บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินวิจัย

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องอบพลังงานแสงอาทิตย์ ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. เครื่องอบแห้งไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน ของบริษัท มาร์ชคูล
3. เครื่องอบแห้งไฟฟ้าแบบถาด ยี่ห้อ Armfield ประเทศอังกฤษ
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องวัด A_w รุ่น MS 1 – A_w ยี่ห้อ NOVASINA ประเทศ สวิทเซอร์แลนด์
6. เครื่องวัดอุณหภูมิและค่าความชื้นสัมพันธ์ Data Logger " Today " รุ่น 8829 ประเทศจีน
7. เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น BA 3100 P ของบริษัท Sartorius ประเทศเยอรมันและแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AB 204-S ของบริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิทเซอร์แลนด์
8. เครื่องวัดสี (Color Meter) รุ่น Color Quest XE ของบริษัท Hunterlab ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. เครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย ขนาด 1 ลิตร
10. เครื่องวัดความเร็วลม Thermoanemometer รุ่น "Testo 445" ประแทศเยอรมัน
11. เตาเผาเถ้า (Muffle Furnace) รุ่น CWF 11/13/20 ยี่ห้อ Carbolite ประเทศอังกฤษ
12. ตู้อบไฟฟ้า (Hot Air Oven) ยี่ห้อ MMM รุ่น Venticel 111 ประเทศ เยอรมัน

3.1.1 เครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ ของ ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ใช้เครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์แบบตั้ง ดังแสดงในรูป 3.1 ขนาดของตู้อบแป็น79*72*132 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งแผงรับพลังงานความร้อนทำจากแผ่นสังกะสีลูกฟูกสีดำนำพลังงานแสงอาทิตย์มาใช้แบบ indirect ภายในเครื่องประกอบด้วยพัดลม 2 ตัว เพื่อช่วยในการดูดลมร้อนเข้าและนำอากาศชื้นออก ไปโดยมีช่องลมเข้าและออกมีตะแกรง 2 ชั้นขนาด 62*54 เซนติเมตร สำหรับบรรจุวัตถุดิบ ดังรูป 3.2 และ 3.3 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.2 เครื่องอบแห้งไฟฟ้าแบบถาด

ใช้เครื่องอบแห้งไฟฟ้าแบบถาดระดับห้องทดลอง (lab scale) ที่ผลิตโดยประเทศอังกฤษ อบแห้งได้ครั้งละ 3 ถาด ถาดที่ใช้เป็นถาดสแตนเลสตัน มีขนาด 18.4*28.3*1.4 เซนติเมตร การไหลของอากาศภายในห้องอบแห้งเป็นแบบทางขวาง คือไหลจากซ้ายไปขวา การปรับระดับอุณหภูมิลมร้อนและความเร็วลม สามารถปรับตั้งได้ด้วยปุ่มปรับระดับอุณหภูมิและปุ่มปรับความเร็วลม ซึ่งอยู่ด้านหน้าเครื่องอบแห้ง ดังรูปที่ 3.4 ซึ่งเป็นการอบแห้งที่อาศัยลมร้อนจากฮีทเตอร์ (heater) ลมร้อนจะไหลผ่านชั้นของถาดที่มีผลิตภัณฑ์บรรจุอยู่เป็นชั้นบางๆ เพื่อให้สัมผัสกับอากาศร้อน แหล่งกำเนิดความร้อนติดตั้งอยู่ด้านข้าง และมีใบพัดในบริเวณใกล้เคียงกับแหล่งกำเนิดความร้อน เพื่อกระจายความร้อนสู่ผลิตภัณฑ์

