การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

นางสาว ทัชการณ์ บุณยประสิทธิ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีเทคนิค ภาควิชาเคมีเทคนิค
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-53-1584-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ORCHID CULTURE IN AIR LIFT REACTOR

Miss Touchakarn Boonyaprasit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Chemical Technology

Department of Chemical Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-53-1584-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์
โดย	นางสาว ทัชการณ์ บุณยประสิทธิ์
สาขาวิชา	เคมีเทคนิค
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.ภัทรพรรณ ประศาสน์สารกิจ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เลอสรวง เมฆสุต)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชญา นิติวัฒนานนท์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทัชการณ์ บุณยประสิทธิ์ : การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ (ORCHID CULTURE IN AIR LIFT REACTOR) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศ.ดร.สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ,อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล,จำนวนหน้า 118 หน้า. ISBN 974-53-1584-2.

เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นประเภทหนึ่งของเครื่องปฏิกรณ์แบบอัดอากาศ ซึ่งเป็นหนึ่งในความสำเร็จของการปรับปรุงประสิทธิภาพของเครื่องปฏิกรณ์แบบบับเบิ้ลคอลัมน์ โดยเพิ่มดาร์ฟทิวบ์เข้าไปภายในคอลัมน์ ทำให้ฟองอากาศที่เกิดขึ้นในคอลัมน์จะช่วยพาเอาของเหลวไหลตามขึ้นมา แล้วไหลกลับทางด้านข้าง ดังนั้นสารละลายจึงหมุนเวียนในคอลัมน์โดยไม่ต้องใช้เครื่องกวน จึงไม่มีผลที่เกิดจากการเสียดสีซึ่งเกิดจากเครื่องกวน และการไหลของของไหลไปในทิศทางเดียวกันมากขึ้นทำให้แรงเฉือนต่ำลงทำให้ลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับเซลล์ที่จะนำมาและยังเหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงสิ่งมีชีวิตที่อาศัยออกซิเจน เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลของออกซิเจนค่อนข้างสูง

ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองปลูกกล้วยไม้โดยปลูกในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ นำมาเปรียบเทียบกับวิธีเดิมคือการเพาะในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า แล้วเปรียบเทียบการเจริญเติบโตพบว่าในการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการเจริญเติบโตมีขนาดสม่ำเสมอและมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นมากกว่า มีการเพิ่มจำนวนของต้นอ่อนมากกว่า เนื่องจากได้รับอาหารและอากาศเพียงพอกับความต้องการของต้นอ่อน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา	เคมีเทคนิค	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา	เคมีเทคนิค	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา	2547	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4572307123 : MAJOR CHEMICAL TECHNOLOGY

KEYWORD : ORCHID CULTURE/ AIR LIFT REACTOR / WET WEIGHT

TOUCHAKARN BOONYAPRASIT : ORCHID CULTURE IN AIR LIFT REACTOR THESIS ADVISOR : PROF. SOMSAK DAMRONGLERD, Dr.Ing, CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. WARAWUT CHULALAKSANANUKUL, Ph.D., 118 pp. ISBN 974-53-1584-2.

Airlift reactors are generally classified as pneumatic reactors without any mechanical stirring arrangements for mixing. The turbulence caused by the fluid flow ensures adequate mixing of the liquid.The advantages of airlift reactor are better liquid circulation ,larger gas-liquid interfacial areas, and therefore produces much higher mixing efficiency and oxygen transport capability.

Airlift reactors is developed by bubble column. It is equipped with a draft tube.This observation low shear bioreactors such as the airlift design were regarded as the most suitable for plant cell. Thus air lift reactor was especially designed for biological process and is characterized by high mass transfer rates and good mixing. From experimental work, Dendrobium Pompadour orchid was cultured in air lift reactor, which was compared with conventional reactor.

The result shows that the wet weight of protocorm in air lift reactor is better than conventional reactor.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department	Chemical Technology	Student's signature.....
Field of study	Chemical Technology	Advisor's signature.....
Academic year	2004	Co-Advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำการทำวิจัย ตลอดจนให้ความเห็นเพื่อปรับปรุงแก้ไขการทำวิจัยให้มีความสมบูรณ์ด้วยดียิ่ง รวมทั้งคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเคมีเทคนิคที่ได้ให้คำแนะนำ

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ภัทรพรรณ ประศาสน์สารกิจ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. เลอสรวง เมฆสุต และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชญา นิติวัฒนานนท์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการจัดทำวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์

ขอขอบคุณบุคลากรภาควิชาเคมีเทคนิคทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือในการทดลองและห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ในภาควิชาเคมีเทคนิคที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้การทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วง

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ญาติพี่น้อง ที่เป็นกำลังใจอย่างดีและให้การสนับสนุนจนผู้วิจัยสำเร็จการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ฎ

บทที่

1บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 4

1.3 ขอบเขตของการวิจัย..... 4

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 4

2 ทฤษฎี..... 5

2.1 การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้..... 5

2.2 เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 8

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 23

3 เครื่องมือและวิธีการทดลอง..... 25

3.1 รูปแบบการศึกษา..... 25

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง..... 25

3.3 วัตถุดิบและสารเคมี..... 30

3.4 การดำเนินการวิจัย..... 30

3.5 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย..... 33

4 ผลการทดลองและการวิเคราะห์..... 41

4.1 การทดลองหาวิธีการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 42

4.2 การทดลองหาวิธีถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว..... 48

หน้า

4.3 การทดลองเปรียบเทียบจำนวนการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งในอาหารเหลว อาหารวุ้นและภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว..... 49
4.4 ผลการทดลองหาขนาดต้นอ่อนที่สามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์..... 51
4.5 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour)ที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 59
5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ..... 105
5.1 สรุปผลการทดลอง..... 105
รายการอ้างอิง..... 112
ภาคผนวก..... 114
ภาคผนวก ก..... 115
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 118

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

2.1 ความว่องไวของจุลชีพ เซลล์พืชและเซลล์สัตว์ต่ออัตราเฉือน 9

3.1 ขนาดเฉลี่ยต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่นำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 34

3.2 ขนาดเฉลี่ยของโพรโทคอร์มขนาดเล็ก โพรโทคอร์มขนาดกลาง โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ และต้นอ่อน..... 34

4.1 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากจากสแตนเลส..... 42

4.2 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์หลังจากมีการปรับปรุงประสิทธิภาพแล้ว..... 43

4.3 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากพอลิอะคิลิค..... 45

4.4 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว..... 46

4.5 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วเมื่อนำไปนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ..... 46

4.6 ร้อยละการติดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 50

4.7 ร้อยละการติดเชื้อในขั้นเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 51

4.8 ขนาดเฉลี่ยต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่นำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 52

4.9 จำนวนต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่อยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจาก สแตนเลสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน..... 57

4.10 จำนวนต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่อยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว หลัง จากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน..... 59

4.11 ตัวอย่างโพรโตคอร์มที่ทำการเพาะเลี้ยงจากเมล็ดเป็นเวลา 2 เดือนแล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 1 เดือน ก่อนนำไปทดลองเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ และทำการสุ่มตัวอย่างมาเป็นจำนวน 10 ต้น..... 60

4.12 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศ..... 63

บทที่ หน้า

4.12 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศเมื่อคิดต่ออาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร..... 63
4.13 ขนาดเฉลี่ยของโพรโทคอร์มขนาดเล็ก โพรโทคอร์มขนาดกลาง โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ และต้นอ่อน..... 66
4.15 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า..... 67
4.16 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์..... 74
4.17 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อคิดต่ออาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร..... 76
4.17 น้ำหนักเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงโดยวิธีต่างๆเมื่อคิดต่ออาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร..... 77

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ		หน้า
2.1	ส่วนประกอบของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์.....	10
2.2	ชนิดของหัวพ่นอากาศ c : cylindrical tube, p : perforate plate	11
2.3	ตัวอย่างการวัดขนาดฟองโดยใช้รูปที่ถ่ายได้จากการทดลอง.....	14
2.4	การแตกของฟองแก๊สเมื่อผ่านแผ่นเจาะรู.....	19
2.5	ผลของการเปรียบเทียบคุณสมบัติของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรูและบับเบิลคอลัมน์.....	20
2.6	ขนาดฟองตามช่วงต่าง ๆในไรเซอร์ของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรู 1 ชิ้น.....	21
3.1	เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส.....	26
3.2	เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากพอลิอะคิลิค.....	27
3.3	เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว.....	28
3.4	หม้อนึ่งอัดไอน้ำ.....	29
3.5	ตู้ปลอดเชื้อ.....	29
4.1	ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้และอาหารเพาะเลี้ยงหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส.....	44
4.2	ลักษณะของราก้อนกลมภายในเครื่องปฏิกรณ์หลังจากพ่นอากาศ.....	47
4.3	แสดงเครื่องปฏิกรณ์หลังจากถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้โดยวิธีที่ 1 เป็นเวลา 3 วัน.....	48
4.4	แสดงต้นอ่อนกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่ที่ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์.....	49
4.5	แสดงเครื่องปฏิกรณ์หลังจากถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้โดยวิธีที่ 2.....	49
4.6	ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาด 5-6 เซนติเมตร.....	52
4.7	ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาด 3-4 เซนติเมตร.....	52
4.8	ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาด 2-2.5 เซนติเมตร.....	53
4.9	ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร.....	53
4.10	ตัวอย่างต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่นำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์.....	54
4.11	ต้นอ่อนขนาด 5-6 cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน.....	54

ภาพประกอบ หน้า

4.12 อ่อนขนาด 5-6 cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน..... 55
4.13 ต้นอ่อนขนาด 3-4 cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน..... 55
4.14 ต้นอ่อนขนาด 2-2.5 cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน..... 56
4.15 ต้นอ่อนขนาด 1-0.5cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน..... 57
4.16 แสดงจำนวนต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่อยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1เดือน..... 59
4.17 แสดงจำนวนต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่อยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน..... 60
4.18 ลักษณะของโพรโทคอร์มเริ่มต้นในหลอดทดลอง..... 60
4.19 ลักษณะของโพรโทคอร์มเริ่มต้นในก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 61
4.20 ลักษณะของโพรโทคอร์มเมื่อนำเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร..... 62
4.21 ลักษณะของโพรโทคอร์มก่อนนำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว..... 65
4.22 แสดงจำนวนโพรโทคอร์มแต่ละขนาดหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำแก้วหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน..... 66
4.23 โพรโทคอร์มขนาดเล็ก 66
4.24 โพรโทคอร์มขนาดกลาง..... 66
4.25 โพรโทคอร์มขนาดใหญ่..... 67
4.26 ต้นอ่อน..... 67
4.27 โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ ต้นอ่อน และ โพรโทคอร์มขนาดเล็ก..... 68
4.28 แสดงจำนวนโพรโทคอร์มแต่ละขนาดหลังจากเพาะเลี้ยงในหลังจากเพาะเลี้ยงขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 1 เดือน..... 68
4.30 แสดงการแตกของโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า..... 70

ภาพประกอบ หน้า

4.31 ขนาดโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 70
4.32 ขนาดโพรโทคอร์มส่วนใหญ่หลังจากเพาะเลี้ยงหลังเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 71
4.32 การกระจายขนาดของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงหลังเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 71
4.33 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 72
4.35 ขนาดโพรโทคอร์มส่วนใหญ่หลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 72
4.36 การกระจายขนาดของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 73
4.37 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 73
4.38 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเกิดการติดเชื้อระหว่างเพาะเลี้ยง 78
4.39 แสดงจำนวนโพรโทคอร์มแต่ละขนาดหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้ก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์เป็นเวลา 4 อาทิตย์..... 78
4.39 แสดงการกระจายขนาดของโพรโทคอร์มกับการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แต่ละชนิดเป็นเวลา 4 อาทิตย์..... 79
4.40 แสดงน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นกับระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้ก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์..... 79
4.42 แสดงน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นกับการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แต่ละชนิดเป็นเวลา 4 อาทิตย์..... 81
4.43 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2สัปดาห์..... 81
4.44 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 2สัปดาห์..... 82

ภาพประกอบ หน้า

4.45 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 3 สัปดาห์..... 82
4.46 ลักษณะของโพรโทคอร์มขณะจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่น เป็นเวลา 3สัปดาห์..... 83
4.47 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 83
4.48 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นอากาศเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 84
4.49 ลักษณะของกลุ่มต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้ คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 5สัปดาห์..... 84
4.50 ลักษณะของต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 5สัปดาห์..... 85
4.51 เปรียบเทียบขนาดและการแตกของโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงโดยวิธีต่างๆ..... 87
4.52 ลักษณะของโพรโทคอร์มเริ่มต้นในก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์..... 87
4.53 ลักษณะของต้นอ่อนขณะเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นตัวพ่น เป็นเวลา 3สัปดาห์..... 88
4.54 ลักษณะของต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 2 สัปดาห์..... 89
4.54 ลักษณะของต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้ คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 3 สัปดาห์..... 89
4.56 แสดงการติดเชื้อในขั้นการเตรียมอาหาร..... 91
4.57 แสดงเกิดการติดเชื้อในขั้นถ่ายต้นอ่อนลงขวดรูปชมพู่..... 91
4.58 แสดงการเพาะเลี้ยงในขวดที่เล็กลง..... 92
4.59 แสดงการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน..... 92
4.60 แสดงปริมาณ KNO_3 ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ..... 93

ภาพประกอบ หน้า

4.61 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ของ KNO_3..... 93
4.61 แสดงปริมาณ $MgSO_4.7H_2O$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็น
ระยะเวลาต่างๆ..... 94
4.63 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $MgSO_4.7H_2O$..... 94
4.64 แสดงปริมาณ $CaCl_2.2H_2O$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยง
เป็นระยะเวลาต่างๆ..... 95
4.65 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $CaCl_2.2H_2O$..... 95
4.65 แสดงปริมาณ $NH_4H_2PO_4$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็น
ระยะเวลาต่างๆ..... 96
4.67 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $NH_4H_2PO_4$..... 96
4.68 แสดงปริมาณ H_2BO_3 ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ..... 97
4.69 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ H_2BO_3..... 97
4.70 แสดงปริมาณ $CuSO_4.5H_2O$ ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยง
เป็นระยะเวลาต่างๆ..... 98
4.71 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $CuSO_4.5H_2O$..... 98
4.71 แสดงปริมาณ $MnSO_4.H_2O$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็น
ระยะเวลาต่างๆ..... 99
4.73 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $MnSO_4.H_2O$..... 99
4.74 แสดงปริมาณ KI ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ..... 100
4.75 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ KI..... 100
4.76 แสดงปริมาณ $Na_2MoO_4.2H_2O$ ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยง
เป็นระยะเวลาต่างๆ..... 101
4.77 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $Na_2MoO_4.2H_2O$..... 101
4.77 แสดงปริมาณ $Na_2EDTA2H_2O$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยง
เป็นระยะเวลาต่างๆ..... 102
4.79 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $Na_2EDTA2H_2O$..... 102
4.80 แสดงปริมาณ $FeSO_4.7H_2O$ ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยง
เป็นระยะเวลาต่างๆ..... 103

ภาพประกอบ หน้า

4.81 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $FeSO_4.7H_2O$..... 103
4.82 แสดงปริมาณ ซูโครส ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ..... 104
4.83 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ ซูโครส..... 104

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กล้วยไม้เป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยเป็นจำนวนมากแต่ในปัจจุบันการเพาะกล้วยไม้ทำได้ 2 วิธี โดยวิธีแรก คือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และอีกวิธีคือการเพาะเมล็ด โดยระยะแรกของการงอกเริ่มต้นด้วยการขยายตัวทางด้านขวาง ทำให้มีรูปร่างกลมโตขึ้น แล้วดันเปลือกหุ้มเมล็ดออกมาในเวลาประมาณ 10 วัน ต่อจากนั้นจะเริ่มมีการแบ่งตัวของเซลล์ การแบ่งตัวของเซลล์รวมทั้งการที่เซลล์ขยายตัวเป็นผลให้เกิดโครงสร้างซึ่งมีลักษณะพิเศษของพืชจำพวกกล้วยไม้ คือมีรูปกลม และต่อมามียอดแหลม โครงสร้างนี้เรียกว่าโพรโทคอร์ม จากโพรโทคอร์ม จะมีการเจริญและเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น หน่อ ใบและรากตามลำดับ ต่อจากนั้นจะเจริญเป็นแคลลัส และสามารถเปลี่ยนไปเป็นต้นเล็ก ๆ สามารถนำไปปลูกเลี้ยงในกระถาง และเจริญเป็นต้นกล้วยไม้โดยสมบูรณ์ได้

แม้กล้วยไม้จะเป็นต้นไม้ธรรมดา ๆ เช่นเดียวกับพันธุ์ไม้ชนิดอื่น มีใบสีเขียว สามารถปรุงอาหารและดำเนินชีวิตอยู่ตามธรรมชาติได้ตามปกติ แต่ถ้ามองที่องค์ประกอบของเมล็ดกล้วยไม้จะพบความจริงว่า ขาดความสมบูรณ์ในตัวเอง เนื่องจากภายในองค์ประกอบของเมล็ดกล้วยไม้ ซึ่งเกิดจากการผสมระหว่างเกสรตัวผู้กับเกสรตัวเมีย แต่ขาดอาหารซึ่งเก็บสะสมไว้ ดังนั้นธรรมชาติจึงได้ให้เชื้อรากลุ่มหนึ่ง ซึ่งมีชื่อวิชาการว่า ไมคอไรซ่า ทำหน้าที่ช่วยหาอาหารให้กับเชื้อภายในเมล็ด ต่อมาจึงได้มีการค้นคว้าการเพาะเมล็ดโดยไม่ต้องอาศัยเชื้อรา แต่จัดหาอาหารผสมซึ่งกล้วยไม้เคยได้จากเชื้อรามาให้ได้ตรง การใช้ขวดเพาะเมล็ดมีเหตุผลเนื่องมาจากการที่พบว่าในบรรยากาศทั่วไปมีเชื้อราปลิวปะปนเป็นจำนวนมาก รวมทั้งแบคทีเรียซึ่งตาคนมองไม่เห็น ดังนั้นในการเตรียมอาหารให้กล้วยไม้ย่อมเป็นอาหารให้กับเชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้นด้วย หากเจือปนเข้าไปในขวดจะเจริญงอกงามรวดเร็วกว่ากล้วยไม้ จึงมีผลทำลายกล้วยไม้ในขวดอย่างสำคัญ ดังนั้นหลังจากเตรียมอาหารแล้วจำเป็นต้องนึ่งฆ่าเชื้ออื่น ๆ ซึ่งเจือปนอยู่ในนั้นให้ตายหมดเสียก่อน และการนำเมล็ดลงในขวดก็ต้องทำในตู้ปลอดเชื้อเช่นกัน ซึ่งการเพาะกล้วยไม้ในขวดทำได้ 2 วิธีด้วยกันวิธีแรกคือใส่อาหารเพาะเลี้ยงกึ่งแข็งโดยเทคนิคปลอดเชื้อ แล้วนำไปตั้งบนชั้นวางวิธีที่ 2 คือเพาะในขวดอาหารเพาะเลี้ยงเหลววางบนเครื่องเขย่า ซึ่งทั้งสองวิธีเป็นการสิ้นเปลืองเนื้อที่โดยเฉพาะในทางอุตสาหกรรม ซึ่งต้องการเพาะเป็นจำนวนมาก ๆ ทำให้ต้องใช้เนื้อที่มาก อีกทั้งยังสิ้นเปลืองวัสดุอุปกรณ์ แรงงานคนในการเพาะปลูก และทั้ง 2 วิธีเป็นวิธีที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากเมื่อต้นอ่อนกล้วยไม้เจริญเติบโตขึ้นจนอาหารที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยง

หมดต้องทำการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้ไปสู่ขวดใหม่ซึ่งในขั้นตอนนี้เสี่ยงต่อการติดเชื้อเพราะกว่าต้นอ่อนจะเจริญเติบโตจนสามารถย้ายออกไปปลูกนอกขวดได้ต้องทำการย้ายขวดหลายครั้งในแต่ละครั้งก็จะมีการติดเชื้อเกิดขึ้นในบางขวดที่ทำการย้ายทำให้เสียต้นอ่อนและอาหารเพาะเลี้ยงไปบางส่วน

จึงได้พัฒนาวิธีการปลูกกล้วยไม้โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ที่มีการป้อนอากาศเข้าด้านล่างนอกจากจะปลูกได้เป็นจำนวนมากแล้ว ยังสามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้มากกว่าวิธีปกติ เนื่องจากการป้อนอากาศเป็นการเพิ่มออกซิเจนให้แก่อาหารเพาะเลี้ยงเหลวในเครื่องปฏิกรณ์ ทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตได้ดี และเพิ่มจำนวนได้มาก และยังไม่ต้องเสี่ยงกับการติดเชื้อที่เกิดจากการย้ายต้นอ่อนลงขวดใหม่เมื่ออาหารเพาะเลี้ยงหมดเนื่องจากเครื่องปฏิกรณ์สามารถเติมอาหารเพาะเลี้ยงภายในตู้ปลอดเชื้อได้โดยไม่ต้องนำกล้วยไม้ออกมาภายนอกเครื่องปฏิกรณ์ทำให้ลดอัตราการติดเชื้อลงได้

จากงานวิจัยต่าง ๆที่ผ่านมาบับเบิลคอลัมม์ เป็นเครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในกระบวนการทางเคมี และ กระบวนการทางชีวเคมี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมทางด้านชีวเคมีใช้ในการเพาะเลี้ยง เซลล์พืช เซลล์สัตว์ และจุลชีพ แต่พบว่าอัตราการอยู่รอดของเซลล์มีค่าต่ำ ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ และโดยเฉพาะในกรณีของ เซลล์สัตว์และ เซลล์พืชที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งมีความว่องไวต่อ แรงเฉือน ทำให้เกิดการแตกหัก เซลล์ได้รับความเสียหาย นำไปสู่การเสียชีวิตในภายหลัง ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาประสิทธิภาพของบับเบิลคอลัมม์ขึ้น เพื่อให้มีประสิทธิภาพเหมาะสมกับกระบวนการที่จะนำไปใช้และหนึ่งในความสำเร็จของการปรับปรุงประสิทธิภาพของเครื่องปฏิกรณ์แบบบับเบิลคอลัมม์คือเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ซึ่งมีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับบับเบิลคอลัมม์ คือมีการไหลเวียนของของเหลวดี ทำให้เกิดการผสมที่ดีกว่าและมีแรงเฉือนต่ำกว่าในบับเบิลคอลัมม์ ทำให้อัตราการอยู่รอดของเซลล์มากขึ้น นอกจากนี้ยังมีโครงสร้างไม่ซับซ้อนง่ายต่อการออกแบบ และง่ายต่อการขยายขนาดเพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรม

ดังนั้นเครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองนี้คือเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ฟองอากาศที่เกิดขึ้นในคอลัมน์จะช่วยพาเอาของเหลวไหลตามขึ้นมา แล้วไหลกลับทางด้านข้าง ดังนั้นสารละลายจึงหมุนเวียนในคอลัมน์โดยไม่ต้องใช้เครื่องกวน จึงไม่มีผลที่เกิดจากการเสียดสีซึ่งเกิดจากเครื่องกวน และยังเหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงสิ่งมีชีวิตที่อาศัยออกซิเจน เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลของออกซิเจนค่อนข้างสูง เมื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงต้นอ่อนขนาดเล็กจนมีขนาดโตเตรียมที่จะนำไปเพาะปลูกต่อไป เนื่องจากต้นอ่อนที่มีขนาดโตขึ้นจะสามารถทนต่อแรงเฉือนได้ต่ำกว่าต้นอ่อนที่มีขนาดเล็กกว่า จึงเหมาะที่จะใช้เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เพราะสามารถลดความบอบช้ำที่เกิดขึ้น

กับต้นอ่อนที่มีขนาดโตขึ้นทำให้อัตราการอยู่รอดสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องปฏิกรณ์แบบอื่น และในกรณีที่ทำการเพาะเลี้ยงตั้งแต่ระยะโพรโทคอร์มก็จะทำให้เพิ่มจำนวนโพรโทคอร์มได้มากกว่าวิธีปกติเนื่องจากได้อากาศและอาหารที่เพียงพอ

แต่ปัญหาที่สำคัญที่สุดในการทดลองนี้คือการติดเชื้อภายในเครื่องปฏิกรณ์ซึ่งเกิดได้ในหลายขั้นตอน ตั้งแต่ขั้นการสเตอริไรด์เครื่องปฏิกรณ์ ขั้นการนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร ขั้นการเติมอาหารเพาะเลี้ยงลงในเครื่องปฏิกรณ์ ขั้นการถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงในเครื่องปฏิกรณ์ การเลือกใช้ตัวกรองอากาศที่เหมาะสม ซึ่งในการทดลองนี้ได้ลองแก้ปัญหาไปทีละขั้นเริ่มตั้งแต่การเลือกใช้วัสดุที่ใช้ทำเครื่องปฏิกรณ์หลายประเภทดังนี้ อลูมิเนียม โพลีอะคิลิก แก้ว และแต่ละชนิดของเครื่องปฏิกรณ์ใช้การสเตอริไรด์ที่แตกต่างกันออกไป เพื่อทดลองหาชนิดของวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์และการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้เพื่อให้สามารถทำการทดลองการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ให้ได้ระยะเวลานานที่สุดโดยเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงภายในเครื่องปฏิกรณ์ และยังทำการทดลองเพื่อดูว่าการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนมีมากกว่าการปลูกโดยวิธีปกติหรือไม่เมื่อได้รับอากาศและอาหารที่เพียงพอ โดยในการทดลองที่ทำการทดลองโดยใช้ต้นอ่อนหลายขนาดทั้งระยะที่ยังเป็นโพรโทคอร์ม และระยะที่เริ่มมีใบและราก เพื่อคัดเลือกว่าต้นอ่อนขนาดใดสามารถอยู่รอดภายในเครื่องปฏิกรณ์ได้และระยะใดที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นอ่อนได้ และต้นอ่อนโตถึงระยะใดจึงควรนำต้นอ่อนออกมาภายนอกเครื่องปฏิกรณ์เนื่องจากถ้าต้นอ่อนมีขนาดโตเกินไปจะได้รับความบอบช้ำเนื่องจากต้นอ่อนยิ่งมีขนาดใหญ่จะทนต่อแรงเฉือนได้ต่ำจึงควรนำออกมาจากเครื่องปฏิกรณ์เพื่อลดอัตราการเสียชีวิต และจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้โดยวิธีเก่าคือการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่และปิดด้วยแผ่นอลูมิเนียมและพันด้วยพลาสติก พบว่าต้นอ่อนเจริญเร็วมากในระยะแรก บาง ขวดรูปชมพู่ ตายในเดือนที่ 4 บาง ขวดรูปชมพู่การเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ ซึ่งเกิดจากการขาด แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เพราะการปิดฝาด้วย แผ่นอลูมิเนียม และพันด้วยพลาสติกเพื่อป้องกันการติดเชื้อและป้องกันไม่ให้ไอน้ำระเหยออก แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้การแพร่ของแก๊สน้อยลงด้วย หากหาวิธีทำให้แก๊สถ่ายเทได้ดีขึ้นและสามารถควบคุมการติดเชื้อได้ด้วย อาจทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นมากกว่าเดิม 3 เท่า ดังนั้นเพื่อเป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์จึงใช้แก๊ส แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์พ่นเข้าภายในเครื่องปฏิกรณ์แทนเครื่องอัดอากาศนอกจากจะเป็นการเพิ่ม แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ให้แก่ต้นอ่อนแล้ว จากการทดลองพบว่าการติดเชื้อน้อยกว่าการใช้เครื่องอัดอากาศเนื่องจาก แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่มาจากถังแก๊ส มีความบริสุทธิ์มากกว่าอากาศที่มาจากเครื่องอัดอากาศ

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

1. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกล้วยไม้โดยวิธีการเพาะในขวดที่ใส่อาหารเพาะเลี้ยงกึ่งแข็งโดยเทคนิคปลอดเชื้อบนชั้นวางและการเพาะในขวดอาหารเพาะเลี้ยงเหลวบนเครื่องเขย่า กับการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ (Airlift)
2. ศึกษาอิทธิพลของการป้อน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้ดูการเจริญเปรียบเทียบกับส่วนที่ปลูกบนเครื่องเขย่า โดยเปรียบเทียบขนาดของต้นอ่อน และน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์และหลังจากเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า

2. ศึกษาการเพิ่มจำนวนของต้นอ่อนในระยะโปรโตคอร์มหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์และหลังจากเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการขยายส่วนของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ที่จะผลิตในเชิงอุตสาหกรรม

2. เป็นแนวทางเลือกอีกทางในการเพาะปลูกกล้วยไม้ ที่มีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีเดิม

3. เมื่องานวิจัยสำเร็จและมีการพัฒนาในเชิงอุตสาหกรรมจะสามารถเพาะกล้วยไม้ได้ครั้งละจำนวนมากโดยไม่สิ้นเปลืองเนื้อที่ตั้ง และแรงงานคน และยังเป็นแนวทางใหม่สำหรับการนำไปประยุกต์สำหรับการเพาะเลี้ยงพืชและสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงค์ชีพชนิดอื่น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ทฤษฎี

2.1 การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้

2.1.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

ความก้าวหน้าในการเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชในหลอดทดลองทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถขยายพันธุ์พืชหลายชนิดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ นอกจากนั้นยังทำให้นักวิจัยเห็นแนวทางและโอกาสที่จะเป็นไปได้ในการเลี้ยงเซลล์ของพืชชั้นสูงอย่างปราศจากเชื้อ เพื่อที่จะทำให้ได้ผลผลิตทางการค้า ปัจจุบันนี้กล้วยไม้นับเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยที่มีความสำคัญมากอย่างหนึ่ง กล้วยไม้ที่ใช้ตัดดอกเพื่อส่งเป็นสินค้าออกที่สำคัญคือหวายปอมปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour) กล้วยไม้ชนิดนี้ก็เช่นเดียวกับกล้วยไม้อื่น ๆ อีกหลายชนิดที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ โดยนำเนื้อเยื่อเจริญมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นหรืออาหารเหลวในขวดรูปชมพู่ ซึ่งเจริญเป็นแคลลัส (Callus) ในที่สุดกลายเป็นต้นเล็กๆ สามารถนำไปปลูกเลี้ยงในกระถางเจริญเป็นต้นกล้วยไม้โดยสมบูรณ์ได้ โดยเริ่มแรกนักวิจัยได้ทำการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* ซึ่งเป็นงานเริ่มต้นของการขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยวิธีเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้สามารถขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์หวายปอมปาดัวร์จากต้นที่มีลักษณะดีได้ต้นที่มีลักษณะคงที่เหมือนเดิมอย่างรวดเร็วเพื่อเพิ่มจำนวนกล้วยไม้สำหรับตัดดอก นับเป็นการเพิ่มพูนรายได้ให้แก่นักเลี้ยงกล้วยไม้ของไทยและทำให้รายได้ของประเทศเพิ่มมากขึ้นในที่สุด นอกจากนั้นการขยายพันธุ์แบบนี้ทุกต้นมีแบบของยีน (Genetype) เหมือนกันทุกประการ เหมาะที่จะใช้ในการทดลองทางสรีรวิทยา เช่นการทดลองเกี่ยวกับอาหาร สิ่งกระตุ้นการเจริญเติบโต หรือการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม

Moral (1960) เป็นคนแรกที่ใช้เนื้อเยื่อกล้วยไม้ในการขยายพันธุ์ โดยใช้เยื่อเจริญที่อยู่ปลายยอดของกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* เลี้ยงบนอาหารวุ้น ชิ้นส่วนของกล้วยไม้เจริญไปเป็นโปรโตคอร์ม ไลค์ บอดี (Protocorm-Like Body, plb) และในที่สุดกลายไปเป็นต้นเล็กๆได้หลายต้น ต้นเล็กๆ ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้สามารถจะนำไปปลูกเลี้ยงในเรือนกล้วยไม้ เจริญเติบโตให้ดอกได้ตามปกติ (วีรวุฒิ, 2516)

การจัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม ให้อาหารที่จำเป็น ให้อากาศที่เพียงพอ รวมทั้งการให้สารเคมีบางอย่าง เหล่านี้สามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อได้ แม้แต่เซลล์ที่เติบโตเต็มที่แล้วก็อาจกลับเจริญแบ่งตัวได้อีก หรือแม้กระทั้งการเกิดพืชทั้งต้นจากเซลล์เดี่ยว ๆ ความต้องการอาหารของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในหลอดทดลองย่อมแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ชิ้น

ส่วนของพืช และสภาวะทางสรีรวิทยาด้วย อาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทั่วไปซึ่ง Sagawa และ Kunisaki (1968) สรุปว่า อาหารที่ประกอบด้วยสารอนินทรีย์ธรรมดาซึ่งเติมน้ำตาล และน้ำมะพร้าวลงไปด้วยเพื่อที่จะทำให้เนื้อเยื่อเกิดโปรลิฟีเรชัน (Proliferation) ชิ้นส่วนและเนื้อเยื่อของพืชที่นำมาเลี้ยงในหลอดทดลองส่วนใหญ่ไม่สามารถสร้างอาหารได้เองแม้ว่าชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเลี้ยงจะมีคลอโรฟิลล์อยู่มากในตอนแรกก็ตาม รงควัตถุที่มีอยู่จะลดลงไปมากหรือน้อยในระหว่างที่เลี้ยง ดังนั้นจึงต้องเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีน้ำตาล Burgeff (1909) ประสบความสำเร็จในการเพาะเมล็ด *Laelio* และ *Cattleya* บนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส และ Knudson (1922) สามารถเพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Laelia* และ *Cattleya* ให้งอกโดยไม่ต้องอาศัยราใดๆ เมื่อเติมน้ำตาลลงในอาหารนั้น และได้ต้นอ่อนเกิดขึ้นได้บนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส Gautheret (1955) แสดงว่าซูโครส เป็นน้ำตาลที่ให้ผลดีที่สุด และจากการศึกษาของ Ernst (1967,1970)โดยใช้ต้นอ่อนของ *Phalaenopsis* และ *Dendrobium* สรุปว่าคาร์โบไฮเดรตพวกดี-ซีรีอีนันเทียเมอร์ (D-series Enantiomers) ใช้ได้ผลดี ยกเว้นดี-กาแลคโตส (D-galactose) ซึ่งพิสูจน์ได้ว่าไม่เหมาะกับการเจริญ ทำให้โปรโตคอร์มที่เลี้ยงบนอาหารที่มีกาแลคโตสตายในระยะเวลาอันสั้น รวมทั้งไดแซคคาร์ไรด์ (Disaccharide) และไตรแซคคาร์ไรด์ (Trisaccharide) ที่มีดี-กาแลคโตไฟราโนซิลเรดิคอล (D-galactopyranosyl Radical) อยู่ด้วย ก็ไม่เหมาะจะใช้เป็นแหล่งคาร์บอน การพบเช่นนี้สนับสนุนว่าสิ่งมีชีวิตขั้นสูงต้องการน้ำตาลซีรีดี (D-sugar) และกรดอะมิโนซีรีแอล (L-amino Acid) (วีรวุฒ, 2516)

การเติบโตและการเจริญตามปกติของพืชจะไม่เกิดขึ้นถ้าไม่มีสารพวกฮอร์โมนของพืชนั้นสร้างอยู่ภายในเซลล์รวมทั้งต้องมีอยู่ในสัดส่วนที่พอเหมาะและในเวลาที่สมควรอีกด้วย ฮอร์โมนของพืชอีกพวกหนึ่งที่นอกเหนือไปจากออกซิน (Auxin) และกิบเบอร์เรลลิน (Gibberellin) คือไซโตคินิน (Cytokinin) ฮอร์โมนไซโตคินินนี้มีมากในน้ำมะพร้าว ในปี 1941 Overbeek ได้เสนอในการใช้น้ำมะพร้าวสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองเป็นครั้งแรก ลิควิดเอนโดสเปิร์ม (Liquid Endosperm) ของมะพร้าวไม่เพียงมีประโยชน์ในการเป็นอาหารของต้นอ่อน (Embryo) ในระยะอ่อนมันยังมีสารช่วยการเจริญเติบโต ทำให้เซลล์ที่เติบโตเต็มที่แล้ว และไม่แบ่งตัวได้อีก มีความสามารถแบ่งตัวได้ใหม่ จากการทดลองและศึกษาผลของการเลี้ยงต้นอ่อน *Phalaenopsis* โดยเติมอาหารที่เป็นสารอินทรีย์ต่างๆ ลงในอาหารสรุปได้ว่าน้ำมะพร้าวชักนำให้เกิดโปรลิฟีเรชันในจำพวกสารสกัดจากพืชและน้ำผลไม้ที่แสดงพลังทำให้มีกี่แบ่งเซลล์ที่เด่นที่สุดคือน้ำมะพร้าว Overbeek และคณะ.(1941) ว่าพบปัจจัยบางอย่างอยู่ในน้ำมะพร้าวซึ่งกระตุ้นการเจริญของต้นอ่อนในเนื้อเยื่อที่เลี้ยง ได้มีการใช้น้ำมะพร้าวเติมลงไปในอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชในหลอดทดลองกันอย่างกว้างขวางเพื่อชักนำให้มีการเจริญเติบโต มีผู้พยายามพิสูจน์และแยกหาองค์

ประกอบในน้ำมะพร้าวที่มีอำนาจชักนำให้มีการเจริญและแบ่งตัว และยังมีการศึกษาต่อเนื่องกันมา

Miller และคณะ (1956) แยกผลึกของสารชนิดหนึ่งได้จาก DNA ของปลาเฮริง ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยในการแบ่งนิวเคลียสของเซลล์จึงให้ชื่อว่าไคนิติน (Kinetin) พบว่าสารนี้ทำให้เซลล์ของยาสูบเจริญและแบ่งตัวได้ ถ้าใช้ดีเอ็นเอที่เตรียมมาได้ใหม่ๆใช้ไม่ได้ผล แต่เมื่อนำไปนึ่งในหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) แล้วมันจะมีพลังกระตุ้นให้เซลล์เจริญและแบ่งตัวแสดงว่าปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญจะต้องเป็นผลที่เกิดจากกรดนิวคลิอิก (Nucleic Acid) ที่สลายตัว และพบว่าสารดังกล่าวคือไคนิติน และ Fox (1969) กล่าวว่าน้ำมะพร้าวและไคนิตินสามารถใช้แทนกันได้

นอกจากการขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังมีการเพาะเลี้ยงอีกวิธีที่น่าสนใจคือการขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด เมล็ดกล้วยไม้นับเป็นเมล็ดพืชที่มีขนาดเล็กที่สุดในโลกมีความยาวเพียง 1-2 มิลลิเมตร กว้าง 0.5-1 มิลลิเมตรเท่านั้น เปลือกหุ้มเมล็ดประกอบด้วยเซลล์เพียงไม่กี่ชั้นหุ้มต้นอ่อนที่ประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 100 เซลล์ ซึ่งเป็นต้นอ่อนที่ยังไม่พัฒนาเป็นยอด ลำต้น และราก ดังต้นอ่อนของพืชอื่น ซ้ำยังไม่มีเอนโดสเปิร์มทำหน้าที่เก็บอาหารซึ่งจะใช้เพื่อการเจริญในการงอกของเมล็ดในระยะแรกดังพืชชั้นสูงอื่นๆ

ในธรรมชาติต้นกล้ากล้วยไม้ที่งอกเองระยะแรกไม่สามารถดูดสารละลายจากภายนอกและสังเคราะห์สารที่จำเป็นได้เอง จึงจำเป็นต้องอาศัยเชื้อราไมโคไรซา (Mycorrhiza) ในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ ซึ่งเป็นการอยู่ร่วมกันแบบภาวะอยู่ร่วมกัน จนมาในปี ค.ศ 1922 Lewis Knudson นักพฤษศาสตร์แห่งสหรัฐอเมริกา ได้ค้นพบว่าเมล็ดกล้วยไม่สามารถงอกได้เองบนอาหารวุ้น ที่ประกอบด้วยธาตุอาหารที่มาจากสารประกอบอนินทรีย์เพียง 5 ชนิดรวมกับน้ำตาลและวุ้นในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งเป็นการพิสูนจ์ว่าเมล็ดกล้วยไม้งอกและพัฒนาเป็นต้นได้โดยไม่อาศัยเชื้อราไมโคไรซา ทั้งนี้เพราะการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ของ Knudson นี้เป็นการเพาะแบบปลอดเชื้อในหลอดแก้วทั้งต้นกล้วยไม้ที่เพาะได้นี้ สามารถออกดอกในขวดแก้วใน6-7ปีต่อมา ด้วยวิธีนี้ Knudson สามารถเพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุล *Cattleya*, *Laelia* และ *Epidendrum* ได้ต้นเป็นจำนวนมาก โดยไม่ต้องสูญเสียต้นกล้าในระยะแรกดังที่เคยเป็น การค้นพบเทคนิคการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ นอกจากนำไปสู่การขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วแล้ว ยังกระตุ้นให้มีการผสมพันธุ์ระหว่างชนิดและสกุลเพิ่มขึ้นมากทำให้คุณสมบัติกล้วยไม้มีหลากหลายที่จะคัดเลือกเพื่อปลูกเป็นการค้าได้มาก ซึ่งนอกจากเพิ่มความงามของดอกแล้ว ยังมีโอกาสคัดเลือกพวกที่มีดอกทน ต้านทานโรค

2.1.2 การงอกและการพัฒนาของเมล็ด

เมล็ดกล้วยไม้ไม่มีระยะพักตัว จะเริ่มดูดน้ำและสารอาหารผ่านเปลือกหุ้มเมล็ดซึ่งประกอบด้วยเซลล์ไม่กี่ชั้นทำให้เมล็ดเริ่มพองตัวขึ้นและเริ่มดูดน้ำตาลและแร่ธาตุอาหารต่างๆจากวุ้นอาหาร ดันเปลือกบางๆที่หุ้มเมล็ดให้แตกออก เมล็ดเริ่มพัฒนาเป็นโครงสร้างคล้ายรูปเรือของหมากรุกไทย มีสีเขียว เรียกโครงสร้างนี้ว่า โปรโตคอร์ม มีขนอ่อนสีขาวอยู่ข้างๆ ต่อจากนั้นจึงมีใบจริงเกิดขึ้น แม้ว่าระยะนี้จะเริ่มสังเคราะห์แสงได้เองบ้างแต่ยังไม่เพียงพอ จึงยังต้องการน้ำตาลจากภายนอกเพื่อการเจริญสมบูรณ์ขึ้น หลังจากนั้นก็เกิดรากและใบจริง ส่วนของขนอ่อนหมดไปแต่มีรากจริงเจริญขึ้นมา จึงสามารถสังเคราะห์แสงและสารอื่นที่จำเป็นต่อการเจริญได้ กล้ากล้วยไม้ในระยะนี้สามารถนำออกปลูกได้ในสภาพธรรมชาติ

2.2 เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

เนื่องจากในงานวิจัยต่างๆที่ผ่านมา บับเบิลคอลัมน์เป็นเครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวเคมี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมทางด้านชีวเคมีใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืช เซลล์สัตว์ และจุลชีพ แต่พบว่าอัตราการอยู่รอดของเซลล์มีค่าต่ำ ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ และโดยเฉพาะในกรณีของ เซลล์สัตว์และ เซลล์พืชที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งมีความว่องไวต่อ แรงเฉือน ทำให้เกิดการแตกหัก เซลล์ได้รับความเสียหายนำไปสู่การเสียชีวิตในภายหลัง ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาประสิทธิภาพของบับเบิลคอลัมน์ขึ้น เพื่อให้มีประสิทธิภาพเหมาะสมกับกระบวนการที่จะนำไปใช้และหนึ่งในความสำเร็จของการปรับปรุงประสิทธิภาพของเครื่องปฏิกรณ์แบบบับเบิลคอลัมน์คือเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ซึ่งมีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับบับเบิลคอลัมน์ คือมีการไหลเวียนของของเหลวดี ทำให้เกิดการผสมที่ดีกว่าและมีแรงเฉือน ต่ำกว่าในบับเบิลคอลัมน์ ทำให้อัตราการอยู่รอดของเซลล์มากขึ้น นอกจากนี้ยังมีโครงสร้างไม่ซับซ้อนง่ายต่อการออกแบบ และง่ายต่อการขยายขนาดเพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรม

เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ (Airlift) มีการดัดแปลงภายในโดยจะมีดราฟต์ทิวบ์อยู่ภายในของคอลัมน์ การเคลื่อนที่หมุนเวียนของของเหลวเป็นผลมาจากการอัดอากาศผ่านดราฟต์ทิวบ์ จึงเป็นผลทำให้มีการไหลเวียนของของเหลวในเครื่องปฏิกรณ์เพียงพอสำหรับการผสมของของเหลวโดยไม่ต้องใช้เครื่องกวนสำหรับผสมของเหลว ดังนั้นเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์จึงเหมาะสำหรับกระบวนการชีววิทยา เนื่องจากไม่มีผลที่เกิดจากการเสียดสีซึ่งเกิดจากเครื่องกวนและแรงเฉือน (Shear rate) ต่ำกว่าแบบบับเบิลคอลัมน์ เนื่องจากในแบบบับเบิลคอลัมน์ของเหลวมีการเคลื่อนที่แบบไหลสวนทางกัน เป็นผลให้เพิ่มความเร็วสัมพันธ์ระหว่างของเหลวและฟองแก๊ส

ดังนั้นเพิ่มประสิทธิภาพแรงเฉือน สำหรับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ของเหลวเคลื่อนที่แบบไหลทางเดียวกัน ทำให้ลดความเร็วสัมพันธ์ระหว่างของเหลวและฟองแก๊สทำให้ค่าแรงเฉือนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ต่ำลง

แต่ถ้าในด้านกระบวนการทางชีวเคมี จุดเด่นของเครื่องปฏิกรณ์แบบ แอร์ลิฟต์ คือ มี แรงเฉือน ต่ำกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบอื่น ๆ จึงเหมาะที่จะใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชที่มีขนาดใหญ่กว่าจุลชีพและเซลล์สัตว์ที่ไม่มีผนังเซลล์ เนื่องจากมีความว่องไวต่อแรงเฉือน

แรงเฉือนเป็นผลเนื่องมาจากสมบัติทางกายภาพของของไหล ทำให้เกิดความเสียหายทางกายภาพแก่เซลล์ ดังนั้นในการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ แรงเฉือนจึงเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่ควรจะคำนึงถึงในการออกแบบเพราะถ้าแรงเฉือนมีค่าต่ำก็จะสามารถลดความเสียหายของเซลล์ที่จะเกิดขึ้นเนื่องจากการเสียดสีได้

ดังที่แสดงในตารางที่ 2.1 จะเห็นว่าเซลล์พืชที่มีขนาดใหญ่และเซลล์สัตว์ที่ไม่มีผนังเซลล์ มีความว่องไวต่อแรงเฉือน เซลล์ทั้งสองชนิดจึงเหมาะสมที่จะใช้เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

ตารางที่ 2.1 แสดงความว่องไวของจุลชีพ เซลล์พืชและเซลล์สัตว์ต่อแรงเฉือน(Asenjo,1995)

Feature	Microorganism	Plant Cell	Animal Cell
Size	1-10 mm in length	40-100 μm in length	1-100 μm in length
Shear sensitivity	mostly insensitivity	sensitive	sensitive

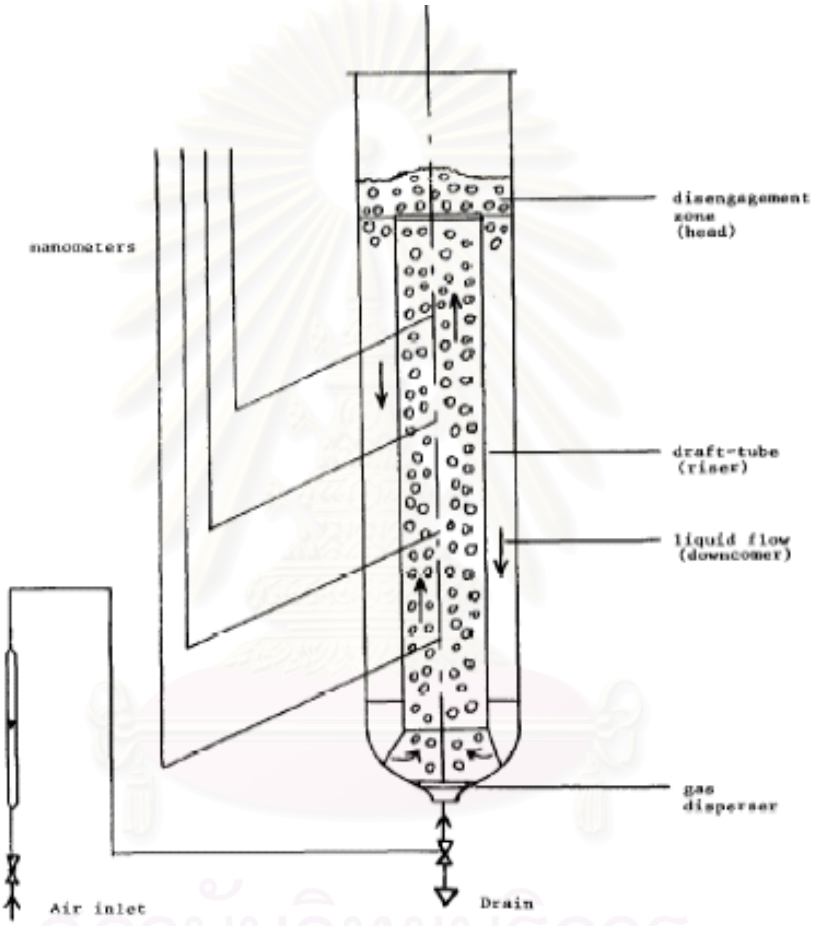
2.2.1 <u>โครงสร้างของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์</u>

ภายนอกของเครื่องปฏิกรณ์จะมีโครงสร้างคล้ายกับบับเบิลคอลัมน์ แต่ภายในได้มีการดัดแปลงให้มีดราฟต์ทิวบ์ ซึ่งเมื่อป้อนอากาศให้ดราฟต์ทิวบ์ เกิดเป็นฟองอากาศลอยขึ้นในคอลัมน์และช่วยพาเอาของไหลให้ไหลตามขึ้นมา แล้วไหลกลับทางด้านข้าง ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่มีฟองอากาศไหลผ่าน ดังนั้นภายในเครื่องปฏิกรณ์ แบ่งออกเป็น 2 ส่วนดังนี้

(1) ส่วนทางด้านไรเซอร์ (Riser) เป็นส่วนที่มีตัวพ่นอากาศทำหน้าที่ปล่อยฟองอากาศเพื่อให้เกิดการหมุนเวียนของของเหลวภายในเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งเป็นผลทำให้ไม่ต้องใส่กลไกจากภายนอกในการหมุนเวียนของของเหลว พร้อมทั้งจะให้ประสิทธิภาพในการดำเนินงานดีกว่า

และในขณะเดียวกันนั้นการปล่อยฟองอากาศยังเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับของเหลวอีกด้วย ซึ่งจะทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี

(2) ส่วนทางด้านดาวน์คัมเมอร์ (Downcomer) ส่วนนี้จะทำให้เกิดการไหลเวียนของของเหลวในเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งจากการที่มีดราฟต์ทิวบ์ เป็นผลทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนออกซิเจนของฟองอากาศกับของเหลวได้ดีและทั่วถึง ซึ่งส่วนประกอบของเครื่องปฏิกรณ์แสดงในรูปที่ 2.1



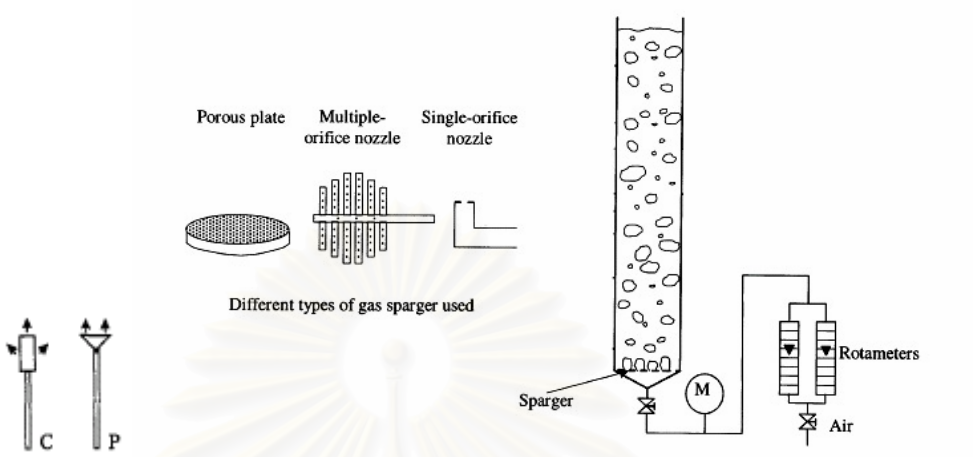
รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ (Wongsuchoto et al., 2002)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.2 <u>ตัวแปรสำคัญ ที่มีผลต่ออุทกพลศาสตร์ (Hydrodynamic)</u>

(1) ชนิดของหัวพ่นอากาศ (Sparger) หัวพ่นอากาศที่ใช้มีหลายแบบซึ่งประกอบด้วย แบบรูพรุน (Porous Plate) แบบท่อทรงกระบอก (Cylindrical Tube) แบบหัวพ่น

หลายหัว (Multiple Orifice Nozzle) แบบหัวพ่นหัวเดียว (Single Orifice Nozzle) แบบแผ่นเจาะรู (Perforate Plates) ที่สามารถกำหนดทั้งขนาดและจำนวนรูได้



รูปที่ 2.2 ชนิดของหัวพ่นอากาศ c : cylindrical tube, p : perforate plate (Wongsuchoto et al., 2002)

(2) พื้นที่หน้าตัดของดราฟต์ทิวบ์ ถ้ามีพื้นที่หน้าตัดมากจะทำให้มีพื้นที่แลกเปลี่ยนออกซิเจนกับของเหลวมาก มีผลทำให้อัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลวมากขึ้น

เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ได้ถูกนำไปประยุกต์กับหลาย ๆ กระบวนการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการทางชีวเคมี ตัวอย่างงานวิจัยต่าง ๆ มีดังนี้

- เพาะเลี้ยงเซลล์พืชไข่เน่า เพื่อให้ผลิตสารแอนโธไซยานิน ซึ่งเป็นสารสีแดง สามารถนำมาใช้แทนสีแดงเคมีที่ใช้ในการผสมอาหารในปัจจุบันได้ พบว่าพืชไข่เน่าสามารถผลิตสารแอนโธไซยานินได้มากขึ้น และอัตราการอยู่รอดของเซลล์พืชไข่เน่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ (กนกวรรณ, 2536)

- เพาะเลี้ยงสาหร่ายในน้ำทะเลโดยเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกันระหว่างเครื่องปฏิกรณ์แบบบับเบิลคอลัมน์และเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ (Grima etal., 1997)

- หาคุณสมบัติของเครื่องปฏิกรณ์ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่ว่องไวต่อแรงเฉือน (Asenjo, 1995)

- เพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าว (Chisti, 1997)

จากงานวิจัยที่กล่าวข้างต้น ส่วนใหญ่สรุปว่าอัตราการอยู่รอดของเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นและความเสียหายที่เกิดกับเซลล์น้อยเนื่องจากเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีแรงเฉือนต่ำ และยังพบว่าจำนวนต้นอ่อนเพิ่มมากขึ้นเพราะมีอัตราการถ่ายโอนมวลสารสูง

เมื่อเปรียบเทียบกับบับเบิลคอลัมน์แล้วเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ มีข้อเสียคือ อัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลวลดลงเนื่องจากฟองแก๊สส่วนใหญ่เกิดในไรเซอร์ ในขณะที่บับเบิลคอลัมน์เกิดฟองแก๊สทั่วทั้งคอลัมน์ทำให้มีทั้งจำนวนฟองและพื้นที่แลกเปลี่ยนแก๊สมาก เป็นสาเหตุให้การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สและของเหลวมีค่ามากกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบ แอร์ลิฟต์ ดังนั้นจึงมีหลายงานวิจัยพยายามที่จะหาวิธีที่จะพัฒนาประสิทธิภาพของเครื่องปฏิกรณ์แบบ แอร์ลิฟต์ แต่มีวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการปรับปรุงการถ่ายโอนมวลสารให้มีค่าสูงขึ้น ไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้งานคือการเพิ่ม แผ่นเจาะรู ที่กึ่งกลางของไรเซอร์ ซึ่งอาจจะมีมากกว่าหนึ่งชิ้นก็ได้ในแต่ละช่วงของไรเซอร์ การเพิ่มจำนวน แผ่นเจาะรูภายในไรเซอร์ ขึ้นกับกระบวนการที่เราจะนำไปประยุกต์ใช้งาน

เมื่อเพิ่มแผ่นเจาะรู (Perforated plate) ในไรเซอร์ทำให้ฟองแก๊สที่ผ่านแผ่นเจาะรูแตก (Breakup) มีขนาดเล็กลงเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว ทำให้อัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สและของเหลวเพิ่มขึ้น

2.2.3 <u>ตัวแปรสำคัญในการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์</u>

ลักษณะเฉพาะของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีผลมาจากตัวแปรต่างๆที่มีผลต่อการออกแบบดังนี้

1. ขนาดของฟองแก๊สและการกระจายตัวของขนาดฟองเป็นตัวแปรที่สำคัญในการออกแบบ เพราะมีผลโดยตรงต่อพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลวซึ่งเชื่อมโยงไปถึงผลของการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สและของเหลว ขนาดของฟองแก๊สที่ต่างกันมีผลมาจากหัวพ่นอากาศ หัวพ่นอากาศต่างชนิดกันทำให้ฟองแก๊สที่เกิดขึ้นมีขนาดต่างกัน ซึ่งความเร็วของแก๊สป้อนก็มีผลต่อขนาดของฟองแก๊ส ยิ่งความเร็วมากฟองแก๊สจะสามารถแตกกลายเป็นฟองที่มีขนาดเล็กลง นอกจากนี้ขนาดฟองยังขึ้นอยู่กับชนิดของของเหลวที่ใช้ในเครื่องปฏิกรณ์ ถ้าของเหลวที่ใช้เป็น

ของเหลวหนืด เช่น กลีเซอร์รอล ฟองมีโอกาสที่จะเกิดการรวมตัวได้ง่ายกว่าการแตกเนื่องจากฟองเคลื่อนตัวช้าเพราะความหนืดของของเหลวทำให้ฟองสองฟองมีเวลาที่จะใกล้กันมากขึ้นจนสามารถเกิดการรวมตัวของฟองแก๊สได้ทำให้ฟองมีขนาดใหญ่กว่าในกรณีของของเหลวไม่หนืด เช่นน้ำกลั่นและ เอทิลแอลกอฮอล์ ขนาดของฟองแก๊สมีขนาดเล็กกว่าในของเหลวหนืดเนื่องจากของเหลวไหลได้ง่ายกว่าทำให้ฟองแก๊สสองฟองไหลออกจากกัน โอกาสที่จะรวมตัวกันจึงมีน้อย

2. แก๊สโฮลด์อัพ คือสัดส่วนปริมาตรของแก๊สในปริมาตรของการกระจายตัวของแก๊สกับของเหลวโฮลด์อัพ มีความสำคัญในสามส่วนด้วยกันคือ

- แสดงถึงศักยภาพของการถ่ายโอนมวลสาร ดังนั้นถ้าระบบมีแก๊สโฮลด์อัพสูงหมายถึงมีพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลวมากทำให้การถ่ายโอนมวลสารมากขึ้น

- ความแตกต่างของแก๊สโฮลด์อัพระหว่างไรเซอร์และดาวน์คัมเมอร์เป็นแรงเคลื่อนทำให้เกิดการไหลหมุนเวียนของของเหลว ดังนั้นในการเพิ่ม แก๊สโฮลด์อัพ ไม่เพียงแต่เป็นการเพิ่มฟองแก๊ส ยังเพิ่มการไหลเวียนของของเหลวด้วย และในการออกแบบลักษณะโครงสร้างของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ที่มีอิทธิพลสำคัญต่อแก๊สโฮลด์อัพคืออัตราส่วนพื้นที่หน้าตัด

- อัตราส่วนพื้นที่หน้าตัดของดาวน์คัมเมอร์ต่อไรเซอร์ (Ad/Ar) มีผลต่อแก๊สโฮลด์อัพ เมื่อลดอัตราส่วน Ad/Ar ทำให้แก๊สโฮลด์อัพเพิ่มขึ้น เนื่องจากส่วนไรเซอร์มีพื้นที่มาก ทำให้มีโอกาสเกิดแก๊สโฮลด์อัพได้มาก เพราะแก๊สโฮลด์อัพส่วนใหญ่เกิดภายในไรเซอร์

3. อัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลวในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีอิทธิพลมาจากสมบัติทางกายภาพของของผสมคือ ความเร็วของแก๊ส แก๊สโฮลด์อัพ ขนาดของฟองแก๊ส และความเร็วของของเหลว โดยที่อัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลวจะแสดงในเทอมของสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตรทั้งหมด (Overall Volumetric Mass Transfer Coefficient, k_La) โดยที่สัมประสิทธิ์นี้เป็นปัจจัยที่สำคัญในการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ในทางอุตสาหกรรม และงานวิจัยส่วนมากได้ทดลองหาสัมประสิทธิ์นี้ แต่ค่านี้ไม่เพียงพอที่จะทำให้เข้าใจถึงกระบวนการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว จึงได้มีการแยกพารามิเตอร์ออกเป็นค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสาร (k_L) และ พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว (a) ซึ่งมีเพียงไม่กี่งานวิจัยที่หาความสัมพันธ์แบบนี้

4. ความเร็วของของเหลวและพฤติกรรมการผสม เป็นอีกปัจจัยที่จำเป็น โดยเฉพาะในการควบคุมความเป็นกรดเบสและความเข้มข้นของของเหลวที่ใช้ เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตที่ใช้เพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลิตผลสูงที่สุด โดยที่ความเร็วของของเหลวขึ้นอยู่กับอัตราการป้อนอากาศ ชนิดของของเหลวที่ใช้ในเครื่องปฏิกรณ์ แก๊สโฮลด์อัพ ความดันที่ลดลงตามความสูงของคอลัมน์ ซึ่งความเร็วของของเหลวเป็นแบบเนื้อเดียว (Homogeneous) ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่สำคัญที่ทำให้เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ แตกต่างจากเครื่องปฏิกรณ์แบบอื่น ๆ ความเร็วของของเหลวมีผลต่อแรงเฉือนในเครื่องปฏิกรณ์ ดังนั้นเมื่อความเร็วของของเหลวในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ เป็นแบบเนื้อเดียวทำให้แรงเฉือนมีค่าต่ำตามไปด้วย ด้วยเหตุนี้ที่ทำให้การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชและเซลล์สัตว์ประสบผลสำเร็จในเครื่องปฏิกรณ์ชนิดนี้

5. แรงเฉือน (shear force) เป็นผลเนื่องมาจากสมบัติทางกายภาพของของไหลทำให้เกิดความเสียหายทางกายภาพแก่เซลล์ ดังนั้นในการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ แรงเฉือนจึงเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่ควรจะคำนึงถึงในการออกแบบเพราะถ้าแรงเฉือนมีค่าต่ำก็จะสามารถลดความเสียหายของเซลล์ที่จะเกิดขึ้นเนื่องจากการเสียดสีได้

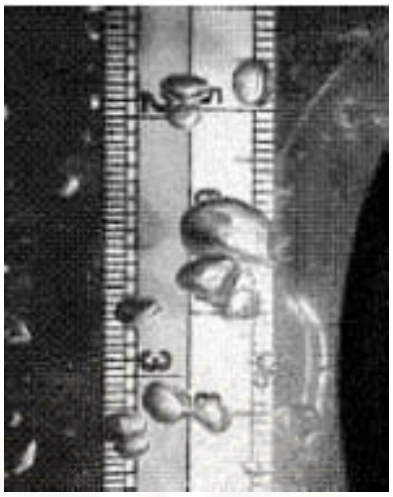
2.2.4 <u>การวัดและการคำนวณพารามิเตอร์ต่าง ๆ</u>(Krichnavaruk,2002)

2.2.4.1 ขนาดฟองแก๊ส

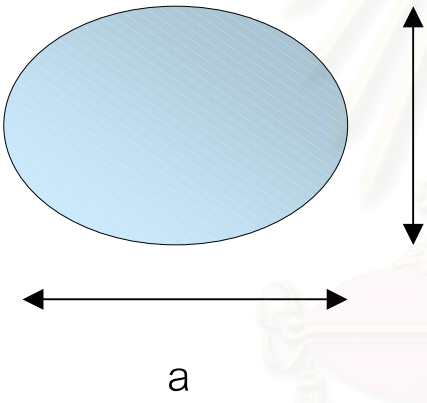
วัดขนาดของฟองแก๊สในไรเซอร์ โดยใช้กล้องวีดีโอยี่ห้อโซนี่ รุ่น DCR-TRV 20E โดยในแต่ละการทดลองใช้ฟองแก๊สไม่ต่ำกว่า 200 ฟอง ในการคำนวณ

โดยอ่านขนาดของฟองจากสเกลที่ติดไว้กับดราฟต์ทิวบ์ ซึ่งในกรณีที่ฟองไม่ใช่วงกลม จะคำนวณหาขนาดฟองอากาศเทียบเท่า (Equivalent Bubble Diameter) จากสมการที่ 2.1 แล้วนำมาคำนวณ Mean diameter จากสมการที่ 2.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.3 ตัวอย่างการวัดขนาดฟองโดยใช้รูปที่ถ่ายได้จากการทดลอง (Wongsuchoto et al., 2002)



$$d_{Bi} = \left(a^2 b\right)^{1/3} \qquad (2.1)$$

$$d_B = \frac{\sum_{i=1}^{a} d_{Bi}^3}{\sum_{i=1}^{a} d_{Bi}^2} \qquad (2.2)$$

เมื่อ

a: แกนเอกของวงรี

b: แกนโทของวงรี

d_{Bi} : ขนาดฟองอากาศเทียบเท่า (equivalent size of bubble)

2.2.4.2 แก๊สโฮลด์อัพ

Overall gas holdup ($\varepsilon_{g,o}$) หาโดยใช้วิธีการขยายปริมาตร (Volumn expansion) ซึ่ง $\varepsilon_{g,o}$ คำนวณจากสมการที่ 2.3

$$\varepsilon_{g,0} = \frac{H_D - H_L}{H_D} \qquad (2.3)$$

เมื่อ

H_D : ความสูงของของเหลวในขณะที่พ่นอากาศ, เมตร

H_L : ความสูงของของเหลวที่ยังไม่ได้ผ่านการพ่นอากาศ, เมตร

มาโนมิเตอร์ ใช้วัดความแตกต่างของความดันใน 2 ช่วงของความสูงเพื่อนำไปคำนวณแก๊สโฮลด์อัพในไรเซอร์ ($\varepsilon_{g,r}$) คำนวณได้จากสมการที่ 2.4

$$\varepsilon_{g,r} = 1 - \frac{\Delta P}{\rho_1 g \Delta h} \qquad (2.4)$$

เมื่อ

ΔP : ผลต่างของความดัน, บาร์

ΔH :ความสูงของคอลัมน์, เมตร

และ แก๊สโฮลด์อัพในดาวน์คัมเมอร์ ($\varepsilon_{g,d}$) คำนวณได้จากสมการที่ 2.5

$$\varepsilon_{g,d} = \frac{\varepsilon_{g,0} H_D (A_d + A_r) + (H_{dt} A_d - H_D (A_d + A_r))\varepsilon_{g,r}}{H_{dt} A_d} \qquad (2.5)$$

เมื่อ

H_{dt} : ความสูงของดราฟทิวบ์, เมตร

A_d : พื้นที่หน้าตัดของ domncomer, ตารางเมตร

A_r : พื้นที่หน้าตัดของ ไรเซอร์, ตารางเมตร

2.2.4.3 ความเร็วของเหลว (Liquid Velocity)

วัดโดยการฉีดสีเข้าไปใน จุด 2 จุด แล้ววัดระยะทางและจับเวลาที่สีใช้ในการเคลื่อนที่ระหว่างจุด 2 จุด คำนวณได้จากสมการที่ 2.6

$$V_{Ld} = \frac{L_d}{t_d} \qquad (2.6)$$

V_{LD}: ความเร็วของของเหลวในดาวน์คัมเมอร์, เมตรต่อนาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

t_d: เวลาที่สีใช้ในการเคลื่อนที่ระหว่างจุด 2 จุด, นาที

2.2.4.4 การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว (Gas – liquid mass transfer)

อัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลวแสดงในเทอมของ volumetric mass transfer coefficient (k_La) ซึ่งคำนวณจากอัตราการถ่ายโอนมวลของออกซิเจนจากเฟสแก๊สไปยังเฟสของเหลว จากสมการที่ 2.7

$$\frac{dc}{dt} = K_L a(c^* - c) \tag{2.7}$$

เมื่อ

c : ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายที่เวลา t, โมลต่อลิตร

c* : ความเข้มข้นของออกซิเจนอิ่มตัว, โมลต่อลิตร

เมื่อ c* , c สามารถวัดได้จาก dissolve oxygen meter จะสามารถคำนวณหาค่า k_La ได้ และการที่จะแยกเทอมของ k_L และ a โดยหาค่าพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว (Interfacial Area,a) คำนวณได้จากสมการที่ 2.8

$$a = \frac{6\varepsilon_g}{(1-\varepsilon_g)d_B} \tag{2.8}$$

สามารถคำนวณ k_L จากสมการที่ 2.9

$$k_L = \frac{k_L a}{a} \tag{2.9}$$

เมื่อ

k_L : สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว, เมตรต่อนาที

ในกรณีที่ใช้ แผ่นเจาะรู ติดตั้งไว้ที่กึ่งกลางของไรเซอร์ จะคำนวณพารามิเตอร์ต่างๆได้ดังนี้

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว (Specific Interfacial Mass Transfer Area, a)

โดยปริมาตรของแต่ล่ะส่วนคำนวณจากพื้นที่หน้าตัด (Cross Sectional Area, A) และความสูง (H_i)

$$A_B = a_T AH_T = a_1 AH_1 + a_2 AH_2 + a_3 AH_3 \quad (2.10)$$

หารด้วย a_1 จะได้

$$\frac{a_T H_T}{a_1} = H_1 + \frac{a_2 H_2}{a_1} + \frac{a_3 H_3}{a_1} \quad (2.11)$$

เมื่อ

A_B : Total gas-liquid interfacial area, m^2

a : Specific interfacial mass transfer area, m^2

a_T : Overall/average specific interfacial mass transfer area, m^2

H_i : Dispersion height, m

H_T : Total height, m

สำหรับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว ขึ้นอยู่กับเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของฟอง (Mean Diameter, b_{BS}) และแก๊สโฮลด์อัพในไรเซอร์ของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ถูกประมาณว่าคงที่ไม่ขึ้นอยู่กับความสูงดังนั้น

$$\frac{a_2}{a_1} = \frac{d_{B1}}{d_{B2}} \quad (2.12)$$

เมื่อ $a_3=a_1$ และแทนค่าสมการที่ 2.12 ในสมการที่ 2.11 จะได้ว่า

$$a_T = \frac{\left(H_1 + \frac{d_{B1} H_2}{d_{B2}} + H_3\right) \times a_1}{H_T} \quad (2.13)$$

ความแตกต่างระหว่างพื้นที่ผิวสัมผัสของแก๊สและของเหลวของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ กับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรูสามารถคำนวณจากสมการที่ 2.14

$$\%a_{diff} = \left(\frac{a_T - a_c}{a_c}\right) \times 100 \quad (2.14)$$

เมื่อ $\%a_{diff}$: ความแตกต่างพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลวของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ กับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรู

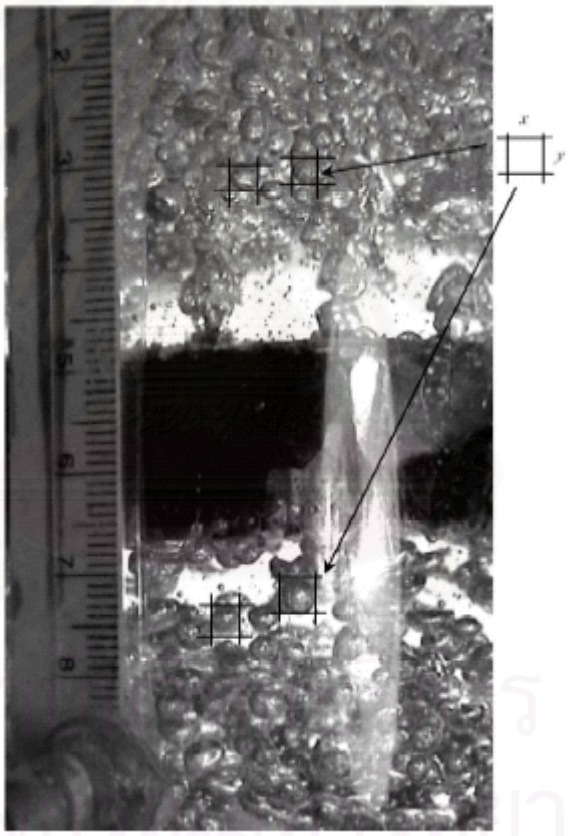
สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตร (Volumetric Mass Transfer Coefficient :$k_L a$) ของทั้งเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์กับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรู คำนวณจากผล

การทดลอง (dc/dt) ความแตกต่างของสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว ($k_{L,diff}$) ใน 2 ระบบคำนวณจากสมการที่ 2.15

$$\%k_{L,diff} = \left(\left(\frac{k_L a_T}{k_L a_c} \times \frac{a_c}{a_T}\right) - 1\right) \times 100 \qquad (2.15)$$

จากการคำนวณพบว่าแผ่นเจาะรูมีผลต่อพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว และสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว

ตัวอย่างรูปจากกล้องวีดีโอซึ่งแสดงถึงการแตก (Breakup) ของฟองแก๊สเมื่อผ่านแผ่นเจาะรูในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

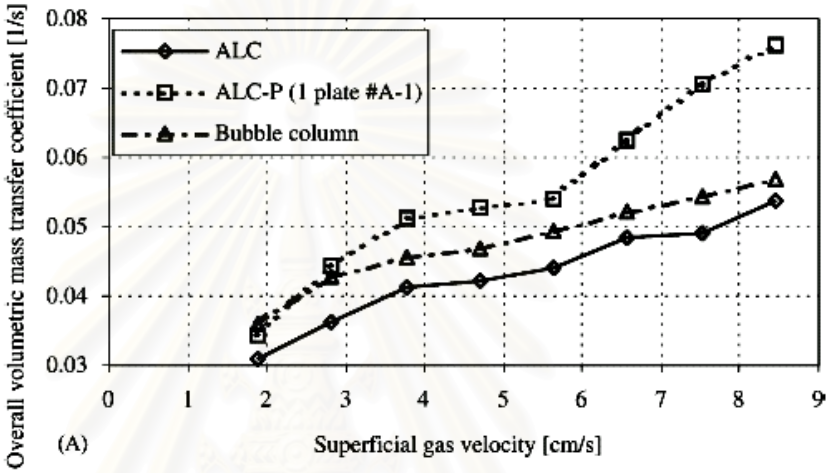


รูปที่ 2.4 การแตกของฟองแก๊สเมื่อผ่านแผ่นเจาะรู (Krichnavaruk et al., 2002)

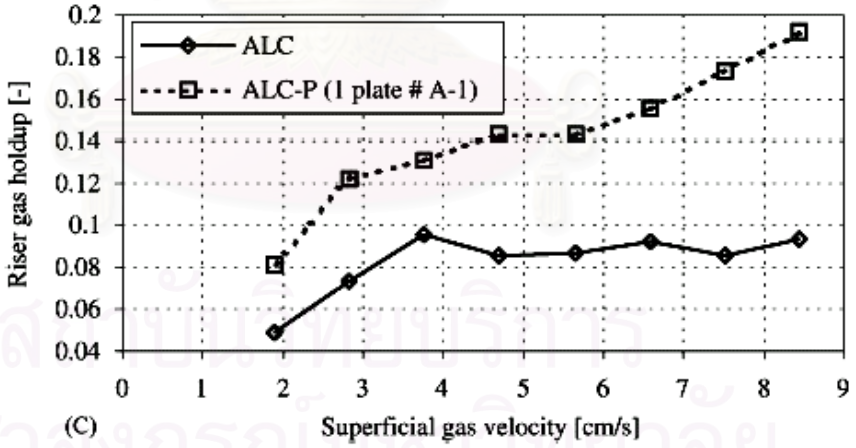
จากรูปเห็นว่าฟองแก๊สแตกเมื่อผ่านแผ่นเจาะรู สามารถอธิบายได้ว่าแผ่นเจาะรูทำให้ฟองแก๊สเกิดการแตกจากขนาดใหญ่กลายเป็นขนาดเล็ก แต่อย่างไรก็ตามฟองแก๊สจะเกิดการรวมตัวอีกครั้งหลังออกมาจาก แผ่นเจาะรู ได้ระยะหนึ่ง ซึ่งระยะทางนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ทำการทดลอง และขนาดฟองหลังการรวมตัวจะประมาณเท่ากับขนาดฟองก่อนที่จะผ่าน แผ่นเจาะรู

ขนาดเฉลี่ยของขนาดฟองที่ส่วนต่าง ๆในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ทั้งก่อนและหลังผ่าน แผ่นเจาะรู สามารถวัดจากรูปถ่ายจากกล้องวีดีโอซึ่งข้อมูลของ แก๊สโฮลด์อัพ ทั้งในไรเซอร์และดาวน์คัมเมอร์ สามารถประมาณเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลวในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

ผลของการเปรียบเทียบคุณสมบัติของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มี แผ่นเจาะรูและบับเบิลคอลัมน์แสดงดังรูปที่ 2.5



(a)



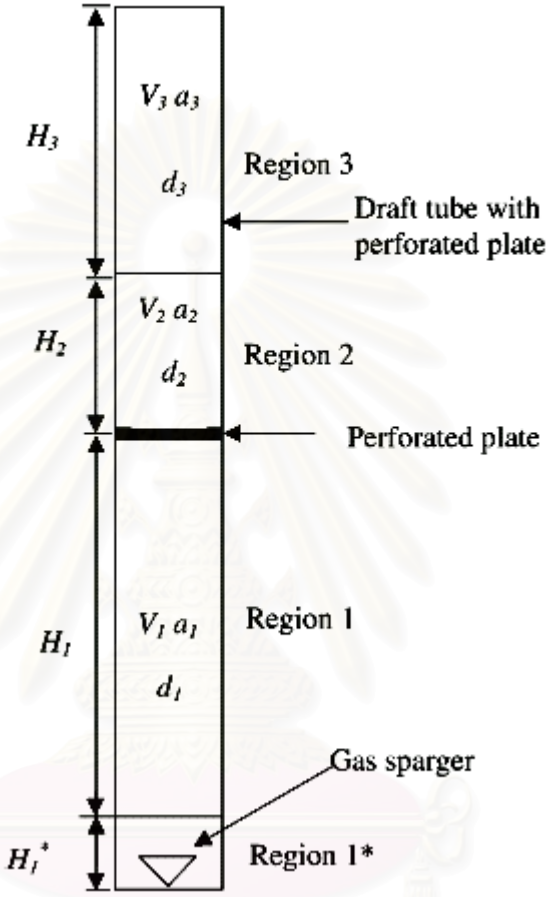
(b)

รูปที่ 2.5 ผลของการเปรียบเทียบคุณสมบัติของ (a) เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ (b) เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรูและบับเบิลคอลัมน์ (Krichnavaruk et al., 2002)

โดยผลของการเปรียบเทียบคุณสมบัติของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรูและบับเบิลคอลัมน์ ในเทอมของสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวล

เชิงปริมาตรและแก๊สโฮลด์อัพในไรเซอร์ (ε_r) พบว่าทั้ง k_La และ ε_r มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนแผ่นเจาะรู เพิ่มขึ้นในไรเซอร์

แสดงขนาดของฟองตามช่วงต่าง ๆใน ไรเซอร์ของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรู 1 ชิ้น



รูปที่ 2.6 ขนาดฟองตามช่วงต่าง ๆใน ไรเซอร์ของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรู 1 ชิ้น (Krichnavaruk et al., 2002)

ความแตกต่างของแต่ละช่วงเนื่องจากการรวมตัวของฟองแก๊สและการแตกของฟองแก๊สเมื่อผ่านแผ่นเจาะรู เมื่ออัดอากาศผ่านหัวพ่นอากาศ (Sparger) ที่กึ่งกลางของฐานเครื่องปฏิกรณ์พบว่าฟองแก๊สมีขนาด d_1 ซึ่งไหลผ่าน region 1 (สูง H_1) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์เท่าที่ไหลผ่าน region 1* (สูง H1*) เป็นบริเวณที่มีขนาดฟองเล็กจากหัวพ่นอากาศ จนมีการรวมตัวกันจนฟองมีเส้นผ่านศูนย์กลาง d_1 ซึ่งค่าเฉลี่ยของฟองแก๊สที่ออกจากหัวพ่นอากาศมีเส้นผ่านศูนย์กลาง d* และเกิดการรวมตัวกันมีขนาดใหญ่ขึ้น มีเส้นผ่านศูนย์กลาง d_1 อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยพบว่า H1*<< H_1 เมื่อฟองแก๊สที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง d_1 ผ่าน แผ่นเจาะรูที่กึ่งกลางของไรเซอร์ ทำให้ฟองแก๊สเกิดการแตกทำให้มีขนาดเล็กลงมีเส้นผ่านศูนย์กลาง d_2 ไหลตามคอลัมน์ใน region 2

(H_2) หลังจากนั้นฟองแก๊สเกิดการรวมตัวอีกครั้ง ทำให้ขนาดฟองแก๊สใหญ่ขึ้นมีเส้นผ่านศูนย์กลาง d_3 ใน region 3 มีความสูง H_3 ขนาดเฉลี่ยของฟองมีขนาดใกล้เคียงกับที่ความสูงคอลัมน์ H_1 (d3 ≅ d1) จากการบันทึกภาพของกล้องวีดีโอ

สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตร (Volumetric Masstransfer Coefficient :k_La) มีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อเพิ่มจำนวนแผ่นเจาะรู ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ การเพิ่ม k_La มีผลมาจากการเปลี่ยนของพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว (Specific Interfacial Mass Transfer Area, a) ซึ่งพารามิเตอร์นี้จะมีค่ามากเมื่อเพิ่มแผ่นเจาะรู แต่สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว (k_L) ค่าไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก สำหรับในกรณีของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ที่มีแผ่นเจาะรู 1 ชิ้น ใช้ความเร็วแก๊สป้อนเข้าเท่ากับ 1.89 cms^{-1} และพบว่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตร มีค่าเท่ากับ 82.8 % มากกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์แบบปกติ ส่วนใหญ่ของการเพิ่มขึ้นของ k_La เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว ซึ่งคำนวณได้ประมาณ 72 % ในขณะที่สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว (k_L) คำนวณได้ 5.7% ดังนั้นการเพิ่มของอัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์แบบธรรมดากับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรู ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว

สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว (k_L) ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรูมีค่าน้อยกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์แบบธรรมดา ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของอัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลวส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว

ความเร็วของแก๊สที่ป้อนมีผลต่ออัตราการถ่ายโอนมวลสารเนื่องจากการเพิ่มความเร็วแก๊ส ทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลวเพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้อัตราการถ่ายโอนมวลสารเพิ่มขึ้นด้วย แต่ในทางตรงข้ามความเร็วแก๊สที่เพิ่มขึ้นจะทำให้สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลวลดลง แต่อย่างไรก็ตามผลการเพิ่มของพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลวมีผลต่ออัตราการถ่ายโอนมวลสารมากกว่าการลดลงของสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว และจากการทดลองพบว่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตรมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเร็วแก๊สป้อนเข้า และพบว่าจำนวนรูของ orifice ที่มากทำให้แต่ละรูอยู่ใกล้กันมากเป็นผลให้การแตกของฟองเกิดน้อยกว่า อีกทั้งจำนวนรูของ orifice ที่มาก เป็นผลทำให้รูอยู่ใกล้กันทำให้ฟองแก๊สฟองใหม่เกิดการรวมตัวได้มากกว่าทำให้ฟองแก๊สมีขนาดใหญ่

ดังนั้นอัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลวลดลง แผ่นเจาะรูแต่ละแผ่นมีหน้าที่ทำให้ฟองแก๊สเกิดการแตก (Breakup) และเมื่อเพิ่มจำนวนของแผ่นเจาะรู ผลที่ได้คือพื้นที่การถ่ายโอนมวลสารมีค่ามากขึ้น ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าจำนวนของแผ่นเจาะรู มีผลต่อสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตร

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กนกวรรณ (2536) ได้ทำการทดลองผลิตสีแอนโธไซยานิน จากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของพืชไข่เน่า ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแอร์ลิฟต์ ที่ควบคุมสภาวะการให้อากาศเท่ากับ 0.3 VVM จะให้ผลผลิตของแอนโธไซยานิน 76.67 หน่วยต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในขวดเขย่าพบว่าการผลิตแอนโธไซยานินของเซลแขวนลอยของพืชไข่เน่าที่เพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแอร์ลิฟต์และเพาะเลี้ยงในระดับขวดเขย่าให้ผลใกล้เคียงกัน อาจเป็นไปได้ว่าสภาวะการให้อากาศ เท่ากับ 0.3 VVM ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยของพืชไข่เน่า แต่ข้อดีของการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแอร์ลิฟต์ คือสามารถขยายส่วนได้ง่ายและนำไปใช้ในเชิงอุตสาหกรรมได้

Wongsuchoto และคณะ (2003) ได้ทำการวิจัยการกระจายตัวของขนาดของฟองอากาศของเครื่องเป่าอากาศแอร์ลิฟต์ที่มีการเป่าอากาศในแนวขอบ พบว่าเมื่อเพิ่มความเร็วแก๊สจะทำให้ขนาดของฟองอากาศเล็กลง และเปลี่ยนรูปแบบการกระจายของฟองอากาศจากแบบปกติเป็นแบบลอกาลิทึม นอกจากนั้นยังทดสอบลักษณะของการถ่ายเทมวลสารระหว่างแก๊สและของเหลวในรูปของสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารและพื้นที่จำเพาะระหว่างวัฏภาค พบว่าพื้นที่จำเพาะระหว่างวัฏภาคมีความสำคัญกับการควบคุมอัตราการถ่ายเทมวลสารของทั้งระบบมากกว่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสาร

Krichnavaruk และคณะ (2002) ได้ทำการวิจัยเปรียบเทียบคุณสมบัติต่างๆของปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแอร์ลิฟต์ที่เพิ่มแผ่นเจาะรูภายในไรเซอร์ และเครื่องปฏิกรณ์แบบบับเบิลคอลัมน์ พบว่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตร (Volumetric Masstransfer Coefficient :k_La) มีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อเพิ่มจำนวนแผ่นเจาะรู ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ การเพิ่ม k_La มีผลมาจากการเปลี่ยนของพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว (Specific Interfacial Mass Transfer Area, a) ซึ่งพารามิเตอร์นี้จะมีค่ามากเมื่อเพิ่มแผ่นเจาะรู แต่สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว (k_L) ค่าไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก สำหรับในกรณีของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ที่มีแผ่นเจาะรู 1 ชิ้น ใช้ความเร็วแก๊สป้อนเข้าเท่า

กับ 1.89 cms^{-1} และพบว่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลเชิงปริมาตร มีค่าเท่ากับ 82.8 % มากกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์แบบปกติ ส่วนใหญ่ของการเพิ่มขึ้นของ k_La เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว ซึ่งคำนวณได้ประมาณ 72 % ในขณะที่สัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว (k_L) คำนวณได้ 5.7% ดังนั้นการเพิ่มของอัตราการถ่ายโอนมวลสารระหว่างแก๊สกับของเหลว เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์แบบธรรมดากับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่มีแผ่นเจาะรู ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างแก๊สและของเหลว

นิวัฒน์ และคณะ (2536) ได้ทำการทดลองผลิตกรด 6-อะมิโนเพนนิซิลานิก โดยใช้เซลล์ E. coli ATCC 9637 ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ถูกตรึงด้วยแคปปา-คาร์ราจีแนนผสมวุ้น ที่อัตราส่วน 2.5:1.5 เปอร์เซ็นต์แล้วเสริมด้วย 0.10 โมลาร์ กลูตารัลดีไฮด์ 0.10 โมลาร์ เฮกซาเมทธิลลินไดอามีน นำเม็ดเจลเซลล์ตรึงที่ได้มาศึกษาการผลิตกรด6-อะมิโนเพนนิซิลานิกในหอปฏิกิริยาฟลูอิไดซ์เบด โดยได้ทดลองเปรียบเทียบกับระบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่า พบว่าการทำปฏิกิริยาระหว่างเพนนิซิลิน จี กับเอนไซม์เพนนิซิลิน เอซิเลส ในระบบต่อเนื่องแบบฟลูอิไดซ์เบดนั้น เอนไซม์มีความจำเพาะและสามารถจะทำปฏิกิริยากับสับสเตรตได้ดีกว่าระบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเม็ดเซลล์ตรึงมีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลาในขณะเดียวกันก็มีการป้อนเพนนิซิเลน จี ใหม่เข้าสู่ระบบตลอดเวลาเช่นกัน ทำให้โอกาสที่เอนไซม์เพนนิซิเลน เอซิเลส จะเข้าทำกับเพนนิซิลิน จี นั้นมีมาก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

เครื่องมือและวิธีการทดลอง

3.1 รูปแบบการศึกษา

เป็นการวิจัยที่ทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ

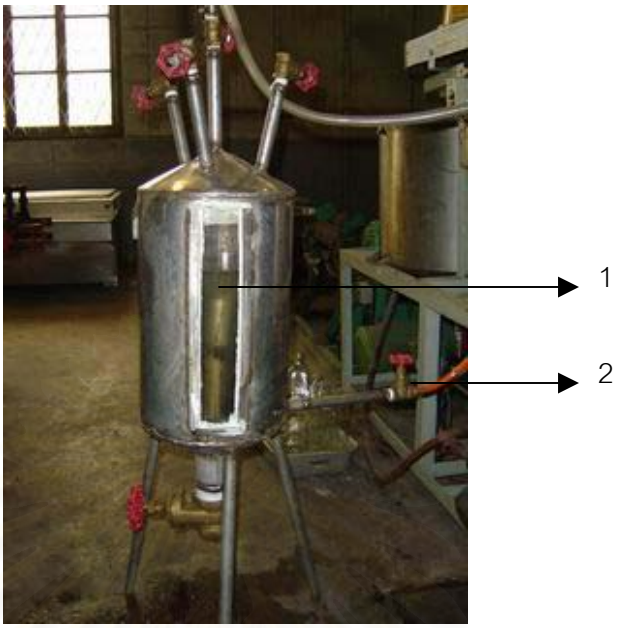
1. การทดลองหาชนิดของวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์และการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้
2. การทดลองเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เพื่อวัดการเพิ่มจำนวนและอัตราการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเปรียบเทียบกับการปลูกโดยวิธีปกติ
3. การทดลองปรับปรุงประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์จึงใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์พ่นเข้าภายในเครื่องปฏิกรณ์แทนเครื่องอัดอากาศเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

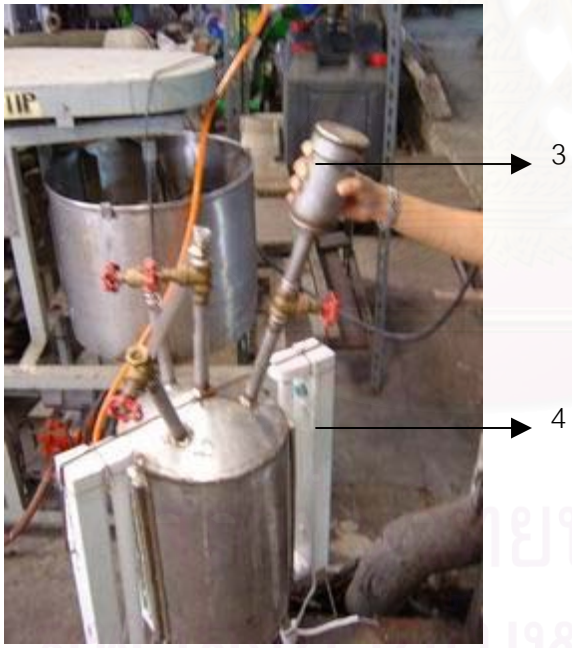
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

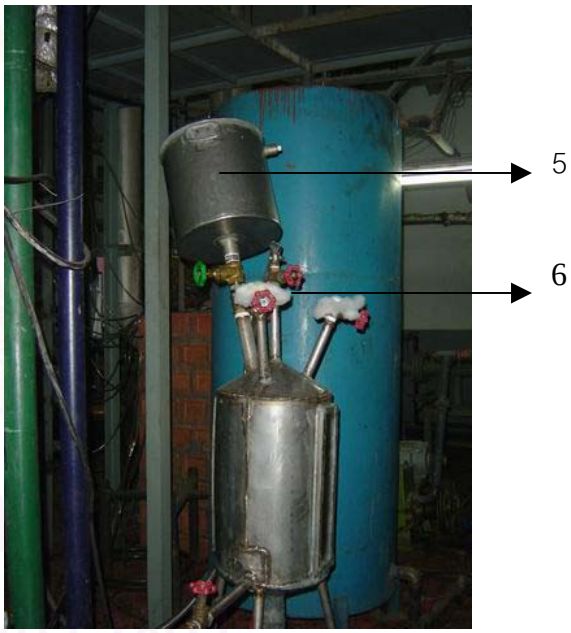
เครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองมี 3 แบบคือ

1. เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสแก้วมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 27 เซนติเมตร สูง 60 เซนติเมตร ขนาดของดราฟทิวบ์มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร แสดงดังรูปที่ 3.1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





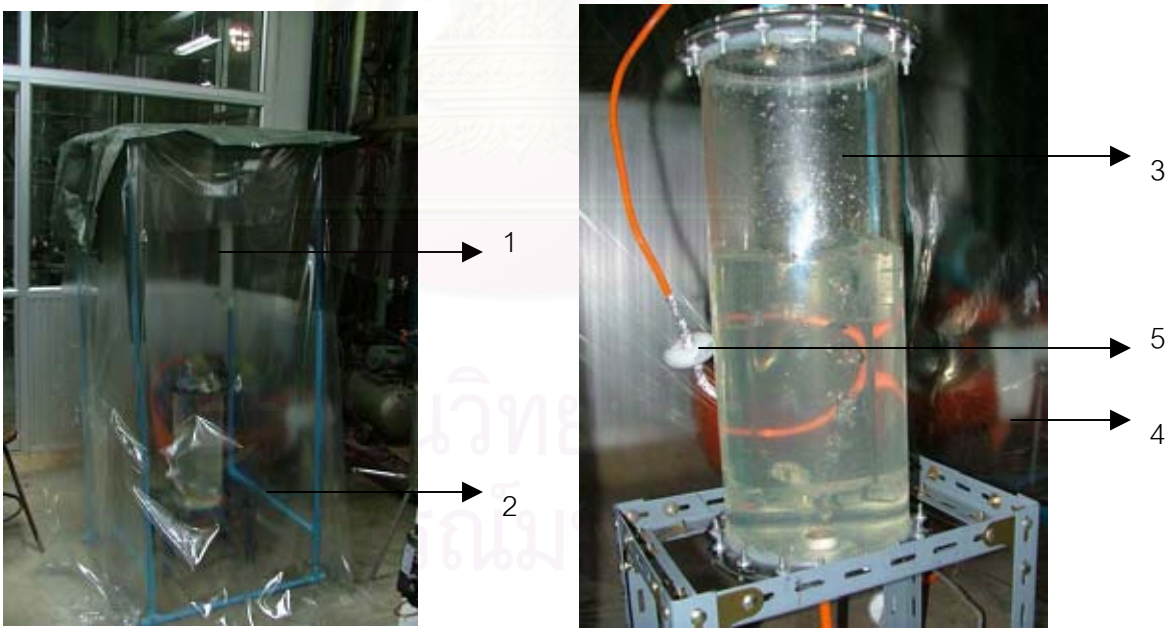


รูปที่ 3.1 เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส

ประกอบด้วย

1. ช่องกระจก สำหรับดูการไหลเวียนของอาหารเพาะเลี้ยง
2. ท่อพ่นอากาศเข้าเครื่องปฏิกรณ์
3. ภาชนะสำหรับใส่ต้นอ่อนกล้วยไม้ลงในเครื่องปฏิกรณ์
4. หลอดไฟให้แสงแก่ต้นอ่อนกล้วยไม้
5. ภาชนะสำหรับใส่อาหารเพาะเลี้ยงลงในเครื่องปฏิกรณ์
6. ใยสังเคราะห์กรองอากาศ

2. เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากพอลิอะคิลิคมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 22 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร ขนาดของดราฟทิวบ์มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมต (Polyacrylic) แสดงดังรูปที่ 3.2

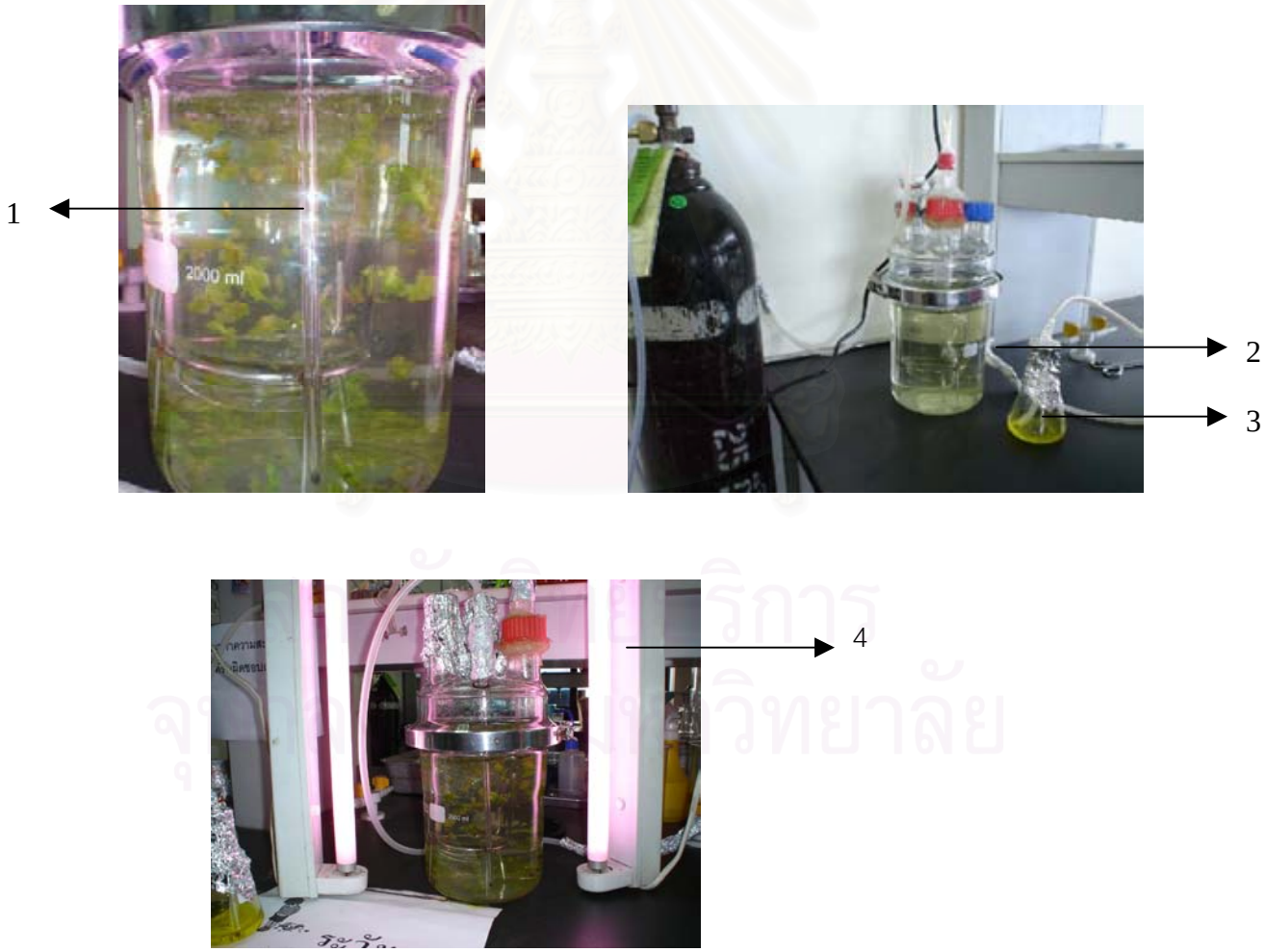


รูปที่ 3.2 เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากพอลิอะคิลิค

ประกอบด้วย

1. หลอดฆ่าเชื้อ
2. กระโจมพลาสติก
3. คอลัมน์ที่ทำจากพอลิอะคิลิค
4. เครื่องอัดอากาศ (Compressor)
5. ตัวกรองอากาศ (Air Filter)

3. เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 18 เซนติเมตร สูง 19 เซนติเมตร ขนาดของดราฟทิวบ์ 7 เซนติเมตร สูง 11เซนติเมตร แสดงดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

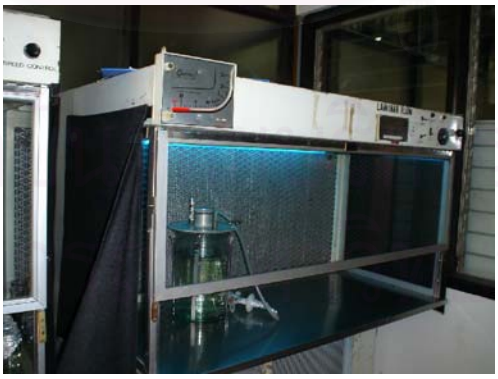
ประกอบด้วย

1. ท่อพ่นอากาศ
2. ตัวกรองอากาศ (Air Filter)
3. ท่ออากาศออกพ่นใส่ในยาฆ่าเชื้อ
4. หลอดไฟให้แสงแก่ต้นอ่อนกล้วยไม้

4. หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) แสดงดังรูปที่ 3.4

รูปที่ 3.4 หม้อนึ่งอัดไอน้ำ

5. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Fow Cabinet)



รูปที่ 3.5 ตู้ปลอดเชื้อ

3.3 วัตถุดิบและสารเคมี

1. พืชทดลอง

ฝักกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour) อายุ 3 เดือน จำนวน 1 ฝัก

2. สารเคมี

สารประกอบอนินทรีย์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สูตร Schenk และ Hildebrandt (1972)

สารประกอบอินทรีย์

- น้ำตาล
- น้ำมะพร้าวอ่อน

Ethyl alcohol 95%, 1N NaOH, 1N HCl

3.4 การดำเนินการวิจัย

3.4.1 <u>การทดลองหาวิธีการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์</u>

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพื่อทดลองหาชนิดของวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์และการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้เพื่อให้สามารถทำการทดลองการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ให้ได้ระยะเวลานานที่สุด โดยในการทดลองนี้ได้เลือกใช้วัสดุที่ใช้ทำเครื่องปฏิกรณ์ 3 ชนิดด้วยกันคือ สแตนเลส โพลีอะคิลิก แก้ว และแต่ละชนิดของเครื่องปฏิกรณ์ใช้การสเตอริไรด์ที่แตกต่างกันออกไปโดยในกรณีของสแตนเลสทำการสเตอริไรด์โดยแช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% 1 คืนแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจากนั้นผ่านไอน้ำอุณหภูมิ 120 องศาเป็นเวลา 20 นาที กรณีของโพลีอะคิลิกทำการสเตอริไรด์โดยแช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% 1 คืนแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจากนั้นนำไปแช่คลอร็อกอีก 1 คืน ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้ออีกครั้งนำไปผ่านแสงยูวีเป็นเวลา 1 ชั่วโมงและกรณีของแก้วทำการสเตอริไรด์โดยแช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% 1 คืนแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจากนั้นนำไปแช่คลอร็อกอีก 1 คืน ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) เป็นเวลา 15 นาทีแล้วนำไปผ่านแสงยูวี เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยหลังจากการสเตอริไรด์นำเครื่องปฏิกรณ์ 3 ชนิดเติมอาหารเพาะเลี้ยงตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วันเพื่อติดตามผลว่าเกิดการติดเชื้อหรือไม่เพื่อทำการปรับปรุงวิธีการสเตอริไรด์ต่อไป

3.4.2 การทดลองหาวิธีถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

หลังจากหาวัสดุที่เหมาะสมในการสร้างเครื่องปฏิกรณ์เพื่อไม่ให้เกิดการติดเชื้อได้แล้ว ผลคือเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วไม่เกิดการติดเชื้อ ดังนั้นแก้วจึงเป็นวัสดุที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงทำการทดลองหาวิธีที่เหมาะสมในการถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์โดยไม่ให้เกิดการติดเชื้อ โดยในการทดลองนี้ทำได้ 2 วิธีคือวิธีที่ 1 นำต้นอ่อนจากขวดที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาถ่ายลงในเครื่องปฏิกรณ์ วิธีที่ 2 คือ ย้ายต้นอ่อนจากขวดแม่มาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ 1 สัปดาห์เลือกขวดที่ไม่เกิดเชื้อราเทลงภายในเครื่องปฏิกรณ์ ติดตามผลการติดเชื้อของทั้ง 2 วิธี

3.4.3 การทดลองเปรียบเทียบจำนวนการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งในอาหารเหลว อาหารวุ้นและภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

เนื่องจากปัญหาหลักของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้คือการติดเชื้อของอาหารเพาะเลี้ยงการทดลองนี้ชี้ให้เห็นข้อดีของการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ กล่าวคือถ้าเราสามารถควบคุมระบบไม่ให้เกิดการติดเชื้อได้ การเพาะเลี้ยงจะสามารถทำได้ในระยะยาว ไม่เกิดการติดเชื้อในระยะยาวดังเช่นเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ โดยในการทดลองนี้ได้หาร้อยละการติดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วโดย เตรียมอาหารเหลว อาหารวุ้นอย่างละ 10 ขวด ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 10 ครั้ง จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าเกิดการติดเชื้อในอาหารเหลวประมาณ 6.7%และอาหารวุ้นประมาณ 3.3% และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ประมาณ 20% และยังหาร้อยละการติดเชื้อในขั้นถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วโดยถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ในอาหารเหลว อาหารวุ้นอย่างละ 10 ขวดทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 10 ครั้ง จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าเกิดการติดเชื้อในอาหารเหลวประมาณ 26.7% และในอาหารวุ้นประมาณ 20% และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ประมาณ 20%

3.4.5 การทดลองหาขนาดต้นอ่อนที่สามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดลองหาว่าต้นอ่อนขนาดใดสามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ได้ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลือกว่าต้นอ่อนขนาดใดควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์ โดยในการทดลองนี้ทำการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ โดยไม่ใส่น้ำตาลและน้ำมะพร้าวเพราะต้องการตัดปัญหาการติดเชื้อออกไป โดยต้นอ่อนที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ขนาด ดังนี้ ขนาด 5-6 เซนติเมตร ขนาด 3-4 เซนติเมตร ขนาด 2-2.5 เซนติเมตร ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร ทำการทดลองโดยนำต้นอ่อนทั้ง 4 ขนาด ขนาดละ 20 ต้นนำไปเพาะเลี้ยงในเครื่องเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นคำนวณหาร้อยละการอยู่รอดของต้นอ่อนแต่ละขนาด

3.4.6 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour) ที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

3.4.6.1 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากเครื่องอัดอากาศ

ทำการทดลองโดยนำโพรโทคอร์มของหวายปอมปาดัวร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 2 เดือนแล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 1 เดือน นำไปทดลองเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต โดยน้ำหนักสดเริ่มต้นเฉลี่ยของโพรโทคอร์ม 1 ต้นเท่ากับ 0.0543 กรัม ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 0.35 เซนติเมตรและความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 0.25 เซนติเมตร

3.4.6.2 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดลองพ่นคาร์บอนไดออกไซด์ ในการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มเพื่อดูว่ามีผลต่อการแตกของโพรโทคอร์มหรือไม่เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนให้มีปริมาณมาก โดยทำการทดลองโดยนำโพรโทคอร์มของหวายปอมปาดัวร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 2 เดือนแล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 1 เดือน นำไปทดลองเพาะเลี้ยง

ในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้ คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นตัวพ่นอากาศ เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต โดยน้ำหนักสดเริ่มต้นเฉลี่ยของโพรโทคอร์ม 1 ต้นเท่ากับ 0.0543 กรัม ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 0.35 เซนติเมตรและความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 0.25 เซนติเมตร

3.4.6.3 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่เครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

การทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อย่นระยะเวลาในการทดลองเพราะเนื่องจากกว่าต้นอ่อนจะหลุดออกจากโพรโทคอร์มจนหมดต้องใช้เวลาอีกพอสมควร จึงลองเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อศึกษาว่าต้นอ่อนจะสามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ได้หรือไม่และมีขนาดเท่าไหร่จึงควรนำออกจากปฏิกรณ์ และการทดลองในขั้นนี้ยังต้องการศึกษาในกรณีของเมื่อเพาะเลี้ยงขณะเป็นต้นอ่อนว่าการเจริญเติบโตมีอัตราเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงโดยวิธีปกติหรือไม่

3.5 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

. 3.5.1 <u>การเตรียมพืชทดลองแบบปลอดเชื้อ</u>

เพาะเมล็ดกล้วยไม้โดยใช้ฝักกล้วยไม้อายุประมาณ 6 เดือน ฆ่าเชื้อที่ผิวของฝักกล้วยไม้ด้วยการจุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% แล้วผ่านเปลวไฟ นำเมล็ดกล้วยไม้มาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งโดยใช้สูตรอาหาร สูตร Schenk และ Hildebrand ใส่น้ำตาล 20 g/l และน้ำมะพร้าว 100 ml/l ใน ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml/l จนได้ โพรโทคอร์ม ที่มีอายุ 2 เดือน นับตั้งแต่เริ่มเพาะเมล็ด คัดขนาดเพื่อใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงในเครื่องฏิกรณ์ การคัดขนาดใช้เกณฑ์ดังตารางที่ 3.1 และตารางที่ 3.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.1 ขนาดเฉลี่ยต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่นำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

ความยาวรวม (เซนติเมตร)	จำนวนใบ	ความยาวใบ/ ความกว้างใบ (เซนติเมตร)	ความยาวราก/ จำนวนราก (เซนติเมตร)	ความยาวลำต้น (เซนติเมตร)
5-6	4-5	2.5/0.8	2.8/1	3
3-4	2-3	2.5/0.7	1.9/4	1.4
2-2.5	2	1.6/0.5	1/6	0.9
0.5-1	1-2	0.5/0.2	0.2/2	0.4

ตารางที่ 3.1 ใช้สำหรับคัดเลือกต้นอ่อนเพื่อนำมาทดลองเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์เพื่อทดลองหาว่าต้นอ่อนขนาดใดสามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ได้ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลือกว่าต้นอ่อนขนาดใดควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์

ตารางที่ 3.2 ขนาดเฉลี่ยของโพรโทคอร์มขนาดเล็ก โพรโทคอร์มขนาดกลาง โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ และต้นอ่อน

ชนิด	ช่วงน้ำหนัก (กรัม)	ช่วงความยาว (เซนติเมตร)	ช่วงความกว้าง (เซนติเมตร)
โพรโทคอร์มขนาดเล็ก	0.01-0.1	0.3-0.5	0.3-0.5
โพรโทคอร์มขนาดกลาง	0.2-0.3	0.6-0.9	0.6-0.9
โพรโทคอร์มขนาดใหญ่	0.4-0.9	1.0-2.0	1.0-2.0
ต้นอ่อน	0.1-0.9	1.5-3.0	0.1-0.3

ตารางที่ 3.2 ใช้สำหรับคัดเลือกโพรโทคอร์มเพื่อนำมาทดลองเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

3.5.2 <u>การทดลองหาวิธีการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์</u>

3.5.2.1 การสเตอริไรด์เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส

1. แช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 1 คืน
2. ล้างแอลกอฮอล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ
3. นำไปผ่านไอน้ำเป็นเวลา 20 นาที
4. เติมอาหารที่ผ่านการการสเตอริไรด์ โดยเติมในอากาศทั่วไป ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห โดยยังไม่มีการพ่นอากาศ
5. ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลการติดเชื้อ

<u>ทดลองปรับปรุงวิธีการสเตอริไรด์</u>

1. นำซิลิโคนไปอุดรอยรั่วตามแนวกระจกเพื่อป้องกันอากาศจากภายนอกเข้าไปภายในเครื่องปฏิกรณ์
2. เพิ่มระยะเวลาในการสเตอริไรด์โดยนำไปผ่านไอน้ำเป็นเวลา 30 นาที
3. ส่วนขั้นตอนการเติมอาหารปรับปรุงโดยการใช้กระบอกที่ทำด้วยสแตนเลสเป็นตัวใส่อาหารเพาะเลี้ยงแล้วเชื่อมเข้ากับเครื่องปฏิกรณ์เพื่อป้องกันอากาศภายนอกผ่านเข้าไปในเครื่องปฏิกรณ์
4. บันทึกผลการติดเชื้อ

3.5.2.2 การสเตอริไรด์เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากพอลิอะคิลิค

1. แช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 1 คืน
2. ล้างแอลกอฮอล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ
3. แช่คลอร็อกอีก 1 คืนและล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ
4. นำไปผ่านแสง ยูวี เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. เติมอาหารที่ผ่านการการสเตอริไรด์ โดยเติมภายในตู้ปลอดเชื้อ
6. ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์โดยยังไม่มีการพ่นอากาศ
7. ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลการติดเชื้อ

<u>ทดลองปรับปรุงวิธีการสเตอริไรด์</u>

โดยนำไปผ่านแสง ยูวีให้นานขึ้นเพื่อฆ่าสปอร์รา

3.5.2.3 การสเตอริไรด์เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

1. แช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 1 คืน
2. ล้างแอลกอฮอล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ
3. แช่คลอร็อกอีก 1 คืนและล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ
4. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอน้ำ
5. นำไปผ่านแสง ยูวี เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. เติมอาหารที่ผ่านการการสเตอริไรด์ โดยเติมภายในตู้ปลอดเชื้อ
6. ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์โดยยังไม่มีการพ่นอากาศ
7. ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลการติดเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทดลองปรับปรุงวิธีการสเตอริไรด์

1. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอน้ำ 3 ครั้งและเพิ่มระยะเวลาการนึ่งเพื่อให้แน่ใจว่าฆ่าสปอร์รา โดยครั้งแรกและครั้งที่ 2 ใส่น้ำกลั่นในเครื่องปฏิกรณ์แล้วนึ่งเป็นเวลา 30 นาทีและครั้งที่ 3 ใส่อาหารเพาะเลี้ยงแล้วนำไปนึ่งโดยทดลองนึ่งที่ระยะเวลา 10 นาที และ 15 นาที
2. ตั้งทิ้งไว้ 2 สัปดาห์โดยยังไม่มีการพ่นอากาศ
3. ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลการติดเชื้อ
4. พ่นอากาศผ่านที่กรองอากาศเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์เป็นเวลา 2 สัปดาห์บันทึกผลการติดเชื้อพบเชื้อราซึ่งชี้ชัดว่ามาจากอากาศจึงปรับปรุงวิธีการสเตอริไรด์โดยนำที่กรองอากาศไปนึ่งฆ่าเชื้อทุก 2 สัปดาห์

3.5.2.3 การทดลองหาวิธีถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

การทดลองถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์ทำได้ดังนี้

วิธีที่ 1 นำต้นอ่อนจากขวดที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาถ่ายลงในเครื่องปฏิกรณ์

หลังจากทำการถ่ายต้นอ่อนโดยวิธีที่ 1 รอดูผล 3 วันบันทึกผลการติดเชื้อ

วิธีที่ 2 ย้ายต้นอ่อนจากขวดแม่มาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ 1 สัปดาห์เลือกขวดที่ไม่เกิดเชื้อราเทลงภายในเครื่องปฏิกรณ์บันทึกผลการติดเชื้อ

3.5.2.4 การทดลองเปรียบเทียบจำนวนการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งในอาหารเหลว อาหารวุ้นและภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

ทดลองหาร้อยละการติดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

เตรียมอาหารเหลว อาหารวุ้นอย่างละ 10 ขวด ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งและเตรียมอาหารเหลวในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 10 ครั้งตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ บันทึกผลการติดเชื้อ

ทดลองหาร้อยละการติดเชื้อในขั้นถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

1. ถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ในอาหารเหลว อาหารวุ้นอย่างละ 10 ขวดทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 10 ครั้ง
2. ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ บันทึกผลการติดเชื้อ
3. ปรับปรุงขั้นตอนการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงในเครื่องปฏิกรณ์ โดยย้ายต้นอ่อนจากขวดแม่ลงในขวดรูปชมพู่ 10 ขวด ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ และเลือกเฉพาะขวดที่ไม่ติดเชื้อรามาย้ายลงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ บันทึกผลการติดเชื้อ

3.5.3 <u>การทดลองหาขนาดต้นอ่อนที่สามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์</u>

1. เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงโดยไม่ใส่น้ำตาลและน้ำมะพร้าวเพราะต้องการตัดปัญหาการติดเชื้อออกไป
2. เตรียมต้นอ่อนที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ขนาดดังแสดงในตารางที่ 3.1
3. นำไปเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากสแตนเลสเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือนโดยเติมอาหารเพาะเลี้ยงปริมาณ 1000 มิลลิลิตรทุกสัปดาห์ นับจำนวนต้นที่อยู่รอด
4. นำไปเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากแก้วเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือนโดยเติมอาหารเพาะเลี้ยงปริมาณ200 มิลลิลิตร ทุกสัปดาห์ นับจำนวนต้นที่อยู่รอด

3.5.4 <u>เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour)ที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์</u>

3.5.4.1 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากเครื่องอัดอากาศ

1. เตรียมต้นอ่อนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแยกขนาดดังแสดงในตารางที่ 3.2

2. นำโพรโทคอร์มขนาดเล็กสุ่มตัวอย่างมา 10 ต้นมาหาโดยน้ำหนักสดเริ่มต้นเฉลี่ย กรัม ความยาวเฉลี่ยและความกว้างเฉลี่ย ก่อนนำมาทำการเพาะเลี้ยง

3. นำมาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรมีปริมาณอาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร ใช้จำนวนโพรโทคอร์ม 20 และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วมีปริมาณอาหาร 2000 มิลลิลิตร ใช้จำนวนโพรโทคอร์ม 270 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ทำการพ่นอากาศโดยใช้เครื่องอัดอากาศ

4. บันทึกขนาด น้ำหนักของโพรโทคอร์มเพื่อแบ่งประเภทตามตารางที่ 3.2 และวัดการเจริญเติบโตจากขนาดและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

5. ถ่ายรูปโพรโทคอร์มที่ได้เพื่อเปรียบเทียบการแตกออกเป็นตุ่มซึ่งพร้อมที่จะแตกออกเป็นต้นอ่อนต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่กับในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

3.5.4.2 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

1. เตรียมต้นอ่อนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแยกขนาดดังแสดงในตารางที่ 3.2

2. นำโพรโทคอร์มขนาดเล็กสุ่มตัวอย่างมา 10 ต้นมาหาโดยน้ำหนักสดเริ่มต้นเฉลี่ย กรัม ความยาวเฉลี่ยและความกว้างเฉลี่ย ก่อนนำมาทำการเพาะเลี้ยง

3. นำมาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรมีปริมาณอาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร ใช้จำนวนโพรโทคอร์ม 20 และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วมีปริมาณอาหาร 2000 มิลลิลิตร และเติมอาหารเพาะเลี้ยงปริมาณ200 มิลลิลิตรในทุกสัปดาห์ ใช้จำนวนโพรโทคอร์ม 270 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์โดยพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

4. บันทึกขนาด น้ำหนักของโพรโทคอร์มและต้นอ่อนที่ได้เพื่อแบ่งประเภทตามตารางที่ 3.2 และวัดการเจริญเติบโตจากขนาดและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น โดยนำตัวอย่างโพรโทคอร์มออก

จากเครื่องปฏิกรณ์เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2, 3, 4 และ 5 สัปดาห์เพื่อทำการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตกับการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า

5. ถ่ายรูปโพรโทคอร์มที่ได้เพื่อเปรียบเทียบการแตกออกเป็นตุ่มซึ่งพร้อมที่จะแตกออกเป็นต้นอ่อนต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำการพ่นอากาศโดยใช้เครื่องอัดอากาศและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำการพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

3.5.4.3 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

1. เตรียมต้นอ่อนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคัดให้มีขนาดเท่าๆกัน
2. นำต้นอ่อนขนาดเล็กสุ่มตัวอย่างมา 10 ต้นมาหาโดยน้ำหนักสดเริ่มต้นเฉลี่ย กรัม ความยาวเฉลี่ยและความกว้างเฉลี่ย ก่อนนำมาทำการเพาะเลี้ยง
3. นำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วโดยพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มีปริมาณอาหาร 2000 มิลลิลิตร และเติมอาหารเพาะเลี้ยงปริมาณ 200 มิลลิลิตรในทุกสัปดาห์ ใช้จำนวนโพรโทคอร์ม 150 ต้น โดยนำตัวอย่างต้นอ่อนออกมาวัดขนาดและดูว่าบอบช้ำหรือไม่ทุก 2 และ 3 สัปดาห์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิเคราะห์

ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบจำนวนการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะปลูกในขวดรูปชมพู่ทั้งในอาหารเหลว อาหารวุ้นและภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ ซึ่งเกิดได้ในหลายขั้นตอน ตั้งแต่ขั้นตอนการย้ายต้นอ่อนลงภาชนะใหม่เมื่ออาหารเพาะเลี้ยงหมดในกรณีของการเพาะเลี้ยงในขวด รูปชมพู่ ขั้นตอนการถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงในเครื่องปฏิกรณ์ ขั้นตอนการสเตอริไรด์เครื่องปฏิกรณ์ ขั้นตอนการนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร ขั้นตอนการเติมอาหารเพาะเลี้ยงลงในเครื่องปฏิกรณ์ การเลือกใช้ตัวกรองอากาศที่เหมาะสม

ในการทดลองนี้ได้พบปัญหามากและได้ทดลองแก้ปัญหาไปทีละขั้นเริ่มตั้งแต่การเลือกใช้วัสดุที่ใช้ทำเครื่องปฏิกรณ์หลายประเภทดังนี้ อลูมิเนียม โพลีอะคิลิก แก้ว และแต่ละชนิดของเครื่องปฏิกรณ์ใช้การสเตอริไรด์ที่แตกต่างกันออกไป เพื่อทดลองหาชนิดของวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์และการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้เพื่อให้สามารถทำการทดลองการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ให้ได้ระยะเวลานานที่สุดโดยเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงภายในเครื่องปฏิกรณ์ และยังทำการทดลองเพื่อดูว่าการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนมีมากกว่าการปลูกโดยวิธีปกติหรือไม่เมื่อได้รับอากาศและอาหารที่เพียงพอ

โดยในการทดลองที่ทำการทดลองโดยใช้ต้นอ่อนหลายขนาดทั้งระยะที่ยังเป็นโพรโทคอร์ม และระยะที่เริ่มมีใบและราก เพื่อคัดเลือกว่าต้นอ่อนขนาดใดสามารถอยู่รอดภายในเครื่องปฏิกรณ์ได้และระยะใดที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นอ่อนได้ และต้นอ่อนโตถึงระยะใดจึงควรนำต้นอ่อนออกมาภายนอกเครื่องปฏิกรณ์เนื่องจากถ้าต้นอ่อนมีขนาดโตเกินไปจะได้รับความบอบช้ำเนื่องจากต้นอ่อนยิ่งมีขนาดใหญ่จะทนต่ออัตราเฉือนได้ต่ำจึงควรนำออกมาจากเครื่องปฏิกรณ์เพื่อลดอัตราการเสียชีวิต และจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้โดยวิธีเก่าคือการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ใน ขวดรูปชมพู่ และใช้ แผ่นอลูมิเนียม ปิดและพันด้วยพลาสติก พบว่าต้นอ่อนเจริญเร็วมากในระยะแรก บางขวดรูปชมพู่ตายในเดือนที่ 4 บาง ขวดรูปชมพู่การเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ ซึ่งเกิดจากการขาดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เพราะการปิดฝาด้วย แผ่นอลูมิเนียม และพันด้วยพลาสติกเพื่อป้องกันการติดเชื้อและป้องกันไม่ให้ไอน้ำระเหยออก แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้การแพร่ของแก๊สน้อยลงด้วย หากหาวิธีทำให้แก๊สถ่ายเทได้ดีขึ้นและสามารถควบคุมการติดเชื้อได้ด้วย อาจทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นมากกว่าเดิม 3 เท่า ดังนั้นเพื่อเป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์จึงใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ พ่นเข้าภายในเครื่องปฏิกรณ์แทนเครื่องอัดอากาศนอกจากจะเป็นการเพิ่ม แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

ให้แก่ต้นอ่อนแล้ว จากการทดลองพบว่าการติดเชื้อน้อยกว่าการใช้เครื่องอัดอากาศเนื่องจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่มาจากถังแก๊สมีความบริสุทธิ์มากกว่าอากาศที่มาจากเครื่องอัดอากาศ

4.1 การทดลองหาวิธีการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

4.1.1 ผลการสเตอริไรด์เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส

ทำการสเตอริไรด์โดยแช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% 1 คืนแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจากนั้นผ่านไอน้ำเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นเติมอาหารที่ผ่านการการสเตอริไรด์ โดยเติมในอากาศทั่วไป ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์โดยยังไม่มีการพ่นอากาศและทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ผลการติดเชื้อแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส

ครั้งที่	จำนวนวัน						
	1	2	3	4	5	6	7
1	-	-	+	++	++	++	++
2	-	-	+	++	++	++	++
3	-	-	+	++	++	++	++

- หมายถึงไม่เกิดการติดเชื้อ

\+ หมายถึงเกิดฟองและเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยว

++ หมายถึงเกิดเชื้อรา

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 พบว่าเกิดการติดเชื้อประมาณวันที่ 3 ของการทดลองน่าจะเป็นผลมาจากการสเตอริไรด์ไม่เพียงพอ เกิดจากเครื่องปฏิกรณ์มีรอยรั่วในแนวกระจกทำให้มีอากาศผ่านเข้าไปได้และสาเหตุสำคัญน่าจะมาจากขั้นตอนการเติมอาหารลงเครื่องปฏิกรณ์ จึงได้ทำการปรับปรุงโดยเพิ่มระยะเวลาในการสเตอริไรด์ และนำซิลิโคนไปอุดรอยรั่วตามแนวกระจกเพื่อป้องกันอากาศจากภายนอกเข้าไปภายในเครื่องปฏิกรณ์ ส่วนขั้นตอนการเติมอาหารปรับปรุงโดย

การใช้กระบอกที่ทำด้วยสแตนเลสเป็นตัวใส่อาหารเพาะเลี้ยงแล้วเชื่อมเข้ากับเครื่องปฏิกรณ์เพื่อป้องกันอากาศภายนอกผ่านเข้าไปในเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งผลการทดลองหลังจากได้ปรับปรุงแล้วแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์หลังจากมีการปรับปรุงประสิทธิภาพแล้ว

ครั้งที่	จำนวนวัน						
	1	2	3	4	5	6	7
1	-	-	-	-	+	++	++
2	-	-	-	-	+	++	++
3	-	-	-	+	++	++	++

- หมายถึงไม่เกิดการติดเชื้อ

+ หมายถึงเกิดฟองและเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยว

++ หมายถึงเกิดเชื้อรา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.1 ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้และอาหารเพาะเลี้ยงหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส

จากรูปที่ 4.1 พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงมีลักษณะขุ่นแสดงว่าเกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเชื้อแบคทีเรียย่อยต้นอ่อนกล้วยไม้ทำให้ต้นอ่อนเน่าและเสียชีวิตในที่สุด จากรูป 4.1 นอกจากต้นอ่อนจะได้รับความบอบช้ำเนื่องจากแบคทีเรียย่อยสลายแล้ว ต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือนมีสีซีดเหลืองเนื่องจากขาดแสงเพราะเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสทึบแสงมีเพียงช่องกระจกให้แสงเข้าซึ่งไม่เพียงพอกับความต้องการของต้นอ่อน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 พบว่าเกิดการติดเชื้อประมาณวันที่ 5 ของการทดลองเนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อราในอากาศในขั้นตอนการเติมอาหารแม้จะเติมผ่านกระบอกแต่ก็เกิดการเจือปนของอากาศเข้าไปเล็กน้อย แนวทางแก้ไขทำโดยเติมอาหารภายในตู้ปลอดเชื้อแต่เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสมีขนาดใหญ่เกินไปไม่สามารถเข้าไปเติมอาหารภายในตู้ปลอดเชื้อได้ จึงได้ลดขนาดลงมาและทำเป็นเครื่องปฏิกรณ์ใสเพื่อให้แสงเพียงพอกับความต้องการของต้นอ่อนเนื่องจากต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสมีสีซีดเหลืองเนื่องจากขาดแสงดังแสดงในรูปที่ 4.1จึงได้พัฒนาเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากพอลิอะคิลิคขึ้นเพื่อแก้ไขจุดบกพร่องของเครื่องปฏิกรณ์แบบเก่า

4.1.1 <u>ผลการสเตอริไรด์เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากพอลิอะคิลิค</u>

ทำการสเตอริไรด์โดยแช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% 1 คืนแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจากนั้นนำไปแช่คลอร็อกอีก 1 คืน ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้ออีกครั้งนำไปผ่านแสง ยูวี เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมอาหารที่ผ่านการการสเตอริไรด์ โดยเติมภายในตู้ปลอดเชื้อตั้ง ทิ้งไว้

1 สัปดาห์โดยยังไม่มีการพ่นอากาศและทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ผลการติดเชื้อแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากพอลิอะคิลิค

ครั้งที่	จำนวนวัน						
	1	2	3	4	5	6	7
1	-	-	-	-	-	-	++
2	-	-	-	-	-	++	++
3	-	-	-	-	-	-	++

- หมายถึงไม่เกิดการติดเชื้อ

\+ หมายถึงเกิดฟองและเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยว

++ หมายถึงเกิดเชื้อรา

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.3พบว่าเกิดการติดเชื้อประมาณวันที่ 7 ของการทดลองน่าจะเป็นผลมาจากการสเตอริไรด์ไม่เพียงพอ เนื่องจากการผ่าน ยูวี เพียง 1 คืนไม่สามารถฆ่าสปอร์ราได้ สปอร์ราจึงเจริญขึ้นเป็นเชื้อราในวันที่ 7 ถ้าปรับปรุงโดยการผ่าน ยูวี ให้นานขึ้นอาจจะสามารถฆ่าสปอร์ราได้หมดแต่จะทำให้พอลิอะคิลิคแตก ดังนั้นการปรับปรุงเพื่อให้การสเตอริไรด์ที่เพียงพอสามารถฆ่าสปอร์ราได้หมดจึงพัฒนาเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วขึ้นมา

4.1.2 <u>ผลการสเตอริไรด์เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว</u>

ทำการสเตอริไรด์โดยแช่เอทิลแอลกอฮอล์ 95% 1 คืนแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจากนั้นนำไปแช่คลอร็อกอีก 1 คืน ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) แล้วนำไปผ่านแสง ยูวี เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมอาหารที่ผ่านการการสเตอริไรด์ โดยเติมภายในตู้ปลอดเชื้อตั้ง ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์โดยยังไม่มีการพ่นอากาศและทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ผลการติดเชื้อแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

ครั้งที่	จำนวนวัน						
	1	2	3	4	5	6	7
1	-	-	-	-	-	-	++
2	-	-	-	-	-	-	++
3	-	-	-	-	-	-	++

- หมายถึงไม่เกิดการติดเชื้อ

\+ หมายถึงเกิดฟองและเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยว

++ หมายถึงเกิดเชื้อรา

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 พบว่าไม่เกิดการติดเชื้อแสดงว่าการสเตอริไรด์เพียงพอ ดังนั้นจึงปรับปรุงการสเตอริไรด์โดยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอน้ำ 3 ครั้งและเพิ่มระยะเวลาการนึ่งเพื่อให้แน่ใจว่าฆ่าสปอร์รา โดยครั้งแรกและครั้งที่ 2 ใส่น้ำกลั่นในเครื่องปฏิกรณ์แล้วนึ่งเป็นเวลา 30 นาทีและครั้งที่ 3 ใส่อาหารเพาะเลี้ยงแล้วนำไปนึ่งโดยทำการนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ผลการติดเชื้อแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วเมื่อนำไปนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ

ครั้งที่	จำนวนวัน													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

โดย

ครั้งที่ 1 หมายถึงการนำเครื่องปฏิกรณ์ที่ใส่อาหารเพาะเลี้ยงแล้วนำไปนึ่งโดยทำการนึ่งที่อุณหภูมิ 120 เป็นเวลา 10 นาที

ครั้งที่ 2 หมายถึงการนำเครื่องปฏิกรณ์ที่ใส่อาหารเพาะเลี้ยงแล้วนำไปนึ่งโดยทำการนึ่งที่อุณหภูมิ 120 เป็นเวลา 15 นาที

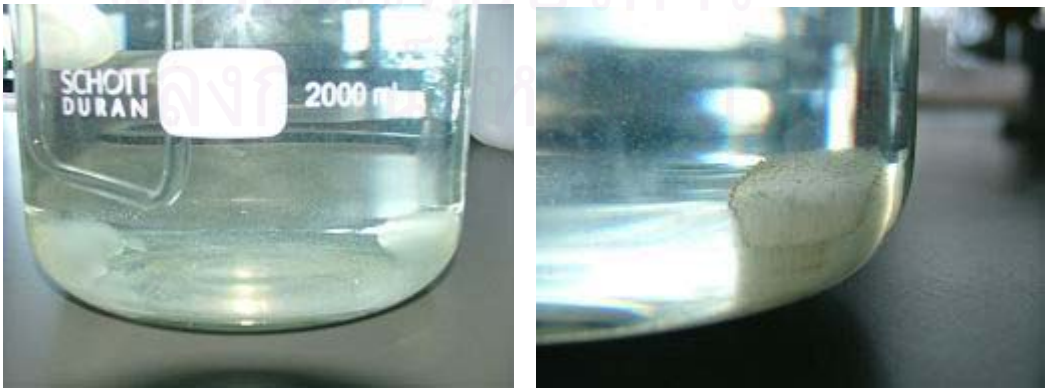
ครั้งที่ 3 หมายถึงการนำเครื่องปฏิกรณ์ที่ใส่อาหารเพาะเลี้ยงแล้วนำไปนึ่งโดยทำการนึ่งที่อุณหภูมิ 120 เป็นเวลา 15 นาที

- หมายถึงไม่เกิดการติดเชื้อ

\+ หมายถึงเกิดฟองและเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยว

++ หมายถึงเกิดเชื้อรา

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.5 พบว่าในครั้งที่ 1เกิดการติดเชื้อประมาณวันที่ 12 ของการทดลองน่าจะเป็นผลมาจากเวลาในการสเตอริไรด์ไม่เพียงพอ ดังนั้นจึงปรับปรุงเพื่อให้การสเตอริไรด์เพียงพอสามารถฆ่าสปอร์ราได้หมดจึงเพิ่มเวลาในการสเตอริไรด์เป็น 15 นาทีพบว่าไม่เกิดการติดเชื้อแสดงว่าการสเตอริไรด์เพียงพอ จากนั้นจึงดำเนินการขั้นต่อไปคือพ่นอากาศผ่านที่กรองอากาศเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าในวันที่ 14เกิดราก้อนกลมภายในเครื่องปฏิกรณ์ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ซึ่งชี้ชัดว่ามาจากอากาศจากผลการทดลองในขั้นนี้ทำให้ทราบว่าต้องนำที่กรองอากาศไปนึ่งฆ่าเชื้อทุก 2 สัปดาห์



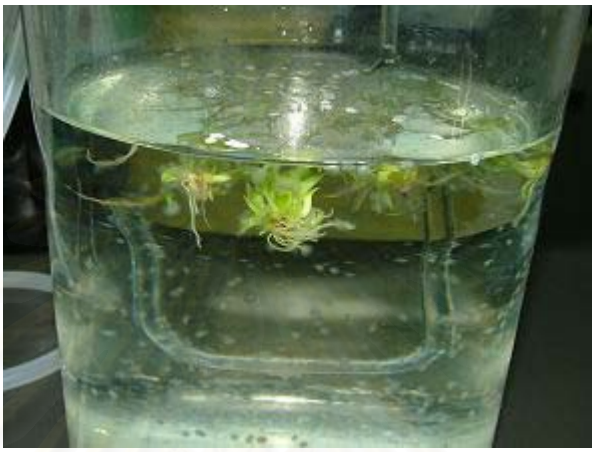
รูปที่ 4.2 ลักษณะของราก้อนกลมภายในเครื่องปฏิกรณ์หลังจากพ่นอากาศ

4.2 การทดลองหาวิธีถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

ทดลองถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์ดังนี้

วิธีที่ 1 นำต้นอ่อนจากขวดที่ได้จากการเพาะเมล็ดมาถ่ายลงในเครื่องปฏิกรณ์

หลังจากทำการถ่ายต้นอ่อนโดยวิธีที่ 1 รอดูผล 3 วัน ผลแสดงดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แสดงเครื่องปฏิกรณ์หลังจากถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้โดยวิธีที่ 1 เป็นเวลา 3 วัน

จากรูปที่ 4.3 พบว่าเกิดเชื้อราในเครื่องปฏิกรณ์ซึ่งอาจเป็นมาจาก 2 สาเหตุดังนี้

(1) เกิดมาจากขั้นการถ่ายต้นอ่อนภายในตู้ปลอดเชื้อ อาจเกิดการติดเชื้อเนื่องมาจากผู้ทำการทดลอง

(2) เกิดมาจากขวดแม่ ภายในขวดแม่อาจเกิดเชื้อราแต่มองไม่เห็นเพราะจำนวนต้นอ่อนหนาแน่น

ทำการแก้ไขโดย

วิธีที่ 2 ย้ายต้นอ่อนจากขวดแม่มาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ 1 สัปดาห์เลือกขวดที่ไม่เกิดเชื้อราเทลงภายในเครื่องปฏิกรณ์ดังแสดงในรูปที่ 4.4 ผลที่ได้คือไม่มีการติดเชื้อเกิดขึ้นในเครื่องปฏิกรณ์ตลอดการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ ดังแสดงในรูป 4.5

รูปที่ 4.4 แสดงต้นอ่อนกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่ที่ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์

รูปที่ 4.5 แสดงเครื่องปฏิกรณ์หลังจากถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้โดยวิธีที่ 2

4.3 การทดลองเปรียบเทียบจำนวนการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งในอาหารเหลว อาหารวุ้นและภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

4.3.1 <u>ร้อยละการติดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว</u>

เมื่อเตรียมอาหารเหลว อาหารวุ้นอย่างละ 10 ขวด ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และเตรียมอาหารเหลวในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 3 ครั้ง จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าเกิดการติดเชื้อในอาหารเหลวประมาณ 6.7%และอาหารวุ้นประมาณ 3.3% และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ประมาณ 20% ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ร้อยละการติดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

ครั้งที่	จำนวนขวดที่ติดเชื้อในอาหารเหลว	จำนวนขวดที่ติดเชื้อในอาหารแข็ง	จำนวนครั้งของการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์	% การติดเชื้อในอาหารเหลว	% การติดเชื้อในอาหารแข็ง	% การติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์
1	1	0	1	10	0	20
2	0	1	0	0	10	-
3	1	0	0	10	0	-
			เฉลี่ย	6.7	3.3	20

จากตารางที่ 4.6 พบว่าจะเห็นว่าร้อยละการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีค่าสูงที่สุดเนื่องจากครั้งแรกที่ทำการทดลองผู้ทดลองยังขาดความชำนาญทำให้ติดเชื้อในครั้งแรกๆของการทำการทดลอง แต่เมื่อทำการทดลองจนเกิดความชำนาญในครั้งหลังๆจึงไม่เกิดการติดเชื้อขึ้นอีก

4.3.2 <u>ร้อยละการติดเชื้อในขั้นถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว</u>

เมื่อถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ในอาหารเหลว อาหารวุ้นอย่างละ 10 ขวดทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ 10 ครั้ง จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าเกิดการติดเชื้อในอาหารเหลวประมาณ 26.7% และในอาหารวุ้นประมาณ 30% และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ประมาณ 30% ดังแสดงในตารางที่ 4.7 จากนั้นเมื่อทำการปรับปรุงขั้นตอนการย้ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงในเครื่องปฏิกรณ์ โดยย้ายต้นอ่อนจากขวดแม่ลงในขวดรูปชมพู่ 10 ขวด ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ และเลือกเฉพาะขวดที่ไม่ติดเชื้อรามาย้ายลงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ พบว่าไม่มีการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

ตารางที่ 4.7 ร้อยละการติดเชื้อในขั้นเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

ครั้งที่	จำนวนขวดที่ติดเชื้อในอาหารเหลว	จำนวนขวดที่ติดเชื้อในอาหารแข็ง	จำนวนครั้งของการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์	% การติดเชื้อในอาหารเหลว	% การติดเชื้อในอาหารแข็ง	% การติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์
1	2	3	3	20	30	30
2	3	3	-	30	30	-
3	3	3	-	30	30	-
			เฉลี่ย	26.7	30	30

จากตารางที่ 4.7 พบว่าร้อยละการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีค่าสูงที่สุดเนื่องจากครั้งแรกที่ทำการทดลองผู้ทดลองยังขาดความชำนาญทำให้ติดเชื้อในครั้งแรกๆของการทำการทดลอง แต่เมื่อทำการทดลองจนเกิดความชำนาญในครั้งหลังๆ จึงไม่เกิดการติดเชื้อขึ้นอีก

4.4 ผลการทดลองหาขนาดต้นอ่อนที่สามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์

ทำการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยไม่ใส่น้ำตาลและน้ำมะพร้าวเพราะต้องการตัดปัญหาการติดเชื้อออกไปก่อน เพื่อดูว่าต้นอ่อนขนาดใดสามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ได้ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลือกว่าต้นอ่อนขนาดใดควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ต้นอ่อนที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ขนาดดังนี้

(1) ขนาด 5-6 เซนติเมตร แสดงดังรูปที่ 4.6

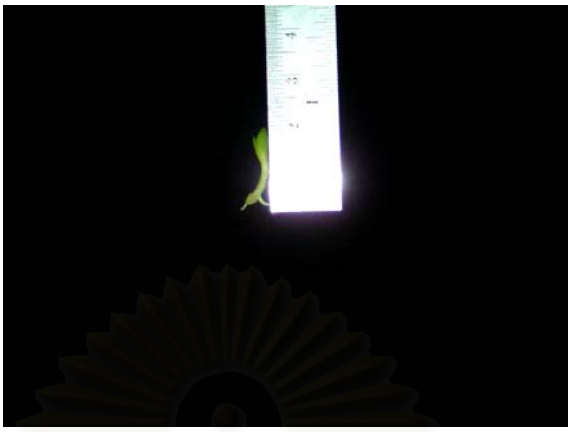
รูปที่ 4.6 ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาด 5-6 เซนติเมตร

(2) ขนาด 3-4 เซนติเมตร แสดงดังรูปที่ 4.7

รูปที่ 4.7 ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาด 3-4 เซนติเมตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(3) ขนาด 2-2.5 เซนติเมตร แสดงดังรูปที่ 4.8



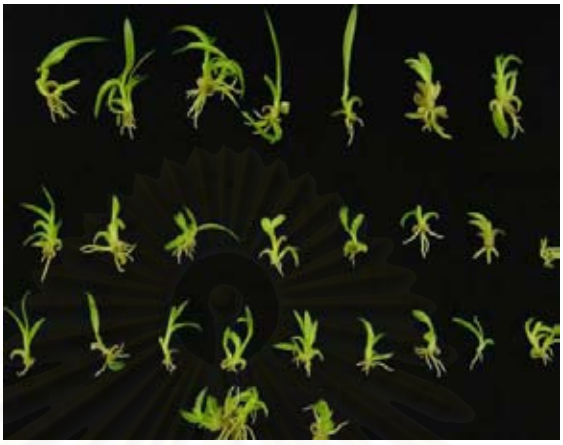
รูปที่ 4.8 ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาด 2-2.5 เซนติเมตร

(4) ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร แสดงดังรูปที่ 4.9

รูปที่ 4.9 ลักษณะต้นอ่อนกล้วยไม้ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทำการทดลองโดยนำต้นอ่อนทั้ง 4 ขนาด ขนาดละ 20 ต้นนำไปเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ดังแสดงในรูปที่4.9และแสดงรายละเอียดของต้นอ่อนดังตารางที่4.8



รูปที่ 4.10 ตัวอย่างต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่นำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

รูปที่ 4.11 ต้นอ่อนขนาด 5-6 cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.12 ต้นอ่อนขนาด 3-4 cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1เดือน

รูปที่ 4.13 ต้นอ่อนขนาด 2-2.5 cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.14 ต้นอ่อนขนาด 1-0.5cmหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือน

ตารางที่ 4.8 ขนาดเฉลี่ยต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่นำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

ความยาวรวม (เซนติเมตร)	จำนวนใบ	ความยาวใบ/ ความกว้างใบ (เซนติเมตร)	ความยาวราก/ จำนวนราก (เซนติเมตร)	ความยาวลำต้น (เซนติเมตร)
5-6	4-5	2.5/0.8	2.8/1	3
3-4	2-3	2.5/0.7	1.9/4	1.4
2-2.5	2	1.6/0.5	1/6	0.9
0.5-1	1-2	0.5/0.2	0.2/2	0.4

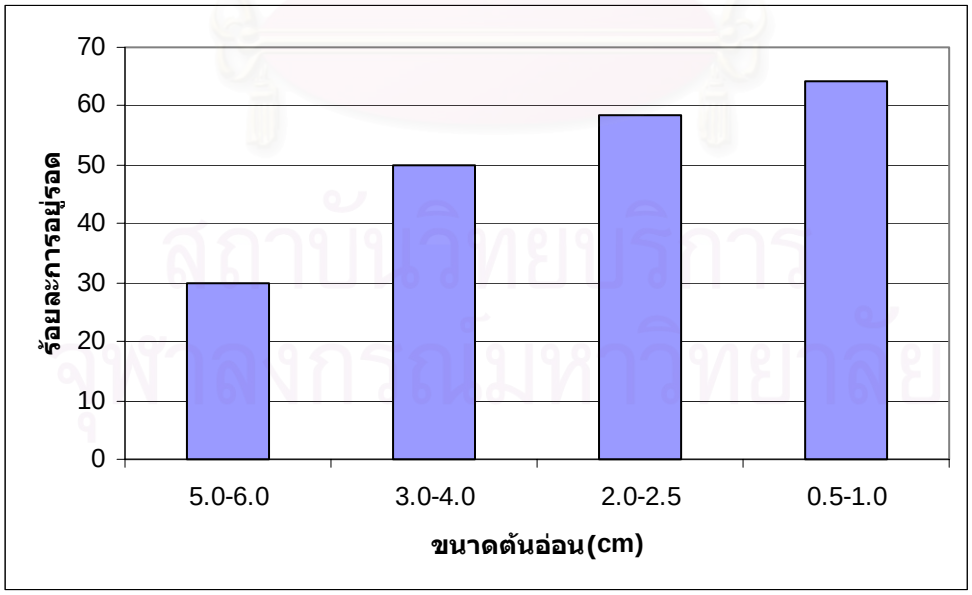
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4.1ผลขนาดต้นอ่อนที่สามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากสแตนเลส

ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน นับจำนวนต้นที่อยู่รอดแสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 จำนวนต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่อยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

ความยาวรวม (เซนติเมตร)	จำนวนต้นที่ใส่ในเครื่องปฏิกรณ์	จำนวนต้นที่ออกจากเครื่องปฏิกรณ์	จำนวนต้นที่อยู่รอด	ร้อยละการอยู่รอด
5-6	20	10	3	30.00
3-4	20	6	3	50.00
2-2.5	20	12	7	58.33
0.5-1	20	14	9	64.29



รูปที่ 4.15 แสดงจำนวนต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่อยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

จากรูปที่ 4.15 พบว่าต้นอ่อนขนาดเล็กคือ 0.5-1 เซนติเมตรอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์มากที่สุดเป็นต้นที่ควรนำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์และต้นอ่อนมีขนาดประมาณ 3-4 เซนติเมตร ควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์เพราะถ้ารอจนมีขนาด 5-6 เซนติเมตรจะมีอัตราการอยู่รอดต่ำ

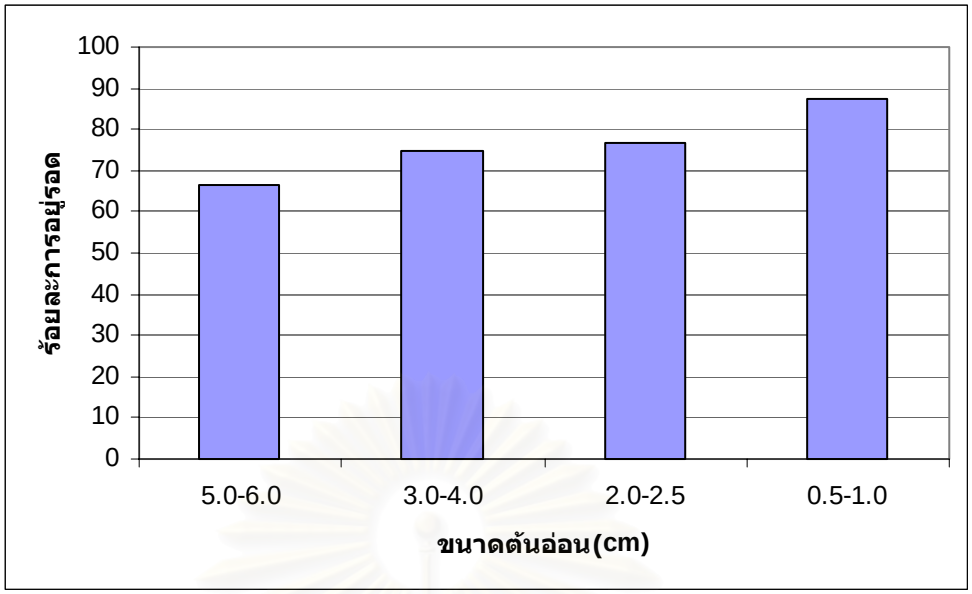
4.4.2ผลขนาดต้นอ่อนที่สามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากแก้ว

ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน นับจำนวนต้นที่อยู่รอดแสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 จำนวนต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่อยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

ความยาวรวม (เซนติเมตร)	จำนวนต้นที่ใส่ในเครื่องปฏิกรณ์	จำนวนต้นที่ออกจากเครื่องปฏิกรณ์	จำนวนต้นที่อยู่รอด	ร้อยละการอยู่รอด
5-6	20	15	10	66.67
3-4	20	16	12	75.00
2-2.5	20	17	13	76.47
0.5-1	20	16	14	87.50

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.16 แสดงจำนวนต้นอ่อนขนาดต่างๆ ที่อยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

จากตารางที่ 4.10 พบว่าร้อยละการอยู่รอดของต้นอ่อนขนาดเล็กคือ 0.5-1 เซนติเมตรอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์มากที่สุดเป็นต้นที่ควรนำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์และต้นอ่อนมีขนาดประมาณ 3-4 เซนติเมตร ควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์เพราะถ้ารอจนมีขนาด 5-6 เซนติเมตรจะมีอัตราการอยู่รอดต่ำ ผลเป็นเช่นเดียวกับในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสแต่ในทุกขนาดของต้นอ่อนมีร้อยละการอยู่รอดสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส เนื่องมาจากเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากแก้วมีขนาดเล็กกว่าใช้อัตราการป้อนอากาศต่ำกว่าทำให้มีอัตราเฉือนต่ำเป็นผลให้ร้อยละการอยู่รอดสูง

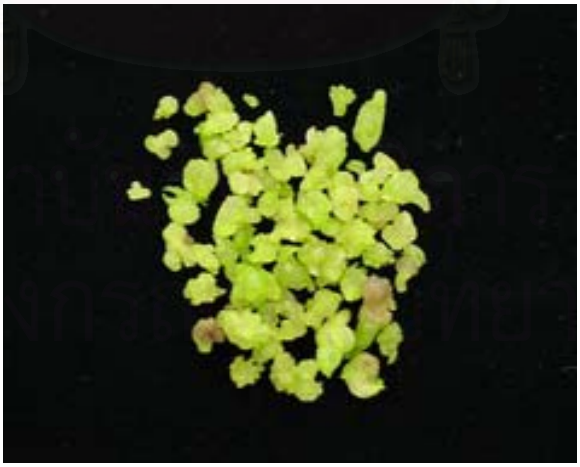
4.5 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour) ที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

4.5.1 ผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากเครื่องอัดอากาศ

การเจริญของเมล็ดกล้วยไม้ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งที่ประกอบด้วย macroelement ตามสูตรอาหาร สูตร Schenk และ Hildebrandt (1972) น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร/ลิตร และ Thiamine 1 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าเมล็ดงอกเป็นโพรโทคอร์มรูปร่างค่อนข้างกลม มีทั้งสีเขียวและเขียวอ่อน ดังแสดงในรูปที่ 4.17

รูปที่ 4.17 ลักษณะของโพรโทคอร์มเริ่มต้นในหลอดทดลอง

นำโพรโทคอร์มของหวายปอมปาดัวร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 2 เดือน แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 1 เดือน นำไปทดลองเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต โดยน้ำหนักสดเริ่มต้นเฉลี่ยของโพรโทคอร์ม 1 ต้นเท่ากับ 0.0543 กรัม ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 0.35 เซนติเมตรและความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ 0.25 เซนติเมตร ดังแสดงตารางที่ 4.11และในรูปที่ 4.18



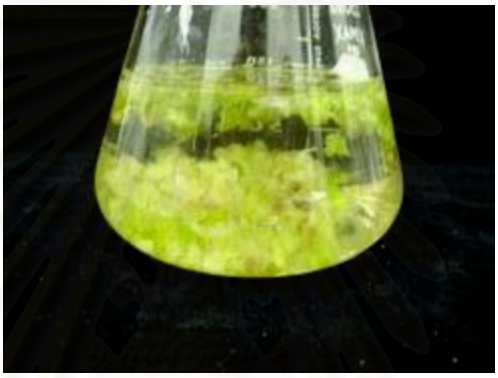
รูปที่ 4.18 ลักษณะของโพรโทคอร์มเริ่มต้นในก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

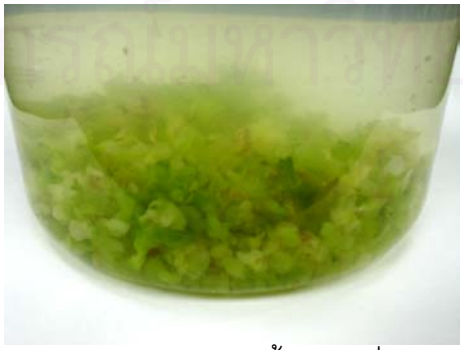
ตารางที่ 4.11 ตัวอย่างโพรโตคอร์มที่ทำการเพาะเลี้ยงจากเมล็ดเป็นเวลา 2 เดือนแล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 1 เดือน ก่อนนำไปทดลองเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ และทำการสุ่มตัวอย่างมาเป็นจำนวน 10 ต้น

ครั้งที่	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	ความกว้าง (เซนติเมตร)
1	0.0269	0.3	0.2
2	0.0272	0.4	0.3
3	0.0353	0.4	0.2
4	0.0237	0.3	0.2
5	0.0245	0.3	0.3
6	0.0316	0.4	0.3
7	0.0281	0.4	0.2
8	0.0216	0.3	0.3
9	0.0240	0.3	0.2
10	0.0392	0.4	0.3
เฉลี่ย	0.0282	0.35	0.25

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.19ลักษณะของโพรโทคอร์มเมื่อนำเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร





รูปที่ 4.20 ลักษณะของโพรโทคอร์มก่อนนำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

โดยเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรมีปริมาณอาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร ใช้จำนวนโพรโทคอร์ม 20 ต้น ดังแสดงในรูปที่ 4.19 และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วมีปริมาณอาหาร 2000 มิลลิลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.20ใช้จำนวนโพรโทคอร์ม 270 ต้น เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน โดยการเจริญเติบโตของ โพรโทคอร์มมีขนาดต่างๆ แสดงใน ตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศ

เวลา (สัปดาห์)	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	ความยาวเฉลี่ย (เซนติเมตร)	ความกว้างเฉลี่ย (เซนติเมตร)	ความยาวใบเฉลี่ย (เซนติเมตร)	จำนวนใบเฉลี่ย	จำนวนต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)
0	0.0282	0.4	0.3	-	-	270	18.54
4	0.0569[a]	0.5	0.5	-	-	15	0.96
	0.2571[b]	0.9	0.7	-	-	20	6.41
	0.4796[c]	1.2	1.1	-	-	230	130.65
	0.1722[d]	2.3	0.2	1.2	2	15	4.58

น้ำหนักก่อนทำการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ 18.54 กรัม

น้ำหนักรวมของโพรโทคอร์มขนาดต่างๆและต้นอ่อน 142.6 กรัม

น้ำหนักรวมของโพรโทคอร์มขนาดต่างๆและต้นอ่อนที่เพิ่มขึ้น 124.06 กรัม

ตารางที่ 4.13 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศเมื่อคิดต่ออาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร

เวลา (สัปดาห์)	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	ความกว้าง (เซนติเมตร)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	จำนวนใบ	จำนวนต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)
0	0.0282	0.4	0.3	-	-	20.25	1.39
4	0.0569[a]	0.5	0.5	-	-	1.13	0.084
	0.2571[b]	0.9	0.7	-	-	1.50	0.68
	0.4796[c]	1.2	1.1	-	-	17.25	9.56
	0.1722[d]	2.3	0.2	1.2	2	1.13	0.45

น้ำหนักก่อนทำการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ 1.39 กรัม

น้ำหนักรวมของโพรโทคอร์มขนาดต่างๆและต้นอ่อน 10.77 กรัม

น้ำหนักรวมของโพรโทคอร์มขนาดต่างๆและต้นอ่อนที่เพิ่มขึ้น 9.38 กรัม

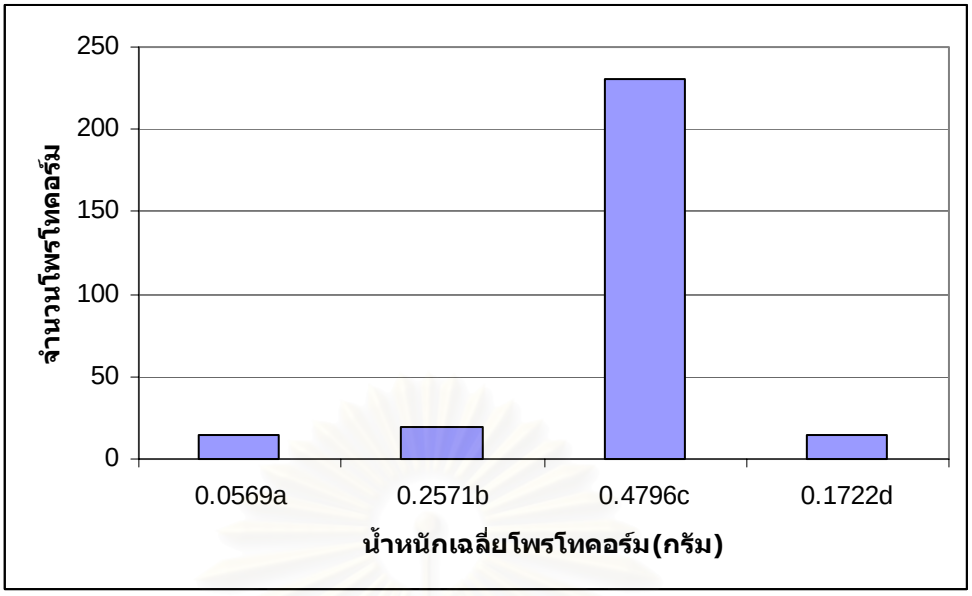
เมื่อ a คือ โพรโทคอร์มขนาดเล็ก

b คือ โพรโทคอร์มขนาดกลาง

c คือโพรโทคอร์มขนาดใหญ่

d คือ ต้นอ่อนกล้วยไม้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

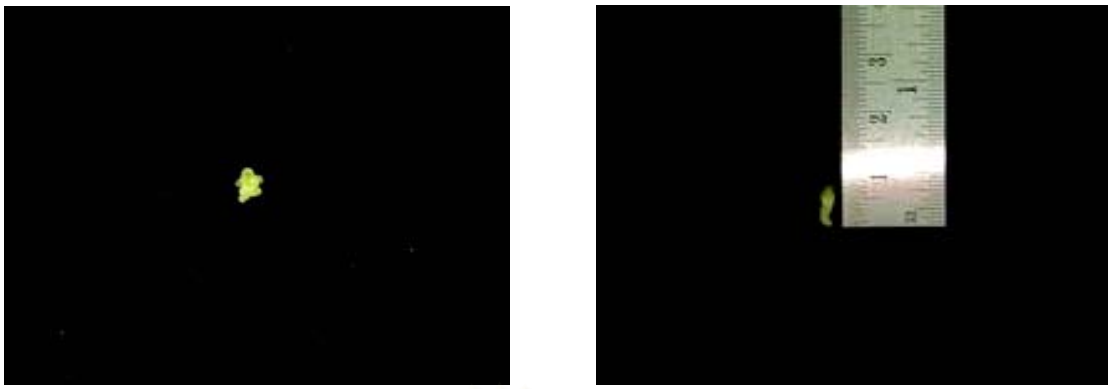


รูปที่ 4.21 แสดงจำนวนโพรโทคอร์มแต่ละขนาดหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำแก้วหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

จากตารางที่ 4.13 พบว่าหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือนจากโพรโทคอร์มเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองเมื่อได้อากาศและอาหารที่เพียงพอ ทำให้โพรโทคอร์มแตกเป็นต้นอ่อนได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า

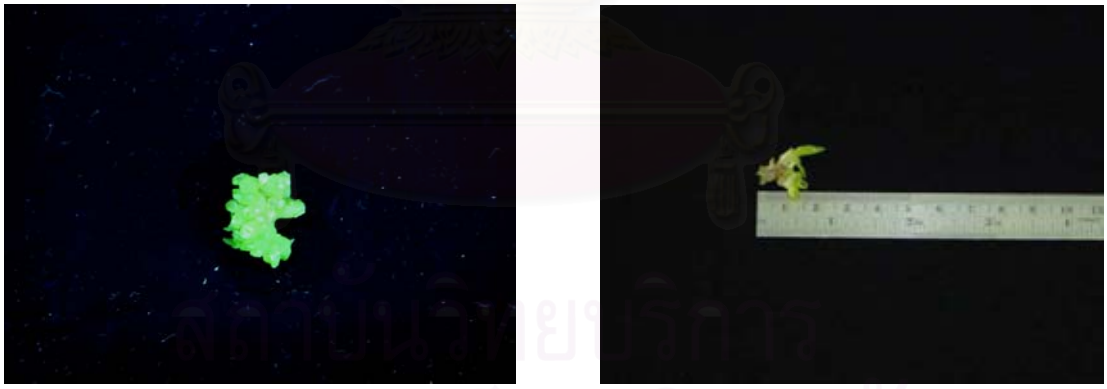
ตารางที่ 4.14 ขนาดเฉลี่ยของโพรโทคอร์มขนาดเล็ก โพรโทคอร์มขนาดกลาง โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ และต้นอ่อน

ชนิด	ช่วงน้ำหนัก (กรัม)	ช่วงความยาว (เซนติเมตร)	ช่วงความกว้าง (เซนติเมตร)
โพรโทคอร์มขนาดเล็ก	0.01-0.1	0.3-0.5	0.3-0.5
โพรโทคอร์มขนาดกลาง	0.2-0.3	0.6-0.9	0.6-0.9
โพรโทคอร์มขนาดใหญ่	0.4-0.9	1.0-2.0	1.0-2.0
ต้นอ่อน	0.1-0.9	1.5-3.0	0.1-0.3



รูปที่ 4.22โพรโทคอร์มขนาดเล็ก

รูปที่ 4.23 โพรโทคอร์มขนาดกลาง



รูปที่ 4.24 โพรโทคอร์มขนาดใหญ่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.25 ต้นอ่อน

รูปที่ 4.26 โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ ต้นอ่อน และ โพรโทคอร์มขนาดเล็ก

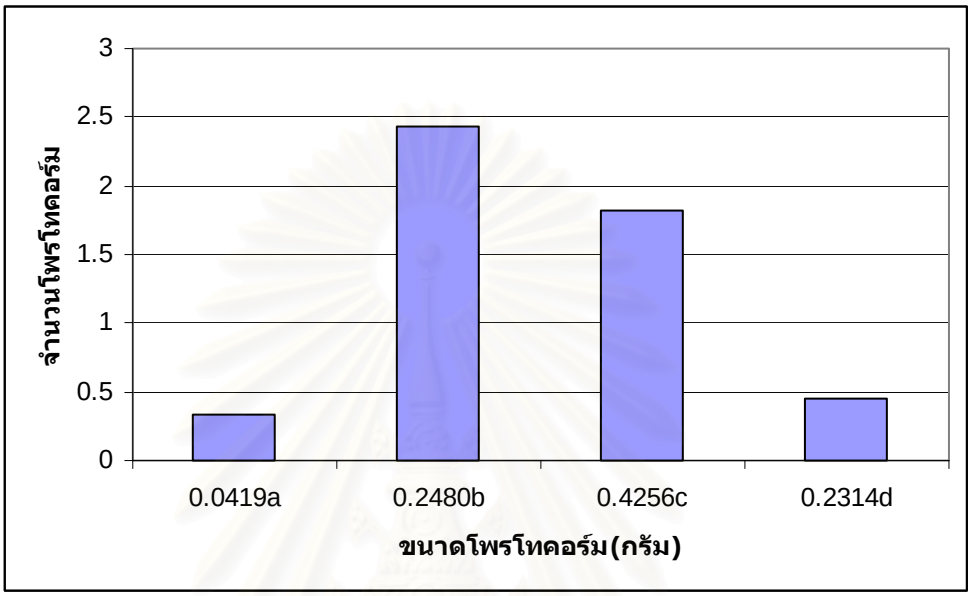
ตารางที่ 4.15 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า

เวลา (สัปดาห์)	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	ความกว้าง (เซนติเมตร)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	จำนวนใบ	จำนวนต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)
0	0.0282	0.4	0.3	-	-	20	0.96
4	0.0419[a]	0.3	0.4	-	-	6	0.34
	0.2480[b]	0.8	0.9	-	-	8	2.43
	0.4256[c]	1.0	1.0	-	-	3	1.82
	0.2314[d]	1.9	0.2	1.2	2	2	0.45

น้ำหนักก่อนทำการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ 0.96 กรัม

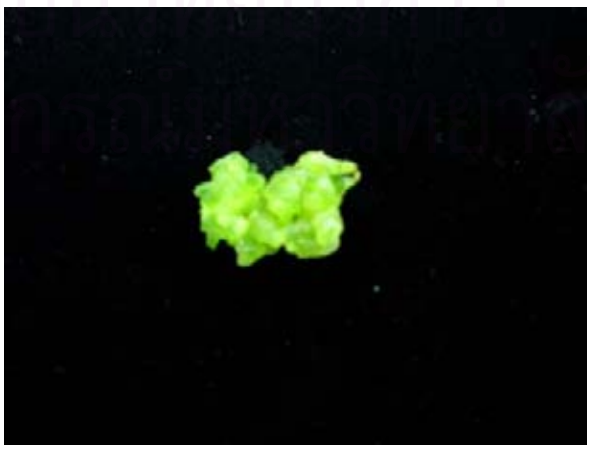
น้ำหนักรวมของโพรโทคอร์มขนาดต่างๆและต้นอ่อน 5.04 กรัม

น้ำหนักรวมของโพรโทคอร์มขนาดต่างๆและต้นอ่อนที่เพิ่มขึ้น 4.08 กรัม



รูปที่ 4.27 แสดงจำนวนโพรโทคอร์มแต่ละขนาดหลังจากเพาะเลี้ยงในหลังจากเพาะเลี้ยงขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 1 เดือน

จากตารางที่ 4.13และ 4.15 พบว่าหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 1 เดือนจากโพรโทคอร์มเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองเมื่อได้อากาศและอาหารที่เพียงพอ ทำให้โพรโทคอร์มแตกเป็นต้นอ่อนได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าดังแสดงในรูปที่ 4.28และ 4.29



รูปที่ 4.28 แสดงการแตกของโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

รูปที่ 4.29แสดงการแตกของโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า

จากรูปที่ 4.28และ4.29เห็นว่าโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์แตกออกเป็นตุ่มจำนวนมากกว่าและเป็นตุ่มที่เด่นชัดซึ่งแต่ละตุ่มจะเจริญต่อไปเป็นต้นอ่อน ส่วนการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าตุ่มแตกน้อยกว่าและแยกไม่เด่นชัด ดังนั้นการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ทำให้เพิ่มจำนวนต้นอ่อนได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงโดยวิธีปกติ

จากตารางที่ 4.13และ 4.15 ยังพบว่าโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีการเจริญเติบโตดีกว่าเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า เนื่องจากผลที่ได้โพรโทคอร์มขนาดใหญ่มีจำนวนมากกว่าโพรโทคอร์มขนาดอื่นๆ เมื่อเทียบที่ปริมาณอาหารเพาะเลี้ยงเท่ากัน อีกทั้งการเจริญเติบโตสม่ำเสมอมากกว่าเพราะโพรโทคอร์มส่วนใหญ่ประกอบด้วยโพรโทคอร์มที่มีขนาดใหญ่ดังแสดงในรูปที่ 4.30และรูปที่ 4.31

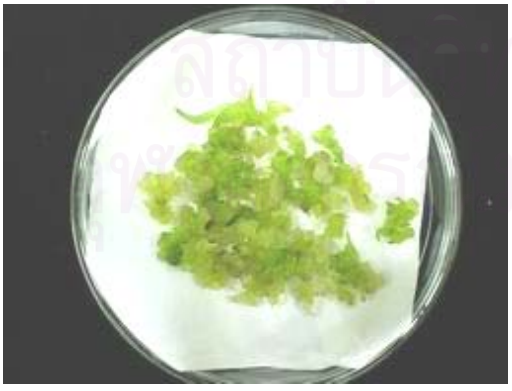
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขวดที่ 1

ขวดที่ 2

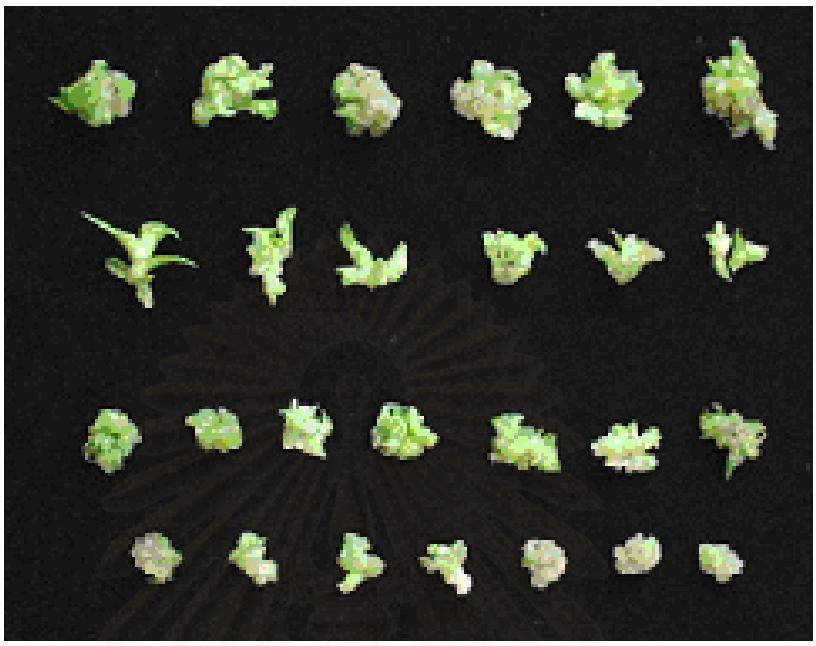
ขวดที่ 3

รูปที่ 4.30 ขนาดโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.31 ขนาดโพรโทคอร์มส่วนใหญ่หลังจากเพาะเลี้ยงหลังเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์

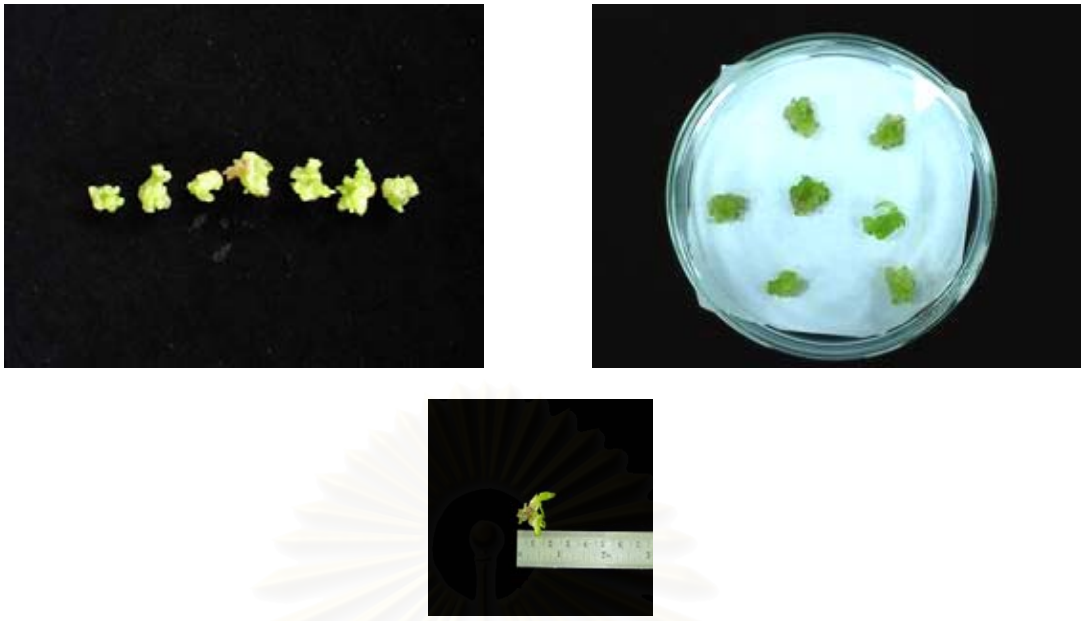
จากรูปที่ 4.31 จะเห็นว่าโพรโทคอร์มส่วนใหญ่ยังคงเป็นโพรโทคอร์มขนาดเล็กที่ยังไม่มีการแตก



รูปที่ 4.32 การกระจายขนาดของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงหลังเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์

จากรูปที่ 4.32 จะเห็นได้ว่าโพรโทคอร์มและต้นอ่อนที่ได้มีหลายขนาดแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ

รูปที่ 4.33 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.34 ขนาดโพรโทคอร์มส่วนใหญ่หลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 4 สัปดาห์

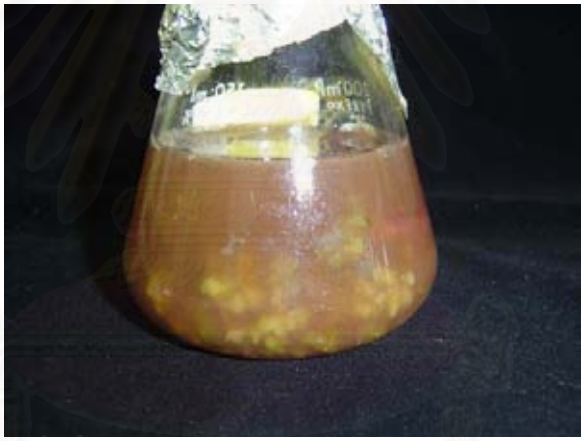
กระจายขนาดต้นอ่อน กระจายขนาดโพรโทคอร์ม

รูปที่ 4.35 การกระจายขนาดของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 4 สัปดาห์

จากรูป4.34และ4.35 จะเห็นได้ว่าโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีขนาดสม่ำเสมอเมื่อเปรียบเทียบกับโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าซึ่งมีขนาดไม่สม่ำเสมอประกอบด้วยโพรโทคอร์มหลายขนาดเนื่องจากได้อาหารไม่เท่ากันมีการแย่งอาหารกันภายในขวด อีกทั้งบางโพรโทคอร์มเหลืองซีดเนื่องจากได้อาหารไม่เพียงพอเพราะไม่มีการหมุนวียนของอาหารเหมือนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ดัง

แสดงในรูปที่ 4.36และจากการเพาะเลี้ยงจำนวน 10 ขวด มีบางขวดเกิดการติดเชื้อราขณะทำการเพาะเลี้ยงดังแสดงในรูป 4.37

รูปที่ 4.36 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.37 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเกิดการติดเชื้อระหว่างเพาะเลี้ยง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5.2 ผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากถังแก๊สแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้โดยวิธีเก่าคือการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ใน ขวดรูปชมพู่และใช้แผ่นอลูมิเนียมปิดและพันด้วยพลาสติก พบว่าต้นอ่อนเจริญเร็วมากในระยะแรก บางขวดตายในเดือนที่ 4 บาง ขวดการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ ซึ่งเกิดจากการขาดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เพราะการปิดฝาด้วยแผ่นอลูมิเนียม และพันด้วยพลาสติกเพื่อป้องกันการติดเชื้อและป้องกันไม่ให้ไอน้ำระเหยออก แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้การแพร่ของแก๊สน้อยลงด้วย หากหาวิธีทำให้แก๊สถ่ายเทได้ดีขึ้นและสามารถควบคุมการติดเชื้อได้ด้วย อาจทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นมากกว่าเดิม 3 เท่า ดังนั้นเพื่อเป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์จึงใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์พ่นเข้าภายในเครื่องปฏิกรณ์แทนเครื่องอัดอากาศนอกจากจะเป็นการเพิ่ม แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ให้แก่ต้นอ่อนแล้ว จากการทดลองพบว่าการติดเชื้อน้อยกว่าการใช้เครื่องอัดอากาศเนื่องจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่มาจากถังแก๊ส มีความบริสุทธิ์มากกว่าอากาศที่มาจากเครื่องอัดอากาศ และผลจากการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มโดยการใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แสดงดังตารางที่ 4.16

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.16 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

เวลา (สัปดาห์)	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	ความกว้าง (เซนติเมตร)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	จำนวนใบ	จำนวนต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)
0	0.0282	0.4	0.3	-	-	270	15.42
2	0.0369[a]	0.3	0.3	-	-	-	50.41
	0.2751[b]	0.7	0.6	-	-	-	
	0.4850[c]	1.0	1.1	-	-	-	
	0.1584[d]	1.8	0.2	1.1	2	-	
3	0.0415[a]	0.4	0.3	-	-	-	95.32
	0.2965[b]	0.9	0.6	-	-	-	
	0.5809[c]	1.2	1.1	-	-	-	
	0.1896[d]	1.8	0.2	1.3	2	-	
4	0.0396[a]	0.4	0.3	-	-	-	190.65
	0.2889[b]	1.1	1.0	-	-	-	
	0.7865[c]	1.5	1.4	-	-	-	
	0.2983[d]	2.5	0.2	1.3	2	-	
5	0.0496[a]	0.4	0.4			10	216.75
	0.3660[b]	1.0	1.0			45	
	0.8574[c]	1.6	1.4			220	
	0.3554[d]	1.9	0.2			26	

ตารางที่ 4.17 ขนาดเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อคิดต่ออาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร

เวลา (สัปดาห์)	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	ความกว้าง (เซนติเมตร)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	จำนวนใบ	จำนวนต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)
0	0.0282	0.4	0.3	-	-	20.25	1.16
2	0.0369[a]	0.3	0.3	-	-	-	3.78
	0.2751[b]	0.7	0.6	-	-	-	
	0.4850[c]	1.0	1.1	-	-	-	
	0.1584[d]	1.8	0.2	1.1	2	-	
3	0.0415[a]	0.4	0.3	-	-	-	7.15
	0.2965[b]	0.9	0.6	-	-	-	
	0.5809[c]	1.2	1.1	-	-	-	
	0.1896[d]	1.8	0.2	1.3	2	-	
4	0.0396[a]	0.4	0.3	-	-	-	14.30
	0.2889[b]	1.1	1.0	-	-	-	
	0.7865[c]	1.5	1.4	-	-	-	
	0.2983[d]	2.5	0.2	1.3	2	-	
5	0.0496[a]	0.4	0.4			0.75	16.26
	0.3660[b]	1.0	1.0			3.38	
	0.8574[c]	1.6	1.4			16.50	
	0.3554[d]	1.9	0.2			1.95	

น้ำหนักก่อนทำการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ 1.16 กรัม

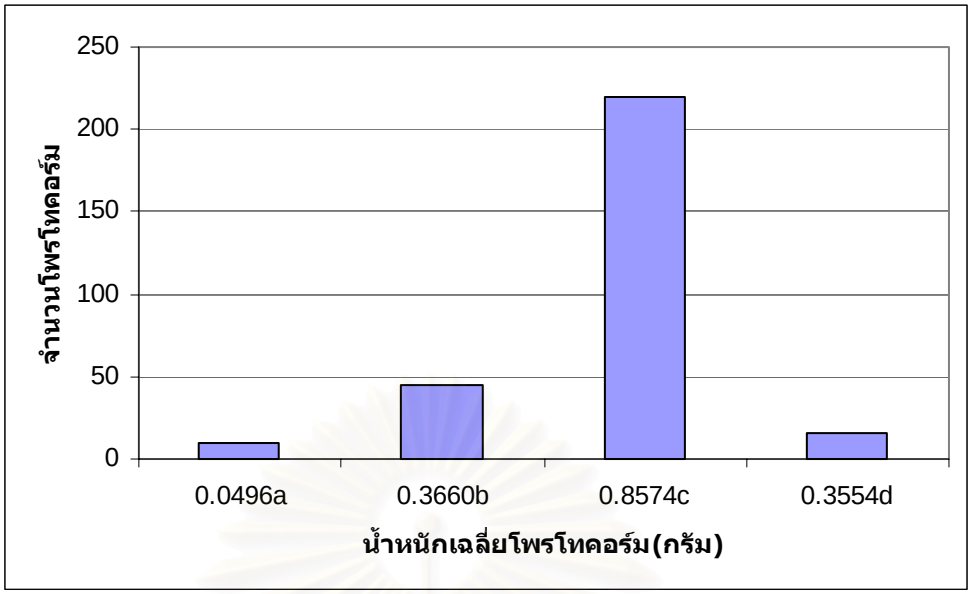
น้ำหนักรวมของโพรโทคอร์มขนาดต่างๆและต้นอ่อนเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 14.30 กรัม

น้ำหนักรวมของโพรโทคอร์มขนาดต่างๆและต้นอ่อนที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 13.14 กรัม

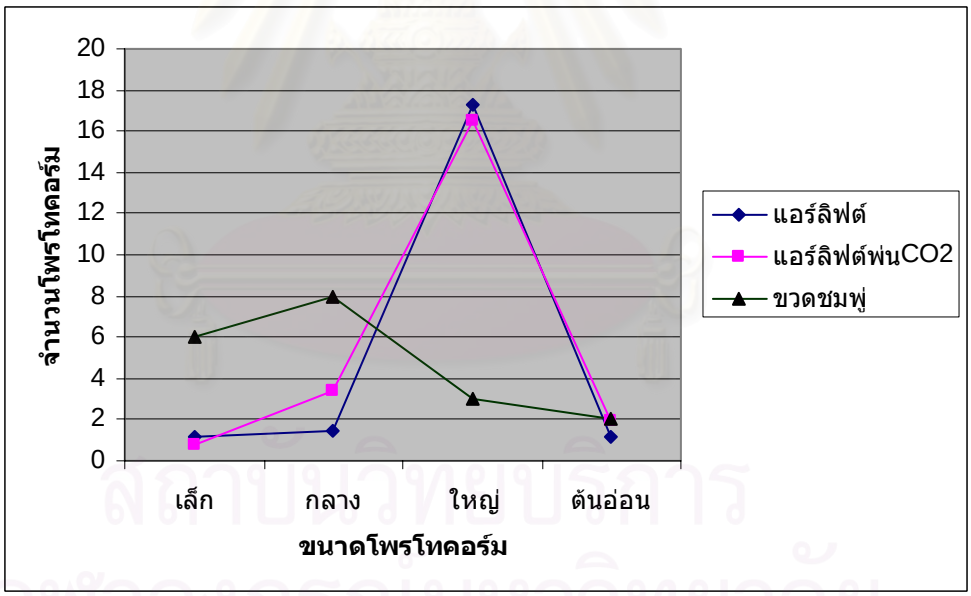
ตารางที่ 4.18 น้ำหนักเฉลี่ยโพรโทคอร์มและต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงโดยวิธีต่างๆเมื่อคิดต่ออาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตร

วิธีการเพาะเลี้ยง	น้ำหนักก่อนเพาะเลี้ยง (กรัม)	น้ำหนักหลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (กรัม)	น้ำหนักรวมที่เพิ่มขึ้น (กรัม)
ขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า	0.96	5.04	4.08
เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ใช้เครื่องอัดอากาศ	1.39	10.77	9.38
เครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์	1.16	14.30	13.14

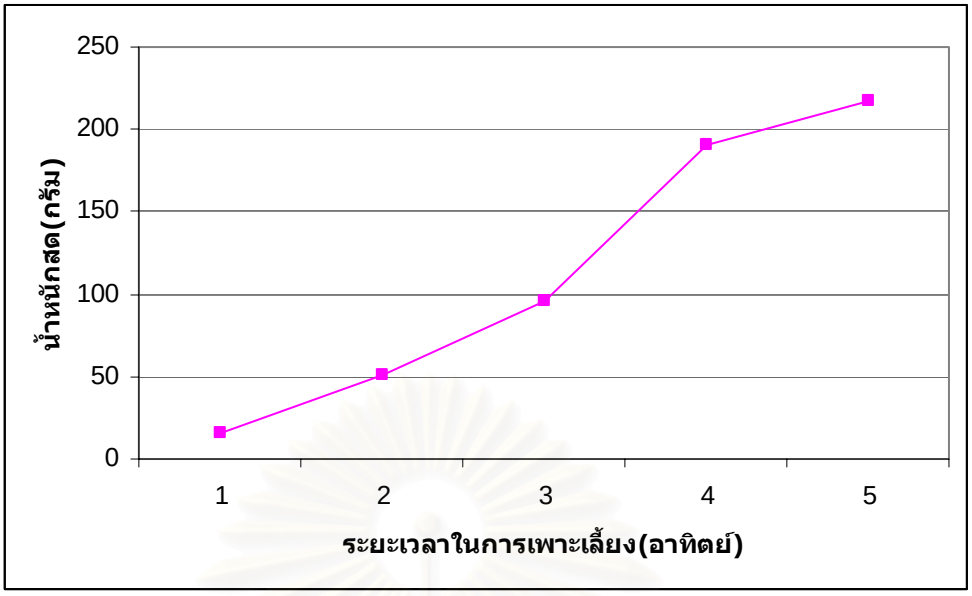
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



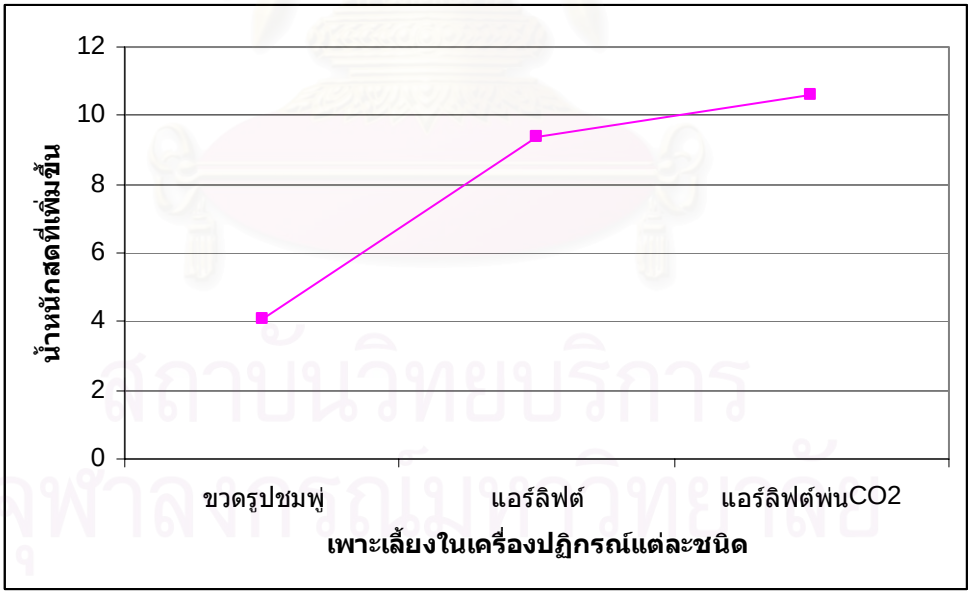
รูปที่ 4.38 แสดงจำนวนโพรโทคอร์มแต่ละขนาดหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 4 อาทิตย์



รูปที่ 4.39 แสดงการกระจายขนาดของโพรโทคอร์มกับการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แต่ละชนิด เป็นเวลา 4 อาทิตย์



รูปที่ 4.40 แสดงน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นกับระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์



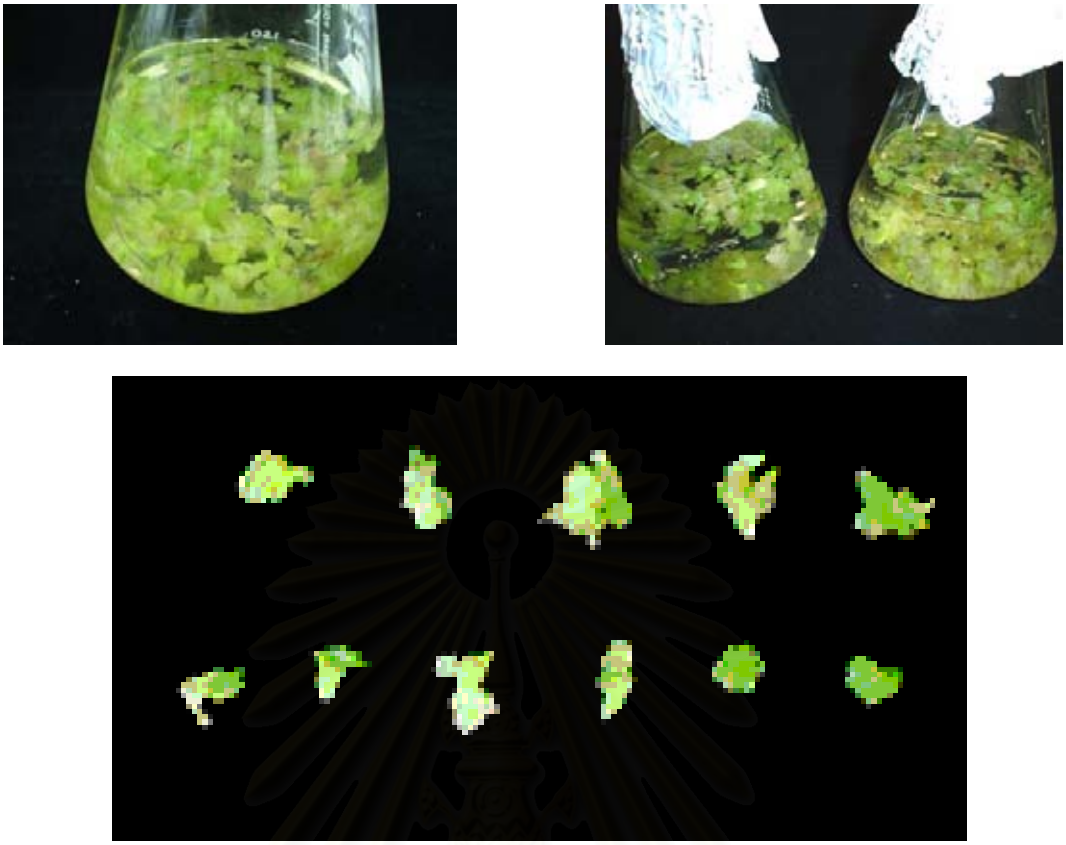
รูปที่ 4.41 แสดงน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นกับการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แต่ละชนิดเป็นเวลา 4 อาทิตย์

จากรูป 4.39 จะเห็นว่าการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าขนาดโพรโทคอร์มที่ได้ในกรณีเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์การเจริญเติบโตสม่ำเสมอคือประกอบด้วยโพรโทคอร์มขนาดใหญ่เป็นส่วนมากในขณะที่การเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ประกอบด้วยโพรโทคอร์มหลายขนาดเนื่องจากแต่ละโพรโทคอร์มได้อาหารไม่เท่ากันเกิดการแย่งอาหารซึ่งเนื่องมาจากพื้นที่จำกัด ปริมาณอาหารไม่เพียงพอ

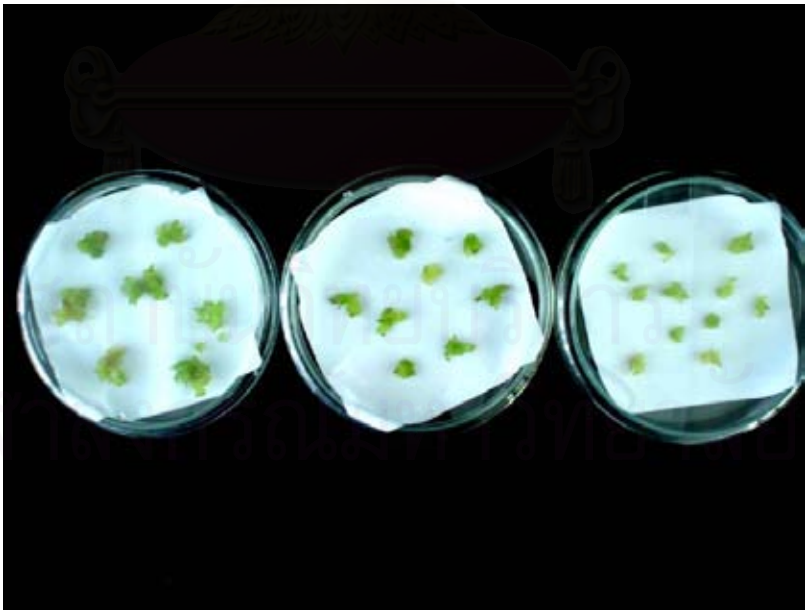
จากรูปที่ 4.40 พบว่าน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 4 อาทิตย์เนื่องมาจากเป็นช่วงที่โพรโทคอร์มแตกตุ่มได้ดีทำให้มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นแต่การเพิ่มน้ำหนักสดเพิ่มอย่างช้าๆในอาทิตย์ที่ 5 เนื่องมาจากโพรโทคอร์มแตกเต็มที่กำลังจะหลุดเป็นต้นอ่อน น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นส่วนใหญ่มาจากต้นอ่อนที่แยกตัวออกจากโพรโทคอร์ม

จากรูปที่ 4.41 พบว่าการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ให้น้ำหนักสดสูงที่สุดซึ่งเป็นผลมาจากได้รับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เพียงพอสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาสรุปไว้ว่าถ้าสามารถหาวิธีเพิ่มแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ให้แก่ต้นอ่อนได้มากกว่าวิธีปกติจะสามารถทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นได้ถึง 3 เท่า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

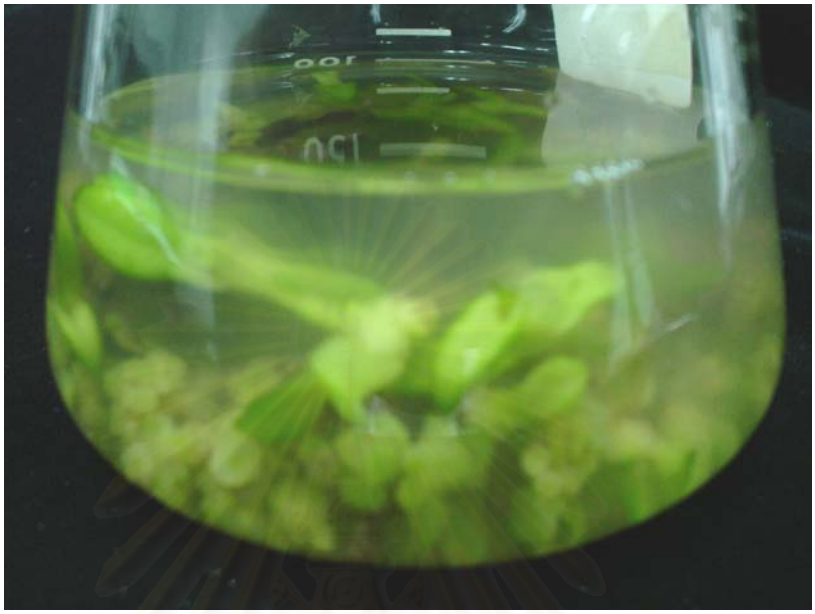


รูปที่ 4.42 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 สัปดาห์



รูปที่ 4.43 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่น เป็นเวลา 2 สัปดาห์

จากรูปที่ 4.43 จะเห็นว่ามีทั้งโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ โพรโทคอร์มขนาดกลาง โพรโทคอร์มขนาดเล็กและจะเห็นว่าเริ่มมีการแตกของโพรโทคอร์ม ขนาดใหญ่ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่ายังไม่มีการแตกของโพรโทคอร์มและไม่มีโพรโทคอร์มขนาดใหญ่



รูปที่ 4.44 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 3 สัปดาห์

รูปที่ 4.45 ลักษณะของโพรโทคอร์มขณะจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นอากาศ เป็นเวลา 3สัปดาห์

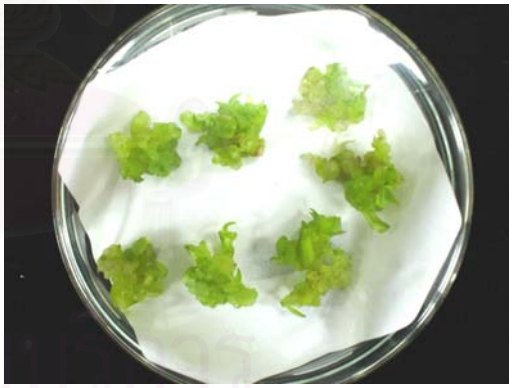
(ก)

(ข)

รูปที่ 4.46 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เมื่อ (ก) คือ ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 สัปดาห์

(ข) คือ ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศเป็นเวลา 4สัปดาห์



รูปที่ 4.47 ลักษณะของโพรโทคอร์มหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้โดยใช้ใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 4สัปดาห์

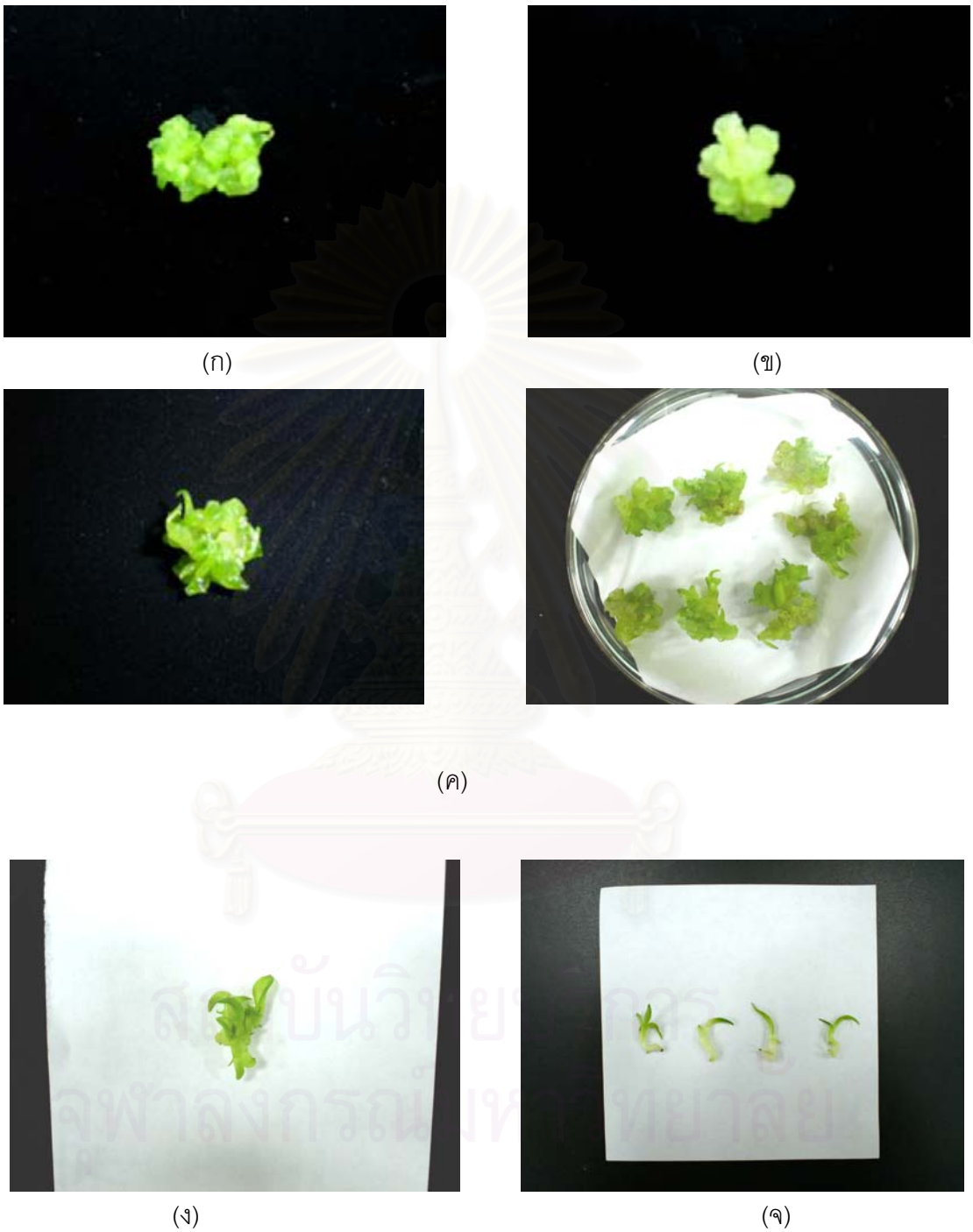
จากรูปที่ 4.47 จะเห็นว่าโพรโทคอร์มแตกตุ่มมากในช่วงสัปดาห์ที่ 4 เป็นผลทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงสัปดาห์ที่ 4 แรก

รูปที่ 4.48 ลักษณะของกลุ่มต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 5สัปดาห์

จากรูปที่ 4.47 จะเห็นว่ามีทั้งโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่พร้อมจะแตกเป็นต้นอ่อนอีกหลายต้นทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 4และต้นอ่อนที่กำลังจะหลุดเป็นต้นใหม่ในสัปดาห์ที่ 5ดังแสดงในรูปที่ 4.48 ทำให้ในสัปดาห์ที่ 5 น้ำหนักสดเพิ่มน้อยลงเนื่องจากโพรโทคอร์มหยุดแตกตัวแล้วน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นส่วนใหญ่มาจากน้ำหนักของต้นอ่อนที่หลุดมาโพรโทคอร์มจากในดังนั้นการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นทำให้การแตกเป็นต้นอ่อนเกิดได้ดีกว่าทั้งในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่น

รูปที่ 4.49 ลักษณะของต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 5สัปดาห์

จากรูปที่ 4.49จะเห็นว่าโพรโทคอร์มแตกออกเป็นต้นอ่อนได้หลายต้น ทำให้สามารถเพิ่มจำนวนต้นอ่อนได้มากกว่าวิธีปกติ



(ก) (ข)

(ค)

(ง) (จ)

รูปที่ 4.50 เปรียบเทียบขนาดและการแตกของโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงโดยวิธีต่างๆ

เมื่อ (ก) คือการแตกของโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่น

(ข) คือการแตกของโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า

(ค) คือการแตกของโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 4 สัปดาห์

(ง) คือกลุ่มต้นอ่อนที่แตกออกมาจากโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 5 สัปดาห์

(จ) คือต้นอ่อนที่แตกออกมาจากโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นอากาศเป็นเวลา 5 สัปดาห์

จากรูป 4.50 จะเห็นว่าการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลาเท่ากันโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่ามีการแตกออกเป็นตุ่มน้อยที่สุดเป็นตุ่มที่ไม่ชัดเจนอีกทั้งในหนึ่งขวดยังมีโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่กำลังจะแตกเป็นต้นใหม่จำนวนน้อย ส่วนโพรโทคอร์มเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศเริ่มมีตุ่มและกำลังจะแตกเป็นต้นอ่อนแต่การแตกออกเป็นตุ่มยังน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเพราะนอกจากเริ่มมีการแตกเป็นตุ่มแล้วยังจะเห็นว่าเริ่มแตกออกเป็นต้นอ่อนหลายต้นติดอยู่ที่โพรโทคอร์มและเริ่มมีบางโพรโทคอร์ม มีต้นอ่อนหลุดออกมาแสดงให้เห็นชัดเจนว่าการพ่นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลให้โพรโทคอร์มแตกมากทำให้มีต้นอ่อนเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบการการปลูกโดยวิธีอื่นๆ

4.5.3 ผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

จากการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มโดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นได้ประสบความสำเร็จเนื่องจากผลการทดลองพบว่าโพรโทคอร์มที่ได้หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 อาทิตย์มีการแตกเป็นตุ่มพร้อมที่จะเจริญเป็นต้นอ่อนต่อไปมีจำนวนมากกว่าการเพาะเลี้ยงโดยวิธีอื่นๆ และยังพบต้นอ่อนที่หลุดออกจากโพรโทคอร์มมีการเจริญเติบโตที่ดีในสัปดาห์ที่ 5 ดังนั้นเพื่อเป็นการย่นระยะเวลาในการทดลองเพราะเนื่องจากกว่าต้นอ่อนจะหลุดออกจากโพรโทคอร์มจนหมดต้องใช้เวลาอีกพอสมควร จึงลองเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อศึกษาว่าต้นอ่อนจะสามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ได้หรือไม่

และมีขนาดเท่าไหร่จึงควรนำออกจากปฏิกรณ์ และการทดลองในขั้นนี้ยังต้องการศึกษาในกรณีของเมื่อเพาะเลี้ยงขณะเป็นต้นอ่อนว่าการเจริญเติบโตมีอัตราเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงโดยวิธีปกติหรือไม่

รูปที่ 4.51 ลักษณะของโพรโทคอร์มเริ่มต้นในก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

รูปที่ 4.52 ลักษณะของต้นอ่อนขณะเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 3สัปดาห์

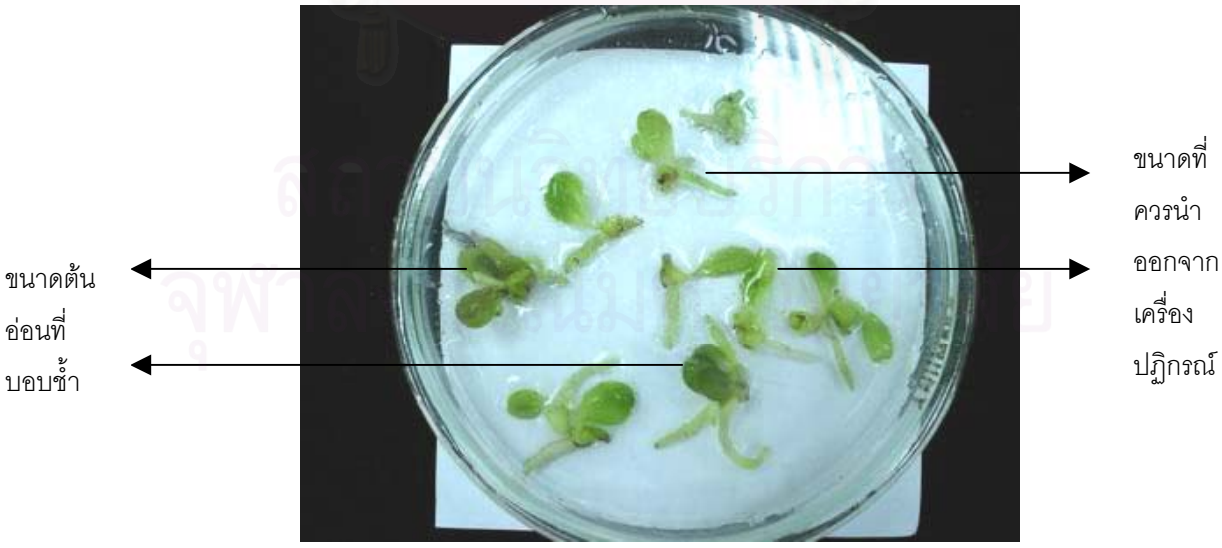
ตารางที่ 4.17 ขนาดและน้ำหนักเฉลี่ยต้นอ่อนหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

เวลา (สัปดาห์)	น้ำหนัก (กรัม)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	จำนวนใบ	จำนวนต้น	น้ำหนักรวม (กรัม)
0	0.0366	0.3	0.6	2	150	9.36
2	0.0765	0.5	1.2	2	-	18.96
3	0.1631	0.8	1.5	2	110	29.66

รูปที่ 4.53 ลักษณะของต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 2 สัปดาห์

รูปที่ 4.54 ลักษณะของต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 3 สัปดาห์

จากรูปที่ 4.54และ4.55 พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เป็นเวลา 3 อาทิตย์ บางต้นบอบช้ำ ดังนั้นเมื่อต้นอ่อนมีขนาดดังกล่าวในตาราง 4.17 ควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์เพื่อลดจำนวนต้นอ่อนที่ตาย



รูปที่ 4.55 ลักษณะของต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นเป็นเวลา 3 สัปดาห์

ตารางที่ 4.18 จำนวนต้นอ่อนที่ไม่ได้รับความบอบช้ำและได้รับความบอบช้ำหลังเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ โดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

เวลา(สัปดาห์)	จำนวนต้นที่ไม่ได้รับความบอบช้ำ	จำนวนต้นที่ได้รับความบอบช้ำ
2	-	-
3	71	39

หมายเหตุ: เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ยังไม่ได้นำต้นอ่อนออกมานับและคัดเลือกว่าบอบช้ำจำนวนกี่ต้นเนื่องจากต้องเพาะเลี้ยงต่อให้ครบ 3 สัปดาห์ถ้านำออกมานับจำนวนก่อนจะเกิดการติดเชื้อได้ ดังนั้นจึงได้คีบตัวอย่างต้นอ่อนออกโดยทำภายในตู้ปลอดเชื้อ จากตัวอย่างและการมองด้วยตาเปล่าภายในเครื่องปฏิกรณ์ไม่พบต้นที่ได้รับความบอบช้ำ

จากตารางที่ 4.18 พบว่าร้อยละของต้นอ่อนที่ไม่ได้รับความบอบช้ำมีค่าเท่ากับ 64.55%

จากรูปที่ 4.56 จะเห็นว่ามีต้นอ่อน 2 ขนาด ขนาดแรกเป็นขนาดที่ไม่บอบช้ำแต่เมื่อมีขนาดใหญ่ขึ้นเริ่มมีการบอบช้ำแสดงให้เห็นว่าต้นอ่อนมีขนาดดังกล่าวเป็นขนาดที่ควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์เพราะถ้ามีขนาดโตขึ้นกว่านี้จะได้รับความบอบช้ำทำให้อัตราการอยู่รอดต่ำแต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการตัดสินใจของผู้เพาะเลี้ยงว่าจะคุ้มกับการเสียต้นอ่อนไปหรือไม่ หรือจะนำออกตอนสัปดาห์ที่ 2 จะไม่ต้องสูญเสียต้นอ่อนไปแต่ต้นอ่อนที่ได้จะมีขนาดเล็กกว่า

4.5.3 ข้อเสียของการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า

ในขณะที่ทำการทดลองสิ่งที่สังเกตได้ในการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าพบว่า

4.5.3.1 **เกิดการติดเชื้อขั้นการเตรียมอาหาร**

ตั้งแต่ขั้นการเตรียมอาหารสามารถเกิดการติดเชื้อได้ในแต่ละขวดซึ่งในการเตรียม 5 ขวด อย่างน้อยติดเชื้อประมาณ 2 ขวด ดังแสดงในรูปที่4.57

รูปที่ 4.56 แสดงการติดเชื้อในขั้นการเตรียมอาหาร

4.5.4.2 เกิดการติดเชื้อในขั้นถ่ายต้นอ่อนลงขวดรูปชมพู่

รูปที่ 4.57 แสดงเกิดการติดเชื้อในขั้นถ่ายต้นอ่อนลงขวดรูปชมพู่

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5.4.3 พื้นที่จำกัดทำให้การเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ

รูปที่ 4.58 แสดงการเพาะเลี้ยงในขวดที่เล็กลง

จากรูปที่ 4.58 จะเห็นว่าบางโพรโทคอร์มไม่เจริญเติบโต มีการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอเนื่องจากพื้นที่มีจำกัด

4.5.4.4 อาหารไม่เพียงพอและอาหารหมดอายุทำให้สารอาหารเสื่อมทำให้ต้นอ่อนขาดอาหาร

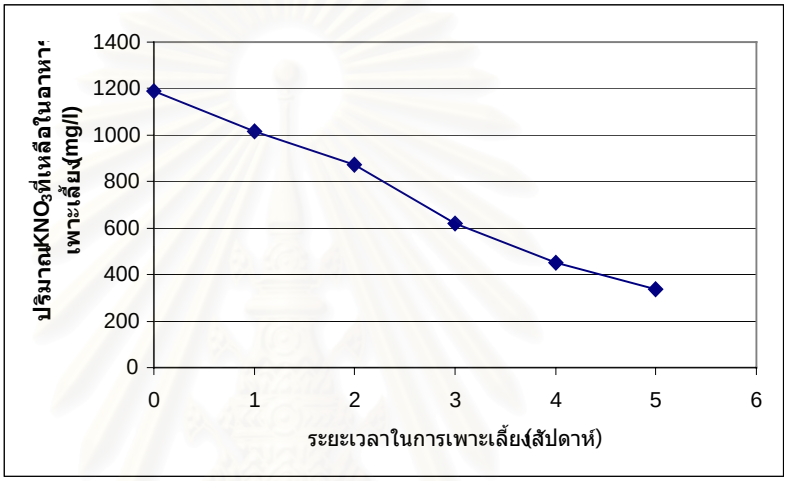
รูปที่ 4.59 แสดงการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน

จากรูปที่ 4.59 จะเห็นว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานโดยปราศจากการเติมอาหารเพิ่มทำให้สารอาหารไม่เพียงพอกับความต้องการของต้นอ่อนทำให้สีซีดและตายในที่สุด

เหล่านี้ล้วนเป็นปัญหาที่เกิดขึ้นกับการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่แต่ไม่พบเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ จึงเป็นแนวทางใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้เนื่องจากสามารถขจัดปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นได้

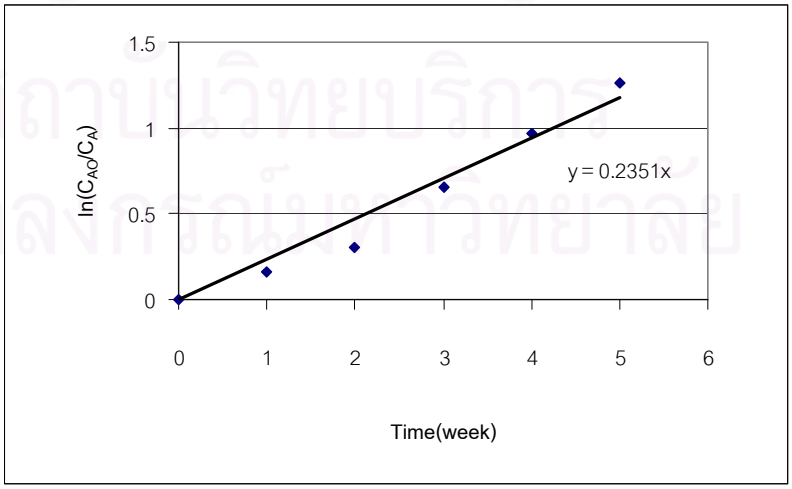
4.5.4 ปริมาณสารอาหารที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

นำอาหารเพาะเลี้ยงมาหาความเข้มข้นของสารอาหารที่เหลืออยู่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1,2,3,4 และ 5 สัปดาห์แล้วนำมาหาอัตราการใช้ไปของสารอาหารชนิดต่าง ๆดังแสดงดังรูป



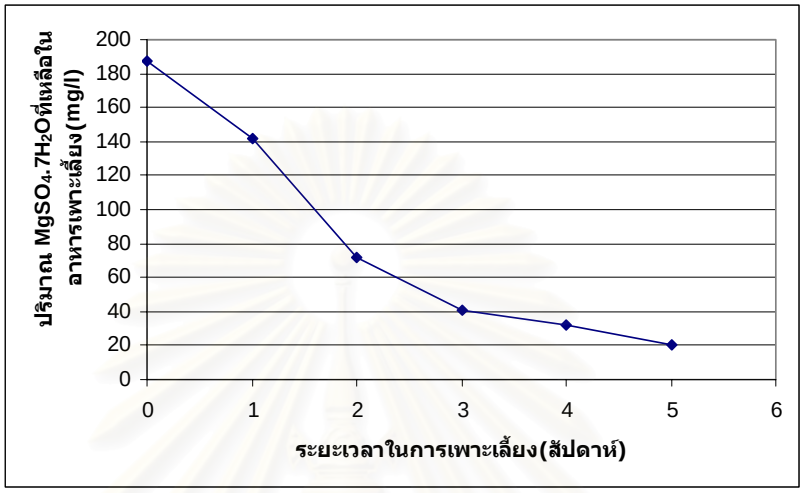
รูปที่ 4.60 แสดงปริมาณ KNO_3 ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.60 นำความเข้มข้น KNO_3 เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น KNO_3 ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.61



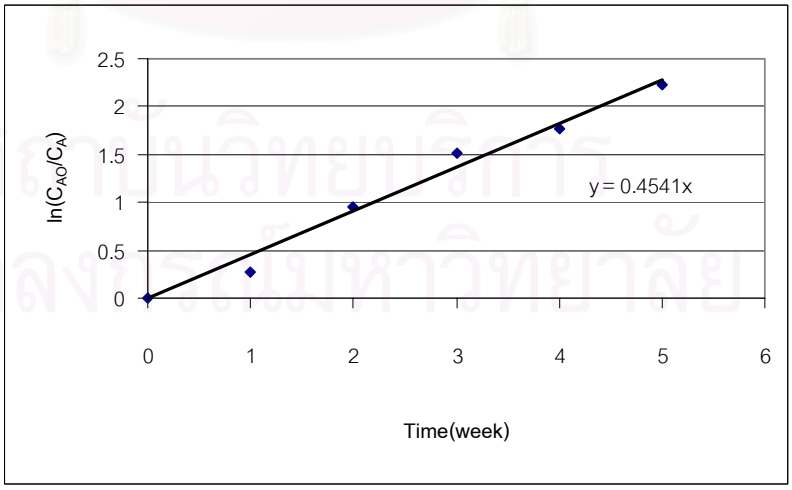
รูปที่ 4.61 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ของ KNO_3

จากรูปที่ 4.61 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.235 ดังนั้นอัตราการใช้ KNO_3 ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.235C_A$



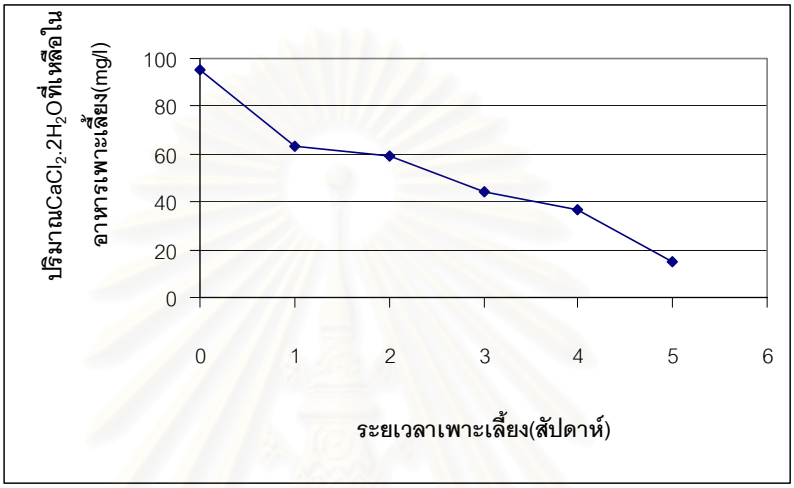
รูปที่ 4.62 แสดงปริมาณ $MgSO_4.7H_2O$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.62 นำความเข้มข้น $MgSO_4.7H_2O$ เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น $MgSO_4.7H_2O$ ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.63



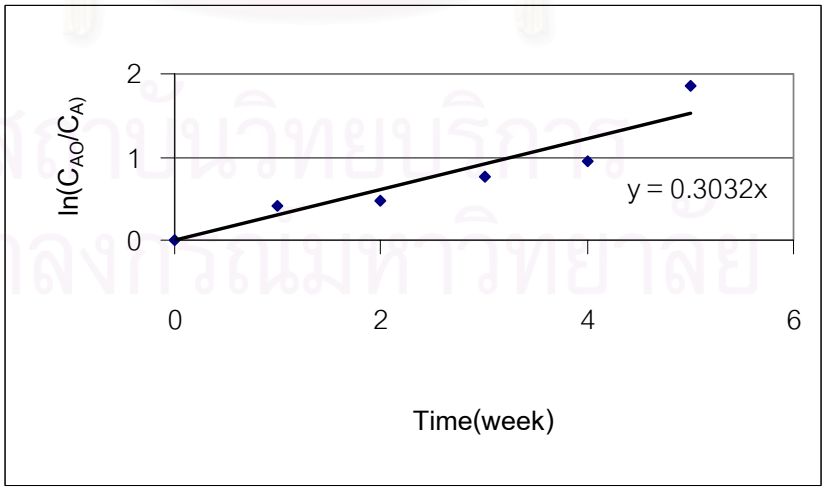
รูปที่ 4.63 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $MgSO_4.7H_2O$

จากรูปที่ 4.63 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.454 ดังนั้นอัตราการใช้ $MgSO_4.7H_2O$ ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.454C_A$



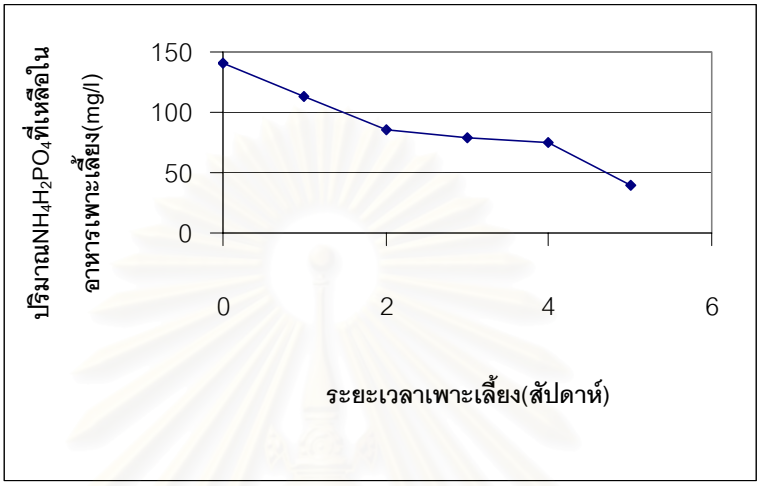
รูปที่ 4.64 แสดงปริมาณ $CaCl_2.2H_2O$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.64 นำความเข้มข้น $CaCl_2.2H_2O$ เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น $CaCl_2.2H_2O$ ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.65



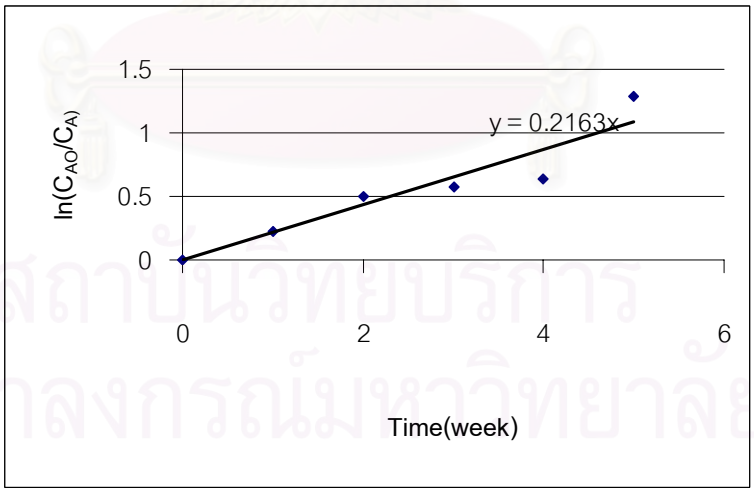
รูปที่ 4.65 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $CaCl_2.2H_2O$

จากรูปที่ 4.65 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.303 ดังนั้นอัตราการใช้ $CaCl_2.2H_2O$ ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.303C_A$



รูปที่ 4.66 แสดงปริมาณ $NH_4H_2PO_4$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

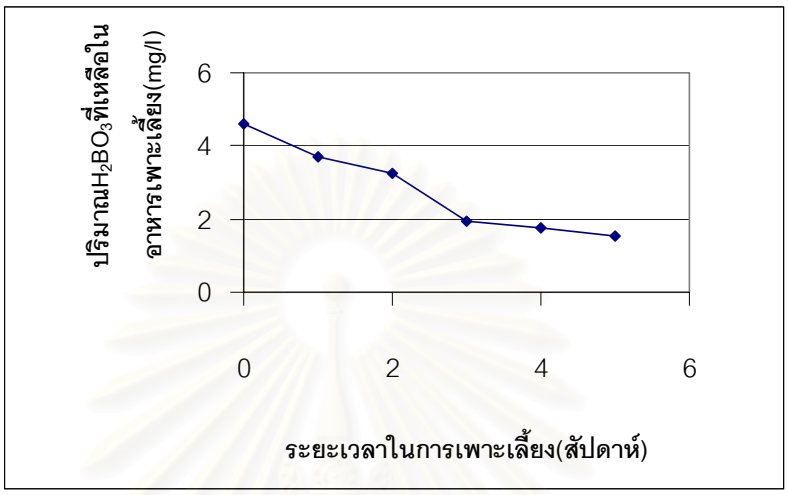
จากรูปที่ 4.66 นำความเข้มข้น $NH_4H_2PO_4$ เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น $NH_4H_2PO_4$ ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.67



รูปที่ 4.67 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $NH_4H_2PO_4$

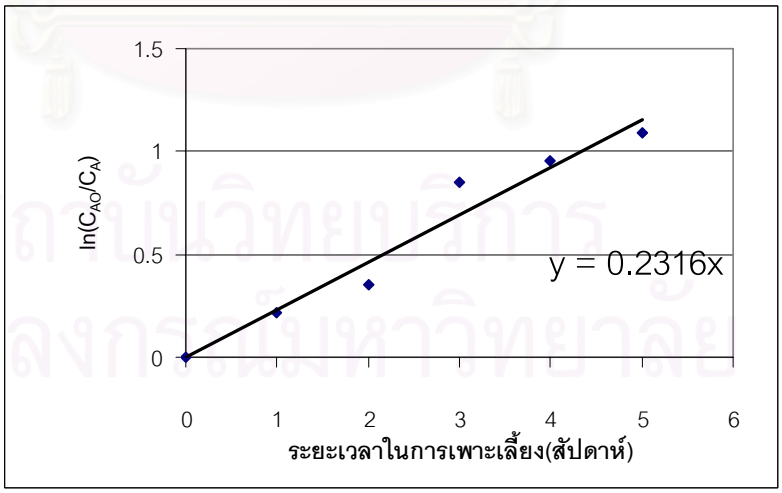
จากรูปที่ 4.67 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอิน

ทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.216 ดังนั้นอัตราการใช้ $NH_4H_2PO_4$ ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.216C_A$



รูปที่ 4.68 แสดงปริมาณ H_2BO_3 ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

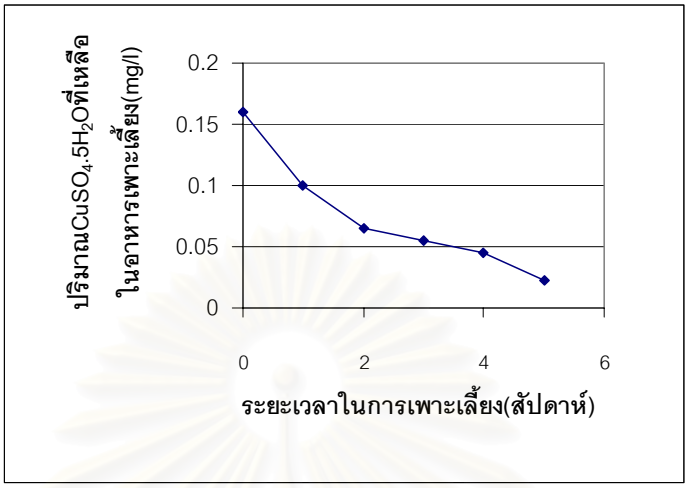
จากรูปที่ 4.68 นำความเข้มข้น H_2BO_3 เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น H_2BO_3 ที่เวลาต่างๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.69



รูปที่ 4.69 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ H_2BO_3

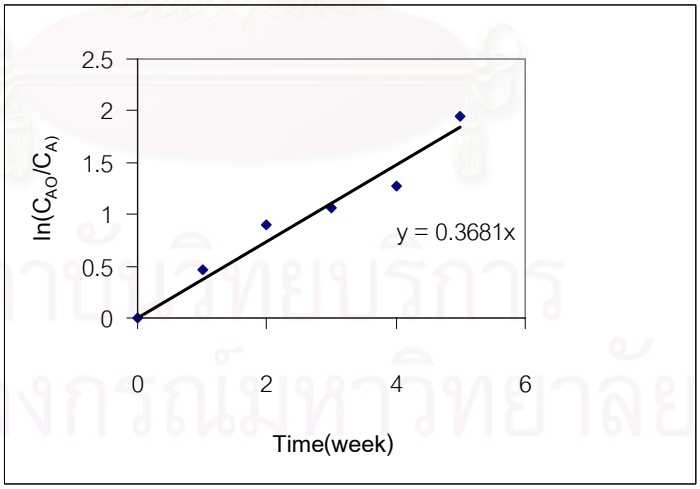
จากรูปที่ 4.67 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการ

อินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.231ดังนั้นอัตราการใช้ H_2BO_3 ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.231C_A$



รูปที่ 4.70แสดงปริมาณ $CuSO_4.5H_2O$ ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

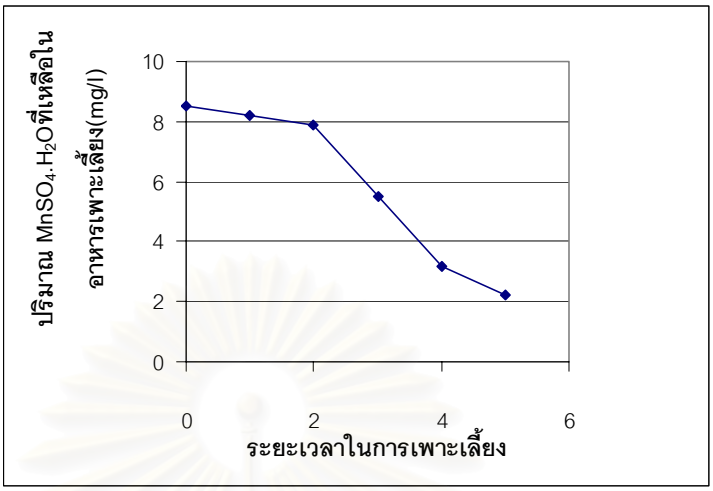
จากรูปที่ 4.70 นำความเข้มข้น $CuSO_4.5H_2O$ เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น $CuSO_4.5H_2O$ ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.71



รูปที่ 4.71 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $CuSO_4.5H_2O$

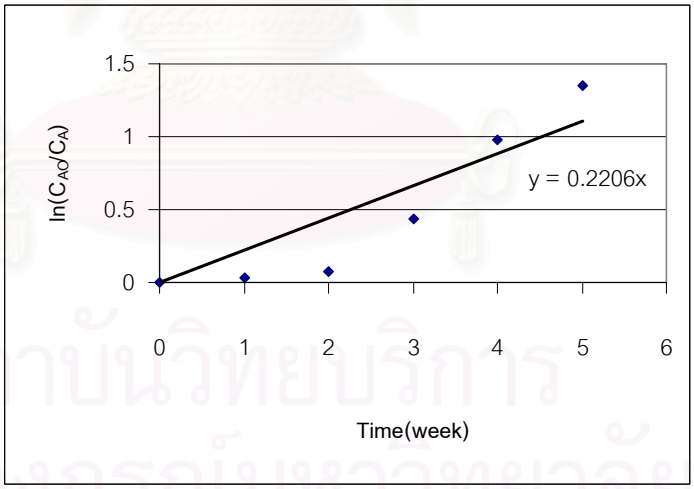
จากรูปที่ 4.71 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการ

อินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.231ดังนั้นอัตราการใช้ $CuSO_4.5H_2O$ ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.231C_A$



รูปที่ 4.72 แสดงปริมาณ $MnSO_4.H_2O$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

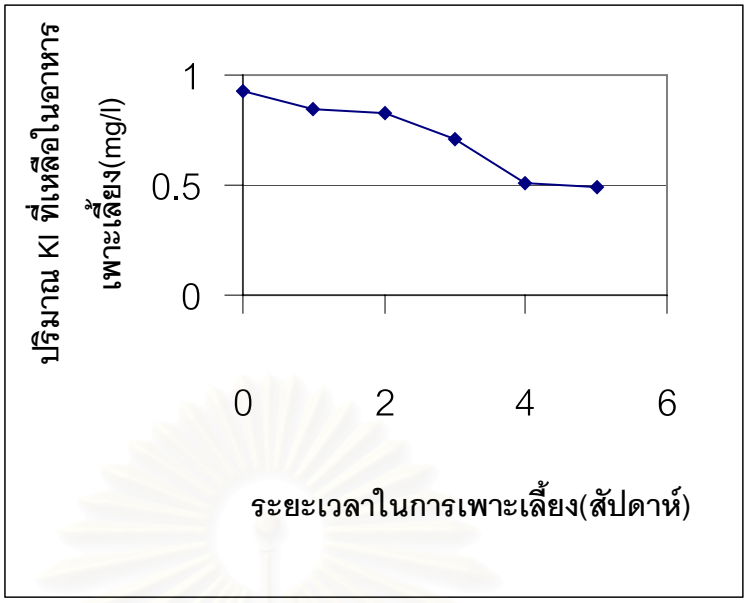
จากรูปที่ 4.72 นำความเข้มข้น $MnSO_4.H_2O$ เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น $MnSO_4.H_2O$ ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.73



รูปที่ 4.73 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $MnSO_4.H_2O$

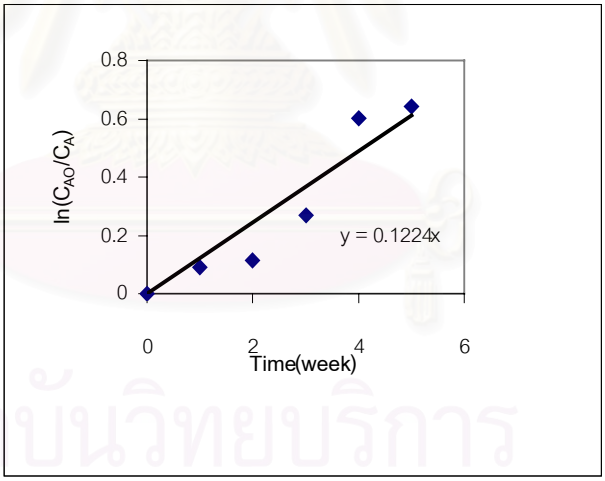
จากรูปที่ 4.73 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการ

อินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.221ดังนั้นอัตราการใช้ $MnSO_4.H_2O$ ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.221C_A$



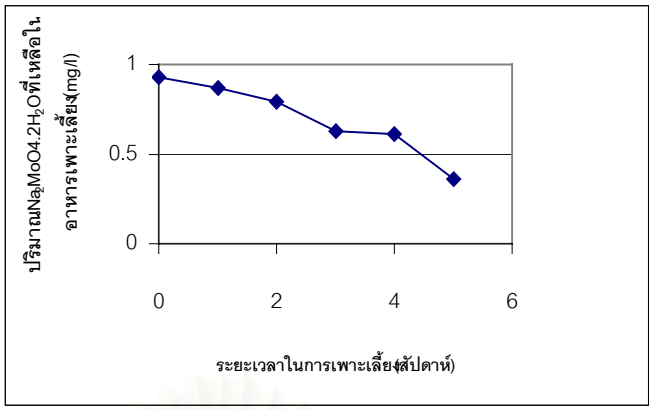
รูปที่ 4.74 แสดงปริมาณ KI ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.74 นำความเข้มข้น KI เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น KI ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.75



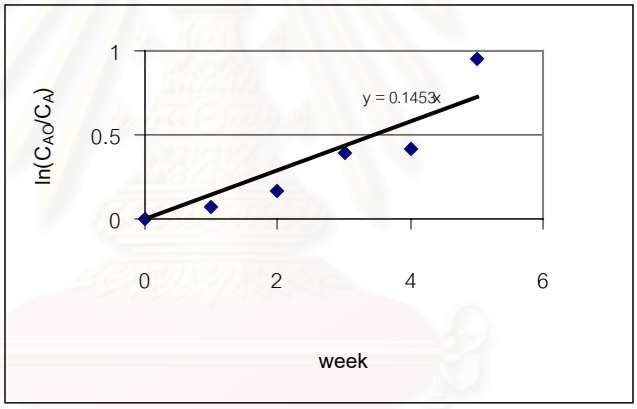
รูปที่ 4.75 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ KI

จากรูปที่ 4.75 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.122 ดังนั้นอัตราการใช้ KI ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.122C_A$



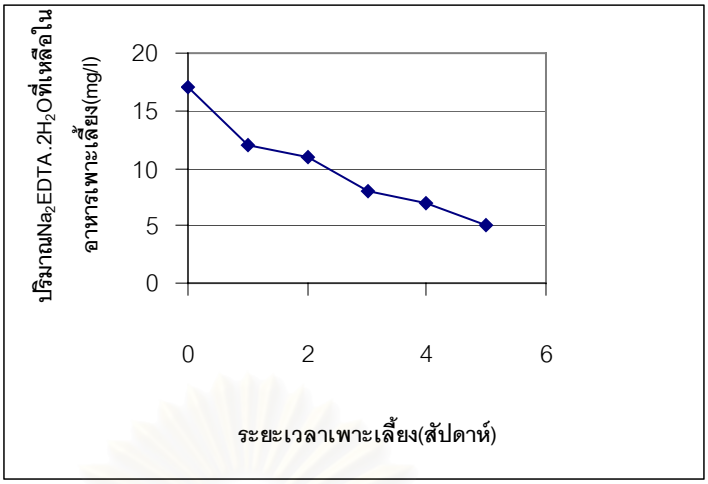
รูปที่ 4.76 แสดงปริมาณ $Na_2MoO_4.2H_2O$ ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.76นำความเข้มข้น $Na_2MoO_4.2H_2O$ เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น H_2BO_3 ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.77



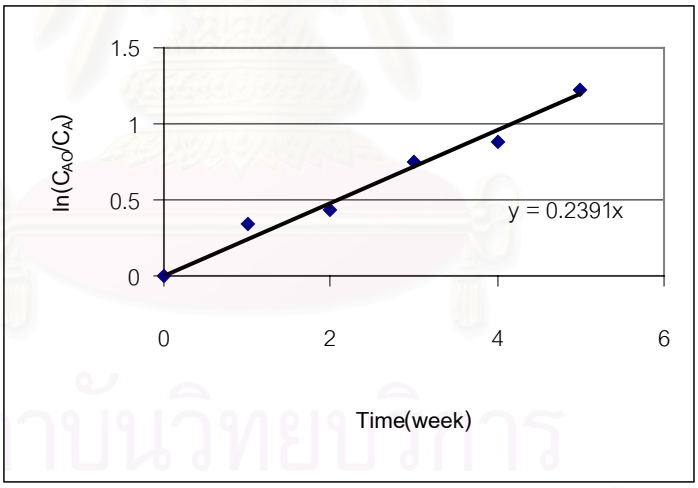
รูปที่ 4.77 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $Na_2MoO_4.2H_2O$

จากรูปที่ 4.77 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.145 ดังนั้นอัตราการใช้ $Na_2MoO_4.2H_2O$ ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.145C_A$



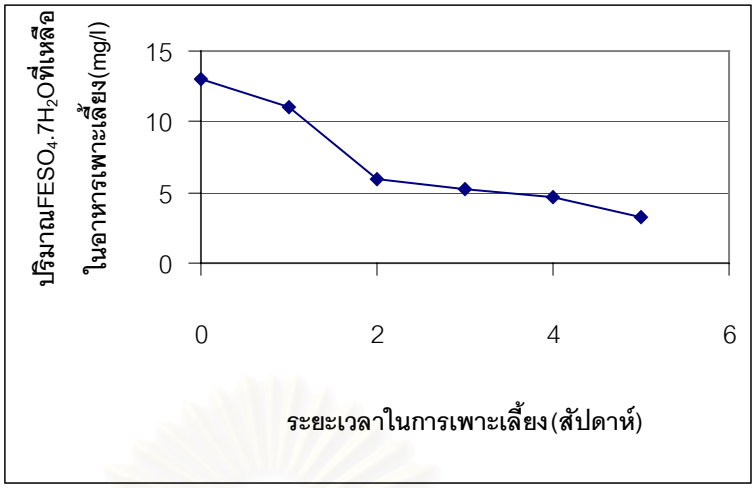
รูปที่ 4.78 แสดงปริมาณ $Na_2EDTA2H_2O$ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.78 นำความเข้มข้น $Na_2EDTA2H_2O$ เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น $Na_2EDTA2H_2O$ ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.79



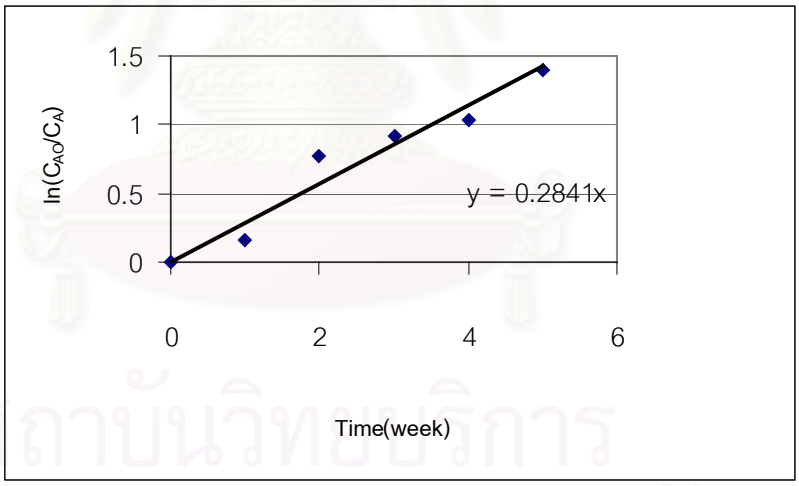
รูปที่ 4.79 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $Na_2EDTA2H_2O$

จากรูปที่ 4.79 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.239ดังนั้นอัตราการใช้ $Na_2EDTA2H_2O$ ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.239C_A$



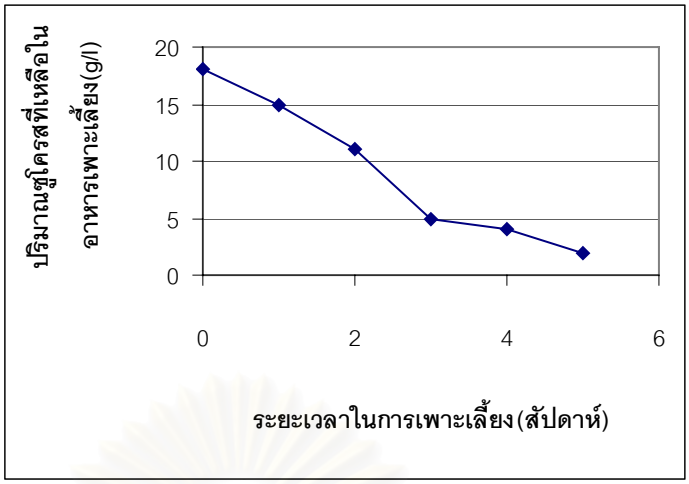
รูปที่ 4.80 แสดงปริมาณ $FeSO_4.7H_2O$ ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.80นำความเข้มข้น $FeSO_4.7H_2O$ เริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น $FeSO_4.7H_2O$ ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป lnC_A/C_{AO} แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.81



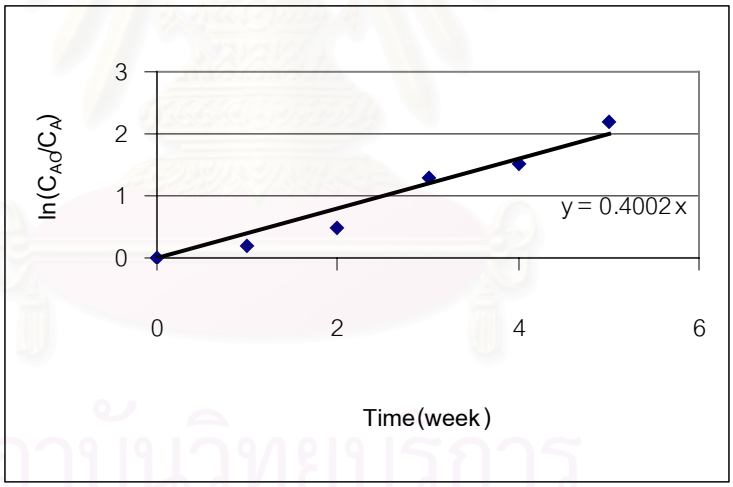
รูปที่ 4.81แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ $FeSO_4.7H_2O$

จากรูปที่ 4.81 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-lnC_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.284 ดังนั้นอัตราการใช้ $FeSO_4.7H_2O$ ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.284C_A$



รูปที่ 4.82 แสดงปริมาณ ซูโครส ที่เหลือในอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.82 นำความเข้มข้น ซูโครสเริ่มต้น (C_{AO}) และความเข้มข้น ซูโครส ที่เวลาต่าง ๆ (C_A) นำมาคำนวณในรูป $\ln C_A/C_{AO}$ แล้วนำมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.83



รูปที่ 4.83 แสดงการหาอันดับปฏิกิริยาและค่าคงที่ k ของ ซูโครส

จากรูปที่ 4.83 จะเห็นว่ากราฟระหว่าง $\ln(C_{AO}/C_A)$ กับ เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 และจากสมการ $-r_A = -dC_A/dt = kC_A$ เมื่อทำการอินทิเกรตจะได้ดังนี้ $-\ln C_A/C_{AO} = kt$ ดังนั้นค่าความชันที่ได้จากกราฟคือค่าคงที่ k จะได้ว่า k=0.4 ดังนั้นอัตราการใช้ ซูโครส ของต้นอ่อนกล้วยไม้ $-r_A = -dC_A/dt = 0.4C_A$

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ การทดลองเป็นดังนี้ คือ

1. การทดลองหาวิธีการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

2. การทดลองหาวิธีถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

3. การทดลองเปรียบเทียบจำนวนการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งในอาหารเหลว อาหารวุ้นและภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

3.1 ร้อยละการติดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

3.2 ร้อยละการติดเชื้อในขั้นถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ในขวดรูปชมพู่ทั้งอาหารเหลว อาหารวุ้นและในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

4. การทดลองหาขนาดต้นอ่อนที่สามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์

5. การทดลองเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour) ที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

5.1 การทดลองหาการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากเครื่องอัดอากาศ

5.2 การทดลองหาการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

5.3 การทดลองผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

1. **การทดลองหาวิธีการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์**

จากการทดลองได้ทำการสเตอริไรด์หลายวิธีเพื่อประยุกต์ให้เหมาะกับวัสดุที่ใช้สร้างเครื่องปฏิกรณ์ ผลที่ได้สรุปว่าเครื่องปฏิกรณ์ที่สร้างจากแก้วเมื่อผ่านการสเตอริไรด์แล้วสามารถเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเป็นระยะเวลามานโดยไม่เกิดการติดเชื้อ เนื่องจากแก้วสามารถทนทั้งความร้อนและยูวีได้ดังนั้นการสเตอริไรด์จึงสามารถนำไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) ได้และยังสามารถนำไปผ่านยูวีภายในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Fow Cabinet) เป็นเวลา 1 คืน ทำให้สามารถฆ่าสปอร์ราได้หมด จึงไม่เกิดราขึ้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน และจากการเติมอาหารภายในเครื่องปฏิกรณ์สามารถเติมได้ภายในตู้ปลอดเชื้อทำให้เชื้อโรคในอากาศผ่านเข้าไปไม่ได้ เนื่องจากออกแบบให้มีขนาดที่สามารถทำการถ่ายอาหารและต้นอ่อนภายในตู้ปลอดเชื้อได้ ดังนั้นเครื่องปฏิกรณ์ที่สร้างจากแก้วสามารถขจัดปัญหาการติดเชื้อได้ทั้งในขั้นการสเตอริไรด์ ขั้นการเติมอาหาร และขั้นการถ่ายต้นอ่อนลงเครื่องปฏิกรณ์ ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เครื่องปฏิกรณ์ที่สร้างจากแก้วในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้

2. **การทดลองหาวิธีถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ลงเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว**

หลังจากที่ได้ทำการทดลองถ่ายต้นอ่อนกล้วยไม้ด้วยวิธีต่างๆ พบว่าวิธีที่ดีที่สุดคือการถ่ายต้นอ่อนจากขวดแม่ลงในขวดรูปชมพู่ใส่น้ำกลั่น ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ เพื่อดูว่าขวดไหนไม่ติดเชื้อจึงนำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ เนื่องจากปัญหาการติดเชื้ออาจมาจาก 2 สาเหตุดังนี้

(1) เกิดมาจากขั้นการถ่ายต้นอ่อนภายในตู้ปลอดเชื้อ อาจเกิดการติดเชื้อเนื่องมาจากผู้ทำการทดลอง

(2) เกิดมาจากขวดแม่ ภายในขวดแม่อาจเกิดเชื้อราแต่มองไม่เห็นเพราะจำนวนต้นอ่อนหนาแน่น

จึงทำการแก้ปัญหาทั้ง 2 ปัญหาโดยการถ่ายลงในขวดรูปชมพู่ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อก่อน เพราะถ้าเกิดการติดเชื้อภายในขวดแม่ไม่สามารถมองเห็นได้ เนื่องจากต้นอ่อนหนาแน่นอาหารเพาะเลี้ยงภายในขวดแม่ก็เหลือน้อยราเจริญได้ไม่ดี การลดความหนาแน่นโดยแบ่งใส่ขวดรูปชมพู่ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อ จะสามารถเห็นการติดเชื้อได้ง่ายขึ้นและยังสามารถขจัดปัญหาที่ 1 ได้เพราะแต่ละขวดมีความเสี่ยงที่จะติดเชื้อเนื่องจากทักษะของผู้ทำการทดลองเอง เราสามารถเลือกขวดที่

ไม่เกิดการติดเชื้อหลังจากตั้งทิ้งไว้ 1 อาทิตย์ สามารถแน่ใจได้ว่าไม่เกิดเชื้อราขึ้น ดังนั้นวิธีนี้ปัญหาที่สามารถเกิดขึ้นได้

3. การทดลองเปรียบเทียบจำนวนการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งในอาหารเหลว อาหารวุ้นและภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้ว

การทดลองนี้เพื่อชี้ให้เห็นข้อดีของการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ เนื่องจากผลจากการทดลองการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ทั้งในอาหารเหลว อาหารวุ้นเกิดการติดเชื้อได้ทั้งในขั้นการเตรียมอาหาร การถ่ายต้นอ่อนลงขวด การย้ายลงขวดใหม่เมื่อต้นไม้เจริญเติบโตขึ้นและเมื่ออาหารหมด แต่ละขั้นล้วนมีความเสี่ยงในการติดเชื้อเพราะยิ่งเพิ่มจำนวนขวดในการเพาะเลี้ยงก็เพิ่มอัตราเสี่ยงในการติดเชื้อตามไปด้วย ซึ่งจากผลการทดลองสรุปได้ว่าเกิดการติดเชื้อในอาหารเหลวประมาณ 6.7%และอาหารวุ้นประมาณ 3.3% และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ประมาณ 20% และเกิดการติดเชื้อในอาหารหลังจากถ่ายต้นอ่อน พบว่าเกิดการติดเชื้อในอาหารเหลวประมาณ 26.7% และในอาหารวุ้นประมาณ 30% และในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ประมาณ 30% จะเห็นว่าร้อยละการติดเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีค่าสูงที่สุดเนื่องจากครั้งแรกที่ทำการทดลองผู้ทดลองยังขาดความชำนาญทำให้ติดเชื้อในครั้งแรกๆของการทำการทดลอง แต่เมื่อทำการทดลองจนเกิดความชำนาญในครั้งหลังๆจึงไม่เกิดการติดเชื้อขึ้นอีก

ดังนั้นถ้าเราสามารถทดลองจนหาวิธีการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพเพียงพอกับเครื่องปฏิกรณ์และกับระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และทดลองจนสามารถหาวิธีถ่ายต้นอ่อนลงเครื่องปฏิกรณ์โดยไม่เกิดการติดเชื้อ เมื่อเราสามารถควบคุมการติดเชื้อที่จะเกิดขึ้นในเครื่องปฏิกรณ์ได้โดยจากผลการทดลองที่ผ่านมาพอสรุปการสเตอริไรด์ที่เหมาะสมกับเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วได้แล้ว และขจัดปัญหาราที่มาจากอากาศได้โดยใช้ที่กรองอากาศและจากการทดลองทำให้สามารถสรุปได้ว่าที่กรองต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อทุก 2 อาทิตย์ และการถ่ายต้นอ่อนลงเครื่องปฏิกรณ์ทำตามวิธีที่ 2 ซึ่งเป็นวิธีที่ดีที่สุด จากการแก้ปัญหาในแต่ละขั้นที่ผ่านมาทำให้ประสบความสำเร็จสามารถเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากแก้วเป็นเวลานานถึง 5 อาทิตย์โดยไม่เกิดการติดเชื้อ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์จึงเป็นทางเลือกที่ดี ที่สามารถขจัดปัญหาการติดเชื้อได้

4. การทดลองหาขนาดต้นอ่อนที่สามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์

การทดลองนี้เพื่อเป็นแนวทางทำให้รู้ว่าต้นอ่อนขนาดเท่าใดจึงควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์ โดยยึดหลักคือต้องการให้ต้นอ่อนได้รับความบอบช้ำน้อยที่สุดทำให้ร้อยละอยู่รอดสูงขึ้น ซึ่งจากการทดลองเพาะเลี้ยงต้นอ่อนขนาดต่างๆดังนี้ ขนาด 5-6 เซนติเมตร ,ขนาด 3-4 เซนติเมตร,

ขนาด 2-2.5 เซนติเมตร, 0.5-1 เซนติเมตร โดยทำการเพาะเลี้ยงทั้งในเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากสแตนเลสและที่ทำจากแก้วเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ผลที่ได้พบว่าร้อยละการอยู่รอดของต้นอ่อนขนาดเล็กคือ 0.5-1 เซนติเมตรอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากแก้วมากที่สุดเป็นต้นที่ควรนำมาเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์และต้นอ่อนมีขนาดประมาณ 3-4 เซนติเมตร ควรนำออกจากเครื่องปฏิกรณ์เพราะถ้ารอจนมีขนาด 5-6 เซนติเมตรจะมีอัตราการอยู่รอดต่ำ ผลเป็นเช่นเดียวกับในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลสแต่ในทุกขนาดของต้นอ่อนมีร้อยละการอยู่รอดสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ทำจากสแตนเลส เนื่องมาจากเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากแก้วมีขนาดเล็กกว่าใช้อัตราการป้อนอากาศต่ำกว่าทำให้มีแรงเฉือนต่ำเป็นผลให้ร้อยละการอยู่รอดสูง และต้นอ่อนที่ได้จากเครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากสแตนเลสมีสีซีดเหลืองเนื่องจากเครื่องปฏิกรณ์ทึบแสงมีเพียงช่องกระจกให้แสงส่องผ่านซึ่งไม่เพียงพอกับความต้องการของต้นอ่อน ดังนั้นในการทดลองนี้เครื่องปฏิกรณ์ที่ทำจากแก้วจึงเหมาะที่สุดที่จะใช้ในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเพราะต้นอ่อนจะได้รับแสงเพียงพอกับการสังเคราะห์แสงของต้นอ่อน

5. เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour)ที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

5.1 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากเครื่องอัดอากาศ

จากการทดลองนำโพรโทคอร์มขนาดเล็กที่ได้จากการเพาะเมล็ด นำไปเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากเครื่องอัดอากาศ โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า พบว่าโพรโทคอร์มที่ได้หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ประกอบด้วยโพรโทคอร์ม 3 ขนาดคือโพรโทคอร์มเล็ก,โพรโทคอร์มกลางและโพรโทคอร์มใหญ่ ซึ่งจากผลการทดลองสรุปได้ว่าการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าโพรโทคอร์มที่ได้มีการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอประกอบไปด้วยโพรโทคอร์มทั้ง 3 ขนาดซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากโพรโทคอร์มแย่งอาหารกันเองด้วยอาหารและพื้นที่ที่จำกัดแต่ละโพรโทคอร์มจึงได้อาหารไม่เท่ากันเป็นผลให้เจริญเติบโตไม่เท่ากันด้วยอาหารและพื้นที่ที่จำกัดส่วนโพรโทคอร์มที่ได้หลังการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โพรโทคอร์มส่วนใหญ่ที่ได้เป็นโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ มีส่วนน้อยที่ยังเป็นโพรโทคอร์มเนื่องจากได้อาหารและอากาศที่เพียงพออีกทั้งอาหารเกิดการผสมอยู่ตลอดเวลาและมีการหมุนเวียนของอาหารให้แก่แต่ละโพรโทคอร์มทำให้แต่ละโพรโทคอร์มได้รับอาหารเท่าๆกันและได้รับเพียงพอกับความต้องการเนื่องจากมีการเติมอาหารใหม่ให้แก่ต้นอ่อนทุกอาทิตย์ทำให้การเจริญเติบโตสม่ำเสมอและการเจริญเติบโตดีเป็นที่น่าพอใจและจากรูปถ่ายโพรโทคอร์มที่ได้

หลังการเพาะเลี้ยงพบว่าโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีการแตกออกเป็นตุ่มมากกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าซึ่งสรุปได้ว่าการได้อากาศและอาหารที่เพียงพอเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการแตกของโพรโทคอร์มซึ่งนำไปสู่การแตกออกเป็นต้นอ่อนต้นใหม่เป็นผลให้การเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์สามารถเพิ่มจำนวนต้นอ่อนได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและจากผลการทดลองชั่งน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นเมื่อคิดที่ปริมาณอาหารเพาะเลี้ยง 150 มิลลิลิตรเท่ากันพบว่าน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีค่าเท่ากับ 9.38กรัมและน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่ามีค่าเท่ากับ 4.08 กรัมจะเห็นได้ว่าน้ำหนักสดเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีค่าสูงกว่าเนื่องมาจากโพรโทคอร์มที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ส่วนใหญ่เป็นโพรโทคอร์มขนาดใหญ่เพราะการเจริญเติบโตจากโพรโทคอร์มขนาดเล็กไปเป็นโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์เกิดได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าดังเหตุผลที่กล่าวมาแล้วคือได้รับอาหารและอากาศที่เพียงพอ อีกทั้งโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีการแตกตุ่มได้ดีกว่า ทั้ง 2 เหตุผลนี้ทำให้น้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์มีค่าสูงกว่า

5.2 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของโพรโทคอร์มที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์$_2$

ในการทดลองนี้ทำเพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์จึงใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์$_2$พ่นเข้าภายในเครื่องปฏิกรณ์แทนเครื่องอัดอากาศนอกจากจะเป็นการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ให้แก่ต้นอ่อนแล้ว จากการทดลองพบว่าการติดเชื้อน้อยกว่าการใช้เครื่องอัดอากาศเนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์$_2$ที่มาจากถังแก๊ส มีความบริสุทธิ์มากกว่าอากาศที่มาจากเครื่องอัดอากาศ และผลจากการเพาะเลี้ยงโพรโทคอร์มโดยการใช้แก๊ส คาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ13.14 ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 4.08 และการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ใช้เครื่องอัดอากาศน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 9.38 จะเห็นว่าการใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์$_2$พ่นในขณะเพาะเลี้ยงมีผลทำให้น้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นมากกว่าในการเพาะเลี้ยงโดยวิธีอื่นๆ เนื่องจากการทดลองพบว่าโพรโทคอร์มขนาดใหญ่หลังจากเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์ที่พ่นคาร์บอนไดออกไซด์มีการแตกตุ่มออกมากกว่าอีกทั้งโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้มีขนาดใหญ่กว่าการเพาะเลี้ยงโดยวิธีอื่นๆซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการได้รับคาร์บอนไดออกไซด์เพียงพอเป็นผลทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่คาดการไว้ว่าถ้าหาวิธีเพิ่ม

คาร์บอนไดออกไซด์ระหว่างการเพาะเลี้ยงได้จะสามารถทำให้น้ำหนักสดเพิ่มมากขึ้น จากผลการทดลองพ่นคาร์บอนไดออกไซด์ระหว่างเพาะเลี้ยงและชั่งน้ำหนักรวมระหว่างเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลาต่างๆ ผลที่ได้ดังนี้

- เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์น้ำหนักสดเท่ากับ 50.41 กรัม
- เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์น้ำหนักสดเท่ากับ 95.32 กรัม
- เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์น้ำหนักสดเท่ากับ 190.65 กรัม
- เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์น้ำหนักสดเท่ากับ 216.75 กรัม

จากผลการทดลองจะเห็นว่าในช่วงสัปดาห์ที่3ถึงสัปดาห์ที่4น้ำหนักสดเพิ่มมากขึ้นมากกว่าช่วงสัปดาห์อื่นและจากรูปถ่ายจะเห็นว่าในสัปดาห์ที่4โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้มีขนาดใหญ่และมีการแตกตุ่มอย่างเห็นได้ชัดและพร้อมแตกเป็นต้นอ่อนอีกหลายต้น ทั้งน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นและภาพถ่ายแสดงให้เห็นถึงการแตกตุ่มสรุปได้ว่าในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 4 เป็นช่วงที่โพรโทคอร์มขนาดใหญ่แตกตัวได้ดีในช่วงนี้เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ใช้เครื่องอัดอากาศการแตกตัวของโพรโทคอร์มเกิดได้ดีและเห็นตุ่มที่แตกออกชัดเจนกว่าอีกทั้งโพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่ได้มีขนาดใหญ่กว่า ดังนั้นในระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เท่ากันคือ 4 สัปดาห์สรุปได้ว่าการพ่นคาร์บอนไดออกไซด์ระหว่างเพาะเลี้ยงทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้น และน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นน้อยลงในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ถึงสัปดาห์ที่5เนื่องจากในสัปดาห์ที่ 4 การแตกตัวของโพรโทคอร์มขนาดใหญ่เกิดเต็มที่แล้วเมื่อเพาะเลี้ยงต่อจึงไม่มีการแตกตุ่มเพิ่มแล้วมีแต่การแตกออกของต้นอ่อนจากโพรโทคอร์มยืนยันได้จากรูปถ่ายต้นอ่อนที่นำออกจากเครื่องปฏิกรณ์พบต้นอ่อนเดียวๆที่กำลังจะแยกออกจากโพรโทคอร์มและพบต้นอ่อนที่หลุดออกจากโพรโทคอร์ม

ดังนั้นจากผลการทดลองและจากรูปถ่ายสรุปได้ว่า โพรโทคอร์มขนาดใหญ่ที่พร้อมจะแตกเป็นต้นอ่อนอีกหลายต้นทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 4 และต้นอ่อนที่กำลังจะหลุดเป็นต้นใหม่ในสัปดาห์ที่ 5ดังแสดงในรูปที่ 4.49 ทำให้ในสัปดาห์ที่ 5 น้ำหนักสดเพิ่มน้อยลงเนื่องจากโพรโทคอร์มหยุดแตกตัวแล้วน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นส่วนใหญ่มาจากน้ำหนักของต้นอ่อนที่หลุดมาโพรโทคอร์มจากในดังนั้นการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพ่นทำให้การแตกเป็นต้นอ่อนเกิดได้ดีกว่าทั้งในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศ

5.3 เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่าและเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

เนื่องจากผลการทดลองพบว่าโพรโทคอร์มที่ได้หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 อาทิตย์มีการแตกเป็นตุ่มพร้อมที่จะเจริญเป็นต้นอ่อนต่อไปมีจำนวนมากกว่าการเพาะเลี้ยงโดยวิธีอื่นๆ และยังพบต้นอ่อนที่หลุดออกจากโพรโทคอร์มมีการเจริญเติบโตที่ดีในสัปดาห์ที่ 5 ดังนั้นเพื่อเป็นการย่นระยะเวลาในการทดลองเพราะเนื่องจากกว่าต้นอ่อนจะหลุดออกจากโพรโทคอร์มจนหมดต้องใช้เวลาอีกพอสมควร จึงลองเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากถังแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์$_F$เพื่อศึกษาว่าต้นอ่อนจะสามารถอยู่รอดในเครื่องปฏิกรณ์ได้หรือไม่และมีขนาดเท่าไหร่จึงควรนำออกจากปฏิกรณ์ และการทดลองในขั้นนี้ยังต้องการศึกษาในกรณีของเมื่อเพาะเลี้ยงขณะเป็นต้นอ่อนว่าการเจริญเติบโตมีอัตราเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงโดยวิธีปกติหรือไม่

จากผลการทดลองที่ได้หลังที่ทำการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนขนาดเล็กเป็นเวลา 3 สัปดาห์พบว่าในสัปดาห์ที่ 2 ต้นอ่อนมีการยืดตัวที่ดีต้นอ่อนที่ได้ยังไม่ได้รับความบอบช้ำมากแต่เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์พบว่ามีต้นอ่อนที่ได้รับความบอบช้ำเกิดขึ้นเนื่องจากต้นอ่อนที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้นจึงทนต่อแรงเฉือนต่ำลง ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าร้อยละของต้นอ่อนที่ไม่ได้รับความบอบช้ำมีค่าเท่ากับ 64.55% ซึ่งจากผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าสามารถนำต้นอ่อนออกจากเครื่องปฏิกรณ์ตอนเพาะเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์จะไม่ทำให้ต้นอ่อนได้รับความบอบช้ำ ซึ่งขึ้นอยู่กับการตัดสินใจของผู้เพาะเลี้ยงว่าจะคุ้มกับการเสียต้นอ่อนไปหรือไม่ หรือจะนำออกตอนสัปดาห์ที่2 จะไม่ต้องสูญเสียต้นอ่อนไปแต่ต้นอ่อนที่ได้จะมีขนาดเล็กกว่า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กนกวรรณ วัฒนสโลบล. การผลิตสีแอนไซยานินจากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของพืชไข่เน่า *Vitex glabrate* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ Air-lift. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.

จิตราพรรณ พิลึก. การเพาะเมล็ดและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,2536.

ถาวร วัชราภัย และ มนทกานติ วัชราภัย. การศึกษาการเจริญของส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง:องค์ประกอบของอาหาร. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์,2519.

นิวัฒน์ คุปต์วิวัฒน์.การผลิตเอ็นไซม์เพนนิซิลินอะซิเลสในฟลูอิไดซ์เบด. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.

สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ. ฟลูอิดไดเซชั่น. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2528.

สิวลัย สุเภากิจ. การสร้างสูตรอาหารอนทรีย์พื้นฐานสำหรับต้นอ่อนและแคลลัสกล้วยไม้สกุลหวาย.วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.

วีระวุฒิ มหามนตรี.การศึกษาการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อกล้วยไม้โดยการบันทึกภาพเป็นระยะ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2516.

ภาษาอังกฤษ

Wongsuchoto, P., Charinpanitkul, T., Pavasant, P. Bubble size distribution and air-lift contractors, Chemical Engineering Journal, 2003, 92, p 81-90.

Krichnavaruk S., Pavasant P. Analysis of gas-liquid mass transfer in an airlift contractor with perforated plates, Chemical Engineering Journal, 2002, p 203-211.

Asenjo, J.A., Merchunk,J.C. Bioreactor system design, Marcel Dekker, Inc., California, 1995.

Moody, G.W., Baker, P.B. Bioreactor and biotransformations, Elsvier Applies Science Publishers, 1987.

Chisti, Y., Ulises J. Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors, Biochemical Engineering Journal, 2002, 10, p 143-153.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

เตรียมพืชทดลองแบบปลอดเชื้อ

1. เพาะจากเมล็ดกล้วยไม้

<u>อุปกรณ์</u>

หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave)

ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Fow Cabinet)

<u>การเตรียมพืชทดลอง</u>

เพาะเมล็ดกล้วยไม้ภายในตู้ปลอดเชื้อ โดยใช้ฝักกล้วยไม้อายุประมาณ 6 เดือน ฆ่าเชื้อที่ผิวของฝักกล้วยไม้ด้วยการจุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% แล้วผ่านเปลวไฟ นำเมล็ดกล้วยไม้มาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งที่ผ่านการนึงฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 120 องศาเป็นเวลา 15 นาที โดยใช้สูตรอาหาร สูตร Schenk และ Hildebrand ใส่น้ำตาล 20 g/l และน้ำมะพร้าว 100 ml/l ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml/l จนได้ โพรโทคอร์ม ที่มีอายุ 2 เดือน นับตั้งแต่เริ่มเพาะเมล็ด คัดขนาดเพื่อใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์

<u>การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง</u>

อาหาร สูตร Schenk และ Hildebrand

Macroelement ของสูตรอาหารของ Schenk and Hildebrandt (1972)

$NH_4H_2PO_4$	150	mg/l
$CaCl_2.2H_2O$	100	mg/l
$MgSO_4.7H_2O$	200	mg/l
KNO_3	1250	mg/l

Microelement ของสูตรอาหารของ Schenk and Hildebrandt (1972)

H_2BO_3	5	mg/l
$CoCl_2.6H_2O$	0.10	mg/l
$CuSO_4.5H_2O$	0.20	mg/l
$MnSO_4.H_2O$	10	mg/l
KI	1	mg/l

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.10	mg/l
$ZnSO_4.7H_2O$	1	mg/l
Na_2 EDTA.$2H_2O$	20	mg/l
$FeSO_4.7H_2O$	15	mg/l

สารที่ทำให้อาหารกึ่งแข็ง

วุ้น 8 กรัมต่อลิตร

1.3.1 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่

เมื่อเติม Macroelementและ Microelementครบแล้วเติมน้ำตาลทราย 20 g/l ใช้น้ำมะพร้าวอ่อนหรือน้ำมะพร้าวแก่ที่กรองผ่านกระดาษกรอง ใช้น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 ลิตรในกรณีของอาหารแข็งเติมวุ้น 8 g/l แล้วนำไปผ่านความร้อนจนวุ้นละลาย จากนั้นนำทั้งอาหารเหลวอาหารแข็งใส่ขวดรูปชมพู่ปริมาณอาหาร 150 ml ต่อขวดนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 120 องศาเป็นเวลา 15 นาที

1.3.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์

เมื่อเติมอาหารเพาะเลี้ยงสูตรเดียวกับที่เตรียมในขวดรูปชมพู่เติมไปเติมลงในเครื่องปฏิกรณ์นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 120 องศาเป็นเวลา 15 นาที

2. การถ่ายต้นอ่อน

นำโพรโทคอร์ม ที่มีอายุ 2 เดือน นับตั้งแต่เริ่มเพาะเมล็ดคัดให้ขนาดพอๆกันสุ่มตัวอย่างมา 10 ชิ้นนำมาชั่งน้ำหนักวัดความยาวความกว้างแล้วหาค่าเฉลี่ยโดยค่าเฉลี่ยที่ได้คือ น้ำหนัก0.0282 กรัม ความยาว 0.35 เซนติเมตร ความกว้าง0.25 เซนติเมตร

2.1 การถ่ายต้นอ่อนในขวดรูปชมพู่

เตรียมชั่งน้ำหนักขวดรูปชมพู่ที่ใส่อาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและนำโพรโทคอร์มที่คัดขนาดไว้แล้วนำมาใส่ในขวดรูปชมพู่ภายในตู้ปลอดเชื้อหุ้มปากขวดด้วยแผ่นอลูมิเนียมนำไปชั่งน้ำหนักและคำนวณน้ำหนักเริ่มต้นก่อนทำการเพาะเลี้ยงโดยทำการเพาะเลี้ยงจำนวน 5 ขวด แต่ละขวดมีจำนวน 20 โพรโทคอร์ม เป็นเวลา 4 สัปดาห์โดยให้แสงจากจากหลอดฟลูออเลสเซท์ Phillips TL 40 W/33 เปิดไฟ16 ชั่วโมงต่อวัน

จากนั้นนำโพรโทคอร์มและต้นอ่อนที่ได้ออกจากขวดนำมาชั่งน้ำหนักและคัดขนาดว่าเป็นโพรโทคอร์มขนาดใดตามตารางที่ 4.14 จากนั้นนับจำนวนโพรโทคอร์มในแต่ละขนาด นำค่าที่ได้ในแต่

ละขวดมาหาค่าเฉลี่ยดังแสดงค่าในตาราง 4.15 ถ่ายรูปโพรโทคอร์มในแต่ละขนาดเพื่อดูการแตกของโพรโทคอร์มและเพื่อนำมาเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในเครื่องปฏิกรณ์

2.2 การถ่ายต้นอ่อนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศ เตรียมชั่งน้ำหนักเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์ที่ใส่อาหารเพาะเลี้ยงปริมาณ 2 ลิตรที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำขวดรูปชมพู่ที่ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อและผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำโพรโทคอร์มที่คัดขนาดไว้แล้วนำมาใส่ในขวดรูปชมพู่ภายในตู้ปลอดเชื้อโดยทำการเพาะเลี้ยงจำนวน 10 ขวด ตั้งบนเครื่องเขย่ารอดูผล 1 สัปดาห์เลือกขวดที่ไม่ติดเชื้อนำมาถ่ายลงในเครื่องปฏิกรณ์โดยนับให้มีจำนวน 270 โพรโทคอร์ม ชั่งน้ำหนักและคำนวณน้ำหนักเริ่มต้นก่อนทำการเพาะเลี้ยงจากนั้นพ่นอากาศด้วยอัตราเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์โดยให้แสงจากจากหลอดฟลูออเลสเซท์ Phillips TL 40 W/33 เปิดไฟ16 ชั่วโมงต่อวัน

จากนั้นนำโพรโทคอร์มและต้นอ่อนที่ได้ออกจากเครื่องปฏิกรณ์นำมาชั่งน้ำหนักและคัดขนาดว่าเป็นโพรโทคอร์มขนาดใดตามตารางที่ 4.14 จากนั้นนับจำนวนโพรโทคอร์มในแต่ละขนาดนำมาคำนวณต่ออาหารเพาะเลี้ยง 150 ml ค่าที่ได้แสดงค่าในตาราง 4.13 ถ่ายรูปโพรโทคอร์มในแต่ละขนาดเพื่อดูการแตกของโพรโทคอร์มและเพื่อนำมาเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่บนเครื่องเขย่า

2.3 การถ่ายต้นอ่อนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยพ่นอากาศจากถังแก๊สCO_2 การเตรียมและการเพาะเลี้ยงเหมือนกรณีของเครื่องปฏิกรณ์แบบแอร์ลิฟต์โดยใช้เครื่องอัดอากาศเป็นตัวพ่นอากาศแตกต่างตรงที่ใช้แก๊สCO_2เป็นตัวพ่นอากาศแทนที่เครื่องอัดอากาศและในการเพาะเลี้ยงทุก 2,3,4 และ5 สัปดาห์ จะนำเครื่องเครื่องปฏิกรณ์ไปชั่งน้ำหนักเพื่อนำมาคำนวณน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นหลังการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลาต่างๆและคีบตัวอย่างโพรโทคอร์มขนาดต่างๆภายในตู้ปลอดเชื้อเพื่อนำมาชั่งน้ำหนัก วัดความกว้าง ความยาวและถ่ายรูปเพื่อดูการเจริญเติบโตและดูการแตกของโพรโทคอร์ม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวทัชการณ์ บุณยประสิทธิ์ เกิดวันที่ 4 มกราคม พ.ศ. 2523 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีวิศวกรรม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2544 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตบัณฑิต สาขาวิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2545

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย