



คู่มือปฏิบัติการ

การดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการ
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

โดย

นางสาวปริยานัฐ หงษ์ทอง

นักวิชาการศึกษา ระดับปฏิบัติการ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

คำนำ

คู่มือการปฏิบัติงาน เรื่องการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์สำหรับใช้เป็นคู่มือในการปฏิบัติงานของนักวิชาการศึกษา เพื่อสนับสนุนการเรียนการสอน และการวิจัย สำหรับ คณาจารย์ นักศึกษา หรือบุคลากรที่เกี่ยวข้องทั้งภายนอก และภายใน และเป็นแนวทางปฏิบัติให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน ในการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อให้เกิดประโยชน์ และประสิทธิภาพสูงสุดของหน่วยงานรวมทั้งสามารถปฏิบัติงานแทนกันได้ สามารถเรียนรู้งานเร็วขึ้นทั้งตอนที่เข้ามาทำงานใหม่ หรือตอนที่ย้ายงานใหม่มีขั้นตอนในการทำงานที่แน่นอน ทำให้การปฏิบัติงานง่ายขึ้น

ผู้เขียนขอขอบคุณประธานหลักสูตรการผลิตพืช และอาจารย์ประจำหลักสูตรทุกท่านที่ให้การสนับสนุนในการเขียนคู่มือฉบับนี้ ผู้เขียนหวังว่าคู่มือการปฏิบัติงาน เรื่อง การดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ได้รับมอบหมายในการปฏิบัติงานด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป

ปรียาณัฐ หงษ์ทอง
นักวิชาการศึกษา ระดับปฏิบัติการ
เมษายน 2564

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญภาพ	ง
สารบัญตาราง	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของคู่มือการปฏิบัติงาน	2
1.3 ประโยชน์ของคู่มือการปฏิบัติงาน	2
1.4 ขอบเขตคู่มือ	3
1.5 คำจำกัดความ	3
บทที่ 2 โครงสร้าง ภารกิจหน่วยงาน และบทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบ	5
2.1 โครงสร้างการบริหารจัดการขอคณะเทคโนโลยีการเกษตร	5
2.2 ภาระหน้าที่ของคณะเทคโนโลยีการเกษตร	8
2.3 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งนิสิตวิชาการศึกษา	13
2.4 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง (เลขที่ 5603210)	15
บทที่ 3 หลักเกณฑ์วิธีการปฏิบัติงานและเงื่อนไข	18
3.1 หลักเกณฑ์การปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	18
3.2 ข้อควรระวัง และสิ่งที่ควรคำนึงถึงในการปฏิบัติงาน	32
3.3 จรรยาบรรณ/คุณธรรม/จริยธรรมในการปฏิบัติงาน	36
บทที่ 4 กระบวนการและขั้นตอนการปฏิบัติงาน	37
4.1 แผนในการปฏิบัติงาน	37
4.2 ขั้นตอนการปฏิบัติงานในการเตรียมอุปกรณ์	38
4.3 ขั้นตอนการปฏิบัติงานในการเตรียมสารเคมี	62
4.4 การติดตามผลการปฏิบัติงาน	85
บทที่ 5 ปัญหาอุปสรรค แนวทางในการแก้ไข และพัฒนางาน	86
5.1 ปัญหาอุปสรรค แนวทางในการแก้ไข และพัฒนางาน	86
5.2 ข้อเสนอแนะ	92

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม	93
ภาคผนวก (ถ้ามี)	
ก องค์ประกอบของสารเคมีต่าง ๆ ในการเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution)	95
ข ตัวอย่างแบบฟอร์ม และบันทึกข้อความการแจ้งซ่อมอุปกรณ์/เครื่องมือห้องปฏิบัติการ	103
ค แบบฟอร์มใบขออนุมัติซื้อพัสดุเบื้องต้นในการขอซื้อวัสดุการเรียนการสอนรายวิชา	107
ประวัติผู้เขียน	112



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงโครงสร้างองค์การคณะเทคโนโลยีการเกษตร (Organization Chart)	6
2.2 แสดงโครงสร้างการบริหารของหน่วยงาน (Administration Chart) คณะเทคโนโลยีการเกษตร	7
2.3 แสดงโครงสร้างการปฏิบัติงานของนักวิชาการศึกษา สาขาการผลิตพืช	12
3.1 แสดงตัวอย่างแผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	24
4.1 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเตรียมอาหาร	39
4.2 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องย้ายเนื้อเยื่อพืช	47
4.3 แสดงแบบฟอร์มการขอใช้งานอุปกรณ์/เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ	52
4.4 แสดงการลงชื่อใช้งานในสมุด Log book ประจำเครื่องมือวิทยาศาสตร์	53
4.5 แสดงแบบประเมินความพึงพอใจการใช้บริการงานห้องปฏิบัติการ	54
4.6 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	57
4.7 แสดงแผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี	61
4.8 แสดงการเขียนฉลากติดขวดสารเคมีของอาหารสังเคราะห์สูตร MS	67
4.9 แสดงการเขียนฉลากติดขวดสารเคมีของอาหารสังเคราะห์สูตร VW	69
4.10 แสดงการเขียนฉลากติดขวดของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช	72
4.11 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution)	77
4.12 แสดงขั้นตอนการเตรียมแอลกอฮอล์ 70 %	79
4.13 แสดงภาพตู้เก็บสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	84
4.14 แสดงภาพบัญชีรายชื่อสารเคมี และการจัดเก็บตามหมวดหมู่	84

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงแผนการปฏิบัติงานในการจัดเตรียมอุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับปฏิบัติการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในของภาคการศึกษา	37
4.2 แสดงรายชื่อสารเคมีที่จัดเก็บในตู้เก็บสารเคมีของห้องปฏิบัติการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร	80
5.1 แสดงปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ปัญหา และการพัฒนางาน	86
ตารางผนวกที่	
1 แสดงองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962)	96
2 แสดงองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ สูตร VW (Vacin and Went, 1949)	98
3 แสดงการเปลี่ยนค่าหน่วยของสารควบคุมการเจริญเติบโตจากมิลลิกรัม/ลิตร (mg/l) ไปเป็นไมโครโมลาร์ (μM)	99
4 แสดงสารควบคุมการเจริญเติบโต ตัวทำละลาย และสภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษา	100
5 แสดงสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	101

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี มุ่งผลิตนักปฏิบัติ พัฒนานวัตกรรม และสร้างสรรค์นวัตกรรมทางการเกษตรในสาขาวิชาการผลิตพืช สาขาวิชาเทคโนโลยี ภูมิทัศน์ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ สาขาวิชาประมง และสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เพื่อตอบสนองความต้องการของชุมชนและประเทศชาติ การจัดการเรียนการสอน และมุ่งมั่นจัดการศึกษาและวิจัย ผลิตนวัตกรรม และนวัตกรรมที่ทรงคุณค่าต่อเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม เพื่อการพัฒนาประเทศอย่างยั่งยืน มุ่งสร้าง และถ่ายทอดองค์ความรู้ โดยเน้นการวิจัย และการฝึกปฏิบัติที่สามารถชี้แนะ และช่วยแก้ปัญหา และพัฒนาการเกษตรในทุกระดับ โดยบัณฑิตนักปฏิบัติ ที่สำเร็จการศึกษามีความรู้เชิงปฏิบัติ ก้าวทันเทคโนโลยี มีทักษะในการสื่อสาร และมีเสรีภาพ ทางความคิด และขยายโอกาสทางการศึกษาให้กับชุมชน และท้องถิ่น เป็นผู้นำด้านการวิจัย ที่ก่อให้เกิดความสมดุลทางเพื่อการพัฒนาการเกษตรเทคโนโลยี และนวัตกรรมการเกษตร เพื่อการพัฒนาการเกษตรอย่างยั่งยืน

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) เป็นเทคโนโลยีแขนงหนึ่งที่มีประโยชน์ ต่อการผลิตพืชเป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นขยายพันธุ์พืชหรือการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการนำเอา ชิ้นส่วนใดชิ้นส่วนหนึ่งของพืช มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบไปด้วยแร่ธาตุ วิตามิน น้ำตาล กรดอะมิโน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ (Aseptic Condition) โดยอยู่ภายในสภาพแวดล้อมที่ควบคุม เช่น อุณหภูมิ แสงสว่างและความชื้น ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของพืช สำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น เป็นห้องที่มีความพิเศษโดยเฉพาะในการควบคุมสภาพแวดล้อมที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งควบคุมอุณหภูมิ และแสงได้ โดยทั่วไปจะแบ่งเป็นห้อง 3 ส่วนหลัก ๆ คือ 1.ห้องเตรียมอาหาร (Media Preparation Room) 2.ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (Transfer Room) 3.ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture Room) ปัจจุบัน เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีบทบาทสำคัญมากในการศึกษาหลาย ๆ ด้าน ได้แก่ ทางด้านการเกษตร ด้านเภสัชวิทยา ด้านวิทยาศาสตร์ และด้านเกษตรอุตสาหกรรม เป็นต้น

งานสนับสนุนการเรียนการสอนของนักวิชาการศึกษา ระดับปฏิบัติการ เป็นภาระงานหลัก ที่ต้องปฏิบัติ นับเป็นการปฏิบัติงานที่มีกระบวนการที่ไม่เหมือนกับการปฏิบัติงานในสายอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากการปฏิบัติงานในสายนี้ต้องอาศัยทั้งความรู้ทางทฤษฎี และทักษะทางปฏิบัติ

ที่ถูกต้อง และครบถ้วน ในการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น มีขั้นตอนการเตรียมหลายขั้นตอน เช่น การเตรียมอุปกรณ์ในการตัดย้ายเยื่อพืชต้องมีความสะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์เจือปน และการจัดเตรียมสารเคมีรวมทั้งเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution) มีความถูกต้อง และครบถ้วน สิ่งเหล่านี้มีผลต่อประสิทธิภาพในการจัดเตรียมเพื่อใช้สนับสนุนในการเรียนการสอนรายวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช วิชาเทคโนโลยีชีวภาพของพืช วิชาหลักการปรับปรุงพันธุ์พืช ให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ของหน่วยงาน

จากความเป็นมา และความสำคัญดังกล่าวผู้ปฏิบัติจึงได้มาเขียน คู่มือปฏิบัติงานการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้น เพื่อให้ทราบขั้นตอนในการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต่าง ๆ เช่น การจัดเตรียมอุปกรณ์ และสารเคมีในการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ปฏิบัติงานแทน และผู้ที่สนใจในการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหน่วยงาน สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

1.2 วัตถุประสงค์ของคู่มือการปฏิบัติงาน

1.2.1 เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถจัดเตรียมอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแทนกันได้

1.2.2 เพื่อสนับสนุนการเรียนการสอน และการวิจัยของอาจารย์ในคณะฯ ให้ดำเนินการไปอย่างมีประสิทธิภาพ

1.2.3 เพื่อให้การปฏิบัติงานเป็นไปตามมาตรฐานเดียวกัน และปฏิบัติงานให้มีความผิดพลาด ในการทำงานลดน้อยลง สร้างความเป็นมืออาชีพในการปฏิบัติงาน

1.3 ประโยชน์ของคู่มือการปฏิบัติงาน

1.3.1 ผู้ปฏิบัติงานได้ทราบขั้นตอนหรือรายละเอียด ในจัดเตรียมอุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแทนกันได้

1.3.2 สนับสนุนการเรียนการสอน และการวิจัยของอาจารย์ในคณะฯ ให้ดำเนินการไปอย่างมีประสิทธิภาพ

1.3.3 การปฏิบัติงานเป็นไปตามมาตรฐานเดียวกัน และลดข้อผิดพลาดในการปฏิบัติงาน สร้างความเป็นมืออาชีพแก่ผู้ปฏิบัติงาน

1.4 ขอบเขตคู่มือ

คู่มือปฏิบัติงาน การดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นคู่มือให้กับผู้ปฏิบัติงานของหน่วยงานคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ปฏิบัติหน้าที่ดูแลงานห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยมีขอบเขตครอบคลุมขั้นตอนการปฏิบัติงานการจัดเตรียมอุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อใช้ในการสนับสนุนการเรียนการสอน รายวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช รายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพของพืช และรายวิชาหลักการปรับปรุงพันธุ์พืช ที่ต้องจัดเตรียมเป็นประจำ ก่อนลงมือทำการปฏิบัติการ ซึ่งเป็นการยึดถือแนวทางการปฏิบัติให้เกิดประโยชน์ และประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งมีระยะเวลาในการดำเนินการ 1 เดือน ก่อนเปิดภาคเรียน และคอยสนับสนุนรายวิชาภาคปฏิบัติในระหว่างการเรียนการสอนในของแต่ละภาคการศึกษา

1.5 คำจำกัดความ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) เป็นเทคโนโลยีแขนงหนึ่งที่มีประโยชน์ต่อการผลิตพืชเป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นขยายพันธุ์พืชหรือการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการนำเอาชิ้นส่วนใดชิ้นส่วนหนึ่งของพืช มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบไปด้วยแร่ธาตุ วิตามิน น้ำตาล กรดอะมิโน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ (Aseptic Condition) โดยอยู่ภายในสภาพแวดล้อมที่ควบคุม เช่น อุณหภูมิ แสงสว่าง และความชื้น ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของพืช

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง เป็นห้องปฏิบัติการที่จัดขึ้นเพื่อการปฏิบัติงานที่มีความพิเศษโดยเฉพาะในการควบคุมสภาพแวดล้อมที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งควบคุมอุณหภูมิ และแสงได้ โดยทั่วไปจะแบ่งเป็นห้อง 3 ส่วนหลัก ๆ คือ 1.ห้องเตรียมอาหาร (Media Preparation Room) 2.ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (Transfer Room) 3.ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture Room)

สารเคมี หมายถึง สารหรือวัสดุที่ได้ใช้หรือได้จากกระบวนการเคมี เป็นธาตุหรือสารประกอบที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีและสมบัติทางกายภาพ และทางเคมีเฉพาะตัว

สารเคมีสำหรับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสูตรอาหารสังเคราะห์ ได้แก่ สารอนินทรีย์ที่เป็นธาตุอาหารหลัก และสารอินทรีย์ ใช้เป็นแหล่งพลังงานของพืช และสารเคมีที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Regulator, PGR) หรือเรียกว่าฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน จิบเบอเรลลิน รวมทั้งสารเคมีที่ใช้ในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารที่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อุปกรณ์ หมายถึง อุปกรณ์ในการทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก ๆ ได้แก่ 1. อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์ เช่น เครื่องชั่ง เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เตาไมโครเวฟ หม้อนึ่งความดัน เครื่องกวนแม่เหล็ก แท่งแก้วคนสาร ปีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปตต์ และขวดแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 2. อุปกรณ์ที่ใช้ตัดย้ายเนื้อเยื่อ เช่น ตู้ปลอดเชื้อ ค้ามมีดผ่าตัด ใบมีดผ่าตัด ปากคีบ ตะแกรงสำหรับวางมีดและปากคีบ จานแก้ว และตะเกียงแอลกอฮอล์ 3. อุปกรณ์ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น เครื่องเขย่า ชั้นวางเนื้อเยื่อที่มีไฟฟ้าให้แสงสว่าง เครื่องควบคุมเวลา และควบคุมอุณหภูมิ เป็นต้น

สารละลายเข้มข้น (Stock Solution) หมายถึง สารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหารโดยเฉพาะธาตุอาหารรอง และวิตามินที่เตรียมให้มีความเข้มข้นมากกว่าปกติคือให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 10 ถึง 1,000 เท่า เวลาใช้จะเจือจางให้เท่ากับปริมาณหรือความเข้มข้นของสารอาหารที่ใช้จริงในสูตรอาหาร การเตรียมสารละลายเข้มข้นโดยนำสารเคมีพวกที่สามารถรวมกันได้โดยไม่ตกตะกอนไว้ด้วยกัน เพื่อไม่ให้มีสารละลายเข้มข้นหลายขวด

บทที่ 2

โครงสร้าง ภารกิจหน่วยงาน และบทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบ

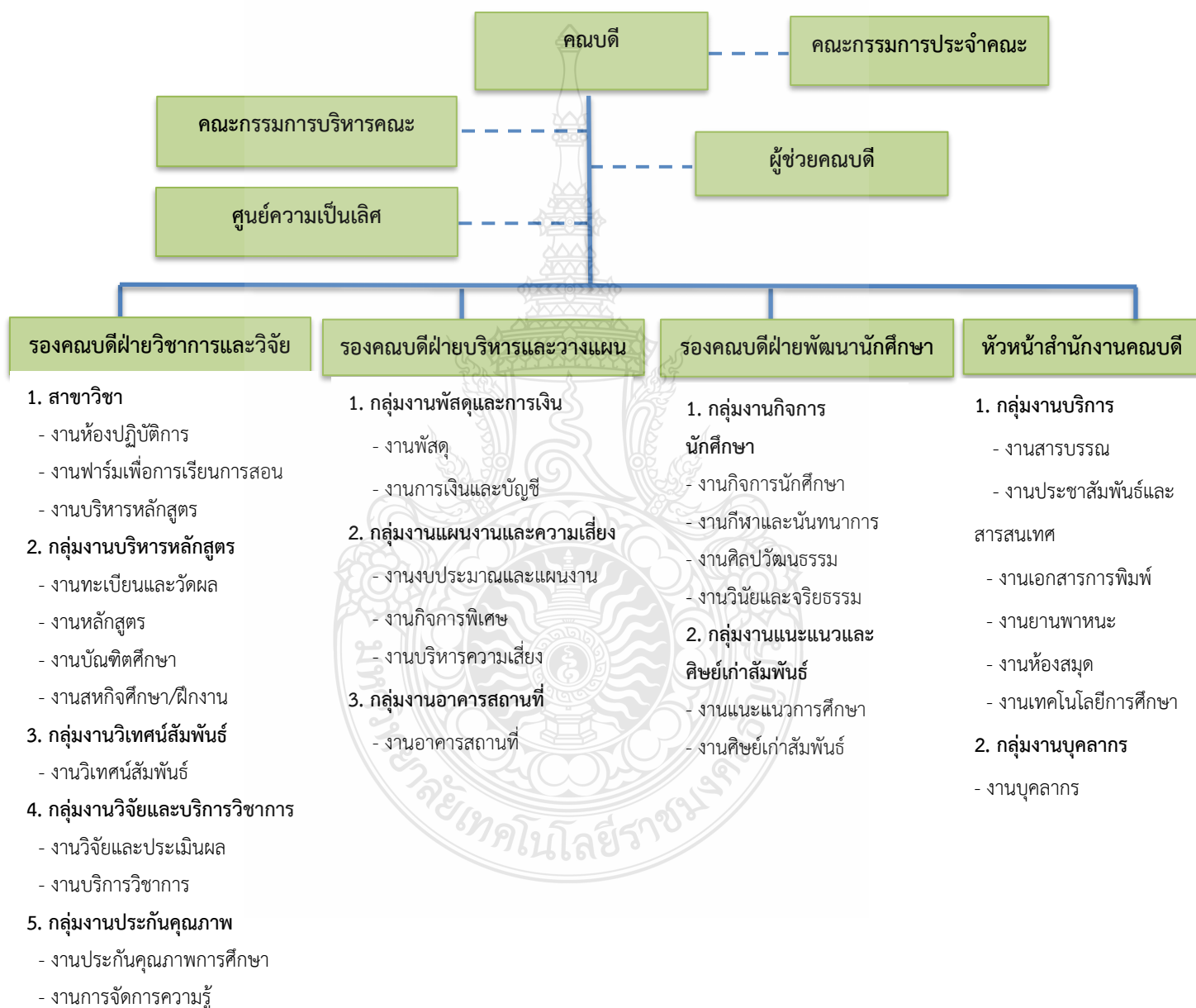
คณะเทคโนโลยีการเกษตร เป็นคณะหนึ่งที่อยู่ภายใต้การกำกับดูแลของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปฏิบัติงานโดยยึดถือแนวปฏิบัติตามนโยบายงานบริหารงานของมหาวิทยาลัย มุ่งเน้นการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีทางการเกษตรให้มีความชำนาญด้านวิชาชีพ ตามโครงสร้างการแบ่งส่วนงานราชการของคณะเทคโนโลยีการเกษตร ดังนี้

2.1 โครงสร้างการบริหารจัดการของคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สืบเนื่องจาก ปี พ.ศ. 2548 แนวทางการปฏิรูปการศึกษาตามพระราชบัญญัติการศึกษาแห่งชาติ พ.ศ. 2542 สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ได้ปรับปรุงแก้ไขพระราชบัญญัติ ฉบับเดิม และยกฐานะเป็นพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล โดยมีการรวมวิทยาเขต จัดตั้งเป็นมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล จำนวน 9 แห่ง โดยมีวัตถุประสงค์ให้ 9 มหาวิทยาลัย เป็นมหาวิทยาลัยสายวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีที่สามารถจัดการศึกษาวิชาการ และวิชาชีพชั้นสูง ที่เน้นการปฏิบัติทั้งใน ระดับปริญญาตรี โท และ เอก เพื่อรองรับการศึกษาต่อของผู้สำเร็จการศึกษา จากสถาบันอาชีวศึกษาเป็นหลัก รวมถึงให้โอกาสแก่ผู้เรียนจากวิทยาลัยชุมชน และการศึกษา ขั้นพื้นฐานในการศึกษาต่อวิชาชีพระดับปริญญาตรี และในปี พ.ศ. 2550 ได้เปลี่ยนจากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตปทุมธานี เป็นคณะเทคโนโลยีการเกษตร ในสังกัดของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี เป็นหน่วยงานวิชาการภายในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี มีภารกิจหลักที่สำคัญ 4 ด้าน คือ การผลิตบัณฑิต การวิจัย การบริการวิชาการแก่สังคม และการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม โดยด้านการผลิตบัณฑิต พัฒนานวัตกรรม และสร้างสรรค์นวัตกรรมทางการเกษตร มีภารกิจหลักในการจัดการเรียนการสอน ระดับหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ) ปริญญาตรี 5 หลักสูตร ได้แก่ หลักสูตรสาขาวิชาการผลิตพืช หลักสูตรสาขาวิชาเทคโนโลยี ภูมิทัศน์ หลักสูตรสาขาวิชาสัตวศาสตร์ หลักสูตรสาขาวิชาประมง และหลักสูตรสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร ระดับหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม) ปริญญาโท 1 หลักสูตร ได้แก่ หลักสูตรสาขาวิชานวัตกรรม และเทคโนโลยีการเกษตร โดยการบริหารงานภายในคณะฯ เป็นการบริหารงานภายใต้ผู้บริหารงานสูงสุด คือ คณบดี เป็นผู้กำหนดนโยบาย และแนวทางการปฏิบัติงาน มีการแต่งตั้งผู้บริหารระดับต่าง ๆ เพื่อกำกับดูแล และนำนโยบาย และแนวทางการปฏิบัติงาน ได้แก่ รองคณบดีที่รับผิดชอบงานด้านการบริหารและวางแผน รองคณบดีที่รับผิดชอบงานด้านวิชาการและวิจัย รองคณบดีที่รับผิดชอบงานด้านพัฒนานักศึกษา การทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม ผู้ช่วยคณบดีที่รับผิดชอบงานด้านศูนย์ความเป็นเลิศทางการเกษตร ผู้ช่วยคณบดี

ที่รับผิดชอบงานด้านวิชาการและวิจัย ผู้ช่วยคณบดีที่รับผิดชอบงานด้านบริหาร และความเสี่ยง และหัวหน้าสำนักงานคณะฯ ที่รับผิดชอบงานด้านบริการและบุคลากร โครงสร้างการบริหารองค์กรของคณะเทคโนโลยีการเกษตร มีลักษณะ ดังนี้

2.1.1 โครงสร้างคณะเทคโนโลยีการเกษตร (Organization chart)



ภาพที่ 2.1 แสดงโครงสร้างคณะเทคโนโลยีการเกษตร (Organization chart)

ที่มา : คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปี พ.ศ. 2564

สืบค้นจาก http://www.agr.rmutt.ac.th/?page_id=11179

2.1.2 โครงสร้างการบริหารของหน่วยงาน (Administration chart)



ภาพที่ 2.2 แสดงโครงสร้างการบริหารของหน่วยงาน (Administration chart) คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ที่มา : คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปี พ.ศ. 2564

สืบค้นจาก http://www.agr.rmutt.ac.th/?page_id=11164

2.2 ภาระหน้าที่ของคณะเทคโนโลยีการเกษตร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มุ่งผลิตนักปฏิบัติ พัฒนานวัตกรรม และสร้างสรรค์นวัตกรรมทางการเกษตรในสาขาวิชาการผลิตพืช สาขาวิชาเทคโนโลยีภูมิทัศน์ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ สาขาวิชาประมง และสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เพื่อตอบสนองความต้องการของชุมชนและประเทศชาติ การจัดการเรียนการสอน และมุ่งเน้นจัดการศึกษา และวิจัย ผลิตนวัตกรรม และนวัตกรรมที่ทรงคุณค่าต่อเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อมเพื่อการพัฒนาประเทศอย่างยั่งยืน มุ่งสร้าง และถ่ายทอดองค์ความรู้ โดยเน้นการวิจัย และการฝึกปฏิบัติที่สามารถขึ้นนำ และช่วยแก้ปัญหา และพัฒนาการเกษตรในทุกระดับ โดยบัณฑิตนักปฏิบัติที่สำเร็จการศึกษา มีความรู้เชิงปฏิบัติ ก้าวทันเทคโนโลยี มีทักษะในการสื่อสาร และมีเสรีภาพทางความคิด และขยายโอกาสทางการศึกษาให้กับชุมชน และท้องถิ่น เป็นผู้นำด้านการวิจัยที่ก่อให้เกิดความสมดุล เพื่อการพัฒนาการเกษตรเทคโนโลยี และนวัตกรรมทางการเกษตร เพื่อการพัฒนาการเกษตรอย่างยั่งยืน คณะฯ จึงกำหนดพันธกิจในการบริหารงานของคณะฯ ดังนี้

1. ผลิต และพัฒนากำลังคนให้มีความสามารถทางวิชาการ และวิชาชีพทางการเกษตร คิดสร้างสรรค์และเรียนรู้ตลอดชีวิต
2. สร้างงานวิจัย สิ่งประดิษฐ์ งานสร้างสรรค์ และนวัตกรรมทางการเกษตร สู่การนำไปใช้ประโยชน์ในภาคอุตสาหกรรม สังคม ชุมชน หรือสร้างมูลค่าเชิงพาณิชย์
3. ให้บริการวิชาการแก่ชุมชนในพื้นที่เป้าหมายหรือภาคประกอบการเพื่อการพัฒนาการเกษตรอย่างยั่งยืนและทำนุบำรุงศาสนา ศิลปวัฒนธรรม และอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม
4. บริหารจัดการอย่างมีธรรมาภิบาล เพิ่มประสิทธิภาพและประสิทธิผลด้วยนวัตกรรมเพื่อการพัฒนาอย่างต่อเนื่องและยั่งยืน

หลักสูตรที่เปิดสอน

ระดับปริญญาตรี เปิดสอน 5 หลักสูตร ดังนี้

1. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาการผลิตพืช (วท.บ.)

มุ่งเน้นในการผลิตบัณฑิตให้มีความรู้ทางวิชาการ มีความชำนาญในการปฏิบัติ มีคุณธรรม จริยธรรม ตลอดจนเป็นผู้ชี้แนะทิศทางที่ดีของสังคม เพื่อความเจริญรุ่งเรืองของประเทศ

จัดการเรียนการสอนโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตบัณฑิตให้มีทัศนคติที่ดีและความซื่อสัตย์ต่อวิชาชีพ มีคุณธรรมจริยธรรม มีความรับผิดชอบต่อองค์กรและสังคม ผลิตบัณฑิตให้มีความรู้ความสามารถทางด้านการผลิตพืชบนพื้นฐานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในการพัฒนาอาชีพได้อย่างเหมาะสม ผลิตบัณฑิตให้สามารถประยุกต์ความรู้ในการทำงาน สร้างสรรค์นวัตกรรม นำความรู้มาใช้แก้ปัญหาของตนเองและสังคม นอกจากนี้ยังผลิตบัณฑิตให้สามารถเป็นผู้นำและผู้ตามที่ดีรวมทั้ง

สามารถปฏิบัติงานร่วมกับผู้อื่นได้ บัณฑิตยังสามารถวิเคราะห์เชิงตัวเลข มีความสามารถด้านการสื่อสารและเทคโนโลยีสารสนเทศ ผู้สำเร็จการศึกษาในหลักสูตรการผลิตพืช (วท.บ.) สามารถประกอบอาชีพในหน่วยงานภาครัฐ ภาคเอกชน หรือประกอบอาชีพอิสระด้านการผลิตพืชได้ ตลอดจนสามารถศึกษาต่อในระดับสูงขึ้นไปได้

2. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีภูมิทัศน์ (วท.บ.)

มุ่งเน้นในการผลิตบัณฑิตด้านภูมิทัศน์ให้มีความรู้ ความสามารถบนพื้นฐานวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและนวัตกรรมด้านภูมิทัศน์ที่สามารถทำงานได้อย่างมีคุณภาพ สร้างงานและพัฒนาเป็นผู้ประกอบการได้ อีกทั้งมีคุณธรรมจริยธรรม เพื่อการมีส่วนร่วมในการพัฒนาประเทศ

จัดการเรียนการสอนโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตบัณฑิตให้มีทัศนคติที่ดีและความซื่อสัตย์ต่อวิชาชีพ มีคุณธรรมจริยธรรม มีความรับผิดชอบต่อองค์กรและสังคม ผลิตบัณฑิตให้มีความรู้ความสามารถทางด้านเทคโนโลยีภูมิทัศน์บนพื้นฐานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในการพัฒนาอาชีพได้อย่างเหมาะสม ผลิตบัณฑิตให้สามารถประยุกต์ความรู้ในการทำงาน สร้างสรรค์นวัตกรรม นำความรู้มาใช้แก้ปัญหาของตนเองและสังคม นอกจากนี้ยังผลิตบัณฑิตให้สามารถเป็นผู้นำและผู้ตามที่ดีรวมทั้งสามารถปฏิบัติงานร่วมกับผู้อื่นได้ บัณฑิตยังสามารถวิเคราะห์เชิงตัวเลข มีความสามารถด้านการสื่อสารและเทคโนโลยีสารสนเทศ ผู้สำเร็จการศึกษาในหลักสูตรเทคโนโลยีภูมิทัศน์ (วท.บ.) สามารถประกอบอาชีพได้หลังสำเร็จการศึกษา เจ้าของธุรกิจงานด้านภูมิทัศน์ เช่นผู้รับเหมาจัดสวนงานจัดแสดงนิทรรศการ และดูแลรักษาภูมิทัศน์ นักออกแบบและเขียนแบบงานภูมิทัศน์ ผู้ผลิตพืชพรรณและวัสดุตกแต่งในงานภูมิทัศน์ ผู้รับเหมาติดตั้งระบบการให้น้ำแก่พืชและงานภูมิทัศน์ ผู้ควบคุมงานด้านการก่อสร้างและดูแลรักษาภูมิทัศน์ และสามารถประกอบอาชีพในหน่วยงานภาครัฐหรือสามารถศึกษาต่อในระดับสูงขึ้นไปได้

3. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาสัตวศาสตร์ (วท.บ.)

มุ่งเน้นในการผลิตบัณฑิตนักปฏิบัติให้มีความรู้ทางวิชาการ มีทักษะด้านการปฏิบัติในทางวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี และวิชาชีพการผลิตสัตว์เศรษฐกิจในระดับอุตสาหกรรม และมีคุณธรรมจริยธรรม ซื่อสัตย์ ขยัน อดทน ความรับผิดชอบ จิตอาสา ภาษาการสื่อสาร รักองค์กร และมีศักยภาพในการเรียนรู้ตลอดชีวิต

จัดการเรียนการสอนโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตบัณฑิตให้มีความรู้ทั้งภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติ ในด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และวิชาชีพการผลิตสัตว์เศรษฐกิจระดับอุตสาหกรรม ผลิตบัณฑิตให้มีความรู้และมีทักษะด้านการปฏิบัติงานในทางวิชาชีพการผลิตสัตว์เศรษฐกิจระดับอุตสาหกรรม โดยผ่านการฝึกงาน/สหกิจศึกษาในสถานประกอบการ บัณฑิตนักปฏิบัติที่มีความสามารถใช้ระบบการจัดการใหม่สำหรับการผลิตสัตว์เชิงธุรกิจ โดยเน้นเทคโนโลยี

และการบริหารจัดการทรัพยากรการเกษตร บัณฑิตมีความรู้แบบฐานสมรรถนะ และให้มีการเปลี่ยนผ่านสมรรถนะของผู้เรียนสู่การเป็นเจ้าของกิจการ มีศักยภาพสามารถนำความรู้และประสบการณ์ในด้านวิชาชีพสัตวศาสตร์ไปต่อยอดในการประกอบอาชีพอื่น ๆ ผู้สำเร็จการศึกษาในหลักสูตรสัตวศาสตร์ (วท.บ.) สามารถประกอบอาชีพในหน่วยงานภาครัฐ ภาคเอกชน หรือประกอบอาชีพเจ้าของกิจการในธุรกิจการผลิตสัตว์ โรงงานอาหารสัตว์ และธุรกิจที่เกี่ยวข้องกับสัตวศาสตร์ และสามารถศึกษาต่อในระดับสูงขึ้นไปได้

4. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาประมง (วท.บ.)

มุ่งเน้นในการผลิตบัณฑิตด้านประมงที่มีความรู้ความสามารถบนพื้นฐานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีรวมถึงนวัตกรรม ที่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีทักษะในการใช้อุปกรณ์สำหรับการปฏิบัติงานในสาขาวิชาชีพ และในการบริหารโครงการมีความเป็นผู้นำสามารถแก้ไขปัญหาได้

จัดการเรียนการสอนโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตบัณฑิตให้มีความคิดเชิงระบบ สามารถประเมินปัญหาและแก้ไขปัญหาเบื้องต้นได้ บัณฑิตมีคุณธรรมจริยธรรม ซื่อสัตย์ อดทน และยอมรับการเปลี่ยนแปลงมีความรับผิดชอบต่อองค์กรและสังคม บัณฑิตมีทักษะความชำนาญในการใช้อุปกรณ์สำหรับการปฏิบัติงานในสายวิชา มีทักษะในการบริหารจัดการโครงการ หรือการปฏิบัติงานในวิชาชีพ มีความเป็นผู้นำสามารถแก้ไขปัญหาได้ ผู้สำเร็จการศึกษาในหลักสูตรประมง (วท.บ.) สามารถประกอบอาชีพในหน่วยงานภาครัฐ ภาคเอกชน หรือประกอบอาชีพส่วนตัวทางด้านประมงได้ และสามารถศึกษาต่อในระดับสูงขึ้นไปได้

5. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร (วท.บ.)

มุ่งเน้นในการผลิตบัณฑิตนักปฏิบัติที่มีความรู้ทางวิชาการ คุณธรรมจริยธรรม และจรรยาบรรณในวิชาชีพด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

จัดการเรียนการสอนโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตบัณฑิตให้มีความรู้และประสบการณ์เรียนรู้ทั้งภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติในด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร และสามารถบูรณาการองค์ความรู้ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม มีความสามารถในการคิด วิเคราะห์ อย่างเป็นระบบ และมีความคิดริเริ่มสร้างสรรค์ โดยใช้พื้นฐานการบูรณาการความรู้ มีความสามารถในการเรียนรู้ด้วยตนเอง เพื่อนำไปพัฒนาความรู้ และทักษะปฏิบัติในวิชาชีพอย่างต่อเนื่อง มีทักษะความสามารถด้านการสื่อสาร มีความเป็นผู้นำ สามารถทำงานร่วมกับผู้อื่นได้ และเข้าใจในวัฒนธรรมขององค์กร ตลอดจนมีคุณธรรมจริยธรรม ตระหนักถึงจรรยาบรรณในวิชาชีพ และมีความรับผิดชอบต่อสังคม ผู้สำเร็จการศึกษาใน

หลักสูตรวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร (วท.บ.) สามารถประกอบอาชีพในหน่วยงานของรัฐ เช่น นักวิชาการ นักวิจัยและพัฒนา เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ราชการครูทางสาขาเกี่ยวข้องด้าน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร หรือทำงานในหน่วยงานเอกชนต่าง ๆ เช่น โรงงาน อุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร (เจ้าหน้าที่ฝ่ายผลิต ฝ่ายควบคุมคุณภาพ ฝ่ายประกันคุณภาพ ฝ่ายวิจัย และพัฒนาผลิตภัณฑ์) หรือประกอบอาชีพธุรกิจส่วนตัว นอกจากนี้ยังสามารถศึกษาต่อในระดับสูงขึ้น ไปได้

ระดับบัณฑิตศึกษา เปิดสอน 1 หลักสูตร ดังนี้

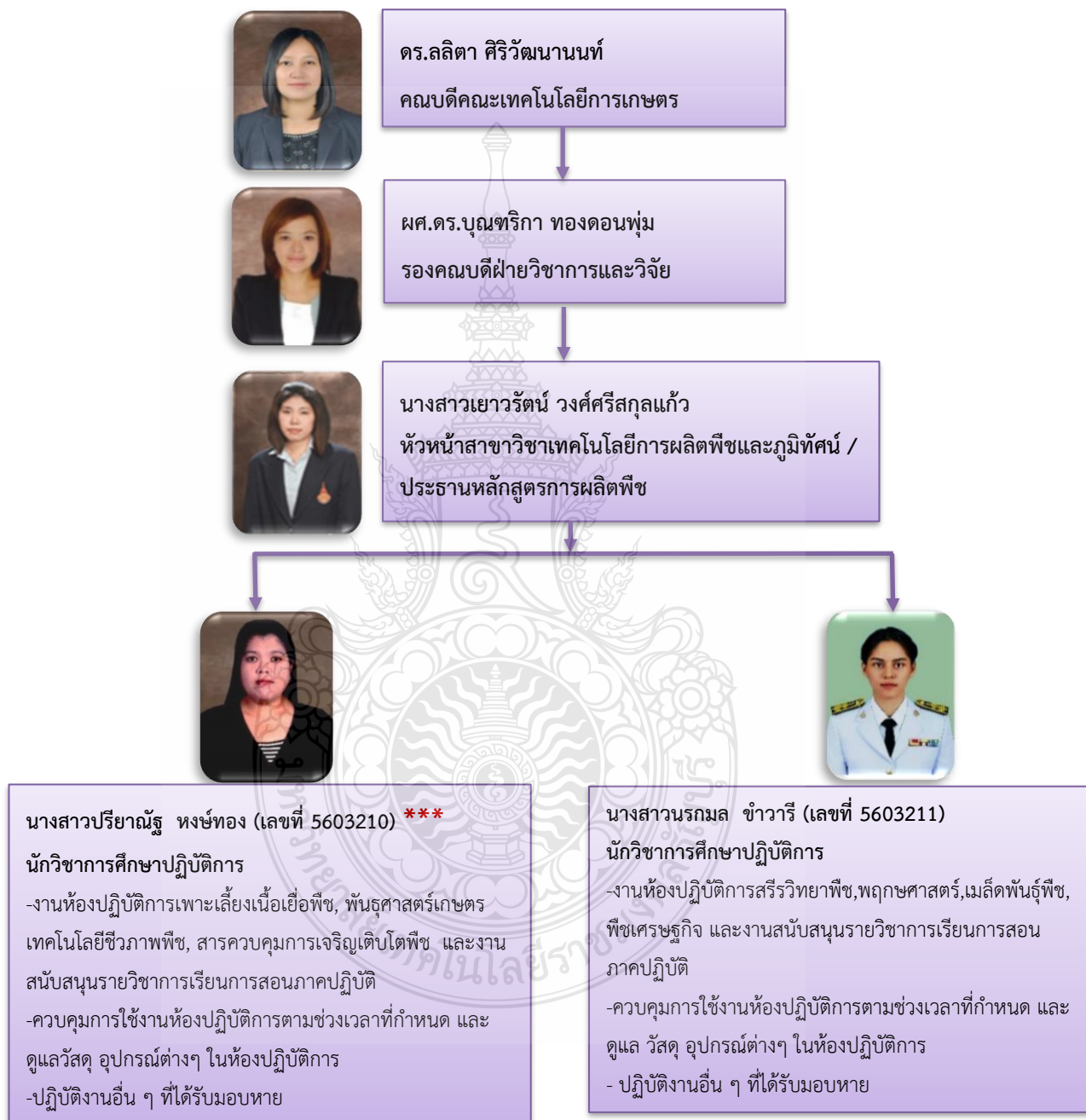
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชานวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร (วท.ม)

ผู้สำเร็จการศึกษามีความเชี่ยวชาญและทักษะด้านการพัฒนานวัตกรรมและเทคโนโลยี การเกษตร มีความคิดริเริ่มสร้างสรรค์ ประยุกต์ใช้เทคโนโลยี และความสามารถบูรณาการองค์ความรู้ เพื่อต่อยอดงานวิจัยและแก้ไขปัญหาด้วยกระบวนการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ทางการเกษตร

จัดการเรียนการสอนโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตบุคลากรให้มีความรู้ ความเข้าใจ และทักษะ ในการพัฒนานวัตกรรมและเทคโนโลยี และแก้ไขปัญหาด้วยกระบวนการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ ทางการเกษตร มีความคิดริเริ่มสร้างสรรค์ และสามารถปรับตัวเข้าสู่การเปลี่ยนแปลงด้านนวัตกรรม และเทคโนโลยีที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังผลิตบุคลากรที่สามารถทำวิจัยและประยุกต์ใช้ เทคโนโลยีได้อย่างเหมาะสม โดยสามารถพัฒนาตนเองสู่การเป็นนวัตกรรมเป็นผู้ประกอบการนักธุรกิจ ฟาร์มเกษตร นักวิชาการ นักวิจัย หรือนักออกแบบและพัฒนาผลิตภัณฑ์ ตลอดจนสามารถเผยแพร่ ผลงานทางวิชาการได้ เพื่อเป็นพื้นฐานในการศึกษาต่อในระดับสูงขึ้น

2.2.1 โครงสร้างการปฏิบัติงาน (Activity Chart)

โครงสร้างการปฏิบัติงานของนักวิชาการศึกษา ระดับปฏิบัติการ สาขาการผลิตพืช ภายใต้อาสาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ประกอบด้วย



ภาพที่ 2.3 แสดงโครงสร้างการปฏิบัติงานของนักวิชาการศึกษา สาขาการผลิตพืช

ที่มา : คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปี พ.ศ. 2564

สืบค้นจาก <http://www.agr.rmutt.ac.th/?p=81637>

2.3 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งนักวิชาการศึกษา

ปฏิบัติงานในฐานะผู้ปฏิบัติงานระดับต้นที่ต้องใช้ความรู้ความสามารถทางวิชาการในการทำงานปฏิบัติงานเกี่ยวกับด้านวิชาการศึกษา ภายใต้การกำกับ แนะนำ ตรวจสอบ และปฏิบัติงานอื่นตามที่ได้รับมอบหมาย ตามมาตรฐานกำหนดตำแหน่งนักวิชาการศึกษาระดับปฏิบัติการที่กำหนดโดย ก.พ.อ. เมื่อวันที่ 21 กันยายน 2553 ระบุบทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของนักวิชาการศึกษาดังนี้

2.3.1 หน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งตามมาตรฐานกำหนดตำแหน่ง

ปฏิบัติงานในฐานะผู้ปฏิบัติงานระดับต้นที่ต้องใช้ความรู้ความสามารถทางวิชาการในการทำงานปฏิบัติงานที่เกี่ยวกับด้านวิชาการศึกษา ภายใต้การกำกับ แนะนำ ตรวจสอบ และปฏิบัติงานอื่นตามที่ได้รับมอบหมาย โดยมีลักษณะงานที่ปฏิบัติในด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. ด้านการปฏิบัติการ

1.1 ศึกษาวิเคราะห์เกี่ยวกับหลักสูตร แบบเรียน การเทียบความรู้ การจัดการความรู้ งานกิจการนักศึกษา งานวินัยและพัฒนานักศึกษา งานบริการและสวัสดิการ งานนักศึกษา วิชาทหาร การจัดพิพิธภัณฑ์การศึกษา เป็นต้น เพื่อส่งเสริมสนับสนุนการจัดการศึกษา และกิจกรรมทางการศึกษาต่าง ๆ ให้เป็นไปตามยุทธศาสตร์ แผน นโยบายของหน่วยงาน

1.2 สสำรวจ รวบรวม และวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติทางการศึกษาและกิจการนักศึกษาความต้องการกำลังคน ศึกษาวิเคราะห์และจัดทำหลักสูตร ทดลองใช้หลักสูตรปรับปรุง หลักสูตรการพัฒนาหนังสือหรือตำราเรียน ความรู้พื้นฐาน ตลอดจนความต้องการด้านการใช้เทคโนโลยีทางการศึกษา เพื่อพัฒนามาตรฐานการปฏิบัติงานให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

1.3 จัดทำมาตรฐานการศึกษา การติดต่อขอความช่วยเหลือจากต่างประเทศทาง การศึกษาดำเนินการเกี่ยวกับงานทะเบียนและเอกสารด้านการศึกษา รวมทั้งปรับปรุงให้ทันสมัย เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงและให้การส่งเสริมสนับสนุนการจัดการศึกษา

1.4 ติดตาม ประเมินผลการดำเนินงาน กิจกรรมและสรุปผลด้านการศึกษา วิเคราะห์ วิจัย ส่งเสริมการวิจัยการศึกษา และเผยแพร่ผลงานทางด้านการศึกษา เพื่อพัฒนางานด้าน วิชาการศึกษา

1.5 การให้บริการวิชาการด้านต่าง ๆ เช่น การจัดบริการส่งเสริมการศึกษาโดยใช้เทคโนโลยีทางการศึกษา จัดประชุมอบรมและสัมมนาเกี่ยวกับการศึกษาและกิจกรรมนักศึกษา เผยแพร่การศึกษา เช่น ออกรายการวิทยุ โทรทัศน์ การเขียนบทความ จัดทำวารสาร หรือเอกสารต่าง ๆ ให้คำปรึกษาแนะนำ ในการปฏิบัติงานแก่เจ้าหน้าที่ระดับรองลงมาและแก่นักศึกษาที่มาฝึกปฏิบัติ

ตอบปัญหาและชี้แจงเรื่องต่าง ๆ เกี่ยวกับงานในหน้าที่ เพื่อสามารถปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้อง มีประสิทธิภาพ และปฏิบัติหน้าที่อื่นที่เกี่ยวข้อง

2. ด้านการวางแผน

วางแผนการทำงานที่รับผิดชอบ ร่วมวางแผนการทำงานของหน่วยงานหรือโครงการ เพื่อให้การดำเนินงานบรรลุตามเป้าหมายและผลสัมฤทธิ์ที่กำหนด

3. ด้านการประสานงาน

3.1 ประสานงานทำงานร่วมกันระหว่างทีมงานหรือหน่วยงานทั้งภายในและภายนอก เพื่อให้เกิดความร่วมมือและสัมฤทธิ์ผลตามที่กำหนด

3.2 ชี้แจงและให้รายละเอียดเกี่ยวกับข้อมูล ข้อเท็จจริง แก่บุคลากร หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อสร้างความเข้าใจหรือความร่วมมือในการดำเนินงานตามที่ได้รับมอบหมาย

4. ด้านการบริการ

4.1 ให้คำปรึกษา แนะนำเบื้องต้น เผยแพร่ ถ่ายทอดความรู้ ทางด้านวิชาการ ศึกษา รวมทั้งตอบปัญหาและชี้แจงเรื่องต่าง ๆ เกี่ยวกับงานในหน้าที่ เพื่อให้ผู้รับบริการได้ทราบข้อมูล ความรู้ต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์

4.2 จัดเก็บข้อมูลเบื้องต้น และให้บริการข้อมูลทางวิชาการ เกี่ยวกับด้านวิชาการ การศึกษา เพื่อให้บุคลากรทั้งภายในและภายนอกหน่วยงาน นักศึกษา ตลอดจนผู้รับบริการ ได้ทราบ ข้อมูลและความรู้ต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ สอดคล้อง และสนับสนุนภารกิจของหน่วยงาน และใช้ประกอบการพิจารณากำหนดนโยบาย แผนการ หลักเกณฑ์ มาตรการต่าง ๆ

2.4 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง (เลขที่ 5603210)

หน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งในฐานะผู้ปฏิบัติงานด้านการสนับสนุนการเรียนการสอนของอาจารย์ และนักศึกษา สาขาการผลิตพืช ภารกิจหลักคือการจัดเตรียมเครื่องมือ อุปกรณ์ต่าง ๆ และเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการดูแลรักษา และการแจ้งซ่อมต่าง ๆ เพื่อสนับสนุนการเรียนภาคปฏิบัติการในรายวิชาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช รายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพของพืช รายวิชาหลักการปรับปรุงพันธุ์พืช เป็นต้น และการปฏิบัติหน้าที่อื่น ๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

2.4.1 ด้านการปฏิบัติการ

2.4.1.1 จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ให้เพียงพอต่อการใช้งานในแต่ละภาคการศึกษา เพื่อสนับสนุนการเรียนการสอนให้มีประสิทธิภาพ สำเร็จตามแผนและวัตถุประสงค์ของรายวิชา

2.4.1.2 ตรวจสอบสภาพความพร้อมและบำรุงรักษาอุปกรณ์ เครื่องมือต่าง ๆ ที่มีในห้องปฏิบัติการอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้อยู่ในสภาพพร้อมใช้งานได้ตลอดเวลา

2.4.1.3 จัดทำแบบฟอร์ม การยืม-คืน ในการขอใช้เครื่องมือ สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการสาขาการผลิตพืช

2.4.1.4 จัดทำ log book การใช้งานเครื่องมือแต่ละชนิด ประจำห้องปฏิบัติการ สาขาการผลิตพืช

2.4.1.5 ปฏิบัติหน้าที่อื่น ๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

2.4.2 ด้านการวางแผน

2.4.2.1 วางแผนในการจัดการรายการวัสดุอุปกรณ์ และสารเคมีให้เป็นไปตามระเบียบ ขั้นตอนจากข้อมูลการสำรวจความต้องการในการใช้งาน จากอาจารย์ประจำวิชาในแต่ละภาคการศึกษา เพื่อเสนอประธานหลักสูตร และคณะฯ เพื่อดำเนินการจัดซื้อต่อไป

2.4.3 ด้านการประสานงาน

2.4.3.1 ประสานงานกับอาจารย์ผู้สอนในแต่ละภาคการศึกษา เพื่อจัดเตรียม บทปฏิบัติการรายวิชา รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้งานอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการเรียน ภาคปฏิบัติ และการทำปัญหาพิเศษ และวิทยานิพนธ์ของนักศึกษาสาขาการผลิตพืช

2.4.3.2 ประสานงานกับเจ้าหน้าที่พัสดุในการจัดซื้อ/จัดซ่อม วัสดุอุปกรณ์ และ ครุภัณฑ์ในแต่ละภาคการศึกษา

2.4.3.3 ประสานงานกับตัวแทนบริษัทจัดจำหน่ายเพื่อขอ ใบเสนอราคา และรายละเอียดต่าง ๆ ในการจัดซื้อวัสดุวิทยาศาสตร์ และครุภัณฑ์ของสาขาการผลิตพืช

2.4.3.4 ประสานงานกับฝ่ายงานอาคารสถานที่ ในการแจ้งซ่อมอุปกรณ์ต่าง ๆ ในห้องเรียน และห้องปฏิบัติการของสาขาการผลิตพืช

2.4.4 ด้านการบริการ

2.4.4.1 ให้คำแนะนำการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ของห้องปฏิบัติการ สาขาการผลิตพืช ให้แก่นักศึกษาสาขาการผลิตพืช

2.4.4.2 ให้คำปรึกษาในการจัดเตรียมสารเคมี สำหรับเรียนการสอนภาคปฏิบัติการ หรือการทำปัญหาพิเศษ ให้แก่นักศึกษาสาขาการผลิตพืช

2.4.5 งานอื่น ๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

2.4.5.1 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการดำเนินการสอบวัดผลการศึกษา

2.4.5.2 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการดำเนินการจัดทำรายงานการประเมินตนเอง (SAR)

2.4.5.3 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการสอบสมรรถนะของนักศึกษา

2.4.5.4 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการผู้ประสานงานโครงการสหกิจศึกษา และฝึกงานในสถานประกอบการ

2.4.5.5 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการ รับ – ส่งเสด็จ กำกับดูแลนักศึกษา ในพิธีรับพระราชทานปริญญาบัตร

2.4.5.6 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการประจำงานพุ่มเครื่องราชสักการะ ในพิธีรับพระราชทานปริญญาบัตร

2.4.5.7 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการแข่งขันทักษะทางวิชาการ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

2.4.5.8 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการดำเนินการจัดฝึกอบรมและวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการสำหรับหน่วยงาน และบุคคลภายนอก

2.4.5.9 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการดำเนินโครงการสัมมนาเชิงปฏิบัติการด้านการผลิตด้วยระบบอินทรีย์ (Organic Production)

2.4.5.10 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการดำเนินโครงการสัมมนาเชิงปฏิบัติการฟาร์มพืชอัจฉริยะ

2.4.5.11 ปฏิบัติหน้าที่งานคณะกรรมการ ดำเนินโครงการพัฒนาผู้ตรวจประเมินมาตรฐานเกษตรอินทรีย์

2.4.5.12 ปฏิบัติหน้าที่ธุรการสาขาการผลิตพืช

2.4.6 ลักษณะงานที่ปฏิบัติ

1) งานสำรวจความพร้อมของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ประกอบด้วย
1. ห้องปฏิบัติการเตรียมอาหาร (media preparation room) 2. สำรวจความพร้อมของ
ห้องปฏิบัติการย้ายเนื้อเยื่อพืช (transfiration room) 3. สำรวจความพร้อมของห้องปฏิบัติการ
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room)

- 2) งานจัดเตรียมอุปกรณ์ต่าง ๆ ใช้สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- 3) งานจัดเตรียมสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- 4) งานควบคุม ดูแลการใช้ห้องปฏิบัติการของนักศึกษา
- 5) ดูแล วัสดุ อุปกรณ์ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการให้อยู่ในสภาพพร้อมใช้งานตามปกติ
- 6) เป็นผู้ช่วยสอนกับอาจารย์ผู้สอน ในภาคปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- 7) งานติดต่อประสานงานฝ่ายพัสดุในการจัดซื้อวัสดุวิทยาศาสตร์



บทที่ 3

หลักเกณฑ์วิธีการปฏิบัติงานและเงื่อนไข

การจัดทำคู่มือปฏิบัติงาน เรื่อง การดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ ผู้ปฏิบัติงานทราบบทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบ และลักษณะงานที่ปฏิบัติในการเตรียมความพร้อม ด้านห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อสนับสนุนต่อการเรียนการสอนของอาจารย์ และนักศึกษา ประจำปีหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการผลิตพืช (4 ปี) หลักสูตรปรับปรุงปี พ.ศ.2561 เพื่อให้ผู้ปฏิบัติดำเนินงานบรรลุตามเป้าหมาย และผลสัมฤทธิ์ที่กำหนด ตามที่ได้รับมอบหมาย โดยได้รวบรวมแนวคิด และเอกสารที่เกี่ยวข้องสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ประกอบด้วย

1. หลักเกณฑ์การปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
2. ข้อควรระวังในการปฏิบัติงาน
3. จรรยาบรรณในการปฏิบัติงาน

3.1 หลักเกณฑ์การปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

3.1.1 หลักปฏิบัติและการใช้ห้องปฏิบัติการ (อารีย์ วรรณวัฒน์, 2545 ;1, ยุพิน ฤทธิ์อ่อน, 2562 ;37)

การใช้ห้องปฏิบัติจะต้องยึดหลักปฏิบัติเดียวกันเพื่อความเป็นระเบียบปลอดภัย และให้เกิดผลตามวัตถุประสงค์ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งอาจตั้งกฎระเบียบไว้ให้ทุกคนปฏิบัติเพื่อประโยชน์ของส่วนรวม และของผู้ปฏิบัติเอง ดังนี้

3.1.1.1 ผู้ปฏิบัติต้องนึกถึงความปลอดภัยที่จะเกิดจากการทำงานในห้องปฏิบัติการซึ่งอาจเกิดจากไฟ สารเคมี เครื่องแก้ว สารกัมมันตรังสีและอื่น ๆ

3.1.1.2 ผู้ปฏิบัติแต่งกายไม่รุ่มร่าม ไม่สวมเครื่องประดับมาก รวบผมกรณีผมยาว

3.1.1.3 ไม่นำอาหาร หรือเครื่องดื่มเข้ามารับประทานในห้องปฏิบัติการ

3.1.1.4 ผู้ปฏิบัติต้องช่วยกันรักษาความสะอาด ต้องเช็ดทำความสะอาดทุกครั้งหลังจากที่ทำงานเสร็จสิ้นในวันนั้นแล้ว อย่าทิ้งภาระที่ตนเองทำไว้ให้คนอื่น

3.1.1.5 ต้องช่วยกันประหยัด ใช้น้ำ สดุดุ หรือพลังงานด้วยความประหยัด เช่น สารเคมี น้ำ ไฟฟ้า ฯลฯ

3.1.1.6 เก็บ และล้างภาชนะทุกชิ้นที่ตนเองใช้และวางไว้ในที่อันเหมาะสม

3.1.1.7 น้ำที่ใช้ล้างภาชนะ เครื่องแก้วครั้งสุดท้าย ควรเป็นน้ำกลั่น

3.1.1.8 หลังล้างเสร็จแล้ว ให้วางคว่ำภาชนะทุกชิ้นให้แห้งก่อนเก็บเข้าที่ในตู้เก็บที่มีดซิด เพื่อป้องกันฝุ่นละอองตกเข้าไปภายใน

3.1.1.9 ก่อนใช้อุปกรณ์ทุกชนิด จะต้องเข้าใจและรู้วิธีใช้จากผู้รู้ก่อน การใช้ผิดวิธีจะทำให้เกิดผลเสียกับ อุปกรณ์นั้น ๆ ได้ เช่น เครื่องชั่ง เครื่องวัด pH ฯลฯ

3.1.1.10 ตามปกติสารเคมีจะถูกจัดวางไว้ตามลำดับอักษรตามชื่อสามัญ (Common name) โดยจัดเรียงเป็นหมวดหมู่ของตัวอักษรภาษาอังกฤษ A-Z เพื่อความสะดวกในการค้นหา ดังนั้นหลังใช้แล้วควรเก็บเข้าที่เดิมทันทีหลังล้างเสร็จ

3.1.1.11 การเตรียมสารเคมีพวกกรด ต่าง หรือสารระเหย ควรทำในตู้ดูดควัน (Fume hood)

3.1.1.12 การชั่งสารเคมี ควรตักใส่ภาชนะหรือกระดาษไข ห้าม วางสารเคมีบนแท่นชั่ง โดยตรง ให้เทสารเคมีที่ละน้อยจนครบตามต้องการ

3.1.2 ความหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การนำเอาอวัยวะส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น ใบ ดอก ราก ตา ขั้ว หรือเมล็ด เนื้อเยื่อ เซลล์ หรือเซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์ที่ เรียกว่าโปรโทพลาสต์ (protoplast) มาเลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ ซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารต่าง ๆ วิตามิน น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulators) ภายใต้สภาพที่ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์และควบคุม อุณหภูมิและแสง ขึ้นส่วนของพืชเหล่านี้จะสามารถพัฒนาไปเป็นต้นพืช โดยตรง หรือแคลลัส หรือโครงสร้างคล้ายคัพภะ (embryo) ซึ่งเรียกว่าเอ็มบริอยด์ (embryoid) หลังจากนั้นจึงพัฒนาไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ต่อไป เนื่องจาก เซลล์พืชมีคุณสมบัติที่เรียกว่าโททิโพเทนซี (totipotency) คือมีความสามารถ ที่จะเจริญเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้ (*พงศยุทธ นวลบุญเรือง และคณะ, 2562 ; 6*)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชไม่ว่าจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ หรือเซลล์ที่ไม่มีผนัง เรียกว่าโปรโทพลาสต์ มาเลี้ยงบนอาหารวิทยาศาสตร์ ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตของ ในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์และอยู่ในสภาวะควบคุมสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และความชื้นส่วนของพืช เหล่านี้มีการเจริญเติบโต และพัฒนาได้หลายรูปแบบ แต่ไม่ว่าจะเป็นแบบใดก็ตามในที่สุดก็สามารถ บังคับให้เกิดเป็นต้นได้เป็นจำนวนมาก (*อรดี สหวัชรินทร์, 2542 ; 2*)

3.1.3 ความหมายของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ต้องดำเนินงานภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ และควบคุมสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับพืช ดังนั้นสถานที่ และเครื่องมือที่ใช้จึงแตกต่างกันไปจากห้องปฏิบัติการทั่วไป การดำเนินงานต้องต่อเนื่องกันตามลำดับขั้นการจัดสถานที่ และเครื่องมือจึงต้องวางแผนให้สอดคล้อง และสะดวก ในการปฏิบัติงาน โดยทั่วไปห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควรประกอบด้วย 1. ห้องเตรียมอาหาร (Medium prepared room) 2. ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (Transferred room) 3. ห้องเพาะเลี้ยง (Incubated room) (ณัฐสุภากร เสมสันทัต, 2552 ; 11)

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง ต้องเป็นห้องที่สะอาดปราศจากเชื้อ สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ โดยเฉพาะอุณหภูมิ โดยการติดตั้งเครื่องปรับอากาศ ควบคุม อุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 25-28 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน มีด 8 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงประมาณ 2000 ลักซ์ (พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง และคณะ, 2562 ; 9, อรดี สหวัชรินทร์, 2542 ; 14)

3.1.4 องค์ประกอบของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การจัดแบ่งพื้นที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะต้องคำนึงถึงความสะดวก ในการปฏิบัติงานเป็นหลักสำคัญ โดยทั่วไปมักแบ่งพื้นที่เป็นส่วนๆ ตามลักษณะการใช้งาน ได้แก่

3.1.4.1 ห้องเตรียมอาหาร (Media preparation room) แบ่งเป็นส่วนที่จัดเก็บ อุปกรณ์เครื่องแก้ว สารเคมี ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการเตรียมอาหารได้สะดวก และส่วนล้าง ทำความสะอาดอุปกรณ์ อุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับห้องนี้ อุปกรณ์ที่สำคัญในห้องนี้ ได้แก่

1) เครื่องแก้วชนิดต่าง ๆ เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต กรวยแก้ว แท่งแก้วคนสาร ขวดรูปชมพู่ หลอดทดลอง และขวดเพาะเลี้ยง เป็นต้น

2) เครื่องชั่งไฟฟ้า (Balance) ใช้สำหรับชั่งสารเคมี น้ำตาล และวุ้น ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เครื่องใช้ที่นิยมใช้มากที่สุด ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า ชนิดหยาบ (top-loading balance) ชั่งน้ำหนักต่ำสุด 0.01 กรัม ใช้สำหรับชั่งน้ำหนักที่ที่ขนาด 1 กรัม ขึ้นไป เช่น วุ้น น้ำตาล ธาตุอาหารหลัก (Macro-nutrient) และเครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด (analytical balance) ชั่งน้ำหนักต่ำสุด 0.001 กรัม หรือ 0.0001 กรัม ใช้สำหรับชั่งสารที่มีที่ต้องการ ต่ำกว่า 1 กรัม เช่น ธาตุอาหารรอง (Micro-nutrient) และสารควบคุมการเจริญเติบโต

3) เตาอบความร้อน (Hot air oven) ใช้สำหรับอบฆ่าเชื้อที่ติดมากับ เครื่องมือ หรือ อุปกรณ์ที่สามารถทนต่อความร้อนสูง ๆ ได้ เช่น เครื่องแก้วและโลหะบางชนิด โดยใช้ความร้อนประมาณ 180 องศาเซลเซียส ในเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

4) หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ใช้สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อสิ่งปนเปื้อนในอาหารเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อ และเครื่องมือที่ไม่สามารถทนต่อความร้อนของเตาอบความร้อนได้ โดยใช้ไอน้ำ ความร้อนและความดันที่ใช้ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลาประมาณ 15-20 นาที

5) เตาไมโครเวฟ หรือเตาไฟฟ้า ใช้สำหรับต้มวุ้นให้ละลายก่อนที่จะเทอาหารใส่ขวด

6) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ใช้ในการตรวจสอบ และปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารมีหลายชนิดแต่นิยมชนิดใช้ไฟฟ้าเนื่องจากมีความแม่นยำสูงโดยเฉพาะที่บอกค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นตัวเลขจะสะดวกในการใช้งาน

7) เครื่องกวนสารเคมี (Hotplate Stirrer) ในการกวนสารละลาย และเตาอุณหภูมิร้อน (hot plate) ใช้ในการหลอมละลายอาหารและสารเคมี

8) ตู้เย็น (Refrigerator) ใช้สำหรับเก็บสารเคมีบางตัวที่จะต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อป้องกันปัญหาการเสื่อมคุณภาพ เช่น ฮอริโมน วิตามิน และสารละลายเข้มข้นของอาหาร เป็นต้น

9) ช้อนตักสาร (Spatula) ใช้ในการตักสารเคมี มีทั้ง 2 แบบคือ แบบโลหะ และแบบพลาสติก (ยูกา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 6, ธงชัย ศรีตะปัญญา, 2563 ; 22)

3.1.4.2 ห้องย้ายเนื้อเยื่อพืช (Transfiration Room) ห้องย้ายเนื้อเยื่อพืชเป็นห้องที่ใช้สำหรับย้ายชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อที่ต้องการเลี้ยงเป็นห้องที่ต้องรักษาความสะอาดมาก เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีโอกาสเข้าไปในภาชนะที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้โดยตรง โดยมีการติดตั้งหลอดยูวี (UV lamp) ในห้องนี้ และจำเป็นต้องทำความสะอาดเป็นประจำ ควรมีการฆ่าเชื้อในอากาศและเชื้อตกพื้นห้องด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เป็นครั้งคราว ห้องนี้จะต้องมีระบบการควบคุมความสะอาดปลอดเชื้อเป็นสำคัญ (Aseptic Condition) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องการเข้าออกของผู้ปฏิบัติงาน อุปกรณ์ที่สำคัญในห้องนี้ ได้แก่

1) ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar Air-Flow Cabinet) เป็นตู้กรองอากาศให้บริสุทธิ์ปลอดจาก เชื้อจุลินทรีย์ เป็นตู้สำหรับตัดแต่ง และย้ายเนื้อเยื่อพืชลงในภาชนะเพาะเลี้ยง ในการติดตั้งตู้ย้ายเนื้อเยื่อนั้นไม่ควรหันด้านหน้าของตู้เข้าหาทางลมของเครื่องปรับอากาศ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจติดมากับลมของเครื่องปรับอากาศเข้าสู่ภายในตู้ได้ อุปกรณ์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญภายในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ คือ หลอดไฟฟ้าให้แสงสว่างจะทำให้เห็นสิ่งต่าง ๆ ภายในตู้ได้อย่างชัดเจน และหลอดยูวี (UV lamp) เป็นหลอดที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนภายในตู้ ก่อนการใช้งานควรเปิดหลอดยูวีไว้ประมาณ 30 นาที และเปิดไว้หลังจากการทำงานเสร็จประมาณเปิดทิ้งไว้ 30 นาที เช่นเดียวกัน

2) ปากคีบ (Forceps) ใช้ในการคีบชิ้นส่วนเนื้อเยื่อขณะตัดและคีบชิ้นพืชลงขวดอาหารเพาะเลี้ยง ก่อนใช้งานควรทำการนึ่งฆ่าเชื้อสิ่งปนเปื้อนก่อน ด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) โดยใช้ความร้อนและความดันที่ใช้ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลาประมาณ 15-20 นาที

3) ด้ามมีดและใบมีดผ่าตัด (Knives and Scalpel) ใช้ในการตัดชิ้นส่วนและเนื้อเยื่อพืช ก่อนใช้งานควรทำการนึ่งฆ่าเชื้อสิ่งปนเปื้อนก่อน ด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) โดยใช้ความร้อนและความดันที่ใช้ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลาประมาณ 15-20 นาที

4) จานแก้ว (Petridish) ใช้ในการรองตัดชิ้นส่วนและเนื้อเยื่อพืช ก่อนใช้งานควรทำอบความร้อนฆ่าเชื้อสิ่งปนเปื้อนก่อน ด้วยเตาอบความร้อน (Hot air oven) โดยใช้ความร้อนประมาณ 180 องศาเซลเซียส ในเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

5) ตะเกียงแอลกอฮอล์ ใช้ในการลนไฟฆ่าเชื้อมีดและปากคีบ ก่อนนำเข้าไปในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ ควรฉีดด้วยแอลกอฮอล์ 70% เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อน

6) ผ้าสำหรับทำความสะอาดตู้และอุปกรณ์ในขั้นตอนการถ่ายเนื้อเยื่อควรนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อนใช้งานด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) โดยใช้ความร้อนและความดันที่ใช้ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลาประมาณ 15-20 นาที และก่อนนำเข้าไปในตู้ย้ายเนื้อเยื่อควรฉีดด้วยแอลกอฮอล์ 70% เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อก่อน

7) ขวดแก้วบรรจุอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนนำเข้าไปในตู้ย้ายเนื้อเยื่อควรฉีดด้วยแอลกอฮอล์ 70% เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อนทุกครั้ง

8) ถาดสเตนเลส/ขวดแก้วใส่แอลกอฮอล์ 95% สำหรับจุ่มมีดผ่าตัดและปากคีบ

9) ตะแกรงสเตนเลส สำหรับวางมีดผ่าตัดและปากคีบ (ยุพา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 8, ชงชัย ศรีตะปัญญา, 2563 ; 23)

3.1.4.3 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Culture Room) สำหรับห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นห้องสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง ซึ่งห้องนี้เป็นห้องที่ต้องควบคุมความสะอาดเป็นพิเศษ เพื่อให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ เป็นห้องที่ติดหลอดยูวีเพื่อเปิดฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ รวมทั้งการรมควัน (Fumigation) เป็นครั้งคราวการดูแลห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะต้องสะอาดอยู่เสมอ หมั่นตรวจดูขวดหรือภาชนะที่เลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ถ้าพบว่ามีจุลินทรีย์ขึ้นปะปนจะต้องรีบนำออกไปนึ่งฆ่าเชื้อและล้างทันที ไม่ให้เป็นที่สะสมเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจแพร่กระจายภายในห้องได้ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเลี้ยงเนื้อเยื่อจะแตกต่างกันสำหรับพืชแต่ละชนิด โดยทั่วไปมักจะปรับสภาพแวดล้อมภายในห้องให้มีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่

ให้แสงประมาณ 12-16 ชั่วโมง/วัน ความเข้มของแสง 1,000-3,000 ลักซ์ อุปกรณ์ที่สำคัญในห้องนี้ ได้แก่

1) ชั้นวางเนื้อเยื่อพืช (Culture Shelf) สำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งอาจทำจากไม้เหล็กฉาก สแตนเลส หรืออลูมิเนียม เป็นต้น ขนาดกว้าง x ยาว x สูง ประมาณ 60 x 125 x 200 เซนติเมตร มีชั้นวาง 5 ชั้น แต่ละชั้นห่างกันประมาณ 30 เซนติเมตร โดยส่วนที่ทำเป็นพื้นอาจเป็นกระจกหรือฟอโรไมก้าสีขาว หรือเป็นตาข่ายโปร่ง โดยมีการติดหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) หรือหลอดที่ให้แสงคล้ายแสงธรรมชาติ เช่น หลอดโกร-ลักซ์ (Gro Lux) ที่ให้แสงสว่างแก่พืช

2) เครื่องปรับอากาศและตัวควบคุมอุณหภูมิ สำหรับควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช คือ ประมาณ 25 องศาเซลเซียส

3) เครื่องควบคุมเวลา (Timer) ใช้สำหรับตั้งเวลาในการปิด-เปิดไฟเพื่อควบคุมความยาวของช่วงแสง

4) หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) สำหรับให้แสงสว่าง แก่พืช

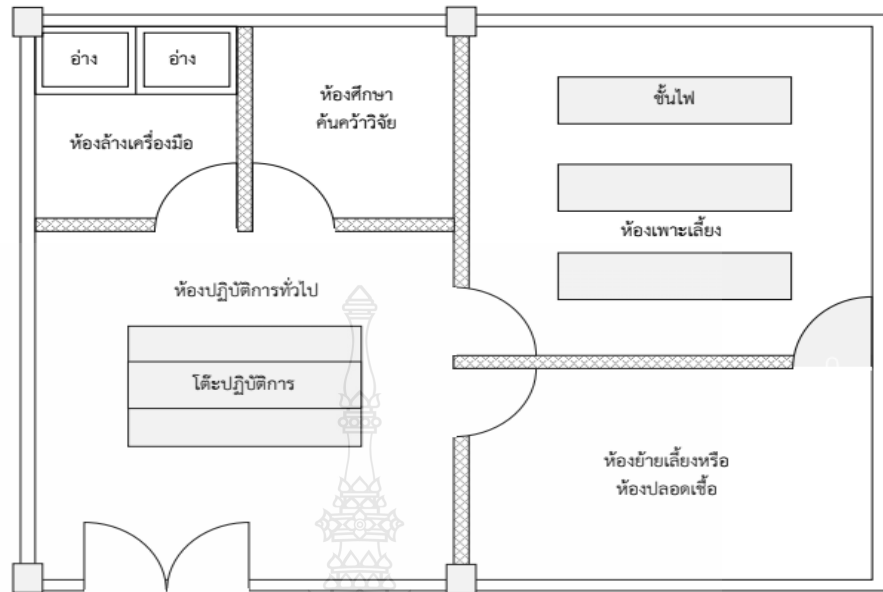
5) เครื่องเขย่า (Shaker) ใช้สำหรับเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงใน อาหารเหลว เป็นการเพิ่มออกซิเจนลงไปในอาหาร เพื่อให้เนื้อเยื่อพืชได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอต่อการเจริญเติบโต นิยมใช้ความเร็วรอบ 100-150 รอบ ต่อนาที (ยุพา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 9, ธงชัย ศรีตะปัญญา, 2563 ; 24)

3.1.5 แพลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การออกแบบห้องปฏิบัติการเป็นขั้นตอนสำคัญที่สุดของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ห้องปฏิบัติการที่ดีต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ 1) เคลื่อนย้ายสิ่งของได้สะดวก 2) แบ่งแยก เข้า-ออก พื้นที่สะอาด (Clean Area) ออกจากส่วนอื่น ๆ ได้อย่างดี 3) เคลื่อนย้ายผู้ปฏิบัติงานการออกแบบห้องปฏิบัติการยังต้องคำนึงวัตถุประสงค์ของห้องปฏิบัติงานนั้น เช่น ชนิดของงานและความสามารถในการผลิตที่ต้องการ เป็นต้น การเลือกสถานที่ตั้งห้องปฏิบัติก็เป็นขั้นตอนที่สำคัญต่อการออกแบบ แต่ปกติห้องปฏิบัติการมักถูกเลือกให้อยู่ในพื้นที่ซึ่งมีอยู่แล้ว การออกแบบจึงต้องคำนึงถึงสิ่งก่อสร้างเดิมการสร้างห้องปฏิบัติการจะต้องคำนึงถึงความสะอาดของอากาศที่อยู่ภายในพื้นที่และผนัง ต้องถูกทำความสะอาดได้ง่าย ประตูกระจกแบบบานเลื่อนช่วยให้ประหยัดพื้นที่และยังปลอดภัยกว่า ประตูแบบบานผลักจึงเป็นที่นิยมใช้แม้ราคาค่อนข้างสูง ดังรูปที่ 3.1 (ยุพา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 2, เพชรรัตน์ จันทรทิณ, 2556 ; 7, ธงชัย ศรีตะปัญญา, 2563 ; 20)

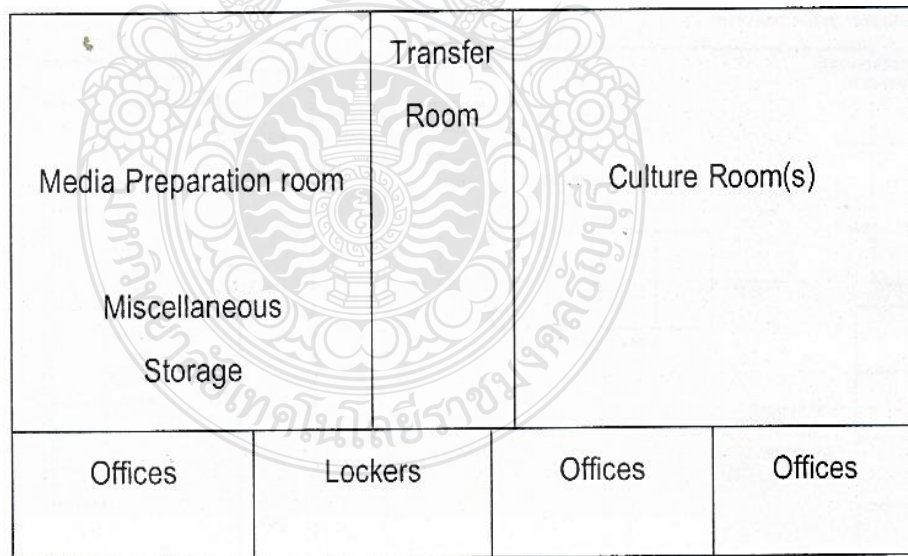
ตัวอย่างการจัดห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

แบบที่ 1



ก. แผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ (คำบุญ, 2542)

แบบที่ 2



ข. แผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Trigiano and Gray, 1996)

ภาพที่ 3.1 แสดงตัวอย่างแผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

3.1.6 สารเคมีที่ใช้สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การจัดเตรียมสารเคมีเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ควรมีการตรวจเช็คสต็อกสารเคมีอยู่เสมอว่ามีเพียงพอต่อการใช้งานหรือตรวจเช็คควมมีการหมดอายุการใช้งานหรือไม่ สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสูตรอาหารสังเคราะห์สำหรับการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ สารอนินทรีย์ที่เป็นธาตุอาหารหลัก และสารอินทรีย์ ใช้เป็นแหล่งพลังงานของพืช และสารเคมีที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน และจิบเบอเรลลิน เป็นต้น

สารเคมีที่จำเป็นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแยกเป็นหมวดหมู่ได้ดังนี้

1. สารเคมีที่ใช้ในการทำความสะอาด แยกเป็นสารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดห้องทำงานและอุปกรณ์ เครื่องแก้ว เช่น น้ำยาล้างจาน ผงซักฟอก น้ำยาฆ่าเชื้อโรค สารเคมีที่ใช้ในการทำ ความสะอาดขึ้นพืช ได้แก่ เอทานอล 95% เอทานอล 70% แคลเซียมไฮโปคลอไรด์ หรือน้ำยาคลอโรกซ์ เป็นต้น

2. สารเคมีที่ใช้ในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งประกอบด้วยสารอนินทรีย์พวกเกลือแร่ต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชและสารอินทรีย์ที่เติมในอาหารเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต ได้แก่ ฮอร์โมน วิตามิน กรดอะมิโน น้ำตาล ภู่น เป็นต้น

องค์ประกอบหลักของสารเคมีในอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ โดยทั่วไป มีดังต่อไปนี้

1. สารอนินทรีย์ (Inorganic Compound) ประกอบด้วยธาตุต่าง ๆ ดังนี้

1.1 ธาตุอาหารหลัก (Macro Elements) พืชต้องการในปริมาณมากเพื่อใช้สร้างโครงสร้าง ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) ซัลเฟอร์ (S) แมกนีเซียม (Mg) คาร์บอน (C) เป็นต้น

1.2 ธาตุอาหารรอง (Micro Elements) พืชต้องการในปริมาณน้อย ได้แก่ เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) โมลิบดีนัม (Mo) โบรอน (B) โคบอลต์ (Co) นิกเกิล (Ni) อะลูมิเนียม (Al) โมลิบดีนัม (Mo) คลอรีน (Cl) เป็นต้น (เพชรรัตน์ จันทรทิม, 2556: 29, ยุพา ปานแก้ว และคณะ, 2558 :15)

2. สารอินทรีย์ (Organic Compound) ประกอบด้วยธาตุต่าง ๆ ดังนี้

2.1 สารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant Growth Regulators, PGR) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติเหมือนฮอร์โมนพืช ทำหน้าที่กระตุ้นและมีส่วนร่วม ในกระบวนการต่าง ๆ ที่นำไปสู่การพัฒนาของต้นที่เป็นปกติการเจริญเติบโตตลอดจนการเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ เนื้อเยื่อ และ Secondary Metabolism เป็นผลมาจากฮอร์โมนเหล่านี้ทั้งสิ้น การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารจึงอาจไม่จำเป็นเสมอไปโดยเฉพาะในการเลี้ยงแคลลัส อย่างไรก็ตามโดยปกติจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและ/หรือการกำเนิดอวัยวะ และ

มีเนื้อเยื่อพืชไม่กี่ชนิดที่สร้างแคลลัสได้ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่

2.1.1 ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (Auxin) เป็นกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ (Cell Enlargement) การเกิดแคลลัส ยับยั้งการเกิดยอด แต่ส่งเสริมการเกิดราก สร้างบริเวณส่วนยอด ฮอร์โมนกลุ่มนี้ ได้แก่ IAA (indole acetic acid), IBA (indole butyric acid), NAA (naphthalene acetic acid), 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) เป็นต้น

2.1.2 ฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (Cytokinin) เป็นกลุ่มสารที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช กระตุ้นการเกิดยอด ยับยั้ง การเกิดราก และกระตุ้นให้เกิดแคลลัสเมื่อใช้ร่วมกับออกซินสร้างบริเวณปลายรากและใบอ่อน ฮอร์โมนกลุ่มนี้ ได้แก่ BA (6-Benzylaminopurine), 2iP (N⁶-isopentenyl adenine), Kinetin (6-Furfurylamino-purine (Kinetin)), TDZ (Thiadiazuron), Zeatin (Zeatin) เป็นต้น

2.1.3 จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) เป็นสารที่สร้างในพืช หรือโดยเชื้อราบางชนิด สลายตัวเมื่อถูกความร้อน มีผลช่วยในการยืดตัวของลำต้น ทำลายการพักตัวของเมล็ด ช่วยกระตุ้นการออกดอกของพืช แต่บางครั้ง gibberellins จะไปยับยั้งการชักนำขบวนการเกิด เป็นอวัยวะพืช เช่น ทำให้การออกรากช้าลง และยับยั้งการเกิดยอด มีการใช้ gibberellins ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอด (shoot tip) เพื่อผลิตต้นพืชปราศจากไวรัส

2.1.4 สารชะลอการเจริญเติบโต (Plant Growth Retardants) สารกลุ่มนี้ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี มีคุณสมบัติชะลอการแบ่งเซลล์ และการยืดตัวของเซลล์ ทำให้พืช มีลำต้นเตี้ย ข้อปล้องสั้นลง และยังมีผลทางอ้อมในการเร่งการออกดอกและติดผล เช่น พาคโคลบิวทราโซล และ อาลาร์ จึงมีผู้นิยมนำมาใช้ในการสร้างพืชลักษณะพิเศษ เช่น ต้นแคระ มีดอก ตั้งแต่ต้นมีขนาดเล็ก หรือใช้ในการเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืช Abscisic acid (ABA) ช่วยควบคุม 25 ขบวนการทางสรีรวิทยาต่าง ๆ ของพืช เช่น ควบคุมการปิดของปากใบ กระตุ้นการพักตัวของตา และเมล็ด ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบางชนิด ABA จะกระตุ้นให้เกิด Somatic Embryogenesis

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มที่สำคัญ ซึ่งนิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ Auxins และ Cytokinins อัตราส่วนระหว่าง Auxin และ Cytokinins ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหาร โดยพบว่า อัตราส่วนของ Auxin ต่อ Cytokinin สูงกว่าอัตราสมมูล เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็น Callus และรากแต่หากอัตราส่วนของ Auxin ต่อ Cytokinin ต่ำกว่าอัตราสมมูล เนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอด หากอัตราส่วนของสารทั้ง 2 สมมูล เนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอดและราก

2.2 วิตามิน (Vitamin) ช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ เป็นไปได้อย่างดี วิตามินที่นิยมใช้เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ วิตามิน B1 (Thiamine), วิตามิน B2 (Riboflavin), วิตามิน B6 (Pyridoxine), กลุ่มวิตามิน B รวม (Inositol), วิตามิน C (Ascorbic acid), ไนอะซิน (Nicotinic Acid), Biotin, Folic acid เป็นต้น

2.3 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (Carbon sources) ได้แก่ น้ำตาล จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชเนื่องจากเป็นแหล่งพลังงาน โดยทั่วไปน้ำตาลที่นิยมใช้ ได้แก่ น้ำตาล เช่น ซูโครส (Sucrose), ซึ่งคือน้ำตาลทรายที่ขายตามท้องตลาดนั่นเอง เนื่องจากมีราคาถูก โดยใช้ที่ความเข้มข้น 2-4 % แต่ในบางกรณีน้ำตาล กลูโคส (Glucose), ฟรุคโตส (Fructose) และ Sorbitol ในพืชพวกใบเลี้ยงเดี่ยว (Monocotyledon) นิยมใช้น้ำตาล Glucose แทน Fructose

2.4 กรดอะมิโน (Amino acid) เป็นแหล่งให้ไนโตรเจนที่พืชจะได้รับเร็วกว่าจากสารในกลุ่มอนินทรีย์ แต่ไม่สามารถใช้แทนกันได้ทั้งหมด กรดอะมิโนที่สำคัญ ได้แก่ Glutamine, Asparagine, Adenine, Glycine, Casein เป็นต้น

2.5 สารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ (Undefined Supplement) เป็นแหล่งธาตุอาหารและฮอร์โมนพืช สำคัญต่อการชักนำให้พืชสร้างอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ น้ำมะพร้าว กัลวยบด มันฝรั่ง สารสกัดจากมอลต์ สารสกัดจากยีสต์ อิมัลชันปลา ถ่านกัมมันต์ (Activated Charcoal) สารประกอบจากธรรมชาติเหล่านี้ ในบางครั้งไม่สามารถทดแทนกันได้ด้วยสารอื่นใดในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช แต่พบว่าให้ผลดีต่อการเจริญของเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลอง บางชนิดยังช่วยทำหน้าที่รักษาสมดุลของความเป็นกรด-ด่าง และบางชนิดช่วยดูดซับสารที่เป็นพิษเนื่องจากมีมากเกินไปด้วย

2.6 สารที่ทำให้อาหารแข็งตัวและวัสดุพองเนื้อเยื่อพืช โดยทั่วไปมักใช้วุ้น (Agar) และ เจลาตินผสมลงในอาหารเพื่อ ทำให้อาหารแข็งตัวเพื่อเป็นที่ยึดเกาะของชิ้นส่วนพืช โดยเป็นวุ้นที่ทำมาจากสาหร่ายทะเลใช้ใน อัตรา 0.5-1.3 % หรือใช้เจลไรท์ (Gelrite) ที่ทำมาจาก Polysaccharide ของแบคทีเรีย ใช้ในอัตรา 0.2 % คุณภาพและราคาของสารที่ใช้ทำให้อาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแข็งตัวมีหลายระดับ ควรระมัดระวังการใช้สารคุณภาพต่ำเนื่องจากไอออน แปะง และไขมันที่ปะปนอยู่จะไปทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบอื่น ๆ ของอาหารและมีผลยับยั้งการเจริญของเนื้อเยื่อพืช

2.7 น้ำ เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารละลายและการเตรียมอาหาร โดยทั่วไปนิยมใช้น้ำกลั่น ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะประกอบด้วยน้ำประมาณ 95 % ในการทำงานวิจัยควรใช้น้ำที่บริสุทธิ์สะอาด เช่น น้ำกลั่น หรือน้ำกรองระบบ reverse osmosis การใช้น้ำประปาที่ไม่ผ่านการกรองจะมีสิ่งสกปรกต่าง ๆ เจือปนอยู่มาก ซึ่งจะไปรบกวนองค์ประกอบทางเคมีของสิ่งต่าง ๆ ที่ใส่เข้าไปในอาหารได้ (เพชรรัตน์ จันทรทีณ, 2556 ; 28, ยุพา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 16 ธงชัย ศรีตะปัญญา, 2563 ; 32)

3.1.6 การเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution) เป็นสารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหารที่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะธาตุอาหารรองและวิตามินที่เตรียมให้มีความเข้มข้นมากกว่าปกติคือให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 10 ถึง 1,000 เท่า เวลาใช้จะเจือจางให้เท่ากับปริมาณหรือความเข้มข้นของสารอาหารที่ใช้จริงในสูตรอาหาร การเตรียมสารละลายเข้มข้นโดยนำสารเคมีพวกที่สามารถรวมกันได้โดยไม่ตกตะกอนไว้ด้วยกันเพื่อไม่ให้มีสารละลายเข้มข้นหลายขวด ในการเตรียมสารละลายเข้มข้นนั้น เป็นวิธีการที่สะดวกสำหรับผู้ปฏิบัติงาน สามารถช่วยประหยัดเวลาและความผิดพลาดในการชั่งตวงสารเคมีที่มีปริมาณน้อย ๆ ได้มากที่สุด เนื่องจากใช้สารเคมีผสมกันหลายประเภท ถ้านักศึกษาเตรียมเองในชั่วโมงเรียนจะใช้เวลานานทำให้ไม่สามารถปฏิบัติการได้ตามเวลา และนักศึกษาแต่ละคนมีทักษะการชั่งตวงสารต่างกันมีผลต่อมาตรฐานของสต็อก ซึ่งส่งผลกระทบต่อการทำงานปฏิบัติการ (เพชรรัตน์ จันทรทิณ, 2556 ; 36, ยุกา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 22)

3.1.6.1 ประโยชน์ของการเตรียมสารละลายเข้มข้น

- 1) ช่วยไม่ให้เกิดความผิดพลาดในการชั่งตวงสารเคมีที่มีปริมาณน้อย
- 2) ไม่ต้องชั่งสารทุกตัว ในทุกครั้งเตรียมอาหาร

3.1.6.2 หน่วยความเข้มข้นของสาร (ยุกา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 17)

ในการเตรียมสารเคมีเพื่อใช้สำหรับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหน่วยความเข้มข้นของสารที่เกี่ยวข้องหลายชนิดที่จำเป็นดังนี้

- 1) เเปอร์เซ็นต์ปริมาตร (Volume Percentage) ใช้กับตัวทำละลายที่เป็นของเหลว เช่น น้ำมะพร้าว 15 เเปอร์เซ็นต์ สำหรับอาหารปริมาตร 1 ลิตรหมายถึง ในอาหาร 1 ลิตร มีน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร
- 2) เเปอร์เซ็นต์น้ำหนัก (Weight Percentage) การคำนวณเนื้อสารที่ใช้กับของแข็งหรือผง เช่น น้ำตาล 3 เเปอร์เซ็นต์ หมายถึง มีน้ำตาล 3 กรัม ในอาหาร 100 มิลลิลิตร หรือมีน้ำตาล 30 กรัม ต่อปริมาตรอาหาร 1 ลิตร
- 3) น้ำหนักต่อปริมาตร (Weight Percentage) เช่น กรัมต่อลิตร (g/l) มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตัวอย่าง เช่น BA 1 mg/l หมายถึง BA 1 มิลลิกรัม ในอาหาร 1 ลิตร
- 4) นอร์มอล (Normality, N) คือ ความเข้มข้นการแตกตัวของอนุมูลในปฏิกิริยาสาร 1 กรัมโมล
- 5) โมลาร์ หรือ โมลาริตี (Molarity, M) คือ ความเข้มข้นเป็นโมลต่อตัวทำละลาย 1 ลิตร (ยุกา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 17)

3.1.6.3 ขั้นตอนในการเตรียมสารละลายเข้มข้น (ยુพา ปานแก้ว และคณะ, 2558; 17)

- 1) คำนวณและชั่งสารเคมีแต่ละกลุ่มที่กำหนดไว้
- 2) ละลายสารเคมีในน้ำกลั่น แต่ละกลุ่มตามลำดับ โดยให้แต่ละชนิดละลายให้หมดก่อนเสมอเพื่อป้องกันการตกตะกอนของสารละลายเข้มข้น จะทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ในการเตรียมอาหารได้อีกต่อไป
- 3) เมื่อละลายสารเคมีแต่ละกลุ่มหมด ให้ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ตามปริมาตรตามที่กำหนดไว้ เช่น 100 มิลลิลิตร หรือ 500 มิลลิลิตร หรือ 1000 มิลลิลิตร เป็นต้น
- 4) บรรจุสารละลายเข้มข้นในขวดเก็บสาร เขียนรายละเอียดของสารติดข้างขวด (เช่น ชื่อสาร ความเข้มข้น ปริมาตรที่นำมาใช้ และวันที่เตรียมสาร)
- 5) นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นหรือที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อคงประสิทธิภาพของสาร

3.1.6.4 การคำนวณเทียบหน่วยความเข้มข้นที่ต่างกัน

1) การเตรียมสารละลายเป็น ppm (parts per million) (มานี เตื้อสกุล, 2542: 200)

สารละลาย 1 ppm หมายถึง ในสารละลาย 1,00,000 มิลลิลิตร มีเนื้อสารอยู่ 1 กรัม (ppm มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg /l))

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad \text{ppm} = \text{part per million} &= \frac{1}{1,000,000} \text{ g/ml} \\ &= \frac{1}{1,000} \text{ mg/l} \\ &= 1 \text{ mg/l} \end{aligned}$$

ตัวอย่าง ต้องการเตรียมสารละลาย kinetin 10 ppm จำนวน 100 ml ต้องใช้ kinetin กี่กรัม

วิธีทำ สารละลาย 1,00,000 มิลลิลิตร มี kinetin 10 กรัม
 สารละลาย 100 มิลลิลิตร มี kinetin $\frac{10 \times 100}{1,000,000}$ กรัม
 ต้องชั่ง kinetin จำนวน = 0.001 กรัม

ดังนั้นชั่ง kinetin มา 0.001 กรัม ละลายใน 1 N NaOH ประมาณ 4-5 หยด เพื่อทำละลาย kinetin ให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ก็จะได้สารละลาย kinetin ความเข้มข้น 10 ppm ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2) การเตรียมสารละลายเป็นโมลาร์ (Molarity, M) (มานี เตื้อสกุล, 2542: 201)

ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ หมายถึง สารละลาย 1,000 มิลลิลิตร มีเนื้อสาร
กี่กรัมโมเลกุล

เช่น Kinetin 1 โมลาร์ (M) หมายถึง ในสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร มี Kinetin
อยู่ 1 กรัมโมเลกุล หนักเท่ากับ 215.22 กรัม ดังนั้นในการเตรียมสารละลาย Kinetin 1 M จำนวน
1,000 มิลลิกรัม ต้องใช้ Kinetin 215.22 กรัม แต่โดยปกติแล้วสารควบคุมการเจริญเติบโต มักใช้
เป็นไมโครโมลาร์ (μM)

$$1\mu\text{M} = 10^{-6} \text{ M}$$

$$1 \text{ mM} = 10^{-3} \text{ M}$$

ตัวอย่าง ต้องการเตรียม Kinetin ความเข้มข้น 100 μM จำนวน 500 มิลลิลิตร
โดย kinetin มีน้ำหนักโมเลกุล 215.22

วิธีทำ สารละลายเข้มข้น 100 μM จำนวน 500 มิลลิลิตร มีเนื้อสารอยู่
 100×10^{-6} กรัมโมเลกุล

$$\text{ดังนั้น } 500 \text{ มิลลิลิตร มีเนื้อสารอยู่} = \frac{100 \times 10^{-6} \times 500}{1,000} \text{ กรัมโมเลกุล}$$

$$= 0.00005 \text{ กรัมโมเลกุล}$$

$$1 \text{ กรัมโมเลกุลของ Kinetin หนัก} = 215.22 \text{ กรัม}$$

$$0.00005 \text{ กรัมโมเลกุลหนัก} = 0.01076 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ต้องชั่ง Kinetin หนัก 0.01076 กรัม ละลายใน 1N NaOH ประมาณ 4-5 หยด เพื่อทำ
ละลาย kinetin ให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 500 ml ก็จะได้สารละลาย
kinetin ความเข้มข้น 100 μM ในปริมาตร 500 มิลลิลิตร

3) การเทียบสารละลายจากเปอร์เซ็นต์(%)เป็น ppm

ตัวอย่าง ต้องการเตรียมสารละลาย BA ความเข้มข้น 2 ppm จำนวน 500 มิลลิลิตร
จากสารละลายเข้มข้น BA 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนัก/ปริมาตร

วิธีทำ สารละลายเข้มข้น BA 100 มิลลิลิตร มีเนื้อสาร BA อยู่ 10 กรัม

$$\text{ใน } 1,000,000 \text{ มิลลิลิตร มีเนื้อสารอยู่} = \frac{10 \times 1,000,000}{100} \text{ กรัม}$$

$$= 100,000 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น สารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 100,000 ppm ต้องการ BA เข้มข้น
2 ppm จำนวน 500 มิลลิลิตร

ใช้สูตร $N_1V_1 = N_2V_2$

N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ = 100,000 ppm

V_1 = ปริมาตรของสารที่ต้องการ = ไม่ทราบ

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่เป็น Stock = 2 ppm

V_2 = ปริมาตรของสารที่ต้องนำมาใช้เจือจาง = 500 มิลลิลิตร

แทนค่าสูตร $100,000 \times V_1 = 2 \times 500 / 100,000$

$V_1 = 0.01$ มิลลิลิตร

ใช้สารละลายที่เป็น Stock = 0.01 มิลลิลิตร

นำสารละลายมาละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร

สารที่ได้จะมีความเข้มข้น 2 ppm

3.1.6.4 การเตรียมสารละลายเป็นนอร์มอล (Normality, N) (ยุพา ปานแก้ว และคณะ, 2558 ; 22)

ตัวอย่าง 1 ต้องการเตรียม 1N NaOH (Sodium hydroxide) ในปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

$1N$ (Normality) = $1M$ (Molarity)

น้ำหนักโมเลกุล ของ NaOH = (Na = 23 , O = 16 , H = 1) = 40 g

ดังนั้น 1N NaOH หมายถึง NaOH 40 กรัม ในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร

ต้องชั่ง NaOH มาจำนวน 40 กรัม ผสมน้ำกลั่นบางส่วนเพื่อทำละลายจนหมดและรอให้เย็นจึงปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ก็จะได้ NaOH ความเข้มข้น 1N ในปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

3.2 ข้อควรระวังและสิ่งที่ควรคำนึงถึงในการปฏิบัติงาน

ในการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ต้องคำนึงถึงหลักความปลอดภัย และข้อควรระวังในการใช้อุปกรณ์ที่สำคัญต่าง ๆ ดังนี้

3.2.1 ข้อควรปฏิบัติในการใช้อุปกรณ์ต่างๆ สำหรับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

3.2.1.1 ข้อควรปฏิบัติในการใช้อุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ (ยุพิน ฤทธิ์อ่อน, 2562 ; 38)

- เครื่องแก้วต่าง ๆ ควรเก็บในระยะเวลาที่สามารถหยิบใช้งานได้สะดวก
- เครื่องแก้วต่าง ๆ ต้องจัดวางในที่ปลอดภัย ไม่เสี่ยงต่อการตกแตก
- ควรจับต้องเครื่องแก้วด้วยความระมัดระวัง
- เครื่องแก้วที่แตกชำรุด ไม่ควรนำมาใช้ ให้ทำการแยกไว้
- ห้ามใช้ปากดูดปิเปต (pipette)
- ห้ามใช้เครื่องแก้วใส่สารเคมีที่เป็นต่าง
- เครื่องแก้วที่ต้องโดนความร้อน ต้องเป็นเครื่องแก้วทนร้อนเท่านั้น
- เครื่องแก้วเมื่อล้างทำความสะอาดแล้วควรผึ่งให้แห้ง ก่อนนำไปเก็บในตู้

3.2.1.2 ข้อปฏิบัติในการใช้ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Cabinet) (อารีย์ วรรณวิวัฒน์, 2545 ; 1)

- ก่อนใช้งานให้ทำการเปิดไฟ UV ทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที พร้อมเปิดพัดลมก่อนใช้งาน หลังจากเปิด UV แล้วให้ฉีดแอลกอฮอล์ 70% ให้ทั่วภายในตู้
- ควรทำการฉีดพ่นอุปกรณ์ทุกชิ้นก่อนนำเข้าตู้ปลอดเชื้อ ด้วยแอลกอฮอล์ 70%
- หลังจากใช้งานเสร็จควรฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% อีกครั้งแล้วเช็ดให้สะอาดและไม่ควรทิ้งอะไรไว้ในตู้ เพราะจะกีดขวางการปฏิบัติงานของผู้อื่นที่จะใช้ภายหลัง
- ไม่ควรแช่อุปกรณ์ เช่น ปากคีบ มีดผ่าตัดไว้ในแอลกอฮอล์ เพราะอาจเกิดการกัดกร่อนกับโลหะได้
- ตรวจสอบความเรียบร้อยในตู้ก่อนจากไป เช่น ปิดไฟ ปิดพัดลม ปิดประตูตู้ ถอดปลั๊กอุปกรณ์ทุกชนิดเพื่อประหยัดพลังงาน
- ควรสังเกตแรงพัดลมของตู้ปลอดเชื้อเป็นครั้งคราว เพราะอาจเกิดการอุดตันของไส้กรองจากฝุ่นละออง

3.2.1.3 ข้อควรปฏิบัติในการใช้หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) (ธงชัย ศรีตะปัญญา, 2563 ; 42)

- การนำสิ่งของออกจากเครื่อง Autoclave ต้องรอให้เข็มของ Pressure Gauge ตกลงมาที่ 0 psi ก่อนจึงสามารถเปิดฝาเครื่องได้
- ควรสวมถุงมือกันความร้อนทุกครั้งก่อนจับชิ้นส่วนของตู้ เนื่องจากยังมีความร้อนอยู่
- ต้องรอจนกว่าของเหลวในหม้อนึ่งความดันไอน้ำจะเย็นลงหรืออุณหภูมิลดลง ถึงจุดที่จะเอาสิ่งของออกได้
- ต้องปิดฝาหม้อนึ่งให้สนิททุกครั้งก่อนใช้งาน และไม่ควรวางสิ่งของซ้อนกันแน่นเกินไป
- การนึ่งของเหลว ควรคำนึงถึงปริมาตรที่บรรจุลงในภาชนะ ถ้าบรรจุมากเกินไป อาจทำให้ของเหลวล้นออกมาในขณะนึ่งเชื้อ
- ตรวจสอบน้ำใน Chamber ให้อยู่ในระดับเซนเซอร์ ถ้าหากเห็นว่าน้ำสกปรก ควรเปลี่ยนน้ำใหม่
- ควรใช้ระดับน้ำในหม้อนึ่งให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม
- ไม่ควรนำสารละลายที่ระเหยได้หรือสารเคมีที่มีฤทธิ์กัดกร่อนมานึ่งฆ่าเชื้อ

3.2.1.4 ข้อปฏิบัติในการใช้เครื่องชั่ง (Balance) (ชูชาติ อารีจิตราวุธสรณ์, 2534 ; 104)

- ก่อนทำการปรับตั้งเครื่องชั่ง ต้องปรับระดับให้เครื่องชั่งตั้งตรงและแสดงหน้าจออกเป็นศูนย์ (Zero reading) ก่อนเสมอ และการตั้งเครื่องชั่งวางบนพื้นราบที่มั่นคง (ให้ลูกน้ำที่อยู่บริเวณด้านหลังเครื่องอยู่บริเวณตรงกลาง)
- ขณะใช้เครื่องชั่งต้องรักษาความสะอาดของเครื่องตลอดเวลา ถ้ามีของหก ต้องรีบเช็ดทันที
- สารที่ทำอันตรายเครื่องชั่งได้ต้องปิดฝาให้มิดชิดก่อนนำไปชั่ง
- การชั่งตัวอย่างไม่ควรใช้มือจับภาชนะใส่ตัวอย่างโดยตรง เพราะอาจทำให้เกิดการปนเปื้อน
- ควรวางสิ่งที่ต้องการชั่งบริเวณกลางจานชั่ง เพื่อป้องกันการอ่าน ค่าน้ำหนักผิดพลาดไป
- การทำความสะอาดเครื่องชั่งและจานชั่ง สามารถใช้แปรงปัด หรือผ้าเช็ด หากมีรอยเปื้อนเป็นคราบอาจใช้ผ้า ชุบน้ำหมาด ๆ หรือชุบ 50% เอทานอล เช็ดด้านบนของจานชั่ง สำหรับด้านล่างจานชั่งให้ใช้ลมเป่าสิ่ง สกปรกหรือฝุ่น ผงที่อยู่ใต้จานชั่ง

3.2.1.5 ข้อปฏิบัติในการใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (ชูชาติ อารีจิตราวุธสรณ์, 2534 ;136)

- ก่อนการใช้งานจะต้องทำการ Calibrate ด้วย Standardize buffer ทุกครั้ง
- ควรล้าง Electrode ด้วยน้ำกลั่นให้สะอาดและเช็ดด้วยทิชชูให้สะอาด

- เมื่อไม่ใช้งานเครื่องวัดความเป็นกรด - ต่างแล้วควรแช่หัวอิเล็กโทรดไว้ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ KCl ความเข้มข้น 3 โมล/ลิตรเพื่อรักษาหัวอิเล็กโทรดให้ใช้งานได้อย่างปรกติ
- เมื่อใช้งานเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ต่าง เสร็จ ให้ถอดปลั๊กของ Adapter ออกเพื่อเป็นการปิดเครื่อง

3.2.1.6 ข้อปฏิบัติในการใช้ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (ชูชาติ อาริจิตรานุสรณ์, 2534 ; 172)

- ไม่ควรใส่วัตถุวัตถุอบมากเกินไป ในตู้อบลมร้อนที่ใช้ระบบถ่ายเทความร้อนด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก เพราะความร้อนจะกระจายไม่ทั่วถึง
- หลีกเลี่ยงการอบสารเคมีที่ระเบิดหรือติดไฟง่าย
- ใช้อุณหภูมิให้เหมาะสมกับวัตถุที่นำมาอบ เช่น การอบภาชนะพลาสติกธรรมดา ควรอบไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส และภาชนะเครื่องแก้ววัดปริมาตรไม่ควรอบในที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นต้น
- ควรคว่ำภาชนะแก้วหรือพลาสติกให้แห้งจนเหลือน้ำน้อยที่สุดก่อนนำไปอบ เพื่อประหยัดพลังงานความร้อน ที่ต้องสูญเสียเพิ่มขึ้นในการทำให้น้ำระเหย
- ปิดประตูตู้อบให้สนิททุกครั้งก่อนอบวัตถุ

3.2.2 ข้อควรปฏิบัติในการเก็บสารเคมี (ธงชัย ศรีตะปัญญะ, 2563; 25)

การเก็บสารเคมีต้องคำนึงถึงความปลอดภัยเป็นหลัก จึงต้องควบคุมดูแล และป้องกันอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นได้จากสารเคมีโดยเฉพาะพวกกรดหรือด่าง ต้องเป็นห้องที่อากาศถ่ายเทได้ดี ห่างไกลจากเตา หรือตู้เย็นเพื่อป้องกันความร้อนที่ระบายออกมา ควรมีตู้เก็บสารเคมีที่เป็นตู้กระจก ปิดสนิทเพื่อให้มองเห็นสารเคมีได้ชัดเจน สารเคมีเหล่านี้สามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนแปลง คุณสมบัติ การจัดวางสารเคมี ในตู้อาจแบ่งออกเป็นประเภทต่าง ๆ แล้วแยกเก็บคนละชั้นแต่อยู่ในตู้เดียวกัน แต่ถ้ามีตู้เพียงพอควรแยกตู้ในการจัดเก็บ ปกติสารเคมีจะถูกจัดวางไว้ตามลำดับอักษรตามชื่อสามัญ (Common name) โดยจัดเรียงเป็นหมวดหมู่ของตัวอักษรภาษาอังกฤษ A - Z เพื่อความสะดวกในการค้นหา ดังนั้นหลังใช้แล้วควรเก็บเข้าที่เดิมทันทีหลังซึ่งเสร็จ

3.2.3 ข้อควรปฏิบัติในการห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ธงชัย ศรีตะปัญญะ, 2563 ; 25)

3.2.3.1 ห้องเตรียมอาหาร (Media Preparation Room)

ห้องเตรียมอาหารต้องเป็นห้องที่มีอากาศถ่ายเทได้ดี ให้เปิดหน้าต่างทุกบานเวลาใช้งานห้องนี้เพื่อระบายความร้อนที่เกิดขึ้นไม่ว่าจะเป็นความร้อนจากการต้มหลอมอาหารหรือความร้อนจากการนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร เครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออยู่ในสภาพที่ปรกติพร้อมใช้งาน โต้ะสำหรับ

เตรียมอาหารจะต้องสะอาด และมีพื้นที่กว้างพอที่จะวางสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร และวางอุปกรณ์ ตลอดจนภาชนะที่ใช้ เตรียมอาหารวางให้เป็นระเบียบไม่เกะกะเพื่อสะดวกต่อการทำงาน และห้ามนำอาหารหรือเครื่องดื่มเข้ามารับประทานในห้องนี้โดยเด็ดขาด

3.2.3.2 ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (Transferral Room) (ธงชัย ศรีตะปัญญะ, 2563 ; 26)

ห้องย้ายเนื้อเยื่อเป็นห้องที่ใช้สำหรับย้ายชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อที่ต้องการเลี้ยง เป็นห้องที่ต้องรักษาความสะอาดมากไม่มีฝุ่นหรือแมลง ผู้ที่จะเข้ามาใช้ห้องนี้จะต้องสวมชุดกราว และสวมรองเท้าแตะ ที่สะอาดเข้ามาทำปฏิบัติการ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อต้องอยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งาน หลอดไฟ และหลอดยวีสสามารถใช้งานได้ ระบบกรองอากาศของตู้ปกติน้ำต่างจะต้องปิดสนิท ประตูทางเข้าเมื่อเข้ามาในห้องนี้แล้ว จะต้องปิดทุกครั้ง พัดลมระบายอากาศ และเครื่องปรับอากาศ ทำงานได้อย่างปกติ ผู้ที่เข้ามาทำปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้องไม่พูดคุยกันเสียงดัง ขณะทำงาน

3.2.3.3 ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture Room) (ธงชัย ศรีตะปัญญะ, 2563 ; 26)

ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องรักษาความสะอาดอย่างเข้มงวดสูงสุด บริเวณชั้นวางเนื้อเยื่อจะต้องสะอาดไม่มีฝุ่น ภายในห้องจะต้องปราศจากมด และแมลง ห้ามบุคคลเข้าออก ก่อนได้รับอนุญาต เป็นห้องที่มีสภาพปิด มีระบบการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ตลอดเวลา เมื่อเวลาเข้าไปในห้องจะต้องรู้สึกถึงความเย็น และตรวจเช็คอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ เป็นระยะ ถ้าไม่รู้สึกถึงความเย็น แสดงว่าเครื่องปรับอากาศมีปัญหาให้รีบดำเนินการแก้ไข มีชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง (culture shelf) มีหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) ที่ให้แสง 10,00-3,000 ลักซ์ ควรเช็คทำความสะอาดชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงด้วยแอลกอฮอล์ 70% อย่างสม่ำเสมอ ควรมีเครื่องควบคุมเวลา (timer) เพื่อใช้ควบคุมการปิด-เปิด หลอดไฟสำหรับตั้งระยะเวลาการให้แสงสว่างของพืชเพาะเลี้ยง และควรมีการตรวจสอบความเข้มของแสงเป็นระยะ ด้วยเครื่องวัดแสง (Lux Meter) มีการตรวจเช็คขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างสม่ำเสมอหากมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ (Contamination) ควรเก็บออกมาแล้วทำการนิ่งฆ่าเชื้อทิ้งทันที ไม่ปล่อยให้ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการปนเปื้อนปะปนกับขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ดีเพราะอาจทำให้เกิดการกระจายของเชื้อจุลินทรีย์ได้

3.3 จรรยาบรรณ/คุณธรรม/จริยธรรมในการปฏิบัติงาน

3.3.1 ผู้ปฏิบัติต้องตระหนักในคุณค่าของคุณธรรม จริยธรรม ความเสียสละ ความขยันอดทน ตรงต่อเวลา เคารพกฎระเบียบ ข้อบังคับต่าง ๆ ขององค์กร และสังคม

3.1.2 ผู้ปฏิบัติมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับบทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตนเอง และผู้อื่นในการทำงาน รวมทั้งการอยู่ร่วมกันอย่างเป็นกัลยาณมิตรในการเรียนรู้ พัฒนาตนเอง และวิชาชีพอย่างต่อเนื่อง

3.1.3 ผู้ปฏิบัติมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับแนวคิด ทฤษฎี หลักการที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค วิธีการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์ และสารควบคุมการเจริญเติบโต รวมทั้งการนำเทคนิค และวิธีการปฏิบัติไปใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้อย่างถูกต้อง

3.1.4 ผู้ปฏิบัติมีความซื่อตรงต่อข้อมูล และผลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีคุณธรรม จริยธรรม และจรรยาบรรณด้านการวิจัย



บทที่ 4

กระบวนการ และขั้นตอนการปฏิบัติงาน

การจัดทำคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง การดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เล่มนี้เขียนขึ้นเพื่อให้ผู้ปฏิบัติงาน ในตำแหน่งนักวิชาการศึกษา (ระดับปฏิบัติการ) ที่ปฏิบัติหน้าที่ใน ห้องปฏิบัติการ ในการเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการ เพื่อสนับสนุนต่อการเรียนการสอนของ อาจารย์และนักศึกษา ในการผลิตบัณฑิตที่มีคุณภาพประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการ ผลิตพืช (4 ปี) หลักสูตรปรับปรุงปี พ.ศ.2561 ตามหลักการของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น การจัดเตรียมอุปกรณ์ และสารเคมีที่จำเป็นในการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังรายละเอียด ต่อไปนี้

1. แผนการปฏิบัติงาน
2. ขั้นตอนการปฏิบัติงานในการเตรียมอุปกรณ์
3. ขั้นตอนการปฏิบัติงานในการเตรียมสารเคมี
4. การติดตามผลการปฏิบัติงาน

4.1 แผนการปฏิบัติงาน

แผนในการปฏิบัติงานในการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นั้น ซึ่งผู้ปฏิบัติได้เขียนแผนในการจัดเตรียมงานในแต่ละภาคการศึกษา เพื่อสนับสนุน การเรียนการสอน ภาคปฏิบัติให้มีความต่อเนื่อง และประสิทธิภาพ (ดังแสดง ในตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 แสดงแผนการปฏิบัติงานในการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในของภาคการศึกษา

กิจกรรม	เวลาดำเนินการ											
	มค.	กพ.	มีค.	เมย.	พค.	มิย.	กค.	สค.	กย.	ตค.	พย.	ธค.
1. การจัดเตรียม อุปกรณ์สำหรับปฏิบัติ การเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อพืช												
	←	→					←	→			←	→
2. การจัดเตรียม สารเคมีสำหรับปฏิบัติ การเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อพืช												
	←	→					←	→			←	→

กิจกรรม	เวลาดำเนินการ											
	มค.	กพ.	มีค.	เมย.	พค.	มิย.	กค.	สค.	กย.	ตค.	พย.	ธค.
3. การตรวจสอบความพร้อมของอุปกรณ์ รวมทั้งการดูแลรักษา อุปกรณ์ และเครื่องมือ ในห้องปฏิบัติการ												

4.2 ขั้นตอนการปฏิบัติงานในการเตรียมอุปกรณ์

ในการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ของนักวิชาการศึกษาระดับปฏิบัติการ ผู้มีหน้าที่ดูแลห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และสนับสนุนการเรียนภาคปฏิบัติ จำเป็นต้องมีการเตรียมความพร้อมต่าง ๆ ของอุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับปฏิบัติการอยู่เสมอ โดยทั่วไปห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะแบ่งเป็นห้อง 3 ส่วนหลัก ๆ ได้แก่ ห้องเตรียมอาหาร (Media Preparation Room) ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (Transfer Room) และห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture Room) รวมทั้งการจัดเตรียมสารละลายเข้มข้น และการจัดเก็บสารเคมีที่จำเป็นสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยมีขั้นตอนและเทคนิคการปฏิบัติ ดังนี้

4.2.1 การจัดเตรียมอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น จะแบ่งส่วนในการปฏิบัติงานเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ห้องเตรียมอาหาร ห้องย้ายเนื้อเยื่อ และห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งในแต่ละส่วนจะมีอุปกรณ์ และเครื่องมือที่มีความสำคัญในการปฏิบัติงาน ดังนี้

1) ห้องปฏิบัติการเตรียมอาหาร (Media Preparation Room)

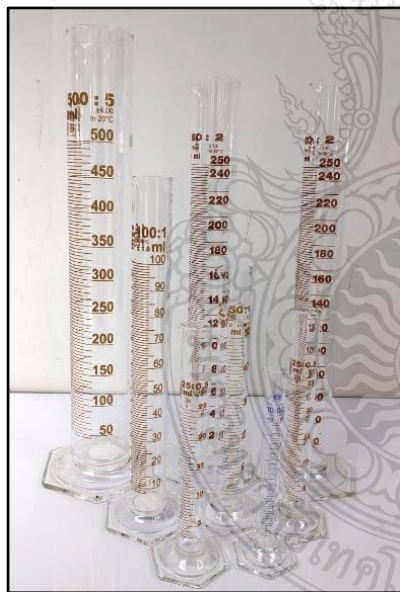
การจัดเตรียมอุปกรณ์สำหรับห้องปฏิบัติการเตรียมอาหาร มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องจัดเตรียมความพร้อมของอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเตรียมอาหาร เพื่ออำนวยความสะดวกต่อและมีเพียงพอสำหรับการปฏิบัติงาน อุปกรณ์ที่สำคัญในห้องนี้ ได้แก่ เครื่องแก้วชนิดต่าง ๆ เครื่องชั่งไฟฟ้า (Balance) เครื่องกวนสารเคมี (Hotplate Stirrer) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ตู้เย็น (Refrigerator) เต้าไฟฟ้า หรือเต้าไมโครเวฟ ซ้อนตักสาร (Spatula) เป็นต้น (ดังแสดงในภาพที่ 4.1)



ปิเปตต์ (Pipette) ใช้ในการดูดสารละลาย ที่ต้องการปริมาตรที่แน่นอน และมีความแม่นยำสูง



ลูกยางดูด (Pipette bulb) ใช้ในการดูดสารใส่ปิเปตต์



กระบอกตวง (Cylinder) ใช้ในการตวงสารละลาย



แท่งแก้วคนสาร (Glass Rod) ใช้ในการคนสารละลาย

ภาพที่ 4.1 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเตรียมอาหาร



บีกเกอร์ (Beaker) ใช้เป็นภาชนะในการชั่งเตรียมสารละลายและตวงสารในการเตรียมอาหาร



ขวดรูปชมพู่ (Flask) ใช้เป็นเครื่องมือที่ใช้เตรียมสารละลายมาตรฐานหรือใส่อาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ขวดใส่สารละลาย (Reagent bottle) ใช้สำหรับใส่สารเคมีเมื่อเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว และจะเก็บสารละลายนี้ไว้ใช้ในภายหลัง



ขวดแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใช้สำหรับใส่อาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ภาพที่ 4.1 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเตรียมอาหาร (ต่อ)



ช้อนตักสาร (Spatula) มีทั้งแบบที่เป็นโลหะ และที่เป็นพลาสติก ใช้สำหรับตักสารเคมี



เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่งสารเคมีที่ต้องการในปริมาณมาก เช่น น้ำตาล
วุ้น ธาตุอาหารหลัก (Macro-nutrient) เป็นต้น

ภาพที่ 4.1 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเตรียมอาหาร (ต่อ)



เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ใช้สำหรับการชั่งสารเคมีที่ต้องการในปริมาณเล็กน้อย เช่น ฮอร์โมน ธาตุอาหารรอง (Micro-nutrient) และวิตามิน เป็นต้น



เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Magnetic stirrer) ใช้สำหรับกวนสารละลายในการเตรียมอาหาร โดยมีตัวคนระบบแท่งแม่เหล็ก

ภาพที่ 4.1 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเตรียมอาหาร (ต่อ)



เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) ใช้สำหรับวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของสารละลาย และอาหารที่เตรียม



เตาไฟฟ้า ใช้สำหรับต้มหรือหลอมอาหาร ที่เตรียมปริมาณมาก เช่น 2-5 ลิตร เป็นต้น

ภาพที่ 4.1 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเตรียมอาหาร (ต่อ)



เตาไมโครเวฟ (Microwave oven) ใช้สำหรับต้มหรือหลอมอาหาร ที่เตรียมปริมาณน้อย ๆ เช่น 0.5 - 1 ลิตร เป็นต้น



หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ใช้สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อที่ติดมากับอาหารและเครื่องมือต่าง ๆ การใช้งานความดันที่ใช้ คือ ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) ประมาณ 15-20 นาที

ภาพที่ 4.1 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเตรียมอาหาร (ต่อ)



เตาอบความร้อน (Hot air Oven) ใช้สำหรับอบฆ่าเชื้อที่อาจติดมากับเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่สามารถทนต่อความร้อนสูง ๆ ได้ เช่น เครื่องแก้ว และเครื่องมือที่ทำด้วยโลหะ โดยใช้ความร้อนประมาณ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง



ตู้เย็น (Refrigerator) ใช้สำหรับเก็บสารเคมีบางตัวที่มีความจำเป็นที่จะต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิตำ่ามิฉะนั้นแล้วจะทำให้เสื่อมคุณสมบัติได้ เช่น สารอินทรีย์, ฮอร์โมน วิตามิน Stock Solution รวมทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อที่ยังไม่ได้ใช้ เพราะอาหารที่เตรียมไว้แล้วสูญเสียคุณสมบัติได้ถ้าไม่ใช้ในทันทีที่เตรียม

ภาพที่ 4.1 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเตรียมอาหาร (ต่อ)

2) การจัดเตรียมอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการย้ายเนื้อเยื่อพืช (Transfereation Room)

การจัดเตรียมอุปกรณ์สำหรับห้องปฏิบัติการย้ายเนื้อเยื่อพืช เป็นห้องที่ใช้สำหรับย้ายชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อที่ต้องการเลี้ยงเป็นห้องที่ต้องรักษาความสะอาดมาก เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีโอกาสเข้าไปในภาชนะที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้โดยตรง โดยมีการติดตั้งหลอดยูวี (UV lamp) . ในห้องนี้ และจำเป็นต้องทำความสะอาดเป็นประจำ ควรมีการฆ่าเชื้อในอากาศและเช็ดถูพื้นห้องด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เป็นครั้งคราว ห้องนี้จะต้องมีระบบการควบคุมความสะอาดปลอดเชื้อเป็นสิ่งสำคัญ (Aseptic Condition) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องการเข้าออกของผู้ปฏิบัติงาน การจัดเตรียมและสำรวจความพร้อมของอุปกรณ์ในห้องย้ายเนื้อเยื่อพืชก็เพื่ออำนวยความสะดวก และความพร้อมสำหรับการปฏิบัติงาน อุปกรณ์ที่สำคัญในห้องนี้ ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar Air-Flow Cabinet) ปากคีบ (Forceps) ค้อนมีดและใบมีดผ่าตัด (Knives and Scalpel) จานแก้ว (Petridish) ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตะแกรงแสตนเลส ผ้าสำหรับทำความสะอาดตู้ ภาชนะแสตนเลส/ขวดแก้ว ใส่แอลกอฮอล์ 95% เป็นต้น

สำหรับอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการตัดย้ายเนื้อเยื่อ ก่อนนำเข้าไปในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ ควรฉีดพ่นฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% ทุกครั้ง (ดังแสดงในภาพที่ 4.2)





ตู้ย้ายเนื้อเยื่อชนิดไม้



ตู้ย้ายเนื้อเยื่อชนิดสแตนเลสสตีล

ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar air-flow cabinet) เป็นตู้กรองอากาศให้บริสุทธิ์ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์ เป็นตู้สำหรับตัดแต่ง และย้ายเนื้อเยื่อพืชลงในภาชนะเพาะเลี้ยง ตู้ย้ายเนื้อเยื่อมีทั้งชนิดที่มีอุปกรณ์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญภายในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ คือ หลอดไฟฟ้าให้แสงสว่างจะทำให้เห็นสิ่งต่าง ๆ ภายในตู้ได้อย่างชัดเจน หลอดยูวี (UV lamp) เป็นหลอดที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนภายในตู้ ก่อนการใช้งานควรเปิดหลอดยูวีไว้ ประมาณ 20-30 นาที และเปิดไว้หลังจากการทำงาน เสร็จประมาณ 20-30 นาทีเช่นเดียวกัน

ภาพที่ 4.2 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องย้ายเนื้อเยื่อพืช



ด้ามมีดและใบมีดผ่าตัด (Knives and Scalpel) ใช้สำหรับตัดย้ายเนื้อเยื่อพืช ครอบหรือนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำไปใช้งาน



ปากคีบ (Forceps) ใช้สำหรับจับ ชิ้นพืชเวลาตัดย้ายเนื้อเยื่อ ครอบ หรือนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำไปใช้งาน



ตะแกรงสแตนเลส (Rack) ใช้สำหรับ วางมีดผ่าตัดและปากคีบ



ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Turnel) ใช้ สำหรับใส่แอลกอฮอล์ 95 % ในการเผามีดผ่าตัด และปากคีบ

ภาพที่ 4.2 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องย้ายเนื้อเยื่อพืช (ต่อ)



ขวดแก้วสำหรับใส่แอลกอฮอล์ 95%
ไว้สำหรับจุ่มมีดผ่าตัด และปากคีบ
ในการผ่าฆ่าเชื้อ



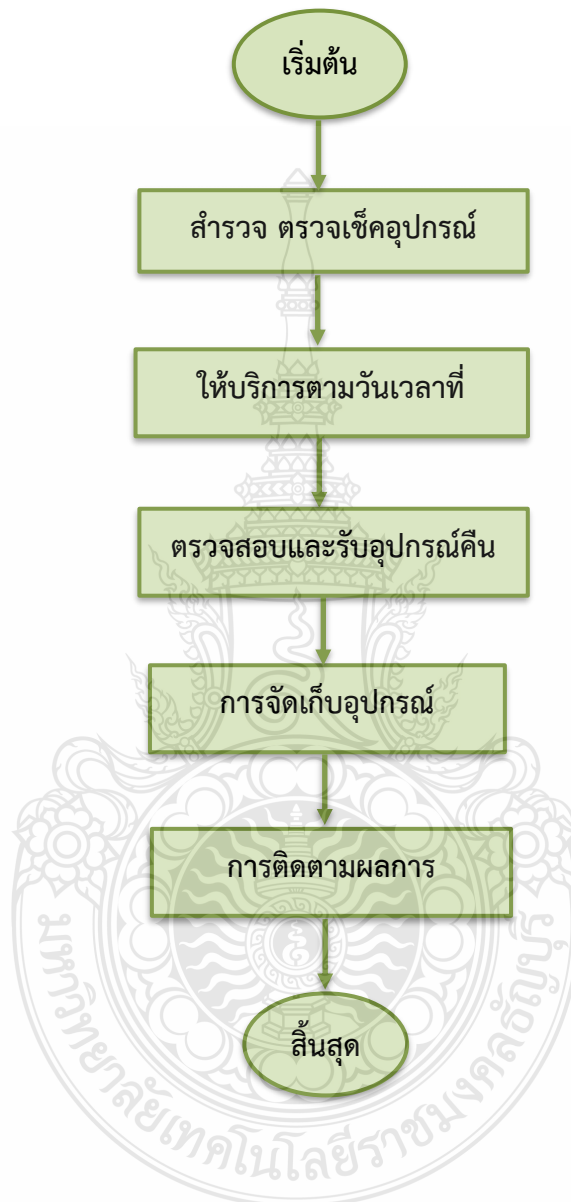
ผ้าสำหรับเช็ดทำความสะอาด
ใช้สำหรับเช็ดอุปกรณ์ และภายในตู้
ย้ายเนื้อเยื่อ ควรทำการนึ่งฆ่าเชื้อ
ก่อนนำมาใช้งาน



กระบอกฉีดใส่แอลกอฮอล์ 70%
สำหรับฉีดฆ่าเชื้ออุปกรณ์ต่าง ๆ ก่อนที่
จะนำเข้าสู่ตู้ตัดย้ายเนื้อเยื่อ

ภาพที่ 4.2 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องย้ายเนื้อเยื่อพืช (ต่อ)

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Flow Chart)



หมายเหตุ : ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Flow Chart) นี้ครอบคลุมถึงขั้นตอนในการจัดเตรียมอุปกรณ์ในห้องเตรียมอาหาร และอุปกรณ์ห้องย้ายเนื้อเยื่อพืช

อธิบายขั้นตอนการปฏิบัติ

ขั้นตอนที่	การปฏิบัติ
1.สำรวจ ตรวจสอบเช็คอุปกรณ์	<p>- ทำการสำรวจและตรวจเช็คอุปกรณ์ เพื่อเตรียมความพร้อมสำหรับปฏิบัติงานอยู่เสมอ เช่น เครื่องแก้วต่าง ๆ มีดผ่าตัด ปากคีบ และ เครื่องมือครุภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง หม้อนึ่งความดัน และ เครื่องชั่ง เป็นต้น ว่าอุปกรณ์เหล่านี้มีเพียงพอหรือขาดหรือไม่</p> <p>- ทำการสำรวจและตรวจเช็คอุปกรณ์ต่าง ๆ อย่างน้อย 1-2 เดือน ก่อนเปิดภาคการศึกษา หากอุปกรณ์ไม่เพียงพอให้ทำการแจ้งหัวหน้าแผนกเพื่อทำการจัดซื้อตามระเบียบงานพัสดุ (<i>แสดงในภาคผนวก ค</i>) และเครื่องมือครุภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ขาดและดำเนินการจัดซ่อมได้ทันก่อนการเปิดภาคการศึกษา โดยการเขียนแบบฟอร์มการแจ้งซ่อม หรือทำหนังสือบันทึกเพื่อขออนุมัติจัดซ่อม (<i>แสดงในภาคผนวก ข</i>)</p>
2.ให้บริการตามวันเวลาที่กำหนด	<p>- ทำการจัดเตรียมอุปกรณ์ต่างๆ ให้พร้อมต่อการใช้งานตามวัน และเวลาที่ผู้ขอใช้ต้องการ เช่น การใช้งานในชั่วโมงเวลาการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการ หรือ การใช้งานในการทำงานวิจัยและปัญหาพิเศษของอาจารย์ และนักศึกษา โดยนักวิชาการศึกษาควรให้ผู้ขอใช้งานเขียนใบยืม-ขอใช้งานอุปกรณ์ (<i>ดังแสดงในภาพที่ 4.3</i>) หรือให้ลงบันทึกการใช้งานในสมุดบันทึก (Log Book) ประจำเครื่องมือแต่ละชนิด หลังการใช้งานทุกครั้ง (<i>ดังแสดงในภาพที่ 4.4</i>)</p>
3.ตรวจสอบและรับอุปกรณ์คืน	<p>- ทำการตรวจเช็คอุปกรณ์ต่าง ๆ หลังผู้ขอใช้เสร็จสิ้นการปฏิบัติงานทุกครั้ง ว่าอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ผู้ขอใช้ส่งคืน อยู่ในสภาพใด ผิดปกติ ขาดเสียหายหรือไม่ หากขาดเสียหาย ให้ทำการแจ้งอาจารย์ประจำวิชา หัวหน้าแผนก หรือประธานหลักสูตรทราบถึงสาเหตุการขาดเสียหาย</p>
4.การจัดเก็บอุปกรณ์	<p>- ทำการจัดเก็บ และแยกประเภทอุปกรณ์ เก็บเข้าที่ให้เรียบร้อย เช่น เครื่องแก้วต่าง ๆ ได้แก่ ปีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ กระจกตวง จัดเก็บเข้าชั้นให้เรียบร้อย ควรแยกประเภทและขนาดเล็ก-ใหญ่ และจัดวางด้วยความระมัดระวัง เพื่อให้สะดวกต่อการหยิบใช้งานในแต่ละครั้ง</p>
5. การติดตามผลการปฏิบัติงาน	<p>- จัดทำแบบประเมินความพึงพอใจของอาจารย์ ผู้สอน/นักศึกษา เมื่อปิดครุสการเรียน/สิ้นสุดภาคการศึกษา เพื่อจัดเก็บข้อมูลในการปรับปรุงและพัฒนางานในภาระหน้าที่ให้ครบถ้วนสมบูรณ์ (<i>ดังแสดงในภาพที่ 4.5</i>)</p>

ตัวอย่างแบบฟอร์มการ Log book ประจำเครื่องมือวิทยาศาสตร์

บันทึกการใช้หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
ยี่ห้อ SANYO รุ่น MLS-3020
หมายเลขครุภัณฑ์ 1-103-6640-022-0002/029-56

วัน/เดือน/ปี	การใช้งาน	เวลาเริ่มใช้	เวลาเลิกใช้	ลงชื่อผู้ใช้	หมายเหตุ
28 พ.ค. 63	clave อปรณิ Lab	12.00-4-	14.00	ศิริวรรณ	
1 พ.ค. 63	clave อปรณิ	10.40น.	15.30น.	หิรามณ	
13 พ.ค. 63	clave อปรณิ	12.00น.	14.00น.	หิรามณ	
14 พ.ค. 63	clave อปรณิ	12.35	15.00	หิรามณ	
01/06/63	clave อปรณิ	12.00	16.00	อริรัตน์	
09/06/63	clave หนักรัง	10.30		หิรามณ	
24/6/63	clave ของอปรณิ	14.00	16.30	ศิริวรรณ	
1/6/63	clave ของอปรณิ	12.00	15.30	ศิริวรรณ	
2/6/63	clave ของอปรณิ	14.00	16.30	หิรามณ	
7/7/63	clave อปรณิ	14.30		หิรามณ	
21/8/63	clave ของ	13.35	15.50	ศิริวรรณ	
31/8/63	คณิศร ชัยพรหม	11.07	14.50	ศิริวรรณ	
4/10/63	น้ำซักล้าง	9.45	12.00	ศิริวรรณ	
10/10/63	หม้อต้มเมล็ดข้าว	12.00	14.30	ศิริวรรณ	
15/10/63	หม้อต้มเมล็ดข้าว	13.00	15.00	ศิริวรรณ	
16/10/63	clave ของอปรณิ	19.48	15.23	ศิริวรรณ	
17/10/63	clave ว่าง	10.52	13.52	ศิริวรรณ	
18/10/63	clave หนักรัง	10.00	12.15	หิรามณ	
23/10/63	หม้อต้ม	14.30	16.00	ศิริวรรณ	
24/10/63	หม้อต้มเมล็ดข้าว	14.45	16.30	ศิริวรรณ	
25/10/63	หม้อต้มเมล็ดข้าว	10.00	12.00	ศิริวรรณ	
29/10/63	หม้อต้มเมล็ดข้าว	09.40	12.00	หิรามณ	
30/10/63	หม้อต้มเมล็ดข้าว	9.45	12.00	ศิริวรรณ	
4/11/63	หม้อต้ม	9.30	12.00	ศิริวรรณ	
5/11/63	ล้าง	13.00	15.00	หิรามณ	
6/11/63	หม้อต้ม	12.15	15.00	ศิริวรรณ	
12/11/63	หม้อต้ม	11.00	14.30	ศิริวรรณ	

ภาพที่ 4.4 แสดงการลงชื่อใช้งานในสมุด Log book ประจำเครื่องมือวิทยาศาสตร์

ตัวอย่างแบบประเมินความพึงพอใจการใช้บริการงานห้องปฏิบัติการ

แบบประเมินความพึงพอใจการใช้บริการ งานห้องปฏิบัติการ

แบบประเมินความพึงพอใจ การใช้บริการห้องปฏิบัติการ สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี โปรดตอบตามความคิดเห็นโดยเลือกตัวเลือกที่สอดคล้องกับความเป็นจริงที่ท่านเห็นด้วยกับข้อความข้างล่างนี้ มากน้อยเพียงใด

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม (โปรดทำเครื่องหมาย ✓ ลงใน ที่ตรงกับความเป็นจริง)

1.1 เพศ

ชาย หญิง

1.2 สถานภาพ

บุคลากรสายวิชาการ บุคลากรสายสนับสนุน

นักศึกษา ชั้นปีที่..... อื่นๆ.....

1.3 ความจำเป็นในการใช้บริการ

การเรียนการสอน ปัญหาพิเศษ งานทดลอง/วิจัย อื่นๆ.....

1.4 ความพึงพอใจต่อการ “ ให้บริการ ” งานห้องปฏิบัติการ ในด้าน (เลือกได้มากกว่า 1 ข้อ)

การเบิก-จ่าย สารเคมี

การเบิก-จ่าย เครื่องแก้ว

การขอใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์

แนะนำการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์

อื่นๆ..... *ห้องสืบเครื่องยี่ห้อ*

ภาพที่ 4.5 แสดงแบบประเมินความพึงพอใจการใช้บริการงานห้องปฏิบัติการ

ตอนที่ 2 ระดับความพึงพอใจของผู้มารับบริการ

ประเด็นการวัดความพึงพอใจ	ระดับความพึงพอใจ				
	มากที่สุด (5)	มาก (4)	ปานกลาง (3)	น้อย (2)	น้อยที่สุด (1)
1. ความพึงพอใจด้านห้องปฏิบัติการ					
1.1 สภาพแวดล้อมในห้องปฏิบัติการ		✓			
1.2 ระบบความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ			✓		
1.3 ความพร้อมของเครื่องมือที่ใช้ในการปฏิบัติการ		✓			
1.4 ความพร้อมของวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี ในห้องปฏิบัติการ	✓				
2. ความพึงพอใจด้านเจ้าหน้าที่ผู้ให้บริการ					
2.1 เจ้าหน้าที่มีความกระตือรือร้น เอาใจใส่ในการให้บริการ		✓			
2.2 เจ้าหน้าที่พูดจาสุภาพ อุ่มอึ้งแจ่มใส มีความเป็นกันเอง		✓			
2.3 เจ้าหน้าที่สามารถแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นได้เป็นอย่างดี		✓			
2.4 เจ้าหน้าที่ให้คำแนะนำคำปรึกษา ตอบข้อซักถามได้ดี		✓			

ตอนที่ 3 ข้อเสนอแนะอื่นๆ

ขอแนะนำให้เพิ่มโต๊ะเขียนที่สำหรับใช้ในการสอนด้วย
 ถ้าในอาคารเรียนมีโต๊ะเขียนที่สำหรับสอน
 ๒๐ ที่ทำการ รมดรงนั่ง มาบักดูที่ภาคนี้

ขอขอบคุณทุกท่านที่ตอบแบบสอบถาม

ภาพที่ 4.5 แสดงแบบประเมินความพึงพอใจการใช้บริการงานห้องปฏิบัติการ (ต่อ)

3) การจัดเตรียมอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Culture Room)

การจัดเตรียมอุปกรณ์สำหรับห้องปฏิบัติเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นห้องสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง ซึ่งห้องนี้เป็นห้องที่ต้องควบคุมความสะอาดเป็นพิเศษเพื่อให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ เป็นห้องที่ติดหลอดยูวีเพื่อเปิดฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ รวมทั้งการรมควัน (Fumigation) เป็นครั้งคราว การดูแลห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะต้องสะอาดอยู่เสมอ หมั่นตรวจดูขวดหรือภาชนะที่เลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ถ้าพบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นปะปน จะต้องรีบนำออกไปทิ้งฆ่าเชื้อและล้างทันที ไม่ให้เป็นที่ยีสต์หรือเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจแพร่กระจายภายในห้องได้ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเลี้ยงเนื้อเยื่อจะแตกต่างกันสำหรับพืชแต่ละชนิด โดยทั่วไปมักจะปรับสภาพแวดล้อมภายในห้องให้มีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ให้แสงประมาณ 12-16 ชั่วโมง/วัน ความเข้มของแสง 1,000-3,000 ลักซ์ อุปกรณ์ที่สำคัญในห้องนี้ ได้แก่ ชั้นวางเนื้อเยื่อพืช (Culture Shelf) เครื่องควบคุมอุณหภูมิ เครื่องควบคุมเวลา (Timer) หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) เครื่องเขย่า (Shaker) เป็นต้น *(ดังแสดงในภาพที่ 4.6)*





ชั้นวางเนื้อเยื่อ (Culture Shelf) ใช้สำหรับวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ชั้นอาจทำด้วยกระจกหรือตะแกรงลวดก็ได้ และทุกชั้นจะต้องติดไฟให้แสงสว่างด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์แบบคูลไวท์ (Cool White) หรือหลอดโกรลักซ์ (Gro-Lux) ที่ให้แสงสี ขาว ความเข้มแสง (Light Intensity) ที่พอเหมาะและนิยมใช้ คือ 1,000 - 3,000 ลักซ์ โดยทั่วไปให้แสงแก่พืช (Photoperiod) 16 ชั่วโมงต่อวัน ซึ่งควรมีขนาดที่พอเหมาะ สะดวกต่อการตรวจตราการปนเปื้อนของเชื้อ และติดตามการเจริญเติบโต ชั้นจะต้องไม่สูงเกินไป



เครื่องเขย่า (Shaker) ใช้สำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลว เพื่อให้อากาศได้คลุกเคล้าลงไปในการ เพราะถ้าหากปล่อยให้เนื้อเยื่อจมอยู่ใต้ของเหลวนาน ๆ เนื้อเยื่อจะขาดอากาศในการหายใจจะทำให้เนื้อเยื่อตายได้ เครื่องเขย่านี้จะหมุนอยู่ตลอดเวลา โดยปกติทั่วไปจะตั้งความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที

ภาพที่ 4.6 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช



เครื่องปรับอากาศ (Air Conditioner) ใช้สำหรับควบคุมอุณหภูมิภายในห้องเพาะเลี้ยง โดยทั่วไปจะควบคุมอุณหภูมิที่ประมาณ 25+2 องศาเซลเซียส เครื่องปรับอากาศควรมีอย่างน้อย 2 เครื่อง เพื่อเปิดสลับกลางวัน และกลางคืน ซึ่งช่วยยืดอายุการใช้งานได้นานขึ้น



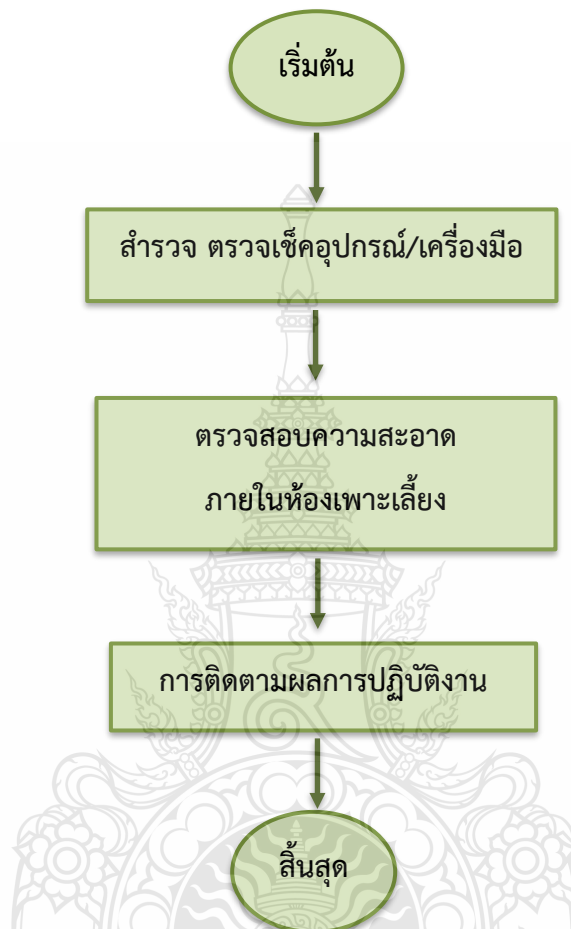
เครื่องควบคุมเวลา (Timer) ใช้ควบคุม การเปิด-ปิดไฟ กำหนดความยาวช่วงแสง



เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น ใช้สำหรับวัด อุณหภูมิภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปกติควรจัด ให้มีความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 60 % เพื่อช่วย ป้องกันไม่ให้อาหารแห้งเร็วเกินไป

ภาพที่ 4.6 แสดงอุปกรณ์ และเครื่องมือในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ต่อ)

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Flow Chart)



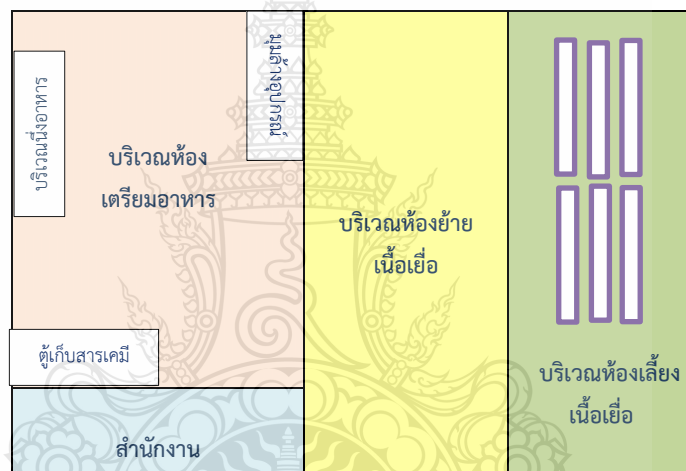
หมายเหตุ : ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Flow Chart) นี้ สำหรับการจัดเตรียมอุปกรณ์ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Culture Room)

อธิบายขั้นตอนการปฏิบัติ

ขั้นตอนที่	การปฏิบัติ
1. สำรอง ตรวจสอบเช็ค อุปกรณ์/เครื่องมือ	<p>ทำการสำรอง และตรวจสอบเช็คอุปกรณ์/เครื่องมือภายในห้องเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่ออย่างสม่ำเสมอเพื่อเตรียมความพร้อม ได้แก่</p> <ul style="list-style-type: none"> - การตรวจสอบเช็คการทำงานของเครื่องปรับอากาศ ในบางครั้งเกิดการขัดข้องไม่ทำงานตามปกติ ทำให้อากาศในห้องเพาะเลี้ยงร้อน อาจเกิดผลเสียทำให้ต้นไม้ที่เพาะเลี้ยงตายได้ ให้ทำการเขียนแบบฟอร์มการแจ้งซ่อม หรือทำหนังสือบันทึกเพื่อขออนุมัติจัดซ่อม โดยด่วน - การตรวจสอบเช็คเครื่องควบคุมเวลา (Timer) ต้องหมั่นตรวจสอบ อยู่เสมอว่าทำงานตามปกติหรือไม่ เนื่องจากในบางกรณีไฟฟ้าเกิดขัดข้อง และไฟดับเป็นเวลานาน เนื่องจากเครื่องควบคุมเวลาในห้องนี้ ไม่ใช่แบบดิจิตอล หากไฟฟ้ดับเวลานานไม่สามารถทำงานได้ โดยอัตโนมัติ จำเป็นต้องตรวจสอบเช็ค และตั้งเวลาใหม่ทุกครั้ง
2. ตรวจสอบความสะอาด ภายในห้องเพาะเลี้ยง	<p>ทำการตรวจสอบความสะอาดภายในห้องเพาะเลี้ยงอยู่เสมอ ดังนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> - ทำการเข้าตรวจดูขวดหรือภาชนะที่เลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อย่างน้อย สัปดาห์ ละ 1-2 ครั้ง ถ้าหากพบว่ามี การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (Contamination) ขึ้นปะปน จะต้องรีบนำออกไปทิ้งฆ่าเชื้อ และล้างทันที - ทำความสะอาดชั้นวางเนื้อเยื่อพืช โดยการเช็ดด้วย แอลกอฮอล์ 70% อย่างน้อย 1-2 ครั้ง/เดือน - หากพบว่าห้องมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์หนักขึ้น ให้ทำการ รมควัน (Fumigation) ภายในห้อง
3. การติดตามผลการ ปฏิบัติงาน	<ul style="list-style-type: none"> - จัดทำแบบประเมินความพึงพอใจของอาจารย์ผู้สอน/นักศึกษา เมื่อปิดครุ่รอสการเรียน/สิ้นสุดภาคการศึกษา เพื่อจัดเก็บข้อมูลในการ ปรับปรุง และพัฒนางานในภาระหน้าที่ให้ครบถ้วนสมบูรณ์ (ดังแสดง ในภาพที่ 4.5)

4.2.2 แผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

แผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายแบบ โดยออกแบบให้เหมาะสมตามสภาพความต้องการของผู้ใช้งาน และงบประมาณที่มี โดยจะแบ่งห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ให้มี 3 ห้องหลัก สำหรับแผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ ห้องเตรียมอาหาร (Media Preparation Room) ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (Transferation room) และห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture Room) สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี มีแผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชดังต่อไปนี้ (ดังแสดงในภาพที่ 4.7)



ภาพที่ 4.7 แสดงแผนผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

4.3 ขั้นตอนการปฏิบัติงานในการเตรียมสารเคมี

การจัดเตรียมสารเคมี ซึ่งรวมไปถึงการจัดเก็บสารเคมี เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และควรมีการตรวจเช็คสต็อกสารเคมีอยู่เสมอว่ามีเพียงพอต่อการใช้งานหรือตรวจเช็คควมามีการหมดอายุการใช้งานหรือไม่ และทำการนำสารเคมีที่หมดอายุออกจากสต็อกการจัดเก็บ ให้ทำการแจ้งหัวหน้าแผนกเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หรือประธานหลักสูตรฯ เพื่อขออนุมัติจัดซื้อในวัสดุรายวิชาหรือจัดซื้อตามระเบียบขั้นตอนงานพัสดุ สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสูตรอาหารสังเคราะห์สำหรับการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ สารอินทรีย์ที่เป็นธาตุอาหารหลัก และสารอินทรีย์ ใช้เป็นแหล่งพลังงานของพืช และสารเคมีที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน จิบเบอเรลลิน เป็นต้น สำหรับการจัดเตรียมสารเคมี มีขั้นตอนการจัดเตรียมดังรายละเอียดต่อไปนี้

4.3.1 การเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution)

การเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution) เป็นสารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหารที่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะธาตุอาหารรองและวิตามินที่เตรียมให้มีความเข้มข้นมากกว่าปกติ คือให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 10 ถึง 1,000 เท่า เวลาใช้จะเจือจางให้เท่ากับปริมาณหรือความเข้มข้นของสารอาหารที่ใช้จริงในสูตรอาหาร การเตรียมสารละลายเข้มข้นโดยนำสารเคมีพวกที่สามารถรวมกันได้โดยไม่ตกตะกอนไว้ด้วยกันเพื่อไม่ให้มีสารละลายเข้มข้นหลายขวดในการเตรียมสารละลายเข้มข้นนั้น เป็นวิธีการที่สะดวกสำหรับผู้ปฏิบัติงานสามารถช่วยประหยัดเวลาและความผิดพลาดในการชั่งตวงสารเคมีที่มีปริมาณน้อย ๆ ได้มากที่สุด เนื่องจากใช้สารเคมีผสมกันหลายประเภท ถ้านักศึกษาเตรียมเองในชั่วโมงเรียนจะใช้เวลาานทำให้ไม่สามารถปฏิบัติการได้ตามเวลา และนักศึกษาแต่ละคนมีทักษะการในเตรียมสารต่างกันมีผลต่อมาตรฐานของสต็อกซึ่งส่งผลต่อการทำปฏิบัติการ สำหรับการเตรียมสารละลายเข้มข้นที่จำเป็นต้องใช้ในงานปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีดังนี้

4.3.1.1 การเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962)

4.3.1.2 การเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin and Went, 1949)

4.3.1.3 การเตรียมสารละลายเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต

4.3.1.4 การเตรียมสารละลายเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ปรับความเป็นกรด-ด่าง ของอาหาร

4.3.1.5 การเตรียมแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70%

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Flow Chart)



หมายเหตุ : ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Flow Chart) นี้ สำหรับการจัดเตรียมสารเคมีในการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อธิบายขั้นตอนการปฏิบัติ

ขั้นตอนที่	การปฏิบัติ
1. เลือกสารเคมีที่จะเตรียมออกจากตู้เก็บสารเคมี	- ทำการเลือกสารเคมีแต่ละชนิดออกจากตู้เก็บสารเคมีที่ทำการจัดเก็บไว้ตามหมวดหมู่ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อใช้ในการเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution) ได้แก่ สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสังเคราะห์ต่าง ๆ และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เป็นต้น <i>(ดังแสดงในภาพที่ 4.10)</i>
2. ศึกษาวิธีการเตรียมสารเคมีจากคู่มือ	- ทำการศึกษาขั้นตอนการเตรียมสารเคมี จากคู่มืออย่างละเอียดเพื่อลดความผิดพลาดในการเตรียม
3. ชั่งสารเคมี ตามสูตรที่ต้องการ	- ทำการชั่งสารเคมีตามสูตรอย่างเคร่งครัดเพื่อความแม่นยำและประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์ เช่น การชั่งสารที่ต้องการปริมาณมาก ได้แก่ สารอาหารหลัก (Macronutrients) น้ำตาล และวุ้น ควรใช้เครื่องชั่งชนิดหยาบ (เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง) หรือ การชั่งสารเคมีที่ต้องการในปริมาณเล็กน้อย ได้แก่ ฮอริโมนธาตุอาหารรอง (Micro-nutrient) และวิตามิน ควรใช้เครื่องชั่งชนิดละเอียด (เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง) เป็นต้น <i>(ดูตัวอย่างการชั่งสารเคมีในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS และ VW แสดงในตารางผนวกที่ 1 และ ตารางผนวกที่ 2)</i>
4. ละลายสาร และปรับปริมาตร	- ทำการละลายสารที่ทำกรชั่งตวงตามสูตรต่าง ๆ เช่น การทำละลาย $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ต้องใช้น้ำอุ่นในการทำละลายก่อนแล้วจึงเติม $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ลงไป และการเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ NAA ต้องใช้ 95% ethanol ในการทำละลาย หรือ การเตรียม BAP ต้องใช้ 1N NaOH ในการทำละลายก่อนแล้วจึงปรับปริมาตรตามต้องการด้วยน้ำกลั่น <i>(ดูตัวอย่าง ตัวทำละลายสารควบคุมฯ แสดงในตารางผนวกที่ 4)</i>
5. เทสารละลายที่เตรียมไว้ใส่ขวดเก็บสาร พร้อมเขียนฉลากติดข้างขวด	- ทำการเทสารละลายที่ปรับปริมาตรเรียบร้อยแล้วใส่ขวดเก็บสารละลาย พร้อมเขียนลายละเอียดติดที่ข้างขวด เช่น ชื่อสารเคมี ชื่อผู้เตรียมและวันที่ <i>(ดูตัวอย่างตัวการเขียนฉลากติดขวดสารละลาย ดังแสดงในภาพที่ 4.8-4.9)</i>
6. จัดเก็บสารเคมีที่เตรียมเรียบร้อยแล้วเข้าตู้เย็น	- ทำการจัดเก็บสารละลายเข้มข้น (Stock solution) ที่เตรียมข้างต้นเข้าในตู้เย็นทุกครั้งหลังเตรียมหรือหลังจากนำออกมาใช้งานทุกครั้งเพื่อคงประสิทธิภาพของสารเคมี
7. การติดตามผลการปฏิบัติงาน	- จัดทำแบบประเมินความพึงพอใจของอาจารย์ผู้สอน/นักศึกษา เมื่อปิดครอสการเรียน/สิ้นสุดภาคการศึกษา เพื่อจัดเก็บข้อมูลในการปรับปรุงและพัฒนางานในภาระหน้าที่ให้ครบถ้วนสมบูรณ์ <i>(ดังแสดงในภาพที่ 4.5)</i>

4.3.1.1 การเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962)

การเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร MS ซึ่งจะทำการเตรียมสารละลายโดยแยกออกเป็น 4 Stock ตามกลุ่มของสารเคมี เพื่อประโยชน์สูงสุดในการปฏิบัติงาน ได้แก่ สารอาหารหลัก (Macronutrients) สารอาหารรอง (Micronutrients) สารละลายเหล็ก (Fe-EDTA Solution) และวิตามินและสารอินทรีย์ (Organic compounds) โดยการจัดเตรียมดังนี้ (ดูตัวอย่างการชั่งสารเคมีในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS แสดงในตารางผนวกที่ 1)

1) **ขวดที่ 1 สารอาหารหลัก (Macronutrients)** ประกอบด้วย สารเคมี 5 ชนิด เตรียมให้มีความเข้มข้น 20 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (1 ลิตร) ชั่งสารแต่ละชนิด ดังนี้

1. NH_4NO_3	33	กรัม
2. KNO_3	19.0	กรัม
3. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4.4	กรัม
4. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.7	กรัม
5. KH_2PO_4	3.4	กรัม

- ให้ทำละลายสารเคมีแต่ละชนิดแยกกัน โดยแยกใส่ลงในปิកเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร แต่ละใบจนได้สารละลายที่ใส (โดยละลาย NH_4NO_3 ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร , ละลาย KNO_3 ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร, ละลาย $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร, ละลาย $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร , ละลาย KH_2PO_4 ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร)

- นำสารละลายทั้ง 5 ชนิด ดังกล่าวข้างต้นที่ละลายจนหมดแล้ว มารวมกัน และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (1 ลิตร) จากนั้นจึงเทใส่ขวดเก็บสารละลาย

- เขียนรายละเอียดของสารละลายติดข้างขวด เช่น ชื่อสารเคมี ชื่อผู้เตรียม และวันที่ แล้วเก็บใส่ตู้เย็น

2) **ขวดที่ 2 สารอาหารรอง (Micronutrients)** ประกอบด้วย สารเคมี 7 ชนิด เตรียมให้มีความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (1 ลิตร) ชั่งสารแต่ละชนิดดังนี้

1. KI	0.166	กรัม
2. H_3BO_3	1.240	กรัม
3. $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3.380	กรัม
4. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.720	กรัม
5. $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.050	กรัม
6. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.005	กรัม

7. $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.005 กรัม

- เทน้ำกลั่นประมาณ 300 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

- ใส่สารเคมีที่ชั่งไว้ลงไปทีละตัว โดยต้องให้สารชนิดแรกละลายหมดก่อน จึงทยอยใส่สารชนิดต่อไปทำเช่นนี้จนครบหมดทุกชนิด จนได้สารละลายที่ใส จากนั้นปรับปริมาตร ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ขวดเก็บสาร

- เขียนรายละเอียดของสารละลายติดข้างขวด เช่น ชื่อสารเคมี ชื่อผู้เตรียม และวันที่ แล้วเก็บใส่ตู้เย็น

3) ขวดที่ 3 สารละลายเหล็ก (Fe-EDTA Solution) ประกอบด้วย สารเคมี 2 ชนิด เตรียมให้มีความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (1 ลิตร) ชั่งสารแต่ละชนิด ดังนี้

1. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5.560 กรัม

2. $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 7.440 กรัม

- เทน้ำกลั่นประมาณ 300 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

- ใส่สารเคมีที่ชั่งไว้ลงไปทีละตัว โดยต้องให้สารชนิดแรกละลายหมดก่อน จึงทยอยใส่สารชนิดต่อไปทำเช่นนี้จนครบหมดทุกชนิด จนได้สารละลายที่ใส จากนั้นปรับปริมาตร ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ขวดเก็บสาร

- เขียนรายละเอียดของสารละลายติดข้างขวด เช่น ชื่อสารเคมี ชื่อผู้เตรียม และวันที่ แล้วเก็บใส่ตู้เย็น

4) ขวดที่ 4 วิตามินและสารอินทรีย์ (Organic compounds) ประกอบด้วย สารเคมี 5 ชนิด เตรียมให้มีความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (1 ลิตร) ชั่งสารแต่ละชนิดดังนี้

1. Glycine 0.400 กรัม

2. Thiamine -HCl 0.020 กรัม

3. Pyridoxin -HCl 0.100 กรัม

4. Nicotinic acid 0.100 กรัม

5. Myo-inositol 20.000 กรัม

- เทน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

- ใส่สารเคมีที่ชั่งไว้ลงไปทีละตัว โดยต้องให้สารชนิดแรกละลายหมดก่อนจึงทยอยใส่สารชนิดต่อไปทำเช่นนี้จนครบหมดทุกชนิด จนได้สารละลายที่ใส จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ขวดเก็บสาร

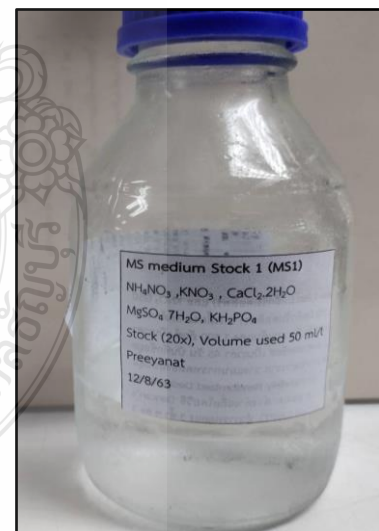
- เขียนรายละเอียดของสารละลายติดข้างขวด เช่น ชื่อสารเคมี ชื่อผู้เตรียม และวันที่
แล้วเก็บใส่ตู้เย็น (ดังแสดงในภาพที่ 4.11)

ข้อพึงระวัง

สำหรับการเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution) ของอาหารสูตร MS ตามข้างต้นนั้น ผู้เขียนได้เทียบการเตรียมปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ในของแต่ละ Stock หากท่านไม่ได้ใช้งานจำนวนมากก็สามารถ ลดสัดส่วนลงได้ ซึ่งอาจจะเตรียม Stock 1 เพียงปริมาตร 500 มิลลิลิตร และ Stock 2-4 เพียงปริมาตร 200 มิลลิลิตร ก็เพียงพอสำหรับปฏิบัติงานในแต่ละครั้ง เนื่องจากการเตรียมสารละลายเข้มข้นครั้งละมาก ๆ ถ้าหากใช้ไม่หมดในแต่ละ Stock และเก็บไว้เป็นเวลานาน ๆ สารละลายมีโอกาสที่จะตกตะกอน และเสื่อมประสิทธิภาพการใช้งานได้อีกทั้งยังเป็นการสิ้นเปลืองต้นทุนอีกด้วย ดังนั้นการเตรียมปริมาตรของสารละลายที่พอเหมาะกับการใช้งานจะช่วยประหยัดสารเคมีได้อย่างดี

ตัวอย่างการเขียนฉลากติดที่ขวด Stock ของอาหารสังเคราะห์สูตร MS

MS medium Stock 1 (MS1)
NH₄NO₃ ,KNO₃ , CaCl₂.2H₂O
MgSO₄ 7H₂O, KH₂PO₄
Stock (20x), Volume used 50 ml/l
Preeyanat
12/8/63



ภาพที่ 4.8 แสดงการเขียนฉลากติดขวดสารเคมีของอาหารสังเคราะห์สูตร MS

4.3.1.2 การเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร VW (Vacin and Went, 1949)

การเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสังเคราะห์สูตร VW ซึ่งจะทำให้การเตรียมสารละลายโดยแยกออกเป็น 3 Stock ตามกลุ่มของสารเคมี เพื่อประโยชน์สูงสุดในการปฏิบัติงาน ได้แก่ สารอาหารหลัก (Macronutrients) สารอาหารรอง (Micronutrients) สารละลายเหล็ก (Fe-EDTA Solution) โดยการจัดเตรียม ดังนี้ (ดูตัวอย่างการชั่งสารเคมีในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร VW แสดงในตารางผนวกที่ 2)

1) ขวดที่ 1 Stock A สารอาหารหลัก (Macronutrients) ประกอบด้วย สารเคมี 4 ชนิด เตรียมให้มีความเข้มข้น 100 เท่า ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ชั่งสารแต่ละชนิดดังนี้

1. KNO_3	26.250	กรัม
2. KH_2PO_4	12.500	กรัม
3. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	25.000	กรัม
4. $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.285	กรัม

- เทน้ำกลั่นประมาณ 300 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร

- ใส่สารเคมีที่ชั่งไว้ลงไปทีละตัว โดยต้องให้สารชนิดแรกละลายหมดก่อนจึงทยอย

ใส่สารชนิดต่อไปทำเช่นนี้จนครบหมดทุกชนิด จนได้สารละลายที่ใส จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ขวดเก็บสาร

- เขียนรายละเอียดของสารละลายติดข้างขวด เช่น ชื่อสารเคมี ชื่อผู้เตรียม และวันที่ แล้วเก็บใส่ตู้เย็น

2) ขวดที่ 2 Stock B สารอาหารรอง (Micronutrients) ประกอบด้วย สารเคมี 1 ชนิด เตรียมให้มีความเข้มข้น 100 เท่า ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ชั่งสารแต่ละชนิดดังนี้

1. $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	12.500	กรัม
--	--------	------

- เทน้ำกลั่นประมาณ 400 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร

- ใส่สารเคมีที่ชั่งไว้ คนให้ละลายจนได้สารละลายที่ใส จากนั้นปรับปริมาตร

ให้ครบ 500 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ขวดเก็บสาร

- เขียนรายละเอียดของสารละลายติดข้างขวด เช่น ชื่อสารเคมี ชื่อผู้เตรียม และวันที่ แล้วเก็บใส่ตู้เย็น

3) ขวดที่ 3 Stock C สารละลายเหล็ก (Fe-EDTA Solution) ประกอบด้วย สารเคมี 2 ชนิด เตรียมให้มีความเข้มข้น 100 เท่า ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ชั่งสารแต่ละชนิดดังนี้

1. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.862	กรัม
2. $\text{Na}_2\text{-EDTA}$	1.392	กรัม

4.3.1.3 การเตรียมสารละลายเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต

การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (Plant growth regulators, PGR) หรือ ฮอว์โมนในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นจะนิยมเตรียมเป็น Stock solution เพื่อความสะดวกในการใช้งานโดยกำหนดความเข้มข้นตามความเหมาะสมของการใช้งาน โดยทั่วไปการเตรียม Stock ของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มี 2 กลุ่มคือ กลุ่มออกซิน (Auxin) และกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) มีวิธีการเตรียมดังนี้

1. การเตรียมสารละลายเข้มข้นกลุ่มออกซิน (Auxin)

1.1 เตรียม NAA Stock ความเข้มข้น 100 mg/l (100 ppm) จำนวน 100 ml

- ชั่ง 1-Naphthalence acetic acid, NAA จำนวน 0.01 g และเทใส่ปิ๊กเกอร์ ขนาด 50 ml
- ค่อย ๆ หยด 95% EtOH ประมาณ 2 ml เพื่อทำละลาย NAA จนละลายหมด
- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในกระบอกตวง จนปริมาตรครบ 100 ml
- เก็บใส่ขวดแก้ว และเขียนรายละเอียดติดที่ขวด เช่น ชื่อสารและความเข้มข้น

ชื่อผู้เตรียม และวันที่เตรียม

1.2 เตรียม 2, 4-D Stock ความเข้มข้น 100 mg/l (100 ppm) จำนวน 100 ml

- ชั่ง 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid, 2,4-D จำนวน 0.01 g และเทใส่ปิ๊กเกอร์
- ขนาด 50 ml
- ค่อย ๆ หยด 95% EtOH ประมาณ 2 ml เพื่อทำละลาย 2, 4-D จนละลายหมด
 - ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในกระบอกตวง จนปริมาตรครบ 100 ml
 - เก็บใส่ขวดแก้ว และเขียนรายละเอียดติดที่ขวด เช่น ชื่อสาร และความเข้มข้น

ชื่อผู้เตรียม และวันที่เตรียม

1.3 เตรียม IAA Stock ความเข้มข้น 100 mg/l (100 ppm) จำนวน 200 ml

- ชั่ง Indoe-3-acetic acid, IAA จำนวน 0.02 g และเทใส่ปิ๊กเกอร์ ขนาด 50 ml
- ค่อย ๆ หยด 95% EtOH ประมาณ 2 ml เพื่อทำละลาย IAA จนละลายหมด
- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในกระบอกตวง จนปริมาตรครบ 200 ml
- เก็บใส่ขวดแก้ว และเขียนรายละเอียดติดที่ขวด เช่น ชื่อสารและความเข้มข้น

ชื่อผู้เตรียม และวันที่เตรียม

1.4 เตรียม IBA Stock ความเข้มข้น 100 mg/l (100 ppm) จำนวน 200 ml

- ชั่ง Indoe-3-butyric acid, IBA จำนวน 0.02 g และเทใส่ปิ๊กเกอร์ ขนาด 50 ml
- ค่อย ๆ หยด 95% EtOH ประมาณ 2 ml เพื่อทำละลาย IAA จนละลายหมด
- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในกระบอกตวง จนปริมาตรครบ 200 ml

- เก็บใส่ขวดแก้ว และเขียนรายละเอียดติดที่ขวด เช่น ชื่อสาร และความเข้มข้น
ชื่อผู้เตรียม และวันที่เตรียม

2. การเตรียมสารละลายเข้มข้นกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin)

2.1 เตรียม Kinetin Stock ความเข้มข้น 100 mg/l (100 ppm) จำนวน 200 ml

- ชั่ง Kinetin, Kin มาจำนวน 0.02 g และเทใส่ปิ๊กเกอร์ ขนาด 50 ml
- ค่อย ๆ หยด 1N NaOH หรือ 1N KOH ประมาณ 4-5 หยด เพื่อทำละลาย Kin
จนละลายหมด จากนั้นเทใส่กระบอกลง

- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในกระบอกลง จนปริมาตรครบ 200 ml
- เก็บใส่ขวดแก้ว และเขียนรายละเอียดติดที่ขวด เช่น ชื่อสาร ชื่อผู้เตรียม
และวันที่เตรียม

2.2 เตรียม TDZ Stock ความเข้มข้น 100 mg/l (100 ppm) จำนวน 100 ml

- ชั่ง Thidiazuron, TDZ มาจำนวน 0.01 g และเทใส่ปิ๊กเกอร์ ขนาด 50 ml
- ค่อย ๆ หยด 5N NaOH หรือ dimethyl sulfoxide (DMSO) ประมาณ
4-5 หยด เพื่อทำละลาย BA จนละลายหมด จากนั้นเทใส่กระบอกลง

- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในกระบอกลง จนปริมาตรครบ 100 ml
- เก็บใส่ขวดแก้ว และเขียนรายละเอียดติดที่ขวด เช่น ชื่อสาร ชื่อผู้เตรียม
และวันที่เตรียม

2.3 เตรียม BAP Stock ความเข้มข้น 100 mg/l (100 ppm) จำนวน 200 ml

- ชั่ง 6-benzyladenine หรือ benzylaminopurine, BAP มาจำนวน 0.02 g
และเทใส่ปิ๊กเกอร์ ขนาด 50 ml

- ค่อย ๆ หยด 1N NaOH หรือ 1N KOH ประมาณ 4-5 หยด เพื่อทำละลาย
BAP จนละลายหมด จากนั้นเทใส่กระบอกลง

- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในกระบอกลง จนปริมาตรครบ 200 ml
- เก็บใส่ขวดแก้ว และเขียนรายละเอียดติดที่ขวด เช่น ชื่อสาร ชื่อผู้เตรียม
และวันที่เตรียม

2.4 เตรียม BA Stock ความเข้มข้น 100 mg/l (100 ppm) จำนวน 200 ml

- ชั่ง N⁶- Benzyladenine, BA มาจำนวน 0.02 g และเทใส่ปิ๊กเกอร์ ขนาด 50 ml
- ค่อย ๆ หยด 1N NaOH หรือ 1N KOH ประมาณ 4-5 หยด เพื่อทำละลาย BA จน
ละลายหมด จากนั้นเทใส่กระบอกลง

- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในกระบอกลง จนปริมาตรครบ 200 ml
- เก็บใส่ขวดแก้ว และเขียนรายละเอียดติดที่ขวด เช่น ชื่อสาร ชื่อผู้เตรียม และวันที่เตรียม

ข้อพึงระวัง

การเตรียม Stock solution ของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชข้างต้นนั้น ผู้ปฏิบัติงานได้ยกตัวอย่างวิธีการคำนวณในการชั่งตวงสารและการเตรียม Stock ของสารควบคุมฯ เพียงบางชนิดไว้เบื้องต้น ทั้งนี้ในการชั่งตวงปริมาณสารควบคุมฯ ทุกชนิดจะเหมือนกัน จะแตกต่างที่ตัวทำละลายของสารตัวนั้น ๆ (ดูตัวอย่างตัวทำละลายสารควบคุมฯ แสดงในตารางผนวกที่ 4, หน้า 100) และการเตรียมขึ้นอยู่กับว่าปริมาณการใช้งานมากน้อยแค่ไหน หากใช้งานไม่เยอะก็ไม่จำเป็นต้องเตรียมในปริมาณที่มาก เพราะถ้าหากเก็บไว้เป็นเวลานาน ๆ สารละลายมีโอกาที่จะตกตะกอน และเสื่อมประสิทธิภาพในการใช้งาน อีกทั้งยังเป็นการสิ้นเปลืองต้นทุนอีกด้วย ดังนั้นการเตรียมปริมาณของสารละลายที่พอเหมาะกับการใช้งานจะช่วยประหยัดสารเคมีได้อย่างดี

ตัวอย่างการเขียนฉลากติดที่ขวด Stock solution ของสารควบคุมการเจริญเติบโต



ภาพที่ 4.10 แสดงการเขียนฉลากติดขวดของสารควบคุมการเจริญเติบโต

4.3.1.4 การเตรียมสารละลายเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ปรับความเป็นกรด-ด่าง

การเตรียมสำหรับการเตรียมสารละลายเข้มข้น ของสารที่ใช้ในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารสังเคราะห์ โดยทั่วไปจะใช้สารอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ NaOH (Sodium hydroxide), KOH (Potassium hydroxide), HCL (Hydrochloric acid) มีวิธีการเตรียมดังนี้

1. การเตรียม 1N NaOH (Sodium hydroxide)

$$1N \text{ (Normality)} = 1M \text{ (Molarity)}$$

น้ำหนักโมเลกุล ของ NaOH $(Na = 23, O = 16, H = 1) = 40 \text{ g}$

ดังนั้น 1N NaOH หมายถึง NaOH 40 g ในน้ำ 1,000 ml

1.1 การเตรียม 1N NaOH Stock จำนวน 200 ml

$$\text{จากสูตร } N_1V_1 = N_2V_2$$

N_1 = ความเข้มข้นหน่วย (normal) ของสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการเตรียม

V_1 = ปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการเตรียม

N_2 = ความเข้มข้นหน่วย (normal) ของสารละลาย NaOH ที่ต้องการเตรียม

V_2 = ปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ต้องการเตรียม

$$\text{แทนค่า } 40 \times V_1 = 40 \times 200$$

$$V_1 = \frac{40 \times 200}{40}$$

1,000

$$= 8 \text{ g}$$

ดังนั้น ต้องชั่ง NaOH มาจำนวน 8 g ผสมน้ำกลั่นบางส่วน เพื่อทำละลาย NaOH จนหมดและรอให้เย็นจึงปรับปริมาตรเป็น 200 ml ก็จะได้ 1N NaOH จำนวน 200 ml

1.2 การเตรียม 0.5N NaOH จำนวน 50 ml จาก 1N NaOH

$$\text{จากสูตร } N_1V_1 = N_2V_2$$

$$1 \times V_1 = 0.5 \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{0.5 \times 50}{1}$$

1

$$= 25 \text{ ml}$$

ดังนั้นต้องดูดสารละลายจาก 1N NaOH มาจำนวน 25 ml และผสมในน้ำกลั่นจำนวน 25 ml ก็จะได้ 0.5N NaOH ในปริมาตร 50 ml

1.3 การเตรียม 0.1N NaOH จำนวน 50 ml จาก 1N NaOH

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad N_1V_1 &= N_2V_2 \\ N_1 \times V_1 &= 0.1 \times 50 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{0.1 \times 50}{1} \\ &= 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้นต้องดูดสารละลายจาก 1N NaOH มาจำนวน 5 ml และผสมในน้ำกลั่นจำนวน 45 ml ก็จะได้ 0.1N NaOH ในปริมาตร 50 ml

2. การเตรียม 1N HCL (Hydrochloric acid)

37% HCL หมายถึง 37g / 100 ml
หรือ 370g / 1,000 ml

น้ำหนักโมเลกุลของ HCL = 1+35.5+36.5 g

$$36.5 \text{ g} = 1 \text{ N}$$

$$370 \text{ g} = \frac{370 \text{ N}}{36.5}$$

$$\text{HCL } 1 \text{ N} = 1 \text{ M}$$

$$\frac{370 \text{ N}}{36.5} = \frac{370 \text{ M}}{36.5}$$

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad N_1V_1 &= N_2V_2 \\ 370 \times V_1 &= 1\text{N} \times 1,000 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{1 \times 1,000 \times 36.5}{370} \end{aligned}$$

$$= 98.64 \text{ หรือปัดขึ้นไปเป็น } = 99 \text{ ml}$$

ดังนั้นต้องเตรียมกรด HCL มาจำนวน 99 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 901 มิลลิลิตร ก็จะได้ 1N HCL ในปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

2.1 การเตรียม 0.5N HCL จำนวน 50 ml จาก 1N HCL

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad N_1V_1 &= N_2V_2 \\ N_1 \times V_1 &= 0.5 \times 50 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{0.5 \times 50}{1} \\ &= 25 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$= 25 \text{ ml}$$

ดังนั้นต้องดูดสารละลายจาก 1N HCL มาจำนวน 25 มิลลิลิตร และผสมในน้ำกลั่นจำนวน 25 มิลลิลิตร ก็จะได้ 0.5N HCL ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2.2 การเตรียม 0.1N HCL จำนวน 50 ml จาก 1N HCL

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad N_1V_1 &= N_2V_2 \\ N_1 \times V_1 &= 0.1 \times 50 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{0.1 \times 50}{1} \\ &= 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้นต้องดูดสารละลายจาก 1N HCL มาจำนวน 5 มิลลิลิตร และผสมในน้ำกลั่นจำนวน 45 มิลลิลิตร ก็จะได้ 0.1N HCL ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ข้อเสนอแนะ ในการเตรียม HCL

ในการเตรียม HCL ให้เตรียมในตู้ดูดควัน (FUME HOOD) เนื่องจากสารเคมีดังกล่าวมีฤทธิ์เป็นกรด จะทำให้เกิดความเป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานได้

3. การเตรียม 1N KOH (Potassium Hydroxide)

$$\text{น้ำหนักโมเลกุลของ KOH} = 39 + 16 + 1 = 56$$

$$1\text{N KOH หมายถึง KOH} = 56 \text{ g ในน้ำ } 1,000 \text{ ml (1 L)}$$

ดังนั้นต้องชั่ง KOH มาจำนวน 56 g ผสมน้ำกลั่นบางส่วนเพื่อทำละลาย KOH จนหมด และทำการปรับปริมาตร เป็น 1,000 มิลลิลิตร ก็จะได้ 1N KOH ในปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

3.1 การเตรียม 0.5N KOH จำนวน 50 ml จาก 1N KOH

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad N_1V_1 &= N_2V_2 \\ N_1 \times V_1 &= 0.5 \times 50 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{0.5 \times 50}{1} \\ &= 25 \text{ ml} \end{aligned}$$

ดังนั้นต้องดูดสารละลายจาก 1N KOH มาจำนวน 25 มิลลิลิตร และผสมในน้ำกลั่นจำนวน 25 มิลลิลิตร ก็จะได้ 0.5N KOH ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร

3.2 การเตรียม 0.1N KOH จำนวน 50 ml จาก 1N KOH

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร} \quad N_1V_1 &= N_2V_2 \\ N_1 \times V_1 &= 0.1 \times 50 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{0.1 \times 50}{1} \\ &= 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

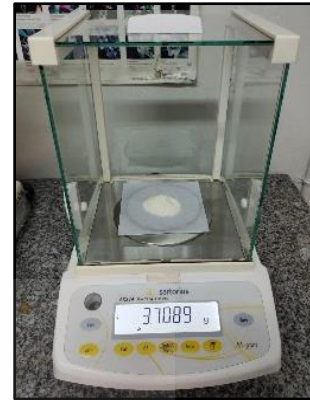
ดังนั้นต้องดูดสารละลายจาก 1N KOH มาจำนวน 5 มิลลิลิตร และผสมในน้ำกลั่นจำนวน 45 มิลลิลิตร ก็จะได้ 0.1N KOH ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร

สำหรับการเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution) ของ NaOH, KOH และ HCL นั้น เพื่อใช้ในการปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ส่วนใหญ่ในการเตรียมอาหารจะปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างให้อยู่ในช่วง 5.6-6.0 เนื่องจากถ้า pH สูงมากขึ้นส่วนของพืช จะดูดน้ำ และสารอาหารได้ยาก และหาก pH ต่ำกว่า 4.8 จะทำให้เกิดปัญหาวัณไม่แห้งตัว สารละลายเหล็ก ตกตะกอนหาก pH ต่ำกว่า 4.5 หรือสูงกว่า 7.0 เซลล์หรือเนื้อเยื่ออาจหยุดการเจริญเติบโตได้

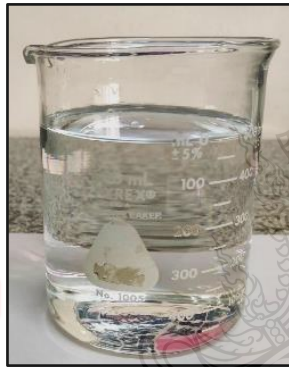
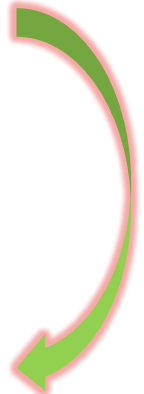
ในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เช่น ถ้าต้องการให้สารละลายมีค่า pH สูงกว่า 5.7 ให้ใช้ NaOH หรือ KOH ในการปรับค่าขึ้น และถ้าต้องการให้สารละลายมีค่า pH ต่ำกว่า 5.7 ให้ใช้ HCL ในการปรับค่าลง



1. เลือกสารเคมีที่จะเตรียมออกจากตู้เก็บสาร และศึกษาวิธีการเตรียม



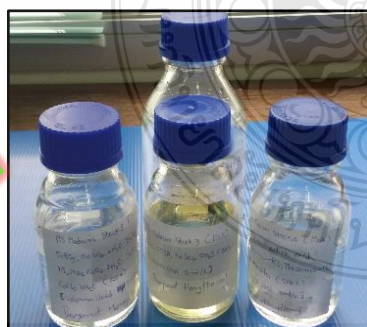
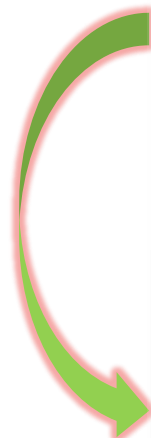
2. ชั่งสารเคมีตามสูตรที่ต้องการ



4. ปรับปริมาตรสารละลาย



3. ละลายสารเคมีในน้ำกลั่นและกวนให้เข้ากัน



5. บรรจุลงขวดเก็บสารเคมี และเขียนรายละเอียดติดข้างขวด



6. จัดเก็บในตู้เย็น

ภาพที่ 4.11 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution)

4.3.1.5 การเตรียมแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70%

การเตรียมแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% นั้นเพื่อใช้สำหรับทำความสะอาดตู้ย้ายเนื้อเยื่อ และอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่จะนำเข้าไปในตัว รวมทั้งใช้เช็ดทำความสะอาดโต๊ะปฏิบัติการภายในห้องด้วย มีวิธีการเตรียมดังนี้ (ดังแสดงในภาพที่ 4.12)

1.การเตรียมแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% มีวิธีการเตรียมดังนี้

จากสูตร	$N_1 V_1 = N_2 V_2$
	$N_1 =$ ความเข้มข้นของสารตั้งต้น = 95%
	$V_1 =$ ความเข้มข้นของสารที่ต้องเตรียม = 70%
	$N_2 =$ ปริมาณของสารตั้งต้นที่จะต้องใส่
	$V_2 =$ ปริมาณที่ต้องการเตรียม 1,000 ml
แทนค่า	$95 \times V_1 = 70 \times 1,000$
	$V_1 = \frac{70 \times 1,000}{95}$
	$= 736.842 \text{ ml}$

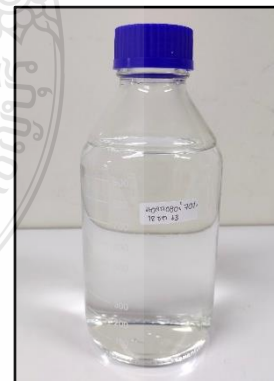
ดังนั้นต้องใช้แอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 736.842 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นอีก 263.158 มิลลิลิตร ก็จะได้แอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร



1. เตรียมแอลกอฮอล์ 95 % และเทแอลกอฮอล์ออกจากถัง ปริมาตร 736.842 มิลลิลิตร



2. เตรียมน้ำกลั่น และเทน้ำกลั่นออกจากถัง ปริมาตร 263.158 มิลลิลิตร



3. นำแอลกอฮอล์จากข้อ 1 มาเทใส่
กระบอกตวง จากนั้นนำน้ำกลั่นในข้อ 2
เทลงเติมเพื่อปรับปริมาตรให้ครบ 1,000
มิลลิลิตร

4. เมื่อปรับปริมาตรครบแล้ว นำแอลกอฮอล์
70% ที่ได้เทเก็บในขวดเก็บสาร สำหรับนำไป
ใช้งานต่อไป

ภาพที่ 4.12 แสดงขั้นตอนการเตรียมแอลกอฮอล์ 70%

4.3.1.6 การจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีอยู่หลายชนิด ตามการใช้งาน และการปฏิบัติงาน ดังนั้นการจัดเก็บสารเคมีต้องคำนึงถึงความปลอดภัย และความสะอาดต่อ ผู้ปฏิบัติงานเป็นหลัก การจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช จะทำการจัดเก็บในตู้เก็บสารเคมี โดยแยกจัดเก็บไว้ตามลำดับอักษรตามชื่อสามัญ (Common Name) โดยจัดเรียงเป็นหมวดหมู่ของตัวอักษรภาษาอังกฤษ A - Z เพื่อความสะดวกในการค้นหา ในการปฏิบัติงาน (ดังแสดงใน ตารางที่ 4.2) และ (ภาพที่ 4.14)

ตารางที่ 4.2 แสดงรายชื่อสารเคมีที่จัดเก็บในตู้เก็บสารเคมีของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

หมวด A				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ตู้เก็บสารเคมี (ชั้นที่)	หมายเหตุ
A1	Ammonium nitrate	3		เก็บในตู้เย็น
A2	Ammonium sulfate	2	1	
A3	Activated charcoal (ผงถ่านไม้)	4	2	
A4	Agar-Agar Powder	3		เก็บในตู้เย็น
หมวด B				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
B1	Boric acid	1	1	
B2	BN ₆ - Benzyladenine (BAP)	1		เก็บในตู้เย็น
B3	N ₆ - Benzyladenine (BA)	2		เก็บในตู้เย็น
หมวด C				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
C1	Calcium chloride	2	1	
C2	Cobalt(II) chloride	2	1	
C3	Copper(II) sulphate	2	1	
C4	Cuperic sulphate	2	1	

ตารางที่ 4.2 แสดงรายชื่อสารเคมีที่จัดเก็บในตู้เก็บสารเคมีของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร (ต่อ)

หมวด D				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
D1	Di-sodium hydrogen phosphate	1	2	
D2	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid	1		เก็บในตู้เย็น
หมวด E				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ตู้เก็บสารเคมี (ชั้นที่)	หมายเหตุ
E1	EDTA disodium salt	1	1	
หมวด F				
F1	Ferrous sulphate	1	1	
F2	6-Furfurylaminopurine (Kin)	1		เก็บในตู้เย็น
หมวด G				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
G1	Glycine	1		เก็บในตู้เย็น
G2	Gibberellic acid			เก็บในตู้เย็น
หมวด H				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
H1	Hydrochloric acid	1	2	

ตารางที่ 4.2 แสดงรายชื่อสารเคมีที่จัดเก็บในตู้เก็บสารเคมีของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร (ต่อ)

หมวด M				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ตู้เก็บสารเคมี (ชั้นที่)	หมายเหตุ
M1	Magnesium sulfate	2	1	
M2	Manganese sulfate	2	1	
M3	Myo-inositol	1		เก็บในตู้เย็น
หมวด N				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
N1	Nicotinic acid	1		เก็บในตู้เย็น
N2	1-Naphthalence acetic acid (NAA)	1		เก็บในตู้เย็น
หมวด P				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
P1	Potassium nitrate	2	1	
P2	Potassium phosphate	2	1	
P3	Potassium iodine	1	1	
P4	Pyridoxin -HCl	1		เก็บในตู้เย็น
P5	Potassium dihydrogen phosphate	1	1	
หมวด I				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
I1	Indole-3-acetic acid (IAA)	1		เก็บในตู้เย็น
I2	Indole-3-butyric acid (IBA)	1		เก็บในตู้เย็น

ตารางที่ 4.2 แสดงรายชื่อสารเคมีที่จัดเก็บในตู้เก็บสารเคมีของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร (ต่อ)

หมวด S				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ตู้เก็บสารเคมี (ชั้นที่)	หมายเหตุ
S1	Sodium molybdate	1		เก็บในตู้เย็น
S2	Sodium hypochlorite (คลอรีน)	1	2	
S3	Sodium hydroxide (NaOH)	1	2	
S4	Sucrose (น้ำตาล)	5	2	
หมวด T				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ตู้เก็บสารเคมี (ชั้นที่)	หมายเหตุ
T1	Tri-Calcium phosphate	2	2	
T2	Thidiazuron (TDZ)	1		เก็บในตู้เย็น
T3	Thiamine -HCl	1		เก็บในตู้เย็น
หมวด Z				
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่	หมายเหตุ
Z1	Zinc Sulfate	1	1	
Z2	Zeatine	1		เก็บในตู้เย็น



ภาพที่ 4.13 แสดงภาพตู้เก็บสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

บัญชีรายการสารเคมีในตู้เก็บสาร ชั้นที่ 1		
หมวด A	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)
A1	Ammonium sulfate	2
A2	Activated charcoal (ผงถ่านไม้)	4
หมวด B	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)
B1	Boric acid	2
หมวด C	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)
C1	Calcium chloride	2
C2	Cobalt(II) chloride	2
C3	Copper(II) sulphate	2
C4	Cupric sulphate	2



ภาพที่ 4.14 แสดงภาพบัญชีรายชื่อสารเคมี และการจัดเก็บตามหมวดหมู่

4.4 การติดตามผลการปฏิบัติงาน

ในการติดตามผลการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น ต้องครอบคลุมไปถึงการจัดเตรียมอุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในแต่ละห้องจะต้องมีสถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่พร้อมสำหรับการใช้งาน มีจำนวนที่เพียงพอต่อความต้องการ และมีสารเคมีที่เพียงพอต่อความต้องการปฏิบัติงาน และอยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งาน ไม่มีหมดอายุ ในส่วนของเครื่องมือจะต้องอยู่ในสภาพที่ดี ไม่ชำรุดเสียหาย เช่น เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ต้องมีค่าความเสถียรของ pH อย่างสม่ำเสมอ เครื่องนึ่งความดันไอน้ำ ต้องมีความแม่นยำของอุณหภูมิควรอยู่ในช่วงไม่เกิน ± 0.1 องศาเซลเซียส ตู้ย้ายเนื้อเยื่อควรมีระบบกรองอากาศที่ดี ปราศจากเชื้อรา และแบคทีเรีย เป็นต้น ห้องเลี้ยงย้ายเนื้อเยื่อ และเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องสะอาด มีแสง และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการ เลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทำการตรวจเช็คทุก ๆ 3 เดือน นอกจากนี้ นักวิชาการศึกษาต้องจัดทำแบบประเมินความพึงพอใจของอาจารย์ผู้สอน/นักศึกษา เพื่อจัดเก็บข้อมูล และนำมาใช้ในการปรับปรุง และพัฒนางาน ในภาระหน้าที่ให้ครบถ้วนสมบูรณ์



บทที่ 5

ปัญหาอุปสรรค แนวทางในการแก้ไขและการพัฒนางาน

5.1 ปัญหาอุปสรรค แนวทางในการแก้ไขและการพัฒนางาน

จากการปฏิบัติหน้าที่ในการดำเนินงานสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มักพบปัญหา อุปสรรคที่เกิดขึ้น และมีข้อเสนอแนะแนวทางในการแก้ไขปัญหาใน การปฏิบัติงาน ในแต่ละขั้นตอน ซึ่งผู้ปฏิบัติงานต้องมีไหวพริบ และแก้ปัญหาเฉพาะหน้าได้ดี เพื่อให้การดำเนินงานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ จึงได้รวบรวมปัญหาและอุปสรรค และแนวทางแก้ไข และการพัฒนางาน (ดังแสดงใน ตารางที่ 5.1)

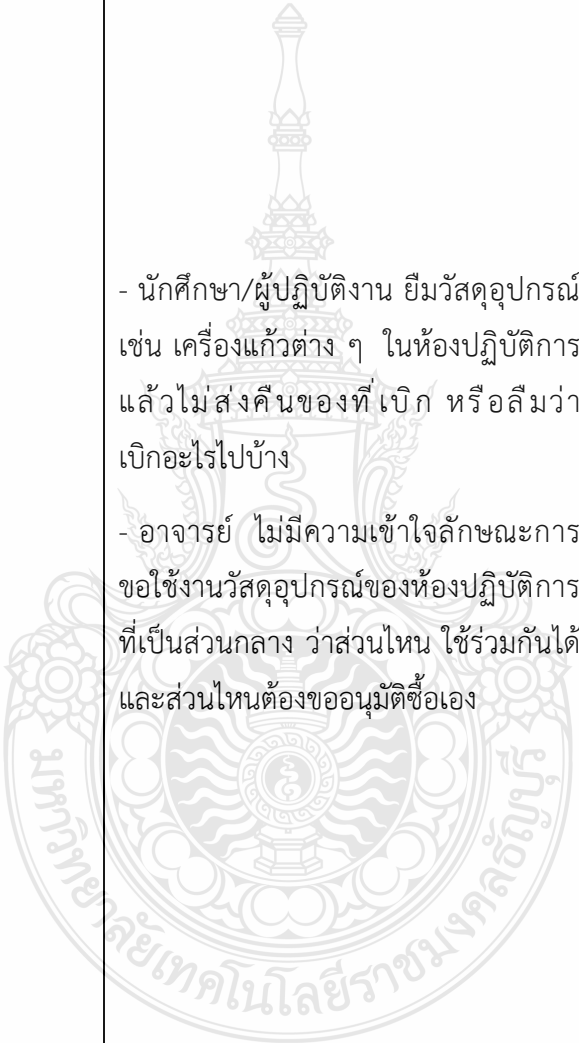
ตารางที่ 5.1 แสดงปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ไขและการพัฒนางาน

ประเด็น	ปัญหาและอุปสรรค	แนวทางการแก้ไขและการพัฒนา
1. ด้านการวางแผน 1.1 วางแผนตรวจเช็คเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการ ก่อนเปิดภาคการศึกษา ได้แก่ การตรวจเช็คภาพรวมด้านไฟฟ้า ประปา และอื่น ๆ ของห้องปฏิบัติการ	<ul style="list-style-type: none">- แก้อุปกรณ์ที่มีไม่เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษา เนื่องจากมีการขนย้ายไปใช้ในห้องอื่น- เครื่องปรับอากาศขัดข้องบ่อยครั้ง เนื่องจากเป็นเครื่องปรับอากาศเก่า ทำให้อากาศร้อนอบอ้าวในฤดูร้อน	<ul style="list-style-type: none">- ทำการตรวจสอบเช็คจำนวนเก้าอี้ก่อนเรียนชั่วโมงปฏิบัติการอย่างน้อย 1 สัปดาห์ ก่อนเรียน หากพบว่า มีไม่เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษา ให้จัดหาเพื่อเตรียมความพร้อม และทำประกาศติดห้ามเคลื่อนย้ายเก้าอี้ไปใช้งานยังห้องอื่น ๆ- ทำการตรวจสอบทุกสัปดาห์ ก่อนเริ่มการเรียนภาคปฏิบัติหากพบปัญหา ให้ทำบันทึกข้อความหรือเขียนแบบฟอร์มใบแจ้งซ่อมถึงคณะฯ เพื่อขออนุมัติให้ช่างมาทำการตรวจเช็คและล้างแอร์ ก่อนเปิดภาคการศึกษา

ตารางที่ 5.1 แสดงปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ไขและการพัฒนางาน (ต่อ)

ประเด็น	ปัญหาและอุปสรรค	แนวทางการแก้ไขและการพัฒนา
<p>1. ด้านการวางแผน (ต่อ)</p> <p>1.2 วางแผนในการประสานงานกับอาจารย์ประจำวิชาเพื่อขอแผนการสอนภาคปฏิบัติในแต่ละภาคการศึกษา</p>	<p>- อ่างน้ำชำรุด มีน้ำรั่วซึม เนื่องจากท่อระบายน้ำอุดตัน และท่อน้ำเชื่อมท่อน้ำเสื่อมอายุการใช้งาน</p> <p>- ผู้ปฏิบัติงานได้รับแผนการสอนล่าช้า และต้องทำการติดต่ออาจารย์ประจำวิชาเพื่อขอแผนการสอนจากอาจารย์ ซึ่งต้องใช้ระยะเวลา นาน กว่าที่ผู้ปฏิบัติจะได้รับแผนการสอน เพื่อนำมาศึกษาก่อนการเริ่มปฏิบัติงาน</p>	<p>- ทำการตรวจสอบเช็คสภาพอ่างน้ำก่อนเปิดภาคการศึกษา หากพบว่ามี การชำรุด ให้ทำบันทึกข้อความ หรือเขียนแบบฟอร์มใบแจ้งซ่อมถึงคณะฯ เพื่อขออนุมัติให้ช่างมาดำเนินการแก้ไขโดยด่วน</p> <p>- ผู้ปฏิบัติติดตามสอบถามขอแผนการสอนรายวิชาจากอาจารย์ประจำวิชาล่วงหน้า อย่างน้อย 1 เดือน ก่อนเริ่มการเปิดภาคการศึกษา เพื่อเตรียมความพร้อม</p>
<p>2. ด้านการจัดเตรียมอุปกรณ์</p> <p>2.1 อุปกรณ์ประเภทเครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น หลอดทดลอง บีเปต กระบอกตวง บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ เป็นต้น</p>	<p>- นักศึกษา/ผู้ปฏิบัติงาน ทำอุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ แตก ชำรุดเสียหาย ระหว่างการปฏิบัติการ</p>	<p>- ออกกฎระเบียบ กติกาข้อควรปฏิบัติ ในการใช้งานวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ ให้เป็นที่ทราบโดยทั่วกัน ในกรณี อุปกรณ์เครื่องแก้วแตกชำรุดเสียหาย นักศึกษา/ผู้ปฏิบัติ ต้องทำการซื้อมาทดแทนอันเดิม หากนักศึกษา/ผู้ปฏิบัติไม่สามารถหาซื้อได้ต้องชำระเป็นเงินสด เพื่อเป็นการเพิ่มความรอบครอบ และระมัดระวังในการใช้งานแก่นักศึกษา/ผู้ปฏิบัติ</p>

ตารางที่ 5.1 แสดงปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ไขและการพัฒนางาน (ต่อ)

ประเด็น	ปัญหาและอุปสรรค	แนวทางการแก้ไขและการพัฒนา
<p>2. ด้านการจัดเตรียมอุปกรณ์ (ต่อ)</p>	 <ul style="list-style-type: none"> - นักศึกษา/ผู้ปฏิบัติงาน ยืมวัสดุอุปกรณ์ เช่น เครื่องแก้วต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ แล้วไม่ส่งคืนของที่เบิก หรือลืมว่าเบิกอะไรไปบ้าง - อาจารย์ ไม่มีความเข้าใจลักษณะการขอใช้งานวัสดุอุปกรณ์ของห้องปฏิบัติการที่เป็นส่วนกลาง ว่าส่วนไหน ใช้ร่วมกันได้ และส่วนไหนต้องขออนุมัติตัวเอง 	<ul style="list-style-type: none"> - หากในระหว่างชั่วโมงการเรียน นักศึกษาได้ทำอุปกรณ์แตกเสียหาย ควรเบิกอุปกรณ์ไว้สำรองเพื่อจะได้มีสำหรับปฏิบัติเพียงพอรหว่างชั่วโมงการเรียน - จัดทำแบบฟอร์มการยืม-คืน การใช้งานอุปกรณ์เครื่องมือ ของห้องปฏิบัติการ เพื่อติดตามการส่งคืนตามกำหนดเวลา - หลักสูตรฯ ต้องมีการชี้แจงและอธิบายให้อาจารย์ที่ต้องการใช้วัสดุ อุปกรณ์ ต่าง ๆ ของห้องปฏิบัติการทราบ ว่าของที่เป็นส่วนกลางว่าสามารถใช้ได้ในจำนวนจำกัด หากต้องการใช้ในปริมาณมากต้องขออนุมัติตัวเอง

ตารางที่ 5.1 แสดงปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ไขและการพัฒนางาน (ต่อ)

ประเด็น	ปัญหาและอุปสรรค	แนวทางการแก้ไขและการพัฒนา
<p>2. ด้านการจัดเตรียมอุปกรณ์ (ต่อ)</p> <p>2.2 อุปกรณ์ประเภทครุภัณฑ์ เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ต่าง ๆ เช่น เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Balance) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) หม้อนึ่งความดัน(Autoclave) และ เตาหลอมอาหาร (Hot plate) เครื่องปรับอากาศ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air flow cabinet) เป็นต้น</p>	<ul style="list-style-type: none"> - มีผู้ใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ เช่น การใช้หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ในช่วงเวลาเดียวกัน หรือมีความต้องการใช้โดยไม่ได้แจ้งให้ทราบล่วงหน้า - นักศึกษา/ผู้ปฏิบัติงาน ไม่มีความรู้เกี่ยวกับการใช้เครื่องมือ และใช้งานเครื่องมือผิดวิธี หรือไม่ทราบเทคนิคการใช้งาน เช่น การใช้เครื่องชั่ง (Balance) ก่อนชั่งต้องปรับให้ลูกน้ำของเครื่องชั่งอยู่ตรงศูนย์กลางพอดี เพื่อไม่ให้อ่านน้ำหนักผิดพลาด หรือ การใช้งานเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ก่อนใช้งานทุกครั้งต้องทำการปรับเทียบมาตรฐาน (Calibration) - ห้องย้ายเนื้อเยื่อและห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มักมีสิ่งปนเปื้อน และมีสภาวะไม่ปลอดเชื้อ 	<ul style="list-style-type: none"> - จัดทำสมุดบันทึกการใช้งาน (Log book) ประจำเครื่องมือ ทางวิทยาศาสตร์ เพื่อบันทึกการใช้และจองการใช้งานล่วงหน้า และเจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบต้องมีการแจ้งล่วงหน้า หากเครื่องมือนั้นสามารถใช้งานได้ตามกำหนดที่ขอใช้หรือไม่ - ให้การแนะนำการใช้เครื่องมือ หรือจัดทำคู่มือการใช้งานประจำเครื่องมือ แต่ละชนิดของห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้ผู้ใช้งานสามารถทำความเข้าใจได้ด้วยตัวเอง - ควรสำรวจตรวจเช็ค ทำความสะอาดให้ทั่วด้วยน้ำยาฆ่าเชื้ออย่างสม่ำเสมอ และทำการฆ่าอบฆ่าเชื้อ ด้วยสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde solution) เพื่อกำจัดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ภายในห้อง

ตารางที่ 5.1 แสดงปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ไขและการพัฒนางาน (ต่อ)

ประเด็น	ปัญหาและอุปสรรค	แนวทางการแก้ไขและการพัฒนา
<p>2. ด้านการจัดเตรียมอุปกรณ์ (ต่อ)</p>	<p>- ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Culture Room) มีสภาวะที่ไม่เหมาะสม คือ มีอุณหภูมิไม่อยู่ในช่วง 25 องศาเซลเซียส หรือมีแสงสว่างไม่อยู่ในช่วง 1000- 3000 ลักซ์ ซึ่งอาจเกิดจากหลอดไฟบนชั้นวางเนื้อเยื่อเสีย</p>	<p>-ให้รับดำเนินการปรับอุณหภูมิห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Culture Room) ให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมโดยเร็วที่สุด เนื่องจากความร้อนระอุของห้องจะทำให้พืชที่ทำการเพาะเลี้ยงนั้นตายได้ เช่น ถ้าอุณหภูมิไม่อยู่ในช่วง 25 องศาเซลเซียส ให้รีบสลับการทำงานของเครื่องปรับอากาศและรีบดำเนินการแก้ไขซ่อม เครื่องปรับอากาศที่ชำรุดโดยเร็ว นอกจากนี้ควรดำเนินการล้างเครื่องปรับอากาศ หากเป็นไปได้ ควรล้างทุก ๆ 3 เดือน/ครั้ง ถ้าหากแสงที่ชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อมีแสงสว่างไม่อยู่ในช่วง 1000-3000 ลักซ์ ให้รีบย้ายเนื้อเยื่อไปชั้นที่มีความเข้มแสงเพียงพอและดำเนินการซ่อมเปลี่ยนหลอดไฟ เพื่อให้มีความสว่างที่เพียงพอ</p>

ตารางที่ 5.1 แสดงปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ไขและการพัฒนางาน (ต่อ)

ประเด็น	ปัญหาและอุปสรรค	แนวทางการแก้ไขและการพัฒนา
<p>3. ด้านการจัดเตรียมสารเคมี</p> <p>3.1 สำนวความพร้อมของสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ สารเคมีที่เป็นธาตุอาหารหลัก สารเคมีที่เป็นธาตุอาหารรองสารเคมีในกลุ่มวิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต</p> <p>3.2 การจัดเก็บสารเคมี</p>	<p>- สารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มิใช่เพียงพอในการปฏิบัติงาน ซึ่งอาจเกิดจากหมดอายุทำให้ประสิทธิภาพของสาร และการจัดเก็บรักษาไม่ถูกต้องตามหลักการจัดเก็บสารเคมี</p> <p>- หลังจากเสร็จสิ้นการปฏิบัติงาน นักศึกษา/ผู้ปฏิบัติงาน ไม่ส่งคืนหรือจัดเก็บสารเคมีเข้าตู้เก็บสารเคมี</p>	<p>-ให้ดำเนินการทำบัญชีควบคุมรายการสารเคมี เพื่อความสะดวกในการตรวจสอบการคงเหลือ และตรวจเช็คประสิทธิภาพของสารเคมี สารเคมีในกลุ่มวิตามิน (Organic Components) และสารควบคุมการเจริญเติบโต รวมทั้งสาร ละลายเข้มข้น (Stock Solution) ให้ทำการจัดเก็บในตู้เย็น</p> <p>-จัดทำแบบฟอร์มการยืม-คืนการใช้งานสารเคมี และให้คำแนะนำแก่นักศึกษา/ผู้ปฏิบัติงานทุกครั้ง หลังเสร็จสิ้นการปฏิบัติงาน ให้จัดเก็บสารเคมีเข้าตู้ และวางให้เป็นระเบียบตามลำดับอักษรภาษาอังกฤษ A - Z ที่ห้องปฏิบัติการที่กำหนดไว้</p>

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 อาจารย์ผู้สอนควรชี้แจงเรื่องความปลอดภัยในการใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการเตรียมสารเคมีให้นักศึกษาทุกครั้ง ก่อนการเรียนการสอนคาบแรกในการเริ่มปฏิบัติการ

5.2.2 นักวิชาการศึกษา ต้องมีความรู้ความชำนาญ และให้คำแนะนำในการเตรียมสารเคมี และเทคนิคการใช้อุปกรณ์แต่ละประเภทได้อย่างถูกต้อง แก่ผู้มาใช้บริการ

5.2.3 นักวิชาการศึกษา มีสิทธิ์ในการระงับการให้บริการแก่นักศึกษา ด้านการใช้งานเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ แล้วทำเรื่องแจ้งปัญหาแก่อาจารย์ ผ่านทางประธานหลักสูตรฯ ที่กำกับห้องปฏิบัติการนั้น ๆ

5.2.4 นักวิชาการศึกษา ควรมีส่วนร่วมในการวางแผนทำปฏิบัติการกับนักศึกษา และอย่างจริงจัง ก่อนมีการอนุญาตให้ใช้อุปกรณ์ และการเตรียมสารเคมีของห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง

5.2.5 ควรจัดทำระเบียบ ข้อบังคับการใช้ห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือต่าง ๆ สำหรับปฏิบัติการในห้องปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด



บรรณานุกรม

- คำคุณ กาญจนภุมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. บริษัทด้านสุธาการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 162 น.
- ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2534. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ Scientific instruments. ขอนแก่น : โรงพิมพ์ศิริภัณฑ์ออฟเซต, 2534 .
- ธงชัย ศรีตะปัญญะ. 2563. คู่มือการปฏิบัติงาน การจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์ สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี .มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
- เพชรรัตน์ จันทรทิณ. 2556. เอกสารประกอบการสอนรายวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อการเกษตร. สาขาเทคโนโลยีการเกษตร. คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรม. มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.
- พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง,อภิชาติ ชิตบุรี, พิทักษ์ พุทธวรชัย. 2562. การขยายพันธุ์พืชด้วยเทคนิคการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. เชียงใหม่.
- ยุพา ปานแก้ว, วิลาสินี กวีกิจธรรมกุล, วรณศิริ วรณรัตน์ และ พนิดา วงแหวน . (2558). เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเบื้องต้น เพื่อขยายพันธุ์ทางอุตสาหกรรม. สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและ อุตสาหกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ณัฐกร เสมสันทด. 2552. คู่มือการฝึกอบรมหลักสูตร การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์ไม้ป่า. กลุ่มงานวัฒนวิจัย สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้, กรมป่าไม้.
- มานี เตื้อสกุล. 2542. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช: ไซโตไคนิน. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
- ยุพิน ฤทธิอ่อน. 2562. คู่มือการปฏิบัติงานการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเคมี. คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2542. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อารีย์ วรรณวัฒน์.2545. เอกสารประกอบการสอนบทปฏิบัติการการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี
สุรนารี.

Dixon, R.A. and R.A. Gonzales. 1994. **Plant Cell Culture : A Practical Approach**. 2nd
ed. IRL Press, oxford

Trigiano, Robert N., Gray, Dennis J. 1996. **Plant Tissue Culture Concepts and
Laboratory Exrcises**. CRC Press, Inc., United State of America. 374 p.



ภาคผนวก ก

องค์ประกอบของสารเคมีต่าง ๆ
ในการเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock Solution)



ตารางผนวกที่ 1 แสดงองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962)

Macronutrients (Stock 1)	ปริมาณ สาร ตามสูตร (mg/l)	ปริมาณในการ เตรียม Stock solution 200 เท่า (g/l)	ปริมาณในการ เตรียม Stock solution 200 เท่า (g/ 500ml)	ปริมาณการใช้ Stock ต่อ อาหาร 1 ลิตร (ml/l)
Ammonium nitrate (NH ₄ NO ₃)	1,650	33.0	16.5	50 ml
Potassium nitrate (KNO ₃)	1,900	38.0	19.0	
Calcium chloride (CaCl ₂ .2H ₂ O)	440	8.8	4.4	
Magnesium sulfate (MgSO ₄ .7H ₂ O)	370	7.4	3.7	
Potassium phosphate (KH ₂ PO ₄)	170	3.4	1.7	

Micronutrients (Stock 2)	ปริมาณ สาร ตามสูตร (mg/l)	ปริมาณในการ เตรียม Stock solution 200 เท่า (g/l)	ปริมาณในการ เตรียม Stock solution 200 เท่า (g/ 500ml)	ปริมาณการใช้ Stock ต่อ อาหาร 1 ลิตร (ml/l)
Potassium iodine (KI)	0.83	0.166	0.033	5 ml
Boric acid (H ₃ BO ₃)	6.20	1.240	0.248	
Manganese sulfate (MnSO ₄ .4H ₂ O)	22.30	3.380	0.676	
Zinc Sulfate (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	8.60	1.720	0.344	
Sodium molybdate (Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O)	0.25	0.050	0.010	
Cupric sulfate (CuSO ₄ .5H ₂ O)	0.025	0.005	0.001	
Cobalt chloride (CoCl ₂ .6H ₂ O)	0.025	0.005	0.001	

ตารางผนวกที่ 1 แสดงองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) (ต่อ)

Iron (Stock 3)	ปริมาณ สาร ตามสูตร (mg/l)	ปริมาณในการ เตรียม Stock solution 200 เท่า (g/l)	ปริมาณในการ เตรียม Stock solution 200 เท่า (g/ 500ml)	ปริมาณการใช้ Stock ต่อ อาหาร 1 ลิตร (ml/l)
Ferrous sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	27.85	5.560	1.112	5 ml
EDTA disodium salt ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$)	37.25	7.440	1.488	

Organic compounds (Stock 4)	ปริมาณ สาร ตามสูตร (mg/l)	ปริมาณในการ เตรียม Stock solution 200 เท่า (g/l)	ปริมาณในการ เตรียม Stock solution 200 เท่า (g/ 500ml)	ปริมาณการใช้ Stock ต่อ อาหาร 1 ลิตร (ml/l)
Glycine	2.00	0.400	0.080	5 ml
Thiamine -HCl	0.10	0.020	0.004	
Pyridoxin -HCl	0.50	0.100	0.020	
Nicotinic acid	0.50	0.100	0.020	
Myo-inositol	100	20.000	0.004	
Sucrose	30,000 mg	30 g		
Agar	7,000 mg	7 g		

ตารางผนวกที่ 2 แสดงองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์ สูตร VW (Vacin and Went, 1949)

ชื่อสารเคมี	ความเข้มข้นต่ออาหาร 1 ลิตร (mg/l)	ปริมาณในการเตรียม Stock solution (g/l)	ปริมาณในการเตรียม Stock solution (g/500ml)	ปริมาณในการเตรียม Stock solution (g/200ml)	ปริมาณในการเตรียม Stock solution (g/100 ml)	ปริมาณการใช้ Stock ต่ออาหาร 1 ลิตร (ml/l)
Stock A Macronutrients (ธาตุอาหารหลัก) ความเข้มข้น 100 เท่า						
Potassium nitrate (KNO ₃)	0.52500	52.500	26.250	10.500	5.250	10 ml
Potassium dihydrogen phosphate (KH ₂ PO ₄)	0.25000	25.000	12.500	5.000	2.500	
Ammonium sulfate (NH ₄) ₂ SO ₄)	0.50000	50.000	25.000	10.000	5.000	
Manganese sulfate (MnSO ₄ .4H ₂ O)	0.00570	0.570	0.285	0.114	0.057	
Stock B Micronutrients (ธาตุอาหารรอง) ความเข้มข้น 100 เท่า						
Manganese sulfate (MnSO ₄ .4H ₂ O)	0.25000	25.000	12.500	5.000	2.500	10 ml
Stock C Fe-EDTA Solution (สารละลายเหล็ก) ความเข้มข้น 100 เท่า						
Ferrous sulfate (FeSO ₄ .7H ₂ O)	0.03725	3.725	1.862	0.745	0.373	10 ml
EDTA disodium salt (Na ₂ -EDTA)	0.02785	2.785	1.392	0.557	0.279	
Sucrose	20,000 mg	20 g				
Agar	7,000 mg	7 g				

ตารางผนวกที่ 3 แสดงการเปลี่ยนค่าหน่วยของสารควบคุมการเจริญเติบโตจากมิลลิกรัม/ลิตร (mg/l) ไปเป็นไมโครโมลาร์ (μM) (Trigiano, R.N. และ Gray D.J.,1996)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (μMo/L)											
(mg/l)	ABA	BA	2iP	2,4-D	GA ₃	IAA	TDZ	Zea	IBA	Kin	NAA
0.1	0.38	0.44	0.49	0.45	0.29	0.57	0.45	0.46	0.49	0.46	0.54
0.2	0.76	0.88	0.98	0.90	0.58	1.14	0.91	0.9	0.98	0.93	1.07
0.5	1.89	2.22	2.46	2.26	1.44	2.85	2.27	2.28	2.46	2.32	2.69
0.8	3.03	3.55	3.94	3.62	2.31	4.57	3.63	3.65	3.94	3.72	4.3
1.0	3.78	4.44	4.92	4.52	2.89	5.71	4.54	4.56	4.90	4.65	5.37
10	37.8	44.4	49.2	45.2	28.9	57.1	45.4	45.6	49.0	46.7	53.7

ABA = Absciscic acid, BA=6-Benzyladenine, 2iP= N-Isopentenylamino purine,
 2,4-D=2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, GA₃= Gibberellic acid,
 IAA= Indole-3-acetic acid, TDZ= Thidiazuron, Zea= Zeatin,
 IBA= Indole-3-butyric acid, Kin= Kinetin, NAA=1-Naphtaleneacetic acid



ตารางผนวกที่ 4 แสดงสารควบคุมการเจริญเติบโต ตัวทำละลาย และสภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษา
(Trigiano, R.N. และ Gray D.J.,1996)

กลุ่มสาร	ชื่อสาร	อักษรย่อ	ตัวทำละลาย	การเก็บรักษา
ออกซิน (Auxin)	Indole-3-acetic acid	IAA	1 N NaOH	0°C
	Indole-3-butyric acid	IBA	1 N NaOH	0-5°C
	1-Naphthalence acetic acid	NAA	1 N NaOH	อุณหภูมิห้อง
	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid	2,4-D	95% EtOH	อุณหภูมิห้อง
ไซโตไคนิน (Cytokinin)	6-Benzyladenine or Benzylaminopurine	BAP	1 N NaOH 1 N NaOH	อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิห้อง
	N ₆ - Benzyladenine	BA	1 N NaOH	0°C
	6-Furfurylaminopurine	Kin	1 N NaOH	0°C
	Zeatine	Zea	1 N NaOH	0°C
	N ₆ - Isopentenylaminopurine	2 ip	95% EtOH	0-5 °C
	Thidiazuron	TDZ		
อื่น ๆ	Abscisic acid	ABA	1 N NaOH	0°C
	Gibberellic acid	GA ₃	70% EtOH	อุณหภูมิห้อง



ตารางผนวกที่ 5 แสดงสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
(จาก Dixon and Gonzales, 1994)

กลุ่มสาร	ชื่อสาร	สัญลักษณ์	ข้อสังเกต
ออกซิน (Auxin)	Indole-3-acetic acid	IAA	เป็นออกซินธรรมชาติ ใช้ชักนำแคลลัสที่ความเข้มข้น 10-30 μM ใช้ความเข้มข้นต่ำลง ที่ 1-10 μM จะกระตุ้นorganogenesis เสื่อมสภาพเมื่อถูกแสง และถูก oxidize โดยเซลล์พืชได้ง่าย มักนิยมใช้ออกซินสังเคราะห์ด้านอื่นมากกว่า IAA
	Indole-3-butyric acid	IBA	ใช้ชักนำรากจากยอดที่พัฒนาจากกระบวนการ organogenesis โดยอาจใช้ความเข้มข้นต่ำ (1-50 μM) ตลอดระยะเวลาเกิดราก หรือใช้ความเข้มข้นสูง (100-250 μM) เป็นเวลา 2-10 วัน แล้วย้ายไปยังอาหารปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต อาจใช้จุ่ม เพื่อชักนำรากจากยอดภายใน/ภายนอกขวดทดลอง
	2,4- Dichlorophenoxyacetic acid	2,4-D	เป็นออกซินสังเคราะห์ที่นิยมใช้มากที่สุดในการชักนำแคลลัส และเพาะเลี้ยงแคลลัส และเซลล์แขวนลอย ในสภาพ dedifferentiate มักใช้เดี่ยว ๆ (1-50 μM) หรือร่วมกับ NAA
	p-Chlorophenoxyacetic acid	pCPA	คล้าย 2,4-D แต่นิยมใช้น้อยกว่า
	1-Naphtaleneacetic acid	NAA	สารสังเคราะห์โครงสร้างคล้าย IAA นิยมใช้เป็นออกซินเดี่ยว ๆ (2- 20 μM เพื่อชักนำแคลลัส และการเจริญของแคลลัส/เซลล์ แขวนลอย หรือ 0.2-2 μM เพื่อชักนำราก) หรือใช้ร่วมกับ 2,4-D
6- Furfurylaminopurine (Kinetin)	KIN	มักใช้ในอาหารเพื่อชักนำแคลลัส การเจริญของแคลลัส และเซลล์ แขวนลอย และการชักนำ morphogenesis (1-20 μM) ความเข้มข้นสูงกว่านี้ (20-50 μM) อาจใช้กระตุ้นการเพิ่มปริมาณอย่าง รวดเร็วของยอด ตาข้าง/ตาพิเศษ หรือเนื้อเยื่อเจริญ	

ตารางผนวกที่ 5 แสดงสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
(จาก Dixon and Gonzales, 1994) (ต่อ)

กลุ่มสาร	ชื่อสาร	สัญลักษณ์	ข้อสังเกต
	6-Benzylaminopurine	BAP	ใช้สำหรับชักนำแคลลัส การเจริญของแคลลัส และ เซลล์แขวนลอย (0.5-5.0 μM) สำหรับชักนำ morphogenesis (1-10 μM) นิยมใช้มากกว่า Kinetin ในการกระตุ้นการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วของยอด ตา หรือเนื้อเยื่อเจริญ (5-50 μM)
	N -Isopentenylamino purine	2iP	นิยมใช้น้อยกว่า KIN หรือ BAP สำหรับชักนำและ เพาะเลี้ยง แคลลัส (2-50 μM) ชักนำ morphogenesis (10-20 μM) หรือ เพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วของยอด ตาหรือเนื้อเยื่อเจริญ (30-50 μM)
	Zeatin	Zea	ใช้น้อยมากสำหรับอาหารเพาะเลี้ยงแคลลัสหรือ เซลล์แขวนลอย สามารถใช้กระตุ้น morphogenesis (0.05-10 μM) สลายตัวเมื่อถูก ความร้อน autoclave ไม่ได้
	N-phenyl-N'-1,2,3-thiadiazol-5-yl urea	TDZ	มีผลต่อการเจริญ ละพัฒนาการต่าง ๆ ของพืช การใช้ TDZ ความเข้มข้นต่ำ สามารถ ชักนำให้เกิดได้ทั้ง ยอดจำนวนมาก ตาดอก แคลลัส และโซมาติก เอ็มบริโอ
จิบเบอเรลลิน (Gibberellin)	Gibberellic acid	GA ₃	มักไม่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสหรือเซลล์แขวนลอย สามารถส่งเสริมการเจริญของยอดเมื่อเติมในอาหารชักนำยอดที่ 0.03-14 μM และใช้เพิ่มการพัฒนาของ embryo/ovule สลายตัวเมื่อถูก ความร้อน autoclave ไม่ได้
กรดแอบไซสิก (Abscisic acid)	Abscisic acid	ABA	ใช้ป้องกันการงอกก่อนกำหนด และส่งเสริมการพัฒนาที่ปกติของ somatic embryos ที่ความเข้มข้น 0.04-10 μM

หมายเหตุ ความเข้มข้นที่ใช้เป็นค่าที่รวบรวมจากผลงานตีพิมพ์สำหรับพืชหลากหลายสปีชีส์การใช้กับพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง ที่ไม่มีผู้ทดลองมาก่อน ควรทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมก่อน



ภาคผนวก ข

ตัวอย่างแบบฟอร์มและบันทึกข้อความ
การแจ้งซ่อมอุปกรณ์/เครื่องมือห้องปฏิบัติการ


แบบฟอร์ม ใบแจ้งซ่อมอาคารสถานที่/วัสดุ/ขอความอนุเคราะห์

ใบแจ้งซ่อมอาคารสถานที่/วัสดุชั่วคราว/ขอความอนุเคราะห์

1/1

<p>เรียน รองคณบดีฝ่ายบริหารและวางแผน</p> <p>ด้วยฝ่าย/แผนก/สาขา.....มีความประสงค์</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <p><input type="checkbox"/> ซ่อมแซมระบบ</p> <p><input type="checkbox"/> ระบบไฟฟ้า</p> <p><input type="checkbox"/> ระบบประปา</p> <p><input type="checkbox"/> โครงสร้าง</p> </div> <div style="width: 30%;"> <p><input type="checkbox"/> ซ่อมแซมวัสดุชั่วคราว/ถาวร</p> <p><input type="checkbox"/> ไม่มีเลขครุภัณฑ์</p> <p><input type="checkbox"/> มีเลขครุภัณฑ์</p> <p style="text-align: center;">ระบุเลขครุภัณฑ์</p> </div> <div style="width: 30%;"> <p><input type="checkbox"/> ขอความอนุเคราะห์</p> </div> </div> <p>ลักษณะอาการ..... ลักษณะอาการ.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>สถานที่ดำเนินการ..... สถานที่ดำเนินการ.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>หมายเหตุอื่น ๆ</p>	
<p>ลงชื่อ.....</p> <p>(.....)</p> <p>...../...../.....</p> <p>ผู้แจ้งซ่อม/ขอความอนุเคราะห์</p> <p>เบอร์โทรศัพท์ติดต่อ.....</p>	
<p>ความคิดเห็นรองคณบดีฝ่ายบริหารและวางแผน</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: right;">ลงชื่อ.....</p> <p style="text-align: right;">(.....)</p> <p style="text-align: right;">...../...../.....</p> <p style="text-align: right;">รองคณบดีฝ่ายบริหารและวางแผน</p>	
<p>ความเห็นแผนกอาคารสถานที่</p> <p>มอบผู้ดำเนินการ.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p style="text-align: right;">ลงชื่อ.....</p> <p style="text-align: right;">(.....)</p> <p style="text-align: right;">...../...../.....</p> <p>หมายเหตุ.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p>	<p>ความเห็นหัวหน้าแผนกพัสดุ</p> <p><input type="checkbox"/> อยู่ในประกัน <input type="checkbox"/> ไม่อยู่ในประกัน</p> <p><input type="checkbox"/> เห็นควรมอบเจ้าหน้าที่พัสดุสำรวจและประเมินมูลค่า</p> <p style="text-align: right;">ลงชื่อ.....</p> <p style="text-align: right;">(.....)</p> <p style="text-align: right;">...../...../.....</p>

ตัวอย่างบันทึกข้อความการแจ้งซ่อมอุปกรณ์/เครื่องมือ ในห้องปฏิบัติการ



บันทึกข้อความ

เป็นกิจวัตรราชการ

รับที่.....

วันที่ ๒๗ เม.ย. ๒๕๕๘

Off. Mem.

ส่วนราชการ สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ที่ วันที่ 24 เมษายน 2558

เรื่อง ระบบไฟฟ้าและเครื่องปรับอากาศภายในอาคารปฏิบัติการพืชศาสตร์ 2

เรียน คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

ทำกิจกรรมนอกบัญชี

รับที่ ๘๕๙

วันที่ 27 เม.ย. 2558

เวลา 19.30 น.

เนื่องจากเครื่องปรับอากาศภายในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ จำนวน 2 เครื่อง หยุดทำงานและไฟฟ้าลัดวงจร ซึ่งทำให้มีการตัดไฟฟ้าในตู้ควบคุมไฟฟ้าหลักบริเวณชั้น 1 ของอาคารเรียนดังกล่าว และเมื่อเปิดสวิตซ์ในตู้ควบคุมไฟฟ้าหลักพบว่ามีการตัดไฟฟ้าอีกหลายครั้ง และไม่สามารถเปิดใช้เครื่องปรับอากาศตามปกติได้ตั้งแต่วันที่ 16-20 เมษายน 2558 ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชในวิชาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ปัญหาพิเศษ และทักษะพื้นฐานทางการผลิตพืช ซึ่งจำเป็นต้องใช้ห้องดังกล่าวในการเพาะเลี้ยงพืชในสภาพปลอดเชื้อ นอกจากนี้การเกิดไฟฟ้าลัดวงจรประกอบกับระบบตู้ควบคุมไฟฟ้าหลักบริเวณชั้น 1 ไม่สามารถรองรับปริมาณไฟฟ้าที่ใช้ในอาคารในปัจจุบันได้นั้นและมีไฟฟ้าลัดวงจรขึ้นบ่อยครั้ง อาจเกิดไฟไหม้ทำให้อาคารและครุภัณฑ์การศึกษภายในอาคารได้รับความเสียหายเป็นอย่างมากได้ ดังนั้น เพื่อเป็นการยับยั้งความเสียหายที่จะเกิดขึ้นดังกล่าว ข้าพเจ้าใคร่ขอให้ทางคณะพิจารณาดำเนินการ ดังนี้

1. ตรวจสอบและแก้ไขระบบไฟฟ้าให้สามารถรองรับปริมาณไฟฟ้าที่ใช้ในอาคารในปัจจุบันได้
2. ขอซื้อเครื่องปรับอากาศ ขนาด 30,000 บีทียู จำนวน 2 เครื่อง เพื่อทดแทนเครื่องปรับอากาศภายในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อเดิม ซึ่งมีการใช้งานมาตั้งแต่ปี 2542 และมีการเปิดใช้งานตลอดทั้งวันเป็นเวลา 7 วัน ทุกสัปดาห์ และต้องแจ้งซ่อมเป็นประจำทุกเดือน


จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

เรียน คณบดี

เพื่อไปทบทวนจุดตัดไฟ

1. กองอาคารสถานที่และระบบไฟฟ้า
2. วิทยาลัยการประมงเพื่อใช้ประโยชน์ของสื่อ/สิ่งพิมพ์และสื่อ

พิมพ์งานฉบับนี้.ร.



(ดร. ปิยะวดี เจริญวิวัฒน์)

ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

คณบดี

วิทยาลัยการประมง

อ.ต.อ.จ.วิเศษ เด่น

๒๗ เม.ย. ๕๘

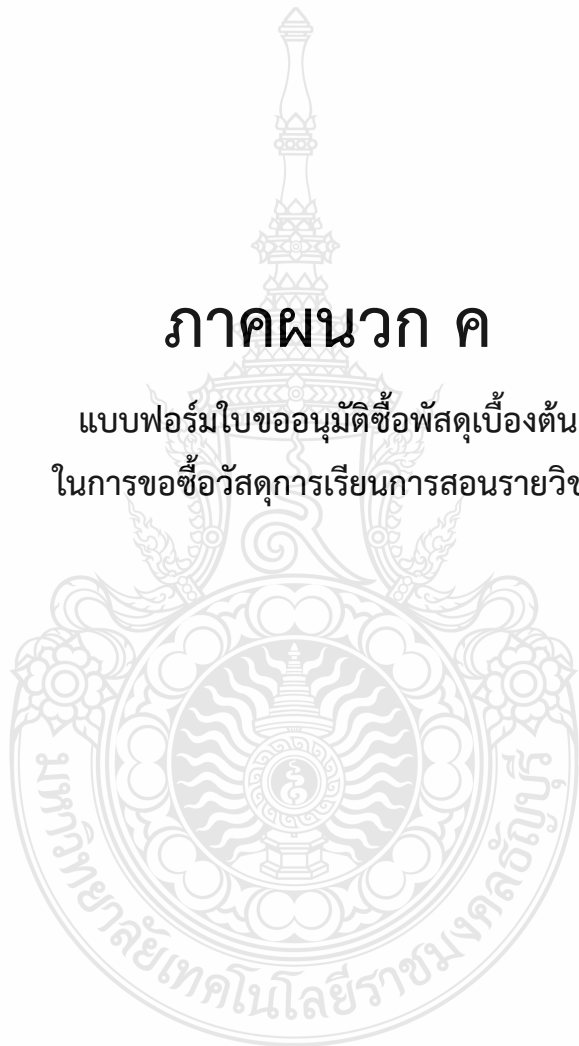
งาน-ซ่อมอาคารและสถานที่

๒๕๕๘.๔.๒๗.๐๐

๒๗ เม.ย. ๒๕๕๘

ภาคผนวก ค

แบบฟอร์มใบขออนุมัติข้อพัสดุเบื้องต้น
ในการขอซื้อวัสดุการเรียนการสอนรายวิชา





มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลบุรีรัมย์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร

* พิมพ์กลับ

ที่	รายการรายละเอียดของพัสดุ ที่ชื่อ งานที่ต้องการจ้าง	จำนวน	ราคาหน่วยละ		รวมเงิน		ชื่อร้าน/เบอร์โทรศัพท์
			บาท	สต.	บาท	สต.	
1.	ซ่อมแซมรั้วเหล็กทาสี ขนาด 8 เมตร พร้อมช่างนำวัสดุสีทาขาว (1 คัน บรรจุ สี 110 ลิตร)	2 คัน	495	-	990	-	มี. ตังรำ นสีดา ๐๑-๒๕1๔690 ๐๒-๒๕๒๓๒๐๗
2.	ซ่อมแซมรั้วเหล็กทาสี ขนาด 16 เมตร พร้อมช่างนำวัสดุสีทาขาว (1 คัน บรรจุ สี 4๐ ลิตร)	1 คัน	268	-	268	-	
3.	ซ่อมแซมรั้วเหล็กทาสี ขนาด 810 ซม. พร้อมช่างนำวัสดุสีทาขาว (1 คัน บรรจุ สี 24 ลิตร)	1 คัน	336	-	336	-	
			Vat 7%		111	58	
	รวมเงิน		รวม		1,705	58	

เหตุผลและความจำเป็นที่จะต้องซื้อ/จ้าง สำนักงานเทคโนโลยีการเกษตร สภามหาวิทยาลัย
ที่ ๕ แผนกเทคโนโลยีการเกษตร

ขอใช้พัสดุ ในวันที่ 9, ๑๓, ๒๐

- เงินงบประมาณ เงินผลประโยชน์ เงินผลประโยชน์งานพัสดุ

ลงชื่อ..... ผู้ขอซื้อ
(นางสาว อารีย์ เจริญสุข)

ความเห็น หัวหน้าสาขา นางสาว อารีย์ เจริญสุข ความเห็น หัวหน้าสาขาวิชา.....
 ลงชื่อ..... ลงชื่อ.....
(นางสาว อารีย์ เจริญสุข) (.....)

ความเห็น รองคณบดีฝ่าย.....
 ลงชื่อ.....
 (.....)

- หมายเหตุ :
1. กรุณาขอจัดซื้อล่วงหน้า 15 วันทำการ
 2. เสนอชื่อคณะกรรมการตรวจรับพัสดุ (จัดซื้อไม่เกิน 10,000.- บาท ตรวจรับ 1 คน, จัดซื้อเกินวงเงิน 10,000.- บาทขึ้นไป กรรมการตรวจรับ 3 คน)
 1. ประธานกรรมการ
 2. กรรมการ
 3. กรรมการและเลขานุการ

ประวัติผู้จัดทำคู่มือ



ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางสาวปรียานัฐ หงษ์ทอง
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Preeyanat Hongthong
วัน เดือน ปี เกิด 13 พฤษภาคม 2524
วัน เดือน ปี บรรจุ 1 ธันวาคม 2557
ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิชาการศึกษา ระดับปฏิบัติการ (สาขาการผลิตพืช)
หน่วยงาน คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
เลขที่ 2 ถนนพหลโยธิน 87 ซอย 2 ตำบลประชาธิปัตย์
อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12130 โทร.0 2592 1955

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อ/ ชื่อปริญญา	สาขาวิชา	สถานที่จบการศึกษา
2545	ปริญญาตรี	วท.บ.	พืชศาสตร์- พืชสวน	สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตปทุมธานี
2556	ปริญญาโท	Master of Science	Crop Cultivation and Farming System	Hunan Agricultural University, China