สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยเรื่อง "นวัตกรรมผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟันที่มีสารป้องกันฟันผุจากสารสกัดเปลือกทุเรียน" เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) ที่ใช้วิธีการดำเนินการวิจัยโดยการทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์นวัตกรรมไหมขัดฟันป้องกันฟันผุจากสารสกัดเปลือกทุเรียน และการวิจัยเชิงปริมาณ (Quantitative Research) โดยการวิจัยเชิงสำรวจ (Survey Research Method) และใช้การเก็บข้อมูลด้วยแบบสอบถาม (Questionnaire) ซึ่งผู้วิจัยได้กำหนดแนวทางในการดำเนินการวิจัย ซึ่งมีรายละเอียดในเรื่องของประชากร กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย การทดสอบแบบสอบถาม ตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย เกณฑ์การให้คะแนน การเก็บรวบรวมข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล และการนำเสนอข้อมูล โดยแบ่งงานวิจัยทั้งหมดเป็น 2 ส่วน คือ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ และ การศึกษาความเป็นไปได้ในการยอมรับผลิตภัณฑ์ในเชิงธุรกิจ ซึ่งจะดำเนินการศึกษาดังนี้

<u>ส่วนที่ 1.</u> การพัฒนาผลิตภัณฑ์นวัตกรรมไหมขัดฟันที่มีสารป้องกันฟันผุจากสารสกัดเปลือกทุเรียน

1. วัตถุดิบ/สารเคมี
2. เครื่องมือ และอุปกรณ์
3. วิธีการศึกษา/ทดลอง

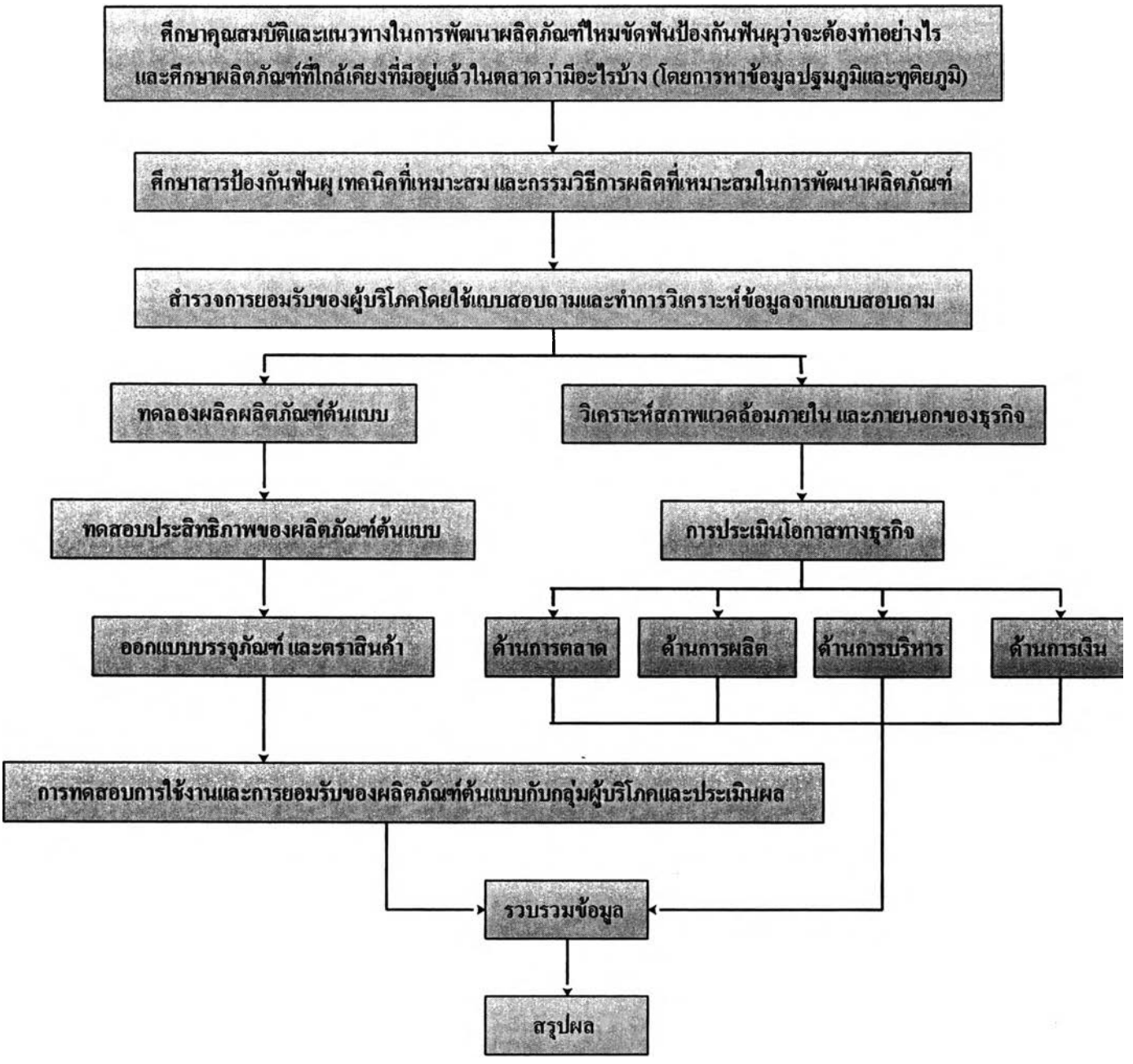
<u>ส่วนที่ 2.</u> ศึกษาความเป็นไปได้ในการยอมรับผลิตภัณฑ์ในเชิงธุรกิจ

