# บทที่ 2
# บทตรวจเอกสาร

## 2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับข้าว

ข้าว จัดเป็นพืชล้มลุกอยู่ในวงศ์หญ้า (Poaceae) วงศ์ย่อย Pooidea สกุล *Oryza* ที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่นและร้อนต้องการอุณหภูมิและความชื้นค่อนข้างสูงในการเจริญเติบโต มีการแพร่กระจายบริเวณเส้นรุ้งที่ 53 องศาเหนือถึง 35 องศาใต้ สามารถเจริญเติบโตได้ดีตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงระดับสูงประมาณ 2,500 เมตร ข้าวจึงแพร่กระจายพันธุ์อย่างกว้างขวาง ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ มีการปลูกข้าวเพื่อใช้ในการบริโภคมากในทวีปเอเชีย ข้าวในปัจจุบันมีทั้งหมด 23 ชนิด เป็นข้าวปลูกเพื่อการบริโภค 2 ชนิด ซึ่งมีจำนวนสายพันธุ์มากกว่า 120,000 สายพันธุ์ ที่เหลือ 21 ชนิดเป็นข้าวป่าทั้งหมด สำหรับข้าวปลูก 2 ชนิดนั้นคือ ข้าวปลูกเอเชีย (*Oryza sativa* Linn.) และข้าวปลูกแอฟริกา (O. *glaberrima* Steud.) ข้าวปลูกโดยทั่วไปมีจำนวนโครโมโซม 24 แท่ง (2n=24) (สงกรานต์ จิตรากร, 2544)

**2.1.1 การจำแนกพันธุ์ของข้าว** (วาสนา ผลารักษ์, 2523)

สามารถจัดจำแนกสายพันธุ์ข้าวปลูก โดยอาศัยคุณสมบัติต่างๆ ดังต่อไปนี้ เช่น

2.1.1.1 ตามสัญฐานวิทยา จำแนกข้าวออกได้เป็น 3 ชนิดคือ

1) อินดิก้า (Indica type) เป็นชนิดที่มีเมล็ดยาว ค่อนข้างแบน หางของเมล็ดสั้นมาก ขนบนข้าวชิดเปลือกและสั้นมาก เมล็ดร่วงได้ง่าย

2) จาโปนิก้า (japonica type) เป็นชนิดที่มีเมล็ดสั้น กลม หางของเมล็ดสั้นมากถึงยาว ขนบนข้าวเปลือกมากและยาว เมล็ดร่วงได้ยาก

3) จาวานิก้า (javanica type) เป็นชนิดที่มีเมล็ดกว้างและหนา หางของเมล็ดสั้นมากถึงยาว ขนบนข้าวเปลือกสั้นยาว เมล็ดร่วงได้ยาก

1.1.2 ตามคุณสมบัติในการขึ้นน้ำ

1) ข้าวไร่ (upland rice หรือ hill rice) เป็นพันธุ์ข้าวที่สามารถขึ้นได้ในที่ไม่ต้องมีน้ำหล่อเลี้ยง ส่วนมากปลูกตามที่ราบสูง ที่ดอนและเชิงเขา พันธุ์ข้าวชนิดนี้ปลูกไว้เพื่อการบริโภคมากกว่าที่จะปลูกเป็นการค้า ผลผลิตและคุณภาพข้าวค่อนข้างต่ำ

2) ข้าวนาสวน (swamp rice หรือ lowland rice) เป็นพันธุ์ข้าวที่ขึ้นได้ในที่ดอน ที่มีน้ำน้อยและในนาที่มีน้ำขังตลอดฤดู มีความสามารถทนน้ำลึกได้ไม่เกิน 1 เมตร ประเทศไทยมีการปลูกข้าวชนิดนี้มาก

3) ข้าวขึ้นน้ำ (floating rice) อาจจะเรียกว่า ข้าวนาเมืองหรือข้าวฟางลอย เป็นพันธุ์ข้าวที่ขึ้นได้ดีในที่น้ำมากน้ำอาจจะลึกถึง 2.7–4 เมตร มักปลูกตามลุ่มริมแม่น้ำ ในเขตภาคกลาง เช่น จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี อ่างทอง เป็นต้น

**2.1.2 พฤษศาสตร์ของข้าว** (อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น, 2530)

ข้าว เป็นพืชล้มลุกมีลำต้นกลมภายในกลวง ลำต้นตั้งตรงประกอบไปด้วยข้อและปล้อง มีใบแบนใบแตกออกมาจากข้อ ไม่มีเนื้อไม้ มีเนื้อเยื่อเจริญอยู่เหนือข้อแต่ละข้อ และมีระบบรากฝอย ซึ่งลักษณะที่สำคัญของข้าวมีดังนี้ (ภาพที่ 1)

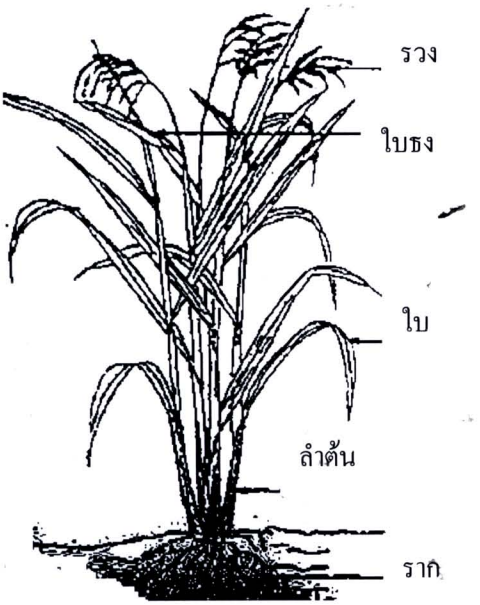
**ลำต้น** มีลักษณะกลมตรงกลางเป็นโพรง แบ่งออกเป็นปล้องๆ (internode) มีข้อ (node) กั้นระหว่างปล้องความยาวของปล้องข้าวแต่ละสายพันธุ์นั้นแตกต่างกันจำนวนปล้องจะเท่ากับจำนวนใบของต้นข้าว

**ราก** อยู่ใต้ผิวดินยึดระหว่างลำต้นกับดินเพื่อไม่ให้ต้นล้ม อาจมีรากพิเศษเกิดขึ้นที่ข้อเหนือพื้นดิน มีรากฝอยแตกแขนงอยู่ใต้ผิวดิน

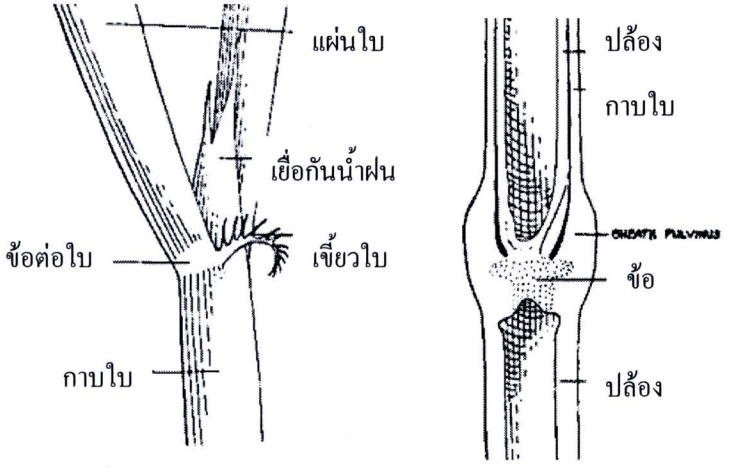
**ใบ** มีลักษณะเป็นแผ่นแบนบาง ยาวและแคบ ส่วนปลายคล้ายหอก ประกอบด้วยส่วนของ กาบใบ (leaf sheath) เขี้ยวใบ (auricle) เยื่อกันน้ำฝน (ligule) และ ข้อต่อใบ (collar) เส้นใบเรียงขนานตามยาว มีเส้นกลางใบ พบเขี้ยวใบอยู่ด้านข้างบริเวณจุดต่อระหว่างตัวใบและกาบใบ ใบสุดท้ายที่อยู่บนสุด เรียกว่า ใบธง (flag leaf) ซึ่งกว้าง และสั้นกว่าใบอื่นๆ (ภาพที่ 2)

**ดอก** มีลักษณะเป็นช่อเรียกว่า ช่อดอก (inflorescence) มีแขนงบนช่อดอกแบบรวง (panicle) ช่อดอกแตกออกเป็นแขนงแรก (primary branch) และแตกออกเป็นแขนงย่อย (secondary branch) บนแขนงย่อยเหล่านี้จะมีดอกข้าว (floret; spikelet) ซึ่งเป็นดอกสมบูรณ์ (perfect flower) ภายในดอกมีเกสรตัวผู้ (stamen) โดยมีอับเกสรตัวผู้ (anther) 6 อัน และมีเกสรตัวเมีย (pistil) ซึ่งประกอบไปด้วยกลีบดอก 2 กลีบ คือ กลีบดอกใหญ่ (lemma) และกลีบดอกเล็ก (palea) ส่วนปลายสุดของกลีบดอกใหญ่บางอันมีหาง (awn) ยาว บางพันธุ์สั้นหรือไม่มี ที่โคนของกลีบดอกมีฐานหุ้มเมล็ด (rachilla) ที่ใต้ฐานหุ้มเมล็ดมีกลีบดอก (sterile lemma) เล็กๆ 2 กลีบ ซึ่งไม่ได้ใช้หุ้มเมล็ด เกิดบนจุดกำเนิดของดอก (rudimentary glumes)

**เมล็ดข้าว** คือส่วนที่เป็นแป้งที่เรียกว่า เอนโดสเปิร์ม (endosperm) และส่วนที่เป็นคัพภะ ซึ่งห่อหุ้มไว้โดยเปลือกนอกใหญ่สองแผ่น ส่วนที่ใช้เป็นอาหารของต้นข้าวในระยะที่เมล็ดเริ่มงอกคือ เอนโดสเปิร์ม ซึ่งเป็นส่วนที่มนุษย์ใช้บริโภคนั่นเอง




**ภาพที่ 1** ส่วนต่างๆ ของต้นข้าว
**ที่มา**: อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น (2530)




**ภาพที่ 2** ส่วนประกอบบริเวณข้อและปล้องของข้าว
**ที่มา:** วาสนา ผลารักษ์ (2541)

**2.2 ข้าวเหนียว**

ข้าวเหนียว (Glutinous rice) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Oryza sativa* var. glutinosa ซึ่งเป็นข้าวที่มีลักษณะเด่นประจำพันธุ์ คือ การติดกันเหมือนกาวของเมล็ดข้าวที่สุกแล้ว มีพื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และประเทศสาธารณะรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ข้าวเหนียวเป็นที่นิยมบริโภคอย่างกว้างขวางในประเทศ และเป็นอาหารหลักของประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ นอกจากการบริโภคโดยตรงแล้วยังมีการนำข้าวเหนียวมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตสุราพื้นเมือง การผลิตแป้งข้าวเหนียวเพื่ออุตสาหกรรมอาหารและขนมขบเคี้ยว ข้าวเหนียวมีอยู่หลายสายพันธุ์ ที่มีลักษณะแตกต่างกัน รวมถึงลักษณะการมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวและสีดำ ที่เรียกข้าวเหนียวขาว และข้าวเหนียวดำ (ข้าวก่ำ)

**2.2.1 ข้าวเหนียวขาวสายพันธุ์ กข 6**

ข้าวสายพันธุ์ กข 6 เป็นข้าวที่ได้รับการคัดแปลงมาจากข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้รังสีแกมมาที่ 20 กิโลแรด โดยสำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติแห่งประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2508 ปลูกและคัดเลือกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้การฉายรังสี รุ่นที่ 2 ที่สถานีทดลองข้าวบางเขน ปลูกชั่วที่ 3 ที่สถานีทดลองข้าวพิมาย จังหวัดนครราชสีมา จนคัดเลือกได้ข้าวสายพันธุ์ดี ทั้งสายพันธุ์ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว แล้วนำมาปลูกทดสอบผลผลิตระหว่างสถานีและในนาเกษตรกรในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือในช่วงปี พ.ศ. 2514-2519 พบข้าวเหนียว สายพันธุ์ KDML 105'65-G3U-68-254 ซึ่งมีความนุ่ม มีกลิ่นหอม ทนแล้ง และมีคุณภาพการหุงต้มรับประทานดี ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดเป็นอันดับหนึ่งสูงกว่าข้าวเหนียวสันป่าตอง ซึ่งนิยมปลูกกันแพร่หลายในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียง เหนือ กรมวิชาการเกษตรจึงได้พิจารณาให้เป็นพันธุ์รับรอง และแนะนำให้เกษตรกรปลูกเมื่อวันที่ 4 พฤษภาคม 2520 (ผลิใบ, 2545)

**ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ข้าวพันธุ์ กข 6**

จัดเป็นพืชล้มลุก วงศ์หญ้า พวกข้าวเหนียวนาสวน ไวต่อช่วงแสงต้น สูงประมาณ 160 เซนติเมตร ทรงกอแผ่ปล้องสีเหลืองอ่อน ต้นแข็งแรง ไม่ล้ม

มีใบสีเขียวจาง มีขนเล็กน้อย กาบใบสีเขียว ใบธงค่อนข้างสั้น การแก่ของใบปานกลาง

มีกลีบรองดอกมีขนาดสั้น สีฟาง รวงยาวปานกลาง คอรวงยาว จำนวนรวงต่อตารางเมตรเฉลี่ย 146 รวง

จำนวนเมล็ดดีต่อรวง เฉลี่ย 109 เมล็ด เมล็ดยาวเรียว มีเปลือกสีน้ำตาล เมล็ดมีขนสั้น ยอดเมล็ดสีน้ำตาล ขนาดเมล็ดยาว 10.59 มิลลิเมตร กว้าง 2.79 มิลลิเมตร และหนา 2.02 มิลลิเมตร น้ำหนัก 1,000 เมล็ด เฉลี่ย 26.11 กรัม คิดเป็นน้ำหนักข้าวเปลือก 10.84 กิโลกรัมต่อถัง ข้าวกล้องสีขาว ขนาดเมล็ดเฉลี่ยยาว 7.25 มิลลิเมตร กว้าง 2.26 มิลลิเมตร และหนา 1.80 มิลลิเมตร ผลผลิตเฉลี่ย 670 กิโลกรัมต่อไร่ วันเก็บเกี่ยวได้ประมาณ วันที่ 21 พฤศจิกายน ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 5 สัปดาห์คุณภาพหุงต้มดี เป็นข้าวเหนียวที่นุ่ม มีกลิ่นหอม

**ข้อควรระวัง** ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและแมลงบั่ว

**พื้นที่แนะนำ** เหมาะสมสำหรับภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ปลูกได้เฉพาะนาปี

**ลักษณะประจำพันธุ์ดีเด่น** ให้ผลผลิตและทนแล้งดีกว่าข้าวเหนียวสันป่าตอง ต้านทานต่อโรคไหม้และโรคใบจุดสีน้ำตาล ตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยดี และมีคุณภาพการหุงต้มดี มีกลิ่นหอม

**2.2.2 ข้าวเหนียวดำ**

เป็นข้าวพันธุ์ไวแสง ปลูกได้เฉพาะฤดูนาปี การเรียกชื่อ อาจเรียกว่า ข้าวเหนียวดำ หรือ ข้าวก่ำ ซึ่งเป็นชื่อเรียกตามภาษาพื้นเมืองทางเหนือ และทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตามลำดับ ข้าวเหนียวดำปลูกมากในแถบภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย นอกจากนี้ยังพบว่า มีการปลูกในแถบประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว สาธารณรัฐเวียดนาม อินเดีย ญี่ปุ่น และสาธารณรัฐประชาชนจีน

ข้าวเหนียวดำ เป็นข้าวที่เรียกตามลักษณะของการปรากฏของสีม่วงบนส่วนต่างๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ กลีบดอก เปลือกหุ้มเมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด เป็นต้น โดยสีของเยื่อหุ้มเมล็ดอาจมีสีต่างๆ ตั้งแต่สีแดงก่ำไปจนถึงม่วงดำ (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547) สีดังกล่าวเป็นสีของสารที่ เรียกว่า แอนโทไซยานิน ซึ่งข้าวสีแต่ละสายพันธุ์ จะมีความเข้มและปริมาณของสีแตกต่างกันไป ตามลักษณะเฉพาะของข้าวสีพันธุ์นั้นๆ โดยทั่วไปจะพบว่าข้าวเหนียวดำไร่ จะมีลักษณะสีม่วงเฉพาะส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดเท่านั้น ในขณะที่ข้าวเหนียวดำนา จะมีลักษณะสีม่วงปรากฏอยู่ในส่วนอื่นๆ ด้วย การเกิดสีในเปลือกเมล็ดข้าวก็จะแตกต่างกันไปในแต่ละพันธุ์ เช่น ข้าวก่ำล้วน จะเป็นข้าวเหนียวดำ ที่มีเมล็ดข้าวมีสีม่วงทั้งเมล็ด ส่วนข้าวก่ำผ่า จะเป็นข้าวเหนียวดำ ที่มีเมล็ดมีสีม่วงเพียงบางส่วน (ดำเนิน กาละดี, 2545) นอกจากนี้ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองจะมีความสามารถในการทนแล้งและการฟื้นตัวจากแล้งได้ดี ต้านทานต่อเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว (วิไลลักษณ์ พละกลาง, 2541)

อัญชลี ชาวนา (2549)ได้ทำการ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการให้ผลผลิตของข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 60 พันธุ์ โดยปลูกทดสอบในแปลงทดลองศูนย์วิจัยข้าวสกลนคร พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มพันธุ์ข้าวเหนียวดำพื้นเมืองได้เป็น 3 กลุ่มโดยแต่ละกลุ่มมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน และทำการเปรียบเทียบผลผลิตข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมือง 16 พันธุ์ ใน 3 แหล่งปลูกคือ ศูนย์วิจัยข้าวสกลนคร ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี และศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตขอนแก่น พบว่า แหล่งปลูกที่ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตขอนแก่น ให้ผลผลิตเฉลี่ยของข้าวเหนียวดำสูงที่สุด

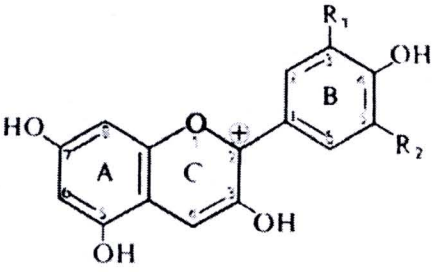
**รงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในข้าวเหนียวดำ**

สีที่ปรากฏในส่วนต่างๆ ของต้นข้าวเหนียวดำส่วนใหญ่ เกิดจากรงควัตถุแอนโทไซยานิน และรงควัตถุอื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน รงควัตถุกลุ่มนี้จะทำให้เกิดสีบนต้นข้าวแตกต่างกันไป ตั้งแต่สีชมพู จนถึง สีม่วงดำ รงควัตถุนี้จะกระจายอยู่ในส่วนต่างๆ ของต้นข้าวแตกต่างกันตามสายพันธุ์ อาจจะพบรงควัตถุในส่วนต่างๆ ของต้นข้าว เช่น ที่ลำต้น ใบ หรือเกือบทุกส่วนของช่อดอก ยกเว้นส่วนเอ็มบริโอ และเอ็นโดสเปิร์ม อย่างไรก็ตาม ยังคงมีปัจจัยอื่นๆทางสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการปรากฏของสารสีนี้ เช่น ระยะของการเจริญเติบโต (growth stage) อุณหภูมิ หรือแสงอาทิตย์ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์และการสลายตัวของสารแอนโทไซยานิน ทำให้ปริมาณของแอนโทไซยานินและความเข้มของสีที่ปรากฏเปลี่ยนไป (ดำเนิน กาละดี, 2545)

จากการรายงานของ Abdel-Aal *et al.* (2006) ซึ่งได้ทำการวัดปริมาณสารแอนโทไซยานินในธัญพืชชนิดต่างๆ ที่มีสีดำ น้ำเงิน ชมพูม่วง แดง และขาว เช่น ในข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโพด ข้าว และข้าวป่า โดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ และเครื่อง แมส สเปกโตโฟโตมิเตอร์ ในช่วงคลื่นต่างๆ เช่น 500-530, 277-284, 328-346 นาโนเมตร ปริมาณแอนโทไซยานินในพืชเหล่านี้ วัดได้มีค่าอยู่ในช่วง 7- 3,276 µg/g โดยปริมาณแอนโทไซยานินที่วัดได้เฉลี่ยสูงสุดคือ 3,276 µg/g สกัดได้จากข้าวดำ และพบว่า ในข้าวที่มีสีต่างๆ เช่น ข้าวแดง ข้าวดำ (Black rice) จะมีจำนวนของสีต่างๆ น้อยกว่าในพืชชนิดอื่นๆ ขณะที่พืชชนิดอื่นๆ เช่น ข้าวโพด จะมีรูปแบบของสารประกอบแอนโทไซยานินที่ค่อยข้างซับซ้อนมากกว่า เช่น มีสีน้ำเงิน ชมพู ม่วง และแดง องค์ประกอบของสารแอนโทไซยานินที่พบมี 24 ชนิด และ มี 9 ชนิดที่ได้นำมา เปรียบเทียบกันแล้วพบว่า ไซยานิดีน 3-กลูโคไซด์ (cyaniding 3-glucoside) เป็นแอนโทไซยานิน ที่พบมากในข้าวดำ ข้าวแดง และข้าวโพด ที่มีสีน้ำเงิน ม่วง และแดง ส่วนเดวพินิดิน 3-กลูโคไซด์ (delphinidin 3-glucoside) พบในข้าวโพดที่มีสีน้ำเงิน Abdel-Aal *et al.* (2006) ได้เสนอแนะว่า ธัญพืชที่มีสี เช่น ข้าวดำ ข้าวโพดสีม่วง และข้าวสาลีที่มีสีน้ำเงิน น่าจะนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอาหารเพื่อสุขภาพ และสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมพืชที่มีสารประกอบแอนโทไซยานินที่ดีสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์พืช

แอนโทไซยานินเป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารทุติยภูมิที่สามารถละลายน้ำได้ และเป็นสารที่มีความสำคัญในผักและผลไม้หลายชนิด เนื่องจากเป็นตัวกำหนดสีและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ มีโครงสร้างพื้นฐานในโมเลกุล ประกอบด้วยวงแหวนเบนโซไพแรน (benzopyran) 2 วง ต่อกับวงแหวนฟีนิล (phenyl ring)

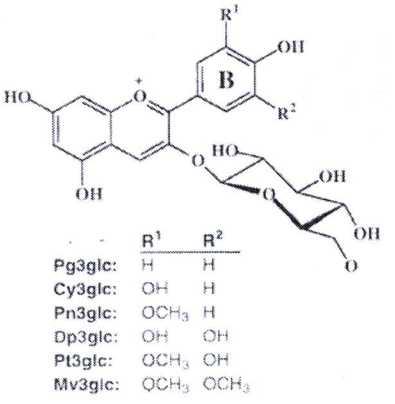
แอนโทไซยานินเป็นอนุพันธ์ของเกลือเฟลวิเลียม (flavylium salt) (ภาพที่ 3) ที่ประกอบด้วย ส่วนที่เป็น aglycone (anthocyanidin) และน้ำตาล 1 หรือ 2 ตัว น้ำตาลที่พบมาก มีอยู่ 5 ชนิดคือ glucose, rutinose, rhamnose, galactose, xylose และ arabinose โดยปกติจะพบ free aglycone ในอาหารน้อยมาก ยกเว้นในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัว (degradation) (Chen and Hrazdina, 1981)




**ภาพที่ 3** โครงสร้างของเกลือเฟลวิเลียม

**ที่มา:** Chen and Hrazdina (1981)

สารประกอบแอนโทไซยานินโดยทั่วไปที่พบในธรรมชาติอยู่ในรูปไกลโคไซด์ (glycoside) ซึ่งจับน้ำตาลด้วยพันธะไกลโคซิดิก หรือเรียกว่า แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) ซึ่งจะมีอยู่ 6 ชนิดคือ cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin และ petunidin (Mazza and Miniati, 1993) แอนโทไซยานินมีค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 510-540 นาโนเมตรจำแนกตามโครงสร้างของหมู่ $R^1$ และ $R^2$ หรือ ค่าของ m/z ที่วัดได้จากเครื่องแมส สเปกโตโฟโตมิเตอร์ โดย pelargonidin จะมีค่า *m/z* เท่ากับ 271; cyaniding มี *m/z* เท่ากับ 287; peonidin มี *m/z* เท่ากับ 301; delphinidin มี m/z เท่ากับ 303; petunidin มี *m/z* เท่ากับ 317; and malvidin มี *m/z* เท่ากับ 331 (ภาพที่ 4)




Pg3glc : Pelargonidin-3-glucoside: $R^1$=H, $R^2$=H, 11

Cy3glc : Cyanidin-3-glucoside: $R^1$=0H, $R^2$=H, 6

Pn3glc : Peonidin-3-glucoside: $R^1$=$OCH_3$, $R^2$=H, 15

Dp3glc : Delphinidin-3-glucoside: : $R^1$=$OCH_3$, $R^2$=OH, 1

Pt3glc : petunidin-3-glucoside: $R^1$=$OCH_3$, $R^2$=OH, 9

Mv3glc : Malvidin-3-glucoside $R^1$=$OCH_3$, $R^2$= $OCH_3$, 20

**ภาพที่ 4** โครงสร้างโดยทั่วไปของสารประกอบแอนโทไซยานิน

**ที่มา:** Cabrita *et al.* (2000); Abdel-Aal *et al.* (2006)

สารแอนโทไซยานิน เป็นสารที่มีสีตั้งแต่สีน้ำเงินเข้มในสภาพวะเป็นด่าง (pH>7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (pH 7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงถึงส้มได้ในสภาวะเป็นกรด (pH<7) เป็นสารสีที่พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ใบไม้ ผลไม้หลายชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีจัด มนุษย์รู้จักใช้สารแอนโทไซยานินที่พบได้ในธรรมชาติที่มีอยู่ในพืชหลายชนิดมาเป็นเวลานานแล้ว ในกิจกรรมต่างๆ เช่น นำมาทำเป็นสีย้อมและสีแต่งอาหาร

คนไทยใช้สีจากดอกอัญชันทำขนมจีน ใช้สีของเปลือกไม้และใบไม้บางชนิดในการย้อมผ้าให้มีสีต่างๆ ใช้ยางไม้และปูนขาวในการแต่งสี ชาวยุโรปใช้ผลไม้ป่า (wild berry) ในการทำเครื่องสำอางและทำขนม

เปลือกเมล็ดข้าวเหนียวดำมีการสะสมสารต่างๆที่มีประโยชน์อยู่มากมาย เช่น สารประกอบแอนโทไซยานิน และมีสารแกรมมาโอไรซานอล ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีผลดีต่อสุขภาพ ช่วยป้องกันโรคหัวใจ ลดคอเลสเทอรอล ลดน้ำตาลในเลือด ยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งกระเพาะ ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร และยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด นอกจากนี้ยังมีความเชื่อในอดีตกันว่า การนำเอาต้นข้าวเหนียวดำมาต้มรับประทาน จะช่วยแก้ในการตกเลือดของหญิงคลอดลูก สำหรับคนท้องร่วงให้นำข้าวเหนียวดำมาทำเป็นข้าวหลามรับประทานจะช่วยให้ทุเลาได้ คนในภาคใต้มีความเชื่อว่า ข้าวเหนียวดำสามารถใช้รักษาโรคผิวหนังโดยเฉพาะโรคหิดได้ โดยนำมาผสมกับดินประสิว ปั้นเป็นก้อนนำไปนึ่งจนสุกแล้วนำมารับประทาน (ดำเนิน กาละดี, 2545) สารสกัดในข้าวเหนียวดำยังมีคุณสมบัติช่วยสร้างเม็ดเลือดแดง สร้างวิลไล ในผนังลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นส่วนที่ยื่นออกมาเพื่อดูดซึมสารอาหาร ทำให้ร่างกายสามารถดูดซับสารอาหารได้มากขึ้น ส่งผลให้ร่างกายเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น (พันทิพา พงษ์เพียจันทร์, 2551) นอกจากนี้สารแกมมาโอไรซานอล ยังสามารถกระตุ้นให้ภูมิคุ้มกันในหนูเพิ่มขึ้นได้ (ธวัชชัย แถวถาทำ, 2547) และยังพบสารประกอบอื่นๆ ในเมล็ดข้าวเหนียวดำที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีเข้ม ได้แก่ ธาตุเหล็ก โดยทั่วไปแล้วมีแนวโน้มว่า พันธุ์ข้าวที่มีกลิ่นหอมและมีสี (แดงและดำ) จะมีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูง แต่ไม่มีกลิ่นหอมและไม่มีสี (Gregorio, 2002) และพบว่าพันธุ์ข้าวของจีนที่มีเมล็ดยาวสีแดง มีปริมาณธาตุเหล็กสูงสุดถึง 64 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Kennedy and Burlingame, 2003) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาสารสกัดจากรำข้าวสีดำ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต กิจกรรมของสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงวิเคราะห์สารที่เป็นส่วนประกอบในรำข้าว ซึ่งการสกัดด้วยน้ำ และการสกัดแบบน้ำกึ่งวิกฤติ นั้นสามารถแยกสารที่อยู่ในรำข้าวดำออกมาได้ ซึ่งสารเหล่านั้นเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Wiboonsirikul *et al.*, 2007)

ในปัจจุบันเทคโนโลยีต่างๆ ได้รุดหน้าไปมาก จึงได้มีการศึกษาถึงคุณค่าต่างๆ ที่มีอยู่ในสารสกัดธรรมชาติหลายๆ ชนิดที่เป็นภูมิปัญญามาแต่โบราณ ในส่วนของสารแอนโทไซยานิน เริ่มศึกษาพบว่า ผู้คนและสัตว์ที่มีการใช้ประโยชน์จากดอกไม้ และผลไม้ที่มีสีเข้มจัดเป็นอาหาร จะมีลักษณะทางกายภาพหลายๆ อย่างที่ดีกว่า เช่น การมีสีผิว และสีผมที่ดีกว่า มีโอกาสเจ็บป่วยน้อยกว่า และมีรายงานถึงประโยชน์ของแอนโทไซยานินในด้านต่างๆ เช่น

Pei-Ni *et al.* (2005) รายงานว่า สารแอนโทไซยานินสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์เนื้องอกและชักนำให้เกิดการตายของเซลล์ (apoptosis) ได้

Nam *et al.* (2005) ทำการสกัดสารออกจากรำข้าวของข้าวที่มีสีม่วงดำ เปรียบเทียบกับสารที่สกัดจากรำข้าวของข้าวที่ไม่มีสี เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ คุณสมบัติในการป้องกันการเกิดเนื้องอกและโรคมะเร็ง ในเซลล์มนุษย์ที่เพาะเลี้ยงในห้องทดลอง พบว่าสารที่สกัดจากรำข้าวของข้าวที่มีสีม่วงดำ มีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ การป้องกันการเกิดเนื้องอก และยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งได้สูงกว่าสารที่สกัดจากรำข้าวของข้าวที่ไม่มีสี

Chen *et al.* (2006) ได้สกัดสารแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำ เพื่อยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็ง จากการศึกษาพบว่า แอนโทไซยานินที่สกัดได้จากข้าวเหนียวดำสามารถยั้งยั้งการเจริญของเซลล์ SKHep-1 ในหลอดทดลองได้

Zhang *et al.* (2006) ได้ทำการแยกสกัดและระบุชนิดของสารแอนติออกซิแดนท์ที่พบในเมล็ดข้าวที่มีสีดำ โดยทำการแยกส่วนของสารแต่ละชนิดโดยใช้เซฟฟาเด็ค (sephadex LH-20) ซึ่งในการสกัดสารแอนติออกซิแดนท์เอนไซม์จาก pericarp ของข้าวสีดำด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ พบว่า สารแอนติออกซิแดนท์ที่สำคัญที่พบในข้าวเหนียวดำเป็นสารพวกแอนโทไซยานิน

**2.3 โปรตีน**

โปรตีนเป็นสายโพลีเพปไทด์ที่เกิดจากการเชื่อมกันของกรดอะมิโนมากกว่า 100 โมเลกุลด้วยพันธะเพปไทด์ แม้ว่ากรดอะมิโนสามัญที่พบในร่างกายมนุษย์จะมีเพียงประมาณ 20 ตัว แต่การเชื่อมต่อกันมีการเรียงลำดับกรดอะมิโนต่างกันทำให้ได้โปรตีนชนิดต่างๆ กันมากมาย แต่โปรตีนจำนวนมากเหล่านี้ไม่ได้ทำหน้าที่ทางชีวภาพได้ทั้งหมด จะมีโปรตีนเพียงบางชนิดเท่านั้นที่ถูกธรรมชาติคัดสรรให้ทำหน้าที่ทางชีวภาพได้เนื่องจากมีโครงรูปที่เสถียรเหมาะต่อการเร่งปฏิกิริยาในร่างกาย หรือเหมาะต่อการทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของร่างกาย หรือการทำหน้าที่จำเพาะอื่นๆ โปรตีนเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความสลับซับซ้อนอย่างยิ่ง เมื่ออยู่ในธรรมชาติโปรตีนจะจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้าง 3 มิติ (พัชรี บุญศิริ, 2544)

โปรตีนเป็นสารประกอบชีวภาพขนาดใหญ่ ที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตอาจอยู่ในสภาพของสารละลาย หรือเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้ม (membrane) ต่างๆ ปีติ ธุวจิตต์ และ โสพิศ วงศ์คำ (2544) ได้สรุปตำแหน่งโปรตีนที่ต้องการศึกษาไว้ดังนี้

1) สารละลายภายนอกเซลล์ (excretory protein) และส่วนที่เป็นสารภายนอกเซลล์ (extracellular matrix)
2) ส่วนประกอบในเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ เช่น นิวเคลียส ไมโทคอนเดรีย เป็นต้น
3) สารละลายในออร์แกเนลล์ต่างๆ
4) สารละลายในไซโทซอล (cytosol) หรือไซโทพลาซึม (cytoplasm)

**2.3.1 ความสำคัญของโปรตีน** (ปวีณา พงษ์ดนตรี, 2549)

โปรตีนมีความสำคัญในการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างมาก ซึ่งโปรตีนจะทำหน้าที่หลากหลายประการในเซลล์ และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต เช่น

1) เป็นเอนไซม์ ที่ทำหน้าเร่งปฏิกิริยาเคมีในเซลล์
2) เป็นโปรตีนโครงสร้างให้เซลล์และเนื้อเยื่อ
3) เป็นโปรตีนขนส่งโมเลกุลขนาดเล็กหรืออิออน
4) เป็นโปรตีนขับเคลื่อน ที่ช่วยในการเคลื่อนไหวภายในเซลล์และในเนื้อเยื่อ
5) เป็นโปรตีนสะสม ที่ทำหน้าที่เก็บสะสมโมเลกุลขนาดเล็กและอิออน
6) เป็นโปรตีนส่งสัญญาณ ในการนำสัญญาณจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่ง
7) เป็นโปรตีนตัวรับ ที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญาณไปบริเวณที่ตอบสนองต่อสัญญาณนั้นในเซลล์
8) เป็นโปรตีนที่ควบคุมการแสดงออกของจีน ที่จับกับดีเอ็นเอเพื่อควบคุมการเปิด-ปิดของจีน

9) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่พิเศษ ซึ่งจะมีหน้าที่แตกต่างกันไปตามชนิดของโปรตีนนั้นๆ เช่น โปรตีนโมเนลลินที่ให้ความหวานมากในพืชพบในอาฟริกา

**2.3.2 โครงสร้างของโปรตีน**

เมื่ออยู่ในธรรมชาติโปรตีนจะจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้าง 3 มิติ มีโครงสร้างที่ซับซ้อน แบ่งออกเป็นหลายระดับ ขึ้นอยู่กับพันธะที่ทำให้เกิดโครงสร้างระดับนั้นๆ โดยทั่วไปโครงสร้างของโปรตีนมี 4 ระดับ คือ

1) โครงสร้างปฐมภูมิ เป็นโครงสร้างที่แสดงพันธะระหว่างกรดอะมิโนแต่ละตัว

2) โครงสร้างทุติยภูมิ เป็นโครงสร้างที่แสดงการจัดตัวของกรดอะมิโนที่อยู่ใกล้กัน โปรตีนทุกชนิดจะมีโครงสร้างระดับนี้ โดยทั่วไปมี 2 แบบ คือ อัลฟาเฮลิก สายเพปไทด์ขดเป็นเกลียว และเบต้าเฮลิก สายเพปไทด์อยู่ในรูปซิกแซก

3) โครงสร้างตติยภูมิ แสดงการจัดตัวของกรดอะมิโนตลอดทั้งสาย พบในโปรตีนที่เป็นก้อน การจับตัวเป็นกลุ่มก้อนของสายพอลิเพปไทด์นั้นขึ้นกับลำดับกรดอะมิโนและสารอื่นๆ ที่เข้ามาจับ

4) โครงสร้างจตุยภูมิ แสดงการจับตัวระหว่างสายพอลิเพปไทด์ พบในโปรตีนที่ประกอบด้วยหน่วยย่อย (subunit) โดยแต่ละหน่วยย่อย คือสายโพลีเปปไทด์หนึ่งเส้น การจัดตัวขึ้นกับลำดับกรดอะมิโนและสารอื่นๆ ที่เข้ามาจับเช่นเดียวกัน

**2.3.3 เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาโปรตีน**

อิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกและวิเคราะห์สารด้วยประจุของสารนั้นในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งในการศึกษาวิจัยทางด้านชีวเคมี ชีววิทยาระดับโมเลกุล และเทคโนโลยีชีวภาพนิยมนำเทคนิคนี้มาใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติสารชีวภาพ เช่น โปรตีน ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ (Ruthren, 1982) ซึ่งเทคนิคนี้สามารถใช้ในการแยกสารตัวอย่างได้อย่างมีประสิทธิภาพ และแยกสารชีวโมเลกุลที่มีความแตกต่างของประจุหรือมวลเพียงเล็กน้อยได้ โปรตีนที่แยกได้นี้สามารถไปประยุกต์ใช้ในงานด้านอื่นๆ ได้ เทคนิคนี้จึงได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย

**ปัจจัยที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของสารในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า** (ปิติ ธุวจิตต์ และ โสพิศ วงศ์คำ, 2544)

1) คุณสมบัติของโมเลกุล อนุภาคที่เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าได้ต้องมีประจุ ชนิดของประจุเป็นตัวกำหนดทิศทางการเคลื่อนที่ ในขณะที่ปริมาณประจุเป็นตัวกำหนดความเร็วในการเคลื่อนที่

2) ขนาดและรูปร่างของโมเลกุล การเคลื่อนที่ของอนุภาคแปรผกผันกับขนาดของอนุภาคนั้น กล่าวคือ โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะมีแรงเสียดทานสูงกว่าโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก ดังนั้นอัตราการเคลื่อนที่ของโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะช้ากว่าโมเลกุลที่มีขนาดเล็กเมื่อมีประจุเท่ากัน โมเลกุลที่มีรูปร่างต่างกันจะเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วต่างกัน โมเลกุลที่มีรูปร่างทรงกลมจะเคลื่อนที่ได้ดีกว่าโมเลกุลที่มีรูปร่างรียาว เนื่องจากแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นแตกต่างกันตามรูปร่างของโมเลกุล

3) ความแรงของสนามไฟฟ้า อัตราการเคลื่อนที่ของอนุภาคแปรผันโดยตรงกับความแรงของสนามไฟฟ้า ขึ้นกับค่าความต่างศักย์ แต่ผกผันกับระยะทางระหว่างขั้วไฟฟ้า ความแรงของสนามไฟฟ้ายังทำให้เกิดความร้อนขึ้นในระบบอิเล็กโทรโฟรีซิส ความร้อนที่เกิดขึ้นแปรผันโดยตรงกับความแรงของสนามไฟฟ้า

ซึ่งรบกวนระบบของอิเล็กโทรโฟรีซิส และมีผลต่ออัตราการวิ่งของสารตัวอย่าง ดังนั้นอิเล็กโทรโฟรีซิสที่ต้องใช้ความแรงของสนามไฟฟ้าสูงจึงมักมีเครื่องทำความเย็นในระบบด้วยเสมอ

4) ความหนืดของตัวกลางค้ำจุน ตัวกลางค้ำจุนที่ดีไม่ควรดูดซับหรือแลกเปลี่ยนประจุกับสารตัวอย่างในขณะทำอิเล็กโทรโฟรีซิส เพราะจะส่งผลให้อัตราการเคลื่อนที่ของสารช้าลง ตัวกลางค้ำจุนที่ดีควรมีคุณสมบัติพื้นฐาน คือ ไม่ไวในการทำปฏิกิริยา ไม่ดูดซับสารตัวอย่าง สามารถแยกสารตัวอย่างได้ชัดเจนและสามารถแบ่งหรือแยกส่วนต่างๆ ได้ง่าย

5) บัฟเฟอร์ของระบบ บัฟเฟอร์นอกจากทำหน้าที่ในการรักษาภาวะความเป็นกรด-ด่างของระบบในขณะที่ทำอิเล็กโทรโฟรีซิสให้คงที่ ยังมีผลต่อชนิดและปริมาตรประจุของสารตัวอย่าง

**ประเภทของอิเล็กโทรโฟรีซิส**

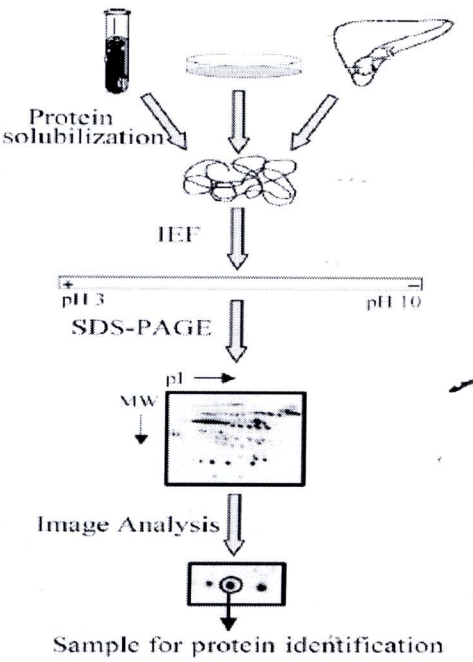
1) อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบโซเดียม โดเดซิล ซัลเฟต เจล พอลีอะคลิลาไมด์ (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis; SDS-PAGE)

SDS-PAGE เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกโปรตีน โดยอาศัยคุณสมบัติของโปรตีนที่มีประจุไฟฟ้าให้มีการเคลื่อนที่ภายใต้อิทธิพลของกระแสไฟฟ้า ผ่านสารตัวกลางที่มีลักษณะเป็นเจล (gel) ซึ่งโมเลกุล ของโปรตีนจะเคลื่อนผ่านอะคลิลาไมด์เจลในอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทำให้โมเลกุลสามารถแยกตัวออกจากกัน โดยอาศัยคุณสมบัติของโปรตีน เช่น ขนาดของโมเลกุล รูปร่างของโมเลกุล และจำนวนประจุ ซึ่ง SDS-PAGE จะแยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนในตัวอย่างโดยใช้สารตัวกลางค้ำจุนที่เตรียมได้จากอะคลิลาไมด์ ที่มีการเติมสาร SDS ลงในสารตัวอย่างในส่วนผสมของเจล และในบัฟเฟอร์ของระบบ สาร SDS เป็นโมเลกุลที่มีประจุลบซึ่งจะเข้าจับกับโปรตีนตรงบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic region) และแยกโมเลกุลส่วนมากออกเป็นหน่วยย่อย SDS จะจับกับโปรตีนในอัตราส่วนคงที่ประมาณ 1 โมเลกุลของ SDS ต่อ 3 พันธะเพปไทด์ (Reynolds and Tantord, 1970) หรือประมาณ 1.4 กรัม SDS ต่อ 1 กรัมของโปรตีน และจะเกิดการผลักกันของ SDS บนสายพอลิเพปไทด์ ทำให้โปรตีนเสียสภาพเกิดการคลายตัว จากสภาพเดิมกลายเป็นลักษณะแท่ง ทำให้ประจุสุทธิ ของโปรตีนกลายเป็นประจุลบ ปริมาณประจุลบต่อมวลโปรตีนทุกชนิดจะเท่ากัน ส่งผลให้อัตราการเคลื่อนที่ ของโปรตีนทุกชนิดในสนามไฟฟ้าเท่ากัน การเคลื่อนที่ของโปรตีนบนพอลิอะคริลาไมด์ จึงขึ้นอยู่กับขนาด ของโมเลกุลอย่างเดียว โดยโปรตีนจะวิ่งจากขั้วลบไปยังขั้วบวก โมเลกุลที่มีขนาดเล็กเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าโมเลกุล ที่มีขนาดใหญ่ (สุกัญญา สุนทรส, 2549)

2) อิเล็กโทรโฟรีซิสแบบสองทิศทาง (Two-dimensional gel electrophoresis; 2D-PAGE)

2D-PAGE พัฒนาขึ้นครั้งแรกโดย Smities and Poulik (1956) โดยใช้แบบกระดาษร่วมกับแบบเจลแป้ง แต่การพัฒนาได้เกิดในกลางทศวรรษที่ 1970 โดยเกิดการพัฒนาเป็น 2D-PAGE ที่ทำในเจลพอลีอะคริลาไมด์ซึ่งมีประสิทธิภาพในการแยกโปรตีนสูงมาก โดยหลักการของ 2D-PAGE คือ การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส ในทิศทางที่ 1 และทิศทางที่ 2 ซึ่งต่างกัน 90° โดยทิศทางแรกใช้เจลพอลีอะคริลาไมด์แยกโปรตีนด้วยประจุหรือไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิง (Isoeletric focusing; IEF) และทิศทางที่สองแยกโปรตีนตามขนาดของโปรตีนโดยใช้ อิเล็กโทรโฟรีซิสที่มี SDS เทคนิค 2D-PAGE ที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือ เทคนิคที่ค้นพบโดย O'Farrell (1975) ซึ่งได้ศึกษาแยกและวิเคราะห์โปรตีนจาก *Escherichia coli* เทคนิคนี้นับเป็นพื้นฐานของการพัฒนา 2D-PAGE แบบอื่นๆ อีกเป็นจำนวนมาก Patrick and O'Farrell (1975) ยังกล่าวว่า เทคนิคนี้ยังเหมาะ

สำหรับการแก้ปัญหา และเป็นเทคนิคที่มีความ sensilivity สูงที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบชนิดของโปรตีน และปริมาณของโปรตีน และบอกความแตกต่างของโปรตีนที่มีในตัวอย่างที่ต่างกันได้ ในปัจจุบันเทคนิค 2D-PAGE ได้รับความนิยมมาก เพราะทำให้สามารถบ่งชี้ชนิดของโปรตีนที่แน่นอน โดยสามารถตรวจสอบได้ในระดับหลังการแปลรหัส (translation) และสามารถนำไปวิเคราะห์ต่อไปโดยวิธีแมสสเปกโทรเมทรี (mass spectrometry) ซึ่งจะทำให้ทราบลำดับของกรดอะมิโนของโปรตีนตัวนั้นได้ (Yarmush and Jayaraman, 2002) 2D-PAGE จึงเป็นเทคนิคที่สามารถใช้แยกและวิเคราะห์โปรตีนที่สกัดจากเซลล์ เนื้อเยื่อ หรือตัวอย่างทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถแยกโปรตีนออกมาเป็นจุด (spot) และจุดโปรตีนที่แยกได้จะเป็นโปรตีนเดี่ยวๆ ที่แยกออกจากโปรตีนตัวอื่นๆ (Berkelman and Stenstedt, 1998) ซึ่งในขั้นตอนการทำ 2D-PAGE จะเริ่มจากการสกัดโปรตีนออกจากตัวอย่าง หลังจากนั้นจะถูกแยกในทิศทางแรก ด้วยระบบ IEF ซึ่งโปรตีนจะถูกแยกตามค่า pI จากนั้นทำการแยกโปรตีนที่มีค่า pI เท่ากัน ออกจากตามค่าน้ำหนักมวลโมเลกุล โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE ซึ่งเป็นการแยกโปรตีนในอีกทิศทาง โปรตีนที่ได้แต่ละจุดบนแผ่นเจล จะมีค่าข้อมูลของ ค่า pI และค่าน้ำหนักมวลโมเลกุล ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของโปรตีนแต่ละชนิด จากนั้นจึงนำค่า pI และ ค่าน้ำหนักมวลโมเลกุล ของแต่ละจุดของโปรตีนที่สนใจไประบุชนิดและหน้าที่ของโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีในฐานข้อมูล (ภาพที่ 5)




สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

**ภาพที่ 5** ขั้นตอนการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบสองทิศทาง

**ที่มา:** Yarmush and Jayaraman (2002)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 01 ต.ค. 2555
เลขทะเบียน 247315
เลขเรียกหนังสือ

**โปรติโอมิกส์ (Proteomics)**

โปรติโอมิกส์เป็นการศึกษาโปรตีนระดับมหภาพ ไม่ว่าจะเป็นโครงสร้างหน้าที่ รูปแบบและการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน ซึ่งจะนำไปสู่ความเข้าใจในระบบและกลไกต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตให้กระจ่างขึ้น Lundblad (2006) ได้ให้คำจำกัดความของโปรติโอมิกส์ไว้ว่า เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนและปฏิกิริยาของโปรตีนในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง นอกจากนี้การศึกษาวิจัยด้านโปรติโอมิกส์นั้นยังทำให้ทราบถึงกลไกและหน้าที่การทำงานของโปรตีน ตลอดจนทำให้ทราบว่า โปรตีนภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตนั้นมีกลไกการแสดงออกและมีกลไกการควบคุมการทำงานของโปรตีนอย่างไร (Pierce *et al.*, 2007)

Yarmush and Jayaraman (2002) และ Thammasirirak (2007) กล่าวว่า โดยทั่วไปในการศึกษาโปรติโอมิกส์นั้น มีขั้นตอนในการศึกษาโดยเริ่มต้นด้วยเทคนิคที่สำคัญที่นิยมใช้ในการศึกษาโปรตีนคือ เทคนิค 2D-PAGE เมื่อได้แบบแผนโปรตีนแล้ว จะนำโปรตีนที่สนใจไปวิเคราะห์ผลด้วยวิธีแมสสเปกโทรเมทรีจากนั้นเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้กับฐานข้อมูลโปรตีนซึ่งทำให้ทราบชนิดของโปรตีนที่สร้างขึ้นภายในเซลล์ นอกจากนี้ โปรติโอมิกส์สามารถปรับใช้เทคนิคต่างๆ เหล่านี้ในการศึกษาด้านสรีรวิทยา และกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ในรูปแบบที่ละเอียดขึ้น ซึ่งจะมีประโยชน์ในการศึกษาหน้าที่ของยีน และปฏิสัมพันธ์ต่างๆ ในระดับ อาร์เอ็นเอนำรหัส (Messenger ribonucleic acid; mRNA) และการแสดงออกในระดับอื่นๆ ซึ่งในการศึกษาทางด้านโปรตีนจะให้ผลที่ดีกว่าเนื่องจาก โปรตีนจะมีความจำเพาะ และมีการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปทั้งภายในเซลล์และนอกเซลล์ แต่ mRNA นั้นจะสามารถประกอบขึ้นใหม่และตัดแต่งได้ ซึ่ง mRNA สองตัวอาจจะให้โปรตีนที่เหมือนกันได้และ mRNA จะไม่ให้ข้อมูลในระดับหลังการแปลรหัส ซึ่งจะสำคัญ ต่อการขนส่ง ตำแหน่ง และหน้าที่ของโปรตีนนั้น

โปรติโอมิกส์จึงเป็นการศึกษาโปรตีนทั้งหมดภายในเซลล์ที่แสดงออกในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง ในการศึกษาโปรตีนจะศึกษาโปรตีนทุกชนิดที่เป็นผลผลิตของยีนทั้งหมด โดยศึกษาโครงสร้างการทำงานของโปรตีน ภาวะที่พบโปรตีนเหล่านั้นรวมถึงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนชนิดต่าง ๆ ในวิถีการสร้างและสลายสารเคมีภายในเซลล์ ซึ่งใช้เทคนิคจำเพาะต่อการแยกโปรตีนชนิดต่างๆ ออกจากกัน

ในด้านการแพทย์ เช่น Renesto (2005) ได้นำเทคนิคนี้มาใช้ประโยชน์ เพื่อให้ได้โปรตีนที่สามารถระบุได้ว่า เป็นโปรตีนที่จำเพาะต่อโรค Mediterranean ที่เกิดจากเชื้อ *Rickettsia connorii* และนำโปรตีนดังกล่าวมาใช้ในการผลิตชุดตรวจวินิจฉัยที่จำเพาะต่อโรค Mediterranean ที่เกิดจากเชื้อ *R. connorii* โดยการนำเชื้อดังกล่าวนี้มาฉีดกระตุ้นกระต่ายให้มีการสร้างแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อ แล้วทำศึกษาแบบแผนทั้งหมดของโปรตีนของเชื้อโดยใช้ 2D-PAGE และทำการถ่ายโอนโปรตีนทั้งหมดของเชื้อลงบนแผ่นเมมเบรน จากนั้นทำการตรวจสอบการจับจำเพาะระหว่างโปรตีนบนแผ่นเมมเบรนกับซีรั่มของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ และซีรั่มจากกระต่ายที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยเชื้อนี้ โดยใช้เทคนิค Western immunoblotting พบตำแหน่งที่จับจำเพาะของโปรตีนบนแผ่นเมมเบรนกับซีรั่มทั้งสองเป็นตำแหน่งเดียวกัน ซึ่งสามารถทำให้บ่งชี้ได้ว่า โปรตีนนี้เป็นโปรตีนที่จำเพาะต่อโรค Mediterranean

ในด้านการเกษตรและด้านวิทยาศาสตร์ เช่น Naqvi *et al.* (1995) ศึกษาโปรตีนที่ถูกชักนำให้สร้างขึ้นโดยเกลือโซเดียมคลอไรด์ ในรากข้าว 4 สายพันธุ์ คือ Nona bokra Basmati IR28 และ IR29 โดยการนำต้นอ่อนอายุ 10 วันไปเลี้ยงในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการแยกจุดโปรตีนโดยใช้เทคนิค 2D-

PAGE พบว่า รากข้าวมีการสร้างโปรตีนที่มีมวลโมเลกุล 27 และ 25 กิโลดาลตัน ซึ่งไม่พบโปรตีนชนิดนี้ในกลุ่มควบคุม

Duche *et al.* (2002) ได้ศึกษาโปรตีนที่มีการเปลี่ยนแปลงไปในเชื้อแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes* ซึ่งจะสามารถแยกโปรตีนได้โดยใช้เทคนิค 2D-PAGE ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีใน rich medium และใน chemically defined medium มีโปรตีน 3 ชนิดที่แสดงออกมากขึ้น กว่าในกลุ่มที่เลี้ยงใน chemically defined medium เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีแมสสเปกโทรเมทรี พบว่าเกี่ยวข้องกับ AppA, Ctc และ YvyD เมื่อได้รับความเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ การสังเคราะห์โปรตีนทั้ง 59 โปรตีนเปลี่ยนแปลง โดยความเค็มครึ่งหนึ่งจะทำให้การแสดงออกเพิ่มขึ้น ซึ่งโปรตีนเหล่านี้เกี่ยวข้องกับ Ctc, GbuA และ 30S ribosomal protein S6 ที่ตอบสนองต่อเกลือคล้าย กับ AckA และ PdhD

Shen *et al.* (2002) ศึกษาโปรตีนที่สกัดได้จากกาบใบของต้นกล้าข้าวโดยใช้เทคนิค 2D-PAGE และวิเคราะห์แบบแผนโปรตีนด้วยวิธี Edman sequencing และวิธีแมสสเปกโทรเมทรี หลังจากนั้นจึงนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบในฐานข้อมูล พบโปรตีนทั้งหมด 352 จุดในการแยกด้วยวิธี 2D-PAGE แล้วย้อมด้วยสีย้อม Coomassie Brilliant Blue นอกจากนี้ยังพบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน 44 ชนิด จากโปรตีนทั้งหมด 84 ชนิด มีโปรตีน 40 ชนิดไม่ทราบลำดับกรดอะมิโนส่วนโปรตีน 31 ชนิดนั้นรู้หน้าที่การทำงาน ส่วนที่เหลือยังไม่ทราบหน้าที่ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีแมสสเปกโทรเมทรี พบโปรตีน 59 ชนิดสามารถจับคู่ได้ในฐานข้อมูล

Komatsu *et al.* (2003) ได้อธิบายถึงการศึกษาโปรติโอมิกส์ในข้าวว่า เทคนิค 2D-PAGE สามารถใช้แยกและวิเคราะห์โปรตีนที่แสดงออกได้อย่างหลากหลาย เช่น สามารถนำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบโปรตีนที่มีการแสดงออกในข้าวที่ปลูกภายใต้สภาวะต่างๆ ได้เช่น สภาวะเครียดกับสภาวะปกติ ทำให้ทราบถึงโปรตีนที่สังเคราะห์ได้จากเนื้อเยื่อและระยะพัฒนาการของข้าวภายใต้กลไกและสภาวะต่างๆ ที่หลากหลาย และสามารถนำโปรตีนที่ได้ไปวิเคราะห์หาหน้าที่การทำงานของโปรตีนเหล่านั้น และสามารถนำไปวิเคราะห์หาลำดับกรดอะมิโนของพืชได้ นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปค้นหาโปรตีนที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการทำนายหน้าที่และการทำงานของโปรตีนได้

Abbasi and Komatsu (2004) ได้ศึกษาผลของเกลือที่มีต่อการแสดงออกของโปรตีนในส่วนต่างๆ ของข้าวโดยใช้เทคนิค 2D-PAGE และพบว่า ข้อมูลของโปรตีนในกาบข้าว 8 ชนิดมีแสดงออกที่ตอบสนองต่อสภาวะเกลือ ซึ่งเป็นโปรตีนที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ 3 ตัวคือ LSY081, LSY262 และ LSY363 โดยโปรตีน LSY363 มีการแสดงออกในกาบใบข้าวและแสดงออกเพียงเล็กในน้อยรากและใบ โปรตีน LSY262 แสดงออกทั้งในกาบใบและราก

Komatsu *et al.* (2004) กล่าวว่า ฐานข้อมูลโปรติโอมิกส์ของข้าว เป็นฐานข้อมูลอันดับแรกที่จะแสดงถึงรายละเอียดของข้อมูลชนิดของโปรตีนในข้าว ซึ่งที่มีการอ้างอิงไว้แล้ว 21 maps based บน 2D-PAGE ของโปรตีนจากเนื้อเยื่อ หรือส่วนต่างๆ ของข้าว ซึ่งมีโปรตีนทั้งหมด 11,941 ที่ระบุชนิดโปรตีนได้แล้ว ซึ่งในฐานข้อมูลโปรติโอมิกส์จะบรรจุข้อมูลเบื้องต้น เช่น ค่าน้ำหนักโมเลกุล ค่า pI ที่เป็นค่าเฉพาะของโปรตีนที่จะได้จากการทดลอง และสามารถนำมาใช้ในการค้นข้อมูลเกี่ยวกับลำดับกรดอะมิโน ที่จะทำให้ระบุชนิดของโปรตีนได้จากการสืบค้นข้อมูลได้จากฐานข้อมูลด้วยตัวเอง

Komatsu and tanaka (2005) กล่าวว่า เทคนิค 2D-PAGE นี้เป็นเครื่องมือสำคัญที่จะทำให้สามารถศึกษาโปรตีนที่มีการเปลี่ยนแปลงไป และทำให้สามารถทำบัญชีรายชื่อ (cataloge) ของโปรตีนในข้าว ที่สามารถระบุหน้าที่การทำงานได้ ฐานข้อมูลของโปรตีนที่ได้จะมีประมาณ 23 แผนที่ (maps) ที่ใช้อ้างอิง ซึ่งได้มาจากเนื้อเยื่อที่มีความหลากหลายและส่วนต่างๆ ของข้าว จะมีโปรตีนทั้งสิ้น 13,129 ชนิดที่ระบุหน้าที่ การทำงานได้และมีลำดับกรดอะมิโนจากโปรตีนประมาณ 5,092 ชนิดในฐานข้อมูล ซึ่งโปรตีนเหล่านั้น เป็นโปรตีนสำคัญที่ทำหน้าที่ในการเจริญเติบโตและการตอบสนองต่อความเครียด และได้อธิบายถึงการศึกษา โปรติโอมิกส์ในข้าวไว้ว่า เทคนิค 2D-PAGE สามารถใช้แยกและวิเคราะห์โปรตีนที่แสดงออกได้อย่างหลากหลาย โดยสามารถใช้ในการแยกโปรตีนในข้าวภายใต้สภาวะต่างๆ ได้เช่น สภาวะเครียดหรือสภาวะปกติ ทำให้ทราบถึงโปรตีนที่สังเคราะห์ได้จากเนื้อเยื่อและระยะพัฒนาการของข้าวภายใต้กลไกและสภาวะต่างๆ ที่หลากหลาย ซึ่งสามารถนำโปรตีนที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหาหน้าที่การทำงานของโปรตีนเหล่านั้น และยังสามารถนำไปวิเคราะห์หาลำดับกรดอะมิโนของพืช เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานทางด้านชีวโมเลกุล นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปค้นหาชนิดของโปรตีนที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการทำนายหน้าที่และการทำงานของโปรตีนได้

Zang and Komatsu (2006) ศึกษาโปรตีนที่ตอบสนองต่อสภาวะเครียดจากค่าออสโมติกและโปรตีนที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับความเครียดจากหลายสภาวะในกาบใบข้าวของต้นกล้าอายุ 2 สัปดาห์ โดยใช้เทคนิค 2D-PAGE พบโปรตีนที่ตอบสนองต่อสภาวะเครียดจากค่าออสโมติก 327 ชนิดและพบว่ามี 12 ชนิดที่ระดับโปรตีนเพิ่มขึ้น 3 ชนิดระดับโปรตีนลดลงจากกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังได้ศึกษาโปรตีนที่เกิดขึ้นในหลายสภาวะทั้งสภาวะเครียดจากค่าออสโมติก เกลือ ความแล้ง ความเย็นและกรดแอบไซซิก พบโปรตีนที่แสดงจำเพาะต่อสภาวะเครียดจากค่าออสโมติกคือโปรตีน 26S proteasome ซึ่งไม่พบในสภาวะอื่น

Woo *et al.* (2007) กล่าวว่า การศึกษาโปรตีนด้วยเทคนิค 2D-PAGE และแมสสเปกโทรเมทรี เป็นเครื่องมือสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์โปรตีนที่แสดงออกในสภาวะที่ข้าวได้รับความเครียดต่างๆ โดยทำการศึกษาโปรตีนจากเมล็ดข้าวอายุ 1, 3 และ 6 สัปดาห์ โดยใช้เครื่องแมสสเปกโทรเมทรี และเทคนิค ที่เรียกรวมว่า Surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry (SELDI-TOF/MS) โปรตีนที่นำมาศึกษานั้นสามารถวิเคราะห์ได้ 20 ชนิด และระบุชนิดโปรตีนได้ดังนี้ R40CI, Putitive, NAM, DnaK-type chaperone, Glycogen synthase, Tubulin beta chain, Glutelin precursors และ Glutelin

Cai-lin *et al.* (2007) ศึกษาโปรตีนที่ตอบสนองต่อความเครียดจาก cadmium (Cd) ของข้าว ในระยะ seedling โดยใช้เทคนิค 2D-PAGE และวิธีแมสสเปกโทรเมทรี พบว่า Shanyou 63 และ Aizaizhan จะยับยั้งการเจริญและพัฒนาของรากและยอด และถูกชักจูงให้แสดงออกตรงกันในรากและยอดที่ความเข้มข้นของ Cd 0.1 หรือ 1.0 mmol/L ซึ่งจะเกี่ยวข้องในการคีเลทและ compartmentation ของ Cd การตัดอนุมูลอิสระของออกซิเจนเป็น detoxification ของสาระสำคัญที่เป็นพิษ การทำให้โปรตีนเสื่อมสภาพนี่ทำให้ลักษณะธรรมชาติเปลี่ยนไปหรือเอ็นไซม์ที่ทำงานช้าลง