# การออกแบบและการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อรองรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่

ธนกิจ แก่นเกษ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

**ใบรับรองวิทยานิพนธ์**

**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้**

**ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ**

---

ชื่อเรื่อง

**การออกแบบและการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อรองรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่**

โดย

**ธนกิจ แก่นเกษ**

**พิจารณาเห็นชอบโดย**

ประธานกรรมการที่ปรึกษา .....

(รองศาสตราจารย์ ดร.นพมณี โทปุญญานนท์)

วันที่ 8 เดือน ก.พ. พ.ศ. 2556

กรรมการที่ปรึกษา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จาตุพงศ์ วาฤทธิ์)

วันที่ 11 เดือน ก.พ. พ.ศ. 2556

กรรมการที่ปรึกษา .....

(อาจารย์ ดร.นลิน วงศ์ขัติยะ)

วันที่ 11 เดือน ก.พ. พ.ศ. 2556

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์)

วันที่ 13 เดือน ก.พ. พ.ศ. 2556

**บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว** .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จาตุพงศ์ วาฤทธิ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 19 เดือน ก.พ. พ.ศ. 2556

**ชื่อเรื่อง** การออกแบบและการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อรองรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่

**ชื่อผู้เขียน** นายธนกิจ แก่นเกษ

**ชื่อปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

**ประธานกรรมการที่ปรึกษา** รองศาสตราจารย์ ดร.นพมณี โทปุญญานนท์

## บทคัดย่อ

ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวขนาดใหญ่ (Temporary Immersion Bioreactor-TIB) 20 ลิตร เป็นเทคโนโลยีการผลิตต้นพืชสมัยใหม่ที่สามารถผลิตต้นกล้าอ้อย 5,000 ต้นต่อภาชนะต่อรอบในระยะเวลา 4 สัปดาห์ หากมีการปนเปื้อนเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยจะเกิดความเสียหายแก่ระบบ TIB มาก โดยเฉพาะไม่สามารถผลิตต้นอ้อยได้ตามเป้าหมายของการผลิต ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงอ้อยด้วยระบบนี้ ต้องมีการควบคุมการปนเปื้อนจากสภาพแวดล้อมในการปฏิบัติงานอย่างเคร่งครัด ในงานวิจัยนี้ มุ่งเน้นการวิเคราะห์และการออกแบบห้องปฏิบัติการเดิมเพื่อปรับปรุงให้เหมาะสมกับการรองรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ดังกล่าวข้างต้น โดยใช้วิธีการวิเคราะห์การไหลของผู้ปฏิบัติงานและวัสดุทั้งก่อนและหลังการปรับปรุง และวิเคราะห์จุลินทรีย์หลังการปรับปรุงห้องปฏิบัติการ ในการวิเคราะห์ผังห้องปฏิบัติการเดิม พบว่าการไหลของผู้ปฏิบัติงานและวัสดุแบบข้ามกันทำให้มีความเสี่ยงของการปนเปื้อนเกิดขึ้นได้หลายจุด เช่น ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์และอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ขั้นตอนการปฏิบัติงานในห้องถ่ายเนื้อเยื่อพืช ตลอดจนการนำภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงพืชในตำแหน่งเดิมของประตูห้องที่สามารถเปิดออกสู่ภายนอกได้โดยตรง ผลการดำเนินงานได้มีการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยการแบ่งสัดส่วนห้องใหม่ให้เป็นห้องติดตั้งและควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ 20 ลิตร ห้องตัดถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ และได้เพิ่มส่วนของห้องเปลี่ยนเสื้อผ้า เพื่อควบคุมการเข้าออกและมีการรักษาสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงานก่อนเข้าปฏิบัติงาน และเลือกใช้วัสดุก่อสร้างตามหลักการออกแบบตามหลักสุขอนามัย เพื่อลดการสะสมของจุลินทรีย์ปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการ หลังการใช้ห้องปฏิบัติการใหม่มีการประเมินพบว่าสามารถควบคุมความเสี่ยงของการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมในขณะปฏิบัติงานได้

| | |
|---|---|
| **Title** | Design and Improvement of Plant Tissue Culture Laboratory for Supporting Large-scale Temporary Immersion Bioreactor System |
| **Author** | Mr. Tanakit Kaenket |
| **Degree of** | Master of Science in Biotechnology |
| **Advisory Committee Chairperson** | Associate Professor Dr. Nopmanee Topoonyanont |

## ABSTRACT

The 20-liter temporary immersion bioreactor (TIB) system is a modern technology used for sugarcane plantlet production with a rate of 5,000 plantlets per container per cycle in a 4 week duration. In a large-scale production, a slight contamination can cause severe damage to plant multiplication, causing the inability to reach production target. In the plant tissue culture laboratory where sugarcane plantlets are being multiplied using this system, there is a great need to strictly control any contamination from the environment. The objective of this study, therefore, was to design and improve the plant tissue culture laboratory that would be capable of supporting a large-scale TIB system. The study was conducted to analyze the original design of plant tissue culture laboratory by applying the work and material flow analysis, principles of hygienic design, and microbial analysis after laboratory improvement. Results showed that work flow of the original laboratory caused high risk for contamination to plant tissue culture process involving cross-flow during preparation of instruments and culture media for plant tissue culture, laboratory working procedures and transport of TIB containers to the culture room. The original laboratory was designed with each door being able to open up directly outwards, causing a high risk for contamination into the culture room. In its renovation, an improved floor plan was designed by re-sectioning the laboratory into the 20-liter TIB with system control room, transfer room for large-scale bioreactor and quarantine room to control and improved hygiene operator to minimize input contamination. Selection of construction materials to control and prevent laboratory contamination was considered, thus contributing to the prevention of any risk for microbial contamination from the environment during laboratory work.

# กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.นพมณี โทปุญญานนท์ กรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จาตุพงศ์ วาฤทธิ์ และอาจารย์ ดร.นลิน วงศ์ขัตติยะ ที่ให้ความช่วยเหลือสนับสนุน พร้อมทั้งให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการแก้ไขปัญหา ระหว่างการดำเนินการวิจัย อีกทั้งยังสละเวลาอันมีค่าในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนคอยให้กำลังใจข้าพเจ้ามาโดยตลอด ทั้งนี้ข้าพเจ้ากราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์มาเป็นประธานคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ให้แก่ข้าพเจ้า และให้คำแนะนำในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. ภูษิตา วรรณิสสร และคณะ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่อนุเคราะห์การตรวจสอบเชื้อภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ จึงขอกราบขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่อุดหนุนการวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2555 สนับสนุนการศึกษาวิจัย และวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ที่ได้มอบโอกาสที่ดีในการศึกษาครั้งนี้ รวมถึงน้องๆ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือโดยตลอด

ประโยชน์ และความดีอันเนื่องมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะพึงมีเพียงใดขอมอบแด่คุณพ่อคุณแม่ผู้อบรมเลี้ยงดูและให้การศึกษา ตลอดจนครูอาจารย์ที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ และอบรมสั่งสอนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

ธนกิจ แก่นเกษ

มกราคม 2556

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อ | (3) |
| ABSTRACT | (4) |
| กิตติกรรมประกาศ | (5) |
| สารบัญ | (6) |
| สารบัญตาราง | (8) |
| สารบัญภาพ | (9) |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 2 |
| ขอบเขตของการวิจัย | 3 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 3 |
| บทที่ 2 การตรวจเอกสาร | 4 |
| การขยายพันธุ์อ้อยแบบดั้งเดิม | 4 |
| เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช | 4 |
| หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช | 5 |
| หลักการออกแบบห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช | 7 |
| ลักษณะของโครงสร้างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช | 11 |
| การจัดการรักษาความสะอาดของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช | 13 |
| ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบอาหารแข็ง | 13 |
| ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว | 14 |
| การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช | 15 |
| บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน | 18 |
| อุปกรณ์และสารเคมี | 18 |
| วิธีการดำเนินงาน | 19 |
| บทที่ 4 ผลและการอภิปรายผลการวิจัย | 25 |
| ผลการทดลองขั้นตอนที่ 1 การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | 25 |

หน้า

ผลการทดลองขั้นตอนที่ 2 การออกแบบผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่สำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และการเลือกวัสดุก่อสร้าง 35
ผลการทดลองขั้นตอนที่ 3 การก่อสร้างและการปรับปรุงห้องปฏิบัติการให้เหมาะสมกับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร 43
ผลการทดลองขั้นตอนที่ 4 การตรวจสอบเชื้อในอากาศภายห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) 64
ผลการทดลองขั้นตอนที่ 5 การทดสอบระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ที่ติดตั้งในห้องปฏิบัติการใหม่ 67
ผลการทดลองขั้นตอนที่ 6 การจัดทำข้อกำหนดในการใช้งานและการดูแลรักษาความสะอาดของแต่ละห้องภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร 71
การดูแลห้องและการทำความสะอาดภายในห้องปฏิบัติการ 73
อภิปรายผลการทดลอง 74
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 78
บรรณานุกรม 79
ภาคผนวก 84
ภาคผนวก ก การเตรียมอุปกรณ์และอาหารสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร 85
ภาคผนวก ข ประวัติผู้วิจัย 90

# สารบัญตาราง


| ตาราง | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ตารางสรุปส่วนที่ปรับปรุงของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม | 61 |
| 2 | ผลการตรวจเชื้อในอากาศภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ออกแบบใหม่ขณะทำงาน โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) | 65 |
| 3 | ขั้นตอนในการทำงานการถ่ายเนื้อเยื่ออ้อยเพื่อเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | 69 |

# สารบัญภาพ


| ภาพ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ตัวอย่างแผนผังการจัดวางห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชดัดแปลงจากห้องปฏิบัติการในประเทศอินเดีย | 8 |
| 2 | ผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ก่อนการปรับปรุง | 26 |
| 3 | เส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมแสดงไว้ด้วยลูกศร | 28 |
| 4 | เส้นทางเดินวัสดุอุปกรณ์ของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมแสดงไว้ด้วยลูกศรเส้นประ | 29 |
| 5 | ลักษณะรอยต่อของผนังห้องปฏิบัติการเดิมมีลักษณะการทำมุมตั้งฉากกัน | 31 |
| 6 | ลักษณะของผนังห้องเดิมที่มีการผุกร่อนเป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ | 31 |
| 7 | ลักษณะของฝ้าเพดานห้องปฏิบัติการเดิมเป็นแบบฝ้าที-บาร์ | 32 |
| 8 | ประตูของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมทำด้วยไม้ | 33 |
| 9 | ผังห้องปฏิบัติการออกแบบปรับปรุงใหม่สำหรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | 38 |
| 10 | ผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่ที่มีการแบ่งเขตการรักษาความสะอาด | 40 |
| 11 | การวิเคราะห์เส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานของผังการออกแบบห้องใหม่ที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และปรับปรุงจุดที่มีความเสี่ยงที่จะก่อให้เกิดการปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการเดิม | 41 |
| 12 | การวิเคราะห์เส้นทางเดินของวัสดุของห้องปฏิบัติการใหม่ที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | 42 |
| 13 | รายละเอียดการเปลี่ยนฝ้าเพดาน | 44 |
| 14 | รายละเอียดการเปลี่ยนแปลงงานผนังห้อง | 45 |
| 15 | รายละเอียดการปรับปรุงงานไฟฟ้า | 46 |
| 16 | ระบบสุขาภิบาลห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน | 47 |

| ภาพ | | หน้า |
|---|---|---|
| 17 | ระบบสุขาภิบาลห้องแต่งตัวประกอบด้วย อ่างล้างมือและราวแขวนผ้าสำหรับเช็ดมือ | 48 |
| 18 | งานปรับปรุงและติดตั้งกระจก | 49 |
| 19 | การทาสีภายในห้องปฏิบัติการ | 50 |
| 20 | ตำแหน่งประตูเดิมก่อนและหลังการปรับปรุง | 51 |
| 21 | ประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนใหม่ | 52 |
| 22 | ตำแหน่งการสร้างประตูใหม่ | 52 |
| 23 | ห้องคอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | 53 |
| 24 | ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | 54 |
| 25 | ห้องแต่งตัว | 55 |
| 26 | ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | 56 |
| 27 | ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับการเรียนการสอน | 57 |
| 28 | ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 1 | 58 |
| 29 | ห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 | 59 |
| 30 | ห้องฆ่าเชื้อแบบรมควัน | 60 |
| 31 | จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในแต่ละห้องภายในห้องปฏิบัติการที่ออกแบบใหม่หลังจากใช้งานห้องปฏิบัติการ (colony/$m^2$) | 66 |

# บทที่ 1
# บทนำ

ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor: TIB) เป็นระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบกึ่งอัตโนมัติที่มีการให้อาหารเหลวในการเพาะเลี้ยงเป็นช่วงระยะเวลาเพื่อไม่ให้ต้นพืชจมอยู่ในอาหารเหลวตลอดเวลา ปัจจุบันได้มีการนำระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว มาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างแพร่หลายทดแทนระบบเดิมที่ใช้อาหารแข็ง โดยนพมณีและคณะ (2547) ได้นำระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวมาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหลายๆ ชนิด และพบว่าระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวสามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้อย่างรวดเร็ว ลดพื้นที่สำหรับวางตู้ปลอดเชื้อภายในห้องถ่ายเนื้อเยื่อและพื้นที่สำหรับวางภาชนะเพาะเลี้ยงต้นพืชในห้องเพาะเลี้ยงพืช ลดจำนวนคนและค่าแรงงานในการตัดถ่ายต้นพืช เมื่อเปรียบเทียบกับระบบเพาะเลี้ยงเดิมที่ใช้อาหารแข็ง ในระยะแรกของงานวิจัยของนพมณีและคณะ (2550) นั้น ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด ใช้ภาชนะในการเพาะเลี้ยงที่มีความจุเพียง 700 มิลลิลิตรเท่านั้น ซึ่งจำนวนต้นที่ผลิตอยู่ในช่วง 400-500 ต้นต่อภาชนะต่อครั้ง ซึ่งไม่เพียงพอต่อการรองรับการผลิตต้นพันธุ์พืชในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ เช่น อ้อย สับปะรด กล้วย กาแฟ ยางพาราและยูคาลิปตัส เป็นต้น และอ้อยเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจของประเทศนำรายได้เข้าประเทศปีละหลายหมื่นล้านบาท โดยพื้นที่ในการปลูกอ้อยของประเทศมีถึงปีละ 6 ล้านไร่ ซึ่งมีความต้องการท่อนพันธุ์อ้อยจำนวนมาก โตยระบบเดิมในการขยายพันธุ์อ้อยจะใช้ตัดอ้อยเป็นท่อนๆที่มีตาข้างอยู่ใช้ในการขยายพันธุ์ ในการขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้ใช้ระยะเวลานานและต้นพันธุ์ที่ใช้อาจจะมีโรคพืชที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตอ้อย เช่นโรคใบขาว ซึ่งเมื่อเกิดการระบาดจะทำให้เกิดความเสียหายมาก จึงได้มีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการผลิตต้นพันธ์อ้อย ทำให้สามารถผลิตต้นพันธุ์อ้อยได้รวดเร็วขึ้นและปลอดโรค แต่ระบบเดิมที่ใช้เป็นระบบอาหารแข็งยังไม่เพียงพอสำหรับการผลิตต้นกล้าอ้อยระดับอุตสาหกรรม ต่อมาจึงได้มีการพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวให้มีขนาดใหญ่ขึ้นให้สามารถรองรับการผลิตต้นพันธุ์อ้อย ซึ่งเป็นพืชระดับอุดสาหกรรมที่มีความต้องการสูง โดยมีความคาดหมายว่าจะพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ใช้ภาชนะในการเพาะเลี้ยงที่มีปริมาตรไม่ต่ำกว่า 20 ลิตร เพื่อให้ผลิตต้นอ้อยในระยะออกรากให้ได้อย่างน้อย 5,000 ต้นต่อภาชนะต่อครั้ง

จากการที่ระบบไบโอรีแอคเดอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่มีผลผลิตที่คาดว่าไม่ต่ำกว่า 5,000 ต้นต่อภาชนะต่อรอบการผลิต หากมีการปนเปื้อนเกิดขึ้นจะทำให้สูญเสียจำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้นและเสียอาหารที่เพาะเลี้ยงจำนวนมาก และผลิตต้นพันธุ์พืชไม่ได้ตามเป้าหมาย การที่จะ

พัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตรได้ประสบความสำเร็จจะต้องมีวิธีการจัดการป้องกันและควบคุมกับปัญหาการปนเปื้อนที่เกิดขึ้น ซึ่งหนึ่งวิธีที่จะลดความเสี่ยงได้คือการทำสภาพแวดล้อมการทำงานให้มีเชื้อปนเปื้อนน้อยที่สุด ห้องปฏิบัติการคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เดิมมีระบบการเพาะเลี้ยงพืชต่างๆ แบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดเล็กภาชนะ 700 มิลลิลิตร แต่เมื่อต้องการมีการพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร การจัดการและการควบคุมห้องปฏิบัติการและขั้นตอนการทำงานจึงมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ทั้งในเรื่องการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวที่มีการควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ การเตรียมภาชนะขนาดใหญ่ การฆ่าเชื้อภาชนะ การเตรียมชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น การถ่ายชิ้นส่วนพืชและประกอบภาชนะ ซึ่งในการทำงานในแต่ละขั้นตอนจำเป็นจะต้องมีการปรับเปลี่ยนไปจากเดิมให้เหมาะสมและลดความเสี่ยงการปนเปื้อน ตลอดจนการจัดห้องต่างๆให้เหมาะสมกับงานและให้มีความต่อเนื่องของงานเพื่อความสะดวกในการทำงาน

อีกประการหนึ่งห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เดิมเป็นห้องปฏิบัติการใช้ในการเรียนการสอนร่วมกับงานวิจัย ซึ่งในการเรียนการสอนนั้นมีนักศึกษาใช้ห้องปฏิบัติการเป็นจำนวนมากทำให้เกิดความเสี่ยงของการปนเปื้อนสูง

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงต้องการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ด้วยการออกแบบใหม่ที่สามารถรองรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่ได้ และสามารถความเสี่ยงของการปนเปื้อนที่จะเกิดขึ้น ตลอดจนสามารถดำเนินงานการเรียนการสอนและงานวิจัยได้ภายในห้องปฏิบัติการเดียวกันได้

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. วิเคราะห์สถานการณ์ห้องปฏิบัติการเดิมในการรองรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร
2. ออกแบบผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่สำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และการเลือกวัสดุก่อสร้าง
3. ติดตามและตรวจสอบก่อสร้างและการปรับปรุงห้องปฏิบัติการให้เหมาะสมกับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร
4. จัดทำข้อกำหนดในการใช้งานและการดูแลรักษาความสะอาดของแต่ละห้องภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

## ขอบเขตของการวิจัย

ออกแบบและปรับปรุงห้องปฏิบัติเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เพื่อรองรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร โดยเริ่มจากการวิเคราะห์สถานการณ์ปัจจุบันของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในด้านการป้องการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ และตำแหน่งของสถานที่จำเป็นในการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร แล้วนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์มาปรับปรุงและออกแบบผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่ และปรับปรุงก่อสร้างห้องปฏิบัติการ ให้สามารถติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และสามารถดำเนินการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์เนื้อเยื่ออ้อยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตรได้ประสบความสำเร็จ

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ปรับปรุงใหม่ที่เหมาะสมสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ที่มีความเสี่ยงการปนเปื้อนต่ำและมีความคล่องตัวในการปฏิบัติงาน

2. ได้ข้อปฏิบัติและข้อกำหนดในการใช้งานห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

# บทที่ 2

# ตรวจเอกสาร

อ้อยเป็นวัตถุดิบของอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลที่มีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศ คือ 1) มีการบริโภคน้ำตาลในประเทศปีละประมาณ 1.6-1.7 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 17,000-19,000 ล้านบาท 2) มีการ ส่งออกน้ำตาลจำหน่ายในตลาดโลกปีละกว่า 3 ล้านตัน นำรายได้เข้าประเทศ ประมาณ 20,000-30,000 ล้านบาทต่อปี เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยจะมีรายได้จากการจำหน่ายอ้อยทั้งหมด ประมาณ 30,000 ล้านบาท จะมีการจ้างแรงงานไม่ต่ำกว่า 600,000 คน (กรมวิชาการเกษตร, 2550) พื้นที่ปลูกอ้อยมีความผันแปรอยู่ระหว่าง 5.6-6.6 ล้านไร่ กระจายอยู่ในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคตะวันออก (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี, 2555) และในแต่ละปีต้องการท่อนพันธุ์อ้อยสำหรับการรื้อตอเพื่อปลูกอ้อยใหม่ประมาณ 2 ล้านไร่/ปี

## การขยายพันธุ์อ้อยแบบดั้งเดิม

ในการขยายพันธุ์อ้อยโดยทั่วไปใช้ท่อนพันธุ์อ้อยจากต้นแม่พันธุ์เป็นลำ โดยการนำลำเดี่ยวเกยกันครึ่งลำ หรือ 2 ลำคู่ ตามลักษณะการแตกกอของพันธุ์อ้อยที่ใช้ หลังจากวางพันธุ์อ้อยควรใช้จอบสับลำอ้อยเป็น 2-3 ส่วน แล้วกลบด้วยดินหนาประมาณ 5 เซนติเมตร (กรมวิชาการเกษตร, 2550) ในการขยายพันธุ์แบบดั้งเดิมนี้ จะใช้ระยะเวลานานในการขยายพันธุ์และได้ต้นแม่พันธุ์ที่ไม่ปลอดโรค ซึ่งทำให้เกิดปัญหาการระบาดของโรคอ้อยสร้างความเสียหายแก่อุตสาหกรรมอ้อยของประเทศไทยเป็นอย่างมาก เช่นโรคใบขาว โรคเหี่ยวเน่าแดง เป็นต้น (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี, 2555) และวิธีการที่สามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้นคือการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการผลิตต้นพันธุ์อ้อยเพื่อให้สามารถผลิตต้นพันธุ์อ้อยในระยะเวลาที่รวดเร็วและปลอดโรคได้

## เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เทคโนโลยีด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นการขยายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้ได้ต้นปริมาณมาก ในระยะเวลาสั้น (นพมณี, 2545; Ahloowalia et al., 2004; Mehrotra et al., 2007) เทคโนโลยีนี้มีข้อดีคือ สามารถผลิตต้นพืชปลอดโรค โดยการนำส่วนเมอริสเด็มมาใช้ในการ

ขยายพันธุ์ และสามารถเพาะเลี้ยงต้นพืชได้โดยไม่ต้องคำนึงถึงฤดูกาล (Mehrotra et al., 2007) ในปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีนี้มาใช้ในการขยายพันธุ์พืชหลากหลายในเชิงการค้า เช่น กล้วยไม้ (ดรรชิต, 2550) อ้อย (Arencibia et al., 2008) สับปะรด (Escalona et al., 1999) ยูคาลิปตัส (Arya et al., 2011) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการนำเทคโนโลยีนี้มาใช้ ในการคัดเลือกพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ การเก็บรักษาพันธุ์พืช การผลิตสารเคมีที่มีประโยชน์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (นพมณี, 2545)

## หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ การนำชิ้นส่วนพืชจากต้นที่อยู่ในสภาพธรรมชาติมาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดบนผิวของชิ้นส่วนพืชโดยการฟอกฆ่าเชื้อ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารที่มีธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อพืชรวมทั้งฮอร์โมนพืชที่เป็นส่วนเร่งการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ โดย Debergh and Maene (1981) ได้เสนอขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่

ระยะที่ 0 การเตรียมต้นพ่อแม่พันธุ์

ระยะที่ 1 การกระตุ้นให้เกิดต้น

ระยะที่ 2 การเพิ่มปริมาณต้น

ระยะที่ 3 การยืดยาวของลำต้นและการกระตุ้นและพัฒนาการออกราก

ระยะที่ 4 การปรับสภาพและการย้ายปลูกต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

วัตถุประสงค์และระบบการทางเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในแต่ละขั้นตอนมีรายละเอียดดังนี้ คือ

ระยะที่ 0 การเตรียมต้นแม่พันธุ์ เป็นการเตรียมต้นพืชที่เราต้องการขยายพันธุ์ก่อนที่จะนำไปเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ ไร หรือแมลงศัตรูพืชอื่นๆ (นพมณี, 2545) วิธีการเตรียมต้นพันธุ์ทำได้โดยนำต้นพืชไปเลี้ยงในโรงเรือนที่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมภายในได้ โดยควบคุมความชื้นไม่ให้สูงมาก เพื่อลดการสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในอากาศหรือในน้ำ และให้ปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชนั้นๆ ที่กระตุ้นให้ตาข้างแตกออกมาได้มากยิ่งขึ้น ได้แก่ แสง อุณหภูมิภายในโรงเรือน การให้ธาตุอาหารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโต หรือสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือฮอร์โมนพืช (Ahloowalia et al., 2004)

ระยะที่ 1 การกระตุ้นให้เกิดต้น เป็นการนำต้นแม่พันธุ์ที่เตรียมไว้มากระตุ้นให้เกิดต้นในสภาพปลอดเชื้อ ในระยะนี้มีขั้นตอนในการทำงาน 2 ขั้นตอนคือ การฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนพืชตรงบริเวณพื้นผิวของพืช และการนำชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วเลี้ยงใน

อาหารชักนำให้เกิดต้นในสภาพปลอดเชื้อ (Ahloowalia et al., 2004) ในขั้นตอนนี้ มีวิธีในการทำงานดังต่อไปนี้ คือ นำต้นแม่พันธุ์ที่เตรียมไว้ ตัดแต่งแล้วฟอกฆ่าเชื้อพื้นผิวด้วยน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อ จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วตัดถ่ายลงเพาะเลี้ยงในขวดอาหารสำหรับชักนำให้เกิดต้น โดยการทำงานตั้งแต่ขั้นตอนนี้เป็นต้นไปต้องทำงานภายใต้สภาพปลอดเชื้อในตู้ปลอดเชื้อในบริเวณห้องถ่ายเนื้อเยื่อที่สภาพแวดล้อมมีความสะอาดสูง ขวดต้นพืชจะถูกนำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงพืช ที่เป็นห้องที่มีความสะอาดสูงและสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ความชื้น (นพมณี, 2545; Omar and Aouine, 2007)

ระยะที่ 2 การเพิ่มปริมาณต้น เป็นการนำต้นพืชที่ได้จากระยะชักนำให้เกิดต้นมาตัดถ่ายสู่ขวดอาหารที่มีส่วนประกอบของสารเคมี และสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้มากขึ้น ในตู้ปลอดเชื้อ ภายในห้องถ่ายเนื้อเยื่อ (นพมณี, 2545; Ahloowalia et al., 2004) การตัดถ่ายต้นพืชไปยังอาหารใหม่ทุกๆ 2-8 สัปดาห์แล้วแต่ชนิดของพืชเพื่อให้ได้จำนวนต้นพืชที่มีคุณภาพและจำนวนต้นตามเป้าหมาย (Iliev et al., 2010) โดยในขั้นตอนนี้มีความสำคัญมากในการเพิ่มปริมาณต้นพืชให้ได้ตามเป้าหมาย ปัญหาที่พบในการทำงานขั้นตอนนี้คือ การเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรีย รา และยีสต์ ขณะตัดต้นไม้สู่อาหารใหม่ (Leifert and Woodward, I998) จึงจำเป็นจะต้องมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของตู้ปลอดเชื้อ และสภาพแวดล้อมในที่ทำงานให้สะอาด และผู้ปฏิบัติงานต้องมีเทคนิคปลอดเชื้อที่ดีเพื่อลดความสูญเสียที่จะเกิดขึ้นจากการปนเปื้อน

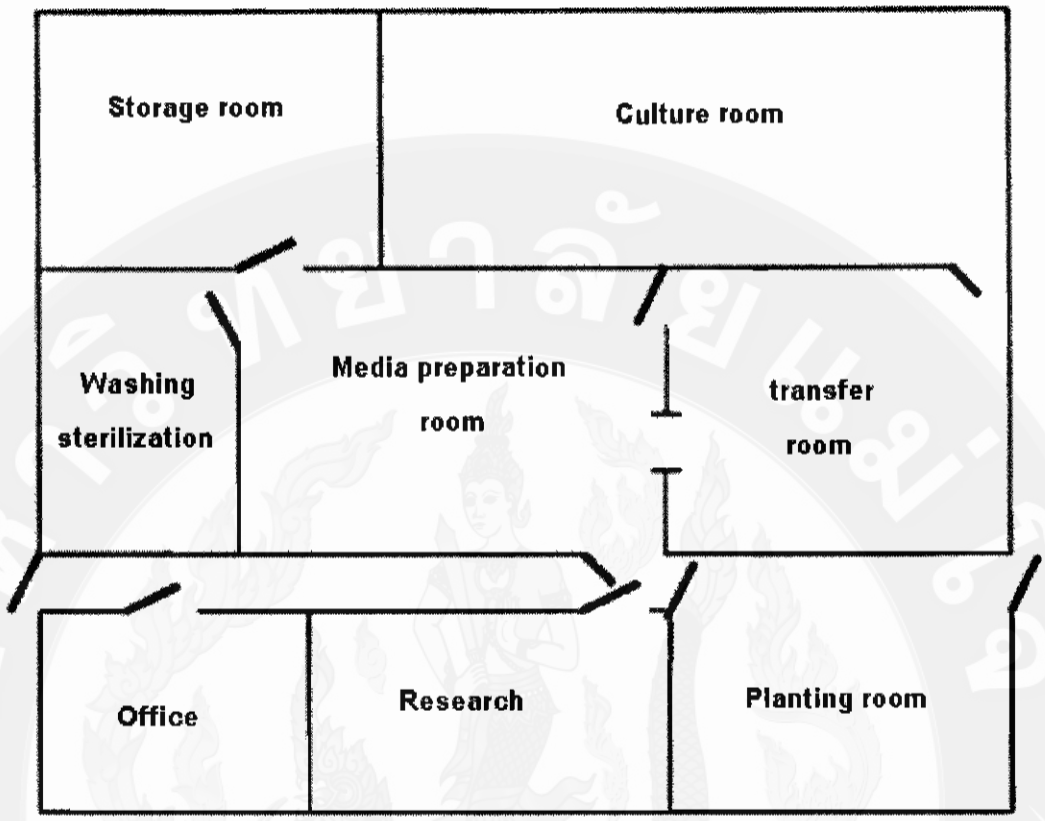
ระยะที่ 3 ระยะยืดยาวต้นและการชักนำให้เกิดราก เมื่อจำนวนต้นที่ผลิตในระยะเพิ่มปริมาณมีจำนวนตามที่ต้องการแล้ว ก่อนที่จะมีการนำออกปลูกยังสภาพแวดล้อมต้องมีการชักนำให้ต้นพืชมีการออกรากก่อน เพื่อที่ต้นพืชจะสามารถหาอาหารเองในสภาพแวดล้อมที่เป็นธรรมชาติได้ วิธีการนี้คือ นำต้นพืชที่ได้จากระยะเพิ่มปริมาณที่มีขนาดต้นสมบูรณ์เพียงพอที่จะออกปลูก มาถ่ายลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีส่งเสริมการกระตุ้นให้เกิดราก (นพมณี, 2545; Ahloowalia et al., 2004)

