

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยแบบวิเคราะห์เชิงพรรณนา (descriptive analytical research) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดในห้องปฏิบัติการ ที่ได้จากการเจาะเลือดเกษตรกรในพื้นที่ ต.บางเหียง อ.ควนเนียง จ.สงขลา รวมทั้งการสัมภาษณ์ร่วมกับการสังเกต ตามแบบประเมินการได้รับสัมผัส โดยมีการดำเนินการวิจัยประกอบด้วย 4 ขั้นตอนคือ

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง
2. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา 2 แบบ คือแบบประเมินการได้รับสัมผัส และการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดของเกษตรกรในห้องปฏิบัติการ

3. การเก็บรวบรวมข้อมูล

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

โดยมีรายละเอียดการศึกษาดังนี้

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรเป้าหมายคือ เกษตรกรเพศหญิงที่ใช้วิธีการผสมผสานในการควบคุมศัตรูพืช และสัตว์ใน ต.บางเหียง อ.ควนเนียง จ.สงขลา โดยในพื้นที่นี้แบ่งการปกครองออกเป็น 13 หมู่บ้าน ประกอบด้วยจำนวนครัวเรือน ครอบครัวยุคที่ปลูกผัก และเนื้อที่ปลูกผัก ในแต่ละหมู่บ้าน ดังแสดงในตาราง 7

ตาราง 7 แสดงจำนวนครว้เรือน ครอบครว้ที่ปลุกผัก และเนื้อที่ปลุกผัก ของเกษตรกรใน ต.บางเหริยง
อ.ควนเนียง จ.สงขลา

หมู่ที่	ชื่อบ้าน	ครว้เรือนทั้งหมด (ครว้เรือน)	ครอบครว้ที่ปลุกผัก (ครอบครว้)	เนื้อที่ปลุกผัก (ไร่)
1	ปลาขนา	147	33	104
2	ยางหัก	99	45	300
3	บางเหริยง	246	120	528
4	บางเหริยง	88	53	460
5	บางเหริยง	125	75	384
6	เกาะน้ำรอบ	45	26	320
7	บางทิง	86	20	10
8	เกาะใหญ่	183	81	420
9	คลองซ้าง	128	42	10
10	คลองคล้า	293	50	700
11	แพรกสุวรรณ	137	42	300
12	โคกเมือง	103	22	100
13	หน้าควน	106	13	11
	รวม	1,914	622	3,647

ที่มา : สำนักงานเกษตรอำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา ปี 2545

ตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้คือ เกษตรกรเพศหญิงที่ใช้วิธีการผสมผสานในการควบคุมศัตรูพืชและสัตว์ทุกครว้เรือนในพื้นที่ โดยกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จำนวน 31 ราย เพื่อนำข้อมูลผลจากการตรวจเลือดที่ได้มาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นประชากรเพศหญิงในพื้นที่ ที่ไม่ได้ประกอบอาชีพเกษตรกรรม จำนวน 38 ราย โดยกลุ่มตัวอย่างและกลุ่มควบคุมจะเป็นอาสาสมัครจากทุกครว้เรือน ครว้เรือนละ 1 ราย

2. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูลในการศึกษา ความเสี่ยงต่อการได้รับสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมทในเกษตรกรปลูกผักที่ตำบลบางเหียง อำเภอกวนเนียง จังหวัดสงขลา ประกอบด้วยเครื่องมือ 2 ประการ คือ แบบประเมินการได้รับสัมผัส และการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดของเกษตรกรในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

2.1 แบบประเมินการได้รับสัมผัส

สร้างแบบประเมินการได้รับสัมผัสโดยพัฒนามาจาก วิธีการของ Robson, *et al.* (1994) และ Agricultural Health Study (1996) เพื่อใช้สัมภาษณ์ร่วมกับการสังเกต ในเกษตรกรกลุ่มตัวอย่างทุกรายที่ได้รับการตรวจเลือด มีขั้นตอนในการสร้างแบบประเมินการได้รับสัมผัสดังนี้

2.1.1 ศึกษาแนวคิดในการสร้างเครื่องมือ

2.1.1.1 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาแนวคิด ทฤษฎี ในกระบวนการประเมินความเสี่ยง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการประเมินการได้รับสัมผัสจากการได้รับสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ รวมถึงแนวทางในการแก้ไขปัญหาเรื่องการได้รับสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์

2.1.1.2 การศึกษาเอกสาร และเครื่องมือวิจัย ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ที่ใกล้เคียงกับเรื่องที่ต้องการศึกษา

2.1.1.3 การปรึกษา คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ นักวิชาการเกษตร และเจ้าหน้าที่การเกษตร

