สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
ตอนที่ 1 การสกัดสีจากไซยาโนแบคทีเรีย	
บทที่ 1 บทคัดย่อ	8
บทที่ 2 บทนำ	9
บทที่ 3 วิธีวิจัย	11
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์	13
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	21
เอกสารอ้างอิง	21
ตอนที่ 2 การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินที่สกัดจากพืช เพื่อย้อมโครโมโซม	
บทที่ 1 บทคัดย่อ	23
บทที่ 2 บทนำ	24
บทที่ 3 วิธีวิจัย	33
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์	34
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	40
ตอนที่ 3 ผลทางไซโตจินิติคของสีสกัดจากพืช(ลูกหม่อน) สีสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย (*Spirulina platensis*) และสีสังเคราะห์เคมี(Erythrosine)ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง	
บทที่ 1 บทคัดย่อ	44
บทที่ 2 บทนำ	46
บทที่ 3 วิธีวิจัย	55
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์	60
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	79
เอกสารอ้างอิง	80

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตอนที่ 1 การสกัดสีจากไซยาโนแบคทีเรีย

1 ลักษณะของสารสกัดที่ได้จากการสกัดสารสีสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ แล้วนำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 16

2 ลักษณะของสารสกัดที่ได้จากการสกัดสารสีสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ โดยการแช่แข็งแล้วละลายที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส 18

ตารางที่ **หน้า**

ตอนที่ 2 การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินที่สกัดจากพืช เพื่อย้อมโครโมโซม

1 แอนโทไซยานินที่พบในธรรมชาติ 30

2 แสดงผลการติดสีโครโมโซมของสีสกัดจากพืชก่อนการสกัดสีให้บริสุทธิ์ 35

3 การติดสีโครโมโซมจากสีที่สกัดได้หลังการสกัดสีให้บริสุทธิ์ 38

ตารางที่ **หน้า**

ตอนที่ 3 ผลทางไซโตจินิติคของสีสกัดจากพืช(ลูกหม่อน) สีสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย (*Spirulina platensis*) และสีสังเคราะห์เคมี(Erythrosine)ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง

1 การทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสีที่สกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย 61

2 การทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสีที่สกัดจากพืช (ครั้งที่ 1) 61

3 การทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสีที่สกัดจากพืช (ครั้งที่ 2) 62

4 การทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสีผสมอาหารเออริโธรซิน (ครั้งที่ 1) 62

5 การทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสีผสมอาหารเออริโธรซิน (ครั้งที่ 2) 63

6 แสดงค่าอัตราการแบ่งเซลล์เนื่องจากผลของคือ สีที่สกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย สีที่สกัดจากพืช และสีสังเคราะห์เออริโธรซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆในเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ในอาหาร 64

7 แสดงอัตราการหักของโครโมโซม คิดเป็น break/cell เนื่องจากผลของสีที่สกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย ในระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยนับจำนวนการหักจากเซลล์เมทาเฟสจำนวน 50 เซลล์ต่อแต่ละหน่วยทดลอง 67

8 แสดงอัตราการหักของโครโมโซม คิดเป็น break/cell เนื่องจากผลของสีที่สกัดจากพืชในระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยนับจำนวนการหักจากเซลล์เมทาเฟสจำนวน 50 เซลล์ต่อแต่ละหน่วยทดลอง 67

9 แสดงอัตราการหักของโครโมโซมทั้ง 4 รูปแบบ เนื่องจากผลของสีผสมอาหารเออริโธรซินในระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยนับรวมจากจำนวนเซลล์ในระยะเมทาเฟสจำนวน 50 เซลล์ต่อแต่ละหน่วยทดลองทั้ง 3 ซ้ำ 68

10 ผลของสีผสมอาหารเออริโธรซิน ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ก่อให้เกิดความผิดปกติของ โครโมโซมแบบหดสั้น ในเซลล์ระยะเมทาเฟสจำนวน 50 เซลล์ต่อแต่ละหน่วยทดลอง 75

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

ตอนที่ 1 การสกัดสีจากไซยาโนแบคทีเรีย

1 สภาวะการเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า 13

2 กราฟแสดงค่าการวัดความขุ่นของเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า ที่ช่วง การดูดกลืนแสง 560 และ670 นาโนเมตร ระยะเวลา 4 สัปดาห์ 14

3 กราฟแสดงค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสไปรูลิน่า ในช่วงระยะเวลา 4 สัปดาห์ 14

4 กราฟแสดงค่าการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายสไปรูลิน่า ในช่วงระยะเวลา 4 สัปดาห์ 15

5 ลักษณะสารสีที่ได้จากการสกัดสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยตัวทำละลาย ชนิดต่างๆ หลังจากเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 17

6 ลักษณะสารสีจากการสกัดสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยตัวทำละลายชนิด ต่างๆ หลังการแช่แข็งเพื่อนำไปละลายที่อุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส 19

7 ลักษณะสารสีไฟโคไซยานินที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปรูลิน่า 20

ภาพที่ **หน้า**

ตอนที่ 2 การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินที่สกัดจากพืช เพื่อย้อมโครโมโซม

1 แก้วมังกรเนื้อแดง (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton&Rose.) 25

2 หว้า (*Syzygium cumini* (L.) Skeeis.) 26

3 หม่อน (*Morus alba* L.) 27

4 กะหล่ำปลีสีม่วง (*Brassica oleracea* L. var. capitata L.) 28

5 ภาพแสดงโครงสร้างของแอนโทไซยานิน แคตไอออนของ flavylium โดย R_1 และ R_2 เป็น H, OH หรือ OCH_3 R_3 เป็น glycosyl หรือ H และ R_4 เป็น OH หรือ glycosyl 29

6 แสดงกราฟของการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน 32

7 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Cyanidin 3-*O*-rutinoside และ Palargonidin 3-*O*-rutinoside 32

8 การติดสีย้อมปลายรากหอมในระยะเมทาเฟสด้วยสารสกัดสีจากหม่อนที่ตัวทำละลายแตกต่างกัน 36

9 การย้อมติดสีในระยะแอนาเฟสด้วยสารสกัดสีจากหม่อนในตัวทำละลายกรดอะซิติก 0.1% ในเมทานอลที่อัตราส่วนต่างๆ 37

10 การติดสีโครโมโซมที่ย้อมด้วยสีสกัดจากพืชชนิดต่างๆ หลังสกัดสีให้บริสุทธิ์ 39

11 NMR Spectrum ของสารสกัดจากหม่อน 40

ภาพที่ **หน้า**

ตอนที่ 3 ผลทางไซโตจินิติคของสีสกัดจากพืช(ลูกหม่อน) สีสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย (*Spirulina platensis*) และสีสังเคราะห์เคมี(Erythrosine)ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง

1 โครงสร้างของเออริโธรซิน 48

2 ลักษณะของโครโมโซม 54

3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสีที่สกัดจาก ไซยาโนแบคทีเรียกับอัตราการแบ่งเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 65

4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสีที่สกัดจากพืช กับอัตราการแบ่งเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 65

5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสีสังเคราะห์ เออริโธรซินกับอัตราการแบ่งเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 66

6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสีผสมอาหาร เออริโธรซิน (mg/5ml) กับอัตราการเกิดการหักของโครโมโซมทั้ง 4 แบบ 69

7 ลักษณะของโครโมโซมปกติในระยะเมทาเฟสของเซลล์เม็ดเลือดขาว 70

8 ลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติในระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นผลมาจาก การเหนี่ยวนำด้วยไมโตมัยซิน-ซี ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร 71

9 ลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติในระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นผลมาจาก การเหนี่ยวนำด้วยผสมอาหารเออริโธรซินที่ระดับความเข้มข้น 6 มิลลิกรัม ต่อ 5 มิลลิลิตร 72

10 ลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติในระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นผลมาจาก การเหนี่ยวนำด้วยสีผสมอาหารเออริโธรซินที่ระดับความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม ต่อ 5 มิลลิลิตร 73

11 ลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติในระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นผลมาจากการ เหนี่ยวนำด้วยสีสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ต่อ 5 มิลลิลิตร 74

12 ลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติในระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นผลมาจากการ เหนี่ยวนำด้วยสีสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิลิตรต่อ 5 มิลลิลิตร 74

13 กราฟเปรียบเทียบอัตราการเกิดจำนวนเซลล์ที่มีความผิดปกติของ โครโมโซมใน 3 รูปแบบ 76

14 ลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติในระยะเมทาเฟสแบบต่างๆ ที่ได้รับ สีผสมอาหารเออริโธรซิน 77

คำนำ

รายงานฉบับนี้มุ่งที่จะศึกษาหาวิธีการสกัดสีย้อมจากพืชท้องถิ่นและไซยาโนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดเพื่อใช้ทดแทนสีย้อมที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีเพื่อลดปัญหามลภาวะเป็นพิษ และลดการใช้สารเคมีและลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้าสีย้อม รวมทั้ง ทดสอบความเป็นพิษของสีที่สกัดได้จากพืชท้องถิ่นและไซยาโนแบคทีเรียเปรียบเทียบกับสีสังเคราะห์เคมีโดยการศึกษาความเป็นพิษของสีในระดับโครโมโซมโดยใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นตัวทดสอบ เพื่อพัฒนาสีที่ได้นำไปใช้เป็นสีย้อมในระดับอุตสาหกรรมต่อไป และนำข้อมูลพื้นฐานของชนิดของพืชและไซยาโนแบคทีเรียที่จะนำมาใช้ในการเตรียมสีย้อมเพื่อทดแทนสีย้อมทางเคมี และข้อมูลวิธีการสกัดสีที่ประหยัด สะดวก ง่าย และเหมาะสมที่สุดต่อพืชตัวอย่างต่างๆกันมาเสริมในวิชาเรียนได้ และนำมาใช้ย้อมสีดูโครโมโซมได้ ในด้านคุณภาพชีวิตและสุขอนามัย ทำให้ผู้บริโภคได้ใช้สีที่ผลิตจากธรรมชาติไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ และปราศจากโลหะหนักซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค จึงมีการนำภูมิปัญญาท้องถิ่นในเรื่องการใช้สีจากส่วนต่างๆของพืช เช่น ใบ ดอกเพื่อประโยชน์สูงสุดและเพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตให้กับตัวผู้บริโภคให้มีข้อมูลและมีทางเลือกเพิ่มขึ้นอีก ทั้งในเชิงการพัฒนา ได้พัฒนาทักษะในการทำงานวิจัยของนักวิจัยรุ่นใหม่ เพื่อให้มีการเรียนรู้กระบวนการในการปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ และพัฒนาความคิดในเชิงวิทยาศาสตร์ และพัฒนางานวิจัยใหม่ๆต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้ร่วมวิจัยทุกท่าน ที่ทำงานวิจัยเป็นผลสำเร็จและลุล่วงเป็นอย่างดี และงานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และคณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ศิริลักษณ์ เอี่ยมธรรม

8 กรกฎาคม 2558