

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบภาคตัดขวาง (Cross-sectional study) มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนของเกลือบริโภคที่ใช้ในครัวเรือน ตำบลอินทขิล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่และศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณไอโอดีนในเกลือบริโภคที่ใช้ในครัวเรือน ตำบลอินทขิล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ใช้การกำหนดกลุ่มตัวอย่างของ Krejcie & Morgan (1970) แล้วสุ่มเก็บตัวอย่างแบบมีระบบ (Systematic random sampling) โดยใช้ข้อมูลทะเบียนราษฎรจากผู้ใหญ่บ้านหรืออาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน (อสม.) ในตำบลอินทขิล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ จากนั้นใช้แบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือ บันทึกรายละเอียดและเก็บตัวอย่างเกลือประมาณ 15 กรัม

#### ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษานี้คือ เกลือบริโภคที่ใช้ในครัวเรือน ตำบลอินทขิล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ประกอบด้วย 19 หมู่บ้าน จำนวนครัวเรือนทั้งหมด 4,997 ครัวเรือน โดยครัวเรือนแต่ละหมู่บ้านอาศัยแบบกระจัดกระจาย กำหนดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้ตารางสำเร็จรูปของ Krejcie & Morgan (1970) ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 และสุ่มเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบมีระบบตามเลขที่บ้านเรียงตามลำดับ ได้จำนวนทั้งหมด 357 ครัวเรือน จากนั้นเก็บตัวอย่างเกลือบริโภคที่ใช้ในครัวเรือนเป็นประจำ จำนวน 1 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างเกลือที่ใช้ในครัวเรือนครั้งเดียว สำหรับบ้านที่ไม่มีคนอยู่ให้เก็บจากครัวเรือนจากบ้านเลขที่ถัดไป โดยเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมีนาคม - เมษายน 2554 สุ่มตัวอย่างจำนวนครัวเรือนแต่ละหมู่บ้านดังต่อไปนี้

ตาราง 3.1 จำนวนครัวเรือนทั้งหมดและจำนวนตัวอย่างเกลือที่ได้จากการสุ่มจำแนกตามหมู่บ้าน  
และเขตการปกครอง

หมู่ที่	ชื่อหมู่บ้าน	เขตการปกครอง	จำนวนครัวเรือน	จำนวนตัวอย่าง เกลือจากการสุ่ม
1	บ้านป่าจี้	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	358	26
2	บ้านวังแดง	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	286	20
3	บ้านหัวดง	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	128	9
4	บ้านม่วงคำ	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	330	24
5	บ้านท่าคันปุย	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	126	9
6	บ้านทางดง	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	207	15
7	บ้านปง	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	749	53
8	บ้านเด่น	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	284	20
9	บ้านทับเตือ	เทศบาลตำบลอินทขิล	378	27
10	บ้านหนองออน	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	419	30
11	บ้านสันป่าตอง	เทศบาลเมืองแกนพัฒนา	391	28
12	บ้านปางห้วยตาด	เทศบาลตำบลอินทขิล	96	7
13	บ้านปางกว้าง	เทศบาลตำบลอินทขิล	269	19
14	บ้านแม่ทะลาย	เทศบาลตำบลอินทขิล	103	7
15	บ้านปางเวียงดั่ง	เทศบาลตำบลอินทขิล	51	4
16	บ้านปางก๊ิด	เทศบาลตำบลอินทขิล	220	16
17	บ้านมีดกา	เทศบาลตำบลอินทขิล	183	13
18	บ้านหนองผึ้ง	เทศบาลตำบลอินทขิล	359	26
19	บ้านห้วยฝักดาบ	เทศบาลตำบลอินทขิล	60	4
รวมจำนวนครัวเรือนทั้งหมด			4,997	357

ที่มา: เทศบาลตำบลอินทขิลและเทศบาลเมืองแกนพัฒนา อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (2553)

## เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วย 2 ชนิดได้แก่

1. แบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือ มีเนื้อหาครอบคลุม จำนวนสมาชิกในครัวเรือน ชนิดของเกลือที่ใช้ ตราสินค้า ปีที่ผลิต แหล่งที่ซื้อ ปริมาณที่ซื้อ ภาชนะที่เก็บเกลือ ตำแหน่งเกลือที่เก็บในบ้าน และระยะเวลาที่ใช้เกลือหมด
2. เครื่องมือในการตรวจวัดปริมาณไอโอดีนในเกลือ วิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในเกลือโดยใช้วิธี Colorimetry แล้ววัดปริมาณไอโอดีนโดยใช้เครื่อง Microplate reader ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ใช้ความยาวช่วงคลื่น 450 nm. โดยปริมาณไอโอดีนที่วัดได้ในเกลือต้องมีมากกว่า 30 ppm จึงจะเป็นเกลือเสริมไอโอดีนที่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ศักดา พริงล้ำภูและคณะ, 2553)

## การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา มีดังต่อไปนี้

### 1. แบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือ

1.1 การตรวจสอบความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา (Content Validity) ตรวจสอบหาความเที่ยงตรงตามเนื้อหาโดยให้ผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่านเป็นผู้ตรวจสอบความสอดคล้องของเนื้อหาเครื่องมือแล้วนำผลการตรวจสอบมาคำนวณหาค่าความสอดคล้องระหว่าง ข้อคำถามกับวัตถุประสงค์ (IOC: Item Objective Conguence Index) และนำมาปรับปรุงแก้ไขตามคำแนะนำเพื่อให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์

1.2 การหาความเชื่อมั่น (Reliability) นำแบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือที่ปรับปรุงแก้ไขแล้วไปทดลองใช้กับครัวเรือนในตำบลสันมหาพน ซึ่งมีพื้นที่ลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่มตัวอย่างครัวเรือนที่ศึกษาจำนวน 40 ครัวเรือน พบว่า ครัวเรือนในตำบลสันมหาพน มีความเข้าใจในการตอบแบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือได้ตรงประเด็นที่ถาม

### 2. เครื่องมือในการตรวจวัดปริมาณไอโอดีนในเกลือ

2.1 การทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) เครื่อง microplate reader ยี่ห้อ Tecan รุ่น Sunrise ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตรวจสอบความถูกต้องโดยใช้ calibrate plate ที่รู้ค่าการดูดกลืนแสง (ช่วง OD 0.0-2.0) โดยใช้ความยาวช่วงคลื่น 450 nm. ในการวัดจำนวน 3 ครั้ง ซึ่งเครื่องสามารถอ่านค่าได้ใกล้เคียงกับ calibrate plate ร้อยละ 99.02

2.2 การทดสอบความเที่ยงตรง (Precision) การทดสอบความเที่ยงตรงของเครื่อง microplate reader โดยใช้ calibrate plate ที่รู้ค่าการดูดกลืนแสงช่วง (ช่วง OD 0.0-2.0) วัดค่าจำนวน 3 ครั้ง ผลการวัดการดูดกลืนแสงที่ 450 nm พบว่าเครื่องอ่านค่าแต่ละครั้งเหมือนกัน ร้อยละ 99.20

#### การตรวจสอบคุณภาพของวิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในเกลือด้วยวิธี Colorimetry โดยใช้เครื่อง Microplate reader การทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์ ได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ทราบปริมาณไอโอดีน 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร) ระดับกลาง (2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร) และระดับสูง (3.75 มิลลิกรัมต่อลิตร) ระดับละ 2 ครั้ง ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์ เมื่อคำนวณร้อยละของ recovery ของระดับต่ำ กลาง สูง ได้เท่ากับร้อยละ 101.38, 102.50, 102.21 ตามลำดับค่าดังกล่าวอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ คือ อยู่ในช่วงร้อยละ 90-110

#### การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในเกลือด้วยวิธี Colorimetry โดยใช้เครื่อง Microplate reader

การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในการศึกษาครั้งนี้ ใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในเกลือโดยวิธี Colorimetry และตรวจวัดโดยใช้เครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ Tecan รุ่น Sunrise เป็นเครื่องอัตโนมัติ สำหรับวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายไอโอดีนแล้วคำนวณจากปริมาณไอโอดีนโดยการเปรียบเทียบจากสารละลายมาตรฐานไอโอดีนที่วัดได้ในหน่วย ppm โดยการเตรียมสารละลายไอโอดีนมาตรฐานมีดังต่อไปนี้ (ศักดา พริงลำภูและคณะ, 2553)

1. เตรียมสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน (stock standard) ความเข้มข้นของไอโอดีนจะเท่ากับ 1000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยชั่ง potassium iodate ( $KIO_3$ ) 0.1686 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายไอโอดีน (Intermediate standard) ความเข้มข้นของไอโอดีนเท่ากับ 100 mg/L โดยดูดสารละลายในข้อหนึ่ง 1 มิลลิลิตรละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้าย 10 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลายไอโอดีน (working standard) ความเข้มข้นของไอโอดีนเท่ากับ 1.00, 2.00, 3.00, 4.00 มิลลิกรัม/ลิตร โดยดูดสารละลายตามตาราง ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้าย 10 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 3.2

ตาราง 3.2 การเตรียมสารละลายไอโอดีน (working standard)

I (mg/L)	Intermediate std (ml)	25 % NaCl (ml)	น้ำกลั่น (ml)
0	0.0	8	2.0
1	0.1	8	1.9
2	0.2	8	1.8
3	0.3	8	1.7
4	0.4	8	1.6

ที่มา: ศักดา พริงลำภู (2553)

### 1. การเตรียมตัวอย่างเกลือ

ละลายตัวอย่างเกลือในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 20 กรัม/100 มิลลิลิตร (ตัวอย่างเกลือ 2.00 กรัม ละลายน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร)

### 2. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน ดังต่อไปนี้ (มีภาพประกอบในภาคผนวก ง)

2.1 คูณสารละลายไอโอดีนมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างเกลือลงใน microplate ตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร จำนวน 2 ซ้ำ

2.2 เติมสารละลาย 4-aminophenol hydrochloride 0.5% ใน acetate buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยใช้ multichannel และผสมให้เข้ากัน

2.3 วางไว้ที่อุณหภูมิปกติ 60 นาที และนำไปตรวจวัดความเข้มสีของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นด้วย microplate reader ที่ 450 นาโนเมตร

2.4 จาก standard curve สามารถคำนวณปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างเกลือในหน่วยไมโครกรัมต่อเกลือบรีโกล 1 กรัม (ppm)

### การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้ศึกษาเก็บรวบรวมข้อมูลด้วยตัวเองและได้ฝึกผู้ช่วยเก็บข้อมูลและตัวอย่างเกลือบรีโกลจำนวน 4 ท่าน ได้แก่ เจ้าหน้าที่อาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน จำนวน 2 ท่าน และผู้ชำนาญในพื้นที่ตำบลอินทนิล จำนวน 2 ท่าน เพราะครัวเรือนในพื้นที่ตำบลอินทนิลมีตำแหน่งที่อยู่อาศัยกระจัดกระจาย ซึ่งต้องให้ผู้ชำนาญการในพื้นที่ในการแนะนำเส้นทาง สุ่มเก็บเกลือจากครัวเรือนตามบ้านเลขที่จากทะเบียนราษฎร์ (กรณีไม่มีคนที่อยู่บ้านให้เลื่อนการสุ่มเป็นบ้านถัดไปเพราะ

ครัวเรือนมีการซื้อเกลือในร้านค้าในหมู่บ้านซึ่งตราสินค้าไม่มีความแตกต่างกัน) ระหว่างเดือน มีนาคม - เมษายน พ.ศ.2554 โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ติดต่อทำหนังสือจากสาขาโภชนศาสตร์ศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อขออนุญาตเก็บข้อมูลในพื้นที่จากเขตการปกครองเทศบาลตำบลอินทิลและเทศบาลเมืองแกนพัฒนา เนื่องจากตำบลอินทิลมีอาณาเขตครอบคลุมทั้ง 2 เขตการปกครอง

2. ติดต่อประสานงานผู้ใหญ่บ้านหรือเจ้าหน้าที่อาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน (อสม.) เพื่อขอบัญชีเลขที่บ้านจากทะเบียนราษฎร์และเลือกทำการสุ่มแบบมีระบบโดยเลือกสุ่มบ้านเลขที่แรกของหมู่บ้านก่อนแล้วนับตามช่วงที่กำหนดทำการสุ่มจนถึงบ้านเลขที่สุดท้าย (กรณีไม่มีคนอยู่ให้เลื่อนเก็บข้อมูลและตัวอย่างโดยใช้บ้านเลขที่ถัดไป)

3. ก่อนจะทำการสุ่มเก็บข้อมูลและตัวอย่างเกลือบริโภคได้อธิบายให้ผู้ช่วยเก็บข้อมูล โดยมีรายละเอียดการอธิบาย คือ อธิบายขั้นตอนการสุ่มเก็บข้อมูล วิธีการเก็บตัวอย่างเกลือและการถามข้อมูล โดยใช้แบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือ เมื่อสุ่มเก็บข้อมูลและตัวอย่างเสร็จให้นำส่งตัวอย่างเกลือและแบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือรวบรวมไว้ที่ผู้ศึกษา

4. ดำเนินการเก็บตัวอย่างเกลือบริโภคที่ใช้ในครัวเรือนโดยใช้ช้อนตัก 1 ช้อนโต๊ะ (กรณีครัวเรือนใช้เกลือมากกว่า 1 ตัวอย่างต้องเก็บเพิ่ม) ใส่ถุงซิปล็อค เขียนรหัสและใช้แบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือ บันทึกรายละเอียดให้ตรงประเด็น

5. ผู้ศึกษานำตัวอย่างเกลือบริโภคที่เก็บรวบรวมได้ครบตามจำนวน 357 ครัวเรือน ไปทำการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในเกลือบริโภคที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ ต่อไป

#### การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

1. แบบบันทึกประกอบการเก็บตัวอย่างเกลือตำบลอินทิล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ การแจกแจงความถี่และร้อยละ

2. การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในเกลือ ปริมาณเกลือที่บริโภคและปริมาณไอโอดีนที่ได้รับวิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ การหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ามัธยฐาน ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด

3. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไอโอดีนในเกลือบริโภคกับ ตราสินค้า ปีที่ผลิต ชนิดเกลือ ตำแหน่งที่เก็บเกลือ ภาชนะที่เก็บเกลือ โดยใช้ Pearson Chi-Square tests, Prevalence ratio (PR) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 , Median test, One way ANOVA วิธีของ Sidak, Fisher's exact test