บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ
   - บัวบก (จากตลาดเมืองใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่)
   - น้ำสะอาด (น้ำดื่มวังน้ำค้าง)
2. อุปกรณ์และเครื่องมือในการทดลอง
   - เครื่องปั่น (ยี่ห้อ Moulinex)
   - ผ้าขาวบาง
   - บีกเกอร์
   - ขวดพลาสติก
   - กระบอกตวง
   - เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
   - หม้อสแตนเลส
   - เตาแก๊ส
   - เครื่องโอห์มิก ฮีทติ้ง (ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)
   - คอมพิวเตอร์ (Acer : model 4315, Chinese Taipei)
   - บีกเกอร์
   - ขวดรูปชมพู่
   - ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง
   - หลอดทดลองขนาด 16 x 100 มิลลิเมตร
   - จานเพาะเลี้ยงเชื้อ
   - หลอดดักก๊าซ
   - ฝาปิดหลอดทลอง
   - ตะแกรงสำหรับใส่หลอดทดลอง
   - ขวดแก้วขนาด 250 และ 500 ml

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- ไมโครปิเปต
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- เครื่องวัดสี (Minolta, Model CR300: Japan)
- เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Refractometer)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Consort® : C830T, Belgium)
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave, Thailand)
- Anaerobic jar

3. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- Plate count agar (Merck, Germany)
- Lauryl tryptose broth (Merck, Germany)
- Brilliant green lactose bile broth, 2% (Merck, Germany)
- Levine's eosin-methylene blue agar (Merck, Germany)
- Baird-Parker medium (Merck, Germany)
- Brain heart infusion broth (Merck, Germany)
- Tryptose-sulfite-cycloserine agar (Merck, Germany)
- Potato dextrose agar (Merck, Germany)
- Maximum Recovery Diluent (Oxoid, England)
- Egg yolk
- Tartaric acid, 10% (Merck, Germany)
- Gram stain reagents
- Coagulase plasma (rabbit) with EDTA
- Anaerobic gas pack (Merck, Germany)

4. ส่วนประกอบของอุปกรณ์ให้ความร้อนแบบโอห์มิก

อุปกรณ์ให้ความร้อนแบบโอห์มิก (ภาพ 3.1) ประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ ดังนี้

1. Thermocouple ทำหน้าที่เป็นตัววัดอุณหภูมิใน Heating Chamber
2. Heating chamber ทำหน้าที่เป็นส่วนให้ความร้อนแก่ตัวอย่างอาหาร โดยผ่าน electrode ที่มีขนาด 4.4 x 4.5 เซนติเมตร ทำจาก stainless steel

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. Temperature control ทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิใน heating chamber และแสดงอุณหภูมิใน heating chamber อุณหภูมิที่ตั้งค่า รวมทั้งค่าทางไฟฟ้าของอุปกรณ์ โดยการควบคุมและบันทึกผลตัวแปรจะผ่านเครื่องคอมพิวเตอร์

4. Main witch ทำหน้าที่ปิด-เปิดเพื่อให้กำลังไฟฟ้าแก่อุปกรณ์ให้ความร้อนแบบโอห์มิก

5. Voltage regulator ทำหน้าที่ควบคุมระดับความต่างศักย์ไฟฟ้าไฟฟ้าที่ให้แก่อุปกรณ์ให้ความร้อนแบบโอห์มิก

6. Cooling chamber ทำหน้าที่ลดอุณหภูมิของตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนจากส่วนของ heating chamber

ภาพ 3.1 ส่วนประกอบของอุปกรณ์ให้ความร้อนแบบโอห์มิก

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1. การเตรียมน้ำบัวบก

นำลำต้นและใบของบัวบกปริมาณ 200 กรัม มาล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง จากนั้นนำไปผสมกับน้ำที่ผ่านการต้มให้เดือดแล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 300 มิลลิลิตร และนำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น ด้วยความเร็วสูงสุด นาน 1–2 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น โดยจะนำส่วนที่เป็นน้ำบัวบกที่กรองได้ประมาณ 300 มิลลิลิตรมาผสมกับน้ำต้มสุกปริมาตร 700 มิลลิลิตร จะได้น้ำบัวบกปริมาตรรวม 1,000 มิลลิลิตร (ยุวดี, 2540)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.2. การศึกษาผลของความต่างศักย์ไฟฟ้าไฟฟ้าและอุณหภูมิที่ตั้งค่าต่อความเสถียรของอุณหภูมิของน้ำบัวบกในส่วนให้ความร้อนของอุปกรณ์ให้ความร้อนแบบโอห์มิก

นำน้ำบัวบกที่ได้มาจากการเตรียมตามข้อ 3.2.1 มาผ่านการให้ความร้อนแบบโอห์มิก โดยจะทำการผันแปรค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าไฟฟ้าไว้ 3 ระดับ คือ 100, 150 และ 200 โวลต์ และผันแปรอุณหภูมิที่แต่ละความต่างศักย์ไฟฟ้าไฟฟ้า 3 อุณหภูมิ คือ 60, 70 และ 80 °C โดยที่แต่ละอุณหภูมิทำการคงอุณหภูมิ (holding) นาน 20 นาที และทำการบันทึกค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า เวลา และอุณหภูมิด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ ทุก 1 วินาที

วางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ข้อมูลการทดลองที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทดสอบโดยวิธี Duncan New Multiple Rank Test (DNMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.2.3. การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการพาสเจอไรซ์น้ำบัวบกโดยการให้ความร้อนแบบโอห์มิก

นำน้ำบัวบกที่ได้มาจากการเตรียมตามข้อ 3.2.1 มาผ่านการให้ความร้อนด้วยอุปกรณ์ให้ความร้อนแบบโอห์มิก โดยทำการผันแปรอุณหภูมิไว้ 3 อุณหภูมิ คือ 60, 70 และ 80 °C โดยทำการผันแปรเวลาในการคงอุณหภูมิที่แต่ละอุณหภูมิ 3 ระดับเช่นกัน คือ 10, 20 และ 30 นาที ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าไฟฟ้าที่ทำให้อุณหภูมิในส่วนให้ความร้อนของอุปกรณ์ให้ความร้อนแบบโอห์มิกมีความเสถียรมากที่สุดตามผลการศึกษาในข้อ 3.2.2. ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนที่แต่ละอุณหภูมิและเวลาในการคงอุณหภูมิ จะถูกนำมาวิเคราะห์สมบัติทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา โดยจะทำการเปรียบเทียบสมบัติดังกล่าวกับตัวอย่างน้ำบัวบกที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการทางความร้อน (ตัวอย่างควบคุม) ดังต่อไปนี้ คือ

สมบัติทางกายภาพ

- ค่าสี (color) (Minolta : Model CR300)

สมบัติทางเคมี

- ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Refractometer)
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Consort® : C830T)

สมบัติทางจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) (BAM 2001)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- *S. aureus* (BAM 2001)
- *C. perfringens* (BAM 2001)
- Coliform และ *E. coli* (BAM 2002)
- ปริมาณยีสต์และรา (yeast and mold) (BAM 2001)

วางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in CRD ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ข้อมูลการทดลองที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทดสอบโดยวิธี Duncan New Multiple Rank Test (DNMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.2.4.การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางจุลชีววิทยาของน้ำบัวบกที่ผ่านการให้ความร้อนแบบโอห์มิกในระหว่างการเก็บรักษานาน 4 สัปดาห์

นำน้ำบัวบกที่ผ่านการให้ความร้อนแบบโอห์มิกจากข้อ 3.2.4. มาเก็บรักษาในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 ^{o}C เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ โดยจะทำการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราตามวิธีเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.3 ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 ของการเก็บรักษา

วางแผนการทดลองแบบ The Randomized Complete Block Design (RCBD) นำข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทดสอบโดยวิธี DNMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.2.5. การศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลและอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของน้ำบัวบกที่ผ่านการให้ความร้อนแบบโอห์มิก

ทำการเตรียมน้ำบัวบกตามข้อ 3.2.1 โดยจะทำการผันแปรปริมาณน้ำตาล 3 ระดับ คือ ปริมาณน้ำตาล 0, 10 และ 15 % (w/v) จากนั้นนำมาผ่านการให้ความร้อนแบบโอห์มิก ซึ่งจะทำการผันแปรอุณหภูมิ 3 อุณหภูมิเช่นกัน คือ 60, 70 และ 80 ^{o}C โดยจะคงอุณหภูมิที่ผันแปรเป็นเวลานาน 30 นาทีทุกอุณหภูมิ โดยจะเลือกค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าจากผลการทดลองข้อ 3.2.2. ที่ทำให้อุณหภูมิของน้ำบัวบกมีความเสถียรมากที่สุด ตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิแต่ละอุณหภูมิและคงอุณหภูมิตามระยะเวลาที่กำหนด จะถูกนำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี โดยเครื่องวัดสี (Minolta : Model CR300)

วางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in CRD ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ข้อมูลการทดลองที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทดสอบโดยวิธี DNMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved