การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

การศึกษาค้นคว้าอิสระ

ของ

อัครวิชถ์ วูวงศ์

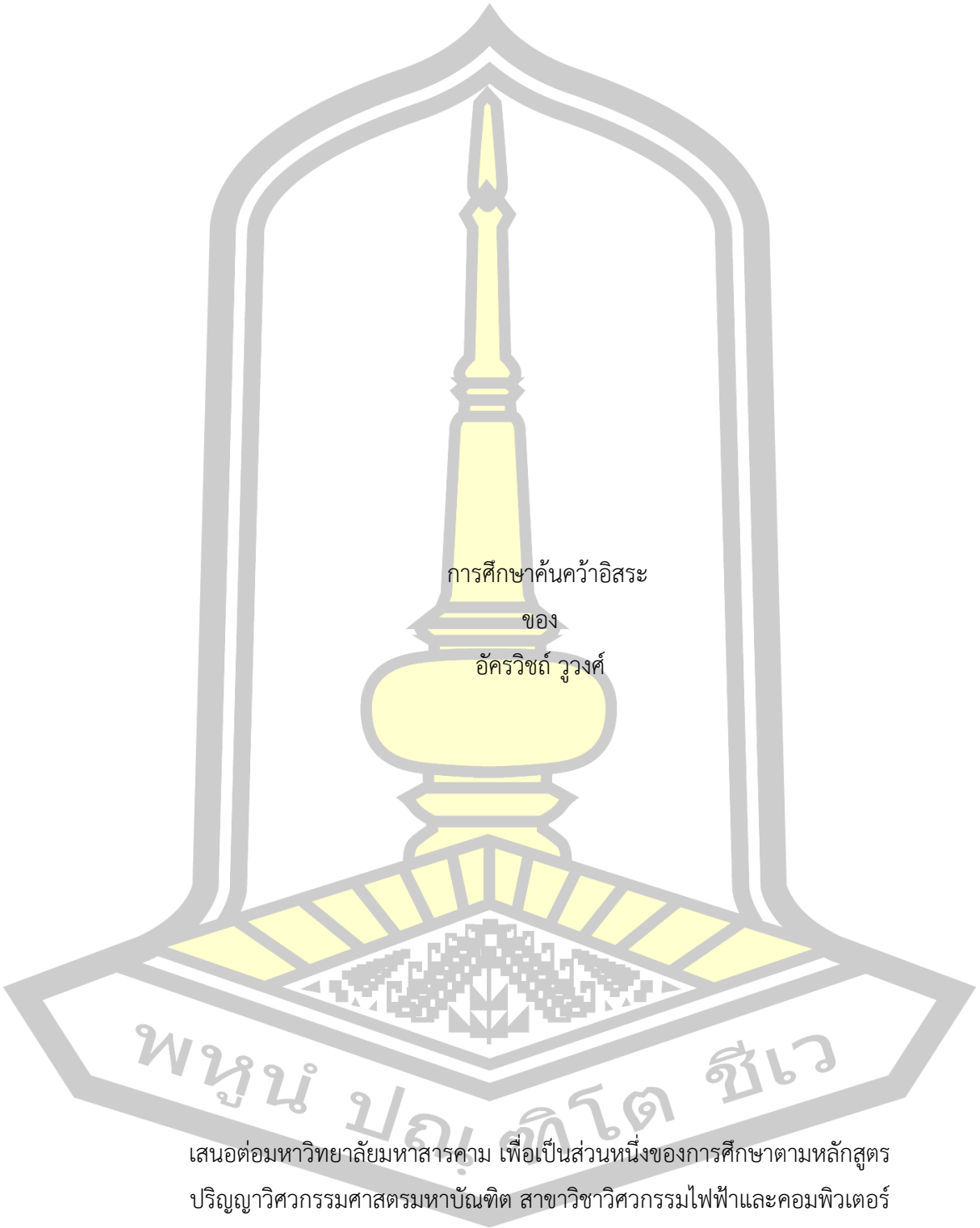
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์

มิถุนายน 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์



การศึกษาค้นคว้าอิสระ

ของ

อัครวิชถ์ วูวงศ์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์

มิถุนายน 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Development of Temporary Immersion Bioreactor System Controlled by Microcontroller

Akarawit Woowong

A Independent Study Submitted in Partial Fulfillment of Requirements

for Master of Engineering (Electrical and Computer Engineering)

June 2021

Copyright of Mahasarakham University

คณะกรรมการสอบการศึกษาค้นคว้าอิสระ ได้พิจารณาการศึกษาค้นคว้าอิสระของนาย อัครวิชถ์ วูวงศ์ แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผศ. ดร. อดิเรก จันตะคุณ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผศ. ดร. นวรัตน์ พิลาแดง)

.....กรรมการ
(รศ. ดร. ชลธี โพธิ์ทอง)

.....กรรมการ
(ผศ. ดร. ชัยยงค์ เสริมผล)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....
(รศ. ดร. เกียรติศักดิ์ ศรีประทีป)
คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

.....
(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

ผู้วิจัย อัครวิชญ์ วูวงศ์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นวรัตน์ พิลาแดง

ปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** วิศวกรรมไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์

มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม **ปีที่พิมพ์** 2564

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนา ออกแบบ และสร้างระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ที่สามารถควบคุมการตั้งช่วงเวลาในการให้อาหารและควบคุมความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านแอปพลิเคชันเพื่อทำให้สะดวกต่อผู้ใช้งานในการตั้งค่าเวลาการทำงานของระบบ สำหรับชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบจมชั่วคราวที่สร้างขึ้นประกอบด้วยชุดทดลองจำนวน 2 ชุด เมื่อถึงเวลาการให้อาหารตามที่ตั้งค่าไว้ ระบบที่สร้างขึ้นจะทำการให้อาหารไปจนสิ้นสุดช่วงเวลาที่ตั้งค่าไว้ โดยในแต่ละวันจะสามารถตั้งเวลาการให้อาหารได้สูงสุด 10 ช่วงเวลา และระบบควบคุมความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์สามารถตั้งช่วงเวลาควบคุมได้สูงสุด 4 ช่วงเวลา โดยจะเริ่มควบคุมความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อถึงเวลาที่ตั้งค่าไว้ หากภายในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืชมีความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำกว่าค่าที่ต้องการควบคุม ระบบจะทำการเติมคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปยังภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช และหากความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์สูงเกินกว่าค่าที่ต้องการควบคุม ระบบจะเติมอากาศเข้าไปเพื่อลดความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ให้อยู่ในช่วงที่กำหนด ผลการทดสอบการควบคุมเวลาในการให้อาหารแสดงให้เห็นว่าระบบที่สร้างขึ้นสามารถตั้งค่าเวลาในการให้อาหารได้อย่างสะดวกและรวดเร็วและสามารถทำงานตามช่วงเวลาที่กำหนดได้อย่างถูกต้อง สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์นั้น พบว่าสามารถควบคุมความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ภายในภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้อยู่ในระดับปกติ (<750 ppm) 1,500 2,000 2,500 และ 3,000 ppm ใช้เวลาประมาณ 7 28 30 36 และ 21 นาที ตามลำดับ ระบบควบคุมความเข้มข้นคาร์บอนไดอออกไซด์สามารถทำงานได้ถูกต้องโดยมีค่าความผิดพลาดไม่เกิน 10%

คำสำคัญ : ไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว, ไมโครคอนโทรลเลอร์

TITLE Development of Temporary Immersion Bioreactor System Controlled by Microcontroller

AUTHOR Akarawit Woowong

ADVISORS Assistant Professor Nawarat Piladaeng , Ph.D.

DEGREE Master of Engineering **MAJOR** Electrical and Computer Engineering

UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2021

ABSTRACT

This research aims to develop, design and construct a temporary imersion bioreactor (TIB) controlled by using microcontroller. The TIB system can set the time for plant feeding and control the carbon dioxide concentration via application which makes it convenient to the user for setting up the operating time of the system. The constructed TIB consists of 2 container sets. At the set feeding time, the system will feed until reaching the set up time to stop. Each day, the system can set the feeding time up to 10 time periods and also can set the time to control carbon dioxide concentration up to 4 time periods. The system will start to control the carbon dioxide concentration when reaching the set up time. If inside the plant tissue culture containers have the carbon dioxide concentration lower than the set up value, the system will add carbon dioxide into the containers of the plant tissue culture. And if the carbon dioxide concentration is higher than the set up value, the system will add air into the containers to reduce the carbon dioxide concentration until reaching the set up value. The test results of the feeding time control illustrate that the constructed system can set up the feeding times conveniently and quickly. Moreover, the system can properly work follow the set up time periods. For the test results of the carbon dioxide concentration control, it is found that the TIB can control the carbon dioxide concentration in the containers to the normal level (<750 ppm), 1,500, 2,000, 2,500 and 3,000 ppm which take about 7, 28, 30, 36 and 21 minutes, respectively. The carbon dioxide concentration control

system can work properly with error less than 10%.

Keyword : Temporary imersion bioreactor, microcontroller

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาค้นคว้าอิสระฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีโดยได้รับความกรุณาช่วยเหลือ จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นวรัตน์ พิลาแดง อาจารย์ที่ปรึกษาการศึกษาค้นคว้าอิสระ ที่ได้ให้ความรู้ คำปรึกษา พร้อมทั้งคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนการตรวจแก้ไขการศึกษาค้นคว้าอิสระ จนทำให้การศึกษาค้นคว้าอิสระฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อดิเรก จันตะคุณ ประธานสอบการศึกษาค้นคว้าอิสระ รองศาสตราจารย์ ดร.ชลธี โพธิ์ทอง และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยยงค์ เสริมผล กรรมการสอบการศึกษาค้นคว้าอิสระ ที่ได้ให้ข้อเสนอแนะในการปรับปรุงแก้ไขการศึกษาค้นคว้าอิสระให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดารัตน์ ถนนแก้ว ที่ได้ให้ความรู้ ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบจมชั่วคราว

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวอันเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ที่ได้ให้การสนับสนุนส่งเสริม ให้คำปรึกษาช่วยเหลือเป็นกำลังใจแก่ผู้จัดทำเสมอมา

ขอขอบพระคุณ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เป็นสถานที่ในการทำการศึกษาค้นคว้าอิสระในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณคณาจารย์มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ให้ความรู้และอบรมสั่งสอน สิ่งที่ดีงามแก่ศิษย์ตลอดมาจนกระทั่งประสบความสำเร็จ ท้ายที่สุดนี้หากการศึกษาค้นคว้าอิสระเล่มนี้บกพร่องหรือผิดพลาดประการใดผู้วิจัยก็ขออภัยมาไว้ ณ ที่นี้ด้วย

อัครวิชถ์ วูวงศ์

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพประกอบ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ภูมิหลัง 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2

1.3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง 2

1.3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 3

1.3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

1.5 สถานที่ดำเนินงาน 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

2.1 การขยายพันธุ์พืช 5

2.1.1 การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ 5

2.1.2 การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ 5

2.2 ข้อดีและข้อเสียของการขยายพันธุ์พืชแบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ 6

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 7

2.3.1 พืชที่นิยมขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 8
2.3.2 ข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 8
2.3.3 ข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 8
2.3.4 ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 8
2.3.4.1 ห้องเตรียมอาหารสังเคราะห์ (Laboratory Or Preparation Room) 8
2.3.4.2 ห้องย้ายเนื้อเยื่อหรือห้องถ่ายเนื้อเยื่อพืช (Clean Room Or Transfer Room) 9
2.3.4.3 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Culture Room) 9
2.3.5 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 10
2.3.6 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 10
2.3.6.1 คัดเลือกชิ้นส่วนพืช 10
2.3.6.2 การทำความสะอาดชิ้นส่วนที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 10
2.3.6.3 การตัดเนื้อเยื่อ 10
2.3.6.4 การบ่มเลี้ยงเนื้อเยื่อ 10
2.3.6.5 การตัดแบ่งและเลี้ยงอาหาร ตัดแบ่งชิ้นส่วนพืช และเปลี่ยนอาหาร 10
2.3.6.6 การย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ 10
2.3.7 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในเชิงพาณิชย์ 11
2.3.7.1 เงื่อนไขการดำเนินธุรกิจ 11
2.3.7.2 ต้นทุนการผลิตและผลตอบแทน 11
2.3.7.3 ขั้นตอนที่ควรดำเนินการ 11
2.3.7.4 พืชที่ควรดำเนินการในเชิงการค้า 12
2.4 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 12
2.4.1 การผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากและตรงตามสายพันธุ์ที่ต้องการในเวลาอันรวดเร็ว 12
2.4.2 การผลิตพืชที่ปราศจากโรค 12

2.4.3 การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ 13
2.4.4 การแลกเปลี่ยนพันธุ์พืช 13
2.4.5 การปรับปรุงพันธุ์พืช 13
2.4.6 การผลิตสารต่างๆหรือยาจากพืช 13
2.4.7 การศึกษาทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของพืช 13
2.4.8 การผลิตเมล็ดเทียม (Artificial Seeds) 14
2.5 ตัวอย่างพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จในประเทศไทย 14
2.6 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 19
2.6.1 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารแข็ง (Conventional Solid Culture) 19
2.6.2 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลว (Liquid Culture) 19
2.6.3 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor, TIB) 19
2.7 ปัจจัยที่มีผลในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 19
2.8 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 20
2.8.1 ประเภทของอาหาร 21
2.8.1.2 อาหารกึ่งแข็ง (Semi-Solid Medium) 21
2.8.1.3 อาหารเหลว (Liquid Medium) 21
2.8.2 ส่วนประกอบของอาหาร (Media Constituents) 22
2.8.2.1 น้ำ (Water) 22
2.8.2.2 วุ้น (Agar) 22
2.8.2.3 แหล่งให้ธาตุคาร์บอน (Carbon Sources) 23
2.8.2.4 เกลืออนินทรีย์ (Inorganic Salt) 23
2.8.2.5 วิตามิน (Vitamins) 24
2.8.2.6 ความเป็นกรดและด่างของอาหาร (pH Of Nutrient Medium) 24

2.8.2.7 ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโต (Hormones And Growth Regulators) 24
2.8.2.8 สารอินทรีย์ (Organic Salt) 26
2.8.2.9 อะดีนิน (Adenine) 26
2.8.2.10 ผงถ่าน (Activated Charcoal) 26
2.9 การออกแบบระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor, TIB) 26
2.9.1 ความแตกต่างของการออกแบบระบบ TIB 26
2.9.2 ระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ Temporary Immersion Gravity Flask Bioreactor (TIG) ของบริษัทไพฑูรย์สะพลีจำกัด 27
2.10 กระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) 28
2.11 ปัจจัยที่ควบคุมอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช 29
2.11.1 ความเข้มของแสง (Light intensity) 29
2.11.2 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide, CO2) 29
2.11.3 อุณหภูมิ (Temperature) 30
2.12 คาร์บอนไดออกไซด์กับการเจริญเติบโตของพืช 31
2.13 การเพิ่ม CO2 ในห้องเพาะเลี้ยง 32
2.13.1 Slow-Release CO2 32
2.13.2 Liquid Propane Gas (LPG) 32
2.13.3 Bottled CO2 Gas 33
2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 34
2.14.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ 34
2.14.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบการวัดและควบคุมความเข้มข้น CO2 35
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 37

3.1 การออกแบบระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าสำหรับการให้อาหาร 37
3.1.1 ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 37
3.1.2 ระบบควบคุมการให้อาหาร 38
3.1.2.1 เมื่อถึงเวลาเริ่มให้อาหารที่ผู้ใช้ตั้งค่าไว้ 38
3.1.2.2 เมื่อถึงเวลาสิ้นสุดการให้อาหารที่ผู้ใช้ตั้งค่าไว้ 38
3.1.2.3 เมื่อนำอาหารออกจนครบช่วงเวลานำอาหารออก 38
3.2 การออกแบบระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO2 39
3.2.1 ระบบวัดความเข้มข้น CO2 39
3.2.2 ระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 39
3.2.2.1 ถ้าความเข้มข้น CO2 ในขวดบรรจุเนื้อเยื่อพืชต่ำกว่าค่าที่กำหนดไว้ 39
3.2.2.2 ถ้าความเข้มข้น CO2 ในขวดบรรจุเนื้อเยื่อพืชสูงกว่าที่กำหนดไว้ 40
3.2.2.3 ถ้าความเข้มข้น CO2 ในขวดบรรจุเนื้อเยื่อพืชอยู่ในช่วงที่เหมาะสม 40
3.3 การออกแบบส่วนติดต่อสื่อสารกับผู้ใช้งานผ่านเว็บแอปพลิเคชัน 44
3.3.1 ส่วนควบคุมการให้อาหาร 44
3.3.2 ส่วนการตั้งค่าความเข้มข้น CO2 44
3.3.3 ส่วนแสดงผล 44
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล 45
4.1 ผลการออกแบบและสร้างระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วย ไมโครคอนโทรลเลอร์ 45
4.1.1 ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ 45
4.1.2 ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 46
4.1.3 ระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าและหลอดไฟด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ 49
4.2 การทดสอบการทำงานของระบบการตั้งช่วงเวลาในการให้อาหาร 50
4.3 ผลการทำงานในส่วนติดต่อสื่อสารกับผู้ใช้งานผ่านแอปพลิเคชัน Blynk 51

4.3.1 เมนูย่อยของแอปพลิเคชัน 51
4.3.1.1 HOME 51
4.3.1.2 TIB 1 : ให้อาหาร 52
4.3.1.3 TIB 1 : CO2 52
4.3.1.4 TIB 2 : ให้อาหาร 53
4.3.1.5 LIGHT CONTROL 54
4.3.2 กราฟแสดงความเข้มข้น CO2 ภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 54
4.4 การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมความเข้มข้น CO2 55
4.4.1 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับปกติ (<750 ppm) 55
4.4.2 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ 1,500 ppm 56
4.4.3 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ 2,000 ppm 57
4.4.4 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ 2,500 ppm 58
4.4.5 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ 3,000 ppm 59
4.4.6 การสังเกตความเข้มข้น CO2 หลังจากสิ้นสุดการควบคุมความเข้มข้น CO2 แล้ว 59
4.5 การทดสอบการตั้งเวลาการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO2 60
4.5.1 การทดสอบการตั้งเวลาทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 1 61
4.5.2 การทดสอบการตั้งเวลาทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 2 62
4.5.3 การทดสอบการตั้งเวลาทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 3 63
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 64
5.1 อภิปรายผลการทดลอง 64
5.2 สรุปผลการทดลอง 64
5.3 ข้อเสนอแนะ 65
บรรณานุกรม 66

ประวัติผู้เขียน 68

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ข้อดีและข้อเสียของการขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ [5] 6

ตาราง 2 ข้อดีและข้อเสียของการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ [5]..... 7

ตาราง 3 ตัวอย่างพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จในประเทศไทย [8] 14

ตาราง 4 การทำงานของวาล์วไฟฟ้าระบบให้อาหารของ TIB 38

ตาราง 5 ตารางการทำงานของวาล์วไฟฟ้าระบบควบคุม CO2 40

ตาราง 6 การกำหนดเวลาทดสอบการทำงานของระบบให้อาหารของ TIB 50

ตาราง 7 การกำหนดเวลาทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 1..... 61

ตาราง 8 การกำหนดเวลาทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 2..... 62

ตาราง 9 การกำหนดเวลาทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 3..... 63

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

สารบัญภาพประกอบ

หน้า

ภาพประกอบ 1 ผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช [1] 9

ภาพประกอบ 2 The plantlets after 6 weeks of culture in different strength of MS in solid and liquid media [11] 22

ภาพประกอบ 3 Temporary Immersion Gravity Flask Bioreactor – TIG [12] 28

ภาพประกอบ 4 ผลของความเข้มแสงต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง [14] 29

ภาพประกอบ 5 ผลของความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง [14] . 29

ภาพประกอบ 6 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช [2] 30

ภาพประกอบ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงกับความเข้มของแสงและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ [15] 31

ภาพประกอบ 8 Liquid Propane Gas : LPG [16] 33

ภาพประกอบ 9 Bottled CO2 Gas [16] 33

ภาพประกอบ 10 แผนผังส่วนประกอบระบบระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ 37

ภาพประกอบ 11 แผนผังระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าสำหรับการให้อาหารและระบบควบคุม ความเข้มข้นของ CO2 ของ TIB ชุดที่ 1 41

ภาพประกอบ 12 แผนผังระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าสำหรับการให้อาหารและระบบควบคุม ความเข้มข้นของ CO2 ของ TIB ชุดที่ 1 และ 2 42

ภาพประกอบ 13 ผังการทำงานของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ 43

ภาพประกอบ 14 ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ 45

ภาพประกอบ 15 ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 46

ภาพประกอบ 16 การตั้งช่วงเวลาการให้อาหารของ TIB ทั้งสองชุดผ่านแอปพลิเคชัน 47

ภาพประกอบ 17 การให้อาหารของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว 47
ภาพประกอบ 18 การนำอาหารออกของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว 48
ภาพประกอบ 19 การให้แสงสว่างแก่เนื้อเยื่อพืชด้วยหลอดไฟ 48
ภาพประกอบ 20 ระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าและหลอดไฟควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ 49
ภาพประกอบ 21 ส่วนประกอบของเมนู HOME 51
ภาพประกอบ 22 การตั้งเวลาควบคุมการให้อาหารของ TIB ชุดที่ 1 52
ภาพประกอบ 23 การตั้งค่าในระบบควบคุมความเข้มข้นCO2 53
ภาพประกอบ 24 การตั้งเวลาควบคุมการให้อาหารของ TIB ชุดที่ 2 53
ภาพประกอบ 25 การตั้งเวลาการเปิด และปิดหลอดไฟ 54
ภาพประกอบ 26 กราฟแสดงความเข้มข้น CO2 ภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 54
ภาพประกอบ 27 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ <750 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง 55
ภาพประกอบ 28 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ 1,500 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง 56
ภาพประกอบ 29 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ 2,000 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง 57
ภาพประกอบ 30 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ 2,500 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง 58
ภาพประกอบ 31 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO2 ที่ระดับ 3,000 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง 59
ภาพประกอบ 32 ความเข้มข้น CO2 หลังจากสิ้นสุดการควบคุม ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm 60
ภาพประกอบ 33 กราฟแสดงผลการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 1 ที่ตั้งเวลาและความเข้มข้น CO2 ดังตาราง 7 61
ภาพประกอบ 34 กราฟแสดงผลการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 2 ที่ตั้งเวลาและความเข้มข้น CO2 ดังตาราง 8 62
ภาพประกอบ 35 กราฟแสดงผลการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO2 ครั้งที่ 3 ที่ตั้งเวลาและความเข้มข้น CO2 ดังตาราง 9 63

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ภูมิหลัง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีขยายพันธุ์พืชแบบหนึ่ง ที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถผลิตพืชได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว ต้นพืชมีความสม่ำเสมอสมบูรณ์แข็งแรง ตรงตามพันธุ์และสะอาดปราศจากโรคแมลงศัตรูพืช ปัจจุบันมีการนำมาใช้เพื่อขยายพันธุ์พืชในเชิงการค้าอย่างกว้างขวางและส่งเสริมเป็นอาชีพ [1] ระบบขยายพันธุ์พืชแบบเดิมคือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารแข็งที่ทำจากวุ้น เนื้อเยื่อพืชจะไม่ค่อยเกิดการเสียหายจากการฉ่ำน้ำแต่ต้นพืชจะโตช้าและจะต้องเปลี่ยนอาหารใหม่โดยการย้ายเนื้อเยื่อจากขวดเก่าไปยังขวดใหม่ ทำให้มีโอกาสที่จะทำให้เกิดการปนเปื้อนมาก อีกวิธีหนึ่งคือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลว พืชจะโตได้เร็วแต่เนื้อเยื่อพืชมักเกิดปัญหาฉ่ำน้ำเพราะต้องแช่ในอาหารเหลวตลอดเวลา สำหรับปัญหาในการปนเปื้อนก็มีโอกาสสูงเช่นกัน จึงพัฒนามาเป็นระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor, TIB)

ระบบ TIB มีการพัฒนามาหลากหลายรูปแบบให้เหมาะสมกับลักษณะการทำงาน โดยระบบ TIB ที่นิยมใช้จะมีภาชนะแยกส่วนอาหารกับชิ้นส่วนพืชออกเป็น 2 ส่วน แต่ละส่วนมีท่อเชื่อมเพื่อให้มีการดันอาหารไป-กลับด้วยแรงดันลมจากปั๊มลม ซึ่งสภาพภายในขวดเป็นสภาพปลอดเชื้อโดยการกรองอากาศที่เข้าสู่ไบโอรีแอคเตอร์ด้วยแผ่นกรองอากาศ โดยมีการกำหนดระยะเวลาและจำนวนครั้งในการได้รับอาหารของพืชตามความเหมาะสมของพืช ทำให้พืชไม่จมในอาหารเหลวตลอดเวลา ช่วยลดปัญหาการฉ่ำน้ำของพืชและช่วยให้พืชโตเร็วขึ้น โดยอาหารเพาะเลี้ยงนั้นเป็นปัจจัยที่สำคัญ อย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตของพืช อาหารเพาะเลี้ยงมีการพัฒนามามากมายหลายสูตรให้เลือกใช้งานตามความเหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด

อีกปัจจัยหนึ่งที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช คือ การสังเคราะห์แสง ซึ่งปัจจัยภายนอกที่ส่งผลต่อการสังเคราะห์แสงของพืช ได้แก่ ความเข้มของแสง คาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิ อายุใบ น้ำ และสารอาหาร หากความเข้มของแสงและอุณหภูมิเหมาะสม อัตราการสังเคราะห์แสงจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) จากการศึกษาถึงผลของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง พบว่า ในช่วงที่ความเข้มข้นของ CO_2 ต่ำ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงก็ต่ำด้วย เมื่อความเข้มข้นของ CO_2 เพิ่มขึ้น อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงก็เพิ่มตาม จนถึงความเข้มข้นของ CO_2 ระดับหนึ่ง เมื่อ CO_2 มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงไม่เพิ่มขึ้น

อีกต่อไป [2] ดังนั้นหากสามารถควบคุมความเข้มข้นของ CO_2 ได้ ตามความเหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดจะส่งผลให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

จากการที่ระบบ TIB เป็นระบบที่มีการทำงานเป็นแบบอัตโนมัติ ทำให้สามารถลดขั้นตอนในการทำงานต่างๆ ลงไปได้ ส่งผลให้การใช้แรงงานในการทำงานลดลง อีกทั้งยังสามารถทำงานได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว นอกจากนี้ความจุของภาชนะของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว สามารถเพิ่มขึ้นได้ 4-5 เท่า จึงทำให้จำนวนต่อพื้นที่เพิ่มขึ้น อีกทั้งยังสามารถลดพื้นที่ของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลงไปได้ ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว จึงเป็นระบบการขยายพันธุ์พืชแบบใหม่และเหมาะสม ที่สามารถแทนที่ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบดั้งเดิม (อาหารแข็ง) และสามารถนำมาใช้ในระบบการผลิตต้นพืชในระดับอุตสาหกรรมได้ [3]

โดยทั่วไประบบ TIB จะควบคุมการให้อาหารโดยการออกแบบวงจรควบคุมและตั้งเวลาโดยใช้ Timer แต่เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีระยะเวลาและความถี่ในการรับอาหารไม่เท่ากัน หากต้องการปรับเปลี่ยนชนิดของพืชที่เพาะเลี้ยง หรือต้องการทดสอบหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการให้อาหารของพืชแต่ละชนิด การตั้งเวลาและการออกแบบวงจรควบคุมระบบ TIB จะมีความซับซ้อนยุ่งยากมากยิ่งขึ้น ผู้วิจัยจึงได้พัฒนาระบบ TIB ที่ง่ายต่อการตั้งช่วงเวลาการให้อาหาร สามารถตั้งช่วงเวลาการให้อาหารได้อย่างอิสระตามความต้องการของผู้ใช้งาน ให้เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด ควบคุมระบบด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ เพื่อให้สามารถรองรับการทำงานเกี่ยวกับการทดลองการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความซับซ้อนในการตั้งเวลาได้ และเพิ่มประสิทธิภาพของระบบ TIB ด้วยการออกแบบและสร้างระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของพืช

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนา ออกแบบ และสร้างระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ที่สามารถควบคุมการทำงานของระบบ การตั้งช่วงเวลาในการให้อาหาร และระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2 ได้ควบคุมโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

1.3.1.1 การทำงานของระบบ TIB ตามช่วงเวลาที่ตั้งค่าไว้

1.3.1.2 ความเข้มข้นของ CO_2 ภายในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช

1.3.1.3 ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพะยูง

1.3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1.3.2.1 ไมโครคอนโทรลเลอร์ ESP32

1.3.2.2 Software ARDUINO 1.8.13

1.3.2.3 Application Blynk

1.3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล

1.3.3.1 การเก็บข้อมูลช่วงเวลา

เก็บข้อมูลช่วงเวลาที่ตั้งค่าให้ระบบ TIB ทำงาน และช่วงเวลาเมื่อระบบ TIB ทำงาน มาเปรียบเทียบความถูกต้อง โดยอ้างอิงเวลาที่ถูกต้องจากช่วงเวลาที่ได้ตั้งค่าให้ระบบ

1.3.3.2 การเก็บข้อมูลความเข้มข้น CO_2

เก็บข้อมูลระยะเวลาที่ใช้ในการปรับค่าความเข้มข้น CO_2 ไปจนถึงช่วงความเข้มข้นที่ต้องการ และเก็บค่าความเข้มข้น CO_2 ที่วัดได้ในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช ในระหว่างการควบคุมความเข้มข้น CO_2 เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2

1.3.3.3 การเก็บข้อมูลการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพะยูง

1) เก็บข้อมูลระยะเวลาในการจมในสารละลายอาหารของเซลล์พะยูง และความถี่ในการให้อาหารต่อวัน เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมลงตัว

2) เก็บข้อมูลการชักนำชิ้นส่วนให้เกิดยอด ข้อมูลการชักนำให้เกิดการยืดตัวของยอด และข้อมูลการชักนำชิ้นส่วนให้เกิดราก มาเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพะยูงบนอาหารแข็ง เพื่อหาประสิทธิภาพของระบบ TIB ที่สร้างขึ้น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

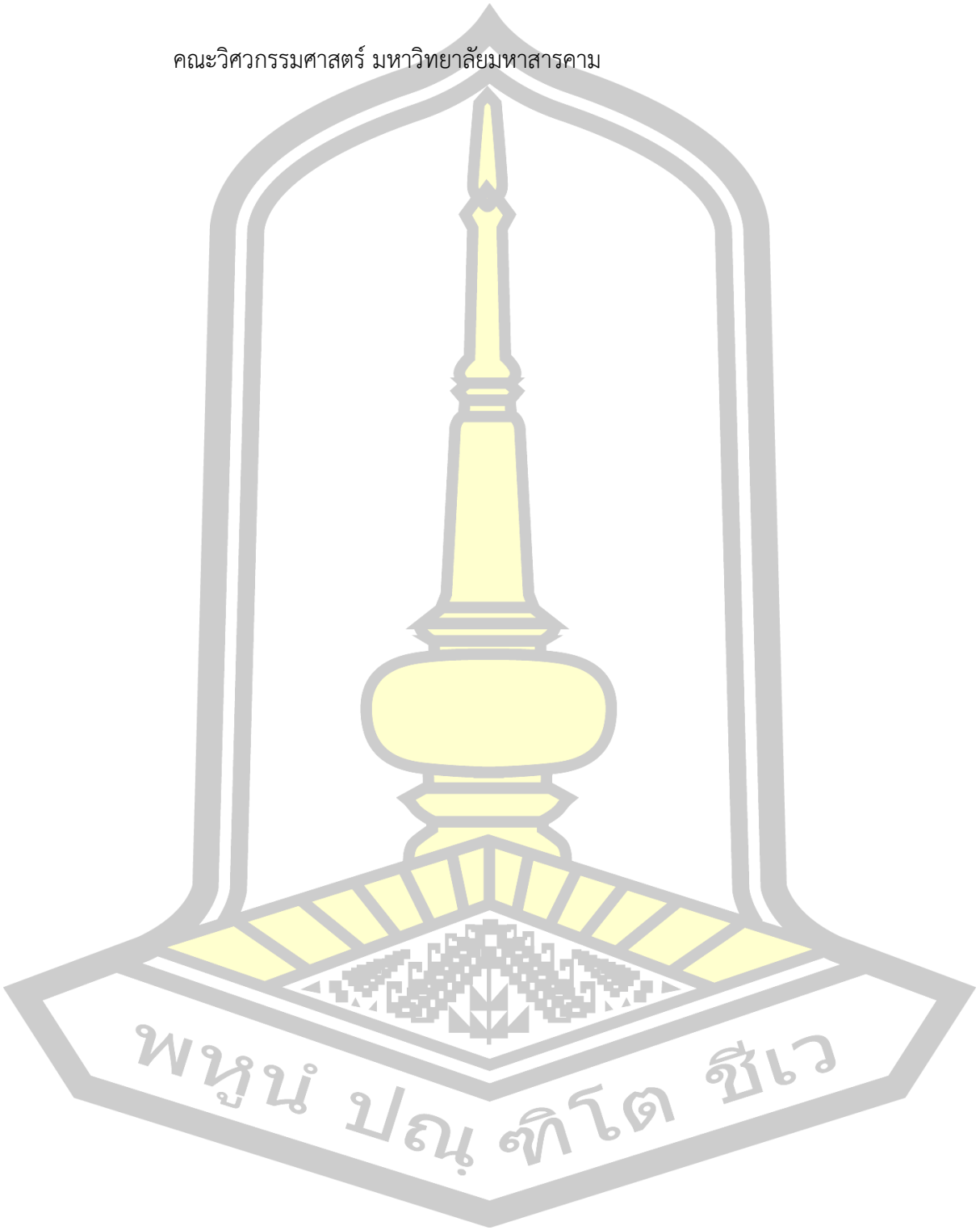
1.4.1 ลดความยุ่งยากในการตั้งช่วงเวลาการให้อาหาร

1.4.2 ระบบวัดและควบคุม CO_2 ที่ออกแบบและสร้างขึ้นมีความคลาดเคลื่อนต่ำ

1.4.3 นำระบบการตั้งเวลา และระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ไปประยุกต์ใช้กับอุปกรณ์ TIB แบบอื่นได้

1.5 สถานที่ดำเนินงาน

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การขยายพันธุ์พืช

การขยายพันธุ์พืช หมายถึง การเพิ่มปริมาณต้นพืชจากต้นที่มีอยู่ด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อให้พืชดำรงสายพันธุ์นั้นไว้ไม่ให้สูญพันธุ์ และรักษาลักษณะประจำพันธุ์ที่มีอยู่ในพืชนั้นๆให้คงอยู่หากลักษณะประจำพันธุ์ของพืชนั้นๆ หายไปแสดงว่าการขยายพันธุ์พืชไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้น การขยายพันธุ์พืชจึงเป็นสิ่งจำเป็น และเป็นปัจจัยสำคัญในการพัฒนางานด้านการเกษตร โดยแบ่งเป็น 2 ประเภท ซึ่งแต่ละประเภทจะมีวิธีการและเทคนิคที่แตกต่างกันตามแต่ละชนิดของพืชและวัตถุประสงค์ ซึ่งมีทั้งข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันออกไป [4]

2.1.1 การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เป็นวิธีการผสมพันธุ์ระหว่างอับละอองเกสรตัวผู้ (Pollen Grain) กับยอดเกสรตัวเมีย (Pistil) เพื่อให้ได้เมล็ดพืช (Seed) เมื่อนำเมล็ดพืชไปเพาะหรือปลูกจะได้ต้นพืชที่ได้จากการผสมพันธุ์เรียกว่าต้นกล้า (Seedling) หรือพันธุ์ลูกผสม วัตถุประสงค์หลักจะเป็นวิธีการที่นำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อพัฒนาสายพันธุ์พืชให้ได้พันธุ์พืชสายพันธุ์ใหม่ๆ เกิดขึ้น ปัจจุบันการขยายพันธุ์ด้วยวิธีดังกล่าวยังคงนิยมใช้กันอยู่ เนื่องจากต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดจะนำไปใช้เป็นต้นตอในการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเพื่อให้ได้ต้นที่มีระบบรากแข็งแรง

การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ ทำได้ง่าย สะดวก ไม่ต้องใช้อุปกรณ์มาก ขยายรวดเร็วและได้ปริมาณมาก การขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จะได้ต้นพันธุ์ที่แข็งแรง เนื่องจากมีรากแก้ว อย่างไรก็ตาม การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดมีโอกาสกลายพันธุ์สูง ให้ผลผลิตช้า ลำต้นสูงใหญ่ ทำให้ไม่สะดวกต่อการดูแลรักษาและการเก็บเกี่ยว

2.1.2 การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

คือวิธีการขยายพันธุ์จากเนื้อเยื่อชิ้นส่วนต่างๆของต้นพืช เช่น ลำต้น ตา ใบ ราก เพื่อให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนเดิมทุกประการ ด้วยวิธีการตอนกิ่ง การปักชำ การติดตา การต่อกิ่ง และการทาบกิ่ง นิยมใช้ในการขยายพันธุ์พืชที่ผ่านการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์แล้ว ส่วนการแบ่งส่วนและการแยกส่วนจะนิยมใช้ขยายพันธุ์กับพืชที่มีส่วนของรากหรือลำต้นเจริญอยู่ใต้ดิน ซึ่งจะใช้วิธีการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการตอนกิ่ง การติดตา การต่อกิ่ง และการทาบกิ่งไม่ได้ ปัจจุบันการ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในการพัฒนาเทคนิคด้านการขยายพันธุ์พืช เพื่อให้ได้ต้นพืชจำนวนมากอย่างรวดเร็วในเวลาที่กำจัดโดยมีคุณภาพของต้นพืชเหมือนเดิมทุกประการ

การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ทำให้ได้ลักษณะของต้นตรงตามสายพันธุ์ มีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์น้อยมาก ต้นที่ได้จะให้ผลผลิตเร็วกว่าการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ขนาดต้นมีความสม่ำเสมอ ทรงต้นกะทัดรัด ทำให้ง่ายในการปฏิบัติดูแลรักษา และสะดวกในการเก็บเกี่ยวผลผลิต อย่างไรก็ตามการขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จะต้องอาศัยทักษะความชำนาญในการขยายพันธุ์ และต้องใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ยุ่งยากกว่าการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ดนอกจากนี้ต้นที่ได้จากการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการตอนกิ่งและปักชำกิ่ง จะไม่มีระบบรากแก้วทำให้มีโอกาสโค่นล้มได้ง่ายในกรณีที่มีลมแรง

2.2 ข้อดีและข้อเสียของการขยายพันธุ์พืชแบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ

การขยายพันธุ์พืชทั้ง 2 ประเภท มีข้อดีและข้อเสียต่างกันออกไป ดังแสดงในตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2 การเลือกใช้วิธีการใดขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์การใช้งาน และชนิดของพืชนั้นๆ [5]

ตาราง 1 ข้อดีและข้อเสียของการขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ [5]

ข้อดี	ข้อเสีย
1. ทำได้โดยง่าย รวดเร็ว ได้จำนวนมาก 2. มีรากแก้ว ทำให้มีความแข็งแรง 3. เมล็ดมีขนาดเล็กและไม่แห้งตายง่าย ขนส่งสะดวก 4. ไม่ค่อยติดโรคไวรัสจากต้นแม่ 5. ทำได้ทุกฤดูกาล 6. อาจเกิดการกลายพันธุ์ ทำให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ที่ดีกว่าต้นพ่อแม่	1. ให้ดอกและออกผลช้า 2. ต้นที่ได้มีขนาดที่ไม่สม่ำเสมอ 3. ได้ต้นที่สูงใหญ่จึงไม่สะดวกต่อการเก็บเกี่ยวและดูแลรักษา 4. พืชบางชนิดเพาะเมล็ดแล้วงอกช้าใช้เวลานาน 5. พืชบางชนิดไม่มีเมล็ดหรือเป็นหมัน 6. มีการกลายพันธุ์ และมักเป็นไปในทางที่แย่กว่าต้นพ่อแม่

ตาราง 2 ข้อดีและข้อเสียของการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ [5]

ข้อดี	ข้อเสีย
1. ได้ต้นที่ตรงตามพันธุ์ 2. ออกดอกและให้ผลเร็วกว่าต้นที่เพาะจากเมล็ด 3. ได้ต้นที่มีขนาดสม่ำเสมอกัน 4. ได้ต้นที่ไม่สูงเกินไป สะดวกแก่การเก็บเกี่ยวและดูแลรักษา	1. ไม่มีรากแก้ว ทำให้หักล้มง่าย 2. ทำได้ยากกว่าการเพาะเมล็ด ต้องอาศัยความชำนาญและประสบการณ์ 3. กิ่งหรือต้นมีขนาดใหญ่ เปลืองพื้นที่และเก็บรักษายาก ขนส่งไม่สะดวก 4. ถ้าต้นแม่เป็นโรค ต้นใหม่ที่ได้มักติดโรคมาด้วย 5. ต้องทำในสภาพอากาศที่เหมาะสมจึงจะมีเปอร์เซ็นต์สำเร็จสูง

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น ใบ ตายอด ตาข้าง เนื้อเยื่อ หรือเซลล์มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล ไวตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังต้องทำการเพาะเลี้ยงในสภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์และในสภาวะที่ควบคุมสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และความชื้น ซึ่งชิ้นสวนของพืชดังกล่าวจะมีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปในรูปแบบต่างๆ เช่น เกิดเป็นยอด เกิดเป็นราก เกิดเป็นเอมบริโอ หรือเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า “แคลลัส” ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์จำนวนมากได้

หลักการสำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือต้องทำในสภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ กล่าวคือทุกขั้นตอนต้องปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์โดยขั้นตอนในการทำงานจะเริ่มจากการฟอกฆ่าเชื้อที่ชิ้นส่วนพืชแล้วตัดเอาเฉพาะส่วนที่ต้องการนำมาวางเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองหรือขวดแก้วที่บรรจุอาหารสังเคราะห์ซึ่งได้ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วเช่นกัน ขวดเพาะเลี้ยงนี้จะถูกนำมาวางเลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมสภาวะต่างๆ เช่น แสงและอุณหภูมิให้เป็นไปตามที่ต้นพืชต้องการ ชิ้นส่วนของพืชจะได้รับแร่ธาตุและสารอาหารจากอาหารสังเคราะห์และเจริญเติบโตต่อไป ซึ่งการเจริญเติบโตของชิ้นสวนพืชนี้สามารถควบคุมได้โดยการเลือกใช้สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เช่น ฮอร์โมนพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยงว่าต้องการให้ชิ้นส่วนนั้นเจริญไปเป็นส่วนใด เช่น ถ้าต้องการให้เจริญไปเป็นส่วนลำต้นก็สามารถทำการชักนำโดยใช้ฮอร์โมนพืชกลุ่มไซโตไค

นิน (Cytokinin) หากต้องการให้เกิดรากอาจใช้ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (Auxin) หรืออาจจะใช้ฮอร์โมนหลายๆ ชนิดรวมกัน [6]

2.3.1 พืชที่นิยมขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1) ไม้ยืนต้น เช่น ยูคาลิปตัส ไผ่ สัก หวาย ฯลฯ

2) พืชผัก เช่น ขิง หน่อไม้ฝรั่ง ปูเล ฯลฯ

3) ไม้ผล เช่น กล้วย สับปะรด สตรอเบอรี่ ส้ม ฯลฯ

4) ไม้ดอกไม้ประดับ เช่น หน้าวัว เบญจมาศ กล้วยไม้ ว่านสี่ทิศ เยอบีร่า เฮลิโคเนีย ฟิโลเดนดรอน ฯลฯ

5) พืชกินแมลง เช่น หยาดน้ำค้าง กาบหอยแครง หม้อข้าวหม้อแกงลิง

2.3.2 ข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1) เพิ่มปริมาณได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น

2) ต้นที่ได้มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพ่อแม่

3) ต้นพืชที่ได้จะเจริญเติบโตเร็ว มีขนาดสม่ำเสมอ เก็บเกี่ยวผลผลิตได้พร้อมกัน และผลผลิตได้มาตรฐาน

4) ต้นที่ได้จะปลอดโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อจุลินทรีย์

2.3.3 ข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1) ลักษณะทางพันธุกรรมที่ต้องการอาจเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (ในกรณีการชักนำต้นจากแคลลัส)

2) พืชประเภทไม้เนื้อแข็งชักนำการเกิดรากค่อนข้างยาก

3) การย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติค่อนข้างยุ่งยาก

4) การลงทุนสูง เนื่องจากต้องใช้เครื่องมือและสารเคมี รวมทั้งต้องสร้างห้องปฏิบัติการ ทำให้ต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูง

2.3.4 ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบ่งพื้นที่เป็น 3 ส่วน ตามลักษณะการใช้งาน ดังนี้

2.3.4.1 ห้องเตรียมอาหารสังเคราะห์ (Laboratory Or Preparation Room)

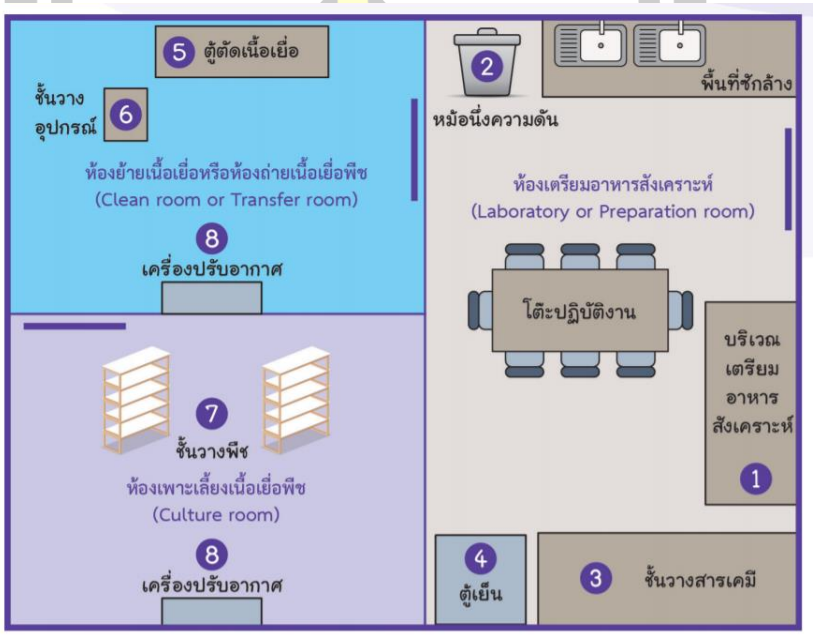
ควรเป็นห้องที่มีเนื้อที่กว้างขวางพอควรที่จะจัดวางเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆ เช่น โต๊ะเตรียมอาหาร โต๊ะวางเครื่องมือ ตู้เก็บเอกสาร ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เครื่องแก้วต่างๆ อ่างน้ำล้างเครื่องมือ และตู้เย็นสำหรับเก็บสารเคมีบางชนิดที่ต้องเก็บในที่เย็น และสารละลายเข้มข้น

2.3.4.2 ห้องย้ายเนื้อเยื่อหรือห้องถ่ายเนื้อเยื่อพืช (Clean Room Or Transfer Room)

เป็นห้องที่สะอาด ปลอดเชื้อ มีการผ่านเข้าออกน้อยที่สุด ควรจะมีแต่เจ้าหน้าที่ที่มีหน้าที่ย้ายเนื้อเยื่อพืช อุปกรณ์ที่สำคัญคือ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ กล้องจุลทรรศน์ และอุปกรณ์เกี่ยวกับการฟอกฆ่าเชื้อ

2.3.4.3 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Culture Room)

ต้องเป็นห้องที่สะอาด ปลอดเชื้อ ปิดสนิท มีการเข้าออกน้อยที่สุด เฉพาะเจ้าหน้าที่ที่จะนำขวดเพาะเลี้ยงไปเพาะเลี้ยง และตรวจเช็คผลการทดลอง



ภาพประกอบ 1 ผังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช [1]

1) เครื่องชั่งอย่างละเอียด เครื่องชั่งอย่างหยาบ เครื่องวัด pH เครื่องคนสารละลาย

2) หม้อนึ่งความดัน

3) ชั้นวางสารเคมี

4) ตู้เย็นสำหรับสารเคมีบางชนิดที่ต้องเก็บในที่เย็น

5) ตู้ตัดเนื้อเยื่อ (จำนวนตู้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสม)

6) ชั้นวางอุปกรณ์ (กระบอกฉีด ผ้าเช็ดมือ อาหาร ใบมีดตัด ฯลฯ)

7) ชั้นวางพืช และหลอดไฟฟ้าที่ให้แสงตรงตามความต้องการของพืช

8) เครื่องปรับอากาศ (ขึ้นกับขนาดพื้นที่และความเหมาะสม)

2.3.5 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1) คัดเลือกต้นพันธุ์ดี

2) ผลิตแม่พันธุ์พืชต้นกำเนิดปลอดโรค ที่ผ่านการตรวจสอบความปลอดโรค

3) ขยาย และเพิ่มปริมาณต้นพืชในห้องปฏิบัติการ

4) อนุบาลต้นอ่อนพืช

5) อนุบาล ขยาย และเพิ่มปริมาณต้นพืชในโรงเรือน

6) กระจายพันธุ์พืช

2.3.6 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2.3.6.1 คัดเลือกชิ้นส่วนพืช

ส่วนของพืชแทบทุกส่วนไม่ว่าจะเป็นลำต้น ตา ดอก ราก แม้ กระทั่งเนื้อเยื่อ เซลล์หรือโปรโตพลาส สามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและพัฒนาให้เกิดเป็นต้นพืชได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพืช และวัตถุประสงค์ที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.3.6.2 การทำความสะอาดชิ้นส่วนที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ควรเป็นชิ้นส่วนที่สะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ดังนั้นจึงต้องนำมาฆ่าเชื้อด้วยวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

2.3.6.3 การตัดเนื้อเยื่อ

ชิ้นส่วนพืชที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว นำเข้าตู้ปลอดเชื้อตัดเป็นชิ้นเล็กๆ วางลงบนอาหารสังเคราะห์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

2.3.6.4 การบ่มเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำขวดอาหารที่มีชิ้นส่วนพืชวางบนชั้นที่มีแสงสวาง 2,000-4,000 ลักซ์ วันละ 12-16 ชั่วโมง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25–28 องศาเซลเซียส จนกระทั่งชิ้นส่วนของพืชมีการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์

2.3.6.5 การตัดแบ่งและเลี้ยงอาหาร ตัดแบ่งชิ้นส่วนพืช และเปลี่ยนอาหาร

การตัดแบ่งและเลี้ยงอาหาร ตัดแบ่งชิ้นส่วนพืช และเปลี่ยนอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณของต้นพืชทุก 1-2 เดือนขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและระยะการเจริญเติบโต ทำการเปลี่ยนอาหารจนกระทั่งพืชเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์

2.3.6.6 การย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำต้นพืชที่มียอดและรากที่สมบูรณ์ออกจากขวดล้างวุ้นที่ติดกับรากออกให้หมดด้วยน้ำสะอาด และผึ่งลมให้แห้ง แช่น้ำยาป้องกันกำจัดเชื้อรานำไปปลูกในวัสดุที่โปร่งสะอาดระบาย

น้ำได้ดี นำไปวางไว้ในที่ร่ม และพรางแสง 60 เปอร์เซ็นต์ประมาณ 4 สัปดาห์หรือจนกระทั่งต้นพืชตั้งตัวได้

2.3.7 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในเชิงพาณิชย์

การนำความรู้ดังกล่าวมาประยุกต์เข้ากับธุรกิจเชิงพาณิชย์ จะเป็นทางเลือกอาชีพหนึ่งที่สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรหรือผู้ที่สนใจอย่างต่อเนื่อง

2.3.7.1 เงื่อนไขการดำเนินธุรกิจ

1) ผู้ที่ทำธุรกิจต้องมีความรู้หรือผ่านการอบรมการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาก่อน ควรมีนักวิชาการที่มีความรู้และประสบการณ์เป็นที่ปรึกษา

2) ต้องมีเงินทุนหมุนเวียนในการทำธุรกิจอย่างน้อย 200,000 บาท

3) มีตลาดรองรับ

2.3.7.2 ต้นทุนการผลิตและผลตอบแทน

1) ต้นทุนเริ่มต้นค่อนข้างสูง โดยเฉพาะเครื่องมือและอุปกรณ์

2) ผลตอบแทนที่ได้รับจากการทำธุรกิจจะได้ประมาณช่วงปีที่ 4 เป็นต้นไป

3) ธุรกิจได้รับผลตอบแทนอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากสามารถขยายพันธุ์พืชได้ตลอดทั้งปี

4) ผลตอบแทนระยะยาว คือมีการติดต่อจากกลุ่มลูกค้าที่ต้องการพันธุ์ไม้อย่างต่อเนื่อง

2.3.7.3 ขั้นตอนที่ควรดำเนินการ

1) วางแผนและเป้าหมายการผลิตในเชิงธุรกิจทั้งในระยะสั้นและระยะยาว

2) วิเคราะห์ความเป็นไปได้ทางการผลิต ข้อมูลการลงทุน ข้อมูลการตลาดและศึกษากลยุทธ์ทางการตลาด

3) ควบคุมปริมาณและคุณภาพผลผลิตให้ได้ตามต้องการ

4) หากลุ่มลูกค้าเป้าหมาย หรือการหาตลาดรองรับเชื่อมโยงกับธุรกิจการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออื่นๆ

5) แก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในขณะที่กำลังทำธุรกิจ

6) ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง

7) ประเมินผลความก้าวหน้าของการดำเนินธุรกิจ

2.3.7.4 พืชที่ควรดำเนินการในเชิงการค้า

1) พืชเศรษฐกิจ เช่น หน่อไม้ฝรั่ง กล้วย สับปะรด ฯลฯ

2) พืชกินแมลง เช่น หม้อข้าวหม้อแกงลิง กาบหอยแครง ฯลฯ

3) ไม้ดอกไม้ประดับ เช่น กล้วยไม้ หน้าวัว เบญจมาศ บอนสี อะโกลนีมา ฟิโลเดนดรอนฯลฯ

4) ไม้น้ำ เช่น อะนูเบียส ชบาน้ำ อะเมซอน ฯลฯ

2.4 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

นอกจากประโยชน์โดยตรงทางการเกษตรแล้ว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ยังมีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมและการแพทย์ ดังนี้ [7]

2.4.1 การผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากและตรงตามสายพันธุ์ที่ต้องการในเวลาอันรวดเร็ว โดยอาศัยการดัดแปลง และปรับปรุงอาหารสังเคราะห์ รวมทั้งใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบต่างๆ เช่น การเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็ง (Semi-Solid Media) อาหารเหลว (Liquid Media) และอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion System)

เทคนิคการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเหล่านี้ได้มีการพัฒนาและประยุกต์ใช้ในเชิงการค้าและประสบความสำเร็จในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น กล้วยไม้ หน้าวัว สับปะรด กาแฟ กล้วย พืชตระกูลปาล์ม เป็นต้น

