บทที่ 4
การดำเนินการทดลอง

การดำเนินการทดลองเพื่อศึกษาเงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับการใช้ก๊าซโอโซนที่ผลิตจากเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซนแบบ Corona Type ในครั้งนี้สามารถสรุปได้ดังนี้

1. การจัดเตรียมการทดลอง
2. การดำเนินการทดลองตามแบบแผนการทดลอง

ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

การจัดเตรียมการทดลอง

1. การเลือกวิธีการตรวจสอบจุลินทรีย์ในอากาศ

เนื่องจากในการวิจัยครั้งนี้ เป็นการทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับการผลิตก๊าซโอโซนจากเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซนแบบ Corona Type เพื่อใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจะทำการวัดผลการตอบสนองจากเปอร์เซนต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ โดยวิธีตรวจสอบจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศที่ใช้กันอยู่ทั่วไป ตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตยา (Good Manufacturing Products, GMP) และทางจุลชีววิทยามี 2 วิธี คือ

1. <u>การวางจานเพาะเชื้อ</u>

วิธีนี้จะทำโดยวางจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อตามจุดต่างๆของห้องที่ต้องการตรวจสอบ โดยจะเปลี่ยนจานเพาะเชื้อทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 1 อาทิตย์ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 32 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 - 4 วัน นับปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นแล้วนำมาคำนวณปริมาณจุลินทรีย์ที่ตกลงมาต่อ 1 ลูกบาศก์เมตรต่อนาที หรือต่อ 1 ตารางฟุตต่อนาที

2. <u>การเก็บตัวอย่างอากาศ</u>

วิธีนี้จะทำโดยดูดอากาศด้วยเครื่องดูดอากาศที่ทราบปริมาตรอากาศที่ดูดเข้าไปผ่านแผ่นกรอง (ได้แก่ Gelatin Filter Membrane) ที่สามารถกรองเชื้อจุลินทรีย์ได้ นำแผ่นกรองนั้นมาวางบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 32 - 37 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 1- 4 วัน นับปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ลอยอยู่ในอากาศต่อ 1 ลูกบาศก์เมตร

ซึ่งวิธีที่เหมาะสมสำหรับในงานวิจัยครั้งนี้ คือ การใช้วิธีวางจานเพาะเชื้อ เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก อุปกรณ์การทดลองหาง่ายและมีราคาถูก และผลการตรวจสอบเป็นที่ยอมรับในวงการเภสัชกรรมและจุลชีววิทยา และได้มีการเปลี่ยนแปลงวิธีการบางอย่างเพื่อให้สอดคล้องกับแบบแผนการทดลองและบรรลุจุดประสงค์ของการวิจัย

ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการทดลองในครั้งนี้มี 2 ชนิด คือ

1. ซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar) ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะเชื้อรา

2. บลัด อาการ์ เบส (Blood Agar Base) เป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์เหมาะสำหรับจุลินทรีย์ทุกชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียและไวรัส

2. การเตรียมอาหารเพาะเชื้อ

ซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar)

1. นำจานเพาะเชื้อที่สะอาด ปิดผนึกให้แน่น แล้วนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการสเตอริไลเซชั่น (Sterilization) ด้วยเครื่องออโตเคลฟ (Autoclave) เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว (121 °C) จะได้จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 40 °C แล้วจึงสามารถนำไปใช้บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อได้

2. ผสมซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar) กับน้ำกลั่นหรือ น้ำที่ปราศจากไอออน (Deionized Water) ในอัตรา 65 กรัมต่อ 1 ลิตร สำหรับการเตรียมวุ้นเพาะเชื้อ จำนวน 50-65 ถาด (ถาดเพาะเชื้อ 1 ถาด บรรจุวุ้นเพาะเชื้อได้ 15-20 ลบ.ซม.) ถ้าต้องการจำนวนน้อยกว่านี้ สามารถลดลงได้ตามอัตราส่วนข้างต้น การผสมนี้ทำในขวดเตรียมที่ได้ผ่านการทำลายจุลินทรีย์มาแล้วเช่นเดียวกัน

3. นำขวดเตรียมไปอุ่นจนเดือดบนเตาไฟฟ้า และ กวนจนสารละลายซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar) จนละลายเป็นเนื้อเดียวกันหมดแล้วนำออกมาตั้งทิ้งไว้เพื่อระบายความร้อนจนพออุ่น ปิดฝาให้แน่นสนิทแล้วนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการสเตอริไลเซชั่น เช่นเดียวกับในข้อ 1.

4. นำสารละลายซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar) ไปบรรจุลงถาดเพาะเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ ซึ่งจะต้องทำการเปิดฝาขวดและลนปากขวดด้วยเปลวไฟจาก

ตะเกียงแอลกอฮอล์เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ แล้วเปิดฝาของจานเพาะเชื้อ จากนั้น เทสารละลายซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar) ลงในถาดเพาะเชื้อ โดยระดับของสารละลายสูงประมาณครึ่งหนึ่งของความสูงภายในจานเพาะเชื้อทั้งหมด ซึ่งจะทำให้ได้ปริมาณของสารละลายประมาณ 15-20 ลบ.ซม. แล้วปิดฝาจานเพาะเชื้อ และปิดฝาขวดตามเดิม ทำการลนปากขวดด้วยเปลวไฟทุกครั้งก่อนที่จะเปิดออกเท ซึ่งในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นนี้จะต้องทำอย่างรวดเร็วและต้องระมัดระวังให้เกิดฟองอากาศน้อยที่สุด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งในขวดเตรียมและจานเลี้ยงเชื้อด้วย และต้องระมัดระวังไม่ให้สารละลายซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar) แข็งตัวเป็นวุ้นอยู่ในขวดเตรียม เพราะจะต้องใช้เวลาในการอุ่นนานมากในการที่จะทำให้วุ้นนั้นอ่อนตัวกลายเป็นสารละลายซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar)อีกครั้ง ดังนั้นจึงควรบรรจุในขณะที่สารละลายยังอุ่น ๆ อยู่ (50-60°C) สำหรับชุดสวมใส่ของผู้บรรจุต้องสะอาด และเป็นชุดสวมใส่ในห้องปฏิบัติการที่สะอาดเท่านั้น ซึ่งประกอบด้วย เสื้อกาวน์ ผ้าคลุมผม ผ้ากรองอากาศที่จมูก รองเท้า และควรใส่ถุงมือยางด้วย

5. นำอาหารเลี้ยงเชื้อในจานเลี้ยงเชื้อแข็งที่ตัวดีแล้วออกจากตู้ปลอดเชื้อแล้วนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ซึ่งจะทำให้สามารถใช้งานได้นานถึง 1 เดือน โดยการเก็บรักษาในตู้เย็นนั้นจะต้องเก็บในลักษณะที่คว่ำจานเลี้ยงเชื้อให้ส่วนล่างของจานเลี้ยงเชื้อกลับขึ้นมาอยู่ด้านบน และส่วนบนไปอยู่ด้านล่างของจานเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้จะต้องวางจานเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในแนวระดับห้ามเอียงเด็ดขาด และต้องทำการสุ่มตัวอย่างประมาณ 1-2 ถาดเพื่อเป็นการทดสอบว่าปราศจากเชื้อจุลินทรีย์จริงหรือไม่ โดยนำไปบ่มเชื้อในตู้อบที่อุณหภูมิ 35-37 °C เป็นเวลา 1 คืน และจะสามารถนำจานเลี้ยงเชื้อชุดนั้นๆไปใช้ในการทดลองต่อไปได้ ถ้าไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อใดๆในถาดเพาะเชื้อดังกล่าว แต่ถ้าพบว่ามีเชื้อขึ้นแม้เพียงเล็กน้อย แสดงว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้นั้นใช้ไม่ได้และจะต้องเตรียมใหม่ทั้งหมด

<u>บลัด อาการ์ เบส(Blood Agar Base)</u>

1. นำจานเพาะเชื้อที่สะอาด ปิดผนึกให้แน่น แล้วนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการสเตอริไลเซชั่น (Sterilization) เช่นเดียวกับซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar)

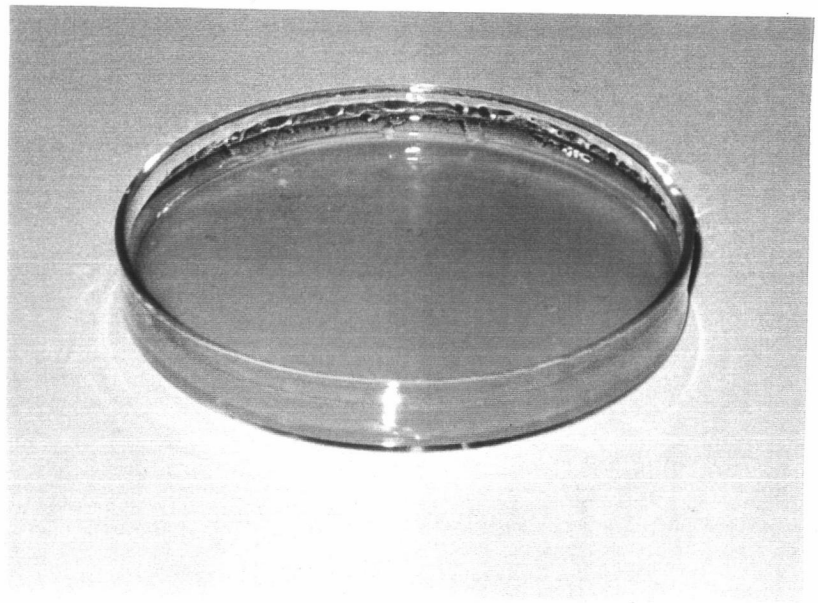
2. ผสม Blood Agar Base กับน้ำกลั่นหรือน้ำที่ปราศจากอิออนในขวดเตรียมด้วยอัตราส่วน 40 กรัม ต่อ 1 ลิตร ซึ่งจะได้วุ้นเพาะเชื้อจำนวน 50-65 ถาด เช่นเดียวกัน

