ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียส

Effect of chlorine dioxide (ClO_2) on sterilization in micropropagation of *Anubias* sp. 'White'

วรางคณา กาซัม[1] มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ[2] และนงนุช เลาหะวิสุทธิ์[3]

Warangkana Kasam[1] Maneerat Wangwibulkit[2] and Nongnuch Laohavisuti[3]

[1]กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง กรุงเทพมหานคร 10900

[2]ราชการบริหารส่วนกลาง กรมประมง กรุงเทพมหานคร 10900

[3]คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

[1]Inland Fisheries Research and Development Division, Department of Fisheries, Bangkok, 10900

[2]Central Administration Office, Department of Fisheries, Bangkok, 10900

[3]Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

Corresponding author: tualek07@hotmail.com

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียส (*Anubias* sp. 'White') เป็นการขยายพันธุ์วิธีหนึ่งที่ต้องการการปลอดเชื้อทุกขั้นตอน เทคนิคที่มีความสำคัญมากคือ การทำให้ปลอดเชื้อทั้งในอาหารเพาะเลี้ยงและเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ การเติมสารเคมีลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่สามารถทำได้เพื่อให้ปลอดเชื้อ ทำการศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตายอดไวท์อนูเบียส 5 ระดับ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 mg/L เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการใช้คลอรีนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/L เหมาะสมที่สุดในการยับยั้งการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ทำให้มีอัตราการรอด 100% สูงกว่าระดับความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าคลอรีนไดออกไซด์มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตายอดไวท์อนูเบียส และช่วยเพิ่มความรวดเร็วในการทำงาน โดยลดขั้นตอนในการเตรียมอาหารสังเคราะห์ ทดแทนการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ จึงเป็นเทคนิคทางเลือกในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสวยงามชนิดอื่น ๆ ต่อไป

คำสำคัญ: คลอรีนไดออกไซด์, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ไวท์อนูเบียส

Abstract

The micropropagation of aquatic plants is the method for propagation which is sterilized on steps. The most important technique is to sterilize the culture medium and explants. Chemical sterilization in tissue culture media is one of the aseptic methods. Therefore, study on the effect of chlorine dioxide concentrations in culture media was conducted. Using chlorine dioxide (at 0, 5, 25, 50, 75 and 100 mg/L) in MS medium for culture of *Anubias* sp. 'White' was investigated. After 8 weeks, it was found that sterilization with chlorine dioxide at 100 mg/L was the optimum concentration that could inhibit microbial contamination with 100% survival rate and was significantly different ($p<0.05$). The result showed that chlorine dioxide is effective in eliminating microorganisms and can promote the growth of *Anubias* sp. 'White' tissue. Furthermore, it also

decreased period time of medium preparation for usability of autoclave-sterilization. Using chlorine dioxide in tissue culture media is an alternative sterilization technique for aquatic plant tissue culture.

Keywords: chlorine dioxide, micropropagation, *Anubias* sp. 'White'

คำนำ

พรรณไม้น้ำสวยงามจัดเป็นทรัพยากรประมงชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อนำไปใช้ประดับตกแต่งตู้ปลาและตู้พรรณไม้น้ำมากขึ้น ชนิดของสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยม เช่น ไวท์อนูเบียส (*Anubias* sp. "White") เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามในสกุลอนูเบียส (*Anubias* spp.) สายพันธุ์ต่างถิ่นที่สามารถเพาะขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย จนกลายเป็นพรรณไม้น้ำเศรษฐกิจที่มีมูลค่าการส่งออกเป็นอันดับต้น ๆ ของประเทศ จากข้อมูลของกรมวิชาการเกษตร พบว่าใน พ.ศ. 2559-2561 ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกพรรณไม้น้ำชนิด Anubias เป็นอันดับ 1 ของพรรณไม้น้ำที่ส่งออกทั้งหมด (เฉพาะที่มีใบรับรองสุขอนามัยพืช) แต่การนำต้นอนูเบียสมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการในท้องตลาดนั้น มักจะประสบปัญหาทางด้านจุลินทรีย์ที่เข้ามารบกวนในระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเทคนิคที่มีความสำคัญมาก คือ การทำให้ปลอดเชื้อทั้งในอาหารเพาะเลี้ยงและชิ้นเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ นอกจากขบวนการทำให้ปลอดเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) แล้ว การทำให้ปลอดเชื้อด้วยสารเคมีเป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากไม่มีขั้นตอนที่ยุ่งยากและสามารถลดต้นทุนพลังงานได้ สารเคมีที่นิยมใช้ ได้แก่ คลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide, ClO_2) ซึ่งมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ได้ครอบคลุม (broad spectrum) เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้มากมายหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อไวรัส เนื่องจากมีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง ทำลายระบบเอนไซม์ และระบบการสังเคราะห์โปรตีนได้ (Huang *et al*., 1997; Gordon and Rosenblatt, 2005) เริ่มนิยมนำมาใช้ในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตผลทางการเกษตร (Cho-Chin *et al*., 2011; Van Haute *et al*., 2017) ใช้สำหรับฆ่าเชื้อในอาหารทะเลแช่แข็ง (Department of Industrial Works, 2008) ใช้ในการฆ่าเชื้อและปรับปรุงคุณภาพของน้ำดื่ม (Yang *et al*., 2013; Al-Otoum *et al*., 2016) รวมถึงการใช้คลอรีนไดออกไซด์เพื่อฆ่าเชื้อในอาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ช่วยเพิ่มความรวดเร็วในการเตรียมอาหาร ลดการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่มีระยะเวลาในการฆ่าเชื้อนาน จึงลดการใช้พลังงานมีผลทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำลง (Cardoso and Silva, 2012) ดังนั้นงานวิจัยจึงต้องการศึกษาความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียสที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร และผลกระทบที่มีต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียส จะเป็นประโยชน์ในการช่วยลดขั้นตอนและระยะเวลาในการเตรียมอาหาร รวมทั้งเป็นเทคนิคทางเลือกในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป

อุปกรณ์ และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

ศึกษาความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ที่เหมาะสมการต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียส (*Anubias* sp. 'White') วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ที่ 5 ระดับ ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ดัดแปลงมาจากวิธีของ Srichuay and Te-chato (2014) และ Choopeng *et al*. (2018) ซึ่งแต่ละระดับความเข้มข้นใช้หน่วยทดลองละ 30 ขวด (replication)

การเตรียมพรรณไม้น้ำที่ใช้ในการทดลอง

นำเนื้อเยื่อตายอดไวท์อนูเบียสมาเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ ย้ายลงอาหารใหม่ทุก ๆ 8 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อให้มีจำนวนมากขึ้น และใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการศึกษาทดลองต่อไป

การเตรียมอาหารและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียส

เตรียมอาหารเหลวสูตร MS ผสมคลอรีนไดออกไซด์ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 5 ระดับ (ชุดการทดลอง) ประกอบด้วย 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ชุดการทดลองละ 30 ขวด รวมเป็นขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งหมด 150 ขวด จากนั้นนำเนื้อเยื่อส่วนตายอดไวท์อนูเบียสมาเลี้ยงในอาหารเหลวที่เตรียมไว้ แล้วนำไปไว้ในห้องเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ โดยได้รับแสง 12 ชั่วโมง สลับกับช่วงมืด 12 ชั่วโมง ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการบันทึกอัตราการปนเปื้อน อัตราการรอด จำนวนต้นอ่อน จำนวนใบ จำนวนราก และความสูงต้น รวมทั้งถ่ายภาพการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียส ทุกๆ สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วนำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' s new multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 14.0 for windows

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียสที่ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเติมคลอรีนไดออกไซด์มีผลต่อการทำให้อาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าอาหารที่ไม่ได้เติม โดยชุดการทดลองที่ไม่เติมคลอรีนไดออกไซด์เกิดการปนเปื้อนของเนื้อเยื่อไวท์อนูเบียสภายใน 2 สัปดาห์ และเนื้อเยื่อไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ (Figure 1) ซึ่งการเติมคลอรีนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีอัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

Table 1 The percentage of contamination and survival rate of *Anubias* sp. "White" cultured in MS liquid medium containing various concentrations of chlorine dioxide for 8 weeks

ClO_2 (mg/L)	contamination (mean±SE)	survival rate (mean±SE)
0	100.00±0.00[a]	0.00±0.00[c]
25	20.00±7.72[b]	80.00±7.42[b]
50	10.00±5.57[bc]	90.00±5.57[ab]
75	3.33±3.33[c]	96.66±3.33[a]
100	0.00±0.00[c]	100.00±0.00[a]

Mean values with different superscript letters in column are significantly different (P<0.05)

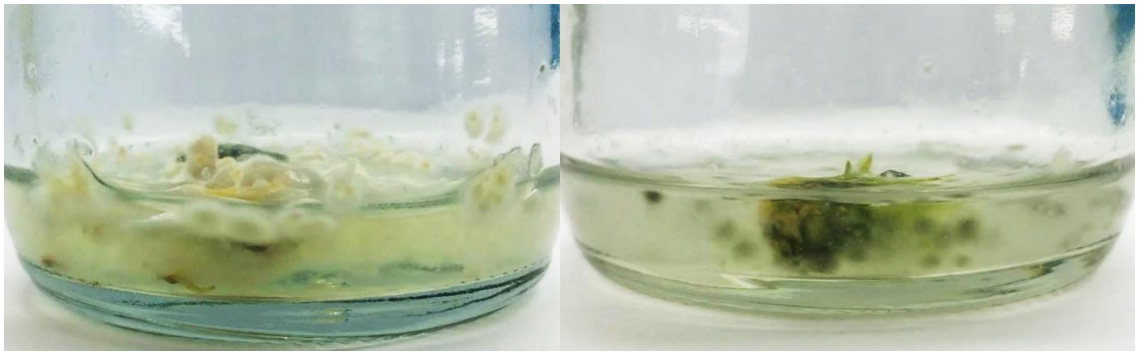

Figure 1 Contamination of *Anubias* sp. "White" cultured in MS liquid media without chlorine dioxide in the second week of the trial

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติมคลอรีนไดออกไซด์ 25, 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ 3-20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยังมีอัตราการรอดมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แต่การเติมคลอรีนไดออกไซด์เข้มข้นสูงสุดที่ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ดีที่สุดมากกว่าระดับความเข้มข้นอื่น ๆ สอดคล้องกับการทำให้ปลอดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเยอบีร่า (Cardoso and Silva, 2012) และอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรด (Srichuay and Te-chato, 2014) ที่พบว่าการใช้คลอรีนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นสูงมีประสิทธิภาพดีกว่าความเข้มข้นต่ำ ซึ่งการใช้คลอรีนไดออกไซด์เป็นสารกำจัดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัสนั้นมีประสิทธิภาพในช่วงความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) กว้าง ตั้งแต่ 3.0-9.0 (Huang *et al*., 1997) จึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ และไม่ผลิตสารคลอรามีน (Chloramine) ที่เป็นพิษกับพรรณไม้น้ำ รวมทั้งคลอรีนไดออกไซด์มีความสามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนได้ดีแม้ใช้ความเข้มข้นต่ำ (Cardoso and Silva, 2012) คลอรีนไดออกไซด์มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่าคลอรีน และสารประกอบคลอรีนชนิดอื่น ๆ (Mahakaeo, 1993)

การพัฒนาของเนื้อเยื่อตายอดไวท์อนูเบียสตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับที่เนื้อเยื่อไวท์อนูเบียสมีการเจริญเติบโตที่ดี และเมื่อเปรียบเทียบการพัฒนาและการเจริญเติบโตของไวท์อนูเบียสที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) (Table 2 and Figure 2) อย่างไรก็ตามระดับความเข้มข้นที่ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ดังนั้นคลอรีนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด เพราะนอกจากสามารถยับยั้งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีมากแล้ว ยังช่วยให้เนื้อเยื่อตายอดไวท์อนูเบียสมีการพัฒนาได้ดี โดยมีจำนวนต้นอ่อน (0.93±0.17 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ) จำนวนใบ (4.00±0.43 ใบ) จำนวนราก (5.60±0.50 ราก) และความสูงต้น (30.99±1.55 มิลลิเมตร) เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) (Figure 3) สอดคล้องกับรายงานของ Yusoh and Te-chato (2015) ที่ใช้คลอรีนไดออกไซด์ในอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงปลายยอดข้าวหอมกระดังงาปลอดเชื้อ สามารถเพิ่มจำนวนยอด และความสูงของต้นได้ นอกจากนี้คลอรีนในรูปคลอไรด์ไอออน (Cl^-) มีบทบาทที่สำคัญต่อพืชในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยเฉพาะเกี่ยวข้องกับการแตกตัวของน้ำในปฏิกิริยาแสง รวมถึงช่วยในการเจริญเติบโตของยอดและราก ตลอดจนการสร้างน้ำตาลในพืช (Techapinyawat, 1995)

Table 2 Effect of chlorine dioxide concentrations in MS liquid medium on *Anubias* sp. "White" development for 8 weeks.

ClO_2 (mg/L)	Shoots (mean±SE)	leaves (mean±SE)	roots (mean±SE)	height (mm) (mean±SE)
0	-	-	-	-
25	$0.86±0.18^{ab}$	$3.96±0.54^{ab}$	$6.36±0.92^{a}$	$22.74±2.43^{b}$
50	$0.80±0.16^{b}$	$3.73±0.40^{b}$	$5.80±0.67^{a}$	$24.59±1.86^{b}$
75	$1.26±0.15^{a}$	$5.13±0.47^{a}$	$7.36±0.61^{a}$	$27.07±1.35^{ab}$
100	$0.93±0.17^{ab}$	$4.00±0.43^{ab}$	$5.60±0.50^{a}$	$30.99±1.55^{a}$

Mean values with different superscript letters in column are significantly different (P<0.05)

Figure 2 *Anubias* sp. "White" cultured in MS liquid medium containing various concentrations of chlorine dioxide for 8 weeks

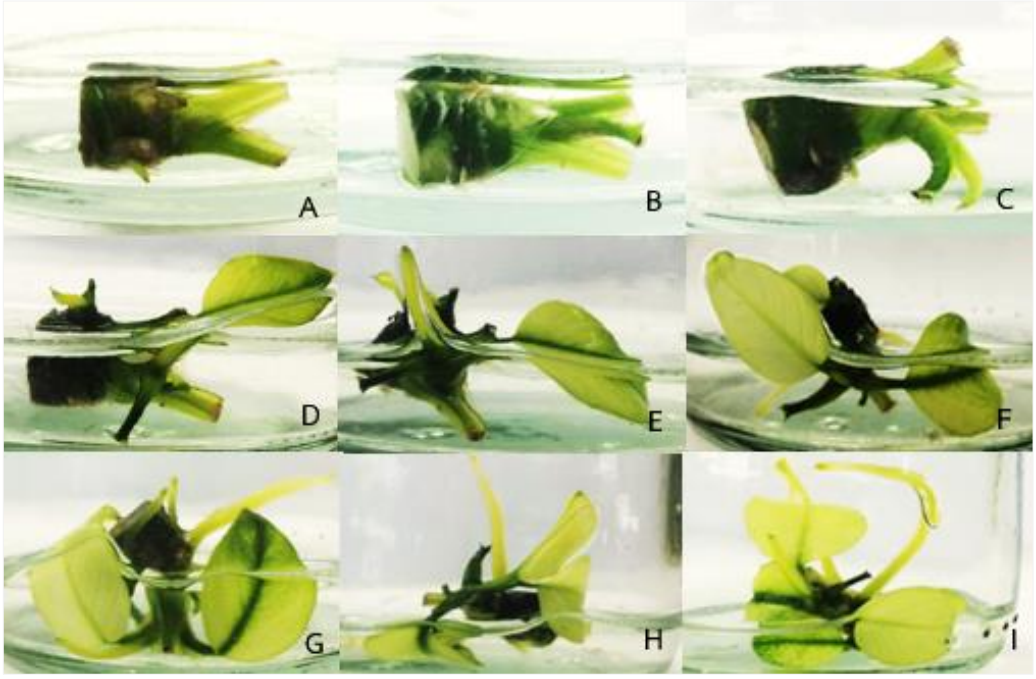

Figure 3 Growth of *Anubias* sp. "White" at 100 mg/L chlorine dioxide (A) week 0 (B) week 1 (C) week 2 (D) week 3 (E) week 4 (F) week 5 (G) week 6 (H) week 7 (I) week 8

สรุปผลการศึกษา

การเติมคลอรีนไดออกไซด์ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถแก้ปัญหาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของไวท์อนูเบียสได้ทั้งหมด นอกจากนี้การใช้สารคลอรีนไดออกไซด์เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังช่วยสร้างสภาวะการปลอดเชื้อจุลินทรีย์โดยไม่จำเป็นต้องใช้พลังงานไฟฟ้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถลดต้นทุนการผลิต อีกทั้งเพิ่มความรวดเร็วและลดขั้นตอนในการเตรียมอาหารสังเคราะห์ จึงเป็นเทคนิคทางเลือกที่ดีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Al-Otoum, F., Al – Ghauti, M. A. and Ahmed T, A. 2016. Disinfection by-products of chlorine dioxide (chlorite, chlorate and trihalomethanes):Occurrence in drinking Water in Qatar. Chemosphere 164: 649-656.

Cardoso, J.C. and Silva, J.A.T. 2012. Micropropagation of gerbera using chlorine dioxide (ClO_2) to sterilize the culture medium. In Vitro Cellular and Developmental Biology 48: 362–368.

Chao-Chin, C., Tzou-Chi, H., Chen-Hsing, Y., Feng-Yi, S. and Ho-Hsien, C. 2011. Bactericidal effects of fresh-cut vegetables and fruits after subsequent washing with chlorine dioxide. International Conference on Food Engineering and Biotechnology 9: 107-112.

Choopeng, S, Patthawaro, S. and Boonrangsri, K. 2018. Application of Chlorine Dioxide to Decontamination for In Vitro Micro propagation of *Bulbophyllum auratum* x Bulb.Tee Strawberry Cheese Cake. Songklanakarin Journal of Plant Science 5(2): 8-11. [in-Thai]

Department of Industrial Works. 2008. Cleaner Technology codes of practice (frozen seafood industry). Cleaner Technology Unit, Industrial Environmental Technology Bureau, Department of Industrial Works, Ministry of Industry. 191 p. [in-Thai]

Gordon, G. and Rosenblatt, A.A. 2005. Chlorine dioxide: the current state of the art. Ozone Science and Engineering 27: 203–207.

Huang, J., Wang, L., Ren, N., Ma, F. and Ma, J. 1997. Disinfection effect of chlorine dioxide on bacteria in water. Water Research 31(3): 607-613.

Mahakaeo, S. 1993. Efficiency of chlorine dioxide on the reduction of *Salmonella typhimurium* in frozen chicken process. Master of Science Thesis, Kasetsart University, Bangkok. 115 p. [in-Thai]

Srichuay, W. and Te-chato, S. 2014. Effect of chlorine dioxide (ClO_2) on sterilization in micropropagation of pineapple cv. Philae by Bioreactor System. Khon Khen Agriculture Journal 42(3): 75-80. [in-Thai]

Techapinyawat, S. 1995. Plant Physiology. Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok. 206 p. [in-Thai]

Van Haute, S., Tryland, I., Escudero, C., Vanneste, M. and Sampers, I. 2017. Chlorine dioxide as water disinfectant during fresh-cut iceberg lettuce washing: Disinfectant demand, disinfection efficiency, and chlorite formation. Food Science and Technology 75: 301-304.

Yang, X., Guo, W. and Lee, W. 2013. Formation of disinfection byproducts upon chlorine dioxide preoxidation followed by chlorination or chlorination of natural organic matter. Chemosphere 91(11): 1477-1485.

Yusoh, A. and Te-chato, S. 2015. Propagation of Hom Kra-Dang-Nga Rice (Indica) through shoot tip culture under bioreactor system. Songklanakarin Journal of Plant Science 2(3):12-15. [in-Thai]