

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาเรื่องการพัฒนาเครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารสำหรับอุปกรณ์ทานอาหารของเด็กปฐมวัยมีวิธีดำเนินการวิจัย ดังนี้

#### ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

1. หาสภาวะที่เหมาะสมที่ในการกำจัดเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารสำหรับอุปกรณ์ทานอาหารของเด็กปฐมวัย
2. หาประสิทธิภาพของเครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารสำหรับอุปกรณ์ทานอาหารของเด็กปฐมวัย
3. ศึกษาความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารสำหรับอุปกรณ์ทานอาหารของเด็กปฐมวัย ณ ศูนย์พัฒนาเด็กปฐมวัย โดยแบบสอบถามด้วยคำถามปลายเปิดและปลายปิด และแบบสัมภาษณ์แบบมีโครงสร้าง

#### อุปกรณ์ในการศึกษาปริมาณเชื้อก่อโรค

1. ปีกเกอร์ (Beaker)
2. ขวดรูปชมพู่ (Flak)
3. ปิเปต (Pipette)
4. ลูยกาย
5. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA), Nuturient Borth (NB)
7. NaCl 0.85%
8. ตะเกียงแอลกอฮอล์
9. เครื่อง Autoclave
10. ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
11. หลอดทดลอง
12. Hot plate
13. loop
14. เครื่องชั่ง
15. กระจกตวง
16. Vortex mixer
17. ข้อนพลาสติกและข้อนสแตนเลส

## ตัวแปรที่ศึกษาการกำจัดเชื้อก่อโรค

### ตัวแปรต้น

1. เวลาในการฆ่าเชื้อก่อโรค
2. ชนิดของซ็อน

### ตัวแปรตาม

1. ปริมาณของเชื้อซัลโมเนลลา (*Salmonella spp.*)
2. ปริมาณของเชื้ออีโคไล (*Escherichia coli*)

### ตัวแปรควบคุม

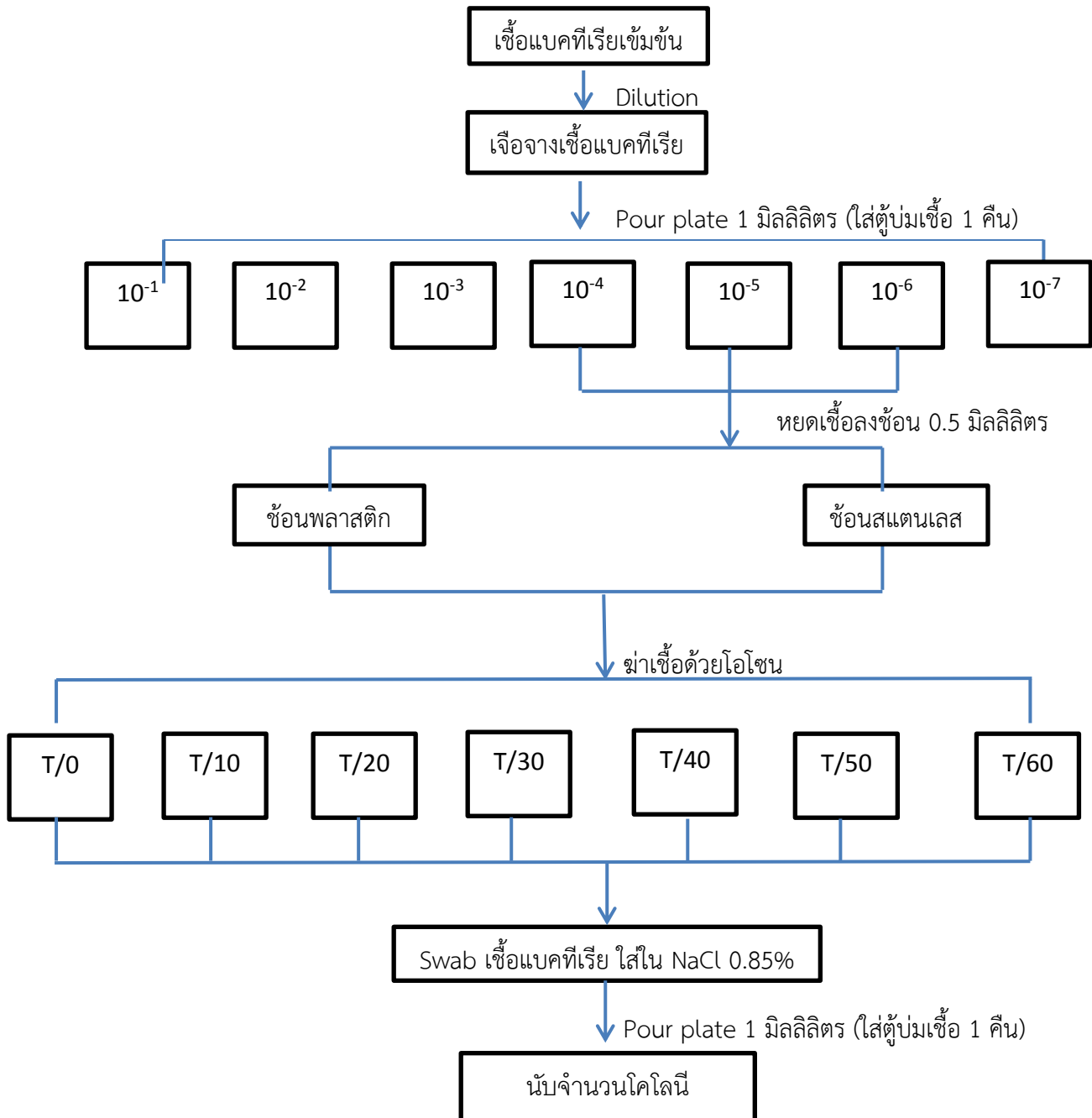
1. ขนาดของซ็อน
2. ความเข้มข้นของโอโซน
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

## สถานที่ทำการวิจัย

สำนักปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์อ้างอิงทางห้องปฏิบัติการและพิษวิทยา สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

## ขั้นตอนการดำเนินการศึกษาการกำจัดเชื้อก่อโรค

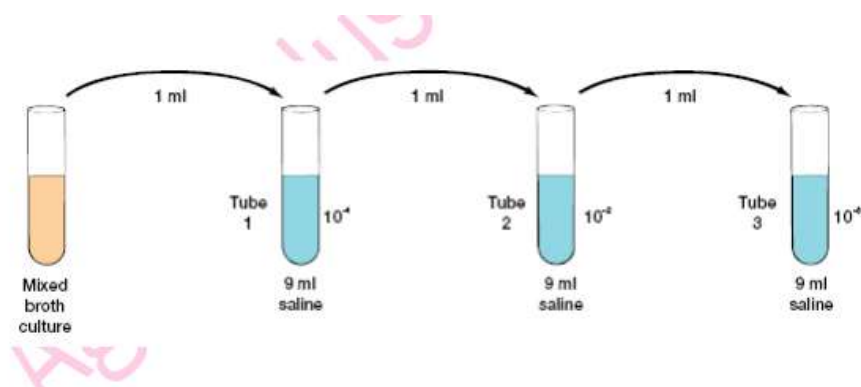
1. เจือจางเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้จำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหาร อยู่ในช่วง 30 - 300 โคโลนี ไม่มากหรือน้อยเกินไป จึงต้องนำตัวอย่างมาเจือจางเป็นลำดับด้วยวิธี serial dilution เพื่อให้ได้เชื้อในความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยจะทำ 3 ซ้ำเพื่อใช้ในการหาค่าเฉลี่ยของเชื้อ
2. Pour plate เพื่อหาโคโลนีและเลือกเชื้อที่ความเจือจางที่เหมาะสม คือ 30 - 300 โคโลนี หยดลงไปในจานอาหารเลี้ยงเชื้อจากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)
3. ใส่ตู้บ่มเชื้อ ทิ้งไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
4. เตรียมซ็อน 2 ชนิดที่กำหนด คือ ซ็อนพลาสติกและซ็อนสแตนเลส
5. นำซ็อนมาสัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ตัว ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร
6. นำซ็อนที่สัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียแล้ว มาทดสอบการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องฆ่าเชื้อด้วยโอโซน ตามระยะเวลาที่กำหนด 7 ช่วงเวลา คือ 0, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที โดยจะทำ 3 ซ้ำ เพื่อใช้ในการหาค่าเฉลี่ยของเชื้อ
7. Swab เชื้อจากในซ็อนใส่หลอดทดลองที่มี NaCl 0.85% อยู่ 4.5 มิลลิลิตร
8. Pour plate โดยดูดเชื้อที่ Swab แล้วมาใส่เพจ เพจละ 1 มิลลิลิตร โดยจะทำ 3 ซ้ำ
9. ใส่ตู้บ่มเชื้อ ทิ้งไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
10. บันทึกผลที่ระยะเวลา และความเข้มข้นที่กำหนด เพื่อนำมาเปรียบเทียบและหาเวลาที่ดีที่สุดของประสิทธิภาพของเครื่องฆ่าเชื้อด้วยโอโซน แสดงดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

### วิธีการเจือจางแบคทีเรีย

เจือจางด้วยวิธีการ Drottion เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นมากให้มีความเจือจางลง โดยดูดเชื้อในหลอดเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี NaCl 0.85% ปริมาณ 9 มิลลิลิตร และดูดใส่หลอดถัดไปจนถึงความเจือจางที่ต้องการเพื่อให้ได้เชื้อที่มีระดับการเจือจางที่เหมาะสมและนำไปใช้ในการทดลอง ดังภาพที่ 3.2

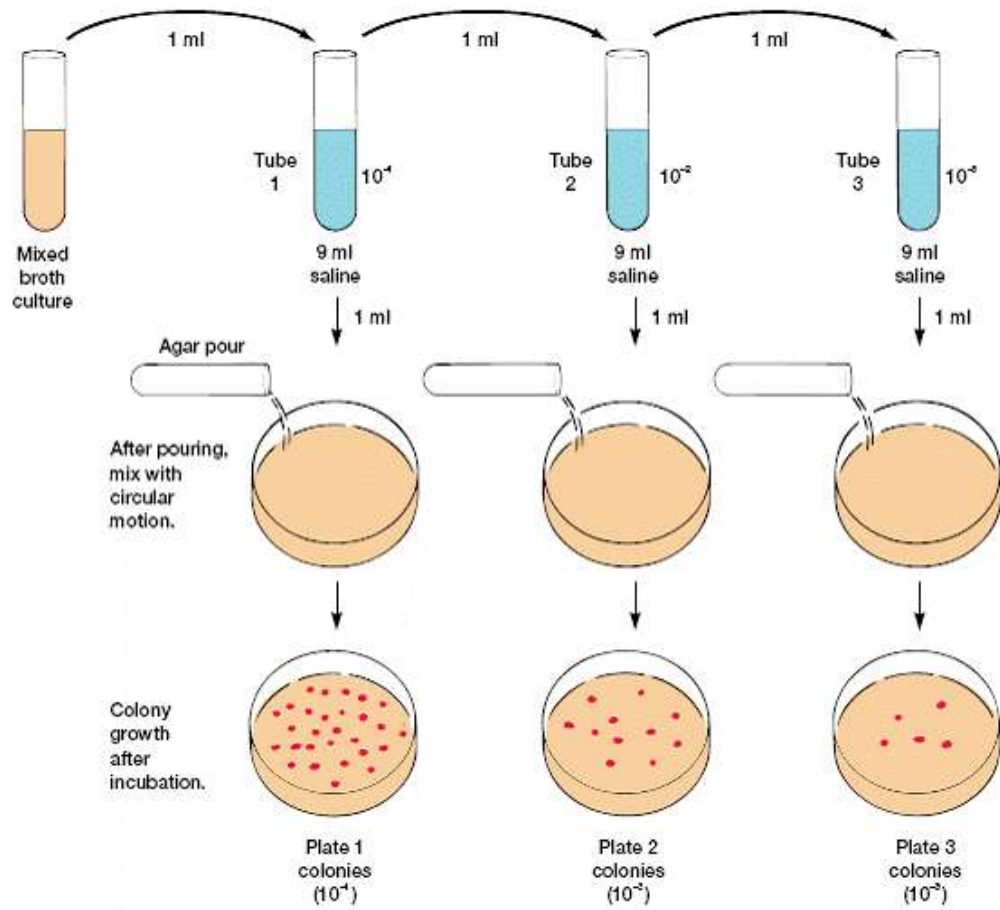


ภาพที่ 3.2 แสดงการเจือจางแบคทีเรีย

หมายเหตุ. จาก การฆ่าเชื้อซัลโมเนลลา และเชื้ออีโคไลด้วยโอโซน (น. 24), โดย วารุณี อยู่เชื้อ และ เขมิกา ทิพย์พาทล, 2557, กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

### วิธีการ Pour plate

เมื่อได้ตัวอย่างเชื้อที่มีระดับการเจือจางที่เหมาะสมแล้ว โดยใช้เชื้อจูลินทรีย์ 1 มิลลิลิตร หยดลงในจานอาหารแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) ที่อุณหภูมิ 44 – 46 องศาเซลเซียส ผสมเชื้อจูลินทรีย์ให้เข้ากับอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานอาหารไปใส่ในตู้บ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง แล้วจึงมาเก็บผลโดยการนับโคโลนีของเชื้อ แล้วรายงานผลเป็น Colony forming unit (CFU/ml) โดยโคโลนีที่นับได้บนจานเลี้ยงเชื้อ ต้องอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี (พุดกรอง พันธุมงค์, 2557) ต่อหนึ่งจานเลี้ยงเชื้อ ดังภาพที่ 3.3



ภาพที่ 3.3 ภาพแสดงการ pour plate

หมายเหตุ. จาก การฆ่าเชื้อซัลโมเนลลา และเชื้ออีโคไลด้วยโอโซน (น. 25), โดย วารุณี อยู่เชื้อ และ เขมิกา ทิพย์พาล, 2557, กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

## เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรค ระบบโอโซน

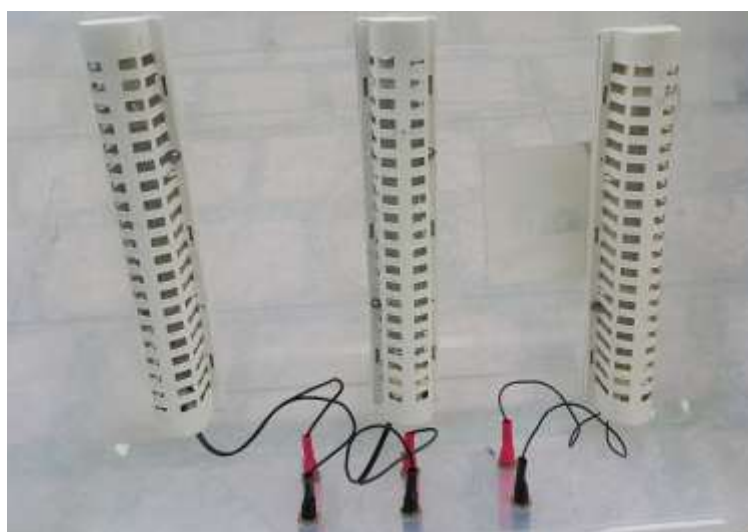
ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคที่ออกแบบและพัฒนาขึ้นมาเอง (ดังแสดงในภาพที่ 3.4) โดยประกอบด้วยอุปกรณ์หลัก 2 ส่วน คือ

1. เครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน (ดังแสดงในภาพที่ 3.5) ซึ่งจะติดตั้งที่ผาด้านบนของกล่องพลาสติก ซึ่งใช้เป็นภาชนะใส่อุปกรณ์สำหรับทานอาหารของเด็กปฐมวัย เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคที่ออกแบบและพัฒนาขึ้นมาเองนี้ ใช้เครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน จำนวน 3 เครื่อง

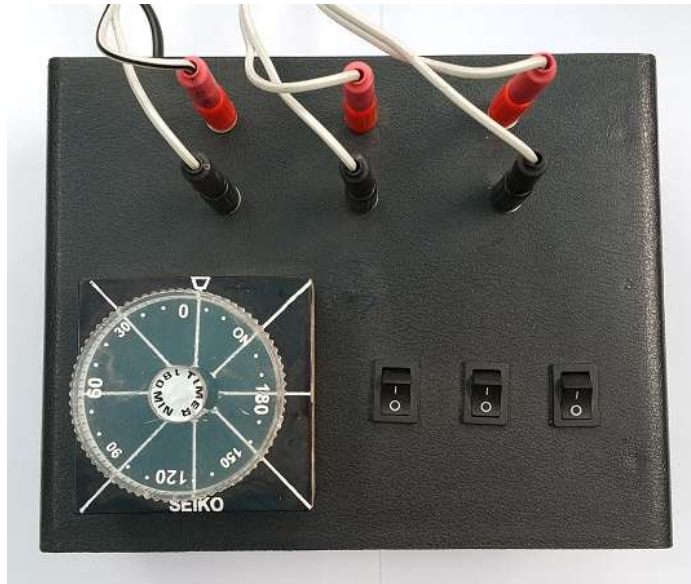
2. อุปกรณ์ตั้งเวลาและสวิตช์ เปิดปิดการทำงาน (ดังแสดงในภาพที่ 3.6)  
อุปกรณ์หลักทั้ง 2 ส่วน เชื่อมต่อกันด้วยสายไฟ (ดังแสดงในภาพที่ 3.7)



