บทที่ 3
การออกแบบการทดลอง

การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลเกี่ยวข้องกับการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ก๊าซโอโซน นี้ จะพิจารณาจากการใช้สารเคมีทำลายเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆซึ่งพบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงบนจานเลี้ยงเชื้อ จะแสดงอาการตอบสนองต่อสารเคมีที่ใช้แตกต่างกันออกไป สารเคมีเหล่านั้นไม่ได้ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ให้หมดลงไปในทันที หากแต่ต้องการเวลาในการฉีดพ่นที่เหมาะสมในระยะหนึ่ง จุลินทรีย์ที่ไม่แข็งแรง เช่น จุลินทรีย์ที่อยู่ในช่วงเจริญพันธุ์จะตายทันที ในขณะที่จุลินทรีย์ที่เจริญวัยแล้วจะยังมีความต้านทานอยู่ในระดับหนึ่ง ต่อเมื่อผ่านจุดนั้นไปก็แทบจะไม่มีจุลินทรีย์เหลืออยู่เลย ซึ่ง ณ. จุดนั้นจะเรียกว่าจุดปราศจากเชื้อ (Sterilization) และจุดประสงค์ที่แท้จริงในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์นั้น ไม่ได้อยู่ที่การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งชนิดใด หากแต่เป็นการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆที่ผสมกันอยู่ทั้งแบคทีเรีย (Bacteria), เชื้อรา (Fungi), สปอร์ (Spores) และเชื้อไวรัสต่างๆที่มีความทนทานต่อการทำลายของสารเคมีที่แตกต่างกัน ดังนั้นประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์จึงขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ หลายประการ ดังนี้

1. <u>ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์</u>

ในการใช้สารเคมีเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์นั้น จำเป็นต้องมีระยะเวลาที่เหมาะสมที่จะทำให้สารเคมีต่างๆได้สัมผัสกับจุลินทรีย์ได้อย่างทั่วถึง เพื่อให้สามารถเกิดปฏิกิริยาต่างๆได้อย่างสมบูรณ์ (ดังรูปที่ 3.1 a)

2. <u>จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์</u>

ถ้าหากมีจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์มาก ก็ต้องใช้เวลาในการทำลายมากขึ้น (รูปที่ 3.1 b)

3. <u>ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์</u>

จุลชีพต่างชนิดกัน จะมีความสามารถในการทนทานต่อการทำลายของสารเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถจำแนกออกได้ดังนี้

<u>ประเภทที่มีความต้านทานสูง</u>

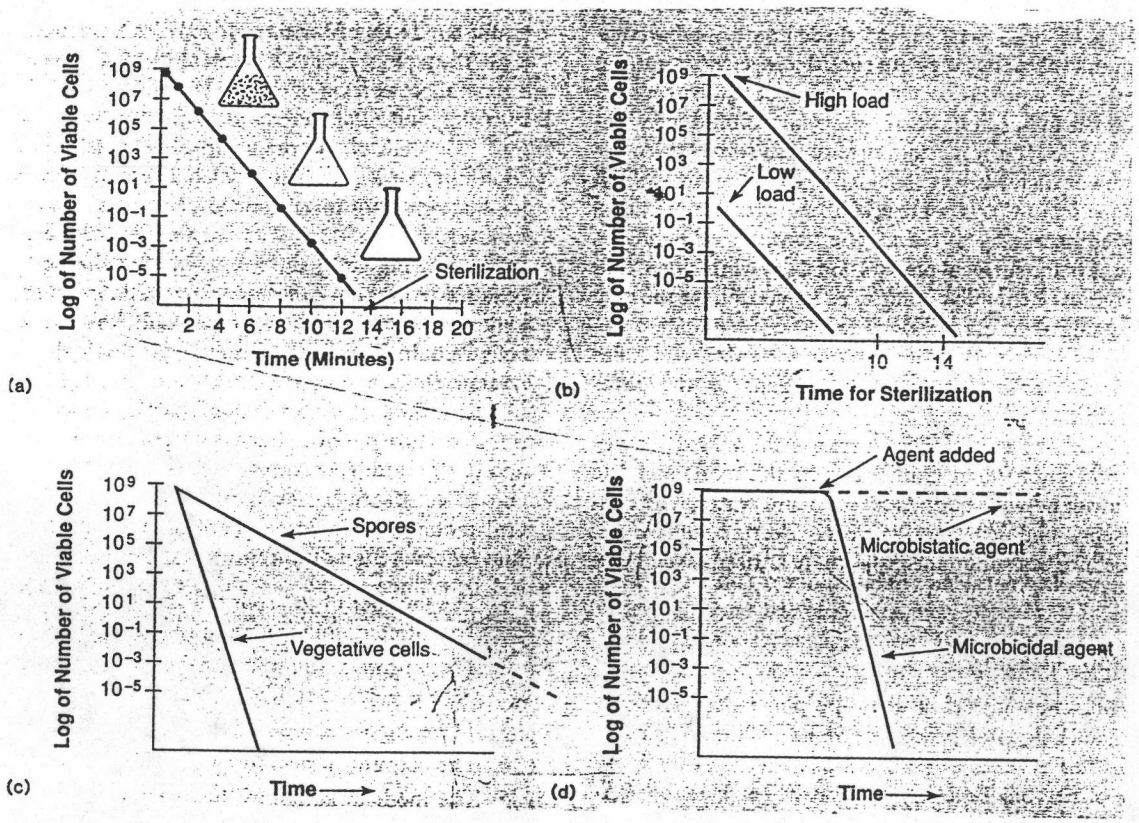
- สปอร์ของแบคทีเรีย

<u>ประเภทที่มีความต้านทานปานกลาง</u>

- สปอร์ของเชื้อรา
- แบคทีเรียที่กำลังเจริญเติบโตบางชนิด *เช่น* *Mycobacteria tuberculosis, Staphylococcus aureus,* และ Species ต่างๆของ *Pseudomonas*

<u>ประเภทที่มีความต้านทานต่ำ</u>

- แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่กำลังเจริญเติบโต
- ยีสต์
- เชื้อไวรัส
- Trophozoites



<u>รูปที่ 3.1 แสดงปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ของสารเคมี ดังต่อไปนี้</u>

(a) ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่ได้ตายในทันทีที่ได้รับสารเคมี และจุดที่แทบจะไม่มีจุลินทรีย์เหลืออยู่เลย เรียกว่า Sterilization

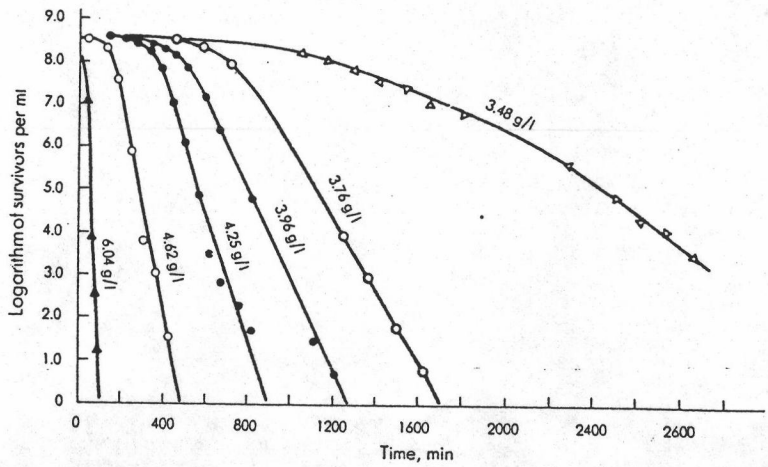
(b) จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์

(c) ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์

(d) ชนิดของสารเคมี

4. <u>ปริมาณของสารเคมีที่ใช้</u>

จาก Bullet-Target Model ของ Pelczar ,M.J. กล่าวว่า ในการยิงปืนนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับจำนวนของเป้าที่ปรากฏแต่เพียงอย่างเดียว หากขึ้นอยู่กับจำนวนกระสุนปืนด้วย ยิ่งมีจำนวนกระสุนมากเท่าไรโอกาสที่จะยิงได้ถูกเป้าก็เร็วมากขึ้นเท่านั้น ดังนั้นถ้าหากความเข้มข้นของสารเคมีเพิ่มมากขึ้นจนถึงระดับหนึ่งที่ยังไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ เชื้อจุลินทรีย์ก็จะถูกทำลายได้มากขึ้นเท่านั้น ซึ่งแสดงได้ดังรูปที่ 3.2

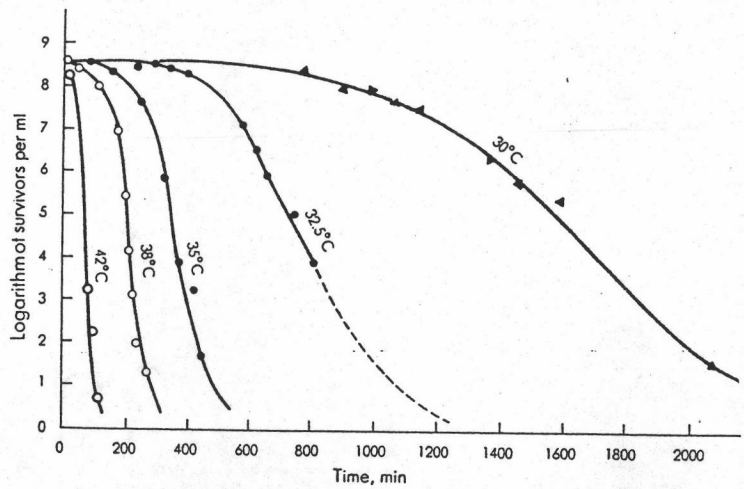


<u>รูปที่ 3.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *E.Coli* ของสารละลาย Phenol ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน ณ อุณหภูมิ 35 °C</u>

จากรูปที่ 3.2 จะเห็นได้ว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย Phenol จะทำให้เซลล์ของ *E.Coli* ถูกทำลายได้เร็วขึ้น (จากการทดลองของ R.C. Jordan และ S.E.Jacobs, J Hyg., 44:210, 1945, Cambridge University Press)

5. <u>อุณหภูมิของสภาพแวดล้อม</u>

จากการทดลองของ R.C. Jordan และ S.E. Jacobs พบว่า อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทีละน้อย จะทำให้ประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ทำลายเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องจากการทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยสารเคมีนั้นผ่านกระบวนการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นนี้จะไปเร่งให้เกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น ซึ่งแสดงได้ดังรูปที่ 3.3



<u>รูปที่ 3.3 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ E.Coli ของสารละลาย Phenol ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆกัน</u>

จากรูปที่ 3.3 จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะทำให้เวลาในการทำลายเชื้อ *E.Coli* ของสารละลาย Phenol ลดลง

6. <u>ความเป็นกรด-ด่างของสภาพแวดล้อม</u>

จุลินทรีย์ที่อยู่ในสภาพที่เป็นกรด (pH>7) จะถูกทำลายได้เร็วกว่าจุลินทรีย์ที่อยู่ในสภาพที่เป็นด่าง (pH <7) และใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า

7. <u>ปริมาณของสารอินทรีย์ที่มีอยู่ทั่วไป</u>

สารอินทรีย์ที่มีอยู่ทั่วไปในอากาศ สามารถทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของสารเคมีลดลงไปได้เพราะ

- สารอินทรีย์เหล่านั้นอาจจะไปทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์เกิดเป็นสารใหม่ที่ไม่ได้มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์อีกต่อไป
- สารอินทรีย์เหล่านั้นอาจไปรวมตัวกับสารเคมีที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์แล้วตกตะกอนออกมาซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย
- สารอินทรีย์เหล่านั้นอาจไปสะสมอยู่ที่บริเวณเซลล์ผิวนอกของจุลินทรีย์ ทำให้สารเคมีไม่สามารถสัมผัสกับจุลินทรีย์ได้โดยตรง

<u>ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์ในอากาศ</u>

จากการศึกษาทางด้านจุลชีววิทยาพบว่า อากาศไม่ใช่แหล่งของอาหารที่จะเอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพียงแต่เป็นแหล่งที่ให้จุลินทรีย์ยึดเกาะได้เนื่องจากมีฝุ่นละออง และสารแขวนลอยต่างๆกระจายตัวอยู่ จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้เมื่อมีทั้งอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม อันได้แก่ อุณหภูมิ, ความชื้น, ความดันบรรยากาศ เป็นต้น ดังนั้นถึงแม้จะมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเพียงใด แต่ถ้าไม่มีอาหารที่เพียงพอจุลินทรีย์ก็ไม่สามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้เลย เมื่อเป็นเช่นนี้จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิ, ความชื้น, ความดันบรรยากาศที่เปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยในหน่วยการทดลองจะไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ในอากาศเลย และพบว่าปริมาณของจุลินทรีย์ในอากาศจะเพิ่มขึ้นได้นั้นเนื่องมาจากการระบายอากาศ, ปริมาณคนเข้า-ออกและกิจกรรมต่างๆของบุคคลเหล่านั้น เป็นต้นว่า การไอ, การจาม, การพูดคุย เป็นต้น

การเลือกปัจจัยที่เกี่ยวข้อง

การเลือกปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลเกี่ยวข้องกับการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธีการฉีดพ่นก๊าซโอโซนนี้จะพิจารณาจากการศึกษาปัจจัยที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องกับการทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีการฉีดพ่นก๊าซโอโซนดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้สารเคมีโดยทั่วไปมีดังนี้

1. ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์
2. จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อนถูกทำลาย
3. ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์
4. ปริมาณของสารเคมีที่ใช้
5. อุณหภูมิของสภาพแวดล้อม
6. ความเป็นกรด-ด่างของสภาพแวดล้อม
7. ปริมาณของสารอินทรีย์ในขณะที่ทำลายเชื้อจุลินทรีย์

ซึ่งถ้าหากได้ทำการพิจารณาโดยละเอียดแล้ว ปัจจัยต่างๆเหล่านั้นจะมีผลต่อระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสิ้น เช่น ถ้าหากเพิ่มอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมหรือเพิ่มปริมาณการใช้สารเคมีก็จะใช้เวลาในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์น้อยลง แต่จากการวิจัยในครั้งนี้เป็นการใช้ก๊าซโอโซนทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศ ที่อยู่ในห้องเจาะเก็บโลหิตของศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทย ซึ่งทำการทดลองฉีดพ่นก๊าซโอโซนได้ในระยะเวลาที่จำกัด กล่าวคือ ตั้งแต่ 19.00 น. ถึง 06.00 น. หรือ 12 ชั่วโมง เพราะฉะนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงมีระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์คงที่ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซโอโซนทำลายเชื้อจุลินทรีย์ จึงไม่สามารถที่จะใช้ระยะเวลาในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์มาเป็นตัววัดประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของก๊าซโอโซนได้ เพราะฉะนั้นจึงทำการพิจารณาประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของก๊าซโอโซนจากเปอร์เซนต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ ซึ่งไม่ทำการพิจารณาเฉพาะจำนวนจุลินทรีย์หลังทำการฉีดพ่นในการวัดประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของก๊าซโอโซน ทั้งนี้เพราะปริมาณของจุลินทรีย์ก่อนทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซนสำหรับการทดลองในแต่ละครั้งมีจำนวนไม่เท่ากัน ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการระบายอากาศ ปริมาณของคนเข้า-ออก และกิจกรรมต่างๆของบุคคลเหล่านี้ เช่น การไอ การจาม การพูดคุย เป็นต้น โดยองค์ประกอบเหล่านี้มีผลทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ในหน่วยทดลองเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ ในงานวิจัยของ Ewell (1946) ได้รายงานว่า ก๊าซโอโซนสามารถกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีในสภาพที่ความชื้นสูง เนื่องจากว่าความชื้นมีผลต่อโครงสร้างทางกายภาพของจุลินทรีย์ในแง่ที่ว่าจะทำให้จุลินทรีย์เกิดการบวม พองตัว เนื่องมาจากเกิดกระบวนการ Osmosis กล่าวคือ ปริมาณน้ำในอากาศที่มากกว่าแพร่เข้ามาในเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีปริมาณน้ำน้อยกว่า ทำให้เซลล์เกิดการบวม ทำให้ง่ายต่อการทำลายโดยก๊าซโอโซน

ดังนั้น ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ในห้องเจาะเก็บโลหิต ศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทย มีดังนี้

1. ปริมาณของก๊าซโอโซน ซึ่งถ้าหากมีปริมาณของก๊าซโอโซนมากก็จะทำให้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ลดลงมาก

2. ความชื้น เนื่องจากงานวิจัยของ Ewell (1946) ได้กล่าวว่าก๊าซโอโซนสามารถกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีในสภาวะที่มีความชื้นสูง

3. ชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อนทำการฉีดพ่น

4. อุณหภูมิของสภาพแวดล้อม เพราะว่าที่อุณหภูมิต่ำนั้นประสิทธิภาพในการเป็นตัวออกซิไดซ์ของก๊าซโอโซนจะลดลง ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น

สามารถแบ่งชนิดของปัจจัยได้ดังนี้

1. <u>ปัจจัยที่สามารถควบคุมได้</u> ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของก๊าซโอโซนที่สามารถควบคุมได้ในที่นี้ คือ ปริมาณของก๊าซโอโซนซึ่งจะทำการควบคุมได้จาก

1. อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนเพื่อผลิตก๊าซโอโซน (l./min.)

2. เวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนเข้าเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน (min.)

โดยจะทำการปรับอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนจากสเกลบนหน้าปัดของการปรับอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนที่จะไหลเข้าเครื่องซึ่งเริ่มตั้งแต่ 6-30 l./min. ห่างกันตำแหน่งละ 2 l./min. ดังแสดงในรูปที่ 3.4 ด้วยเหตุนี้จึงสามารถทำการปรับได้เฉพาะสเกลที่เป็นเลขคู่ และจากประสบการณ์ในการทำการทดลองพบว่าสามารถปรับได้มากที่สุดที่ 28 l./min. ดังนั้นช่วงของสเกลของอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนที่ทำการศึกษาเริ่มตั้งแต่ 6-28 l./min. ส่วนสเกลของเวลานั้นสามารถปรับได้อย่างไม่มีขีดจำกัด

รูปที่ 3.4 แสดงสเกลของอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนของเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซนที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

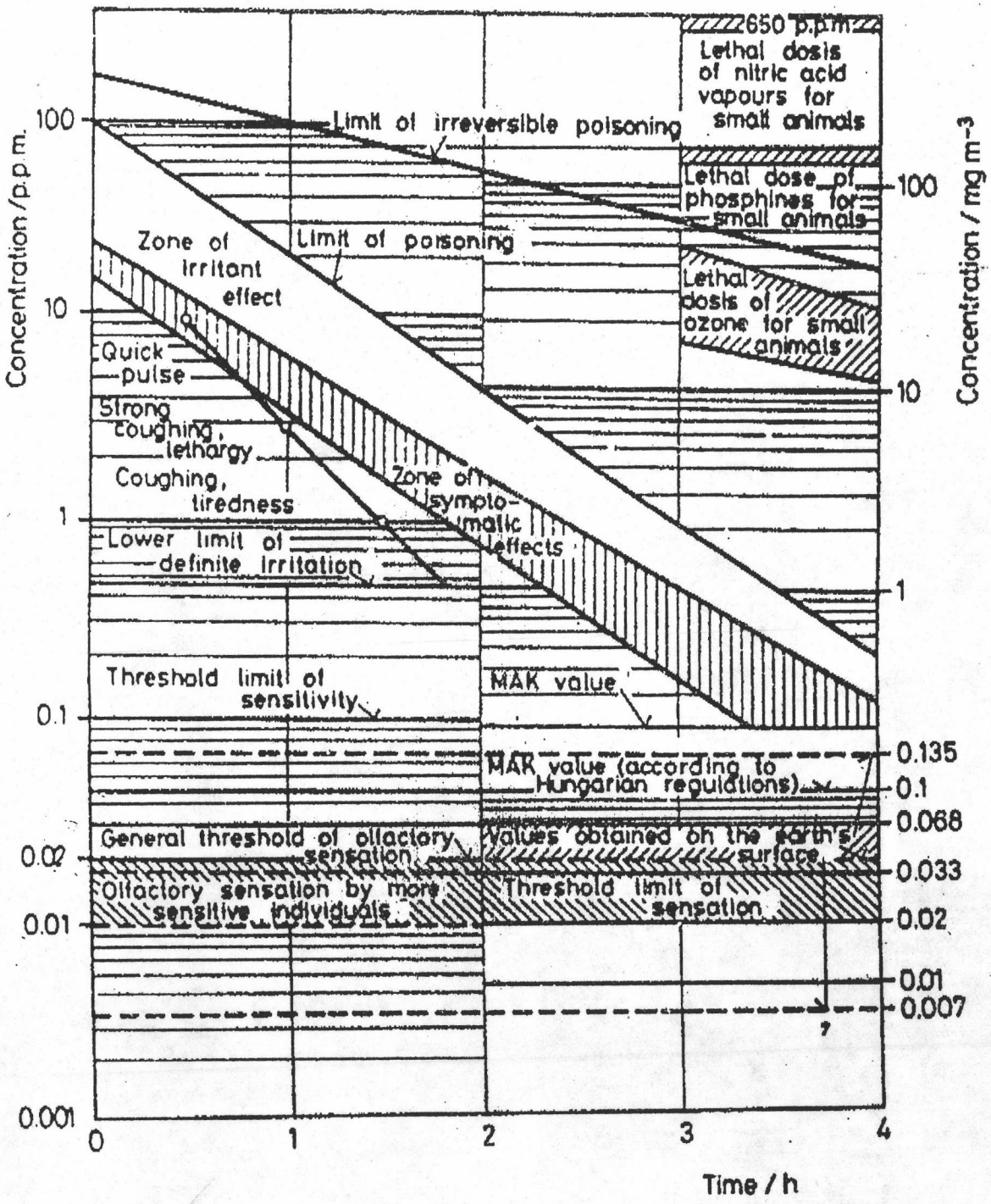
2. ปัจจัยที่ควบคุมไม่ได้ ได้แก่
   - 2.1 ความชื้นสัมพัทธ์
   - 2.2 ชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อนทำการฉีดพ่น
   - 2.3 อุณหภูมิของสภาพแวดล้อม
3. ปัจจัยที่กำหนดให้เป็นค่าคงที่ (Background Variable) ซึ่งแสดงได้ดังนี้

ปัจจัยที่กำหนดให้คงที่	ข้อกำหนด
1. กระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน	2 แอมแปร์
2. อิเล็คโทรดในเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน	แกรไฟต์
3. ก๊าซที่ใช้ในการเป็นตัวกำเนิดก๊าซโอโซน	ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์
4. Power Supply	374 วัตต์

การกำหนดระดับของปัจจัยที่ทำการศึกษา

เนื่องจากในการทดลองนี้เป็นการทดลองฉีดพ่นก๊าซโอโซนซึ่งมีความเป็นพิษ ดังนั้นในการกำหนดระดับของปัจจัยที่ทำการศึกษานั้นจะต้องให้ความสำคัญเรื่องนี้เป็นอย่างมาก ดังนั้นระดับที่มากที่สุดของของปัจจัยที่ทำการศึกษานั้นจะกำหนดจากเกณฑ์ที่ว่า ความเข้มข้นของก๊าซโอโซนที่เหลือตกค้างนั้นจะต้องไม่เป็นอันตรายกับบุคลากรที่จะเข้ามาทำงานภายหลังจากการฉีดพ่นก๊าซโอโซนไปแล้ว และจะทราบความเข้มข้นที่เหลือตกค้างของก๊าซโอโซนได้จากเครื่องตรวจวัด Residual ของก๊าซโอโซน โดยที่ความเข้มข้นที่เหลือตกค้างของก๊าซโอโซนนั้นจะต้องไม่เกินจากมาตรฐานต่างๆที่หลายหน่วยงานเช่น Committee of the American Conference of Government Industrial Hyginenists , Federal Ministry of Labour of the Federal Republic of Germany, Hangarian Regulation และ The Mauna Loa U.S. Weather Bureau เป็นต้น ได้กำหนดระดับที่จะเป็นพิษต่างๆไว้ ดังรูปที่ 3.5

โดยที่ในงานวิจัยครั้งนี้จะต้องปฏิบัติการให้กลิ่นของก๊าซโอโซนที่เหลือตกค้างอยู่จะต้องไม่ก่อให้เกิดความรำคาญ และระคายเคืองต่อการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่และผู้บริจาคโลหิตซึ่งอาจจะทำให้เกิดผลกระทบต่อการประชาสัมพันธ์ในการที่จะเพิ่มยอดของผู้บริจาคโลหิต อีกทั้งยังต้องมีความเหมาะสมในด้านเวลาและค่าใช้จ่ายในการวิจัยอีกด้วย ดังนั้นจึงจะใช้เกณฑ์ของ Committee of the American Conference of Government Industrial Hyginenists ซึ่งกำหนดไว้ว่าจะมีความเข้มข้นที่เหลือตกค้างของก๊าซโอโซนได้ไม่เกิน 0.02 ppm หากมีความเข้มข้นที่สูงกว่านี้จะทำให้ผู้ที่อยู่ในบริเวณนั้นๆ เกิดความรำคาญจากกลิ่นของก๊าซโอโซน อีกทั้งยังก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อระบบต่างๆในร่างกายด้วย



รูปที่ 3.5 ระดับความเข้มข้นต่างๆของก๊าซโอโซนที่จะทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย

ส่วนระดับน้อยที่สุดของปริมาณก๊าซโอโซนที่ใช้ศึกษานี้จะพิจารณาจากจำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือหลังจากทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซนว่ามีจำนวนเกิน 0.5/ft^2/min. ตามระดับความสะอาด Class 10,000 สำหรับ Clean Room ของ NASA Standard หรือไม่ ซึ่งเหตุที่ใช้มาตรฐานนี้เพราะโลหิตเปรียบเสมือนยารักษาโรคที่ต้องการความสะอาดในการเตรียม ดังนั้นสถานที่ในการเตรียมการบรรจุต้องปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ โดยสถานที่ต่างๆนั้นมีระดับความสะอาดที่ Class 10,000 เป็นส่วนใหญ่ ดังรายละเอียดตามตารางที่ 3.1 ต่อไปนี้

ตารางที่ 3.1 แสดงมาตรฐานสำหรับระดับความสะอาด (Cleanliness Class) ในแต่ละห้อง/สถานที่

สถานที่	Class
1. ห้องพักภาชนะสำหรับบรรจุก่อนส่งเข้าห้องล้าง	100,000-200,000
2. ห้องล้างภาชนะสำหรับบรรจุ (Washing Area) ติดตั้ง Prefilter และ HEPA Filter	10,000
3. ห้องเตรียมยา (Preparation Room) ติดตั้ง Prefilter และ HEPA Filter	10,000
4. ห้องบรรจุยา (Filling Room)	10,000
5. ห้องเปลี่ยนชุดปราศจากเชื้อ (Gowing Room)	10,000
6. สถานที่บรรจุ (Filling Room) ภายใต้ Laminar Air Flow	100

จาก อำพล ไมตรีเวช , " การพัฒนาคุณภาพเภสัชภัณฑ์ ", คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ เป็นการวิเคราะห์หาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซโอโซนเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศจากเครื่องผลิตก๊าซโอโซน อันได้นำมาประยุกต์ใช้งานที่ห้องเจาะโลหิต ศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทยเป็นแห่งแรกซึ่งยังขาดทั้งข้อมูลในการทำงานและแนวทางในการปฏิบัติ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเห็นว่าควรจะใช้มาตรฐานของห้องสะอาดมาเป็นหลักเกณฑ์เพื่อกำหนดแนวทางในการทำงานสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ได้ ถึงแม้ว่าห้องที่ทำการวิจัยจะไม่ใช่ห้องสะอาดก็ตาม ทั้งนี้เพราะมีจุดประสงค์ในเรื่องความสะอาดของห้องที่ต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ได้ไม่เกินระดับมาตรฐานหรือไม่มีเลยเหมือนกัน

การเลือกระดับของปัจจัยที่ทำการศึกษา

สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้จะทำการเลือกระดับของปัจจัยที่ศึกษาโดยประยุกต์จากวิธีการของ Search Technique โดยจะพิจารณาจากหลักเกณฑ์ 2 ประการดังนี้

1. อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและเวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนนั้นจะต้องไม่ทำให้เกิดก๊าซโอโซนที่มีความเข้มข้นเกินกว่า 0.02 ppm. (ตามระดับมาตรฐานของ Committee of the American Conference of Government Industrial Hyginenists)

2. หลังจากการฉีดพ่นก๊าซโอโซนแล้ว จะต้องมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เหลืออยู่ไม่เกิน 0.5 /ft^2 /min. (ตามระดับความสะอาด Class 10,000 สำหรับ Clean Room ของ NASA Standard)

โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้

1. เริ่มต้นพิจารณาจากปริมาณก๊าซออกซิเจน 40 และ 200 l./ ปริมาตรห้อง

2. ทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซนโดยใช้ปริมาณก๊าซออกซิเจนจากข้อ 1. แต่เนื่องจากปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่เท่ากันนั้นสามารถทำการปรับอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและเวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนได้หลายชุด ดังนั้นจึงกำหนดให้สุ่มเลือกอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและเวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจน 1 ชุดสำหรับปริมาณของก๊าซออกซิเจนค่าหนึ่งๆ แล้วตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อนที่จะมีการดำเนินงานตามปกติ โดยทำการวางจานเพาะเชื้อที่ตำแหน่งต่างๆ ดังรูปที่ 4.2 เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มาจากเจ้าหน้าที่และผู้ที่มาบริจาคโลหิต แล้วทำการตรวจวัดปริมาณก๊าซโอโซนที่เหลือตกค้างโดยเครื่องมือตรวจวัดก๊าซโอโซน

3. พิจารณาว่าอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดไว้หรือไม่ ถ้าหากไม่เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดให้ทำการเลือกค่าใหม่

4. ทำการทดลองจนกว่าจะได้ปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่เหมาะสมตามเกณฑ์ที่ได้กำหนดไว้ และเนื่องจากยังไม่ทราบระยะห่างที่เหมาะสมที่จะทำการฉีดพ่นในแต่ละครั้ง ดังนั้นระยะห่างที่จะฉีดพ่นก๊าซโอโซนอีกครั้งนั้นจะพิจารณาจากความเข้มข้นของก๊าซโอโซนที่เหลืออยู่ ถ้าหากมีปริมาณมาก (>0.02 ppm.) ให้เว้นไว้หนึ่งวันก่อนที่จะทำการฉีดพ่นอีกครั้ง แต่ถ้ามีปริมาณน้อยให้ทำการฉีดพ่นในวันต่อไป

5. ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้งในแต่ละสภาวะการทดลอง ซึ่งได้แสดงผลการทดลองอย่างละเอียดไว้ในตารางที่ ก-1 ในภาคผนวก ก.

ผลการวิเคราะห์การเลือกระดับของปัจจัยที่ศึกษา

ตารางที่ 3.2 ผลการทดลองของการเลือกระดับของปริมาณก๊าซออกซิเจนในการเลือกครั้งที่ 1

ปริมาณ O_2 (l./ปริมาตรห้อง)	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาในการป้อน O_2 (min.)	จำนวนจุลินทรีย์หลังการฉีดพ่น (/ ft^2/min.)	ความเข้มข้นของ Residual O_3 (ppm.)
40	8	5	0.75	น้อยมาก*
200	10	20	0.005	0.05

* ปริมาณ Residual O_3 น้อยมากจนตรวจสอบไม่ได้

ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสำหรับปริมาณก๊าซออกซิเจน 40 และ 200 l./ปริมาตรห้องนั้น ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่จะทำการศึกษาได้เนื่องจากไม่ตรงตามหลักเกณฑ์ที่กำหนดไว้ กล่าวคือ ถ้าใช้ปริมาณก๊าซออกซิเจน 40 l./ปริมาตรห้อง จำนวนจุลินทรีย์หลังการฉีดพ่นจะมีค่าเกินกว่า 0.5 /ft^2/min และในกรณีที่ใช้ปริมาณก๊าซออกซิเจน 200 l./ปริมาตรห้อง จะพบว่ามีปริมาณของก๊าซโอโซนที่ตกค้างเกินกว่า 0.02 ppm. ดังนั้นจึงต้องทำการพิจารณาเลือกปริมาณก๊าซออกซิเจนใหม่ ในที่นี้จะใช้ปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่มีค่าอยู่ระหว่าง 40 - 200 l./ปริมาตรห้อง คือ 120 l./ปริมาตรห้อง ซึ่งได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ผลการทดลองของการเลือกระดับของปริมาณก๊าซออกซิเจนในการเลือกครั้งที่ 2

ปริมาณ O_2 (l./ปริมาตรห้อง)	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาในการป้อน O_2 (min.)	จำนวนจุลินทรีย์หลังการฉีดพ่น (/ ft^2/min.)	ความเข้มข้นของ Residual O_3 (ppm.)
120	10	12	0.3	น้อยมาก*

ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นว่าที่ปริมาณก๊าซออกซิเจน 120 l./ปริมาตรห้อง นั้นอยู่ในเกณฑ์ที่จะทำการศึกษา ดังนั้นจึงจะได้ทำการหาขอบเขตของปริมาณก๊าซออกซิเจนได้ทำการศึกษาต่อไป โดยจะพิจารณาเลือกจาก

1. ปริมาณก๊าซออกซิเจน 80 l./ปริมาตรห้อง ซึ่งเป็นค่ากลางระหว่าง 40 l./ปริมาตรห้อง และ 120 l./ปริมาตรห้อง

2. ปริมาณก๊าซออกซิเจน 160 l./ปริมาตรห้อง ซึ่งเป็นค่ากลางระหว่าง 120 l./ปริมาตรห้อง และ 200 l./ปริมาตรห้อง

ตารางที่ 3.4 ผลการทดลองของการเลือกระดับของปริมาณก๊าซออกซิเจนในการเลือกครั้งที่ 3

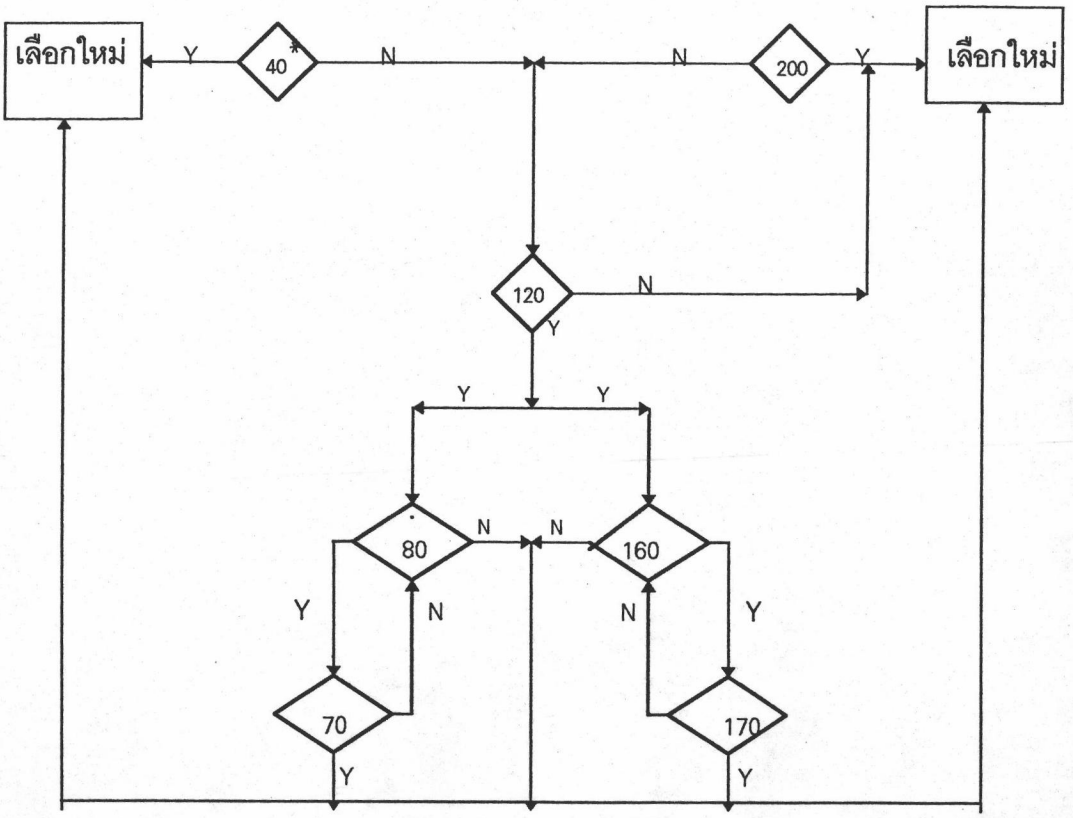
ปริมาณ O_2 (l./ปริมาตรห้อง)	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาในการป้อน O_2 (min.)	จำนวนจุลินทรีย์หลังการฉีดพ่น (/ ft^2/min.)	ความเข้มข้นของ Residual O_3 (ppm.)
80	8	10	0.048	น้อยมาก*
160	8	20	0.018	0.010

จะเห็นว่าปริมาณก๊าซออกซิเจน 80 และ 160 l./ ปริมาตรห้อง ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดที่จะศึกษา ดังนั้นจะต้องตรวจสอบต่อไปว่าปริมาณก๊าซออกซิเจนในช่วง 80 - 160 l./ปริมาตรห้องนั้นเป็นช่วงที่เหมาะสมที่สุดหรือไม่ โดยจะเลือกพิจารณาต่อไปอีกที่ 70 และ 170 l./ปริมาตรห้อง แล้วทำการทดลองเหมือนเดิม ซึ่งได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 ผลการทดลองของการเลือกระดับของปริมาณก๊าซออกซิเจนในครั้งที่ 4

ปริมาณ O_2 (l./ปริมาตรห้อง)	อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาในการป้อน O_2 (min.)	จำนวนจุลินทรีย์หลังการฉีดพ่น (/ ft^2/min.)	ความเข้มข้นของ Residual O_3 (ppm.)
70	10	7	0.63	น้อยมาก*
170	10	17	0.010	0.025

จะเห็นได้ว่าที่ปริมาณก๊าซออกซิเจนทั้ง 2 ค่านั้นไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดไว้ ดังนั้นช่วงของปริมาณก๊าซออกซิเจนที่เหมาะสมที่จะทำการศึกษาคือ ตั้งแต่ 80-160 l./ปริมาตรห้อง ซึ่งสามารถแสดงขั้นตอนการตัดสินใจได้ดังนี้



หมายเหตุ * คือ ปริมาณก๊าซออกซิเจนในหน่วย l./ปริมาตรห้อง

N คือ ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดไว้

Y คือ ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดไว้

รูปที่ 3.6 แสดงขั้นตอนการตัดสินใจในการเลือกช่วงที่จะศึกษาของปริมาณก๊าซออกซิเจน

การหาระยะห่างสำหรับการฉีดพ่นก๊าซโอโซนในแต่ละครั้ง

เมื่อได้ทำการทดลองหาระดับของปริมาณก๊าซออกซิเจนที่จะใช้ในการวิจัยแล้วก็จำเป็นที่จะต้องทำการทดลองหาระยะห่างที่เหมาะสมสำหรับการฉีดพ่นก๊าซโอโซนในแต่ละครั้ง โดยจะใช้ระดับความสะอาด Class 10,000 สำหรับ Clean Room ของ NASA Standard เป็นเกณฑ์ ซึ่งมีขั้นตอนในการดำเนินงานดังนี้

1. ทำการทดลองฉีดพ่นก๊าซโอโซน โดยใช้ปริมาณก๊าซออกซิเจน 80 และ 160 ลิตร/ปริมาตรของห้อง อันเป็นปริมาณในระดับต่ำและสูงของระดับปัจจัยที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ และเนื่องจากปริมาณของก๊าซออกซิเจนจำนวนที่เท่ากันนั้น สามารถทำการปรับอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและเวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนได้หลายชุด ดังนั้นจึงได้กำหนดให้ทำการทดลอง โดยใช้อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและเวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนเพียง 2 ชุดคือชุดที่มีอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนต่ำสุดและสูงสุดสำหรับการผลิตก๊าซโอโซนจำนวนหนึ่งๆ ทั้งนี้เพื่อประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการทดลอง
2. วางจานเพาะเชื้อจุลินทรีย์ตามตำแหน่งต่างๆดังรูปที่ 4.2
3. เปิดห้องให้มีการทำงานตามปกติ
4. เก็บมาตรวจนับ เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง
5. ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

สำหรับผลการทดลองโดยสรุปของการหาระยะห่างที่เหมาะสมในการฉีดพ่นก๊าซโอโซนในแต่ละครั้งนั้น สามารถแสดงได้ดังตารางที่ 3.6 ต่อไปนี้

ตารางที่ 3.6 ผลการทดลองการหาระยะห่างในการฉีดพ่นก๊าซโอโซนในแต่ละครั้ง

ปริมาณก๊าซออกซิเจน (l./ปริมาตรห้อง)	อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจน (min.)	จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้ (/ft^2/min.) หลังจากที่ฉีดพ่นก๊าซโอโซนเป็นเวลา	
			24 Hrs.	48 Hrs.
80	8	10	0.47	0.81
	20	4	0.50	1.56
160	8	20	0.42	1.23
	20	8	0.45	1.21

จากผลการทดลองหาระยะห่างที่เหมาะสมในการฉีดพ่นก๊าซโอโซนในแต่ละครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 3.6 ข้างต้นนั้น ได้ทำการทดลอง 2 ครั้ง (โดยรายละเอียดของผลการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ ก.2 ,ก.3 ในภาคผนวก ก.) จะเห็นได้ว่า จำนวนจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยที่นับได้หลังจากที่ทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซน โดยใช้ปริมาณก๊าซออกซิเจน 80 และ 160 l./ปริมาตรห้อง จะเริ่มมีค่าเกินกว่า 0.5 /ft^2/min. ในวันที่ 2 หลังจากการฉีดพ่น ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงกำหนดให้ทำการฉีดพ่นก๊าซโอโซนทุกวันเว้นวัน

หน่วยการทดลอง (Experimental Unit)

หน่วยการทดลอง หมายถึง หน่วยซึ่งกระทำทรีทเมนท์ได้สะดวกเหมาะสมเพื่อวัดผลเปรียบเทียบซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้หน่วยการทดลอง คือ ห้องเจาะโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดย 1 หน่วยการทดลอง คือห้องเจาะโลหิตต่อ 1 วัน ซึ่งมีปริมาตรเท่ากับ 1763.4 m^3 (โดย Layout ได้แสดงไว้ในบทที่ 4)

ช่วงเวลาที่ทำการทดลอง

ห้องเจาะเก็บโลหิตเป็นห้องที่รับบริจาคโลหิต ภายในจะประกอบด้วยเตียงสำหรับให้บริการเจาะเก็บโลหิตกับผู้ที่มาบริจาคโลหิต โดยผู้ที่มาบริจาคนั้นจะต้องผ่านการตรวจเช็คก่อนว่าสามารถบริจาคโลหิตได้หรือไม่ โดยห้องเจาะเก็บโลหิตจะเปิดบริการทุกวันตั้งแต่วันจันทร์จนถึงวันอาทิตย์ และหยุดทุกวันที่ 1 มกราคมของทุกปี โดยมีรายละเอียดของเวลาทำงานดังนี้

วันจันทร์ถึงวันศุกร์ เริ่มจากเวลา 08.30 - 16.30 น. เวลาพัก 12.00-13.00 น.

วันเสาร์ เริ่มจากเวลา 08:00 - 12.00 น.

วันอาทิตย์ เริ่มจากเวลา 12.00 - 16.00 น.

ดังนั้นการปฏิบัติการทดลองฉีดพ่นก๊าซโอโซนเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์นั้นจะต้องดำเนินการภายหลังเวลาทำงานตามปกติ และก่อนที่จะมีบุคลากรเข้ามาปฏิบัติงานในวันรุ่งขึ้น ฉะนั้นจึงกำหนดให้ทำการทดลองได้ตั้งแต่เวลา 18.00 -24.00 น. (6 ชั่วโมง) และ 0.00 - 06.00 น. (6 ชั่วโมง) ในวันรุ่งขึ้นซึ่งเป็นเวลาที่ไม่มีบุคลากรอยู่ในหน่วยทดลอง จึงเห็นได้ว่าจะมีเวลาในการปฏิบัติการทั้งหมด 12 ชั่วโมง ซึ่งจะรวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการฉีดพ่นก๊าซโอโซนและระยะเวลาที่ก๊าซโอโซนสัมผัสกับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในห้องเจาะเก็บโลหิตนั้นอย่างแท้จริง ก่อนที่จะมีการเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จากการถ่ายเทจากแหล่งอื่น

แผนการออกแบบการทดลอง

หลังจากที่ได้ทำการศึกษาข้อมูลและแนวทางของปัจจัยต่างๆ จะได้ทำการเลือกแผนการทดลองโดยอาศัยข้อมูลต่างๆ ดังนี้

1. **ปัจจัยที่ทำการศึกษา** จากการศึกษาที่ผ่านมาสามารถสรุปได้ดังนี้

ปัจจัยที่สามารถควบคุมได้ (Controllable Factors) คือ ปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ทำให้เกิดก๊าซโอโซน (ลิตร/ปริมาตรของห้อง) ซึ่งสามารถทำการปรับได้จาก

1. อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน (l./min.)
2. เวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจน (min.)

ปัจจัยที่กำหนดให้คงที่ (Background Factors) มีดังนี้

1. กระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน
2. โลหะที่ใช้ทำอิเล็คโทรดในเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน
3. ก๊าซที่ใช้ในการเป็นตัวกำเนิดก๊าซโอโซน
4. Power Supply

ปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ (Uncontrollable Factors) มีดังนี้

1. ความชื้นสัมพัทธ์
2. ชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อนทำการฉีดพ่น
3. อุณหภูมิของสภาพแวดล้อมก่อนทำการฉีดพ่น

2. **การกำหนดระดับของปัจจัยที่ทำการศึกษา** จาก Search Technique และการใช้เกณฑ์กำหนดจาก NASA Standard และระดับมาตรฐานของ Committee of the American Conference of Government Industrial Hyginenists พบว่าระดับปริมาณของก๊าซออกซิเจนที่ทำการศึกษาได้จะมีค่าตั้งแต่ 80 - 160 ลิตร/ปริมาตรของห้อง

ดังนั้นจึงได้ทำ Screening Design สำหรับกำหนดระดับของปัจจัยที่ทำการศึกษาโดยจะให้มีปริมาณของก๊าซออกซิเจนอยู่ในช่วง 80-160 l/ ปริมาตรห้อง ซึ่งสามารถกำหนดอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและเวลาที่ใช้ป้อนก๊าซออกซิเจนได้ดังนี้

ก) อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนที่ใช้มี 11 ระดับ คือ 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 และ 28 l./min.

ข) เวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนมี 22 ระดับ คือ 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 และ 26 min.

ซึ่งจะเห็นได้ว่าจะมี Treatment Combination ได้ทั้งหมด 11x22 = 242 แต่เนื่องจากเกณฑ์กำหนดต่างๆ ของ NASA Standard, ตามระดับมาตรฐานของ Committee of the American Conference of Government Industrial Hyginenists และผลการทดลองนำร่อง (Pilot Run) ทำให้ทราบว่า Treatment Combination บางตัวไม่ได้ผล และบางตัวก่อให้เกิดอันตรายอย่างแน่นอน ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์การทดลองแบบ Full Factorial ไม่ได้ ด้วยเหตุนี้จึงนำมาสร้าง Screening Design ซึ่งแสดงรายละเอียดได้ในตารางที่ 3.7 และจะทำการทดลองเฉพาะ Treatment Combination ที่ได้แลเงาเอาไว้

ตารางที่ 3.7 แสดงตาราง Screening Design ของการวิจัยในครั้งนี้

อัตราการไหลของ	เวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจน (min.)																					
ก๊าซออกซิเจน (l./min.)	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
8	-	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ X คือ Treatment Combination ที่คาดว่าจะได้ผลดีและนำมาศึกษาในการวิจัยครั้งนี้

\- คือ Treatment Combination ที่บางตัวไม่ได้ผล และบางตัวก็มีพิษตกค้าง เกินระดับความปลอดภัย

3. **รูปแบบการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล**

การทดลองนี้ใช้การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ เพื่อเป็นการป้องกันเรื่องความไม่สม่ำเสมอ, ความล้าของเครื่องมือและผู้ทำการทดลอง รวมทั้งอคติที่อาจเกิดขึ้นได้ในผู้ทำการทดลองและเนื่องจากมีปัจจัยที่ทำการศึกษา 2 ปัจจัยคือ

A = อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน

B = เวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจน

จึงได้ใช้เทคนิคการทดลองเป็นแบบแฟคทอเรียลชนิด 2 ปัจจัย ในการวิเคราะห์ข้อมูลจะนำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance ; ANOVA) มาทดสอบความมีนัยสำคัญ (Test of Significant) ของพารามิเตอร์ของข้อมูลที่ได้จากการทำการทดลองและจะทำการพิจารณาถึงอิทธิพลของปัจจัย 2 ปัจจัยที่มีการกระทำร่วมกัน (Interaction)

อนึ่งก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ข้อมูลนั้น จำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบข้อมูลเสียก่อน เพราะการวิเคราะห์ข้อมูลที่จะได้กล่าวถึงต่อไปนั้นได้อาศัยหลักการของ Fisher ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance ; ANOVA) ซึ่งข้อมูลจะต้องมีความผิดพลาด (error) ที่มีการกระจายแบบปกติ มีความเป็นอิสระต่อกันและมีค่าความคลาดเคลื่อนคงที่ เมื่อค่าความผิดพลาดมีรูปแบบทั้ง 3 ประการดังกล่าวจะส่งผลให้ตัวแปรตาม (Y) มีรูปแบบตามนั้นด้วย โดยหลักการที่ใช้คือ การตรวจสอบความถูกต้องของรูปแบบ (Model Adequacy Checking)

โดยในการวิเคราะห์นั้นถูกกำหนดรูปแบบแผนการทดลองเป็นแบบที่เกิดจาก อิทธิพลคงที่ (Fixed Effect Model หรือ Model I) เนื่องจากทั้งสองปัจจัยนั้นเป็นปัจจัยที่เกิดขึ้นซ้ำได้ ซึ่งมีแบบหุ่นสำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มี 2 ปัจจัย (The Two - Factor Analysis of Variance Madel) ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

โดยที่

Y_{ij} = ผลที่ได้จากระดับ i ของปัจจัย A ระดับ j ของปัจจัย B

μ = ผลผลิตเฉลี่ยทั้งหมด (Overall Mean Yield)

α_i = อิทธิพลของระดับ i ของปัจจัย A วัดจากความบ่ายเบนไปจาก μ ซึ่งจะได้ว่า $\sum_i \alpha_i = 0$

β_j = อิทธิพลของระดับ j ของปัจจัย B วัดจากความบ่ายเบนไปจาก μ ซึ่งจะได้ว่า $\sum_j \beta_j = 0$

$(\alpha\beta)_{ij}$ = อิทธิพลของการประกอบกันของระดับ i ของปัจจัย A กับระดับ j ของปัจจัย B หรืออิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ $A_i \times B_j$ ซึ่งมีเงื่อนไขว่า

$$\sum_i (\alpha\beta)_{ij} = \sum_j (\alpha\beta)_{ij} = 0$$

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนสุ่ม , $\varepsilon_{ij} \sim N(0,\sigma^2)$

โดยที่

ปัจจัย A คือ อิทธิพลของอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน (l./min.)

ปัจจัย B คือ อิทธิพลของเวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจนเข้าสู่เครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน (min.)

และสามารถตั้งสมมุติฐานในการทดสอบได้ว่า

1. H_o : $\alpha_i = 0$ หรือ
อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์

2. H_o : $\beta_j = 0$ หรือ
เวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์

3. H_o : $(\alpha\beta)_{ij} = 0$ หรือ
อิทธิพลร่วมระหว่างอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและเวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์

โดยมีสมมุติฐานอื่น (Alternative) ดังนี้

1. H_1 : มี α_i อย่างน้อย 1 ตัวที่ไม่เท่ากับ 0 หรือ
อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 ค่า

2. H_1 : มี β_j อย่างน้อย 1 ตัวที่ไม่เท่ากับ 0 หรือ
เวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 ค่า

3. H_1 : มี $(\alpha\beta)_{ij}$ อย่างน้อย 1 ตัวที่ไม่เท่ากับ 0 หรือ
อิทธิพลร่วมระหว่างอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนและเวลาที่ใช้ในการป้อนก๊าซออกซิเจนไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 ค่า

จาก Screening Design ในตารางที่ 3.7 สามารถจัดกลุ่มการทดลองเพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial Design ได้ 5 กลุ่ม ดังนี้

1. การทดลองในกลุ่มที่ 1 เป็นการทดลองชนิด 3^2 แฟคโทเรียล ประกอบด้วยปัจจัยและระดับของปัจจัยต่างๆ ดังนี้

อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 3 ระดับ คือ 18, 20, 22 l./min.

เวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจน 3 ระดับ คือ 5, 6, 7 min.

2. การทดลองในกลุ่มที่ 2 เป็นการทดลองชนิด 4 x 3 แฟคโทเรียล ประกอบด้วยปัจจัยและระดับของปัจจัยต่างๆ ดังนี้

อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 3 ระดับ คือ 12, 14, 16 l./min.

เวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจน 3 ระดับ คือ 7, 8, 9, 10 min.

3. การทดลองในกลุ่มที่ 3 เป็นการทดลองชนิด 3^2 แฟคโทเรียล ประกอบด้วยปัจจัยและระดับของปัจจัยต่างๆ ดังนี้

อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 3 ระดับ คือ 8, 10, 12 l./min.

เวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจน 3 ระดับ คือ 11, 12, 13 min.

4. การทดลองในกลุ่มที่ 4 เป็นการทดลองชนิด 3^2 แฟคโทเรียล ประกอบด้วยปัจจัยและระดับของปัจจัยต่างๆ ดังนี้

อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 3 ระดับ คือ 6, 8, 10 l./min.

เวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจน 3 ระดับ คือ 14, 15, 16 min.

5. การทดลองในกลุ่มที่ 5 เป็นการทดลองชนิด 2x4 แฟคโทเรียล ประกอบด้วยปัจจัยและระดับของปัจจัยต่างๆ ดังนี้

อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 2 ระดับ คือ 6, 8 l./min.

เวลาในการป้อนก๊าซออกซิเจน 4 ระดับ คือ 17, 18, 19, 20 min.

โดยก่อนที่จะทำการตรวจสอบนัยสำคัญนั้น จะต้องทำการตรวจสอบความถูกต้อง (Model Adequacy Checking) แล้วใช้ R^2 Test ตรวจสอบถึงรูปแบบหรือเทคนิคการออกแบบการทดลองที่ได้เลือกมาว่ามีความเหมาะสมมาก-น้อยเพียงใด ซึ่งถ้าหากมีค่าที่เหมาะสมก็จะได้ทำการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสม (Optimization) โดยทำการหาสมการทางคณิตศาสตร์ที่เหมาะสมจากหลักการของ Orthogonal Polynomial ต่อไป

4. **ตัวแปรตอบสนอง (Response Variable)** ในการวิจัยครั้งนี้จะวัดผลการตอบสนองจากเปอร์เซ็นต์ที่ลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการใช้ก๊าซโอโซนในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์

5. **การใช้หลักการออกแบบการทดลอง** มีดังต่อไปนี้

5.1 การทำซ้ำ (Replication) เพื่อเป็นการเพิ่มความเที่ยงตรงของการประมาณค่าทางสถิติและเป็นการควบคุมความคลาดเคลื่อนให้น้อยลง และได้กำหนดจำนวนซ้ำในการทดลองเป็น 3 ครั้ง

5.2 การทำแบบสุ่ม (Randomization) เพื่อไม่ให้เกิดอคติในการจัดสิ่งทดลองให้แก่ทรีทเมนท์ในการทดลอง และเป็นการให้โอกาสแก่ข้อมูลในการเฉลี่ยอิทธิพลของปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ออกไป ในการวิจัยครั้งนี้ได้เลือกใช้การทำแบบสุ่มสมบูรณ์โดยใช้เลขสุ่มจากเครื่องคอมพิวเตอร์

6. **ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ**

หลังจากที่มีการวิเคราะห์ข้อมูลแล้ว ผู้วิจัยจะต้องทำการสรุปผลและเสนอข้อแนะนำเกี่ยวกับการเกิดผลการทดลองตลอดจนสรุปผลของข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้น

ได้ทำการสรุปแผนการออกแบบการทดลองไว้ดังตารางที่ 3.8 ต่อไปนี้

ตารางที่ 3.8 แสดงแผนการออกแบบการทดลอง

แผนการออกแบบการทดลอง

1. วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซโอโซนเพื่อใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์

2. ข้อมูลพื้นฐาน

ก๊าซโอโซนมีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรง และได้มีการวิจัยค้นคว้าว่าสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ด้วยเหตุนี้ น.ต. ชลัช ชวกุล ,ร.น. จึงได้คิดและประดิษฐ์เครื่องกำเนิดก๊าซโอโซนขึ้นมา โดยจะนำมาใช้ในงานฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศที่ห้องเจาะโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติเป็นแห่งแรก ซึ่งยังขาดทั้งข้อมูลในการใช้งานและแนวทางในการปฏิบัติ

3. ตัวแปรในการทดลอง

3.1 ตัวแปรตอบสนอง (Response Variable)	วิธีการวัดผล
1. จำนวนจุลินทรีย์ที่ลดลง	การตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ (Total Plate Count)
3.2 ปัจจัยที่สามารถควบคุมได้	ระดับของปัจจัย
1. อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน	มี 11 ระดับ ดังนี้ 6, 8, 10, 12, 14, 18, 20, 22, 24, 26 และ 28 l./min.
2. เวลาที่ในการป้อนก๊าซออกซิเจนเข้าเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน	มี 22 ระดับ ดังนี้ 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 ,19, 20, 21, 22, 23, 24 ,25 และ 26 นาที แต่เนื่องจาก ไม่สามารถทำการทดลองได้ทุก Treatment Combination จึงได้ทำการทดลองตาม Screening Design ดังตารางที่ 3.7 แล้วจัดกลุ่มเพื่อทำการวิเคราะห์การทดลองตามแบบแฟคโทเรียลซึ่งสามารถจัดได้ 5 กลุ่มการทดลอง โดยจะกล่าวต่อไปในหัวข้อเมตริกการออกแบบ

ตารางที่ 3.8 แสดงแผนการออกแบบการทดลอง (ต่อ)

3.3. ปัจจัยที่กำหนดให้คงที่	ข้อกำหนด
1. กระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน	2 แอมแปร์
2 อิเล็คโทรดในเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน	แกรไฟต์
3. ก๊าซที่ใช้ในการเป็นตัวกำเนิดก๊าซโอโซน	ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์
4. Power Supply	374 วัตต์

4. จำนวนซ้ำ

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ดังนั้นจะมีทั้งหมด 47 x 3 = 141 สภาวะการทดลอง

5. วิธีการสุ่ม

ใช้วิธีการสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Complete Randomization)

6. เมตริกการออกแบบ ประกอบด้วย

- เมตริกการออกแบบและลำดับการทดลองโดยสุ่มสำหรับการทดลองใน Screening Design (รายละเอียดดังตารางที่ 3.10)
- เมตริกการออกแบบที่เลือกมาจากเมตริกการออกแบบของ Screening Design เพื่อใช้วิเคราะห์สำหรับ

การทดลองในกลุ่มที่ 1 (รายละเอียดดังตารางที่ 3.11)
การทดลองในกลุ่มที่ 2 (รายละเอียดดังตารางที่ 3.12)
การทดลองในกลุ่มที่ 3 (รายละเอียดดังตารางที่ 3.13)
การทดลองในกลุ่มที่ 4 (รายละเอียดดังตารางที่ 3.14)
การทดลองในกลุ่มที่ 5 (รายละเอียดดังตารางที่ 3.15)

ตารางที่ 3.8 แสดงแผนการออกแบบการทดลอง (ต่อ)

7. ตารางบันทึกผลการทดลอง ประกอบด้วย

การทดลองใน Screening Design (รายละเอียดดังตารางที่ ก.4 ในภาคผนวก ก)

การทดลองในกลุ่มที่ 1 (รายละเอียดดังตารางที่ ก.5 ในภาคผนวก ก.)

การทดลองในกลุ่มที่ 2 (รายละเอียดดังตารางที่ ก.6 ในภาคผนวก ก.)

การทดลองในกลุ่มที่ 3 (รายละเอียดดังตารางที่ ก.7 ในภาคผนวก ก.)

การทดลองในกลุ่มที่ 4 (รายละเอียดดังตารางที่ ก.8 ในภาคผนวก ก.)

การทดลองในกลุ่มที่ 5 (รายละเอียดดังตารางที่ ก.9 ในภาคผนวก ก.)

8. การวิเคราะห์ผลการทดลองเชิงสถิติ

- การตรวจสอบความถูกต้องของรูปแบบ
- การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)
- R^2 - Test
- Surface Equation โดยใช้หลักการของ Orthogonal Polynomial (ถ้าหากค่า R^2 อยู่ในเกณฑ์ ที่ยอมรับได้)
- Optimization

9. อื่นๆ

ตารางที่ 3.9 แสดงเมตริกการออกแบบของการทดลองพร้อมทั้งการทำแบบสุ่มลำดับที่จะทำการทดลองของการทดลองใน Screening Design

อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)	ลำดับของการทดลองโดยสุ่ม		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
6	14	6	25	61
	15	28	65	113
	16	29	68	132
	17	56	57	127
	18	100	109	128
	19	59	101	110
	20	92	111	131
8	11	11	32	71
	12	35	75	117
	13	36	78	133
	14	26	27	62
	15	8	9	66
	16	10	69	70
	17	90	99	108
	18	58	91	129
	19	22	23	130
	20	24	60	112
10	11	33	34	72
	12	13	14	76
	13	15	79	80
	14	7	63	64
	15	67	114	115
	16	30	31	116
12	7	81	82	134
	8	83	94	136
	9	95	124	138
	10	16	86	87

ตารางที่ 3.9 แสดงเมตริกการออกแบบการทดลองพร้อมทั้งการทำแบบสุ่มลำดับที่จะทำการทดลองของการทดลองใน Screening Design (ต่อ)

อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)	ลำดับของการทดลองโดยสุ่ม		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
12	11	12	73	74
	12	77	118	119
	13	37	38	120
14	7	93	102	121
	8	84	104	123
	9	41	85	125
	10	43	88	140
16	7	103	122	135
	8	39	40	137
	9	42	105	139
	10	17	89	141
18	5	44	45	96
	6	49	50	51
	7	3	52	98
20	5	18	46	47
	6	1	20	97
	7	4	21	53
22	5	19	48	106
	6	2	107	126
	7	5	54	55

ตารางที่ 3.10 แสดงเมตริกการออกแบบของการทดลองในกลุ่มที่ 1

อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)	ลำดับของการทดลองโดยสุ่ม		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
18	5	44	45	96
	6	49	50	51
	7	3	52	98
20	5	18	46	47
	6	1	20	97
	7	4	21	53
22	5	19	48	106
	6	2	107	126
	7	5	54	55

ตารางที่ 3.11 แสดงเมตริกการออกแบบของการทดลองในกลุ่มที่ 2

อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)	ลำดับของการทดลองโดยสุ่ม		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
12	7	81	82	134
	8	83	94	136
	9	95	124	138
	10	16	86	87
14	7	93	102	121
	8	84	104	123
	9	41	85	125
	10	43	88	140
16	7	103	122	135
	8	39	40	137
	9	42	105	139
	10	17	89	141

ตารางที่ 3.12 แสดงเมตริกการออกแบบของการทดลองในกลุ่มที่ 3

อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)	ลำดับของการทดลองโดยสุ่ม		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
8	11	11	32	71
	12	35	75	117
	13	36	78	133
10	11	33	34	72
	12	13	14	76
	13	15	79	80
12	11	12	73	74
	12	77	118	119
	13	37	38	120

ตารางที่ 3.13 แสดงเมตริกการออกแบบของการทดลองในกลุ่มที่ 4

อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)	ลำดับของการทดลองโดยสุ่ม		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
6	14	6	25	61
	15	28	65	113
	16	29	68	132
8	14	26	27	62
	15	8	9	66
	16	10	69	70
10	14	7	63	64
	15	67	114	115
	16	30	31	116

ตารางที่ 3.14 แสดงเมตริกการออกแบบของการทดลองในกลุ่มที่ 5

อัตราการไหลของ O_2 (l./min.)	เวลาที่ใช้ในการป้อน O_2 (min.)	ลำดับของการทดลองโดยสุ่ม		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
6	17	56	57	127
	18	100	109	128
	19	59	101	110
	20	92	111	131
8	17	90	99	108
	18	58	91	129
	19	22	23	130
	20	24	60	112