Agricultural Sci. J. 39 : 3 (Suppl.) : 339-342 (2008) ว. วิทย. กษ. 39 : 3 (พิเศษ) : 339-342 (2551)

แอนโทไซยานินในดอกกล้วยไม้พันธุ์แท้ 3 สายพันธุ์ในเผ่า VANDEAE Lindley

Anthocyanins distributing in flower from 3 native orchids of the VANDEAE Lindley Tribe

นิตยา จันกา[1] เฉลิมชัย วงษ์อารี[1] และศิริชัย กัลยาณรัตน์[1]

Nittaya Junka[1], Chalermchai Wongs-Aree[1] and Sirichai Kanlayanarat[1]

Abstract

Orchids in the VANDEAE Lindley tribe contain a pool of genetic biodiversity, varying in flower forms, colours and aroma volatiles. Floral colour variation is due to accumulation of different pigments and/or the distributing patterns. In the present study, types and accumulation patterns of floral anthocyanins were analysed from 3 native orchids of the VANDEAE Lindley tribe, namely *Aerides multiflora* Roxb. (red colour), *Rhynchostylis retusa* (L.) Blume (red-violet colour) and *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl. (bluish colour). *Vanda coerulea* contained the highest anthocyanin contents of 6.47 mg/ 100 g fresh weight, *Aerides multiflora* comprised 2.45 mg/ 100 g fresh weight whereas *Rhynchostylis retusa* had the least amounts of anthocyanins of 0.83 mg/100 g fresh weight in the flowers. The orchid anthocyanidin profiles from HPLC analysis were compared to the profiles of reference anthocyanidins extracted from grape, strawberry, butterfly pea, and red cabbage. Cyanidin revealed to be a predominant predecessor of red floral orchids. *Rhynchostylis retusa* contained mostly anthocyanins derived from cyanidin. Nevertheless, the *Aerides multiflora* had the same red shed as *Rhynchostylis retusa*, showing 96.13 % cyanidin and 3.87% pelargonidin proportions meanwhile *Vanda coerulea* had blueish flower, containing 52.43 % cyanidin and 47.57% delphinidin.

Keywords: VANDEAE Lindley Tribe, Wild type orchids, Anthocyanidins, Total anthocyanins, Floral colouration

บทคัดย่อ

กล้วยไม้ในเผ่า VANDEAE Lindley มีความหลากหลายทางพันธุกรรม จึงทำให้มีความแตกต่างกันของสายพันธุ์ ทั้งในด้านรูปทรงดอก สี และกลิ่น ความหลากหลายในด้านสีของดอกกล้วยไม้เกิด เนื่องจากมีการสะสมรงวัตถุ และ/หรือ มีรูปแบบการสะสมรงวัตถุที่แตกต่างกัน ในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาชนิดและรูปแบบการสะสมแอนโทไซยานินในดอกกล้วยไม้พันธุ์แท้ในเผ่า VANDEAE จำนวน 3 สายพันธุ์ ที่มีสีของกลีบดอกแตกต่างกัน คือพันธุ์กุหลาบมาลัยแดง (*Aerides multiflora* Roxb.) มีกลีบดอกอยู่ในช่วงสีแดง ไอยเรศ (*Rhynchostylis retusa* (L.) Blume) มีกลีบดอกอยู่ในช่วงสีแดง-ม่วง และฟ้ามุ่ย (*Vanda coerulea* Griff. ex Lindl.) ซึ่งกลีบดอกมีสีฟ้าอ่อน โดยฟ้ามุ่ยมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดเท่ากับ 6.47 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด รองลงมาได้แก่ กุหลาบมาลัยแดงเท่ากับ 2.45 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ส่วนไอยเรศมีน้อยที่สุดเท่ากับ 0.83 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับรูปแบบ สารแอนโทไซยานิดินที่แยกได้จากเครื่อง HPLC ระหว่างดอกกล้วยไม้กับสารสกัดจากพืชอ้างอิงที่มีรายงานมาแล้วได้แก่ องุ่นดำ สตรอเบอรี่ ดอกอัญชัญ และกะหล่ำปลีสีม่วง พบว่าดอกกล้วยไม้ที่มีกลีบดอกอยู่ในโทนสีแดงส่วนใหญ่ประกอบ ด้วยอนุพันธ์ของแอนโทไซยานิดินชนิดไซยานินเป็นหลัก ซึ่งดอกไอยเรศประกอบด้วยแอนโทไซยานินที่มาจากไซยานิดิน อย่างไรก็ตามกุหลาบมาลัยแดงซึ่งมีสีแดงเช่นกันกับไอยเรศ มีแอนโทไซยานินชนิดไซยานิดินร้อยละ 96.13 และพีลาร์โกนิดิน ร้อยละ 3.87 ส่วนฟ้ามุ่ยซึ่งมีดอกสีฟ้าอ่อนพบ แอนโทไซยานิดินอยู่ 2 ชนิด คือไซยานิดินร้อยละ 52.43 และเดลฟินิดินร้อยละ 47.57

คำสำคัญ: เผ่า VANDEAE Lindley ดอกกล้วยไม้พันธุ์แท้ แอนโทไซยานิดิน ปริมาณแอนโทไซยานิน สีของกลีบดอก

คำนำ

กล้วยไม้ในเผ่า VANDEAE Lindley เป็นกล้วยไม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ในปัจจุบันพบกล้วยไม้ไทยที่จัดอยู่ในเผ่านี้มี 86 สกุล เช่น สกุล *Papilionanthe* สกุล *Vanda* (แวนด้า) สกุล *Aerides* (กุหลาบ) และสกุล *Rhynchostylis*

[1] สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140

[1] Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology / Postharvest Technology Innovation Center, King Mongkut's University of Technology, Thonburi, Bangkok, 10140

(ช้าง) เป็นต้น ซึ่งกล้วยไม้ที่อยู่ในเผ่านี้สามารถผสมพันธุ์ได้อย่างกว้างขวาง ทั้งผสมพันธุ์ในสกุลเดียวกันและผสมพันธุ์ข้ามสกุล ทำให้มีความหลากหลายด้านสายพันธุ์ ทั้งรูปทรงดอก สี และกลิ่น (ควรชิต ธรรมศิริ, 2547)

สีของดอกกล้วยไม้เกิดขึ้นเนื่องมาจากการสะสมรงควัตถุสีที่แตกต่างกัน เช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และแอนโทไซยานิน (Kazama และคณะ, 2003) สารสีในกลุ่มแอนโทไซยานินเป็นสารสีที่ให้สีแดง-ม่วง-น้ำเงินในดอกไม้ พบอยู่ในรูปของออกโซเนียมไอออน (oxonium ion) อยู่ 6 ชนิดหลักๆ ได้แก่ พีลาร์โกนิดิน (pelargonidin) ไซยานิดิน (cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) พีโอนิดิน (peonidin) พิทูนิดิน (petunidin) และ มาลวิดิน (malvidin) นอกจากเป็นสารให้ สีแล้วแอนโทไซยานินยังมีส่วนช่วยในการขยายพันธุ์และมีคุณสมบัติเป็นตัวต้านทานออกซิเดชัน (Jackman และ Smith, 1996)

สารสีในกลุ่มแอนโทไซยานินได้มีการศึกษาครั้งแรกในดอกกล้วยไม้พันธุ์ *Dendrobium cornutum* Hook. f และ *Dendrobium crocatum* Hook. f เป็นชนิด cyanidin -3-glucoside (Lowery และ Keong, 1973) ต่อมาได้มีการค้นพบ cyanidin 3 – (6- malonylglucoside) -7, 3' –di-[4-glucosyl-ρ -hydroxybenzoyl) glucoside] ในดอกกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* พันธุ์ Pramot ซึ่งเป็นดอกกล้วยไม้ที่มีสีแดงม่วง (Saito และคณะ, 1994) และในปี 2004 Tatsuzawa และคณะได้พบ cyanidin 3, 7, 3' –triglucoside และ delphinidin 3, 7, 3' –triglucoside ในกล้วยไม้สกุลแวนด้าลูกผสม ซึ่งวัตถุประสงค์ในการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาชนิดและรูปแบบการสะสมของแอนโทไซยานิดินในดอกกล้วยไม้พื้นบ้าน 3 สายพันธุ์ ในเผ่า VANDEAE Lindley ซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่พบในประเทศไทยที่มีสีของกลีบดอกอยู่ในช่วงสีแดง-ม่วง

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองนี้ใช้ดอกกล้วยไม้ในระยะดอกบานเต็มที่ในเผ่า VANDEAE Lindley 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กุหลาบมาลัยแดง (*Aerides multiflora* Roxb.) ไอยเรศ (*Rhynchostylis retusa* (L.) Blume) ซึ่งมีดอกสีแดงม่วง และฟ้ามุ่ย (*Vanda coerulea* Griff. Ex Lindl.) ซึ่งมีดอกสีฟ้าอ่อน จากสวนกล้วยไม้ทักษนันทน์ที่จังหวัดกำแพงเพชร ดอกอัญชัญได้มาจากสวนในเขตบางมด กรุงเทพมหานคร ผลสตรอเบอรี่ องุ่นและกะหล่ำปลีสีม่วงซื้อมาจากห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานคร ทำการสกัดแอนโทไซยานินจากชิ้นส่วนของพืชตามวิธีการ Rodriguez-Saona และ Wrolstad (2005) วัดปริมาณแอนโทไซยานิน ด้วยวิธีการ pH differential technique ของ Giusti และ Wrolstad (2005) และคัดแยกสารแอนโทไซยานินและ ทำให้บริสุทธิ์ตามลำดับขั้น (sequential extractions) ตามวิธีการของ Durst และ Wrostad 2005; Rodriguez-Saona และ Wrolstad 2005 วิเคราะห์รูปแบบของแอนโทไซยานิดินโดยใช้เครื่อง HPLC รุ่น LC-20AT prominence liquid chromatograph (Shimadzu, Japan) ต่อกับ detector ชนิด photodioarrays (SPD-M20A) ภายใต้สภาพความดัน 3000 psi และสภาพของการชะตาม Junka และคณะ (2007) ใช้โปรแกรม LC Solution (Shimadzu, Japan)

ผลและวิจารณ์

ดอกกล้วยไม้ทั้ง 3 พันธุ์มีปริมาณแอนโทไซยานินในดอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) โดยดอกกล้วยไม้พันธุ์ฟ้ามุ่ยมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดเท่ากับ 6.47 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด รองลงมาได้แก่กุหลาบมาลัยแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 2.45 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และไอยเรศมีปริมาณแอนโทไซยานินน้อยที่สุดเท่ากับ 0.83 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (Table 1) ในการทดลองนี้สารสกัดแอนโทไซยานินของดอกกล้วยไม้ทุกพันธุ์มีลักษณะการดูดกลืนแสงเป็นแบบแอนโทไซยานินที่พบได้น้อยในธรรมชาติ (rare anthocyanins) เมื่อวัดในบัฟเฟอร์พีเอช 1 และ 4.5 (ข้อมูลไม่ได้แสดง) เช่นเดียวกับในดอกอัญชัญ (Wongs-Aree และคณะ, 2006)

Table 1 Total anthocyanin content of Aerides multiflora, Rhynchostylis retusa, and Vanda coerulea orchids.

Orchid cultivar	Total anthocyanin content (mg/100 g fresh weight) [1]/
Aerides multiflora	2.45 [b]
Rhynchostylis retusa	0.83[c]
Vanda coerulea	6.47[a]
F-test	**
CV%	4.81

[1/] Mean with difference superscripts in the same column are significantly different ($p \leq 0.01$) (LSD's)

โดยเมื่อนำสารสกัดแอนโทไซยานินไปบ่มในบัพเฟอร์พีเอช 4.5 ทำให้มีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นอีก 1 ยอด (ข้อมูลไม่ได้แสดง) ดังนั้นในการคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินในดอกกล้วยไม้นี้จึงคิดเฉพาะการดูดกลืนแสงสูงสุดในบัพเฟอร์พีเอช 1

เมื่อนำสารสกัดแอนโทไซยานินมาทำให้บริสุทธิ์ แล้วตัดโมเลกุลที่มาเชื่อมต่อกับแอนแอนโทไซยานินออกด้วยการทำ saponification และ acid hydrolysis ตามลำดับ แล้วแยกสารด้วยเครื่อง HPLC จากนั้นนำ HPLC chromatographs ของกล้วยไม้ทั้ง 3 สายพันธุ์มา เปรียบเทียบกับ chromatographs ของพืชอ้างอิงทั้ง 4 ชนิด คือ องุ่น สตรอเบอรี่ กะหล่ำปลีสีม่วงและดอกอัญชัญที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ดอกกล้วยไม้พันธุ์กุหลาบมาลัยแดงและไอยเรศมีแอนโทไซยานิดินชนิดหลักซึ่งปรากฏที่ retention time (RT) 31.91และ 31.90 (figure 1E peak ที่ 1และ figure 1F peak ที่ 1) ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับไซยานิดินที่พบในเปลือกองุ่น (Durst และ Worstad, 2005) ที่ RT 32.06 (figure 1A peak ที่ 2) ผิวสตรอเบอรี่ (Durst และ Wrolstad, 2005) ที่ RT 31.90 (figure 1B peak ที่ 1) ใบกะหล่ำปลีสีม่วงที่ RT 31.38 (figure 1C peak ที่ 1) ส่วนกุหลาบมาลัยแดงนอกจากมีไซยานิดินแล้วยังพบว่ามีพีลาร์โกนิดินร้อยละ 3.87 (figure 1E peakที่ 2) RT 35.53 โดยการเปรียบเทียบกับพีลาร์โกนิดินในสตรอเบอรี่ (figure 1B peak ที่ 2) RT ที่ 35.49 ส่วนฟ้ามุ่ยสะสมแอนโทไซยานิดิน 2 ชนิดคือไซยานิดินที่ RT 32.22 คิดเป็นร้อยละ 47.57 (figure 1G peak ที่ 2) แล้วยังพบเดลฟินิดินที่ RT 29.29 (figure 1G peak ที่1) เมื่อเปรียบเทียบกับองุ่น (Durst และ Wrolstad, 2005) และอัญชัญ (Wongs-Aree และคณะ, 2006)

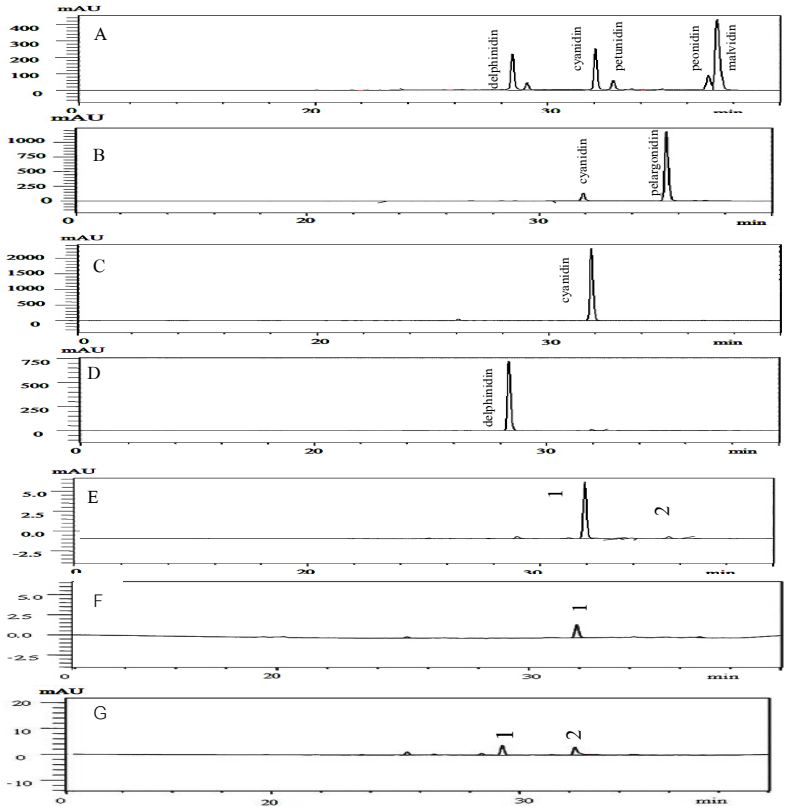

Figure 1 HPLC Chromatographs of acid-hydrolysed anthocyanins from 7 species detected at 515 nM

A = Grape peel (Durst and Worstad, 2005)

B = Strawberry peel (Durst and Worstad, 2005)

C = Red cabbage leaves (Hrazidna et al.,1977)

D = Butterfly pea flower (Wongs-Aree et al., 2006)

E = *Aerides multiflora* flower

F = *Rhynchostylis retusa* flower

G = *Vanda coerulea* flower

สรุป

จากกล้วยไม้ในเผ่า VANDEAE Lindley จำนวน 3 สายพันธุ์คือกุหลาบมาลัยแดง ไอยเรศ และฟ้ามุ่ย พบว่าดอกฟ้ามุ่ยมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดคือ 6.47 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ส่วนไอยเรศมีปริมาณแอนโทไซยานินน้อยที่สุดเท่ากับ 0.83 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ดอกกล้วยไม้ส่วนใหญ่ที่มีสีของดอกอยู่ในโทนสีแดง-ม่วงพบแอนโทไซยานิดินชนิดไซยานิดินเป็นหลัก ส่วนกุหลาบมาลัยแดงซึ่งมีสีของดอกอยู่ในโทนสีแดงพบทั้งไซยานิดิน และมีพีลาร์โกนิดิน ส่วนฟ้ามุ่ยซึ่งมีสีของดอกอยู่ในโทนสีฟ้าประกอบไปด้วยแอนโทไซยานินที่มาจากอนุพันธ์ของไซยานิดิน และเดลฟินิดิน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัยจากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว : หน่วยงานร่วมมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณของงานวิจัย ผศ. กนกวรรณ ถนอมจิต สำหรับคำแนะนำในเรื่องพันธุ์ของดอกกล้วยไม้และสวนกล้วยไม้ทักษนันทน์ จังหวัดกำแพงเพชรที่ช่วยสนับสนุนดอกกล้วยไม้บางส่วนในงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. **เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้**. อัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิง. กรุงเทพฯ. 283 หน้า.

Durst, R.W. and Wrolstad, R.E. 2005. Separation and characterization of anthocyanins by HPLC. pp. 33-45. **In: Handbook of Food Analytical Chemistry (Vol 2): Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and Bioactive Food Components**, Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner,M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D. and Sporns, P. (Eds.). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.

Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2005. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. pp. 19-31. **In: Handbook of Food Analyical Chemistry (Vol 2): Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and Bioactive Food Components**, Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D. and Sporns, P. (Eds.). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.

Hrazdina, G., Iredale, H. and Mattick, L.R. 1977. Anthocyanin composition of *Brassica oleracea* cv. red danish, **Phytochemistry** 16: 297-299.

Jackman, R.L. and Smith, J.L. 1996. Anthocyanins and betalains. pp. 244-309. **In: Natural Food Colorants** (2nd). Hendry, G.A.F. and Houghton, J.D. (Eds.). Chapman and Hall Glasgow.

Junka, N., Wongs-Aree, C. and Kanlayanarat, S. 2007. Predominance of Cyanidin Found in Flower from Two Species of *Aerides* Orchids. **Acta Horticulturae** 755: 549-556.

Kazama, K., Noda, N.and Suzuki M. 2003. Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*, **Phytochemistry** 64:1133-1139.

Lowry, J.B. and Keong, S.C. 1973. A preliminary study of Malaysian orchid pigments. **Malay Journal of Science** 2:115-121.

Rodriguez-Saona, L. E. and Worlstad, R. E. 2005. Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. pp. 7-17. **In: Handbook of Food Analyical Chemistry (Vol 2): Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and Bioactive Food Components**. Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D. and Sporns, P. (Eds.). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.

Saito, N., Toki, K., Uesato, K., Shigihara, A. and Honda, T. 1994. An acylated cyanidin glycoside from the red-purple flowers of *Dendrobium* **Phytochemistry** 37: 245-248.

Tatsuzawa, F., Saito, N., Seki, H., Yokoi, M., Yukawa, T., Shinoda, K. and Honda, T. 2004. Acylated anthocyaninis in the flowers of *Vanda* (Orchidaceae). **Biochemical Systematic and Ecology** 32: 651-664.

Wongs-Aree, C., Giusti, M.M. and Schwartz, S.J. 2006. Anthocyanins derived only from delphinidin in the blue petal of *Clitoria ternatea*. **Acta Horticulturae** 712: 437-442.