ภาพที่ 3.4 เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคที่ออกแบบและพัฒนาขึ้นมาเอง



ภาพที่ 3.5 เครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน



ภาพที่ 3.6 อุปกรณ์ตั้งเวลา และสวิตช์ เปิดปิดการทำงาน



ภาพที่ 3.7 สายไฟเชื่อมอุปกรณ์หลัก

### การหาขนาดของกลุ่มตัวอย่างในการศึกษาความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรค

ประชากรในการศึกษานี้ คือ ผู้ดูแลเด็กเล็กของศูนย์พัฒนาเด็กเล็กในเขตภาคกลาง 10 จังหวัด คือ กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี นครปฐม สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม พระนครศรีอยุธยา อ่างทอง และ สิงห์บุรี ซึ่งมีศูนย์พัฒนาเด็กเล็กจำนวน 1,219 ศูนย์ มีผู้ดูแลเด็กเล็กจำนวน 2,612 คน ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.1 ซึ่งในทางปฏิบัติไม่สามารถดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลได้ทุกศูนย์ จึงจำเป็นต้องหาตัวแทนของประชากรหรือกลุ่มตัวอย่างโดยมีศูนย์พัฒนาเด็กเล็กเป็นหน่วยวิเคราะห์ (unit of analysis) การหาขนาดของกลุ่มตัวอย่าง และคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเพื่อเป็นตัวแทนของประชากรในเขตพื้นที่ภาคกลางมีรายละเอียดดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การวิเคราะห์หาขนาดของกลุ่มตัวอย่างเป็นตัวแทนในการศึกษา โดยใช้ตารางของ Krejcie and Morgan (ตารางที่ 3.2) จากจำนวนประชากรเท่ากับ 1,219 ศูนย์ คำนวณหาจำนวนกลุ่มตัวอย่างได้ดังนี้

จากตารางประชากร 1,200 เป็น 1,300 เพิ่ม 100 หน่วย

กลุ่มตัวอย่างจะเพิ่ม  $297-291 = 6$  หน่วย

ถ้าตารางประชากร 1,200 เป็น 1,219 เพิ่ม 19 หน่วย

กลุ่มตัวอย่างจะเพิ่ม  $(6 \times 19) / 100 = 1.14$  หน่วย

ประชากร 1,219 หน่วย ต้องใช้กลุ่มตัวอย่าง =  $291+1 = 292$  หน่วย

ดังนั้นขนาดตัวอย่างในการศึกษานี้เท่ากับ 292 ตัวอย่าง

ตารางที่ 3.1 จำนวนศูนย์พัฒนาเด็กเล็กในเขตจังหวัดภาคกลาง

จังหวัด	จำนวนอำเภอ (อำเภอ)	จำนวนศูนย์พัฒนา เด็กเล็ก (ศูนย์)	จำนวนผู้ดูแลเด็กเล็ก (คน)
กรุงเทพมหานคร	6	8	40
นนทบุรี	6	121	243
ปทุมธานี	7	118	430
นครปฐม	8	132	340
สมุทรปราการ	7	118	426
สมุทรสาคร	4	81	213
สมุทรสงคราม	3	67	79
พระนครศรีอยุธยา	16	318	501
อ่างทอง	8	157	203
สิงห์บุรี	6	99	137
<b>รวม</b>	<b>71</b>	<b>1219</b>	<b>2612</b>

หมายเหตุ. จาก <http://dusitcenter.dusit.ac.th>, โดย โครงการความร่วมมือทางวิชาการระหว่าง กรมส่งเสริมการปกครองท้องถิ่นกับมหาวิทยาลัยสวนดุสิต, 2557.

ขั้นตอนที่ 2 จำแนกกลุ่มตัวอย่างตามเขตจังหวัด โดยการสุ่มตัวอย่างแบบชั้นภูมิตามสัดส่วน (Proportional Stratified Sampling) ซึ่งคำนวณได้สมการที่ 3.1 รายละเอียดการคำนวณและผลการคำนวณ แสดงในตารางที่ 3.2

$$\text{จำนวนตัวอย่างใน แต่ละกลุ่ม/ชั้น} = \frac{\text{จำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด} \times \text{จำนวนประชากรในแต่ละกลุ่ม/ชั้น}}{\text{จำนวนประชากรทั้งหมด}} \quad (3.1)$$

### การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างในการศึกษาความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรค

การเลือกตัวอย่างศูนย์พัฒนาเด็กเล็ก ทำโดยการสุ่มตัวอย่างแบบบังเอิญ (Accidental Sampling)

ตารางที่ 3.2 จำนวนประชากร และขนาดของกลุ่มตัวอย่างของ เครซซีและมอร์แกน

จำนวนประชากร	จำนวน กลุ่มตัวอย่าง	จำนวนประชากร	จำนวน กลุ่มตัวอย่าง	จำนวนประชากร	จำนวน กลุ่มตัวอย่าง
10	10	220	140	1200	291
15	14	230	144	1300	297
20	19	240	148	1400	302
25	24	250	152	1500	306
30	28	260	155	1600	310
35	32	270	159	1700	313
40	36	280	162	1800	317
45	40	290	165	1900	320
50	44	300	169	2000	322
55	48	320	175	2200	327
60	52	340	181	2400	331
65	56	360	186	2600	335
70	59	380	191	2800	338
75	63	400	196	3000	341
80	66	420	201	3500	346
85	70	440	205	4000	351
90	73	460	210	4500	354
95	76	480	214	5000	357
100	80	500	217	6000	361
110	86	550	226	7000	364
120	92	600	234	8000	367
130	97	650	242	9000	368
140	103	700	248	10000	370
150	108	750	254	15000	375
160	113	800	260	20000	377
170	118	850	265	30000	379
180	123	900	269	40000	380
190	127	950	274	50000	381
200	132	1000	278	45000	382
210	136	1100	285	100000	384

หมายเหตุ. จาก *Educational and Psychological Measurement* (pp. 608-609). โดย Robert V.Krejcie and Earvle W.Morgan, 1970,

ตารางที่ 3.3 การคำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

เขต	จำนวนศูนย์ พัฒนาเด็กเล็ก	การคำนวณกลุ่มตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง
กรุงเทพมหานคร	8	$\frac{292 \times 8}{1,219}$	2
นนทบุรี	121	$\frac{292 \times 121}{1,219}$	38
ปทุมธานี	118	$\frac{292 \times 118}{1,219}$	27
นครปฐม	132	$\frac{292 \times 132}{1,219}$	30
สมุทรปราการ	118	$\frac{292 \times 118}{1,219}$	27
สมุทรสาคร	81	$\frac{292 \times 81}{1,219}$	19
สมุทรสงคราม	67	$\frac{292 \times 67}{1,219}$	16
พระนครศรีอยุธยา	318	$\frac{292 \times 318}{1,219}$	75
อ่างทอง	157	$\frac{292 \times 157}{1,219}$	36
สิงห์บุรี	99	$\frac{292 \times 99}{1,219}$	22
<b>รวม</b>	<b>1,219</b>		<b>292</b>

## เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรค

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา คือ แบบสอบถามแบบมีโครงสร้าง (Structured Questionnaires) และไม่มีโครงสร้าง (Unstructured Questionnaires) ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

แบบสอบถาม แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับปัจจัยส่วนบุคคล ได้แก่ เพศ อายุ ระดับการศึกษา รายได้เฉลี่ยของครอบครัวต่อเดือน โดยกำหนดเป็นลักษณะคำถามปลายเปิด (Open-ended Questions) และปลายปิด (Close-ended Questions) จำนวน 4 ข้อ

ส่วนที่ 2 ความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของเด็กปฐมวัย เป็นลักษณะคำถามปลายปิดแบบเลือกรายการ (check list) จำนวน 11 ข้อ และคำถามปลายเปิด จำนวน 1 ข้อ