2.1.2 จัดทำรูปแบบเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

จากข้อมูลข้างต้น ผู้วิจัยได้สร้างแบบสอบถาม เพื่อใช้เป็นเครื่องมือ ในการวิจัย ดังแสดงในภาคผนวก ข ซึ่งประกอบด้วย คำถาม 3 ส่วน ดังต่อไปนี้

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป ประกอบด้วยคำถามจำนวน 15 ข้อ เป็นคำถามเกี่ยวกับ ชื่อ สกุล ที่อยู่ อายุ ระดับการศึกษาสูงสุด ระยะเวลาในการประกอบอาชีพ จำนวนแรงงานในครอบครัว จำนวนเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี ที่ตั้งของบ้าน พื้นที่ในการเพาะปลูก ประวัติการใช้สารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ และระยะเวลาในการทำงาน สำหรับในตอนนี้อันไม่มีคะแนนจากการประเมินการได้รับสัมผัส

ตอนที่ 2 ข้อมูลสุขภาพ ประกอบด้วยคำถามจำนวน 4 ข้อ เป็นคำถามเกี่ยวกับประวัติการเจาะเลือดเพื่อหาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ตกค้าง และประวัติการเจ็บป่วย

จากการได้รับสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ สำหรับในตอนนี้อาจไม่มีคะแนนจากการประเมิน การได้รับสัมผัส

ตอนที่ 3 ข้อมูลเกี่ยวกับการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กลุ่ม ออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมท ประกอบด้วยคำถามจำนวน 28 ข้อ เป็นคำถามเกี่ยวกับ การใช้วิธีการผสมผสานในควบคุมศัตรูพืชและสัตว์ เกณฑ์พิจารณาในการฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ การผสม การฉีดพ่นสาร การใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายขณะฉีดพ่น การปฏิบัติตนหลังพ่นเปื้อน สาร การปฏิบัติตนหลังการฉีดพ่น การจัดเก็บ การกำจัดภาชนะบรรจุสาร การทำความสะอาด อุปกรณ์ในการผสม-ฉีดพ่น การใช้น้ำสำหรับอุปโภค-บริโภค การรับประทานอาหาร การสูบบุหรี่ และการดื่มสุรา ในส่วนนี้มีทั้งส่วนที่ไม่มีคะแนนจากการประเมินการได้รับสัมผัส และมีคะแนน จากการประเมินการได้รับสัมผัส รวมทั้งสิ้น รวม 92 คะแนน

เกณฑ์การให้คะแนน การที่มีโอกาสได้รับสัมผัสสูงจะมีคะแนนมากกว่า โอกาสที่ได้รับสัมผัสต่ำ โดยให้น้ำหนักคะแนนต่างกันในแต่ละข้อ ดังแสดงรายละเอียด ในภาคผนวก ข

2.1.3 การตรวจสอบคุณภาพและเกณฑ์การให้คะแนน

โดยนำแบบสัมภาษณ์ที่สร้างขึ้นไปให้ผู้ทรงคุณวุฒิ จำนวน 2 ท่าน พิจารณา ตรวจสอบ หลังจากผู้ทรงคุณวุฒิ ได้ตรวจสอบแล้ว ได้นำข้อเสนอแนะของทุกท่านมาปรับปรุง แก้ไขแบบสัมภาษณ์ ก่อนนำไปใช้จริง

2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดของเกษตรกรในห้องปฏิบัติการ

ในการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ การเตรียมตัวอย่างเลือด และขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังต่อไปนี้

2.2.1 สารเคมี (reagent)

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในเจาะโลหิตและสารเคมี ที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมท ที่ตกค้างในโลหิตเกษตรกรในรูปของ cholinesterase activity มีรายละเอียดดังนี้

2.2.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการเจาะโลหิต

- แอลกอฮอล์ สำหรับฆ่าเชื้อโรค (ethyl alcohol 70 %)

2.2.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืช

และสัตว์ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมท

- normal serum control ของ Teco Diagnostics
- abnormal serum control ของ Teco Diagnostics

- distilled water
- deionized water
- Cholinesterase (PTC) reagent ของ Teco Diagnostics

การวิเคราะห์ cholinesterase activity ใช้วิธี colorimetric ของ Ellman (1961) ซึ่งมีหลักการพื้นฐานในการวิเคราะห์คือ cholinesterase จะ hydrolyse Propionylthiocholine (PTC) ได้สาร thiocholine ซึ่งทำปฏิกิริยากับ 5,5'- dithiobis-2-nitro benzoic acid (DTNB) ให้ 5-thio-2-nitro benzoic acid (สีเหลือง) ดังสมการ แล้ววัดปริมาณ 5-thio-2-nitro benzoic acid ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร อัตราการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับค่า cholinesterase activity



2.2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ ได้แก่ อุปกรณ์ที่ใช้ในการเจาะเลือด และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมทที่ตกค้างในเลือดเกษตรกรในรูปแบบของ cholinesterase activity มีรายละเอียดดังนี้

2.2.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในเจาะโลหิต

- กระบอกฉีดยาชนิดใช้ครั้งเดียว (disposable syringe) ขนาด 5 มิลลิลิตร
- เข็มฉีดยาชนิดใช้ครั้งเดียว (disposable needle) เบอร์ 21 ยาว 1.5 นิ้ว
- หลอดทดลอง (test tube) ขนาด 10 ml.
- สำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (sterile cottons)
- ถุงมือชนิดใช้ครั้งเดียว (disposable gloves)
- ถังน้ำแข็งแช่ตัวอย่าง
- สายยางรัดแขน (tourniquet)
- ตะแกรงเหล็ก (rack)

2.2.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมท

- สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น UV-1601

- ภาชนะบรรจุตัวอย่างแบบจำกัดปริมาตร ชนิด apertured cell
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- ปิเปต (pipette)
- ไมโครปิเปต (micropipette)
- เทอร์โมมิเตอร์
- นาฬิกาจับเวลา

2.3 การเตรียมตัวอย่างเลือด

2.3.1 เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ (venous vein) บริเวณข้อพับแขนหรือหลังมือโดยทำความสะอาดบริเวณที่เจาะเลือด ด้วยสำลีสะอาดชุบแอลกอฮอล์สำหรับฆ่าเชื้อโรค และรัดแขนด้วยสายยางรัดแขน ใช้เข็มเจาะเลือดมาประมาณ 3-5 มิลลิลิตร แล้วใช้สำลีปราศจากเชื้อปิดรอยเข็ม กดปากแผลเพื่อให้เลือดหยุด นำเลือดที่เจาะได้ใส่ในหลอดทดลองสะอาดที่เตรียมไว้ แล้วนำตัวอย่างเลือดเก็บใส่ถังเก็บความเย็นอุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส แล้วนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.3.2 นำตัวอย่างเลือดมาปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วประมาณ 1,000 - 2,000 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 5-10 นาที

2.3.3 ปิเปตแยกเอาแต่ชั้นของน้ำเหลือง (serum)

2.4 ขั้นตอนการวิเคราะห์

2.4.1 เตรียมน้ำยาที่ใช้ในการวิเคราะห์ โดยละลายสาร cholinesterase (PTC) reagent 1 vial ด้วย deionized water 6 มิลลิลิตร

2.4.2 ปิเปต สารละลาย 1 มิลลิลิตร จากข้อ 2.4.1 ใส่ในหลอดทดลอง แล้วนำไปปรับอุณหภูมิ ที่ 30 องศาเซลเซียส

2.4.3 ปรับเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ให้อยู่ที่จุดศูนย์ (zero) ด้วยน้ำกลั่น

2.4.4 ปิเปตน้ำเหลือง (serum) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ในสารละลายที่เตรียมไว้ ในข้อ 2.4.2 เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 15 วินาที

2.4.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (A_1) แล้วทิ้งไว้อีก 30 วินาที วัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งหนึ่ง (A_2)

2.4.6 หาค่าความแตกต่างค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 30 วินาที ($A_2 - A_1$) นำผลที่ได้มาคูณด้วย 2 เพื่อหาค่าความแตกต่างใน 1 นาที

2.4.7 นำค่าที่ได้คูณด้วย 7426 จะได้เป็นค่า cholinesterase activity ซึ่งมีหน่วย
ยูนิต์ต่อลิตร (U/L)

หมายเหตุ - ในการตรวจวิเคราะห์ทุกครั้ง ทำการทดสอบความเที่ยงตรงของผลการวิเคราะห์ด้วย
สารละลายมาตรฐาน normal serum control และ abnormal serum control

- ภาชนะทุกอย่างที่ใช้ เป็นภาชนะแก้ว เนื่องจากภาชนะพลาสติกอาจมี enzyme
inhibitor ปนเปื้อนอยู่

3. การเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บรวบรวมข้อมูล ครั้งนี้ได้ใช้วิธีเก็บข้อมูล โดยผู้วิจัยสัมภาษณ์ร่วมกับการสังเกต
พฤติกรรมการทำงานในแปลงผักของเกษตรกร และการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดในห้องปฏิบัติการ
โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

3.1 ประสานงานกับเจ้าหน้าที่สาธารณสุขของสำนักงานสาธารณสุขอำเภอควนเนียง
สถานีอนามัยตำบลเกาะใหญ่ และสถานีอนามัยตำบลบางเหรียง และเจ้าหน้าที่สำนักงานเกษตรอำเภอ
ควนเนียง เพื่อขอความร่วมมือและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานวิจัยในพื้นที่รับผิดชอบ

3.2 ประชุมชี้แจงอาสาสมัครสาธารณสุขที่สถานีอนามัย เพื่อขอความร่วมมือในการ
ปฏิบัติงานโดยการ ชี้แจงแนวทางการทำงานวิจัย ขอให้คัดเกษตรกรอาสาสมัครแต่ละหมู่บ้านมาทำ
การเจาะเลือดที่สถานีอนามัย ตามวันเวลาที่นัดหมาย

3.3 อธิบายและชี้แจง วัตถุประสงค์การวิจัย แก่กลุ่มประชากรอาสาสมัคร พร้อมทั้งลง
นามในใบรับทราบการตรวจเลือด (ดังแสดงในภาคผนวก ก)

3.4 ทำการเก็บตัวอย่างเลือด จากเกษตรกรเพศหญิงที่ใช้วิธีการแบบผสมผสานในการ
ควบคุมศัตรูพืชและสัตว์ และกลุ่มควบคุม ใสในหลอดทดลองและเก็บในถังเก็บความเย็นอุณหภูมิ
ไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส นำมาวิเคราะห์ยังห้องปฏิบัติการและทำการตรวจวิเคราะห์หา
cholinesterase activity ของเลือดเกษตรกรในห้องปฏิบัติการ

3.5 แจกผลการวิเคราะห์พร้อมทั้งสัมภาษณ์เกษตรกรอาสาสมัครเพศหญิงที่ใช้วิธีการ
ผสมผสานในการควบคุมศัตรูพืชและสัตว์ โดยใช้แบบสัมภาษณ์ร่วมกับการสังเกต เกี่ยวกับการ
ได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ใน ต.บางเหรียง อ.ควนเนียง จ.สงขลา

3.6 นำข้อมูลที่ได้จากแบบสัมภาษณ์มาตรวจสอบความเรียบร้อย หากพบว่าข้อมูลชุด
ใดไม่สมบูรณ์ก็ดำเนินการติดตามใหม่อีกครั้ง

3.7 นำข้อมูลที่รวบรวมได้ทั้งหมด มาลงรหัสแล้วนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติ เช่น ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ correlations เป็นต้น โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows (version 10)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อศึกษา ความเสี่ยงต่อการได้รับสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมท ในเกษตรกรปลูกผักที่ ต.บางเหริยง อ.ควนเนียง จ.สงขลา ทำโดยการนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ และข้อมูลที่รวบรวมได้จากแบบสัมภาษณ์มาตรวจสอบความถูกต้อง ก่อนนำมาลงรหัส (code) และป้อนข้อมูลลงในโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows (version 10)

4.1 การวิเคราะห์กำหนดระดับการมีนัยสำคัญทางสถิติไว้ที่ .05 และวิเคราะห์ตามลำดับต่อไปนี้ วิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ อายุ ระดับการศึกษาสูงสุด ระยะเวลาในการประกอบอาชีพ จำนวนแรงงานในครอบครัว จำนวนเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี ที่ตั้งของที่อยู่อาศัย พื้นที่ในการเพาะปลูก ประวัติการใช้สารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ และระยะเวลาในการทำงาน ด้วยสถิติ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.2 วิเคราะห์ข้อมูลสุขภาพ ได้แก่ ประวัติการเจ็บป่วยเพื่อหาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ตกค้าง และประวัติการเจ็บป่วยจากการได้รับสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ ด้วยสถิติ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.3 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ เกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐานกับระดับ cholinesterase activity และคะแนนจากการประเมินการได้รับสัมผัส กับระดับ cholinesterase activity ด้วยสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson's product moment correlation coefficient)

4.4 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ และความแตกต่าง ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ กับคะแนนจากการประเมินการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมท และระดับ cholinesterase activity ในเลือดเกษตรกร ต.บางเหริยง อ.ควนเนียง จ.สงขลา

4.5 วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างผลเลือดของประชากรกลุ่มตัวอย่างและประชากรกลุ่มควบคุม โดยการทดสอบค่าที (independent sample test) เพื่อให้ทราบความเสี่ยงของเกษตรกรจากการได้รับสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์