3. นำขวดเตรียมไปอุ่นจนเดือดบนเตาไฟฟ้าและกวนจนสารละลายบลัด อาการ์ เบส(Blood Agar Base) ละลายเป็นเนื้อเดียวกันหมดแล้วนำออกมาตั้งทิ้งไว้เพื่อระบายความร้อนจนพออุ่น ปิดฝาให้แน่นสนิทแล้วนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการสเตอริไลเซชั่น เช่นเดียวกับในข้อ 1.

4. นำโลหิตที่มีหมู่เลือด O ใส่ลงในขวดเตรียมที่ยังอุ่น ๆ อยู่ (45-50 °C) ในปริมาณ 5%ของปริมาตรของสารละลายโดยทำในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นปิดฝาและเขย่าขวดเตรียมให้โลหิตกระจาย จนเป็นสีเดียวกันทั้งขวด แล้วนำมาบรรจุลงในจานเพาะเชื้อโดยวิธีการเดียวกับการเตรียมสารละลายซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar)

5. นำอาหารเลี้ยงเชื้อในจานเลี้ยงเชื้อแข็งที่ตัวดีแล้วออกจากตู้ปลอดเชื้อแล้วนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ซึ่งจะทำให้สามารถใช้งานได้นานถึง 1 เดือน แล้วทำการปฏิบัติต่างๆเหมือนกับข้อ 5 ของการเตรียมสารละลายซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar)

สำหรับตัวอย่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จาก ซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (สีเหลืองอ่อน) และบลัด อาการ์ (สีแดงสด) สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 4.1ก และ 4.1ข ตามลำดับ



รูปที่ 4.1ก แสดงตัวอย่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จาก
ซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (สีเหลืองอ่อน)

รูปที่ 4.1ข แสดงตัวอย่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จาก
บลัด อาการ์ (สีแดงสด)

การดำเนินการทดลองตามแบบแผนการทดลอง

การดำเนินการทดลองสำหรับงานวิจัยนี้จะแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ดังนี้คือ

1. ระยะก่อนทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน
2. ระยะทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน
3. ระยะหลังการฉีดพ่นก๊าซโอโซน

1. ระยะก่อนทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน

การดำเนินการทดลองสำหรับระยะนี้ แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. การวางอาหารเลี้ยงเชื้อ มีรายละเอียดดังนี้

ก) นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้ทั้ง 2 ชนิดๆละ 4 จาน ไปวางไว้ในตำแหน่งต่างๆ ในห้องเจาะโลหิตตามรูปที่ 4.2 โดยเปิดฝาออกแล้ววางฝาคว่ำลงกับพื้น

ข) ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (กมลเนตร อติบูรณกุล, วารสารองค์การเภสัชกรรม, ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 เม.ย.- มิ.ย. 36 หน้า67-69)

ค) ปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อ ปิดผนึกให้แน่น แล้วนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C ตั้งทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง โดยตั้งไว้ในลักษณะคว่ำเพื่อป้องกันหยดน้ำที่เกิดจากการเกาะรวมตัวกันแล้วไหลย้อนลงมาปนกับเชื้อที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้อ

2. การวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์

การวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของห้องเจาะโลหิตได้ดังวิธีการดังนี้

ก) ทำการวัดและบันทึกผลอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์กระเปาะแห้ง (Dry Bulb Thermometer) ทุก 15 นาทีเป็นระยะเวลานาน 2 ชั่วโมงในขณะที่ไม่มีการทำงานและในช่วงที่มีการทำงาน แล้วนำมาหาค่าอุณหภูมิเฉลี่ย

ข) วัดและทำการบันทึกผลอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์กระเปาะแห้ง (Dry Bulb Thermometer) และกระเปาะเปียก (Wet Bulb Thermometer) ในขณะที่ไม่มีการทำงานและมีการทำงานในสภาวะที่กำหนด นำมาหาค่าเฉลี่ยแล้วนำผลที่ได้ไปแปลงเป็นค่าความชื้นสัมพัทธ์โดยอาศัยจาก Psychrometric Chart (ในภาคผนวก ช.)

ค) การตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในห้องเจาะโลหิต สามารถทำได้หลังจากทำการเพาะเชื้อแล้วเป็นเวลา 24 ชั่งโมง โดยนับจำนวน Colony ที่เกิดขึ้นในแต่ละจาน

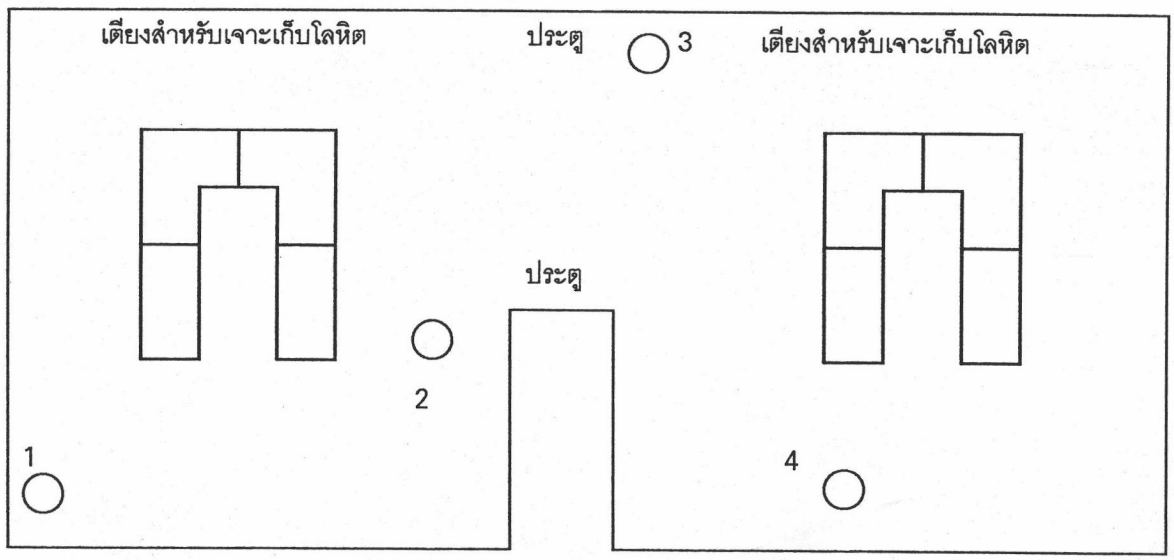
เพาะเชื้อโดยใช้กล้องจุลทรรศน์หรือแว่นขยาย แล้วนำมาคำนวณหาคำนวณปริมาณจุลินทรีย์ที่ตกลงมาต่อ 1 ลูกบาศก์เมตรต่อนาที หรือต่อ 1 ตารางฟุตต่อนาที (No. of Colony)

จากสูตร

$$\text{No. of Colony} = \frac{\text{จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้}}{\text{เวลาที่ใช้วางจานเพาะเชื้อ (นาที) x พื้นที่ของจานเพาะเชื้อ (ตร.ฟุต)}}$$

โดยรัศมีของจานเพาะเชื้อ = 4.6 cm. หรือ 0.153 ft.

ดังนั้น พื้นที่ของจานเพาะเชื้อ = 0.0735 ft^2



รูปที่ 4.2 แสดงตำแหน่งต่างๆในการวางจานเพาะเชื้อ ในห้องเจาะโลหิต

2. ระยะทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน

การดำเนินการทดลองสำหรับระยะนี้ เป็นการทดลองทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในห้องเจาะโลหิต โดยการฉีดพ่นก๊าซโอโซนตามที่ได้ทำการออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัย (Two Factor Factorial) ที่มีอิทธิพลคงที่ (Fixed Effect Model) ซึ่งเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซนที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นเครื่องที่สร้างโดยหลักการของ Corona Type เกิดขึ้นจากก๊าซออกซิเจนผ่าน Corona Ray ซึ่งเป็นรังสีที่เกิดจากปรากฏการณ์ Silent Electrical Discharge กล่าวคือ เมื่อไฟฟ้ากระแสสลับเกิดการไหลไปมาจะเกิดแนวเส้นแรงแม่เหล็กสลับ เมื่อเส้นแรงแม่เหล็กสลับที่มีแรงเคลื่อนไฟฟ้าสูงและอยู่ใกล้กัน อิเล็คตรอนซึ่งมีประจุลบจะพยายามเคลื่อนที่จากขั้วลบไปขั้วบวก

ตลอดเวลา โดยจะพยายามกระโดดจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่ง และถ้าหากอิเล็คตรอนเหล่านั้นถูกกั้นโดยใช้ฉนวนจะทำให้เคลื่อนที่ไปไม่ได้ จะทำให้เกิดแรงและความร้อนขึ้น ซึ่งแรงและความร้อนนี้เองจะทำให้เกิดรังสีขึ้นเรียกว่า Corona Ray และเมื่อผ่านก๊าซออกซิเจนไปที่รังสีนี้ จะทำให้ก๊าซออกซิเจนแตกตัวเป็นอะตอมของออกซิเจนที่มีประจุไฟฟ้า ซึ่งอะตอมของออกซิเจนที่มีประจุไฟฟ้าบวกจะเข้าไปรวมตัวกับโมเลกุลของก๊าซออกซิเจนตัวอื่นทำให้เกิดก๊าซโอโซนขึ้น ซึ่งแสดงได้ดังสมการเคมีต่อไปนี้

