หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1 การเก็บข้อมูลทุติยภูมิ

ข้อมูลปริมาณการจราจรรวบรวมข้อมูลจากกองวิศวกรรมจราจรกรุงเทพมหานคร ซึ่งได้ดำเนินการศึกษาโดย JICA (Japan International Coorperation Agency) ในปี พ.ศ. 2528

3.2 การเก็บตัวอย่างเลือด

3.2.1 แผนการเก็บตัวอย่าง รวบรวมรายชื่อสถานีตำรวจในเขตกรุงเทพมหานครทั้งหมด และสุ่มเลือกตำรวจจราจรตัวอย่างตามข้อมูลปริมาณการจราจร โดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบชั้นภูมิ (stratified sampling) เป็น 2 ระดับ คือ ตำรวจจราจรในบริเวณถนนที่มีปริมาณการจราจรมากกว่า 1,000 คันต่อชั่วโมง และตำรวจจราจรในบริเวณถนนที่มีปริมาณการจราจรน้อยกว่า 1,000 คันต่อชั่วโมงลงมา ในแต่ละระดับสุ่มเลือกตำรวจจราจรโดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบกลุ่ม (cluster Random Sampling) และกลุ่มควบคุมจะใช้ตำรวจในเขตชานเมืองกรุงเทพมหานคร

3.2.2 อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างเลือด

1. ไซริงส์ขนาด 2.5 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาชนิดใช้ครั้งเดียวขนาด 21G × 1.5 นิ้ว (disposable syringe and needle) ของ Terumo Japan
2. สำลีชนิดผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
3. เอธิลแอลกอฮอล์ 70%
4. หลอดพลาสติกชนิดโพลีเอธีลีน ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ของ National micro-centrifuge tube
5. rack สำหรับเก็บตัวอย่างเลือด

6. สารป้องกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) ชนิด Heparin

7. Ethylene diamine tetraacetate (EDTA)

8. กระติกใส่น้ำแข็ง

3.2.3 วิธีการเก็บตัวอย่างเลือด

การเจาะเลือดตำรวจและตำรวจจราจรเพื่อหาระดับตะกั่วใช้ไซริงส์และเข็มฉีดยาชนิดใช้ครั้งเดียว เจาะที่บริเวณเส้นเลือดดำ (venous blood) ใช้เลือดตัวอย่างประมาณ 2 มิลลิลิตร เก็บใส่หลอดพลาสติกที่ใส่สารป้องกันเลือดแข็งตัวประมาณ 20 unit ต่อเลือดทั้งหมด (whole blood) 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างเลือดผสมกับสารป้องกันเลือดแข็งตัวอย่างรวดเร็ว การเจาะเลือดจะปฏิบัติโดยพยาบาลผู้ชำนาญ โดยก่อนที่จะทำการเจาะเลือดจะต้องทำความสะอาดบริเวณแขนของตำรวจจราจรด้วย เอทธีลีนไดเอมีนเตตราอะซีเตต 1% และใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 70% ทำความสะอาดบริเวณผิวหนังที่เจาะอีกครั้ง

3.3 การส่งตัวอย่างเลือด

ตัวอย่างเลือดจะเก็บไว้ในกระติกน้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำส่งห้องปฏิบัติการ

3.4 การวิเคราะห์หาระดับตะกั่วในเลือด

ตัวอย่างเลือดที่เก็บมาได้จะทำการวิเคราะห์โดยวิธี Electrothermal (Flameless) Atomic absorption spectrophotometry ตามวิธีของ Subramanian และ Meranger

3.4.1 เครื่องมือ

เครื่องอะตอมมิกแอบซอพชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Atomic absorption spectrophotometer) Model-4000 Perkin-Elmer ที่ต่อเข้ากับ Graphite furnace Model HGA-300 Perkin-Elmer และ background collector ที่ใช้ร่วมกับ strip-chart recorder เพื่อจะวิเคราะห์ตะกั่วในเลือดได้กำหนดโปรแกรมการทำงานของเครื่องมือตามคำแนะนำการใช้เครื่องดังนี้

wavelength	283.3 nm.
Slit width	0.7 nm.
Tube type	L' vov platform
Drying temperature	80 °C for 30 sec
Charring temperature	800 °C for 35 sec
Atomization temperature	2,000 °C for 3 sec

3.4.2 เครื่องแก้วและหลอดเก็บตัวอย่าง

เครื่องแก้วล้างด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 1 : 1 โดยแช่ในกรด 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น และล้างอีกครั้งด้วย de-ionized water

หลอดเก็บตัวอย่างชนิดโพลีเอธิลีน ล้างด้วยกรดไนตริกความเข้มข้น 5% (ทำเช่นเดียวกับวิธีล้างเครื่องแก้ว)

3.4.3 Disposable Eppendorf pipet tips ใช้ทั้งในการเจือจางตัวอย่าง (dilution) และฉีดตัวอย่าง (injection)

3.4.4 สารเคมี

1. น้ำกลั่นชนิด de-ionized water

2. สารละลาย nitric acid (NHO_3) 0.2%

3. Water-saturated methyl isobutyl ketone : ใช้ methyl isobutyl ketone (MIBK) : BDH, for atomic absorption spectrocopy (Production No. 14043) และน้ำกลั่นชนิด de-ionized 1 : 1 โดยปริมาตร เขย่าเป็นเวลา 30 วินาทีใน separation funnel

4. สารละลาย ammonium pyrolidine dithiocarbarmate (APDC) 4% ละลาย APDC 4 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทำให้บริสุทธิ์โดยเขย่าเป็นเวลา 30 วินาทีกับ water-saturated MIBK โดยใช้ปริมาตรที่เท่ากัน

5. สารละลาย ammonium dihydrogen phosphate ($NH_4.H_2PO_4$) 5% : ละลาย $NH_4H_2PO_4$ 5 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทำให้บริสุทธิ์โดยเขย่ากับ 4%

APDC 1.0 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 วินาที แล้วสกัดด้วย water-saturated MIBK โดยใช้ปริมาตรเท่ากัน เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที

6. สารละลาย Triton X-100 : BDH, for spectrosal grade (Product No. 30632) ความเข้มข้น 0.1% (V/V)

7. สารละลายมาตรฐานตะกั่ว (Lead Stock Solution) : BDH, Spectrosol grade (Product No. 14036) ความเข้มข้น 1,000 mg/L.

8. Intermediate lead standard ความเข้มข้น 100 mg/L : ปิเปต stock lead solution 10 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตรด้วยสารละลาย 0.2% NHO_3

9. Lead working standard ความเข้มข้น 0, 20 และ 40 µg/100 mL : ปิเปต Intermediate lead standard 0, 0.2 และ 0.4 มิลลิลิตร ถ่ายลงใน volumetric flask ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.2% NHO_3 จนครบ 100 มิลลิลิตร

3.4.5 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างตะกั่วในเลือดใช้วิธี Standard addition

ปิเปตตัวอย่างเลือด (whole blood) ที่ใส่สารป้องกันเลือดแข็งตัวลงใน microcentrifuge tube (ขนาด 1.5 mL) ที่มีสารละลาย Triton X-100 เขย่าให้เม็ดเลือดแตก เติมสารละลาย $NH_4H_2PO_4$ และ lead working standard ตามลำดับ แล้วเติม NHO_3 0.2% เขย่าให้ตัวอย่างผสมกัน สัดส่วนของสารเคมีแสดงดังตารางข้างล่าง

1.	Triton X-100 (0.1%)	100	µL
2.	Whole blood	50	µL
3.	Lead working standard (0, 20, 40 µg/100 mL)	50	µL
4.	$NH_4H_2PO_4$ (5%)	750	µL
5.	Diluent HNO_3 (0.2%)	1,000	µL

ฉีดตัวอย่างที่เตรียมแล้ว 10 ไมโครลิตร โดยตรงเข้า graphite furnace atomic absorption spectrophotometer วัด peak-height absorbance plot ค่า peak-height absorbance กับความเข้มข้นของตะกั่วที่เติมลงไป (Lead working standard) แสดงในภาคผนวก ค. หรือใช้การคำนวณโดยวิธีวิเคราะห์ถดถอย

3.5 การเก็บแบบสอบถาม

ทำการสัมภาษณ์ตำรวจและตำรวจจราจรโดยใช้แบบสอบถามพร้อมไปกับการเจาะเลือดตำรวจและตำรวจจราจรในแต่ละเขต ลักษณะแบบสอบถามเกี่ยวกับอายุ ระยะเวลาการทำงาน พฤติกรรมการสูบบุหรี่และการดื่มแอลกอฮอล์ รายละเอียดของแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ง

3.6 การวิเคราะห์และการแปลผลข้อมูล

3.6.1 หาความแตกต่างของระดับตะกั่วในเลือดระหว่างกลุ่มประชากรที่ศึกษาโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว(ONE WAY ANOVA)

3.6.2 หาอิทธิพลของตัวแปรอิสระต่าง ๆ อันได้แก่ อายุ อายุการทำงาน ชั่วโมงการทำงาน พฤติกรรมการสูบบุหรี่และการดื่มแอลกอฮอล์ที่มีต่อระดับตะกั่วในเลือดของแต่ละกลุ่มประชากรโดยใช้วิธีทดสอบทางสถิติ คือ การวิเคราะห์ความถดถอยพหุคูณ (Multiple Regression)

3.6.3 ข้อมูลที่ได้มาทั้งหมดจะทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จที่ใช้กับเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์

3.6.4 ประเมินสถานภาพทางสุขภาพอนามัยของตำรวจจราจรตามระดับตะกั่วในเลือดโดยใช้เกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization) และสถาบันความปลอดภัยในการทำงานและสุขภาพแห่งชาติ NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health)

3.7 การวัดและการให้คะแนนตัวแปร (Measurement and Scoring of Variables)

ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษามีการวัดและการให้คะแนนดังนี้

ตัวแปร	การจัดและการให้คะแนน
1. ระดับตะกั่วในเลือด	ปริมาณของตะกั่วในเลือด หน่วยไมโครกรัม/100 มิลลิลิตร
2. อายุ	จำนวน ปีที่เกิด
3. อายุการทำงาน	จำนวนปีของการรับราชการเป็นตำรวจจราจร
4. ระยะเวลาที่สัมผัส	จำนวนชั่วโมงต่อสัปดาห์ที่ต้องปฏิบัติหน้าที่บนท้องถนน
5. พฤติกรรมการสูบบุหรี่	คะแนน 0 = ไม่สูบบุหรี่ 1 = สูบบุหรี่เป็นประจำ
6. ปริมาณการสูบบุหรี่	จำนวนบุหรี่ คิดเป็นมวนต่อวัน
7. พฤติกรรมการดื่มแอลกอฮอล์	คะแนน 0 = ไม่ดื่มแอลกอฮอล์ 1 = ดื่มแอลกอฮอล์เป็นครั้งคราว 2 = ดื่มแอลกอฮอล์เป็นประจำ
8. ปริมาณการดื่มแอลกอฮอล์	จำนวนมิลลิลิตรของแอลกอฮอล์ที่ดื่มต่อสัปดาห์

ตัวแปรหุ่น (Dummy Variables)

ในการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ ตัวแปรที่เหมาะสมควรจะมีระดับการวัดประเภทช่วง ถ้าเป็นตัวแปรที่มีระดับการวัดประเภทกลุ่มจะต้องทำเป็นตัวแปรหุ่น ได้แก่ พฤติกรรมการสูบบุหรี่ และพฤติกรรมการดื่มแอลกอฮอล์

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรหุ่นของพฤติกรรมการสูบบุหรี่และพฤติกรรมการดื่มแอลกอฮอล์

พฤติกรรมการสูบบุหรี่	ตัวแปรหุ่น
ไม่สูบบุหรี่	0
สูบบุหรี่เป็นประจำ	1

พฤติกรรมการดื่มแอลกอฮอล์	ตัวแปรหุ่น	
	x_1	x_2
ไม่ดื่มแอลกอฮอล์	1	0
ดื่มเป็นครั้งคราว	0	1
ดื่มเป็นประจำ	0	0