3.1.3 เครื่องอบแห้งไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน

ใช้เครื่องอบแห้งระบบไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน ดังรูปที่ 3.5 ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรก คือ ส่วนของห้องอบจะเป็นถังรับความดันสูง ขนาดความจุ 200 ลิตร ทำจากสะแตนเลส 304 ซึ่งใช้สำหรับอุตสาหกรรมอาหารโดยจะมีถังพลาสติกขนาดความจุ 125 ลิตร หมุนอยู่ภายใน จะเป็นส่วนที่ใช้ใส่ผลิตภัณฑ์ที่จะทำการอบ ชุดถังอบจะมีชุดยิงพลังงานไมโครเวฟ 6 ชุด พลังงานไมโครเวฟทั้งหมด 4,800 วัตต์ (ชุดละ 800 วัตต์) ซึ่งมีชุดควบคุมการจ่ายพลังงานอยู่ด้านหน้าของเครื่อง ส่วนที่ 2 เป็นส่วนชุดปั๊มสุญญากาศและตัวดักไอน้ำ โดยที่ตัวดักไอน้ำจะเป็นตัวทำให้ประสิทธิภาพของปั๊มไม่ลดลงตามปริมาณของไอน้ำที่ขยายตัว ดังนั้นปั๊มสุญญากาศและตัวดักไอน้ำจึงทำงานไปพร้อมๆกัน เครื่องอบแห้งไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน เป็นการอบแห้งที่สภาวะสุญญากาศประมาณ [(-600) – (-760)] mmHg. เพื่อให้น้ำในผลิตภัณฑ์เกิดการระเหยที่อุณหภูมิ 45 – 65 องศาเซลเซียส โดยใช้พลังงานจากคลื่นไมโครเวฟ ห้องอบแห้งเป็นทรงกระบอก และมีท่อนำคลื่นไมโครเวฟต่ออยู่ด้านข้างของผนังถัง เพื่อนำคลื่นไมโครเวฟจากแหล่งกำเนิด (แมกนิตรอน) มาสู่บริเวณภายในห้องอบมีถังหมุน (ถังพลาสติก) ซึ่งมีใบกวาดเป็นครีบอยู่ภายใน ทำหน้าที่พาผลิตภัณฑ์ขึ้นไปแล้วปล่อยให้ตกอย่างอิสระ ทำให้ผลิตภัณฑ์ได้รับพลังงานไมโครเวฟอย่างทั่วถึง และไอน้ำที่ระเหยออกมาจากผลิตภัณฑ์ สามารถเคลื่อนที่ออกไปได้สะดวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 3.1 เครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ที่พัฒนาขึ้นโดย ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รูปที่ 3.2 ลักษณะภายในเครื่อง (ช่องลมเข้าและออก) ของเครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 3.3 ลักษณะตะแกรงที่ใช้ในการอบแห้งพืชสมุนไพร

รูปที่ 3.4 เครื่องอบแห้งไฟฟ้าแบบถาด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 3.5 เครื่องอบแห้งไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน

3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย

ดำเนินงานวิจัยในช่วงเดือน มีนาคม ถึงเดือน พฤษภาคม อบพืชสมุนไพร 3 ชนิดคือ เปปเปอร์มิ้นท์ ยูเอสเอมิ้นท์ และเลมอนไทม์ โดยทำการอบแห้งพืชสมุนไพรจนมีความชื้นต่ำกว่าหรือเท่ากับ 7 % (มาตรฐานเปียก) ตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.) การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ตอน ดังนี้

3.2.1 ตอนที่ 1 ศึกษาการอบพืชสมุนไพร 3 ชนิด ด้วยเครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์และทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพหลังการอบได้แก่

ความเร็วลม 2 ระดับ คือ 1.5 และ 1.8 เมตรต่อวินาที และ น้ำหนักต่อพื้นที่ คือ 2068 และ 2585 กรัมต่อตารางเมตร

วางแผนการทดลองแบบ 2^2 แฟคทอเรียลในบล็อกสมบูรณ์ (Factorial in Design) โดยใช้ความเร็วลมในการอบเป็น 2 ระดับ คือ 1.5 และ 1.8 เมตรต่อวินาที ปริมาณพืชสมุนไพรเป็น 2068 และ 2585 กรัมต่อตารางเมตร ทำการทดลอง 2 ซ้ำ พืชสมุนไพรของโครงการหลวงที่ใช้ทดลอง คือ ยูเอสเอมิ้นท์ เปปเปอร์มิ้นท์ และ เลมอนไทม์ โดยตะแกรงในแต่ละชั้นจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ทำการจัดวางตัวอย่างภายในเครื่องอบดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การอบแห้งด้วยความเร็วลม 1.5 เมตรต่อวินาที

ตะแกรงชั้นบน วางน้ำหนัก 400 กรัมไว้ด้านในและวางน้ำหนัก 500 กรัม ไว้ด้านนอกของตะแกรง

ตะแกรงชั้นล่าง วางน้ำหนัก 500 กรัมไว้ด้านในและวางน้ำหนัก 400 กรัม ไว้ด้านนอกของตะแกรง

2. การอบแห้งด้วยความเร็วลม 1.8 เมตรต่อวินาที

ตะแกรงชั้นบน วางน้ำหนัก 400 กรัมไว้ด้านในและวางน้ำหนัก 500 กรัม ไว้ด้านนอกของตะแกรง

ตะแกรงชั้นล่าง วางน้ำหนัก 500 กรัมไว้ด้านในและวางน้ำหนัก 400 กรัม ไว้ด้านนอกของตะแกรง

วิธีการทดลอง

1. นำสมุนไพรมาคัดแยกสิ่งปลอมปนออก
2. ตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบ
3. นำไปล้างทำความสะอาดแล้วนำไปแช่สารละลายคลอรีนในรูปของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 % เป็นเวลา 5 นาที ทำให้สะเด็ดน้ำ (ธีรศักดิ์, 2545)
4. ตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบหลังการล้างทำความสะอาด
5. นำเข้าเครื่องอบโดยเกลี่ยเป็นชั้นบางทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจหาความชื้นทุกชั่วโมงตั้งแต่เริ่มอบจนมีความชื้นต่ำกว่าหรือประมาณ 7 %
6. ตรวจสอบคุณภาพหลังการอบ

3.2.2 ตอนที่ 2 ศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพหลังการอบ โดยใช้เครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์เปรียบเทียบกับเครื่องอบแห้ง 2 ชนิดได้แก่

3.2.2.1 เครื่องอบแห้งไฟฟ้าแบบถาด

วางแผนการทดลองเป็นแบบ สุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยใช้ความเร็วลม 2 ระดับ คือ 1.5 และ 1.8 เมตรต่อวินาที ทำการทดลอง 2 ซ้ำ อุณหภูมิที่ใช้ในการอบ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณพืชสมุนไพรที่ใช้ 135 กรัม หรือ 2585 กรัมต่อตารางเมตร

วิธีการทดลอง

1. นำสมุนไพรมาคัดแยกสิ่งปลอมปนออก
2. ตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. นำไปล้างทำความสะอาดแล้วนำไปแช่สารละลายคลอรีนในรูปของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 % เป็นเวลา 5 นาที ทำให้สะเด็ดน้ำ (ธีรศักดิ์, 2545)

4. ตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบหลังการล้างทำความสะอาด

5. นำเข้าเครื่องอบโดยเกลี่ยจนเต็มพื้นที่ถาดพื้นเรียบขนาด 18.4*28.3*1.4 เซนติเมตร

6. ทำการบันทึกน้ำหนักของพืชสมุนไพรที่ลดลง ติดตามได้จากเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 1 ตำแหน่ง อ่านค่าน้ำหนักทุก 10 นาที ตลอดระยะเวลาในการอบแห้ง

7. ตรวจสอบคุณภาพหลังการอบ

3.2.2.2 เครื่องอบแห้งไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน

การอบแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งระบบไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุนนั้น ใช้ปริมาณพืชสมุนไพรในการอบพืชละ 1800 กรัม ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้ชุดยิงพลังงานไมโครเวฟ 6 ชุด ที่กำลัง 100% โดยใช้อุณหภูมิสุดท้ายที่ในการอบที่ 50 องศาเซลเซียส เครื่องอบแห้งประเภทนี้ไม่สามารถคุมอุณหภูมิและความดันให้คงที่ได้ พืชสมุนไพรของโครงการหลวงที่ใช้ทดลอง คือ ยูเอสเอมิ้นท์ เปปเปอร์มิ้นท์ และ เลมอนไทม์

วิธีการทดลอง

1. นำสมุนไพรมาคัดแยกสิ่งปลอมปนออก

2. ตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบ

3. นำไปล้างทำความสะอาดแล้วนำไปแช่สารละลายคลอรีนในรูปของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 % เป็นเวลา 5 นาที ทำให้สะเด็ดน้ำ (ธีรศักดิ์, 2545)

4. ตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบหลังการทำความสะอาด

5. นำเข้าเครื่องอบโดยนำพืชสมุนไพรใส่ในถัง น้ำหนักที่ใช้ในการอบแห้งครั้งละ 1800 กรัม

6. ทำการบันทึกเวลาที่ใช้ในการอบแห้งเมื่อสิ้นสุดการอบ

7. ตรวจสอบคุณภาพหลังการอบ

ทดลองอบแห้งสมุนไพรโดยใช้เครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์เปรียบเทียบกับเครื่องอบแห้งระบบไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุนและเปรียบเทียบกับเครื่องอบแห้งไฟฟ้าแบบถาด ในแง่ของคุณภาพของสมุนไพรหลังการอบและเก็บข้อมูลต่างๆดังนี้

การตรวจสอบคุณภาพโดยทำการวิเคราะห์ทางด้านต่าง ๆ ดังนี้ คือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. ทางด้านกายภาพ

1.1 ตรวจหาความชื้นของสมุนไพรก่อนอบและหลังอบ โดยใช้ตู้อบไฟฟ้า

1. สุ่มตัวอย่างสมุนไพร 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 5 กรัม
2. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ (AOAC, 1998)
3. ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ไม่น้อยกว่า 20 นาที
4. นำมาชั่งน้ำหนัก และคำนวณหาค่าความชื้น

1.2 ตรวจวัดสี ของสมุนไพรโดยใช้เครื่องวัดสี

สุ่มตัวอย่างสมุนไพรแล้วใส่ลงใน Cell จนเต็ม นำไปวัดค่าสีด้วยเครื่อง วัดสี ทำการวัด 3 ซ้ำโดยวัดทั้งด้านหน้าและด้านหลังของ Cell ค่าที่ได้จะแสดงออกมาเป็นค่า L*value, a*, b*และ h^0

โดยค่า L*value = The lightness factor (value)

a*, b* = The chromaticity coordinates (hue, chroma)

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า chroma (C*) จากสมการดังนี้(McGuire, 1992)

$$chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

และทำการคำนวณหาค่า hue angle (h^0) ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0 – 360 องศา

$$h^0 = \text{hue angle} = \text{arctangent } b^* / a^*$$

เมื่อ ค่า L*value ใช้กำหนดค่าความสว่างหรือความมืด โดยเมื่อ L*value มีค่าเป็น 0 จะแสดงถึงสีดำและเมื่อ L* มีค่า 100 จะแสดงถึงสีสว่างสีสุด (สีขาว)

ค่า a* ใช้กำหนดสีแดงหรือสีเขียว

โดยเมื่อ a* มีค่าเป็น + จะแสดงถึงสีแดง

โดยเมื่อ a* มีค่าเป็น - จะแสดงถึงสีเขียว

โดยค่า a* มีค่าอยู่ในช่วง – 60 ถึง + 60

ค่า b* ใช้กำหนดสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน

โดยเมื่อ b* มีค่าเป็น + จะแสดงถึงสีเหลือง

โดยเมื่อ b* มีค่าเป็น - จะแสดงถึงสีน้ำเงิน

โดยค่า b* มีค่าอยู่ในช่วง – 60 ถึง + 60

ค่า C* มีค่าเท่ากับศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีเทา หากมีค่าเพิ่มมากขึ้น สีของวัตถุมีความเข้มมากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่า h^0 มีค่าเข้าใกล้มุม 90 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง (+b) หากมีค่าเข้าใกล้ 180 องศา สีของวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว (-a)

1.3.ตรวจวัดค่า Water Activity (A_w)

นำสมุนไพรมาบดพอละเอียด แล้วสุ่มตัวอย่างสมุนไพรแห้งบด ลงในกล่องพลาสติกสำหรับใช้วัดค่า A_w โดยทำ 3 ซ้ำ ในแต่ละการทดลอง

2. ทางด้านเคมี

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000)

ชั่งตัวอย่างสมุนไพรให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 2-3 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ผ่านการเผาและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว นำไปเผาโดยใช้ตะเกียงบุนเซนจนไม่มีควัน จากนั้นนำไปเผาต่อในเตาเผา (muffle furnace) อุณหภูมิประมาณ 500 องศาเซลเซียสจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว นำไปทำให้เย็นลงในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักเถ้าแล้วคำนวณหาปริมาณเถ้า ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ซ้ำ แล้วนำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ย

2.2 การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย

นำพืชสมุนไพรมาล้างด้วยน้ำสะอาด คัดเลือกส่วนที่เน่าเสียหรือสิ่งปนเปื้อนออก หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อเสริมประสิทธิภาพในการกลั่นแล้วนำไปทำการกลั่นโดยเร็วเพื่อลดการสูญเสียน้ำมันหอมระเหยการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะใช้วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ด้วยเครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย เวลาที่ใช้ในการกลั่นจะใช้เวลาโดยประมาณ 5 ชั่วโมง น้ำมันหอมระเหยและไอน้ำจะกลั่นตัวลงใน condensing chamber เก็บน้ำมันหอมระเหยที่ได้ใส่ในขวดสีชาเพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพเนื่องจากแสงแดด ความร้อน พืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการกลั่นจะเป็นทั้งสดและแห้งโดยพืชสมุนไพรสดจะใช้ 100 กรัม และแห้งใช้ 50 กรัม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3. ทางจุลชีววิทยา

3.1. การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC (2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.จานเพาะเชื้อ (petri dish)

2.ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร

3.หลอดทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

5.ตู้บ่มเชื้อ

6.หม้อนึ่งความดัน

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

1.อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar

2.สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนเดือด

2.นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 - 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ในหม้อนึ่งความดัน

วิธีวิเคราะห์

1.ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อ โดยการลนไฟและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ คีบตัวอย่างสมุนไพรมาผสมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 10 กรัม ใส่ในถุงตีบด (stomacher bag) ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 90 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีบดด้วยเครื่องตีบดอาหาร (stomacher) เป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

2.เขย่าให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10(10^{-1})ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแบบหมุนวน (vortex) จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

3.ทำให้อาหารตัวอย่างมีความเจือจาง 1:1000 (10^{-3}) ด้วยวิธีตามข้อ 1.2

การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางต่างๆ ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากระดับความเข้มข้นที่เจือจางสุด

2.เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่กำลังหลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างโดยใส่ลงในจานละประมาณ 15 - 20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 1-2 นาทีหลังจากที่ใส่ตัวอย่างลงไปแล้ว

3.ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัวจึงคว่ำจานเพาะเชื้อลง

4.ทำตัวอย่างควบคุม โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่างอาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การบ่มเชื้อ

บ่มจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้เสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับโคโลนีบนบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 100 – 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้งสองจานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม

3.2 การหาปริมาณยีสต์และรา ตามวิธีของ AOAC (2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.จานเพาะเชื้อ (petri dish)

2.ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร

3.หลอดทดลอง

4.อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

5.ตู้บ่มเชื้อ

6.หม้อนึ่งความดัน

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

1.อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar

2.สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

3.สารละลายกรดทาร์ทาริก ความเข้มข้นร้อยละ 10

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนเดือด

2.นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 - 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ในหม้อนึ่งความดัน

3.ปรับอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวให้มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 3.5 ด้วยสารละลายกรดทาร์ทาริก ความเข้มข้น 10 โดยมีอัตราส่วน อาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ต่อ สารละลายกรดทาร์ทาริก 1.8 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1.ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อ โดยการลนไฟและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ คีบตัวอย่างสมุนไพรมาผสมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 10 กรัม ใส่ในถุงตีบด (stomacher bag) ที่มีสารละลายบัฟ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เฟอร์เปปโตน 90 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีบดด้วยเครื่องตีบดอาหาร (stomacher) เป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

2.เขย่าให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10(10^{-1})ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแบบหมุนวน (vortex) จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

3.ทำให้อาหารตัวอย่างมีความเจือจาง 1:1000 (10^{-3}) ด้วยวิธีตามข้อ 1.2

การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางต่างๆ ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากระดับความเข้มข้นที่เจือจางสุด

2.เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar ที่กำลังหลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง โดยใส่ลงในจานละประมาณ 15 - 20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 1-2 นาที หลังจากที่ใส่ตัวอย่างลงไปแล้ว

3.ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัวจึงคว่ำจานเพาะเชื้อลง

4.ทำตัวอย่างควบคุม โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่างอาหาร

การบ่มเชื้อ

บ่มจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้เสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 100 – 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้งสองจานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม

3.3 การหาปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไล (Coliform and *Esherichia coli*) โดยวิธี MPN (Most Probable Number Method) ตามวิธีของ AOAC (2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.จานเพาะเชื้อ (petri dish)

2.ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.หลอดทดลอง

4.อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

5.ตู้บ่มเชื้อ

6.หม้อนึ่งความดัน

7.หลอดทดลอง (test tube) พร้อมหลดดักก๊าซ (durham tube)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

1.อาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulphate Broth

2.สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

3.อาหารเลี้ยงเชื้อ Brillant Green Lactose Bile Broth

วิธีวิเคราะห์

1.ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อ โดยการลนไฟและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ คีบตัวอย่างสมุนไพรมาผสมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 10 กรัม ใส่ในถุงตีบด (stomacher bag) ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 90 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีบดด้วยเครื่องตีบดอาหาร (stomacher) เป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

2.เขย่าให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10(10^{-1})ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแบบหมุนวน (vortex) จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

3.ทำให้อาหารตัวอย่างมีความเจือจาง 1:1000 (10^{-3}) ด้วยวิธีตามข้อ 1.2

การวิเคราะห์แบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคโลฟอร์ม (Presumptive Coliforms)

1.ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างที่ระดับเจือจางต่างๆลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulphate Broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด ชุดละ 5 หลอด

ชุดที่ 1 ปิเปตตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 5 หลอด

ชุดที่ 2 ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 5 หลอด

ชุดที่ 3 ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 5 หลอด

2.บ่มหลอดเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หากหลอดทดลองใดมีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ แสดงว่าให้ผลเป็นบวก (positive) ซึ่งคาดว่าจะมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อจุลินทรีย์ชนิดโคลิฟอร์มเจริญอยู่ในตัวอย่างนั้น ถ้าไม่พบก๊าซในหลอดทดลองใดเลย แสดงว่าให้ผลลบ (negative)และไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดโคลิฟอร์มเจริญอยู่ในตัวอย่าง

3.การรายงานจำนวนโคลิฟอร์มในตัวอย่างที่เกิดก๊าซขึ้น ให้เปิดตารางแมคคราดีแล้วรายงานเป็นจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียต่อตัวอย่าง 1 กรัม

การยืนยันโคลิฟอร์ม

1.ใช้ห่วง (loop) เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลบวก (positive) จากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue Agar ในจานเพาะเชื้อ

2.บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.ตรวจหาโคลิฟอร์มที่เป็นลักษณะเฉพาะของโคลิฟอร์ม โดยโคโลนีของโคลิฟอร์มจะมีสีดำหรือมีสีดำตรงกลางล้อมรอบด้วยบริเวณที่โปร่งใสไม่มีสี โคลิฟอร์มบางโคโลนีมีลักษณะนูนเปียกเยิ้ม (mucoid)

4.บันทึกจำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชุดที่มีเชื้อจุลินทรีย์โคลิฟอร์มที่ได้รับการยืนยันแล้ว

การวิเคราะห์แบคทีเรียที่คาดว่าเป็น *E.coli*

1.ใช้เข็มเขี่ยเขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลบวก (positive) จากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Brillant Green Lactose Bile Broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อต้องปรับให้มีอุณหภูมิเท่ากับ 44.5 องศาเซสเซียส ก่อนนำไปใช้

2.เขี่ยเชื้อ *E.coli* ซึ่งเป็นเชื้อมาตรฐานลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Brillant Green Lactose Bile Broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร อีก 2 หลอด เพื่อใช้เป็นหลอดควบคุม (control)

3.บ่มหลอดเลี้ยงเชื้อลงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.หลอดทดลองที่มีก๊าซเกิดขึ้นหรือให้ผลบวก (positive) แสดงว่ามีแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็น *E.coli* ให้ทำการวิเคราะห์เพื่อยืนยัน *E.coli*

การวิเคราะห์เพื่อยืนยัน *E.coli*

1.เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลบวก (positive) จากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็น *E.coli* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue Agar ในจานเพาะเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 -24 ชั่วโมง

3.เลือกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *E.coli* ซึ่งมีสีน้ำเงินอมดำตรงกลางและมีสีเลื่อมมันอมเขียวสะท้อนแสงโดยบางครั้งสีเหลี่ยมมันอาจไม่ปรากฏ เขี่ยเชื้อครั้งละ 1 โคโลเวลา 24 ชั่วโมงนึลงในน้ำทริปโตน (Tryptone Water)แล้วบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส เป็น

4.เขี่ยเชื้อ *E.coli* มาตรฐานในหลอดน้ำทริปโตนเพื่อเป็นตัวอย่างควบคุม

5.ทดสอบสารอินโดล หลอดทดลองที่มีอินโดลเกิดขึ้น แสดงว่าเป็นเชื้อ *E.coli* จากนั้นบันทึกจำนวนหลอดทดลองที่ให้ผลบวก (positive)

6.คำนวณและรายงานค่า MPN ของ Coliform และ *E.coli* ในตัวอย่างสมุนไพร

3.2.3 ตอนที่ 3ศึกษาคำนวณค่าพลังงานการใช้ไฟฟ้าของเครื่องอบแห้งแต่ละชนิด

คำนวณค่าพลังงานไฟฟ้า ของการอบแห้งพืชสมุนไพร เปปเปอร์มิ้นท์ ยูเอสเอมิ้นท์ และเลมอนไทม์

3.2.3.1 เครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์

คำนวณการใช้พลังงานจากขนาดกำลังไฟฟ้าของพัดลมตัวละ 0.05 kWโดยใช้พัดลม 2 ตัว ค่าพลังงานไฟฟ้าต่อยูนิต เท่ากับ 2.4649 บาท ปริมาณพืชสมุนไพรที่ใช้คือ 1800 กรัม

ค่าพลังงานไฟฟ้าหาได้จากสูตร

ค่าพลังงานไฟฟ้า = ขนาดกำลังไฟฟ้าของพัดลม (kW) * ชั่วโมงการทำงาน*ราคาต่อหน่วย (บาท)*จำนวนพัดลม (ตัว)

3.2.3.2 เครื่องอบแห้งไฟฟ้าแบบถาด

วัดค่าพลังงานไฟฟ้าโดยวัดกระแสของเครื่องอบแห้งไฟฟ้าแบบถาด โดยใช้เครื่อง Digital Clamp Meter ค่าพลังงานไฟฟ้าต่อยูนิต เท่ากับ 2.4649 บาท ปริมาณพืชสมุนไพรที่ใช้คือ 135 กรัม

ค่าพลังงานไฟฟ้าหาได้จากสูตร

ค่าพลังงานไฟฟ้า = การใช้ไฟฟ้าเฉลี่ยต่อชั่วโมง* ชั่วโมงการทำงาน*ราคาต่อหน่วย (บาท)*จำนวนเท่าของน้ำหนัก (เทียบกับเครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.3.3 เครื่องอบแห้งไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน

วัดค่าพลังงานไฟฟ้าโดยวัดกระแสของเครื่องอบแห้งไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน โดยใช้เครื่อง Digital Clamp Meter ค่าพลังงานไฟฟ้าต่อยูนิต เท่ากับ 2.4649 บาท ปริมาณพืชสมุนไพรที่ใช้คือ 1800 กรัม

ค่าพลังงานไฟฟ้าหาได้จากสูตร

ค่าพลังงานไฟฟ้า = การใช้ไฟฟ้าเฉลี่ยต่อชั่วโมง* ชั่วโมงการทำงาน*ราคาต่อหน่วย (บาท)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved