

ลายพิมพ์โครมาโทกราฟี และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ
มะละกอสายพันธุ์ต่างๆ

นางสาวมนสิการ ใจสุดา
นางสาวมนัสวี ไคว์พินิจชัย

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2559

CHROMATOGRIC AND DNA FINGERPRINTS OF
PAPAYA FRIUTS FROM DIFFERNT CULTIVARS

MISS MONSIKAN JAISUDA
MISS MANATSAWEE KHOWPINIJCHAI

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

2016

โครงการพิเศษ
เรื่อง ลายพิมพ์โครมาโทกราฟี และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะละกอ
สายพันธุ์ต่างๆ

.....

(มนสิการ ใจสุดา)

.....

(มนัสวี คุ้มพินิจชัย)

.....

(ผศ.ดร.ปิยนุช โรจน์สง่า)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(ผศ.ดร.ปองทิพย์ สิทธิสาร)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(อ.ดร.สวรรณยา บุญณะผลิน)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(อ.ดร.มนตรี ยะสาวงษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การศึกษาลายพิมพ์โครมาโทกราฟีและลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะละกอ สายพันธุ์ต่างๆ

มนสิการ ใจสุดา, มนัสวี คุ้มพินิจชัย

อาจารย์ที่ปรึกษา : ปิยนุช ไรจน์สง่า*, ปองทิพย์ สิทธิสาร**, สวรรรยา บุรณะผลิน*, มนตรี ยะสว่างษ์***

*ภาควิชาเกษตรเคมี คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**ภาควิชาเกษตรชีวอินทรีย์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

***ภาควิชาชีวเคมี คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : มะละกอ เบต้าแคโรทีน ลายพิมพ์โครมาโทกราฟี ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลายพิมพ์ทางโครมาโทกราฟี และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะละกอสายพันธุ์ต่างๆ ในผลสุกของมะละกอจำนวน 25 ตัวอย่างจาก 12 สายพันธุ์ ตัวอย่าง อาทิ มะละกอสายพันธุ์แขกดำเม็กซิโก มะละกอสายพันธุ์ปลักไม้ลาย มะละกอสายพันธุ์ครึ่งเหลือง เป็นต้น ในการสกัดเบต้าแคโรทีนจากตัวอย่างเนื้อผลมะละกอใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ hexane dichloromethane และ ethyl acetate ในอัตราส่วน 4 : 16 : 80 โดยปริมาตร และศึกษาลายพิมพ์ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ solvent system 2 ระบบ ได้แก่ methanol และ acetone ในอัตราส่วน 40 : 60 โดยปริมาตร และ ethyl acetate และ hexane ในอัตราส่วน 40 : 60 โดยปริมาตร ผลการทดลองพบว่าลายพิมพ์ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีของมะละกอทั้ง 12 สายพันธุ์มีความคล้ายคลึงกัน โดยส่วนใหญ่พบเบต้าแคโรทีนเป็นสารหลัก ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะละกอโดยใช้เทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD) จากตัวอย่างมะละกอสายพันธุ์ฮอนโกลตัวอย่างที่ 3 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีปริมาณเบต้าแคโรทีนต่ำ และมะละกอสายพันธุ์ปลักไม้ลายที่มีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูง โดยการสกัดดีเอ็นเอของเนื้อผลมะละกอด้วย PowerSoil DNA Isolation Kit โดยใช้ primer PYBC01 และ PYBC02 และเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอซ้ำ 2-3 ครั้ง ทำให้ได้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่างผลมะละกอที่มีปริมาณเบต้าแคโรทีนต่ำ และตัวอย่างผลมะละกอที่มีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูง ผลการทดลองที่ได้สามารถใช้เป็นแนวทางในการสกัดและเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ เพื่อจำแนกสายพันธุ์และระบุยีนที่เกี่ยวข้องกับปริมาณเบต้าแคโรทีนของมะละกอสายพันธุ์ต่างๆ จากผลการทดลองนี้ ลายพิมพ์ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี และลายพิมพ์ดีเอ็นเอจะช่วยในการควบคุมคุณภาพของมะละกอได้ต่อไปในอนาคต

Abstract

Chromatographic and DNA fingerprints of papaya fruits from different cultivars

Monsikan Jaisuda, Manatsawee Khowpinijchai

Project Advisor: Piyanuch Rojsanga*, Pongtip Sithisarn**, Sawanya Buranaphlin*, Montri yasawong**

*Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

***Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keywords: Papaya, Beta-carotene, Chromatographic, DNA fingerprint

The objective of this study was to examine chromatographic and DNA fingerprints of papaya fruits from different cultivars. Twenty-five papaya samples were ripe fruits from twelve different cultivars such as Khaek Dam, Maxican, Plak Mai Lai, and Khrang Lueang. For thin-layer chromatographic (TLC) fingerprints of papaya fruits, the mixture of hexane, dichloromethane and ethyl acetate in the ratio of 4: 6: 80 v/v/v were used to extract carotenoid in papaya fruits. Two solvent systems were used including methanol and acetone in the ratio of 40: 60 v/v and ethyl acetate and hexane in the ratio of 60: 40 v/v. The carotenoid extracts from twelve different cultivars promoted TLC fingerprints with the major band corresponded to beta-carotene. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique was performed to study DNA fingerprints of low beta-carotene type Hon Gold no.3 and high beta-carotene type Plak Mai Lai. PowerSoil DNA Isolation Kit was used for DNA extraction. Multiple PCR amplification of PYBC01 and PYBC02 primers discriminated between the low and high beta-carotene types of papaya. The result obtained is a preliminary study of DNA extraction and DNA amplification for either a species identification or the development of molecular markers linked to beta-carotene content in papaya. From this experiment, TLC and DNA fingerprints could be useful for the quality control of papaya fruit in the future.