

คู่มือปฏิบัติงาน

การจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือ
และอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช



รชชัย ศรีตะปัญญะ
นักวิทยาศาสตร์ ระดับปฏิบัติการ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

คำนำ

คู่มือปฏิบัติงานการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ฉบับนี้ จัดทำขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์จัดทำขึ้นเพื่อใช้เป็นคู่มือในการปฏิบัติงานของนักวิทยาศาสตร์ เพื่อสนับสนุนการเรียนการสอนและผลงานวิจัยและเพื่อบริการสังคมแก่ผู้รับบริการ อันได้แก่ คณาจารย์ นักศึกษา หรือบุคคลอื่นที่เกี่ยวข้องทั้งภายในและภายนอก สามารถเป็นแนวทางในการปฏิบัติให้เป็นมาตรฐานเดียวกันในการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และเพื่อให้เกิดประโยชน์และประสิทธิผลสูงสุดในการใช้ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ผู้เขียนได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ เพื่อให้เป็นมาตรฐานเดียวกันและหากคู่มือเล่มนี้ขาดตกบกพร่องหรือมีข้อผิดพลาดประการใดทางผู้จัดทำพร้อมรับฟังความคิดเห็นและจะนำมาปรับปรุงคู่มือปฏิบัติงานการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเล่มนี้ อันจะเป็นประโยชน์ต่อการทำงานในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต่อไป

ธงชัย ศรีตะปัญญะ

สิงหาคม 2563

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญรูป	ค
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตของคู่มือ	2
1.5 คำจำกัดความเบื้องต้น	2
บทที่ 2 โครงสร้างและหน้าที่ความรับผิดชอบ	4
2.1 โครงสร้างของหน่วยงาน	4
2.2 ภาระหน้าที่ของหน่วยงาน	11
2.3 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง	12
2.4 หน้าที่และความรับผิดชอบ	14
บทที่ 3 หลักเกณฑ์วิธีการปฏิบัติงาน	20
3.1 หลักเกณฑ์วิธีการปฏิบัติงาน	20
3.1.1 การจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	20
3.1.2 แปลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	20
3.1.3 ลักษณะการจัดสัดส่วนของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	22
3.2 ข้อควรระวังปฏิบัติงาน	25
3.2.1 ห้องเก็บสารเคมีหรือวัสดุ	25
3.2.2 ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room)	25
3.2.3 ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room)	25

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.4 ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture room)	26
บทที่ 4 เทคนิคการปฏิบัติงาน	27
4.1 กิจกรรม/แผนปฏิบัติงาน	27
4.2 เทคนิคการปฏิบัติงาน	28
4.2.1 การเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	28
4.2.2 แปลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	30
4.2.3 ลักษณะการจัดสัดส่วนของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	31
1) ห้องพักอาจารย์ นักวิจัย หรือห้องสำนักงาน	31
2) ห้องเก็บสารเคมีหรือวัสดุ	31
3) ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room)	35
4) ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room)	43
5) ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture room)	47
4.3 การติดตามผลการปฏิบัติงาน	51
บทที่ 5 ปัญหา อุปสรรคและข้อเสนอแนะ	52
5.1 ปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะในการดำเนินงาน	52
บรรณานุกรม	

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 3.1 แผนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบที่ 1	21
รูปที่ 3.2 แผนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบที่ 2	21
รูปที่ 4.1 ห้องเตรียมอาหาร และห้องย้ายเนื้อเยื่อรวมเข้าด้วยกัน	28
รูปที่ 4.2 แผนผังห้องปฏิบัติการแบบห้องเดี่ยว	29
รูปที่ 4.3 แผนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชงานศูนย์วิทยาศาสตร์คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่	30
รูปที่ 4.2 การจัดเก็บเครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	32
รูปที่ 4.3 การจัดเก็บเครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช)	33
รูปที่ 4.4 การจัดเก็บสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	33
รูปที่ 4.5 การจัดเก็บสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	34
รูปที่ 4.6 ไม่ได้จัดเก็บสารเคมีขึ้นชั้นตามหมวดหมู่	34
รูปที่ 4.7 เครื่องชั่ง (Balance) 3 ตำแหน่ง (ก) และ เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (ข)	36
รูปที่ 4.8 เมื่อเลิกใช้เครื่องชั่งแล้วไม่เก็บทำความสะอาดที่ถูกต้องวิธี	36
รูปที่ 4.9 การจัดเตรียมเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย	38
รูปที่ 4.10 เมื่อใช้งานเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายแล้วเก็บไม่เรียบร้อย	38
รูปที่ 4.11 การจัดเตรียมเตาให้ความร้อนสำหรับหลอมอาหาร	39
รูปที่ 4.12 เตาอบไมโครเวฟ	39

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 4.13 ห้องเตรียมอาหารที่เรียบร้อยและมีสภาพที่พร้อมใช้งาน	40
รูปที่ 4.14 ห้องเตรียมอาหารที่มีสภาพที่ไม่พร้อมใช้งาน	40
รูปที่ 4.15 ตู้เย็นสำหรับเก็บสารเคมีฮอร์โมน วิตามิน และสารละลายเข้มข้นของ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	41
รูปที่ 4.16 หมอนึ่งความดันยี่ห้อ TOMY และ HIRAYAMA	42
รูปที่ 4.17 เมื่อใช้หมอนึ่งความดันไอสเสร็จแล้วไม่ได้ปิดสวิตช์ ถอดปลั๊กและเปิดฝาทิ้งไว้ นึ่งความดันไอดี	43
รูปที่ 4.18 ตู้แช่แข็งทั้งชนิดไม่	44
รูปที่ 4.19 ตู้แช่แข็งชนิดไม่และสแตนเลสสตีล	44
รูปที่ 4.20 ประตูเข้าออกเป็นกระจกชนิดบานเลื่อน	45
รูปที่ 4.21 แสดงการเปิดประตูห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) ทิ้งไว้	45
รูปที่ 4.22 หลอดยูวี (UV lamp) ติดคู่กับหลอดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence lamp) ทั้งในห้องและในตู้แช่แข็ง	46
รูปที่ 4.23 ตู้สำหรับเก็บอุปกรณ์อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	46
รูปที่ 4.24 (ก) เครื่องปรับอากาศและตัวควบคุมเวลาการทำงาน	48
รูปที่ 4.24 (ข) ตัวควบคุมเวลาการทำงานเครื่องปรับอากาศ	49
รูปที่ 4.25 (ก) และ (ข) ชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง (culture shelf)	49
รูปที่ 4.26 ชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง (culture shelf) ที่ติดหลอดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence lamp) และนาฬิกาควบคุมเวลาการปิดเปิดหลอดไฟฟ้า	50

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 4.27 เครื่องเขย่า (Shaker) สำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพอาหารเหลว	50

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) เป็นเทคโนโลยีแขนงหนึ่งที่มีประโยชน์ต่อการผลิตพืชเป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นขยายพันธุ์พืชหรือการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการนำเอาชิ้นส่วนใดชิ้นส่วนหนึ่งของพืชเช่น อวัยวะ (organ) เนื้อเยื่อ (tissue) เซลล์ (cell) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ (synthetic media) ซึ่งประกอบไปด้วยแร่ธาตุ วิตามิน น้ำตาล กรดอะมิโน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ (aseptic condition) โดยอยู่ภายในสภาพแวดล้อมที่ควบคุม เช่น อุณหภูมิ แสงสว่างและความชื้นทำให้ชิ้นส่วนดังกล่าวของพืชเจริญและพัฒนาไปเป็นแบบใดแบบหนึ่งเช่น เจริญเติบโตไปเป็นยอดอ่อน เจริญไปเป็นแคลลัส (callus) ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์พาเรงคิมา (parenchyma) ที่ไม่เปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะ ต้นหรือรากแต่ก็สามารถกระตุ้นให้เป็นต้นได้ และเจริญไปเป็นเอ็มบริอยด์ (embryoid) มีลักษณะเหมือนเอ็มบริโอ (embryo) ที่พัฒนามาจากไซโกตหรือเจริญไปเป็นต้นใหม่ได้ นักวิทยาศาสตร์พบว่าเซลล์ของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความสามารถที่จะเจริญเติบโตเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้ ความสามารถของเซลล์เช่นนี้เรียกว่า โททิโพเทนซี (totipotency) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวนี้เองทำให้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์พืช การปรับปรุงพันธุ์พืช ร่วมกับเทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์โมเลกุลเพื่อการตัดต่อจีโนมให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะที่ต้องการ

การจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญในการทำปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้ผู้ที่ทำปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบรรลุผลสำเร็จได้ด้วยดี ซึ่งห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นจะประกอบไปด้วยเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆและห้องย่อยๆอีกหลายห้องเช่น ห้องพักนักวิจัยหรือผู้ที่ทำปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ห้องเก็บสารเคมี ห้องเตรียมอาหาร ห้องย้ายเนื้อเยื่อ และห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นต้น หลายคนคิดว่าห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นห้องที่มีเทคโนโลยีค่อนข้างสูง และยากที่จะเข้าถึง แท้จริงแล้วมิได้เป็นเช่นนั้น นักเรียน นักศึกษาหรือบุคคล

ทั่วไปที่สนใจสามารถที่จะทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ถ้าหากเข้าใจในหลักการในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และมีการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้อย่างถูกต้อง

จากความเป็นมาและความสำคัญดังกล่าวผู้เขียนจึงได้มาเขียนคู่มือการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ปฏิบัติงานและผู้สนใจปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหน่วยงานศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแทนกันได้

1.2.2 เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานปฏิบัติงานเป็นมาตรฐานเดียวกัน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ผู้ปฏิบัติงานสามารถจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแทนกันได้

1.3.2 ผู้ปฏิบัติงานปฏิบัติงานเป็นมาตรฐานเดียวกัน

1.4 ขอบเขตของคู่มือ

คู่มือการปฏิบัติงานนี้ครอบคลุมขั้นตอนการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของนักวิชาการผู้ดูแลห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการเรียนการสอนรายวิชาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการอบรมเชิงปฏิบัติการ ประจำงานศูนย์วิทยาศาสตร์คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ที่ต้องจัดเตรียมเป็นประจำก่อนลงมือทำการปฏิบัติการ

1.5 คำจำกัดความเบื้องต้น

1.5.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชหรืออาจหมายถึงการเพาะเลี้ยงเซลล์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือการเพาะเลี้ยงอวัยวะในอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและปลอดเชื้อ (สมพร,2549)

1.5.2 ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง ห้องปฏิบัติการที่จัดขึ้นมีลักษณะพิเศษบางประการโดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องความปลอดภัย การปฏิบัติงานในห้องนี้จึงมีการควบคุมเป็นพิเศษเพื่อป้องกันการกระจายและควบคุมเชื้อ โดยทั่วไปจะประกอบไปด้วยห้องย่อยที่เป็นห้องหลัก 3 ห้อง คือ ห้องสำหรับเตรียมอาหาร (media preparation room) ห้องสำหรับย้ายเนื้อเยื่อ (transferection or incubation room) และห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture room) (แสงจันทร์, 2547)

บทที่ 2

โครงสร้างและหน้าที่ความรับผิดชอบ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ตั้งอยู่เลขที่ 202 ถนนช้างเผือก ตำบลช้างเผือก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50300 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีประวัติความเป็นมาพร้อมกับการก่อตั้งมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ โดยมีวิวัฒนาการตามลำดับ ตั้งแต่โรงเรียนฝึกหัดครูกรรมประจําณชลพายัพ ซึ่งเริ่มเปิดรับนักเรียนเข้าอยู่ประจำเมื่อวันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ.2467 และเปิดทำการสอนเมื่อวันที่ 19 พฤษภาคม พ.ศ.2467 จนกระทั่งปรับเปลี่ยนเป็นมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ในปัจจุบัน โดยเริ่มต้นในปี พุทธศักราช 2468เปิดทำการสอนในนาม “โรงเรียนฝึกหัดครูกรรมประจําณชลพายัพ”ที่บ้านเวียงบัว ตำบลช้างเผือก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ในปีพุทธศักราช 2470รวมเอาการฝึกหัดครูสามัญชั้นต่ำ ประจําณชลแผนกชาย มาเข้ากับโรงเรียนฝึกหัดครูกรรมประจําณชลพายัพที่ตำบลช้างเผือก และเปลี่ยนชื่อเป็น “โรงเรียนฝึกหัดครู” ประกาศนียบัตรมณชลพายัพ แต่คนทั่วไปเรียกติดปากว่า “โรงเรียนกสิกรรมช้างเผือก” ในปีพุทธศักราช 2485ปรับปรุงโรงเรียนฝึกหัดครูประกาศนียบัตรมณชลพายัพเป็นโรงเรียนฝึกหัดครูสามัญเรียกชื่อใหม่ว่า “โรงเรียนฝึกหัดครูมูล จังหวัดเชียงใหม่”ในปีพุทธศักราช 2490เปลี่ยนชื่อเป็นโรงเรียนเพื่อให้สอดคล้องกับงานผลิตครูที่ดำเนินการอยู่ โดยเรียกว่า “โรงเรียนฝึกหัดครูเชียงใหม่” และเริ่มใช้สีดำ-เหลือง เป็นสีประจำโรงเรียน และใช้สัญลักษณ์ “พระพิฆเนศวร” เทพเจ้าแห่งปัญญา เป็นสัญลักษณ์ประจำโรงเรียน ใช้คติพจน์ประจำโรงเรียนว่า “นตถิ ปัญญา สมาอาภา” ซึ่งแปลว่า “ไม่มีแสงสว่างใด เสมอด้วยปัญญา”

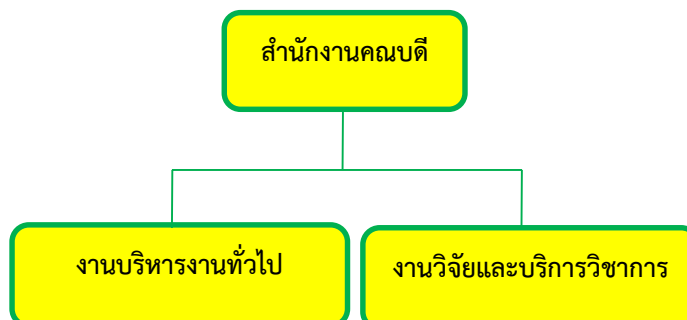
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขณะนั้นมีฐานะเป็นหลายหมวดวิชา เช่น หมวดวิชาวิทยาศาสตร์ หมวดวิชาคหกรรมศาสตร์ หมวดวิชาเกษตร หมวดวิชาพลานามัยขึ้นอยู่กับฝ่ายวิชาการ โดยมีหัวหน้าหมวดเป็นผู้บริหารหมวดต่อมาในปีพุทธศักราช 2503 เปิดสอนระดับประกาศนียบัตรวิชาการศึกษาชั้นสูง (ป.กศ.สูง) และยกฐานะขึ้นเป็น “วิทยาลัยครูเชียงใหม่” คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ยังคงมีฐานะเป็นหมวดวิชาต่าง ๆ ดังเดิม ในปีพุทธศักราช 2518 ประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู พ.ศ.2518 หมวดวิชาต่าง ๆ จึงเปลี่ยนฐานะเป็นภาควิชา สังกัดคณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมีหัวหน้าคณะวิชาเป็นผู้บริหารคณะ และหัวหน้าภาควิชาเป็นผู้บริหารภาควิชา ในปีพุทธศักราช 2528ประกาศใช้พระราชบัญญัติวิทยาลัยครู (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2528 มีการจัดการศึกษาในสาขาวิชาการศึกษา สาขาวิชาศิลปศาสตร์และสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเกษตร ยกฐานะเป็น

คณะเทคโนโลยีการเกษตร ภาควิชาพลศึกษาย้ายไปสังกัดคณะครุศาสตร์ในปีพุทธศักราช 2535 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯพระราชทานนาม “สถาบันราชภัฏ” แทนคำว่า “วิทยาลัยครู” โดยมีตราสัญลักษณ์ประจำสถาบันเป็นตราพระลัญจกร ประจำพระองค์ของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ เมื่อวันที่ 14 กุมภาพันธ์ 2535

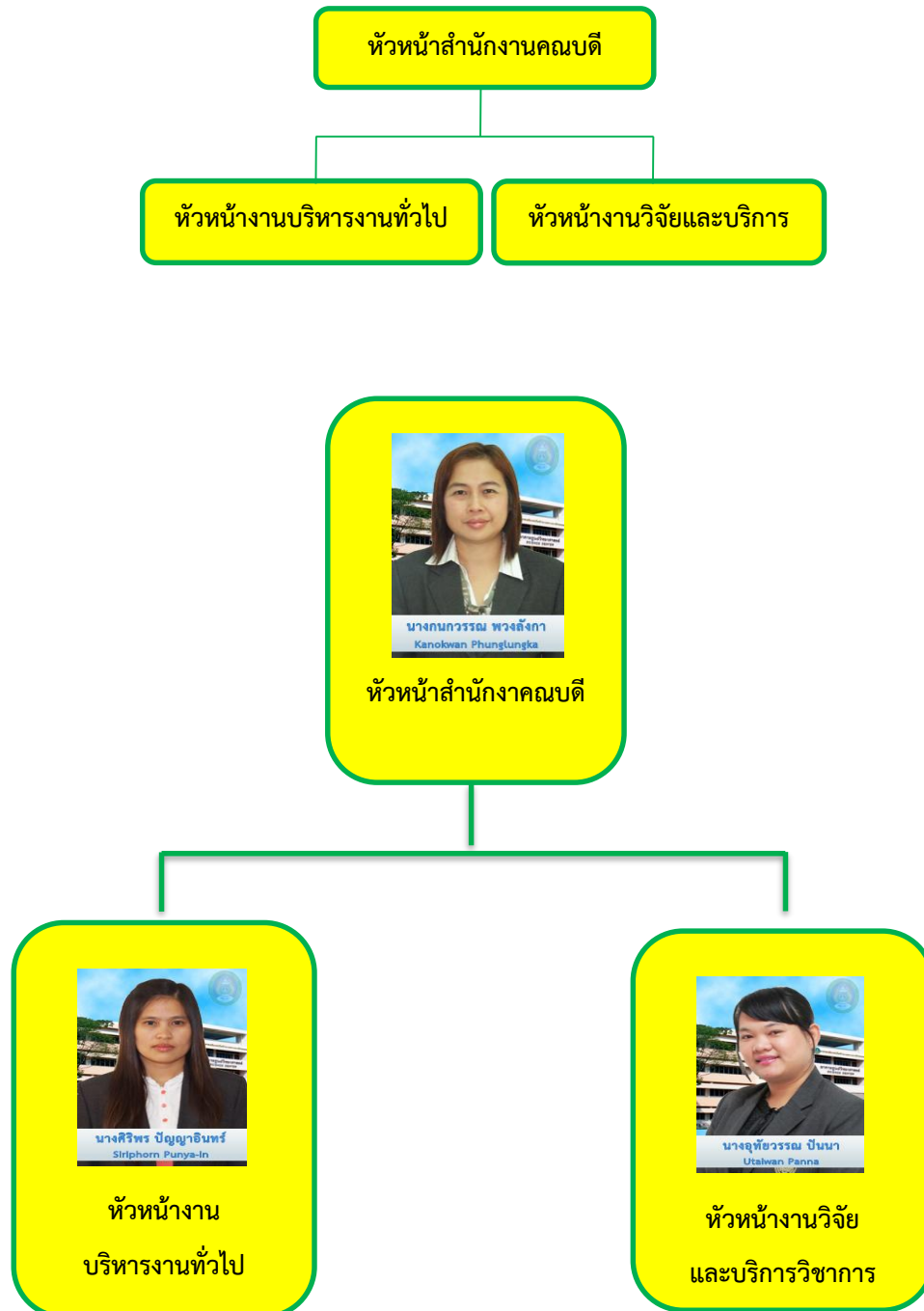
ในปีพุทธศักราช 2538 ประกาศใช้พระราชบัญญัติสถาบันราชภัฏ พ.ศ.2538 ให้สถาบันราชภัฏเป็นสถาบันอุดมศึกษาเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น โดยมีวัตถุประสงค์ให้การศึกษาวิชาการ และวิชาชีพชั้นสูง ทำการวิจัย ให้บริการทางวิชาการแก่สังคม ปรับปรุง ถ่ายทอดและพัฒนาเทคโนโลยี ทำนุบำรุง ศิลปวัฒนธรรม ผลิตครูและส่งเสริมวิทยฐานะครู โดยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมีคณบดีเป็นผู้บริหารคณะวิชา พุทธศักราช 2540คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ร่วมรับผิดชอบโครงการพัฒนาการเรียนการสอนด้านวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ (โครงการ พวส.) โดยให้สำนักงานคณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เป็นสำนักงานประสานโครงการ พวส. พุทธศักราช 2541เริ่มก่อสร้างอาคารศูนย์วิทยาศาสตร์ สถาบันราชภัฏเชียงใหม่ ในปีงบประมาณ 2541 เมื่อวันที่ 6 ตุลาคม 2540 แล้วเสร็จวันที่ 15 กันยายน 2542 ใช้งบประมาณทั้งสิ้น 38,790,000 บาท ต่อมาในปีพุทธศักราช 2543 – ปัจจุบันย้ายที่ทำงานคณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จากอาคาร 3 ชั้น 1 มาอยู่ชั้น 1 ของอาคารศูนย์วิทยาศาสตร์ เพื่อความสะดวกในการทำงานและบริหารงานทั้งศูนย์วิทยาศาสตร์และสำนักงานคณบดี ปัจจุบันอาคารศูนย์วิทยาศาสตร์หรืออาคาร 28 มีชื่ออีกชื่อหนึ่งคืออาคารเฉลิมพระเกียรติ 50 พรรษามหาชิราลงกรณ และในปีพุทธศักราช 2547-ปัจจุบันพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯลงพระปรมาภิไธยในพระราชบัญญัติมหาวิทยาลัยราชภัฏ พ.ศ.2547 เมื่อวันที่ 10 มิถุนายน 2547 อันมีผลให้ “สถาบันราชภัฏ” มีสถานภาพเป็นนิติบุคคลโดยสมบูรณ์ และใช้ชื่อ “มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่” จนถึงปัจจุบัน และคณะวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เปลี่ยนเป็นคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โดยมีโครงสร้างองค์กรดังนี้

2.1 โครงสร้างการบริหารจัดการ

2.1.1 โครงสร้างของงาน (Organization chart)



2.1.2 โครงสร้างการบริหารหน่วยงาน (Administration chart)



2.1.3 โครงสร้างการปฏิบัติงาน (Activity chart)



งานบริหารงานทั่วไป



นางศิริพร ปัญญาอินทร์

เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป



นางหุศพร ยี่นุ่น

เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป



นายประสาธ ธรรมชัย

เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป



นางนงคราญ มอญแสง

เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป



นางสาวนิพิชฌน์ เบญจกรณ์

นักวิชาการการพัสดุ



นางสุภาพร ปิณฑนติก

นักวิชาการการเงิน



นางสาวอมลรัศมี จันทน์แก้ว

นักวิเคราะห์นโยบายและแผน



นายมงคล กันทะป้อ

นักวิชาการคอมพิวเตอร์



นางสาวกรกมล พรหมายน

ผู้ปฏิบัติงานบริหาร

งานวิจัยและบริการวิชาการ



นางอุทัยวรรณ ปันนา

นักวิชาการศึกษา



นางสาวนิศยา เสนดี

นักวิชาการศึกษา



นางรุ่งทิwa แซ่แต้

นักวิชาการศึกษา



นางสาวจารวรรณ พากเพียร

นักวิชาการศึกษา



นายพิจิต พรหมสนใจ

นักวิชาการศึกษา



นายธงชัย ศรีตะปัญญะ

นักวิชาการศึกษา



นายธีรพันธ์ แซ่โง้ง

นักวิชาการศึกษา



นายไมตรี มุลกันทา

นักวิชาการศึกษา



นายวิทยา มาบุญธรรม

นักวิชาการศึกษา

งานวิจัยและบริการวิชาการ



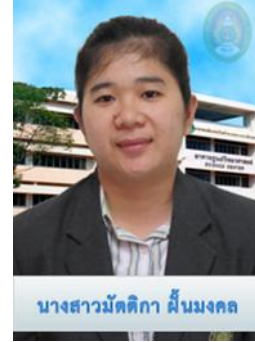
นายพงษ์ชนะ สุติมา

นักวิชาการศึกษา



นายจตุรนต์ สมบุญไชย
Jhaturon Sombunchai

นักวิชาการศึกษา



นางสาวมัตติกา ปิ่นมงคล

นักวิชาการศึกษา



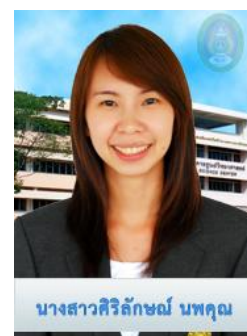
นางณอมขวัญ เรียบเรียง

นักวิชาการศึกษา



นางกมลพรหม เมืองมา

นักวิชาการศึกษา



นางสาวศิริลักษณ์ นพคุณ

นักวิชาการศึกษา



นายทองศักดิ์ ปาระมีศรี

นักวิชาการศึกษา



นายเจษฎา มีทรัพย์

นักวิชาการศึกษา



นางจันทร์จิรา สมจิต

นักวิชาการศึกษา

งานวิจัยและบริการวิชาการ



นางสาวลักษณนารา คำาศ

นักวิชาการศึกษา



นางสาวทัศนีย์ ไชยชัย

นักวิชาการศึกษา



นางสาวอจรร่า คำาศ

นักวิชาการศึกษา



นายกริชา ปิณฑนติก

นักวิชาการศึกษา



นายณัฐพร ปิงมูลทา

นักวิชาการศึกษา

2.2 ภาระหน้าที่ของสำนักงานคณบดี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ มีภาควิชาในสังกัดจำนวน 9 ภาควิชา ประกอบไปด้วย ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ ภาควิชาเคมี ภาควิชาชีววิทยา ภาควิชาฟิสิกส์และวิทยาศาสตร์ทั่วไป ภาควิชาคอมพิวเตอร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ภาควิชาสาธารณสุขศาสตร์ ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มีการกำหนดโครงสร้างการบริหารงานภายในสำนักงานคณบดี ออกเป็น 2 กลุ่มงาน คือ

1. กลุ่มงานบริหารงานทั่วไป ประกอบไปด้วย งานสารบรรณ งานบุคคล งานประกันคุณภาพการศึกษา งานพัสดุ งานแผนและงบประมาณ งานการเงิน งานการประชุม งานประกันคุณภาพการศึกษา งานสารสนเทศ งานสวัสดิการ
2. กลุ่มงานวิจัยและบริการวิชาการ ประกอบไปด้วย งานวิชาการด้านหลักสูตร ระดับปริญญาตรี และปริญญาโท งานวิจัยและบริการวิชาการ งานกิจการนักศึกษา งานในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ และงานประกันคุณภาพการศึกษา

2.3 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง

หน้าที่และความรับผิดชอบของตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ ตามมาตรฐานกำหนดตำแหน่ง นักวิชาการศึกษาที่กำหนดโดย ก.พ.อ. ได้ระบุบทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการไว้ดังนี้

ปฏิบัติงานในฐานะผู้ปฏิบัติงานที่มีประสบการณ์ โดยใช้ความรู้ ความสามารถ ความชำนาญงาน ทักษะ และประสบการณ์สูงในงานด้านวิชาการศึกษา ปฏิบัติงานที่ต้องทำการศึกษาค้นคว้า วิเคราะห์ สังเคราะห์หรือวิจัย เพื่อปฏิบัติงานหรือพัฒนางาน หรือแก้ไขปัญหาในงานที่มีความยุ่งยากและมีขอบเขตกว้างขวางและปฏิบัติงานอื่นที่ได้รับมอบหมาย หรือ ปฏิบัติงานในฐานะหัวหน้างาน มีหน้าที่และความรับผิดชอบในการควบคุมการปฏิบัติงานด้านวิทยาศาสตร์ที่มีขอบเขตเนื้อหาของงานหลากหลาย และมีขั้นตอนการทำงานที่ยุ่งยากซับซ้อนค่อนข้างมาก โดยต้องกำหนดแนวทางการทำงานที่เหมาะสมกับสถานการณ์ ตลอดจนกำกับ ตรวจสอบผู้ปฏิบัติงานเพื่อให้งานที่รับผิดชอบสำเร็จตามวัตถุประสงค์ และปฏิบัติหน้าที่อื่นตามที่ได้รับมอบหมาย

โดยมีลักษณะงานที่ปฏิบัติในด้านต่างๆดังนี้

1. ด้านการปฏิบัติการ

(1) ศึกษา ค้นคว้า ทดลอง วิเคราะห์ สังเคราะห์หรือวิจัยและพัฒนาแนวทางวิธีการในงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จัดทำเอกสารวิชาการ คู่มือ เกี่ยวกับงานในความรับผิดชอบและเผยแพร่ผลงานด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เพื่อสร้างองค์ความรู้ แลกเปลี่ยนการเรียนรู้ ประสานพัฒนาแนวคิดทางเทคนิควิชาการ พัฒนางานวิชาการ พัฒนาอุตสาหกรรมด้านต่าง ๆ หาวิธีการแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และพัฒนามาตรฐานการปฏิบัติงานให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

(2) วิเคราะห์ ทดสอบ ตรวจสอบ ตรวจวัด ตรวจพิสูจน์ วินิจฉัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีของวัตถุตัวอย่าง สอบเทียบเครื่องมือ อุปกรณ์วัด ที่ต้องใช้เทคนิคและประสบการณ์ รักษาระบบบริหารงานคุณภาพเพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการและทันต่อความก้าวหน้าของวิทยาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ทำความเห็น สรุปรายงาน แสอแนะ จัดทำฐานข้อมูลห้องปฏิบัติการ ส่งเสริม สนับสนุน พัฒนาห้องปฏิบัติการ เพื่อแก้ปัญหา เพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันและนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

(3) ให้บริการวิชาการด้านต่าง ๆ เช่น พัฒนาหลักสูตรฝึกอบรม ผลิตภัณฑ์ การฝึกอบรม ดำเนินการจัดฝึกอบรม เผยแพร่ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับหลักการและวิธีการของงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ให้คำปรึกษา แนะนำ ตอบปัญหาชี้แจงเรื่องต่างๆเกี่ยวกับงานในหน้าที่เพื่อให้สามารถปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้อง มีประสิทธิภาพเข้าร่วมประชุมคณะกรรมการต่างๆที่ได้รับแต่งตั้งเพื่อให้ข้อมูลทางวิชาการประกอบการพิจารณาตัดสินใจ และปฏิบัติหน้าที่อื่น ที่เกี่ยวข้อง

(4) ในฐานะหัวหน้างาน นอกจากอาจปฏิบัติงานตามข้อ (๑)-(๓) ดังกล่าวข้างต้นแล้วต้องทำหน้าที่กำหนดแผนงาน มอบหมาย ควบคุม ตรวจสอบ ให้คำปรึกษา แนะนำ ปรับปรุงแก้ไข ติดตาม ประเมินผล และแก้ไขปัญหาข้อขัดข้องในการปฏิบัติงานในหน่วยงานที่รับผิดชอบ เพื่อให้การปฏิบัติงานบรรลุเป้าหมายและผลสัมฤทธิ์ที่กำหนด (5) ศึกษา วิเคราะห์ เสนอความเห็น และจัดทำกิจกรรมความร่วมมือกับต่างประเทศเพื่อส่งเสริมสนับสนุนด้านการศึกษาตามโครงการความร่วมมือกับต่างประเทศ

2. ด้านการวางแผน

ร่วมกำหนดนโยบายและแผนงานของหน่วยงานที่สังกัด วางแผนหรือร่วมวางแผนการทำงานตามแผนงานหรือโครงการของหน่วยงาน แก้ไขปัญหาในการปฏิบัติงาน เพื่อให้การดำเนินงานบรรลุตามเป้าหมายและผลสัมฤทธิ์ที่กำหนด

3. ด้านการประสานงาน

(1) ประสานการทำงานร่วมกันโดยมีบทบาทในการให้ความเห็นและคำแนะนำเบื้องต้นแก่สมาชิกในทีมงาน หรือหน่วยงานอื่น เพื่อให้เกิดความร่วมมือและผลสัมฤทธิ์ตามที่กำหนดไว้

(2) ให้ข้อคิดเห็นหรือคำแนะนำเบื้องต้นแก่สมาชิกในทีมงาน หรือบุคคล หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อสร้างความเข้าใจและความร่วมมือในการดำเนินงานตามที่ได้รับมอบหมาย

4. ด้านการบริการ

(1) ให้คำปรึกษา แนะนำ นิเทศ ฝึกอบรม ถ่ายทอดความรู้ ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แก่ผู้ได้บังคับบัญชา นักศึกษา ผู้รับบริการทั้งภายในและภายนอกหน่วยงาน รวมทั้งตอบปัญหาและชี้แจงเรื่องต่าง ๆ เกี่ยวกับงานในหน้าที่ เพื่อให้มีความรู้ความเข้าใจ และสามารถดำเนินงานได้อย่างถูกต้อง

(2) พัฒนาข้อมูล จัดทำเอกสารวิชาการ สื่อเอกสารเผยแพร่ ให้บริการวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ซับซ้อน เพื่อก่อให้เกิดการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ ที่สอดคล้อง และสนับสนุนภารกิจของหน่วยงาน

คุณสมบัติเฉพาะสำหรับตำแหน่ง

1. มีคุณสมบัติสำหรับตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ระดับปฏิบัติการและ
2. เคยดำรงตำแหน่งประเภทเชี่ยวชาญเฉพาะ ระดับปฏิบัติการมาแล้วไม่น้อยกว่า 6 ปี
กำหนดเวลา 6 ปี ให้ลดเป็น 4 ปี สำหรับผู้มีคุณสมบัติเฉพาะสำหรับตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ระดับปฏิบัติการ ข้อ 2 กำหนดเวลา 6 ปี ให้ลดเป็น 2 ปี สำหรับผู้มีคุณสมบัติเฉพาะสำหรับตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ระดับปฏิบัติการ ข้อ 3 หรือตำแหน่งประเภทอื่นตามหลักเกณฑ์และเงื่อนไขที่ ก.พ.อ. กำหนด และ

3. ปฏิบัติงานด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หรืองานอื่นที่เกี่ยวข้องเหมาะสมกับหน้าที่ความรับผิดชอบและลักษณะงานที่ปฏิบัติมาแล้วไม่น้อยกว่า 1 ปี

ความรู้ความสามารถ ทักษะ และสมรรถนะที่จำเป็นสำหรับตำแหน่ง

ความรู้ความสามารถ ทักษะ และสมรรถนะที่จำเป็นสำหรับตำแหน่งให้เป็นไปตามที่สภาสถาบันอุดมศึกษากำหนด

2.4 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของ นายรัชชัย ศรีตะปัญญะ

1. งานจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ
2. งานดูแลเครื่องมือวิทยาศาสตร์
3. งานจัดอบรมภายใน-ภายนอกและบริการทางด้านการวิชาการ
4. งานบริการด้านงานวิจัย
5. งานจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
6. งานอื่น ๆ ที่ได้รับมอบหมาย

1. งานจัดเตรียมห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์

โดยการตรวจเช็คความพร้อมห้องเรียนให้มีความพร้อมที่จะใช้งานดังต่อไปนี้

- 1.1 ตรวจเช็คเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่จะใช้เรียนปฏิบัติการในแต่ละภาคเรียนให้อยู่ในสภาพที่มีความพร้อมใช้งาน
- 1.2 ตรวจเช็คอ่างน้ำสำหรับล้างวัสดุอุปกรณ์เครื่องแก้วที่โต๊ะในห้องปฏิบัติการแต่ละโต๊ะ
- 1.3 ตรวจเช็คหลอดไฟ แสงสว่างว่ามีความเพียงพอต่อการใช้งานหรือไม่
- 1.4 ตรวจเช็คโปรเจกเตอร์และคอมพิวเตอร์ ไมโครโฟน ที่มีในห้องปฏิบัติการ

หากตรวจพบว่ามีสิ่งหนึ่งสิ่งใดข้างต้นอยู่ในสภาพที่ไม่พร้อมใช้งานให้ดำเนินการแก้ไขเบื้องต้นหากนอกเหนือความสามารถให้ทำบันทึกแจ้งผ่านคณะเพื่อให้มหาวิทยาลัยมาช่วยดูแลให้และดำเนินการต่อ หากเป็นเครื่องมือวิทยาศาสตร์ให้ติดต่อช่างผู้ที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะเครื่องมือชิ้นๆ หรือติดต่อบริษัทผู้แทนจำหน่ายให้ส่งช่างมาตรวจเช็คเบื้องต้นให้

2.งานดูแลเครื่องมือวิทยาศาสตร์

โดยการตรวจเช็คความพร้อมของเครื่องมือวิทยาศาสตร์ประจำชั้น 4 อาคารศูนย์วิทยาศาสตร์ให้มีความพร้อมใช้งานดังต่อไปนี้

- 1.5 ตรวจเช็คเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่มีในแต่ละห้องปฏิบัติการและห้องเก็บเครื่องมือวิทยาศาสตร์ให้อยู่ในสภาพที่มีความพร้อมใช้งาน
- 1.6 หากตรวจพบว่ามีสิ่งหนึ่งสิ่งใดข้างต้นอยู่ในสภาพที่ไม่พร้อมใช้งานให้ดำเนินการแก้ไขเบื้องต้น

1.7 หากนอกเหนือความสามารถให้ติดต่อช่างผู้ที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะเครื่องมือนั้นๆหรือ
ติดต่อบริษัทผู้แทนจำหน่ายให้ส่งช่างมาตรวจเช็คเบื้องต้น

1.8 หากเครื่องมือวิทยาศาสตร์นั้นเสียหรือชำรุดให้ดำเนินการซ่อมตามระเบียบงานของพัสดุ

3. งานจัดอบรมภายใน-ภายนอกและบริการทางด้านวิชาการ

3.1 ติดต่อประสานงานกับหน่วยงานภายใน-ภายนอกที่จะมารับบริการทางวิชาการเรื่องวัน
เวลา สถานที่ หัวข้อเรื่องที่จะให้บริการวิชาการ

3.2 จัดเตรียมเอกสารประกอบการจัดอบรมให้ตรงกับหัวข้อและความต้องการของผู้ที่จะรับ
บริการ หรือตามคำร้องขอของผู้รับบริการ

3.3 จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์ สารเคมี เครื่องมือ และสถานที่ ที่จะใช้สำหรับจัดฝึกอบรมบริการ
วิชาการ

3.4 ดำเนินการให้บริการจัดอบรมหรือบริการวิชาการ

3.5 จัดเก็บวัสดุอุปกรณ์ สารเคมี เครื่องมือ และสถานที่ ที่ดำเนินการจัดอบรมบริการวิชาการ

4. งานบริการด้านงานวิจัย

4.1 ให้คำปรึกษานักศึกษาเกี่ยวกับงานวิจัย เช่น วิธีการทดสอบ ทดลองที่ถูกต้องเหมาะสม

4.2 สอนหรือให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการใช้งานเครื่องมือวิทยาศาสตร์ การดูแลรักษาหลังการ
ใช้งานเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องวิธี

4.3 ให้บริการ ยืม-คืน เครื่องมือวิทยาศาสตร์ให้นักศึกษาและอาจารย์และนักวิจัย

4.4 ให้บริการ ยืม – คืน เครื่องแก้วให้นักศึกษาและอาจารย์และนักวิจัย

4.5 เก็บรวบรวมข้อมูลสถิติการมาขอใช้บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ การมาขอใช้บริการ
ห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวิจัย

6. ดูแลภาพรวมความเรียบร้อยการมาใช้บริการงานวิจัยของนักศึกษา อาจารย์ หรือนักวิจัย

5. งานจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

จัดเตรียมและตรวจเช็คความพร้อมห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้มีความพร้อมที่จะ
ใช้งานดังต่อไปนี้

5.1 จัดเตรียมห้องปฏิบัติการเตรียมอาหาร (media preparation room)

5.2 จัดเตรียมห้องปฏิบัติการย้ายเนื้อเยื่อ (transferation or incubation room)

5.3 จัดเตรียมห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room)

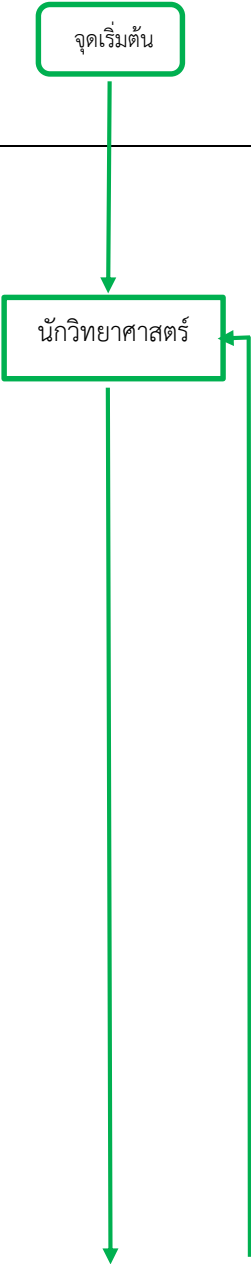
6. งานอื่นๆ

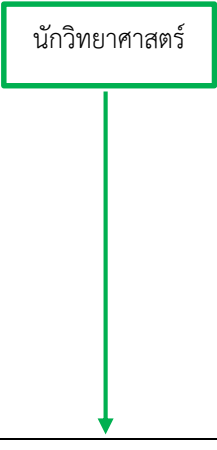
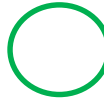
6.1 ปฏิบัติงานกรรมการจัดทำข้อสอบ

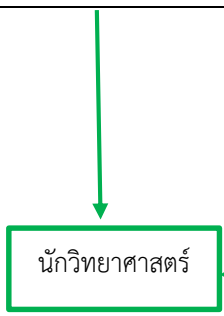
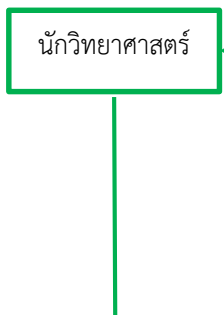
6.2 ปฏิบัติงานกรรมการกลางส่งและรับข้อสอบ

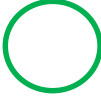
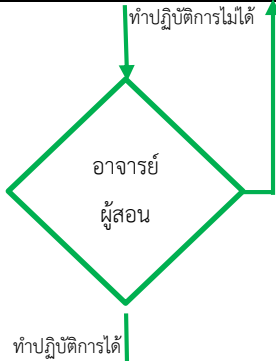
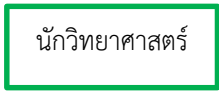
6.3 รับผิดชอบปิด-เปิดอาคารศูนย์วิทยาศาสตร์ประจำเดือน

จากภาระหน้าที่ที่ได้รับมอบหมายดังกล่าวข้างต้น ผู้เขียนได้เลือกเอางานจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาเขียนเป็นคู่มือการปฏิบัติงาน โดยมี Flow Chart ดังนี้

ผู้รับผิดชอบ	แผนภูมิสายงาน Flow chart	ขั้นตอน / วิธีดำเนินการ	เอกสารที่เกี่ยวข้อง	ระยะเวลา ดำเนินการ
	 <pre> graph TD A[จุดเริ่มต้น] --> B[นักวิทยาศาสตร์] B --> C(()) </pre>	สำรวจความพร้อมของห้องปฏิบัติการเตรียมอาหาร (media preparation room) เช่นโต๊ะปฏิบัติการ แก้วอ้อมีเพียงพอต่อจำนวนนักศึกษาที่ลงทะเบียนเรียนในรายวิชาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหรือไม่เป็นห้องที่โปร่งอากาศถ่ายเทได้ดี มีมุมสำหรับฆ่า (sterilization area) ซึ่งมีหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) เตาอบฆ่าเชื้อ (Hot air oven) เตาหลอมละลายอาหารอาจเป็นเตาไฟฟ้า เตาไมโครเวฟหรือเตาแก๊ส ตู้เย็น (Refrigerator) สำหรับใช้เก็บสต็อกสารเคมีและฮอร์โมน สำหรับปรับความเป็นกรดเป็นด่างซึ่งมีเครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) มีเครื่องชั่ง 3 หรือ 4 ตำแหน่งสำหรับชั่งสาร (Balance) และมีมุมสำหรับล้างอุปกรณ์เครื่องแก้ว	-	ภายใน 10 นาที
				

ผู้รับผิดชอบ	แผนภูมิสายงาน Flow chart	ขั้นตอน / วิธีดำเนินการ	เอกสารที่เกี่ยวข้อง	ระยะเวลา ดำเนินการ
				
งานศูนย์ วิทยาศาสตร์		สำรวจความพร้อมของห้องปฏิบัติการย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) ว่าสะอาด ปราศจากสิ่งปนเปื้อนและมีสภาวะที่ปลอดภัย มีความพร้อมในการใช้งานหรือไม่ ซึ่งในห้องจะประกอบไปด้วยตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air flow cabinet) โต๊ะสำหรับวางของ เครื่องปรับอากาศ ตู้เก็บอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วหรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดแต่ง ทำความสะอาดและเพาะเนื้อเยื่อพืช		ภายใน 5 นาที
งานศูนย์ วิทยาศาสตร์		สำรวจความพร้อมของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room) มีสภาวะที่เหมาะสมหรือไม่โดยควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 25 องศาเซลเซียสและมีแสงสว่าง 1000-3000 ลักซ์ ซึ่งเหมาะแก่การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชและเป็นห้องที่ปลอดภัยมากที่สุด ภายในห้องจะประกอบไปด้วยชั้นวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture shelf) เครื่องเขย่า (Shaker) เครื่องปรับอากาศ พัดลมดูดอากาศ		ภายใน 5 นาที
				

ผู้รับผิดชอบ	แผนภูมิสายงาน Flow chart	ขั้นตอน / วิธีดำเนินการ	เอกสารที่เกี่ยวข้อง	ระยะเวลา ดำเนินการ
				
งานศูนย์ วิทยาศาสตร์		สำรวจความพร้อมของเครื่องมือที่ใช้สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชว่าอยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งานหรือไม่มีจำนวนเพียงพอต่อการใช้งานหรือไม่ <u>กรณีพร้อม</u> เครื่องมือมีพร้อมสำหรับปฏิบัติการอยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งานและมีปริมาณที่เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษา <u>กรณีไม่พร้อม</u> อุปกรณ์ไม่พร้อมใช้งานหรือเครื่องมือชำรุดให้ดำเนินการจัดการซ่อมตามระเบียบงานพัสดุ	-บันทึกข้อความ ขออนุมัติซ่อม	ภายใน 10 นาที
งานศูนย์ วิทยาศาสตร์		เตรียมอุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้มีเพียงพอต่อจำนวนนักศึกษาพร้อมที่จะใช้งาน <u>กรณีพร้อม</u> อุปกรณ์และเครื่องแก้วมีจำนวนที่เพียงพอต่อการใช้งาน และพร้อมสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช <u>กรณีไม่พร้อม</u> อุปกรณ์และเครื่องแก้วไม่เพียงพอให้ดำเนินการเบิกจากส่วนกลางหรือดำเนินการจัดซื้อเพิ่มเติมตามระเบียบงานพัสดุ	แบบฟอร์มขอเบิก อุปกรณ์เครื่องแก้ว -บันทึกข้อความ ขออนุมัติจัดซื้อ	ภายใน 10 นาที
				

ผู้รับผิดชอบ	แผนภูมิสายงาน Flow chart	ขั้นตอน / วิธีดำเนินการ	เอกสารที่เกี่ยวข้อง	ระยะเวลา ดำเนินการ
				
		- อาจารย์ผู้สอนพิจารณาว่า สามารถดำเนินการสอน ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้หรือไม่		ภายใน 5 นาที
		สรุปการใช้ห้องปฏิบัติการ ความถี่ จำนวนนักศึกษา จัดทำ รายงานประจำปี		
				

