

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

การศึกษานิตและปริมาณการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในกะหล่ำปลี จากตลาดในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ประกอบด้วยวัสดุสารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการวิจัยดังต่อไปนี้

2.1 วัสดุ

สารเคมี

1. Acetone (AR grade, Merck, Germany)
2. Dichloromethane (AR grade, Merck, Germany)
3. Sodium chloride (AR grade, Merck, Germany)
4. Ethyl acetate (AR grade, Merck, Germany)
5. สารละลายมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ได้แก่ ไดเมโทเอต (dimethoate) เมธิล พาราไทออน (methyl parathion) คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) และโพรไทโอฟอส (prothiofos)

2.2 อุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. อุปกรณ์ต่างๆ สำหรับเก็บและเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ ถังพลาสติก มีด เขียง เป็นต้น
2. เครื่องแก้วและอุปกรณ์ชนิดต่างๆ สำหรับการวิเคราะห์ ได้แก่ บีกเกอร์ ขวดรูปกรวย ขวดวัด ปริมาตร แท่งแก้ว กรวยกรอง เป็นต้น
3. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AB204, Switzerland
4. เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น PB303-SDR, Switzerland
5. เครื่องปั่นทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer) ยี่ห้อ Staufen, Germany
6. ชุดเครื่องกรอง Buchner Funnel
7. กระดาษกรอง Whatman[®] No.1
8. กระดาษกรอง Whatman[®] 1 Phase Separators

9. เครื่องลดปริมาตรสารละลาย (Rotary Evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-114, Switzerland
10. เข็มฉีดยาขนาดเล็ก (Micro Syringe) ขนาด 10 ไมโครลิตร
11. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas Chromatograph, GC) ยี่ห้อ Hewlette Packard รุ่น HP6890

2.3 วิธีดำเนินการ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนา (descriptive research) จากการสำรวจ (survey) และการทดลอง (experiment) ในห้องปฏิบัติการ โดยวิเคราะห์ชนิดและปริมาณการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในกะหล่ำปลีจากตลาดในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ และเปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงในระหว่างเดือนสิงหาคมและเดือนธันวาคม เพื่อประเมินสภาพปัญหาการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลง และสถานการณ์ความปลอดภัยของผู้บริโภค โดยผู้วิจัยได้กำหนดแนวทางในการศึกษาดังนี้

2.3.1 ประชากรวิจัย

ประชากรวิจัยคือ กะหล่ำปลีที่วางจำหน่ายในตลาดสดประเภท 1 ในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลาจำนวน 102 แพง ในเดือนสิงหาคมและเดือนธันวาคม พ.ศ. 2547

2.3.2 การสุ่มตัวอย่าง

ในการสุ่มตัวอย่างดำเนินตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.3.2.1 กำหนดจำนวนแ่งที่จำหน่ายกะหล่ำปลีในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ เพื่อเก็บตัวอย่าง โดยใช้เกณฑ์ของยูทท ไกยวรรณ์ (2546) (ตาราง 3)

ตาราง 3 เกณฑ์การกำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

จำนวนประชากร	กลุ่มตัวอย่าง (เปอร์เซ็นต์)
100 – 999	30
1,000-9,999	15
10,000-99,999	10

เนื่องจากในเขตพื้นที่ที่ศึกษาครั้งนี้ มีจำนวนแ่งที่จำหน่ายกะหล่ำปลีทั้งหมด 102 แพง ฉะนั้นสามารถคำนวณจำนวนแ่งที่จะต้องเก็บตัวอย่างได้ดังนี้

$$\begin{aligned}
 N &= 102 \times [30/100] \\
 &= 31 \quad \text{แ่ง}
 \end{aligned}$$

2.3.2.2 ทำการสุ่มตัวอย่าง โดยการสุ่มแบบแบ่งกลุ่ม (cluster sampling or area sampling) ตามวิธีของเพชรร้อย สิงห์ช่างชัย (2539) เพื่อทราบจำนวนแมลงในแต่ละตลาดที่จะต้องทำการเก็บตัวอย่าง แสดงดังตาราง 4 ทั้งนี้จะสุ่มตัวอย่างแมลงละ 1 ครั้งในแต่ละเดือน (เดือนสิงหาคมและเดือนธันวาคม)

ตาราง 4 จำนวนกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามตลาดในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

ตลาด	จำนวนแมลง	จำนวนกลุ่มตัวอย่าง (แมลง)
ตลาดปลาซ่า	48	14
ตลาดหาดใหญ่ใน	15	5
ตลาดปิ่นเจริญ	18	5
ตลาดกิมหยง	16	5
ตลาดทุ่งเสา	5	2
รวม	102	31

2.3.2.3 ทำการสุ่มตัวอย่างจากแต่ละแมงที่จำหน่ายกะหล่ำปลี ตามวิธีของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2542) (ตาราง 4) และสุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (purposive sampling or judgement sampling) โดยเลือกตัวอย่างที่มีลักษณะสด ไม่เหี่ยว เพื่อไม่ให้เกิดการเน่าเสียในระหว่างการวิเคราะห์ (ตาราง 5)

ตาราง 5 การสุ่มตัวอย่างจากแต่ละแมงที่จำหน่าย

จำนวนถุงในรุ่นเดียวกัน	จำนวนจุดสุ่ม	ปริมาณตัวอย่าง (กิโลกรัม)
1-25	1	2
26-100	5	10
101-250	10	20
มากกว่า 250	15	30

2.3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บรวบรวมข้อมูล โดยปฏิบัติการตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.3.3.1 การสำรวจตัวอย่างเบื้องต้น จากการสังเกตและการสอบถามผู้จำหน่ายกะหล่ำปลีในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

2.3.3.2 การเก็บตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างกะหล่ำปลีที่วางจำหน่ายในตลาดสดประเภท 1 ในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา นำตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกเพื่อนำมาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในกะหล่ำปลี

2.3.4 วิธีการวิเคราะห์

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ปนเปื้อนในกะหล่ำปลี โดยวิธี Multi Residue Analysis ของ AOAC (1995) ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC) ชนิด Nitrogen Phosphorus Detectors (NPD) สารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่วิเคราะห์ครั้งนี้มี 4 ชนิด ได้แก่ ไดเมโทเอต เมธิล พาราไทออน คลอร์ไพริฟอส และโพรไทโอฟอส ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.3.4.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ปนเปื้อนในกะหล่ำปลี

1. นำตัวอย่างกะหล่ำปลีมาหั่นให้ละเอียด ปริมาณ 50 กรัม สกัดด้วย Acetone 100 มิลลิลิตร โดยการปั่นด้วย Homogenizer นาน 2 นาที
2. เติม Dichloromethane 75 มิลลิลิตร และ Sodium chloride 15 กรัม แล้วปั่นด้วย Homogenizer นาน 1 นาที
3. นำตัวอย่างที่ได้กรองด้วย Buchner Funnel โดยใช้กระดาษกรอง Whatman® No. 1
4. นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 3 มากรองด้วยกระดาษกรองชนิด Phase Separators เพื่อกำจัดน้ำออกจากตัวอย่าง
5. นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ปรับปริมาตรด้วย Ethyl acetate ให้ได้ 2 มิลลิลิตร
6. นำตัวอย่างวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas Chromatograph) ต่อไป

2.3.4.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas Chromatograph)

สภาวะการใช้งานของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ มีดังต่อไปนี้

- ตัวตรวจวัด (detector) : Nitrogen Phosphorous Detector (NPD)
- คอลัมน์ (column) : Fused Silica Capillary Column ยี่ห้อ Hewlette Packard HP-5 5% Phenyl Methyl Siloxane, 30.0 m x 320 μ m x 0.25 μ m
- อุณหภูมิ (temperature) : อุณหภูมิหัวฉีด (injector) 270 °C
: อุณหภูมิคอลัมน์ (column) 260 °C ใช้โปรแกรมอุณหภูมิโดย
อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 60 °C คงที่เป็นเวลา 2 นาที เพิ่มอุณหภูมิด้วย
อัตรา 20 °C ต่อนาที จนถึง 260 °C คงที่เป็นเวลา 8 นาที และ
เพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 30 °C ต่อนาที จนถึง 300 °C คงที่เป็น
เวลา 1 นาที
: อุณหภูมิตัวตรวจวัด (detector) 280 °C

- แก๊สเชื้อเพลิง (fuel gas) : Hydrogen (H₂), 2 ml/min
- ออกซิเจน (oxidant) : Air, 20 ml/min
- แก๊สพา (carrier gas) : Helium (He), 1.7 ml/min

2.3.5 สถานที่วิเคราะห์

วิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

2.3.6 การควบคุมคุณภาพในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

การควบคุมคุณภาพในการวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อยืนยันความถูกต้องและความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ โดยการหา % recovery ของ spiked sample และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เพื่อหา % difference (%D) ดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{[\text{quantity measured}]}{\text{quantity added}} \times 100$$

$$\% \text{ difference (\%D)} = \frac{|\text{sample result} - \text{average result}|}{\text{average result}} \times 100$$

โดย % recovery อยู่ในช่วง 80-120 และ % difference ไม่เกิน 5% ถือว่าเป็นค่าที่ยอมรับได้ (APHA, AWWA and WEF, 1998)

2.3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลประกอบด้วย 2 ขั้นตอนดังนี้

2.3.4.1. วิเคราะห์และประมวลผลข้อมูลปริมาณสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS for Windows เวอร์ชัน 12.0 ดังต่อไปนี้

1) สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ ค่าร้อยละ (percentage) ค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

2) สถิติเชิงวิเคราะห์หรือสถิติอ้างอิง (inferential statistics) โดยการเปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงในกะหล่ำปลีระหว่างฤดูกาลปลูกโดยใช้สถิติไร้พารามิเตอร์ (nonparametric statistics) แบบ The Wilcoxon Matched Pairs Signed-Ranks Test

2.3.4.2. วิเคราะห์ความเสี่ยงเบื้องต้นจากการบริโภคกะหล่ำปลี สามารถประเมินได้จากค่า Hazard Quotient โดยทราบปริมาณที่ผู้บริโภคได้รับสารฆ่าแมลงต่อวัน (Average Daily Dose, ADD) เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานความปลอดภัยจากการบริโภค (Acceptable Daily Intake, ADI) สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{Hazard Quotient} = \frac{\text{ADD}}{\text{ADI}}$$

ในการประเมินความเสี่ยงเบื้องต้นจากการบริโภค กรณีที่พบว่าค่า Hazard Quotient มีค่าน้อยกว่าหรือใกล้เคียงหรือเท่ากับ 1 แสดงว่าปริมาณสารฆ่าแมลงโดยเฉลี่ยที่ร่างกายได้รับนั้นไม่มากพอที่จะก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อร่างกายได้ แต่ถ้าค่า Hazard Quotient มากกว่า 1 แสดงว่าปริมาณสารฆ่าแมลงโดยเฉลี่ยที่ร่างกายได้รับเกินเกณฑ์ค่าความปลอดภัย หรือถือว่าอยู่ในระดับที่ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ส่วนการหาค่า Average Daily Dose (ADD) สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ADD} = \frac{(\text{C} \times \text{IR} \times \text{EF} \times \text{ED})}{\text{BW} \times \text{AT}}$$

โดยที่	C	=	Concentration (mg/kg)
	IR	=	Intake Rate (kg/day)
	EF	=	Exposure Frequency (days/yrs)
	ED	=	Exposure Duration (yrs)
	BW	=	Body Weight (kg)
	AT	=	Averaging Time (days)

(U. S. EPA, 1992)

ดังนั้นการคำนวณหาปริมาณสารฆ่าแมลงที่ผู้บริโภคได้รับต่อวัน สามารถแทนค่าตัวแปรต่างๆ ได้ดังนี้

C (Concentration) คือ ค่าความเข้มข้นที่ตรวจพบ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในที่นี้เป็นปริมาณการปนเปื้อนสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในกะหล่ำปลี ซึ่งได้จากการวิเคราะห์

IR (Intake Rate) คือ ปริมาณอาหารที่รับประทานแต่ละวัน มีหน่วยเป็นกิโลกรัมต่อวัน คนไทยสามารถบริโภคกะหล่ำปลีได้สูงสุดต่อคนต่อวันเป็น 0.0138 กิโลกรัมต่อวัน (กรมอนามัย, 2538)

EF (Exposure Frequency) คือ ความถี่ของการได้รับสัมผัสสารฆ่าแมลงในแต่ละปี มีหน่วยเป็นวันต่อปี ซึ่งคนไทยสามารถรับประทานผักได้ทุกวัน จึงกำหนดให้เป็น 365 วัน ใน 1 ปี

ED (Exposure Duration) คือ ระยะเวลาทั้งหมดที่ได้รับสัมผัสสารฆ่าแมลง มีหน่วยเป็นปี จากปริมาณสารฆ่าแมลงที่ร่างกายได้รับจากการกิน ซึ่งมนุษย์เริ่มกินผักได้เมื่ออายุครบ 1 ปี และคนไทยมีอายุขัยโดยเฉลี่ย 70 ปี เห็นว่าระยะเวลาที่ได้รับสัมผัสเป็น 70 - 1 เท่ากับ 69 ปี (กรมอนามัย, 2538)

BW (Body Weight) คือ น้ำหนักร่างกาย มีหน่วยเป็นกิโลกรัม ซึ่งคนไทยมีน้ำหนักเฉลี่ยเป็น 65 กิโลกรัม (กรมอนามัย, 2538)

AT (Averaging Time) คือ อายุขัยเฉลี่ยของประชากร มีหน่วยเป็นวัน ซึ่งคนไทยจะมีอายุเฉลี่ย 70 ปี (กรมอนามัย, 2538) ดังนั้นจึงเท่ากับ 70 ปี \times 365 วัน