1. ประชากร และกลุ่มตัวอย่าง
2. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
3. การเก็บรวบรวมข้อมูล
4. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 ขั้นตอนการทำวิจัย

การทำวิจัยถูกแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ และการหาแนวทางนำผลิตภัณฑ์ออกสู่เชิงพาณิชย์ โดยมีขั้นตอนในการทำการวิจัยดังรูปที่ 3-1

รูปที่ 3-1 ขั้นตอนการทำวิจัย



3.2 การทดลองพัฒนาผลิตภัณฑ์

3.2.1 วัตถุดิบ/สารเคมี

การทดลองเคลือบเส้นไหม

น้ำกลั่น, ไหมขัดฟันไนลอนชนิดไม่เคลือบแว็กซ์, สารพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน (PG), สารกลีเซอรอล, สารแต่งกลิ่นจากธรรมชาติ

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. mutans*

น้ำเกลือ, อาหารเลี้ยงเชื้อ BHI , แอลกอฮอล์ 70%

3.2.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองเคลือบเส้นไหม

บีกเกอร์, ตู้อบ (Hot air oven), เครื่องกวนสารชนิดแม่เหล็ก, แมกเนติกบาร์, เครื่อง FTIR spectrometer

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. mutans*

จานอาหารเพาะเชื้อ, เข็มฉีดยา, ตะเกียงก๊าซ, ไปเปต, ตู้เพาะเลี้ยงเชื้อ, ตู้อบความร้อน, เครื่องเหวี่ยงสาร, ตู้กรองอากาศให้ปราศจากเชื้อ, เครื่องเขย่า

3.2.3 วิธีการศึกษา/ทดลอง

3.2.3.1 การสกัดสารพอลิแซคคาไรด์ (PG) จากเปลือกทุเรียน

ขั้นแรก การเตรียมเปลือกทุเรียนเพื่อใช้ในการสกัด เริ่มจากการนำเปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทองสดมาล้างน้ำเพื่อทำความสะอาด บดเปลือกให้เป็นชิ้นหยาบด้วยเครื่องบดไฟฟ้า แล้วนำเปลือกที่บดแล้วครั้งละ 1 กิโลกรัมไปอบด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้ผงตัวอย่างแห้งของเปลือกทุเรียนจำนวน 200 กรัม เก็บผงเปลือกทุเรียนแห้งที่ได้ไว้ในตู้ที่มีอุณหภูมิ 4 °C จนกว่าจะนำไปทำการสกัดสารพอลิแซคคาไรด์

ขั้นสอง การสกัดสารพอลิแซคคาไรด์จะใช้วิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน และทำให้เป็นกึ่งบริสุทธิ์ตามวิธีที่พัฒนาโดย สุนันท์ พงษ์สามารถ (2544) [37] จะได้สารสกัดอบแห้งที่เรียกว่า สารพอลิแซคคาไรด์สำหรับใช้ในงานวิจัยนี้ โดยขั้นตอนการสกัดที่สำคัญมีดังต่อไปนี้

1. ต้มเปลือกทุเรียนบดละเอียดใน deionized water ปรับ pH ประมาณ 4 ด้วย citric acid กวนสารสกัดในน้ำร้อนที่อุณหภูมิไม่เกิน 100 °C ประมาณ 45-60 นาที
2. กรองขณะร้อนผ่านผ้ากรอง
3. กรองซ้ำด้วยเครื่อง vacuum filtration จนได้น้ำสกัดใส
4. นำน้ำสกัดของ soluble polysaccharide หรือ PG มาระเหยจนเป็นเจลข้นหนืด
5. นำเจลข้นหนืดที่ได้มาตกตะกอนใน acid-alcohol เพื่อให้ได้ผลึก PG
6. กรองตะกอนด้วยผ้า nylon แล้วล้างตะกอนใน 75% ethanol กรอง และบีบให้แห้ง