ส่วนที่ 3 ข้อเสนอแนะ เป็นคำถามปลายเปิด จำนวน 1 ข้อ

## การสร้าง และการตรวจสอบเครื่องมือในการศึกษาความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรค

เครื่องมือในการศึกษานี้ คือ แบบสอบถาม ซึ่งการสร้างเครื่องมือและการตรวจสอบเครื่องมือเป็นไปตามขั้นตอนดังนี้

1. ศึกษาเอกสาร งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง หลักการ วิธีการ และรูปแบบในการสร้างเครื่องมือจากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2. สร้างแบบสอบถาม
3. ตรวจสอบคุณภาพของแบบสอบถาม โดยนำแบบสอบถามเสนอต่อผู้เชี่ยวชาญเพื่อพิจารณาตรวจสอบความครอบคลุม และถูกต้องของเนื้อหาสาระ โดยมีผู้เชี่ยวชาญในการตรวจสอบคุณภาพของแบบสอบถาม
4. การทดลองใช้ (try out) เป็นการตรวจสอบความเข้าใจ ความถูกต้องของภาษาโดยนำแบบสอบถามไปใช้กับตัวแทน จำนวน 30 คน แล้วนำผลการทดสอบมาปรับแก้ไขแบบสอบถามก่อนนำไปใช้ในพื้นที่ศึกษา

## การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้วิจัยได้ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูล ดังนี้

1. ศึกษาจากแนวความคิด ทฤษฎี เอกสาร ข้อมูลและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้เป็นกรอบแนวคิดในการวิจัย
2. นำแบบสอบถามที่สมบูรณ์แล้วไปสอบถามกลุ่มตัวอย่างศูนย์พัฒนาเด็กเล็กในเขตภาคกลาง จำนวน 292 ศูนย์

3. เก็บแบบสอบถามโดยผู้วิจัยได้ดำเนินการตรวจสอบแบบสอบถามที่ได้รับคืนมาโดยนำมาตรวจสอบความสมบูรณ์ครบถ้วนแล้วนำแบบสอบถามทั้งหมดไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

### การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้รับจากการเก็บรวบรวมแบบสอบถามที่ได้มาวิเคราะห์และประมวลผลข้อมูลโดยใช้เครื่องคอมพิวเตอร์โปรแกรมสถิติสำเร็จรูปทางสถิติวิเคราะห์และสรุปผลข้อมูลจากค่าสถิติต่าง ๆ เพื่อให้บรรลุจุดมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการวิจัย ค่าสถิติที่ใช้การศึกษาค้างนี้และวิธีการศึกษาเป็นดังนี้

1. ข้อมูลทั่วไปส่วนบุคคล ใช้สถิติพรรณนา ซึ่งประกอบไปด้วยการแจกแจงความถี่ (Frequency distribution) และการกระจายแบบร้อยละ (Percentage distribution)

2. ข้อมูลความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของเด็กปฐมวัย ใช้สถิติพรรณนา ซึ่งประกอบไปด้วยการแจกแจงความถี่และการกระจายแบบร้อยละ

3. เกณฑ์ในการให้คะแนนเรื่องความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของเด็กปฐมวัยเป็นดังนี้

น้อยที่สุด	ให้คะแนน	1	คะแนน
น้อย	ให้คะแนน	2	คะแนน
ปานกลาง	ให้คะแนน	3	คะแนน
มาก	ให้คะแนน	4	คะแนน
มากที่สุด	ให้คะแนน	5	คะแนน

4. เกณฑ์การจัดกลุ่มระดับความพึงพอใจในการใช้เครื่องอบฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของเด็กปฐมวัย แบ่งออกเป็น 5 ระดับ โดยพิจารณาจากคะแนนสูงสุด - คะแนนต่ำสุด หารด้วยจำนวนชั้นคะแนน ดังนี้

0.00 - 1.00	คะแนน	หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับน้อยมาก
1.01 - 2.00	คะแนน	หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับน้อย
2.01 - 3.00	คะแนน	หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับปานกลาง
3.01 - 4.00	คะแนน	หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับมาก
4.01 - 5.00	คะแนน	หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับมากที่สุด