

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การเตรียมสต็อกของไชน้ำ

ไชน้ำที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดได้จากสต็อกของอาจารย์ สุพิทร์ ศักดิ์สุวรรณ ซึ่งได้แยกเป็นเชื้อเลี้ยงบริสุทธิ์ (pure culture) แล้ว นำมาเลี้ยงในคอนโท (Erlenmeyer flask) ขนาด 200-250 ml. ซึ่งบรรจุน้ำยาเพาะเลี้ยง (nutrient solution) ประมาณ 75 ml. เก็บคอนโทนี้ไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิระหว่าง 25 - 27 องศา เซนติเกรด จำกัดแสงสว่างคงที่ 2800 lux วันละ 14 ชั่วโมง ระหว่างเวลา 5.00 - 19.00 นาฬิกา แสงสว่างได้จากหลอดไฟลูออเรสเซนต์ชนิด TL 40 W/33 และ TL 40 W/54 อย่างละหนึ่งหลอดอยู่สูงเหนือพืชทดลอง 35 - 37 เซนติเมตร ย้ายพืชมาปลูกใหม่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงสองถึงสามสัปดาห์ก่อนที่จะนำมาใช้ในการทดลอง เพื่อให้พืชมีการเจริญดีที่สุด

น้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้เลี้ยงไชน้ำ ใช้ Modified Hoagland's Solution ซึ่งได้ดัดแปลงจากสูตรของ Hoagland (Nachtli & Terrey, 1959) เพื่อความเหมาะสมมีส่วนประกอบดังนี้

#### Modified Hoagland's Solution

Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.005	Molar	ในน้ำกลั่น *
KNO <sub>3</sub>	0.005	Molar	ในน้ำกลั่น *
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.002	Molar	ในน้ำกลั่น *
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.001	Molar	ในน้ำกลั่น *
FeEDTA	มีใน	Fe 5 ppm.	

\*\* Nitsch's minor elements solution 1 ml./litre

**\*\* Nitsch's Minor Elements Stock Solution**

ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	100	mg.
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	2000	mg.
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1000	mg.
CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	10	mg.
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	20	mg.
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	20	mg.
* น้ำกลั่น	1000	ml.

**\* น้ำกลั่นที่ใช้ในการทดลอง**

การทดลองใช้น้ำกลั่นที่แยกไอออนออกแล้ว (deionized water)

ซึ่งมีอำนาจนำกระแสไฟฟ้าไม่เกิน  $5 \times 10^6$  ohm-cm. เอามากลั่นด้วยเครื่องกลั่นน้ำไรไฟโรเจิน (แบบของนายแพทย์ อวย เกตุสิงห์) อีกครั้งหนึ่ง เพื่อจัสสารที่ไม่ ionize อีกชั้นหนึ่ง และเพื่อให้ได้น้ำที่บริสุทธิ์ยิ่งขึ้น คือไม่ให้มีสารจำพวกอินทรีย์ที่อาจถูกไอ้นำพัดพามาด้วยในการกลั่นน้ำอย่างธรรมดา

