

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการศึกษา

การศึกษาเรื่องการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในพริกป่นที่จำหน่ายในตลาดสดเขตเทศบาลนครเชียงใหม่ มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ของพริกป่นในตลาดสดเขตเทศบาลนครเชียงใหม่ มีวิธีดำเนินการศึกษาดังนี้

#### ประชากร และกลุ่มตัวอย่าง

**ประชากร** คือ พริกป่นที่จำหน่ายในตลาดสดซึ่งขึ้นทะเบียนกับเทศบาลนครเชียงใหม่ มีจำหน่ายใน 12 ตลาด (เทศบาลนครเชียงใหม่, 2554)

**กลุ่มตัวอย่าง** คือ พริกป่นที่จำหน่ายในตลาดสดซึ่งขึ้นทะเบียนกับเทศบาลนครเชียงใหม่ โดยแบ่งพริกป่นเป็น 2 ลักษณะ คือพริกป่นที่มีตราสินค้า และพริกป่นที่ไม่มีตราสินค้า ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างแบบหลายขั้นตอน (Multistage Random Sampling) 1 ครั้ง โดยพริกป่นที่มีตราสินค้าสุ่มเก็บตราสินค้าละ 3 ตัวอย่าง ได้ตัวอย่างพริกป่นที่มีตราสินค้า 36 ตัวอย่าง และพริกป่นที่ไม่มีตราสินค้าสุ่มเก็บตลาดละ 3 ตัวอย่าง ได้ตัวอย่างพริกป่นที่ไม่มีตราสินค้า 36 ตัวอย่าง ดังนั้นมีตัวอย่างพริกป่นทั้งหมด 72 ตัวอย่าง

#### เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ

1. ชุดตรวจสอบอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์เกษตร (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) ของกลุ่มงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ชุดตรวจสอบ 1 ชุด มี 96 หลุมทดสอบ

2. สารเคมี ได้แก่ เมธานอล ความเข้มข้นร้อยละ 70 โดยปริมาตร และน้ำกลั่น

3. เครื่องแก้ว ได้แก่ ขวดแก้วมีฝาปิด ปีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ขวดรูปหม้อ ขนาด 600 มิลลิลิตร แท่งแก้วคน และปิเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร

4. ไมโครปิเปต ขนาด 50 ไมโครลิตร

## การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

### ความถูกต้องของชุดตรวจสอบ

ผู้ผลิตชุดตรวจสอบทำการตรวจสอบเอง ดังนี้

1. ชุดตรวจสอบมีความเฉพาะเจาะจง (specificity) ของแอนติบอดีในการเกาะจับ อะฟลาทอกซินดังนี้ คือ อะฟลาทอกซินบีหนึ่ง ร้อยละ 100.00 อะฟลาทอกซินบีสอง ร้อยละ 21.40 อะฟลาทอกซินจีหนึ่ง ร้อยละ 25.00 และอะฟลาทอกซินจีสอง ร้อยละ 2.50
2. ชุดตรวจสอบมีความสามารถในการตรวจจับอะฟลาทอกซินที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ (recovery test) ร้อยละ 82.00 – 100.00
3. ผู้ผลิตทำการทดสอบประสิทธิภาพ (proficiency testing) กับ FAPAS Science Central Laboratory ประเทศอังกฤษ ทำการทดสอบปีละ 3 - 4 ครั้ง ได้ค่า Z - score อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้ (ค่าระหว่าง +2 และ -2)

### ความแม่นยำของชุดตรวจสอบ

ผู้ศึกษานำชุดตรวจสอบอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ (DOA - Aflatoxin ELISA Test Kit) มาตรวจสอบความแม่นยำด้วยตนเอง โดยใช้ตัวอย่างพริกป่น 5 ตัวอย่าง ตรวจตัวอย่างละ 5 ซ้ำ พบความเข้มข้นของอะฟลาทอกซิน 3 ช่วง ได้แก่ > 4 - 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม >10 - 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ > 20 - 40 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ความแม่นยำของชุดตรวจสอบอยู่ในช่วง ร้อยละ 80.00 – 100.00 (ตาราง 3.1)

ตาราง 3.1 ร้อยละของความแม่นยำ

ช่วงความเข้มข้นของอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	จำนวนครั้งที่ตรวจ (ครั้ง)	จำนวนครั้งที่ผล ตรวจตรงกัน (ครั้ง)	ร้อยละ
> 4 - 10	10	10	100.00
> 10 - 20	10	9	90.00
> 20 - 40	5	4	80.00

### ขั้นตอนการศึกษา

#### 1. สํารวจการจำหน่ายพริกป่น

ทำการสำรวจตลาดสดที่ขึ้นทะเบียนกับเทศบาลนครเชียงใหม่ที่มีพริกป่นจำหน่ายทั้งหมด 12 ตลาด ได้แก่ ตลาดต้นพยอม ตลาดช้างเผือก ตลาดประตูเชียงใหม่ ตลาดศิริวัฒนา

ตลาดเมืองใหม่ ตลาดมิ่งเมือง ตลาดบ้านท่อ ตลาดต้นลำไย ตลาดสันป่าข่อย ตลาดหนองหอย  
ตลาดทองคำ และตลาดประตูก้อม (ตาราง 3.2)

จากการสำรวจยังพบว่าพริกป่นที่จำหน่ายมี 2 ลักษณะคือ พริกป่นที่มีตราสินค้า และ  
พริกป่นที่ไม่มีตราสินค้า พริกป่นที่มีตราสินค้ามีจำหน่ายทั้งหมด 12 ตราสินค้า ส่วนพริกป่น  
ที่ไม่มีตราสินค้ามีจำหน่ายทั้ง 12 ตลาด

ตาราง 3.2 จำนวนร้านค้าที่มีพริกป่นจำหน่ายในตลาดสด

ชื่อตลาด	ร้านค้าที่จำหน่ายพริกป่น (ร้าน)			รวม
	พริกป่นที่มี ตราสินค้า	พริกป่นที่ไม่มีตรา สินค้า	จำหน่ายทั้ง 2 ลักษณะ ของพริกป่น	
1. ต้นพยอม	3	4	1	8
2. ช้างเผือก	3	2	2	7
3. ประตูเชียงใหม่	6	2	0	8
4. ศิริวัฒนา	4	4	3	11
5. เมืองใหม่	18	1	1	20
6. มิ่งเมือง	9	3	0	12
7. บ้านท่อ	0	2	1	3
8. ต้นลำไย	6	4	1	11
9. สันป่าข่อย	6	2	1	9
10. หนองหอย	4	2	2	8
11. ทองคำ	0	0	1	1
12. ประตูก้อม	2	2	3	7
<b>รวม</b>	<b>52</b>	<b>28</b>	<b>16</b>	<b>96</b>

## 2. สุ่มเก็บตัวอย่างพริกป่น

ผู้ศึกษาทำการสุ่มเก็บตัวอย่างพริกป่น 1 ครั้ง ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2554 ตามลักษณะของพริกป่น

พริกป่นที่มีตราสินค้า ทำการสุ่มเก็บแบบหลายขั้นตอน (Multistage Random Sampling) มาตราสินค้าละ 3 ตัวอย่าง ยกตัวอย่างเช่น พริกป่นตราสินค้าที่ 1 มีจำหน่ายทั้งหมด 10 ตลาด สุ่มโดยการจับสลากให้เหลือ 3 ตลาด ในแต่ละตลาดสุ่มโดยการจับสลากให้ได้ร้านค้ามาตลาดละ 1 ร้าน จะได้ร้านค้า 3 ร้าน และในแต่ละร้านค้าสุ่มเก็บตัวอย่างพริกป่นโดยการจับสลากให้ได้พริกป่น 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม ดังนั้นพริกป่นตราสินค้าที่ 1 จะมี 3 ตัวอย่าง แต่พริกป่นตราสินค้าที่ 9 มีจำหน่ายเพียงตลาดเดียว จึงสุ่มร้านค้าในตลาดนี้โดยการจับสลากให้ได้ 3 ร้านค้า ในแต่ละร้านค้าสุ่มเก็บตัวอย่างพริกป่นโดยการจับสลากให้ได้พริกป่น 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม ดังนั้นพริกป่นตราสินค้าที่ 9 จะมี 3 ตัวอย่าง ทำการสุ่มเก็บพริกป่นที่มีตราสินค้าด้วยวิธีการนี้จนครบทั้ง 12 ตราสินค้า จะได้พริกป่นที่มีตราสินค้าทั้งหมด 36 ตัวอย่าง

พริกป่นที่ไม่มีตราสินค้า ทำการสุ่มเก็บแบบหลายขั้นตอน (Multistage Random Sampling) มาตราสินค้าละ 3 ตัวอย่าง ยกตัวอย่างเช่นตลาดที่ 1 มีร้านค้าที่จำหน่ายพริกป่นลักษณะนี้ 5 ร้านค้า สุ่มร้านค้าโดยการจับสลากให้เหลือ 3 ร้านค้า ในแต่ละร้านค้าสุ่มโดยการจับสลากให้ได้พริกป่นที่ไม่มีตราสินค้ามา 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม ดังนั้นพริกป่นที่ไม่มีตราสินค้าตลาดที่ 1 จะมี 3 ตัวอย่าง แต่ในตลาดที่ 11 มีร้านค้าที่จำหน่ายพริกป่นลักษณะนี้เพียงร้านเดียว จึงสุ่มตัวอย่างพริกป่นจากร้านค้าร้านนี้โดยการจับสลากมา 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม ดังนั้นพริกป่นที่ไม่มีตราสินค้าในตลาดที่ 11 จะมี 3 ตัวอย่าง ทำการสุ่มเก็บพริกป่นที่ไม่มีตราสินค้าด้วยวิธีการนี้จนครบทั้ง 12 ตลาด จะได้ตัวอย่างพริกป่นที่ไม่มีตราสินค้า 36 ตัวอย่าง

ตัวอย่างพริกป่นทั้ง 2 ลักษณะที่สุ่มเก็บมาทั้งหมดจึงมี 72 ตัวอย่าง

## 3. วิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินด้วยชุดตรวจสอบอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์

### (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit)

นำพริกป่นที่สุ่มเก็บได้มาตรวจหาอะฟลาทอกซิน ซึ่งมีขั้นตอนการตรวจสอบหลักๆ 4 ขั้นตอน (ภาคผนวก ข) ดังนี้

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์
2. เตรียมตัวอย่าง
3. วิเคราะห์หาอะฟลาทอกซิน
4. อ่านผลการวิเคราะห์ ด้วยสายตา เปรียบเทียบสีฟ้าของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของ

สารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ (ภาพ ข.4) หากความเข้มของสีฟ้าในสารละลาย ที่ได้จาก ตัวอย่างมีค่าอยู่ระหว่างความเข้มของสีฟ้าใดๆ สามารถค่าออกมาเป็นความเข้มของอะฟลาทอกซิน อยู่ในช่วงนั้น ดังนั้นชุดตรวจสอบนี้สามารถอ่านค่า ความเข้มของการปนเปื้อนได้ 5 ช่วง ดังนี้ ช่วง 0 – 4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ช่วง > 4 – 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ช่วง > 10 – 20 ไมโครกรัม ต่อกิโลกรัม ช่วง > 20 – 40 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ > 40 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม หากตัวอย่าง ใดก็ตาม มีความเข้มของอะฟลาทอกซินเกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเกินกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ถือว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน และจาก 3 ตัวอย่างในตราสินค้า ใดๆหรือตลาดใดๆ ถ้าพบว่ามีเพียงตัวอย่างเดียว ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน สรุปว่าไม่ผ่านเกณฑ์ มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข

**การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้**

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ความถี่ และร้อยละ