2.4.2 การผลิตพืชที่ปราศจากโรค

ต้นพืชที่ผลิตได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะเป็นต้นที่ปราศจากโรคที่เกิดจากเชื้อราและแบคทีเรียนเป็นอันดับแรก เพราะถ้ามีอนุภาคของเชื้อเหล่านี้ตกลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง อนุภาคของเชื้อทั้ง 2 ชนิด สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วบนอาหาร การปนเปื้อนของเชื้อ (Contamination) โดยปรากฏเป็นกลุ่มเชื้อ (Colony) ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า ทำให้สามารถกำจัดทิ้งได้ นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังสามารถผลิตต้นพืชที่ปราศจากเชื้อไวรัสได้ แม้ว่าต้นพืชต้นนั้นมีอนุภาคของไวรัสอยู่ โดยการนำปลายยอดพืช (Apical Meristem) และเนื้อเยื่อของคัพภะ (Embryo) ที่อยู่ในเมล็ดซึ่งเป็นส่วนของพืชที่ปลอดจากเชื้อไวรัสมากที่สุด เนื่องจากอนุภาคไวรัสสามารถเคลื่อนย้ายไปตามท่อน้ำท่ออาหาร แต่เนื้อเยื่อดังกล่าวไม่มีท่อน้ำและท่ออาหารที่ติดต่อกับส่วนอื่นๆ ของต้นพืช มาคัดเลือกและตรวจสอบเนื้อเยื่อ จนแน่ใจว่าปลอดจากเชื้อไวรัส จากนั้นจึงทำการเพาะเลี้ยงและชักนำให้เกิดต้นทำให้ได้ต้นพืชที่ปลอดจากไวรัส

2.4.3 การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์

ในระบบการเกษตรยุคปัจจุบัน เกษตรกรมักเลือกปลูกพันธุ์พืชที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเพียงไม่กี่พันธุ์ พันธุ์พืชพื้นเมืองจึงถูกละเลยและทอดทิ้ง ทำให้มีโอกาสที่พันธุ์พืชเหล่านี้จะสูญพันธุ์ไป นักวิชาการจึงได้พยายามคิดหาวิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชต่างๆไว้ให้ได้นานที่สุด โดยใช้พื้นที่เก็บรักษาน้อยที่สุด เพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมสำหรับคนรุ่นหลัง มีการนำหลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ โดยพยายามปรับปรุงสูตรอาหารด้วยการปรับปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิด เพื่อให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตช้าลงอย่างมากเพื่อลดค่าใช้จ่ายและเวลาในการย้ายเนื้อเยื่อ เมื่อต้องการเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อก็สามารถย้ายเนื้อเยื่อลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปกติของพืชชนิดนั้นๆ นอกจากนี้ยังสามารถเก็บรักษาเนื้อเยื่อไว้ในไนโตรเจนเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำถึง -196 องศาเซลเซียส ทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อพืชสามารถคงสภาพและมีชีวิตอยู่ได้ยาวนาน

2.4.4 การแลกเปลี่ยนพันธุ์พืช

การแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุกรรมโดยส่งพืชในสภาพปลอดเชื้อในขวดหรือหลอดทดลอง มีความสะดวกและปลอดภัยมากกว่าการส่งเมล็ดพันธุ์ ชิ้นส่วนพืชหรือต้นพืช เป็นการลดความเสี่ยงของการแพร่กระจายเชื้อโรคที่อาจติดมากับชิ้นส่วนพืชเหล่านี้

2.4.5 การปรับปรุงพันธุ์พืช

การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์นั้น จะเป็นประโยชน์มากมายโดยการสร้างพันธุ์พืชให้มีลักษณะตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ เช่น การผลิตพันธุ์พืชทนทานและต้านทานโรคแมลง ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ทนต่อดินกรด ทนเค็ม หรือการสร้างพันธุ์พืชใหม่ๆ โดยอาศัยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับเทคนิคด้านพันธุวิศวกรรมโดยการตัดต่อยีนที่ไม่ต้องการออกและการใส่ยีนที่ต้องการเข้าไป เป็นต้น

2.4.6 การผลิตสารต่างๆหรือยาจากพืช

พืชหลายชนิดมีสารที่มีคุณสมบัติทางเภสัชหรือมีประโยชน์ด้านอุตสาหกรรม เช่น สารหอมระเหย สารสี สารอัลคาลอยด์จากพืชสมุนไพร เป็นต้น แทนที่จะต้องสกัดสารเหล่านั้นจากต้นพืช สามารถใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ได้เนื้อเยื่อปริมาณมาก แล้วนำไปสกัดสารที่ต้องการโดยไม่ต้องสกัดจากต้นพืช เป็นการประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย

2.4.7 การศึกษาทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของพืช

เช่น การตอบสนองของพืชต่อสารฆ่าแมลง สารกำจัดศัตรูพืช หรือสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สามารถติดตามการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงของต้นพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองได้ง่ายกว่าต้นพืชที่ปลูกในแปลงทดลอง รวมทั้งสามารถควบคุมตัวแปรต่างๆ ได้ด้วย

2.4.8 การผลิตเมล็ดเทียม (Artificial Seeds)

การผลิตเมล็ดพันธุ์เป็นการค้าเป็นการลงทุนที่เสียค่าใช้จ่ายสูงทั้งในด้านแรงงานและต้องใช้พื้นที่จำนวนมาก การสร้างเมล็ดพันธุ์พืชในห้องปฏิบัติการจากเทคนิค Somatic Embryo แล้วนำ Embryo ที่ได้ไปเคลือบด้วยสารเคมีและสารป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืช เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถลดค่าใช้จ่ายในการผลิตได้

2.5 ตัวอย่างพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จในประเทศไทย

ตาราง 3 ตัวอย่างพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จในประเทศไทย [8]

ชื่อพืช	ชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง	สูตรอาหาร	ฮอร์โมนที่ใช้	การเจริญของเนื้อเยื่อ
ข้าว Oryza sativa L	อับละอองเกสร แคลลัส ยอด	N6 MS MS	2,4 - D2 mg/l+ Kinetin 0.5 mg/l + น้ำตาล 50 g/l IAA 0.5 mg/l +BA2 mg/l - -	แคลลัส ยอด ตนและราก
รักเร่	ตาข้างใบ แคลลัส ยอด	MS MS MS MS	BA 0.3 mg/l BA 0.1 mg/l +NAA 0.1 mg/l หรือ NAA 0.3 mg/l BA 0.1 หรือ 0.5 mg/l และ NAA 0.1 mg/l NAA 0.15 mg/l	ยอด แคลลัส ราก
อะโลคาเซีย Alocasia anazonica	ปลายยอด ปลายราก ต้น ใบอ่อน ก้านใบอ่อน	MS ซึ่งมี วิตามินของ Nitsch & Nitsch	NAA 0.5 mg/l NAA 1 mg/l Kinetin 1 mg/l + NAA 0.5 mg/l	ต้น แคลลัส ราก

ชื่อพืช	ชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง	สูตรอาหาร	ฮอร์โมนที่ใช้	การเจริญของเนื้อเยื่อ
กล็อกซีเนีย Sinnigia Speciosa	ก้านดอกตูม	MS	Kinietin 2 mg/l หรือ Matozim MT 0.25 mg/l	ต้น ต้น
กุหลาบ	ตาข้าง ยอด	MS+น้ำตาล4% MS+น้ำตาล4%	BA 2 mg/l -	ยอด ราก
แกลดิโอลัส Gladiolus hydridus	ปลายยอด ตาข้าง ยอดที่เกิดจากปลายยอดและตาข้างหัว ก้านช่อดอก	MS MS MS MS	BA 0.1 - 2 mg/l NAA 0.5 mg/l + น้ำมะพร้าว 15 % หรือ Kinietin 0.1 - 0.5 mg/l BA 0.1 - 6 mg/l Kinietin 0.5 mg/l + NAA 10 mg/l	ยอดทวีคูณ ราก ยอดทวีคูณ แคลลัสและ ราก
โกสน Codiscumvarie gatum	ปลายยอด ลำต้น ก้าน ใบและ ใบอ่อน แคลลัส	MS MS BA5 mg/l + NAA5 mg/l	BA 5 mg/l + 2,4-D 2-4 mg/l	แคลลัส ยอด
คาร์เนชัน Diantus Caryophyllus	ปลายยอด	MS	Kinetin 0.5 mg/l + NAA 1.0 mg/l หรือน้ำมะพร้าว 15 %	ต้น
บอนสี Caladium biocolor	ใบอ่อน	MS	BA 1 mg/l + NAA 1 mg/l	แคลลัส

ชื่อพืช	ชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง	สูตรอาหาร	ฮอร์โมนที่ใช้	การเจริญของเนื้อเยื่อ
บีโกเนีย Begonia sp.	เมล็ด ต้นออน	MS MS	BA 1 mg/l NAA 1 mg/l Kinetin 5 mg/l NAA 1 mg/l	ต้น เพิ่มจำนวน
เบญจมาศ	ตาข้าง ลำต้น ใบ	MS	Kinetin 2 mg/l + NAA 0.02 mg/l	แคลลัส ต้น
พุดสวน Ervatamia Coronaria	ตาข้าง ยอด	WPM PM	BA 16 mg/l 2,4-D 1 mg/l	ยอด ยอด
เฟิร์นก้านดำ Adintum Capillus Veneris Linn.	สปอร์ Phothallus	MS MS	น้ำมะพร้าว15% Matozim MT 0.25 mg/l	Phothallus
เยอบีรา Gerbera jamesonii	เมล็ด ดอกอ่อน	MS (1974) MS (1962) MSH	Kinetin 0 mg/l IAA 0.5 mg/l BA 10 mg/l BA 10 mg/l	เพิ่มจำนวน ต้น
ยิบโซฟิลลา Gypso phillaparivular	ปลายใบ ปล้อง แคลลัส ยอดจาก แคลลัส	MS หรือ Vacin & Went MS Vacin & Went	NAA 2 mg/l BA 1- 4 mg/l +NAA 0.5 - 1 mg/l BA 0.5 mg/l	แคลลัส ยอด ยอดทวีคูณ

พหุน ปณฑิโต ชีว

ชื่อพืช	ชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง	สูตรอาหาร	ฮอร์โมนที่ใช้	การเจริญของเนื้อเยื่อ
ว่านสี่ทิศ Hippeastrum hybridum	ก้านช่อดอกอับเกสรและก้านชูเกสรตัวผู้ รังไข่ก้านช่อดอกย่อย กลีบดอก ไข่อ่อน กลีบหัวส่วนกลาง	MS	2,4-D 0.5 - 1 mg/l	ต้น
สแตติส Staticaperizii	ต้นเมอริโคลนจากญี่ปุ่น	MS	IAA 0.5 mg/l	ราก
สับปะรดแคระ Ananas	ตาข้าง แคลลัส	MS MS	BA 2 mg/l + NAA0.1 mg/l BA 1 mg/l + NAA0.1 mg/l	แคลลัส ยอด ยอดทวีคูณ ราก
ยี่หุบ Magnolia Coco	ตาข้าง	WPM	BA 9 mg/l IBA 2 mg/l	ยอด ราก
ผักกาดขาวปลี Chinese cabbage	ปลายยอด ใบ กานใบ	MS	BA 2 – 4 mg/l NAA 1 mg/l	ยอด ราก

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

ชื่อพืช	ชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง	สูตรอาหาร	ฮอร์โมนที่ใช้	การเจริญของเนื้อเยื่อ
หน้าวัว Anthurium andracanum	ตาข้าง ใบและก้านใบ	MS	Kinetin 1 mg/l	ต้น
	ใบอ่อน	MS	BA 1 mg/l + 2,4-D 1 mg/l หรือ BA 2 mg/l +2,4 –D 0.5 mg/l	แคลลัส
	แคลลัส	Pierik (1976) น้ำตาล20กรัมต่อลิตร	BA 2 mg/l	ต้น
	Embryo	MS	Kinetin 1 mg/l	ยอด
	ยอดจาก Embryo	MS	NAA 0.5 mg/l หรือ IAA 0.5 mg/l	ราก
กีวีฟรุต Actindia Chinensis	ก้านใบ ปล้อง ข้อ	MS	2 iP 2 mg/l	ต้น
ไลอาทิส Liatrisspicata	ก้านช่อดอก	MS	BA 3 mg/l น้ำตาล 4% IAA 0.8 mg/l	ยอด
หวายตะค้าทอง Calamus Cacsius	ลำตนอ่อน	MS	NAA, BA5 x 106 M	ยอด
อินทผลัม Date Plam	ต้นยอด (ตายอด)	MS	2,4- D 2 mg/l + น้ำตาล 4.5% + ถาน 3 g/l	แคลลัส
	แคลลัส		NAA 4.0 mg/l Kinetin 0.4 mg/l	ต้น
กระเทียม Garlic	ตายอด	MS	2 iP 2 mg/l NAA 0.1 mg/l	หน่อ

2.6 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์พืชด้วยระบบของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระบบดั้งเดิมที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเรียกว่า Conventional Solid Culture คือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารแข็งที่ทำจากวุ้น (Agar) อีกระบบหนึ่งคือ Liquid Culture คือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเพาะเลี้ยงที่เป็นของเหลว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งสองระบบนี้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการขยายพันธุ์พืชทั่วโลก [9]

2.6.1 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารแข็ง (Conventional Solid Culture)

มีข้อดีตรงที่เนื้อเยื่อพืชจะไม่ค่อยเกิดความเสียหายจากปัญหาการฉ่ำน้ำ (Hyperhydricity) แต่มีข้อเสียคือต้นพืชโตช้าและจะต้องเปลี่ยนอาหารใหม่โดยการย้ายเนื้อเยื่อจากขวดเก่าไปยังขวดใหม่ (Subculture) เพราะฉะนั้นโอกาสที่จะทำให้เกิดการปนเปื้อน (Contamination) จึงมีเปอร์เซ็นต์สูงมากสำหรับการขยายพันธุ์ด้วยระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารแข็ง

2.6.2 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลว (Liquid Culture)

มีข้อดีกว่าระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารแข็ง ตรงที่พืชจะโตได้เร็วกว่าแต่มีข้อเสียตรงที่เนื้อเยื่อพืชมักเกิดปัญหาฉ่ำน้ำบ่อยครั้งเพราะต้องแช่ในอาหารเหลวตลอดเวลา สำหรับปัญหาการปนเปื้อนก็มีเปอร์เซ็นต์สูงเช่นกัน

2.6.3 ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor, TIB)

จากข้อดีและข้อเสียของระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารแข็งและอาหารเหลว ทำให้ได้พัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบใหม่ขึ้นมา ซึ่งก็คือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบท่วมชั่วคราว ระบบ TIB ช่วยลดปัญหาการฉ่ำน้ำของพืชและช่วยให้พืชโตเร็วมากขึ้น

2.7 ปัจจัยที่มีผลในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ อาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงและสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยอาหารเพาะเลี้ยงนั้นเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง อาหารเพาะเลี้ยงมีมากมายหลายสูตรให้เลือกใช้งาน เช่น สูตร Murashige And Skoog (MS) เป็นสูตรพื้นฐานที่นิยมใช้กับพืชทั่วๆไป สูตร Vacin And Went เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลต่างๆ สูตร Woody Plant Medium (WPM) เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงพืชพวกไม้เนื้อแข็งโดยทั่วไปสูตรอาหารเหล่านี้จะประกอบไปด้วย [6]

1) ธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการในปริมาณมาก ไดแก่ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแตสเซียม (K)

2) ธาตุอาหารรองที่พืชต้องการในปริมาณเพียงเล็กน้อย เชน โบรอน (B) โมลิบดินัม (Mo) แมงกานีส (Mn) โคบอลต์ (Co) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) ไอโอดีน (I)

3) ธาตุอาหารอื่นๆ เช่น วิตามิน กรดอะมิโน และน้ำตาล

4) ส่วนประกอบอื่นๆ เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หรือที่เรียกว่าฮอร์โมนพืช หรือสารจากธรรมชาติอื่นๆ เช่น น้ำมะพร้าว มันฝรั่งกล้วยหอม สารสกัดจากยีสต์ซึ่งจะมีสารช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืชรวมอยู่ด้วย

2.8 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหาร ที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับความเหมาะสมต่อชนิดของพืชพันธุ์ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืชที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามอาหารที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุด คือ อาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนามีช่องว่างในเซลล์จำนวนมาก และเซลล์ยังไม่มีการจัดรูปร่างที่แน่นอน ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัสและเซลล์แขวนลอย ของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่นๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็งที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วยเกลือของ ธาตุอาหารที่ต้องการครบ คือ สารประกอบอนินทรีย์ และสารประกอบอินทรีย์ ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง แม้พืชทั้งต้นจะมีความต้องการขั้นพื้นฐานในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมากนัก ก็ตาม แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้น มีความต้องการธาตุอาหารและสารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า คือ ต้องการทั้งธาตุอาหารหลัก (Macro-Elements/Nutrients) และธาตุอาหารรอง (Micro-Elements/Nutrients) ที่ใช้ตามปกติในการเลี้ยงพืชในสารละลาย นอกจากนั้นยังต้องการธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น แหล่งของธาตุคาร์บอน และวิตามินอย่างมาก ปกติแล้วเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่แยกมาเลี้ยงจะต้องการวิตามินและ สารควบคุมการเจริญเติบโต (Growth Regulators) ต่าง ๆ ซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งของต้นเพื่อไปสะสมไว้ยังอีกส่วนหนึ่ง ของต้นพืช แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่น ๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาโบลิซึม อย่างไรก็ตาม ผลของแต่ละสารประกอบที่จำเป็นนี้ยังไม่เป็นที่ทราบชัดสมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารที่ได้จากกระบวนการเมตาโบลิซึม (Secondary Metabolites) เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของ สูตรอาหารที่ใช้มักถูกดัดแปลงไปตามความมุ่งหมาย เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิดอวัยวะ

(Organogenesis) และ/หรือ การกำเนิดคัพภะ (Embyogenesis) จึงทำให้ยากต่อการหาข้อสรุปพื้นฐานที่สอดคล้องไปในทางเดียวกันได้โดยง่าย [10]

2.8.1 ประเภทของอาหาร

อาหารเป็นสิ่งจำเป็นของต้นพืชทั่วๆไป เช่นเดียวกันเซลล์และเนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ (In Vitro) ก็ต้องการอาหารเหมือนกับต้นไม้ที่อยู่ในสภาพธรรมชาติ อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชส่วนใหญ่ประกอบด้วย ธาตุอาหาร สารเร่งการเจริญเติบโตหรือฮอร์โมน และน้ำเป็นหลัก ซึ่งนอกจากจะมีผลต่อการเจริญเติบโตแล้วยังมีผลต่อการพัฒนาของอวัยวะหรือส่วนต่างๆของพืช หรือการพัฒนากลับคืนเป็นต้นใหม่ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

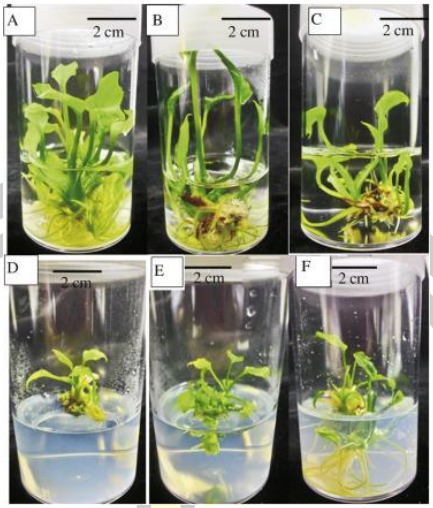
2.8.1.2 อาหารกึ่งแข็ง (Semi-Solid Medium)

เทคนิคที่ใช้ในยุคแรก ๆ นั้น ใช้วุ้น (Agar) เพื่อปรับสารละลายอาหารให้มีสภาพเป็นของแข็งมากขึ้น โดยนึ่งใน หม้อนึ่งความดันเพื่อหลอมละลายอาหารแล้วเทใส่ภาชนะและทิ้งให้แข็งตัวอยู่ในสภาพ อาหารกึ่งแข็ง แต่มักพบว่าคุณสมบัติต่าง ๆ ของสารประกอบเคมีในอาหารอาจไม่ได้รับสูงสุดเท่ากับอาหารเหลว (Liquid Medium) กระนั้นก็ตามวุ้นยังคงถูกนำมาใช้แต่จำเป็นต้องดัดแปลงให้เหมาะสม และต้องแน่ใจว่ามีความบริสุทธิ์จริง ๆ ในทางปฏิบัติแนะนำให้ล้างด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์อย่างน้อย 3 ครั้ง รายงานว่าการเจริญเติบโตของถั่ว Pea Abies จะดีที่สุดในอาหารแข็งที่ใช้วุ้น Difco Purified Agar ขณะที่ Difco Noble Agar ซึ่งผ่านการฟอกใสมากกว่าจะให้ผลที่ไม่ดีเท่า และการใช้วุ้นปริมาณมากเกินไปอาจไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อได้ ดังนั้นความเข้มข้นของวุ้นที่พอเหมาะสำหรับอาหารแต่ละชนิดจะต้องมีการทดสอบเสียก่อน อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นที่ใช้กันแพร่หลายและได้ผลดีเพื่อวัตถุประสงค์ส่วนใหญ่ คือ 0.8 %

สารสังเคราะห์พวก Gelatin และ Silica Gel ได้เคยมีการใช้ และในปัจจุบันมีการพัฒนาสารประกอบพวก Acrylamide Gels เช่นเดียวกับ Starch Co-Polymers ก็มีการแนะนำมาใช้แทนวุ้น สารเหล่านี้มีข้อดีที่ไม่จำเป็นต้องต้มให้เดือดเพื่อช่วยให้ละลายน้ำได้ แต่ยังมีปัญหาในเรื่องการปรับค่า pH ในขณะที่สารพวกผงถ่าน (Charcoal) ถูกเติมในอาหารหลายสูตร เพื่อช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตเนื่องจากสามารถดูดซับสารพิษพวก Toxic Metabolites ที่เกิดจากเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงได้ดี

2.8.1.3 อาหารเหลว (Liquid Medium)

อาหารเหลวเป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากเนื้อเยื่อจะจมหรือแขวนลอยอยู่บนกระดาษกรองที่จุ่มในอาหารเหลว ตลอดเวลา ในทางปฏิบัติอาจจะใช้ Glass Wool ช่วยพยุงเนื้อเยื่อที่เลี้ยงได้เช่นกัน เช่นเดียวกับการใช้ Fabric Support (100 % Polyester) ที่อิ่มตัวด้วยอาหารเหลว ซึ่งจะช่วยในการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานเกิดได้ดีขึ้น เนื้อเยื่อที่จมอยู่ในอาหารเหลวอาจถูกคนที่ความเร็ว 1 - 150 รอบต่อนาที (rpm) เพื่อช่วยในการหายใจ



ภาพประกอบ 2 The plantlets after 6 weeks of culture in different strength of MS in solid and liquid media [11]

2.8.2 ส่วนประกอบของอาหาร (Media Constituents)

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะประกอบด้วยธาตุอาหารต่าง ๆ ที่พืชต้องการอย่างครบถ้วน จึงขอกล่าวส่วนประกอบของอาหาร ดังต่อไปนี้

2.8.2.1 น้ำ (Water)

ประมาณ 95 % ของอาหารเป็นน้ำ ในการทำงานวิจัยควรใช้น้ำกลั่นจาก เครื่องกลั่นแก้ว เครื่องกลั่นควรได้รับการทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอ และควรบรรจุน้ำกลั่นใน ขวดพลาสติก

2.8.2.2 วุ้น (Agar)

เนื้อเยื่อส่วนมากจะเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีวุ้น ซึ่งหน้าที่ช่วยพยุงเนื้อเยื่อให้ตั้งอยู่ได้บนอาหาร ในกรณีที่เลี้ยงในอาหารเหลวจะวางบนเครื่องเขย่า หรือเลี้ยงบนสะพานกระดาษกรอง (Filter Paper Bridge) เพื่อให้เนื้อเยื่อได้รับอากาศเพียงพอ วุ้นเป็นส่วนประกอบแพงที่สุด ในอาหารผลิตจากสาหร่ายทะเลทำให้อาหารแข็งตัว วุ้นเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) มีโมเลกุลใหญ่ วุ้นที่มีคุณภาพสูง เช่น Difcoitek Agar มีราคาแพงมากปราศจากสิ่งเจือปน ในห้องปฏิบัติการบางแห่งใช้วุ้นประกอบอาหารแทนได้ วุ้นจาก Difco Bacto มักใช้ในปริมาณ 0.6-1.0% เหมาะสำหรับการเลี้ยงแคลลัส ส่วนอะกาโรสเจล (Agarose Gel) หรือวุ้นสังเคราะห์ใช้เลี้ยงเซลล์เดี่ยวหรือโพรโทพลาสต์ วุ้นสังเคราะห์เหล่านี้จะทำให้เกิดปัญหาการฉ่ำน้ำ (Vitrification) ของเนื้อเยื่อพืช ผลิตภัณฑ์ใหม่ของบริษัทซิกมา (Sigma) ชื่อ อะการ์เจล (Agargel) ช่วยลดปัญหานี้ได้ การใช้วุ้นในปริมาณที่ต่ำ (0.5%) จะทำให้อาหารไม่แข็งตัวไหลไปมาได้ โดยเฉพาะเมื่อมี pH ต่ำจึงไม่สามารถพยุงเนื้อเยื่อพืชไว้

ได้ แต่ถ้าใช้วุ้นในปริมาณที่สูง (1.0%) จะทำให้อาหารแข็งมากจนไม่สามารถให้น้ำเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของพืช และยังทำให้พืชดูดอาหารไปใช้ได้ยาก

2.8.2.3 แหล่งให้ธาตุคาร์บอน (Carbon Sources)

เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารทุกสูตร เป็นแหล่งพลังงานที่จำเป็นมากต่อการเจริญเติบโต เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชยังไม่มีการสังเคราะห์แสงในสภาพหลอดแก้ว หรือมีการสังเคราะห์แสงในอัตราที่ต่ำเพราะได้รับแสงน้อย และมีปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด น้ำตาลที่นิยมใช้ คือ ซูโครส (Sucrose) ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับที่พืชสังเคราะห์ได้เอง และ มีความจำเป็นอย่างมากต่อเนื้อเยื่อพืชเกือบทุกชนิด โดยปกติมักใช้ในปริมาณ 1-5% และมีหลักฐานชี้ว่าการสร้างสารเมตาโบไลท์บางชนิดในเนื้อเยื่อที่เลี้ยง เป็นผลมาจากความเข้มข้นของซูโครส สำหรับน้ำตาลชนิดอื่น เช่น กลูโคส (Glucose) และฟรุคโตส (Fructose) มีการใช้บ้างปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของพืช โดยทั่วไปพืชจะเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่อได้รับปริมาณ น้ำตาลเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่ง จากนั้นการเพิ่มปริมาณน้ำตาลมากขึ้นอีกจะลดการเจริญเติบโตลง น้ำตาลอาจเปลี่ยนรูปได้เมื่อถูกนึ่งฆ่าเชื้อ นอกจากนี้น้ำตาลพอลิแซ็คคาไรด์อาจเปลี่ยนเป็น มอโนแซ็ดคาไรด์ เมื่อเกิดการแยกสลายด้วยน้ำ (Hydrolysis)

2.8.2.4 เกลืออนินทรีย์ (Inorganic Salt)

ธาตุอาหารมีความสำคัญในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อรองลงมาจากน้ำตาล แยกออกได้เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการมาก และธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อยแม้ว่าสูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระยะแรกจะเหมาะสมต่อการเลี้ยงเซลล์และ แคลลัส แต่ในระยะต่อมา เช่น สูตรของ Murashige And Skoog (MS) Gamborg B-5 และของ Miller ได้รับการพัฒนาให้เหมาะต่อการเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของพืชได้กว้างขวางมากขึ้น ทั้งยังมีผลดีอย่างมากในการกระตุ้นการกำเนิดอวัยวะ โดยมีการกำหนดปริมาณเกลืออนินทรีย์ให้เหมาะต่อการเจริญของเซลล์ที่เลี้ยง แต่ละพืช และในบางกรณีเฉพาะต่อแต่ละพันธุ์ โดยปกติสารละลายเกลืออนินทรีย์ของ Murashige And Skoog (MS-Salt Solution) ถูกใช้เป็นส่วนผสมหลักเพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เลี้ยง สาเหตุหนึ่งคือ เกลือสูตรนี้มีความเข้มข้นสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง NH4 อิออน และ ธาตุอื่น ๆ บางชนิดมีปริมาณที่สูงมาก ซึ่งจำเป็นต่อเนื้อเยื่อพืชเกือบทุกชนิดที่จะพัฒนา ทั้งยังพบว่า NaH2PO4.2H2O ในสูตรอาหาร MS ยังให้ผลดีแก่เนื้อเยื่อพืชบางชนิด ธาตุอาหารรองที่ใช้ในสูตรอาหารโดยปกติมีการเจือปนของธาตุอื่นและให้ ธาตุอาหารหลัก N P และ K เพิ่มเติมในปริมาณที่น้อยมาก แต่คุณภาพของธาตุอาหารรองเองก็มีส่วนสำคัญไม่น้อย ในเกลือสูตร MS นั้น มีปริมาณธาตุอาหารรองค่อนข้างสูงเป็นพิเศษเมื่อเทียบกับสูตรอื่น โดยเฉพาะการมีสาร chelating agents เช่น EDTA ยังเป็นหลักประกันว่า ธาตุเหล็กจะมีประโยชน์ในปริมาณที่มากพอ แม้ว่าจะมี pH เปลี่ยนแปลงไปอย่างมากก็ตาม

2.8.2.5 วิตามิน (Vitamins)

พืชสามารถสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ทุกชนิด แต่เซลล์พืชที่เลี้ยงในสภาพหลอดแก้วต้องการวิตามินเพิ่ม โดยเฉพาะวิตามินบี 1 เพื่อช่วยในการพัฒนา ให้เป็นปกติ วิตามินที่ใช้ เช่น วิตามินบี 1 (Thiamine 0.1-0.5 mg/l) วิตามินบี 5 (Pantothenic Acid 0.5-2.5 mg/l) วิตามินเอ็ม (Folic Acid 0.1-0.5 mg/l) วิตามินบี 2 (Riboflavin 0.1-10.0 mg/l) วิตามินเอช (Biotin 0.01-1.00 mg/l) และวิตามินอี (Tocopherol 1 - 50 mg/l) ถึงอย่างวิตามินในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น มีลักษณะที่ใช้ตามกันมากกว่าจะมีการพิสูจน์หรือทดสอบก่อนว่ามีความจำเป็น อย่างแท้จริงหรือไม่ มีเพียง Thiamine-HCl เท่านั้นที่ดูจะมีความจำเป็น และเป็นที่ต้องการในการเจริญเติบโตหรือการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน (Morphogenesis)

2.8.2.6 ความเป็นกรดและด่างของอาหาร (pH Of Nutrient Medium)

pH ที่เหมาะสมของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอยู่ในช่วง 5.0 - 6.5 ถ้าต่ำมากไป (<4.5) หรือสูงมากเกินไป (>7.6) จะทำให้พืชหยุดการเจริญเติบโต ถ้า pH สูงกว่า 6 จะทำให้อาหารแข็งมาก ถ้า pH ต่ำกว่า 5.2 อาหารวุ้นจะอ่อนตัว ไม่เหมาะในการพยุงเนื้อเยื่อพืช นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและ การเลือกกระตุ้นของอาหารที่ใช้เลี้ยงนั้นจะขึ้นอยู่กับ pH ด้วย ที่มีค่าสูงหรือต่ำเกินไปควรหลีกเลี่ยงเพราะจะไปขัดขวางความเป็นประโยชน์ ของธาตุอาหาร ตัวอย่าง pH ที่เป็นด่าง (>7.0) หรือเป็นกรดจัด (<4.0) ทำให้กรดจิบเบอเรลลินไม่เป็นประโยชน์ได้ การเติมสารประกอบ EDTA ลงในอาหารอาจมีความสำคัญในการรักษาความเป็นประโยชน์ของธาตุเหล็กและธาตุ โลหะอื่น ๆ เนื่องจาก pH จะเปลี่ยแปลงไปตลอดเวลาขณะเพาะเลี้ยง

2.8.2.7 ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโต (Hormones And Growth Regulators)

ฮอร์โมนที่สร้างขึ้นในต้นพืช (Plant Hormones) ทำหน้าที่กระตุ้นและมีส่วนร่วมในกระบวนการต่าง ๆ ที่นำไปสู่การพัฒนาของต้นที่เป็นปกติการเจริญเติบโตตลอดจน การเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ เนื้อเยื่อ และ Secondary Metabolism เป็นผลมาจากฮอร์โมนเหล่านี้ทั้งสิ้น การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารจึงอาจไม่จำเป็นเสมอไปโดยเฉพาะในการเลี้ยงแคลลัส อย่างไรก็ตามโดยปกติจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต หรือการกำเนิดอวัยวะ และมีเนื้อเยื่อพืชไม่กี่ชนิดที่สร้างแคลลัสได้ในอาหารที่ปราศจาก สารควบคุมการเจริญเติบโตการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ออกซินและไซโทไคนินมีความสำคัญที่สุด พืชบางชนิดสร้างสารเหล่านี้อยู่แล้ว แต่ควรเพิ่มเข้าไปในอาหารเพื่อช่วยให้การเจริญดีขึ้น บางครั้งอาจต้องใช้จิบเบอเรลลิน หรือ เอทิลีน การเก็บฮอร์โมนพืชมักเก็บในตู้เย็นในรูปสารละลายเข้มข้น การนำฮอร์โมนพืชไปใช้อาจมีปัญหาการทำละลายของฮอร์โมนพืชในน้ำ การละลายออกซินควรทำในด่าง เช่น 0.1 KOH ไซโทไคนินก็

เช่นเดียวกัน แต่จิบเบอเรลลินละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ ออกซินและไซโทไคนินที่เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้นควรเก็บไว้ในที่มืด หรือใส่ขวดสีชาเพราะจะเสื่อมสภาพเมื่อได้รับแสง

1) ออกซิน (Auxin) เช่น IAA (Indole Acetic Acid) IBA (Indole Butyric Acid) NAA (Naphthalene Acetic Acid) 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid) ใช้ในช่วง 0.01-10 mg/l ออกซินช่วยเพิ่มขนาดของเซลล์ มักใช้ร่วมกับไซโทไคนินเพื่อช่วยใน การแบ่งเซลล์ การสร้างราก แต่การเจริญของรากจะถูกยับยั้งถ้ามีออกซินในปริมาณที่สูง

2) ไซโทไคนิน (Cytokinin) ไซโทไคนินที่สังเคราะห์ได้ในธรรมชาติ คือ ซีอะทิน (Zeatin) ใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต ไซโทไคนินที่ใช้กันมากคือ ไคเนทิน (Kinetin) 2iP (N6-Isopentenyl Adenine) BAP (Benzyl Aminopurine) มีหน้าที่ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ โดยเฉพาะถ้าใช้ร่วมกับออกซิน ถ้าใช้ในความเข้มข้นสูงขึ้นจะช่วยในสร้างราก แต่ยับยั้งการเจริญของรากส่งเสริมการสร้างยอดโดยลดผลจากการที่ตายอดข่มตาข้าง มีบทบาทในการเปลี่ยน สภาพเซลล์เป็นอวัยวะได้และชักนำให้เกิดเป็นต้น ไซโทไคนินทนความร้อนได้ดีจึงมักเติมในอาหารก่อนฆ่าเชื้อ บทบาทของออกซินและไซโทไคนินในพืชทั้งต้นและในสภาพหลอดแก้วอาจจะเหมือนกันหรือไม่เหมือนกันก็ได้

3) จิบเบอเรลลิน (Gibberellin) ฮอร์โมนพืชกลุ่มนี้มี 60 กว่าชนิด แต่ GA3 เป็นชนิดที่ใช้มากที่สุด จิบเบอเรลลินไม่ค่อยใช้กันมากนักในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีบทบาทในการชักนำให้ปล้องยาวขึ้นหลังจากการสร้างยอด ช่วยให้เนื้อเยื่อเจริญมีการเจริญเติบโตและช่วยในการงอกของเมล็ด ไม่ควรฆ่าเชื้อจิบเบอเรลลินด้วยหม้อนึ่งความดัน เพราะจิบเบอเรลลิน ส่วนหนึ่งจะเสื่อมสลายไปเมื่อได้รับความร้อน ควรทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้เครื่องกรองเมมเบรน นอกจากนี้จิบเบอเรลลินนั้นเคยถูกนำมาใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่โดยทั่ว ๆ ไป มีผลปิดกั้น การเกิดอวัยวะ

4) แอบซาซิกแอซิค (ABA; Abscisic Acid) มักยับยั้งการเจริญเติบโต ในสภาพปลอดเชื้อแต่ในบางครั้งพบว่า เอบีเอส่งเสริมการเจริญของแคลลัส และการเกิด เป็นต้นใหม่ และการเกิดเป็นต้นใหม่ ควรทำให้สารนี้ปลอดเชื้อโดยใช้เครื่องกรองเมมเบรน เอบีเอมีบทบาทเกี่ยวกับ การสังเคราะห์ไซโทไคนินและเป็นตัวต่อต้านการทำงานของ จิบเบอเรลลิน

5) เอทิลีน (Ethylene) อวัยวะพืช แคลลัส หรือเซลล์ในสภาพหลอดแก้วมีการผลิตเอทิลีน จึงไม่ควรปิดหลอดแก้วแน่นเกินไปเพื่อไม่ให้เกิดการสะสมของแก๊สนี้ ผลของเอทิลีนมีทั้งส่งเสริม และยับยั้งการเจริญเติบโต การเลี้ยงเนื้อเยื่อในที่มีแสง จะมีการสะสมเอทิลีนมากกว่า ในที่มืด ถ้ามีมากเกินไปจะทำให้เกิดการฉ่ำน้ำของพืชได้ แก๊สนี้ยังเป็นสาเหตุของการแก่ของเนื้อเยื่อพืช

2.8.2.8 สารอินทรีย์ (Organic Salt)

1) สารอินทรีย์จากผักหรือผลไม้ที่สำคัญมาก น้ำมะพร้าว น้ำส้ม น้ำมะเขือเทศ สารสกัดจากยีสต์ น้ำแอปเปิล กล้วยบด สารเหล่านี้ไม่ควรใช้ในงานวิจัย เนื่องจากไม่ทราบส่วนประกอบแน่นอน (Undefined Medium) ในระยะที่นำมาใช้

2) สารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ เช่น กรดอะมิโน ช่วยส่งเสริม การเจริญเติบโต และทำให้เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงพร้อมที่จะเกิดเป็นต้นได้ เช่น แคซีนไฮโดรไลเซท (Casein Hydrolysate) 0.1 - 1.0 mg/l ทริพโทน (Tryptone) 0.25 - 2.00 mg/l และสารสกัดจากมอลท์ (Malt Extrat) 0.5 - 10 mg/l สารเหล่านี้ประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโน ส่วนสารสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract) ซึ่งมีวิตามินบีสูงมักใช้ในปริมาณ 0.25 - 2.00 mg/l

2.8.2.9 อะดีนิน (Adenine)

การใส่อะดีนินในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีประโยชน์คือ ช่วยในการผลิตยอดแต่ยังไม่ทราบกลไกการทำงานแน่ชัด

2.8.2.10 ผงถ่าน (Activated Charcoal)

มักใช้ในความเข้มข้น 0.2 - 3.0 % ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผงถ่านมีความสามารถในการดูดซับสารบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ละเอียดมาก มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง จึงใช้ผงถ่านในการดูดซับสารพิษ เช่น สารประกอบฟีนอล (Phenol) เอทิลีน ทำให้ปริมาณสารดังกล่าวในอาหารลดลง เช่น การดูดซับฮอร์โมนหรือ สารประกอบฟีนอล ซึ่งเป็นพิษกับเซลล์ นอกจากนี้อาจใช้ผงถ่านในระยะที่เกิดรากเพื่อลดแสงบริเวณราก และทำให้รากเจริญเติบโตได้ดี ผงถ่านจึงสำคัญต่อการสร้างเป็นต้นใหม่ สารที่มีคุณสมบัติเหมือนกันกับผงถ่าน คือ PVP (Polyvinyl Pyrolidone) ก็สามารถดูดซับสาร ฟีนอลได้ หรือการเติม Diethyl-Dithiocarbonate (DIECA) จะช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น

2.9 การออกแบบระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor, TIB)

2.9.1 ความแตกต่างของการออกแบบระบบ TIB

สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตรกระทรวงการเกษตรและสหกรณ์ รายงานว่าความแตกต่างของการออกแบบระบบ TIB ขึ้นอยู่กับ [7]

1) ขนาด ชนิดและวัสดุของภาชนะที่ใช้บรรจุอาหารและเนื้อเยื่อพืช ว่ามีขนาดเล็กหรือใหญ่เพียงใด สามารถนำกลับไปใช้ใหม่ได้หรือไม่ ความยากง่ายในการฆ่าเชื้อ ความทนทานของวัสดุที่ใช้ เป็นต้น

2) ระบบควบคุมการให้อาหาร ว่าต้องการระบบอย่างง่าย ควบคุมด้วยมือ หรือใช้ระบบควบคุมอัตโนมัติ

3) ชนิดของปั๊มลมที่ใช้ เป็นแบบปั๊มไฟฟ้าหรือปั๊มเครื่องยนต์

4) อุปกรณ์เชื่อมต่อระบบ ระหว่างปั๊ม ภาชนะบรรจุอาหาร และภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อ ว่ามีความทนทานต่อการใช้งาน ประสิทธิภาพในการทำงาน และความทนทานต่อการฆ่าเชื้อที่ผู้ออกแบบระบบนำมาใช้งาน

นอกจากนี้แล้วการออกแบบระบบ TIB ยังต้องคำนึงถึงความต่อเนื่องในการใช้งาน ความยากง่ายในการปฏิบัติและดูแลรักษา ทำให้สามารถจำแนกระบบ TIB ออกเป็น 3 แบบ ดังนี้

1) ให้เนื้อเยื่อพืชจมในอาหารเหลวเป็นครั้งคราวและสามารถเปลี่ยนอาหารได้ มีหลักการคือ การให้สารอาหารเหลวท่วมเนื้อเยื่อพืชเป็นระยะเวลาหนึ่งตามต้องการ หลังจากนั้นปล่อยให้อาหารไหลกลับสู่ขวดอาหาร

2) ให้เนื้อเยื่อพืชอยู่ในอาหารเหลวไม่สมบูรณ์เป็นครั้งคราวและสามารถเปลี่ยนอาหารได้ หลักการของระบบนี้ คือ เนื้อเยื่อพืชจะอยู่บนสิ่งที่ช่วยพยุงเสมอ เช่น อาหารวุ้น หรือแผ่นตาข่าย มีการให้อาหารเหลวเป็นครั้งคราวเฉพาะส่วนล่างของชิ้นส่วนพืชเท่านั้น

3) ให้เนื้อเยื่อพืชจมในอาหารเหลวเป็นครั้งคราวโดยใช้แรงดันลมเป็นตัวผลักดันการไหลของอาหาร หลักการทำงาน คือ จะให้อาหารเหลวแก่พืชโดยใช้แรงดันลมจากปั๊มอากาศ ที่จะทำงานตามช่วงเวลาที่ตั้งไว้ซึ่งจะขึ้นกับชนิดพืชและวิธีขยายพันธุ์พืชที่เลือกใช้

2.9.2 ระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ Temporary Immersion Gravity Flask Bioreactor (TIG) ของบริษัทไพฑูรย์สะพลีจำกัด

ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประกอบด้วยภาชนะใส่ต้นพืชและภาชนะใส่อาหารวางเรียงกันในแนวดิ่ง โดยคว่ำขวดบนให้ปากตรงกับขวดล่าง โดยทั้งสองขวดจะมีจุกยางปิดและต่อถึงกันด้วยท่อสแตนเลส เนื้อเยื่อพืชจะอยู่ในขวดพืชด้านบน และอาหารจะอยู่ในขวดอาหารด้านล่างแล้วต่อท่อลมเข้ากับชุดเพาะเลี้ยงตั้งช่วงเวลาที่จะให้อาหารและหยุดให้อาหารตามชนิดของพืชและวิธีการขยายพันธุ์ที่ใช้ เมื่อถึงช่วงเวลาการให้อาหารปั๊มจะเริ่มอัดอากาศผ่านน้ำยาฆ่าเชื้อและกรองอากาศเข้าสู่ขวดอาหาร จากนั้นอากาศจะดันดาหารขึ้นสู่ขวดพืชเมื่ออาหารหมดปั๊มก็จะอัดอากาศต่อเนื่องทำให้เกิดฟองอากาศในขวดพืช เป็นการเพิ่มออกซิเจนให้แก่พืช ส่วนอากาศเสีย เช่น คาร์บอนไดออกไซด์

จะถูกดันไปยังท่อด้านบน ผ่านตัวกรองอากาศออกไป เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการให้อาหารที่ตั้งไว้ ปั๊มจะหยุดทำงาน และอาหารทั้งหมดจะไหลกลับลงสู่ขวดอาหารโดยแรงโน้มถ่วง

ภาพประกอบ 3 Temporary Immersion Gravity Flask Bioreactor – TIG [12]

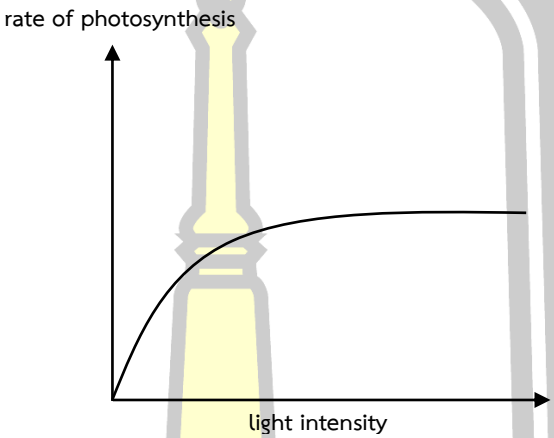
2.10 กระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis)

กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis) เป็นกระบวนการที่ประกอบด้วยปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องกันเป็นลำดับในคลอโรพลาสต์ในเซลล์พืช โดยใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ เปลี่ยนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนจากน้ำ หรือแหล่งไฮโดรเจนอื่น ๆ ให้กลายเป็นสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรตและมีแก๊สออกซิเจนเกิดขึ้น กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และการหายใจในเซลล์จะทำงานร่วมกันอย่างสมดุล โดยกระบวนการหายใจสลายอาหารได้พลังงานและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจะสร้างคาร์โบไฮเดรตและมีแก๊สออกซิเจนเกิดขึ้นเป็น วัฏจักรแก๊สออกซิเจนประมาณ 85% เกิดขึ้นในมหาสมุทร เนื่องมาจากการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton) อีก 10% มาจากสิ่งมีชีวิตบนพื้นดิน และ 5% มาจากแหล่งน้ำจืด [13]

2.11 ปัจจัยที่ควบคุมอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช

2.11.1 ความเข้มของแสง (Light intensity)

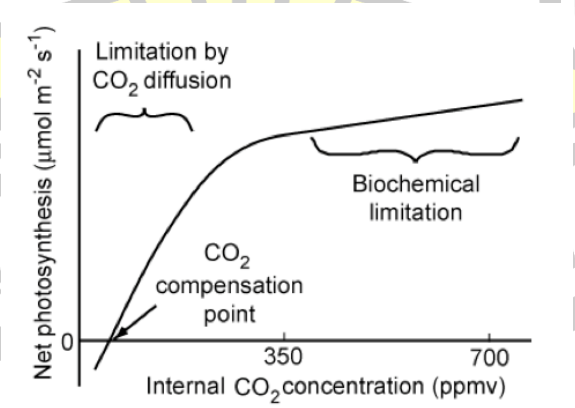
ถ้าความเข้มของแสงเพิ่มขึ้น อัตราการสังเคราะห์แสงก็จะเพิ่มขึ้น แต่ถ้าความเข้มของแสงเพิ่มมากเกินไป ก็จะไม่มีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสง ดังภาพประกอบ 4



ภาพประกอบ 4 ผลของความเข้มแสงต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง [14]

2.11.2 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide, CO_2)

ปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศมักคงที่เสมอคือไม่เกิน 0.04% แต่ก็อาจเปลี่ยนแปลงได้ เพราะต้องสัมพันธ์กับปัจจัยอื่นด้วย ถ้ามีคาร์บอนไดออกไซด์มากแต่ความเข้มของแสงน้อย การสังเคราะห์แสงก็เกิดขึ้นน้อยตามไปด้วย ดังภาพประกอบ 5



ภาพประกอบ 5 ผลของความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง [14]

จากภาพประกอบ 5 สรุปได้ดังนี้

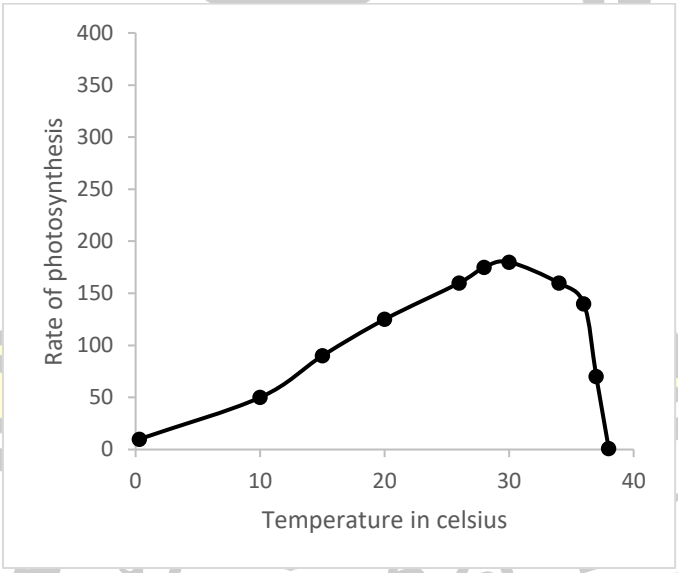
1) ความเข้มของแสงมากอัตราการสังเคราะห์สูงกว่าที่ความเข้มของแสงปานกลางและน้อยตามลำดับ

2) ที่ความเข้มของแสงระดับต่างๆถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ CO_2 จนถึง 0.10% แล้วอัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้น

3) ความเข้มของ CO_2 มากกว่า 0.10% จะไม่มีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงถึงแม้จะเพิ่มความเข้มของแสง

2.11.3 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช โดยทั่วไปอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น 25°C ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นกว่านี้ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะลดต่ำลง ตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงที่อุณหภูมิสูงๆ ยังขึ้นอยู่กับเวลาอีกปัจจัยหนึ่งด้วย กล่าวคือ ถ้าอุณหภูมิสูงคงที่ เช่น ที่ 25°C อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะเอนไซม์ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิพอเหมาะถ้าสูงเกิน 40°C เอนไซม์จะเสื่อมสภาพทำให้การทำงานของเอนไซม์ชะงักลง ดังภาพประกอบ 6



ภาพประกอบ 6 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช [2]

จากภาพประกอบ 6 พบว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช เนื่องจากอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ดังนั้นถ้าอุณหภูมิเหมาะสมต่อการทำงาน

ของเอนไซม์ คือประมาณ 25 ℃ ก็จะทำให้พืชมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูง นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงถึงระดับหนึ่งมีผลต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนี้

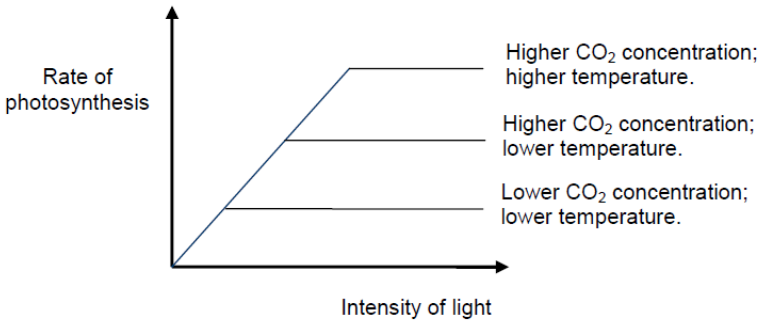
1) อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง เนื่องจากอัตราการหายใจ และอัตราโฟโตเรสไพเรชันเพิ่มขึ้น ทำให้อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง

2) เมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าอุณภูมิที่เหมาะสม จะมีผลทำให้สมบัติการเป็นเยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ต่างๆ ที่จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง สูญเสียความสามารถไปด้วย ทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง

3) เมื่ออุณหภูมิสูงจะทำให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเสียสภาพไป อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง

2.12 คาร์บอนไดออกไซด์กับการเจริญเติบโตของพืช

หากความเข้มของแสงและอุณหภูมิเหมาะสมอัตราการสังเคราะห์แสงจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ดังภาพประกอบ 7



ภาพประกอบ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงกับความเข้มของแสงและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ [15]

จากภาพประกอบ 7 สรุปได้ดังนี้

1) ถ้าความเข้มของแสงคงที่ ความเข้มของ CO_2 มีผลต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง คือ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะคงที่ทุกระดับความเข้มของแสง (น้อย ปานกลาง มาก) ถ้าความเข้มข้นของ CO_2 เกินกว่าประมาณ 0.1% ยกเว้นความเข้มข้น CO_2 ต่ำว่า 0.1%

2) ถ้าความเข้มข้นของก๊าซ CO_2 คงที่ เช่น ประมาณที่ 0.02% อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเพิ่มขึ้นเท่ากันทุกระดับความเข้มของแสง (น้อย ปานกลาง มาก) ยกเว้นความเข้มข้นของ

คาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงกว่า 0.02% กล่าวคือ ไม่ว่าความเข้มข้นของบอนไดออกไซด์ที่คงที่ ณ ที่ระดับ 0.05% หรือ 0.1% อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะสูงถ้าความเข้มข้นของของแสงมาก และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะต่ำถ้าความเข้มของแสงน้อย

2.13 การเพิ่ม CO_2 ในห้องเพาะเลี้ยง

วิธีในการเพิ่ม CO_2 ในห้องเพาะเลี้ยงขึ้นอยู่กับปัจจัย 3 อย่าง คือ ปริมาณ CO_2 ที่ต้องการจะเพิ่ม งบประมาณ และขนาดของห้องเพาะเลี้ยง ซึ่งแบ่งได้ 3 วิธี ดังนี้ [16]

2.13.1 Slow-Release CO_2

เป็นวิธีที่ง่ายและต้นทุนต่ำที่สุด เพียงแขวนถุงหรือขวด CO_2 แบบปล่อยช้าในห้องเพาะปลูกคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกปล่อยออกมาอย่างช้าๆเมื่อเวลาเปลี่ยนไป โดยแขวนขวด CO_2 ไว้เหนือหลังคาเพื่อไม่ให้เกิดเงา มีข้อดีและข้อเสียดังนี้

1) ข้อดี ได้แก่ ราคาถูก ใช้งานง่าย ปล่อยตามธรรมชาติ ไม่มีค่าใช้จ่ายเพิ่มเติม ไม่มีความร้อนหรือความชื้นส่วนเกิน และไม่มีไฟสัญญาณ

2) ข้อเสีย ได้แก่ ไม่สามารถควบคุมความเข้มข้น CO_2 ได้ และขวด CO_2 สามารถสร้างเงาได้หากแขวนไม่ถูกต้อง

2.13.2 Liquid Propane Gas (LPG)

เป็นการผลิต CO_2 โดยการเผาก๊าซโพรเพนเหลว เมื่อก๊าซโพรเพนเหลวถูกเผาไหม้คาร์บอนไดออกไซด์จะถูกปล่อยออกมา และได้ความร้อนและความชื้นเป็นผลพลอยได้จากการเผาไหม้ โดยทั่วจะได้รับ CO_2 จากการเผาโพรเพนมากกว่าที่ได้รับจากการใช้ CO_2 บรรจุขวด เหมาะสำหรับห้องที่มี Air-Cooled Lights มีข้อดีและข้อเสียดังนี้

1) ข้อดี ได้แก่ ราคาถูกกว่า CO_2 แบบบรรจุขวด (มีประสิทธิภาพมากกว่า) หาซื้อได้ง่าย มีผลพลอยได้จากการเผาไหม้ก๊าซโพรเพนเหลว คือ ความชื้นและความร้อนซึ่งเป็นผลดีต่อผัก สามารถใช้กับคอนโทรลเลอร์ได้ และควบคุมปริมาณ CO_2 ได้ตามต้องการ

2) ข้อเสีย ได้แก่ ต้นทุนเริ่มต้นที่สูงขึ้น (จำเป็นต้องมีเครื่องกำเนิด CO_2) ต้องมีที่เว้นว่างไว้รอบๆเตาเผาไหม้ และความร้อนกับความชื้นที่เกิดจากการเผาไหม้ ทำให้การออกดอกลดลง

ภาพประกอบ 8 Liquid Propane Gas : LPG [16]

2.13.3 Bottled CO_2 Gas

ไอ CO_2 จะถูกปล่อยออกมาตามที่ต้องการ คุณควบคุมได้โดยใช้ CO_2 Controller CO_2 regulator และ CO_2 Sensor เหมาะสำหรับผู้เพาะปลูกที่มีงบประมาณน้อยที่ต้องการเพิ่มประสิทธิภาพจากถุง CO_2 อุปกรณ์ที่จำเป็น ได้แก่ ขวดก๊าซ CO_2 ท่อกระจาย CO_2 CO_2 Regulator พร้อมโซลินอยด์วาล์ว และ CO_2 controller พร้อมเซนเซอร์และเครื่องวิเคราะห์ในตัว ซึ่งมีข้อดีและข้อเสียดังนี้

1) ข้อดี ได้แก่ ต้นทุนเริ่มต้นต่ำกว่าแบบ Liquid Propane Gas สามารถควบคุมปริมาณ CO_2 ได้ตามต้องการ สามารถใช้ร่วมกับคอนโทรลเลอร์ได้ ขวดก๊าซ CO_2 สามารถวางไว้นอกห้องเพาะเลี้ยงได้ และสามารถเติมใหม่ได้เมื่อหมด

2) ข้อเสีย ได้แก่ มีปริมาณการใช้ก๊าซที่สูงกว่าโพรเพน

ภาพประกอบ 9 Bottled CO_2 Gas [16]

2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ ได้มีการออกแบบระบบ การตั้งช่วงเวลาในการให้อาหาร และระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2 เพื่อใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบจมชั่วคราว จำเป็นต้องศึกษาข้อมูล ที่ใช้ในการออกแบบและทดสอบ ซึ่งแบ่งหัวข้อในการศึกษาดังต่อไปนี้

2.14.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์

การศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวกับระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ ได้มีการศึกษาถึงการออกแบบระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ ได้แก่

งานวิจัยเรื่อง การพัฒนาราสป์เบอร์รีพายสำหรับควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว [17] นำเสนอถึงการออกแบบและสร้างระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว โดยใช้ราสป์เบอร์รีพาย (Raspberry Pi) สำหรับการควบคุมการทำงานของวาล์วไฟฟ้าซึ่งทำหน้าที่จ่ายอากาศอัดให้กับ TIB แต่ละชุดเพื่อดันอาหารเหลวให้ถ่ายเทจากภาชนะบรรจุไปยังภาชนะเพาะเลี้ยง การทำงานของวาล์วไฟฟ้าจะสอดคล้องกับนาฬิกาบนราสป์เบอร์รีพาย ซึ่งทำการบันทึกและอ่านค่าร่วมกันกับโมดูลนาฬิกา (Real Time Clock, RTC) การตั้งค่าการทำงานของ TIB แต่ละชุดสามารถทำผ่านโปรแกรมเว็บเบราว์เซอร์บนสมาร์ตโฟนหรือคอมพิวเตอร์ ที่เชื่อมต่อกับไวไฟ (Wi-Fi) ที่ปล่อยออกจากตัวราสป์ เบอร์รีพาย และได้พัฒนาซอฟท์แวร์ที่ให้ผู้ใช้สามารถตั้งค่าลำดับการทำงานของ TIB แต่ละชุดได้ ผ่านเว็บแอปพลิเคชัน ข้อมูลค่าการทำงานแต่ละชุดจะถูกแยกบันทึกลงในฐานข้อมูลบนราสป์เบอร์รีพาย ซึ่งทำให้สามารถเพิ่มหรือลดจำนวนชุดควบคุมได้ในอนาคต จากการทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ระบบ TIB แต่ละกลุ่มสามารถทำงานได้ตามที่กำหนดไว้ได้อย่างถูกต้อง

งานวิจัยเรื่อง Automation of a temporary immersion technique based on open platforms of hardware and software [18] นำเสนอถึงทางเลือกของระบบจมชั่วคราวแบบอัตโนมัติ บน open platforms มีวัตถุประสงค์เพื่อลดต้นทุนของระบบจมชั่วคราวแบบอัตโนมัติ และมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับระบบที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ โดยใช้บอร์ด Arduino ทำหน้าที่วิเคราะห์สัญญาณที่มาจากเซ็นเซอร์ และส่งสัญญาณควบคุมไปยังรีเลย์เพื่อเปิดใช้งานปั๊มลม โดยใช้คอมพิวเตอร์เป็นตัวติดต่อสื่อสารกับผู้ใช้ เพื่อให้ผู้ใช้สามารถกำหนดค่าพารามิเตอร์และตั้งเวลาเปิดปิดรีเลย์ได้ ข้อมูลจะถูกเก็บไว้ในฐานข้อมูลเพื่อให้สามารถค้นหาข้อมูลที่จำเป็นได้ภายหลัง บันทึกและแก้ไขข้อมูลด้วย SQLite ใช้ Shield GSM ส่งและรับข้อความสั้น ๆ (SMS) กับโทรศัพท์มือถือสำหรับแจ้งสถานะการดำเนินการของระบบ หรือรับคำสั่งการทำงานจากระยะไกล และมีการสร้าง

แอปพลิเคชันมือถือสำหรับระบบปฏิบัติการ Android สำหรับการแสดงผล (monitor) และประสานกับผู้ใช้ เพื่อให้สะดวกต่อการใช้งาน ซึ่งระบบที่ผลิตขึ้นมีต้นทุนเฉลี่ย 10% เมื่อเทียบกับระบบจมชั่วคราวแบบอัตโนมัติที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ หลังจากการทดสอบ 1 เดือน พบว่ามีจำนวนการปนเปื้อนน้อยกว่าระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบ Manual

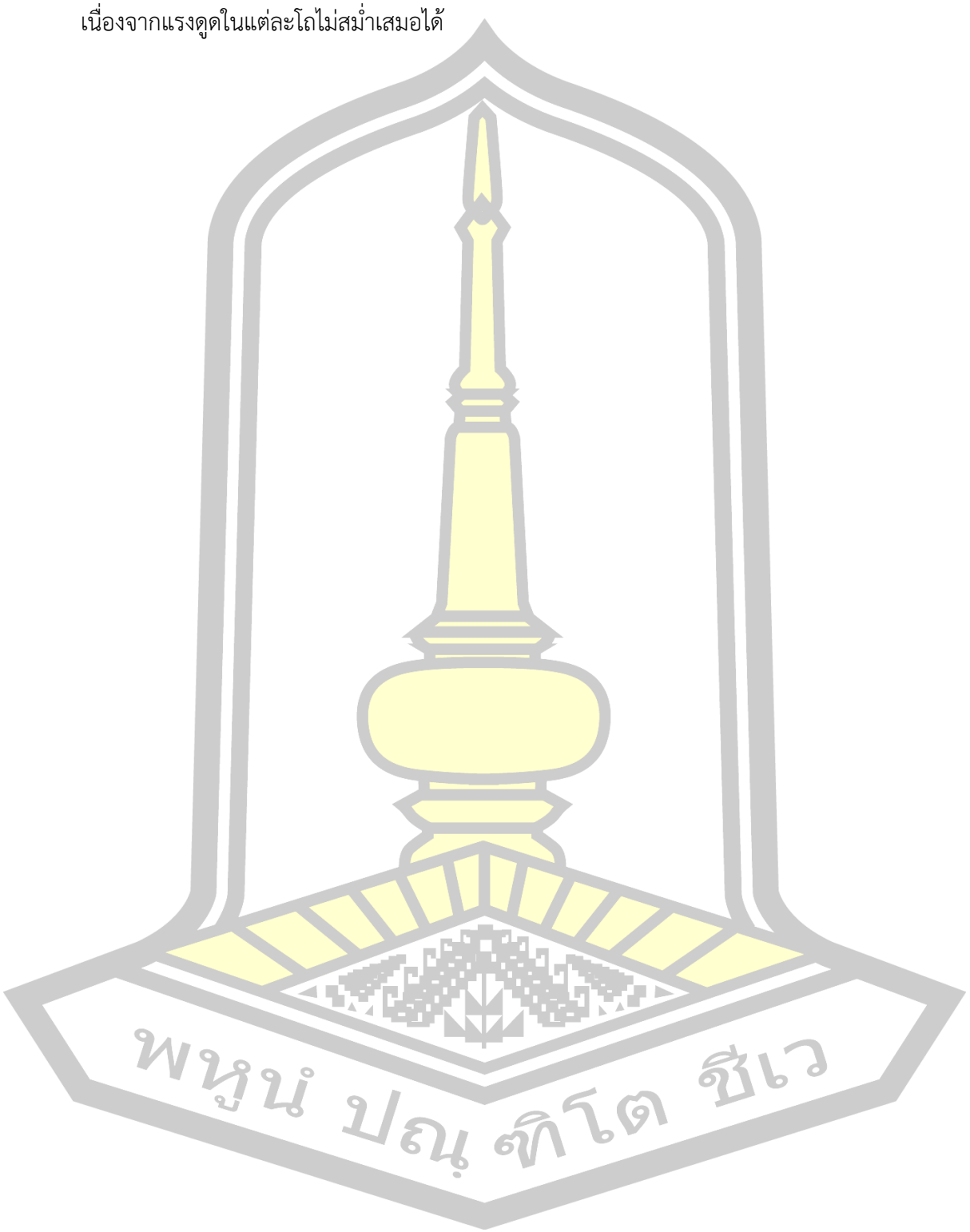
2.14.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบการวัดและควบคุมความเข้มข้น CO_2

การศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบการวัดและควบคุมความเข้มข้น CO_2 ได้มีการศึกษาถึงวิธีการออกแบบระบบการวัดความเข้มข้น CO_2 และระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ได้แก่

งานวิจัยเรื่อง ระบบวัดและควบคุมสภาวะอากาศดัดแปลงสำหรับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ Temporary Immersion Bioreactor [19] นำเสนอถึงการออกแบบและสร้าง ระบบวัดและควบคุมสภาวะอากาศดัดแปลงสำหรับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ TIB เมื่อคาร์บอนไดออกไซด์ในขวดเลี้ยงสูงกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ตองการ ระบบจะเติมอากาศเข้าไปในขวดเลี้ยง เมื่อคาร์บอนไดออกไซด์ในขวดเลี้ยงต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ตองการ ระบบจะเติมคาร์บอนไดออกไซด์เขาไปในขวดเลี้ยง การทดสอบ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเวลาและปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในระบบ พบว่าที่ระดับความต้องการความเข้มข้นของก๊าซที่ 1500 ppm การเพิ่มก๊าซในระบบให้ได้ระดับที่ต้องการหลังให้อาหารใช้เวลา 34 นาที โดยการปล่อยก๊าซเข้าระบบครั้งละ 600 มิลลิวินาที และดูดอากาศ เข้าระบบครั้งละ 40 วินาที ระบบมีความแม่นยำในการควบคุมในระดับที่ใช้งานได้ โดยมีความผิดพลาดในการควบคุมไม่เกิน ±10%

งานวิจัยเรื่อง อุปกรณ์ปรับแรงดันสำหรับระบบวัดและควบคุมสภาวะอากาศดัดแปลงสำหรับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้แบบ Temporary Immersion Bioreactor [20] พบปัญหาจากระบบวัดและควบคุมความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในโถเลี้ยง ที่ขยายระบบจากโถเลี้ยงเดียวเป็นแบบหลายโถเลี้ยง พบว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงต้นอ่อนตกค้างในโถเลี้ยงเนื่องจากแรงดูดเพื่อการวัดคาร์บอนไดออกไซด์ในแต่ละโถไม่สม่ำเสมอ จึงได้ออกแบบและสร้างอุปกรณ์ปรับแรงดันลมให้สม่ำเสมอ (Regulator) ทดสอบเบื้องต้นโดยดูดน้ำจากภาชนะบรรจุน้ำเดียวกันผ่านสายยางเข้าหัวดูดทั้ง 3 จุด และต่อสายลมจากทางออกของอุปกรณ์ปรับแรงดันลมเข้ากับปั๊มสูญญากาศเพื่อทดสอบความสม่ำเสมอของแรงดูดทั้ง 3 จุด ผลการทดสอบโดยการตั้งค่าความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ 2000 ppm พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในระบบจะเพิ่มจากระดับบรรยากาศที่ 800 ppm ไปสู่ระดับ 2000 ppm ภายใน 5 นาที และมีค่าความผิดพลาดไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และมีการแกว่งของระดับความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์น้อยลงหลัง 30 นาที

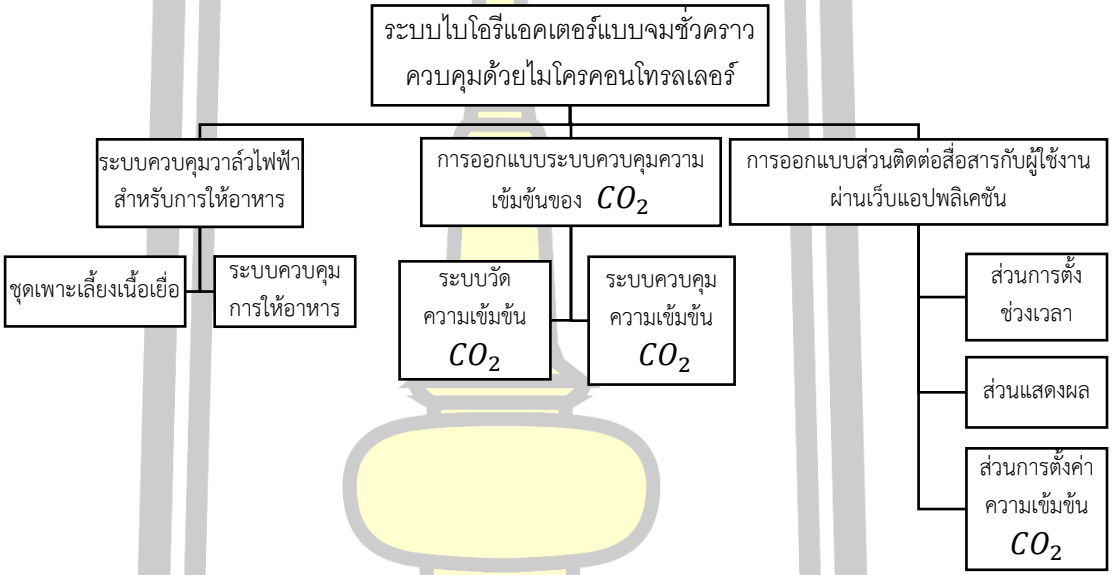
และจากการทดสอบ อุปกรณ์ปรับแรงดันสามารถแก้ปัญหาอาหารที่ใช้เลี้ยงต้นอ่อนตกค้างในโถเลี้ยง เนื่องจากแรงดูดในแต่ละโถไม่สม่ำเสมอได้



บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ ประกอบด้วยระบบย่อย 3 ระบบ ได้แก่ ระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าสำหรับการให้อาหาร ระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 และส่วนติดต่อสื่อสารกับผู้ใช้งานผ่านเว็บแอปพลิเคชัน



ภาพประกอบ 10 แผนผังส่วนประกอบระบบบระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

3.1 การออกแบบระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าสำหรับการให้อาหาร

ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ ประกอบด้วยชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าสำหรับควบคุมให้อาหาร มีรายละเอียดดังนี้

3.1.1 ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประกอบด้วยภาชนะบรรจุพืชและภาชนะใส่อาหารวางเรียงกันในแนวดิ่ง โดยทั้งสองขวดจะมีฝาปิดและต่อถึงกันด้วยสายยาง เนื้อเยื่อพืชจะอยู่ในขวดเนื้อเยื่อด้านบน และอาหารเหลวจะอยู่ในขวดอาหารด้านล่าง แล้วต่อท่อลมเข้ากับชุดเพาะเลี้ยง ตั้งช่วงเวลาที่

จะให้อาหารและหยุดให้อาหารตามชนิดของพืชที่ใช้ เมื่อถึงช่วงเวลาการให้อาหารปั๊มจะเริ่มอัดอากาศผ่าน ชุดกรองลมปรับลม และกรองอากาศเข้าสู่ขวดอาหาร จากนั้นอากาศจะดันอาหารขึ้นสู่ขวดพืช เมื่ออาหารหมดปั๊มก็จะอัดอากาศต่อเนื่องทำให้เกิดฟองอากาศในขวดพืช เป็นการเพิ่มออกซิเจนให้แก่พืช ส่วนอากาศเสียเช่น คาร์บอนไดออกไซด์ จะถูกดันไปยังท่อด้านบน ผ่านตัวกรองอากาศออกไปเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการให้อาหารที่ตั้งไว้ ปั๊มจะหยุดทำงาน และอาหารทั้งหมดจะไหลกลับลงสู่ขวดอาหารโดยแรงโน้มถ่วง

3.1.2 ระบบควบคุมการให้อาหาร

ระบบควบคุมการให้อาหาร ดังภาพประกอบ 11 แบ่งออกเป็น 3 สถานะ ดังตาราง 4 โดยมีเงื่อนไขการทำงานดังนี้

3.1.2.1 เมื่อถึงเวลาเริ่มให้อาหารที่ผู้ใช้ตั้งค่าไว้

ไมโครคอนโทรลเลอร์จะส่งสัญญาณไปยังรีเลย์เพื่อควบคุมวาล์วไฟฟ้าให้อยู่ในสถานะให้อาหาร โดยจะเปิดวาล์วไฟฟ้า S13 S15 และปิดวาล์วไฟฟ้า S11 S12 และ S14 ลมจากปั๊มลมจะไหลผ่านวาล์ว S13 ผ่านตัวกรองจุลินทรีย์ในอากาศ หมายเลข 4 ไปยังภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช ขณะที่ให้อาหารจะมีการระบายอากาศเสียในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช ออกด้านนอกผ่านตัวกรองจุลินทรีย์ในอากาศ หมายเลข 5 ผ่านวาล์วไฟฟ้า S14 โดยใช้เวลามาตรฐานจาก Server เป็นตัวอ้างอิงเวลาการให้อาหาร

3.1.2.2 เมื่อถึงเวลาสิ้นสุดการให้อาหารที่ผู้ใช้ตั้งค่าไว้

ไมโครคอนโทรลเลอร์จะส่งสัญญาณไปยังรีเลย์เพื่อควบคุมวาล์วไฟฟ้าให้อยู่ในสถานะนำอาหารออก โดยจะเปิดวาล์วไฟฟ้า S14 S15 และปิดวาล์วไฟฟ้า S11 S12 และ S13 เพื่อให้อากาศไหลผ่านได้ อาหารจะไหลกลับลงมายังภาชนะบรรจุอาหารด้านล่าง ตามแรงโน้มถ่วง

3.1.2.3 เมื่อนำอาหารออกจนครบช่วงเวลานำอาหารออก

ไมโครคอนโทรลเลอร์จะส่งสัญญาณไปยังรีเลย์เพื่อควบคุมวาล์วไฟฟ้าให้อยู่ในสถานะเตรียมพร้อม โดยจะปิดวาล์วไฟฟ้าทุกตัว เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการทำงานอื่นๆต่อไป

ตาราง 4 การทำงานของวาล์วไฟฟ้าระบบให้อาหารของ TIB

สถานะ	TIB 1				
	วาล์ว S11	วาล์ว S12	วาล์ว S13	วาล์ว S14	วาล์ว S15
เตรียมพร้อม	0	0	0	0	0
ให้อาหาร	0	0	1	0	1
นำอาหารออก	0	0	0	1	1

จากตาราง 4 เป็นตารางแสดงการทำงานของวาล์วไฟฟ้าแบบ NC (Normally Close) ในระบบให้อาหาร โดยกำหนดให้ หมายเลข 0 คือ ปิดวาล์วไฟฟ้า และ 1 คือ เปิดวาล์วไฟฟ้า

วาล์วไฟฟ้าของระบบให้อาหารจะทำงานได้เมื่อระบบควบคุม CO_2 อยู่ในสถานะเตรียมพร้อมเท่านั้น โดยจะทำงานตามช่วงเวลาที่ผู้ใช้งานตั้งค่าไว้ ซึ่งประกอบด้วยช่วงเวลาเริ่มต้นให้อาหาร ช่วงเวลาสิ้นสุดการให้อาหาร ช่วงเวลานำอาหารเข้า และช่วงเวลานำอาหารออก โดยมีลำดับการทำงาน ดังนี้

1) เมื่อยังไม่ถึงเวลาการทำงาน ระบบจะอยู่ในสถานะเตรียมพร้อม
2) เมื่อถึงเวลาเริ่มต้นการให้อาหาร ระบบจะอยู่ในสถานะให้อาหาร
4) เมื่อถึงเวลาสิ้นสุดการให้อาหาร จะเปลี่ยนเป็นสถานะนำอาหารออก
5) เมื่อนำอาหารออกจนครบช่วงเวลานำอาหารออก จะกลับไปสู่สถานะเตรียมพร้อม

3.2 การออกแบบระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2

ระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2 ดังภาพประกอบ 11 ประกอบด้วยระบบวัดความเข้มข้น CO_2 และระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 มีรายละเอียดดังนี้

3.2.1 ระบบวัดความเข้มข้น CO_2

เซนเซอร์วัดความเข้มข้น CO_2 MH-Z14A NDIR หมายเลข 3 จะถูกติดตั้งอยู่ภายในขวดบรรจุเนื้อเยื่อพืช ค่าที่อ่านได้จะถูกส่งมายังบอร์ด Arduino เพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้น CO_2 แล้วนำไปใช้สำหรับการนำไปควบคุมความเข้มข้น CO_2 ต่อไป

3.2.2 ระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2

ระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 จะใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ วิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้น CO_2 ที่ได้จากเซนเซอร์ มาใช้ควบคุมวาล์วไฟฟ้าเพื่อเติม CO_2 หรืออากาศ เข้าไปยังภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช โดยผู้ใช้งานสามารถตั้งค่าความเข้มข้น CO_2 และเวลาที่ต้องการควบคุมได้ผ่านแอปพลิเคชัน โดยมีการทำงาน 3 แบบ ดังนี้

3.2.2.1 ถ้าความเข้มข้น CO_2 ในขวดบรรจุเนื้อเยื่อพืชต่ำกว่าค่าที่กำหนดไว้ ไมโครคอนโทรลเลอร์จะส่งสัญญาณไปยังรีเลย์เพื่อควบคุมวาล์วไฟฟ้าให้อยู่ในสถานะเติม CO_2 ดังตาราง 5 โดยจะเปิดวาล์วไฟฟ้า S11 S14 และปิดวาล์วไฟฟ้า S12 S13 และ S15 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากถัง CO_2 จะไหลผ่านวาล์วไฟฟ้า S11 ผ่านตัวกรองจุลินทรีย์ในอากาศ เข้าไปยังภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช เพื่อเพิ่มความเข้มข้น CO_2

3.2.2.2 ถ้าความเข้มข้น CO_2 ในขวดบรรจุเนื้อเยื่อพืชสูงกว่าที่กำหนดไว้ ไมโครคอนโทรลเลอร์จะส่งสัญญาณไปยังรีเลย์เพื่อควบคุมวาล์วไฟฟ้าให้อยู่ในสถานะเติมอากาศ ดังตาราง 5 โดยจะเปิดวาล์วไฟฟ้า S12 S14 และปิดวาล์วไฟฟ้า S11 S13 และ S15 ทำให้ลมจากปั๊มลม ไหลผ่านวาล์วไฟฟ้า S12 ผ่านตัวกรองจุลินทรีย์ในอากาศ เข้าไปยังขวดบรรจุเนื้อเยื่อพืช เพื่อลดความเข้มข้น CO_2

3.2.2.3 ถ้าความเข้มข้น CO_2 ในขวดบรรจุเนื้อเยื่อพืชอยู่ในช่วงที่เหมาะสม วาล์วไฟฟ้าทุกตัวจะอยู่ในสภาวะเตรียมพร้อม เป็นการปิดวาล์วไฟฟ้าทั้งหมด เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการทำงานอื่นๆต่อไป

ตาราง 5 ตารางการทำงานของวาล์วไฟฟ้าระบบควบคุม CO_2

สถานะ	TIB 1				
	วาล์ว S11	วาล์ว S12	วาล์ว S13	วาล์ว S14	วาล์ว S15
เตรียมพร้อม	0	0	0	0	0
เติม CO_2	1	0	0	0	1
เติมอากาศ	0	1	0	0	1

จากตาราง 5 เป็นตารางแสดงการทำงานของวาล์วไฟฟ้าแบบ NC (Normally Close) ในระบบให้อาหาร โดยกำหนดให้ หมายเลข 0 คือ ปิดวาล์วไฟฟ้า และ 1 คือ เปิดวาล์วไฟฟ้า

วาล์วไฟฟ้าของระบบควบคุม CO_2 จะทำงานได้เมื่อระบบให้อาหารอยู่ในสถานะเตรียมพร้อมเท่านั้น โดยจะทำงานตามช่วงเวลาที่ผู้ใช้งานตั้งค่าไว้ ซึ่งประกอบด้วยช่วงเวลาเริ่มต้นควบคุมความเข้มข้น CO_2 ช่วงเวลาสิ้นสุดการควบคุมความเข้มข้น CO_2 และระดับความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการควบคุม โดยมีลำดับการทำงานดังนี้

1) เมื่อยังไม่ถึงเวลาการทำงาน ระบบจะอยู่ในสถานะเตรียมพร้อม

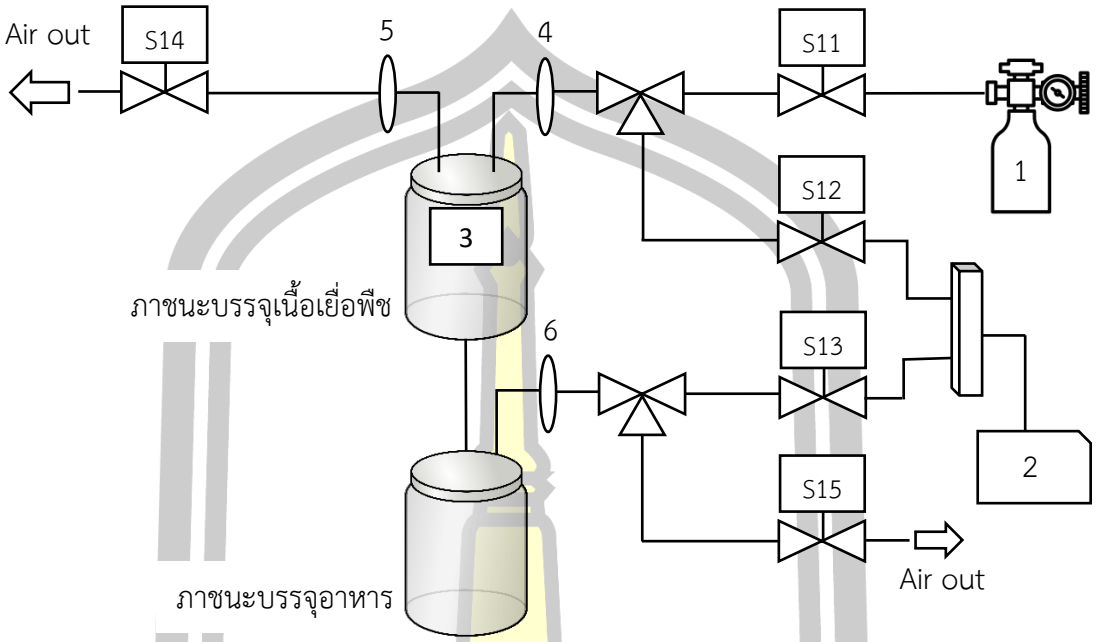
2) เมื่อถึงเวลาเริ่มต้นควบคุม CO_2 ระบบจะอยู่ในสถานะเติม CO_2

3) เมื่อครบเวลาที่กำหนด ระบบจะกลับไปอยู่ในสถานะเตรียมพร้อม

4) หากความเข้มข้น CO_2 ที่วัดได้ ต่ำกว่าความเข้มข้น CO_2 ที่ตั้งไว้จะกลับไปทำงานตามข้อ 2

5) หากความเข้มข้น CO_2 ที่วัดได้ สูงกว่าความเข้มข้น CO_2 ที่ตั้งไว้ ระบบจะทำงานในสถานะเติมอากาศ

6) เมื่อถึงเวลาสิ้นสุดการควบคุม CO_2 ระบบจะกลับไปสู่สถานะเตรียมพร้อม



ภาพประกอบ 11 แผนผังระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าสำหรับการให้อาหารและระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2 ของ TIB ชุดที่ 1

จากภาพประกอบ 11 แสดงอุปกรณ์ตามหมายเลข ดังนี้

1) คือ ถัง CO_2

2) คือ ปั๊มลม

3) คือ Sensor วัดความเข้มข้น CO_2

4) 5) 6) คือ ตัวกรองจุลินทรีย์ในอากาศ

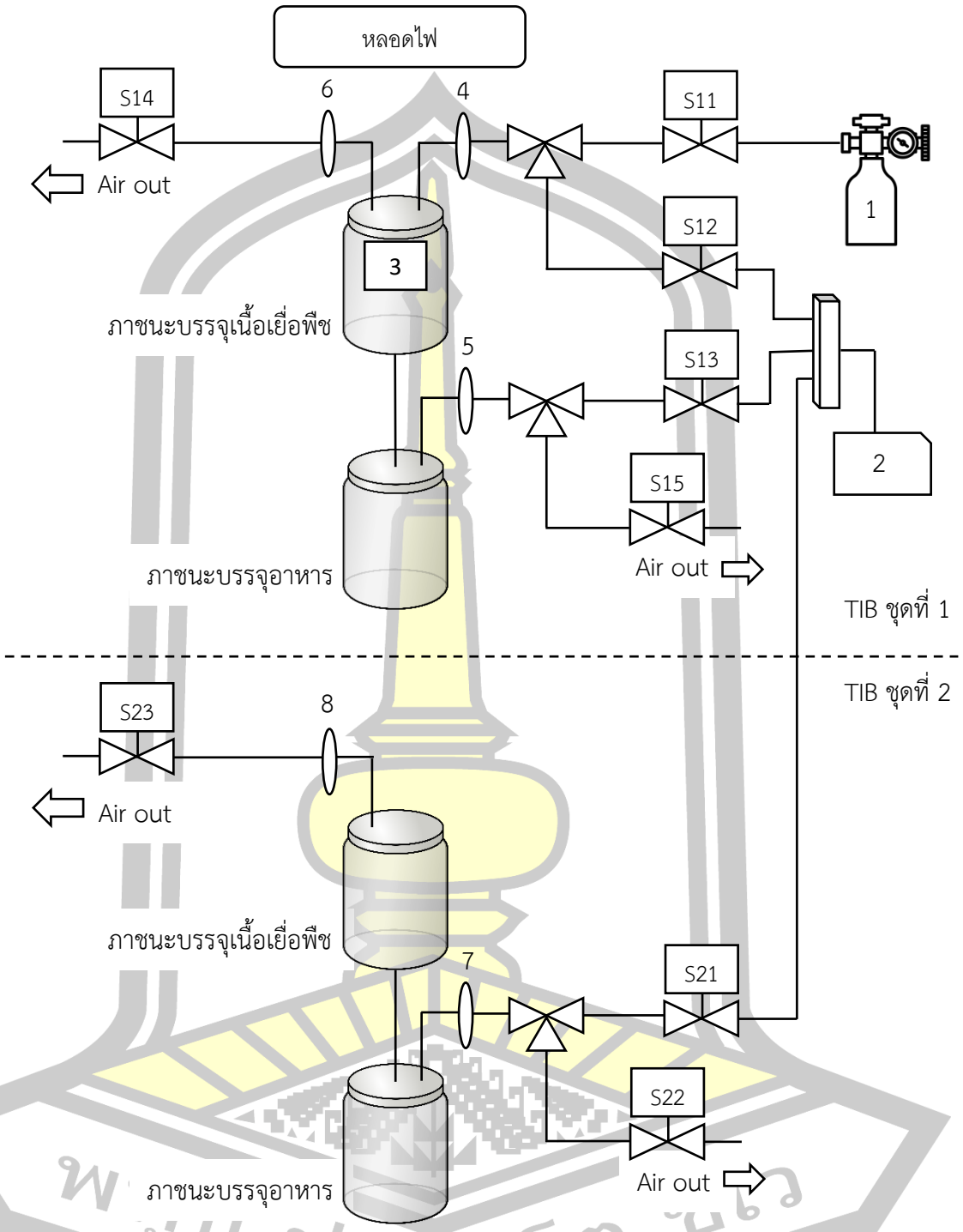
S11 คือ โซลินอยด์วาล์วตัวที่หนึ่ง เติม CO_2 ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

S12 คือ โซลินอยด์วาล์วตัวที่สอง เติมอากาศในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อ

S13 คือ โซลินอยด์วาล์วตัวที่สาม สำหรับให้อาหาร

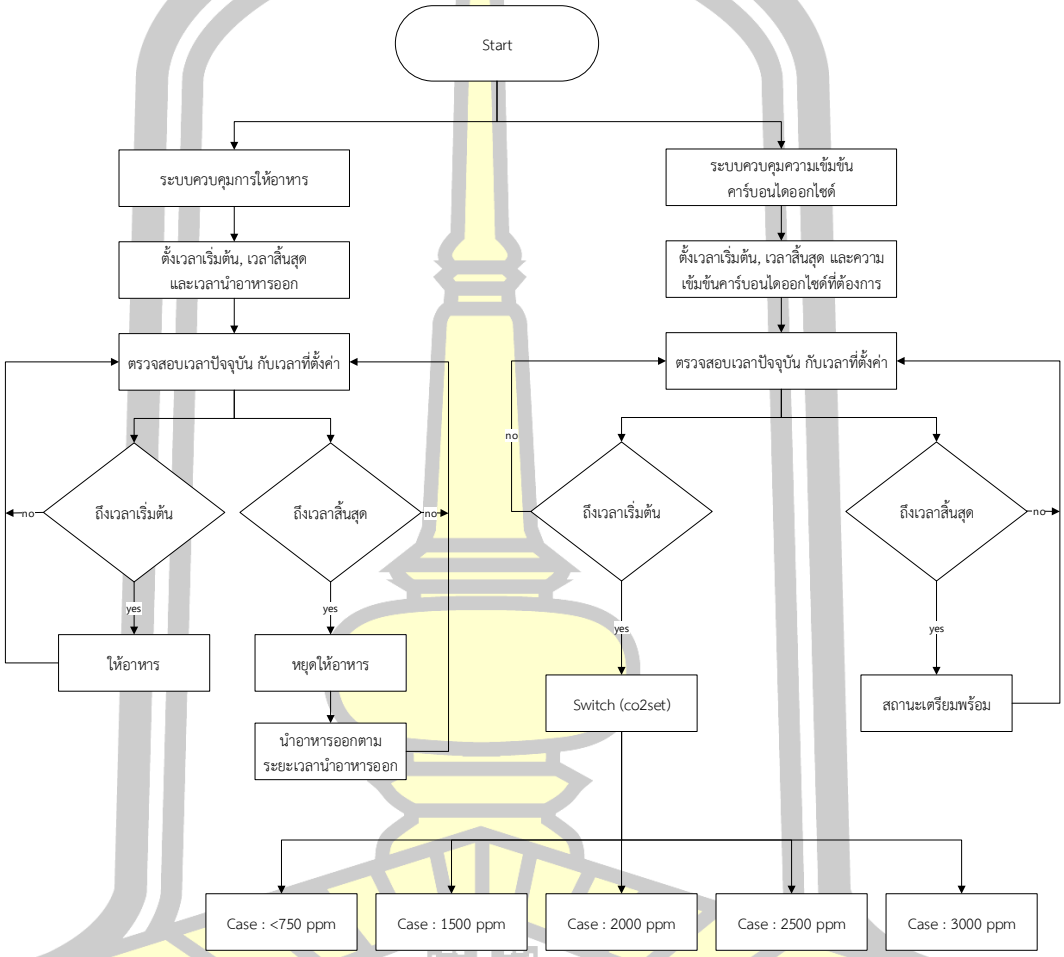
S14 คือ โซลินอยด์วาล์วตัวที่สี่ ปล่อยลมออกจากภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช

S15 คือ โซลินอยด์วาล์วตัวที่ห้า ปล่อยลมออกจากภาชนะบรรจุอาหาร



ภาพประกอบ 12 แผนผังระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าสำหรับการให้อาหารและระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2 ของ TIB ชุดที่ 1 และ 2

ภาพประกอบ 12 แสดงถึงแผนผังของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ชุดที่ 1 หรือ TIB 1 และ ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ชุดที่ 2 หรือ TIB 2 โดยสามารถควบคุมช่วงเวลาการให้อาหารได้ทั้งสองชุด โดยไม่จำเป็นต้องให้อาหารพร้อมกัน แต่จะมีเพียง TIB 1 เท่านั้น ที่สามารถควบคุมความเข้มข้น CO_2 ได้



ภาพประกอบ 13 ผังการทำงานของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

การทำงานของระบบ TIB แสดงดังภาพประกอบ 13 ในระบบการให้อาหารผู้ใช้งานจะต้องทำการตั้งเวลาเริ่มต้นให้อาหาร เวลาสิ้นสุดให้อาหาร และเวลานำอาหารออก ส่วนระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ผู้ใช้งานต้องตั้งเวลาเริ่มต้น เวลาสิ้นสุดการควบคุม และค่าความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการควบคุม โดยหลักการควบคุมจะใช้วิธีการเติม CO_2 จากถังบรรจุ CO_2 เข้าไปยังภาชนะบรรจุ

เนื้อเยื่อพืช แล้วจะค่อยๆลดความเข้มข้นลงโดยการเติมอากาศไปทีละน้อยจนเข้าสู่ช่วงความเข้มข้นที่ต้องการ ระบบจึงจะหยุดเติมอากาศ ในการควบคุมความเข้มข้นแต่ละค่า จะมีระยะเวลาในการเติมอากาศที่แตกต่างกัน และจะเริ่มควบคุมเมื่อถึงเวลาที่ตั้งไว้ ซึ่งตั้งค่าความเข้มข้น CO_2 ได้ 5 แบบ ดังนี้

1) <750 ppm
2) 1,500 ppm
3) 2,000 ppm
4) 2,500 ppm
5) 3,000 ppm

3.3 การออกแบบส่วนติดต่อสื่อสารกับผู้ใช้งานผ่านเว็บแอปพลิเคชัน

การออกแบบส่วนติดต่อสื่อสารกับผู้ใช้งานผ่านเว็บแอปพลิเคชัน (ภาพประกอบ 13) ประกอบด้วย ส่วนควบคุมการให้อาหาร ส่วนการควบคุมความเข้มข้น CO_2 และส่วนแสดงผล มีรายละเอียดดังนี้

3.3.1 ส่วนควบคุมการให้อาหาร

เป็นส่วนที่ให้ผู้ใช้งานตั้งช่วงเวลาที่จะให้ระบบควบคุมการให้อาหารทำงาน โดยเวลาที่กำหนดไว้โดยผู้ใช้งานจะถูกบันทึกไว้ยังฐานข้อมูลเพื่อกลับมาเรียกใช้งานได้โดยไม่ต้องตั้งค่าใหม่

3.3.2 ส่วนการตั้งค่าความเข้มข้น CO_2

3.3.2.1 ให้ผู้ใช้งานตั้งค่าความเข้มข้นของ CO_2 ที่ต้องการควบคุม

3.3.2.2 ให้ผู้ใช้งานตั้งเวลาที่ต้องการควบคุม CO_2

3.3.3 ส่วนแสดงผล

ส่วนแสดงผลจะแสดงค่าต่างๆต่อไปนี้ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบแก่ผู้ใช้งาน ให้มีความสะดวกต่อการตั้งค่าควบคุมการทำงาน

1) แสดงช่วงเวลาการให้อาหาร ที่ผู้ใช้งานตั้งค่า
2) แสดงค่าความเข้มข้น CO_2 ที่วัดได้จากระบบวัดความเข้มข้น CO_2
3) แสดงค่าความเข้มข้น CO_2 ที่ผู้ใช้งานตั้งค่าการควบคุมไว้
4) แสดงสถานะการทำงานปัจจุบันของระบบควบคุมการให้อาหาร และระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

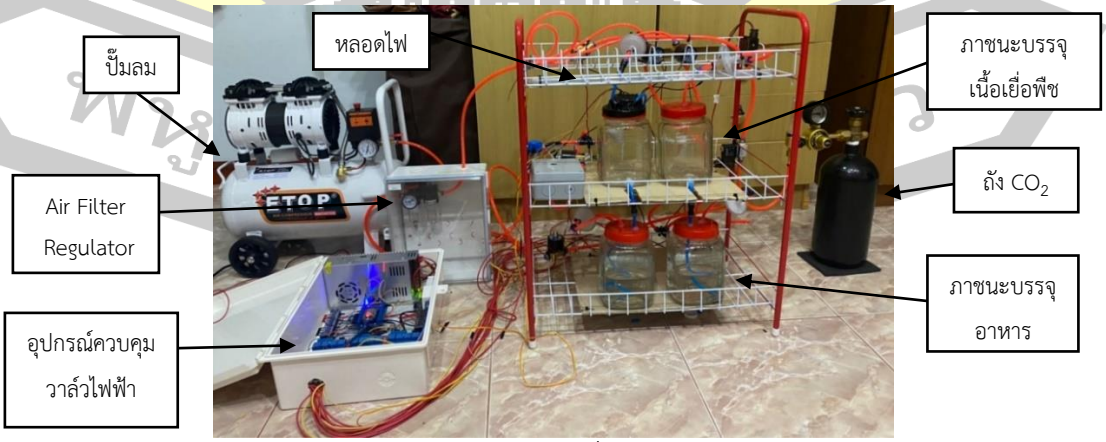
การทดลองระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ ที่ได้พัฒนา ออกแบบ และสร้างระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ให้สามารถควบคุมการทำงานของระบบการตั้งช่วงเวลาในการให้อาหาร และระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2 ผู้วิจัยได้แบ่งผลการทดลองออกเป็น 5 หัวข้อ ได้แก่ ผลการออกแบบและสร้างระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ การทดสอบการตั้งช่วงเวลาการให้อาหาร การทดสอบการทำงานในส่วนติดต่อสื่อสารกับผู้ใช้งานผ่านแอปพลิเคชัน Blynk การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมความเข้มข้น CO_2 และการทดสอบการตั้งเวลาการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2 โดยได้ผลการทดลอง ดังนี้

4.1 ผลการออกแบบและสร้างระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

จากการศึกษาข้อมูล เกี่ยวกับระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ผู้วิจัยได้ออกแบบ และสร้างระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ ดังนี้

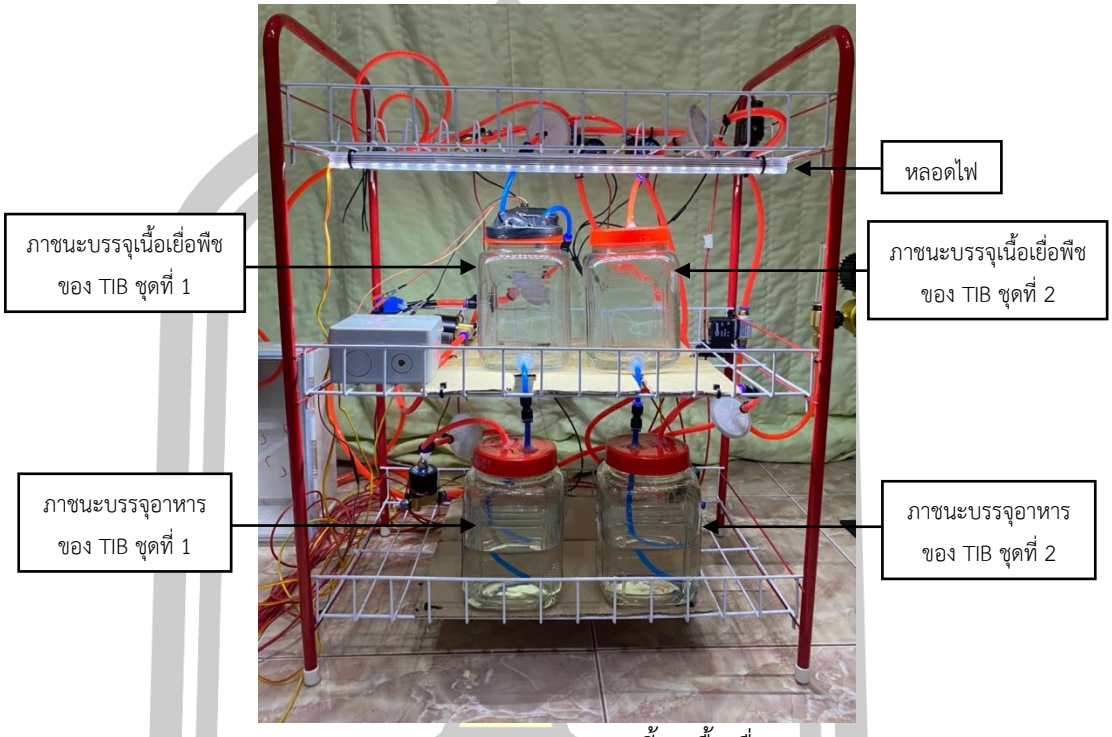
4.1.1 ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ ที่ออกแบบและสร้างขึ้น มีส่วนประกอบแสดงดังภาพประกอบ 14



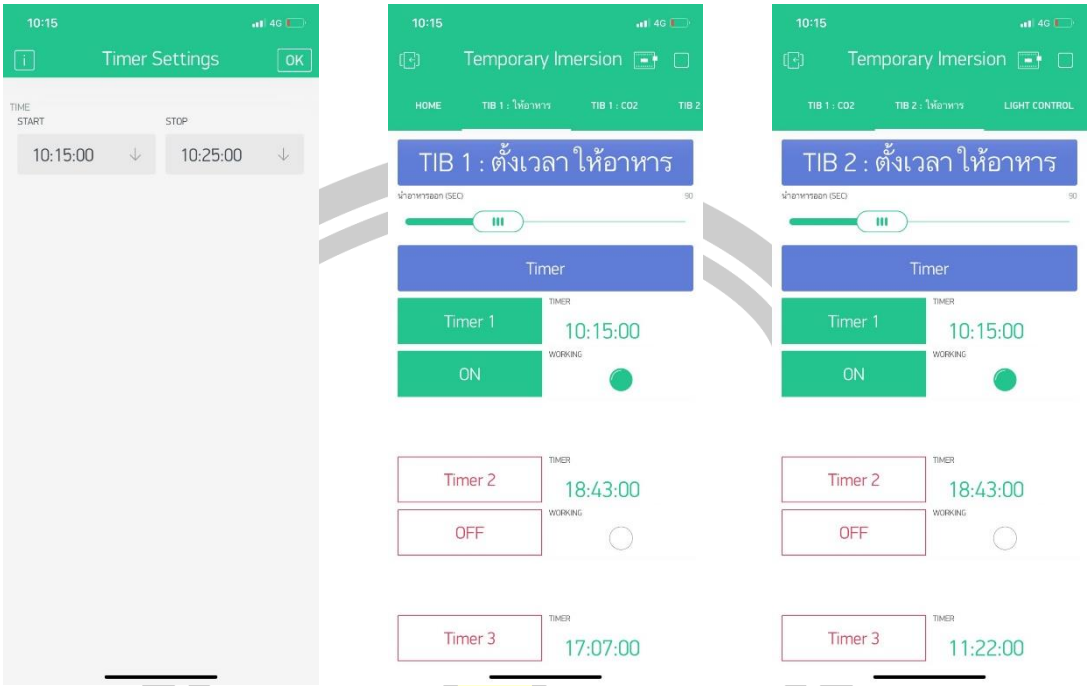
ภาพประกอบ 14 ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

4.1.2 ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

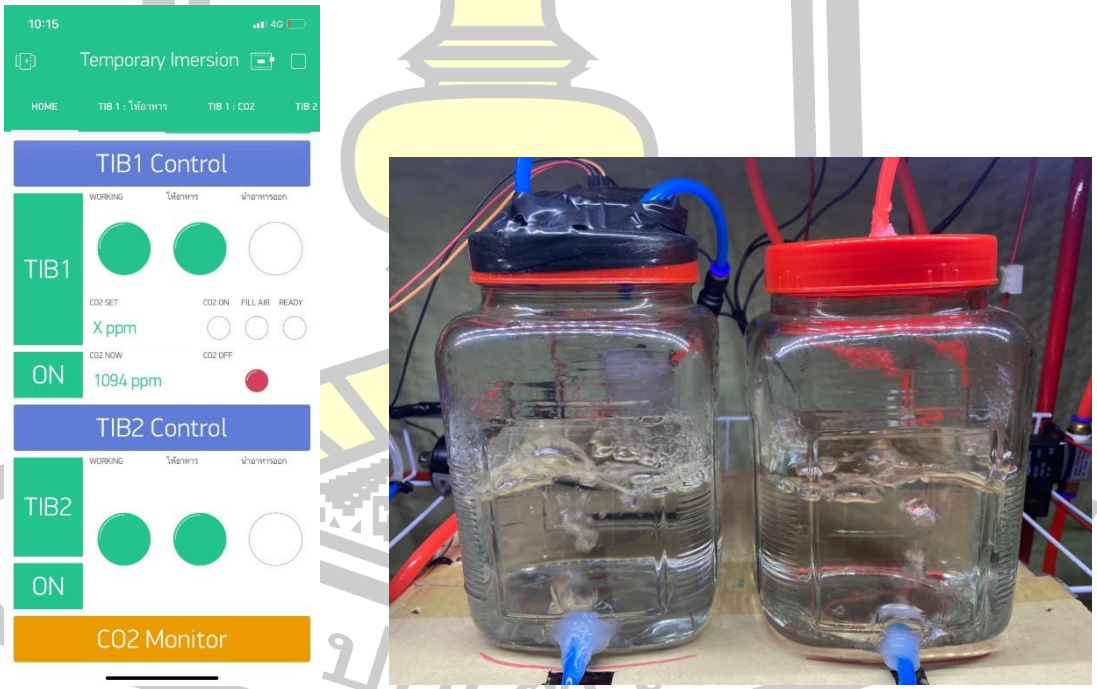


ภาพประกอบ 15 ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

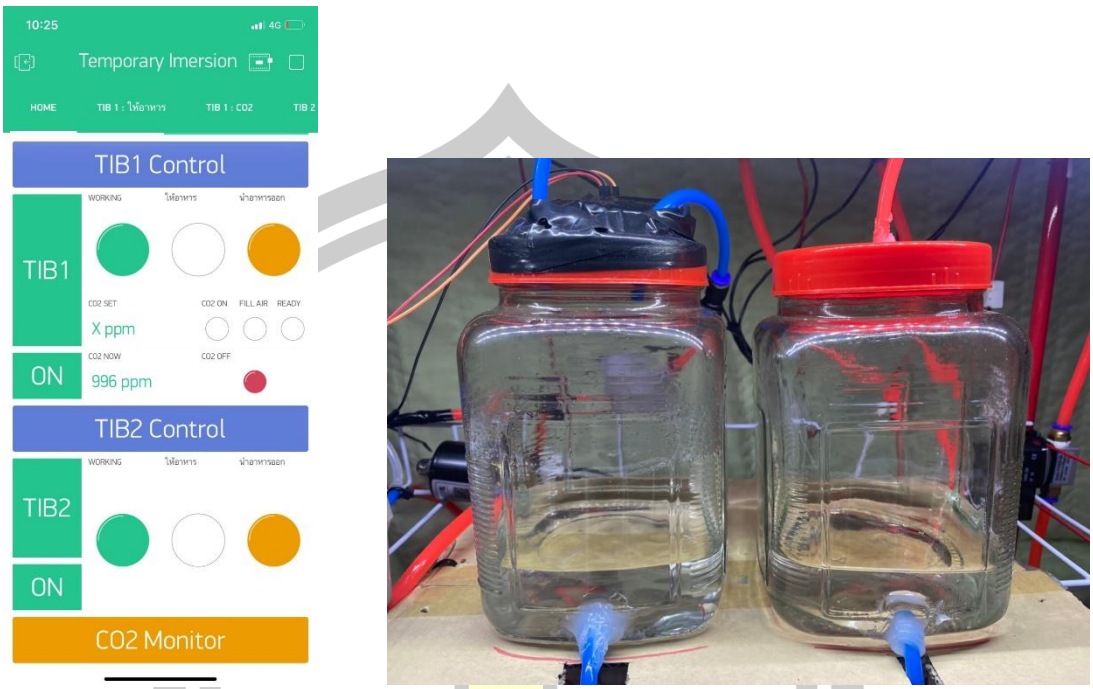
ชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ โดยชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประกอบด้วยชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จำนวน 2 ชุด แต่ละชุดประกอบด้วยภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช ภาชนะบรรจุอาหาร โดยวางภาชนะบรรจุชิ้นส่วนพืชไว้ด้านบน วางภาชนะบรรจุอาหารไว้ด้านล่าง ภาชนะทั้งสองเชื่อมต่อถึงกันด้วยสายยาง แล้วต่อท่อลมเข้ากับชุดเพาะเลี้ยง ดังภาพประกอบ 15 ผู้ใช้งานตั้งช่วงเวลาที่จะให้อาหารและหยุดให้อาหารผ่านแอปพลิเคชัน ตั้งระยะเวลาตามความต้องการในการรับอาหารของพืชที่ทำการเพาะเลี้ยง ดังภาพประกอบ 16 เมื่อถึงช่วงเวลาการให้อาหารปั๊มจะเริ่มอัดอากาศผ่าน ชุดกรองลมปรับลม และกรองอากาศเข้าสู่ขวดอาหาร จากนั้นอากาศจะดันอาหารขึ้นสู่ภาชนะบรรจุชิ้นส่วนพืช เมื่ออาหารถูกดันขึ้นไปจนหมดปั๊มก็จะอัดอากาศต่อเนื่องทำให้เกิดฟองอากาศในขวดพืช เป็นการเพิ่มออกซิเจนให้แก่พืช ส่วนอากาศเสียเช่น คาร์บอนไดออกไซด์ จะถูกดันไปยังท่อด้านบน ผ่านตัวกรองอากาศออกไป ดังภาพประกอบ 17 เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการให้อาหารที่ตั้งไว้ จะหยุดการเติมอากาศโดยการปิดวาล์วไฟฟ้า อาหารทั้งหมดจะไหลกลับลงสู่ขวดอาหารโดยแรงโน้มถ่วง ดังภาพประกอบ 18 และให้แสงสว่างกับพืชด้วยหลอดไฟที่ติดตั้งอยู่ด้านบนของภาชนะบรรจุชิ้นส่วนพืช ดังภาพประกอบ 19



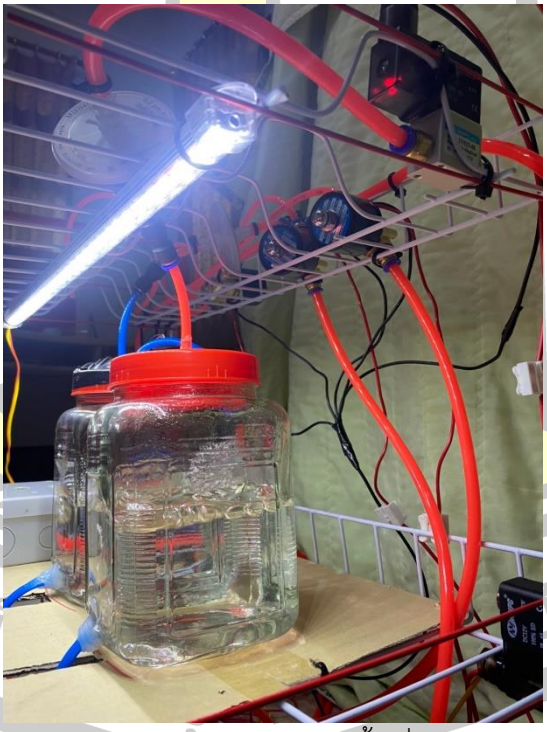
ภาพประกอบ 16 การตั้งช่วงเวลาการให้อาหารของ TIB ทั้งสองชุดผ่านแอปพลิเคชัน



ภาพประกอบ 17 การให้อาหารของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว

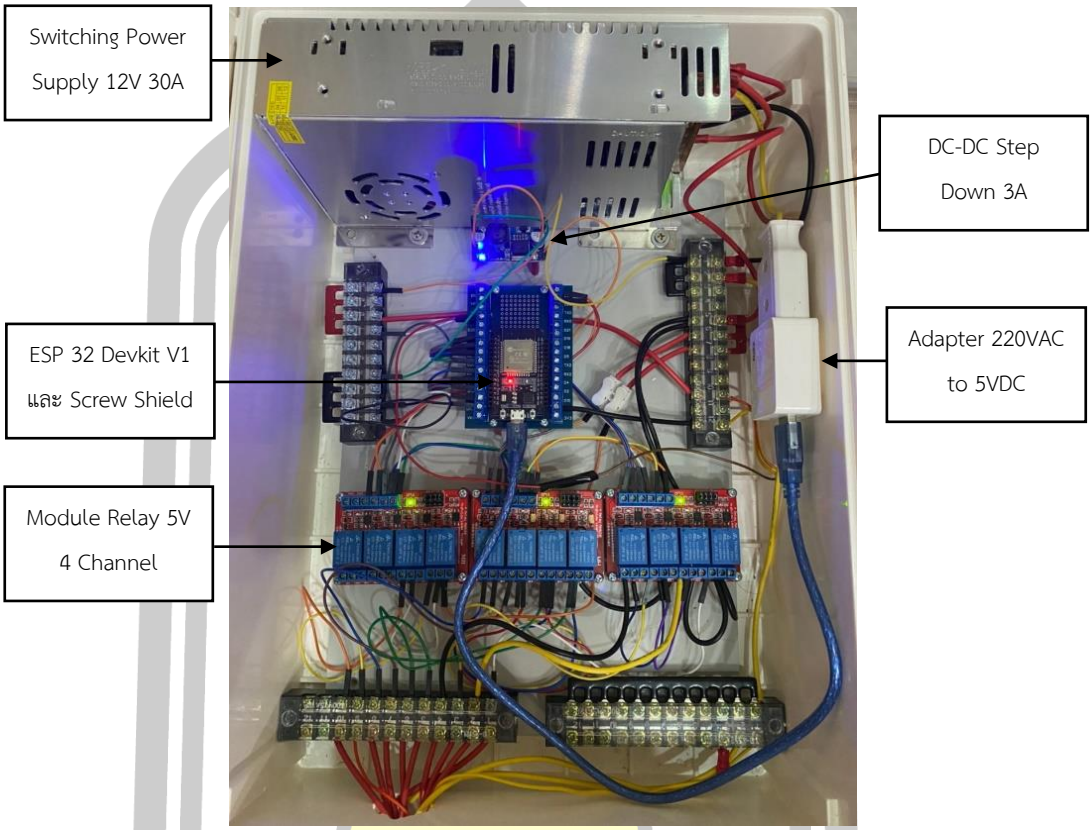


ภาพประกอบ 18 การนำอาหารออกของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว



ภาพประกอบ 19 การให้แสงสว่างแก่เนื้อเยื่อพืชด้วยหลอดไฟ

4.1.3 ระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าและหลอดไฟด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์



ภาพประกอบ 20 ระบบควบคุมวาล์วไฟฟ้าและหลอดไฟควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

จากภาพประกอบ 20 เป็นระบบควบคุมการทำงานของวาล์วไฟฟ้า และหลอดไฟของระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ ที่ออกแบบและสร้างขึ้นโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ ESP 32 Devkit V1 ที่มีความสามารถรองรับการเชื่อมต่อ Wifi ในตัว เพื่อให้ระบบมีความสามารถในการควบคุม และสังเกตการทำงานบนแอปพลิเคชัน ผ่านเครือข่ายอินเทอร์เน็ตได้ ซึ่งระบบควบคุมแบ่งออกเป็น 2 ส่วนได้แก่ ส่วน Software และ ส่วน Hardware

1) ส่วน Software

ใช้ Software Arduino IDE ในการเขียนโปรแกรม และอัปโหลดโปรแกรมไปยังไมโครคอนโทรลเลอร์ ESP 32 และสร้างแอปพลิเคชันด้วย Blynk Application บน IOS

2) ส่วน Hardware ของระบบควบคุม มีการใช้ Switching Power Supply แรงดัน 12VDC ในการจ่ายพลังงานให้กับวาล์วไฟฟ้า รวมถึงหลอดไฟ ใช้ Dc-Dc Stepdown 3A ในการจ่ายแรงดัน 5VDC ให้กับ Module Relay และใช้ Adapter แปลงไฟฟ้า 220VAC ให้เป็น 5VDC สำหรับจ่ายแรงดันให้กับไมโครคอนโทรลเลอร์

4.2 การทดสอบการทำงานของระบบการตั้งช่วงเวลาในการให้อาหาร

การทดสอบนี้จะศึกษาการทำงานของระบบการตั้งช่วงเวลาในการให้อาหารของ TIB ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ว่าสามารถทำงานตามช่วงเวลาที่กำหนดได้อย่างถูกต้อง โดยตั้งช่วงเวลาในการให้อาหาร 10 ช่วง เริ่มตั้งแต่เวลา 8.00 น. ให้อาหารทุกๆ 2 ชม. ระยะเวลาในการให้อาหาร ช่วงละ 15 นาที และตั้งระยะเวลาในการนำอาหารออกเมื่อสิ้นสุดการให้อาหาร 120 วินาที เท่ากันทั้ง 2 ชุด ดังตาราง 6

ตาราง 6 การกำหนดเวลาทดสอบการทำงานของระบบให้อาหารของ TIB

ช่วงที่	TIB ชุดที่ 1		TIB ชุดที่ 2	
	เริ่มต้น	สิ้นสุด	เริ่มต้น	สิ้นสุด
1	08.00 น.	08.15 น.	08.00 น.	08.15 น.
2	10.00 น.	10.15 น.	10.00 น.	10.15 น.
3	12.00 น.	12.15 น.	12.00 น.	12.15 น.
4	14.00 น.	14.15 น.	14.00 น.	14.15 น.
5	16.00 น.	16.15 น.	16.00 น.	16.15 น.
6	18.00 น.	18.15 น.	18.00 น.	18.15 น.
7	20.00 น.	20.15 น.	20.00 น.	20.15 น.
8	22.00 น.	22.15 น.	22.00 น.	22.15 น.
9	24.00 น.	24.15 น.	24.00 น.	24.15 น.
10	02.00 น.	02.15 น.	02.00 น.	02.15 น.

จากการทดสอบการทำงานของระบบการให้อาหารที่ตั้งเวลาตาม ตาราง 6 เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่ามีการทำงานที่ถูกต้องตามช่วงเวลาที่ตั้งไว้ การทำงานของวาล์วไฟฟ้าแต่ละสถานะสามารถทำงานได้ถูกต้องตามตาราง 4 และระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ที่สร้างขึ้น สามารถให้อาหารได้ถูกต้อง

4.3 ผลการทำงานในส่วนติดต่อสื่อสารกับผู้ใช้งานผ่านแอปพลิเคชัน Blynk

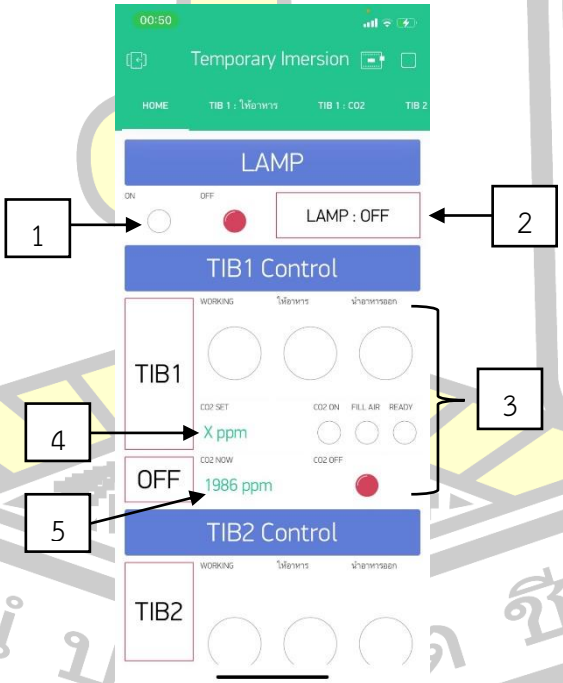
แอปพลิเคชันจะแสดงผลตามการทำงานต่างๆของระบบ TIB โดยมีการแสดงสถานะการทำงานเมื่อระบบทำงานดังนี้

4.3.1 เมนูย่อยของแอปพลิเคชัน

แอปพลิเคชันที่สร้างขึ้นประกอบด้วยเมนูย่อยที่ใช้ควบคุมและสังเกตการทำงานของระบบ ทั้งหมด 5 เมนู มีรายละเอียดดังนี้

4.3.1.1 HOME

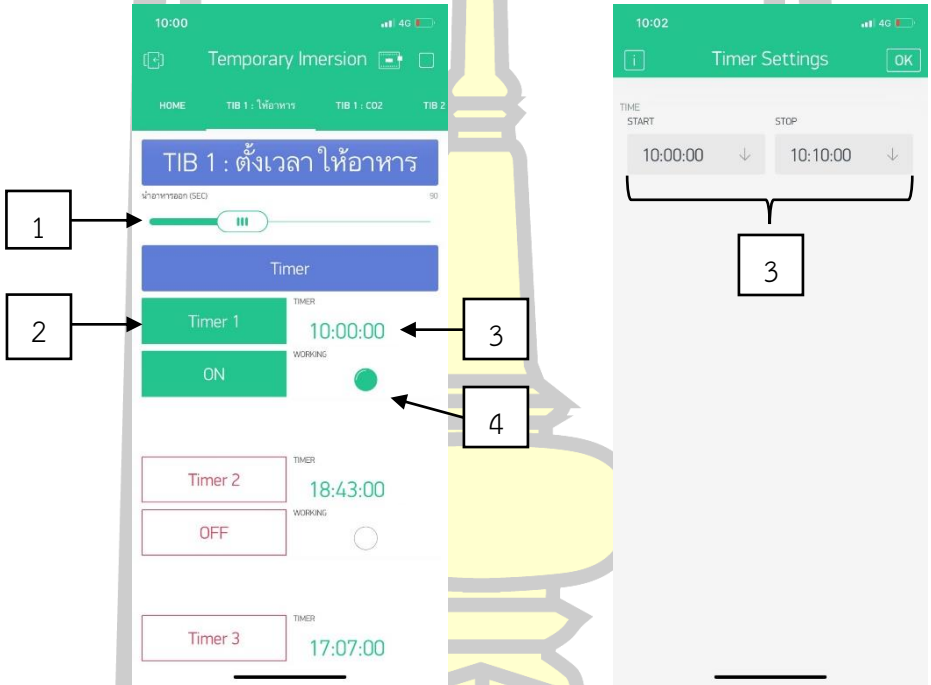
เมนู HOME เป็นส่วนที่แสดงข้อมูลภาพรวมของระบบทั้งหมด ดังภาพประกอบ 21 ซึ่งประกอบด้วย 1) หลอดแสดงสถานะ เปิด (ON) และ ปิด (OFF) ของหลอดไฟ 2) สวิตช์ควบคุมการ เปิด และปิด ของหลอดไฟ 3) หลอดแสดงสถานะการทำงานของ TIB ชุดที่ 1 4) CO2 SET คือ ค่าความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการปรับ 5) CO2 NOW คือ ค่าความเข้มข้น CO_2 ที่วัดได้ภายในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืช



ภาพประกอบ 21 ส่วนประกอบของเมนู HOME

4.3.1.2 TIB 1 : ให้อาหาร

เมนู TIB 1 : ให้อาหาร ป็นเมนูสำหรับการตั้งเวลาควบคุมการให้อาหารของ TIB ชุดที่ 1 ซึ่งสามารถตั้งช่วงเวลาการให้อาหารได้สูงสุด 10 ช่วงเวลา โดยมีวิธีการตั้งค่าดังนี้ 1) ตั้งเวลานำอาหารออก 2) เลือก Timer ที่ต้องการใช้งานให้เป็นสีเขียว ระบบจะทำงานเฉพาะช่วงเวลาที่ Timer เป็นสีเขียวเท่านั้น 3) ตั้งเวลาเริ่มต้นให้อาหารและเวลาสิ้นสุดการให้อาหาร 4) หลอดแสดงสถานะการทำงานของ Timer เมื่อถึงเวลา Start จะติด และเมื่อถึงเวลา Stop จะดับ ดังภาพประกอบ 22

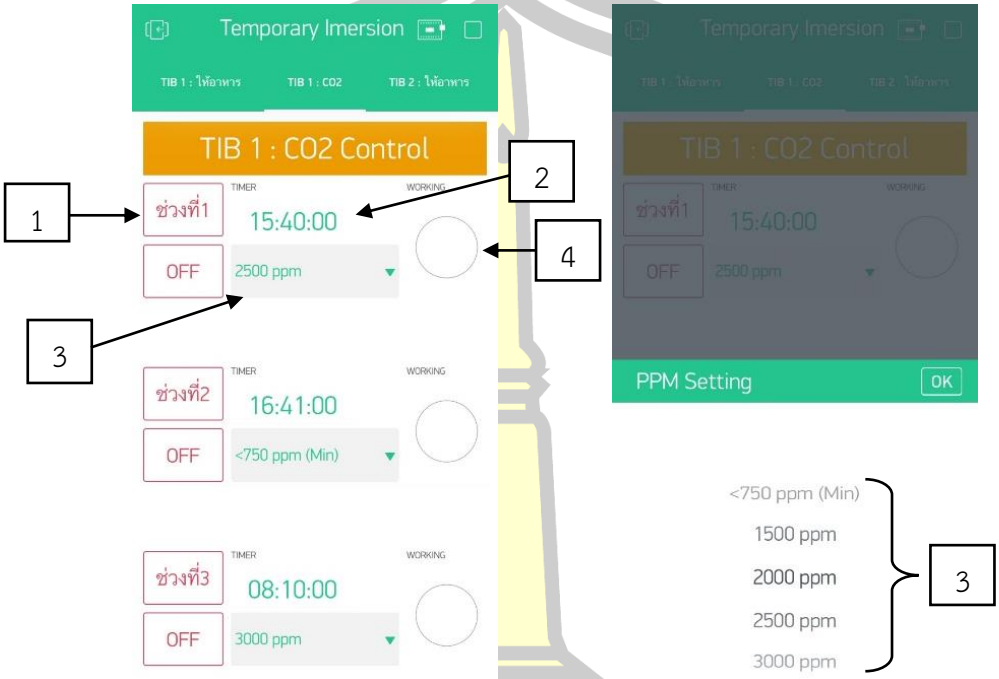


ภาพประกอบ 22 การตั้งเวลาควบคุมการให้อาหารของ TIB ชุดที่ 1

4.3.1.3 TIB 1 : CO2

เมนู TIB 1 : CO2 เป็นเมนูสำหรับการตั้งค่าในระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ TIB ชุดที่ 1 ซึ่งสามารถตั้งช่วงเวลาการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ได้สูงสุด 4 ช่วงเวลา โดยมีวิธีการตั้งค่าดังนี้ 1) เลือกช่วงเวลาการควบคุมที่ต้องการใช้งานให้เป็นสีเขียว ระบบจะทำงานเฉพาะช่วงเวลาที่เป็นสีเขียวเท่านั้น 2) ตั้งเวลาเริ่มต้นการควบคุมความเข้มข้น CO_2 และเวลาสิ้นสุดการควบคุมความเข้มข้น CO_2 3) ตั้งค่าความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการควบคุม ได้แก่ ระดับปกติ (<750 ppm) 1,500 ppm 2,000 ppm 2,500 ppm และ 3,000 ppm 4) หลอด

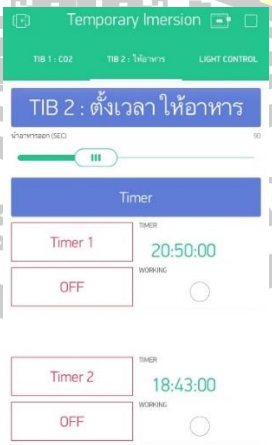
แสดงสถานะการทำงานของ Timer เมื่อถึงเวลาเริ่มต้นการควบคุมความเข้มข้น CO_2 (START) จะติด และเมื่อถึงเวลาสิ้นสุดการควบคุมความเข้มข้น CO_2 (STOP) จะดับ ดังภาพประกอบ 23



ภาพประกอบ 23 การตั้งค่าในระบบควบคุมความเข้มข้นCO_2

4.3.1.4 TIB 2 : ให้อาหาร

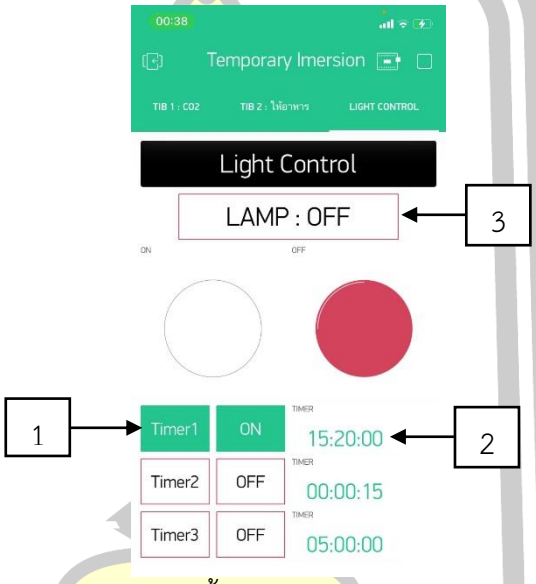
เมนู TIB 2 : ให้อาหาร ป็นเมนูสำหรับการตั้งเวลาควบคุมการให้อาหารของ TIB ชุดที่ 2 ซึ่งสามารถตั้งช่วงเวลาการให้อาหารได้สูงสุด 10 ช่วงเวลา โดยมีวิธีการตั้งค่าเหมือนกับเมนู TIB 1 : ให้อาหาร ดังภาพประกอบ 24



ภาพประกอบ 24 การตั้งเวลาควบคุมการให้อาหารของ TIB ชุดที่ 2

4.3.1.5 LIGHT CONTROL

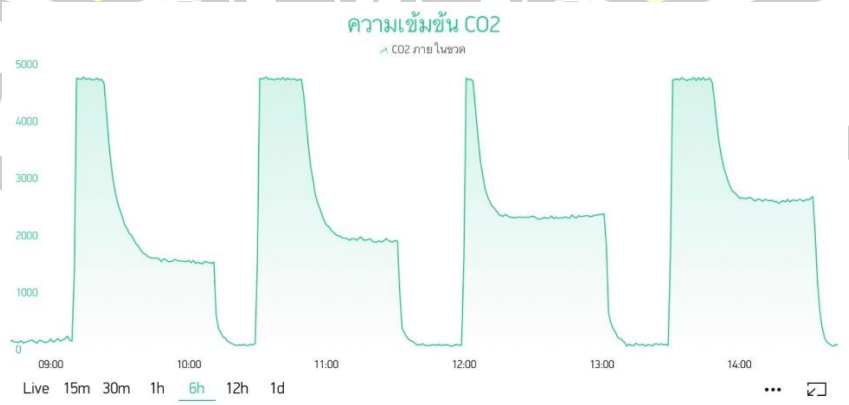
เมนู LIGHT CONTROL เป็นเมนูสำหรับตั้งเวลาในการเปิด และปิดหลอดไฟ โดยมีวิธีการตั้งค่า ดังนี้ 1) เลือก Timer ที่ต้องการใช้งานให้เป็นสีเขียว ระบบจะทำงานเฉพาะช่วงเวลาที่ Timer เป็นสีเขียวเท่านั้น 2) ตั้งเวลาเปิดหลอดไฟ และเวลาปิดหลอดไฟ 3) สวิตช์ควบคุมการ on และ off ของหลอดไฟ ดังภาพประกอบ 25



ภาพประกอบ 25 การตั้งเวลาการเปิด และปิดหลอดไฟ

4.3.2 กราฟแสดงความเข้มข้น CO_2 ภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ค่าความเข้มข้น CO_2 ภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้จากเซนเซอร์ จะแสดงเป็นกราฟบนแอปพลิเคชัน ที่ด้านล่างของเมนู HOME ดังภาพประกอบ 26 และสามารถส่งค่าจากกราฟไปยัง Email ของผู้ใช้งานได้

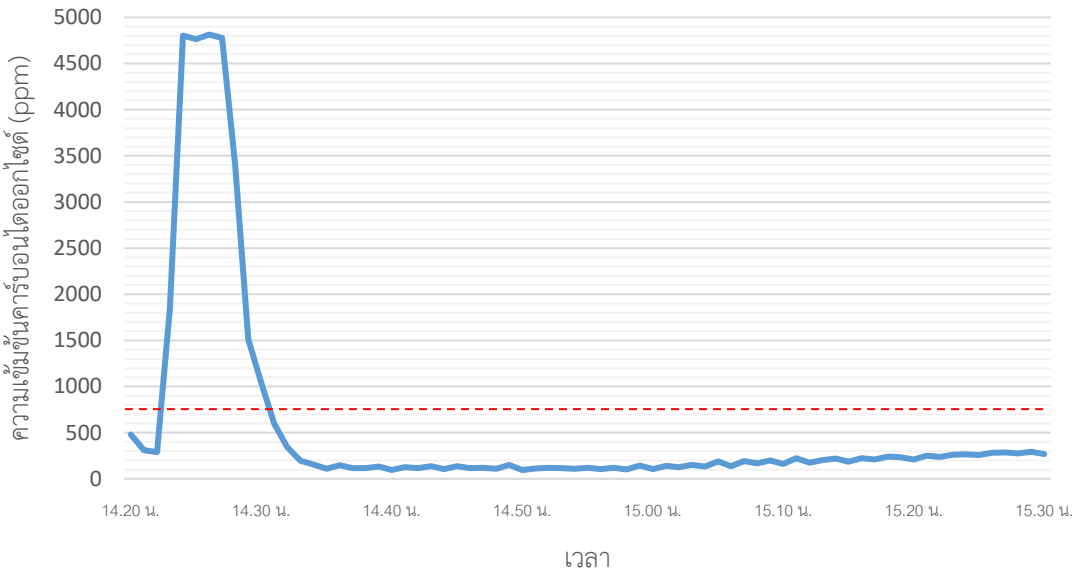


ภาพประกอบ 26 กราฟแสดงความเข้มข้น CO_2 ภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมความเข้มข้น CO_2

การทดสอบการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ ระดับปกติ (<750 ppm) 1,500 ppm 2,000 ppm 2,500 ppm และ 3,000 ppm ได้ผลลัพธ์ดังนี้

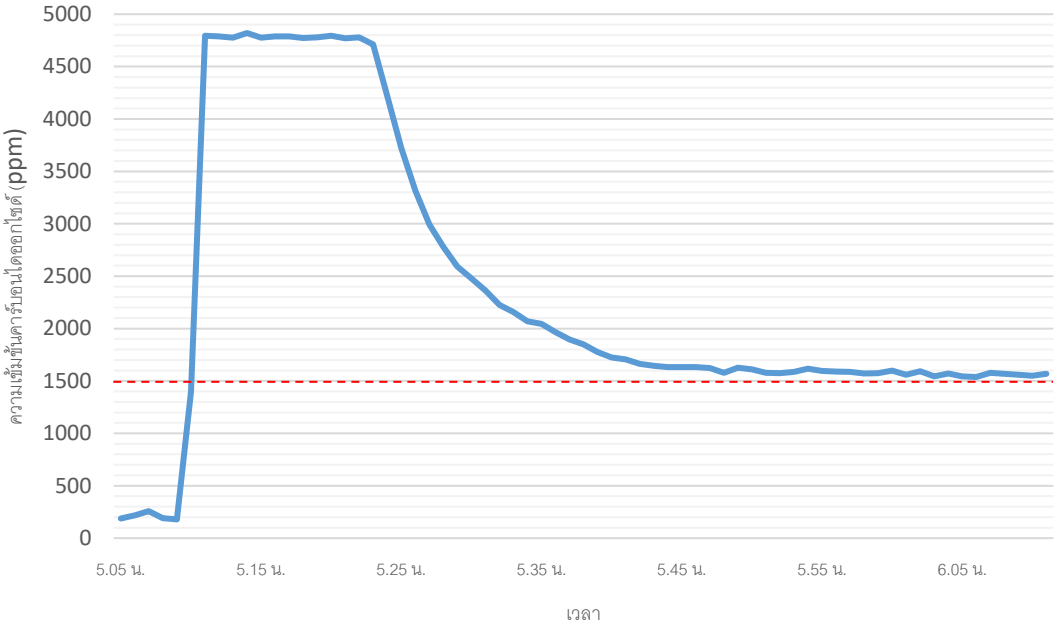
4.4.1 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับปกติ (<750 ppm)



ภาพประกอบ 27 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ <750 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง

จากภาพประกอบ 27 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ <750 ppm พบว่า ในการปรับความเข้มข้น CO_2 หลังจากเติม CO_2 เข้าสู่ภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อเป็นเวลา 0.5 วินาที ให้อยู่ในช่วง <750 ppm ใช้เวลาประมาณ 10 นาที

4.4.2 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 1,500 ppm

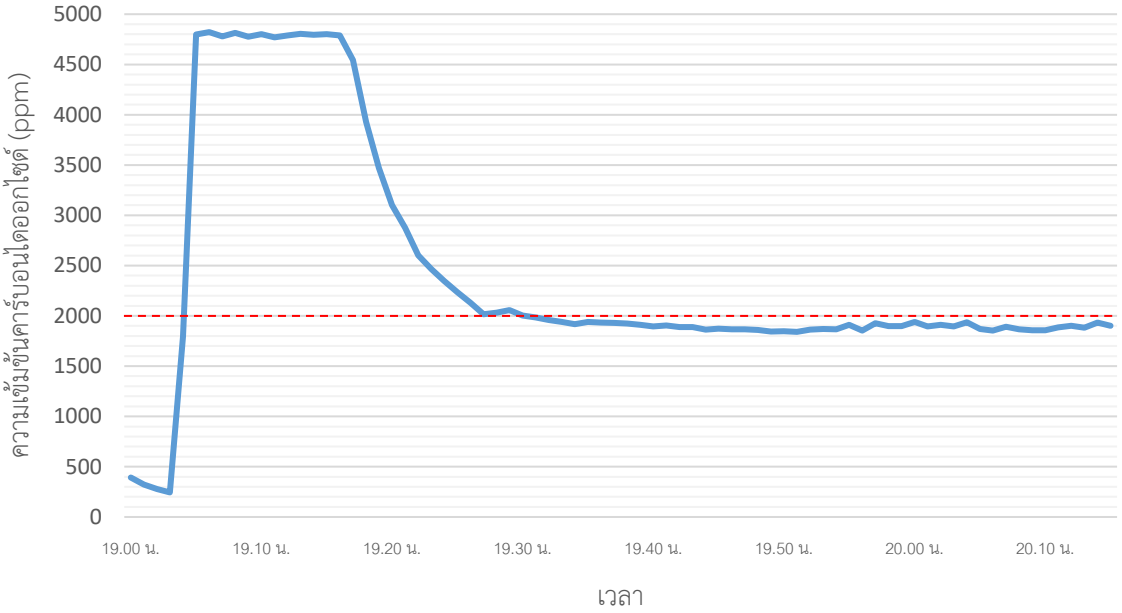


ภาพประกอบ 28 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 1,500 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง

จากภาพประกอบ 28 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 1,500 ppm พบว่าระบบใช้เวลาในการปรับความเข้มข้น CO_2 จนไปสู่ระดับที่ต้องการ ประมาณ 28 นาที และมีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 10%

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

4.4.3 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 2,000 ppm

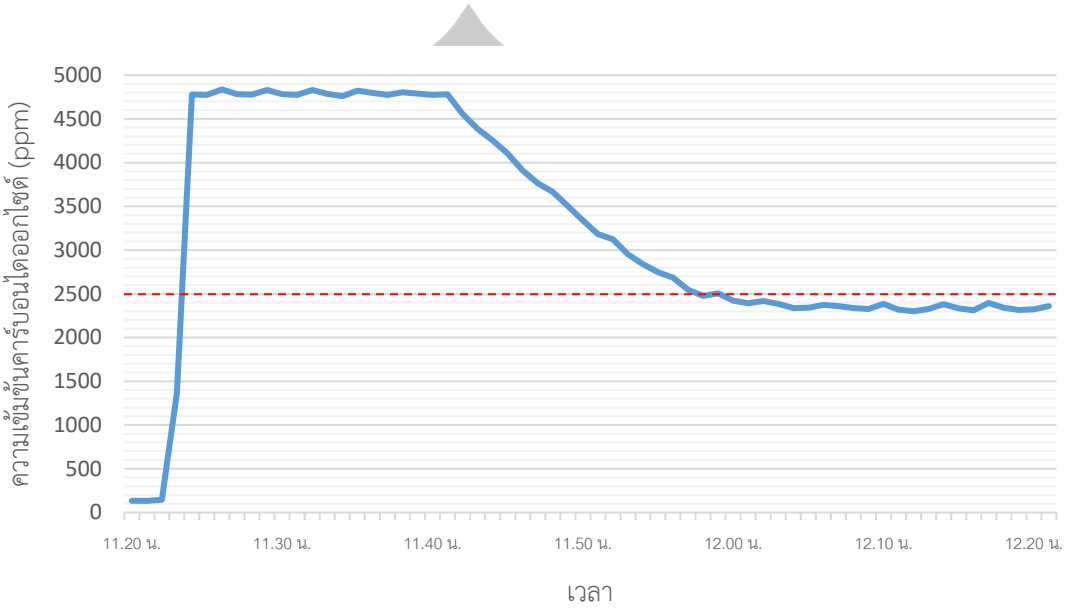


ภาพประกอบ 29 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 2,000 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง

จากภาพประกอบ 29 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 2,000 ppm พบว่าระบบใช้เวลาในการปรับความเข้มข้น CO_2 จนไปสู่ระดับที่ต้องการ ประมาณ 30 นาที และมีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 8%

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

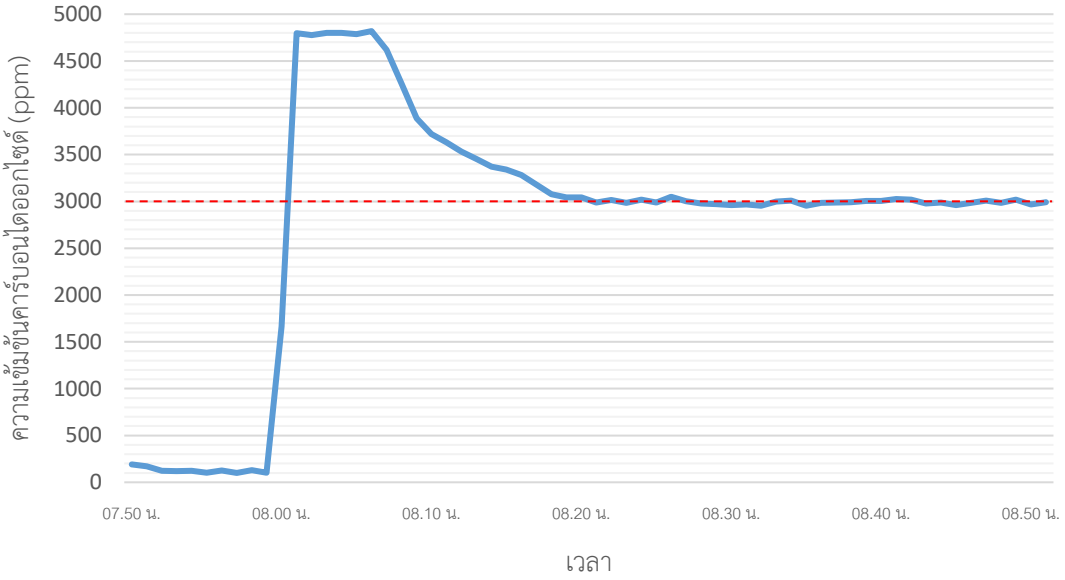
4.4.4 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 2,500 ppm



ภาพประกอบ 30 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 2,500 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง

จากภาพประกอบ 30 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 2,500 ppm พบว่าระบบใช้เวลาในการปรับความเข้มข้น CO_2 จนไปสู่ระดับที่ต้องการ ประมาณ 36 นาที และมีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 8%

4.4.5 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 3,000 ppm



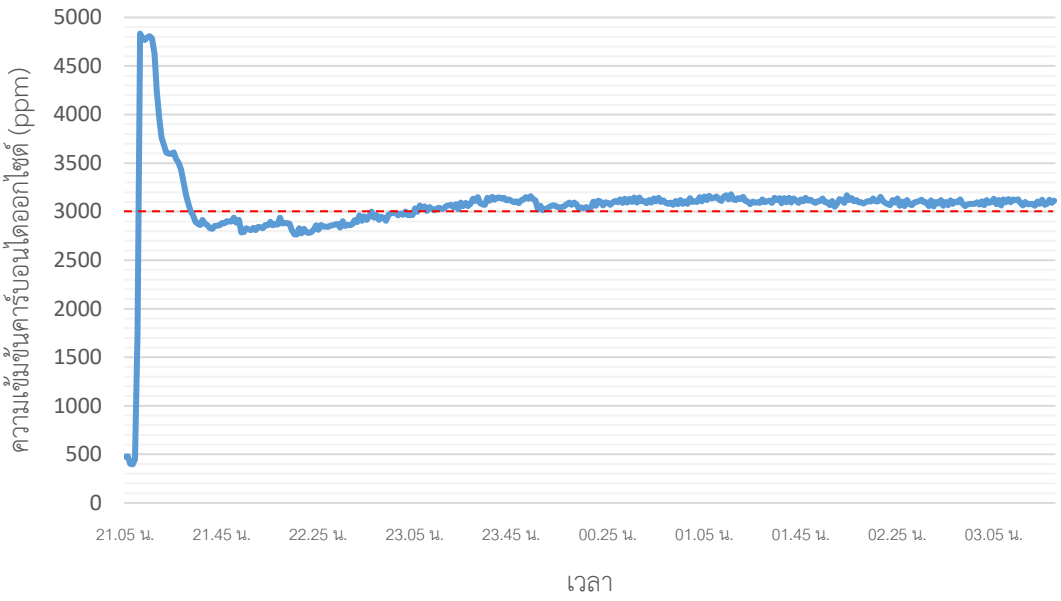
ภาพประกอบ 31 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 3,000 ppm ในเวลา 1 ชั่วโมง

จากภาพประกอบ 31 ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ที่ระดับ 3,000 ppm พบว่าระบบใช้เวลาในการปรับความเข้มข้น CO_2 จนไปสู่ระดับที่ต้องการ ประมาณ 21 นาที และมีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 10%

4.4.6 การสังเกตความเข้มข้น CO_2 หลังจากสิ้นสุดการควบคุมความเข้มข้น CO_2 แล้ว

การทดลองนี้ เป็นการสังเกตค่าความเข้มข้น CO_2 ภายในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืชหลังจากสิ้นสุดเวลาการควบคุมความเข้มข้น CO_2 แล้ว โดยตั้งความเข้มข้นที่ต้องการควบคุมไว้ที่ 3,000 ppmเวลาในการควบคุม เริ่มต้นเวลา 21.10 น. และสิ้นสุดการควบคุมที่ เวลา 22.10 น. แล้วปล่อยไว้โดยไม่มีการให้อาหาร

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว



ภาพประกอบ 32 ความเข้มข้น CO_2 หลังจากสิ้นสุดการควบคุม ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ppm

จากภาพประกอบ 21 หลังจากสิ้นสุดระยะเวลาการควบคุม ที่เวลา 22.10 น. แล้วพบว่าปริมาณความเข้มข้น CO_2 ยังคงอยู่ในระดับประมาณ 3,000 ppm แม้เวลาจะผ่านไปถึงเวลา 03.00 น. หรือระยะเวลาประมาณ 5 ชั่วโมง และมีแนวโน้มที่ความเข้มข้น CO_2 จะเพิ่มขึ้นมาหลังจากสิ้นสุดระยะเวลาการควบคุม เนื่องจากก๊าซ CO_2 ที่อาจจะยังตกค้างอยู่ภายในท่อ หรือภายในภาชนะบรรจุอาหาร

4.5 การทดสอบการตั้งเวลาการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้นของ CO_2

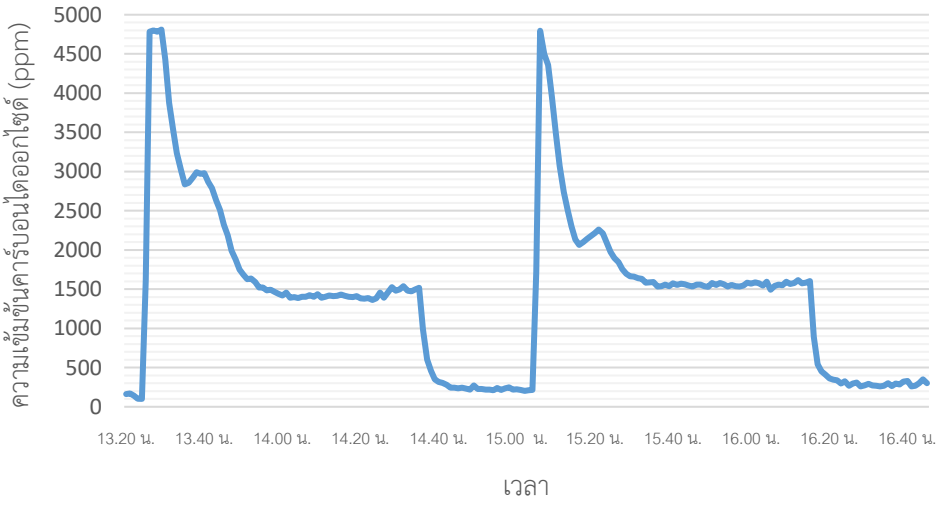
การทดสอบนี้จะศึกษาการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ของ TIB ชุดที่ 1 ว่าสามารถควบคุมความเข้มข้น CO_2 ตามช่วงเวลาที่กำหนดได้อย่างถูกต้องหรือไม่ โดยตั้งเวลาการทดสอบเป็น 4 ช่วงเวลา และกำหนดความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการควบคุม ซึ่งทำการทดสอบ 3 ครั้ง ดังนี้

4.5.1 การทดสอบการตั้งเวลาทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 1

การทดสอบครั้งที่ 1 มีการตั้งเวลาในการควบคุมความเข้มข้น CO_2 เป็น 4 ช่วงเวลา และกำหนดความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการควบคุม ดังตาราง 7 จากการทดสอบได้ผลลัพธ์ดังภาพประกอบ 33

ตาราง 7 การกำหนดเวลาทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 1

ช่วงที่	เวลา		ความเข้มข้น CO_2 (ppm)
	เริ่มต้น	สิ้นสุด	
1	13.20 น.	14.20 น.	1,500
2	14.30 น.	14.50 น.	<750
3	15.00 น.	16.00 น.	1,500
4	16.10 น.	16.30 น.	<750



ภาพประกอบ 33 กราฟแสดงผลการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 1 ที่ตั้งเวลาและความเข้มข้น CO_2 ดังตาราง 7

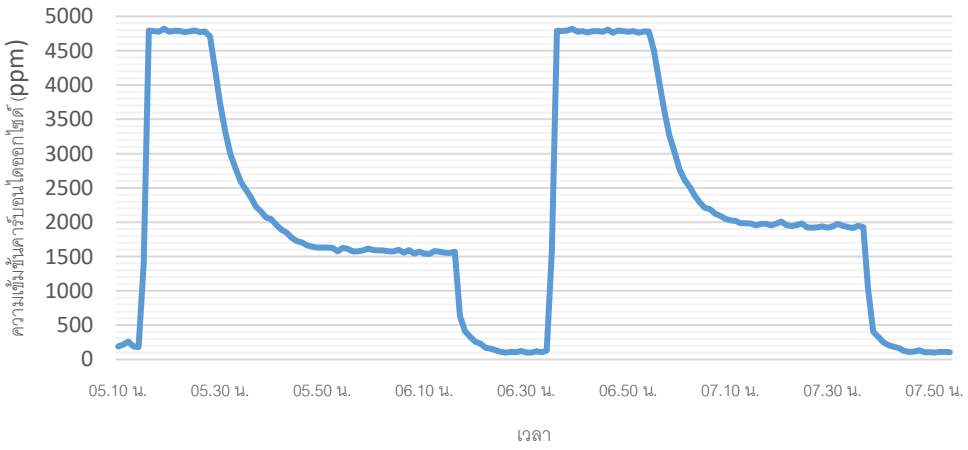
จากการทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 1 ที่ตั้งเวลา และความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการตามตาราง 7 พบว่ามีการทำงานที่ถูกต้องตามช่วงเวลาที่ตั้งไว้ และสามารถปรับปริมาณความเข้มข้น CO_2 ภายในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อให้อยู่ในช่วงที่ตั้งค่าไว้ได้อย่างถูกต้องดังภาพประกอบ 33

4.5.2 การทดสอบการตั้งเวลาทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 2

การทดสอบครั้งที่ 2 มีการตั้งเวลาในการควบคุมความเข้มข้น CO_2 เป็น 4 ช่วงเวลา และกำหนดความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการควบคุม ดังตาราง 8 จากการทดสอบได้ผลลัพธ์ดังภาพประกอบ 34

ตาราง 8 การกำหนดเวลาทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 2

ช่วงที่	เวลา		ความเข้มข้น CO_2 (ppm)
	เริ่มต้น	สิ้นสุด	
1	05.10 น.	06.10 น.	1,500
2	06.11 น.	06.29 น.	<750
3	06.30 น.	07.30 น.	2,000
4	07.31 น.	07.59 น.	<750



ภาพประกอบ 34 กราฟแสดงผลการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 2 ที่ตั้งเวลาและความเข้มข้น CO_2 ดังตาราง 8

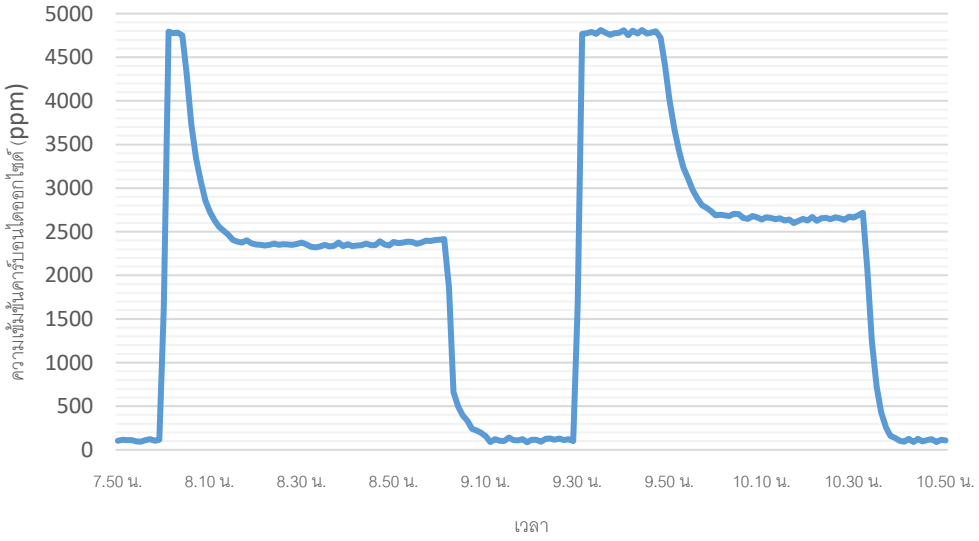
จากการทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 2 ที่ตั้งเวลา และความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการ ตามตาราง 8 พบว่ามีการทำงานที่ถูกต้องตามช่วงเวลาที่ตั้งไว้ และสามารถปรับปริมาณความเข้มข้น CO_2 ภายในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อให้อยู่ในช่วงที่ตั้งค่าไว้ได้อย่างถูกต้องดังภาพประกอบ 34

4.5.3 การทดสอบการตั้งเวลาทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 3

การทดสอบครั้งที่ 3 มีการตั้งเวลาในการควบคุมความเข้มข้น CO_2 เป็น 4 ช่วงเวลา และกำหนดความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการควบคุม ดังตาราง 9 จากการทดสอบได้ผลลัพธ์ดังภาพประกอบ 35

ตาราง 9 การกำหนดเวลาทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 3

ช่วงที่	เวลา		ความเข้มข้น CO_2 (ppm)
	เริ่มต้น	สิ้นสุด	
1	8.00 น.	9.00 น.	2,500
2	9.01 น.	9.29 น.	<750
3	9.30 น.	10.30 น.	3,000
4	10.31 น.	10.49 น.	<750



ภาพประกอบ 35 กราฟแสดงผลการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 3 ที่ตั้งเวลาและความเข้มข้น CO_2 ดังตาราง 9

จากการทดสอบการทำงานของระบบควบคุมความเข้มข้น CO_2 ครั้งที่ 3 ที่ตั้งเวลา และความเข้มข้น CO_2 ที่ต้องการดังตาราง 9 พบว่ามีการทำงานที่ถูกต้องตามช่วงเวลาที่ตั้งไว้ และสามารถปรับปริมาณความเข้มข้น CO_2 ภายในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อให้อยู่ในช่วงที่ตั้งค่าไว้ ได้อย่างถูกต้อง ดังภาพประกอบ 35

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผลการทดลอง

ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ สามารถควบคุมวาล์วไฟฟ้าเพื่อให้อาหารได้ถูกต้องตามเวลาที่กำหนด และสามารถปรับระดับความเข้มข้น CO_2 ให้อยู่ในระดับที่ต้องการได้ โดยการควบคุมวาล์วไฟฟ้าในการเติม CO_2 และเติมอากาศในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อ ตามส่วนต่างระหว่าง ความเข้มข้น CO_2 ที่ตั้งค่าไว้ กับความเข้มข้นปัจจุบันที่ได้จากเซนเซอร์ โดยหากความเข้มข้น CO_2 ในภาชนะบรรจุเนื้อเยื่อพืชต่ำกว่าค่าที่ต้องการควบคุม จะเติม CO_2 เข้าไปเป็นเวลา 0.5 วินาที และเติมอากาศเข้าไป 40-50 วินาที แล้วหน่วงเวลา 10 นาที จากนั้นจะค่อยๆ เติมอากาศเข้าไปตามความต่างของค่าความเข้มข้นที่ตั้งค่าไว้ กับค่าความเข้มข้นที่วัดได้ หากความเข้มข้น CO_2 สูงกว่าค่าที่ต้องการมาก ก็จะมีความถี่ในการเติมอากาศมาก โดยจะเติมอากาศครั้งละ 3 วินาที ในทุกๆ 1 นาที จนความเข้มข้น CO_2 เข้าใกล้ค่าที่ตั้งไว้ จะเปลี่ยนเป็นเติมอากาศเข้าสู่ระบบครั้งละ 3 วินาที ทุกๆ 3 นาที จนความเข้มข้น CO_2 อยู่ในช่วงที่กำหนดแล้ว ระบบจึงจะหยุดการเติมอากาศ

5.2 สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ควบคุมด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ที่ควบคุมชุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบจมชั่วคราว จำนวน 2 ชุด ชุดละ 1 ขวดเพาะเลี้ยง พบว่าสามารถตั้งเวลาในการให้อาหารได้อย่างสะดวก และรวดเร็วผ่านแอปพลิเคชัน สามารถให้อาหารตามช่วงเวลาที่กำหนดได้อย่างถูกต้อง ทั้ง 2 ชุด และ TIB ชุดที่ 1 สามารถปรับความเข้มข้น CO_2 ตามช่วงเวลาที่กำหนดได้อย่างถูกต้อง ผลการควบคุมความเข้มข้น CO_2 ภายในภาชนะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลาให้อยู่ในระดับปกติ (<750 ppm) ใช้เวลาประมาณ 7 นาที การควบคุมความเข้มข้น CO_2 จากระดับปกติ (<750 ppm) ให้อยู่ในระดับ 1,500 ppm ใช้เวลาประมาณ 28 นาที มีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 10% ระดับ 2,000 ppm ใช้เวลาประมาณ 30 นาที มีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 8% ระดับ

2,500 ppm ใช้เวลาประมาณ 36 นาที มีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 8% ระดับ 3,000 ppm ใช้เวลาประมาณ 21 นาที มีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 10%

5.3 ข้อเสนอแนะ

1) ในการทดลองครั้งต่อไป ควรเพิ่มจำนวนของขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในแต่ละชุดทดลอง

2) ควรใช้อุปกรณ์ที่สะอาดและมีคุณภาพ เพื่อลดการปนเปื้อนระหว่างการเพาะเลี้ยง

3) ควรมีแหล่งจ่ายพลังงานไฟฟ้าสำรองเพื่อให้ไมโครคอนโทรลเลอร์สามารถทำงานได้อย่างต่อเนื่อง แม้เกิดเหตุการณ์ไฟตก หรือไฟดับ

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

บรรณานุกรม

[1] กรมส่งเสริมการเกษตร, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. 1 ed. 2559, ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด: กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

[2] บรรจบ ธุปพงษ์, เอกสารประกอบการเรียนเรื่องการสังเคราะห์ด้วยแสงเล่มที่ 6 ปัจจัยบางประการที่มีผลต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง. 2556.

[3] นพมณี โทปุญญานนท์และคณะ, ไบโอรีแอคเตอร์ (*Bioreactor)* เขี้ยวเล็บใหม่ในวงการขยายพันธุ์พืชของไทย. วารสารเคหการเกษตร, 2549.

[4] กรมส่งเสริมการเกษตร, องค์ความรู้เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสู่การเป็น *Smart Officer* การขยายพันธุ์พืช. 2556: p. 9.

[5] ธัญญา ทะพิงค์แก, หลักการขยายพันธุ์พืช. 2554.

[6] อารยา หงษ์เพชร, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (*Plant Tissue Culture).* วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2545.

[7] สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตรกระทรวงการเกษตรและสหกรณ์, การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชสวนพันธุ์ดีโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบจมชั่วคราว. 2560.

[8] กรมส่งเสริมการเกษตร, องค์ความรู้เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสู่การเป็น *Smart Officer* การขยายพันธุ์พืช. 2556: p. 55-60.

[9] นพมณี โทปุญญานนท์และคณะ. เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบท่วมชั่วคราว *Temporary Immersion Bioreactors (TIBs)*. 2547; Available from: https://sites.google.com/site/kasetchoothai/karkestr/-tissue-culture/-temporary-immersion-bioreactors-tibs.

[10] เทคโนโลยีชีวภาพและพันธุกรรม. อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. 2554; Available from: http://vittayasat.blogspot.com/2011/07/blog-post_4478.html.

[11] Nur Inani Rezali, *The effects of different strength of MS media in solid and liquid media on in vitro growth of Typhonium flagelliforme*. 2016.

[12] บริษัท ไพฑูรย์สะพลี จำกัด. *Bioreactor Temporary Immersion Gravity Flask*. 2550; Available from: http://www.ptsinternational.com/pts-new/bio.php.

[13] สถาบันนวัตกรรมและพัฒนากระบวนการเรียนรู้. การสังเคราะห์ด้วยแสง. 2548; Available from: https://il.mahidol.ac.th/e-media/science4/plant/teacher.htm.

[14] อติโรจน์ ปพัฒน์เปรมสิริ. การสังเคราะห์อาหารด้วยแสง (*photosynthesis)*. 2560; Available

from: https://www.scimath.org/lesson-biology/item/7052-photosynthesis-7052.

[15] e-learning triamudom. สารสังเคราะห์ด้วยแสง. ม.ป.ป; Available from: http://e-learning.triamudom.ac.th/courses/62/biology12/03.html.

[16] Dan. *CO2 Tutorial - How To Add CO2 To A Grow Room*. 2019; Available from: https://www.growell.co.uk/advice/instructions/co2-generation-tutorial-how-to-add-co2-to-a-grow-room.

[17] นนท์ ปิ่นเงิน & พูนพัฒน์ พูนน้อย, การพัฒนาราสป์เบอร์รีพายสำหรับควบคุมระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว. 2562, มหาวิทยาลัยเกษมบัณฑิต.

[18] Oziel Lugo Espinosa, *Automation of a temporary immersion technique based on open platforms of hardware and software*. 2017, Universidad Autónoma del Estado de México.

[19] ปรีดาวรรณ ไชยศรีชลธาราและคณะ, ระบบวัดและควบคุมสภาวะอากาศดัดแปลงสำหรับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แบบ *Temporary Imersion Bioreactor.* 2557.

[20] ปรีดาวรรณ ไชยศรีชลธาราและคณะ, อุปกรณ์ปรับแรงดันสำหรับระบบวัดและควบคุมสภาวะอากาศดัดแปลงสำหรับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้แบบ *Temporary Imersion Bioreactor.* 2557.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายอัครวิชถ์ วูวงศ์
วันเกิด	วันที่ 5 พฤษภาคม พ.ศ.2539
สถานที่เกิด	อำเภอเมืองกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ ประเทศไทย
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 153 หมู่ 1 ตำบลเหนือ อำเภอเมือง จังหวัดกาฬสินธุ์ รหัสไปรษณีย์ 46000
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	ครูอัตราจ้าง
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	1766 ถนนสุรินทร์ ตำบลกาฬสินธุ์ อำเภอเมืองกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ 46000
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2556 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนอนุกูลนารี จังหวัดกาฬสินธุ์ พ.ศ.2561 ปริญญาครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต (ค.อ.บ.) สาขาวิศวกรรมไฟฟ้า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว