



## การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของพืชให้สีผสมอาหารด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นางปิยนันท์ ชมนาวัง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์

### 1. บทนำ

สีธรรมชาติเป็นที่ที่ได้จากพืช สัตว์และแร่ธาตุต่างๆ สามารถนำมาใช้ย้อมได้ทั้งแบบย้อมร้อนและแบบร้อนเย็น สีธรรมชาติเป็นสีที่ต้องอาศัยสารช่วยในการเร่งกระตุ้นช่วยให้สีออกเร็ว และให้สีติดแน่นกับเส้นไหม ทำให้สีไม่ตกเวลาซัก และการใช้ประโยชน์จากพืชให้สีผสมอาหาร อาหารที่ทำจำหน่ายในปัจจุบันนี้ ผู้ผลิตใช้สีต่างๆ ผสมเพื่อแต่งสีให้รับประทาน บางคนไม่มีความรู้ว่าสีชนิดไหนรับประทานได้ สีชนิดไหนรับประทานแล้วจะทำให้เกิดโรคร้ายภายหลัง จึงใช้ปนกันและเพื่อความสะดวกของผู้ผลิตเอง เช่น สีขี้เอยม ผ่า สีขี้เอยม ผ่า มาผสมอาหารเพราะราคาถูก หาซื้อได้สะดวก ดังนั้นความรู้เกี่ยวกับสีผสมอาหารที่ได้จากธรรมชาตินั้นมีประโยชน์ โดยมีทั้งสีที่ได้จากพืชและสัตว์

ในการเพาะเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชสามารถกระตุ้นให้มีการผลิตสารทุติยภูมิต่างๆ เช่น รงควัตถุ อัลคาลอยด์และ น้ำมันหอมระเหย เป็นต้น ที่มีประสิทธิภาพและปริมาณสูงกว่าการผลิตจากพืชในธรรมชาติ อีกทั้งในระยะยาวจะช่วยประหยัดเวลาและ ค่าใช้จ่าย รวมทั้งสามารถควบคุมปริมาณและคุณภาพของผลผลิตได้ตามต้องการ ดังนั้น การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์มาใช้ในการผลิตเซลล์พืชให้สีผสมอาหาร นอกจากจะได้ใช้ประโยชน์จากพืชดังกล่าวแล้วยังสามารถใช้ในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชให้สีผสมอาหารอีกแนวทางหนึ่งได้

### 2. วัตถุประสงค์

2.1 ศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชให้สีผสมอาหาร

2.2 ศึกษาปัจจัยและองค์ประกอบของอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยพืชให้สีผสมอาหารให้สามารถผลิตสีได้สูง

### 3. วิธีการ

3.1 เก็บรวบรวมชิ้นส่วนพืชให้สีผสมอาหาร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเซลล์

3.2 ดำเนินการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชให้สีผสมอาหาร

3.2.1 นำชิ้นส่วนพืชที่ใช่มาล้างในน้ำสะอาด ตามด้วยการล้างในน้ำสบู่ หรือน้ำยาล้างจาน จนชิ้นส่วนพืชสะอาด

3.2.2 นำมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 % หรือสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ความเข้มข้น 2 % เติม tween-20 หรือใช้น้ำยาล้างจานเป็นสารลดแรงตึงผิว ในอัตราส่วน 1 หยดต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร หรือประมาณ 0.01 % เพื่อช่วยให้สารละลายจับกับผิวตัวอย่างได้ดี

3.2.3 ทำการเขย่าเป็นระยะ ๆ หรือวางไว้บนเครื่องเขย่าเป็นเวลาประมาณ 15 นาที

3.2.4 ล้างเอาสารละลายออกด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละประมาณ 5 นาที

3.2.5 ย้ายตัวอย่างไปวางผึ่งบนจานแก้วให้แห้งพอหมาด ๆ แล้วทำการตัดแต่งพืชตัวอย่างเพื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไป

อาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีหลายสูตร เช่น สูตร MS, B5 และ Knudson ทำการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน เช่น IAA, 2,4-D และ NAA และกลุ่มไซโตไคนิน เช่น BA, kinetin และ TDZ ทำการบันทึกอัตราการรอดชีวิต จำนวนแคลลัสที่เกิดต่อชิ้นส่วน

3.3 ทำการเพิ่มปริมาณเซลล์พืชให้สื้อมด้วยการย้ายลงในอาหารใหม่ เพื่อเพิ่มปริมาณ

3.4 พัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชให้สืในสภาพแขวนลอยในอาหารเพาะเลี้ยงระดับขวดเขย่า

3.5 ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบการเจริญของเซลล์พืชให้สืโดยใช้พาราเมเตอร์คือน้ำหนักเซลล์

3.6 ศึกษาและทดสอบหาชนิดของสาร precursors และ elicitor ที่เหมาะสมต่อการเจริญ

3.7 ศึกษาปัจจัยต่าง เช่น แสง อัตราการเขย่า อุณหภูมิ ฯลฯ องค์ประกอบของสารอาหาร เช่น สูตรอาหาร แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต

#### 4. ผลการดำเนินงาน

4.1 เก็บรวบรวมชิ้นส่วนพืชให้สืผสมอาหาร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเซลล์ โดยดำเนินการจัดหาชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทั้งจากเมล็ดและต้นอ่อนได้ชนิดดังต่อไปนี้

4.1.1 มะตูม

4.1.2 เพกา

4.1.3 ขี้เหล็ก

4.1.4 ป๊อป

4.1.5 ขมิ้นชัน

4.1.6 แครอท

4.1.7 อัญชัน

4.1.8 กระจับแดง



ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างเมล็ดหรือฝักของพืชให้สื



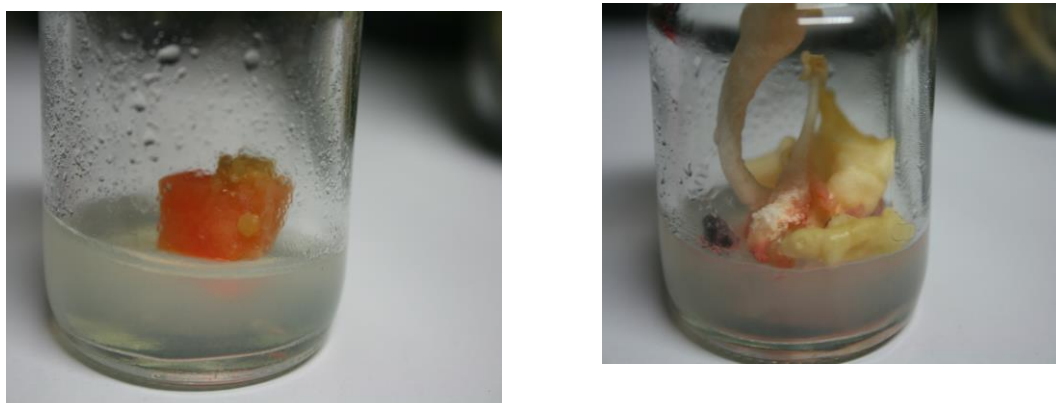
ภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างต้นอ่อนของพืชให้สื

4.2 ทำการเตรียมอาหารทั้งอาหารแข็งและอาหารเหลว จากนั้นดำเนินการเพาะเลี้ยงและติดตามการเจริญในอาหารเพาะเลี้ยงชนิดแข็ง ทำการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ (subculture) เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์พืชเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 3 แสดงการเพาะเลี้ยงพืชให้สีในอาหารแข็งเพื่อเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ

4.3 จากเซลล์พืชเพาะเลี้ยงที่ได้ปริมาณมากในอาหารแข็งแล้ว ทำการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชให้สีในสภาพแขวนลอยในอาหารเพาะเลี้ยงระดับขวดเขย่า ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบการเจริญของเซลล์พืชให้สีโดยใช้พารามิเตอร์คือน้ำหนักเซลล์ ศึกษาและทดสอบหาชนิดของสาร precursors และ elicitor ที่เหมาะสมต่อการเจริญ รวมทั้งศึกษาปัจจัยต่าง เช่น แสง อัตราการเขย่า อุณหภูมิ ฯลฯ องค์ประกอบของสารอาหาร เช่น สูตรอาหาร แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต





ภาพที่ 4 แสดงการเพาะเลี้ยงพืชให้สีในอาหารเหลวเพื่อผลิตสารสี

## 5. สรุปผล

จากการดำเนินโครงการนี้ สามารถดำเนินโครงการสำเร็จลุล่วงไปได้เป็นอย่างดี สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยพืชให้สีจากพืช 10 ชนิดได้แก่ สีเขียวจากใบเตย และกระเจี๊ยบเขียว สีแดงจากแครอท และกระเจี๊ยบแดง สีเหลืองจากขมิ้นชัน และมะตูม สีสน้ำตาลจากปืบ และขี้เหล็ก สีดำจากเพกา และสีน้ำเงินจากอัญชัญ และนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพแขวนลอยได้ 5 ชนิดคือ เขียว แดง เหลือง น้ำตาลและน้ำเงิน รวมทั้งทราบสถานะในการผลิตเซลล์พืชแขวนลอยที่เหมาะสมได้

## 6. ข้อเสนอแนะ

เรื่องระเบียบการเบิกจ่ายตามโครงการอนุรักษ์ฯ แต่ละวิทยาเขต มีความแตกต่างกัน เช่นการจัดซื้อวัสดุ การจัดจ้าง งานจ้างเหมาแรงงาน ขอความชัดเจนและอยากให้เป็นไปในทางเดียวกัน เพื่อไม่ให้เกิดความเหลื่อมล้ำในแต่ละวิทยาเขต