

การผลิตน้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ (Lavandula angustifolia Mill.)

ESSENTIAL OILS PRODUCTION FROM
Lavandula angustifolia Mill.

ปรางมาศ ศรีสุรัตน์
FRANGMAS SRISURAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคณะหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2551

KMITL-2008-SC-M-020-332

การผลิตน้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ (*Lavandula angustifolia* Mill.)

ESSENTIAL OILS PRODUCTION FROM

Lavandula angustifolia Mill.



ปรางมาต ศรีสุรัตน์

PRANGMAS SRISURAT

คท.
24427
2551

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 81402
วัน,เดือน,ปี. 11 ส.ย. 2551

b. 11931101
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2551

KMITL-2008-SC-M-020-332

ESSENTIAL OILS PRODUCTION FROM

Lavandula angustifolia Mill.

PRANGMAS SRISURAT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2008

KMITL-2008-SC-M-020-332

COPYRIGHT 2008

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตน้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ (*Lavandula angustifolia* Mill.)
Essential Oils Production from *Lavandula angustifolia* Mill.

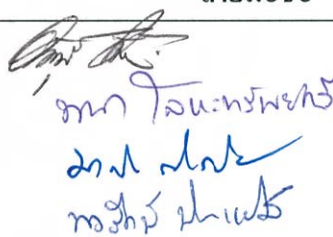
ชื่อนักศึกษา นางสาวปรางมาศ ศรีสุรัตน์

รหัสประจำตัว 46063404

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

| คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ | | ลายมือชื่อ |
|--------------------------|---------------|--|
| ผศ.ดร.อนุรักษ์ | โพธิ์เยี่ยม |  ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ดร.มาลินี ดร.นวรรตน์ |
| ผศ.ดร.พนา | โลหะทรัพย์ทวี | |
| รศ.มาลินี | ตันติยาภรณ์ | |
| ผศ.นวรรตน์ | ปานเข้ม | |

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 27 พฤษภาคม 2551 เวลา 10.00-12.00 น.

สถานที่สอบ ณ อาคารจุฬาภรณ์วลัยลักษณ์ 1 ห้อง 422

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.รวีวรรณ ชินะตระกูล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 30 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2551

| | |
|-------------------|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | การผลิตน้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ (<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.) |
| นักศึกษา | นางสาวปรางมาศ ศรีสุรัตน์ |
| รหัสประจำตัว | 46063404 |
| ปริญญา | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต |
| สาขาวิชา | เทคโนโลยีชีวภาพ |
| พ.ศ. | 2551 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี |

บทคัดย่อ

ลาเวนเดอร์ (*Lavandula angustifolia*) ถูกนำมาใช้ในสุนทรียบำบัดเพื่อผ่อนคลายจิตใจ และมีสรรพคุณในการขับลม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ และแก้อาการเสียดท้อง วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ สกัดน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์จากแคลลัส และยอดที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง และจากลาเวนเดอร์ที่เลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ แล้วเปรียบเทียบองค์ประกอบของแต่ละสารสกัดจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS ในการทดลองแรกเป็นการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดยอดจำนวนมากจากชิ้นส่วนลำต้น ซึ่งพบว่ามียอดจำนวนมากเกิดขึ้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเกิดยอด 6.6 ยอดต่อชิ้นส่วน ยอดจะถูกเพิ่มปริมาณให้มากขึ้นในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่าเกิดยอด 12.5 ยอดต่อชิ้นส่วน โดยยอดในสภาพปลอดเชื้อนี้จะถูกนำไปสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ ในการทดลองที่สองเป็นการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ ซึ่งพบว่าแคลลัสมีการเจริญเติบโตดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสจะถูกนำมาเพิ่มปริมาณให้มากขึ้นด้วยการเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารนี้ และนำไปสกัดน้ำมันหอมระเหย ในการทดลองที่สามเป็นการเพาะเลี้ยงลาเวนเดอร์แบบไฮโดรโปนิคส์ด้วยเทคนิคการให้สารละลายหมუნเวียนแบบลึก ลาเวนเดอร์ที่มีอายุ 14 สัปดาห์ จะถูกนำมาตัดแยกเป็นชิ้นส่วนใบ ชิ้นส่วนลำต้น และชิ้นส่วนราก แล้วนำไปสกัดน้ำมันหอมระเหย ในการทดลองสุดท้ายเป็นการวิเคราะห์ GC-MS ของน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ที่สกัดจากแคลลัส ยอดในสภาพปลอดเชื้อ ชิ้นส่วนใบจากลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ ชิ้นส่วนลำต้นจากลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ และชิ้นส่วนรากจากลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MSพบว่าชิ้นส่วนใบและลำต้นของลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ และยอดจำนวนมากที่เพาะในหลอดทดลอง มีองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ ขณะที่แคลลัส และชิ้นส่วนรากของลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ ไม่มีการผลิตน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์

| | |
|-----------------------|--|
| Thesis | Essential Oils Production from <i>Lavandula angustifolia</i> Mill. |
| Student | Miss Prangmas Srisurat |
| Student ID. | 46063404 |
| Degree | Master of Science |
| Program | Biotechnology |
| Year | 2008 |
| Thesis Advisor | Asst.Prof.Dr.Pana Lohasupthawee |

ABSTRACT

Lavender (*Lavandula angustifolia*) is used in aromatherapy as a holistic relaxant and is said to have carminative, antifatulence and anticolic properties. The aim of this study was to extract the essential oils of lavender from callus culture, multiple shoots culture and hydroponic lavenders, followed by comparing the GC-MS results of each extract. In the first experiment, different growth regulators combinations were tested on the production of multiple shoots from stem explants. Multiple shoots were obtained in culture medium fortified with MS nutrients and 1.5 mg/l BA, which produced 6.6 shoots/explant. Shoots were mass propagated in liquid MS medium supplemented with 1.5 mg/l BA which produced 12.5 shoots/explant. *In vitro* shoots were collected for lavender essential oil extraction. In the second experiment, different concentrations of 2,4-D were tested on the production of callus. Callus was achieved by using leaf explants and showed best growth in MS medium supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D. Callus was mass propagated in the same medium in order to collect for lavender essential oil extraction. In the third experiment, hydroponic lavenders were achieved by using deep flow technique system. 14-week-old lavenders were cut into 3 parts; leaves, stems and roots, which were extracted for lavender essential oils. In the last experiment, lavender essential oils extracted from callus, *in vitro* shoots, leaves from hydroponics, stems from hydroponics and roots from hydroponic lavender were analysed by GC-MS. The results showed that leaves and stems of hydroponic lavenders and *in vitro* shoots of lavender demonstrated the components of lavender essential oils whereas callus and roots of hydroponic lavender showed no essential oils production.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ประสบความสำเร็จได้ เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ ตลอดจนแนวทางในการแก้ไขปัญหาที่เป็นประโยชน์ รวมทั้ง ได้กรุณาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม รศ. มาลินี ดันติยาภรณ์ และ ผศ. นวรัตน์ ปานแย้ม ที่กรุณาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการปฏิบัติงานจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอกราบขอบคุณกำลังใจจาก คุณพ่อ คุณแม่ น้องสาว ที่ให้กำลังใจ ให้การสนับสนุน ตลอดจนให้ความช่วยเหลือต่างๆ เสมอมา

ขอขอบคุณ คุณปาริชาติ บุญโฉม คุณอาทิตย์ ปะลาวัน คุณสมพบ แซ่เจ็ย คุณเนตรนภา ปัญญามูล ตลอดจนเพื่อนๆ น้องๆ ทุกคน ที่ให้คำปรึกษา และกำลังใจตลอดมา ทำให้งานวิจัยนี้ เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ปรางมาศ ศรีสุรัตน์

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | I |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | II |
| กิตติกรรมประกาศ..... | III |
| สารบัญ..... | IV |
| สารบัญตาราง..... | VIII |
| สารบัญรูป..... | IX |
| บทที่ 1 บทนำ..... | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย..... | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... | 2 |
| 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... | 2 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 2 |
| บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร..... | 3 |
| 2.1 พฤกษศาสตร์ของลาเวนเดอร์..... | 3 |
| 2.2 น้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์..... | 6 |
| 2.2.1 น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ <i>L. angustifolia</i> | 6 |
| 2.2.2 น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ <i>L. latifolia</i> | 6 |
| 2.2.3 น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ผสมระหว่างพันธุ์ <i>L. latifolia</i> และพันธุ์ <i>L. angustifolia</i> | 6 |
| 2.3 สารประกอบชนิดต่างๆ ในน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์..... | 7 |
| 2.3.1 ไลนาลิลอะซิเตท (linalyl acetate)..... | 7 |
| 2.3.2 ยูคาลิปทอล (eucalyptol)..... | 8 |
| 2.3.3 เอมีลแอลกอฮอล์ (amyl alcohol)..... | 9 |
| 2.3.4 บอร์นีออล (borneol)..... | 10 |
| 2.3.5 เจอราเนียมอล (geraniol)..... | 10 |
| 2.3.6 ลาเวนคูลอล (lavandulol)..... | 11 |
| 2.3.7 ไลนาโลลอล (linalool)..... | 11 |
| 2.3.8 เนอรอล (nerol)..... | 12 |

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

| | |
|---|----|
| 2.3.9 กรดอะซิติก (acetic acid)..... | 13 |
| 2.3.10 กรดบูทริก (butyric acid) | 13 |
| 2.3.11 กรดวาเลริก (valeric acid) | 14 |
| 2.3.12 กรดคาโพรอิก (caproic acid) | 14 |
| 2.3.13 ส่วนประกอบอื่นๆ | 15 |
| 2.3.13.1 ลิโมนีน (limonene) | 15 |
| 2.3.13.2 ไพนีน (pinene) | 15 |
| 2.3.13.3 แคมพอร์ (camphor) | 15 |
| 2.3.13.4 คาริโอฟิลลีน (caryophyllene) | 15 |
| 2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช..... | 16 |
| 2.4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช..... | 16 |
| 2.4.1.1 ปัจจัยที่มีผลในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... | 16 |
| 2.4.1.2 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... | 17 |
| 2.4.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช..... | 17 |
| 2.4.3 การเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช..... | 18 |
| 2.4.3.1 ออกซิน..... | 18 |
| 2.4.3.2 ไซโทไคนิน..... | 19 |
| 2.5 การสกัดน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์..... | 21 |
| 2.6 การปลูกพืชระบบไฮโดรโปนิคส์ | 21 |
| 2.6.1 แบบปลูกให้รากลอยอยู่กลางอากาศ..... | 21 |
| 2.6.2 แบบปลูกในวัสดุปลูก..... | 21 |
| 2.6.2.1 การให้สารละลายท่วมภาชนะปลูก..... | 23 |
| 2.6.2.2 การให้สารละลายโดยการหยด..... | 23 |
| 2.6.3 แบบปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (liquid culture) | 23 |
| 2.6.3.1 แบบสารละลายไม่หมุนเวียน (non-circulating system)..... | 25 |
| 2.6.3.2 แบบสารละลายหมุนเวียน (circulating system)..... | 25 |
| 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 27 |

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|---|------|
| บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย..... | 31 |
| 3.1 วัสดุและอุปกรณ์..... | 31 |
| 3.1.1 เครื่องแก้ว..... | 31 |
| 3.1.2 อุปกรณ์อื่น ๆ..... | 31 |
| 3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ..... | 31 |
| 3.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกตาเวนเคอร์..... | 32 |
| 3.1.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดและวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหย..... | 32 |
| 3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง..... | 32 |
| 3.3 พันธุ์พืชตาเวนเคอร์..... | 32 |
| 3.4 วิธีการทดลอง..... | 33 |
| 3.4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาเวนเคอร์ในสภาพปลอดเชื้อ..... | 33 |
| 3.4.1.1 การเพาะเมล็ดตาเวนเคอร์ในสภาพปลอดเชื้อ..... | 33 |
| 3.4.1.2 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้น..... | 33 |
| 3.4.1.3 การเพิ่มปริมาณยอดในอาหารเหลวจากชิ้นส่วนลำต้น..... | 34 |
| 3.4.1.4 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ..... | 34 |
| 3.4.1.5 การเพิ่มปริมาณแคลลัส..... | 35 |
| 3.4.2 การเพาะเลี้ยงตาเวนเคอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์..... | 35 |
| 3.4.2.1 การเพาะเมล็ดตาเวนเคอร์เพื่อนำไปใช้ ในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์..... | 35 |
| 3.4.2.2 การเพาะเลี้ยงตาเวนเคอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ แบบ DFT | 35 |
| 3.4.3 การสกัดน้ำมันหอมระเหยและการวิเคราะห์..... | 36 |
| บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง..... | 37 |
| 4.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาเวนเคอร์ในสภาพปลอดเชื้อ..... | 37 |
| 4.1.1 การศึกษาเพาะเมล็ดตาเวนเคอร์ในสภาพปลอดเชื้อ..... | 37 |
| 4.1.2 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้น..... | 38 |

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|--|------|
| 4.1.3 การศึกษาเพิ่มปริมาณยอคในอาหารเหลว..... | 43 |
| 4.1.4 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อการชักนำให้แคลลัสยอคจากชิ้นส่วนใบ..... | 44 |
| 4.1.5 การศึกษาเพิ่มปริมาณแคลลัส..... | 46 |
| 4.2 การศึกษาเพาะปลูกลาเวนเดอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์..... | 46 |
| 4.2.1 การศึกษาการเพาะเมล็ดลาเวนเดอร์ด้วยฟองน้ำ..... | 46 |
| 4.2.2 การศึกษาการเพาะปลูกต้นลาเวนเดอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT.... | 47 |
| 4.3 การศึกษาการสกัดและวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์..... | 48 |
| | |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง..... | 55 |
| 5.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลาเวนเดอร์ในสภาพปลอดเชื้อ..... | 55 |
| 5.2 การศึกษาการเพาะปลูกลาเวนเดอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT..... | 56 |
| 5.3 การศึกษาการสกัดและวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์..... | 56 |
| | |
| บรรณานุกรม..... | 58 |
| | |
| ภาคผนวก..... | 64 |
| ภาคผนวก ก. อาหารเพาะเลี้ยงและสารเคมี..... | 65 |
| ภาคผนวก ข. ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ..... | 69 |
| ภาคผนวก ค. ตารางการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต..... | 72 |
| ภาคผนวก ง. ตารางผลการเพิ่มปริมาณยอคและแคลลัส..... | 74 |
| | |
| ประวัติผู้เขียน..... | 76 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|----------|------|
| 2.1 | 29 |
| 4.1 | 39 |
| 4.2 | 44 |
| 4.3 | 49 |

สารบัญรูป

| รูปที่ | หน้า |
|--|------|
| 2.1 ภาพวาดสีแสดงลักษณะของลาเวนเดอร์พันธุ์ <i>L. angustifolia</i> Mill..... | 3 |
| 2.2 ภาพวาดแสดงลักษณะของลาเวนเดอร์พันธุ์ <i>L. angustifolia</i> และ <i>L. latifolia</i> | 4 |
| 2.3 ภาพถ่ายดาวเทียมของประเทศอิตาลี ประเทศสเปน และประเทศฝรั่งเศส..... | 5 |
| 2.4 โครงสร้างโมเลกุลของไลนาลิลอะซีเตท..... | 8 |
| 2.5 โครงสร้างโมเลกุลของยูคาลิปทอล..... | 8 |
| 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของนอร์มอลเอมีลแอลกอฮอล์ (normal amyl alcohol) | 9 |
| 2.7 โครงสร้างโมเลกุลของไลนาลิลอะซีเตท..... | 10 |
| 2.8 โครงสร้างโมเลกุลของเจอร์รานีออล..... | 10 |
| 2.9 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของลาเวนคูอล..... | 11 |
| 2.10 โครงสร้างโมเลกุลของไลนาโลอล..... | 12 |
| 2.11 โครงสร้างโมเลกุลของเนอรอล..... | 12 |
| 2.12 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของกรดอะซีติก..... | 13 |
| 2.13 โครงสร้างโมเลกุลของกรดบูทริก..... | 14 |
| 2.14 โครงสร้างโมเลกุลของกรดวาเลอริก..... | 14 |
| 2.15 โครงสร้างโมเลกุลของกรดคาโปรอิก..... | 14 |
| 2.16 โครงสร้างโมเลกุลของไลโมนีน..... | 15 |
| 2.17 โครงสร้างโมเลกุลของแอลฟาไพเนน..... | 15 |
| 2.18 โครงสร้างโมเลกุลของแคมפור..... | 15 |
| 2.19 โครงสร้างโมเลกุลของคาร์ิโอฟิลลิน..... | 15 |
| 2.20 ระบบไฮโดรโปนิกส์แบบปลูกให้รากลอยอยู่กลางอากาศ..... | 22 |
| 2.21 ระบบไฮโดรโปนิกส์แบบปลูกในวัสดุปลูก..... | 22 |
| 2.22 ระบบไฮโดรโปนิกส์แบบปลูกในสารละลายธาตุอาหาร..... | 24 |
| 2.23 ระบบไฮโดรโปนิกส์แบบปลูกในสารละลายธาตุอาหาร..... | 25 |
| 2.24 ระบบไฮโดรโปนิกส์แบบปลูกในสารละลายธาตุอาหาร..... | 26 |
| 4.1 ดัชนีพืชลาเวนเดอร์อายุ 7 และ 12 สัปดาห์ จากการเพาะเมล็ด..... | 37 |
| 4.2 แคลลัสที่เกิดขึ้น จากการเพาะเมล็ด บนอาหารสูตร MS | 38 |
| 4.3 จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดจากชิ้นส่วนลำต้น..... | 41 |
| 4.4 น้ำหนักสดเฉลี่ยของยอดใหม่..... | 41 |

สารบัญญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า |
|--------|---|
| 4.5 | เปอร์เซ็นต์การรอดของชิ้นส่วนลำต้นที่นำมาชักนำให้เกิดยอด.....42 |
| 4.6 | ยอดจำนวนมากที่เกิดจากชิ้นส่วนลำต้น.....42 |
| 4.7 | การเพิ่มปริมาณยอดด้วยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว.....43 |
| 4.8 | ชิ้นส่วนลำต้นเริ่มต้นสำหรับเพิ่มปริมาณยอด และชิ้นส่วนพืชที่มียอดจำนวนมาก..... 43 |
| 4.9 | น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ.....45 |
| 4.10 | แคลลัสจากชิ้นส่วนใบ.....45 |
| 4.11 | ต้นลาเวนเดอร์อายุ 1 สัปดาห์.....47 |
| 4.12 | ต้นลาเวนเดอร์อายุ 3 สัปดาห์.....47 |
| 4.13 | ต้นลาเวนเดอร์อายุ 3 และ 20 สัปดาห์.....48 |
| 4.14 | ยอดที่ชักนำจากชิ้นส่วนลำต้นและแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนใบ.....48 |
| 4.15 | ชิ้นส่วนใบ ลำต้น และรากลาเวนเดอร์จากระบบไฮโดรโปนิคส์.....48 |
| 4.16 | โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐาน.....50 |
| 4.17 | โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ ที่สกัดจากยอดที่ชักนำจากชิ้นส่วนลำต้น.....50 |
| 4.18 | โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ที่สกัดจากชิ้นส่วนใบ.....51 |
| 4.19 | โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ที่สกัดจากชิ้นส่วนลำต้น.....51 |
| 4.20 | โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ที่สกัดจากชิ้นส่วนราก.....52 |
| 4.21 | โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ที่สกัดจากแคลลัส.....52 |
| 4.22 | ภาพถ่ายของขนต่อมและภาพขยายของขนต่อม.....54 |
| 4.23 | ภาพถ่ายของชิ้นส่วนรากของลาเวนเดอร์.....54 |

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

น้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์เป็นน้ำมันหอมที่มีผู้ชื่นชอบและแพร่หลายมากที่สุด ในโลกเนื่องมาจากคุณสมบัติที่ขจัดเชื้อและกลิ่นหอมสดชื่น กลิ่นลาเวนเดอร์ทำให้รู้สึกผ่อนคลาย หายเครียด ขณะที่คุณสมบัติด้านการต่อต้านเชื้อ (antiseptic) จะช่วยบรรเทาอาการหวัด แพ้อากาศ และอื่นๆ น้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์ยังมีผลทำให้ผิวฟื้นฟูสภาพดีขึ้น ป้องกันรอยแผลเป็น และปรับสภาพผิวให้สมดุล

ในประเทศไทยมีการนำน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์มาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิต เครื่องหอม และเครื่องสำอาง และใช้ในสุนทรบำบัด (aroma therapy) นอกจากนี้ยังใช้ผสมลงในยา เพื่อลดความขมและกลิ่นฉุนของยา

การเพาะปลูกต้นลาเวนเดอร์ภายในประเทศไทยทำได้เฉพาะบางพื้นที่ คือ เฉพาะทาง ภาคเหนือของประเทศ เป็นการปลูกไว้เป็นไม้ดอกไม้ประดับ และใช้ส่วนใบและดอกมาผลิต ผลิตภัณฑ์จำหน่ายในท้องถิ่น เช่น ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและไอศกรีมของมูลนิธิโครงการหลวง (ศูนย์สารสนเทศ มูลนิธิโครงการหลวง, 2550) แต่ไม่พบรายงานเกี่ยวกับการเพาะปลูกเพื่อการสกัด น้ำมันหอมระเหยในประเทศไทย ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์สำหรับใช้ใน อุตสาหกรรมและใช้เพื่อสุขภาพ จึงได้มาจากการนำเข้าจากต่างประเทศ

การผลิตน้ำมันหอมระเหยสามารถทำได้ด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ คือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใน สภาพปลอดเชื้อ ข้อดีของเทคนิคนี้ คือ เนื้อเยื่อหรือต้นพืชที่ได้จะเหมือนชิ้นส่วนตั้งต้นทุกประการ และการเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อหรือต้นพืชก็สามารถทำได้ไม่จำกัด ด้วยเหตุนี้ การผลิตน้ำมัน หอมระเหยของลาเวนเดอร์ในปริมาณที่ต้องการโดยไม่ต้องปลูกลาเวนเดอร์ในเรือนปลูกก็สามารถ ทำได้ ทั้งยังสามารถควบคุมคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยได้

งานวิจัยนี้จึงมุ่งหมายที่จะศึกษาการผลิตน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์จากชิ้นส่วนพืช ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตน้ำมัน หอมระเหยของลาเวนเดอร์สำหรับใช้เองภายในประเทศ และช่วยลดการนำเข้าน้ำมันหอมระเหย ลาเวนเดอร์จากต่างประเทศได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Lavandula angustifolia* ในสภาพปลอดเชื้อ สำหรับใช้ในการผลิตน้ำมันหอมระเหย

1.2.2 เพื่อศึกษาการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากเนื้อเยื่อของ *L. angustifolia*

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 การเพาะเมล็ด ทำทั้งในสภาพปลอดเชื้อและในสภาพปกติ

1.3.2 การเพาะเมล็ดในสภาพปกติเพาะด้วยระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

1.3.3 ศึกษาการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของลาเวนเดอร์ ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.3.4 ศึกษาการชักนำยอดจากชิ้นส่วนลำต้นของลาเวนเดอร์ ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.3.5 ศึกษาการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากชิ้นส่วนใบ ลำต้น และรากของต้นลาเวนเดอร์ ที่เพาะด้วยระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ยอดที่ชักนำจากชิ้นส่วนลำต้นในสภาพปลอดเชื้อ และแคลลัส

1.3.6 วิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยด้วย GC-MS

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถนำความรู้เกี่ยวกับเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการศึกษาการผลิตน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์

1.4.2 ทราบถึงผลตอบสนองของชิ้นส่วนลำต้นและใบของลาเวนเดอร์ เมื่อได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ

1.4.3 ทราบถึงผลตอบสนองของลาเวนเดอร์ที่ถูกเพาะเลี้ยงด้วยระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

1.4.4 ทราบสารประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่ตรวจพบในชิ้นส่วนใบ ชิ้นส่วนลำต้น และชิ้นส่วนราก ของลาเวนเดอร์ในสภาพปกติ

1.4.5 ทราบสารประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่ตรวจพบในชิ้นส่วนยอดและแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อ

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

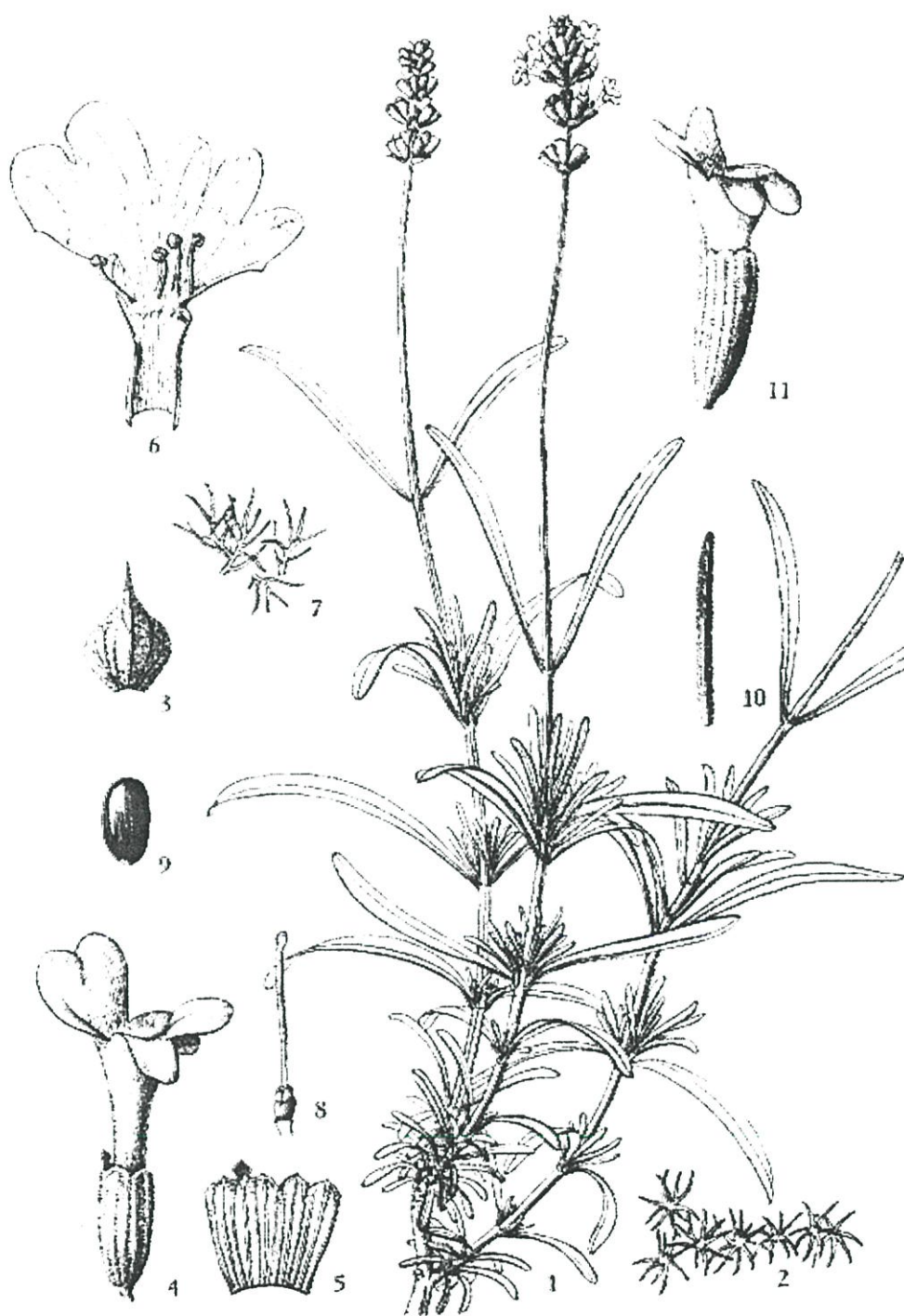
2.1 พฤกษศาสตร์ของลาเวนเดอร์

ลาเวนเดอร์ (Lavander) จัดอยู่ในตระกูลลาเวนคูตา (*Lavandula*) ของวงศ์ตาเมียซีอี (*Lamiaceae*) มีประมาณ 20 สายพันธุ์ ส่วนมากแพร่พันธุ์อยู่ในพื้นที่เมดิเตอร์เรเนียน เจริญอยู่ในบริเวณที่มีอากาศร้อน ฝนตกน้อย ลาเวนคูตาเป็นพืชที่มีสีเขียวตลอดปี เป็นไม้เตี้ย ความสูงถึง 100 เซนติเมตร (อาจสูงได้ถึง 200 เซนติเมตร) ลำต้นเป็นทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัส ใบเรียวยาวมักมีขนปกคลุม ดอกมีลักษณะเป็นรวง ประกอบด้วยดอก 6 ถึง 10 ดอก กลีบดอกสีม่วง มีอวัยวะที่เป็นขนหรือปุ่มสำหรับปล่อกลิ่นหอม (Segura and Calvo, 1991) ลักษณะของต้นแสดงไว้ในรูปที่ 2.1 และ 2.2 ซึ่งเป็นพันธุ์ *L. latifolia* และ *L. angustifolia*



รูปที่ 2.1 ภาพวาดที่แสดงลักษณะของลาเวนเดอร์พันธุ์ *L. angustifolia* Mill.

(Answers Corporation, 2007)



รูปที่ 2.2 ภาพวาดแสดงลักษณะของลาเวนเดอร์พันธุ์ *L. angustifolia* และ *L. latifolia*

หมายเลข 1-9 เป็นภาพสำหรับพันธุ์ *L. angustifolia* และ *L. latifolia*

1. ลักษณะต้น, 2. ขนรูปคาวบอไบ, 3. หูกลิบรองดอก, 4. ดอก,

5. กลีบรองดอกคี่ออก 6. กลีบดอกคี่ออก, 7. ขนบนกลีบดอก,

8. เกสรตัวเมีย, 9. เมล็ด, หมายเลข 10 -11 เป็นภาพสำหรับพันธุ์ *L. latifolia*

10. กลีบรองดอก, 11. ดอก

(Flora of China. 2007)

พืชตระกูลลาเวนดูลาามีเพียง 3 ชนิดเท่านั้นที่เป็นพืชเศรษฐกิจ คือ *Lavandula angustifolia* Miller (พันธุ์เดียวกับ *L. officinalis* Chaix, *L. vera* C.D., *L. spica* L. nom ambig.), *Lavandula latifolia* Medicus และลาเวนดิน (Lavandin) ซึ่งเป็นพันธุ์ผสมระหว่าง *L. angustifolia* กับ *L. latifolia* (Segura and Calvo. 1991)

L. angustifolia ขึ้นอยู่ตามธรรมชาติทั่วพื้นที่เมดิเตอร์เรเนียนตะวันตก เจริญอยู่ที่ระดับความสูงระหว่าง 600 เมตร และ 1000 เมตร ในที่แห้งแล้ง บนภูเขาชันที่อาศัยส่อง ทางตอนใต้ของฝรั่งเศสและอิตาลี และตะวันออกเฉียงเหนือของสเปน มีการเพาะปลูกในหลายประเทศ คือ เมดิเตอร์เรเนียนบาซิน, อังกฤษ, รัสเซีย, สหรัฐอเมริกา, อินเดีย และอีกหลายประเทศ

L. latifolia มีการแพร่พันธุ์อยู่ในบริเวณเดียวกับพันธุ์ *L. angustifolia* เจริญที่ระดับความสูงระหว่าง 200 เมตรถึง 1000 เมตร มักไม่มีการปลูกเพื่อเป็นพืชเศรษฐกิจโดยตรง แต่ขึ้นเองตามธรรมชาติและมีมากในประเทศสเปน

ลาเวนดินเจริญเติบโตอยู่ที่ระดับความสูงปานกลาง อยู่ในบริเวณที่มีต้นแม่พันธุ์ขึ้นอยู่รวมกัน พันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่มีการเพาะปลูกมาก โดยเฉพาะในประเทศฝรั่งเศส อิตาลี และอังกฤษ (Segura and Calvo. 1991)



รูปที่ 2.3 ภาพถ่ายดาวเทียมของประเทศอิตาลี ประเทศสเปน และประเทศฝรั่งเศส

(Google Earth. 2007)

2.2 น้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์

ลาเวนเดอร์มีองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่มีความสำคัญต่อการผลิตเครื่องหอม เครื่องสำอาง เครื่องเทศ และอุตสาหกรรมการผลิตยา นอกจากนี้ยังนำไปเป็นไม้ดอกและไม้ประดับได้

2.2.1 น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ *L. angustifolia*

น้ำมันหอมระเหยต่างๆ ของพันธุ์นี้ได้มาจากการสกัดด้วยไอน้ำ จากรวงที่มีดอกออกใหม่ๆ ปริมาณแปรผันตามชนิด ฤดูกาล และวิธีสกัด น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ *L. angustifolia* เรียกว่า น้ำมันลาเวนเดอร์ (lavender oil) มีน้ำหนักประมาณ 0.878 ถึง 0.892 กรัมต่อมิลลิลิตร ประกอบด้วย เอสเทอร์ (ester) อย่างน้อย 35 เปอร์เซ็นต์ เป็นส่วนประกอบหลักของน้ำมันลาเวนเดอร์ และคาดว่าคือไลนาลิว อะซีเตท (linalyl acetate) องค์ประกอบอื่น ได้แก่ คินีอล (cineol), เอมีลแอลกอฮอล์ (amyl alcohol), ดี-บอร์นีอล (d-borneol), เจอราเนียม (geraniol), ลาเวนดูลอล (lavandulol), ไลนาโลอล (linalool), เนรอล (nerol), กรดอะซีติก (acetic acid), กรดบิวทีริก (butyric acid), กรดวาเลอริก (valeric acid), กรดคาโปรอิก (caproic acid) และองค์ประกอบที่มีปริมาณเล็กน้อย ได้แก่ ดี-ไพเนนคาร์ยอพิลลิน (d-pinene caryophyllene), ไลโมนีนคาร์ยอพิลลิน (limonene caryophyllene), และซีสไควเทอเพนคาร์ยอพิลลิน (sesquiterpene caryophyllene), เอทิลเอมีลเคโตน (ethyl n-amyl ketone), แอลดีไฮด์ (aldehyde) (อาจเป็นวาเลอริกแอลดีไฮด์ (valeric aldehyde)) และคูมาริน (coumarin) น้ำมันลาเวนเดอร์ใช้ในการทำเครื่องหอมเป็นหลัก และยังสามารถใช้เป็นยาขับลมในท้อง และทำเป็นสีและเครื่องเทศได้ บางครั้งมีการนำมาใช้เป็นสารไล่แมลง หรือใช้ผสมในขี้ผึ้ง และใช้ในการปรุงยาเพื่อให้อ่อนและระงับกลิ่น (Segura and Calvo. 1991)

2.2.2 น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ *L. latifolia*

น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ *L. latifolia* เรียกว่าสไปค์ออย (spike oil) มีน้ำหนักประมาณ 0.894 ถึง 0.915 กรัมต่อมิลลิลิตร ประกอบด้วยเอสเทอร์ในปริมาณเล็กน้อย แต่มีปริมาณแอลกอฮอล์อิสระมาก โดยเฉพาะ คินีอล, แคมฟอร์ (camphor), ไลนาโลอล และบอร์นีอล (borneol) สไปค์ออยมีคุณสมบัติคล้ายกับน้ำมันลาเวนเดอร์ และใช้ในการผลิตเครื่องหอมเป็นหลักเช่นกัน (Segura and Calvo. 1991)

2.2.3 น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ผสมลาเวนดิน

น้ำมันหอมระเหยของพันธุ์ผสมลาเวนดิน เรียกว่าน้ำมันลาเวนดิน (lavandin oil) มีน้ำหนักประมาณ 0.89 กรัมต่อมิลลิลิตร มีคุณสมบัติทั้งของน้ำมันลาเวนเดอร์และสไปค์ออย ประกอบด้วย เอสเทอร์ 20 ถึง 28 เปอร์เซ็นต์ คาดว่าเป็น ไลนาลิลอะซีเตท น้ำมันลาเวนดินใช้แทนน้ำมัน

ลาเวนเดอร์ในการทำเครื่องหอม ซึ่งหอมกว่าการใช้สไปค์ออย และมีใช้มากในอุตสาหกรรมสบู่ ใช้เป็นแหล่งสารไลนาโลอลและไลนาลิลอะซิเตท (Segura and Calvo. 1991)

2.3 สารประกอบชนิดต่างๆ ในน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์

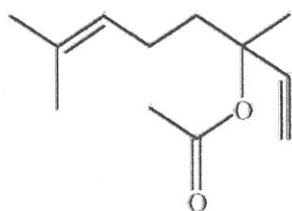
2.3.1 ไลนาลิลอะซิเตท (linalyl acetate)

ไลนาลิลอะซิเตทไลนาลิลอะซิเตท เป็นสารเอสเทอร์ สูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_{20}O_2$ ชื่อทางเคมี คือ 3,7-ไดเมทิล-1,6-อ็อกเทเดียน-3-อิล อะซิเตท (3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-yl acetate) ชื่อไอยูแพค (IUPAC Name) คือ 1,5-ไดเมทิล-1-วินิลเฮกซ์-4-อิล อะซิเตท (1,5-dimethyl-1-vinylhex-4-enyl acetate) ชื่ออื่น คือ ไลนาโลอล อะซิเตท (linalool acetate), อะซิเตทเอซิดไลนาโลอลเอสเทอร์ (acetic acid linalool ester)

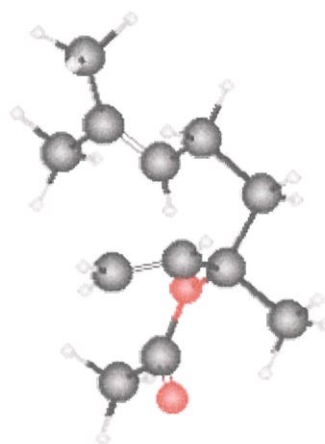
ไลนาลิลอะซิเตทมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม น้อยมาก และต้องได้รับสารจากการดื่มมากกว่า 13,360 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือสูดดมมากกว่า 2,740 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร จึงจะเป็นอันตรายอย่างเฉียบพลัน ไลนาลิลอะซิเตทไม่ระคายเคืองหรือมีน้อยมากๆ กับผิวหนังของมนุษย์ แต่ไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับการระคายเคืองต่อดวงตา ไลนาลิลอะซิเตทเป็นพิษกับปลาและไรท์อาศัยอยู่ในน้ำ (UNEP Publications. 2007)

ไลนาลิลอะซิเตทใช้ในการทำเครื่องสำอางเป็นหลัก ทำให้มีความหอม ไลนาลิลอะซิเตทมีลักษณะเป็นของเหลว ความดันไอ 0.61 ปาสคาล ที่ 25 องศาเซลเซียส ความสามารถในการละลายน้ำ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ ไม่ละลายน้ำหรือละลายได้ยาก ไลนาลิลอะซิเตทสามารถเกิดไฮโดรไลซิสในน้ำได้ถ้ามีสภาวะเหมาะสม และได้ผลิตภัณฑ์เป็นไลนาโลอล และกรดอะซิติก ไลนาลิลอะซิเตทจะถูกไฮโดรไลซ์ในของเหลวภายในกระเพาะและตับอ่อนของมนุษย์ (UNEP Publications. 2007)

ในแต่ละปี ไลนาลิลอะซิเตทจะถูกผลิตขึ้นประมาณ 1000 – 5000 ตัน โดยมีการผลิต หรือนำเข้า หรือส่งออกมากในประเทศสหรัฐอเมริกา รองลงมา คือ แคนาดา นอร์เวย์ และเดนมาร์ก ตามลำดับ ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตสบู่ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เครื่องหอม ผลิตภัณฑ์กำจัดกลิ่น ผลิตภัณฑ์ซักเครื่องรถยนต์ และเครื่องสำอาง นอกจากนี้ยังใช้เติมในผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่มมีการเติมไลนาลิลอะซิเตทประมาณ 1.9 พีพีเอ็ม และในหมากฝรั่งเติมประมาณ 13 พีพีเอ็ม (UNEP Publications. 2007)



(ก)



(ข)

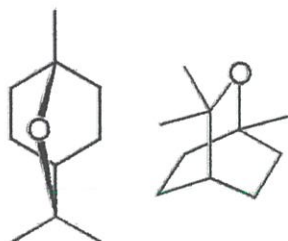
รูปที่ 2.4 (ก) และ (ข) โครงสร้างโมเลกุลของไลนาลิลอะซีเตต

(ข) คาร์บอน-สีดำ, ไฮโดรเจน-สีขาว และออกซิเจน-สีแดง

(Jason. 2007)

2.3.2 ยูคาลิปทอล (eucalyptol)

ยูคาลิปทอลเป็นสารประกอบอินทรีย์ธรรมชาติ เป็นของเหลวไม่มีสี เป็นวงอีเทอร์ (cyclic ether) และเป็นโมโนเทอร์พีน (monoterpene) สูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{18}O$ ชื่อทางเคมี คือ 1,3,3-ไตรเมทิล-2-ออกซาไบไซโคล [2,2,2] อ็อกเตน (1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2,2,2]octane)



(ก)

(ข)

รูปที่ 2.5 (ก) และ (ข) โครงสร้างโมเลกุลของยูคาลิปทอล

(ข) คาร์บอน-สีดำ, ไฮโดรเจน-สีขาว และออกซิเจน-สีแดง

(Wikipedia. 2007e)

ยูคาลิปทอลรู้จักกันในชื่ออื่นอีกหลายชื่อ ได้แก่ 1,8-คีนีออล (1,8-cineol), ไลโมนีนออกไซด์ (limonene oxide), คาเจพูทอล (cajeputol), 1,8-อีพอกซี-พี-เมนแทน (1,8-epoxy-p-menthane), 1,8-อีออกซิโด-พี-เมนแทน (1,8-oxido-p-menthane), ยูคาลิปโทล (eucalyptole), คีนีออล (cineol), คินีโลล (cineole)

ยูคาลิปทอลมีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยของพืชชนิดยูคาลิปตัส (eucalyptus) มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และยังพบใน ต้นผักไვร์ท (mugwort), กระเพราหอม (sweet basil), โกงจุกพาลัมพา (wormwood), โรสแมรี่ (rosemary), ผกากรอง (sage) และในใบของต้นเบ (bay) รวมถึงในใบของพืชอื่นที่มีกลิ่นหอม

ยูคาลิปทอลมีกลิ่นคล้ายการบูร (camphor) มีรสเผ็ดและเย็น ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายในอีเทอร์ เอทานอล (ethanol) และคลอโรฟอร์ม (chloroform) จุดเดือด 176 องศาเซลเซียส และถูกเป็นไฟได้ที่ 49 องศาเซลเซียส

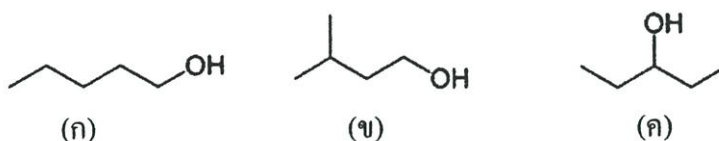
ยูคาลิปทอลถูกใช้ในการปรุงรส ทำเครื่องหอมและเครื่องสำอาง และใช้เป็นส่วนผสมในน้ำยาบ้วนปากและยาบรรเทาอาการไอ ยูคาลิปทอลสามารถรักษาแผลไฟไหม้ และลดอาการปวด บวม อักเสบได้ และยังพบว่าสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งในหลอดได้ (Wikipedia. 2007e)

2.3.3 เอมีลแอลกอฮอล์ (amyl alcohol)

เอมีลแอลกอฮอล์เป็นสารประกอบอินทรีย์ สูตรโมเลกุล คือ $C_5H_{11}OH$ ชื่อไอยูแพค คือ เพนทานอล (1-pentanol) มีหลายไอโซเมอร์ (isomer) เช่น ไอโซบูทิลคาร์ไบนอล (isobutyl carbinol), ไดเอทิลคาร์ไบนอล (diethyl carbinol) เป็นต้น

เอมีลแอลกอฮอล์เป็นของเหลวไม่มีสี ความหนาแน่น 0.8247 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ 0 องศาเซลเซียส มีจุดเดือด 131.6 องศาเซลเซียส ละลายน้ำได้เล็กน้อย ละลายได้ง่ายในตัวทำละลายอินทรีย์ มีลักษณะเฉพาะ คือ มีกลิ่นฉุน รสเผ็ดร้อนมาก เนื่องจากมีหลายไอโซเมอร์ดังนั้นคุณสมบัติของเอมีลแอลกอฮอล์จึงแตกต่างกันไปในแต่ละไอโซเมอร์

เอมีลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ไม่มีความเป็นพิษ ไอของเอมีลแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการผ่านท่อร้อนจัด จะเกิดการแยกองค์ประกอบเป็นผลิตภัณฑ์ ได้แก่ อะซีทีลีน (acetylene), เอทิลีน (ethylene), โพรพิลีน (propylene) และองค์ประกอบอื่นๆ อีก เอมีลแอลกอฮอล์สามารถถูกออกซิไดซ์ด้วยกรดโครมิก (chromic acid) ได้ และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น คือ ไอโซวาเลออลดีไฮด์ (isovaleraldehyde) (Wikipedia. 2007b)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของ (ก) นอร์มอลเอมีลแอลกอฮอล์ (normal amyl alcohol)

(ข) ไอโซบูทิลคาร์ไบนอลหรือไทรเมทิลนทานอล (3-methyl-1-butanol)

(ค) ไดเอทิลคาร์ไบนอลหรือไทรเพนทานอล (3-pentanol)

(Wikipedia. 2007b)

2.3.4 บอร์นีออล (borneol)

บอร์นีออลเป็นสารประกอบอินทรีย์สองวง (bicyclic) และเป็นเทอร์เพน สูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{18}O$ ชื่อไอยูแพค คือ เอ็น โค-1,7,7-ไตรเมทิล-ไบไซโคล [2.2.1] เฮปแทน-2-ออล (endo-1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol)



รูปที่ 2.7 (ก) และ (ข) โครงสร้างโมเลกุลของบอร์นีออล

(ข) คาร์บอน-สีดำ, ไฮโดรเจน-สีขาว และออกซิเจน-สีแดง

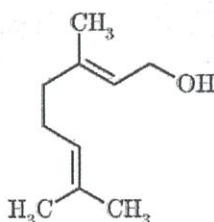
(Wikipedia. 2007d)

บอร์นีออลถูกออกซิไดซ์เป็นคีโตน (ketone) ได้ง่าย และได้ผลิตภัณฑ์เป็นแคมฟอร์ ทำให้บอร์นีออล เคยได้ชื่อว่า บอร์นีออลแคมฟอร์ (borneol camphor) (Wikipedia. 2007d)

2.3.5 เจอราเนียม (geraniol)

เจอราเนียมเป็น โมโนเทอร์เพนอยด์ (monoterpenoid) และเป็นแอลกอฮอล์ สูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{18}O$ ชื่อทางเคมี คือ 3,7-ไดเมทิล-2,6-อ็อกตาไดเอน-1-ออล (3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol) มีชื่อเรียกอีกชื่อว่า โรห์ดีนอล (rhodinol) เป็นส่วนประกอบหลักในน้ำมันกุหลาบและน้ำมันพาลมาโรซา (palmarosa oil) นอกจากนี้ยังพบในปริมาณเล็กน้อยในต้นเจอราเนียม (geranium) ต้นเลมอน (lemon) ต้นตะไคร้หอม (citronella) และในน้ำมันหอมระเหยอื่นอีกหลายชนิด

เจอราเนียมมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองซีด ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ มีกลิ่นคล้ายกุหลาบ โดยทั่วไปใช้ในเครื่องหอม และยังใช้ในการปรุงรสได้ เช่น ลูกท้อ ราสเบอร์รี่ องุ่น แอปเปิ้ลแดง ลูกพลัม ไลม์ ส้ม เลมอน แดงโม สับปะรส และบลูเบอร์รี่



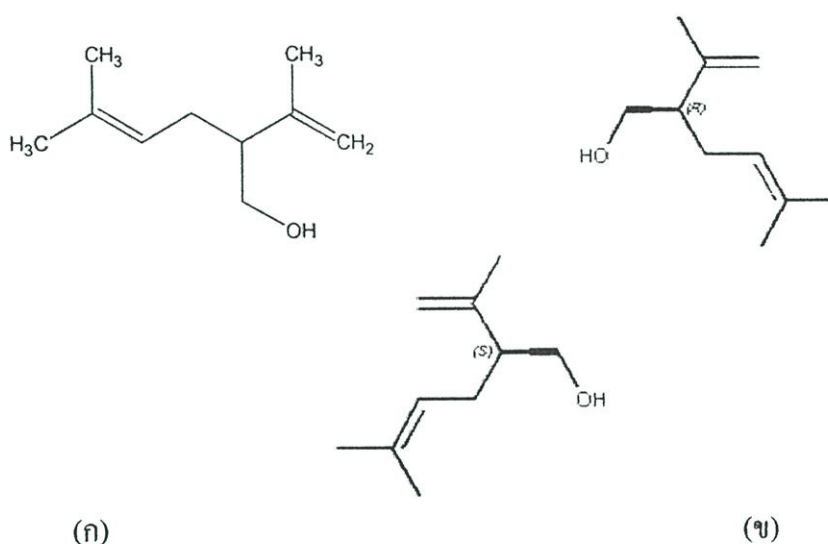
รูปที่ 2.8 โครงสร้างโมเลกุลของเจอราเนียม

(Wikipedia. 2007f)

มีการวิจัยพบว่าเจอร์านีออลเป็นสารที่ทำให้ต้นพืชสามารถไล่แมลงได้ นอกจากนี้ยังพบว่า ผึ้งน้ำหวานสามารถผลิตเจอร์านีออลได้จากต่อมกลิ่นของมัน เพื่อทำเครื่องหมายดอกไม้ที่กำลังเก็บ น้ำหวาน และบอกตำแหน่งทางเข้ารัง เจอรานีออลไม่เป็นพิษ แต่สำหรับบางคนที่มีแพ้เจอร์านีออลจะ แสดงอาการผื่นคัน (Wikipedia. 2007f)

2.3.6 ลาเวนดูลอยด์ (lavandulol)

ลาเวนดูลอยด์ สูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{18}O$ ชื่อทางเคมี คือ (\pm)-2-ไอโซโพรเพนนิล-5-เมทิล-4-เฮกเซน-1-ออล ((\pm)-2-Isopropenyl-5-methyl-4-hexen-1-ol) เป็นเทอร์เพนที่อยู่ในรูปของลาเวนเดิล (lavandeloel)



รูปที่ 2.9 (ก) และ (ข) แสดงโครงสร้างโมเลกุลของลาเวนดูลอยด์

(ข) แสดงสมบัติของลาเวนดูลอยด์สองชนิดที่เป็นไครอล (chiral)

(Wikipedia. 2007g)

ลาเวนดูลอยด์เป็นไครอล (chiral) (มีโครงสร้างเป็นเหมือนกระจกเงา) ได้แก่ (R)-ลาเวนดูลอยด์ และ (S)-ลาเวนดูลอยด์ โดยที่ (R)-ลาเวนดูลอยด์ มีกลิ่นสมุนไพรอ่อนๆ คล้ายกลิ่นเลมอนหรือพวกมะกรูด ขณะที่ (S)-ลาเวนดูลอยด์ มีกลิ่นอ่อนกว่ามาก โดยทั้งสองสารมีลักษณะเป็นของเหลวใส (R)- และ (S)-ลาเวนดูลอยด์ และเอสเทอร์ของทั้งสองเป็นองค์ประกอบความสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องหอม (Wikipedia. 2007g)

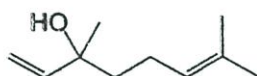
2.3.7 ไลนาโลอล (linalool)

ไลนาโลอลเป็นสารประเภทแอลกอฮอล์ สูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{18}O$ ชื่อทางเคมี คือ เทอร์เพนแอลกอฮอล์ (terpene alcohol) ชื่อไอยูแพค คือ 3,7-ไดเมทิลออกตา-1,6-ไดเอิน-3-ออล

(3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol) ชื่ออื่นๆ คือ เบต้าไลนาโลอล (β -linalool), ไลนาลิลแอลกอฮอล์ (linalyl alcohol), ไลนาโลอิลออกไซด์ (linaloyl oxide), พีไลนาโลอล (*p*-linalool), ออลโลอิมินอล (allo-ocimanol) และ 2,6-ไดเมทิล-2,7-ออกทาไดเอน-6-ออล (2,6-dimethyl-2,7-octadien-6-ol)

มวลโมเลกุล 154.25 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น 0.858 – 0.868 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จุดหลอมเหลวน้อยกว่า 20 องศาเซลเซียส จุดเดือด 198 – 199 องศาเซลเซียส ความสามารถในการละลายน้ำ 1.589 กรัมต่อลิตร คือ สามารถละลายน้ำได้เล็กน้อย

ไลนาโลอลส่วนมากพบในพืชมีดอกและพืชที่ใช้ทำเครื่องเทศ มีการประยุกต์ใช้ในทางการค้าหลายอย่าง ให้กลิ่นหอมสดชื่น และมีรสเผ็ด พืชที่พบไลนาโลอลมีประมาณ 200 ชนิด ส่วนมากอยู่ในตระกูลลาเมียซีอี (Lamiaceae) เช่น มินท์ (mints) และสมุนไพรมีกลิ่นในตระกูลลอราซีอี (Lauraceae) เช่น ลอเร็ต (laurels) ออบเชย และกุหลาบป่า และในตระกูลรูตาซีอี (Rutaceae) เช่น พืชที่มีผลจำพวกมะนาว นอกจากนี้ยังพบในพืชชนิดอื่นที่อยู่ในภูมิภาคสบริเวณจากเส้นทรอปิค (tropical) ถึงเส้นบอเรียล (boreal) และยังพบในสาหร่ายบางชนิดด้วย (Wikipedia. 2007i)

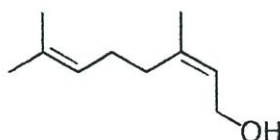


รูปที่ 2.10 โครงสร้างโมเลกุลของไลนาโลอล

(Wikipedia. 2007i)

2.3.8 เนอรอล (nerol)

เนอรอล สูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{18}O$ ชื่อทางเคมี คือ (Z)-3,7-ไดเมทิล-2,6-อ็อกทาไดเอน-1-ออล ((Z)-3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol) เป็น โมโนเทอร์พีนที่มีในธรรมชาติ และเป็นซิสไอโซเมอร์ (*cis*-isomer) ของเจอร์านีออล พบในน้ำมันหอมระเหยหลายชนิด เช่น มะนาว เป็นของเหลวที่มีกลิ่นเหมือนกุหลาบหอม มีการนำมาใช้น้ำหอม เนอรอลจะสูญเสียสภาพในน้ำและกลายเป็นไดเพนทีน (dipentene) (Wikipedia. 2007j)

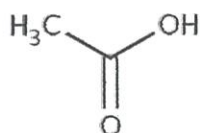


รูปที่ 2.11 โครงสร้างโมเลกุลของเนอรอล

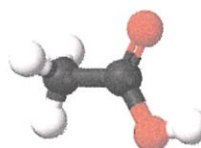
(Wikipedia. 2007j)

2.3.9 กรดอะซิติก (acetic acid)

กรดอะซิติกเป็นสารประกอบเคมีอินทรีย์ เป็นกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ที่โมเลกุลสั้นที่สุด สูตรโมเลกุล คือ $C_2H_4O_2$ ชื่อไอยูพีแควคือ อะซิติกเอซิด หรือเอ็ททานอยิกเอซิด (Acetic acid หรือ Ethanoic acid) ชื่ออื่นๆ คือ เมเทนคาร์บอกซิลิกเอซิด (Methanecarboxylic acid), อะซิทิลไฮดรอกไซด์ (acetyl hydroxide (AcOH)) และไฮโดรเจนอะซิเตท (hydrogen acetate (HAc))



(ก)



(ข)

รูปที่ 2.12 (ก) และ (ข) แสดงโครงสร้างโมเลกุลของกรดอะซิติก

(ข) คาร์บอน-สีดำ, ไฮโดรเจน-สีขาว และออกซิเจน-สีแดง

(Wikipedia. 2007a)

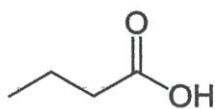
กรดอะซิติกเป็นกรดสำหรับทำน้ำส้ม มีรสเปรี้ยว และกลิ่นฉุน กรดอะซิติกเป็นของเหลวใส ละลายน้ำได้ ไอระเหยของกรดอะซิติกมีผลระคายเคืองต่อดวงตา ทำให้จมูกแห้งร้อน รู้สึกรสขมในลำคอ และแน่นหน้าอก ดังนั้นควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับกรดอะซิติกเข้มข้น

กรดอะซิติกเป็นสารเคมีที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมเคมี เช่น ใช้ในการผลิตโพลีเอทิลีน เทอเรฟทาเลท (polyethylene terephthalate) สำหรับใช้ทำขวดน้ำดื่ม หรือเซลลูโลสอะซิเตท (cellulose acetate) สำหรับใช้ทำฟิล์มถ่ายภาพ และโพลีไวนิลอะซิเตท (polyvinyl acetate) สำหรับใช้ทำวัสดุไฟเบอร์ ในอุตสาหกรรมอาหาร กรดอะซิติกใช้เติมในอาหารเพื่อควบคุมความเป็นกรด (Wikipedia. 2007a)

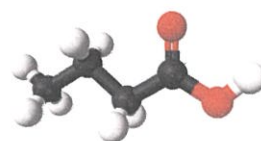
2.3.10 กรดบิวทิริก (butyric acid)

กรดบิวทิริก สูตรโมเลกุล คือ $C_4H_8O_2$ ชื่อไอยูพีแควคือ เอ็น-บิวทานอยิกเอซิด (*n*-Butanoic acid) หรือ นอร์มอลบิวทิริกเอซิด (normal butyric acid) เป็นกรดคาร์บอกซิลิก พบได้ใน ขนมันปิ้งที่เหม็นหืน ชีสพาร์เมซาน (parmesan cheese) และในสาร์อก มีกลิ่นฉุน รสเผ็ดร้อน

กรดบิวทิริกใช้ในการเตรียมบิวทิเรทเอสเทอร์ (butyrate ester) หลายชนิด เช่น เมทิลบิวทิเรท (methyl butyrate) ซึ่งมีกลิ่นหอมและรสชาติ สามารถใช้เติมในอาหารและเครื่องหอมได้ (Wikipedia. 2007c)



(ก)



(ข)

รูปที่ 2.13 (ก) และ (ข) โครงสร้างโมเลกุลของกรดบูทีริก

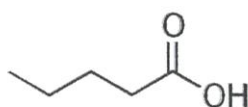
(ข) คาร์บอน-สีดำ, ไฮโดรเจน-สีขาว และออกซิเจน-สีแดง

(Wikipedia. 2007c)

2.3.11 กรดวาเลริก (valeric acid)

กรดวาเลริก เป็นโซ่ตรงของกรดอัลคิลคาร์บอกซิลิก สูตรโมเลกุล คือ $C_5H_{10}O_2$ ชื่อไอยูพีเอค คือ เพนทานอิกแอซิด (pentanoic acid) ชื่ออื่นๆ คือ บูเทน-1-คาร์บอกซิลิกแอซิด (Butane-1-carboxylic acid) มีกลิ่นฉุนมาก พบได้ในดอกของต้นพืชวาเลเรียน (*Valeriana officinalis*) กรดวาเลริกใช้ในการสังเคราะห์เอสเทอร์ เช่น โวลาทิลเอสเทอร์ (Volatile esters) มีกลิ่นหอมนำไปใช้ในเครื่องหอมและเครื่องสำอาง หรือเอทิลวาเลเรท (Ethyl valerate) และเพนทิลวาเลเรท (pentyl valerate) ใช้เติมในอาหาร ให้รสเหมือนผลไม้

กรดวาเลริกมีผลทำให้เกิดอาการคันถ้าสัมผัสกับผิวหรือดวงตา กรดวาเลริกไม่ระเหยที่อุณหภูมิห้องแต่ระเหยได้ในสภาพแช่เย็น เป็นสารที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ดังนั้นต้องเจือจางสารละลายกรดก่อนทิ้งสารลงทางระบายน้ำ (Wikipedia. 2007k)

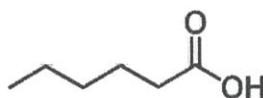


รูปที่ 2.14 โครงสร้างโมเลกุลของกรดวาเลริก

(Wikipedia. 2007k)

2.3.12 กรดคาโปรอิก (caproic acid)

กรดคาโปรอิก เป็นกรดคาร์บอกซิลิก สูตรโมเลกุล คือ $C_6H_{12}O_2$ ชื่อทางเคมี คือ เอ็น-เฮกซาโนอิกแอซิด (*n*-hexanoic acid) ชื่ออื่นๆ คือ กรดเฮกซาโนอิก (hexanoic acid), กรดคาโปรนิก (capronic acid) เป็นของเหลวใส ลักษณะเหมือนน้ำมัน มีกลิ่นคล้ายกลิ่นสาปสัตว์ พบได้ในไขมันและน้ำมันของสัตว์หลายชนิด

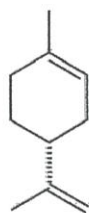


รูปที่ 2.15 โครงสร้างโมเลกุลของกรดคาโปรอิก

(Wikipedia. 2007l)

2.3.13 ส่วนประกอบอื่นๆ (Segura and Calvo. 1991)

2.3.13.1 ไลโมนีน (limonene)



(ก)



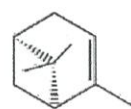
(ข)

รูปที่ 2.16 (ก) และ (ข) โครงสร้างโมเลกุลของไลโมนีน

2.3.13.2 ไพนีน (pinene)



(-)-α-Pinene



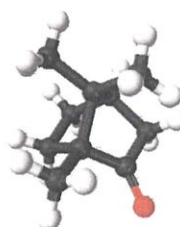
(+)α-Pinene

รูปที่ 2.17 โครงสร้างโมเลกุลของแอลฟาไพนีน

2.3.13.3 แคมพอร์ (camphor)



(ก)

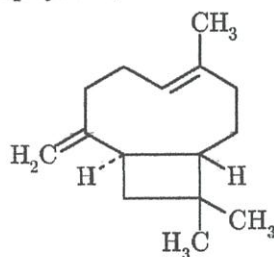


(ข)

รูปที่ 2.18 (ก) และ (ข) โครงสร้างโมเลกุลของแคมพอร์

(ข) คาร์บอน-สีดำ, ไฮโดรเจน-สีขาว และออกซิเจน-สีแดง

2.3.13.4 คาริโอฟิลลีน (caryophyllene)



รูปที่ 2.19 โครงสร้างโมเลกุลของคาริโอฟิลลีน

2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2.4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (อารยา หงษ์เพชร. 2545)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น ใบ ตายอด ตาข้าง เนื้อเยื่อ หรือเซลล์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังต้องทำการเพาะเลี้ยงในสภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์และในสภาวะที่ควบคุมสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และความชื้น ซึ่งชิ้นส่วนของพืชดังกล่าวจะมีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปในรูปแบบต่างๆ เช่น เกิดเป็นยอด เกิดเป็นราก เกิดเป็นเอ็มบริโอ หรือเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า แคลลัส ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์จำนวนมากได้

หลักการสำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ต้องทำในสภาพที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ กล่าวคือ ทุกขั้นตอนต้องปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ โดยขั้นตอนในการทำงานจะเริ่มจากการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชแล้วตัดเอาเฉพาะส่วนที่ต้องการนำมาวางเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองหรือขวดแก้วที่บรรจุอาหารสังเคราะห์ ซึ่งได้ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วเช่นกัน ขวดเพาะเลี้ยงจะถูกนำมาวางเลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมสภาวะต่างๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ให้เป็นไปตามที่ต้นพืชต้องการ ชิ้นส่วนของพืชจะได้รับแร่ธาตุและสารอาหารจากอาหารสังเคราะห์และเจริญเติบโตต่อไป การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชสามารถควบคุมได้โดยการเลือกใช้สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เช่น สอร์โมนพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยงว่าต้องการให้ชิ้นส่วนนั้นเจริญไปเป็นส่วนใหญ่ เช่น ถ้าต้องการให้เจริญไปเป็นส่วนใหญ่ลำต้นก็สามารถทำการชักนำโดยใช้ สอร์โมนพืชกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinin) หากต้องการให้เกิดรากอาจใช้สอร์โมนกลุ่มออกซิน (auxin) หรืออาจจะใช้สอร์โมนหลายชนิดร่วมกัน

2.4.1.1 ปัจจัยที่มีผลในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (อารยา หงษ์เพชร. 2545; ปรรณนา จันทร์ทา และคณะ. 2550)

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ อาหารเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง และสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยอาหารเพาะเลี้ยงนั้นเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง อาหารเพาะเลี้ยงมีมากมายหลายสูตรให้เลือกใช้งาน เช่น สูตร Murashige and Skoog (MS) เป็นสูตรพื้นฐานที่นิยมใช้กับพืชทั่วไป สูตร Vacin and Went (VW) เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้สกุลต่างๆ สูตร Woody Plant Medium (WPM) เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงพืชพวกไม้เนื้อแข็งโดยทั่วไป สูตรอาหารเหล่านั้นจะประกอบด้วยธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการในปริมาณมาก ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ธาตุอาหารรองที่พืชต้องการในปริมาณเพียงเล็กน้อย เช่น โบรอน โมลิบดีนัม แมงกานีส โคบอลต์ สังกะสี ทองแดง ไอโอดีน และธาตุอาหารอื่นๆ เช่น วิตามิน กรดอะมิโน และน้ำตาล นอกจากนี้อาจจะมีส่วนประกอบอื่นอีก เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชหรือที่

เรียกว่า สอร์โมนพืช หรือสารจากธรรมชาติอื่นๆ เช่น น้ำมันพริกาว มันฝรั่ง กล้วยหอม สารสกัดจากยีสต์ ซึ่งจะมีสารช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืชรวมอยู่ด้วย

2.4.1.2 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (อารยา หงษ์เพชร. 2545)

1. การขยายพันธุ์พืชการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถขยายพันธุ์พืชที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีอื่นได้ยาก หรือขยายได้ช้า เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้จำนวนมากอย่างรวดเร็ว สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ตลอดปี ซึ่งต้นพันธุ์ที่ได้จะมีลักษณะเหมือนเดิมทุกประการและให้ผลผลิตคุณภาพดี พืชหลายชนิดที่มีปัญหาในการขยายพันธุ์แบบปกติ แต่ปัจจุบันประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น กล้วยไม้ หน้าวัว และหน่อไม้ฝรั่ง

2. การผลิตต้นพันธุ์ที่ปราศจากโรค พืชหลายชนิดจะมีเชื้อไวรัสแฝงตัวอยู่ในท่อลำเลียง จึงเป็นการยากต่อการผลิตพันธุ์พืชที่ปราศจากโรค ดังนั้นการเพาะเลี้ยงส่วนของปลายยอดที่ยังไม่มีท่อลำเลียงจะสามารถจัดการปนเปื้อนของไวรัสเหล่านั้นได้

3. การผลิตสารสำคัญ พืชหลายชนิดสามารถผลิตสารสำคัญได้ ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้ เช่น สารตัวยารักษาโรค สีย้อมใช้ในอุตสาหกรรม ซึ่งการนำพืชเหล่านี้มาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ควบคุมได้ จะสามารถชักนำให้เซลล์ของพืชผลิตสาร ในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น

4. การอนุรักษ์พันธุ์กรรมและการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืช เป็นการเก็บรวบรวมพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงไว้ในขวดและบังคับให้เติบโตอย่างช้า ๆ ซึ่งทำให้สามารถเก็บรักษาพันธุ์พืชไว้ได้นาน ประหยัดพื้นที่และแรงงาน นอกจากนี้ยังสะดวกต่อการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชกับต่างประเทศเพราะอยู่ในขวดและปราศจากเชื้อโรค

5. การปรับปรุงพันธุ์พืช เป็นการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้ เช่น การสร้างพืชโครโมโซมชุดเดียว การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ การรวมเซลล์พืช (Protoplast Fusion) และพันธุ์วิศวกรรมของพืช

2.4.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

เป็นสารอินทรีย์ที่ไม่จำเป็นที่จะสร้างขึ้นภายในต้นพืช หรือเป็นการสังเคราะห์ขึ้นมาโดยกระบวนการทางเคมี และเมื่อใช้จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชจึงรวมไปถึงฮอร์โมนพืช และสารสังเคราะห์ต่างๆที่มนุษย์คิดค้นขึ้นมา สารที่นำมาใช้มักเป็นสารสังเคราะห์ ไม่ได้นำฮอร์โมนพืชมาใช้โดยตรง เพราะการที่จะสกัดสารฮอร์โมนพืชออกมานั้นทำได้ยาก มีสารหลายชนิดที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการออกดอก แต่สารนั้นอาจไม่นับเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช คำจำกัดความของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มีดังนี้

1. ต้องเป็นสารอินทรีย์ ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เป็นหลัก
2. ต้องไม่ใช่สารอาหาร หรือธาตุอาหารพืช
3. ใช้ในปริมาณเล็กน้อย ก็มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

2.4.3 การเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช

การเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืชเป็นกระบวนการที่สลับซับซ้อน และยังมีปัจจัยหลายด้านมาเกี่ยวข้อง ได้แก่ ปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ ความชื้น ระดับความสูง ฯลฯ ปัจจัยเหล่านี้มีผลมากต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช พืชแต่ละชนิด และการเจริญเติบโตและพัฒนาในแต่ละขั้นตอน ต้องการปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ปัจจัยภายในต้นพืชเอง ได้แก่ สารพันธุกรรม เป็นตัวกำหนดลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต สารเคมีภายในเซลล์อาจสร้างขึ้นมาเพื่อควบคุมการเจริญเติบโตภายในเซลล์นั้น หรือส่งไปควบคุมเซลล์อื่น เช่น เอนไซม์ วิตามิน และ ฮอร์โมน เป็นต้น

ฮอร์โมนพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้งในส่วนโครงสร้างและการทำงาน การทำงานของฮอร์โมนพืชไม่ค่อยจำเพาะเจาะจง ฮอร์โมนพืชชนิดหนึ่งๆ อาจเกี่ยวข้องกับหลายๆ กระบวนการในต้นพืช หรือฮอร์โมนพืชต่างชนิดกันอาจแสดงผลต่อพืชหนึ่งๆ เหมือนกันก็ได้ หรือฮอร์โมนพืชชนิดเดียวกันอาจมีผลต่างกัน ในพืชต่างชนิดกัน กลไกที่ฮอร์โมนพืชควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มี 2 ประการ

1. ฮอร์โมนพืชเกี่ยวข้องกับการทำงานของสารพันธุกรรม โดยไปมีอิทธิพล หรือไปกำหนดให้สารพันธุกรรมสร้างสารบางชนิด เช่น เอนไซม์ เพื่อควบคุมกระบวนการต่างๆ อีกต่อหนึ่ง

2. ฮอร์โมนพืชไปมีผลต่อกระบวนการทางฟิสิกส์ของเซลล์ ทำให้สารและสารละลายต่างๆ เคลื่อนย้ายผ่านผนังเซลล์ได้ง่าย ทำให้พืชตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว

ฮอร์โมนพืชมีความสำคัญมากต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช และมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของพืชต่อสภาพแวดล้อมภายนอก ปัจจัยภายนอกมักมีผลชักนำ โดยก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการกระจายตัวและการสลายตัวของฮอร์โมนในต้นพืช และยังเป็นตัวหลักในการควบคุมการแสดงออกของความสามารถทางพันธุกรรมที่แท้จริงของพืช

ฮอร์โมนพืชที่เป็นที่รู้จักกันดี และมีการนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางนั้น ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะออกซินและไซโตไคนิน

2.4.3.1 ออกซิน (auxin)

เป็นกลุ่มของสารที่สามารถชักนำให้เกิดการยืดตัวของเซลล์ของลำต้น และจะต้องมีคุณสมบัติทางสรีรวิทยาเหมือนกับ กรดอินโดลอะซิติก (IAA) ซึ่งเป็นออกซินธรรมชาติที่พบในพืช ออกซินเป็นสารที่มีคุณสมบัติทางเคมีเป็นกรด มีโครงสร้างเป็นวงแหวนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated ring) คำว่า auxin มาจากภาษากรีกว่า auxein หมายถึงการเจริญเติบโต หลักการทำงานของออกซินมีดังนี้ (ปรารธนา จันทร์ทา และคณะ. 2550)

1. ออกซินเพิ่มการยืดตัวของผนังเซลล์ เป็นการยืดตัวแบบถาวร (plasticity) ทำให้เซลล์ขยายขนาดขึ้นได้ (การยืดตัวของผนังเซลล์ เป็นกระบวนการ ที่ต้อง ใช้พลังงาน)

2. ออกซินกระตุ้นการสร้างเอนไซม์บางชนิด การยึดตัวของผนังเซลล์จะต้องมีเอนไซม์มาช่วยสลาย ไมโครไฟบริลก่อนเมื่อพืชได้รับออกซินก็จะสร้าง เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งจะย่อยเซลลูโลสไมโครไฟบริลได้

2.4.3.2 ไซโตไคนิน (cytokinins)

เป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ไซโตไคนินนั้น พบในพืชชั้นสูง, มอส, รา, แบคทีเรีย และใน tRNA ของจุลินทรีย์และเซลล์สัตว์จำนวนมาก ปัจจุบันพบว่า มีไซโตไคนินมากกว่า 200 ชนิด ทั้งที่เป็นสารธรรมชาติและสารสังเคราะห์

ไซโตไคนินที่พบในพืช ได้แก่

1. Zeatin [6-(4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butenyl-amino)purine] เป็นไซโตไคนินตัวแรก ที่สกัดได้จากพืชชั้นสูง จากเอนโดสเปอรัมของเมล็ดข้าวโพด
2. Zeatin riboside พบในข้าวโพดหวาน และน้ำมะพร้าว
3. Isopentenyl adenine ในถั่วลิสง

ไซโตไคนินนั้นพบมากที่สุดในบริเวณที่กำลังเจริญเติบโตและบริเวณที่มีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่องรวมทั้งราก, ใบอ่อน, ผลและเมล็ดที่กำลังพัฒนา เชื่อกันว่าแหล่งสำคัญที่สร้างไซโตไคนินคือปลายราก แล้วส่งไปยังส่วนต่างๆ ทางท่อลำเลียง

ได้มีการศึกษาสารสังเคราะห์อื่นๆ ที่คิดว่าจะมีคุณสมบัติเป็นไซโตไคนิน โดยเฉพาะสารในกลุ่ม 6-substituted purines ทำให้พบสารไซโตไคนินที่สำคัญจำนวนมาก ปัจจุบันมีไม่ต่ำกว่า 100 ชนิด ตัวอย่างเช่น Kinetin (6-furfurylamino-purine), BA (6-benzylamino-purine) เป็นไซโตไคนินที่มีกิจกรรมเท่าไคนิติน, BPA [6-(Benzylamino)-9-(2-tetrahydropyran-1-yl)-9H-purine]

ผลของไซโตไคนินที่มีต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่

1. การพัฒนาของตาและยอด ไซโตไคนินส่งเสริมการแตกตาข้างและแก้การข่มของตา ยอดบางส่วน การศึกษาในพืชตัดแต่งยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไซโตไคนิน พบว่าจะทำให้ปริมาณซีเอดินและสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มขึ้นหลายสิบเท่าตัว และทำให้ต้นพืชนั้นมีการเจริญเติบโตของตาข้างมาก และไม่เกิดการข่มของตา ยอด การข่มของตา ยอดถูกควบคุมโดย สมดุลระหว่างระดับของไซโตไคนินและ IAA ภายในพืช มีสองทฤษฎีที่กล่าวถึงเกี่ยวกับว่าไซโตไคนินเกี่ยวข้องกับการข่มของตา ยอด คือ ทฤษฎีแรกเสนอว่าไซโตไคนินอาจ ยับยั้ง IAA oxidase ในตาข้าง ทำให้มีออกซินในระดับที่ทำให้ตาข้างยืดยาวออก ทฤษฎีที่สองนั้น ไซโตไคนินอาจทำให้เกิดกลไกของการใช้สารอาหารที่ตาข้างและส่งเสริมให้เกิดการเคลื่อนย้ายของสารอาหาร วิตามิน แร่ธาตุ และสารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ (ซึ่งทั้งหมดนั้น อาจเป็นตัวที่จำกัดการเจริญเติบโต)

2. การแบ่งเซลล์และการสร้างอวัยวะ (Cell division and organ formation) หน้าที่หลักของไซโตไคนินในพืชคือส่งเสริมการแบ่งเซลล์ มีรายงานว่า การเจริญเติบโตของแคลลัสของ pith ของลำต้นยาสูบจะตอบสนองต่อไคนิตินหรือ IAA อย่างเดียว แต่ถ้าจะให้การเจริญเติบโต เกิดต่อเนื่อง

จะต้องให้ทั้ง ไคเนติน และ IAA ในอาหาร อธิบายได้ว่าในระยะแรก IAA หรือ ไซโตไคนินที่มีอยู่ภายในพืชอาจทำปฏิกิริยากับ ไซโตไคนินหรือ IAA ที่ให้ทางอาหารเลี้ยง แต่เมื่อเวลานานขึ้นระดับของฮอร์โมนภายในก็ลดลง การเจริญเติบโตก็จะหยุด การจัดการให้มีอัตราส่วนที่เหมาะสมของ IAA และ ไซโตไคนิน ก็จะได้แคลลัสที่มีทั้ง รากและ/หรือต้น

3. การงอกของเมล็ด และการขยายขนาดของเซลล์และอวัยวะ (Seed Germination, Cell and Organ Enlargement) ไคเนตินสามารถแก่ผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหอมที่เกิดจากแสงอินฟราเรดได้ โดยทั่วไปไซโตไคนินถูกจัดเป็นสารตัวกระตุ้นการแบ่งเซลล์ แต่ มันก็มีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์ด้วย ไซโตไคนินส่งเสริมการขยายขนาดของเซลล์ของใบเลี้ยงที่ออกมาในพืชใบกว้างหลาย ชนิด เมื่อตัดใบเลี้ยงออกจากต้นพืช ก็จะขาดจากแหล่ง ไซโตไคนินตามธรรมชาติ แต่เมื่อให้ไซโตไคนินจากภายนอก ก็จะไปส่งเสริมการขยายตัวของเซลล์ของใบเลี้ยงนั้นได้ การใหญ่ขึ้นของเซลล์เกี่ยวข้องกับการคูดน้ำ ซึ่งเกิดจากการลดค่า ศักย์ออสโมซิส (osmotic potential) ของเซลล์ที่กระตุ้น โดยการเกิดการเปลี่ยนแปลงของไขมัน ซึ่งเป็นอาหารสะสมในใบเลี้ยง ไปเป็นน้ำตาลรีดิิวซ์ (reducing sugar: glucose, fructose)

4. การชะลอการเสื่อมตามอายุ และการส่งเสริมการเคลื่อนย้ายสารอาหาร (Delay of senescence and promotion of translocation of nutrients and organic substances) เมื่อตัดใบที่โตเต็มที่ออกจากต้น ก็จะเกิดการแตกตัวของโปรตีนอย่างรวดเร็ว คลอโรพลาสต์สลายตัวทำให้สูญเสียคลอโรฟิลล์ และเกิดการไหลออกไปของไนโตรเจนที่ไม่ได้เป็นองค์ประกอบของโปรตีน , ไขมัน, กรดนิวคลีอิก โดยผ่านทางรอยแตกของเยื่อหุ้มเซลล์ ถ้าชักนำให้ใบนั้นสร้างรากขึ้นมาจะทำให้การเสื่อมตามอายุนั้นเกิดช้าลง และพบว่า การให้ไซโตไคนิน ก็จะชะลอการเสื่อมตามอายุได้โดยไม่ต้องชักนำการเกิดราก ในสภาพความมืดก็จะเกิดการเร่งการเสื่อมตามอายุอย่างมาก การให้ไซโตไคนินสามารถทดแทนผลของแสงต่อการชะลอการเสื่อมตามอายุได้ ซึ่งอาจเกิดจากการรักษาสภาพ integrity of tonoplastmembrane เมื่อให้ไซโตไคนินแก่ใบหรือใบเลี้ยงของพืชที่ปลูกในที่มืด 2-3 ชั่วโมง ก่อนที่จะให้ได้รับแสง พบว่า อีทิโอพลาสต์ (etioplast) จะถูกเปลี่ยนไปเป็นคลอโรพลาสต์ ทำให้มีการสร้างคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น ไซโตไคนินยังสามารถชะลอ การเสื่อมตามอายุในดอกไม้และผักสด นอกจากนั้นยังมีรายงานว่า ไคเนตินสามารถส่งเสริมการเคลื่อนย้ายสารอินทรีย์ ในใบพืชที่ถูกตัดออกมาที่อยู่ในที่มืดได้ และพบว่าเมื่อพ่นไซโตไคนินให้แก่ใบใบหนึ่ง ใบที่อยู่ใกล้เคียงก็จะเกิดการชราภาพ นอกจากนั้นการให้ไซโตไคนิน แก่ใบ ที่เริ่มเหลืองแล้วจะทำให้ใบกลับเขียวเพราะมีการสร้างคลอโรฟิลล์ขึ้นมาอีก (ปรารธนา จันทร์ท่า และคณะ. 2550)

2.5 การสกัดน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์

น้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์ได้มาจากการกลั่นรวงดอกของลาเวนเดอร์ น้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์มีรูปแบบ 2 แบบ คือ น้ำมันดอกลาเวนเดอร์ (Lavander Flower Oil) เป็นน้ำมันไม่มีสี ไม่ละลายน้ำ มีความหนาแน่น 0.885 กรัมต่อมิลลิลิตร และสไปค์ออย (Lavander Spike Oil) เป็นสารที่กลั่นจากลาเวนเดอร์พันธุ์ *L. latifolia* มีความหนาแน่น 0.905 กรัมต่อมิลลิลิตร น้ำมันดอกลาเวนเดอร์เป็นการออกแบบของนานาชาติ (National Formulary) และบิทริชฟามา-โคเฟีย (British Pharmacopoeia) เป็นสารประกอบที่ไม่บริสุทธิ์ เป็นสารผสมของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Segura and Calvo. 1991)

2.6 การปลูกพืชระบบไฮโดรโปนิคส์

ปัจจุบันการปลูกพืชแบบไฮโดรโปนิคส์มีอยู่มากมายหลายระบบ เนื่องจากมีการพัฒนาขึ้นมาเป็นเวลานาน ให้เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมของประเทศต่างๆ อย่างไรก็ตามระบบต่างๆ ที่พัฒนาขึ้นมีพื้นฐานมาจากระบบหลักๆ ตามลักษณะการให้สารละลายธาตุอาหารแก่บริเวณรอบๆ รากพืช 3 ระบบ (ขนิษฐา พงษ์ปรีชา. 2550; ศูนย์เกษตรกรรมบางไทร. 2546; Department of Agriculture, Sri Lanka. 2007) ได้แก่

2.6.1 แบบปลูกให้รากลอยอยู่กลางอากาศ (Aeroponics)

เป็นระบบที่มีการหมุนเวียนสารละลายธาตุอาหาร ส่วนรากของพืชจะแขวนห้อยกลางอากาศลอยอยู่ในกล่องหรือตู้ที่เป็นห้องมืด จากนั้นจึงเติมธาตุอาหารแก่รากพืชด้วยการใช้ปั๊มอัดผ่านหัวฉีด ฉีดพ่นสารละลายให้เป็นฝอยละเอียด เป็นระยะๆ ตามเวลาที่กำหนด เพื่อให้รากคงความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง ร้อยละ 95-100 ข้อดีของระบบนี้คือ รากพืชไม่ขาดออกซิเจนและจะเจริญเติบโตได้เต็มที่ ข้อเสียของระบบนี้คือตู้ปลูกมักมีอุณหภูมิสูงกว่าภายนอก และต้องลงทุนค่าวัสดุอุปกรณ์ค่อนข้างสูง จึงมักใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาทางสรีระวิทยาของพืชหรือใช้ระบบขนาดเล็กเพื่อปลูกพืชเป็นงานอดิเรกมากกว่าที่จะใช้ในเชิงพาณิชย์ (ขนิษฐา พงษ์ปรีชา. 2550; ศูนย์เกษตรกรรมบางไทร. 2546)

2.6.2 แบบปลูกในวัสดุปลูก (Substrate culture)

เป็นการปลูกในลักษณะที่คล้ายกับการปลูกพืชบนดินมากที่สุด การดูแลรักษาจึงคล้ายกับการปลูกพืชในกระถาง แต่ใช้วัสดุปลูกอื่นแทนดินเพื่อให้รากพวงลำต้นอยู่ได้ การปลูกในวัสดุปลูกปริมาณของวัสดุปลูกจะน้อยกว่าดินมาก คือรากพืชจะมีพื้นที่ในการหาน้ำและอาหาร ไม่เกิน 5 ลิตรต่อต้น ดังนั้นการจัดการเกี่ยวกับน้ำและธาตุอาหารจะต้องดูแลเป็นพิเศษ ต้องควบคุมปริมาณน้ำใน

วิธีที่เหมาะสมคือ ให้ครั้งละน้อยๆ แต่ให้บ่อยๆ เหตุนี้เองระบบควบคุมการให้น้ำอัตโนมัติจึงเป็นสิ่งจำเป็น สูตรและความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารจะต้องเหมาะสมกับชนิดพืช ช่วงการเจริญเติบโต และสภาพภูมิอากาศ ก่อนปลูกควรปรับ pH ของวัสดุปลูกให้อยู่ในช่วง 5.5-6.0 โดยใช้สารละลายกรดไนตริกเจือจาง ข้อควรระวังอีกอย่างหนึ่ง คือต้องเก็บเศษรากพืชที่เหลือออกจากวัสดุปลูกให้หมดเมื่อต้องเริ่มปลูกพืชครั้งใหม่ การปลูกด้วยระบบนี้อาจจำแนกย่อยได้เป็น 2 ลักษณะ คือ

2.6.2.1 การให้สารละลายท่วมภาชนะปลูก

เริ่มหลังจากการย้ายกล้าลงปลูกใหม่ในภาชนะปลูกถาวรที่มีวัสดุปลูกตามที่จัดเตรียมไว้ โดยภาชนะนี้มีที่ท่อสำหรับให้สารละลายไหลเข้าไปในภาชนะให้ท่วมวัสดุปลูกไม่น้อยกว่าวันละ 2 ครั้ง คือเช้าและเย็น ในฤดูร้อนอาจต้องเพิ่มเป็นวันละ 3-4 ครั้ง ในครั้งหนึ่งๆ จะปล่อยสารละลายแช่ขังรากพืชไว้ประมาณ 0.5-1 ชั่วโมง จากนั้นจึงปล่อยสารละลายให้ไหลกลับออกมาเก็บไว้ในถังเพื่อใช้ต่อไป เทคนิคการปล่อยสารละลายไหลเข้าท่วมวัสดุปลูก และระบายกลับออกมานั้นสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

1. ใช้แรงโน้มถ่วง วิธีการคือ นำสารละลายใส่ลงในถังพลาสติก มีท่อต่อเชื่อมกับภาชนะปลูก เมื่อจะให้สารละลายท่วมภาชนะปลูกก็ยกถังนำมาแขวนให้สูงกว่าระดับภาชนะปลูก แรงดึงดูดของโลกจะพาให้สารละลายไหลมาท่วมภาชนะและเมื่อต้องการระบายกลับออกมาก็ยกถังให้ต่ำกว่าระดับภาชนะปลูก

2. ใช้ระบบควบคุมเวลา วางตำแหน่งถังสารละลายให้อยู่ต่ำกว่าระดับภาชนะปลูก ภายในถังมีปั๊มเล็กๆ สำหรับการส่งจ่ายสารละลายไปแช่ขังในภาชนะปลูก และมีนาฬิกาตั้งเวลาคอยควบคุมระบบการทำงานให้ไหลเข้าและไหลกลับตามเวลาเป็นช่วง

2.6.2.2 การให้สารละลายโดยการหยด

จะต้องมีถังสำหรับผสมธาตุอาหาร ถังนี้จะตั้งอยู่สูงกว่าภาชนะปลูกเล็กน้อย ต่อท่อลงมาระดับต่ำโดยวางท่อเป็นแนวยาว เจาะรูเป็นระยะๆ สำหรับให้สารละลายไหลลงมาตามธรรมชาติเพื่อจ่ายหรือหยดสารละลายลงรากพืชแต่ละต้นได้อย่างต่อเนื่อง จากนั้นสารละลายจะซึมผ่านวัสดุปลูกลงมาที่ตะกอนรูปลูก และไหลลงมาวมกันในถังเก็บ การทำงานจะต่อเนื่องในลักษณะนี้ โดยเมื่อสารละลายจากถังบนลดลงจนถึงระดับหนึ่งเพียงพอให้สวิตช์ลูกลอยไปควบคุมให้ปั๊มน้ำในถังเก็บสะสมสารละลายที่อยู่ด้านล่างทำงาน และจะผลัดกันให้สารละลายผ่านท่อส่งกลับคืนไปยังถังบน ซึ่งสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก (ชนิษฐา พงษ์ปรีชา, 2550)

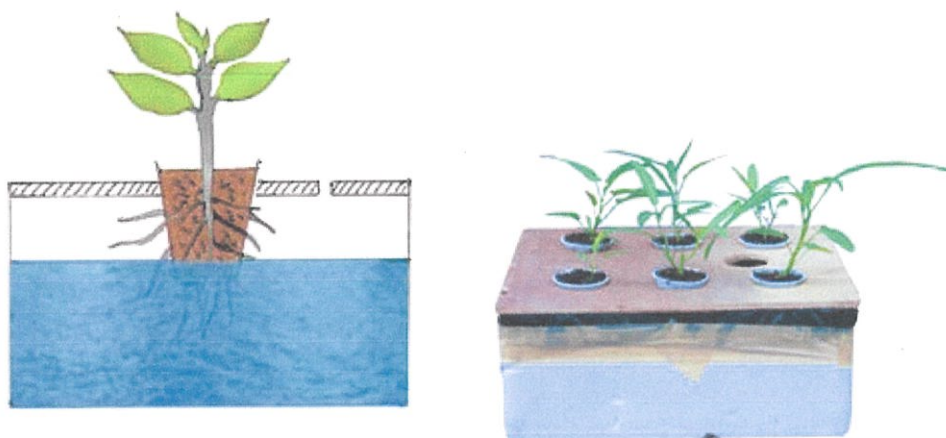
2.6.3 แบบปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (Liquid culture)

เป็นการปลูกพืชแบบไฮโดรโปนิกส์ที่ได้รับความนิยมมากกว่าแบบอื่นๆ และใช้ได้ดีในที่ที่มีแดดจัด วิธีการหลักคือการนำรากพืชจุ่มลงในสารละลายโดยตรง รากพืชไม่มีการเกาะยึดกับวัสดุ

ใดๆ ยังสามารถเคลื่อนไหวไปมาได้ ดังนั้นจึงมักใช้การยึดเหนี่ยวในส่วนของลำต้นไว้แทนเป็นการรองรับรากของต้นพืชเพื่อการทรงตัว

หลักการนำรากพืชจุ่มในสารละลายและข้อสังเกตในการปลูกพืชในน้ำ คือ ปกติถ้านำต้นพืชที่ขึ้นอยู่บนดินมาวางแช่น้ำ ในระยะแรกต้นพืชจะยังสามารถเจริญงอกงามต่อไปได้ แต่เมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งกลับพบว่า ต้นพืชที่เจริญต่อไปนั้นกลับแสดงอาการเหี่ยวเฉา โดยสาเหตุมาจากเมื่อรากพืชแช่อยู่ในน้ำนานๆ จะเกิดการขาดออกซิเจนจึงทำให้พืชเฉาตาย ดังนั้นการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหารจึงต้องมีหลักและเทคนิควิธีการที่แตกต่างจากวิธีอื่น คือต้องพัฒนารากพืชในต้นเดียวกันนั้นให้สามารถทำงานได้ 2 หน้าที่พร้อมๆ กัน คือ รากดูดออกซิเจน (oxygen roots) และรากดูดน้ำและธาตุอาหาร (water nutrient roots)

การจะทำให้รากพืชทำงานได้ทั้ง 2 หน้าที่นั้น ต้องพยายามให้ส่วนหนึ่งของรากพืชสัมผัสกับอากาศได้โดยตรงบริเวณโคนราก (ส่วนนี้ต้องมีช่องว่างของอากาศไว้สำหรับให้รากหายใจเอาออกซิเจนเข้าไป และอีกส่วนหนึ่งตรงปลายรากจุ่มแช่อยู่ในสารละลาย) ซึ่งหลักการคือ รากส่วนที่มีหน้าที่ดูดน้ำและอาหารสามารถพัฒนาเป็นรากดูดอากาศได้ แต่รากดูดอากาศจะไม่สามารถเปลี่ยนเป็นรากดูดน้ำและแร่ธาตุได้ ดังนั้นจึงต้องไม่เติมสารละลายทั่วมารากส่วนที่ทำหน้าที่ดูดอากาศ เพราะพืชจะไม่สามารถดูดออกซิเจนและตายได้ในที่สุด ด้วยหลักการดังกล่าวต้นพืชจึงสามารถจุ่มแช่อยู่ในสารละลายได้โดยไม่เน่าตาย และไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ในการเติมอากาศกับพืชบางชนิด ทั้งนี้จะต้องคำนึงถึงระดับของสารละลาย ให้มีความเหมาะสมกับความยาวของรากพืชในแต่ละช่วงอายุของพืชด้วย หรืออาจใช้เครื่องปั๊มอากาศช่วยเติมออกซิเจนให้แก่รากพืช และสำหรับระบบการให้สารละลายธาตุอาหารแก่พืชนั้นแบ่งเป็น 2 วิธี คือ



รูปที่ 2.22 ระบบไฮโดรโปนิคส์แบบปลูกในสารละลายธาตุอาหาร
โดยสารละลายไม่หมุนเวียน

(Department of Agriculture, Sri Lanka. 2007)

2.6.3.1 แบบสารละลายไม่หมุนเวียน (Non-circulating system)

สามารถทำได้โดยเตรียมภาชนะปลูกที่ไม่มีรอยรั่วซึม นำสารละลายที่เตรียมไว้เติมลงในระดับที่พอเหมาะ แล้วนำตะแกรงหรือแผ่นโฟมเจาะรูวางทับที่ปากภาชนะเพื่อช่วยพยุงต้นให้ทรงตัวอยู่ได้ หลังจากนั้นนำดินกล้าที่เพาะบนฟองน้ำมาสอดเข้าในรูโฟม วิธีนี้ยังเป็นการช่วยปกป้องมิให้แสงสว่างส่องลงมาในสารละลายได้ นอกจากนี้สิ่งสำคัญอีกอย่างที่ต้องคำนึงถึงคือ การเว้นช่องว่างระหว่างพื้นผิวสารละลายกับแผ่นโฟมเพื่อเป็นพื้นที่ให้ออกซิเจนแก่รากพืช การปลูกแบบสารละลายไม่หมุนเวียนนี้ยังจำแนกย่อยได้เป็น 2 วิธี คือ

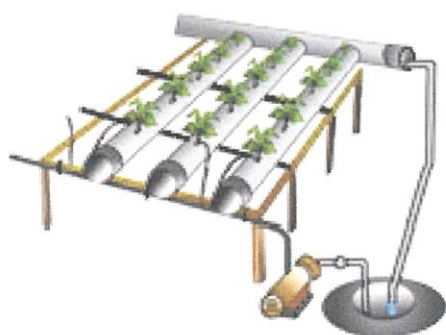
1. แบบไม่เติมอากาศ

2. แบบเติมอากาศ โดยใช้ปั๊มลมให้ออกซิเจน เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับผู้เริ่มทดลองหรือปลูกเป็นงานอดิเรก เพราะใช้ต้นทุนต่ำ ติดตั้งง่าย สามารถใช้งานได้เร็ว และสามารถควบคุมโรคที่มาจากการไหลเวียนของน้ำได้ง่าย

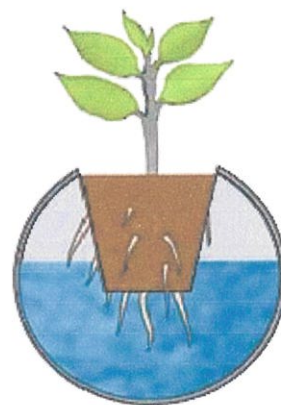
2.6.3.2 แบบสารละลายหมุนเวียน (Circulating system)

จุดสำคัญของระบบนี้คือ การใช้ปั๊มในการผลักดันให้สารละลายมีการไหลเวียนดีขึ้น ข้อดีของระบบนี้คือ นอกจากจะมีการเพิ่มออกซิเจนให้รากพืชโดยตรงแล้ว ยังเป็นการช่วยให้สารละลายเกิดการเคลื่อนไหวช่วยไม่ให้ธาตุอาหารตกตะกอน ทำให้ดินพืชได้รับอาหารเต็มที่ เป็นระบบที่ใช้แพร่หลายในเชิงพาณิชย์ สามารถแบ่งย่อยออกเป็น 2 วิธี คือ

1. การให้สารละลายไหลผ่านรากพืชอย่างต่อเนื่อง (Deep Flow Technique) มีวิธีการเหมือนการปลูกพืชแช่ในลำธารเล็กๆ มีน้ำตื้นๆ ที่ระดับความลึกเพียง 5-10 เซนติเมตรไหลช้าๆ ผ่านรากพืชสม่ำเสมอ การให้อาหารลักษณะยังมีอีกหลายวิธี บางวิธีเรียกว่า Nutrient Flow Technique หรือ NFT



(ก)



(ข)

รูปที่ 2.23 ระบบไฮโดรโปนิคส์แบบปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

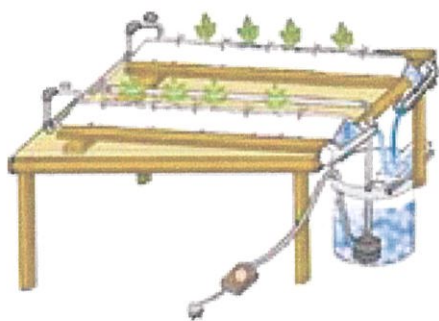
โดยสารละลายไหลผ่านรากพืชอย่างต่อเนื่อง

(ข) ภาพตัดขวางของท่อในภาพ (ก)

(Department of Agriculture, Sri Lanka. 2007)

2. การให้สารละลายผ่านรากพืชเป็นแผ่นบางๆ (nutrient film technique) เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เป็นการปลูกพืชโดยรากแช่อยู่ในสารละลายโดยตรง สารละลายจะไหลเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ (หนาประมาณ 2-3 มิลลิเมตร) ในลำรางปลูกพืชกว้างตั้งแต่ 5-35 เซนติเมตร ขึ้นกับชนิดของพืชที่ปลูก ลำรางสูงประมาณ 5 เซนติเมตร ความยาวของรางตั้งแต่ 5-20 เมตร แต่โดยทั่วไปไม่ควรเกิน 10 เมตร เพราะจะทำให้เกิดความแตกต่างของปริมาณออกซิเจนระหว่างหัว และท้ายรางได้ รางอาจทำจากแผ่นพลาสติกสองหน้าขาวและดำ หนา 80-200 ไมครอน หรือจาก PVC ขึ้นรูปเป็นรางสำเร็จรูป หรือทำจากโลหะ เช่น สังกะสี หรือ อลูมิเนียมภายในด้วยพลาสติก เพื่อป้องกันการกัดกร่อนของสารละลาย ต้นพืชจะลอยอยู่ในลำรางได้โดยใช้วัสดุห่อหุ้มต้นหรือให้ รากพืชเกาะยึดกับวัสดุรองรับรากที่สามารถดูดซับน้ำได้ซึ่งในต่างประเทศนิยมใช้ polyurethane foam แต่สำหรับประเทศไทยการใช้วัสดุชนิดนี้จะทำให้ต้นทุนสูงชันมากเนื่องจากต้องนำเข้าจาก ต่างประเทศ จึงต้องใช้วัสดุอื่นที่หาได้ในประเทศไทยแทน รางปลูกจะถูกปรับให้ลาดเทประมาณ ร้อยละ 2 สารละลายจะถูกปั๊มสูบน้ำจากถังเก็บสารละลาย แล้วปล่อยเป็นฟิล์มบางๆ ผ่านรากพืชด้วยความเร็วประมาณ 2 ลิตรต่อนาที เพื่อให้รากพืชได้รับออกซิเจนเพียงพอ ที่ปลายอีกด้านหนึ่งของลำ รางจะมีรางนำร่องรับสารละลายธาตุอาหารที่ใช้แล้ว ไปรวมที่ถังเพื่อสูบลูกกลับมาใช้ใหม่

ระบบ NFT มีข้อดีหลายอย่าง เช่น ไม่จำเป็นต้องมีเครื่องควบคุมการให้น้ำอัตโนมัติ เนื่องจากมีการให้น้ำแก่พืชตลอดเวลา ระบบการให้สารละลายแก่พืชไม่ยุ่งยาก ป้องกันกำจัด โรคพืช ในสารละลายได้ง่าย เป็นระบบที่มีการใช้น้ำและธาตุอาหารอย่างมีประสิทธิภาพที่สุด ไม่มีวัสดุปลูก ที่ต้องกำจัด สามารถปลูกพืชต่อเนื่องได้ตลอดปีไม่ต้องเสียเวลาเตรียมระบบปลูก



(ก)



(ข)

รูปที่ 2.24 ระบบไฮโดร โปนิคส์แบบปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

โดยสารละลายไหลผ่านรากพืชเป็นแผ่นบางๆ

(ข) ภาพตัดขวางของท่อในภาพ (ก)

(Department of Agriculture, Sri Lanka. 2007)

อย่างไรก็ตามระบบ NFT ก็มีข้อเสีย โดยปัญหาที่สำคัญที่สุดโดยเฉพาะในแถบร้อน คือการสะสมความร้อนของสารละลายในเวลากลางวัน โดยขณะที่อุณหภูมิสูงทำให้รากมีความต้องการออกซิเจนเพิ่มขึ้น อุณหภูมิสูงกลับทำให้ออกซิเจนละลายได้น้อยลงในสารละลาย ทำให้มีปริมาณออกซิเจนไม่เพียงพอต่อความต้องการของรากพืช การละลายของออกซิเจนในสารละลายธาตุอาหารพืชขึ้นกับปัจจัยต่างๆ นอกจากนี้ค่าใช้จ่ายในการติดตั้งระบบครั้งแรกค่อนข้างสูงมาก โดยเฉพาะถ้าใช้ชาตังที่ทำจากโลหะ เป็นระบบที่ต้องมีการดูแลอย่างใกล้ชิด เพราะเป็นระบบที่เสียได้ง่ายและพืชจะกระทบกระเทือนอย่างรวดเร็ว ต้องใช้น้ำที่มีสิ่งเจือปนอยู่น้อย เพราะถ้ามีสิ่งเจือปนมากจะเกิดการสะสมประจุบางตัวทำให้ต้องเปลี่ยนสารละลายบ่อย (ขนิษฐา พงษ์ปรีชา. 2550; ศูนย์เกษตรกรรมบางไทร. 2546; Department of Agriculture, Sri Lanka. 2007)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Panizza และ Tognoni (1988) ศึกษาวิธีต่างๆ สำหรับการขยายพันธุ์ลาเวนดิงที่เรียกว่า Grosso (*L. officinalis* Chaix x *L. latifolia* Villars) อาหารที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยง คือ อาหารแข็ง LS เติมน้ำตาลเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตดังนี้ BAP เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (อาหาร A), BAP เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดจิบเบอเรลลิกเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (อาหาร B), BAP เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (อาหาร C), BAP เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดจิบเบอเรลลิกเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (อาหาร D), NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (อาหาร F) และสูตรที่เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (อาหาร G) การขยายพันธุ์เกิดขึ้นได้ดี โดยใช้ชิ้นส่วนตักนำไปเพาะบนอาหาร C จากนั้นย้ายเลี้ยงไปไว้บนอาหาร A และ/หรือ B (C/A และ C/B) พบว่าทั้งสองวิธีมีอัตราการแพร่พันธุ์เท่ากัน และต้นพืชที่เกิดบนอาหาร A จะมีอัตราการเกิดรากสูงที่สุด และสามารถส่งเสริมการเจริญของรากได้ด้วยอาหาร F นอกจากการขยายพันธุ์ยังได้ศึกษาเกี่ยวกับการเกิดแคลลัส โดยนำชิ้นส่วนบางส่วนของดอก (มีตาและกลีบรองดอก) ชิ้นส่วนใบ ชิ้นส่วนตา และชิ้นส่วนยอดมาเป็นแหล่งกำเนิดแคลลัส การทดลองชักนำแคลลัสและอวัยวะ พบว่ายอดใหม่ถูกชักนำให้เกิดขึ้นบนอาหาร C และยอดได้รับการส่งเสริมให้ยาวขึ้นได้ด้วยอาหาร D ชิ้นส่วนต่างๆ มีอัตราการขยายพันธุ์แตกต่างกัน และรากของพืชต้นใหม่ได้รับการส่งเสริมด้วยอาหาร G แคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนตามีจำนวนยอดและรากเกิดขึ้นสูงที่สุด พืชต้นใหม่ที่ได้อาจนำไปไว้บนสภาพปลอดเชื้อได้

Segura และ Calvo (1991) ได้รวบรวมรายงานวิจัยของพืชตระกูลลาเวนดูลา และทำตารางสรุปงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไว้ดังตารางที่ 2.1 การศึกษาพืชตระกูลลาเวนดูลาในสภาพปลอดเชื้อส่วนมากเป็นการศึกษาเกี่ยวกับเงื่อนไขสำหรับการทำให้เกิดแคลลัสและการเจริญ เกี่ยวกับการแยกและเพาะเซลล์ที่ได้จากแคลลัส และเกี่ยวกับการเกิดพืชต้นใหม่จากชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น จากแคลลัส

หรือจากเซลล์เดี่ยว และมีรายงานเกี่ยวกับการแยกและเพาะเลี้ยง โพรโตพลาสต์โดยใช้เนื้อเยื่อเมโซฟิลล์ (mesophyll) และใบเลี้ยง ของ *L. latifolia* และยังสามารถชักนำให้เกิดพืชต้นใหม่ได้นอกจากนี้ในงานวิจัยต่างๆ ยังศึกษาความสามารถในการสร้างสารทุติยภูมิที่มีในการเพาะเลี้ยง

Masato และ Masayoshi (1996) ทดลองชักนำแคลลัสจากใบของลาเวนเดอร์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D และไคนนิน และที่เติมด้วย IBA และ BA พบว่าอัตราการเกิดแคลลัสบนอาหารที่เติม 2,4-D และไคนนิน สูงกว่าบนอาหารที่เติม IBA และ BA และบนอาหารที่เติม 2,4-D และไคนนินบางทริทเมนต์ พบว่าแคลลัสมีการผลิตเม็คสีน้ำเงิน แต่ในทริทเมนต์ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1×10^{-6} โมลาร์ และไคนนินเข้มข้น 1×10^{-6} โมลาร์ พบว่าแคลลัสเจริญเติบโตได้ดีแต่ไม่ผลิตเม็คสีน้ำเงิน และในอาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1×10^{-6} โมลาร์ และไคนนินเข้มข้น 1×10^{-5} โมลาร์ พบว่าแคลลัสผลิตเม็คสีน้ำเงินได้มากที่สุด เมื่อนำแคลลัสไปย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม พบว่าแคลลัสยังคงผลิตเม็คสีน้ำเงินอย่างต่อเนื่อง แต่เมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1×10^{-6} โมลาร์ และไคนนินเข้มข้น 1×10^{-6} โมลาร์ พบว่าแคลลัสจะไม่ผลิตเม็คสีน้ำเงิน

Andrade และคณะ (1999) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเกิดยอดและรากของลาเวนเดอร์พันธุ์ (*L. vera* DC) ใช้ชิ้นส่วนตาดจากต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และพบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.25 ไมโครโมลาร์) หรือ BA (2 ไมโครโมลาร์) มีการเกิดยอดสูงสุด และมีความชื้นเกิดขึ้นบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เข้มข้นมาก มีรากของต้นอ่อนเกิดขึ้นได้ทุกสูตร และมีอัตราการเกิดและการเจริญของรากเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ NAA เพิ่มขึ้น และความเข้มข้นของเกลือลดลง ต้นอ่อนสามารถย้ายไปเลี้ยงในดินและเจริญเป็นต้นพืชเต็มวัยได้ตามปกติ มีลักษณะเหมือนเดิม และไม่พบการแปรผัน

Spiridon (2002) ศึกษาผลกระทบของแสงที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนใบของลาเวนเดอร์ (*L. vera* L.) ชิ้นส่วนใบได้มาจากต้นพืชในเรือนเพาะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรและไคนนินเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปเพาะใน (1) สภาพมืดต่อเนื่อง 6 อาทิตย์ หรือ (2) ไว้ในสภาพมืด 0-5 อาทิตย์ แล้วนำไปเพาะต่อในสภาพมีแสง (150 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที, ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงและมี 8 ชั่วโมง) ผลการทดลองพบว่าแคลลัสของลาเวนเดอร์เจริญได้ดีในที่มีมืด แต่มีการเจริญเป็นต้นอ่อนลดลงในที่มีมืด

Gulacti และคณะ (2007) ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *L. angustifolia* Mill (เป็นพันธุ์เดียวกับ *L. officinalis* Chaix.) แบบแขวนลอย พบว่าการเพาะเลี้ยงแบบแขวนลอยมีผลกับปริมาณของกรดไขมัน ได้แก่ กรดพืคูมาริก (p-coumaric acid หรือ p-hydroxy cinnamic acid) ทั้งโมเลกุลแบบ trans และ cis และ เบต้าซิโตสเตอรอล (β -sitosterol) ใช้ GC-MS วิเคราะห์ส่วนประกอบกรดไขมัน และหาโครงสร้างของส่วนประกอบทั้งสามที่สกัดแยกแล้วด้วยเครื่อง H- และ C-NMR และเครื่อง MS

ตารางที่ 2.1 สรุปงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชตระกูลลาเวนดูลา

ก. การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชตระกูลลาเวนดูลาในสภาพปลอดเชื้อ

| ชนิดต้นพืช | ชิ้นส่วนที่ใช้ทดลอง | อาหาร/สารควบคุม การเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร) | ผลตอบสนองที่ได้ | อ้างอิง |
|---|---|--|-----------------------------|----------------------------|
| <i>L. angustifolia</i> และ <i>L. latifolia</i> | ตาใบ แคลลัสที่ได้จากลำต้น | MS/ 2,4-D(2) + BA(4) MS/ GA ₃ (5) + BA(0.5) + IAA(5) | แคลลัส, เอ็มบริโอ ต้นพืช | Quazi (1980) |
| <i>L. angustifolia</i> | การเพาะเมล็ด | MS/ BA(20) | ยอด | Webb (1984) |
| <i>L. latifolia</i> | | MS/ diverse | แคลลัส, ราก, ยอด, ต้นพืช | Calvo และ Segura (1988) |
| <i>L. latifolia</i> | ลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่มีโครงสร้างตา | MS/ CM + BA(2) + IAA(0.1 or 1) | ยอด, ต้นพืช | Calvo และ Segura (1988a) |
| <i>L. latifolia</i> | แคลลัสที่ได้จากลำต้นใต้ใบเลี้ยงและใบเลี้ยง | MS/ BA(0.1, 2, or 4) + IAA or NAA(0.01, 0.1, 1, or 2) | ยอด, ต้นพืช | Calvo และ Segura (1991) |
| <i>L. latifolia</i> | ชิ้นส่วนใบ | MS/ BA(2, 4, 6, 8) + IAA or NAA(0.01, 0.1, 1, or 2) | แคลลัส, ราก, ยอด, ต้นพืช | Calvo และ Segura (1988b) |
| <i>L. latifolia</i> | เซลล์เดี่ยวจากแคลลัสที่ได้จากลำต้นใต้ใบเลี้ยง | MS/ BA(0.1, 1, or 2) + IAA(0.1, 1, or 2) | แคลลัส, ยอด, ต้นพืช | Calvo (1988) |
| <i>L. latifolia</i> | ชิ้นส่วนใบและใบเลี้ยง | Diverse | โปรโตพลาส | Calvo และ Segura (1991) |
| <i>L. stoechas</i> | ชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง | MS + several sugar/ NAA(0.1) + BA(0.1, 1, or 2) | แคลลัส | Gomez (1987a) |
| <i>L. stoechas</i> | การเพาะเมล็ด | MS/ diverse | แคลลัส, ราก | Calvo และ Segura (1988) |
| <i>L. stoechas</i> | เซลล์เดี่ยวจากแคลลัสที่ได้จากลำต้นใต้ใบและราก | MS/ diverse | แคลลัส | Gomez (1987b) |
| <i>L. angustifolia</i> X <i>L. latifolia</i> (lavandin) | ชิ้นส่วนคายอด | LS/ BA(0.2 or 10) or BA(0.2) + GA ₃ (0.5) | ต้นพืช | Panizza และ Tognoni (1988) |

ตารางที่ 2.1 สรุปงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชตระกูลลาเวนคูลา (ต่อ)

ข. การสร้างผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิในสภาพปลอดเชื้อ

| ชนิดต้นพืช | ชิ้นส่วนที่ใช้เป็นแหล่งผลิต | รูปแบบการเพาะเลี้ยง | สารประกอบที่ได้ | อ้างอิง |
|------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| <i>L. angustifolia</i> | ลำต้น | เพาะเลี้ยงแคลลัส เพาะเลี้ยงส่วนยอด | เม็คดี โมนิเทอร์พีน | Webb (1984) |
| <i>L. angustifolia</i> | ลำต้น | เพาะเลี้ยงเซลล์แบบแขวนลอย | โมนิเทอร์พีนรูปต่างๆ | Lappin (1985) |
| <i>L. angustifolia</i> | ลำต้น | เพาะเลี้ยงแคลลัส | เม็คดีน้ำเงิน | Banthorpe (1985) |
| <i>L. vera</i> | - | เพาะเลี้ยงแคลลัส และแบบแขวนลอย | เม็คดีน้ำเงิน | Watanabe (1985) |
| <i>L. vera</i> | - | เพาะเลี้ยงเซลล์ | เม็คดีน้ำเงิน | Nakajima (1985) |
| <i>L. vera</i> | - | เพาะเลี้ยงเซลล์ | เม็คดีน้ำเงิน | Calvo และ Segura (1991) |
| <i>L. vera</i> | - | โคลนนิ่งเซลล์ | ไบโอดีลีน | Watanabe (1982) |
| <i>L. vera</i> | - | | | Watanabe และ Yamada (1982) |

บทที่ 3

การดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 เครื่องแก้ว

1. กระจกบอทดวง
2. กรวย
3. กรวยแยก
4. ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
5. ขวดวัดปริมาตร
6. ขวดรูปชมพู่
7. จานเพาะเลี้ยง
8. แท่งแก้วคนสาร
9. ปีกเกอร์
10. ปิเปตต์
11. หลอดหยด

3.1.2 อุปกรณ์อื่นๆ

1. เครื่องเขย่า
2. เครื่องชั่ง ทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Mettler Toledo PG803, Switzerland)
3. เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo AG204, Switzerland)
4. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (Cyberscan 2000, Singapore)
5. หม้อนึ่งความดัน (Hirayama Manufacturing Coporation HV-50, Japan)

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ

1. ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (International Scientific Promotion Binder, Thailand)
2. ตะเกียงแอลกอฮอล์
3. มีดผ่าตัดเบอร์ 3
4. กรรไกรผ่าตัด
5. ปากคีบ

3.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกลาเวนเดอร์

1. ชุดรางปลูกพืชไฮโดรโปนิกส์ ระบบ DFT (ACK hydrofarm, Thailand)
2. ฟองน้ำเพาะเมล็ด
3. กระจกพลาสติก ขนาด 4 เซนติเมตร
4. ถาดรองน้ำ

3.1.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดและวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหย

1. เครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (Buchi, Switzerland)
2. เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Polytron PT3500, Switzerland)
3. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี-แมสสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Agilent Technology 6890 N, USA)

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตร Murashige and Skoog (MS)
2. น้ำกลั่น
3. น้ำตาลทราย
4. พงวุ้น (agar)
5. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.5 และ 1 N (Hydrochloric, HCl)
6. สารละลายกรดโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 และ 1 N (Sodium hydroxide, NaOH)
7. สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (Ethyl alcohol)
8. สารควบคุมการเจริญเติบโต
 - 8.1. 6-Benzyladenine (BA)
 - 8.2. Naphthaleneacetic acid (NAA)
 - 8.3. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
9. สารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหารปลูกพืชไฮโดรโปนิกส์ สูตรพื้นฐาน

3.3 พันธุ์พืชลาเวนเดอร์

เมล็ดลาเวนเดอร์ (*Lavandula angustifolia*) จากบริษัท เอ เอฟ เอ็ม ฟลาวเวอร์ ซีดส์ (ไทยแลนด์) จำกัด

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลาเวนเดอร์ในสภาพปลอดเชื้อ

3.4.1.1 การเพาะเมล็ดลาเวนเดอร์ในสภาพปลอดเชื้อ

ฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดลาเวนเดอร์ 200 เมล็ดในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ โดยเติมสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (มีสาร โซเดียม ไฮโปคลอไรท์ 0.6 เปอร์เซ็นต์) 50 มิลลิลิตร และ tween-20 จำนวน 2-3 หยด แช่ไว้นาน 20 นาที แล้วเทสารละลายไฮเตอร์ทิ้ง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง นำเมล็ดที่ได้เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) (ภาคผนวก ก) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่างความเข้มแสงประมาณ 1,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกผลโดย นับจำนวนต้นที่งอกจากเมล็ด เมื่อผ่านไป 1 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับจำนวนเมล็ดที่เพาะทั้งหมดเพื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การงอก โดยที่

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอก} = \frac{\text{จำนวนต้นที่งอกจากเมล็ด} \times 100}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะทั้งหมด}}$$

ต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ จะถูกนำไปใช้ในการศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดจากลำต้น การเพิ่มปริมาณยอด และ การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบ

3.4.1.2 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดจาก

ชิ้นส่วนลำต้น

นำลำต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาตัดเป็นท่อนความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ค) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่างความเข้มแสงประมาณ 1,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลโดย นับจำนวนยอด ชั่งน้ำหนักสด และนับจำนวนเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเติบโต เปรียบเทียบกับจำนวนเนื้อเยื่อทั้งหมด เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต โดยที่

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเติบโต} \times 100}{\text{จำนวนเนื้อเยื่อทั้งหมด}}$$

การทดลองนี้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสถิติ ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยการทดสอบแบบหลายช่วงของ ดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test; DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 7.5.2

3.4.1.3 การเพิ่มปริมาณยอคในอาหารเหลวจากชิ้นส่วนลำต้น

นำลำต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาตัดเป็นท่อน ความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ชักนำให้เกิดยอคได้มากที่สุดจากชิ้นส่วนลำต้นจากการทดลองที่ 3.4.1.2 โดยเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยง จำนวน 2 ท่อนต่อขวด บนเครื่องเขย่า ความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่างความเข้มแสงประมาณ 1,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลโดย นับจำนวนยอค ชั่งน้ำหนักสด และคำนวณค่าดัชนีการเจริญเติบโต โดยที่

$$\text{ดัชนีการเจริญเติบโต} = \frac{\text{น้ำหนักสดสุดท้าย} - \text{น้ำหนักสดเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักสดเริ่มต้น}}$$

ยอคลาเวนเดอร์ที่ได้จากการทดลองจะนำไปสกัดและวิเคราะห์หาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย

3.4.1.4 การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ

นำต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาตัดเอาส่วนใบเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ก) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่างความเข้มแสงประมาณ 1,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลโดยชั่งน้ำหนักสด

การทดลองนี้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสถิติ ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยการทดสอบแบบหลายช่วงของ ดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test; DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 7.5.2

3.4.1.5 การเพิ่มปริมาณแคลลัส

นำแคลลัสที่ชักนำได้ในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่ชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุดจากชิ้นส่วนใบจากการทดลองที่ 3.4.1.4 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่างความเข้มแสงประมาณ 1,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลโดย ชั่งน้ำหนักสด และคำนวณค่าดัชนีการเจริญเติบโตโดยที่

$$\text{ดัชนีการเจริญเติบโต} = \frac{\text{น้ำหนักสดแคลลัสสุดท้าย} - \text{น้ำหนักสดแคลลัสเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักสดแคลลัสเริ่มต้น}}$$

แคลลัสที่ได้จากการทดลองจะนำไปสกัดและวิเคราะห์หาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย

3.4.2 การเพาะเลี้ยงลาเวนเดอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ แบบ Deep Flow Technique (DFT)

3.4.2.1 การเพาะเมล็ดลาเวนเดอร์เพื่อนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์

นำเมล็ดลาเวนเดอร์ 300 เมล็ด เพาะลงในฟองน้ำสำหรับเพาะเมล็ด แช่ในถาดหล่อน้ำ และนำไปเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในเรือนเพาะชำที่มีการพร่างแสง 50 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิประมาณ 27 องศาเซลเซียส ให้น้ำแบบสเปรย์ตอนเช้าทุกวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ บันทึกผล โดยนับจำนวนต้นที่งอกจากเมล็ด เปรียบเทียบกับจำนวนเมล็ดที่เพาะทั้งหมด เพื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การงอก โดยที่

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอก} = \frac{\text{จำนวนที่ต้นงอกจากเมล็ด} \times 100}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะทั้งหมด}}$$

ต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดจะถูกนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ แบบ DFT

3.4.2.2 การเพาะเลี้ยงลาเวนเดอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ แบบ DFT

นำต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ด ย้ายลงปลูกในชุดรางเพาะเลี้ยงระบบ DFT โดยย้ายทั้งต้นและฟองน้ำจากถาดหล่อน้ำลงในกระถางพลาสติกขนาด 4 เซนติเมตร วางลงบนรางปลูก ใช้สารละลายธาตุอาหารสูตรพื้นฐาน (ภาคผนวก ก) ในการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปลี่ยนถ่ายสารละลายธาตุอาหารทุก 2 สัปดาห์

ต้นลาเวนเดอร์อายุ 14 สัปดาห์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT จะนำไปสกัดและวิเคราะห์หาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย

3.4.3 การสกัดน้ำมันหอมระเหยและการวิเคราะห์

นำชิ้นส่วนต่างๆ ของลาเวนเดอร์ มาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

- ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงได้ในสภาพปลอดเชื้อ
- แคลลัสที่เพาะเลี้ยงได้ในสภาพปลอดเชื้อ
- ใบจากลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์
- ลำต้นจากลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์
- รากจากลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์

1. นำเนื้อเยื่อตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก ตัวอย่างละ 5 กรัม เติมนิวทริเอนแอลกอฮอล์ลงไป 30 มิลลิลิตร ปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ กรองแยกเอาเฉพาะสารละลายใส่ลงในบีกเกอร์
2. เติมนิวทริเอนแอลกอฮอล์ลงในบีกเกอร์ที่มีตัวอย่างอีก 30 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เอทิลแอลกอฮอล์สกัดสารจากเนื้อเยื่อได้อย่างทั่วถึง กรองแยกเอาเฉพาะสารละลายใส่รวมในบีกเกอร์ที่มีสารสกัดจากครั้งแรก
3. นำสารสกัดที่ได้มาเทใส่กรวยแยก แล้วเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไป 60 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วคว่ำกรวยแยกกลับไปกลับมาหลายๆ ครั้ง ทำการปล่อยก๊าซที่เกิดขึ้นโดยการเปิดจุกเป็นครั้งคราว
4. ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้นระหว่างเอทิลแอลกอฮอล์กับปิโตรเลียมอีเทอร์ แยกเก็บเอาเฉพาะชั้นปิโตรเลียมอีเทอร์ซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยละลายอยู่มาใส่ในขวดรูปชมพู่
5. สกัดน้ำมันหอมระเหยจากชั้นของเอทิลแอลกอฮอล์อีกครั้ง โดยเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไปอีก 60 มิลลิลิตร แล้วทำเช่นเดียวกับข้อ 3 และ 4 แล้วจึงนำไปรวมกับสารละลายน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากครั้งแรกในขวดรูปชมพู่
6. นำสารละลายน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไปทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ แล้ววิเคราะห์สารละลายน้ำมันหอมระเหยที่ได้ด้วย GC-MS เปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐาน (บริษัท Perfumers World Co., Ltd.)
7. สภาวะการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยด้วย GC-MS

ฉีดเข้าไปในช่องฉีดสารของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ครั้งละ 1.0 ไมโครลิตร คอลัมน์ที่ใช้ คือ HP-5 ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร โดยมีฮีเลียมเป็นก๊าซตัวพา ด้วยอัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ที่ความดัน 14.08 psi สำหรับสภาวะของตู้ให้ความร้อน (oven) คือ อุณหภูมิเริ่มต้นของตู้เป็น 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และเพิ่มอุณหภูมิสูงถึง 250 องศาเซลเซียส ในอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที อุณหภูมิอินเจกเตอร์ 250 องศาเซลเซียส ใช้แมสสเปคโตรโฟโตมิเตอร์เป็นดีเทคเตอร์ (พนา. 2548)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลาเวนเดอร์ในสภาพปลอดเชื้อ

4.1.1 การศึกษาการเพาะเมล็ดลาเวนเดอร์ในสภาพปลอดเชื้อ

จากการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดลาเวนเดอร์ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว และนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่าง ความเข้มแสงประมาณ 1,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดสามารถงอกเป็นต้นได้ และมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 68 เปอร์เซ็นต์ เมื่อลาเวนเดอร์มีอายุได้ 7 สัปดาห์ จะมีความสูงประมาณ 4-5 เซนติเมตร มียอดประมาณ 2-3 ยอด มีรากยาวมากกว่า 4 เซนติเมตร ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.1 (ก) และเมื่อลาเวนเดอร์มีอายุได้ 12 สัปดาห์ จะมีความสูงประมาณ 7-10 เซนติเมตร ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.1 (ข)



(ก)

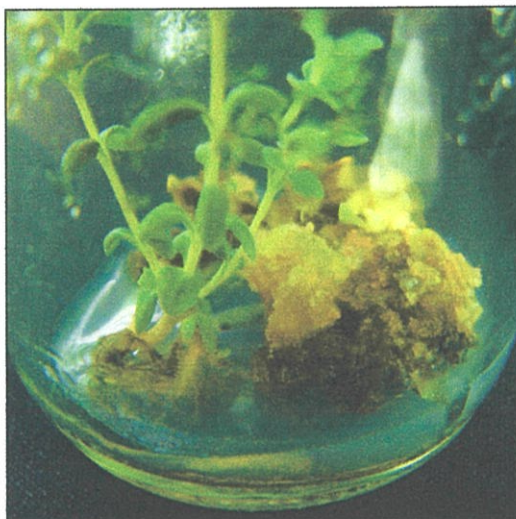


(ข)

รูปที่ 4.1 ต้นพืชลาเวนเดอร์ (ก) อายุ 7 สัปดาห์ และ (ข) อายุ 12 สัปดาห์ จากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

ต้นลาเวนเดอร์ที่ได้มีความสมบูรณ์ แข็งแรงดี โดยขึ้นส่วนลำต้นของลาเวนเดอร์ที่มีอายุ 12 สัปดาห์ จะถูกนำไปทดลองชักนำให้เกิดยอดใหม่ และขึ้นส่วนใบของลาเวนเดอร์ที่มีอายุ 12 สัปดาห์ จะถูกนำไปทดลองชักนำให้เกิดแคลลัส

ในการเพาะเมล็ดลาเวนเดอร์ในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตยังพบว่ามีการเกิดแคลลัสเกิดขึ้นด้วย แคลลัสเจริญจากเมล็ดโดยไม่เกิดเป็นต้นลาเวนเดอร์ แคลลัสที่เกิดขึ้นมีทั้งสีเหลือง สีเขียว และสีน้ำตาล มีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ (friable callus) จำนวนเมล็ดที่เกิดแคลลัสคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเมล็ดที่เพาะทั้งหมด แคลลัสที่ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แคลลัสที่เกิดขึ้นจากการเพาะเมล็ดลาเวนเดอร์บนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อายุ 8 สัปดาห์

4.1.2 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนลำต้น

การนำชิ้นส่วนลำต้นจากต้นลาเวนเดอร์ที่มีอายุ 12 สัปดาห์ จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาทดลองเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ/หรือ NAA ความเข้มข้น 0.0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 16 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนลำต้นที่ไม่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต ไม่เกิดเป็นยอดใหม่ หรือราก หรือแคลลัส (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 จำนวนยอดเฉลี่ย น้ำหนักยอดเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์การรอดของเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ/หรือ NAA 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

| สารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร) | | จำนวนยอดเฉลี่ย* (ยอด) | น้ำหนักยอดเฉลี่ย (กรัม) | เปอร์เซ็นต์ การรอด (%) |
|---|-----|----------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| NAA | BA | | | |
| 0.0 | 0.0 | 1.0 ± 0.00 ^a | 0.0554 ± 0.0047 ^a | 33 |
| | 0.5 | 3.1 ± 3.18 ^{abcd} | 0.1957 ± 0.1944 ^{abcd} | 50 |
| | 1.0 | 4.0 ± 3.09 ^{abcd} | 0.2231 ± 0.1514 ^{abcd} | 56 |
| | 1.5 | 6.6 ± 4.47 ^d | 0.3861 ± 0.2806 ^d | 94 |
| 0.5 | 0.0 | 1.4 ± 0.53 ^{ab} | 0.2058 ± 0.3426 ^{abcd} | 39 |
| | 0.5 | 2.5 ± 2.34 ^{abc} | 0.2659 ± 0.2685 ^{abcd} | 33 |
| | 1.0 | 6.4 ± 5.39 ^d | 0.3707 ± 0.3175 ^d | 61 |
| | 1.5 | 2.5 ± 2.25 ^{abc} | 0.1580 ± 0.1249 ^{abcd} | 89 |
| 1.0 | 0.0 | 1.1 ± 0.29 ^a | 0.0574 ± 0.0172 ^a | 67 |
| | 0.5 | 3.7 ± 3.28 ^{abcd} | 0.2268 ± 0.2242 ^{abcd} | 67 |
| | 1.0 | 5.5 ± 6.36 ^{cd} | 0.3502 ± 0.4178 ^{cd} | 67 |
| | 1.5 | 3.9 ± 4.72 ^{abcd} | 0.2343 ± 0.2726 ^{abcd} | 61 |
| 1.5 | 0.0 | 1.5 ± 0.87 ^{ab} | 0.0929 ± 0.0491 ^{ab} | 94 |
| | 0.5 | 1.8 ± 1.25 ^{abc} | 0.1127 ± 0.0644 ^{ab} | 100 |
| | 1.0 | 4.9 ± 5.20 ^{bcd} | 0.3032 ± 0.3073 ^{bcd} | 100 |
| | 1.5 | 1.9 ± 1.33 ^{abc} | 0.1149 ± 0.0722 ^{abc} | 78 |

* เปรียบเทียบจำนวนยอดเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ข)

* กลุ่มทรีทเมนต์ที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยไม่ต่างกันแบ่งตามกลุ่มด้วยอักษร a, b, c และ d

ชิ้นส่วนลำต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียว (ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะมีจำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.3) โดยชิ้นส่วนลำต้นบนอาหารสูตรที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ

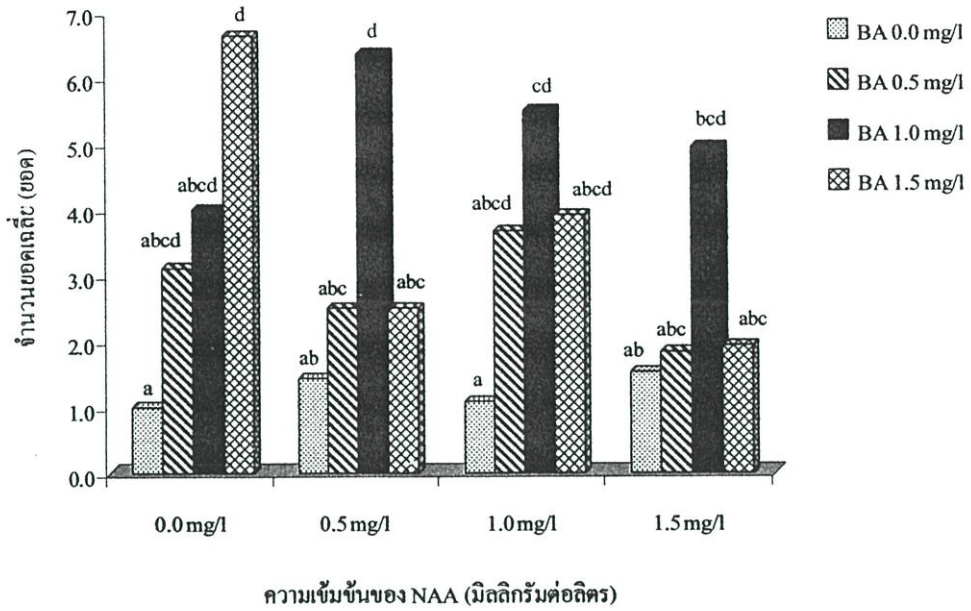
6.6 ยอด และมีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 0.3861 กรัม ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.1 และกราฟในรูปที่ 4.3 และ 4.4 สำหรับชิ้นส่วนลำต้นบนอาหารสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA เพียงอย่างเดียว ผลปรากฏว่า ชิ้นส่วนลำต้นไม่มียอดใหม่เกิดขึ้น

สำหรับชิ้นส่วนลำต้นบนอาหารสูตร MS ที่ได้รับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ BA พบว่ามียอดใหม่เกิดขึ้น โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยต่ำกว่าทริทเมนต์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ซึ่งชิ้นส่วนลำต้นที่ได้รับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น พบว่า จำนวนยอดเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลง (รูปที่ 4.3)

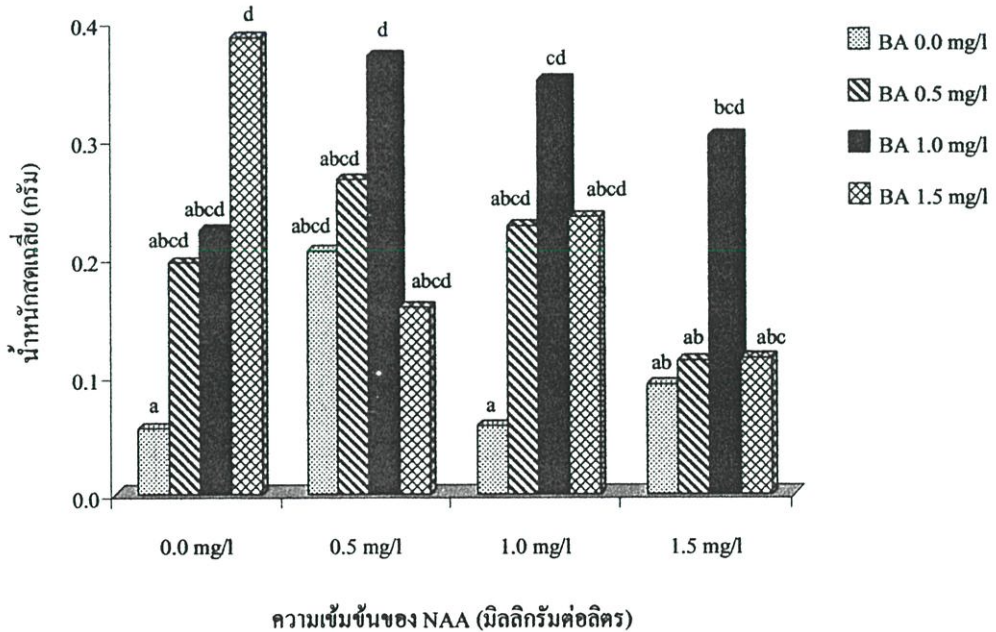
อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การรอดบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ ดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.5 พบว่าชิ้นส่วนลำต้นบนอาหารสูตรที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีเปอร์เซ็นต์การรอดอยู่เพียง 33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชิ้นส่วนลำต้นที่ได้รับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียว หรือ NAA เพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การรอดเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต และเมื่อเปรียบเทียบทริทเมนต์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA กับทริทเมนต์ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเลย พบว่าทริทเมนต์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้น BA 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดของเนื้อเยื่อมากกว่าทริทเมนต์ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเกือบทุกทริทเมนต์ ยกเว้นทริทเมนต์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดใกล้เคียงกับทริทเมนต์ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (รูปที่ 4.5)

การชักนำยอดจากชิ้นส่วนลาเวนเดอร์ Calvo และ Segura (1991) ได้สรุปไว้ว่าชิ้นส่วนลาเวนเดอร์ที่สามารถนำมาชักนำให้เกิดยอดได้ ได้แก่ ต้นที่ได้จากเมล็ด ลำต้นใต้ใบเลี้ยง ใบเลี้ยง ชิ้นส่วนใบ และชิ้นส่วนราก โดยที่ชิ้นส่วนของ *L. latifolia* สามารถชักนำให้เกิดตาและยอดได้บนอาหารสูตร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยมีปริมาณและชนิดที่หลากหลาย สำหรับการชักนำยอดใหม่จากชิ้นส่วนลำต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อในการทดลองนี้ พบว่าสอดคล้องกับรายงานของ Webb (1984) ที่สามารถชักนำต้นลาเวนเดอร์ที่เกิดจากเมล็ดให้เกิดยอดจำนวนมากได้บนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว

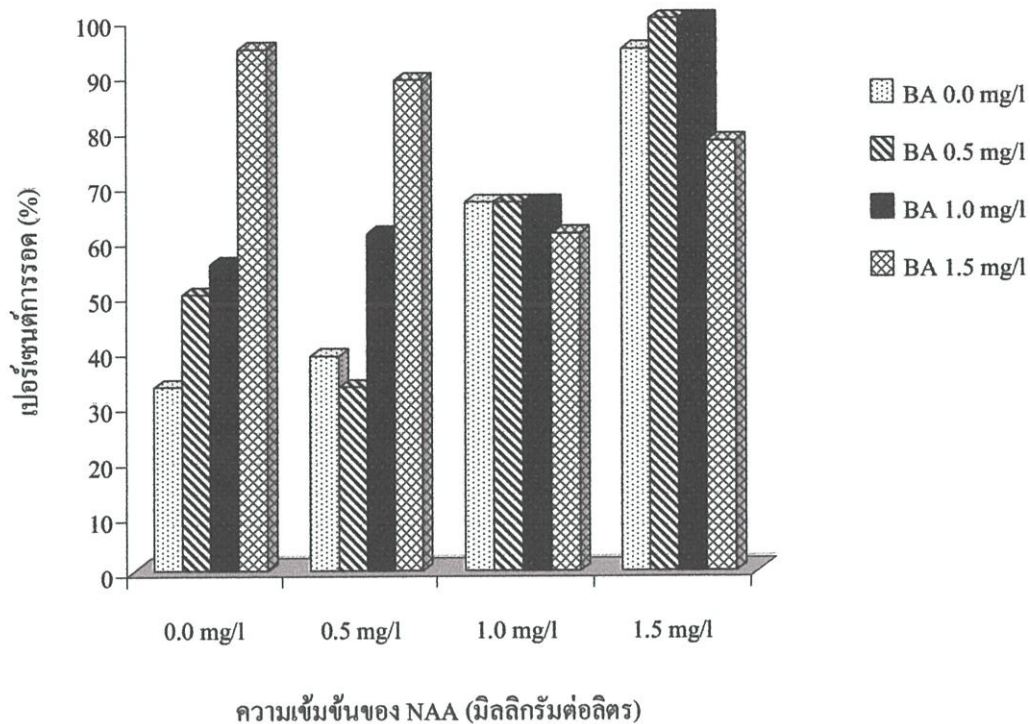
จากผลการทดลองนี้ ทำให้ทราบถึงผลตอบสนองของชิ้นส่วนลำต้น ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ/หรือ NAA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด คือ สูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย 6.6 ยอดต่อชิ้นส่วนลำต้น ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.6



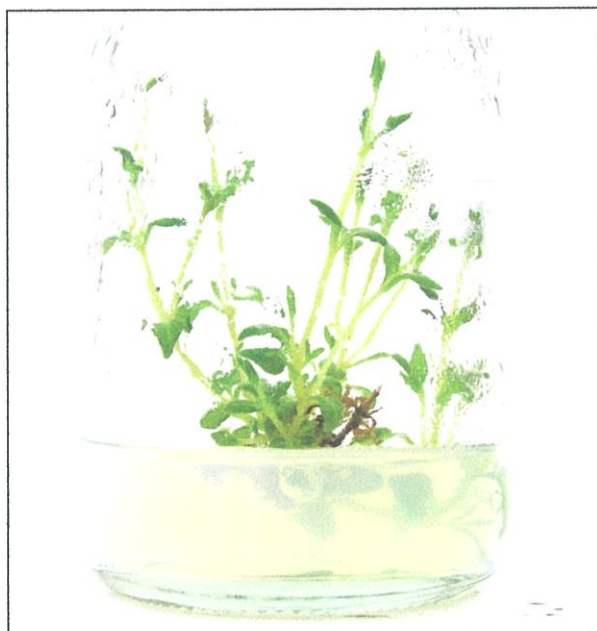
รูปที่ 4.3 จำนวนยอดแผลที่เกิดขึ้นส่วนลำต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ/หรือ NAA จำนวน 16 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.4 น้ำหนักสดแผลของยอดใหม่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ/หรือ NAA จำนวน 16 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การรอดของชิ้นส่วนลำต้นที่นำมาชักนำให้เกิดยอดโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ/หรือ NAA จำนวน 16 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.6 ยอดจำนวนมากที่เกิดจากชิ้นส่วนลำต้นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

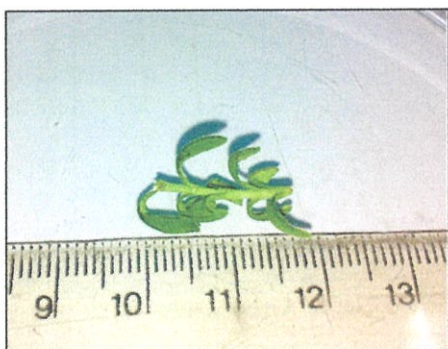
4.1.3 การศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดในอาหารเหลว

จากการศึกษาสูตรอาหารสำหรับชักนำให้เกิดยอด ทำให้ทราบถึงการตอบสนองของ ชิ้นส่วนลำต้นบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ/หรือ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 16 สูตร และสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณยอด คือ อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว จึงนำ สูตรนี้มาใช้เพิ่มปริมาณยอด โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหารเหลวและเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 การเพิ่มปริมาณยอดด้วยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 4 สัปดาห์

หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า การเพิ่มปริมาณยอดด้วยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วน ลำต้นในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อ ลิตร มีค่าดัชนีการเจริญเติบโตเท่ากับ 17.611 มีจำนวนยอดเฉลี่ย 12.5 ยอด (ภาคผนวก ง) และ สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้สูงสุดถึง 15 ยอดต่อเนื้อเยื่อ มีน้ำหนักยอดเฉลี่ย 0.7184 กรัม มีความยาว ประมาณ 3-5 เซนติเมตร ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.8



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.8 (ก) ชิ้นส่วนลำต้นเริ่มต้นสำหรับเพิ่มปริมาณยอดในอาหารเหลว และ (ข) ชิ้นส่วนพืชที่มี ยอดจำนวนมากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการ เจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว เป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.1.4 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ

การนำชิ้นส่วนใบของต้นลาเวนเดอร์ที่มีอายุ 12 สัปดาห์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาทดลองเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 6 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนใบที่ไม่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต ไม่เกิดเป็นแคลลัส หรือราก และไม่เกิดเป็นยอดใหม่ สำหรับชิ้นส่วนใบบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ได้รับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D พบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้น และไม่เกิดเป็นยอดใหม่หรือราก โดยน้ำหนักสดเฉลี่ยของเนื้อเยื่อบนอาหารสูตรต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 4.2

แคลลัสสามารถเกิดขึ้นได้จากชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักสดเฉลี่ยลดลงเมื่อความเข้มข้นของ 2,4-D เพิ่มขึ้น ดังกราฟที่แสดงไว้ในรูปที่ 4.9 โดยแคลลัสที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดเฉลี่ยใกล้เคียงกัน และแคลลัสจากชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตรที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุดที่สุด คือ 0.318 กรัม แคลลัสที่ชักนำได้มีสีเหลืองอ่อน และเป็นแบบที่เกาะกันอย่างหลวม ลักษณะของแคลลัสแสดงไว้ในรูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม

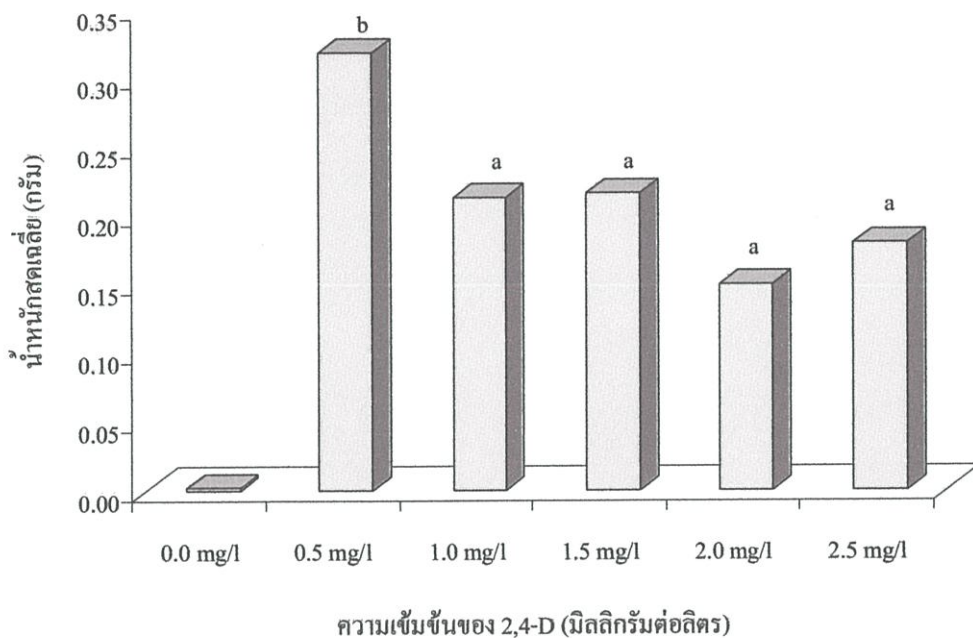
สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

| ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร) | น้ำหนักสดเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน* (กรัม) |
|--|---|
| 0.0 | 0.0032** |
| 0.5 | 0.318 \pm 0.155 ^b |
| 1.0 | 0.213 \pm 0.099 ^a |
| 1.5 | 0.216 \pm 0.108 ^a |
| 2.0 | 0.149 \pm 0.111 ^a |
| 2.5 | 0.179 \pm 0.089 ^a |

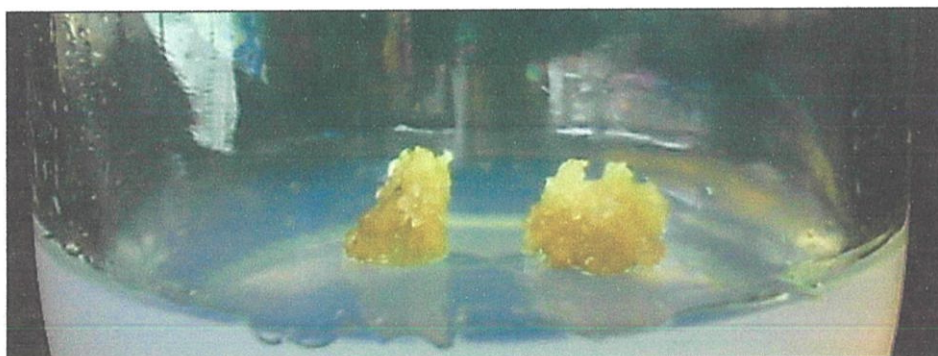
* เปรียบเทียบน้ำหนักสดเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ข)

* กลุ่มทรีทเมนต์ที่มีน้ำหนักสดเฉลี่ยไม่ต่างกันแบ่งตามกลุ่มด้วยตัวอักษร a และ b

** ไม่เกิดแคลลัส



รูปที่ 4.9 น้ำหนักคลอเคล็ดของแคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และสูตร MS ที่เติม 2,4-D จำนวน 5 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.10 แคลลัสจากชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การเพาะเลี้ยงแคลลัสของพืชตระกูลลาเวนดูลา สามารถทำได้โดยเริ่มต้นจากต้นอ่อนและต้นพืชที่เจริญเต็มที่ เช่น Calvo และ Segura (1991) ได้ทำการเพาะเลี้ยงแคลลัสของ *L. stoechas* และพันธุ์ *L. latifolia* โดยชักนำได้จากชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง ใบเลี้ยง และราก บนอาหารสูตร MS ที่เติม ออกซิน (NAA, IAA หรือ 2, 4-D) ไซโตไคนิน (BA หรือ kin) หรือสารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น และ Jordan (1988) พบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นจากลำต้นใต้ใบเลี้ยงและใบเลี้ยงของลาเวนเดอร์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร

MS ที่เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว พบว่า สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้จากชิ้นส่วนใบของต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D (ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) แคลลัสที่ได้เป็นแบบที่เกาะกันอย่างหลวม และมีสีเหลือง สอดคล้องกับรายงานของ Calvo และ Segura (1988) ซึ่งสรุปไว้ว่า แคลลัสที่ชักนำด้วยออกซินเป็นแบบที่เกาะกันอย่างหลวม และมีสีเหลือง ส่วนแคลลัสที่ชักนำด้วยอาหารที่มีไซโตไคนินจะเป็นแบบเกาะกันแน่น (compact) และมีสีเขียวอ่อน นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ โดย Quazi (1980) พบว่า แคลลัสสามารถเกิดขึ้นได้บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีวิตามิน B5, น้ำมะพร้าว, สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และรายงานของ Calvo และ Segura (1989) พบว่าชิ้นส่วนใบสามารถเกิดแคลลัสขึ้นได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 หรือ 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA หรือ NAA ความเข้มข้น 0.1 หรือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าการชักนำแคลลัสของลาเวนเดอร์บนอาหารสูตร MS สามารถใช้ชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นและสารควบคุมการเจริญเติบโตได้หลากหลาย

4.1.5 การศึกษาการเพิ่มปริมาณแคลลัส

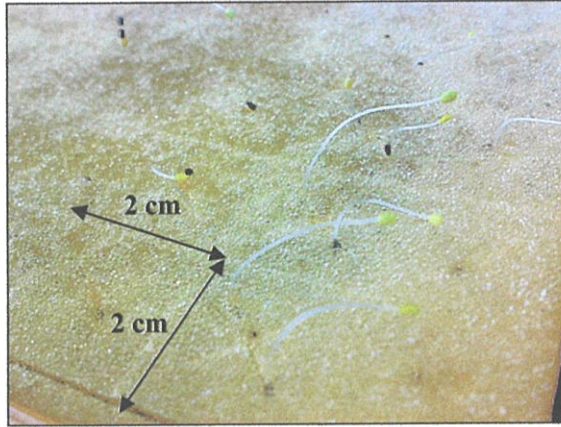
จากการศึกษาสูตรอาหารสำหรับชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ ทำให้ทราบถึงการตอบสนองของชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ ทั้ง 6 สูตร และสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณแคลลัส คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว จึงนำสูตรนี้มาใช้เพิ่มปริมาณแคลลัสโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งจำนวนมาก และแคลลัสจะถูกเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ เพื่อให้ได้ปริมาณมากพอสำหรับนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหย หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์ พบว่า การเพิ่มปริมาณแคลลัสมีค่าดัชนีการเจริญเติบโตเท่ากับ 2.828 และมีน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มจาก 0.565 กรัมต่อชิ้น เป็น 2.163 กรัมต่อชิ้น ใน 4 สัปดาห์ (ภาคผนวก ง)

4.2 การศึกษาการเพาะปลูกลาเวนเดอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์

4.2.1 การศึกษาการเพาะเมล็ดลาเวนเดอร์ด้วยฟองน้ำ

การนำเมล็ดลาเวนเดอร์มาเพาะในฟองน้ำสำหรับเพาะเมล็ด เพาะเลี้ยงในที่มืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ และย้ายมาเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดลาเวนเดอร์สามารถงอกเป็นต้นลาเวนเดอร์ได้ โดยต้นลาเวนเดอร์มีลำต้นยาวประมาณ 1-3

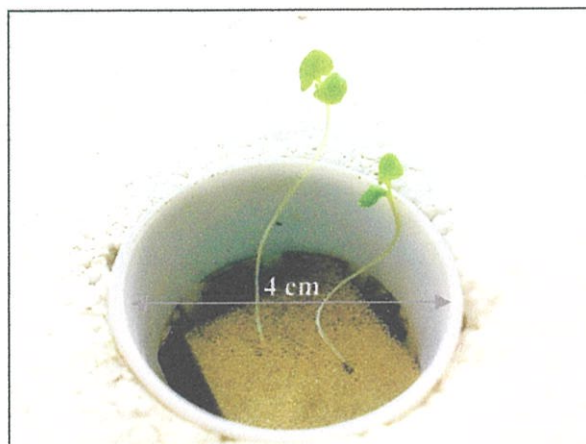
เซนติเมตร ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.11 เพอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดลาเวนเดอร์ค่อนข้างต่ำ คือ 24 เปอร์เซ็นต์ และต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะได้จะถูกย้ายไปเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT



รูปที่ 4.11 ต้นลาเวนเดอร์อายุ 1 สัปดาห์ ที่เพาะด้วยฟองน้ำ ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT

4.2.2 การศึกษาการเพาะปลูกต้นลาเวนเดอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT

ต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดด้วยฟองน้ำอายุ 2 สัปดาห์ จะถูกย้ายมาเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT พบว่า เมื่อลาเวนเดอร์อายุ 3 สัปดาห์ สามารถเจริญเติบโตได้ ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.12 โดยมีลำต้นยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปจนกลายเป็นต้นที่มีอายุ 14 สัปดาห์ และ 20 สัปดาห์ ต้นพืชที่ได้จะมีลำต้นยาวประมาณ 10-20 เซนติเมตร มีใบและรากสมบูรณ์ แข็งแรงดี ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.12 ต้นลาเวนเดอร์อายุ 3 สัปดาห์ ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.13 (ก) ต้นลาเวนเดอร์อายุ 14 สัปดาห์ และ (ข) ต้นลาเวนเดอร์อายุ 20 สัปดาห์
ที่เพาะเลี้ยงบนระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ DFT

4.3 การศึกษาการสกัดและวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์

จากการนำแคลลัส ยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนลำต้น และชิ้นส่วนต่างๆ ของลาเวนเดอร์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์ไปทำการสกัดน้ำมันหอมระเหย (ตัวอย่างที่นำมา สกัดดังแสดงในรูปที่ 4.14 - 4.15) แล้วนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบสารหอมระเหย เทียบกับ น้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐาน ด้วยระบบ GC-MS ได้ผลการวิเคราะห์เป็น โครมาโตแกรม ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.16 – 4.21 โดยสารประกอบบางชนิดที่ตรวจพบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหย ของลาเวนเดอร์แสดงไว้ในตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.14 ยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนลำต้น และแคลลัสจากการเพาะเลี้ยง
ในสภาพปลอดเชื้อ สำหรับนำไปทำการสกัดน้ำมันหอมระเหย



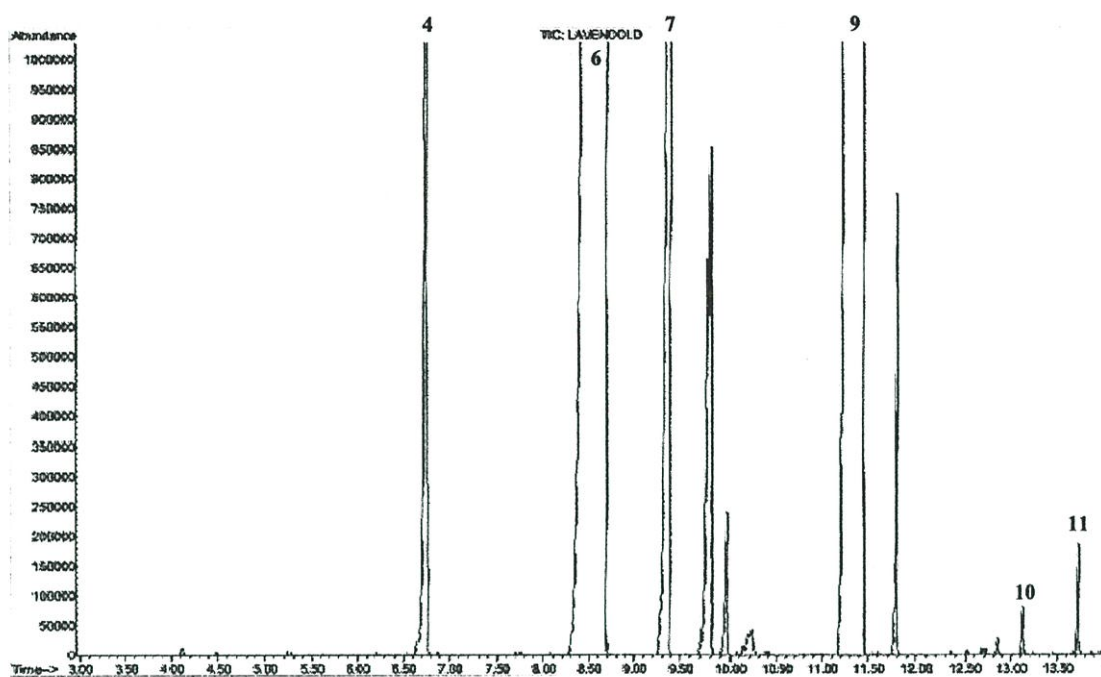
รูปที่ 4.15 ชิ้นส่วนใบ ลำต้น และราก ของลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ สำหรับนำไปทำการสกัดน้ำมันหอมระเหย

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ที่พบในสารสกัดจากชิ้นส่วนลาเวนเดอร์ต่างๆ เทียบกับน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐาน

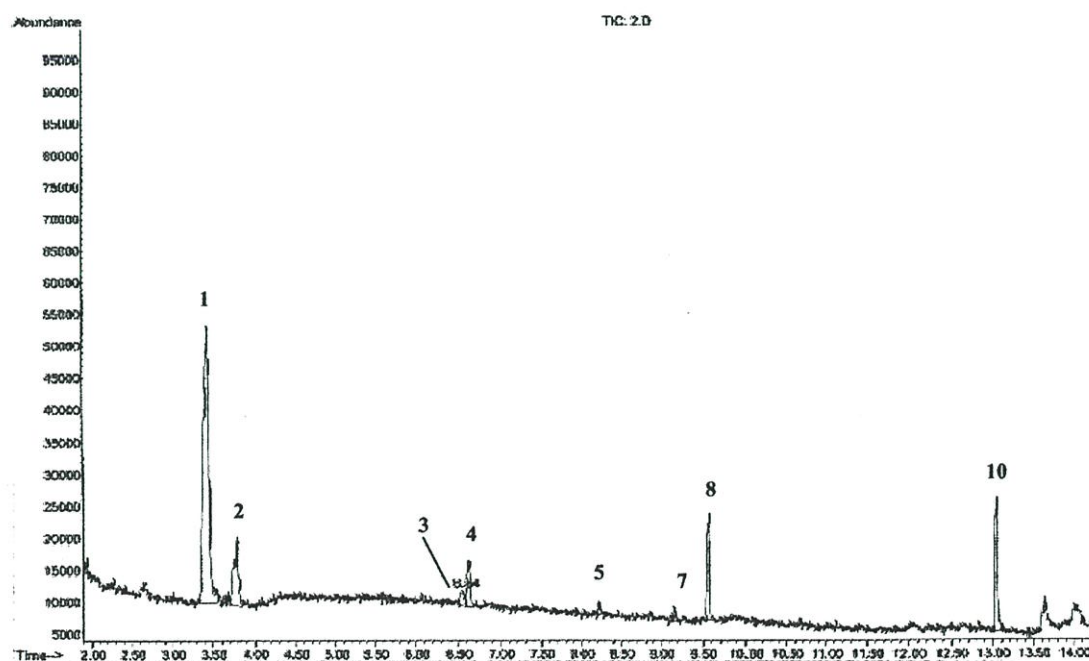
| หมายเลข | สารประกอบ | RT* (นาที) | ปริมาณสารหอมระเหย (%) | | | | | |
|---------|-----------------------------------|---------------|-----------------------|-----------------|-------|-------|-------|--------|
| | | | S** | ยอด จำนวนมาก | ใบ | ลำต้น | ราก | แคลด์ส |
| 1 | เอมิลแอลกอฮอล์ (amyl alcohol) | 3.448 | - | 59.38 | 17.41 | 82.25 | 83.16 | 88.11 |
| 2 | กรดบูทริก (butyric acid) | 3.80 | - | 11.46 | 3.53 | 14.37 | 16.84 | 11.90 |
| 3 | ไลโมนีน (limonene) | 6.545-6.566 | - | 1.83 | 8.88 | 0.51 | - | - |
| 4 | ยูคาลิปทอล (euclyptol) | 6.61-6.733 | 1.19 | 5.54 | 39.40 | 1.76 | - | - |
| 5 | ไลนาลออลอะซิเตท (linalol acetate) | 8.228 | - | 1.10 | 1.97 | 0.36 | - | - |
| 6 | ไลนาโลอล (linalool) | 8.482 | 33.59 | - | - | - | - | - |
| 7 | แคมพอร์ (camphor) | 9.14-9.323 | 1.94 | 1.16 | 6.87 | 0.19 | - | - |
| 8 | บอร์นีออล (borneol) | 9.56 | - | 8.59 | 17.69 | 0.52 | - | - |
| 9 | ไลนาลิลอะซิเตท (linalyl acetate) | 11.366 | 63.18 | - | - | - | - | - |
| 10 | เจอร์รานีออล (geraniol) | 13.036 | 0.03 | 10.94 | 1.82 | - | - | - |
| 11 | คาริโอฟิลลิน (caryophyllene) | 13.618-13.726 | 0.06 | - | 2.44 | 0.04 | - | - |

* RT คือ Retention Time

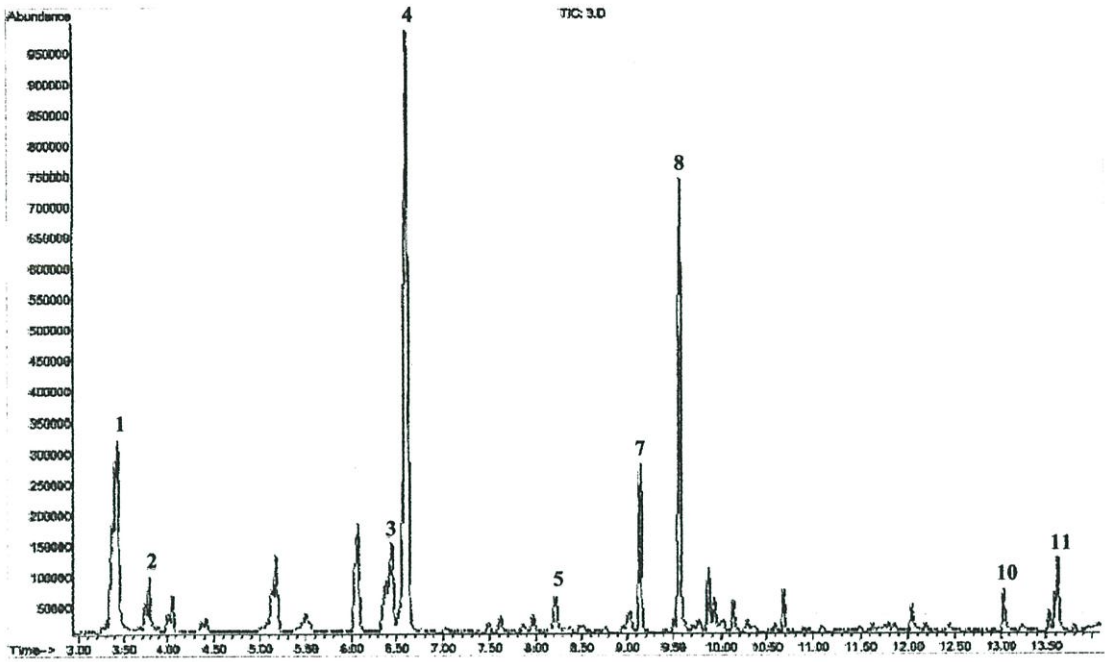
** S คือ น้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐานจากทางการค้า (บริษัท Perfumers World Co., Ltd.)



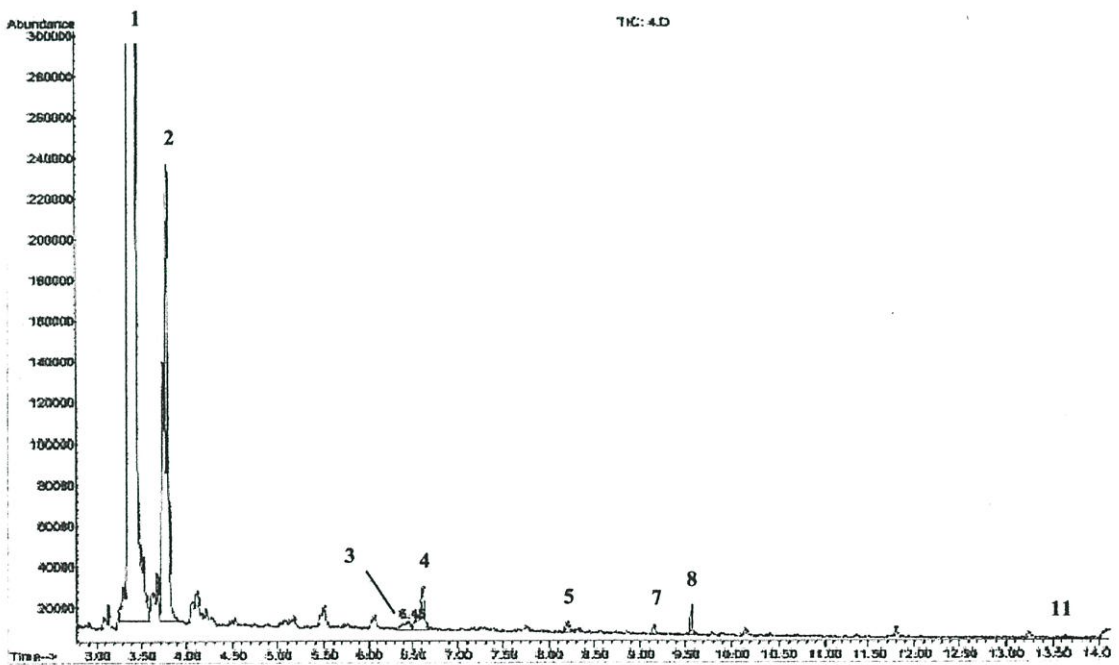
รูปที่ 4.16 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐานที่ได้จากทางการค้า (ตัวเลข 4, 6, 7, 9, 10 และ 11 ให้ดูเทียบกับตารางที่ 4.3)



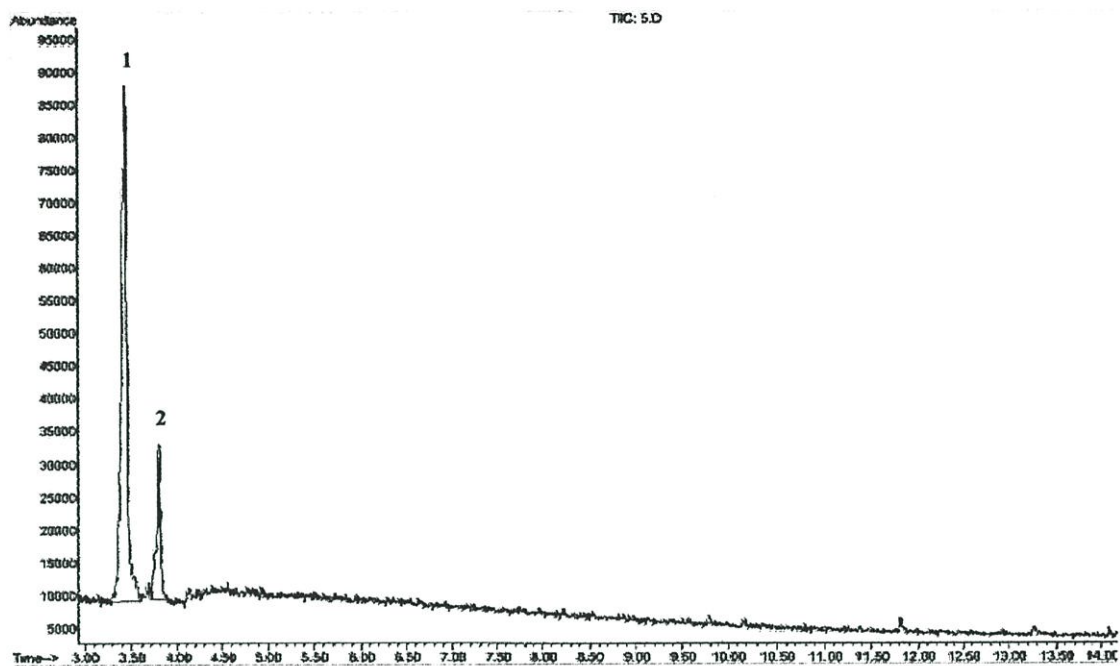
รูปที่ 4.17 โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ ที่สกัดจากยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนลำต้น (ตัวเลข 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 และ 10 ให้ดูเทียบกับตารางที่ 4.3)



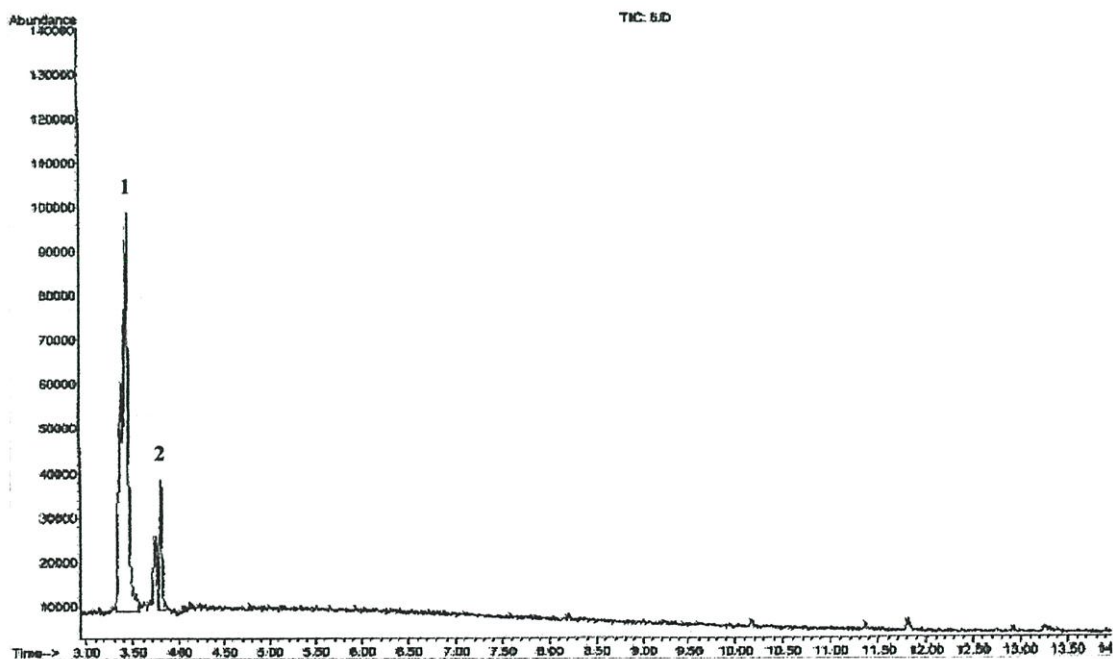
รูปที่ 4.18 โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ ที่สกัดจากชิ้นส่วนใบ
(ตัวเลข 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 10 และ 11 ให้ดูเทียบกับตารางที่ 4.3)



รูปที่ 4.19 โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ ที่สกัดจากชิ้นส่วนลำต้น
(ตัวเลข 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 และ 11 ให้ดูเทียบกับตารางที่ 4.3)



รูปที่ 4.20 โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ ที่สกัดจากชิ้นส่วนราก
(ตัวเลข 1 และ 2 ให้ดูเทียบกับตารางที่ 4.3)



รูปที่ 4.21 โครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ ที่สกัดจากแคลลัส
(ตัวเลข 1 และ 2 ให้ดูเทียบกับตารางที่ 4.3)

สารสกัดน้ำมันหอมระเหยของชิ้นส่วนใบจากต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ พบว่ามีองค์ประกอบมากที่สุด คือ 9 ชนิด ได้แก่ เอมีลแอลกอฮอล์ กรดบูทริก ไลโมนีน ยูคาลิปทอล ไลนาลอลอะซีเตท แคมฟอร์ บอร์นีออล เจอรานีออล และคาร์โอฟิลลีน

สารสกัดน้ำมันหอมระเหยของชิ้นส่วนลำต้นของลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ พบว่ามีองค์ประกอบอยู่ 8 ชนิด ได้แก่ เอมีลแอลกอฮอล์ กรดบูทริก ไลโมนีน ยูคาลิปทอล ไลนาลอลอะซีเตท แคมฟอร์ บอร์นีออล และคาร์โอฟิลลีน

สารสกัดน้ำมันหอมระเหยของยอดที่ได้จากการชักนำจากชิ้นส่วนลำต้นในสภาพปลอดเชื้อ พบว่ามีองค์ประกอบอยู่ 8 ชนิด ได้แก่ เอมีลแอลกอฮอล์ กรดบูทริก ไลโมนีน ยูคาลิปทอล ไลนาลอลอะซีเตท แคมฟอร์ บอร์นีออล และเจอรานีออล

องค์ประกอบที่ตรวจพบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยของรากและแคลลัส มีเพียง 2 ชนิด คือ เอมีลแอลกอฮอล์ และกรดบูทริก ซึ่งไม่ใช่องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์

สำหรับน้ำมันหอมระเหยมาตรฐานที่ได้จากทางการค้าพบว่า มีองค์ประกอบอยู่ 6 ชนิด ได้แก่ ยูคาลิปทอล ไลนาโลอล แคมฟอร์ ไลนาลิลอะซีเตท เจอรานีออล และคาร์โอฟิลลีน

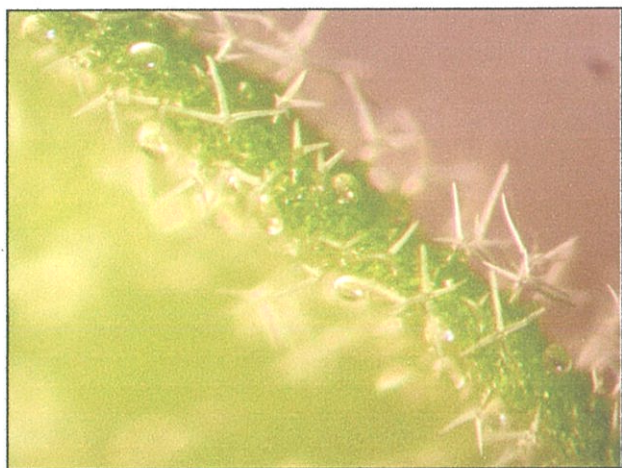
เมื่อพิจารณาโครมาโตแกรมของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยของแคลลัส ยอดที่ได้จากการชักนำจากชิ้นส่วนลำต้น และชิ้นส่วนใบ ชิ้นส่วนลำต้น ชิ้นส่วนราก ของลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์พบว่า ชิ้นส่วนใบมีสารประกอบอยู่มากที่สุด โดยมียูคาลิปทอล (39.40 เปอร์เซ็นต์) เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งแตกต่างจากน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐานที่ได้จากทางการค้า พบว่ามีสารประกอบไลนาลิลอะซีเตท (63.18 เปอร์เซ็นต์) และสารประกอบไลนาโลอล (33.59 เปอร์เซ็นต์) เป็นองค์ประกอบหลัก เพราะน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐานสกัดมาจากส่วนดอกของลาเวนเดอร์จึงทำให้มีองค์ประกอบแตกต่างจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดมาจากยอดที่ได้จากการชักนำจากชิ้นส่วนลำต้น ชิ้นส่วนใบ และชิ้นส่วนลำต้น

องค์ประกอบทั้งหมดของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์จากแหล่งต่างๆ สอดคล้องกับรายงานของ Kubeczka (2002) ซึ่งศึกษาน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์ที่สกัดจากดอกของ *L. officinalis* Chaix และตรวจพบสารหอมระเหยรวมทั้งหมด 29 ชนิด โดยพบว่ามีองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหย คือ ไลนาโลอล (42.44 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ ไลนาลิลอะซีเตท (22.04 เปอร์เซ็นต์) และยังสอดคล้องกับรายงานของ Shellie (2002) ซึ่งศึกษาน้ำมันหอมระเหยของลาเวนเดอร์ที่สกัดจากดอกลาเวนเดอร์ตามธรรมชาติ 9 สายพันธุ์ และตรวจพบองค์ประกอบรวมทั้งหมด 85 ชนิด โดยองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหย คือ ไลนาโลอล (23.03-57.48 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ ไลนาลิลอะซีเตท (4.01-35.39 เปอร์เซ็นต์) ยูคาลิปทอล (0.1-20.28 เปอร์เซ็นต์) และบอร์นีออล (0.3-14.04 เปอร์เซ็นต์)

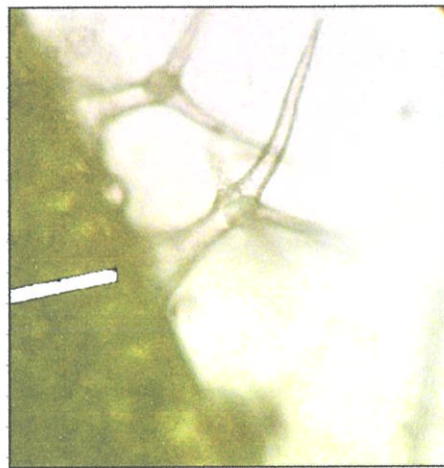
สารสกัดจากแคลลัสที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนใบในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าไม่มีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับคำสรุปของ Collin และ Watts (1983) ที่กล่าวว่า น้ำมันหอมระเหย

เป็นสารที่เกิดจากการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ และจำเป็นต้องมีการการสะสม (accumulation) ซึ่งจะต้องอาศัยการเจริญเติบโตทางรูปร่างและการพัฒนาเซลล์ ซึ่งแคลลัสเป็นเนื้อเยื่อที่ยังไม่มีการพัฒนาไปเป็นอวัยวะดังนั้นจึงไม่สามารถผลิตน้ำมันหอมระเหยได้ นอกจากนี้ยังมีหลายรายงานที่สรุปว่าไม่พบโมโนเทอร์พีนในแคลลัสหรือในเซลล์เพาะเลี้ยงแบบแขวนลอยของ *L. angustifolia* (Webb. 1984, Banthorpe. 1986, Lappin. 1987) แต่สำหรับยอดใหม่ที่เกิดจากแคลลัสพบว่ามี การสะสมโมโนเทอร์พีน (Webb. 1984)

สำหรับสารสกัดจากชิ้นส่วนรากของลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์ พบว่าไม่มีน้ำมันหอมระเหย เช่นเดียวกับแคลลัส เนื่องจากชิ้นส่วนรากไม่มีอวัยวะสำหรับผลิตน้ำมันหอมระเหย โดยอวัยวะที่ทำหน้าที่สังเคราะห์และสะสมน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ คือ ขนต่อม (glandular trichomes) (วันเพ็ญ. 2534) อวัยวะนี้พบได้บนใบ (รูปที่ 4.22) และลำต้นของลาเวนเดอร์ แต่ไม่พบในราก (รูปที่ 4.23)

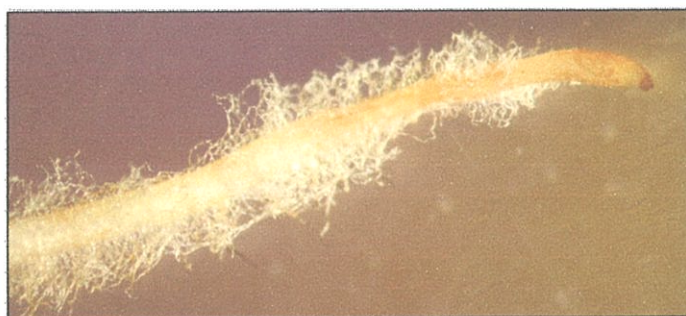


(ก)



(ข)

รูปที่ 4.22 (ก) ภาพถ่ายได้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอของขนต่อมบนชิ้นส่วนใบของลาเวนเดอร์
(ข) ภาพขยายของขนต่อมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบพื้นหลังสว่าง (bright-field microscope) กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 4.23 ภาพถ่ายได้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอของรากของลาเวนเดอร์

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลาเวนเดอร์ในสภาพปลอดเชื้อ

การนำเมล็ดลาเวนเดอร์มาฟอกฆ่าเชื้อ โดยนำไปแช่ในสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (มีสาร โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.6 เปอร์เซ็นต์) เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง เพาะในอาหารแข็งสูตร MS เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่าง ความเข้มแสงประมาณ 1000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทำให้เมล็ดลาเวนเดอร์งอกเป็นต้นได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 68 เปอร์เซ็นต์ ต้นลาเวนเดอร์ที่ได้สามารถนำมาใช้เป็นวัสดุสำหรับการทดลองชักนำยอดและแคลลัสได้ เมื่อนำชิ้นส่วนลำต้นมาทดลองชักนำให้เกิดยอดใหม่ พบว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ/หรือ NAA สามารถทำให้เกิดยอดใหม่ได้โดยไม่เกิดรากหรือแคลลัส โดยมียอดใหม่เฉลี่ยสูงที่สุดคือ 6.6 ยอด บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว สำหรับการเติม NAA เพียงอย่างเดียว ไม่ทำให้ชิ้นส่วนลำต้นเกิดยอดใหม่ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อเยื่อที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ/หรือ NAA มากขึ้นจะมีเปอร์เซ็นต์การรอดของเนื้อเยื่อมากขึ้น และเมื่อนำชิ้นส่วนลำต้นไปทดลองเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว บนเครื่องเขย่า พบว่า ชิ้นส่วนลำต้นสามารถเกิดเป็นยอดใหม่จำนวนมากได้ โดยมีดัชนีการเจริญเติบโตเท่ากับ 17.33 มีจำนวนยอดสูงสุด 15 ยอดต่อเนื้อเยื่อ และมีความยาวของเนื้อเยื่อประมาณ 3-5 เซนติเมตร สำหรับการนำชิ้นส่วนใบมาชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบเกิดแคลลัสได้โดยไม่เกิดเป็นยอดใหม่หรือราก แคลลัสที่ได้มีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.18 กรัม บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีลักษณะเป็นแบบเกาะกันอย่างหลวมๆ และมีสีเหลืองอ่อน เมื่อนำแคลลัสมาเปลี่ยนอาหารโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแคลลัสมีดัชนีการเจริญเติบโตเท่ากับ 2.828 และแคลลัสที่ได้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 2.163 กรัม

5.2 การศึกษาการเพาะเลี้ยงลาเวนเดอร์ด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ DFT

การนำเมล็ดลาเวนเดอร์มาเพาะด้วยฟองน้ำ และเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการพรางแสงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดสามารถงอกเป็นต้นได้เพียง 24 เปอร์เซ็นต์จากเมล็ดที่เพาะทั้งหมด และต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงบนระบบไฮโดรโปนิคส์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเจริญเติบโตเป็นต้นลาเวนเดอร์ที่มีลำต้นยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร

5.3 การศึกษาการสกัดและวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์

สารสกัดน้ำมันหอมระเหยของชิ้นส่วนใบจากต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ พบว่ามีองค์ประกอบมากที่สุด คือ 9 ชนิด ได้แก่ เอมีลแอลกอฮอล์ กรดบูทริก ไลโมนีน ยูคาลิปทอล ไลนาลอลอะซีเตท แคมฟอร์ บอร์นีอล เจอรานีอล และคาร์โอฟิลลิน

สารสกัดน้ำมันหอมระเหยของชิ้นส่วนลำต้นของลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ พบว่ามีองค์ประกอบอยู่ 8 ชนิด ได้แก่ เอมีลแอลกอฮอล์ กรดบูทริก ไลโมนีน ยูคาลิปทอล ไลนาลอลอะซีเตท แคมฟอร์ บอร์นีอล และคาร์โอฟิลลิน

สารสกัดน้ำมันหอมระเหยของยอดที่ได้จากการชักนำจากชิ้นส่วนลำต้นในสภาพปลอดเชื้อ พบว่ามีองค์ประกอบอยู่ 8 ชนิด ได้แก่ เอมีลแอลกอฮอล์ กรดบูทริก ไลโมนีน ยูคาลิปทอล ไลนาลอลอะซีเตท แคมฟอร์ บอร์นีอล และเจอรานีอล

ส่วนองค์ประกอบที่ตรวจพบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยของรากและแคลลัส มีเพียง 2 ชนิด คือ เอมีลแอลกอฮอล์ และกรดบูทริก ซึ่งไม่ใช่องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์

สำหรับน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐานที่ได้จากทางการค้าพบว่ามีส่วนประกอบอยู่ 6 ชนิด ได้แก่ ยูคาลิปทอล ไลนาโลลอล แคมฟอร์ ไลนาลิลอะซีเตท เจอรานีอล และคาร์โอฟิลลิน โดยมีสารประกอบที่ไม่พบในสารสกัดจากใบ ลำต้น และชิ้นส่วนยอด คือ ไลนาโลลอล และไลนาลิลอะซีเตท

เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดน้ำมันหอมระเหยของ ยอดที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนลำต้นในสภาพปลอดเชื้อ ชิ้นส่วนใบ ชิ้นส่วนลำต้น ชิ้นส่วนราก และแคลลัส พบว่าชิ้นส่วนใบมีปริมาณสารที่เป็นสารหอมระเหยมากที่สุด โดยมียูคาลิปทอล (39.40 เปอร์เซ็นต์) เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์มาตรฐานที่ได้จากทางการค้า มีสารประกอบไลนาลิลอะซีเตท (63.18 เปอร์เซ็นต์) และสารประกอบไลนาโลลอล (33.59 เปอร์เซ็นต์) เป็นองค์ประกอบหลัก แสดงว่าลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และจากต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์ สามารถผลิตสารหอมระเหยได้บางชนิด และไม่พบสารหอมระเหยไลนาลิลอะซีเตท และไลนาโลลอล ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยที่ผลิตได้จากดอกลาเวนเดอร์

ที่ปลูกตามธรรมชาติ สำหรับสารสกัดจากชิ้นส่วนรากของลาเวนเดอร์ที่เพาะด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์พบว่าไม่มีน้ำมันหอมระเหยเช่นเดียวกับแคลลัส เนื่องจากชิ้นส่วนรากไม่มีขนต่อมและแคลลัสเป็นเนื้อเยื่อที่ยังไม่มีการพัฒนา จึงทำให้ทั้งรากและแคลลัสไม่สามารถผลิตน้ำมันหอมระเหยได้

บรรณานุกรม

- ชนินฐา พงษ์ปรีชา. 2550. “การปลูกพืชผักระบบไฮโดรโปนิคส์.” [Online].
Available : <http://www.doae.go.th/library/html/detail/hydroponic/index.htm>.
- คำนำญู กาญจนภูมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
กรุงเทพฯ.
- เชวรณ์ ชีโนรักษ์. 2541. ชีววิทยา 3. ศิลปาบรรณาการ. กรุงเทพฯ.
- นพพร เรียบเลิศหิรัญ. 2550. การปลูกพืชไร้ดิน. สุวีริยาสาส์น. กรุงเทพฯ.
- บุญยืน กิจวิจารณ์. 2547. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คลังนานาวิทยา.
- ปรารธนา จันทร์ทา และคณะ. 2550. “ฮอร์โมนพืช.” [Online]. Available :
<http://mylesson.swu.ac.th/bi456/Plant%20hormone/Index/Index%20first.html>.
- พนา โลหะทรัพย์ทวี. 2548. ปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืช. กรุงเทพฯ :
โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ไพบุลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. หลักการและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพืชสวน
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- วันเพ็ญ ฤทธิจันทร์. 2534. พฤษศาสตร์. โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ.
- สุรพจน์ วงศ์ใหญ่. 2550. “Aromatherapy ...กลิ่นบำบัดเพื่อสุขภาพ.” [Online].
Available : <http://www.dtam.moph.go.th>
- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สถาบันราชภัฏอุดรธานี. อุดรธานี.
- ศูนย์เกษตรกรรมบางไทร. 2546. “ไฮโดรโปนิคส์.” [Online].
Available : <http://www.bangsaiagro.com>.
- ศูนย์สารสนเทศ, มูลนิธิโครงการหลวง. 2550. “ข้อมูลทั่วไปของ ลาเวนเดอร์.” [Online].
Available : [http://www.doikham.com/product/catalog/category/
prod_detail.asp?sendPDID=1500015#](http://www.doikham.com/product/catalog/category/prod_detail.asp?sendPDID=1500015#).
- รังสฤษฎ์ กาวีตะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่นา
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2526. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- อารยา หงษ์เพชร. 2545. “การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture).” [Online].
Available : www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/ct_8_2545_plant_tissue.pdf.

อารีย์ วรรณวัฒน์. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์. โรงพิมพ์อติสรศักดิ์.
กรุงเทพฯ.

อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2547. “การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน รุ่นที่ 5”. เอกสารประกอบการบรรยาย.
ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

Andrade, L. B. et. al. 1998. “The effect of growth regulators on shoot propagation and rooting of
common lavender (*Lavandula vera* DC).” **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.**
56(2) : 79-83.

Answers Corporation. 2007. “*Lavandula angustifolia*.” [Online].

Available : <http://www.answers.com/topic/lavandula-angustifolia-1>.

Bajaj, Y. P. S. et. al. 1988. “Biotechnology of the micropropagation of medicinal and aromatic
plants.” **Biotechnology in agriculture and forestry.** 4 : 60-103.

Banthorpe, D. V. et. al. 1985. “Pigment formation by callus of *Lavandula angustifolia*.”
Phytochemistry. 24 : 2677-2680.

Banthorpe, D. V. et. al. 1986. “Ability of plant callus cultures to synthesize and accumulate
lower terpenoids.” **Phytochemistry.** 25 : 629-636.

Banthorpe, D. V. et. al. 1995. “Stimulation of accumulation of terpenoids by cell suspensions of
Lavandula angustifolia following pre-treatment of parent callus.” **Phytochemistry.**
40(1) : 83-87.

Calvo, M. C. and Segura, J. 1988. “In vitro morphogenesis from explants of *Lavandula latifolia*
and *Lavandula stoechas* seedlings.” **Scientia Horticulturae.** 36 : 131-137.

Calvo, M. C. and Segura, J. 1989a. “In vitro propagation of lavender.” **Scientia Horticulturae.**
24 : 375-376.

Calvo, M. C. and Segura, J. 1989b. “Plant regeneration from cultured leaves of *Lavandula*
latifolia Medicus : influence of growth regulators and illumination conditions.”
Plant Cell Tissue Org Cult. 19 : 33-42.

Calvo, M. C. et. al. 1988. “Plant regeneration from isolated cell of *Lavandula latifolia* Medicus.”
In Vitro. 24 : 943-946.

Collin, H. A. and Watts, M. 1983. “Flavor production in culture.” **Handbook of plant cell**
culture vol1. Macmillan. New York.

- Dias, M. C. et. al. 2002. "Rapid clonal multiplication of *Lavandula viridis* L'Her though *in vitro* axillary shoot proliferation." **Plant Cell Tissue Org Cult.** 68 : 99-102.
- Dennis, K. 2007. "Science Stock Photography." [Online]. Available : <http://www.denniskunkel.com>
- De-Pascual-T, J. et. al. 1983. "Constituents of the essential oil of *Lavandula latifolia*." **Phytochemistry.** 22 : 1033-1034.
- Department of Agriculture, Sri Lanka. 2007. "HYDROPONICS/ SOIL-LESS CULTURE." [Online]. Available : http://www.agridept.gov.lk/Techinformations/Hponics/H_text.htm.
- Echeverrigaray, S. et. al. 2005. "Micropropagation of *Lavandula dentate* from axillary buds of field-grown adult plants." **Biologia Plantarum.** 49(3) : 439-442.
- Esoteric Oils CC and Sallamander Concepts (Pty) Ltd. 2007. "Lavender essential oil information." [Online]. Available : <http://www.essentialoils.co.za/essential-oils/lavender.htm>.
- Flora of China. 2007. "**Lavandula angustifolia.**" [Online]. Available : http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=200019757.
- Gabriela, T.- T. et. al. 2003. "Influence of the culture medium constituents and inoculum size on the accumulation of blue pigment and cell growth of *Lavandula spica*." **Plant Cell Tissue Org Cult.** 72 : 17-12.
- Gomez, M. P. et. al. 1987a. "Callus formation from hypocotyls of *Lavandula stoechas* : Interaction between nutritional and hormonal factors." **Gartenbauwissenschaft.** 52 : 6-9.
- Gomez, M. P. et. al. 1987b. "Isolation and culture of *Lavandula stoechas* cells." **Plant Physiol Life Sci Adv.** 6 : 159-164.
- Gulacti, T. et. al. 2007. "Isolation of fatty acids and aromatics from cell suspension cultures of *Lavandula angustifolia*." **Natural Product Research.** 20(2) : 100-105.
- Ibrahim, E.-G. et. al. 1999. "Hypolaetin 8-O-glucuronide and related flavonoids from *Lavandula coronopifolia* and *L. pubescens*." **Biochemical Systematics and Ecology.** 27 : 843-846.
- Jason, D. 2007. "**LAVENDER.**" [Online]. Available : <http://www.launc.tased.edu.au/online/sciences/agsci/essoil/lavende.htm>.
- John, C. 2001. "**The Lavandulols.**" [Online]. Available : <http://www.leffingwell.com/chirality/lavandulol.htm>.

- Jordan, A. et. al. 1988. "Morphogenesis in callus and insolated cell culture of *Lavandula latifolia*." **Congr FESPP, Split.** 6 : 14-14.
- Kim, N.-S. and Lee, D.-S 2002. "Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrance from *Lavandula* species by gas choromatography-mass spectrometry." **Journal of Chromatography.** 982 : 31-47.
- Kovatcheva, E. et. al. 1996. "Rosmarinic acid from *Lavandula vera* MM cell culture." **Phytochemistry.** 43(6) : 1243-1244.
- Kubeczka, K.-H. 2002. **Essential oiles analysis by capillary gas cromatography and carbon-13 NMR spectroscopy.** John Wiley & Sons, Ltd Chichester.
- Lappin, G. J. et. al. 1987. "Biotransformation of monoterpenoids by suspension cultures of *Lavandula angustifolia*." **Phytochemistry.** 26 : 995-997.
- Michal, B. and Marten, K. J. 2000. "The effect of two day-night temperature regimes and two nutrient solution concentrations on growth of *Lavandula angustifolia* 'Munstead' and *Magnolia soulangiana*." **Scientia Horticulturae.** 85 : 113-121.
- Miguel, C. S.-G. and Calvo, M. C. 1996. "Micropropagation of *Lavandula latifolia* through nodal bud culture of mature plants." **Plant Cell Tissue Org Cult.** 45 : 259-261.
- Mulder-Krieger, T. H. et. al. 1988. "Production of essential oils and flavors in plant cell and tissue cultures, a review." **Plant Cell Tissue Org Cult.** 13 : 85-154.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures." **Physiol Plant.** 15(3): 473-497.
- Nakajima, H. et. al. 1985. "Entrapment of *Lavandula vera* cells and production of picments by entrapped cells." **J Biotechnol.** 2 : 107-117.
- Nogueira, J. M. F. and Romano, A. 2001. "Essential oils from micropropagated plants of *Lavandula viridis*." **Phytochemical Analysis.** 13(1) : 4-7.
- Pala-Paul, J. et. al. 2004. "Analysis of the volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Islands endemic species, growing in Australia." **Biochemical Systematics and Ecology.** 32 : 55-62.
- Panizza, M. and Tognoni, F. 1988. "Clonal propagation, callus formation and plant regeneration of lavandin." **Scientia Horticulturae.** 37(1-2) : 157-168.
- Quazi, M. H. 1980. "In vitro multiplication of *Lavandula* spp." **Ann Bot (London).** 45 : 361-363.

- Sanz, J. et. al. 2004. "Analysis of volatile components of *Lavandula luisieri* L. by direct thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry." **Journal of Chromatography.** 1024 : 139-146.
- Segura, J. and Calvo, M.C. 1991. "XVIII *Lavandula* spp. (Lavander) : in vitro culture, regeneration of plants, and the formation of essential oils and picments." **Biotechnology in Agriculture and Forestry.** 15 : 283-310.
- Shellie, R. et. al. 2002. "Characterization of lavender essential oils by using gas chromatography-mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography ." **Journal of Chromatography A.** 970 : 225-234.
- Skoula, M. et. al. 1996. "Essential oil Variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Stoechas* growing wind in Crete (Greece)." **Biochemical Systematics and Ecology.** 24(3) : 255-260.
- Spiridon, K. 2002. "The effects of light on callus growth and somatic embryogenesis from *Lavandula vera* and *Teucrium chamaedrys*: a preliminary study." **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants.** 9(2/3) : 223-227.
- Tatiana, O. et. al. 1997. "Somatic embryogenesis in lavender tissue culture I. Isolation and characteristics of an embryogenic callus line." **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants.** 2(2) : 17-29.
- Tim, M. et. al. 2000. "Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*." **Biochemical Systematics and Ecology.** 28 : 991-1007.
- Tsuro, M. and Inoue, M. 1996. "Production of blue pigment in leaf-derived callus of lavender (*Lavandula vera* DC)." **Bibliography.** 46(4) : 361-366.
- Tsuro, M. et. al. 1999. "Comparative effect of different types of cytokinin for shoot formation and plant regeneration in leaf-derived callus of lavender (*Lavandula vera* DC)." **Scientia Horticulturae.** 81 : 331-336.
- Tsuro, M. et. al. 2000. "Efficient plant regeneration from multiple shoots from in the leaf-derived callus of *Lavandula vera*, using the "open culture system"." **Scientia Horticulturae.** 86 : 81-88.
- Tsuro, M. et. al. 2001. "Variation in essential oil components in regenerated lavender (*Lavandula vera* DC) plants." **Scientia Horticulturae.** 88 : 309-317.

UNEP Publications. 2007. "**linalyl acetate.**" [Online].

Available : www.inchem.org/documents/sids/sids/115957.pdf.

Watanabe, K. and Yamada, Y. 1982. "Selection of variants with high levels of biotin from cultured green *Lavandula vera* cells irradiated with gamma rays." **Plant Cell Physiol.** 23 : 1453-1456.

Watanabe, K. et. al. 1982. "The selection of cultured plant cell lines producing high levels of biotin." **Phytochemistry.** 21 : 513-516.

Watanabe, K. et. al. 1983. "Retention of metabolic and differentiation potential of green *Lavandula vera* callus after freeze-preservation." **Plant Cell Physiol.** 24 : 119-122.

Watanabe, K. et. al. 1985. "Induction of pigment production by S-containing compounds in cultured *Lavandula vera* cells." **Agric Biol Chem.** 49 : 533-534.

Webb, J. K. et. al. 1984. "Monoterpene synthesis in shoots regenerated from callus cultures." **Phytochemistry.** 23 : 903-904.

Wikipedia. 2007a. "**Acetic acid.**" [Online].

Available : http://de.wikipedia.org/wiki/Acetic_acid.

Wikipedia. 2007b. "**Amyl alcohol.**" [Online].

Available : http://en.wikipedia.org/wiki/Amyl_alcohol.

Wikipedia. 2007c. "**Butyric acid.**" [Online].

Available : http://en.wikipedia.org/wiki/Butyric_acid.

Wikipedia. 2007d. "**Borneol.**" [Online]. Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/Borneol>.

Wikipedia. 2007e. "**Eucalyptol.**" [Online]. Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/Eucalyptol>.

Wikipedia. 2007f. "**Geraniol.**" [Online]. Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/Geraniol>.

Wikipedia. 2007g. "**Lavandulol.**" [Online].

Available : <http://de.wikipedia.org/wiki/Lavandulol>.

Wikipedia. 2007h. "**Limonene.**" [Online]. Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/Limonene>.

Wikipedia. 2007i. "**Linalool.**" [Online]. Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/Linalool>.

Wikipedia. 2007j. "**Nerol.**" [Online]. Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/Nerol>.

Wikipedia. 2007k. "**Valeric acid.**" [Online]. Available :

http://en.wikipedia.org/wiki/Valeric_acid.

Wikipedia. 2007l. "**caproic acid.**" [Online]. Available :

http://en.wikipedia.org/wiki/caproic_acid.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.
อาหารพะเลียงและสารเคมี

ภาคผนวก ก
อาหารเพาะเลี้ยงและสารเคมี

1. อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashige and Skoog (1962)

1.1 องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS

องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS แบ่งตาม Stock solution ดังตาราง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสูตร Murashige and Skoog

| Stock | สารเคมี | ปริมาณสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร) | ความเข้มข้น (เท่า) | ปริมาณที่ใช้เตรียมอาหาร 1 ลิตร (มิลลิลิตร) |
|-------|---|---------------------------------|-----------------------|---|
| A | NH_4NO_3 | 82,500 | 50 | 20 |
| | KNO_3 | 95,000 | 50 | |
| B | H_3BO_3 | 1,240 | 200 | 5 |
| | KH_2PO_4 | 34,000 | 200 | |
| | KI | 166 | 200 | |
| | $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 50 | 200 | |
| | $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 5 | 200 | |
| C | $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 88,000 | 200 | 5 |
| D | $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 74,000 | 200 | 5 |
| | $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 4,460 | 200 | |
| | $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 1,720 | 200 | |
| | $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 5 | 200 | |
| E | $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 5,570 | 200 | 5 |
| | Na_2EDTA | 7,450 | 200 | |
| F | Glycine | 400 | 200 | 5 |
| | Nicotenic acid | 100 | 200 | |
| | Pyridoxine - HCl | 100 | 200 | |
| | Thiamin - HCl | 20 | 200 | |
| | Myo - inositol | 20,000 | 200 | |

1.2 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

1. เตรียม Stock solution A, B, C, D, E และ F ของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ดังตาราง โดยนำส่วนผสมแต่ละชนิดละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมาผสมกัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แยกเก็บ Stock solution แต่ละสูตรในขวดสีชา
2. การเตรียมอาหารสูตร MS ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เตรียมโดยนำ Stock solution แต่ละสูตร ปริมาตรดังตาราง มาใส่ในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัม
4. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามสูตรอาหารที่ต้องการ
5. ปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
6. ปรับค่าความเป็นกรดด้วย NaOH หรือ HCl ให้อยู่ในช่วง 5.65 - 5.75
7. เติมหงวุ้น 8 กรัม (กรณีเตรียมอาหารเหลวไม่ต้องเติมหงวุ้น)
8. หลอมให้ห้วนละลาย
9. เทอาหารใส่ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
10. ปิดฝาขวด แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลานาน 15 นาที ทิ้งไว้จนอุ่นแล้วปิดฝาให้สนิท ทิ้งให้เย็น เก็บเข้าชั้นเพื่อใช้ต่อไป

2. สารควบคุมการเจริญเติบโต

2.1 Naphthaleneacetic acid (NAA)

การเตรียม Stock solution ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำโดยชั่งสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 100 มิลลิกรัม ละลายใน NaOH ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 3 - 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ใส่ขวดสีชาและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2 6-Benzyladenine (BA)

การเตรียม Stock solution ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำโดยชั่งสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 100 มิลลิกรัม ละลายใน HCl ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 3 - 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ใส่ขวดสีชาและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.3 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

การเตรียม Stock solution ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำโดยชั่งสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 100 มิลลิกรัม ละลายใน NaOH ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 3 - 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ใส่ขวดสีชาและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. สารละลายธาตุอาหารสูตรพื้นฐาน สำหรับเพาะเลี้ยงแบบไฮโดรโปนิคส์

3.1 องค์ประกอบของสารละลายธาตุอาหาร

องค์ประกอบของสารละลายธาตุอาหารสูตรพื้นฐาน แบ่งตาม Stock solution ดังตาราง

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของสารละลายธาตุอาหารสูตรพื้นฐาน

| Stock | สารเคมี | ปริมาณสาร ต่อน้ำ 10 ลิตร | ความเข้มข้น (เท่า) | ปริมาณที่ใช้เตรียม อาหาร 50 ลิตร (มิลลิลิตร) |
|-------|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|---|
| A | HNO ₃ | 347.00 มิลลิลิตร | 200 | 250 |
| | H ₃ PO ₄ | 183.00 มิลลิลิตร | 200 | |
| | KNO ₃ | 933.00 กรัม | 200 | |
| | MgSO ₄ | 189.00 กรัม | 200 | |
| | (Na ₄)MoO ₄ | 0.10 กรัม | 200 | |
| | H ₃ BO ₃ | 3.00 กรัม | 200 | |
| | MnSO ₄ ·4H ₂ O | 6.80 กรัม | 200 | |
| | ZnSO ₄ ·4H ₂ O | 2.00 กรัม | 200 | |
| | CuSO ₄ ·5H ₂ O | 0.50 กรัม | 200 | |
| B | HNO ₃ | 3.48 มิลลิลิตร | 200 | 250 |
| | CA(NO ₃) ₂ | 858.00 กรัม | 200 | |
| | Fe-EDTA | 40.00 กรัม | 200 | |

3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายธาตุอาหาร

1. เตรียม Stock solution A และ B ของสารละลายธาตุอาหารสูตรพื้นฐานดังตาราง โดยนำส่วนผสมแต่ละชนิดละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมาผสมกัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 ลิตร แยกเก็บ Stock solution แต่ละสูตรในภาชนะที่ปิด

2. การเตรียมสารละลายธาตุอาหารสูตรพื้นฐาน ปริมาตร 50 ลิตร เตรียมโดยนำ Stock solution แต่ละสูตร ปริมาตรดังตาราง มาใส่ในภาชนะแล้วปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 50 ลิตร

3. ปรับค่าความเป็นกรดด้วย NaOH หรือ HNO₃ ให้อยู่ในช่วง 5.8 - 6.0

๙

ภาคผนวก ข.
ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ภาคผนวก ข

ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way Analysis of Variances)

เปรียบเทียบจำนวนยอคเฉลี่ยบนสูตรอาหารที่เติม BA* และ/หรือ NAA** จำนวน 16 สูตร
ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

| Source | Sum of Square | Df | Mean Square | F | Sig | Compare |
|-----------|---------------|-----|-------------|-------|-------|---------|
| สูตรอาหาร | 610.427 | 15 | 40.695 | 3.873 | 0.000 | NS |
| Error | 1786.132 | 170 | 10.507 | | | |
| Total | 2396.559 | 185 | | | | |

* ความเข้มข้นของ BA คือ 0.0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

** ความเข้มข้นของ NAA คือ 0.0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

NS = มีความแตกต่างกันของจำนวนยอคเฉลี่ยบนสูตรอาหาร 16 สูตร

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกสองทาง (Two-factor Analysis of Variances)

เปรียบเทียบจำนวนยอคเฉลี่ยบนสูตรอาหารที่เติม BA ด้วยความเข้มข้น 4 ระดับ* ร่วมกับ
NAA ด้วยความเข้มข้น 4 ระดับ** จำนวน 16 สูตร ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

| Source | Sum of Square | Df | Mean Square | F | Sig | Compare |
|--------|---------------|-----|-------------|-------|-------|---------|
| BA | 242.029 | 3 | 80.676 | 7.679 | 0.000 | NS |
| NAA | 36.544 | 3 | 12.181 | 1.159 | 0.327 | S |
| BA*NAA | 205.875 | 9 | 22.875 | 2.177 | 0.026 | NS |
| Error | 1786.132 | 170 | 10.507 | | | |
| Total | 4384.000 | 186 | | | | |

* ความเข้มข้นของ BA คือ 0.0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

** ความเข้มข้นของ NAA คือ 0.0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

S = ไม่มีความแตกต่างกันของจำนวนยอคเฉลี่ยบนสูตรอาหาร

NS = มีความแตกต่างกันของจำนวนยอคเฉลี่ยบนสูตรอาหาร

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way Analysis of Variances)
 เปรียบเทียบน้ำหนักเนื้อเยื่อเฉลี่ยบนสูตรอาหารที่เติม 2,4-D* จำนวน 5 สูตร
 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

| Source | Sum of Square | df | Mean Square | F | Sig | Compare |
|-----------|---------------|----|-------------|-------|-------|---------|
| สูตรอาหาร | 0.234 | 4 | 0.05841 | 5.810 | 0.000 | NS |
| Error | 0.734 | 73 | 0.01005 | | | |
| Total | 0.968 | 77 | | | | |

* ความเข้มข้นของ 2, 4-D คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

NS = มีความแตกต่างกันของน้ำหนักเนื้อเยื่อเฉลี่ยบนสูตรอาหาร 5 สูตร

ภาคผนวก ค.

ตารางการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต

ภาคผนวก ก

ตารางการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต

ตารางที่ 1 แสดงการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้นของ NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร) | ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร) | | | |
|--|--------------------------------------|------------|------------|------------|
| | 0 | 0.5 | 1 | 1.5 |
| 0 | สูตรที่ 1 | สูตรที่ 2 | สูตรที่ 3 | สูตรที่ 4 |
| 0.5 | สูตรที่ 5 | สูตรที่ 6 | สูตรที่ 7 | สูตรที่ 8 |
| 1.0 | สูตรที่ 9 | สูตรที่ 10 | สูตรที่ 11 | สูตรที่ 12 |
| 1.5 | สูตรที่ 13 | สูตรที่ 14 | สูตรที่ 15 | สูตรที่ 16 |

ตารางที่ 2 แสดงการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร) | 0.0 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 2.5 |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| สูตรอาหาร | สูตรที่ 17 | สูตรที่ 18 | สูตรที่ 19 | สูตรที่ 20 | สูตรที่ 21 | สูตรที่ 22 |

ภาคผนวก ง.
ตารางผลการเพิ่มปริมาณยอดและแคลลัส

ภาคผนวก ง

ตารางผลการเพิ่มปริมาณยอดและแคลลัส

ตารางที่ 1 การเพิ่มปริมาณยอดในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว เป็นเวลา 4 สัปดาห์

| น้ำหนักยอดเริ่มต้น เฉลี่ย (กรัม) | น้ำหนักยอดเฉลี่ย หลังเพิ่มปริมาณ (กรัม) | ดัชนีการเจริญเติบโต | จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด) |
|--|---|---------------------|-------------------------|
| 0.0386 | 0.7184 | 17.611 | 12.5 |

ตารางที่ 2 การเพิ่มปริมาณแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

| น้ำหนักสดเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม) | น้ำหนักสดเฉลี่ย หลังเพิ่มปริมาณ (กรัม) | ดัชนีการเจริญเติบโต |
|-----------------------------------|---|---------------------|
| 0.565 | 2.163 | 2.828 |

ประวัติผู้เขียน

| | |
|--------------------|--|
| ชื่อ | นางสาวปรางมาศ ศรีสุรัตน์ |
| วัน/เดือน/ปีเกิด | 23 เมษายน 2523 |
| ปี พ.ศ. 2541- 2445 | ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยบูรพา |
| ปี พ.ศ. 2546- 2451 | ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง |