การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสีย้อมธรรมชาติจากพืชเพื่อการย้อมสีเนื้อเยื่อพืช สำหรับห้องปฏิบัติการชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

Study of the Properties of Natural Dyes from Plants for Studying Plant Tissues in a Biological Laboratory, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University

สุกัญญา แย้มสรวล

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม
Sukanya_tan162518@hotmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) คัดเลือกพืชที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสีจากพืชกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนสำหรับใช้ย้อมสีสไลด์ของเนื้อเยื่อพืช 2) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสีจากพืช 3) เปรียบเทียบความสามารถในการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชของสีกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนที่สกัดได้จากพืชกับสีย้อม Safranin O ที่ได้จากการสังเคราะห์ โดยทำการคัดเลือกตัวอย่างพืช 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแอนโทไซยานิน ได้แก่ ข้าวเหนียวดำและกะหล่ำปลีม่วง และกลุ่มเบทาเลน ได้แก่ เปลือกแก้วมังกรและผลผักปลัง ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสีจากพืช ได้แก่ ชนิดตัวทำละลาย อัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย ระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารสี และนำไปเปรียบเทียบความสามารถในการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชของสีกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนที่สกัดได้จากพืชกับสีย้อม Safranin O ผลการวิจัยพบว่า 1) ตัวอย่างพืชที่ให้การ ติดสีเนื้อเยื่อพืชได้ดีที่สุดในกลุ่มของแอนโทไซยานิน คือ ข้าวเหนียวดำ และกลุ่มเบทาเลน คือ เปลือกแก้วมังกร 2) การสกัดตัวอย่างพืชด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 โดยใช้ระยะเวลาในการสกัดสารสี 1 ชั่วโมงขึ้นไป จะให้การติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชทั้งในใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ มีค่าความพึงพอใจในการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชดีที่สุด 3) สารสีจากข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกรสามารถนำมาใช้ในการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชทั้งสองชนิด โดยมีค่าความพึงพอใจในการติดสีของเนื้อเยื่อพืชไม่แตกต่างกับการใช้สีย้อมจากสี Safranin O

คำสำคัญ: สีย้อมธรรมชาติ, การย้อมสี, เนื้อเยื่อพืช

Abstract

This research aimed to 1) Selection of optimum plant for the extraction from anthocyanins and betalains for plant tissue staining. 2) A study of the optimum plant for the extraction. 3) Comparative study on the ability in staining on plant tissue of anthocyanins and betalains with the synthetic safranin O dye. Two groups of samples were selected: anthocyanins were black rice and red cabbage and betalains were dragon fruit peel and ceylon spinach fruits. As for the study of the optimum condition for the extraction, solvent composition, a ratio of plant per solvent and extraction time were studied and compare with on the ability in staining on plant tissue between anthocyanins and betalains extracted dye from plant with the synthetic safranin O dye. The results showed that 1) The most effective dyes in anthocyanin group was black rice and betalain group was dragon fruit peel. 2) Extracting the samples with distilled water at the ratio of 1:1 for more than 1 hour, the plant dyes was stained effectively on plant tissues of both monocots and dicots with the highest satisfaction. 3) There was no significant different in satisfaction of plant tissues staining, both monocots and dicots, between the natural dyes from black rice as well as dragon fruit, and safranin O dye.

Keywords: natural dye, staining, plant tissues

1. บทนำ

ในปัจจุบันพบว่าสีมีบทบาทสำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์ เนื่องจากการใช้สีนั้นเป็นการเพิ่มความดึงดูด หรือซ่อนเร้นความบกพร่องของผลิตภัณฑ์ การใช้สีสังเคราะห์ถึงแม้ว่าจะให้สีสันสวยงาม แต่สามารถทำให้เกิดอันตรายได้ ยิ่งถ้าหากนำมาใช้เพื่อบริโภคหรือต้องสัมผัสด้วยมือ สารสีเหล่านี้จะทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ เพราะสารสีเหล่านี้จะมีการนำสารประเภทโลหะหนักต่าง ๆ มาปะปน และเกิดการแยกสารออกไม่หมด หากมีสารตกค้างอยู่ในปริมาณที่มากเกินไป ยิ่งทำให้ผู้บริโภคได้รับสารพิษ และเกิดการสะสมอยู่ในร่างกายมากขึ้น ปัจจุบันจึงมีการรณรงค์ให้ใช้สีธรรมชาติทดแทนการใช้สีสังเคราะห์ขึ้น ซึ่งมนุษย์รู้จักการใช้สีธรรมชาติมายาวนานไม่ว่าจะเป็นการใช้สีมาทำขนม หรือสีย้อมผ้า นอกจากนี้ยังมีการใช้สีธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในด้านการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ด้วย ดังรายงานการวิจัยของ ฐานิกา สวนดง (2544) ศึกษาพืชให้สีในกลุ่มโทนสีเหลืองใช้เป็นสีย้อมทางชีววิทยา มานิต คิดอยู่ (2552) นำฝางมาสกัดสีสำหรับย้อมเซลล์และเนื้อเยื่อพืช และยังมีการศึกษาการสกัดสีจากส่วนต่าง ๆ ของพืช เพื่อนำมาย้อมสีโครโมโซม (หัทยา การีวงศ์ และวิไล ชัยสมภาร, 2546)

ในการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยานั้นต้องศึกษาโครงสร้างส่วนประกอบพื้นฐานของพืช การศึกษาโครงสร้างส่วนประกอบพื้นฐานต้องมีการเตรียมสไลด์สด แต่การเตรียมสไลด์สดนั้นชิ้นส่วนตัวอย่างของพืช เมื่อถูกน้ำจะใส ทำให้ศึกษาโครงสร้างไม่ชัดเจน (ปัณณิกา ไชยนวล, 2554) จึงต้องมีการย้อมสีให้กับชิ้นส่วนของพืช เพื่อให้เห็นโครงสร้างที่ชัดเจนขึ้น ภายใต้การศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยทั่วไปที่ใช้กันอยู่ในห้องปฏิบัติการมักเป็นสีสังเคราะห์สำเร็จรูป คือ สี Safranin O เป็นสีที่สังเคราะห์ขึ้น เมื่อย้อมเนื้อเยื่อพืชจะให้สีแดง สีชนิดนี้มีราคาแพง แต่สามารถเตรียมง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้ อย่างไรก็ตามแต่หากใช้ไม่ดีไม่ถูกขั้นตอนหรือเตรียมไม่เหมาะสมจะเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ และเมื่อทิ้งลงท่อน้ำสู่แหล่งน้ำจะทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

งานวิจัยนี้จึงสนใจและมีแนวคิดในการนำเอาพืชธรรมชาติมาสกัดสารสี โดยเน้นสารให้สีในกลุ่มแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) และเบทาเลน (Betalain) สารสีทั้งสองกลุ่มนี้สามารถหาได้ง่าย และพบได้ตามธรรมชาติ โดยนำมาใช้แทนสี Safranin O ที่เป็นสีสังเคราะห์ ซึ่งงานวิจัยนี้จะนำพืชธรรมชาติมาสกัดสารสี และทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารสี เพื่อนำเอาสารสีนั้นมาย้อมสีสไลด์เนื้อเยื่อพืช นอกจากนี้จะนำสารสกัดสีมาเปรียบเทียบความสามารถในการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชระหว่างสีธรรมชาติกับสี Safranin O อีกด้วย จากงานวิจัยนี้คาดหวังว่าสารสกัดสีที่ได้จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้จริงในการศึกษาโครงสร้างส่วนประกอบพื้นฐานของพืช เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา ในแง่ของการนำวัสดุจากท้องถิ่นมาเพิ่มมูลค่า ลดค่าใช้จ่ายในการเรียนการสอน และมีความปลอดภัยสำหรับผู้ใช้สีด้วย

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อคัดเลือกพืชที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสีจากพืชกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนสำหรับใช้ย้อมสีสไลด์ของเนื้อเยื่อพืช

2.2 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสีจากพืชกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลน

2.3 เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชของสีกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนที่สกัดได้จากพืชกับสีย้อม Safranin O ที่ได้จากการสังเคราะห์

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การคัดเลือกพืชที่เหมาะสมสำหรับใช้ย้อมสีสไลด์ของเนื้อเยื่อพืช

