ab
RD29	2.05 a	7.20 b	0.036 d	19.35 ab
RD41	1.82 d	7.02 c	0.048 b	17.66 c
RD43	2.01 b	7.46 a	0.051 a	20.74 a
Suphanburi 1	1.84 d	6.89 d	0.041 c	18.80 bc
Phitsanulok 2	1.91 bc	7.16 b	0.041 c	20.07 ab
%CV	3.90	5.80	11.88	7.03

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

1.3 ปริมาตรเมล็ดข้าวกล้อง เอ็มบริโอ เอนโดสเปิร์ม และชั้นรำข้าว

ข้าวกล้อง 6 พันธุ์ มีปริมาตรเมล็ดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพันธุ์ กข29 มีปริมาตรเมล็ดสูงที่สุดเท่ากับ 15.78 ลบ.มม. รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ กข43 กข11 พิษณุโลก 2 สุพรรณบุรี 1 และ กข41 มีปริมาตรเมล็ด 15.74, 14.06, 13.72, 12.21 และ 12.07 ลบ.มม. ตามลำดับ (Table 2) และจากการศึกษาปริมาตรเอ็มบริโอ พบว่า ข้าวแต่ละพันธุ์มีปริมาตรแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พันธุ์พิษณุโลก 2 และ กข11 มีปริมาตรเอ็มบริโอมากที่สุด (1.08 และ 0.99 ลบ.มม.) รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ กข43 สุพรรณบุรี 1 กข41 และ กข29 มีปริมาตร 0.72 0.68 0.63 และ 0.58 ลบ.มม. ตามลำดับ (Table 2)

นอกจากนี้ ปริมาตรเอนโดสเปิร์มของข้าวก็แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน โดยพันธุ์ กข29 มีปริมาตรเอนโดสเปิร์มสูงที่สุดเท่ากับ 14.55 ลบ.มม. รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ กข43 กข11 พิษณุโลก 2 สุพรรณบุรี 1 และ กข41 มีปริมาตรเท่ากับ 14.01 12.70 12.45 11.03 และ 10.70 ลบ.มม. ตามลำดับ (Table 2) ขณะที่ปริมาตรชั้นรำข้าวทั้ง 6 พันธุ์ ก็แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พันธุ์ กข43 มีปริมาตรชั้นรำมากที่สุดเท่ากับ 1.73 ลบ.มม. และพันธุ์ที่มีปริมาตรชั้นรำน้อยที่สุด คือ พันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีปริมาตร 1.19 ลบ.มม. (Table 2)

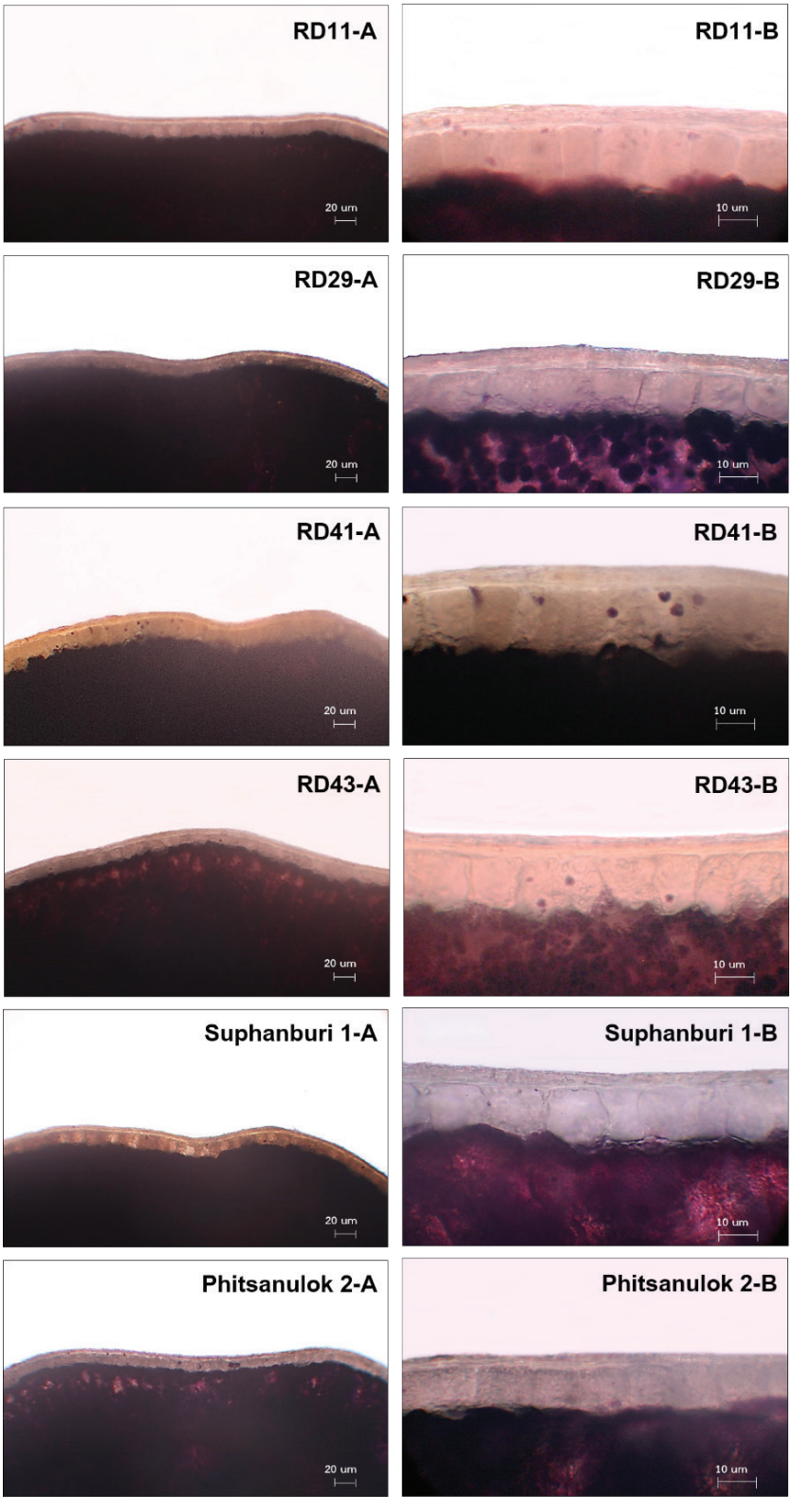


Figure 2 Cross-section of 6 cultivars of Thai rice grains which stained with iodine solution and imaged under light microscope shows bran layer and endosperm at 100X (A) and 400X (B)

Table 2 Volume of grains, endosperm, embryo, and bran of 6 cultivars of Thai rice grains

cultivars	volume (mm^3)			
	brown rice	embryo	endosperm	bran
RD11	14.06 a	0.99 a	12.70 abc	1.37 b
RD29	15.78 a	0.58 c	14.55 a	1.23 bc
RD41	12.07 b	0.63 c	10.70 c	1.38 b
RD43	15.74 a	0.72 b	14.01 ab	1.73 a
Suphanburi 1	12.21 b	0.68 b	11.03 cd	1.19 c
Phitsanulok 2	13.72 ab	1.08 a	12.45 bcd	1.27 bc
%CV	13.70	25.26	14.33	15.18

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

จากการศึกษาปริมาตรในแต่ละส่วนของเมล็ดข้าว พบว่า ปริมาตรของข้าวกล้อง เอ็มบริโอ เอนโดสเปิร์ม และชั้นรำแตกต่างกัน โดยมีปริมาตรเอนโดสเปิร์มเฉลี่ยของข้าวทั้ง 6 พันธุ์ คิดเป็นประมาณร้อยละ 85 ปริมาตรชั้นรำร้อยละ 9 และปริมาตรเอ็มบริโอร้อยละ 5 ทำให้เห็นสัดส่วนของแต่ละส่วนของเมล็ดข้าวได้ชัดเจนขึ้น โดยชั้นรำและเอ็มบริโอเป็นส่วนที่มีรายงานว่ามีคุณค่าทางอาหารสูง (Chen and McClung, 2019) มีปริมาตรเพียงร้อยละ 14 ในขณะที่เอนโดสเปิร์มมีปริมาตรมากกว่าถึง 6 เท่า ซึ่งปริมาตรชั้นรำและขนาดของเอนโดสเปิร์มขึ้นกับสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมที่ปลูก (Liu and Ng, 2016)

1.4 ความหนาแน่นของเอนโดสเปิร์ม

เอนโดสเปิร์มของข้าว 6 พันธุ์ มีความหนาแน่นแตกต่างกันทางสถิติ สามารถแบ่งกลุ่มพันธุ์ข้าวตามความหนาแน่นได้เป็น 3 กลุ่ม คือ พันธุ์ที่มีความหนาแน่นมาก ได้แก่ พันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีความหนาแน่นมากที่สุดคือ 1.48 มก./ลบ.มม. พันธุ์ที่มีความหนาแน่นเอนโดสเปิร์มปานกลาง ได้แก่ พันธุ์พิษณุโลก 2 กข41 และ กข11 (1.41 1.39 และ 1.38 มก./ลบ.มม. ตามลำดับ) พันธุ์ที่มีความหนาแน่นเอนโดสเปิร์มน้อย ได้แก่ กข43 และ กข29 (1.32 และ 1.13 มก./ลบ.มม.)

2. ปริมาณไทอามีนในแต่ละส่วนของเมล็ดข้าวกล้อง

ปริมาณไทอามีนในเอ็มบริโอของข้าว 6 พันธุ์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 มีปริมาณไทอามีนสูงที่สุด (2.64 มก./100 ก.) รองลงมาได้แก่ พันธุ์ กข11 กข29 กข41 สุพรรณบุรี 1 และ กข43 โดยมีไทอามีนอยู่ในช่วง 1.98-2.56 มก./100 ก. (Table 3) ขณะที่ปริมาณไทอามีนในชั้นรำ และในเอนโดสเปิร์มของข้าวทั้ง 6 พันธุ์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พันธุ์ที่มีปริมาณไทอามีนในชั้นรำมากที่สุด คือ พันธุ์สุพรรณบุรี 1 รองลงมา ได้แก่ กข11 กข41 พิษณุโลก 2 กข43 และ กข29 ซึ่งความผันแปรของไทอามีนในชั้นรำของข้าวทั้ง 6 พันธุ์ อยู่ในช่วง 1.032-1.623 มก./100 ก. และพันธุ์ที่มีปริมาณไทอามีนในเอนโดสเปิร์มสูงที่สุด คือ กข43

รองลงมา ได้แก่ กข41 กข11 สุพรรณบุรี 1 พิษณุโลก 2 และ กข29 ไทอามีนมีความผันแปรอยู่ในช่วง 0.039-0.062 มก./100 ก. (Table 3)

เมื่อคำนวณหาปริมาณไทอามีนในแต่ละส่วนของเมล็ด พบว่า ชั้นรำมีปริมาณไทอามีนมากที่สุด โดยพบ 44.5-65.1 นาโนกรัม/เมล็ด คิดเป็นร้อยละ 70-82 ของไทอามีนในข้าว ส่วนที่พบไทอามีน รองลงมา คือ ส่วนของเอ็มบริโอ และส่วนของเอนโดสเปิร์ม มีความผันแปรของไทอามีนอยู่ในช่วง 10.1-14.9 และ 6.3-11.4 นาโนกรัม/เมล็ด คิดเป็นร้อยละ 14-20 และ 8-15 ของไทอามีนในเมล็ดข้าว ตามลำดับ (Figure 3)

Table 3 Thiamine contents in brown rice, embryo, endosperm, and bran of 6 cultivars of Thai rice grains

cultivars	thiamine (mg/100 g)			
	brown rice	embryo	endosperm	bran
RD11	0.474 a[(1)]	2.560[(ns)]	0.044 bc[(1)]	1.615 a[(1)]
RD29	0.327 c	2.402	0.039 c	1.032 b
RD41	0.394 b	2.373	0.049 b	1.242 b
RD43	0.358 bc	1.986	0.062 a	1.101 b
Suphanburi 1	0.443 a	2.221	0.040 c	1.623 a
Phitsanulok 2	0.369 bc	2.642	0.040 c	1.140 b
%CV	14.93	14.31	21.01	24.05

[(1)] Means in the same column followed by a common letter are significantly different at 5% level by DMRT

[(ns)] not signicantly different

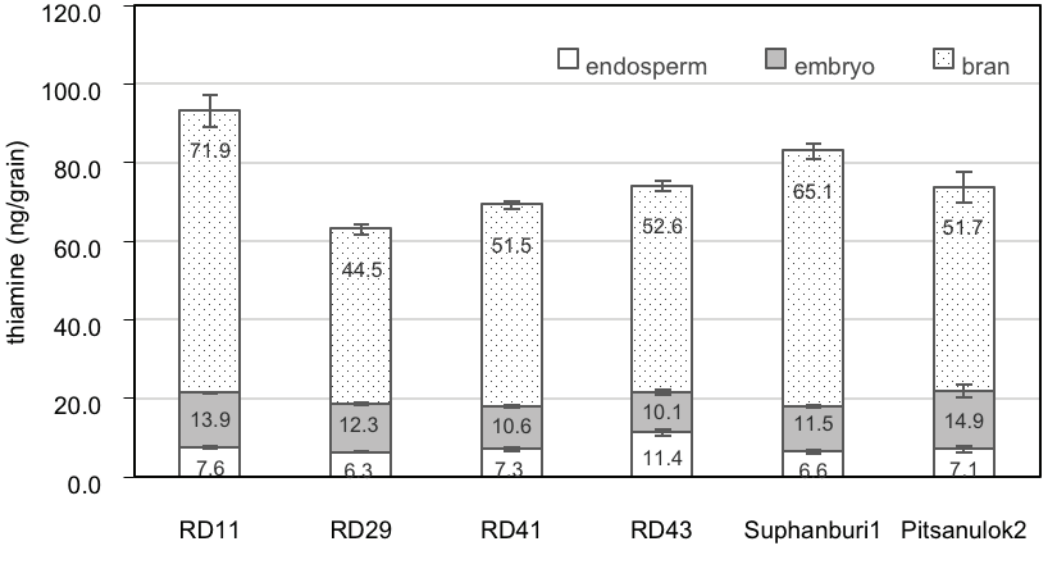


Figure 3 Thiamine contents in endosperm, embryo, and bran of rice grains (Error bars show standard error; a common letter indicated in each part of each bar are not significantly difference of 5% level by DMRT)

การวิเคราะห์ปริมาณไทอามีนบนพื้นฐานของน้ำหนัก พบว่า เอ็มบริโอ เป็นส่วนที่มีไทอามีนมากที่สุด (Table 3) แต่เมื่อพิจารณาขนาดและสัดส่วนของเมล็ดร่วมด้วยจะพบว่า ชั้นรำเป็นบริเวณที่พบไทอามีนมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ เอ็มบริโอ และเอนโดสเปิร์ม ดังนั้น ในการศึกษานี้จึงได้วิเคราะห์ถึงปริมาณไทอามีนบนพื้นฐานของสัดส่วนในเมล็ดและปริมาตร เพื่อสะท้อนข้อมูลเชิงลึกเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลไทอามีนต่อน้ำหนัก 100 ก. สามารถให้ข้อมูลเชิงโภชนาการได้ เช่น ปริมาณไทอามีนที่แนะนำให้บริโภคต่อวันเท่ากับ 1 มก./วัน (Hifer *et al*., 2016) จะต้องรับประทานข้าว กข111 210 ก. ข้าวสารกล้อง ขณะที่ต้องรับประทานข้าวพันธุ์ กข29 305 ก. ข้าวสารกล้อง ซึ่งทำให้ได้แป้งต่างกันถึง 95 ก. ข้าวสารกล้อง ดังนั้น ข้อมูลอาจมีประโยชน์สำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมปริมาณแป้ง เช่น ผู้ป่วยเบาหวาน เป็นต้น

2.1 ปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรของเอนโดสเปิร์ม เอ็มบริโอ และชั้นรำ

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรของเอนโดสเปิร์ม เอ็มบริโอ และชั้นรำ พบว่า ข้าวแต่ละพันธุ์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรของเอนโดสเปิร์มมีค่าอยู่ระหว่าง 0.4-0.8 นาโนกรัม/ลบ.มล. โดยพันธุ์ กข29 มีค่าน้อยที่สุด ส่วนพันธุ์ กข43 มีปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรมากที่สุด สำหรับปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรเอ็มบริโอมีค่าอยู่ระหว่าง 13.8-21.2 นาโนกรัม/ลบ.มล. โดยพันธุ์พิษณุโลก 2 มีค่าน้อยที่สุด ขณะที่พันธุ์ กข29 มีค่ามากที่สุด และข้อมูลจากการวิเคราะห์ปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรชั้นรำ พบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 30.4-54.8 นาโนกรัม/ลบ.มล. โดยพันธุ์ กข43 มีไทอามีนต่อปริมาตรชั้นรำน้อยที่สุด ส่วนพันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีไทอามีนต่อปริมาตรชั้นรำมากที่สุด (Figure 4)

การวิเคราะห์หาปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรของส่วนต่าง ๆ เพื่อศึกษาความสามารถของแต่ละส่วน ในการสะสมไทอามีน โดยเปรียบเทียบบนพื้นฐานที่มีปริมาตรในการสะสมที่เท่ากัน พบว่ามีความผันแปรของปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรในเอนโดสเปิร์ม เอ็มบริโอ และชั้นรำ เท่ากับ 0.4 3.2 และ 22.1 นาโนกรัม/ลบ.มม. ตามลำดับ ทำให้เห็นได้ว่าปริมาณไทอามีนในชั้นรำมีมากที่สุด รวมทั้งมีความผันแปรมากที่สุดด้วย แสดงว่าชั้นรำเป็นชั้นที่มีความสามารถในการเก็บสะสมไทอามีนมากที่สุด ทั้งนี้ Wang *et al.,* (2011) รายงานว่าลักษณะทางกายภาพหรือสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าว มีผลต่อความผันแปรของคุณค่าทางอาหารในเมล็ด ซึ่งมีรายงานว่าไทอามีนจะสะสมอยู่มากบริเวณเนื้อเยื่อแอลิวโรนและเอ็มบริโอ (K. Liu *et al.,* 2017) แสดงให้เห็นว่าความผันแปรของไทอามีนในเมล็ดข้าวที่ศึกษาครั้งนี้เกิดจากลักษณะทางกายภาพของเมล็ดที่ต่างกัน เนื่องจากข้าวกล้องแต่ละพันธุ์มีความหนาชั้นรำ ปริมาตรของชั้นรำ ปริมาตรเอนโดสเปิร์มและปริมาตรเมล็ดแตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ Kyritsi *et al.,* (2011) ที่ว่าข้าวที่ผ่านการขัดเอาส่วนของชั้นรำออกทำให้สูญเสียไทอามีนประมาณ 68-82% ของไทอามีนที่พบในข้าวกล้อง ส่วนที่มีปริมาณไทอามีน รองลงมา คือ ส่วนของเอ็มบริโอและส่วนของเอนโดสเปิร์ม มีความผันแปรของไทอามีนอยู่ในช่วง 10.1-14.9 และ 6.3-11.4 นาโนกรัม/เมล็ด

ในการทดลองนี้ได้ศึกษาปริมาณไทอามีนโดยเปรียบเทียบบนพื้นฐานของส่วนต่าง ๆ ต่อเมล็ด เพื่อให้เห็นข้อมูลในเชิงลึกสำหรับนักวิทยาศาสตร์หรือนักปรับปรุงพันธุ์ข้าวได้นำไปใช้ในการพิจารณาการปรับปรุงพันธุ์ข้าว พบว่า ชั้นรำเป็นชั้นที่มีปริมาณไทอามีนมากที่สุด และมีความผันแปรของปริมาณไทอามีนในชั้นรำระหว่างพันธุ์มากที่สุด ดังนั้นข้าวพันธุ์ กข11 และสุพรรณบุรี 1 ซึ่งมี

ปริมาณไทอามีนในชั้นรำมากที่สุด (Figure 3) จึงเป็นพันธุ์ที่น่าสนใจในการใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่มีไทอามีนสูง อย่างไรก็ตามการศึกษาปริมาณไทอามีนต่อปริมาตร พบว่า ในปริมาตรที่เท่ากันข้าวแต่ละพันธุ์มีการสะสมไทอามีนได้แตกต่างกัน (Figure 4) แสดงให้เห็นว่านอกจากปริมาตรของชั้นรำมีความสำคัญในการเป็นพื้นที่สะสมไทอามีนของเมล็ดแล้ว อาจมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการสะสมไทอามีนในชั้นรำด้วย

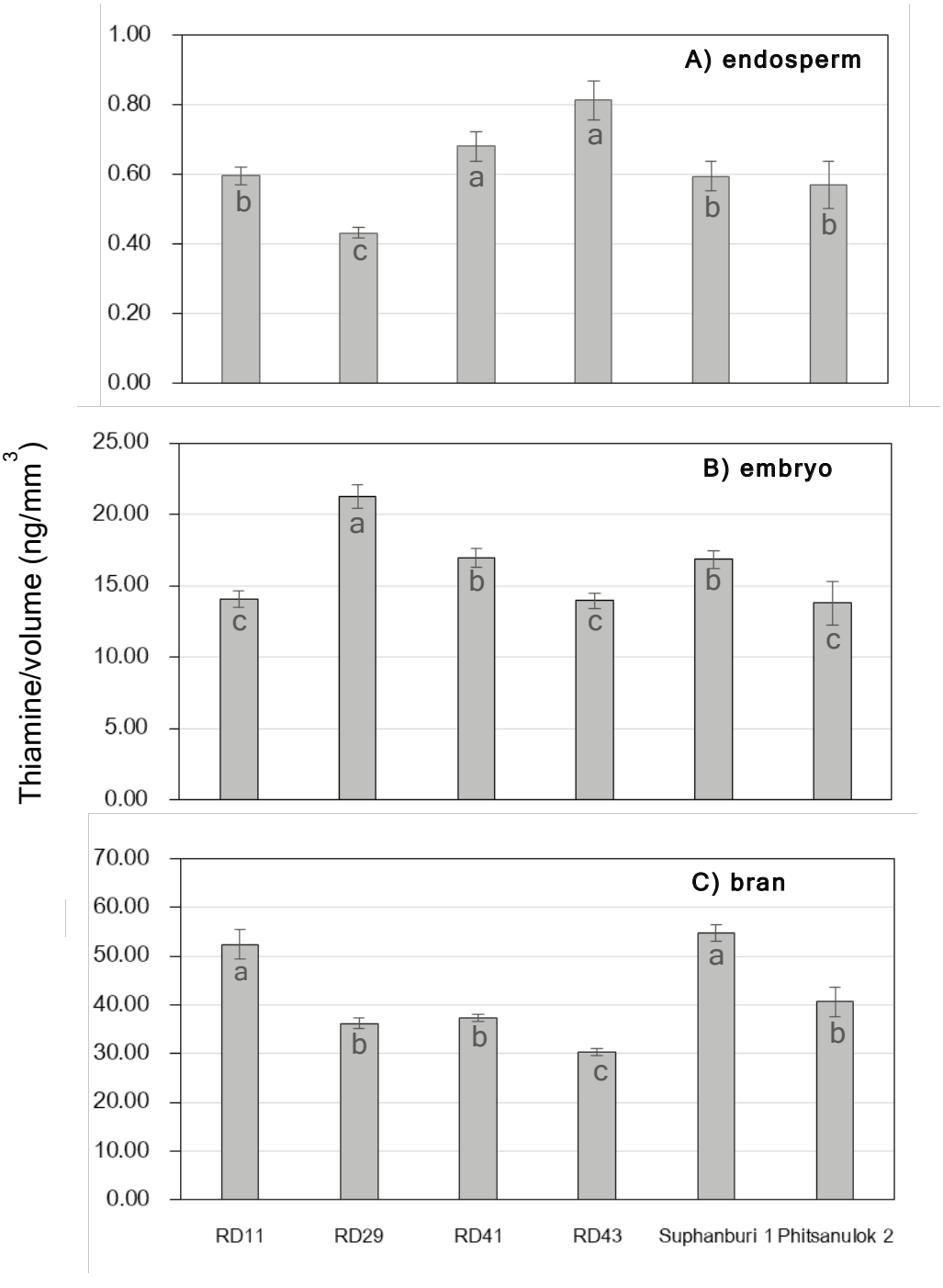


Figure 4 Thiamine of 6 rice cultivars per volume in endosperm (A), embryo (B), and bran (C) (Error bars show standard error; a common letter indicated in each bar are not significantly difference at 5% level by DMRT)

สรุปผลการทดลอง

ข้าว 6 พันธุ์ ที่นำมาศึกษามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน โดยมีขนาดและปริมาตรที่แตกต่างกัน และข้าวทุกพันธุ์มีปริมาตรของเอ็นโดสเปิร์มมากที่สุด รองลงไป ได้แก่ ปริมาตรชั้นรำและเอ็มบริโอ แต่เมื่อนำแต่ละส่วนมาวิเคราะห์หาปริมาณไทอามีน พบว่า มีการสะสมมากที่สุดที่ชั้นรำ รองลงไปได้แก่เอ็มบริโอและเอ็นโดสเปิร์ม ทั้งนี้ ในชั้นรำมีปริมาณไทอามีนต่อปริมาตรมากที่สุด แสดงว่าชั้นรำเป็นส่วนที่สำคัญในการสะสมไทอามีน แต่พบว่า ในข้าวทั้ง 6 พันธุ์ที่นำมาศึกษา มีความแตกต่างกันของปริมาณไทอามีนต่อปริมาตร ประมาณ 1.5 เท่า ทำให้เห็นได้ว่ายังคงมีปัจจัยอื่นนอกเหนือจากขนาดของพื้นสะสมที่มีผลต่อการสะสมไทอามีนในชั้นรำ และข้าวพันธุ์ กข11 และสุพรรณบุรี 1 เป็นพันธุ์ที่มีปริมาณไทอามีนมากที่สุด ดังนั้น จึงเป็นแหล่งของพันธุกรรมที่ดีในการพัฒนาพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณไทอามีนสูงต่อไป

เอกสารอ้างอิง

มณฑนี โพธิ์แสง; เกศราภรณ์ จันทร์ประเสริฐ และภาคภูมิ พระประเสริฐ. 2561. ความผันแปรของปริมาณไทอามีนในข้าวไทย. *วิทยาศาสตร์บูรพา*. 23(2): 1084-1093.

ผาณิต รุจิรพิสิฐ; วิชชุดา สังข์แก้ว และเสาวนีย์ เอี้ยวสกุลรัตน์. 2555. คุณค่าทางโภชนาการของข้าว 9 สายพันธุ์. *วิทยาศาสตร์เกษตร*. 43(2): 173-176.

Bernier, J.; G. N. Atlin; R. Serraj; A. Kumar and D. Spaner. 2008. Breeding upland rice for drought resistance. *J Sci Food Agr*. 88(6): 927-939.

Boonyaves, K.; W. Gruissem and N. K. Bhullar. 2016. NOD promoter-controlled AtIRT1 expression functions synergistically with NAS and FERRITIN genes to increase iron in rice grains. *Plant Mol Biol*. 90(3): 207-215.

Chen, M. H. and A. M. McClung. 2019. Genotypic diversity of bran weight of whole grain rice and its relationship with grain physical traits. *Cereal Chem*. 96(2): 252-262.

Dalen, G. V. 2005. Characterisation of rice using atbed scanning and image analysis. In A. P. Riley (Ed.), Food Policy, Control and Research (pp. 149-186). New York: Nova scinece.

Hifer, L.; B. Rakotoambinina; N. Lafferty and D. M. Garcia. 2016. Thiamine deciency in tropical pediatrics: New insights into a neglected but vital metabolic challenge. *Front Nutr*. 3.

Kyritsi, A.; C. Tzia and V. T. Karathanos. 2011. Vitamin fortied rice grain using spraying and soaking methods. *LWT -J. Food Sci. Technol*. 44(1): 312-320.

Lebiedzinska, A. and P. Szefer. 2006. Vitamins B in grain and cereal-grain food, soy-products and seeds. *Food Chem*. 95(1): 116-122.

Liu, J. X.; S. Rahman; S. Sriboonchitta and A. Wiboonpongse. 2017. Enhancing

productivity and resource conservation by eliminating inefciency of Thai rice farmers: A zero inefciency stochastic frontier approach. *Sustainability-Basel*. 9(5).

Liu, K.; J. Zheng and F. Chen. 2017. Relationships between degree of milling and loss of Vitamin B, minerals, and change in amino acid composition of brown rice. *LWT - J. Food Sci. Technol*. 82: 429-436.

Liu, Y. and P. K. Ng. 2016. Relationship between bran characteristics and bran starch of selected soft wheats grown in Michigan. *Food Chem*. 197(Pt A): 427-435.

Moongngarm, A. and N. Saetung. 2010. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. *Food Chem*. 122(3): 782-788.

Myers, S. S.; A. Zanobetti; I. Kloog; P. Huybers; A. D. B. Leakey; A. J. Bloom; E. Carlisle; L. H. Dietterich; G. Fitzgerald; T. Hasegawa; N. M. Holbrook; R. L. Nelson; M. J. Ottman; V. Raboy; H. Sakai; K. A. Sartor; J. Schwartz; S. Seneweera; M. Tausz and Y. Usui. 2014. Increasing CO_2 threatens human nutrition. *Nature*. 510: 139-142.

Paine, J. A.; C. A. Shipton; S. Chaggar; R. M. Howells; M. J. Kennedy; G. Vernon; S. Y. Wright; E. Hinchliffe; J. L. Adams; A. L. Silverstone and R. Drake. 2005. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. *Nat Biotechnol*. 23(4): 482-487.

Pengkumsri, N.; C. Chaiyasut; C. Saenjum; S. Sirilun; S. Peerajan; P. Suwannalert; S. Sirisattha and B. S. Sivamaruthi. 2015. Physicochemical and antioxidative properties of black, brown and red rice varieties of northern Thailand. *Food Sci Tech-Brazil*. 35(2): 331-338.

Radanielson, A. M.; O. Angeles; T. Li; A. M. Ismail and D. S. Gaydon. 2018. Describing the physiological responses of different rice genotypes to salt stress using sigmoid and piecewise linear functions. *Field Crop Res*. 220: 46-56.

Wang, K. M.; J. G. Wu; G. Li; D. P. Zhang; Z. W. Yang and C. H. Shi. 2011. Distribution of phytic acid and mineral elements in three indica rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *J. Cereal Sci*. 54(1): 116-121.

Zhou, Y.; Y. J. Tao; J. Y. Zhu; J. Miao; J. Liu; Y. H. Liu; C. D. Yi; Z. F. Yang; Z. Y. Gong and G. H. Liang. 2017. *GNS4*, a novel allele of *DWARF11*, regulates grain number and grain size in a high-yield rice variety. *Rice*. 10. (34): 1-11