

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

วัตถุประสงค์ในการศึกษา “สื่อการสอนจากรงควัตถุของใบหูกวาง” มีดังนี้

1. เพื่อสกัดคลอโรฟิลล์, คาโรทีนอยด์และแอนโทไซยานินของใบหูกวางด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม
2. เพื่อวิเคราะห์คลอโรฟิลล์, คาโรทีนอยด์และแอนโทไซยานินด้วยวิธีทินแลร์โครมาโทกราฟี
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด-เบสและเกลือ
4. เพื่อศึกษาปริมาณของคลอโรฟิลล์, แชนโทฟิลล์และแอนโทไซยานินด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
5. เพื่อนำความรู้จากข้อ 1-4 มาจัดทำสื่อการสอนวิชาวิทยาศาสตร์ 1 รหัสวิชา 20001401

สมมติฐานในการวิจัย

1. คลอโรฟิลล์, คาโรทีนอยด์และแอนโทไซยานินถูกสกัดได้ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม
2. วิธีทินแลร์โครมาโทกราฟีแยกสารให้บริสุทธิ์และระบุสารที่เป็นองค์ประกอบได้
3. แอนโทไซยานินของใบหูกวางน่าจะมีสมบัติของอินดิเคเตอร์ คือ การเปลี่ยนสีเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง
4. ปริมาณของรงควัตถุของใบหูกวาง น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงตลอดปี
5. สื่อการสอนที่ดี น่าจะจัดกิจกรรมการเรียนการสอนที่ศึกษาเกี่ยวกับวัสดุจากธรรมชาติในห้องถิ่นโดยให้เนื้อหาสอดคล้องกับหลักสูตร

วิธีดำเนินการ

1. การสกัดรงควัตถุของใบหูกวาง เปรียบเทียบความสามารถการสกัดรงควัตถุของใบหูกวางใบสีเขียว, ใบสีแดง, ใบสีเหลือง และใบสีน้ำตาล ด้วยตัวทำละลายเมทานอล, เอทานอล, อะซิโตน, เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, คาร์บอนเตตระคลอไรด์, ไชลีน, โทลูอีนและ 1 M HCl (มวลใบสด : ตัวทำละลาย = 1 : 20, มวล/ปริมาตร)
2. การใช้วิธีทินแลร์โครมาโทกราฟีแยกรงควัตถุของใบหูกวาง แยกบนแผ่นดูดซับเซลลูโลส-ซิลิกา เจล (1 : 1) มาตรฐานของคลอโรฟิลล์ a, เบต้า-คาโรทีน, แชนโทฟิลล์และแอนโทไซยานินในตัวทำละลายเฮกเซน-อะซิโตน-โพรพานอล (90 : 10 : 0.45), เฮกเซน, เฮกเซน-อะซิโตน (4 : 1)(3), และเมทานอล ตามลำดับ

3. การทดสอบสมบัติอินดิเคเตอร์ของแอนโทไซยานินของใบหูกวาง โดยทดสอบกับสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ สังเกตสีที่เปลี่ยนเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง และเปรียบเทียบการเปลี่ยนสีที่ pH ต่าง ๆ กับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน

4. การทดสอบสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด-เบส ด้วยแอนโทไซยานินของใบหูกวาง เปรียบเทียบสารละลายของแอนโทไซยานินและกระดาษกรองย้อมสารละลายของแอนโทไซยานิน โดยทดสอบกับสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด-เบส (และเกลือ)

5. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงรงควัตถุของใบหูกวาง ด้วยการวัดปริมาณของคลอโรฟิลล์ (ที่ 660 nm) แชนโทฟิลล์ (ที่ 420 nm) และแอนโทไซยานิน (ที่ 540 nm) วัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เป็นเวลา 1 ปี เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุทั้งสามชนิด (สกัดจากใบที่อบที่อุณหภูมิ 80°C ; มวลใบ 1 กรัม - เอทานอลเข้มข้น 95% 20 ลบ.ซม. และเจือจาง 10 เท่า)