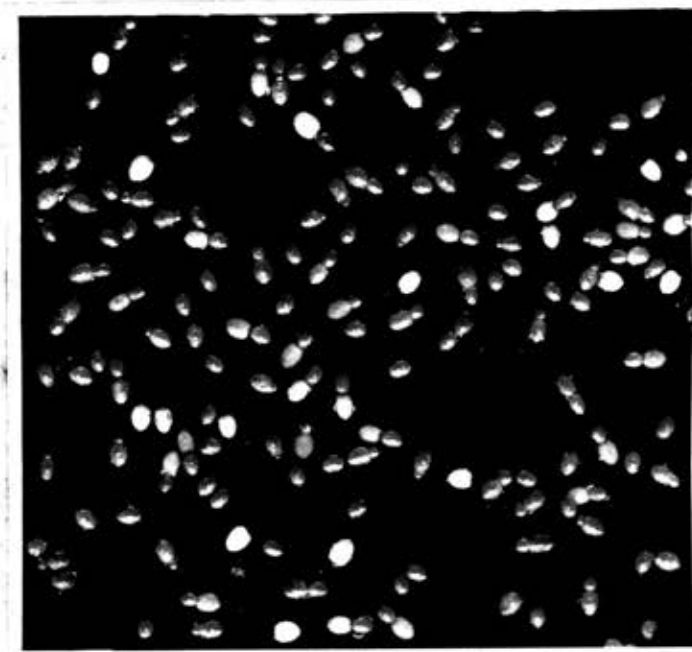
**วิธีดำเนินการทดลอง**

ทำความสะอาดเครื่องแก้ว โดยแช่เครื่องแก้วไว้ในน้ำยาซักฟอกไม่น้อยกว่าหนึ่งชั่วโมง แปรงทั้งภายในภายนอกจนสะอาด ใช้น้ำประปาระบายน้ำยาซักฟอกออกให้หมดล้างภายในด้วยกรรก้ามะดิน เข้มข้นเจือน้ำในอัตรา 1 ต่อ 5 ล้างกรรก้ามะดินออกให้หมดด้วยน้ำประปา 12 ครั้ง ทุกครั้งใส่น้ำประมาณครึ่งชามและเขย่าหลายๆครั้ง ชะด้วยน้ำกลั่นสะอาดอีกสามครั้ง และคว่ำเก็บให้สะเด็ดน้ำในที่ที่ไม่มีฝุ่น

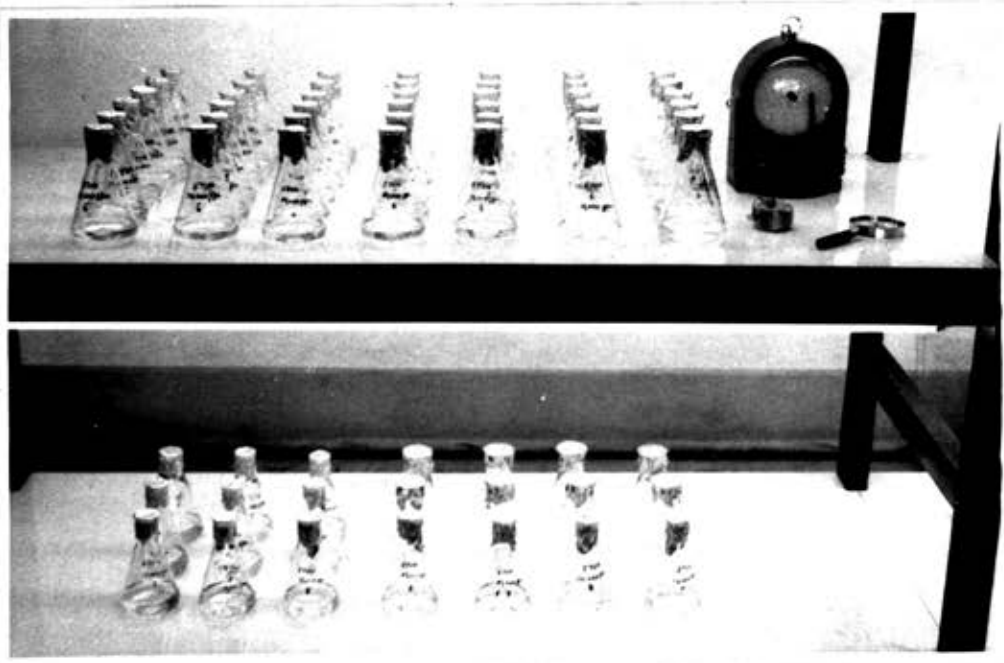
**การห่าน้ำยาเพาะเลี้ยง**

การทดลองเพื่อศึกษาผลของยาระงับเชื้อและยาฆ่าเชื้อที่มีต่อการเติบโตของไข่น้ำ ทำแบบปลอดเชื้อตลอดการทดลอง การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาเพาะเลี้ยงซึ่งทำตาม

\* Personal communication



รูปที่ 1 ต้นไข่น้ำ (Wolffia arrhiza Wimm.)  
ขนาดขยาย 6 เท่า



รูปที่ 2 คนโทที่ใช้เลี้ยงไข่น้ำ

สูตร Modified Hoagland's Solution ใช้วิธีหนึ่งอีกอากาศด้วยความดัน 1 ถึง 1.2 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ใช้เวลา 20 - 30 นาที ส่วนตัวยาที่ใช้ทดลอง นั้นเติมลงไปภายหลังจากนี้ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำยาเพาะเลี้ยงซึ่งทิ้งไว้จนอุณหภูมิเท่ากับ อุณหภูมิของห้อง สำหรับจานเปตริ (Petri dish) และ pipette ทำลายเชื้อด้วยความ ร้อนแห้งในตู้อบ (hot-air oven) ใช้อุณหภูมิ 150 ถึง 160 องศาเซนติเกรดเป็น เวลาสามชั่วโมง หวงลวดทองคำขาว (platinum loop) ชุบแอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์แล้วฉีกไฟให้แห้งก่อนใช้ทุกครั้ง

### การย้ายไข่น้ำ

ใช้หวงลวดทองคำขาว เขี่ยไข่น้ำจากสก็อตกลงในจานเปตริบรรจุน้ำกลั่นซึ่งทำลาย เชื้อแล้ว เขี่ยให้คนไข่น้ำแยกออกจากกัน เลือกคนไข่น้ำที่มีขนาดเท่าๆกันและหน่อทั้งสอง ยังไม่หลุดออกจากกัน ย้ายลงมาปลูกไว้ในคนโทซึ่งบรรจุน้ำยาเพาะเลี้ยงประมาณ 75 ml. เป็น control และคนโทบรรจุน้ำยาเพาะเลี้ยงเติมยาฆ่าเชื้อหรือยาระงับเชื้อชนิดต่างๆ ที่มีความเข้มข้นต่างๆกันทั้งได้แสดงในตารางผลการทดลอง การทดลองทั้งหมดเริ่มต้นด้วย คนไข่น้ำคนโทละสองคน เลี้ยงไข่น้ำทั้งหมดในสภาพแวดล้อมดังกล่าวข้างต้น

การเลือกใช้น้ำความเข้มข้นของตัวยาชนิดต่างๆในการทดลองนี้ ได้ศึกษา เบื้องต้นจนทราบขนาดความเข้มข้นที่ทำให้เกิดฤทธิ์ฆ่า (lethal effect) ก่อนครั้งหนึ่ง แล้ว และในการทดลองจัดระดับความเข้มข้นของยาเป็นช่วงๆให้ใกล้เคียงกับขนาดที่ทำให้เกิด ฤทธิ์ฆ่า เพื่อช่วยให้อ่านผลในช่วงใกล้ขนาดฆ่า (lethal dose) ได้แน่ชัดขึ้น

### ยาฆ่าเชื้อและยาระงับเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

Boric Acid B.P.	ผลิตโดย	บริษัท	ICI	อังกฤษ
Ethyl Alcohol 95%	ผลิตโดย	กรมสรรพสามิต		
Formaldehyde 38% Com'l	ผลิตโดย	บริษัท	ICI	อังกฤษ
Phenol B.P.	ผลิตโดย	บริษัท	Paul	เยอรมันนี
Potassium Chlorate R.A.	ผลิตโดย	บริษัท	May & Baker	อังกฤษ.

Quinine	Dihydrochloride	ผลิตโดย	Otton & Paldamu Chemical Fabric.
Sodium	Benzoate B.P.	ผลิตโดย	W.J. Bush อังกฤษ
Acriflavine	B.P.	ผลิตโดย	ICI อังกฤษ
Mercuric	Chloride B.P.	ผลิตโดย	Jebaen & Jessen เยอรมัน
Potassium	Permanganate B.P.	ผลิตโดย	Rhone Poulenc ฝรั่งเศส
Silver	Nitrate B.P.	ผลิตโดย	Evans Medical Ltd. อังกฤษ
Sodium	Hypochlorite Com'l	ผลิตโดย	Judex อังกฤษ

### การวิเคราะห์ผล

ศึกษาความเปลี่ยนแปลงของไขน้ำโดยดูจากจำนวนคนที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง พร้อมทั้งสังเกตสีของคลอโรฟิลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปทุกๆสามวันจนครบยี่สิบเจ็ดวัน การนับจำนวนคนถือเอาหน่อใหม่ที่มีขนาดไม่เล็กกว่าคนเดิมเป็นหนึ่งคน ผลที่ได้นำมาหาค่าเฉลี่ยและเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนคนกับเวลาเพาะเลี้ยง เปรียบเทียบการเติบโตของไขน้ำในน้ำยาเพาะเลี้ยงซึ่งมียาระงับเชื้อและยาฆ่าเชื้อชนิดต่างๆและความเข้มข้นต่างๆกัน แผลผลของยาจากจำนวนคนที่เปลี่ยนแปลงไป ความหลักว่าผลมากหรือฤทธิ์แรงได้แก่คนที่มีการแยกตัวน้อยและคนที่มีอาการเหลืองซีด (chlorosis) ส่วนผลน้อยหรือฤทธิ์อ่อนได้แก่คนที่มีการแยกตัวมากและคนเขียวปกติ.