บทที่ 3

หลักเกณฑ์วิธีการปฏิบัติงาน

3.1 หลักเกณฑ์วิธีการปฏิบัติงาน

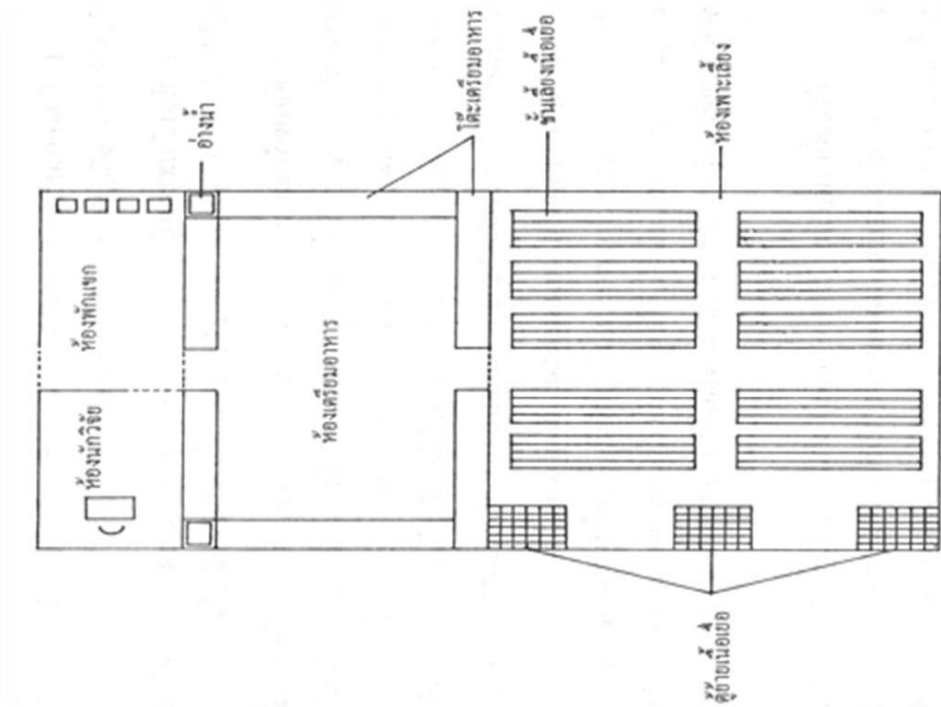
ในการปฏิบัติงานตามคู่มือการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นักวิชาการศึกษาผู้ปฏิบัติงานด้านนี้ต้องเป็นผู้รอบรู้ในงานที่พึงปฏิบัติ ทั้งในวิธีปฏิบัติงานแนวคิด ทฤษฎีต่างๆ โดยมีหน้าที่ต้องศึกษา ปฏิบัติ ให้คำปรึกษาแนะนำ ตรวจสอบและรายงานผลการปฏิบัติงาน ที่เกี่ยวข้องกับการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังนี้

3.1.1 การจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

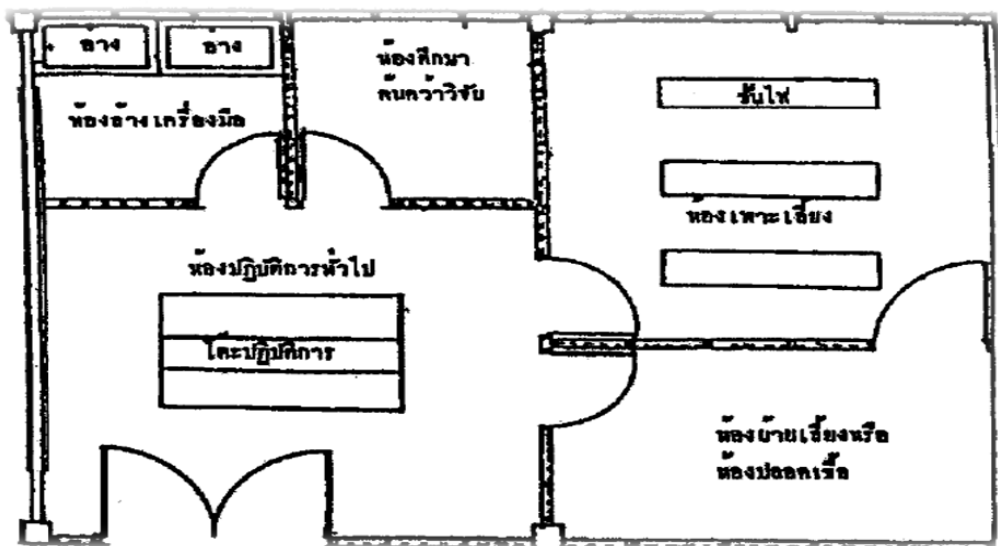
ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นห้องที่จัดขึ้นมีลักษณะพิเศษบางประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องความปลอดภัยเป็นสิ่งสำคัญที่สุด การปฏิบัติงานในห้องนี้จึงมีการควบคุมเป็นพิเศษเพื่อป้องกันปัญหาการกระจายและควบคุมเชื้อ ส่วนประกอบของห้องจึงต้องมีสัดส่วนเหมาะสมสำหรับปฏิบัติงาน ห้องปฏิบัติการนี้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยห้องย่อยที่เป็นหลัก 3 ห้องคือ ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room) ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) และห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture room) ในบางแห่งอาจรวมห้องบางห้องเข้าด้วยกันได้ถ้ามีงบประมาณมากก็สามารถแบ่งซอยห้องออกเป็นห้องย่อยๆได้อีกเพื่อเพิ่มความสะดวกสบายในการปฏิบัติงานแต่ถ้ามีเพียงห้องเดียวก็สามารถแบ่งห้องออกเป็น 3 บริเวณได้เช่นเดียวกัน แต่ละห้องมีวัสดุและอุปกรณ์ประจำที่มีลักษณะเฉพาะเพื่อให้สามารถใช้ในการปฏิบัติงานได้สะดวกและรวดเร็ว ถ้าเป็นไปได้ประตูทุกบานของแต่ละห้องควรเป็นประตูบานเลื่อนเพื่อลดการเคลื่อนที่ของอากาศในขณะปิดเปิดประตูซึ่งจะช่วยลดการปนเปื้อนของอาหารและเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงด้วย

3.1.2 แปลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

แปลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายแบบ โดยออกแบบให้เหมาะสมตามสภาพความต้องการของผู้ใช้งาน และงบประมาณที่มีโดยแบ่งห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้มี 3 ห้องหลักดังตัวอย่างในรูปที่ 1 และ 2



รูปที่ 3.1 แผนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลาแบบที่ 1 (ประศาสตร์, 2538)



รูปที่ 3.2 แผนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลาแบบที่ 2 ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ (ค่านูญ, 2542)

3.1.3 ลักษณะการจัดสัดส่วนของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สิ่งที่มีความสำคัญอย่างหนึ่งในกระบวนการทำเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ต้องมีการมีการจัดระบบพื้นที่ใช้งานให้เหมาะสมตามที่ควรจะเป็น โดยเน้นที่ความสะอาด ความสะดวกในการใช้สอย และความปลอดภัย ในการจัดห้องปฏิบัติการ ควรประกอบด้วย 5 ส่วน ดังนี้

1) **ห้องสำนักงาน** เป็นห้องที่ใช้สำหรับปฏิบัติการด้านฐานข้อมูล เอกสาร และการค้นคว้า อาจจะมีคอมพิวเตอร์ และอุปกรณ์สำนักงานต่างๆ ได้แก่ ที่เก็บแฟ้มเอกสารต่าง ๆ หนังสือค้นคว้า และกล้องจุลทรรศน์ เป็นต้น เพื่อปฏิบัติงานเกี่ยวกับข้อมูลและการค้นคว้าเอกสารการวิจัย ห้องนี้อาจจะเป็นห้องพักนักวิจัยรวมอยู่ด้วย

2) **ห้องเก็บสารเคมีหรือวัสดุ** ห้องนี้อาจจะรวมอยู่กับห้องเตรียมอาหารได้ ในกรณีที่สารเคมีมีไม่มากนักอาจจะทำชั้น แขนงผนังก็ดูปลอดภัยและเรียบร้อยดี ห้องนี้เป็นที่สำหรับเก็บสารเคมีชนิดต่าง ๆ ทั้งชนิดเป็นของเหลวและชนิดผง ส่วนใหญ่ใช้สำหรับทำอาหารสูตรต่างๆ การจัดห้องนี้ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยเป็นหลัก จึงต้องควบคุมดูแลและป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นได้จากสารเคมีโดยเฉพาะพวกกรดหรือด่าง

3) **ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room)** เป็นห้องที่ใช้เตรียมอาหาร รวมถึงอ่างสำหรับล้าง อบแห้งและเก็บวัสดุ อุปกรณ์ มีตู้เก็บเครื่องแก้ว และอุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารประเภทต่าง ๆ ควรจัดให้ใช้งานได้สะดวก อุปกรณ์ที่ประจำห้องนี้ที่สำคัญได้แก่

1) **เครื่องชั่ง (Balance)** ใช้สำหรับชั่งสารเคมีต่างๆที่เป็นส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเครื่องชั่งมีหลายแบบควรเลือกแบบที่ใช้งานสะดวกที่สุดควรมี 2 ชนิดคือเครื่องชั่งแบบหยาบซึ่งชั่งน้ำหนักได้ต่ำสุด 0.1 กรัม ใช้สำหรับชั่งสารที่ต้องการน้ำหนักครั้งละ 1 กรัมขึ้นไปเช่น วัณ น้ำตาลซูโครส เป็นต้นและเครื่องชั่งแบบละเอียดซึ่งได้ต่ำสุด 0.001 กรัม หรือ 0.0001 กรัมใช้สำหรับชั่งสารที่ต้องการชั่งต่ำกว่า 1 กรัม เช่น สารพวกวิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต

2) **ขวดตักสาร** มีทั้ง 2 แบบคือ แบบโลหะและ แบบพลาสติก

3) **เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย (pH meter)** ใช้ในการตรวจสอบและปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารมีหลายชนิดแต่นิยมชนิดใช้ไฟฟ้าเนื่องจากมีความแม่นยำสูงโดยเฉพาะที่บอกค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็นตัวเลขจะสะดวกในการใช้งานมากกว่าแบบอื่น

4) **เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน** ใช้สำหรับให้ความร้อนและหลอมอาหารพร้อมด้วยตัวคนระบบแม่เหล็ก (Magnetic stirrer)

5) **เตาอบไมโครเวฟ** ใช้สำหรับต้มหรือลอมอาหาร อาจจะใช้เตาลวดความร้อนหรือเตาแก๊สแทนได้ ถ้าเตรียมอาหารคราวละมากๆ เตาแก๊สจะเหมาะสมกว่า

6) **ตู้เย็น** ใช้สำหรับเก็บสารเคมีบางตัวที่จะต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อป้องกันปัญหาการเสื่อมคุณภาพ เช่น ฮอร์โมน วิตามิน และสารละลายเข้มข้นของอาหาร เป็นต้น

7) **เตาอบความร้อน (Hot air oven)** ใช้สำหรับอบฆ่าเชื้อที่ติดมากับเครื่องมือ หรืออุปกรณ์ที่สามารถทนต่อความร้อนสูงๆ ได้ เช่น พวกที่เป็นเครื่องแก้วและโลหะบางชนิด โดยใช้ความร้อนประมาณ 180 องศาเซลเซียส ในเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

8) **หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)** ใช้สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อปนเปื้อนในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเครื่องมือที่ไม่สามารถทนต่อความร้อนของเตาอบความร้อนได้ โดยใช้ไอน้ำ ความร้อนและความดันที่ใช้ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลาประมาณ 15-20 นาที

9) **เยื่อกรอง** วัสดุนี้ใช้สำหรับกรองสารที่เป็นของเหลวบางชนิดที่ไม่สามารถฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอได้ เพราะอาจจะเสื่อมคุณภาพ จึงใช้แผ่นกรองหรือเยื่อกรองที่มีรูให้สารผ่านประมาณ 0.22 ไมครอน ที่สามารถกักเชื้อจุลินทรีย์ไว้ได้ โดยปกติมีวัตถุประสงค์เพื่อกรองเอาแบคทีเรียและสปอร์ของเราไว้

10) **เครื่องแก้วต่างๆ** เช่น หลอดทดลอง ขวดเพาะเลี้ยง ขวดรูปชมพู่ ปิเปต กรวยแก้ว และแท่งแก้วคนสาร เป็นต้น

4) **ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transferralion or incubation room)** ห้องนี้เป็นห้องที่ใช้สำหรับย้ายชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อที่ต้องการเลี้ยงเป็นห้องที่ต้องรักษาความสะอาดมากเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีโอกาสเข้าไปในภาชนะที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้โดยตรงต้องทำความสะอาดโดยการเช็ดถูทุกวันและไม่ทำการปิดกวดเพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายของจุลินทรีย์ ควรมีการฆ่าเชื้อในอากาศและเช็ดถูพื้นห้องด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เป็นครั้งคราวพื้นห้องหรือผาผนังห้องควรปูด้วยกระเบื้องที่ทำความสะอาดได้ง่าย ห้องปฏิบัติการบางแห่งใช้กระเบื้องสีดำเพื่อที่จะได้เห็นฝุ่นได้ชัดเจนสามารถทำความสะอาดได้ง่ายถ้าไม่ใช่กระเบื้องอาจเป็นพื้นปูนเรียบก็ได้ มีตู้สำหรับย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar air flow cabinet) หรือตู้เขี่ยเชื้อ ห้องนี้จะต้องมีระบบการควบคุมความสะอาดปลอดเชื้อเป็นสำคัญ (Aseptic condition) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องการเข้าออกของคนหรือต้องดูแลไม่ให้มีแมลงหรือสัตว์อาศัยเพราะอาจจะเป็นพาหะการแพร่ระบาดของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ต้องมีระบบการฆ่าเชื้อในห้องและในตู้เขี่ยเชื้อตามระบบควบคุมความปลอดเชื้อ โดยมีการติดตั้งหลอดยูวี (UV lamp) ทั้งในห้องและในตู้เขี่ยเชื้อ มีการเปิดฆ่าเชื้อก่อนและหลังปฏิบัติงาน มีอุปกรณ์อื่น ๆ สำหรับย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ใบมีด แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อปากคืบ ตะเกียงแอลกอฮอล์ เป็นต้น โดยสรุปแล้วอุปกรณ์ที่สำคัญได้แก่

1) ตู้ย่ายเนื้อเยื่อ (Laminar air flow cabinet) เป็นตู้กรองอากาศให้บริสุทธิ์ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นตู้สำหรับติดตั้งและย้ายเนื้อเยื่อพืชลงในภาชนะเพาะเลี้ยง ตู้ย่ายเนื้อเยื่อมีทั้งชนิดที่มีขาตั้งในตัวและชนิดตั้งโต๊ะหากเป็นชนิดตั้งโต๊ะควรตั้งบนโต๊ะที่แข็งแรงและสูงพอที่จะทำงานได้สบาย ในการติดตั้งตู้ย่ายเนื้อเยื่อนั้นไม่ควรหันด้านหน้าของตู้เข้าหาทางลมของเครื่องปรับอากาศ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจติดมากับลมของเครื่องปรับอากาศเข้าสู่ภายในตู้ได้ อุปกรณ์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญภายในตู้ย่ายเนื้อเยื่อ คือ หลอดไฟฟ้าให้แสงสว่างจะทำให้เห็นสิ่งต่างๆภายในตู้ได้อย่างชัดเจน หลอดยูวี (UV lamp) เป็นหลอดที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนภายในตู้ ก่อนการใช้งานควรเปิดหลอดยูวีไว้ ประมาณ 20-30 นาที และเปิดไว้หลังจากการทำงานเสร็จประมาณ 20-30 นาทีเช่นเดียวกัน และชุดอุปกรณ์กรองอากาศจากภายนอกเข้าไปภายในตู้ ประกอบด้วยเครื่องดูดอากาศจากภายนอกตู้เข้าไปผ่านแผ่นกรองฝุ่นและกรองจุลินทรีย์เข้าสู่ภายในตู้ อากาศที่ผ่านแผ่นกรองนี้จะปลอดจากจุลินทรีย์เมื่ออากาศที่ปลอดเชื้อผ่านเข้าไปในตู้แล้วก็จะออกมาทางด้านหน้าตู้ที่ผู้ทำงานนั่งอยู่ ทำให้โล่อากาศที่เสียออกไปและยังเป็นการป้องกันอากาศจากภายนอกที่อยู่ด้านหน้าตู้เคลื่อนเข้าไปในตู้ได้

- 2) ตะเกียง ใช้ตะเกียงแอลกอฮอล์ หรือตะเกียงบุนเซน (Bunsen burner) ที่ใช้แก๊ส
- 3) กระดาษกรอง (Filter paper)
- 4) จานแก้ว (Plate or Petri dish)
- 5) ค้อนมีดผ่าตัดพร้อมใบมีดเบอร์ต่างๆหรือชุดอุปกรณ์สำหรับย้ายเนื้อเยื่อ

5 ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture room)

ห้องนี้ต้องรักษาความสะอาดอย่างเข้มงวดสูงสุดต้องพยายามป้องกันไม่ให้มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ถ้าเป็นไปได้ควรติดหลอดยูวีไว้เพื่อเปิดฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เช็ดถูห้องด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ และรมควันฆ่าเชื้อเป็นครั้งคราว ห้ามบุคคลเข้าออกก่อนได้รับอนุญาต ควรเป็นห้องที่มีสภาพปิด นักวิจัยเท่านั้นที่ เข้า-ออกได้ เพราะเนื้อเยื่อจะถูกบ่มเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในห้องนี้เป็นเวลานาน ควรอยู่ต่อจากห้องย้ายเนื้อเยื่อหรืออยู่ใกล้ ติดต่อกันได้ง่ายและรักษาความสะอาดทุกซอกทุกมุมโดยการเช็ดถู ไม่ปิดกวาดโดยเด็ดขาด ต้องมีระบบการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 ± 1 องศาเซลเซียส มีชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง (culture shelf) เป็นชั้นไม้หรือเหล็กก็ได้ขนาดของชั้นขึ้นอยู่กับขนาดของห้องตามเหมาะสม แต่ละชั้นควรอยู่ห่างกัน 40-45 เซนติเมตร และติดหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) หรือหลอดที่ให้แสงคล้ายแสงธรรมชาติ เช่นหลอดโกร-ลักซ์ (gro lux) ทำให้พืชได้รับแสง 10,000-3,000 ลักซ์ ควรมีนาฬิกาควบคุมเวลาการปิดเปิดหลอดไฟฟ้าเพื่อตั้งระยะเวลาการให้แสงสว่างแก่พืชบนชั้นได้ ปกติจะให้แสงสว่างวันละ 16 ชั่วโมง หรือเป็นช่วงมืดวันละ 8 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามแสงสว่างที่ให้อาจต้องปรับให้เหมาะสมกับชนิดเนื้อเยื่อพืชซึ่งต้องการต่างกัน

เช่นการเพาะเลี้ยงเซลล์ไม่จำเป็นต้องให้แสงเป็นต้น มีเครื่องเขย่าสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อในกรณีที่ต้องเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเครื่องเขย่าแบบหมุน (Rotator) สามารถปรับรอบการหมุนหรือเขย่าอยู่ในช่วง 100-160 รอบต่อนาที นอกจากนี้อาจจะมีตู้บ่มที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ แสงและก๊าซ โดยสรุปห้องนี้ต้องประกอบด้วย

- 1) เครื่องควบคุมอุณหภูมิ
- 2) ชั้นสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- 3) หลอดไฟให้แสงสว่างด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp)
- 4) เครื่องควบคุมเวลา (Timer) ใช้สำหรับตั้งเวลาในการปิดเปิดไฟ เพื่อกำหนดความยาวของช่วงแสง
- 5) เครื่องเขย่า (Shaker) สำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพอาหารเหลว

3.2 ข้อควรระวังปฏิบัติงาน

3.2.1 ห้องเก็บสารเคมีหรือวัสดุ

ห้องนี้ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยเป็นหลัก จึงต้องควบคุมดูแลและป้องกันอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นได้จากสารเคมีโดยเฉพาะพวกกรดหรือด่าง ต้องเป็นห้องที่อากาศถ่ายเทได้ดี ห่างไกลจากเตาหรือตู้เย็นเพื่อป้องกันความร้อนที่ระบายออกมา ควรมีตู้เก็บสารเคมีที่เป็นตู้กระจกปิดสนิทเพื่อให้มองเห็นสารเคมีได้ชัดเจนสารเคมีเหล่านี้สามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องได้โดยไม่เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ การจัดวางสารเคมีในตู้อาจแบ่งออกเป็นประเภทต่างๆแล้วแยกเก็บคนละชั้นแต่อยู่ในตู้เดียวกันแต่ถ้ามีตู้เพียงพอควรแยกตู้ การเก็บสารเคมีควรเรียงตามชื่อสารเป็นภาษาอังกฤษโดยเรียงตามลำดับตัวอักษร A ถึง Z เมื่อใช้เสร็จแล้วให้นำกลับมาเก็บไว้ที่เดิมทุกครั้ง

3.2.2 ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room)

ห้องนี้จะต้องเป็นห้องที่มีอากาศถ่ายเทได้ดีให้เปิดหน้าต่างทุกบานเวลาใช้ห้องนี้เพื่อระบายความร้อนที่เกิดขึ้นไม่ว่าจะเป็นความร้อนจากการต้มหลอมอาหารหรือความร้อนจากการนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร เครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออยู่ในสภาพที่ปรกติพร้อมใช้งาน โต๊ะสำหรับเตรียมอาหารจะต้องสะอาดและมีพื้นที่กว้างพอที่จะวางสารละลายต่างๆที่ใช้ในการเตรียมอาหารและวางอุปกรณ์ ตลอดจนภาชนะที่ใช้เตรียมอาหาร วางให้เป็นระเบียบไม่เกะกะเพื่อสะดวกต่อการทำงานถ้ามีกระเป๋หรือสิ่งของให้เก็บไว้บนชั้นหรือที่ที่ให้เก็บให้เรียบร้อยบริเวณพื้นจะต้องแห้งสนิทไม่มีเศษน้ำตกบริเวณพื้นหรือหกเลอะอยู่เพราะจะทำให้เกิดอันตรายลื่นหกล้มได้ขณะปฏิบัติการเตรียมอาหาร ไม่เสียบอุปกรณ์ชาร์ตแบตเตอรี่มือถือหรือคอมพิวเตอร์โน้ตบุ๊กค้างไว้ขณะทำงาน ไม่นำอาหารหรือเครื่องดื่มเข้ามารับประทานในห้องนี้เด็ดขาด

3.2.3 ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfereation or incubation room)

ห้องนี้เป็นห้องที่ใช้สำหรับย้ายชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อที่ต้องการเลี้ยงเป็นห้องที่ต้องรักษาความสะอาดมากไม่มีฝุ่นหรือแมลง ผู้ที่จะเข้ามาใช้ห้องนี้จะต้องสวมชุดกราวและสวมรองเท้าแตะที่สะอาดเข้ามาทำปฏิบัติการ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อต้องอยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งานหลอดไฟ และหลอดยูวีสามารถใช้งานได้ระบบกรองอากาศของตู้ปรกติ หน้าต่างจะต้องปิดสนิทประตูทางเข้าเมื่อเข้ามาในห้องนี้แล้วจะต้องปิดทุกครั้ง พัดลมระบายอากาศและเครื่องปรับอากาศทำงานได้อย่างปรกติผู้ที่เข้ามาทำปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้องไม่พูดคุยกันเสียงดัง ไม่เปิดเพลงขณะทำงาน

3.2.4 ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture room)

ห้องนี้ต้องรักษาความสะอาดอย่างเข้มงวดสูงสุด บริเวณชั้นวางเนื้อเยื่อจะต้องสะอาดไม่มีฝุ่น ภายในห้องจะต้องปราศจากมดและแมลง ห้ามบุคคลเข้าออกก่อนได้รับอนุญาต เป็นห้องที่มีสภาพปิด มีระบบการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 ± 1 องศาเซลเซียสตลอดเวลาเมื่อเวลาเข้าไปในห้องจะต้องรู้สึกถึงความเย็นและตรวจเช็คอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์เป็นระยะถ้าไม่รู้สึกถึงความเย็นแสดงว่าเครื่องปรับอากาศมีปัญหาให้รีบดำเนินการแก้ไข มีชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง (culture shelf) มีหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) ที่ให้แสง 10,00-3,000 ลักซ์ ควรมีนาฬิกาควบคุมเวลาการปิดเปิดหลอดไฟฟ้าเพื่อตั้งระยะเวลาการให้แสงสว่างแก่พืชบนชั้น มีการตรวจสอบความเข้มของแสงเป็นระยะ ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเมื่อมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ควรเก็บออกมาแล้วทำการนึ่งฆ่าเชื้อทั้งทันทีที่ไม่ปล่อยขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการปนเปื้อนปะปนกับขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ดี

บทที่ 4

เทคนิคในการปฏิบัติงาน

4.1 กิจกรรม/แผนปฏิบัติงาน

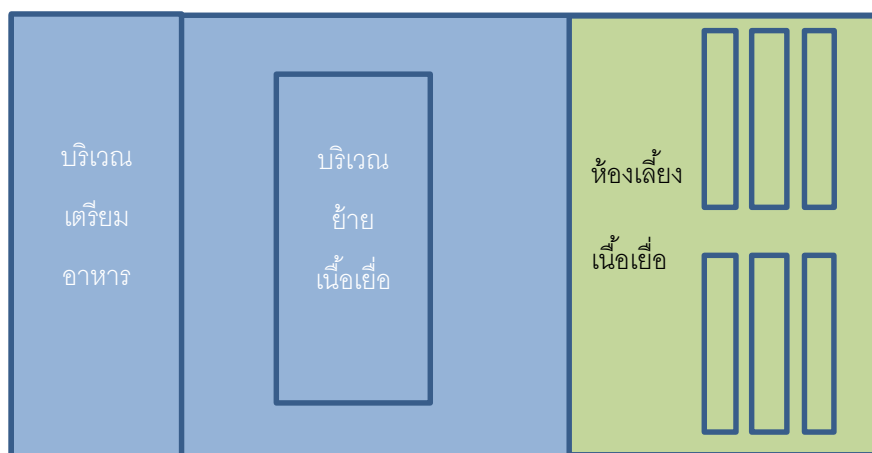
กิจกรรม	เวลาดำเนินการ												หมายเหตุ
	มค.	กพ.	มีค.	เมย.	พค.	มิย.	กค.	สค.	กย.	ตค.	พย.	ธค.	
สำรวจความพร้อมของห้องปฏิบัติการเตรียมอาหาร (media preparation room)	↔		↔				↔			↔			
สำรวจความพร้อมของห้องปฏิบัติการย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room)	↔		↔				↔			↔			
สำรวจความพร้อมของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room)	↔		↔				↔			↔			
สำรวจความพร้อมของเครื่องมือที่ใช้สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	↔		↔				↔			↔			
เตรียมอุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	↔		↔				↔			↔			

การจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของนักวิทยาศาสตร์ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจำเป็นต้องจัดเตรียมห้องปฏิบัติการด้วยความถูกต้อง รอบคอบและมีความปลอดภัยในการใช้ห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องมีเทคนิควิธีการจัดเตรียม ตรวจสอบให้อยู่ในสภาพพร้อมใช้งานและปลอดภัยเสมอ โดยมีขั้นตอนและเทคนิคในการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังนี้

4.2 เทคนิคการปฏิบัติงาน

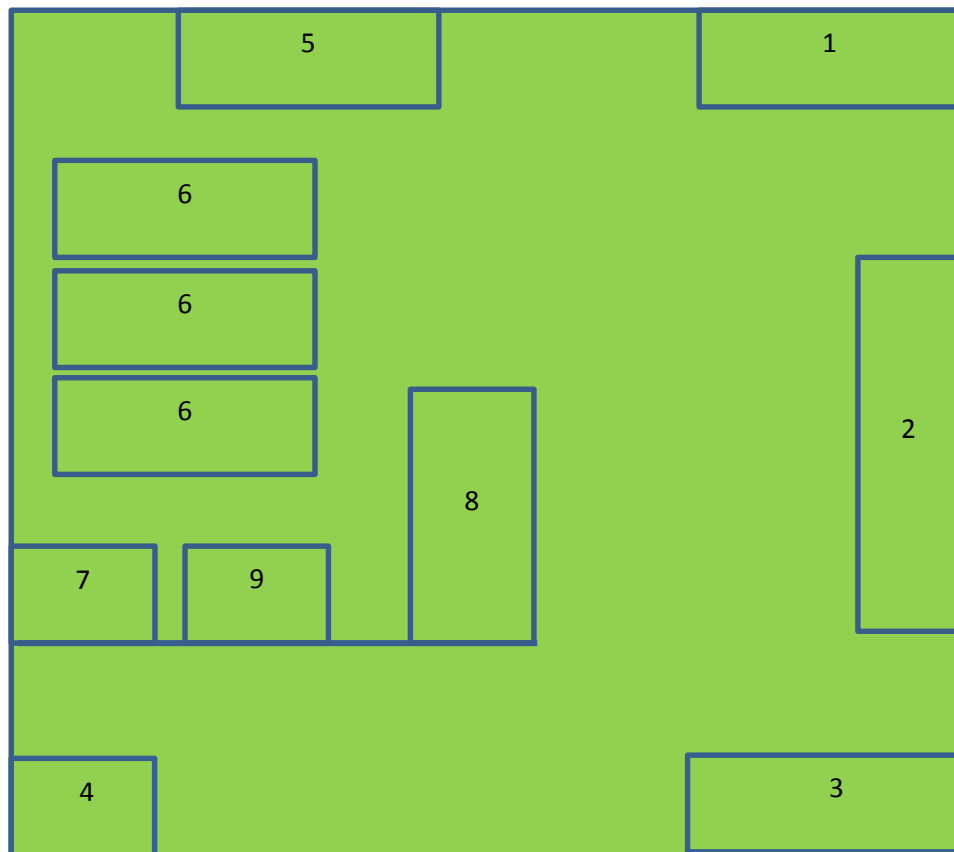
4.2.1 การจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นห้องที่จัดขึ้นมีลักษณะพิเศษบางประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องความปลอดภัยถือเป็นสิ่งสำคัญที่สุด การปฏิบัติงานในห้องนี้จึงมีการควบคุมเป็นพิเศษเพื่อป้องกันปัญหาการกระจายของเชื้อแบคทีเรียเชื้อราที่จะมีผลต่อการเรียนการสอนการทำปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ส่วนประกอบของห้องจึงต้องมีสัดส่วนเหมาะสมสำหรับปฏิบัติงานทางด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ห้องปฏิบัติการนี้ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยห้องย่อยที่เป็นหลักอยู่ 3 ห้อง คือ ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room) ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) และห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture room) ในบางแห่งอาจรวมห้องบางห้องเข้าด้วยกันได้ตามความเหมาะสมขึ้นอยู่กับลักษณะของบริเวณพื้นที่ และงบประมาณกรณีถ้ามีงบประมาณน้อยสามารถรวมห้องเตรียมอาหาร (media preparation room) และห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) รวมเข้าด้วยกันโดยภายในห้องนั้นจะต้องแบ่งแยกอย่างชัดเจนดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ห้องเตรียมอาหาร และห้องย้ายเนื้อเยื่อรวมเข้าด้วยกัน

แต่ถ้ามีงบประมาณที่มากก็สามารถแบ่งซอยห้องออกเป็นห้องย่อยๆได้อีกเพื่อเพิ่มความปลอดภัยและความสะดวกสบายในการปฏิบัติงาน แต่ถ้ามีเพียงห้องเดียวก็สามารถแบ่งห้องออกเป็น 3 บริเวณได้เช่นเดียวกันดังตัวอย่างในรูปที่ 4.2



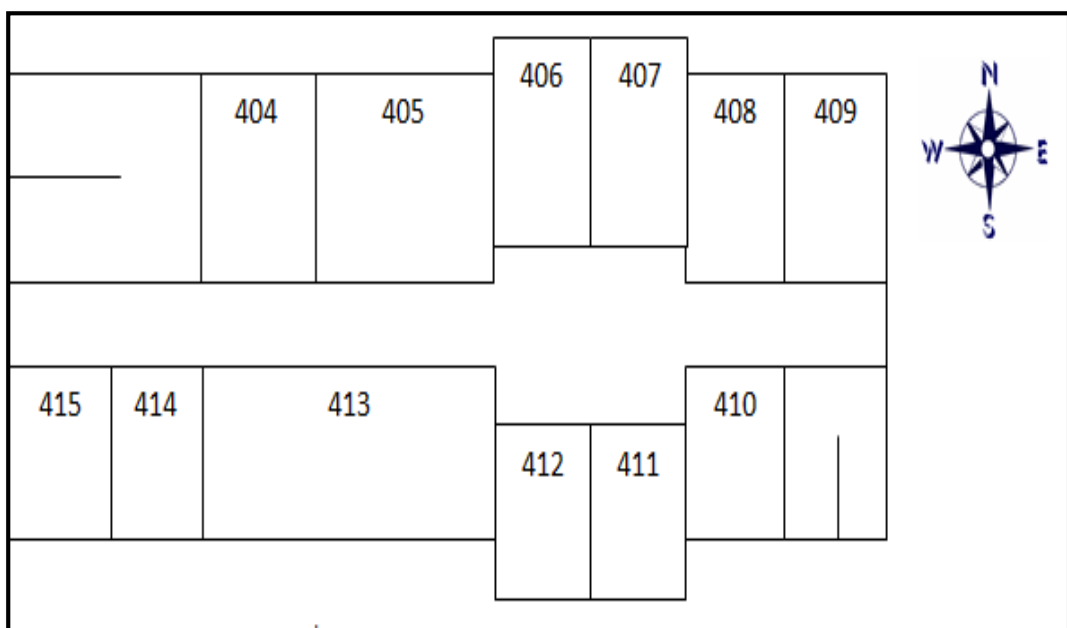
รูปที่ 4.2 แผนผังห้องปฏิบัติการแบบห้องเดียว

1. บริเวณนั่งฆ่าเชื้อ 2. โต๊ะเตรียมอาหาร 3. บริเวณล้างอุปกรณ์ 4. ที่วางเครื่องชั่งและเครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง 5. เครื่องปรับอากาศ 6. ชั้นวางเนื้อเยื่อ 7. ตู้เก็บสารเคมี 8. ตู้ย่ายเนื้อเยื่อ 9. โต๊ะหรือตู้

แต่ละห้องมีวัสดุและอุปกรณ์ประจำที่มีลักษณะเฉพาะเพื่อให้สามารถใช้ในการปฏิบัติงานได้สะดวกและรวดเร็ว ถ้าเป็นไปได้ประตูทุกบานของแต่ละห้องควรเป็นประตูบานเลื่อนเพื่อลดการเคลื่อนที่ของอากาศในขณะปิดเปิดประตูซึ่งจะช่วยลดการปนเปื้อนของอาหารและเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงด้วย

4.2.2 แพลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

แพลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายแบบ โดยออกแบบให้เหมาะสมตามสภาพความต้องการของผู้ใช้งานและงบประมาณที่มี โดยจะแบ่งห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้มี 3 ห้องหลักสำหรับแพลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้แก่ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room) ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) และห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture room) งานศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่มีแพลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชดังต่อไปนี้



รูปที่ 4.3 แพลนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชงานศูนย์วิทยาศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

ห้อง 404 ห้องพักอาจารย์ นักวิจัย หรือห้องสำนักงาน

ห้อง 405 ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room)

ห้อง 406 ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room)

ห้อง 407 ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room)

ห้อง 408 ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room)

ห้อง 409 ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture room)

ห้อง 411 ห้องเก็บเครื่องมืออุปกรณ์

ห้อง 412 ห้องเก็บสารเคมีหรือวัสดุ

4.2.3 ลักษณะการจัดสัดส่วนของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สิ่งที่มีความสำคัญอย่างหนึ่งในกระบวนการทำปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ต้องมีการจัดระบบพื้นที่ใช้งานให้เหมาะสมตามที่ควรจะเป็น โดยเน้นที่ความสะดวก ความสะดวกในการใช้สอย และความปลอดภัย ในการจัดห้องปฏิบัติการสำหรับงานศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ได้จัดแปลนสำหรับห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งประกอบด้วย 5 ส่วน ดังนี้

1) ห้องพักอาจารย์ นักวิจัย หรือห้องสำนักงาน (ห้อง 28404) เป็นห้องที่ใช้สำหรับปฏิบัติการด้านฐานข้อมูล เอกสาร และการค้นคว้า จัดให้มีโต๊ะสำหรับทำงานและอุปกรณ์สำนักงานต่างๆ เพื่อปฏิบัติงานเกี่ยวกับข้อมูลและการค้นคว้าเอกสารการวิจัย ห้องนี้อาจจะเป็นห้องพักนักวิจัยรวมอยู่ด้วย

2) ห้องเก็บสารเคมีหรือวัสดุ (ห้อง 28411และห้อง28412) ห้อง 28411 จัดให้เป็นห้องเก็บวัสดุอุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ใช้สำหรับเตรียมอาหาร เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชการเรียงและการจัดเก็บให้เรียงและจัดเก็บให้เป็นหมวดหมู่เพื่อเกิดความเป็นระเบียบเรียบร้อยโดยการแยกประเภทเครื่องแก้วตามชนิดและขนาดทำให้เกิดความสะดวกต่อการหยิบนำมาใช้ดัง **รูปที่ 4.2** และ **รูปที่ 4.3** และห้อง 28412 จัดให้เป็นห้องเก็บสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช บริเวณที่เก็บสารเคมีควรอยู่ให้ห่างจากน้ำมากที่สุดเพื่อตัดปัญหาเรื่องความชื้นและควรห่างจากตู้เย็นและเตาให้มากที่สุดเพื่อป้องกันความร้อนที่ระบายออกมาควรมีตู้เก็บสารเคมีที่เป็นตู้กระจกปิดสนิทเพื่อให้มองเห็นสารเคมีได้ชัดเจนสารเคมีเหล่านี้สามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องได้โดยไม่เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติดังแสดงใน **รูปที่ 4.4** และ **รูปที่ 4.5** การจัดวางสารเคมีอาจแบ่งเป็นประเภทต่างๆแล้วแยกเก็บคนละชั้นแต่อยู่ในตู้เดียวกันเช่น สารเคมีที่เป็นอาหารและสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ แต่ถ้ามีตู้เพียงพอควรแยกเก็บคนละตู้ป้องกันไอของสารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปปนเปื้อนในขวดสารอาหารเพราะสารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์มักเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อพืช สารเคมีที่เป็นสารอาหารใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตามสูตรอาหารต่างๆแบ่งตามกลุ่มได้ดังนี้

1. **เกลืออนินทรีย์** ให้แร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชต่างๆไป ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) ซัลเฟอร์ (S) แมกนีเซียม (Mg) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) ทองแดง (Cu) โคบอลต์ (Co) และโมลิบดีนัม (Mo) ไอโอดีน (I) เป็นต้น
2. **คาร์โบไฮเดรต** ได้แก่ น้ำตาลซึ่งจะให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตนิยมใช้ซูโครส (sucrose)

3. **วิตามิน** ช่วยในการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เป็นไปได้อย่างดี ปกติพืชสามารถสังเคราะห์วิตามินได้เอง จึงมักต้องเติม ให้เสมอๆ คือ ไทอามีน (Thiamine), นิโคตินิกแอซิด (Nicotinic acid), ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์ (Pyridoxine hydrochloride) ไมโออินอซิโทส (myoinositol) โฟลิกแอซิด (folic acid) และแคลเซียมดีเพนโทเทเนต (Ca D-pentothenate) เป็นต้น
4. **กรดแอมิโน** กรดแอมิโนเป็นแหล่งให้ไนโตรเจนที่พืชจะได้รับเร็วกว่าจากเกลืออนินทรีย์ เช่น เคซีน-ไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate), แอล-ไทโรซีน (L-tyrosine) แอล-อาร์จินีน (L- arginine) แอล-เซอรีน (L-serine) และเอไมด์บางชนิด เช่น แอล-กลูตามีน (L- glutamine) แอล-แอสพาราจีน (L - asparagine) เป็นต้น
5. **กรดอินทรีย์** เช่น เมส (MES หรือ 2 (N-morpholino) ethane sulphonic acid)
6. **สารประกอบจากธรรมชาติที่นิยมใช้** เช่น สารสกัดจากมอลต์ สารสกัดจากยีสต์ อิมัลชันปลา ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal)
7. **สารควบคุมการเจริญของพืช** ซึ่งหมายรวมถึงฮอร์โมนพืชด้วย ที่นิยมใช้ ได้แก่ ออกซิน และไซโทไคนิน ตัวอย่างสารออกซิน เช่น 2, 4-D หรือ 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid), ไอเอเอ (IAA หรือ indole acetic acid) ไอบีเอ (indole butyric acid) ส่วนตัวอย่างสารไซโทไคนิน เช่น ไคเนติน (Kinetin) ซีเอติน (Zeatin) ส่วนฮอร์โมน เช่น จิบเบอเรลลินส์ (gibberellins) เป็นต้น สารในข้อดังกล่าวนี้ควรเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อไม่ให้สารเสียสภาพ
8. **สารที่ทำให้อาหารแข็งตัวและวัสดุ พยุงเนื้อเยื่อพืช** โดยทั่วไปมักใช้วุ้น (agar) และเจลาตินผสมลงในอาหารเพื่อให้แข็งตัว



รูปที่ 4.2 การจัดเก็บเครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช



รูปที่ 4.3 การจัดเก็บเครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช)



รูปที่ 4.4 การจัดเก็บสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช



รูปที่ 4.5 การจัดเก็บสารเคมีสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เมื่อนำสารเคมีหรือสารอาหารไปใช้เสร็จแล้วควรที่จะเก็บเข้าชั้นตามหมวดหมู่ให้เรียบร้อย
ทันทีไม่ควรวางเรียงราดหรือใส่ตะกร้าไว้ดังรูปที่ 4.6 เพื่อความสะดวกสบายในการหยิบใช้สารเคมีใน
ครั้งต่อไป



รูปที่ 4.6 ไม่ได้จัดเก็บสารเคมีขึ้นชั้นตามหมวดหมู่

3) ห้องเตรียมอาหาร (media preparation room) ห้อง 28405 และ 28406 เป็นห้องที่ใช้สำหรับปฏิบัติการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งในห้องจะรวมถึงอ่างน้ำสำหรับล้างอุปกรณ์ที่ใช้แล้ว และตู้ใช้สำหรับเก็บวัสดุอุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับเตรียมอาหารวัสดุอุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับย้ายเนื้อเยื่อและอุปกรณ์ที่จำเป็นประเภทต่าง ๆ ควรจัดเก็บในตู้ให้เรียบร้อยสามารถหยิบออกมาใช้งานได้สะดวกบริเวณของห้องเตรียมอาหารนั้นควรมีพื้นที่เพียงพอสำหรับทำปฏิบัติการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อุปกรณ์ที่ประจำห้องนี้ที่สำคัญได้แก่

เครื่องชั่ง (Balance) ใช้สำหรับชั่งสารเคมีต่างๆที่เป็นส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเครื่องชั่งมีหลายแบบควรเลือกแบบที่ใช้งานสะดวกที่สุดควรมี 2 ชนิดคือ เครื่องชั่งแบบหยาดซึ่งชั่งน้ำหนักได้ต่ำสุด 0.1 กรัม ใช้สำหรับชั่งสารที่ต้องการน้ำหนักครั้งละ 1 กรัมขึ้นไปเช่น วุ้น น้ำตาลซูโครส เป็นต้นและเครื่องชั่งแบบละเอียดซึ่งได้ต่ำสุด 0.001 กรัม หรือ 0.0001 กรัมใช้สำหรับชั่งสารที่ต้องการชั่งต่ำกว่า 1 กรัม เช่น สารพหุวิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโตดังแสดงในรูปที่ 4.7 ในการจัดเตรียมเครื่องชั่งสารข้อสำคัญที่ควรระวังให้มากที่สุดคือเพื่อการชั่งสารให้ได้ปริมาณตามต้องการต้องหมั่นคอยตรวจเช็คลูกน้ำหนักที่ติดอยู่กับตัวเครื่องว่าอยู่ตรงกลางหรือไม่เพราะถ้าลูกน้ำหนักนั้นไม่อยู่ตรงกลางจะทำให้น้ำหนักของสารที่ต้องการชั่งคลาดเคลื่อนซึ่งจะมีผลต่อปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเมื่อใช้เครื่องชั่งเสร็จแล้วควรที่จะเช็ดทำความสะอาดเครื่องชั่ง และบริเวณโดยรอบเครื่องชั่งให้เรียบร้อยไม่ทิ้งเศษกระดาษ อัลลูมิเนียมฟลอยด์ หรือ ซ้อนตักสารไว้และควรที่จะปิดสวิทช์เครื่องชั่งและถอดปลั๊กไฟฟ้าให้เรียบร้อยทุกครั้ง หลังจากเลิกใช้งานดัง รูปที่ 4.8 เมื่อเลิกใช้เครื่องชั่งแล้วไม่เก็บทำความสะอาดที่ถูวิธี ซึ่งโดยทั่วไปจะมีวิธีการเตรียมและการดูแลรักษาเครื่องชั่งดังนี้ คือ

1. จะต้องติดตั้งเครื่องชั่งในพื้นที่ที่ไม่มีการสั่นสะเทือนและอยู่ในแนวระนาบ เช่น ติดตั้งบนโต๊ะหินอ่อน เป็นต้น
2. ปรับระดับลูกน้ำหนักให้อยู่ในตำแหน่งที่กำหนด
3. ในการวางสารเคมีต้องวางในตำแหน่งกึ่งกลางของจานชั่งเสมอ
4. ห้ามชั่งสารเคมีบนจานชั่งโดยตรง เพราะสารเคมีจะทำให้จานชั่งชำรุดเสียหาย ต้องชั่งสารเคมีในภาชนะอื่น ส่วนในการชั่งสารที่กัดกร่อนโลหะได้ให้ชั่งสารในขวดชั่งสารที่มีฝาปิด
5. ห้ามชั่งสารที่มีน้ำหนักมากกว่าความสามารถของเครื่องชั่ง ขณะชั่งหากมีสารเคมีหกหล่น จะต้องรีบทำความสะอาดทันทีรักษาความสะอาดของเครื่องชั่งให้มีความสะอาดอยู่เสมอ
6. ควรเลือกใช้เครื่องชั่งสารให้เหมาะสมกับปริมาณสารที่ต้องการจะชั่ง

7. ปิดสวิตช์ด้วยผ้าคลุมเพื่อป้องกันฝุ่นเข้าไปในเครื่องชั่ง



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.7 เครื่องชั่ง (Balance) 3 ตำแหน่ง (ก) และ เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (ข)



รูปที่ 4.8 เมื่อเลิกใช้เครื่องชั่งแล้วไม่เก็บทำความสะอาดที่ถูกรวบรวม

2) **ข้อสังเกต** มีทั้ง 2 แบบคือ แบบโลหะและ แบบพลาสติกควรเตรียมให้เพียงพอต่อจำนวนสารที่ต้องการชั่งเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารแต่ละชนิด

3) **เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย (pH meter)** ใช้ในการตรวจสอบและปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารมีหลายชนิดแต่นิยมชนิดใช้ไฟฟ้าเนื่องจากมีความแม่นยำสูงโดยเฉพาะที่บอกค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็นตัวเลขจะสะดวกในการใช้งานมากกว่าแบบอื่นในการจัดเตรียมเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายก่อนการใช้งานจะต้องทำการ Calibrate หรือ Standardize buffer ก่อน โดยทำการ Calibrate อย่างน้อยวันละ 1 ครั้งก่อนการใช้งานเพื่ออ่านค่าของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ถูกต้องแม่นยำและน่าเชื่อถือโดยวิธีการทำ Standardize ดังนั้นควรเตรียม Buffer ไว้สำหรับการ Calibrate เครื่อง ขวดน้ำกลั่นสำหรับล้างหัวอิเล็กโทรดและเตรียมกรดและด่างสำหรับการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารไว้ใกล้ๆตัวเครื่องดังแสดงในรูปที่ 4.9 โดยทั่วไปการทำการ Calibrate มี 3 วิธี คือ

1. **Single Point Standardization** คือ การใช้ Standard Buffer ในการทำ Calibrate เครื่อง เพียงค่าเดียว
2. **Two Point Standardization** คือ การใช้ Standard Buffer 2 ค่า ในการทำ Calibrate เครื่องคือ (pH4-7 และ pH7-10)
3. **Three Point Standardization** คือ การใช้ Standard Buffer 3 ค่า ในการทำ Calibrate เครื่องคือ (pH4, pH7 และ pH10)

เมื่อไม่ใช้งานเครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่างแล้วควรแช่หัวอิเล็กโทรดไว้ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ KCl ความเข้มข้น 3 โมล/ลิตรเพื่อรักษาหัวอิเล็กโทรดให้ใช้งานได้อย่างปกติ และปิดสวิตช์ที่ตัวเครื่องพร้อมกับถอดปลั๊กไฟออกทุกครั้งรูปที่ 4.10 เมื่อใช้งานเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายแล้วเก็บไม่เรียบร้อย



รูปที่ 4.9 การจัดเตรียมเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย



รูปที่ 4.10 เมื่อใช้งานเครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายแล้วเก็บไม่เรียบร้อย

4) เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน ใช้สำหรับให้ความร้อนและหลอมอาหารพร้อมด้วยตัวคนระบบแม่เหล็ก (Magnetic stirrer) ต้องเตรียมให้เพียงพอต่อการใช้งานอย่างน้อยกลุ่มละ 1 เครื่อง สำหรับห้องเตรียมอาหารของงานศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยใช้เตาให้ความร้อนธรรมดา ดังแสดงในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 การจัดเตรียมเตาให้ความร้อนสำหรับหลอมอาหาร

5) เตาอบไมโครเวฟ แสดงในรูปที่ 4.12 ใช้สำหรับต้มหรือหลอมอาหารเช่นเดียวกับเตาให้ความร้อน อาจจะใช้เตาลวดความร้อนหรือเตาแก๊สแทนได้ ถ้าเตรียมอาหารคราวละมากๆ เตาแก๊สจะเหมาะสมกว่า



รูปที่ 4.12 เตาอบไมโครเวฟ

ในภาพรวมของห้องเตรียมอาหาร (media preparation room) นั้นจะต้องจัดให้เรียบร้อย พร้อมใช้งานเสมอ ดังแสดงในรูปที่ 4.13 ไม่ควรวางสิ่งของเกะกะและไม่ควรนำตะกร้าใส่ของมาวางไว้ที่โต๊ะเตรียมอาหาร รวมไปถึงน้ำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ล้างแล้วมาตากไว้บริเวณที่โต๊ะเตรียมอาหาร ดังแสดงในรูปที่ 4.14 ห้องเตรียมอาหารที่มีสภาพที่ไม่พร้อมใช้งาน



รูปที่ 4.13 ห้องเตรียมอาหารที่เรียบร้อยและมีสภาพที่พร้อมใช้งาน



รูปที่ 4.14 ห้องเตรียมอาหารที่มีสภาพที่ไม่พร้อมใช้งาน

6) **ตู้เย็น** ใช้สำหรับเก็บสารเคมีบางตัวที่จะต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อป้องกันปัญหาการเสื่อมคุณภาพ เช่น ฮอโมน วิตามิน และสารละลายเข้มข้นของอาหาร ควรตั้งอุณหภูมิไว้ให้อยู่ในช่วง 5-10 องศาเซลเซียส ส่วนขนาดของตู้เย็นนั้นขึ้นอยู่กับการใช้งานซึ่งแสดงในรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 ตู้เย็นสำหรับเก็บสารเคมีฮอโมน วิตามิน และสารละลายเข้มข้นของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

7) **เตาอบความร้อน** (Hot air oven) ใช้สำหรับอบฆ่าเชื้อที่ติดมากับเครื่องมือ หรืออุปกรณ์ที่สามารถทนต่อความร้อนสูงๆ ได้ เช่น พวกที่เป็นเครื่องแก้วและโลหะบางชนิดไม่ควรนำอุปกรณ์ที่เป็นพลาสติกหรือถุงร้อนมาอบในตู้นี้เป็นอันตรายเพราะจะทำให้อุปกรณ์เหล่านี้หลอมละลายได้เนื่องจากตู้ใช้อุณหภูมิที่สูงในการอบฆ่าเชื้อควรตั้งอุณหภูมิที่เครื่องไว้ 180 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการอบอุปกรณ์คือ 3 ชั่วโมง เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับอุปกรณ์ก่อนนำมาใช้ในปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชข้อห้ามในการใช้เตาอบความร้อนคือ ไม่ควรเปิดทิ้งไว้ข้ามคืนเพราะจะทำให้เครื่องไหม้หรือเกิดไฟฟ้าลัดวงจรได้เนื่องจากเครื่องติดต่อกันเป็นเวลานานๆเมื่อใช้งานเสร็จควรปิดสวิทช์และถอดปลั๊กไฟให้เรียบร้อย

8) หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ใช้สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อปนเปื้อนในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเครื่องมือที่ไม่สามารถทนต่อความร้อนของเตาอบความร้อนได้ โดยใช้ไอน้ำ ความร้อนและความดันที่ใช้ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลาประมาณ 15-20 นาที ควรตั้งค่าเหล่านี้ไว้ที่ตัวเครื่องหม้อนึ่งความดันไว้เลยเพื่อความสะดวกในการใช้งาน ไม่ควรใส่อุปกรณ์หรือสิ่งของที่将会นึ่งฆ่าเชื้อแน่นเกินไปและควรใส่ในตะกร้าที่มีไว้สำหรับใส่อุปกรณ์นี้ทุกครั้ง ก่อนการใช้งานควรตรวจเช็คระดับน้ำในหม้อนึ่งความดันให้ระดับน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม คือพอดีกับแผ่นรองฐานในหม้อนึ่ง ถ้าระดับน้ำน้อยเกินไปก็จะทำให้เครื่องไหม้ได้แต่ถ้ามีมากเกินไปก็จะทำให้อุปกรณ์ที่เราใช้นั้นเปียกและทำให้ง่ายต่อการปนเปื้อนเมื่อนำอุปกรณ์นั้นไปใช้งานควรตรวจเช็คยาบริเวณฝาปิดว่าอยู่ในสภาพที่ปกติดีหรือไม่สภาพที่ปกติคือไม่เปื่อยยุ่ยรูปร่างเป็นทรงปกติเวลาปิดฝาเครื่องนึ่งแล้วฝาปิดปิดได้สนิทเป็นอย่างดีไม่เกิดรอยรั่ว เพราะถ้าอย่างที่ว่าฝาปิดเสื่อมคุณภาพจะทำให้เกิดรูรั่วเครื่องไม่สามารถทำการฆ่าเชื้อได้อย่างที่ตั้งไว้ทำให้อุปกรณ์ที่นำมาใช้นั้นไม่ปลอดเชื้อส่งผลให้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชล้มเหลว เกิดการปนเปื้อนเนื่องจากอุปกรณ์หรืออาหารที่นำมาใช้ไม่ปลอดเชื้อ งานศูนย์วิทยาศาสตร์มีเครื่องนึ่งความดันอยู่ด้วยกัน 2 รุ่นดังแสดงในรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 หม้อนึ่งความดันยี่ห้อ TOMY และ HIRAYAMA

เมื่อใช้หม้อนึ่งความดันไอสเสร็จแล้วควรปิดสวิตช์และถอดปลั๊กทุกครั้งไม่ควรเปิดฝาหม้อนึ่งความดันไอนึ่งไว้ดังแสดงในรูปที่ 4.17



รูปที่ 4.17 เมื่อใช้หม้อนึ่งความดันไอสเสร็จแล้วไม่ได้ปิดสวิตช์ ถอดปลั๊กและเปิดฝาหม้อนึ่งความดันไอสไว้

เยื่อกรอง วัสดุนี้ใช้สำหรับกรองสารที่เป็นของเหลวบางชนิดที่ไม่สามารถฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอสได้ เพราะอาจจะเสื่อมคุณภาพ จึงใช้แผ่นกรองหรือเยื่อกรองที่มีรูให้สารผ่านประมาณ 0.22 ไมครอน ที่สามารถกักเชื้อจุลินทรีย์ไว้ได้ โดยปกติมีวัตถุประสงค์เพื่อกรองเอาแบคทีเรียและสปอร์ของราไว้

10) **เครื่องแก้วต่างๆ** เช่น หลอดทดลอง ขวดเพาะเลี้ยง ขวดรูปชมพู่ ปิเปต กรวยแก้ว และแท่งแก้วคนสาร เป็นต้น ควรทำการอบฆ่าเชื้อด้วยเตาอบความร้อนไว้ให้เรียบร้อยแล้วเก็บเข้าตู้ไว้เพื่อความพร้อมในการใช้งาน

4) **ห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room)** ห้องนี้เป็นห้องที่ใช้สำหรับย้ายชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อที่ต้องการเลี้ยงเป็นห้องที่ต้องรักษาความสะอาดมากเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีโอกาสเข้าไปในภาชนะที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้โดยตรง การจัดเตรียมห้องนี้ต้องทำความสะอาดโดยการเช็ดถูทุกวันและไม่ทำการปิดกวดเพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายของจุลินทรีย์ ควรมีการฆ่าเชื้อในห้องด้วยการรมควันคือใช้ด่างทับทิมผสมกับฟอร์มาลินความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 จะทำให้เกิดควันที่เป็นพิษสามารถฆ่าจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในห้องได้ เมื่อทำการรมควันห้องเสร็จแล้วควรปิดห้องให้สนิทไว้อย่างน้อยเป็นเวลา 24 ชั่วโมงถึงจะเปิดห้องแล้วทำความสะอาด

สะอาดได้ เช็ดถูพื้นห้องด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เป็นครั้งคราวพื้นห้องหรือฝาผนังห้อง ควร
 ไปด้วยกระเบื้องที่ทำความสะอาดได้ง่ายห้องปฏิบัติการบางแห่งใช้กระเบื้องสีดำเพื่อที่จะได้เห็นฝุ่นได้
 ชัดเจนสามารถทำความสะอาดได้ง่ายถ้าไม่ใช่กระเบื้องอาจเป็นพื้นปูนเรียบก็ได้ ภายในห้องและโต๊ะ
 สำหรับวางอุปกรณ์และขออาหารสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และมีตู้สำหรับย้ายเนื้อเยื่อ
 (Laminar air flow cabinet) หรือตู้เขี่ยเชื้อทั้งชนิดไม้และสแตนเลสสตีลดังแสดงในรูปที่ 4.18 และ
 รูปที่ 4.19



รูปที่ 4.18 ตู้เขี่ยเชื้อทั้งชนิดไม้



รูปที่ 4.19 ตู้เขี่ยเชื้อชนิดไม้และสแตนเลสสตีล

ห้องนี้จะต้องมีระบบการควบคุมความสะอาดปลอดเชื้อเป็นสำคัญ (Aseptic condition)
 โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องการเข้าออกของคนโดยประตูเข้าออกเป็นกระจกชนิดบานเลื่อนเพื่อป้องกันลม
 พัดเข้าออกระหว่างปิดเปิดห้องหรือเวลาผู้ใช้ห้องเดินเข้าออก ดังแสดงในรูปที่ 4.20 โดยที่จะต้องปิด
 ประตูทุกครั้งที่ไม่มีการใช้งานในห้องนี้โดยต้องดูแลไม่ให้มีแมลงหรือสัตว์อาศัยเพราะอาจจะเป็นพาหะ
 การแพร่ระบาดของเชื้อจุลินทรีย์ได้



รูปที่ 4.20 ประตูเข้าออกเป็นกระจกชนิดบานเลื่อน

เมื่อเข้าออกห้องนี้ไม่ควรปิดประตูทันทีไม่ควรเปิดประตูบานเลื่อนทิ้งไว้ดังแสดงในรูปที่ 4.21



รูปที่ 4.21 แสดงการเปิดประตูห้องย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) ทิ้งไว้

ภายในห้องและภายในตู้จะต้องมีระบบการฆ่าเชื้อในห้องและในตู้ถ่ายเชื้อตามระบบควบคุมความปลอดภัย โดยมีการติดตั้งหลอดยูวี (UV lamp) ติดคู่กับหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) ดังรูปที่ 4.22 ทั้งในห้องและในตู้เชื้อจะมีการเปิดฆ่าเชื้อก่อนและหลังปฏิบัติงาน มีอุปกรณ์อื่น ๆ รวมทั้งขวดอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เตรียมอาหารไว้เรียบร้อยแล้ว อุปกรณ์สำหรับย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ใบมีด แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อ ปากคีบ ชั้นวางหลอดทดลองอุปกรณ์ที่ทำการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ ผ้าสะอาด เก็บไว้ในตู้ที่เตรียมไว้ในตู้ดังรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.22 หลอดยูวี (UV lamp) ติดคู่กับหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) ทั้งในห้องและในตู้เชื้อ



รูปที่ 4.23 ตู้สำหรับเก็บอุปกรณ์อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

โดยสรุปแล้วอุปกรณ์ที่สำคัญได้แก่

1) ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar air flow cabinet) เป็นตู้กรองอากาศให้บริสุทธิ์ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นตู้สำหรับติดตั้งและย้ายเนื้อเยื่อพืชลงในภาชนะเพาะเลี้ยง ตู้ย้ายเนื้อเยื่อมีทั้งชนิดที่มีขาตั้งในตัวและชนิดตั้งโต๊ะหากเป็นชนิดตั้งโต๊ะควรตั้งบนโต๊ะที่แข็งแรงและสูงพอที่จะทำงานได้สบาย ในการติดตั้งตู้ย้ายเนื้อเยื่อนั้นไม่ควรหันด้านหน้าของตู้เข้าหาทางลมของเครื่องปรับอากาศ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจติดมากับลมของเครื่องปรับอากาศเข้าสู่ภายในตู้ได้ อุปกรณ์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญภายในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ คือ หลอดไฟฟ้าให้แสงสว่างจะทำให้เห็นสิ่งต่างๆภายในตู้ได้อย่างชัดเจน หลอดยูวี (UV lamp) เป็นหลอดที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนภายในตู้ ก่อนการใช้งานควรเปิดหลอดยูวีไว้ ประมาณ 20-30 นาที และเปิดไว้หลังจากการทำงานเสร็จประมาณ 20-30 นาทีเช่นเดียวกัน และชุดอุปกรณ์กรองอากาศจากภายนอกเข้าไปภายในตู้ ประกอบด้วยเครื่องดูดอากาศจากภายนอกตู้เข้าไปผ่านแผ่นกรองฝุ่นและกรองจุลินทรีย์เข้าสู่ภายในตู้ อากาศที่ผ่านแผ่นกรองนี้จะปลอดจากจุลินทรีย์เมื่ออากาศที่ปลอดเชื้อผ่านเข้าไปในตู้แล้วก็จะออกมาทางด้านหน้าตู้ที่ผู้ทำงานนั่งอยู่ ทำให้เลอากาศที่เสียออกไปและยังเป็นการป้องกันอากาศจากภายนอกที่อยู่ด้านหน้าตู้เคลื่อนเข้าไปในตู้ได้ การเตรียมห้องย้ายเนื้อเยื่อนั้นที่สำคัญคือจะต้องสะอาด

2) ตะเกียง ใช้ตะเกียงแอลกอฮอล์ หรือตะเกียงบุนเซน (Bunsen burner) ที่ใช้แก๊ส

3) กระดาษกรอง (Filter paper)

4) จานแก้ว (Plate or Petri dish)

5) ด้ามมีดผ่าตัดพร้อมใบมีดเบอร์ต่างๆหรือชุดอุปกรณ์สำหรับย้ายเนื้อเยื่อ

การเตรียมห้องย้ายเนื้อเยื่อนั้นที่สำคัญคือจะต้องสะอาดอุปกรณ์หรือเครื่องมือจะต้องใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพตู้ย้ายเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งาน

5) ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Culture room)

ห้องนี้ต้องรักษาความสะอาดอย่างเข้มงวดสูงสุดต้องพยายามป้องกันไม่ให้มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ควรติดหลอดยูวีไว้เพื่อเปิดฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เช็ดถูห้องด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อและรมควันฆ่าเชื้อเป็นครั้งคราว ห้ามบุคคลเข้าออกก่อนได้รับอนุญาต ควรเป็นห้องที่มีสภาพปิด นักวิจัยเท่านั้นที่เข้า-ออกได้ เพราะเนื้อเยื่อจะถูกบ่มเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในห้องนี้เป็นเวลานาน ควรอยู่ต่อจากห้องย้ายเนื้อเยื่อหรืออยู่ใกล้ ติดต่อกันได้ง่ายและรักษาความสะอาดทุกซอกทุกมุม โดยการเช็ดถู ไม่ปิดกวาดโดยเด็ดขาด ต้องมีระบบการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 ± 1 องศาเซลเซียสโดยติดตั้งเครื่องปรับอากาศเพื่อควบคุมอุณหภูมิภายในห้องอย่างน้อย 2 เครื่องเพื่อสลับกันทำงาน ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อของงานศูนย์วิทยาศาสตร์นันทิตเครื่องปรับอากาศจำนวน 4 เครื่อง พร้อมทั้งติดตั้งตัวควบคุม

เวลาการทำงานเพื่อให้เครื่องปรับอากาศทำงานสลับกันโดยตั้งเวลาให้เครื่องปรับอากาศทำงานเครื่องละ 6 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 4.24 (ก) (ข) ควรมีการตรวจเช็คเครื่องปรับอากาศอย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้งเพื่อที่จะทำให้ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นสามารถควบคุมอุณหภูมิได้ตามที่ต้องการภายในห้องจะมีชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง (culture shelf) เป็นชั้นไม้ขาเป็นเหล็ก แต่ละชั้นอยู่ห่างกัน 40-45 เซนติเมตรดังแสดงในรูปที่ 4.25 (ก) (ข) และติดหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) ทำให้พืชได้รับแสง 10,00-3,000 ลักซ์ โดยมีนาฬิกาควบคุมเวลาการปิดเปิดหลอดไฟฟ้าเพื่อตั้งระยะเวลาการให้แสงสว่างแก่พืชบนชั้นดังแสดงในรูปที่ 4.26 ปกติจะให้แสงสว่างวันละ 16 ชั่วโมง หรือเป็นช่วงมืดวันละ 8 ชั่วโมง มีเครื่องเขย่าสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อในกรณีที่ต้องเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเครื่องเขย่าแบบหมุน (Rotator) สามารถปรับรอบการหมุนหรือเขย่าอยู่ในช่วง 100-160 รอบต่อนาที ดังแสดงในรูปที่ 4.27 นอกจากนี้อาจจะมีตู้บ่มที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ แสงและก๊าซ โดยสรุปห้องนี้ต้องประกอบด้วย

- 1) เครื่องควบคุมอุณหภูมิ
- 2) ชั้นสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- 3) หลอดไฟให้แสงสว่างด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp)
- 4) เครื่องควบคุมเวลา (Timer) ใช้สำหรับตั้งเวลาในการปิดเปิดไฟ เพื่อกำหนดความยาวของช่วงแสง
- 5) เครื่องเขย่า (Shaker) สำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพอาหารเหลว



รูปที่ 4.24 (ก) เครื่องปรับอากาศและตัวควบคุมเวลาการทำงาน



รูปที่ 4.24 (ข) ตัวควบคุมเวลาการทำงานเครื่องปรับอากาศ



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.25 (ก) และ (ข) ชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง (culture shelf)



รูปที่ 4.26 ชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยง (culture shelf) ที่ติดหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence lamp) และนาฬิกาควบคุมเวลาการปิดเปิดหลอดไฟฟ้า



รูปที่ 4.27 เครื่องเขย่า (Shaker) สำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพอาหารเหลว

4.3 การติดตามผลการปฏิบัติงาน

ในการการติดตามผลการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นในแต่ละห้องจะต้องมีสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่พร้อมสำหรับการใช้งาน มีจำนวนที่เพียงพอต่อความต้องการ มีสารเคมีที่เพียงพอต่อความต้องการใช้ เครื่องมือจะต้องอยู่ในสภาพที่ดี ไม่ชำรุดเสียหายเช่นเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องวัดค่าความเป็นกรดและด่าง ตู้ย่ายเนื้อเยื่อ เป็นต้น ห้องเลี้ยงย่ายเนื้อเยื่อและเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องสะอาด มีแสงและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทำการตรวจเช็คทุกๆ 3 เดือน

บทที่ 5

ปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะ

จากการปฏิบัติหน้าที่การจัดเตรียมห้องปฏิบัติการเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบปัญหาอุปสรรคที่เกิดขึ้นและมีข้อเสนอแนะแนวทางในการแก้ไขปัญหาในการปฏิบัติงานในแต่ละขั้นตอน โดยจะแสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 ปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะในการดำเนินงาน

ขั้นตอนดำเนินงาน	ปัญหา/อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
สำรวจความพร้อมของห้องปฏิบัติการเตรียมอาหาร (media preparation room)เช่น โต๊ะปฏิบัติการ แก้วมีเพียงพอสอดคล้องกับจำนวนนักศึกษาที่ลงทะเบียนเรียนในรายวิชาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหรือไม่เป็นห้องที่โปร่งอากาศถ่ายเทได้ดี มีมุมสำหรับฆ่า (sterilization area) ซึ่งมีหม้อนึ่งความดันไอน้ำ(Autoclave) เตาอบฆ่าเชื้อ (Hot air oven) เตาหลอมละลายอาหารอาจเป็นเตาไฟฟ้า เตาไมโครเวฟหรือเตาแก๊ส ตู้เย็น (Refrigerator) สำหรับใช้เก็บสต็อกสารเคมีและฮอร์โมน มุมสำหรับปรับความเป็นกรดเป็นด่างซึ่งมีเครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง(pH meter) มีเครื่องชั่ง 3 หรือ 4 ตำแหน่งสำหรับชั่งสาร (Balance) และ	โต๊ะ แก้วห้องปฏิบัติการมีไม่เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษาเช่น แก้วเนื่องจากนักศึกษาขนย้ายไปใช้ในห้องอื่น อากาศร้อน อบอ้าวโดยเฉพาะในหน้าร้อน เครื่องมือต่างๆ ที่อยู่ในห้องปฏิบัติการนี้ เช่น เครื่องมือสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) เตาอบฆ่าเชื้อ(Hot air oven) เตาหลอมละลายอาหาร (Hot plate) เครื่องชั่งสาร 3 หรือ 4 ตำแหน่ง (Balance) ตู้เย็น (Refrigerator) เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง(pH meter) เป็นกรดเป็นด่าง(pH meter) ขาด	จัดหาแก้วให้เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษา ติดป้ายประกาศห้ามขนย้ายแก้วไปยังห้องต่างๆ บันทึกถึงมหาวิทยาลัยขอติดตั้งพัดลมเพิ่ม เปิดหน้าต่างเพื่อให้อากาศถ่ายเทได้สะดวก ทำการแก้ไขซ่อมเบื้องต้น ถ้าทำไม่ได้ให้ติดต่อบริษัทผู้ขายให้ทำการตรวจเช็คและซ่อมแซมในกรณีที่เครื่องมือเก่ามากติดต่อบริษัทผู้ขายไม่ได้ให้ติดต่อช่างผู้เชี่ยวชาญทำการตรวจเช็คและดำเนินการซ่อมตามระเบียบของคณะหรือมหาวิทยาลัยโดยเร็ว

ขั้นตอนดำเนินงาน	ปัญหา/อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
มีมุมสำหรับล้างอุปกรณ์เครื่องแก้ว	น้ำไม่ไหล อ่างน้ำชำระมีน้ำ รั่วซึม	กรณีน้ำไม่ไหลหรืออ่างรั่ว น้ำชำระ ซึมให้ตรวจสอบ เบื้องต้น แล้วดำเนินการ บันทึกข้อความขออนุมัติ ข้อมกับทางมหาวิทยาลัย โดยประสานงานกับคณะ เพื่อดำเนินการ
สำรวจความพร้อมของ ห้องปฏิบัติการย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) ว่าสะอาด ปราศจากสิ่งปนเปื้อนและมีสถานะที่ปลอดภัย มีความพร้อมในการใช้งานหรือไม่ ซึ่งในห้องจะประกอบไปด้วยตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air flow cabinet) โต๊ะสำหรับวางของ เครื่องปรับอากาศ ตู้เก็บอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วหรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดแต่ง ทำความสะอาดและเพาะเนื้อเยื่อพืช	ห้องปฏิบัติการย้ายเนื้อเยื่อ (transfession or incubation room) มักจะสกปรก มีสิ่งปนเปื้อนและมีสถานะที่ไม่ปลอดภัย เครื่องมือต่างๆ ที่อยู่ในห้องปฏิบัติการนี้ เช่น ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air flow cabinet) โต๊ะสำหรับวางของ เครื่องปรับอากาศ (Air conditioner) ตู้เก็บอาหารและอุปกรณ์ต่างๆ ชำรุด	ทำความสะอาดให้ทั่วบริเวณห้องแล้วทำการอบ/รมควันห้องด้วยก๊าซ Formaldehyde เพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อนภายในห้อง ทำการแก้ไขซ่อมเบื้องต้น ถ้าทำไม่ได้ให้ติดต่อบริษัทผู้ขายให้ทำการตรวจเช็คและซ่อมแซมในกรณีที่เครื่องมือเก่ามากติดต่อบริษัทผู้ขายไม่ได้ให้ติดต่อช่างผู้เชี่ยวชาญทำการตรวจเช็คและดำเนินการซ่อมตามระเบียบของคณะหรือมหาวิทยาลัยโดยเร็ว
สำรวจความพร้อมของห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room) มีสถานะที่เหมาะสมหรือไม่โดยควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส และมีแสงสว่าง 1000-3000 ลักซ์	ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room) มีสถานะที่ไม่เหมาะสมคือมีอุณหภูมิไม่อยู่ในช่วง 25 องศาเซลเซียสหรือมีแสงสว่างไม่อยู่ในช่วง 1000-3000 ลักซ์	ให้รีบทำการปรับสภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room) ให้เหมาะสมโดยเร็วที่สุด เนื่องจากจะทำให้พืชที่ทำให้รีบทำการปรับสภาพ

ขั้นตอนดำเนินงาน	ปัญหา/อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ซึ่งเหมาะแก่การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชและเป็นห้องที่ปลอดเชื้อมากที่สุดภายในห้องจะประกอบไปด้วยชั้นวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture shelf) เครื่องเขย่า (Shaker) เครื่องปรับอากาศ พัดลมดูดอากาศ	ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room) สกปรกไม่ปลอดเชื้อมีขวดเนื้อเยื่อที่มีการปนเปื้อน	ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (culture room) ให้เหมาะสมโดยเร็วที่สุดเนื่องจากจะทำให้พืชที่ทำการเพาะเลี้ยงนั้นตายได้ เช่นถ้าอุณหภูมิไม่อยู่ในช่วง 25 องศาเซลเซียสให้รีบสลับการทำงานของเครื่องปรับอากาศและรีบดำเนินการแก้ไขซ่อมเครื่องปรับอากาศที่ชำรุดโดยเร็ว ถ้าแสงที่ชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อมีแสงสว่างไม่อยู่ในช่วง 1000-3000 ลักซ์ให้รีบย้ายเนื้อเยื่อไปชั้นที่มีความเข้มแสงเพียงพอและดำเนินการซ่อม เปลี่ยนหลอดไฟเพื่อให้มีความสว่างที่เพียงพอ ทำความสะอาดให้ทั่วบริเวณห้อง เก็บขวดเนื้อเยื่อที่ปนเปื้อนออกมานิ่งฆ่าเชื้อทันทีแล้วทำการอบ/รมควันห้องด้วยก๊าซ Formaldehydeเพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อนภายในห้อง

ขั้นตอนดำเนินงาน	ปัญหา/อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
	เครื่องมือต่างๆ ที่อยู่ในห้องปฏิบัติการนี้เช่น เครื่องเขย่า (Shaker) เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) เครื่องปรับอากาศ (Air conditioner) พัดลมดูดอากาศชำรุด	ทำการแก้ไขซ่อมเบื้องต้น ถ้าทำไม่ได้ให้ติดต่อบริษัทผู้ขายให้ทำการตรวจเช็คและซ่อมแซมในกรณีที่เครื่องมือเก่ามากติดต่อบริษัทผู้ขายไม่ได้ให้ติดต่อช่างผู้ผู้เชี่ยวชาญทำการตรวจเช็คและดำเนินการซ่อมตามระเบียบของคณะหรือมหาวิทยาลัยโดยเร็ว
สำรวจความพร้อมของเครื่องมือที่ใช้สำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชว่าอยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งานหรือไม่มีจำนวนเพียงพอต่อการใช้งานหรือไม่ กรณีพร้อม เครื่องมือมีพร้อมสำหรับปฏิบัติการอยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งานและมีปริมาณที่เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษา กรณีไม่พร้อม อุปกรณ์ไม่พร้อมใช้งานหรือเครื่องมือชำรุด	- มีอุปกรณ์ที่ไม่พร้อมชำรุด ไม่เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษา นักวิจัย	- ให้ดำเนินการแก้ไขซ่อมเบื้องต้นถ้าทำไม่ได้ให้ติดต่อบริษัทผู้ขายให้ทำการตรวจเช็ค และซ่อมแซมหรือจัดการซื้อเพิ่มตามระเบียบงานพัสดุในกรณีที่ต้องใช้เร่งด่วน ต้องให้บริการเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่มีแก่การเรียนการสอน ก่อน แล้วจึงค่อยให้บริการแก่นักวิจัย

ขั้นตอนดำเนินงาน	ปัญหา/อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
เตรียมอุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้มีเพียงพอต่อจำนวนนักศึกษาพร้อมที่จะใช้งาน กรณีพร้อม อุปกรณ์และเครื่องแก้วมีจำนวนที่เพียงพอต่อการใช้งานและพร้อมสำหรับปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช กรณีไม่พร้อม อุปกรณ์และเครื่องแก้วไม่เพียงพอ	- มีอุปกรณ์และเครื่องแก้วไม่เพียงพอไม่เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษา นักวิจัย	- ให้ดำเนินการเบิกจากส่วนกลางหรือดำเนินการจัดซื้อเพิ่มเติมตามระเบียบงานพัสดุ กรณีที่ต้องใช้เร่งด่วน ต้องให้บริการอุปกรณ์และเครื่องแก้วที่มีแก่การเรียนการสอนก่อนแล้วจึงค่อยให้บริการแก่นักวิจัย

บรรณานุกรม

- กิตติศักดิ์ โชติเดชานรงค์. (2556). เอกสารประกอบการสอนรายวิชาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะ
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.
- คำณูญ กาญจนภูมิ. (2542). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. บริษัท ด้านสุทธาการพิมพ์ จำกัด .
กรุงเทพมหานคร.
- สมพร ประเสริฐสูงสกุล. (2549). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชา
วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต
ปัตตานี.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. (2538). เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โอ.เอส.พรี้นต้ง แฮ่ส พิมพ์ครั้งที่ 2
บางกอกน้อย กรุงเทพมหานคร.
- รกรอง วิเศษสุวรรณ. (2542). เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการเรื่อง เทคนิคการเพาะเลี้ยง
เนื้อเยื่อพืช ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและปลูกพืชเรือนทดลอง. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, นครปฐม.
- แสงจันทร์ เอี่ยมธรรมชาติ. (2547). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่