6. จัดทำหนังสือปฏิบัติการสำหรับนักเรียนนักศึกษาและคู่มือครู โดยการศึกษาประสิทธิภาพของสื่อจากดัชนีค่าความยาก (p) ก่อนเรียนและหลังสอน, ค่าดัชนีอำนาจจำแนก (D) และประสิทธิภาพตามเกณฑ์มาตรฐาน 85/85 ; รวบรวมข้อมูลจากแบบทดสอบก่อนเรียน-หลังสอนและกิจกรรมระหว่างเรียน

7. จัดกิจกรรมโครงการวิทยาศาสตร์ รวบรวมข้อมูลจากโครงการวิทยาศาสตร์ของนักศึกษา โดยนักศึกษาได้ศึกษาและจัดกิจกรรมเปรียบเทียบสมบัติระหว่างรงควัตถุของใบหูกวาง และรงควัตถุของพืชชนิดอื่น ๆ ในสถานศึกษา

ผลการวิจัย ได้เป็นไปตามวัตถุประสงค์และสมมติฐาน ดังนี้

1. การสกัดรงควัตถุของใบหูกวาง

คลอโรฟิลล์ ตัวทำละลายที่สกัดสีเขียวของคลอโรฟิลล์ได้ดี คือ เมทานอล, เอทานอล, อะซิโตน และคลอโรฟอร์ม ส่วนตัวทำละลายที่สกัดคลอโรฟิลล์ได้บ้าง คือ เฮกเซน, คาร์บอนเตตระคลอไรด์, ไชลีน, และโทลูอีน

คาโรทีนอยด์ สีเหลืองของคาโรทีนอยด์ถูกสกัดได้ด้วยเมทานอล, เอทานอล, อะซิโตน, เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, คาร์บอนเตตระคลอไรด์, ไชลีน และโทลูอีน ; สีแดง-ส้มของคาโรทีนและไลโคปีนสกัดได้ด้วยคลอโรฟอร์ม

ฟลาโวนอยด์ สีเหลืองของฟลาโวนอยด์ และสีแดง-ม่วง-น้ำเงิน ของแอนโทไซยานินถูกสกัดด้วยเมทานอล, เอทานอล, อะซิโตน และ 1 M HCl

2. การใช้วิธีทินแลรีโครมาโทกราฟีแยกรงควัตถุของใบหูกวาง

ในการแยกและหาค่า R_f ของรงควัตถุของใบหูกวางบนแผ่นดูดซับเซลลูโลส-ซิลิกา เจล (1:1) ค่า R_f ของคลอโรฟิลล์ *a* ของใบหูกวาง = 0.61, ของคลอโรฟิลล์ *a* มาตรฐาน = 0.59, ของเบต้า-คาโรทีนของใบหูกวาง = 0.85, ของเบต้า-คาโรทีนมาตรฐาน = 0.83, ของแซนโทฟิลล์ของใบหูกวาง = 0.90, ของแซนโทฟิลล์ของหัวแคโรท = 0.90, ของ pelargonidin glycoside, cyanidin 3,5-diglucosides, delphinidin glycoside, ของใบหูกวาง = 0.54, 0.69, 0.30 ; cyanidin 3,5-diglucosides ของกลีบดอกกุหลาบแดง = 0.67

3. การทดสอบสมบัติอินดิเคเตอร์ของแอนโทไซยานินของใบหูกวาง (และจากกลีบดอกกุหลาบแดง)

เปรียบเทียบสมบัติอินดิเคเตอร์ของแอนโทไซยานินจากใบหูกวางสีแดงและจากกลีบดอกกุหลาบแดงด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ พบว่าที่ pH < 7 แอนโทไซยานินของใบหูกวางและของกลีบดอกกุหลาบแดง สีนแดง-ส้ม-ม่วง และสีแดงม่วงตามลำดับ ; ที่ pH 8.0-9.0 สีม่วง ; ที่ pH 11.7 สีนํ้าเงิน-เหลือง-เขียว ; สีที่เกิดจากกลีบดอกกุหลาบแดงสดสีกว่าสีจากใบหูกวาง ; แอนโทไซยานินของใบหูกวางและของกลีบดอกกุหลาบแดงมีสมบัติของอินดิเคเตอร์เพราะมีการเปลี่ยนสีเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง

4. การทดสอบสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด-เบสด้วยแอนโทไซยานินของใบหูกวางและของกลีบดอกกุหลาบแดง

ในช่วง pH ของกรด (pH < 7 แอนโทไซยานินของใบหูกวางและของกลีบดอกกุหลาบแดง สีนแดง-ส้ม-ม่วง และสีแดงม่วงตามลำดับ ; การเปลี่ยนสีจะเปลี่ยนสีในช่วงเบส คือ pH 8.0-9.0 สีม่วง ; pH 11 สีนํ้าเงิน-เหลือง-เขียว ; กระจกทรงย้อมแอนโทไซยานินของใบหูกวางเป็นสีแดง-ส้ม, ย้อมแอนโทไซยานินของกลีบดอกกุหลาบแดงเป็นสีแดงม่วง กระจกทรงย้อมแอนโทไซยานินของใบหูกวางและของกลีบดอกกุหลาบแดงมีสมบัติเป็นกระจก pH คือการเปลี่ยนสีในช่วงเบส เช่นเดียวกับที่อยู่ในสภาพของสารละลายแอนโทไซยานิน

5. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงรงควัตถุของใบหูกวาง

วัดปริมาณของรงควัตถุของใบหูกวางด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 95% ค่าการดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ (ที่ 660 nm), แซนโทฟิลล์ (ที่ 420 nm), และแอนโทไซยานิน (ที่ 540 nm) วัดเป็นเวลา 1 ปี ค่าการดูดกลืนของคลอโรฟิลล์สูงสุดในเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน (และเดือนธันวาคม), แซนโทฟิลล์มีปริมาณสูงสุดในเดือนพฤษภาคม, แอนโทไซยานินมีปริมาณสูงสุดในเดือนกรกฎาคม ; ปริมาณแซนโทฟิลล์และแอนโทไซยานินแปรผันตามปริมาณของคลอโรฟิลล์

6. จัดทำหนังสือปฏิบัติการสำหรับนักเรียนนักศึกษาและคู่มือครู

เปรียบเทียบดัชนีค่าความยาก (p) ของแบบทดสอบก่อนเรียนและหลังสอน, ดัชนีค่าอำนาจจำแนก (D), ประสิทธิภาพของสื่อตามเกณฑ์มาตรฐาน 85/85 ; พบว่า $p_{pre} = 21.29\%$, $p_{post} = 89.71\%$, $D = 68.42\%$, ประสิทธิภาพของสื่อการสอน = $87.18/89.71$; หนังสือปฏิบัติการฯ, คู่มือครู (และสื่อสไลและแผ่นใส) มีประสิทธิภาพสูงตามเกณฑ์มาตรฐาน

7. จัดกิจกรรมโครงการวิทยาศาสตร์

นักศึกษาจัดทำโครงการวิทยาศาสตร์ เรื่องรงควัตถุของพืช, แอนโทไซยานินของใบอ่อนและใบสีเขียวของพืชและเรื่องอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ, โครงการวิทยาศาสตร์ทั้ง 3 เรื่องเป็นการศึกษาการสกัดรงควัตถุของใบหูกวาง, ใบและดอกของพืชชนิดต่าง ๆ ที่ปลูกในสถานศึกษา และศึกษาสมบัติของอินดิเคเตอร์ของแอนโทไซยานิน, กิจกรรมโครงการวิทยาศาสตร์ดังกล่าวเป็นกิจกรรม ที่เสริมทักษะเรื่องการสกัดสารและเรื่องอินดิเคเตอร์

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษารงควัตถุของใบหูกวางโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม, การแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธีทินแตรโครมาโทกราฟี, การศึกษาสมบัติอินดิเคเตอร์ของแอนโทไซยานินโดยทดสอบกับสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรด-เบสและเกลือ, การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของรงควัตถุของ ใบหูกวาง, การจัดทำสื่อการสอน, ศึกษาประสิทธิภาพของสื่อการสอนและการทำโครงการวิทยาศาสตร์

1. การสกัดรงควัตถุของใบหูกวาง

ในการสกัดคลอโรฟิลล์และคาโรทีนอยด์ สารที่สกัดได้คือ เมทานอล, เอทานอล, อะซิโตนและคลอโรฟอร์ม เนื่องจากคลอโรฟิลล์และคาโรทีนอยด์เป็นสารอินทรีย์จึงละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ บีโทเรียม (ไต้แก่ เฮกเซน) และคลอโรฟอร์มสกัดสารไขมันและเทอร์ปีนอยด์ (เช่น คาโรทีนอยด์) (Harborne , 1973, p.119), คลอโรฟิลล์เป็นสารที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายไขมัน ไต้แก่ อะซิโตน (Harborne , 1973, p.204)

Katayama, N และคณะ (1994) ได้สกัดรงควัตถุสังเคราะห์แสงคือ คลอโรฟิลล์และคาโรทีนอยด์ของสาหร่ายด้วยเมทานอลหรืออะซิโตนและสกัดซ้ำด้วยไดเอทิลอีเทอร์ ซึ่งแตกต่างจากการสกัดคลอโรฟิลล์และคาโรทีนอยด์ของใบหูกวาง ซึ่งผู้วิจัยสกัดซ้ำด้วยเฮกเซน ; Kim, Yong Hwan และคณะ (1994) สกัดเนื้อเยื่อเซลล์ของ *Rhodospila globiformis* DSM 161 ด้วยอะซิโตนเพื่อสกัดรงควัตถุสีแดง ; Ishii, Gencho และคณะ (1996) ได้สกัดแอนโทไซยานินของหน่อมันฝรั่ง *Solanum phureja* ด้วยเมทานอล-1% ของกรดไตรฟลูออโรอะซิติก ซึ่งแตกต่างจากการสกัดแอนโทไซยานินของใบหูกวางที่ผู้วิจัยสกัดด้วยเมทานอล - 1 M HCl

2. การใช้วิธีทินแตรโครมาโทกราฟีแยกรงควัตถุของใบหูกวาง

ใช้แผ่นกึ่งดูดซับเซลลูโลส-ซิลิกา เจล ในตัวทำละลายเฮกเซน-อะซิโตน-โพรพานอล, เฮกเซน, เฮกเซน-อะซิโตน (4 : 1) (1), และเมทานอล ในการแยกรงควัตถุของใบหูกวาง คือ คลอโรฟิลล์, เบต้า-คาโรทีน, แซนโทฟิลล์และแอนโทไซยานินตามลำดับ

วิธีทินแตรโครมาโทกราฟีที่ใช้ในงานวิจัยของ Katayama N. และคณะ (1994) ใช้ในการวิเคราะห์รงควัตถุสังเคราะห์แสงของสาหร่าย, ตัวทำละลายที่แยกสารใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ (จุดเดือด 30-60°C) -อะซิโตน (7:3, ปริมาตร/ปริมาตร) ; Yokotsuka, Koki (1995 ใช้แยกแอนโทไซยานินของเหล้าองุ่นในชั้นของสารละลาย, Hobbach, B. และคณะ (1994) อธิบายการตรวจสอบสารเจือปนในเหล้าองุ่น Burgundy โดยวิธีทินแตรโครมาโทกราฟี ; Kim, Yong Hwan และคณะ (1994) ใช้เป็นวิธีวิเคราะห์รงควัตถุของเนื้อเยื่อเซลล์ของ *Rhodospira globiformis* DSM 161, Ishii, Gencho (1996) ใช้เป็นวิธีพิสูจน์ชนิดของแอนโทไซยานินในสีของหน่อมันฝรั่ง *Salanum fureja*

3. การทดสอบสมบัติอินดิเคเตอร์ของแอนโทไซยานินของใบหูกวาง

แอนโทไซยานินของใบหูกวางมีสมบัติของอินดิเคเตอร์ คือ ช่วง pH ของกรทสีแดง = แดง-ส้ม-ม่วง, ช่วง pH ของเบส คือที่ pH 8.0-9.0 สีม่วง, pH 11.7 สีน้ำเงิน-เหลือง-เขียว

Acheson (1967) ได้กล่าวถึงแอนโทไซยานินของพืชว่าสีของแอนโทไซยานินขึ้นกับ pH ของตัวกลางที่แอนโทไซยานินละลายอยู่ แอนโทไซยานินในกรทไฮโดรคลอริกเจือจางเป็นสีแดงเข้มที่ pH 3 เมื่อทำปฏิกิริยากับโซเดียมอะซิเตตได้สารสีม่วง (pH 8) เมื่อทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้สารสีน้ำเงิน (pH 11)

