

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
รายการอักษรย่อ	ท
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
1.2 การศึกษาการเจริญของรากพืชในสกุล <i>Morinda</i> และการสร้างสารให้สี	3
1.3 การสกัด anthraquinone โดยใช้เอนไซม์	12
1.4 การสกัดและวิเคราะห์สารให้สีธรรมชาติจากรากพืช	13
1.4.1 การสกัด	13
1.4.1.1 Maceration	13
1.4.1.2 Percolation	13
1.4.1.3 Soxhlet Extraction	13
1.4.1.4 Liquid-liquid extraction	13
1.4.2 การแยกบริสุทธิ์	14
1.4.2.1 โครมาโทกราฟีผิวบาง (Thin-layer Chromatography)	14
1.4.2.2 โครมาโทกราฟีคอลัมน์ (Column Chromatography)	14
1.4.3 การวิเคราะห์	15
1.4.3.1 การวิเคราะห์กลุ่มสารให้สีโดยปฏิกิริยาเคมี	15
1.4.3.2 การวิเคราะห์โครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโตรสโกปี	15
1.4.4 การตรวจสอบสมบัติสารให้สี	17
1.5 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	18
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	19
2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	19

เรื่อง	หน้า
2.1.1 สารเคมี	19
2.1.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์	20
2.1.3 พืชที่ใช้	21
2.2 วิธีการทดลอง	21
2.2.1 การตรวจสอบชนิดของต้นยอป่าจากตัวอย่างรากและใบดอกที่เก็บมา	21
2.2.2 การสกัดรงควัตถุสีแดงจากรากยอป่า	22
2.2.3 การทดสอบเคมีเบื้องต้นของสารให้สีจากรากยอป่า	22
2.2.3.1 การทดสอบสารให้สีกลุ่มแคโรทีนอยด์	22
2.2.3.2 การทดสอบสารให้สีกลุ่มฟลาโวนอยด์	22
2.2.3.3 การทดสอบสารให้สีกลุ่มอัลคาลอยด์	22
2.2.3.4 การทดสอบสารให้สีกลุ่มแอนทราควิโนน	22
2.2.3.5 การทดสอบสารให้สีกลุ่มเมลานิน	22
2.2.4 การแยกองค์ประกอบหลักของสารให้สีจากรากยอป่า	23
2.2.5 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบหลักของสารให้สีที่แยกได้จากรากยอป่า	24
2.2.5.1 การทำให้สารประกอบหลักมีความบริสุทธิ์	24
2.2.5.2 การวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์	24
2.2.6 การศึกษาการเพิ่มผลผลิตสีย้อมธรรมชาติจากรากยอป่าโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	24
2.2.6.1 การตัดเนื้อเยื่อรากยอป่า	25
2.2.6.2 การเพาะเลี้ยงเซลล์ราก	26
2.2.6.3 การสกัดรงควัตถุจากเซลล์ราก	28
2.2.6.4 การแยกสารให้สีหลักจากเซลล์ราก	29
2.2.6.5 การวิเคราะห์โครงสร้างสารให้สีหลักจากเซลล์ราก	29
บทที่ 3 ผลการทดลอง	30
3.1 ผลการสกัด ตรวจสอบชนิดและแยกองค์ประกอบหลักของสารให้สีจากรากยอป่า	30

เรื่อง	หน้า
3.1.1 ผลการสกัดสารให้สีจากรากยอป่า	30
3.1.2 ผลการตรวจสอบสารให้สี	31
3.1.3 ผลการแยกองค์ประกอบหลักของสารให้สี	31
3.2 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบหลักของสารให้สีที่แยกได้จากรากยอป่าและการตรวจสอบสมบัติ	32
3.2.1 การแยกบริสุทธิ์สารให้สีหลักของรากยอป่าโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี	32
3.2.2 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี	32
3.3 การผลิตสารให้สีจากรากยอป่าโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ราก	36
3.3.1 การสกัดและวิเคราะห์สารสีที่ผลิตจากการเพาะเลี้ยงกลุ่มเซลล์รากยอป่า	36
3.3.2 การเปรียบเทียบปริมาณการผลิตสีจากกลุ่มเซลล์รากที่เพาะเลี้ยงในระยะเวลาต่างกัน	41
บทที่ 4 วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง	45
เอกสารอ้างอิง	49
ประวัติผู้เขียน	52

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1.1 ตัวทำละลายและการเก็บรักษาสารควบคุมการเจริญของพืช	10
1.2 ผลของ lipase กับ lactase ต่อการเจริญและปริมาณ anthraquinone ของ <i>Morinda citrifolia</i> เซลล์หลังจากการเพาะเลี้ยงมา 2 สัปดาห์	12
3.1 การแปล IR spectrum ของสารให้สีจากการเพาะเลี้ยงเซลล์รากยอปา	40
3.2 การแปล IR spectrum ของสารให้สีที่สกัดด้วยน้ำค้างแล้วทำเป็นผงโดยการฉีดพ่นแห้ง	41
3.3 การผลิต anthraquinone จากการเพาะเลี้ยงเซลล์รากยอปาสายพันธุ์ <i>Morinda angustifolia</i> Roxb. var. <i>scabridula</i> Craib.	43

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
1.1	สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Morindin
1.2	สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Morindone
1.3	การสังเคราะห์ anthraquinone ผ่านวิธี Shikimate-Mevalonate
1.4	การ hydrolysed ECECF-AM โดยเอนไซม์ intracellular esterase
1.5	กราฟแสดงผลของ HCl และ KOH ที่เติมให้กับ fluorescence excitation spectra ของ BCECF ที่จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของ <i>Morinda citrifolia</i> ที่เจริญเติบโตในอาหารที่มี NAA
1.6	ผลของฮอร์โมนพืชต่อการสร้าง anthraquinone และการเจริญของรากของ <i>Rubia tinctorum</i>
1.7	ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการสร้าง anthraquinone และการเจริญเติบโตของ <i>Rubia tinctorum</i>
1.8	กราฟแสดงการเจริญและการสร้าง anthraquinone ระหว่างการเลี้ยงเซลล์ของ <i>M. citrifolia</i> ที่เติม NAA (o) และที่เติม 2,4-D (●)
1.9	กราฟแสดงการเติม 2,4-D ลงในอาหารที่มี NAA ในช่วงวันที่ 4, วันที่ 10 และวันที่ 14
1.10	โครงสร้างทางเคมีของ Phytohormone 2 กลุ่ม คือ A กลุ่ม Auxin และ B กลุ่ม Cytokinin
1.11	โครงสร้างของเซลล์และ vacuole ที่เก็บ secondary metabolite
2.1	ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากยอป่าเพื่อเพิ่มผลผลิตสีย้อมธรรมชาติ
3.1	ลักษณะต้นและรากยอป่าสายพันธุ์ <i>Morinda angustifolia</i> Roxb. var. <i>scabridula</i> Craib.
3.2	ขั้นตอนการแยกและวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารให้สีที่เป็นองค์ประกอบหลักของสารให้สีจากรากยอป่า
3.3	ผงผลึกสารให้สีกลุ่ม anthraquinone ที่บริสุทธิ์
3.4	UV-visible spectrum ของสารให้สีจากรากยอป่า
3.5	Mass spectrum ของสารให้สีจากรากยอป่า

รูป	หน้า
3.6 ก. C ¹³ -NMR spectrum ของสารให้สีจากรากยอป่า	
ข. C ¹³ -NMR spectrum ของสาร reference standard morindone	35
3.7 ลักษณะเมล็ดรากยอป่าสายพันธุ์ <i>Morinda angustifolia</i> Roxb. var. <i>scabridula</i> Craib.	37
3.8 การเพาะเลี้ยงกลุ่มเซลล์รากยอป่าเพื่อผลิตสารให้สีกลุ่ม anthraquinone	38
3.9 UV-visible spectrum ของสารให้สีที่สกัดจากกลุ่มเซลล์ราก (X) ของรากยอป่าที่สกัดด้วยน้ำต่าง (Y) และสารให้สีมาตรฐาน (Z)	38
3.10 โคโรมาโทแกรมแบบผิวบางของสารให้สีที่สกัดจากกลุ่มเซลล์ราก (X) ของรากยอป่าที่สกัดด้วยน้ำต่าง (Y) และสารให้สีมาตรฐาน (Z)	39
3.11 IR spectrum ของสารให้สีจากการเพาะเลี้ยงเซลล์รากยอป่า	39
3.12 IR spectrum ของสารให้สีที่สกัดด้วยน้ำต่างพีเอช 11.2 แล้วทำเป็นผงโดยการฉีดพ่นแห้ง	40
3.13 UV-visible spectrum ของสารให้สีที่สกัดจากเซลล์รากยอป่าที่เพาะเลี้ยง 5 เดือน (X) และ 3 เดือน (Y) เทียบกับสารให้สีหลัก morindone (Z)	42
3.14 โคโรมาโทแกรมแบบผิวบางของสารให้สีหลักที่สกัดจากกลุ่มเซลล์รากยอป่าที่เพาะเลี้ยง 5 เดือน (X) และ 3 เดือน (Y) เทียบกับสารให้สีหลัก morindone (Z)	42
4.1 IR spectrum ของกรดแอนทราฟลาวิก	47

รายการอักษรย่อ

°	=	องศาเซลเซียส
AQ	=	Anthraquinone
cm	=	เซนติเมตร
g	=	กรัม
mg	=	มิลลิกรัม
IR	=	Infrared
l	=	ลิตร
M	=	molar
mM	=	millimolar
nm	=	nanometre
μM	=	micromolar
MS	=	Murashige and Skoog
N	=	normal
NMR	=	Nuclear magnetic resonance
ppm	=	part per million
psi	=	pound per square inch
rpm	=	round per minute
TLC	=	Thin layer chromatography
UV	=	ultraviolet
X	=	จำนวนเท่า