สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การเพิ่มขึ้นของคลอโรฟิลล์ในคะน้าที่เป็นผลมาจากสารโคลชิซิน

The Increase of Chlorophylls in Chinese kale as Affected by Colchicine Treatment

T108927

โดย
นายวิฑูรย์ แพรขาว
นายสุกฤษฎิ์ เมธาประสิทธิ์

ลน.
วิ574ก
2549

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 108927
วัน,เดือน,ปี - 2 ส.ค. 2553

b. 12227699
i.....

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชสวน)
พุทธศักราช 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

การเพิ่มขึ้นของคลอโรฟิลล์ในคะน้าที่เป็นผลมาจากสารโคลชิซิน

The Increase of Chlorophylls in Chinese kale as Affected by Colchicine Treatment

โดย

นายวิฑูรย์ แพรขาว

นายสุกฤษฎิ์ เมธาประสิทธิ์

ได้รับการพิจารณาจาก

.....

(อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

วันที่ 2 เดือน มี.ค. พ.ศ. 2552

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ. ดร. สมชาย กล้าหาญ)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

วันที่ 3 เดือน มีนาคม พ.ศ. 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : การเพิ่มขึ้นของคลอโรฟิลล์ในคะน้าที่เป็นผลมาจากสารโคลชิซิน
โดย : นายวิฑูรย์ แพรขาว
นายสุกฤษฎิ์ เมธาประสิทธิ์
สาขา : พืชสวน
ภาควิชา : พืชสวน
คณะ : เทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา: อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ จากใบคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ดำเนินการทดลอง ตั้งแต่ เดือนธันวาคม 2548 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2549 และตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์จากใบคะน้า พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 4,000 ppm ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ, บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.8725, 0.2926 และ 1.1712 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า คะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 4,000 ppm มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าควบคุม แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ของต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ คะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 4,000 ppm มีค่าอัตราส่วนของคลอโรฟิลล์ เอ ต่อคลอโรฟิลล์ บี สูงที่สุด และมีค่าแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นคะน้าควบคุม สำหรับการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของคลอโรฟิลล์ พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title : The Increase of Chlorophylls in Chinese Kale as Affected by Colchicine Treatment

By : Mr. Witoon Phrairkhao

Mr. Sukrit Metaprasit

Major : Horticulture

Department : Horticulture

Faculty : Agricultural Technology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Advisor : Miss Montinee Teerarak

Abstract

The study of chlorophyll content in the leaves of chinese kale, treated with colchicine solution at different concentrations was studied on December, 2005 to February, 2006. Chinese kale leaf tissues were measured for chlorophyll pigment concentrations. The results showed that chinese kale, treated with 4,000 ppm colchicine had the highest chlorophyll a, b and total chlorophyll as following ; 0.8725, 0.2926 and 1.1712 mg per 100 g fresh weight (FW), respectively. After statistical analyses, chinese kale treated with 4,000 ppm colchicine had significant effect on chlorophyll a and total chlorophyll concentrations compared to control, but chlorophyll concentration b of all treatments was not significantly different. Treatment of chinese kale with 4,000 ppm colchicine had the highest ratios of chlorophyll a to chlorophyll b and significant difference compared to the normal plants. For correlation coefficient analyses, it was found that there were high correlations between colchicine levels and chlorophylls.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ เนื่องด้วยความอนุเคราะห์จากผู้มีพระคุณหลายท่านที่เสียสละเวลาให้คำปรึกษา และช่วยแก้ไขปัญหาต่างๆในการปฏิบัติงาน ซึ่งผู้จัดทำต้องขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้คอยให้คำแนะนำ ปรึกษา และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้เรียบร้อยและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ และขอขอบคุณภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อนุเคราะห์ด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ในการปฏิบัติงาน

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ได้ให้ทั้งกำลังใจ และกำลังทรัพย์ในการศึกษาตลอดมา และขอขอบคุณเพื่อนๆและพี่ๆที่มีส่วนเกี่ยวข้องช่วยเป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ซึ่งถ้าหากมีข้อผิดพลาดประการใดก็ขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นายวิฑูรย์ แพรขาว
นายสุกฤษฎิ์ เมธาประสิทธิ์
เมษายน 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	(i)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
ตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผลและวิจารณ์	15
สรุป	18
เอกสารอ้างอิง	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1. แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ, บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 15
2. แสดงสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ระหว่างโคลชิซิน คลอโรฟิลล์ เอ, บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด 16
3. แสดงอัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บีในคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นแตกต่างกัน 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

คะน้า (*Brassica oleracea var. alboglabra*) เป็นผักที่คนไทยรู้จักกันเป็นอย่างดี มีการปลูกและบริโภคกันมากทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยนิยมบริโภคส่วนของใบและลำต้น เป็นผักพื้นเมืองที่เกษตรกรนิยมปลูกมาก เพราะปลูกง่าย ขึ้นได้ในสภาพดินเกือบทุกชนิด และปลูกได้ตลอดทั้งปี (ทศพร, 2531) คะน้าเป็นพืชผักที่มีสีเขียว จึงประกอบไปด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินซี นอกจากนี้คะน้ายังมีสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรท โปรตีน แร่ธาตุ แคลเซียม และฟอสฟอรัสสูงอีกด้วย (ไฉน, 2542)

โคลชิซินเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในพืชหลายชนิด เป็นสารที่มีคุณสมบัติเฉพาะโดยเข้าทำปฏิกิริยากับ spindle fiber ในเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวแบบ mitosis ระยะ metaphase ผลของโคลชิซินที่แสดงออกมาในรูปของลักษณะทางสัณฐานที่สำคัญ เช่น ความกว้างของใบเพิ่มขึ้น พื้นที่ใบเพิ่มขึ้น เส้นผ่าศูนย์กลางต้นเพิ่มขึ้น ตลอดจนขนาดดอก และยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาค เช่น จำนวนคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้น ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสารโคลชิซินต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณคลอโรฟิลล์ในผักคะน้า เพื่อเป็นข้อมูลฐานในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีคุณค่าทางอาหารเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) เช่น แคโรทีน (carotene) ลูทีน (lutein) ที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของสารโคลชิซินในความเข้มข้นแตกต่างกันที่มีผลต่อการเพิ่มของปริมาณคลอโรฟิลล์ในผักคะน้า

2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน คลอโรฟิลล์ เอ, บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในใบคะน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

คะน้า

ผักคะน้า (Chinese Kale) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica alboglabra* จัดอยู่ในวงศ์ Cruciferae มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย และปลูกกันมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศจีน ไต้หวัน ฮ่องกง มาเลเซีย และไทย (อุดม, 2539) คนไทยรู้จักผักคะน้ากันเป็นอย่างดี มีการปลูกและบริโภคกันมากทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยนิยมบริโภคส่วนของใบและลำต้น

ลักษณะทั่วไปของผักคะน้า คือ ใบมีลักษณะกลม ขนาดของต้นสูงประมาณ 35 – 50 เซนติเมตร เป็นผักอายุ 278 วัน หรือผัก 2 ฤดู (biennial) แต่นิยมปลูกเป็นผักที่เก็บเกี่ยวในฤดูเดียว (annual) อายุการเก็บเกี่ยวนับตั้งแต่หว่าน หรือยอดเมล็ดจนถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 45 – 55 วัน ผักคะน้าสามารถปลูกได้ในทุกฤดูตลอดปีในแหล่งที่มีน้ำเพียงพอ แต่ช่วงเวลาที่ปลูกได้ผลดีที่สุดจะอยู่ในช่วงเดือนตุลาคมถึงเมษายน (ทศพร, 2531) ผักคะน้าสามารถขึ้นได้ในดินเกือบทุกชนิดที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง มีความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดินอยู่ระหว่าง 5.5 – 6.8 ต้องการความชื้นในดินสูงและสม่ำเสมอ และยังต้องการแสงแดดเต็มที่ ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการปลูกคะน้า คือ 20 – 25 องศาเซลเซียส (อุดม, 2539)

โรคคะน้าที่พบในประเทศไทย ได้แก่ โรคใบจุด (leaf spot) เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. โรคราน้ำค้าง (downy mildew) เกิดจากเชื้อ *Peronospora parasitica* Pers. Ex. Fr. และโรคเน่าคอดิน (damping-off) เกิดจากเชื้อ *Pytbium sp.* นอกจากนี้ยังมีไส้เดือนฝอย (*Hoplolaimus* sp.) ที่เป็นศัตรูสำคัญด้วย (ไฉน, 2542)

คลอโรฟิลล์

ในพืชสีเขียวที่สังเคราะห์แสงได้จะพบรงควัตถุจำพวกคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ซึ่งอยู่ในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่มีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) ซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญที่พืชสีเขียวนำพลังงานแสงมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการสร้างอาหารจากโมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ไปเป็นคาร์โบไฮเดรต คือ น้ำตาลแลหรือแป้ง รวมทั้งการปลดปล่อยออกซิเจนออกมา ซึ่งสิ่งมีชีวิตทั้งหลายจะนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม เพื่อสร้างสารประกอบอื่นๆที่จำเป็นต่อการดำรงชีพ (สมบุญ, 2535) คลอโรฟิลล์เป็นอนุพันธ์ของ porphyrin ซึ่งมีโครงสร้างแบบ cyclic tetrapyrole ring โดยมีแมกนีเซียม (Magnesium, Mg^{2+}) เป็นศูนย์กลางของวง (ring) คลอโรฟิลล์มีอยู่ด้วยกัน 4 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์ เอ บี ซี และ ดี โดยที่แต่ละชนิดจะแตกต่างกันที่ side chain เท่านั้น ความแตกต่างของโครงสร้างของคลอโรฟิลล์เป็นสาเหตุที่ทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ความสามารถในการดูดซับแสงในช่วงคลื่นต่างๆของคลอโรฟิลล์แต่ละชนิดไม่เท่ากัน (สัมพันธ์, 2526) คลอโรฟิลล์จะมีโครงสร้างหลักอยู่ 2 ตอน คือ โครงสร้างหลักเป็นสารกลุ่ม tetra – pyrrole ring ที่มีวงแหวน 4 วงติดกัน (แต่ละวงมี N เป็นหลัก) ตรงกลางมี Mg เป็นนิวเคลียส และ โครงสร้างที่ต่อยาวเป็นหาง เป็นสารพวกไฮโดรคาร์บอนเรียกว่า phytol ring (ส่วนที่เป็น hydrocarbon)

ความแตกต่างของคลอโรฟิลล์ทั้ง 4 ชนิดนี้ นอกจากจะแตกต่างกันในสูตรโมเลกุลแล้ว ยังมีสีของสารที่แตกต่างกัน และมีการดูดแสงได้ดีต่างชนิดกันอีกด้วย ในพืชชั้นสูงจะมีคลอโรฟิลล์ เอ ดูดแสงสีแดง – ส้ม (660 nm.) และสีน้ำเงิน – ม่วง (430 nm.) และมีสีเขียวแกมน้ำเงิน ขณะที่คลอโรฟิลล์ บี จะดูดแสงสีส้มได้น้อยกว่า และน้ำเงิน – เขียวได้ดีกว่า และตัวมันเองก็จะมีสีเขียวแกมเหลือง (พันทวี, 2529)

การสกัดคลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์มีความไวต่อแสง ความร้อน และออกซิเจน ดังนั้นในการสกัดควรหลีกเลี่ยงสิ่งเหล่านี้ โดยทำการสกัดในที่มืดหรือในที่มีแสงเพียงเล็กน้อย หลีกเลี่ยงความร้อน กระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) (Gross, 1987) และป้องกันปฏิกิริยาของเอนไซม์ chlorophyllase ซึ่งจะทำให้คลอโรฟิลล์เปลี่ยนกลับไปเป็น pheophytins (Holden, 1961) วิธีการสกัดคลอโรฟิลล์สามารถทำได้หลายวิธี และสารเคมีที่ใช้เป็นสารสกัดมีหลายชนิดตัวอย่างเช่น acetone, alcohol, methanal, ethanal, diethyl ether, pyridine และ acetone ร่วมกับ ethyl acetone เป็นต้น (Vernon and Seely, 1966) ซึ่งสารสกัดดังกล่าวจะเป็นตัวไปทำลายโครงสร้างของรงควัตถุที่เชื่อมต่อกันกับโปรตีน ในขั้นตอนการสกัดโดยทั่วไปจะนำเนื้อเยื่อพืชมาบด หรือปั่นในสารสกัดให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อน จากนั้นทำการแยกสารละลายคลอโรฟิลล์ออกจากกากพืชที่เหลือโดยการนำไปกรองหรือปั่น (Gross, 1991) ในการสกัดอาจมีการเติมสาร $CaCO_3$, $MgCO_3$, $NaHCO_3$, $NaCO_3$, sodium chloride หรือ dimethylaniline ลงไปขณะที่สกัดเล็กน้อย เพื่อช่วยให้คลอโรฟิลล์มีเสถียรภาพไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงกลับไปเป็น pheophytin วิธีการสกัดคลอโรฟิลล์ที่มีการใช้สาร DMSO (dimethyl sulfoxide) เป็นสารสกัด เป็นวิธีการสกัดที่ง่ายและรวดเร็ว เมื่อทำการสกัดเสร็จแล้วหากยังไม่ได้นำไปวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ทันที ควรนำสารละลายคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้เก็บในที่มืดและเย็น (Goodwin, 1976)

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์สามารถทำได้โดยการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์โดยตรง หรือวัดจากปริมาณอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ เช่น chlorophyllides, pheophytins และ pheophorbides Vernon (1960) และ Wilson and Nutting (1963) ได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการวัดจากปริมาณของ pheophytins ซึ่งเป็นอนุพันธ์ตัวหนึ่งของคลอโรฟิลล์ที่เกิดจากโครงสร้างของคลอโรฟิลล์มีการสูญเสียแมกนีเซียม

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์สามารถทำได้ 2 วิธี คือ วิธี Spectrophotometry และ วิธี Spectrofluorometry

1. วิธี Spectrophotometry เป็นการวัดปริมาณสีของคลอโรฟิลล์โดยอาศัยกฎของ Lambert-Beer ซึ่งกล่าวถึงความสำคัญระหว่างความเข้มข้นของเนื้อวัตถุและความหนาแน่นของสีวัตถุ โดยทำการวัดค่าการดูดซับแสงของสารละลายคลอโรฟิลล์ที่ช่วงคลื่นแสงซึ่งคลอโรฟิลล์มีค่าการดูดซับแสงสูงที่สุด โดยช่วงคลื่นแสงที่ทำการวัดจะแตกต่างกันแต่ละสารเคมีและความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการสกัด และสัมประสิทธิ์ของค่าการดูดซับแสงก็จะแตกต่างตามช่วงคลื่นแสงที่ทำการวัดด้วย ทำให้ได้สมการมากมายในการคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ ซึ่งสมการต่างๆที่ใช้คำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ขึ้นอยู่กับสารเคมีและความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการสกัด

2. วิธี Spectrofluorometry เป็นวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์อีกวิธีหนึ่ง แต่โดยทั่วไปไม่นิยมใช้กว้างขวางเหมือนกับวิธี Spectrophotometry วิธีการวัดคลอโรฟิลล์วิธีนี้เป็นวิธีที่มีการตอบสนองอย่างรวดเร็ว (sensitive) ซึ่งเหมาะสำหรับใช้กับงานเล็กๆ และใช้วัดอัตราของคลอโรฟิลล์ เอ:บี เมื่อคลอโรฟิลล์ บี มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ แต่วิธีการนี้ไม่สามารถวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อพืชที่มีน้อยมากๆได้ เช่น พืชที่เจริญเติบโตในที่มืด (etiolate)

นอกจากนี้การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์สามารถทำการวัดโดยไม่มีการทำลายเนื้อเยื่อพืช ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้สายตาสังเกตสีและนำไปเทียบกับแผ่นเทียบสี หรือใช้เครื่องมือวัดสีที่ประกอบขึ้นง่ายๆ โดยอาศัยหลักของปริมาณแสงที่สะท้อนออกจากวัตถุหรือปริมาณแสงที่สามารถส่องผ่านวัตถุได้ การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยวิธีนี้จะเป็นการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เพียงคร่าวๆและไม่ต้องการความละเอียด ซึ่งจะเกิดความผิดพลาดได้มาก (Gross, 1991)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในพืช

ปริมาณคลอโรฟิลล์เป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณอาหารในพืช ความแก่ คุณภาพและการเปลี่ยนแปลงของผักและผลไม้ในระหว่างการปรุงอาหาร และคุณภาพของผักและผลไม้ในการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว (Vernon and Seely, 1966) Sweeney and Martin (1961) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณคลอโรฟิลล์ในผักสีเขียวซึ่งสามารถใช้เป็นมาตรฐานในการวัดคุณภาพของผักสีเขียวในการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว Knudson *et al.* (1977) พบว่า การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืช สามารถใช้เป็นตัวแสดงถึงคุณภาพของพืชจากการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวได้ดีกว่าการสังเกตสีของพืชด้วยตาเปล่า Shewfelt *et al.* (1983) ใช้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อพืชเป็นเครื่องวัดการเปลี่ยนสีเพื่อวัดคุณภาพของบรอคโคลี (broccoli) จากการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว

Kopsell *et al.* (2004) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์กับแคโรทีนอยด์พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เพิ่มขึ้น มีผลต่อระดับปริมาณแคโรทีนอยด์ (ลูทีนและเบต้าแคโรทีน)ในใบของต้นคะน้า

อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ เป็นอนุมูลที่สามารถเกิดขึ้นได้เองเมื่อร่างกายได้รับสารอินทรีย์บางอย่าง โดยโมเลกุลของสารตั้งต้นถูกกระตุ้นด้วยความร้อน และหรือได้รับอิเล็กตรอนจากสารรีดิวซ์ หรือถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่คงตัว เมื่อเกิดแล้วจะวิ่งไปยังเซลล์ต่าง ๆ และแย่งอิเล็กตรอนมาเป็นของตนเอง เพื่อให้คงสภาพอยู่ได้ การเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น เมื่อเกิดอนุมูลอิสระแม้เพียง 1 ตัว ก็สามารถทำให้เกิดอะไรต่อไปได้มาก อนุมูลอิสระมี 4 ชนิด คือ

1. ซุปเปอร์ออกไซด์ อนุมูลอิสระชนิดนี้ เกิดขึ้นเมื่อไมโตคอนเดรีย ในเซลล์นำออกซิเจนออกมาใช้เป็นพลังงาน ดังนั้น ตราบใดที่ยังมีชีวิตอยู่ ย่อมหนีไม่พ้นที่จะเกิดอนุมูลอิสระชนิดนี้ในตัว

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นสารที่มีความเสถียรพอประมาณคือมากกว่าซิงเลทออกซิเจนและไฮดรอซิลเรดิคัล จึงปล่อยอิเล็กตรอนออกมาทำให้มีพิษ คนเรานำมาเป็นยาฆ่าเชื้อโรค น้ำยาซักผ้าขาว เป็นต้น

3. ซิงเลทออกซิเจน เป็นอนุมูลอิสระที่สามารถก่อปฏิกิริยาออกซิเดชั่นรุนแรง เกิดขึ้นในร่างกายได้เมื่อรับรังสีเอ็กซ์ รังสีอัลตร้าไวโอเลท จะเกิดซิงเลทออกซิเจนจำนวนมาก

4. ไฮดรอกซิล เรดิคัล เป็นอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่นรุนแรงที่สุด ทำให้ร่างกายแก่เร็ว เกิดโรคมะเร็งและเกิดโรคในผู้สูงอายุ (สุวลี, 2549)

แคโรทีนอยด์

เป็นรงควัตถุที่พบในคลอโรพลาสต์ และโครโมพลาสต์ ได้แก่

1 เบต้า-แคโรทีน สามารถจับอนุมูลอิสระ และออกซิเจนพลังงานสูงทำให้มีพลังงานลดลงและมีความไวในการทำปฏิกิริยา หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในร่างกายลดลง เบต้าแคโรทีนอยู่ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ แคโรทีนอยด์ในอาหารธรรมชาติมีประมาณ 600 ชนิด ที่พบมากมี 6 ชนิด คือ เบต้าแคโรทีน แอลฟ่าแคโรทีน เบต้าคริฟโตแซนทิน ไลโคพีน ลูทีน และซีแซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นทีน ซึ่ง 3 ชนิดแรกสามารถเปลี่ยนรูปเป็นเรตินอลได้ในทางเดินอาหาร ดังนั้นจึงจัดเป็นแคโรทีนอยด์พวกที่เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ ส่วน 3 ตัวหลังไม่มีคุณสมบัติเป็นวิตามินเอ โดยที่เนื้อเยื่อไขมันและตับจะเป็นที่สะสมของสารเหล่านี้อยู่มากที่สุด บทบาทหน้าที่ของแคโรทีนอยด์มีหลายอย่างคือ นอกจากจะที่เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอแล้ว ยังทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ ป้องกันเนื้องอก และมีความเกี่ยวข้องกับสุขภาพด้านอื่นๆ ได้แก่ ลดความเสี่ยงเกี่ยวกับการเสื่อมของตาเนื่องจากสูงอายุ และต้อกระจก ลดความเสี่ยงจากโรคมะเร็งบางชนิด และโรคหัวใจและหลอดเลือด

การบริโภคเบต้าแคโรทีนจากแหล่งธรรมชาติจะทำให้ได้รับสารแคโรทีนนอยด์ตัวอื่นๆ ด้วย เช่นแอลฟ่าแคโรทีน แคนโธแซนทีน แกมม่าแคโรทีน โอมาก้าแคโรทีน แคโรทีนอยด์เหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลได้ทั้งสิ้น อาหารประเภทผักและผลไม้ที่มีแคโรทีนอยด์สูงได้แก่ ผักที่มีสีเขียวเข้มและผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง และฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอ มะเขือเทศ เป็นต้น การบริโภคไขมันพร้อมกับแคโรทีนอยด์ จะช่วยเพิ่มการดูดซึมแคโรทีนอยด์ได้ร้อยละ 5-25 ปริมาณเบต้าแคโรทีนจะลดลงได้จากการประกอบอาหาร เช่น ต้ม นึ่ง ผัด โดยใช้ความร้อนสูงเป็นเวลานาน (วีระศักดิ์, 2548)

2 ไลโคปีน คือ กลุ่มสารสีแดงและเหลือง ที่พบในสัตว์และพืชบางชนิด ที่ทำให้มะเขือเทศมีสีแดง เป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ ซึ่งช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นในไลโปโปรตีน ชนิดแอลดีแอล (LDL) และช่วยลดความเสี่ยง ในการเกิดการสะสมของไขมัน บนผนังหลอดเลือดแดง โรคหัวใจล้มเหลว นอกจากนี้ ยังช่วยลดความเสี่ยง ในการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งปอด มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งปากมดลูก มะเร็งผิวหนัง และยังช่วยป้องกันผิวหนังจากการถูกทำลายโดยรังสีอุลตราไวโอเลตอีกด้วย (วีระศักดิ์, 2548)

3 แซนโทฟิลล์ เช่น ลูทีน ซีแซนทิน และเบต้า-คริปโตแซนทิน ซึ่งลูทีนและซีแซนทินป้องกันการเสื่อมของสายตา ลูทีนพบมากในผักใบเขียว อัลฟาฟา ผักขม บร็อคโคลี่ ปวยเล้ง ผลไม้ตระกูลส้ม ไข่แดง ส่วนซีแซนทินพบมากในข้าวโพด ส่วนเบต้า-คริปโตแซนทินพบมากในมะม่วง ส้ม มะละกอ

ลูทีนและซีแซนทินเป็นสารในกลุ่มแซนโทฟิล คือ มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล โครงสร้างทางเคมีของลูทีนและซีแซนทินมีความเหมือนกันมาก แตกต่างกันเพียงพันธะคู่ที่อยู่บนวงแหวนที่อยู่ส่วนปลายเท่านั้น ที่ทำให้ลูทีนและซีแซนทินมีจำนวนไอโซเมอร์ต่างกัน โดยลูทีนมีสเตอริโอไอโซเมอร์ได้ถึง 8 ไอโซเมอร์ ส่วน ซีแซนทินมีเพียง 3 ไอโซเมอร์ ลูทีนและซีแซนทินดูดซึมได้ดีกว่าเบต้าแคโรทีนทั้งในรูปปกติและในรูปเอสเทอร์

ลูทีนและซีแซนทินพบสะสมอยู่ในส่วนแมคคูลา ลูเทียของเรตินา โดยแมคคูลา ลูเทียเกี่ยวข้องกับการมองเห็นและทำหน้าที่กรองแสงสีน้ำเงิน ป้องกันการทำลายตัวรับแสง (photoreceptor) จากพลังงานแสงของแสงสีน้ำเงิน และยังช่วยคงสภาพความสมบูรณ์ของเรตินาด้วย ซึ่งแคโรที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอยด์เหล่านี้ไม่สามารถสร้างขึ้นได้เองจากร่างกายมนุษย์ แต่จะต้องได้รับจากอาหารที่มีแคโรทีนอยด์ปริมาณสูง ลูทีนและซีแซนทินยังป้องกันการทำลายเรตินาด้วยการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ปัจจัยเสี่ยงของโรค AMD (Age-related Macular Degeneration) เป็นลักษณะอาการตาบอดในผู้ที่มีอายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไปมีสาเหตุจากการรับประทานผักและผลไม้ในปริมาณต่ำ การสูบบุหรี่ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การสัมผัสกับแสงมากเกินไป และการลดลงของประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย มีการศึกษาพบว่าการรับประทานผัก ผลไม้ ที่มีปริมาณของแคโรทีนอยด์สูงมีความสัมพันธ์กับการลดลงของการเกิดโรค AMD และโรคต้อกระจกเป็นโรคจากการขุ่นมัวของเลนส์ตา เนื่องจาก อายุมากขึ้นและบดบังการมองเห็น (วีระศักดิ์, 2548)

คุณสมบัติของสารโคลชิซิน

การเพิ่มจำนวนโครโมโซม อาจเกิดขึ้นโดยธรรมชาติและโดยการใช้รังสี ความร้อน ความเย็น หรือสารเคมี เช่น โคลชิซิน ซึ่งเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมได้ดีในพืชหลายชนิด ใช้ง่าย ไม่มีอันตรายต่อพืชแม้ใช้ความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ยังมีช่วงความเข้มข้นกว้างที่สามารถใช้ได้กับพืช คือ ตั้งแต่ 0.1 – 1 % โคลชิซิน เป็นผงสีขาว สกัดได้จากพืชใน genus *Colchicum* และ *C. autumnale L.* เป็นชนิดเดียวที่ยอมรับเป็นทางการว่าสามารสกัดสารดังกล่าวได้ สารโคลชิซินที่สกัดบริสุทธิ์ มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็ม จุดหลอมละลาย 155° เซนติเกรด ไม่มีสี ละลายได้ดีในน้ำเย็น คลอโรฟอร์ม หรือ แอลกอฮอล์ ละลายได้เล็กน้อยในน้ำร้อน หรือเบนซินเย็น และเกือบไม่ละลายในอีเทอร์ โคลชิซินจัดเป็นพวก alkaloid เป็นสารที่มีคุณสมบัติเฉพาะโดยเข้าทำปฏิกิริยากับ spindle fiber ในเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวแบบ mitosis ระยะ metaphase ให้เปลี่ยนรูปร่างจากลักษณะเป็นเส้น (fibriform elements) ไปเป็นลักษณะกลม (corpuscular elements) รวมตัวอยู่ที่ขั้วเซลล์ ไม่เกิดการแยกตัวของโครโมโซมออกเป็นสองส่วน ดังนั้นในหนึ่งเซลล์จึงมีจำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่า ที่ควบคุมให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพ ซึ่งสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้โดยไม่เกิดความผิดปกติ นอกจาก โคลชิซินบางส่วนยังคงค้างอยู่ในส่วน protoplasm จึงจะทำให้เกิดความผิดปกติ เช่น ใบบิดเบี้ยว แต่อาการเหล่านี้เกิดขึ้นเพียงชั่วขณะไม่ถ่ายทอดไปยังลูกหลาน (วนิดา, 2523)

การก่อให้เกิด polyploidy โดยใช้สารโคลชิซิน

ส่วนของพืชที่ได้รับสารโคลชิซินมีทั้งเมล็ด ต้นกล้าอ่อน ยอดอ่อน ตาหรือดาเกล็ด โคลชิซินในรูปของสารละลายที่มีความเข้มข้นประมาณ 0.1 – 2.0 % สามารถใช้ได้ผลดีกับพืชหลายชนิด สำหรับพืชใบเลี้ยงเดียวจะทนต่อโคลชิซินได้เป็นอย่างดี ดังนั้นอาจจะใช้ต้นกล้าเล็ก ๆ จุ่มลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปในสารละลายโคลชิซินโดยตรง หรือเพาะเมล็ดในสารโคลชิซิน แต่สำหรับพืชใบเลี้ยงคู่ โคลชิซินจะเป็นอันตรายต่อรากอย่างยิ่ง ดังนั้นควรระมัดระวังไม่ให้สารสัมผัสกับรากได้เป็นอันขาด

การใช้โคลชิซินเพื่อก่อให้เกิด polyploidy ขึ้นในพืช สำหรับพืชที่มีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เมื่อเปลี่ยนสภาพเป็น polyploid ก็สามารถจะทำการขยายพันธุ์ต่อไปได้ ส่วนพืชที่มีการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เมื่อเปลี่ยนสภาพเป็น polyploid ก็จะขยายพันธุ์ต่อไปได้ยาก เพราะมักจะเป็นหมันหรือไม่มีเมล็ด หรืออาจจะมีเมล็ดแต่เอมบริโอไม่พัฒนาเป็นต้นได้ตามปกติ (วิทยา, 2527)

วิธีการใช้สารกับส่วนต่างๆของพืช

1. วิธีการใช้สารโคลชิซิน กับเมล็ด (seed) จากการศึกษาของ Dermen (1940) ทดลองนำเมล็ด *Datura, Cosmos, Portulaca* และ *Nicotiana* แช่ในสารละลายโคลชิซิน 0.2 – 1.6 % เป็นเวลานาน 4 – 10 วัน พบว่าได้พืช polyploid ตามต้องการ ซึ่งวิธีนี้เหมาะสำหรับเมล็ดพืชที่งอกได้เร็ว และ Havas (1937) ศึกษาทดลองนำเมล็ดพริก *Capsicum annuum* จุ่มในสารละลายโคลชิซิน 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.4 % นาน 1, 2, 4, 6 และ 8 พบว่าเมล็ดที่จุ่มโคลชิซิน 0.05 และ 0.1 % เป็นเวลา 1 วัน ได้พืช tetraploid 73 และ 60 % ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า เมื่อใช้โคลชิซินในความเข้มข้นที่สูงและใช้เวลานานทำให้เปอร์เซ็นต์พืชที่ตายเพิ่มขึ้น

2. วิธีการใช้สารโคลชิซิน กับต้นกล้า (seedling treament) วิธีการใช้สารกับต้นกล้าทำได้โดยจุ่มยอดต้นกล้าลงในสารละลายโคลชิซิน หรือวางบนกระดาษที่เปียกด้วยสารตลอดเวลา ช่วงเวลาที่ใช้นาน 3 – 24 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของพืชและการเจริญเติบโต (Randolph and Fisher, 1939)

3. วิธีการใช้สารกับจุดเจริญที่ยอดและตา (treating growing shoot and buds) วิธีการใช้สารกับจุดเจริญที่ยอดและตา อาจใช้แปรงทาเพียงครั้งเดียว หรือ 2 – 3 ครั้ง หรือจุ่มของพืชในสาร 2 – 3 ชั่วโมง (Kostoff, 1938) หรือ 1 – 2 วัน (Berger, 1937) ขึ้นอยู่กับว่าส่วนเจริญนั้นมีอัตราการเจริญเติบโตอย่างใด (Dermen, 1940) จากการศึกษาของ Kostoff (1938) กับ Warnk (1939) พบว่าการใช้โคลชิซิน 0.5 – 1 % ใน lanolin ทาบางๆบนจุดเจริญที่ยอดและตาสามารถชักนำให้เกิด polyploid ได้ และ Ono (1939) กับ Werner (1940) ทดลองใช้สารโคลชิซิน 1 % ใน agar solution โดยใช้แปรงทาบนจุดเจริญที่ยอดอ่อนของ *Petunia, Colza* และ *Flox* ได้ผลสำเร็จ นอกจากนี้ Dermen (1940) ยังได้แนะนำให้ใช้ glycerine (ช่วยให้สารโคลชิซิน คงอยู่บนพืชบริเวณที่ใช้สารได้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง ซึ่งเหมาะที่จะใช้กับจุดเจริญที่เจริญช้า) ในน้ำหรือในแอลกอฮอล์ 5 – 10 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับ สาร santomerse (emulsifying agent) ร่วมกับโคลชิซิน 0.1 – 1 % แล้วใช้แปรงทาหรือหยดบนส่วนของพืช แต่การใช้ glycerine ต้องระวัง เพราะถ้าความเข้มข้นของ glycerine สูง หรือใช้ glycerine ในที่มีแสง สารจะทำอันตรายต่อพืช

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วิมล และ อนันต์ (2526) ใช้สารโคลชิซินชักนำ polyploid ในพริก ผลปรากฏว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ยอด มีอัตราการเกิด polyploid สูงกว่าต้นที่เกิดจากการแช่เมล็ด โดยเฉพาะต้นพริกที่ได้รับสารที่ยอดในระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิด polyploid ได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบวิธีการให้สารที่ยอดโดยการใช้สำลีชุบหรือผสมวุ้นพบว่ามีอัตราการเกิด polyploid ไม่แตกต่างกัน ส่วนวิธีการให้สารกับเมล็ด ที่ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน 1 เปอร์เซ็นต์ เวลา 48 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพที่ทำให้เกิด polyploid ดีกว่าที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เวลา 24 ชั่วโมง ต้นที่เป็น polyploid มีความสูงของลำต้นไม่แตกต่างกันจากต้น diploid และเกือบทุกต้นที่เป็น polyploid มีใบขนาดใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม กิ่งค่อนข้างเปราะ ขนาดของเซลล์ปากใบมีขนาดใหญ่ขึ้น ออกดอกช้า เปอร์เซ็นต์ความเป็นหมันสูง ขนาดของผลและการติดผลลดลง และจากการตรวจทางเซลวิทยาพบความผิดปกติของโครโมโซม

เยาวพา (2536) ศึกษาการชักนำหม่อนให้กลายพันธุ์ด้วยการใช้สารละลายโคลชิซินเพื่อคัดเลือกพันธุ์ทนเค็ม โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของตาข้างลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารละลาย และระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น การแช่สารโคลชิซิน 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้น tetraploid ได้มาก ซึ่งมีขนาดของปากใบความหนาของใบมากกว่าต้น diploid และมีจำนวนโครโมโซม 2n=4x=56

เพลินพิศ (2538) ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช โดยการนำเนื้อเยื่อพืชมาสกัดด้วย DMSO (dimethyl sulfoxide) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และ DMF (N,N – dimethylformamide) ที่อุณหภูมิห้อง และวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยวิธี Spectrophotometry จากนั้นคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ในแต่ละพืชตัวอย่าง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย DMSO ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จะสั้นกว่าระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดด้วย DMF ที่อุณหภูมิห้อง ในการทดลองสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย DMF ที่อุณหภูมิห้อง, 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ในแต่ละพืชตัวอย่าง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคลอโรฟิลล์จะลดลงเมื่อระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้น และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการสกัดลดลง สำหรับการเปรียบเทียบการสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย DMSO และ DMF ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส พบว่าความสามารถและประสิทธิภาพในการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลอโรฟิลล์ของทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกัน เพราะปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้จากทั้ง 2 วิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและใช้ระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน

สมปอง และ ราตรี (2542) เพาะเลี้ยงตายอดของมังคุดบนอาหารที่มีสารโคลชิซินความเข้มข้น 0 – 10,000 มก./ล. เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเป็นเวลา 30 วันในสภาพปลอดเชื้อเพื่อชักนำการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม เมื่อเลี้ยงตายอดในอาหารเติมโคลชิซิน 1,500 มก./ล. เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ขนาดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และพื้นที่ใบ มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้น และเพิ่มเวลาในการเลี้ยงเป็นเวลา 10 ชั่วโมง และเพิ่มความเข้มข้นเป็น 3,000 – 10,000 มก./ล. พบว่าเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดลดลง แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเวลาในการเพาะเลี้ยงเป็น 30 วัน พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย และการรอดชีวิตของตายอดลดลง สารโคลชิซินเข้มข้น 500, 700 และ 1,000 มก./ล. ที่เวลาข้างต้นส่งผลให้ความยาวรากเพิ่มขึ้นและจำนวนใบลดลง ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารโคลชิซินเป็น 3,000, 6,000 และ 10,000 มก./ล. ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงโดยเฉพาะความเข้มข้น 10,000 มก./ล. มียอดรอดชีวิตเพียง 12 เปอร์เซ็นต์ ใบร่วง และชะงักการเจริญเติบโต เมื่อตรวจสอบปลายราก พบว่าไม่สามารถตรวจสอบความแตกต่างได้เนื่องจากโครโมโซมมีขนาดเล็กนับจำนวนไม่ได้ เมื่อตรวจสอบจำนวนและขนาดเซลล์ปากใบพบว่า การเลี้ยงตายอดในอาหารเติมโคลชิซินเข้มข้น 750 และ 1,000 มก./ล. เป็นเวลา 30 วัน มีเซลล์ปากใบใหญ่กว่า

ธีรวัฒน์ (2547) ศึกษาผลความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัณฐานของคะน้า เมื่อคะน้าได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0%, 0.125%, 0.25%, 0.50%, 1.0% และ 2.0% แช่เมล็ดเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าสารโคลชิซินมีผลทำให้ขนาดรากและความยาวของลำต้นมีความผิดปกติเมื่อคัดเลือกเมล็ดคะน้าแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0%, 0.125%, 0.25% และ 0.50% แช่เมล็ดเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคและสัณฐานของคะน้า พบว่าที่ความเข้มข้นสูงขึ้นความหนาแน่นปากใบมีแนวโน้มลดลง ความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางปากใบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนความยาวของปากใบไม่แตกต่างกัน ลักษณะขนาดของใบ พื้นที่ใบ จำนวนใบต่อต้น ขนาดลำต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

Lichtenthaler (1971) ศึกษาเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน พบว่า พืชที่ได้รับแสงจะมีอัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงกว่าพืชที่ปลูกในที่ร่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ihl *et al.* (1994) ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณคลอโรฟิลล์ ที่มีความสัมพันธ์กับระดับแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ในใบของต้น Swiss chard ผลการทดลองทำให้ทราบว่า พืชในกลุ่ม *Brassica oleracea* มีความสัมพันธ์กันระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์กับสารแคโรทีนอยด์ จากผลการทดลองนี้พบว่า สามารถใช้ปริมาณคลอโรฟิลล์มาช่วยในการคำนวณหาความเข้มข้นของลูทีน และ เบต้าแคโรทีน ในผักใบเขียวได้

Kopsell *et al.* (2004) ศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของสาร 3 ชนิด คือ ลูทีน เบต้าแคโรทีน และ คลอโรฟิลล์ และหาปริมาณสารสะสมในใบพืชจำพวก *Brassica oleracea* ซึ่งผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารทั้ง 3 ชนิดมีความสัมพันธ์กัน เมื่อค่าปริมาณของคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น ปริมาณของ Lutien และ เบต้าแคโรทีน จะเพิ่มขึ้นตามความสัมพันธ์ โดยค่าปริมาณสะสมในฤดูกาลที่ 2 จะมีค่ามากกว่าค่าปริมาณสะสมในฤดูกาลแรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. สารโคลชิซิน
2. อุปกรณ์เครื่องแก้ว
3. ลูกยางสามทาง
4. กระดาษฟรอยด์
5. เมล็ดคะน้า
6. ดินผสม
7. กระถางปลูกขนาด 6 นิ้ว
8. ใบมีดโกน
9. สารเคมีที่ใช้เป็นสารสกัด คือ N,N – dimethylformamide (DMF)
10. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ BOECO รุ่น BPB54 บริษัท ยูแอนด์วี โฮลดิ้ง (ไทยแลนด์) จำกัด
11. อุปกรณ์สำหรับการสกัดคลอโรฟิลล์ ได้แก่ หลอดทดลอง หม้อต้มควบคุมอุณหภูมิ กระดาษกรอง # 1 กรวยแก้ว และเทอร์โมมิเตอร์
12. เครื่อง Spectrophotometer รุ่น Genesys 20 บริษัท เบคไทย กรุงเทพอุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด
13. อุปกรณ์สำหรับการบันทึกผล ได้แก่ นาฬิกา สมุดและปากกา
14. กล้องดิจิตอล
15. กระดาษทิชชู
16. กล่องโฟมใส่น้ำแข็ง

วิธีการ

การศึกษาผลของโคลชิซินที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของคะน้า

เตรียมสารละลายโคลชิซินโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้น ดังนี้

- สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 ppm
- สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 1000 ppm
- สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 2000 ppm
- สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 4000 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำเมล็ดคะน้าจำนวน 240 เมล็ด แช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นละ 60 เมล็ดปริมาตร 5 มิลลิเมตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดคะน้าล้างในน้ำจำนวน 3 ครั้ง

การเตรียมดินปลูกคะน้า ใช้ดินผสมที่มีส่วนผสมของใบก้ามปู ดิน ใส่กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้ว นำเมล็ดคะน้าที่แช่สารละลายโคลชิซินมาปลูก โดยแบ่งเป็นดังนี้

- ที่ความเข้มข้น 0 ppm ปลูก 20 กระถาง กระถางละ 3 เมล็ด
- ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ปลูก 20 กระถาง กระถางละ 3 เมล็ด
- ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm ปลูก 20 กระถาง กระถางละ 3 เมล็ด
- ที่ความเข้มข้น 4,000 ppm ปลูก 20 กระถาง กระถางละ 3 เมล็ด

ทำการรดน้ำทุกวัน เมื่อต้นคะน้าเริ่มมีใบจริง 2-3 ใบถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น การใส่ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยยูเรีย 2 ครั้ง/สัปดาห์ ปุ๋ยรองพื้น 1 ครั้ง/สัปดาห์ (สูตรเสมอ 15-15-15) เมื่อต้นคะน้าอายุครบ 45 วัน นำคะน้ามา 20 กระถางและตัดส่วนใบไปทำการสกัดหาปริมาณคลอโรฟิลล์

การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ของคะน้า

ขั้นตอนที่ 1 การสกัดคลอโรฟิลล์ด้วย N,N – dimethylformamide (DMF)

นำใบคะน้ามาทำความสะอาด แล้วตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 100 มิลลิกรัม โดยหลีกเลี่ยงการใช้เนื้อเยื่อบริเวณเส้นใบและขอบใบ นำชิ้นส่วนของใบคะน้ามาสกัดคลอโรฟิลล์ในหลอดทดลอง โดยใช้ DMF 7 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ทำการสกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของชิ้นส่วนใบคะน้าเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีขาว บันทึกเวลาที่ใช้ในการสกัด ทำการกรองด้วยกระดาษกรอง # 1 เพื่อแยกส่วนของกากชิ้นส่วนใบคะน้าออกจากสารละลาย นำสารสกัดมาปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วย N,N – dimethylformamide นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

ขั้นตอนที่ 2 การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ในการสกัดจากขั้นตอนที่ 1

นำสารละลายที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 ไปวัดค่าการดูดซับแสงที่ช่วงคลื่นแสง 647 และ 664 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำค่าการดูดซับแสงของสารละลายที่ได้มาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์จากสมการ (Moran, 1981)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	=	12.64 A664 – 2.99 A647
ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี	=	-5.6 A664 + 23.26 A647
ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด	=	$20.27\ A_{647} + 7.04\ A_{664}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A_{647} และ A_{664} คือ ค่าดูดซับแสงของสารละลายคลอโรฟิลล์ที่ช่วงคลื่นแสง 647 และ 664 นาโนเมตร ตามลำดับ และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิกรัม (น้ำหนักสด) หรือ มิลลิกรัม/กรัม (น้ำหนักสด)

การวางแผนการทดลอง

แผนการทดลอง Completely Randomized Design (CRD) มี 4 ทรีทเมนต์ จำนวน 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 4 หน่วยทดลอง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละทรีทเมนต์ด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) และหาสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ระหว่างโคลชิซินและปริมาณคลอโรฟิลล์

ระยะเวลาทำการทดลอง

17 ธันวาคม 2548 ถึง 2 กุมภาพันธ์ 2549

สถานที่ทำการทดลอง

แปลงทดลองทางการเกษตร และห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลและวิจารณ์

จากผลการศึกษาผลของปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดด้วย N,N – dimethylformamide (DMF) และวัดปริมาณด้วย Spectrophotometry จากใบคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 4,000 ppm ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ, บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด คือ 0.8725, 0.2926 และ1.1712 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต้นคะน้าควบคุมมีค่าเฉลี่ยแตกต่างจากต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 2,000 ppm และ4,000 ppm แต่ไม่แตกต่างจากต้นที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1,000 ppm ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ของต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ต้นคะน้าควบคุมมีค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบแตกต่างจากต้นที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 4,000 ppm แต่ไม่แตกต่างจากต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1,000 ppm และ 2,000 ppm

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ, บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในคะน้าที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

ทรีทเมนต์	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มก./ก.น้ำหนักสด)		
	คลอโรฟิลล์ เอ	คลอโรฟิลล์ บี	คลอโรฟิลล์ทั้งหมด
โคลชิซิน 0 ppm	$0.7619^{a\ 1/} \pm 0.1887^{sd}$	$0.2565^{a\ 1/} \pm 0.0387^{sd}$	$1.0183^{a\ 1/} \pm 0.1429^{sd}$
โคลชิซิน 1,000 ppm	$0.8231^{ab} \pm 0.0839^{sd}$	$0.2728^{a} \pm 0.0979^{sd}$	$1.0959^{ab} \pm 0.1919^{sd}$
โคลชิซิน2,000 ppm	$0.8415^{b} \pm 0.1047^{sd}$	$0.2733^{a} \pm 0.0397^{sd}$	$1.1148^{ab} \pm 0.1424^{sd}$
โคลชิซิน4,000 ppm	$0.8785^{b} \pm 0.1345^{sd}$	$0.2926^{a} \pm 0.0498^{sd}$	$1.1712^{b} \pm 0.1836^{sd}$
CV	13.40 %	14.88 %	13.66 %

^{sd} = Standard deviation

$^{1/}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงว่ามีค่าความแตกต่างทางสถิติ ตามการเปรียบแบบ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ระหว่างสารโคลชิซิน คลอโรฟิลล์ เอ, บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด

	คลอโรฟิลล์ เอ	คลอโรฟิลล์ บี	คลอโรฟิลล์ทั้งหมด
ความเข้มข้นโคลชิซิน	0.95	0.97	0.96
คลอโรฟิลล์ เอ	-	0.97	1
คลอโรฟิลล์ บี		-	0.98
คลอโรฟิลล์ทั้งหมด			-

จากการคำนวณสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ระหว่าง สารโคลชิซิน คลอโรฟิลล์ เอ, บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (ตารางที่ 2) พบว่า ความเข้มข้นโคลชิซินมีความสัมพันธ์กับ คลอโรฟิลล์ เอ, บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ในทิศทางเดียวกัน และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเช่นกัน

ตารางที่ 3 แสดงอัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นแตกต่างกัน

ทรีทเมนต์	อัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี
โคลชิซิน 0 ppm	2.9745[a1/]
โคลชิซิน 1000 ppm	3.0130[ab]
โคลชิซิน 2000 ppm	3.0220[ab]
โคลชิซิน 4000 ppm	3.0910[b]
CV	4.23 %

[1/] ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงว่ามีค่าความแตกต่างทางสถิติ ตามการเปรียบแบบ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการศึกษาอัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ที่ได้รับโคลชิซินในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 4,000 ppm ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี มีอัตราส่วนมากที่สุด คือ 3.0910 (ตารางที่ 3) และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า อัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บีของ ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะน้าควบคุมมีค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบแตกต่างจากต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 4,000 ppm แต่ไม่แตกต่างจากต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1,000 ppm และ 2,000 ppm

จากการศึกษาผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ ที่สกัดโดยใช้สาร DMF (N,N – Dimethylformamide) พบว่าทรีทเมนต์ที่ได้รับสารโคลชิซินที่เพิ่มขึ้น ทำให้ใบคะน้ามีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างทางสถิติกับต้นคะน้าที่ควบคุม ส่วนคลอโรฟิลล์ บี มีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ การให้สารโคลชิซินจะทำให้ใบคะน้ามีลักษณะหนาและมีสีเข้มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณคลอโรฟิลล์ที่วัดได้ และสอดคล้องกับการศึกษาของ วิมลและอนันต์ (2527) โดยใช้สารโคลชิซินชักนำ polyploid ในพริก ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เกิดต้น polyploidy ที่มีใบขนาดใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม ขนาดของเซลล์ปากใบมีขนาดใหญ่ขึ้น และจากการทดลองของสมปองและราตรี (2542) เพาะเลี้ยงตายอดมังคุดบนอาหารที่มีสารโคลชิซิน เมื่อตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอเพิ่มขึ้น และเพิ่มเวลาในการเลี้ยงเป็นเวลา 10 ชั่วโมง และเพิ่มความเข้มข้นเป็น 3,000 – 10,000 มก./ล. พบว่าเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดลดลง แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาอัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ที่ได้รับโคลชิซินในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่า ต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้อัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เพิ่มขึ้น Lichtenthaler *et al.* (1982) ศึกษาเปรียบเทียบอัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี พบว่า พืชที่ได้รับแสงจะมีอัตราส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงกว่าพืชที่ปลูกในที่ร่ม และจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์ เอ, บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าคลอโรฟิลล์ เอ, บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน ในการศึกษาครั้งต่อไปควรศึกษาถึงความสัมพันธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์กับสารตัวอื่นๆ เช่น ลูทีนและเบต้าแคโรทีน ซึ่งเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง ช่วยในการป้องกันการเกิดโรคหัวใจ โรคมะเร็ง เพื่อที่จะนำลักษณะความสัมพันธ์ของสารเหล่านี้มาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป เนื่องจากผักใบเขียวเป็นแหล่งสำคัญของกลุ่มแคโรทีนอยด์ โดยเฉพาะ แคโรทีนและลูทีน ดังเช่นการศึกษาของ Ihl *et al.* (1994) ที่ศึกษาในใบ Swiss chard และ Kopsell *et al.* (2004) ที่ศึกษาในใบคะน้า ที่พบความสัมพันธ์ของคลอโรฟิลล์ ลูทีนและเบต้าแคโรทีน ซึ่งสามารถนำปริมาณคลอโรฟิลล์มาใช้ในการประเมินสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ได้

108927

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ, บี และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ในใบคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่แตกต่างกัน มีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ, บี ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดและอัตราส่วนคลอโรฟิลล์ เอ ต่อ บี เพิ่มขึ้น และ ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และ คลอโรฟิลล์ทั้งหมด มีความสัมพันธ์กันในทิศทางเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ไฉน ยอดเพชร. 2542. พืชผักในตระกูลครูซิเฟอร์. รั้วเขียว, กรุงเทพฯ. 355 หน้า.

ทศพร แจ้งจำรัส 2531. ผักฤดูหนาวและผักตระกูลกะหล่ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 155 หน้า.

ธีรวัฒน์ พงศ์นพรัตน์. 2547. ผลของสารโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิยาของคะน้า. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

พันทวี มาไพโรจน์. 2529. การสังเคราะห์แสงและการหายใจ. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

เพลินพิศ พงษ์ประยูร. 2538. การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากพืช. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

เยาวพา จิระเกียรติกุล. 2536. การชักนำให้หม่อนเกิดการกลายและคัดพันธุ์ทนเค็มโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วนิดา โศภิณเวทยา. 2523. การใช้ Colchicine ชักนำให้เกิด Polyploid ในหัวว่านสี่ทิศ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. ภาควิชาพืชสวน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิทยา บัวเจริญ. 2527. หลักการผสมและปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ (บางพระ) วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา, ชลบุรี. 169 หน้า.

วิมล ขวัญเกื้อ และ อนันต์ ภู่พิทยาสถาพร. 2526. การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในพริกโดยการใช้สารโคลชิซิน. วิทยาศาสตร์ 37(7-8) : 488-492.

วีระศักดิ์ สามี. 2548. แคโรทีนอยด์ : โครงสร้างทางเคมีและกลไกที่มีผลต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย. สาขาวิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2535. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมปอง เตชะโช และ ราตรี สุจารีย์. 2542. การชักนำการกลายพันธุ์มังคุดโดยการใช้สารโคลชิซินกับใช้ตายอดที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง. วารสารวิทยาศาสตร์ 21(2): 155 – 167.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2526. หลักสรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุวลี โล่วิรกรณ์. 2549. อาหารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

อุดม โกสัยสุก. 2539. การปลูกผักกินใบ. อักษรบัณฑิต, กรุงเทพฯ. 34 หน้า.

Berger, C.A. 1937. Additional evidence of repeat chromosome division without mitotic activity. Amer. Nat. 71 : 187 – 190.

Dermen, H. 1940. Colchicine, polyploidy and technique. Bot. Rev. 6 : 599 – 635.

Goodwin, T.W. 1976. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments vol.2. Academic press, New York.

Gross, J. 1987. Pigments in Fruits. Academic press, New York.

Gross, J. 1991. Pigments in Vegetable : Chlorophylls and Carotenoids. Van Nostrand Reinhold. Reinhold, New York.

Havas, L. 1937. Effect on colchicine and *Viscum album* preparation of seeds and growth seedling. Nature 139 : 371.

Holden, M. 1961. The breakdown of chlorophyll by chlorophyllase. Biochem. J. 78 : 359 – 364.

Ihl, M., C. Shene, E. Scheuermann, and V. Bifani. 1994. Correlation for pigment content through colour determination using tristimulus values in a green leafy vegetable, swiss chard. J. Sci. Food Agr. 66 : 527 – 531.

Kopsell, D. 2004. Variation in lutein, β-carotene, and chlorophyll concentration among *Brassica oleracea* cultigens and season. HortScience 39(2) : 361 – 364.

Kostoff, D. 1938. Colchicine and acenaphthene as polyploidizing agents. Nature 142 : 753.

Kostoff, D. 1938. Directed hereditable variations conditioned by euploid chromosome alternations in higher plants. Nature 142 : 117 – 118.

Knudson, L.L. T.W. Tibbitts and G.E. Edwards. 1977. Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. Plant Physiol. 60 : 606 – 608.

Lichtenthaler, H. K. 1971. The unequal synthesis of the lipophilic plastidquinones in sun and Shade leaves of *Fagus silvatica* L. Z. Naturforsch. 26B, 832 – 841.

Moran, R. 1981. Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N,N-dimethylformamide. Plant Physiol. 69 : 1376 – 1381.

Ono, T. 1939. Polyploidy and sex determination in *Melandrium*. 1. Colchicine-induced polyploids of *Melandrium album*. Bot. Mag. 53 : 549 – 556.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Randolph, L.F. and F.E. Fisher. 1939. The occurrence of pathenogenetic diploid in tetraploid maiz. Proc. Nat. Acad. Sci. 25 : 161 – 164.

Shewfelt, R.L., K.M. Batal and E.K. Heaton. 1983. Broccoli storage : Effect of N^6 – benzyladenine , packaging , and icing on color of fresh broccoli. J. Food Sci. 48 : 1594 – 1597.

Sweeney, J.P. and M.E. Martin. 1961. Stability of chlorophyll in vegetables as affected by pH. Food Technol. 17 : 263 – 266.

Vernon, L.P. and G.R. Seely. 1966. The Chlorophylls. Academic press, New York.

Vernon, L.P. 1960. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts. Anal. Chem. 32 (9) : 1144 – 1150.

Warnk, H.E. 1939. Size of seed and other criteria of polyploids. Science 88 : 440.

Werner, G. 1940. Zytologische untersuchungen uber die wirkung des colchicines bei zwei verschieden reagierenden pflanzen : Lein and Orbes. (Abs. in English) Bial. Zentralbl. 60 : 86 – 103.

Wilson, J.R. and M.D. Nutting. 1963. Use of ion exchange resin for conversion , separation , and determination of chlorophylls as pheophytins. Anal. Chem. 35 (2) : 144 – 146.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้