ระยะที่ 4 การปรับสภาพและการย้ายปลูกต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสู่เรือนโรง ในการที่จะนำต้นพืชออกปลูกประสบความสำเร็จไม่เพียงแต่การเตรียมต้นให้มีลักษณะต้นสมบูรณ์พร้อมปลูก สิ่งที่จำเป็นที่จะทำให้การออกปลูกประสบความสำเร็จคือการปรับสภาพแวดล้อมของต้นพืชให้เหมาะสมก่อนนำออกปลูกขั้นตอนนี้มีความสำคัญเช่นกัน (Iliev et al., 2010) ในการย้ายต้นออกสู่สภาพแวดล้อมภายนอกหากไม่ระมัดระวังจะก่อให้เกิดการสูญเสียต้นพืชเป็นจำนวนมาก เนื่องจากต้นหรือยอดที่เกิดขึ้นในขวดอยู่ในสภาพที่มีความชื้นสูงและความเข้มแสงต่ำ ซึ่งมีผลทำให้มีการสร้างขี้ผึ้ง (wax) บนใบน้อย ปากใบผิดปกติ คือปิดไม่สนิทเมื่อความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ ทำให้สูญเสียน้ำได้สูงมาก โดยปกติพืชที่เพาะเลี้ยงในขวดสภาพปลอดเชื้อในสภาพที่มี

การให้น้ำตาลสูงและความเข้มแสงต่ำ มีผลทำให้พืชในขวดไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้หรือมีการสังเคราะห์แสงน้อยมาก เมื่อย้ายออกมาปลูกข้างนอกจึงต้องกระตุ้นให้พืชสามารถสังเคราะห์แสงเองได้ (นพมณี, 2545) ทั้งนี้สามารถทำได้ด้วยปรับสภาพต้นภายในโรงเรือนที่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ แล้วค่อยๆ เปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม เช่น ค่อยๆ ลดความชื้นสัมพัทธ์ขณะเดียวกันการค่อยๆ เพิ่มความเข้มแสงจนพืชสามารถเจริญเติบโตภายใต้สภาพแวดล้อมตามธรรมชาติได้ (Ahloowalia, 2004,: Omar and Aouine, 2007)

## หลักการออกแบบห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การออกแบบห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการศึกษาหรือการค้าจำเป็นจะต้องมีการออกแบบอย่างจำเพาะ ไม่ว่าห้องปฏิบัติการจะใหญ่หรือเล็กก็ตาม สิ่งสำคัญที่ทำให้การปฏิบัติงานมีมาตรฐานและประสบความสำเร็จและมีความปลอดเชื้อสูง คือ การออกแบบให้ส่วนประกอบต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับห้องปฏิบัติการอย่างเหมาะสม (Bridgen และ Bartok, 1997; นพมณี, 2545) ในการออกแบบห้องปฏิบัติการนั้น จะเป็นไปตามกิจกรรมของห้องปฏิบัติการแต่ละห้อง และความสะอาดเป็นหัวใจสำคัญในการออกแบบห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในขณะออกแบบห้องต้องคำนึงถึงเครื่องมืออุปกรณ์และการเคลื่อนย้าย และจัดวางตำแหน่งห้องต่างๆ ให้มีประตูหน้าต่างและทางเดินให้สัมพันธ์กันทั้งหมด และในด้านการรักษาความสะอาดเพื่อความสะดวกในการทำความสะอาด และควบคุมระดับของความสะอาดในแต่ละห้อง ควรจัดห้องที่มีการรักษาระดับความสะอาดเดียวกันไว้ด้วยกัน (Bridgen และ Bartok, 1997) โดยห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั่วไป จะมีการแยกห้องที่มีการรักษาความสะอาดระดับสูง (Ahloowalia and Prakash, 2004) ได้แก่ ห้องถ่ายเนื้อเยื่อ ห้องเพาะเลี้ยงพืช และห้องที่มีการรักษาความสะอาดปกติ ได้แก่ ห้องเตรียมอาหาร ห้องนึ่งฆ่าเชื้อ ห้องล้างทำความสะอาดอุปกรณ์ ห้องทำงาน ห้องเก็บของ และห้องพักคนงาน (นพมณี, 2545)




**ภาพ 1** ตัวอย่างแผนผังการจัดวางห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดัดแปลงจากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในประเทศอินเดีย

ที่มา: Sathyanarayana and Varghese, 2007

ภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วยห้องต่างๆ ภายในตามกิจกรรมของการเพาะเลี้ยงพืช โดยมีการจัดวางตำแหน่งของห้องปฏิบัติการตามผังตัวอย่างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Sathyanarayana and Varghese, 2007) (ภาพ 1 ) ซึ่งจะมีการจัดวางตำแหน่งส่วนที่เป็นห้องทำงานไว้ด้านหน้าและส่วนของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีการจัดวางไว้ด้านในโดยเรียงตามลำดับของงานและความสะอาด โดยมีการจัดวางตำแหน่งของห้องเตรียมอาหารสามารถเชื่อมต่อกับตำแหน่งของห้องล้างทำความสะอาดและนึ่งฆ่าเชื้อกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อพืช และวางตำแหน่งของห้องเพาะเลี้ยงพืชซึ่งเป็นห้องที่ต้องมีความสะอาดสูงไว้ด้านในสุดของห้องปฏิบัติการ โดยลักษณะจำเพาะและหน้าที่ของห้องต่างๆ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

**1. ห้องเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงต้นพืช**

ส่วนเตรียมอาหารสำหรับต้นพืช ( media preparation room) ตำแหน่งของประตูจัดวางให้เหมาะสมตามความต่อเนื่องของงาน และมีจำนวนประตูน้อยที่สุดเท่าที่ระบุไว้ในกฎหมายหรือระเบียบเกี่ยวกับทางออกฉุกเฉิน ลักษณะของประตูควรเป็นประตูเปิดออก ประตูควรเปิดปิดได้ง่ายแบบบานสวิง (นพมณี, 2545; Shukla, 2008) ลักษณะของโครงสร้างห้องส่วนพื้นและผนังควรเป็นพื้นผิวเรียบเพื่อลดการสะสมของฝุ่นละออง และสะดวกในการทำความสะอาด ผนังควรทาด้วยสีกันชื้น พื้นควรจะเป็นพื้นเรียบไม่มีรอยต่อเพื่อป้องกันแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น การใช้พื้นหินขัด (นพมณี, 2545) ในการเตรียมอาหารมีวัสดุและอุปกรณ์หลายอย่าง ควรมีตู้สำหรับเก็บอุปกรณ์ไว้ใต้โต๊ะสำหรับการทำงานเพื่อความสะดวกในการนำมาใช้งาน และพื้นโต๊ะที่ใช้สำหรับเตรียมอาหารเป็นพื้นเรียบสามารถทำความสะอาดได้ง่าย และควรมีตู้สำหรับเก็บขวดอาหารพืชที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วโดยขนาดของตู้อย่างน้อยต้องสามารถบรรจุอาหารสำหรับใช้ไม่ต่ำกว่า 1 สัปดาห์ (Shukla, 2008)

**2. ส่วนล้างทำความสะอาดและนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร**

ส่วนล้างทำความสะอาดและนึ่งอาหาร (ภาพ 1 washing and sterilization) เป็นห้องสำหรับล้างทำความสะอาดอุปกรณ์และนึ่งอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีตำแหน่งของห้องเป็นห้องที่เชื่อมต่อกับกับห้องเตรียมอาหาร (Shukla, 2008; Bridgen และ Bartok, 1997) ลักษณะโครงสร้าง ผนังห้องและพื้นต้องมีความทนทานต่อไอน้ำและความชื้น (นพมณี, 2545) ภายในห้องนี้ควรมีอ่างสำหรับล้างอุปกรณ์อย่างน้อย 1-2 อ่าง พร้อมกับติดตั้งระบบน้ำประปา สำหรับพื้นอ่างควรจะปูด้วยพลาสติกหนาเพื่อป้องกันเครื่องแก้วแตกเสียหายขณะล้างทำความสะอาด และส่วนของท่อระบายน้ำทิ้งควรเลือกใช้วัสดุที่ทนต่อการกัดกร่อนทากสารเคมีต่างๆ ภายในห้องล้างทำความสะอาดควรมีชั้นสำหรับตากภาชนะที่สามารถเคลื่อนที่ได้ และมีพื้นที่สำหรับวางตู้เก็บอุปกรณ์ที่ล้างทำความสะอาดเรียบร้อยและตากจนแห้งแล้วนำไปเก็บไว้เพื่อป้องกันฝุ่น ตำแหน่งของตู้เก็บอุปกรณ์ควรวางในตำแหน่งที่มีการเก็บและนำภาชนะไปใช้สะดวกในขั้นตอนการเตรียมอาหาร (Shukla, 2008; Bridgen และ Bartok, 1997)

**3. ห้องถ่ายเนื้อเยื่อพืช**

ห้องถ่ายเนื้อเยื่อพืช (transfer room) เป็นห้องสำหรับตัดถ่ายต้นพืชลงสู่ขวดอาหารเพาะเลี้ยงต้นพืชภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ห้องนี้เป็นห้องที่สำคัญสำหรับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นพื้นที่ต้องการความสะอาดสูงและไม่มีความแปรปรวนของอากาศภายในห้องมาก (Shukla,

2008) ผนังและพื้นห้องต้องเรียบ ส่วนผนังห้องควรทาด้วยสีที่ป้องกันการสะสมและพื้นห้องใช้เป็นพื้นหินขัด เพื่อให้ง่ายต่อการทำความสะอาด (นพมณี, 2545) และมีการทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอ สำหรับประตูและหน้าต่างห้องควรจะมีน้อยที่สุดและต้องมีประตูฉุกเฉินเมื่อเกิดอัคคีภัย และภายในห้องมีพื้นที่สำหรับวางตู้ปลอดเชื้อ และควรจะมีรถเข็นเพื่อความสะดวกในการขนย้ายขวดอาหารจากห้องเก็บขวดอาหารและขนย้ายขวดต้นไม้จากห้องถ่ายเนื้อเยื่อไปเก็บยังห้องเพาะเลี้ยงพืช และในส่วนนี้การเข้าปฏิบัติงานต้องมีการเปลี่ยนเสื้อผ้าและรองเท้าเฉพาะสำหรับทำงานในส่วนนี้ สำหรับการฆ่าเชื้อภายในบริเวณห้องใช้การติดตั้งหลอดอุลตร้าไวโอเล็ตสำหรับฆ่าเชื้อ แต่จะเปิดแสงอุลตร้าไวโอเล็ตในขณะที่ไม่มีผู้ปฏิบัติงานและต้นไม้อยู่ภายในห้องปฏิบัติการ (Bridgen และ Bartok, 1997; Shukla, 2008) เนื่องจากแสงอุลตร้าไวโอเล็ตเป็นอันตรายต่อดวงตาและเกิดโอโซนที่ทำให้พลาสติกต่างๆเสื่อมสภาพได้ (นพมณี, 2545)

**4. ห้องเพาะเลี้ยงต้นพืช**

ห้องเพาะเลี้ยงพืช (Culture room) เป็นห้องสำหรับนำขวดต้นพืชเก็บเพื่อเพาะเลี้ยงให้ต้นพืชเจริญเติบโต ลักษณะภายในห้องสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมในการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ แสง อุณหภูมิ และความชื้น ห้องนี้มีความสำคัญเช่นเดียวกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อ พื้นและผนังห้องเป็นผิวเรียบและทำความสะอาดได้ง่าย ภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชควรจะมีห้องเพาะเลี้ยงพืชมากกว่าหนึ่งห้อง (นพมณี, 2545; Shukla, 2008) ที่สามารถปรับระบบแสงสว่างที่แตกต่างกันได้ แต่ละห้องควรมีระบบทำความเย็นที่แยกจากกัน เพื่อสำหรับเพาะเลี้ยงพืชต่างชนิดกันที่ต้องการสภาวะที่แตกต่างกันในระหว่างการเพาะเลี้ยง (Shukla, 2008) และในกรณีที่เครื่องทำความเย็นห้องหนึ่งเสียสามารถย้ายขวดเพาะเลี้ยงต้นพืชไปเลี้ยงยังอีกห้องได้ (นพมณี, 2545) สำหรับประตูทางเข้าออกควรจะมีน้อยที่สุดเพื่อควบคุมการปนเปื้อนที่เกิดขึ้น ภายในห้องควรมีชั้นสำหรับวางต้นพืชที่ไม่สามารถเคลื่อนที่หรือเป็นชั้นที่สามารถเคลื่อนที่ได้ และภายในชั้นมีการติดตั้งหลอดไฟสำหรับให้แสงสว่างแก่ต้นพืช และลักษณะของห้องควรเป็นห้องทึบที่แสงสว่างจากภายนอกไม่สามารถเข้ามาได้ สำหรับใช้ในกรณีการเลี้ยงต้นพืชในที่มืด (Shukla, 2008)

การควบคุมสภาพอากาศภายในเป็นสิ่งสำคัญที่สุดสำหรับการเจริญเติบโตของต้นไม้ และอาจจะเกิดผลเสียต่อการอยู่รอดของต้นไม้ถ้าอุณหภูมิมีความแปรปรวนมาก ควรมีเครื่องปั่นไฟสำรองในกรณีไฟฟ้าดับ นอกจากนี้ควรเลือกระบบทำความเย็นนอกจากจะเลือกที่คุณภาพและราคาของเครื่องแล้วยังต้องคำนึงถึงการบริการหรือซ่อมในกรณีฉุกเฉินด้วย (นพมณี, 2545) ชั้นสำหรับวางต้นพืชภายในห้องมีการจัดวางได้หลายวิธี เป็นชั้นแบบที่เคลื่อนที่ได้หรืออยู่กับที่ การ

เลือกใช้พิจารณาจากพื้นที่ ต้นทุน และวัสดุที่นำมาใช้ พื้นของชั้นวางเป็นแบบทึบหรือโล่งก็ได้ แต่การใช้แบบโล่งจะทำให้มีการหมุนเวียนอากาศที่ดีกว่าทำให้อุณหภูมิภายในห้องคงที่ทั้งห้อง เช่น การใช้ชั้นลวด อะลูมิเนียม หรือสังกะสี ช่วงช่องของชั้นต้องพอดีกับแสงและมีช่องว่างให้ระบายอากาศได้ ช่วงของชั้นควรเป็น 25-40 เซนติเมตร (Shukla, 2008)

## ลักษณะของโครงสร้างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

บริษัทที่ทำธุรกิจเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่สร้างขึ้นมาใหม่มีการออกแบบโครงสร้างและสร้างตามลักษณะจำเพาะของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แต่ห้องปฏิบัติการมากมายก็ได้มีการดัดแปลงจากอาคารที่มีอยู่เดิม ไม่ว่าวิธีไหนก็ตามในการออกแบบต้องคำนึงลักษณะจำเพาะหลายอย่างของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น การกรุห้องด้วยฉนวนจะช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่รุนแรง (นพมณี, 2545) การเลือกวัสดุก่อสร้างภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องคำนึงถึงคุณสมบัติที่ต้องการหาได้ง่ายและราคาเหมาะสม การตัดสินใจอย่างอื่นขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้พื้นที่แต่ละส่วน ลักษณะอาคารควรเป็นตึกแบบชั้นเตียวและแบ่งย่อยออกเป็นส่วนต่างๆ เพราะปลอดภัยและเป็นแบบเฉพาะของงานทางการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการเคลื่อนย้ายอย่างต่อเนื่องในแต่ละงาน (นพมณี, 2545) และสำหรับผนังห้องควรเป็นชนิดที่สามารถปรับปรุงได้ง่ายเมื่อมีการขยายขนาดและปรับปรุงห้องปฏิบัติการ (Bridgen และ Bartok, 1997)

สำหรับวัสดุในการก่อสร้างอาคารต่างๆ ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาให้มีลักษณะที่แข็งแรงทนทานน้ำหนักเบาและสามารถเคลื่อนย้าย สามารถซ่อมแซมและปรับปรุงได้ง่าย ซึ่งในงานสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นเน้นในเรื่องความสะอาด เช่น สามารถนำมาตรฐานของการออกแบบและวัสดุอุปกรณ์โรงงานอาหารมาประยุกต์ใช้ได้แก่

1) ส่วนของพื้น

- พื้นอีพ๊อกซี่ (Epoxy Floor)

พื้นอีพ๊อกซี่ทำมาจากวัดถุพอลิเมอร์ มีคุณสมบัติที่ถูกออกแบบเป็นพิเศษสำหรับงานพื้นอุตสาหกรรมต่าง ๆ โดยมี รูปแบบ รุ่น สี ความหนา คุณสมบัติให้เลือกหลากหลาย และมีคุณสมบัติพิเศษคือ เป็นพื้นไร้รอยต่อ แข็งแกร่งทนทาน รับน้ำหนักได้ดี ทนทานต่อสารเคมี ปราศจากฝุ่น ทำความในปัจจุบันวัสดุอุปกรณ์โรงงานอาหารที่มีศักยภาพนิยมใช้พื้นอีพ๊อกซี่เนื่องจากล้างทำความสะอาดง่าย (จาตุพงศ์, 2551)

- พื้น Floor Hardening

พื้น Floor Hardening เป็นพื้นที่คลายคลึงกับพื้นคอนกรีตขัดมันแต่จะมีการทำการเคลือบสารคุมพื้นผิวหน้าพื้นคอนกรีตอีกชั้นเรียกว่าการทำ Hardening ซึ่งสารที่นำมาเคลือบผิวคอนกรีตนี้มีคุณสมบัติเป็นลักษณะเหมือนฟิล์มป้องกันไม่ให้น้ำซึมผ่านลงชั้นคอนกรีตได้ ซึ่งพื้น Floor Hardening นี้ จึงเป็นการแก้ไขข้อเสียของพื้นคอนกรีดขัดมันในเรื่องความสามารถการดูดซึมน้ำเพื่อลดการดูดซึมน้ำที่จะเป็นเหตุให้เกิดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (จาตุพงศ์, 2551)

2) การออกแบบผนัง

การออกแบบผนังของโรงงานอาหารควรมีคุณสมบัติผิวเรียบ ไม่มีรอยต่อ สามารถทำความสะอาดได้ง่าย ไม่ซึมน้ำ สามารถต้านทานแรงกระแทกได้หรือรอยแตก เพราะอาจเป็นแหล่งสะสมของสิ่งสกปรกหรือสัตว์พาหะนำเชื้อโรคต่าง ๆ เข้าไปอาศัยอยู่ ไม่ควรใช้ไม้เป็นวัสดุก่อสร้างโดยเฉพาะบริเวณสายการผลิตเนื่องจากไม้สามารถดูดซึมน้ำได้ (จาตุพงศ์, 2551)

พื้นผิวหนังตรงบริเวณรอยต่อกับพื้นควรมีลักษณะโค้งเพื่อให้ง่ายต่อการทำความสะอาด ในบริเวณของรอยต่อของผนังกับพื้นนั้นจำเป็นจะต้องให้ความสำคัญในการก่อสร้างเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำซึมเข้าสู่ผนังและป้องกันไม่ให้เกิดการสะสมของเชื้อโรคและจุลินทรีย์ในบริเวณที่ทำความสะอาดได้ยาก ดังนั้นบริเวณรอยต่อระหว่างผนังกับพื้นของโรงงานจึงมีการออกแบบให้มีลักษณะผิวโค้งเพื่อให้ง่ายต่อการทำความสะอาด (จาตุพงศ์, 2551)

3) การออกแบบเพดาน

ฝ้าเพดาน ส่วนของฝ้าเพดาน ต้องมีความสูงจากพื้นอย่างน้อย 2.4 เมตร ในการติดฝ้าเพดานเพื่อป้องกันสิ่งสกปรก หรือฝุ่นละอองที่ล่วงหล่นจากส่วนของหลังคา ควรเลือกใช้เพดานที่ไม่มีรอยต่อซึ่งถ้าหากมีรอยต่อจำเป็นจะต้องทำการเชื่อมปิดรอยต่อเป็นอย่างดีเพื่อป้องกันการเข้ามาของแมลงหรือสัตว์แปลกปลอมเข้ามาทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ (จาตุพงศ์, 2551)

4) หลังคาห้องปฏิบัติการ

หลังคาห้องปฏิบัติการ ในส่วนของโครงหลังคาต้องจัดทำด้วยวัสดุที่มีความแข็งแรง เช่น โครงสร้างเหล็ก และใช้วัสดุมุงหลังคาเป็นวัสดุที่มีความแข็งแรง ทนต่อการกัดกร่อน สามารถป้องกันการเกิดสนิมได้ และมีช่องสำหรับระบายอากาศของหลังคา (Bridgen และ Bartok, 1997)

## การจัดการรักษาความสะอาดของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

นอกจากการออกแบบห้องปฏิบัติการที่ดีแล้ว หัวใจสำคัญของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือความสะอาด จะต้องมีการรักษาความสะอาดโดยการทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอ ร่วมกับผู้ปฏิบัติงานมีเทคนิคปลอดเชื้อที่ดีสามารถควบคุมไม่ให้เกิดการปนเปื้อนมากกว่า 1% (Ahloowalia and Prakash, 2004) การสูญเสียต้นพืชจากการปนเปื้อนทำให้ต้นทุนการผลิตพืชสูงขึ้น โดยการปนเปื้อนเกิดจาก อนุภาคในอากาศ แบคทีเรียและสปอร์ของเชื้อรา เส้นผม การปนเปื้อนจากตัวมนุษย์ เสื้อผ้า และจากความผิดพลาดในการดำเนินงานในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีการประเมินพบว่าผู้ปฏิบัติงานเป็นแหล่งกำเนิดการปนเปื้อน 1-5,000,000 อนุภาคต่อนาที (Ahloowalia and Prakash, 2004) ในปัจจุบันการควบคุมคุณภาพของห้องสามารถลดการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมในขณะปฏิบัติงานได้ การสวมเสื้อกาวน์ในขณะทำงานช่วยลดการปนเปื้อนจากเสื้อผ้าและผิวหนังของตัวผู้ปฏิบัติงานได้ และการรักษาความสะอาดในพื้นที่ปฏิบัติงาน และมีการกำหนดขั้นตอนการทำงานให้ผู้ปฏิบัติงานปฏิบัติตามสามารถช่วยลดการปนเปื้อนได้ อย่างไรก็ตามข้อกำหนดต่างๆจะขึ้นอยู่กับสถานที่ในการปฏิบัติงาน (Ahloowalia and Prakash, 2004)

## ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบอาหารแข็ง

ปัจจุบันมีการนำเอาเทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการผลิตต้นกล้าพืชกับระดับอุตสาหกรรมทั้งพืชสวนและพืชไร่ โดยส่วนใหญ่เป็นการใช้ระบบอาหารแข็งที่มีการเพาะเลี้ยงต้นพืช ในสภาวะปลอดเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติมวุ้น (Etienne et al., 2006) บรรจุในภาชนะขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก และต้องมีย้ายต้นพืชลงในอาหารขวดใหม่ทุกๆ 4-6 สัปดาห์ เนื่องจากพืชเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและใช้อาหารที่มีอยู่หมดไปอย่างรวดเร็ว (Etienne et al., 2006) ดังนั้นในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้นทุนส่วนใหญ่ 40-60% เป็นค่าแรงงานที่ใช้ในขั้นตอนการตัดถ่ายต้นพืช (Berthouly and Etienne, 2005) ด้วยระบบอาหารแข็งเป็นระบบที่ผลิตต้นพืชได้ช้า เนื่องจากต้องใช้คนงานในการตัดถ่ายต้นไม้ทำให้มีต้นทุนการผลิตต้นพืชที่สูง จึงเป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชเชิงการค้าที่ต้องการจำนวนต้นพืชในปริมาณที่มากๆ (Berthouly and Etienne, 2005)

ระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบดั้งเดิมนี้จึงยังมีข้อด้อย ทำให้มีความพยายามที่จะพัฒนาระบบเพื่อลดต้นทุนโดย Debergh (1988) และ Aitken-Christie and Jones (1987) มีแนวคิดนำระบบอาหารเหลวเข้ามาใช้เพื่อลดต้นทุนในการผลิตต้นพืชและให้ระบบเป็นระบบอัตโนมัติ โดย

ใช้อาหารเหลวในการเพาะเลี้ยงมีข้อดีคือ ลดระยะเวลาในการคัดถ่ายชิ้นส่วนของพืชสะดวกง่ายและรวดเร็วไม่ต้องเสียเวลาในการปักชำต้นพืชลงอาหารแข็ง สามารถเปลี่ยนอาหารใหม่ได้ง่าย สามารถล้างทำความสะอาดภาชนะหลังจากการเพาะเลี้ยงต้นพืชได้สะดวกและง่าย และในพืชบางชนิดการเลี้ยงในอาหารเหลวต้นพืชเจริญเติบโตได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง (Berthouly and Etienne, 2005; Etienne et al., 2006) แต่ถ้าหากให้อาหารเหลวตลอดเวลาการเพาะเลี้ยงจะเกิดปัญหาการฉ่ำน้ำของต้นพืช ทำให้พืชมีความผิดปกติด้านสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา (Debergh et al., 1981; Ziv et al., 1983)

## ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

จากปัญหาของระบบการผลิตพืชด้วยอาหารเหลว จึงมีการพัฒนาระบบการให้อาหารพืชเป็นช่วงเวลาตามที่กำหนด คือ ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor; TIB) ระบบนี้ได้มีการพัฒนาขึ้นอย่างแพร่หลาย (Berthouly and Etienne, 2005) โดยระบบที่ได้รับความนิยมเป็นระบบที่ประกอบด้วยภาชนะ 2 อันที่เชื่อมต่อกันด้วยท่อซิลิโคน แล้วมีการใช้แรงดันอากาศดันอาหารจากภาชนะใส่อาหารไปยังภาชนะเลี้ยงต้นพืช เพื่อให้พืชได้รับอาหารเหลวเพียงชั่วคราว เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดจะใช้แรงดันดันอาหารกลับสู่ภาชนะเก็บอาหารเช่นเดิม (Alvard et al., 1993) ในปัจจุบันมีการนำระบบ TIB มาใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมผลิตต้นกล้าพืช เช่น กล้วย ในภาชนะขนาด 10 ลิตร (Albany et al., 2005) กล้วยไม้ฟาแลนนอฟซิสในภาชนะขนาต 5 ลิตร สับปะรด และพืชเขตร้อนอื่นๆ (Jimenez-Gonzales, 2005) โดย นพมณีและคณะ (2549) นำระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวมาใช้ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นได้มาก สามารถร่นระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ลดพื้นที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ถึง 80% ด้วยชุดภาชนะขนาดเล็กเพียง 700 มิลลิลิตร สามารถเพาะเลี้ยงต้นปทุมมาในระยะเพิ่มปริมาณได้ 1,200 ต้นต่อภาชนะหรือสามารถเพาะเลี้ยงต้นฟาแลนนอฟซิสในระยะยืดยาวได้ 500 ต้น และได้มีการพัฒนาระบบ TIB อย่างต่อเนื่อง ให้ขนาดภาชนะมีขนาดใหญ่ขึ้น ในการใช้โดยเฉพาะในประเทศบราซิลที่มีการเพิ่มขนาดของภาชนะให้มีขนาดใหญ่ขึ้นถึง 20-50 ลิตร สามารถผลิตต้นกล้าอ้อยอ้อยได้ถึง 12,000 ต้นต่อภาชนะต่อรอบการผลิต (Bionova, 2010) ได้มีการทดสอบเปรียบเทียบต้นทุนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต้นพืชด้วยระบบอาหารแข็งและระบบ TIB โดย Lorenzo et al. (1998) ได้เพาะเลี้ยงต้นอ้อยพบว่าการใช้ระบบ TIB สามารถลดต้นทุนได้ถึง 46% และ Escalona et al. (1999) ได้เพาะเลี้ยงสับปะรดพบว่าการใช้ระบบ TIB สามารถต้นทุนลงได้ 20%

## การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชปัญหาหลักที่พบ ทำให้สูญเสียต้นพืช คือ ปัญหาการปนเปื้อน การปนเปื้อนในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น หมายถึง สิ่งชีวิตขนาดเล็กที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารหรือชิ้นส่วนพืชภายใต้สภาวะขวดแก้ว (Bunn and Tan, 2002) เมื่อมีการปนเปื้อนเกิดขึ้นในขวดเพาะเลี้ยงพืชทำให้พืชลดอัตราการเจริญเติบโต หรืออาจทำให้ต้นพืชตาย (Reed and Tanprasert, 1995) โดยสาเหตุการปนเปื้อนเกิดได้จาก จุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และยีสต์ หรือเกิดจากแมลงต่างๆ (Leifert et al., 1993) ถ้าเกิดขึ้นอย่างรุนแรงทำให้เกิดการสูญเสียของผลผลิตจำนวนมากไม่สามารถผลิตจำนวนต้นได้ตามเป้าหมายและสูญเสียส่วนของกำไรที่จะได้รับ (Leifert et al., 1993) ดังนั้นในการที่จะประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพในการจัดการการปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการ โดยทั่วไปจะควบคุมการสูญเสียจากการปนเปื้อนไม่เกิน 10% (Leifert and Cassells, 2001)

### 1. สาเหตุและการป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

โดยปกติแหล่งของการปนเปื้อนในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นยากที่จะวิเคราะห์หาสาเหตุที่แท้จริงได้ ซึ่งการปนเปื้อนนั้นสามารถเกิดขึ้นได้ในทุกๆ ขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาเหตุของการปนเปื้อนนั้นมีหลายสาเหตุ ได้แก่ เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ภายในและพื้นผิวของชิ้นส่วนพืช (Bunn and Tan, 2002) จากสภาพแวดล้อมภายในห้องปฏิบัติการ หรือเกิดการปนเปื้อนจากตัวผู้ปฏิบัติงาน ไรหรือแมลงขนาดเล็ก (Reed and Tanprasert,1995) ประสิทธิภาพในการนึ่งฆ่าเชื้ออาหารไม่สมบูรณ์หรือเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อชำรุดไม่สามารถใช้ฆ่าเชื้อได้ปกติ การตัดถ่ายเนื้อเยื่อหากอากาศภายในตู้ลามินาร์ไม่ปลอดเชื้อ (Cassells, 1991; Leifert et al., 1991) จากวิธีในการฟอกฆ่าเชื้อไม่เหมาะสม การปนเปื้อนข้ามในขั้นตอนการตัดถ่ายเนื้อเยื่อซึ่งเกิดจากเทคนิคปลอดเชื้อไม่ดี (Bunn and Tan, 2002)

ได้มีการศึกษาหาสาเหตุของการปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดย Cole (1996) ได้จำแนกชนิดของราที่พบการปนเปื้อนบ่อย มีแหล่งที่มาจากอากาศทั่วๆ ไป ได้แก่ *Alternaria, Aspergillus, Botrytis, Candida* (yeast), *Cladosporium, Epicoccum, Microsporum, Mucor, Penicillium, Phialophora, Rhizopus, Rhodotorula* (yeast), *Trichoderma* พบในดินได้แก่ *Fusarium* และ Odutayo et al. (2007) ก็ได้ศึกษาแหล่งที่มาของการปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเช่นกันโดยศึกษาในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 4 แห่งในประเทศไนจีเรีย โดยตรวจหาแหล่งที่มาของเชื้อเชื้อจากตัวผู้ปฏิบัติงาน ชิ้นส่วนพืช อากาศ

ภายในห้องปฏิบัติการ ผนังของห้องปฏิบัติการ และพื้นโต๊ะที่ใช้ในการทำงานนอกจากนี้ยังได้ตรวจสอบเชื้อจากกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและสภาพแวดล้อมภายในห้องปฏิบัติการ ผลการวิจัยพบว่าสามารถจำแนกเชื้อที่ปนเปื้อนออกมาได้ 19 ชนิดโดยแบ่งออกเป็นเชื้อแบคทีเรีย 11 ชนิดและเชื้อรา 8 ชนิด ซึ่งเชื้อที่มีการปนเปื้อนในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและจากสภาพแวดล้อมเป็นเชื้อตัวเดียวกันแบ่งออกเป็นแบคทีเรีย 9 ชนิดได้แก่ *Pseudomonas flourescens*, *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Micrococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium* sp. และ *Erwinia* sp. และเชื้อรา 8 ชนิด ได้แก่ *Alterneria tenius*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium* sp., *Saccharomyces* sp., *Fusarium oxysporum*, *Rizopus nigricans* และ *Fusarium culmorum*

**2. ดัชนีการปนเปื้อน**

โดยปกติวิธีการที่ใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถทำได้โดยสังเกตเชื้อที่เจริญเติบโตอยู่บนอาหารในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Cassells, 2001) วิธีการนี้สามารถตรวจสอบการปนเปื้อนได้บางชนิด แต่ไม่สามารถตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่ไม่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารหรือพวกเอนโดไฟท์ได้ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Reed and Tanprasert, 1995) แต่วิธีการตรวจเชื้อด้วยวิธีการสังเกตที่อาหารเพาะเลี้ยงต้นพืชมีความสะดวกและเป็นที่นิยมใช้ในการตรวจสอบเชื้อที่ปนเปื้อน (Reed and Tanprasert, 1995) เพื่อความสะดวกในการสังเกตการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นควรเลือกใช้วุ้นที่ใสเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงต้นพืช เช่น เจลไลท์ (Cassells, 2001) ลักษณะการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นจากเชื้อราสามารถสังเกตเห็นเส้นใยได้ชัดเจนบนผิวของอาหาร ส่วนการปนเปื้อนจากแบททีเรียและยีสต์จะสังเกตเห็นเป็นกลุ่มของโคโลนีอยู่บนผิวของอาหาร ซึ่งโคโลนีของยิสต์จะใหญ่และสามารถเห็นได้ชัดเจนกว่าแบคทีเรีย (Bunn and Tan, 2002) ควรมีสุ่มตรวจอย่างสม่ำเสมอ หากพบว่าการปนเปื้อนมากกว่ากำหนด ให้ทำการวิเคราะห์หาสาเหตุการปนเปื้อนและควบคุมการปนเปื้อนที่เกิดขึ้น (Cassells, 2001)

จากสาเหตุการปนเปื้อนที่กล่าวมา ได้มีการแก้ปัญหาโดย การใช้เติมสาร PPM, G-1 (2-(5-bromo-furil)-1-bromo-1-nitroethane), sodium hypochlorite, sodium dichloroisocyanurate ในอาหารเลี้ยงต้นพืช และการควบคุมค่า pH ให้เป็นกรดเพื่อใช้ควบคุมการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในอาหารที่เพาะเลี้ยงกล้วยและพืชอื่นๆ (Levin and Tanny, 2004) แต่วิธีการนี้ไม่ได้เป็นวิธีการแก้ไขปัญหาอย่างยั่งยืน การสร้างห้องปฏิบัติการหรือการปรับปรุงห้องปฏิบัติการให้ สะอาดมีมาตรฐาน มี

ส่วนช่วยให้ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความปลอดเชื้อสูง (Ahloowalia et al., 2004:, Bridgen and Bertok, 1997)

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน

## อุปกรณ์และสารเคมี

1. ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ประกอบด้วย

1) ระบบลม ประกอบด้วย

- ปั๊มลมยี่ห้อ HITACHI ขนาด 3 แรงม้ากำลังการผลิตลม 90 ลิตรต่อนาที
- ชุดกรองอากาศและปรับแรงดันลม

2) ชุดติดตั้งและควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ประกอบด้วย

- ชั้นวางพร้อมระบบท่อลม และหลอดไฟให้แสงสว่างแก่ต้นพืช สำหรับภาชนะไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตรจำนวน 4 ชุด
- ชุดระบบควบคุมการทำงานของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตรด้วยคอมพิวเตอร์
- คอมพิวเตอร์สำหรับควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

3) อุปกรณ์และชุดภาชนะไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ประกอบด้วย

- ภาชนะไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ตัวภาชนะทำด้วยพลาสติกโพลีคาบอเนต ส่วนฝาทำด้วยพลาสติกโพลีโพพีลีน มีข้อต่อสำหรับท่อลมและท่ออาหารที่ฝา ตัวกรองอากาศ และท่อซิลิโคนสำหรับต่อกับท่อลมและท่ออาหาร

2. ตู้ปลอดเชื้อ (บริษัท clean, ประเทศไทย)

3. เครื่องฆ่าเชื้อความดันไอ (บริษัท Sturdy, Taiwan)

4. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (บริษัท Mettler-Toledo, Switzerland)

5. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (บริษัท Mettler-Toledo, Switzerland)

6. อาหารเพาะเลี้ยงอ้อยสูตร Murashige and Skoog (1962) ดัดแปลง (MS) ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก MS ธาตุอาหารรอง น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ หากต้องการทำเป็นอาหารแข็งให้เติมเจลแลนกัม 3 กรัมต่อลิตร

7. ต้นอ้อยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระยะเพิ่มปริมาณในอาหารแข็งอายุ 4 สัปดาห์

8. อุปกรณ์วัดเชื้อภายในห้องปฏิบัติการจาก ดร.ภูษิตา วรรณิสสร และคณะ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

## วิธีการดำเนินงาน

การวิจัยการออกแบบและการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เพื่อการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร มีขั้นตอนในการทำงานดังต่อไปนี้

**ขั้นตอนที่ 1 การวิเคราะห์สถานการณ์ห้องปฏิบัติการเดิมในการรองรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

ในการที่จะนำเอาระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ซึ่งประกอบด้วยภาชนะที่มีขนาดใหญ่ 20 ลิตร จำนวน 4 ชุด (ภาชนะ 8 ใบ) ขึ้นไป และวิธีการจัดการระบบผลิตต้นพืชเปลี่ยนแปลงไปจากระบบการผลิตต้นพืชด้วยอาหารแข็งเติมมาติดตั้งเพิ่มเติมภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะต้องมีการจัดพื้นที่เฉพาะสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ที่สามารถจัดการและควบคุมการปนเปื้อนที่อาจจะเกิดขึ้นกับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตรได้ ดังนั้นจึงต้องมีการวิเคราะห์ความพร้อมภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมในด้านต่างๆ ก่อน ดังนี้ คือ

**ก. วิเคราะห์ผังของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม**

1) การวิเคราะห์การจัดวางตำแหน่งของห้องต่างๆ ภายในห้องปฏิบัติการในส่วนของกิจกรรมภายในห้องปฏิบัติการและการรักษาความสะอาดให้มีความสัมพันธ์กัน เพื่อหาจุดที่อาจจะทำให้เกิดความเสี่ยงในการปนเปื้อน

2) การวิเคราะห์เส้นทางเดินของคนภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม เพื่อให้การเป็นไปอย่างคล่องตัวและปลอดภัย

3) การวิเคราะห์เส้นทางเดินของวัสดุและอุปกรณ์ภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมตามลำดับของการปฏิบัติงาน เพื่อให้การดำเนินงานเป็นไปอย่างคล่องตัวและปลอดภัย

4) ข้อจำกัดอื่นๆ ของผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม

**ข. การวิเคราะห์โครงสร้างและวัสดุที่ใช้ในการก่อสร้างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม**

1) พื้นห้อง

2) ผนังห้อง

3) ฝ้าเพดาน

4) ประตูห้อง

**ค. เงื่อนไขในการกำหนดสถานที่จำเป็นสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

1) ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

2) ห้องสำหรับติดตั้งคอมพิวเตอร์สำหรับควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

3) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อเฉพาะของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

4) ห้องฆ่าเชื้อภาชนะระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ด้วยแก๊ส

**ขั้นตอนที่ 2 การออกแบบผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่สำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และการเลือกวัสดุก่อสร้าง**

ข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ในขั้นตอนที่ 1 สามารถนำมาปรับปรุงและออกแบบผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่ โดยเพิ่มเติมตำแหน่งของห้องสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ตลอดจนเปลี่ยนแปลงและปรับปรุงตำแหน่งต่างๆ ของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่จะเกิดขึ้นจากสภาพแวดล้อมในการทำงาน แล้วนำไปใช้เป็นแบบในการปรับปรุงก่อสร้างต่อไป

ทำการออกแบบห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่ จากข้อมูลต่างๆ ที่ได้ในขั้นตอนที่ 1 โดยคำนึงถึง

**ก. ห้องที่จำเป็นสำหรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

1) ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

2) ห้องคอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

3) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อเฉพาะสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

4) ห้องรมควันฆ่าเชื้อชุดอุปกรณ์ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

5) ห้องแต่งตัว

**ข. ส่วนอื่นๆ ที่ปรับปรุงของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม**

จากการวิเคราะห์ที่ผังของห้องปฏิบัติการเดิม ซึ่งมีบางจุดที่พบว่าเป็นจุดเสี่ยงที่อาจจะก่อให้เกิดการปนเปื้อนขึ้น ได้มีการปรับปรุงบางส่วน ได้แก่

1) การวิเคราะห์การกั้นประตูทางเข้าเดิมของห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน
2) การกั้นประตูทางเข้าเดิมห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 และ 2
3) การย้ายจุดสุขาภิบาลเดิมในห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน
4) ระบบไฟฟ้าแสงสว่างสำหรับต้นไม้

**ค. การวิเคราะห์การออกแบบผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่หลังจากออกแบบห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

หลังจากได้ออกแบบห้องปฏิบัติการใหม่สำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพื่อกำจัดจุดเสี่ยงที่คาดว่าจะก่อให้เกิดการปนเปื้อนแล้ว ได้นำผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ออกแบบใหม่มาวิเคราะห์ ก่อนที่จะมีการปรับปรุงและก่อสร้างห้องปฏิบัติการผลการวิเคราะห์มีดังต่อไปนี้

1) การจัดวางตำแหน่งของห้องต่างๆ ใหม่
2) การวิเคราะห์เส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานใหม่
3) การวิเคราะห์เส้นทางเดินของวัสดุอุปกรณ์ใหม่

**ขั้นตอนที่ 3 การการตรวจสอบการก่อสร้างและการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้เหมาะสมกับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

ได้มีการก่อสร้างและปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจริง มีระยะเวลาในการดำเนินงาน 32 วัน โดยมีการตรวจงานเป็น 3 งวด แต่อย่างไรก็ตามวิทยานิพนธ์นี้จะไม่มีรายละเอียดการดำเนินงานมาใส่ แต่จะมีการวิเคราะห์และตรวจสอบการดำเนินงานนี้ตามหลักวิชาการระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

จากคุณสมบัติของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ออกแบบใหม่ต้องมีการควบคุมการก่อสร้างอย่างพิถีพิถันเพื่อให้ได้ห้องที่มีคุณภาพตามแบบที่ต้องการ โดยใส่ใจในทุกรายละเอียดในขณะที่มีการก่อสร้าง และหลังจากปรับปรุงก่อสร้างเสร็จเรียบร้อยก่อนรับมอบงานต้องมีการตรวจสอบความเรียบร้อยของห้องปฏิบัติการในด้านต่างๆ ดังนี้ คือ

**ก. การปรับปรุงก่อสร้างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

ในการปรับปรุงและก่อสร้างห้องปฏิบัติการใหม่ต้องมีการติดตามงาน ตามลักษณะงานโดยมีการแบ่งงานออกเป็นส่วนต่างๆ ดังนี้

รายละเอียดในการปรับปรุงก่อสร้างสามารถแยกงานออกเป็นส่วนของงานต่าง ๆ ดังนี้

1) งานปรับปรุงและก่อสร้างฝ้าเพดาน

2) งานผนังห้อง

3) งานไฟฟ้า

4) งานสุขาภิบาล

5) งานกระจก

6) งานสี

**ข. ส่วนที่ปรับปรุงของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม**

1) การกั้นประตูทางเข้าเดิมห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 และ 2

2) การย้ายจุดสุขาภิบาลเดิมในห้องถ่ายเนื้อเยื่อ

**ค. ลักษณะของห้องที่มีการปรับปรุงแล้ว**

เมื่อปรับปรุงและก่อห้องปฏิบัติการเสร็จเรียบร้อยได้ห้องปฏิบัติการใหม่สำหรับในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชร่วมกับการเรียนการสอน โดยมีห้องต่างๆดังต่อไปนี้

1) ห้องคอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

2) ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

3) ห้องแต่งตัว

4) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

5) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับการเรียนการสอน

6) ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 1

7) ห้องเพาะเลี้ยงพืช 2

8) ห้องรมควันฆ่าเชื้อ

**ขั้นตอนที่ 4 การตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใหม่ตามมาตรฐานสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)**

**วิธีการทดสอบ**

1) นำเครื่องตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศเก็บตัวอย่างอากาศตามตำแหน่งต่างๆ ภายในห้องปฏิบัติการห้องละ 2 จุด และอากาศภายในตู้ปลอดเชื้อทุกตู้ภายห้องปฏิบัติการ

2) นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อเก็บตัวอย่างเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง สำหรับการตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราตามลำดับ

3) เมื่อบ่มเชื้อครบตามเวลาที่กำหนดทำการตรวจนับจำนวนเชื้อที่เกิดขึ้น

**ขั้นตอนที่ 5 การทดสอบระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ที่ติดตั้งในห้องปฏิบัติการใหม่**

ทำการทดสอบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ด้วยการเพาะเลี้ยงต้นอ้อย ซึ่งมีขั้นตอนในการทดสอบการจัดการดังต่อไปนี้

1) การเตรียมต้นอ้อยด้วยระบบอาหารแข็งเพื่อใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

2) การเตรียมสถานที่และการจัดการห้องปฏิบัติการก่อนเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

- การเตรียมห้องสำหรับถ่ายเนื้อเยื่ออ้อยเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร
- การเตรียมห้องควบคุมระบบและติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

3) การเตรียมนึ่งฆ่าเชื้อชุดภาชนะและอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอ้อย

4) การถ่ายเนื้อเยื่ออ้อยลงในภาชนะไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ภายในห้องถ่ายเนื้อเยื่อพืช

5) ติดตั้งชุดภาชนะไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวเข้ากับระบบควบคุมและการดูแลระหว่างการเพาะเลี้ยงพืชในห้องติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

**ขั้นตอนที่ 6 การจัดทำข้อกำหนดในการใช้งานและการดูแลรักษาความสะอาดของแต่ละห้องภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

สำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดำเนินการวางมาตรการการจัดการด้านสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ดี เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัด โดยจะต้องมีการจัดการควบคุมสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงานตั้งแต่เริ่มเข้าห้องปฏิบัติการ ตลอดจนทุกกิจกรรมการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภายในห้องปฏิบัติการ

การดูแลและรักษาความสะอาดทั่วไปภายในห้องปฏิบัติการ

ก. ห้องเก็บของส่วนตัวของผู้ปฏิบัติงาน

ข. ห้องพักอาจารย์

ค. ห้องพักนักศึกษาปริญญาโท

ง. ห้องนักวิจัย 1

จ. ห้องนักวิจัย 2

ฉ. ห้องนึ่งฆ่าเชื้อ

ช. ห้องล้างและเตรียมอุปกรณ์

ซ ห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน

ฌ. ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1

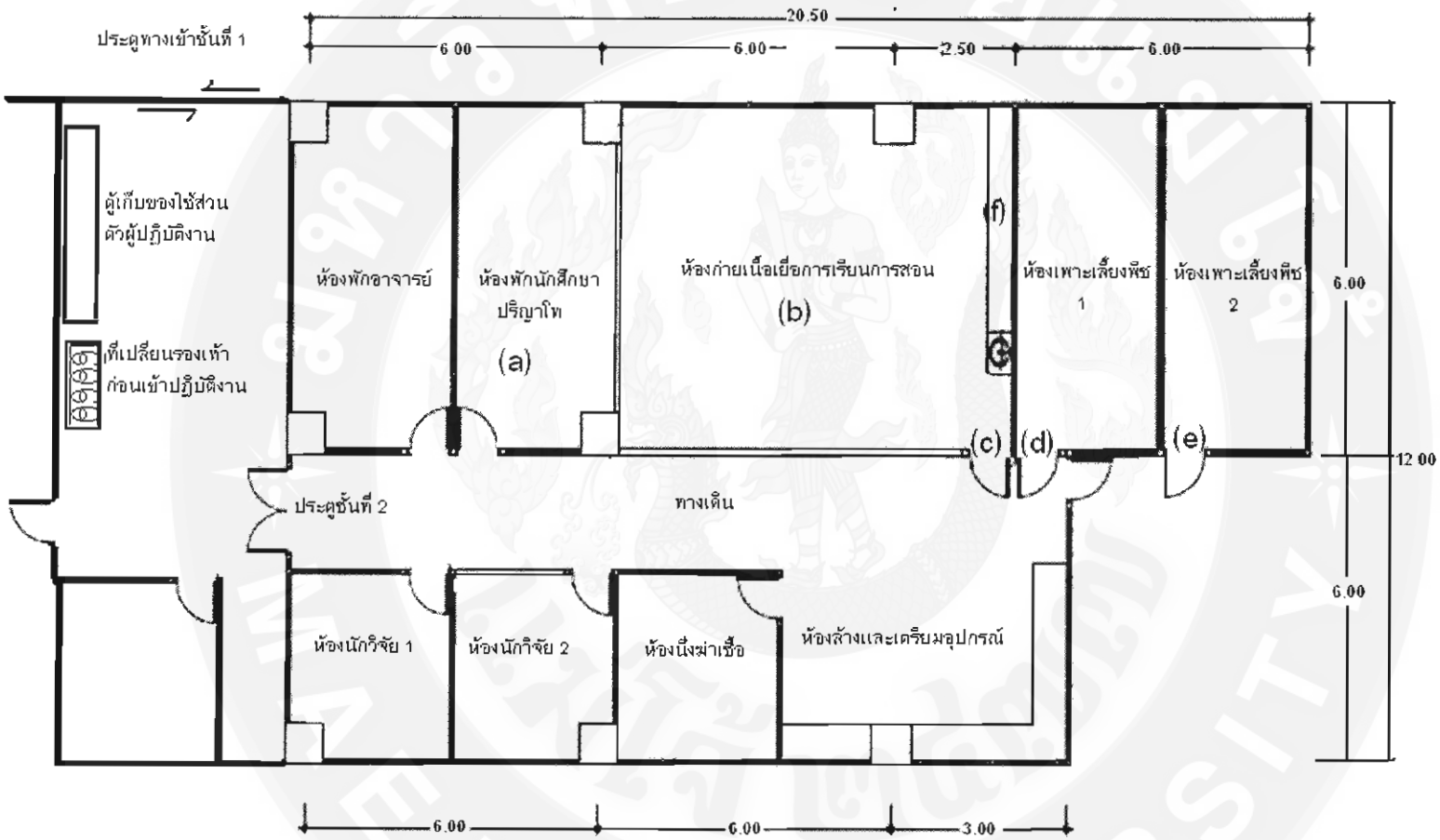
ญ ห้องเพาะเลี้ยงพืช 2

# บทที่ 4
# ผลและการอภิปรายผลการวิจัย

## ผลการทดลองขั้นตอนที่ 1 การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมเป็นห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสำหรับการเรียนการสอนและงานวิจัย ที่ออกแบบห้องที่ผ่านมาเป็นไปตามหลักการออกแบบห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ ได้จัดวางตำแหน่งห้องต่าง ๆ เป็นไปตามกิจกรรมของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีการวางตำแหน่งของห้องที่รักษาความสะอาดน้อยอยู่ด้านนอกและห้องที่ต้องรักษาความสะอาดสูงไว้ด้านในสุดตามลำดับ ในภาพ 2 ได้แสดงแผนผังของเดิมของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ซึ่งมีขนาด 282 ตารางเมตร จำนวน 10 ห้อง ประกอบไปด้วย

1) ห้องเก็บของส่วนตัวของผู้ปฏิบัติงาน
2) ห้องพักอาจารย์
3) ห้องพักนักศึกษาปริญญาโท
4) ห้องนักวิจัย 1
5) ห้องนักวิจัย 2
6) ห้องนึ่งฆ่าเชื้อ
7) ห้องล้างและเตรียมอุปกรณ์
8) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน
9) ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1
10) ห้องเพาะเลี้ยงพืช 2




**ภาพ 2** ผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ก่อนการปรับปรุง

*ส่วนที่แรเงาหมายถึง บริเวณห้องที่รักษาความสะอาดสูง

ผลการวิเคราะห์ผังของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม เพื่อหาความเสี่ยงของการปนเปื้อนที่อาจจะเกิดขึ้นจากแบบของห้องปฏิบัติการเดิมมีการวิเคราะห์ต่าง ๆ ดังนี้

**ก. การวิเคราะห์ผังของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม**

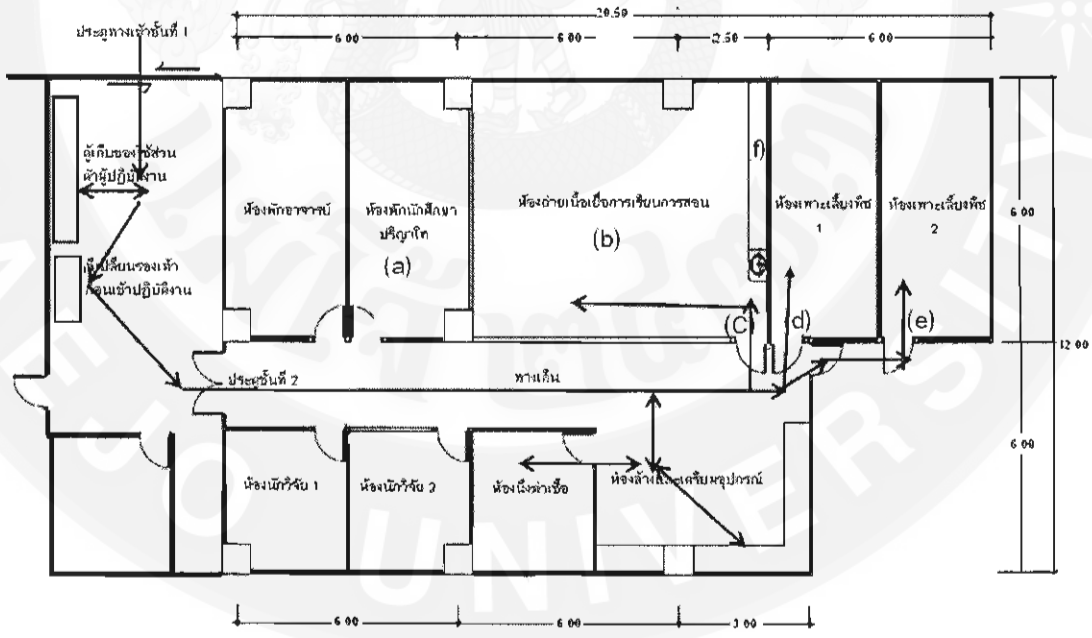
1) การวิเคราะห์การจัดวางตำแหน่งห้องต่างๆ ภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเดิม (ภาพ 2) พบว่าการจัดวางตำแหน่งของห้องต่างๆ ภายในห้องปฏิบัติการตามกิจกรรมภายในของห้องปฏิบัติการและการรักษาความสะอาดมีความสัมพันธ์กัน โดยมีการจัดส่วนที่เป็นสำนักงานไว้ส่วนด้านหน้าของห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ห้องเก็บของส่วนตัวของผู้ปฏิบัติงาน ห้องพักอาจารย์ ห้องพักนักศึกษาปริญญาโท และห้องนักวิจัย 1 และ 2 และส่วนงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอยู่ด้านในของห้องปฏิบัติการ โดยมีการวางตำแหน่งของห้องนึ่งฆ่าเชื้อและห้องล้างทำความสะอาดอุปกรณ์ไว้ด้านขวามือ ซึ่งเป็นส่วนของขอบอาคารที่ติดกับหน้าต่างและเป็นด้านทิศตะวันตกที่มีแสงแดดส่องเข้าถึงในช่วงเวลาบ่าย ส่วนห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน และ ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 และ 2 วางตำแหน่งไว้ด้านซ้ายมือของห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ด้านในของตัวอาคารเป็นส่วนที่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมและการปนเปื้อนได้ง่าย

นอกจากนั้นยังมีการจัดกลุ่มของห้องตามการรักษาความสะอาดระดับเดียวกันไว้ด้วยกัน เพื่อความสะดวกในการดูแลรักษาความสะอาด 2 ส่วน คือ

- ส่วนที่มีการรักษาความสะอาดระดับปกติประกอบด้วย ห้องเก็บของส่วนตัวของผู้ปฏิบัติงาน ห้องพักอาจารย์ ห้องพักนักศึกษาปริญญาโท ห้องนักวิจัย 1 และ 2 และในส่วนของงานเกี่ยวกับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ห้องนึ่งฆ่าเชื้อ และห้องล้างและเตรียมอุปกรณ์
- ส่วนที่มีการรักษาความสะอาดสูง (ภาพ 2 บริเวณที่มีการแรเงา) ประกอบด้วย ห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 และ ห้องเพาะเลี้ยงพืช 2

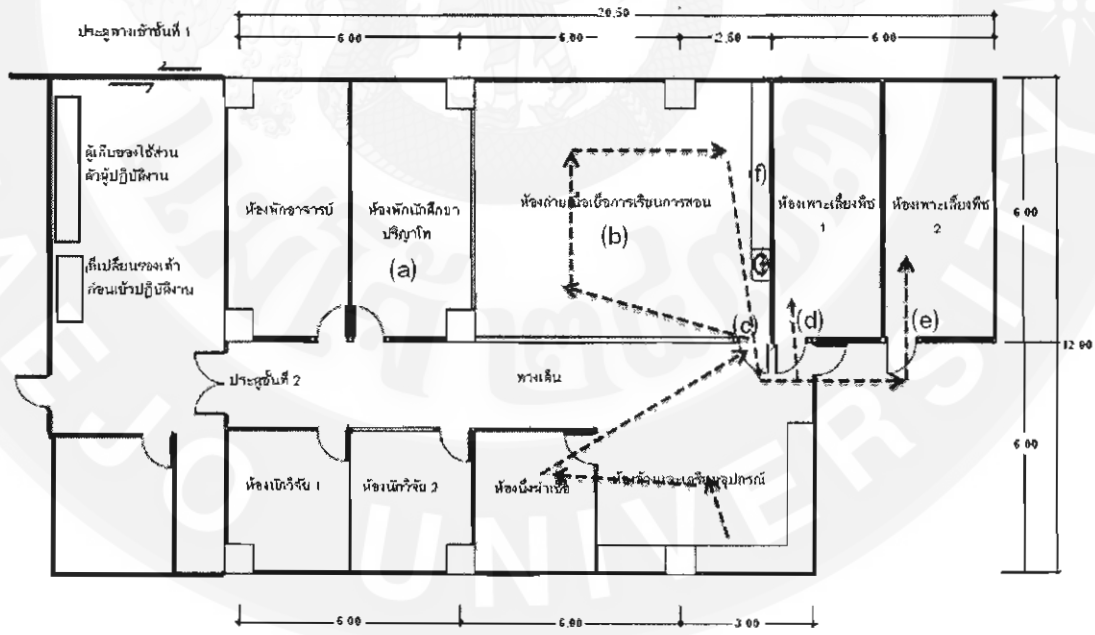
2) การวิเคราะห์เส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานในภาพ 3 ได้แสดงการเข้าปฏิบัติงานที่จะเข้ามาในห้องปฏิบัติการด้วยลูกศร โดยเริ่มจากเดินผ่านประตูใหญ่ของห้องปฏิบัติการ แล้วนักวิจัยเก็บอุปกรณ์และเครื่องใช้ส่วนตัวในตู้เก็บของ จากนั้นมีบริเวณสำหรับเปลี่ยนรองเท้า ซึ่งมีรองเท้าแตะสีดำสำหรับใช้ภายในห้องปฏิบัติการให้เปลี่ยนก่อนผ่านประตูชั้นที่ 2 เข้ามาภายในห้องปฏิบัติการ

ในการทำงานของผู้ปฏิบัติงานภายในห้องปฏิบัติการเดิม สามารถเดินเข้าออกในแต่ละห้องภายในห้องปฏิบัติการได้อย่างอิสระ มีการเข้าออกได้โดยตรงจากห้องที่มีการรักษาความสะอาดในระดับต่างกัน ได้แก่ บริเวณประตูห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน ภาพ 3 จุด c ประตูห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 ภาพ 3 จุด d ประตูห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 ภาพ 3 จุด e ซึ่งในกรณีนี้ทำให้เกิดการพาเชื้อจุลินทรีย์โดยมนุษย์จากบริเวณที่มีการรักษาความสะอาดปกติไปสู่บริเวณที่ต้องการความสะอาดสูง ทำให้ขาดประสิทธิภาพในการควบคุมจำนวนเชื้อในสิ่งแวดล้อมภายในห้องที่ต้องการรักษาความสะอาดระดับสูง ซึ่งทำให้เกิดความเสี่ยงสูงของการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมในขณะการทำงานได้ ทำให้เกิดความเสียหายเกิดขึ้นแก่เนื้อเยื่อพืชตามมาได้




**ภาพ 3** เส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมแสดงไว้ด้วยลูกศร

3) การวิเคราะห์เส้นทางเดินของอุปกรณ์ภายในห้องปฏิบัติการ เช่น รถเข็น ขวดเพาะเลี้ยงพืช หรืออุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในขั้นตอนการทำงาน (ลูกศรเส้นประ ภาพ 4) พบว่า เส้นทางเดินของวัสดุภายในห้องปฏิบัติงานมีบางจุดไม่เป็นไปตามลำดับของงาน ได้แก่ ขั้นตอนการทำงานตัดถ่ายชิ้นส่วนพืช ในการทำงานตัดถ่ายชิ้นส่วนพืชนั้น จะทำงานในสภาพปลอดเชื้อ ภายในตู้ปลอดเชื้อในห้องถ่ายเนื้อเยื่อ ภาพ 4 จุด b เพราะฉะนั้นขวดพืชที่ผ่านการทำงานในขั้นตอนนี้จะเป็นขวดพืชที่สะอาดและภายในขวดมีสภาพปลอดเชื้อ จากนั้นจะมีการลำเลียงขวดพืชไปยังห้องเพาะเลี้ยงพืช (ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 และ 2 ภาพ 4) ซึ่งในการลำเลียงขวดนั้นไม่ได้มีการลำเลียงไปโดยตรงยังห้องเพาะเลี้ยงพืช แต่จะมีการลำเลียงขวดพืชออกมาผ่านประตูห้องถ่ายเนื้อเยื่อ ภาพ 4 จุด c ออกไปยังบริเวณห้องล้างและเตรียมอุปกรณ์ (ภาพ 4) แล้วจึงเปิดประตูห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 ภาพ 4 จุด d หรือห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 ภาพ 4 จุด e อีกครั้ง กรณีนี้เป็นขั้นตอนการทำงานที่ไม่ถูกต้องตามลำดับของงาน โดยขวดพืชที่สะอาดจะถูกนำไปจากส่วนการรักษาความสะอาดสูงข้ามมาสัมผัสกับอากาศส่วนที่รักษาความสะอาดระดับปกติ (อาจจะเกิดความเสี่ยงที่จะทำให้เกิดการปนเปื้อนข้ามจากจุลินทรีย์ภายในอากาศสู่ขวดเพาะเลี้ยงพืชได้ นอกจากนั้นในการลำเลียงขวดพืชนั้น อาจจะทำให้เกิดการนำพาเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศไปสะสมภายในห้องเพาะเลี้ยงพืชด้วย




**ภาพ 4** เส้นทางเดินวัสดุอุปกรณ์ของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมแสดงไว้ด้วยลูกศรเส้นประ

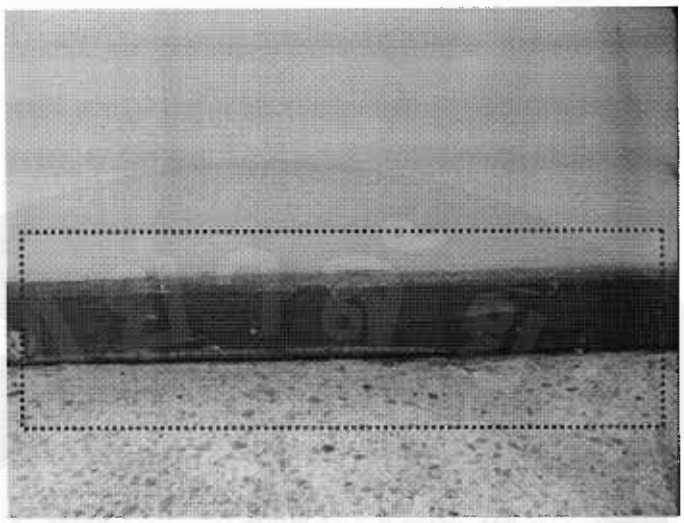
4) ข้อจำกัดอื่นๆ ของผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม นอกเหนือจากการวิเคราะห์ส่วนต่างๆ ตามที่กล่าวมาข้างบน ยังพบว่าบริเวณสำหรับรักษาสุขอนามัยภายในห้องปฏิบัติการ เดิมมีจุดสำหรับรักษาสุขอนามัยจุดที่หนึ่ง คือ บริเวณทางเข้าหลักหรือที่มีจุดสำหรับการเปลี่ยนรองเท้าที่ห้องเก็บอุปกรณ์เครื่องใช้ส่วนตัวของผู้ปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการพาเชื้อจากการเหยียบย่ำที่ติดมากับรองเท้า เข้าและสะสมอยู่ภายในห้องปฏิบัติการ และเมื่อเข้าทำงานภายในห้องปฏิบัติงานก่อนที่จะเข้าสู่ส่วนที่มีการรักษาความสะอาดระดับสูง สำหรับห้องถ่ายเนื้อเยื่อ มีจุดล้างทำความสะอาดมือ แต่ไม่มีจุดสำหรับเก็บเสื้อกาวน์ที่จะใส่เมื่อเข้าปฏิบัติงาน ในการจะสวมเสื้อกาวน์นั้นจะนำติดตัวมาสวมใส่ก่อนเข้าทำงาน โดยบริเวณดังกล่าวนี้รวมอยู่ภายในห้องถ่ายเนื้อเยื่อไม่มีการแยกส่วนออกจากกัน

ส่วนการเข้าทำงานภายในห้องถ่ายเนื้อเยื่อ 1 และ 2 ต้องมีการสวมเสื้อกาวน์ก่อนเข้าปฏิบัติงาน ดังนั้น ในการเข้าทำงานในส่วนที่รักษาความสะอาดสูงควรจะมีห้องเฉพาะสำหรับเก็บอุปกรณ์และบริเวณสำหรับรักษาสุขอนามัยของตัวผู้ปฏิบัติงานก่อนเข้าทำงาน

**ข. การวิเคราะห์โครงสร้างและวัสดุที่ใช้ในการก่อสร้างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม**

1) พื้นห้องปฏิบัติการเดิมเป็นพื้นหินขัด มีลักษณะเป็นผิวเรียบปราศจากรอยต่อที่จะเป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ แต่ส่วนรอยต่อของผนังกับพื้นของห้องปฏิบัติการมีลักษณะทำมุมตั้งฉากกัน (ภาพ 5) ซึ่งรอยต่อระหว่างผนังและพื้นไม่ได้เชื่อมต่อกันสนิทน้ำสามารถเข้าไปตามรอยห่างต่าง ๆได้ ทำให้ไม่สามารถทำความสะอาดได้ทั่วถึง ซึ่งจะทำให้เกิดการสะสมของเชื้อโรคและจุลินทรีย์ได้

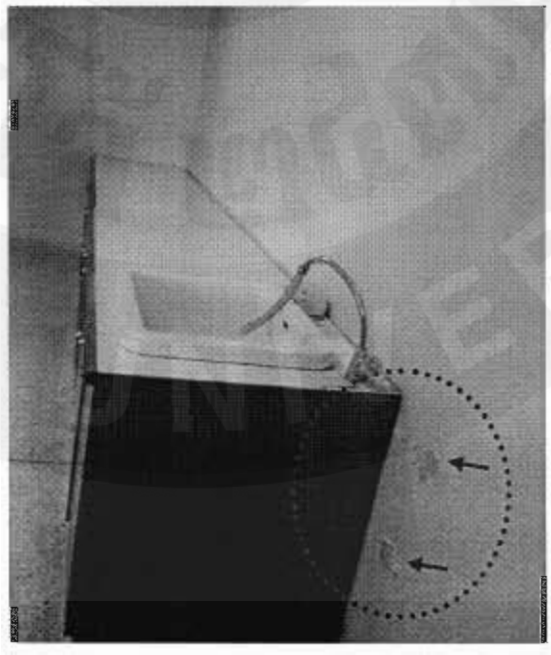
ลักษณะของรอยต่อระหว่างผนังกับพื้นควรเป็นคิ้วกันเปื้อนที่มีลักษณะเป็นขอบโค้งทำจากวัสดุที่ทนต่อความชื้น เพื่อความสะดวกในการทำความสะอาดและป้องกันผุกร่อนจากน้ำหรือน้ำยาถูพื้นที่ใช้ทำความสะอาดห้องและช่องรอยต่อต้องมีการอุดรอยต่อให้สนิทด้วยซิลิโคนป้องการการซึมเข้าของน้ำทำให้เกิดเป็นจุดกำเนิดและสะสมเชื้อ



**ภาพ 5** ลักษณะรอยต่อของผนังห้องปฏิบัติการเดิมมีลักษณะการทำมุมตั้งฉากกัน

2) ผนังห้อง ผนังห้องปฏิบัติการเดิมใช้วัสดุและสีที่ใช้ทาแบบไม่กันชื้น เมื่อใช้เป็นระยะเวลานานเมื่อโดนความชื้นสูงๆ และน้ำ ทำให้สีที่ทาผนังลอกล่อน และผนังเกิดการผุกร่อน (ภาพ 6 บริเวณปลายลูกศรชี้) ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของจุลินทรีย์

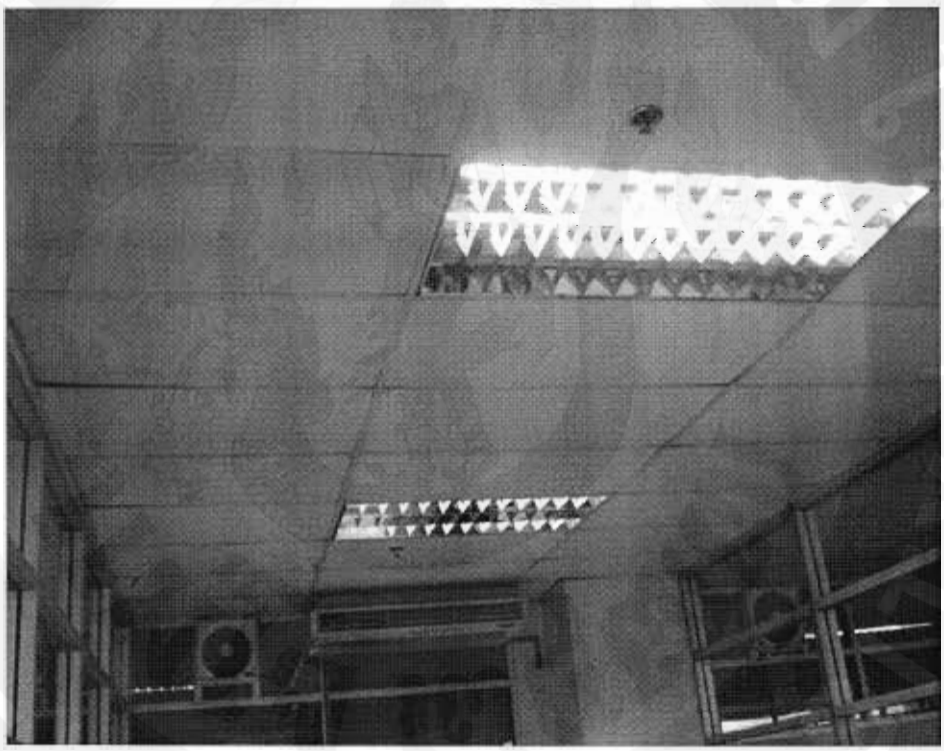
ผนังห้องของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ดีควรมีคุณสมบัติผิวเรียบ ไม่มีรอยต่อ สามารถทำความสะอาดได้ง่าย ไม่ซึมน้ำ ดังนั้นวัสดุที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการก่อสร้างผนังควรเป็นวัสดุที่กันความชื้นและไม่เป็นแหล่งสะสมของเชื้อ



**ภาพ 6** ลักษณะของผนังห้องเดิมที่มีการผุกร่อนเป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์

3) ฝ้าเพดาน ส่วนของโครงสร้างเดิมของห้องปฏิบัติการ ใช้ฝ้าเพดานเป็นแผ่นวางบนโครงคร่าวแบบแขวนหรือที่เรียกว่า ฝ้าที-บาร์ (ภาพ 7) ซึ่งสะดวกในการประกอบใส่และถอดออก ลักษณะของฝ้าเพดานดังกล่าว เป็นแผ่นยิปซัมที่วางต่อกันบนรางที่ไม่มีการเชื่อมประสานกันสนิท ทำให้มีช่องของแมลงหรือสัตว์แปลกปลอมและเชื้อจุลินทรีย์สามารถเข้าไปปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการได้

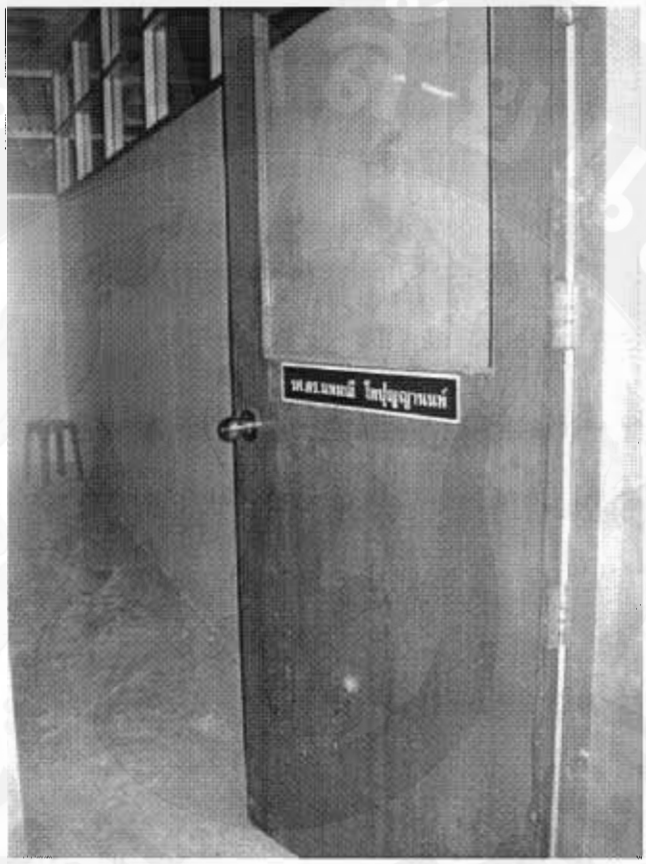
ลักษณะของฝ้าเพดานห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ดีควรใช้ฝ้าเพดานที่ไม่มีรอยต่อและโดยการเชื่อมหรือปิดรอยต่ออย่างดี เช่น เพดานฉาบเรียบ หรือผนังเบา เป็นต้น และสีที่ใช้ทาควรเป็นสีกันชื้นและไม่ลอกหลุดได้ง่าย เพื่อป้องกันปัญหาการปนเปื้อนที่เกิดขึ้น



**ภาพ** 7 ลักษณะของฝ้าเพดานห้องปฏิบัติการเดิมเป็นแบบฝ้าที-บาร์

4) ประตู ลักษณะของประตูห้องปฏิบัติการเดิมใช้เป็นประตูไม้ขอบวงกบเป็นอลูมิเนียมและการติดประตูเป็นแบบบานพับไม่สามารถปิดเองได้อัตโนมัติ (ภาพ 8) ซึ่งวัสดุที่เป็นไม้เมื่อโดนความชื้นอาจจะผุกร่อน เป็นแหล่งสะสมของสิ่งสกปรกหรือสัตว์พาหะนำเชื้อโรคต่าง ๆ เข้าไปอาศัยอยู่ได้

ลักษณะประตูของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ดีควรเป็นประตูกระจกขอบอลูมิเนียม แบบบานสวิงเมื่อเปิดแล้วประตูสามารถปิดได้เอง และลักษณะการเปิดปิดของประตูควรเปิดออกได้ข้างนอกอย่างเดียว



**ภาพ 8** ประตูของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิมทำด้วยไม้

**ค. เงื่อนไขการกำหนดสถานที่ที่จำเป็นสำหรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

ในการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่นั้น จะต้องมีห้องจำเพาะสำหรับติดตั้งระบบควบคุมและชุดระบบภาชนะ ถึงแม้ภายในห้องปฏิบัติการเดิมจะมีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดเล็ก ภาชนะขนาด 700 มิลลิลิตรอยู่แล้ว แต่ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ใหม่ที่จะทำการติดตั้งมีขนาดที่ใหญ่มากขึ้น และระบบการควบคุมการทำงานเปลี่ยนไปจากเดิมที่จะมีการใช้คอมพิวเตอร์ในการควบคุม มีข้อจำกัดของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่อีกประการหนึ่งคือ เมื่อเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์เกิดขึ้นจะทำให้เกิดความเสียหายมากเนื่องจากจำนวนต้นพืชที่ใส่ลงไปมากกว่า ดังนั้นต้องมีการจัดการควบคุมการปนเปื้อนที่เข้มงวด จึงทำให้การ

จัดการกับระบบไบโอรีแอคเตอร์เปลี่ยนไปจากเดิม กล่าวคือ ต้องมีพื้นที่จำเพาะสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ที่ต้องเพิ่มเติมขึ้นมา ได้แก่ ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ห้องควบคุมระบบด้วยคอมพิวเตอร์ ห้องรมควันฆ่าเชื้อภาชนะไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ (ในกรณีที่เปลี่ยนระบบการฆ่าเชื้อจากการใช้ความร้อนจากไอน้ำเป็นการใช้แก๊ส) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อพืชเฉพาะของระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ เนื่องจากห้องถ่ายเนื้อเยื่อเดิม จะมีการใช้ร่วมกับการเรียนการสอนด้วยทำให้ยากต่อการควบคุมในการปนเปื้อน โดยในแต่ละห้องจะมีลักษณะจำเพาะของแต่ละห้องดังนี้

1) ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

ลักษณะของห้องเป็นห้องที่มีความสะอาดสูง สามารถควบคุมจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ภายในอากาศได้ภายในห้อง สามารถควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นและแสง มีการเดินระบบไฟฟ้าและระบบลมสำหรับการใช้งานของระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ และขนาดของห้องต้องมีพื้นที่มากพอสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตรได้ 4-8 ชุด ส่วนลักษณะของประตูมีขนาดกว้างพอที่จะขนย้ายอุปกรณ์และชุดไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ได้สะดวก และมีประตูเชื่อมต่อกับห้องควบคุมระบบด้วยคอมพิวเตอร์

2) ห้องคอมพิวเตอร์สำหรับควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

ลักษณะห้องเป็นห้องที่ผู้ปฏิบัติงานสามารถเข้าทำงานห้องได้โดยตรงไม่ต้องผ่านส่วนอื่นของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ผนังห้องเป็นกระจก สามารถมองเห็นห้องเพาะเลี้ยงต้นอ้อยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่อยู่ติดกันได้ เป็นห้องที่ดูแลและรักษาความสะอาดได้ง่าย อุณหภูมิและความชื้นภายในห้องไม่สูงเกินไป มีแสงสว่างเพียงพอ มีการเดินระบบไฟฟ้าสำหรับการใช้งานระบบควบคุมคอมพิวเตอร์

3) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

เนื่องจากการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่จะสำเร็จและสามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้นหัวใจสำคัญ คือ ความสามารถที่จะจัดการและควบคุมการปนเปื้อนไม่ให้เกิดขึ้นกับระบบในขณะเพาะเลี้ยงพืช ดังนั้นห้องถ่ายเนื้อเยื่อเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญที่จะต้องมีการควบคุมเฉพาะ ไม่สามารถใช้ร่วมกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อเดิมที่มีอยู่ได้ เนื่องจากเป็นห้องที่ต้องใช้ร่วมกับการเรียนการสอนด้วย จึงมีนักศึกษาเข้ามาใช้เป็นจำนวนมาก ยากต่อการควบคุมการปนเปื้อน ลักษณะของห้องจะต้องเป็นห้องที่มีความสะอาดสูง รักษาความสะอาดได้ง่าย สามารถควบคุมการปนเปื้อนได้ มีประตูเชื่อมต่อโดยตรงกับห้องติดตั้งระบบไบโอรีแอค

เตอร์ขนาด 20 ลิตร มีพื้นที่เพียงพอสำหรับวางตู้ปลอดเชื้อ และมีการเตรียมระบบไฟฟ้าสำหรับตู้ปลอดเชื้อ มีแสงสว่างที่เพียงพอ และควรมีเครื่องปรับอากาศภายในห้อง

4) ห้องรมควันสำหรับฆ่าเชื้อชุดภาชนะไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร (ในกรณีการใช้แก๊สในการฆ่าเชื้ออุปกรณ์)

ลักษณะของห้องนี้เป็นห้องที่ใช้แก๊สที่เป็นอันตรายในการฆ่าเชื้อ ดังนั้นห้องต้องไม่มีการรั่วไหลของแก๊ส สามารถดูแลและรักษาความสะอาดได้ง่าย พื้น ผนัง และฝ้าเพดานต้องเป็นผิวเรียบ ประตูที่ใช้เป็นประตูบานเดี่ยวที่มีการปิดให้แน่นโดยขอบของประตูจะติดยางเพื่อไม่ให้แก๊สรั่วไหลออกมาได้ มีตัวล็อคประตูด้านนอกของประตู ผนังห้องเป็นกระจก ภายในห้องมีระบบป้องกันความปลอดภัยโดยมีค้อนสำหรับทุบกระจกในขณะที่กรณีที่ประตูเปิดออกจากภายในไม่ได้ มีระบบไฟฟ้าเพื่อรองรับเครื่องฆ่าเชื้อ

## ผลการทดลองขั้นตอนที่ 2 การออกแบบผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่สำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ขนาด 20 ลิตร และการเลือกวัสดุก่อสร้าง

จากการวิเคราะห์ข้อมูลในขั้นตอนที่ 1 ได้มีการออกแบบผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ดังภาพ 9 ในการออกแบบใหม่ต้องยึดรูปแบบโครงสร้างเดิม มีบางจุดไม่สามารถเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจากอาจมีผลกระทบต่อโครงสร้างของอาคาร จึงได้มีการออกแบบใหม่ให้มีความเหมาะสมสำหรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ดังนี้คือ

**ก. ห้องที่จำเป็นสำหรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร**

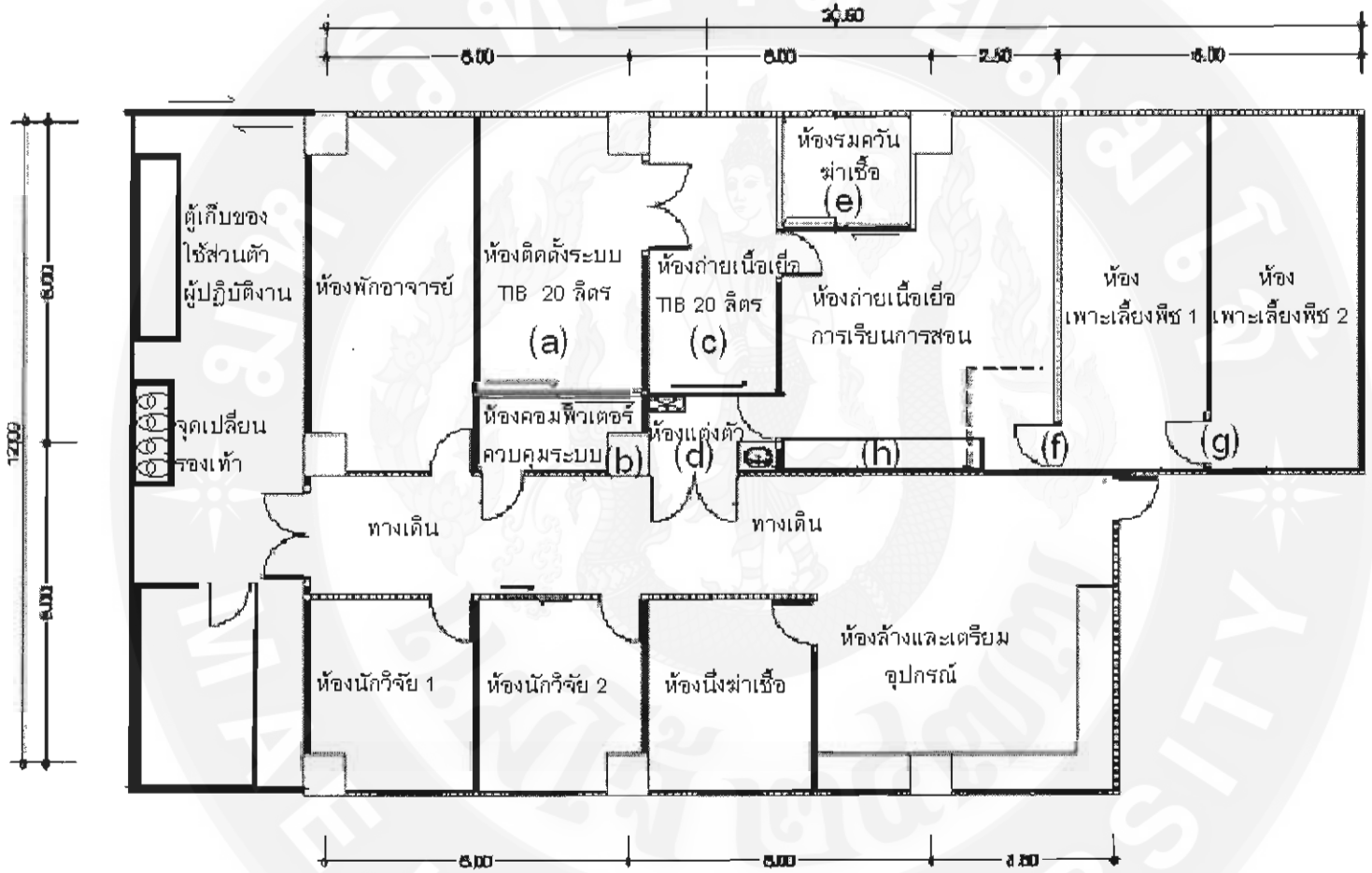
1) ห้องคอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาต 20 ลิตร (ภาพ 9b) คุณลักษณะของห้องคือ ตำแหน่งของเป็นบริเวณที่สามารถเข้ามาทำงานได้โดยตรง ไม่ต้องผ่านห้องถ่ายเนื้อเยื่อหรือห้องเพาะเลี้ยงพืช เพื่อเลี่ยงการปนเปื้อนของเชื้อ ผนังห้องเป็นกระจก สามารถมองเห็นห้องเพาะเลี้ยงต้นอ้อยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่อยู่ติดกันได้ เพื่อสามารถสังเกตการณ์ทำงานของระบบเพาะเลี้ยงพืชขณะเลี้ยงต้นพืชได้ และสามารถเข้าไปสู่ห้องระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ได้ในกรณีที่ระบบมีปัญหาเพื่อแก้ไขระบบ โดยจัดวางตำแหน่งห้องให้ติดกับห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ขนาด 20 ลิตรเพื่อความสะดวกในการดูแลควบคุมระบบ ในตำแหน่งห้องพักนักศึกษาปริญญาโทเดิม (ภาพ 2 จุด a)

2) ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร (ภาพ 9 จุด a) ลักษณะทั่วไปของห้องเป็นห้องปลอดเชื้อสามารถดูแลและรักษาความสะอาดได้ง่าย พื้น ผนัง และฝ้าเพดานต้องเป็นผิวเรียบ ไม่มีช่องที่ทำความสะอาดได้ยาก และมีการปิดรอยต่อด่างๆ ภายในห้องด้วยซิลิโคน สามารถควบคุมอุณหภูมิภายในห้องด้วยเครื่องปรับอากาศ ในห้องสามารถควบคุมความชื้นได้ สามารถควบคุมแสงจากภายนอกได้ ประตูเป็นประตูบานคู่ เพื่อความสะดวกในการขนย้าย อุปกรณ์ต่างๆ ของระบบ TIB ขนาดใหญ่ และประตูจะต้องเปิดออกจากห้องเท่านั้น โดยตำแหน่งของห้องมีส่วนเชื่อมต่อกับห้องควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตรด้วยคอมพิวเตอร์ และห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร โดยมีการวางตำแหน่งห้องบริเวณห้องพักนักศึกษาปริญญาโทเดิม (ภาพ 2 จุด a) ตำแหน่งด้านในสุดเนื่องจากเป็นห้องที่ต้องมีการรักษาความสะอาดสูงที่สุด

3) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อเฉพาะสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ภาพ 9 จุด c คุณลักษณะของห้องเป็นห้องปลอดเชื้อสามารถดูแลและรักษาความสะอาดได้ง่าย พื้น ผนัง และฝ้าเพดานต้องเป็นผิวเรียบ ไม่มีช่องที่ทำความสะอาดได้ยาก และมีการปิดรอยต่อต่างๆ ภายในห้องด้วยซิลิโคน อุณหภูมิมิภายในห้องไม่สูงเกินไป มีการเดินระบบไฟฟ้าสำหรับการใช้งานตู้ลามินาในการถ่ายเนื้อเยื่อพืช ประตูเป็นประตูบานคู่ เพื่อความสะดวกในการขนย้าย อุปกรณ์ต่างๆ ของระบบ TIB ขนาดใหญ่ โดยมีการกั้นห้องเพิ่มเติมในส่วนของห้องถ่ายเนื้อเยื่อเดิม (ภาพ 9 จุด b) โดยห้องติดกับห้องระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เพื่อให้ลำดับของงานมีความต่อเนื่องและความสะดวกในการปฏิบัติงาน

4) ห้องรมควันฆ่าเชื้อชุดอุปกรณ์ไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ด้วยแก๊ส (ภาพ 9 จุด e) วัตถุประสงค์การใช้งานใช้เพื่อทำการฆ่าเชื้ออุปกรณ์ต่าง ๆ ของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่ คุณลักษณะของห้อง เป็นห้องที่ใช้แก๊สที่เป็นอันตรายในการฆ่าเชื้อดังนั้นห้องต้องไม่มีการรั่วไหลของแก๊ส โดยจะต้องอุดรูรั่วของห้องทั้งหมดของห้องด้วยซิลิโคน สามารถดูแลและรักษาความสะอาดได้ง่าย พื้น ผนัง และฝ้าเพดานต้องเป็นผิวเรียบ ไม่มีช่องที่ทำความสะอาดได้ยาก ประตูที่ใช้เป็นประตูบานเดี่ยวที่มีการปิดให้แน่นโดยขอบของประตูจะติดยางเพื่อไม่ให้แก๊สรั่วไหลออกมาได้ มีตัวล็อคประตูด้านนอกของประตูเพิ่มความแน่นของประตู ผนังห้องเป็นกระจกภายในห้องมีระบบป้องกันความปลอดภัยโดยมีด้อนสำหรับทุบกระจกในขณะที่กรณีที่ประตูเปิดออกจากภายใน มีระบบไฟฟ้าเพื่อรองรับเครื่องฆ่าเชื้อ โดยมีการกั้นห้องเพิ่มเติมในส่วนของห้องถ่ายเนื้อเยื่อ (ภาพ 2 จุด b) โดยห้องติดกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

5) ห้องเปลี่ยนเสื้อผ้า (ภาพ 9 จุด d) บริเวณของห้องแบ่งเพิ่มในตำแหน่งของถ่ายเนื้อเยื่อเดิม (ภาพ 2 จุด b) บริเวณติดกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ บริเวณนี้สร้างขึ้นเพื่อเป็นจุดกักกันเชื้อจุลินทรีย์ที่จะถูกนำพาโดยตัวผู้ปฏิบัติงานเข้าสู่ส่วนรักษาความสะอาดสูงของห้องปฏิบัติการ ภายในห้องนี้จะมีการรักษาสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงาน โดยมีจุดให้เปลี่ยนรองเท้าใช้รองเท้าที่เตรียมไว้ให้ มีเสื้อกาวน์สำหรับเปลี่ยน และมีจุดสำหรับทำความสะอาดมือของผู้ปฏิบัติงานก่อนเข้าปฏิบัติงาน




**ภาพ 9** ผังห้องปฏิบัติการออกแบบปรับปรุงใหม่สำหรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

**ส่วนที่แรเงาหมายถึง ส่วนของห้องที่รักษาความสะอาดระดับสูง*

**ข. ส่วนที่ปรับปรุงของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม**

จากการวิเคราะห์ที่ผังของห้องปฏิบัติการเดิม ซึ่งมีบางจุดที่พบว่าเป็นจุดเสี่ยงที่อาจจะก่อให้เกิดการปนเปื้อนขึ้น ได้มีการปรับปรุงบางส่วน ได้แก่

1) การกั้นประตูทางเข้าเดิมของห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน (ภาพ 2 จุด c) โดยเปลี่ยนประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนใหม่บริเวณเชื่อมต่อกับห้องแต่งตัว เพื่อลดจำนวนประตูเข้าออกและเปลี่ยนเส้นทางการไหลของผู้ปฏิบัติงานให้มีการผ่านห้องแต่งตัว ซึ่งเป็นจุดรักษาสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงานก่อนเข้าทำงานในห้องถ่ายเนื้อเยื่อ

2) การกั้นประตูทางเข้าเดิมห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 (ภาพ 2 จุด d) และมีการทำประตูใหม่ (ภาพ 9 จุด f) เชื่อมระหว่างห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 กับห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน และกั้นประตูทางเข้าเดิมห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 (ภาพ 2 จุด e) และมีการทำประตูใหม่ (ภาพ 9 จุด g) เชื่อมระหว่างห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 กับห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 เพื่อให้การไหลของงานเป็นไปอย่างต่อเนื่องตามลำดับของงานและลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์จากการพาของตัวผู้ปฏิบัติงานและความเสี่ยงของการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมสู่ขวดภาชนะ ขณะการลำเลียงขวดเพาะเลี้ยงพืชไปเก็บยังห้องเพาะเลี้ยงต้นพืช

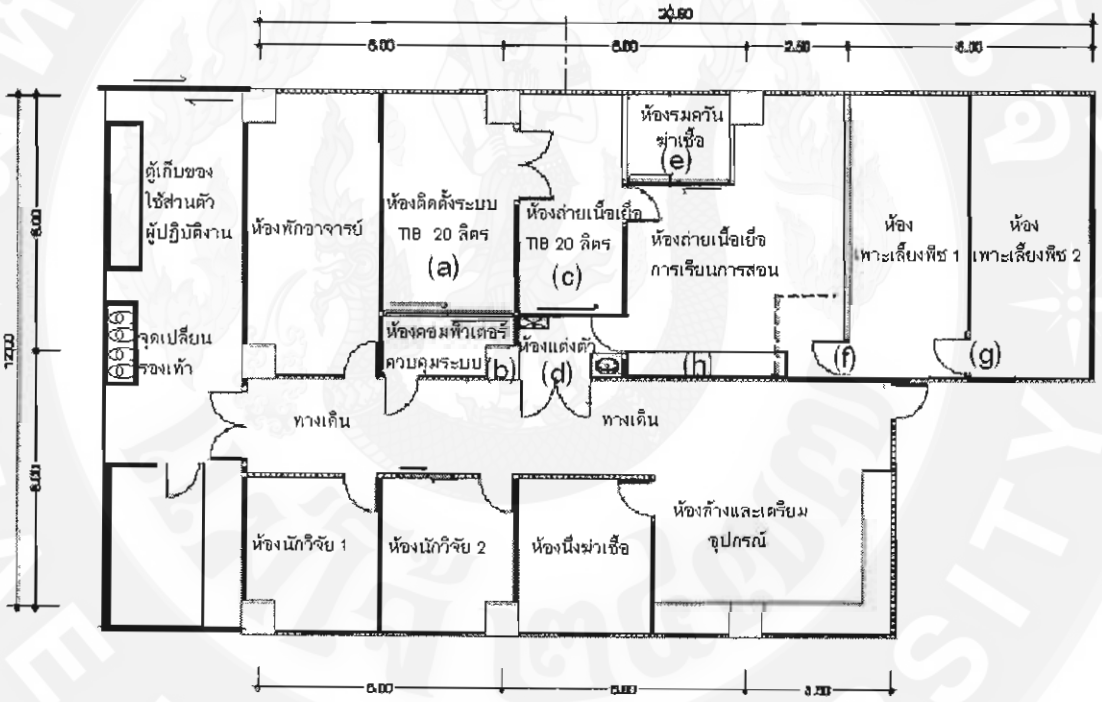
3) การย้ายจุดสุขาภิบาลเดิมในห้องถ่ายเนื้อเยื่อ (ภาพ 2 จุด f) ไปไว้ตำแหน่ง (ภาพ 9 จุด h) ชิดประตูทางเข้าใหม่ติดห้องแต่งตัว เนื่องจากได้มีการเปลี่ยนแปลงการไหลของงานใหม่เพื่อลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนจุลินทรีย์ขณะทำงานและให้การไหลของงานเป็นไปอย่างต่อเนื่องตามลำดับของงาน โดยปิดตำแหน่งประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนเดิม แล้วทำประตูทางเข้าใหม่บริเวณที่เชื่อมต่อกับห้องแต่งตัว

**ค. การวิเคราะห์ผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่หลังจากออกแบบห้องปฏิบัติ- การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

หลังจากได้ออกแบบห้องปฏิบัติการใหม่สำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์ จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพื่อกำจัดจุดเสี่ยงที่คาดว่าจะก่อให้เกิดการปนเปื้อนแล้ว ได้นำผังห้องปฏิบัติการใหม่มาวิเคราะห์ ก่อนที่จะมีการปรับปรุงและก่อสร้างห้องปฏิบัติการผลการวิเคราะห์มีดังต่อไปนี้

1) ในการจัดวางตำแหน่งของห้องต่างๆ ภายในห้องปฏิบัติการที่เปลี่ยนแปลงไป (ภาพ 11) ลำดับของงานเป็นไปตามกิจกรรมของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และตำแหน่งต่าง ๆ ของห้องได้แบ่งห้องตามระดับการรักษาความสะอาดออกเป็น 2 ส่วน เพื่อความสะดวกในการดูแลรักษาความสะอาด คือ ส่วนที่มีการรักษาความสะอาดระดับปกติ ประกอบด้วย ห้องพักอาจารย์ ห้อง

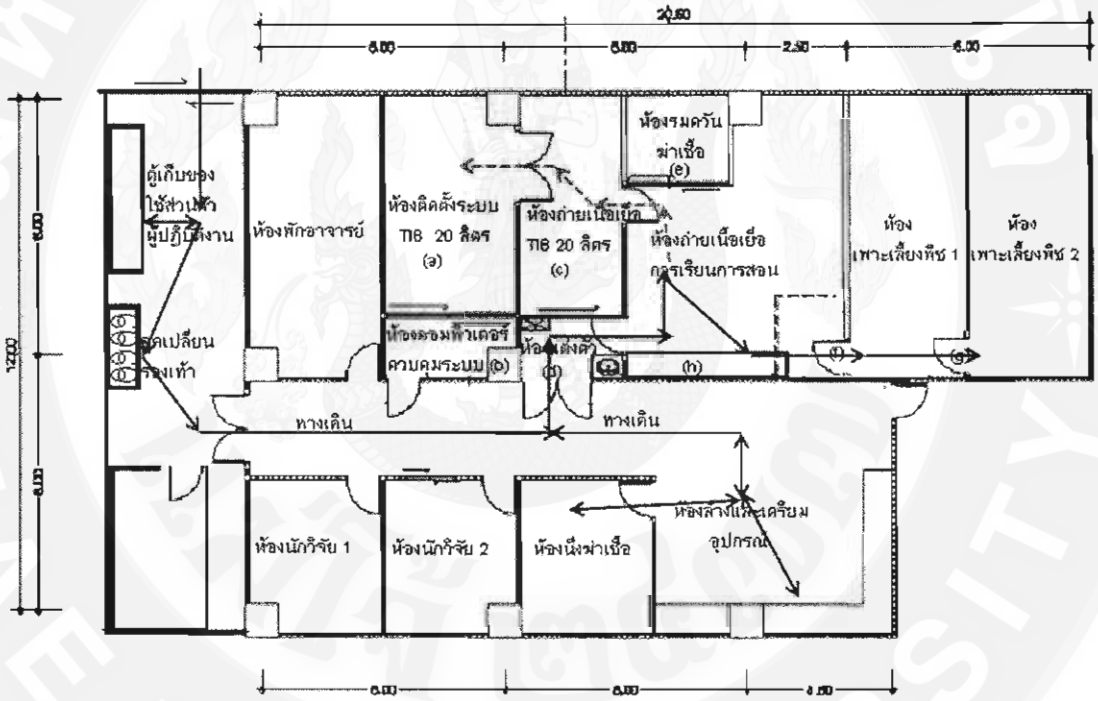
นักวิจัย 1 และ 2 ห้องล้างและเตรียมอุปกรณ์ และห้องนึ่งฆ่าเชื้อ และส่วนที่มีการรักษาความสะอาดสูง ภาพ 10 (บริเวณที่แรเงาด้วยสีเหลือง) ที่มีการแยกส่วนของงานออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนงานของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตรและส่วนการเรียนการสอน โดยส่วนของงานระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ประกอบด้วย ห้องคอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ห้องระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ห้องรมควันฆ่าเชื้ออุปกรณ์ไบโอรีแอคเตอร์ด้วยแก๊ส และส่วนการเรียนการสอน ประกอบด้วย ห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 และ 2 และมีห้องแต่งตัวเป็นจุดรักษาสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงานก่อนเข้าทำงานในส่วนรักษาความสะอาดระดับสูง




**ภาพ 10** ผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่ที่มีการแบ่งเขตการรักษาความสะอาด
หมายเหตุ ส่วนที่แรเงาเป็นส่วนที่รักษาความสะอาดระดับสูง

2) การวิเคราะห์เส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานใหม่ หลังจากการออกแบบและวางตำแหน่งของห้องปฏิบัติการใหม่ พบว่า เส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานเป็นระเบียบเรียบร้อยไม่สับสนในการเข้าทำงานเมื่อผ่านประตูห้องปฏิบัติการชั้นที่ 1 ผู้ปฏิบัติงานจะนำของใช้ส่วนตัวเก็บไว้ที่ตู้เก็บของด้านหน้า แล้วมาเปลี่ยนรองเท้าสำหรับใช้ภายในห้องปฏิบัติการ จากนั้นผู้ปฏิบัติงานสามารถเข้าปฏิบัติงานได้อย่างอิสระในส่วนที่รักษาความสะอาดปกติ และเมื่อผู้ปฏิบัติงานจะเข้าไป

ทำงานในส่วนที่รักษาความสะอาดสูง ก่อนเข้าทำงานมีจุดรักษาสุขอนามัยแก่ผู้ปฏิบัติงาน เป็นบริเวณห้องแต่งตัว มีตู้ใส่เสื้อกาวน์ไว้ให้ผู้ปฏิบัติงานสวมใส่ มีรองเท้าแตะฟองน้ำสีขาวสำหรับใช้ในส่วนที่รักษาความสะอาดสูงให้เปลี่ยนอีกครั้ง และมีอ่างน้ำและน้ำยาสำหรับทำความสะอาดมือเมื่อผ่านห้องแต่งตัวเข้าไปแล้ว ในการทำงานของผู้ปฏิบัติงานทั่วไป (ลูกศรเส้นทึบ ภาพ 11) จะถูกจำกัดพื้นที่ไม่ให้เข้าไปในส่วนของห้องที่เป็นงานของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร (ลูกศรเส้นประ ภาพ 11) โดยจะมีการจำกัดให้ผู้ปฏิบัติงานเฉพาะระบบไบโอรีแอคเตอร์ 20 ลิตรเท่านั้นที่สามารถเข้าทำงานในส่วนของงานระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ได้ เพื่อจำจัดจำนวนของผู้ปฏิบัติงานที่จะเพิ่มความเสี่ยงนำจุลินทรีย์ที่จะถูกพาโดยมนุษย์เข้าไปในบริเวณดังกล่าว

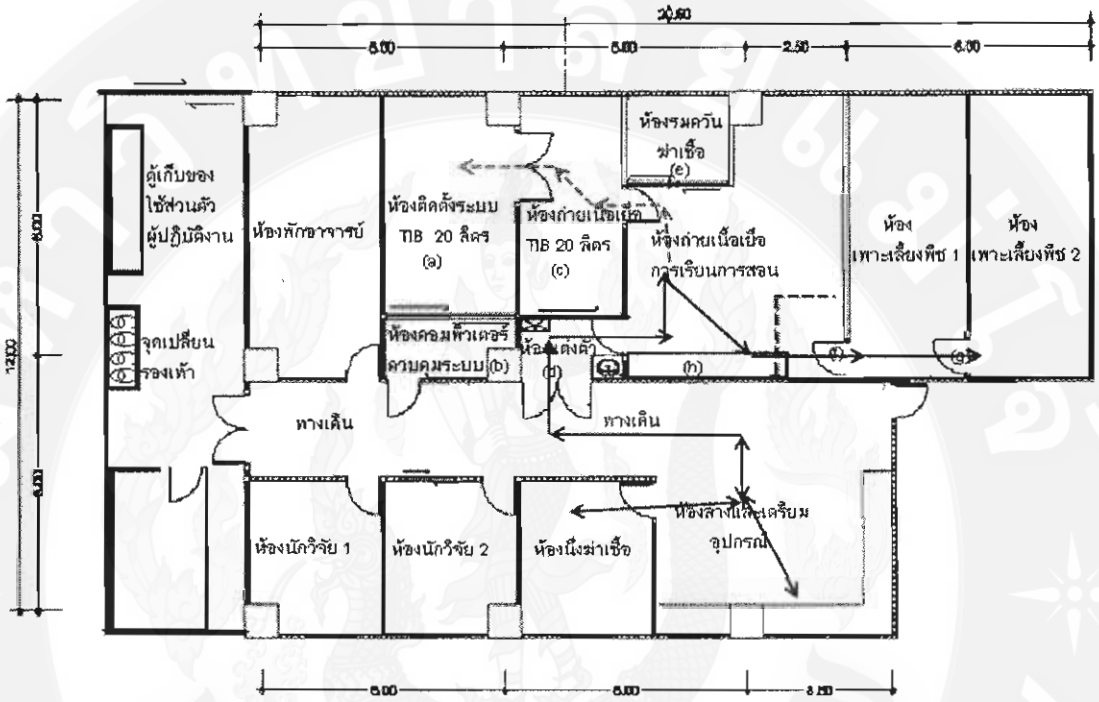



**ภาพ 11** การวิเคราะห์เส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานของผังการออกแบบห้องใหม่ที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และปรับปรุงจุดที่มีความเสี่ยงที่จะก่อให้เกิดการปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการเดิม

หมายเหตุ ลูกศรเส้นประ หมายถึงเส้นทางเดินเฉพาะนักวิจัยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

3) การวิเคราะห์เส้นทางเดินของวัสดุอุปกรณ์ของผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่ พบว่า วัสดุมีการไหลอย่างต่อเนื่องตามลำดับของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและมีการ

แยกเส้นทางเดินของวัสดุออกเป็น ทางเดินวัสดุอุปกรณ์ของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั่วไปมีการดำเนินไปตามลูกศรทึบ (ภาพ 12) และเส้นทางเดินของวัสดุงานไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร มีการดำเนินไปตามลูกศรประ (ภาพ 12) โดยวัสดุอุปกรณ์ทั้งสองงานแยกส่วนออกจากกันอย่างชัดเจน




**ภาพ 12** การวิเคราะห์เส้นทางเดินของวัสดุของห้องปฏิบัติการใหม่ที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

จากการวิเคราะห์ผังของห้องปฏิบัติการในด้านต่างๆ พบว่ามีความเหมาะสมในการติดตั้งและจัดตำแหน่งของงานระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร และลดจุดที่ทำให้เกิดความเสี่ยงในการปนเปื้อนได้ของห้องปฏิบัติการเดิมได้ จึงได้มีการนำผังห้องที่ออกแบบใหม่ไปใช้ในการปรับปรุงและก่อสร้างห้องปฏิบัติการใหม่ได้

**ผลการทดลองขั้นตอนที่ 3 การตรวจสอบการก่อสร้างและการปรับปรุง ห้องปฏิบัติการให้เหมาะสมกับระบบไบโอรีแอคเตอร์ จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

หลังจากได้มีการออกแบบและปรับปรุงผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใหม่สำหรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เรียบร้อยแล้วได้มีการตรวจสอบการปรับปรุงและการก่อสร้างห้องปฏิบัติการใหม่ตามแบบ โดยแบ่งงานออกเป็นส่วนต่างๆ ดังนี้

ส่วนที่ 1 งานรื้อถอน ประกอบไปด้วย งานรื้อถอนฝ้าเพดาน งานรื้อถอนผนัง งานรื้อถอนระบบไฟฟ้า งานรื้อถอนระบบเครื่องปรับอากาศ

ส่วนที่ 2 งานติดตั้ง งานติดตั้งฝ้าเพดาน งานติดตั้งระบบไฟฟ้า งานติดตั้งผนัง งานติดตั้งบานประตู-หน้าต่าง งานติตตั้งระบบสุขาภิบาล

ส่วนที่ 3 งานสี งานทาสี งานเก็บรายละเอียต

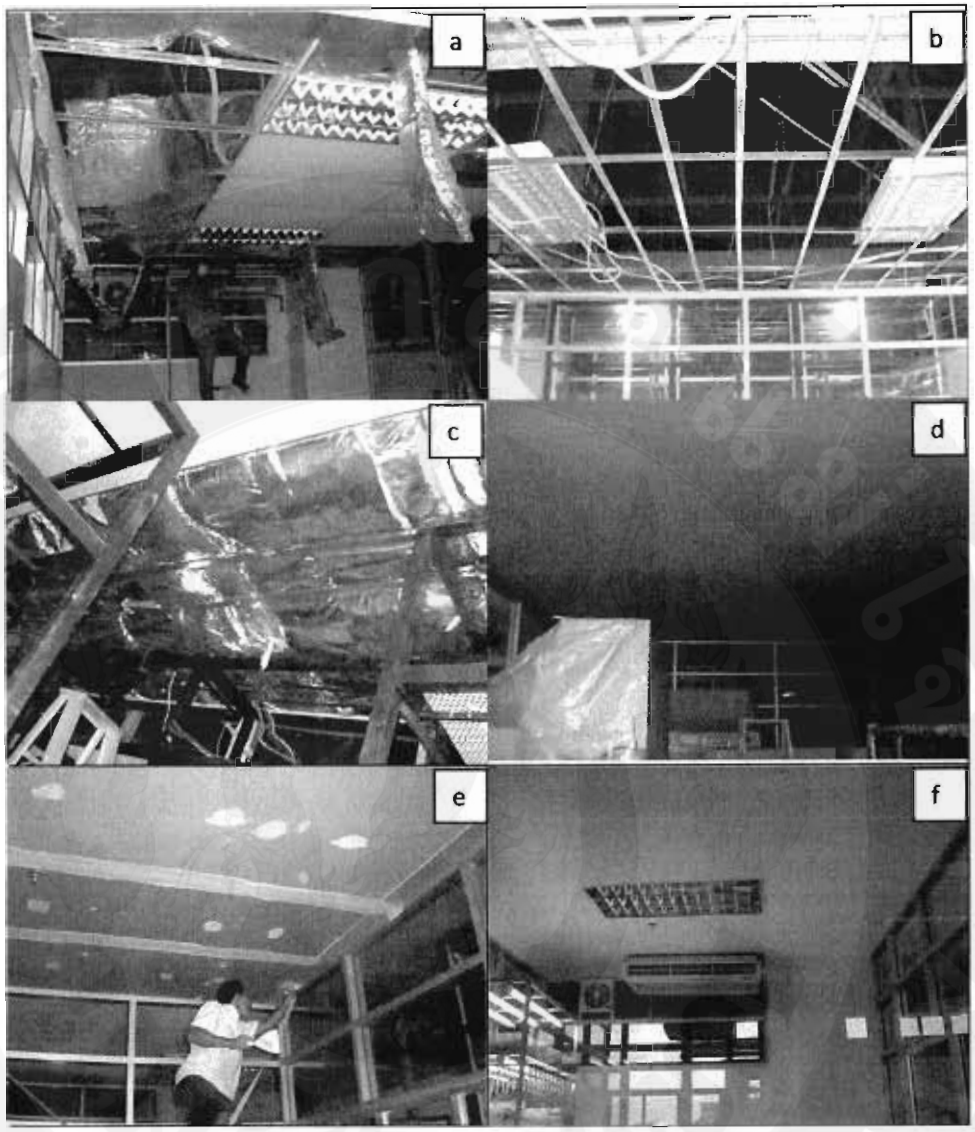
โดยมีงานแยกตรวจสอบงานในการปรับปรุงก่อสร้างดังต่อไปนี้ คือ

**ก. การตรวจสอบการปรับปรุงก่อสร้างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

รายละเอียดในการปรับปรุงก่อสร้างสามารถแยกงานออกเป็นส่วนของงานต่าง ๆ ดังนี้

1) งานปรับปรุงและก่อสร้างฝ้าเพดาน

ในการทำงานเริ่มจากการเข้ารื้อถอนฝ้าเพดานเดิม (ภาพ 13a) ที่เป็นแผ่นวางบนโครงคร่าวแบบแขวนหรือที่เรียกว่า ฝ้าที-บาร์ ออกทั้งหมด จากนั้นติดตั้งโครงซีไลน์ใหม่เพื่อเตรียมติดตั้งฝ้าเพดาน (ภาพ 13b) แล้วนำฉนวนกันความร้อนมาปูทับด้านบนของซีไลน์ (ภาพ 13c) จนเต็มพื้นที่ของเพดานที่จะติดตั้งใหม่ แล้วนำเพดานแผนเรียบ (ภาพ 13d) ติดตั้งจนเต็มบริเวณที่ปรับปรุง จากนั้นฉาบรอยต่อเชื่อมรอยต่อระหว่างแผ่นฝ้าด้วยปูนฉาบเชื่อมรอยต่อ (ภาพ 13e) เมื่อปูนแห้งขัดปูนออกให้เรียบแล้วทาด้วยสีรองพื้น 1 ชั้นและสีกันชื้นตามลำดับ โดยในขณะทำงานทุกขั้นตอนต้องมีการควบคุมและดูแลอย่างใกล้ชิดเพื่อให้การดำเนินการก่อสร้างเป็นไปตามต้องการ

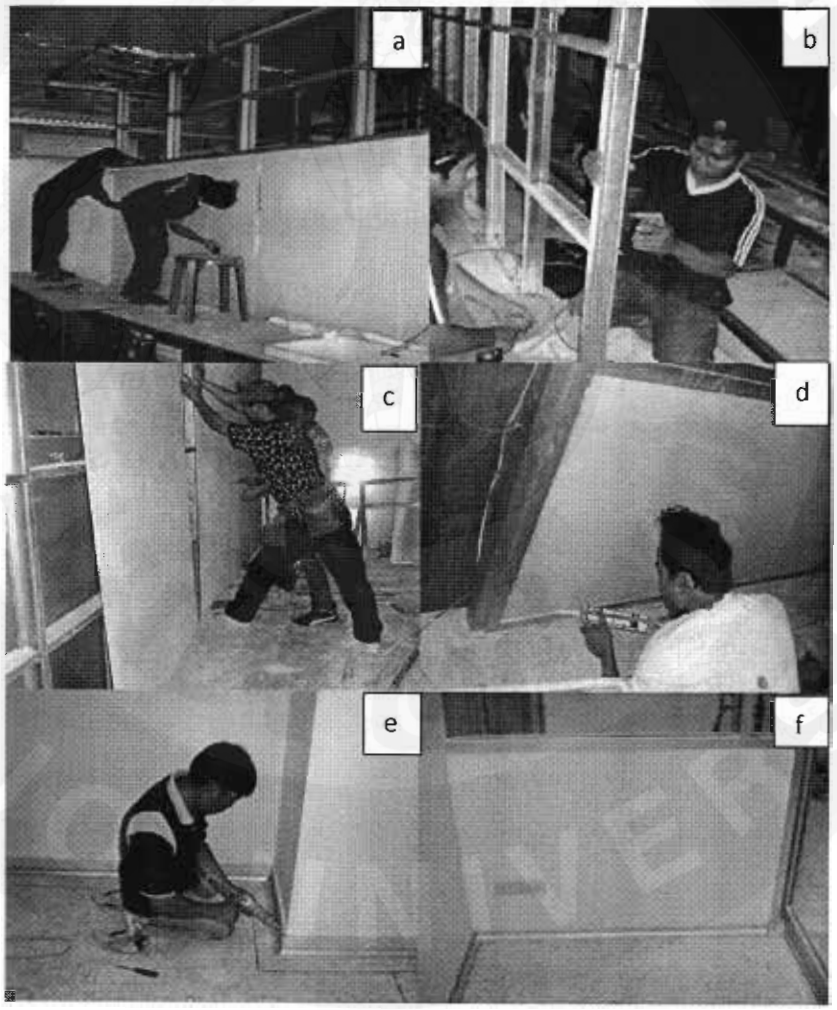



**ภาพ 13** รายละเอียดการเปลี่ยนฝ้าเพดาน (a) การรื้อถอนฝ้าเพดาน (b) การติดตั้งซีไลน์ (c) การปูฉนวนกันความร้อน (d) การติดฝ้าแผ่นเรียบ e การฉาบปูนอุดรอยต่อแผ่นฝ้า f ฝ้าเพดานใหม่หลังการปรับปรุง

2) งานผนังห้อง

เนื่องจากผนังห้องเดิมใช้งานมาเป็นระยะเวลานาน มีบางส่วนเริ่มผุกร่อน และคุณสมบัติของผนังและสีที่ใช้เดิมไม่กันความชื้น จึงต้องรื้อถอนออกทั้งหมดทั้งในส่วนที่มีการปรับปรุงห้องบางส่วนและส่วนที่ปรับปรุงใหม่ โดยช่างผนังห้องได้เข้ารื้อถอนผนังห้องปฏิบัติการ

เดิมออก (ภาพ 14a) จากนั้นเริ่มสร้างโครงคร่าวสำหรับติดแผ่นสมารทบอร์ด (ภาพ 14b) แล้วได้ทำการติดตั้งผนังห้องใหม่ด้วยแผ่นสมารทบอร์ด (ภาพ 14c) และทำการอุดรอยต่อต่างๆ ด้วยซิลิโคน (ภาพ 14d) ในขั้นตอนนี้ต้องมีการตรวจสอบให้ช่างทำความสะอาดช่องระหว่างรอยต่อให้สะอาดเรียบร้อยก่อนที่จะอุดด้วยซิลิโคน และรอยเชื่อมระหว่างของแผ่นผนังด้วยปูนอุดรอยต่อรอจนปูนแห้งแล้วทำขัดให้เรียบ จากนั้นทาด้วยสีรองพื้น 1 รอบ รอจนสีแห้งแล้วทาสีจริง 2-3 รอบให้สีเรียบเนียนเท่ากันทั้งห้อง และในการเลือกสีที่ใช้ทาต้องเป็นสีกันความชื้น และรอจนงานสีแห้งเรียบร้อยแล้ว ทำการติดคิ้วกันเปื้อนอลูมิเนียมขอบโค้งระหว่างรอยต่อของพื้นห้องกับผนัง (ภาพ 14e) เพื่อความสะดวกในการรักษาความสะอาด

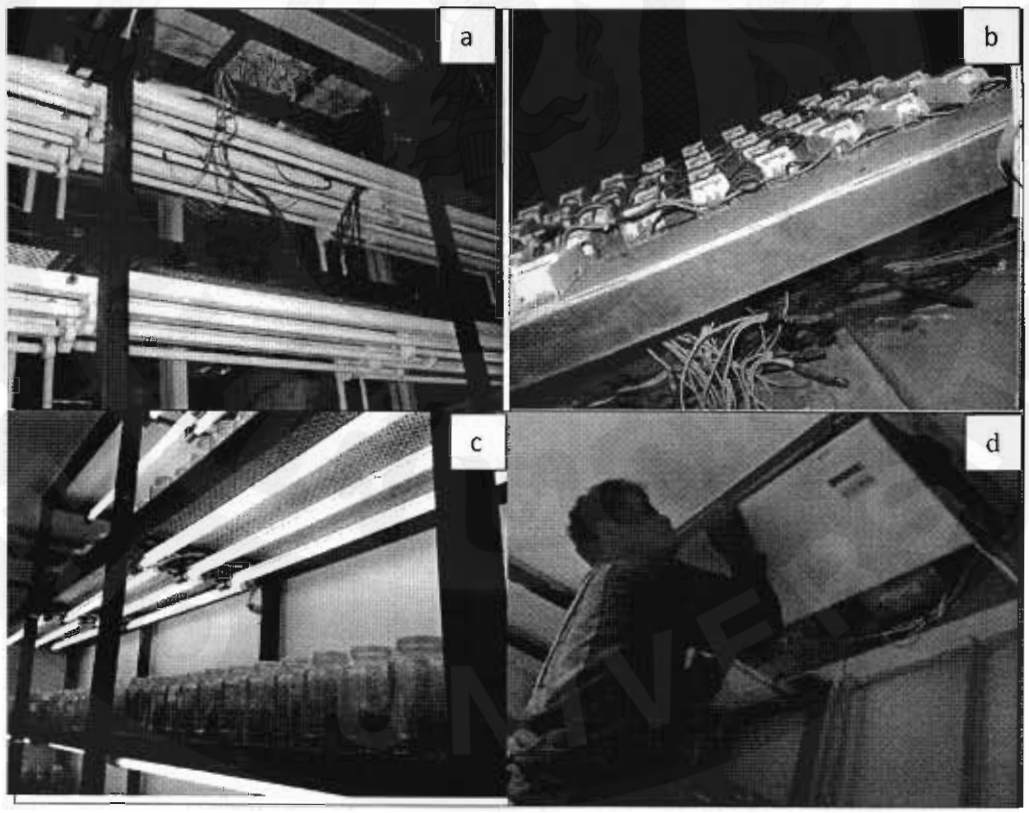



**ภาพ 14** รายละเอียดการเปลี่ยนแปลงผนังห้อง (a) การรื้อถอนผนังห้อง (b) การดิดดั้งโครงคร่าว (c) การติดผนังใหม่ d การอุดรอยต่อของผนังห้อง (e) การติดขอบโค้งกันเปื้อน (f) ลักษณะของผนังใหม่ที่ติดตั้งเรียบร้อยแล้ว

3) งานไฟฟ้า

ห้องปฏิบัติการเดิม ส่วนของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 1 และ 2 มีการใช้หลอดไฟจำนวนมากเป็นแบบชนิดมีบัลลาสต์ (ภาพ 15a) และภายในห้องต้องมีการปรับอุณหภูมิให้อยู่ที่ 25±2 องศาเซลเซียส แต่ระบบหลอดไฟเป็นแบบเดิมที่มีการใช้บัลลาสต์เมื่อทำงานจะมีความร้อนสูง จึงได้มีการแยกส่วนของบัลลาสต์ติดตั้งเป็นแผง (ภาพ 15b) ไว้บนฝ้าเพดาน ซึ่งเป็นอันตรายและยากต่อการซ่อมแซม จึงได้มีการรื้อถอนระบบไฟฟ้าให้แสงสว่างแก่ต้นไม้ที่ติดตั้งบนชั้นสำหรับวางต้นไม้เดิมออกและเปลี่ยนระบบไฟฟ้าใหม่เป็นหลอดอิเล็กทรอนิกส์ ไม่ต้องใช้บัลลาสต์ (ภาพ 15c)

เครื่องปรับอากาศ ในการปรับปรุงห้องปฏิบัติการจำเป็นจะต้องมีการรื้อถอนเครื่องปรับอากาศออกและติดตั้งใหม่ โดยช่างผู้ชำนาญการ มีขั้นตอนในการทำงานดังนี้คือ รื้อถอนเครื่องปรับอากาศออกแล้วน้ำไปล้างทำความสะอาด และเมื่อก่อสร้างห้องปฏิบัติการเสร็จเรียบร้อยนำเครื่องปรับอากาศมาติดตั้งใหม่โดยมีการเติมน้ำยาทำความเย็นใหม่ (ภาพ 15d)

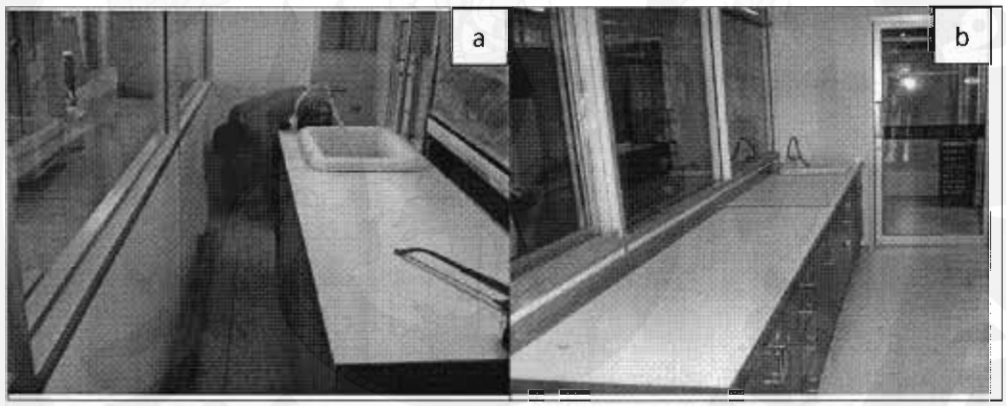



**ภาพ 15** รายละเอียดการปรับปรุงงานไฟฟ้า (a) แผงบัลลาสต์ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 และ 2 ที่ติดตั้งบนเพดาน (b) หลอดไฟให้แสงสว่างต้นไม้เดิมแบบใช้บัลลาสต์ (c) หลอดไฟฟ้าให้แสงสว่างต้นไม้แบบหลอดอิเล็กทรอนิกส์ (d) การติดตั้งเครื่องปรับอากาศหลังปรับปรุงห้องปฏิบัติการเรียบร้อยแล้ว

4) งานสุขาภิบาล

การปรับปรุงห้องปฏิบัติการในส่วนห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนมีการเปลี่ยนตำแหน่งของทางเดินภายในห้องปฏิบัติการใหม่ จึงปิดประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนเดิมและสร้างใหม่เชื่อมต่อกับห้องแต่งตัว มีการย้ายระบบสุขาภิบาลเดิม (ภาพ 16a) ที่อยู่บริเวณติดกับประตูทางเข้าเดิมมาไว้ในตำแหน่งใหม่บริเวณประตูทางเข้าติดกับห้องแต่งตัว (ภาพ 16b)

ส่วนห้องแต่งตัวได้มีการติดตั้งระบบสุขาภิบาลใหม่ภายในห้องดังภาพ 17 ประกอบด้วย อ่างสำหรับล้างทำความสะอาดมือ ที่สำหรับใส่น้ำยาสำหรับล้างทำความสะอาดมือ และราวแขวนผ้าเช็ดมือ เพื่อให้มีการรักษาสุขอนามัยของผู้ที่จะเข้าปฏิบัติงานในส่วนที่รักษาความสะอาดสูงโดยการล้างทำความสะอาดมือก่อน




**ภาพ 16** ระบบสุขาภิบาลห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน (a) การย้ายตำแหน่งระบบสุขาภิบาลจากบริเวณประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนเดิม (b) ตำแหน่งระบบสุขาภิบาลห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับการเรียนการสอนใหม่บริเวณติดประตูทางเข้าจากห้องแต่งตัว

**ภาพ 17** ระบบสุขาภิบาลห้องแต่งตัวประกอบด้วย อ่างล้างมือและราวแขวนผ้าสำหรับเช็ดมือ

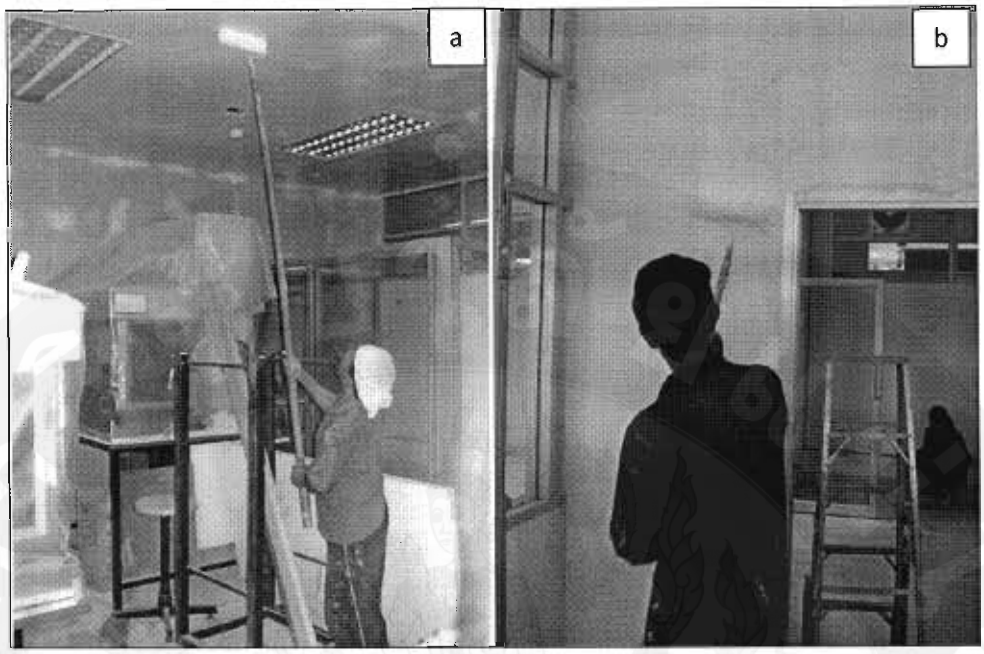
5) งานกระจก

ในบางส่วนของห้องปฏิบัติการมีการใช้กระจกในการก่อสร้าง ได้แก่ บริเวณเชื่อมต่อห้องระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร กับห้องควบคุมระบบด้วยคอมพิวเตอร์ ส่วนหน้าต่างของห้องถ่ายเนื้อเยื่อ ห้องรมควันฆ่าเชื้อโดยช่างได้รื้อถอนงานกระจกเดิมออก (ภาพ 18a) แล้วมีการติดตั้งโครงคร่าวอลูมิเนียม (ภาพ 18b) สำหรับติดตั้งกระจก และในการติดตั้งกระจกมีอุดรอยต่อต่างๆ ของกระจกด้วยซิลิโคน (ภาพ 18c)

**ภาพ 18** งานปรับปรุงและติดตั้งกระจก (a) การรื้อถอนกระจกเดิม (b) การติดตั้งโครงคร่าวสำหรับติดตั้งกระจก (c) การอุดช่องว่างระหว่างโครงอลูมิเนียมกับกระจก (d) งานกระจกหลังติดตั้งเรียบร้อยแล้ว

6) การทาสีภายในห้องปฏิบัติการ

หลังจากได้ปรับปรุงและก่อสร้างส่วน ส่วนโครงสร้างต่างๆ เสร็จเรียบร้อย มีการทาสีรองพื้นชนิดกันความชื้น 1 รอบ (ภาพ 19a) และ ทาสีจริง 2-3 รอบ (ภาพ 19b) จนสีพื้นห้องมีความสม่ำเสมอกัน




**ภาพ 19** งานสี (a) การทาสีรองพื้นก่อนเริ่มการทาสีจริง (b) การทาสีห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคณะวิทยาศาสตร์

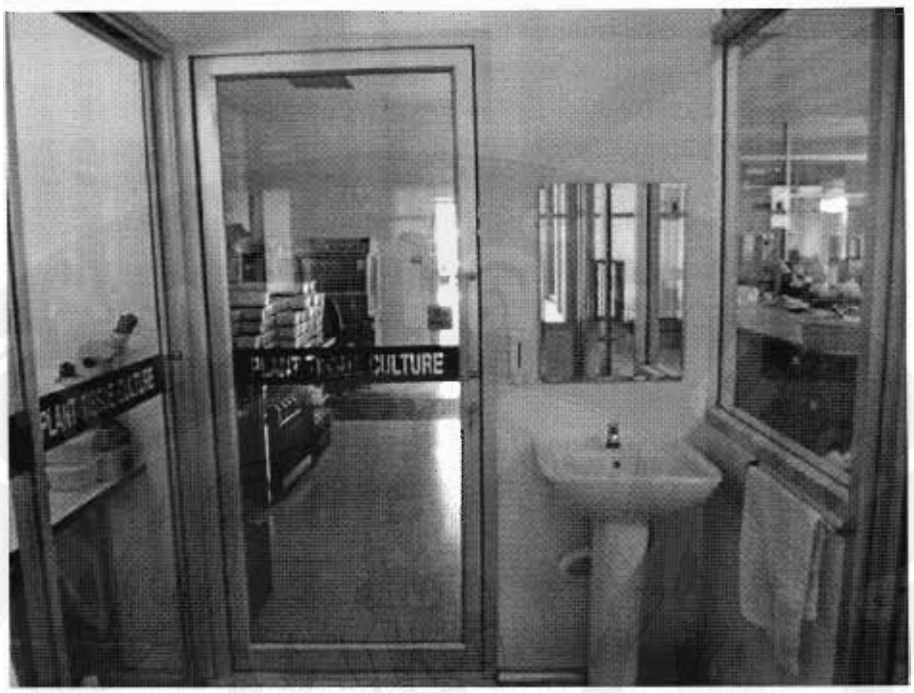
**ข. ส่วนที่ปรับปรุงของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม**

ในการปรับปรุงห้องปฏิบัติการได้มีบางส่วนที่ไม่ได้ปรับปรุงใหม่ทั้งห้องแต่มีการปรับปรุงเพียงบางส่วนดังนี้

1) การเปลี่ยนตำแหน่งประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนเดิม (ภาพ 20a) โดยการปิดตำแหน่งประตูของห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน (ภาพ 20c) และมีการสร้างประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนใหม่บริเวณเชื่อมต่อกับห้องแต่งตัว (ภาพ 21) เพื่อลดจำนวนประตูเข้าออกและเปลี่ยนเส้นทางการไหลของผู้ปฏิบัติงานให้มีการผ่านห้องแต่งตัว ซึ่งเป็นจุดรักษาสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงานก่อนเข้าทำงานในห้องถ่ายเนื้อเยื่อ

2) การปิดประตูทางเข้าเดิมห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 โดยปิดตำแหน่งของประตูเดิม (ภาพ 20b) ด้วยผนังเบา (ภาพ 20d) และมีการทำประตูใหม่ เชื่อมระหว่างห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 กับห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน (ภาพ 22a) และกั้นประตูทางเข้าเดิมห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 และมีการทำประตูใหม่ เชื่อมระหว่างห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 กับห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 (ภาพ 22b) เพื่อให้การไหลของงานเป็นไปอย่างต่อเนื่อง ตามลำดับของงานและลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์จากการพาของตัวผู้ปฏิบัติงาน และความเสี่ยงของการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมสู่ขวดภาชนะ ขณะการลำเลียงขวดเพาะเลี้ยงพืชไปเก็บยังห้องเพาะเลี้ยงด้นพืช

**ภาพ 20** ตำแหน่งประตูเดิมก่อนและหลังการปรับปรุง (a) ประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนเดิม (b) ประตูทางเข้าห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 เดิม การปิดตำแหน่งประตู (c) การปิดประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนเดิม (d) การปิดประตูทางเข้าห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 เดิม



**ภาพ 21** ประตูทางเข้าห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนใหม่

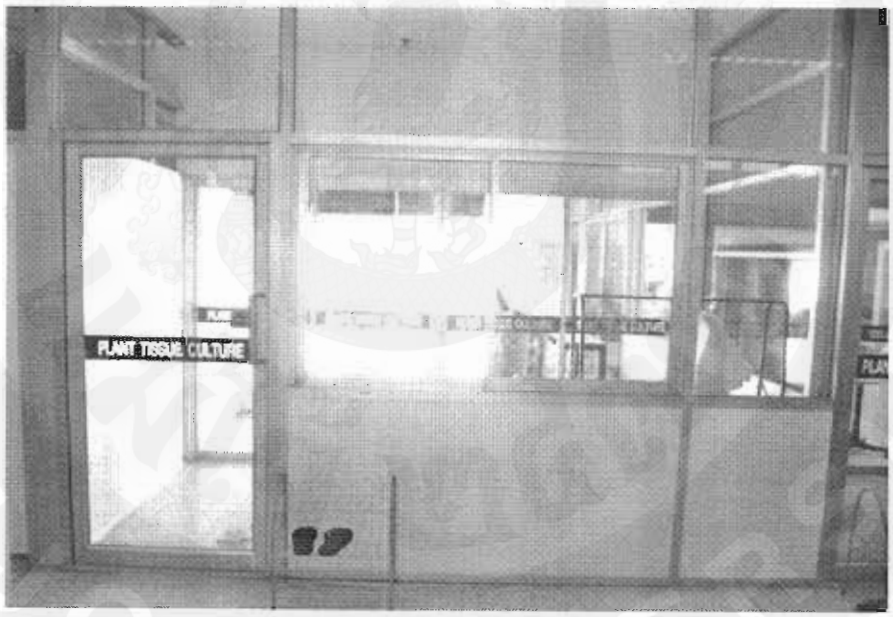
**ภาพ 22** ตำแหน่งการสร้างประตูใหม่ (a) ประตูเชื่อมห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนกับห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 (b) ประตูเชื่อมทางเข้าห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 กับห้องเพาะเลี้ยงพืช 2

**ค.** **้องที่มีการปรับปรุงแล้ว**

เมื่อปรับปรุงและก่อห้องปฏิบัติการเสร็จเรียบร้อยได้ห้องปฏิบัติการใหม่สำหรับในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชร่วมกับการเรียนการสอน โดยมีห้องต่างๆดังต่อไปนี้

1) ห้องคอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

ห้องควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เป็นห้องที่ใช้ในการติดตั้งระบบคอมพิวเตอร์สำหรับควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร วัตถุประสงค์การใช้งานของห้องใช้เป็นห้องควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ภายในห้องมีการติดตั้งระบบคอมพิวเตอร์ภายในห้องเพื่อควบคุมการทำงานของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ลักษณะโดยทั่วไปของห้อง เป็นห้องที่ดูแลและรักษาความสะอาดได้ง่าย อุณหภูมิและความชื้นภายในห้องไม่สูง มีแสงสว่างเพียงพอ มีการเดินระบบไฟฟ้าสำหรับการใช้งานระบบควบคุมคอมพิวเตอร์ (ภาพ 23)




**ภาพ 23** ห้องควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

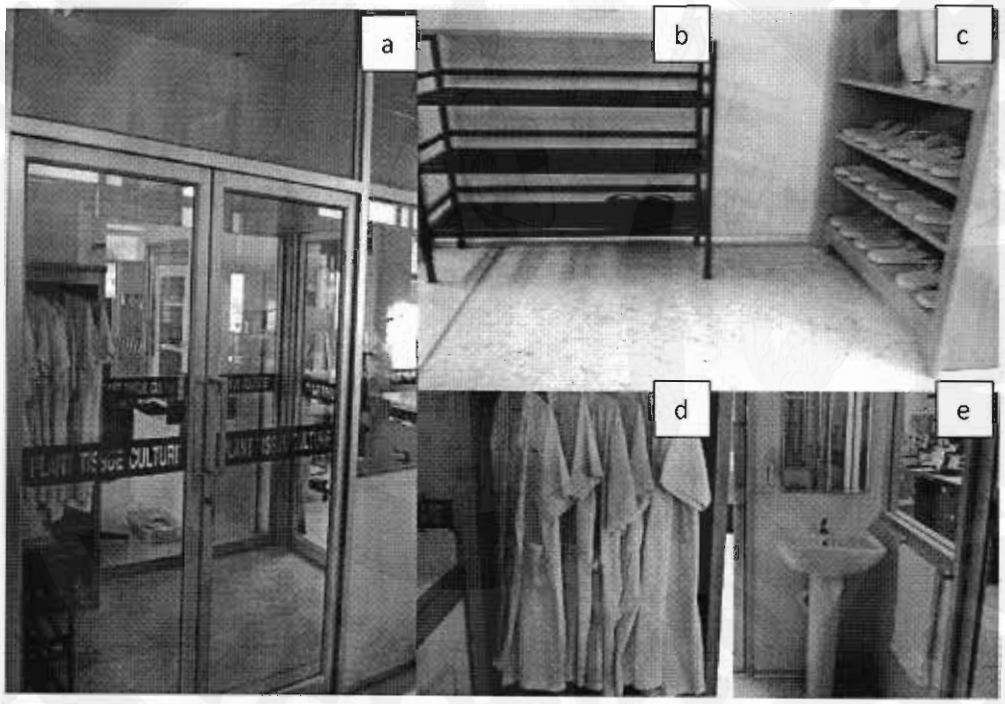
2) ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

ห้องสำหรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร (ภาพ 24) วัตถุประสงค์การใช้งานของห้อง เป็นห้องปลอดเชื้อ ภายในห้องมีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ภายในห้องประกอบไปด้วย ระบบไฟฟ้าสำหรับการใช้งานของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร และมีชั้นวางพร้อมทั้งท่อลมและระบบควบคุมการให้อาหารสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

**ภาพ 24** ห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

3) ห้องแต่งตัว

ห้องแต่งตัว (25a) มีความสำคัญ คือ เป็นจุดที่ใช้รักษาสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงาน ระหว่างส่วนที่มีการควบคุมความสะอาดน้อยกับส่วนที่มีความสะอาดปกติ ส่วนนี้มีการควบคุมผู้ที่จะเข้าทำงานในส่วนที่รักษาความสะอาดระดับสูง ได้แก่ นักวิจัยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ขนาด 20 ลิตร และผู้ที่ได้รับอนุญาตเท่านั้น ที่จะเข้าไปในบริเวณนี้ได้ ภายในห้องนี้ประกอบไปด้วย จุดสำหรับเปลี่ยนรองเท้าใส่รองเท้าสีดำ (ภาพ 25b) เป็นสีขาว (ภาพ 25c) ตู้เก็บเสื้อกราวน์ (ภาพ 25d) สำหรับสวมก่อนเข้าทำงาน และอ่างล้างทำความสะอาดมือ (ภาพ 25e)




**ภาพ 25** ห้องแต่งตัว (a) ห้องแต่งตัว (b) ตู้ใส่เสื้อกาวน์ภายในห้องแต่งตัว (c) อ่างล้างมือ (d) ชั้นวางรองเท้าสำหรับรองเท้าที่ใช้ส่วนรักษาระดับปกติ (รองเท้าสีดำ) ชั้นวางรองเท้าใช้ในส่วนรักษาความสะอาดระดับสูง (รองเท้าสีขาว)

4) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

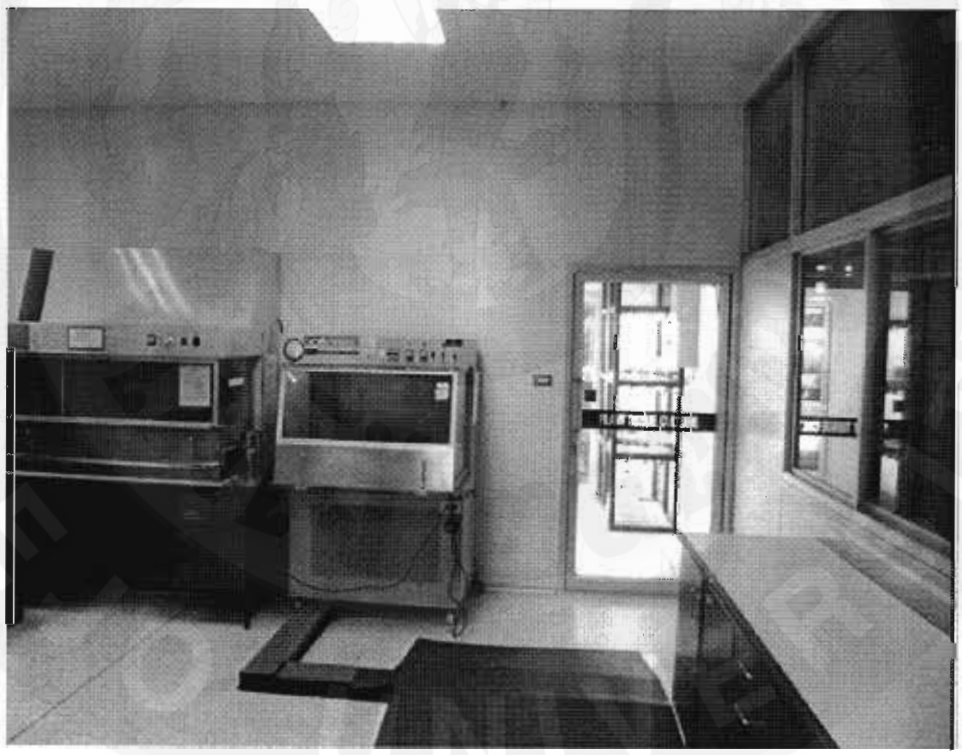
ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร (ภาพ 26) วัตถุประสงค์การใช้งานของห้องใช้สำหรับการถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร เท่านั้น ซึ่งจะแยกออกจากงานถ่ายเนื้อเยื่อในการเรียนการสอน มีการเดินระบบไฟฟ้าสำหรับการใช้งานตู้ลามินาในการถ่ายเนื้อเยื่อพืช ประตูเป็นประตูบานคู่ เพื่อความสะดวกในการขนย้ายอุปกรณ์ต่างๆ ของระบบ TIB ขนาดใหญ่ โดยมีการกั้นห้องเพิ่มเติมในส่วนของห้องถ่ายเนื้อเยื่อเดิม

**ภาพ 26** ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

5) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับการเรียนการสอน

ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับการเรียนการสอน (ภาพ 27) วัตถุประสงค์การใช้งานของห้องใช้สำหรับการงานวิจัยอื่นอื่นและการเรียนการสอน ซึ่งจะแยกออกจากงานถ่ายเนื้อเยื่อของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร มีการเดินระบบไฟฟ้าสำหรับการใช้งานตู้ลามินาในการถ่ายเนื้อเยื่อพืช และประตูเป็นแบบบานเดี่ยวขนาดกว้างพอสามารถขนย้ายอุปกรณ์ต่างๆ ของระบบ ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่

อุปกรณ์ภายในห้องมี ตู้ปลอดเชื้อสำหรับถ่ายเนื้อเยื่อจำนวน 4 ตู้ ใช้สำหรับงานฟอกฆ่าเชื้อ 1 ตู้ และงานตัดถ่ายต้นพืช 3 ตู้ พร้อมเครื่อง Glass Bead sterilizer สำหรับฆ่าเชื้ออุปกรณ์ และมีตู้สำหรับเก็บอาหารและอุปกรณ์ เช่น ใบมีด ตะเกียง อาหารชนิดต่าง ๆ ตามชนิดของพืชและระยะของการเพาะเลี้ยง



**ภาพ 27** ห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน

6) ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 1

ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 มีประตูเชื่อมติดกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน (ภาพ 28a) เป็นห้องสำหรับเพาะเลี้ยงพืชที่ใช้ระบบอาหารแข็ง ลักษณะทั่วไปของห้องเป็นห้องปลอดเชื้อสามารถดูแลและรักษาความสะอาดได้ง่าย พื้น ผนัง และฝ้าเพดานต้องเป็นผิวเรียบ ไม่มีช่องที่ทำความสะอาดได้ยาก และมีการปิดรอยต่อต่างๆ ภายในห้องด้วยซิลิโคน สามารถควบคุมอุณหภูมิภายในห้องด้วยเครื่องปรับอากาศ ในห้องสามารถควบคุมความชื้นได้ สามารถควบคุมแสงจากภายนอกได้ ประตูจะต้องเปิดออกจากห้องเท่านั้น โดยตำแหน่งของห้องมีส่วนเชื่อมต่อกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนและห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 (ภาพ 28)

ระบบไฟฟ้า ภายในห้องประกอบไปด้วย ระบบไฟฟ้าส่องสว่างภายในห้อง และระบบไฟฟ้าให้แสงสว่างต้นพืชทีมีการติดกับชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงพืช (ภาพ 28b) โดยหลอดไฟที่ใช้ภายในห้องเป็นหลอดอิเล็กทรอนิกส์ไม่มีบัลลาสต์ และมีตัวตัดไฟเมื่ออุณหภูมิเกิน 45 องศาเซลเซียส มีการเตรียมปลั๊กไฟ ไว้สำหรับอุปกรณ์อื่น ๆ เช่น เครื่องเขย่า เป็นต้น

**ภาพ 28** ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 (a) ประตูทางเข้าเชื่อมต่อกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน (b) ชั้นวางและขวดต้นพืชแบบอาหารแข็งในห้องเพาะเลี้ยงพืช 1

7) ห้องเพาะเลี้ยงพืช 2

มีประตูเชื่อมต่อโดยตรงกับห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 (ภาพ 29b) ลักษณะของห้องและการจัดการทั่วไปของห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 เป็นเช่นเดียวกันกับห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 แต่มีส่วนเพิ่มเติมขึ้นมา คือ ภายในห้องมีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 700 มิลลิลิตร จำนวน 200 ชุด (ภาพ 29b)

**ภาพ 29** (a) ประตูทางเข้าห้องเพาะเลี้ยงพืช 2 (b) ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั้วคราวขนาด 700 มิลลิลิตร

8) ห้องรมควันฆ่าเชื้อ

ห้องนี้เป็นห้องสำหรับฆ่าเชื้ออุปกรณ์ไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ด้วยการรมควัน ลักษณะของห้องเป็นห้องที่ใช้แก๊สที่เป็นอันตรายในการฆ่าเชื้อดังนั้นห้องต้องไม่มีการรั่วไหลของแก๊ส โดยจะต้องอุดรูรั่วของห้องทั้งหมดของห้องด้วยซิลิโคน สามารถดูแลและรักษาความสะอาดได้ง่าย พื้น ผนัง และฝ้าเพดานต้องเป็นผิวเรียบ ไม่มีช่องที่ทำความสะอาดได้ยาก ประตูที่ใช้เป็นประตูบานเดี่ยวที่มีการปิดให้แน่นโดยขอบของประตูจะติดยางเพื่อไม่ให้แก๊สรั่วไหลออกมาได้ มีตัวล็อคประตูด้านนอกของประตูเพิ่มความแน่นของประตู ผนังห้องเป็นกระจก ภายในห้องมีระบบป้องกันความปลอดภัยโดยมีค้อนสำหรับทุบกระจกในขณะที่กรณีที่ประตูเปิดออกจากภายใน มีระบบไฟฟ้าเพื่อรองรับเครื่องฆ่าเชื้อ (ภาพ 30)

**ภาพ 30** ห้องฆ่าเชื้อแบบรมควัน (Fumigation room)

**ตาราง 1** ดารางสรุปส่วนที่ปรับปรุงของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเดิม

| ลำดับ | ตำแหน่งการปรับปรุง/เพิ่มเติม | การปรับปรุง | ปัญหาและการแก้ไข |
|---|---|---|---|
| 1 | รอยต่อระหว่างพื้นกับเพดาน | เปลี่ยนขอบกันเปื้อนจากแบบตั้งฉากเป็นแบบขอบโค้ง | แบบเดิมมีร่องที่เป็นแหล่งสะสมของจุลินทรีย์และทำความสะอาดยากการแก้ไขเป็นขอบโค้งทำให้ทำความสะอาดง่ายและมีการอุดรอยต่อด้วยซิลิโคนเพื่อป้องกันการสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ |
| 2 | ผนัง | เปลี่ยนผนังจากเดิมที่มีการผุกร่อนเนื่องจากความชื้นเป็นผนังกันชื้น | แบบเดิมลักษณะของผนังผุกร่อนเนื่องจากความชื้นทำให้เป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์แก้ไขโดยเปลี่ยนผนังใหม่เป็นแบบกันชื้นและทาทับด้วยสีกันชื้น |
| 3 | ฝ้าเพดาน | เปลี่ยนฝ้าเพดานจากแบบทีบาร์เป็นแบบฝ้าแผ่นเรียบ | แบบเดิมลักษณะเพดานเป็นการนำแผ่นฝ้ามาเรียงต่อกันบนโครงเชื่อมต่อกันไม่สนิททำให้มีช่องที่ เชื้อจุลินทรีย์หรือแมลงต่างๆ เข้ามาปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการได้ แก้ไขเป็นฝ้าแบบแผ่นเรียบที่มีการเชื่อมต่อกันสนิทไม่มีช่องที่เชื้อจุลินทรีย์หรือแมลงเข้ามาได้ |
| 4 | ประตู | เปลี่ยนจากประตูไม้เป็นประตูกระจกขอบอลูมิเนียม | ลักษณะของวัสดุที่เป็นไม้จะมีการแตกร้าวมีซอกเมื่อมีความชื้นสูงจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ทำให้เป็นแหล่งสะสมของเชื้อ แก้ไขโดยเปลี่ยนเป็นประตูกระจกขออลูมิเนียม ที่ไม่มีแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ แบบบานสวิงเปิดออกด้านนอกเท่านั้น |

**ตาราง 1** (ต่อ)

| ลำดับ | ตำแหน่งการปรับปรุง/เพิ่มเติม | การปรับปรุง | ปัญหาและการแก้ไข |
|---|---|---|---|
| 5 | ตำแหน่งประตูห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน | ปิดตำแหน่งประตูเดิมและสร้างประตูทางเข้าใหม่ติดกับห้องแต่งตัว | ตำแหน่งทางเข้าเดิมสามารถเข้าทำงานได้โดยตรงจากบริเวณที่มีระดับการรักษาความสะอาดน้อยกว่า โดยไม่มีจุดสำหรับรักษาสุขอนามัยของตัวผู้ปฏิบัติงานและแก้ไขโดยเปลี่ยนทางเข้าที่เชื่อมต่อกับห้องแต่งตัวโดยภายในห้องมีบริเวณสำหรับเปลี่ยนรองเท้า และบริเวณทำความสะอาดมือ และมีเสื้อกาวน์สวมก่อนเข้าทำงาน |
| 6 | ประตูห้องเพาะเลี้ยงพืช1 | ปิดตำแหน่งประตูเดิมและสร้างประตูใหม่เชื่อมต่อกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอน | ตำแหน่งของประตูเดิมผู้ปฏิบัติงานสามารถเข้าได้โดยตรงจากบริเวณที่มีการรักษาความสะอาดน้อยกว่าและตำแหน่งของประตูเดิมทำให้การไหลของงานไม่เป็นไปตามลำดับของงานอาจจะทำให้เกิดการปนเปื้อนข้ามจากจุลินทรีย์ได้ มีการสร้างตำแหน่งของประตูใหม่ที่เชื่อมต่อกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อการเรียนการสอนทำให้ผู้ปฏิบัติงานต้องผ่านการรักษาสุขอนามัยก่อนและการลำเลียงของวัสดุเป็นตามลำดับของงาน |
| 7 | ประตูห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 2 | ปิดตำแหน่งของประตูเดิมสร้างประตูใหม่เชื่อมกับห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 | ปัญหาเช่นเดียวกันกับห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 แก้ไขโดยการปิดประตูเดิมและสร้างประตุใหม่ที่เชื่อมต่อกับห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 |

ตาราง 1 (ต่อ)

| ลำดับ | ตำแหน่งการปรับปรุง/เพิ่มเติม | การปรับปรุง | ปัญหาและการแก้ไข |
|---|---|---|---|
| 8 | ไฟให้แสงสว่างต้นไม้ห้องเพาะเลี้ยงพืช 1 และ 2 | เปลี่ยนหลอดไฟที่มีบัลลาสต์แบบธรรมดาเป็นแบบบัลลาสต์อิเล็กทรอนิกส์ | ภายในห้องเป็นห้องที่ต้องควบคุมอุณหภูมิจึงมีการแยกมีการแยกบัลลาสต์ที่เป็นแหล่งกำเนิดของความร้อนติดตั้งรวมกันเป็นแผงไว้บนฝ้าเพดาน ยากต่อการซ่อมบำรุงและ อาจจะทำให้เกิดปัญหาอัคคีภัยได้เนื่องจากไฟฟ้าลัดวงจรได้ มีการเปลี่ยนใช้หลอดไฟแบบบัลลาสต์อิเล็กทรอนิกส์ |
| 9 | ห้องระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | มีการสร้างห้องเฉพาะสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | มีการสร้างห้องเฉพาะสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เพื่อสำหรับติดตั้งระบบและแยกงานออกจากส่วนการเรียนการสอนเพื่อลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนจากการมีคนเข้าทำงานจำนวนมาก |
| 10 | ห้องคอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | มีการสร้างห้องคอมพิวเตอร์สำหรับควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | ระบบมีการเปลี่ยนระบบการควบคุมจึงต้องมีการสร้างห้องสำหรับติดตั้งระบบควบคุมและคอมพิวเตอร์สำหรับควบคุมระบบแยกออกจากห้องระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เพื่อป้องกันการปนปื้อนจากส่วนของเครื่องมืออิเล็กทรอนิกส์ |
| 11 | ห้องถ่ายเนื้อเยื่อระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | มีการสร้างห้องห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร | เพื่อแยกส่วนงานวิจัยระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ออกจากงานด้านการเรียนการสอนโดยจำกัดให้ผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตรเท่านั้นเข้าทำงาน |

**ตาราง 1** (ต่อ)

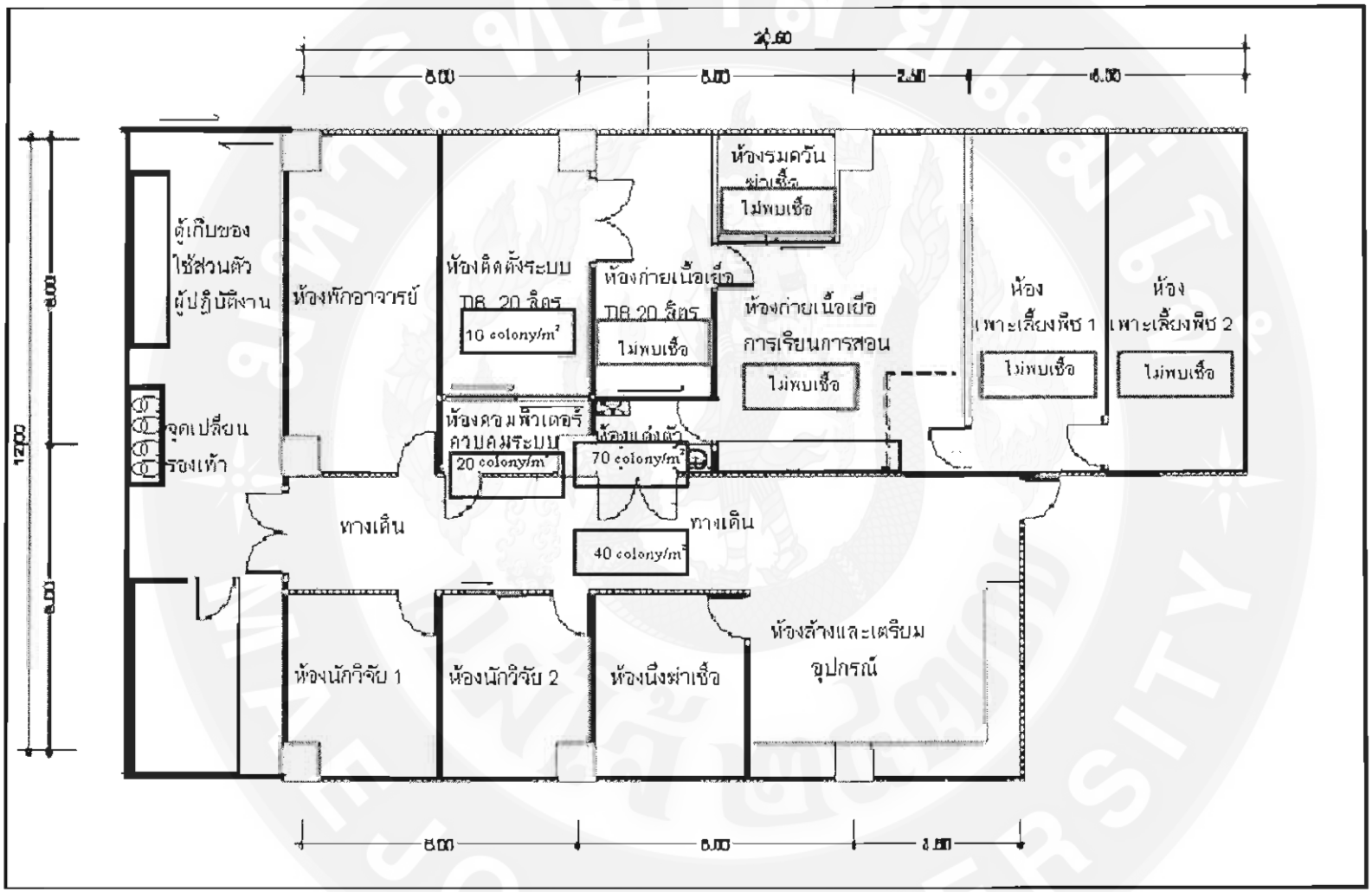
| ลำดับ | ตำแหน่งการปรับปรุง/เพิ่มเติม | การปรับปรุง | ปัญหาและการแก้ไข |
|---|---|---|---|
| 12 | ห้องรมควันฆ่าเชื้อ | สร้างห้องรมควันฆ่าเชื้อ | เพื่อใช้สำหรับฆ่าเชื้อวัสดุและอุปกรณ์ไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ด้วยการรมแก๊ส |
| 13 | ห้องแต่งตัว | สร้างห้องแต่งตัวเพิ่มเติม | ห้องปฏิบัติการเดิมไม่มีจุดรักษาสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงาน จึงได้มีการสร้างจุดเพื่อรักษาสุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงานก่อนเข้าทำงานในส่วนที่รักษาความสะอาดระดับสูง ภายในห้องจะมีบริเวณสำหรับเปลี่ยนรองเท้า จุดทำความสะอาดมือ และเสื้อกาวน์สำหรับสวมใส่ก่อนปฏิบัติงาน |

**ผลการทดลองขั้นตอนที่ 4 การตรวจสอบเชื้อในอากาศภายห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)**

หลังจากการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเรียบร้อยได้ใช้งานห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั้งระบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร และได้มีการทดสอบเชื้อภายในอากาศของห้องปฏิบัติขณะมีการดำเนินกิจกรรมเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบปริมาณเชื้อในอากาศภายในห้องปฏิบัติการดังแสดงไว้ใน ตาราง 2 โดยจำนวนเชื้ออยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) พบจำนวนเชื้อไม่เกิน 50 โคโลนีต่อลูกบาศก์เมตร และยังพบว่าในบางห้องไม่พบเชื้อเลย ได้แก่ ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ห้องฆ่าเชื้อแบบรมควัน (fumigation) ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับการเรียนการสอน ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 1 และ 2 และเมื่อนำจำนวนเชื้อที่พบวิเคราะห์ในแผนผังของห้องปฏิบัติการที่ออกแบบใหม่ (ภาพ 31) พบว่าห้องแต่งตัวมีประสิทธิภาพในการดักเชื้อจากภายนอก แต่จำนวนเชื้อที่สะสมภายในห้องสูงกว่ามาตรฐาน เนื่องจากขนาดและการออกแบบเฉพาะของห้องยังไม่สมบูรณ์เท่าที่ควรจำเป็นจะต้องมีการออกแบบเพิ่มเติมเพื่อให้ห้องมีประสิทธิภาพในการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อมากยิ่งขึ้น

**ตาราง 2** ผลการตรวจเชื้อในอากาศภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ออกแบบใหม่ขณะทำงาน โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

| สถานที่ | จำนวนเชื้อที่พบเฉลี่ย (colony/$m^3$) |
|---|---|
| ห้องควบคุมระบบไบขนาดใหญ่ 20 ลิตรด้วยคอมพิวเตอร์ | 20 |
| ห้องระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | 10 |
| ห้องเปลี่ยนเสื้อผ้า | 70 |
| ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร | - |
| ห้องฆ่าเชื้อแบบรมควัน (fumigation) | - |
| ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับการเรียนการสอน | - |
| ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 1 และ 2 | - |
| ห้องล้างและเตรียมอุปกรณ์ | 40 |




**ภาพ 31** จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในแต่ละห้องภายในห้องปฏิบัติการที่ออกแบบใหม่หลังจากใช้งานห้องปฏิบัติการ (colony/$m^2$)

**ผลการทดลองขั้นตอนที่ 5 การทดสอบระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ขนาด 20 ลิตร ที่ติดตั้งในห้องปฏิบัติการใหม่**

ในการเริ่มต้นเพาะเลี้ยงอ้อยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร มีการใช้วิธีการปฏิบัติ เช่นเดียวกันกับการใช้งานระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 700 มิลลิลิตร พบว่ามีการปนเปื้อนค่อนข้างสูง จึงได้มีการวิเคราะห์ วิธีการจัดการเพาะเลี้ยงอ้อยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ใหม่แล้วสามารถใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ในการเพาะเลี้ยงอ้อย โดยมีการปนเปื้อนเกิดขึ้นน้อยมาก ซึ่งมีวิธีในการจัดการดังต่อไปนี้

1) การเตรียมสถานที่และการจัดการห้องปฏิบัติการก่อนเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร

เดิมสามารถจัดการควบคุมการปนเปื้อนที่จะเกิดขึ้นในระหว่างการทำงานอย่างมีประสิทธิภาพของระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดเล็กขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร จึงได้นำวิธีการจัดการดังกล่าวมาใช้กับระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ขนาดภาชนะ 20 ลิตร พบว่าเกิดความเสียหายจากการปนเปื้อนสูง จึงได้นำวิธีการในการจัดการมาวิเคราะห์พบว่าการที่ชุดเล็กสามารถนำชุดภาชนะทั้งหมดเข้าไปจัดการภายในตู้ปลอดเชื้อพร้อมกันได้ทั้งหมด แต่ชุดใหญ่ไม่สามารถนำชุดภาชนะทั้งหมดเข้าไปในตู้ปลอดเชื้อได้ และในขั้นตอนการทำงานมีความซับซ้อน ใช้ผู้ปฏิบัติงานหลายคนและขณะทำงานมีการเปิดฝาตู้ปลอดเชื้อกว้าง อาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความเสี่ยงสูง จึงจำเป็นต้องมีการจัดการบริเวณรอบสถานที่ทำงานให้มีความสะอาดมากที่สุด มีวิธีในการจัดการดังต่อไปนี้

1.1 ในส่วนของที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร จะมีการเช็ดทำความสะอาดชั้นวางชุดภาชนะ และส่วนพื้นผิวของตู้ควบคุมต่างๆ ด้วย Clorox ที่ความเข้มข้น 10 %

1.2 ทำความสะอาดห้องที่จะใช้ปฏิบัติงาน โดยการกวาดและถูพื้นห้องด้วยน้ำยาถูพื้น จากนั้นถูซ้ำด้วย Clorox ที่ความเข้มข้น 10 %

1.3 รมควันฆ่าเชื้อภายในห้องถ่ายเนื้อเยื่อด้วยแก๊ส Formaldehyde ที่มีการผสมด่างทับทิมกับ ฟอมาร์ดีไฮด์น้ำ 36% โดยอัตราที่ใช้ด่างทับทิม 16.67 กรัมต่อฟอร์มาดีไฮด์ 100 มิลลิลิตร ในวิธีการรมควันมีการปฏิบัติดังนี้คือชั่งด่างทับทิมใส่ขวด 8 ออนซ์ขวดที่ 1 และดวง Formalin 100 มิลลิลิตรใส่ในขวด 8 ออนซ์ขวดที่ 2 จากนั้นนำขวดสารที่ใช้รมห้องตามวางตามห้องที่จะรมฆ่าเชื้อแล้วเริ่มรมห้องโดยการเท ฟอมาร์ดีไฮด์ในส่วนห้องที่อยู่ด้านในออกมาด้านนอกโดยในขณะทำการรมผู้ปฏิบัติงานต้องมีการสวมถุงมือและหน้ากากกันแก๊สเพื่อความปลอดภัย

ระยะเวลาที่ใช้ในการรมห้อง 24 ชั่วโมงเมื่อครบ 24 ชั่วโมงเปิดพัดลมระบายอากาศเพื่อระบายแก๊สพิษออกจากห้อง

2) การจัดการเตรียมต้นอ้อยด้วยระบบอาหารแข็งเพื่อใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

ระบบเดิมภาชนะมีขนาดเพียง 700 มิลลิลิตร ในการเริ่มต้นเพาะเลี้ยงอ้อยสามารถตัดถ่ายต้นอ้อยได้เพราะใช้จำนวนชิ้นส่วนน้อยและใช้เวลาในการทำงานสั้น จึงสามารถควบคุมการปนเปื้อนได้ แต่ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร มีการใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นจำนวนมาก ทำให้ใช้เวลาในการตัดถ่ายต้นพืชเป็นเวลานาน ดังนั้นจึงมีวิธีการในการจัดการดังต่อไปนี้

เตรียมชิ้นส่วนเริ่มต้นโดย นำกออ้อยที่ดัดใหม่ปักลงในอาหารแข็งสูตรเพิ่มปริมาณจำนวน 10 กอต่อขวด ในขวดขนาด 24 ออนซ์ นำไปเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ แล้วนำต้นอ้อยไปใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร โดยการคัดเลือกขวดที่แน่ใจว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ย้ายใส่ภาชนะสำหรับใส่ต้นพืชไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร

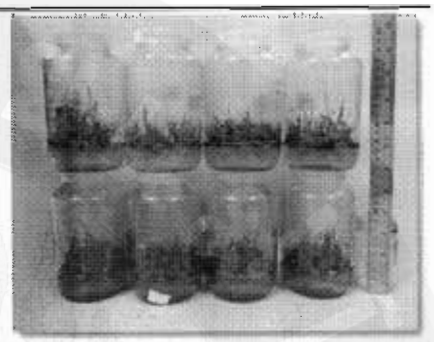
3) การเตรียมนึ่งฆ่าเชื้อชุดภาชนะและอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอ้อย

ด้วยขนาดของภาชนะไบโอรีแอคเตอร์มีความจุถึง 20 ลิตร ไม่สามารถจัดการภาชนะนึ่งฆ่าเชื้อได้แบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตรจึงต้องมีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบในการจัดการนึ่งฆ่าเชื้อภาชนะ ดังขั้นตอนสำหรับในการเตรียมอาหารและอุปกรณ์ใน ภาคผนวก ข จากนั้นนำภาชะมาจัดเก็บไว้ในบริเวณที่มีความสะอาดสูงได้แก่ห้องรมควันฆ่าเชื้อ

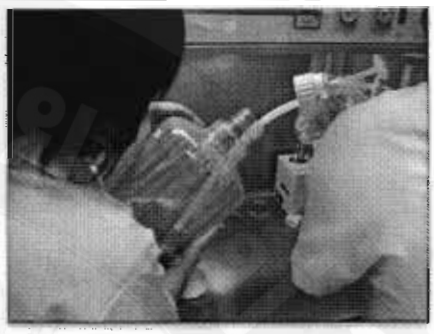
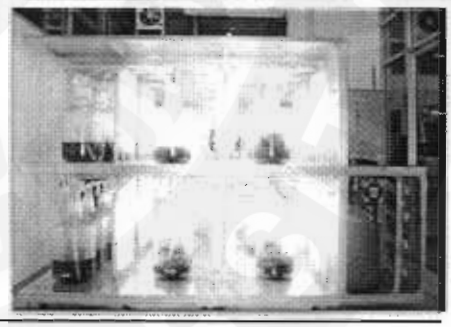
4) การถ่ายเนื้อเยื่ออ้อยเพื่อเลี้ยงในภาชนะไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

ในขั้นตอนถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตรก็เช่นเดียวกัน ไม่สามารถจัดการได้เหมือนภาชนะขนาด 700 มิลลิลิตรที่สามารถนำทั้งชุดภาชนะใส่อาหารและเลี้ยงต้นไม้เข้าไปจัดการในตู้ปลอดเชื้อได้ทั้งหมด จึงต้องมีการหาวิธีในการจัดการในขั้นตอนการทำงานภายในห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร มีวิธีและขั้นตอนในการทำงานดังตาราง 3

**ตาราง 3** ขั้นตอนในการทำงานการถ่ายเนื้อเยื่ออ้อยเพื่อเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

| ลำดับ | ขั้นตอนการทำงาน | ภาพ |
|---|---|---|
| 1 | นำต้นอ้อยจากข้อ 3 มาคัดขวดต้นอ้อยขวดที่ไม่มีการปนเปื้อนและขนาดต้นอ้อยต้นสูงประมาณ 2 เซนติเมตร มาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น |  |
| 2 | นำขวดต้นอ้อยที่คัดเลือกได้มาถ่ายชิ้นส่วนเริ่มต้นรวมกันในขวดขนาด 24 ออนซ์ ภายในตู้ปลอดเชื้อก่อน เพื่อความสะดวกในการถ่ายต้นไม้ใส่ลงในภาชนะไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร | |
| 3 | นำภาชนะไบโอรีแอคเตอร์สำหรับเลี้ยงต้นอ้อย (ภาชนะที่ไม่มีชุดฝาไบโอรีแอคเตอร์ดิดที่ถัง) เข้าตู้ปลอดเชื้อ ก่อนนำเข้าให้สเปรย์ถังด้วยแอลกอฮอล์ 70% ให้ทั่วโดยเฉพาะส่วนฝา | |
| 4 | ถ่ายชิ้นส่วนอ้อยที่เตรียมลงในถังผ่านกรวยที่ผ่านการนึ่งฆ่าแล้ว เมื่อถ่ายอ้อยเสร็จเรียบร้อยนำฝาภาชนะปิดไว้เช่นเดิม | |

**ตาราง 2** (ต่อ)

| ลำดับ | ขั้นตอนการทำงาน | ภาพ |
|---|---|---|
| 5 | นำชุดฝาของภาชนะไบโอรีแอคเตอร์ที่เชื่อมต่ออยู่กับภาชนะสำหรับใส่อาหาร เชื่อมต่อเข้ากับถังเพาะเลี้ยงต้นอ้อยที่มีการใส่ชิ้นส่วนต้นอ้อยแล้วในตู้ปลอดเชื้อ โดยแกะถุงพลาสติกที่หุ้มฝาอยู่ออกอย่างระวัง ไม่ให้สายสัมผัสกับมือหรือพื้นผิวของตู้ ค่อยๆสอดปลายท่อเข้าภาชนะใส่ต้นไม้แล้วปิดฝาภาชนะให้แน่น |  |
| 6 | หลังจากประกอบภาชนะเรียบร้อยนำภาชนะออกจากถังแล้วพันรอยต่อระหว่างฝาภาชนะกับตัวภาชนะด้วยพลาสติกกาวเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์และแมลงต่างๆ | |
| 7 | นำภาชนะเข้าไปติดตั้งกับระบบควบคุมตามขั้นตอนการติดตั้งชุดไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เพาะเลี้ยงอ้อยเป็นระยะ 3 สัปดาห์ แล้วนำอ้อยออกปลูกอนุบาลต้นกล้ายังโรงเรือนอนุบาลต้นกล้า |  |

**ผลการทดลองขั้นตอนที่ 6 การจัดทำข้อกำหนดในการใช้งานและ การดูแลรักษาความสะอาดของ แต่ละห้องภายในห้องปฏิบัติการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์ จมชั่วคราว ขนาด 20 ลิตร**

เมื่อปรับปรุงและก่อห้องปฏิบัติการเสร็จเรียบร้อยได้ห้องปฏิบัติการใหม่เพื่อให้มีการปฏิบัติงานที่เป็นมาตรฐานได้มีข้อกำหนดในการใช้ห้องต่างๆ ดังต่อไปนี้

**ก. ข้อควรปฏิบัติในการใช้ห้องห้องคอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

ห้องนี้เป็นห้องที่มีความสำคัญในการควบคุมระบบด้วยคอมพิวเตอร์นั้นผู้เข้าควบคุมระบบจะต้องมีความรู้และความเข้าใจในการใช้งานระบบควบคุมคอมพิวเตอร์ ไม่เช่นนั้นอาจจะทำให้เกิดความผิดพลาดในการควบคุมระบบ และเกิดความเสียหายกับอุปกรณ์ที่ใช้

1) ในการเข้าปฏิบัติงานอนุญาตให้เฉพาะผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบเท่านั้นเข้าไปภายในห้อง

2) ผู้ที่จะเข้าควบคุมระบบต้องมีการศึกษาคู่มือและมีความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้คอมพิวเตอร์ควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร

3) ต้องมีการเปลี่ยนรองเท้าก่อนเข้าทำงานในห้องควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

4) ลักษณะของห้องเป็นห้องที่มีความสะอาดสูงและมีเครื่องมือเกี่ยวกับอิเล็กทรอนิกส์ ห้ามไม่ให้ผู้ปฏิบัติงานนำอาหาร หรือเครื่องดื่มเข้าไปรับประทานภายในห้อง

5) กรณีที่เกิดเหตุฉุกเฉินต้องผ่านเข้าห้องระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ผู้ปฏิบัติงานต้องสวมเสื้อกราวน์ที่เตรียมไว้ให้ และทำความสะอาดมือด้วยเจลแอลกอฮอล์ก่อน

**ข. ข้อควรปฏิบัติในการใช้ห้องห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

1) ห้ามบุคคลที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานระบบไบโอรีแอคเตอร์เข้ามาภายในห้อง

2) ในการที่จะเข้าปฏิบัติงานภายในห้องต้องผ่านการรักษาสุขอนามัยที่ห้องแต่งตัวก่อน โดยทำความสะอาดมือ สวมเสื้อกราวน์ และมีการเปลี่ยนรองเท้าก่อน

3) นักวิจัยที่จะเข้าใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ต้องมีความรู้ความเข้าใจและปฏิบัติตามคู่มือการใช้งานระบบ

**ค. ข้อควรปฏิบัติในการใช้ห้องห้องแต่งตัว**

1) ห้ามบุคคลที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานวิจัยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ขนาด 20 ลิตร และผู้ที่ได้รับอนุญาตเข้ามาภายในห้อง

2) เมื่อเข้าไปภายในห้องต้องมีการปฏิบัติตามข้อกำหนดภายในห้อง คือ ต้องเปลี่ยนรองเท้า สวมเสื้อกราวน์ ใส่ที่ครอบผม หน้ากาก และทำความสะอาดมือ

3) มีการดูแลรักษาความสะอาดและเปลี่ยนผ้าสำหรับเช็ดมือทุกวัน

**ง. ข้อควรปฏิบัติในการใช้ห้องห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

1) ห้ามบุคคลที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานวิจัยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ขนาด 20 ลิตร เข้ามาภายในห้องก่อนได้รับอนุญาต

2) ในการทำงานภายในห้องผู้ปฏิบัติงานต้องมีความรู้ความเข้าใจและปฏิบัติตามเทคนิคปลอดเชื้ออย่างเคร่งครัด

3) มีการดูแลรักษาความสะอาดและนำอุปกรณ์ที่ใช้ในการคัดถ่ายเนื้อเยื่อออกจากห้องทุกวัน หลังปฏิบัติงานเสร็จ

**จ. ข้อควรปฏิบัติในการใช้ห้องห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับการเรียนการสอน**

1) นักศึกษาที่จะเข้าปฏิบัติงานภายในห้องนี้ ต้องได้รับการอธิบายและมีความเข้าใจวิธีการปฏิบัติงานในห้องนี้ก่อนเข้าปฏิบัติงาน

2) ห้ามบุคคลที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานการเรียนการสอนและงานวิจัย เข้ามาภายในห้องก่อนได้รับอนุญาต

3) ในขณะปฏิบัติงานนักเรียนนักศึกษาที่เข้าปฏิบัติงานต้องฟังคำสั่งและปฏิบัติตามผู้ดูแลอย่างเคร่งครัดในการปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการปนเปื้อนและอุบัติเหตุที่จะเกิดขึ้น

4) นักศึกษาต้องรักษาความสะอาดในขณะปฏิบัติงานและหลังปฏิบัติงานเสร็จเรียบร้อย

**ฉ. ข้อควรปฏิบัติในการใช้ห้องห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 1**

1) ห้ามบุคคลที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานเข้ามาภายในห้องเพาะเลี้ยงพืช

2) ในการที่จะเข้าปฏิบัติงานภายในห้องต้องผ่านการรักษาสุขอนามัยที่ห้องแต่งตัวก่อน โดยทำความสะอาดมือ สวมเสื้อกาวน์ และมีการเปลี่ยนรองเท้าก่อน

3) มีการทำความสะอาดเช็ดและถูชั้นสำหรับวางและขวดพืช เดือนละครั้ง

**ช. ข้อควรปฏิบัติในการใช้ห้องห้องเพาะเลี้ยงพืช 2**

1) ห้ามบุคคลที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานวิจัยและระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 700 มิลลิลิตร ภายในห้องเข้ามาในห้องก่อนได้รับอนุญาต

2) ในการที่จะเข้าปฏิบัติงานภายในห้องต้องผ่านการรักษาสุขอนามัยที่ห้องแต่งตัวก่อน โดยทำความสะอาดมือ สวมเสื้อกราวน์ และมีการเปลี่ยนรองเท้าก่อน

3) มีการทำความสะอาดเช็ดและถูชั้นสำหรับวางและขวดพืช เดือนละครั้ง

**ฌ. ข้อควรปฏิบัติในการใช้ห้องห้องรมควันฆ่าเชื้อ**

1) ห้ามบุคคลที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานวิจัยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เข้ามาภายในห้องก่อนได้รับอนุญาต

2) ในการทำงานภายในห้องผู้ปฏิบัติงานต้องมีความรู้ความเข้าใจและปฏิบัติตามคู่มือในการใช้เครื่องโอโซนอย่างเคร่งครัด

**การดูแลห้องและการทำความสะอาดภายในห้องปฏิบัติการ**

สำหรับการดูแลรักษาความสะอาดโดยทั่วไปของห้องปฏิบัติการ มีวิธีการปฏิบัติดังนี้ คือ

1) มีการกวาดทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอทุกวันหลังปฏิบัติงาน และมีการถูด้วยน้ำยาถูพื้น 1 รอบ แล้วถูซ้ำอีกครั้งด้วย ครอรอกซ์ 10% ทำทุกๆ 1 สัปดาห์

2) มีการรมควันฆ่าเชื้อด้วย Formaldehyde 36% เดือนละครั้งในส่วนที่ต้องรักษาความสะอาดสูง

## อภิปรายผลการทดลอง

การขยายพันธุ์อ้อยหรือพืชอื่นด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เป็นเรื่องท้าทายความสามารถในด้านการจัดการห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทั้งด้านการจัดการกำลังคน ด้านการเคลื่อนย้ายวัตถุต่างๆ รวมถึงด้านการจัดการเรื่องการปนเปื้อน ทั้งนี้เพราะในการขยายพันธุ์พืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่นี้ ถึงแม้จะช่วยให้การผลิตต้นพืชได้คราวละมากๆ 3,000 - 5,000 ต้นต่อภาชนะต่อรอบ (นพมณีและคณะ, 2555) สามารถลดแรงงานลงได้มาก ซึ่งเป็นส่วนที่ลดต้นทุนลงได้มากก็ตาม แต่หากมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ภายในภาชนะเพาะเลี้ยงก็จะทำให้เกิดการสูญเสียต้นพืชคราวละมากๆ เช่นกัน ดังนั้น การเริ่มต้นตั้งแต่การสร้างหรือปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อรองรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ให้เหมาะสมกับการจัดการงาน รวมทั้งการจัดการปนเปื้อนเป็นปัจจัยสำคัญที่เป็นดัชนีวัดความสำเร็จของการนำระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่มาใช้

จากงานวิจัยครั้งนี้ที่ได้มีการออกแบบและปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เพื่อรองรับการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร สามารถสร้างห้องที่ใช้ในการวางระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงต้นอ้อยดี ซึ่งเมื่อมีการปรับตำแหน่งห้องต่างๆ แล้วทำให้การเคลื่อนย้ายอุปกรณ์และบุคลากรดีขึ้นมาก รวมทั้งสามารถจัดการดำเนินงานการเรียนการสอนและงานวิจัยได้เป็นอย่างดี โดยในการปรับปรุงครั้งนี้ มีส่วนที่ได้ปิดตำแหน่งของประตูห้องเพาะเลี้ยงพืชที่เชื่อมต่อโดยตรงกับห้องเตรียมอาหาร สามารถหยุดภาระเข้าออกของอุปกรณ์และคนโดยตรงจากห้องเตรียมอาหารเข้าสู่ห้องเพาะเลี้ยงพืชได้ ทำให้มีการเปลี่ยนเส้นทางการย้ายของอุปกรณ์และคนที่กว่าจะเข้าและออกห้องเพาะเลี้ยงพืชได้ ต้องไปผ่านห้องแต่งตัวที่มีการควบคุมการปนเปื้อนอย่างเข้มงวดก่อน แล้วผ่านห้องถ่ายเนื้อเยื่อ ก่อนจะเข้าสู่ห้องเพาะเลี้ยงพืช และยังเป็นวิธีการจำกัดและคัดเลือกคนเข้าสู่ห้องเพาะเลี้ยงพืชอีกด้วย จะเห็นได้ว่าการปรับเปลี่ยนของประตูเช่นนี้ ซึ่งสามารถลดความเสี่ยงที่เกิดการปนเปื้อนได้สูง ทั้งนี้ Blake (1994) ได้รายงานเช่นเดียวกันว่า ในการควบคุมจัดการเคลื่อนย้ายคนภายในห้องเตรียมอาหารและห้องเพาะเลี้ยงพืช สามารถลดการปนเปื้อนเห็นได้อย่างชัดเจนและยังช่วยลดการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี

ในการปรับปรุงก่อสร้างห้องปฏิบัติการขึ้นมาใหม่นี้ ได้มีการเลือกใช้วัสดุที่ป้องกันการสะสมเชื้อจุลินทรีย์ โดยส่วนของผนังได้เลือกแผ่นสมาร์ทบอร์ดชนิดกันความชื้นแทนผนังเดิมที่เป็นวัสดุที่มีส่วนผสมของเซลลูโลส ซึ่งเมื่อเมื่อโดนความชื้นเป็นระยะเวลานานทำให้เป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนฝ้าเพดานใช้เป็นฝ้าแผ่นเรียบกันความชื้นแทนการใช้ฝ้าแบบแผ่นยิบ

ซัมขนาดเล็กวางต่อกัน ซึ่งลักษณะของแผ่นยิปซัมจะมีลักษณะเป็นรูพรุนเล็กๆ เป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างดี ตลอดจนมีการทาผนังและฝ้าเพดานด้วยสีชนิดที่กันความชื้นเช่นกัน ส่วนประตูใช้เป็นกระจกแบบบานสวิงเปิดออกข้างนอกอย่างเดียวแทนประตูเดิมที่ใช้ไม้แบบบานพับ ปัจจัยทั้งหมดเหล่านี้สามารถป้องกันการปนเปื้อนภายในห้องปฏิบัติการได้มาก สอดคล้องกับรายงานของ Flannigen and Morey (1996) ที่ว่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในห้องปฏิบัติการหรือภายในอาคารเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะกลุ่มเชื้อรา ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่สูง ความชื้นที่ติดตามผนัง บนโต๊ะ หรือแม้แต่ผิวหนังของเจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการเป็นแหล่งสะสมเชื้อราได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เพราะเชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ดีในทุกๆที่ ที่มีความชื้นสูง หรือมีแหล่งอาหารที่เหมาะสม การก่อสร้างอาคารด้วยวัสดุที่ทำด้วยเซลลูโลสซึ่งเมื่อชื้นหรือเปียก เชื้อราก็จะสามารถเจริญเติบโตได้ดี นอกจากนี้วัสดุอื่นที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อราในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ ชนิดของสีที่ใช้ แผ่นกันฉนวน น้ำมันหล่อลื่น สบู่ หรือพรม โดยปกติแล้วเชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งที่มีความชื้นสัมพัทธ์อย่างน้อย 60%

ในการออกแบบห้องปฏิบัติการขึ้นมาใหม่นี้ได้มีการเพิ่มเติมห้องแต่งตัวขึ้นมา เป็นบริเวณสำหรับให้ผู้ปฏิบัติงานมีการรักษาสุขอนามัยก่อนที่จะผ่านจากบริเวณที่มีการรักษาความสะอาดปกติเข้าไปยังบริเวณที่มีการรักษาความสะอาดระดับสูง บริเวณห้องแต่งตัวนี้จึงเป็นบริเวณที่อาจจะมีจำนวนเชื้อสะสมมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับกิจกรรมที่ดำเนินในขณะนั้น ยกตัวอย่าง เช่น จำนวนคนเข้าออกผ่านห้องแต่งตัว หากมีจำนวนมาก ห้องแต่งตัวมีโอกาสที่จะมีการสะสมของเชื้อสูง หรือหากสภาพอากาศภายในห้องมีความชื้นสัมพัทธ์สูงในฤดูฝน ความชื้นอาจจะไปสะสมในเสื้อกาวน์ หรือแม้แต่การล้างมือก่อนเข้าห้องด้วยสบู่และน้ำภายในห้องของคนจำนวนมากก็เป็นการเพิ่มความชื้นภายในห้องเช่นกัน ซึ่งสาเหตุเหล่านี้ล้วนแต่เป็นกิจกรรมที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในบริเวณห้องแต่งตัวดังกล่าว เช่นเดียวกันกับ Odutayo et al. (2007) ได้ทำการวิจัยการหาแหล่งที่มาของการปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 4 แห่งในประเทศไนจีเรีย โดยตรวจหาแหล่งที่มาของเชื้อจากชิ้นส่วนพืช ตัวผู้ปฏิบัติงาน อากาศภายในห้องปฏิบัติการ ผนังของห้องปฏิบัติการ พื้น โต๊ะที่ใช้ในการทำงาน และสภาพแวดล้อมภายในห้องปฏิบัติการ เขาสามารถจำแนกเชื้อที่ปนเปื้อนออกมาได้ 19 ชนิด โดยแบ่งออกเป็นเชื้อแบคทีเรีย 11 ชนิดและเชื้อรา 8 ชนิด และเป็นที่น่าสังเกตว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่พบนั้น สาเหตุมาจากชิ้นส่วนพืชต่ำกว่า 10% แต่เชื้อจุลินทรีย์ที่พบจากผิวหนังมนุษย์กลับมีสูงถึง 36-40% และจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนจากโต๊ะ และผนังก็สูงเช่นเดียวกัน และเชื้อทุกชนิดที่พบ ยกเว้น *Erwinia* sp. พบในอากาศภายในห้องปฏิบัติการสามารถถูกเข้าสู่ห้องปฏิบัติการได้โดยมนุษย์ ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้ที่ได้เน้นการเลือกใช้วัสดุกันชื้นมาเป็นส่วนประกอบของห้องเป็นเรื่องที่ถูกต้อง นอกจากนี้ยังควรมีระบบหรือข้อปฏิบัติในการ

ทำความสะอาดที่เข้มงวด โดยลักษณะของห้องนี้ ต้องมีขนาดที่กว้างพอ เป็นห้องที่มีอากาศถ่ายเทมีการติดตั้งระบบระบายอากาศ และระบบการดูดความชื้นออกจากห้อง นอกจากนั้นควรหลีกเลี่ยงการใช้น้ำภายในห้องซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ความชื้นภายในห้องสูง โดยใช้การทำความสะอาดมือด้วยเจลแอลกอฮอล์แทนการล้างมือด้วยสบู่และน้ำ

ส่วนในด้านระบบการเตือนภัยหลังจากมีการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชครั้งนี้นั้น จากห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ อยู่ในอาคารหกสิบปีมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ซึ่งได้มีระบบป้องกันอัคคีภัยที่ดีอยู่แล้วตามข้อกำหนดกระทรวงฉบับที่ 33 (พ.ศ. 2535) สำหรับอาคารสูง และอาคารขนาดใหญ่ต้องมีการติดตั้งอุปกรณ์เพื่อความปลอดภัย เช่น ระบบดับเพลิงอัตโนมัติ ได้แก่ ระบบสปริงเกอร์ ระบบสัญญาณเตือนภัย ระบบท่อยืนที่เก็บน้ำสำรอง และระบบหัวน้ำดับเพลิง และเครื่องดับเพลิงแบบมือถือ เป็นต้น (ทิพวรรณ, 2554) แต่หลังจากปรับปรุงห้องปฏิบัติการใหม่ตามหลักของการออกแบบห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อป้องกันและควบคุมการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมในการปฏิบัติงานภายในห้องปฏิบัติการ ได้มีการกั้นห้องเพิ่มเติม และได้เปลี่ยนแปลงตำแหน่งของประตูห้องใหม่ ทำให้ลักษณะของห้องภายในซ้อนกันหลายชั้น ซึ่งเมื่อเกิดอัคคีภัยเกิดขึ้นอาจจะไม่ได้ยินเสียง สัญญาณเตือนภัยที่อยู่ด้านนอก เป็นไปได้น้อย ดังนั้นเพื่อให้มีความปลอดภัยกับเจ้าหน้าที่ ที่ปฏิบัติงานภายในห้องปฏิบัติการควรมีการติดระบบสัญญาณเตือนภัย โดยเฉพาะสัญญาณเตือนเมื่อเกิดเหตุเพลิงไหม้ขึ้นภายในอาคาร การติดตั้ง เครื่องดับเพลิงแบบมือถือ และการติดป้ายบอกทางสำหรับหนีไฟเพิ่มเติม และควรมีการซักซ้อมการอพยพเมื่อเกิดอัคคีภัยอย่างสม่ำเสมอ

จากงานวิจัยนี้ทำให้เราได้เรียนรู้เกี่ยวกับการจัดการห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เหมาะสมในการติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตรที่เหมาะสม สามารถผลิตต้นพืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถจัดการความสูญเสียที่อาจจะเกิดขึ้นจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นในการผลิตพืชในระดับอุตสาหกรรม การวางระบบการผลิตต้นพืชแบบอุตสาหกรรม การเข้มงวดเกี่ยวกับการปฏิบัติงานเป็นเรื่องจำเป็น ในรายงานนี้ได้กำหนดวิธีการปฏิบัติงานต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นข้อปฏิบัติในการใช้งานของห้องต่างๆ วิธีการดูแลรักษาความสะอาด ตลอดจนขั้นตอนในการทำงานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ไว้อย่างดี แต่ถ้ามีการริเริ่มการสร้างมาตรฐานระบบการผลิตต้นพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการจัดการห้องปฏิบัติการจะยิ่งทำให้สามารถป้องกันการสูญเสียผลผลิตที่อาจจะเกิดขึ้นได้ ซึ่งในประเทศอินเดีย โดย กรมเทคโนโลยีชีวภาพ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รัฐบาลอินเดีย ได้สร้างมาตรฐานของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่นกันโดยมาตรฐานนี้มีชื่อว่า NATIONAL

CERTIFICATION SYSTEM FOR TISSUE CULTURE RAISED PLANTS (Department of Biotechnology Ministry of Science & Technology Government of India, 2006) และได้นำมาใช้ในการการันตีห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในประเทศอินเดีย เพื่อเป็นการสร้างความมั่นใจให้กับผู้ผลิตต้นพืช และลูกค้าต่างประเทศ

# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลอง

ได้ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใหม่ที่มีห้องสำหรับดิดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่และใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งมีการเปลี่ยนเส้นทางเดินของผู้ปฏิบัติงานและวัสดุใหม่ให้เป็นไปตามลำดับขั้นตอนของงานและมีห้องสำหรับติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่ ห้องควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่ ห้องถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่และเพิ่มส่วนของห้องแต่งตัว มีการใช้วัสดุในการก่อสร้างที่สามารถลดหรือป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ และจำนวนเชื้อที่พบในแต่ละห้องโดยจำนวนเชื้ออยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

# บรรณานุกรม


กรมวิชาการเกษตร. 2550. **อ้อย.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=13 (6 พฤศจิกายน 2555).

จาตุพงศ์ วาฤทธิ์. 2551. **เอกสารคำสอน วก461 การออกแบบโรงงานอาหาร.** เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 148 น.

ครรชิต ธรรมศิริ. 2550. **เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: อัมรินทร์พริ้นติ้ง แอนพับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). 283 น.

ทิพวรรณ บุณย์เพิ่ม. 2554. ความปลอดภัยจากอัคคีภัยในอาคารสูง. **การจัดการสมัยใหม่.** 9(2): 1-9.

นพมณี โทปุญญานนท์ (บรรณาธิการ). 2545. **การขยายพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ .** เชียงใหม่: IBeam Press studio. 163 น.

นพมณี โทปุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ, วิภาดา ทองทักษิณ, สุปัน ไม้ดัดจันทร์, รังสิมา อัมพวัน, ทิพย์สุดา ปุกมณี และ พรศักดิ์ บุญมณี. 2547. การพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำ ด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว. 88 น. ใน **รายงานการวิจัยของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติประจำปีงบประมาณ 2547.** กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

นพมณี โทปุญญานนท์, รังสิมา อัมพวัน และ พรศักดิ์ บุญมณี. 2549. **วช: สนับสนุนผลงานวิจัยไม้ดอกเพื่อการส่งออก.** กรุงเทพ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

นพมณี โทปุญญานนท์, รังสิมา อัมพวัน และ พรศักดิ์ บุญมณี. 2550. การสร้างเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบพร้อมใช้. น. 23-28. ใน **รายงานสัมมนา วช: สนับสนุนผลงานวิจัยไม้ดอกเพื่อการส่งออก วันที่ 11- 12 มกราคม 2550 ณ โรงแรมโลตัส ปางสวนแก้ว เชียงใหม่.**

นพมณี โทปุญญานนท์, พูนพัฒน์ พูนน้อย, จาตุพงศ์ วาฤทธิ์, ศรีกาญจนา คล้ายเรือง, นลิน วงศ์ขัตติยะ, รังสิมา อัมพวัน, เอกชัย บูรณะไทย และ ศรีเมฆ ชาวโพงพาง. 2555. **รายงานฉบับบสมบูรณ์ระบบการผลิตต้นพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม (ปีที่ 2).** กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 267 น.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี. 2555. **เกษตรดีที่เหมาะสำหรับอ้อย.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://sfcrc.suphanburi.info/sugarcane_GAP.htm (6 พฤศจิกายน 2555).

Alvard, D., F. Cote and C. Teisson. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 32: 55-60.

Arya, I.D., S. Sharma, S. Chauhan, and S. Arya. 2011. Micropropagation of superior eucalyptus hybrids FRI-5 (*Eucalyptus camaldulensis* Dehn x *E. tereticornis* Sm) and FRI-14 (*Eucalyptus torelliana* F.V. Muell x *E. citriodora* Hook): A commercial multiplication and field evaluation. **African Journal of Biotechnology** 8(21): 5718-5726.

Ahloowalia, B.S. and J. Prakash. 2004. Physical components of tissue culture technology. pp. 16-28. In **Low cost options for tissue culture technology in developing countries**. Proceedings of a technical meeting organized by the joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture and held in Vienna, 26–30 August 2002. Vienna: IAEA in Austria. Avalible http:// www-pub.iaea.org/mtcd/ publications/pdf/ te_1384_web.pdf (18 February 2011).

Ahloowalia, B.S., J. Prakash. V.A. Savangikar and C. Savangikar. 2004. Plant tissue culture. pp. 3-10. In **Low cost options for tissue culture technology in developing countries.** Proceedings of a technical meeting organized by the joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture and held in Vienna, 26–30 August 2002. Vienna: IAEA in Austria. Avalible *http://* www-pub.iaea.org/mtcd/ publications/pdf/ te_1384_web.pdf (18 February 2011).

Albany, N., E.J. Gonzalez, J. Vilchez, L. Garca, M.d. Feria, N. Prez, Z. Sarra, B. Prez and J. Clavelo. 2005. Use of growth retardants for banana (*Musa* AAA cv. Grand Naine) shoot multiplication in temporary immersion systems. pp. 213–224. In Hvoslef-Eide, A.K. and W. Preil. (eds.) **Liquid culture systems for in vitro plant propagation**. Dordrecht: Springer.

Arencibia, A.D., A. Bernal, L. Yang and L. Cortegaza. 2008. New role of phenylpropanoid compounds during sugarcane micropropagation in temporary immersion bioreactors (TIBs). **Plant Science.** 175: 487-496.

Aitken-Christie, J. and C. Jones. 1987. Towards automation: radiata pine shoot hedges *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 8: 185-196.

Berthouly, M. and H. Etienne. 2005. Temporary immersion system: A new concept. pp. 165–196. In Hvoslef-Eide, A.K. and W. Preil. (eds.) **Liquid culture systems for in vitro plant propagation**. Dordrecht: Springer.

Bionova. 2010. **Large scale micropropagation technology**. [Online] Avalible http:www. bionova-bioreactor.com (18 February 2011).

Blake, J. 1994. Mites and thrips as bacterial and fungal vectors between plant tissue cultures. **Acta Hort**. 225:163-166.

Bridgen, M.P. and J.W. Bertok, Jr. 1997. Designing a plant micropropagation laboratory.Proc. Internal. **Plant Propagators Society**. 37: 462-467.

Bunn, E. and B. Tan. 2002. Microbial contaminants in plant tissue culture. pp. 307–335. In Sivasithamparam, K., KW. Dixon And R.L. Barrett. (eds.) **Microorganisms in Plant Conservation and Biodiversity**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Cassells, A.C. 1991. Problems in tissue culture: culture contamination. pp. 31-44. In Debergh, P.C. and R.H. Zimmerman. (eds.) **Micropropagation Technology and Application.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Cassells, A.C. 2001. Contamination and its impact in tissue culture. **Acta Hort**. 560: 353-359.

Cole, M. 1996. Microbial contaminants and aseptic techniques in plant tissue culture. pp. 204–239. In Taji, A. and R. Williams. (eds.) **Tissue culture of Australian plants**. Armidale: University of New England.

Debergh, P.C. and L.J. Maene. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Hort**. 14: 335–345.

Debergh, P.C., Y. Harbaooui and R. Lemeur. 1981. Mass propagation of globe artichoke (*Cynara scolymus*) evaluation of different hypotheses to overcome vitrification with special reference to water potential. **Physiol. Plant**. 53: 181-187.

Debergh, P.C. 1988. Improving mass propagation of *in vitro* plantlets. pp. 45-57. In Kozai, T. (eds.) **Horticulture in High Technology Era**. Tokyo: International Symposium on High Technology in Protected Cultivation.

Escalona, M., J.C. Lorenzo and C.G. Borroto. 1999. Pineapple (Ananas comosus L. Merr) micropropagation in temporary immersion system. **Plant Cell Reports**. 18: 743-748.

Etienne, H., E. Dechamp, D. Barry-Etienne and B. Bertrand. 2006. Bioreactors in coffee micropropagation. **Braz. J. Plant Physiol.** 18(1): 45-54.

Flannigan, B. and P.R. Morey. 1996. Control of moisture problems affecting biological indoor air quality: International Society of Indoor Air Quality and Climate. **ISIAQ Guideline**. TF1-1996.

Iliev, I., A. Gajdosova, G. Libiakova and S.M. Jain. 2010. Plant micropropagation. pp. 1-23. In Anthony P. and M Davey M. (Eds.) **Plant Cell Culture: Essential Methods.** Loughborough: Wiley-Blackwell.

Jimenez-Gonzales, E. 2005. Mass propagation of tropical crops in temporary immersion system. pp. 197-211. In Hvoslef-Eide, A.K. and W. Preil. (eds.) **Liquid Culture System for in vitro Plant Propagation**. Dordrecht: Springer.

Levin, R. and G. Tanny. 2004. Bioreactors as a low cost potion for tissue culture. pp. 49-53. In **Low cost options for tissue culture technology in developing countries. Proceedings of a technical meeting organized by the joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture and held in Vienna, 26–30 August 2002**. Vienna: IAEA in Austria.

Leifert, C., H. Camotta, S.M. Wright, B. Waites, V.A. Cheyne and W.M. Waites. 1991. Elimination of *Lactobacillus plantarum, Corynebacterium* spp., *Staphylococcus saprophyticus* and *Pseudomonas paucimobillis* from micropropagated *Hemerocallis, Choisya* and *Delphinium* cultures using antibiotics. **Journal of Applied Bacteriology**. 71: 307-330.

Leifert, C., E. Clark and C.A. Rothery. 1993. Micropropagation; the propagation of plants by tissue culture. **Biological Sciences.** 5: 31-35.

Leifert, C. and S. Woodward. 1998. Laboratory contamination management: the requirement for microbiological quality assurance. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 52: 83–88.

Leifert, C and A. C. Cassells. 2001. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. **In vitro cellular and developmental biology-plant**. 37(2): 133-138.

Lorenzo, J.C., B.L. Gonzalez, M. Escalona, C. Teisson, P. Espinosa and C. Borroto. 1998. Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 54: 197-200.

Mehrotra, S., M.K. Goel, A.K. Kukreja and B.N. Mishra. 2007. Efficiency of liquid culture systems over conventional micropropagation: A progress towards commercialization. **African Journal of Biotechnology**. 6 (13): 1484-1492.

Omar, M.S. and M. Aouine. 2007. Commercial in vitro mass propagation of plants: current status and future investment prospects. **International Center for Agricultural Research in the Dry Areas**. 5: 94-99.

Odutayo, O.I., N.A. Amusa, O.O. Kutade and Y.R. Ogunsonwo. 2007. Determination of the sources of microbial contamination of culture plant tissue. **Plant Pathology Journal**. 6(1): 77-81.

Reed, B.M. and P. Tanprasert. 1995. Detection and control of bacterial contaminants of plant tissue cultures: A review of recent literature. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**. 1: 137-142.

Sathyanarayana, B.N. and D.B. Varghese. 2007. **Plant tissue culture: practices and new experimental protocols**. New Delhi: I.K. International Publishing House Pvt. Ltd. 292 p.

Shukla, S.K. 2008. **Plant Tissue Culture: Techno-Commercial Feasibility**. New Delhi: Biotech Consortium India Limited. 39 p.

Ziv, M., G. Meir and A.H. Halevy. 1983. Factors influencing the production of hardened glaucous carnation plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 2: 55-65.

# ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก

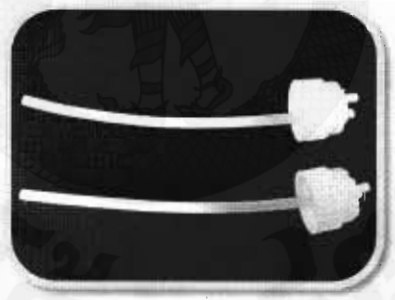
## การเตรียมอุปกรณ์และอาหารสำหรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร

**ขั้นตอนการประกอบชุดภาชนะไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

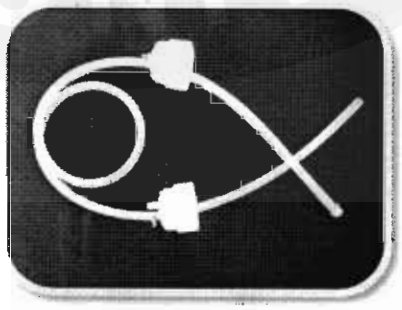
การประกอบชุดฝาภาชนะสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ

เริ่มการประกอบชุดภาชนะโดยการพันส่วนปลายของท่อซิลิโคนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.2 เซนติเมตร ยาว 54 เซนติเมตร ด้วยผ้าตาข่าย และรัดด้วยลวดที่ไม่ขึ้นสนิมเพื่อกรองไม่ให้ด้นไม้ไหลไปยังภาชนะใส่อาหาร

นำท่อซิลิโคนที่เตรียมจากข้อ 1.1 มาสวมกับ Fitting ขนาด ½ นิ้ว ด้านในของฝาภาชนะไบโอรีแอคเตอร์ทั้งสองฝา



นำฝาทั้งสองมาเชื่อมกันด้วยท่อซิลิโคนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.2 เซนติเมตร ยาว 160 เซนติเมตร สวมกับ Fitting ด้านนอกของฝาที่เป็น Fitting ตัวที่มีท่อส่งอาหารสวมอยู่ด้านใน

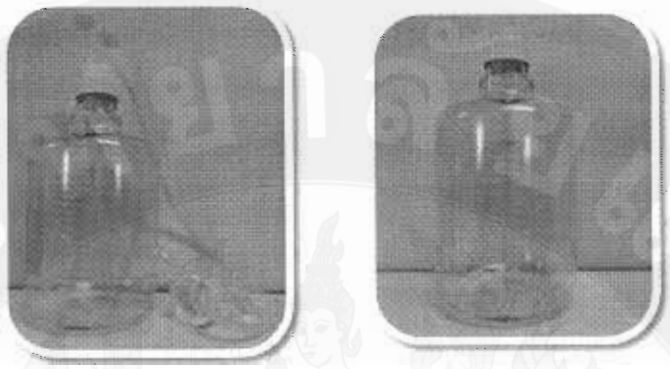


ต่อท่อซิลิโคนขนาด Ø = 0.8 เซนติเมตร ยาว 10 เซนติเมตร เข้าที่ fitting ของฝาภาชนะทั้งสองที่เชื่อมต่อกับท่อลม จากนั้นต่อตัวกรองอากาศที่ปลายของท่อซิลิโคนอีกด้าน

ปิดปลายอีกด้านของตัวกรองอากาศด้วยฟรอย์ เพื่อป้องกันไอน้ำเข้าตัวกรองอากาศในขณะนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน

นำส่วนฝาภาชนะเลี้ยงต้นไม้หุ้มด้วยถุงพลาสติกแล้วรัดปากถุงให้แน่นด้วยยางรัด

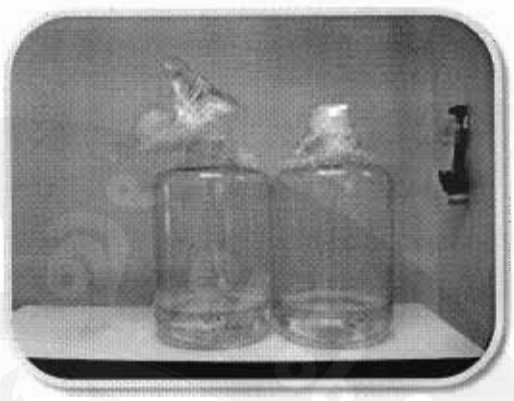
จากนั้นนำส่วนของฝาที่ประกอบเสร็จ สวมเข้ากับปากภาชนะใส่อาหารเพื่อเตรียมบรรจุอาหารใส่และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อต่อไป ส่วนภาชนะเลี้ยงต้นพืชใช้ฝาปกติของถังที่ไม่มีข้อต่อต่างๆ ครอบที่ฝาไว้ เพื่อเตรียมบรรจุอาหารใส่และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อต่อไป



**การนึ่งฆ่าเชื้ออาหารและภาชนะไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาด 20 ลิตร**

นำอาหารเหลวสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร pH = 5.8 ที่เตรียมเรียบร้อยแล้วแบ่งบรรจุใส่ภาชนะไบโอรีแอคเตอร์สำหรับเลี้ยงต้นอ้อยและภาชนะใส่อาหารภาชนะละ 5 ลิตร

นำฝาภาชนะที่เตรียมไว้ครอบที่ปากภาชนะแบบหลวมๆ แล้วนำภาชนะพร้อมอาหารไปใส่ให้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ จากนั้นตรวจสอบอีกรอบว่าฝาชนะว่าครอบตัวภาชนะแบบหลวม เพราะถ้าหากปิดฝาภาชนะแบบแน่นในขณะนึ่งฆ่าเชื้อจะทำให้ภาชนะบุบเสียหายได้ จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร ที่ความดัน ค 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 นาที



หลังจากนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเสร็จ เปิดหม้อนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว หมุนเกลียวฝาเข้า 1 ½ รอบ ห้ามปิดฝาเกลียวให้แน่นทันทีขณะที่อาหารกำลังร้อนอยู่ เพราะจะทำให้ถังบุบเสียหาย จากนั้นนำภาชนะไปเก็บไว้ยังห้องที่เตรียมไว้ พออาหารเย็นหมุนเกลียวของฝาเข้าให้แน่นและพันทับอีกรอบด้วยพาราฟิล์ม และเก็บอาหารไว้รอใช้งานเลี้ยงต้นพืชต่อไป

**ภาคผนวก ข**

# ประวัติผู้วิจัย

# ประวัติผู้วิจัย

| | | |
|---|---|---|
| **ชื่อ-สกุล** | นายธนกิจ แก่นเกษ | |
| **เกิดเมื่อ** | 19 ตุลาคม 2526 | |
| **ประวัติการศึกษา** | พ.ศ. 2538 | ประถมศึกษา<br>โรงเรียนอนุบาลศรีประชานุกูล อำเภอขุขันธ์ จังหวัดศรีสะเกษ |
| | พ.ศ. 2541 | มัธยมศึกษาตอนต้น<br>โรงเรียนขุขันธ์ อำเภอขุขันธ์ จังหวัดศรีสะเกษ |
| | พ.ศ. 2544 | มัธยมศึกษาตอนปลาย<br>โรงเรียนขุขันธ์ อำเภอขุขันธ์ จังหวัดศรีสะเกษ |
| | พ.ศ. 2551 | ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)<br>มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ |
| **ประวัติการทำงาน** | พ.ศ. 2552 | ผู้ช่วยนักวิจัย แผนงานวิจัยเรื่อง “ระบบการผลิตต้นพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม” ปีที่ 1 |
| | พ.ศ. 2554 | ผู้ช่วยนักวิจัย แผนงานวิจัยเรื่อง “ระบบการผลิตต้นพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม” ปีที่ 2 |
| | พ.ศ. 2555 | ปัจจุบันผู้ช่วยนักวิจัย ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ |