วารสารวิจัย
ราชภัฏเชียงใหม่

ประจำปีที่ 13 ฉบับที่ 1 ตุลาคม 2554 - มีนาคม 2555

Rajabhat Chiang Mai
University
Research Journal

ISSN 1513-8410

วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่

RAJABHAT CHIANG MAI RESEARCH JOURNAL

ประจำปีที่ 13 ฉบับที่ 1 ตุลาคม 2554 – มีนาคม 2555 ISSN 1513-8410

ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เรืองเดช วงศ์หล้า อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

ผู้ทรงคุณวุฒิที่กลั่นกรองผลงานทางวิชาการวารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่ ประจำปีที่ 13 ฉบับที่ 1

ศ.ดร.สายสมร	ลำยอง	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.อาวรณ์	โอภาสพัฒนกิจ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.วิบูลย์	รัตนาปนนท์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อ.ดร.สินธุ์	สโรบล	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
อ.ดร.กรรณิกา	เจิมเทียนชัย	มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
รศ.ดร.ประพันธ์	ธรรมไชย	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.สนิท	สัตโยภาส	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ไพรัช	โกศัลย์พิพัฒน์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ศุภกฤษ	เมธีโภคพงษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ณัฏฐพร	จักรวิเชียร	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ผศ.ดร.ชวิศ	จิตรวิจารณ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ผศ.สงวนศรี	วรรณสูตร	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

บรรณาธิการ

ผศ.มนตรี	ศิริจันทร์ชื่น	ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

อ.ดร.จิติมา	กตัญญู	รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา
ผศ.วิไลลักษณ์	กิติบุตร	รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

หัวหน้ากองบรรณาธิการ

ผศ.ดร.นครินทร์	พริบไหว	รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

กองบรรณาธิการ

น.ส.ศิริพร	ริพล	รักษาการหัวหน้าสำนักงานสถาบันวิจัยและพัฒนา
น.ส.ณัฐธยาน์	สมาเกตุ	นักวิจัย
น.ส.กรทอง	ลีสุวรรณ์	นักวิจัย
นายปรัชญา	ไชยวงค์	นักวิชาการคอมพิวเตอร์
น.ส.กรรณิกา	ซาซง	นักวิชาการเงินและพัสดุ
นางพิมพรรณ	สูญโญ	เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป
นายวชิราวุธ	สุวรรณคำ	เจ้าหน้าที่ธุรการ

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

อาคารราชภัฏเฉลิมพระเกียรติ ชั้น 14 เลขที่ 202 ถ.โชตนา ต.ช้างเผือก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50300

โทรศัพท์/โทรสาร 0-5388-5950

ข้อความหรือข้อคิดเห็นในวารสารนี้เป็นของผู้เขียนมิใช่ความรับผิดชอบของสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

ออกแบบและพิมพ์ที่ หจก.วนิดาการพิมพ์ โทรศัพท์ 08-1783-8569

คำนำ

วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่เป็นวารสารทางวิชาการที่มีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ แลกเปลี่ยนประสบการณ์ ความรู้ งานวิจัย งานวิชาการและงานวิทยานิพนธ์ของคณาจารย์ บุคลากร นักศึกษาของมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่และสถาบันการศึกษาอื่น ๆ ตลอดจนนักวิจัยทั่วไป มีการพิมพ์เผยแพร่ปีละ 2 ฉบับ (ประจำเดือนตุลาคม-เดือนมีนาคม และเดือนเมษายน-เดือนกันยายน) ดำเนินการเผยแพร่โดยจัดส่งให้สถาบันอุดมศึกษาทุกสถาบัน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สำนักงานการอุดมศึกษาและหน่วยงานวิจัยต่าง ๆ การตีพิมพ์ต้นฉบับที่เสนอขอลงตีพิมพ์จะต้องไม่เคยลงตีพิมพ์ในวารสารใด ๆ มาก่อนหรือไม่อยู่ระหว่างเสนอขอลงตีพิมพ์ในวารสารอื่น และต้องผ่านการประเมินกลั่นกรองให้ความเห็นและตรวจแก้ไขโดยผู้ทรงคุณวุฒิในสาขาที่เกี่ยวข้อง เมื่อได้รับการตีพิมพ์ในวารสารนี้ถือเป็นสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ การนำต้นฉบับไปตีพิมพ์ใหม่ต้องได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่และเจ้าของต้นฉบับก่อน ผลการวิจัยและความคิดเห็นที่ปรากฏในบทความต่าง ๆ เป็นความรับผิดชอบของผู้เขียนบทความ ทั้งนี้ไม่รวมความผิดพลาดอันเกิดจากเทคนิคการพิมพ์

ในฉบับนี้เป็นปีที่ 13 ฉบับที่ 1 เวลาการดำเนินการอยู่ในช่วงเดือนตุลาคม 2554 - มีนาคม 2555 วารสารฉบับนี้ได้นำเสนอบทความวิจัย 13 เรื่อง มีความเด่นในด้านวิชาการเพื่อรับใช้สังคม

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ขอขอบคุณนักวิจัยทุกท่านที่ส่งบทความวิจัยมาลงในวารสาร และหวังว่าบทความดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในแวดวงวิชาการที่เกี่ยวข้องต่อไป

บรรณาธิการ
วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่

สารบัญ

01 **การจัดการความรู้เพื่อพัฒนาการออกแบบผลิตภัณฑ์และวิเคราะห์ศักยภาพธุรกิจชุมชน อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่**

รองศาสตราจารย์อัญชลี โสมดี

15 **เทคนิคการผลิตเครื่องปั้นดินเผาแบบขัดมันเพื่อการออกแบบผลิตภัณฑ์ร่วมสมัย**

อาจารย์เสน่ห์ วงค์สุฤทธิ์

25 **การจัดการความรู้ เพื่อพัฒนาธุรกิจชุมชนกลุ่มตัดเย็บบ้านดอกแดง ตำบลสง่าบ้าน อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่**

ผู้ช่วยศาสตราจารย์เดชวิทย์ นิลวรรณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธวัชชัย บุญมี
อาจารย์ศุภฤกษ์ ธาราพิทักษ์วงศ์ อาจารย์สุวลักษณ์ อ้วนสอาด
อาจารย์พุทธมน สุวรรณอาสน์ และอาจารย์เติมพันธ์ บุญมาประเสริฐ

41 **การพัฒนาระบบสารสนเทศเพื่อส่งเสริมผลิตภัณฑ์ OTOP ของตำบลสะลวง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่**

อาจารย์บุษราภรณ์ มหัทธนชัย

51 **การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้สกุลแวนด้าฟ้ามุ่ยในอาหารดัดแปลง โดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ**

อาจารย์อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรี หาญเมืองใจ

61 **การสกัดวิตามินอีจากดิสทิลเลตของน้ำมันรำข้าว**

อาจารย์ธิดารัตน์ หน่อสุวรรณ

81 การจัดการเรียนการสอนโดยยึดผู้เรียนเป็นสำคัญ รายวิชา กฎหมายและมาตรฐานอาหาร : กรณีศึกษา คุณภาพและมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์อาหารของฝากจากจังหวัดเชียงใหม่

อาจารย์นักสิทธิ์ ปัญโญใหญ่

95 ความอดทนของระบบไหลเวียนโลหิตและเปอร์เซ็นต์ไขมันของประชาชนหญิงที่ออกกำลังกายด้วยการเต้นแอโรบิกในเขตเทศบาลนครเชียงใหม่ พ.ศ.2552

นายพรหมวสันต์ ทาโน รองศาสตราจารย์ธงชัย เจริญทรัพย์มณี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธาวุฒิ ปลื้มสำราญ

105 ระดับทักษะฟุตบอลของนักเรียนชายช่วงชั้นที่ 3 ในเขตพื้นที่การศึกษาเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2551

นายเศรษฐโชค สิริภักดีกุล รองศาสตราจารย์ผาณิต บิลมาศ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธาวุฒิ ปลื้มสำราญ

115 ผลของโปรแกรมสุขศึกษาที่มีต่อการพัฒนาพฤติกรรมสุขภาพของเด็กวัยเรียนธาลัสซีเมีย

นางสาวมุจลินท์ อิมิวัฒน์

129 การใช้กระบวนการจิตตปัญญาศึกษาในการพัฒนาการรู้คิดของนักศึกษาระดับปริญญาตรี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์บุญวัฒนา บุญธรรม

141 ความพึงพอใจของนิสิต รป.ม. 13 ศูนย์การศึกษาจันทบุรีที่มีต่อการเรียนวิชาการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อการบริหาร

อาจารย์ ดร.พงษ์เสฐียร เหลืองอลงกต

149 ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ - สารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

นางสาวเกตุนภา ไทยหนุ่ม อาจารย์ ดร.เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์ และอาจารย์ ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก

ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ – สารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Hydrogen peroxide – An Effective Agent for the Sterilization of Plant Tissue Culture Media.

นางสาวเกตุนภา ไทยหนุ่ม อาจารย์ ดร.เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์
และอาจารย์ ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก
สาขาวิชาเทคโนโลยีและพัฒนาการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

RAJABHAT CHIANG MAI
Research Journal

ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ – สารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Hydrogen peroxide – An Effective Agent for the Sterilization of Plant Tissue Culture Media.

นางสาวเกตุนภา ไทยหนุ่ม อาจารย์ ดร.เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์ และอาจารย์ ดร.ธัญญา ทะพิงค์แก
สาขาวิชาเทคโนโลยีและพัฒนาการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

บทคัดย่อ

วิธีการอย่างง่ายในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยใช้สารเคมีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) แทนการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ได้ถูกพัฒนาขึ้นมาในงานทดลองเพื่อทำการเปรียบเทียบวิธีการแบบดั้งเดิมในการฆ่าเชื้ออาหาร โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร Murashige and Skoog, MS (1962) เป็นอาหารพื้นฐาน กำหนดให้อาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็น control เปรียบเทียบกับอาหารที่เติม H_2O_2 อัตราความเข้มข้น 0, 0.0025, 0.005, 0.075 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์ v/v ทำการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อนเป็นเวลา 17 สัปดาห์ ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ผลการทดลองพบว่า อาหารที่ไม่มีการฆ่าเชื้อเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 และปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสัปดาห์ที่ 11 สำหรับอาหารที่ใส่ H_2O_2 ความเข้มข้น 0.0025 เปอร์เซ็นต์ v/v เกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นในสัปดาห์ที่ 13 และมีการปนเปื้อนเชื้ออย่างต่อเนื่องในสัปดาห์ต่อ ๆ ไป ส่วนอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อาหารที่เติม H_2O_2 ความเข้มข้น 0.005 0.075 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์ v/v ไม่พบการปนเปื้อนเกิดขึ้นในระยะเวลา 17 สัปดาห์

คำสำคัญ : ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ การฆ่าเชื้อ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ABSTRACT

Simple sterile culture methods for preparing sterile medium without autoclaving using hydrogen peroxide (H_2O_2) was developed. In this work we compared traditional methodology with a protocol that easily to sterilize plant tissue culture media Murashige and Skoog, MS (1962), with additional of H_2O_2 into plant tissue culture media as chemical sterilizer. A series of H_2O_2 concentration 0, 0.0025, 0.0050 and 0.0100 % v/v was used to control contamination during 17 weeks experimental period. The results showed that the MS media without H_2O_2 and supplemented with 0.0025 % v/v H_2O_2 exhibited many variations with bacterial and fungal

contaminations after treatment for 5 and 13 weeks respectively, and the microbial contaminations were continue to increased. While the MS media supplemented with 0.0050, 0.0075 and 0.0100 % v/v H_2O_2 provided completed sterilization of the medium for 17 weeks experimental period.

Keywords : Hydrogen peroxide, Sterilization, Tissue culture media

บทนำ

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในงานขยายพันธุ์พืชอย่างกว้างขวาง มีการสร้างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการค้ากันอย่างแพร่หลาย แต่ข้อเสียของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือ การสร้างห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และสารเคมีเฉพาะทางมีราคาแพง เช่น หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclaves) ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Air sterile cabinets) ซึ่งต้องใช้ต้นทุนสูงในการจัดสรร อีกทั้งยังต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อที่ซับซ้อนและยุ่งยาก ผู้ปฏิบัติงานต้องมีการเรียนรู้ และฝึกปฏิบัติตนให้มีความชำนาญจึงจะสามารถปฏิบัติได้

ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้พยายามหาวิธีการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงพืช ด้วยการใช้สารเคมีแทนการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ Yanagawa *et al*. (1995) ศึกษาการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้คลอรีนพ่นลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS โดยไม่นึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าสามารถฆ่าเชื้อได้ และไม่มีผลต่อส่วนเนื้อเยื่อของดอกเบญจมาศและคาร์เนชั่นที่นำมาเพาะเลี้ยง Matsumoto *et al.* (2005) ศึกษาฆ่าเชื้อโดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS โดยไม่นึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าที่ความเข้มข้น 0.002 เปอร์เซ็นต์ w/v มีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการฆ่าเชื้อพวกแบคทีเรียบางชนิด แต่ที่ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ w/v และ pH 5.4 เท่านั้นจึงจะสามารถควบคุมและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่วิธีนี้อาหารจะมีสภาพเป็นกรดจึงอาจเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชบางชนิดได้ Rafael *et al.* (2001) พบว่า ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide ; H_2O_2) สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในช่วงแรกได้ Snow (1985) ได้ทดลองผสม H_2O_2 ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.005 เปอร์เซ็นต์ w/v สามารถฆ่าเชื้อได้ และไม่เป็นพิษต่อโปรโตคอมของกล้วยไม้ ส่วนการทดลองของ Curvetto *et al.* (2006) ประสบความสำเร็จในการทดลองนำ H_2O_2 มาใช้ในการฆ่าเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 0.005 0.01 0.015 และ 0.02 เปอร์เซ็นต์ p/v ลงไปบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดอกลิลลี่ โดยต้องให้ความร้อนกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อน 40 นาที แล้วรอจนอุณหภูมิลดลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงเติม H_2O_2 แล้วนำไปให้ความร้อนอีก 30 นาที เปรียบเทียบกับวิธีการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ พบว่า การปนเปื้อนของวิธีการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ต่ำกว่าการใช้ H_2O_2 แต่ก็เป็นอัตราที่ยอมรับได้ ยิ่งไปกว่านั้นการใช้ H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ p/v ส่งผลให้หัวย่อยของลิลลี่มีการเจริญและน้ำหนักสดที่ดีกว่าที่ใช้วิธีการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ปัจจุบันในประเทศไทยได้มีการใช้ H_2O_2 ควบคุมการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ด (ธัญญา, 2552; ธัญญา, 2553) วิธีการดังกล่าวสามารถทำได้ง่าย โดยไม่ต้องใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำในการนึ่งฆ่าเชื้อวัสดุเพาะและไม่ใช้ตู้เขี่ยเนื้อเยื่อเห็ด

H_2O_2 เป็นของเหลวที่ไม่คงตัว ไม่มีสี มีรสขม มักทำอยู่ในรูปสารละลายในน้ำความเข้มข้น 3 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (กองควบคุมวัตถุเสพติดสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2552) เป็นสารทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคที่ผิวหนัง ใช้ในทางเภสัชกรรม ทำน้ำยาบ้วนปากและน้ำยาฆ่าเชื้อ (McDonnell and Russell, 1999) ใช้ฟอกสีฟันฟอกสีในอาหาร หาซื้อได้ง่าย และมีความปลอดภัยในการใช้งานสูง ดังนั้น H_2O_2 จึงเป็นสารฆ่าเชื้อที่มีความเหมาะสมต่อการนำมาทดลองในครั้งนี้ ซึ่งนักวิจัยได้ทำการวิจัยและพัฒนาจนได้วิธีการที่ไม่ซับซ้อน และที่สำคัญไม่ต้องใช้

หม้อนึ่งความดันไอน้ำในการฆ่าเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งสามารถนำไปใช้ทดแทนวิธีดั้งเดิมที่ใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำได้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่เหมาะสมสำหรับการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อแทนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ

ระเบียบวิธีวิจัย

ศึกษาประสิทธิภาพของ H_2O_2 ต่อการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร Murashige and Skoog (1962) หรือ MS วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ วิทยาเขตสะลวง-ขี้เหล็ก

ทำการทดลองโดยเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น 7 กรัมต่อลิตร pH 5.8 แบ่งการทดลองออกเป็น 6 กรรมวิธี โดยเปรียบเทียบอาหารสูตร MS ที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำกับการเติม H_2O_2 ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอัตรา 0 0.0025 0.0050 0.0075 และ 0.0100 เปอร์เซ็นต์ v/v บรรจุอาหารที่เตรียมได้ลงในขวดแก้วขนาดปริมาตร 3 ออนซ์ขวดละ 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปเก็บรักษาในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ จากนั้นบันทึกผลการทดลองจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 17 สัปดาห์

ผลการวิจัยและการอภิปราย

การศึกษาการใช้ H_2O_2 ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS เพื่อควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชพบว่า อาหารที่ไม่เติม H_2O_2 และไม่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ เกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 และในระยะเวลาต่อมามีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 100 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 11 ส่วนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เติม H_2O_2 ความเข้มข้น 0.0025 เปอร์เซ็นต์ v/v มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในสัปดาห์ 13 และมีการปนเปื้อนเชื้ออย่างต่อเนื่อง และให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการเพิ่ม H_2O_2 ที่ความเข้มข้นอื่น ๆ (ตารางที่ 1) สำหรับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่นึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ และอาหารที่เติม H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 0.0050 0.0075 0.0100 เปอร์เซ็นต์ v/v พบว่าไม่เกิดการปนเปื้อนขึ้นเลยตลอดระยะเวลาการทดลอง 17 สัปดาห์

ตารางที่ 1 ร้อยละของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ (17 สัปดาห์)

Treatment	สัปดาห์ที่						
	5	7	9	11	13	15	17
Autoclaved	100 ± 0 a[1/]	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a
Non - Autoclaved	86.7 ± 5.8 b	60 ± 0 b	30 ± 10 b	0 b	0 c	0 c	0 c
H_2O_2 0.0025	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	90 ± 10 b	80 ± 0 b	70 ± 10 b
H_2O_2 0.0050	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a
H_2O_2 0.0075	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a
H_2O_2 0.0100	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a
F-test	**	**	**	**	**	**	**

[1/]: คือ อักษรกำกับภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

อัตราความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS ในระยะเวลา 17 สัปดาห์ได้อยู่ในช่วง 0.005 – 0.010 เปอร์เซ็นต์ v/v โดยปกติทั่วไปความเข้มข้นของสารเคมีที่สูงเกินไปอาจมีผลต่อเนื้อเยื่อของพืชบางชนิดที่มีปฏิกิริยาไวต่อสารเคมี ทำให้เนื้อเยื่อพืชชนิดนั้นเสียหายและตายได้ ดังนั้น H_2O_2 ความเข้มข้น 0.005 เปอร์เซ็นต์ v/v มีความเหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากมีความเข้มข้นของ H_2O_2 ในอาหารต่ำที่สุด แต่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อและควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ได้ในระยะเวลาถึง 17 สัปดาห์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการเติม H_2O_2 0.0075 และ 0.0100 เปอร์เซ็นต์ v/v จึงมีความเหมาะสมมากที่สุดในการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ผลการศึกษาสอดคล้องกับการทดลองของ Curvetto *et al*. (2006) ที่แนะนำให้ใช้ H_2O_2 ความเข้มข้น 0.005 เปอร์เซ็นต์ p/v แต่ต่างกันที่วิธีการทดลอง Curvetto *et al*. (2006) ซับซ้อนกว่า โดยต้องให้ความร้อนกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อน 40 นาที แล้วรอจนอุณหภูมิลดลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงเติม H_2O_2 แล้วนำไปให้ความร้อนอีก 30 นาที ส่วน McAlpine (1947) ได้นำเอา H_2O_2 ความเข้มข้น 0.009 – 0.180 เปอร์เซ็นต์ w/v มาใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้โดยที่อาหารนั้นไม่จำเป็นต้องผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของเชื้อราโดยไม่มีผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้

งานวิจัยในครั้งนี้ถือได้ว่าเป็นจุดเริ่มต้นที่ดีในการนำไปต่อยอด เพื่อทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับพืชชนิดอื่นและยังเพิ่มศักยภาพให้กับผู้ผลิตรายย่อยที่ต้องการขยายพันธุ์พืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีต้นทุนต่ำ โดยลดความยุ่งยากในการเตรียมห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์ที่สิ้นเปลืองต่าง ๆ เช่น หม้อนึ่งความดันไอน้ำ และตู้ย้ายเนื้อเยื่อ เป็นต้น ซึ่งมีราคาสูง อย่างไรก็ตามการใช้วิธีการดังการวิจัยในครั้งนี้ก็ยังมีความจำเป็นต้องอาศัยการใช้สถานที่ที่มีความสะอาดเป็นพื้นฐานอยู่ด้วยเช่นกัน จึงจะทำให้การผลการทดลองเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการศึกษา และคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กองควบคุมวัตถุเสพติด สำนักคณะกรรมการอาหารและยา. (2552). **ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide).** http://www.fda.moph.go.th/fda-net/html/product/addict/precursor/Hydrogen%20peroxide.html. (11 มีนาคม 2554)

ธัญญา ทะพิงค์แก. (2552). **การผลิตเชื้อเห็ดนางรมแบบง่าย.** รายงานวิจัย. เชียงใหม่ : สถาบันวิจัยและพัฒนา. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

_____. (2552). **การเพาะเห็ดถั่งเช่า.** เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการเพาะเห็ดถั่งเช่า รุ่นที่ 1.9 ตุลาคม 2553. เชียงใหม่ : สถาบันวิจัยและพัฒนา. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

รังสฤษฎ์ กาวีตะ. (2541). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการคิดและเทคนิค**. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุบล สมทรง. (2554). **ข้อจำกัดสำหรับการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. http://km.pbru.ac.th/index. (11 มีนาคม 2554)

Curvetto, N., Marinangeli, P, and Mockel, G. (2006). “Hydrogen peroxide in micropropagation of *Lilium.* A comparison with a traditional methodology” **Biocell**. 30 : 497-500.

Mcalpine, K.L. (1947). “Germination of orchid seeds” **The Orchid Review**. 55 : 21-22.

McDonnell G. and Russell A.D. (1999). “Antiseptics and Disinfectants : Activity, Action and Resistance” **Clin. Microbiol. Rev**. 12 : 147-179.

Matsumoto K., Coelho M.C.F., Monte D.C. and Teixeira. (2005). “Sterilization of non-autoclavable vessels and culture media by sodium hypochlorite for *in vitro* culture International Symposium on Biotechnology of Fruit Species” **Biotech Fruit**. http://www.actahort.org. (22 มีนาคม 2554)

Rafael, M.A., Valle, T., Babiana, M.J. and Corchete, P. (2001). “Correlation of resistance and H_2O_2 production of *Ulmus pumila* and *Ulmus campestris* cell suspension cultures inoculated with *Ophiostoma novo-ulmi*” **Physiologia Plantarum**. 111 : 512-518.

Snow R., (1985). “Improvements in methods for the germination of orchid seeds” **Amer Orch Soc Bull 54**. http://www.mendeley.com/research/improvement-methods-germination-orchid-seeds. (22 มีนาคม 2554)

Yanagawa T., Tanaka R. and Funai R. (1995). “Application of disinfectants to orchid seeds, plantlets and medium as a means to prevent *in vitro* contamination” **Lyndleyana**. 10 : 33-36.

บทปริทัศน์

.....

เรื่อง ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ - สารที่มีประสิทธิภาพ ในการฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชวิศ จิตรวิจารณ์
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคโนโลยีในการขยายพันธุ์พืชที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถขยายพันธุ์พืชได้อย่างรวดเร็ว มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพ่อแม่ มีขนาดสม่ำเสมอ และได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น แต่มีข้อจำกัดที่สำคัญคือมีการลงทุนสูง ต้องทำในห้องปฏิบัติการในสภาพที่ปลอดเชื้อ ใช้เครื่องมือและสารเคมีเฉพาะทางที่มีราคาสูง โดยผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทาง ทำให้มีต้นทุนผลผลิตต่อหน่วยสูงไปด้วย การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศ โดยใช้สารเคมีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) แทนการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เป็นความคิดสร้างสรรค์ของนักวิจัยที่สร้างองค์ความรู้ใหม่ในการฆ่าเชื้อในอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร Murashige and Skoog, MS (1962) เป็นอาหารพื้นฐาน กำหนดให้อาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็น control เปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อ และอาหารที่เติม H_2O_2 อัตราความเข้มข้น 0, 0.0025, 0.005, 0.075 และ 0.010 เปอร์เซ็นต์ v/v ทำให้นักวิจัยได้ค้นพบว่าการใช้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 0.005 - 0.010 เปอร์เซ็นต์ v/v มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อและควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ได้ในระยะเวลาถึง 17 สัปดาห์

ข้อค้นพบจากการวิจัยนี้ผู้สนใจสามารถศึกษาและนำไปต่อยอดทดลองกับการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชนิดอื่นได้ เนื่องจากมีวิธีการที่ง่าย สะดวก และมีต้นทุนต่ำ เหมาะสำหรับวิสาหกิจชุมชน และผู้ประกอบการรายย่อยที่มีสถานที่ที่สะอาดสามารถนำองค์ความรู้การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศโดยใช้สารเคมีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์นี้ไปใช้ในการขยายพันธุ์พืชให้เหมาะสมกับบริบทของท้องถิ่นและความต้องการของตลาดได้เป็นอย่างดี

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิวารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่

ศ.ดร.กิตติชัย	วัฒนานิกร	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ.ดร.มนัส	สุวรรณ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ.ดร.อารี	วิบูลย์พงษ์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ.อำนวย	ขนันไทย	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.โกสุม	สายใจ	มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
ศ.ดร.สายสมร	ลำยอง	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.อาวรณ์	โอภาสพัฒนกิจ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.วิบูลย์	รัตนาปนนท์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.สมพงษ์	วิทยศักดิ์พันธุ์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.ธเนศ	ศรีวิชัยลำพันธ์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.สมศักดิ์	ภู่วิภาดาวรรธน์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.เพทาย	พงษ์เพียจันทร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อ.ดร.สินธุ์	สโรบล	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
อ.ดร.กรรณิกา	เจิมเทียนชัย	มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
ทพ.ดร.สุรสิงห์	วิศรุตรัตน์	สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเชียงใหม่
รศ.ดร.อมรา	ทีปะปาล	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.ดร.วรรณวดี	ม้าลำพอง	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.ดร.ประพันธ์	ธรรมไชย	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.น.สพ.ศุภชัย	ศรีธิวงศ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.ดร.เกตุมณี	มากมี	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.ดร.วีระศักดิ์	ชมภูคำ	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.สนิท	สัตโยภาส	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.อัญชลี	โสมดี	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.พิทยาภรณ์	มานะจุติ	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ผศ.ดร.ปทุมรัตน์	นาคนิษฐา	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ผศ.ดร.ชวิศ	จิตรวิจารณ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ผศ.ดร.อโนดาษ์	รัชเวทย์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ผศ.ณรงค์	สุขประเสริฐ	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.เฉลิมชัย	ไชยชมภู	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ไพรัช	โกศัลย์พิพัฒน์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ศุภกฤษ	เมธีโภคพงษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ณัฏฐพร	จักรวิเชียร	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ทัตพร	คุณประดิษฐ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ธัญญา	ทะพิงค์แก	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.กฤษฎา	บุญชม	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.วิศนี	สุประดิษฐอาภรณ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.วัชรี	หาญเมืองใจ	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.วรจิตต์	เศรษฐพรรค์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.ณัฐญา	ตันตานนท์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
อ.ดร.กาญจนา	สุระ	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ผศ.เรณู	อรรฐาเมศร์	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

Rajabhat Chiang Mai
University
Research Journal

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
โทรศัพท์/โทรสาร 0-5388-5950
http://www.research.cmru.ac.th