การคัดเลือกสารสีสกัดจากธรรมชาติในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เพื่อใช้เป็นสีย้อมโครโมโซม

Selection of Dyes Extracted from Natural of Northeast Thailand for Chromosome staining

วีรนุช วอนเก่าน้อย[1] พันธิวา แก้วมาตย์[1] รศ.ดร.อลงกลด แทนออมทอง[2] และ ผศ.ดร.พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์[3*]
Weeranuch Wonkaonoi[1], Puntiva Keawmad[1], Assoc.Prof.Dr.Alongkoad Tanomtong[2] and Asst.Prof.Dr.Pornnarong Siripiyasing[3*]

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสีสกัดธรรมชาติที่เหมาะสมต่อการนำไปพัฒนาชุดสำเร็จรูปสำหรับการย้อมสีกระบวนการแบ่งเซลล์ทางชีววิทยา โดยทำการสกัดสีจากธรรมชาติ 10 ชนิด คือ ข้าวเหนียวดำ ครั่ง กระเจี๊ยบแดง จันทร์แดง ผลผักปลัง ขมิ้น ลูกหม่อน อัญชัน แก่นขนุน และคำแสด โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ น้ำ แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% และกรดอะซิตริกความเข้มข้น 45% พบว่ามีสีสกัดจากธรรมชาติ 3 ชนิด สามารถย้อมติดเซลล์ และสามารถเห็นกระบวนการแบ่งเซลล์ของรากพลับพลึงได้ ใช้กรดอะซิตริกความเข้มข้น 45% เป็นตัวสกัด และลูกหม่อนที่ใช้แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% เป็นตัวสกัด

คำสำคัญ :สีย้อมธรรมชาติ สีย้อมโครโมโซม

Abstract

The present study is aimed at optimistically selection of Dyes extracted from natural for Cell division staining kit set development. Ten extracted fromnatural including *Oryza sativa*,*Lacciferlacca*, *Hibiscus sabdariffa*, *Draceanaloureiri*, *Basellaalba*, *Curcuma longa*, *Morus alba*, *Clitoreaternatea*, *Artocarpusheterophyllu* and *Bixaorellana*were extracted with 3 solvents (distilled water, 95% alcohol, and 45% acitric acid) then used as the samples for plant dye selection. The results demonstrated that the 3 dyes obtained from *Oryza sativa* and *Lacciferlacca* of the 45% acitric acid extractions and *Morusalba*of the 95% alcohol extraction can stained plant cells and show its mitotic cell division.

Keywords : Natural dyes, Chromosome staining

1. อาจารย์สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
2. รองศาสตราจารย์ ดร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
* ผู้แต่ง เรียบเรียง และประสานงาน

บทนำ

การศึกษาโครโมโซม (chromosome) เป็นสิ่งที่มีความสำคัญ เนื่องจากว่าโครโมโซมเป็นตำแหน่งที่อยู่ของยีน (gene) ซึ่งเป็นตัวควบคุมลักษณะของสิ่งมีชีวิต (อมรา คัมภิรานนท์, 2540) เทคนิคการย้อมสีโครโมโซมเป็นเทคนิคที่สำคัญเทคนิคหนึ่งในการศึกษาโครโมโซม เนื่องจากว่าการย้อมสีโครโมโซม ทำให้สามารถมองเห็นโครโมโซมได้อย่างละเอียด คือ สามารถเห็นลักษณะของแท่งโครโมโซมได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น บอกจำนวนและชนิดของโครโมโซมประจำชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ได้ (อมรา คัมภิรานนท์, 2540) นอกจากนี้ยังมีวิธีการย้อมโครโมโซมด้วยเทคนิคการย้อมที่ทำให้เกิดเป็นแถบสีบนแท่งโครโมโซมหลายวิธีการ เช่น การย้อมโครโมโซมแบบ G-band, C-band, Q-band, R-band และ NOR-band การย้อมโครโมโซมด้วยวิธีที่กล่าวมาแล้วนั้นทำให้สามารถวิเคราะห์ลักษณะต่าง ๆ ของแท่งโครโมโซมได้อย่างจำเพาะ ซึ่งช่วยในการตรวจสอบโรคทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น และสามารถบอกได้ถึงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต

จากการที่สีสังเคราะห์ที่ใช้ย้อมโครโมโซมมีราคาค่อนข้างสูง และต้องสั่งซื้อมาจากต่างประเทศ ซึ่งทำได้เฉพาะหน่วยงานที่มีงบประมาณเพียงพอ เช่น มหาวิทยาลัยและโรงเรียนมัธยมขนาดใหญ่เท่านั้น ที่จะสามารถศึกษาลักษณะรูปร่าง จำนวน และพฤติกรรมของโครโมโซมได้ สำหรับโรงเรียนมัธยมขนาดเล็กมักจะมีงบประมาณไม่เพียงพอในการจัดซื้อสีสังเคราะห์ ทำให้การศึกษาในเรื่องนี้ ทำได้เพียงการศึกษาจากรูปภาพไม่ได้เห็นภาพจริงจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ส่งผลให้นักเรียนไม่เข้าใจอย่างแท้จริงรวมถึงการขาดทักษะความสนใจ และความเข้าใจในการทำปฏิบัติการ ดังนั้นการนำสีย้อมโครโมโซมที่สกัดได้จากธรรมชาติมาทำการทดลองย้อมโครโมโซม จึงเป็นวิธีการที่ดี ได้สีย้อมโครโมโซมที่มีราคาไม่สูงมากนัก และทุกโรงเรียนสามารถจัดหาได้เอง จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาเรื่องการแบ่งเซลล์ ลักษณะรูปร่าง จำนวน และพฤติกรรมของโครโมโซมของพืชแต่ละชนิดได้ และยังสามารถส่งเสริมการเรียนรู้ของนักเรียนและนักศึกษาได้

สำหรับการศึกษาครั้งนี้คาดว่าจะเป็นส่วนหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมการเรียนการสอน ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสีสังเคราะห์ที่ใช้ในการเรียนการสอน เพื่อคุณค่าการใช้ประโยชน์จากไม้พื้นเมือง ซึ่งได้จากส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ เปลือกไม้ ใบไม้ ลูกไม้ ดอกไม้ และรากไม้มาสกัดเป็นสีย้อมโครโมโซม นอกจากไม้พื้นเมืองแล้วผู้วิจัยยังพบว่าวัสดุที่ได้จากธรรมชาติ เช่นครั่งที่เป็นสัตว์อาศัยบนต้นไม้ใหญ่ นับว่าเป็นวัสดุสีย้อมที่หาได้จากธรรมชาติ ซึ่งมีจำนวนมาก และควรนำมาศึกษาเพื่อหาความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เป็นสีย้อมธรรมชาติเพื่อใช้ย้อมโครโมโซมต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบสีธรรมชาติที่สกัดได้จากตัวทำละลายต่างชนิด และระดับความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน ในการย้อมติดสีเซลล์ และโครโมโซมพืช
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสีธรรมชาติชนิดต่างๆ ที่จะมีผลต่อการย้อมติดสีเซลล์ และโครโมโซมพืช เพื่อทดแทนสีสังเคราะห์

วิธีการวิจัย

การคัดเลือกสารสีธรรมชาติ ตัวทำละลาย และระดับความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม

ทำการคัดเลือกวัตถุดิบจากธรรมชาติที่จะนำมาสกัดสีจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ขนุน (*Artocarpusheterophyllus* Lam) คำแสด, (*Bixaorellana* L.) ข้าวเหนียวดำ (*Oryza sativa*), กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.), ครั่ง (*Laccifer*lacca Kerr), จันทน์แดง (*Dracaena loureiri*Geagnep), ผักปลัง (*Basellarubra* L. Syn.), ขมิ้น (*Curcuma longa* L.), ลูกหม่อน (*Morusalba* L.) และอัญชัน (*Clitoreaternatea* L.)ที่มีรายงานวิจัยมาก่อนว่าสามารถที่จะให้สีจากธรรมชาติได้

1. การเตรียมสีย้อมโครโมโซมจากธรรมชาติ

1. ตัวอย่างวัตถุดิบจากธรรมชาติที่นำมาสกัดสี จำนวน 10 ชนิด มาสกัดสีโดยใช้ตัวทำละลาย คือ น้ำ เอทานอล และกรดอะซิติก

2. แช่ตัวอย่างสีธรรมชาติ 100 กรัมในสารตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการกรองโดยใช้กระดาษกรองเก็บใส่ขวดไว้ในที่แห้ง

2. เตรียมโครโมโซมจากรากพลับพลึง

1. รากพลับพลึงที่ปลูกในกระบะทรายอายุประมาณ 11 วัน นำมาตัดเอาเฉพาะส่วนปลายยาวประมาณ 1 เซนติเมตรนำรากส่วนที่ตัดมาเตรียมโครโมโซมโดยแช่ใน 0.2% Colchicine เป็นเวลา 16–18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการ fixation โดยแช่ใน ethyl alcohol : acetic acid ในอัตราส่วน 3 : 1 เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. นำรากที่ผ่านการ fixation ล้างด้วย 70% ethyl alcohol 2–3 ครั้ง และแช่ใน 70% ethyl alcohol ถ้าต้องเก็บรากไว้ศึกษานานๆ โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การย้อมโครโมโซมพลับพลึงโดยวิธี Squash Technique

1. นำรากพลับพลึงที่อยู่ใน 70% ethyl alcohol ล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง หยดสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น1 นอร์มอลเป็นเวลา 10 นาที

2. ล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ รอบ จากนั้นหยดสีที่สกัดจากกรดอะซิติก 45% บนรากทิ้งไว้ 5-10 นาที

3. กดรากพลับพลึงให้แบนและเพื่อให้เซลล์กระจายตัวได้ดี ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ สังเกตการติดสี พร้อมทั้งถ่ายรูป

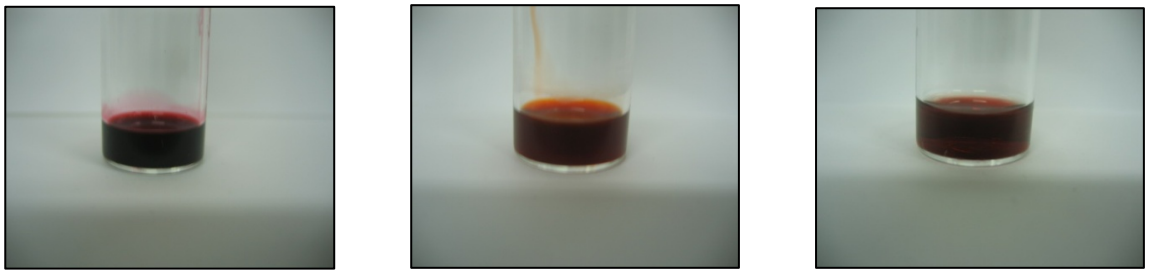
ผลการวิจัย

1. การเปรียบเทียบความสามารถของสีธรรมชาติที่ได้จากตัวทำละลายต่างชนิด

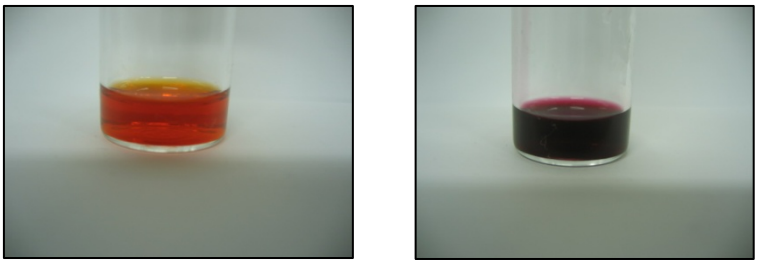
โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มี 3 ชนิด คือ น้ำ กรดอะซิติกความเข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์ และแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพประกอบที่ 1.1 - 1.3

ก ข

ภาพประกอบที่ 1.1 แสดงสีธรรมชาติที่สกัดจากน้ำ
(ก) สีจากแก่นขนุน (ข) สีจากเมล็ดคำแสด

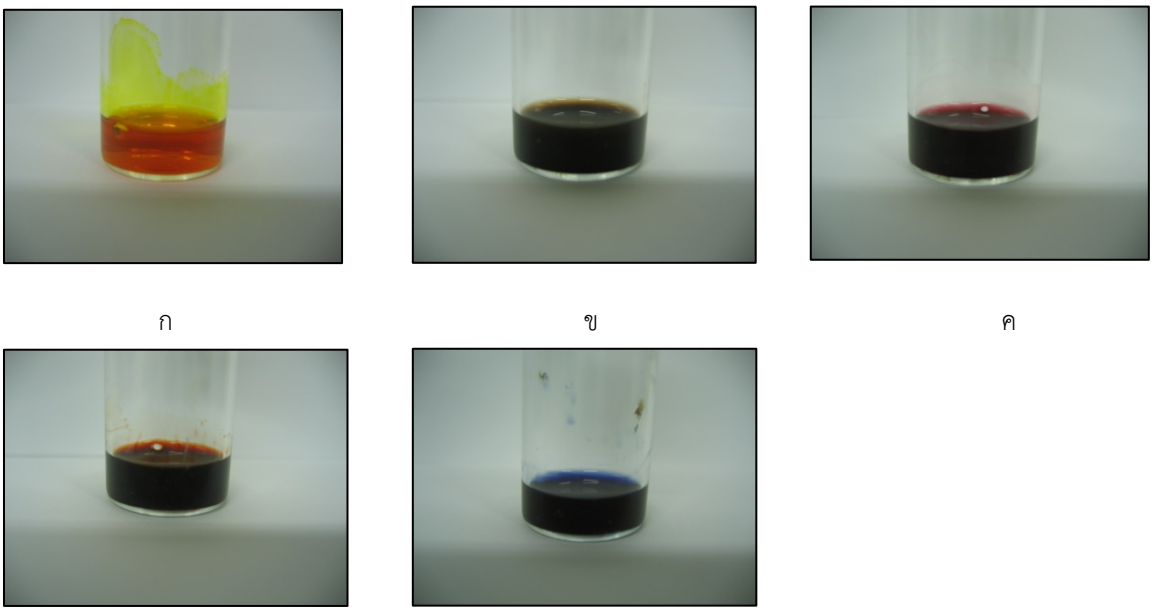


ก ข ค



ง จ

ภาพประกอบที่ 1.2 แสดงสีธรรมชาติที่สกัดจากกรดอะซิติกความเข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์
(ก) สีจากข้าวเหนียวดำ (ข) สีจากครั่ง (ค) สีจากกระเจี๊ยบ (ง) จันทน์แดง (จ) ผลผักปลัง



ก ข ค

ง จ

ภาพประกอบที่ 1.3 แสดงสีธรรมชาติที่สกัดจากแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์
(ก) ขมิ้น (ข) ผลผักปลัง (ค) ลูกหม่อน (ง) จันทน์แดง (จ) อัญชัน

2. ผลการศึกษาความสามารถของสารสีธรรมชาติชนิดต่างๆ ที่จะมีผลต่อการย้อมติดสีเซลล์ และโครโมโซมพืช

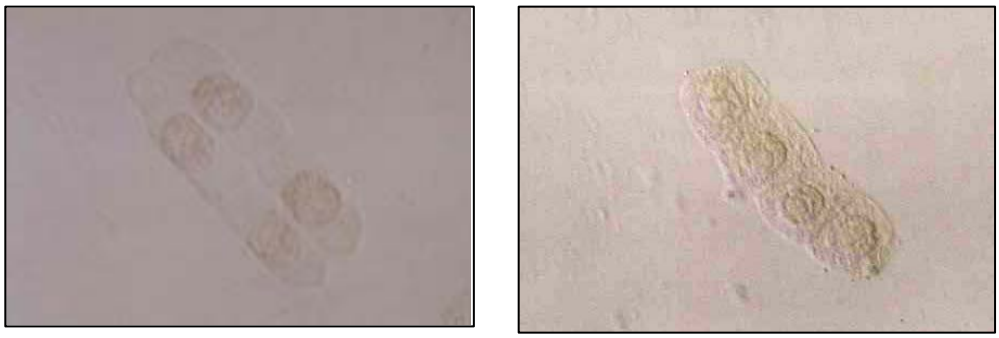
จากการศึกษาคุณสมบัติในการติดสีของโครโมโซมพลับพลึงดอกขาว โดยการสกัดสีจากธรรมชาติ จากนั้นนำมาใช้ย้อมโครโมโซมพลับพลึงดอกขาวโดยใช้วิธี squash technique เพื่อดูการติดสีของโครโมโซม การศึกษาในขั้นตอนแรกได้ทดลองสกัดสีจากธรรมชาติด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ กรดอะซิติกความเข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์ และ สารละลายแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

2.1 ผลการศึกษาการย้อมโครโมโซมพลับพลึงด้วยสีสกัดจากธรรมชาติ

เมื่อย้อมสีโครโมโซมพลับพลึงด้วยสีธรรมชาติที่สกัดด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแบ่งออกได้ตามพืชที่สกัดดังภาพประกอบที่ 1.4 - 1.13

1. จันทน์แดง

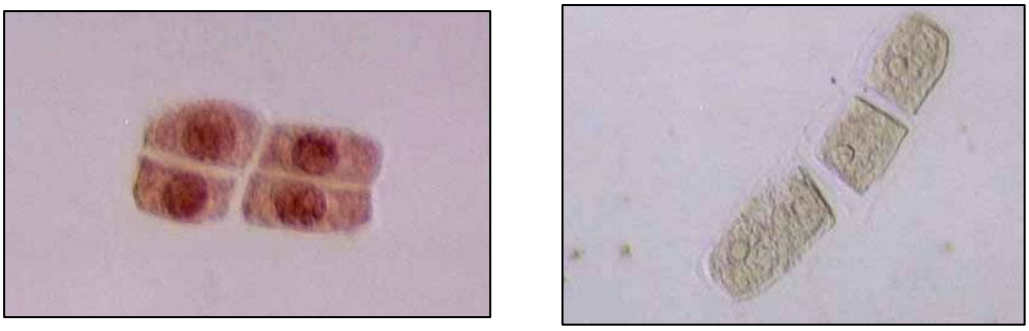
สกัดด้วยกรดอะซิติก พบว่า ย้อมติดทั้งเซลล์ แยกส่วนของนิวเคลียสได้แต่ไม่สามารถแยกส่วนของนิวคลีโอลัสได้



ภาพประกอบที่ 1.4 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากจันทร์แดง สกัดด้วยกรดอะซิติก

2. ผลผักปลัง

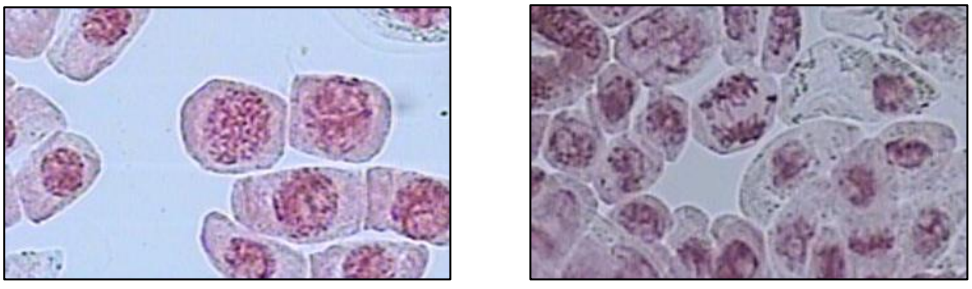
สกัดด้วยกรดอะซิติก พบว่า ย้อมติดทั้งเซลล์ แต่ส่วนของนิวคลีโอลัสมองเห็นไม่ชัดเจน



ภาพประกอบที่ 1.5 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากผลผักปลัง สกัดด้วยกรดอะซิติก

3. ข้าวเหนียวดำ

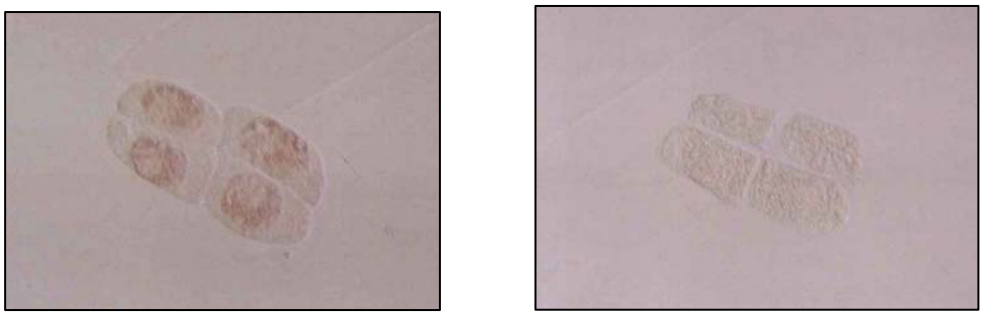
สกัดด้วยกรดอะซิติก45เปอร์เซ็นต์พบว่าสามารถย้อมติดทั้งเซลล์ เห็นกระบวนการแบ่งเซลล์และโครโมโซมชัดเจน



ภาพประกอบที่ 1.6 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากข้าวเหนียวดำ สกัดด้วยกรดอะซิติก

4. กระเจี๊ยบแดง

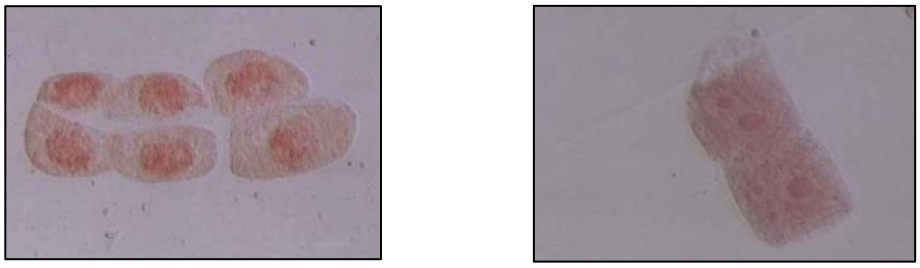
สกัดด้วยกรดอะซิติก 45เปอร์เซ็นต์ พบว่าย้อมติดทั้งเซลล์ สามารถแยกส่วนของนิวเคลียสได้ แต่ไม่แยกส่วนของนิวคลีโอลัส



ภาพประกอบที่ 1.7 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากกระเจี๊ยบแดง สกัดด้วยกรดอะซิติก

5. ครั่ง

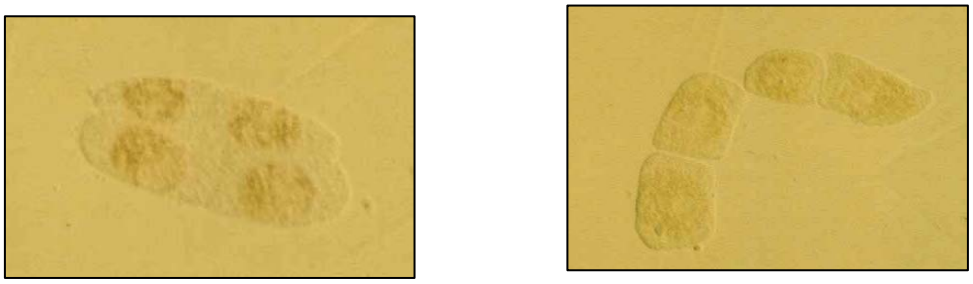
สกัดด้วยกรดอะซิติก45เปอร์เซ็นต์พบว่า ย้อมติดทั้งเซลล์ สามารถแยกส่วนของนิวคลีโอลัสได้ชัดเจน แต่ไม่แยกส่วนของ นิวเคลียส



ภาพประกอบที่ 1.8 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากครั่ง สกัดด้วยกรดอะซิติก

6. ขมิ้น

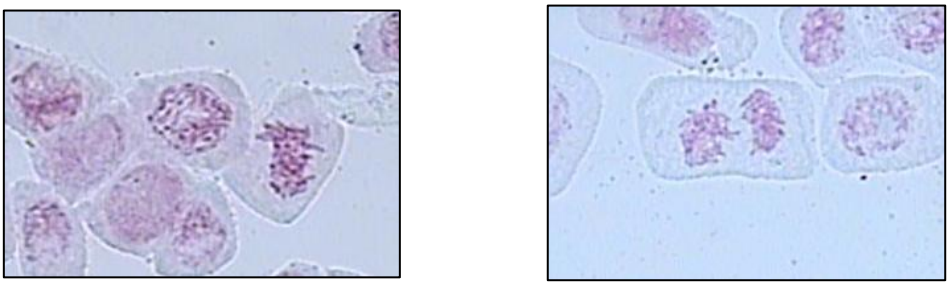
สกัดด้วยแอลกอฮอล์ ย้อมติดทั้งเซลล์ สามารถแยกส่วนของนิวเคลียสแต่ไม่ชัดเจน ไม่สามารถแยกส่วนของนิวคลีโอลัสได้



ภาพประกอบที่ 1.9 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากขมิ้น สกัดด้วยแอลกอฮอล์

7. ลูกหม่อน

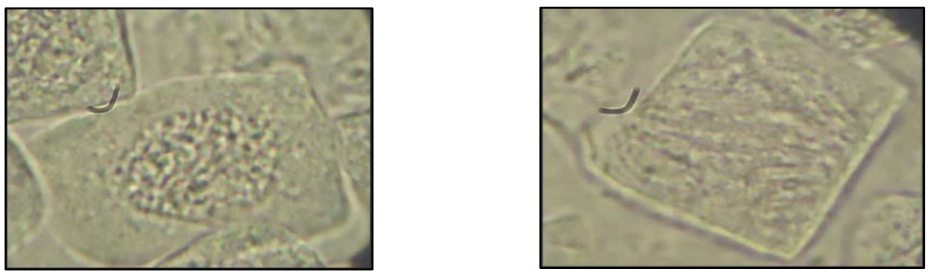
สกัดด้วยแอลกอฮอล์ ย้อมติดโครโมโซม สามารถเห็นระยะการแบ่งเซลล์ได้ ย้อมติดแท่งโครโมโซมชัดเจน



ภาพประกอบที่ 1.10 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากลูกหม่อน สกัดด้วยแอลกอฮอล์

8. อัญชัน

สกัดด้วยแอลกอฮอล์ ย้อมติดทั้งเซลล์ เห็นส่วนของนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสแต่ไม่ชัดเจน



ภาพประกอบที่ 1.11 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากอัญชัน สกัดด้วยแอลกอฮอล์

9. ขนุน

เห็นขอบเขตของเซลล์ แต่ไม่สามารถเห็นส่วนของนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสได้

ภาพประกอบที่ 1.12 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากขนุน

10. คำแสด

เห็นขอบเขตของเซลล์ เห็นส่วนของนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสแต่ไม่ชัดเจน

ภาพประกอบที่ 1.13 แสดงการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีสกัดจากเมล็ดคำแสด

จากการย้อมสีโครโมโซมรากพลับพลึงพบว่าสีที่สกัดได้จากแอลกอฮอล์ที่สามารถย้อมรากพืช และเห็นส่วนประกอบของเซลล์ได้บ้างคือสีที่สกัดได้จาก จันทน์แดง ผลผักปลัง ขมิ้น ลูกหม่อน และอัญชัน และการสกัดด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 45% สามารถใช้สกัดสีจากจันทน์แดง ผลผักปลัง ข้าวเหนียวดำ กระเจี๊ยบ ครั่ง ซึ่งส่วนใหญ่สามารถมองเห็นขอบเขตของเซลล์ และนิวเคลียสได้ แต่มีสีสกัดที่สกัดด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 45% อยู่ 3 ชนิด ที่สามารถใช้ศึกษาการแบ่งเซลล์ได้ คือ ครั่ง ข้าวเหนียวดำ และลูกหม่อน ดังตารางที่ 1 แสดงผลการเปรียบเทียบการสกัดสีด้วยตัวทำละลายที่ต่างชนิดกัน

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดสีจากตัวทำละลายที่ต่างกันในการทดสอบการย้อมเซลล์พืช

ชนิดพืช	**สกัดด้วยแอลกอฮอล์**	**สกัดด้วยอะซิติก**	**การย้อมโครโมโซม**
จันทน์แดง	✓	✓	X
ผลผักปลัง	✓	✓	X
ข้าวเหนียวดำ	X	✓	✓
กระเจี๊ยบแดง	X	✓	X
ครั่ง	X	✓	✓
ขมิ้น	✓	X	X
ลูกหม่อน	✓	X	✓
อัญชัน	✓	X	X
ขนุน	X	X	X
คำแสด	X	X	X

สรุปผลการวิจัย

การคัดเลือกสารสกัดจากธรรมชาติ

จากการทดลองสกัดสีธรรมชาติด้วยกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์พบว่า พืชที่สามารถใช้กรดอะซิติกความเข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์ในการสกัด มี 5 ชนิด คือ ข้าวเหนียวดำ ครั่ง กระเจี๊ยบแดง จันทน์แดง และผลผักปลัง พืชที่สามารถใช้แอลกอฮอล์สกัดได้แก่ ขมิ้น ผลผักปลัง ลูกหม่อน จันทน์แดง และอัญชัน ในที่นี้มีพืชสองชนิดที่สามารถใช้ทั้งแอลกอฮอล์ และกรดอะซิติกความเข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์ในการสกัด คือ ผลผักปลัง

และจันทร์แดง แต่สีที่ได้นั้นพบว่าสีที่สกัดจากกรดอะซิติกมีความเข้มข้นมากกว่า เหมาะต่อการนำไปย้อมสีโครโมโซม และมีพืชสองชนิดที่ไม่สามารถสกัดด้วยแอลกอฮอล์ และกรดอะซิติก คือแก่นขนุน และเมล็ดคำแสด แต่สามารถนำไปแช่ในน้ำกลั่นและให้สีสกัดได้

ผลการย้อมสีโครโมโซมด้วยสีสกัดธรรมชาติสามารถแบ่งกลุ่มการติดสีของโครโมโซมได้ 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มที่สามารถย้อมติดเซลล์ และสามารถเห็นกระบวนการแบ่งเซลล์ของรากพลับพลึงได้มีสีสกัด 3 ชนิด คือ ครั่ง และข้าวเหนียวดำ ที่ใช้กรดอะซิติกความเข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวสกัด และลูกหม่อนที่ใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวสกัด

2. กลุ่มที่สามารถย้อมติดเซลล์ และสามารถแยกส่วนของนิวเคลียสได้ แต่ไม่เห็นกระบวนการแบ่งเซลล์ของรากพลับพลึง มีสีสกัด 5 ชนิด คือ ผลผักปลัง จันทร์แดง กระเจี๊ยบแดง ขมิ้น อัญชัน กลุ่มนี้ไม่เหมาะที่จะนำไปศึกษาต่อ

3. กลุ่มที่สามารถย้อมติดทั้งเซลล์ แต่ไม่สามารถแยกส่วนของนิวเคลียสได้ มีสีสกัด 2 ชนิด คือ เปลือกขนุน และคำแสด กลุ่มนี้ไม่เหมาะที่จะนำไปศึกษาต่อเช่นกัน

อภิปรายผลการวิจัย

การเลือกใช้ตัวทำละลายกรดอะซิติก แอลกอฮอล์ และน้ำกลั่นในการสกัดสีจากธรรมชาติพบว่าเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะไม่สามารถรักษาสภาพของสีไว้ได้ซึ่งต่างจากกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ซึ่งสามารถรักษาสภาพของสีไว้ได้นานเนื่องจากกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์มีสมบัติในการรักษาสภาพได้ดี แต่สีที่สกัดจากแอลกอฮอล์เมื่อนำมาใช้ย้อมพบว่ามีการระเหยค่อนข้างเร็วดังนั้นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสีคือกรดอะซิติก ซึ่งสอดคล้องกับใช้กรดอะซิติกในการสกัดสีจากข้าวเหนียวดำ อัญชัน และผลผักปลังสุก เพื่อการย้อมโครโมโซมปลายรากหอม (วิไล ชัยสมภาร, 2545)

สีสกัดจากธรรมชาติที่ได้จาก ข้าวเหนียวดำ ฝางเสน ครั่ง กระเจี๊ยบแดง จันทน์แดง และผลผักปลังที่สกัดด้วยกรดอะ ซิติก และสีจาก ขมิ้น ผลผักปลัง ฝางเสน ลูกหม่อน จันทน์แดง และอัญชัน ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ ทดลองย้อมโครโมโซมของพลับพลึง พบว่าสีจากข้าวเหนียวดำและลูกหม่อนสามารถย้อมติดโครโมโซมของพลับพลึงดอกขาวได้ วีรนุช วอนเก่าน้อย (2547) ทำการย้อมเซลล์รากพลับพลึงด้วยสีย้อมธรรมชาติเปรียบเทียบกับการย้อมด้วยสี Aceto-orcein และ Giemsa พบว่าสามารถสังเกตการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิสระยะต่างๆ ได้ โดยพบว่าการย้อมด้วยสีสกัดจากข้าวเหนียวดำ และลูกหม่อนที่สกัดด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น สามารถย้อมติดโครโมโซมของรากพลับพลึงได้ดีเช่นเดียวกับสีสังเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

การนำสารสกัดจากธรรมชาติมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปเพื่อใช้ในขบวนการต่าง ๆ ได้มีการพัฒนาขึ้นหลาย ๆ ด้าน เช่น การใช้สีธรรมชาติย้อมเส้นดาย เส้นไหมเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอต่าง ๆ การนำสีย้อมธรรมชาติมาใช้นั้นสามารถลดการใช้สารเคมีในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้ สีธรรมชาติสามารถละลายน้ำได้และจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้ง่าย จะช่วยลดภาวะแวดล้อมเป็นพิษ ต่างจากสีสังเคราะห์ที่จะทำให้น้ำในแหล่งน้ำเน่าเสีย (ระมัด โชชัย, 2556)

ในการศึกษาทางด้านวิทยาศาสตร์โดยเฉพาะในงานวิจัยทางด้านชีววิทยา ได้มีการนำสีสกัดธรรมชาติมาใช้ในการย้อมสีเช่นกัน อาทิ การนำสีสกัดจากฝางมาใช้ในการศึกษาเนื้อเยื่อพืช (มานิต คิดอยู่, 2552) และการพัฒนาสีย้อมจากธรรมชาติที่ใช้ในการศึกษาทางชีววิทยาจากการสกัดจากพืช 5 ชนิด มะพร้าว ขนุน ฝาง ขมิ้นชัน คำแสด พบว่าแก่นฝางสามารถย้อมติดส่วนประกอบของเนื้อเยื่อพืชได้ดีที่สุด (สบชัย สุวัฒนคุปต์, 2549)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การติดสีของโครโมโซมพืชมักจะติดสารสกัดสีแดง หรือสีม่วงแดง เช่น การย้อมด้วยข้าวเหนียวดำ ลูกหม่อน และครั่ง สามารถย้อมติดโครโมโซมได้ดีกว่าพืชชนิดอื่น ๆ สอดคล้องกับงานวิจัยของ ยุพเยาว์ คบพิมาย และศรัณย์ จีนะเจริญ (2551) ที่ศึกษาในพืช 5 ชนิด คือ หัวบีทรูท เปลือกมะเขือม่วง กะหล่ำปลีม่วง ผลแก้วมังกรสีม่วง และเปลือกต้นก่อ มาสกัดสีโดยใช้กรดอะซีติกความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายแล้วนำไปย้อมโครโมโซมของปลายรากหอม พบว่า สีจากกะหล่ำปลีม่วงสามารถย้อม

โครโมโซมและนิวเคลียสได้ชัดเจนที่สุด ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดสีจากกะหล่ำปลีม่วง คือ กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ อัตราส่วนของกะหล่ำปลีม่วงต่อกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสมที่สุด คือ 12:1 (กรัม/มล.) สารสีที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีม่วง คือ แอนโทไซยานิน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์เมื่อได้รับกรดไฮโดรคลอริกจึงเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีแดง ทำให้ย้อมติดโครโมโซมเป็นสีแดง นอกจากนี้แล้วยังมีพืชชนิดอื่นที่สามารถย้อมติดโครโมโซมได้ดีดังงานวิจัยของ แอ๋ว ตัน (2546) ที่ใช้ข้าวเหนียวดำ และเปลือกข้าวโพดสีม่วงสามารถติดสีโครโมโซม และเหมาะต่อการนำไปศึกษาระยะต่าง ๆ ของการแบ่งเซลล์ได้ดี (อาทิตย์ ศรีภูธร, 2543) และ (อมรรัตน์ ไกรนรา,2541)

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1. จากการวิจัยพบว่ามีสี 3 ชนิด ที่สามารถนำมาใช้ในการย้อมสีโครโมโซมพืชได้ คือ ข้าวเหนียวดำลูกหม่อนสุก และครั่ง สีที่ได้จากข้าวเหนียวดำ และลูกหม่อนสุก ให้คุณภาพการติดสีดีเทียบเท่าการใช้สี Acetoorcein แต่ไม่สามารถเก็บได้นาน จะต้องเตรียมใช้ทันที ทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ในชุดสำเร็จรูปได้

2. พืชบางชนิดที่นำมาศึกษาสามารถสกัดสีออกมาได้ทุกชนิด แต่สีที่ได้อาจจะเหมาะกับงานย้อมสีประเภทอื่น ๆ เช่นการย้อมผ้า การย้อมกก แต่ยังไม่สามารถใช้ในงานย้อมสีทางชีววิทยาได้ อาจจะต้องใช้สารช่วยในการติดสีร่วมด้วย

เอกสารอ้างอิง

กันยารัตย์ ไชยสุต. (2532). **เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล Zephyranhes.** ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นวพร โรจนนาค. (2539)**.** สีจากธรรมชาติ. **วารสารกองสุขาภิบาล** 22(3) : 58-62.

นฤมล ศราธพันธุ์. (2536). การย้อมไหมด้วยขมิ้น.**วารสารคหเศรษฐศาสตร์** 36(2) : 55-58.

นิตย์ศรี แสงเดือน. (2542). **พันธุศาสตร์พืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

นิยะดา ห่อนาค และ สมทรง ณ นคร. (2544). บทปฏิบัติการที่ 7 ไมโตซิสและจำนวนโครโมโซม. ใน : **คู่มือปฏิบัติการพันธุศาสตร์เบื้องต้น** หน้า 63-71. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

มานิต คิดอยู่. (2552). สีย้อมธรรมชาติจากฝางเพื่อการศึกษาเซลล์และเนื้อเยื่อพืช.**วารสารพฤกษศาสตร์ไทย**1 (2) : 61-70.

บังอร นวลศรี. (2542). **การย้อมสีโครโมโซมของส้มเขียวหวานจากสีของผลไม้สด.** ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี สาขาไม้ผล. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ : เชียงใหม่.

ประนอม จันทรโณทัย. (2540). **พฤกษานุกรมวิธาน ตอน พืชใบเลี้ยงเดี่ยว.** ภาควิชาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ผ่องศรี รอดโพธิ์ทอง และ ขจีจรัส ภิรมย์ธรรมศิริ. (2540). การย้อมผ้าไหมด้วยสีจากเปลือก มังคุด. **วารสารคหเศรษศาสตร์** 40(3) : 75-77.

ภุมรัตน์ ลาวิณห์. (2544). **ศึกษาคาริโอไทป์ของพลับพลึงตีนเป็ด (*Hymenocallislittoralis*Salisb.).** โครงงานวิจัย. โปรแกรมวิชาเกษตรศาสตร์ สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม, พิษณุโลก.

ระมัด โชชัย. 2556. การย้อมสีเส้นด้ายด้วยสีย้อมธรรมชาติจากใบและเปลือกต้นมะม่วงสำหรับอุตสาหกรรมครอบครัว. **วารสารวิจัยและพัฒนาเชิงพื้นที่**. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ปีที่ 5 ฉบับที่ 4 มีนาคม-เมษายน 2556.

วิไล ชัยสมภาร. (2545). **สีย้อมธรรมชาติเพื่อการย้อมโครโมโซมปลายรากหอม (*Alliumascalonicum*).** ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วีรนุช วอนเก่าน้อย. (2547). **การติดสีโครโมโซมของพลับพลึงดอกขาว (*Crinum asiaticum* L.) ด้วยการย้อมสีธรรมชาติ.** โครงงานวิจัย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. (2525). **สีธรรมชาติและสีสังเคราะห์.** พิมพ์ครั้งที่ 3. สวิตาการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

พูลทรัพย์ สวนเมือง ตุลาพันธุ์ และคณะ. (2542). **การย้อมสีไหมด้วยวัสดุธรรมชาติในภาคอีสานของไทย.** รายงานวิจัย. สำนักงานกองทุนสนับสนุนวิจัย.

ยุพเยาว์ คบพิมาย และศรัณย์ จีนะเจริญ. (2551). การย้อมโครโมโซมด้วยสารสีธรรมชาติ. **รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2551** ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติมหาวิทยาลัยแม่โจ้ : 416-422.

สบชัย สุวัฒนคุปต์. (2549). **การพัฒนาสีย้อมธรรมชาติสำหรับย้อมเซลล์และเนื้อเยื่อ.** รายงานการวิจัย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุรีย์ ฟูตระกูล และคณะ. (2543). **การพัฒนาสารย้อมสีธรรมชาติในเขตภาคเหนือตอนบน.** รายงานวิจัย. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ชุดโครงการ สีย้อมธรรมชาติ.

เสรีย์ สุขุมาลพันธ์. (2545). **การย้อมสีกระดาษสาด้วยสีสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดง.** ใน : การประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 28 24-26 ตุลาคม 2545 ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพฯ. สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์.

สุดสนอง ผาตินาวิน. (2528). **สีธรรมชาติเพื่อการย้อมทางชีววิทยา.** โครงงานวิจัย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สิริลักษณ์ ทิพย์ฤาตรี. (2549). **เปรียบเทียบการติดสีโครโมโซมของเซลล์พืชด้วยข้าวเหนียวดำ(*Oryza sativa*L.) และครั่ง (*Laccifer lacca* Kerr) ในตัวทำละลาย ความเข้มข้นและระดับความเป็นกรด-ด่างที่ต่างกัน.** โครงงานวิจัย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

หัทยา กาวีวงศ์ และ วิไล ชัยสมภาร. (2546). การเตรียมสีย้อมโครโมโซมสำหรับการเรียนการสอนจากพืชท้องถิ่นไทย. **วารสารวิทยาศาสตร์** 57(1) : 35-39.

อมรา คัมภิรานนท์. (2540). **พันธุศาสตร์ของเซลล์.** พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อนันต์เสวก เห่วซึ่งเจริญ. (2543). **คู่มือย้อมสีธรรมชาติฉบับชาวบ้าน สีเขียว สีน้ำตาลและสีดำ** เล่ม 1. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน่วยพิมพ์เอกสารวิชาการ, เชียงใหม่.

อมรรัตน์ ไกรนรา. (2541). **สีย้อมธรรมชาติกับส้มโชกุน.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาไม้ผล. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ : เชียงใหม่.

อาทิตย์ ศรีภูธร. (2543). **ศึกษาการใช้สีย้อมโครโมโซมจากไม้ประดับยืนต้นและไม้พุ่มบางชนิด.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาพืชสวนประดับ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ : เชียงใหม่.

แอ๋ว ตัน. (2546). ตำรับสีย้อมโครโมโซมแบบประหยัด. **แม่โจ้ปริทัศน์.** 4(3) : 45-48.

Sikhruadong, S., Tanomtong, A., Wonkaonoi, W. and Gomontean, B. (2008). Chromosome staining of crinum lily (*Crinum asiaticum* L.) using nature dyes. **Cytologia** 74(1): 17-22.