7. อบตะกอนให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50-60 °C
8. นำมาบดละเอียดในเครื่องบด (blender) จนได้ผงแห้ง PG โดยปริมาณสาร PG ที่ได้คิดเป็นร้อยละ 10 ของน้ำหนักเปลือกแห้ง

3.2.3.2 การศึกษาลักษณะของ IR Spectra ของสารพอลิแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

ลักษณะของ IR Spectra จะแสดงถึงโครงสร้างทางเคมีของสารพอลิแซคคาไรด์ โดยทำการศึกษาจากเครื่อง Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectrometer (FT-IR Nicolet Impact 400D) โดยเริ่มจากการนำผงพอลิแซคคาไรด์ ผสมกับ KBr ในอัตราส่วน 1: 100 บดให้เข้ากันในโกร่ง แล้วนำมาอัดเป็นแผ่นแบนด้วยเครื่องอัดไฮโดรลิค (CARVER, Model 4350.L S/N 4350-1257) จะได้เป็นแผ่นแบน นำแผ่นที่ได้จากการอัดไปตรวจวิเคราะห์ IR Spectrum ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectrometer เพื่อตรวจวิเคราะห์ polysaccharide specific bands ในบริเวณตั้งแต่ 400 ถึง 4000 cm^{-1} ซึ่งตำแหน่งในช่วงดังกล่าวนี้เป็นช่วงความยาวคลื่นที่แสดงถึงคุณลักษณะเฉพาะของสารพอลิแซคคาไรด์ [38]

3.2.3.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย *S. mutans* ของสารพอลิแซคคาไรด์ (PG)

จากผลการศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *S.mutans* ของสารละลายพอลิแซคคาไรด์ โดยพสุธา ธัญญะกิจไพศาล และคณะ (2551) [42] พบว่า สารละลายพอลิแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 3.5% จะไม่พบการเจริญของเชื้อ *S. mutans* ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ 100%

เพื่อเป็นการยืนยันว่าความเข้มข้นดังกล่าวสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพตามที่ได้เคยมีการทดสอบไว้ งานวิจัยนี้จะทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุในที่ความเข้มข้น 3.0 และ 3.5% โดยจะถ่ายเชื้อแบคทีเรียลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว (single colony) จากนั้น จะทำการถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Brain Heart Infusion (BHI) แล้วนำไปบ่มที่ตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำเชื้อดังกล่าวมาเป็นต้นเชื้อ โดยนำต้นเชื้อไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.4 Mc Farland ซึ่งจะได้เชื้อที่มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) จากนั้นทำการปรับความเข้มข้น โดยการเจือจางจนได้เชื้อที่มีค่าความเข้มข้น 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ขั้นตอนการทดสอบการยับยั้งเชื้อมีดังต่อไปนี้

1. ถ่ายเชื้อ *S. mutans* ที่มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันคือ 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ลงในน้ำเกลือ โดยใช้อัตราส่วน 1: 1 ใส่อย่างละ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอด จำนวน 2 หลอด โดยเก็บ 1 หลอดไว้ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control)
2. ถ่ายเชื้อ *S. mutans* ที่มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันคือ 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีสารละลายพอลิแซคคาไรด์ที่มีความเข้มข้นที่กำหนด คือ 3.0 และ 3.5% โดยปริมาตร อย่างละ 0.5 มิลลิลิตร และใส่เชื้อในแต่ละหลอดจำนวน 0.5 มิลลิลิตร
3. นำหลอดเลี้ยงเชื้อ(ข้อ1 และ 2) ไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. ทำการ subculture จากแต่ละหลอดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง BHI (Agar)
5. นำจานเลี้ยงเชื้อ(จากข้อ 4)ไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อดูว่ามีเชื้อขึ้นหรือไม่
6. ตรวจนับจำนวนเชื้อ *S. mutans* ที่ขึ้น บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ตั้งทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง
7. หา เปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งเชื้อ *S.mutans* (% Reduction) โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ Reduction} = 100(A-B)/A$$

โดย A คือ จำนวนเชื้อ *S.mutans* ที่รอดชีวิตจากหลอดที่ไม่ได้ใส่สารที่เราต้องการทดสอบลงไป ภายใต้ระยะเวลาในการทดสอบ 24 ชั่วโมง

B คือ จำนวนเชื้อ *S.mutans* ที่รอดชีวิตจากหลอดที่ใส่สารที่เราต้องการทดสอบลงไป ภายใต้ระยะเวลาในการทดสอบ 24 ชั่วโมง

3.2.3.4 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายพอลิแซคคาไรด์

จากการศึกษาของ พสุธา ธัญญะกิจไพศาล และคณะ (2551) [42] พบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 3.5% ขึ้นไปจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นต้นเหตุของโรคฟันผุได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของสารละลายพอลิแซคคาไรด์ที่มีค่าตั้งแต่ 4 - 8% สำหรับใช้ในเคลือบบนเส้นไหมขัดฟัน

