วารสารข่าว

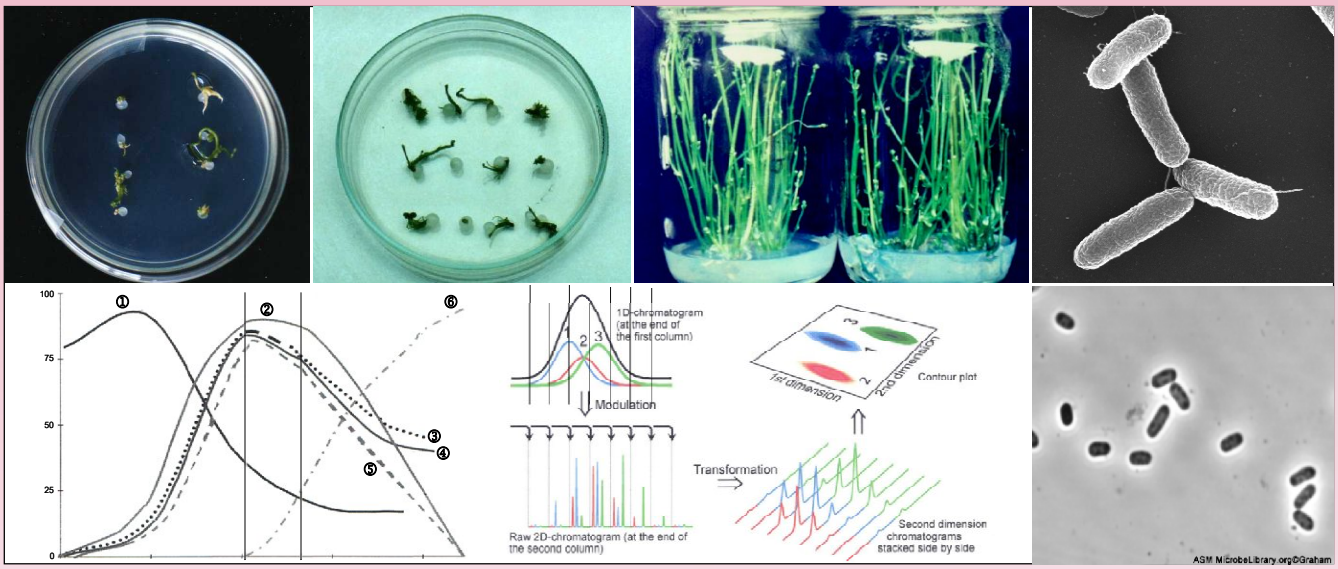
ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง

Central Laboratory and Greenhouse Complex

CLGC NEWSLETTER

ปีที่ 25 ฉบับที่ 1 Vol. 25 No. 1 January - June 2011

มกราคม - มิถุนายน 2554 ISSN 0857 - 5010



สารบัญ

ข่าวศูนย์ฯ 2

งานวิจัย

- การเก็บรักษาตาข้างหน่อไม้ฝรั่งแบบเย็นยิ่งยวดโดยวิธี encapsulation dehydration 4

การเกษตร

- การงอกคาต้นของเมล็ดข้าวโพด (Vivipary in Maize) 8
- การพัฒนาของดอกและเมล็ด 11

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

- Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography 14

เรื่องน่ารู้

- ผู้ก่อการอาหารเป็นพิษ 20

บรรณาธิการแถลง

ในที่สุดคณะกรรมการฯ ก็สามารถทำให้วารสารข่าวศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลองมาอยู่ในมือท่านผู้อ่านได้อีกวาระหนึ่ง วารสารข่าวศูนย์ฯ ฉบับนี้นำท่านไปรับทราบเบื้องหลังความเป็นมาของเมล็ดพืช ซึ่งเริ่มต้นจากดอกไม้ส่วนของพืชที่สะดุดตา แต่แท้จริงแล้วเป็นส่วนที่ธรรมชาติสร้างมาเพื่อวัตถุประสงค์ในการสร้างเมล็ดและการดำรงเผ่าพันธุ์ของพืช รวมทั้งไปหาต้นเหตุหรือตัวการที่ทำให้เมล็ดพืชงอกขณะที่ยังอยู่บนต้น และถ้าหากท่านนำไปผสมผสานกับเรื่องจากเมล็ดสู่ต้นกล้า ความบากบั่นที่ถูกมองข้าม และ โรคเมล็ดพันธุ์สำคัญมาก ที่เคยลงในวารสารข่าวศูนย์ฯ ปีที่ 23 ฉบับที่ 2 และปีที่ 22 ฉบับที่ 2 ตามลำดับ ท่านก็จะสามารถประติดประต่อเรื่องราวเกี่ยวกับเมล็ดได้ไม่น้อยเลย ในคอลัมน์เรื่องน่ารู้ท่านจะได้รู้จักหน้าตาของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ และข้อควรปฏิบัติหรือระมัดระวังด้านอาหารการกินในชีวิตประจำวัน สำหรับด้านงานวิจัยและเทคโนโลยี ฉบับนี้นำเสนอเทคนิคเฉพาะทางด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการเก็บรักษาพันธุกรรมพืช และการพัฒนาการด้านแก๊สโครมาโตกราฟีในการตรวจวิเคราะห์สารอินทรีย์

ในนามของคณะกรรมการวารสารข่าวศูนย์ฯ ขอขอบคุณผู้อ่านทุกท่าน ความสนใจของท่านรวมทั้งความรู้และประโยชน์ที่ท่านได้รับจากการอ่านวารสารข่าวศูนย์ฯ เป็นกำลังใจในการจัดทำวารสารของเรา

บรรณาธิการ

คณิตฐา ชินวงษ์เขียว
เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง
ม. เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

การเสนอผลงานทางวิชาการ

◈ การเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 7 ในหัวข้อ “ก้าวย่างตามพ่อ สานต่อการศึกษา พัฒนาชาติไทย” วันที่ 7-8 ธันวาคม 2553

✧ **นางรงรอง หอมหวล** เสนอผลงานวิจัย เรื่อง **การคัดเลือกแคลลัสอ้อยทนแล้งโดยใช้สาร polyethylene glycol ในสภาพปลอดเชื้อ**

✧ **นางสาวสุลักษณ์ แจ่มจำรัส** เสนอผลงานวิจัย เรื่อง **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเร่วหอม**

✧ **นางเนตรชนก เกียรติ์นนทพัทธ์** เสนอผลงานวิจัย เรื่อง **การใช้วัสดุเพาะร่วมกับสารละลายธาตุอาหารสำหรับผลิตต้นอ่อนข้าวหอมมะลิ 105 เพื่อทำน้ำคั้นใบข้าว**

✧ **นางเนตรชนก เกียรติ์นนทพัทธ์** เข้าร่วมเสนอผลงานวิจัย เรื่อง **วัสดุปลูกที่เหมาะสมสำหรับการผลิตต้นอ่อนข้าวเจ้าและข้าวสาลีเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการทำน้ำคั้นใบข้าว**

◈ **นางสุดาวรรณ เชยชมศรี** เสนอผลงานวิจัย เรื่อง **การวิเคราะห์ยีนโพลีฮีดรินของนิวคลีโอโพลีฮีโดรไวรัสของหนอนเจาะสมอฝ้ายสายพันธุ์ไทย** ในการประชุมทางวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 36 ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพฯ วันที่ 26-28 ตุลาคม 2553

การจัดนิทรรศการ

◈ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง ร่วมจัดนิทรรศการในงานเกษตรกำแพงแสน ประจำปี 2553 ระหว่างวันที่ 3-10 ธันวาคม 2553 ณ บริเวณสระพระพิรุณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

✧ นิทรรศการเรื่อง **น้ำเพื่อชีวิต เศรษฐกิจพอเพียง** ประกอบด้วยหัวข้อต่าง ๆ ดังนี้

งานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเกษตร

- น้ำในดินที่เป็นประโยชน์ต่อพืช
- น้ำกับชีวิตเชื้อโรค (พืช)

งานทรัพยากรชีวภาพและความหลากหลายทางชีวภาพ

- แมลงน้ำ : ดัชนีชี้วัดคุณภาพน้ำทางชีวภาพ
- คุณภาพน้ำ - คุณภาพชีวิต
- ประกาศจับ! วายร้ายตัวจิ๋ว
- น้ำใส.. ไร้กังวล

งานวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมและเทคโนโลยี

- พระราชดำริและแนวคิดเกี่ยวกับเรื่องน้ำ
- น้ำเพื่อชีวิต
- การใช้พืชบำบัดน้ำเสีย
- ระบบบึงประดิษฐ์

✧ นิทรรศการที่เป็นผลผลิตจากงานวิจัยและงานบริการ ดังนี้

งานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเกษตร

- ผลของกระบวนการผลิตปุ๋ยหมักต่อคุณภาพของปุ๋ยหมัก
- การวิเคราะห์สมบัติพื้นฐานของดิน
- การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในอาหารเหลวเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิต
- งานบริการตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช โดยวิธี Paraffin Section
- การจัดการเมล็ดพันธุ์และตรวจสอบคุณภาพ : ฟักข้าว

◈ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง ร่วมจัดนิทรรศการ “บนเส้นทางงานวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2554” ในงานเกษตรแฟร์ ประจำปี 2554 ระหว่างวันที่ 28 มกราคม - 5 กุมภาพันธ์ 2554 ณ อาคารจักรพันธ์เพ็ญศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประกอบด้วย

✧ บริการวิชาการด้านการผลิตและวิเคราะห์ทางการเกษตรและสิ่งแวดล้อม

- การวิเคราะห์ดินและปุ๋ยอินทรีย์
- การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา
- การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ/น้ำเสีย และสารพิษตกค้าง
- การวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์
- การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

✧ ผลงานได้รับรางวัล เรื่อง Photonic crystal structure of wing scales in Thai butterflies, *Euploea mulciber* and *Troides aeacus*

การตีพิมพ์ผลงานวิจัย

Chaeychomsri, W., **S. Chaeychomsri**, J. Siruntawineti, D. Hengsawadi and Y. Cuptapun. 2010. The effect of freeze dried crocodile blood supplementation and vitamin C on hematological value of iron deficiency anemia rat, pp. 201-202. *In* Abstracts of the 36th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok.

Chaeychomsri, S. and W. Chaeychomsri. 2010. A plaque assay for titration of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera exigua* (CLGC-SENL-1) cell line, p. 81. *In* Abstracts of the 36th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok.

Chaeychomsri, S. and W. Chaeychomsri. 2010. Analysis of the polyhedrin gene of Thai *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus, pp. 81-82. *In* Abstracts of the 36th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok.

งานวิจัย

การเก็บรักษาตาข้างหน่อไม้ฝรั่งแบบเย็นยิ่งยวดโดยวิธี encapsulation dehydration

Cryopreservation of *in vitro*-Grown Axillary Bud of Asparagus (*Asparagus officinalis*) by Encapsulation Dehydration

มณฑา วงศ์มณีโรจน์[1] ศิริวรรณ บุรีคำ[2] รงรอง หอมหวล[1] รุ่งทิพย์ กาวิตา[1] และสุลักษณ์ แจ่มจำรัส[1]

บทคัดย่อ

ทำการทดลองการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งในสภาพเย็นยิ่งยวดด้วยการตัดตาข้างหน่อไม้ฝรั่งที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาทำการเลี้ยงเพื่อปรับสภาพเนื้อเยื่อให้แข็งแรง (preculture) บนอาหาร MS ที่เติม sucrose 0.7 โมลาร์ เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำไปเคลือบด้วย 3% Na-alginate แล้วแช่ไว้ใน sucrose 0.8 โมลาร์ ที่เติม glycerol 1 โมลาร์ เป็นเวลา 1 คืน ที่ 25°ซ ลดความชื้นโดยใช้ silica gel (50 กรัม) ปิดฝาแล้ววางไว้ในตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) ที่เวลาต่าง ๆ กันคือ 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 1 คืน นำขึ้นมาละลายเกล็ดน้ำแข็งอย่างรวดเร็วในภาชนะ (water bath) ที่มีน้ำอุณหภูมิ 40°ซ ก่อนเลี้ยงในอาหารปกติ พบว่าตาข้างหน่อไม้ฝรั่งที่ลดความชื้นเป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตถึง 70-80%

ABSTRACT

Axillary buds of asparagus plantlets cultured *in vitro* were used for cryopreservation. The buds were precultured on MS medium containing 0.7 M sucrose for three days prior to encapsulation with 3% Na-alginate. Encapsulated buds were submerged in 0.8 M sucrose and 1 M glycerol at 25°C overnight. Then the samples were placed in covered Petri dish containing 50 g silica gel in the laminar air flow for dehydration, at duration of 2, 4, 6, 8, and 10 hrs. Dehydrated buds were kept in liquid nitrogen overnight. The samples were freeze-thawed at 40°C in water bath for regeneration. It was observed that dehydration of 8 hrs. yielded 70-80% survival rate of asparagus buds.

คำนำ

การเก็บพันธุ์พืชในสภาพธรรมชาติมีโอกาสเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์เนื่องจากปัญหาภัยธรรมชาติหรือการทำลายของมนุษย์ ดังนั้นจึงได้มีการทดลองหาวิธีเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ วิธีการนี้ได้มีการปฏิบัติกันในห้องปฏิบัติการมาเป็นเวลานานแล้ว สามารถทำได้ทั้งการเก็บรักษาแบบระยะปานกลางคือ การชะลอการเจริญเติบโตและการเก็บรักษาแบบระยะยาว ได้แก่ การเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพเย็นยิ่งยวด (Cryopreservation) ทำได้โดยการนำชิ้นส่วนพืชเก็บในไนโตเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196°ซ วิธีนี้พืชจะหยุดการเจริญเติบโต และกิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์พืชหยุดการพัฒนา และสามารถป้องกันการแก่ตัวของชิ้นส่วนพืชได้ ทำให้เก็บรักษาได้เป็นเวลานานโดยไม่ต้องมีการถ่ายเปลี่ยนอาหาร และพืชยังคงสภาพมีชีวิต ซึ่งมีหลายเทคนิค สำหรับการวิจัยนี้ได้ทดลองศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพเย็นยิ่งยวดแบบ encapsulation dehydration ซึ่งเป็นเทคนิคการนำวุ้นมาเคลือบเนื้อเยื่อ (ลักษณะคล้ายเมล็ดเทียม) และนำไปผ่านการลดความชื้นโดยใช้หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชที่นำมาศึกษา

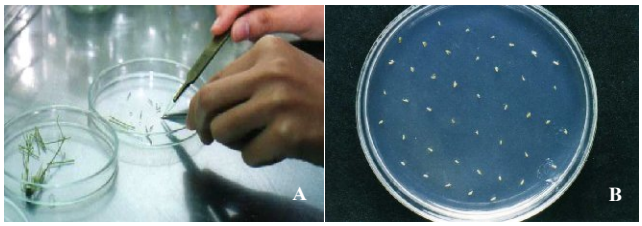
อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ทดลอง

1.1 นำต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis*) พันธุ์ Block Improve ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) สูตรดัดแปลง

1.2 ทำการ preculture โดยตัดตาข้างของต้นหน่อไม้ฝรั่งขนาด 1-2 มิลลิเมตร จากต้นที่เลี้ยงบนอาหารข้อ 1.1 มาวางบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม sucrose 0.7 โมลาร์ (ภาพที่ 1) เก็บไว้ในห้องอุณหภูมิ 25°ซ นานเป็นเวลา 3 วันในสภาพที่มีแสง เปรียบเทียบกับตาข้างที่ไม่ทำการ preculture

[1] ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน ม. เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
[2] ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900



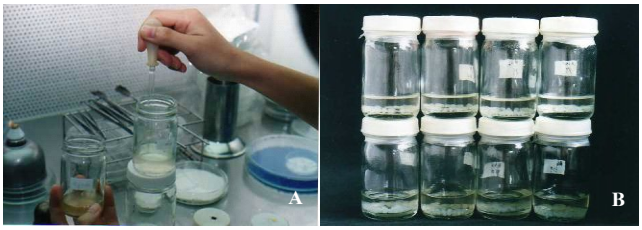
ภาพที่ 1 ตัดตาข้างของต้นหน่อไม้ฝรั่งขนาด 1-2 มิลลิเมตร จากต้นหน่อไม้ฝรั่ง (A) และการทำ preculture บนอาหารสูตร MS ที่เติม sucrose 0.7 โมลาร์ (B)

2. กระบวนการทำ encapsulation dehydration

2.1 นำตาข้างหน่อไม้ฝรั่งใส่ลงใน 3% Na-alginate solution (เตรียมโดยใช้ Alginic acid sodium salt from brown algae 3 กรัม ร่วมกับ sucrose 0.4 โมลาร์ ละลายในสารละลายของอาหารสูตร MS ที่ปราศจากแคลเซียมปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH 5.7 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อ)

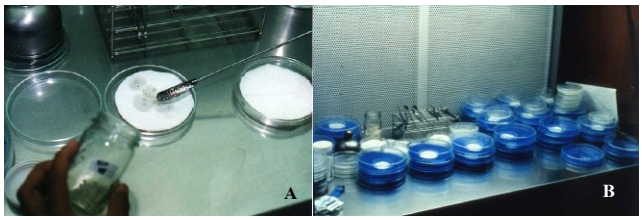
2.2 ใช้หลอดหยดที่มีลูกยางอยู่ด้านบนดูดสารละลาย 3% Na-alginate solution ที่มีตาข้างหน่อไม้ฝรั่งติดมาด้วยหยดลงในสารละลาย $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.1 โมลาร์ (เตรียมโดยใช้ $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1.47 กรัม ร่วมกับ sucrose 0.4 โมลาร์ ละลายในสารละลายของอาหารสูตร MS แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH 5.7 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อ) ทำให้เกิดเม็ดวุ้นที่เคลือบตาข้างของหน่อไม้ฝรั่งอยู่ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 0.5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25°ซ (ภาพที่ 2 A)

2.3 ตักเม็ดวุ้นที่มีตาข้างหน่อไม้ฝรั่งมาแช่ลงในสารละลาย glycerol 1 โมลาร์ (เตรียมโดยใช้ glycerol 4.6 กรัม ร่วมกับ sucrose 0.8 โมลาร์ ละลายในสารละลายของอาหารสูตร MS แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH 5.7 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อ) ตั้งทิ้งไว้บนเครื่องเขย่า 1 คืน (ภาพที่ 2B)



ภาพที่ 2 ดูดสารละลาย 3% Na-alginate ที่มีตาข้างหน่อไม้ฝรั่งติดอยู่หยดลงในสารละลาย $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.1 โมลาร์ (A) ตั้งทิ้งไว้ใน glycerol 1 โมลาร์ ที่เติม sucrose 0.8 โมลาร์ เป็นเวลา 1 คืน (B)

2.4 ตักเม็ดวุ้นขึ้นจากสารละลาย glycerol 1 โมลาร์ นำมาวางบนกระดาษที่ฆ่าเชื้อแล้วเพื่อซับน้ำส่วนเกินออก หลังจากนั้นจึงนำวุ้นขึ้นมาวางในจานแก้วขนาด 15 เซ็นติเมตร ที่ใส่ silica gel หนัก 50 กรัม ที่ฆ่าเชื้อแล้ว (silica gel ถูกฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแห้งอุณหภูมิ 180°ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) แล้วตั้งทิ้งไว้ในตู้ปลอดเชื้อที่เวลา 2, 4, 6, 8, และ 10 ชั่วโมง ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใส่จาน ๆ ละ 16 เม็ด (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ตักเม็ดวุ้นขึ้นซับน้ำส่วนเกินออกก่อนนำไปลดความชื้น (air dry) (A) การลดความชื้นที่เวลา 2, 4, 6, 8, และ 10 ชั่วโมง (B)

2.5 เมื่อตั้งทิ้งไว้จนได้เวลา 2, 4, 6, 8, และ 10 ชั่วโมง ให้นำเม็ดวุ้นจากแต่ละจานแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งให้เป็น control ไม่ต้องเก็บในไนโตรเจนเหลว (- LN) เมื่อลดความชื้นเสร็จแต่ละช่วงเวลานำเม็ดวุ้น 8 เม็ด วางบนอาหารปกติที่มีน้ำตาลและฮอร์โมน ส่วนที่เหลือ 8 เม็ดใส่ลงหลอด cryotube แล้วเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 1 คืน (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 4 การบรรจุเม็ดวุ้นที่เคลือบตาข้างหน่อไม้ฝรั่งใส่หลอด cryotube (A) ถังไนโตรเจนเหลว (B)

3. การกลับคืนสู่ชีวิตใหม่ (Recovery หรือ Regrowth)

3.1 การละลายเกล็ดน้ำแข็ง (thawing) โดยนำหลอด cryotube ที่บรรจุเม็ดวุ้นที่เคลือบตาข้างหน่อไม้ฝรั่งขึ้นจากไนโตรเจนเหลวมาแช่ในภาชนะ (water bath) ที่มีน้ำอุณหภูมิ 40°ซ บรรจุอยู่ จนกว่าน้ำแข็งจะละลายหมด

3.2 นำวุ้นที่เคลือบหน่อไม้ฝรั่งมาวางบนจานแก้วที่ใส่อาหารเลี้ยงหน่อไม้ฝรั่งสูตรขยายเพิ่มปริมาณที่เติมทั้งน้ำตาลและฮอร์โมน แล้วนำไปเปรียบเทียบกับ control ที่ไม่ได้เก็บในถังไนโตรเจนเหลวทุก ๆ ช่วงเวลาที่ลดความชื้น

ภาพที่ 5 ละลายเกล็ดน้ำแข็ง (thawing) ในน้ำ 40°ซ (A) น้ำเม็ดวุ้นที่เคลือบตาข้างหน่อไม้ฝรั่งและผ่านการละลายเกล็ดน้ำแข็งเลี้ยงบนอาหารปกติ (B)

4. การศึกษาความชื้นที่เหลืออยู่ในเม็ดวุ้นที่เคลือบตาข้างหน่อไม้ฝรั่ง

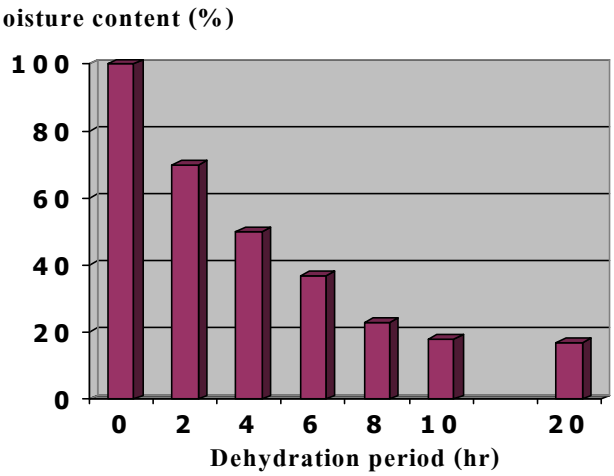
นำเม็ดวุ้นที่เคลือบตาข้างหน่อไม้ฝรั่งจำนวน 16 เม็ด วางบนจานแก้วที่ใส่ silica gel 50 กรัม ปิดฝาจำนวน 3 ซ้ำ ผึ่งไว้ในตู้ปลอดเชื้อที่เวลา 2, 4, 6, 8, และ 10 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่เหลืออยู่เปรียบเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น หลังจากนั้นจึงนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเม็ดวุ้นที่เหลืออยู่

ผลการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบการใช้ตาข้างหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการทำ preculture กับไม่ผ่านการทำ preculture บนอาหาร MS ที่เติม sucrose 0.7 โมลาร์ พบว่าเมื่อนำไปลดความชื้นที่เวลา 2, 4, 6, 8, และ 10 ชั่วโมง นั้น อัตราการรอดชีวิตของตาข้างหน่อไม้ฝรั่งทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการทำ preculture นำมาลดความชื้น 2, 4, และ 6 ชั่วโมง เมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ ตาข้างหน่อไม้ฝรั่งสามารถรอดชีวิตได้ 100% แต่เมื่อนำไปเก็บในไนโตรเจนเหลวและผ่านการละลายเกล็ดน้ำแข็งอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 40°ซ ตาข้างหน่อไม้ฝรั่งจะขาวซีดและตายหมด (ตารางที่ 1)

สำหรับการลดความชื้นที่เวลา 8 และ 10 ชั่วโมง ตาข้างหน่อไม้ฝรั่งทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการทำ preculture เมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ พบว่าอัตราการรอดชีวิตลดลงเหลือ 90-95% แต่เมื่อนำไปเก็บในไนโตรเจนเหลว อัตราการรอดชีวิตของหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ผ่านการทำ preculture มีการรอดชีวิตเพียง 66.67% แต่ตาข้างที่ทำ preculture มีอัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นเป็น 83.33%

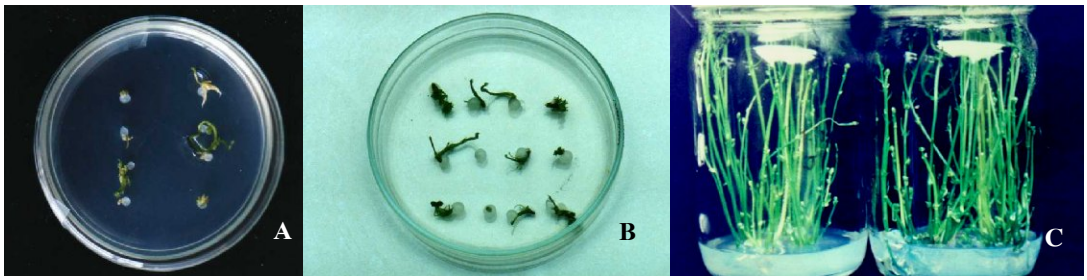
นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นว่าเม็ดวุ้นที่เคลือบตาข้างหน่อไม้ฝรั่งนี้เมื่อลดความชื้นเป็นเวลานานขึ้นความชื้นจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเวลา 2-6 ชั่วโมง แต่หลังจาก 8-10 ชั่วโมง ความชื้นลดลงอย่างช้า ๆ และความชื้นที่เหลือในเม็ดวุ้นแทบไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการลดความชื้นที่ 10 และ 20 ชั่วโมง (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ความชื้นที่เหลืออยู่ในเม็ดวุ้นที่เคลือบตาข้างหน่อไม้ฝรั่งเมื่อลดความชื้นเป็นเวลาต่าง ๆ กัน

ตารางที่ 1 อัตราการรอดชีวิตของตาข้างหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านและไม่ผ่านการทำ preculture เมื่อนำมาลดความชื้นที่เวลา 2, 4, 6, 8, และ 10 ชั่วโมง และนำมาเปรียบเทียบทั้งที่เก็บในไนโตรเจนเหลว (LN) และไม่เก็บในไนโตรเจนเหลว (-LN) เป็นระยะเวลาต่าง ๆ

Dehydration period (hr)	Survival rate (%)			
	Non-precultured bud		Precultured bud	
	-LN	LN	-LN	LN
2	100	0	100	0
4	100	0	100	0
6	100	0	100	0
8	95.80	66.67	91.60	83.30
10	91.96	45.80	95.80	50.00



ภาพที่ 7 ตาข้างหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการเก็บในไนโตรเจนเริ่มแตกยอดเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรปกติได้ 2-3 สัปดาห์ (A) เริ่มมีทั้งยอดและรากเมื่อเลี้ยงได้ 1-1.5 เดือน (B) ต้นหน่อไม้ฝรั่งที่เพิ่มปริมาณจากตาข้างที่เก็บรักษา (C)

การเจริญเติบโตของตาข้างหน่อไม้ฝรั่งเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรปกติ พบว่าตาข้างที่ผ่านและไม่ผ่านการทำ preculture แต่ผ่านการลดความชื้นที่เวลาต่าง ๆ กันเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารสูตรปกติสามารถเจริญเติบโตและเขียวขึ้นภายในเวลา 1-2 วัน ส่วนตาข้างที่เก็บในไนโตรเจนเหลวยังคงขาวซีดในช่วงสัปดาห์ที่ 1-3 หลังจากนั้นเริ่มเห็นสีเขียวปรากฏขึ้นจากตาข้างที่รอดชีวิตจะงอกและยาวขึ้นจนแทงทะลุออกจากวุ้นที่เคลือบไว้ในเวลาต่อมา

วิจารณ์

การทดลองทำ preculture และการใช้เวลาลดความชื้นที่แตกต่างกัน

จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าการทำการทดลอง preculture โดยการใช้อาหารที่เติม sucrose 0.7 โมลาร์ สามารถทำให้ตาข้างหน่อไม้ฝรั่งมีอัตราการรอดชีวิตมากขึ้นหลังจากที่เก็บในไนโตรเจนเหลวทั้งที่ลดความชื้นไว้เป็นเวลา 8 และ 10 ชั่วโมง ซึ่งช่วงเวลาลดความชื้นที่ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุดคือ 8 ชั่วโมง ถ้าลดความชื้นไว้ที่ 2, 4, และ 6 ชั่วโมง หลังจากนำขึ้นมาจากไนโตรเจนเหลวตาข้างจะตายหมด ทั้งนี้เนื่องมาจากการทำ preculture เมื่อใส่น้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นทำให้น้ำภายในเซลล์พืชถูกดึงออกมาภายนอกเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชด้วยกระบวนการ plasmolysis (สมบุญ, 2537) การลดความชื้นที่ 2-6 ชั่วโมงนั้นน้ำภายในเซลล์ถูกดึงออกมายังไม่มากพอ จากภาพที่ 6 จะเห็นว่ายังคงมีความชื้นเหลืออยู่ประมาณ 37% จึงทำให้เนื้อเยื่อพืชเมื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0°ซ เกิดเป็นผลึกน้ำแข็งและทำลายเซลล์ตัวเอง เนื้อเยื่อจึงตายได้ (Sakai, 1993 ; Matsumato, *et al*., 1998) ส่วนการลดความชื้นที่ 8 และ 10 ชั่วโมง ทำให้ตาข้างหน่อไม้ฝรั่งสามารถรอดชีวิตได้ 75-80% ทั้งนี้เป็นเพราะว่าปริมาณความชื้นเหลืออยู่ในเนื้อเยื่อประมาณ 20-25% นั้นค่อนข้างเหมาะสมที่จะทำให้เนื้อเยื่อยังคงสภาพมีชีวิตและไม่เกิดผลึกน้ำแข็งที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ตัวเอง ซึ่งผลการทดลองนี้คล้ายคลึงกับงานของ Matsumato and Sakai (1995) ที่ได้กล่าวไว้ว่าความสำเร็จของการเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพเย็นยิ่งยวดจะเกิดขึ้นได้ต้องหลีกเลี่ยงการเกิดผลึกน้ำแข็งในเซลล์ระหว่างที่มีการลดอุณหภูมิอย่างเร็วด้วยการใส่ลงในไนโตรเจนเหลวโดยตรง ซึ่งวิธีการทำ encapsulation dehydration นี้มีรายงานว่าประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิดประกอบกับเทคนิคนี้สะดวกและง่ายสำหรับการเคลื่อนย้ายไปยังที่ต่าง ๆ (Matsumato, *et al*., 1998)

เอกสารอ้างอิง

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2537. พฤกษศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์รั้วเขียว กรุงเทพฯ. 227 หน้า.

Matsumato, T. and A. Sakai. 1995. An approach to enhance dehydration tolerance of alginate-coated dried meristem cooled to -196°C. Cryo-Lettere. 16:299-306.

Matsumato, T., C. Takahashi, A. Sakai and Y. Nako. 1998. Cryopreservation of *in vitro*-grown apical meristems of hybrid statice by three different procedures. Scientia Horticulture. 76:105-114.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.

Sakai, A. 1993. Cryogenic strategies for survival of plant cultured cells and meristem cooled to -196°C, pp. 5-21. *In* Cryopreservation for Plant Genetic Resources. Japan lnternational Cooperation Agency.

การเกษตร

การงอกคาต้นของเมล็ดข้าวโพด (Vivipary in Maize)

รัฐกิจ รุ่งเรือง และวันชัย จันทร์ประเสริฐ[1]

เมล็ดเป็นส่วนของพืชที่ทำหน้าที่กระจายพันธุ์และถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม จึงมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์อย่างยิ่ง ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของพืช เมล็ดถือกำเนิดจากการปฏิสนธิระหว่างสเปิร์มสองเซลล์กับเซลล์ไข่และโพลาร์นิวเคลียส 2 นิวเคลียส ได้เป็นไซโกต (2N) กับไพรมารี-เอนโดสเปิร์ม (3N) และพัฒนาจนกระทั่งเป็นเมล็ดที่มีโครงสร้างสำคัญ 3 ส่วนคือ ต้นอ่อน ส่วนเก็บสะสมอาหาร และเปลือกเมล็ด เมื่อเมล็ดแก่ก็จะมีกลไกในการควบคุมการงอกที่สอดคล้องสัมพันธ์กับธรรมชาติและสภาพแวดล้อม มีการคายความชื้นในระยะท้ายของการพัฒนา ทำให้เมล็ดพืชส่วนใหญ่ไม่งอกคาต้น ในขณะที่เมล็ดพืชหลายชนิดมีความบกพร่องเกิดขึ้นในขั้นตอนนี้ ทำให้มีการงอกก่อนเวลาอันควร (precautious germination) ซึ่งเมล็ดข้าวโพดเป็นพืชหนึ่งในหลายชนิดที่มีปัญหาการงอกคาต้น (vivipary)

การงอกของเมล็ด

การงอกของเมล็ดเริ่มต้นจากการดูดน้ำ และมีการกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมี ซึ่งเป็นขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงก่อนที่จะมีการขยายตัวและเติบโตของต้นอ่อน เป็นการเปลี่ยนแปลงจากภาวะสงบนิ่ง (quiescent state) เป็นภาวะตื่นตัว ทั้งนี้การดูดน้ำของเซลล์จะส่งผลให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ มีการกระตุ้น (activate) และชักนำ (induce) ทำให้เอ็นไซม์บางส่วนที่มีอยู่ในเมล็ดทำงานและควบคุมกระบวนการสร้างเอ็นไซม์และโปรตีนอื่น ๆ ขึ้นใหม่ในเมล็ด นอกจากนี้การสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนก็เพิ่มขึ้นด้วย พลังงานที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์เหล่านี้ได้มาจากเอทีพี ซึ่งผลิตโดยไมโทรคอนเดรียที่ถูกกระตุ้นให้ทำงานหลังจากสงบนิ่งมาตลอดเวลาที่เมล็ดอยู่ในภาวะแห้ง การทำงานของไมโทรคอนเดรียและการผลิตเอทีพีทำให้อัตราการหายใจเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเทียบกับการหายใจที่ต่ำมากในเมล็ดที่ยังไม่งอก

ขั้นตอนต่อมาเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารอาหารตลอดจนการลำเลียงและการสร้างสารที่จำเป็น เอนไซม์ที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่จะมีส่วนช่วยในการสร้างกรดนิวคลีอิก โปรตีน เอ็นไซม์ และสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิด เมื่อมีการย่อยสลายสารอาหารที่สะสมในเอนโดสเปิร์มหรือใบเลี้ยง ได้แก่ คาร์โบไฮเดรท ไขมัน และโปรตีน เป็นต้น จะได้สารประกอบโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน สำหรับคาร์โบไฮเดรทจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ขณะที่ไขมันจะถูกเอ็นไซม์ย่อยเป็นกรดไขมัน และน้ำตาล ส่วนโปรตีนจะถูกย่อยเป็นกรดอะมิโนและเป็นแหล่งของไนโตรเจนสำหรับต้นอ่อน สารเหล่านี้จะถูกลำเลียงไปยังจุดเจริญของต้นอ่อน และใช้ในการสร้างเซลล์และเนื้อเยื่อใหม่ ๆ

การดูดน้ำและการหายใจจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง กระบวนการเมแทบอลิซึมจะเกิดขึ้นเป็นลำดับภายใต้การควบคุมและการกระตุ้นของเอ็นไซม์ที่มีความเฉพาะเจาะจง รวมทั้งการควบคุมของฮอร์โมนหรือสารควบคุมการเจริญเติบโต

เมื่อเมล็ดมีการดูดน้ำได้ระยะหนึ่ง จนกระทั่งมีการยืดตัวของเซลล์ของรากแรกเกิด (radicle) มีลำดับของกิจกรรมการงอกที่กล่าวมานั้นสอดประสานอย่างราบรื่นกับการแบ่งเซลล์และการขยายตัวของเซลล์ ทำให้มีรากแรกเกิดแทงทะลุเปลือกเมล็ดออกมา การเติบโตของต้นอ่อนทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นอ่อนเพิ่มขึ้นขณะที่น้ำหนักของเนื้อเยื่อสะสม (ใบเลี้ยงหรือเอนโดสเปิร์ม) ลดลง ในกรณีของเมล็ดพืชที่มีใบเลี้ยงเป็นส่วนเก็บสะสมอาหาร จะมีการสร้างคลอโรฟิลล์เพื่อทำหน้าที่สังเคราะห์แสงสร้างอาหาร ยอดอ่อน (plumule) จะพัฒนาเป็นใบจริง (primary leaf) และแกนต้นอ่อนจะยืดตัวโดยลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) และลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) สำหรับเมล็ดข้าวโพดเมโซคอทิล (mesocotyl) จะทำหน้าที่ยืดตัวส่งยอดอ่อน (plumule) ที่หุ้มด้วยปลอกหุ้มยอด (coleoptile) งอกขึ้นมาและพัฒนาเป็นใบจริง เติบโตต่อเนื่องจนกระทั่งกลายเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ในที่สุด

การงอกคาต้น (vivipary) ของเมล็ดข้าวโพด

เมล็ดพืชทั่วไปมีกลไกธรรมชาติที่สามารถควบคุมการงอกให้สอดคล้องกับสภาพแวดล้อมและฤดูกาล การคายความชื้นในระยะสุกแก่ เป็นกลไกหนึ่งที่ทำให้เมล็ดไม่สามารถงอกได้จนกว่าจะได้รับน้ำในปริมาณที่พอเพียง เมล็ดประเภทที่อยู่ในผลสด

[1] ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

แม้จะมีปริมาณน้ำมาก แต่ก็ไม่สามารถงอกได้เนื่องจากการมีกลไกป้องกันการงอกอื่น เช่น มีสารยับยั้งการงอก (inhibitor) ในผลหรือในเมล็ด เป็นต้น การงอกคาต้น (vivipary) เกิดจากเมล็ดสูญเสียกลไกดังกล่าวในการป้องกันความงอกขณะที่เมล็ดยังอยู่บนต้นแม่ ปัญหาเมล็ดงอกคาต้นมีผลกระทบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์และทำให้สูญเสียคุณค่าทางอาหาร เป็นการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญประการหนึ่ง ตัวอย่างเช่นการผลิตข้าวสาลีในประเทศนิวซีแลนด์ มีความสูญเสียจากการงอกคาต้นถึงร้อยละ 12.5 (สุนันทา, 2549) การงอกคาต้นจึงนับว่าเป็นปัญหาสำคัญปัญหาหนึ่งในพืชหลายชนิด

การพักตัวของเมล็ดพืชชั้นสูงส่วนใหญ่ถูกควบคุมด้วยสมดุลของสารกระตุ้นการงอก (promoter) เช่น จิบเบอเรลลิน (gibberellin, GA) กับสารยับยั้งการงอก เช่น แอบไซสิคแอสิด (abscisic acid, ABA) โดยทั่วไป GA เป็นสารกระตุ้นการงอกที่มีบทบาทในการชักนำการสร้างเอ็นไซม์ที่จำเป็นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า เช่น α-amylase, ribonuclease, endo-β-glucanase, phosphatase, ATPase, phytase, protease, lipase และ peroxidase เอ็นไซม์เหล่านี้มีบทบาทในการย่อยอาหารสะสมในเมล็ด และเกี่ยวข้องกับการให้พลังงานในกระบวนการเมแทบอลิซึม ทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมดำเนินไปได้อย่างราบรื่น ส่วน ABA นั้นถูกสังเคราะห์ในโอวุล (ovule) และถูกส่งไปเก็บสะสมไว้ในต้นอ่อน การทำงานของ ABA จะส่งผลในทางตรงกันข้ามกับการทำงานของออกซิน (auxin), GA และไซโตไคนิน (cytokinin) โดยทั่วไป ABA จะไปยับยั้งการทำงานของ GA ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการงอกของเมล็ด

การงอกคาต้นอันเนื่องมาจากการที่เมล็ดสูญเสียภาวะการพักตัว ถูกควบคุมด้วยปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวเนื่องกับลักษณะทางสรีรวิทยา สำหรับการงอกคาต้นหรือคาฝักในข้าวโพดเป็นลักษณะที่ควบคุมด้วยยีนกลายพันธุ์ (mutant gene) ของยีน vivipary (viviparous gene) ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์ทางชีววิทยา หรือกระทบต่อความไวต่อ ABA ของเอมบริโอ (embryo) หรืออาจเป็นผลมาจากการสังเคราะห์ ABA ที่ลดลงทำให้มีปริมาณ ABA ต่ำ Robertson (1955) กล่าวถึงการค้นพบของ Mangelsdorf (1926) ว่า มียีน viviparous 8 ยีนที่เป็นยีนผ่าเหล่า (mutants) และได้ศึกษาโดยระบุลักษณะทางพันธุกรรม ต่อมาพบว่ามียีน vivipary ที่เป็นยีนผ่าเหล่าทั้งหมดถึง 15 ยีน ได้แก่ *vp1*, *vp2*, *vp5*, *vp7*, *vp8*, *vp9*, *vp10*, *vp12*, *vp14*, *vp15*, *al1*, *y9*, *w3*, *rea* และ *dek33* (McCarty, 1995) โดย Schwart *et al.* (1997) แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้ดังนี้

1. ยีนที่ไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ ABA ได้แก่ *vp1* และ *rea* แต่มีผลต่อการงอกคาฝักในข้าวโพด เนื่องจาก embryo ไม่ sensitive ต่อ ABA ทำให้เมล็ดไม่ยับยั้งการงอก (ไม่พักตัว) ทำให้เมล็ดงอกคาฝัก

2. ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ ABA ได้แก่ *vp2*, *vp5*, *vp7*, *vp9*, *vp12*, *al1*, *y9* และ *w3* ทำให้ความเข้มข้นของ ABA ลดลงจึงไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการทำงานของ GA ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ การยืดตัว และการขยายตัวของเซลล์ ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของ GA ซึ่งจะกระตุ้นให้มีการผลิตเอ็นไซม์ α-amylase เพิ่มขึ้นในเมล็ด

3. ยีนที่มีผลต่อขั้นตอนท้าย ๆ ของการสังเคราะห์ ABA ได้แก่ *vp8* และ *vp14* ส่งเสริมให้การงอกเพิ่มขึ้น ความเสียหายเช่นนี้จะพบในบริเวณที่มีสภาพความชื้นสูงขณะเก็บเกี่ยว

Durantini *et al.* (2008) ได้ศึกษายีนผ่าเหล่า vivipary 25 ยีนที่เกี่ยวข้องกับการงอกคาต้นของเมล็ดข้าวโพด ดังแสดงใน Table 1 โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ viviparous mutants ที่งอกคาต้นและให้ต้นกล้าสีเขียว กับ viviparous mutants ที่งอกคาต้นและให้ต้นกล้าสีเขียวอ่อนหรือขาว ลักษณะการงอกคาต้นมีความแตกต่างกันออกไป เช่น งอกได้ตามปกติ งอกได้ไม่สมบูรณ์ งอกเป็นต้นกล้าผิดปกติในลักษณะต่าง ๆ และต้นกล้าตาย เป็นต้น ในยีนผ่าเหล่าจำนวน 25 ยีนที่ศึกษาพบว่ามี 22 ยีนที่มีลักษณะแสดงออกคล้ายกับยีน *vp1*, *vp5*, *vp7*, *vp9*, *vp10* และ *w3* ทั้งนี้ Durantini *et al.* (2008) ได้จัดการระบุชื่อยีนตามลักษณะให้ถูกต้องยิ่งขึ้น ดังแสดงในคอลัมน์สุดท้ายของ Table 1

กล่าวโดยสรุปการงอกคาต้น (vivipary) ของเมล็ดข้าวโพดเกิดจากยีนกลายพันธุ์ โดยมีการศึกษายีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวมานานกว่า 80 ปี จนปัจจุบันทราบว่า ยีนที่เกี่ยวกับการงอกคาฝักในข้าวโพดมียีนที่ควบคุมเป็น viviparous mutants ถึง 25 ยีน และเป็นยีน recessive ซึ่งการงอกคาต้นของเมล็ดข้าวโพดมีลักษณะของต้นกล้าแตกต่างกันหลายลักษณะทั้งปกติและผิดปกติ นักวิจัยยังคงมุ่งหน้าศึกษา vivipary ในข้าวโพดเพื่อแก้ปัญหาการงอกคาต้นและเพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดทางการค้าต่อไป

คำนิยม

ผู้เขียนขอขอบคุณ ผศ.ดร.ชูศักดิ์ จอมพุก สำหรับการตรวจทานความถูกต้องทางวิชาการด้านพันธุศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

สุนันทา จันทกูล. 2549. เอกสารประกอบคำสอนรายวิชาสรีรวิทยาของเมล็ด. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Durantini, D., A. Giulini, A. Malgioglio, R. Pilu, R. Tuberosa, C. Sanguineti and G. Gavazzi. 2008. Vivipary as a tool to analyze late embryogenicevents in maize. Heredity. 101:465-470.

Table 1 Description of the viviparous mutants under test and results of their complementation pattern to known *vp* mutants

Provisional symbol	Source	Origin	Phenotype	Positive allelism with	New designation
(a) Viviparous mutants with green seedling					
vp-A*	D Styles	*Spm stock*	Mutable aleurone in coloured background	*vp1*	*vp1-A*
vp-B*	D Styles	*Spm stock*	Mutable aleurone in coloured background	*vp1*	*vp1-B*
vp-C*	D Styles	*Spm stock*	Mutable aleurone in coloured background	*vp1*	*vp1-C*
vp-B14*	B Burr	EMS to seeds	Mutable aleurone in coloured background	*vp1*	*vp1-B14*
vp-426*	B Burr	EMS to seeds	Normal	*vp1*	*vp1-426*
vp-107*	G Gavazzi	*d5* stock	Inger[a]	*vp1*	*vp1-107*
vp-374*	B Burr	EMS to seeds	Enrolled leaves, Inger, callus[b]	*vp10*	*vp10-374*
vp-390*	B Burr	EMS to seeds	Coloured aleurone, Inger, des[c]	*vp10*	*vp10-390*
vp-D*	D Styles	*Spm stock*	Seedling with adherent leaves	*vp10*	*vp10-D*
vp-105*	R Pilu	EMS to seeds	Green tip of Ea[d], des, lethal seedling	*vp10*	*vp10-105*
vp-108*	G Gavazzi	*Ac* stock	Green tip of Ea, narrow leaves	*vp10*	*vp10-108*
vp-109*	R Pilu	spontaneous	Inger, frequently Sht[e] seedling	*vp10*	*vp10-109*
vp-404*	B Burr	EMS to seeds	Enroled leaves, Inger	*none*	
rea	G Gavazzi	EMS to seed	Red Ea	*none*	*rea*
(b) Viviparous mutants with pale-green/white seedling					
vp-viv1*	G Gavazzi	X-rays to pollen	Plumule unable to break pericarp	*vp5*	*vp5- viv1*
vp- viv2*	G Gavazzi	*d1* stock	Normal	*vp5*	*vp5- viv2*
vp-A.V.*	A Viotti	*Ac* stock	Normal	*vp5*	*vp5-AV*
vp-102*	M Racchi	Somaclonal variat.	Normal	*vp5*	*vp5-102*
vp-104*	R Pilu	EMS to seeds	Inger	*vp5*	*vp5-104*
vp-110*	G Gavazzi	*a1* stock	Inger, des	*vp5*	*vp5-110*
vp-100*	G Gavazzi	*d1* stock	Inger	*vp7*	*vp7-100*
vp-106*	R Pilu	EMS to seeds	Inger, des and frequently Sht seedling	*vp9*	*vp9-106*
vp-430*	B Burr	EMS to seeds	Normal	*vp9*	*vp9-430*
vp-103*	G Gavazzi	*d2* stock	Inger, distorted leaves	*w3*	*w3-103*
vp-366*	B Burr	EMS to seeds	Inger, reduced leaf margin	*none*	

[a] Incomplete germination,
[b] Tendency of immature embryos to yield callus,
[c] Defective seedling,
[d] Embryonic axis,
[e] Shootless

Mangelsdorf, P. C. 1926. The genetic and morphology of some endosperm characters in maize. Conn. Agr. Exp. Sta. Bull. 279:513-614.

McCarty, D. 1995. Genetic control and integration of maturation and germination pathways in seed development. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 46:71-93.

Robertson, D. S. 1955. The genetics of vivipary in maize. Genetics. 40:745-765.

Schwartz, S. H., B. C. Tan, D. A. Gage, J. A. D. Zeevaart and D. R. McCarty. 1997. Specific oxidative cleavage of carotenoids by *vp14* of maize. Science. 276:1872-1874.

การพัฒนาของดอกและเมล็ด

เนตรชนก เกียรติ์นนทพัทธ์[1]

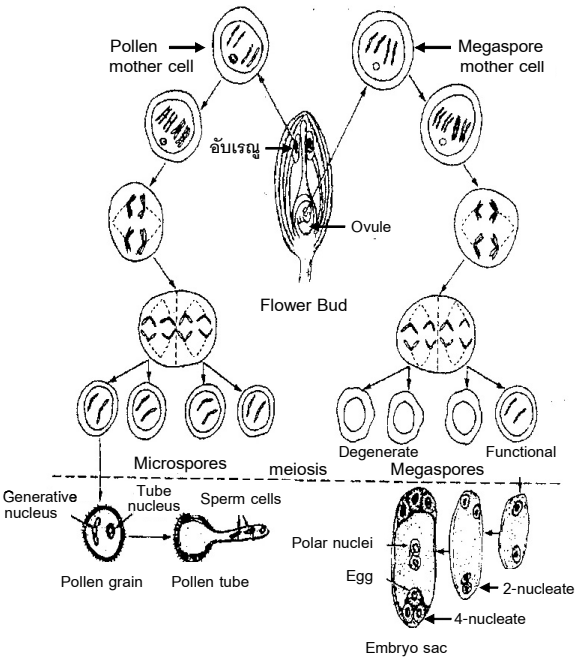
ยิ่งไปกว่าคุณค่าด้านความสวยงามรวมทั้งกลิ่นหอมที่เราสามารถสัมผัสได้ นั้นคือหน้าที่สำคัญและยิ่งใหญ่ตามธรรมชาติของดอกไม้ นั่นคือการดำรงและวิวัฒนาการของเผ่าพันธุ์ ความสวยงามและกลิ่นของดอกไม้ล้วนแล้วแต่เป็นกลไกของธรรมชาติที่นำไปสู่การผสมเกสรและสร้างเมล็ดซึ่งเป็นตัวกลางในการถ่ายทอดลักษณะต่าง ๆ ทางพันธุกรรมจากรุ่นพ่อ-แม่ไปสู่รุ่นลูก เมล็ด 1 เมล็ดสามารถเจริญเติบโต ออกดอก และให้ผลผลิตหรือเมล็ดได้อีกนับพันนับหมื่นเมล็ด

พัฒนาการของดอก (Flower development)

พืชมีดอกมีพัฒนาการต่อเนื่องเป็นวงจรชีวิต โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative growth) ไปเป็นระยะเจริญพันธุ์ (reproductive growth) เมื่อสภาพทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเหมาะสม จะมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอด หรือปลายกิ่ง หรือตาข้าง จากการแบ่งตัวเพื่อการสร้างใบ (leaf primordia) ไปเป็นการแบ่งเซลล์และเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เพื่อการสร้างเป็นโครงสร้างของดอก ในระยะแรกเป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเนื้อเยื่อเจริญ เกิดจากสภาพแวดล้อมและปัจจัยทางสรีรวิทยา เช่น ช่วงแสง (photoperiod) อุณหภูมิ และฮอร์โมนพืช เพื่อกระตุ้นให้มีการแบ่งเซลล์เพิ่มมากขึ้นและเป็นจุดเริ่มของการกำเนิด ปุ่มตาดอก (floral primordium) ต่อไป ทำให้บริเวณปลายยอดที่นูนสูงอยู่ยุบลงเกิดปุ่มเล็ก ด้านข้างเป็นจุดเริ่มต้นของดอก เรียกว่า ปุ่มกำเนิดดอก (floral primordium) เกิดเป็นส่วนที่ยื่นป่องออกมาเป็นกลีบเลี้ยงและกลีบดอก โดยมีลักษณะการเกิดคล้ายการเกิดของใบ จากนั้นจึงมีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียเกิดขึ้นตามลำดับ

การพัฒนาจากดอกสู่เมล็ด

1. การสร้างละอองเกสร หรือเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (microsporogenesis) (ภาพที่ 1) อับเรณูที่เจริญเต็มที่แล้ว ภายในมีละอองเรณูซึ่งมีขนาดเล็กมาก ลักษณะคล้ายผง จำนวนมหาศาล ภายในอับเรณูที่ยังอ่อนมีกลุ่มของ meristematic cell ต่อมากลุ่มของ meristematic cell หลุดออกจากกัน แบ่งเป็น 4 กลุ่ม เรียกกลุ่มเซลล์เหล่านี้ว่า **"pollen mother cells"** เซลล์แต่ละเซลล์ของ pollen mother cells มีโครโมโซม 2n ดังนั้น เซลล์เหล่านี้แบ่งตัวแบบ meiosis ได้ 4 เซลล์ แต่ละเซลล์มีขนาดเล็กมาก เรียกว่า **microspore** นิวเคลียสของแต่ละ microspore จะแบ่งตัวแบบ mitosis อีกครั้งหนึ่งทำให้ภายใน microspore มี 2 นิวเคลียส นิวเคลียสใหม่ที่เกิดขึ้นอันหนึ่งมีชื่อว่า **generative nucleus** อีกอันหนึ่งมีชื่อว่า **tube nucleus** ในเวลาต่อมาจะมี cytoplasm มาหุ้มรอบ generative nucleus และอาจมีเยื่อบาง ๆ มาหุ้มภายนอกอีกชั้นหนึ่งก็ได้ ดังนั้นจึงมีบางคนนิยมเรียก generative cell ในขณะที่นิวเคลียสของ microspore แบ่งตัวให้ generative nucleus และ tube nucleus นั้น ผนังของ microspore มีรูปร่างต่าง ๆ กันตามแต่ชนิดของพืช microspore ที่มีผนังหนาและประกอบด้วย generative nucleus และ tube nucleus นี้ เรียกละอองเรณู (pollen grain) ซึ่งเมื่อถึงระยะนี้อับละอองเรณูมักจะแก่เต็มที่และผนังของอับเรณูจะแตกออกปลดปล่อยละอองเรณูให้ไปตกลงบนยอดเกสรตัวเมีย



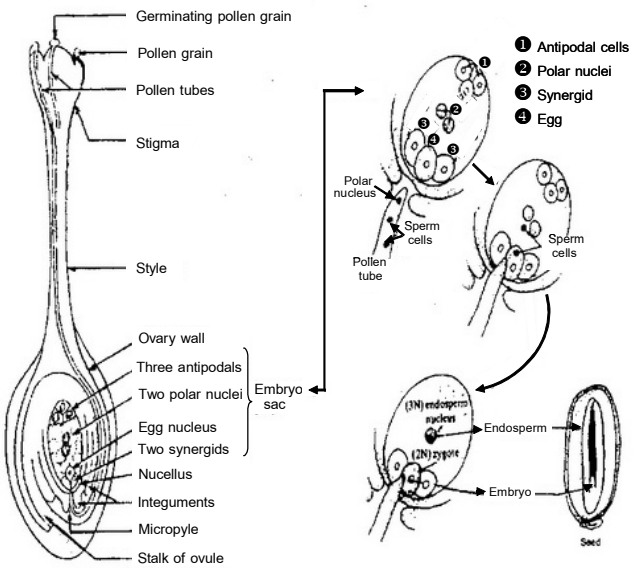
การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย

ภาพที่ 1 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (microspore genesis) และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (megaspore genesis) ในดอกไม้

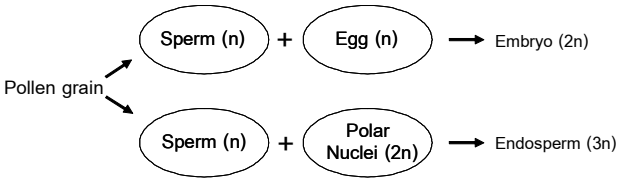
[1] นักวิจัย (ชำนาญการ) งานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเกษตร ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

2. การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (megasporogenesis) (ภาพที่ 1) ขณะที่ ovule ยังอ่อน กลุ่มเซลล์ที่อยู่ภายใน integument ที่ค่อนไปทางด้าน micropyle มีเซลล์หนึ่งที่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์อื่น ๆ มีนิวเคลียสใหญ่จนเกือบเต็มเซลล์และมี protoplasm ข้นกว่าเซลล์อื่น ๆ เรียกเซลล์นี้ว่า **megaspore mother cell** นิวเคลียสของเซลล์นี้เป็น diploid nucleus คือมีโครโมโซม 2n ในระยะเวลาต่อมานิวเคลียสนี้แบ่งตัวแบบ miosis ได้ 4 เซลล์ เรียงตัวเป็นแถวตามความยาวของ ovule นิวเคลียสของแต่ละเซลล์ใหม่นี้มีโครโมโซม 1n หรือเป็น hapiod nucleus แต่ละเซลล์ใหม่เรียกว่า megaspore ต่อมา megaspore 3 เซลล์ที่อยู่ทางด้านติดกับ micropyle สลายตัวไปเหลือ megaspore เพียงเซลล์เดียว ที่เป็นเซลล์สุดท้ายของแถวและอยู่ห่างจาก micropyle ซึ่งเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยนิวเคลียสของ megaspore อันที่เหลือนี้แบ่งตัวเองแบบ mitosis ถึง 3 ครั้งได้นิวเคลียสรวมทั้งหมด 8 นิวเคลียสด้วยกัน แต่ละนิวเคลียสเป็น haploid nucleus อยู่ภายใน cytoplasm และผนังเซลล์เดิมของ megaspore นั้นเอง นิวเคลียสทั้ง 8 นี้ไม่มีผนังเซลล์มาหุ้มและจัดตัวเองออกเป็นสองกลุ่ม ๆ ละ 4 นิวเคลียส โดยกลุ่มหนึ่งอยู่ทางด้าน micropyle อีกกลุ่มหนึ่งอยู่ทางด้าน chalaza จากนั้นนิวเคลียสอันหนึ่งของกลุ่มทางด้าน micropyle และนิวเคลียสอันหนึ่งของกลุ่มทางด้าน chalaza จะเคลื่อนตัวมาอยู่บริเวณตรงกลาง เมื่อถึงการเปลี่ยนแปลงระยะนี้จะเรียก megaspore ว่า **embryo sac** ดังนั้นในระยะนี้ภายใน embryo sac จึงมีนิวเคลียสจับตัวเป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มหนึ่งอยู่ทางด้าน chalaza มีนิวเคลียส 3 อัน ซึ่งในระยะต่อมามีเยื่อบาง ๆ มาแบ่ง cytoplasm และนิวเคลียสทั้ง 3 นี้พัฒนาเป็นเซลล์ 3 เซลล์ เรียกว่า antipodal cell อีกกลุ่มหนึ่งซึ่งอยู่ทางด้าน micropyle มีนิวเคลียส 3 อันและจะมีเยื่อบาง ๆ มากั้นเป็นเซลล์ 3 เซลล์ เช่นเดียวกับทาง antipodal แต่สำหรับกลุ่มเซลล์ที่อยู่ตรงกลางมักจะเจริญเติบโตมากกว่าเซลล์อีกสองเซลล์ที่อยู่ขนาบข้าง เซลล์ตรงกลางนี้ก็คือ **egg** ส่วนอีกสองเซลล์ที่อยู่ขนาบข้างเรียกว่า **synergid** รวมเรียกทั้งหมดว่า **egg apparatus** นิวเคลียสกลุ่มที่สามเป็นนิวเคลียสที่อยู่บริเวณกลางของ embryo sac และมีอยู่ 2 นิวเคลียส แต่ละนิวเคลียสมีโครโมโซม 1n เรียกนิวเคลียสกลุ่มนี้ว่า **polar nuclei** ซึ่งต่อมานิวเคลียสทั้งสองนี้รวมตัวกันเป็นนิวเคลียสที่มีโครโมโซม 2n เรียกว่า **endosperm mother cell** ดังนั้นภายใน embryo sac ขณะนี้จึงประกอบด้วยเซลล์ 7 เซลล์ด้วยกัน ซึ่งมาจากนิวเคลียส 8 อัน รวมเรียกว่า **megametophyte** หรือ **female gametophyte** โดยมี egg เป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียหรือ **female gamete**

3. การถ่ายละอองเกสร (pollination) และการปฏิสนธิ (fertilization) เมื่อละอองเรณูไปตกลงบนยอดเกสรตัวเมีย ละอองเรณูนั้นจะได้รับความชื้นจากยอดเกสรตัวเมียแล้วจึงงอก pollen tube แทงลงไปในเนื้อเยื่อของยอดเกสรตัวเมียและก้านเกสรตัวเมีย pollen tube เจริญเติบโตยาวออกไปเรื่อย ๆ และเข้าสู่ embryo sac ทางช่อง **micropyle** หลังจากนั้น tube nucleus เคลื่อนไปตามความยาวของ pollen tube ปลายของ pollen tube เมื่อเจริญมาถึง ovule จะแตกออก แล้วปล่อย sperm 2 อัน ซึ่งเคลื่อนที่ตาม pollen tube เข้าสู่ **embryo sac** ของ ovule โดย sperm (1n) ตัวหนึ่งจะไปผสมกับ egg (1n) sperm (1n) อีกตัวจะเข้าผสมกับ polar nuclei หรือ endosperm cell (2n) ที่อยู่ตรงกลาง embryo sac วิธีนี้เรียกว่า **double fertilization** (ภาพที่ 2 และ 3) egg เมื่อได้รับการผสมจาก sperm ก็จะเปลี่ยนแปลงเป็น **zygote** และเจริญเติบโตเป็น **embryo** ต่อไป และมีโครโมโซม 2n หรือ diploid ส่วน endosperm mother cell เมื่อได้รับการผสมจาก sperm ก็จะกลายเป็น **primary endosperm cell** ซึ่งมีโครโมโซม 3n (triploid) ต่อมาจึงเจริญเติบโตเป็นเนื้อเยื่อ **endosperm** ทำหน้าที่เก็บอาหารสำหรับการพัฒนาของ embryo ต่อไป ส่วน antipodal และ synergid จะสลายตัวไป



ภาพที่ 2 การปฏิสนธิสองครั้ง (double fertilization) และการกำเนิดเมล็ด



ภาพที่ 3 แผนภูมิการปฏิสนธิสองครั้ง (double fertilization) โดย sperm 2 อัน เข้าผสมกับ egg เกิดเป็น embryo และผสมกับ polar nuclei เกิดเป็น endosperm

โดยทั่วไป มี pollen tube เพียงอันเดียวเท่านั้นที่เข้าไปใน embryo sac ของ ovule ได้ ถ้า ovary มีหลาย ovule ก็จะมี pollen tube เข้าไปหลายอัน แล้วแยกไปตามแต่ละ ovule ถึงแม้จะมี ovule เดียว pollen tube ก็อาจจะงอกจากยอดเกสรตัวเมียได้หลายอัน แต่สลายตัวไปเหลือเพียงอันเดียวที่ไปถึง embryo sac ในกรณีที่

ไม่ได้รับการผสม ovule นั้นก็ไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ การผสมเกสรเป็นสิ่งสำคัญก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดย ovule พัฒนาเป็นเมล็ด ovary พัฒนาเป็นผล ส่วนประกอบอื่น ๆ ของดอก เช่น กลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรตัวผู้ และยอดเกสรตัวเมียก็จะเหี่ยวแห้งหลุดร่วงไป

ระยะเวลาตั้งแต่การผสมเกสรจนเสร็จสิ้นการปฏิสนธิในพืชส่วนใหญ่ใช้เวลาประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง ขึ้นกับชนิดของพืช อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ แต่ในพืชบางชนิดอาจใช้เวลาน้อยกว่า 24 ชั่วโมงหรือมากกว่า 48 ชั่วโมง เช่น ในข้าว (*Oryza sativa*) และกาแฟ (*Coffea arabica*) ระยะเวลาตั้งแต่การผสมเกสรจนสิ้นสุดการปฏิสนธิใช้เวลาประมาณ 12 - 24 ชั่วโมง ส่วนในผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) ใช้เวลาเพียง 5 - 6 ชั่วโมงเท่านั้น พืชบางชนิดช่วงเวลาระหว่างการผสมเกสรและการปฏิสนธิอาจใช้เวลามากกว่า 1 เดือนหรืออาจมากกว่า 1 ปี ก็ได้ เช่น โอ๊ค (*Ouercus* spp.) ใช้เวลานาน 12-14 เดือน เป็นต้น

การพัฒนาการของเมล็ด (Seed development)

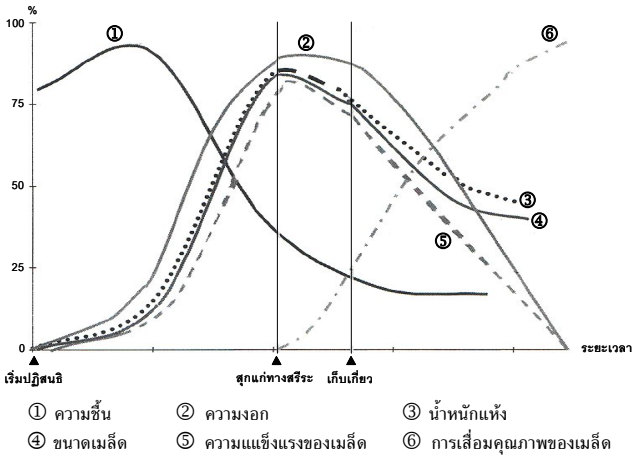
หลังจากการผสมเกสรแล้ว เมล็ดมีการพัฒนาและเจริญเติบโตจนมีองค์ประกอบต่าง ๆ ครบถ้วนสมบูรณ์ การเปลี่ยนแปลงส่วนต่าง ๆ ของดอก แสดงไว้ในตารางที่ 1 ในระหว่างการผสมเกสรและการเจริญเติบโตของ embryo และรังไข่นี้ อุณหภูมิและความชื้นในดินและในอากาศเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด หากพืชขาดน้ำ หรืออุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป เมล็ดจะไม่มีการพัฒนา มีผลทำให้พืชไม่ติดเมล็ด ระหว่างการเจริญเติบโตและพัฒนาของเมล็ดมีทั้งการสะสมและใช้อาหาร และการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยา รวมทั้งรูปร่าง การพัฒนาการของเมล็ดมี 3 ระยะคือ ระยะเจริญเติบโต ระยะสะสมอาหาร และระยะแก่ของเมล็ด

ตารางที่ 1 โครงสร้างของดอกขณะดอกบาน ที่พัฒนาไปเป็นโครงสร้างของผลขณะเมล็ดสุกแก่ (จวงจันทร์, 2529)

ขณะดอกบาน	ขณะเมล็ดสุกแก่
Ovary	Fruit
Ovary Wall	Pericarp
Ovule	Seed
Integuments	Seed Coat
Nucellus	Perisperm
Embryo Sac	ไม่สามารถสังเกตเห็น
Antipodals	สลายตัว
Polar Nuclei	Endosperm
Egg	Embryo
Synergids	สลายตัวไป
Micropyle	Micropyle
Funiculus	Hilum (พืชวงศ์ถั่ว)

การสุกของเมล็ดพันธุ์ (seed maturation) ระหว่างการเจริญเติบโตและพัฒนาการหลังการปฏิสนธิ เมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (morphology) และสรีรวิทยา (physiology) แตกต่างกันไปตามชนิดของพืชและสภาพแวดล้อม เมล็ดที่สุกแก่ทางสรีรวิทยานั้นเป็นเมล็ดที่มีน้ำหนักแห้งสูงสุด นอกจากนี้ยังเป็นเมล็ดที่มีความงอกและความแข็งแรงสูงสุดอีกด้วย

ขนาดของเมล็ดขยายใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ จนมีขนาดใหญ่ที่สุดและมีความสามารถในการงอกสูงสุดก่อนที่เมล็ดจะเข้าสู่การสุกแก่ทางสรีรวิทยา ขณะเดียวกับที่น้ำหนักแห้งของเมล็ดที่เพิ่มขึ้นมีน้ำหนักแห้งสูงสุด เมล็ดจะมีความแข็งแรงสูงสุด และมีความชื้นประมาณ 35-50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา ความแข็งแรงของเมล็ดจะค่อย ๆ ลดลงในอัตราที่เร็วกว่าการลดลงของความสามารถในการงอกของเมล็ด (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาระหว่างพัฒนาการของเมล็ดตั้งแต่ปฏิสนธิถึงระยะหลังเก็บเกี่ยว (บุญมี, 2552)

เอกสารอ้างอิง

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญมี ศิริ. 2552. วิทยาการเมล็ดพันธุ์. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

คณาจารย์ภาควิชาพฤกษศาสตร์. 2541. ปฏิบัติการพฤกษศาสตร์ทั่วไป. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 186 หน้า.

เทียมใจ คมกฤส. 2529. กายวิภาคของพฤกษ์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 308 หน้า.

Esau, K. 1976. Anatomy of Seed Plants. John Wiley & Inc., New York. 2nd ed. 550 p.

Stern, K.R. 1994. Introductory of Plant Biology. Wm C. Brown Communications Inc., Iowa. 537 p.

Moore, R., W.D. Clark, K.R. Sterm and D. Vodopich. 1995. Botany. Wm C. Brown Communications, Inc., Iowa. 824 p.

Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography

สุกัญญา วงศ์พรชัย[1]

โครมาโทกราฟี (chromatography) นับเป็นเทคนิคการแยกสารเพื่อให้สามารถศึกษาลึกลงไปถึง ประเภทและชนิด จนถึงโครงสร้างทางเคมีของสารแต่ละตัวในสารผสมหรือสารสกัดหนึ่ง ๆ ที่มักมีความซับซ้อนขององค์ประกอบสูงได้อย่างมีประสิทธิภาพ จนเป็นที่ยอมรับในแวดวงของนักวิจัยทางเคมีหรือนักวิจัยในศาสตร์ที่เกี่ยวข้องอย่างแพร่หลาย ความสำคัญนี้ส่งผลให้เทคนิคโครมาโทกราฟีถูกพัฒนาให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นด้วยเทคโนโลยีที่ทันสมัยในขณะนั้นมาตามลำดับอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน การพัฒนานี้ยังก่อให้เกิดความหลากหลายในแขนงหรือเทคนิคย่อยทางโครมาโทกราฟี เพื่อให้สามารถแก้ปัญหาการแยกและวิเคราะห์กลุ่มสารได้ตรงตามวัตถุประสงค์ของงานยิ่งขึ้น

แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography : GC) เป็นเทคนิคโครมาโทกราฟีที่เหมาะกับการประยุกต์เพื่อวิเคราะห์สารอินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโมเลกุลในสภาวะแก๊สหรือทำให้ระเหยเป็นโมเลกุลในสภาวะแก๊สได้โดยไม่สลายตัวหรือมีการเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีไปจากเดิม ทั้งนี้เนื่องจากแก๊สโครมาโทกราฟีมีเฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊ส หรือที่เรียกว่า แก๊สพา (carrier gas) ทำหน้าที่พาสารที่อยู่ในสถานะแก๊สให้ไหลเข้าไปในคอลัมน์ที่บรรจุเฟสคงที่ไว้ สารในสถานะแก๊สที่อยู่ในตัวอย่างจะเกิดการเคลื่อนที่ในคอลัมน์ที่แตกต่างกัน เนื่องจากเฟสคงที่ส่งแรงกระทำต่อสารต่างกันตามสมบัติทางเคมีของสารแต่ละตัว สารที่เกิดแรงกระทำกับเฟสคงที่มากจะเคลื่อนที่ได้ช้ากว่าสารที่เกิดแรงกระทำน้อย ความแตกต่างนี้ทำให้สารแต่ละตัวแยกจากกันด้วยอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันแสดงผลออกมาเป็นกราฟที่เรียกว่า โครมาโทแกรม (chromatogram) และเวลาการเคลื่อนที่ในคอลัมน์ที่ต่างกันวัดออกมาเป็นค่า เวลารีเทนชัน (retention time) นั่นเอง ในปัจจุบันเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีได้ถูกพัฒนาไปในรูปแบบเครื่องมือวิเคราะห์ที่สมบูรณ์ มีการควบคุมการทำงานและการประมวลผลด้วยระบบคอมพิวเตอร์ อุปกรณ์ย่อยส่วนต่าง ๆ ในเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ เช่น ระบบนำสารเข้า (injection system) ระบบตรวจวัดสาร (detection system) ระบบควบคุมความดันและอุณหภูมิ รวมถึงคอลัมน์ที่ใช้ในการแยกสารก็ได้ถูกพัฒนาไปในหลากหลายรูปแบบเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพการวิเคราะห์โดยรวมอย่างสูงสุด

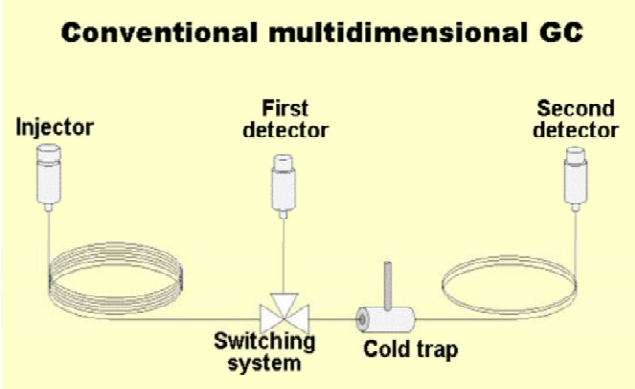
แม้ว่าคอลัมน์ลักษณะท่อกลวงแบบแคปิลลารีขนาดเล็กและมีเฟสคงที่เคลือบที่ผิวด้านใน หรือที่เรียกว่า “capillary column” ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในระบบแก๊สโครมาโทกราฟีในปัจจุบันจะเป็นคอลัมน์ชนิดที่ให้ประสิทธิภาพในการแยกสารดีที่สุดในบรรดาคอลัมน์ของระบบโครมาโทกราฟีทั้งหมด อย่างไรก็ตามปัญหาที่เกิดจากความซับซ้อนของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ไม่ได้หมดไป เนื่องจากสารที่เหมาะกับการแยกและวิเคราะห์ด้วยระบบแก๊สโครมาโทกราฟีมักเป็นสารอินทรีย์ระดับทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยถึงปานกลาง บางกลุ่มมีโครงสร้างที่ใกล้เคียงกันมาก และยังพบเป็นจำนวนมากในแหล่งธรรมชาติหนึ่ง ๆ ตัวอย่างเช่น สารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชผัก-ผลไม้และสมุนไพร นอกจากนี้ยังพบความหลากหลายของโครงสร้างทางเคมีมากในสารเทอร์พีนอยด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลหรือสูตรโมเลกุลเดียวกัน ทำให้ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิดมีเทอร์พีนอยด์เป็นองค์ประกอบกว่าหนึ่งร้อยสารและไม่สามารถใช้เทคโนโลยีของคอลัมน์ของแก๊สโครมาโทกราฟีในปัจจุบันแยกองค์ประกอบที่ซับซ้อนเหล่านั้นออกจากกันได้ ปัญหาความสามารถในการแยกสารที่จำกัดเหล่านี้เป็นที่มาของการพัฒนาระบบแก๊สโครมาโทกราฟีแบบสองคอลัมน์ (dual column) ขึ้น

ในระยะแรกการใช้คอลัมน์ที่สองเสริมเข้ามาในระบบแก๊สโครมาโทกราฟีมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อแก้ปัญหาการซ้อนทับกันของพีค (peak) ขององค์ประกอบที่มีเวลารีเทนชันใกล้เคียงกันมาก ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากสารดังกล่าวนั้นมีส่วนของโมเลกุลที่ส่งแรงกระทำต่อเฟสคงที่คล้ายคลึงกัน ทำให้เฟสคงที่ดึงสารไว้ด้วยแรงที่เท่า ๆ กัน สารจึงเคลื่อนที่ด้วยเวลาที่เท่า ๆ กัน จึงแยกจากกันได้ไม่ดี อย่างไรก็ตามสารเหล่านั้นอาจมีส่วนอื่นในโมเลกุลที่เกิดแรงกระทำอีกประเภทหนึ่งได้หากเปลี่ยนไปใช้เฟสคงที่ที่มีสมบัติต่างจากเฟสแรก หากแรงกระทำชุดใหม่นี้ต่างกันในสารแต่ละตัวก็จะทำให้สารเคลื่อนที่ด้วยเวลาที่ต่างกันและสามารถถูกแยกออกจากกัน

[1] รองศาสตราจารย์ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50200

ได้ ตัวอย่างเช่น กรดไขมัน ที่ในโมเลกุลมีส่วนที่มีขั้วที่หมู่คาร์บอกซิล (-COOH) และกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกันมักมีขั้วใกล้เคียงกันด้วย หากให้สารผสมของกรดไขมันเกิดการแยกบนคอลัมน์ชนิดมีขั้ว (polar column) กรดไขมันเหล่านั้นจะถูกแยกออกจากกันได้ไม่ดีนัก เนื่องจากหมู่คาร์บอกซิลของกรดไขมันแต่ละตัวมีขั้วพอ ๆ กัน แต่หากเปลี่ยนเป็นคอลัมน์ชนิดไม่มีขั้ว (non-polar column) ส่วนที่เป็นสายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันแต่ละตัวซึ่งมีจำนวนคาร์บอนต่างกัน จะส่งแรงกระทำต่อเฟสคงที่ประเภทไม่มีขั้วได้ต่างกัน ดังนั้นกรดไขมันจึงแยกจากกันได้ดีกว่าเมื่อใช้คอลัมน์ที่ไม่มีขั้ว

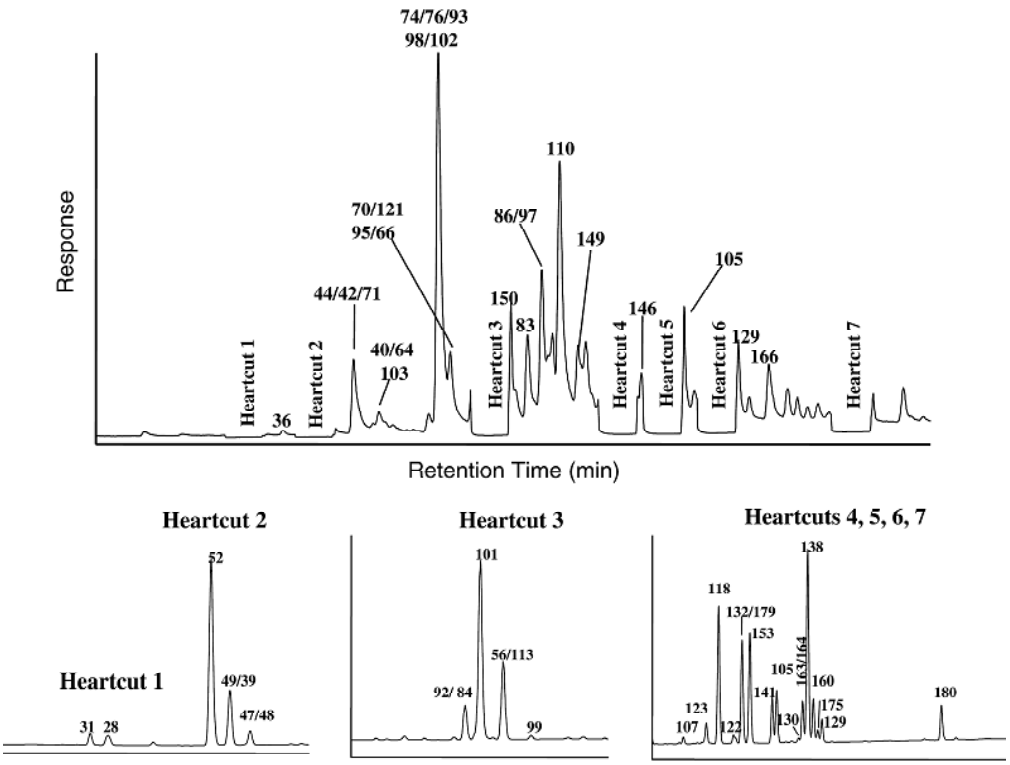
ในระบบแก๊สโครมาโทกราฟีแบบสองคอลัมน์ดังที่กล่าวมานี้ คอลัมน์ทั้งสองจึงต้องมีกลไกการแยกสารที่แตกต่างกัน หากคอลัมน์แรกเป็นคอลัมน์ชนิดไม่มีขั้ว คอลัมน์ที่สองควรเป็นคอลัมน์ชนิดมีขั้ว ระบบแก๊สโครมาโทกราฟีแบบสองคอลัมน์ที่พัฒนาขึ้นในระยะแรก ๆ ประมาณ 30 กว่าปีมาแล้ว ใช้การต่อคอลัมน์แรกและคอลัมน์ที่สองเข้าด้วยกันโดยที่ปลายคอลัมน์แรกต่อไปยังคอลัมน์สองจะมีระบบที่ทำหน้าที่กำหนดทิศทางการไหลของเฟสเคลื่อนที่และสารที่ละลายอยู่กับเฟสเคลื่อนที่ขณะนั้น เรียกว่า “switching system” เช่น การใช้วาล์วสามทาง (T-way valve) โดยทางหนึ่งมาจากคอลัมน์แรกและต่อกับส่วนของคอลัมน์เดิมไปยังตัวตรวจวัดแรก อีกทางหนึ่งนำไปสู่คอลัมน์ที่สอง เมื่อต้องการใช้คอลัมน์เดียววาล์วจะปิดทางที่จะไปคอลัมน์ที่สองและเฟสเคลื่อนที่พาสารเข้าไปในส่วนต่อคอลัมน์เดิมที่ต่อไปยังตัวตรวจวัด ส่วนการเปิดวาล์วจะทำให้เฟสเคลื่อนที่พาสารเข้าไปในคอลัมน์ที่สองและเกิดการแยกด้วยกลไกที่ต่างกัน สัญญาณของสารที่ได้จากการแยกด้วยคอลัมน์ที่สองนั้นจะถูกรายงานโดยตัวตรวจวัดที่สอง ซึ่งต่ออยู่ที่ปลายของคอลัมน์ที่สอง และเนื่องจากสารเกิดการแพร่ขณะเคลื่อนที่มาตามคอลัมน์ ดังนั้นทันทีที่เฟสเคลื่อนที่พาสารเข้าไปในคอลัมน์ที่สอง สารจะถูกทำให้ควบแน่นลงด้วยความเย็นจัด (cold trap) อาจเกิดจากการพ่นด้วยคาร์บอนไอออกไซด์เหลวก่อนที่สารจะเคลื่อนที่ต่อไปในคอลัมน์ที่สอง การแบ่งส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่มีสารที่ต้องการแยกที่ช่วงเวลาหนึ่ง ๆ ในตำแหน่งที่มีการซ้อนทับกันของพีคมาก โดยการควบคุมการปิด-เปิดของวาล์วเพื่อให้มีการแยกต่อในคอลัมน์ที่สองนี้ มีศัพท์เฉพาะเรียกว่าการทำ “heart-cutting” ซึ่งต่อมาภายหลังระบบดังกล่าวอาจมีการพัฒนาปรับเปลี่ยนให้มีมากกว่าสองคอลัมน์ได้ตามลักษณะงานของผู้วิจัย โดยแต่ละคอลัมน์ต่อกับตัวตรวจวัดแต่ละตัว ระบบแก๊สโครมาโทกราฟีแบบหลายคอลัมน์ต่อกันเพื่อเพิ่มความสามารถในการแยกสารเฉพาะส่วนนี้เรียกว่า “Multidimensional GC” แผนภาพองค์ประกอบของระบบแก๊สโครมาโทกราฟีที่แสดงใน ภาพที่ 1 ที่ประกอบด้วยสองคอลัมน์ต่อกับตัวตรวจวัดแต่ละตัว จึงเรียกว่า “Two-dimensional GC” และเขียนย่อว่า “2D-GC”



ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงส่วนประกอบที่สำคัญและการต่อคอลัมน์ในระบบ 2D-GC (Bedini, 2005)

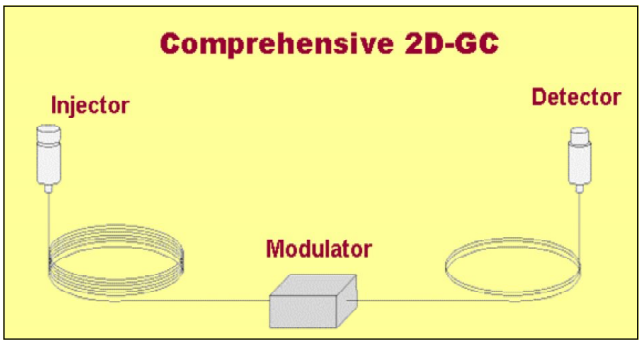
ตัวอย่างการวิเคราะห์ Arochlor 1254 ซึ่งเป็นสารผสมอ้างอิงมาตรฐาน ในภาพที่ 2 ด้วยเทคนิค 2D-GC (Marriott, *et al.*, 2003) แสดงการทำ heart-cutting ในบางส่วนตรงจุดที่เห็นสัญญาณของพีคหายไปในโครมาโทแกรมบน ซึ่งเป็นโครมาโทแกรมที่ได้จากตัวตรวจวัดตัวแรก ส่วนที่หายไปนี้ (heart cut) ถูกนำเข้าไปแยกในคอลัมน์ที่สองและแสดงผลออกมาโดยตัวตรวจวัดที่สองได้เป็นโครมาโทแกรมย่อย ๆ ที่แสดงด้านล่าง ดังนั้นจะเห็นว่าระบบ 2D-GC ให้การแสดงผลออกมาอย่างน้อยสองโครมาโทแกรม (ในกรณีที่มี heart cut เดียว) ซึ่งเป็นสัญญาณมาจากตัวตรวจวัดแต่ละตัวที่ต่ออยู่กับแต่ละคอลัมน์ อย่างไรก็ตามเฉพาะโครมาโทแกรมที่ได้จากคอลัมน์และตัวตรวจวัดชุดแรกจะแสดงเวลาของการแยกทั้งหมด ข้อดีประการหนึ่งคือตัวตรวจวัดทั้งสองอาจแตกต่างกันได้ ทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวัดสารไปในขณะเดียวกัน

แม้ระบบแก๊สโครมาโทกราฟีหลายมิติ (MD-GC) จะสามารถแก้ปัญหาการแยกองค์ประกอบในตัวอย่างที่มีความซับซ้อนสูงให้ดีขึ้นได้ เทคนิคดังกล่าวก็มีข้อจำกัดที่ความไม่แน่นอนของชุดเครื่องมือ เนื่องจากคอลัมน์และตัวตรวจวัดที่สอง (หรือสาม) มักถูกติดตั้งต่างกันไปตามความต้องการของผู้ใช้ ทำให้ไม่สามารถสร้างชุดเครื่องมือของระบบ 2D-GC (หรือ MD-GC) ที่แน่นอนได้ จึงไม่มีชุดเครื่องมือดังกล่าวออกจำหน่ายอย่างแพร่หลายในเชิงการค้า แต่การพัฒนาระบบแก๊สโครมาโทกราฟีสองมิติก็ยังคงดำเนินต่อไปเรื่อยมา จนในระยะ 20 ปีให้หลัง ระบบแก๊สโครมาโทกราฟีสองมิติแบบที่มีการเก็บข้อมูลทั้งจากคอลัมน์แรกและคอลัมน์ที่สองอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการวิเคราะห์ (run time) หรือที่เรียกว่า “Comprehensive Two-Dimensional GC” เขียนย่อว่า GC × GC ได้ถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกโดย Liu และ Phillips (Liu and Phillips, 1991) โดยมีการใช้ระบบควบแน่นแบบเป็นจังหวะ ที่สามารถควบคุมจังหวะของการให้ความเย็นได้วางไว้ที่จุดเริ่มต้นของคอลัมน์ที่สอง และจังหวะการให้ความเย็น



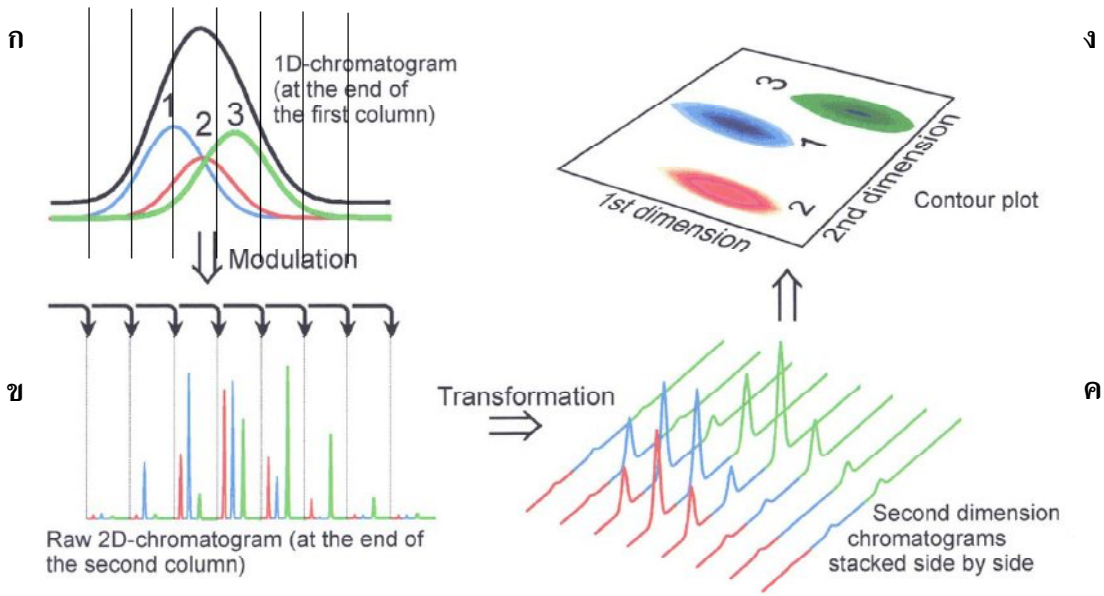
ภาพที่ 2 การแยกองค์ประกอบในสารผสมอ้างอิงมาตรฐาน Arochlor 1254 ด้วยเทคนิค 2D-GC ให้โครมาโทแกรมทั้งที่ได้จากคอลัมน์และตัวตรวจวัดชุดแรก (บน) และชุดที่สองซึ่งแยกเป็น heart-cut แต่ละช่วง (ล่าง)

นี้เป็นไปอย่างต่อเนื่อง ระบบที่ว่านี้มีชื่อเรียกทั่วไปว่า modulator (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แผนภาพแสดงส่วนประกอบและการต่อคอลัมน์ในระบบ GC×GC ที่มี modulator อยู่ระหว่างทั้งสองคอลัมน์ (Bedini, 2005)

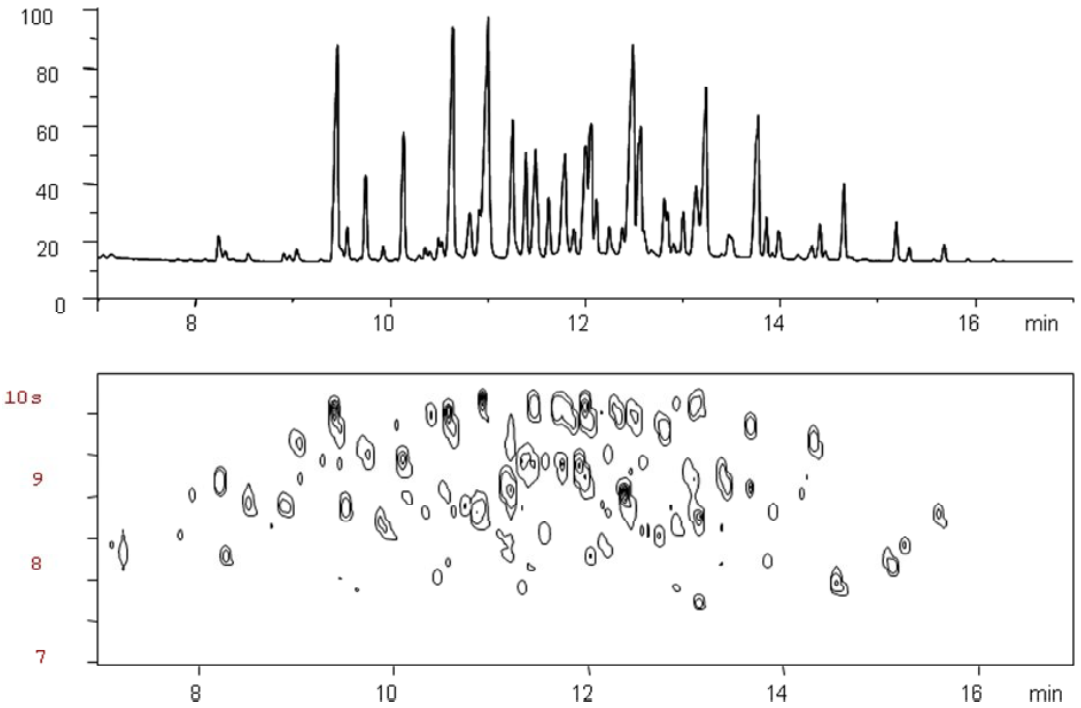
จนถึงปัจจุบันนี้พบว่า modulator มีการพัฒนาไปหลากหลายรูปแบบ แต่ทุกแบบมีหลักการทำงานเดียวกันคือ ควบแน่นสารที่ไหลมากับเฟสเคลื่อนที่ที่ส่วนปลายของคอลัมน์แรกเป็นระยะเวลาหนึ่ง เช่น 5 วินาที จนทำให้สารที่แพร่กระจายตัวในแก๊สเฟสควบแน่นลงมาเป็นปริมาตรที่น้อยมาก จากนั้นจะมีจังหวะหยุดให้ความเย็นอาจเป็นเวลา 1 วินาที เมื่อหยุดให้ความเย็นสารที่ถูกควบแน่นอยู่นั้นก็จะอยู่ในห้วงความร้อนที่เป็นอุณหภูมิของคอลัมน์ขณะนั้นและไหลต่อไปในคอลัมน์ที่สองซึ่งมีเฟสที่ต่างจากคอลัมน์แรก การแยกสารเกิดขึ้นอีกครั้งด้วยกลไกการแยกของคอลัมน์ที่สองจนสารที่แยกได้ไหลเข้าไปสู่ตัวตรวจวัดซึ่งต่ออยู่ที่ปลายของคอลัมน์ที่สอง เมื่อหยุดให้ความเย็นเสร็จแล้ว modulator ก็จะกลับมาให้ความเย็นใหม่แก่สารช่วงใหม่ที่ไหลเข้ามาเป็นเวลา 5 วินาทีเช่นเดิม จากนั้นก็หยุดให้ความเย็น ทำเช่นนี้ต่อเนื่องกันไปเรื่อย ๆ เป็นจังหวะ การควบแน่นสารแล้วปล่อยไป (โดยการหยุดให้ความเย็น) นี้เหมือนเป็นการนำสารส่วนที่ไหลมากับเฟสเคลื่อนที่ขณะนั้น ๆ มาฉีดเข้าไปใหม่ในคอลัมน์ที่สอง ดังนั้นทุก ๆ 6 วินาที ของการทำการควบแน่นและปล่อยสารของ modulator จะมีการแยกใหม่เกิดต่อเนื่องกันไปซึ่งก็คือการแยกของคอลัมน์ที่สอง และการแยกสารในแต่ละ 6 วินาทีถัดกันไปนี้ ถูกนำมาพล็อตเป็นโครมาโทแกรมย่อย ๆ ในมิติที่สองต่อเรียงกัน (ภาพที่ 4) ดังนั้นเวลาทั้งหมดของการแยกในคอลัมน์ที่สองจะเท่ากับเวลาการควบแน่นและปล่อยสารของ modulator ในแต่ละครั้ง ซึ่งในที่นี้ใช้เวลา 6 วินาทีและแสดงอยู่ในแกน y ของโครมาโทแกรม เวลาการแยกที่สั้นนี้ทำให้คอลัมน์ที่สองไม่ควรมีความยาวมากนัก ซึ่งมักอยู่ในช่วง 1-5 เมตร เทคนิคแบบ GC×GC จึงให้โครมาโทแกรมที่แสดงผลการแยกสารเป็นโครมาโทแกรมเดียว ทำโดยนำสัญญาณที่ได้มาทำการประมวลผลด้วยซอฟแวร์และสร้างออกมาเป็นโครมาโทแกรมในลักษณะสามมิติ หรือรูปสามมิติที่แสดงในระนาบเดียวแบบสองมิติ (contour plot)



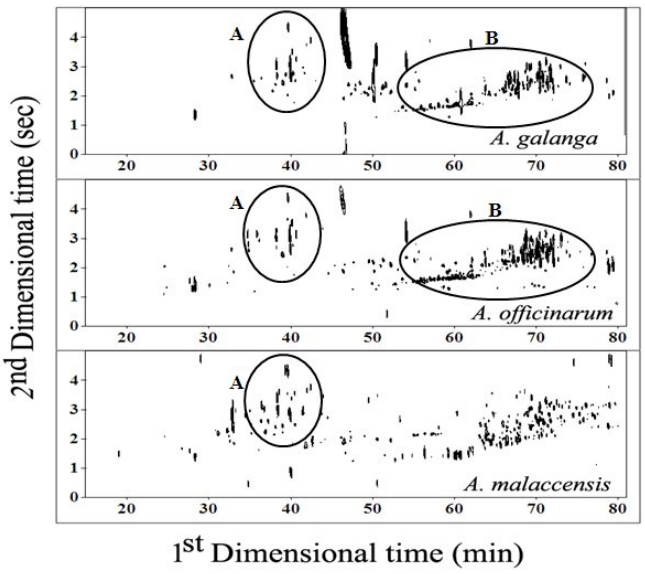
ภาพที่ 4 การซ้อนทับของสาร 3 ตัว ปรากฏเป็นหนึ่งพีคในโครมาโทแกรมที่ได้จากคอลัมน์เดียว (ก), เมื่อสารจากคอลัมน์แรกแต่ละช่วงถูกควบแน่นด้วย modulator และวิเคราะห์ต่อในคอลัมน์ที่สอง จึงเกิดการแยกของสารทั้ง 3 ตัว แสดงในแต่ละโครมาโทแกรมย่อยที่สัมพันธ์กับสารในช่วงที่ถูกควบแน่นนั้น (ข), จากนั้นนำโครมาโทแกรมย่อยทั้งหมดมาพล็อตใหม่เรียงกันและมีเวลารีเทนชันขึ้นไปตามแกน y (ค), สามารถนำข้อมูลโครมาโทแกรมทั้งหมดมาประมวลด้วยซอฟแวร์และพล็อตกราฟใหม่ในลักษณะ contour plot (ง) (Bedini, 2005)

ความแตกต่างระหว่างโครมาโทแกรมที่ได้จาก 1D-GC และ GC×GC แสดงได้อย่างดีด้วยตัวอย่างการแยกสาร poly-chlorinated biphenyls (PCBs) (Haglund, *et al.*, 2001) ในภาพที่ 5 จะเห็นว่าโครมาโทแกรมแบบ contour plot แสดงรายละเอียดขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีความซับซ้อนมากได้ชัดเจนกว่าโครมาโทแกรมทั่วไปที่ได้จาก 1D-GC จุดใน contour plot ที่ต่อเรียงกันขึ้นไปตามแนวแกน y คือพีคของสารที่แยกด้วยคอลัมน์ที่สอง ในขณะที่จุดที่เรียงต่อกันไปตามแนวแกน x คือสารที่ถูกแยกด้วยคอลัมน์แรก สังเกตว่าเวลารีเทนชันของคอลัมน์แรกจะเท่ากับเวลาของการวิเคราะห์ (run time) ทั้งหมด ส่วนเวลารีเทนชันทั้งหมดของคอลัมน์ที่สองเป็นเวลาของการแยกสารและเป็นเวลาของการทำงานของ modulator ด้วย ในแต่ละจังหวะของการควบแน่นและปล่อยสาร ซึ่งในการทดลองนี้ใช้เวลา 10 วินาที จะเห็นว่าผลจากการใช้ GC×GC ทำให้เกิดการแยกของพีคที่ซ้อนทับกันในคอลัมน์แรก (การซ้อนทับกันของพีคสังเกตจากที่ตำแหน่งเวลารีเทนชันใดๆ บนแกน x มีจุดพีคของสารปรากฏตามแนวแกน y มากกว่าหนึ่งจุด) โดยจุดของพีคที่ซ้อนนั้นแยกออกจากกันตามแนวแกน y (ซึ่งเป็นการแยกโดยคอลัมน์ที่สอง) ได้เป็นส่วนใหญ่ ประสิทธิภาพการแยกสารที่สูงขึ้นนี้ทำให้เห็นจำนวนองค์ประกอบมากขึ้นกว่าเดิมเมื่อเปรียบเทียบกับ 1D-GC องค์ประกอบที่แยกจากกันได้บริสุทธิ์ขึ้นนี้ เมื่อวิเคราะห์ด้วยตัวตรวจวัดแบบแมสสเปกโทรมิเตอร์ (mass spectrometer: MS) เพื่อหาข้อมูลแมสสเปกตรัม (mass spectrum) ที่จะนำไปประบุโครงสร้างทางเคมีของแต่ละสาร จะทำให้การระบุโครงสร้างของสารมีความถูกต้องยิ่งขึ้น และสามารถระบุโครงสร้างได้มากสารขึ้นเมื่อเทียบกับ 1D-GC ตัวอย่างรายงานการวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกด้วยเทคนิค GC×GC พบองค์ประกอบอย่างน้อยจำนวน 245 สาร เทียบกับ 1D-GC ซึ่งให้องค์ประกอบที่แยกได้จากตัวอย่างเดียวกันเพียง 95 สาร (Pripdeevech, *et al.*, 2010)

นอกจากนี้การประยุกต์เทคนิค GC×GC กับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความซับซ้อนขององค์ประกอบมาก เช่น ตัวอย่างสารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ ส่งผลให้เกิดมิติใหม่ของการวิเคราะห์ผลข้อมูลจากกลุ่มพีคของสารที่กระจายอยู่ในระนาบ contour plot ซึ่งจะให้ข้อมูลที่แสดงรูปแบบ (profile) ที่เป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละตัวอย่างได้เป็นอย่างดี และสามารถสะท้อนความแตกต่างในเชิงองค์ประกอบเคมีของตัวอย่างที่มีธรรมชาติใกล้เคียงกันได้ ดังเช่นโครมาโทแกรมในภาพที่ 6 ที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำมัน-หอมระเหยจากลำต้นใต้ดิน (rhizome) ของพืช genus (สกุล) *Alpinia* 3 ชนิด คือ ข่าบ้าน (*Alpinia galanga* (L.) Willd และ *A. officinarum* Hance) และข่าป่าที่พบบนพื้นที่สูงในเขตวนอุทยานดอยสุเทพ-ปุย (*A. malaccensis* (Burm.) Roscoc) (Pripdeevech, *et al.*, 2009) จะเห็นว่ากลุ่มพีคของน้ำมัน-หอมระเหยจากข่าบ้านให้รูปแบบที่ใกล้เคียงกันมากและต่างไปจากรูปแบบของกลุ่มพีคของข่าป่า การวิเคราะห์โครงสร้างของแต่ละสารที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้ง 3 ตัวอย่าง



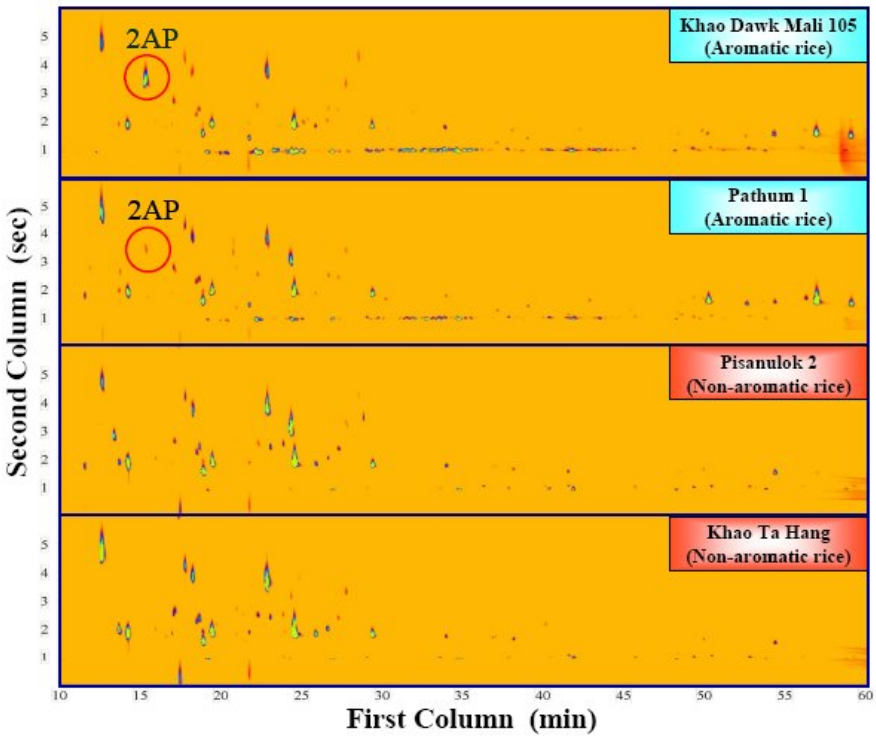
ภาพที่ 5 การเปรียบเทียบโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารผสม PCB ด้วย 1D-GC (บน) และ GC×GC (ล่าง) ซึ่งแสดงเป็นแบบ contour plot



ภาพที่ 6 GC×GC โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากส่วนหัวของ *A. galanga* (L.) Willd, *A. officinarum* Hance และ *A. malaccensis* (Burm.) Roscoc

ด้วยแมสสเปกโทรเมตรีพบว่าองค์ประกอบเหล่านี้เป็นสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ระดับทุติยภูมิที่พบมากและมักพบได้ทั่วไปในตัวอย่างจากธรรมชาติ หากเปรียบเทียบรูปแบบพีคของสารระเหยจากข่า จะพบว่าแตกต่างจากรูปแบบพีคของสารระเหยที่ได้จากเมล็ดข้าว (ภาพที่ 7) อย่างชัดเจน หรือกล่าวได้ว่าพืช genus เดียวกันมีรูปแบบพีคของกลุ่มสารที่สนใจคล้ายคลึงกันและแตกต่างไปจาก genus อื่น ๆ รูปแบบพีคดังกล่าวนี้ถึงแม้จะมีความคล้ายคลึงกันในพืช genus ชนิดเดียวกัน แต่ก็ยังมีความแตกต่างกันในรายละเอียดบางส่วนที่ทำให้สามารถนำมาเปรียบเทียบแสดงความแตกต่างระหว่าง species (ชนิด) ได้ ดังนั้นการแสดงองค์ประกอบของสารในรูปแบบที่เป็นลักษณะเฉพาะดังกล่าวมานี้ จึงสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการแยกแยะชนิด (หรือสายพันธุ์ ในบางกรณี) หรือศึกษาเมแทบอลิซึม (metabolism) ของสิ่งมีชีวิตกลุ่มหนึ่ง ๆ ที่สนใจได้เป็นอย่างดี

คุณค่าของเทคนิค GC×GC นอกจากจะเห็นได้อย่างชัดเจนกับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความซับซ้อนขององค์ประกอบมากแล้ว ยังก่อให้เกิดประสิทธิภาพที่สูงขึ้นในแง่ของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยให้สภาพไว (sensitivity) ที่ดีขึ้น และให้ความถูกต้องของปริมาณสารที่วิเคราะห์ได้มากยิ่งขึ้นกว่า 1D-GC ทั้งนี้เนื่องจากการควบแน่นสารที่ปลายคอลัมน์แรกทำให้การแพร่การกระจายตัวตามแนวคอลัมน์ลดลง พีคของสารที่เกิดการแยกใหม่ในคอลัมน์ที่สองจึงมีความสูงของพีคเพิ่มขึ้นและส่งผลดีในแง่สภาพไว ส่วนความบริสุทธิ์ของพีคของสารจะส่งผลดีในแง่ความถูกต้องเชิงปริมาณ รูปแบบการแยกสารระเหยในข้าวด้วยเทคนิค GC×GC ในภาพที่ 7 แสดงให้เห็นพีคของสารหอมหลักที่แสดงกลิ่นหอมของข้าว คือสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ที่ตรวจวัดได้เฉพาะในโครมาโทแกรมของข้าวพันธุ์หอมเท่านั้น และที่ตำแหน่งพีคของสาร 2AP ไม่พบการซ้อนทับกันกับพีคของสารอื่น การวิเคราะห์ปริมาณสารหอม 2AP ด้วยเทคนิค GC×GC นี้จึงให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง



ภาพที่ 7 GC×GC โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารระเหยจากเมล็ดข้าวหอม 2 พันธุ์ และพันธุ์ไม่หอม 2 พันธุ์ พบสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) เฉพาะในข้าวพันธุ์หอม

ในปัจจุบันพบว่าเมื่อมีความต้องการแก้ปัญหาการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแบบสองคอลัมน์ พบว่าเทคนิค GC×GC ได้รับความสนใจและความนิยมมากกว่า 2D-GC เนื่องจากรูปแบบที่แน่นอนของเครื่องมือวิเคราะห์ส่งผลดีในแง่การผลิตออกจำหน่ายในเชิงการค้า และสามารถประยุกต์ได้ทั้งกับงานลักษณะวิจัยและงานบริการวิเคราะห์ ส่วนที่ต้องพัฒนาต่อไปสำหรับเทคนิค GC×GC น่าจะเป็นในด้านเทคโนโลยีของคอลัมน์ที่ควรมีความหลากหลายของเฟสที่ให้กลไกการแยกสารเฉพาะคุณสมบัติของกลุ่มสารหนึ่ง ๆ เพิ่มไปจากที่มีอยู่ในปัจจุบัน โดยเฉพาะการแยกกลุ่มไอโซเมอร์ นอกจากนี้น่าจะได้มีการพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของ modulator และซอฟแวร์ในการประมวลและแสดงผล รวมถึงการประมวลผลในการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย ถึงแม้ชุดเครื่องมือของ GC×GC จะมีราคาค่อนข้างแพงและยังต้องการการพัฒนาเพิ่มเติมอีกในบางส่วน เทคนิคการแยกและวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูงนี้ก็ให้ประโยชน์ย้อนกลับมาอย่างมาก โดยเฉพาะในงานวิจัยที่ข้อมูลที่สำคัญเกี่ยวกับสารองค์ประกอบในตัวอย่างที่สนใจจะไม่ถูกบิดบังหรือถูกจำกัดอีกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Bedini, F. 2005. GC×GC: A new dimension in chromatography. Thermo Electron Coorporation. nte-serveur.univ-lyon1.fr/afsep/fichier/206_24_8_2005.pdf พฤศจิกายน 2553.

Haglund, P., M. Harju, R. Ong and P. Marriott. 2001. Shape selectivity: A key factor in comprehensive two-dimensional gas chromatographic analysis of toxic PCBs. J. Microcol. 13:306.

Liu, Z. and J.B. Phillips. 1991. Comprehensive two-dimensional gas chromatography using an on-column thermal modulator interface. J. Chromatogr Sci. 29:227-231.

Marriott, P.J., P. Haglund and R.C.Y. Ong. 2003. A review of environmental toxicant analysis by using multidimensional gas chromatography and comprehensive GC. Clin. Chim. Acta. 328:1-19.

Pripdeevech, P., N. Nuntawong and S. Wongpornchai. 2009. Composition of essential oils from the rhizomes of three *Alpinia* species grown in Thailand. Chem. Nat. Compd. 45:562-564.

Pripdeevech, P., S. Wongpornchai and P. Marriott. 2010. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile constituents in Thai Vetiver root oils obtained by using different extraction methods. Phytochem. Anal. 21:163-173.

เรื่องน่ารู้

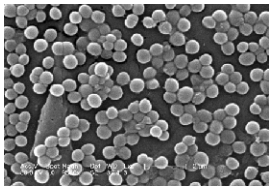
ผู้ก่อการอาหารเป็นพิษ

มณี ตันติรุ่งกิจ[1]

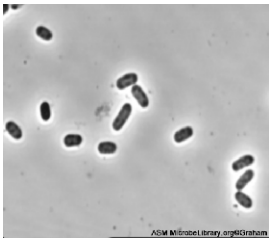
ในภาวะปัจจุบันที่มีแต่ความเร่งรีบและเศรษฐกิจฝืดเคือง ทำให้ผู้บริโภคหันมาซื้ออาหารปรุงสำเร็จ สลัดผักหรือผลไม้พร้อมบริโภคมารับประทาน เพื่อความสะดวก รวดเร็ว และประหยัดค่าใช้จ่าย อย่างไรก็ตามหากผู้ผลิตไม่คำนึงถึงกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาภายหลังการผลิตที่ถูกสุขลักษณะ อาหารเหล่านั้นอาจมีสารเคมี โลหะหนัก พยาธิ และจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ ซึ่งการปนเปื้อนเหล่านี้เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และส่งผลให้ผู้บริโภคมีโอกาสป่วยเป็นโรคที่ติดต่อทางอาหารและน้ำได้สูง โดยภาวะอาหารเป็นพิษส่วนใหญ่ (>90%) เกิดจากแบคทีเรีย ซึ่งมักปนเปื้อนในอาหารที่ปรุงสุก ๆ ดิบ ๆ จากเนื้อสัตว์ ไข่เป็ด ไข่ไก่ รวมทั้งอาหารทะเล อาหารกระป๋อง อาหารแช่แข็ง น้ำนมดิบ และอาหารปรุงสำเร็จที่ทำไว้ล่วงหน้านาน ๆ แล้วไม่ได้แช่เย็นไว้ ดังนั้นเกณฑ์มาตรฐานซึ่งบังคับใช้ตามกฎหมายจึงเป็นสิ่งแรกที่ผู้ผลิตต้องคำนึงถึงในการผลิตอาหารและเครื่องดื่มเพื่อวางจำหน่ายในท้องตลาด เกณฑ์มาตรฐานที่ใช้บังคับในประเทศไทย ได้แก่ มาตรฐาน อย. เช่น เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารที่กำหนดให้ <u>*อาหารปรุงสุกทั่วไป*</u> จะมีจำนวนจุลินทรีย์รวมได้ไม่เกิน 1 x 10^6 โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (CFU/g) แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มน้อยกว่า 3 เอ็มพีเอ็นต่อกรัม (MPN/g) เชื้อสแตปฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) และ บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*) ไม่เกิน 100 โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม <u>*น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท*</u> ต้องไม่มีเชื้ออี. โคไล (*Escherichia coli*, *E. coli*) ซาลโมเนลลา (*Samonella* spp.) สแตปฟิโลคอคคัส ออเรียส และคลอสตริเดียมเพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*) ปนเปื้อน เป็นต้น ซึ่งในบทความนี้ท่านจะได้รู้จักเชื้อสาเหตุโรคและเข้าใจถึงบ่อเกิดของโรค อาการของโรค รวมถึงแนวทางการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรค และการดูแลรักษาในเบื้องต้น เพื่อการผลิตที่ถูกสุขลักษณะและความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร

แบคทีเรียสาเหตุโรคทางเดินอาหารที่สำคัญ

สแตปฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) พบได้ในทางเดินหายใจ บริเวณผิวหนัง แผลติดเชื้อ สิว ฝี หนอง และน้ำนมดิบ มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารสด และการสัมผัสอาหารของผู้ปรุงและผู้จำหน่าย เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษ (enterotoxin) ที่เชื้อนี้สร้างขึ้น ผู้บริโภคจะแสดงอาการภายใน 2-6 ชั่วโมง

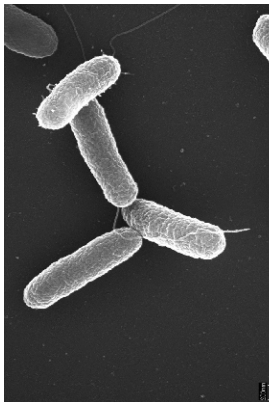


อาการ: อาเจียนเฉียบพลัน ปวดท้อง อุจจาระร่วง บางครั้งหมดสติ แต่ไม่มีไข้ อาการจะเป็นอยู่นานกว่า 24 ชั่วโมง แต่ไม่ค่อยเสียชีวิต



อี. โคไล (*Escherichia coli, E. coli*) เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ติดสีแกรมลบ (สีแดง) ไม่สร้างสปอร์ อาศัยอยู่ในลำไส้มนุษย์และสัตว์และขับถ่ายออกมากับอุจจาระ มีโอกาสปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ดิบ ผักสด และอุจจาระของคนหรือสัตว์เลี้ยง ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงสุขลักษณะของผู้ประกอบการและแหล่งผลิตอาหาร สำหรับสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค คือ *E. coli* O157:H7 มีระยะฟักตัวของโรค 18-48 ชั่วโมง หลังกินอาหารปนเปื้อน

อาการ: ปวดท้อง อุจจาระร่วง ถ่ายเป็นเลือด อาเจียน และอาจมีไข้ อาการจะเป็นอยู่ 1-5 วัน

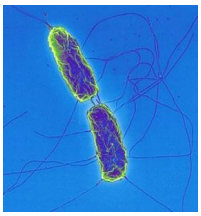


ซาลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรค salmonellosis ซึ่งมีรูปร่างเป็นท่อน ติดสีแกรมลบ (สีแดง) ไม่สร้างสปอร์ เชื้อนี้มีหลากหลายสายพันธุ์ เช่น *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. dublin*, *S. saintpau* และ *S. typhi* เป็นต้น อย่างไรก็ตาม *S. typhi* นั้น เป็นสายพันธุ์ที่เป็น

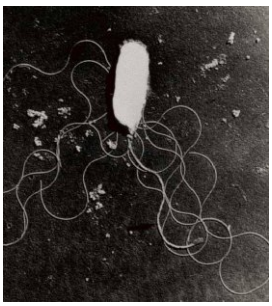
[1] นักวิจัย (เชี่ยวชาญ) งานทรัพยากรชีวภาพและความหลากหลายทางชีวภาพ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน ม. เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

สาเหตุโรคไทฟอยด์ (ไข้รากสาดน้อย) พบได้ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์และขับถ่ายปนออกมากับอุจจาระ มีโอกาสปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ดิบ ไส้กรอก ไข่และผลิตภัณฑ์จากไข่ เช่น มายองเนส ครีมสลัด เป็นต้น มีระยะฟักตัวของโรค 6-36 ชั่วโมง หลังกินอาหารปนเปื้อน

อาการ: salmonellosis มีไข้ ปวดหัว ปวดท้อง อุจจาระร่วง และอาเจียน อาการจะเป็นอยู่ 1-7 วัน และเป็นอันตรายถึงเสียชีวิตได้ในกลุ่มผู้สูงอายุ หรือเด็กเล็ก นอกจากนี้ผู้ติดเชื้ออาจมีอาการข้ออักเสบบริเวณเข่า ข้อเท้า และฝ่าเท้าอันเนื่องมาจาก Reiter's Syndrome ได้ ภายหลังรับเชื้อ 1-3 สัปดาห์



อาการ: ไข้ไทฟอยด์ มีระยะฟักตัวประมาณ 1-2 สัปดาห์ ผู้ป่วยจะมีไข้ซึ่งมักจะค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้นวันละน้อย จนถึง 40°ซ. ภายใน 1 สัปดาห์ หนาวสั่น ปวดเมื่อยตามเนื้อตามตัว ปวดหลัง ปวดศีรษะ เบื่ออาหาร ลิ้นเป็นฝ้า ท้องอืด ท้องผูกหรือถ่ายอุจจาระเหลวจนถึงอุจจาระร่วง คลื่นไส้ อาเจียน อาการที่พบได้เสมอคือ อาจมีอาการเพ้อ หมดสติ ผมร่วงทั้งศีรษะ ผู้ป่วยอาจเสียชีวิตได้หากมีภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรง เช่น ลำไส้ทะลุ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และเป็นฝีในสมอง เป็นต้น

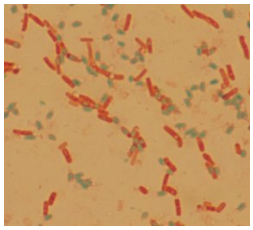


วิบริโอ พาราฮีโมไลติกัส (*Vibrio parahaemolyticus*) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคอุจจาระร่วง มีรูปร่างเป็นท่อนโค้ง ติดสีแกรมลบ (สีแดง) ไม่สร้างสปอร์ พบในสัตว์ทะเลและบริเวณน้ำกร่อย มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารทะเลดิบ เช่น ปลา กุ้ง ปู และหอย มีระยะฟักตัวของโรคประมาณ 15 ชั่วโมง หลังกินอาหารปนเปื้อน

อาการ: อุจจาระร่วงเฉียบพลัน ปวดท้องซึ่งอาจปวดเกร็ง อาเจียน และมีไข้ อาการจะเป็นอยู่ 2-5 วัน บางรายคล้ายเป็นบิด อุจจาระมีมูกเลือด อัตราตายต่ำ โรคนี้มักพบในฤดูร้อน

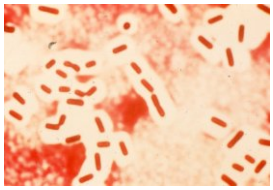
วิบริโอ คลอเรลลา (*Vibrio cholerae*) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคอหิวาตกโรค ซึ่งโรคนี้สามารถติดต่อได้โดยการรับประทานอาหารหรือดื่มน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป พบทั่วไปในแหล่งน้ำทั้งน้ำทะเลและน้ำกร่อย รวมถึงในสัตว์ทะเล มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารได้จากอาหารทะเลดิบและขบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ มีระยะฟักตัวของโรคประมาณ 2-3 ชั่วโมงถึง 5 วัน หลังกินอาหารปนเปื้อน

อาการ: ถ่ายอุจจาระคราวละมากๆ โดยไม่มีอาการปวดท้อง ไปจนกระทั่งมีการถ่ายอุจจาระเหลวเป็นน้ำคล้ายน้ำซาวข้าว อาเจียนมาก และมีอาการขาดน้ำและเกลือแร่อย่างรวดเร็ว กระหายน้ำ กระสับ-กระส่าย หายใจลึกผิดปกติ ชีพจรเต้นเบาและเร็ว อาการเหล่านี้เกิดขึ้นรวดเร็ว ในที่สุดผู้ป่วยจะอยู่ในภาวะช็อค หมดสติ และมักถึงแก่ความตายในเวลาอันรวดเร็ว ถ้าไม่ได้รับการรักษาทันท่วงที



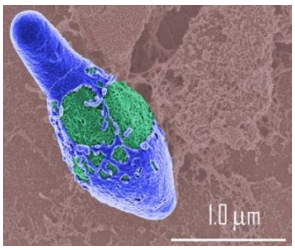
บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*) เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างสปอร์ ซึ่งคงทนต่ออุณหภูมิที่ใช้ในการปรุงอาหาร และเจริญในที่ที่มีอากาศ พบในดิน ธัญพืช เครื่องเทศ นมและผลิตภัณฑ์จากนม มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารที่ปรุงจากวัตถุดิบที่มีการปนเปื้อนสูง และอาหารที่เก็บรักษาในสภาวะที่เหมาะกับการเจริญของสปอร์ที่รอดชีวิตจากการปรุงอาหาร เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษที่เชื้อนี้สร้างขึ้น ผู้บริโภคจะแสดงอาการภายใน 1-16 ชั่วโมง

อาการ: หากผู้ป่วยได้รับสารพิษชนิดที่ไม่ทนความร้อน จะมีอาการอุจจาระร่วงและปวดท้อง ภายใน 4-16 ชั่วโมง อาการจะเป็นอยู่ประมาณ 12-24 ชั่วโมง แต่ถ้าผู้ป่วยได้รับสารพิษชนิดที่ทนความร้อน จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ภายใน 1-6 ชั่วโมงหลังกินอาหารปนเปื้อน ซึ่งมักจะเป็นอาหารที่มีข้าวเป็นส่วนประกอบหลัก อาการจะเป็นอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง



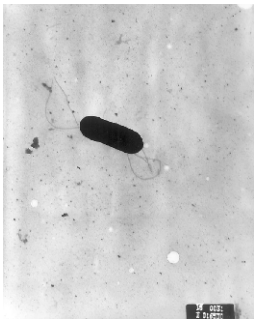
คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*) เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) สร้างสปอร์ซึ่งคงทนต่ออุณหภูมิที่ใช้ในการปรุงอาหาร และเจริญในที่ที่ไม่มีอากาศ พบได้ในดิน ลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ อาหารสด และอาหารแห้ง มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารที่ปรุงจากวัตถุดิบที่มีการปนเปื้อนสูงและขบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษที่เชื้อนี้สร้างขึ้น ผู้บริโภคจะแสดงอาการภายใน 8-22 ชั่วโมง

อาการ: ปวดท้องและอุจจาระร่วง แต่มักไม่ค่อยอาเจียน อาการจะเป็นอยู่นาน 1-2 วัน และอาจเสียชีวิตได้ในกลุ่มผู้สูงอายุและผู้ป่วยที่มีโรคอื่นมาก่อน



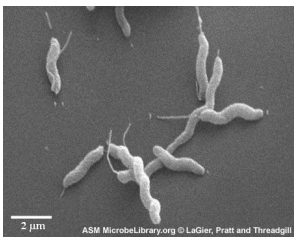
คลอสตริเดียม โบทูลินั่ม (*Clostridium botulinum*) เชื้อนี้สร้างสารพิษโบทูลินั่ม (botulinum toxin) ซึ่งมีผลต่อระบบทางเดินอาหารและระบบประสาทอย่างรุนแรง พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ดิน แหล่งน้ำ และสัตว์น้ำ มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารสดจากสปอร์ที่อยู่ในดิน อาหารกระป๋องที่ผลิตไม่ได้มาตรฐาน เช่น หน่อไม้ปี๊ป เป็นต้น เนื้อหรือปลารมควัน เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษที่เชื้อนี้สร้างขึ้น ผู้บริโภคจะแสดงอาการภายใน 2-6 ชั่วโมง

อาการ: อาการฉับพลัน เห็นภาพซ้อน ปากคอแห้ง เจ็บคอ อาเจียน อุจจาระร่วง เส้นประสาทสมอง (cranial nerve) เป็นอัมพาต แล้วลามลงส่วนล่างของร่างกาย และการหายใจล้มเหลว โรคนี้มีอัตราการเกิดโรคต่ำ แต่มีอัตราการตายสูง



ลิสทีเรีย โมโนไซโตจีนส (*Listeria monocytogenes*) เป็นแบคทีเรียรูปท่อนยาว ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำถึงปานกลาง และทนความร้อนได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ชนิดอื่น เป็นสาเหตุโรค listeriosis พบได้ทั่วไปในน้ำ นม เนื้อไก่ อาหารทะเล และอาหารแช่แข็ง เนื่องจากเชื้อนี้สามารถเพิ่มจำนวนได้ในที่เย็น เมื่อรับประทานอาหารที่เก็บไว้ในตู้เย็น โดยไม่ได้นำมาอุ่นซ้ำอีกครั้งหนึ่ง ผู้บริโภคอาจแสดงอาการภายใน 90 วัน ซึ่งผู้บริโภคที่มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรค ได้แก่ เด็กทารก หญิงตั้งครรภ์ และผู้ที่มีภูมิคุ้มกันโรคต่ำ

อาการ: ปวดท้อง ท้องผูกหรืออุจาระร่วง ปวดหัว มีไข้ คลื่นไส้ อาเจียร ในกรณีของผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์อาจเกิดการแท้งลูก และอาจมีภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรง เช่น เยื่อหุ้มสมองอักเสบ เป็นต้น



แคมไพโรแบคเตอร์ เจจูไน (*Campylobacter jejuni*) เป็นแบคทีเรียรูปท่อนบิดเป็นเกลียว ติดสีแกรมบวก (สีม่วง) ไม่สร้างสปอร์ เจริญในที่ที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophile) พบได้ในมูลสัตว์และปศุสัตว์ มีโอกาสปนเปื้อนในน้ำ น้ำนมดิบ เนื้อสัตว์ดิบ เมื่อรับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อน ผู้บริโภคจะแสดงอาการภายใน 1-7 วัน

อาการ: ปวดท้อง อุจจาระร่วง และอาจถ่ายเป็นเลือดครั่นเนื้อครั่นตัว มีไข้ ปวดหัว คลื่นไส้ และอาจเกิดภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) และภาวะแทรกซ้อนทางไตที่เรียกว่ากลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวาย (hemolytic uremic syndrome) ซึ่งถือว่าเป็นภาวะที่อันตรายอย่างยิ่ง และเป็นสาเหตุการเสียชีวิตที่สำคัญ นอกจากนี้ผู้ติดเชื้ออาจป่วยเป็นโรคข้ออักเสบได้ภายหลัง (reactive arthritis)

การที่ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อน ทำให้การแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเกิดขึ้นได้รวดเร็ว แต่ผู้ผลิตและผู้บริโภคสามารถป้องกันโรคติดต่อทางอาหารและน้ำได้ ด้วยการดูแลสุขอนามัยในการเลือกซื้อและเตรียมวัตถุดิบ การปรุงอาหาร การรับประทานอาหาร และการเก็บรักษาอาหาร โดยปฏิบัติตามแนวทางต่อไปนี้

1. เลือกวัตถุดิบ (เนื้อสัตว์ ผักสด และผลไม้) ที่สดและล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อลดการปนเปื้อน ในกรณีของอาหารกระป๋อง ให้เลือกซื้ออาหารกระป๋องที่มีสภาพของกระป๋องเป็นปกติ ไม่บวม ไม่บุบ ไม่มีสนิมเกาะที่ขอบกระป๋อง และไม่หมดอายุ

2. ใช้น้ำสะอาดในการปรุงอาหาร และควรระวังเป็นพิเศษเมื่อเตรียมอาหารสำหรับเด็กทารก

3. ปรุงอาหารให้สุกทั่วถึงก่อนรับประทาน โดยเฉพาะอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เช่น ไก่ย่าง หมูปิ้ง บาร์บีคิว ไส้กรอก และแฮมเบอร์เกอร์ เป็นต้น

4. แบ่งส่วนพื้นที่ทำงานและอุปกรณ์สำหรับอาหารสดออกจากอาหารปรุงเสร็จแล้วออกจากกันเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ข้ามชนิดอาหาร

5. ล้างมือให้สะอาดก่อนและหลังการจับต้องอาหารสด ก่อนการปรุงอาหาร ก่อนรับประทาน หลังการเข้าห้องน้ำ และหลีกเลี่ยงการจับต้องอาหารปรุงเสร็จแล้วด้วยมือ

6. รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ ๆ

7. เลือกซื้ออาหารปรุงสำเร็จจากร้านที่มีสุขลักษณะที่ดี หรือที่ได้รับการรับรองจากหน่วยงานภาครัฐ

8. หากมีความจำเป็นต้องเก็บอาหารที่ปรุงสุกไว้นานกว่า 4-5 ชั่วโมง ควรเก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ปนเปื้อน และต้องอุ่นอาหารให้ร้อนอย่างทั่วถึงก่อนรับประทาน เพื่อทำลายจุลินทรีย์และสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น ส่วนอาหารสำหรับทารกนั้นไม่ควรเก็บไว้ข้ามมื้อ

9. ไม่ควรรับประทานอาหารปรุงสุกที่เก็บไว้ในตู้เย็นนานกว่า 2 วัน

10. ดูแลสุขวิทยาของครัวโดยเช็ดล้างทำความสะอาดพื้นผิวทำครัว ภาชนะ อุปกรณ์ เสื้อผ้า และเครื่องมือเครื่องใช้ต่าง ๆ ให้สะอาดหลังการใช้งาน เก็บกวาดทำความสะอาดพื้นและบริเวณ

ทำงานให้สะอาดและปลอดภัยจากแมลง หนู หรือสัตว์อื่นๆ เป็นประจำสม่ำเสมอ

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าท่านสามารถดูแลตัวเองและครอบครัวให้ห่างไกลจากโรคภัยที่มากับอาหารได้ไม่ยากเลย แต่อย่างไรก็ตามหากเกิดภาวะอาหารเป็นพิษหรือโรคอุจจาระร่วงขึ้น ท่านสามารถดูแลรักษาในเบื้องต้นได้ โดยให้ผู้ป่วยดื่มน้ำเกลือแร่ โอ อาร์ เอส น้ำหวาน หรือน้ำข้าวให้มากกว่าปกติ เพื่อป้องกันการขาดน้ำ และให้รับประทานอาหารที่ย่อยง่าย เช่น ข้าวต้ม โจ๊ก หรือแกงจืด ห้ามงดอาหาร เพื่อป้องกันการขาดสารอาหาร จากนั้นจึงนำผู้ป่วยไปพบแพทย์โดยด่วน

อาหารมีคุณอนันต์ มีภัยแอบแฝง จึงหวังว่าท่านผู้อ่านจะปรุง รับประทาน และเก็บรักษาอาหารอย่างรู้เท่าทันเจ้าจุลินทรีย์ตัวร้าย

บรรณานุกรมและแหล่งอ้างอิง

ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. ลงวันที่ 24 สิงหาคม พ.ศ. 2536.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องมาตราฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค. ลงวันที่ 10 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2552

BBL™ CHROMagar™ Salmonella Medium Receives AOAC-RI Approval. 2005. FoodHACCP.com Newsletter 164: 5/11. Available source: http://www.foodhaccp.com/memberonly/newsletter164.html

Bhargava., P. M. 2008. The Growing Planetary Threat from Biological Weapons and Terrorism. The Tribune Online. Available source: http://worldmeets.us/thetribune000006.shtml

Brinkmann, V. 2006. Evolution of typhoid bacteria. Available source: http://www.physorg.com/news83593133.html

Department of Human Service. 2007. Food Safety Rules. The Victorian Government, Melbourne, Australia. Available source: http://www.health.vic.gov.au/foodsafety/downloads/food_safety_poster.pdf

Food Standard Agency. 2010. Keeping food Safe. Available source: http://www.eatwell.gov.uk/keepingfoodsafe

Ghaffar, A. 2009. Zoonoses: *Listeria*, *Francisella*, *Brucella*, *Bacillus* and *Yersinia*. Microbiology and Immunology On-line. University of South Carolina School of Medicine. Available source: http://pathmicro.med.sc.edu/ghaffar/zoonoses.htm

LaGier, M., Pratt, E. and Threadgill, D. 2008. Scanning Electron Micrograph of *Campylobacter jejuni*. Available source: http://www.microbelibrary.org/microbelibrary/files/ccImages/Articleimages/Lagier/Campylobacter%20jejuni%20SEM.JPG

Madigan, M. T. and Martinko, J. M. 2006. Brock Biology of Microorganisms (11th ed.). Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. 992 p.

Makino, K., Oshima, K., Kurokawa, K., Yokoyama, K., Uda, T., Tagomori, K., Iijima, Y., Najima, M., Nakano, M., Yamashita, A., Kubota, Y., Kimura, S., Yasunaga, T., Honda, T., Shinagawa, H., Hattori, M., Iida, T. 2003. Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: a pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae*. Lancet 361:743-749.

MicrobeWorld. 2009. *Clostridium perfringens*. Available source: http://www.microbeworld.org/index.php?option=com_jlibrary&view=article&id=1502

Todar, K. 2008. Todar's Online Textbook of Bacteriology. Available source: http://www.textbookofbacteriology.net

Wagner, Al. B. 2010. Bacterial Food Poisoning. Available source: http://aggie-horticulture. tamu.edu/extension/poison.html

Wikipedia. 2010. *Salmonella typhimurium*. Available source: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ee/Salmonella typhimurium.png

คณะกรรมการจัดทำวารสารข่าวศูนย์ฯ

ที่ปรึกษา

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน
หัวหน้าฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง
ดร. ชวนพิศ อรุณรังสิกุล

บรรณาธิการ

นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

สมนึก พรมแดง ญาณี มั่นอ้น

กองบรรณาธิการ

จันทร์จรัส วีรสาร ศิริพร วิหคโต เนตรชนก เกียรติ์นนทพัทธ์
อตินุช แซ่จิว อุดม แก้วสุวรรณ์ ปฐมพร โพธิ์นิยม
คณิตฐา ชินวงษ์เขียว

รูปเล่ม/จัดส่ง

พิษณุ บุญศิริ ญาณี มั่นอ้น อรวรรณ ไกรวิจิตร

การเงิน

น้ำอ้อย เหลืองน้ำเพ็ชร

บอกรับเป็นสมาชิกในนามหน่วยงานได้ที่

บรรณาธิการ วารสารข่าวศูนย์ฯ
ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
โทร. 0-3435-1399, 0-3428-1092
โทรสาร 0-3435-1392
E-mail: rdinwf@ku.ac.th

วารสารอิเล็คทรอนิกส์

http://clgc.rdi.ku.ac.th

วารสารข่าว
ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง
Central Laboratory and Greenhouse Complex
CLGC NEWSLETTER

พิมพ์ที่ ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่พับบลิชชิ่ง 549/1 ซอยเสนานิคม 1 ลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร. 0-2579-1933