

สารสกัดแอนโทไซยานินจากพืชเพื่อใช้เป็นสีย้อมโครโมโซม: แหล่งที่มา ความเข้มข้น และโครงสร้างทางเคมี

Anthocyanins Extract from Plants for Staining Chromosome: Sources, Concentration and Chemical Structure

จินตหรา เล็กประยูร¹ นวลจันทร์ มัจฉาภิบาล¹ และศิริลักษณ์ เอี่ยมธรรม¹
Jintara Lakprayoon,¹ Nuanchan mutcharyakul¹ and Siriluck lamtham¹

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะสกัดสีจากพืชธรรมชาติเพื่อทดแทนสีทางเคมีที่มีอันตรายและมีราคาแพง และเพื่อศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารสกัดจากพืช ได้แก่ หม่อน (ผล) หว้า (ผล) แก้วมังกร (ผล) และกะหล่ำปลีสีม่วง (ใบ) นำมาสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1% ในเมทานอล และกรดอะซิติก 0.1% ในเมทานอล ที่อัตราส่วนต่างๆ กัน คือ 1:1 , 1:2 และ 1:3 พบว่า หม่อนที่สกัดจากกรดไฮโดรคลอริก 0.1% ในเมทานอล 1:1 สามารถย้อมติดสีโครโมโซมได้ดีที่สุด รองลงมาคืออัตราส่วน 1:2 และ 1:3 ส่วนสารสกัดจากหว้า แก้วมังกร สามารถย้อมติดสีโครโมโซมได้น้อยกว่าสีเคมี และกะหล่ำปลีสีม่วงไม่สามารถย้อมติดสีโครโมโซมได้ นำสีที่ได้จากพืชตัวอย่างทุกชนิดที่สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1% ในเมทานอล อัตราส่วน 1 : 1 มาทำให้บริสุทธิ์ แล้วย้อมปลายรากหอม พบว่า หม่อนสามารถย้อมติดโครโมโซมได้ดีที่สุด รองลงมาเป็น กะหล่ำปลีสีม่วง หว้า และแก้วมังกรตามลำดับ จากนั้นนำแอนโทไซยานินบริสุทธิ์ที่ได้จากหม่อนมาศึกษาโครงสร้างทางเคมีด้วย NMR Spectrometer โดยค่าเคมีคัลชิฟท์ ที่ได้บ่งบอกถึงจำนวนของหมู่ ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) ในโครงสร้างของแอนโทไซยานิน ซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับมาตรฐานแล้ว สามารถสรุปได้ว่าเป็นแอนโทไซยานิน ในกลุ่มของไซยานิดิน (Cyanidin)

คำสำคัญ : แอนโทไซยานิน ไซยานิดิน

Abstract

The aim of this study is to extract the chromosome staining dye from natural plant extracts which can be replaced the hazardous chemicals dye staining and determine the chemical structure of the purify plant extracts. The extraction of *Hylocereus undatus* (fruits), *Syzygium cumini* (fruits), *Morus alba* L. (fruits), and *Brassica oleracea* L. (leaves) using 0.1% HCl in methanol and 0.1% acetic acid in methanol at the ratio 1:1, 1:2 and 1:3 were established. The research results showed that *M. alba* was extracted with 0.1% HCl in methanol 1:1 produced the most effective in chromosome staining following with the same extraction solvent at the ratio of 1:2 and 1:3. The extraction from *S. cumini* and *H. undatus* possess lower effective in chromosome staining compare to the chemical dye staining. While the extract from *B. oleracea* could not stain the chromosome. The extractions with 0.1% HCl in methanol at the ratio of 1:1 from all sample plants were purified, and were used as the dye for

¹ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

chromosome staining again. The results showed that *M. alba* is the most effective for chromosome staining following with *B. oleracea*, *S. cumini* and *H. undatus*, respectively. Purify anthocyanin from *M. alba* was chosen for study the chemical structure using NMR spectrometer. The chemical shift value implies the number of the hydroxyl group in the anthocyanin structure. It can be concluded that the anthocyanin is in cyanidin group.

Keywords : anthocyanin, cyanidin

E-mail : faassli@ku.ac.th

คำนำ

ในการศึกษาทางพันธุศาสตร์โมเลกุลเกี่ยวกับพืช โดยเฉพาะการศึกษาการแบ่งเซลล์ของพืชถือว่าเป็นเรื่องที่สำคัญมาก เพราะผลที่เกิดขึ้นจากการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทั้ง ภายใน และภายนอกของต้นพืชอย่างมาก สีของโครโมโซมจึงมีความจำเป็นมากในการย้อมโครโมโซมเพื่อศึกษาระยะการแบ่งเซลล์ หรือดูความผิดปกติของโครโมโซมในรูปแบบต่างๆ ซึ่งจะทำให้การศึกษาในเซลล์ปลายรากหอมในการย้อมโครโมโซมมักใช้สีสังเคราะห์ทางเคมี คือ สีออร์ซิน หรือ คาร์มิน ซึ่งมีราคาแพง และเป็นอันตรายต่อผู้เตรียมสี และผู้ใช้งาน จึงมีการสกัดสีที่ได้จากพืชธรรมชาติมาทดแทนการใช้สีสังเคราะห์ เนื่องจากมีราคาถูก และสามารถหาได้ง่ายในห้องถิ่น อีกทั้งยังมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

สารที่มีความสามารถในการย้อมติดโครโมโซมคือสารในกลุ่มแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารที่มีอยู่ในพืชหลายชนิด ทั้งในผิวของผล เนื้อ เมล็ด สีดอก หรือใบ ซึ่งแอนโทไซยานินพบได้ทั้งในผลไม้และดอกไม้หลายชนิด เช่น การสกัดสารสีจากเมล็ดข้าวเหนียวดำ เมล็ดข้าวหอมชนิด ผลหนามแดง ดอกกล้วยไม้ ดอกชองนาง ดอกกระเจี๊ยบแดง ดอกอัญชัน เป็นกลุ่มที่ให้สารสีม่วงแดงซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ย้อมโครโมโซม (อัญชัน, 2548) ย้อมกระดาษ (เสรี, 2545) เป็นต้น

แอนโทไซยานิน เป็นสารประเภท flavonoid phenolic compounds จะกระจายอยู่ทั่วไปในผลไม้ เบอรี่ และดอกไม้ (Cooper-Driver, 2001) จะให้สี เช่น สีส้ม สีแดง และสีน้ำเงิน สีนี้สามารถละลายได้ในน้ำ และง่ายในการนำมาใช้ประกอบอาหาร (Pazmino-Duran *et al.*, 2001) สารแอนโทไซยานินสามารถสกัดได้จาก ผลไม้ และดอกไม้ที่หาได้ง่าย และมีอยู่ทั่วไป แอนโทไซยานินย้อมติดเซลล์โครโมโซมได้เป็นอย่างดี จึงเป็นที่นิยม นำมาใช้เป็นสีย้อมโครโมโซม จึงได้ทำการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินของพืชเปรียบเทียบกับโครงสร้างทางเคมีของสีสังเคราะห์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสกัดสารแอนโทไซยานิน

นำพืชที่ใช้ทดลอง คือ แก้วมังกร (เนื้อ), หว่า (ผล), หม่อน (ผล) และกะหล่ำปลี (ใบ) สีม่วง มาล้างในขวดรูปชมพู่ และใส่ตัวทำละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1% ในเมทานอล ลงไป ในอัตราส่วน 1:1 , 1:2 และ 1:3 (w/v) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปย้อมเซลล์รากหอม และเปลี่ยนมาสกัดด้วยตัวทำละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.1% ในเมทานอล ด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน

2. การย้อมปลายรากหอม

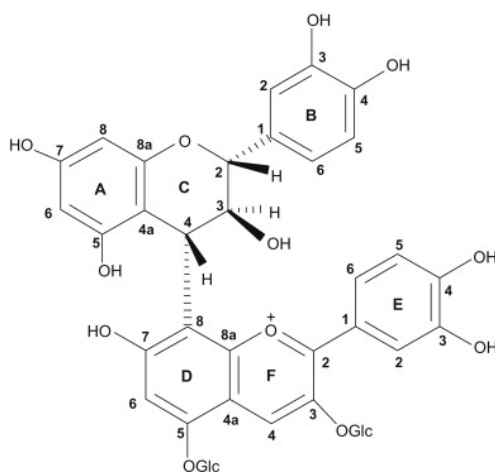
นำปลายรากหอมที่เตรียมไว้ในน้ำยาคงสภาพ มาตัดเอาเฉพาะส่วนปลายรากสีขาวชุ่นยาวประมาณ 2-3 มิลลิเมตร วางบนสไลด์ที่สะอาด 1-2 ราก หยดกรด HCl ไปบนส่วนของราก 1-2 หยด ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีเพื่อละลายส่วนของผนังเซลล์ที่ติดกัน ชั้บกรดออกให้หมด อาจหยดน้ำลงไปเพื่อล้างกรดแล้วชั้บน้ำออก หยดสีย้อมโครโมโซมที่ได้จากการสกัดทั้งที่เป็นสารสกัดหยาบ (ข้อ 1) และ สารสกัดบริสุทธิ์ (ข้อ 3) ลงไป 1-2 หยด ใช้เข็มเขี่ยปลายแบนขี้ปลายรากให้ละเอียดเพื่อทำให้เซลล์แยกออกจากกันได้มากที่สุด แยกเอาส่วนที่มีขนาดใหญ่ และขย่ะต่างๆ ทิ้งไป ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ทิ้งไว้ 3-5 นาที นำสไลด์ผ่านเปลวไฟ แล้วใช้เทคนิค squash แล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตีภาพระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์ การย้อมปลายรากหอม จะย้อมครั้งแรกหลังจากการกรอง และจะทำการย้อม ในทุกๆ เดือน เป็นเวลา 3-9 เดือน เพื่อดูคุณภาพของสีในการย้อมโครโมโซม

3. การทำแอนโทไซยานินให้บริสุทธิ์

นำสารสกัดที่ได้จากข้อ 1 ไประเหยตัวทำละลายออก ด้วย Rotary Evaporator ที่ 40 องศาเซลเซียส แล้วนำสารละลายที่ได้มาผ่านคอลัมน์ C18- LP. (Bruker Avance 300) โดยทำคอลัมน์ให้เปียกด้วย เมทานอล 3 ml. เติมสารสกัดตัวอย่าง 1 ml. แล้วชะสารในกลุ่มของกรดน้ำตาล และสารประกอบน้ำอื่นๆ ด้วย 0.01% HCl (v/v) ในน้ำปราศจากไอออน 3 ml. ชะสารในกลุ่ม Polyphenolics ออกมาด้วย ethyl acetate 3 ml. แล้วชะด้วย 0.01% HCl (v/v) ในเมทานอล 3 ml. เพื่อเก็บส่วนของแอนโทไซยานิน ล้างคอลัมน์ด้วย น้ำปราศจากไอออน 5 ml. จากนั้นนำแอนโทไซยานิน มาระเหยตัวพาทออกด้วย Rotary Evaporator ที่ 30 องศาเซลเซียส ละลายใน 0.01% HCl (v/v) ในน้ำปราศจากไอออน เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส และใช้สารสกัดบริสุทธิ์จากพืชต่างๆ มาย้อมโครโมโซมด้วยวิธีการตามข้อ 2 อีกครั้งหนึ่ง

4. การศึกษาโครงสร้างสารสกัดด้วย NMR Spectrometer

นำสารสกัดบริสุทธิ์เข้มข้นจากหม้อนึ่งที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NMR spectrometer (Bruker Avance 300 spectrometer) ในสาร MeOD (CD_3OD) ที่ 300 MHz. ผลที่ได้นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับผลการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินจากข้าวโพดสีม่วง (ภาพที่ 1) ของ Susana *et al.* (2008) และ Du *et al.* (2008)



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิน (catechin-(4 α \rightarrow 8)-cyanidin-3,5-O-diglucoside) ในข้าวโพดสีม่วง (Susana *et al.*,2008)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การย้อมติดสีโครโมโซมในพืชต่างๆ ก่อนการสกัดสีให้บริสุทธิ์

จากตัวอย่างสีที่ใช้ คือ ผลหว่า ผลหม่อน ผลแก้วมังกร และใบกะหล่ำปลีสีม่วง พบว่าสีที่ได้จากผลหม่อนสามารถย้อมติดสีโครโมโซมได้ชัดเจนมากที่สุด ส่วนสารสกัดสีจาก ผลหว่า ผลแก้วมังกร ติดสีโครโมโซมจางกว่าสีเคมี คือ สีย้อมออร์ซัน หรือสีคาร์มีน ส่วนสารสกัดสีจากใบกะหล่ำปลีสีม่วงไม่ติดสีโครโมโซม ดังตารางที่ 1 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ ศรีณฉวีวิทย์ (2549) ทำให้พบว่าการสกัดสีจากพืชสามารถย้อมติดโครโมโซมได้ในระดับต่างๆ เช่น ติดสีเข้มเช่นในหนามแดง ส่วนสารสกัดสีจากดอกอัญชันให้สีจาง

ตารางที่ 1 แสดงผลการติดสีโครโมโซมของสีสกัดจากพืชก่อนการสกัดสีให้บริสุทธิ์

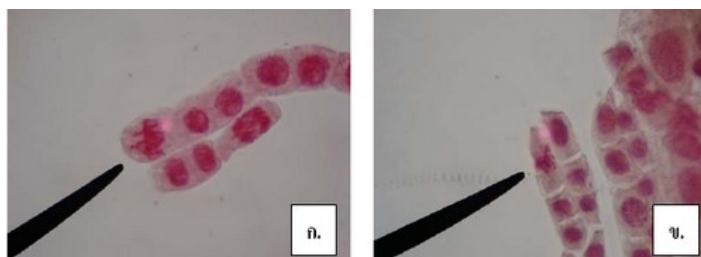
สีที่ได้จากการสกัด	การติดสีบนโครโมโซม			
	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
หว่า(acetic 1:1)	+	+	+	-
หว่า(acetic 1:2)	+	+	+	-
หว่า(acetic 1:3)	-	-	-	+
หว่า(HCl 1:1)	+++	++	++	-
หว่า(HCl 1:2)	++	+	+	-
หว่า(HCl 1:3)	+	-	-	-
หม่อน(acetic 1:1)	++	-	+++	+++
หม่อน(acetic 1:2)	++	-	+++	+++
หม่อน(acetic 1:3)	++	+	++	+++
หม่อน(HCl 1:1)	++++	++++	++++	+++
หม่อน(HCl 1:2)	+++	+++	+++	+++
หม่อน(HCl 1:3)	+++	++	+++	+++
กะหล่ำปลีสีม่วง(acetic 1:1)	-	-	-	-
กะหล่ำปลีสีม่วง(acetic 1:2)	-	-	-	-
กะหล่ำปลีสีม่วง(acetic 1:3)	-	-	-	-
กะหล่ำปลีสีม่วง(HCl 1:1)	-	-	-	-
กะหล่ำปลีสีม่วง(HCl 1:2)	-	-	-	-
กะหล่ำปลีสีม่วง(HCl 1:3)	-	-	-	-
แก้วมังกร(acetic 1:1)	-	-	-	-
แก้วมังกร(acetic 1:2)	-	-	-	-
แก้วมังกร(acetic 1:3)	-	-	-	-
แก้วมังกร(HCl 1:1)	++	+	+	-
แก้วมังกร(HCl 1:2)	+	++	+	-
แก้วมังกร(HCl 1:3)	+	++	+	-

โดยกำหนดให้ผลการติดสี เป็นดังนี้

++++ คือติดสีดีที่สุด +++ คือติดสีดี ++ คือติดสีปานกลาง + คือติดสีเล็กน้อย - คือไม่ติดสีที่โครโมโซม

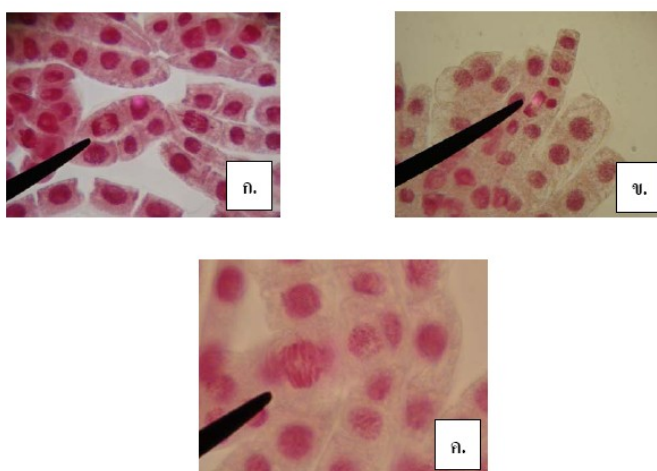
2. การสกัดสีจากพืชโดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิด และความเข้มข้นต่างกัน

จากการสกัดสีจากพืชด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริก 0.1% ในเมทานอล และ กรดอะซิติก 0.1% ในเมทานอล ให้ผลคือ สารสกัดสีที่สกัดด้วยตัวทำละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1% ในเมทานอล สามารถย้อมติดสีบนโครโมโซมของปลายรากหอมได้ดีกว่าสารสกัดสีที่ได้จากตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1% ในเมทานอล สามารถมองเห็นสีได้ชัดเจนกว่าดังภาพที่ 2 สอดคล้องกับงานวิจัย ของ สุภาพรพรณ (2529) ที่สกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันด้วย 1 N HCl, 1 N H₂SO₄, 1 N H₃PO₄, 1% HCl ในเมทานอล และ 1% HCl ในบิวทานอล พบว่า 1 N HCl ให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุด เห็นได้ว่ากรดไฮโดรคลอริก สามารถสกัดแอนโทไซยานินได้ดี และมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นกล่าวคือ ความเข้มข้นของตัวทำละลายมากจะยังสามารถสกัดแอนโทไซยานินได้มาก



ภาพที่ 2 การติดสีย้อมปลายรากหอมในระยะเมทาเฟสด้วยสารสกัดสีจากหอมที่ตัวทำละลายแตกต่างกัน
ก. ใช้ตัวทำละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1% ในเมทานอล ข. ใช้ตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1% ในเมทานอล

และเมื่อศึกษาอัตราส่วนที่ต่างๆ กันของตัวทำละลายโดยใช้ที่อัตราส่วน 1 : 1 , 1 : 2 และ 1 : 3 (ตัวอย่าง : ตัวทำละลาย) ผลที่ได้เป็นไปตาม ตารางที่ 1 คือ ที่อัตราส่วน 1 : 1 ให้สีที่มีความเข้มข้นมากที่สุดและติดสีโครโมโซมมากที่สุด รองลงมาคือ อัตราส่วน 1 : 2 และที่อัตราส่วน 1 : 3 ให้สีที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุดและติดสีโครโมโซมน้อยที่สุด ดังภาพที่ 3 เนื่องจากอัตราส่วนตัวทำละลายที่มากขึ้นทำให้ความเข้มข้นของสีน้อยลง สีที่ถูกสกัดออกมาจึงมีสีจางลงการติดสีโครโมโซมจึงจางลง



ภาพที่ 3 การย้อมติดสีในระยะแอนาเฟสด้วยสารสกัดสีจากหอมในตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1% ในเมทานอล ที่อัตราส่วนต่างๆ ก. อัตราส่วน 1 : 1 ข. อัตราส่วน 1 : 2 ค. อัตราส่วน 1 : 3

3. ศึกษาอายุของสีในการเก็บรักษา และคุณภาพของสีย้อม

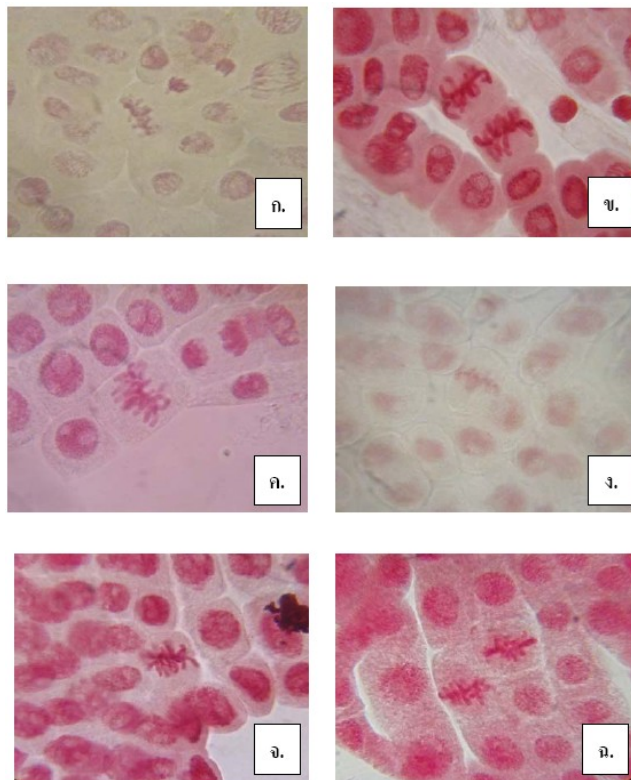
ได้ทดลองย้อมเซลล์ปลายรากหอมด้วยสารสกัดสีที่เก็บไว้ทุกๆ เดือน พบว่า สารสกัดสีที่ได้สามารถย้อมติดเซลล์โครโมโซมได้ใกล้เคียงกับเดือนแรก (หลังการสกัดสารสกัดสี) ดังผลในตารางที่ 1 จากการศึกษาอายุของสีเป็นเวลา 3 เดือน ให้ผลว่าสียังมีความคงทนได้อยู่ โดยสีมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ในสารสกัดที่ได้จากหัวนั้น มีการตกตะกอนของสารในกลุ่มของแป้งเป็นลักษณะสีขาวอมเหลือง และในเดือน 9 ได้ย้อมเซลล์ปลายรากหอมพบว่า สารสกัดจากหม่อน และกะหล่ำปลีสีม่วง ยังคงติดสีโครโมโซมเช่นเดิม ส่วนสารสกัดที่ได้จากแก้วมังกร และหัว ย้อมไม่ติดโครโมโซม โดยสารสกัดสีจากหัว เปลี่ยนแปลงไปเป็นสีน้ำตาล จากงานวิจัยของ เกียรติศักดิ์ (2535) พบว่า คุณหมุมในการเก็บ ควรเป็น 4 ± 1 องศาเซลเซียส ให้ผลในการชะลอการลดลงของปริมาณแอนโทไซยานิน และสามารถเก็บได้มากกว่า 4 เดือน

4. การย้อมสีโครโมโซมในพืชต่างๆ หลังการสกัดสีให้บริสุทธิ์

หลังจากนำสารสกัด (ในตัวทำละลายกรดไฮโดรคลอริก อัตราส่วน 1:1) ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์แล้ว สีที่ได้มีสีเข้มกว่าก่อนทำบริสุทธิ์ และมีสีแดงอมส้มเมื่อนำมาย้อมปลายรากหอมอีกครั้ง ผลที่ได้คือ สีจากหม่อนไม่มีการเปลี่ยนแปลง สีที่ได้จากหัว และ แก้วมังกร มีการติดสีที่น้อยลง ขณะที่สีที่ได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงมีการติดสีที่เพิ่มมากขึ้น ตามตารางที่ 2 และ ภาพที่ 4

ตารางที่ 2 การติดสีโครโมโซมจากสีที่สกัดได้หลังการสกัดสีให้บริสุทธิ์

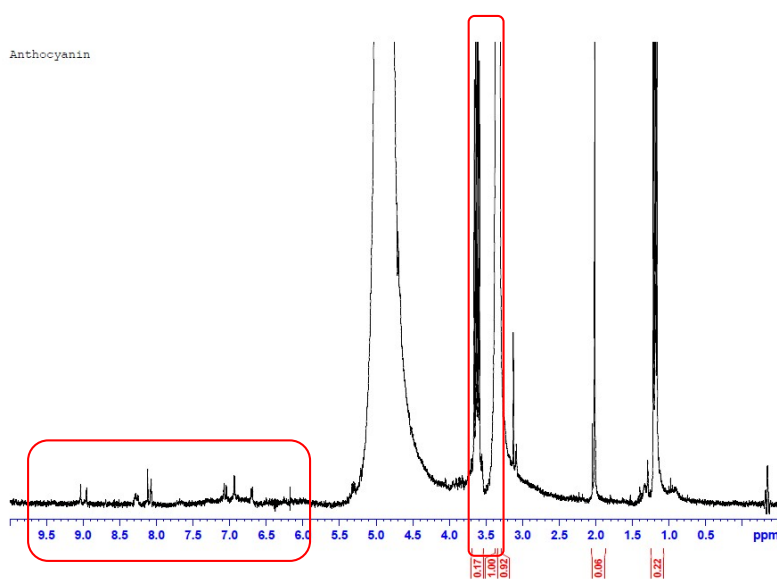
สีที่ได้จากการสกัด	การติดสีบนโครโมโซม
หัว	+
หม่อน	++++
กะหล่ำปลีสีม่วง	++
แก้วมังกร	+
คาร์มีน	++++
ออร์ซีน	++++



ภาพที่ 4 การติดสีโครโมโซมที่ย้อมด้วยสีสกัดจากพืชชนิดต่างๆ หลังสกัดสีให้บริสุทธิ์
ก. หว่า ข. หม่อน ค. กะหล่ำปลีสีม่วง ง. แก้วมังกร จ. สืออร์ชิน ฉ. สี้คาร์มิน

5. การศึกษาโครงสร้างสารสกัดแอนโทไซยานินด้วยเครื่อง NMR Spectrometer

เนื่องจากสีที่สกัดได้จากหม่อนสามารถย้อมติดโครโมโซมได้ชัดเจนมากที่สุด จึงนำมาศึกษาโครงสร้างด้วย NMR Spectroscopy (Bruker Avance 300 spectrometer) ในสารละลาย MeOD (CD_3OD) ที่ 300 MHz. ได้ผลดังภาพที่ 5 โดยให้ค่าเคมีคัลชิฟท์ เป็น 3.365 (H-G5-5) , 9.033 (H4-F), 8.953 (-), 8.118(H-2E) , 7.050 (H-5E), 6.900(-) ppm โดยเปรียบเทียบกับงานของ Susana *et al.*, 2008 ดังตารางที่ 3 ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงจำนวนของหมู่ Hydroxyl ที่มีอยู่ในโครงสร้างของแอนโทไซยานินนั้น ทำให้สามารถสรุปได้ว่าสารแอนโทไซยานินที่ได้จากหม่อน อยู่ในกลุ่มของ Cyanidin ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang (2004) ที่พบว่าสารสกัดสีจากเปลือกลิ้นจี่ที่เป็นแอนโทไซยานินนั้นอยู่ในกลุ่ม Cyanidin เช่นกัน



ภาพที่ 5 NMR Spectrum ของสารสกัดจากหม่อน

Catechin-(4 α -8)-cyanidin-3,5-O- β -diglucoside		
HSQC	$\delta^1\text{H}$ (ข้าวโพด)	$\delta^1\text{H}$ (หม่อน)
<i>Anthocyanidin moiety</i>		
H-4F	9.11; s	9.033
-	8.97; s	8.953
H-2E	8.12; d,	8.11
H-5E	7.05; d,	7.050
-	6.91; d,	6.900
<i>5-O-β-Diglucoside</i>		
H-G5-5	3.3-3.5*	3.365

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่า ^1H , NMR ของข้าวโพดสีม่วงที่ใช้อ้างอิง (Susana *et al.*, 2008) กับสีที่สกัดได้จากหม่อนโดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NMR spectrometer ใน MeOD (CD_3OD) ที่ 300 MHz.
หมายเหตุ; *, unresolved; s, singlet; d, doublet; HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence)

สรุปและข้อเสนอแนะ

การสกัดสารสีจากพืชทดลองคือ หม่อน หว่า แก้วมังกร และกะหล่ำปลีสีม่วง พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมคือไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1% ในเมทานอล ที่อัตราส่วน 1:1 เมื่อนำมาย้อมโครโมโซมปลายรากหอม สารสกัดสีจากหม่อนสามารถย้อมติดได้ใกล้เคียง หรือเทียบเท่าสีทางเคมี ส่วนสารสกัดสีที่ได้จาก หว่า และ แก้วมังกร ย้อมติดสีบนเซลล์โครโมโซมได้น้อยกว่าสีทางเคมี ส่วนกะหล่ำปลีสีม่วงไม่ติดสีโครโมโซม สีสกัดจากหม่อนหากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจะมีอายุการใช้งานได้นานถึง 9 เดือน แต่สารสกัดจากพืชบางชนิดไม่สามารถเก็บได้ และ มีการเสื่อมสภาพไป คือ หว่า และแก้วมังกร เมื่อนำสารสกัดจากผลไม้ทั้งหมดมาให้บริการพบว่าในสารสกัดสดของกะหล่ำปลีสีม่วงจากเดิมที่ไม่ติดสีโครโมโซม แต่เมื่อทำสารสกัดให้บริการพบว่ามีการย้อมติดสีที่ดีขึ้น จากนั้น

นำสารสกัดบริสุทธิ์ของหม่อนไปศึกษาโครงสร้างทางเคมีด้วย เครื่อง NMR Spectrometer แล้ว พบว่า สารแอนโทไซยานินที่ได้จัดอยู่ในกลุ่มของ Cyanidin แต่ยังไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจนว่าเป็นสารตัวใดอย่างเฉพาะเจาะจง

เอกสารอ้างอิง

- เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์. 2535. การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน *Clitoria ternatea* L. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุภาพรพรณ ดุลยพิรุฬห์ศิลป์. 2529. การสกัดแอนโทไซยานินจากเปลือกมังคุด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เสรี สุขุมาลพันธ์. 2545. การพัฒนาผงสีธรรมชาติจากกระเจี๊ยบแดงเพื่อนำมาใช้เป็นสีย้อมกระดาษสา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศรันถวิทย์ ต้นชนะศักดิ์. 2549. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด *Carissa Carandas* สำหรับการย้อมโครโมโซม. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อัญลักษณ์ วชิรไชยการ. 2548. การสกัดสีย้อมโครโมโซมจากพืชธรรมชาติ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และ วิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Cooper Driver, G. A. 2001. Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins. *Journal of Phytochemistry* 56: 229-236.
- Du Q., Zheng J., Xu Y. 2008. Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 21. 390-395.
- Pazmino, D., Giusti, M., Wrolstad, R., & Gloria, M. 2001. Anthocyanins from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. *Journal of Food Chemistry* 75. 211-216.
- Susana G. M., Jose J. P., Yolanda S. M., Nuno M., Artur M.S. S., Victor D. F., Celestino S. B. 2008 . Flavanol-anthocyanin pigments in corn: NMR characterization and presence in different purple corn varieties. *Journal of Food Composition and Analysis* 21. 521-526.
- Zhang Z., Pang X., Chong Y., Zuoliang J., Yueming J. 2004. Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarp. *Journal of Food Chemistry* 84. 601-604.