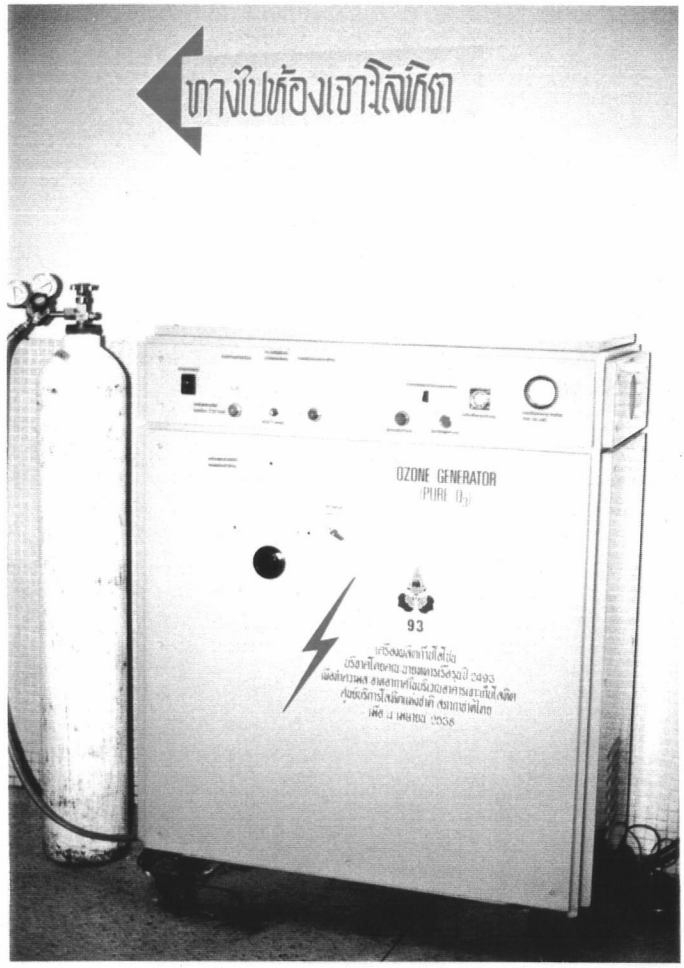
$$3O_2\ (g) + \text{energy} \longrightarrow 2\ O^{+}_{3}\ (g)$$

โดยการผลิตก๊าซโอโซนด้วยวิธีนี้ สามารถทำได้โดยการผ่านให้ก๊าซออกซิเจนหรืออากาศจำนวนหนึ่งซึ่งได้ดูดเอาความชื้นออกให้ต่ำมากที่สุดแล้วผ่านการถ่ายประจุ Spark ของไฟฟ้า แบบ Silent Spark (Corona) ที่มีความต่างศักย์สูงมาก (5,000-10,000 โวลท์) ทำให้ออกซิเจนในอากาศแปรสภาพเป็นก๊าซโอโซนหรือ Activated Oxygen ที่เป็นประจุบวก (O_3^+) สำหรับองค์ประกอบต่าง ๆ ได้แสดงในตารางที่ 4.1

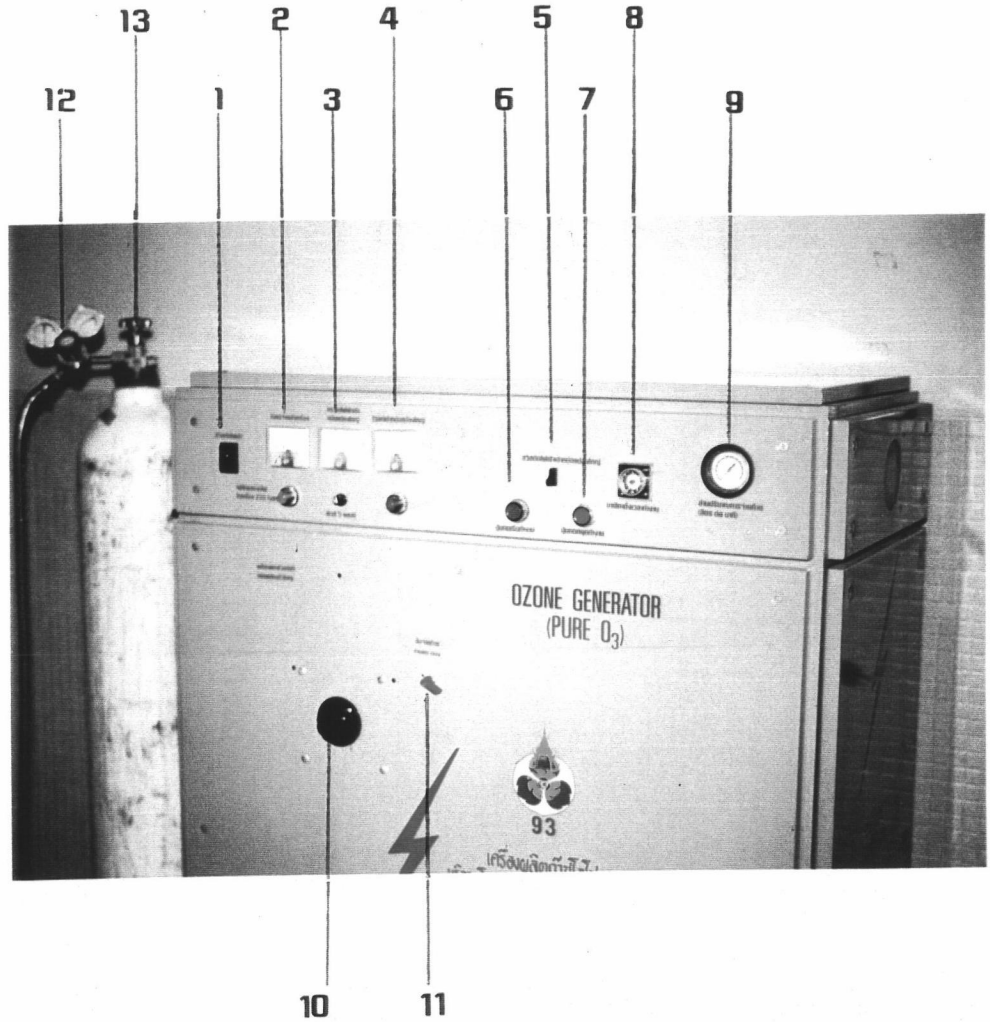
ตารางที่ 4.1 แสดงองค์ประกอบต่าง ๆ ที่ได้จากการผลิตก๊าซโอโซนด้วย Silent Spark

องค์ประกอบ	เปอร์เซนต์
Ozone, O_3+	96.4
Nitrogen Oxide, No_2	3.3
Others	0.3

การผลิตก๊าซโอโซนด้วยวิธีนี้ มักเรียกว่า "Corona Type" ซึ่งสามารถแสดงเครื่องผลิตก๊าซโอโซนที่สร้างโดยหลักการของ Corona Type ได้ดังรูปที่ 4.3 และแสดงส่วนต่างๆของเครื่องผลิตก๊าซโอโซนที่ใช้ทำการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.3 แสดงเครื่องผลิตก๊าซโอโซนที่สร้างโดยหลักการของ Corona Type



รูปที่ 4.4 แสดงส่วนต่างๆของเครื่องผลิตก๊าซโอโซนที่ใช้ทำการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ส่วนต่างๆของเครื่องผลิตก๊าซโอโซน

1 = สวิตซ์ปิด-เปิดไฟเข้า
2 = โวลต์จ่ายเข้าเครื่อง
3 = กระแสไฟฟ้าเข้าหม้อแปลงใหญ่ ที่จะเข้าเครื่องผลิตก๊าซโอโซน
4 = โวลต์เข้าหม้อแปลงใหญ่
5 = สวิตซ์ตัดไฟฟ้าเข้าหม้อแปลงใหญ่
6 = ปุ่มเริ่มการทำงาน
7 = ปุ่มกดหยุดการทำงาน
8 = นาฬิกาตั้งเวลาการทำงาน
9 = ปุ่มปรับปริมาณก๊าซออกซิเจน
10 = ปุ่มปรับโวลต์เข้าหม้อแปลงใหญ่
11 = ลิ้นจ่ายก๊าซ
12 = ปุ่มปรับความดันก๊าซออกซิเจน
13 = ลิ้นอากาศประจำถังออกซิเจน

Ozone Reactors Design Dimension

- Reactors 6 units (Series Connection)
- @ Glass Cylinderical Dielectric

  Thickness = 12.2 mm.

  Outside Diameter = 56.6 mm.

  Inside Diameter = 44.4 mm.

  Length = 440 mm.
- Electrodes

  Graphite Electode
- Grounded Electrode

  Stainless Steel Tube (inner ϕ) = 73.0 mm.

  Stainless Steel Tube (outer ϕ) = 65.5 mm.

  Thickness = 3.75 mm.

  Gap between electrode = 4.45 mm.
- High Voltage 12,000 volt.
- Oxygen supply pressure source = 2.5 bar

ขั้นตอนการเปิดเครื่อง

ก) เปิดไฟเข้าเครื่องโดยยกปุ่มที่ 1 (สวิตช์ปิด-เปิดไฟเข้า) ซึ่งพัดลมระบายอากาศร้อนที่อยู่ทางด้านซ้าย-ขวาของเครื่องจะเริ่มทำงาน

ข) ตรวจดูสภาพของปุ่มที่ 5 (สวิตช์ตัดไฟฟ้าเข้าหม้อแปลงใหญ่) ว่า OFF หรือไม่

ค) ปรับปุ่มที่ 10 (เครื่องปรับโวลต์เข้าหม้อแปลงใหญ่) ไว้ที่ค่า 0

ง) คลายปุ่มที่ 12 (ปุ่มปรับความดันก๊าซออกซิเจน) ให้สุด

จ) เปิดปุ่มที่ 13 (ลิ้นอากาศประจำถังออกซิเจน) แล้วดูว่ามีความดันถึง 50 ปอนด์หรือไม่ ถ้ามีน้อยกว่าควรเตรียมก๊าซออกซิเจนสำรองไว้

ฉ) ปรับแต่งความดันของก๊าซออกซิเจนในระบบที่ป้อนเข้าสู่ REACTOR โดยการปรับแต่งปุ่มที่ 12 (ปุ่มปรับความดันก๊าซออกซิเจน)

ช) ตั้งเวลาในการทำงานที่ 8 (นาฬิกาตั้งเวลาการทำงาน)

ซ) กดปุ่มที่ 6 (ปุ่มเริ่มการทำงาน)

ฌ) ปรับแต่งปุ่มที่ 11 (ลิ้นจ่ายก๊าซ) โดยบิดไปในแนวดิ่งและปุ่มที่ 12 (ปุ่มปรับความดันก๊าซออกซิเจน) เพื่อให้ได้ปริมาณของก๊าซออกซิเจนตามต้องการ

ญ) เปิดปุ่มที่ 5 (สวิตช์ตัดไฟฟ้าเข้าหม้อแปลงใหญ่)

ฐ) ปรับแต่งปุ่มที่ 10 (ปุ่มปรับโวลต์เข้าหม้อแปลงใหญ่) โดยพยายามให้ผลคูณระหว่างค่าที่อ่านได้ของปุ่มที่ 3 (กระแสไฟฟ้าเข้าหม้อแปลงใหญ่) และปุ่มที่ 4 (โวลต์เข้าหม้อแปลงใหญ่) มีค่าตามที่ได้คำนวณไว้ ในขั้นตอนนี้จะได้ก๊าซโอโซนออกมา

ฑ) เมื่อครบกำหนดเวลาที่ตั้งไว้ นาฬิกาที่ตั้งเวลาจะหยุดเวลาและการจ่ายก๊าซออกซิเจนทันที

ฒ) ดูแลให้ปุ่มต่างๆ อยู่ในลักษณะ OFF

ลักษณะการทำงาน

จะทำการจ่ายก๊าซโอโซนไปที่ทางดูดของเครื่องปรับอากาศแบบ Central Uniit ซึ่งมี Capacity 720,000 Btu/Hr โดยจะกระจายไปตามห้องต่างๆของหน่วยงาน Blood Collection Plant ซึ่งมีปริมาตรเท่ากับ 1763.4 ลบ.ม. (ดังได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ หน่วยการทดลอง ในบทที่ 3)

3. ระยะหลังทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน

การดำเนินการทดลองสำหรับระยะนี้ แบ่งออกขั้นตอนต่างๆ ต่อไปนี้ คือ

ก) ก่อนทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซนให้นำอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดไปวางไว้ในตำแหน่งเดียวกับก่อนทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน

ข) ทำการบันทึกอุณหภูมิ และความชื้นของสภาพห้อง ก่อนทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน

ค) ทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน โดยการปรับอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและระยะเวลาที่ใช้ในการไหลของก๊าซออกซิเจน ตามกำหนดในแบบแผนการทดลองดังตารางที่ 4.2 ต่อไปนี้

ตารางที่ 4.2 แสดงการปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ใช้ในการผลิตก๊าซโอโซน ตามแบบแผนการทดลองของ Screening Design

การทดลองครั้งที่	การปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนโดยใช้	
	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)
1	20	6
2	22	6
3	18	7
4	20	7
5	22	7
6	6	14
7	10	14
8	8	15
9	8	15
10	8	16
11	8	11
12	12	11
13	10	12
14	10	12
15	10	13
16	12	10

ตารางที่ 4.2 แสดงการปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ใช้ในการผลิตก๊าซโอโซน ตามแบบแผนการทดลองของ Screening Design (ต่อ)

การทดลองครั้งที่	การปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนโดยใช้	
	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)
17	16	10
18	20	5
19	22	5
20	20	6
21	20	7
22	8	19
23	8	19
24	8	20
25	6	14
26	8	14
27	8	14
28	6	15
29	6	16
30	10	16
31	10	16
32	8	11
33	10	11
34	10	11
35	8	12
36	8	13
37	12	13
38	12	13
39	16	8
40	16	8
41	14	9
42	16	9
43	14	10
44	18	5

ตารางที่ 4.2 แสดงการปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ใช้ในการผลิตก๊าซโอโซน ตามแบบแผนการทดลองของ Screening Design (ต่อ)

การทดลองครั้งที่	การปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนโดยใช้	
	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)
45	18	5
46	20	5
47	20	5
48	22	5
49	18	6
50	18	6
51	18	6
52	18	7
53	20	7
54	22	7
55	22	7
56	6	17
57	6	17
58	8	18
59	6	19
60	8	20
61	6	14
62	8	14
63	10	14
64	10	14
65	6	15
66	8	15
67	10	15
68	6	16
69	8	16
70	8	16
71	8	11
72	10	11

ตารางที่ 4.2 แสดงการปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ใช้ในการผลิตก๊าซโอโซน ตามแบบแผนการทดลองของ Screening Design (ต่อ)

การทดลองครั้งที่	การปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนโดยใช้	
	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)
73	12	11
74	12	11
75	8	12
76	10	12
77	12	12
78	8	13
79	10	13
80	10	13
81	12	7
82	12	7
83	12	8
84	14	8
85	14	9
86	12	10
87	14	10
88	16	10
89	8	17
90	8	17
91	8	18
92	6	20
93	14	7
94	12	8
95	12	9
96	18	5
97	20	6
98	18	7
99	8	17
100	6	18

ตารางที่ 4.2 แสดงการปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ใช้ในการผลิตก๊าซโอโซน ตามแบบแผนการทดลองของ Screening Design (ต่อ)

การทดลองครั้งที่	การปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนโดยใช้	
	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)
101	6	19
102	14	7
103	16	7
104	14	8
105	16	9
106	22	5
107	22	6
108	8	17
109	6	18
110	6	19
111	6	20
112	8	20
113	6	15
114	10	15
115	10	15
116	10	16
117	8	12
118	12	12
119	12	12
120	12	13
121	14	7
122	16	7
123	14	8
124	12	9
125	14	9
126	22	6
127	6	17
128	6	18

ตารางที่ 4.2 แสดงการปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ใช้ในการผลิตก๊าซโอโซน ตามแบบแผนการทดลองของ Screening Design (ต่อ)

การทดลองครั้งที่	การปรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนโดยใช้	
	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)
129	8	18
130	6	19
131	6	20
132	6	
133	8	13
134	12	7
135	16	7
136	12	8
137	16	8
138	12	9
139	16	9
140	14	10
141	16	10

ง) ทิ้งอาหารเลี้ยงเชื้อไว้เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมงเนื่องจากข้อจำกัดของเวลาในการทำงานของห้องเจาะโลหิต

จ) เมื่อครบกำหนดเวลาแล้ว ปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อ ปิดผนึกให้แน่น แล้วนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C ตั้งทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง โดยตั้งไว้ในลักษณะคว่ำเพื่อป้องกันหยดน้ำที่เกิดจากการเกาะรวมตัวกันแล้วไหลย้อนลงมาปนกับเชื้อที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้อ

ฉ) หลังจากทำการเพาะเชื้อแล้ว นับจำนวน Colony ที่เกิดขึ้นในแต่ละ Plate โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ หรือแว่นขยาย

ช) คำนวณหาจำนวนโคโลนีโดยใช้สูตรเดียวกับระยะก่อนการฉีดพ่นก๊าซโอโซน

ซ) คำนวณหาเปอร์เซนต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar)

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์
2. กระบอกตวง
3. อ่างน้ำร้อน (Water Bath)
4. เตาไฟฟ้า (Hot Plate)
5. แท่งแก้วคน
6. จานเลี้ยงเชื้อ (Petri Dish)
7. ตู้ปลอดเชื้อ
8. ตู้เย็นสำหรับเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมเสร็จแล้ว
9. ขวดเตรียมสำหรับเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการ Sterile แล้ว
10. เครื่องชั่ง
11. อุปกรณ์สำหรับปิดผนึกจานเลี้ยงเชื้อก่อนทำการ Sterile
    ประกอบด้วย กระดาษสีน้ำตาลพร้อมระดาษกาวสำหรับ Sterile
12. อุปกรณ์สำหรับปิดผนึกจานเลี้ยงเชื้อหลังฉีดพ่นก๊าซโอโซน
    ประกอบด้วย สก็อตเทปใส ปากกาเขียนแก้ว
13. เครื่อง Sterile
14. เข็มฉีดยา

สารเคมี

1. ซับโบรอด เดกซ์โตรส อาการ์ (Subouraud Dextrose Agar)
2. บลัด อาการ์ เบส (Blood Agar Base)
3. น้ำกลั่น
4. เลือดกลุ่ม O

2. อุปกรณ์ใช้ในการวัดอุณหภูมิและความชื้น

1. เทอร์โมมิเตอร์กะเปาะแห้ง
2. เทอร์โมมิเตอร์กะเปาะเปียก
3. Psychrometric Chart

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในในการฉีดพ่นก๊าซโอโซน

1. เครื่องกำเนิดก๊าซโอโซนแบบ Corona Type
2. เครื่องตรวจวัดปริมาณก๊าซโอโซนที่ตกค้างหลังทำการฉีดพ่น

โดยสามารถแสดงอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยได้ ในภาคผนวก ซ.