นำตัวอย่างพืช 4 ชนิด มาสกัดสารสีโดยจัดกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม คือ สีกลุ่มแอนโทไซยานิน ได้แก่ เมล็ดข้าวเหนียวดำ ใบของกะหล่ำปลีม่วง และสีกลุ่มเบทาเลน ได้แก่ เปลือกของผลแก้วมังกร และผลของผักปลังสุก ทำความสะอาดด้วยน้ำ และผึ่งให้แห้งแต่ละชนิดหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นละเอียด โดยใช้อัตราส่วนของตัวอย่างพืชต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1: 1 (กรัม/มิลลิลิตร) หลังจากนั้นแช่พืชที่สกัดนาน 1 ชั่วโมง นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 93 และเบอร์ 1 ตามลำดับ นำสารสีของข้าวเหนียวดำ และกะหล่ำปลีม่วงวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 520 นาโนเมตร ส่วนสารสีของเปลือกแก้วมังกร และผลผักปลังวัดค่าดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 540 นาโนเมตร สารสกัดสีที่ได้นำไปทดสอบการย้อมสีสไลด์ของเนื้อเยื่อพืชต่อไป

3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสีจากพืชกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลน

3.2.1 ศึกษาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสีพืช

นำตัวอย่างพืช 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนที่คัดเลือกจากข้อ 3.1 ทำการสกัดด้วยน้ำกลั่น กรดอะซีติกความเข้มข้น 100 % เอทานอลความเข้มข้น 70 % กรดอะซีติกความเข้มข้น 100 % ผสมเอทานอลความเข้มข้น 70 % (1:1,ปริมาตร/ปริมาตร) เป็นตัวทำละลายในอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย 1:1 (กรัม/มิลลิลิตร) แช่ตัวอย่างพืชนาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และวัดค่าดูดกลืนแสง ตามการทดลองข้อ 3.1 เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารสีจากพืชทดลอง

3.2.2 ศึกษาหาอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสีพืช

นำตัวอย่างพืชจากข้อ 4.1 ทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่ดีที่สุด (จากการทดลองในข้อ 3.2) ในอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย 1:1, 1:2, 1:5 และ 1:10 (กรัม/มิลลิลิตร) แช่ตัวอย่างพืชนาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง นำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าดูดกลืนแสง เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารสี

3.2.3 ศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสีพืช

นำตัวอย่างพืชจากข้อ 3.1 ทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย และอัตราส่วนที่ดีที่สุด (จากการทดลองในข้อ 3.2 และ 3.3) โดยใช้เวลาสกัด 30 นาที, 1, 6 และ 12 ชั่วโมง เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารสี

3.3 เปรียบเทียบความสามารถในการย้อมสีของเนื้อเยื่อพืชระหว่างกลุ่มแอนโทไซยานิน และกลุ่มเบทาเลนกับสีย้อม Safranin O

นำสารสกัดสีที่ได้จากการทดลอง มาเปรียบเทียบความสามารถในการย้อมสีของเนื้อเยื่อพืชระหว่างสารสกัดสีกลุ่มแอนโทไซยานิน และกลุ่มเบทาเลนกับสี Safranin O ซึ่งเป็นสีสังเคราะห์

4. ผลการวิจัย

4.1 ผลการคัดเลือกชนิดของพืชที่เหมาะสมในการสกัดสีพืช

จากการคัดเลือกตัวอย่างพืชสำหรับย้อมสีเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ โดยจำแนกพืชตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มตามการให้สารสี คือ กลุ่มแอนโทไซยานิน ได้แก่ กะหล่ำปลีม่วง ข้าวเหนียวดำ และกลุ่มเบทาเลน ได้แก่ ผลผักปลัง เปลือกแก้วมังกร นำมาสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พบว่า สารสกัดสีของข้าวเหนียวดำ และกะหล่ำปลีม่วงในกลุ่มแอนโทไซยานิน มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.5 และ 5.9 ตามลำดับ มีค่าความดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 520 นาโนเมตรที่ 0.304 และ 0.606 ตามลำดับ เมื่อนำมาย้อมสีเนื้อเยื่อพืชติดสีม่วงแดงทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ (ดังแสดงในภาพที่ 1 และภาพที่ 2) ส่วนสารสีจากกะหล่ำปลีม่วงนำมาย้อมเนื้อเยื่อพืชติดสีม่วงอ่อนทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่เช่นกัน (ดังแสดงในภาพที่ 1 และภาพที่ 2) ส่วนพืชในกลุ่มเบทาเลน พบว่า สารสกัดสีจากเปลือกแก้วมังกร และผลผักปลังมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 4.5 และ 6.0 ตามลำดับ มีค่าความดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 540 นาโนเมตรที่ 0.065 และ 0.127 ตามลำดับ เมื่อนำมาย้อมสีเนื้อเยื่อพืชติดสีชมพูแดงทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ (ดังแสดงในภาพที่ 1 และภาพที่ 2) ส่วนสารสีจากผลผักปลังนำมาย้อมเนื้อเยื่อพืชติดสีดำทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ (ดังแสดงในภาพที่ 1 และภาพที่ 2)

ผลการวิเคราะห์ค่าความพึงพอใจในการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ พืชกลุ่มแอนโทไซยานิน คือ ข้าวเหนียวดำ และกะหล่ำปลีม่วง กลุ่มเบทาเลน คือ เปลือกแก้วมังกร และผลผักปลัง (ดังแสดงในตารางที่ 1 และตารางที่ 2) จะเห็นได้ว่าค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืช พบว่า สีย้อมที่ได้จากการสกัดสีของข้าวเหนียวดำ และเปลือกแก้วมังกร มีค่าความพึงพอใจสูงสุด ดังนั้นจึงทำการคัดเลือกพืชทั้งสองชนิดนี้เพื่อนำไปหาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสีต่อไป

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมพืชกลุ่มแอนโทไซยานิน โดยย้อมเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่

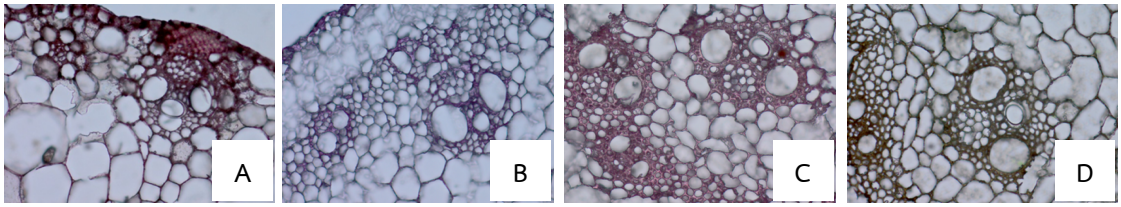
ชนิดของพืช	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงคู่
ข้าวเหนียวดำ	14.15±0.41*	12.80±0.43*
กะหล่ำปลีม่วง	11.20±0.47	11.10±0.50

หมายเหตุ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

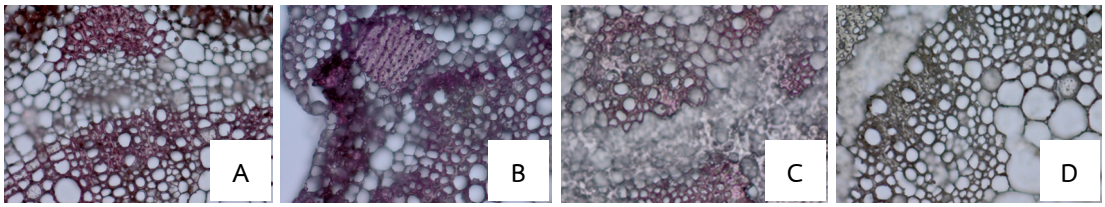
ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมพืชกลุ่มเบทาเลน โดยย้อมเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่

ชนิดของพืช	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงคู่
เปลือกแก้วมังกร	10.60±0.61*	11.05±0.43*
ผลผักปลัง	7.70±0.79	8.05±0.79

หมายเหตุ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05



ภาพที่ 1 เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ที่ย้อมด้วยสารสกัดสีจากพืชกลุ่มแอนโทไซยานิน (A, B) และกลุ่มเบทาเลน (C, D)
A ข้าวเหนียวดำ B กะหล่ำปลีม่วง C เปลือกแก้วมังกร D ผลผักปลัง



ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงคู่ ที่ย้อมด้วยสารสกัดสีจากพืชกลุ่มแอนโทไซยานิน (A, B) และกลุ่มเบทาเลน (C, D)
A ข้าวเหนียวดำ B กะหล่ำปลีม่วง C เปลือกแก้วมังกร D ผลผักปลัง

4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสีจากพืชกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลน

4.2.1 ผลการหาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสีจากพืช

จากการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชด้วยสารสีจากพืช 2 กลุ่ม คือ แอนโทไซยานิน (ข้าวเหนียวดำ) และกลุ่มเบทาเลน (เปลือกแก้วมังกร) โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น กรดอะซีติก เอทานอลความเข้มข้น 70 % และกรดอะซีติกกับเอทานอลความเข้มข้น 70 % (อัตราส่วน 1:1,ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่า การสกัดสารสีของพืชทั้งสองกลุ่มใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายดีที่สุด จากผลการวิเคราะห์ค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อ (ดังแสดงในตารางที่ 3 และตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชจากข้าวเหนียวดำ

ตัวทำละลาย	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี่ยงคู่
น้ำกลั่น	4.33^{a}±0.09	4.23^{a}±0.07
เอทานอลความเข้มข้น 70 %	4.25^{a}±0.05	4.22^{a}±0.09
กรดอะซีติก	2.30^{b}±0.06	2.28^{b}±0.09
เอทานอลความเข้มข้น 70 % กับ กรดอะซีติก (อัตราส่วน 1:1)	2.32^{b}±0.09	2.32^{b}±0.19

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชจากเปลือกแก้วมังกร

ตัวทำละลาย	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี่ยงคู่
น้ำกลั่น	3.78^{a}±0.11	4.12^{a}±0.02
เอทานอลความเข้มข้น 70 %	3.37^{b}±0.04	3.47^{b}±0.13
กรดอะซีติก	2.18^{d}±0.04	2.32^{c}±0.02
เอทานอลความเข้มข้น 70 %กับ กรดอะซีติก (อัตราส่วน 1:1)	2.52^{c}±0.13	2.20^{c}±0.03

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

4.2.2 ผลการศึกษาอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสีจากพืช

จากการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชด้วยสารสีพืช 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแอนโทไซยานิน (ข้าวเหนียวดำ) และกลุ่มเบทาเลน (เปลือกแก้วมังกร) ที่สกัดด้วยน้ำกลั่น โดยใช้อัตราส่วน คือ 1:1, 1:2, 1:5 และ 1:10 (กรัม/มิลลิลิตร) พบว่า การสกัดสารสีของพืชทั้งสองกลุ่มด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1 ให้การติดสีเนื้อเยื่อพืชดีที่สุด จากผลการวิเคราะห์ค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืช (ดังแสดงในตารางที่ 5 และตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมของเนื้อเยื่อพืชจากข้าวเหนียวดำ

อัตราส่วน (พืช:น้ำกลั่น)	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี่ยงคู่
1:1	4.25^{a}±0.28	4.57^{a}±0.12
1:2	2.68^{b}±0.24	3.18^{b}±0.02
1:5	2.37^{b}±0.09	2.10^{c}±0.03
1 :10	2.02^{c}±0.09	1.58^{d}±0.12

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมของเนื้อเยื่อพืชจากเปลือกแก้วมังกร

อัตราส่วน (พืช:น้ำกลั่น)	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี่ยงคู่
1:1	4.15^{a}±0.28	4.75^{a}±0.20
1:2	3.12^{b}±0.16	3.70^{b}±0.23
1:5	1.98^{c}±0.24	2.18^{c}±0.04
1 :10	1.63^{c}±0.06	1.70^{c}±0.13

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

4.2.3 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสีจากพืช

จากการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชด้วยสารสีพืช 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแอนโทไซยานิน (ข้าวเหนียวดำ) และกลุ่มเบทาเลน (เปลือกแก้วมังกร) สกัดด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1: 1 ที่ระยะเวลา 30 นาที 1 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง จากผลการวิเคราะห์ค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ พบว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารสีเพื่อนำไปย้อมสีเนื้อเยื่อพืช คือ ระยะเวลาในการแช่สารสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง โดยทั้ง 3 ระยะเวลานี้มีค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ดังแสดงในตารางที่ 7 และตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชจากข้าวเหนียวดำ

ระยะเวลา	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี่ยงคู่
30 นาที	3.30^{b}±0.03	4.13^{b}±0.03
1 ชั่วโมง	3.77^{a}±0.07	4.77^{a}±0.12
6 ชั่วโมง	3.82^{a}±0.06	4.78^{a}±0.09
12 ชั่วโมง	3.97^{a}±0.04	4.81^{a}±0.08

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชจากเปลือกแก้วมังกร

ระยะเวลา	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี่ยงคู่
30 นาที	1.47^{b}±0.03	2.20^{b}±0.12
1 ชั่วโมง	2.00^{a}±0.03	3.23^{a}±0.09
6 ชั่วโมง	1.98^{a}±0.02	3.45^{a}±0.13
12 ชั่วโมง	2.01^{a}±0.03	3.30^{a}±0.10

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

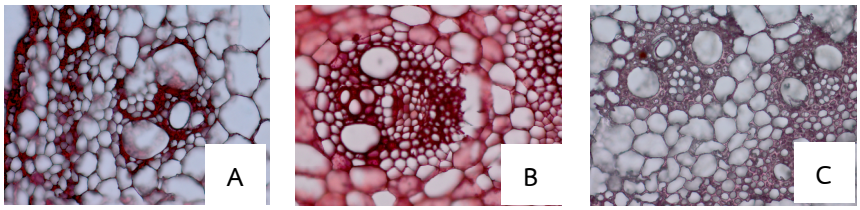
4.3. ผลการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชของสีกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนกับสีย้อม Safranin O

จากการสกัดสารสีของข้าวเหนียวดำ และเปลือกแก้วมังกร ด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พืชต่อตัวทำละลาย (กรัม/มิลลิลิตร) เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง นำสารสีที่ได้มาย้อมเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ พบว่า สารสีจากข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกร เมื่อนำมาย้อมสีเนื้อเยื่อพืชทั้งสองชนิด และนำมาเปรียบเทียบกับการย้อมสีของเนื้อเยื่อพืชด้วยสี Safranin O พบว่า จากผลการวิเคราะห์ค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมของเนื้อเยื่อพืชทั้งใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ที่ย้อมด้วยสารสีจากพืชทั้งสองมีค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืช ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมของเนื้อเยื่อพืชที่ย้อมด้วยสี Safranin O (ดังแสดงในตารางที่ 9) พบว่าสารสีจากพืชกลุ่มแอนโทไซยานิน คือ ข้าวเหนียวดำ และกลุ่มเบทาเลน คือ เปลือกแก้วมังกร สามารถนำมาใช้ในการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และใบเลี้ยงคู่ได้ไม่แตกต่างกับการย้อมสีจากสี Safranin O

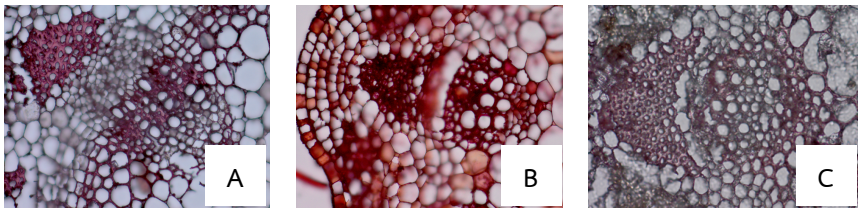
ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชจากข้าวเหนียวดำ และเปลือกแก้วมังกร กับสี Safranin O

การย้อมสี	ค่าความพึงพอใจในการติดสี	
	เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว	เนื้อเยื่อพืชใบเลี่ยงคู่
สีจากข้าวเหนียวดำ	2.89±0.062	0.030±2.88
สีจากเปลือกแก้วมังกร	2.87±0.019	2.88±0.030
สี Safranin O	3.01±0.048	2.94±0.067

หมายเหตุ ไม่มีความแตกต่างกันกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05



ภาพที่ 3 การย้อมสีเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวด้วยสารสกัดสีกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนกับสีย้อม Safranin O
A สารสีจากข้าวเหนียวดำ B สี Safranin O C สารสีจากเปลือกแก้วมังกร



ภาพที่ 4 การย้อมสีเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงคู่ด้วยสารสกัดสีกลุ่มแอนโทไซยานินและกลุ่มเบทาเลนกับสีย้อม Safranin O
A สารสีจากข้าวเหนียวดำ B สี Safranin O C สารสีจากเปลือกแก้วมังกร

5. สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการคัดเลือกพืชสำหรับย้อมสีเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ โดยคัดเลือกจากพืชตัวอย่าง 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มแอนโทไซยานิน ได้แก่ ข้าวเหนียวดำและกะหล่ำปลีม่วง และ 2) กลุ่มเบทาเลน ได้แก่ เปลือกแก้วมังกร และผลผักปลังสุก โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำลาย จากผลการทดลองพบว่า เมื่อนำสารสีจากพืชทั้งสองกลุ่มไปทดสอบการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ พบว่า ตัวอย่างพืชในกลุ่มแอนโทไซยานินที่มีค่าความพึงพอใจในการติดสีย้อมของเนื้อเยื่อพืชสูงที่สุด คือ สารสกัดสีจากข้าวเหนียวดำ ส่วนพืชในกลุ่มเบทาเลนคือ สารสกัดสีจากเปลือกแก้วมังกร จากการสกัดสารสีจากข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกร โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ 4 ชนิด คือ น้ำกลั่น กรดอะซีติก เอทานอลความเข้มข้น 70 % และกรดอะซีติกกับเอทานอลความเข้มข้น 70 % พบว่า น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด ในการสกัดสารสีจากข้าวเหนียวดำ และเปลือกแก้วมังกร โดยใช้อัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย 4 อัตราส่วน คือ 1:1, 1:2, 1:5 และ 1:10 (กรัม/มิลลิลิตร) พบว่า สกัดด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 จะให้สารสีที่ดีสุด การสกัดสารสีจากข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกร ด้วยน้ำกลั่นในอัตรส่วน 1:1 โดยใช้ระยะเวลาในการสกัดสารสีที่ 30 นาที 1 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง พบว่า ระยะเวลาในการแช่สารสกัด 1 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง จะให้ค่าความพึงพอใจของการติดสีย้อมเนื้อเยื่อพืชไม่แตกต่างกันทางสถิติ สรุปได้ว่าสารสีจากข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกร สามารถนำมาใช้ในการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และใบเลี้ยงคู่ได้ ซึ่งค่าความพึงพอใจไม่แตกต่างกับการย้อมสีจากสี Safranin O

6. อภิปรายผล

จากการศึกษาการสกัดสารสีสำหรับย้อมสีเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ จากตัวอย่างพืชในกลุ่มแอนโทไซยานิน ได้แก่ ข้าวเหนียวดำและกะหล่ำปลีม่วง และกลุ่มเบทาเลน ได้แก่ เปลือกแก้วมังกรและผลผักปลัง พบว่า ข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกร ให้สารสกัดสีที่สามารถย้อมติดสีเนื้อเยื่อพืชได้ดี ทำให้มองเห็นลักษณะโครงสร้างและส่วนประกอบของเซลล์พืชได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีรายงานในการนำสีย้อมจากพืชทั้งสองชนิดนี้มาใช้ในศึกษาการย้อมสีเนื้อเยื่อพืช แต่มีรายงานว่า สารสกัดสีจากข้าวเหนียวดำสามารถนำมาใช้ในการย้อมติดสีโครโมโซมและทำให้เห็นเส้นโครโมโซมชัดเจนที่สุด (หัทยา การีวงศ์ และวิไล ชัยสมภาร, 2546)

ภายหลังจากที่ได้พืชตัวอย่างมา 2 ชนิด คือ ข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกร นำพืชทั้งสองชนิดนี้มาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารสีของพืช โดยทำการศึกษาหาตัวทำละลาย หาอัตราส่วนที่เหมาะสม และหาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสีย้อม พบว่า การใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายจะทำให้สามารถสกัดสารสีจากตัวอย่างพืชได้ดีที่สุด

แสดงว่าน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายสารสีที่อยู่ในตัวอย่างพืชทั้งสองชนิดได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ ปัณณิกา ไชยนวล (2554) โดยนำตัวอย่างพืช 4 ชนิด ที่มีเบทาเลนเป็นรงควัตถุหลัก ได้แก่ หัวบีท เนื้อผลแก้วมังกร ใบประดับดอกเฟื่องฟ้า และดอกหงอนไก่ มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำกลั่น เอทานอลความเข้มข้น 70 % กรดอะซีติก และกรดอะซีติกผสมเอทานอลความเข้มข้น 70 % อัตราส่วน 1:1 พบว่า น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดโดยให้ปริมาณเบทาเลนที่สกัดได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นซึ่งการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายนี้สามารถสกัดสารสีที่ได้ไปย้อมติดสีเนื้อเยื่อพืชของลำต้นหญ้าละออง และลำต้นข้าวโพดได้ดี นอกจากนี้การสกัดสารสีจากข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกร เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสม พบว่า การสกัดสารสีจากพืชทั้งสองชนิดในอัตราส่วน 1:1 จะให้ค่าความพึงพอใจของการติดสีเนื้อเยื่อพืชสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่ออัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลายเพิ่มขึ้นสารสกัดสีที่ได้จากพืชทั้งสองชนิดจะมีความเจือจางของสารสีเพิ่มขึ้น ซึ่งดูได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะมีค่าลดลง

เมื่อเปรียบเทียบการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่จากสารสกัดข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกรกับการย้อมสีเนื้อเยื่อพืชจากการใช้สี Safranin O พบว่า สารสีที่สกัดได้จากข้าวเหนียวดำและเปลือกแก้วมังกรมีประสิทธิภาพการติดสีได้ใกล้เคียงกันกับการใช้ สี Safranin O ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ มานิต คิดอยู่ (2552) พบว่า สีย้อมธรรมชาติจากแก่นฝางมีประสิทธิภาพในการย้อมสีเซลล์และเนื้อเยื่อพืชได้ใกล้เคียงกับสีสังเคราะห์ นอกจากนี้ จันทร์เพ็ญ ทองย่น (2548) พบว่า การสกัดสารสีจากกะหล่ำปลีแดงด้วยวิธีการสกัดแบบไม่หมักโดยใช้กรดอะซีติกเข้มข้นเป็นตัวทำละลายแล้วนำไปย้อมสีเนื้อเยื่อพืชทำให้สามารถศึกษาโครงสร้างพืชได้ชัดเจนกว่าสีสังเคราะห์ ดังนั้นการใช้สีย้อมธรรมชาติจากพืชจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของการใช้สีย้อมเนื้อเยื่อพืชในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ของสาขาวิชาชีววิทยา และเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุที่หาง่ายในท้องถิ่น ลดค่าใช้จ่ายในการเรียนการสอน อีกทั้งยังมีความปลอดภัยสำหรับผู้ใช้ และสิ่งแวดล้อมด้วย

7. ข้อเสนอแนะ

7.1 ควรทำการศึกษาวิจัยการสกัดสีจากพืชชนิดอื่น ๆ ที่พบง่ายในท้องถิ่น มาทำเป็นสีย้อมสไลด์สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ และควรคำนึงถึงพืชที่ออกเฉพาะตามฤดูกาลเพื่อความสะดวกรวดเร็ว และลดค่าใช้จ่ายในการศึกษา

7.2 ควรศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ มาสกัดสีจากพืชธรรมชาติ สำหรับย้อมสไลด์เนื้อเยื่อพืช

8. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับสนับสนุนงบประมาณรายได้จากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐมงบประมาณ 2556 ภายใต้โครงการวิจัยสถาบันบูรณาการงานวิจัยกับงานประจำ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐมที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ชลีรัตน์ พยอมแย้ม และอาจารย์สาขาชีววิทยาที่ให้คำแนะนำ ขอขอบคุณบุคลากร และนักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐมที่ให้ความร่วมมือ และช่วยเหลือการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

9. บรรณานุกรม

จันทร์เพ็ญ ทองย่น. (2548). **การสกัดสีจากกะหล่ำปลีสีแดงเพื่อใช้เป็นสีย้อมสไลด์.** วิทยานิพนธ์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์.

ฐานิกา สวนดง. (2544). **คุณสมบัติการเป็นสีย้อมทางชีววิทยาของพืชบางชนิด ที่ให้สีในกลุ่มโทนสีเหลือง.** สถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ธิติยาภรณ์ ประยูรมหิศร. (2545). **การสกัดแอนโทไซยานินในลูกหว้า.** ปัญหาพิเศษ. คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปัณณิกา ไชยนวล. (2554). **การสกัดเบทาเลนจากพืชบางชนิดสำหรับการย้อมตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช.** วิทยานิพนธ์ (การสอนชีววิทยา). วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มานิต คิดอยู่. (2552). สีย้อมธรรมชาติจากฝางสำหรับการศึกษาเซลล์และเนื้อเยื่อพืช. **วารสารพฤกษศาสตร์ไทย. 1**(2) ธันวาคม, หน้า 61-70.

หัทยา การีวงศ์ และวิไล ชัยสมภาร. (2546). การเตรียมสีย้อมโครโมโซมสำหรับการเรียนการสอนจากพืชท้องถิ่นไทย. **วารสารวิทยาศาสตร์. 57**(1) มกราคม-กุมภาพันธ์, หน้า 35-39.