การเตรียมสารละลาย สามารถทำได้โดยโปรยสารพอลิแซคคาไรด์ลงในน้ำกลั่น คนสารด้วยเครื่องกวนสารชนิดแม่เหล็กที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที จนได้สารละลายที่เป็นเนื้อเดียวกัน

3.2.3.5 ขั้นตอนการเคลือบไหมขัดฟันด้วยสารพอลิแซคคาไรด์

ในการศึกษาการเคลือบเส้นไหมด้วยสารละลายพอลิแซคคาไรด์นี้ ประกอบไปด้วย

- **เตรียมเส้นไหมขัดฟันชนิดไนลอน**

ทำการตัดเส้นไหมไนลอนให้มีความยาว 25 เซนติเมตร และมัดปมที่ปลายเส้นไหมทั้ง 2 ด้าน เพื่อไม่ให้เส้นไหมแตกตัวเมื่อทำการแช่ลงในสารละลายพอลิแซคคาไรด์

- **การทดสอบหาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเคลือบเส้นไหมด้วยสารละลายพอลิแซคคาไรด์**

1. ทำการแช่เส้นไหมในสารละลายพอลิแซคคาไรด์ที่เวลา 2 และ 4 นาที
2. หลังจากนั้นทำการอบเส้นไหมที่ได้ด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 3 นาที

3.2.3.6 วิเคราะห์หาสารพอลิแซคคาไรด์บนเส้นไหมขัดฟันในลอนที่ผ่านการเคลือบแล้วเพื่อยืนยันว่ามีสารพอลิแซคคาไรด์เคลือบติดบนเส้นไหม

➢ **การศึกษา ATR Spectrum**

จะทำการเปรียบเทียบ ATR Spectrum ของเส้นไหมขัดฟันที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบกับเส้นไหมขัดฟันที่เคลือบสารพอลิแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นของสารละลายต่าง ๆ เพื่อดูว่ามีสารพอลิแซคคาไรด์เคลือบติดอยู่บนเส้นไหมขัดฟัน

➢ **การศึกษาน้ำหนักของเส้นไหมที่เพิ่มขึ้นหลังจากเคลือบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์**

เปรียบเทียบน้ำหนักของเส้นไหมที่มีขนาดความยาว 25 เซนติเมตรที่ยังไม่ผ่านการเคลือบกับเส้นไหมที่ผ่านการเคลือบด้วยสารละลายพอลิแซคคาไรด์แล้ว โดย 1 ชุดการทดลองจะหาค่าน้ำหนักเฉลี่ยจากเส้นไหม 3 เส้น

3.2.3.7 การทดสอบประสิทธิภาพในการละลายน้ำของสารพอลิแซคคาไรด์ที่เคลือบบนเส้นไหม

ความเข้มข้นและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมเส้นไหม จะพิจารณาจากปริมาณของสารพอลิแซคคาไรด์ที่สามารถละลายออกมาจากเส้นไหม และให้ค่าความเข้มข้นที่มีค่า 3.5% เป็นต้นไป เนื่องจากเป็นค่าความเข้มข้นที่เหมาะสำหรับการยับยั้งเชื้อที่เป็นต้นเหตุของโรคฟันผุได้ จากข้อมูลการผลิตและการหลั่งน้ำลายในช่องปาก พบว่าการผลิตน้ำลายของมนุษย์ในแต่ละวันอยู่ที่ประมาณ 0.75 ลิตร (แต่ในอดีตเชื่อกันว่าร่างกายผลิตน้ำลายวันละ 1-1.5 ลิตร) โดยการผลิตน้ำลายในแต่ละช่วงจะมีความแตกต่างกัน โดยในช่วงเวลาปกติร่างกายจะผลิตน้ำลายชั่วโมงละ 20 ซีซี (20 กรัม) หรือมีปริมาณน้ำลายที่หลั่งออกมาอยู่ที่ประมาณ 0.34 กรัมใน 1 นาที

ดังนั้น การทดสอบประสิทธิภาพในการละลายน้ำของสารพอลิแซคคาไรด์ทำได้โดยการแช่เส้นไหมลงในน้ำปริมาณ 1 กรัม เป็นเวลา 30, 60 และ 90 วินาที หลังจากนั้นนำเส้นไหมขึ้นจากน้ำและทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักเส้นไหมที่แห้ง ความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ที่สามารถละลายในน้ำสามารถหาได้จากผลต่างของน้ำหนักเส้นไหมก่อนและหลังแช่ในน้ำ และความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์เมื่อละลายอยู่ในช่องปาก โดยเทียบกับปริมาณน้ำลายที่มีอยู่จริงในช่องปาก (0.34 กรัม) หาได้จากสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสาร PG ในช่องปาก} = \frac{\text{(ปริมาณสาร PG จากเส้นไหม 100 ซม.)} \times 100}{0.34}$$

ค

3.2.3.8 การทดสอบประสิทธิภาพการละลายของสารพอลิแซคคาไรด์ที่เคลือบบนไหมขัดฟันในสารละลายน้ำลายเทียม ความเข้มข้นของสารละลายพอลิแซคคาไรด์ และเวลาที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการผลิตไหมขัดฟัน

➢ **การเตรียมสารละลายน้ำลายเทียม**

ทำการเตรียมสารละลายน้ำลายเทียมโดยมีส่วนประกอบ ดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสารละลายน้ำลายเทียม [63]

ชื่อสาร	สัดส่วนร้อยละโดยน้ำหนัก(กรัม)
Sodium chloride (NaCl)	1.59
$NH_4(Al)SO_4$	0.328
Potassium phosphate (KH_2PO_4)	0.636
Potassium chloride (KCl)	0.202
Potassium Acetate (CH_3COOK)	0.308
Urea (H_2NCONH_2)	0.198
Porcine gastric Mucin Type II	20
ทำการเติมน้ำกลั่น (H_2O) จนมีปริมาตร 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร	

- **ทดสอบประสิทธิภาพการละลายของสารพอลิแซคคาไรด์บนเส้นไหมในสารละลายน้ำลายเทียม**

การทดสอบประสิทธิภาพการละลายของสารพอลิแซคคาไรด์บนเส้นไหมในน้ำลายเทียมโดยเลือกทดสอบเฉพาะเส้นไหมที่สามารถให้ความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์สูงกว่า 3.5% ในน้ำ 0.34 กรัม โดยมีขั้นตอนในการทดลองเช่นเดียวกับ การทดสอบประสิทธิภาพการละลายของสารพอลิแซคคาไรด์บนเส้นไหมในสารละลายน้ำ (3.2.3.7)

3.2.3.9 การพัฒนาสูตรสารละลายพอลิแซคคาไรด์สำหรับเคลือบไหมขัดฟันที่มีการเติมสารเพิ่มความยืดหยุ่น

จากข้อมูลที่ได้จากการทดลองที่ 3.2.3.8 จะทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของสารละลายพอลิแซคคาไรด์ และเวลาที่เหมาะสมในการเคลือบเส้นไหม ดังนั้น ในขั้นตอนการพัฒนาสูตรสารละลายพอลิแซคคาไรด์เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่น จะเลือกใช้ ความเข้มข้นของสารละลายที่สามารถให้ปริมาณพอลิแซคคาไรด์ในน้ำลายเทียมสูงกว่า 3.5%

กลีเซอรอลถูกใช้เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับเส้นไหมที่เคลือบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ ในขั้นตอนการพัฒนาจะทำการหาปริมาณสารกลีเซอรอลที่เหมาะสม โดยการใช้อัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับน้ำกลั่นต่าง ๆ กัน โดยเริ่มตั้งแต่ 10:90 และทำการเพิ่มอัตราส่วนของกลีเซอรอลครั้งละ 10 โดยปริมาณกลีเซอรอลที่เหมาะสมหาได้จากการศึกษาน้ำหนักของเส้นไหมที่เพิ่มขึ้นหลังจากเคลือบด้วยสารละลายพอลิแซคคาไรด์ที่มีการปรับปรุงพัฒนาสูตร การทดสอบประสิทธิภาพในการละลายของไหมขัดฟันเคลือบสารพอลิแซคคาไรด์ที่เติมสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่ได้พัฒนาขึ้นในสารละลายน้ำลายเทียม และความอ่อนนุ่มของเส้นไหมที่ได้

3.2.3.10 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ของไหมขัดฟันเคลือบสารพอลิแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับไหมขัดฟันที่มีสารฟลูออไรด์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

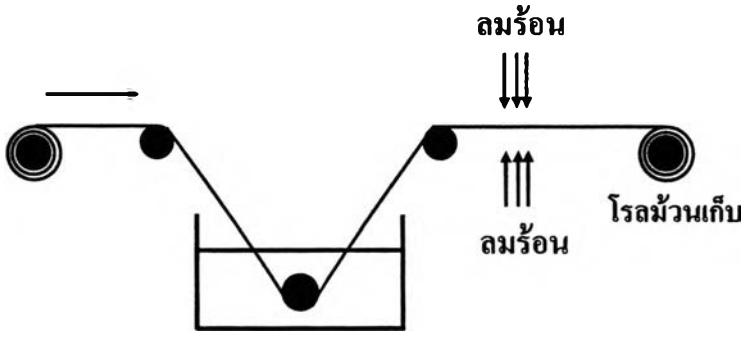
ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ด้วยวิธี broth dilution มีขั้นตอนโดยย่อดังต่อไปนี้

1. ทำการแช่เส้นไหมที่เคลือบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ที่ค่าความเข้มข้นต่าง ๆ ความยาว 50 เซนติเมตร ในน้ำ 10 มิลลิลิตร
2. ถ่ายเชื้อ *S. mutans* ที่มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันคือประมาณ $1x10^5$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีน้ำเกลือจำนวน 0.5 มิลลิลิตร ทำการเขย่าเพื่อให้ของเหลวในหลอดผสมเข้ากัน
3. ถ่ายเชื้อ *S. mutans* ที่มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันคือประมาณ $1x10^5$ CFU/ml จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีน้ำที่ได้จากการแช่เส้นไหมที่เคลือบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์สูตรต่าง ๆ จำนวน 0.5 มิลลิลิตรทำการเขย่าเพื่อให้ของเหลวในหลอดผสมเข้ากันผสมให้เข้ากัน
4. นำหลอดไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. ทำการ subculture จากแต่ละหลอดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง BHI (Agar)
6. นำจานเลี้ยงเชื้อ(ข้อ3. และ4.)ไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
7. หลังจากนั้นทำการนับจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตเพื่อทำการหาเปอร์เซ็นต์ reduction ของสารละลายแต่ละสูตรที่เคลือบบนเส้นไหม
8. หาเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งเชื้อ *S.mutans* (% Reduction)

3.2.3.11 การเตรียมเส้นไหมขัดฟันที่เคลือบด้วยสูตรสารละลายพอลิแซคคาไรด์ที่เติมสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่ได้พัฒนาขึ้นโดยกระบวนการต่อเนื่อง (Continuous Process) ซึ่งมีความใกล้เคียงกับระบบการผลิตในโรงงานขนาดเล็ก

1. ทำการติดตั้งระบบการผลิตแบบต่อเนื่องตามรูปที่ 3-2
2. ทำการทดสอบหาความสม่ำเสมอของสารที่เคลือบบนเส้นไหมที่เหมาะสม โดยการพิจารณาเลือกความกว้างของช่องที่ให้เส้นไหมเคลื่อนที่ผ่านเพื่อเกลี่ยสารที่เคลือบบนเส้นไหมได้เหมาะสม

รูปที่ 3-2 กระบวนการผลิตแบบต่อเนื่อง



ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Michael Roberts (1998) [52]

➢ **เคลือบเส้นไหมในสภาวะการทดลองที่กำหนด**

โดยจะทำการจุ่มเส้นไหมที่เตรียมไว้ลงในสารละลายพอลิแซคคาไรด์ที่มีค่าความเข้มข้นที่เหมาะสม ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองก่อนหน้านี้ เพื่อทำการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

3.3 การศึกษาความเป็นไปได้ของผลิตภัณฑ์ในเชิงธุรกิจ

3.3.1 ศึกษาการยอมรับต่อแนวความคิดของผลิตภัณฑ์ก่อนการพัฒนา

3.3.1.1 ประชากร

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือประชากรที่อาศัยอยู่ในเขตกรุงเทพมหานครซึ่งจากข้อมูลของกรมการปกครองกระทรวงมหาดไทย ณ วันที่ 31 ธันวาคม 2550 ประชากรในกรุงเทพมหานคร มีจำนวนทั้งสิ้นประมาณ 5,716,248 คน

กลุ่มตัวอย่างเลือกจากประชากรที่อาศัยอยู่ในเขตกรุงเทพมหานคร โดยมีขั้นตอนการเลือกตัวอย่างดังนี้

1) กำหนดขนาดตัวอย่าง โดยใช้สูตรของ Taro Yamane (เพ็ญแข แสงแก้ว, 2544) [64] ดังนี้

$$n = \frac{N}{(1 + Ne^2)}$$

แทนค่า

$$n = \frac{5,716,248}{(1 + (5,716,248)(0.05)^2)}$$

$$n = 400 \text{ ตัวอย่าง}$$

โดยที่ n = จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

N = จำนวนประชากรในเขตกรุงเทพมหานคร

e = ค่าความคลาดเคลื่อนในการศึกษานี้กำหนดที่ 0.05

จะได้จำนวนตัวอย่าง 400 คน

2) การสุ่มตัวอย่างจากกลุ่มตัวอย่าง ในการวิจัยครั้งนี้ ใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างโดยไม่คำนึงถึงความน่าจะเป็น (Non-Probability Sampling) ใช้การสุ่มตัวอย่างแบบตามสะดวก (Convenience Sampling) โดยการแจกแบบสอบถามตามห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานคร

3.3.1.2 แหล่งข้อมูล

1) การศึกษาจากข้อมูลทุติยภูมิ ใช้การศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูลภายนอก โดยการค้นคว้าจากงานวิจัย หนังสือ วิทยานิพนธ์ที่เกี่ยวข้อง ผลงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง และสื่อออนไลน์ที่มีประเด็นสอดคล้องกับหัวข้อที่สนใจในการศึกษา บทความ และวารสาร ที่ได้มีการจัดทำขึ้นโดยหน่วยงานต่าง ๆ ทั้งภาครัฐบาล และเอกชน ได้แก่

- สำนักงานสถิติแห่งชาติ
- บริษัทศูนย์วิจัยกสิกรไทย
- กระทรวงพาณิชย์
- กรมศุลกากร
- กรมอนามัยและกรมวิทยาศาสตร์บริการ เป็นต้น

2) การศึกษาจากข้อมูลปฐมภูมิ จะรวบรวมข้อมูลทั้งที่เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ และข้อมูลเชิงปริมาณดังนี้

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูลเชิงคุณภาพ (Qualitative Method) ใช้การสัมภาษณ์เจาะลึกเพื่อศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับกระบวนการผลิต และข้อมูลด้านการผลิต โดยการสอบถามจากผู้เชี่ยวชาญ

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative Method) ใช้การสำรวจความคิดเห็น (Survey Method) โดยการใช้แบบสอบถามเก็บรวบรวมข้อมูลด้วยการสัมภาษณ์ผู้บริโภคเป็นรายบุคคล (Personal Interview) เพื่อศึกษาพฤติกรรม กระบวนการตัดสินใจซื้อ ความสนใจ และศึกษาการยอมรับนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟันที่มีสารป้องกันฟันผุจากสารสกัดจากธรรมชาติของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์

3.3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1) การศึกษาค้นคว้าจากเอกสาร (Document Study)

โดยการค้นคว้าจากงานวิจัย หนังสือ วิทยานิพนธ์ที่เกี่ยวข้อง ผลงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง และสื่อออนไลน์ที่มีประเด็นสอดคล้องกับหัวข้อที่สนใจในการศึกษา บทความ และวารสาร ที่ได้มีการจัดทำขึ้นโดยหน่วยงานต่าง ๆ ทั้งภาครัฐบาล และเอกชน

2) แบบสอบถาม (Questionnaire)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูล โดยเก็บรวมรวมข้อมูลจากกลุ่มเป้าหมายในเขตกรุงเทพมหานครตามพื้นที่ที่ได้จัดแบ่งไว้ โดยแบบสอบนี้แบ่งเป็น 4 ส่วนดังนี้

ส่วนที่ 1 สอบถามข้อมูลส่วนตัวของผู้ตอบแบบสอบถาม ได้แก่ อายุ ระดับการศึกษา อาชีพ และรายได้ส่วนตัวต่อเดือน

ส่วนที่ 2 สอบถามพฤติกรรมการใช้ผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟัน

ส่วนที่ 3 สอบถามการยอมรับนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟันที่สารป้องกันฟันผุจากสารสกัดจากธรรมชาติของผู้บริโภค เพื่อดูระดับการยอมรับผลิตภัณฑ์ใหม่

ส่วนที่ 4 สอบถามความสำคัญของส่วนประสมทางการตลาดในความคิดเห็นของกลุ่มตัวอย่าง ในด้านต่อไปนี้

- ผลิตภัณฑ์ (Product)
- ราคา (Price)
- การจัดจำหน่าย (Place)
- การส่งเสริมการตลาด (Promotion)

มีลักษณะเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (Rating scale) 5 ระดับ ได้แก่ ระดับความสำคัญของส่วนประสมการตลาด มากที่สุด มาก ปานกลาง น้อย น้อยที่สุด โดยกำหนดการให้คะแนนดังนี้

ตารางที่ 3.2 ระดับการให้คะแนนความสำคัญ

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

ตารางที่ 3.3 เกณฑ์การแปลค่าคะแนนเฉลี่ย

คะแนน	ความหมาย
4.50-5.00	มากที่สุด
3.50-4.49	มาก
2.50-3.49	ปานกลาง
1.50-2.49	น้อย
ต่ำกว่า 1.50	น้อยที่สุด

3) การสัมภาษณ์ผู้เชี่ยวชาญรายบุคคล (Individual depth interview)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูลจากผู้เชี่ยวชาญที่มีความรู้ในด้านต่าง ๆ เพื่อนำมาใช้ในการสร้างนวัตกรรมผลิตภัณฑ์

3.3.1.4 การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้วิจัยทำการเก็บข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างตามที่กำหนดตามที่ต่าง ๆ เช่น คลินิกทันตกรรม ประชาชนทั่วไป เป็นต้น โดยให้กลุ่มตัวอย่างกรอกแบบสอบถามด้วยตนเอง ทำการเก็บข้อมูลในเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2552

