

การเตรียมตัวอย่างพืชสำหรับศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเพื่อลดการใช้สารเคมี

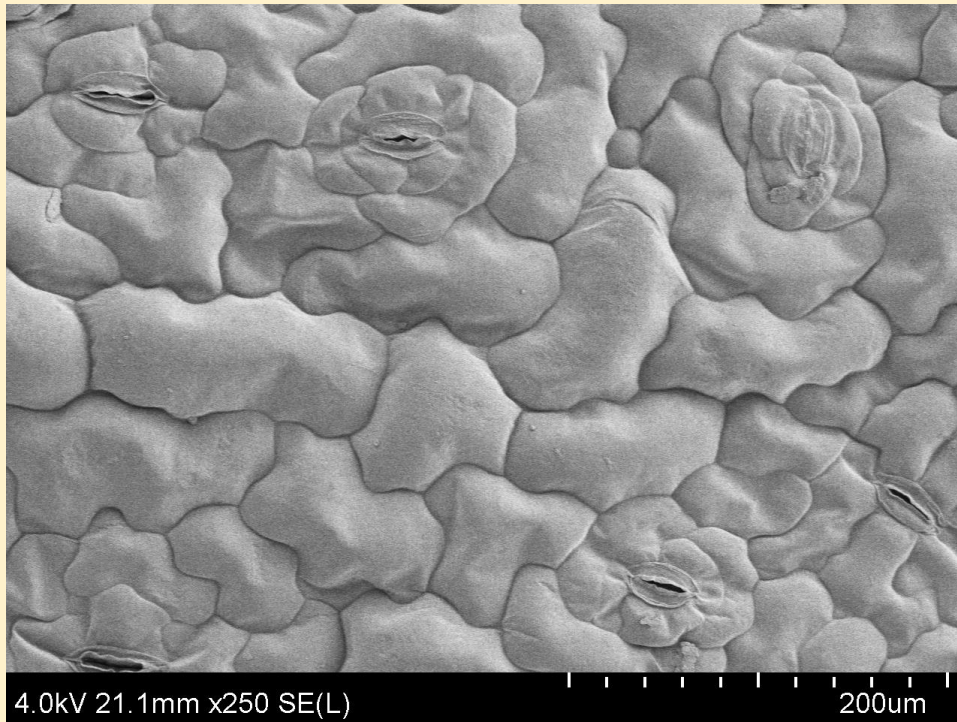
Reducing Chemical Usage in Preparing Plant Samples for Scanning Electron Microscope

ยุพดี เผ่าพันธ์

นักวิจัยชำนาญการพิเศษ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ปี 2564)

การใช้เทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) ในการศึกษาลักษณะโครงสร้างหรือรายละเอียดของตัวอย่างพืชจะต้องมีการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดซึ่งมีการทำงานภายใต้สภาวะสุญญากาศ เนื่องจากตัวอย่างพืชมีน้ำเป็นองค์ประกอบในปริมาณมาก โดยทั่วไปนักวิจัยนิยมใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการใช้สารเคมีเพื่อช่วยคงสภาพตัวอย่างไว้และเป็นวิธีการที่ทำให้สามารถคงสภาพตัวอย่างไว้ได้เป็นอย่างดีมีผลให้การศึกษารายละเอียดของตัวอย่างทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถศึกษารายละเอียดของตัวอย่างได้สมบูรณ์ แต่เป็นที่ทราบกันดีว่าในการเตรียมตัวอย่างนั้นต้องใช้สารเคมีหลายชนิดซึ่งมีอันตรายต่อผู้ใช้และอาจตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้ ดังนั้นเพื่อลดการใช้สารเคมีในการเตรียมตัวอย่างลง จึงมีการศึกษาถึงวิธีการที่มีความเหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างพืช และนักวิจัยพบว่าทางเลือกหนึ่งที่ผู้วิจัยสามารถนำมาใช้ในการเตรียมตัวอย่างได้คือ การทำให้ตัวอย่างพืชแห้ง ณ จุดเยือกแข็ง (Freeze Drying Method) ซึ่งเป็นการใช้อุณหภูมิ ณ จุดเยือกแข็ง ทำให้ตัวอย่างพืชแห้งได้ โดยอาศัยเครื่องมือที่เรียกว่า Freeze Dryer เป็นการทำให้ตัวอย่างพืชแห้งได้โดยที่เนื้อเยื่อยังมีรูปร่างค่อนข้างสมบูรณ์ โดยใช้เวลาอยู่ในช่วง 15-72 ชั่วโมงขึ้นกับชนิดของพืช หากเป็นพืชที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบค่อนข้างมากอาจจะใช้เวลานานขึ้นกว่าพืชที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบน้อยกว่า เช่น พืชน้ำ และพืชขบวนการจะใช้เวลาค่อนข้างนานกว่าพืชทั่วไป วิธีการนี้เป็นวิธีการที่ไม่มีความซับซ้อนทำได้ง่ายจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ดีและมีประสิทธิภาพที่สามารถรักษาโครงสร้างของพืชไว้ได้ อีกทั้งยังเป็นการลดอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นกับนักวิจัยจากความเป็นพิษของสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างพืชได้ และนอกจากนี้ยังเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ธาตุในระดับจุลภาค เช่นการวิเคราะห์ธาตุที่เป็นโลหะหนัก หรือเกลือชนิดต่างๆ โดยหากนักวิจัยต้องการที่จะศึกษาองค์ประกอบของตัวอย่างด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ธาตุด้วยเครื่อง Energy Dispersive X-ray Spectrometer ที่ติดตั้งไว้กับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ก็จะสามารถวิเคราะห์ธาตุได้โดยไม่มีการปนเปื้อนสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างพืชอีกด้วย ซึ่งมีตัวอย่างรายงานจากการศึกษาการเตรียมตัวอย่างใบตะไคร้ด้วยเครื่อง Freeze dryer ใช้เวลา 18-24 ชั่วโมง ส่วนการเตรียมตัวอย่างใบรางจืด ผักกระสังข์ กระวาน และเร่ว ใช้เวลา 15 ชั่วโมงขึ้นไป เพื่อนำตัวอย่างไปการศึกษาผลึกในเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และวิเคราะห์ธาตุด้วยเครื่อง Energy Dispersive X-ray Spectrometer ได้อย่างสมบูรณ์



ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของผิวใบผักกระสังซ์ที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

เอกสารอ้างอิง

1. Thanomchat P., Paopun Y. A Comparison between the two Techniques for Preparing Lemon Grass Leaf for Scanning Electron Microscopy. In 11st Asia-Pacific Microscopy Conference, the 33rd Microscopy Society, the 39th Anatomy Association-of Thailand Annual Conference. 23-27 May, Phuket, Thailand. pp. 310
2. Paopun Y., Thanomchat P., Seraphin S. Prismatic and Needle-Like Crystals of Calcium Oxalate in Thai Herbs. In Siriraj Medical Journal, Vol. 68 No. 3 (Supplement 1) 2016: S34-S35.
3. Hayat M.A. 2000. Principle and Techniques of Electron Microscopy Biological Applications. Cambridge University Press, Cambridge. 543 p.
4. Robinson F.G. Ehlers U., Herken R., Herrmann B., Mayer H., Schurmann F.W. 1987. Methods of preparation for Electron Microscopy. Springer-Verlag, New York. 190 p.