Alkema, J และ Seager, S.L (1982) ได้กล่าวถึงแอนโทไซยานินของใบเมเปิลว่าเป็นกรท (acidic sap) ใบเมเปิลจึงมีสีแดงในฤดูใบไม้ร่วง ส่วนต้นแอส (Ashes) มีแอนโทไซยานินที่เป็นเบส (alkali sap) ใบของต้นแอสจึงเป็นสีม่วง

Harborne (1973) ได้กล่าวถึงแอนโทไซยานินของพืชว่าประกอบด้วยสีแดง-ส้มของ pelargonidin glycoside สีแดง-ม่วงของ cyanidin glycoside และสีม่วงของ delphinidin glycoside

ในการศึกษาสมบัติอินดิเคเตอร์ของรงควัตถุของใบหูกวาง พบว่า ในช่วง pH ของเบส จะเกิดรงควัตถุสีเหลืองซึ่งน่าจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจาก benzopyrylium cation ซึ่งให้สารสีแดง-ม่วง-น้ำเงิน กลายเป็น benzo-2-และ -4-pyrones ซึ่งเป็นรงควัตถุสีเหลือง (Acheson, 1967, p285)

4. การทดสอบสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรท-เบสด้วยแอนโทไซยานินของใบหูกวาง

แอนโทไซยานินของใบหูกวางมีสมบัติเช่นเดียวกับแอนโทไซยานินของพืช คือ การเปลี่ยนสีในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรท-เบสตามที่ Acheson (1967) , Alkema, J และ Seager, S.L (1982) กล่าวไว้คือในช่วง pH ของกรทเป็นสีแดง ช่วง pH ของเบสเป็นสีม่วงและน้ำเงิน

Yokotsuka, koki (1995) กล่าวถึงสีของเหล่าองุ่นซึ่งมีสีแดงเข้มเมื่อ pH ลดลงที่ 0.25 เกิดจาก Oligomeric anthocyanin ; Kim Yong Hwan และคณะ (1994) กล่าวถึงรงควัตถุที่สกัดจาก *Rhodopilla globiformis* DSM 161 ว่าได้สารสีแดงที่ pH 5-6, ที่ pH 7-9 ได้สารสีแดงแกมเหลือง

5. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงรงควัตถุของใบหูกวาง

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุของใบหูกวางด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ค่าความยาวคลื่นของคลอโรฟิลล์ที่ 660 นาโนเมตร (nm), แชนโทฟิลล์ที่ 420 nm แอนโทไซยานินที่ 540 nm เป็นเวลา 12 เดือน ๆ ละหนึ่งครั้ง ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2542-กุมภาพันธ์ 2543 ผลจากการศึกษา คือ

1) ค่าการดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ สูงที่สุดในเดือนพฤษภาคมและมิถุนายน 2542 แล้วลดลงตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-กันยายน ตามลำดับ หากกลับมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่เดือนตุลาคม-ธันวาคม 2542 สาเหตุของการเพิ่มปริมาณของคลอโรฟิลล์เกิดจากนักการภารโรงของวิทยาลัยเทคนิคพัทลุงได้ตัดกิ่งและใบของต้นหูกวางออกเป็นจำนวนมากในเดือนตุลาคม 2542 จึงมีใบหูกวางเหลือบนต้นที่ผู้วิจัยกำลังศึกษาอยู่จำนวนน้อยใบจึงรับแสงสว่างได้เต็มที่ (ทุกใบ) อัตราการสังเคราะห์แสงจึงเพิ่มขึ้นเมื่อต้นหูกวาง (ส่วนของใบ) ได้รับความสว่างเพิ่มขึ้น เป็นไปตามผลการทดลองของ Blackman, F.F. นักสรีรวิทยาชาวอังกฤษซึ่งได้สรุปการทดลองใน ค.ศ.1905 ว่าอัตราการสังเคราะห์แสงของพืชจะเพิ่มขึ้นเมื่อพืชได้รับความสว่างมากขึ้น (Peter,H.Raven and Helena Curtis , 1970, p. 219)

2) แชนโทฟิลล์ มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดในเดือนพฤษภาคม การดูดกลืนแสงจะลดลงตั้งแต่เดือนมิถุนายน-กันยายน ตามลำดับแล้วกลับมีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นในเดือนตุลาคม-ธันวาคม ตามลำดับเช่นเดียวกับการเพิ่มปริมาณการดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ ผลจากการศึกษานี้เป็นไปตามที่ Arthur Cronquist (1973, p.85) กล่าวไว้ว่า คาโรทีนและแชนโทฟิลล์เกิดร่วมกับคลอโรฟิลล์ ในการวัดปริมาณของรงควัตถุของใบหูกวางซึ่งสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 95% คาโรทีนอยด์ของใบหูกวางจึงเป็นแชนโทฟิลล์ ซึ่งละลายในแอลกอฮอล์ (ส่วนคาโรทีนไม่ละลายในแอลกอฮอล์)

3) แอนโทไซยานิน ของใบหูกวางมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในเดือนกรกฎาคมแล้วลดปริมาณการดูดกลืนแสงลงในเดือนสิงหาคม-กันยายน การลดปริมาณการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินแตกต่างจากคลอโรฟิลล์และแชนโทฟิลล์เพราะไม่ได้ลดอย่างสม่ำเสมอ (ระหว่างเดือนกรกฎาคม-กันยายน คลอโรฟิลล์ลดปริมาณการดูดกลืนแสงสว่างตามลำดับ ส่วนแชนโทฟิลล์ลดปริมาณการดูดกลืนแสงตั้งแต่เดือนมิถุนายน-กันยายน) แต่ลักษณะการเพิ่มของแอนโทไซยานินซึ่งขึ้นตั้งแต่เดือนตุลาคม-ธันวาคม ก็ไม่ได้เพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอ ในเดือนธันวาคมน้อยกว่าเดือนกรกฎาคม และเมื่อพิจารณาจากกราฟรูป 4.13 จะเห็นว่าปริมาณการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินแปรผันตามปริมาณของคลอโรฟิลล์และแชนโทฟิลล์

ในระหว่างเดือนธันวาคม-มกราคม ใบหูกวางจะมีสีแดงแสดก่อนใบจะร่วง เมื่อพิจารณาจากตาราง 4.13 และกราฟรูป 4.13 จะเห็นได้ว่าปริมาณของแอนโทไซยานินและแซนโทฟิลล์แปรตามปริมาณของคลอโรฟิลล์คือ การเพิ่มปริมาณการดูดกลืนแสงในเดือนธันวาคม 2542 และลดปริมาณลงในเดือนมกราคม 2543 คลอโรฟิลล์ลดปริมาณการดูดกลืนแสงค่อนข้างมาก แซนโทฟิลล์ก็ลดการดูดกลืนแสงลงมาเช่นกัน ส่วนแอนโทไซยานินลดการดูดกลืนแสงลงบ้างแต่ไม่มากเท่ากับช่วงการลดของคลอโรฟิลล์และแซนโทฟิลล์

ความสัมพันธ์ระหว่างรงควัตถุของใบหูกวางคือ คลอโรฟิลล์ แซนโทฟิลล์และแอนโทไซยานิน จึงเป็นดังนี้

ในฤดูใบไม้ร่วง (ธันวาคม-มกราคม) ปริมาณแสงแดดจะลดลง ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงด้วยทำให้อัตราการสร้างคลอโรฟิลล์ลดลงแต่อัตราการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ไม่ลด สีเขียวของคลอโรฟิลล์จึงลดลง สีเหลืองของคาโรทีนอยด์จะเด่นขึ้น (Moore, Clark, Stern and Vodopich, 1995, p.142) แต่เพราะแอนโทไซยานินจะบดบังสีเหลืองได้ดี (Alkema, J. and Seager, S.L. 1982, p.185) เมื่อปริมาณของแอนโทไซยานินมีได้ต่ำมาก สีแดงของแอนโทไซยานินจึงโดดเด่นขึ้น เมื่อมีการผสมระหว่างสีเหลืองของคาโรทีนอยด์และสีแดงสดใสของแอนโทไซยานิน ใบหูกวางในฤดูใบไม้ร่วงจึงปรากฏสีแดงแสดก่อนใบจะร่วง

เช่นเดียวกับการเกิดสีแดงสดใสของเมเปิลในประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดาและประเทศอื่น ๆ ในเขตอบอุ่นที่สีแดงของแอนโทไซยานินบดบังสีเหลืองของคาโรทีนอยด์และสีเขียวของคลอโรฟิลล์ไว้ แต่การเกิดแอนโทไซยานินของใบเมเปิลน้ำตาล (*Acer saccharum*) ในฤดูใบไม้ร่วงอากาศที่เย็นจัดปริมาณน้ำตาลที่ใบเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นด้วย (Alkema, J. and Seager, S.L., 1982, p.185 ; Encyclopedia Americana, 18, 1978, p.259 ; Peter, H. Raven and Helena Curtis, 1970, p.60)

6. จัดทำหนังสือปฏิบัติการสำหรับนักเรียนนักศึกษาและคู่มือครู

ในการจัดทำสื่อการสอนจากรงควัตถุของใบหูกวางเรื่อง การสกัดรงควัตถุของทินแลร์โครมาโทกราฟี, อินดิเคเตอร์จากแอนโทไซยานินและการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรงควัตถุของใบหูกวางนั้น ผู้วิจัยจัดกิจกรรมให้มีการทดลองโดยนำวัสดุในธรรมชาติ ซึ่งมีในท้องถิ่น (และมีทั่วไป) คือใบหูกวางนำมาใช้เป็นสื่อการสอนโดยมีเนื้อหาที่สอดคล้องกับหลักสูตรวิชาวิทยาศาสตร์ระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพ (ปวช.) ระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง (ปวส.) มัธยมศึกษาตอนปลายและระดับอุดมศึกษาปีที่ 1-2 ทั้งนี้เป็นไปตามพระราชบัญญัติการศึกษาแห่งชาติ พ.ศ. 2542 หมวด 4 มาตรา 23(2) ว่าในการให้ความรู้และทักษะวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและประสบการณ์ เรื่องการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างสมดุลยั่งยืน และมาตรา 24(5) คือ การส่งเสริมให้ผู้เรียนสามารถใช้การวิจัยเป็นส่วนหนึ่งของการเรียนรู้

งานวิจัยที่ศึกษารงควัตถุและใช้เป็นกิจกรรมในชั้นเรียน คือ งานวิจัยเรื่อง "A Simplified procedure for the qualitative analysis of photosynthetic pigments from algal material โดย Katayama, N และคณะ (1994) ซึ่งศึกษาการสกัดรงควัตถุสังเคราะห์แสงคือ คลอโรฟิลล์และคาโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีเขียว น้ำตาล และสีแดง ด้วยเมทานอลหรืออะซิโตน แล้วสกัดด้วยไดเอทิลอีเทอร์ แล้วแยกด้วยปิโตรเลียม (จุดเดือด 30-60°C) -อะซิโตน (7 : 3 , ปริมาตร/ปริมาตร) ; งานวิจัยดังกล่าวนี้ใช้สอนในโรงเรียนมัธยม

การศึกษาประสิทธิภาพของสื่อการสอนจากรงควัตถุของใบหูกวาง ผู้วิจัยศึกษาแนวคิดจากการวิเคราะห์ข้อทดสอบในชั้นเรียน (Item Analysis for Classroom Test) โดย Anthony J. Nitko (1983) คือ การหาค่าดัชนีความยาก (Item Difficulty Index, p) ของแบบทดสอบก่อนเรียน และหลังสอน ดัชนีอำนาจจำแนก (Item Discrimination Index, D) ค่าเฉลี่ย (Mean, X) และประสิทธิภาพตามเกณฑ์มาตรฐาน 85/85 85 แรกหมายถึงร้อยละของคะแนนระหว่างเรียน, 85 หลังคือร้อยละของคะแนนสอบหลังสอน (final) ซึ่งผลการศึกษาประสิทธิภาพของสื่อการสอนจากรงควัตถุของใบหูกวางเป็นไปตามวัตถุประสงค์ ดังนี้ : $p_{pre} = 21.29\%$, $p_{post} = 89.21\%$, $D = 68.42\%$ X ก่อนเรียน = 11.92, X หลังสอน = 50.24 (คะแนนเต็มก่อนเรียน = หลังสอน = 56 คะแนน) X ระหว่างเรียน = 83.70 (คะแนนเต็ม 96 คะแนน) ประสิทธิภาพของสื่อสูงตามเกณฑ์มาตรฐาน = 87.18/89.71

7. จัดกิจกรรมโครงการวิทยาศาสตร์

นักศึกษาได้ทำโครงการวิทยาศาสตร์โดยศึกษาแนวทางการสกัดรงควัตถุของใบหูกวางและสมบัติอินดิเคเตอร์จากแอนโทไซยานินของใบหูกวาง การทำโครงการวิทยาศาสตร์นี้ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างสมบัติของรงควัตถุของใบหูกวางและรงควัตถุของพืชชนิดอื่นในสถานศึกษา

1) เรื่องอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ เปรียบเทียบสมบัติอินดิเคเตอร์จากแอนโทไซยานินจากใบหูกวางสีแดง ใบอ่อนของอโศก ใบโกสน ดอกเข็มแดง ดอกผักกาดรองและดอกหางนกยูง เปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์มาตรฐานที่ใช้ในชั้นเรียน คือ เมทิลออเรนจ์ โบรโมไทมอลบลู อะลิซาริน เยลโลว์ R และฟีนอล์ฟทาลีน

2) แอนโทไซยานินของใบอ่อนและใบสีเขียวของพืช เปรียบเทียบแอนโทไซยานินของใบอ่อนและใบสีเขียวของใบหูกวาง ใบอโศก ใบสายหยุดและใบเข็มแดง โดยทดสอบสมบัติของแอนโทไซยานินในสารที่มีฤทธิ์เป็นกรด-เบส และทดสอบกับ $FeCl_3$ การทดลองนี้เป็นแนวความคิดของนักศึกษา ซึ่งนำใบอ่อนของอโศกมาสกัดแอนโทไซยานินและทดสอบสมบัติของอินดิเคเตอร์ ผู้วิจัยจึงชี้แนะให้ทดสอบโดยเปรียบเทียบกับใบหูกวางและใบของพืชชนิดอื่น แอนโทไซยานินที่เกิดขึ้นในใบอ่อนของพืชตามที่ Alkema, J. และ Seager, S.L (1982, p.185) กล่าวถึง ส่วนการทดสอบด้วย $FeCl_3$ ผู้วิจัยชี้แนะให้ศึกษาจาก An Introduction to the Chemistry of Heterocyclic

Compounds (p.288) โดย Acheson (1967) และ Phytochemical Methods (p.54) โดย Harborne (1973)

3) เรื่องรงควัตถุของพืช นักศึกษาได้แนวคิดจากการศึกษาเรื่องการสกัดรงควัตถุของใบหูกวางและผู้วิจัยได้ชี้แนะเพิ่มเติมเรื่อง การสกัดแยกพลาไวโนอยด์สีเหลืองด้วยเอทิลอะซิเตต ซึ่งศึกษาจาก Phytochemical Methods โดย Harborne (1973, p.55-56)

ข้อเสนอแนะ

1. สื่อการสอนจากรงควัตถุของใบหูกวางสามารถนำไปใช้สอนวิทยาศาสตร์ได้ในระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย ระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพ (ปวช.) ระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง (ปวส.) และระดับอุดมศึกษาปีที่ 1-2 โดยศึกษาจากพืชชนิดอื่น ๆ ตามสภาพท้องถิ่น
2. การศึกษารงควัตถุของใบหูกวางซึ่งผู้วิจัยกำลังศึกษาต่อเนื่อง คือ การวัดปริมาณของรงควัตถุของใบหูกวางด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เนื่องจากมีตัวแปรแทรกซ้อนเกิดจากนักการภารโรงได้ตัดกิ่งและใบหูกวางต้นที่ผู้วิจัยศึกษาอยู่นั้นทำให้ข้อมูลที่ได้แปรปรวนไปบ้าง แต่ก็สามารถอธิบายผลได้ในหัวข้ออภิปรายผลการทดลอง
3. ผู้วิจัยมีแนวความคิดในการศึกษาเอกลักษณ์และสูตรโครงสร้างของรงควัตถุของใบหูกวางด้วย Infrared Spectroscopy (IR), Mass Spectroscopy (MS) และ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) ต่อไป