3.3.1.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลแบบพรรณนา</u> ได้แก่ อัตราส่วนร้อยละ (Percentage) ค่าเฉลี่ย (Mean) และ ความถี่ (Frequency)

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลแบบอ้างอิง</u> ได้แก่ Chi-squares และ T-test

การวิเคราะห์ข้อมูลค่าสถิติดังกล่าว ผู้ทำการวิจัยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อดูว่าลูกค้ายอมรับในผลิตภัณฑ์หรือไม่

3.3.2 การทดสอบผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่พัฒนาขึ้นกับกลุ่มผู้บริโภคเพื่อประเมินการยอมรับผลิตภัณฑ์ในเชิงธุรกิจ

3.3.2.1 กลุ่มตัวอย่าง

เป็นกลุ่มของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟันอยู่เป็นประจำ จำนวน 20 คน

3.3.2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

แบบสอบถาม (Questionnaire)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูล โดยเก็บรวมรวมข้อมูลจากกลุ่มเป้าหมายในเขตกรุงเทพมหานครตามพื้นที่ที่ได้จัดแบ่งไว้ โดยแบบสอบนี้แบ่งเป็น 4 ส่วนดังนี้

<u>ส่วนที่ 1</u> สอบถามพฤติกรรมการใช้ผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟัน

<u>ส่วนที่ 2</u> สอบถามคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟันเคลือบสารป้องกันฟันผุต้นแบบ

<u>ส่วนที่ 3</u> สอบถามถึงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟันเคลือบสารป้องกันฟันผุต้นแบบ

มีลักษณะเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (Rating scale) 5 ระดับ ของระดับความสำคัญของคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ได้แก่

5 = สำคัญมากที่สุด

4 = สำคัญมาก

3 = สำคัญปานกลาง

2 = สำคัญน้อย

1 = สำคัญน้อยที่สุด

<u>ส่วนที่ 4</u> การทดสอบทางประสาทสัมผัส (Descriptive analysis with scaling) ต่อผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟันป้องกันฟันผุต้นแบบ

มีลักษณะเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (Rating scale) 5 ระดับ ของระดับคะแนนของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ได้แก่

5 = เห็นด้วยมากที่สุด

4 = เห็นด้วยมาก

3 = เห็นด้วยปานกลาง

2 = เห็นด้วยน้อย

1 = เห็นด้วยน้อยที่สุด

<u>ส่วนที่ 5</u> สอบถามความสำคัญของส่วนประสมทางการตลาดในความคิดเห็นของกลุ่มตัวอย่าง ในด้านผลิตภัณฑ์ (Product) ราคา (Price) การจัดจำหน่าย (Place) และการส่งเสริมการตลาด (Promotion)

มีลักษณะเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (Rating scale) 5 ระดับ ได้แก่ ระดับความสำคัญของส่วนประสมการตลาด มากที่สุด มาก ปานกลาง น้อย น้อยที่สุด โดยกำหนดการให้คะแนนดังตารางที่ 3.5

<u>ส่วนที่ 6</u> ให้แสดงความคิดเห็นเปรียบเทียบข้อดี หรือข้อได้เปรียบของผลิตภัณฑ์ต้นแบบกับผลิตภัณฑ์ไหมขัดฟันที่ท่านใช้อยู่ในปัจจุบันอย่างไร

<u>ส่วนที่ 7</u> สอบถามข้อมูลด้านลักษณะประชากรศาสตร์

3.3.2.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล

ทำการเก็บข้อมูลจากแบบสอบถามหลังจากที่ได้ผลิตผลิตภัณฑ์ออกมาแล้ว ผู้วิจัยทำการเก็บข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างที่มีการใช้ไหมขัดฟันอยู่ในปัจจุบันตามที่กำหนดตามที่ต่าง ๆ เช่น คลินิกทันตกรรม ประชาชนทั่วไป เป็นต้น โดยให้กลุ่มตัวอย่างกรอกแบบสอบถามด้วยตนเอง ทำการเก็บข้อมูลในเดือนสิงหาคม 2552

3.3.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลแบบพรรณนา</u> ได้แก่ อัตราส่วนร้อยละ (Percentage) ค่าเฉลี่ย (Mean) และความถี่ (Frequency)

<u>การวิเคราะห์ข้อมูลแบบอ้างอิง</u> ได้แก่ Chi-squares และ T-test

การวิเคราะห์ข้อมูลค่าสถิติดังกล่าว ผู้ทำการวิจัยใช้ไมโครคอมพิวเตอร์ และโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อดูว่าลูกค้ายอมรับในผลิตภัณฑ์หรือไม่