DOA TOGETHER

Hearing for Changing, Acting for Moving forward

กรมวิชาการเกษตร

ผลการปฏิบัติงาน ประจำปี 2564

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ANNUAL REPORT 2021

AGRICULTURAL PRODUCTION SCIENCE RESEARCH AND DEVELOPMENT DIVISION

ISBN : 978-974-436-967-3

https://qr.page/g/1zcMvQJilDj

เล่ม 1

เล่ม 1

ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2564
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร (ANNUAL REPORT 2021)

ISBN : 978-974-436-967-3

คณะผู้จัดทำ

คณะที่ปรึกษา :

นางจิราพรรณ	ทองหยอด	ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวพนิดา	ไชยยันต์บูรณ์	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ
นายประชาธิปัตย์	พงษ์ภิญโญ	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
นางสาววรรณรัตน์	ชุติบุตร	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี
นางสาวศุภกาญจน์	ล้วนมณี	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา
นางสาววนิดา	โนบรรเทา	ผู้อำนวยการกลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางอุชฎา	สุขจันทร์	ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น

คณะผู้จัดทำและประสานงาน :

นางสาวณัฐธิดา	ทองนาค	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวยศวดี	เม่งเอียด	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวสุนารี	แก้วดี	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวนีลุบล	จันทชุม	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวฤทัยรัตน์	น้อยจาด	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย

จำนวนพิมพ์: 50 เล่ม
พิมพ์เมื่อ: สิงหาคม 2565
สถานที่ติดต่อ: กลุ่มบริหารโครงการวิจัย กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
โทรศัพท์ 0 2940 5754 ต่อ 2115 และ 2117
โทรสาร 0 2579 157

คำนำ

เอกสาร “ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร” ได้จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวม และเผยแพร่ผลงานวิจัยที่ได้ดำเนินการศึกษาวิจัยตามแผนงาน/โครงการวิจัยของกรมวิชาการเกษตร และการนำผลงานวิจัยของกรมวิชาการเกษตรที่กลุ่มเป้าหมายนำไปใช้ประโยชน์เพื่อพัฒนาการเกษตรประจำปีงบประมาณ 2564 ประกอบด้วยผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา และศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางกา รเกษตรขอนแก่น โดยมีกลุ่มบริหารโครงการวิจัยเป็นผู้ประสานงาน รวบรวมและดำเนินการตีพิมพ์ผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยต่างๆ จำนวน 2 เล่ม รวม 75 เรื่อง

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร หวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารผลการปฏิบัติงานประจำปีฉบับนี้จะเกิดประโยชน์ต่อภาครัฐ ภาคเอกชน เกษตรกร ตลอดจนนักวิชาการและผู้สนใจทั่วไป ให้สามารถนำงานวิจัยไปประยุกต์ใช้ และต่อยอดงานวิจัยได้อย่างมีประสิทธิภาพอันจะเป็นประโยชน์ต่อประเทศชาติในการพัฒนางานวิจัยต่อไป และขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ ผู้เชี่ยวชาญด้านดินและปุ๋ย กลุ่มบริหารโครงการวิจัย นักวิชาการเจ้าของผลงาน และผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

(นางจิราพรรณ ทองหยอด)
ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร
๒ สิงหาคม 2565

สารบัญ

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา **หน้า**

1	การจัดการธาตุอาหารพืชระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังต่อผลผลิตและการกักเก็บคาร์บอนในดิน *สมฤทัย ตันเจริญ*	2
2	ศึกษาประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวในกลุ่มดินเหนียว-ร่วนเหนียวสีดำ จังหวัดนครสวรรค์ *กิตจเมธ แจ้งศิริกุล*	18
3	ศึกษาประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว *ศุภกาญจน์ ล้วนมณี*	35
4	ศึกษาการตอบสนองและการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดหวานในกลุ่มดินร่วน-ร่วนเหนียว *ชัชธนพร เกื้อหนุน*	46
5	ศึกษาการตอบสนองและการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดข้าวเหนียวในกลุ่มดินร่วน-ร่วนเหนียว *วนิดา โนบรรเทา*	61
6	การศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 *กัลยกร โปร่งจันทึก*	72
7	การศึกษาผลของการจัดการปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในระบบการปลูกถั่วเขียวหลังนาต่ออัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวในดินร่วนปนเหนียวถึงดินเหนียว จังหวัดชัยนาท *จิตรา เกาะแก้ว*	88
8	การศึกษาการจัดการดินเพื่อการผลิตกระเทียมระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย *สรัตนา เสนาะ*	105
9	ศึกษารูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวโพดฝักอ่อนในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว *รมิดา ขันตรีกรม*	123
10	ศึกษารูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว *รมิดา ขันตรีกรม*	139
11	การประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยในระดับแปลง *นุชนาฏ ตันวรรณ*	154
12	การประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยในระดับพื้นที่ *นุชนาฏ ตันวรรณ*	169
13	เทคนิคประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในแปลงอ้อยโดยไม่ทำลายตัวอย่าง *สายน้ำ อุดพ้วย*	182
14	การประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลังในระดับแปลง *นุชนาฏ ตันวรรณ*	189
15	การประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลังในระดับพื้นที่ *นุชนาฏ ตันวรรณ*	202

สารบัญ

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา (ต่อ) **หน้า**

16 เทคนิคประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในแปลงมันสำปะหลังโดยไม่ทำลายตัวอย่าง 212
สายน้ำ อุดพ้วย

17 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพ พีจีพีอาร์ 219
อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์

18 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการจัดจำแนกจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ 233
อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

19 ศึกษาสารออกฤทธิ์ในสารสกัดพืชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา Cercospora kikuchii และสกัดสารกึ่งบริสุทธิ์เพื่อควบคุมคุณภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ 248
ณัฐพร ฉันทศักดา

20 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไทอะมีทอกแซมในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 267
สุกัญญา คำคง

21 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ เพนดิเมทาลิน (pendimethalin) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 281
อิสริยะ สืบพันธุ์ดี

22 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ฟลูซิลาโซล (flusilazole) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 293
ดวงรัตน์ วิลาสินี

23 การศึกษาร่วมกันในวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์อะมีทรีน (ametryn) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร 304
พิเชษฐ์ ทองละเอียด

24 การศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลงเฟนโทเอต (phenthoate) 321
อนุชา ผลไสว

25 การศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืชเบโนมิล (benomyl) 340
ฉลองรัตน์ หมื่นขวา

26 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไพริดาเบน (pyridaben) ในส้มเขียวหวานเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 350
ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ

27 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไดฟีโนโคนาโซล (difenoconazole) ในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 362
พรนภัส วิชานนะณานนท์

28 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอีมาเมกตินเบนโซเอต (Emamectin benzoate) ในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (ครั้งที่ 1-2) 374
พชร เมินหา

สารบัญ

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร (ต่อ) **หน้า**

29 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของสไปโรมีซิเฟน (spiromesifen) ในพริกเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 388
สุพัตรี หนูสังข์

30 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไตรฟลอกซี่สโตรบิน (tirfloxystrobin) ในพริกเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 399
บุญทวีศักดิ์ บุญทวี

31 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอิมาเม็กติน เบนโซเอท ในพริกเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 409
ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร

32 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริกเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 421
ชนิกัณดา เทสสิริ

33 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอินดอกซาคาร์บ (indoxacarb) ในพริกเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 438
วิทยา บัวศรี

34 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในคะน้าเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1-3 453
ศศิณิฎา คงแซ่มดี

35 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในคะน้าเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 462
ประพันธ์ เคนท้าว

36 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอีมาเมกติน เบนโซเอต (emamectin benzoate) ในผักชีฝรั่ง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 472
วาเลนไทน์ เจือสกุล

37 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในกะเพราเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 483
วิชุตา ควรหัตร์

38 วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของเมทอกซีฟีโนไซด์ (methoxyfenozide) ในกะเพราเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง 496
ชนิตา ทองแซม

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

การจัดการธาตุอาหารพืชระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังต่อผลผลิตและการกักเก็บคาร์บอนในดิน

Long-Term Nutrient Management with Organic Materials, Organic Fertilizers and Chemical Fertilizers in Cassava Plantations on Yield and Carbon Sequestration in Soil.

สมฤทัย ตันเจริญ เสาวรี บำรุง[1] ชยันต์ ภักดีไทย[2] วัลลีย์ อมรพล[3]
ศุภกาญจน์ ล้วนมณี บรรณพิชญ์ สัมฤทธิ์ ปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา
Somrutai Tancharoen Saowaree Bumrung[1] Chayant Pakdeethai[2] Wanlee Amonpon[3]
Suphakarn Luanmanee Bhannapitch Samrit Piyanun Wiwatwittaya

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Study on fertilizer management and cropping systems in long-term production of cassava to maintain soil fertility and stabilize cassava production. Appropriate soil and plant nutrient management when growing cassava continuously for a long time, can maintain soil productivity and soil fertility. Cassava cultivation system should be managed using integrated fertilizers between chemical fertilizers, organic fertilizers, and organic waste management to improve soil fertility. The object of this project was to study the plant nutrient management for long-term cultivation of cassava with organic materials, organic fertilizers, and chemical fertilizers in cassava plantation areas and to increase cassava productivity. Changes in soil carbon and nutrient content to maintain soil fertility. The experiment was conducted in sandy loam soil; Korat soil series at Nakhon Ratchasima Agricultural Research and Development Center and Yasothon soil series at Khon Kaen Field Crop Research Center and in sandy clay loam; Huay Pong soil series at Rayong Field Crops Research Center. This experiment was conducted in randomized completed block design with 4 replicates and 8 treatments, consisting of 1) without fertilizer (0-0-0) 2) chemical fertilizer at 16-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O per rai (16-0-0) 3) chemical fertilizer at 16-8-0 kg N-P_2O_5-K_2O per rai (16-8-0) 4) chemical fertilizer at 16-0-16 kg N-P_2O_5-K_2O per rai (16-0-16) 5) chemical fertilizer at 16-8-16 kg N-P_2O_5-K_2O per rai (16-8-16) 6) chemical fertilizer at 16-8-16 kg N-P_2O_5-K_2O per rai combining with organic fertilizer at the rate of 1 ton per rai (16-8-16 + CP) 7) chemical fertilizer at 16-8-16 kg N-P_2O_5-K_2O per rai combining with cassava residues at the rate of 3 ton per rai (16-8-16 + CR) 8) cassava residues at the rate of 3 ton per rai without chemical fertilizer (0-0-0 + CR)

---

[1] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
[1] Nakhon Ratchasima Agricultural Research and Development Center, Office of Agricultural Research and Development Region 4
[2] ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน
[2] Khon Kaen Field Crops Research Center, Field and Renewable Energy Crops Research Institute
[3] ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน
[3] Rayong Field Crops Research Center, Field and Renewable Energy Crops Research Institute

The result showed that the nutrient management by application of chemical fertilizers, organic fertilizers and cassava residues had affected the changes of soil fertility and cassava yield in sandy loam and sandy clay loam. Nutrient and soil management by applying chemical fertilizer at 16-8-16 kg N-P_2O_5-K_2O per rai combining with cassava residues (leaf and stalk) at rate of 3 tons per rai, gave the highest cassava yield. Nutrient management by incorporated cassava residues and organic fertilizer combining with chemical fertilizer, by using chemical fertilizer rate at 16-8-16 kg N-P_2O_5-K_2O per rai combined with organic fertilizer rate at 1 ton per rai and using chemical fertilizer rate at 16-8-16 kg N-P_2O_5-K_2O per rai combining with cassava residues rate at 3 tons per rai, can maintain soil fertility and soil organic carbon and organic matter content in soil.

Keywords: cassava, organic fertilizer, organic material, fertilizer management, soil fertility

บทคัดย่อ

การปลูกมันสำปะหลังอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้ความสามารถในการผลิตพืชและความอุดมสมบูรณ์ของดินลดลง จำเป็นต้องมีการจัดการดินและธาตุอาหารที่เหมาะสม เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตมันสำปะหลังรักษาศักยภาพของดินในการผลิตมันสำปะหลังอย่างยั่งยืน การจัดการดินแปลงปลูกมันสำปะหลังโดยการใช้ปุ๋ยแบบผสมผสานด้วยการใส่วัสดุอินทรีย์ไถกลบต้นใบมันสำปะหลัง ร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดิน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการจัดการธาตุอาหารพืชสำหรับการปลูกมันสำปะหลังระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนและธาตุอาหารในดิน เพื่อรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน ดำเนินการในดินร่วนปนทราย ชุดดินโคราช ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา ชุดดินยโสธร ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และดินร่วนเหนียวปนทราย ชุดดินห้วยโป่ง ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ประกอบด้วย 1) ไม่ใส่ปุ๋ย 0-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (0-0-0) 2) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (16-0-0) 3) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (16-8-0) 4) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-0-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (16-0-16) 5) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (16-8-16) 6) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ + ปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 1 ตันต่อไร่ (16-8-16 + CP) 7) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ + สับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ (16-0-16 + CR) 8) ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี 0-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ + สับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ (0-0-0 + CR)

ผลการทดลอง พบว่า การจัดการธาตุอาหารของมันสำปะหลังด้วยการใส่ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และการไถกลบต้นใบมันสำปะหลัง มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความอุดมสมบูรณ์ของดินและผลผลิตมันสำปะหลังในดินร่วนทราย และดินร่วนเหนียวปนทราย การจัดการธาตุอาหารและปรับปรุงดินโดยการใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2Oต่อไร่ ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลังอัตรา 3 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตมันสำปะหลังสูงสุด การจัดการธาตุอาหารโดยการไถกลบวัสดุอินทรีย์ เศษซากมันสำปะหลังและการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ ด้วยการใช้ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ อัตรา 1 ตันต่อไร่ และการใช้ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ ช่วยรักษาระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินและระดับปริมาณอินทรียคาร์บอนและอินทรียวัตถุในดิน

คำหลัก: มันสำปะหลัง ปุ๋ยอินทรีย์ วัสดุอินทรีย์ การจัดการปุ๋ย ความอุดมสมบูรณ์ของดิน

คำนำ

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย พื้นที่ปลูกทั้งประเทศ 9.43 ล้านไร่ พื้นที่เก็บเกี่ยว 8.91 ล้านไร่ ผลผลิตรวม 28.9 ล้านตัน และผลผลิต 3.25 ตันต่อไร่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ปลูก 5.33 ล้านไร่ พื้นที่เก็บเกี่ยว 4.95 ล้านไร่ ผลผลิตรวม 16.2 ล้านตัน และผลผลิต 3.27 ตันต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) พื้นที่ส่วนใหญ่ปลูกในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ดินที่ปลูกมันสำปะหลังส่วนใหญ่เป็นดินที่มีเนื้อดินเป็นดินทรายถึงร่วนปนทราย เนื้อดินที่มีทรายเป็นองค์ประกอบหลัก ทำให้มีความสามารถต่ำทั้งในการดูดซับธาตุอาหารและน้ำ จึงเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตต่ำ

การปลูกมันสำปะหลังติดต่อกันยาวนานทำให้ดินเสื่อมโทรมลงทุกปี (โชติและคณะ, 2533; ชุมพล และคณะ, 2543; โชติ และคณะ, 2529) สอดคล้องกับ วัลลีย์ และคณะ (2555) ซึ่งทำการปลูกมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ในดินทรายชุดดินสัตหีบ จังหวัดระยอง พบว่า มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 86-13 มีประสิทธิภาพในการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตสูงสุด 338 กิโลกรัมผลผลิตต่อกิโลกรัม N รองลงมาคือ มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 11 และระยอง 9 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิต 318 และ 279 กิโลกรัมผลผลิตต่อกิโลกรัม N ตามลำดับ และพบว่าโพแทสเซียมจะสะสมอยู่ในหัวมันสำปะหลังมากกว่าธาตุอาหารหลักอื่นๆ เมื่อมีการเคลื่อนย้ายผลผลิตออกจากพื้นที่ทำให้ธาตุอาหารในดินลดลง ดินขาดความอุดมสมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปลูกมันสำปะหลังซ้ำในพื้นที่เดิม จึงจำเป็นที่จะต้องมีการจัดการดิน และการจัดการธาตุอาหารให้เพียงพอและเหมาะสมต่อความต้องการของพืชแต่ละชนิด นอกจากนี้การชะล้างหน้าดินในแปลงปลูกมันสำปะหลังเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ดินมีการสูญเสียหน้าดิน เป็นสาเหตุทำให้ในช่วงแรกของการเจริญเติบโตเมื่อทรงพุ่มยังไม่สามารถคลุมหน้าดินได้รวดเร็ว มีความเสี่ยงต่อการถูกชะล้างหน้าดินได้ง่าย โดยเฉพาะการปลูกต้นฤดูฝน การปลูกมันสำปะหลังซ้ำในพื้นที่เดิมจึงจำเป็นที่จะต้องมีการจัดการดิน การจัดการธาตุอาหารให้เพียงพอและเหมาะสมต่อความต้องการของพืชแต่ละชนิด การจัดการที่ไม่เหมาะสมย่อมทำให้ดินเสื่อมความอุดมสมบูรณ์ลงเรื่อย ๆ

การทำการวิจัยเพื่อให้ระบบการผลิตมันสำปะหลังอย่างยั่งยืน มีความจำเป็นที่ต้องรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินทั้งทางเคมีและกายภาพ การจัดการธาตุอาหารให้พอเพียงโดยการใช้ปุ๋ยแบบผสมผสานระหว่างปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ในสัดส่วนที่พอเหมาะ นอกจากช่วยเพิ่มธาตุอาหาร ปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมี กายภาพและชีวภาพ ยังสามารถลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยเคมี เมื่อใช้ในปริมาณที่พอเหมาะจะช่วยเพิ่มผลผลิต และเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรได้ เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัย จึงได้ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลัง โดยการจัดการปุ๋ยที่เหมาะสมร่วมกันระหว่างการจัดการเศษซากพืช วัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมี เพื่อรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน และรักษาความยั่งยืนในการผลิตมันสำปะหลังระยะยาว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 ท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง พันธุ์ระยอง 11 และระยอง 86-13

2 ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต ปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์

3 ปุ๋ยอินทรีย์ ได้แก่ ปุ๋ยหมักเติมอากาศ ปุ๋ยหมักกากตะกอนหม้อกรองอ้อย และปุ๋ยหมักจากเปลือกไม้ยูคาลิปตัส

4. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดินและพืช เช่น ถุงพลาสติก จอบ พลั่วมือ กระบอกเก็บดิน ถุงตาข่าย ถุงกระดาษสำหรับเก็บตัวอย่างพืช มีด กรรไกรตัดตัวอย่างพืช เครื่องชั่งน้ำหนัก

5. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช และวัชพืช ได้แก่ ไทอะมีโทแซม 25% ดับบลิวจี อามีทราช ไดโคโฟล เพนดิเมทาลิน ไกลโฟเสต เป็นต้น

6. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เครื่องแก้ว และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์ดินและพืช

วิธีการ

ดำเนินการทดลองในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังระยะยาว ซึ่งดำเนินการมาตั้งแต่ปี 2518-2519 ซึ่งเป็นแปลงทดลองเดิม 3 สถานที่ ได้แก่ พื้นที่ดินร่วนทราย ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา และดินร่วนเหนียวปนทราย ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง จังหวัดระยอง โดยการปรับปรุงดินด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตมันสำปะหลังระยะยาว วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) มี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ไม่ใส่ปุ๋ย 0-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (0-0-0) 2) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (16-0-0) 3) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (16-8-0) 4) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-0-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (16-0-16) 5) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (16-8-16) 6) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ + ปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 1 ตันต่อไร่ (16-8-16 + CP) 7) ใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ + สับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ (16-0-16 + CR) 8) ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี 0-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ + สับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ (0-0-0 + CR)

การเตรียมดินปฏิบัติการเช่นเดียวกันทุกฤดูปลูก คือหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต ชั่งน้ำหนักสดต้นใบ และหัวมันสำปะหลังทุกกรรมวิธี แล้วขนย้ายต้นใบในกรรมวิธี ไม่มีการไถกลบต้นใบออกนอกแปลงทดลองทั้งหมด เหลือต้นใบเฉพาะกรรมวิธีไถกลบต้นใบกลับลงดินที่เดิม ชั่งน้ำหนักสด 3 ตันต่อไร่ (กรรมวิธี 16-8-16 + CR และกรรมวิธี 16-8-16 + CR ตามแผนการทดลอง) แล้วสับย่อยให้มีขนาดเล็กและสั้นเพื่อง่ายต่อการไถกลบลงดิน ก่อนการทดลองในแต่ละฤดูปลูก สุ่มเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร และ 20-50 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี และปริมาณธาตุอาหารในดิน แล้วทำการไถเตรียมแปลงทดลอง ขนาดแปลงย่อย 8x10 เมตร แปลงที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์จะทำการหว่านและสับกลบก่อนปลูก แปลงที่ใส่วัสดุอินทรีย์จะทำการสับกลบต้นใบมันสำปะหลังก่อนปลูก ปลูกมันสำปะหลังต้นฤดูฝน ระยะปลูก 1x1 เมตร จำนวน 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีสองข้างต้นห่างจากต้น 10-15 เซนติเมตร แล้วพรวนดินกลบ เมื่อมันสำปะหลังอายุ 1-2 เดือน ดูแลรักษาแปลงปลูก กำจัดวัชพืชเมื่อมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน 3 เดือน และตามความจำเป็นตลอดฤดูปลูก เก็บเกี่ยวผลผลิตมันสำปะหลังเมื่ออายุ 11 เดือน พื้นที่เก็บเกี่ยว 48 ตารางเมตร ตรวจนับจำนวนต้นเก็บเกี่ยวของแต่ละแปลงย่อย ขุดหัวมันสำปะหลังด้วยแรงงานคน ตัดหัวออกจากต้นมันสำปะหลัง ชั่งน้ำหนักสดหัว ต้น ใบ และสุ่มหัวมันสำปะหลังสดสำหรับวัดเปอร์เซ็นต์แป้ง สุ่มเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกและหลังเก็บเกี่ยวเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารและปริมาณอินทรียคาร์บอน

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลวันปลูก วันเก็บเกี่ยว จำนวนต้นเก็บเกี่ยว ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต น้ำหนักหัวสด ต้น ใบ มันสำปะหลัง และเปอร์เซ็นต์แป้งในหัวสด
2. สมบัติทางเคมีของดินก่อนและหลังการทดลอง
3. การเจริญเติบโตของมันสำปะหลังทางด้านความสูงที่อายุ 3 6 และ 12 เดือน
4. ข้อมูลภูมิอากาศ และปริมาณน้ำฝนทุกฤดูปลูก

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2559 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา
3. ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น
4. ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง จังหวัดระยอง

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของการจัดการธาตุอาหารพืชระยะยาวต่อสมบัติทางเคมีของดินที่ทำการทดลอง

<u>แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น</u> ดำเนินการปลูกมันสำปะหลังในดินร่วนปนทราย ชุดดินยโสธร แปลงทดลองฤดูปลูกปี 2560/61 ผลวิเคราะห์ดินก่อนปลูกตามระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร ความเป็นกรดด่างของดิน (pH) มีค่า 4.3-6.7 ปริมาณอินทรียวัตถุในดินของทุกๆ กรรมวิธีอยู่ในเกณฑ์ต่ำทั้งหมด (0.39-0.69 เปอร์เซ็นต์) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในกรรมวิธีที่ไม่มีการใช้ปุ๋ยเคมีอยู่ในเกณฑ์ต่ำ (11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) การใช้ปุ๋ยเคมีและการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับไถกลบต้นใบมันสำปะหลังอัตรา 3 ตันต่อไร่ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มีค่า 6-31 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 1 ตันต่อไร่ทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มีค่าสูงโดยมีค่า 118 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินกรรมวิธีที่ไม่มีการใช้ปุ๋ยเคมี มีปริมาณน้อยที่สุดโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ในกรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีหรือใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับวัสดุอื่นๆ มีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ อยู่ระหว่าง 20-62 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 5.1)

ผลวิเคราะห์ดินฤดูปลูกปี 2563/64 การใช้ปุ๋ยกรรมวิธีต่างๆ ไม่ทำให้ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5.1)

<u>แปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา</u> ดำเนินการทดลองในชุดดินโคราช ผลวิเคราะห์ก่อนการทดลองฤดูปลูกปี 2560/61 ที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร ดินมีความเป็นกรดด่างเป็นกรดเล็กน้อยถึงเป็นกลาง (pH 6.6-7.2) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 1 ตันต่อไร่ มีปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงสุด ซึ่งปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับปานกลาง (1.21%) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง (174 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในระดับสูง (94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (ตารางที่ 5.1)

ผลวิเคราะห์ดินก่อนปลูกฤดูปลูกปี 2563/64 ที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร ดินความเป็นกรดด่างของดินเป็นกรดปานกลาง ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีการใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 1 ตันต่อไร่ มีปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินสูงสุดเท่ากับ 1.17% 122 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 147 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5.1)

<u>แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง</u> ดำเนินการทดลองในชุดดินห้วยโป่ง ในฤดูปลูกปี 2560/2561 – 2563/2564 ผลวิเคราะห์ดินก่อนปลูก ฤดูปลูกปี 2560/2561 ที่ระดับความลึกของดิน 0-20 เซนติเมตร ดินมีปฏิกิริยาดินเป็นกรดรุนแรงมากถึงกรดเล็กน้อย (pH 3.9-6.2) มีปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับต่ำ 1.03-1.84 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง เท่ากับ 24-295 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในระดับต่ำถึงสูง เท่ากับ 14-75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตปี 2563/2564 มีการเปลี่ยนแปลงของ pH ในดินหลังเก็บเกี่ยวเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกับปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในดินและปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินพบว่า การใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ 1 ตันต่อไร่ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเพิ่มขึ้นจาก 295 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในปี 2559/2560 เป็น 763 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในปี 2563/2564 เช่นเดียวกับปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ได้เพิ่มขึ้นจาก 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในปี 2559/2560 เป็น 132 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในปี 2562/2563 (ตารางที่ 5.1) อย่างไรก็ตาม พบว่า การปลูกมันสำปะหลังเป็นระยะเวลานานมากกว่า 45 ปี พบว่า การใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่รวมกับปุ๋ยอินทรีย์ 1 ตันต่อไร่ ทำให้มีการสะสมของฟอสฟอรัสในปริมาณมาก ส่งผลต่อการให้ผลผลิตของมันสำปะหลังให้ผลผลิตอยู่ในเกณฑ์ต่ำ และมันสำปะหลังแสดงอาการขาดธาตุเหล็ก

ตารางที่ 5.1 สมบัติทางเคมีของดินก่อนปลูก และหลังปลูก ที่ระดับความลึก 0-20 ซม. ในแปลงปลูกมันสำปะหลังที่มีการจัดการธาตุอาหารพืชระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมี ปี 2560/61 – 2563/64

กรรมวิธี	ปี 2560/2561					2563/2564				
	pH[1] (1:1)	OM[2] (%)	OC[2] (%)	Avai. P[3] (mg/kg)	Exch K[4] (mg/kg)	pH[1] (1:1)	OM[2] (%)	OC[2] (%)	Avai. P[3] (mg/kg)	Exch K[4] (mg/kg)
ชุดดินยโสธร จ.ขอนแก่น										
0-0-0	4.8	0.41	0.24	11	14	3.7	1.26	0.73	40	23
16-0-0	4.3	0.39	0.23	6	20	4.2	1.25	0.73	59	34
16-8-0	4.4	0.47	0.27	31	23	4.2	1.22	0.71	67	39
16-0-16	4.8	0.48	0.28	6	62	3.7	1.29	0.75	51	30
16-8-16	4.6	0.46	0.27	21	43	4.6	1.40	0.81	53	35
16-8-16+CP	6.7	0.69	0.40	118	49	4.0	1.42	0.82	29	28
16-8-16+CR	4.9	0.63	0.37	23	52	4.1	1.19	0.69	41	29
0-0-0+CR	5.4	0.55	0.32	15	23	3.5	1.35	0.78	51	34
ชุดดินโคราช จ.นครราชสีมา										
0-0-0	7.2	0.64	0.37	17	53	5.64	0.72	0.42	22	78
16-0-0	6.6	0.70	0.41	17	43	5.76	0.77	0.42	16	68
16-8-0	7.2	0.77	0.45	64	53	5.56	0.82	0.48	68	70
16-0-16	6.6	0.62	0.36	26	72	5.72	0.73	0.42	13	93
16-8-16	6.7	0.73	0.42	45	58	5.42	0.74	0.43	49	89
16-8-16+CP	7.8	1.21	0.70	174	94	6.22	1.17	0.68	122	147
16-8-16+CR	7.0	0.97	0.56	76	87	5.74	0.94	0.55	81	114
0-0-0+CR	7.2	0.73	0.42	55	66	5.98	0.92	0.53	42	95
ชุดดินห้วยโป่ง จ.ระยอง										
0-0-0	4.8	1.03	0.60	24	14	5.6	0.78	0.45	12	28
16-0-0	3.9	1.18	0.68	24	14	3.5	0.89	0.52	28	10
16-8-0	4.0	1.17	0.68	98	14	4.0	1.26	0.73	128	20
16-0-16	4.1	1.06	0.61	15	20	3.8	1.16	0.67	26	19
16-8-16	4.3	1.33	0.77	69	34	3.7	1.23	0.71	83	20
16-8-16+CP	6.2	1.84	1.07	295	75	6.0	2.36	1.37	763	132
16-8-16+CR	4.4	1.82	1.06	74	27	4.2	1.17	0.68	80	22
0-0-0+CR	4.8	1.33	0.77	18	17	4.5	1.25	0.73	33	22

หมายเหตุ [1]Peech (1965) ดิน:น้ำ = 1:1 [2]Walkley and Black (1934) [3]Bray and Kurtz (1945) [4]Thomas (1982)

2. ปริมาณน้ำฝน

<u>แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น</u> ฤดูปลูกปี 2560/2561 ปริมาณน้ำฝนรวมตั้งแต่ปลูกมันสำปะหลังวันที่ 17 พฤษภาคม 2560 จนถึงเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังวันที่ 1 พฤษภาคม 2561 เท่ากับ 1,308.4 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1 (a)) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง โดยมันสำปะหลังมีความต้องการน้ำตลอดฤดูปลูกประมาณ 853 มิลลิลิตร หรือ 1,365 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ (สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน, 2563)

ฤดูปลูกปี 2561/2562 ปริมาณน้ำฝนรวมตั้งแต่ปลูกมันสำปะหลังวันที่ 16 พฤษภาคม 2561 จนถึงเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังวันที่ 22 เมษายน 2562 เท่ากับ 1,048 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1 (b)) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง

ฤดูปลูกปี 2562/2563 ปริมาณน้ำฝนรวมตั้งแต่ปลูกมันสำปะหลังวันที่ 15 พฤษภาคม 2562 จนถึงเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังวันที่ 19 พฤษภาคม 2563 เท่ากับ 1,117.5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1 (c)) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง

ฤดูปลูกปี 2563/2564 ปริมาณน้ำฝนรวมตั้งแต่ปลูกมันสำปะหลังวันที่ 28 พฤษภาคม 2563 จนถึงเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังวันที่ 24 เมษายน 2564 เท่ากับ 1,125.2 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1 (d)) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง

<u>แปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา</u> ฤดูปลูกปี 2560/2561 ปริมาณน้ำฝนรวมตั้งแต่ปลูกมันสำปะหลังวันที่ 7 มีนาคม 2560 จนถึงเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังวันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2561 เท่ากับ 1,284.7 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2 (a)) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง

ฤดูปลูกปี 2561/2562 ปริมาณน้ำฝนรวมตั้งแต่ปลูกมันสำปะหลังวันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2561 จนถึงเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังวันที่ 7 กุมภาพันธ์ 2562 เท่ากับ 964.8 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2 (b)) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง

ฤดูปลูกปี 2562/2563 ปริมาณน้ำฝนรวมตั้งแต่ปลูกมันสำปะหลังวันที่ 22 กุมภาพันธ์ 2562 จนถึงเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2563 เท่ากับ 675.7 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2 (c)) ซึ่งไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง โดยมันสำปะหลังมีความต้องการน้ำตลอดฤดูปลูกประมาณ 853 มิลลิลิตร หรือ 1,365 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2559)

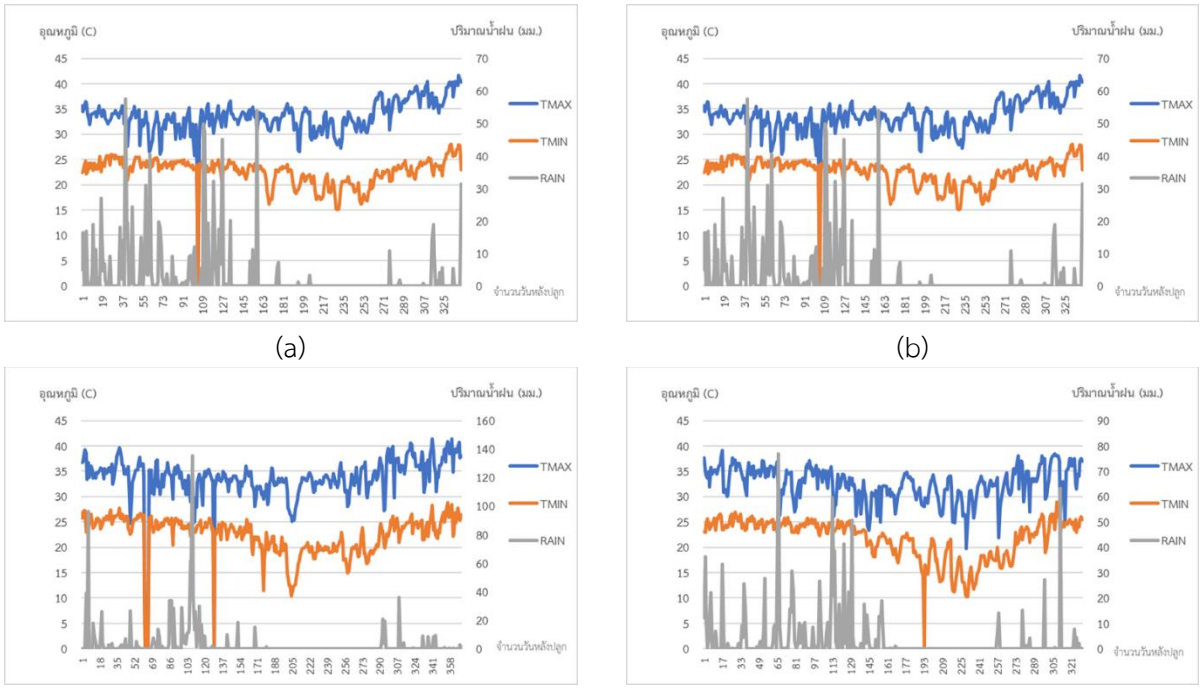
ฤดูปลูกปี 2563/2564 ปริมาณน้ำฝนรวมตั้งแต่ปลูกมันสำปะหลังวันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2563 จนถึงเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังวันที่ 15 กุมภาพันธ์ 2564 เท่ากับ 1,125.2 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2 (d)) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง

<u>แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง</u> ฤดูปลูกปี 2560/2561 (11 พฤษภาคม 2560 - 23 พฤกษาคม 2561) มีฝนทิ้งช่วงที่อายุ 6 เดือนหลังปลูก (ธันวาคม 2560 - กุมภาพันธ์ 2561) มีปริมาณน้ำฝนรวม 2,145.6 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3 (a)) ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลัง โดยมันสำปะหลังมีความต้องการน้ำตลอดฤดูปลูกประมาณ 853 มิลลิลิตร หรือ 1,365 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ (สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน, 2563)

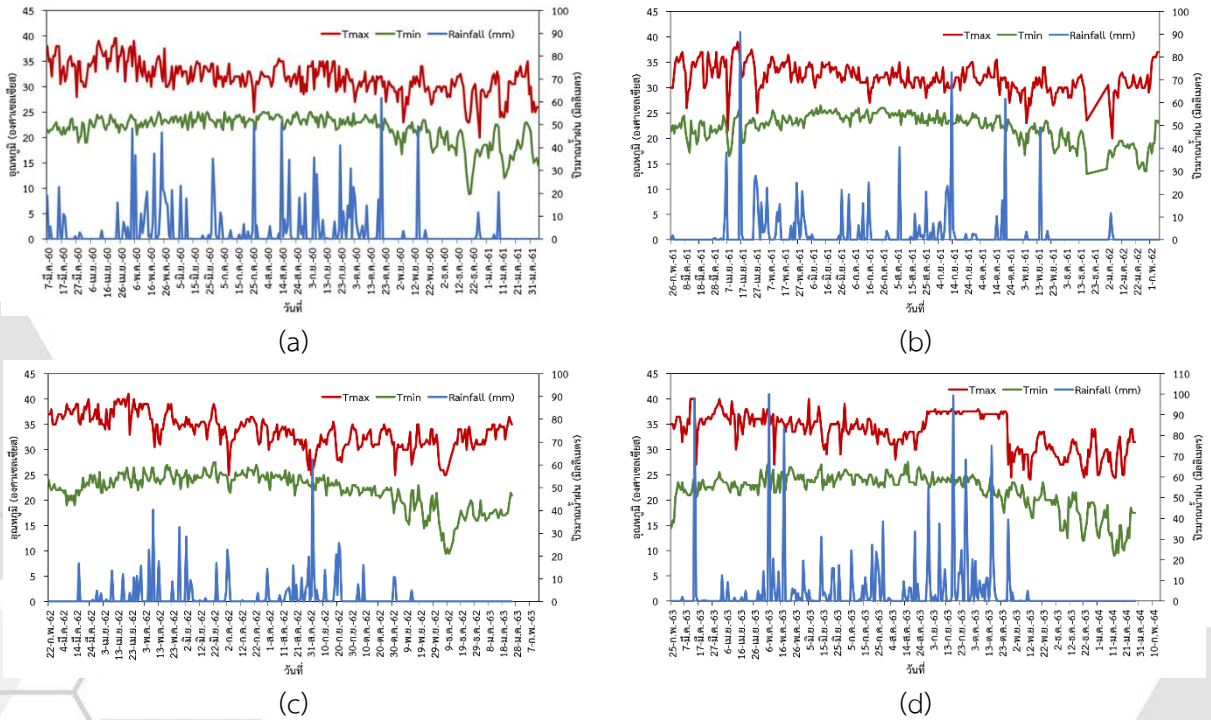
ฤดูปลูกปี 2561/2562 (19 มิถุนายน 2561–24 พฤษภาคม2562) มีการกระจายตัวของฝนค่อนข้างสม่ำเสมอในช่วง 6 เดือนแรก มีปริมาณน้ำฝนรวมตลอดฤดูปลูก 1,163.8 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3 (b))

ฤดูปลูกปี 2562/2563 (18 มิถุนายน 2562 –16 มิถุนายน 2563) มีการกระจายตัวของฝนค่อนข้างสม่ำเสมอในช่วง 5 เดือนแรก และมีฝนทิ้งช่วงที่อายุ 5 เดือนหลังปลูก (พฤศจิกายน 2562 – เมษายน 2563) มีปริมาณน้ำฝนรวมตลอดฤดูปลูก 1,232.4 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3 (c))

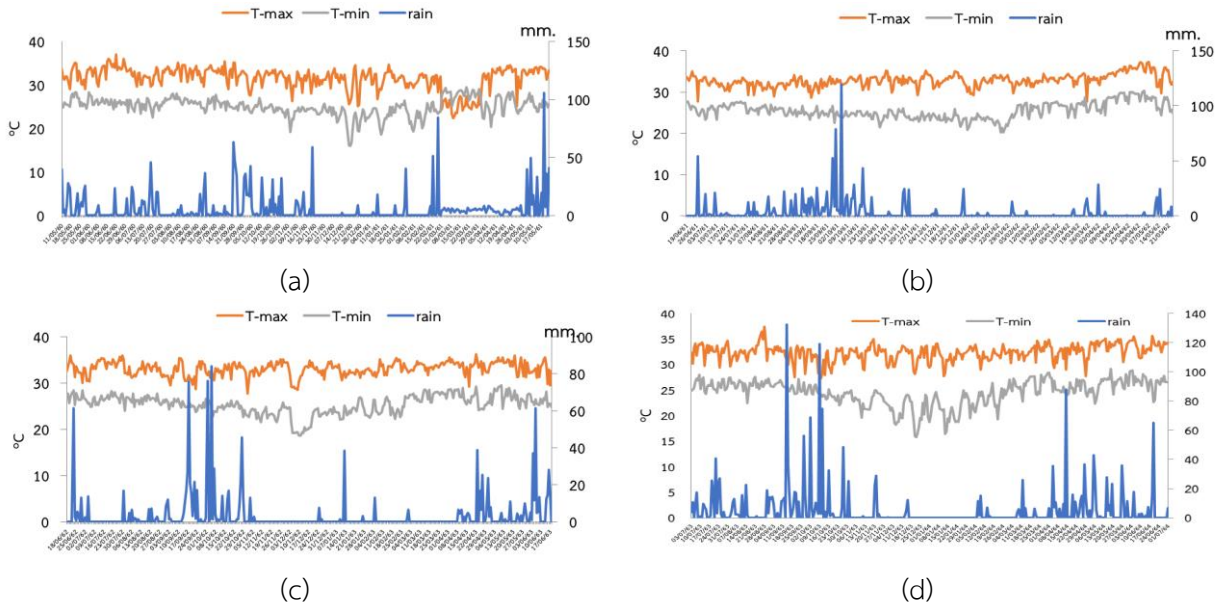
ฤดูปลูกปี 2563/2564 (3 กรกฎาคม 2563 –1 กรกฎาคม 2564) มีการกระจายตัวของฝนค่อนข้างสม่ำเสมอในช่วง 5 เดือนแรก และมีฝนทิ้งช่วงที่อายุ 6 เดือนหลังปลูก (มกราคม 2564 – กุมภาพันธ์ 2564) มีปริมาณน้ำฝนรวมตลอดฤดูปลูก 1,935.8 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3 (d))



ภาพที่ 1 ปริมาณน้ำฝนรายวัน อุณหภูมิสูงสุด และอุณหภูมิต่ำสุด ของแปลงทดลองปลูกมันสำปะหลังระยะยาว ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น
(a) ฤดูปลูกปี 2560/2561 (b) ฤดูปลูกปี 2561/2562 (c) ฤดูปลูกปี 2562/2563 (d) ฤดูปลูกปี 2563/2564



ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำฝนรายวัน อุณหภูมิสูงสุด และอุณหภูมิต่ำสุด ของแปลงทดลองปลูกมันสำปะหลังระยะยาว ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา
(a) ฤดูปลูกปี 2560/2561 (b) ฤดูปลูกปี 2561/2562 (c) ฤดูปลูกปี 2562/2563 (d) ฤดูปลูกปี 2563/2564



ภาพที่ 3 ปริมาณน้ำฝนรายวัน อุณหภูมิสูงสุด และอุณหภูมิต่ำสุด ของแปลงทดลองปลูกมันสำปะหลังระยะยาว ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง จังหวัดระยอง
(a) ฤดูปลูกปี 2560/2561 (b) ฤดูปลูกปี 2561/2562 (c) ฤดูปลูกปี 2562/2563 (d) ฤดูปลูกปี 2563/2564
ที่มา : สถานีอุตุนิยมวิทยาเกษตรห้วยโป่ง จังหวัดระยอง

3. ผลของการจัดการปุ๋ยและไถกลบเศษซากพืชต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

<u>แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น</u>

ฤดูปลูกปี 2560/61 ผลของการจัดการปุ๋ยและไถกลบเศษซากพืชต่อผลผลิตและองค์ประกอบมันสำปะหลัง พบว่า กรรมวิธีที่ให้ผลผลิตหัวสดและผลผลิตแป้งมากที่สุดคือ การใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยหมัก 1 ตันต่อไร่ต่อปี ให้ผลผลิตหัวสดและผลผลิตแป้งแตกต่างกับกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญคือ 6,071 กิโลกรัมต่อไร่และ 1,463 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ (ตารางที่ 5.2 และ 5.4) เปอร์เซ็นต์แป้งจากกรรมวิธีการจัดการปุ๋ยที่แตกต่างกันไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยให้เปอร์เซ็นต์แป้งสูงสุด 27.43% (ตารางที่ 5.3)

ฤดูปลูกปี 2561/62 ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับสับกลบต้นใบมันสำปะหลังอัตรา 3 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตสูงสุด 4,309 กิโลกรัมต่อไร่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5.2) เมื่อวัดเปอร์เซ็นต์แป้งพบว่า กรรมวิธีที่ไม่มีปุ๋ยมีเปอร์เซ็นต์แป้งสูงสุด 24.35% แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5.3) อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณผลผลิตแป้งพบว่า กรรมวิธีใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง 3 ตันต่อไร่ให้ผลผลิตแป้งสูงสุด 976 กิโลกรัมต่อไร่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5.4)

ฤดูปลูก 2562/63 ผลการทดลองพบว่า การสับกลบต้นใบมันสำปะหลังอัตรา 3 ตันต่อไร่ลงแปลงปลูกให้ผลผลิตมากที่สุด 4,523 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างในทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ กรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 1 ตันต่อไร่ กรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมี 16-0-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (ตารางที่ 5.2) ส่วนเปอร์เซ็นต์แป้ง พบมากที่สุดในกรรมวิธีที่ไม่มีใช้ปุ๋ยเคมี (25.93%) (ตารางที่ 5.3) ผลผลิตแป้งสูงสุดในกรรมวิธีการสับกลบต้นใบมันสำปะหลังสับกลบอัตรา 3 ตันต่อไร่ (1,068 กิโลกรัมต่อไร่) (ตารางที่ 5.4)

ฤดูปลูก 2563/64 ผลผลิตมันสำปะหลัง พบว่า เมื่อใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ให้ผลผลิตมากที่สุด 5,350 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างในทางสถิติกับกรรมวิธีที่

ใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 1 ตันต่อไร่ รวมถึงกรรมวิธีที่สับต้นใบมันสำปะหลังสับกลบอัตรา 3 ตันต่อไร่ใส่ลงในแปลงปลูก (ตารางที่ 5.2) ส่วนเปอร์เซ็นต์แป้ง พบมากที่สุดในกรรมวิธีที่ไม่ใช้ปุ๋ยเคมี (24.80%) (ตารางที่ 5.3) ผลผลิตแป้งมีมากที่สุดในกรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ โดยให้ผลผลิตแป้ง 1,276 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5.4)

ผลการทดลองเฉลี่ย 4 ฤดูปลูก พบว่า การใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสดและผลผลิตแป้งเฉลี่ยสูงสุด 4,840 กิโลกรัมต่อไร่ และ 1,147 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ รองลงมาคือ การใส่ปุ๋ย 16-8-16 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ อัตรา 1 ตันต่อไร่ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 4,029 กิโลกรัมต่อไร่ และผลผลิตแป้ง 926 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5.2 และ 5.4)

<u>แปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา</u>

ฤดูปลูกปี 2560/61 กรรมวิธีการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ อัตรา 1 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสดและเปอร์เซ็นต์แป้งสูงสุดแตกต่างกับกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยให้ผลผลิต 5,167 กิโลกรัมต่อไร่ และเปอร์เซ็นต์แป้ง 31.8 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีที่มีการสับกลบต้นใบมันสำปะหลังอัตรา 3 ตันต่อไร่มีค่าดัชนีเก็บเกี่ยวสูงสุดเท่ากับ 0.71 แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กรรมวิธีการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ อัตรา 1 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสดและเปอร์เซ็นต์แป้งสูงสุดแตกต่างกับกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยให้ผลผลิต 5,167 กิโลกรัมต่อไร่ และเปอร์เซ็นต์แป้ง 31.8 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5.2 และ 5.3)

ฤดูปลูกปี 2561/62 ผลผลิต เปอร์เซ็นต์แป้ง และผลผลิตแป้งของมันสำปะหลัง พบว่า กรรมวิธีการจัดการธาตุอาหารระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีแต่ละกรรมวิธีให้ผลผลิต เปอร์เซ็นต์แป้ง และผลผลิตแป้งของมันสำปะหลังไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 3,371 กิโลกรัมต่อไร่ เปอร์เซ็นต์แป้งเฉลี่ย 28.6 และผลผลิตแป้งเฉลี่ยเท่ากับ 971 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5.2 - 5.4)

ฤดูปลูกปี 2562/63 ผลผลิต เปอร์เซ็นต์แป้ง และผลผลิตแป้งของมันสำปะหลัง พบว่า กรรมวิธีการจัดการธาตุอาหารระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีแต่ละกรรมวิธีให้ผลผลิต เปอร์เซ็นต์แป้ง และผลผลิตแป้งของมันสำปะหลังไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 4,448 กิโลกรัมต่อไร่ เปอร์เซ็นต์แป้งเฉลี่ย 30.7 และผลผลิตแป้งเฉลี่ยเท่ากับ 1,370 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5.2 - 5.4)

ฤดูปลูกปี 2563/64 ผลผลิต เปอร์เซ็นต์แป้ง และผลผลิตแป้งของมันสำปะหลัง พบว่า กรรมวิธีการจัดการธาตุอาหารระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีแต่ละกรรมวิธีให้ผลผลิต เปอร์เซ็นต์แป้ง และผลผลิตแป้งแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีใส่ปุ๋ยเคมี 16-0-0 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ให้ผลผลิตต่อไร่และผลผลิตแป้งสูงสุดเท่ากับ 2,262 และ 650 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีต้นใบมันสำปะหลังสับกลบอัตรา 3 ตันต่อไร่ (ตารางที่ 5.2 และ 5.4) สำหรับเปอร์เซ็นต์แป้ง กรรมวิธีใส่ปุ๋ยเคมี 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับสับกลบต้นใบมันสำปะหลังอัตรา 3 ตันต่อไร่ ให้เปอร์เซ็นต์แป้งสูงสุดเท่ากับ 34.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5.3) จะเห็นได้ว่า ผลผลิตในฤดูปลูกปี 2563/64 มีปริมาณต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับในฤดูปลูกที่ผ่านมา ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการแพร่ระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลัง จึงส่งผลกระทบต่อการให้ผลผลิตของมันสำปะหลัง

ผลการทดลองเฉลี่ย 4 ฤดูปลูก พบว่า การใส่ปุ๋ย 16-8-0 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 3,707 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ การใส่สับกลบต้นใบอัตรา 3 ตันต่อไร่ และการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 3,591 และ 3,589 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5.2) สำหรับผลผลิตแป้ง การใส่ปุ๋ย 16-8-0 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ให้ผลผลิตแป้งเฉลี่ยสูงสุด 1,177 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ ซึ่งให้ผลผลิตแป้งเฉลี่ย 1,129 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5.4)

แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง

ฤดูปลูกปี 2560/61 ผลผลิตมันสำปะหลัง พบว่า ให้ผลผลิตหัวสด และผลผลิตแป้งสูงสุด 6,488 และ 2,356 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ เมื่อใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ 1 ตันต่อไร่ ใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ที่ให้ผลผลิตหัวสดและผลผลิตแป้ง 5,841 และ 2,195 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไถกลบต้นใบมันสำปะหลัง 3 ตันต่อไร่ การไถกลบต้นใบมันสำปะหลัง 3 ตันต่อไร่เพียงอย่างเดียว และการไม่ใส่ปุ๋ย ให้ผลผลิตหัวสด 5,555 2,635 และ 2,289 กิโลกรัมต่อไร่ และผลผลิตแป้ง 2,069 944 และ 881 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5.2 และ 5.4)

ฤดูปลูกปี 2561/62 การใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสด และผลผลิตแป้งสูงสุดแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยให้ผลผลิตหัวสดสูงสุด 3,609 กิโลกรัมต่อไร่ และให้ผลผลิตแป้งสูงสุด 825 กิโลกรัมต่อไร่ การจัดการปุ๋ยและไถกลบเศษซากพืชลงดินมีเปอร์เซ็นต์แป้งอยู่ระหว่าง 22.7-25.7 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม พบว่า การปลูกมันสำปะหลังในฤดูฝนปี 2561/2562 ให้ผลผลิตอยู่ในเกณฑ์ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากฝนทิ้งช่วงเป็นเวลานาน และมันสำปะหลังมีอาการหัวเน่า ทำให้เปอร์เซ็นต์แป้งมีความแปรปรวน ซึ่งส่งผลต่อผลผลิตแป้ง (ตารางที่ 5.2 และ 5.4)

ฤดูปลูกปี 2562/63 มันสำปะหลังให้ผลผลิตอยู่ในเกณฑ์ต่ำเนื่องจากฝนทิ้งช่วงเป็นเวลานาน มีปริมาณน้ำฝนรวมตลอดฤดูปลูก 1,407.1 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตาม พบว่า การปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 11 โดยการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสด และผลผลิตแป้งสูงสุด 4,316 และ 951 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5.2 และ 5.4)

ฤดูปลูกปี 2563/64 การปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 11 โดยการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสดสูงสุด 4,674 กิโลกรัมต่อไร่ ใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ยเคมี16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่เพียงอย่างเดียว โดยให้ผลผลิตหัวสดเฉลี่ย 3,487 กิโลกรัมต่อไร่ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยกรรมวิธีอื่น ๆ (ตารางที่ 5.2) สำหรับผลผลิตแป้งพบว่า การใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ให้ผลผลิตแป้งสูงสุด 1,182 กิโลกรัมต่อไร่ ใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ย 16-0-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ที่ให้ผลผลิตแป้ง 1,169 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5.4)

จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตฤดูฝน 2560/2561 - ฤดูฝน 2563/2564 พบว่า การใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง อัตรา 3 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสดเฉลี่ยสูงสุด 4,539 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ การใส่ปุ๋ย 16-0-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 3,953 และ 3,417 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5.2)

ตารางที่ 5.2 ผลผลิตของมันสำปะหลังที่มีการจัดการธาตุอาหารพืชระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมี ปี 2560/61 – 2563/64

กรรมวิธี	ผลผลิต (กก./ไร่)				
	ปี 2560/2561	ปี 2561/2562	ปี 2562/2563	ปี 2563/2564	เฉลี่ย
ชุดดินยโสธร จ.ขอนแก่น					
0-0-0	774 c	584 d	950 d	968 d	819 d
16-0-0	1,814 c	1,604 cd	1,312 cd	1,898 cd	1,657 cd
16-8-0	1,813 c	1,914 c	2,154 bcd	1,807 cd	1,922 c
16-0-16	2,863 bc	2,771 bc	3,335 abc	3,333 bc	3,076 b
16-8-16	3,242 abc	3,713 ab	3,702 ab	3,882 ab	3,635 b
16-8-16+CP	6,071 a	2,730 bc	3,497 ab	3,818 ab	4,029 ab
16-8-16+CR	5,552 ab	4,309 a	4,187 ab	5,350 a	4,840 a
0-0-0+CR	2,573 bc	1,786 c	4,523 a	3,732 ab	3,154 b
เฉลี่ย	3,088	2,426	2,958	2,958	2,893
F-test	*	*	*	*	**
CV (%)	34.58	33.42	47.91	38.9	24.5
ชุดดินโคราช จ.นครราชสีมา					
0-0-0	2,875 c	2,863	3,650	918 b	2,577 b
16-0-0	3,661 bc	3,308	4,658	2,262 a	3,472 a
16-8-0	4,542 ab	3,798	5,475	1,012 b	3,707 a
16-0-16	4,342 ab	3,229	4,192	495 b	3,065 ab
16-8-16	4,565 ab	3,106	3,913	673 b	3,064 ab
16-8-16+CP	5,167 a	3,822	4,433	933 b	3,589 a
16-8-16+CR	4,192 abc	3,346	4,092	736 b	3,092 ab
0-0-0+CR	4,367 ab	3,492	5,167	1,337 ab	3,591 a
เฉลี่ย	4,214	3,371	4,448	1,046	3,269
F-test	*	ns	ns	*	*
CV (%)	20.3	18.0	26.7	62.1	14.6
ชุดดินห้วยโป่ง จ.ระยอง					
0-0-0	2,289 d	1,202 d	1,560 cd	539 e	1,398 d
16-0-0	3,471 c	1,520 cd	2,167 bc	1,227 b	2,096 cd
16-8-0	2,108* d	1,649 cd	2,644* b	1,093 b	1,874 cd
16-0-16	5,362 b	2,981 ab	2,734 b	4,734 b	3,953 ab
16-8-16	5,841 ab	2,787 b	2,553 b	3,487 a	3,417 abc
16-8-16+CP	6,488 a	1,206 d	1,263 d	1,108 b	2,516 bcd
16-8-16+CR	5,555 b	3,609 a	4,316 a	4,674 a	4,539 a
0-0-0+CR	2,635 d	2,019 c	2,615 b	1,087 b	2,089 cd
เฉลี่ย	4,219	2,121	2,482	2,244	2,735
F-test	**	**	**	**	**
CV (%)	12.5	22.6	22.3	26.0	35.0

Means followed by the same letter within a column are not significantly different at 5 % level of probability using Duncan Multiple Range Test (DMRT), **: Significant at 1%, *: Significant at 5%

Remark: 16-8-0* หัวเน่า (root rot) ปี 2560/2561 ปี 2562/2563

ตารางที่ 5.3 เปอร์เซ็นต์แป้งของมันสำปะหลังที่มีการจัดการธาตุอาหารพืชระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมี ปี 2560/61 – 2563/64

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์แป้ง				
	ปี 2560/2561	ปี 2561/2562	ปี 2562/2563	ปี 2563/2564	เฉลี่ย
ชุดดินยโสธร จ.ขอนแก่น					
0-0-0	27.4 a	24.4 a	25.9 a	24.8 a	25.6 a
16-0-0	23.7 ab	20.2 cd	25.0 ab	23.4 ab	23.1 bc
16-8-0	23.5 b	19.4 d	22.0 b	22.5 b	21.9 c
16-0-16	25.7 ab	23.0 ab	24.2 ab	23.8 ab	24.2 b
16-8-16	23.5 b	22.5 ab	22.5 ab	23.0 ab	22.9 bc
16-8-16+CP	24.3 ab	19.8 d	24.7 ab	22.9 ab	22.9 bc
16-8-16+CR	24.8 ab	22.9 ab	22.9 ab	23.9 ab	23.6 b
0-0-0+CR	23.9 ab	22.2 bc	23.8 ab	24.0 ab	23.5 b
เฉลี่ย	24.6	21.8	23.9	23.9	23.5
F-test	*	*		*	**
CV (%)	5.45	6.49	9.91	5.84	3.9
ชุดดินโคราช จ.นครราชสีมา					
0-0-0	30.6 ab	29.7	30.8	31.0 b	30.5 a
16-0-0	29.5 ab	28.3	30.9	29.0 b	29.4 ab
16-8-0	30.7 ab	30.0	31.7	30.5 b	30.7 a
16-0-16	28.3 c	27.4	30.1	26.8 c	28.2 b
16-8-16	29.0 bc	26.5	30.8	30.4 b	29.2 ab
16-8-16+CP	31.8 a	28.7	30.2	30.2 b	30.2 ab
16-8-16+CR	28.8 bc	28.9	29.9	34.0 a	30.4 ab
0-0-0+CR	30.8 ab	29.8	31.5	27.0 c	29.8 ab
เฉลี่ย	29.9	28.6	30.7	29.9	29.8
F-test	*	ns	ns	**	ns
CV (%)	4.3	5.9	2.7	4.4	4.7
ชุดดินห้วยโป่ง จ.ระยอง					
0-0-0	27.9 a	25.7 a	24.5 ab	25.3	25.9 a
16-0-0	24.5 c	22.3 b	20.7 e	23.7	22.8 c
16-8-0	25.6* bc	22.7 b	21.1* de	22.3	23.0 bc
16-0-16	25.3 bc	23.3 ab	22.7 cd	24.7	24.0 bc
16-8-16	26.6 abc	23.2 ab	22.9 bc	24.3	24.3 b
16-8-16+CP	24.9 bc	20.6 b	17.5 f	22.3	21.3 d
16-8-16+CR	26.2 abc	22.7 b	22.1 cde	25.5	24.1 bc
0-0-0+CR	26.9 ab	25.6 a	25.1 a	25.8	25.9 a
เฉลี่ย	26.0	23.3	22.1	24.3	23.9
F-test	**	**	**	ns	**
CV (%)	5.0	7.7	5.2	7.6	3.6

Means followed by the same letter within a column are not significantly different at 5 % level of probability using Duncan Multiple Range Test (DMRT), **: Significant at 1%, *: Significant at 5%

Remark: 16-8-0* หัวเน่า (root rot) ปี 2560/2561 และ ปี 2562/2563

ตารางที่ 5.4 ผลผลิตแป้งของมันสำปะหลังที่มีการจัดการธาตุอาหารพืชระยะยาวด้วยวัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเคมี ปี 2560/61 – 2563/64

กรรมวิธี	ผลผลิตแป้ง (กก./ไร่)				
	ปี 2560/2561	ปี 2561/2562	ปี 2562/2563	ปี 2563/2564	เฉลี่ย
ชุดดินยโสธร จ.ขอนแก่น					
0-0-0	212 b	142 e	246 d	236 d	209 c
16-0-0	430 b	322 de	332 cd	444 cd	382 c
16-8-0	427 b	377 de	490 bcd	406 cd	425 c
16-0-16	727 ab	641 bc	829 abc	786 bc	746 b
16-8-16	777 ab	826 ab	849 ab	886 ab	835 b
16-8-16+CP	1,463 a	538 cd	839 abc	864 b	926 ab
16-8-16+CR	1,380 a	976 a	957 ab	1,276 a	1,147 a
0-0-0+CR	615 b	397 cd	1,068 a	899 ab	745 b
เฉลี่ย	754	527	701	701	677
F-test	*	*		*	**
CV (%)	34.92	31.56	49.53	37.5	26.1
ชุดดินโคราช จ.นครราชสีมา					
0-0-0	880 c	848	1,126	284 bc	785 d
16-0-0	1,086 bc	923	1,439	650 a	1,025 abc
16-8-0	1,394 ab	1,136	1,737	441 ab	1,177 a
16-0-16	1,230 abc	890	1,277	146 c	886 cd
16-8-16	1,345 ab	839	1,206	205 bc	899 cd
16-8-16+CP	1,647 a	1,107	1,340	423 abc	1,129 ab
16-8-16+CR	1,213 abc	978	1,217	250 bc	915 bcd
0-0-0+CR	1,343 ab	1,046	1,621	356 bc	1,092 abc
เฉลี่ย	1,267	974	1,370	344	988
F-test	*	ns	ns	*	**
CV (%)	21.0	17.6	26.8	50.5	14.4
ชุดดินห้วยโป่ง จ.ระยอง					
0-0-0	881 d	308 d	383 de	137 c	341 b
16-0-0	1,247 c	339 cd	488 cd	290 c	591 b
16-8-0	777* d	375 cd	532* bcd	243 c	482 b
16-0-16	1,964 b	693 ab	619 bc	1,169 a	1,111 a
16-8-16	2,195 ab	646 ab	585 bcd	853 b	1,070 a
16-8-16+CP	2,356 a	251 d	227 e	249 c	271 b
16-8-16+CR	2,069 ab	825 a	951 a	1,182 a	1,257 a
0-0-0+CR	994 cd	517 bc	658 b	282 c	613 b
เฉลี่ย	1,560	494	550	551	717
F-test	*	*	*	**	**
CV (%)	12.2	23.3	23.2	26.5	37.3

Means followed by the same letter within a column are not significantly different at 5 % level of probability using Duncan Multiple Range Test (DMRT), **: Significant at 1%, *: Significant at 5%

Remark: 16-8-0* หัวเน่า (root rot) ปี 2560/2561 และ ปี 2562/2563

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ในดินร่วนปนทราย และดินร่วนเหนียวปนทราย การปลูกมันสำปะหลังอย่างต่อเนื่องโดยไม่มีการใช้ปุ๋ย หรือใช้ปุ๋ยที่มีธาตุอาหารหลักไม่ครบ ให้เฉพาะปุ๋ยไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว หรือปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยฟอสเฟตอย่างต่อเนื่อง จะมีผลทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ลดลง ดินมีความเป็นกรดด่างของดินลดลง ปริมาณธาตุอาหารโพแทสเซียมลดลง ส่งผลให้ผลผลิตของมันสำปะหลังมีปริมาณต่ำ

2. การใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลัง 3 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสดเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ การใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ 1 ตันต่อไร่ การใส่ปุ๋ย 16-0-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และการใส่ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่

3. การปลูกมันสำปะหลังโดยการจัดการใส่ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์ หรือวัสดุอินทรีย์จากเศษซากมันสำปะหลังด้วยการใช้ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ อัตรา 1 ตันต่อไร่ และการใช้ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับการสับกลบต้นใบมันสำปะหลังอัตรา 3 ตันต่อไร่ ช่วยรักษาปริมาณธาตุอาหารในดิน ระดับของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในดิน และความอุดมสมบูรณ์ของดิน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการให้คำแนะนำการจัดการดินและปุ๋ยในการผลิตมันสำปะหลังแก่เกษตรกร โดยการใช้วัสดุอินทรีย์จากต้นใบมันสำปะหลัง หรือวัสดุอินทรีย์ชนิดอื่นๆ รวมทั้งการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ เช่น ปุ๋ยมูลสัตว์ ปุ๋ยพืชสดที่หาได้ง่ายในพื้นที่มาใช้ผสมผสานร่วมกับปุ๋ยเคมี เพื่อปรับปรุงบำรุงดิน และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินในการผลิตมันสำปะหลังอย่างยั่งยืน

เอกสารอ้างอิง

ชุมพล นาควิโรจน์, กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ, โอภาษ บุญเส็ง, ชัยโรจน์ วงศ์วิวัฒน์ชัย และ สมาน รุ่งเรือง. 2543. อิทธิพลระยะยาวของปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และการไถกลบซากพืชที่มีต่อสถานะความอุดมสมบูรณ์ของดินที่ใช้ปลูกมันสำปะหลัง เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ ประจำปี 2543. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-15.

โชติ สิทธิบุศย์ และ ชุมพล นาควิโรจน์. 2529. การทดลองปุ๋ยระยะยาวกับมันสำปะหลังของดินชุดดินห้วยโป่ง เอกสารทางวิชาการด้านปฐพีวิทยา เล่มที่ 2 กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร.

โชติ สิทธิบุศย์ ชุมพล นาควิโรจน์ กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ ชัยโรจน์ วงศ์วิวัฒน์ไชย และมณเฑียร โสมภีร์. 2533. อิทธิพลระยะยาวของปุ๋ย NPK และวัสดุอินทรีย์ที่มีต่อผลผลิตมันสำปะหลัง ในดินชุดยโสธร. รายงานผลงานวิจัยดิน-ปุ๋ยพืชไร่ 2533. กลุ่มงานวิจัยดินและปุ๋ยพืชไร่ กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วัลลีย์ อมรพล กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ และรุ่งรวี บุญทั่ง. 2555. ศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลังต่อการจัดการธาตุอาหารในกลุ่มดินทราย : ชุดดินสัตหีบ. รายงานประจำปี 2554 โครงการวิจัยและพัฒนาวิธีการเขตกรรมมันสำปะหลัง. น. 7-25.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2563. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. 214 หน้า.

สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. 2563. เอกสารคำแนะนำเทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลัง. สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 10 หน้า.

Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. Soil Sci. 59: 39-45.

Peech, M. 1965. Hydrogen Ion Activity. pp. 914-926. In C.A. Black, D.D.Evans, L.E. Ensminger, and F.E. Clark (eds.). Method of Soil Analysis. American Society of Agronomy. Madison. Wisconsin. USA.

Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cation. In A.L. Page et al (ed.). Method of soil analysis. Second edition. ***Agronomy*** 9: 159-166. American Society of Agronomy. Inc., Madison, Wisconsin, U.S.A.

Walkley, A. and C.A. Black. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. 37: 29-37.

ศึกษาประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวในกลุ่มดินเหนียว-ร่วนเหนียวสีดำ จังหวัดนครสวรรค์

Study on Nitrogen Use Efficiency of Late Maturity Hybrid Maize Grown on Clay - Clay Loam Soil at Nakhon Sawan Province

กิตจเมธ แจ้งศิริกุล *ศุภกาญจน์ ล้วนมณี* *การิตา จงเจือกลาง*[1] *สุริพัฒน์ ไทยเทศ*[1]
ดาวรุ่ง คงเทียน[2] *วรกานต์ ยอดชมภู*[3]

Kitjamate Jangsirikul *Suphakarn Luanmanee* *Karita Chongchuaklang*[2] *Suriphat Thaitad*[2]
Daorung Kongtien[3] *Worakarn Yodchompoo*[4]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The efficiency of nitrogen utilization of late maturity hybrid maize grown in clay-clay loam soil was studied in Nakhon Sawan province. The experiment was conducted in the Nakhon Sawan Field Crops Research Center's experimental plot, which was planted during the normal season but supplemented with water under critical conditions. The experiment was also conducted in farmers' fields in Nakhon Sawan province, where crops are grown in the normal season without additional watering. The objective was to offer suitable information for variety evaluation and nitrogen fertilizer management in maize production in the area. The experiment was arranged in a split plot design with four replicates. The main plot was the nitrogen fertilizer application rate, which consisted of 1) no nitrogen fertilizer application and 2) nitrogen fertilizer application at recommended rates according to soil analysis values. The sub plot was six varieties of maize, including four outstanding varieties of the Department of Agriculture (NSX152016, NSX152067, NSX152070 and NSX152097), certified varieties: Nakhon Sawan 3 and commercial varieties: C.P.888 New.

The results showed that there is no interaction between maize varieties and nitrogen fertilizer application on yield of all late maturity hybrid maize. However, the hybrid maize varieties which applied nitrogen fertilizers at recommended rates based on soil analysis, yielded significantly higher ($P<0.05$) than no nitrogen fertilizer application. The yield of the C.P.888 new variety produced the highest yield of 1,432 kilogram/rai, and the NSX152070 variety produced the lowest yield of 1,212 kg/rai. The C.P.888 New variety planted in the farmer's plots has the highest average yield of 1,025 kilogram/rai, but the Nakhon variety planted in the farmer's plots has the highest average yield of 1,025 kilogram/rai, but the Nakhon Sawan 3 variety has the lowest yield of 967 kilogram/rai. In the experimental conditions and the farmer's plots, the nitrogen utilization efficiency of the NSX152097 variety was found to be the greatest,

[1] ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์

[1] Nakhon Sawan Field Crops Research Center

[2] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรราชบุรี

[2] Ratchaburi Agricultural Research and Development Center

[3] ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่

[3] Chiang Mai Field Crops Research Center

with 27.10 and 17.80 kilograms of yield per 1 kilogram of nitrogen, respectively. In terms of economic return, it was discovered that the NSX152097 variety delivers the best return on investment in the trial plot. Moreover, maize yields, economic return, and efficiency in using nitrogen to produce yields were lower in farmer's plots than in experimental plots at the Nakhon Sawan Field Crops Research Center. This is because they are grown in the regular growing season, so supplemental water is not provided during the drought crisis.

Keywords : Nitrogen, Nutrients, Fertilizer, Maize, Nitrogen use efficiency (NUE)

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวที่ปลูกในกลุ่มดินเหนียว-ร่วนเหนียวสีดำ จังหวัดนครสวรรค์ ดำเนินการทดลอง ณ แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ซึ่งปลูกตามฤดูกาลปกติแต่มีการให้น้ำเสริมในภาวะวิกฤต และแปลงเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งปลูกตามฤดูกาลปกติไม่มีการให้น้ำเสริม เพื่อเป็นข้อมูลในการประเมินพันธุ์และให้คำแนะนำการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อย่างมีความเหมาะสมกับพื้นที่ วางแผนการทดลองแบบ Split plot มี 4 ซ้ำ ปัจจัยหลัก คือ อัตราปุ๋ยไนโตรเจน ได้แก่ 1) ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 2) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ปัจจัยรองเป็นพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ดีเด่นของกรมวิชาการเกษตร 4 พันธุ์ (NSX152016, NSX152067, NSX152070 และ NSX152097) พันธุ์รับรองนครสวรรค์ 3 และพันธุ์การค้า ซี.พี. 888 นิว

ผลการทดลอง พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวที่ปลูกในกลุ่มดินเหนียว-ร่วนเหนียวสีดำ จังหวัดนครสวรรค์ ในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์และแปลงเกษตรกร ผลผลิตของข้าวโพดในแต่ละอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ไม่มีปฏิสัมพันธ์กับพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทั้งแต่ละอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนและพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมที่ใช้ในการทดลอง การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ให้ผลผลิตสูงกว่าการไม่ใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ พบว่า พันธุ์ ซี.พี. 888 นิว ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,432 กิโลกรัมต่อไร่ และพันธุ์ NSX152070 ให้ผลผลิตต่ำสุดเฉลี่ย 1,212 กิโลกรัมต่อไร่ การปลูกในแปลงเกษตรกร พบว่า พันธุ์ ซี.พี. 888 นิว ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดเช่นกัน 1,025 กิโลกรัมต่อไร่ แต่พันธุ์นครสวรรค์ 3 ให้ผลิตต่ำสุดเฉลี่ย 967 กิโลกรัมต่อไร่ ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน ทั้งในสภาพแปลงทดลองและแปลงเกษตรกร พบว่า พันธุ์ NSX152097 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตสูงที่สุด คือ 27.10 และ 17.80 กิโลกรัมผลผลิตต่อไนโตรเจน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ พบว่า การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NSX152097 ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุดเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในแปลงเกษตรกรให้ผลผลิต ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจและมีประสิทธิภาพในการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตต่ำกว่าที่ปลูกในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ทั้งนี้เนื่องจากปลูกตามฤดูกาลปกติไม่มีการให้น้ำเสริมในภาวะวิกฤตฝนทิ้งช่วง

คำสำคัญ : ไนโตรเจน ธาตุอาหาร ปุ๋ย ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน

คำนำ

ในปี 2563 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งหมด 7,029,663 ไร่ โดยพื้นที่ปลูกอยู่ในภาคเหนือ 4,731,174 ไร่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 1,440,285 ไร่ และภาคกลาง 858,204 ไร่ ผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รวมทั้งประเทศ 4,805,844 ตัน คิดเป็นผลผลิตต่อเนื้อที่ปลูกเฉลี่ย 698 กิโลกรัม/ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์ โดยประมาณร้อยละ 90 ของผลผลิตทั้งหมดนำมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ของประเทศ และมีความต้องการเพิ่มขึ้นทุกปี กรมวิชาการเกษตรได้ทำการค้นคว้าวิจัยเทคโนโลยีในการผลิตและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในด้านต่างๆ อาทิ วิจัยและพัฒนาพันธุ์ เทคโนโลยีการดูแลรักษา เป็นต้น ดังนั้นเกษตรกรจำเป็นต้องใช้ปัจจัยการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งปัจจุบันปัจจัยการผลิตมีราคาสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าปุ๋ยนับวันมีแต่จะราคาสูงขึ้น เนื่องจากประเทศไทยไม่สามารถผลิตปุ๋ยได้เองจำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

การลดต้นทุนในการผลิตข้าวโพด สามารถทำได้หลายวิธีหรืออาศัยหลายวิธีร่วมกัน โดยแนวทางหนึ่งคือการเลือกใช้พันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการใช้ธาตุอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจน ซึ่งมีความสำคัญมากที่สุดในการเพิ่มผลผลิตของข้าวโพดและข้าวโพดมีความต้องการตั้งแต่ระยะแรกของการเจริญเติบโตจนถึงสร้างเมล็ด หากข้าวโพดขาดไนโตรเจนหรือได้รับไนโตรเจนไม่เพียงพอแก่ความต้องการ จะทำให้การออกดอกตัวผู้และการออกดอกตัวเมียช้าลง ส่งผลกระทบต่อผลผลิต (Banzinger *et al*., 2000)

ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน หมายถึงความสามารถของพืชในการให้ผลผลิตต่อหน่วยของไนโตรเจนที่ใช้ ประกอบด้วยความสามารถในการดึงดูดไนโตรเจนเพื่อสะสมไว้ที่ต้นพืชและความสามารถในการเปลี่ยนไนโตรเจนในต้นเป็นผลผลิต (Moll *et al*., 1982) ศุภกาญจน์ และคณะ (2556) รายงานว่า การให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 3 ที่ปลูกภายใต้วิธีการจัดการดิน-ปุ๋ยที่แตกต่างกัน มีความสัมพันธ์กับการดูดใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดอย่างเห็นได้ชัด โดยพบว่าเมื่อข้าวโพดให้ผลผลิตเมล็ด (ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์) 376 821 1,030 และ 1,080 กิโลกรัมต่อไร่ จะมีการดูดใช้ไนโตรเจนเท่ากับ 6 13 20 และ 22 กิโลกรัม N ต่อไร่ ตามลำดับ และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 3 ที่ปลูกในดินร่วนเหนียวชุดดินสมอทอดโดยใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินในอัตรา 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ของ N-P_2O_5-K_2O มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนในทางสรีรวิทยา (PNUE) เท่ากับ 63 กิโลกรัมของผลผลิตต่อ 1 กิโลกรัมของไนโตรเจนที่พืชใช้จากปุ๋ย เนื่องจากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละพันธุ์มีลักษณะประจำพันธุ์ และมีความต้องการไนโตรเจนต่างกันไปตามแต่ละพันธุ์และสภาพแวดล้อม พันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนสูงสามารถให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์อื่นๆ เมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราเดียวกัน ดังนั้นจึงทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำกว่าพันธุ์ที่มีการดูดใช้ไนโตรเจนในปริมาณมากแต่ให้ผลผลิตต่ำ อย่างไรก็ตามที่ผ่านมาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ต่างๆ ที่อยู่ในขั้นตอนของการปรับปรุงพันธุ์ยังขาดข้อมูลเกี่ยวกับประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของแต่ละพันธุ์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อเป็นแนวทางในการประเมินพันธุ์และการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ได้แก่ พันธุ์ NSX042022, NSX112011, NSX112013, NSX112017, NSX102003, NSX102005, NSX112019, NSX152016, NSX152067, NSX152070, NSX152097, นครสวรรค์ 3 และ ซี.พี. 888 นิว

ฤดูปลูก ปี 2559 และ 2560 ประกอบด้วยพันธุ์ NSX042022, NSX112011, NSX112013, NSX112017, นครสวรรค์ 3 และ ซี.พี. 888 นิว

ฤดูปลูก ปี 2561 ประกอบด้วยพันธุ์ NSX042022, NSX102003, NSX102005, NSX112019, นครสวรรค์ 3 และ ซี.พี. 888 นิว

ฤดูปลูก ปี 2562 ประกอบด้วยพันธุ์ NSX042022, NSX102005, NSX112013, NSX112017, นครสวรรค์ 3 และ ซี.พี. 888 นิว

ฤดูปลูก ปี 2563 และ 2564 ประกอบด้วยพันธุ์ NSX152016, NSX152067, NSX152070, NSX152097, นครสวรรค์ 3 และ ซี.พี. 888 นิว

2. ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต (21-0-0) ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)

3. สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ อีมาเมกตินเบนโซเอต

4. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างดินและพืช

5. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ดินและพืช

6. เครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดินและพืช

วิธีการ

ดำเนินการทดลองพร้อมกันใน 2 พื้นที่ ได้แก่ ในแปลงเกษตรกร ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ (พิกัดที่ตั้ง 47P 661215E 1700649N) ซึ่งปลูกตามฤดูกาลปกติไม่มีการให้น้ำเสริม และแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ (พิกัดที่ตั้ง 47P 0664193E 1697802N) ซึ่งปลูกตามฤดูกาลปกติแต่มีการให้น้ำเสริมในภาวะวิกฤตฝนทิ้งช่วง วางแผนการทดลอง แบบ Split plot มี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย

ปัจจัยหลักเป็นอัตราปุ๋ยไนโตรเจน ได้แก่

1. ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
2. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

โดยใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชใส่ในอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

ปัจจัยรองเป็นพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 6 พันธุ์ โดยใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว (อายุการเก็บเกี่ยว 115-120 วัน) ได้แก่ 1) พันธุ์ NSX152016, 2) NSX152067, 3) NSX152070, 4) NSX152097, 5) นครสวรรค์ 3 และ 6) ซี.พี. 888 นิว

เก็บตัวอย่างดินรวมในพื้นที่ก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร นำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินก่อนการทดลอง ได้แก่ 1) เนื้อดิน โดยวิธี Hydrometer method 2) pH ใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1:1 3) อินทรียวัตถุโดยวิธี Walkley and Black method 4) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์โดยวิธี Olsen แล้ววิเคราะห์การเกิดสีด้วยวิธี molybdate ascorbic acid 5) และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้โดย NH_4OAc, pH 7 (กรมวิชาการเกษตร, 2544)

ไถเตรียมดินและแบ่งแปลงย่อย ขนาด 6 x 6 เมตร ปลูกข้าวโพดโดยใช้ระยะระหว่างแถว 0.75 x 0.20 เมตร ถอนแยกข้าวโพดให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยรองพื้นก่อนปลูกด้วยปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งอัตรา ส่วนปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทช

ใส่เต็มอัตรา เมื่อข้าวโพดอายุ 3-4 สัปดาห์ ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ด้วยปุ๋ยไนโตรเจนอีกครึ่งอัตรา พื้นที่เก็บเกี่ยว 12 ตารางเมตร (4 แถว ๆ ละ 4 เมตร)

เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต การให้ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวโพด ได้แก่ วันงอก วันออกดอกตัวผู้ (จำนวนวันตั้งแต่ปลูกจนถึงวันที่จำนวนต้นในแปลงมากกว่า 50% โปรยละอองเกสร) วันออกไหม (จำนวนวันตั้งแต่ปลูกจนถึงวันที่จำนวนต้นในแปลงมากกว่า 50% มีไหมโผล่พ้นกาบหุ้มฝักออกมา) Anthesis-Silking Interval (ASI = วันออกไหม-วันออกดอกตัวผู้) ความสูง จำนวนต้นเก็บเกี่ยวต่อแปลง จำนวนฝักเก็บเกี่ยวต่อแปลง จำนวนฝักที่ติดเมล็ดน้อยกว่า 50%ของฝัก จำนวนฝักเน่าเสีย (นับจำนวนฝักที่มีโรค/แมลงเข้าทำลาย) น้ำหนักฝัก ผลผลิต (น้ำหนักเมล็ด) ความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว เปอร์เซ็นต์กะเทาะ น้ำหนักต้นใบสดในพื้นที่เก็บเกี่ยว ข้อมูลน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง ส่วนต่างๆของข้าวโพดในพื้นที่เก็บเกี่ยว (ใบ ลำต้น กาบฝัก เมล็ด และซัง) พร้อมสุ่มเก็บตัวอย่างต้นและฝักข้าวโพดในแต่ละกรรมวิธีมาวิเคราะห์ปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของพืช

บันทึกข้อมูลประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว โดยการคำนวณ Agronomic Nitrogen Use Efficiency (ANUE), Physiological Nitrogen Use Efficiency (PNUE), Apparent Nitrogen Recovery Efficiency (ANRE) ตามวิธีของ Fageria *et al*. (1997)

- Agronomic Nitrogen Use Efficiency (ANUE) หมายถึง ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยต่อปริมาณธาตุอาหารที่ใส่

$$ANUE = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน)} - \text{ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน)}}{\text{ปริมาณไนโตรเจนที่ใส่}}$$

- Physiological Nitrogen Use Efficiency (PNUE) หมายถึง ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนที่พืชดูดใช้เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน

$$PNUE = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน)} - \text{ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน)}}{\text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน)} - \text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน)}}$$

- Apparent Nitrogen Recovery Efficiency (ANRE) หมายถึง ปริมาณธาตุอาหารที่พืชดูดใช้เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยต่อปริมาณธาตุอาหารที่ใส่ (หน่วย: เปอร์เซ็นต์)

$$ARE = \frac{\text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N)} - \text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N)} \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนที่ใส่}}$$

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance) เปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวพันธุ์ต่างๆ เพื่อจัดกลุ่มพันธุ์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวตามประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน สำหรับใช้ในการประเมินพันธุ์ต่อไป

ระยะเวลา ตุลาคม 2562 – กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการ
1. แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์
2. ไร่เกษตรกร ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์
3. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์

1.1 สมบัติดินก่อนปลูก

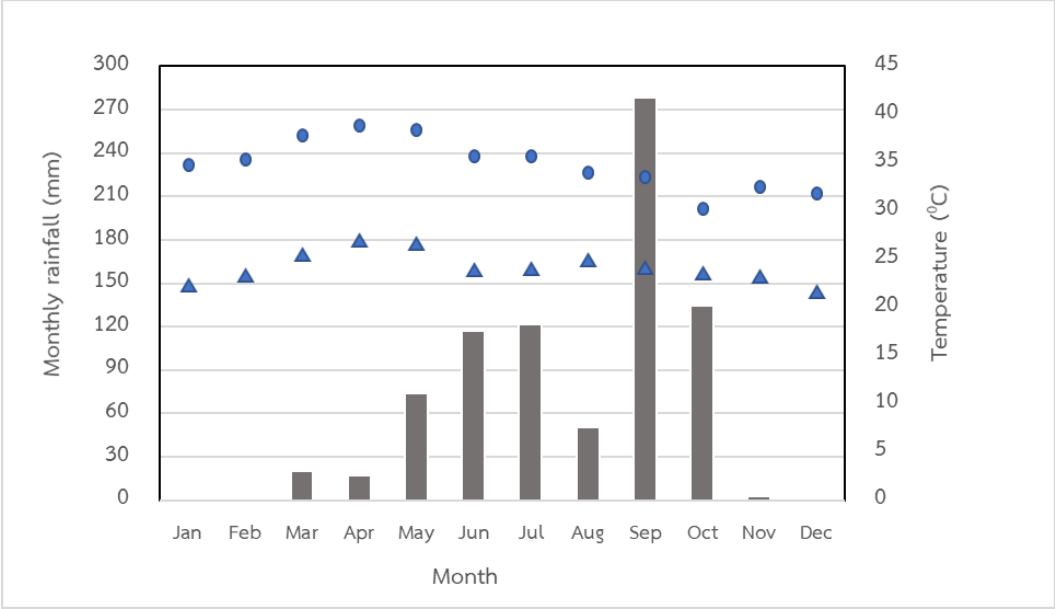
จากการวิเคราะห์สมบัติของดินก่อนปลูกแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร ฤดูปลูก ปี 2563 และ 2564 พบว่า เนื้อดินเป็นดินเหนียว ปฏิกิริยาดินเป็นกลางถึงด่างเล็กน้อย (pH 7.06-7.85) ดินมีปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 2.02-2.04 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำ เท่ากับ 8-10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในระดับสูง เท่ากับ 108-121 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1) จากผลการวิเคราะห์ดินก่อนปลูกสามารถประเมินการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ คือ 10-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่

ตารางที่ 1 สมบัติของดินก่อนปลูกในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ที่ระดับความลึก 0-20 และ 20-50 เซนติเมตร

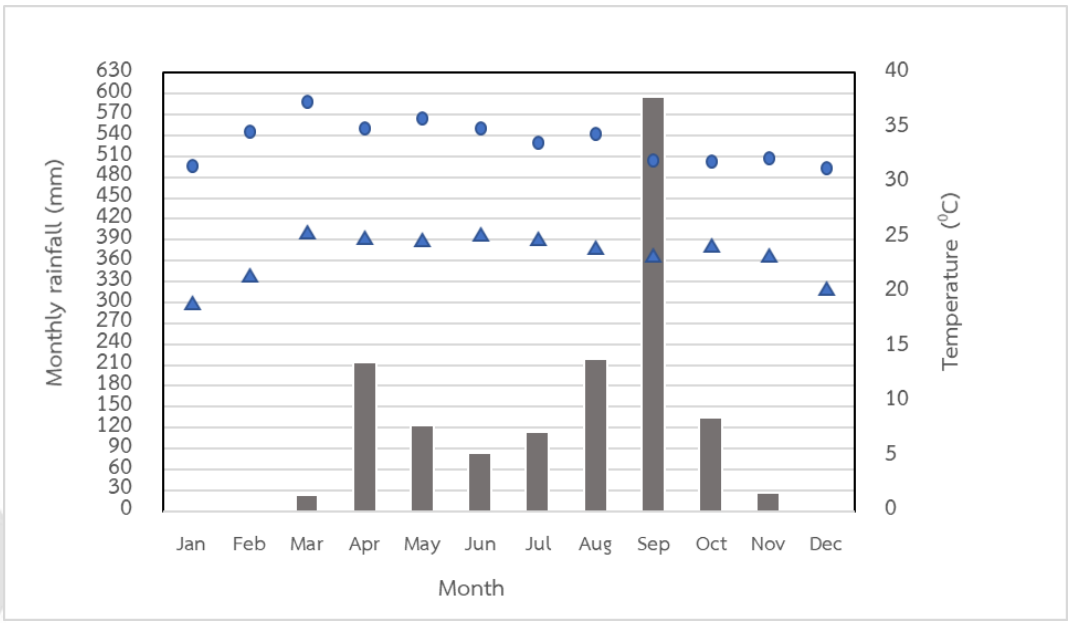
สมบัติของดิน	ฤดูปลูก ปี 2563		ฤดูปลูก ปี 2564	
	0-20 เซนติเมตร	20-50 เซนติเมตร	0-20 เซนติเมตร	20-50 เซนติเมตร
เนื้อดิน	Clay	Clay	Clay	Clay
ความเป็นกรดด่าง (ดิน : น้ำ = 1:1)	7.06	6.71	7.85	7.52
ปริมาณอินทรียวัตถุ (เปอร์เซ็นต์)	2.02	1.87	2.04	1.80
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	8	4	10	6
โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	108	89	121	83

1.2 สภาพภูมิอากาศ

การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก ข้าวโพดที่ปลูกในเขตร้อนมีความต้องการปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก 600-900 มิลลิเมตร (Fageria *et al*., 1997) จากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ชุดพันธุ์ที่ 4 ในฤดูปลูก ปี 2563 เมื่อวันที่ 14 กรกฎาคม 2563 และเก็บเกี่ยววันที่ 12 พฤศจิกายน 2563 ปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก เท่ากับ 486.3 มิลลิเมตร ซึ่งไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และในช่วงเดือนสิงหาคมเกิดภาวะฝนทิ้งช่วงตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม ถึง 17 กันยายน 2563 จึงต้องมีการให้น้ำเสริมแบบน้ำหยด จำนวน 5 ครั้ง ครั้งละ 2 ชั่วโมง เพื่อให้ข้าวโพดได้รับน้ำเพียงพอตลอดฤดูปลูก (ภาพที่ 1) และสำหรับฤดูปลูก ปี 2564 ทำการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ชุดพันธุ์ที่ 4 วันที่ 19 พฤษภาคม 2564 และเก็บเกี่ยววันที่ 15 กันยายน 2564 ปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก เท่ากับ 547.9 มิลลิเมตร ซึ่งไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือน ณ สถานีอุตุนิยมวิทยานครสวรรค์ (ตากฟ้า) ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ปี 2563



ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือน ณ สถานีอุตุนิยมวิทยานครสวรรค์ (ตากฟ้า) ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ปี 2564

1.3 การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว พบว่า อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนให้ความสูงต้นของข้าวโพดที่อายุ 30, 60 วัน และความสูงฝัก แตกต่างกันทางสถิติ โดยการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (10-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) ให้ความสูงต้นที่อายุ 30, 60 วัน และความสูงฝักเฉลี่ยสูงกว่าการไม่ใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้ง 6 พันธุ์ ให้ความสูงต้นที่อายุ 60 วัน และความสูงฝักแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2 และ 3)

ตารางที่ 2 ความสูงต้นที่อายุ 30, 60 วัน และความสูงฝักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ปี 2563

พันธุ์ (B)	อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (A)								
	ความสูงต้น 30 วัน (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)	ความสูงต้น 60 วัน (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)	ความสูงฝัก (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)
	0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5	
NSX152016	36	38	37	170	180	175 c	92	96	94 ab
NSX152067	34	39	36	186	196	191 ab	96	101	98 a
NSX152070	32	38	35	153	165	159 d	84	94	89 b
NSX152097	35	38	37	180	183	181 bc	98	102	100 a
นครสวรรค์ 3	32	35	34	176	178	177 c	97	99	98 a
ซี.พี. 888 นิว	38	40	39	193	196	194 a	94	99	96 a
เฉลี่ย (A)	35	38	36	176	183	180	93	98	96
F-test (A)		ns			ns			ns	
F-test (B)		ns			**			*	
F-test (AxB)		ns			ns			ns	
CV (A) (%)		10.4			5.2			7.2	
CV (B) (%)		11.8			5.4			7.3	

หมายเหตุ : ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 ความสูงต้นที่อายุ 30, 60 วัน และความสูงฝักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ปี 2564

พันธุ์ (B)	อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (A)								
	ความสูงต้น 30 วัน (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)	ความสูงต้น 60 วัน (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)	ความสูงฝัก (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)
	0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5	
NSX152016	26	28	27	175	197	186 b	87	104	95 b
NSX152067	23	27	25	184	202	193 a	89	102	96 b
NSX152070	23	24	24	175	189	182 b	86	99	92 b
NSX152097	25	28	26	187	200	193 a	95	110	103 a
นครสวรรค์ 3	23	27	25	178	193	185 b	91	102	96 b
ซี.พี. 888 นิว	25	29	27	187	205	196 a	88	99	94 b
เฉลี่ย (A)	24 b	27 a	25	181 b	198 a	189	89 b	102 a	96
F-test (A)		**			**			**	
F-test (B)		ns			**			**	

พันธุ์ (B)	อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ (A)								
	ความสูงต้น 30 วัน (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)	ความสูงต้น 60 วัน (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)	ความสูงฝัก (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)
	0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5	
F-test (AxB)		ns			ns			ns	
CV (A) (%)		5.9			2.4			3.8	
CV (B) (%)		9.2			3.4			4.6	

หมายเหตุ : ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

1.4 องค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนให้ความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยวของข้าวโพดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ข้าวโพดทั้ง 6 พันธุ์ มีความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยวแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์นครสวรรค์ 3 มีความชื้นเมล็ดเฉลี่ยต่ำสุด 20.29-22.26 เปอร์เซ็นต์ สำหรับผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ทำให้ผลผลิตข้าวโพดแตกต่างกันทางสถิติ โดยการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 10-10-5 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 1,139-1,358 กิโลกรัมต่อไร่ และข้าวโพดทั้ง 6 พันธุ์ ให้ผลผลิตแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์ ซี.พี. 888 นิว ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 1,184-1,432 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 4 และ 5)

ตารางที่ 4 ความชื้นเมล็ด เปอร์เซ็นต์กะเทาะเมล็ด และผลผลิตที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ปี 2563

พันธุ์ (B)	อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน (กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่) (A)								
	ความชื้นเมล็ด (เปอร์เซ็นต์)		เฉลี่ย (B)	เปอร์เซ็นต์กะเทาะ (เปอร์เซ็นต์)		เฉลี่ย (B)	ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)		เฉลี่ย (B)
	0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5	
NSX152016	25.10	25.38	25.24 a	78.8	80.0	79.4 d	1,005	1,036	1,020 d
NSX152067	21.14	21.88	21.51 b	79.8	81.3	80.5 c	1,071	1,201	1,136 ab
NSX152070	21.16	21.28	21.22 b	81.5	81.3	81.4 b	1,027	1,103	1,065 bcd
NSX152097	20.92	21.96	21.44 b	80.0	80.8	80.4 c	1,023	1,175	1,099 bc
นครสวรรค์ 3	19.71	20.86	20.29 b	81.5	81.8	81.6 b	1,011	1,062	1,036 cd
ซี.พี. 888 นิว	21.32	21.60	21.46 b	82.5	82.8	82.6 a	1,110	1,258	1,184 a
เฉลี่ย (A)	21.56	22.16	21.86	80.7 b	81.3 a	81.0	1,041 b	1,139 a	1,090
F-test (A)		ns			*			**	
F-test (B)		**			**			**	
F-test (AxB)		ns			ns			ns	
CV (A) (%)		9.5			0.7			1.9	
CV (B) (%)		8.3			1.0			6.2	

หมายเหตุ : ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 ความชื้นเมล็ด เปอร์เซ็นต์กะเทาะเมล็ด และผลผลิตที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ปี 2564

พันธุ์ (B)	อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน (กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) (A)								
	ความชื้นเมล็ด (เปอร์เซ็นต์)		เฉลี่ย (B)	เปอร์เซ็นต์กะเทาะ (เปอร์เซ็นต์)		เฉลี่ย (B)	ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)		เฉลี่ย (B)
	0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5		0-10-5	10-10-5	
NSX152016	27.52	27.31	27.41 a	79.0	81.3	80.1	1,202	1,322	1,262 b
NSX152067	23.50	24.02	23.76 c	80.0	80.3	80.1	1,199	1,343	1,271 b
NSX152070	24.58	25.95	25.27 b	78.8	79.5	79.1	1,135	1,289	1,212 c
NSX152097	24.02	23.94	23.98 c	78.5	79.3	78.9	1,138	1,409	1,274 b
นครสวรรค์ 3	22.38	22.14	22.26 d	80.0	80.5	80.3	1,171	1,272	1,222 c
ซี.พี. 888 นิว	22.54	22.58	22.56 d	81.0	80.0	80.5	1,350	1,514	1,432 a
เฉลี่ย (A)	24.09	24.32	24.21	79.5	80.1	79.8	1,199 b	1,358 a	1,279
F-test (A)		ns			ns			*	
F-test (B)		**			ns			*	
F-test (AxB)		ns			ns			ns	
CV (A) (%)		2.5			1.9			12.8	
CV (B) (%)		3.3			1.9			6.6	

หมายเหตุ : ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

1.5 ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพด

ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ที่ปลูกในกลุ่มดินเหนียว-ร่วนเหนียวสีดำ ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ฤดูปลูกปี 2563 พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NSX152097 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตสูงที่สุด โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มผลผลิตได้เฉลี่ย 15.20 กิโลกรัม รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ ซี.พี. 888 นิว, NSX152067, NSX152070, นครสวรรค์ 3 และ NSX152016 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน 14.80, 13.00, 7.60, 5.10, และ 3.10 กิโลกรัมผลผลิตต่อไนโตรเจน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6) สำหรับฤดูปลูก ปี 2564 พบว่า พันธุ์ NSX152097 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตสูงที่สุดเช่นเดียวกัน คือ 27.10 กิโลกรัมผลผลิตต่อไนโตรเจน 1 กิโลกรัม รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ ซี.พี. 888 นิว, NSX152070, NSX152067, NSX152016 และ นครสวรรค์ 3 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน 16.40, 15.40, 14.40, 12.00 และ 10.10 กิโลกรัมผลผลิตต่อไนโตรเจน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ปี 2563 และ 2564

พันธุ์	ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)		ไนโตรเจนที่พืชดูดใช้ (กิโลกรัมต่อไร่)		ANUE*	PNUE*	ANRE*	Low N
	0 กก.N/ไร่	10 กก.N/ไร่	0 กก.N/ไร่	10 กก.N/ไร่	กก./กก. N	กก./กก. N	(%)	Index*
ปี 2563								
NSX152016	1,005	1,036	14.89	16.27	3.10	22.46	13.80	0.887
NSX152067	1,071	1,201	12.13	14.78	13.00	48.98	26.54	0.816
NSX152070	1,027	1,103	12.41	16.66	7.60	17.90	42.46	0.852
NSX152097	1,023	1,175	12.68	15.34	15.20	57.14	26.60	0.796
นครสวรรค์ 3	1,011	1,062	11.61	14.20	5.10	19.66	25.94	0.871
ซี.พี. 888 นิว	1,110	1,258	12.16	16.57	14.80	33.56	44.10	0.807
ปี 2564								
NSX152016	1,202	1,322	23.90	27.83	12.00	30.51	39.33	0.749
NSX152067	1,199	1,343	24.13	30.19	14.40	23.77	60.59	0.736
NSX152070	1,135	1,289	28.14	31.27	15.40	49.31	31.23	0.726
NSX152097	1,138	1,409	24.28	29.99	27.10	47.48	57.08	0.666
นครสวรรค์ 3	1,171	1,272	26.16	32.31	10.10	16.43	61.49	0.759
ซี.พี. 888 นิว	1,350	1,514	26.47	29.94	16.40	47.21	34.74	0.735

ANUE, Agronomic Nitrogen Use Efficiency = ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย N) - ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย N)/ปริมาณ N ที่ใส่

PNUE, Physiological Nitrogen Use Efficiency = ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย N) - ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย N)/N ที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N) - N ที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N)

ANRE, Apparent Nitrogen Recovery Use Efficiency = N ที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N) - N ที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N)/ปริมาณ N ที่ใส่ x 100

Low N Index = ผลผลิตของพันธุ์ A (Low N) x ผลผลิตเฉลี่ย (Low N)/ผลผลิตของพันธุ์ A (High N) x ผลผลิตเฉลี่ย (High N)

1.6 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือ Value to Cost Ratio (VCR) ถ้ามีค่ามากกว่า 2 แสดงว่ามีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ (Pevaiz *et al*., 2004) จากการทดลองในปี 2563 พบว่า การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 10 กิโลกรัม N ต่อไร่ ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวพันธุ์ NSX152097 และ ซี.พี. 888 นิว ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ โดยมีค่า VCR เท่ากับ 2.07 และ 2.02 ตามลำดับ ซึ่งกรรมวิธีที่มีการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์NSX152097 มีค่า VCR เท่ากับ 2.07 หมายความว่าเมื่อลงทุนใช้ปุ๋ยไนโตรเจน 1 บาท จะได้รับผลตอบแทน 2.07 บาท ซึ่งให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนและได้กำไรมากที่สุด (ตารางที่ 7) ส่วนในปี 2564 พบว่า การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 10 กิโลกรัม N ต่อไร่ ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NSX152070, NSX152097 และ ซี.พี. 888 นิว ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ โดยมีค่า VCR อยู่ระหว่าง 2.10 ถึง 3.70 ซึ่งกรรมวิธีที่มีการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NSX152097 (VCR เท่ากับ 3.70) ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนและได้กำไรมากที่สุดเช่นกัน (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 วิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ปี 2563

พันธุ์	ปุ๋ย (กก.N-P_2O_5-K_2O/ไร่)	ผลผลิต (กก./ไร่)	รายได้จากการขายผลผลิต (บาท/ไร่)	รายได้เพิ่มขึ้น (บาท/ไร่)	ต้นทุนปุ๋ย (บาท/ไร่)	ต้นทุนปุ๋ยที่เพิ่มขึ้น (บาท/ไร่)	กำไร (บาท/ไร่)	VCR
NSX152016	0-10-5	1,005	10,452		1,051		9,401	
	10-10-5	1,036	10,774	322	1,813	762	8,961	0.42
NSX152067	0-10-5	1,071	11,138		1,051		10,087	
	10-10-5	1,201	12,490	1,352	1,813	762	10,677	1.77
NSX152070	0-10-5	1,027	10,681		1,051		9,630	
	10-10-5	1,103	11,471	790	1,813	762	9,658	1.04
NSX152097	0-10-5	1,023	10,639		1,051		9,588	
	10-10-5	1,175	12,220	1,581	1,813	762	10,407	2.07
นครสวรรค์ 3	0-10-5	1,011	10,514		1,051		9,463	
	10-10-5	1,062	11,045	530	1,813	762	9,232	0.70
ซี.พี. 888 นิว	0-10-5	1,110	11,544		1,051		10,493	
	10-10-5	1,258	13,083	1,539	1,813	762	11,270	2.02

ราคาปุ๋ย : 21-0-0 (16 บาท/กก.N), 0-46-0 (38 บาท/กก.P_2O_5), 0-0-60 (27 บาท/กก. K_2O)

ราคาผลผลิต : 10.4 บาท/กก.

ตารางที่ 8 วิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ปี 2564

พันธุ์	ปุ๋ย (กก.N-P_2O_5-K_2O/ไร่)	ผลผลิต (กก./ไร่)	รายได้จากการขายผลผลิต (บาท/ไร่)	รายได้เพิ่มขึ้น (บาท/ไร่)	ต้นทุนปุ๋ย (บาท/ไร่)	ต้นทุนปุ๋ยที่เพิ่มขึ้น (บาท/ไร่)	กำไร (บาท/ไร่)	VCR
NSX152016	0-10-5	1,202	12,501		1,051		11,450	
	10-10-5	1,322	13,749	1,248	1,813	762	11,936	1.64
NSX152067	0-10-5	1,199	12,470		1,051		11,419	
	10-10-5	1,343	13,967	1,498	1,813	762	12,154	1.97
NSX152070	0-10-5	1,135	11,804		1,051		10,753	
	10-10-5	1,289	13,406	1,602	1,813	762	11,593	2.10
NSX152097	0-10-5	1,138	11,835		1,051		10,784	
	10-10-5	1,409	14,654	2,818	1,813	762	12,841	3.70
นครสวรรค์ 3	0-10-5	1,171	12,178		1,051		11,127	
	10-10-5	1,272	13,229	1,050	1,813	762	11,416	1.38
ซี.พี. 888 นิว	0-10-5	1,350	14,040		1,051		12,989	
	10-10-5	1,514	15,746	1,706	1,813	762	13,933	2.24

ราคาปุ๋ย : 21-0-0 (16 บาท/กก.N), 0-46-0 (38 บาท/กก.P_2O_5), 0-0-60 (27 บาท/กก. K_2O)

ราคาผลผลิต : 10.4 บาท/กก.

2. แปลงทดลองในไร่เกษตรกร

2.1 สมบัติดินก่อนปลูก

จากการวิเคราะห์สมบัติของดินก่อนปลูกแปลงทดลองในไร่เกษตรกร ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร พบว่า เนื้อดินเป็นดินเหนียว ปฏิกิริยาดินเป็นด่างเล็กน้อย (pH 7.72) ดินมีปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับสูง เท่ากับ 2.20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำ เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในระดับสูง เท่ากับ 195 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 9) จากผลการวิเคราะห์ดินก่อนปลูกสามารถประเมินการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ คือ 5-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่

ตารางที่ 9 สมบัติของดินก่อนปลูกในแปลงเกษตรกร อำตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ที่ระดับความลึก 0-20 และ 20-50 เซนติเมตร

สมบัติของดิน	ฤดูปลูก ปี 2564	
	0-20 เซนติเมตร	20-50 เซนติเมตร
เนื้อดิน	Clay	Clay
ความเป็นกรดด่าง (ดิน : น้ำ = 1:1)	7.72	7.77
ปริมาณอินทรียวัตถุ (เปอร์เซ็นต์)	2.20	2.11
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	5	5
โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	195	155

2.2 สภาพภูมิอากาศ

การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก ปริมาณน้ำฝนที่ใช้ตลอดฤดูปลูก 600-900 มิลลิเมตร (Fageria *et al*., 1997) จากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เมื่อวันที่ 15 มิถุนายน 2564 และเก็บเกี่ยววันที่ 14 ตุลาคม 2564 ปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก เท่ากับ 1,108.2 มิลลิเมตร ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ภาพที่ 2)

2.3 การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนให้ความสูงต้นของข้าวโพดที่อายุ 30, 60 วัน และความสูงฝัก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้ง 6 พันธุ์ ให้ความสูงต้นที่อายุ 30, 60 วัน และความสูงฝัก แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ความสูงต้นที่อายุ 30, 60 วัน และความสูงฝักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ แปลงเกษตรกร อำตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ปี 2564

พันธุ์ (B)	อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (A)								
	ความสูงต้น 30 วัน (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)	ความสูงต้น 60 วัน (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)	ความสูงฝัก (เซนติเมตร)		เฉลี่ย (B)
	0-10-5	5-10-5		0-10-5	5-10-5		0-10-5	5-10-5	
NSX152016	28	30	29 abc	183	185	184 b	102	105	103 bc
NSX152067	27	29	28 c	193	197	195 a	100	107	104 bc
NSX152070	28	27	28 bc	186	184	185 b	104	101	102 c
NSX152097	30	30	30 abc	192	195	194 a	109	113	111 a
นครสวรรค์ 3	30	30	30 ab	187	190	188 b	106	110	108 ab
ซี.พี. 888 นิว	32	31	31 a	196	198	197 a	104	106	105 bc
เฉลี่ย (A)	29	29	29	190	192	191	104	107	105
F-test (A)		ns			ns			ns	
F-test (B)		*			**			*	
F-test (AxB)		ns			ns			ns	
CV (A) (%)		7.1			2.2			9.2	
CV (B) (%)		7.1			2.4			4.6	

หมายเหตุ : ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

2.4 องค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนให้ความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยวและเปอร์เซ็นต์กะเทาะเมล็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ข้าวโพดทั้ง 6 พันธุ์ มีความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยวและเปอร์เซ็นต์กะเทาะเมล็ดแตกต่างกันทางสถิติ สำหรับผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ทำให้ผลผลิตข้าวโพดแตกต่างกันทางสถิติ โดยการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 5-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 1,025 กิโลกรัมต่อไร่ และข้าวโพดทั้ง 6 พันธุ์ ให้ผลผลิตแตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์ ซี.พี. 888 นิว ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด 1,029 กิโลกรัมต่อไร่ และพันธุ์นครสวรรค์ 3 ให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำสุด 967 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ความชื้นเมล็ด เปอร์เซ็นต์กะเทาะเมล็ด และผลผลิตที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ แปลงเกษตรกร อำตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ปี 2564

พันธุ์ (B)	อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน (กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) (A)								
	ความชื้นเมล็ด (เปอร์เซ็นต์)		เฉลี่ย (B)	เปอร์เซ็นต์กะเทาะ (เปอร์เซ็นต์)		เฉลี่ย (B)	ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)		เฉลี่ย (B)
	0-10-5	5-10-5		0-10-5	5-10-5		0-10-5	5-10-5	
NSX152016	29.29	30.06	29.67 a	79.8	80.6	80.2 cd	984	1,038	1,011
NSX152067	26.32	25.52	25.92 b	80.2	79.7	79.9 d	977	1,009	993
NSX152070	25.36	26.18	25.77 b	80.2	80.1	80.1 cd	939	1,000	970
NSX152097	24.86	26.51	25.69 b	80.5	81.1	80.8 c	943	1,032	988
นครสวรรค์ 3	23.33	23.58	23.45 c	81.6	81.6	81.6 b	931	1,002	967
ซี.พี. 888 นิว	25.04	25.53	25.29 b	83.3	82.8	83.0 a	989	1,069	1,029
เฉลี่ย (A)	25.70	26.23	25.96	80.9	81.0	80.9	961 b	1,025 a	993

พันธุ์ (B)	อัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน (กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) (A)								
	ความชื้นเมล็ด (เปอร์เซ็นต์)		เฉลี่ย (B)	เปอร์เซ็นต์กะเทาะ (เปอร์เซ็นต์)		เฉลี่ย (B)	ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)		เฉลี่ย (B)
	0-10-5	5-10-5		0-10-5	5-10-5		0-10-5	5-10-5	
F-test (A)		ns			ns			*	
F-test (B)		**			**			ns	
F-test (AxB)		ns			ns			ns	
CV (A) (%)		3.9			1.4			28.4	
CV (B) (%)		2.8			0.9			13.9	

หมายเหตุ : ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

2.5 ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพด

ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ที่ปลูกในกลุ่มดินเหนียว-ร่วนเหนียวสีดำ ณ แปลงเกษตรกร อำตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NSX152097 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตสูงที่สุด โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มผลผลิตได้เฉลี่ย 17.80 กิโลกรัม รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ซี.พี. 888 นิว, นครสวรรค์ 3, NSX152070, NSX152016 และ NSX152067 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน 16.00, 14.20, 12.20, 10.80 และ 6.40 กิโลกรัมผลผลิตต่อไนโตรเจน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ แปลงเกษตรกร อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ปี 2564

พันธุ์	ผลผลิต (กก./ไร่)		N ที่พืชดูดใช้ (กก./ไร่)		ANUE*	PNUE*	ANRE*	Low N
	0 กก.N/ไร่	5 กก.N/ไร่	0 กก.N/ไร่	5 กก.N/ไร่	กก./กก. N	กก./กก. N	(%)	Index*
NSX152016	984	1,038	14.39	15.75	10.80	39.71	13.60	0.889
NSX152067	977	1,009	10.26	12.68	6.40	13.23	24.19	0.908
NSX152070	939	1,000	10.31	16.55	12.20	9.77	62.43	0.880
NSX152097	943	1,032	9.98	12.81	17.80	31.49	28.26	0.857
นครสวรรค์ 3	931	1,002	11.10	14.87	14.20	18.81	37.74	0.871
ซี.พี. 888 นิว	989	1,069	9.82	16.46	16.00	12.06	66.36	0.867

ANUE, Agronomic Nitrogen Use Efficiency = ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย N) - ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย N)/ปริมาณ N ที่ใส่
PNUE, Physiological Nitrogen Use Efficiency = ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย N) - ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย N)/N ที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N) - N ที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N)
ANRE, Apparent Nitrogen Recovery Use Efficiency = N ที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N) - N ที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N)/ปริมาณ N ที่ใส่ x 100
Low N Index = ผลผลิตของพันธุ์ A (Low N) x ผลผลิตเฉลี่ย (Low N)/ผลผลิตของพันธุ์ A (High N) x ผลผลิตเฉลี่ย (High N)

2.6 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

พบว่า การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 5 กิโลกรัม N ต่อไร่ ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว พันธุ์ NSX152097 และ ซี.พี. 888 นิว ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ โดยมีค่า VCR เท่ากับ 2.43 และ 2.18 ซึ่งกรรมวิธีที่มีการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NSX152097 ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนและได้กำไรมากที่สุด (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 วิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว ในสภาพที่มีอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน ณ แปลงเกษตรกร อำตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ปี 2564

พันธุ์	ปุ๋ย (กก.N-P_2O_5-K_2O/ไร่)	ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)	รายได้จากการขายผลผลิต (บาท/ไร่)	รายได้เพิ่มขึ้น (บาท/ไร่)	ต้นทุนปุ๋ย (บาท/ไร่)	ต้นทุนปุ๋ยที่เพิ่มขึ้น (บาท/ไร่)	กำไร (บาท/ไร่)	VCR
NSX152016	0-10-5	984	10,234		1,051		9,183	
	5-10-5	1,038	10,795	562	1,432	381	9,363	1.47
NSX152067	0-10-5	977	10,161		1,051		9,110	
	5-10-5	1,009	10,494	333	1,432	381	9,062	0.87
NSX152070	0-10-5	939	9,766		1,051		8,715	
	5-10-5	1,000	10,400	634	1,432	381	8,968	1.67
NSX152097	0-10-5	943	9,807		1,051		8,756	
	5-10-5	1,032	10,733	926	1,432	381	9,301	2.43
นครสวรรค์ 3	0-10-5	931	9,682		1,051		8,631	
	5-10-5	1,002	10,421	738	1,432	381	8,989	1.94
ซี.พี. 888 นิว	0-10-5	989	10,286		1,051		9,235	
	5-10-5	1,069	11,118	832	1,432	381	9,686	2.18

ราคาปุ๋ย : 21-0-0 (16 บาท/กก.N), 0-46-0 (38 บาท/กก.P_2O_5), 0-0-60 (27 บาท/กก. K_2O)

ราคาผลผลิต : 10.4 บาท/กก.

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การใช้ปุ๋ยสำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาวที่ปลูกในกลุ่มดินเหนียว-ร่วนเหนียวสีดำ จ.นครสวรรค์ ในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์และแปลงเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์ การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ให้ผลผลิตสูงกว่าการไม่ใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในแปลงเกษตรกรให้ผลผลิตต่ำกว่าที่ปลูกในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ เนื่องจากปลูกตามฤดูกาลปกติไม่มีการให้น้ำเสริมในภาวะวิกฤตฝนทิ้งช่วง

การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตามฤดูกาลปกติไม่มีการให้น้ำเสริมในภาวะวิกฤต และเมื่อประสบภาวะวิกฤตฝนทิ้งช่วงจำเป็นต้องให้น้ำเสริม การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NSX152097 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตสูงและยังให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุด

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถใช้เป็นคำแนะนำในการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อย่างเหมาะสมกับพื้นที่

2. ใช้เป็นข้อมูลจำเพาะต่อความต้องการธาตุอาหารและประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแต่ละพันธุ์ สำหรับใช้ในการรับรองพันธุ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2544. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. 2553. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 121 หน้า.

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี ดาวรุ่ง คงเทียน ชลวุฒิ ละเอียด สาธิต อารีรักษ์ พิเชษฐ์ กรุดลอยมา. 2556. ผลระยะยาวของการจัดการปุ๋ยและระบบปลูกพืชต่อการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. น. 90-108 ***ใน***: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 36 วันที่ 5-7 มิถุนายน 2556 ณ โรงแรมอัศวรรณ จังหวัดหนองคาย

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2563. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 241 หน้า. http://www.oae.go.th

Banzinger, M., G.O. Edmeades, D. Beck and M. Bellon. 2000. Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize: From Theory to Practice. Mexico, D.F. CIMMYT.

Fageria, N. K., V. C. Baligar, and C. A. Jones. 1997. Growth and Mineral Nutrition of Field Crop, 2nd ed. New York: Marcel Dekker.

Moll, R.H., E.J. Kamprath and W.A. Jackson. 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency to nitrogen utilization. Agronomy. J. 74:562-564.

Pevaiz, Z., Hussain, K., Kazmi, S.S.H. and Gill, K.H. 2004. Agronomic efficiency of different N:P ratios in rain fed wheat. International Journal of Agriculture & Biology. 3: 455-457.

ศึกษาประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว
A study on water use efficiency of late maturing hybrid maize

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี *การิตา จงเจือกลาง*[1/]
Suphakarn Luanmanee *Karita Chongchuaklang*[1/]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This study was aimed to determine the water use efficiency of hybrid maize planted in Samo Thod soil series. The experiment was designed in split plot. The 3 treatments of water management was designes as main plots e.g. rainfed, 50% and 100% water supplement according to corn water requirements (ETc). The 4 hybrid maize cultivars were designed as subplots for each cropping season. Chemical fertilizer was applied at the rates of 20, 10 and 15 kg per rai of N, P_2O_5, K_2O.

It was found that the water supplement at 50% and 100% of ETc resulted in increasing maize yield about 7.6-26.6% and 5.9-27.1%, respectively. The cultivar comparison was found that the CP888 New revealed the greatest yield about 17.24-19.67% higher than the Nakhon Sawan 3. The NSX112013, NSX15206, NSX152097 and NSX102005 showed rather higher yield than the Nakhon Sawan 3 about 8.54%, 6.16%, 2.97% and 2.15%, respectively. Whereas the NSX042022 and NSX112017 yield were as same as the Nakhon Sawan 3.

The water use efficiency (WUE) of maize under rainfed and the water supplement at 50% of ETc was about 1.91-2.73 and 1.83-2.20 kg yield/mm water. While the WUE under water supplement at 100% of ETc was lower about 1.40-1.70 kg yield/mm water. The cultivar comparison was found that WUE of the CP888 New was about 16.86-22.40% higher than the Nakhon Sawan 3. This was followed by the NSX152067, NSX152097, and NSX112013 which had higher WUE than the Nakhon Sawan 3 cultivar about 12.57% 12.02% and 8.14%, respectively. Whereas the NSX102005, NSX112017 and the NSX042022 cultivars did not show different WUE as compared to the Nakhon Sawan 3 cultivar.

Keywords: Water use efficeiency, Late maturing hybrid maize

รหัสทะเบียนวิจัย 01-09-59-01-03-00-01-59

1/ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

1/ Nakhon Sawan Field Crop Research Center, Field and Renewable Energy Crops Research Institute.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิการใช้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมที่ปลูกในชุดดินสมอทอด โดยวางแผนการทดลองแบบ split plot ปัจจัยหลักเป็นปริมาณการให้น้ำ ได้แก่ ไม่ได้ให้น้ำเสริม (อาศัยน้ำฝน) ให้น้ำเสริม 50% และ 100% ตามความต้องการน้ำของข้าวโพด (ETc) ปัจจัยรองเป็นพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสม 4 พันธุ์ ต่อฤดูปลูก ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 20 10 และ 15 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N, P_2O_5, K_2O

ผลการทดลองพบว่า การให้น้ำเสริมแก่ข้าวโพดที่ปลูกในดินเหนียวปนทรายแป้งชุดดินสมอทอดในอัตรา 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยน้ำของพืช ทำให้ข้าวโพดให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 7.6-26.6 และ 5.9-27.1 ตามลำดับ การเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ CP888 New ให้ผลผลิตสูงสุด โดยให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 17.24-19.67 ส่วนพันธุ์ NSX112013 พันธุ์ NSX152067 พันธุ์ NSX152097 และพันธุ์ NSX102005 ซึ่งให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 8.54 6.16 2.97 และ 2.15 ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ NSX042022 พันธุ์ NSX112017 ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกับพันธุ์นครสวรรค์ 3

สำหรับประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพด พบว่า การปลูกข้าวโพดโดยอาศัยน้ำฝนและการให้น้ำเสริม 50 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยน้ำของพืช ข้าวโพดมีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 1.91-2.73 และ 1.83-2.20 กิโลกรัมผลผลิตต่อปริมาณน้ำที่พืชได้รับ 1 มิลลิเมตร สูงกว่าการให้น้ำเสริม 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยน้ำของพืช ซึ่งมีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 1.40-1.70 กิโลกรัมผลผลิตต่อปริมาณน้ำที่พืชได้รับ 1 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ CP888 New มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 16.86-22.40 รองลงมาได้แก่ พันธุ์ NSX152067 พันธุ์ NSX152097 และพันธุ์ NSX112013 ซึ่งมีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 12.57 12.02 และ 8.14 ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ NSX102005 พันธุ์ NSX112017 และพันธุ์ NSX042022 มีประสิทธิภาพการใช้น้ำไม่แตกต่างกับพันธุ์นครสวรรค์ 3

คำหลัก: ประสิทธิภาพการใช้น้ำ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว

คำนำ

การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทยส่วนใหญ่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน จึงเสี่ยงต่อความเสียหายต่อการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งสถานการณ์ในปัจจุบันที่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศรุนแรงมากขึ้น เช่น เกิดภาวะฝนทิ้งช่วงยาวนานและการกระจายตัวของฝนไม่เหมาะสม ข้าวโพดเป็นพืชที่มีประสิทธิภาพสูงในการใช้น้ำเพื่อสร้างชีวมวลและผลผลิต ข้าวโพดที่ปลูกในเขตร้อนควรได้รับปริมาณน้ำฝนในช่วงฤดูปลูก 600-900 มิลลิเมตร (Fageria *et al*., 1997)

การขาดน้ำของข้าวโพดส่งผลต่อการให้ผลผลิตแตกต่างกันไปตามแต่ละระยะการเจริญเติบโต (Carkir, 2004) หากข้าวโพดขาดน้ำในช่วงระยะต้นกล้า จะส่งผลทำให้พัฒนาการของรากลดลง หากข้าวโพดขาดน้ำในช่วงที่มีอัตราการเจริญเติบโตทางลำต้นสูงสุดจะส่งผลต่อการพัฒนาส่วนต่าง ๆ ทำให้ข้าวโพดลำต้นเตี้ยและพื้นที่ใบลดลงและทำให้ผลผลิตลดลงร้อยละ 25 (Denmead and Shaw, 1960) ช่วงที่วิกฤตต่อการขาดน้ำมากที่สุดของข้าวโพดอยู่ในระยะ 10-14 วันก่อนและหลังออกดอก หากข้าวโพดขาดน้ำในช่วงดังกล่าวจะทำให้ผลผลิตลดลง โดยเมล็ดจะติดไม่เต็มฝัก หรือไม่ติดเมล็ด (Grant *et al*., 1989; Huang *et al*., 2006) และทำให้ผลผลิตลดลงร้อยละ 50 (Denmead and Shaw, 1960) Grudloyma *et al*. (2005) ทดลองงดให้น้ำตั้งแต่ช่วงออกดอกหรือตั้งแต่มีใบที่ 9 เป็นระยะเวลานาน 2 สัปดาห์ ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ พันธุ์ลูกผสม และพันธุ์ผสมเปิด อย่างละ 10 พันธุ์ พบว่าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ พันธุ์ลูกผสม และพันธุ์ผสมเปิด ให้ผลผลิตลดลงร้อยละ 74 53 และ 62 ตามลำดับ นอกจากนี้ Denmead and Shaw (1960) ยังได้ระบุว่าหากข้าวโพดขาดน้ำในช่วงหลังจากระยะสร้างเมล็ดสมบูรณ์แล้วจะทำให้ผลผลิตลดลงร้อยละ 21

การเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ภายใต้สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง จำเป็นต้องพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ให้มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งและมีประสิทธิภาพสูงในการใช้น้ำในการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิต โดยประสิทธิภาพการใช้น้ำ (Water use efficiency; WUE) ของข้าวโพดนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ สภาพภูมิอากาศ ลักษณะทางสรีรวิทยาของข้าวโพด ลักษณะทางพันธุกรรม สมบัติของดิน เช่น เนื้อดิน ความสามารถในการอุ้มน้ำ

ของดิน และวิธีการเขตกรรม ได้แก่ วันปลูก ระยะปลูก การไถพรวน การคลุมดิน การกำจัดวัชพืช การใช้ปุ๋ย การให้น้ำ เป็นต้น (Huang *et al*., 2006) ดังนั้นจึงได้ศึกษาประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว เพื่อใช้เป็นแนวทางในการประเมินศักยภาพของพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสม ได้แก่ พันธุ์ NSX042022 พันธุ์ NSX112013 พันธุ์ NSX102005 พันธุ์ NSX112017 พันธุ์ NSX152067 พันธุ์ NSX152097 พันธุ์นครสวรรค์ 3 และ พันธุ์ CP888 New
2. ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (18-46-0) ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)
3. อุปกรณ์ในการติดตั้งระบบน้ำหยด ได้แก่ ท่อพีวีซี เทปน้ำหยด ปั๊มน้ำ ถังเก็บน้ำ
4. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดิน ได้แก่ กระบอกเก็บตัวอย่างดิน (soil core sampler) Soil sampling tube
5. เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ได้แก่ Spectrophotometer, Flame photometer, pH meter, Hydrometer
6. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ดิน

วิธีการ

1. วิเคราะห์สมบัติของดินในพื้นที่ทดลอง

ทำการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มรวม (composite sampling) ที่ระดับความลึก 0-20 และ 20-50 เซนติเมตร วิเคราะห์สมบัติทั่วไปของดินก่อนปลูก ดังนี้ 1) เนื้อดินโดยวิธี Hydrometer (Bouyoucos, 1962) 2) ความหนาแน่นรวมของดินโดยใช้กระบอกโลหะเก็บตัวอย่างดินที่ทราบปริมาตรแน่นอน (core method) (McIntyre and Loveday, 1974) 3) pH วัดโดย pH meter ใช้อัตราส่วนดิน:น้ำ เท่ากับ 1:1 4) อินทรียวัตถุวิเคราะห์ โดยวิธี Wet oxidation 5) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โดยสกัดดินด้วยน้ำยาสกัด Bray II และทำให้การเกิดสีด้วยวิธี Molybdenum Blue แล้ววัดความเข้มข้นของสีโดยใช้ Spectrophotometer 6) โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ทำโดยสกัดดินด้วย *1N* Ammonium acetate, pH7.0 แล้ววัดเทียบความเข้มข้นกับสารละลายมาตรฐานโดยใช้ Flame photometer (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน, 2544)

2. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 4 ซ้ำ ปัจจัยหลักเป็นอัตราการให้น้ำ 3 ระดับ ได้แก่ 1. ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน 2. ให้น้ำเสริม 50% ของความต้องการน้ำของข้าวโพด 3. ให้น้ำเสริม 100% ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ปัจจัยรองเป็นพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสม 4 พันธุ์ โดยฤดูปลูกปี 2559 และ 2560 ประกอบด้วยพันธุ์ NSX042022 พันธุ์ NSX112013 พันธุ์นครสวรรค์ 3 และ พันธุ์ CP888 New ฤดูปลูกปี 2561 และ 2562 ประกอบด้วยพันธุ์ NSX102005 พันธุ์ NSX112017 พันธุ์นครสวรรค์ 3 และ พันธุ์ CP888 New ฤดูปลูกปี 2563 และ 2564 ประกอบด้วยพันธุ์ NSX152067 พันธุ์ NSX152097 พันธุ์นครสวรรค์ 3 และ พันธุ์ CP888 New

3. การปฏิบัติดูแลรักษา

ขนาดแปลงและพื้นที่เก็บเกี่ยว แปลงย่อยมีขนาด 7.5 x 8 เมตร ระยะปลูกระหว่างแถว 75 เซนติเมตร และระยะระหว่างต้น 20 เซนติเมตร เก็บเกี่ยวข้าวโพดจาก 4 แถวกลาง แถวละ 6 เมตร พื้นที่เก็บเกี่ยว 18 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย

การใส่ปุ๋ย แบ่งใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยรองพื้นพร้อมปลูก โดยใช้ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ให้ได้ไนโตรเจน 10 กิโลกรัม N ต่อไร่ ฟอสฟอรัส 10 กิโลกรัม

P_2O_5 และโพแทสเซียม 15 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ และเมื่อข้าวโพดมีอายุ 20 วัน ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 โดยใส่ปุ๋ยยูเรียให้ได้ไนโตรเจน 10 กิโลกรัม N ต่อไร่

วันปลูกและวันเก็บเกี่ยว ฤดูปลูกปี 2559 ปลูกข้าวโพดวันที่ 6 มิถุนายน 2559 เก็บเกี่ยวข้าวโพดเมื่อวันที่ 3 ตุลาคม 2559 ฤดูปลูกปี 2560 ปลูกข้าวโพดวันที่ 17 พฤษภาคม 2560 เก็บเกี่ยวข้าวโพดเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2560 ฤดูปลูกปี 2561 ปลูกข้าวโพดวันที่ 8 พฤษภาคม 2561 เก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 4 กันยายน 2561 ฤดูปลูกปี 2562 ปลูกข้าวโพดวันที่ 15 พฤษภาคม 2562 เก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 11 กันยายน 2562 ฤดูปลูกปี 2563 ปลูกข้าวโพดวันที่ 10 มิถุนายน 2563 เก็บเกี่ยวข้าวโพดเมื่อวันที่ 14 ตุลาคม 2563 ฤดูปลูกปี 2564 ปลูกข้าวโพดวันที่ 6 พฤษภาคม 2564 เก็บเกี่ยวข้าวโพดเมื่อวันที่ 2 กันยายน 2564

การจัดการน้ำ ในกรรมวิธีที่มีการให้น้ำ 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยน้ำของข้าวโพด เป็นการให้น้ำแบบระบบน้ำหยด โดยพิจารณาความต้องการน้ำของข้าวโพด (ETc) รายสัปดาห์ (Table 1) จากสมการ ETc = Kc x ETo โดยที่ Kc เป็นค่าสัมประสิทธิ์พืช (Crop Coefficient) สำหรับข้าวโพดแต่ละอายุการเจริญเติบโต (กรมชลประทาน, 2555) ETo เป็นอัตราการคายระเหยน้ำของพืชอ้างอิง ดัดแปลงจากวิธีของ Blaney-Criddle (FAO, 1986) โดยใช้สมการ $ETo = p(0.46\ T_{mean} + 8)$ ค่า p เป็นเปอร์เซ็นต์ชั่วโมงกลางวันในรอบปีเฉลี่ยรายวัน (mean daily percentage of annual daytime hours: p) และ T_{mean} หมายถึงอุณหภูมิอากาศเฉลี่ย คำนวณปริมาณน้ำที่ให้เสริมที่ระดับ 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยน้ำ จากอัตราการคายระเหยน้ำของข้าวโพดรายสัปดาห์หักลบด้วยปริมาณน้ำฝนสะสมรายสัปดาห์ คำนวณประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพดจากผลผลิตเมล็ดต่ออัตราการคายระเหยน้ำทั้งหมดของข้าวโพด (Asare *et al*., 2011)

การบันทึกข้อมูล บันทึกข้อมูลสภาพภูมิอากาศในพื้นที่ทดลอง ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิอากาศสูงสุด และอุณหภูมิอากาศต่ำสุดในแต่ละวัน โดยใช้ข้อมูลจากกลุ่มงานอากาศเกษตรตากฟ้า สถานีอุตุนิยมวิทยานครสวรรค์ ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ บันทึกข้อมูลผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2558 – สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ตำบลสุขสำราญ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สมบัติของดินในแปลงทดลอง

ผลการวิเคราะห์ลักษณะหน้าตัดดิน พบว่า ดินในพื้นที่ทดลองจัดอยู่ในชุดดินสมอทอด (very-fine, smectitic, isohyperthermic Chromic Haplusterts) เป็นดินลึก ดินบนมีความหนาประมาณ 25 เซนติเมตร เป็นดินเหนียวปนทรายแป้ง มีความหนาแน่นรวม 1.78 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ปฏิกิริยาดินเป็นกลาง (pH 7.25) อินทรียวัตถุ 17.3 กรัมต่อกิโลกรัม ฟอสฟอรัสที่แลกเปลี่ยนได้ 23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 131 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1)

Table 1. Soil profile properties of Samo Thod Soil Series at Nakhon Sawan Field Crop Research Center.

Soil properties	Soil depths (cm)			
	0-25	25-50	50-100	100-150
Sand (%)	11	8	9	8
Silt (%)	42	45	47	26
Clay (%)	47	47	44	66
Soil texture	Silty clay	Silty clay	Silty clay	Clay
Bulk density (g/cm^3)	1.78	1.65	1.66	1.65
pH	7.25	7.30	6.05	7.28
Organic matter (g/kg)	17.3	7.1	6.0	5.2
Available P (mg/kg)	23	3	1	1
Exchangeable K (mg/kg)	131	110	55	106

Table 2. Composite soil sample analysis of Samo Thod Soil Series at Nakhon Sawan Field Crop Research Center before starting the experiment.

	Soil depths (cm)	
Soil properties	0-20	20-50
pH	6.48	6.68
Organic matter (g/kg)	19.6	14.4
Available P (mg/kg)	12	4
Exchangeable K (mg/kg)	50	60

ดินล่างตอนบนที่ระดับความลึก 25-50 เซนติเมตร เป็นดินเหนียวปนทรายแป้ง มีความหนาแน่นรวม 1.66 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ปฏิกิริยาดินเป็นกลาง (pH 7.30) อินทรียวัตถุ 7.1 กรัมต่อกิโลกรัม ฟอสฟอรัสที่แลกเปลี่ยนได้ 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 110 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1)

ดินล่างที่ระดับความลึก 50-100 เซนติเมตร เป็นดินเหนียวปนทรายแป้ง มีความหนาแน่นรวม 1.66 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ปฏิกิริยาดินเป็นกรดปานกลาง (pH 6.05) อินทรียวัตถุ 6.0 กรัมต่อกิโลกรัม ฟอสฟอรัสที่แลกเปลี่ยนได้ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1)

ส่วนดินล่างที่ระดับความลึก 100-150 เซนติเมตร เป็นดินเหนียว มีความหนาแน่นรวม 1.65 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ปฏิกิริยาดินเป็นกลาง (pH 7.28) อินทรียวัตถุ 5.2 กรัมต่อกิโลกรัม ฟอสฟอรัสที่แลกเปลี่ยนได้ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 106 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1)

จากการเก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มรวม (composite sampling) ก่อนทำการทดลอง พบว่า ดินบนที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.48 มีอินทรียวัตถุ 19.6 กรัมต่อกิโลกรัม มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ดินล่างที่ระดับความลึก 20-50 เซนติเมตร มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.68 มีอินทรียวัตถุ 14.4 กรัมต่อกิโลกรัม มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 2) ดังนั้นเพื่อศึกษาผลของการจัดการน้ำจึงใส่ปุ๋ยในอัตราปุ๋ยในอัตรา 20-10-15 กิโลกรัมต่อไร่ของ N-P_2O_5-K_2O เพื่อให้ข้าวโพดได้รับธาตุอาหารในปริมาณที่เพียงพอแก่ความต้องการและไม่เป็นปัจจัยที่จำกัดต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพด

2. ปริมาณน้ำฝนและน้ำที่ให้เสริม

ฤดูปลูกปี 2559 ทุกกรรมวิธีให้น้ำเสริมครั้งแรกหลังปลูก 20.6 มิลลิเมตร เพื่อกระตุ้นความงอกของเมล็ด กรรมวิธีที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำฝนตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งอายุ 98 วันหลังปลูก รวม 579.3 มิลลิเมตร ดังนั้นจึงทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 599.9 มิลลิเมตร กรรมวิธีที่ให้เสริม 50 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 128.3 มิลลิเมตร ดังนั้นข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 707.6 มิลลิเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ให้น้ำเสริม 100 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 235.9 มิลลิเมตร ดังนั้นข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 815.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Table 3)

ฤดูปลูกปี 2560 ทุกกรรมวิธีให้น้ำเสริมหลังปลูก 9 วัน ในปริมาณ 8 มิลลิเมตร เพื่อให้ข้าวโพดงอกอย่างสม่ำเสมอ หลังจากนั้นจึงจัดการน้ำตามกรรมวิธี ปริมาณน้ำฝนตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งข้าวโพดอายุ 98 วันหลังปลูก รวม 869.6 มิลลิเมตร ดังนั้นจึงทำให้ข้าวโพดในกรรมวิธีที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝนได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 877.6 มิลลิเมตร กรรมวิธีที่ให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 17.6 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูกทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 887.2 มิลลิเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 27.2 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูดปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 896.8 มิลลิเมตร (Table 3)

ฤดูปลูกปี 2561 กรรมวิธีที่ไม่ให้น้ำเสริม ได้รับปริมาณน้ำฝนตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งข้าวโพดอายุ 98 วัน รวม 317.6 มิลลิเมตร กรรมวิธีที่ให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 312.5 มิลลิเมตร

เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 630.1 มิลลิเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 625 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 942.6 มิลลิเมตร (Table 3)

ฤดูปลูกปี 2562 กรรมวิธีที่ไม่ให้น้ำเสริม ได้รับปริมาณน้ำฝนตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งข้าวโพดอายุ 98 วัน รวม 492.0 มิลลิเมตร กรรมวิธีที่ให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 144.0 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 636.0 มิลลิเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 288.0 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 780.0 มิลลิเมตร (Table 3)

ฤดูปลูกปี 2563 กรรมวิธีที่ไม่ให้น้ำเสริม ได้รับปริมาณน้ำฝนตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งข้าวโพดอายุ 98 วัน รวม 266.0 มิลลิเมตร กรรมวิธีที่ให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 201.6 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 467.6 มิลลิเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 403.2 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 669.2 มิลลิเมตร (Table 3)

ฤดูปลูกปี 2564 กรรมวิธีที่ไม่ให้น้ำเสริม ได้รับปริมาณน้ำฝนตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งข้าวโพดอายุ 98 วัน รวม 365.4 มิลลิเมตร กรรมวิธีที่ให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 185 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 550.4 มิลลิเมตร ส่วนกรรมวิธีที่ให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการน้ำของข้าวโพด ให้น้ำเสริมรวม 340 มิลลิเมตร เมื่อรวมกับปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูก ทำให้ข้าวโพดได้รับปริมาณน้ำทั้งหมด 705.4 มิลลิเมตร (Table 3)

Table 3. Amount of rainfall and supplemental water during 2016-2021 cropping seasons.

Cropping seasons	Amount of supplemental water (mm)		
	Rainfed	50%ETC	100%ETC
2016	599.9	707.6	815.2
2017	877.6	887.2	896.8
2018	317.6	630.1	942.6
2019	492.0	636.0	780.0
2020	266.0	467.6	669.2
2021	365.4	550.4	705.4

3. ผลของการให้น้ำต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพด

การวิเคราะห์ผลรวม 2 ปี ของฤดูปลูกปี 2559 และปี 2560 พบว่า การให้น้ำเสริม 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ข้าวโพดให้ผลผลิตสูงสุด เฉลี่ย 1,474 และ 1,451 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ โดยให้ผลผลิตสูงกว่าการปลูกโดยอาศัยน้ำฝนที่ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,370 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อเปรียบเทียบการให้ผลผลิตของข้าวโพดในกรรมวิธีที่ให้น้ำเสริม 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยกับกรรมวิธีที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน จะเห็นได้ว่า การให้น้ำเสริม 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย สามารถเพิ่มผลผลิตข้าวโพดได้เฉลี่ยร้อยละ 7.6 และ 5.9 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า ข้าวโพดพันธุ์ NSX112013 มีการตอบสนองต่อน้ำสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ การให้น้ำเสริม 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ทำให้ข้าวโพดพันธุ์ NSX112013 ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 13.2 และ 8.0 ตามลำดับ (Table 4)

เมื่อเปรียบเทียบการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อายุเก็บเกี่ยวยาวทั้ง 4 พันธุ์ พบว่า พันธุ์ CP888 New ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,578 กิโลกรัมต่อไร่ โดยให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 17.24 รองลงมาได้แก่

พันธุ์ NSX112013 ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,461 กิโลกรัมต่อไร่ และให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 8.54 ในขณะที่พันธุ์ NSX042022 ให้ผลผลิตต่ำสุดเฉลี่ย 1,341 กิโลกรัมต่อไร่ โดยให้ผลผลิตไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์นครสวรรค์ 3 (Table 4)

Table 4. Combined 2-year analysis of grain yield and yield increase of the four hybrid maize cultivars as affected by water management in 2016 and 2017 cropping seasons.

Maize cultivars	Grain yield at 15% moisture content (kg/rai)					Grain yield increase as compared to NS3 (%)	Grain yield increase as compared to rainfed (%)	
	Rainfed	Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc	Mean			Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc
NS3	1,282	1,394	1,361	1,346	c	-	8.8	6.1
NSX042022	1,302	1,346	1,375	1,341	c	- 0.37	3.4	5.6
NSX112013	1,365	1,545	1,474	1,461	b	8.54	13.2	8.0
CP888 New	1,529	1,611	1,593	1,578	a	17.24	5.3	4.2
Mean	1,370 b	1,474 a	1,451 a				7.6	5.9

CV (Irrigation) 4.76%, CV (Cultivar) 4.32%, F-test: Irrigation (*P*<0.01), Cultivar (*P*<0.01), Irrigation x Cultivar (*ns*).
Means followed by the same letter in columns and rows are not significantly different at (P<0.05) by DMRT.

การวิเคราะห์ผลรวม 2 ปี ของฤดูปลูกปี 2561 และปี 2562 พบว่า ผลของการจัดการน้ำและพันธุ์ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพด แต่พบความแตกต่างระหว่างกรรมวิธีการจัดการน้ำ และความแตกต่างระหว่างพันธุ์ โดยกรรมวิธีที่ให้น้ำเสริม 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,214 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ให้น้ำเสริม 50 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,158 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่การปลูกโดยอาศัยน้ำฝนให้ผลผลิตต่ำสุดเฉลี่ย 1,006 กิโลกรัมต่อไร่ การให้น้ำเสริม 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ทำให้ข้าวโพดให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 15.1 และ 20.7 ตามลำดับ (Table 5)

นอกจากนี้ ยังพบว่าข้าวโพดแต่ละพันธุ์ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่า ข้าวโพดพันธุ์ CP888 New ให้ผลผลิตสูงสุด เฉลี่ย 1,278 กิโลกรัมต่อไร่ โดยให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 19.67 ในขณะที่ข้าวโพดพันธุ์ NSX102005 พันธุ์ NSX112017 และพันธุ์นครสวรรค์ 3 ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ เฉลี่ย 1,091 1,067 และ 1,068 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 5)

Table 5. Combined 2-year analysis of grain yield and yield increase of the four hybrid maize cultivars as affected by water management in 2018 and 2019 cropping seasons.

Maize cultivars	Grain yield at 15% moisture content (kg/rai)					Grain yield increase as compared to NS3 (%)	Grain yield increase as compared to rainfed (%)	
	Rainfed	Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc	Mean			Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc
NS3	935	1,104	1,166	1,068	b	-	18.2	24.7
NSX102005	975	1,119	1,178	1,091	b	2.15	14.8	20.9
NSX112017	966	1,098	1,138	1,067	b	- 0.09	13.6	17.7
CP888 New	1,148	1,311	1,376	1,278	a	19.67	14.2	19.9
Mean	1,006 c	1,158 b	1,214 a				15.1	20.7

CV (Irrigation) 3.87%, CV (Cultivar) 5.93%, F-test: Irrigation (*P*<0.01), Cultivar (*P*<0.01), Irrigation x Cultivar (*ns*).
Means followed by the same letter in columns and rows are not significantly different at (P<0.05) by DMRT.

การวิเคราะห์ผลรวม 2 ปี ของฤดูปลูกปี 2563 และปี 2564 พบว่า การจัดการน้ำและพันธุ์ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพด แต่การจัดการน้ำแต่ละระดับทำให้ข้าวโพดให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่า ข้าวโพดที่ให้น้ำเสริม 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,082 และ 1,086 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่ข้าวโพดที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน ให้ผลผลิตต่ำสุดเฉลี่ย 855 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการให้น้ำเสริม 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ทำให้ข้าวโพดให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 26.6 และ 27.1 ตามลำดับ (Table 6)

เมื่อเปรียบเทียบการให้ผลผลิตของข้าวโพดทั้ง 4 พันธุ์ พบว่า พันธุ์ CP888 New ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,119 กิโลกรัมต่อไร่ โดยให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 18.79 รองลงมาได้แก่ พันธุ์ NSX152067 ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,000 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 6.16 ในขณะที่พันธุ์ NSX152097 ให้ผลผลิตเฉลี่ย 970 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างกับพันธุ์นครสวรรค์ 3 ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 942 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 6)

Table 6. Combined 2-year analysis of grain yield and yield increase of the four hybrid maize cultivars as affected by water management in 2020 and 2021 cropping seasons.

Maize cultivars	Grain yield at 15% moisture content (kg/rai)					Grain yield increase as compared to NS3 (%)	Grain yield increase as compared to rainfed (%)	
	Rainfed	Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc	Mean			Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc
NS 3	800	1,021	1,004	942	c	-	27.7	25.5
NSX152067	853	1,051	1,094	1,000	b	6.16	23.2	28.2
NSX152097	847	1,057	1,006	970	bc	2.97	24.9	18.8
CP888 New	919	1,199	1,240	1,119	a	18.79	30.4	35.0
Mean	855 b	1,082 a	1,086 a				26.6	27.1

CV (Irrigation) 10.73%, CV (Cultivar) 7.71%, F-test: Irrigation (*P*<0.01), Cultivar (*P*<0.01), Irrigation x Cultivar (*ns*).
Means followed by the same letter in columns and rows are not significantly different at (P<0.05) by DMRT.

4. ประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพด

การวิเคราะห์ผลรวม 2 ปี ของฤดูปลูกปี 2559 และปี 2560 พบว่า ข้าวโพดมีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงสุดในกรรมวิธีที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝนและกรรมวิธีที่ให้น้ำเสริม 50 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย โดยมีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 1.91 และ 1.88 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่การให้น้ำเสริม 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ทำให้ข้าวโพดมีประสิทธิภาพการใช้น้ำต่ำสุดเฉลี่ย 1.70 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร (Table 7)

Table 7. Combined 2-year of water use efficiency of the four hybrid maize cultivars as affected by water management in 2016 and 2017 cropping seasons.

Maize cultivars	Water use effieicncy (WUE; kg grain yield/mm of water)				WUE difference as compared to NS3 (%)
	Rainfed	Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc	Mean	
NS3	1.79	1.78	1.59	1.72 c	-
NSX042022	1.81	1.71	1.61	1.71 c	- 0.58
NSX112013	1.89	1.97	1.73	1.86 b	8.14
CP888 New	2.13	2.05	1.86	2.01 a	16.86
Mean	1.91 a	1.88 a	1.70 b		

CV (Irrigation) 4.58%, CV (Cultivars) 4.19%, F-test: Irrigation (*P*<0.01), Cultivars (*P*<0.01), Irrigation x Cultivars (*ns*).
Means followed by the same letter in columns and rows are not significantly different at (P<0.05) by DMRT.

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ พบว่า ข้าวโพดพันธุ์ CP888 New มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงสุด เฉลี่ย 2.01 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร โดยมีประสิทธิภาพการใช้น้ำมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 16.86 รองลงมาได้แก่ พันธุ์ NSX112013 ซึ่งมีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 1.86 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร มากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 8.14 ในขณะที่พันธุ์ NSX042022 และพันธุ์นครสวรรค์ 3 มีประสิทธิภาพการใช้น้ำต่ำสุดเฉลี่ย 1.71 และ 1.72 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร (Table 7)

การวิเคราะห์ผลรวม 2 ปี ของฤดูปลูกปี 2561 และปี 2562 พบว่า การจัดการน้ำและพันธุ์มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพด โดยข้าวโพดพันธุ์ CP888 New ที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงสุด เฉลี่ย 3.12 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร รองลงมาได้แก่พันธุ์ NSX112017 พันธุ์ NSX102005 และพันธุ์นครสวรรค์ 3 ที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน ในขณะที่การให้น้ำเสริม 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย ทำให้ข้าวโพดมีประสิทธิภาพการใช้น้ำลดลง (Table 8)

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพดพันธุ์ต่าง ๆ กับพันธุ์นครสวรรค์ 3 พบว่า พันธุ์ CP888New มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 20.86 ในขณะที่พันธุ์ NSX102005 และพันธุ์ NSX112017 มีประสิทธิภาพการใช้น้ำไม่แตกต่างกับพันธุ์นครสวรรค์ 3 (Table 8)

Table 8. Combined 2-year of water use efficiency of the four hybrid maize cultivars as affected by water management in 2018 and 2019 cropping seasons.

Maize cultivars	Water use effieicncy (WUE; kg grain yield/mm of water)				WUE difference as compared to NS3 (%)
	Rainfed	Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc	Mean	
NS3	2.53 b	1.75 d	1.35 f	1.87	-
NSX102005	2.62 b	1.77 d	1.36 f	1.92	2.67
NSX112017	2.64 b	1.74 d	1.31 f	1.89	1.07
CP888 New	3.12 a	2.07 d	1.59 g	2.26	20.86
Mean	2.73	1.83	1.40		

CV (Irrigation) 5.04%, CV (Cultivars) 7.05%, F-test: Irrigation (P<0.01), Cultivars (P<0.01), Irrigation x Cultivars (P<0.05).
Means followed by the same letter in columns and rows are not significantly different at (P<0.05) by DMRT.

การวิเคราะห์ผลรวม 2 ปี ของฤดูปลูกปี 2563 และปี 2564 พบว่า ข้าวโพดที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝนและที่ให้น้ำเสริม 50 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย มีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 2.23 และ 2.20 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีประสิทธิภาพสูงกว่าการให้น้ำเสริม 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหย (Table 9)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ พบว่า ข้าวโพดพันธุ์ CP888 New มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงสุด เฉลี่ย 2.24 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร โดยมีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 22.40 รองลงมา ได้แก่ พันธุ์ NSX152067 และพันธุ์ NSX152097 ซึ่งมีประสิทธิภาพการใช้น้ำ เฉลี่ย 2.06 และ 2.05 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิเมตร สูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 12.57 และ 12.02 ตามลำดับ (Table 9)

Table 9. Combined 2-year water use efficiency of the four hybrid maize cultivars as affected by water management in 2020 and 2021 cropping seasons.

Maize cultivars	Water use effieicncy (WUE; kg grain yield/mm of water)				WUE difference as compared to NS3 (%)
	Rainfed	Irrigation 50%ETc	Irrigation 100%ETc	Mean	
NS3	2.10	1.97	1.42	1.83 c	-
NSX102005	2.22	2.19	1.77	2.06 b	12.57
NSX112017	2.17	2.23	1.74	2.05 b	12.02
CP888 New	2.44	2.40	1.88	2.24 a	22.40
Mean	2.23 a	2.20 a	1.70 b		

CV (Irrigation) 16.00%, CV (Cultivars) 9.61%, F-test: Irrigation (P<0.01), Cultivars (P<0.01), Irrigation x Cultivars (P<0.05)
Means followed by the same letter in columns and rows are not significantly different at (P<0.05) by DMRT.

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. การให้ผลผลิตของข้าวโพด

1.1 การให้น้ำเสริมแก่ข้าวโพดที่ปลูกในดินเหนียวปนทรายแป้งชุดดินสมอทอดในอัตรา 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยน้ำของพืช ทำให้ข้าวโพดให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 7.6-26.6 และ 5.9-27.1 ตามลำดับ

1.2 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ CP888 New ให้ผลผลิตสูงสุด โดยให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 17.24-19.67 รองลงมาได้แก่พันธุ์ NSX112013 พันธุ์ NSX152067 พันธุ์ NSX152097 และพันธุ์ NSX102005 ซึ่งให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 8.54 6.16 2.97 และ 2.15 ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ NSX042022 พันธุ์ NSX112017 ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกับพันธุ์นครสวรรค์ 3

2. ประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพด

2.1 การปลูกข้าวโพดโดยอาศัยน้ำฝนและการให้น้ำเสริม 50 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยน้ำของพืช ข้าวโพดมีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 1.91-2.73 และ 1.83-2.20 กิโลกรัมผลผลิตต่อปริมาณน้ำที่พืชได้รับ 1 มิลลิเมตร สูงกว่าการให้น้ำเสริม 100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการคายระเหยน้ำของพืช ซึ่งมีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 1.40-1.70 กิโลกรัมผลผลิตต่อปริมาณน้ำที่พืชได้รับ 1 มิลลิเมตร

2.2 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ CP888 New มีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 2.01-2.26 กิโลกรัมผลผลิตต่อปริมาณน้ำที่พืชได้รับ 1 มิลลิเมตร สูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 16.86-22.40 รองลงมาได้แก่ พันธุ์ NSX152067 พันธุ์ NSX152097 และพันธุ์ NSX112013 ซึ่งมีประสิทธิภาพการใช้น้ำเฉลี่ย 2.06 2.05 และ 1.86 กิโลกรัมผลผลิตต่อปริมาณน้ำที่พืชได้รับ 1 มิลลิเมตร สูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 3 เฉลี่ยร้อยละ 12.57 12.02 และ 8.14 ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ NSX102005 พันธุ์ NSX112017 และพันธุ์ NSX042022 มีประสิทธิภาพการใช้น้ำไม่แตกต่างกับพันธุ์นครสวรรค์ 3

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้นักวิจัยปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการประเมินศักยภาพของพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง และนักวิจัยด้านเขตกรรมข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สามารถนำข้อมูลดังกล่าวไปใช้ในการจัดการน้ำที่เหมาะสมแก่ข้าวโพดต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

กรมชลประทาน. 2555. ค่าสัมประสิทธิ์พืชโดยวิธี Penman-Monteith. ทะเบียนเผยแพร่วิชาการเลขที่ 0514 4001 2555 05. ส่วนการใช้น้ำชลประทาน สำนักบริหารจัดการน้ำและอุทกวิทยา. 41 น.

กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน. 2544. *คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช.* กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. 164 หน้า.

Asare, D. K., J. O. Frimpong, E. O. Ayeh and H.M. Amoatey. 2011. Water Use Efficiencies of Maize Cultivars Grown under Rain-fed Conditions. *Agricultural Sciences* 2(2): 125-130.

Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer Method Improved for Making Particle Size Analysis of Soil. *Soc. Agro. J.* 54: 465–466.

Carkir, R. 2004. Effect of Water Stress at Dofferent Development Stages on Vegetative and Reproductive Growth of Corn. *Field Crops Research* 89: 1-16.

Denmead, O. T. and R. H. Shaw. 1960. The Effects of Soil Moisture Stress at Different Stages of Growth on the Development and Yield of Corn. *Agronomy Journal* 52: 272-274.

Fageria, N.K., V. C. Baligar, C. A. Jones. 1997. Growth and Mineral Nutrition of Field Crops. 2nd Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker, Inc. New York. 624 P.

FAO. 1986. Irrigation Water Management: Irrigation Water Needs, Chapter 3: Crop Water Needs. FAO Corporate Document Repository. Available: http://www.fao.org/docrep/s2022e/s2022e07.htm, Accesssed Jun. 22, 2017

Grant, F.R., B.S. Jackson, J.R. Kiniry and G.F. Arkin. 1989. Water Deficit Timing Effects on Yield Components in Maize. *Agronomy Journal* 81: 61-65.

Grudloyma, P., T. Budthong, N. Kamlar. 2005. Identification of Tropical Late Yellow Maize under Water Stress Conditions. Pages 132-135. I*n* Proceedings of the Ninth Asian Regional Maize Workshop. September, 5-9 2005. Beijing, China.

Huang, R., C.J. Birch and D.L. Goerge. 2006. Water Use Efficiency in Maize Production – the Challenging and Improvement Strategies. 6th Triennial Conference 2006. Maize Association of Australia.

McIntyre and Loveday, 1974 . Bulk density, pp. 38-42, *In* Methods for Analysis of Irrigated Soils, Loveday, J. (ed). Commonwealth Agricultural Bureaux Technical Commmunication No 54, Farnham Royal, England.

ศึกษาการตอบสนองและการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดหวาน ในกลุ่มดินร่วน-ร่วนเหนียว

Study on Nutrient Response and Uptake of Sweet Corn Grown on Loamy to Clay Loam Soil

ชัชธนพร เกื้อหนุน *สายน้ำ อุดพ้วย* *พีรพงษ์ เชาวนพงษ์* *ทิวาพร ผดุง*
บรรณพิชญ์ สัมฤทธิ์ *กิตจเมธ แจ้งศิริกุล*
Chattanaporn Kueanoon *Sainam Udpuay* *Peerapong Chaowanapong* *Tiwaporn Phadung*
Bhannapitch Samrit *Kitchamet Chaengsirikul*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

A field experiment was conducted in farmer's field at Uthai Thani province, during 2016-2021 to study nutrient response and nutrient uptake of sweet corn on loamy to clay loam soil at Uthai Thani province. Treatments were laid out in Randomized Complete Block (RCB) with four replicates. The treatments consisted of six levels of nitrogen (0 8 16 24 32 and 40 kg N/rai), seven levels of phosphate (0 4 8 12 16 20 and 24 kg P_2O_5/rai) and seven levels of potash (0 6 12 18 24 30 and 36 kg K_2O/rai). Studying the influence of each nutrient was conducted for 2 years, i.e. (1) the 1^{st}-2^{nd} year (2016-2017), studying the response to nitrogen fertilizer and applied phosphate and potash fertilizer according to soil analysis (2) the 3^{rd}-4^{th} year (2018-2019), studying the response to phosphate fertilizer that applied potash fertilizer according to soil analysis but nitrogen fertilizer applied from the result of the first two years of experiment (3) the 5^{th}-6^{th} year (2020-2021), studying the response to potash fertilizer that nitrogen fertilizer applied from the result of the first two years of experiment and phosphate fertilizer applied from the result of the 3^{rd}-4^{th} years of experiment, respectively.

The result showed that applying nitrogen phosphate and potash fertilizer increased unhusked ear fresh weight and plant fresh weight higher than without fertilizer statistically significantly. While sweetness, dry matter of stalk, leave, seed, husk and cob of sweet corn were not significant. Moreover, growing Hybrix 3 variety sweet corn on clay loam soil at Uthai Thani province with low to medium soil organic matter, very high available P and medium to high exchangeable K showed that plants response to nitrogen phosphate and potash fertilizer with quadratic equation by $Y=-0.6989x^2+44.985x+2803$ $R^2=0.9106$, $Y=-3.1704x^2+96.699x+3200$ $R^2=0.6398$ and $Y=-4.2337x^2+119.76x+2727$ $R^2=0.631$, respectively. The amount of total N P and K uptake in plant were 28.2 4.5 and 23.0 kg N P and K/rai, respectively, while the amount of total N P and K lost by yield removal were 11.0 2.4 and 6.6 kg N P and K/rai, respectively. Economic return by VCR method found that nitrogen application at the rate of 16 kg N/rai with phosphate and potash fertilizer at the rate of 4 and 6 kgP_2O_5-K_2O/rai, respectively, can maximize yield and benefit for economic returns in the highest VCR value.

Keywords: Sweet corn, Nitrogen, Phosphorus, Potassium, Nutrient response, Nutrient Uptake

บทคัดย่อ

การศึกษาการตอบสนองและการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดหวานในกลุ่มดินร่วน-ร่วนเหนียว จ.อุทัยธานี ระหว่างปีพ.ศ. 2559-2564 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) 4 ซ้ำ กรรมวิธีคือ ปุ๋ยไนโตรเจน 6 ระดับ คือ 0 8 16 24 32 และ 40 กิโลกรัม N ต่อไร่ ปุ๋ยฟอสเฟต 7 ระดับ คือ 0 4 8 12 16 20 และ 24 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ ปุ๋ยโพแทช 7 ระดับ คือ 0 6 12 18 24 30 และ 36 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ โดยศึกษาอิทธิพลของธาตุอาหารแต่ละชนิด ๆ ละ 2 ปี ปีที่ 1-2 (2559-2560) ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน ใส่ปุ๋ย P และ K ตามค่าวิเคราะห์ดิน ปีที่ 3-4 (2561-2562) ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต ใส่ปุ๋ย N จากผลการทดลองสองปีแรก ส่วนปุ๋ย K ตามค่าวิเคราะห์ดิน ปีที่ 5-6 (2563-2564) ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทช ใส่ปุ๋ย N และ P จากผลการทดลองปี 1-2 และ 3-4 ตามลำดับ

ผลการทดลองพบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชให้ผลผลิตข้าวโพดหวานทั้งเปลือกและน้ำหนักสดต้นสูงกว่ากรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่คุณภาพด้านความหวาน น้ำหนักแห้งต้น ใบ เมล็ด กาบฝักและซังของข้าวโพดไม่แตกต่างกันเลย การปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ในดินร่วนเหนียว จังหวัดอุทัยธานี ที่มีปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ-ปานกลาง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงมาก และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ปานกลาง-สูง ข้าวโพดตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน ดังสมการ $Y=-0.6989x^2+44.985x+2803$ โดยมีค่า $R^2=0.9106$ การตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต ดังสมการ $Y=-3.1704x^2+96.699x+3200$ โดยมีค่า $R^2=0.6398$ และการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทช ดังสมการ $Y=-4.2337x^2+119.76x+2727$ โดยมีค่า $R^2=0.631$ ปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมดของข้าวโพด 28.2 4.5 และ 23.0 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ ขณะที่ปริมาณธาตุอาหารที่สูญเสียไปกับผลผลิต 11.0 2.4 และ 6.6 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ เมื่อวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ ด้วยวิธี VCR พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 16 กิโลกรัม N ต่อไร่ ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชอัตรา 4 และ 6 กิโลกรัม P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์มากที่สุด

คำหลัก: ข้าวโพดหวาน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม การตอบสนองต่อธาตุอาหาร การดูดใช้ธาตุอาหาร

คำนำ

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวานทั้งหมดในปีพ.ศ. 2560 ประมาณ 234,259 ไร่ ผลผลิตรวม 502,711 ตัน ปริมาณผลผลิตเฉลี่ย 2,169 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) มีการส่งออกข้าวโพดหวานสูงเป็นอันดับ 2 ของโลก มูลค่ารวม 6,638 ล้านบาท (ฐานเศรษฐกิจ, 2561) อย่างไรก็ตาม ความต้องการข้าวโพดหวานฝักสดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ทั้งเพื่อใช้บริโภคฝักสดและอุตสาหกรรมส่งออก ซึ่งมีปริมาณผลผลิตยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูป (สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป, 2556)

การผลิตข้าวโพดให้ได้ผลผลิตและมีคุณภาพสูง ต้องมีการจัดการดินและการใช้ปุ๋ยให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ร่วมกับการเลือกใช้พันธุ์ที่ดี เพราะการดูดใช้ธาตุอาหารในพืชแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและดินเป็นสำคัญ ข้าวโพดหวานมีความต้องการไนโตรเจนในปริมาณมาก โดยเฉพาะในระยะออกดอกตัวผู้และตัวเมีย (สันติ, 2541) สุรเดช และพัชราภรณ์ (2529) ศึกษาการให้ปุ๋ยไนโตรเจนกับข้าวโพดในชุดดินกำแพงแสน อัตรา 0, 12, 24 และ 36 กิโลกรัม N ต่อไร่ พบว่าการให้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูงขึ้นจะทำให้ขนาดของฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนแถวต่อฝักและน้ำหนักเมล็ดเพิ่มขึ้นตามอัตราปุ๋ยที่ให้สูงขึ้น สอดคล้องกับกำธร (2530) รายงานว่า การให้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 15 และ 30 กิโลกรัม N ต่อไร่ ส่งผลให้ข้าวโพดมีจำนวนฝัก น้ำหนักฝัก ขนาดฝัก และน้ำหนักเมล็ดต่อต้นสูงกว่าข้าวโพดที่ไม่ได้รับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างเด่นชัด ให้ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในเมล็ด ใบและกาบใบมีความแตกต่างกันทางสถิติ ข้าวโพดที่มีอายุ 10 วัน จะสะสมไนโตรเจนไว้ในใบและลำต้นประมาณ 4.5-4.7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง เมื่อข้าวโพดมีอายุมากขึ้นปริมาณธาตุอาหารที่สะสมจะลดลงเรื่อย ๆ อัตราการลดลงของไนโตรเจนในลำต้นและกาบใบเร็วกว่าในใบ การขาดไนโตรเจนจะชักนำให้ข้าวโพดมีการดูดใช้ฟอสฟอรัสจากดินต่ำลง (สรสิทธิ์ และคณะ, 2511) การผลิตข้าวโพดในชุดดินท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี การใส่ปุ๋ย 20-10-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ได้ผลผลิต 2,002 กิโลกรัมต่อไร่ เปรียบเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ยเลย (ดิสสพันธุ์ และคณะ, 2541) ในขณะที่ การผลิตข้าวโพดในดินเหนียวสีแดง ชุดดินวังไฮ

จังหวัดกาญจนบุรี การใส่มูลวัวหมักอัตรา 1 ตันโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ได้ผลผลิต (2,241 กิโลกรัมต่อไร่) สูงกว่าการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ 20-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และการไม่ใส่ปุ๋ยเลย (สมควร และคณะ, 2551)

ข้าวโพดแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะและมีการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยแตกต่างกัน แต่พบว่าอัตราปุ๋ยที่แนะนำให้ใช้ในปัจจุบัน ยังเป็นคำแนะนำแบบกว้างๆ ไม่ได้เฉพาะเจาะจงกับสภาพพื้นที่ปลูกและสายพันธุ์ ที่มีข้อจำกัดชนิดของดิน ความหนาแน่นดิน สภาพภูมิอากาศ อุณหภูมิ เป็นต้น จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการผลิตต่ำไม่เป็นไปตามเป้าหมาย อีกทั้งข้อมูลพื้นฐานด้านการจัดการธาตุอาหารในการผลิตข้าวโพดที่เหมาะสมกับชนิดของดินยังมีจำกัด จึงมีความจำเป็นต้องพัฒนาคำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับข้าวโพดหวานให้มีความเฉพาะเจาะจงกับสภาพพื้นที่ เพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงการให้คำแนะนำการจัดการดินและการใช้ปุ๋ยสำหรับข้าวโพดหวานให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน พันธุ์ไฮบริกซ์ 3 (Hybrix 3)
2) ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต (21-0-0) ปุ๋ยทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)
3) อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดินและพืช
4) สารเคมีวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืช
5) อุปกรณ์ให้น้ำชลประทาน

วิธีการ

การศึกษาการตอบสนองและการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดหวานในกลุ่มดินร่วน-ร่วนเหนียว ประกอบด้วย 3 การทดลอง ได้แก่

1) ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน (ปีที่ 1-2, 2559-2560)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วยอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 6 ระดับ ได้แก่ 0 8 16 24 32 และ 40 กก.N/ไร่ ใส่ปุ๋ย P และ K ตามค่าวิเคราะห์ดิน ปลูกข้าวโพดวันที่ 4 กุมภาพันธ์ 2559 และ วันที่ 10 มกราคม 2560 เก็บเกี่ยววันที่ 14 เมษายน 2559 และวันที่ 23 มีนาคม 2560

2) ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต (ปีที่ 3-4, 2561-2562)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วยอัตราปุ๋ยฟอสเฟต 7 ระดับ ได้แก่ 0 4 8 12 16 20 และ 24 กก.P_2O_5/ไร่ ใส่ปุ๋ย N จากผลการทดลองสองปีแรก ส่วนปุ๋ย K ใส่ตามค่าวิเคราะห์ดิน ปลูกข้าวโพดวันที่ 23 กุมภาพันธ์ 2561 และ วันที่ 17 มกราคม 2562 เก็บเกี่ยววันที่ 4 พฤษภาคม 2561 และวันที่ 25 มีนาคม 2562

3) ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทช (ปีที่ 5-6, 2563-2564)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วยอัตราปุ๋ยโพแทช 7 ระดับ ได้แก่ 0 6 12 18 24 30 และ 36 กก.K_2O/ไร่ แทช ใส่ปุ๋ย N และ P จากผลการทดลองปีที่ 1-2 และปีที่ 3-4 ปลูกข้าวโพดวันที่ 24 มีนาคม 2563 และ วันที่ 21 ธันวาคม 2564 เก็บเกี่ยววันที่ 6 มิถุนายน 2563 และวันที่ 11 มีนาคม 2564

ไถเตรียมดินและเตรียมแปลงย่อยขนาด 4.5x6.0 เมตร พร้อมเก็บตัวอย่างดินทุกแปลงย่อย ปลูกข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ใช้ระยะปลูก 0.75x0.25 เมตร แล้วถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีครั้งแรก รองพื้นก่อนปลูกด้วย P+K ครั้งที่สอง ที่ข้าวโพดอายุ 14 วันหลังปลูกด้วย ½ N ครั้งที่สาม ที่ข้าวโพดอายุ 25 วันหลังปลูก ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนส่วน

ที่เหลือ โดยใส่ปุ๋ยสองข้างของแถวปลูกพร้อมพรวนดินกลบ ให้น้ำข้าวโพดแบบน้ำพุ่ง ปริมาณและระยะถี่บ่อยในการให้น้ำโดยการสังเกตจากความชื้นในดินเป็นหลัก

<u>การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน</u>

เก็บตัวอย่างดินก่อนและหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร วิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) โดยเครื่อง pH meter อัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:1 (Davis, 1943) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (Organic matter) โดยวิธี Walkley and Black Titration (Walkley and Black, 1934) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available phosphorus) สกัดโดยวิธี Bray II และ วิเคราะห์ปริมาณโดยวิธี Colorimetric method (Bray and Kurtz, 1945) ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นแลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable potassium) สกัดโดยวิธี NH_4OAc pH7 วิเคราะห์ปริมาณโดย Atomic Absorption Spectrophotometer (Pratt, 1965)

<u>การวิเคราะห์ธาตุอาหารในตัวอย่างพืช</u>

เก็บตัวอย่างพืชที่ระยะเก็บเกี่ยว จำนวน 2 ต้นต่อแปลงย่อย แยกเป็นส่วนของลำต้น ใบ เมล็ด ซังและกาบฝัก ชั่งน้ำหนักสด อบแห้ง บดละเอียดวิเคราะห์หาปริมาณและการดูดใช้ธาตุอาหาร N P K โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total N) ย่อยสลายด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น (conc. H_2SO_4) และตัวเร่งปฏิกิริยา วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี Micro-Kjeldahl method (Bremner, 1960) ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total P) ในวิธีของ Piper (1966) คือ wet oxidation โดยย่อยตัวอย่างพืชด้วยกรดผสมเข้มข้ม ($HClO_4$+HNO_3; อัตราส่วน 1:2) นำสารละลายที่ย่อยได้บางส่วนไปทำให้เกิดสีด้วยน้ำยา Molybdate-vanadate และวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด (Total K) นำตัวอย่างพืชไปย่อยสลายโดยวิธี wet oxidation เช่นเดียวกับการหาฟอสฟอรัสทั้งหมด นำสารละลายที่ได้วัดด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (Piper, 1966)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

เก็บเกี่ยวในพื้นที่ 15 $ม^2$ ผลผลิต คุณภาพด้านความหวาน (^oBrix) น้ำหนักสด-แห้งของลำต้น ใบ เมล็ด ซังและกาบฝัก ปริมาณและการดูดใช้ธาตุอาหาร N P K ในลำต้น ใบ เมล็ด ซังและกาบฝัก วิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจโดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือ ค่า Value to Cost Ratio (VCR) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (analysis of variance) วัดประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ย N P K ของข้าวโพดหวาน ตามวิธีของ Fageria *et. al*. (1997) โดยการคำนวณ (1) Agronomic Nutrient Use Efficiency (ANUE) (2) Physiological Nutrient Use Efficiency (PNUE) และ (3) Apparent Nutrient Recovery Efficiency (ANRE) ดังนี้

$$\text{ANUE (กก./กก.)} = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย N, P หรือ K) - ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย N, P หรือ K)}}{\text{ปริมาณปุ๋ย N, P หรือ K ที่ใส่}}$$

$$\text{PNUE (กก./กก.)} = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย N, P หรือ K) - ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย N, P หรือ K)}}{\text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N, P หรือ K) - ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N, P หรือ K)}}$$

$$\text{ANRE (\%)} = \frac{\text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N, P หรือ K) - ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N, P หรือ K)}}{\text{ปริมาณปุ๋ย N, P หรือ K ที่ใส่}} \times 100$$

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง - แปลงเกษตรกร ตำบลเกาะเทโพ อำเภอเมืองอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี
- กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1.สมบัติของดินก่อนปลูก

ดินในพื้นที่ทดลองเป็นดินร่วนเหนียว เป็นกรดจัด-กรดปานกลาง (pH 5.4-6.0) ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับต่ำถึงปานกลาง (0.94-1.77 เปอร์เซ็นต์) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับสูงมาก (88-133 มิลลิกรัม P ต่อกิโลกรัม) โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในระดับปานกลาง-สูง (71-116 มิลลิกรัม K ต่อกิโลกรัม) (Table 1) จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน แนะนำการใช้ปุ๋ยในการผลิตข้าวโพดหวานอัตรา 20-5-10 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่

Table 1 Soil properties before planting sweet corn at Uthai Thani province in 2016-2021

Years	pH (soil:water, 1:1)	Organic Matter (%)	Available P ($mgkg^{-1}$)	Exchangeable K ($mgkg^{-1}$)
1^{st}-2^{nd} year	5.4	1.34	103	94
3^{rd}-4^{th} year	5.4	0.94	88	71
5^{th}-6^{th} year	6.0	1.77	133	116

2. ผลผลิตข้าวโพดหวาน

2.1 ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพด

ผลผลิตข้าวโพดทั้งเปลือกในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนแตกต่างกับกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ได้ผลผลิตฝักทั้งเปลือกต่ำสุด 2,803 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 2) เปรียบเทียบกรรมวิธีปุ๋ยไนโตรเจนแต่ละอัตรา (8 16 24 32 และ 40 กิโลกรัม N ต่อไร่) จะให้ผลผลิตไม่มีความแตกต่างกัน มีค่า 3,213 3,419 3,353 3,510 และ 3,525 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แม้การตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอัตราปุ๋ยที่ใส่เพิ่มก็ตาม เมื่อนำปริมาณผลผลิตฝักไปหาความสัมพันธ์กับอัตราปุ๋ยไนโตรเจน พบว่ามีความสัมพันธ์แบบ quadratic ตามสมการ $Y=-0.6989x^2+44.985x+2803$ โดยมีค่า $R^2=0.9106$ (Figure 1) ซึ่งปริมาณผลผลิตฝักและน้ำหนักสดต้นเป็นไปในทิศทางเดียวกัน (Table 2)

2.2 ผลของการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพด

อิทธิพลของปุ๋ยฟอสเฟตต่อผลผลิตข้าวโพดทั้งเปลือกในทุกกรรมวิธีปุ๋ย (4 8 12 16 20 และ 24 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่) ไม่แตกต่างกัน (3,838 3,788 3,771 3,827 3,949 และ 3,708 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ) แต่สูงกว่ากรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอย่างเด่นชัด ซึ่งได้ผลผลิตต่ำสุด 3,200 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 2) ผลผลิตฝักมีความสัมพันธ์กับอัตราปุ๋ยฟอสเฟต แบบ quadratic ตามสมการ $Y=-3.1704x^2+96.699x+3200$ โดยมีค่า $R^2=0.6398$ (Figure 2) อิทธิพลของปุ๋ยฟอสเฟตต่อน้ำหนักสดต้นเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับผลผลิตฝัก (Table 2)

2.3 ผลของการใช้ปุ๋ยโพแทชต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพด

ผลผลิตฝักทั้งเปลือกของข้าวโพดในกรรมวิธีที่ได้รับการใส่ปุ๋ยโพแทชสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยโพแทชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การให้ปุ๋ยโพแทชอัตรา 6 12 18 24 30 และ 36 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ได้ผลผลิต 3,517 3,368 3,458 3,440 3,488 และ 3,193 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยโพแทชได้ผลผลิต 2,727 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 2) ปริมาณผลผลิตฝักกับอัตราปุ๋ยโพแทชมีความสัมพันธ์แบบ quadratic ตามสมการ $Y=-4.2337x^2+119.76x+2727$ โดยมีค่า $R^2=0.631$ (Figure 3) ปริมาณผลผลิตฝักและน้ำหนักสดต้นเป็นไปในทิศทางเดียวกัน (Table 2)

Khan *et. al*. (2018) รายงานว่า การปลูกข้าวโพดหวานในดินร่วนเหนียวปนทรายที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในดินต่ำ แต่โพแทสเซียมในดินปานกลาง การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 4.5 9.6 14.4 และ 19.2 กิโลกรัม N ต่อไร่ จะให้ผลผลิต 34%, 44%, 52% และ 54% ตามลำดับ และสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 19.2 กิโลกรัม N ต่อไร่ ถือว่าให้ผลคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ หากปลูกข้าวโพดในดินที่มีฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม 54 และ 94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การใส่ปุ๋ย 19.2-9.6-14.4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับการให้น้ำทุกๆ 2 วัน จะได้รับผลผลิตข้าวโพดสูงสุด (Muhumed *et. al.,* 2014) แต่หากดินมีปริมาณฟอสฟอรัสสูง การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตจะไม่ช่วยเพิ่มผลผลิต

และคุณภาพของข้าวโพดหวาน (Geleta *et. al.,* 2004) การปลูกข้าวโพดหวานในชุดดินแม่ริม จ.เชียงใหม่ ที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ ให้ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 25-30 กิโลกรัม N ต่อไร่ (Kaweewong and Moonta, 2020)

3. องค์ประกอบของผลผลิตข้าวโพดหวาน

3.1 ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่อองค์ประกอบของผลผลิตข้าวโพด

ความหวานของข้าวโพดที่ได้รับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่างๆมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน 14.3-14.9 องศาบริกซ์ เพราะการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูงจะทำให้ soluble sugar ลดลง แต่ปริมาณไลซีนในเมล็ด (kernel) เพิ่มขึ้น (Wu *et. al*., 1993) จากการเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งลำต้น เมล็ด กาบฝัก ซังและใบของข้าวโพดที่ได้รับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่างๆนั้น พบว่าทุกกรรมวิธีปุ๋ยไม่ทำให้ค่าดังกล่าวแตกต่างกัน (Table 2)

3.2 ผลของการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตต่อองค์ประกอบของผลผลิตข้าวโพด

การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอัตราต่างๆให้คุณภาพด้านความหวานไม่แตกต่างกัน อยู่ในช่วง 14.2-14.6 องศาบริกซ์ ในขณะที่น้ำหนักแห้งลำต้น เมล็ด กาบฝัก ซังและใบเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับผลผลิตของข้าวโพด (Table 2)

3.3 ผลของการใช้ปุ๋ยโพแทชต่อองค์ประกอบของผลผลิตข้าวโพด

การจัดการปุ๋ยโพแทชอัตราต่างๆให้คุณภาพความหวาน (13.9-14.4 องศาบริกซ์) ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยเลย (13.9 องศาบริกซ์) Risorto (2008) รายงานว่า ราสเบอร์รี่ที่ได้รับปุ๋ยโพแทช 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีความหวาน (10.6 องศาบริกซ์) สูงกว่าการใส่ปุ๋ยโพแทชอัตรา 0 และ 67 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (10.2 และ 10.3 องศาบริกซ์) จากการเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งลำต้น เมล็ด กาบฝัก ซังและใบของข้าวโพดที่ได้รับการใส่ปุ๋ยโพแทชอัตราต่างๆนั้น พบว่าทุกกรรมวิธีปุ๋ยไม่ทำให้ค่าดังกล่าวแตกต่างกัน (Table 2)

Table 2 Yield and yield components of sweet corn grown at Uthai Thani province in 2016-2021

Treatments	Unhusk ear fresh wt.[1/]	Plant fresh wt.[1/]	Brix [1/]	Dry Matter (kg/rai)[1/]				
	(kg/rai)	(kg/rai)	(°Brix)	Seed	Stalk	Leave	Cob	Husk
Nitrogen (kg N/rai)								
0	2,803b	3,758b	14.6	306	499	382	141b	323
8	3,213a	4,581a	14.2	361	542	473	169b	351
16	3,419a	4,382a	14.5	345	573	471	166b	339
24	3,353a	4,372a	14.9	353	532	461	166b	369
32	3,510a	4,485a	14.3	346	506	447	163b	365
40	3,525a	4,401a	14.3	367	460	447	214a	361
mean	3,304	4,329	14.5	346	519	447	170b	351
CV. (%)	7.6	7.7	4.5	14.5	17.8	11.8	11.1	15.3
Phosphate (kg P_2O_5/rai)								
0	3,200c	3,621b	12.8	389	446b	494	191c	220
4	3,838ab	4,360a	12.4	479	510ab	548	226ab	239
8	3,788ab	4,335a	12.4	483	487ab	548	216b	239
12	3,771ab	4,219a	12.7	476	539a	543	218ab	211
16	3,827ab	4,286a	13.0	483	548a	638	224ab	254
20	3,949ab	4,622a	12.1	487	535a	608	235a	250
24	3,708b	4,216a	13.0	465	532a	522	219ab	246
mean	3,726	4,237	12.6	466	514	557	218	237
CV. (%)	5.0	9.9	3.0	9.1	13.5	18.6	7.2	13.0
Potash (kg K_2O/rai)								
0	2,727b	4,677b	13.9	321b	522	558	170b	165
6	3,517a	5,703a	14.1	414a	599	709	233a	206
12	3,368a	5,140a	13.9	393ab	578	574	216a	203
18	3,458a	5,510a	14.0	441a	557	665	240a	196

Treatments	Unhusk ear fresh wt.[1/]	Plant fresh wt.[1/]	Brix [1/]	Dry Matter (kg/rai)[1/]				
	(kg/rai)	(kg/rai)	(°Brix)	Seed	Stalk	Leave	Cob	Husk
24	3,440a	5,413a	14.4	433a	579	740	242a	208
30	3,488a	5,507a	14.3	408a	634	630	235a	212
36	3,193a	5,514a	14.4	377ab	561	665	220a	199
mean	3,313	5,352	14.2	398	576	649	222	198
CV.(%)	6.7	9.3	5.8	10.8	10.6	16.8	12.4	12.9

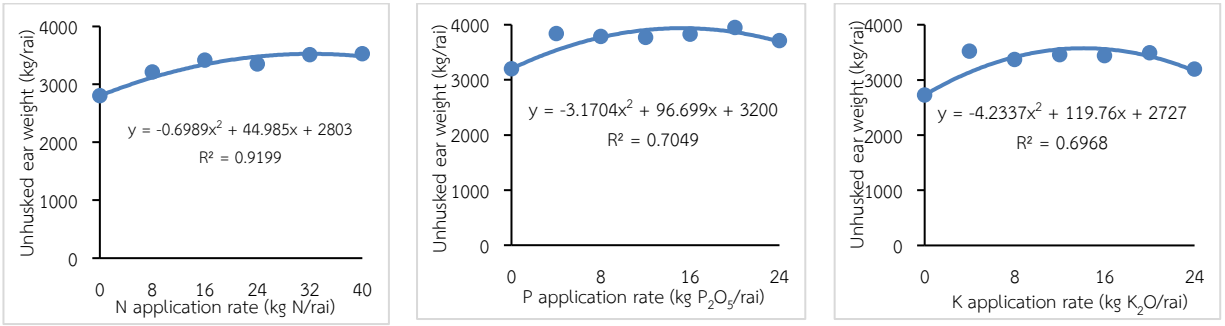


Figure 1-3 Response curve of N P K fertilizers and sweet corn yield

4. ปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดหวาน

4.1 ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่อปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของปุ๋ย

การไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ข้าวโพดมีการดูดใช้ไนโตรเจนต่ำสุด (21.99 กิโลกรัม N ต่อไร่) จึงส่งผลให้ปริมาณผลผลิตข้าวโพดต่ำ (2,803 กิโลกรัมต่อไร่) และต่ำกว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราอื่นๆที่ทำให้ข้าวโพดมีการดูดใช้ธาตุอาหารไนโตรเจน 25.34 26.3 25.92 25.38 และ 25.42 กิโลกรัม N ต่อไร่ และให้ผลผลิต 3,213 3,419 3,353 3,510 และ 3,525 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งปริมาณผลผลิตมีความสัมพันธ์กับปริมาณการดูดใช้ไนโตรเจน แบบ quadratic ตามสมการ $Y=5.7738x^2-125.15x+2803$ โดยมีค่า $R^2=0.7573$ (Figure 4) Seepaul *et. al*. (2019) รายงานว่า การเพิ่มอัตราปุ๋ยไนโตรเจนให้กับพืช จะมีผลทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในเมล็ดและตอซังเพิ่มตามไปด้วย

การนำต้นข้าวโพดออกไปจากพื้นที่ทำให้สูญเสียไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม 15.1 1.8 และ 15.9 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ เทียบเท่าเนื้อปุ๋ย 15.1 4.2 และ 19.0 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2O ต่อไร่ ที่น้ำหนักแห้ง 966 กิโลกรัมต่อไร่ หากนำผลผลิตฝักที่มีเมล็ด กาบฝักและซังออกไปด้วยที่น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 346 351 และ 170 กิโลกรัมต่อไร่ ความเข้มข้นของธาตุอาหาร 0.81-1.80, 0.15-0.29 และ 0.76-1.02 เปอร์เซ็นต์ N, P และ K ตามลำดับ จะสูญเสียธาตุอาหาร 10.6 1.8 และ 7.8 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ หรือเทียบเท่ากับปุ๋ย 10.6 4.2 และ 9.4 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ แต่การนำทั้งต้นและฝักออกไปนอกพื้นที่ ธาตุอาหารทั้งหมดที่สูญเสีย 25.7 8.4 และ 28.4 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2O ต่อไร่ต่อฤดู (Table 3)

4.2 ผลของการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตต่อปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของปุ๋ย

การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตทำให้ข้าวโพดมีการดูดใช้ฟอสฟอรัส 4.72 4.85 4.48 4.95 4.72 และ 4.33 กิโลกรัม P ต่อไร่ ส่งผลให้ได้รับผลผลิตข้าวโพดทั้งเปลือก 3,838 3,788 3,771 3,827 3,949 และ 3,708 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าข้าวโพดที่ไม่ได้รับการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตที่มีปริมาณการดูดใช้ฟอสฟอรัส 3.99 กิโลกรัม P ต่อไร่ และให้ผลผลิตข้าวโพดทั้งเปลือก 3,200 กิโลกรัมต่อไร่ โดยปริมาณผลผลิตมีความสัมพันธ์กับปริมาณการดูดใช้ฟอสฟอรัส แบบ quadratic ตามสมการ $Y=107.41x^2-379.1x+3200$ โดยมีค่า $R^2=0.6599$ (Figure 5)

ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่สูญเสียไปกับต้น 18.4 2.1 และ 17.1 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ เทียบเท่าเนื้อปุ๋ย 18.4 4.8 และ 20.5 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2O ต่อไร่ ที่น้ำหนักแห้ง 1,073 กิโลกรัมต่อไร่ การนำผลผลิตฝักซึ่งเป็นส่วนของเมล็ด กาบฝักและซังออกไปที่มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 465 238 และ 219 กิโลกรัมต่อไร่ ความเข้มข้นของธาตุอาหาร 0.86-1.85, 0.16-0.40 และ 0.54-0.90 เปอร์เซ็นต์ N, P และ K ตามลำดับ จะสูญเสียธาตุอาหาร 11.9 2.7 และ 6.7

กิโลกรัม N P K ต่อไร่ หรือเทียบเท่ากับปุ๋ย 11.9 6.2 และ 8.0 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ แต่หากนำต้นและฝักออกไปจากพื้นที่ จะสูญเสียธาตุอาหารทั้งหมด 30.3 11.0 และ 28.6 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2O ต่อไร่ต่อฤดู (Table 3)

4.3 ผลของการใช้ปุ๋ยโพแทชต่อปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของปุ๋ย

การใส่ปุ๋ยโพแทชทำให้ปริมาณการดูดใช้โพแทสเซียมในข้าวโพดมีค่า 24.06 19.26 21.77 22.24 22.50 และ 22.51 กก.K/ไร่ ส่งผลให้ได้รับผลผลิตข้าวโพดทั้งเปลือก 3,517 3,368 3,458 3,440 3,488 และ 3,193 กก./ไร่ ซึ่งไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่าข้าวโพดที่ไม่ได้รับการใส่ปุ๋ยโพแทชที่มีการดูดใช้โพแทสเซียม 17.26 กก.K/ไร่ และที่ผลผลิต 2,727 กก./ไร่ ปริมาณผลผลิตมีความสัมพันธ์กับปริมาณการดูดใช้โพแทสเซียม แบบ quadratic ตามสมการ $Y=3.5501x^2-49.406x+2727$ โดยมีค่า $R^2=0.6216$ (Figure 5) พืชสามารถดูดใช้ปุ๋ยโพแทชได้เพิ่มขึ้นตามอัตราปุ๋ยที่สูงขึ้น แต่ไม่ทำให้ผลผลิตเพิ่มหรือแม้ความเข้มข้นของธาตุอาหารในเนื้อเยื่อจะเพิ่มขึ้น ก็ไม่ทำให้การเจริญเติบโตและผลผลิตสัมพัทธ์ของพืชเพิ่ม เรียกว่า พืชดูดใช้ธาตุอาหารแบบฟุ่มเฟือย (luxury consumption) สอดคล้องกับ Mohammad and Ayadi, (2004), Torabian *et. al*., (2021) Wijk *et. al*., (2003) Fahrurrozi *et. al*. (2018) รายงานว่า เมื่อมีการดูดใช้โพแทสเซียมทำให้ผลผลิตข้าวโพดเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน แต่ไม่ทำให้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในใบเพิ่มขึ้นแต่อย่างใด

การนำต้นข้าวโพดน้ำหนักแห้ง 1,225 กิโลกรัมต่อไร่ ออกไปจากพื้นที่ จะสูญเสียธาตุอาหาร 18.3 2.3 และ 16.2 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ เทียบเท่าเนื้อปุ๋ย 18.3 5.3 และ 19.4 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2O ต่อไร่ แต่การนำผลผลิตฝักออกไปนอกพื้นที่ ๆ มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 398 198 และ 222 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ความเข้มข้นของธาตุอาหาร 0.57-1.81, 0.10-0.31 และ 0.52-0.86 เปอร์เซ็นต์ N, P และ K ตามลำดับ จะสูญเสียธาตุอาหาร 10.4 2.8 และ 5.3 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ เทียบเท่ากับปุ๋ย 10.4 6.4 และ 6.4 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ แต่การนำทั้งฝักและต้นข้าวโพดออกไปทำให้ธาตุอาหารทั้งหมดที่สูญเสีย 28.7 11.7 และ 25.8 กิโลกรัม N P_2O_5 K_2Oต่อไร่ต่อฤดู (Table 3)

จะเห็นว่า การปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ในดินร่วนเหนียว จังหวัดอุทัยธานี ข้าวโพดมีการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมด 28.2 4.5 และ 23.0 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ ในขณะที่ธาตุอาหารที่ติดไปกับผลผลิต 11.0 2.4 และ 6.6 กิโลกรัม N P K ต่อไร่

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยโพแทชมีผลต่อการดูดใช้ไนโตรเจนและโพแทสเซียมในฝัก จึงทำให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นชัดเจนสูงกว่าการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต หรือ อาจเป็นเพราะดินมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูง การตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตจึงไม่ชัดเจน สอดคล้องกับ Geleta *et. al*. (2004) สมศักดิ์ และคณะ (2563) รายงานว่า ปริมาณการสะสมของฟอสฟอรัสในผลแตงกวาที่เพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยพบสหสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างผลผลิตและการดูดใช้ฟอสฟอรัส (r= 0.84**) ที่ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง (r=0.84**) และให้ค่าสหสัมพันธ์กำหนด (R2) เท่ากับ 0.71

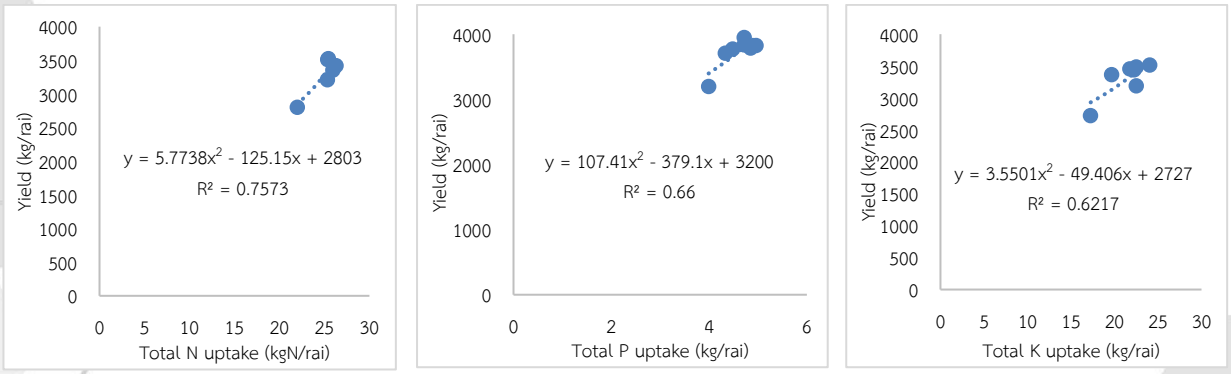


Figure 4-6 Relationship between sweet corn yield and total N P K uptake in sweet corn

Table 3 Nutrient removal in sweet corn production

Plant parts	Dry matter	Nutrient concentration (%)			Amount of nutrient (kg/rai)		
	(kg/rai)	N	P	K	N	P	K
			1st-2nd year				
Stalk	519	1.03	0.13	1.47	5.33	0.66	7.57
Leave	447	2.19	0.26	1.84	9.77	1.17	8.28
Seed	346	1.80	0.29	1.02	6.24	1.01	3.60
Husk	351	0.81	0.15	0.76	2.86	0.52	2.65
Cob	170	0.89	0.18	0.92	1.51	0.31	1.55
Total	1,833				25.71	3.67	23.65
			3rd-4th year				
Stalk	515	0.90	0.11	1.19	4.75	0.56	6.52
Leave	558	1.99	0.25	1.68	13.67	1.56	10.55
Seed	465	1.85	0.40	0.90	7.99	1.85	4.20
Husk	238	0.88	0.16	0.54	2.04	0.38	1.26
Cob	219	0.86	0.20	0.59	1.89	0.43	1.28
Total	1,995				30.34	4.78	23.81
			5th-6th year				
Stalk	576	0.83	0.12	1.04	4.79	0.67	5.97
Leave	649	2.08	0.25	1.57	13.53	1.60	10.20
Seed	398	1.81	0.31	0.61	7.17	1.23	2.41
Husk	198	0.57	0.10	0.86	1.13	1.13	1.70
Cob	222	0.93	0.18	0.52	2.05	0.39	1.16
Total	2,043				28.67	6.68	21.44

5. ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยของข้าวโพดหวาน

ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยแสดงถึงความสามารถของพืชในการให้ผลผลิตต่อหน่วยของปุ๋ยที่ใช้ เป็นความสามารถในการดึงดูดธาตุอาหารไปสะสมไว้ในต้นแล้วเปลี่ยนเป็นผลผลิต (Moll *et. al.,* 1982) ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของธาตุอาหารจากปุ๋ย หาได้โดยการวัดประสิทธิภาพการผลิตพืชและประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารจากปุ๋ย

5.1 ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของข้าวโพด

เมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนข้าวโพดจะดูดใช้ไนโตรเจนสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย (Figure 4) การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการผลิตและการใช้ไนโตรเจนจากปุ๋ยจะลดลง เพราะมีการสูญเสียของปุ๋ยในดินเกิดขึ้น โดยมีค่า 54 39 23 22 และ 18 กก./กก.N และ 50% 28% 10% 9% และ 5% ตามลำดับ การใช้ปุ๋ยอัตราต่ำจะให้ ANUE สูงเพราะพืชต้องการใช้ปุ๋ยให้เพียงพอต่อการเจริญเติบโต แต่การใช้ปุ๋ยอัตราสูงให้ค่า ANUE และ ANRE ต่ำ เพราะมีปุ๋ยเพียงพอกับความต้องการของพืชอยู่แล้ว (พืชเขตร้อน ANRE มีค่า 30-50%) ส่วนผลผลิตข้าวโพดที่ได้ต่อหน่วยของธาตุอาหารจากปุ๋ยไนโตรเจนที่พืชดูดใช้ (PNUE) พบว่าการใส่ปุ๋ยอัตรา 16 32 และ 40 กก.N/ไร่ ให้ประสิทธิภาพเชิงสรีระหรือผลผลิตเพิ่มใกล้เคียงกัน (166 192 และ 225 กก./กก.N) และมีค่าสูงสุด (Table 4) โดยปกติถ้า PNUE มากกว่า 60 กก./กก.ธาตุอาหาร จัดว่าให้ปุ๋ยได้เหมาะสมกับความต้องการของพืช (Fixen *et. al*., 2014)

5.2 ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตของข้าวโพด

การเพิ่มอัตราปุ๋ยฟอสเฟตไม่ทำให้การดูดใช้ฟอสฟอรัสในข้าวโพดเพิ่มขึ้นต่างกัน (Figure 5) แต่ประสิทธิภาพการผลิตและการใช้ฟอสฟอรัสจากปุ๋ยจะลดลง เมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟตเพิ่มมากขึ้น (160 74 48 39 37 และ 21 กก./กก.P และ 18.3% 10.9% 4.1% 5.4% 3.6% และ 1.5% ตามลำดับ) ส่วนผลผลิตของข้าวโพดที่ได้ต่อหน่วยของธาตุอาหารจากปุ๋ยฟอสเฟตที่พืชดูดใช้ (PPUE) พบว่า การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 4 8 12 16 20 และ 24 กก.P_2O_5/ไร่ ให้ประสิทธิภาพเชิงสรีระหรือผลผลิตเพิ่ม 1,032 806 3,421 749 1,150 และ 1,021 กก./กก.P ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกัน (Table 4)

5.3 ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยโพแทชของข้าวโพด

การใส่ปุ๋ยโพแทชให้อัตราการดูดใช้โพแทสเซียมในข้าวโพดใกล้เคียงกัน (Figure 6) แต่การใส่ปุ๋ยโพแทชเพิ่มมากขึ้น ประสิทธิภาพการผลิตและการใช้ธาตุอาหารโพแทสเซียมจากปุ๋ยนั้นลดลง โดยมีค่า 132 48 38 30 25 และ 17 กก./กก.K และ 113% 20% 25% 21% 17% และ 15% ตามลำดับ ส่วนปริมาณผลผลิตข้าวโพดที่ได้ต่อหน่วยของธาตุอาหารจากปุ๋ยโพแทชที่พืชดูดใช้ (PPUE) จะให้ประสิทธิภาพเชิงสรีระหรือผลผลิตเพิ่มไม่แตกต่างกัน มีค่าอยู่ในช่วง 114 340 159 148 148 และ 87 กก./กก.K ภายใต้การจัดการปุ๋ยโพแทชตามอัตรา 6 12 18 24 30 และ 36 กก.K_2O/ไร่ ตามลำดับ (Table 4)

Fageria *et. al.* (2014) รายงานว่า พืชมีประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนประมาณ 30–60 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียม 30–50 เปอร์เซ็นต์

Table 4 Fertilizer use efficiency on sweet corn production

Items	Nitrogen (kg N/rai)					*P*
	8	16	24	32	40	
N removal (kg N/rai)	26	29	26	26	27	ns
Agronomic N Use Efficiency (kg/kg N)	54	39	23	22	18	*
Physiological N Use Efficiency (kg/kg N)	92	166	113	225	192	ns
Apparent N Recovery Efficiency (%)	50	28	10	9	5	ns

	Phosphate (kg P_2O_5/rai)						*P*
	4	8	12	16	20	24	
P removal (kg P/rai)	4.7	4.9	4.5	5.0	4.7	4.3	ns
Agronomic P Use Efficiency (kg/kg P)	160	74	48	39	37	21	**
Physiological P Use Efficiency (kg/kg P)	1032	806	3421	749	1150	1021	ns
Apparent P Recovery Efficiency (%)	18.3	10.9	4.1	5.4	3.6	1.5	**

	Potash (kg K_2O/rai)						*P*
	6	12	18	24	30	36	
K removal (kg K/rai)	24	20	22	22	22	22	ns
Agronomic K Use Efficiency (kg/kg K)	132	48	38	30	25	17	**
Physiological K Use Efficiency (kg/kg K)	141	340	159	148	148	87	ns
Apparent K Recovery Efficiency (%)	113	20	25	21	17	15	**

6.ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการใช้ปุ๋ยในการผลิตข้าวโพดหวาน

เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจโดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือ ค่า Value to Cost Ratio (VCR) พบว่า การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 16 กก.N/ไร่ ให้ผลตอบแทนสุทธิและค่า VCR สูงสุด ส่วนการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชอัตรา 4 และ 6 กก.P_2O_5-K_2O/ไร่ ได้ผลผลิตเพิ่มและค่า VCR สูงสุด ดังนั้น การผลิตข้าวโพดหวานในดินร่วนเหนียว จ.อุทัยธานี ที่มีอินทรียวัตถุต่ำ-ปานกลาง ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน

สูงมากและโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินปานกลาง-สูง แนะนำใส่ปุ๋ยอัตรา 16-4-6 กก.N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ซึ่งถือว่าคุ้มค่ากับการลงทุนที่ให้ผลตอบแทนในค่า VCR สูงสุด (Table 5)

Table 5 Economic return in sweet corn production

Treatments (kg N-P_2O_5-K_2O/rai)	Yield (kg/rai)	Increased Yield (kg/rai)	Gross return (Baht/rai)	Cost of fertilizer (Baht/rai)	Net return (Baht/rai)	Value/cost ratio (VCR)
1^{st}-2^{nd} year						
T1 (0-5-10)	2,803	0	0	508	-	-
T2 (8-5-10)	3,213	410	2,050	770	1,280	3
T3 (16-5-10)	3,419	616	3,080	1,033	2,047	3
T4 (24-5-10)	3,353	550	2,750	1,296	1,454	2
T5 (32-5-10)	3,510	707	3,535	1,559	1,976	2
T6 (40-5-10)	3,525	722	3,610	1,822	1,788	2
3^{rd}-4^{th} year						
T1 (16-0-10)	3,200	0	0	751	-	-
T2 (16-4-10)	3,838	638	3,190	977	2,964	14
T3 (16-8-10)	3,788	588	2,940	1,203	2,488	7
T4 (16-12-10)	3,771	571	2,855	1,429	2,177	4
T5 (16-16-10)	3,827	627	3,135	1,655	2,231	3
T6 16-20-10	3,949	749	3,745	1,881	2,615	3
T7 (16-24-10)	3,708	508	2,540	2,107	1,183	2
5^{th}-6^{th} year						
T1 (16-4-0)	2,727	0	0	752	-	-
T2 (16-4-6)	3,517	790	3,950	887	3,815	29
T3 (16-4-12)	3,368	641	3,205	1,022	2,935	12
T4 (16-4-18)	3,458	731	3,655	1,157	3,250	9
T5 (16-4-24)	3,440	713	3,565	1,292	3,025	7
T6 (16-4-30)	3,488	761	3,805	1,427	3,130	6
T7 (16-4-36)	3,193	466	2,330	1,562	1,520	3

* 21-0-0=6.90 Baht/kg N, 0-46-0=26.00 Baht/kg P_2O_5, 0-0-60=13.50 Baht/kg K_2O, Sweet corn pirce 6.40 Baht/kg

7. ผลวิเคราะห์ดินหลังปลูก

7.1 ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่อสมบัติทางเคมีของดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพด

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนส่งผลให้พีเอชของดินอยู่ในช่วง 4.4-5.5 อินทรียวัตถุอยู่ในช่วง 1.29-1.45% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในช่วง 127-131 มก.P/กก. และ 88-105 มก.K/กก. ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีปุ๋ย (Table 6)

7.2 ผลของการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตต่อสมบัติทางเคมีของดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพด

การจัดการปุ๋ยฟอสเฟตตามกรรมวิธีปุ๋ยต่างๆไม่ทำให้ค่าพีเอชของดิน อินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินแตกต่างกันทางสถิติ โดยพีเอชของดินอยู่ในช่วง 4.5-4.9 อินทรียวัตถุอยู่ในช่วง 1.09-1.50% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในช่วง 53-70 มก.P/กก. และ 81-95 มก.K/กก. (Table 6)

7.1 ผลของการใช้ปุ๋ยโพแทชต่อสมบัติทางเคมีของดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพด

การจัดการปุ๋ยโพแทชให้ค่าพีเอชของดินอยู่ในช่วง 4.2-4.4 อินทรียวัตถุอยู่ในช่วง 1.66-1.93% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน อยู่ในช่วง 118-143 มก.P/กก. และ 41-104 มก.K/กก. ซึ่งไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีปุ๋ย (Table 6)

Table 6 Soil properties after planting sweet corn at Uthai Thani province in 2016-2021

Treatments	pH (soil:water, 1:1)	Organic Matter (%)	Available P ($mgkg^{-1}$)	Exchangeable K ($mgkg^{-1}$)
Nitrogen (kg N/rai)				
0	5.5	1.45	125	97
8	5.3	1.34	131	96
16	5.2	1.36	127	88
24	4.8	1.45	129	105
32	5.2	1.35	127	91
40	4.4	1.29	120	96
mean	5.1	1.37	127	96
CV. (%)	9.8	8.2	13.8	28.1
Phosphate (kg P_2O_5/rai)				
0	4.7	1.24	63	95
4	4.9	1.09	53	81
8	4.7	1.13	58	83
12	4.6	1.13	63	74
16	4.5	1.25	58	69
20	4.5	1.50	66	91
24	4.5	1.14	70	87
mean	4.6	1.21	61	83
CV. (%)	5.2	18.9	12.8	23.1
Potash (kg K_2O/rai)				
0	4.4	1.66	118	41
6	4.4	1.88	133	84
12	4.2	1.90	126	63
18	4.4	1.84	127	84
24	4.2	1.70	129	95
30	4.4	1.92	136	104
36	4.3	1.93	143	103
mean	4.3	1.83	130	81
CV. (%)	6.0	14.1	18.3	40

สรุปผลการทดลอง

1) การปลูกข้าวโพดหวานในดินร่วนเหนียว จังหวัดอุทัยธานี ที่มีปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ-ปานกลาง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงมาก และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินปานกลาง-สูง ข้าวโพดมีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน ดังสมการ $Y=-0.6989x^2+44.985x+2803$ โดยมีค่า $R^2=0.9106$ การตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต ดังสมการ $Y=-3.1704x^2+96.699x+3200$ โดยมีค่า $R^2=0.6398$ และการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทช ดังสมการ $Y=-4.2337x^2+119.76x+2727$ โดยมีค่า $R^2=0.631$ เมื่อวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ ด้วยวิธี VCR พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 16 กิโลกรัม N ต่อไร่ ปุ๋ยฟอสเฟตและโพแทชอัตรา 4 และ 6 กิโลกรัม P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์มากที่สุด

2) การปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ในดินร่วนเหนียว จังหวัดอุทัยธานี พบว่า มีการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมด 28.2 4.5 และ 23.0 กิโลกรัม N P K ต่อไร่ ในขณะที่ ปริมาณธาตุอาหารที่สูญเสียไปกับผลผลิต 11.0 2.4 และ 6.6 กิโลกรัม N P K ต่อไร่

3) อิทธิพลของการจัดการปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสเฟตและโพแทชต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของดิน ปริมาณอินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดไม่แตกต่างกันทางสถิติ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สำหรับให้คำแนะนำการจัดการปุ๋ยในการผลิตข้าวโพดหวานที่ปลูกในพื้นที่ดินร่วนเหนียว จังหวัดอุทัยธานี และสามารถนำไปปรับใช้กับการปลูกข้าวโพดหวานในพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมใกล้เคียงกัน ซึ่งการจัดการปุ๋ยแบบดังกล่าวจะช่วยให้เพิ่มผลผลิตข้าวโพดหวานได้อย่างมีศักยภาพ

เอกสารอ้างอิง

กำธร สุทธิสารากร. 2530. อิทธิพลของอัตราน้ำ ปุ๋ยไนโตรเจน และการคลุมดินที่มีต่อผลผลิตและคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานพิเศษ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดิสสพันธุ์ ธรรมาภิรมย์ สันติ ธีราภรณ์ และ สุทัย วุธรา. 2541. อิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสเฟต และโพแทชต่อผลผลิตข้าวโพดหวานที่ปลูกในดินร่วนเหนียว. รายงานบทคัดย่อผลงานวิจัยความอุดมสมบูรณ์ของดินและปุ๋ยพืชไร่ ปี 2541. กลุ่มงานวิจัยความอุดมสมบูรณ์ของดินและปุ๋ยพืชไร่ กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

ฐานเศรษฐกิจ. 2561. ข้าวโพดหวาน. แหล่งข้อมูล : https//www.thansettakij.com สืบค้น 24 ธันวาคม 2561.

สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป. 2556. การตลาดสินค้าข้าวโพดหวาน. แหล่งข้อมูล: https//www.ap.mju.ac.th สืบค้น 24 ธันวาคม 2561.

สมควร คล้องช้าง สันติ ธีราภรณ์ สมปอง หมื่นแจ้ง และปราโมทย์ ไตรเพียร. 2551. ผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพ มูลวัวหมัก และปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตข้าวโพดหวาน. รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2551. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ ฉิมมา สายชล สุขญาณกิจ สิริรรณ สมิทธิอาภาณ์ และโสภิดา จิวประเสริฐ. 2563. การตอบสนองด้านการเจริญเติบโตและผลผลิตของแตงกวาลูกผสมต่อปุ๋ยฟอสฟอรัส. *Thai Journal of Science and Technology*. Vol. 9(2): March-April 2020. p. 276-286.

สรสิทธิ์ วัชโรทยาน สมเจตน์ จันทวัฒน์ ปิยะ ดวงพัตรา และ ยงยุทธ โอสถสภา. 2511. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตกับการสะสมน้ำหนักแห้งและธาตุอาหารของข้าวโพดกัวเตมาลา. น. 72-79. *ใน* รายงานประจำปี 2511-2512. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

สันติ ธีราภรณ์. 2545. เอกสารวิชาการเรื่องดินและธาตุอาหารพืชกับข้าวโพดฝักสด. 2545. กลุ่มงานวิจัยความอุดมสมบูรณ์ของดินและปุ๋ยพืชไร่ กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. 114 หน้า.

สุรเดช จินตกานนท์ และ พัชราภรณ์ ไขรัศมี. 2529. อิทธิพลของอัตราและวิธีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อปริมาณและคุณภาพของเมล็ดข้าวโพดหวานที่ปลูกในชุดดินกำแพงแสน. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการพืชผักแห่งชาติครั้งที่ 6, 13-17 มกราคม 2529. วิทยาเขตเกษตรนครศรีธรรมราช นครศรีธรรมราช.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2561. ตารางแสดงรายละเอียดข้าวโพดหวาน. แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/view/TH-TH สืบค้น 12 ตุลาคม 2561.

Bray, R.H. and N. Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus In soil. *Soil Sci*. 59:39-45.

Bremner, J.M. 1960. Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *Journal of Agricultural Science*. 55:11–33.

Davis, L.E. 1943. Measurements of pH with the glass electrode as affected by soil moisture. *Soil Sci*. 56(6): 405-422.

Fageria, N.K., A.B. dos Santos and A.M. Coelho. 2011. Growth, yield and yield components of lowland rice as influenced by ammonium sulfate and urea fertilization. *Journal of Plant Nutrition*, 34: 371–386.

Fageria, N.K., H.R. Gheyi and C.S. Carvalho. 2014. Yield, potassium uptake, and use efficiency in upland rice genotypes. II INOVAGRI International Meeting, 13–16 April, Fortaleza, Brazil. pp. 4515–4520.

Fageria, N.K., V.C. Baligar and C.A. Jones. 1997. Growth and Mineral Nutrition of Field Crops, 2nd ed. New York: Marcel Dekker.

Fahrurrozi, F., Z. Muktamar, M. Chozin, N. Setyowati and S. Sudjatmiko. 2018. Relationships Between potassium uptakes and yield performances of sweet corn grown under organic production system. *International Journal of Agricultural Technology*, Vol. 14(7): 1171-1180.

Fixen, P., F. Brentrup, T. Bruulsema, F. Garcia, R. Norton and S. Zingore. 2014. Nutrient/fertilizer use efficiency: measurement, current situation and trends. Available at: https://www.fertilizer.org Accessed: 26 October 2021.

Geleta, S.B., R.B. Brinsfield, F.R. Mulford, H.E. Womack, C.H. Briand and J.A. O'Keefe. 2004. Managing phosphorus for yield and quality of sweet corn grown on high phosphorus soils of Maryland's eastern shore. Can. *J. of Plant Sci*. 713-718.

Kaweewong, J. and A. Moonta. 2020. Nitrogen Requirements of Sweet Corn Grown on Mea Rim soil series. *Thai Journal of Science and Technology*. Vol. 9, No. 6 November - December 2020. 811-820.

Khan, A.A., A. Hussain, M.A. Ganai, N.R. Sofi and S.T. Hussain. 2018. Yield, nutrient uptake and quality of sweet corn as influenced by transplanting dates and nitrogen levels. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 7(2): 3567-3571.

Mohammad, M.J. and M. Ayadi, 2004. Forage Yield and Nutrient Uptake as Influenced by Secondary Treated Wastewater. *J. of Plant Nutrition*. Vol. 27, No. 2, pp. 351-365.

Moll, R.H., E.J. Kamprath and W.A. Jackson. 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency to nitrogen utilization. *Agronomy. J.* 74: 562-564.

Muhumed, M.A., S. Jusop, C.T.B. Sung, P.E.M. Wahab and Q.A. Panhwar. 2014. Influence of NPK fertilizer rates and irrigation frequencies on the biomass and yield components of sweet corn (*Zea mays* L.*). Journal of Food, Agriculture & Environment,* Vol.12 (2): 1308-1313.

Piper, C.S. 1966. Soil and Plant Analysis*, Academic Press, New York*, pp. 47-77.

Pratt, P.F. 1965. Potassium, pp. 1022-1030. *In* C.A. Black, ed. Methods of Soil Analysis. Part II. *Amer. Soc. of Agron*, Inc. Madison, Wisconsin.

Seepaul, R., J. Marois, I.M. Small, S. George and D.L. Wright. 2019. Carinata dry matter acclumucation and nutrient uptake responses to nitrogen fertilizer. *Agronomy J*., vol. 111 issue 4, July-August 2019. pp. 2038-2046.

Torabian, S., S. Farhangi-Abriz, R. Qin, C. Noulas, V. Sathuvalli, B. Charlton and D. A. Loka. 2021. Potassium: A Vital Macronutrient in Potato Production-A Review. Agronomy. Available at: https://doi.org/10.3390/agronomy11030543 Accessed: 29 October 2021

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chronic acid titration method**.** *Soil Sci.* 37: 29-38.

Wijk, M.T.V., M. Williams, L. Gough, S.E. Hobbie and G.R. Shaver. 2003. Luxury consumption of soil nutrients: a possible competitive strategy in above-ground and below-ground biomass allocation and root morphology for slow-growing arctic vegetation. *Journal of Ecology, vol.* 91, 664–676.

Wu, P., Q. Dai and Q. Tao. 1993. Effect of fertilizer rates on the growth, yield, and kernel composition of sweet corn. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. Vol 24.237-253.

ศึกษาการตอบสนองและการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดข้าวเหนียว ในกลุ่มดินร่วน-ร่วนเหนียว

Study the Response and Nutrient Uptake of Waxy Corn in Loam - Clay Loam Soil

วนิดา โนบรรเทา แววตา พลกุล สายน้ำ อุดพ้วย ณัฐพงศ์ ศรีสมบัติ
อนุสรณ์ เทียนศิริฤกษ์ อนันต์ ทองภู

Wanida Nobuntou Waewta Polkul Sainum Udpuay Nuttapong Srisombut
Anusorn Tiensiriroek Anun Tongpoo

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Regarding waxy corn has been responding to genetic varieties and environmental conditions with affected nutrient requirements. Therefore, the response and nutrient uptake of waxy corn in loam-loam soil were studied in Uthai Thani Province, to get recommendations for the proper fertilizer application for waxy corn production. The experiment was arranged in Randomized Complete Blocks (RCB) with 4 replications. In 2016 - 2017, the response to nitrogen fertilizers was studied at 6 levels, namely 0, 8, 16, 24, 32, and 40 kg N/rai, phosphate, and potash fertilizer applications based on soil analysis at the rate of 5-5 kg P_2O_5 - K_2O /rai. In 2018-2019, the response to phosphate fertilizers were studied at 7 levels 0, 4, 8, 12, 16, 20, and 24 kg P_2O_5 /rai, nitrogen and potash fertilizer application at the rate of 24 kg N/rai and 5 kg P_2O_5 /rai. And in 2020-2021, the response to potash fertilizers was studied at 7 levels: 0, 6, 12, 18, 24, 30, and 36 kg K_2O /rai, nitrogen and phosphate fertilizer application at the rate of 24 kg N/rai and 16 kg P_2O_5/rai. The results showed that the efficiency of nutrient uptake from fertilizers promotes high yields of the waxy corn, provides an economic return that is worth the investment when using nitrogen fertilizer at the rate of 8-16 kg N /rai together with phosphate fertilizer application at the rate of 4-8 kg P_2O_5 /rai and potassium fertilizer at the rate of 6 kg K_2O /rai. In case of farmers had the funds to purchase chemical fertilizer, application of nitrogen fertilizer at the rate of 24-30 kg N /rai combined with phosphate and potash fertilizer at the rate of 12-16 kg P_2O_5 /rai and 12 kg K_2O /rai, gave the maximum yield.

Keywords: Waxy corn, Nitrogen, Phosphorus, Potassium, Nutrient uptake

บทคัดย่อ

ข้าวโพดข้าวเหนียวแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม ส่งผลให้มีความต้องการธาตุอาหารต่างกัน ดังนั้นจึงได้ศึกษาการตอบสนองและการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดข้าวเหนียวในดินร่วน-ร่วนเหนียว ที่จังหวัดอุทัยธานี เพื่อให้ได้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยที่เหมาะสมสำหรับการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Blocks (RCB) 4 ซ้ำ โดยปี 2559-2560 ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน 6 ระดับ ได้แก่ 0, 8, 16, 24, 32 และ 40 กิโลกรัม N ต่อไร่ ปุ๋ยฟอสเฟต และโพแทชใส่ตามค่าวิเคราะห์ในอัตรา 5-5 กิโลกรัม P_2O_5- K_2O ต่อไร่ ส่วนปี 2561-2562 ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต 7 ระดับ ได้แก่ 0, 4, 8, 12, 16, 20 และ 24 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่

ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่ และปุ๋ยโพแทชอัตรา 5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ และปี 2563-2564 ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทช 7 ระดับ ได้แก่ 0, 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่ และปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 16 กิโลกรัม P_2O_5ต่อไร่ ผลการทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารจากปุ๋ยเพื่อนำไปสร้างผลผลิตของข้าวโพดข้าวเหนียวสูงและให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่ากับการลงทุน เมื่อใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 8-16 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 4-8 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และปุ๋ยโพแทชอัตรา 6 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ แต่ในกรณีที่เกษตรกรมีทุนสำหรับซื้อปุ๋ยเคมี การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 24-30 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 12-16 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และโพแทชอัตรา 12 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ข้าวโพดข้าวเหนียวให้ผลผลิตสูงสุด

คำหลัก: ข้าวโพดข้าวเหนียว ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม การดูดใช้ธาตุอาหาร

คำนำ

ข้าวโพดข้าวเหนียว (Waxy corn : *Zea mays* ceratina) เป็นข้าวโพดฝักสดที่ได้รับความนิยมบริโภคในหลายประเทศของภาคพื้นเอเชีย ลักษณะเมล็ดมีความเหนียวนุ่ม ซึ่งในแต่ละท้องถิ่นมีความนิยมในการบริโภคข้าวโพดข้าวเหนียวที่แตกต่างกัน ปัจจุบันข้าวโพดข้าวเหนียวถูกปรับปรุงสายพันธุ์ขึ้นมาใหม่เพื่อให้ทนต่อสภาพแวดล้อม และตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคและผู้ปลูก เช่น เกิดโรคราน้ำค้างน้อย ต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่และราสนิมได้ดี การให้ผลผลิตฝักสดสูง ทั้งผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกและปอกเปลือก ฝักขนาดปานกลางถึงขนาดใหญ่และติดเมล็ดถึงปลายฝัก ตลอดจนให้คุณภาพรับประทานสูง เช่น ข้าวโพดข้าวเหนียวเพื่อการค้าพันธุ์ PACW 7125, MAX ONE, WXCT-399, WXCT-398 ให้ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกเฉลี่ย 1,950 กิโลกรัมต่อไร่ (สำราญ และคณะ, 2553) ส่วนข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม CDBW12 x A5BW1, A5BW1 x CDBW2 และ CDHJ15 x CDBW2 ให้ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกเฉลี่ยสูงถึง 2,734, 2,530 และ 2,509 กิโลกรัมต่อไร่ (วรศักดิ์ และคณะ, 2555) นอกจากนั้น บางสายพันธุ์ยังมีสีของเมล็ดที่โดดเด่น เช่น สีเหลือง ขาว ม่วง ส้ม หรือหลากหลายสีในฝักเดียวกัน ซึ่งข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีเมล็ดสีขาว สีเหลือง และสีดำจะมีสารพวก carotenoids, anthocyanins, phenolics และสารแอนตี้ออกซิแดนที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ (Hu and Xue, 2011)

ในปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวประมาณ 42,106 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ย 1,329 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนในพื้นที่อำเภอเมืองอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานีมีพื้นที่ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว 436 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ย 1,426 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2564) ซึ่งการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพนั้นนอกจากการใช้พันธุ์ที่ดีและมีความเหมาะสมกับสภาพพื้นที่แล้ว การจัดการปุ๋ยยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต เนื่องจากข้าวโพดข้าวเหนียวมีพันธุกรรมที่ตอบสนองต่อปุ๋ยที่แตกต่างกัน (อุไรวรรณ และคณะ, 2561) จากการศึกษาความต้องการธาตุอาหารของข้าวโพด ไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีความสำคัญตลอดช่วงการเจริญเติบโต แต่ช่วงที่ข้าวโพดต้องการไนโตรเจนมากที่สุด คือ ช่วงระยะออกไหม หรือ 30-45 วันหลังปลูก โดยมีอัตราการดูดใช้ไนโตรเจนสูงสุดต่อวันถึง 0.71 กิโลกรัมต่อไร่ (Piekiele and Fox 1992) ส่วนธาตุฟอสฟอรัสจัดเป็นธาตุอาหาร ที่มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าไนโตรเจน โดยเฉพาะในช่วงที่เป็นต้นกล้าหรือต้นอ่อน จากรายงานของ Hongzhou *et. al.* (2012) การใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการให้ผลผลิตและคุณภาพของข้าวโพดข้าวเหนียวที่ปลูกในเมือง Chongqing ของประเทศจีน แต่การใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม ต้องใช้อย่างสมดุลถูกต้องตามคำแนะนำหรือตามค่าวิเคราะห์ดิน จึงจะทำให้ได้ผลผลิตสูงสุดและคุ้มค่าทางด้านเศรษฐกิจ (Hongzhou *et al*., 2012; Hongting *et. al*., 2008) นอกจากนี้ข้าวโพดข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์ยังมีลักษณะประจำพันธุ์ และการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาถึงความต้องการธาตุอาหารและการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยของข้าวโพดข้าวเหนียวในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสม และนำไปใช้สำหรับปรับปรุงคำแนะนำการใช้ปุ๋ยสำหรับการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียว พันธุ์ดอกเตอร์เป๊ก ซึ่งเป็นพันธุ์การค้าที่นิยมปลูกในท้องถิ่น

2) ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ยูเรีย (46-0-0) ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)

3) อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างดิน เช่น ท่อเจาะดินสแตนเลส กระบอกสแตนเลสสำหรับเก็บตัวอย่างดินขนาด 100 มิลลิลิตร พลั่วมือสแตนเลส ค้อนทองแดง ถุงพลาสติก

4) อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช เช่น ถุงกระดาษ ถุงตาข่าย กรรไกร

5) สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ดินและพืช เช่น สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4 และ 7 กรดซัลฟิวริก กรดไนตริก กรดไฮโดรคลอริก กรดเปอร์คลอริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดบอริก แอมโมเนียมเมตาวานาเดต โพแทสเซียมไดโครเมต เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ฟีแนนโทรลีนอินดิเคเตอร์ กรดแอสคอร์บิก แอมโมเนียมโมลิบเดต แอมโมเนียมอะซิเตท สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม สารละลายมาตรฐานแคลเซียม สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียม เป็นต้น

6) แก๊สอาร์กอน แก๊สไนโตรเจน และแก๊สอะเซทิลีน สำหรับเครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดินและพืช

วิธีการ

ดำเนินการทดลองในแปลงเกษตรกรที่ ตำบลเกาะเทโพ อำเภอเมืองอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี พิกัดแปลง 47P X= 615650 Y= 1701233 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) 4 ซ้ำ โดยมีรายละเอียดกรรมวิธีการทดลองในแต่ละปีดังนี้

ปี 2559-2560 ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน กรรมวิธีคือ ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 6 ระดับ ได้แก่ 0 8 16 24 32 และ 40 กิโลกรัม N ต่อไร่ ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชตามค่าวิเคราะห์ดินอัตรา 5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ โดยในปี 2559 ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียววันที่ 16 มกราคม 2559 เก็บเกี่ยววันที่ 22 มีนาคม 2559 และปี 2560 ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียววันที่ 19 ธันวาคม 2559 เก็บเกี่ยววันที่ 22 กุมภาพันธ์ 2560

ปี 2561-2562 ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต กรรมวิธีคือ ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 7 ระดับ คือ 0 4 8 12 16 20 และ 24 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่ได้จากผลการศึกษาในปี 2559-60 อัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่ และใส่ปุ๋ยโพแทชตามค่าวิเคราะห์ดินอัตรา 5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ โดยในปี 2561 ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียววันที่ 26 ธันวาคม 2560 เก็บเกี่ยววันที่ 27 กุมภาพันธ์ 2561 และปี 2562 ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียววันที่ 6 ธันวาคม 2561 เก็บเกี่ยววันที่ 7 กุมภาพันธ์ 2562

ปี 2563-2564 ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทช กรรมวิธีคือ ใส่ปุ๋ยโพแทช 7 ระดับ คือ 0 6 12 18 24 30 และ 36 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่ได้จากผลการศึกษาในปี 2559-60 อัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่ และใส่ปุ๋ยฟอสเฟตซึ่งได้จากการศึกษาในปี 2561-62 อัตรา 16 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ โดยในปี 2563 ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียววันที่ 18 ธันวาคม 2562 เก็บเกี่ยววันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2563 และปี 2564 ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียววันที่ 11 ธันวาคม 2563 เก็บเกี่ยววันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2564

ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวในขนาดแปลงย่อย 4.5 x 6.0 เมตร ระยะปลูก 75 x 20 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยรองพื้นก่อนปลูกด้วยปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งอัตรา ส่วนปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทช ใส่เต็มอัตรา ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครั้งที่ 2 อีกครึ่งอัตรา เมื่อข้าวโพดอายุ 25-30 วันหลังปลูก เก็บเกี่ยวข้าวโพดข้าวเหนียวในพื้นที่เก็บเกี่ยว 15 ตารางเมตร

การวิเคราะห์ดิน: สุ่มเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร ก่อนปลูกและหลังเก็บเกี่ยวในแต่ละแปลงย่อย เพื่อนำมาวิเคราะห์ 1) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ใช้อัตราส่วนดิน: น้ำ เท่ากับ 1:1 วัดสารละลายดินด้วย pH meter 2) อินทรียวัตถุ ใช้วิธี wet digestion ด้วย 1N $K_2Cr_2O_7$ และ กรดซัลฟูริกเข้มข้น 3) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สกัดดินด้วยน้ำยา Bray II (0.03N NH_4F+0.1N HCl) และทำให้เกิดสีตามวิธี molybdenum blue วัดปริมาณความเข้มสีฟอสฟอรัสที่สกัดได้เทียบกับสารละลายมาตรฐานด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร 4) โพแทสเซียมที่สกัดได้ สกัดดินด้วย 1N NH_4OAc, pH 7 และวัดปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง Inductively Couple

Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES, Perkin Elmer Optima 5300 DV) เทียบกับสารละลายมาตรฐาน (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน, 2544)

การวิเคราะห์พืช : 1) ไนโตรเจนทั้งหมด ย่อยตัวอย่างพืชด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น พร้อมกับเติมซิลิเนียม (H_2SO_4 – Se mixed) วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธีการกลั่น 2) ฟอสฟอรัสทั้งหมด ย่อยตัวอย่างดินด้วยกรดผสม nitric-perchloric (2:1) และทำให้เกิดสีตามวิธี vanadomolybdate วัดความเข้มของสีเทียบกับสารละลายมาตรฐานด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร 3) โพแทสเซียมทั้งหมด ย่อยตัวอย่างดินด้วยกรดผสม nitric-perchloric (3:1) และวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง Inductively Couple Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES, Perkin Elmer Optima 5300 DV) เทียบกับสารละลายมาตรฐาน (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน, 2544)

การคำนวณประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดข้าวเหนียว โดยคำนวณ agronomic nutrient use efficiency (ANUE), physiological nutrient use efficiency (PNUE) และ apparent nutrient recovery efficiency (ANRE) ตามวิธีของ Fageria *et al.* (2008) ดังนี้

- Agronomic Nutrient Use Efficiency (ANUE) หมายถึง ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยต่อปริมาณธาตุอาหารที่ใส่

$$ANUE = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย)} - \text{ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย)}}{\text{ปริมาณธาตุอาหารที่ใส่}}$$

- Physiological Nutrient Use Efficiency (PNUE) หมายถึง ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยต่อปริมาณธาตุอาหารที่พืชดูดใช้เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย

$$PNUE = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย)} - \text{ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย)}}{\text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย)} - \text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่)}}$$

- Apparent Nutrient Recovery Efficiency (ANRE) หมายถึง ปริมาณธาตุอาหารที่พืชดูดใช้เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยต่อปริมาณธาตุอาหารที่ใส่ (หน่วย: เปอร์เซ็นต์)

$$ANRE\ (\%) = \frac{\text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย)} - \text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย)} \times 100}{\text{ปริมาณธาตุอาหารที่ใส่}}$$

การวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยใช้ Value to Cost Ratio (VCR)

รายได้สุทธิ (Gross return) = ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุม x ราคาผลผลิต

ผลตอบแทนสุทธิ (Net return) = รายได้สุทธิ – ต้นทุนจากการใช้ปุ๋ยที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุม

VCR = รายได้สุทธิ / ต้นทุนจากการใช้ปุ๋ยที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุม

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง แปลงเกษตรกรจังหวัดอุทัยธานี ต. เกาะเทโพ อ. เมืองอุทัยธานี จ. อุทัยธานี
พิกัดแปลง 47P X= 615650 Y= 1701233
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สมบัติดินทั่วไปของแปลงทดลอง

จากการศึกษาลักษณะหน้าตัดดินในแปลงทดลอง ชั้นดินบนมีเนื้อดินเป็นดินร่วนและชั้นดินล่างมีเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียว มีความลึกของหน้าตัดดินมากกว่า 100 เซนติเมตร (Table 1) ตลอดความลึกหน้าตัดดินไม่พบกรวดปน ปฏิกิริยาดินค่อนข้างเป็นกรด แต่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพด และเมื่อวิเคราะห์ดินก่อนทำการทดลอง พบว่า ดินมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ย 6.7 ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) 1.31 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Avai. P) 204 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่สกัดได้ (Ext.K) 98 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งจัดว่าเป็นดินที่มีระดับอินทรียวัตถุปานกลาง มีฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินสูง (Table 2) นอกจากนี้ดินในพื้นที่ดังกล่าวมีฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (T-P) สูงมากถึง 891 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมทั้งหมด (T-K) 3066 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งถือเป็นแหล่งสำรองของธาตุอาหารในดินที่จะค่อยๆปลดปล่อยความเป็นประโยชน์ให้พืชดูดใช้ต่อไป

Table 1 Soil profile description of the experimental field at Uthai Thani Province

Soil depth (cm.)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Texture	pH
0-25	44.08	31.57	24.35	Loam	6.53
25-32	36.15	35.64	28.21	Clay loam	6.01
32-47	36.08	33.57	30.35	Clay loam	6.05
47-100+	24.15	39.57	36.28	Clay loam	5.74

Table 2 Basic soil properties before planting

Parameter	Value
pH (1:1)	6.7±0.08
OM (%)	1.31±0.03
Avail. P (mg/kg)	204±11.5
T-P (mg/kg)	891±49.0
Ext. K (mg/kg)	98±4.4
T-K (mg/kg)	3066±169.0

Note: values are the mean of 24 subplots ± sd.

2. ผลผลิตและการตอบสนองต่อปุ๋ยของข้าวโพดข้าวเหนียวที่ปลูกในกลุ่มดินร่วน-ร่วนเหนียว

การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ข้าวโพดข้าวเหนียวให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นแตกต่างจากไม่ใส่ปุ๋ย เมื่อพิจารณาผลผลิตเฉลี่ย พบว่า การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในดินร่วน-ร่วนเหนียวที่แปลงเกษตรกร ต.เกาะเทโพ อ.เมืองอุทัยธานี จ.อุทัยธานี สามารถเพิ่มผลผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวได้โดยเฉลี่ยเพียง 15.4 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจาก Khan *et. al.* (2018) ที่รายงานว่า การปลูกข้าวโพดหวานในดินร่วนเหนียวปนทรายที่มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำ แต่โพแทสเซียมในดินปานกลาง การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 19.2 กิโลกรัม N ต่อไร่ ข้าวโพดให้ผลผลิตสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 54 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้จากกราฟแสดงการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน ข้าวโพดข้าวเหนียวมีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 24-30 กิโลกรัม N ต่อไร่ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,926-1970 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 3 and Figure 1A) สอดคล้องกับ Suchada *et. al.* (2010) ที่รายงานว่าข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์การค้า BW 852 และ NSW ตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 24-36 กิโลกรัม N ต่อไร่

ส่วนการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลให้ข้าวโพดข้าวเหนียวให้ผลผลิตที่สูงขึ้นแตกต่างกัน สอดคล้องกับ Geleta *et. al.* (2004) ที่รายงานว่า การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตจะไม่ช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของข้าวโพดหวานได้ หากดินนั้นมีฟอสฟอรัสในปริมาณสูง เมื่อพิจารณาผลผลิตเฉลี่ยการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในดินร่วน-ร่วนเหนียวที่แปลงเกษตรกร ต.เกาะเทโพ อ.เมืองอุทัยธานี จ.อุทัยธานี สามารถเพิ่มผลผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวได้โดยเฉลี่ย 13.9 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 16 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ ข้าวโพดข้าวเหนียวให้ผลผลิตเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 21.2 เปอร์เซ็นต์ โดยข้าวโพดข้าวเหนียวมีการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต ที่อัตรา 8-16 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,793-1,852 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 3 and Figure 1B) เช่นเดียวกันกับการใช้ปุ๋ยโพแทชในอัตราที่เพิ่มขึ้นก็ไม่ส่งผลให้ข้าวโพดข้าวเหนียวให้ผลผลิตแตกต่างจากการไม่ใส่ปุ๋ย โดยข้าวโพดข้าวเหนียวให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,708-1,726 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 3) และผลผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวต่ำในทุกกรรมวิธี เมื่อพิจารณาผลผลิตเฉลี่ยการใช้ปุ๋ยโพแทสในดินร่วน-ร่วนเหนียวที่แปลงเกษตรกร ต.เกาะเทโพ อ.เมืองอุทัยธานี จ.อุทัยธานี ซึ่งมีโพแทสเซียมในดินค่อนข้างสูงสามารถเพิ่มผลผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวได้เฉลี่ยเพียง 4.7 เปอร์เซ็นต์ และมีการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทชที่อัตรา 6-18 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (Figure 1C)

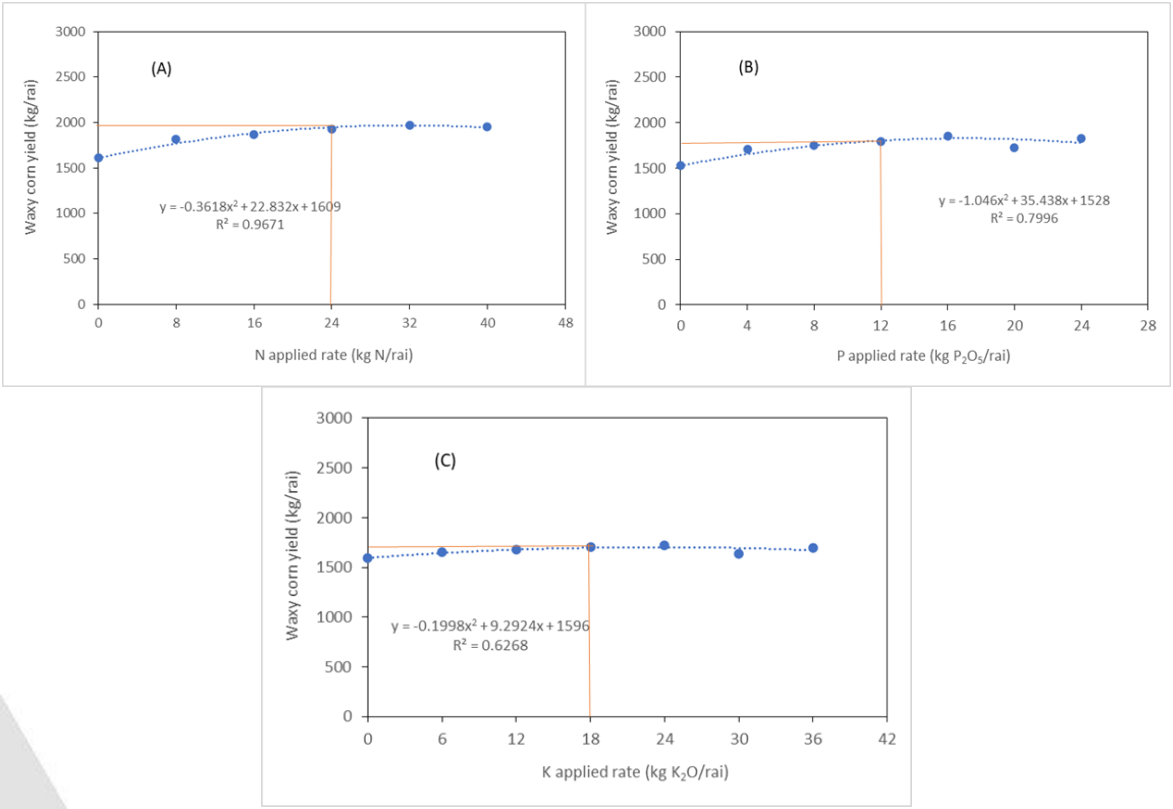


Figure 1 Response of waxy corn to nitrogen (A), phosphate (B), and potash fertilizer (C) grown on loam - clay loam soil

3. ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารจากปุ๋ยของข้าวโพดข้าวเหนียวที่ปลูกในกลุ่มดินร่วน-ร่วนเหนียว

การประเมินประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหารแต่ละชนิดจากปุ๋ย สามารถประเมินได้จากประสิทธิภาพการสร้างผลผลิต (agronomic nutrient use efficiency: ANUE) หรือประสิทธิภาพผลผลิต (yield efficiency) ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารจากปุ๋ย (apparent nutrient recovery efficiency: ANRE) และประสิทธิภาพการสร้างผลผลิตเชิงสรีระ (physiological nutrient use efficiency: PNUE) พบว่าข้าวโพดข้าวเหนียวมีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนในปุ๋ยสำหรับนำไปสร้างผลผลิตได้สูงสุด เมื่อใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 8 กิโลกรัม N ต่อไร่ โดยปุ๋ยไนโตรเจน 1 กิโลกรัม N ข้าวโพดข้าวเหนียวสามารถนำไปสร้างผลผลิตได้ 26.4 กิโลกรัม (ANUE) ซึ่งการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่เพิ่มขึ้นนอกจากทำให้ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนในปุ๋ย (ANUE) เพื่อนำไปสร้างผลผลิตและประสิทธิภาพการดูดใช้ไนโตรเจนจากปุ๋ย (ANRE)

ลดลงแล้ว ยังส่งผลให้ประสิทธิภาพการนำไนโตรเจนไปสร้างผลผลิตเชิงสรีระ (APNUE) ของข้าวโพดข้าวเหนียวลดลงเช่นกัน ซึ่งโดยทั่วไปพืชไร่มีประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนจากปุ๋ยประมาณ 30–60 เปอร์เซ็นต์ (Fageria *et. al.*, 1997) และจากผลการทดลอง 2 ปี ข้าวโพดข้าวเหนียวดูดใช้ไนโตรเจนและเก็บสะสมไว้ในส่วนของเมล็ด ซัง กาบฝัก ใบและต้นเฉลี่ย 14.9-16.4 กิโลกรัม N ต่อไร่ (Table 4)

ในด้านการดูดใช้ฟอสฟอรัส พบว่าข้าวโพดข้าวเหนียวมีประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสจากปุ๋ยเพื่อนำไปสร้างผลผลิตได้สูงสุด เมื่อใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 4 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ โดยปุ๋ยฟอสเฟต 1 กิโลกรัม P_2O_5 ข้าวโพดข้าวเหนียวสามารถนำไปสร้างผลผลิตได้ 45 กิโลกรัม (APUE) ซึ่งการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราที่เพิ่มขึ้นนอกจากทำให้ประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสจากปุ๋ยไปสร้างผลผลิต (APUE) และประสิทธิภาพการดูดใช้ฟอสฟอรัสจากปุ๋ย (APRE) ลดลงแล้ว ยังส่งผลให้ประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสไปสร้างผลผลิตเชิงสรีระ (APPUE) ของข้าวโพดข้าวเหนียวลดลงเช่นกัน จากรายงานของ Fageria *et. al.* (2014) พืชไร่มีประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และจากผลการทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวมีการดูดใช้ฟอสฟอรัสและนำไปเก็บสะสมไว้ในส่วนของเมล็ด ซัง กาบฝัก ใบและต้นเฉลี่ย 3.2-3.6 กิโลกรัม P ต่อไร่ แม้ว่ามีการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราที่เพิ่มก็ไม่ทำให้ข้าวโพดข้าวเหนียวมีการดูดใช้ฟอสฟอรัสจากปุ๋ยเพิ่มขึ้นแตกต่างกัน (Table 4)

ส่วนประสิทธิภาพการใช้โพแทชจากปุ๋ย ข้าวโพดข้าวเหนียวสร้างผลผลิตได้สูงสุด เมื่อใช้ปุ๋ยโพแทชในอัตรา 6 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ โดยปุ๋ยโพแทช 1 กิโลกรัม K_2O ข้าวโพดข้าวเหนียวสามารถนำไปสร้างผลผลิตได้ 9.3 กิโลกรัม (AKUE) ซึ่งการใช้ปุ๋ยโพแทชในอัตราที่เพิ่มขึ้น แม้จะส่งเสริมให้ประสิทธิภาพการนำโพแทสเซียมไปสร้างผลผลิตเชิงสรีระ (APKUE) ของข้าวโพดข้าวเหนียวเพิ่มขึ้น แต่กลับพบว่าประสิทธิภาพการใช้โพแทชจากปุ๋ยเพื่อนำไปสร้างผลผลิตได้สูงสุด (AKUE) และประสิทธิภาพการดูดใช้โพแทชจากปุ๋ย (AKRE) ลดลง ซึ่ง Fageria *et. al.* (2014) รายงานว่า พืชไร่มีประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุอาหารโพแทสเซียม 30–50 เปอร์เซ็นต์ และจากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่าข้าวโพดข้าวเหนียวมีการดูดใช้โพแทสเซียมและนำไปเก็บสะสมไว้ในส่วนของเมล็ด ซัง กาบฝัก ใบและต้นเฉลี่ย 42-44 กิโลกรัม K ต่อไร่ แม้ว่ามีการใช้ปุ๋ยโพแทชในอัตราที่เพิ่มก็ไม่ทำให้ข้าวโพดข้าวเหนียวมีการดูดใช้โพแทสเซียมจากปุ๋ยเพิ่มขึ้นแตกต่างกัน (Table 4)

4. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการใช้ปุ๋ยสำหรับการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว

จากการวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการใช้ปุ๋ยสำหรับการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวที่ปลูกในดินร่วน-ร่วนเหนียว พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 8 กิโลกรัม N ต่อไร่ ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุด แต่เมื่อพิจารณาถึงการใช้ปุ๋ยที่สามารถเพิ่มผลผลิตของข้าวโพดข้าวเหนียวได้สูงสุด และเกษตรมีทุนในการซื้อปุ๋ย ข้าวโพดข้าวเหนียวที่ปลูกในพื้นที่ดังกล่าวสามารถใช้ปุ๋ยไนโตรเจนได้ถึงอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่ ส่วนการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต และโพแทชที่มีความคุ้มค่าและให้ผลตอบแทนทางด้านเศรษฐกิจมากที่สุด ควรใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 4 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และโพแทชในอัตรา 6 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (Table 5)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ข้าวโพดข้าวเหนียวที่ปลูกในดินร่วน-ร่วนเหนียวที่จังหวัดอุทัยธานี มีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 24-30 กิโลกรัม N ต่อไร่ ผลผลิตฝักสดเฉลี่ย 1,926-1970 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนปุ๋ยฟอสเฟตตอบสนองที่อัตรา 12-16 กิโลกรัม P_2O_5ต่อไร่ ผลผลิตฝักสดเฉลี่ย 1,793-1,852 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยโพแทชที่อัตรา 18-24 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ผลผลิตฝักสดเฉลี่ย 1,708-1,726 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสเฟต และโพแทชในอัตราต่างๆ ดังกล่าวทำให้ข้าวโพดข้าวเหนียวให้ผลผลิตสูงสุด

เมื่อประเมินผลตอบแทนทางด้านเศรษฐกิจ การปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวในดินร่วน-ร่วนเหนียว ที่ ตำบลเกาะเทโพ อำเภอเมืองอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี ซึ่งดินมีปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูง และโพแทสเซียมค่อนข้างสูงควรใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 8-16 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 4-8 กิโลกรัม P_2O_5ต่อไร่ และปุ๋ยโพแทชอัตรา 6 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่ากับการลงทุนและสามารถลดต้นทุนปุ๋ยเคมีลงได้ เนื่องจากการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสเฟตและโพแทช ในอัตราที่เพิ่มขึ้น นอกจากไม่ส่งเสริมให้ข้าวโพดข้าวเหนียวนำธาตุอาหารจาก

ปุ๋ยไปสร้างผลผลิตเพิ่มขึ้นแล้ว ยังทำให้ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารจากปุ๋ยและประสิทธิภาพการนำธาตุอาหารจากปุ๋ยไปสร้างผลผลิตเชิงสรีระลดลงด้วยเช่นกัน

Table 3 Effect of nitrogen, phosphate, and potash fertilizer on waxy corn yield grown on loam – clay loam soil

Fertilizer application	Unhusked fresh yield	Dry matter yield (kg/rai)				
	(kg/rai)	Stover	Seed	Cob	Sheath	Total
(kg N/rai)	P and K application at the rate of 5 kg P_2O_5/rai and 5 kg K_2O/rai)					
0	1610	787	193	55 b	112 b	1147
8	1821	841	230	76 a	162 a	1310
16	1870	869	230	80 a	158 a	1338
24	1926	830	190	79 a	164 a	1264
32	1970	831	252	80 a	164 a	1328
40	1951	815	237	89 a	171 a	1312
Mean	1858	829	222	77	155	1283
CV. (%)	6.8	7.2	29.0	13.2	11.7	
(kg P_2O_5/rai)	N and K application at the rate of 24 kg N/rai and 5 kg K_2O/rai)					
0	1528	978	551 cd	50	70	1650
4	1708	974	570 abc	63	84	1691
8	1754	1067	522 d	59	77	1751
12	1793	1035	597 ab	68	90	1791
16	1852	958	611 a	69	93	1731
20	1726	1066	579 abc	60	88	1793
24	1829	1102	559 bcd	71	100	1882
Mean	1741	1026	570	63	86	1755
CV. (%)	11.1	13.2	4.8	23.3	23.4	
(kg K_2O/rai)	N and P_2O_5 application at the rate of 24 kg N/rai and 16 kg P_2O_5/rai)					
0	1596	1743	505	65	110	2423
6	1652	1739	492	73	107	2411
12	1677	1719	511	66	103	2398
18	1708	1689	506	74	125	2395
24	1726	1696	511	72	114	2393
30	1638	1697	497	67	103	2364
36	1699	1673	511	70	114	2368
Mean	1671	1708	505	69	111	2393
CV. (%)	10.5	9.5	15.4	15.3	16.8	

Note: Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 4 Fertilizer use efficiency in waxy corn production

Fertilizer use efficiency**	Nitrogen application rate (kg N/rai)						
	0	8	16	24	32	40	
N uptake (kg N/rai)	14	15	16	15	16	16	
Agronomic N Use Efficiency (kg/kg N)	-	26	16	13	11	9	
Physiological N Use Efficiency (kg/kg N)	-	211	152	205	146	151	
Apparent N Recovery Efficiency (%)	-	12.5	10.7	6.4	7.7	5.7	
	Phosphorus application rate (kg P_2O_5/rai)						
	0	4	8	12	16	20	24
P uptake (kg P/rai)	3.0	3.4	3.2	3.2	3.4	3.5	3.6
Agronomic P Use Efficiency (kg/kg P)	-	45	28	22	20	10	13
Physiological P Use Efficiency (kg/kg P)	-	450	1130	1325	810	396	502
Apparent P Recovery Efficiency (%)	-	10	2.5	1.7	2.5	2.5	2.5
	Potassium application rate (kg K_2O/rai)						
	0	6	12	18	24	30	36
K uptake (kg K/rai)	40	42	43	42	44	42	42
Agronomic K Use Efficiency (kg/kg K)	-	9.3	6.8	6.2	5.4	1.4	2.9
Physiological K Use Efficiency (kg/kg K)	-	27	31	56	34	30	52
Apparent K Recovery Efficiency (%)	-	35	21.7	11.1	15.8	4.7	5.6

Note: ** Calculated from dry weight (stover + grain + cop + sheath)

ANUE (agronomic nutrient use efficiency) = (yield N_f - yield N_0) / N_f applied

PNUE (physiological nutrient use efficiency) = (yield N_f - yield N_0) / (N uptake N_f - N uptake N_0)

ANRE (apparent nutrient recovery efficiency) = (N uptake N_f - N uptake N_0) / N_f applied x 100

Table 5 Economic return analysis of nitrogen, phosphate, and potash fertilizer application for waxy corn production

Fertilizer applied (kg N-P_2O_5-K_2O/rai)	Unhusk fresh yield (kg/rai)	Increase Yield (%)	Gross returns (Baht/rai)	Expenditure on fertilize (Baht/rai)	Net return (Baht/rai)	VCR
study of N response in 1-2 year						
0-5-5	1610	-	-	-	-	-
8-5-5	1821	13.1	1583	198	1384	7.0
16-5-5	1870	16.2	1950	397	1553	3.9
24-5-5	1926	19.6	2370	595	1775	3.0
32-5-5	1970	22.4	2704	794	1910	2.4
40-5-5	1951	21.2	2561	992	1569	1.6
Study of P response in 3-4 year						
24-0-5	1528	-	-	-	-	-
24-4-5	1708	11.8	1350	150	1200	8.0
24-8-5	1754	14.8	1695	299	1396	4.7
24-12-5	1793	17.3	1988	449	1539	3.4
24-16-5	1852	21.2	2430	598	1832	3.1
24-20-5	1726	13.0	1485	748	737	1.0
24-24-5	1829	19.7	2258	898	1360	1.5
Study of K response in 5-6 year						
24-16-0	1596	-	-	-	-	-
24-16-6	1652	3.5	420	166	254	1.5
24-16-12	1677	5.1	608	332	275	0.8
24-16-18	1708	7.0	840	499	341	0.7
24-16-24	1726	8.1	975	665	310	0.5
24-16-30	1638	2.6	315	831	-516	-0.6
24-16-36	1699	6.5	773	997	-225	-0.2

Note: Fertilizer's price: nitrogen (46-0-0) = 4.8 baht/kg N, phosphate (0-46-0) = 37.4 baht/kg P_2O_5, potash (0-0-60) = 27.7 baht/kg K_2O, and yield price= 7.5 baht/kg

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดงานวิจัย และทดสอบขยายผลในพื้นที่ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีลักษณะดินใกล้เคียงกับงานทดลองนี้ เพื่อจะได้นำผลการทดสอบที่ได้ในหลายพื้นที่ไปพัฒนาเป็นคำแนะนำการจัดการปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสเฟต และโพแทชอย่างเหมาะสมสำหรับการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวให้มีความเฉพาะเจาะจงกับพื้นที่ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2564. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านการเกษตร. พืชผัก : ปีเพาะปลูก 2562. แหล่งข้อมูล: http://www.agriinfo.doae.go.th/year63/plant/rortor/veget/veget.pdf สืบค้นเมื่อ: กันยายน 2564

กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน. 2544. ***คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช.*** กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ.

วรศักดิ์ สวนียะ กมล เลิศรัตน์ และ พลัง สุริหาร. 2555. สมรรถนะการรวมตัวในลักษณะผลผลิตฝักสดของข้าวโพดข้าวเหนียวสายพันธุ์แท้. ว.*แก่นเกษตร* 40 (ฉบับพิเศษ 4) : 77-82.

สำราญ ศรีชมพร ธำรงศิลป โพธิสูง และ ชฎามาศ จิตต์เลขา. 2553. ศักยภาพการให้ผลผลิตและคุณภาพของข้าวโพดข้าวเหนียวเพื่อการค้าในประเทศไทย น. 500-507 การประชุมใน: ทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 : สาขาพืช. วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553 *ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.*

อุไรวรรณ ทองแกมแก้ว ไลลา หวังเบ็ญหมัด สิรพัชร ภิรมย์พร สรรณดี ชูสวัสดิ์ และ พงษ์ศักดิ์ ณ นคร. 2564. ผลของการใส่ปุ๋ยที่ต่างกันต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวโพดข้าวเหนียว 4 สายพันธุ์. *ว.พืชศาสตร์ 5(2): 25-31. สงขลานครินทร์*

Fageria, N.K., V.C. Baligar and C.A. Jones. 1997. Growth and Mineral Nutrition of Field Crops, 2nd ed. New York: Marcel Dekker.

Fageria, N.K., V.C. Baligar and Y.C. Li. 2008. The role of nutrient efficiency plants in improving crop yields in the twenty first century. ***J. Plant. Nutr.*** 31:1121-1157.

Geleta, S.B., R.B. Brinsfield, F.R. Mulford, H.E. Womack, C.H. Briand, and J.A. O'Keefe. 2004. Managing phosphorus for yield and quality of sweet corn grown on high phosphorus soils of Maryland's eastern shore. ***Can. J. Plant. Sci.*** :713-718.

Hongzhou, H., L. Wei, and T. Shihua. 2012. Balanced fertilizer promoted yield and quality of waxy maize in Chongqing. Better Crops with Plant Food. ***Int. Plant Nut. Inst. (IPNI).*** 1: 18-19.

Hongting, W., H. Ping, W. Bin, Z. Pingping, and G. Hongmei. 2008. Nutrient management within a wheat-maize rotation system. Better Crops with Plant Food. ***Int. Plant Nutr. Inst. (IPNI).*** 3: 12-14.

Hu, Q.P. and J.G. Xu. 2011. Profiles of carotenoids, anthocyanins, phenolics, and antioxidant activity of selected color waxy corn grains during maturation. ***J. Agri. Food Chem.*** 59(5): 2026-2033.

Khan, A.A., A. Hussain, M.A. Ganai, N.R. Sofi and S.T. Hussain. 2018. Yield, nutrient uptake, and quality of sweet corn as influenced by transplanting dates and nitrogen levels. ***J. Phar. Phyto.*** 7(2): 3567-3571.

Piekielek, W.P. and R.H., Fox. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict side-dressing nitrogen requirements of maize. ***Agro.*** 84: 59-65.

Sucgada Boonlertnirun Raweewun Suvarnasara and Kitti Boonlertnirun. 2010. Yield response of Three waxy corn varieties to various nitrogen rates. ***Kase. J. (Nat. Sci).*** 44: 529-535.

การศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวาน พันธุ์ไฮบริกซ์ 3

Study on Effectiveness of PGPR Biofertilizer on Growth and Yield of Sweet Corn Variety Hi-brix 3

กัลยกร โปร่งจันทึก ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง นงลักษ์ ปั้นลาย [1] วีระพงษ์ เย็นอ่วม [2]

Kunlayakorn Prongjunthuek Phatchayaphon Meunchang Nongluk Punlai[1] Weerapong Yen-uam[2]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the effect of PGPR biofertilizer on growth and yield of sweet corn cultivar Hi-Brix 3 using two types of PGPR biofertilizer containing *Azospirillum* sp. and carrier materials using different sterile methods (autoclave and irradiation) 4 replications of RCB experiments were planned with 7 treatments. The study was conducted in an experimental plot at the Lopburi Seed Research and Development Center (clay loam) and the Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center (sandy loam) during 2016–2021. The results showed that use of both PGPR biofertilizers in the Lopburi Seed Research and Development Center experimental plot yielded similar results for 6 years, with 4 treatments resulting in Hi-Brix 3 sweet corn cultivar with total unhusked ear yield and husked ear yield (1,642–3,621 and 1,195–2,142 kg/rai, respectively) were treatment 1, chemical fertilizer application 20-5-10 kg N-P_2O_5-K_2O/rai (recommended rate), treatment 4 fertilizer. Biological PGPR type 1 combined with chemical fertilizer 20-5-10 kg N-P_2O_5-K_2O/rai treatment 5 applied biofertilizer PGPR type 2 with chemical fertilizer 20-5-10 kg N-P_2O_5-K_2O/rai (recommended rate) and treatment 6 applied biofertilizer PGPR type 1 with chemical fertilizer 15-0-7.5 kg N-P_2O_5-K_2O/rai (75% of recommended rate). Besides, the experimental results of the Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center, it was found that all six years had experimental results in the same direction and had unhusked ear yield and husked ear yield at 1,800–3,037 and 1,267–2,146 kg/rai, respectively. It was also found that the application of both PGPR biofertilizers resulted in Treatment 4 was applied with PGPR Biofertilizer type 1 together with chemical fertilizer 30-10-5 kg N-P_2O_5-K_2O/rai (recommended rate) sweet corn cultivar Hi-Brix 3 had the highest total fresh pod weight the sweet corn yield of Hi-Brix 3 varieties from both experimental plots meeting the standard sweetness level. ACFS. 1512-2011 (8–18 °brix) and increased the population of *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. and *Beijerinkia* sp. in soil by 5–68% compared to treatment 1 and all three bacterial genera. In nitrogen fixation, between 0.005–0.636 µmol C_2H_2/hr indicated that the use of Biofertilizer PGPR can help reduce the use of nitrogen fertilizers, and to achieve a clear effect, further studies are needed.

Keywords : PGPR-I Biofertilizer, sweet corn, Hi-brix 3, clay loam soil, sandy loam soil

---

[1]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี

[1]Lopburi Seed Research and Development Center

[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์

[2]Nakhonsawan Agricultural Research and Development Center

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ 2 แบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียกลุ่ม *Azospirillum* sp. และวัสดุพาที่ใช้วิธีปลอดเชื้อแตกต่างกัน (แบบนึ่งฆ่าเชื้อและแบบฉายรังสี) วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 7 กรรมวิธีทดลอง ดำเนินการศึกษาในแปลงทดลอง ณ ศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี (ดินร่วนปนเหนียว) และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ (ดินร่วนปนทราย) ระหว่างปี 2559–2564

ผลการทดลองพบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทั้งสองแบบในแปลงทดลองศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรีให้ผลใกล้เคียงกันทั้ง 6 ปี โดยมี 4 กรรมวิธีที่ทำให้ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูง (1,642-3,621 และ 1,195-2,142 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ) คือ กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (อัตราแนะนำ) กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (อัตราแนะนำ) และกรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-0-7.5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำ)

ส่วนผลการทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ พบว่า ทั้ง 4 ปีมีผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกัน คือ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 30-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (อัตราแนะนำ) ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 1,800–3,037 และ 1,267–2,146 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทั้งสองแบบทำให้ผลผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ของทั้ง 2 แปลงทดลองมีความหวานได้มาตรฐานตามมาตรฐาน มกษ.1512-2554 (8–18 °brix) และทำให้จำนวนประชากร *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinkia* sp. ในดินเพิ่มสูงขึ้นร้อยละ 5–68 เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ 1 และแบคทีเรียทั้งสามสกุลมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.005–0.636 µmol C_2H_2/hr ชี้ให้เห็นว่าการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์สามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนลงได้และเพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

คำสำคัญ : ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ข้าวโพดหวาน ไฮบริกซ์ 3 ดินร่วนปนเหนียว ดินร่วนปนทราย

คำนำ

ข้าวโพดหวานมีคุณประโยชน์มากมาย นอกจากจะใช้รับประทานเป็นผักสดแล้ว ยังสามารถนำไปแปรรูปได้หลายรูปแบบ เช่น ข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องทั้งฝัก หรือบรรจุกระป๋องเฉพาะเมล็ด ทำครีมข้าวโพดหวาน ข้าวโพดแช่แข็ง ซึ่งผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เหล่านี้ สามารถส่งไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี จีน และกลุ่มประเทศในแถบยุโรป พื้นที่เพาะปลูกสำคัญอยู่ทางภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคกลาง ถึงแม้ว่าเกษตรกรนิยมการเพาะปลูกข้าวโพดหวานเป็นจำนวนมากแต่ก็ยังต้องเผชิญกับปัญหาต่าง ๆ เช่น ผลผลิตต่ำ ต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้นเพราะว่าปัจจัยการผลิต เช่น ปุ๋ย สารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชและศัตรูพืชมีราคาแพง และปัญหาคุณภาพของผลผลิตไม่ได้มาตรฐาน ทำให้กำไรที่ได้จากการเพาะปลูกข้าวโพดหวานของเกษตรกรลดลง เกษตรกรจึงเปลี่ยนไปปลูกพืชอื่น ๆ ทดแทน เช่น อ้อย มันสำปะหลัง เป็นต้น จึงเป็นสาเหตุทำให้พื้นที่เพาะปลูกและผลผลิตข้าวโพดหวานมีแนวโน้มลดลง

ปัจจุบันนักวิจัยได้มีความสนใจศึกษาประโยชน์ของแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณรอบ ๆ รากพืช (rhizosphere bacteria) เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากพบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้มีศักยภาพในการใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพได้ (Diem, 1978; Bashan and Levanony, 1990) โดยประโยชน์ที่สำคัญของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) ที่อาศัยอยู่รอบ ๆ รากพืชเหล่านี้ คือ การตรึงไนโตรเจน (Boddey, 1995; Meunchang *et al*., 2004) ผลิตฮอร์โมนสำหรับพืช เช่น indole acetic acis (IAA) (Meunchang *et al*., 2004) ช่วยให้รากมีพื้นที่ผิวมากขึ้น มีผลช่วยให้พืชดูดน้ำและธาตุอาหารได้เพิ่มมากขึ้นกว่าเดิม (Jacoud, 1999) จึงนำมาพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรีย

ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ซึ่งเป็นปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณราก พืช ทั้งบริเวณดินรอบ ๆ ราก ผิวราก ภายในราก ต้นและใบพืช

การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ในการช่วยเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ผลการวิจัยพบว่า การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชสายพันธุ์ที่คัดเลือกในท้องถิ่น มักให้ผลผลผลิตดีกว่าสายพันธุ์มาตรฐาน (type strains) และตำรับไม่ใส่แบคทีเรีย (Murty and Ladha, 1988; Fulchieri and Frioni, 1994) อนึ่งการวิจัยการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ในการปลูกข้าวโพดหวานก็ยังประสบปัญหาจากด้านอื่น ๆ เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พันธุ์ข้าวโพดหวานที่ใช้ และการจัดการดินและน้ำ ซึ่งทำให้ผลผลิตที่ได้รับจากการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แตกต่างกันออกไป นอกจากนี้ประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ สกุลและสายพันธุ์แบคทีเรีย ชนิดของพืช สมบัติของดิน ประชากรจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์ และเงื่อนไขทางสภาพแวดล้อม โดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อม ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก (Bashan and Levanony, 1988) การศึกษาการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่เฉพาะเจาะจงกับพันธุ์ข้าวโพดหวานที่เกษตรกรนิยมปลูก จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจซึ่งควรทำควบคู่กันไปกับการจัดการปุ๋ยและปัจจัยอื่น ๆ เพื่อวิจัยพัฒนาเป็นเทคโนโลยีช่วยเพิ่มศักยภาพในการผลิตและปริมาณผลผลิตข้าวโพดหวานเพื่อการส่งออกและจำหน่ายภายในประเทศต่อไป

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ 2 แบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียและวัสดุพาที่ใช้วิธีปลอดเชื้อแตกต่างกัน ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75–100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ตามรายงานวิจัยของ กัลยกรและคณะ (2560) ที่ได้ทำการวิจัยการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3
2. ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน
3. ปุ๋ยเคมี 15-15-15, 46-0-0, 0-40-0 และ 0-0-60
4. เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน
5. เครื่องแก้ว สารเคมี และวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์และทำแปลงทดลอง

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีบางประการ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (Peech, 1965) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Walkley and Black, 1934) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray and Kurtz, 1945) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Thomas, 1982) สำหรับใช้คำนวณอัตราปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร (2552)

2. ทำการปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ในแปลงทดลองย่อยขนาด 6x5 เมตร มีระยะปลูก 0.75x0.25 เมตร แปลงละ 8 แถว ๆ ละ 20 หลุม ๆ ละ 1 ต้น (โดยทำการถอนแยกหลังปลูก 7 วัน) ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันและปุ๋ยเคมีตามที่กำหนดในกรรมวิธีทดลอง พร้อมทั้งให้น้ำเมื่อความชื้นในดินต่ำ

3. บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิต เมื่ออายุ 55–65 วัน และหลังการเก็บเกี่ยวเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับปริมาณพีจีพีอาร์รอบ ๆ รากพร้อมวัดอัตราการตรึงไนโตรเจน (Acetylene Reduction Assay : ARA) ตามวิธีของ Hardy *et al*. (1968)

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ (ในปี 2563 ลดจำนวนเหลือ 3 ซ้ำ) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 75% อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

กรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 75% อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

หมายเหตุ – ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันแบบที่ 1 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่ใช้วัสดุพาแบบนึ่งฆ่าเชื้อประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดย *Azospirillum* sp. ที่ใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากดินบริเวณรอบ ๆ รากหญ้าแฝก (*Vetiver grass*) (Meunchang *et al*., 2004)

- ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 2 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่ใช้วัสดุพาแบบฉายรังสีประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดย *Azospirillum* sp. ที่ใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากรากข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 (*Zea mays saccharata*) (Prongjunthuek *et al*., 2019)

- การใส่ปุ๋ย ปุ๋ยเคมีทำการแบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ใส่รองพื้นพร้อมปลูกอัตรา 50%N-100%P-100%K ของกรรมวิธีต่าง ๆ และครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้าเมื่อข้าวโพดอายุ 21 วันหลังปลูก อัตรา 50%N ของกรรมวิธีต่าง ๆ โดยโรยข้างแถวแล้วพูนโคนและกำจัดวัชพืช ส่วนปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันทั้ง 2 แบบ ใช้คลุกเมล็ดพร้อมปลูก อัตราส่วนปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน 500 กรัม ต่อเมล็ดข้าวโพด 3 กิโลกรัมต่อไร่

การทดลองในปี 2559

แปลงที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี [ดินร่วนปนเหนียว]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 22 พฤษภาคม 2560 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 1 สิงหาคม 2560 อายุ 71 วัน

แปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ [ดินร่วนปนทราย]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 6 มิถุนายน 2560 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 15 สิงหาคม 2560 อายุ 71 วัน

หมายเหตุ - ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $1.4x10^7$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $5.4x10^6$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $4.3x10^6$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $1.2x10^7$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $4.6x10^6$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $3.9x10^6$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

การทดลองในปี 2560

แปลงที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี [ดินร่วนปนเหนียว]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 22 พฤษภาคม 2560 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 1 สิงหาคม 2560 อายุ 71 วัน

แปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ [ดินร่วนปนทราย]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 6 มิถุนายน 2560 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 15 สิงหาคม 2560 อายุ 71 วัน

หมายเหตุ - ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $1.4x10^7$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $5.4x10^6$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $4.3x10^6$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $1.2x10^7$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $4.6x10^6$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $3.9x10^6$ โคโลนีต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

การทดลองในปี 2561

แปลงที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี [ดินร่วนปนเหนียว]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 18 พฤษภาคม 2561 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 23 กรกฎาคม 2561 รวมอายุ 66 วัน

แปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ [ดินร่วนปนทราย]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 17 พฤษภาคม 2561 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 24 กรกฎาคม 2561 รวมอายุ 68 วัน

หมายเหตุ - ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $3.5x10^7$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $1.7x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $1.2x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 หมายถึง มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $2.8x10^7$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $1.3x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $1.1x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

การทดลองในปี 2562

แปลงที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี [ดินร่วนปนเหนียว]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 30 พฤษภาคม 2562 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 5 สิงหาคม 2562 รวมอายุ 67 วัน

แปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ [ดินร่วนปนทราย]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 5 มิถุนายน 2562 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 13 สิงหาคม 2562 รวมอายุ 70 วัน

หมายเหตุ – ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $4.0x10^7$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $2.2x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $1.8x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

– ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $3.5x10^7$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $2.7x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $1.7x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

การทดลองในปี 2563

แปลงที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี [ดินร่วนปนเหนียว]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 13 มิถุนายน 2563 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 17 กรกฎาคม 2563 รวมอายุ 65 วัน

แปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ [ดินร่วนปนทราย]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 14 กรกฎาคม 2563 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 21 กันยายน 2563 รวมอายุ 69 วัน

หมายเหตุ - ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $3.5x10^7$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $2.0x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $1.5x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $2.5x10^7$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $2.6x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $1.3x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

การทดลองในปี 2564

แปลงที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี [ดินร่วนปนเหนียว]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 1 มิถุนายน 2564 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 6 สิงหาคม 2564 รวมอายุ 65 วัน

แปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ [ดินร่วนปนทราย]

ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 23 มิถุนายน 2564 ทำการเก็บเกี่ยว เมื่อวันที่ 2 กันยายน 2564 รวมอายุ 70 วัน

หมายเหตุ - ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $2.70x10^7$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $1.45x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $2.10x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 มีปริมาณ *Azospirillum* sp. $2.65x10^7$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. $1.53x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. $2.30x10^6$ โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

ระยะเวลา ตุลาคม 2558 - กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี จังหวัดลพบุรี และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน

จากการเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูก ปี 2559–2564 พบว่า ผลวิเคราะห์ดินที่ระดับ 0-20 เซนติเมตร ในแปลงที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี เนื้อดินเป็นดินร่วนปนเหนียว (clay loam) มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง มีปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) 1.31–1.77 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.18–7.55 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available P) 218.00–297.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Extractable K) 56.50–90.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1) และในแปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลางและขาดฟอสฟอรัส มีปริมาณอินทรียวัตถุ 0.60–1.28 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 4.91–5.80 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 2.00–15.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 104.50–123.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถคำนวณปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินได้ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Soil analysis of Lop Buri Seed Research and Development Center and Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center between 2016–2021

Year	OM[1] (%)	Available P[2] (mg/kg)	Extractable K[3] (mg/kg)	pH[4] (1:1)	Chemical fertilizer recommendation rate (kg N-P_2O_5-K_2O/rai)
Lop Buri Seed Research and Development Center [Clay loam]					
2016	1.31	256	56.5	7.18	20-0-10
2017	1.72	297	90.7	7.54	20-5-10
2018	1.75	218	80.8	7.50	20-5-10
2019	1.77	220	80.5	7.52	20-5-10
2020	1.70	200	79.4	7.50	20-5-10
2021	1.68	210	82.4	7.55	20-5-10
Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center [Sandy Loam]					
2016	1.28	2.00	110.0	5.80	20-10-5
2017	0.60	14.24	104.5	4.91	30-10-5
2018	0.69	12.78	107.1	5.00	30-10-5
2019	0.71	13.01	105.1	5.10	30-10-5
2020	0.75	12.00	101.5	5.30	30-10-5
2021	0.69	15.00	123.0	5.34	30-10-5

[1]Walkley and Black (1934)

[2]Bray and Kurtz (1945)

[3]Thomas (1982)

[4]Peech (1965)

2. ความสูงวันเก็บเกี่ยว (Height of harvest)

ผลการทดลองปี 2559–2564 พบว่า ความสูงวันเก็บเกี่ยวของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ของแปลงทดลองที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีความสูงวันเก็บเกี่ยว สูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีความสูงวันเก็บเกี่ยว คือ 170.7–213.0 เซนติเมตร และกรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-0-7.5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีความสูงวันเก็บเกี่ยวสูงที่สุด คือ 159.1-213.2 เซนติเมตร ดังแสดงใน Table 2

ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ พบว่า ปี 2559 ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีความสูงวันเก็บเกี่ยวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของเทียนชัย (2537) ที่รายงานว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ความสูงของต้นข้าวโพดเมื่ออายุ 60 วัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-7.5-3.75 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-7.5-3.75 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีความสูงวันเก็บเกี่ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในปี 2560 2561 2562 และ 2564 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีความสูงวันเก็บเกี่ยวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Table 2)

3. น้ำหนักฝักสดรวมเปลือก (Unhusked ear yield)

ข้าวหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ที่ปลูก ณ แปลงทดลองที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี ในปี 2559 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-0-7.5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 3,621 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-0-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-0-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ คือ 3,186 และ 3,111 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่า กรรมวิธีที่ 4 และ 5 ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์คนละแบบ แต่ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ชี้ให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพทั้งสองแบบมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน การทดลองในปี 2560 พบว่า กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกสูงที่สุด คือ 2,862 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ เพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-3.75-7.5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ส่วนการทดลองในปี 2561 2562 และ 2564 พบว่า กรรมวิธีทดลองที่ 4 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมปลือกสูงสุด คือ 2,430 2,222 และ 3,007 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2)

ผลการทดลองในปี 2559 ของแปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองมีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกสูงที่สุด คือ 2,140 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-7.5-3.75 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-0-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-7.5-3.75 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ คือ 1,993 1,967 และ 1,967 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) และทุกกรรมวิธีที่กล่าวมาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีทดลองที่ใช้ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน แต่ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์คนละแบบ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลการทดลองในปี 2560–2564 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ดังแสดงใน Table 2 นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ 4 5 6 และ 7 ซึ่งใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมี ทำให้ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 ที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ 6 และ 7 ที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมี 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำ ชี้ให้เห็นว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ช่วยเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการปุ๋ยผลิตในเรื่องของการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ สอดคล้องกับผลการทดลองของ กัลยกรและคณะ (2560) ที่รายงานว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ช่วยเพิ่มผลผลิตลดการใช้ปุ๋ยเคมี และลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ได้

4. น้ำหนักฝักสดปอกเปลือก (Husked ear yield)

ผลผลิตของข้าวหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ที่ปลูก ณ แปลงทดลองที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี ในปี 2559 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-0-7.5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 2,142 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-0-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-0-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ คือ 1,920 และ 1,813 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่า กรรมวิธีที่ 4 และ 5 ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์คนละแบบ แต่ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ชี้ให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพทั้งสองแบบมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ 4 และกรรมวิธีที่ 6 ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ชนิดเดียวกัน แต่ใส่ปุ๋ยเคมีในอัตราที่แตกต่างกัน โดยกรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยเคมี 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ส่วนกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยเคมีตามอัตราแนะนำ ชี้ให้เห็นว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมีเพียง 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน สามารถให้น้ำหนักฝักสดปอกเปลือกของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 สูงกว่าการใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ สอดคล้องกับ กัลยกรและคณะ (2560) ที่รายงานว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ช่วยเพิ่มผลผลิตลดการใช้ปุ๋ยเคมี และลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ได้ ส่วนการทดลองในปี 2560 พบว่า กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 1,607 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-3.75-7.5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ส่วนการทดลองในปี 2561 และ 2562 พบว่า กรรมวิธีทดลองที่ 4 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-5-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงสุด คือ 1,349 และ 1,582 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ และในปี 2563 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และในปี 2564 พบว่า กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 รวมกับปุ๋ยเคมี 15-3.75-7.5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 1,953 กิโลกรัมต่อไร่ และทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติดังแสดงใน Table 2

ผลการทดลองในปี 2559 ของแปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองมีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 1,577 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-7.5-3.75 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-0-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-7.5-3.75 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ คือ 1,447 1,423 และ 1,437 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) และทุกกรรมวิธีที่กล่าวมาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีทดลองที่ใช้ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน แต่ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์คนละแบบ มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลการทดลองในปี 2560–2564 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ดังแสดงใน Table 2 นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ 4 5 6 และ 7 ซึ่งใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมี ทำให้ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 ที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ 6 และ 7 ที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมี 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำ ชี้ให้เห็นว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ช่วยเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการปุ๋ยผลิตในเรื่องของการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ สอดคล้องกับผลการทดลองของ กัลยกรและคณะ (2560) ที่รายงานว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ช่วยเพิ่มผลผลิตลดการใช้ปุ๋ยเคมี และลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ได้

5. ความกว้างฝัก (Pod Width)

จาก Table 3 พบว่า ในปี 2559–2564 ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ที่ปลูกในแปลงทดลองที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชสพบุรี ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนแปลงทดลองที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ พบว่า ในปี 2016 ความกว้างฝักของทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และในปี 2560–2564 ทุกกรรมวิธีทดลอง ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีความกว้างฝักแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ 4 5 6 และ 7 ซึ่งใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมี ทำให้ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีความกว้างฝักไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 ที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว

6. ความยาวฝัก (Pod length)

ความยาวฝัก เป็นตัวชี้วัดที่บ่งบอกถึงคุณภาพผลผลิต จากการทดลองใน Table 3 พบว่า ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ที่ปลูกในแปลงทดลองที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชสพบุรี ในปี 2559 2562 2563 และ 2564 ทุกกรรมวิธีทดลองมีความยาวฝักไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีความยาวฝักจัดอยู่ในระดับ 1 (> 20 เซนติเมตร) และระดับ 2 (> 15 ถึง 20 เซนติเมตร) ตามพระราชบัญญัติสินค้าเกษตร พ.ศ. 2551 มกษ.1512-2554 (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554)

ส่วนแปลงทดลองที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ พบว่า ในปี 2559 ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในปี 2560–2564 ทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยความยาวฝักจัดอยู่ในระดับ 2 (> 15 ถึง 20 เซนติเมตร) และระดับ 3 (> 10 ถึง 15 เซนติเมตร) ตามพระราชบัญญัติสินค้าเกษตร พ.ศ. 2551 มกษ.1512-2554 (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) ดังแสดงใน Table 3 นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ 4 5 6 และ 7 ซึ่งใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมี ทำให้ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีความยาวฝักไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 ที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว

7. ความหวาน (Sweetness)

ตามมาตรฐาน มกษ.1512-2554 ได้กำหนดนิยามของ ข้าวโพดหวาน ว่า หมายถึง ข้าวโพดที่มีความหวาน โดยมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ไม่น้อยกว่า 9 องศาบริกซ์ (^{o}brix) ในลักษณะทั้งฝักที่มีหรือไม่มีเปลือกหุ้มเมล็ดติดกับซัง จากผลการทดลองปี 2559–2562 พบว่า ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ที่ปลูกในแปลงทดลองที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชสพบุรี ทุกกรรมวิธีมีความหวานไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 มีความหวานสูงที่สุด คือ 8.7–17.7 ^{o}brix รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-0-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) มีความหวาน 8.3–15.7 ^{o}brix โดยการทดลองในปี 2559 พบว่า ค่าความหวานของทุกกรรมวิธีมีค่าต่ำกว่ามาตรฐาน มกษ.1512-2554 โดยมีค่าความหวานอยู่ระหว่าง 7.3–8.2 ^{o}brix ดังแสดงใน Table 3

แปลงทดลองที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ พบว่า ในปี 2559 2561 2562 และ 2563 ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีเปอร์เซ็นต์ความหวานไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าความหวานอยู่ระหว่าง 13.3–18.1 ^{o}brix ซึ่งสูงกว่าที่มาตรฐาน มกษ.1512-2554 กำหนด ส่วนในปี 2560 และ 2564 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีความหวานแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 มีค่าความหวานสูงที่สุด คือ 18.1 ^{o}brix ซึ่งสูงกว่าที่มาตรฐาน มกษ.1512-2554 กำหนด นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีทดลองที่เหลือก็มีค่าความหวานสูงกว่าที่มาตรฐาน มกษ.1512-2554 กำหนดเช่นเดียวกัน โดยมีค่าความหวานอยู่ระหว่าง 15.4–18.0 ^{o}brix (Table 3)

8. ประชากรแบคทีเรีย

ก่อนดำเนินการทดลองปี 2559–2564 ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยในแปลงทดลองที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชสพบุรี มีจำนวนประชากร *Azospirillum* sp. เฉลี่ย 5.52–7.01 Log_{10} CFU/ml *Azotobacter* sp. เฉลี่ย 4.05–6.48 Log_{10} CFU/ml และ *Beijerinkia* sp. เฉลี่ย 4.45-6.34 Log_{10}

CFU/ml ส่วนแปลงทดลองที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ มีจำนวนประชากร *Azospirillum* sp. เฉลี่ย 5.40–6.95 Log_{10} CFU/ml *Azotobacter* sp. เฉลี่ย 4.16–5.99 Log_{10} CFU/ml และ *Beijerinkia* sp. เฉลี่ย 4.45–5.79 Log_{10} CFU/ml และหลังการทดลอง พบว่า ทั้งสองแปลงทดลอง ทุกกรรมวิธีทดลองที่ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทำให้จำนวนประชากร *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinkia* sp. ในดินเพิ่มสูงขึ้นประมาณร้อยละ 5–68 ดังแสดงใน Figure 1

นอกจากนี้การดำเนินการทดลองในปี 2559–2564 พบว่า แบคทีเรียทั้งสามสกุลสามารถส่งเสริมให้มีการตรึงไนโตรเจนในราก โดย มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.005–0.636 µmol C_2H_2/hr (Figure 2) ซึ่งโดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณประชากรแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อมซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก (Bashan and Levanony, 1990; สมปองและศุภมาศ, 2551; Meunchang *et al*., 2006a; Meunchang *et al*., 2006b)

Table 2 Height of harvest, unhusked ear yield and husked ear yield of sweet corn variety Hi-Brix 3 at Lop Buri Seed Research and Development Center and Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center between 2016–2021

Treatment	Height of harvest (cm)						Unhusked ear yield (kg/rai)						Husked ear yield (kg/rai)					
	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Lop Buri Seed Research and Development Center [Clay loam]																		
1	192.1	207.8	183.4	181.6	188.1	173.0	3,003	2,672	2,430 a	2,110 a	2,560	2,647	1,742	1,461 a	1,262 ab	1,452 ab	1,131	1,773 ab
2	194.2	199.6	173.5	164.4	180.7	160.0	3,031	2,272	2,112 ab	1,335 b	1,920	2,207	1,840	1,330 ab	1,143 ab	967 bc	946	1,327 c
3	191.3	195.7	166.4	171.6	180.7	167.7	2,907	1,929	1,904 ab	1,298 b	1,728	1,973	1,630	1,074 b	1,031 b	937 c	633	1,494 bc
4	194.4	213.0	172.4	186.9	188.3	170.7	3,186	2,546	2,430 a	2,222 a	2,176	3,007	1,920	1,550 a	1,349 a	1,582 a	910	1,933 ab
5	193.3	183.9	172.7	192.0	197.4	165.0	3,111	2,862	2,233 ab	2,135 a	2,489	2,567	1,813	1,607 a	1,195 ab	1,564 a	1,003	1,833 ab
6	201.4	213.2	181.8	183.0	187.1	159.1	3,621	1,642	1,827 b	2,037 a	2,468	2,940	2,142	1,458 a	1,248 ab	1,442 ab	981	1,953 a
7	193.7	207.8	178.3	176.1	193.4	164.2	3,047	2,661	2,032 ab	1,854 ab	2,468	2,547	1,723	1,474 a	974 b	1,337 abc	1,031	1,834 ab
CV (%)	4.08^{ns}	10.25^{ns}	4.77^{ns}	7.50^{ns}	5.19^{ns}	6.00^{ns}	15.40^{ns}	15.45*	14.83*	18.40**	18.50^{ns}	21.89^{ns}	15.40^{ns}	10.96**	15.14*	17.63**	24.84^{ns}	12.13**
Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center [Sandy loam]																		
1	149.1 a	172.7 a	136.8 a	179.2 a	161.8 ab	147.8 a	1,900 a	1,473 a	1,533 a	1,934 a	2,482 a	2,047 ab	1,390 a	1,127 a	987 a	1,463 a	1,758 a	1,420 ab
2	114.9 b	119.7 b	95.8 b	145.0 b	155.6 b	90.8 c	823 b	367 b	387 b	816 b	1,435 b	293 c	540 b	243 b	263 b	590 b	1,021 b	207 c
3	113.2 b	98.9 b	83.5 b	138.5 b	132.3 c	99.7 bc	720 b	313 b	300 b	700 b	957 b	447 bc	487 b	204 b	140 b	503 b	737 b	317 bc
4	158.9 a	182.4 a	150.9 a	178.0 a	170.1 ab	127.2 ab	2,140 a	1,800 a	1,867 a	1,888 a	2,664 a	1,490 ab	1,577 a	1,393 a	1,300 a	1,344 a	1,836 a	1,004 ab
5	157.4 a	178.2 a	141.9 a	183.6 a	170.0 ab	154.1 a	1,967 a	1,754 a	1,647 a	2,069 a	2,845 a	2,280 a	1,423 a	1,323 a	1,360 a	1,493 a	1,978 a	1,547 a
6	154.4 a	185.8 a	144.3 a	187.8 a	165.6 ab	150.0 a	1,967 a	1,733 a	1,794 a	1,906 a	2,586 a	1,833 ab	1,437 a	1,384 a	1,267 a	1,342 a	1,810 a	1,313 ab
7	147.3 a	185.3 a	140.8 a	177.9 a	181.5 a	143.9 a	1,993 a	1,744 a	1,547 a	1,879 a	3,037 a	1,863 ab	1,447 a	1,270 a	1,080 a	1,351 a	2,146 a	1,307 ab
CV (%)	6.41*	8.15**	11.72**	9.26**	9.40*	12.15**	20.61*	20.80**	14.20**	15.67**	14.83**	19.97**	22.28*	23.01**	18.43**	18.69**	16.09**	23.30**

Remarks: ns = nonsignificant

* Numbers within columns not having letters in common were significantly different at P (0.05) by DMRT

** Numbers within columns not having letters in common were significantly different at P (0.01) by DMRT

Table 3 Pod width, pod length and sweetness of sweet corn variety Hi-Brix 3 at Lop Buri Seed Research and Development Center and Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center between 2016–2021

Treatment	Pod width (cm)						Pod length (cm)						Sweetness (°brix)					
	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2016	2017	2018	2019	2020	2021
	Lop Buri Seed Research and Development Center [Clay loam]																	
1	5.7 bc	5.3	4.85	-	5.18	4.97	20.4	19.5 a	19.50	-	20.77	17.95	8.3	15.7	15.7	13.0	-	-
2	5.7 bc	5.4	4.85	-	5.10	4.84	21.4	17.6 b	20.36	-	19.12	18.13	8.7	17.6	17.7	14.8	-	-
3	5.6 c	5.2	4.75	-	4.91	5.01	20.2	18.1 ab	20.05	-	18.57	18.10	7.8	17.6	16.7	14.2	-	-
4	5.8 ab	5.3	4.88	-	5.29	5.28	21.4	19.3 a	20.12	-	20.43	19.20	8.1	17.0	17.0	13.6	-	-
5	5.8 ab	5.3	4.90	-	5.34	5.17	21.3	19.0 ab	19.83	-	20.93	19.33	8.2	16.5	16.6	12.9	-	-
6	5.9 a	5.3	4.85	-	5.24	5.04	21.4	19.1 ab	19.47	-	21.56	18.85	8.0	16.9	16.9	11.8	-	-
7	5.8 ab	5.1	4.88	-	5.32	4.78	24.2	19.7 a	20.08	-	20.61	19.25	7.3	16.5	16.5	13.1	-	-
CV (%)	1.39^{ns}	2.43^{ns}	2.29^{ns}	-	3.33^{ns}	5.68^{ns}	4.78^{ns}	3.87**	2.50^{ns}	-	6.84^{ns}	8.91^{ns}	29.53^{ns}	5.58^{ns}	15.58^{ns}	12.21^{ns}	-	-
	Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center [Sandy loam]																	
1	4.9 ab	4.7 a	4.08 ab	-	4.69 ab	4.52 a	19.7 a	19.1 a	14.80 a	-	16.56 ab	15.65 a	15.5	15.4 b	15.9	16.1	16	14.4 bc
2	4.0 c	3.7 b	3.38 bc	-	4.06 bc	3.26 c	14.2 b	12.3 b	10.48 b	-	13.59 bc	5.08 c	15.5	18.1 a	15.4	18.1	15.6	16.3 a
3	4.2 bc	3.6 b	2.98 c	-	3.59 c	3.52 bc	15.2 b	12.6 b	9.98 b	-	11.17 c	7.25 bc	13.6	18.0 a	15.3	17.3	15.7	15.9 ab
4	5.3 a	5.1 a	4.75 a	-	4.85 a	4.08 ab	19.8 a	19.7 a	17.18 a	-	17.99 a	11.03 ab	16.0	15.7 a	15.6	17.1	13.9	14.6 bc
5	4.8 ab	4.9 a	4.23 ab	-	4.90 a	4.55 a	19.9 a	19.5 a	14.78 a	-	17.79 a	15.16 a	14.8	15.6 a	16.5	17.4	14.9	13.4 c
6	4.8 ab	4.9 a	4.63 a	-	4.76 a	4.53 a	19.8 a	19.6 a	15.73 a	-	17.20 a	15.02 a	13.3	16.8 ab	15.6	16.8	14.4	14.6 bc
7	4.6 abc	5.0 a	4.23 ab	-	5.01 a	4.44 a	20.0 a	19.7 a	14.60 a	-	18.28 a	13.59 a	14.2	15.9 b	15.9	17.8	14.5	14.4 bc
CV (%)	11.54^{ns}	7.43**	10.10**	-	7.15**	8.33**	6.41^{ns}	9.19**	9.93**	-	10.63**	24.44**	19.75^{ns}	7.58*	20.32^{ns}	5.34^{ns}	5.61^{ns}	6.97*

Remarks: ns = nonsignificant

* Numbers within columns not having letters in common were significantly different at P (0.05) by DMRT

** Numbers within columns not having letters in common were significantly different at P (0.01) by DMRT

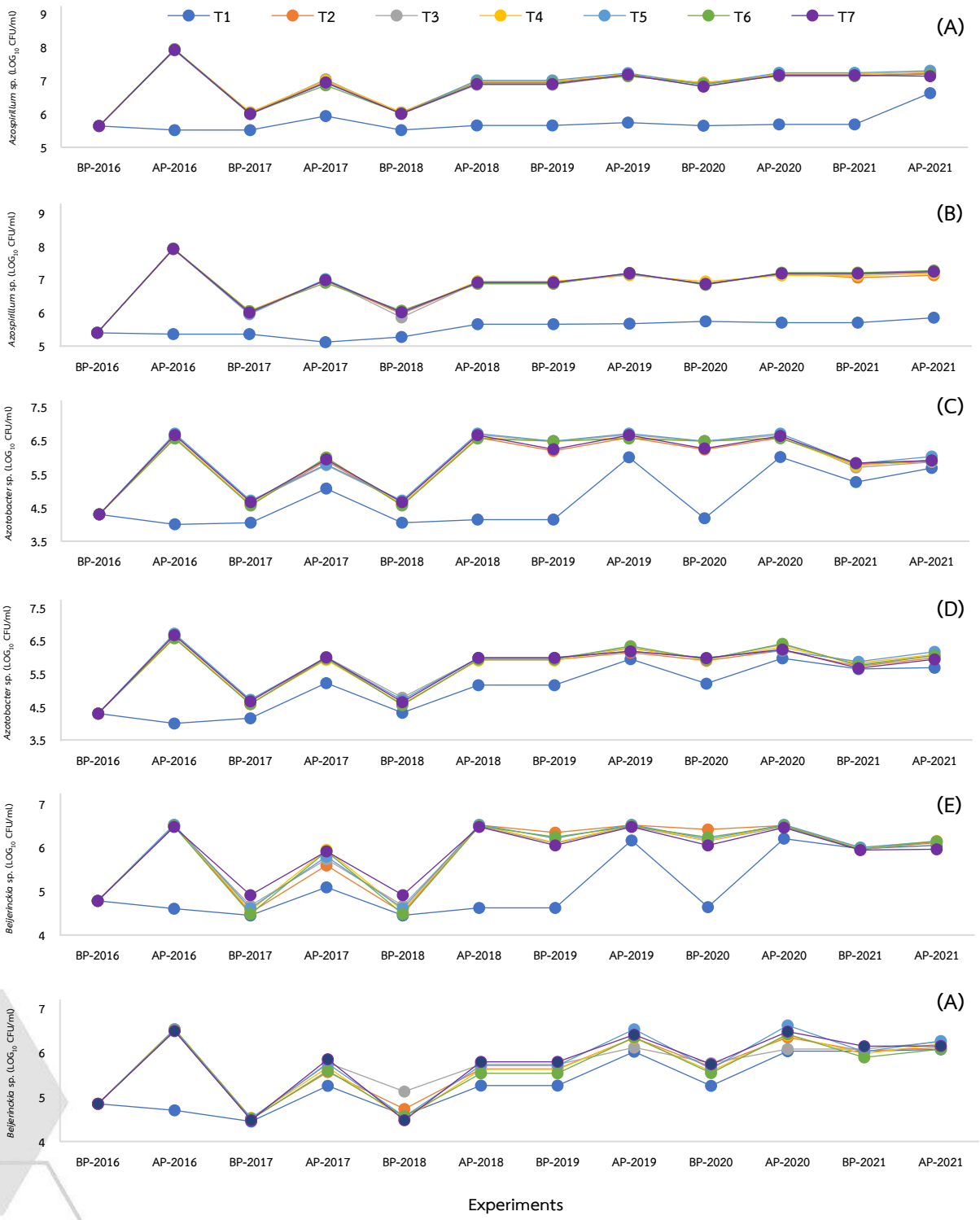


Figure 1 Number of PGPR in soil before (BP) and after (AP) planting between 2016–2021 (A) *Azospirillum* sp., (C) *Azotobacter* sp. and (E) *Beijerinckia* sp. at Lop Buri Seed Research and Development Center and (B) *Azospirillum* sp., (D) *Azotobacter* sp. and (F) *Beijerinckia* sp. at Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center

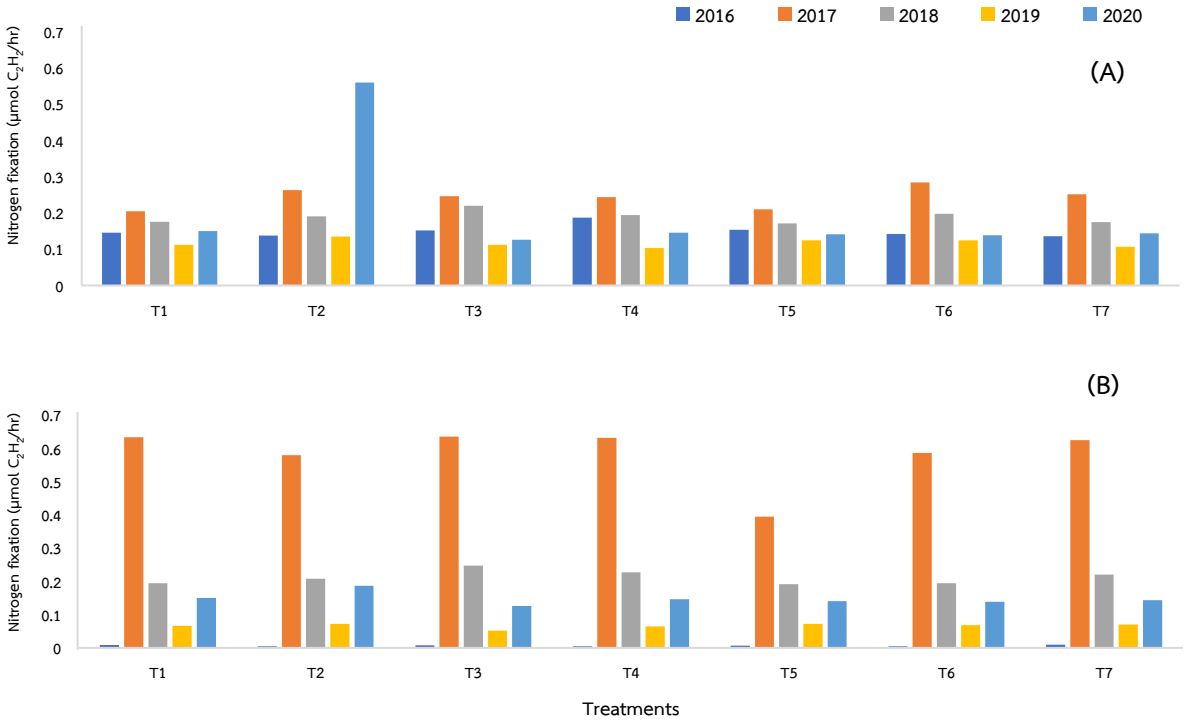


Figure 2 Nitrogen fixation of PGPR from root area of sweet corn variety Hi-Brix 3 at (A) Lop Buri Seed Research and Development Center and (B) Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center between 2016–2021

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทั้งสองแบบร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75–100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ได้ และจากผลการทดลองทั้งสองแปลง พบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีนั้นให้ผลผลิตข้าวโพดหวานใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว แต่การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมี 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินสามารถช่วยประหยัดต้นทุนการผลิตได้มากกว่าในส่วนของการลดการใช้ปุ๋ยเคมีจากอัตราแนะนำลงมา 25 เปอร์เซ็นต์

2. แปลงทดลองที่ 1 ศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี (ดินร่วนปนเหนียว) พบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทั้งสองแบบในการปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 นั้นให้ผลยังไม่ชัดเจน จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อในระยะยาวอย่างน้อย 3 ปี เพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนมากขึ้นและควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในข้าวโพดหวานสายพันธุ์อื่นเพื่อเพิ่มความชัดเจนของผลการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ในดินร่วนปนเหนียว

3. แปลงทดลองที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ (ดินร่วนปนทราย) พบว่า ผลการทดลองทั้ง 6 ปี ให้ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 30-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (อัตราแนะนำ) ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในข้าวโพดหวานสายพันธุ์อื่นเพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนมากขึ้น

4. ทุกกรรมวิธีทดลองที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ พบว่า จำนวนประชากร *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinkia* sp. ในดินเพิ่มสูงขึ้นร้อยละ 5–68 และแบคทีเรียทั้งสามสกุลที่อยู่ในปุ๋ยชีวภาพทั้งสองแบบนั้นมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ชี้ให้เห็นว่าการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์สามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนลงได้และเพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาต่อยอดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้นและศึกษาเพิ่มเติมในข้าวโพดหวานสายพันธุ์อื่น

2. สามารถให้คำแนะนำแก่เกษตรกรที่ปลูกข้าวโพดหวานในการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมีในการปลูกข้าวโพดหวานเพื่อลดต้นทุนการผลิตในดินร่วนปนทรายและดินร่วนปนเหนียว

เอกสารอ้างอิง

กัลยกร โปร่งจันทึก ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง นงลักษ์ ปั้นลาย และวีระพงษ์ เย็นอ่วม. 2560. ผลการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันต่อการลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวาน. หน้า 346–354. *ใน*: *รายงานการประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติ ครั้งที่ 5.* ณ โรงแรมเซ็นทรา บาย เซ็นทารา แจ้งวัฒนะ กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. 2552. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. ISBN: 978-974-436-749-5

เทียนชัย สุวรรณเวช. 2537. อิทธิพลของจำนวนประชากรและการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตข้าวโพดในดินเหนียวสีดำ. บทคัดย่องานวิจัยประจำปีงบประมาณ 2535–2537 ของคณาจารย์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 92–93.

สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2554. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.1512-2554: ข้าวโพดหวาน. 18 หน้า. ICS 67.080.20. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สมปอง หมื่นแจ้ง และศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา. 2551. การใช้ผลพลอยได้จากโรงงานน้ำตาลแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการผลิตพืช. รางวัลสภาวิจัยแห่งชาติ : รางวัลวิทยานิพนธ์ ประจำปี 2550. หน้า 250–252.

Bashan, Y. and H. Levanony. 1988. Adsorption of rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd to soil, sand and peat particles. Journal of General Microbiology 134: 1,811–1,820.

Bashan, Y. and H. Levanony. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation Technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. Canadian Journal of Microbiology 36: 591–608.

Boddey, R.M. 1995. Biological nitrogen fixation associated with sugarcane and rice: contribution and prospects for improvement. Plant and Soil. 174: 195–209.

Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. Soil Science 59: 39–45.

Diem, G., M. Rougier, I. Hamad-Fares, J.P. Balandreau and Y.R. Dommergures. 1978. Colonization of Rice roots by diazotroph bacteria *In* Environmental Role of Nitrogen-fixing Blue-green Algae and Asymbiotic Bacteria. Ecological Bulletins (Stockholm) 26: 305-311.

Fulchieri, M. and L. Frioni, 1994. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays*): Effect on yield in a field experiment in central Argentina. Soil Biology and Biochemistry 26: 921–923.

Hungria, M., R.J. Campo, E.M. Souza and F.O. Pedrosa. 2010. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. Plant Soil. 331: 413–425.

Jacoud, C. 1999. Initiation of root growth stimulation by *Azospirillum lipoferum* CTR1 during maize seed germination. Canadian Journal of Microbiology 45: 339–342.

Meunchang, S., S. Panichsakpatana, S. Ando and T. Yokoyama. 2004. Phylogenetic and physiological characterization of indigenous *Azospirillum* isolates in Thailand. Soil Science and Plant Nutrition. 50(3): 413–421.

Meunchang, S., S. Panichsakpatana and R. W. Weaver. 2006a. Tomato growth in soil amended with Sugar mill by-products compost containing N_2-fixing bacteria. Plant and Soil. 280: 171–176.

Meunchang, S., S. Panichsakpatana, S. Ando, T. Yokoyama and R. W. Weaver. 2006b. Bio-organic Fertilizer production development from compost and plant growth promoting rhizobacteria. Abstract of 14th world fertilizer congress. January 21–27, 2006. Chiang Mai Thailand.

Murty, M. G. and J. K. Ladha. 1988. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic condition. Plant and Soil. 108: 281–285.

Peech, M. 1965. Hydrogen-ion activity in Methods of Soil Analysis Part 2; C.A. Black, ed. pp. 914–926.

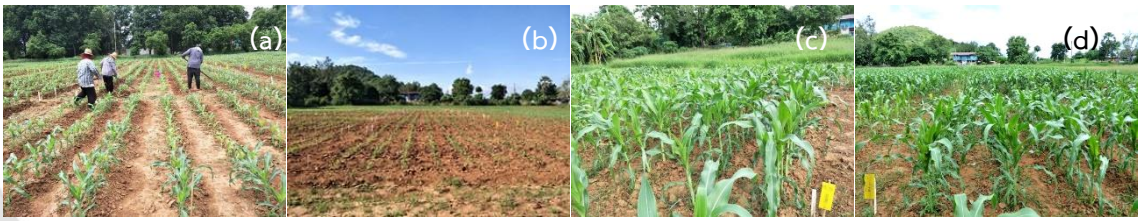
Prongjunthuek, K., P., Meunchang and S. Panichsakpatana. 2019. Effects of *Azospirillum* on germination and seedling growth of commercial sweet corn varieties Insee 2 and Hi-Brix 3. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 41(4): 838–845.

Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. In: Methods of Soil Analysis. (AL Page *et al*, eds) Agronomy. 9: 154–157 (Madison).

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science. 37: 29–38.

Hardy R. W. F., R. D., Holsten, E. K., Jackson and R. C. Burns. 1968. The Acetylene-Ethylene Assay for N_2 fixation: laboratory and field evaluation. Plant Physiology 43: 1,185–1,207.

ภาคผนวก



Appendix Figure 1 Sweet corn variety Hi-brix 3 at 14 (a), (b) and 30 (c), (d) days after planting at Lop Buri Seed Research and Development Center In 2018

Appendix Figure 2 Sweet corn variety Hi-brix 3 at Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center at 30 days after planting in 2018

การศึกษาผลของการจัดการปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในระบบการปลูกถั่วเขียวหลังนาต่ออัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวในดินร่วนปนเหนียวถึงดินเหนียว จังหวัดชัยนาท

Study on the effects of chemical fertilizer and rhizobium biofertilizer management in cropping system mung bean-rice on nitrogen fertilizer application rates for rice cultivation in clay loam to clay soil at Chainat province

จิตรา เกาะแก้ว *มนต์ชัย มนัสสิลา* *กิจเมฆ แจ้งศิริกุล*
อมรรัตน์ ใจยะเสน *วิลัยรัตน์ แป้นแก้ว*
Jitra Kokaew *Monchai Manassila* *Kitjamate Jangsirikul*
Amornrat Chaiyasen *Wilairat Pankaew*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The effect of chemical fertilizer and rhizobium biofertilizer management in the system of mung bean-rice cultivation on nitrogen fertilizer usage rates in rice field was studied in clay loam to clay soil at Chai Nat Field Crops Research Center. Chai Nat 84-1 mung bean varieties was cultivated and harvested in 2019-2021 as a guideline for fertilizer management in mung bean-rice cultivation system. Split plot experimental design with 4 replicates was used. The main plot factor was the management of chemical fertilizers and rhizobium biofertilizer in mung bean cultivation are; 1) no chemical fertilizers (N-P-K) and rhizobium biofertilizer, 2) chemical fertilizer (N-P-K) according to soil analysis without rhizobium biofertilizer, 3) phosphate and potash fertilizer according to soil analysis (P-K) and rhizobium biofertilizer. The subplot factor was the use of nitrogen fertilizer at the recommended rate according to soil analysis in the rice field with 4 rates (0, 6.5, 13, and 26 kg N per rai).

The application of 3 kg of phosphate and potash fertilizer/rai according to soil analysis and rhizobium biofertilizer showed highest nitrogen fixation, number of nodules, fresh and dry weight of nodules. There was no significant difference between treatment in yield per rai for all 3 years of plantation. Nitrogen balance analysis after mung bean residues plowing for all 3 years of plantation revealed that the per rai combined with rhizobium biofertilizer. Causing nitrogen in the area to have a deficit of 2.06 and 2.03 kilogram N per rai of fertilizer. The nitrogen balance after planting and rice residue plowing showed that rice planting without nitrogen fertilizer in mung bean planting area without fertilizer application and mung bean planting with chemical fertilizer at the rate of 0-3-3 kg N-P_2O_5- K_2O per rai combined with rhizobium biofertilizer causing nitrogen in the area to have a deficit of 0.52 and 0.69 kg N per rai of fertilizer. An analysis of value to cost ratio (VCR) found that every treatment of mung bean cultivation gave a low return on investment. The cultivation of rice varieties RD 41 after planting mung bean, found that rice cultivation with chemical fertilizer application at the rate of 6.5-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O per rai in mung bean

planting area with fertilizer application yielded a return on investment with VCR value of 4.92 and 3.95 respectively. In addition, it was found that rice cultivation with chemical fertilizer application at the rate of 13-0-0 kg $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ per rai in mung bean planting area with 3-3-3 kg of $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ fertilizer per rai was also provides a good return on investment with a VCR value of 3.37

Keywords : Mung bean, Biofertilizer, rhizobium, N balance

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของการจัดการปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในระบบการปลูกถั่วเขียวหลังนาต่ออัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวของดินร่วนปนเหนียวถึงดินเหนียวที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท เพื่อเป็นแนวทางในการจัดการปุ๋ยในระบบการปลูกถั่วเขียวหลังนา วางแผนการทดลองแบบ Split plot มี 4 ซ้ำ ปัจจัยหลัก คือ การจัดการปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในระบบการปลูกถั่วหลังนา 3 กรรมวิธี ได้แก่ ไม่ใส่ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ และใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ปัจจัยรอง คือ การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าว 4 อัตรา ได้แก่ 0 6.5 13 และ26 กิโลกรัม N ต่อไร่

ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีผลให้จำนวนปม น้ำหนักสดปม น้ำหนักแห้งปม และค่าการตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวมีค่าสูงที่สุด อย่างไรก็ตามพบว่าผลผลิตเมล็ดและน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ของถั่วเขียวที่ปลูกทั้ง 3 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี การวิเคราะห์สมดุลธาตุไนโตรเจนหลังการปลูกถั่วเขียวและไถกลบเศษซากถั่วเขียวทั้ง 3 ปี พบว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยและกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ทำให้ธาตุไนโตรเจนในพื้นที่มีค่าขาดดุลคิดเป็นเนื้อปุ๋ย 2.06 และ 2.03 กิโลกรัม N ต่อไร่ สมดุลของธาตุไนโตรเจนหลังการปลูกและไถกลบเศษซากข้าวพบว่าการปลูกข้าวโดยไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในพื้นที่ปลูกถั่วที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยและพื้นที่ปลูกถั่วที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ทำให้ธาตุไนโตรเจนในพื้นที่มีค่าขาดดุลคิดเป็นเนื้อปุ๋ย 0.52 และ 0.69 กิโลกรัม N ต่อไร่ การวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย (VCR) พบว่าการปลูกถั่วเขียวทุก ๆ กรรมวิธีให้ผลตอบแทนที่ไม่คุ้มค่าแก่การลงทุน การปลูกข้าวเจ้าพันธุ์ กข 41 หลังจากการปลูกถั่วเขียว พบว่าการปลูกข้าวด้วยการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 6.5-0-0 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ในพื้นที่ปลูกถั่วเขียวที่มีการใส่ปุ๋ยให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุนโดยให้ค่า VCR เท่ากับ 4.92 และ 3.95 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการปลูกข้าวด้วยการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 13-0-0 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ในพื้นที่ปลูกถั่วเขียวที่มีการใส่ปุ๋ย 3-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุนโดยให้ค่า VCR เท่ากับ 3.37

คำสำคัญ : ถั่วเขียว ปุ๋ยชีวภาพ ไรโซเบียม สมดุลไนโตรเจน

คำนำ

ปัจจุบันการผลิตพืชโดยรวมมีแนวโน้มการใช้ปุ๋ยเคมีเพิ่มมากขึ้นจาก 3.88 – 3.89 ล้านตันในปี 2546 เป็น 4.32 – 4.40 ล้านตันในปี 2550 หรือมีอัตราเพิ่มเฉลี่ยประมาณร้อยละ 2.73-3.14 (ปิยรัตน์, 2554) สถิติการนำเข้าปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ในช่วงปี พ.ศ. 2552 – 2557 มีประมาณ 2 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 23,770 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2558) ข้าวเป็นพืชที่มีความต้องการปุ๋ยเคมีมาก เมื่อปลูกข้าวปริมาณไนโตรเจนในดินจะลดลงและสูญเสียไปจากดินหลังการเก็บเกี่ยว โดยติดไปกับผลผลิตและเศษซากพืชที่นำออกไปจากพื้นที่ ถูกชะล้างไปกับน้ำ และสูญหายในรูปของก๊าซแอมโมเนีย (ammonia volatilization) จังหวัดชัยนาทเป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญแห่งหนึ่งของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกข้าวนาปี ในปี 2561 - 2562 จำนวน 848,728 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 71.24 ของพื้นที่ทำการการเกษตรทั้งหมด พื้นที่ปลูกข้าวนาปรัง ในปี 2561 เท่ากับ 526,708 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 44.20 ของพื้นที่การเกษตรทั้งหมด (สำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2562) เกษตรกรสามารถปลูกได้ทั้งข้าวนาปีและนาปรัง การปลูกข้าวนาปี ทำโดยอาศัยน้ำฝนจากธรรมชาติและน้ำชลประทาน

ส่วนนาปรังเกษตรกรจะอาศัยน้ำจากแหล่งน้ำชลประทานและแหล่งน้ำอื่น ๆ จึงทำให้เกษตรกรบางส่วนสามารถปลูกข้าวได้ 2-3 ครั้งต่อปี

การจัดการธาตุอาหารให้เพียงพอต่อความต้องการของข้าว โดยคำนึงถึงสมดุลธาตุอาหารในพื้นที่เป็นหลักเป็นสิ่งสำคัญเพื่อหาแนวทางในการลดต้นทุนการผลิต ลดการใช้ปุ๋ยเคมีที่เกินความต้องการของพืช และเป็นการรักษาคุณภาพของดินอย่างยั่งยืน โดยวิธีที่ช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินได้อย่างยั่งยืน คือ การปลูกพืชตระกูลถั่วหมุนเวียนหลังการทำนาข้าว พืชตระกูลถั่วที่นิยมปลูกหลังการทำนาข้าว ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง (สมชาย, 2529; สมชาย, 2532) สำหรับพืชตระกูลถั่วที่นิยมปลูกหลังการทำนาข้าวในพื้นที่จังหวัดชัยนาท ได้แก่ ถั่วเขียว เนื่องจากเป็นพืชอายุสั้น ใช้น้ำน้อย (400 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่) เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกข้าวและพืชไร่ชนิดอื่น เช่น ถั่วเหลือง (560 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่) ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (800 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่) เป็นต้น นอกจากนี้ถั่วเขียวยังสามารถปลูกได้ในทุกสภาพพื้นที่เหมาะสำหรับปลูกในระบบปลูกพืช เช่น ทดแทนข้าวนาปรัง โดยปลูกถั่วเขียวหลังเก็บเกี่ยวข้าวนาปีเพราะสามารถใช้ความชื้นที่เหลืออยู่ในดินภายหลังเก็บเกี่ยวข้าวได้โดยไม่กระทบต่อผลผลิตถั่วเขียวมากนัก และยังเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินจากการย่อยสลายเศษซากถั่วได้อีกด้วย (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) การผลิตถั่วเขียวของเกษตรกรส่วนใหญ่ไม่มีการใส่ปุ๋ยหรือใส่น้อยมาก เป็นเพียงปุ๋ยเกร็ด 25-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ โดยใช้ผสมน้ำอัตรา 100 - 250 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ร่วมกับฮอร์โมนอื่น ๆ ซึ่งมีปริมาณธาตุอาหารน้อยและไม่เพียงพอต่อความต้องการของถั่วเขียว แม้ว่าถั่วเขียวจะเป็นพืชที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศโดยกิจกรรมจุลินทรีย์ไรโซเบียม แต่ในดินนั้นอาจมีไรโซเบียมอยู่น้อยมาก และอาจเป็นไรโซเบียมที่ไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตถั่วเขียวตกต่ำ

ในปัจจุบันได้มีการนำเชื้อไรโซเบียมมาใช้ในการปลูกพืชตระกูลถั่ว โดยกรมวิชาการเกษตรได้ผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วลิสง เพื่อให้เกษตรกรและผู้ที่สนใจนำไปใช้ในการผลิตพืชตระกูลถั่ว และเป็นการสนองนโยบายของรัฐบาลในการลดต้นทุนการผลิตพืชทำให้เกษตรกรหันมาปลูกถั่วกันมากขึ้น อย่างไรก็ตามการส่งเสริมเกษตรกรให้ปลูกถั่วเขียวหลังเก็บเกี่ยวข้าว อาจไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากเกษตรกรคุ้นชินกับการปลูกข้าวและยังขาดทักษะการปลูกถั่วเขียวซึ่งเป็นพืชไร่ในสภาพนา การปลูกถั่วเขียวร่วมกับการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตถั่วเขียวและสามารถทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีเป็นการลดต้นทุนการผลิตลง จากการประเมินปริมาณไนโตรเจนที่ถั่วชนิดต่าง ๆ ตรึงได้โดยประมาณในสภาพไร่นาพบว่าถั่วเขียวตรึงไนโตรเจนได้ 10 - 55 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ต่อปี (FAO, 1984) พรพรรณ และคณะ (2554) พบว่าการใช้เชื้อไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวสามารถทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนได้ และให้ผลตอบแทนเหนือต้นทุนแปรผัน (variable cost) สูงกว่าการใช้ไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยเคมีและปุ๋ยหมัก Crews and Peoples (2004) รายงานว่า การได้รับไนโตรเจนจากพืชตระกูลถั่วมีประสิทธิภาพและยั่งยืนกว่าการได้รับจากปุ๋ยเคมี นันทกรและคณะ (2535) และ Yanni *et al* (2001) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของ *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* ต่อรากข้าว พบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถเข้าอยู่อาศัยร่วมกับรากข้าวได้และมีการสร้างสาร auxin (indole acetic acid) และ gibberellin ซึ่งเป็นฮอร์โมนกระตุ้นการเจริญของพืชและยังพบว่าเชื้อไรโซเบียมบางสายพันธุ์สามารถสร้างรูปแบบการเจริญได้สามแบบ คือ 1) เซลล์อิสระในดิน 2) อาศัยในปมรากพืชตระกูลถั่วแบบพึ่งพาอาศัย และ 3) ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยอาศัยภายในราก ธัญพืชที่เป็นพืชหมุนเวียนด้วยกัน การปลูกถั่วเขียวหมุนเวียนหลังการทำนานอกจากให้ประโยชน์ในแง่ธาตุอาหารแล้ว ยังช่วยลดปัญหาการระบาดของศัตรูข้าว สามารถตัดวงจรชีวิตของแมลงศัตรูข้าว โดยเฉพาะเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่ทำความเสียหายแก่ข้าวมากที่สุด (Boonpradub, 2008)

จากงานวิจัยดังกล่าวจะเห็นได้ว่านอกจากเชื้อไรโซเบียมจะสามารถเอื้อประโยชน์ให้กับพืชตระกูลถั่วแล้ว ยังสามารถกระตุ้นการเจริญของพืชพวกธัญพืช เช่น ข้าว ได้เช่นกัน ดังนั้น การนำไรโซเบียมมาใช้กับพืชตระกูลถั่วที่เป็นพืชหมุนเวียนหลังนาข้าวจึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมให้แก่เกษตรกรที่ต้องการลดต้นทุนการผลิตด้วยการลดปุ๋ยไนโตรเจนแต่สามารถเพิ่มผลผลิตข้าว ส่งเสริมการเจริญเติบโตของทั้งข้าวและพืชตระกูลถั่วในเวลาเดียวกัน และยังเป็นวิถีการเกษตรแบบยั่งยืนที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย การศึกษาสมดุลธาตุไนโตรเจนในการปลูกถั่วหลังนาจึงมีความสำคัญในการตอบข้อสงสัยเกี่ยวกับปริมาณธาตุไนโตรเจนที่ต้องใส่ลงไปในพื้นที่เพาะปลูกทั้งในรูปของปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์หรือปุ๋ยชีวภาพ ปริมาณธาตุไนโตรเจนที่จะสูญหายไประหว่างการปลูก และปริมาณธาตุไนโตรเจนที่ใส่กลับลงไปในพื้นที่ปลูกเพื่อเป็นปุ๋ยไนโตรเจนให้แก่การปลูกข้าวนาปีในรอบการปลูกถัดไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้ ถั่วเขียว มาเป็นต้นแบบในการศึกษาสมดุลธาตุไนโตรเจนในระบบการปลูกถั่ว

หลังนาในพื้นที่ดินร่วนปนเหนียวถึงดินเหนียวของพื้นที่ภาคกลาง โดยเลือกศึกษาในพื้นที่จังหวัดชัยนาท ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวอย่างต่อเนื่องตลอดทั้งปี

วิธีดำเนินการ

วิธีการ : วางแผนการทดลอง แบบ Split plot จำนวน 4 ซ้ำ

Main plot คือ การจัดการปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในระบบการปลูกถั่วหลังนา 3 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี (N-P-K) และไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ และคลุกเมล็ดถั่วด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

Sup plot คือ การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าว 4 อัตรา ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 6.5-0-0 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 13-0-0 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 26-0-0 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่

วิธีปฏิบัติการทดลอง ดำเนินการปลูกถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 84-1 และข้าวเจ้าพันธุ์ กข. 41 ในแปลงนาทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท จังหวัดชัยนาท

การปลูกถั่วเขียวและการบันทึกข้อมูล

1. เก็บตัวอย่างดินรวมในพื้นที่ก่อนทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร นำมาวิเคราะห์ปริมาณเชื้อไรโซเบียมในดิน รวมทั้งวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินก่อนการทดลอง ได้แก่

- วิเคราะห์เนื้อดิน โดยวิธี Hydrometer method
- วิเคราะห์pH ใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1:1
- วิเคราะห์อินทรียวัตถุโดยวิธีของ Walkley and Black method
- วิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์โดยวิธี Bray II แล้ววิเคราะห์การเกิดสีด้วยวิธี molybdate ascorbic acid
- โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้โดย NH_4OAc, pH 7 (กรมวิชาการเกษตร, 2544)

2. เริ่มปลูกถั่วเขียวเดือนมกราคมในแปลงย่อยขนาด 10 x 10 เมตร ตามกรรมวิธีของ Main plot ปลูกถั่วเขียวแบบเป็นแถวคู่บนสันร่อง ระยะระหว่างแถว 50 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 10 เซนติเมตร จำนวน 2 ต้นต่อหลุม

3. ใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีต่าง ๆ ในกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมให้คลุกเมล็ดถั่วเขียว อัตรา 3 – 5 กิโลกรัมด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียว 200 กรัม และในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี ใส่ตามค่าวิเคราะห์ดินให้ได้ปริมาณธาตุอาหาร $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ เท่ากับ 3-3-3 กิโลกรัม ต่อไร่ โดยใส่รองก้นหลุมพร้อมปลูก จากนั้นยันทึกวันงอก วันออกดอก

4. เก็บเกี่ยวถั่วเขียวในเดือนมีนาคม พื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 8 x 8 เมตร บันทึกวันเก็บเกี่ยว ข้อมูลความสูง ณ วันออกดอก และองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 100 เมล็ดที่ระดับความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นใบ และฝักถั่วเขียวในพื้นที่เก็บเกี่ยว น้ำหนักปมและจำนวนปมรากถั่ว

5. สุ่มตัวอย่างต้นใบ และฝัก (เมล็ดและเปลือกฝัก) ถั่วเขียว 10 ต้นต่อแปลง เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารและทำการการบันทึกข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง การวิเคราะห์ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของถั่วเขียว แบ่งเป็น 4 ส่วน ได้แก่ ต้นใบ เปลือกฝัก เมล็ด และราก เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้วทำการไถกลบต้นถั่วและปล่อยให้ต้นถั่วเขียวย่อยสลาย

การปลูกข้าวและการบันทึกข้อมูล

1. เก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกข้าว ที่ระดับความลึก 20 เซนติเมตรจากผิวดิน มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน ได้แก่ อินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และตรวจนับปริมาณเชื้อไรโซเบียมในดิน

2. ปลูกข้าวเดือนมิถุนายนในแปลงย่อยขนาด 5 x 5 เมตร

3. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนตามกรรมวิธีของ Sub plot ปลูกข้าวแบบหว่าน จำนวนเมล็ด 20 กิโลกรัมต่อไร่ บันทึกข้อมูลการใช้ปัจจัยการผลิตทั้งหมด (ปุ๋ยเคมี สารกำจัดศัตรูพืช ฯลฯ) ตลอดช่วงการปลูกข้าว

4. เก็บเกี่ยวข้าวในพื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 4 x 4 เมตร บันทึกวันเก็บเกี่ยว ข้อมูลความสูง จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง จำนวนเมล็ดลีบต่อรวง น้ำหนักแห้งต้น น้ำหนักแห้งราก น้ำหนัก 100 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดที่ระดับความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์

5. สุ่มตัวอย่างต้น และรวงข้าว 4 ต้นต่อแปลงย่อย เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร และทำการการบันทึกข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง การวิเคราะห์ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าว แบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ต้นใบ เมล็ด และราก เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้วทำการไถกลบต้นข้าวและปล่อยให้ต้นข้าวย่อยสลาย

6. เก็บตัวอย่างดินหลังเก็บเกี่ยวข้าว ที่ระดับความลึก 0 – 20 เซนติเมตรจากผิวดิน มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน และวิเคราะห์ปริมาณเชื้อไรโซเบียมในดิน

ผลการทดลองและวิจารณ์

สภาพภูมิอากาศระหว่างปลูกพืช

ภูมิอากาศระหว่างปลูกถั่วเดือนมกราคม – เมษายน ปี 2562 - 2564

สภาพภูมิอากาศรายสัปดาห์เดือนมกราคม-เมษายน ปี 2562 พบว่า อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 25.72 – 33.50 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0 – 18.74 มิลลิเมตร และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 65.32 – 76.32 เปอร์เซ็นต์ ปี 2563 อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 25.76 – 31.50 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0 – 10.94 มิลลิเมตร และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 49.43-74.00 เปอร์เซ็นต์ ปี 2564 อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 22.37 – 31.41 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0 – 18.29 มิลลิเมตร และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 60.99-79.88 เปอร์เซ็นต์

ภูมิอากาศระหว่างปลูกข้าวเดือนกรกฎาคม – ตุลาคม ปี 2562 และ 2564

สภาพภูมิอากาศรายสัปดาห์เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม ปี 2562 อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 28.44 – 30.86 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0 – 18.40 มิลลิเมตร และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 76.34 – 85.91 เปอร์เซ็นต์ ปี 2563 พบว่า อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 24.33 – 29.09 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0 – 12.06 มิลลิเมตร และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 71.00 – 94.71 เปอร์เซ็นต์ ปี 2564 อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 25.11 – 30.33 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0 – 17.69 มิลลิเมตร และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 70.41-95.14 เปอร์เซ็นต์

การเปลี่ยนแปลงสมบัติของดินในพื้นที่ปลูก

เมื่อวิเคราะห์เนื้อดินในแปลงทดสอบ พบว่าเป็นดินร่วนเหนียวถึงดินเหนียวการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินก่อนการปลูกถั่วเหลืองและข้าวในแต่ละปีที่ทำการเพาะปลูก พบว่า ในปี 2562-2564 ปริมาณอินทรียวัตถุในดินก่อนเพาะปลูกถั่ว-ข้าวในแต่ละกรรมวิธีภายในแต่ละปีไม่มีความแตกต่างกันมากนัก เมื่อพิจารณาทั้ง 3 ปีร่วมกัน พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (เฉลี่ยในทุกกรรมวิธี) ก่อนปลูกถั่วในปี 2562 มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 1.56 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือปริมาณอินทรียวัตถุในดินก่อนปลูกข้าวปี 2562 ปริมาณอินทรียวัตถุโดยเฉลี่ยทั้ง 3 ปี มีค่าอยู่ในระดับต่ำจนถึงปานกลางเท่ากับ 0.99 – 1.56 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1) การวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุในดินทั้ง 3 ปี ชี้ให้เห็นว่ามีการสะสมปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้นเมื่อมีการไถกลบเศษซากพืชอย่างต่อเนื่องในแต่ละฤดูการปลูกข้าว-ถั่วเขียว ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Sadeghi and Bahrani (2009) ที่ทดสอบผลของการไถกลบเศษซากพืชร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนต่อผลผลิตข้าวสาลี ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเฉลี่ยทั้ง 3 ปี อยู่ในระดับปานกลางถึงสูงเท่ากับ 20.35 – 32.88 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เฉลี่ยทั้ง 3 ปี อยู่ในระดับสูงเท่ากับ 72.41 – 133.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Figure 2)

ปริมาณเชื้อไรโซเบียมในดินก่อนการปลูกถั่วเขียวและข้าวในช่วงปี 2562-2564 มีค่าอยู่ระหว่าง 3.5 – 184.98 เซลล์ต่อกรัมของดินแห้ง ซึ่งเป็นค่าปกติในดินทั่วไปที่มีเชื้อไรโซเบียมในปริมาณต่ำ กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้มีการคลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมก่อนปลูกพืชตระกูลถั่ว เพื่อเพิ่มโอกาสให้ไรโซเบียมเข้าสู่รากถั่วได้มากขึ้นเมื่อเมล็ดงอก การปลูกพืชตระกูลถั่วโดยทั่วไปค่าวิเคราะห์ดินที่มีปริมาณอินทรียวัตถุระหว่าง 1 – 2 เปอร์เซ็นต์ ในกรณีที่ไม่ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมควรใส่ปุ๋ย N อัตรา 9 – 15 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่า 12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ควรใส่ปุ๋ย P_2O_5 อัตรา 3 กิโลกรัมต่อไร่ และ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มากกว่า 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่ต้องใส่ปุ๋ย K_2O ส่วนการปลูกข้าวไม่ไวแสง เมื่อนำปริมาณธาตุอาหารในดินไปคำนวณการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินพบว่าต้องใส่ปุ๋ย 46-0-0 ครั้งที่ 2 ในระยะกำเนิดช่อดอก อัตรา 26 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

ผลของการจัดการปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 84-1

จำนวนปมรากถั่วเขียวในกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย (-NPK) มีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (+NPK) และกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการคลุกเมล็ดถั่วด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (PK+Rhizobium) (Figure 3) อย่างไรก็ตามพบว่าในปี 2563 ไม่พบการสร้างปมรากถั่วเขียวในทุกกรรมวิธี เนื่องจากเมื่อปลูกเสร็จมีการให้น้ำที่ล่าช้า ดินมีความชื้นต่ำและอุณหภูมิสูง ค่าการตรึงไนโตรเจนของทุก ๆ กรรมวิธีในแต่ละปีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และมีค่าอยู่ระหว่าง 0.59 – 17.65 ไมโครโมลล์เอทิลีนต่อต้นต่อชั่วโมง (Figure 4) ความสูงของต้น จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 100 เมล็ด และน้ำหนักผลผลิตเมล็ดของกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมทั้ง 3 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ในปี 2562 และ 2564 พบว่าจำนวนปมของถั่วเขียวที่ปลูกโดยการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ ไรโซเบียมมีจำนวนปม น้ำหนักสดปมและน้ำหนักแห้งปมที่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมทั้ง 2 ปี การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในครั้งนี้อาจไม่ประสบความสำเร็จเพราะปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมเป็นสิ่งสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (Gibson 1976; Hungria and Vargas, 2000; Zahran, 1999) ชนิดและปริมาณของไรโซเบียมท้องถิ่นแต่ละพื้นที่มีผลต่อการแข่งขันการเข้าสร้างปมรากถั่วด้วยเช่นกัน (Slattery *et al*., 2001; Streeter, 1994) ปัญหาของการแข่งขันกับเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นเป็นปัญหาสำคัญของการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในสภาพไร่ เนื่องจากไรโซเบียมท้องถิ่นบางครั้งไม่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน แต่สามารถแย่งการเข้าสร้างปมจากปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน จึงเป็นสาเหตุให้การใช้ปุ๋ยชีวภาพ ไรโซเบียมไม่ประสบผลสำเร็จ (Baran and Bromfield, 1997) จากรายงานของ พรพิมลและคณะ (2540) พบว่าดินที่มีไรโซเบียมอยู่ตามธรรมชาติมากพอจะทำให้การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมไม่ประสบผลสำเร็จ เนื่องจากผลผลิตและปริมาณไนโตรเจนไม่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นมีประสิทธิภาพมากกว่าปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมคือ ผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมทำให้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมอ่อนแอ และไม่สามารถแข่งขันกับเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นได้ (Brockwell *et al*., 1982) เช่น ความเป็นกรด-ด่างของดิน ความเค็ม ความแห้งแล้ง หรือปริมาณแร่ธาตุในดิน ซึ่งเป็นตัวกำหนดเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นนั้น ๆ ให้ปรับตัวจนสามารถดำรงชีวิตในสภาพนั้น ๆ ได้ อิทธิพลของธาตุอาหารพืชที่อยู่ในดินเป็นอีกปัจจัยสำคัญ ดินแต่ละชนิดมีธาตุอาหารพืชที่แตกต่างกัน ดินที่มีระดับของไนโตรเจนสูงประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมจะลดลง (สำเนา, 2539) จากผลการทดลองจะเห็นว่ากรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ทำให้การติดปมและประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วลดลงเมื่อเทียบกับกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

ในปีที่ 2 ของการปลูกถั่ว ปี 2563 พบว่าต้นถั่วที่ปลูกมีปัญหาเนื่องจากการปลูกที่ล่าช้ากว่ากำหนดสภาพอากาศที่แห้งแล้ง ต้นกล้าถั่วมีอาการเน่ายุบตัว ทำให้ต้องมีการปลูกซ่อมอยู่หลายครั้ง และยังพบว่าเมื่อปลูกเสร็จมีการให้น้ำที่ล่าช้า ทำให้ถั่วเขียวไม่ติดปมในทุก ๆ กรรมวิธี อุณหภูมิและความชื้นของดินมีความสำคัญในการเข้าสร้างปมกับรากถั่วของเชื้อไรโซเบียม ดินที่มีความชื้นสูง และอุณหภูมิปกติจะทำให้เชื้อไรโซเบียมเจริญเติบโตได้ดีกว่าดินที่มีความชื้นต่ำและอุณหภูมิสูง เนื่องจากไรโซเบียมเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่ทนต่ออุณหภูมิสูง การเก็บรักษาเชื้อไรโซเบียมควรเก็บในห้องที่มีอุณหภูมิไม่เกิน 35 องศาเซลเซียส สำหรับการปฏิบัติงานในไร่ควรหลีกเลี่ยงไม่นำถุงเชื้อวางให้ถูกแดดนาน ๆอาจทำให้เชื้อตายไปมากการปลูกถั่วที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมจึงควรปลูกในขณะที่ดินมีความชื้นพอสมควรและเมื่อปลูกแล้วควรรีบกลบหลุมปลูกด้วยดินทันที ผลผลิตของถั่วเขียวในปีที่ 2 จึงมีผลผลิตต่ำเนื่องจากไม่สามารถคุมโรคและแมลงศัตรูถั่วเขียวได้ จึงส่งผลให้ต้นถั่วไม่สมบูรณ์โดยมีอาการแคระแกรน ใบหงิก ฝักบิดเบี้ยว (Figure 5) พบการระบาดของโรคในระยะต้นกล้า ได้แก่ โรคเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Macrophomina*

Phaseolina ทำให้ถั่วเขียวแสดงอาการเน่าตายในระยะต้นกล้า ต้นถั่วเขียวที่รอดพบมีการระบาดของโรคราแป้งซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. มักระบาดทำความเสียหายกับถั่วเขียวที่ปลูกในฤดูแล้ง ซึ่งมีสภาพอากาศค่อนข้างเย็นเหมาะต่อการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค พบการระบาดของโรคในทุกระยะการเจริญเติบโตและเกิดได้กับทุกส่วนของต้นถั่วเขียว ในระยะแรกพบเส้นใยสีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมบนใบ ต่อมาใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงและแห้งตาย (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2545) ถั่วเขียวที่เป็นโรคในระยะออกดอกติดฝักจะทำให้ต้นแคระแกร็นติดฝักไม่ดี ขนาดของฝักและเมล็ดเล็ก ผลผลิตลดลง 20 – 40 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากราดูดอาหารจากใบไปใช้และทำให้เสียพื้นที่ใบในการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ยังทำให้เซลล์ของใบตายหลังจากที่ถั่วเขียวเป็นโรคเต็มที่ (Soria and Quebral, 1973) ในประเทศไทย เชาวนาถและคณะ (2553) ได้ศึกษาการสูญเสียผลผลิตของถั่วเขียวจากการเข้าทำลายของ โรคราแป้ง พบว่า การเป็นโรคราแป้งที่ระดับสูงสุด 76 – 100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบทำให้ผลผลิตของถั่วเขียวลดลงสูงสุดเฉลี่ย 93.5 กิโลกรัมต่อไร่ นอกจากการระบาดของโรคแล้วในช่วงที่ต้นถั่วเขียวเจริญเติบโตยังพบว่ามีการระบาดของแมลงศัตรูถั่วเขียวได้แก่ หนอนแมลงวันเจาะลำต้น เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยไฟซึ่งพบระบาดมากในช่วงที่อากาศแห้งแล้งฝนทิ้งช่วงพบระบาดมากในช่วงเดือนมกราคม – เมษายนซึ่งเป็นช่วงที่ทำการปลูกถั่วเขียวในการทดลองครั้งนี้ (กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา, 2553) โดยแมลงจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ทำให้พืชแสดงอาการใบหงิกงอ บิดเบี้ยว แห้งกรอบ ดอกร่วง และการติดฝักน้อยลง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2560) ซึ่งในส่วนของหนอนแมลงวันเจาะลำต้นจะเข้าทำลายถั่วเขียวตั้งแต่ระยะต้นอ่อน อาจทำให้ต้นกล้าตายได้ พ้นจากระยะนี้ไปแล้ว การระบาดจะลดลง การทำลายไม่ได้ทำให้ต้นถั่วเขียวตาย แต่ทำให้ถั่วเขียวชะงักการเจริญเติบโต โดยทำลายบริเวณโคนต้นที่ติดกับดินจนเน่าเปื่อย การทำลายของแมลงชนิดนี้อาจทำให้ผลผลิตลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูพืชน้ำมันและพืชไร่ตระกูลถั่ว, 2543) จึงควรหาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงเหล่านี้ เช่น การเลือกวันปลูกที่เหมาะสมเพื่อหลีกเลี่ยงการระบาดของแมลง หรือใช้สารที่ปลอดภัยต่อเกษตรกร เป็นต้น นอกจากนี้การระบาดของโรคและแมลงในแต่ละแหล่งปลูกยังแตกต่างออกไปตามสภาพของพื้นที่ สภาพแวดล้อม ภูมิอากาศ และการควบคุมศัตรูพืชของเกษตรกร ดังนั้น จึงควรสำรวจการระบาดของโรคและแมลงในแต่ละพื้นที่ปลูก เพื่อเป็นข้อมูลในการเตรียมการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูถั่วเขียวแก่ผู้ปลูกถั่วเขียว

ผลการจัดการปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวเจ้า พันธุ์ กข 41

<u>น้ำหนักแห้งของข้าวส่วนที่ไถกลบลงดิน ปีที่ 1</u>

อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวไม่มีปฏิสัมพันธ์กับกรรมวิธีการปลูกถั่วเขียว ที่อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าว 26 กิโลกรัมต่อไร่ให้น้ำหนักแห้งต้นข้าวมากที่สุดเท่ากับ 495.68 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 6.5 กิโลกรัมต่อไร่ และพบว่าน้ำหนักแห้งต้นของข้าวที่ปลูกในพื้นที่ปลูกถั่วทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวไม่มีปฏิสัมพันธ์กับกรรมวิธีการปลูกถั่วเขียว ที่อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 13 กิโลกรัมต่อไร่ให้น้ำหนักแห้งรากของข้าวมากที่สุดเท่ากับ 159.33 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 6.5 กิโลกรัมต่อไร่ และพบว่าน้ำหนักแห้งรากของข้าวที่ปลูกในพื้นที่ปลูกถั่วทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

<u>น้ำหนักแห้งของข้าวส่วนที่ไถกลบลงดิน ปีที่ 2</u>

อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวไม่มีปฏิสัมพันธ์กับกรรมวิธีการปลูกถั่วเขียว ที่อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 26 กิโลกรัมต่อไร่ให้น้ำหนักแห้งต้นมากที่สุดเท่ากับ 826.48 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 6.5 และ 13 กิโลกรัมต่อไร่ และพบว่าน้ำหนักแห้งต้นของข้าวที่ปลูกตามหลังการปลูกถั่วทั้ง 3 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวมีปฏิสัมพันธ์กับกรรมวิธีการปลูกถั่วเขียว วิธีการปลูกถั่วโดยการไม่ใส่ปุ๋ย อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 26 กิโลกรัมต่อไร่ให้น้ำหนักแห้งรากมากที่สุดเท่ากับ 110.34 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ ไม่ใส่ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 13 และ 6.5 กิโลกรัมต่อไร่ ให้น้ำหนักแห้งรากเท่ากับ 104.91, 88.29 และ79.74 ตามลำดับ แต่ทั้ง 4 อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนให้น้ำหนักแห้งรากที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ การปลูกถั่วโดยการใส่ปุ๋ย 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ พบว่าอัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 26 กิโลกรัมต่อไร่ให้น้ำหนักแห้งรากมากที่สุดเท่ากับ 130.01 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ ไม่ใส่ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 13 และ 6.5 กิโลกรัมต่อไร่ ให้น้ำหนักแห้งรากเท่ากับ 94.10 72.51 และ80.99

ตามลำดับ แต่ทั้ง 4 อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนให้น้ำหนักแห้งรากที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ การปลูกถั่วโดยใส่ปุ๋ย 0-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม พบว่าอัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 6.5 กิโลกรัมต่อไร่ให้น้ำหนักแห้งรากมากที่สุดเท่ากับ 165.97 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธี นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักแห้งรากของข้าวที่ปลูกตามหลังการปลูกถั่วในกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมี 0-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมให้น้ำหนักแห้งรากของข้าวมากที่สุดเท่ากับ 114.39 กิโลกรัมต่อรา ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีการจัดการปุ๋ยถั่วที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (Table 2)

ค่าเฉลี่ยผลผลิตข้าวปี 2562-2563

อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวไม่มีปฏิสัมพันธ์กับปีที่ปลูกของผลผลิตข้าว ที่อัตราปุ๋ย 26-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ให้ผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 488.17 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และเมื่อทำการปลูกซ้ำในปีที่ 2 พบว่า ผลผลิตลดลงแต่ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยในปี 2019 ให้ผลผลิตเท่ากับ 483.00 กิโลกรัมต่อไร่ และปี 2020 ให้ผลผลิตเท่ากับ 452.63 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 3)

ในปี 2564 ไม่สามารถเก็บตัวอย่างต้น ราก และผลผลิตข้าวได้เนื่องจากเกิดน้ำท่วมในแปลงปลูกข้าว ทำให้ข้าวได้รับความเสียหาย (Figure 6)

สมดุลธาตุอาหารไนโตรเจนในพื้นที่ปลูกข้าว - ถั่วเขียว

ปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของถั่วเขียวและข้าว

ถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 84-1 มีมวลน้ำหนักแห้งเฉลี่ยจากทุก ๆ กรรมวิธีของเมล็ด เท่ากับ 149.41 กิโลกรัมต่อไร่ ต้นและใบ เท่ากับ 254.86 กิโลกรัมต่อไร่ เปลือกฝัก เท่ากับ 25.71 กิโลกรัมต่อไร่ และราก เท่ากับ 38.05 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อคำนวนปริมาณของธาตุอาหารจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเขียว (Table 4) พบว่า ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากส่วนของเมล็ด เท่ากับ 5.64, 16.35 และ 1.77 กิโลกรัมของ N, P_2O_5, K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ จากส่วนของต้นและใบ เท่ากับ 4.71, 13.67 และ 6.41 กิโลกรัมของ N, P_2O_5, K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ หากไม่มีการไถกลบเศษซากถั่วกลับลงไปในพื้นที่ปลูก ธาตุอาหารในพื้นที่มีโอกาสสูญหายโดยติดออกไปกับผลผลิต เช่น เมล็ด ต้นใบ และเปลือกฝัก ซึ่งต้องนำออกไปจากพื้นที่ทุก ๆ ฤดูปลูก เท่ากับ 10.69-30.99-8.82 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ต่อฤดูปลูก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใส่ปุ๋ยกลับลงไปในพื้นที่ปลูกเพื่อทดแทนปริมาณธาตุอาหารที่สูญหายไป ขณะที่ข้าวเจ้าพันธุ์ กข 41 มีมวลน้ำหนักแห้งเฉลี่ยจากทุกๆ กรรมวิธีของเมล็ด เท่ากับ 467.81 กิโลกรัมต่อไร่ ต้นและใบ เท่ากับ 544.46 กิโลกรัมต่อไร่ และราก เท่ากับ 116.86 กิโลกรัมต่อไร่ ดังนั้นเมื่อมีการไถกลบต้นใบและรากข้าว จะทำให้ธาตุอาหารกลับคืนสู่ดิน เท่ากับ 3.56-1.54-12.71 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ต่อฤดูปลูก (Table 4)

สมดุลธาตุอาหารไนโตรเจนหลังการปลูกและไถกลบเศษซากถั่วเขียว

การวิเคราะห์สมดุลของธาตุอาหารในพื้นที่ปลูกถั่วเขียวหลังการไถกลบเศษซากถั่ว โดยการใช้ค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีในปีที่ 1-3 (2562-2564) พบว่า ธาตุอาหารไนโตรเจนในพื้นที่มีค่าขาดดุลในกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนโดยกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ร่วมกับ ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีค่าขาดดุลเฉลี่ยเท่ากับ 2.06 และ 2.03 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีค่าเกินดุลของธาตุอาหารไนโตรเจนเท่ากับ 1.10 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ เนื่องจากมีการใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนเข้าไปในพื้นที่ในอัตรา 3 กิโลกรัมต่อไร่ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการไถกลบเศษซากถั่วเขียว เช่น ต้นใบ และรากลงไปยังทำให้ธาตุอาหารไนโตรเจนในพื้นที่ขาดดุลจึงควรมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มตามค่าวิเคราะห์ดินตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (Table 5)

สมดุลของธาตุอาหารไนโตรเจนหลังการปลูกและไถกลบเศษซากข้าว

การวิเคราะห์สมดุลของธาตุไนโตรเจนหลังปลูก เก็บเกี่ยว และไถกลบเศษซากข้าว โดยการใช้ค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีในปีที่ 1-2 (2562-2563) พบว่า การปลูกข้าวเจ้าพันธุ์ กข 41 ในแปลงที่เคยปลูกถั่วเขียวที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีภาพในทุกกรรมวิธี (ชุดควบคุม) เมื่อทำการปลูกข้าวโดยไม่มีการใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนทำให้ธาตุอาหารไนโตรเจนในพื้นที่มีค่าติดลบหรือขาดดุลเฉลี่ยคิดเป็นเนื้อปุ๋ย 0.52 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ เช่นเดียวกับการปลูกข้าวในแปลงที่เคยปลูกถั่วโดยการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม เมื่อทำการปลูกข้าวโดยมีการ

จัดการปุ๋ยแบบไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนจะทำให้ธาตุอาหารไนโตรเจนในพื้นที่มีค่าติดลบหรือขาดดุลเฉลี่ยคิดเป็นเนื้อปุ๋ย 0.69 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ส่วนการปลูกข้าวในแปลงที่เคยปลูกถั่วโดยการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ พบว่าการจัดการปุ๋ยข้าวทั้ง 4 แบบทำให้ธาตุอาหารไนโตรเจนในพื้นที่มีค่าเกินดุลเฉลี่ยเท่ากับ 5.24 11.78 และ 27.02 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ตามลำดับ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการปลูกข้าวเจ้าพันธุ์ กข 41 โดยไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในพื้นที่ปลูกถั่วที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ธาตุอาหารไนโตรเจนในพื้นที่ปลูกขาดดุล และพบว่าสมดุลของธาตุอาหารไนโตรเจนจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในการปลูกข้าวเพิ่มขึ้น (Table 6)

อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย (Value to Cost Ratio)

การวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์จากการใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือค่า Value to Cost Ratio (VCR) โดยใช้ค่าเฉลี่ยผลผลิตต่อไร่ในแต่ละกรรมวิธีของปีที่ 1-3 (2562-2564) หากค่า VCR มากกว่า 2 แสดงว่ามีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ (Pevaiz *et al*., 2004) นั้น พบว่า การปลูกถั่วเขียวทุก ๆ กรรมวิธีให้ผลตอบแทนที่ไม่คุ้มค่าแก่การลงทุนในดินร่วนปนเหนียวถึงดินเหนียวของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท (Table 7) ส่วนการปลูกข้าวเจ้าพันธุ์ กข 41 หลังจากการปลูกถั่วเขียวทั้ง 3 กรรมวิธี พบว่า เมื่อปลูกข้าวในแปลงที่เคยปลูกถั่วเขียวโดยไม่ใส่ปุ๋ย ให้ผลตอบแทนที่ไม่คุ้มค่าแก่การลงทุน ในขณะที่การปลูกข้าวในแปลงที่เคยปลูกถั่วเขียวโดยใส่ปุ๋ย 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุนเมื่อมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในการปลูกข้าวที่อัตรา 6.5 และ 13 กิโลกรัมต่อไร่ โดยให้ค่า VCR เท่ากับ 4.92 และ 3.37 ตามลำดับ ส่วนการปลูกข้าวในแปลงที่เคยปลูกถั่วเขียวโดยใส่ปุ๋ย 0-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม พบว่ามีเพียงกรรมวิธีการปลูกข้าวโดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 6.5 กิโลกรัมต่อไร่เท่านั้นที่ให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุนโดยให้ค่า VCR เท่ากับ 3.95 (Table 8) ดังนั้นในพื้นที่ดินร่วนเหนียวถึงดินเหนียวเกษตรกรจึงควรปลูกถั่วเขียวด้วยการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และทำการไถกลบต้นใบ เปลือกฝักและรากถั่วเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุและอินทรียวัตถุกลับคืนสู่พื้นที่ปลูก ก่อนปลูกข้าวด้วยการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 6.5-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ จะให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด หากมีการปลูกถั่วเขียวโดยการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ควรทำการไถกลบต้นใบ เปลือกฝัก และรากถั่ว และเมื่อปลูกข้าวตามหลังถั่วควรใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 6.5-0-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ซึ่งจะให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุน การไถกลบเศษซากถั่วลงในดินยังเป็นการช่วยรักษาศักยภาพของดินในการปลูกถั่วเขียวสลับนาข้าวอย่างยั่งยืน

สรุปผลการทดลอง

1. หลังการไถกลบเศษซากพืช และทิ้งไว้ให้ย่อยสลายจะช่วยทำให้ธาตุอาหารในดินที่ติดไปกับส่วนต่าง ๆ ของพืชไม่สูญหายไปหรือสูญหายไปเพียงบางส่วนเช่นติดไปกับผลผลิต

2. การปลูกถั่วเขียวในดินร่วนปนเหนียวถึงดินเหนียวซึ่งเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างสูงทำให้การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร สภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่นอุณหภูมิความชื้นของดิน ปริมาณธาตุอาหารในดิน รวมทั้งวิธีการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีผลต่อการเข้าสร้างปมและประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียม

3. การปลูกข้าวในพื้นที่ ที่เคยปลูกถั่วและมีการไถกลบเศษซากถั่วช่วยลดอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนได้

4. การปลูกถั่วเขียวทุก ๆ กรรมวิธีให้ผลตอบแทนที่ไม่คุ้มค่าแก่การลงทุนในดินร่วนปนเหนียวถึงดินเหนียวของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท การปลูกข้าวเจ้าพันธุ์ กข 41 ในแปลงที่เคยปลูกถั่วเขียวโดยไม่ใส่ปุ๋ยใด ๆ (ควบคุม) ให้ผลตอบแทนที่ไม่คุ้มค่าแก่การลงทุน การปลูกข้าวโดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 6.5 และ 13 กิโลกรัม ต่อไร่ ในแปลงที่เคยปลูกถั่วเขียวที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุน ในขณะที่การปลูกข้าวโดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 6.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ ในแปลงปลูกถั่วที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าแก่การลงทุนเช่นเดียวกัน

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. สามารถแนะนำเกษตรกรที่ปลูกถั่วเขียวโดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมหลังการทำนาในช่วงฤดูแล้ง ให้คำนึงถึงปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อมต่าง ๆ และปริมาณธาตุอาหารในดินซึ่งที่มีผลต่อการทำงานของปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม หลีกเลี่ยงช่วงเวลาปลูกที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของถั่วเขียว

2. การไถกลบเศษซากถั่วลงไปในดินทำให้ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนในดินเพิ่มขึ้นเมื่อมีการปลูกข้าวตามทำให้สามารถลดอัตราการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวได้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2545. คู่มือโรคพืชไร่. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูพืชน้ำมันและพืชไร่ตระกูลถั่ว. 2543. แมลงศัตรูถั่วเขียวและการปูองกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 44 หน้า.

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุม
สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

จิระศักดิ์ อรุณศรี. 2545. ชีววิทยาและการใช้ประโยชน์ของเชื้อไรโซเบียม. หน้า 23 – 62. ใน: เอกสารวิชาการปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี พ.ศ. 2545.

เชาวนาถ พฤทธิเทพ สุมนา งามผ่องใส อารดา มาสริ และสุวิมล ถนอมทรัพย์. 2553. ปฏิกิริยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ต่อเชื้อรา *Oidium* sp. สาเหตุโรคราแป้ง. หน้า 209 – 217. ใน: รายงาน 41 ผลงานวิจัย ปี 2553 ถั่วเขียว ข้าวโพดฝักสด และพืชในเขตชลประทาน. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท จังหวัดชัยนาท.

นันทกร บุญเกิด และ จิระศักดิ์ อรุณศรี. 2535. ชีววิทยาของเชื้อไรโซเบียมและเทคนิคการใช้เชื้อไรโซเบียม. หน้า 19 – 42. ใน: เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรปุ๋ยชีวภาพรุ่นที่ 9 ระหว่างวันที่ 20-24 มกราคม 2535. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

ปิยรัตน์ บรรณาลัย. 2554. ทำนาข้าวจากการใช้ น้ำหมักชีวภาพ ปุ๋ยอินทรีย์ ทดแทนการใช้ปุ๋ยและสารเคมี. ว.เศรษฐกิจการเกษตร. 655(57): 2-3 หน้า.

พรพิมล ชัยวรรณคุปต์ จันทนา ศิริไพบูลย์ นันทกร บุญเกิด และเธียรชัย อารยางค์กูร. 2540. การเพิ่มผลผลิตและการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองในประเทศไทย. วารสารวิชาการเกษตร. 15(1): 4-23.

พรพรรณ สุทธิแย้ม อัจฉรา นันทกิจ ศิริลักษณ์ จิตรอักษร จิติมา ยถาภูธานนท์ และ สมชาย ผอบเหล็ก. 2554. การใช้เชื้อไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์เพื่อเพิ่มผลผลิตและโปรตีนในถั่วเหลือง. ว. แก่นเกษตร. 39(3) ฉบับพิเศษ: 113 – 122.

สำเนา เพชรฉวี. 2539. ข้อจำกัดการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพของพืชตระกูลถั่ว. วารสารดินและปุ๋ย. 12: 87-89.

สมชาย บุญประดับ. 2529. การปลูกถั่วเขียวหลังนาที่ อ.บางระกำ จ.พิษณุโลก. กสิกร 59(5): 451 – 454.

สมชาย บุญประดับ เทวา เมลานนท์ มนตรี ชาตะศิริ และนาค โพธิแท่น. 2532. การทดสอบพันธุ์พืชไร่ก่อนและหลังการทำนา: สายพันธุ์จาก IRRI. หน้า 89 – 108. ใน: รายงานการสัมมนาทางวิชาการเรื่องข้าวครั้งที่ 1 ในวันที่ 26-27 มกราคม 2532. ณ. ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก จ.พิษณุโลก.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2558. ตารางปริมาณและมูลค่าการนำเข้าปุ๋ยเคมีสูตรที่สำคัญ ปี 2552-2557. แหล่งข้อมูล http://www.oae.go.th/download/FactorOfProduct/Fertilizer_value49-54.html ค้นเมื่อ 5 กันยายน 2561.

สำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2562. ข้อมูลด้านการผลิตพืช. แหล่งข้อมูล: https://bit.ly/30RjLzN, สืบค้นเมื่อ 18 มีนาคม 2564.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. สารสนเทศ เศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2559. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 111 หน้า. Amarger, N. 1981. Competition for nodule formation between effective and ineffective strains of Rhizobium meliloti. Soil Biol Biochem. 13: 475–480.

Barran, L.R. and E.S.P. Bromfield. 1997. Competition amongst rhizobia for nodulation of legumes. pages 343 – 374. In: McKersie, B.D., Brown, B.C.W. (Eds.), Biotechnology and the Crop Improvement of Legumes, CABI

Boonpradub, S. 2008. Enhancing maize productivity in post-rice environments in Thailand. In: Zaidi *et al*. (eds.) Proceedings of the 10th Asian Regional Maize Workshop. October 20 – 23, 2008. Makassar, Indonesia.

Brockwell, J., R.R. Gault, Zorin M., M.J. Roberts. 1982. Effects of environmental variables on the competition between inoculum strains and naturalised populations of *Rhizobium trifolii* for nodulation of *Trifolium subterraneum* L. and on rhizobia persistence in the soil. Aust. J. Agric. Res. 33: 803–815.

Crews, T.E. and M.B. Peoples. 2004. Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. Agric Ecosyst Environ. 102: 279–297.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1984. Legume Inoculants and Their Use. FAO, Rome, Italy. 63 p.

Giller, K.E. 2001. Nitrogen fixation in Tropical Cropping Systems. CAB International Wallingford, Oxon, OX10 8DE, U.K. 423 p.

Gibson, A.H., R.A. Date, J.A. Ireland and J. Brockwell. 1976. A comparison of competitiveness and persistence amongst five strains of *Rhizobium trifolii*. Soil Biol. Biochem. 8: 395–401.

Hungria, M. and M.A.T. Vargas. 2000. Environmental factors affecting N_2 fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. Field Crops Res. 65: 151–164.

Pervaiz Z., Hussain K., Kazmi S.S.H. and Gill K.H. 2004. Agronomic efficiency of different N:P ratios in rain fed wheat. ***International Journal of Agriculture & Biology*** 6(3): 455–457.

Sharma, S.N., R. Prasad and S. Singh. 1995. The role of mungbean residues and *Sesbania aculeata* green manure in the nitrogen economy of rice-wheat cropping system. Plant Soil. 172: 123 – 129.

Slattery, J.F., D.R. Coventry and W.J. Slattery. 2001. Rhizobial ecology as affected by the soil environment. Aust. J. Exp. Agric. 41: 289–298.

Soria, J.A., and F.C. Quebral. 1973. Occurrence and development of powdery mildew on mung bean. Philippine Agric. 57:158-177.

Streeter J. G. 1994. Failure of inoculant rhizobia to overcome the dominance of indigenous strains for nodule formation. Can. J. Microbiol. 40: 513 – 522.

Yanni, Y.G., R.Y. Rizk, F.K. Abd El-Fattah and A. Squartini. 2001. The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* with rice roots. Aust. J. Plant Physiol. 28(9): 845 – 870.

Zahran I. H. 1999. Rhizobium–legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. Microbial. Mol. Biol. Rev. 63: 968–989.

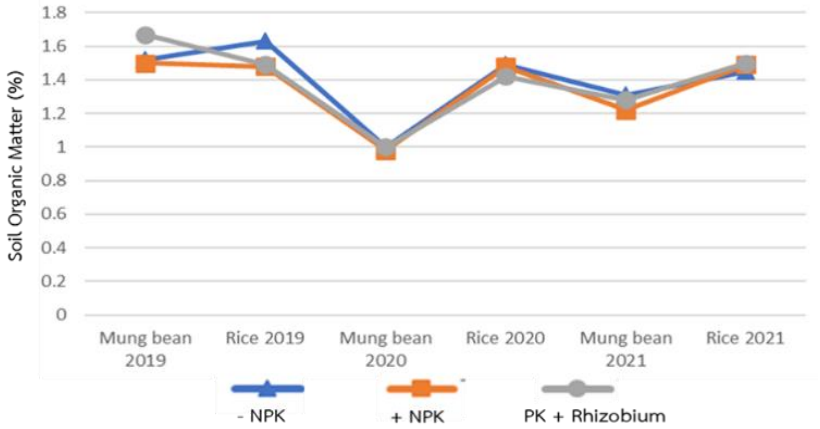


Figure 1 Soil organic matter of each main plot treatment before Mung bean and rice cultivation in 2019 – 2021

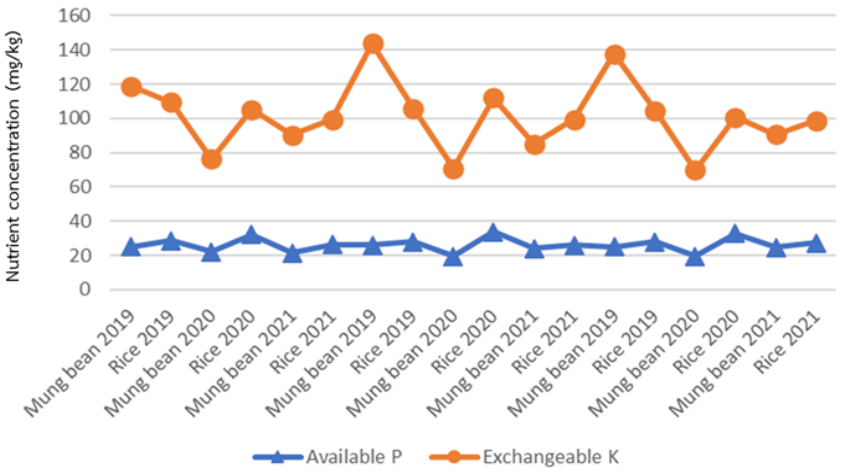


Figure 2 Available phosphorus and exchangeable potassium concentrations of each main plot treatment before Mung bean and rice cultivation in 2019 – 2021

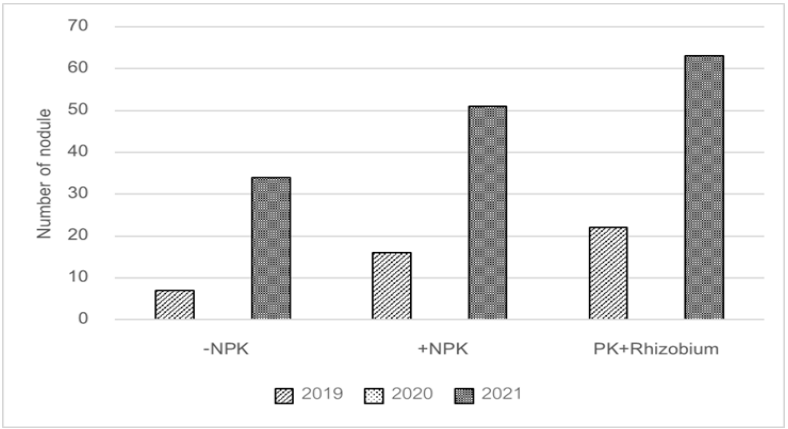


Figure 3 The number of nodules in Mung bean planted with 3 chemical fertilizer and rhizobium biofertilizer managements in 2019 – 2021

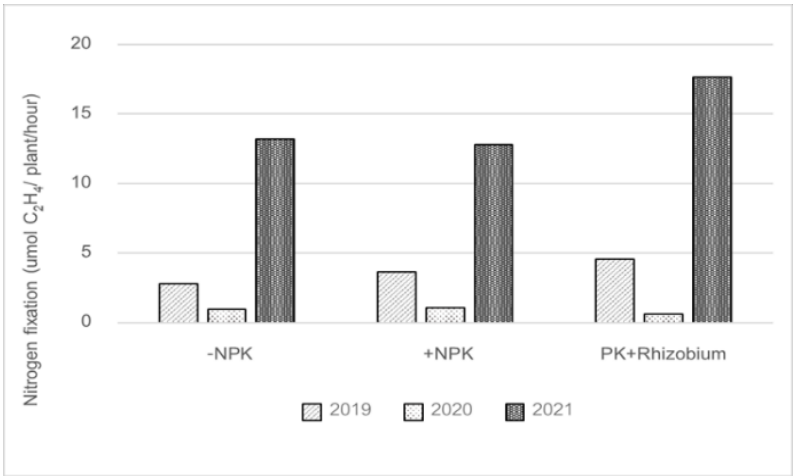


Figure 4 The nitrogen fixation rate of rhizobium in Mung bean nodules planted with 3 chemical fertilizer and rhizobium biofertilizer managements in 2019 – 2021

Figure 5 Show the damaged of mung bean seedling, disease and pest of mung bean and root of mung bean in 2020

Figure 6 Show the flooded rice fields in 2021

Table 1 Shoot and root dry weight of RD 41 rice varieties planted after mung bean plantation at Chai Nat Field Crops Research Center harvested on 22 October 2019

Main plot (M) / Sub plot (S)	Shoot dry weight (kg/rai)				Root dry weight (kg/rai)			
	- NPK	+NPK	PK +Rhizo	Average (S)	- NPK	+NPK	PK +Rhizo	Average (S)
control	332.47	411.87	373.59	372.64 c	77.13	93.85	114.78	95.25 b
6.5-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	376.88	437.84	461.35	425.36 b	77.96	134.04	133.45	115.15 b
13-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	468.77	461.28	453.43	461.16 ab	145.14	165.48	167.37	159.33 a
26-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	514.66	465.92	506.45	495.68 a	147.27	128.33	201.39	158.99 a
Average (M)	423.19	444.23	448.71	438.71	111.87	130.42	154.25	132.18
F-test (M)			ns				ns	
F-test (S)			**				**	
F-test (M x S)			ns				ns	
CV (M) (%)			10.8				30.0	
CV (S) (%)			11.6				34.1	

Note: Means in a column followed by the same letters are not significantly different at 5% level by DMRT

* = The difference was statistically significant at the 5% level ** = The difference was statistically significant at the 1% level

ns = Not statistically different

-NPK = control, +NPK = 3-3-3 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai, PK+Rhizo = 0-3-3 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai + Rhizobium

Table 2 Shoot and root dry weight of RD 41 rice varieties planted after mung bean plantation at Chai Nat Field Crops Research Center harvested on 28 September 2020

Main plot (M) / Sub plot (S)	Shoot dry weight (kg/rai)				Root dry weight (kg/rai)			
	- NPK	+NPK	PK +Rhizo	Average (S)	- NPK	+NPK	PK +Rhizo	Average (S)
control	631.98	424.27	600.03	552.09 b	104.91	94.10	87.75	95.59
6.5-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$/rai	582.18	449.69	844.57	625.48 b	79.74	72.51	165.97	106.07
13-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	684.95	559.07	546.29	596.77 b	88.29	80.99	100.17	89.82
26-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	879.19	855.80	744.45	826.48 a	110.34	130.01	103.68	114.67
Average	694.57	572.21	683.83	650.20	95.82 b	94.40 b	114.39 a	101.54
F-test (M)			ns				*	
F-test (S)			**				ns	
F-test (M x S)			ns				*	
CV (M) (%)			33.3				42.5	
CV (S) (%)			28.2				42.1	

Note: Means in a column followed by the same letters are not significantly different at 5% level by DMRT

* = The difference was statistically significant at the 5% level ** = The difference was statistically significant at the 1% level

ns = Not statistically different

-NPK = control, +NPK = 3-3-3 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai, PK + Rhizo = 0-3-3 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai + Rhizobium

Table 3 Average of Rice yield (kilogram/rai) year 2019-2020

Rice fertilization rate (kilogram/rai)	year		Fertilizer rate-Average [(1)]
	2019	2020	
control	445.33	426.67	436.00 b
6.5-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	490.67	446.00	468.33 a
13-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	498.50	459.00	478.75 a
26-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	497.50	478.83	488.17 a
Year-Average [(1)]	483.00 a	452.63 a	467.813

CV (a) = 12.6 % CV (b) = 11.8 %

[(1)] In a column, means followed by the same letters are not significantly different at 5% level by DMRT

Table 4 Nutrient concentration in each part of mung bean and rice planted in Clay Loam to Clay soil at Chai Nat Province (Average from all treatments)

Plant part	Dry matter (kg/rai)	Nutrient concentration (%)			Amount of nutrient (kg/rai)		
		N	P	K	N	P_2O_5	K_2O
Mung bean Grain	149.41	3.77	0.38	0.99	5.64	16.35	1.77
Shoot	254.86	1.85	0.16	2.10	4.71	13.67	6.41
Pod shell	25.71	0.81	0.13	1.04	0.21	0.60	0.32
Root	38.05	0.88	0.08	1.38	0.33	0.97	0.63
Rice Grain	467.81	1.13	0.27	0.29	5.29	2.89	1.63
Shoot	544.46	0.54	0.1	1.87	2.94	1.25	12.22
Root	116.86	0.53	0.11	0.35	0.62	0.29	0.49

Table 5 Nutrient balance of mung bean after tillage (Average from each treatment in 2019-2021)

Treatments	Input			Loss			N balance
	crop fertilizer	crop residue	N input	grain	pod shell	N loss	
1) control	0	2.54	2.54	3.73	0.87	4.60	-2.06
2) 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O /rai	3	2.70	5.70	3.74	0.87	4.61	1.10
3) 3-3-3 กก.N-P_2O_5-K_2O /rai + Rhizobium	0	2.73	2.73	3.85	0.90	4.76	-2.03

Note: Input = amount of nitrogen added, Loss = amount of nitrogen lost, N Balance = Nitrogen balance (Input - Loss)

Table 6 Nutrient balance of rice after tillage (Average from each treatment in 2019-2020)

Main plot	Sub plot	N Input			N loss	Balance
		Fertilizer	Crop residue	N input	Yield	
Control	Control	0	3.78	3.78	4.29	-0.52
	6.5-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	6.5	3.97	10.47	5.03	5.45
	13-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	13	4.96	17.96	5.97	11.99
	26-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	26	6.85	32.85	6.79	26.07
3-3-3 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	Control	0	3.39	3.39	2.25	1.14
	6.5-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	6.5	3.56	10.06	4.82	5.24
	13-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	13	4.49	17.49	5.72	11.78
	26-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	26	6.50	32.50	5.48	27.02
0-3-3 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai +Rhizobium	Control	0	3.75	3.75	4.44	-0.69
	6.5-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	6.5	4.91	11.41	5.01	6.41
	13-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	13	4.38	17.38	4.91	12.47
	26-0-0 kg $N-P_2O_5-K_2O$ /rai	26	6.10	32.10	6.79	25.32

Note: Input = amount of nitrogen added, Loss = amount of nitrogen lost, N Balance = Nitrogen balance (Input - Loss)

Table 7 Economic return analysis of fertilizer application of mung bean (Chai Nat 84-1 mung bean variety) cultivation in clay loam to clay soil, Chai Nat province in 2020-2021 (Average yield from each treatment in 2019-2021)

Treatments	Yield (kg/rai)	Yield increase (kg/rai)	Cost of fertilizer[2/] (Baht/rai)	Increasing cost as compared to control (Baht/rai)	Return yield x price [1/] (Baht/rai)	Gross return	Net return	VCR
1. control	155.82	-	0	0	3,895.40	-	-	-
2. 3-3-3 kg $N-P_2O_5-K_2O$/rai	152.96	-2.86	138	138	3,823.89	31.75	-209.56	-0.52
3. 0-3-3 kg $N-P_2O_5-K_2O$/rai + Rhizobium	139.46	-16.36	127	127	3,486.56	-183.25	-408.89	-3.21

[1/]Mung bean price 25 Baht/kg

[2/]Chemical fertilizer price (urea 12 baht/kg, Triple Super Phosphate 21 baht/kg, Potassium chloride 13 baht/kg)
Rhizobium Bio-fertilizer price 25 baht/ 200 g

Table 8 Economic return analysis of fertilizer application of rice (RD 41 rice variety) cultivation clay loam to clay soil, Chai Nat province in 2019-2020 (Average yield from each treatment in 2019-2020)

Treatment	Yield (kg/rai)	Yield increase (kg/rai)	Cost of fertilizer[2/] (Baht/rai)	Increasing cost as compared to control (Baht/rai)	Return yield x price [1/] (Baht/rai)	Gross return	Net return	VCR
Mung bean (control)								
1) control	448.75	-	0	-	3,410.50	-	-	
2) 6.5-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	454.75	6	78	78	3,456.10	45.60	-32.40	0.58
3) 13-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	476.25	27.5	156	156	3,619.50	209.00	53.00	1.34
4) 26-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	488.50	39.75	312	312	3,712.60	302.10	-9.90	0.97
Mung bean (3-3-3 kg N-P_2O_5-K_2O/rai)								
1) control	427.25	-	0	-	3,247	-	-	-
2) 6.5-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	477.75	50.5	78	78	3,631	384	306	4.92
3) 13-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	517	89.75	156	156	3,929	682	526	3.37
4) 26-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	469	41.75	312	312	3,564	317	5	0.02
Mung bean (0-3-3 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + rhizobium)								
1) control	432	-	0	-	3,283.20	-	-	-
2) 6.5-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	472.50	40.5	78	78	3,591.00	307.80	229.80	3.95
3) 13-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	443	11	156	156	3,366.80	83.60	-72.40	0.54
4) 26-0-0 kg N-P_2O_5-K_2O /rai	507	75	312	312	3,853.20	570.00	258.00	1.83

[1/]Rice varieties RD 41 Price 9.2 baht/kg [2/] Chemical fertilizer price (urea 12 baht/kg, Triple Super Phosphate 21 baht/kg, Potassium chloride 13 baht/kg)

การศึกษาการจัดการดินเพื่อการผลิตกระเทียมระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย
Study on Soil Managements for Garlic Production in Sandy Soil under Cropping System

สรัตนา เสนาะ *รมิดา ขันตรีกรม* *อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์* *กัลยกร โปร่งจันทึก*
วราภรณ์ อินทรทรง [1] *ผกาสินี คล้ายมาลา* [2] *บรรณพิชญ์ สัมฤทธิ์*
Sarattana Sanoh *Ramida Kantrikrom* *Amnat Eamvijarn* *Kunlaykorn Prongjunthuek*
Waraporn Intarasong [1] *Pakasinee Klaymala* [2] *Bhannapith Samrit*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

A field experiment was conducted at Yasothon province. Started on 2017 to 2019. This research was to obtain an efficient soil management model for organic garlic production in Sandy Soil Group. Experiment was laid out in RCB design with eight treatments and four replications. Planted garlic in dry season and planted peanut in rainy season, Contains with 1) Planted garlic without fertilizer ,without planted peanut 2) Planted garlic applied compost (900kg./rai), without planted peanut 3) Planted garlic applied grinding Acacia (900 kg./rai), without planted peanut 4) Planted garlic applied compost (450 kg./rai) +grinding Acacia (450 kg./rai) and without planted peanut 5) Planted garlic without fertilizer, planted peanut 6) Planted garlic applied compost (900 kg./rai), planted peanut. 7 Planted garlic and applied grinding Acacia (900 kg./rai), planted peanut. and 8) Planted garlic, applied compost (450kg./rai) +grinding Acacia (450 kg./rai) and planted peanut. All planted peanut combination with rhizobium. To plowed the residue after peanut harvesting. The result showed organic garlic production can be planted in 3 models which worth for investment in the second year (in 2018). The average yield of fresh garlic was 475-708 kg./rai. Such as, the first model, planted garlic applied compost (900 kg./rai), planted peanut. The second model was planted garlic, applied compost (450 kg./rai) +grinding Acacia (450 kg./rai) and planted peanut and the third model was planted garlic applied compost (900 kg./rai) and without planted. However, the first and second model had the additional income from the sale of peanut products which had average dry pod yield 118 kg./rai and Soil pH available phosphorous and exchangeable potassium increased by the second year (in 2018).

Keywords : Organic, Soil Management, Organic Garlic

[1] ศูนย์วิจัยข้าวคลองหลวง กรมการข้าว ปทุมธานี 12120

[1] Khlong Luang Rice, Department of Rice, Phathumthani, 12120

[2] กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ 10900

[2] Agricultural Toxic Substances Research Group, Agricultural Production Factors Development Research Division, Department of Agriculture, Bangkok, 10900

บทคัดย่อ

ศึกษาการจัดการดินผลิตกระเทียมระบบเกษตรอินทรีย์กลุ่มดินทราย จังหวัดยโสธร ปี 2560-2562 เพื่อได้รูปแบบการผลิตกระเทียมอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ วางแผนการทดลองแบบ RCB 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยกระเทียมปลูกฤดูแล้ง ถั่วลิสงปลูกฤดูฝน ดังนี้ 1) ปลูกกระเทียมไม่ใส่ปุ๋ย ไม่ปลูกถั่วลิสง 2) ปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมัก 900 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่ปลูกถั่วลิสง 3) ปลูกกระเทียมใส่กระถินป่น 900 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่ปลูกถั่วลิสง 4) ปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมัก 450 กิโลกรัมต่อไร่ กระถินป่น 450 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่ปลูกถั่วลิสง 5) ปลูกกระเทียมไม่ใส่ปุ๋ย ปลูกถั่วลิสง 6) ปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมัก 900 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกถั่วลิสง 7) ปลูกกระเทียมใส่กระถินป่น 900 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกถั่วลิสง และ 8) ปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมัก 450 กิโลกรัมต่อไร่ กระถินป่น 450 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกถั่วลิสง คลุกเมล็ดถั่วลิสงด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและไถกลบซากต้นถั่วลิสง อัตราปุ๋ยหมัก กระถินป่นเทียบปริมาณธาตุอาหารทั้งสองกับคำแนะนำใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2553) พบว่าได้ 3 รูปแบบการผลิตคุ้มการลงทุนปีที่ 2 (ปี2561) ผลผลิตสด 465-708 กิโลกรัมต่อไร่ รูปแบบ1 ปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมัก 900 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกถั่วลิสง รูปแบบ2 ปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมัก 450 กิโลกรัมต่อไร่ กระถินป่น 450 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกถั่วลิสง และรูปแบบ 3 ปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมัก 900 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่ปลูกถั่วลิสงแต่รูปแบบ 1 และ 2 มีรายได้เพิ่มจากผลผลิตถั่วลิสง (ผลผลิตฝักแห้ง 118 กิโลกรัมต่อไร่) ในปีที่ 2 (ปี 2561) ดินมีค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินและโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินสูงขึ้น

คำหลัก : เกษตรอินทรีย์ การจัดการดิน กระเทียมอินทรีย์

คำนำ

กระเทียมเป็นพืชสมุนไพรนิยมบริโภคสด ใช้ปรุงอาหาร และนำกระเทียมมาเพิ่มมูลค่าโดยการนำอัดเม็ดเป็นอาหารเสริมซึ่งเป็นที่นิยมในตลาดผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ ปัจจุบันแนวโน้มในการบริโภคพืชอินทรีย์เพิ่มขึ้นเนื่องจากผู้บริโภคให้ความสนใจเรื่องสุขภาพและความปลอดภัยของผลผลิตผลทางการเกษตรมากขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นจะต้องปรับเปลี่ยนกระบวนการผลิตสินค้าเกษตรให้สอดคล้องกับความต้องการของกลุ่มผู้บริโภคซึ่งให้มูลค่าสูงกว่าตลาดทั่วไป ดินเป็นพื้นฐานสำคัญของการผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ ควรมีความอุดมสมบูรณ์โดยเน้นการใช้สารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติและปัจจัยการผลิตในท้องถิ่นเป็นหลัก และการหมุนเวียนธาตุอาหารในระบบสามารถให้แก่พืชอย่างพอเพียง ภายใต้เงื่อนไขการใช้ปัจจัยการผลิตพืชระบบเกษตรอินทรีย์ต้องปราศจากการใช้ปุ๋ยเคมี สารเคมี (สารสังเคราะห์) โดยสิ้นเชิง ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษารูปแบบการจัดการดินผลิตกระเทียมอินทรีย์ที่มีการปลูกพืชหมุนเวียนในระบบด้วยการปลูกถั่วลิสงหลังเก็บเกี่ยวมีการไถกลบซากต้นถั่วลิสงใส่คืนสู่ดินเพื่อสร้างวงจรการหมุนเวียนธาตุอาหารให้เกิดความสมดุลและรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินให้พอเพียงให้อย่างยั่งยืนตามหลักการผลิตพืชระบบเกษตรอินทรีย์อีกทั้งเพิ่มรายได้จากการปลูกพืช 2 ชนิดในระบบให้แก่เกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. พื้นที่แปลงทดลองลักษณะดินอยู่ในกลุ่มดินทราย: ชุดดินสตึก
2. หัวพันธุ์กระเทียม ศรีสะเกษ
3. เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงไทนาน 9
4. ปุ๋ยหมัก (ผลิตในโรงปุ๋ยหมักเติมอากาศ จากวัสดุ ขี้วัว:ขี้ไก่แกลบ:เศษใบไม้ อัตราส่วน 2:1:1 โดยน้ำหนัก)
5. กระถินป่น
6. ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสำหรับถั่วลิสง
7. สารชีวภัณฑ์ เชื้อไตรโคเดอร์มา

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 8 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ ปี 2560 - 2563

กรรมวิธี	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน
T 1	กระเทียม (ไม่ใส่ปุ๋ย)	ไม่ปลูกถั่วลิสง
T 2	กระเทียม + ปุ๋ยหมัก	ไม่ปลูกถั่วลิสง
T 3	กระเทียม + กระถินป่น	ไม่ปลูกถั่วลิสง
T 4	กระเทียม + ปุ๋ยหมัก + กระถินป่น	ไม่ปลูกถั่วลิสง
T 5	กระเทียม (ไม่ใส่ปุ๋ย)	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม
T 6	กระเทียม + ปุ๋ยหมัก	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม
T 7	กระเทียม + กระถินป่น	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม
T 8	กระเทียม +ปุ๋ยหมัก + กระถินป่น	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

1) ประเมินสถานะธาตุอาหารในดินต่อการปลูกกระเทียม โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองที่ระดับความลึก 0- 15 เซนติเมตรในแปลงทดลองย่อย จำนวน 32 แปลงย่อย ๆ ละ 3 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่างในดิน (Peech, 1965) อินทรียวัตถุในดิน (Walkley and Black, 1934) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray and Kurtz, 1945) และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน (Thomas, 1982) ทำการประเมินระดับความอุดมสมบัติของดินโดยการเทียบเคียงกับคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร (2553) พบว่าดินที่ศึกษามีความอุดมสมบูรณ์ระดับต่ำ อัตราคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับการปลูกกระเทียม คือ 15-10-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (ตารางที่ 1)

2) การปลูกและการจัดการปุ๋ยสำหรับปลูกกระเทียม ปลูกกระเทียมในฤดูแล้งช่วงเดือนปลายตุลาคม-ต้นเดือนพฤศจิกายน ไถพรวนดินทิ้งไว้อย่างน้อย 15 วันก่อนปลูก ขนาดแปลงย่อยกว้าง 4 เมตร ยาว 6 เมตร จำนวน 32 แปลงย่อย ใช้ระยะปลูก 15 x 15 เซนติเมตร คลุกกระเทียมด้วยสารชีวภัณฑ์เชื้อไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ในกรรมวิธี T1และT5 ไม่ใส่ปุ๋ย กรรมวิธี T2 และ T6 ใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 900 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง กรรมวิธี T3 และ T7 ใส่กระถินป่นอัตรา 900 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง สำหรับกรรมวิธี T4 และ T8 ใส่ปุ๋ยหมักและกระถินป่นอัตรา 450 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง (โดยการเทียบกับปริมาณธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบในปุ๋ยและวัสดุอินทรีย์กับคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน) คลุมฟางข้าวหลังปลูกกระเทียมเพื่อลดการระเหยน้ำในดิน ใช้ฟางข้าว 10 กิโลกรัมต่อแปลงย่อย และเมื่อต้นกระเทียมอายุ 1 สัปดาห์ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์เชื้อไตรโคเดอร์มาทุกสัปดาห์ เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต และเก็บเกี่ยวผลผลิตกระเทียมที่อายุ 90 วัน เก็บตัวอย่างพืช แยกเป็นส่วนหัว ต้นและใบ ชั่งน้ำหนักสด-แห้ง (พึ่งลม 90 วัน) วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารและการดูดใช้ธาตุอาหาร ทำการไถกลบซากฟางข้าวที่คลุมแปลงและเก็บดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดิน

3) การปลูกและการจัดการปุ๋ยสำหรับถั่วลิสง ฤดูฝนปลูกถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ในกรรมวิธีที่ 5-8 ระยะปลูก 50 x 20 เซนติเมตร คลุกเมล็ดถั่วลิสงก่อนปลูกด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมอัตรา 200 กรัม เมล็ดถั่วลิสง 10-15 กิโลกรัมต่อไร่ ดูแลรักษาแปลงหลังการปลูกถึงเก็บเกี่ยวผลผลิต เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต และผลผลิตหลังเก็บเกี่ยวที่อายุ 90-120 วัน จากนั้นทำการไถกลบซากถั่วลิสง เก็บตัวอย่างพืช แยกเป็นส่วนฝัก (เปลือกและเมล็ดถั่วลิสง) ต้นและใบ ชั่งน้ำหนักสด-แห้ง วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารและการดูดใช้ธาตุอาหาร เก็บดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดิน

4) ศึกษาการดูดใช้ธาตุอาหารของกระเทียมและถั่วลิสง เก็บตัวอย่างกระเทียม (ต้นและใบ หัวกระเทียม) ตัวอย่างต้นถั่วลิสง (ต้นและใบ เปลือก และเมล็ดถั่วลิสง) วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในส่วนประกอบต่างๆ ของพืช เพื่อวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ของกระเทียมและถั่วลิสง

$$\text{ปริมาณธาตุอาหารที่พืชดูดใช้} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของพืช} \times \text{ความเข้มข้นของธาตุอาหาร}}{100}$$

5) ศึกษาค่าผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในการผลิตกระเทียม Value to cost ratio (VCR) ใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย

6) การบันทึกข้อมูล กระเทียม: เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวกระเทียม น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งกระเทียม (ผึ่งลม 90 วัน) ถั่วลิสง: เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต น้ำหนักสดรวมต้นและใบ น้ำหนักฝักสด น้ำหนักฝักแห้ง น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด ค่าวิเคราะห์สมบัติของดินก่อนและหลังเก็บผลผลิตพืช ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง อินทรียวัตถุในดิน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในส่วนประกอบต่างๆ ของพืช

ระยะเวลา ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรยโสธร จ.ยโสธร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความอุดมสมบูรณ์ดิน

ดินก่อนปลูกกระเทียม ปี2560 พบว่า ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ย(pH) อยู่ในระดับกรดแก่ 5.24 ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) อยู่ในระดับต่ำ ประเมินความอุดมสมบูรณ์ดินอยู่ในระดับต่ำ ซึ่งมีปริมาณอินทรียวัตถุเฉลี่ย 0.64% ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เฉลี่ย 16.95 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้เฉลี่ย 29.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้อัตราการใส่ปุ๋ยสำหรับปลูกกระเทียม 15-10-10 กิโลกรัม N- P_2O_5-K_20 ต่อไร่ (ตารางที่ 1) จากการเทียบกับปริมาณธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบในปุ๋ยและวัสดุอินทรีย์กับอัตราคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2553) โดยใส่ปุ๋ยหมักหรือกระถินป่นอย่างเดียวอัตรา 900 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง (กรรมวิธี T1 T2 T6 และT7) ใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น ใส่อัตราละ 450 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง ปุ๋ยหมักที่ใช้มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมทั้งหมด 1.80 %N 3.70 %P_2O_5 และ 2.50 %K_20 ตามลำดับ และกระถินป่นมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมทั้งหมด 1.78 %N 3.90 %P_2O_5 และ 3.00 %K_20 ตามลำดับ สำหรับฟางข้าวที่ใช้คลุมทุกแปลงปลูกกระเทียม มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมทั้งหมด 0.80 %N 0.70 %P_2O_5 และ 1.45 %K_20 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

2. ผลการจัดการดินในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝนต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในชุดดินทราย ระยะเวลา 3 ปี (2560-2563)

2.1) ความเป็นกรดด่างของดิน (pH) ดินก่อนทำการทดลอง ปี 2560 มีความเป็นกรดด่างอยู่ในระดับกรดแก่ (pH 5.24) (ตารางที่ 3) หลังการเก็บผลผลิตกระเทียมทำการไถกลบฟางข้าวที่คลุมแปลงที่เหลืออยู่ในแปลงและไถกลบซากต้นถั่วลิสง หลังเก็บเกี่ยวต่อเนื่อง 3 ปี พบว่าสภาพความเป็นกรดด่างในดินมีการเปลี่ยนแปลงทุกกรรมวิธี ในปี 2563 สภาพความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้น 5.4-5.6 ในกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T1) และกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T5) สภาพความเป็นกรดด่างจะเพิ่มขึ้นน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น (ภาพที่ 1ก)

2.2) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (OM) ดินก่อนทำการทดลอง มีปริมาณอินทรียวัตถุเฉลี่ย 0.64% (ตารางที่ 3) หลังเก็บผลผลิตกระเทียมมีการไถกลบฟางข้าวที่คลุมแปลงที่เหลืออยู่ในแปลงและซากต้นถั่วลิสงต่อเนื่อง 3 ปี พบว่าปริมาณอินทรียวัตถุไม่มีการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 1ข)

2.3) ปริมาณฟอสฟอรัสในดิน ดินก่อนทำการทดลองมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) เฉลี่ยเท่ากับ 19.95 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 3) เมื่อทำการปลูกกระเทียม และใส่ปุ๋ยหมัก กระถินป่น ไถกลบฟางข้าวที่คลุม

แปลงที่เหลืออยู่ในแปลงปลูกกระเทียมและซากต้นถั่วลิสงหลังเก็บเกี่ยวพืชอย่างต่อเนื่องระยะเวลา 3 ปี พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมัก กระถินป่น (T2 T3 T4 T6 T7 และT8) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมีการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นเล็กน้อย 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ในกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T1) และกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T5) ปริมาณฟอสฟอรัสในดินไม่มีการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 1ค)

2.4) ปริมาณโพแทสเซียมในดิน ดินก่อนทำการทดลองมีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) เท่ากับ 29.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 3) เมื่อทำการปลูกกระเทียม และใส่ปุ๋ยหมัก กระถินป่น ไถกลบฟางข้าวที่คลุมแปลงและซากต้นถั่วลิสงต่อเนื่อง 3 ปี พบปริมาณโพแทสเซียมในดินเพิ่มขึ้นเป็น 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเด่นชัดหลังไถกลบฟางข้าวในดินก่อนปลูกถั่วลิสงมีปริมาณสูงขึ้น (ภาพที่ 1ง)

3. กระเทียม

3.1) ผลผลิตและขนาดหัวกระเทียม

<u>ในปี2560</u> พบว่า ให้ผลผลิตกระเทียมต่ำสุดและส่วนใหญ่กระเทียมมีขนาดไม่ได้เกณฑ์มาตรฐานเส้นผ่านศูนย์กลางหัวกระเทียมน้อยกว่า 1.5 เซนติเมตร ในกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T8) ให้ผลผลิตกระเทียมสดและแห้งสูงสุด 152 กิโลกรัมต่อไร่ (ผลผลิตแห้ง 106.4 กิโลกรัมต่อไร่) ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T4) 135 กิโลกรัมต่อไร่ (ผลผลิตแห้ง 94.5 กิโลกรัมต่อไร่) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่เหลือ ขนาดหัวกระเทียมทุกกรรมวิธีมีขนาดได้ตามเกณฑ์มาตรฐานมีเส้นผ่านศูนย์กลางหัวกระเทียมมากกว่าหรือเท่ากับ 1.5 เซนติเมตร ในกรรมวิธี T8 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุด 1.71 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิตกับกรรมวิธีใส่กระถินป่นอย่างเดียวในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T7) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.60 เซนติเมตร แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิตกับกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกด้วยถั่วลิสงในฤดูฝน (T1) และกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T5) (ตารางที่ 4)

<u>ในปี 2561</u> ให้ผลผลิตค่อนข้างสูงกว่าทุกปี พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกระถินป่นในการปลูกกระเทียมในฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8) และกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T6) ให้ผลผลิตกระเทียมสดและแห้งสูงที่สุดและเท่ากัน 708 กิโลกรัมต่อไร่ (ผลผลิตแห้ง 495.6 กิโลกรัมต่อไร่) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับทุกกรรมวิธี ขนาดหัวกระเทียมได้ตามเกณฑ์มาตรฐานในทุกกรรมวิธี กรรมวิธี T8 T7 T6 และT4 เส้นผ่านศูนย์กลางของหัวกระเทียมมากไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธี T1 และT5 เส้นผ่านศูนย์กลางของหัวกระเทียม T8 T7 T6 และT4 มีค่าอยู่ระหว่าง 2.21-2.54 เซนติเมตร (ตารางที่ 4)

<u>ปี 2562</u> ให้ผลผลิตสูงกว่าปี 2560 และน้อยกว่าปี 2561 พบว่า กรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T6) ให้ผลผลิตสูงสุด 166 กิโลกรัมต่อไร่ (ผลผลิตแห้ง 111.2 กิโลกรัมต่อไร่) ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยหมักร่วมกระถินป่น กระถินป่นอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมในฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8 T7) และกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวในการปลูกกระเทียมในฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T2) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกระถินป่น ใส่กระถินป่นอย่างเดียวในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกด้วยถั่วลิสงฤดูฝน (T4 T3) กรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกด้วยถั่วลิสงฤดูฝน (T5) และกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกด้วยถั่วลิสงฤดูฝน (T1) ในกรรมวิธี T8 T7 และ T2 ให้ผลผลิตกระเทียมสด 160 151 และ 164 กิโลกรัมต่อไร่ (ผลผลิตแห้ง 110.1 100.7 และ 114.8 กิโลกรัมต่อไร่) ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ขนาดหัวกระเทียมทุกกรรมวิธีได้ขนาดตามเกณฑ์มาตรฐาน ในกรรมวิธี T2 T3 T4 T6 T7 T8 และ T2 ขนาดหัวกระเทียมมีเส้นผ่านศูนย์กลางมากไม่แตกต่างทางสถิติ มีเส้นผ่านศูนย์กลางหัวกระเทียมอยู่ระหว่าง 2.21-2.53 เซนติเมตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธี T1 และ T5 (ตารางที่ 4)

<u>ค่าเฉลี่ย 3 ปี (2560-2562)</u> พบว่า กรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8) ให้ผลผลิตกระเทียมสดและแห้งเฉลี่ยสูงสุด 340 กิโลกรัมต่อไร่ (ผลผลิตแห้ง 208.8 กิโลกรัมต่อไร่) ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T6) และกรรมวิธีใส่ปุ๋ย

หมักอย่างเดียวในการปลูกกระเทียมในฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T2) ให้ผลผลิตสดและแห้งเฉลี่ย 315.3 และ 240 กิโลกรัมต่อไร่ (ผลผลิตแห้งเฉลี่ย 189.1 และ168 กิโลกรัมต่อไร่) ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

3.2) ผลการดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของกระเทียม

ผลการทดลองปี 2560-2562 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมของกระเทียมที่ปลูกฤดูแล้งในชุดดินทราย การดูดใช้ธาตุอาหารมีการแปรผันตามผลผลิตในแต่ละปี สังเกตพบว่าการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนในกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถิ่นป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T8) ในทุกปีมีการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนมาก และในกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกด้วยถั่วลิสงฤดูฝน (T1) และกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T5) การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนน้อยที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม การสะสมใน หัวกระเทียม > ต้น+ใบ (ตารางที่ 5)

1) <u>ไนโตรเจน</u>: การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน **<u>ปี2560</u>** การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัวกระเทียม และต้น+ใบกระเทียม ให้ผลไปทำนองเดียวกัน พบว่าในกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถิ่นป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T8) และใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถิ่นป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T4) การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนปริมาณมากสุดและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธี ในกรรมวิธี T8 และT4 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัวกระเทียม และต้น+ใบกระเทียม มีค่าอยู่ระหว่าง 2.57-2.22 และ 0.55-0.43 กิโลกรัมN ต่อไร่ ตามลำดับ **<u>ปี2561</u>** การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัว และต้น+ใบ มีการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนปริมาณมากกว่า ปี2560 และ ปี2562 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัว และต้น+ใบ ในปี 2561 ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น และใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8 และ T6) มีการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัว และต้น+ใบ ปริมาณมากสุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่เหลือ ในกรรมวิธี T8 และ T6 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัว และต้น+ใบ มีค่าอยู่ระหว่าง 7.49-7.91 และ 1.63-1.46 กิโลกรัมN ต่อไร่ ตามลำดับ **<u>ปี2562</u>** การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนปริมาณมากกว่าปี2560 แต่น้อยกว่าปี 2561 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนในหัวและ ต้น+ใบ ปี2562 ให้ผลไปทำนองเดียวกัน พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น ใส่กระถินป่นอย่างเดียว ใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมในฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8 T7 T6) กรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น ใส่กระถินป่นอย่างเดียว ใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T4 T3 T2) การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัวและ ต้น+ใบ ไม่แตกต่างทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T1) และกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T5) การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนในหัว และต้น+ใบ มีค่าอยู่ระหว่าง 1.90-2.58 และ 0.23-0.32 กิโลกรัมN ต่อไร่ ตามลำดับ ในกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T1) และกรรมวิธีปลูกกระเทียมไม่ใส่ปุ๋ยและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T5) การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัว และต้น+ใบ มีปริมาณต่ำ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.56-0.65 และ 0.07-0.09 กิโลกรัม N ต่อไร่ ตามลำดับ

<u>เฉลี่ย 3 ปี (2560-2561)</u> การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัวกระเทียมมากสุด พบว่าในกรรมวิธี T2 T6 และ T8 มีปริมาณมากไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่เหลือ มีค่าอยู่ระหว่าง 3.05-4.17 กิโลกรัมN ต่อไร่ การดูดใช้ไนโตรเจนของต้น+ใบ ปริมาณมากสุดพบในกรรมวิธี T2 T3 T4 T6 T7 และT8 มีค่าอยู่ระหว่าง 0.42-0.82 กิโลกรัมN ต่อไร่ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธี T1 และ T5 (ตารางที่ 5)

2) <u>ฟอสฟอรัส</u>: การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัส **<u>ปี 2560</u>** การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัว และ ต้น+ใบ ให้ผลไปทำนองเดียวกันในกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถิ่นป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T8) และใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถิ่นป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน(T4) มีการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสปริมาณมากสุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธี การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัว และต้น+ใบ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.32-0.37 และ 0.04-0.05 กิโลกรัมP ต่อไร่ ตามลำดับ **<u>ปี 2561</u>** การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัว และต้น+ใบ มีการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสปริมาณมากกว่าปี 2560 และ ปี 2562 การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัว และต้น+ใบ ในปี 2561 ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น และใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมฤดู

แล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8 T6) และกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น ใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T3 T2) มีการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสปริมาณมากสุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่เหลือ มีการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัว และต้น+ใบ ปริมาณมากสุด มีค่าอยู่ระหว่าง 1.37-1.78 และ 0.27-0.34 กิโลกรัมP ต่อไร่ ตามลำดับ **ปี 2562** การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสมีปริมาณมากกว่าปี 2560 แต่น้อยกว่าปี 2561 การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัว และต้น+ใบ ปี 2562 ให้ผลไปทำนองเดียวกัน ในกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น ใส่กระถินป่นอย่างเดียว ใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมในฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8 T7 T6) กรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น ใส่กระถินป่นอย่างเดียวใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T4 T3 T2) การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัว และต้น+ใบ มีปริมาณมากไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T1) และกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T5) การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัว และต้น+ใบ ในกรรมวิธี T8 T7 T6 T4 T3 และT2 มีค่าอยู่ระหว่าง 1.90-2.58 และ 0.23-0.32 กิโลกรัม P ต่อไร่ ตามลำดับ

<u>เฉลี่ย 3 ปี (2560-2562)</u> การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของหัวกระเทียมมีปริมาณมากในกรรมวิธี T8 T7 T6 T4 T3 และT2 มีค่าอยู่ระหว่าง 0.51-0.82 กิโลกรัม P ต่อไร่ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธี T1 และ T5 สำหรับการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของต้น+ใบกระเทียมมีปริมาณมากในกรรมวิธี T8 T6 และ T2 มีค่าอยู่ระหว่าง 0.13-0.15 กิโลกรัม P ต่อไร่ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่เหลือ (ตารางที่ 5)

3) โพแทสเซียม: **<u>ปี 2560</u>** การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมของหัว และต้น+ใบกระเทียม ให้ผลไปทำนองเดียวกัน พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T8) และใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่นในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝน (T4) มีการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมปริมาณมากสุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่เหลือ มีการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมของหัว และต้น+ใบกระเทียมมีค่าอยู่ระหว่าง 1.16-1.34 และ 0.90-1.03 กิโลกรัม K ต่อไร่ ตามลำดับ **<u>ปี 2561</u>**การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมของหัว และต้น+ใบกระเทียม มีการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมปริมาณมากกว่าปี 2560 และ ปี 2562 การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมในหัว และ ต้น+ใบ ในปี2561ให้ผลไปทำนองเดียวกัน พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น และใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8 และ T6) มีการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมปริมาณมากสุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่เหลือ มีการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมของหัว และต้น+ใบ มีค่าอยู่ระหว่าง 4.20-4.27 และ 3.74-3.87 กิโลกรัมK ต่อไร่ ตามลำดับ **<u>ปี 2562</u>** การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมปริมาณมากกว่าปี 2560 แต่น้อยกว่าปี 2561 การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมของหัว และต้น+ใบกระเทียม ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น ใส่กระถินป่นอย่างเดียว ใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมในฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8 T7 T6) กรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น ใส่กระถินป่นอย่างเดียว ใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T4 T3 T2) การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหัว และต้น+ใบ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T1) และกรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T5) การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมของหัว และต้น+ใบ ในกรรมวิธี T8 T7 T6 T4 T3 และT2 มีค่าอยู่ระหว่าง 1.09-1.58 และ 0.76-0.92 กิโลกรัม K ต่อไร่ ตามลำดับ

<u>เฉลี่ย 3 ปี (2560-2562)</u> การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมของหัว และต้น+ใบกระเทียมให้ผลไปทำนองเดียวกัน พบว่ากรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับกระถินป่น และใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียว ในการปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T8 และT6) มีการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมปริมาณมากสุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่เหลือ การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมของหัว และต้น+ใบ มีค่าอยู่ระหว่าง 2.04-2.24 และ 1.65-1.89 กิโลกรัม K ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

3.3) การสูญหายธาตุอาหารในดินหลังเก็บผลผลิตกระเทียม

การสูญหายธาตุอาหารจากการปลูกกระเทียมฤดูแล้งในกลุ่มดินทรายระบบเกษตรอินทรีย์ ระยะเวลา 3 ปี พบว่า การเก็บผลผลิตกระเทียมในทุกองค์ประกอบของผลผลิต ได้แก่ หัว และใบ+ต้นกระเทียม ถูกนำออกจากพื้นที่ทั้งหมดไม่ใส่คืนกลับ ทำให้ธาตุอาหารในพื้นที่สูญหายติดออกไปทั้งหมดกับผลผลิตกระเทียม คิดเทียบเท่ากับปุ๋ยเคมี ดังนี้

ปี 2560 สูญหายธาตุอาหารออกไปทั้งหมดกับผลผลิตกระเทียม เท่ากับ 1.72–0.52–1.63 กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่

ปี 2561 สูญหายธาตุอาหารออกไปทั้งหมดกับผลผลิตกระเทียม เท่ากับ 4.93–2.98–5.18 กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่

ปี 2562 สูญหายธาตุอาหารออกไปทั้งหมดกับผลผลิตกระเทียม เท่ากับ 2.12–0.88–1.76 กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่

<u>เฉลี่ย 3 ปี(2560-2561)</u> สูญหายธาตุอาหารออกไปทั้งหมดกับผลผลิตกระเทียม เท่ากับ 2.92–1.46–2.85 กิโลกรัม N-P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ (ตารางที่ 5)

ในแปลงทดลองได้ใช้ฟางข้าว 533 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง คลุมแปลงในการปลูกกระเทียมเพื่อลดการระเหยน้ำในดิน และวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในฟางข้าวที่ใช้ทุกปี ปริมาณธาตุอาหารในฟางข้าวเฉลี่ย 3 ปี มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมทั้งหมด 0.80 %N 0.70 %P_2O_5 และ 1.45 %K_20 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) หลังการเก็บผลผลิตกระเทียมทุกปี มีการไถกลบฟางข้าวที่คงเหลืออยู่ในแปลง ทำให้มีปริมาณธาตุอาหารกลับสู่พื้นที่ ได้จากฟางข้าวที่คลุมแปลงกระเทียม เท่ากับ 4.42-3.73-8.26 N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่

4. ถั่วลิสง

4.1) น้ำหนักต้นสดและต้นแห้งของต้นถั่วลิสงปี 2560-2562 ให้ผลเป็นในทำนองเดียวกันทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีน้ำหนักต้นสดเฉลี่ย 3 ปี เท่ากับ 1,907 กิโลกรัมต่อไร่ (น้ำหนักต้นแห้ง 475 กิโลกรัมต่อไร่) (ตารางที่ 6)

4.2) ผลผลิตถั่วลิสงปี 2560-2562 ให้ผลผลิตเป็นในทิศทางเดียวกัน พบว่า ให้ผลผลิตสูงในกรรมวิธีที่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมักร่วมกระถินป่นในฤดูแล้ง(T8) กรรมวิธีปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมที่ใส่กระถินป่นในฤดูแล้ง (T7) และกรรมวิธีที่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังการปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวในฤดูแล้ง (T6) ไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีปลูกถั่วลิสงหลังปลูกกระเทียมไม่ใส่ปุ๋ยในฤดูฝน (T5) ให้ผลผลิตถั่วลิสงฝักสดเฉลี่ยสูงสุด 3 ปี 250-258 กิโลกรัมต่อไร่ (ผลผลิตฝักแห้งเฉลี่ย 138-142 กิโลกรัมต่อไร่) และน้ำหนักถั่วลิสง 100 เมล็ด ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ให้น้ำหนักถั่วลิสง 100 เมล็ดเฉลี่ย 40.6 กรัม (ตารางที่ 7)

4.3) ผลการดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของถั่วลิสง

ผลการทดลอง ปี 2560-2561 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมของถั่วลิสงที่ปลูกในฤดูฝนในชุดดินทราย มีปริมาณสะสมธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมใน ต้น+ใบ > เมล็ด > เปลือก เนื่องจากปลูกถั่วลิสงฤดูฝนจะให้น้ำหนักต้นสด+ใบ มากกว่าฤดูแล้ง (ตารางที่ 8)

1) ไนโตรเจน: การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนเฉลี่ย 3 ปี พบการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของเมล็ดปริมาณมาก ในกรรมวิธีที่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมักร่วมกระถินป่นในฤดูแล้ง (T8) กรรมวิธีปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมใส่กระถินป่นอย่างเดียวในฤดูแล้ง (T7) และกรรมวิธีปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังการปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวในฤดูแล้ง (T6) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีปลูกถั่วลิสงหลังปลูกกระเทียมไม่ใส่ปุ๋ยในฤดูฝน (T5) การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของเมล็ดเฉลี่ย 3 ปี ในกรรมวิธี T8 T7 และ T6 มีค่าอยู่ระหว่าง 3.87-3.95 กิโลกรัม N ต่อไร่ สำหรับการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของต้น+ใบ และเปลือกของถั่วลิสง เฉลี่ย 3 ปี พบว่าทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 1.08 และ 7.47 กิโลกรัม N ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

2) ฟอสฟอรัส: การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของเมล็ดถั่วลิสง ต้น+ใบ และเปลือก เฉลี่ย 3 ปี ให้ผลในทิศทางเดียวกัน พบกรรมวิธีที่ปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมักร่วมกระถินป่นในฤดูแล้ง (T8) กรรมวิธีปลูกถั่วลิสงฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมใส่กระถินป่นในฤดูแล้ง (T7) และกรรมวิธีปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังการปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวฤดูแล้ง (T6) มีการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของเมล็ดถั่วลิสง ต้น+ใบ และเปลือกปริมาณมากไม่แตกต่างทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมไม่ใส่ปุ๋ยในฤดูแล้ง (T5)

การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสในเมล็ดถั่วลิสง ต้น+ใบ และเปลือก ในกรรมวิธี T8 T7 และT6 เฉลี่ย 3 ปี มีค่าอยู่ระหว่าง 0.41-0.44, 1.13-1.18 และ 0.06-0.07 กิโลกรัม P ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

3) โพแทสเซียม: การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมในเมล็ด ต้น+ใบ และ เปลือก เฉลี่ย 3 ปี มีการดูดใช้โพแทสเซียมสูง ในกรรมวิธีปลูกถั่วลิสงฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมักร่วมกระถินป่นฤดูแล้ง (T8) กรรมวิธีปลูกถั่วลิสงฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมใส่กระถินป่นฤดูแล้ง (T7) และกรรมวิธีปลูกถั่วลิสงฤดูฝนหลังการปลูกกระเทียมใส่ปุ๋ยหมักอย่างเดียวในฤดูแล้ง (T6) ไม่แตกต่างทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีปลูกถั่วลิสงฤดูฝนหลังปลูกกระเทียมไม่ใส่ปุ๋ยฤดูแล้ง (T5) การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมในเมล็ดถั่วลิสง ต้น+ใบ และเปลือก เฉลี่ย 3 ปีสูง มีค่าอยู่ระหว่าง 0.69-0.71, 7.75-8.33 และ 0.24-0.25 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

4.5) การสูญหายธาตุอาหารในดินหลังเก็บผลผลิตถั่วลิสง

การสูญหายธาตุอาหารจากการปลูกถั่วลิสงฤดูฝนในกลุ่มดินทรายระบบเกษตรอินทรีย์ ระยะเวลา 3 ปี หลังเก็บเกี่ยวถั่วลิสงได้มีการไถกลบซากต้นถั่วลิสงลงในพื้นที่ใน ทำให้มีปริมาณธาตุอาหารกลับสู่ดิน พบว่าเฉลี่ย 3 ปี มีปริมาณธาตุอาหารกลับสู่ดินได้จากซากต้นถั่วลิสงหลังเก็บเกี่ยวถั่วลิสง (ต้น+ใบ) เทียบเท่ากับปริมาณปุ๋ยเคมี เท่ากับ 9.86-2.48-9.00 N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่ (9.86-1.08-7.47 กิโลกรัม N -P -K ต่อไร่) ปริมาณธาตุอาหารที่สูญหายไปกับผลผลิตถั่วลิสง (เมล็ดและเปลือก) เทียบเท่ากับปริมาณปุ๋ยเคมี เท่ากับ 4.06-1.03-1.04 N-P_2O5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่ (4.06-0.45-0.86 กิโลกรัม N -P -K ต่อไร่) หากไม่นำเศษซากถั่วลิสงทั้งหมด (เมล็ด+ต้นและใบ+เปลือก) กลับสู่พื้นที่จะทำให้สูญหายธาตุอาหารออกไปทั้งหมด เทียบเท่าปริมาณปุ๋ยเคมี เท่ากับ 13.93-3.52-10.02 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (13.92-1.54-8.35 กิโลกรัม N-P -K ต่อไร่) (ตารางที่ 8)

5. ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์

เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจการผลิตกระเทียมอินทรีย์ในรูปแบบการปลูกกระเทียมฤดูแล้งหมุนเวียนการปลูกถั่วลิสงฤดูฝนในกลุ่มดินทราย โดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือ ค่า Value to Cost Ratio (VCR) (ตารางที่ 9) ในปี 2560-2563 พบว่า ปี 2560 กรรมวิธีที่ปลูกกระเทียมในฤดูแล้งใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 450 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ ร่วมกับกระถินป่นอัตรา 450 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ และปลูกถั่วลิสงฤดูฝนโดยใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (T8) ให้ค่าตอบแทนทางเศรษฐกิจและให้กำไรสูงสุดตั้งแต่ปี 2560 และให้กำไรสูงสุด เท่ากับ 46,787 บาทในปี 2561 และยังคงให้ผลตอบแทนสูงในปี 2563 เช่นกัน ในปี 2561- 2562 ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน กรรมวิธีที่ปลูกกระเทียมฤดูแล้ง ใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 450 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ ร่วมกับกระถินป่นอัตรา 450 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ และปลูกถั่วลิสงฤดูฝนโดยใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (T8) กรรมวิธีปลูกกระเทียมฤดูแล้ง ใส่ปุ๋ยหมัก อัตรา 900 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ และปลูกถั่วลิสงฤดูฝนโดยใส่ปุ๋ยไรโซเบียม (T6) และกรรมวิธีปลูกกระเทียมฤดูแล้งใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 900 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ และไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน (T2) พบว่าปี 2561 ให้ผลตอบแทนและให้กำไรสูงที่สุด เท่ากับ 46,787 46,515 และ 34,520 บาท ตามลำดับ และปี 2562 ให้กำไรสูงที่สุด เท่ากับ 7,622 8,495 และ 9,055 บาท ตามลำดับ (ตารางที่ 9) เมื่อพิจารณาการปลูกพืชมีรายได้ 2 ครั้ง ได้แก่ 1) รายได้จากผลผลิตกระเทียมอินทรีย์ และ 2) รายได้จากผลผลิตถั่วลิสงอินทรีย์ ซึ่งผลผลิตถั่วลิสงฝักแห้งเฉลี่ย 3 ปี เท่ากับ 118 กิโลกรัมต่อไร่ กรรมวิธีปลูกกระเทียมฤดูแล้งใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 450 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ ร่วมกับกระถินป่นอัตรา 450 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ และปลูกถั่วลิสงฤดูฝนโดยใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (T8) และกรรมวิธีปลูกกระเทียมฤดูแล้งใส่ปุ๋ยหมัก อัตรา 900 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ และปลูกถั่วลิสงฤดูฝน โดยใส่ปุ๋ยไรโซเบียม (T6) จะมีรายได้เพิ่ม ประมาณ 3,000 บาท จากการขายผลผลิตถั่วลิสงอินทรีย์ฝักแห้ง ราคา 30 บาทต่อกิโลกรัม

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

1) การผลิตกระเทียมอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย: ชุดดินสตึก ในจังหวัดยโสธร สามารถปลูกกระเทียมได้ 3 รูปแบบที่ให้ผลผลิตดีและคุ้มการลงทุนในปีที่ 2 (2561) และ 3 (2562) ให้ผลผลิตกระเทียมสดเฉลี่ย 465-708 กิโลกรัมต่อไร่ ได้แก่ (1) ปลูกกระเทียมฤดูแล้งใส่ปุ๋ยหมัก อัตรา 900 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง และปลูกถั่วลิสงฤดูแล้งโดยคลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมก่อนปลูก (2) ปลูกกระเทียมฤดูแล้งใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 450 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง ร่วมกับกระถินป่นอัตรา 450 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง และปลูกถั่วลิสงฤดูฝนโดยคลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมก่อนปลูก และ (3) ปลูกกระเทียมฤดูแล้งใส่ปุ๋ยหมัก อัตรา 900 กิโลกรัมต่อไร่โดยน้ำหนักแห้ง และไม่ปลูกถั่วลิสงฤดูฝน แต่ในวิธีที่ 1 และ 2 จะได้รายได้เพิ่มจากการขายผลผลิตถั่วลิสงอินทรีย์ ผลผลิตถั่วลิสงฝักแห้ง เฉลี่ย 118 กิโลกรัมต่อไร่

2) การปลูกกระเทียมฤดูแล้งและปลูกถั่วลิสงในฤดูฝนกลุ่มดินทรายในระบบเกษตรอินทรีย์ มีการไถกลบฟางข้าวที่คลุมแปลงที่เหลืออยู่ในแปลงหลังเก็บผลผลิตกระเทียมและซากต้นถั่วลิสงหลังเก็บเกี่ยวถั่วลิสง ต่อเนื่อง 3 ปี ทำให้มีปริมาณธาตุอาหารกลับสู่ดิน ได้จากฟางข้าวที่คลุมแปลง เท่ากับ 4.42-3.73-8.26 N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่ และจากซากต้นถั่วลิสงหลังเก็บเกี่ยวถั่วลิสง เท่ากับ 9.86-2.48-9.00 N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่ รวมเท่ากับ 14.28-6.21-17.26 N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณธาตุอาหารที่สูญหายไปกับผลผลิต สำหรับกระเทียม เท่ากับ 2.92–1.46–2.85 กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ และถั่วลิสงเท่ากับ 4.06-1.03-1.04 N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้สมบัติดินเปลี่ยนแปลงด้านความเป็นกรดด่าง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนในดินสูงขึ้นในปีที่ 2

3) ข้อแนะนำการปลูกกระเทียมในกลุ่มดินทราย เช่น ชุดดินสตึก ควรไถดินให้ลึกประมาณ 50 เซนติเมตร เพื่อให้ดินร่วนซุยป้องกันการจับตัวกันเป็นดาน และแนะนำให้คลุกฟางหนากว่าดินทั่วไปเพื่อการอุ้มน้ำในช่วงการเจริญเติบโตช่วงแรก และระวังป้องกันโรคเน่าด้วยคลุกเมล็ดกระเทียมด้วยชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มา และฉีดพ่นทุกสัปดาห์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำข้อมูลและผลงานวิจัยนี้ไปปรับใช้กับเกษตรกรผู้ปลูกกระเทียมอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการเกษตรลำดับที่ 001/2553. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 112 หน้า.

Bray, R.H.and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils, Soil Science 59: 39–45.

Peech, M. 1965. Hydrogen-ion activity in Methods of Soil Analysis Part 2; C.A. Black, ed. pp. 914–926.

Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. In: Methods of Soil Analysis. (AL Page *et al*, eds) Agronomy. 9: 154-157 (Madison).

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science.37: 29–38.

ตารางที่ 1 สมบัติดินก่อนปลูกที่ระดับความลึก 0.15 เซนติเมตร และอัตราคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับกระเทียมในแปลงศึกษารูปแบบการจัดการจัดการดินเพื่อการผลิตกระเทียมอินทรีย์ในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรยโสธร ปี 2560

ปี พ.ศ.	อินทรียวัตถุ [1]	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ [2]	โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ [3]	pH [4] (ดิน:น้ำ)	อัตราคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับกระเทียม [5]
	(%)	-------(มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)--------		(1:1)	กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่
2560	0.64	16.95	29.24	5.24	15-10-5

หมายเหตุ [1] Walkley and Black (1934), [2] Bray and Kurtz (1945), [3] Thomas (1982), [4]Peech (1965), [5] กรมวิชาการเกษตร (2553)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของปุ๋ยหมัก กระถินป่น ขี้เถ้าแกลบ และฟางข้าวสำหรับใช้คลุมแปลง เฉลี่ยรวม 3 ปี (2560-2563)

	ไนโตรเจน (%)	ฟอสฟอรัส (%P_2O5)	โพแทสเซียม (%K_2O)	pH (ดิน:น้ำ) (1:10)	EC (ดิน:น้ำ) (1:10) (dS/m)	ความชื้น (%โดยน้ำหนักสด)
ปุ๋ยหมัก	1.80	3.7	2.5	7.1	2.1	12
กระถินป่น	1.78	3.9	3.0	-	-	2
ฟางข้าวคลุมแปลง	0.83	0.70	1.55	-	-	10

ตารางที่ 3 สมบัติดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนตเมตร ก่อนปลูกกระเทียมและก่อนปลูกถั่วลิสงวิเคราะห์ปี 2560 ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรยโสธร

	กรรมวิธี ฤดูแล้ง	ฤดูฝน	pH ดิน:น้ำ (1:1)	OM (%)	Avail P --(มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)--	Exch. K
					ดินก่อนปลูกกระเทียม	
T1	กระเทียม (ไม่ใส่ปุ๋ย)	ไม่ปลูกถั่วลิสง	5.21	0.52	11.03	23.75
T2	กระเทียม + ปุ๋ยหมัก	ไม่ปลูกถั่วลิสง	5.25	0.63	15.58	27.50
T3	กระเทียม + กระถินป่น	ไม่ปลูกถั่วลิสง	5.21	0.66	19.40	31.50
T 4	กระเทียม +ปุ๋ยหมัก+ กระถินป่น	ไม่ปลูกถั่วลิสง	5.25	0.67	19.28	28.25
T 5	กระเทียม (ไม่ใส่ปุ๋ย)	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	5.23	0.67	14.96	30.00
T 6	กระเทียม +ปุ๋ยหมัก	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	5.25	0.63	15.20	30.75
T 7	กระเทียม + กระถินป่น	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	5.25	0.68	19.97	30.38
T 8	กระเทียม +ปุ๋ยหมัก+ กระถินป่น	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	5.25	0.67	20.16	31.75
		ค่าเฉลี่ย	5.24	0.64	16.95	29.24
					ดินก่อนปลูกถั่วลิสง	
T1	กระเทียม (ไม่ใส่ปุ๋ย)	ไม่ปลูกถั่วลิสง	5.33	0.53	14.05	25.75
T2	กระเทียม + ปุ๋ยหมัก	ไม่ปลูกถั่วลิสง	5.35	0.56	16.97	35.00
T3	กระเทียม + กระถินป่น	ไม่ปลูกถั่วลิสง	5.34	0.63	17.15	38.23
T 4	กระเทียม +ปุ๋ยหมัก+ กระถินป่น	ไม่ปลูกถั่วลิสง	5.38	0.62	15.71	33.25
T 5	กระเทียม (ไม่ใส่ปุ๋ย)	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	5.38	0.53	14.70	25.00
T 6	กระเทียม +ปุ๋ยหมัก	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	5.35	0.62	21.14	37.25
T 7	กระเทียม + กระถินป่น	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	5.30	0.59	20.11	39.50
T 8	กระเทียม +ปุ๋ยหมัก+ กระถินป่น	ถั่วลิสง + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	5.35	0.54	20.06	38.00
		ค่าเฉลี่ย	5.35	0.58	17.48	34.00

ตารางที่ 4 ผลผลิตกระเทียมสดและแห้ง (ผึ่งลม 90 วัน) (กิโลกรัมต่อไร่) และขนาดหัวกระเทียม (เซนติเมตร) ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรยโสธร ปี 2560-2562

กรรมวิธี	ผลผลิตสด [1] (กิโลกรัมต่อไร่)				ผลผลิตแห้ง [2] (กิโลกรัมต่อไร่)				ขนาดหัวกระเทียม (เซนติเมตร)			
	ปี60	ปี61	ปี62	เฉลี่ย	ปี60	ปี61	ปี62	เฉลี่ย	ปี60	ปี61	ปี62	เฉลี่ย
T1	34d	89 d	40 d	54.3d	25.9d	62.3 d	28 c	38.7 d	1.15 c	1.6d	1.99c	1.58 c
T2	91c	465 b	164 a	240 ab	63.7b	325.5 b	114.8a	168 ab	1.41bc	2.14bc	2.34ab	1.96 ab
T3	89c	280 c	139 c	169.3c	62.3b	196 c	95.3ab	117.9 c	1.40bd	2.13bc	2.30ab	1.94 ab
T4	135ab	250 c	116 c	167 c	94.5ab	175 c	80.2ab	116.6 c	1.42bc	2.31ab	2.21ab	1.98 ab
T5	41d	83 d	56 d	60 d	28.7d	58.1 d	34.2 c	40.3 d	1.18 c	1.56d	1.90c	1.54 c
T6	72c	708 a	166 a	315.3ab	50.4c	405.6 a	111.2a	189.1 ab	1.41bc	2.55ab	2.46ab	2.14 ab
T7	72c	391bc	151 ab	204.7 bc	50.4c	273.7bc	100.7a	141.6 b	1.60ab	2.54ab	2.46ab	2.22 ab
T8	152a	708 a	160 ab	340 a	106.4a	410 a	110.1a	208.8 a	1.71 a	2.57a	2.53a	2.27 a
CV%	22	13	20	19.7	23	13.1	20	20.2	7.8	11.8	15.8	12.4
F-Test	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

หมายเหตุ : ปี 2563 กระเทียมเกิดโรคต้นเน่าระบาดรุนแรงไม่สามารถเก็บผลผลิตได้

ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

[1] ผลผลิตกระเทียม มักจุก รวมหัว ต้นและใบ

[2] ผลผลิตกระเทียมที่ผึ่งลม 90 วัน

ตารางที่ 5 การดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของกระเทียมปลูกระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย : ชุดดินสตึก ปี 2560-2562 (หน่วย: กิโลกรัมต่อไร่)

การดูดใช้ธาตุอาหารในกระเทียม ปี2560									
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	หัว	ต้น+ใบ	รวม	หัว	ต้น+ใบ	รวม	หัว	ต้น+ใบ	รวม
T1	0.46 d	0.11 c	0.57 c	0.08 c	0.01 c	0.09 c	0.30 d	0.21 c	0.51 d
T2	1.46 b	0.33 b	1.79 b	0.20 b	0.03 b	0.23 b	0.76 b	0.74 b	1.49 b
T3	1.58 b	0.30 b	1.88 b	0.19 b	0.03 b	0.22 b	0.80 b	0.65 b	1.44 b
T4	2.20 a	0.43 a	2.63 a	0.32 a	0.04 a	0.36 a	1.16 ab	0.90 a	2.07 a
T5	0.51 d	0.12 c	0.63 c	0.09 c	0.01 c	0.10 c	0.33 d	0.23 c	0.56 d
T6	1.25 c	0.29 b	1.54 c	0.16 b	0.02 b	0.18 b	0.64 c	0.53 b	1.17 c
T7	1.32 c	0.28 b	1.60 c	0.18 b	0.02 b	0.20 b	0.64 c	0.59 b	1.23 c
T8	2.57 a	0.55 a	3.12 a	0.37 a	0.05 a	0.42 a	1.34 a	1.03 a	2.37 a
เฉลี่ย	1.41	0.30	1.72	0.20	0.03	0.23	0.75	0.61	1.36
CV, F-test	14, *	15, *	13,*	15,*	12,*	14,*	14,*	11,*	13,*
การดูดใช้ธาตุอาหารในกระเทียม ปี2561									
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	หัว	ต้น+ใบ	รวม	หัว	ต้น+ใบ	รวม	หัว	ต้น+ใบ	รวม
T1	0.65 d	0.19 d	1.04 d	0.19 d	0.03 d	0.22 d	0.55 d	0.46 d	1.00 d
T2	5.10 b	1.03 b	6.13 b	1.78 a	0.27 a	2.05 a	2.71 b	2.46 b	5.16 b
T3	3.24 c	0.66 c	3.90 c	1.37 ab	0.12 c	1.49 ab	1.89 c	1.48 c	3.37 c
T4	2.79 c	0.59 c	3.38 c	1.05 c	0.10 c	1.15 c	1.65 c	1.39 c	3.04 c
T5	0.58 d	0.17 d	0.75 d	0.28 d	0.03 d	0.31 d	0.53 d	0.49 d	1.02 d
T6	7.91 a	1.46 ab	9.37 a	1.68 ab	0.33 a	2.01 a	4.27 a	3.74 a	8.00 a
T7	4.81 bc	0.95 b	5.76 b	0.99 c	0.19 b	1.18 c	2.51 b	2.21 b	4.71 b
T8	7.49 ab	1.63 a	9.12 a	1.66 ab	0.34 a	2.00 a	4.20 a	3.87 a	8.07 a
เฉลี่ย	4.07	0.83	4.93	1.13	0.18	1.30	2.29	2.01	4.30
CV, F-test	13,*	12,*	12,*	13,*	12,*	12,*	13,*	11,*	12,*

การดูดใช้ธาตุอาหารในกระเทียม ปี2562									
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	หัว	ต้น+ใบ	รวม	หัว	ต้น+ใบ	รวม	หัว	ต้น+ใบ	รวม
T1	0.56 c	0.07 c	0.63 c	0.10 c	0.01 c	0.11 c	0.34 c	0.17 c	0.51 d
T2	2.58 a	0.32 a	2.90 a	0.47 a	0.10 a	0.57 a	1.58 a	0.86 a	2.44 a
T3	2.32 ab	0.30 a	2.62 ab	0.37 ab	0.05 ab	0.42 ab	1.27 ab	0.76 ab	2.03 ab
T4	1.90 ab	0.23 ab	2.13 ab	0.30 ab	0.05 ab	0.35 ab	1.09 ab	0.76 ba	1.85 c
T5	0.65 c	0.09 c	0.74 c	0.14 c	0.02 c	0.16 c	0.38 c	0.20 c	0.58 d
T6	2.31 a	0.27 ab	2.58 a	0.44 a	0.09 a	0.53 a	1.45 a	0.84 ab	2.29 ab
T7	2.32 ab	0.27 ab	2.59 ab	0.37 ab	0.06 ab	0.43 ab	1.34 ab	0.77ab	2.11 ab
T8	2.45 a	0.28 ab	2.73 a	0.42 a	0.07 ab	0.49 a	1.42 a	0.92 a	2.34 a
เฉลี่ย	**1.88**	**0.22**	**2.11**	**0.33**	**0.06**	**0.38**	**0.92**	**0.55**	**1.47**
CV, F-test	**15,***	**13,***	**12,***	**13,***	**11,***	**12,***	**13,***	**11,***	**12,***
การดูดใช้ธาตุอาหารในกระเทียม เฉลี่ย 3 ปี (2560-2562)									
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	หัว	ต้น+ใบ	รวม	หัว	ต้น+ใบ	รวม	หัว	ต้น+ใบ	รวม
T1	0.56 d	0.12 c	0.68 d	0.12 c	0.02 d	0.14 d	0.38 d	0.27 d	0.64 d
T2	3.05 ab	0.56 ab	3.61 ab	0.82 a	0.13 ab	0.95 ab	1.59 c	1.30 c	2.89 ab
T3	2.38 c	0.42 ab	2.80 c	0.65 ab	0.07 c	0.71 ab	1.25 c	0.91 c	2.17 c
T4	2.30 c	0.42 ab	2.71 c	0.56 ab	0.06 c	0.62 c	1.24 c	0.97 c	2.21 c
T5	0.58 d	0.13 c	0.71 d	0.17 c	0.02 d	0.19 d	0.39 d	0.30 d	0.69 d
T6	3.82 ab	0.67 ab	4.50 ab	0.76 a	0.15 a	0.91 ab	2.04 ab	1.65 ab	3.69 ab
T7	2.82 c	0.50 ab	3.32 ab	0.51 ab	0.09 c	0.61c	1.42 c	1.15 c	2.56 c
T8	4.17 a	0.82 ab	4.99 a	0.82 a	0.15 a	0.97 a	2.24 a	1.89 ab	4.13 a
เฉลี่ย	**2.46**	**0.46**	**2.91**	**0.55**	**0.09**	**0.64**	**1.32**	**1.06**	**2.37**
CV, F-test	**15.1,***	**14.2,***	**12.1,***	**13.3,***	**12.1,***	**12.4,***	**13.1,***	**11.1,***	**12.2,***

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT
* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 6 น้ำหนักต้นสด ต้นถั่วลิสง พันธุ์ไทนาน 9 ในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย ณ ศูนย์วิจัยและ พัฒนาการเกษตรยโสธร ปี 2560-2562

กรรมวิธี	ต้นสด (กิโลกรัมต่อไร่)				ต้นแห้ง (กิโลกรัมต่อไร่)			
	ปี60	ปี61	ปี62	เฉลี่ย	ปี60	ปี61	ปี62	เฉลี่ย
T1-T4	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	1,865	1,759	1,700	**1,775**	466	440	425	**444**
T6	1,965	1,897	1,983	**1,948**	491	474	496	**487**
T7	1,895	1,885	1,895	**1,892**	474	471	474	**473**
T8	1,960	1,975	2,105	**2,013**	490	494	505	**496**
เฉลี่ย	1,921	1,879	1,921	**1,907**	480	470	475	**475**
CV%	14	15	15	**15**	**17**	**17**	**17**	**17**
F-Test	ns	ns	ns	**ns**	ns	ns	ns	**ns**

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT
* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 7 น้ำหนัก100 เมล็ด และผลผลิตถั่วลิสง พันธุ์ไทนาน 9 ในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรยโสธร ปี 2560-2562

กรรมวิธี	ปี 2560			ปี 2561			ปี 2562		
	ฝักสด	ฝักแห้ง	100 เมล็ด	ฝักสด	ฝักแห้ง	100 เมล็ด	ฝักสด	ฝักแห้ง	100 เมล็ด
	-----(กิโลกรัมต่อไร่)----		(กรัม)	-----(กิโลกรัมต่อไร่)----		(กรัม)	----(กิโลกรัมต่อไร่)----		(กรัม)
T1-T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	215 b	110 b	36.0 b	201 b	90.8 b	39.0	199 b	95.4	39.0
T6	250 a	138 a	40.3 a	231 a	117.9 a	40.3	229 a	110.4	40.0
T7	255 a	140 a	41.9 a	243 a	117.5 a	40.1	235 a	118.2	40.1
T8	258 a	142 a	41.0 a	246 a	118.9 a	40.0	237 a	117.8	40.1
F-test	*	*	ns	*	*	ns	*	*	ns
เฉลี่ย	245	133	40.6	230	111.3	39.9	225	110.5	39.8
CV (%)	20	19	15	14	14	16	11	11	16

กรรมวิธี	เฉลี่ย 3 ปี (2560-2562)		
	ฝักสด	ฝักแห้ง	น้ำหนัก100 เมล็ด
	(กิโลกรัมต่อไร่)	(กิโลกรัมต่อไร่)	(กรัม)
T1-T4	-	-	-
T5	**215 b**	**110 b**	**36.0**
T6	**250 a**	**138 a**	**40.3**
T7	**255 a**	**140 a**	**41.9**
T8	**258 a**	**142 a**	**41.0**
F-test	*	*	ns
เฉลี่ย	245	133	40.6
CV (%)	20	19	15

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 8 การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วลิสงอินทรีย์พันธุ์ไทนาน 9 ปลูกระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรยโสธร ปี 2560-2562 (หน่วย: กิโลกรัม/ไร่)

การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วลิสง ปี 2560												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม
T1-T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	3.23b	9.60	0.43	13.27	0.33b	1.21 b	0.04	1.58 b	0.56b	8.12	0.17	8.84
T6	4.35a	10.91	0.50	15.76	0.49a	1.41 a	0.06	1.96 a	0.83a	8.57	0.25	9.64
T7	4.42a	10.54	0.50	15.47	0.49a	1.41 a	0.07	1.97 a	0.78a	8.82	0.25	9.85
T8	4.40a	10.71	0.58	15.60	0.53a	1.42 a	0.07	2.02 a	0.83a	9.11	0.27	10.20
เฉลี่ย	4.10	10.44	0.50	15.03	0.46	1.36	0.06	1.88	0.75	8.65	0.23	9.63
CV, F-test	19,*	18,ns	19,ns	18,ns	19,*	19,*	19,ns	19,*	19,*	18,ns	19,ns	18,ns
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วลิสง ปี 2561												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม
T1-T4	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
T5	2.79b	8.94	0.29	12.03b	0.23b	0.58b	0.05b	0.86 b	0.38b	4.95b	0.17b	5.49b
T6	3.81a	9.97	0.33	14.12a	0.37a	0.79a	0.08a	1.24 a	0.70a	7.93a	0.22a	8.84a
T7	3.87a	9.93	0.36	14.16a	0.33a	0.73a	0.08a	1.14 a	0.71a	7.60a	0.22a	8.67a
T8	3.85a	10.46	0.37	14.63a	0.34a	0.74a	0.09b	1.17a	0.71a	8.68a	0.25a	9.64a
เฉลี่ย	3.58	9.82	0.34	13.74	0.32	0.71	0.07	1.10	0.62	7.29	0.21	8.16
CV, F-test	19,*	19,ns	19,ns	19, ns	18,*	17,*	20,*	19,*	15,*	14,*	13,*	14, *
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วลิสง ปี 2562												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม
T1-T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	2.83b	8.33	0.26	11.42	0.32b	0.77b	0.03	1.12b	0.46b	4.71b	0.20b	5.38a
T6	3.45a	9.83	0.30	13.58	0.44a	1.35a	0.03	1.82a	0.56a	7.13a	0.24a	7.93b
T7	3.56a	9.43	0.30	13.29	0.41a	1.25a	0.05	1.71a	0.61a	6.84a	0.24a	7.69b
T8	3.59a	9.71	0.32	13.62	0.45a	1.34a	0.04	1.83a	0.60a	7.21a	0.24a	8.05b
เฉลี่ย	3.35	9.32	0.29	12.97	0.41	1.18	0.04	1.62	0.56	6.47	0.23	7.26
CV, F-test	18,*	20,ns	15,ns	17, ns	18,*	18,*	20,ns	19,*	18,*	18,*	15,*	17, *
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วลิสง เฉลี่ย 3 ปี (2560-2562)												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม
T1-T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	2.95 b	8.96	0.33	12.23	0.29b	0.85b	0.04b	1.19b	0.47b	5.93b	0.18b	6.57b
T6	3.87 a	10.24	0.38	14.48	0.43a	1.18a	0.06a	1.68a	0.69a	7.87a	0.24a	8.80a
T7	3.95 a	9.97	0.39	14.30	0.41a	1.13a	0.07a	1.61a	0.70a	7.75a	0.24a	8.74a
T8	3.95 a	10.29	0.42	14.66	0.44a	1.17a	0.07a	1.67a	0.71a	8.33a	0.25a	9.30a
เฉลี่ย	3.68	9.86	0.38	13.92	0.39	1.08	0.06	1.54	0.64	7.47	0.22	8.35
CV, F-test	18.7,*	19.2,ns	12.1,ns	18.2,ns	18.7,*	17.5,*	19.7,ns	19.2,*	17.5,*	17.1,*	16.1,*	17.3,*

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 9 ผลตอบแทนและข้อมูลทางด้านเศรษฐศาสตร์ของการผลิตกระเทียมระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินทราย: ชุดดินสตึก ปี 2560-2562

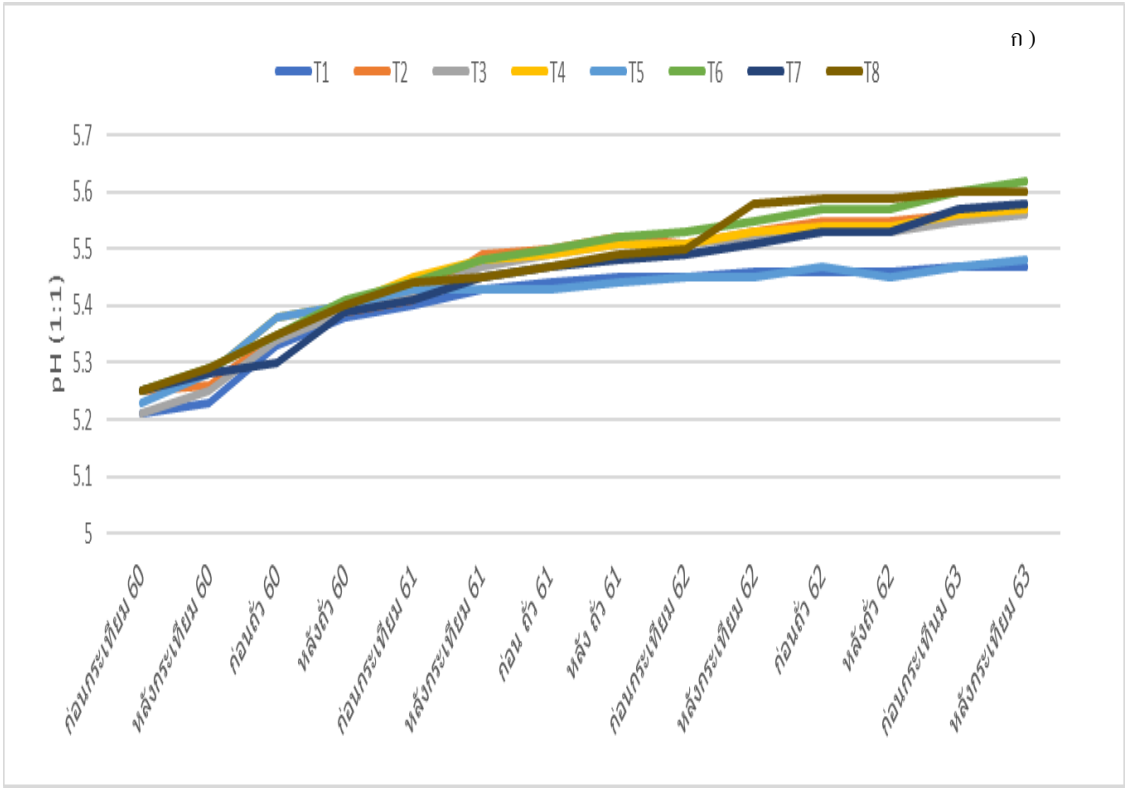
กรรมวิธี	ปี 60						ปี 61						ปี 62					
	ผลผลิตแห้ง[1]	ผลผลิตเพิ่ม	รายได้ผลผลิตเพิ่ม	รายจ่ายปุ๋ยที่ใช้[2]	กำไร	VCR	ผลผลิตแห้ง[1]	ผลผลิตเพิ่ม	รายได้ผลผลิตเพิ่ม	รายจ่ายปุ๋ยที่ใช้[2]	กำไร	VCR	ผลผลิตแห้ง[1]	ผลผลิตเพิ่ม	รายได้ผลผลิตเพิ่ม	รายจ่ายปุ๋ยที่ใช้[2]	กำไร	VCR
	(กก/ไร่)	(กก/ไร่)	(บาท/ไร่)	(บาท/ไร่)	(บาท/ไร่)		(กก/ไร่)	(กก/ไร่)	(บาท/ไร่)	(บาท/ไร่)	(บาท/ไร่)		(กก/ไร่)	(กก/ไร่)	(บาท/ไร่)	(บาท/ไร่)	(บาท/ไร่)	
T1	25.9 d	-	-	-	-	-	62.3 e	-	-	-	-	-	28 c	-	-	-	-	-
T2	63.7 b	37.8	5,670	5,310	360	1.1	325.5 bc	263.2	39,480	4,960	34,520	8	114.8 a	86.8	13,020	3,965	9,055	3.3
T3	62.3 b	36.4	5,460	5,790	-330	0.9	196 cd	133.7	20,055	5,736	14,319	3.5	95.3 b	67.3	10,095	5,358	4,737	1.9
T4	94.5 a	68.6	10,290	5,552	4,738	1.9	175 cd	112.7	16,905	5,348	11,557	3.2	80.2 b	52.2	7,830	4,673	3,153	1.6
T5	28.7 d	2.8	420	20	400	21	58.1 e	4.2	630	20	650	31.5	34.2 c	6.2	930	20	910	46.5
T6	50.4 c	24.5	3,675	5,330	-1,655	0.7	405.6 a	343.3	51,495	4,980	46,515	10.3	111.2 a	83.2	12,480	3,985	8,495	3.2
T7	50.4 c	24.5	3,675	5,810	-2,135	0.6	273.7 bc	211.4	31,710	5,756	25.954	5.5	100.7 ab	72.7	10,905	5,378	5,527	2
T8	106.4 a	80.5	12,075	5,810	6,265	2.1	410 a	347.7	52,155	5,368	46,787	9.7	110.1 ab	82.1	12,315	4,693	7,622	2.6

หมายเหตุ ราคาปุ๋ยหมัก กิโลกรัมละ 5 บาท ราคากระถินป่น กิโลกรัมละ 6 บาท ราคาปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมถุงละ 20 บาท ราคากระเทียมอินทรีย์ แห้งคละ กิโลกรัมละ 120 บาท

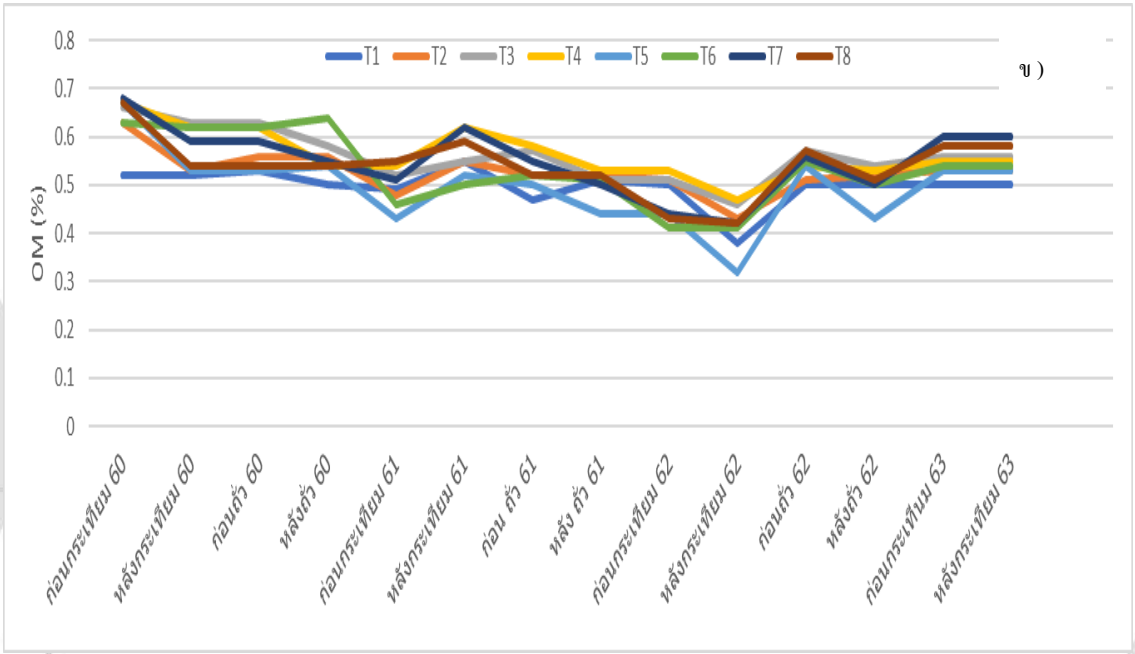
ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

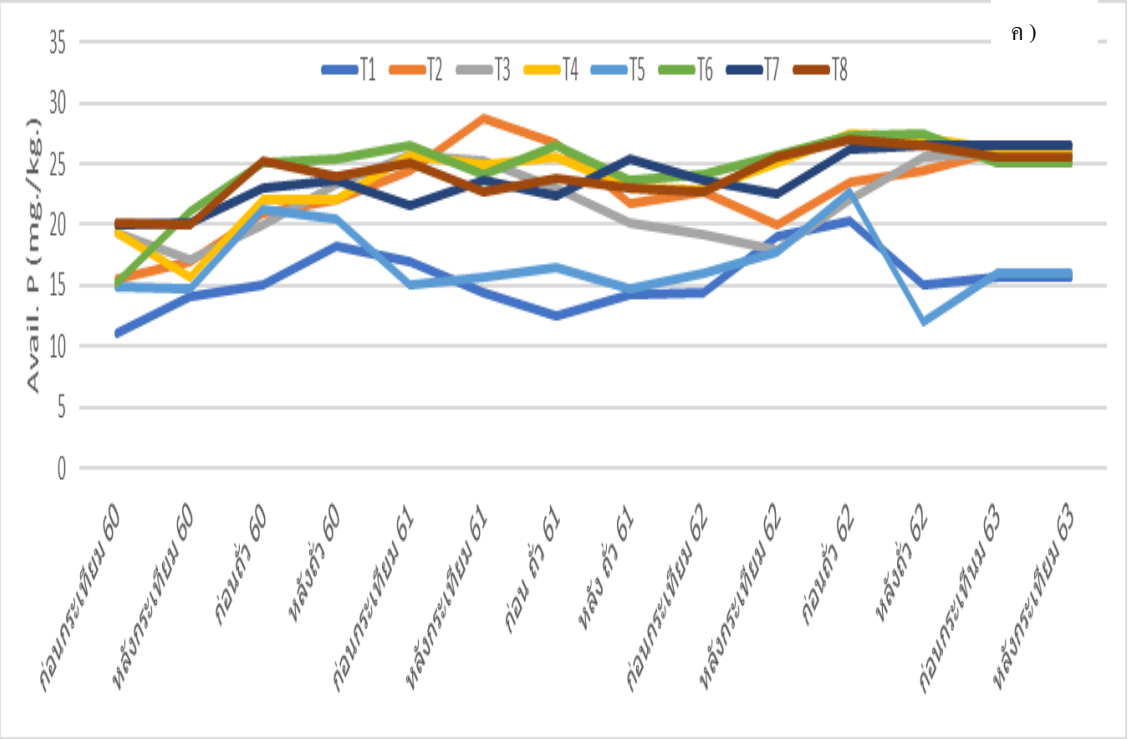
[1] ผลผลิตกระเทียมผึ่งลม 90 วัน [2] VCR= รายได้ผลผลิตที่เพิ่ม / รายจ่ายปุ๋ยที่ใช้



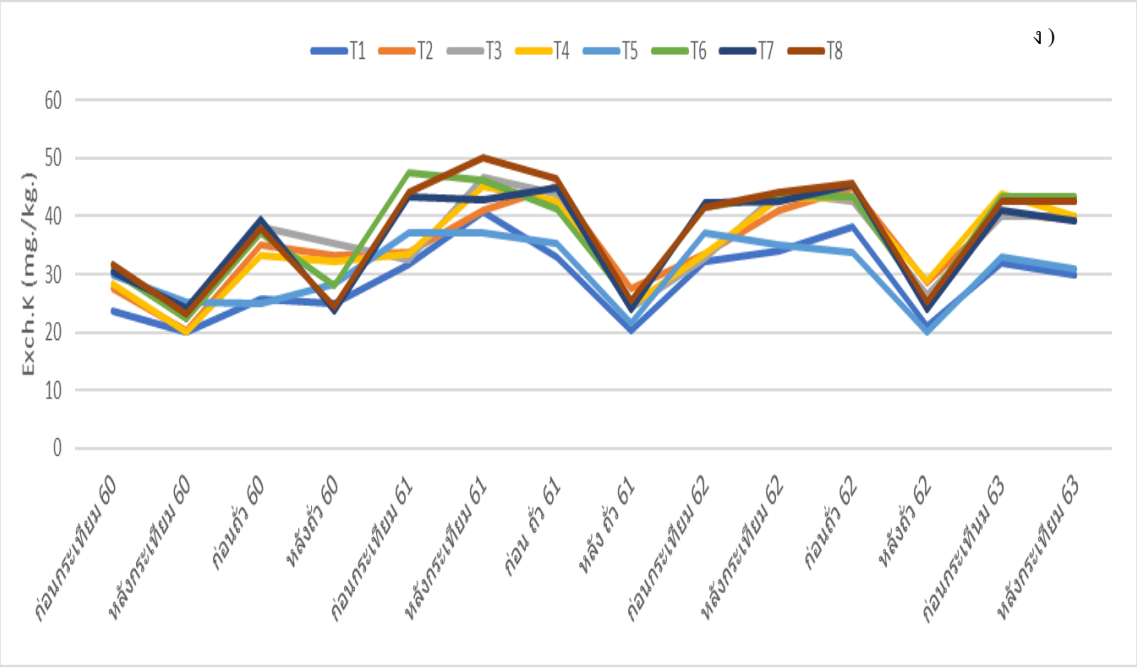
ภาพที่ 1ก กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่าง ในดินก่อนและหลังเก็บผลผลิตกระเทียมและถั่วลิสง ปี 2560-2563



ภาพที่ 1ข กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของอินทรียวัตถุในดิน ในดินก่อนและหลังเก็บผลผลิตกระเทียมและถั่วลิสง ปี 2560-2563 (หน่วย: เปอร์เซ็นต์)



ภาพที่ 1ค กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ในดินก่อนและหลังเก็บผลผลิตกระเทียมและถั่วลิสง ปี 2560-2563 (หน่วย:มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)



ภาพที่ 1ง กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของธาตุโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินก่อนและหลังเก็บผลผลิตกระเทียมและถั่วลิสง (หน่วย:มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

ศึกษารูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวโพดฝักอ่อนในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว

Study on Soil Management for Baby Corn Production in Clay Soil under Organic Cropping System

รมิดา ขันตรีกรม[1] สรัตนา เสนาะ[1] กัลยกร โปร่งจันทึก[1] อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์[1] เพทาย กาญจนเกสร[2] ผกาสินี คล้ายมาลา[3] สุรเชษฐ์ นาราภัทร์[4]

Ramida Kantrikrom[1] Sarattana Sanoh[1] Kunlaykorn Prongjunthuek[1] Amnat Eamvijarn[1] Patai Kanjanakason[2] Pakasinee Klaymala[3] Surachet Nanabhat[4]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Study on soil management for baby corn production in organic cropping system in Sena soil series at farmer field Nakhon Pathom province. The objective was to obtain an effective soil management model for baby corn production in organic systems 2016-2021, Experimental was laid out in randomized complete block (RCB) with five treatment and 4 replicates Contains with 1) Planted baby corn without fertilizer in rainy season, no planted mung bean in the dry season 2) Planted baby corn without fertilizer in rainy season, and planted mung bean in dry season 3) Planted baby corn with compost in rainy season, and planted mung bean in the dry season 4) Planted baby corn with PGPR 1 biofertilizer in rainy season, and planted mung bean in the dry season 5) Planted baby corn with compost and PGPR 1 biofertilizer in rainy season, and planted mung bean planting in dry season The compost application rate was comparable to the nutrient content of the compost with the recommendations for fertilizer application based on the baby corn soil analysis. Application of rhizobium biofertilizer and PGPR 1 biofertilizers by mixing seeds before planting. And every process of growing mung bean uses rhizobium. The stalks of baby corn and mung bean plants were plowed after harvesting. The results showed that in the fifth treatments, the baby corn was planted with compost at the rate of 1,200 kg/rai. by dry weight combined with PGPR 1 biofertilizer and planted mung bean mixed with rhizobium biofertilizer. The average yield of baby corn and mung bean was highest. and provide a worthwhile economic return baby corn yield. The average yield of mung bean was 1,470 kg/rai and mung bean yield was 150 kg/rai. After harvesting mung bean and baby corn with continuous tillage for

1 กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

1 Soil Science Research Group, Agricultural Production Science and Development Division

2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม

2 Nakhon Pathom Agricultural Research and Development Center

3 กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

3 Agricultural Toxic Substances Research Group, Agricultural Production Science and Development Division

4 กรมพัฒนาที่ดิน

4 Land Development Department

6 years, the amount of organic matter in treatment 3 and 5 increased. The amount of phosphorus and the potassium content will increase in the 3rd year

Keyword : Organic soil management Organic baby corn

บทคัดย่อ

ศึกษารูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวโพดฝักอ่อนในระบบอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว : ชุดดินเสนา ณ แปลงเกษตรกร จังหวัดนครปฐม วัตถุประสงค์เพื่อได้รูปแบบการจัดการดินเพื่อผลิตข้าวโพดฝักอ่อนให้มีประสิทธิภาพในระบบอินทรีย์ ปี 2559-2564 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 1) ฤดูฝนปลูกข้าวโพดฝักอ่อนไม่ใส่ปุ๋ยฤดูแล้งไม่ปลูกถั่วเขียว 2) ฤดูฝนปลูกข้าวโพดฝักอ่อนไม่ใส่ปุ๋ย ฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว 3) ฤดูฝนปลูกข้าวโพดฝักอ่อนใส่ปุ๋ยหมัก ฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว 4) ฤดูฝนปลูกข้าวโพดฝักอ่อนใส่ปุ๋ยพีจีพีอาร์ วัน ฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว 5) ฤดูฝนปลูกข้าวโพดฝักอ่อนใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมด้วยปุ๋ยพีจีพีอาร์ วัน ฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว อัตราการใส่ปุ๋ยหมักเทียบเคียงปริมาณธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบในปุ๋ยหมักกับคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของข้าวโพดฝักอ่อน การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและพีจีพีอาร์ วัน โดยการคลุกเมล็ดพืชก่อนปลูก และทุกกรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ทำการไถกลบต้นข้าวโพดฝักอ่อนและต้นถั่วเขียวหลังการเก็บเกี่ยว ผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีที่ 5 ปลูกข้าวโพดฝักอ่อนใส่ปุ๋ยหมัก อัตรา 1,200 กิโลกรัมต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน และในฤดูแล้งปลูกถั่วเขียวร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนและถั่วเขียวเฉลี่ยสูงที่สุด และให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจคุ้มค่า ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน (ฝักสดทั้งเปลือก) เฉลี่ยเท่ากับ 1,470 กิโลกรัมต่อไร่ และผลผลิตถั่วเขียวเฉลี่ย เท่ากับ 150 กิโลกรัมต่อไร่ หลังจากเก็บเกี่ยวถั่วเขียวและข้าวโพดฝักอ่อนมีการไถกลบต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 6 ปี ทำให้ปริมาณอินทรียวัตถุในกรรมวิธีที่ 3 และ 5 มีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียมจะเพิ่มขึ้นในปีที่ 3

คำสำคัญ : เกษตรอินทรีย์ การจัดการดิน ข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์

คำนำ

ข้าวโพดฝักอ่อนจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ภาครัฐมีการส่งเสริมการเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ของข้าวโพดให้สูงขึ้น โดยการใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ทันสมัย การปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดที่สามารถให้ผลผลิตสูง การใส่ปุ๋ย การควบคุมโรคและแมลง เพื่อให้พื้นที่ทางการเกษตรมีศักยภาพสูงสุดในการผลิตพืช แหล่งปลูกข้าวโพดฝักอ่อนที่สำคัญ ได้แก่ ลพบุรี สระบุรี สิงห์บุรี กาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กำแพงเพชร เชียงราย พิจิตร ลำพูน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) ข้าวโพดฝักอ่อนเป็นพืชที่ใช้ระยะเวลาในการปลูกค่อนข้างสั้นตั้งแต่วันปลูกจนถึงเก็บฝักอ่อนหมด จะใช้เวลาไม่เกิน 60 วัน ถ้าพื้นที่เพาะปลูกนั้นมีการจัดการดินและน้ำอย่างเหมาะสมจะสามารถปลูกข้าวโพดฝักอ่อนได้ 4-5 ครั้ง หมุนเวียนติดต่อกันตลอดทั้งปี การผลิตข้าวโพดฝักอ่อนในระบบเกษตรอินทรีย์น่าจะเป็นทางเลือกสำหรับการผลิตสินค้าพืชอินทรีย์ที่มีแนวโน้มความต้องการของตลาดมากขึ้น การผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ดินควรมีความอุดมสมบูรณ์และการหมุนเวียนธาตุอาหารในระบบสามารถให้แก่พืชอย่างพอเพียง แต่ภายใต้เงื่อนไขการใช้ปัจจัยการผลิตพืชระบบเกษตรอินทรีย์ต้องปราศจากการใช้ปุ๋ยเคมี สารเคมี (สารสังเคราะห์) โดยสิ้นเชิงโดยเน้นการใช้สารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติและปัจจัยการผลิตในท้องถิ่นเป็นหลัก (กรมวิชาการเกษตร, 2543) การจัดการดินในการผลิตข้าวโพดฝักอ่อนในระบบเกษตรอินทรีย์ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ในการสร้างวงจรการหมุนเวียนธาตุอาหารให้เกิดความสมดุล และการรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินให้พอเพียงต่อพืช ซึ่งยังขาดข้อมูลการศึกษารูปแบบการจัดการดิน

ผลิตข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ที่มีการปลูกพืชหมุนเวียนในระบบเพื่อสร้างวงจรธาตุอาหารใส่คืนสู่ดินและเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรในระบบให้อย่างยั่งยืนตามหลักการผลิตพืชระบบเกษตรอินทรีย์

วิธีดำเนินการ

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ

กรรมวิธี	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน
กรรมวิธีที่ 1	ไม่ปลูกถั่วเขียว	ข้าวโพดฝักอ่อน (ไม่ใส่ปุ๋ย)
กรรมวิธีที่ 2	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน (ไม่ใส่ปุ๋ย)
กรรมวิธีที่ 3	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน + ปุ๋ยหมัก
กรรมวิธีที่ 4	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน
กรรมวิธีที่ 5	ถั่วเขียว +ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน + ปุ๋ยหมัก + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน

1. ประเมินสถานะธาตุอาหารที่เหมาะสมของดินต่อการปลูกข้าวโพดฝักอ่อน โดยการเก็บสุ่มตัวอย่างดินก่อนการทดลองในพื้นที่ เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดิน ที่ระดับ 0-15 และ 15-30 เซนติเมตร วิเคราะห์ ค่าความเป็นกรดด่างในดิน ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

2. เตรียมแปลงการทดลอง ขนาดแปลงย่อย 4.5 x 6.0 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ปลูกถั่วเขียวโดยคลุกเมล็ดถั่วเขียวด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม อัตรา 200 กรัมต่อไร่ ระยะปลูก 50x20 เซนติเมตร 2 เมล็ดต่อหลุม ปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ในกรรมวิธีที่ 2-5 และหลังจากเก็บผลผลิตถั่วเขียว ทำการไถกลบซากถั่วเขียว หมักดินประมาณ 3 สัปดาห์ เตรียมดินพร้อมใส่ปุ๋ยหมักในกรรมวิธีที่ 3 และ 5 ในอัตรา 1,200 กิโลกรัมต่อไร่ โดยใช้ปุ๋ยหมักเติมอากาศ ทำจาก มูลวัว มูลไก่แกลบ และเศษใบไม้ ในอัตรา 2:1:1 ใส่ตอนเตรียมแปลงก่อนปลูกข้าวโพดฝักอ่อน 2 สัปดาห์ ทำการปลูกข้าวโพดฝักอ่อน จำนวน 3 เมล็ดต่อหลุม ปล่อยให้ต้นข้าวโพดฝักอ่อนโต ประมาณ 10 วัน ถอนแยกให้เหลือ 2 ต้นต่อหลุม โดยเลือกต้นที่สมบูรณ์ที่สุด หลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อนไถกลบต้นข้าวโพดลงในแปลงพร้อมสุ่มเก็บดินวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร เตรียมดินปลูกพืชในฤดูต่อไปตามกรรมวิธีกำหนด จากเกณฑ์การประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดิน จากค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร (2553) แปลงที่ใช้ในการทดลองมีความอุดมสมบูรณ์อยู่ในระดับปานกลาง ปริมาณธาตุอาหารหลักที่ใส่ในข้าวโพดฝักอ่อน ตามค่าวิเคราะห์ดินคือ 20-5-5 กิโลกรัม N- P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในปริมาณพอเพียงกับความต้องการของข้าวโพดฝักอ่อน

3. ศึกษาการดูดใช้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ในส่วนต่างๆของข้าวโพดฝักอ่อนและถั่วเขียวในระบบเกษตรอินทรีย์ ความอุดมสมบูรณ์ ผลผลิต และผลตอบแทนในการผลิตข้าวโพดฝักอ่อน

การบันทึกข้อมูล

1. ค่าวิเคราะห์ดินก่อนและทำการทดลอง วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ในดิน

2. วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินหลังไถกลบซากถั่วเขียว และหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อน เพื่อประเมินระดับธาตุอาหารที่มีการสะสม ในแต่ละฤดูกาลหรือแต่ละรอบ

3. ข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว เช่น ความสูง ผลผลิตต่อไร่ (ความชื้น 12%) และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมทั้งหมดที่สะสมในส่วนต่าง ๆ ของถั่วเขียว

4. ข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพดฝักอ่อน เช่น ความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของต้น ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือก ผลผลิตฝักสดปอกเปลือก และวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในส่วนต่าง ๆของข้าวโพดฝักอ่อน วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมทั้งหมดที่อยู่ในส่วนต่างๆของข้าวโพดฝักอ่อน

5. ต้นทุนการผลิตโดยการหาอัตราผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยวิธี Value to cost ratio (VCR)

6. ค่าวิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์สถิติตามแบบแผนการทดลอง โดยใช้ ANOVA และ DMRT และสรุปผลการทดลอง

ระยะเวลา เริ่มต้นตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่การทดลอง กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม

ผลการทดลองและวิจารณ์

ความอุดมสมบูรณ์ดิน

วิเคราะห์สัณฐานของดินในแปลงทดลองก่อนปลูกข้าวโพดฝักอ่อน พบว่า สภาพแวดล้อมการใช้ที่ดิน เป็นชุดดินเสนา ลักษณะเนื้อดินเป็นดินเหนียวตลอดหน้าตัดดิน ดินมีความอุดมสมบูรณ์อยู่ในระดับปานกลาง-สูง (Land Classification Division and FAO Project Staff, 1973) ดินก่อนทำการทดลอง ปี 2559 พบว่า มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ย (pH) อยู่ในระดับกรดจัด เท่ากับ 5.4 ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) โดยมีปริมาณอินทรียวัตถุเฉลี่ย เท่ากับ 2.0 % ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เฉลี่ยเท่ากับ 31 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้เฉลี่ยเท่ากับ 181 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ดินก่อนปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ปี 2559-2560 พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ มีค่าเฉลี่ยระหว่าง 2.1-2.2 %, 31-36 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 224-230 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ตารางที่ 1) ตามลำดับ วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปุ๋ยหมักที่ใช้ในแต่ละปี องค์ประกอบทางเคมีของปุ๋ยหมักเติมอากาศที่ระดับความชื้น 12 % มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมทั้งหมด ระหว่าง1.69-4.80%, 1.17-2.01%, และ 1.93-2.68% ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เพื่อหาอัตราปุ๋ยหมักเติมอากาศในการใส่กรรมวิธีที่ 3 และที่ 5 คือ 20-5-5 N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่ โดยปี 2559-2562 ใส่ปุ๋ยหมักเติมอากาศ 1,200 กิโลกรัมต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้งเทียบกับปริมาณปริมาณธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบในปุ๋ยหมักเติมอากาศจากคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์ดินแปลงทดลอง สมบัติดินก่อนการทดลองศึกษารูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวโพดฝักอ่อนในระบบอินทรีย์ ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2562

ปี พ.ศ.	อินทรียวัตถุ[1] (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์[2] (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้[3] (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	pH[4] ดิน:น้ำ (1:1)	อัตราคำแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับการปลูกข้าวโพดฝักอ่อน กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่
ดินก่อนทดลอง	2.0	31	229	5.4	20-5-5
2559	2.1	31	224	5.4	20-5-5
2560	2.2	32	197	5.5	20-5-5
2561	2.2	35	216	5.5	20-5-5
2562	2.2	36	230	5.5	20-5-5

หมายเหตุ [1] Walkley and Black (1934), [2]Bray and Kurtz (1945), [3]Thomas (1982), [4]Peech (1965),

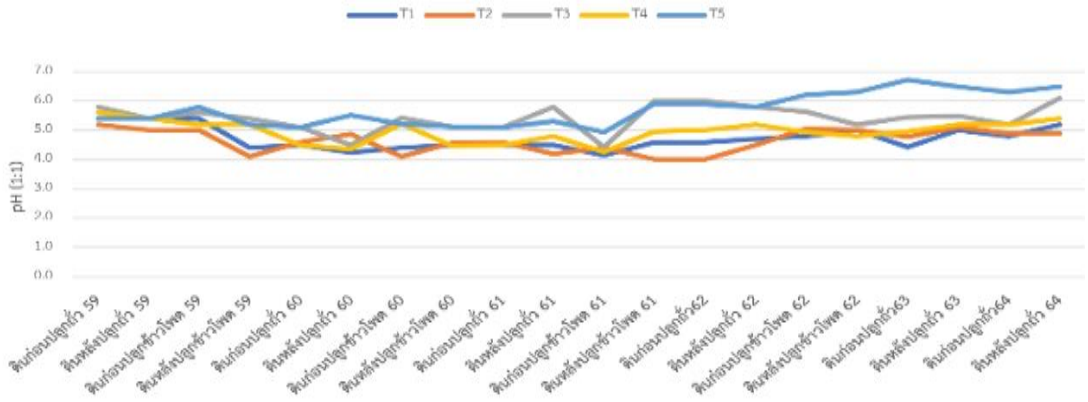
ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของปุ๋ยหมักเติมอากาศ ก่อนทดลองปลูกข้าวโพดฝักอ่อนในระบบเกษตรอินทรีย์ ปี 2559-2562

ปี พ.ศ.	ไนโตรเจน (%)	ฟอสฟอรัส P_2O_5 (%)	โพแทสเซียม K_2O (%)	pH (1:10)	EC (1:10) (dS/m)	ความชื้น (%โดยน้ำหนักสด)
2559	1.69	1.90	1.98	8.37	4.12	12.0
2560	1.93	2.02	1.93	8.10	4.08	12.2
2561	1.79	1.17	2.68	8.24	5.44	11.7
2562	1.80	2.01	1.97	8.12	5.04	12.0

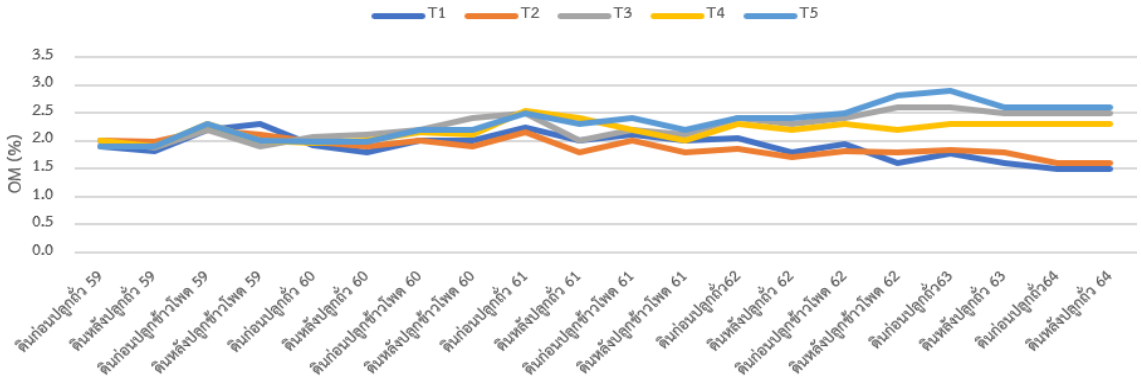
ผลการจัดการดินในการปลูกถั่วเขียวฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อนฤดูฝนต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดิน

ความเป็นกรดด่างของดิน (pH) ดินก่อนทำการทดลองมี pH=5.4 และหลังการทดลองในปีที่ 6 กรรมวิธีที่ 1 2 และ 4 มีแนวโน้มลดลง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.2, 4.9 และ 5.3 ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 3 และ 5 ปี 2564 ค่า pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อย มีค่าอยู่ระหว่าง 6.1 และ 6.5 ตามลำดับ (ภาพที่ 1ก) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ดินก่อนทำการทดลองปลูกข้าวโพดฝักอ่อน มีค่าอยู่ระหว่าง 2.2-2.4 % ทุกกรรมวิธีจะมีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากมีการไถกลบต้นถั่วเขียวและต้นข้าวโพดฝักอ่อน แต่จะมีปริมาณลดลงหลังจากปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ในกรรมวิธีที่ 1 2 และ 4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.6, 1.8, 2.2 % ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 3 และ 5 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.6 และ 2.8 % ตามลำดับ มีปริมาณเพิ่มขึ้น อาจเป็นผลมาจากการสะสมของปุ๋ยหมักที่ใส่ในปีที่ผ่านมา (ภาพที่ 1ข) ปริมาณฟอสฟอรัสในดิน ดินก่อนทำการทดลองปลูกข้าวโพดฝักอ่อน มีค่าระหว่าง 25-34 มิลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่จะมีปริมาณลดลงหลังจากปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ในกรรมวิธีที่ 1 2 และ 4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25, 22, 29 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 3 และ 5 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 39 และ40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ มีปริมาณ (ภาพที่ 1ค) ปริมาณโพแทสเซียมในดิน ดินก่อนทดลองมีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยน มีค่าระหว่าง 198-250 มิลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณลดลงคงที่ ในกรรมวิธีที่ 1 2 และ 4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 210, 210, 215 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 3 และ 5 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 250 และ264 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากไถกลบต้นถั่วเขียว และต้นข้าวโพดฝักอ่อน กรรมวิธีที่ 3 และ 5 และจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากไถกลบต้นข้าวโพดฝักอ่อนในปริมาณมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆและผลตกค้างจากปุ๋ยหมักที่ใส่ในปีที่ผ่านมา (ภาพที่ 1ง)

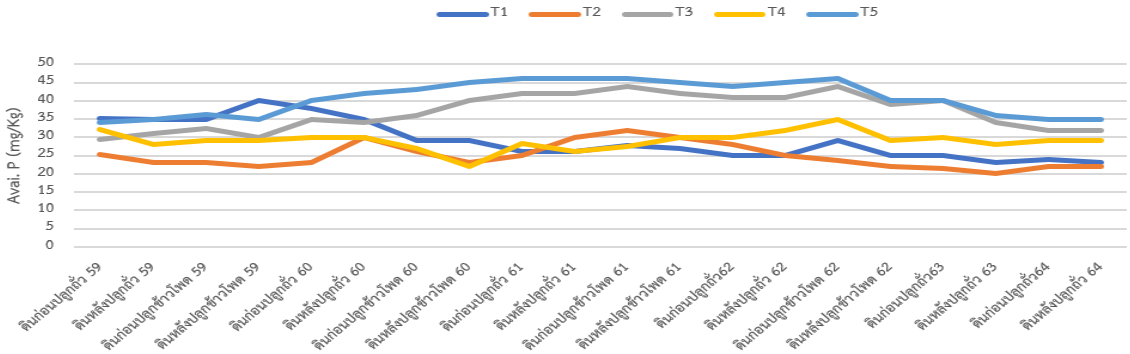
ก



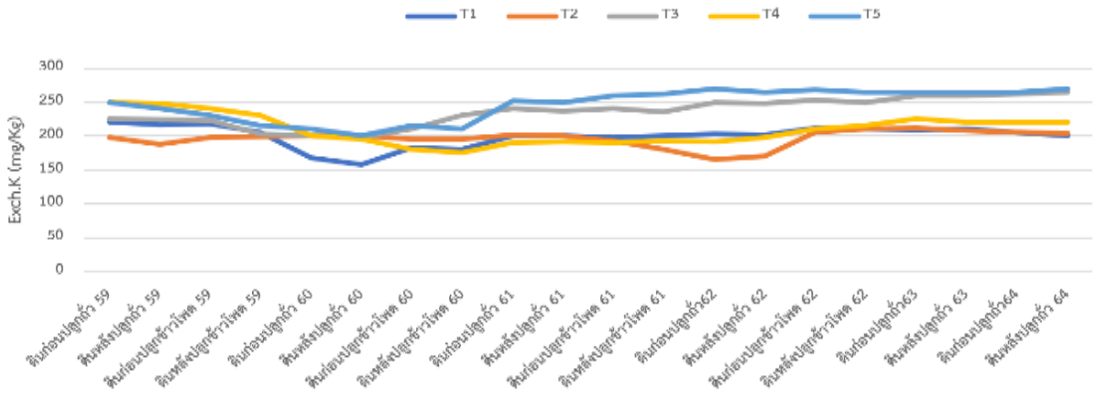
ข



ค



ง



ภาพที่ 1 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสมบัติดิน และธาตุอาหารในดินก่อนและหลังเก็บผลผลิตถั่วเขียวและข้าวโพดฝักอ่อน ปี 2559-2564

ถั่วเขียว

1) น้ำหนักต้นสดและต้นแห้งของต้นถั่วเขียว ปี 2559-2560 ให้ผลเป็นในทำนองเดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 1,910,1,550, 2,154, 2,248, 2,103 และ 1,859กิโลกรัมต่อไร่ เฉลี่ย 5 ปี มีค่าเท่ากับ 1,544 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และ ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 573, 543, 1,293, 811, 772 และ 596 กิโลกรัมต่อไร่ เฉลี่ย 5 ปีมีค่าเท่ากับ 590 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 4) ตามลำดับ

2) ผลผลิตถั่วเขียว ปี 2559 พบว่า กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ให้ผลผลิตถั่วเขียวเฉลี่ย 147 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5) ผลผลิตถั่วเขียว ปี 2560-2564 ให้ผลในทางเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) มีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 140, 135, 190, 160 และ 130 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตถั่วเขียวเฉลี่ย 5 ปี เท่ากับ 120 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 3 น้ำหนักสดต้นถั่วเขียว ระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2564 (ระยะเก็บเกี่ยว)

กรรมวิธี	น้ำหนักสดต้นถั่วเขียว (กิโลกรัมต่อไร่)						
	2559	2560	2561	2562	2563	2564	เฉลี่ย 5 ปี
T1	-	-	-	-	-	-	-
T2	820c	1,087c	896b	1,054c	1,094c	1,057c	1,001c
T3	1,540b	1,200b	2,170a	1,970b	1,533b	1,650a	1,677b
T4	1,433b	1,520a	1,578a	1,821b	1,372b	1,438b	1,527b
T5	1,910a	1,550a	2,154a	2,248a	2,103a	1,859a	1,971a
F-test	*	*	*	*	*	*	*
เฉลี่ย	1,426	1,339	1,700	1,773	1,526	1,501	1,544
CV (%)	15.2	15.3	23.3	24.5	24.3	11.9	12.7

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 4 น้ำหนักแห้งต้นถั่วเขียว ระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2564 (ระยะเก็บเกี่ยว)

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้งต้นถั่วเขียว (กิโลกรัมต่อไร่)						
	2559	2560	2561	2562	2563	2564	เฉลี่ย 5 ปี
T1	-	-	-	-	-	-	-
T2	246c	380c	538c	352b	376b	300c	365c
T3	462b	420b	1,302a	714ab	653a	495b	674ab
T4	430b	532a	947b	533ab	470ab	420b	555b
T5	573a	543a	1,293a	811a	772a	596a	765a
F-test	*	*	**	*	*	*	*
เฉลี่ย	428	469	1,020	603	568	757	590
CV (%)	16.5	15.3	23.2	17.8	24.3	11.8	19.4

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 5 ผลผลิตถั่วเขียว ความชื้น 12% ในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2564 (ระยะเก็บเกี่ยว)

กรรมวิธี	ผลผลิตถั่วเขียว (กิโลกรัมต่อไร่)						
	2559	2560	2561	2562	2563	2564	เฉลี่ย 5 ปี
T1	-	-	-	-	-	-	-
T2	33c	56	100	131	113	100	89
T3	104b	105	115	125	153	120	120
T4	94b	100	128	152	144	120	123
T5	147a	140	135	190	160	130	150
F-test	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
เฉลี่ย	95	100	119	149	143	118	120
CV (%)	24.8	20.2	20.4	20.8	20.2	16.4	13.3

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3) ผลของการดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่างๆของถั่วเขียว

ผลการทดลอง ปี 2559-2564 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมของถั่วเขียว มีปริมาณการดูดชาตุอาหารในส่วนของ ต้น+ใบ >เมล็ด > เปลือกฝัก (ตารางที่ 6 และ 7) พบว่า ไนโตรเจน การดูดใช้ธาตุไนโตรเจนในเมล็ด และ ต้น+ใบ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ให้ผลในทิศทางเดียวกัน โดยกรรมวิธีที่ 5 ในเมล็ดมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5.81 4.95 4.81 6.83 6.75 และ 4.82 กิโลกรัมต่อไร่ และในต้น+ใบ มีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 6.73 5.11 10.11 12.75 7.24 และ 9.29 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส การดูดใช้ฟอสฟอรัสในต้น+ใบ และเมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ 5 มีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.89 0.72 1.00 1.69 0.74 และ1.03 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ และเมล็ดมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.72 0.24 0.28 0.86 0.39 และ 0.60 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนการดูดใช้ฟอสฟอรัสในเปลือกฝัก ปี 2561-2564 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.03 0.06 0.04 และ 0.05 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ โพแทสเซียม การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมใน ต้น+ใบ เปลือกฝัก และเมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ 5 มีค่าเฉลี่ยสูงสุดการดูดใช้ไนโตรเจนในต้น+ใบ เท่ากับ 5.74 7.47 11.34 16.58 8.30 และ 12.43 กิโลกรัมต่อไร่ การดูดใช้โพแทสเซียมในเปลือกฝัก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.95 4.09 0.70 0.84 1.02 และ 0.69 กิโลกรัมต่อไร่ และการดูดใช้โพแทสเซียมในเมล็ด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.93 6.31 1.26 2.38 1.83 และ 2.62 กิโลกรัมต่อไร่ ในส่วนของเมล็ด ปี 2563 การดูดใช้โพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.99 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่

4) การสูญหายธาตุอาหารในดินหลังเก็บผลผลิตถั่วเขียว

การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในถั่วเขียวทั้งหมด (เมล็ด ต้น+ใบ และ เปลือกฝัก) ถ้าไม่มีการไถกลบเศษซากต้นถั่วเขียวธาตุอาหารในพื้นที่สูญหายติดออกไปทั้งหมดจะไม่ได้ใส่คืนกลับแปลง ในส่วนของเมล็ด แต่ในส่วนของ ต้น+ใบ และเปลือกถั่วเขียว ในแต่ละฤดูกาลปลูกมีการไถกลบเศษซากต้นถั่วเขียว กลับสู่พื้นที่ ทำให้พื้นที่จะเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากการทดลองการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมดในถั่วเขียว (เมล็ด+ต้นและใบ+เปลือกฝัก) ในกลุ่มดินเหนียว ปี 2559-2564 (ตารางที่ 6 และ 7) พบว่า มีการสูญเสียธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ทั้งหมด (เมล็ด+ต้น+ใบและเปลือกฝัก) เปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมีเท่ากับ (7.50-15.80)-(1.56-3.82)-(6.40-14.58) กิโลกรัม N-P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ แต่เมื่อมีการไถกลบเศษซาก ต้น+ใบ ในพื้นที่สามารถเพิ่มปริมาณธาตุอาหาร เท่ากับ (4.29-9.97)-(0.98-2.32)-(2.83-11.78) กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ และลดการสูญหายธาตุอาหาร เท่ากับ (4.21-6.80)-(0.51-1.76)-(2.08-7.11) กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่

ตารางที่ 6 การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียวอินทรีย์ ในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2564

การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2559												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	1.15c	1.50c	0.20b	2.85	0.17c	0.31b	0.03b	0.51	0.38c	1.13c	0.14c	0.55
T3	4.01b	3.61b	0.63a	8.24	0.50b	0.38b	0.07a	0.95	1.28b	3.37b	0.73b	1.79
T4	3.56b	5.31ab	0.40a	9.27	0.45b	0.73a	0.06b	1.24	1.10b	3.97b	0.62b	1.89
T5	5.81a	6.73a	0.63a	13.17	0.72a	0.89a	0.09a	1.70	1.93a	5.74a	0.95a	2.87
เฉลี่ย	3.63	4.29	0.58	8.50	0.46	0.58	0.06	1.10	1.17	3.55	0.61	1.78
F-test	**	*	*		**	*	*		**	*	*	
CV	9.2	17.2	19.6		7.7	13.8	15.8		12.0	15.0	15.8	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2560												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	1.39d	1.28d	0.38c	3.05	0.06d	0.21c	0.03b	0.30	1.24c	1.81c	0.23c	3.28
T3	4.35a	2.40c	1.06ab	7.81	0.17b	0.36bc	0.08b	0.61	4.03b	3.94b	2.27b	10.23
T4	3.18b	2.55b	0.99b	6.72	0.15c	0.53b	0.07b	0.75	3.69b	5.73b	1.93b	11.35
T5	4.95a	5.11a	1.53a	11.59	0.24a	0.72a	0.11a	1.07	6.31a	7.47a	4.09a	17.87
เฉลี่ย	3.47	3.09	0.99	7.5	0.16	0.46	0.07	0.69	3.82	4.74	2.13	10.68
F-test	**	**	**		**	**	*		**	**	**	
CV	8.4	12.5	20.0		7.6	15.1	13.8		11.4	16.7	11.6	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2561												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	3.19c	3.27b	0.22	6.68	0.21c	0.34c	0.02	0.57	0.99b	4.53b	0.53b	6.04
T3	4.16b	9.82a	0.30	14.28	0.25b	0.87b	0.03	1.15	1.00b	11.33a	0.60ab	12.93
T4	4.52ab	7.15a	0.27	11.94	0.25b	0.61bc	0.02	0.88	1.22a	8.10ab	0.65a	9.97
T5	4.81a	10.11a	0.30	15.22	0.28a	1.00a	0.03	1.31	1.26a	11.34a	0.70a	13.30
เฉลี่ย	4.17	7.58	0.27	12.02	0.25	0.71	0.03	0.99	1.12	8.83	0.62	10.56
F-test	**	**	ns		**	**	ns		*	*	*	
CV	7.9	18.1	17.5		6.6	15.6	17.2		11.9	20.3	10.8	

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางที่ 7 การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียวอินทรีย์ปลูกระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2562-2564

การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2562												
กรรม	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
วิธี	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	4.12c	3.03c	0.41	7.56	0.62	0.40c	0.06	1.08	1.61b	3.78c	0.58bc	5.96
T3	4.33c	6.35bc	0.41	11.09	0.44	0.82b	0.06	1.32	0.88c	7.45bc	0.55c	8.88
T4	5.51b	9.77ab	1.14	16.42	0.66	1.10b	0.05	1.81	1.80ab	11.47ab	0.68b	13.95
T5	6.83a	12.75a	0.57	20.15	0.86	1.69a	0.06	2.61	2.38a	16.58a	0.84a	19.80
เฉลี่ย	5.20	9.97	0.63	15.8	0.65	1.00	0.06	1.71	1.66	9.82	0.66	12.15
F-test	**	**	ns		ns	**	ns		**	**	**	
CV	7.4	18.8	10.3		14.0	14.2	13.6		15.1	13.3	10.3	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2563												
กรรม	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
วิธี	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	5.61c	1.66b	0.38	7.64	0.37	0.18b	0.03	0.58	1.58	2.62b	0.91	5.10
T3	6.33ab	5.22a	0.46	12.01	0.36	0.48ab	0.05	0.89	1.53	6.49ab	0.91	8.93
T4	6.75a	3.80ab	0.41	10.06	0.38	0.32b	0.03	0.73	1.85	4.88ab	0.14	6.88
T5	6.85a	7.24a	0.43	15.42	0.39	0.74a	0.04	1.17	1.83	8.30a	1.02	11.15
เฉลี่ย	6.38	4.48	0.42	11.28	0.38	0.43	0.04	0.85	1.70	5.57	0.74	8.01
F-test	*	*	ns		ns	*	ns		ns	*	ns	
CV	7.7	16.0	17.8		3.6	15.4	17.5		11.7	11.9	11.2	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2564												
กรรม	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
วิธี	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	3.47c	1.97c	0.33	5.77	0.41c	0.18c	0.04	0.63	1.53b	2.75c	0.43	4.71
T3	4.22b	6.03b	0.56	10.81	0.52b	0.70b	0.06	1.28	1.41b	8.71b	0.53	10.65
T4	4.32b	5.99b	0.52	10.83	0.49b	0.56b	0.05	1.10	1.78ab	8.64b	0.43	10.86
T5	4.82a	9.29a	0.58	14.11	0.60a	1.03a	0.06	1.69	1.99a	12.43a	0.69	15.12
เฉลี่ย	4.21	5.82	0.49	10.52	0.51	0.62	0.05	1.18	1.68	8.13	0.52	10.33
F-test	**	**	ns		**	**	ns		*	**	ns	
CV	6.8	13.6	17.0		6.0	14.7	17.4		14.5	12.6	19.4	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียวเฉลี่ย 5 ปี												
กรรม	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
วิธี	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	3.16c	2.20c	0.32b	5.68	0.31b	0.27c	0.03b	0.61	1.23b	2.77c	0.47b	4.46
T3	4.57b	5.57b	0.57ab	10.71	0.38b	0.60b	0.06a	1.04	1.69ab	6.88b	0.93ab	9.51
T4	4.65b	5.76b	0.62a	11.03	0.40b	0.64b	0.05b	1.09	1.91ab	7.13b	0.74ab	9.78
T5	5.68a	8.54a	0.67a	14.89	0.52a	1.01a	0.08a	1.61	2.62a	10.31a	1.38a	14.31
เฉลี่ย	4.58	5.52	0.55	10.58	0.40	0.63	0.06	1.09	1.86	6.77	0.88	9.51
F-test	**	*	ns		*	**	*		ns	**	ns	
CV	15.3	13.2	21.3		14.4	15.9	18.3		23.0	25.3	20.8	

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ข้าวโพดฝักอ่อน

1) น้ำหนักสด (ต้น+ใบ) ปี 2559 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้น้ำหนักสดสูงสุดและกับกรรมวิธีอื่นๆ

กรรมวิธีที่ 5 ให้น้ำหนักสดสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 2,632 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 8) ปี 2560 พบว่า น้ำหนักสด (ต้น+ใบ) กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้น้ำหนักสดสูงสุดและมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 2,276 กิโลกรัมต่อ (ตารางที่ 8) ปี 2561 พบว่า น้ำหนักสด (ต้น+ใบ) กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้น้ำหนักสดสูงสุดและมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 2,772 กิโลกรัมต่อไร่ ปี 2562 พบว่า น้ำหนักสด (ต้น+ใบ) กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้น้ำหนักสดสูงสุดและมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 2,824 กิโลกรัมต่อไร่

2) ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน (ฝักสดทั้งเปลือก) ปี 2559-2562 พบว่า กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้ผลผลิตสูงสุด โดยผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน (ฝักสดทั้งเปลือก) เฉลี่ยเท่ากับ 1,230, 1,470, 1,572 และ 1,608 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิต (ฝักสดทั้งเปลือก) เฉลี่ย 4 ปี มีค่าเท่ากับ 1,015 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 9)

3) ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน (ฝักสดปอกเปลือก) ปี 2559-2562 พบว่า กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้ผลผลิตสูงสุด โดยผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน (ฝักสดปอกเปลือก) เฉลี่ยเท่ากับ 162, 177, 180 และ 185 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิต (ฝักสดปอกเปลือก) เฉลี่ย 4 ปี มีค่าเท่ากับ 128 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 8 น้ำหนักสดต้นและใบข้าวโพดฝักอ่อน ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2562

กรรมวิธี			น้ำหนักสดต้นและใบข้าวโพดฝักอ่อน (กิโลกรัมต่อไร่)				
ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	2559	2560	2561	2562	เฉลี่ย 4 ปี
T1	ไม่ปลูกถั่วเขียว	ข้าวโพดฝักอ่อน (ไม่ใส่ปุ๋ย)	1,280d	1,276c	1,276c	1,992c	1,493d
T2	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน (ไม่ใส่ปุ๋ย)	1,680c	1,324c	1,324c	1,784c	1,612d
T3	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน + ปุ๋ยหมัก	2,052b	2,240a	2,240a	2,708a	2,362b
T4	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน+ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน	1,736c	1,996b	1,996b	2,424b	2,067c
T5	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน+ปุ๋ยหมัก + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน	2,632a	2,276a	2,276a	2,824a	2,626a
		F-test	*	**	**	*	**
		เฉลี่ย	1,876	1,822	1,822	2,346	2,032
		CV (%)	11.2	7.6	7.6	14.5	7.5

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางที่ 9 ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกของข้าวโพดฝักอ่อน ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2562

กรรมวิธี			ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือก (กิโลกรัมต่อไร่)				
ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	2559	2560	2561	2562	เฉลี่ย 4 ปี
T1	ไม่ปลูกถั่วเขียว	ข้าวโพดฝักอ่อน (ไม่ใส่ปุ๋ย)	372d	505c	656d	812d	586e
T2	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน (ไม่ใส่ปุ๋ย)	505c	602c	788d	1,000c	724d
T3	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน + ปุ๋ยหมัก	1,028a	1,208a	1,328b	1,584b	1,287b
T4	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน+ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน	808b	1,058b	1,070c	1,100c	1,009c
T5	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน+ปุ๋ยหมัก + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน	1,230a	1,470a	1,572a	1,608a	1,470a
		F-test	*	*	*	*	**
		เฉลี่ย	789	968	1,083	1,220	1,015
		CV (%)	13.0	15.3	15.2	16.5	6.7

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางที่ 10 ผลผลิตปอกเปลือกของข้าวโพดฝักอ่อน ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2562

กรรมวิธี			ผลผลิตปอกเปลือก (กิโลกรัมต่อไร่)				
ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	2559	2560	2561	2562	เฉลี่ย 4 ปี
T1	ไม่ปลูกถั่วเขียว	ข้าวโพดฝักอ่อน (ไม่ใส่ปุ๋ย)	57d	81c	100d	109d	94d
T2	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน (ไม่ใส่ปุ๋ย)	78c	90c	100d	112d	95d
T3	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน + ปุ๋ยหมัก	151a	155a	162a	181a	162b
T4	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน+ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน	97b	113b	120c	124b	114c
T5	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวโพดฝักอ่อน+ปุ๋ยหมัก + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน	162a	177a	180a	185a	176a
		F-test	*	*	*	*	*
		เฉลี่ย	109	123	140	142	128
		CV (%)	13.5	15.3	15.8	15.8	3.8

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

5) ผลการดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพดฝักอ่อน

ผลการทดลอง ปี 2559-2562 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมของข้าวโพดฝักอ่อน มีปริมาณการดูดธาตุอาหารในส่วนของ ต้น+ใบ > เปลือกฝัก > ฝักอ่อน (ตารางที่ 11) พบว่า ไนโตรเจน การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ให้ผลในทิศทางเดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถติอย่างมีนัยสำคัญ การดูดใช้ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 3.06-6.78 2.05-5.59 และ0.32-0.87 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัส ให้ผลในทิศทางเดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถติอย่างมีนัยสำคัญ การดูดใช้ฟอสฟอรัสอยู่ระหว่าง 1.66-2.99 0.42-1.03 และ 0.77-0.15 กิโลกรัมต่อไร่ โพแทสเซียม การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียม ให้ผลในทิศทางเดียวกัน การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมให้ผลในทิศทางเดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถติอย่างมีนัยสำคัญ การดูดใช้โพแทสเซียมอยู่ระหว่าง 7.73-12.72 1.89-4.78 และ 0.26-0.61 กิโลกรัมต่อไร่

6) การสูญหายธาตุอาหารในดินหลังเก็บผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน

การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในข้าวโพดฝักอ่อนทั้งหมด (เปลือกฝัก ฝักอ่อน และ ต้น+ใบ) ถ้าไม่มีการไถกลบเศษซากต้นข้าวโพดฝักอ่อน ธาตุอาหารในพื้นที่สูญหายติดไปกับผลผลิตออกไปทั้งหมดจะไม่ได้ใส่คืนกลับแปลงในส่วนของฝักอ่อน และเปลือกฝัก แต่ในส่วนของ ต้น+ใบ ในแต่ละฤดูกาลปลูกมีการไถกลบเศษซากต้นข้าวโพดฝักอ่อนกลับสู่พื้นที่ ทำให้พื้นที่จะเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากการทดลองการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมดในข้าวโพดฝักอ่อน (เปลือกฝัก ฝักอ่อน และ ต้น+ใบ) ในกลุ่มดินเหนียว ปี 2559-2562 (ตารางที่ 11) พบว่า มีการสูญเสียธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ทั้งหมด (เปลือกฝัก ฝักอ่อน และ ต้น+ใบ) เปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมีเท่ากับ (6.65-10.75)-(4.01-7.07)-(12.30-20.22) กิโลกรัม N-P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ แต่เมื่อมีการไถกลบเศษซากต้น+ใบ ในพื้นที่สามารถเพิ่มปริมาณธาตุอาหาร เท่ากับ (3.59-5.50)-(2.39-4.76)-(8.77-14.65) กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ และลดการสูญหายธาตุอาหาร เท่ากับ (3.91-5.25)-(1.62-2.31)-(3.53-5.57) กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่

ตารางที่ 11 การดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่างๆของข้าวโพดฝักอ่อนในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว (กิโลกรัม/ไร่) ปี 2559-2564

กรรมวิธี	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าวโพดฝักอ่อน ปี2559											
	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม
T1	1.57d	0.23d	3.15c	4.95	0.27c	0.04c	0.76d	1.07	1.12d	0.18d	5.08c	6.38
T2	2.06bc	0.32bc	5.22b	7.60	0.40c	0.06c	1.14c	1.60	1.74c	0.23c	7.34ab	9.32
T3	4.77b	0.67b	5.24b	10.68	0.79a	0.12a	1.03b	1.94	3.40b	0.45b	7.58a	11.43
T4	3.37c	0.46c	3.90c	7.73	0.69b	0.08b	1.05c	1.82	2.72c	0.35bc	6.23b	9.29
T5	5.19a	0.92a	8.69a	14.80	0.94a	0.13a	1.24a	2.31	3.99a	0.50a	10.33a	14.82
เฉลี่ย	3.39	0.52	5.24	9.15	0.62	0.09	0.83	1.75	2.59	0.34	7.31	10.25
F-test	**	**	*		**	**	ns		**	**	**	
CV	15.6	18.8	18.2		4.1	14.6	13.3		7.3	14.6	13.3	
	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าวโพดฝักอ่อน ปี2560											
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม
T1	2.13c	0.31c	3.31c	5.75	0.37c	0.06c	1.17c	1.60	1.51d	0.23d	8.22c	9.96
T2	2.45bc	0.38c	2.84d	5.67	0.48c	0.07c	0.99c	1.54	2.08c	0.28c	7.13c	9.48
T3	5.60a	0.78ab	5.92a	12.30	0.93a	0.14a	2.22a	3.29	4.00a	0.53a	14.15b	18.68
T4	4.41b	0.61b	4.46ab	9.48	0.90b	0.11b	1.98b	2.99	3.57b	0.45b	12.42b	16.43
T5	6.22a	1.10a	5.67a	12.99	1.12a	0.15a	2.24a	3.51	4.77a	0.60a	15.63a	20.99
เฉลี่ย	4.16	0.64	4.44	9.24	0.75	0.11	1.72	2.58	3.18	0.42	11.51	15.11
F-test	**	**	*		**	**	*		**	**	**	
cv	15.2	16.7	15.8		7.6	9.8	18.8		15.4	18.5	12.3	
	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าวโพดฝักอ่อน ปี 2561											
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม
T1	1.40c	0.30c	2.10c	3.80	0.41d	0.06c	0.87c	1.34	2.35d	0.26c	6.32d	8.93
T2	2.23b	0.39bc	3.03b	5.65	0.54c	0.07c	0.91c	1.52	2.87c	0.28c	7.27c	10.41
T3	3.08a	0.64a	4.73a	8.45	0.85b	0.12a	1.63ab	2.60	4.61a	0.52b	10.85a	15.98
T4	2.34b	0.52b	3.11b	5.97	0.95a	0.10b	1.29b	2.34	3.57b	0.44ab	9.61b	13.62
T5	3.63a	0.75a	4.98a	9.36	0.95a	0.14a	1.90a	2.99	4.99a	0.72a	11.81a	17.52
เฉลี่ย	2.54	0.52	3.59	6.65	0.74	0.10	1.32	2.16	3.68	0.44	9.17	13.29
F-test	**	**	*		**	**	**		**	**	**	
CV	13.7	11.4	19.5		7.9	11.5	15.1		10.4	10.4	11.8	
	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าวโพดฝักอ่อน ปี 2562											
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม
T1	3.10c	0.44d	3.68c	7.22	0.62c	0.10c	1.98c	2.70	2.58c	0.38c	11.27c	14.23
T2	3.47c	0.55cd	3.96c	7.96	0.72c	0.11c	1.98c	2.79	3.67b	0.50b	11.27c	15.45
T3	4.68b	0.69a	7.09a	12.46	1.03b	0.16a	1.96b	3.26	5.28a	0.65a	13.18a	19.11
T4	4.48b	0.57b	5.24b	10.29	0.90ab	0.13b	2.07b	3.02	3.64b	0.53b	12.34b	16.51
T5	7.32a	0.71a	7.77a	15.80	1.11a	0.16a	1.998a	3.66	5.33a	0.63a	13.14a	19.09

เฉลี่ย	4.61	0.59	5.55	10.75	0.88	0.13	2.39		4.10	0.54	12.24	16.88
F-test	**	**	**	**	**	**	**		**		**	
cv	17.7	19.9	13.5	15.7	20.9	12.7	15.1		12.0		19.9	

กรรมวิธี	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าวโพดฝักอ่อน เฉลี่ย 4 ปี											
	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม	เปลือกฝัก	ฝักอ่อน	ต้น+ใบ	รวม
T1	2.05c	0.32d	3.06c	5.43	0.42d	0.07c	1.66c	2.15	1.89e	0.26d	7.73d	9.88
T2	2.55c	0.41cd	3.76b	6.72	0.54c	0.08c	1.93bc	2.55	2.59d	0.33c	8.26ab	11.18
T3	4.53b	0.70b	5.75a	10.98	0.90b	0.14a	2.47ab	3.51	4.33b	0.53a	11.44cd	16.30
T4	3.65b	0.54bc	4.18b	8.37	0.86b	0.10b	2.13bc	3.09	3.38c	0.44b	10.15bc	13.97
T5	5.59a	0.87a	6.78a	13.24	1.03a	0.15a	2.99a	4.17	4.78a	0.61a	12.72a	18.11
เฉลี่ย	3.68	0.57	4.70	8.95	0.75	0.11	2.24	3.10	3.39	0.43	10.06	13.89
F-test	**	**	**		**	**	*		**	**	**	
cv	16.3	17.8	17.4		9.2	7.3	19.9		7.9	11.4	14.2	

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

สารพิษตกค้างในดินจากการปลูกถั่วเขียวฤดูแล้งสลับการปลูกข้าวโพดฝักอ่อนฤดูฝนในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว

ผลวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในกลุ่ม Organophosphorus, Organochlorines, Pyrethroids, และ Triazines ดินหลังการปลูกถั่วเขียวและข้าวโพดฝักอ่อนตลอด 4 ปี ตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้างดังกล่าวในแปลงทดลอง

ปริมาณจุลินทรีย์ไรโซเบียม และ PGPR-1 ดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อน

ก่อนเริ่มทำการทดลองได้สุ่มเก็บตัวอย่างดิน เพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์ไรโซเบียมที่เกิดปมกับถั่ว ก่อนทำการทดลอง ถึงสิ้นสุดการทลอง ทุกกรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวมีการคลุกเชื้อไรไซเบียมกับเมล็ดถั่วก่อนปลูก (อัตราการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม เมล็ดถั่วเขียว 3-5 กิโลกรัมต่อปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม 200 กรัม) พบว่า ปี ก่อนการทดลอง-2563 กรรมวิธีที่ไม่ปลูกพืชในฤดูแล้งปลูกข้าวโพดฝักอ่อนในฤดูฝน (T1) ไม่พบเชื้อไรโซเบียม ส่วนกรรมวิธีที่อื่นๆ พบเชื้อไรโซเบียม เก็บดินหลังจากเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อนแล้ว เชื้อจุลินทรีย์ไรโซเบียมก็ยังเหลือสะสมอยู่ในพื้นที่

ปริมาณจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** และ ***Azotobacter* spp.** ในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อน พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** และ ***Azotobacter* spp.** ระยะเวลา 3 ปี กรรมวิธีที่ไม่ปลูกพืชในฤดูแล้งปลูกข้าวโพดฝักอ่อนในฤดูฝน(T1) และ กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งปลูกข้าวโพดฝักอ่อนในฤดูฝน (T2) ไม่พบจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ส่วนกรรมวิธีๆ พบ ***Azospirillum* spp.** ไม่พบ ***Azotobacter* spp**. หลังจากเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อน ตลอดระยะเวลา 3 ปี ยังพบจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** เหลือสะสมอยู่ในพื้นที่แต่ในปริมาณที่น้อยลงเมื่อเทียบกับปริมาณที่คลุกกับเมล็ดตอนปลูก เพราะฉะนั้นควรใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน ทุกปี เพื่อเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ช่วยในการปลดปล่อยธาตุอาหารในดินให้กับพืช และเพิ่มผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน

ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์

ผลวิเคราะห์การตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ ได้จากมูลค่าผลผลิตเพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อต้นทุนจากการใช้ปุ๋ยที่เพิ่มขึ้น หรือค่า Value to Cost Ratio (VCR) ดังแสดงในตารางที่ 12 พบว่าปี 2559-2562 ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ทั้ง 4 ปี มีผลไปในทิศทางเดียวกัน คือ กรรมวิธีที่ 3, 4 และ 5 ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ ให้ค่า VCR มากกว่า 2 คุ้มทุนต่อการลงทุน กรรมวิธีที่ 4 ให้ค่า VCR สูงสุด เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ 3 กับ กรรมวิธีที่ 5 แต่กรรมวิธีที่ 5 ให้ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกสูงสุด เฉลี่ยเท่ากับ 1,230 1,470 1,572 และ 1,608 กิโลกรัมต่อไร่ และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 150 % เทียบกับกรรมวิธีที่ 1

ตารางที่ 12 ผลตอบแทนและข้อมูลทางด้านเศรษฐศาสตร์ของการผลิตข้าวโพดฝักอ่อนระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ปี 2559-2564

กรรมวิธี	ผลผลิต กก./ไร่	ผลผลิตเพิ่ม กก./ไร่	รายได้ผลผลิตเพิ่ม บาท/ไร่	มูลค่าปุ๋ยที่ใช้ บาทต่อไร่	VCR	ผลผลิต กก./ไร่	ผลผลิตเพิ่ม กก./ไร่	รายได้ผลผลิตเพิ่ม บาท/ไร่	มูลค่าปุ๋ยที่ใช้ บาท/ไร่	VCR
	ปี 2559					ปี 2560				
T1	372	-	-	-	-	505	-	-	-	-
T2	505	133	1,330	-	-	6.2	100	1,000	-	-
T3	1,028	656	6,560	3,000	2.19	1,208	703	7,030	3,000	2.34
T4	808	436	4,360	60	72.67	1,058	553	5,530	60	92.17
T5	1,230	858	8,580	3,060	2.80	1,470	965	9,650	3,060	3.15
กรรมวิธี	**ผลผลิต กก./ไร่**	**ผลผลิตเพิ่ม กก./ไร่**	**รายได้ผลผลิตเพิ่ม บาท/ไร่**	**มูลค่าปุ๋ยที่ใช้ บาทต่อไร่**	**VCR**	**ผลผลิต กก./ไร่**	**ผลผลิตเพิ่ม กก./ไร่**	**รายได้ผลผลิตเพิ่ม บาท/ไร่**	**มูลค่าปุ๋ยที่ใช้ บาท/ไร่**	**VCR**
	ปี 2561					ปี 2562				
T1	656	-	-	-	-	812	-	-	-	-
T2	788	132	1,320	-	-	1,000	188	1,880	-	-
T3	1,328	672	6,720	3,000	2.24	1,584	772	7,720	3,000	2.57
T4	1,070	414	4,140	60	69.0	1,100	288	2,880	60	48.0
T5	1,572	916	9,160	3,060	2.99	1,608	796	7,960	3,060	2.60

หมายเหตุ ราคาปุ๋ยหมัก กิโลกรัมละ 2.5 บาท ราคาปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน ถุงละ 60 บาท
ราคาข้าวโพดฝักอ่อน กิโลกรัมละ 10 บาท VCR= รายได้ผลผลิตที่เพิ่ม / รายจ่ายปุ๋ยที่ใช้

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1) การผลิตข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์อินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว: ชุดดินเสนา จังหวัดนครปฐม ระยะเวลา 4 ปี กรรรมวิธีที่ 5 ให้ผลผลิตสูงสุดและให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจสูงสุด (VCR =2.89) ผลผลิตฝักทั้งเปลือก เฉลี่ย 1,470 กิโลกรัม/ไร่ ได้แก่ ฤดูฝนปลูกข้าวโพดฝักอ่อนร่วมกับปุ๋ยหมัก อัตรา 1,200 กิโลกรัมต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน 500 กรัมต่อไร่ และในฤดูแล้งปลูกถั่วเขียวร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ให้ผลผลิตมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 1,470 กิโลกรัมต่อไร่และผลผลิตถั่วเขียวเฉลี่ยเท่ากับ 150 กิโลกรัมต่อไร่ และการใช้ปุ๋ยหมักร่วมกับปุ๋ยพีจีพีอาร์ วัน สามารถเพิ่มผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน (ฝักสดทั้งเปลือก) ได้ 10% เทียบกับการใช้ปุ๋ยพีจีพีอาร์ วันอย่างเดียว

2) การปลูกข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ ฤดูฝนปลูกข้าวโพดฝักอ่อน และในฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว หลังจากเก็บเกี่ยวถั่วเขียวและข้าวโพดมีการไถกลบต้นถั่วเขียวและต้นข้าวโพดฝักอ่อนต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 6 ปี ทำให้ได้ธาตุอาหารพืชกลับสู่ระบบเฉลี่ยเท่ากับ 5.87-1.45-8.13 และ 4.71-3.53-12.06 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และ ทำให้ปริมาณอินทรียวัตถุในกรรมวิธีที่ 3 และ 5 มีปริมาณเพิ่มขึ้นส่วนกรรมวิธีอื่นๆมีแนวโน้มคงที่ เป็นผลมาจากการไถกลบต้นถั่วเขียวและต้นข้าวโพดฝักอ่อนและเป็นกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยหมักซึ่งยังตกค้างอยู่ในแปลง ส่วนปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียมจะเพิ่มขึ้นในปีที่ 3

3) การปลูกข้าวโพดฝักอ่อนอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว: ชุดดินเสนา ลักษณะเนื้อดินเป็นดินเหนียวจัด ควรมีการไถกลบต้นถั่วเขียวและต้นข้าวโพดฝักอ่อนให้ลึก 30 เซนติเมตร และควรใส่ปุ๋ยหมักเพื่อเป็นการปรับปรุงดินให้ร่วนซุยและเป็นแหล่งของธาตุอาหารพืช จากกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยหมักจะเห็นว่าดินมีความร่วนซุยขึ้นมากกว่าแปลงที่ไม่ได้ปุ๋ยหมัก

4) ควรปรับปรุงดิน โดยหว่านปูนขาวอัตรา 100 กิโลกรัมต่อไร่ ปีละ 1 ครั้ง เพื่อปรับความเป็นกรดด่างให้เหมาะสมกับการปลูกข้าวโพดฝักอ่อน และปรับปรุงโครงสร้างดิน ทำให้อนุภาคดินจับตัวกันเป็นเม็ดดิน โครงสร้างดินดีขึ้น ดินร่วนซุย ระบายน้ำและอากาศ และจุลินทรีย์ทำงานได้ดีขึ้น

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำข้อมูลรูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวโพดอินทรีย์ในระบบเกษตรอินทรีย์ ปรับใช้ในการผลิตข้าวโพดฝักอ่อนแก่เกษตรกรพื้นที่อินทรีย์ของเกษตรกรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการเกษตรลำดับที่ 001/2553. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 112 หน้า.

Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils, Soil Science 59: 39–45.

Land Classification Division and FAO Project Staff, 1973. Soil interpretation handbook for Thailand. Dept. of Land Development, Min. of Agri. and Cooperative, Bangkok. 135p.

Peech, M. 1965. Hydrogen-ion activity in Methods of Soil Analysis Part 2; C.A. Black, ed. pp. 914–926. Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. In: Methods of Soil Analysis. (AL Page *et al*, eds) Agronomy. 9: 154-157 (Madison).

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science.37: 29–38.

ศึกษารูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว
Study on Soil Managements for Rice Production in Clay Soil under Organic Cropping System

รมิดา ขันตรีกรม[1] *เพทาย กาญจนเกสร[2]* *นางสาวสรัตนา เสนาะ[1]* *กัลยกร โปร่งจันทึก[1]*
ผกาสินี คล้ายมาลา[3] *สุรเชษฐ์ นาราภัทร์[4]*

Ramida Kantrikrom[1] *Patai kanjanakason[2]* *Sarattana Sanoh[1]* *Kunlaykorn Prongjunthuek[1]*
Pakasinee Klaymala[3] *Surachet Nanabhat[4]*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Study of soil management model for rice production in organic system in Bang Pa-in soil series at farmer plot, Nakhon Pathom province. The objectives was to obtain an effective soil management model for rice production in organic systems 2016-2021, Experimental was laid out in randomized complete block (RCB) with five treatment and 4 replication, Contains with 1) Planted rice without fertilizer in rainy season, no planted mung bean in the dry season 2) Planted rice without fertilizer in rainy season, and planted mung bean in dry season 3) Planted rice with compost in rainy season, and planted mung bean in the dry season 4) Planted rice with PGPR 2 biofertilizer in rainy season , and planted mung bean in the dry season 5) Planted rice with compost and PGPR 2 biofertilizer in rainy season, and planted mung bean in dry season The compost application rate was comparable to the nutrient content of the compost with the recommendations for fertilizer application based on the rice soil analysis. Application of rhizobium biofertilizer and PGPR 2 biofertilizers by mixing seeds before planting. And every treatment of planted mung bean uses rhizobium biofertilize. The stalks of rice and stalks mung bean plants were plowed after harvesting. The results showed that the fifth treatment in the rainy season was planting rice with compost at the rate of 750 kg/rai. by dry weight combined with PGPR 2 biofertilizer and in the dry season, planted mung bean with rhizobium biofertilizer. They tended to have the highest average yield of rice and mung bean at 379 kg/rai and average mung bean yield of 125 kg/rai. The rain season planted rice and planted mung bean in the dry season in continuous organic system moreover, the amount of organic matter and potassium content was increased after harvesting on stalks rice and stalks mung bean carcasses.

Keyword : Organic soil management Organic rice

1 กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
1 Soil Science Research Group, Agricultural Production Science and Development Division
2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม
2 Nakhon Pathom Agricultural Research and Development Center
3 กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
3 Agricutural Toxic Substances Research Group, Agricultural Production Science and Development Division
4 กรมพัฒนาที่ดิน
4 Land Development Department

บทคัดย่อ

ศึกษารูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวในระบบอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว : ชุดดินบางปะอิน ณ แปลงเกษตรกร จังหวัดนครปฐม วัตถุประสงค์เพื่อได้รูปแบบการจัดการดินเพื่อผลิตข้าวให้มีประสิทธิภาพในระบบอินทรีย์ ปี 2559-2564 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 1) ฤดูฝนปลูกข้าวปทุมธานี 1 ไม่ใส่ปุ๋ยฤดูแล้งไม่ปลูกถั่วเขียว 2) ฤดูฝนปลูกข้าวปทุมธานี 1 ไม่ใส่ปุ๋ย ฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว 3) ฤดูฝนปลูกข้าวปทุมธานี 1 ใส่ปุ๋ยหมัก 4) ปลูกข้าวปทุมธานี 1 ใส่ปุ๋ยพีจีพีอาร์ ทู ฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว 5) ปลูกข้าวปทุมธานี 1 ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมด้วยปุ๋ยพีจีพีอาร์ ทู ฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว อัตราการใส่ปุ๋ยหมักเทียบเคียงปริมาณธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบในปุ๋ยหมักกับคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของข้าว การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและพีจีพีอาร์ ทู โดยการคลุกเมล็ดพืชก่อนปลูก และทุกกรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ทำการไถกลบฟางข้าวและต้นถั่วเขียวหลังการเก็บเกี่ยว ผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีที่ 5 ฤดูฝนปลูกข้าวร่วมกับใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 750 กิโลกรัมต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู และในฤดูแล้งปลูกถั่วเขียวร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีแนวโน้มให้ผลผลิตข้าวและถั่วเขียวเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 379 กิโลกรัมต่อไร่ และ ผลผลิตถั่วเขียวเฉลี่ย เท่ากับ 125 กิโลกรัมต่อไร่ การปลูกข้าวฤดูฝนและปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งในระบบอินทรีย์ต่อเนื่องและมีการไถกลบต่อซังข้าวและซากต้นถั่วเขียวหลังเก็บเกี่ยวปริมาณอินทรียวัตถุและปริมาณโพแทสเซียมเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ : เกษตรอินทรีย์ การจัดการดิน ข้าวอินทรีย์

คำนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยมีการส่งออกข้าวเป็นอันดับต้นๆของโลก พื้นที่ปลูกข้าวอินทรีย์ในประเทศ 52,181.25 ไร่ ผลผลิตข้าวอินทรีย์ประมาณ 15,000 ตัน การผลิตข้าวอินทรีย์เป็นระบบการผลิตทางการเกษตรที่เน้นเรื่องของธรรมชาติเป็นสำคัญ ได้แก่ การอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ การฟื้นฟูความอุดมสมบูรณ์ของธรรมชาติเป็นสำคัญ การรักษาสมดุลธรรมชาติและการใช้ประโยชน์จากธรรมชาติ เพื่อการผลิตอย่างยั่งยืน เช่นปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยการปลูกพืชหมุนเวียน การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในไร่นาหรือจากแหล่งอื่น ควบคุมโรคและแมลง สัตว์ศัตรูข้าวโดยวิธีผสมผสานที่ไม่ใช้สารเคมี การเลือกใช้พันธุ์ข้าวที่เหมาะสม มีความต้านทานโดยธรรมชาติ รักษาสมดุลของศัตรูธรรมชาติ การจัดการดิน พืช และน้ำ ให้ถูกต้องเหมาะสมกับความต้องการของต้นข้าว เพื่อให้ต้นข้าวเจริญเติบโตได้ดี มีความสมบูรณ์แข็งแรงตามธรรมชาติ นอกจากนี้ การประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินนาก่อนทำการปลูก ก็มีส่วนที่สามารถช่วยให้การจัดการธาตุอาหารได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ การจัดการดินในการผลิตข้าวในระบบเกษตรอินทรีย์จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ในการสร้างวงจรการหมุนเวียนธาตุอาหารให้เกิดความสมดุล และการรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินให้พอเพียงต่อพืช ซึ่งยังขาดข้อมูลการศึกษารูปแบบการจัดการดินผลิตข้าวอินทรีย์ที่มีการปลูกพืชหมุนเวียนในระบบเพื่อสร้างวงจรธาตุอาหารใส่คืนสู่ดินและเพิ่มรายได้เกษตรกรในระบบให้อย่างยั่งยืนตามหลักการผลิตพืชระบบเกษตรอินทรีย์

วิธีการดำเนินการ

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ

กรรมวิธี	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน
กรรมวิธีที่ 1	ไม่ปลูกถั่วเขียว	ข้าวปทุมธานี 1 (ไม่ใส่ปุ๋ย)
กรรมวิธีที่ 2	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 (ไม่ใส่ปุ๋ย)
กรรมวิธีที่ 3	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 + ปุ๋ยหมัก
กรรมวิธีที่ 4	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู
กรรมวิธีที่ 5	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 + ปุ๋ยหมัก + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู

1. ประเมินสถานะธาตุอาหารที่เหมาะสมของดินต่อการปลูกข้าว โดยการเก็บสุ่มตัวอย่างดินก่อนการทดลองในพื้นที่ สุ่มเก็บ 5 จุด โดยเดินเป็นเส้นทะแยงมุม เก็บที่ระดับ 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่างของดิน ค่าการนำไฟฟ้าของดิน ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ จากเกณฑ์การประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดิน เทียบคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร (2553) แปลงที่ใช้ในการทดลองมีความอุดมสมบูรณ์อยู่ในระดับปานกลาง ปริมาณธาตุอาหารหลักที่ใส่ในนาข้าวไม่ไวแสง (ข้าวปทุมธานี 1) คือ 12-3-0 N- P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่

2. เตรียมแปลงปลูกข้าว ขนาดแปลงย่อย 7.5 เมตร X 7.5 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ช่วงฤดูแล้ง ใน กรรมวิธีที่ 1 ไม่ปลูกถั่วเขียว สำหรับกรรมวิธีที่ 2 -5 ปลูกถั่วเขียวโดยคลุกเมล็ดถด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมทุกกรรมวิธีก่อนปลูก ปลูกเป็นแถว ระยะปลูกถั่วเขียว 20x50 เซนติเมตร 2 เมล็ดต่อหลุม อัตราปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม 200 กรัมต่อเมล็ดถั่วเขียว 3-5 กิโลกรัม หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิต ทำการไถกลบซากถั่วเขียวในทุกกรรมวิธี ชั่งน้ำหนักสดผลผลิต ฝักสดทั้งเปลือกและกะเทาะเปลือก เปลือกฝัก และต้นถั่วเขียว นำไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเขียว พร้อมสุ่มเก็บดินหลังทำการไถกลบซากถั่วเขียว ใน 3 สัปดาห์ เตรียมดินทำเทือกและปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในช่วงฤดูฝน โดยวิธีการปักดำระยะ 25X25 เซนติเมตร กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ไม่ใส่ปุ๋ย และใส่ปุ๋ยหมักในช่วงเตรียมดินในกรรมวิธีที่ 3 และ 5 อัตรา 750 กิโลกรัมต่อไร่ โดยใช้ปุ๋ยหมักเติมอากาศ ทำจาก มูลวัว มูลไก่แกลบ และเศษใบไม้ ในอัตรา 2:1:1 ส่วนกรรมวิธีที่ 4 และ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู อัตรา 500 กรัมต่อไร่ และวิธีการใช้ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร หลังการเก็บเกี่ยวข้าวให้ไถกลบตอซังข้าวในทุกกรรมวิธี พร้อมสุ่มเก็บดินวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในดิน ชั่งน้ำหนักผลผลิตข้าว และส่วนต่างๆ ของพืชที่ออกจากแปลงพร้อมวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารสูญเสียออกไปกับส่วนที่ออกไปจากแปลง ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในปริมาณพอเพียงกับความต้องการของข้าว ใส่ช่วงการเตรียมดินปลูก

3. ศึกษาการดูดใช้ปริมาณธาตุอาหารในการผลิตข้าวและถั่วเขียวในระบบเกษตรอินทรีย์ ความอุดมสมบูรณ์ ผลผลิต และผลตอบแทนในการผลิตข้าวอินทรีย์

การบันทึกข้อมูล

1. ค่าวิเคราะห์ดินก่อนและทำการทดลอง วิเคราะห์ ค่าความเป็นกรดด่างของดิน ค่าการนำไฟฟ้าของดิน ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

2. ปริมาณธาตุอาหารหลักในดินหลังไถกลบซากถั่วเขียว และหลังเก็บเกี่ยวข้าว เพื่อประเมินระดับ ธาตุอาหารที่มีการสะสมในแต่ละฤดูกาลหรือแต่ละรอบ

3. ข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว เช่น ความสูง ผลผลิตต่อไร่ และวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในส่วนต่าง ๆ ของถั่วเขียว

4. ข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นข้าว เช่น ความสูง น้ำหนักฟาง จำนวนการแตกกอ จำนวนรวงต่อกอ เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี น้ำหนัก 1,000 เมล็ด ผลผลิตต่อไร่ และวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในส่วนต่างๆ ของข้าว

5. ต้นทุนการผลิตโดยการหาอัตราผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยวิธี Value to cost ratio (VCR)

6. ค่าวิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์สถิติตามแบบแผนการทดลอง โดยใช้ ANOVA และ DMRT และสรุปผลการทดลอง

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2558 - สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่การทดลอง กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม

ผลการทดลองและวิจารณ์

ความอุดมสมบูรณ์ดิน

วิเคราะห์สัณฐานของดินในแปลงทดลองก่อนปลูกข้าว พบว่า สภาพแวดล้อมการใช้ที่ดิน เป็นชุดดินปางปะอิน ลักษณะเนื้อดินเป็นดินเหนียวตลอดหน้าตัดดิน ดินมีความอุดมสมบูรณ์อยู่ในระดับปานกลาง (Land Classification Division and FAO Project Staff, 1973) ดินก่อนทำการทดลอง ปี 2559-2564 พบว่า มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ย (pH) อยู่ในระดับกรดปานกลาง เท่ากับ 5.9-6.1 ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) อยู่ในระดับต่ำ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) อยู่ในระดับสูง ดินมีความอุดมสมบูรณ์อยู่ในระดับปานกลาง โดยมีปริมาณอินทรียวัตถุเฉลี่ย เท่ากับ 2.0-2.2 % ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เฉลี่ย เท่ากับ 6-10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้เฉลี่ยเท่ากับ 136-169 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ตารางที่ 1) และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปุ๋ยหมักที่ใช้ในแต่ละปี (ตารางที่ 2) เพื่อหาอัตราการใส่ปุ๋ยหมัก เพื่อหาอัตราปุ๋ยหมักเติมอากาศที่เหมาะสมในการใส่ในกรรมวิธีที่ 3 และที่ 5 คือ 12-3-0 N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 1) โดยปี 2559-2564 ใส่ปุ๋ยหมักเติมอากาศ 750 กิโลกรัมต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้งต่อไร่ เทียบกับปริมาณปริมาณธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบในปุ๋ยหมักเติมอากาศจากคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์ดินแปลงทดลอง สมบัติดินก่อนการทดลองศึกษารูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวในระบบอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559 -2564

ปี พ.ศ.	อินทรียวัตถุ[1] (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์[2] (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้[3] (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	pH[4] ดิน:น้ำ (1:1)	อัตราคำแนะนำตามค่าวิเคราะดินสำหรับการปลูกข้าวปทุมธานี 1 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่
2559	2.0	6	154	5.9	12-3-0
2560	2.2	8	143	6.1	12-3-0
2561	2.2	10	166	5.9	12-3-0
2562	2.2	8	136	6.0	12-3-0
2563	2.0	7	153	5.9	12-3-0
2564	2.2	8	169	5.9	12-3-0

หมายเหตุ [1] Walkley and Black (1934), [2]Bray and Kurtz (1945), [3]Thomas (1982), [4]Peech (1965),

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของปุ๋ยหมักเติมอากาศ ก่อนทดลองปลูกข้าวในระบบเกษตรอินทรีย์ปี 2559-2564

ปี พ.ศ.	ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส P_2O_5	โพแทสเซียม K_2O	pH ดิน:น้ำ (1:10)	EC ดิน:น้ำ 1:10	ความชื้น
	(%)	(%)	(%)		(dS/m)	(%โดยน้ำหนักสด)
2559	1.69	1.90	1.98	8.37	4.12	12.0
2560	1.93	2.02	1.93	8.10	4.08	12.2
2561	1.79	1.17	2.68	8.24	5.44	11.7
2562	1.80	2.01	1.97	8.12	5.04	12.0
2563	1.70	1.69	2.70	8.10	4.11	11.8
2564	1.75	1.75	2.70	8.10	5.22	11.9

ผลการจัดการดินในการปลูกถั่วเขียวฤดูแล้งและปลูกข้าวฤดูฝนต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดิน

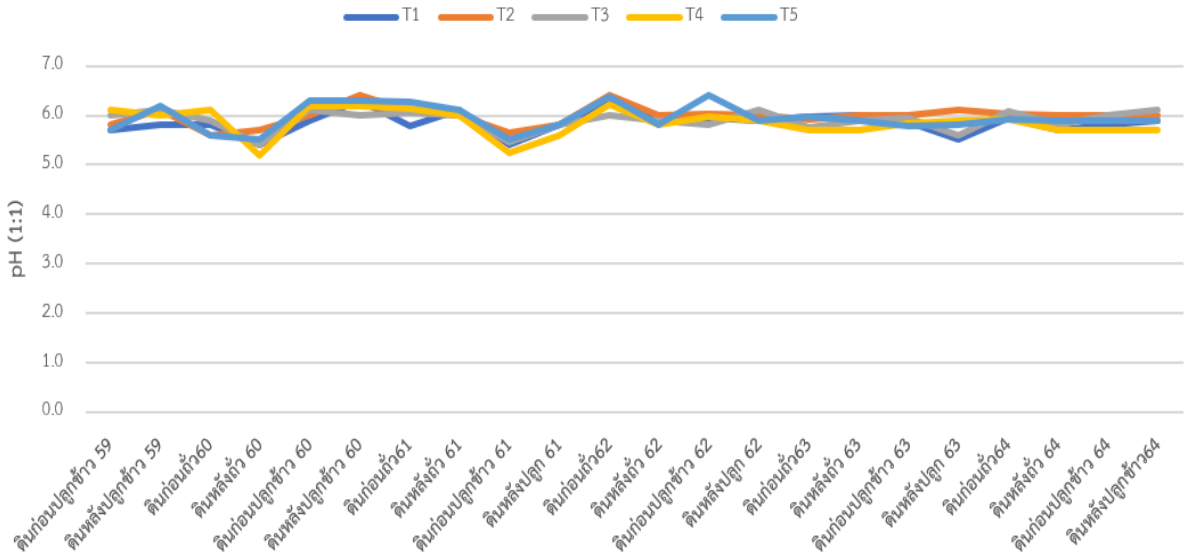
1) ความเป็นกรดด่างของดิน (pH) ดินก่อนทำการทดลองมีความเป็นกรดด่างอยู่ในระดับกรดปานกลาง (pH=5.9) และหลังการทดลองในปีที่ 6 ทุกกรรมวิธี (กรรมวิธีที่ 1 2 3 4 และ 5) โดยค่าความเป็นกรดด่างมีแนวโน้มคงที่ มีค่าระหว่าง 5.7-5.9, 5.8-6.0, 6.0-6.1, 5.7-6.1 และ 5.7- 6.3 ตามลำดับ ดังกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสมบัติดิน (ภาพ 1ก)

2) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ดินก่อนทำการทดลองปลูกข้าว มีค่าอยู่ระหว่าง 2.2-2.4 % ปริมาณอินทรียวัตถุในทุกกรรมวิธีจะมีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากมีการไถกลบต้นถั่วเขียวและตอซัง ฟางข้าว หลังการทดลองในปีที่ 6 ทุกกรรมวิธี (กรรมวิธีที่ 1 2 3 4 และ 5) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.3, 2.3, 2.6, 2.7 และ 2.9 % ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 3 และ 5 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.6 และ 2.8 % ตามลำดับ อาจเป็นผลมาจากการไถกลบต้นถั่วเขียวและตอซัง ฟางข้าว และการสะสมของปุ๋ยหมักที่ใส่ในปีที่ผ่านมา ดังกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสมบัติดิน (ภาพ 1ข)

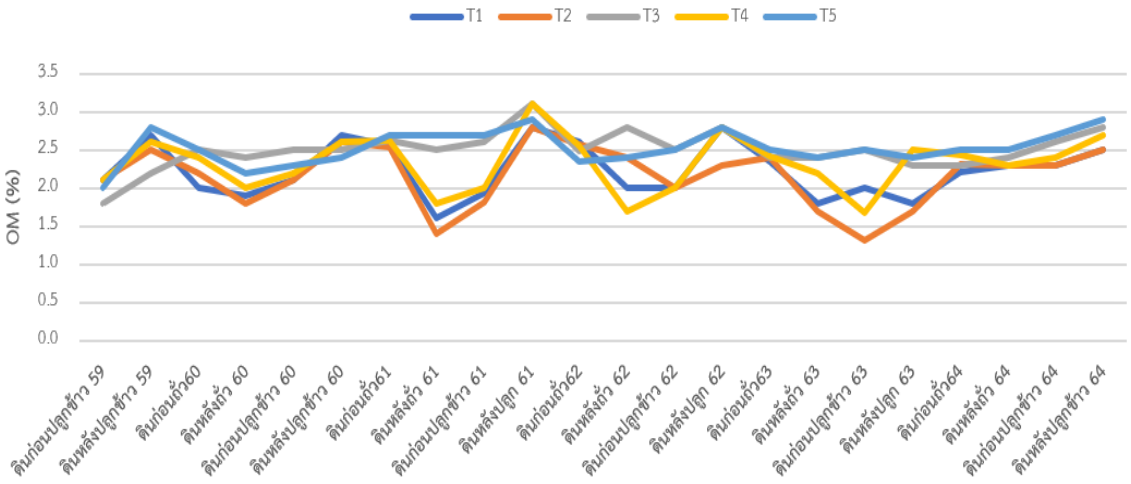
3) ปริมาณฟอสฟอรัสในดิน ดินก่อนทำการทดลองปลูกข้าว มีค่าระหว่าง 5-8 มิลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากไถกลบต้นถั่วเขียว และตอซังฟางข้าว หลังการทดลองในปีที่ 6 ทุกกรรมวิธี (กรรมวิธีที่ 1 2 3 4 และ 5) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6, 5, 10, 6 และ 13 มิลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ อาจเป็นผลมาจากการไถกลบต้นถั่วเขียวและตอซังฟางข้าว และการสะสมของปุ๋ยหมักที่ใส่ในปีที่ผ่านมาโดยเฉพาะกรรมวิธีที่ 3 และ 5 ดังกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสมบัติดิน (ภาพ 1ค)

4) ปริมาณโพแทสเซียมในดิน ดินก่อนทำการทดลองปลูกข้าว มีค่าระหว่าง 148-165 มิลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากไถกลบต้นถั่วเขียว และตอซัง ฟางข้าว หลังการทดลองในปีที่ 6 ทุกกรรมวิธี (กรรมวิธีที่ 1 2 3 4 และ 5) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 155, 151, 178, 180 และ 182 มิลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ อาจเป็นผลมาจากการไถกลบต้นถั่วเขียวและตอซัง ฟางข้าว ดังกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสมบัติดิน (ภาพ 1ง)

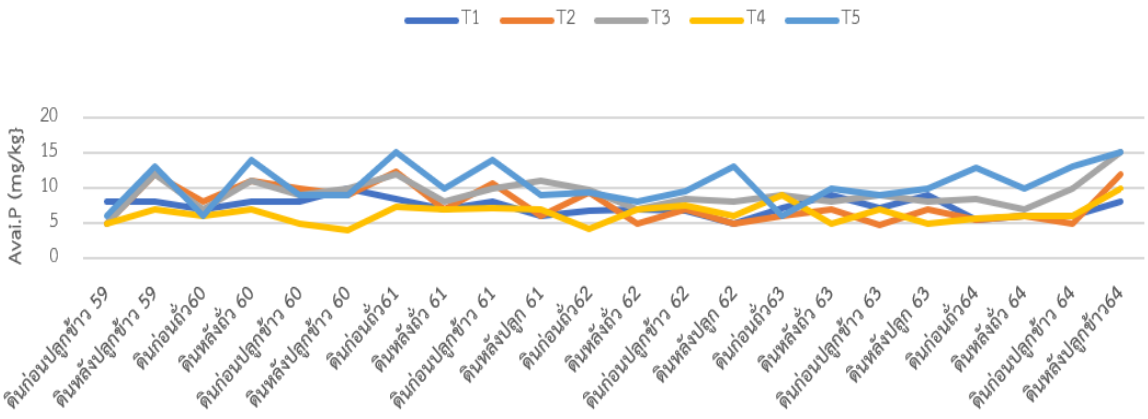
ก

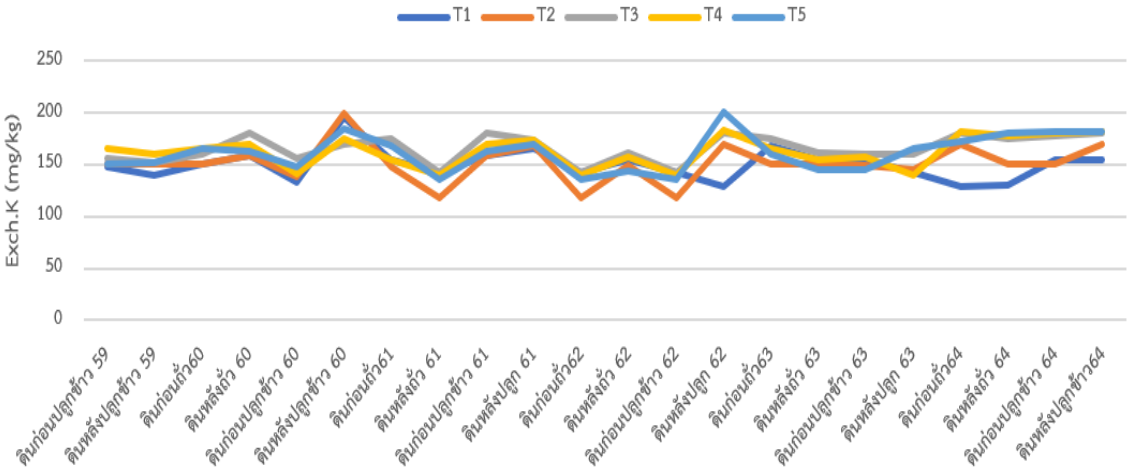

T1
T2
T3
T4
T5
pH (1:1)
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ดินก่อนปลูกข้าว 59
ดินหลังปลูกข้าว 59
ดินก่อนถั่ว60
ดินหลังถั่ว 60
ดินก่อนปลูกข้าว 60
ดินหลังปลูกข้าว 60
ดินก่อนถั่ว61
ดินหลังถั่ว 61
ดินก่อนปลูกข้าว 61
ดินหลังปลูก 61
ดินก่อนถั่ว62
ดินหลังถั่ว 62
ดินก่อนปลูกข้าว 62
ดินหลังปลูก 62
ดินก่อนถั่ว63
ดินหลังถั่ว 63
ดินก่อนปลูกข้าว 63
ดินหลังปลูก 63
ดินก่อนถั่ว64
ดินหลังถั่ว 64
ดินก่อนปลูกข้าว 64
ดินหลังปลูกข้าว64

ข


T1
T2
T3
T4
T5
OM (%)
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
ดินก่อนปลูกข้าว 59
ดินหลังปลูกข้าว 59
ดินก่อนถั่ว60
ดินหลังถั่ว 60
ดินก่อนปลูกข้าว 60
ดินหลังปลูกข้าว 60
ดินก่อนถั่ว61
ดินหลังถั่ว 61
ดินก่อนปลูกข้าว 61
ดินหลังปลูก 61
ดินก่อนถั่ว62
ดินหลังถั่ว 62
ดินก่อนปลูกข้าว 62
ดินหลังปลูก 62
ดินก่อนถั่ว63
ดินหลังถั่ว 63
ดินก่อนปลูกข้าว 63
ดินหลังปลูก 63
ดินก่อนถั่ว64
ดินหลังถั่ว 64
ดินก่อนปลูกข้าว 64
ดินหลังปลูกข้าว 64

ค


T1
T2
T3
T4
T5
Aval.P (mg/kg)
20
15
10
5
0
ดินก่อนปลูกข้าว 59
ดินหลังปลูกข้าว 59
ดินก่อนถั่ว60
ดินหลังถั่ว 60
ดินก่อนปลูกข้าว 60
ดินหลังปลูกข้าว 60
ดินก่อนถั่ว61
ดินหลังถั่ว 61
ดินก่อนปลูกข้าว 61
ดินหลังปลูก 61
ดินก่อนถั่ว62
ดินหลังถั่ว 62
ดินก่อนปลูกข้าว 62
ดินหลังปลูก 62
ดินก่อนถั่ว63
ดินหลังถั่ว 63
ดินก่อนปลูกข้าว 63
ดินหลังปลูก 63
ดินก่อนถั่ว64
ดินหลังถั่ว 64
ดินก่อนปลูกข้าว 64
ดินหลังปลูกข้าว64



ภาพที่ 1 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสมบัติดิน และธาตุอาหารในดินก่อนและหลังเก็บผลผลิตถั่วเขียวและข้าว ปี 2559-2564

ถั่วเขียว

1) น้ำหนักต้นสดและต้นแห้งของต้นถั่วเขียว ปี 2560-2564 ทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งแตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าว ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู (T5) เท่ากับ 1,210, 1,550, 1,984, 1,997, 1,986 กิโลกรัมต่อไร่ เฉลี่ย 5 ปี มีค่าเท่ากับ 1,745 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) มีน้ำหนักต้นแห้งเท่ากับ 524, 526, 569, 598 และ 590 กิโลกรัมต่อไร่ เฉลี่ย 5 ปี มีค่าเท่ากับ 561 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

2) ผลผลิตถั่วเขียว ความชื้น 12% ปี 2560-2564 พบว่า ผลผลิตถั่วเขียวไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าว ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู (T5) ผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 104, 116, 125, 138 และ 144 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตเฉลี่ย 5 ปีเท่ากับ 125 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 3 น้ำหนักสดต้นถั่วเขียว ระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2560-2564 (ระยะเก็บเกี่ยว)

กรรมวิธี	น้ำหนักสดต้นถั่วเขียว (กิโลกรัมต่อไร่)					
	2560	2561	2562	2563	2564	เฉลี่ย 5 ปี
T1	-	-	-	-	-	-
T2	1,058b	741b	1,197c	1,554b	1,570b	1,224c
T3	1,380a	1,093a	1,890b	1,933a	1,901a	1,639ab
T4	1,157ab	1,260b	1,170b	1,838a	1,882a	1,461bc
T5	1,210a	1,550a	1,984a	1,997a	1,986a	1,745a
F-test	**	*	**	**	*	**
เฉลี่ย	1,201	1,161	1,560	1,830	1,835	1518
CV (%)	22.4	20.3	16.4	14.8	20.1	12.1

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางที่ 4 น้ำหนักแห้งต้นถั่วเขียว ระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2560-2564 (ระยะเก็บเกี่ยว)

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้งต้นถั่วเขียว (กิโลกรัมต่อไร่)					
	2560	2561	2562	2563	2564	เฉลี่ย 5 ปี
T1	-	-	-	-	-	-
T2	298b	344b	380c	388b	399b	362c
T3	472a	456a	478b	553a	530a	498b
T4	487a	458b	496b	516a	519a	495b
T5	524a	526a	569a	598a	590a	561a
F-test	**	**	**	**	*	**
เฉลี่ย	445	446	480	514	510	479
CV (%)	22.4	16.4	16.7	14.8	20.1	3.6

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT
* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางที่ 5 ผลผลิตถั่วเขียว ความชื้น 12% ระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2560-2564 (ระยะเก็บเกี่ยว)

กรรมวิธี	ผลผลิตถั่วเขียว (กิโลกรัมต่อไร่)					
	2560	2561	2562	2563	2564	เฉลี่ย 5 ปี
T1	-	-	-	-	-	-
T2	80	86	80	100	110	91
T3	101	100	110	120	140	114
T4	100	98	106	113	136	111
T5	104	116	125	138	144	125
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns
เฉลี่ย	96.3	100.0	105.3	118.0	131.8	110
CV (%)	10.3	13.2	20.2	15.2	13.0	4.4

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT
* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

3) ผลของการดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่างๆของถั่วเขียว

ผลการทดลอง ปี 2560-2564 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ในถั่วเขียว มีปริมาณการดูดธาตุอาหารในส่วนของ ต้น+ใบ >เมล็ด > เปลือกฝัก (ตารางที่ 6 และ 7)

ไนโตรเจน การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน 5 ปี ให้ผลในทิศทางเดียวกัน พบว่าการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนใน ต้น+ใบ และเมล็ด มีความแตกต่างกนทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการดูดใช้ไนโตรเจนส่วนเปลือกฝัก ปี 2560-2564 ไม่แตกต่างกันทางสถติ ยกเว้นปี 2562 การดูดใช้ไนโตรเจนที่เปลือก มีความแตกต่างทางสถิติ ปี 2560 2561 2563 และ 2564 มีการดูดใช้ไนโตรเจนในเปลือกฝักเฉลี่ยเท่ากับ 1.25, 0.79, 0.75 และ 0.85 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ฟอสฟอรัส การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัส 5 ปี ให้ผลในทิศทางเดียวกัน พบว่าการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสใน ต้น+ใบ และเมล็ด มีความแตกต่างกนทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการดูดใช้ฟอสฟอรัสส่วนเปลือกฝัก ปี 2560-2564 ไม่แตกต่างกันทางสถติ ยกเว้น ปี 2562 และ 2564 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ปี 2560 2561 และ 2563 มีการดูดฟอสฟอรัสในส่วนเปลือกฝักมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.14, 0.06 และ 0.08 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ โพแทสเซียม การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียม 2560-2562 ปี พบว่าการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมใน เมล็ด และ ต้น+ใบ ให้ผลในทิศทางเดียวกัน พบว่าการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมใน เมล็ด และต้น+ใบ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการดูดใช้โพแทสเซียมส่วนเปลือกฝัก ปี 2560-2564 ไม่แตกต่างกัน

ทางสถติ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.14, 1.52, 1.55, 1.69 และ 2.03 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ปี 2563-2564 พบว่าการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมใน เมล็ด ต้น+ใบ และเปลือกฝัก ไม่แตกต่างกันทางสถติ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.67, 10.44, 1.69 และ 2.13, 10.24, 2.03 กิโลกรัมต่อไร่

4) การสูญหายธาตุอาหารในดินหลังเก็บผลผลิตถั่วเขียว

การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในถั่วเขียวทั้งหมด (เมล็ด ต้น+ใบ และ เปลือกฝัก) ถ้าไม่มีการไถกลบเศษซากต้นถั่วเขียวธาตุอาหารในพื้นที่สูญหายติดออกไปทั้งหมดจะไม่ได้ใส่คืนกลับแปลง แต่ในส่วนของ ต้น+ใบ ในแต่ละฤดูกาลปลูกมีการไถกลบเศษซากต้นถั่วเขียวกลับสู่พื้นที่ ทำให้พื้นที่จะเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากการทดลองการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมดในถั่วเขียว (เมล็ด+ต้นและใบ+เปลือกฝัก) ในกลุ่มดินเหนียว ปี 2560-2564 (ตารางที่ 6 และ 7) พบว่า มีการสูญเสียธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ทั้งหมด (เมล็ด+ต้น+ใบและเปลือกฝัก) เปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมีเท่ากับ (10.70-20.90)-(1.91-3.85)-(5.60-16.55) กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ แต่เมื่อมีการไถกลบเศษซาก ต้น+ใบ ในพื้นที่สามารถเพิ่มปริมาณธาตุอาหาร เท่ากับ (5.62-12.95)-(5.60-16.55)-(3.78-15.52) กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ และลดการสูญหายธาตุอาหาร เท่ากับ (3.99-10.19)-(0.59-1.85)-(2.90-4.61) กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ปี

ตารางที่ 6 การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียวปลูกระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2560-2562

การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2560												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	1.62b	1.80b	1.16	4.58	0.46c	0.46c	0.12	1.04	1.09c	1.45b	1.02	3.56
T3	3.63a	6.97a	1.33	11.93	0.47b	0.48bc	0.16	1.11	1.31b	2.23a	1.21	4.74
T4	3.51a	6.71a	1.16	11.38	0.43ab	0.66b	0.10	1.20	1.14c	2.33a	1.10	4.58
T5	3.82a	6.97a	1.34	12.13	0.50a	0.89a	0.16	1.55	1.56a	3.15a	1.23	5.94
เฉลี่ย	3.15	5.62	1.25	10.02	0.47	0.62	0.14	1.22	1.28	2.29	1.14	4.70
F-test	**	**	ns		ns	**	ns		*	*	ns	
CV	2.1	16.3	13.3		7.2	16.0	14.3		11.8	21.6	15.4	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2561												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	1.29c	1.02c	0.75	3.06	0.17c	0.47c	0.06	0.70	1.45c	4.86c	1.42	7.73
T3	3.95a	9.45b	0.83	14.23	0.19b	0.52b	0.06	0.77	1.58ab	10.15b	1.58	13.30
T4	3.48b	8.56ab	0.68	12.72	0.19b	0.45b	0.05	0.69	1.45c	9.14b	1.43	12.02
T5	3.94a	10.04a	0.88	14.86	0.22a	0.86a	0.08	1.17	1.71a	10.83a	1.67	14.21
เฉลี่ย	3.17	7.27	0.79	11.23	0.19	0.58	0.06	0.83	1.55	8.75	1.52	11.81
F-test	**	*	ns		*	**	ns		*	**	ns	
CV	4.1	11.9	19.0		10.0	11.3	19.4		7.9	16.7	8.7	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2562												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	2.76c	5.01c	0.54c	8.31	0.28c	0.43c	0.05c	0.76	1.47b	7.49c	1.44c	10.40
T3	5.36a	7.53ab	0.95b	13.84	0.53b	0.70b	0.07b	1.31	1.80a	8.28a	1.52b	11.59
T4	4.32b	8.30a	0.68c	13.30	0.48ab	0.81b	0.05c	1.34	1.55b	7.89b	1.28b	10.72
T5	5.68a	10.58a	1.11a	17.37	0.65a	0.96a	0.10a	1.70	1.94a	9.07a	1.96a	12.97
เฉลี่ย	4.53	7.90	0.82	13.25	0.48	0.73	0.07	1.28	1.69	8.18	1.55	11.42
F-test	**	*	**		**	**	**		**	*	**	
CV	9.8	13.8	11.6		12.6	10.5	14.4		15.9	12.6	10.1	

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางที่ 7 การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปลูกระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มเหนียว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2563-2564

การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2563												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	4.83c	6.94c	0.62	12.39	0.22c	0.63c	0.06	0.90	1.41	7.81	1.55	10.77
T3	5.91b	15.46a	0.73	22.10	0.28b	1.21a	0.07	1.56	1.63	11.53	1.66	14.83
T4	5.91b	13.67b	0.78	20.39	0.27b	1.04b	0.08	1.39	1.60	10.29	1.68	13.58
T5	6.88a	15.72a	0.86	23.46	0.34a	1.25a	0.08	1.67	2.03	12.11	1.87	16.00
เฉลี่ย	5.88	12.95	0.75	19.58	0.28	1.03	0.07	1.38	1.67	10.44	1.69	13.79
F-test	**	*	ns		**	*	ns		ns	ns	ns	
CV	3.5	19.9	17.9		5.9	12.8	16.6		5.3	14.1	8.4	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว ปี2564												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	6.48c	8.15c	0.71	15.34	0.67c	0.73c	0.07	1.47	1.89	8.41	1.79	12.09
T3	6.52ab	12.52a	0.88	19.92	0.70b	0.97a	0.09	1.76	1.78	10.70	2.00	14.48
T4	6.98b	10.14b	0.85	17.97	0.73b	0.77b	0.09	1.59	1.89	9.64	1.83	13.37
T5	7.25a	12.01a	0.94	18.20	0.79a	1.02a	0.09	1.90	2.13	10.64	2.03	14.81
เฉลี่ย	6.81	10.71	0.85	20.90	0.72	0.87	0.08		1.93	9.85	1.91	13.69
F-test	**	**	ns		*	**	ns		ns	ns	ns	
CV	3.4	11.4	17.5		13.3	8.0	17.5		5.7	11.9	8.6	
การดูดใช้ธาตุอาหารในถั่วเขียว เฉลี่ย 5 ปี												
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)				P (กิโลกรัมต่อไร่)				K (กิโลกรัมต่อไร่)			
	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม	เมล็ด	ต้น+ใบ	เปลือกฝัก	รวม
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	3.30b	4.58b	0.76c	8.64	0.36b	0.55c	0.07c	0.97	1.46c	6.00b	1.44a	8.90
T3	5.07a	10.39a	0.94ab	15.46	0.43ab	0.78b	0.09ab	1.30	1.62b	8.58a	1.59b	11.78
T4	4.84a	9.48a	0.83bc	14.32	0.42ab	0.75b	0.07c	1.24	1.53bc	7.85a	1.46bc	10.83
T5	5.51a	11.06a	1.03a	17.60	0.50a	1.00a	0.10a	1.59	1.88a	9.16a	1.75a	12.78
เฉลี่ย	4.68	8.88	0.89	14.01	0.43	0.77	0.08	1.28	1.62	7.90	1.56	11.08
F-test	**	**	**		*	**	**		**	**	**	
CV	11.8	15.1	10.1		13.5	15.4	15.0		5.6	11.9	6.4	

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ข้าว

1) น้ำหนักฟาง ปี 2559-2564 พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถติ โดยน้ำหนักฟาง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 803, 815, 855, 915, 1,097 และ 1,150 กิโลกรัมต่อไร่ กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้ง ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้น้ำหนักฟางสูงสุดเท่ากับ 835, 873, 1,000, 1,200, 1,150 และ 1,368 กิโลกรัมต่อไร่ น้ำหนักฟางเฉลี่ย 6 ปี เท่ากับ1,071 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 8)

2) ผลผลิตข้าวเปลือก ความชื้น 14% ปี 2559-2564 พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยผลผลิตมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 259, 291, 294, 364, 392 และ 404 กิโลกรัมต่อไร่ กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้ง ใส่ปุ๋ยหมัก ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน (T5) ให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 290, 325, 357, 416, 434 และ 453 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตเฉลี่ย 6 ปี เท่ากับ 379 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 8 น้ำหนักฟางข้าว ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2564

กรรมวิธี			น้ำหนักฟางข้าว (กิโลกรัมต่อไร่)						
	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน	2559	2560	2561	2562	2563	2564	เฉลี่ย 6 ปี
T1	ไม่ปลูกถั่วเขียว	ข้าวปทุมธานี 1(ไม่ใส่ปุ๋ย)	715	756	715	715	1,133	990	837
T2	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 (ไม่ใส่ปุ๋ย)	810	806	810	810	1,134	1,005	896
T3	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 + ปุ๋ยหมัก	855	840	950	1,050	1,000	1,220	986
T4	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 +ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู	800	802	800	800	1,067	1,170	907
T5	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 +ปุ๋ยหมัก + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู	835	873	1,000	1,200	1,150	1,368	1,071
		F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		เฉลี่ย	803	815	855	915	1,097	1,150	694
		CV (%)	24.1	10.2	22.1	18.5	15.6	11.8	9.4

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางที่ 9 ผลผลิตข้าวเปลือก ความชื้น 14% ณ แปลงเกษตรกร อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม ปี 2559-2564

กรรมวิธี			ผลผลิตข้าวเปลือก (กิโลกรัมต่อไร่)						
	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน	2559	2560	2561	2562	2563	2564	เฉลี่ย 6 ปี
T1	ไม่ปลูกถั่วเขียว	ข้าวปทุมธานี 1(ไม่ใส่ปุ๋ย)	250	250	269	315	342	369	299
T2	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 (ไม่ใส่ปุ๋ย)	263	266	277	370	370	388	322
T3	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 + ปุ๋ยหมัก	273	311	323	415	413	411	358
T4	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 +ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู	258	305	333	406	400	401	351
T5	ถั่วเขียว + ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	ข้าวปทุมธานี 1 +ปุ๋ยหมัก + ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู	290	325	357	416	434	453	379
		F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		เฉลี่ย	267	291	294	364	392	404	342
		CV (%)	15.1	15.8	16.2	18.0	15.0	12.5	4.4

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

3) ผลการดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าว

ผลการทดลอง ปี 2559-2564 การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน และโพแทสเซียมของข้าว มีปริมาณการดูดธาตุอาหารในส่วนของ ฟางข้าว > เมล็ด ส่วนฟอสฟอรัสมีปริมาณการดูดใช้ในเมล็ด > ฟางข้าว (ตารางที่ 10 และ 11)

ไนโตรเจน การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน 6 ปี ให้ผลในทิศทางเดียวกัน พบว่าการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนใน เมล็ด และตอซังฟางข้าว มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ มีการดูดใช้ไนโตรเจน 4.98-6.87 และ 7.61-12.40 กิโลกรัมต่อไร่

ฟอสฟอรัส การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัส 6 ปี ให้ผลในทิศทางเดียวกัน พบว่าการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัส ใน เมล็ด และตอซังฟางข้าว มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ มีการดูดใช้ฟอสฟอรัส 0.83-1.26 และ 0.67-1.13 กิโลกรัมต่อไร่

โพแทสเซียม การดูดใช้ธาตุโพแทสเซียม 6 ปี ให้ผลในทิศทางเดียวกัน พบว่าการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมใน เมล็ด และตอซังฟางข้าว มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ มีการดูดใช้โพแทสเซียมระหว่าง 1.43-2.25 และ 11.18-16.22 กิโลกรัมต่อไร่

4) การสูญหายธาตุอาหารในดินหลังเก็บผลผลิตข้าว

การดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในข้าว (เมล็ด และ ฟาง) ถ้าไม่มีการไถกลบฟางข้าว ธาตุอาหารในพื้นที่สูญหายติดไปกับผลผลิตออกไปทั้งหมดจะไม่ได้ใส่คืนกลับแปลงในส่วนของเมล็ดข้าวเปลือก แต่ในส่วนของฟางข้าวในแต่ละฤดูกาลปลูกมีการไถกลบกลับสู่พื้นที่ ทำให้พื้นที่จะเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากการทดลองการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมดในข้าว (เมล็ด และ ฟางข้าว) ในกลุ่มดินเหนียว ปี 2559-2564 (ตารางที่ 10 และ 11) การสูญเสียธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ทั้งหมด (เมล็ด และ ฟางข้าว) เปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมีเท่ากับ (13.35-17.40)-(2.48-12.20)-(4.61-24.08) กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ แต่เมื่อมีการไถกลบฟางในพื้นที่สามารถเพิ่มปริมาณธาตุอาหาร เท่ากับ (7.02-11.94)-(1.21-2.90)-(12.62-21.08) กิโลกรัม N -P_2O_5 -K_2O ต่อไร่ และลดการสูญหายธาตุอาหาร เท่ากับ (3.95-7.18)-(1.27-9.80)-(0.72-3.00) กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่

ตารางที่ 10 การดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าวในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว (กิโลกรัม/ไร่) ปี 2559-2561

กรรมวิธี	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าว ปี 2559								
	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม
T1	3.70b	8.99c	12.69	0.45d	0.38b	0.83	0.82c	11.95	12.77
T2	4.21a	10.54bc	14.75	0.50c	0.46b	0.96	0.88b	14.58	15.46
T3	3.94ab	10.98ab	14.92	0.59b	0.63a	1.22	0.89ab	15.45	16.34
T4	3.35b	11.44ab	14.79	0.50c	0.52ab	1.02	0.83c	15.34	16.17
T5	4.38a	12.70a	17.08	0.73a	0.66a	1.39	1.08a	14.01	15.09
เฉลี่ย	3.92	10.93	14.85	0.56	0.53	1.08	0.90	14.27	15.17
F-test	*	*		*	**		**	ns	
CV (%)	11.4	11.0		17.3	18.5		1.08	9.9	
	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าว ปี 2560								
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม
T1	6.08c	7.61b	13.69	1.03c	0.65c	1.68	2.10c	14.158b	16.25
T2	6.27c	8.24b	14.51	1.21bc	0.65c	1.86	2.28c	13.86b	16.13
T3	7.74b	11.67a	19.01	1.46ab	1.23a	2.69	2.77ab	20.44a	23.21
T4	7.43a	11.10a	20.38	1.40ab	0.96b	2.36	2.68b	19.68a	22.35
T5	8.36ab	12.02a	18.84	1.68a	1.08ab	2.76	3.03a	19.42a	22.44
เฉลี่ย	7.18	10.13	17.31	1.36	2.09	2.27	2.57	17.51	20.08
F-test	**	**		**	**		**	**	
CV (%)	5.7	13.6		14.0	12.6		6.9	8.1	
	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าว ปี 2561								
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม
T1	5.51c	5.82b	11.33	1.29bc	0.76b	2.04	1.46c	8.93c	10.38
T2	5.85bc	6.02b	11.87	1.07c	0.70b	1.77	1.46c	9.64bc	11.10
T3	6.93a	8.15a	14.69	1.41ab	0.99a	2.40	1.68bc	12.33a	14.02
T4	6.26b	6.67b	13.76	1.29bc	0.82b	2.11	1.69b	10.18abc	11.87
T5	7.09a	8.43a	15.08	1.60a	1.00a	2.61	2.03a	11.52ab	13.54
เฉลี่ย	6.33	7.02	13.35	1.33	0.85	2.19	1.66	10.52	12.18
F-test	*	**		*	**		**	*	
CV (%)	11.1	9.5		12.9	9.0		8.4	14.2	

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ตารางที่ 11 การดูดใช้ธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าวในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว (กิโลกรัม/ไร่) ปี 2562-2564

กรรมวิธี	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าว ปี 2562								
	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม
T1	5.77c	6.23c	12.00	1.06b	0.78c	1.83	1.93d	12.34d	14.27
T2	6.12b	6.93c	13.05	1.08b	0.76c	1.84	2.16c	13.68cd	15.83
T3	8.15a	10.85a	19.28	1.48a	1.29b	2.77	2.73b	17.44b	20.18
T4	5.66bc	7.77b	13.43	1.06b	0.92c	1.98	2.18c	14.58c	16.77
T5	8.43a	13.12a	21.27	1.67a	1.50a	3.17	2.99a	21.85a	24.84
เฉลี่ย	6.84	8.98	15.82	1.27	1.05	2.32	2.40	15.98	18.38
F-test	**	**		**	**		**	**	
CV (%)	8.9	11.3		2.91	12.1		5.2	5.6	
	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าว ปี 2563								
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม
T1	4.52b	9.88ac	14.40	0.63b	0.85b	1.48	0.67d	11.49c	12.16
T2	4.69b	9.70c	14.39	0.66b	0.80b	1.47	0.77d	12.63b	13.40
T3	6.37a	10.33b	16.70	1.00a	1.01a	2.02	0.91b	12.92b	13.83
T4	5.93a	11.17ab	17.10	0.79b	0.85b	1.64	0.84c	12.78b	13.62
T5	6.66a	11.66a	18.32	1.00a	1.05a	2.04	1.03a	14.62a	15.65
เฉลี่ย	5.63	10.55	16.18	0.82	0.91	1.73	1.01	12.89	13.73
F-test	**	**		**	*		*	**	
CV (%)	9.6	10.6		14.4	17.7		15.0	15.9	
	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าว ปี 2564								
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม
T1	4.27c	7.15c	11.42	0.58c	0.62c	1.20	1.64c	8.18d	9.83
T2	5.38b	9.86bc	15.24	0.63c	0.79c	1.42	2.02bc	10.43c	12.45
T3	6.10a	13.13b	19.23	1.00a	1.40a	2.40	2.80ab	14.82b	17.62
T4	5.17b	13.08b	18.25	0.88b	1.12b	2.00	2.41bc	13.46b	15.87
T5	6.34a	16.46a	22.8	0.88b	1.48a	2.37	3.32a	15.92a	19.23
เฉลี่ย	5.46	11.94	17.4	0.79	1.08	1.88	2.44	12.56	15.00
F-test	*	ns		**	*		**	*	
CV (%)	15.1	16.9		11.3	19.9		11.0	15.5	
	การดูดใช้ธาตุอาหารในข้าว เฉลี่ย 6 ปี								
กรรมวิธี	N (กิโลกรัมต่อไร่)			P (กิโลกรัมต่อไร่)			K (กิโลกรัมต่อไร่)		
	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม	เมล็ด	ฟางข้าว	รวม
T1	4.98c	7.61c	12.59	0.83c	0.67c	1.50	1.43d	11.18c	12.61
T2	5.42bc	8.55c	13.97	0.86bc	0.69c	1.55	1.59cd	12.48bc	14.07
T3	6.54a	10.85b	17.39	1.16a	1.09a	2.25	1.97c	15.72c	17.68
T4	5.63b	10.22b	15.85	0.99b	0.86b	1.85	1.78bc	14.33ab	16.11
T5	6.87a	12.40a	19.27	1.26a	1.13a	2.39	2.25a	16.22a	18.47
เฉลี่ย	5.89	9.93	15.81	1.02	0.89	1.91	1.80	13.98	15.79
F-test	**	**		**	**		**	**	
CV (%)	8.5	12.6		10.4	14.7		12.4	11.7	

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้ DMRT

* มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ** มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

สารพิษตกค้างในดินจากการปลูกถั่วเขียวฤดูแล้งสลับการปลูกข้าวฤดูฝนในระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว

ผลวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในกลุ่ม Organophosphorus, Organochlorines, Pyrethroids, และ Triazines ดินหลังการปลูกถั่วเขียวและข้าวตลอด 6 ปี ตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้างดังกล่าวในแปลงทดลอง

ปริมาณจุลินทรีย์ไรโซเบียม และ PGPR-1 ดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวปทุมธานี 1

ก่อนเริ่มทำการทดลองได้สุ่มเก็บตัวอย่างดิน เพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์ไรโซเบียมที่เกิดปมกับถั่ว ปี 2559 ไม่พบเชื้อไรโซเบียมทุกกรรมวิธี ปี 2559-2561กรรมวิธีที่ไม่ปลูกพืชในฤดูแล้งปลูกข้าว (T1) ไม่พบเชื้อไรโซเบียม ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ พบเชื้อไรโซเบียมในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยทุกกรรมวิธี ปี 2563 ยังพบเชื้อจุลินทรีย์ไรโซเบียมก็ยังเหลือสะสมอยู่ในพื้นที่ ปริมาณจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** และ ***Azotobacter* spp.** ในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวปทุมธานี 1 พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** และ ***Azotobacter* spp.** ระยะเวลา 6 ปี ทุกกรรมวิธีพบปริมาณจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** แต่ไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ ***Azotobacter* spp.** ปี 2563 พบปริมาณจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** เพิ่มขึ้น และยังพบจุลินทรีย์ ***Azotobacter* spp.** เหลือสะสมอยู่ในพื้นที่ในปริมาณที่น้อยลงเมื่อเทียบกับปริมาณที่มีอยู่ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู ที่คลุกเมล็ดก่อนปลูกข้าว และในกรรมวิธีที่ไม่ได้คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู ยังพบจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** แสดงให้เห็นว่าสามรถพบจุลินทรีย์ ***Azospirillum* spp.** และ ***Azotobacter* spp.** ในดินนาทั่วไปได้แต่จะมีในปริมาณน้อย

ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์

ผลวิเคราะห์การตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ ได้จากมูลค่าผลผลิตเพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อต้นทุนจากการใช้ปุ๋ยที่เพิ่มขึ้น หรือค่า Value to Cost Ratio (VCR) ดังแสดงในตารางที่ 12 ปี 2559-2564 ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์มีผลไปในทิศทางเดียวกัน คือ การปลูกข้าวปทุมธานี1อินทรีย์ ในกรรมวิธีที่ 4 กรรมวิธีที่ปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งและปลูกข้าว ร่วมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู (T4) ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ ให้ค่า VCR มากกว่า 2 และมีค่า VCR เท่ากับ 2.67, 21.33, 18.33, 30.3, 19.33 และ 10.67 ตามลำดับ

ตารางที่ 12 ผลตอบแทนและข้อมูลทางด้านเศรษฐศาสตร์ของการผลิตข้าวระบบเกษตรอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว ปี 2559-2564

กรรมวิธี	ผลผลิต กก./ไร่	ผลผลิตเพิ่ม กก./ไร่	รายได้ผลผลิตเพิ่ม บาท/ไร่	มูลค่าปุ๋ยที่ใช้ บาทต่อไร่	VCR	ผลผลิต กก./ไร่	ผลผลิตเพิ่ม กก./ไร่	รายได้ผลผลิตเพิ่ม บาท/ไร่	มูลค่าปุ๋ยที่ใช้ บาท/ไร่	VCR
	ปี 2559					ปี 2560				
T1	250	-	-	-	-	250	-	-	-	-
T2	263	13	260	-	-	266	16	320	-	-
T3	273	23	460	1,875	0.25	311	61	1,220	1,875	0.69
T4	258	8	160	60	2.67	305	55	1,100	60	18.33
T5	290	40	800	1,835	0.41	325	75	1,500	1,935	0.78
	ปี 2561					ปี 2562				
T1	269	-	-	-	-	315	-	-	-	-
T2	277	8	160	-	-	370	55	1,100	-	-
T3	323	54	1,080	1,875	0.58	415	100	2,000	1,875	1.07
T4	333	64	1,280	60	21.33	406	91	1,820	60	30.3
T5	357	88	1,760	1,935	0.91	416	101	2,020	1,935	1.04
	ปี 2563					ปี 2564				
T1	342	-	-	-	-	369	-	-	-	-
T2	370	28	560	-	-	388	19	380	-	-
T3	413	71	1,420	1,775	0.76	411	42	840	1,875	0.45
T4	400	58	1,160	60	19.33	401	32	640	60	10.67
T5	434	92	1,840	1,935	0.95	453	84	680	1ล935	0.81

หมายเหตุ : ราคาปุ๋ยหมัก กิโลกรัมละ 2.5 บาท ราคาปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู ถุงละ 60 บาท
ราคาข้าวเปลือกอินทรีย์ กิโลกรัมละ 20 บาท VCR= รายได้ผลผลิตที่เพิ่ม / รายจ่ายปุ๋ยที่ใช้

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1) การผลิตข้าวอินทรีย์ในกลุ่มดินเหนียว: ชุดดินบางปะอิน จังหวัดนครปฐม ระยะเวลา 6 ปี รูปแบบที่ 5 ให้ผลผลิตข้าวปทุมธานี 1 และผลผลิตถั่วเขียวเฉลี่ยสูงสุด ได้แก่ ฤดูฝนปลูกข้าวโพดฝักอ่อนร่วมกับปุ๋ยหมัก อัตรา 750 กิโลกรัมต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วัน 500 กรัมต่อไร่ และในฤดูแล้งปลูกถั่วเขียวร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ให้ผลผลิตมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 379 กิโลกรัมต่อไร่และผลผลิตถั่วเขียวเฉลี่ยเท่ากับ 125 กิโลกรัมต่อไร่ ด้านผลตอบแทนทางเศณษฐกิจนั่นการปลูกข้าวร่วมด้วยการใสปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทู (T4) คุ้มค่าที่สุด ผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 351 กิโลกรัมต่อไร่ แต่เมื่อเทียบกับผลผลิตข้าวเฉลี่ยในกรรมวิธีที่ 5 ยังน้อยกว่า และการใส่ปุ๋ยหมักร่วมกับการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ทู ทำให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น 10 % เทียบกับการใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทูอย่างเดียว

2) การปลูกข้าวอินทรีย์ ฤดูฝนปลูกข้าวปทุมธานี 1 และในฤดูแล้งปลูกถั่วเขียว หลังจากเก็บเกี่ยวถั่วเขียวและข้าวมีการไถกลบต้นถั่วเขียวและตอซังข้าวต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 6 ปี ทำให้ได้ธาตุอาหารพืชกลับสู่ระบบเฉลี่ยเท่ากับ 8.88-1.76-10.14 และ 9.93-2.17-16.78 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และทำให้สมบัติทางเคมีของดิน ความเป็นกรดด่างของดินจากทุกๆกรรมวิธีมีแนวโน้มคงที่หลังการทดลองเมื่อเทียบกับก่อนการทดลอง ปริมาณอินทรียวัตถุในกรรมวิธีที่ 3 และ 5 มีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียมจะเพิ่มขึ้นในปีที่ 3

3) พื้นที่ในการปลูกข้าวที่เป็นที่ลุ่มต่ำ ควรมีคันดินที่สูงเพื่อป้องกันน้ำท่วม และสามารถจัดการน้ำได้อย่างทุกต้องการจัดการน้ำในช่วงข้าวกำลังแตกกอมีความสำคัญมาก ถ้าไม่สามารถลดระดับน้ำให้แห้งการแตกกอของข้าวจะได้น้อย จากการทดลองการจัดการน้ำในแปลงค่อนข้างลำบากถึงจะทำคันดินสูง ใช้เครื่องสูบน้ำช่วยก็ยังระบายน้ำออกได้ช้า

4) สามารถเพิ่มอัตราปุ๋ยหมักที่ใช้ได้อีก 1 เท่า เพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวในปีถัดไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำข้อมูลรูปแบบการจัดการดินเพื่อการผลิตข้าวอินทรีย์ในระบบเกษตรอินทรีย์ ปรับใช้ในการผลิตข้าวอินทรีย์แก่เกษตรกรในพื้นที่ใกล้เคียง หรือเกษตรกรที่สนใจต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการเกษตรลำดับที่ 001/2553. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 112 หน้า.

Bray, R.H.and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils, Soil Science 59: 39–45.

Land Classification Division and FAO Project Staff, 1973. Soil interpretation handbook for Thailand. Dept. of Land Development, Min. of Agri. and Cooperative, Bangkok. 135p.

Peech, M. 1965. Hydrogen-ion activity in Methods of Soil Analysis Part 2; C.A. Black, ed. pp. 914–926.Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. In: Methods of Soil Analysis. (AL Page *et al*, eds) Agronomy. 9: 154-157 (Madison).

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science.37: 29–38.

การประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยในระดับแปลง
Assessment of Aboveground Biomass and Carbon Storage of Sugarcane at Field Scale Level

นุชนาฏ ตันวรรณ สายน้ำ อุดพ้วย ปรีชา กาเพ็ชร[1] วลัยพร ศะศิประภา[2]
อุดมศักดิ์ ดวนมีสุข [3]

Nutchanart Tanwan Sainam Udpuay Preecha Kapetch[1] Walaiporn Sasiprapa[2]
Udomsak Daunmeesuk[3]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Enhancing carbon dioxide absorption in plant is the most common practice to mitigate a global warming. The objective of this study was to investigate an effect of nutrient management on biomass and carbon storage of sugarcane. The experiment was conducted in clay loam soil in the field condition at Suphan Buri Field Crops Research Center, Suphan Buri Province from 2020 to 2021. The experimental design was a split plot with four replicates. Main plots comprised Khon Kaen 3 and U-Thong 15 sugarcane varieties. Subplots were fertilizers application levels, i.e. 7.5-3-6, 15-3-6 and 22.5-3-6 kg $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/rai. The results showed that clay loam soil as Kamphaeng Saen soil series was moderate to high soil fertility level. At 6 months after planting, the net photosynthesis rate of sugarcane leaves reached maximum CO_2 fixation during 8 a.m. to 2 p.m. at average 21.276 21.276 μmol $CO_2\, m^{-2}\, s^{-1}$. Among the two varieties, an average carbon storage in one crop yield of U-thong 15 sugarcane variety can store more carbon than Khon Kean 3 sugarcane variety which were about 5.26 and 4.98 tons C/rai, respectively. With U-Thong 15, the fertilizer should be applied at 22.5-3-6 kg $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/rai, which had the most carbon storage, average of 6.09 tons C/rai or 22.3 tons CO_2/rai for carbon absorption capacity. Therefore, the right nutrient management and a selection of proper varieties are a key management practice for improving a biomass and carbon storage of sugarcane.

Keywords : Carbon storages, Sugarcane, Nutrient management, Clay loam soil

[1]ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่
[1]Chiang Mai field crops research center
[2]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร
[2]Information technology center
[3]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี
[3]Lopburi seed research and development center

บทคัดย่อ

การเพิ่มศักยภาพการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยการกักเก็บคาร์บอนในพืช เป็นแนวทางปฏิบัติอย่างหนึ่งที่ช่วยบรรเทาภาวะโลกร้อน จึงได้ทำการศึกษาถึงผลการจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยในพื้นที่ดินร่วนเหนียว ดำเนินการที่แปลงทดลอง ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2563-2564 วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 4 ซ้ำ ปัจจัยหลักประกอบด้วย 1) พันธุ์ขอนแก่น 3 และ 2) พันธุ์อู่ทอง 15 และปัจจัยรอง คือ อัตราปุ๋ย ได้แก่ 7.5-3-6 15-3-6 และ 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ผลการทดลองพบว่า ดินร่วนเหนียว ชุดดินกำแพงแสนมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง-สูง ที่อายุ 6 เดือนหลังปลูกอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบอ้อย ตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงสุดช่วงเวลา 08.00 – 14.00 น. ประสิทธิภาพสูงสุด เฉลี่ย 21.276 $\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$ เมื่อมีการปลูกอ้อย 1 ฤดูปลูกอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 สามารถกักเก็บคาร์บอนมากกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 โดยกักเก็บคาร์บอน เฉลี่ย 5.26 และ 4.98 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ โดยการใส่ปุ๋ย อัตรา 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ สามารถกักเก็บคาร์บอนไว้ได้มากที่สุด เฉลี่ย 6.09 ตัน C/ไร่ คิดเป็นการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 22.3 ตัน CO_2/ไร่ ดังนั้นควรใส่ปุ๋ยและเลือกใช้พันธุ์ที่เหมาะสม จึงเป็นแนวทางปฏิบัติที่สำคัญในการเพิ่มชีวมวลและศักยภาพการกักเก็บคาร์บอนของอ้อย

คำหลัก : การกักเก็บคาร์บอน อ้อย การจัดการธาตุอาหาร ดินร่วนเหนียว

คำนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญพืชหนึ่งของไทย ปีการผลิต 2562/2563 มีพื้นที่ปลูกอ้อย 11.96 ล้านไร่ และมีปริมาณอ้อยที่ส่งเข้าโรงงานประมาณ 77 ล้านตัน ผลผลิตอ้อยเฉลี่ย 7.85 ตันต่อไร่ (สำนักคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2563) การปลูกอ้อยสามารถกักเก็บคาร์บอนไว้ในเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากอ้อยมีส่วนประกอบที่เรียกว่า Phytoliths มีซิลิกาเป็นองค์ประกอบทำหน้าที่หุ้มคาร์บอนอินทรีย์อยู่ภายใน มักพบในเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะในหญ้าอาหารสัตว์และพืชไร่ อ้อยเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ตระกูลหญ้า (Poaceae family) เป็นพืช C_4 มีรูปแบบการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าพืชประเภทอื่น โดยมีมวลแห้งรวมทั้งหมด 16.2 ตัน/ไร่ (ประสิทธิ์ และสุนทรี, 2554) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกตรึงไว้ในต้นอ้อย สามารถกักเก็บ CO_2 ได้มากถึง 0.66 ตันต่อเฮกตาร์ต่อปี ในขณะที่พืชผลอื่น ๆ (โดยเฉพาะพืชตระกูลถั่ว) สามารถกักเก็บ CO_2 ได้ค่อนข้างน้อย ดังนั้นประโยชน์ของการปลูกอ้อยนั้นไม่ได้จำกัดแค่เพียงผลผลิตที่ได้อย่างน้ำตาลเท่านั้น ยังรวมถึงด้านสิ่งแวดล้อมที่ได้จากกักเก็บปริมาณคาร์บอนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากผลผลิตของอ้อยเอง (Parr and Sullivan, 2007) ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมชีวมวล ได้แก่ สภาพแวดล้อม ชนิดพืชพรรณ ระยะการเจริญเติบโต และการจัดการ เช่น ความผันแปรของฤดูกาลมีผลต่อการแลกเปลี่ยนก๊าซของใบพืช จะเห็นว่าแม้จะมีการใช้พันธุ์และเทคโนโลยีให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ (วีระพล และคณะ, 2554) แต่ยังมีการใส่ปุ๋ยที่ยังต่ำอยู่ (ประสิทธิ์ และสุนทรี, 2554) Jangpromma *et al.* (2012) ศึกษาการเจริญเติบโตของราก และประสิทธิภาพการใช้น้ำของอ้อยในพื้นที่แห้งแล้ง พบว่า ขนาดของลำต้น ความยาวราก และมวลชีวภาพลดลง ซึ่งมีผลกระทบต่อการกักเก็บคาร์บอนในอ้อย ดังนั้นนอกจากสภาพแวดล้อมแล้ว การจัดการน้ำ มีส่วนช่วยเพิ่มมวลชีวภาพของอ้อยเช่นกัน

อ้อยแต่ละพันธุ์มีรูปแบบการเจริญเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแตกต่างกัน จากการศึกษาของ จิดาภา และคณะ (2560) พบว่า อ้อยพันธุ์อู่ทอง 12 และอู่ทอง 13 มีน้ำหนักแห้งเหนือดินลดลงเมื่อขาดน้ำในช่วงต้นของการเจริญเติบโต การคัดเลือกพันธุ์ให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ที่มีข้อจำกัดบางประการมีความสำคัญมากในการเพิ่มผลผลิตอ้อย ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ดี จะสามารถเพิ่มอัตราการสะสมของมวลชีวภาพ ซึ่งนำไปสู่การกักเก็บคาร์บอนที่มากขึ้นเช่นกัน

นอกจากการเพิ่มศักยภาพของต้นอ้อยในการดูดซับ CO_2 แล้ว การใช้ปุ๋ยเคมีก็มีผลโดยตรงต่อการลดปริมาณการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก Tenelli *et al.* (2021) รายงานว่า อ้อยเป็นพืชที่ต้องการปุ๋ยไนโตรเจน (N) ในปริมาณมาก เนื่องจากไนโตรเจนมีความสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืชมากที่สุด และมีบทบาทสำคัญในการแตกกอ และการยืดของลำอ้อย นอกจากนี้การขาดไนโตรเจนยังส่งผลให้พื้นที่ใบลดลงจึงทำให้การสังเคราะห์ด้วยแสงและผลผลิตลดลง

ด้วย (Sreewarome *et al.,* 2007) เมื่อมีการใส่ปุ๋ย N สามารถช่วยเพิ่มการกักเก็บคาร์บอนในพืช เพิ่มผลผลิตและปริมาณมวลชีวภาพ ซึ่งเป็นการส่งเสริมการกักเก็บคาร์บอน (Shahid *et al.,* 2017) อย่างไรก็ตามการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยได้เป็นอย่างดี มีความเหมาะสมตามระดับความอุดมสมบูรณ์ เพื่อเป็นแนวทางในการให้คำแนะนำที่สามารถลดปริมาณก๊าซ CO_2 ในบรรยากาศ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการสะสมมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนในอ้อยปลูก 2 พันธุ์ที่มีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกันในสภาพแปลงทดลองปลูกอ้อย เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกพันธุ์และวิธีการจัดการปุ๋ยที่เหมาะสม สามารถช่วยเพิ่มชีวมวลและการกักเก็บปริมาณคาร์บอนในพืชได้ สำหรับรับมือกับการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ และอาจเป็นประโยชน์ต่อศักยภาพการผลิตคาร์บอนเครดิตของประเทศไทยในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ท่อนพันธุ์อ้อย ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น 3 และพันธุ์อู่ทอง 15 ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ยูเรีย (46-0-0) ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดินและพืช วัสดุวิทยาศาสตร์และสารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ดินและพืช

วิธีการ

ดำเนินการทดลองในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งมีเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียว ชุดดินกำแพงแสน (Fine-silty, mixed, semiactive, isohyperthermic, Typic *Haplustalfs*) พิกัด 47P 592842^{E} 1581588^{N} ความสูงจากระดับน้ำทะเล 4 เมตร วางแผนการทดลองแบบ Split plot จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย ปัจจัยหลัก (Main-plot) คือ พันธุ์อ้อย จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ 1) พันธุ์ขอนแก่น 3 และ 2) พันธุ์อู่ทอง 15 ปัจจัยรอง (Sub-plot) คือ อัตราปุ๋ย มี 3 ระดับ ได้แก่ 1) ใส่ปุ๋ยเคมี อัตรา 7.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ 2) ใส่ปุ๋ยเคมี อัตรา 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ และ 3) ใส่ปุ๋ยเคมี อัตรา 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ขนาดแปลงย่อย 7.5 x 5 เมตร เว้นระยะระหว่างแปลงย่อย 1.5 เมตร ทำการปลูกวันที่ 5 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 ปุ๋ยเคมีแบ่งใส่ 2 ครั้ง สำหรับอ้อยปลูกใส่ปุ๋ยครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยรองพื้นก่อนปลูกด้วยปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งอัตราที่กำหนด ส่วนปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชใส่ครั้งเดียวเต็มอัตรา ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 เมื่ออ้อยมีอายุประมาณ 4 เดือนและเมื่อดินมีความชื้นพอเหมาะ ทำการให้น้ำเสริมแบบปล่อยร่อง เก็บเกี่ยววันที่ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564 จำนวน 3 แถว ๆ ละ 5 เมตร ขนาดพื้นที่เก็บเกี่ยว 22.5 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย

วิเคราะห์สมบัติดินในพื้นที่ทำการศึกษา

วิเคราะห์สมบัติดินแบบสุ่มรวม (composited sample) ที่ระดับความลึก 0-20 และ 20-50 เซนติเมตร พบว่ามีความหนาแน่นรวม อยู่ในช่วง 1.45-1.50 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) เป็นกลาง ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับปานกลาง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง ปริมาณโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สกัดได้อยู่ในระดับสูง ดังนั้นเมื่อประเมินการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับอ้อย อัตราที่แนะนำ คือ 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2553) แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์สมบัติดินในพื้นที่ทำการศึกษา

Soil properties	Top soil (0 – 20 cm)	Subsoil (20 – 50 cm)	Optimal values of sugarcane
pH (1:1)	6.8	6.8	5.5 – 7.5
EC (1:5) (dS/m)	0.4	0.4	-
OM (%)	1.5	1.4	1.5 – 2.5
OC (%)	0.9	0.8	-
Available P (Bray-II) (mg/kg)	148	140	10 – 20
Exchangeable K (mg/kg)	168	170	80 – 150
Exchangeable Ca (mg/kg)	1395	1327	110 – 125
Exchangeable Mg (mg/kg)	233	236	12 – 30
% Sand	40.2	46.9	-
% Silt	30.1	25.6	-
% Clay	29.7	27.5	-
Texture	Clay loam	Sandy clay loam	Sandy loam – Clay loam
Bulk Density (g/cm^{-3})	1.45	1.50	-

ที่มา : ดัดแปลงปรีชา (2547) และ กรมวิชาการเกษตร (2564)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลสภาพภูมิอากาศ ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิสูงสุด และอุณหภูมิต่ำสุด
2. บันทึกข้อมูลมวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งส่วนต่าง ๆ ของอ้อย ได้แก่ ลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง
3. ประเมินการกักเก็บคาร์บอน จากการวิเคราะห์อินทรียคาร์บอนในพืช โดยวิธี Walkley and Black (Nelson and Sommers, 1982) การกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพเหนือดิน โดยมีสมการ ดังนี้

$$\text{การกักเก็บคาร์บอน (ตันคาร์บอน/ไร่)} = \frac{\text{มวลชีวภาพ (ตัน/ไร่)} \times \text{ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (\%)}}{100}$$

4. ประเมินการการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ โดยมีสมการ ดังนี้

$$\text{การดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์} = \frac{\text{การกักเก็บคาร์บอน} \times 44}{12}$$

5. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT วิเคราะห์ข้อมูล เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลต่าง ๆ ในแต่ละพันธุ์และการจัดการปุ๋ย โดยวิธีเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 - สิ้นสุด กันยายน 2564

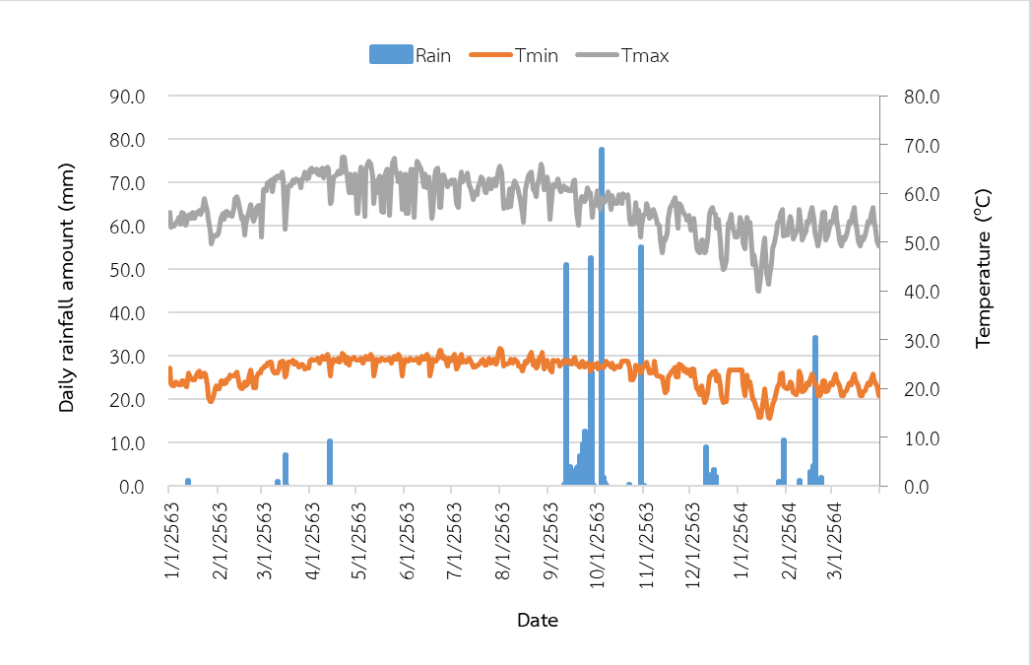
สถานที่ทำการทดลอง

- ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี
- กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาพภูมิอากาศฤดูปลูกอ้อย

ตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งอ้อยอยู่ในระยะตั้งตัว (0 – 30 วัน) อ้อยได้รับน้ำฝน 8.5 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.3 มิลลิเมตรต่อวัน โดยอ้อยที่ระยะตั้งตัว (0 - 30 วัน) มีความต้องการน้ำเฉลี่ย 1.1 มิลลิเมตรต่อวัน เมื่ออ้อยเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (31 – 170 วัน) ได้รับน้ำฝน 10.4 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.1 มิลลิเมตรต่อวัน ในระยะนี้อ้อยมีความต้องการน้ำที่บ่อยครั้ง เฉลี่ย 4.4 มิลลิเมตรต่อวัน เพื่อใช้ในการแตกกอและสร้างปล้อง ขณะที่ระยะสร้างน้ำตาลหรือช่วงสร้างผลผลิต (171 -295 วัน) อ้อยได้รับน้ำฝน 316.4 มิลลิเมตร เฉลี่ยเพียง 2.5 มิลลิเมตรต่อวัน แต่ในระยะนี้อ้อยมีความต้องการน้ำในปริมาณมาก เฉลี่ย 10.2 มิลลิเมตรต่อวัน จนกระทั่งเข้าสู่ระยะสุกแก่ (296 – 330 วัน) แม้ว่าช่วงนี้จะเป็นช่วงที่อ้อยต้องการน้ำลดลง เฉลี่ย 6.4 มิลลิเมตรต่อวัน แต่ยังมีปริมาณน้ำฝนเพียง 21.2 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.6 มิลลิเมตรต่อวัน จะเห็นว่าตลอดอายุการเจริญเติบโตของอ้อย มีปริมาณน้ำฝนไม่เพียงพอต่อความต้องการการน้ำของอ้อย ดังนั้นจึงต้องมีการให้น้ำเสริมแบบปล่อยร่อง แต่เมื่ออ้อยอายุ 8 เดือน มีฝนตกปริมาณมากในช่วงเดือนกันยายนและตุลาคม เป็น 179.7 และ 136.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในช่วงดังกล่าวต้นอ้อยส่วนมากล้มเสียหาย และน้ำท่วมแปลงปลูก ทำให้มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ปริมาณน้ำฝนตั้งแต่ปลูกวันที่ 5 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 จนกระทั่งเก็บเกี่ยววันที่ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564 เท่ากับ 369.7 มิลลิเมตร อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 34.4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 23.9 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอ้อย อยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 1 (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2563)



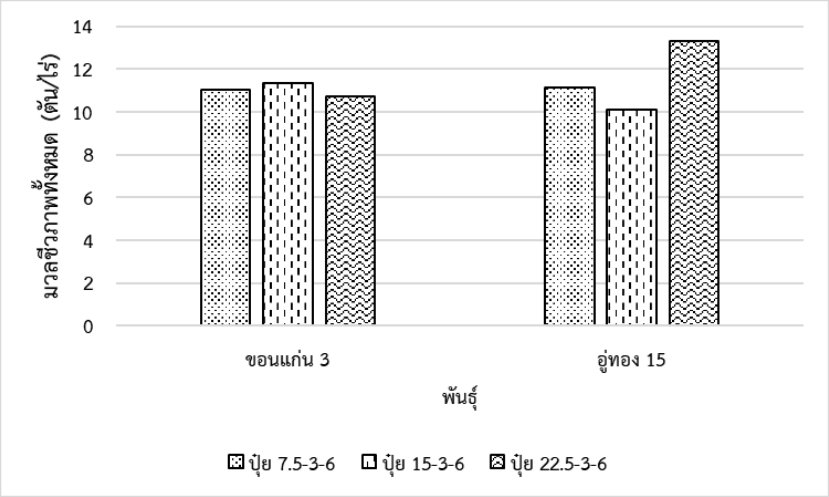
ภาพที่ 1 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิ ณ สถานีอุตุนิยมวิทยาเกษตรอู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม 2563 – มีนาคม 2564

Note: ปลูกอ้อยแปลงศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี เมื่อวันที่ 5 ก.พ. 63 พร้อมใส่ปุ๋ยรองพื้นตามกรรมวิธีที่กำหนด ให้น้ำหลังปลูกวันที่ 6 20 และ 23 ก.พ. 63 มีความงอกมากกว่า 80 % ส่วนที่ไม่งอกได้ทำการปลูกซ่อมเมื่อวันที่ 9 มี.ค. 63 ทำการใส่ปุ๋ยเคมีครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 23 เม.ย. 63 ตามกรรมวิธีที่กำหนดพร้อมพรวนดินกลบ

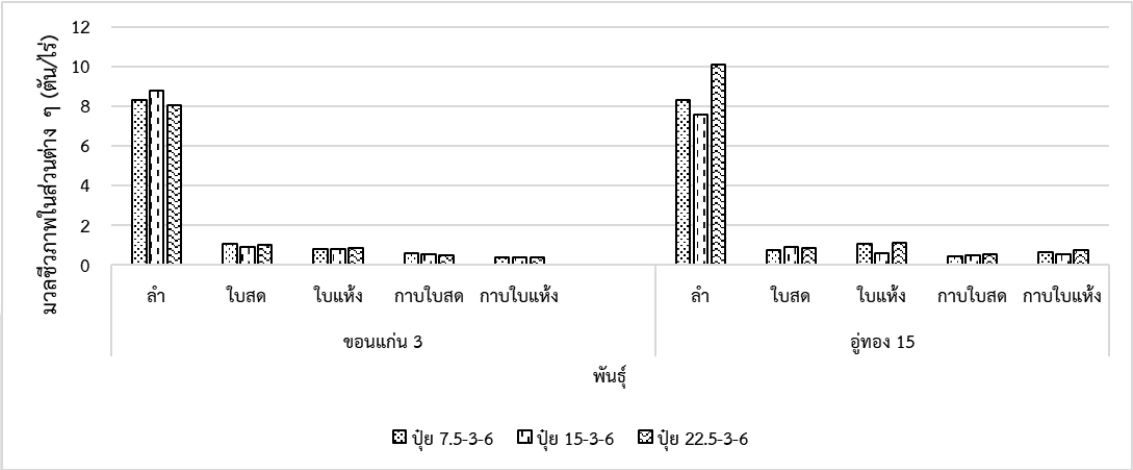
2. ปริมาณมวลชีวภาพของอ้อย

ที่อายุเก็บเกี่ยว ปริมาณมวลชีวภาพรวมสูงสุด เฉลี่ย 11.28 ตัน/ไร่ อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีปริมาณมวลชีวภาพสูงสุดที่อัตราปุ๋ย 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ เฉลี่ย 11.34 ตัน/ไร่ ในขณะที่พันธุ์อู่ทอง 15 มีปริมาณมวลชีวภาพสูงสุดที่อัตราปุ๋ย 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ เฉลี่ย 13.31 ตัน/ไร่ (ภาพที่ 2)

เมื่อพิจารณาถึงอัตราปุ๋ยระดับต่าง ๆ พบว่า การให้ปุ๋ยอัตรา 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ส่งผลให้มวลชีวภาพของลำอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 สูงสุด เฉลี่ย 8.77 ตัน/ไร่ และการให้ปุ๋ยอัตรา 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ส่งผลให้มวลชีวภาพของลำอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 สูงสุด เฉลี่ย 10.1 ตัน/ไร่ สำหรับสัดส่วนมวลชีวภาพที่อายุเก็บเกี่ยวในแต่ละส่วนของอ้อยปลูกทั้ง 2 พันธุ์ พบว่า มวลชีวภาพส่วนใหญ่สะสมไว้ในส่วนของลำ เฉลี่ย 76 % รองลงมา คือ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง เฉลี่ย 8 % 8 % 4 % และ 4 % ตามลำดับ (ภาพที่ 3) เช่นเดียวกับ Watcharapirak and Pattanakiat (2009) รายงานว่าอ้อยมีการสะสมมวลชีวภาพส่วนใหญ่อยู่ในลำต้น รองลงมา คือ ใบและราก ตามลำดับ



ภาพที่ 2 ผลของพันธุ์และอัตราปุ๋ย (กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ต่อปริมาณมวลชีวภาพน้ำหนักแห้งของอ้อย ที่ปลูกในดินร่วนเหนียว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ฤดูปลูกปี 2563



ภาพที่ 3 สัดส่วนปริมาณมวลชีวภาพในส่วนต่าง ๆ ของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และอู่ทอง 15 ที่ปลูกในในดินร่วนเหนียว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ฤดูปลูกปี 2563 ที่อายุเก็บเกี่ยว

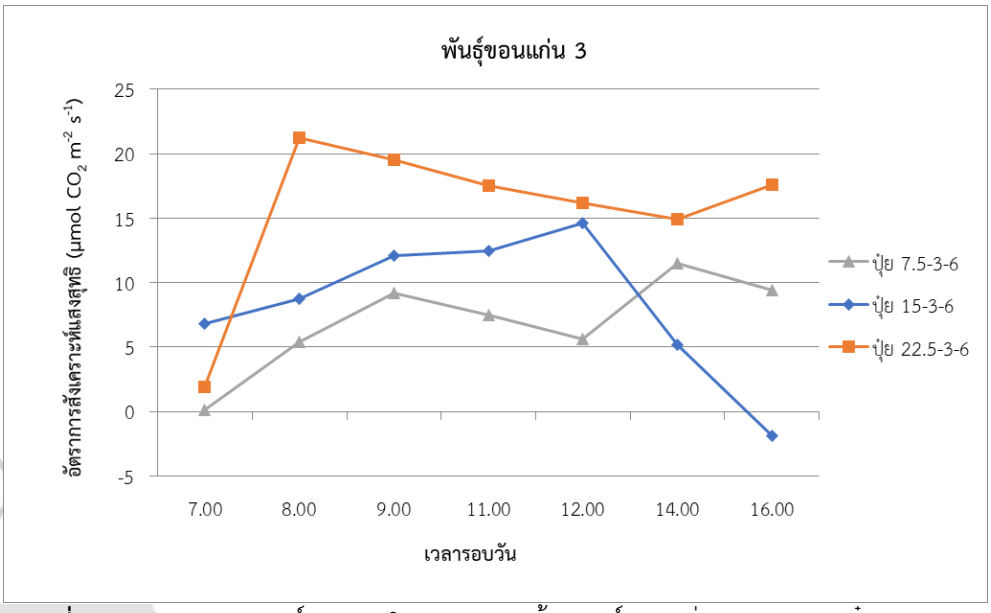
3. อัตราการสังเคราะห์แสงของอ้อย

การตอบสนองต่อแสงของอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ และปุ๋ยอัตราต่าง ๆ ดังภาพที่ 4 จากการวัดอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิในรอบวัน ที่อายุ 6 เดือนหลังปลูก พบว่า การให้ปุ๋ยทั้ง 3 อัตรา พันธุ์ขอนแก่น 3 มีอัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซ CO_2 เพิ่มขึ้นจาก 7.00 น. ถึง 9.00 น. เริ่มที่ 0.140 ถึง 9.230 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ที่อัตราปุ๋ย 7-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ส่วนอัตราปุ๋ย 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ เริ่มที่ 7.00 น. ถึง 11.00 น. ตั้งแต่ 6.791 ถึง 12.451 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ในขณะที่อัตราปุ๋ย 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบอ้อย เพิ่มขึ้นจาก 7.00-8.00 น.

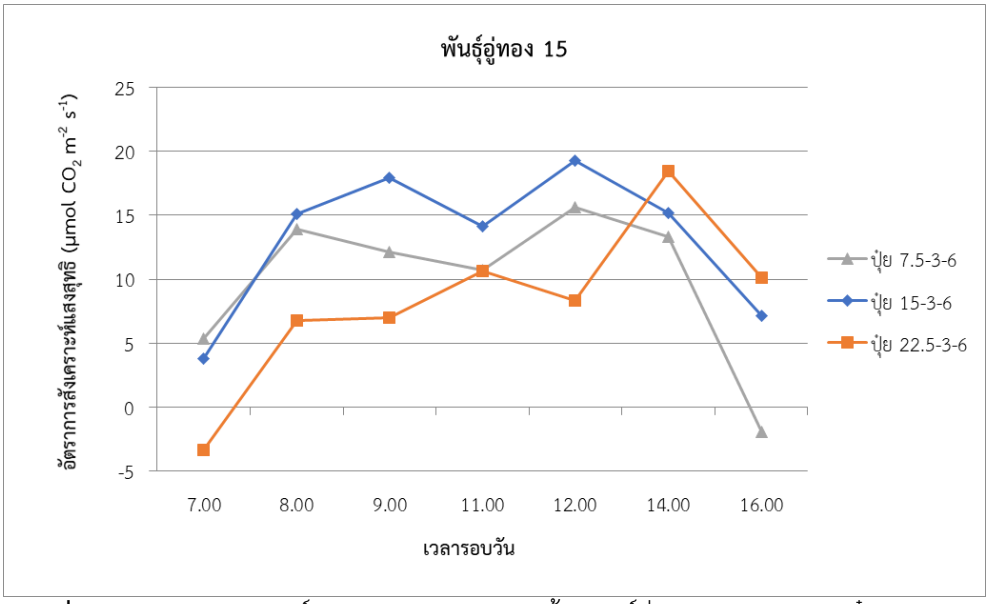
เริ่มจาก 1.889 ถึง 21.276 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} และค่อย ๆ ลดลงจนถึงเวลา 14.00 น. เฉลี่ย 14.946 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} จะเห็นว่า การให้ปุ๋ย 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ มีอัตราการแลกเปลี่ยน CO_2 สูงสุด เมื่อเทียบกับอัตราการให้ปุ๋ยระดับอื่น ๆ

รูปแบบของอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบในรอบวันของอ้อย พันธุ์อู่ทอง 15 พบว่า อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ เพิ่มขึ้นจาก 7.00 น. จนถึง 9.00 น. จาก 5.393 ถึง 12.138 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ที่อัตราปุ๋ย 7-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ และ จาก 3.820 ถึง 17.937 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ที่อัตราปุ๋ย 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ และลดลงที่ 11.00 น. เฉลี่ย 10.728 และ 14.159 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} เมื่อเวลา 12.00 น. ปุ๋ยอัตรา 7-3-6 และ 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิสูงสุด ถึง 15.610 และ 19.308 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ในขณะที่อัตราปุ๋ย 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิเพิ่มขึ้นจาก 7.00 น. จนถึง 11.00 น. จาก -3.324 ถึง 10.677 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} แสดงว่าการให้ปุ๋ย อัตรา 22.5-3-6 กก.N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ช่วยรักษาอัตราการสังเคราะห์แสงในช่วงนี้ได้ดี จากนั้น ที่เวลา 12.00 น. อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิลดลง เฉลี่ย 8.321 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} และเพิ่มขึ้นอีกครั้งที่เวลา 14.00 น. เฉลี่ย 18.435 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} สรุปได้ว่า พันธุ์อู่ทอง 15 การให้ปุ๋ยที่ อัตรา 15-3-6 กก.N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ให้อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิสูงสุด เฉลี่ย 19.305 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ที่เวลา 12.00 น. (ภาพที่ 5)

อัตราการสังเคราะห์แสงของใบอ้อย ที่อายุ 6 เดือนหลังปลูก จะเริ่มตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้เวลา 7.00 น. โดยสัมพันธ์กับความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นและจะเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงที่สุดในช่วงเวลา 08.00 – 14.00 น. หลังจากนั้นอัตราการสังเคราะห์แสงจะลดลง ดังนั้นพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงสุดในกลุ่มนี้ คือ พันธุ์ขอนแก่น 3 ร่วมกับการให้ปุ๋ยที่อัตรา 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ โดยมีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบสูงสุด เฉลี่ย 21.276 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} รองลงมาเป็น พันธุ์อู่ทอง 15 ร่วมกับการให้ปุ๋ยที่อัตรา 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ มีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบ เฉลี่ย 19.308 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ช่วงเวลาที่ต้นอ้อยตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงสุด คือ เวลา 09.00-14.00 น. จะเห็นว่าพันธุ์อ้อยแต่ละพันธุ์มีอัตราการสังเคราะห์แสงไม่เท่ากัน เนื่องจากอัตราการสังเคราะห์แสงของพืชนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ชนิดและปริมาณรงควัตถุในใบพืช สภาพภูมิอากาศ (ความเข้มแสง อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ) (ธีรโชติ และคณะ, 2556)



ภาพที่ 4 อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิในรอบวันของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และอัตราปุ๋ย (กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ในดินร่วนเหนียว ที่อายุ 6 เดือนหลังปลูก



ภาพที่ 5 อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิในรอบวันของอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 และอัตราปุ๋ย (กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ในดินร่วนเหนียว ที่อายุ 6 เดือนหลังปลูก

4. ปริมาณมวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งส่วนต่าง ๆ ของอ้อย

การจัดการปุ๋ยที่ต่างกันไม่มีผลต่อการสะสมมวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งในส่วนต่าง ๆ ของอ้อยปลูกพันธุ์ขอนแก่น 3 และอู่ทอง 15 ที่อายุเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน จากตารางที่ 2 จะเห็นว่าใส่ปุ๋ยเคมี 7-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ร่วมกับอ้อยปลูกทั้ง 2 พันธุ์ ส่งผลให้ปริมาณมวลชีวภาพในแต่ละส่วนไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยเคมี 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ (1 เท่า ตามค่าวิเคราะห์ N) พบว่า มวลชีวภาพส่วนใหญ่จะถูกสะสมไว้ในส่วนของลำ เฉลี่ย 76 % รองลงมา คือ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้งเฉลี่ย 8 8 4 และ 4 % ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของประสิทธิ์ และสุนทรี (2554) รายงานว่า อ้อยสร้างมวลสะสมไว้ที่ลำเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ จนเป็นมวลส่วนที่มากที่สุดถึง 77 %

ตารางที่ 2 มวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด กาบแห้ง และมวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งรวมของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และอู่ทอง 15 ที่ปลูกในในดินร่วนเหนียว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ฤดูปลูกปี 2563 ที่อายุเก็บเกี่ยวที่มีการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนแตกต่างกัน

Biomass (ton/rai) (V)									
Fertilizer management (F)	Stalk			Fresh leaves			Dry leaves		
(kg N-P_2O_5-K_2O/rai)	KK3	UT15	Average	KK3	UT15	Average	KK3	UT15	Average
7-3-6	8.31	8.32	8.31	1.05	0.72	0.89	0.79	1.06	0.93
15-3-6	8.77	7.56	8.17	0.90	0.88	0.89	0.78	0.57	0.67
22.5-3-6	8.04	10.10	9.07	0.99	0.84	0.92	0.85	1.11	0.98
Average	8.37	8.66	8.52	0.98	0.81	0.90	0.81	0.91	0.86
F-Test	Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns			Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns			Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns		
CV (%)	(V)	22.2		(V)	32.1		(V)	11.6	
	(F)	18.4		(F)	16.9		(F)	23.8	

Biomass (ton/rai) (V)									
Fertilizer management (F)	Fresh leaves sheath			Dry leaves sheath			Total		
(kg N-P_2O_5-K_2O/rai)	KK3	UT15	Average	KK3	UT15	Average	KK3	UT15	Average
7-3-6	0.57	0.41	0.49	0.34	0.64	0.49	11.06	11.15	5.95
15-3-6	0.52	0.47	0.49	0.37	0.52	0.45	11.34	10.00	6.83
22.5-3-6	0.47	0.54	0.51	0.38	0.71	0.55	10.73	13.30	7.33
Average	0.52	0.47	0.49	0.36	0.63	0.49	11.05	11.48	11.28
F-Test	Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns			Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns			Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns		
CV (%)	(V)	30.0		(V)	28.6		(V)	20.6	
	(F)	20.2		(F)	23.1		(F)	15.7	

หมายเหตุ ^{ns} ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5. การกักเก็บคาร์บอนในอ้อย

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่ต่างกัน ไม่ส่งผลให้การกักเก็บคาร์บอนในอ้อยในส่วนต่าง ๆ ที่อายุเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 3 แต่ลักษณะของพันธุ์อ้อยมีผลให้ปริมาณการกักเก็บคาร์บอนในส่วนของกาบใบแห้งแตกต่างกัน โดยกาบใบแห้งอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 สามารถกักเก็บคาร์บอนได้มากกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 เฉลี่ย 0.28 และ 0.16 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาตลอดอายุการปลูกอ้อยทั้งสองพันธุ์ สามารถกักเก็บคาร์บอนทั้งหมด เฉลี่ย 5.12 ตัน C/ไร่ เมื่อมีการให้ปุ๋ยอัตรา 15-3-6 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ ที่ระยะเก็บเกี่ยวอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีการกักเก็บคาร์บอนสูงสุด เฉลี่ย 5.10 ตัน C/ไร่ ส่วนพันธุ์อู่ทอง 15 ที่อัตราปุ๋ย 22.5-3-6 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ เฉลี่ย 6.09 ตัน C/ไร่ สำหรับกรรมวิธีที่มีการกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดต่ำที่สุด คือ การใช้พันธุ์อู่ทอง 15 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 15-3-6 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ ให้ปริมาณกักเก็บคาร์บอนเพียง 4.55 ตัน C/ไร่ ทั้งนี้อัตราการกักเก็บคาร์บอนจะแตกต่างกันตามการจัดการปุ๋ย (Watcharapirak and Pattanakiat, 2009) เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ย พบว่า การปลูกอ้อย 1 ฤดูปลูก อ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 สามารถกักเก็บคาร์บอนมากกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 (ภาพที่ 6 - 7) สำหรับการดูดซับ CO_2 ของอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ ซึ่งให้ค่าการดูดซับ CO_2 ในทำนองเดียวกันกับการกักเก็บคาร์บอน พบว่า อ้อยจะค่อย ๆ เพิ่มการดูดซับ CO_2 ตามการเจริญเติบโตของพืช ทั้งนี้กรรมวิธีการใช้พันธุ์อู่ทอง 15 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 22.5-3-6 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ สามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากที่สุด เฉลี่ย 22.33 ตัน CO_2/ไร่ สอดคล้องกับปริมาณการกักเก็บคาร์บอนในอ้อย แสดงดังภาพที่ 5 ทั้งนี้ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยปลูกในพื้นที่ 1 ไร่ ในส่วนต่าง ๆ ของอ้อยแต่ละพันธุ์ แสดงดังตารางที่ 2 พันธุ์ขอนแก่น 3 มีศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนในส่วนของลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง เฉลี่ย 3.77 0.44 0.37 0.24 และ 0.16 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ หรือสามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 18.26 ตัน CO_2/ไร่ คิดเป็นส่วนของลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง เป็น 13.82 1.61 1.36 0.88 และ 0.59 ตัน CO_2/ไร่ ส่วนพันธุ์อู่ทอง 15 กักเก็บคาร์บอนในส่วนของลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง เฉลี่ย 4.00 0.36 0.41 0.21 และ 0.28 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ หรือสามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 19.29 ตัน CO_2/ไร่ คิดเป็นส่วนของลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง เป็น 14.67 1.32 1.50 0.77 และ 1.03 ตัน CO_2/ไร่ จากตารางจะเห็นว่าอ้อยทั้งสองพันธุ์มีศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนและดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ส่วนใหญ่อยู่ในส่วนของลำ เนื่องจากอ้อยเป็นพืชที่มีลำต้นสูง 2-3 เมตร จึงสามารถเก็บชีวมวลและคาร์บอนไว้ในลำได้มากกว่าส่วนอื่น ๆ ทั้งนี้ปริมาณกักเก็บคาร์บอนสัมพันธ์เป็นสัดส่วนโดยตรงกับมวลชีวภาพ เนื่องจากชีวมวลนั้นประกอบด้วยคาร์บอนอยู่ร้อยละ 50 (Watcharapirak and Pattanakiat, 2009)

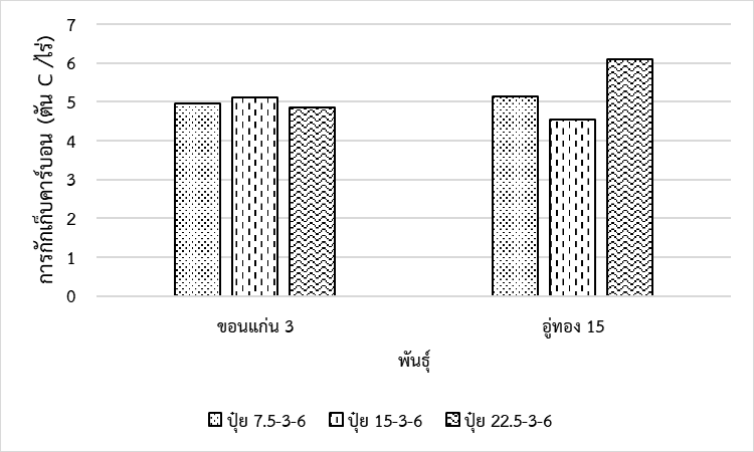
ตารางที่ 3 การกักเก็บคาร์บอนในลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด กาบแห้ง และการกักเก็บคาร์บอนรวมของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และอู่ทอง 15 ที่ปลูกในในดินร่วนเหนียว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ฤดูปลูกปี 2563 ที่อายุเก็บเกี่ยวที่มีการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนแตกต่างกัน

Carbon Storage (ton C/rai) (V)									
Fertilizer management (F)	Stalk			Fresh leaves			Dry leaves		
(kg N-P_2O_5-K_2O/rai)	KK3	UT15	Average	KK3	UT15	Average	KK3	UT15	Average
7-3-6	3.74	3.87	3.80	0.47	0.31	0.39	0.36	0.48	0.42
15-3-6	3.96	3.46	3.71	0.41	0.39	0.40	0.35	0.26	0.31
22.5-3-6	3.65	4.66	4.16	0.44	0.37	0.40	0.38	0.50	0.44
เฉลี่ย	3.78	4.00	3.98	0.44	0.36	0.40	0.36	0.41	0.39
F-Test	Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns			Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns			Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns		
CV (%)	(V)	23.3		(V)	32.8		(V)	14.1	
	(F)	17.8		(F)	17.8		(F)	25.7	

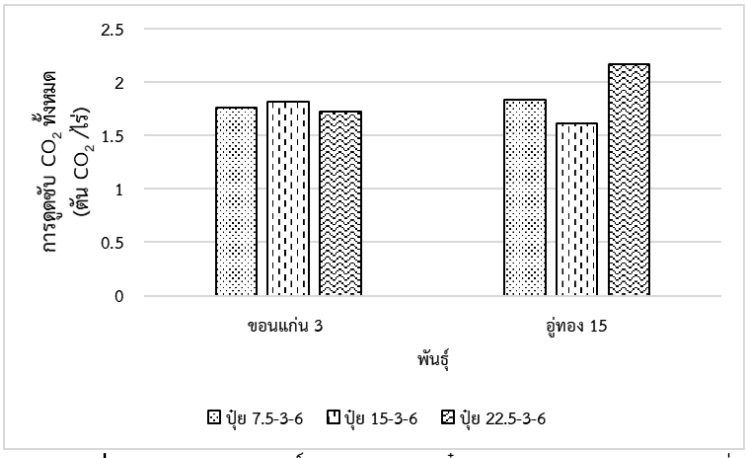
Carbon Storage (ton C/rai) (V)									
Fertilizer management (F)	Fresh leaves sheath			Dry leaves sheath			Total		
(kg N-P_2O_5-K_2O/rai)	KK3	UT15	Average	KK3	UT15	Average	KK3	UT15	Average
7-3-6	0.26	0.18	0.22	0.15	0.28	0.22	4.97	5.14	5.05
15-3-6	0.23	0.21	0.22	0.16	0.23	0.20	5.12	4.55	4.84
22.5-3-6	0.22	0.24	0.23	0.17	0.32	0.24	4.86	6.09	5.47
เฉลี่ย	0.24	0.21	0.22	0.16b	0.28a	0.22	4.98	5.26	5.12
F-Test	Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns			Varieties (V) = *, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns			Varieties (V) = ns, Fertilizers (F) = ns (V) x (F) = ns		
CV (%)	(V)	28.2		(V)	28.7		(V)	22.0	
	(F)	20.0		(F)	24.8		(F)	15.7	

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันทางด้านสดมภ์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

^{ns} ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



ภาพที่ 6 ผลของพันธุ์และอัตราปุ๋ย (กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ต่อการกักเก็บคาร์บอนของอ้อย ที่ปลูกในในดินร่วนเหนียว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ฤดูปลูกปี 2563 ที่อายุเก็บเกี่ยว



ภาพที่ 7 ผลของพันธุ์และอัตราปุ๋ย (กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ต่อการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของอ้อย ที่ปลูกในในดินร่วนเหนียว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ฤดูปลูกปี 2563 ที่อายุเก็บเกี่ยว

ตารางที่ 2 ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ในส่วนต่าง ๆ ของอ้อยปลูก ในพื้นที่ 1 ไร่

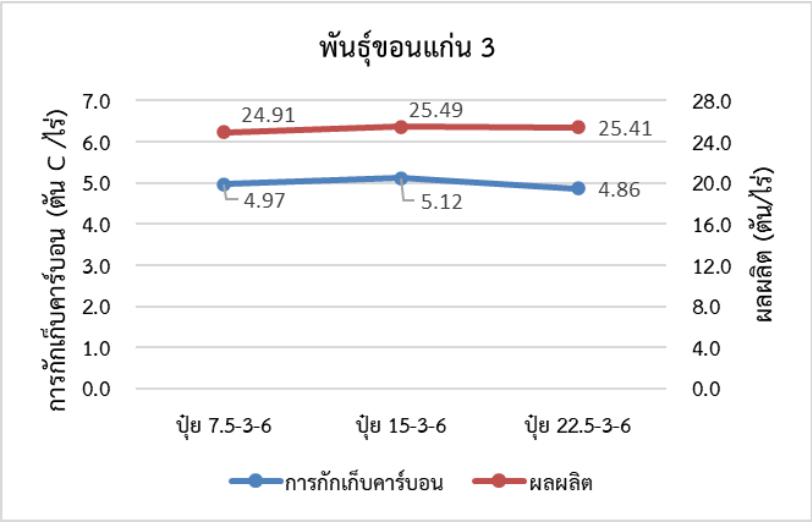
Part of sugarcane	KK3		UT15	
	Carbon Storage (ton C/rai)	CO_2 absorption (ton CO_2/rai)	Carbon Storage (ton C/rai)	CO_2 absorption (ton CO_2/rai)
Stalk	3.77	13.82	4.00	14.67
Fresh leaves	0.44	1.61	0.36	1.32
Dry leaves	0.37	1.36	0.41	1.50
Fresh leaves sheath	0.24	0.88	0.21	0.77
Dry leaves sheath	0.16	0.59	0.28	1.03
Total	4.98	18.26	5.26	19.29

Note: 1/ การกักเก็บคาร์บอน = น้ำหนักแห้ง x ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน/100

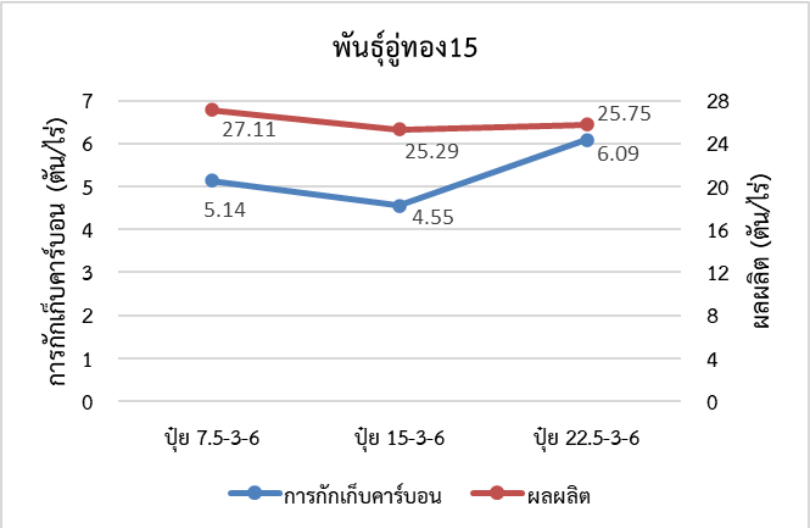
2/ การกักเก็บ CO_2 = การกักเก็บคาร์บอน x 44/12 (1 ตันของคาร์บอน = 44/12 หรือ 3.67 ตันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์)

6. ความสัมพันธ์การจัดการปุ๋ย ผลผลิต และการกักเก็บคาร์บอนของอ้อย

อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ใส่ปุ๋ยอัตรา 15-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ มีการกักเก็บคาร์บอนและให้ผลผลิตสูงที่สุด เฉลี่ย 5.12 ตัน C/ไร่ และ 25.49 ตัน/ไร่ ตามลำดับ (ภาพที่ 8) แสดงว่าการให้ปุ๋ยตามอัตราคำแนะนำ ส่งผลให้มีประสิทธิภาพการกักเก็บคาร์บอนและให้ผลผลิตมากกว่าการใส่ปุ๋ยในกรรมวิธีอื่น ขณะที่อ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 พบมีทิศทางตรงกันข้าม โดยการให้ปุ๋ยอัตรา 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ มีการกักเก็บคาร์บอนสูงสุด เฉลี่ย 6.09 ตัน C/ไร่ แต่เมื่อพิจารณาถึงปริมาณผลผลิต พบว่า มีปริมาณผลผลิต เฉลี่ย 25.75 ตัน/ไร่ ซึ่งน้อยกว่าการจัดการปุ๋ยที่อัตรา 7-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ที่ให้ผลผลิตเฉลี่ย 27.11 ตัน/ไร่ (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 8 การกักเก็บคาร์บอนในชีวมวลของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ปลูกในดินร่วนเหนียวภายใต้การจัดการปุ๋ยไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 3 ระดับ



ภาพที่ 9 การกักเก็บคาร์บอนในชีวมวลของอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 ที่ปลูกในดินร่วนเหนียวภายใต้การจัดการปุ๋ยไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 3 ระดับ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษามวลชีวภาพและกักเก็บคาร์บอนของอ้อยในพื้นดินร่วนเหนียว สามารถสรุปได้ว่า ลักษณะของพันธุ์อ้อยที่อายุ 6 เดือน ใบอ้อยมีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิเริ่มตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงที่สุดในช่วงเวลา 08.00-14.00 น. มีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบสูงสุด เฉลี่ย 21.276 μmol CO2 m^{-2} s^{-1} สัดส่วนมวลชีวภาพที่อายุเก็บเกี่ยวส่วนใหญ่สะสมไว้ในส่วนของลำ เฉลี่ย 76 % เมื่อพิจารณาศักยภาพการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยตลอดฤดูปลูก อ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 สามารถกักเก็บคาร์บอนมากกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 โดยกักเก็บคาร์บอน เฉลี่ย 5.26 และ 4.98 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ คิดเป็นการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เฉลี่ย 18.26 และ 19.29 ตัน CO_2/ไร่ โดยการใช้พันธุ์อู่ทอง 15 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 22.5-3-6 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ สามารถกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดสูงที่สุด เฉลี่ย 6.09 ตัน C/ไร่ หรือ คิดเป็นการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เฉลี่ย 22.3 ตัน CO_2/ไร่ จะเห็นว่า การจัดการปุ๋ย และการเลือกพันธุ์ที่เหมาะสมจะช่วยยกระดับผลผลิตอ้อยและการกักเก็บคาร์บอนให้สูงขึ้นได้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่างพื้นที่ เพื่อศึกษาพันธุ์และการจัดการปุ๋ยที่เหมาะสม สำหรับเพิ่มศักยภาพการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่อื่น ๆ ในการเลือกพันธุ์พืชและการจัดการที่เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของแต่ละพื้นที่

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การจัดการและการผลิตอ้อยที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อให้เป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
2. การวางแผนจัดการระบบการผลิตพืชที่สามารถช่วยลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. ***คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ.*** กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมวิชาการเกษตร. 2564. ***คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ.*** กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2563. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.awsobservation.tmd.go.th/web/main/index.asp (6 เมษายน 2564)

จิดาภา คงหินไธสง พัชริน ส่งศรี และนันทวุฒิ จงรั้งกลาง. 2560. รูปแบบการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาของอ้อยต่อการจำลองความแห้งแล้ง ในระบบการปลูกอ้อยข้ามแล้ง. ***วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร.*** 25(2): 102-112.

ธีรโชติ ฮีสวัสดิ์ พัชรียา บุญกอแก้ว ณัฏฐ พิชกรรม และประศาสตร์ เกื้อมณี. 2556. **การศึกษาการแลกเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในรอบวันของสับปะรดสีพันธุ์การค้าบางพันธุ์.** เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51: สาขาพืช. กรุงเทพฯ. หน้า 505-511

ประสิทธิ์ ขุนสนิท และสุนทรี ยิ่งชัชวาล. 2554. มวลชีวภาพของอ้อยพันธ์ K95-84. ***วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.*** 42(3): 485-493.

ปรีชา พราหมณีย์. 2547. โปรแกรมคำแนะนำการใช้ปุ๋ยเคมีในอ้อยตามคุณสมบัติดิน Canefert 1.0. *ใน* **รายงานผลโครงการวิจัยอ้อย.** สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร. 25 หน้า.

วีระพล พลรักดี ทักษิณา ศันสยะวิชัย เพียงเพ็ญ ศรวัต เทวา เมาลานนท์ ปรีชา กาเพ็ชร และอุดม เลียบวัน. 2554. ขอนแก่น 3 พันธุ์อ้อยสำหรับภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. ***วารสารวิชาการเกษตร.*** 29(3): 283-301.

สำนักคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2563. “รายงานสถานการณการปลูกออยปการผลิต 2562/63.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.ocsb.go.th/upload/journal/fileupload/923-1854.pdf (7 เมษายน 2564)

Jangpromma, N., S. Thammasirirak, P. Jaisil, and P. Songsri. 2012. Effects of drought and recovery from drought stress on above ground and root growth, and water use efficiency in sugarcane (*'Saccharum officinarum'L.).* **Aust. J. Crop Sci.** 6(8): 1298-1304.

Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1983. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic matter. *In* **Method of soil analysis: Part 2 Chemical and Microbiology Properties 9.** Pp.539-579.

Parr, J. F. and L.A. Sullivan. 2007. Sugarcane the champion crop at carbon sequestration.

Shahid, M., A.K. Nayak, C. Puree, R. Tripathi, B. Lal, P. Gautam, P. Bhattacharya, S. Mohantry, A. Kumar, B.B. Panda, U. Kumar, and A.K. Shukla. 2017. Carbon and nitrogen fractions and stocks under 41 years of chemical and organic fertilization in a sub-tropical rice soil. ***Soil and Tillage Research.*** 170: 136-146.

Sreewarome, A., S. Saensupo, P. Prammannee and P. Weerathwom. 2007. Effect of rate and split application of nitrogen on agronomic characteristics, cane yield and juice quality. Prog. Int. Soc. Sugar Cane Technol. 26: 465-469.

Tenelli, S., R. Otto, R.O. Bordonal and J.L.N Carvalho. 2021. How do nitrogen fertilization and cover crop influence soil CN stocks and subsequent yields of sugarcane?. ***Soil and Tillage Research.*** 211: 104999.

Watcharapirak, W and S. Pattanakiat. 2009. The Estimation of Carbon Storages in Various Growth Stages of Sugarcane in Si Sat Chanalai District, Sukhothai Province, Thailand. **Environ. Nat. Resour. J.** 7(2): 72-81.

การประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยในระดับพื้นที่
Assessment of Aboveground Biomass and Carbon Storage of Sugarcane at Production Area Level

นุชนาฏ ตันวรรณ *สายน้ำ อุดพ้วย* *ปรีชา กาเพ็ชร*[1] *วลัยพร ศะศิประภา*[2]
อุดมศักดิ์ ดวนมีสุข[3] *ไชยา บุญเลิศ*[4]
Nutchanart Tanwan *Sainam Udpuay* *Preecha Kapetch*[1] *Walaiporn Sasiprapa*[2]
Udomsak Daunmeesuk[3] *Chaiya Boonlert*[4]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Estimation of aboveground biomass and carbon storage on sugarcane plantation at Nakhon Sawan and Suphan Buri province was proposed to explore farmer's management on sugarcane carbon absorption. This experiment was surveyed in farmer's fields between December 2020 and February 2021. The survey trial was planned by selecting a simple random sampling to collect data on the management of the sugarcane plantation. The sugarcane at the age of 10-12 months after planting were harvested for measuring total biomass and analyzing organic carbon content.

The results of the survey on a sugarcane plantation revealed that farmers in both districts are the most cultivated KK3 sugarcane varieties, followed by KPK98-51 CSB13 K200 UT15 UT14 LK92-11 and KK2, respectively. The application of chemical fertilizer twice per cane growing season gave a biomass accumulation in the range of 3.30-13.28 tons/rai at Nakhon Sawan province and Suphan Buri in the range of 2.51-7.80 tons/rai. The carbon dioxide absorption potential of sugarcane in an area of one rai was calculated an average of 11.50 tons CO_2/rai at Nakhon Sawan province, and it was accounted for fresh leaf, dry leaf, fresh leaf sheath, dried leaf sheath and stem were 1.23 0.89 0.30 0.53 and 8.55 tons CO_2/rai, respectively. While Suphan Buri Province, sugarcane plantation can absorb carbon dioxide of 7.84 tons CO_2/rai.

Keywords : Carbon dioxide absorption, Carbon storages, Sugarcane, Production area

[1]ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่
[1]Chiang Mai field crops research center
[2]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร
[2]Information technology center
[3]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี
[3]Lopburi seed research and development center
[4]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์
[4]Nakhonsawan agricultural research and development center

บทคัดย่อ

สำรวจชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่การผลิตอ้อย จังหวัดนครสวรรค์ และสุพรรณบุรี มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการจัดการแปลงเบื้องต้นของเกษตรกรต่อศักยภาพการกักเก็บคาร์บอน ดำเนินการสำรวจในไร่เกษตรกร ระหว่างเดือน ธันวาคม 2563 - กุมภาพันธ์ 2564 โดยวางแผนการสำรวจแบบการสุ่มแบบง่าย เก็บข้อมูลการจัดการแปลงอ้อย และเก็บตัวอย่างพืชในช่วงที่อ้อยอายุ 10-12 เดือน วิเคราะห์มวลชีวภาพ และปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ผลการสำรวจพื้นที่การผลิตอ้อย พบว่า เกษตรกรทั้งสองเขตเลือกปลูกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มากที่สุด รองลงมาเป็นพันธุ์ KPK98-51 CSB13 K200 UT15 UT14 LK92-11 และ KK2 เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยส่วนใหญ่เลือกใส่ปุ๋ยเคมี 2 ครั้งต่อฤดูปลูกอ้อย โดยอ้อย 1 ฤดูปลูกมีการสะสมมวลชีวภาพ อยู่ในช่วง 3.30 – 13.28 ตัน/ไร่ ในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ และจังหวัดสุพรรณบุรี อยู่ในช่วง 2.51-7.80 ตัน/ไร่ ทั้งนี้ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของต้นอ้อย ในพื้นที่ 1 ไร่ ในส่วนต่าง ๆ ของอ้อย จังหวัดนครสวรรค์ มีปริมาณการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 11.50 ตัน CO_2/ไร่ คิดเป็นส่วนของใบสด ใบแห้ง กาบใบสด กาบใบแห้ง และลำ เป็น 1.23 0.89 0.30 0.53 และ 8.55 ตัน CO_2/ไร่ ตามลำดับ ส่วนจังหวัดสุพรรณบุรี เท่ากับ 7.84 ตัน CO_2/ไร่

คำหลัก : การดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ กักเก็บคาร์บอน อ้อย ระดับพื้นที่

คำนำ

ภาวะโลกร้อนเป็นปัญหาที่โลกกำลังเผชิญ ซึ่งมีสาเหตุเกิดจากก๊าซเรือนกระจกที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้อุณหภูมิของโลกเพิ่มสูงขึ้น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นหนึ่งในก๊าซที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก (ชัญษา และคณะ, 2559) พื้นที่การเกษตรสามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศ โดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและนำมาสะสมในรูปของชีวมวล ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อย ปีการผลิต 2562/2563 ประมาณ 11.69 ล้านไร่ และมีปริมาณอ้อยที่ส่งเข้าโรงงานประมาณ 77 ล้านตัน ผลผลิตอ้อย เฉลี่ย 7.85 ตันต่อไร่ จังหวัดที่มีการปลูกอ้อยมากกว่า 500,000 ไร่ ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร นครสวรรค์ กาญจนบุรี อุดรธานี นครราชสีมา ลพบุรี ขอนแก่น สุพรรณบุรี ชัยภูมิ และเพชรบูรณ์ (สำนักคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2563) ทั้งนี้ประเทศไทยเป็นประเทศเดียวในภูมิภาคเอเชียที่ผลิตน้ำตาลทรายได้เกินความต้องการในประเทศ มีการส่งน้ำตาลไปจำหน่ายต่างประเทศ 5.4 ล้านตัน (สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน, 2564) พื้นที่การปลูกอ้อยเหล่านี้สามารถเป็นแหล่งการกักเก็บคาร์บอนไว้ในเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากอ้อยมีส่วนประกอบที่เรียกว่า Phytoliths ซึ่งเป็นซิลิกาที่ห่อหุ้มคาร์บอนอินทรีย์อยู่ภายใน มักพบในเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะในหญ้าอาหารสัตว์และพืชไร่ อ้อยสามารถดูดซับ CO_2 ได้มากถึง 0.66 ตันต่อเฮกตาร์ต่อปี ในขณะที่พืชผลอื่น ๆ (โดยเฉพาะพืชตระกูลถั่ว) สามารถกักเก็บ CO_2 ได้ค่อนข้างน้อย ดังนั้นประโยชน์ของการปลูกอ้อยนั้นไม่ได้จำกัดแค่เพียงผลผลิตที่ได้อย่างน้ำตาลเท่านั้น ยังรวมถึงด้านสิ่งแวดล้อมที่ได้จากกักเก็บปริมาณคาร์บอนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากผลผลิตของอ้อยเอง (Parr and Sullivan, 2007) ซึ่งกิจกรรมการเกษตรส่งผลให้เกิดการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกที่สำคัญ ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน และไนตรัสออกไซด์ การใช้พื้นที่ทำการเพาะปลูกพืชติดต่อกันมาโดยไม่มีการเพิ่มอินทรียวัตถุลงในดิน การไถพรวน และการเตรียมดินแต่ละครั้งเป็นการเร่งให้อินทรียวัตถุสลายตัวเร็วขึ้น ดังนั้นการปลูกอ้อยตามแนวการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสามารถเพิ่มศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอน และมีส่วนช่วยในการบรรเทาการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Sekajugo, 2013; IPCC, 2007) ทั้งนี้ข้อมูลการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยในปัจจุบันยังมีค่อนข้างน้อย การประเมินการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยจึงเป็นสิ่งสำคัญ

จากเหตุผลดังกล่าวเป็นที่มาของการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ฐานข้อมูลมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่การผลิตอ้อย ขอบเขตระดับจังหวัด แปลงเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์ และสุพรรณบุรี เพื่อประเมินศักยภาพของวิธีการจัดการ และพันธุ์อ้อยต่อการกักเก็บคาร์บอนในระดับพื้นที่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช เช่น ถุงกระดาษ ถุงตาข่าย วัสดุวิทยาศาสตร์ และ สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ดินและพืช

วิธีการ

ดำเนินการสำรวจเก็บตัวอย่างอ้อยในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ และสุพรรณบุรี สัมภาษณ์เกษตรกร บันทึกข้อมูลสภาพพื้นที่แปลงเกษตรกร การจัดการ ประเมินการสะสมมวลชีวภาพของอ้อยแปลงเกษตรกร ทำการเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่าย (Simple Random Sampling : SRS) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างอ้อยที่อายุ 10 – 12 เดือนจำนวน 2 กอต่อจุดตัวอย่าง และประเมินการกักเก็บคาร์บอน จากการวิเคราะห์อินทรียคาร์บอนในพืช โดยวิธี Walkley and Black (Nelson and Sommers, 1982) การกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพเหนือดิน โดยมีสมการ ดังนี้

$$\text{การกักเก็บคาร์บอน (ตันคาร์บอน/ไร่)} = \frac{\text{มวลชีวภาพ (ตัน/ไร่)} \times \text{ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (\%)}}{100}$$

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลสภาพพื้นที่แปลงเกษตรกร ได้แก่ พันธุ์ วันที่เก็บข้อมูล การจัดการแปลง ปริมาณน้ำฝน เป็นต้น บันทึกปริมาณมวลชีวภาพของทั้งต้น (เหนือพื้นดิน) ปริมาณคาร์บอนสะสมทั้งต้น และข้อมูลการกักเก็บคาร์บอนของอ้อย (ตันคาร์บอน/ไร่)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2563 - สิ้นสุด กันยายน 2564

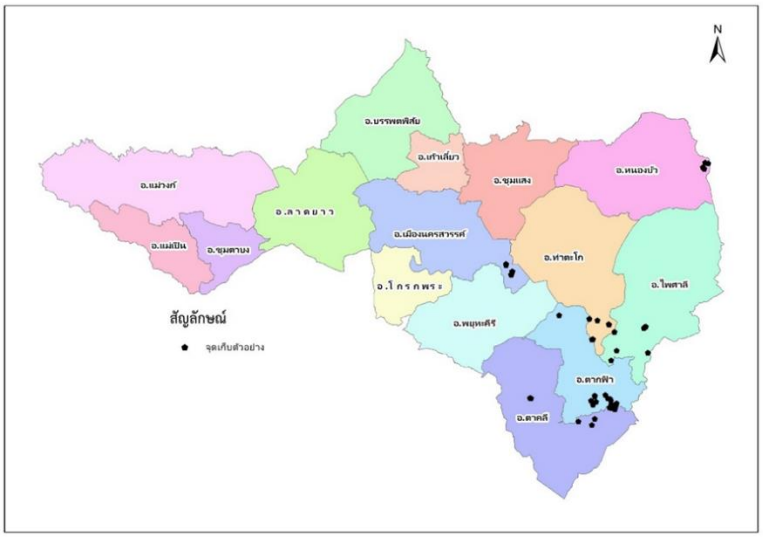
สถานที่ทำการทดลอง

- พื้นที่ปลูกอ้อย จังหวัดนครสรรค์ และสุพรรณบุรี
- กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. พื้นที่สำรวจแปลงอ้อย

จากการสำรวจพื้นที่ปลูกอ้อย เขตจังหวัดนครสวรรค์ และสุพรรณบุรี ช่วงเดือนธันวาคม 2563 – กุมภาพันธ์ 2564 ในช่วงเปิดหีบอ้อยตามฤดูการผลิต จุดสำรวจเก็บตัวอย่างแปลงอ้อย ในพื้นที่แต่ละอำเภอของจังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 50 จุดตัวอย่าง แสดงดังภาพที่ 1 โดยมีการเก็บตัวอย่างพืช และตัวอย่างดิน พร้อมทั้งสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกอ้อย ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตาคลี อำเภอไพศาลี อำเภอตากฟ้า อำเภอท่าตะโก และ อำเภอหนองบัว ส่วนจุดสำรวจเก็บตัวอย่างอ้อยและตัวอย่างดิน ในจังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 48 จุดตัวอย่าง แสดงดังภาพที่ 2 ได้แก่ อำเภอด่านช้าง และอำเภออู่ทอง

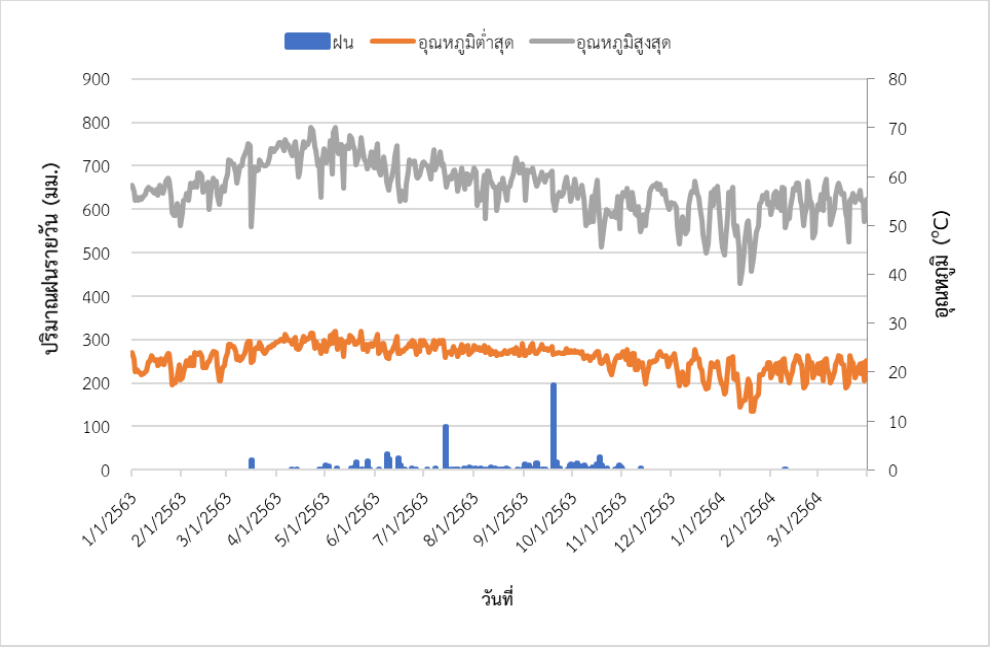


ภาพที่ 1 แผนที่จุดเก็บตัวอย่างอ้อย จังหวัดนครสววรรค์

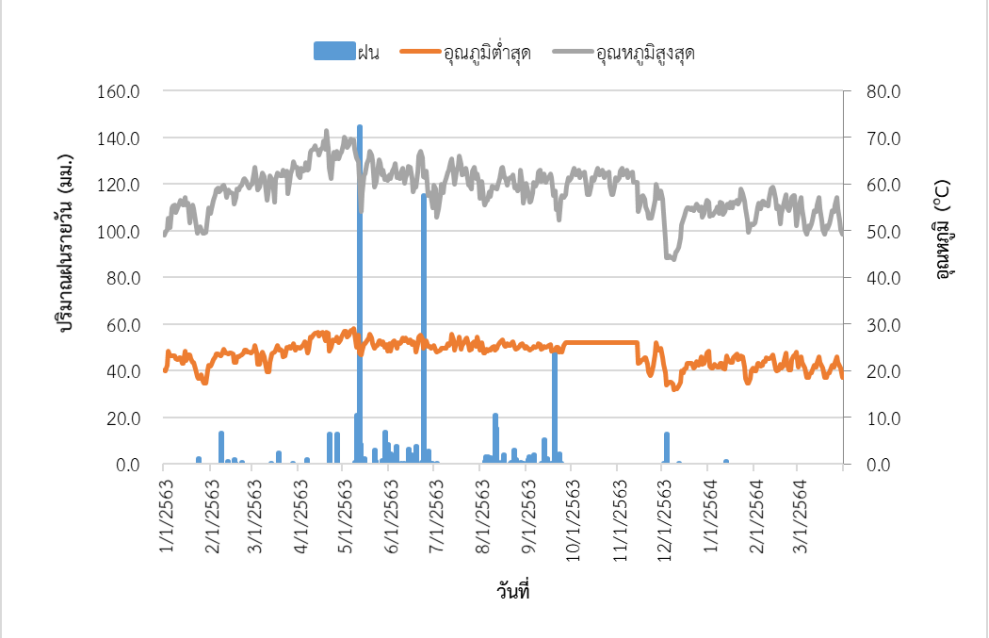
ภาพที่ 2 แผนที่จุดเก็บตัวอย่างอ้อย จังหวัดสุพรรณบุรี

2. สภาพภูมิอากาศพื้นที่สำรวจอ้อย

ข้อมูลอุตุนิยมวิทยาในฤดูปลูกอ้อย ช่วงเดือน มกราคม 2563 - มีนาคม 2564 ที่ทำการสำรวจ วัดจากสถานีอุตุนิยมวิทยาตากฟ้า อ.ตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ พบว่า อุณหภูมิสูงสุด เฉลี่ย 34.8 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 22.9 องศาเซลเซียส และปริมาณฝนรวม 843 มิลลิเมตร โดยปริมาณน้ำฝนตกสูงสุดในเดือนกันยายน 2563 รวม 308 มิลลิเมตร ไม่มีฝนตกเลยในเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ 2563 แสดงดังภาพที่ 3 ส่วนสถานีอุตุนิยมวิทยาอู่ทอง อ.อู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 35.0 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 24.0 องศาเซลเซียส และปริมาณฝนรวม 584.2 มิลลิเมตร ซึ่งต่ำกว่าปริมาณความต้องการน้ำของอ้อย ใช้รวม 2,150 มิลลิเมตรตลอดอายุฤดูปลูก (กรมวิชาการเกษตร, 2559) โดยปริมาณน้ำฝนตกสูงสุดในเดือนพฤษภาคม 2563 รวม 215 มิลลิเมตร ไม่มีฝนตกเลยในเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน 2563 (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิ ณ สถานีอุตุนิยมวิทยาตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือน มกราคม 2563 – มีนาคม 2564



ภาพที่ 4 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิ ณ สถานีอุตุนิยมวิทยาอู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือน มกราคม 2563 – มีนาคม 2564

3. การจัดการแปลงของอ้อย

ผลการสำรวจแปลงอ้อยของเกษตรกร จำนวน 50 ราย ในจังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนธันวาคม 2563 – กุมภาพันธ์ 2564 ในช่วงเก็บเกี่ยว ทั้งอ้อยตอและอ้อยปลูก พบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่ใส่ปุ๋ยเคมี จำนวน 2 ครั้งต่อฤดูปลูกอ้อย จำนวน 19 ราย โดยมีช่วงการใส่ปุ๋ยแต่ละครั้งที่แตกต่างกัน เช่น ครั้งที่ 1 บางรายใส่รองพื้นพร้อมปลูก หรือ เมื่ออ้อยอายุ 1 -2 เดือน และครั้งที่ 2 ใส่เมื่ออ้อยอายุ 3-7 เดือน เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอ้อย อายุพืชและจำนวนการไว้ตอรองลงมาเป็นการใส่ปุ๋ย 1 ครั้งต่อฤดูปลูก จำนวน 14 ราย โดยจะเลือกใส่ปุ๋ยเคมีเมื่ออ้อยอายุ 1 – 3 เดือนเป็นหลัก

ส่วนการใส่ปุ๋ยเคมีจำนวน 3 ครั้ง พบจำนวน 2 ราย ในอ้อยปลูก เกษตรกรเลือกใส่ครั้งที่ 1 รองพื้นพร้อมปลูก ครั้งที่ 2 เมื่ออ้อยอายุ 4 เดือน และครั้งที่ 3 เมื่ออ้อยอายุ 7 เดือน เป็นต้น แต่ก็ยังพบว่ามีเกษตรกรเลือกที่จะไม่ใส่ปุ๋ย จำนวน 1 ราย และไม่มีข้อมูลรายละเอียดการใส่ปุ๋ยจำนวน 14 ราย สำหรับเกรดปุ๋ยเคมีที่เกษตรกรเลือกใช้สำหรับการใช้ปุ๋ยครั้งที่ 1 ได้แก่ ปุ๋ยเคมี 20-8-20, 28-11-8, 15-15-15, 15-7-8, 18-6-6, 16-20-0, 46-0-0, 29-5-18 และ 21-7-18 เป็นต้น อัตราที่ใส่ ตั้งแต่ 25-50 กิโลกรัม/ไร่ ทั้งใส่ปุ๋ยเคมีชนิดเดียว และเลือกที่จะผสมปุ๋ยเคมีร่วมกัน เช่น การใส่ปุ๋ย 16-20-0 ร่วมกับ 46-0-0, 15-7-18 ร่วมกับ 18-6-6 เป็นต้น แต่ก็มีเกษตรกร 1 รายเลือกที่จะใส่ปุ๋ยอินทรีย์ครั้งที่ 1 แทนการใส่ปุ๋ยเคมี ส่วนการใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ได้แก่ ปุ๋ยเคมี 46-0-0, 22-13-18, 15-15-15, 29-5-18, 21-7-18 เป็นต้น อัตราการใส่ ตั้งแต่ 16-50 กิโลกรัม/ไร่ จะเห็นว่า เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยจากการสำรวจ ในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ มีการใส่ปุ๋ยเคมี 2 ครั้ง และเลือกใช้เกรดปุ๋ยหลากหลายให้แก่อ้อย

จากการการสำรวจและสัมภาษณ์เกษตรกร จำนวน 48 ราย ในจังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนธันวาคม 2563 – มีนาคม 2564 พบว่า เกษตรกรในพื้นที่นี้ส่วนใหญ่เลือกใส่ปุ๋ย 2 ครั้งต่อฤดูปลูกเช่นเดียวกับเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย จังหวัดนครสวรรค์ โดยมีช่วงการใส่ปุ๋ยเคมีแต่ละครั้ง ดังนี้ ครั้งที่ 1 ใส่รองพื้นก่อนปลูก หรือใส่เมื่ออ้อยอายุ 3 เดือน หรือระยะแตกหน่อที่มีฝนตกชุก ส่วนครั้งที่ 2 ใส่เมื่ออ้อยอายุ 9 เดือน หรือ ฝนตกชุก เป็นต้น รองลงมาเป็นการใส่ปุ๋ย 1 ครั้ง โดยเกษตรกรบางรายเลือกใช้ปุ๋ยอินทรีย์ เช่น ขี้หมูร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี หรือมีการเลือกใส่ปุ๋ยตามโฆษณาทางวิทยุ เป็นต้น สำหรับการใส่ปุ๋ยเคมี จำนวน 3 ครั้งต่อฤดูปลูกนั้น เกรดปุ๋ยเคมีที่เกษตรกรเลือกใช้ ได้แก่ ปุ๋ยเคมี 46-0-0, 21-7-8, 16-8-8, 21-0-0 เป็นต้น จะเห็นว่า เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยจากการสำรวจ ในพื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี มีการใส่ปุ๋ยเคมี 2 ครั้ง และเลือกใช้เกรดปุ๋ยหลากหลายให้แก่อ้อย

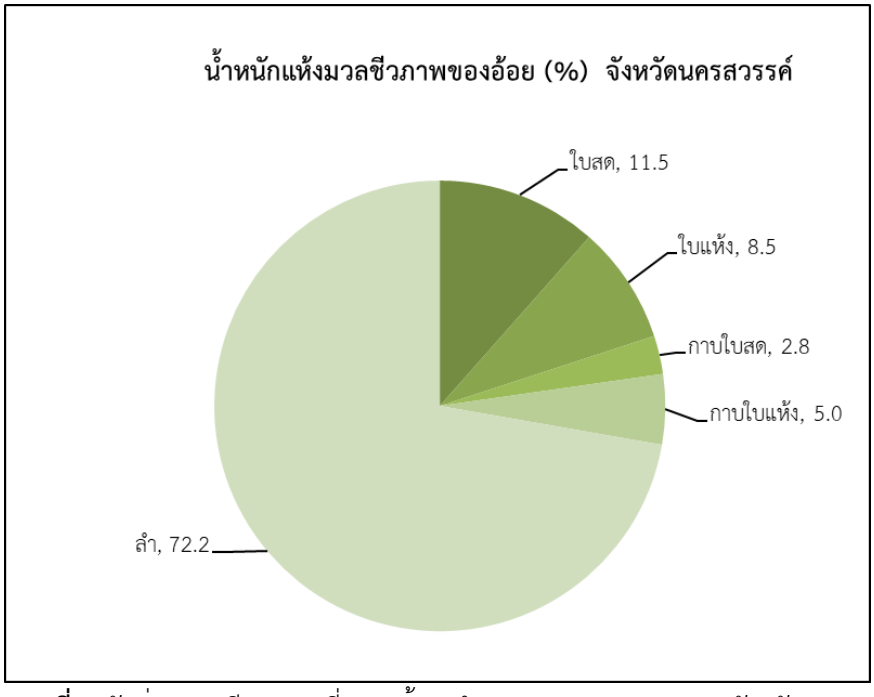
พันธุ์อ้อย ที่พบจากการสำรวจและสัมภาษณ์เกษตร จำนวน 50 รายในจังหวัดนครสวรรค์ พบว่า เกษตรกรปลูกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มากที่สุด จำนวน 31 ราย รองลงมาเป็นพันธุ์ KPK98-51 จำนวน 6 ราย พันธุ์ K200 และ CSB13 จำนวน 1 ราย และอ้อยคั้นน้ำ 1 ราย ตามลำดับ นอกจากนั้นเกษตรกรส่วนใหญ่ในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ ปลูกอ้อยโดยอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก ส่วนจังหวัดสุพรรณบุรี พันธุ์อ้อยขอนแก่น 3 เกษตรกรปลูกมากที่สุดเช่นกัน จำนวน 32 ราย รองลงมาเป็นพันธุ์ LK92-11, อู่ทอง 15, ขอนแก่น 2 และ อู่ทอง 14 ตามลำดับ และเกษตรกรในพื้นที่นี้มีการให้น้ำเสริมกับต้นอ้อย สรุปได้ว่า เกษตรกรผู้ปลูกอ้อย ทั้งในจังหวัดนครสวรรค์และสุพรรณบุรี ส่วนมากเลือกใส่ปุ๋ยเคมี 2 ครั้งต่อฤดูปลูกอ้อย โดยใช้พันธุ์ขอนแก่น 3 เป็นหลัก แต่การให้น้ำแตกต่างกัน พื้นที่สุพรรณบุรีมีการให้น้ำเสริมในการปลูกอ้อย ในขณะที่จังหวัดนครสวรรค์ปลูกอ้อยอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก

4. มวลชีวภาพของอ้อย

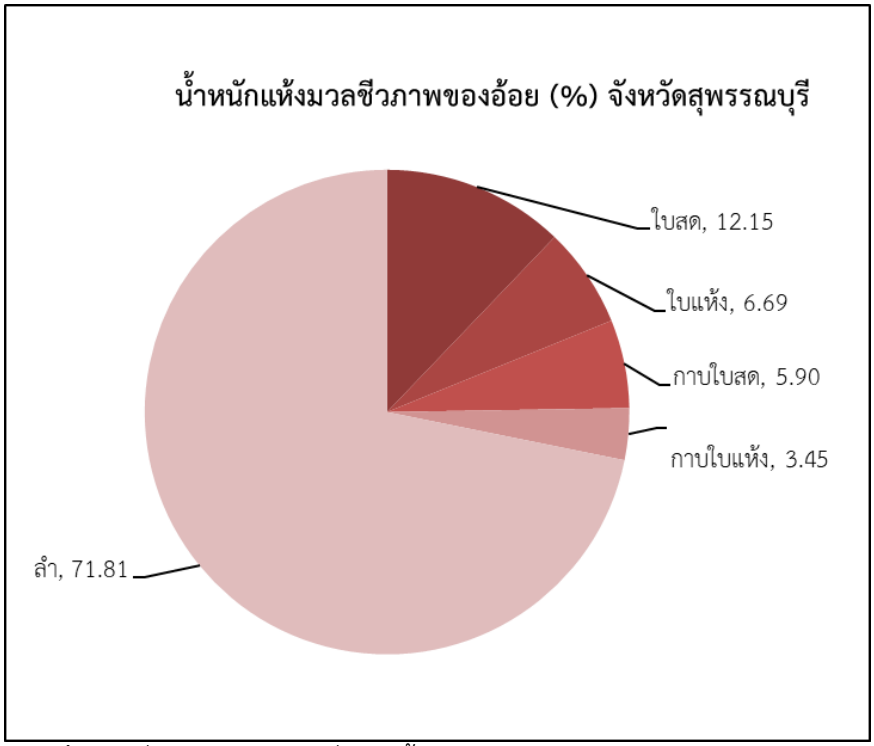
จากการสำรวจเก็บตัวอย่างอ้อย จำนวน 98 ตัวอย่าง และนำมาแยกเป็นส่วนของลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง นำไปอบแห้งหาน้ำหนักแห้งในแต่ละส่วนของอ้อย ในเขตพื้นที่ปลูกอ้อย จังหวัดนครสวรรค์ พบว่า อ้อย 1 ไร่มีการสะสมน้ำหนักแห้งของชีวมวลส่วนเหนือดิน อยู่ระหว่าง 3.30 – 13.28 ตันต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้งสะสมในส่วนของลำมากที่สุด อยู่ในช่วง 2.07-9.99 ตัน/ไร่ หรือคิดเป็น 72.2 % ของทุกส่วนในต้นอ้อย (ภาพที่ 5) รองลงมาเป็นส่วนของใบสด อยู่ใช่วง 0.32-1.29 ตัน/ไร่ หรือ 11.5% ใบแห้ง 0.11-1.08 ตัน/ไร่ หรือ 8.5% กาบใบแห้ง 0.15-1.04 ตัน/ไร่ หรือ 5% และกาบใบสดมีน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับทุกส่วนของอ้อย เฉลี่ย 2.8 % (0.06-0.44 ตัน/ไร่)

น้ำหนักแห้งของชีวมวลส่วนเหนือดินของอ้อยในพื้นที่ปลูกอ้อย จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า มีการสะสมน้ำหนักแห้งมากถึง 2.51-7.80 ตัน/ไร่ โดยส่วนของลำมีการสะสมน้ำหนักแห้งมากที่สุด เช่นเดียวกับอ้อยที่ปลูกจังหวัดนครสวรรค์ อยู่ในช่วง 1.41-6.36 ตัน/ไร่ หรือคิดเป็น 71.8 % รองลงมาเป็นส่วนของใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง คิดเป็น 12.1 % 6.7 % 5.9 % และ 3.4 % ตามลำดับ (ภาพที่ 6)

สรุปจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างอ้อย ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ และจังหวัดสุพรรณบุรี ที่มีลักษณะความอุดมสมบูรณ์ สภาพแวดล้อม และการจัดการแปลงแตกต่างกัน พบว่า อ้อย 1 ฤดูปลูกมีการสะสมน้ำหนักแห้ง หรือมวลชีวภาพ อยู่ในช่วง 3.30 – 13.28 ตัน/ไร่ (นครสวรรค์) และ 2.51-7.80 ตัน/ไร่ (สุพรรณบุรี) โดยส่วนของลำมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด



ภาพที่ 5 สัดส่วนมวลชีวภาพเฉลี่ยของอ้อย สำรวจจากแปลงเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์



ภาพที่ 6 สัดส่วนมวลชีวภาพเฉลี่ยของอ้อย สำรวจจากแปลงเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี

5. การกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอ้อย

กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม (2561) อ้างถึง อรรถชัย (2547) ให้ความหมายของของการกักเก็บคาร์บอนว่าหมายถึงการดึงคาร์บอนในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากชั้นบรรยากาศอย่างถาวรหรือกึ่งถาวร โดยจะมีการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นำมากักเก็บอยู่ในราก

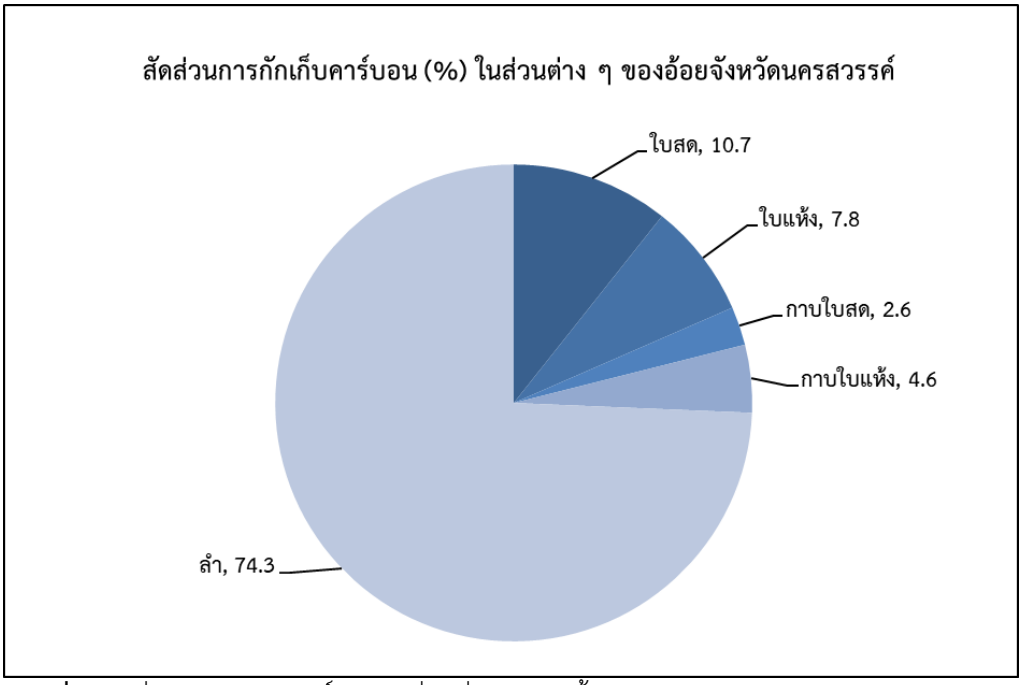
ลำ ต้น กิ่งก้านและใบที่ใช้ในการเติบโตของพืช ในรูปแบบของมวลชีวภาพ ดังนั้นจึงสามารถประเมินการกักเก็บคาร์บอนจากการวัดชีวมวลจากส่วนต่างๆของพืช

จากการสำรวจการกักเก็บคาร์บอนในแปลงเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย จังหวัดนครสวรรค์ พบว่า อ้อยมีการกักเก็บคาร์บอนในส่วนของลำสูงที่สุด อยู่ในช่วง 0.94-4.80 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นใบสด อยู่ในช่วง 0.16-0.61 ตัน C/ไร่ ใบแห้ง กาบใบแห้ง และกาบใบสด อยู่ในช่วง 0.04-0.53, 0.07-0.43 และ 0.03-0.21 ตัน C/ไร่ และการกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดของอ้อย ปริมาณการกักเก็บคาร์บอน อยู่ในช่วง 1.51-6.18 ตัน C/ไร่ หรือคิดเป็นการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระหว่าง 5.53 – 22.66 ตัน CO_2/ไร่

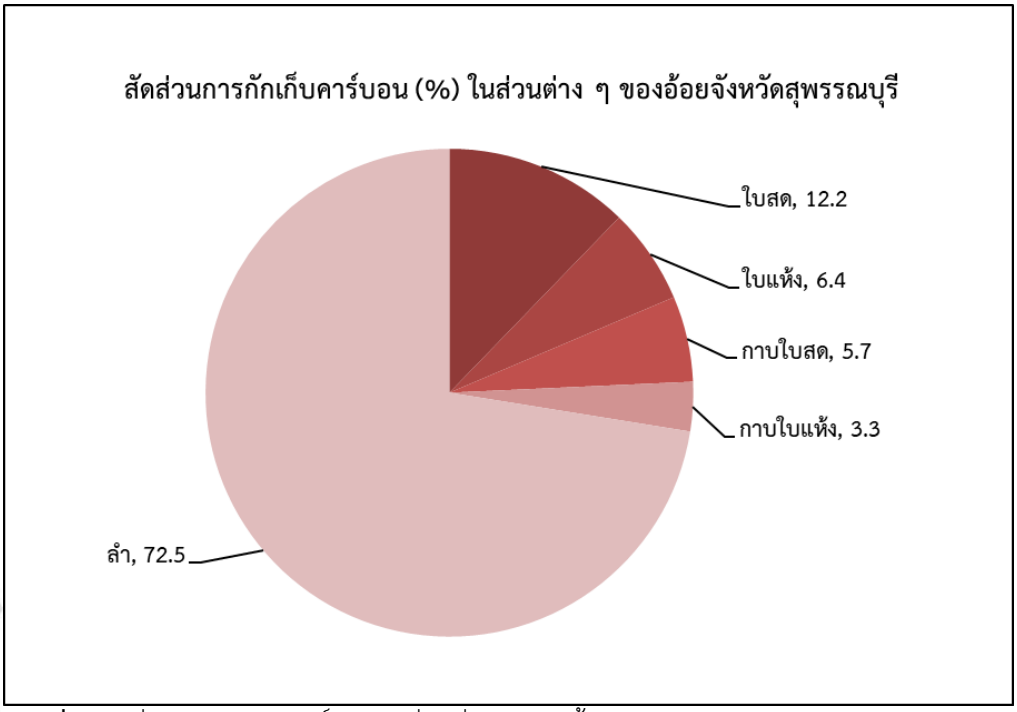
เมื่อพิจารณาการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่ปลูกอ้อย จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า ลำอ้อยมีการกักเก็บคาร์บอนสูงที่สุด อยู่ในช่วง 0.67-3.09 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นส่วนของใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง อยู่ในช่วง 0.12-0.38, 0.05-0.28, 0.05-0.17 และ 0.02-0.14 ตัน C/ไร่ และการกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดของอ้อย ปริมาณการกักเก็บ อยู่ในช่วง 1.22-3.84 ตัน C/ไร่ คิดเป็นการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ระหว่าง 4.48-14.09 ตัน CO_2/ไร่

จากภาพที่ 7 แสดงสัดส่วนการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อย เฉลี่ยแปลงเกษตรกร ผู้ปลูกอ้อยในจังหวัดนครสวรรค์ พบว่า ส่วนของลำมีการสะสมคาร์บอนมากถึง 74.3% รองลงมาเป็นส่วนของใบสด ใบแห้ง กาบใบแห้ง และกาบใบสด เฉลี่ย 10.7 7.8 4.6 และ 2.6 % ส่วนจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า ส่วนของลำมีการสะสมคาร์บอนมากถึง 72.5% เช่นเดียวกับการกักเก็บคาร์บอนในเขตจังหวัดนครสวรรค์ รองลงมาเป็นใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง เฉลี่ย 12.2 6.4 5.7 และ 3.3 % (ภาพที่ 8)

สรุปจากการสำรวจอ้อย แปลงเกษตรกรที่มีความอุดมสมบูรณ์ของดิน สภาพแวดล้อม และการจัดการแปลงที่แตกต่างกัน พบว่า อ้อย 1 ฤดูปลูกสามารถกักเก็บคาร์บอน ในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ อยู่ในช่วง 1.51-6.18 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ ส่วนจังหวัดสุพรรณบุรี อ้อยสามารถกักเก็บคาร์บอน อยู่ในช่วง 1.22-3.84 ตัน C/ไร่ จะเห็นว่า พื้นที่ปลูกอ้อยในจังหวัดนครสวรรค์สามารถกักเก็บคาร์บอนได้ดีกว่าจังหวัดสุพรรณบุรี นอกจากนั้นการให้ผลผลิต จังหวัดนครสวรรค์ ให้ผลผลิต อยู่ในช่วง 6.56-29.84 ตัน/ไร่ และ จังหวัดสุพรรณบุรี อยู่ในช่วง 5.76-16.78 ตัน/ไร่ ทั้งนี้ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของต้นอ้อย ในพื้นที่ 1 ไร่ ในส่วนต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 1 จังหวัดนครสวรรค์ มีปริมาณการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 11.50 ตัน CO_2/ไร่ (6.61 ตัน C/ไร่) คิดเป็นส่วนของใบสด ใบแห้ง กาบใบสด กาบใบแห้ง และลำ เป็น 1.23 0.89 0.30 0.53 และ 8.55 ตัน CO_2/ไร่ ส่วนจังหวัดสุพรรณบุรี มีปริมาณการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 7.84 ตัน CO_2/ไร่ (4.52 ตัน C/ไร่) คิดเป็นส่วนของใบสด ใบแห้ง กาบใบสด กาบใบแห้ง และลำ เป็น 0.96 0.50 0.45 0.26 และ 5.68 ตัน CO_2/ไร่ จะเห็นว่า กิจกรรมทางการเกษตร เช่นการปลูกอ้อยช่วยเพิ่มการกักเก็บคาร์บอน และลดการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สู่บรรยากาศ



ภาพที่ 7 สัดส่วนการกักเก็บคาร์บอนในส่วนต่าง ๆ ของอ้อย สำรวจจากแปลงเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์



ภาพที่ 8 สัดส่วนการกักเก็บคาร์บอนในส่วนต่าง ๆ ของอ้อย สำรวจจากแปลงเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี

ตารางที่ 1 ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในต้นอ้อย ในพื้นที่ 1 ไร่

Nakhonsawan				
Part of sugarcane	Biomass (kg/rai)	Organic carbon content (%)	Carbon Storage (kg C/rai)	CO_2 absorption (kg CO_2/rai)
Fresh leaves	0.76	44.08	0.33	1.23
Dry leaves	0.56	43.75	0.24	0.89
Fresh leaves Sheath	0.18	45.07	0.08	0.30
Dry leaves Sheath	0.33	43.31	0.14	0.53
Stalk	4.77	48.82	2.33	8.55
Total	6.61	47.50	3.14	11.50
Suphanburi				
Part of sugarcane	Biomass (kg/rai)	Organic carbon content (%)	Carbon Storage (kg C/rai)	CO_2 absorption (kg CO_2/rai)
Fresh leaves	0.55	47.68	0.26	0.96
Dry leaves	0.30	48.82	0.14	0.50
Fresh leaves Sheath	0.27	45.64	0.12	0.45
Dry leaves Sheath	0.16	44.51	0.07	0.26
Stalk	3.24	47.78	1.55	5.68
Total	4.52	47.35	2.14	7.84

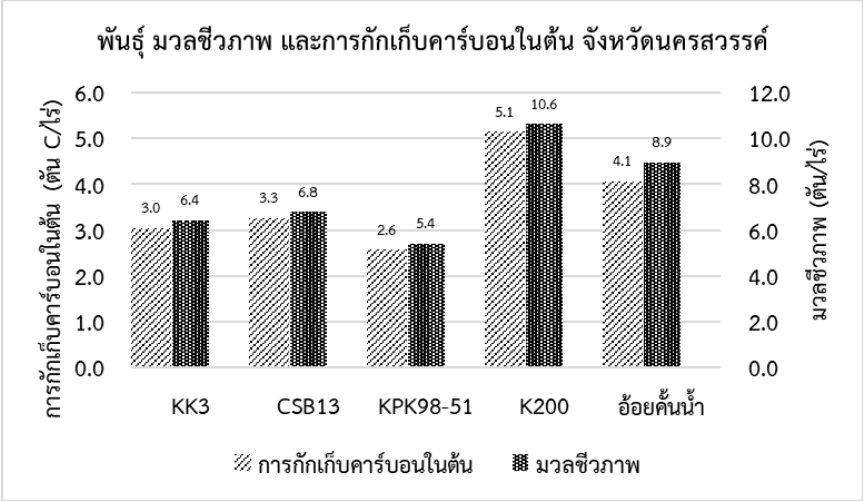
Note: [1/] การกักเก็บคาร์บอน = น้ำหนักแห้ง x ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน/100

[2/] การดูดซับ CO_2 = การกักเก็บคาร์บอน x 44/12 (1 ตันของคาร์บอน = 44/12 หรือ 3.67 ตันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์)

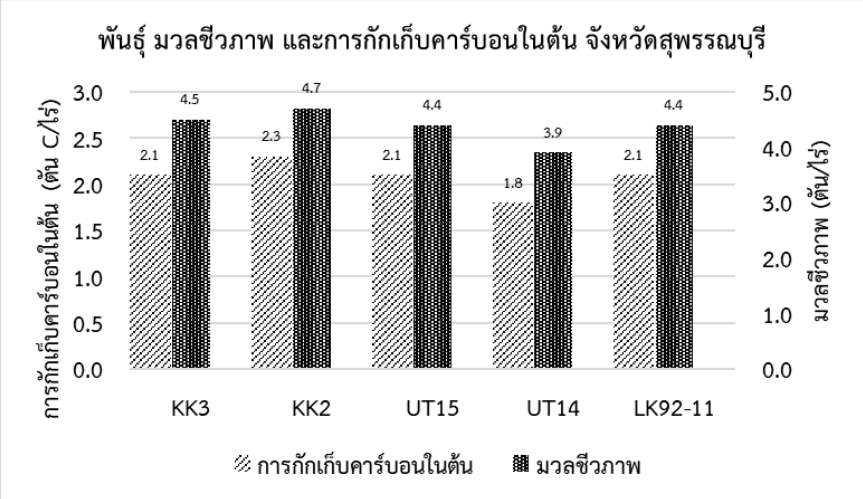
6. ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ มวลชีวภาพ การจัดการปุ๋ย และการกักเก็บคาร์บอน

พันธุ์อ้อยที่พบจากการสำรวจแปลงปลูกอ้อย ในเขตจังหวัดนครสวรรค์แต่ละพันธุ์มีประสิทธิภาพในการกักเก็บคาร์บอนและสะสมมวลชีวภาพแสดงดังภาพที่ 9 โดยพันธุ์ที่มีการสะสมมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนไว้ในต้นอ้อยมากที่สุด คือ พันธุ์ K200 เฉลี่ย 10.6 ตัน/ไร่ และ 5.1 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ รองลงมาเป็นอ้อยคั้นน้ำ CSB13 ขอนแก่น 3 และ KPK98-51 มีการสะสมชีวมวล เฉลี่ย 8.9 6.8 6.4 และ 5.4 ตัน/ไร่ ตามลำดับ และกักเก็บคาร์บอนในไว้ต้น เฉลี่ย 4.1 3.3 3.0 และ 2.6 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ ส่วนจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า พันธุ์ที่มีการสะสมมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนในต้นมากที่สุด คือ พันธุ์ KK2 เฉลี่ย 4.7 ตัน/ไร่ และ 2.3 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นพันธุ์ KK3 UT15 LK92-11 และ UT14 มีการสะสมมวลชีวมวล เฉลี่ย 4.5 4.4 4.4 และ 3.9 ตัน/ไร่ ตามลำดับ และกักเก็บคาร์บอนไว้ในต้นอ้อย พันธุ์ KK3 UT15 และ LK92-11 มีการกักเก็บคาร์บอนเท่ากัน เฉลี่ย 2.1 ตัน C/ไร่ ส่วนพันธุ์ UT14 มีการกักเก็บคาร์บอนต่ำที่สุด เฉลี่ย 1.8 ตัน C/ไร่ (ภาพที่ 10) จะเห็นว่า ความสามารถในการกักเก็บคาร์บอนในอ้อย ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ สภาพพื้นที่ และการจัดการแปลงปลูกอ้อย

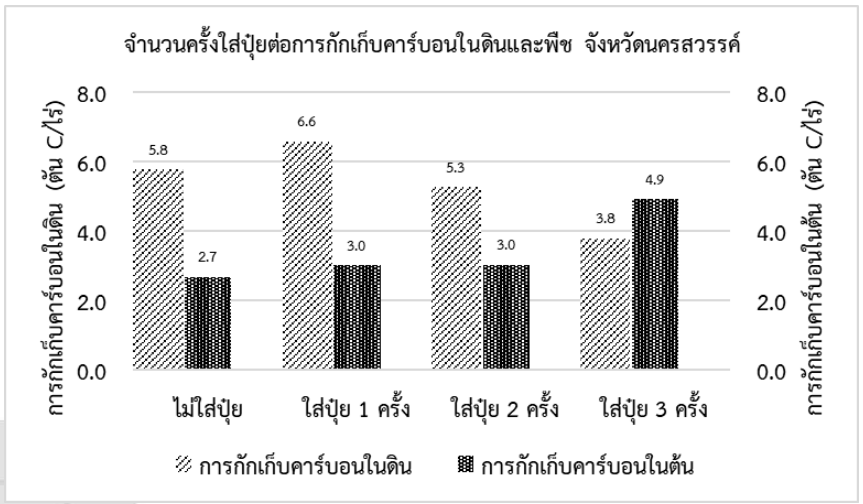
เมื่อเปรียบเทียบจำนวนครั้งของการใส่ปุ๋ยต่อการกักเก็บคาร์บอนในดินและในต้น ของแปลงอ้อย ในเขตจังหวัดนครสวรรค์ (ภาพที่ 11) พบว่า การใส่ปุ๋ยเคมี 3 ครั้งต่อการปลูกอ้อย 1 ฤดูปลูก ช่วยเพิ่มการกักเก็บคาร์บอนในต้นมากที่สุด เฉลี่ย 4.93 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นการใส่ปุ๋ยเคมีจำนวน 2 ครั้ง จำนวน 1 ครั้ง และการไม่ใส่ปุ๋ยเลย มีการกักเก็บคาร์บอนในต้น เฉลี่ย 3.03 3.02 และ 2.69 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ ส่วนการกักเก็บคาร์บอนในดิน การใส่ปุ๋ย 1 ครั้งมีปริมาณการกักเก็บคาร์บอนในดิน มากที่สุด เฉลี่ย 6.59 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นการไม่ใส่ปุ๋ยเคมี การใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง และการใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง มีการกักเก็บคาร์บอนในดิน เฉลี่ย 5.79 5.27 และ 3.80 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ จะเห็นว่า ในกรณีการปลูกอ้อยในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ เมื่อดินมีปริมาณอินทรียวัตถุในดินต่ำ หรือ มีการกักเก็บคาร์บอนในดินต่ำ เกษตรกรเลือกที่จะใส่ปุ๋ยเคมีบ่อยครั้ง เพื่อเพิ่มการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อยให้มีปริมาณสูงขึ้น ดังนั้นจำนวนการใส่ปุ๋ยบ่อยครั้งมีผลต่อการเพิ่มปริมาณการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อย



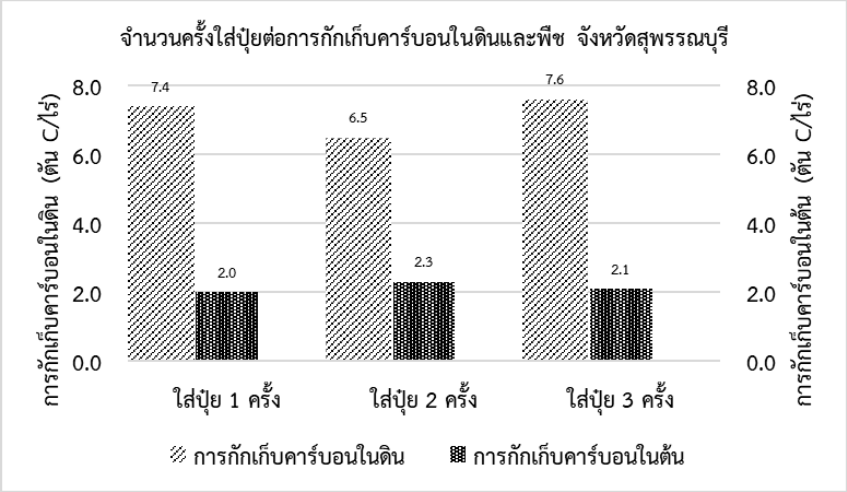
ภาพที่ 9 การสะสมมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนในต้นของอ้อยแต่ละพันธุ์ จังหวัดนครสวรรค์



ภาพที่ 10 การสะสมมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนในต้นของอ้อยแต่ละพันธุ์ จังหวัดสุพรรณบุรี



ภาพที่ 11 จำนวนครั้งของการใส่ปุ๋ยอ้อยต่อการกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของต้นอ้อย จังหวัดนครสวรรค์



ภาพที่ 12 จำนวนครั้งของการใส่ปุ๋ยอ้อยต่อการกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของต้นอ้อย จังหวัดสุพรรณบุรี

จำนวนครั้งของการใส่ปุ๋ยในแปลงปลูกอ้อยเขตจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า การใส่ปุ๋ย 2 ครั้งต่อฤดูปลูกช่วยเพิ่มการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อยมากที่สุด เฉลี่ย 2.3 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นการใส่ปุ๋ยจำนวน 3 ครั้ง และ 1 ครั้ง เฉลี่ย 2.1 และ 2.0 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ (ภาพที่ 12)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การสำรวจพื้นที่การผลิตอ้อย เขตจังหวัดนครสวรรค์ และจังหวัดสุพรรณบุรีในช่วงอายุเก็บเกี่ยว สรุปได้ว่าเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย เลือกใส่ปุ๋ยเคมี 2 ครั้งต่อฤดูปลูกอ้อย โดยใช้พันธุ์ขอนแก่น 3 เป็นหลัก พื้นที่สุพรรณบุรีมีการให้น้ำเสริมในการปลูกอ้อย ในขณะที่จังหวัดนครสวรรค์ปลูกอ้อยอาศัยน้ำฝน เมื่อมีการใส่ปุ๋ย 2-3 ต่อการปลูกอ้อย 1 ฤดูปลูก ช่วยเพิ่มการกักเก็บคาร์บอนในต้นมากที่สุด โดยอ้อย 1 ฤดูปลูก สามารถกักเก็บคาร์บอน อยู่ในช่วง 1.51-6.18 ตัน C/ไร่ คิดเป็นการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ระหว่าง 5.53-22.66 ตัน CO_2/ไร่ ในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ ส่วนจังหวัดสุพรรณบุรี อยู่ในช่วง 1.22-3.84 และ 4.48-14.09 ตัน CO_2/ไร่ ตามลำดับ ปริมาณการกักเก็บคาร์บอนในอ้อยแปรผันโดยตรงกับปริมาณมวลชีวภาพ ทั้งนี้ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของต้นอ้อย ในพื้นที่ 1 ไร่ จังหวัดนครสวรรค์มีปริมาณการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 11.50 ตัน CO_2/ไร่ ส่วนจังหวัดสุพรรณบุรี มีปริมาณการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 7.84 ตัน CO_2/ไร่ ดังนั้นความสามารถในการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อยขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์พืช สภาพพื้นที่และการจัดการ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำมาบริหารจัดการ เพื่อเพิ่มการกักเก็บคาร์บอนในต้นพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การจัดการแปลงและการเลือกพันธุ์อ้อยที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อให้เป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
2. การวางแผนจัดการระบบการผลิตพืชที่สามารถช่วยลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2559. ***ปริมาณความต้องการน้ำของพืชไร่.*** ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. กรมวิชาการเกษตร.

กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม. 2561. **การพัฒนาวิธีการประเมินการกักเก็บและกระบวนการแลกเปลี่ยนคาร์บอนภายใต้โครงการพัฒนาเครื่องมือ/วิธีการประเมินกักเก็บและกระบวนการแลกเปลี่ยนคาร์บอน.** รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. กลุ่มการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศ ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมด้านสิ่งแวดล้อม กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม.

ชัญษา กันฉิ่ง ณัฐพงษ์ ฟองมณี ปาริฉัตร ประพัฒน์ สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล เกื้อกุล กุสสลานุภาพ และบัณฑิตา ใจปินตา. 2559. การกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพของพืชที่มีเนื้อไม้ ป่าชุมชนห้วยข้าวก่ำ อำเภอจุน จังหวัดพะเยา. **PSRU J. Sci. Tech.** 3:89-95.

สำนักคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2563. “รายงานสถานการณ์การปลูกอ่อยปการผลิต 2562/63.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.ocsb.go.th/upload/journal/fileupload/923-1854.pdf (7 เมษายน 2564)

สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. 2564. **พืชไร่ยุคใหม่ สไตล์ New Normal.** การประชุมวิชาการสถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน ประจำปี 2564. สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 715 หน้า

อรรถชัย จินตะเวช. 2547. **การสะสมคาร์บอน.** คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2007. **Climate change 2007 – the physical science basis.** United Kingdom. Cambridge University.

Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1983. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic matter. *In* **Method of soil analysis: Part 2 Chemical and Microbiology Properties 9.** Pp.539-579.

Parr, J. F. and L.A. Sullivan. 2007. Sugarcane the champion crop at carbon sequestration.

Sekajugo, J. 2013. The sugarcane carbon sequestration potential as a clean development mechanism the case of Kakira Sugar Estates. ***In Joint Proceedings of the 27th Soil Science Society of East Africa and the 6th African Soil Science Society Conference***. Nakuru. Kenya.

เทคนิคประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในแปลงอ้อย โดยไม่ทำลายตัวอย่าง

Techniques for Assessment of Aboveground Biomass and Carbon Storage of Sugarcane by Non-destructive Method

สายน้ำ อุดพ้วย *วลัยพร ศะศิประภา*[1] *ปรีชา กาเพ็ชร*[2] *นุชนาฏ ตันวรรณ*

Sainam Udpuay *Walaiporn Sasiprapa*[1] *Preecha Kapetch*[2] *Nutchanart Tanwan*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Optimizing non-destructive method and rapid measurement of carbon storage in aboveground biomass were required simple and accurate assays to assess the greenhouse gas accounting and carbon dioxide absorption in the sugarcane plantations. The objective of this study was to establish a simple model method to estimate the amount of carbon stored in the aboveground biomass of sugarcane plantation by non-destructive method. Field surveys were conducted in sugarcane production areas in Nakhon Sawan and Suphan Buri province from December 2020 to February 2021. The plant sample was collected for measuring total biomass and analyzing organic carbon content. The linear regression model was analyzed for the relationship between aboveground biomass (BM) and growth data in terms of stalk height (H), stalk diameter (D) and number of millable canes per tiller (MC), and between biomass and carbon storage in sugarcane. The results showed that the aboveground biomass assessment model at the harvesting stage was correlated with stalk height, stalk diameter and number of millable canes per tiller, according to the equation; BM = 0.029H – 0.030D + 0.019MC, R^2 = 0.934 and RMSE = 1.50 ton rai^{-1}. Carbon storage (CS) of sugarcane was related to aboveground biomass, according to CS = 0.475BM with R^2 = 0.9992 and RMSE = 0.08 ton C rai^{-1}. Therefore, growth data can be calculated using simple equations for estimating the amount of carbon stored in the aboveground biomass by the non-destructive method, and can also be estimated in a large area.

Keywords : Carbon stock, Dry weight, *Saccharum officinarum* L., Regression models

[1]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร

[1]Information technology center

[2]ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่

[2]Chiang Mai field crops research center

บทคัดย่อ

เทคนิคประมาณค่าชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนอย่างรวดเร็วในต้นอ้อยที่ง่าย แม่นยำ และไม่ทำลายต้นพืช เป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับการจัดทำบัญชีก๊าซเรือนกระจกและประเมินการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในพื้นที่การผลิตอ้อย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสมการวิธีการประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนอย่างง่าย โดยไม่ทำลายตัวอย่าง ดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลภาคสนามในพื้นที่การผลิตอ้อย จังหวัดนครสวรรค์ และสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนธันวาคม 2563 – มกราคม 2564 นำตัวอย่างพืชมาหามวลชีวภาพ และวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ข้อมูลที่ได้นำมาหาความสัมพันธ์สร้างสมการถดถอยแบบเส้นตรงของชีวมวล (BM) และการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อย (CS) กับข้อมูลการเจริญเติบโต ด้านความสูงลำอ้อย (H) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำ (D) และจำนวนลำต่อกอ (MC) ผลการทดลอง พบว่าสมการประเมินชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อยที่อายุเก็บเกี่ยว มีความสัมพันธ์กับความสูงลำอ้อย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำและจำนวนลำต่อกอ ตามสมการ BM = 0.029H – 0.030D + 0.019MC มีค่า R^2 = 0.934 และ RMSE = 1.50 ตันต่อไร่ ส่วนการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อย (CS) มีความสัมพันธ์กับชีวมวล ตามสมการ CS = 0.475BM (R^2 = 0.9992, RMSE = 0.08 ตัน C ต่อไร่) ดังนั้นข้อมูลการเจริญเติบโตสามารถคำนวณหาชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อยโดยใช้สมการอย่างง่ายได้ เพื่อประเมินการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อยได้โดยไม่ทำลายตัวอย่างและยังสามารถประมาณค่าในพื้นที่ขนาดใหญ่ได้ด้วย

คำหลัก : คาร์บอนในต้น น้ำหนักแห้ง อ้อย สมการถดถอย

คำนำ

ศักยภาพการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่ภาคการเกษตร มีความสำคัญต่อการรับมือปัญหาสภาวะก๊าซเรือนกระจก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นหนึ่งในบรรดาก๊าซเรือนกระจกที่มีปริมาณมากที่สุด ปัจจุบันโลกมีปริมาณก๊าซ CO_2 ประมาณ 418 ppm (Nasa's Jet Propulsion Laboratory, 2022) อันเกิดจากการเผาไหม้ การตัดไม้ทำลายป่า และการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดิน การลดปริมาณการปลดปล่อยก๊าซ CO_2 ในภาคการเกษตร คือ การลดการเผา และปลูกพืชเพื่อเพิ่มการดูดซับก๊าซเรือนกระจก ทั้งนี้พืชดูดซับก๊าซ CO_2 ผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและนำมากักเก็บไว้ในรูปชีวมวล (Biomass) วรพรรณ และคณะ (2561) รายงานว่า พืชมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ถึงร้อยละ 47 แต่ทั้งนี้พืชแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการดูดซับก๊าซ CO_2 แตกต่างกัน โดยผลผลิตขั้นสุดท้ายที่ได้จากการดูดซับก๊าซ CO_2 ของพืช คือ มวลชีวภาพ ทั้งนี้วิธีการที่ดีในการกักเก็บคาร์บอนคือการกักเก็บไว้ในต้นพืชที่มาอายุยาวนาน (ประเสริฐ และคณะ, 2553) เทคนิคการประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอน จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการจัดทำบัญชีก๊าซเรือนกระจก วิธีการประเมินมวลชีวภาพเหนือพื้นดินและการกักเก็บคาร์บอนนั้นใช้เวลานาน เพราะต้องตัดต้นพืชนำตัวอย่างพืชไปวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในห้องปฏิบัติการ และมีค่าใช้จ่ายแพง ระบบนิเวศป่าไม้ได้มีการศึกษาและพัฒนาสมการโดยใช้สมการแอลโลเมตรี โดยไม่ทำลายต้นพืช จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความสูงของต้นไม้นวลปราง (2548) เก็บตัวอย่างพืช เพื่อหามวลชีวภาพ โดยใช้ค่าความสูงและค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเพียงอก แล้วนำสมการมาประมาณหาคาร์บอนสะสมรายต้น เพื่อหลีกเลี่ยงการทำลายตัวอย่างพืช เช่นเดียวกับ ขนิษฐา และคณะ (2555) ใช้ค่าความสูงของไม้ยืนต้น และวัดขนาดรอบเพียงอก ประเมินการกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพของป่าสนสามใบ

ประเทศในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนมากกว่า 100 ประเทศปลูกอ้อย (*Saccharum officinarum* L.) เพราะเป็นหนึ่งในวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพและชีวเคมีเนื่องจากมีศักยภาพสูงในการสะสมชีวมวลและน้ำตาล (de Abreu *et al.,* 2020) อ้อยเป็นพืช C4 ตระกูลหญ้ามีการดูดซับก๊าซ CO_2 ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าพืชอื่น ๆ มีอายุเก็บเกี่ยวถึง 11-12 เดือน (ประสิทธิ์ และสุนทรี, 2554) ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อย ปีการผลิต พ.ศ. 2562/2563 ประมาณ 11.7 ล้านไร่ และมีปริมาณอ้อยที่ส่งเข้าโรงงาน 77 ล้านตัน ผลผลิตอ้อย เฉลี่ย 7.85 ตันต่อไร่ จังหวัดที่มีการปลูกอ้อยมากกว่า 500,000 ไร่ ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร นครสรรค์ กาญจนบุรี อุดรธานี นครราชสีมา ลพบุรี ขอนแก่น สุพรรณบุรี ชัยภูมิ และเพชรบูรณ์ (สำนักคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2563) ทั้งนี้ประเทศไทยเป็นประเทศเดียวในภูมิภาคเอเชียที่ผลิตน้ำตาลทรายได้เกินความต้องการในประเทศ มีการส่งน้ำตาลไปจำหน่ายต่างประเทศถึง 5.4 ล้านตัน (สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน, 2564) จะเห็นว่า พื้นที่ปลูกอ้อยในประเทศไทยนั้นมีขนาดใหญ่สามารถช่วย

ดูดซับก๊าซ CO_2 จากบรรยากาศ ด้วยเหตุนี้การวัดการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อยทางอ้อมยังไม่มีเทคนิควิธีการประเมินที่ไม่ทำลายต้นพืชสำหรับพันธุ์อ้อยในประเทศไทย แต่มีการพัฒนากับพันธุ์อ้อยในประเทศบราซิล สร้างแบบจำลองถดถอยประเมินมวลชีวภาพแห้งเหนือพื้นดินโดยใช้ความสูงต้นพืชและเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (de Carvalho *et al*., 2019) การประมาณค่ามวลชีวภาพสามารถทำนายการกักเก็บคาร์บอนที่มีอยู่ปัจจุบันและสามารถให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการตัดสินใจได้ดีในระบบการผลิตอ้อย ซึ่งจะเป็นตัวชี้วัดปริมาณการสะสมของคาร์บอนในระบบการผลิตอ้อยได้ อันจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการพื้นที่เพื่อประโยชน์ทางด้านการเกษตรต่อไปในอนาคต วิธีการหาชีวมวลที่ทำกันได้ง่ายและรวดเร็ว ได้แก่ การวัดความสูงลำอ้อย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำ และนับจำนวนลำต่อกอ จำเป็นต้องหาค่าสัมประสิทธิ์ (k) เพื่อปรับความถูกต้องของการประเมิน ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้สมการวิธีการประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในอ้อย โดยไม่มีการทำลายตัวอย่างพืชในพื้นที่การผลิตอ้อย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช อุปกรณ์ สำหรับวัดความสูงลำอ้อย และเวอร์เนียคาลิปเปอร์สำหรับวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำอ้อย

วิธีการ

สำรวจและเก็บตัวอย่างอ้อยในแปลงเกษตรกร ผู้ปลูกอ้อยพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ และ จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 98 จุดตัวอย่าง เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและวัดความสูงลำอ้อย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำอ้อย และจำนวนลำต่อกอ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. ความสูงลำอ้อย สุ่มเลือกอ้อยลำหลักของกอ จำนวน 3 ลำต่อกอ วางไม้วัดความสูงกับพื้นชิดโคนต้น โดยใช้ไม้วัดความสูงวัดจากโคนต้นถึงคอใบสุดท้ายที่สามารถมองเห็น (top visible dewlab) หน่วย เซนติเมตร ในกรณีต้นอ้อยล้มให้วัดความสูงขนานไปกับลำต้นอ้อย

2. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำอ้อย สุ่มเลือกอ้อยลำหลักของกอ จำนวน 3 ลำต่อกอ ใช้เวอร์เนียร์คาริปเปอร์เป็นเครื่องมือวัด โดยวัดที่กึ่งกลางลำบริเวณกลางปล้อง หน่วยมิลลิเมตร

3. จำนวนลำต่อกอ นับจำนวนลำอ้อยทั้งหมดใน 1 กอ ไม่รวมหน่อที่ไม่มีลำต้นหรือไม่ปรากฏข้อให้เห็น

เก็บตัวอย่างอ้อย จำนวน 2 กอต่อจุดต่อตัวอย่าง ชั่งน้ำหนักสดและแห้งส่วนเหนือดินแยกเป็นส่วน ๆ ได้แก่ ส่วนของลำ ใบสด ใบแห้ง กาบใบสด และกาบใบแห้ง โดยนำไปอบที่อุณหภูมิที่ 65 องศา เป็นเวลาอย่างน้อย 72 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักมวลชีวภาพของอ้อย จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืช เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในพืช โดยวิธี Walkley and Black (Nelson and Sommers, 1982) จากนั้นคำนวณการกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพเหนือดินของอ้อย มีสมการ ดังนี้

$$\text{การกักเก็บคาร์บอน (ตัน C ต่อไร่)} = \frac{\text{มวลชีวภาพ (ตันต่อไร่) X ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (\%)}}{100}$$

นำข้อมูลจากการเจริญเติบโต มวลชีวภาพ และการกักเก็บคาร์บอน มาพัฒนาสมการวิธีการหาชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อย (CS) โดยไม่ทำลายต้นอ้อย โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel จำนวน 98 ตัวอย่าง นำข้อมูลความสูงลำอ้อย (H) ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางลำ (D) ลำนวนลำต่อกอ (MC) แล้วหาความสัมพันธ์กับมวลชีวภาพ (BM) และความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพกับการกักเก็บคาร์บอน โดยใช้สมการถดถอยหาความสัมพันธ์แบบเส้นตรงตามสมการ Regression model ดังนี้

1. รูปแบบสมการของการเจริญเติบโตกับมวลชีวภาพ

BM = k*H

BM = k*D

BM = k*MC

BM = k*(H±D)

BM = k*(H±D±MC)

2. รูปแบบสมการของมวลชีวภาพกับการกักเก็บคาร์บอน

CS = k*BM

เมื่อ BM = ชีวมวลของต้นอ้อย (ตันต่อไร่)

H = ความสูงลำอ้อย (เซนติเมตร)

D = เส้นผ่านศูนย์กลางลำอ้อย (มิลลิเมตร)

MC = จำนวนลำต่อกอ

CS = การกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อย (ตัน C ต่อไร่)

พิจารณาความแม่นยำของการทำนายแบบจำลองจากค่าสัมประสิทธิ์ตัวกำหนด (Coefficient of determination, R^2) ว่าสมการใดเหมาะสมในการประมาณค่าชีวมวลของระบบการผลิตอ้อยแต่ละพันธุ์ และประเมินประสิทธิภาพจากค่ารากของค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (Root Mean Square Error, RMSE) โดยแบบจำลองใดที่มีค่า RMSE ต่ำสุดจะเป็นตัวแบบที่ให้ผลดีสุด และเลือกสมการไปใช้ในการประเมินการกักเก็บคาร์บอนในอ้อย

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลการเจริญเติบโต มวลชีวภาพ และปริมาณคาร์บอนสะสมทั้งต้น

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2563 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

พื้นที่ปลูกอ้อย จังหวัดสุพรรณบุรี และนครสวรรค์

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การหาชีวมวลเหนือพื้นดินของต้นอ้อยโดยวัดค่าการเจริญเติบโต

ชีวมวลเหนือพื้นดินของพื้นที่ปลูกอ้อย คำนวณหาชีวมวล โดยใช้ค่าความสูงลำ เส้นผ่านศูนย์กลางลำ และจำนวนลำต่อกอของอ้อย พันธุ์อ้อยที่พบจากการสำรวจ ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น 3 ขอนแก่น 2 อู่ทอง 15 อู่ทอง 14 LK92-11 และ KPK 98-51 จังหวัดนครสวรรค์ และสุพรรณบุรี ทั้งในอ้อยปลูกและอ้อยตอ ที่ระยะก่อนเก็บเกี่ยว (ช่วงอายุ 8-12 เดือน) พบว่า ชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อยมีความสัมพันธ์กับข้อมูลการเจริญเติบโต โดยรูปแบบสมการประเมินชีวมวลที่ได้จากการพัฒนาความสัมพันธ์ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel คำนวณ แสดงดัง Table 1 จากสมการ regression model ในอ้อย พบว่า การใช้ค่าสัมประสิทธิ์ (k) x (ความสูงของลำอ้อย±เส้นผ่านศูนย์กลางลำ±จำนวนลำต่อกอ) นำไปใช้ในการหาชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อยทุกพันธุ์ได้ โดยสมการความสัมพันธ์ระหว่างชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อยทุกพันธุ์กับปัจจัยหลายตัวแปร (ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำอ้อย และจำนวนลำต่อกอ) ให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.934 และ RMSE ต่ำสุดเท่ากับ 1.50 ตันต่อไร่ ได้สมการ BM = 0.029H – 0.030D + 0.019MC แต่ทั้งนี้ความสูงของลำอ้อย (ปัจจัยเดียว) สามารถประเมินชีวมวลเหนือพื้นดิน ได้ค่า RMSE ใกล้เคียงกัน (1.52 ตันต่อไร่) ตามสมการ BM = 0.028H ค่า RMSE ระหว่าง 1.50-2.32 ตันต่อไร่ ขึ้นอยู่กับปัจจัยข้อมูลการเจริญเติบโตที่นำมาคำนวณความสัมพันธ์ เช่นเดียวกับ Youkhana *et al*. (2017) ได้พัฒนาแบบจำลองอย่างง่าย นำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นประเมินชีวมวลเหนือพื้นดินและการกักเก็บ

คาร์บอนในหญ้าเนเปีย และอ้อยให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.98 และ 0.97 ตามลำดับ สำหรับชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ให้ผลในทำนองเดียวกัน เมื่อนำปัจจัยหลายตัวแปรมาคำนวณให้ค่า RMSE ต่ำกว่าการใช้ปัจจัยเดียวศึกษาความสัมพันธ์ ได้สมการ เป็น BM = 0.021H + 0.043D + 0.008MC (R^2 = 0.932 และ RMSE = 1.53 ตันต่อไร่) ส่วนพันธุ์ LK92-11 ให้ค่า RMSE ระหว่าง 0.65-1.65 ตันต่อไร่ ได้รูปแบบสมการเป็น BM = 0.038H – 0.140D + 0.030MC สรุปได้ว่า สมการประเมินชีวมวลเหนือพื้นดินในพื้นที่การผลิตอ้อย มีความสัมพันธ์สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 มีค่า R^2 ระหว่าง 0.845-0.986 และ RMSE ระหว่าง 0.65-2.32 ตันต่อไร่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวแปรที่นำมาใช้ประเมินความสัมพันธ์

Table 1 Correlation between aboveground biomass and growth data of sugarcane

Varieties	Regression Models	R^2	RMSE
Total[1/]	Model 1 BM = 0.028H	0.932	1.5197
	2 BM = 0.192D	0.894	1.9055
	3 BM = 0.134MC	0.839	2.3155
	4 BM = 0.030H – 0.010D	0.933	1.5188
	5 BM = 0.029H – 0.030D + 0.019MC	0.934	1.4990
Khonkaen 3	Model 1 BM = 0.028H	0.930	1.5617
	2 BM = 0.195D	0.912	1.7443
	3 BM = 0.136MC	0.845	2.2918
	4 BM = 0.021H – 0.051D	0.932	1.5348
	5 BM = 0.021H + 0.043D + 0.008MC	0.932	1.5311
LK92-11	Model 1 BM = 0.026H	0.973	0.8875
	2 BM = 0.173D	0.906	1.6540
	3 BM = 0.105MC	0.920	1.5302
	4 BM = 0.040H – 0.106D	0.983	0.6966
	5 BM = 0.038H – 0.140D + 0.030MC	0.986	0.6484

Where: BM = Aboveground Biomass (ton rai^{-1})
H = Stalk height (centimeter)
D = Stalk diameter (millimeter)
MC = Number of millable canes per tiller

[1/] Khonkean 3 Khonkean 2 Uthong 15 Uthong 14 LK92-11 และ KPK98-51

2. การหาการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อยโดยวัดจากชีวมวลเหนือพื้นดิน

จากสมการ regression model ในอ้อย พบว่า การใช้ค่าสัมประสิทธิ์ (k) x ชีวมวลเหนือพื้นดิน นำไปใช้ได้กับการหาการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อย โดยความสัมพันธ์ระหว่างการกักเก็บคาร์บอนกับชีวมวลเหนือพื้นดิน โดยมีรูปแบบสมการประเมินการกักเก็บคาร์บอนในต้นอ้อย (CS) ได้จากการพัฒนาความสัมพันธ์ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ (k) แสดงดัง Table 2 ทั้งนี้อ้อยทุกพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น 3 ขอนแก่น 2 อู่ทอง15 อู่ทอง 14 LK92-11 และ KPK98-51 และรายพันธุ์ที่สำรวจพบ ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น 3 และ LK92-11 มีความสัมพันธ์กับชีวมวลเหนือพื้นดิน ตามสมการ CS = k * BM โดยค่า k มีค่าเท่ากับ 0.475 (R^2 = 0.999, RMSE = 0.08 ตัน C ต่อไร่) ของอ้อยทุกพันธุ์ ได้สมการ เป็น CS = 0.475BM ในขณะที่อ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3 ได้ k = 0.472 (R^2 = 0.999, RMSE = 0.08 ตัน C ต่อไร่) ได้สมการ เป็น CS = 0.472BM และ พันธุ์ LK92-11 ได้ k = 0.482 (R^2 = 0.999, RMSE = 0.06 ตัน C ต่อไร่) สรุปได้ว่า สมการประเมินกักเก็บคาร์บอนของต้นอ้อยโดยใช้ชีวมวลเหนือพื้นดินของต้นอ้อย มีความสัมพันธ์สูงอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 มีค่า R^2 ระหว่าง 0.9992-0.9994 และ RMSE ระหว่าง 0.06-0.08 ตัน C ต่อไร่ ดังนั้นเพื่อให้สามารถประเมินชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อยอย่างง่าย เลือกใช้ค่าความสูงต้น (ปัจจัยเดียว) ตามสมการ BM = 0.028H มีค่า R^2 = 0.932 และ RMSE = 1.52 ตันต่อไร่ ส่วนการประเมินการกักเก็บคาร์บอนในอ้อยกับชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อย ใช้สมการ CS = 0.475BM โดยมีค่า R^2 = 0.9992 และ RMSE = 0.08 ตัน C ต่อไร่

Table 2 Correlation between carbon storage and aboveground biomass of sugarcane

Varieties	Regression Models	R^2	RMSE
Total[1/]	CS = 0.475BM	0.9992	0.0775
Khonkaen 3	CS = 0.472BM	0.9992	0.0810
LK92-11	CS = 0.482BM	0.9994	0.0637
Where: BM = Aboveground Biomass (ton rai^{-1}) CS = Carbon storage (ton C rai^{-1})			

[1/] Khonkean 3 Khonkean 2 Uthong 15 Uthong 14 LK92-11 และ KPK98-51

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การหาชีวมวลเหนือพื้นดินและการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่การผลิตอ้อย จังหวัดนครสวรรค์ และจังหวัดสุพรรณบุรี โดยใช้ข้อมูลการเจริญเติบโตเป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย และสะดวกนำไปใช้ทดแทนการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในพืช ซึ่งหากไม่ต้องการทำลายลำอ้อย พบว่า ชีวมวลมีความสัมพันธ์กับความสูงลำ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำและจำนวนลำต่อกอ สามารถนำมาคำนวณชีวมวลเหนือพื้นดินของอ้อยได้ โดยมีความสัมพันธ์สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 มีค่า R^2 ระหว่าง 0.845-0.986 และ RMSE ระหว่าง 0.65-2.32 ตันต่อไร่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวแปรที่นำมาใช้ประเมินความสัมพันธ์ การประเมินการกักเก็บคาร์บอนในอ้อยกับชีวมวลเหนือพื้นดิน มีความสัมพันธ์สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ตามสมการ CS = k * BM โดยค่า k มีค่าเท่ากับ 0.475 (R^2 = 0.9992, RMSE = 0.08 ตัน C ต่อไร่) สมการดังกล่าวจะช่วยในการหาปริมาณชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอน ทั้งนี้ควรศึกษาเพิ่มเติมโดยเพิ่มจำนวนจุดตัวอย่าง จำนวนพันธุ์ จำนวนประชากร และตัวแปร เพื่อปรับค่าสัมประสิทธิ์ (k) ให้เหมาะสมของแต่ละพันธุ์ เพื่อใช้ประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนจากการวัดความสูงลำอ้อย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำ และจำนวนลำต่อกอ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สมการอย่างง่ายไปใช้ในประเมินปริมาณการดูดซับคาร์บอนในการผลิตอ้อยในระดับพื้นที่อื่น ๆ ได้
2. การพัฒนาต่อยอดงานวิจัยและพัฒนาการประเมินศักยภาพการดูดซับก๊าซเรือนกระจกและกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพเหนือพื้นดินอย่างง่ายในพื้นที่การผลิตอ้อย

เอกสารอ้างอิง

กฤติณ สุดโต, วีระภาส คุณรัตนสิริ และวันชัย อรุณประภารัตน์. 2562. การประเมินหาปริมาณมวลชีวภาพเหนือพื้นดิน จากข้อมูลภาพดาวเทยมี Landsat 8 ในพื้นทวนอุทยานนครไชยบวร จังหวัดพิจิตร. การประชุมทางวิชาการของหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 57. วันที่ 29 มกราคม 2562 – 1 กุมภาพันธ์ 2562

ขนิษฐา เสถียรพีระกุล เกรียงศักดิ์ ศรีเงินยวง และสมชาย นองเนือง. 2555. การประเมินมูลค่าการกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพเหนือพื้นดินสวนป่าสนสามใบ พื้นที่ต้นน้ำภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50: สาขาวิทยาศาสตร์ สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. วันที่ 31 ม.ค. – 2 ก.พ. 2555. หน้า 291-298.

นวลปราง นวลอุไร. 2548. การเปรียบเทียบค่าดัชนีพื้นที่ใบ มวลชีวภาพและปริมาณคาร์บอนสะสมที่อยู่เหนือพื้นดินของระบบนิเวศป่าจากการสำรวจด้านป่าไม้และการรับรู้ระยะไกลบริเวณอุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน ประเทศไทย. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประสิทธิ์ ขุนสนิท และสุนทรี ยิ่งชัชวาล. 2554. มวลชีวภาพของอ้อยพันธุ์ K95-84. ***วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*** 42(3), 485-493.

ประเสริฐ เนตรจิตร, ศุภกิจ เอ็นมี และชวลิต เนื่องดี. 2553. รายงานโครงการจัดทำบัญชีก๊าซเรือนกระจก พื้นที่สวนป่า. สำนักนวัตกรรมไม้เศรษฐกิจองค์การอุตสาหกรรมป่าไม้ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพมหานคร: หน้า 3–1 และ 4–11.

สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. 2564. การประชุมวิชาการสถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน ประจำปี 2564. “พืชไร่ยุคใหม่ สไตล์ New Normal”. วันที่ 30-31 สิงหาคม 2564. สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 715 หน้า

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2563. **รายงานสถานการณ์การปลูกอ้อยปีการผลิต 2563/64.** กลุ่มเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. กองยุทธศาสตร์และแผนงาน.

วรพรรณ หิมพานต์ เรอิจิ โยเนดะ และนรินทร์ เทศสร. 2561. “ตารางแสดงน้ำหนักแห้ง การกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในสวนป่าสักในประเทศไทย”. โครงการความร่วมมือด้านการวิจัยระหว่างกรมป่าไม้และ JIRCAS. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://forprod.forest.go.th/forprod/silvic/for_plant/data/RFD/2.pdf (21 เมษายน 2565)

de Abreu, L.G.F., M.C.B. Grassi, L.M. de Carvalho, J.J.B. da Silva, J.V.C. Oliveira, J.A. Bressiani and G.A.G. Pereira. 2020. Energy cane vs sugarcane: Watching the race in plant development. ***Industrial Crop & Products.*** 156:112868

de Carvalho, E.X., R.S.C. Meneszes, E.V. de Sa Barreto Sampaio, D.E.S. Neto, J.N. Tabosa, L.R. de Oliveira, A.L. Simoes and A.T. Sales. 2019. Allometric equations of estimate sugarcane aboveground biomass. ***Sugar Tech*** 21(3):1039-1044.

Nasa’s Jet Propulsion Laboratory. 2022. Carbon Dioxide**.** Retrieved February 16, 2022, from https://climate.nasa.gov/vital-signs/carbon-dioxide/

Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1983. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic matter. ***In Method of soil analysis: Part 2 Chemical and Microbiology Properties 9.*** Pp.539-579.

Youkhana, A.H., R.M. Ogoshi, J.R. Kiniry, M.N. Meki, M.H. Nakahata and S.E. Crow. 2017. Allometric models for predicting aboveground biomass and carbon stock of tropical perennial C4 grasses in Hawaii. ***Frontiers in Plant Science*** 8:650

การประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลังในระดับแปลง
Assessment of Biomass and Carbon Storage of Cassava at Field Scale Level

นุชนาฏ ตันวรรณ *สายน้ำ อุดพ้วย* *ปรีชา กาเพ็ชร*[1] *วลัยพร ศะศิประภา*[2]
อานนท์ มลิพันธ์[3] *ธนพันธ์ พงษ์ไทย*[4]
Nutchanart Tanwan *Sainam Udpuay* *Preecha Kapetch*[1] *Walaiporn Sasiprapa*[2]
Anon Malipan[3] *Tanapan Pongthai*[4]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Increasing carbon dioxide absorption in plant is the most common practiced to mitigate a global warming. The objective of this study was to investigate an effect of nutrient management on biomass and carbon storage of casava. The experiment was conducted in loamy sand soil in the field condition within the Nakhon Sawan Agricultural Research and Development Center, Nakhon Sawan Province from 2020 to 2021. The experimental design was a split plot with four replications. Main plots comprised of CMR-57-83-180, CMR-57-83-69 and Rayong 72 casava varieties. Subplots were fertilizers application levels, i.e. 16-8-8, 16-8-12 and 16-8-16 kg N-P_2O_5-K_2O/rai. The results showed that loamy sand soil as Chan tuk soil series was low to moderate soil fertility level. At 4 months after planting, the net photosynthesis rate of cassava leaves CO_2 fixation at a maximum time of 9:00 a.m. - 12:00 a.m., and the net CO_2 assimilation rate had a high maximum efficiency, average 23.076 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1}. Among the three varieties, an average carbon storage in one crop yield of Rayong 72 cassava variety was able to store the most carbon, average 1,514 kg C/rai, followed by CMR 57-83-69 and CMR 57-83-180 which were about 1,441 and 1,380 kg C/rai. According to the rates of fertilizer application, it can be concluded that cassava cultivation on loamy sand soil at Nakhon Sawan provided maximum carbon storage when planting CMR 57-83-180 variety and applying fertilizer at the rate of 16-8-12 kg. N-P_2O_5-K_2O/rai. Therefore, the right nutrient management and a selection of proper varieties are a key management practice for improving a biomass and carbon storage of casava.

Keywords : Carbon storage, Casava, Nutrient management, Loamy sand

---

[1]ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่
[1]Chiang Mai field crops research center
[2]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร
[2]Information technology center
[3]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก
[3]Phitsanulok seed research and development center
[4]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชสุราษฎร์ธานี
[4]Suratthani seed research and development center

บทคัดย่อ

การเพิ่มศักยภาพการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยการกักเก็บคาร์บอนในพืช เป็นแนวทางปฏิบัติอย่างหนึ่งที่ช่วยบรรเทาภาวะโลกร้อน จึงได้ทำการศึกษาถึงผลการจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมต่อมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลัง ในพื้นที่ดินทรายร่วน ดำเนินการที่แปลงทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างปี พ.ศ. 2563-2564 วางแผนการทดลองแบบ Split plot มี 4 ซ้ำ ปัจจัยหลักประกอบด้วย 1) สายพันธุ์ CMR-57-83-180 2) สายพันธุ์ CMR-57-83-69 และ 3) พันธุ์ระยอง 72 และปัจจัยรอง คือ อัตราปุ๋ย ได้แก่ 16-8-8 16-8-12 และ 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ผลการทดลองพบว่า ดินทรายร่วน ชุดดินจันทึกมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ-ปานกลาง ที่อายุ 4 เดือนหลังปลูก อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบมันสำปะหลังตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงสุด ช่วงเวลา 09.00-12.00 น. ประสิทธิภาพสูงสุด เฉลี่ย 23.076 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} เมื่อมีการปลูกมันสำปะหลัง 1 ฤดูปลูก มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 สามารถกักเก็บคาร์บอนมากที่สุด เฉลี่ย 1,514 กิโลกรัม C/ไร่ รองลงเป็นกว่าสายพันธุ์ CMR 57-83-69 และ CMR 57-83-180 เฉลี่ย 1,441 และ 1,380 กิโลกรัม C/ไร่ ตามลำดับ จากการใส่ปุ๋ยอัตราต่าง ๆ สามารถสรุปได้ว่า การปลูกมันสำปะหลังในดินทรายร่วน จังหวัดนครสวรรค์ ให้การกักเก็บคาร์บอนมากที่สุด เมื่อปลูกมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 และใส่ปุ๋ย อัตรา 16-8-12 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ดังนั้นควรใส่ปุ๋ยและเลือกใช้พันธุ์ที่เหมาะสม จึงเป็นแนวทางปฏิบัติที่สำคัญในการเพิ่มชีวมวลและศักยภาพการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลัง

คำหลัก : การกักเก็บคาร์บอน มันสำปะหลัง การจัดการธาตุอาหาร ดินทรายร่วน

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชไร่เศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูก 9.4 ล้านไร่ ให้ผลผลิต 30 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 3.2 ตันต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) ภายใต้สภาวะโลกร้อนที่เข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เพิ่มขึ้นต่อเนื่องทุกปี มันสำปะหลังเป็นพืชที่เด่นในเรื่องการเจริญเติบโตของต้นและการสร้างรากสะสมอาหารที่เร็ว (พรชัย และสุนทรี, 2563) ทำให้พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังน่าจะมีศักยภาพเป็นแหล่งกักเก็บคาร์บอนโดยการสะสมในมวลชีวภาพ จึงทำการประเมินศักยภาพการกักเก็บคาร์บอนและสะสมชีวมวลในมันสำปะหลัง บทบาทของปุ๋ย และพันธุ์ที่ช่วยส่งเสริมการกักเก็บ CO_2

มันสำปะหลังพืชที่มีการสะสมแป้ง ต้องการธาตุอาหารโพแทสเซียมในปริมาณสูง (Kasele *et al.,* 1983) โพแทสเซียมเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเคลื่อนย้ายคาร์โบไฮเดรทจากส่วนใบและต้นไปยังราก และช่วยเพิ่มปริมาณแป้งในหัวมันสำปะหลัง ชาญ และโชติ (2537) รายว่า มันสำปะหลังเมื่อขาดธาตุโพแทสเซียมจะทำให้ผลผลิตหัวสดลดลง สุกัญญา และคณะ (2563) ได้ทดลองปลูกมันสำปะหลังโดยไม่ใส่ปุ๋ยโพแทช พบว่า ส่งผลให้น้ำหนักแห้งหัวมันสำปะหลังลดลง 33.35 % และต้นมันสำปะหลังมีการดูดดึงโพแทสเซียม แคลเซียม และกำมะถันลดลง สอดคล้องกับ Blin (1905) รายงานว่า การใส่ปุ๋ยโพแทชไม่ได้ทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังเพิ่มขึ้นเท่านั้น แต่ยังทำให้ปริมาณแป้งเพิ่มขึ้นด้วย การใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมและไนโตรเจนในอัตราส่วนที่เหมาะสมช่วยลดการสร้างสารประกอบไซยาไนส์ในหัวมันสำปะหลัง รวมทั้งทำให้อายุใบมันสำปะหลังสั้นลง ส่งผลต่อกระบวนการสะสมแป้งในหัวมันสำปะหลัง (Howeler, 2014) ทั้งนี้มันสำปะหลัง เช่น พันธุ์ระยอง 9 ระยอง 11 และสายพันธุ์ CMR 46-47-137 มีการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมรวมทุกส่วนสูงกว่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ดังนั้นการใช้ปุ๋ยเคมีจึงมีความสำคัญในการเพิ่มผลผลิตหัวสดและผลผลิตแป้ง เมื่อปลูกมันสำปะหลัง 1 ไร่ (ผลผลิต เฉลี่ย 6 ตัน/ไร่) มีการดูดใช้ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมติดไปกับผลผลิตเท่ากับ 4.47, 5.56 และ 17.07 กิโลกรัม N-P-K ต่อไร่ เทียบเท่ากับปุ๋ยเคมี 4.47-12.73-20.48 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ (วัลลีย์ และคณะ, 2560) ปริมาณชีวมวลส่วนเหนือดินเพิ่มขึ้นตามอัตราการใส่ปุ๋ยโพแทช การใส่ปุ๋ยโพแทชที่ 1.25 เท่าของอัตราแนะนำ (20 กิโลกรัม K_2O/ไร่) ส่งผลให้ได้ชีวมวลส่วนเหนือดินสูงสุด (1.66 ตัน/ไร่) (Johnston and Milford, 2012) การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการสะสมมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนในมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ที่มี

การจัดการปุ๋ยแตกต่างกันในสภาพแปลงทดลองมันสำปะหลัง เพื่อให้มีการเลือกพันธุ์และวิธีการจัดการปุ๋ยที่เหมาะสม สามารถช่วยเพิ่มชีวมวลและการกักเก็บปริมาณคาร์บอนในพืชได้ สำหรับรับมือกับการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ และอาจเป็นประโยชน์ต่อศักยภาพการผลิตคาร์บอนเครดิตของประเทศไทยในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง ได้แก่ สายพันธุ์ CMR 57-83-180 CMR 57-83-69 และพันธุ์ระยอง 72 ปุ๋ยเคมี ได้แก่ ยูเรีย (46-0-0) ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดินและพืช วัสดุวิทยาศาสตร์และสารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ดินและพืช

วิธีการ

ดำเนินการทดลองในแปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งมีเนื้อดินเป็นดินทรายปนร่วน ชุดดินจันทึก (sandy, siliceous, isohyperthemic, typic *Ustipsamments*) ความสูงจากระดับน้ำทะเล 97 เมตร วางแผนการทดลองแบบ Split plot จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย ปัจจัยหลัก (Main-plot) คือ พันธุ์มันสำปะหลัง 3 พันธุ์ ได้แก่ 1) สายพันธุ์ CMR 57-83-180 2) สายพันธุ์ CMR 57-83-69 และ 3) พันธุ์ระยอง 72 ปัจจัยรอง (Sub-plot) คือ อัตราปุ๋ย มี 3 ระดับ ได้แก่ 1) ใส่ปุ๋ยเคมี อัตรา 16-8-8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ 2) ใส่ปุ๋ยเคมี อัตรา 16-8-12 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ และ 3) ใส่ปุ๋ยเคมี อัตรา 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ขนาดของแปลงย่อย 9.1 x 6.4 เมตร เว้นระยะระหว่างแปลงย่อย 2 เมตร ปลูกหลุมละ 1 ต้น ระยะปลูก 1.3 x 0.8 เมตร เมื่อวันที่ 8 มิถุนายน 2563 ใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีที่กำหนด เมื่อดินมีความชื้นเหมาะสม วันที่ 21 สิงหาคม 2563 ทำการเก็บเกี่ยววันที่ 25 มิถุนายน 2564 ขนาดพื้นที่เก็บเกี่ยว 25 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย

การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลสภาพภูมิอากาศ ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิสูงสุด และอุณหภูมิต่ำสุด
2. ข้อมูลสมบัติดินในพื้นที่ทำการศึกษา
3. ข้อมูลมวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง ได้แก่ ใบ ก้านใบ ลำต้น เหง้า และหัว
4. ประเมินการกักเก็บคาร์บอน จากการวิเคราะห์อินทรียคาร์บอนในพืช โดยวิธี Walkley and Black (Nelson and Sommers, 1982) การกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพ โดยมีสมการ ดังนี้

$$\text{การกักเก็บคาร์บอน (ตันคาร์บอน/ไร่)} = \frac{\text{มวลชีวภาพ (ตัน/ไร่)} \times \text{ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (\%)}}{100}$$

4. ประเมินการการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ โดยมีสมการ ดังนี้

$$\text{การดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์} = \frac{\text{การกักเก็บคาร์บอน} \times 44}{12}$$

5. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT วิเคราะห์ข้อมูล เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลต่าง ๆ ในแต่ละพันธุ์และการจัดการปุ๋ย โดยวิธีเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 - สิ้นสุด กันยายน 2564

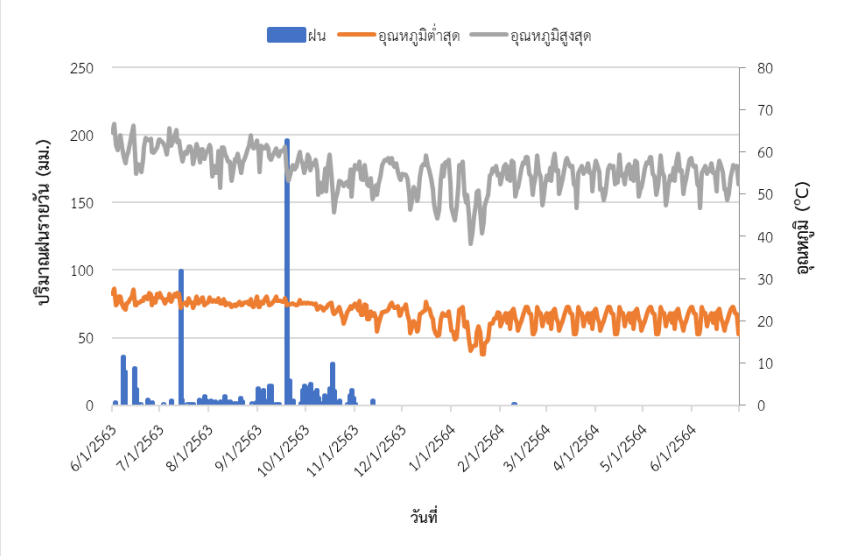
สถานที่ทำการทดลอง

- ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์
- กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาพภูมิอากาศฤดูปลูกมันสำปะหลัง

ช่วงปลูกที่เหมาะสมสำหรับการปลูกมันสำปะหลัง ต้องพิจารณาทั้งปริมาณน้ำฝน และลักษณะของดิน ดังนั้นควรอยู่ในช่วงมีนาคมถึงพฤษภาคม แต่ในปี 2563 ฝนมาช้ากว่าที่กำหนด จึงได้ปลูกมันสำปะหลัง เมื่อวันที่ 8 มิถุนายน 2563 จากข้อมูลสภาพภูมิอากาศที่วัดจากสถานีอุตุนิยมวิทยาตากฟ้า อ.ตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ พบว่า ตลอดฤดูปลูกปี 2563-2564 การปลูกมันสำปะหลังภายใต้สภาวะอาศัยน้ำฝน ได้รับน้ำไม่เพียงพอ มีปริมาณน้ำฝนรวม 738 มิลลิเมตร ซึ่งต่ำกว่าปริมาณความต้องการน้ำของมันสำปะหลัง รวม 796 มิลลิเมตร ตลอดอายุฤดูปลูก (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2563) ประกอบกับดินเป็นดินทรายจัด เมื่อฝนตกน้ำจะไหลผ่านดินได้อย่างรวดเร็ว มีการระบายน้ำดีเกินไป ทำให้เกิดปัญหาการขาดแคลนน้ำ ความสามารถในการอุ้มน้ำ และดูดซับธาตุอาหารต่ำ อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 33.64 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 21.90 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิต่ำสุด และสูงสุด แสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิ ณ สถานีอุตุนิยมวิทยาตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนมิถุนายน 2563 – มิถุนายน 2564

2. ผลวิเคราะห์สมบัติดินในพื้นที่ทำการศึกษา

วิเคราะห์สมบัติดินแบบสุ่มรวม (composited sample) ที่ระดับความลึก 0-20 และ 20-50 เซนติเมตร พบว่ามีความหนาแน่นรวม อยู่ในช่วง 1.55-1.6 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) เป็นกรดรุนแรงมาก ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดิน เช่น ฟอสฟอรัสถูกตรึง ทำให้พืชดูดไปใช้ไม่ได้ และมีธาตุเสริม เช่นเหล็กและแมงกานีสละลายออกมามากจนเป็นพิษต่อพืชได้ ดินที่เหมาะสมต่อการปลูกมันสำปะหลัง ควรมีค่าความเป็นกรด-ด่างของดินอยู่ในช่วง 5.0-6.5 (กรมวิชาการเกษตร, 2564) สำหรับปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับต่ำ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ ไม่เพียงพอต่อความต้องการมันสำปะหลัง ซึ่งต้องการดินที่มีอินทรียวัตถุ 0.65-2.0 % และฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่า 7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้อยู่ในระดับปานกลาง ดังนั้นเมื่อประเมินการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับมันสำปะหลัง อัตราที่แนะนำ คือ 16-8-8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2553) แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์สมบัติดินแปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์

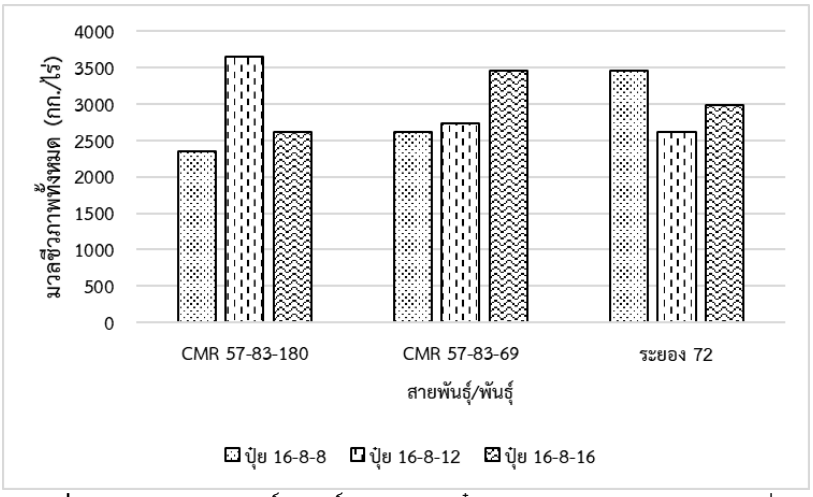
Soil properties	Top soil (0-20 cm)	Subsoil (20-50 cm)	Optimal value of cassava
pH (1:1)	4.4	4.5	5.0 – 6.5
EC (1:5) (dS/m)	0.01	0.01	-
OM (%)	0.6	0.3	0.65 – 2.0
OC (%)	0.3	0.2	-
Available P (Bray-II) (mg/kg)	4	2	> 7
Exchangeable K (mg/kg)	65	43	> 30
Exchangeable Ca (mg/kg)	182	117	> 50
Exchangeable Mg (mg/kg)	16	17	> 24
% Sand	79.3	77.6	-
% Silt	12.1	7.8	-
% Clay	8.6	14.6	-
Texture	Loamy sand	Sandy loam	Sand, loam or sandy loam
Bulk Density (g/cm^3)	1.6	1.55	-

ที่มา : กรมวิชาการเกษตร (2564)

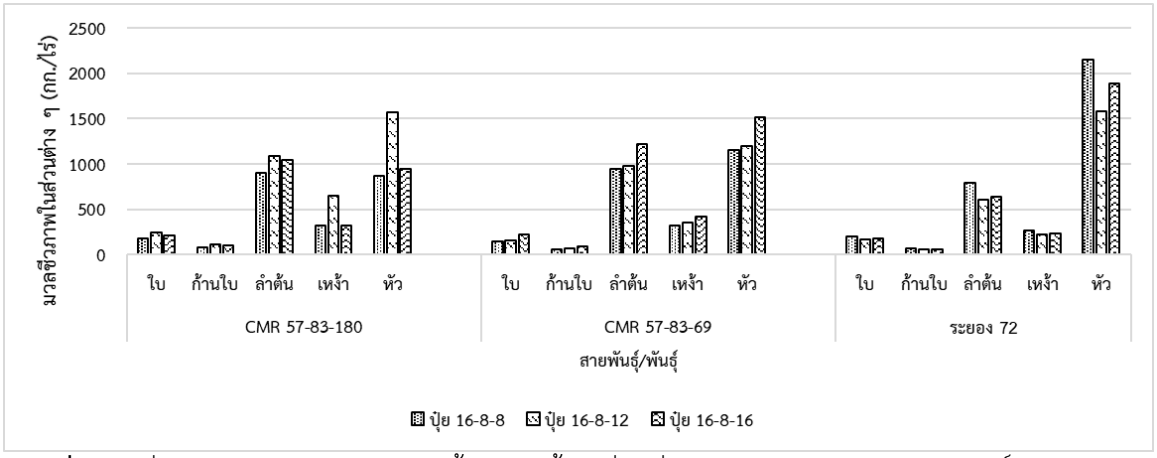
3. ปริมาณมวลชีวภาพของมันสำปะหลัง

เมื่อเก็บเกี่ยว ปริมาณมวลชีวภาพรวมสูงสุด เฉลี่ย 2,946 กิโลกรัม/ไร่ มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 มีปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด เมื่อใส่ปุ๋ยอัตรา 16-8-8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ เฉลี่ย 3,467 กิโลกรัม/ไร่ ในขณะที่สายพันธุ์ CMR57-83-180 มีปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด ที่อัตราปุ๋ย 16-8-12 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ เฉลี่ย 3,656 กิโลกรัม/ไร่ และให้ปริมาณมวลชีวภาพต่ำสุดที่อัตรา 16-8-8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ (2,345 กิโลกรัม/ไร่) สำหรับสายพันธุ์ CMR57-83-69 ให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุดเมื่อมีการใช้ปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ (ภาพที่ 2)

เมื่อพิจารณาถึงอัตราปุ๋ยระดับต่าง ๆ พบว่า การให้ปุ๋ยอัตรา 16-8-8 และ 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ส่งผลให้มวลชีวภาพส่วนหัวมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 ต่ำสุด เฉลี่ย 868 และ 941 กิโลกรัม/ไร่ (ภาพที่ 3) นอกจากนี้การให้ปุ๋ยในอัตราต่าง ๆ และการเลือกใช้มันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-69 และพันธุ์ระยอง 72 ไม่ส่งผลให้ปริมาณมวลชีวภาพในส่วนของหัวแตกต่างกัน โดยการใส่ปุ๋ยในอัตราที่เหมาะสม ส่งผลให้ผลผลิตมันสำปะหลังเพิ่มมากขึ้น (Chua *et al.,* 2020) ทั้งนี้ความแตกต่างของผลผลิตยังขึ้นอยู่กับพันธุ์และสภาพแวดล้อมที่ปลูกด้วย (Sriroth *et al.,* 2001)



ภาพที่ 2 ผลของสายพันธุ์/พันธุ์และอัตราปุ๋ย (กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่) ในดินทรายปนร่วนต่อปริมาณมวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งมันสำปะหลัง



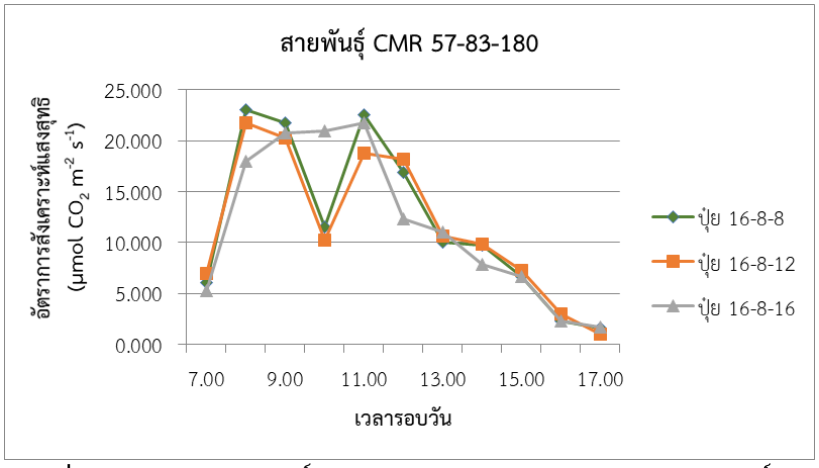
ภาพที่ 3 สัดส่วนปริมาณมวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 CMR 57-83-69 และพันธุ์ระยอง 72 ในดินทรายปนร่วน ที่อายุเก็บเกี่ยว

4. อัตราการสังเคราะห์แสงของมันสำปะหลัง

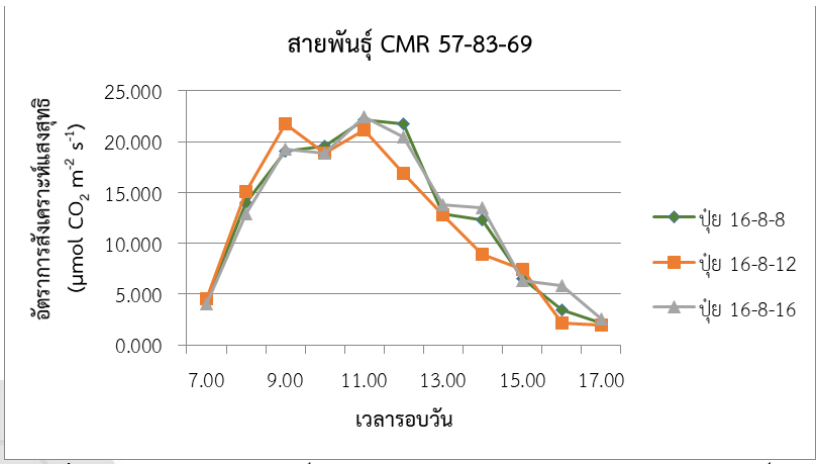
การตอบสนองต่อแสงของมันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธุ์/พันธุ์ และปุ๋ยอัตราต่าง ๆ จากการวัดอัตราการสังเคราะห์แสงในรอบวัน ที่อายุ 4 เดือนหลังปลูก พบว่า สายพันธุ์ CMR 57-83-180 อัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นจาก 7.00 น. จนถึง 9.00 น. เฉลี่ย 20.943 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} และค่อย ๆ ลดลงที่เวลา 10.00 น. ที่อัตราปุ๋ย 16-8-8 และ 16-8-12 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ แต่อัตราปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ อัตราการสังเคราะห์แสงที่เวลา 10.00 น. ยังคงที่ ไม่ได้ลดลง เฉลี่ย 20.973 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} แสดงว่า การให้ปุ๋ยอัตราดังกล่าว (16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่) ช่วยรักษาอัตราการสังเคราะห์แสงในช่วงนี้ได้ดี จากนั้นมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 อัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มอีกขึ้นสูงสุด เฉลี่ย 21.032 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ที่เวลา 11.00 น. และจะค่อย ๆ ลดอัตราการแลกเปลี่ยน CO_2 ลง ตั้งแต่ 12.00 จนถึง 17.00 น. เฉลี่ย 15.797 เป็น 1.403 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} แสดงดังภาพที่ 4 เมื่อพิจารณาปุ๋ย อัตรา 16-8-8 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ มันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 เป็นพันธุ์ที่มีการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์สูงสุดในช่วงเวลา 8.00 น. เฉลี่ย 23.076 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} สำหรับอัตราการสังเคราะห์แสงของมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-69 พบว่า การให้ปุ๋ยทั้ง 3 อัตรา มีรูปแบบอัตราการสังเคราะห์แสงใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 5) โดยอัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซ CO_2 เพิ่มขึ้นจากเวลา 7.00 น. จนถึงจุดสูงสุดที่เวลา 11.00 น. เฉลี่ย 21.905 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} จากนั้นจะค่อย ๆ ลดลง และการให้ปุ๋ย อัตรา 16-8-16 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ ให้อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ

สูงสุด เฉลี่ย 22.431 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} เนื่องจากปุ๋ยอัตราดังกล่าวได้รับธาตุโพแทสเซียมสูงนั้น ย่อมมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมทาบอลิซึมและการเปิดปากใบ โดยช่วยกระตุ้นกิจกรรมการสังเคราะห์แสง (Cardoso *et al.*, 2005; Anschütz *et al.*, 2014)

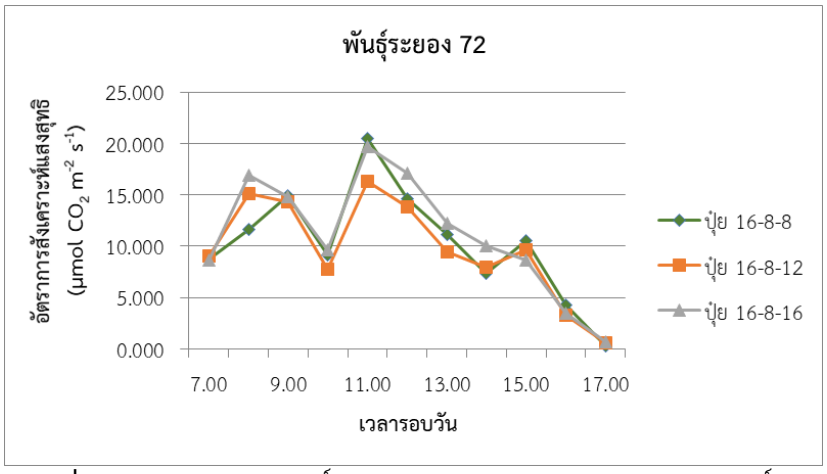
อัตราการสังเคราะห์แสงของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 พบว่า อัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซ CO_2 เพิ่มขึ้น ตั้งแต่เวลา 7.00 น. ถึง 9.00 น. ให้อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ เฉลี่ย 8.36 ถึง 13.26 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} และค่อย ๆ ลดลงที่เวลา 10.00 น. เฉลี่ย 9.13 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} จากนั้นเพิ่มขึ้นอีกครั้งที่เวลา 11.00 น. เฉลี่ย 16.85 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} และค่อย ๆ ลดลงจนถึงเวลา 17.00 น. โดยจะเห็นว่า การให้ปุ๋ย 16-8-8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ มีอัตราการแลกเปลี่ยน CO_2 สูงสุด เมื่อเทียบกับอัตราการให้ปุ๋ยระดับอื่น ๆ อัตราการสังเคราะห์แสงของใบมันสำปะหลังจะเริ่มตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้เวลา 7.00 น. โดยสัมพันธ์กับความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นและจะเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงที่สุดในช่วงเวลา 09.00-12.00 น. หลังจากนั้นอัตราการสังเคราะห์แสงจะลดลง ดังนั้นพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์สูงสุดในกลุ่มนี้ คือ สายพันธุ์ CMR 57-83-180 โดยมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิของใบสูงสุดเฉลี่ย 23.076 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} รองลงมาเป็น CMR 57-83-69 และระยอง 72 เฉลี่ย 22.431 และ 20.441 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} ตามลำดับ ช่วงเวลาที่ต้นมันสำปะหลังตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงสุด คือ เวลา 09.00-12.00 น. ในสายพันธุ์ CMR 54-83-69 ส่วนสายพันธุ์ CMR 57-83-180 คือ เวลา 08.00 – 09.00 น. และ 11.00-12.00 น. ในขณะที่พันธุ์ระยอง 72 ช่วงเวลา 11.00 น. แสดงดังภาพที่ 6



ภาพที่ 4 อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิในรอบวันของมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 และอัตราปุ๋ย (กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ในดินทรายปนร่วน ที่อายุ 4 เดือนหลังปลูก



ภาพที่ 5 อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิในรอบวันของมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-69 และอัตราปุ๋ย (กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ในดินทรายปนร่วน ที่อายุ 4 เดือนหลังปลูก



ภาพที่ 6 อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิในรอบวันของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 และอัตราปุ๋ย (กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ในดินทรายปนร่วน ที่อายุ 4 เดือนหลังปลูก

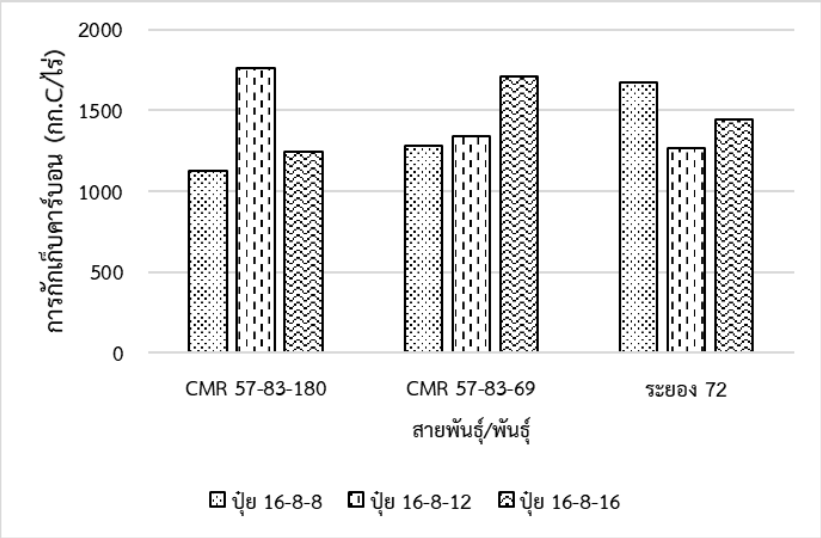
5. การกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธุ์/พันธุ์ สามารถกักเก็บคาร์บอนทั้งหมด เฉลี่ย 1,427 กิโลกรัม C/ไร่ แสดงดังตารางที่ 3 พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์/พันธุ์และการใช้ปุ๋ยต่อการกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใช้สายพันธุ์ CMR57-83-180 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 16-8-12 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ มีความสามารถในการกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดสูงสุดเฉลี่ย 1,764 กิโลกรัม C/ไร่ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีการใช้สายพันธุ์ CMR57-83-69 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ เฉลี่ย 1,707 กิโลกรัม C/ไร่ และกรรมวิธีการใช้พันธุ์ระยอง 72 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 16-8-8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ เฉลี่ย 1,671 กิโลกรัม C/ไร่ สำหรับกรรมวิธีที่มีการกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดต่ำที่สุด คือ การใช้สายพันธุ์ CMR57-83-180 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 16-8-8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ให้ปริมาณกักเก็บคาร์บอนเพียง 1,127 กิโลกรัม C/ไร่ เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยลักษณะเฉพาะของพันธุ์มันสำปะหลังต่อการกักเก็บคาร์บอน พบว่า พันธุ์ระยอง 72 มีความสามารถในการกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดสูงสุดเฉลี่ย 1,460 กิโลกรัม C/ไร่ รองลงมาคือ สายพันธุ์ CMR57-83-69 เฉลี่ย 1,441 กิโลกรัม C/ไร่ และสายพันธุ์ CMR57-83-180 มีความสามารถในการกักเก็บคาร์บอนต่ำสุดเฉลี่ย 1,380 กิโลกรัม C/ไร่ (ภาพที่ 7)

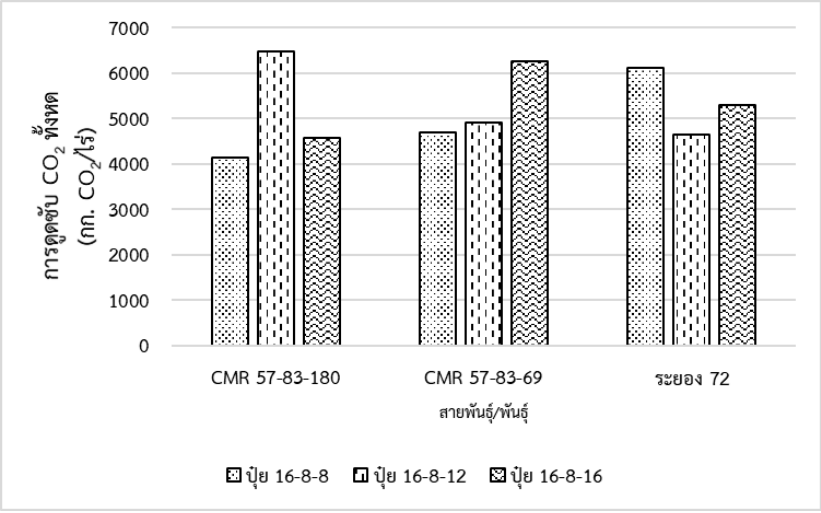
สำหรับการดูดซับ CO_2 ของมันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธุ์/พันธุ์ ซึ่งให้ค่าการดูดซับ CO_2 ในทำนองเดียวกันกับการกักเก็บคาร์บอน พบว่า มันสำปะหลังจะค่อย ๆ เพิ่มการดูดซับ CO_2 ตามการเจริญเติบโตของพืช ทั้งนี้มันสำปะหลัง 1 ฤดูปลูกมีศักยภาพในการดูดซับ CO_2 เฉลี่ย 5,232 กิโลกรัม CO_2/ไร่ ซึ่งกรรมวิธีการใช้สายพันธุ์ CMR57-83-180 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 16-8-12 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ สามารถดูดซับ CO_2 ได้สูงสุดเฉลี่ย 6,468 กิโลกรัม CO_2/ไร่ สอดคล้องกับปริมาณการกักเก็บคาร์บอนต้นมันสำปะหลัง (ภาพที่ 8)

มันสำปะหลัง 1 ฤดูปลูกมีศักยภาพในการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เฉลี่ย 5,232 กิโลกรัม CO_2/ไร่ ซึ่งกรรมวิธีการใช้สายพันธุ์ CMR 57-83-180 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 16-8-12 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ สามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากที่สุด เฉลี่ย 6,468 กิโลกรัม CO_2/ไร่ สอดคล้องกับปริมาณการกักเก็บคาร์บอนในมันสำปะหลังแสดงดังภาพที่ 8 ทั้งนี้ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของต้นมันสำปะหลังในพื้นที่ 1 ไร่ ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์ แสดงดังตารางที่ 2 สายพันธุ์ CMR 57-83-180 สามารถกักเก็บคาร์บอนในส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เฉลี่ย 557 479 207 95 และ 42 กิโลกรัม C/ไร่ และปริมาณการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 5,060 กิโลกรัม CO_2/ไร่ คิดเป็นส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เป็น 2,042 1,756 759 348 และ 154 กิโลกรัม CO_2/ไร่ สายพันธุ์ CMR 57-83-69 สามารถกักเก็บคาร์บอนในส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เฉลี่ย 644 514 175 80 และ 31 กิโลกรัม C/ไร่ และปริมาณการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 5,284 กิโลกรัม CO_2/ไร่ คิดเป็นส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เป็น 2,361 1,885 631 293 และ 114 กิโลกรัม CO_2/ไร่ ส่วนพันธุ์ระยอง 72 สามารถกักเก็บ

คาร์บอนในส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เฉลี่ย 928 315 163 83 และ 25 กิโลกรัม C/ไร่ และปริมาณการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 5,551 กิโลกรัม CO_2/ไร่ คิดเป็นส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เป็น 3,403 1,155 598 304 และ 92 กิโลกรัม CO_2/ไร่



ภาพที่ 7 ผลของสายพันธุ์/พันธุ์และอัตราปุ๋ย (กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ในดินทรายปนร่วนต่อการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลัง ที่อายุเก็บเกี่ยว



ภาพที่ 8 ผลของสายพันธุ์/พันธุ์และอัตราปุ๋ย (กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่) ในดินทรายปนร่วนต่อการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของมันสำปะหลัง ที่อายุเก็บเกี่ยว

ตารางที่ 2 ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง ในพื้นที่ 1 ไร่

Part of cassava CMR 57-83-180	Biomass (kg/rai)	Organic carbon content (%)	Carbon Storage (kg C/rai)	CO_2 absorption (kg CO_2/rai)
Leaf	212	44.66	95	348
Petiole	97	42.97	42	154
Stem	1,008	47.39	479	1,756
Rhizome	432	47.51	207	759
Tuber	1,126	49.29	557	2,042
Total	2,875	48.00	1,380	5,060
Part of cassava CMR 57-83-69	**Biomass (kg/rai)**	**Organic carbon content (%)**	**Carbon Storage (kg C/rai)**	**CO_2 absorption (kg CO_2/rai)**
Leaf	173	46.00	80	293
Petiole	70	44.72	31	114
Stem	1,045	49.20	514	1,885
Rhizome	362	47.60	172	631
Tuber	1,287	49.91	644	2361
Total	2,938	49.05	1,441	5,284
Part of cassava Rayong 72	**Biomass (kg/rai)**	**Organic carbon content (%)**	**Carbon Storage (kg C/rai)**	**CO_2 absorption (kg CO_2/rai)**
Leaf	183	45.25	83	304
Petiole	59	42.22	25	92
Stem	677	46.43	315	1,155
Rhizome	239	46.28	163	598
Tuber	1,869	49.73	928	3,403
Total	3,026	50.03	1,514	5,551

Note: 1/ การกักเก็บคาร์บอน = น้ำหนักแห้ง x ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน/100

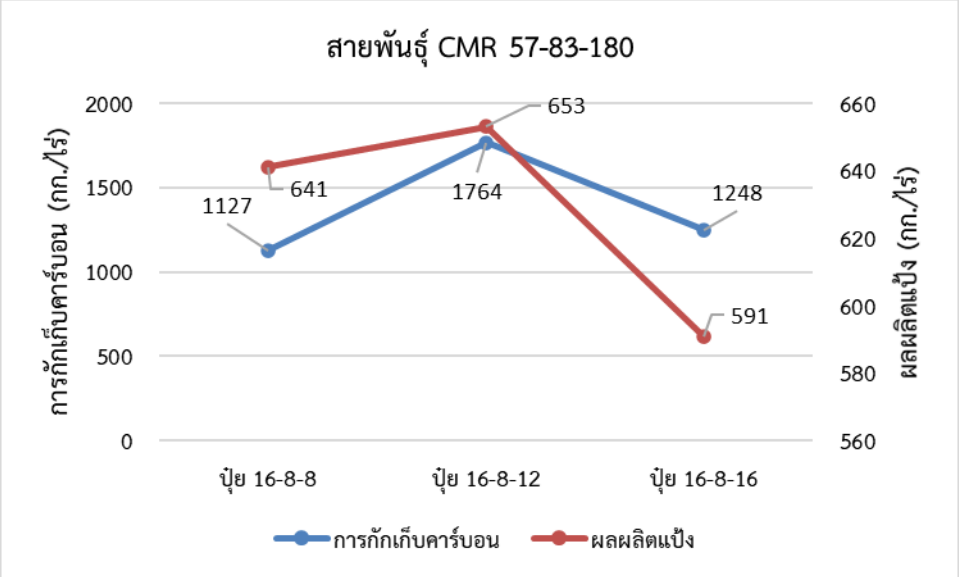
2/ การกักเก็บ CO_2 = การกักเก็บคาร์บอน x 44/12 (1 ตันของคาร์บอน = 44/12 หรือ 3.67 ตันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์)

6. ความสัมพันธ์การจัดการปุ๋ย ผลผลิตแป้ง และการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลัง

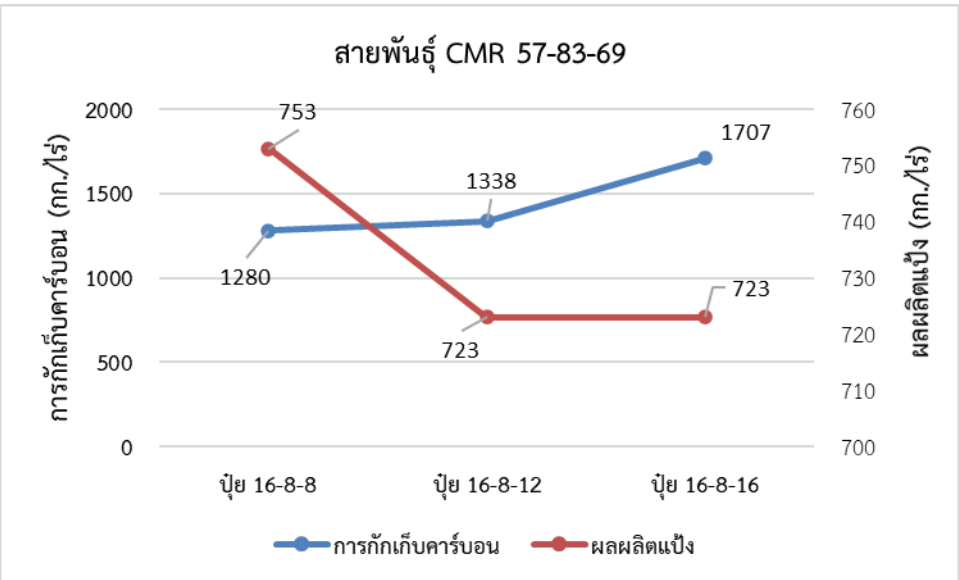
เมื่อหาความสัมพันธ์เปรียบเทียบอิทธิพลของการจัดการปุ๋ยอัตราต่าง ๆ ต่อการกักเก็บคาร์บอนและผลผลิตในมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 พบว่า ลักษณะของกราฟทั้งสองใกล้เคียงกัน โดยการจัดการปุ๋ยอัตรา 16-8-12 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ให้ผลผลิต และการกักเก็บคาร์บอนสูงสุดที่ เฉลี่ย 1,764 กิโลกรัม C/ไร่ และผลผลิตแป้ง เฉลี่ย 653 กิโลกรัม/ไร่ (ภาพที่ 9) จะเห็นว่าการให้ปุ๋ยอัตราต่าง ๆ ต่อการกักเก็บคาร์บอนและผลผลิตแป้ง ในสายพันธุ์ CMR 57-83-180 ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อเปรียบทุกกรรมวิธีการใส่ปุ๋ย ในกรณีความสัมพันธ์ในสายพันธุ์มันสำปะหัง CMR 57-83-69 พบว่าการกักเก็บคาร์บอนเพิ่มขึ้นตามระดับการให้ปุ๋ย จากอัตราปุ๋ย 16-8-8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ เฉลี่ย 1,280 กิโลกรัม C/ไร่ สูงถึง เฉลี่ย 1,707 กิโลกรัม C/ไร่ ที่อัตราปุ๋ย 16-8-16 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ แสดงว่า การให้ปุ๋ยโพแทชในอัตราที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการกักเก็บคาร์บอนในมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-69 แสดงดังภาพที่ 10 แต่เมื่อพิจารณาด้านผลผลิตแป้งกลับให้ผลในทางตรงกันข้ามกับการกักเก็บคาร์บอน คือ เมื่อมีการให้ปุ๋ยในอัตราต่ำ พบว่า มันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-69 ให้ผลผลิตแป้งสูงสุด เฉลี่ย 753 กิโลกรัม/ไร่

จากการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการกักเก็บคาร์บอนและผลผลิตแป้งในมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 พบว่า ลักษณะความสัมพันธ์มีทิศทางตรงกันข้าม โดยการให้ปุ๋ยอัตรา 16-8-12 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ให้ผลผลิตแป้งสูงสุด เฉลี่ย 535 กิโลกรัม/ไร่ สอดคล้องกับสายพันธุ์ CMR 57-83-180 ที่ให้ผลผลิตแป้งสูง เมื่อให้ปุ๋ยอัตรานี้เช่นกัน แต่เมื่อพิจารณาถึงการกักเก็บคาร์บอน พบว่า มีปริมาณการกักเก็บคาร์บอนต่ำสุด เฉลี่ย 1,266 กิโลกรัม C/ไร่ (ภาพที่ 11) เมื่อพิจารณาภาพความสัมพันธ์ของมันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ จะเห็นว่าปริมาณผลผลิตแป้งและการกักเก็บคาร์บอนของมัน

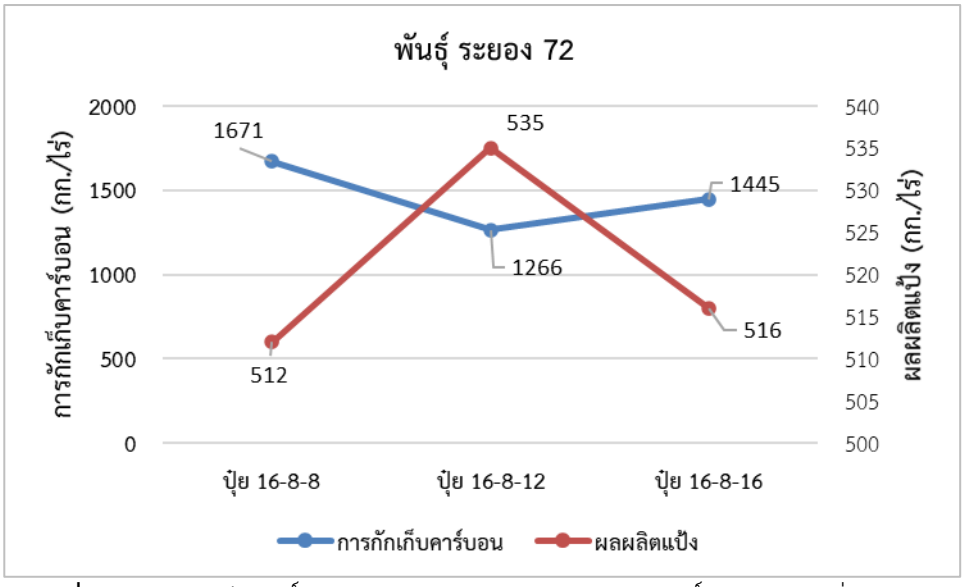
สำปะหลังมีแนวโน้มให้ทิศทางตรงข้ามกัน คือ เมื่อมีการกักเก็บคาร์บอนที่สูงขึ้น ปริมาณผลผลิตแป้งจะลดลง แต่หากมีการกักเก็บคาร์บอนที่ลดลง กลับมีปริมาณผลผลิตแป้งที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากปุ๋ยโพแทชมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงและการสะสมแป้งในมันสำปะหลัง (Howeler, 2014) ส่งผลให้เกิดกระบวนการหายใจ ทำให้ปริมาณการกักเก็บคาร์บอนลดลง



ภาพที่ 9 การกักเก็บคาร์บอนในชีวมวลของมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 ที่ปลูกในดินทรายปนร่วน ภายใต้การจัดการปุ๋ยโพแทชที่แตกต่างกัน 3 ระดับ



ภาพที่ 10 การกักเก็บคาร์บอนในชีวมวลของมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-69 ที่ปลูกในดินทรายปนร่วน ภายใต้การจัดการปุ๋ยโพแทชที่แตกต่างกัน 3 ระดับ



ภาพที่ 11 การกักเก็บคาร์บอนในชีวมวลของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ที่ปลูกในดินทรายปนร่วนภายใต้การจัดการปุ๋ยโพแทชที่แตกต่างกัน 3 ระดับ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษามวลชีวภาพและกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลังในพื้นที่ดินทรายปนร่วน สามารถสรุปได้ว่า ลักษณะของสายพันธุ์/พันธุ์มันสำปะหลัง ที่อายุ 4 เดือน ใบมันสำปะหลังมีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ เริ่มตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงที่สุดในช่วงเวลา 09.00-12.00 น. มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิของใบสูงสุด เฉลี่ย 23.076 $\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$ สัดส่วนน้ำหนักแห้งที่อายุเก็บเกี่ยวในแต่ละส่วนของต้นมันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธ์/พันธุ์ มวลชีวภาพส่วนของต้นมีปริมาณมากที่สุด เฉลี่ย 67 % เมื่อพิจารณาศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลังตลอดฤดูปลูก การใช้มันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR 57-83-180 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอัตรา 16-8-12 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ไร่ สามารถในการกักเก็บคาร์บอนทั้งหมดสูงที่สุด เฉลี่ย 1,764 กิโลกรัม C/ไร่ คิดเป็นการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เฉลี่ย 6,468 กิโลกรัม CO_2/ไร่ ทั้งนี้ปริมาณกักเก็บคาร์บอนสัมพันธ์เป็นสัดส่วนโดยตรงกับมวลชีวภาพ ดังนั้นการปลูกมันสำปะหลัง 1 ฤดูปลูก มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 สามารถกักเก็บคาร์บอนมากที่สุด เฉลี่ย 1,514 กิโลกรัม C/ไร่ หรือ 5,551 กิโลกรัม CO_2/ไร่ ของการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ รองลงมาเป็นสายพันธุ์ CMR 57-83-69 และ CMR 57-83-180 กักเก็บคาร์บอน เฉลี่ย 1,441 และ 1,380 กิโลกรัม C/ไร่ ตามลำดับ คิดเป็นการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เฉลี่ย 5,284 และ 5,060 กิโลกรัม CO_2/ไร่ จะเห็นว่า การจัดการปุ๋ยและการเลือกสายพันธุ์/พันธุ์ที่เหมาะสมจะช่วยยกระดับผลผลิตมันสำปะหลังและการกักเก็บคาร์บอนให้สูงขึ้นได้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่างพื้นที่ เพื่อศึกษาพันธุ์และการจัดการปุ๋ยที่เหมาะสม สำหรับเพิ่มศักยภาพการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่อื่น ๆ ในการเลือกพันธุ์พืชและการจัดการที่เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของแต่ละพื้นที่

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การจัดการปุ๋ยและการเลือกพันธุ์มันสำปะหลังที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อให้เป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
2. การวางแผนจัดการระบบการผลิตพืชที่สามารถช่วยลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. ***คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ***. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมวิชาการเกษตร. 2564. ***คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ***. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2563. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.awsobservation.tmd.go.th/web/main/index.asp (6 เมษายน 2564)

ชาญ ถิรพร และโชติ สิทธิบุศย์. 2537. ดินและการใช้ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพกับมันสำปะหลัง. *ใน* **เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, ระยอง.

พรชัย ไพบูลย์ และสุนทรี ยิ่งชัชวาล. 2563. การตอบสนองต่อแสงของใบมันสำปะหลัง พันธุ์ห้วยบง 60 ภายใต้ความเข้มข้น O_2 ระดับปกติและระดับต่ำ ร่วมกับความเข้มข้น CO_2 3 ระดับ. ***วารสารวิชาการเกษตร.*** 38(3): 267-276.

วัลลีย์ อมรพล กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ ศรีสุดา ทิพยรักษ์ ศุภกาญจน์ ล้วนมณี จิณณจาร์ หาญเศรษฐสุข ประพิศ วองเทียม และสมพงษ์ ทองช่วย. 2560. การศึกษาอัตราปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมสำหรับมันสำปะหลังที่ปลูกในกลุ่มดินร่วนปนทราย: ชุดดินห้วยโป่ง. **Thai Agric. Res J.** 35(2): 151-163.

สุกัญญา แย้มประชา นุชรีย์ พรำนัก นุกูล ถวิลถึง และวัลลีย์ อมรพล. 2563. ผลของการขาดไนโตรเจน โพแทสเซียม และกำมะถันต่อการเจริญเติบโตและการดูดดึงธาตุอาหารในมันสำปะหลัง. ***วารสารดินและปุ๋ย.*** 40(2): 19-30.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. “ตารางแสดงรายละเอียดมันสำปะหลัง.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.oae.go.th/view/1/ตารางแสดงรายละเอียดมันสำปะหลัง/TH-TH (7 เมษายน 2564)

Anschütz U, D. Becker, S. Shabala. 2014. Going beyond nutrition: regulation of potassium homoeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment. **J Plant Physiol.** 171: 670–687.

Blin, H. 1905. La fumure du manioc (Cassava fertilization). Bulletin Economique de Madagascar. 3: 419-421.

Cardoso, J., D.S. Santos, V. Silveira, E. Anselmo, S.N. Matsumoto, T. Sediyama, and F.M. Carvalho. 2005. Effect of nitrogen in the agronomic characteristics of cassava. **Bragantia.** 64: 651-659.

Chua, M.F., L. Youbee, S. Oudthachit, P. Khanthavong, E.J. Veneklaas and A.I. Malik. 2020. Potassium fertilisation is required to sustain cassava yield and soil fertility. **Agronomy.** 10(8): 1103.

Howeler, R.H. 2014. Sustainable Soil and Crop Management of Cassava in Asia. Centro Internacional de Agricultura TropicalInternational Center. Pp.57-97.

Johnston, A.E. and G.F.J. Milford. 2012. Potassium and nitrogen interaction in crops. Potash development Association.

Kasele, I.N., S.K. Hahn, C.O. Oputa, and P.N. Vine. 1983. Effects of shade, nitrogen, and potassium on cassava. In Proceedings of the Second Triennial Symposium of the International Society for Tropical Root Crop. Pp.55-58.

Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1983. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic matter. *In* **Method of soil analysis: Part 2 Chemical and Microbiology Properties 9.** Pp.539-579.

Sriroth, K., K. Piyachomkwan, V. Santisopasri and C.G. Oates. (2001). Environment conditions during root development: Drought constraint on casava starch quality. **Euphytica.** 120: 95-101.

การประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลังในระดับพื้นที่
Assessment of Biomass and Carbon Storage of Cassava at Production Area Level

นุชนาฏ ตันวรรณ สายน้ำ อุดพ้วย วลัยพร ศะศิประภา[1] ปรีชา กาเพ็ชร[2]
อานนท์ มลิพันธ์[3] ไชยา บุญเลิศ[4]
Nutchanart Tanwan Sainam Udpuay Walaiporn Sasiprapa[1] Preecha Kapetch[2]
Anon Malipan[3] Chaiya Boonlert[4]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Evaluation of biomass and carbon storage on the cassava plantation at Nakhon Sawan province was proposed to explore the farmer's management on cassava carbon absorption. This experiment was surveyed farmer's fields between January and February 2021. The survey trial was planned by selecting a simple random sampling to collect data on the management of the cassava plantation. The cassava at the age of 7-10 months after planting were harvested for measuring total biomass and analyzing organic carbon content. The survey data revealed that Rayong 72 and CMR33-38-48 were the two most preferred local cassava varieties, followed by Rayong 11, Rayong 9, CMR33-53-81, Rayong 13, CMR43-08-89, CMR33-35-69, CMR36-55-166, Rayong 2 and Rayong 5 respectively. The application of chemical fertilizers once per growing season gave the highest carbon storage in cassava plant. The biomass was accumulated at 7-10 months of age, ranging from 1.028 to 4.259 tons/rai, with the highest percentage of cassava tuber dry weight (67.3 %), followed by stem, rhizome, leave and petiole, respectively. The amount of carbon dioxide absorption was in the range of 1.834-7.621 tons CO_2/rai, which accounted for the highest percentage of carbon in the tuber, followed by rhizome, stem, leave and petiole, respectively. The carbon storage potential of cassava plants in an area of one rai was calculated at 6.173 1.889 0.873 0.092 and 0.023 tons CO_2/rai in in tubers, stems, rhizomes, leaves and petioles, respectively.

Keywords : Carbon dioxide absorption, Carbon storages, Cassava, Production area

[1]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร
[1]Information technology center
[2]ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่
[2]Chiang Mai field crops research center
[3]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก
[3]Phitsanulok seed research and development center
[4]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครสวรรค์
[4]Nakhonsawan agricultural research and development center

บทคัดย่อ

สำรวจชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง จังหวัดนครสวรรค์ มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการจัดการแปลงเบื้องต้นของเกษตรกรต่อศักยภาพการกักเก็บคาร์บอน ดำเนินการสำรวจในไร่เกษตรกร ระหว่างเดือน มกราคม - กุมภาพันธ์ 2564 โดยวางแผนการสำรวจแบบการสุ่มแบบง่าย เก็บข้อมูลการจัดการแปลงมันสำปะหลัง และเก็บตัวอย่างตัวอย่างพืชในช่วงที่มันสำปะหลังอายุ 7-10 เดือน วิเคราะห์มวลชีวภาพ และปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ผลการสำรวจพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง พบว่า เกษตรกรในพื้นที่เลือกปลูก พันธุ์ระยอง 72 และ CMR33-38-48 มากที่สุด รองลงมาเป็นพันธุ์ระยอง 11, ระยอง 9, CMR33-53-81, ระยอง 13, CMR43-08-89, CMR33-35-69, CMR36-55-166, ระยอง 2 และระยอง 5 ตามลำดับ การใส่ปุ๋ยเคมี 1 ครั้งต่อฤดูปลูกทำให้มันสำปะหลังมีการกักเก็บคาร์บอนในต้นมากที่สุด มวลชีวภาพของต้นมันสำปะหลังที่อายุ 7-10 เดือน อยู่ในช่วง 1.028-4.259 ตัน/ไร่ โดยมีสัดส่วนน้ำหนักส่วนหัวมากที่สุด (67.3%) รองลงมาเป็นลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ ตามลำดับ สำหรับปริมาณการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในช่วง 1.834-7.621 ตัน CO_2/ไร่ โดยคิดเป็นสัดส่วนของคาร์บอนในส่วนของหัวมันสำปะหลังมากที่สุด รองลงมาเป็นลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ ตามลำดับ ทั้งนี้ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของต้นมันสำปะหลังในพื้นที่ 1 ไร่ คิดเป็นส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เป็น 3.091 0.860 0.394 0.037 และ 0.009 ตัน CO_2/ไร่

คำหลัก : การดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ กักเก็บคาร์บอน มันสำปะหลัง ระดับพื้นที่

คำนำ

ภาวะโลกร้อนเป็นปัญหาที่โลกกำลังเผชิญ ซึ่งมีสาเหตุเกิดจากก๊าซเรือนกระจกที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้อุณหภูมิของโลกเพิ่มสูงขึ้น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นหนึ่งในก๊าซที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก (ชัญษา และคณะ, 2559) พื้นที่การเกษตรสามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศ โดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและนำมาสะสมในรูปของชีวมวล ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ประมาณ 9.4 ล้านไร่ ผลผลิตหัวสด 28.9 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 3.3 ตัน/ไร่ พันธุ์ที่ปลูกนิยมปลูกมากที่สุด ได้แก่ เกษตรศาสตร์ 50 คิดเป็น 2.9 ล้านไร่ รองลงมาเป็น ระยอง 72 ระยอง 5 ระยอง 11 ห้วยบง 80 ห้วยบง 60 ระยอง 9 ระยอง 90 ระยอง 60 ระยอง 7 ระยอง 3 ระยอง 1 ศรีราชา 1 และพันธุ์อื่น ๆ ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) แหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญอยู่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คิดเป็น 5.3 ล้านไร่ รองลงมา เป็น ภาคเหนือ (2.1 ล้านไร่) และภาคกลาง (1.9 ล้านไร่) จังหวัดที่ปลูกมาก ได้แก่ นครราชสีมา กำแพงเพชร ชัยภูมิ นครสวรรค์ เลย อุดรธานี อุบลราชธานี ลพบุรี สระแก้ว และกาญจนบุรี เป็นต้น พื้นที่การปลูกมันสำปะหลังเหล่านี้สามารถเป็นแหล่งการกักเก็บคาร์บอนไว้ในเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่เด่นในเรื่องการเจริญเติบโตของต้นและการสร้างรากสะสมอาหารที่เร็ว (พรชัย และสุนทรี, 2563) ทำให้พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังน่าจะมีศักยภาพเป็นแหล่งกักเก็บคาร์บอน โดยการสะสมในมวลชีวภาพ

ดินที่ปลูกมันสำปะหลังในประเทศไทยโดยทั่วไป ส่วนมากเป็นดินทราย ทรายร่วน และดินร่วนทราย (กรมวิชาการเกษตร, 2564) การปลูกมันสำปะหลังส่วนใหญ่มีการอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก โดยทั่วไปเกษตรกรมักมีการใส่ปุ๋ย 1-2 ครั้ง คือ ใส่ปุ๋ย 15-7-18 หรือ 15-15-15 อัตรา 30-50 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับดินร่วนเหนียวหรือดินเหนียวปนกรวด และอัตรา 50-100 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับดินร่วนทรายหรือดินทราย หากเป็นดินทรายจะมีการแบ่งใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง เมื่ออายุ 1 และ 2 เดือน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยของมันสำปะหลัง (กรมวิชาการเกษตร, 2554ก; กรมวิชาการเกษตร, 2554ข) วัลลีย์ และคณะ (2560) รายงานว่า การให้ปุ๋ยเคมีที่อัตรา 16-8-24 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ในกลุ่มดินร่วนปนทราย มีผลต่อการผลิตหัวสด และผลผลิตแป้ง สูงสุดที่ 7.216 และ 2.210 ตัน/ไร่ ทำให้มีรายได้และให้ผลตอบแทนคุ้มค่ากับการลงทุนมากที่สุด มีกำไรสุทธิเฉลี่ยสูงสุด 13,586 บาท/ไร่ ทั้งนี้เกษตรกรส่วนใหญ่ไม่ได้มีการปรับปรุงบำรุงดินก่อนปลูก การใช้พื้นที่ทำการเพาะปลูกพืชติดต่อกันมาโดยไม่มีการเพิ่มอินทรียวัตถุลงในดิน การไถพรวน และการเตรียมดินแต่ละครั้งเป็นการเร่งให้อินทรียวัตถุสลายตัวเร็วขึ้น ดังนั้นการปฏิบัติตามแนวการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสามารถเพิ่มศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอน และมีส่วนช่วยในการบรรเทาการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Sekajugo, 2013; IPCC, 2007)

Kongrattanachok (2005) รายงานว่า ต้นมันสำปะหลังสามารถสะสมคาร์บอนได้ถึง 0.96 ตัน C/ไร่ จะเห็นว่ามันสำปะหลังสามารถเป็นแหล่งดูดกลับและสะสมปริมาณคาร์บอนที่เกิดจากการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในภาคกิจกรรมต่าง ๆ ด้วยเหตุนี้การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ฐานข้อมูลมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง ขอบเขตระดับจังหวัด แปลงเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์ เพื่อประเมินศักยภาพของวิธีการจัดการและพันธุ์มันสำปะหลังต่อการกักเก็บคาร์บอนในระดับพื้นที่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช เช่น ถุงกระดาษ ถุงตาข่าย วัสดุวิทยาศาสตร์ และ สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ดินและพืช

วิธีการ

ดำเนินการสำรวจเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังในพื้นที่อำเภอแม่วงก์ หนองบัว ตากฟ้า ท่าตะโก และพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 50 แปลง สัมภาษณ์ข้อมูลเกษตรกร ได้แก่ พันธุ์ วันที่ปลูก การจัดการแปลง บันทึกข้อมูลสภาพพื้นที่แปลงเกษตรกร ประเมินการสะสมมวลชีวภาพของน้ำหนักแห้งมันสำปะหลังแปลงเกษตรกร ทำการเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่าย (Simple Random Sampling : SRS) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่อายุ 7-10 เดือนจำนวน 2 ต้นต่อจุดตัวอย่าง และประเมินการกักเก็บคาร์บอน จากการวิเคราะห์อินทรียคาร์บอนในพืช โดยวิธี Walkley and Black (Nelson and Sommers, 1982) การกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพและประเมินการการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ โดยมีสมการ ดังนี้

$$\text{การกักเก็บคาร์บอน (ตันคาร์บอน/ไร่)} = \frac{\text{มวลชีวภาพ (ตัน/ไร่)} \times \text{ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (\%)}}{100}$$

$$\text{การดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์} = \frac{\text{การกักเก็บคาร์บอน} \times 44}{12}$$

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลสภาพพื้นที่แปลงเกษตรกร ได้แก่ พันธุ์ วันที่เก็บข้อมูล การจัดการแปลง ปริมาณน้ำฝน เป็นต้น บันทึกปริมาณมวลชีวภาพของทั้งต้น ปริมาณคาร์บอนสะสมทั้งต้น และข้อมูลการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลัง (ตันคาร์บอน/ไร่)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2563 - สิ้นสุด กันยายน 2564

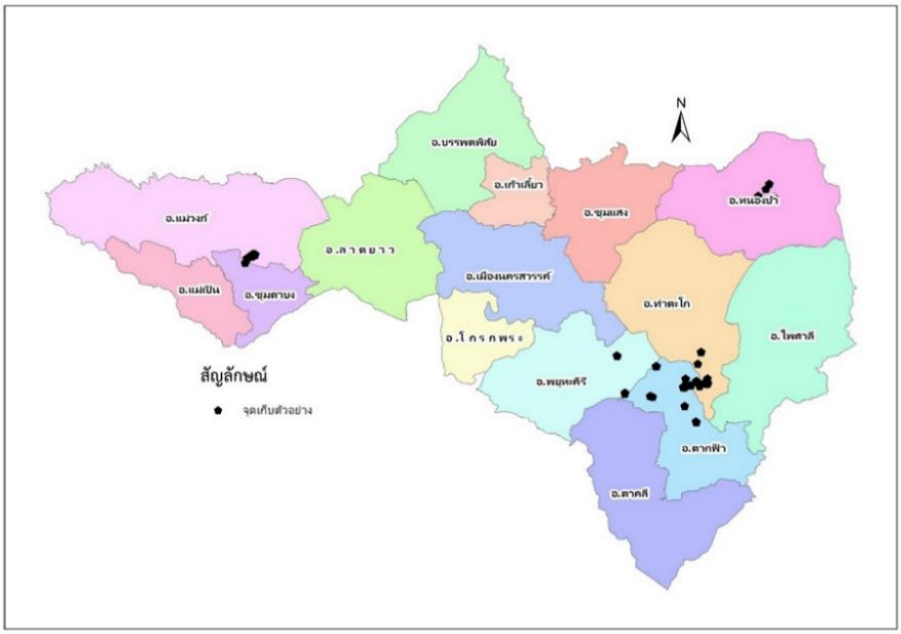
สถานที่ทำการทดลอง

- พื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง จังหวัดนครสวรรค์
- กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. พื้นที่สำรวจแปลงมันสำปะหลัง

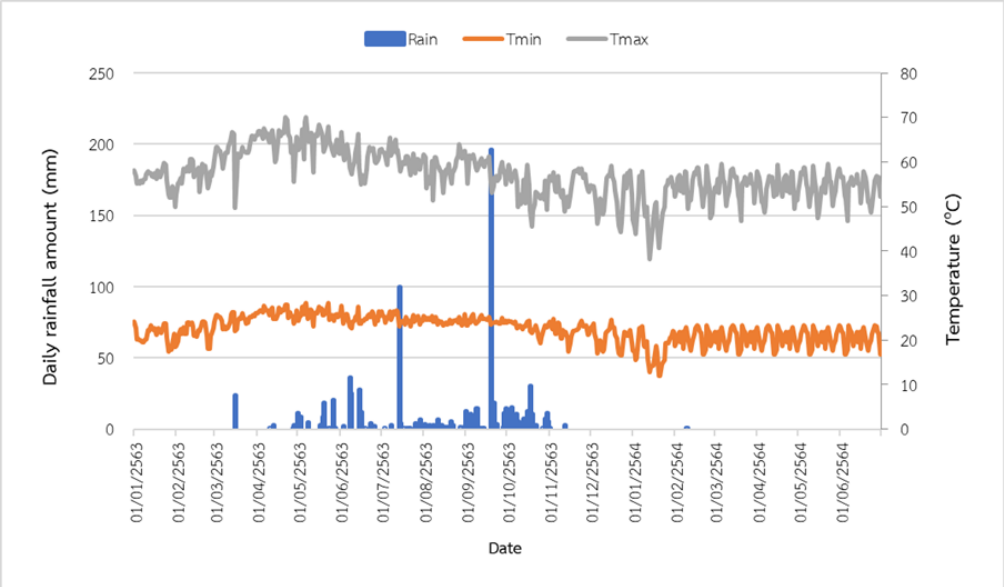
จุดสำรวจเก็บตัวอย่างแปลงมันสำปะหลัง ในพื้นที่แต่ละอำเภอของจังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 50 จุดตัวอย่าง แสดงดังภาพที่ 1 โดยมีการเก็บตัวอย่างพืช และตัวอย่างดิน พร้อมทั้งสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลังในเขตพื้นที่ดังกล่าว ได้แก่ อ.แม่วงก์ อ.ชุมตาบง อ.พยุหะคีรี อ.ตากฟ้า อ.ท่าตะโก และอ.หนองบัว



ภาพที่ 1 แผนที่จุดเก็บตัวอย่างมันสำปะหลัง จังหวัดนครสวรรค์

2. สภาพภูมิอากาศพื้นที่สำรวจมันสำปะหลัง

ข้อมูลอุตุนิยมวิทยาในฤดูปลูกมันสำหลัง ช่วงเดือน มกราคม 2563 - มิถุนายน 2564 ที่ทำการสำรวจ วัดจากสถานีอุตุนิยมวิทยาตากฟ้า อ.ตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ พบว่า จังหวัดนครสวรรค์ อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 33.64 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 21.90 องศาเซลเซียส และปริมาณฝนรวม 738 มิลลิเมตร (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2563) ซึ่งต่ำกว่าปริมาณความต้องการน้ำของมันสำปะหลัง ใช้รวม 796 มิลลิเมตรตลอดอายุฤดูปลูก (ภาพที่ 2) (กรมวิชาการเกษตร, 2559)



ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิ ณ สถานีอุตุนิยมวิทยาตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือน มกราคม 2563 – มิถุนายน 2564

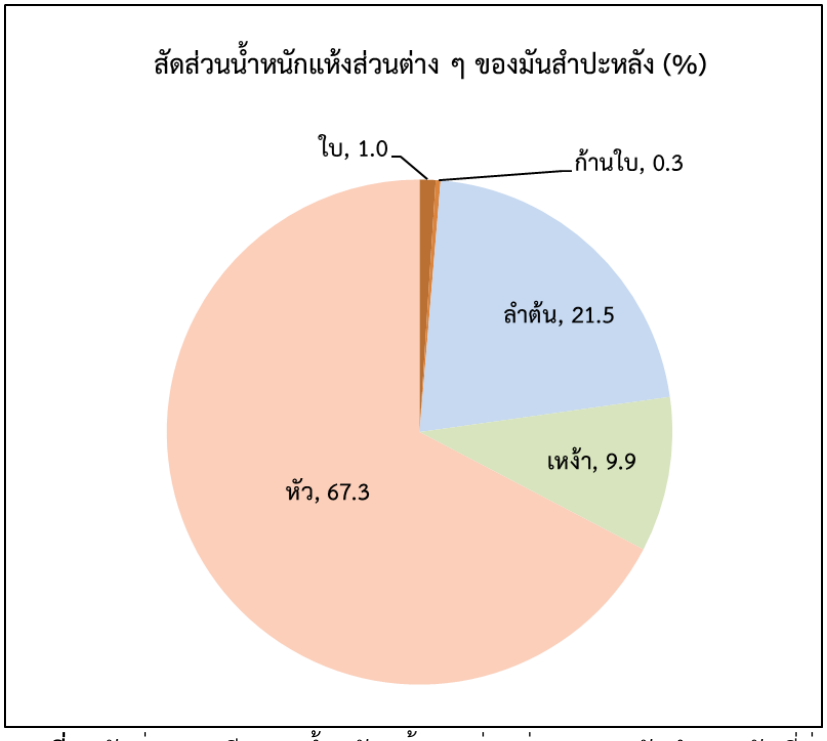
3. การจัดการแปลงของมันสำปะหลัง

ผลการสำรวจแปลงมันสำปะหลังของเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2564 ที่ช่วงอายุ 7-10 เดือน ก่อนเก็บเกี่ยว พบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่ใส่ปุ๋ยเคมี จำนวน 1 ครั้งต่อฤดูปลูก จำนวน 24 ราย โดยมีช่วงการใส่ปุ๋ยเคมี 3 แบบคือ รองพื้นก่อนปลูก และใส่ปุ๋ย เมื่อมันสำปะหลังอายุ 2-3 เดือน แต่มีเกษตรกร จำนวน 1 ราย ที่เลือกใส่ปุ๋ยอินทรีย์รองพื้นก่อนปลูก อัตรา 100 กิโลกรัม/ไร่ รองลงมาเป็นการใส่ปุ๋ยเคมีจำนวน 2 ครั้งต่อฤดูปลูก คือ รองพื้นก่อนปลูก และให้ปุ๋ยครั้งที่ 2 เมื่อมันสำปะหลังอายุ 2-5 เดือน จำนวน 21 ราย ส่วนการใส่ปุ๋ยเคมี 3 ครั้งต่อฤดูปลูก จำนวน 1 รายนั้น เกษตรกรจะเลือกใส่รองพื้นก่อนปลูก เมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 และ 4 เดือน แต่ก็ยังมีเกษตรกรที่เลือกไม่ใส่ปุ๋ย จำนวน 4 ราย สำหรับเกรดปุ๋ยเคมีที่เกษตรกรเลือกใช้ สำหรับรองพื้นก่อนปลูก ได้แก่ ปุ๋ย 0-0-60, 15-15-15, 46-0-0, 27-12-6, 16-20-0, 18-46-0, 15-7-18 เป็นต้น โดยมีอัตราการเลือกใส่ปุ๋ยเคมี ตั้งแต่ 10-50 กิโลกรัม/ไร่ ทั้งใส่ปุ๋ยเคมีชนิดเดียว และเลือกที่จะผสมแม่ปุ๋ยร่วมกัน เช่น การใส่ปุ๋ย 46-0-0 ร่วมกับ 15-15-15 อัตรา 20-50 กิโลกรัม/ไร่ เป็นต้น ส่วนปุ๋ยเคมีที่ใส่ครั้งที่ 2 เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง เลือกใช้ปุ๋ยเคมี 46-0-0, 15-15-15, 0-0-60, 15-5-25, 16-20-0 อัตราการใส่ปุ๋ย ตั้งแต่ 10 – 50 กิโลกรัม/ไร่ จะเห็นว่า เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลังจากการสำรวจมีการเลือกใช้แม่ปุ๋ยเคมี

ลักษณะพันธุ์มันสำปะหลัง ที่พบจากการสำรวจและสัมภาษณ์เกษตรกร จำนวน 50 ราย พบว่า เกษตรกรปลูกพันธุ์ระยอง 72 และ CMR33-38-48 มากที่สุด จำนวน 13 ราย รองลงมาเป็นพันธุ์ระยอง 11 จำนวน 10 ราย ระยอง 9 จำนวน 3 ราย CMR33-53-81 CMR43-08-89 และระยอง 13 จำนวน 2 ราย CMR33-35-69 CMR36-55-166 ระยอง 2 และระยอง 5 จำนวน 1 ราย ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 3 นอกจากนั้นเกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกมันสำปะหลังโดยอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก จำนวน 44 ราย

4. มวลชีวภาพของมันสำปะหลัง

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างต้นมันสำปะหลัง และนำมาแยกเป็นส่วนต่าง ๆ นำไปอบแห้งหามวลชีวภาพในแต่ละส่วนของมันสำปะหลัง จำนวน 50 ตัวอย่าง จากเกษตรกรจำนวน 50 ราย ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ พบว่า น้ำหนักแห้งสะสมในส่วนของหัวมันสำปะหลังมากที่สุด อยู่ในช่วง 0.426-3.297 ตัน/ไร่ หรือ คิดเป็น 67.3% (ภาพที่ 3) ของทุกส่วนในต้นมันสำปะหลัง รองลงมาเป็นส่วนของลำต้น มีมวลชีวภาพอยู่ในช่วง 0.225-1.081 ตัน/ไร่ หรือ 21.5% ส่วนของเหง้า (0.062-0.439 ตัน/ไร่) คิดเป็น 9.9% ส่วนของใบ ไม่มีใบจนถึง 0.104 ตัน/ไร่ (1.0%) และส่วนของก้านใบ คือ ไม่มีก้านใบจนถึง 0.038 ตัน/ไร่ หรือ 0.3% ของทุกส่วนในมันสำปะหลัง สรุปจากการสำรวจมันสำปะหลังแปลงเกษตรกรที่มีการเลือกใช้พันธ์และการจัดการแปลงที่แตกต่างกันนั้น พบว่า มันสำปะหลัง 1 ฤดูปลูกการสะสมน้ำหนักแห้ง หรือ มวลชีวภาพ อยู่ในช่วง 1.028 – 4.259 ตัน/ไร่

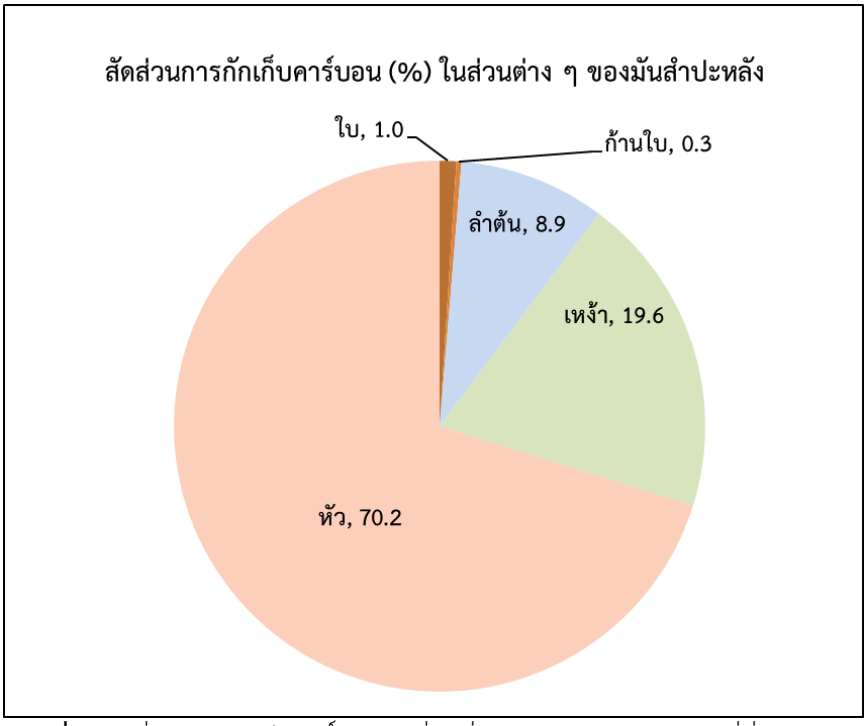


ภาพที่ 3 สัดส่วนมวลชีวภาพน้ำหนักแห้งของส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง ที่ช่วงอายุ 7 – 10 เดือน สำรวจจากแปลงเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์

5. การกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในมันสำปะหลัง

จากการสำรวจปริมาณคาร์บอนในแปลงเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง จังหวัดนครสวรรค์ พบว่า มันสำปะหลังมีการกักเก็บคาร์บอนในส่วนของหัวสูงที่สุด อยู่ในช่วง 0.500-2.078 ตัน C/ไร่ ในขณะที่การดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในช่วง 1.834-7.621 ตัน CO_2/ไร่

ภาพที่ 4 แสดงสัดส่วนของการกักเก็บคาร์บอน (Carbon Storage) เฉลี่ยของแปลงเกษตรกร ผู้ปลูกมันสำปะหลัง พบว่า ส่วนของหัวมีการสะสมคาร์บอนมากกว่าถึง 70.2 % รองลงมาเป็นส่วนของเหง้า เฉลี่ย 19.6% ลำต้น เฉลี่ย 8.9% ใบ เฉลี่ย 1.0% และก้านใบ เฉลี่ย 0.3% จะเห็นว่า ส่วนของหัวมันสำปะหลังมีการกักเก็บคาร์บอนมากที่สุด สอดคล้องกับปริมาณมวลชีวภาพที่พบส่วนของหัวมากที่สุด ซึ่งปริมาณคาร์บอนที่พืชใช้ในการเติบโต เป็นผลมาจากการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในส่วนของหัวมันสำปะหลังมีการกักเก็บคาร์บอน อยู่ในช่วง 0.218-1.650 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นส่วนของเหง้า ระหว่าง 0.102-0.515 ตัน C/ไร่ ลำต้น ระหว่าง 0.028-0.200 ตัน C/ไร่ ใบระหว่าง ไม่มี - 0.047 ตันC/ไร่ และก้านใบ ระหว่าง ไม่มี - 0.014 ตัน C/ไร่ สรุปจากการสำรวจมันสำปะหลัง แปลงเกษตรกรที่มีการเลือกใช้พันธุ์และการจัดการแปลงที่แตกต่างกันนั้น พบว่า มันสำปะหลัง 1 ฤดูปลูกสามารถกักเก็บคาร์บอน และการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อยู่ในช่วง 0.500-2.078 ตัน C/ไร่ และ 1.834 – 7.621 ตัน CO_2/ไร่ ให้ผลผลิตหัวสด 1.0-6.8 ตัน/ไร่ ทั้งนี้ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของต้นมันสำปะหลังในพื้นที่ 1 ไร่ ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง แสดงดังตารางที่ 1 มีปริมาณการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด 4.391 ตัน CO_2/ไร่ คิดเป็นส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เป็น 3.091 0.860 0.394 0.037 และ 0.009 ตัน CO_2/ไร่



ภาพที่ 4 สัดส่วนการกักเก็บคาร์บอนในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง ที่ช่วงอายุ 7 – 10 เดือน สำรวจจากแปลงเกษตรกร จังหวัดนครสวรรค์

ตารางที่ 1 ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนและการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง ในพื้นที่ 1 ไร่

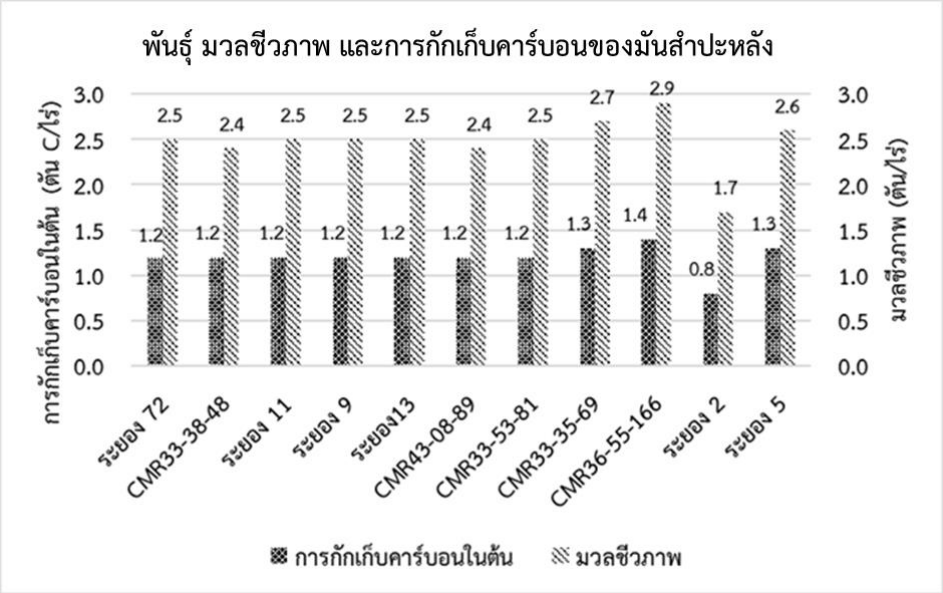
Part of cassava	Biomass (ton/rai)	Organic carbon content (%)	Carbon storage (ton C/rai)	CO_2 absorption (ton CO_2/rai)
Leaf	0.025	40.46	0.011	0.037
Petiole	0.008	30.68	0.003	0.009
Stem	0.515	45.52	0.236	0.860
Rhizome	0.238	45.16	0.107	0.394
Tuber	1.684	50.06	0.843	3.091
Total	2.470	48.58	1.200	4.391

Note: 1/ การกักเก็บคาร์บอน = น้ำหนักแห้ง x ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน/100

2/ การกักเก็บ CO_2 = การกักเก็บคาร์บอน x 44/12 (1 ตันของคาร์บอน = 44/12 หรือ 3.67 ตันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์)

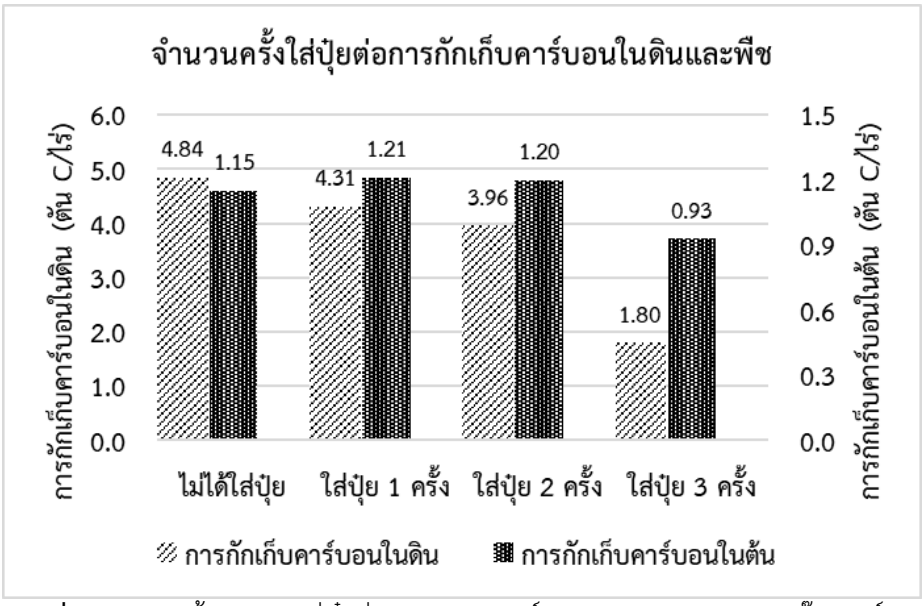
6. ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ มวลชีวภาพ การจัดการปุ๋ย และการกักเก็บคาร์บอน

พันธุ์แต่ละพันธุ์มีประสิทธิภาพในการกักเก็บคาร์บอนและสะสมมวลชีวภาพแสดงดังภาพที่ 5 โดยพันธุ์ที่มีการสะสมมวลชีวภาพและกักเก็บคาร์บอนไว้ในต้นสูงสุด คือ พันธุ์ CMR36-55-166 เฉลี่ย 1.4 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นพันธุ์ CMR33-35-69 และระยอง 5 เฉลี่ย 1.3 ตัน C/ไร่ ส่วนพันธุ์ที่มีการกักเก็บคาร์บอนและสะสมมวลชีวภาพต่ำที่สุด คือ พันธุ์ระยอง 2 เฉลี่ย 0.8 ตัน C/ไร่ และ 1.7 ตัน/ไร่



ภาพที่ 5 การสะสมมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนของมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนครั้งของการใส่ปุ๋ยต่อการกักเก็บคาร์บอนในดินและในต้น (ภาพที่ 6) พบว่า ไม่ได้ใส่ปุ๋ยมีการกักเก็บคาร์บอนในดินมากที่สุด เฉลี่ย 4.84 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นการใส่ปุ๋ย 1 ครั้ง เฉลี่ย 4.31 ตัน C/ไร่ การใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง และการใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง เฉลี่ย 3.96 และ 1.8 ตัน C/ไร่ ในขณะที่การกับเก็บคาร์บอนในต้น พบว่า การใส่ปุ๋ย 1 ครั้ง ทำให้มันสำปะหลังมีการกักเก็บคาร์บอนมากที่สุด เฉลี่ย 1.21 ตัน C/ไร่ รองลงมาเป็นการใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง ไม่ใส่ปุ๋ย และการใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง เฉลี่ย 1.20 1.15 และ 0.93 ตัน C/ไร่ ตามลำดับ



ภาพที่ 6 จำนวนครั้งของการใส่ปุ๋ยต่อการกักเก็บคาร์บอนในดินและการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของมันสำปะหลัง

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การสำรวจมันสำปะหลังใน 1 ฤดูปลูกที่เกษตรกรมีการเลือกใช้พันธุ์และการจัดการแปลงที่แตกต่างกัน ทำให้สะสมน้ำหนักแห้งหรือมวลชีวภาพ อยู่ในช่วง 1.028 – 4.259 ตัน/ไร่ กักเก็บคาร์บอน และการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อยู่ในช่วง 0.500-2.078 ตัน C/ไร่ และ 1.834 – 7.621 ตัน CO_2/ไร่ ให้ผลผลิตหัวสด 1.0-6.8 ตัน/ไร่ การใส่ปุ๋ย 1 ครั้งทำให้มันสำปะหลังมีการกักเก็บคาร์บอนในต้นมากที่สุด เฉลี่ย 1.21 ตัน C/ไร่ ทั้งนี้ศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนของต้นมันสำปะหลังในพื้นที่ 1 ไร่ คิดเป็นส่วนของหัว ลำต้น เหง้า ใบ และก้านใบ เป็น 3.091 0.860 0.394 0.037 และ 0.009 ตัน CO_2/ไร่ เมื่อศึกษาหาความสัมพันธ์จากการสำรวจแปลงมันสำปะหลังของเกษตรกร พบว่ามวลชีวภาพมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการกักเก็บคาร์บอนในต้น ดังนั้นความสามารถในการกักเก็บคาร์บอนในมันสำปะหลังขึ้นอยู่กับพันธุ์ สภาพพื้นที่และการจัดการ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำมาบริการจัดการเพื่อเพิ่มการกักเก็บคาร์บอนในพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การจัดการแปลงและการเลือกพันธุ์มันสำปะหลังที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อให้เป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
2. การวางแผนจัดการระบบการผลิตพืชที่สามารถช่วยลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2554ก. ***ดิน น้ำ และการจัดการการปลูกมันสำปะหลัง.*** สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร. 2554ข. ***เทคโนโลยีการผลิตมันสำปะหลัง.*** สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร. 2559. ***ปริมาณความต้องการน้ำของพืชไร่.*** ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร. 2564. ***การเพิ่มศักยภาพการผลิตมันสำปะหลังในพื้นที่ภาคตะวันออก.*** สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6. กรมวิชาการเกษตร.

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2563. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.awsobservation.tmd.go.th/web/main/index.asp (6 เมษายน 2564)

ชาญ ถิรพร และโชติ สิทธิบุศย์. 2537. ดินและการใช้ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพกับมันสำปะหลัง. *ใน* **เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง.** ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง, สถาบันวิจัยพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, ระยอง.

ชัญษา กันฉิ่ง ณัฐพงษ์ ฟองมณี ปาริฉัตร ประพัฒน์ สิทธิศักดิ์ ปิ่นมงคลกุล เกื้อกุล กุสสลานุภาพ และบัณฑิตา ใจปินตา. 2559. การกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพของพืชที่มีเนื้อไม้ ป่าชุมชนห้วยข้าวก่ำ อำเภอจุน จังหวัดพะเยา. **PSRU J. Sci. Tech.** 3:89-95.

วัลลีย์ อมรพล กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ ศรีสุดา ทิพยรักษ์ ศุภกาญจน์ ล้วนมณี จิณณจาร์ หาญเศรษฐสุข ประพิศ วงเทียม และสมพงษ์ ทองช่วย. 2560. การศึกษาอัตราปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมสำหรับมันสำปะหลังที่ปลูกในกลุ่มดินร่วนปนทราย: ชุดดินห้วยโป่ง. ***Thai Agric. Res J.*** 35(2): 151-163.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. “มันสำปะหลังโรงงาน: เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ แยกตามชนิดพันธุ์ ระดับจังหวัด ปี 2563.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/varitties%20casava63.pdf (2 เมษายน 2565)

Cardoso, J., D.S. Santos, V. Silveira, E. Anselmo, S.N. Matsumoto, T. Sediyama, and F.M. Carvalho. 2005. Effect of nitrogen in the agronomic characteristics of cassava. ***Bragantia.*** 64: 651-659.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2007. **Climate change 2007 – the physical science basis.** United Kingdom. Cambridge University.

Kongrattanachok, P. 2005. Carbon Sequestration in Casava and Para Rubber Plantation, Rayong Province. M.S. Thesis (Appropriate Technology for Resources and Environmental Development), Mahidol University.

Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1983. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic matter. *In* **Method of soil analysis: Part 2 Chemical and Microbiology Properties 9.** Pp.539-579.

Sekajugo, J. 2013. The sugarcane carbon sequestration potential as a clean development mechanism the case of Kakira Sugar Estates. ***In Joint Proceedings of the 27th Soil Science Society of East Africa and the 6th African Soil Science Society Conference***. Nakuru. Kenya.

เทคนิคประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในแปลงมันสำปะหลัง โดยไม่ทำลายตัวอย่าง

Techniques for Assessment of Biomass and Carbon Storage of Cassava by Non-destructive Method

สายน้ำ อุดพ้วย วลัยพร ศะศิประภา [1] ปรีชา กาเพ็ชร [2]
นุชนาฏ ตันวรรณ อานนท์ มลิพันธ์ [3]
Sainam Udpuay Walaiporn Sasiprapa [1] Preecha Kapetch [2]
Nutchanart Tanwan Anon Malipan[3]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Optimizing non-destructive method and rapid measurement of carbon storage in biomass were required simple and accurate assays to assess the greenhouse gas accounting and carbon dioxide absorption in the cassava plantations. The objective of this study was to establish a simple model method to estimate the amount of carbon stored in the biomass of cassava plantation by non-destructive method. Field surveys were conducted in cassava production areas in Nakhon Sawan province between January and February 2021. The plant sample was collected for measuring total biomass and analyzing organic carbon content. The linear regression model was analyzed for the relationship between biomass (BM) and growth data in terms of plant height (H) and stem diameter (D), and between biomass and carbon storage in cassava. The results showed that the biomass assessment model at the harvesting stage was correlated with plant height and stem diameter, according to the equation; BM = 0.005H + 0.068D, R^2 = 0.932 and RMSE = 0.68 ton rai^{-1}. Carbon storage (CS) of cassava was related to biomass, according to CS = 0.486BM with R^2 = 0.9997 and RMSE = 0.02 tons C rai^{-1}. Therefore, plant height and stem diameter can be calculated using simple equations for estimating the amount of carbon stored in the biomass by the non-destructive method.

Keywords : Carbon stock, Dry matter, *Manihot esculenta* Crantz**,** Regression models

[1]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร
[1]Information technology center
[2]ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่
[2]Chiang Mai field crops research center
[3]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก
[3]Phitsanulok seed research and development center

บทคัดย่อ

เทคนิคประมาณค่าชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนอย่างรวดเร็วในต้นมันสำปะหลังที่ง่าย แม่นยำ และไม่ทำลายต้นพืชเป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับการจัดทำบัญชีก๊าซเรือนกระจกและประเมินการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสมการวิธีการประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนอย่างง่ายโดยไม่ทำลายตัวอย่าง ดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลภาคสนามในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2564 นำตัวอย่างพืชมาหามวลชีวภาพ และวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ข้อมูลที่ได้นำมาหาความสัมพันธ์สร้างสมการถดถอยแบบเส้นตรงของชีวมวล (BM) และการกักเก็บคาร์บอนในต้น (CS) กับข้อมูลการเจริญเติบโต ด้านความสูงต้น (H) และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำ (D) ผลการทดลอง พบว่า สมการประเมินชีวมวลของมันสำปะหลังที่อายุเก็บเกี่ยว มีความสัมพันธ์กับความสูงต้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมันสำปะหลังตามสมการ BM = 0.005H + 0.068D มีค่า R^2 = 0.932 และ RMSE = 0.68 ตันต่อไร่ ส่วนการกักเก็บคาร์บอนในต้นมันสำปะหลัง มีความสัมพันธ์กับชีวมวล ตามสมการ CS = 0.486BM โดยมีค่า R^2 = 0.9997 และ RMSE = 0.02 ตัน C ต่อไร่ ดังนั้นความสูงต้น และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น สามารถคำนวณหาชีวมวลของมันสำปะหลังโดยใช้สมการอย่างง่ายได้เพื่อประเมินการกักเก็บคาร์บอนในต้นโดยไม่ทำลายตัวอย่าง

คำหลัก : คาร์บอนในต้น น้ำหนักแห้ง มันสำปะหลัง สมการถดถอย

คำนำ

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นก๊าซเรือนกระจกที่มีปริมาณมากที่สุด (ร้อยละ 75) ในชั้นบรรยากาศโลกและเป็นตัวการที่ทำให้เกิดการสะสมพลังงานความร้อน จนทำให้ความสมดุลในบรรยากาศเปลี่ยนแปลงไป เกิดภาวะโลกร้อน (Global warming) ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อระบบนิเวศและความหลากหลายทางชีวภาพในส่วนต่าง ๆ ของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเข้มข้นของก๊าซ CO_2 ได้กลายเป็นปัญหาที่เกี่ยวข้องกับภาวะโลกร้อน เนื่องจากก๊าซ CO_2 เป็นหนึ่งในก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse gases, GHGs) ที่สำคัญ (Picchio *et al*., 2022) ปริมาณก๊าซ CO_2 ในปัจจุบันมีประมาณ 418 ppm (Nasa's Jet Propulsion Laboratory, 2022) มีงานวิจัยชี้ให้เห็นว่า อุณหภูมิและปริมาณ CO_2 ที่สูงขึ้นมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม ระดับความเครียด และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช ซึ่งมันสำปะหลังเป็นหนึ่งในพืชอาหารหลักที่สำคัญ สำหรับประเทศกำลังพัฒนาหลายประเทศ (Forbes *et al*., 2020) การเพิ่มขึ้นของปริมาณก๊าซ CO_2 ในบรรยากาศ เกิดจากการเผาไหม้ การตัดไม้ทำลายป่า และการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดิน การลดปริมาณการปลดปล่อยก๊าซ CO_2 ในภาคการเกษตรแนวทางหนึ่ง คือ การลดการเผา และการปลูกพืชเพื่อเพิ่มการดูดซับก๊าซเรือนกระจก ทั้งนี้การกักเก็บคาร์บอนของระบบนิเวศการเกษตร พืชดูดซับก๊าซ CO_2 ผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและนำมากักเก็บไว้ในรูปชีวมวล (Biomass) (อิศรา และคณะ, 2552) ชีวมวลก่อให้เกิดปริมาณคาร์บอนที่สำคัญในหลายระบบนิเวศ เช่น ไม้พุ่มและต้นไม้สามารถสะสมคาร์บอนได้มากกว่า 100 ตันต่อเฮกตาร์ตลอดช่วงอายุของพืชนั้น ๆ (IPCC, 2006) พื้นที่การเกษตรสามารถเป็นแหล่งกักเก็บก๊าซเรือนกระจก ทั้งนี้การประเมินการกักเก็บคาร์บอนมีความสำคัญต่อการรับมือปัญหาสภาวะก๊าซเรือนกระจก เทคนิคการประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการจัดทำบัญชีก๊าซเรือนกระจก เพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการจัดการพื้นที่นิเวศเกษตรในการเก็บกักคาร์บอนในอนาคต วิธีการประเมินมวลชีวภาพและการกักเก็บคาร์บอนนั้นใช้เวลานาน เพราะต้องตัดต้นพืช นำตัวอย่างพืชไปวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในห้องปฏิบัติการ และมีค่าใช้จ่ายแพง ในขณะที่วิธีการประเมินชีวมวลและกักเก็บคาร์บอนในต้นไม้นั้น สามารถวัดได้โดยไม่ทำลายต้นพืช โดยใช้สมการแอลโลเมตรี (Allometric equations) จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความสูงของต้นไม้ นวลปราง (2548) เก็บตัวอย่างพืช เพื่อหามวลชีวภาพ โดยใช้ค่าความสูงและค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเพียงอก แล้วนำสมการมาประมาณหาคาร์บอนสะสมรายต้น เพื่อหลีกเลี่ยงการทำลายตัวอย่างพืช

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นพืชอาหารที่สำคัญของประเทศไทย จากสถิติการเกษตรของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2564) มีพื้นที่เพาะปลูก ประมาณ 9.4 ล้านไร่ ผลผลิต 29 ล้านตัน ผลลิตหัวสด เฉลี่ย 3.2 ตันต่อไร่ พันธุ์ที่ปลูก ได้แก่ เกษตรศาสตร์ 50 ระยอง 72 ระยอง 5 ระยอง 11 ห้วยบง 80 ห้วยบง 60 ระยอง 9

ระยอง 90 ระยอง 60 และอื่น ๆ การปลูกมันสำปะหลังใช้ต้นพันธุ์ที่อายุ 8-12 เดือน และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ตั้งแต่ 7-24 เดือนหลังปลูก (อานนท์ และคณะ, 2554) จังหวัดที่มีการปลูกมันสำปะหลังมากกว่า 500,000 ไร่ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กำแพงเพชร กาญจนบุรี ชัยภูมิ และอุบลราชธานี จะเห็นว่าพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังมีขนาดใหญ่ สามารถเป็นแหล่งดูดกลับและสะสมปริมาณคาร์บอนที่เกิดจากการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในภาคกิจกรรมต่าง ๆ ด้วยเหตุนี้การวัดการกักเก็บคาร์บอนในต้นมันสำปะหลังทางอ้อมยังไม่มีเทคนิควิธีการประเมินที่ไม่ทำลายต้นพืช การประมาณค่ามวลชีวภาพสามารถทำนายการกักเก็บคาร์บอนที่มีอยู่ปัจจุบัน ซึ่งจะเป็นตัวชี้วัดปริมาณการสะสมของคาร์บอนในระบบการผลิตมันสำปะหลังได้ อันจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการพื้นที่เพื่อประโยชน์ทางด้านการเกษตรต่อไปในอนาคต วิธีการหาชีวมวลในต้นพืชที่ทำกันได้ง่ายและรวดเร็ว ได้แก่ การวัดความสูงต้น และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น จำเป็นต้องหาค่าสัมประสิทธิ์ (k) เพื่อปรับความถูกต้องของการประเมิน ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้สมการวิธีการประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในมันสำปะหลัง โดยไม่มีการทำลายตัวอย่างพืชในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช อุปกรณ์วัดความสูงต้น และเวอร์เนียคาลิปเปอร์สำหรับวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น

วิธีการ

สำรวจและเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังในแปลงเกษตรกร ผู้ปลูกมันสำปะหลังพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 50 จุดตัวอย่าง เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและวัดความสูงต้น (H) และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมันสำปะหลัง (D) โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. ความสูงต้น เลือกกิ่งหลักที่สูงที่สุด วัดในแนวดิ่งจากพื้นดินชิดโคนต้น โดยวัดความสูงจากพื้นดินถึงฐานยอดส่วนที่ยังเห็นเป็นลำต้น หน่วยเซนติเมตร

2. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมันสำปะหลัง เลือกมันสำปะหลังกิ่งหลัก วัดที่กึ่งกลางลำต้นหลัก ใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ วัดที่กึ่งกลางลำต้น หน่วยมิลลิเมตร

เก็บตัวอย่างมันสำปะหลังชั่งน้ำหนักสดและแห้งส่วนเหนือดินแยกเป็นส่วน ๆ ได้แก่ ลำต้น ก้านใบ ใบ เหง้า และหัว โดยนำไปอบที่อุณหภูมิที่ 65 องศา เป็นเวลาอย่างน้อย 72 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักมวลชีวภาพของมันสำปะหลัง จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืช เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในพืช โดยวิธี Walkley and Black (Nelson and Sommers, 1982) จากนั้นคำนวณการกักเก็บคาร์บอนในมวลชีวภาพ มีสมการ ดังนี้

$$\text{การกักเก็บคาร์บอน (ตัน C ต่อไร่)} = \frac{\text{มวลชีวภาพ (ตันต่อไร่) X ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (\%)}}{100}$$

นำข้อมูลจากการเจริญเติบโต มวลชีวภาพ และการกักเก็บคาร์บอน มาพัฒนาสมการวิธีการหาชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในต้นมันสำปะหลัง (CS) โดยไม่ทำลายต้น โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel จำนวน 50 ตัวอย่าง นำข้อมูลความสูงต้น (H) ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมันสำปะหลัง (D) แล้วหาความสัมพันธ์กับมวลชีวภาพ (BM) และความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพกับการกักเก็บคาร์บอน โดยใช้สมการถดถอยหาความสัมพันธ์แบบเส้นตรงตามสมการ Regression model ดังนี้

1. รูปแบบสมการของการเจริญเติบโตกับมวลชีวภาพ

BM = k*H

BM = k*D

BM = k*(H±D)

2. รูปแบบสมการของมวลชีวภาพกับการกักเก็บคาร์บอน

CS = k*BM

เมื่อ BM = ชีวมวลของมันสำปะหลัง (ตันต่อไร่)

H = ความสูงต้น (เซนติเมตร)

D = เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมันสำปะหลัง (มิลลิเมตร)

CS = การกักเก็บคาร์บอนในต้นมันสำปะหลัง (ตัน C ต่อไร่)

พิจารณาความแม่นยำของการทำนายแบบจำลองจากค่าสัมประสิทธิ์ตัวกำหนด (Coefficient of determination, R^2) ว่าสมการใดเหมาะสมในการประมาณค่าชีวมวลของระบบการผลิตมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์ และประเมินประสิทธิภาพจากค่ารากของค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (Root Mean Square Error, RMSE) โดยแบบจำลองใดที่มีค่า RMSE ต่ำสุด จะเป็นตัวแบบที่ให้ผลดีสุด และเลือกสมการไปใช้ในการประเมินการกักเก็บคาร์บอนในมันสำปะหลัง

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลการเจริญเติบโต มวลชีวภาพ และปริมาณคาร์บอนสะสมทั้งต้น

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม พ.ศ. 2563 สิ้นสุด กันยายน พ.ศ. 2564

สถานที่ทำการทดลอง

- พื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง จังหวัดนครสวรรค์

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การหาชีวมวลของต้นมันสำปะหลังโดยวัดค่าการเจริญเติบโต

ชีวมวลเหนือพื้นดิน(ส่วนของต้น) และใต้ดิน(ส่วนของราก) ของมันสำปะหลัง คำนวณหาชีวมวล โดยใช้ค่าความสูงต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของมันสำปะหลัง พันธุ์มันสำปะหลังที่พบจากการสำรวจ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 CMR33-38-48 ระยอง 11 ระยอง 9 CMR33-53-81 ระยอง 13 CMR43-08-89 CMR33-35-69 CMR36-55-166 ระยอง 2 และระยอง 5 จังหวัดนครสวรรค์ ที่ระยะก่อนเก็บเกี่ยว (ช่วงอายุ 7-10 เดือน) พบว่า ชีวมวลของมันสำปะหลังมีความสัมพันธ์กับข้อมูลการเจริญเติบโต โดยรูปแบบสมการประเมินชีวมวลที่ได้จากการพัฒนาความสัมพันธ์ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel คำนวณ แสดงดัง Table 1 จากสมการ regression model ในมันสำปะหลัง พบว่า การใช้ค่าสัมประสิทธิ์ (k) x (ความสูงของต้น±เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น) นำไปใช้ในการหาชีวมวลของมันสำปะหลังทุกพันธุ์ได้ โดยสมการความสัมพันธ์ระหว่างชีวมวลของมันสำปะหลังทุกพันธุ์กับปัจจัยหลายตัวแปร (ความสูง และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมันสำปะหลัง) จากรูปแบบสมการที่ดีที่สุดของการประเมินชีวมวลมันสำปะหลังทุกพันธุ์ที่อายุเก็บเกี่ยว ให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.932 และ RMSE ต่ำสุด เท่ากับ 0.68 ตันต่อไร่ ได้สมการ BM = 0.005H + 0.068D เมื่อเปรียบเทียบการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างชีวมวลของมันสำปะหลังกับการเจริญเติบโต มีค่า RMSE ระหว่าง 0.56-0.78 ตันต่อไร่ ขึ้นอยู่กับปัจจัยการเจริญเติบโตและชนิดของพันธุ์มันสำปะหลังที่นำมาคำนวณความสัมพันธ์ ขณะที่ชีวมวลของมันสำปะหลัง พันธุ์ระยอง 72 ให้ผลในทำนองเดียวกัน เมื่อนำปัจจัยหลายตัวแปรมาคำนวณให้ค่า RMSE ต่ำกว่าการใช้ปัจจัยเดียวศึกษาความสัมพันธ์ ได้สมการ เป็น BM = 0.007H + 0.052D (R^2 = 0.958 และ RMSE = 0.56 ตันต่อไร่) พันธุ์ CMR33-38-48 ให้ค่า RMSE ระหว่าง 0.66-0.74 ตันต่อไร่ ได้รูปแบบสมการเป็น BM = 0.005H + 0.063D และพันธุ์ระยอง 11 ได้สมการเป็น BM = - 0.007H + 0.167D (RMSE = 0.67 ตันต่อไร่) สรุปได้ว่า สมการประเมินชีวมวล

ของมันสำปะหลังในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง มีความสัมพันธ์สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 มีค่า R^2 ระหว่าง 0.905-0.958 และ RMSE ระหว่าง 0.56-0.78 ตันต่อไร่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวแปรที่นำมาใช้ประเมินความสัมพันธ์ และชนิดของพันธุ์มันสำปะหลัง

Table 1 Correlation between biomass and growth data of cassava

Genotypes	Regression Models	R^2	RMSE
Total[1/]	Model 1 BM = 0.012H	0.918	0.7471
	2 BM = 0.115D	0.925	0.7155
	3 BM = 0.005H + 0.068D	0.932	0.6821
Rayong 72	Model 1 BM = 0.012H	0.952	0.6009
	2 BM = 0.126D	0.946	0.6378
	3 BM = 0.007H + 0.052D	0.958	0.5635
CMR33-38-48	Model 1 BM = 0.011H	0.926	0.7448
	2 BM = 0.113D	0.931	0.7172
	3 BM = 0.005H + 0.063D	0.942	0.6557
Rayong 11	Model 1 BM = 0.012H	0.905	0.7765
	2 BM = 0.108D	0.927	0.6813
	3 BM = - 0.007H + 0.167D	0.930	0.6685

Where: BM = Biomass (ton rai^{-1})
H = Plant height (centimeter)
D = Stem diameter (millimeter)

[1/]Rayong 72 CMR33-38-48 Rayong 11 Rayong 9 CMR33-53-81 Rayong 13 CMR43-08-89, CMR33-35-69, CMR36-55-166 Rayong 2 and Rayong 5

2. การหาการกักเก็บคาร์บอนในต้นมันสำปะหลังโดยวัดจากชีวมวล

จากสมการ regression model ในมันสำปะหลัง พบว่า การใช้ค่าสัมประสิทธิ์ (k) x ชีวมวล นำไปใช้ได้กับการหาการกักเก็บคาร์บอนในต้นมันสำปะหลังได้ โดยความสัมพันธ์ระหว่างการกักเก็บคาร์บอนกับชีวมวลของต้นมันสำปะหลัง โดยมีรูปแบบสมการประเมินการกักเก็บคาร์บอนของต้นมันสำปะหลัง (CS) ได้จากการพัฒนาความสัมพันธ์ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ (k) แสดงดัง Table 2 ทั้งนี้มันสำปะหลังทุกพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 CMR33-38-48 ระยอง 11 ระยอง 9 CMR33-53-81 ระยอง 13 CMR43-08-89 CMR33-35-69 CMR36-55-166 ระยอง 2 และระยอง 5 และรายพันธ์ที่สำรวจพบ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 CMR33-38-48 และ ระยอง 11 มีความสัมพันธ์กับชีวมวล ตามสมการ CS = k * BM โดยค่า k มีค่าเท่ากับ 0.486 (R^2 = 0.9997, RMSE = 0.02 ตัน C ต่อไร่) ของมันสำปะหลังทุกพันธุ์ ได้ สมการ เป็น CS = 0.486BM ส่วนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 ได้ k = 0.485 (R^2 = 0.9998, RMSE = 0.01 ตัน C ต่อไร่) ในขณะที่มันสำปะหลัง พันธุ์ CMR33-38-48 มีค่า k = 0.484 (R^2 = 0.9996, RMSE = 0.03 ตัน C ต่อไร่) ส่วนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 11 มีค่า k = 0.489 485 (R^2 = 0.9999, RMSE = 0.01 ตัน C ต่อไร่) สรุปได้ว่าสมการประเมินกักเก็บคาร์บอนของต้นมันสำปะหลังในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง มีความสัมพันธ์สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 มีค่า R^2 ระหว่าง 0.9996-0.9999 และ RMSE ระหว่าง 0.01-0.03 ตัน C ต่อไร่ ดังนั้นเพื่อให้สามารถประเมินชีวมวลของมันสำปะหลังได้ง่าย และรวดเร็วสามารถเลือกใช้ค่าความสูงต้น ตามสมการ BM = 0.012H มีค่า R^2 = 0.918 และ RMSE = 0.75 ตันต่อไร่ ส่วนการประเมินการกักเก็บคาร์บอนในต้นมันสำปะหลังกับชีวมวลของต้นมันสำปะหลัง ใช้สมการ CS = 0.486BM โดยมีค่า R^2 = 0.9997 และ RMSE = 0.02 ตัน C ต่อไร่

Table 2 Correlation between carbon storage and biomass of cassava

Genotypes	Regression Models	R^2	RMSE
Total[1/]	CS = 0.486BM	0.9997	0.0194
Rayong 72	CS = 0.485BM	0.9998	0.0141
CMR33-38-48	CS = 0.484BM	0.9996	0.0260
Rayong 11	CS = 0.489BM	0.9999	0.0099
Where: BM = Biomass (ton rai^{-1}) CS = Carbon storage (ton C rai^{-1})			

[1/]Rayong 72 CMR33-38-48 Rayong 11 Rayong 9 CMR33-53-81 Rayong 13 CMR43-08-89, CMR33-35-69, CMR36-55-166 Rayong 2 and Rayong 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การหาชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง จังหวัดนครสวรรค์ โดยใช้ข้อมูลการเจริญเติบโตเป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย และสะดวกนำไปใช้ทดแทนการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในพืช ซึ่งหากไม่ต้องการทำลายต้นมันสำปะหลัง พบว่า ชีวมวลมีความสัมพันธ์กับความสูงลำต้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมันสำปะหลัง สามารถนำมาคำนวณชีวมวลของมันสำปะหลังได้ โดยมีความสัมพันธ์สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 มีค่า R^2 ระหว่าง 0.905-0.952 และ RMSE ระหว่าง 0.56-0.78 ตันต่อไร่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวแปรที่นำมาใช้ประเมินความสัมพันธ์ และชนิดของพันธุ์มันสำปะหลัง การประเมินการกักเก็บคาร์บอนในมันสำปะหลังกับชีวมวลของต้นมันสำปะหลัง มีความสัมพันธ์สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ตามสมการ CS = k * BM โดยค่า k มีค่าเท่ากับ 0.486 (R^2 = 0.9997, RMSE = 0.02 ตัน C ต่อไร่) สมการดังกล่าวจะช่วยในการหาปริมาณชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอน ทั้งนี้ควรศึกษาเพิ่มเติมโดยเพิ่มจำนวนจุดตัวอย่าง จำนวนพันธุ์ จำนวนประชากร และตัวแปร เพื่อปรับค่าสัมประสิทธิ์ (k) ให้เหมาะสมของแต่ละพันธุ์ เพื่อใช้ประเมินชีวมวลและการกักเก็บคาร์บอนจากการวัดความสูงลำต้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมันสำปะหลัง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สมการอย่างง่ายไปใช้ในประเมินการดูดซับคาร์บอนในการผลิตมันสำปะหลังในระดับพื้นที่อื่น ๆ ได้
2. การพัฒนาต่อยอดงานวิจัยและพัฒนาการประเมินศักยภาพการดูดซับก๊าซเรือนกระจกและกักเก็บคาร์บอนในพื้นที่การผลิตมันสำปะหลัง

เอกสารอ้างอิง

กฤติณ สุดโต, วีระภาส คุณรัตนสิริ และวันชัย อรุณประภารัตน์. 2562. การประเมินหาปริมาณมวลชีวภาพเหนือพื้นดิน จากข้อมูลภาพดาวเทียม Landsat 8 ในพื้นทวนอุทยานนครไชยบวร จังหวัดพิจิตร. *การประชุมทางวิชาการของหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 57*. วันที่ 29 มกราคม 2562 – 1 กุมภาพันธ์ 2562

นวลปราง นวลอุไร. 2548. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา จุฬาลงกรณ์การเปรียบเทียบค่าดัชนีพื้นที่ใบ มวลชีวภาพและปริมาณคาร์บอนสะสมที่อยู่เหนือพื้นดินของระบบนิเวศป่าจากการสำรวจด้านป่าไม้และการรับรู้ระยะไกลบริเวณอุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน ประเทศไทย. มหาวิทยาลัย.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. “มันสำปะหลังโรง: เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ แยกตามชนิดพันธุ์ ระดับจังหวัด ปี 2563”. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/varitties%20casava63.pdf (21 เมษายน 2565)

อิศรา แพงสี, ณัฏฐ พิชกรรม และ พูนพิภพ เกษมทรัพย์. 2552. ความสามารถของสวนหย่อมในการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์. ***วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*** 40(2): 209-217.

อานนท์ มลิพันธ์ และทิพย์ดรุณี สิทธินาม. 2554. ผลของอายุเก็บเกี่ยวหลังจากตัดต้นต่อผลผลิตและแป้งมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) 4 พันธุ์ ในดินร่วนเหนียวสีแดง จังหวัดลพบุรี. ***วารสารวิชาการเกษตร*** 29(2), 131-146.

Forbes, S.J., L. A. Cernusak, T.D. Northfield, R.M. Gleadow, S. Lambert and A. W. Cheesman. 2020. Elevated temperature and carbon dioxide alter resource allocation to growth, storage and defence in cassava (Manihot esculenta). ***Environmental and Experimental Botany***. 173.

IPCC. 2006. Default biomass conversion and expansion factors. IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories Agriculture, Forestry and Other Land Use. In Intergovernmental Panel on Climate Change; The Institute for Global Environmental Strategies for the IPCC: Kanagawa, Japan

Nasa's Jet Propulsion Laboratory. 2022. "Carbon Dioxide"**.** Retrieved February 16, 2022, from https://climate.nasa.gov/vital-signs/carbon-dioxide/

Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1983. Total Carbon, Organic Carbon, and Organic matter. ***In Method of soil analysis: Part 2 Chemical and Microbiology Properties 9.*** Pp.539-579.

Picchio, R., F. Tavankar, H. Rafie, A.R. Kivi, M. Jourgholami and A.L. Monaco. 2022. Carbon storage in biomass and soil after mountain landscape restoration: *Pinus nigra* and *Picea abies* plantations in the Hyrcanian Region. ***Land*** 11:422

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์

Validation Method of microbial quantitative and efficiency analysis in PGPR Biofertilizer

อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ *กัลยกร โปร่งจันทึก*

Amnat Eamvijarn *Kunlayakorn Prongjunthuek*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Acetylene Reduction Assay (ARA), the Most Probable Number (MPN), and Viable Plate Count are the methods for selecting the microbial quantity and efficiency for PGPR biofertilizer. *Azospirillum brasilense* (DASF04003) and *Azotobacter vinelandii* (DASF04141) were used for method validation. The results revealed that *A. brasilense* (DASF04003) had the repeatability of analytical method was 2.79% of coefficient of variation (CV). The accuracy test at 10^{-1} and 10^{-4} concentrations were 98.39 and 103.65%. The LOD and LOQ of method were 4.68 and 1.58 Log_{10}CFU. In addition, the uncertainty of measurement based on MPN method was 0.599. Furthermore, *A. vinelandii* (DASF04141) showed the repeatability of analytical method was 5.61% of CV. The accuracy test at 10^{-1} concentration was 118.55%. The LOD and LOQ of method was 6.36 and 4.90 Log_{10}CFU. The uncertainty of measurement based on Viable Plate Count method was 0.421. Importantly, the within laboratory reproducibility test by between-analyst variation of both methods was non significance at 95% confidence level.

Keywords : Validation, nitrogen fixing efficiency, Plant growth promoting bacteria, biofertilizer

บทคัดย่อ

ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay (ARA) และการวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) และ Viable plate count เป็นวิธีที่ใช้คัดเลือกจุลินทรีย์อ้างอิงเพื่อใช้ควบคุมคุณภาพปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ โดยคัดเลือกจุลินทรีย์ *Azospirillum brasilense* (DASF04003) และ *Azotobacter vinelandii* (DASF04141) เพื่อนำมาใช้เป็นเชื้ออ้างอิงในการทดลอง ผลการทดลองพบว่า ทั้ง 2 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ความใช้ได้ของวิธีทดสอบของเชื้อ *A. brasilense* (DASF04003) พบว่าความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) เท่ากับ 2.79 เปอร์เซ็นต์ ความแม่นของวิธีได้ค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} และ 10^{-4} มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 98.39 และ 103.65 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดเชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 4.68 และ 1.58 Log_{10}CFU ตามลำดับ และค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบเท่ากับ 0.599 ขณะที่เชื้อ *A. vinelandii* (DASF04141) การทดสอบความสามารถในการทำซ้ำมี CV เท่ากับ 5.61 เปอร์เซ็นต์ ค่า %Recovery ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 118.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่า LOD และค่า LOQ เท่ากับ 6.36 และ 4.90 Log_{10}CFU ตามลำดับ และค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบเท่ากับ 0.421 ขณะที่การทดสอบความเที่ยงแบบ

between-analyst variation โดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ปุ๋ยชีวภาพ

คำนำ

ปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหรือปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ (Plant growth promoting rhizobacteria: PGPR) เป็นปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่มีชีวิต ที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช ทั้งบริเวณดินรอบ ๆ ราก ผิวราก ภายในราก บางครั้งพบบริเวณต้นและใบ ส่วนใหญ่มักพบแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวมากถึง 10-100 เท่า บริเวณรอบรากเนื่องจากพืชจะปล่อย exudate หลายชนิด เช่น กรดอะมิโน (amino acid) และน้ำตาลชนิดต่างๆ เป็นต้น โดยเป็นแหล่งอาหารและพลังงานของแบคทีเรีย (Gray and Smith, 2005) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ 2 ทาง คือ การตรึงไนโตรเจน และผลิตฮอร์โมนสำหรับพืช เช่น indole acetic acid ช่วยให้รากมีพื้นที่ผิวมากขึ้นทำให้พืชดูดน้ำและธาตุอาหารได้เพิ่มมากขึ้น (Boddey *et al.*, 1995; Meunchang *et al.*, 2004 and Jacoud *et al*. 1999) หรือการสร้างปฏิชีวนสาร (antagonistic substance) เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช (Glick, 1995) นอกจากนี้ยังช่วยให้อนุภาคดินจับกันเป็นเม็ดดินที่สมบูรณ์ จึงช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดิน และลดการพังทลายของดิน

ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์เป็นปุ๋ยชีวภาพชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่มีความสามารถหลายด้านอยู่ในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพเดียวกัน จุลินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบสามารถตรึงไนโตรเจน ผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ละลายฟอสเฟต รวมทั้งสามารถสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคบางชนิดได้ อย่างไรก็ตามวิธีการตรวจนับปริมาณ มักใช้อาหารจำเพาะในการนับ ตามสกุลจุลินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบ วิธีการที่นิยมใช้นับจำนวนจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ มี 2 วิธี คือ 1) วิธีนับแบบ Viable Plate Count ใช้นับแบคทีเรียในกลุ่ม aerobic และ 2) วิธีการนับแบบ Most Probable Number (MPN) ใช้กับแบคทีเรียในกลุ่ม micro aerophilic (กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา, 2551) เกณฑ์ที่กำหนดในพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 นั้น ปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยชีวภาพต้องมีไม่ต่ำกว่า 1×10^6 โคโลนีต่อเซลล์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ

จุลินทรีย์กลุ่ม aerobic คือ จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต เพื่อการหายใจ (respiration) แบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญได้ในภาวะที่มีอากาศ หรือมีออกซิเจนเท่านั้น (obligate aerobe) มักพบเจริญบริเวณผิวหน้าของอาหาร เช่น *Azotobacter, Beijerinnckia* และ *Burkholderia* เป็นต้น *Azotobacter* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เซลล์มีรูปร่างเป็นรูปท่อนขนาดใหญ่ บางชนิดรูปร่างเซลล์คล้ายผลแพร์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-4 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา (flagella) พบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออาจอยู่รวมเป็นกลุ่มหรือต่อกันเป็นสาย สร้างเมือก (mucus) และแคปซูล (capsule) บางชนิดสร้างเม็ดสี (pigment) เช่น สีเขียวอมเหลือง สีม่วง หรือสีน้ำตาลเข้ม (Jensen, 1954; Holt *et al.* 1994) สามารถพบได้ทั่วไปในดิน ดินเค็ม น้ำและพืช มีรายงานการนำเชื้อ *Azotobacter* ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น วัตถุเจือปนในอาหาร (food additive) โพลิเมอร์ชีวภาพ (biopolymer) และที่สำคัญการนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) (Then *et al*. 2012 and Wani *et al*. 2016) ส่วนจุลินทรีย์กลุ่ม micro aerophilic คือ จุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำประมาณ 2-10 เปอร์เซ็นต์ (<21 เปอร์เซ็นต์) จึงต้องการออกซิเจนเพื่อการอยู่รอดเท่านั้น เช่น *Azospirillum, Gluconacetobacter* เป็นต้น *Azospirillum* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ พบได้ทั่วไปในดินบริเวณรอบรากพืช สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมได้ดีเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ผลิต proteolytic enzyme ผลิตฮอร์โมนพืช (auxins, cytokinins และ gibberellines) และสร้าง cyst ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Hartmann and Zimmer, 1994) มีรายงาน *Azospirillum* ที่มีประสิทธิภาพที่นำมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Azospirillum lipoferum, A. rasilens, A. amazonense,*

A. halopraeferens และ *A. irakense* (Tarrand *et al*. 1978; Magalhães *et al*. 1983; Reinhold *et al*. 1987 and Khammas *et al*. 1989)

ปัจจุบันเอกชนมีการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์เพื่อจำหน่ายกันอย่างแพร่หลาย ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพเพื่อการค้านั้น มีการควบคุมคุณภาพโดยต้องขอขึ้นทะเบียนปุ๋ย ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ซึ่งได้กำหนดมาตรฐานปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ จะต้องมีจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 x 10^6 หรือ 1 ล้านโคโลนี/เซลล์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ทั้งนี้การตรวจนับปริมาณและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพด้วยวิธีข้างต้นยังไม่ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการที่เป็นมาตรฐานสากล ทำให้ขาดข้อมูลที่ใช้ยืนยันความถูกต้อง แม่นยำของวิธีวิเคราะห์ ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นต้องปรับปรุงและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) เพื่อเป็นการยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ และจัดทำเป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน (Standard Operation Procedure) ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล และคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิงในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์เพื่อรองรับการขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ.2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 และเตรียมข้อมูลเพื่อขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม micro aerophillic bacteria ได้แก่ DASF04003, DASF04005, DASF04008, PGPR16/63, AP1, DASF04175, DASF04176, DASF04177, DASF04178 และ PGPR189/62 และกลุ่ม aerophillic bacteria ได้แก่ DASF04141, DASF04126, DASF04127, AT1, AT2, AT4, AT9, AT10, AT32 และ AT38
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nitrogen free semisolid malate (NFb), LGI, Nutrient broth (NB) และ Nutrient agar (NA)
3. เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้บ่มเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน เป็นต้น
4. เครื่องแก้วและวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์

วิธีการ

1. การวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

วัดประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay (ARA) ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 20 สายพันธุ์ โดยการเลี้ยงเชื้อในอาหาร NFb และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเปลี่ยนจุกหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแบบพลาสติกให้เป็นจุกยางสำหรับเก็บแก๊ส ทำการอัดแก๊สอะเซทิลีนลงไปในส่วนปริมาตรเหนืออาหาร 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร หลังจากนั้นทำการบ่มต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการดูดแก๊สจากหลอดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ไอโซเลทละ 3 ซ้ำ ทำการศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยเทคนิค Acetylene Reduction Assay (ARA) ตามวิธีการของ Hardy *et al*. (1973) แล้วนำตัวอย่างแก๊สที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเอทิลีนด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) คำนวณหาปริมาณแก๊สเอทิลีน โดยเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของเอทิลีนมาตรฐานจากสูตรดังนี้

อัตราการตรึงไนโตรเจน = (10^3 x B x V)/(250 x Std. x A x 22.4)

B = พื้นที่ใต้กราฟของพีชตัวอย่าง
V = ปริมาตรของขวดกรวยแก้วที่ใช้เก็บตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
Std. = พื้นที่ใต้กราฟเฉลี่ยของแก๊สอะเซทิลีนมาตรฐาน
A = เวลาที่ใช้ในการรีดิวซ์แก๊สอะเซทิลีน (ชั่วโมง)

10^3 = เปลี่ยนหน่วยจากมิลลิโมลเป็นไมโครโมล (µmol)
250 = ปริมาตรของภาชนะบรรจุแก๊สมาตรฐาน
22.4 = ปริมาณของแก๊ส 1 โมล ที่ STP

อัตราการตรึงไนโตรเจน มีหน่วยเป็นไมโครโมลของเอทิลีน (C_2H_4) ต่อหลอดต่อชั่วโมง เมื่อใช้เอทิลีนมาตรฐานที่ทราบปริมาตรที่แน่นอน (250 มิลลิลิตร) นำข้อมูลอัตราการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแต่ละไอโซเลทมาเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพและคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนดีที่สุดและสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อไปใช้ในการทดลองต่อไป

2. การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพ

2.1 นำหลอดเก็บตัวอย่างเชื้อสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่เก็บรักษาไว้ มาทำการ streak บนอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2 บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน

2.3 ใช้ลูป (loop) แตะโคโลนีเชื้อประมาณ 1 ลูป ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบประมาณ 150-180 รอบ/นาที เป็นเวลา 3-5 วัน

2.4 ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มไว้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว ปริมาตร 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มเชื้อที่ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบประมาณ 150-180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3-5 วัน จะได้หัวเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณอย่างน้อย 1.0×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

2.5 ชั่งวัสดุพา (พีทมอส) ถุงละ 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121±3 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและทำการนึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วยวิธีการเดิม

2.6 นำวัสดุพาที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วผสมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์อัตราส่วน 1:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ด้วยการใช้กระบอกฉีดยาฉีดหัวเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปในถุงวัสดุพา จากนั้นใช้ผสมวัสดุพาและหัวเชื้อเข้ากันดี จะได้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์

3. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพ

3.1 จุลินทรีย์ในกลุ่ม micro aerobic bacteria

3.1.1 วิธี Most Probable Number (MPN)

3.1.1.1 เตรียมอาหาร LGI แบบกึ่งเหลว แบ่งใส่หลอดทดลอง ขนาด 20 มิลลิลิตร หลอดละ 5 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.1.1.2 ทำการเจือจางตัวอย่างปุ๋ยโดยชั่งตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ จำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร แล้วเจือจางตามลำดับ ตั้งแต่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-7}

3.1.1.3 ดูดตัวอย่างปุ๋ยที่ทำการเจือจางแล้วระดับความเจือจางละ 0.1 มิลลิลิตร หยดใส่ในหลอดอาหาร LGI กึ่งเหลว ความเจือจางละ 5 หลอด

3.1.1.4 บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน

3.1.1.5 คำนวณจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ตามสูตร

CFU/1 กรัม = ค่าจากตาราง MPN x 10 x dilution factor

3.1.2 วิธี drop plate

3.1.2.1 เตรียมอาหาร LGI แบบวุ้นแข็ง ใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งให้อาหารแข็งตัวอย่างน้อย 4 ชั่วโมง

3.1.2.2 ทำการเจือจางตัวอย่างปุ๋ยโดยชั่งตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ จำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร แล้วเจือจางตามลำดับ ตั้งแต่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-7}

3.1.2.3 หยดตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง จำนวน 3 จุดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 6 ซ้ำ โดยแต่ละจุดใช้ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ปล่อยให้แห้งอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อในจานอาหาร ประมาณ 15-30 นาที นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่

อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหาร คำนวณจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ตามสูตร

CFU/1 กรัม = จำนวนโคโลนีเฉลี่ย x 5 x dilution factor

3.2 จุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic bacteria

3.2.1 วิธี Viable plate count

3.2.1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อไว้อย่างน้อย 4 ชั่วโมง

3.2.1.2 ทำการเจือจางตัวอย่างปุ๋ยโดยชั่งตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ จำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร แล้วเจือจางตามลำดับ ตั้งแต่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-8}

3.2.1.3 ดูดตัวอย่างปุ๋ยที่เจือจางแล้วแต่ละระดับความเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-8} ความเจือจางละ 0.1 มิลลิลิตร หยดบนผิวหน้าอาหารที่เตรียมไว้ จากนั้นเกลี่ยให้กระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าอาหารด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม (glass spreader) ความเจือจางละ 3 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ซ้ำ)

3.2.1.4 บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่สารละลายตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทั้งหมดในตู้บ่มเชื้อแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

4.1 การทดสอบความเที่ยง (Precision)

4.1.1 ความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability)

ทดสอบหาจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนเดียว นำข้อมูลจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพที่ได้ในหน่วยเซลล์หรือโคโลนีต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพจากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้งสองคนมาเปลี่ยนค่าให้อยู่ในรูป Log_{10}CFU คำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ และค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) โดย %CV จะต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์

4.1.2 การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation)

ทดสอบหาจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ จำนวน 21 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน คำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ค่าเฉลี่ย และ %CV โดย %CV จะต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์ และเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ที่วัดได้จากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน โดยทดสอบทางสถิติด้วย Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.2 การทดสอบความแม่น (Accuracy)

นำตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่เตรียมจากเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์อ้างอิง จำนวน 10 กรัม มาทำการเจือจางลำดับส่วน 10 เท่า (10 fold serial dilution) ตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-8} แล้วทำการหาจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพจากการทดสอบ 3 วิธี ดังนี้

4.2.1 จุลินทรีย์ในกลุ่ม micro aerobic bacteria

วิธี Most Probable Number (MPN) โดยทำการดูดสารละลายที่ความเข้มข้นระดับ 10^{-1} (สูง) 10^{4} (กลาง) 10^{-6} (ต่ำ) ความเข้มข้นละ 0.1 มิลลิลิตร หยดใส่ในหลอดอาหาร LGI กึ่งเหลว ความเจือจางละ 5 หลอด จำนวน 6 ซ้ำ บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ และคำนวณจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ

วิธี drop plate โดยทำการดูดสารละลายที่ความเข้มข้นระดับ 10^{-1} (สูง) 10^{-4} (กลาง) 10^{-6} (ต่ำ) ความเข้มข้นละ 0.1 มิลลิลิตร จำนวน 3 จุดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 6 ซ้ำ บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ และคำนวณจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ

4.2.2 จุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic bacteria

วิธี Viable plate count โดยทำการดูดสารละลายที่ความเข้มข้นระดับ 10^{-1} (สูง) 10^{-2} (กลาง) 10^{-3} (ต่ำ) ความเข้มข้นละ 0.1 มิลลิลิตร จำนวน 6 ซ้ำไปเกลี่ย (spread plate) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นแข็ง บ่มในตู้บ่มเชื้อ และคำนวณจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ

จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) โดยมีค่า 80-120 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) มีค่าเท่ากับหรือน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์

4.3 การหาค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty) ทางจุลชีววิทยา

4.3.1 การนับปริมาณจุลินทรีย์

4.3.1.1 ชั่งตัวอย่าง 10±0.1 กรัม อย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

4.3.1.2 ตัวอย่างชุดที่1 (Yj1) ให้ผู้ทดสอบคนที่ 1 เป็นผู้ทดสอบ และตัวอย่าง (Yj2) ให้ผู้ทดสอบคนที่ 2 เป็นผู้ทดสอบ

4.31.3 ทำการทดสอบตัวอย่างเพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์

4.3.1.4 แปลงข้อมูลที่ได้จากผู้ทดสอบแต่ละคนให้อยู่ในรูป $Log_{10}CFU$

4.3.1.5 นำมาคำนวณตามสูตร

การหาค่า Standard deviation of reproducibility

$$S_R = \sqrt{\frac{1}{2n}\sum_{i=1}^{n}(Yj1 - Yj2)^2}$$

โดยที่

S_R	=	Standard deviation of reproducibility
$(Y_j1 - Y_j2)$	=	ผลต่างของผลการทดสอบจากผู้ทดสอบแต่ละคนในรูป $Log_{10}CFU$
n	=	จำนวนตัวอย่าง
i	=	ลำดับที่ของตัวอย่าง

4.3.2 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Expanded Uncertainty)

$$U_{95\%} = 2\sqrt{S_R^2 + \frac{0.18861}{\sum C}}$$

โดยที่

$U_{95\%}$	=	ค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Expanded Uncertainty)
S_R	=	Standard deviation of reproducibility ที่ได้จากคำนวณ
$\sum C$	=	ผลรวมของจำนวนจุลินทรีย์ทุกซ้ำของการทดสอบ
$\frac{0.18861}{\sum C}$	=	Variance component due to Poisson distribution

ระยะเวลา ตุลาคม 2562 - กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม micro aerophillic สกุล *Azospirillum* จำนวน 10 สายพันธุ์ มีค่าการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 23.89 - 90.30 นาโนโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อหลอด สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงสุด 3 อันดับแรก คือ AP1, DASF04175 และ DASF04178 โดยมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 90.30 68.89 และ 65.23 นาโนโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อหลอด (Table 1) ส่วนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม aerophillic สกุล *Azotobacter* จำนวน 10 สายพันธุ์ มีค่าการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 3.65 - 30 นาโนโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อหลอด สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงสุด 3 อันดับแรก คือ DASF04141, AT4 และ DASF04127 โดยมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 30 9.14 และ 8.73 นาโนโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อหลอด (Table 1) ทั้งนี้บางสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูง แต่มีการเจริญเติบโตช้า จึงคัดเลือกสายพันธุ์ DASF04003 และ DASF04141 เพื่อใช้เป็นเชื้ออ้างอิงที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ในการวิธีวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ มีรายงานการศึกษาปริมาณการตรึงไนโตรเจนของเชื้อ *Azotobacter* จำนวน 16 ไอโซเลท ที่แยกได้จากดินในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา พบว่า มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน 0.48 – 0.99 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง (อรุณี, 2556) ในทางเดียวกัน อาภากร (2553) รายงานการใช้เชื้อ *Azospirillum largimobile* และ *Azotobacter vinelandii* ผลิตเป็นหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพเพื่อใช้ในนาข้าว พบว่า จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนในช่วง 0.05 – 9.74 นาโนโมลเอทิลีนต่อวันต่อ 10^8 CFU นอกจากนี้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชยังผลิตฮอร์โมนสำหรับพืช เช่น indole acetic acid ช่วยให้รากมีพื้นที่ผิวมากขึ้นมีผลช่วยให้พืชดูดน้ำและธาตุอาหารได้เพิ่มมากขึ้นกว่าเดิม (Boddey *et al.*, 1995; Meunchang *et al.*, 2004 and Jacoud *et al*. 1999) หรือการสร้างปฏิชีวนสาร (antagonistic substance) เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช (Glick, 1995) และยังช่วยให้อนุภาคดินจับกันเป็นเม็ดดินที่สมบูรณ์ จึงช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดิน และลดการศักยภาพการพังทลายของดิน

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

2.1 การทดสอบความเที่ยง (Precision)

2.1.1 ความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability)

จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบในด้านความสามารถในการทำซ้ำ พบว่า จุลินทรีย์ในกลุ่ม micro aerobic bacteria มีค่าความสามารถในการทำซ้ำของการทดสอบ โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ในหน่วย CFU ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพเฉลี่ยเท่ากับ 8.68 Log_{10}CFU มีค่า %CV เท่ากับ 2.79 ส่วนจุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic bacteria โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ในหน่วย CFU ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพเฉลี่ยเท่ากับ 4.58 Log_{10}CFU มีค่า %CV เท่ากับ 5.61 (Table 2)

2.1.2 การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation) จุลินทรีย์ในกลุ่ม micro aerobic bacteria

ทดสอบหาปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพ จำนวน 21 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน พบว่า เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.37 Log_{10}CFU และมี %CV เท่ากับ 7.10 สำหรับเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.66 Log_{10}CFU และมี %CV เท่ากับ 7.06 (Table 3) และเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ที่นับได้จากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน โดยใช้ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่น 95% ได้ค่าเท่ากับ 0.39

จุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic bacteria

สภาวะเดียวกัน พบว่า เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.52 Log_{10}CFU และมี %CV เท่ากับ 6.71 สำหรับเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.53 Log_{10}CFU และมี %CV เท่ากับ 7.75 (Table 4) และเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ ที่นับได้จากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน โดยใช้ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่น 95% ได้ค่าเท่ากับ 0.87

2.2 การทดสอบความแม่น (Accuracy)

จุลินทรีย์ในกลุ่ม micro aerobic bacteria

Relative Accuracy (AC) คือ ระดับของความตรงกันระหว่างปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากวิธีทดสอบ Most probable number (MPN) เมื่อเทียบกับวิธี Drop Plate ผลการทดสอบพบว่า ค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของวิธีทดสอบปริมาณเชื้อ *Azospirillum brasilense* (DASF04003) ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} (ระดับสูง) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 7.40 Log_{10}CFU มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 98.39% (Table 5) ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} (ระดับกลาง) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 4.68 Log_{10}CFU มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 103.65% (Table 6) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10^{-7} (ระดับต่ำ) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 1.58 Log_{10}CFU (Table 7) โดยมีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 193.09%

จุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic bacteria

Relative Accuracy (AC) คือ ระดับของความตรงกันระหว่างปริมาณเชื้อพีจีพีอาร์กลุ่ม aerophillic bacteria เชื้อ *Azotobacter vinelandii* (DASF04141) ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพที่ได้จากปุ๋ยชีวภาพแบบผงและเหลว โดยนับปริมาณด้วยวิธี Viable Plate Count ผลการทดสอบพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} (ระดับสูง) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 6.36 Log_{10}CFU มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 118.55% (Table 8) ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} (ระดับกลาง) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 5.35 Log_{10}CFU มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 131.25% (table 9) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10^{-3} (ระดับต่ำ) มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 4.90 Log_{10}CFU (Table 10) มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 168.52% ทั้งนี้ปริมาณเชื้อในระยะแรกที่เพิ่มมากขึ้นหลังจากที่นำหัวเชื้อแบบเหลวผสมกับวัสดุพา (carrier) อาจเนื่องจากพื้นที่ในการเจริญเติบโต ปริมาณออกซิเจน และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ติดไปกับหัวเชื้อแบบเหลว สอดคล้องกับการศึกษาของ Abd El-Fattah (2013) ที่รายงานว่าการใช้ดินเหนียว พีทมอส แกลบ รำข้าวสาลี และพีทมอสผสมเวอร์มิคูไลท์ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อเป็นวัสดุพาในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์จากเชื้อ *Azotobacter chroococcum* ทำให้ปริมาณของเชื้อเพิ่มขึ้นในระยะแรก และจะลดลงเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 1-2 เดือน นอกจากนี้ กัลยกรและคณะ (2556) รายงานว่าการใช้วัสดุพาที่นึ่งฆ่าในการผลิตปุ๋ยชีวภาพทำให้ปริมาณจุลินทรีย์มีค่าสูงกว่าการใช้วัสดุพาที่ไม่นึ่งฆ่าเชื้อ

2.3 การประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection: LOD) และการประมาณค่าต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (Limit of Quantization: LOQ)

จุลินทรีย์ในกลุ่ม micro aerobic bacteria

ระดับความเข้มข้นของเชื้อ *Azospirillum brasilense* ต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) ด้วยวิธีทดสอบปริมาณในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์อยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.68 Log_{10}MPN มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 103.65 ส่วนจำนวน *A. brasilense* ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่สามารถตรวจได้ในระดับต่ำที่สุด แต่ยังไม่ถือว่ามีความถูกต้อง (Critical Level: LC) อยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-7} หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.58 Log_{10}MPN มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 193.09 เนื่องจากมีค่า %Recovery เฉลี่ยเกิน 120 ดังนั้นจำนวน *A. brasilense* ต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 4.68 Log_{10}MPN

จุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic bacteria

ระดับความเข้มข้นของเชื้อ *Azotobacter vinelandii* ต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) ด้วยวิธีทดสอบปริมาณในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์อยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.36 Log_{10}CFU มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 118.55 ส่วนจำนวน *A. vinelandii* ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่สามารถตรวจได้ในระดับต่ำที่สุด แต่ยังไม่

ถือว่ามีความถูกต้อง (Critical Level: LC) อยู่ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-3} หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.90 Log_{10}CFU เนื่องจากมีค่า %Recovery เฉลี่ยเกิน 120 ดังนั้นจำนวน *A. vinelandii* ต่ำที่สุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 6.36 Log_{10}CFU

2.4 การหาค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ (Uncertainty) ทางจุลชีววิทยา

การทดสอบตัวอย่างเชื้อ *Azospirillum brasilense* ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ จำนวน 21 ตัวอย่าง (n = 21) ตัวอย่างละ 2 ชุด ให้เจ้าหน้าวิเคราะห์ 2 ค่าผลต่างของผลการทดสอบจากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์แต่ละคนในรูป Log_{10}CFU ยกกำลังสอง $\sum_{i=1}^{n}(Yj1 - Yj2)^2$ เท่ากับ 3.73 ทำให้ได้ค่า Standard deviation of reproducibility (S_R) เท่ากับ 0.298 เมื่อคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Expanded Uncertainty) จะได้ค่าเท่ากับ 0.599 ขณะที่การทดสอบเชื้อ *Azotobacter vinelandii* ค่าผลต่างของผลการทดสอบจากเจ้าหน้าที่วิเคราะห์แต่ละคนในรูป Log_{10}CFU ยกกำลังสอง $\sum_{i=1}^{n}(Yj1 - Yj2)^2$ เท่ากับ 1.82 ทำให้ได้ค่า S_R เท่ากับ 0.208 เมื่อคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบได้ค่าเท่ากับ 0.421

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์กลุ่ม micro aerophilic สกุล *Azospirillum* สูงสุด 3 อันดับแรก คือ AP1, DASF04175 และ DASF04178 ส่วนจุลินทรีย์กลุ่ม aerophillic สกุล *Azotobacter* สูงสุด 3 อันดับแรก คือ DASF04141, AT4 และ DASF04127

2. วิธีการนี้สามารถนำไปวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ได้อย่างเหมาะสม โดยค่าความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำมีค่า CV ของเชื้อ *Azospirillum brasilense* เท่ากับ 2.79% ความแม่นของวิธีได้ค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} และ 10^{-4} มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 98.39% และ 103.65% ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) และค่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดเชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 4.68 และ 1.58 Log_{10}MPN ตามลำดับ และการทดสอบความเที่ยงแบบ between-analyst variation โดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า *P* เท่ากับ 0.39 โดยค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบเท่ากับ 0.599 และเชื้อ *Azotobacter vinelandii* การทดสอบความสามารถในการทำซ้ำมี CV เท่ากับ 5.61 เปอร์เซ็นต์ ค่า %Recovery ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} มีค่า %Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 118.55% มีค่า LOD และค่า LOQ เท่ากับ 6.36 และ 4.90 Log_{10}MPN ตามลำดับ และการทดสอบความเที่ยงแบบ between-analyst variation มีค่า *P* เท่ากับ 0.87 โดยค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบเท่ากับ 0.421

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้สายพันธุ์จุลินทรีย์ *Azospirillum brasilense* (DASF04003) และ *Azotobacter vinelandii* (DASF04141) ที่สามารถใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิงในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ในการรับรองการขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ตาม พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 นอกจากนี้ยังเป็นการเตรียมข้อมูลเพื่อขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา. 2551. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย กรุงเทพ. 45 หน้า.

กัลยกร โปร่งจันทึก ภัชญภณ หมื่นแจ้ง ประไพ ทองระอา จินดารัตน์ ชื่นรุ่ง และพีรพงษ์ เชาวนพงษ์. 2556. การคัดเลือกวัสดุพาที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการใช้ผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบใหม่ที่ปราศจากเชื้อปนเปื้อนอื่นๆ. หน้า 192-199. *ใน: รายงานผลการปฏิบัติงานสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ประจำปี* 2556.

อรุณี คงสอน. 2556. รายงานการวิจัยเรื่องการศึกษาการสรางฮอรโมนออกซิน และการตรึงไนโตรเจนโดยเชื้ออะโซโตแบคเตอร. 33 หน้า.

อาภากร หล่องทองหลาง. 2553. ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของ *Azospirillum largimobile* และ *Azotobacter vinelandii* ในการปลูกข้าวระบบประณีต. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 79 หน้า.

Abd El-Fattah, D.A. W.E Eweda, M.S Zayed and M.K. Hassanein. 2013. Effect of carrier materials, sterilization method, and storage temperature on survival and biological activities of *Azotobacter chroococcum* inoculant. Annals of Agricultural Sciences 58(2): 111–118.

Boddey, R.M. 1995. Biological nitrogen fixation associated with sugarcane and rice: contribution and prospects for improvement. Plant Soil. 174: 195-209.

Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can J Microbiol 41:109-117.

Gray E.J. and D.L. Smith 2005. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. Soil Biol Biochem 37:395-412.

Hardy, R.W.F.; R.C. Burns and R.D. Holsten. 1973. Application of the Acetylene–ethylene Assay for Measurement of Nitrogen Fixation. Soil Biol. Biochem. 5: 47-81.

Hartmann, A. and Zimmer, W. 1994. Physiology of *Azospirillum*. In: *Azospirillum*/Plant Associations (Okon, Y., Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL. USA. 15–39 pp.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA. 787 p.

Jacoud, C. 1999. Initiation of root growth stimulation by *Azospirillum lipoferum* CTR1 during maize seed germination. Canadian Journal of Microbiology. 45: 339-342.

Jensen, H. L. 1954. The Azotobacteriaceae. Bacteriol. Rev. 18(4): 195–214.

Khammas, K.M., E. Ageron, P.A.D. Grimont, and P. Kaiser. 1989. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. Res. Microbiol. 140, 679–693.

Magalhães, F.M., J.I. Baldani, S.M. Souto, J.R. Kuykendall, J. Döbereiner. 1983. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. An. Acad. Bras. Cienc. 55: 417–429.

Meunchang, S., S. Panichsakpatana, S. Ando, T. Yokayama. 2004. Phylogenetic and Physiological characterization of indigenous *Azospirillum* isolates in Thailand. Journal of the Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition 50(3): 413-421.

Reinhold, B., T. Hurek, I. Fendrik, B. Pot, M. Gillis, K. Kersters, S. Thielemans and J. De Ley. 1987. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-fixing organism associated with roots of Kallar Grass (Leptochloa fusca (L.) Kunth). Int. J. Syst. Bacteriol. 37: 43–51.

Tarrand, J.J., N.R.Krieg and J. Döbereiner. 1978. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can. J. Microbiol. 24: 967–980.

Then, C., Z. Othman, W.A.W. Mustapha, M.R. Sarmidi , R. Aziz, H. A. El Enshasy. 2012. Production of Alginate by *Azotobacter vinelandii* in semi-industrial scale using batch and fed-batch cultivation systems. J. Adv. Sci. Res., 3(4): 45-50.

Wani, S.A., S. Chand, M.A. Wani, M. Ramzan and K.R. Hakeem. 2016. *Azotobacter chroococcum* – A Potential Biofertilizer in Agriculture: An Overview. Soil Science: Agricultural and Environmental Prospectives, DOI 10.1007/978-3-319-34451-5_15.

Table 1 Nitrogen fixation efficiency of micro aerobic and aerobic bacteria

No.	Strain*	Nitrogen fixing rate** (nanomole ethylene/hour/tube)
1	DASF04003	65.0
2	DASF04005	60.90
3	DASF04008	23.89
4	PGPR16/63	41.22
5	AP1	90.30
6	DASF04175	68.89
7	DASF04176	55.67
8	DASF04177	43.11
9	DASF04178	65.23
10	PGPR189/62	36.10
11	DASF04141	30.0
12	DASF04126	3.65
13	DASF04127	8.73
14	AT1	7.95
15	AT2	5.78
16	AT4	9.14
17	AT9	5.86
18	AT10	6.02
19	AT32	7.53
20	AT38	7.78

* DASF04003, DASF04005, DASF04008 and DASF04141 are used as PGPR biofertilizer inoculants

** Mean of three replications of each strain

Table 2 Precision of bacterial quantitative in PGPR biofertilizer

No.	Micro aerobic bacteria (Log_{10}CFU/g)	Aerobic bacteria (Log_{10}CFU/g)
1	8.54	4.78
2	8.54	4.67
3	8.96	4.29
$\bar{x}$	8.68	4.58
%CV	2.79	5.61

* Mean of three replications of each strain

Table 3 Precision of micro aerobic bacterial number in PGPR biofertilizer by between-analyst variation method

	Number micro aerobic bacteria CFU (Log_{10}CFU/g)	
	Analyst 1	Analyst 2
Mean	8.37	7.66
%CV	7.10	7.06
t-test* (Sig. 2-tailed)	0.39	

* According to Student's t-test of mean at 95% confidence level (P = 0.05)

Table 4 Precision of aerobic bacterial number in PGPR biofertilizer by between-analyst variation method

	Number aerobic bacteria (Log_{10}CFU/g)	
	Analyst 1	Analyst 2
Mean	4.52	4.53
%CV	6.72	7.75
t-test* (Sig. 2-tailed)	0.87	

* According to Student's t-test of mean at 95% confidence level (P = 0.05)

Table 5 The accuracy test of micro aerophillic bacteria in PGPR biofertilizer at high concentration (10^{-1} dilution)

No.	MPN method (Log_{10}CFU/g)	Drop plate method (Log_{10}CFU/g)	%Recovery
1	7.73		102.79
2	7.34		97.61
3	7.45	7.52	99.10
4	7.11		94.55
5	7.38		98.14
6	7.38		98.14
Mean	**7.40**		**98.39**

Table 6 The accuracy test of micro aerophillic bacteria in PGPR biofertilizer at medium concentration (10^{-4} dilution)

No.	MPN method (Log_{10}CFU/g)	Drop plate method (Log_{10}CFU/g)	%Recovery
1	4.86	4.52	107.52
2	4.52		100
3	4.90		108.41
4	4.90		108.41
5	4.52		100
6	4.41		97.57
Mean	**4.68**		**103.65**

Table 7 The accuracy test of micro aerophillic bacteria in PGPR biofertilizer at low concentration (10^{-7} dilution)

No.	MPN (Log_{10}MPN)	Drop plate (Log_{10}CFU)	%Recovery
1	1.65	0.82	201.22
2	1.65		202.22
3	1.60		195.12
4	1.65		201.22
5	1.30		158.54
6	1.65		201.22
Mean	**1.58**		**193.09**

Table 8 The accuracy test of aerophillic bacteria in PGPR biofertilizer at high concentration (10^{-1} dilution) by using plate count method

No.	Powder biofertilizer (Log_{10}CFU)	Liquid biofertilizer (Log_{10}CFU)	%Recovery
1	6.31	5.37	117.58
2	6.42		119.54
3	6.44		120.02
4	6.42		119.54
5	6.40		119.28
6	6.19		115.34
Mean	**6.36**		**118.55**

Table 9 The accuracy test of aerophillic bacteria in PGPR biofertilizer at medium concentration (10^{-2} dilution) by using plate count method

No.	Powder biofertilizer ($Log_{10}CFU$)	Liquid biofertilizer ($Log_{10}CFU$)	%Recovery
1	5.30		130.14
2	5.26		129.14
3	5.40		132.58
4	5.12	4.07	127.37
5	5.50		135.08
6	5.42		133.19
Mean	**5.35**		**131.25**

Table 10 The accuracy test of aerophillic bacteria in PGPR biofertilizer at low concentration (10^{-3} dilution) by using plate count method

No.	Powder biofertilizer ($Log_{10}CFU$)	Liquid biofertilizer ($Log_{10}CFU$)	%Recovery
1	4.90		168.79
2	4.89		168.38
3	4.85		166.93
4	4.94	2.91	170.06
5	4.89		168.34
6	4.90		168.62
Mean	**4.90**		**168.52**

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการจัดจำแนกจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์
Method Validation for Identification of Bacteria in PGPR Biofertilizer

อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ *กัลยกร โปร่งจันทึก*
Amnat Eamvijarn *Kunlayakorn Prongjunthuek*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The identification of *Azospirillum* (DASF04003 and DASF04008) and *Azotobacter* (DASF04141) that were bacterial reference strains for plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) biofertilizer production. In order to set up the standard operation procedure for quality control of biofertilizer. The 16S rRNA gene fragment were amplified by using universal primers. Then bacterial DNAs were sequenced and compared with other bacterial strains in NCBI database. The results showed that *Azospirillum* strains were grouped in *Azospirillum brasilense.* Whereas, *Azotobacter* strains were grouped in *Azotobacter vinelandii, Azotobacter beijerinckii* and *Azotobacter salinestris*. The validation of bacterial classification method found that the Trueness of % similarity from molecular identification method of *Azospirillum brasilense* was 98 - 99% and score value of MALDI-TOF MS was 2.33 – 2.39. The Repeatability of analytical method of MALDI-TOF MS that shown Coefficient of Variation (%CV) value were 4.94 and 4.77. The Intermediate precision was 2.28 and 2.31 at 95% confidence level (P = 0.481). Moreover, Trueness of % similarity from molecular identification method of *Azotobacter vinelandii, Azotobacter beijerinckii* and *Azotobacter salinestris* were 98 – 99% and score value of MALDI-TOF MS was 2.55 2.45 and 2.45 respectively. The Repeatability of analytical method of MALDI-TOF MS that shown %CV were 1.14 3.95 and 3.23. The Intermediate precision was 2.55 and 2.51 at 95% confidence level (P = 0.127). Thus, MALDI-TOF MS has Precision of the method and suitable for use according the standard of validation of analytical method.

Keywords : Validation, bacterial classification, Plant growth promoting bacteria, biofertilizer

บทคัดย่อ

การจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลของแบคทีเรียอ้างอิงที่ใช้ผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์จำนวน 2 สกุล ได้แก่ *Azospirillum* (DASF04003 และ DASF04008) และ *Azotobacter* (DASF04141) โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16S rRNA แล้วนำชิ้นดีเอ็นเอมาหาลำดับเบส จากนั้นทำการเปรียบเทียบกับลำดับเบสของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกันในฐานข้อมูล NCBI พบว่า *Azospirillum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ จัดอยู่ในกลุ่มของ *Azospirillum brasilense* เมื่อทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบพบว่า ค่าความถูกต้องของวิธีจำแนกชนิดด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล เท่ากับ 98 – 99 เปอร์เซ็นต์ และการใช้เครื่อง MALDI-TOF MS มีค่า score value เท่ากับ 2.33 – 2.39 ความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) เท่ากับ 4.94 และ 4.77 เปอร์เซ็นต์ และค่า Intermediate precision จากการทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน มีค่า CV เท่ากับ 2.28 และ 2.31 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า P เท่ากับ 0.481 ขณะที่ *Azotobacter* จัดอยู่ในกลุ่มของ *Azotobacter vinelandii, Azotobacter beijerinckii* และ *Azotobacter salinestris* เมื่อทำการตรวจสอบความใช้ได้

ของวิธีทดสอบพบว่า ค่าความถูกต้องของวิธีจำแนกชนิดด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล เท่ากับ 98 – 99 เปอร์เซ็นต์ และการใช้เครื่อง MALDI-TOF MS มีค่า score value เท่ากับ 2.55 2.45 และ 2.45 ความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) เท่ากับ 1.14 3.95 และ 3.23 เปอร์เซ็นต์ และค่า Intermediate precision จากการทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน มีค่า CV เท่ากับ 2.55 และ 2.51 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า *P* เท่ากับ 0.127 แสดงให้เห็นว่าผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นวิธีทดสอบการจัดจำแนกชนิดจุลินทรีย์โดยการใช้เครื่อง MALDI-TOF MS จึงมีความเที่ยง และมีความเหมาะสม และให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้องและเชื่อถือได้

คำสำคัญ : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี การจำแนก แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ปุ๋ยชีวภาพ

คำนำ

Azospirillum และ *Azotobacter* เป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria หรือ PGPR) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) ลำต้น และใบ ของพืชตระกูลหญ้าหลายชนิด โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ (free-living diazotrophs) เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช สร้างสารซิเดอโรฟอร์ (siderophores) ซึ่งมีสมบัติเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช นอกจากนี้ยังสามารถสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (auxins) ซึ่งกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ สร้างเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) และลามินาริเนส (laminarinase) ย่อยเส้นใยเชื้อราโรคพืช (antagonistic) สร้างสารปฏิชีวนะ (secondary metabolite) ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เป็นต้น (หนึ่ง, 2548; ธงชัย, 2550; Glick *et al*., 1999; Choudhury and Kennedy, 2004) ซึ่งในแบคทีเรียบางสกุลมีความสามารถหลายอย่างรวมกัน ดังนั้นการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเป็นปุ๋ยชีวภาพจึงมีความสำคัญ การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชนอกจากจะช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีแล้ว ยังผลทำให้มีต้นทุนการผลิตลดลงอีกด้วย ในปัจจุบันมีการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์เพื่อจำหน่าย จึงต้องมีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพเพื่อขอขึ้นทะเบียนตามพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 เพื่อควบคุม กำกับ คุณภาพของปุ๋ยชีวภาพ โดยปริมาณจุลินทรีย์ขั้นต่ำ 1.0×10^6 เซลล์ต่อกรัมปุ๋ยชีวภาพ และต้องจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ (scientific name) ของจุลินทรีย์ในระดับสกุล (genus) ด้วย

การจัดจำแนกจุลินทรีย์เป็นขั้นตอนพื้นฐานในการศึกษาเพื่อให้รู้ถึงชื่อทางวิทยาศาสตร์ ก่อนการศึกษาในเชิงลึก เนื่องจากจุลินทรีย์ในธรรมชาติมีทั้งประโยชน์และโทษ การจำแนกในปัจจุบันอาศัยรากฐานจากระบบการจำแนกของคาโรลัส ลินเนียส (Carolus Linnaeus) นักพฤกษศาสตร์ชาวสวีเดนเมื่อประมาณ 300 ปี เป็นผู้จัดกลุ่มต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตโดยดูจากลักษณะเฉพาะทางกายภาพ (morphological characteristics) ซึ่งการจัดกลุ่มแบบดังกล่าวได้มีการศึกษารายละเอียดที่จำเพาะเพิ่มมากขึ้น และมีการปรับปรุงให้ทันสมัยอยู่เสมอเพื่อเป็นพื้นฐานของการศึกษาด้านจุลินทรีย์ ทั้งนี้ในปัจจุบันการจัดจำแนกจุลินทรีย์สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มหลัก ๆ ดังนี้

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) หมายถึง การศึกษาทางด้านกายภาพที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เช่น ลักษณะโคโลนี สี กลิ่น อาหารสูตรจำเพาะ หรือลักษณะที่มองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น สปอร์ รูปร่าง ขนาด การจัดเรียงตัว การสร้างแคปซูล และการติดสีแกรม (gram staining) เป็นต้น (Christopher and Bruno, 2003; Tshikhudo *et al*., 2013)

2. การทดสอบทางชีวเคมี (Biochemical testing) หมายถึง การทดสอบเอนไซม์ที่แบคทีเรียใช้ย่อยสลายสารอาหารและสังเคราะห์ชีวโมเลกุลที่แตกต่างกันในแต่ละชนิด ผลิตผลที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอาหารและชีวโมเลกุลที่แบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นจึงไม่เหมือนกัน ดังนั้นจึงใช้ทดสอบกับปฏิกิริยาที่ใช้ทดสอบแตกต่างกันด้วย เช่น pH indicator, Enzyme production หรือ Chromogenic media (Váradi *et al*., 2017)

3. การศึกษาทางอณูชีววิทยา (Molecular biology method) หมายถึง เป็นการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้าง และการทำงานของหน่วยพันธุกรรมในระดับโมเลกุล ซึ่งรวมถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างการสังเคราะห์ ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีน

โดยเทคนิคที่ใช้ในงานวิจัย เช่น Polymerase chain reaction (PCR), Gel electrophoresis, Southern blotting and Northern blotting, Western blotting, DNA microarrays, Whole genome sequencing หรือ Multi-omics approaches เป็นต้น (Wilson and Walker, 2010)

4. แมสสเปคโตรเมทรี (Mass Spectrometry) หมายถึง การวิเคราะห์ผลการวัดสัดส่วนมวลต่อประจุ (mass-to-charge ratio) ของอนุภาคที่มีประจุใช้เพื่อระบุมวลของอนุภาค ส่วนประกอบของธาตุในสารประกอบตัวอย่างหรือในโมเลกุล และเพื่อแสดงถึงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล เช่น เปปไทด์ (peptide) และสารประกอบทางเคมีอื่น ๆ โดยการทำงานคือทำให้สารประกอบเคมีกลายเป็นประจุ (ionize) เพื่อสร้างโมเลกุลที่มีประจุและวัดสัดส่วนมวลต่อประจุของสาร (Sparkman, 2000)

การจำแนกชนิดจุลินทรีย์ที่นิยมมี 2 วิธี ดังนี้

1. การศึกษาทางอณูชีววิทยาด้วยเทคนิคพีซีอาร์ หมายถึง ปฏิกิริยาที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอชนิดใดชนิดหนึ่งในบริเวณยีนที่ต้องการได้ในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสายใหม่จากดีเอ็นเอต้นแบบ ด้วยเครื่อง thermocycler จะได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านเท่า โดยหลักการเพิ่มปริมาณของ DNA ช่วงใดช่วงหนึ่งซึ่งอยู่ระหว่างส่วนของดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ที่ทราบลำดับเบสแล้วเรียกว่า ไพร์เมอร์ (primer) และเรียกต้นแบบดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มปริมาณว่า DNA template ด้วยเอนไซม์ DNA polymerase ปฏิกิริยาประกอบด้วย 3 ขั้นตอนได้แก่ Denaturating, Annealing และ Extension และดีเอ็นเอที่เกิดจากปฏิกิริยา PCR ในหลอดทดลองจะไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ ดังนั้นเพื่อตรวจหาดีเอ็นเอผลผลิตจะต้องนำตัวอย่างที่ทำ PCR มาแยกหาดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า Agarose gel electrophoresis ซึ่งเป็นการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นวุ้น (Agarose gel) โดยระยะทางที่ดีเอ็นเอสามารถเคลื่อนที่ไปได้จะขึ้นอยู่กับขนาดของดีเอ็นเอและกระแสไฟฟ้าที่ใช้ ดีเอ็นเอที่แยกโดยวิธีนี้สามารถมองเห็นได้เมื่อย้อมด้วยสีพิเศษ (Ethidium bromide, SYBR green, Gelstar, Gelred และ Gelgreen) ซึ่งจะเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตโดยจะเห็นแถบดีเอ็นเอเรืองแสงบนแผ่นวุ้น และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ (อำไพวรรณ และธันยชัย, 2534)

2. การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ด้วยเครื่องมัลดิทอฟ (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization: MALDI) โดยใช้เทคนิคแมสสเปคโตรเมทรี (Mass Spectrometry) เป็นเครื่องมือวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของสาร ซึ่งเป็นการตรึงโปรตีน (ribosomal protein) หรือเปปไทด์ (peptide) กับผลึกของ matrix (crystalline matrix) และยิงแสงเลเซอร์ลงบนตัวอย่างโปรตีนให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน แล้วเคลื่อนที่ไปตามท่อสุญญากาศที่มีสนามไฟฟ้าเพื่อแยกโมเลกุลของสาร โดยสารที่มวลโมเลกุลน้อยจะเคลื่อนที่ไปได้เร็วกว่าสารที่มีมวลโมเลกุลมาก และตกกระทบกับตัวตรวจจับ (detector) ระยะเวลาที่ไอออนเคลื่อนที่ไปตกกระทบกับตัวตรวจจับ เรียกว่า time-of-flight (TOF) มีความสามารถในการแยก (resolution) โดยตรวจสอบจากการวัดเปปไทด์ มีซอฟต์แวร์ที่ใช้ในการควบคุมการทำงานของเครื่องและประมวลผลจัดจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ (Identification and Classification for microorganism) มี Reference Library หรือ In-house Library ของ peptide mass fingerprint (PMF) ของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้จากตัวอย่าง (Hosseini and Martinez-Chapa, 2017)

นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 มีงานวิจัยการใช้เครื่องมัลดิทอฟในการจำแนกชนิดจุลินทรีย์จำนวนมาก โดยส่วนใหญ่ประยุกต์ใช้งานทางด้านการแพทย์ และอุตสาหกรรม จากการรายงานของ Váradi *et al*. (2017) สามารถจำแนกแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Burkholderia multivorans*, *B. cenocepacia* และ *B. contaminans* ที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเป็นสาเหตุโรคของคนได้อย่างรวดเร็ว มีการศึกษาการการดื้อยาปฏิชีวนะ (antibacterial resistance) ของเชื้อแบคทีเรียโดยการศึกษาเอนไซม์ β-lactamase ต่อยากลุ่ม β-lactams (penicillins, cephalosporins, monobactams และ carbapenems) เป็นยากลุ่มใหญ่ที่นำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางและมีบทบาทมากในการช่วยชีวิตมนุษย์ ซึ่งเครื่องมัลดิทอฟสามารถแยกเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* สายพันธุ์ที่ต้านทานยากลุ่ม β-lactams ได้อย่างชัดเจน (Hrabák, *et al*., 2011) ในทางอุตสาหกรรมอาหาร Elbehiry *et al*. (2017) สำรวจอาหารจากร้านอาหารในประเทศซาอุดิอาระเบีย จำนวน 80 ตัวอย่าง โดยแยกเชื้อบนอาหารสูตรจำเพาะ (selective media) และใช้เทคนิคมัลดิทอฟ จำแนกแบคทีเรียได้ 69 ไอโซเลท และจำแนกราได้ 32 ไอโซเลท นอกจากนี้มีการประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ทางด้านการเกษตรโดยทดสอบศักยภาพของวิธีเพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียใน

วงศ์ Rhizobiaceae ได้แก่ *Rhizobium*, *Ensifer*, *Shinella*, *Mesorhizobium*, และ *Azorhizobium* เปรียบเทียบกับวิธี phylogenetic analyses พบว่าการใช้เทคนิคแมสสเปคโตรเมทรีด้วยเครื่องมัลดิทอฟให้ผลการจำแนกเหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้สามารถจำแนก *Bradyrhizobium japonicum* strain G49, *Sinorhizobium fredii* strain NGR234 และ USDA257 ที่เจริญในปมรากของถั่ว (Ferreira *et al*., 2011; Ziegler *et al*., 2012; Jia *et al*., 2015) ในทางเดียวกัน Stets *et al.* (2013) ศึกษาการจำแนกแบคทีเรียบริเวณรอบรากข้าวสาลีด้วยเครื่องมัลดิทอฟ พบเชื้อ *Azospirillum brasilense, A. amazonense, A. lipoferum, Pseudomonas, Pantoea, Acinetobacter, Enterobacter* และ *Curtobacterium* เป็นต้น

เทคนิคพีซีอาร์และเทคนิคแมสสเปคโตรเมทรีถูกพัฒนาและประยุกต์ใช้งานเพิ่มขึ้นจำนวนมากเพื่อให้การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์เป็นไปอย่างรวดเร็ว ทำให้นักวิจัยเลือกวิธีการที่สามารถปรับใช้ให้ทันต่อสถานการณ์ปัจจุบัน เพราะเทคนิค วิธีการ รวมทั้งเทคโนโลยีแต่ละชนิดมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกัน ซึ่งนักวิจัยจึงควรคำนึงถึงผลการจัดจำแนกที่รวดเร็ว ประหยัด น่าเชื่อถือ ลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และที่สำคัญต้องปลอดภัยกับผู้ปฏิบัติงาน (Singhal *et al.*, 2015) เมื่อพิจารณาข้อดีข้อเสียของเทคนิคพีซีอาร์และแมสสเปคโตรเมทรี พบว่า เทคนิคพีซีอาร์มีการใช้สารเคมี เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ขั้นตอนและระยะเวลาดำเนินงาน ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ค่าใช้จ่ายสูง รวมทั้งเจ้าหน้าที่ที่มีความชำนาญสูง ซึ่งเทคนิคแมสสเปคโตรเมทรีตอบโจทย์ความต้องการข้างต้น อีกทั้งสามารถสร้างฐานข้อมูลเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์เองและลดการพึ่งพาการส่งอย่างเพื่อวิเคราะห์กับหน่วยงานภายนอก ทั้งนี้เทคนิคแมสสเปคโตรเมทรีโดยใช้เครื่องมัลดิทอฟยังไม่ได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการที่เป็นมาตรฐานสากล ทำให้ขาดข้อมูลที่ใช้ยืนยันความถูกต้อง แม่นยำของวิธีวิเคราะห์ ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นต้องปรับปรุงและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) เพื่อเป็นการยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ และจัดทำเป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน (Standard Operation Procedure) ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์อ้างอิง (reference strain) กลุ่ม micro aerophilic ได้แก่ *Azospirillum brasilense* (DASF04003, DASF04005, DASF04008, PGPR16/63 และ AP1) และกลุ่ม aerophilic ได้แก่ *Azotobacter vinelandii* (DASF04141), *Azotobacter beijerinckii* (AT2, AT4 และ AT9) และ *Azotobacter salinestris* (AT10)

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nitrogen free semisolid malate (NFb), LGI, Nutrient broth (NB) และ Nutrient agar เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR)

3. เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้บ่มเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) เครื่องถ่ายภาพเจล (Gel documentation) เครื่องเขย่าสาร และเครื่อง MALDI-TOF MS

4. สารเคมีในกระบวนการสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ได้แก่ ชุดสกัดดีเอ็นเอ ไพรเมอร์ (primer) เอนไซม์ Taq polymerase

5. ชุดทำความสะอาดสารพันธุกรรม (PCR clean-up)

6. Bacterial Test Standard (BTS), α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid (HCCA)

7. เครื่องแก้วและวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์

วิธีการ

1. การจัดจำแนกด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา (Molecular identification)

1.1 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์พีจีพีอาร์กลุ่ม micro aerophilic จำนวน 5 สายพันธุ์ และ aerophilic จำนวน 10 สายพันธุ์ในอาหาร Nutrient broth ปั่นตกตะกอนเพื่อเก็บเซลล์

1.2 สกัดดีเอ็นเอของจุลินทรีย์พีจีพีอาร์สายพันธุ์ต่าง ๆ ตามวิธีการของชุดสกัด Genomic DNA Mini Kit (Tissue) (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan)

1.3 เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน 16S rDNA ที่ต้องการโดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ fD1 (5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') และ rP2 (5'-ACGGCTACCTTGTTAC GAC TT-3') (Weisburg *et al*., 1991) จากนั้น นำส่วนผสมทั้งหมดเข้าเครื่อง PCR โดยมีลำดับของปฏิกิริยา (PCR reaction condition) ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1	94 องศาเซลเซียส 3 นาที	จำนวน 1 รอบ
ขั้นตอนที่ 2	94 องศาเซลเซียส 30 วินาที	35 รอบ
	50 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
	72 องศาเซลเซียส 1 นาที	
ขั้นตอนที่ 3	72 องศาเซลเซียส 10 นาที	จำนวน 1 รอบ

1.4 ตรวจปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล (Gel documentation)

1.5 ทำความสะอาดสารพันธุกรรมตามวิธีของ Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, USA)

1.6 หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน 16S rRNA ที่ได้จากการเพิ่มจำนวนด้วยเครื่อง DNA Sequencer

1.7 นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์พีจีพีอาร์แต่ละสายพันธุ์ที่ได้มาเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกันกับสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) ด้วย Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

1.8 นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์พีจีพีอาร์ในฐานข้อมูลที่มีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกันมากที่สุด (% similarity) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์พีจีพีอาร์สายพันธุ์อ้างอิง เพื่อศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลวิวัฒนาการทางพันธุกรรมของเชื้อทดสอบแต่ละสายพันธุ์ว่ามีความใกล้เคียงกับจุลินทรีย์ชนิดใดในฐานข้อมูล และบ่งบอกชนิด (species) ของเชื้อสายพันธุ์อ้างอิง

2. การจัดจำแนกโดยใช้เครื่อง MALDI-TOF MS

2.1 ใช้ไม้จิ้มฟันที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121±3 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที แตะโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ เกลี่ยเชื้อลงบน Target plate โคโลนีละ 2 จุด รอให้ตัวอย่างแห้งประมาณ 10-15 นาที ในตู้ปลอดเชื้อ

2.2 หยด 70% Formic acid จำนวน 1 ไมโครลิตร รอให้ตัวอย่างแห้งประมาณ 15-30 นาที ในตู้ปลอดเชื้อ

2.3 หยด HCCA จำนวน 1 ไมโครลิตร เป็นลำดับสุดท้าย รอให้ตัวอย่างแห้งโดยสังเกตตัวอย่างจะมีลักษณะเป็นคราบสีขาว

2.4 ใช้ BTS เป็น Calibration

2.5 นำ Target plate เข้าเครื่องวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์ Bruker รุ่น Maldi Biotyper

2.6 บันทึกค่า score value

ค่า score value ที่ได้จากเครื่อง MALDI-TOF MS คำนวณจากการวิเคราะห์แมสสเปคตรัมของเชื้อที่ใช้ทดสอบเปรียบเทียบกับแมสสเปคตรัมของเชื้อในฐานข้อมูล (Reference library) ซึ่งค่าอยู่ระหว่าง 0.00-3.00 โดยแบ่งผลการวิเคราะห์เป็น 3 ช่วง ดังนี้

ช่วง 0.00-1.69 คือ ผลการวิเคราะห์ไม่สามารถจำแนกได้

ช่วง 1.70-1.99 คือ ผลการวิเคราะห์จำแนกได้ในระดับสกุล (genus)

ช่วง 2.00-3.00 คือ ผลการวิเคราะห์จำแนกได้ในระดับชนิด (species)

3. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

3.1 การทดสอบความถูกต้อง (trueness)

3.1.1 ทดสอบหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง 5 ตัวอย่าง (isolate) โดยวิธีทางอณูชีวโมเลกุลด้วยการทำ Polymerase chain reaction (PCR) ด้วยไพร์เมอร์ fD1 และ rP2 และหาลำดับเบสเพื่อนำไปเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกันกับสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) โดยการทำ BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) search รายงานผลการจำแนกชนิด และเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกัน (% similarity)

3.1.2 ทดสอบหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง 5 ตัวอย่าง ตัวอย่าง (isolate) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์ Bruker รุ่น Maldi Biotyper ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน คะแนนความคล้ายคลึงกัน (score value) ของชนิดจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล และรายงานผลการจำแนกชนิด

3.1.3 นำผลการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ที่ได้จากวิธีที่ 3.1.1 และ 3.1.2 มาเปรียบเทียบกัน หากผลการจำแนกชนิดเดียวกัน จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์

3.2 การทดสอบความเที่ยง (Precision) ของเครื่อง MALDI-TOF MS

3.2.1 ความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability)

ทดสอบหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 2 ชนิด (species) โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Direct Transfer ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน นำค่า score value ของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบกับชนิดจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล มาหาค่าเฉลี่ย และค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) โดย %CV จะต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์

3.2.2 การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation)

ทดสอบหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด (species) ทำการทดสอบ 20 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน นำคะแนนความคล้ายคลึงกันของชนิดจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล มาหาค่าเฉลี่ย และค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) โดย %CV จะต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 จึงยอมรับและประเมินการผ่านเกณฑ์ และเปรียบเทียบคะแนนความคล้ายคลึงกันของชนิดจุลินทรีย์ที่วัดได้จากผู้ทดสอบทั้ง 2 คน โดยใช้ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลา ตุลาคม 2562 - กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง ณ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การจัดจำแนกด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา (Molecular identification)

เมื่อนำดีเอ็นเอบริเวณ 16S rRNA ของจุลินทรีย์กลุ่ม micro aerophilic จำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอสายพันธุ์ DASF04003, DASF04005, DASF04008, PGPR16/63 และ AP1 มีความคล้ายคลึงกัน (% similarity) กับเชื้อ *Azospirillum brasilense* อยู่ในช่วง 98-99 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) และจุลินทรีย์กลุ่ม aerophilic จำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอสายพันธุ์ DASF04141 มีความคล้ายคลึงกันกับเชื้อ *Azotobacter vinelandii* เท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ AT2, AT4 และ AT9 มีความคล้ายคลึงกันกับเชื้อ *Azotobacter beijerinckii* อยู่ในช่วง 98-99 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่สายพันธุ์ AT10 มีความคล้ายคลึงกันกับเชื้อ *Azotobacter salinestris* เท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

2. การจัดจำแนกโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์ (MALDI-TOF MS)

ผลการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์อ้างอิงกลุ่ม micro aerophilic จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASF04003 และ DASF04008 คือ *Azospirillum brasilense* มีค่า score value เท่ากับ 2.33 และ 2.39 (Table 2) และจุลินทรีย์กลุ่ม aerophilic จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ DASF04141, AT1 และ AT10 คือ *Azotobacter vinelandii, Azotobacter beijerinckii* และ *Azotobacter salinestris* ซึ่งมีค่า score value เท่ากับ 2.55 2.45 และ 2.45 ตามลำดับ (Table 2) สอดคล้องกับรายงานของ Stets *et al.* (2013) ศึกษาการจำแนกแบคทีเรียบริเวณรอบรากข้าวสาลีด้วยเครื่อง มัลดิทอฟ ในกลุ่ม micro aerophilic 3 ชนิด ได้แก่ พบเชื้อ *Azospirillum brasilense, A. Amazonense* และ *A. lipoferum* นอกจากนี้ยังสามารถจำแนกแบคทีเรียสกุล *Pseudomonas, Pantoea, Acinetobacter, Enterobacter* และ *Curtobacterium* ได้อีกด้วย นอกจากนี้มีการประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ทางด้านการเกษตรโดยทดสอบศักยภาพของวิธีเพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียในวงศ์ Rhizobiaceae ได้แก่ *Rhizobium*, *Ensifer*, *Shinella*, *Mesorhizobium*, และ *Azorhizobium* เปรียบเทียบกับวิธี phylogenetic analyses พบว่าการใช้เทคนิคแมสสเปคโตรเมทรีด้วยเครื่องมัลดิทอฟให้ผลการจำแนกเหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้สามารถจำแนก *Bradyrhizobium japonicum* strain G49, *Sinorhizobium fredii* strain NGR234 และ USDA257 ที่เจริญในปมรากของถั่ว (Ferreira *et al*., 2011; Ziegler *et al*., 2012; Jia *et al*., 2015)

3. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

3.1 การทดสอบความถูกต้อง (trueness)

ผลเปรียบเทียบการจำแนกชนิด (species) ของเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิงกลุ่ม micro aerophilic จำนวน 2 สายพันธุ์ (DASF04003 และ DASF04008) ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล (16S rRNA) และเครื่อง MALDI-TOF MS พบว่ามีผลการจำแนกเป็น *Azospirillum brasilense* มีความคล้ายคลึงกันอยู่ในช่วง 98-99 เปอร์เซ็นต์ และค่า score value เท่ากับ 2.33 และ 2.39 (Table 3) และจุลินทรีย์กลุ่ม aerophilic จำนวน 3 สายพันธุ์ (DASF04141, AT1 และ AT10) พบว่ามีผลการจำแนกเป็น *Azotobacter vinelandii, Azotobacter beijerinckii* และ *Azotobacter salinestris* มีความคล้ายคลึงกันอยู่ในช่วง 98-99 เปอร์เซ็นต์ และค่า score value เท่ากับ 2.55 2.45 และ 2.45 ตามลำดับ (Table 3) ซึ่งค่าความคล้ายคลึงกันด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลและ MALDI-TOF MS อยู่ในเกณฑ์ประเมินการยอมรับผลการทดสอบ

3.2 การทดสอบความเที่ยง (Precision) ของเครื่อง MALDI-TOF MS

3.2.1 ความสามารถในการทำซ้ำ (Repeatability)

ทดสอบการจำแนกชนิด (species) ของแบคทีเรียกลุ่ม micro aerophilic จำนวน 2 ชนิด โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Direct Transfer ทำการทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน ได้ค่า score value ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล พบว่า ตัวอย่างที่ 1 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.32 %CV เท่ากับ 4.939 ตัวอย่างที่ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.23 มีค่า %CV เท่ากับ 4.770 (Table 4) ขณะที่การจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่ม aerophilic จำนวน 3 ชนิด พบว่า พบว่า ตัวอย่างที่ 1 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.57 และมีค่า %CV เท่ากับ 1.14 ตัวอย่างที่ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.56 และมีค่า %CV เท่ากับ 3.95 ขณะที่ตัวอย่างที่ 3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.45 และมีค่า %CV เท่ากับ 3.23 (Table 5) ซึ่ง CV จะต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ จึงยอมรับและผ่านเกณฑ์การประเมินผลการทดสอบ

3.2.2 การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน (Intermediate precision: between-analyst variation)

การทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน ทดสอบหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม micro aerophilic 1 ชนิด (species) โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Direct Transfer ทำการทดสอบจำนวน 20 ซ้ำ โดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน โดยทดสอบในวันและสภาวะเดียวกัน พบว่า เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 ได้ค่า score value ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล จำนวน 20 ซ้ำ ดัง Table 6 โดยได้ค่าเฉลี่ย 2.28 และมี %CV เท่ากับ 5.07 สำหรับเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 ได้ค่า score value ที่ทำการทดสอบกับชนิดของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูล เฉลี่ยเท่ากับ 2.31 และมี %CV เท่ากับ 5.58 และเมื่อเปรียบเทียบผลคะแนนความคล้ายคลึงกันของชนิดจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบกับชนิดของ

เชื้อจุลินทรีย์ในฐานข้อมูลที่วัดได้ และทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t-test ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า *P* = 0.481 (Table 6) ในทางเดียวกันผลการทดสอบหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม aerophilic พบว่า เจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 1 ได้ค่า score value เฉลี่ย 2.55 และมี %CV เท่ากับ 2.02 และเจ้าหน้าที่วิเคราะห์คนที่ 2 ได้ค่า score value เฉลี่ย 2.51 มีค่า %CV เท่ากับ 3.66 และ *P* = 0.127 (Table 7) ซึ่งแสดงว่าค่า score value ของเจ้าหน้าที่ทั้ง 2 คน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. การจำแนกชนิดจุลินทรีย์กลุ่ม micro aerophilic และ aerophilic วิธีอณูชีวโมเลกุล มีความคล้ายคลึงกัน (% similarity) กับเชื้อ *Azospirillum brasilense, Azotobacter vinelandii, Azotobacter beijerinckii* และ *Azotobacter salinestris* อยู่ในช่วง 98-99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

2. การจำแนกชนิดจุลินทรีย์เครื่อง MALDI-TOF MS มีค่า score value เท่ากับ 2.33-2.55 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ มีค่าความเที่ยงของความสามารถในการทำซ้ำมี CV ของจุลินทรีย์กลุ่ม micro aerophilic เท่ากับ 4.94 และ 4.77 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่ม aerophilic มี CV เท่ากับ 1.14 3.95 และ 3.23 เปอร์เซ็นต์ และค่า Intermediate precision จากการทดสอบโดยเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ 2 คน มี CV เท่ากับ 5.32 และ 2.53 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่า *P* เท่ากับ 0.481 และ 0.127 แสดงให้เห็นว่าผลการทดสอบของเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ได้สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิงเพื่อใช้จัดจำแนกสกุล-ชนิด ของจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้วิธีการจัดจำแนกจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ โดยใช้เครื่อง MALDI-TOF MS ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้รวดเร็ว และแม่นยำ และนำสายพันธุ์จุลินทรีย์ไอโซเลท DASF04003, DASF04008 และ DASF04141 ใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิง เพื่อรับรองการขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ตาม พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 และขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC17025: 2017

เอกสารอ้างอิง

ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 300 หน้า.

หนึ่ง เตียอำรุง. 2548. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแบคทีเรีย PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). ว. เทคโนโลยีสุรนารี. 12(3): 249–258.

อำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ และธันยชัย สุระ. 2534. ความรู้พื้นฐานเรื่องเวชพันธุศาสตร์. ว. โลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1(4): 469-477.

Choudhury, A., I.R. Kennedy. 2004. Prospects and potentials for systems of biological nitrogen fixation in sustainable rice production. Biology and Fertility of Soils 39: 219–227.

Christopher, K. and E. Bruno. 2003. Identification of Bacterial Species. Pages 103-130. *In: Tested Studies for Laboratory Teaching*. O'Donnell M.A. (ed.). Proceedings of the 24th Workshop /Conference of the Association for Biology Laboratory Education.

Ferreira, L., F. Sanchez-Juanes, P. Gracia-Fraile, R. Rivas, P. Mateos, E. Martinez-Molina, J.M. Gonzales-Ziegler, D.A. Mariotti, V. Pfluger, M. Saad, G. Vogel, M. Tonolla and X. Perret. 2011. *In Situ* Identification of Plant-invasive Bacteria with MALDI-TOF Mass Spectrometry. PloS ONE. 7(5): e37189.

Glick, B.R., C.L. Patten, G. Holguin and D.M. Penrose. 1999. Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria. Imperial College Press, Waterloo, Ontario, Canada. 276 p.

Hrabák, J., R. Walková, V. Studentová, E. Chudácková and T. Bergerová. 2011. Carbapenemase Activity Detection by Matrix-assisted Laser Desorption Ionization–time of Flight Mass Spectrometry. J. Clin. Microbiol. 49(9): 3222-3227.

Hosseini, S. and S.O. Martinez-Chapa. 2017. Fundamentals of MALDI-TOF-MS Analysis. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 68 p.

Jia, R.Z., R.J. Zhang, Q. Wei, W.F. Chen, I.K. Cho, W.X. Chen and Q.X. Li. 2015. Identification and Classification of Rhizobia by Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. Genom. Proteom. Bioinf. 8(6): 98-107.

Singhal, N., M. Kumar, P.K. Kanaujia and J.S. Virdi. 2015. MALDI-TOF Mass Spectrometry: an Emerging Technology for Microbial Identification and Diagnosis. Front. Microbiol. 6: 1-16.

Sparkman, D.O. 2000. Mass Spectrometry Desk Reference. Global View Publishing, Pittsburgh, PA USA. 110 p.

Stets, M. I., A. S. Pinto, L. F. Huergo, E. M.de Souza, V. F.Guimarães, A. C.Alves, M. B. R. Steffens, R. A. Monteiro, F. O. Pedrosa and L. M. Cruz. 2013. Rapid identification of bacterial isolates from wheat roots by high resolution whole cell MALDI-TOF MS analysis. Journal of Biotechnology 165 (3-4): 167–174.

Tshikhudo, P., R. Nnzeru, K. Ntushelo and F. Mudau. 2013. Bacterial Species Identification Getting Easier. Afr. J. Biotechnol. 12(41): 5975-5982.

Váradi, L., J.L. Luo, D.E. Hibbs, J.D. Perry, R.J. Anderson, S. Orenga and P.W. Groundwater. 2017. Methods for the Detection and Identification of Pathogenic Bacteria: Past, Present, and Future. Chem. Soc. Rev. 46(16): 4818–4832.

Weisburg, W.G., S.M. Barns, D.A. Pelletier and D.J. Lane. 1991. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. J. Bacteriol. 173: 697-703.

Wilson, K. and J. Walker. 2010. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology (7th Eds). Cambridge University Press. 744 p.

Ziegler, D., A. Mariotti, V. Pfluger, M. Saad, G. Vogel, M. Tonolla and X. Perret. 2012. *In Situ* Identification of Plant-invasive Bacteria with MALDI-TOF Mass Spectrometry. PloS ONE. 7 (5): e37189.

Table 1 Identification of micro aerophilic and aerophilic bacteria by by partial 16S rDNA sequence

Strain	Genus-species	% Similarity
DASF04003*	*Azospirillum brasilense*	98
DASF04005*	*Azospirillum brasilense*	99
DASF04008*	*Azospirillum brasilense*	98
PGPR16/63	*Azospirillum brasilense*	98
AP1	*Azospirillum brasilense*	99
DASF04141*	*Azotobacter vinelandii*	99
AT1	*Azotobacter beijerinckii*	99
AT4	*Azotobacter beijerinckii*	98
AT9	*Azotobacter beijerinckii*	99
AT10	*Azotobacter salinestris*	99

***** DASF04003, DASF04005, DASF04008 and DASF04141 are used as PGPR biofertilizer inoculants

Table 2 Identification of micro aerophilic and aerophilic bacteria by MALDI-TOF MS

Strain	Genus-species	Score value*
DASF04003	*Azospirillum brasilense*	2.33
DASF04008	*Azospirillum brasilense*	2.39
DASF04141	*Azotobacter vinelandii*	2.55
AT1	*Azotobacter beijerinckii*	2.45
AT10	*Azotobacter salinestris*	2.45

***** score values ≥2.0 indicate identification at the species level; score values 1.7 to 2.0 indicate identification at the genus level; score values <1.7 indicate no organism identification possible

Table 3 Identification of micro aerophilic and aerophilic bacteria by partial 16S rDNA sequence and MALDI-TOF MS

Strain	partial 16S rDNA sequence		MALDI-TOF MS	
	Genus-species	% Similarity	Genus-species	Score values*
DASF04003	*Azospirillum brasilense*	98	*A. brasilense*	2.33
DASF04008	*Azospirillum brasilense*	98	*A. brasilense*	2.39
DASF04141	*Azotobacter vinelandii*	99	*A. vinelandii*	2.55
AT1	*Azotobacter beijerinckii*	99	*A. beijerinckii*	2.45
AT10	*Azotobacter salinestris*	99	*A. salinestris*	2.45

***** score values ≥2.0 indicate identification at the species level; score values 1.7 to 2.0 indicate identification at the genus level; score values <1.7 indicate no organism identification possible

Table 4 Precision of micro aerophilic bacteria included in the database for MALDI-TOF MS-based species identification

No.	Sample A	Sample B
1	2.18	2.31
2	2.08	2.27
3	2.31	2.28
4	2.35	2.38
5	2.34	2.28
6	2.39	2.2
7	2.43	2.44
8	2.32	2.06
9	2.47	2.38
10	2.33	2.38
Species	*Azospirillum brasilense*	*Azospirillum brasilense*
$\bar{x}$	2.32	2.298
%CV*	4.939	4.770

***** %CV less than 10 indicates

Table 5 Precision of aerophilic bacteria included in the database for MALDI-TOF MS-based species identification

No.	Sample A	Sample B	Sample C
1	2.57	2.45	2.31
2	2.53	2.45	2.46
3	2.55	2.47	2.44
4	2.59	2.52	2.50
5	2.52	2.69	2.48
6	2.58	2.68	2.44
7	2.60	2.46	2.31
8	2.58	2.68	2.48
9	2.54	2.61	2.55
10	2.60	2.56	2.50
Species	*Azotobacter vinelandii*	*Azotobacter beijerinckii*	*Azotobacter salinestris*
$\bar{x}$	2.57	2.56	2.45
%CV*	1.14	3.95	3.23

***** %CV less than 10 indicates

Table 6 Precision of micro aerophilic bacteria from MALDI-TOF MS by between-analyst variation test

Replication	Score Values from MALDI-TOF MS	
	Analyst 1	Analyst 2
1	2.38	2.40
2	2.27	2.39
3	2.18	2.37
4	2.3	2.4
5	2.16	2.26
6	2.0	2.45
7	2.19	2.28
8	2.34	2.36
9	2.27	1.88
10	2.33	2.38
11	2.34	2.22
12	2.38	2.32
13	2.26	2.34
14	2.42	2.35
15	2.34	2.40
16	2.35	2.28

Replication	Score Values from MALDI-TOF MS	
	Analyst 1	Analyst 2
17	2.27	2.37
18	2.38	2.16
19	2.36	2.16
20	2.02	2.38
$\bar{x}$	2.28	2.31
%CV	5.07	5.58
$\bar{x}$	2.30	
%CV	5.32	
Sig. (2-tailed)*	0.481	

***** According to Student's t-test of mean at 95% confidence level (P = 0.05)

Table 7 Precision of aerophilic bacteria from MALDI-TOF MS by between-analyst variation test

Replication	Score values from MALDI-TOF MS	
	Analyst 1	Analyst 1
1	2.57	2.5
2	2.53	2.48
3	2.55	2.57
4	2.59	2.58
5	2.52	2.44
6	2.58	2.5
7	2.6	2.62
8	2.58	2.51
9	2.54	2.36
10	2.6	2.63
11	2.53	2.6
12	2.55	2.26
13	2.46	2.49
14	2.39	2.54
15	2.51	2.58
16	2.59	2.57
17	2.61	2.56
18	2.58	2.55
19	2.58	2.4

Replication	Score values from MALDI-TOF MS	
	Analyst 1	Analyst 1
20	2.54	2.55
$\bar{x}$	2.55	2.51
%CV	2.02	3.66
$\bar{x}$	2.53	
%CV	3.01	
Sig.(2-tailed)*	0.127	

***** According to Student's t-test of mean at 95% confidence level (*P* = 0.05)

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

ศึกษาสารออกฤทธิ์ในสารสกัดพืชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* และสกัดสารกึ่งบริสุทธิ์เพื่อควบคุมคุณภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์

Study on the efficacy of plant extracts on *Cercospora kikuchii* and isolation of fungicidal substance for controlling the quality of the formulated product.

ณัฐพร ฉันทศักดา สุมนา จำปา [1] พจนีย์ หน่อฝั้น ศิริพร สอนท่าโก ศุภลักษ์ สัตยสมิทสถิต [2]

Nattaporn Chanthasakda Sumana Jumpa [1] Poachanee Norfun Siriporn sonthako Supalak Sattayasmithstid [2]

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The present project was carried out to search the plant and its active chemical which had fungicidal activity against *Cercospora kikuchii*, a causal agent of purple seed stain on soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), formulate the finished product as botanical fungicide and isolate the active compound for controlling the quality of the finished product. Twenty selected plants extracted by ethanol were assessed their effectiveness against *Cercospora kikuchii* in vitro on PDA media. Crude extraction from *Eugenia caryophyllus* and *Alpinia galangal* showed a high effect on inhibition of growth to 100%. Both plant extracts were tested by Contact bioautography method and found that the chemical being on R_F 0.17-0.42 showed antifungal activity and were terpenoid group. The extract of *Eugenia caryophyllus* which consisted of eugenol as active compound was chosen to formulate to be finished product because %yield of crude extract was more than *Alpinia galangal.*

Five extract methods of oil clove (maceration with hexane, maceration with ethanol, ultrasonic with hexane, ultrasonic with ethanol and hydro-distillation) were compared. The results showed that hydro-distillation method was the most effective. Three finished products of clove oil in the form of emulsifiable concentrate (EC) were formulated – A 20% W/W clove oil, B 40% W/W clove oil and C 60% W/W clove oil. Formula B (rate 2-2.5 g/kg PDA) and C (rate 1-2.5 g/kg PDA) could inhibit the growth of *Cercospora kikuchii* in range 93.60-93.72% which were not significantly different from carbendazim (rate 2 g/kg PDA).

Eugenol being an active compound was isolated from the clove oil by Flash chromatograph technique with hexane and 10% ethyl acetate/hexane as mobile phase, flow rate 35 mL/min. The eugenol ratio in fractions is more than 99%. For eugenol analysis method of finished product, High performance - thin layer chromatography (HPTLC) was verified with HPTLC plate silica gel 60 F254 size 20x10 cm. The mobile phase consisted of toluene : ethyl acetate : acetic acid (9:1:0.12, v/v/v) and the

1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

1 Chiang Mai Seed Research and Development Center, Sansai, Chiangmai 50290

2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130

2 Phitsanulok Seed Research and Development Center, Wang Thong, Phitsanulok, 65130

densitometric scanning was performed in the absorbance mode 282 nm. The results were found that the working concentration range and linearity range of eugenol were 200-800 mg/L with the correlation coefficient (r) of 0.9992. The detection limit and quantitation limit were determined to be 60 and 200 mg/L, respectively for HPLTC method. The eugenol content of the formula B was 36.87% W/W. This method is simple, precision and accurate for analysis of eugenol in this formulation.

Keywords : purple seed stain on soybean, *Cercospora kikuchii*, clove, *Glycine max* (L.) Merr., formulation, eugenol

บทคัดย่อ

การศึกษาสารออกฤทธิ์ในสารสกัดพืชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากสารสกัด และสกัดสารกึ่งบริสุทธิ์เพื่อควบคุมคุณภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ดำเนินการสกัดพืช 20 ชนิด ด้วยเอทานอล ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า สารสกัดหยาบกานพลู และข่า สามารถยับยั้งได้ 100% เมื่อสกัดให้บริสุทธิ์ขึ้น นำไปทดสอบด้วยวิธี Contact bioautography พบว่าน้ำมันข่า และน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนแผ่น TLC ที่ตำแหน่ง R_F 0.17-0.42 ซึ่งตำแหน่งดังกล่าวเป็นสารกลุ่ม terpenoids กานพลูจึงเป็นพืชที่เหมาะสมที่สุดในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* โดยมี eugenol เป็นสารออกฤทธิ์

จากการเปรียบเทียบวิธีสกัดน้ำมันกานพลู พบว่าวิธีการสกัดน้ำมันกานพลูที่ดีที่สุด คือ การกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) และจากการวิจัยผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู จำนวน 3 สูตร ได้แก่ สูตร A น้ำมันกานพลู 20% w/w EC, สูตร B น้ำมันกานพลู 40% w/w EC และสูตร C น้ำมันกานพลู 60% w/w EC พบว่า สูตร B น้ำมันกานพลู 40% w/w EC ที่อัตรา 2-2.5 g/kg PDA สามารถยับยั้งการเจริญเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ถึง 93.72% เช่นเดียวกับสูตร C (น้ำมันกานพลู 60% w/w EC) ที่อัตรา 1-2.5 g/kg PDA ซึ่งไม่แตกต่างจากคาร์เบนดาซิม ที่ความเข้มข้น 2.0 g/kg PDA

การแยกสารออกฤทธิ์ eugenol ในน้ำมันกานพลู โดยเครื่อง Flash chromatograph พบว่าการแยกด้วยตัวทำละลาย hexane และ 10% ethyl acetate/hexane ที่อัตราการไหล 35 mL/min ได้ eugenol อัตราส่วนมากกว่า 99% ใน fraction ที่ได้จากการแยก และจากทวนสอบวิธีวิเคราะห์ปริมาณ eugenol ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู ด้วยเทคนิค HPTLC ของ Inam *et al*., 2014 โดยใช้แผ่น TLC ชนิด HPTLC plate silica gel 60F254 ขนาด 20x10 cm ที่ความยาวคลื่น 282 nm ใช้ toluene : ethyl acetate : acetic acid (9:1:0.12, v/v/v) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พบว่าช่วงของการวัด (Working range) และค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 200-800 mg/L มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.9992 ให้ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOQ) เท่ากับ 60 และ 200 mg/L ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณ eugenol ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูสูตร B ที่ถูกพัฒนาขึ้นได้ พบสารสำคัญ eugenol เท่ากับ 36.87% W/W

คำหลัก : โรคเมล็ดสีม่วง เชื้อรา *Cercospora kikuchii* กานพลู ถั่วเหลือง ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป eugenol

คำนำ

ถั่วเหลืองหรือถั่วแระ เป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าต่อมนุษย์เป็นอย่างมาก นอกจากจะอุดมไปด้วยโปรตีนที่สามารถทดแทนเนื้อสัตว์ได้แล้ว ยังสามารถนำมาใช้ในด้านอุตสาหกรรมได้หลายอย่างด้วย ในเรื่องการผลิตนั้น โรคจัดว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญมากอย่างหนึ่งในการกำหนดให้ผลผลิตเป็นไปอย่างจำกัดหรือผลผลิตเพิ่มขึ้น สันนิษฐานว่าเกิดจากสาเหตุหนึ่ง คือ โรคที่ติดมากับเมล็ด (seed-borne disease) โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคเมล็ดสีม่วง (purple seed stain : *Cercospora kikuchii*) เป็นโรคที่พบอยู่ทั่วไปในพื้นที่ปลูกถั่วเหลือง ซึ่งโรคนี้จะไม่ทำให้ผลผลิตลดลงโดยตรง แต่จะทำให้คุณภาพของเมล็ดต่ำกว่ามาตรฐานและสูญเสียเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดไปเป็นผลทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตและยังเป็นอุปสรรคต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ วิธีป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชดังกล่าว โดยทั่วไปเกษตรกรมักใช้สารเคมี (fungicide) ซึ่งมีการใช้กันมานาน และมีปริมาณการใช้สูงเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากสารเคมีส่วนมากจะมีผลในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดี และเห็นผลรวดเร็ว แต่การใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน อาจมีพิษตกค้างอยู่ในผลิตผลทางการเกษตร ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้และยังเป็นมลพิษในสภาพแวดล้อม อาจมีผลต่อการดื้อยาของเชื้อสาเหตุ การใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นทางเลือกหนึ่งในการสนับสนุนการลดการใช้สารเคมีในภาคการเกษตร สารสกัดจากพืชสามารถสลายตัวได้ง่ายในธรรมชาติ ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้หันมาสนใจแนวทางเลือกใหม่ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยการใช้ประโยชน์จากสารสกัดพืชสมุนไพรเพื่อทดแทนสารเคมี ลดปริมาณของสารเคมีสังเคราะห์ที่เป็นอันตรายลง เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่มีภูมิอากาศเขตร้อน มีความหลากหลายทางชีวิภาพ จึงน่าสนใจที่จะศึกษาพืชหลากหลายชนิดนี้เพื่อใช้ประโยชน์ แต่อย่างไรก็ตาม การสกัดพืชสมุนไพรมาใช้จริงในแปลงเกษตรกรนั้นไม่ค่อยสะดวกนัก โดยเฉพาะแปลงขนาดใหญ่ ที่มีพื้นที่มากจึงต้องใช้สารสกัดจำนวนมากตามไปด้วย ซึ่งจะสร้างความยุ่งยากในการจัดหาและเตรียมสารสกัดพืช ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากสารสกัดพืชจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจให้กับเกษตรกร เนื่องจากใช้งานง่าย และรวดเร็ว แต่ปัญหาที่พบคือ ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากสารสกัดพืชเพื่อใช้ทางการเกษตรยังมีน้อย และบางผลิตภัณฑ์ยังขาดการรับรองคุณภาพ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะวิจัยหาชนิดพืชที่มีฤทธิ์ควบคุมเชื้อรา *Cercospora kikuchii* สาเหตุของโรคเมล็ดสีม่วงในถั่วเหลือง และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากสารสกัดพืชที่มีฤทธิ์ รวมถึงสกัดแยก และศึกษาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญจากพืชดังกล่าว เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหนง รุน AC211S (Sartorius)
2. ปมสุญญากาศ (vacuum pump)
3. เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใตสุญญากาศ (Rotary evaporator) รุน R-124 (BUCHI)
4. เครื่อง Flash Chromatograph รุ่น reveleris prep (BUCHI)
5. เครื่องอัลตราโซนิค รุ่น Elmasonic S (Elma)
6. เครื่อง High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) (CAMAG)
7. เครื่อง Gas Chromatograph-Mass spectrometer (GC-MS) รุ่น 6890N Mass Spectrometry รุ่น 5973 (Agilent Technologies)
8. เครื่องแกว ได้แก กรวยแยก, กรวยกรองบูชเนอร ขวดกำหนดปริมาตร, กรวยกรองแกว, บีกเกอร หลอดทดลอง, ปเปต, ขวดกนกลม, ชุดกรองน้ำมันหอมระเหย (Clevenger Apparatus)
9. สารเคมี ไดแก chloroform, ethyl acetate, ethanol, hexane, petroleum ether, methanol, eugenol, acetyl eugenol, sodium sulfate anhydrous, carbendazim, p-anisaldehyde, sulfuric acid เป็นต้น

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การสกัดหยาบจากพืชและส่วนต่างๆของพืชในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* (2562)

1.1 ศึกษาสารสกัดหยาบจากพืชและส่วนต่างๆของพืชที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

แบบและวิธีการทดลอง

ในขั้นตอนการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 23 กรรมวิธี ประกอบด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยสารสกัดหยาบจากพืช 20 ชนิด ความเข้มข้น 6.25 mg/mL, carbendazim (positive control), ethanol (blank) และน้ำกลั่น (negative control)

1. เตรียมสารสกัดหยาบจากตัวอย่างพืช 20 ชนิด ได้แก่ กระชายขาว กระเทียม กานพลู ขมิ้นชัน ข่า ขิง ชะเอมเทศ ชะเอมไทย ช้าพลู ตะไคร้หอม ใบน้อยหน่า ใบบัวตอง ใบแมงลักป่า ใบสะเดา เปลือกมังคุด ไพล ว่านน้ำ หางไหลอบเชยไทย อบเชยเทศ อบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส บดและชั่งน้ำหนักตัวอย่าง สกัดตัวอย่างพืชด้วยตัวทำละลาย ethanol ในอัตรา 20% w/v จำนวน 3 ครั้ง ด้วยเครื่องอัลตราโซนิค กรอง แล้วนำสารละลายที่ได้ไปลดปริมาตรด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator)

2. ทดสอบสารสกัดหยาบจากพืช 20 ชนิดในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

2.1 เตรียมเชื้อ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมาตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter method เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมาตรวจหาเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ภายใต้กล้อง Steromicroscope ทำการแยกให้บริสุทธิ์ เลี้ยงบนอาหาร PDA และเก็บเป็น stock culture เพื่อใช้ในการทดลอง

2.2 นำสารสกัดหยาบของพืชทั้ง 20 ชนิด จากข้อ 1. ในอัตรา 6.25 mg/mL ทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยเมื่อเชื้อราอายุได้ 7 วัน ตัดเจาะชิ้นวุ้นโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร นำมาวางบนจุดกึ่งกลางจานอาหารที่เติมสารสกัดพืชป้องกันกำจัดเชื้อราตามกรรมวิธี คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii*

2.3 เลือกสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์มากที่สุด 3 ชนิด คือ การพลู ข่า และช้าพลู ไปสกัดต่อด้วย วิธี Column chromatography ชะด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ hexane, chloroform, methanol ตามลำดับ แล้วเก็บสารที่ได้จากการชะ (fraction) ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในอัตรา 2.50 mg/mL ตามวิธีการข้อ 2.2

2.4 นำสารสกัดส่วนที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ได้แก่ ข่า (hexane), กานพลู (hexane), กานพลู (chloroform1), กานพลู (chloroform2) มาแยกสารโดยเทคนิคทีแอลซี โดยใช้แผ่น TLC silica gel 60 F254 แยกสารด้วยวัฏภาคของเหลว (mobile phase) hexane : ethyl acetate (9:1,v/v) เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 2 แผ่น นำแผ่นดังกล่าว ไปทดสอบบนเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ด้วยวิธี Contact bioautography (Dewanjee *et al*., 2015) เพื่อหาตำแหน่ง (R_F) ของสารออกฤทธิ์ (active substance) และอีกแผ่นหนึ่งสเปรย์น้ำยาทดสอบ p-anisaldehyde/sulfuric acid

1.2 ศึกษาชนิดของกลุ่มสารออกฤทธิ์โดยวิธีการทดสอบทางพฤกษเคมีด้วยน้ำยาทดสอบ (นพมาศและคณะ, 2554)

นำสารสกัดส่วนที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ได้แก่ ข่า (hexane), กานพลู (hexane), กานพลู (chloroform1), กานพลู (chloroform2) จาก 2.3 มาทดสอบกลุ่มสารต่าง ๆ ด้วยน้ำยาทดสอบทางพฤกษเคมี นพมาศและคณะ (2554) ได้แก่ Dragendorff's reagent, Mayer's reagent, Shinoda's reagent, Ferric chloride, Lead acetate, Gelatin, Foam test, Salkowski's test, Lieberman Burchard, Benedict's reagent, Fehling's reagent และ Barfoed's reagent

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดหยาบพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ และทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์เพื่อกำหนดอัตราการใช้ (2563)

2.1 ศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันกานพลู

ศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันกานพลู จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

1. การแช่ (maceration) อัตรา 10% (w/v) ใน hexane เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
2. การแช่ (maceration) อัตรา 10% (w/v) ใน ethanol เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. การสั่นสะเทือนด้วยคลื่น ultrasonic อัตรา 10% (w/v) ใน hexane เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. การสั่นสะเทือนด้วยคลื่น ultrasonic อัตรา 10% (w/v) ใน ethanol เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
5. การกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) อัตรา 10% (w/v) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) บันทึกน้ำหนักสารสกัดหยาบ และวิเคราะห์ปริมาณ Eugenol ในสารสกัดหยาบ ด้วย GC-MS (Athar *et al*, 2013)

2.2 ศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อกำหนดอัตราการใช้

แบบและวิธีการทดลอง

ในขั้นตอนการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 18 กรรมวิธี ประกอบด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการผสมสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูชนิด A, B และ C ชนิดละ 5 ความเข้มข้น (0.50, 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 mg/mL) ส่วนผสมสูตรที่ไม่มีน้ำมันกานพลู (blank), carbendazim (positive control) และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่เติมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (negative control)

1. ผสมปรุงแต่งเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู และศึกษาการคงสภาพของผลิตภัณฑ์
   1.1 เตรียมผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู สูตร Emulsifiable Concentrate (EC) จำนวน 3 สูตร ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปสูตรที่ 1 (A) ความเข้มข้น 20% ของน้ำมันกานพลู, สูตรที่ 2 (B) ความเข้มข้น 40% ของน้ำมันกานพลู และสูตรที่ 3 (C) ความเข้มข้น 60% ของน้ำมันกานพลู
   1.2 ศึกษาการคงสภาพของสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู
   ศึกษาการคงตัวของ pH ของสูตรผลิตภัณฑ์อุณหภูมิต่างๆ และการคงตัวของสารออกฤทธิ์ Eugenol ในสูตรผลิตภัณฑ์
2. เตรียมเชื้อ เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1 ข้อ 2.1
3. นำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูสูตร A, B และ C ทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยเมื่อเชื้อราอายุได้ 7 วัน ตัดเจาะชิ้นวุ้นโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร นำมาวางบนจุดกึ่งกลางจานอาหารที่เติมสารสกัดพืชป้องกันกำจัดเชื้อราตามกรรมวิธี คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii*

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาวิธีสกัดและวิธีวิเคราะห์สารกึ่งบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพ (2564)

3.1 ศึกษาวิธีแยกสาร eugenol จากน้ำมันกานพลูด้วยเครื่อง Flash Chromatograph

1. เตรียมน้ำมันกานพลูโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) อัตรา 10% (w/v) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
2. ศึกษาระบบตัวทำละลาย ได้แก่ ตัวทำละลาย (mobile phase) และอัตราส่วนตัวทำละลาย ที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบระบบตัวทำละลาย 6 ระบบ ดังตารางที่ 1 โดยปรับสภาวะของเครื่อง Flash Chromatograph ดังตารางที่ 2
3. ศึกษาอัตราการไหลของระบบตัวทำละลาย (flow rate) ที่ 15, 25 และ 35 mL/min ด้วยระบบตัวทำละลาย System IV และจดบันทึกระยะเวลาการสกัด (run time)
4. เก็บ fraction ที่ได้จากการแยกไปพิสูจน์ความบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง GC-MS และเครื่อง NMR (BRUKER ADVANCE NANOBAY 400 MHz NMR Spectrometer MADE IN Switzerland) โดยส่งวิเคราะห์ NMR กับภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 ระบบตัวทำละลายในการแยกสาร eugenol จากน้ำมันกานพลูด้วยเครื่อง Flash Chromatograph

Solvent System	Solvent A	Solvent B
System I	Petroleum ether	10% v/v Ethyl acetate in petroleum ether
System II (BUCHI)	Petroleum ether	20% v/v Ethyl acetate in petroleum ether
System III	Petroleum ether	40% v/v Ethyl acetate in petroleum ether
System IV	Hexane	10% v/v Ethyl acetate in hexane
System V	Hexane	20% v/v Ethyl acetate in hexane
System VI	Hexane	40% v/v Ethyl acetate in hexane

ตารางที่ 2 สภาวะของเครื่อง Flash Chromatograph ในการแยกสาร eugenol จากน้ำมันกานพลู

Flash Mode Conditions	
Sample	1% w/v clove oil
Sample volume	10 mL
Column	ECO Flex silica 12 g
Flow rate	25 (mL/min)
Detector	ELSD and UV @ 210, 254, 282 nm
Cartridge equilibrium	4 min
Injection type	liquid

3.2 ศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ (eugenol) ด้วยเทคนิค High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)

1. ทวนสอบวิธีวิเคราะห์ eugenol ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู ด้วยเทคนิค HPTLC (Inam *et al*., 2014)

วิธี HPTLC ยี่ห้อ CAMAG ซึ่งประกอบด้วย Linomat5, ACD2, TLC scanner 4 และ TLC Visualizer ทดสอบบนแผ่น TLC ชนิด HPTLC plate silica gel 60F254 ขนาด 20x10 cm (Merck) ที่ความยาวคลื่น 282 nm โดยใช้ toluene : ethyl acetate : acetic acid (9:1:0.12, v/v/v) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

1.1 การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงการวิเคราะห์ (Linearity and range)

1.2 การทดสอบแม่นยำ (Precision)

1.3 การทดสอบความถูกต้อง (Accuracy)

1.4 การหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

2. ควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูโดยตรวจสอบความเข้มข้นที่แน่นอนของผลิตภัณฑ์

นำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู ที่ได้จากการวิจัย ขั้นตอนที่ 2 (2563) มาเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์หาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสภาวะการทำงานของเครื่อง HPTLC

<u>การบันทึกข้อมูลดังนี้</u>

1. เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii*

$$\text{การยับยั้ง (\%)} = \frac{\text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีชุดควบคุม} - \text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีชุดทดลอง}}{\text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีชุดควบคุม}} \times 100$$

2. ข้อมูลชนิดของกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางพฤกษเคมี

3. ปริมาณ eugenol

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2561 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

1. กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่
3. ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก

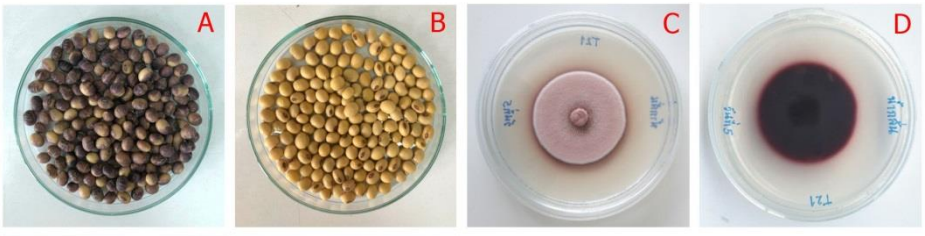
ผลการทดลองและวิจารณ์

ขั้นตอนที่ 1 การสกัดหยาบจากพืชและส่วนต่างๆของพืชในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* (2562)

1.1 ศึกษาสารสกัดหยาบจากพืชและส่วนต่างๆของพืชที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

การสกัดพืช 20 ชนิด ได้แก่ กระชายขาว กระเทียม กานพลู ขมิ้นชัน ข่า ขิง ชะเอมเทศ ชะเอมไทย ช้าพลู ตะไคร้หอม ใบน้อยหน่า ใบบัวตอง ใบแมงลักป่า ใบสะเดา เปลือกมังคุด ไพล ว่านน้ำ หางไหล อบเชยเทศ อบเชยไทย ด้วย ethanol ได้สารสกัดหยาบ 0.96 - 25.45% w/w

จากการเตรียมเชื้อรา *Cercospora kikuchii* จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง (รูปที่ 1) มาตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter method แล้วทำการแยกเชื้อ *Cercospora kikuchii* พบลักษณะโคโลนีค่อนข้างกลม เส้นใยมีการเจริญขึ้นหนาแน่นฝังลงไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และพบรอยบุ๋มหรือรอยยุบตัวของอาหารเลี้ยงเชื้อบริเวณขอบโคโลนีและไม่พบการสร้างสปอร์ สร้างรงควัตถุสีม่วงจนถึงสีแดงรอบๆโคโลนีบนอาหาร PDA (รูปที่ 1) เมื่อนำสารสกัดหยาบพืช 20 ชนิด ไปทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งในช่วง 14.5 – 100% ดัง ตารางที่ 1 โดยส่วนใหญ่สารสกัดจากพืชที่มีน้ำมันสามารถยับยั้งเชื้อราได้ดี ได้แก่ กานพลู และข่าสามารถยับยั้งได้มากที่สุด 100% ไม่แตกต่างจากคาร์เบนดาซิม ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ควบคุมเชื้อรา รองลองมาคือ ว่านน้ำ ช้าพลู ใบแมงลักป่า และขิง ที่สามารถยับยั้งได้มากกว่า 70% น้ำมันหอมระเหยจากพืชเหล่านี้เป็นสารที่พืชสร้างขึ้นมาเพื่อฆ่าเชื้อราที่ก่อโรค และแบคทีเรีย มักพบสารกลุ่ม terpenes (terpenoids) เป็นองค์ประกอบ (Noriega, 2020) ดังนั้น ข่า กานพลู และช้าพลู จึงถูกเลือกมาสกัดต่อให้บริสุทธิ์ขึ้นด้วยวิธี Column chromatography ได้สารสกัด 12 ส่วน จากพืช 3 ชนิด ได้แก่ ข่า (hexane) ข่า (chloroform) ข่า (methanol1) ข่า (methanol2) กานพลู (hexane) กานพลู (chloroform1) กานพลู (chloroform2) กานพลู (methanol) ช้าพลู (hexane) ช้าพลู (chloroform1) ช้าพลู (chloroform2) ช้าพลู (methanol) เมื่อทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารสกัด 12 ส่วน ในอัตรา 2.50 mg/mL ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA



รูปที่ 1 A) โรคเมล็ดสีม่วงในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง B) เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ไม่เป็นโรค C) โคโลนีของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหาร PDA เชื้อราสร้างเส้นใยฟู สีขาว D) เมื่ออายุมากขึ้นดูด้านใต้เห็นเป็นสีชมพูถึงสีม่วง

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การยั้บยั้งเชื้อรา *Cercosporl kikuchii* ของสารสกัดสมุนไพร 20 ชนิด

	กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
1	กระชายขาว	36.00± 3.26 g
2	กระเทียม	22.73± 0.32 ij
3	กานพลู	100.00± 1.89 a
4	ขมิ้นชั้น	52.57 ± 3.31 e
5	ข่า	100.00 ± 3.44 a
6	ขิง	74.41 ± 3.55 c
7	ชะเอมเทศ	59.42 ± 0.00 d
8	ชะเอมไทย	27.07 ± 2.47 hi
9	ช้าพลู	79.52 ± 1.78 bc
10	ตะไคร้หอม	14.52± 1.24 k
11	ใบน้อยหน่า	44.85± 0.65 f
12	ใบบัวตอง	48.08± 2.67 ef
13	ใบแมงลักป่า	77.13± 0.56 bc
14	ใบสะเดา	53.09± 2.27 e
15	เปลือกมังคุด	45.14± 2.59 f
16	ไพล	32.83± 0.92 gh
17	ว่านน้ำ	82.00± 4.11 b
18	หางไหล	31.27± 0.00 gh
19	อบเชยเทศ	32.51± 2.04 gh
20	อบเชยไทย	16.62± 0.00 jk
21	คาร์เบนดาซิม	100.00 ± 0.37 a
22	น้ำกลั่น+ ethanol	6.99± 0.00 l
23	น้ำกลั่น	0.00± 2.81 l
	F-test	**
	C.V. (%)	8.86

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

พบว่าสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* 100% ได้แก่ ข่า (hexane), กานพลู (hexane), กานพลู (chloroform1), กานพลู (chloroform2) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การยั้บยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ของสารสกัดสมุนไพร 3 ชนิด จำนวน 12 ส่วน

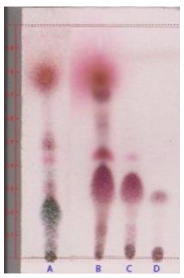
	กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
1	ข่า (hexane)	100.00 ± 0.00 a
2	ข่า (chloroform)	36.64 ± 1.06 b
3	ข่า (methanol1)	-1.71 ±1.68 g
4	ข่า (methanol2)	-7.04 ± 2.14 h
5	กานพลู (hexane)	100.00 ± 0.00 a
6	กานพลู (chloroform1)	100.00 ± 0.00 a
7	กานพลู (chloroform2)	100.00 ± 0.00 a
8	กานพลู (methanol)	2.22 ± 0.84 f
9	ช้าพลู (hexane)	20.24 ± 1.43 c
10	ช้าพลู (chloroform1)	7.79 ± 0.64 e

	กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
11	ข้าพลู (chloroform2)	15.25 ± 0.50 d
12	ข้าพลู (methanol)	9.70 ± 0.95 e
13	คาร์เบนดาซิม	100.00 ± 0.00 a
14	น้ำกลั่น	0.00 ± 0.00 fg
	F-test	**
	C.V. (%)	4.6

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

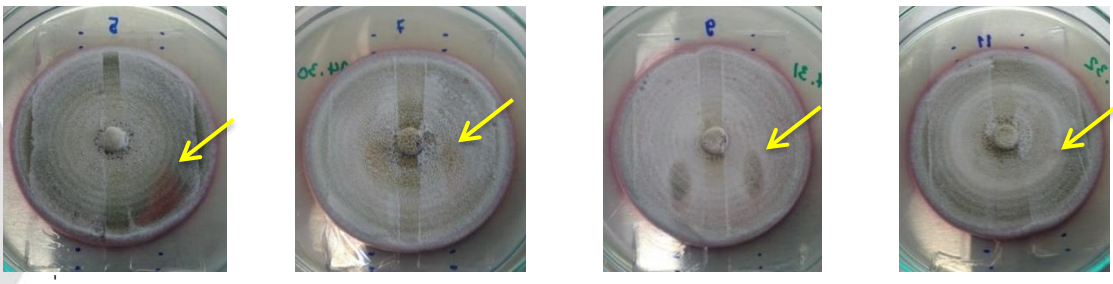
นำสารสกัดส่วนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Cercosporl kikuchii* ได้แก่ ข่า (hexane), กานพลู (hexane), กานพลู (chloroform1), กานพลู (chloroform2), มาแยกสารกึ่งบริสุทธิ์โดยเทคนิคทีแอลซี โดยใช้แผ่น TLC silica gel 60 F254 ได้สารกึ่งบริสุทธิ์แต่ละชนิดฉาบอยู่บนแผ่นทีแอลซี ดังรูปที่ 2

เมื่อนำแผ่น TLC ดังกล่าวไปทดสอบบนเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ด้วยวิธี Contact bioautography (Dewanjee *et al*., 2015) พบว่าสารสกัดจากข่า (hexane) พบตำแหน่งสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercosporl kikuchii* ที่ตำแหน่ง R_F 0.17-0.42 กานพลู (hexane) พบที่ตำแหน่ง R_F 0.25-0.42 กานพลู (chloroform1) พบที่ตำแหน่ง R_F 0.25-0.42 และกานพลู (chloroform2) พบที่ตำแหน่ง R_F 0.33-0.42 ดัง ดังรูปที่ 3



รูปที่ 2 เปรียบเทียบ TLC fingerprint ของสารสกัด A. ข่า (hexane) B. กานพลู (hexane), C. กานพลู (chloroform1), D. กานพลู (chloroform2) ด้วยวัฏภาคของเหลว (mobile phase) hexane : ethyl acetate (9:1,v/v) ภายใต้แสง white light หลังจากทำปฏิกิริยากับน้ำยาทดสอบ p-anisaldehyde/sulfuric acid

ซึ่งพบว่าตำแหน่งที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราจากสารสกัดทั้ง 4 ชนิด เป็นสารกลุ่ม terpenoids ซึ่งยืนยันโดยการสเปรย์ด้วยน้ำยาทดสอบ p-anisaldehyde/sulfuric acid



ข่า (hexane), R_F 0.17-0.42 | กานพลู (hexane), R_F 0.25-0.42 | กานพลู (chloroform1), R_F 0.25-0.42 | กานพลู (chloroform2), R_F 0.33-0.42

รูปที่ 3 ตำแหน่งสารสกัดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii*

1.2 ศึกษาชนิดของกลุ่มสารออกฤทธิ์โดยวิธีการทดสอบทางพฤกษเคมีด้วยน้ำยาทดสอบ

สารสกัดส่วนที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* จากข่า (hexane), กานพลู (hexane), กานพลู (chloroform1) และกานพลู (chloroform2) เมื่อถูกทดสอบด้วยวิธีการทางพฤกษเคมีด้วยน้ำยาทดสอบ พบว่าสารกึ่งบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* คือ สารกลุ่ม terpenoids ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบกลุ่มสารทางพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบข่าและกานพลูด้วยน้ำยาทดสอบชนิดต่างๆ

กลุ่มสารพฤกษเคมี	สารสกัด			
	ข่า (hexane)	กานพลู (hexane)	กานพลู (chloroform1)	กานพลู (chloroform2)
Alkaloids	-	-	-	-
Flavonoids	-	-	-	-
Phenol/ tannin	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	-
Terpenoids/steroids	+	+	+	+
Carbohydrate	-	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง ให้ผล positive, - หมายถึง ให้ผล negative

ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ด้วยวิธี Contact bioautography บนแผ่น TLC พบว่าตำแหน่งที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเป็นสารกลุ่ม terpenoids ซึ่งให้ผลการทดลองตรงกับการทดสอบกลุ่มสารทางพฤกษเคมีด้วยน้ำยาทดสอบชนิดต่างๆ (นพมาศและคณะ, 2554) ที่พบสารกลุ่ม terpenoids ในสารสกัดดังกล่าว และเมื่อพิจารณา % yield ของสารสกัดหยาบของกานพลู มีค่าเท่ากับ 24.4 %w/w ซึ่งมากกว่า สารสกัดหยาบของข่า ที่มีค่าเท่ากับ 3.9 %w/w ผู้วิจัยจึงเลือกกานพลูเป็นพืชที่เหมาะสมที่สุดในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดหยาบพัฒนาเป็นสูตรผลิตภัณฑ์ และทดสอบประสิทธิภาพสูตรผลิตภัณฑ์เพื่อกำหนดอัตราการใช้ (2563)

2.1 ศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันกานพลู

การสกัดดอกกานพลูด้วยวิธี ultrasonic และ maceration โดยใช้ hexane และ ethanol เป็นตัวทำละลายจะได้สารสกัดหยาบสีน้ำตาลข้นเหนียว ในขณะที่การสกัดด้วยวิธีกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) จะได้น้ำมันสีเหลืองอ่อน เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ eugenol ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ในสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) (Athar *et al.*, 2013) พบว่าน้ำมันกานพลูที่ได้จากวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) มีปริมาณ eugenol มากที่สุด คือ 849.39 g/kg (น้ำมันกานพลู) ดังตารางที่ 4 และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ eugenol ในตัวอย่างกานพลูแห้งที่ได้จากแต่ละวิธีพบว่า ไม่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4 นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจากกระบวนการผลิตและต้นทุนการผลิตแล้ว วิธีการกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) เป็นวิธีที่ไม่ใช้ตัวทำละลายจึงมีต้นทุนการผลิตต่ำ นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่รวดเร็ว และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ผู้วิจัยจึงเลือกวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) ในการสกัดน้ำมันกานพลูเพื่อพัฒนาเป็นสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปในขั้นตอนต่อไป

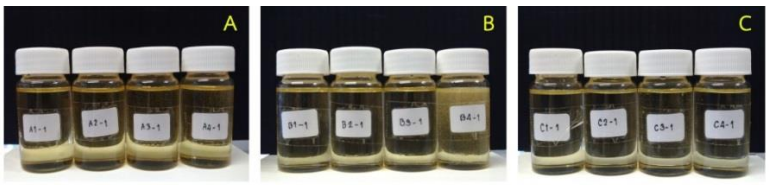
ตารางที่ 4 ปริมาณ eugenol เฉลี่ยในสารสกัดหยาบ (g/kg) และในกานพลูแห้ง (mg/g)

วิธีการสกัด	ปริมาณ eugenol เฉลี่ยใน	
	ในสารสกัดหยาบ (g/kg)	ในกานพลูแห้ง (g/kg)
กรรมวิธีที่ 1 การแช่ (maceration) อัตรา 10% (w/v) ใน hexane	703.89 b	101.72 a
กรรมวิธีที่ 2 การแช่ (maceration) อัตรา 10% (w/v) ใน ethanol	605.78 c	108.60 a
กรรมวิธีที่ 3 การสั่นสะเทือนด้วยคลื่น ultrasonic อัตรา 10% (w/v) ใน hexane	616.58 c	96.25 a
กรรมวิธีที่ 4 การสั่นสะเทือนด้วยคลื่น ultrasonic อัตรา 10% (w/v) ใน ethanol	466.43 d	111.53 a
กรรมวิธีที่ 5 การกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) อัตรา 10% (w/v)	849.39 a	93.03 a

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

2.2 ศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อกำหนดอัตราการใช้

การผสมปรุงแต่งเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู ได้สูตรชนิดน้ำมันเข้มข้น (Emulsifiable Concentrate, EC) จำนวน 3 สูตร ได้แก่ สูตร A น้ำมันกานพลู 20% w/w EC, สูตร B น้ำมันกานพลู 40% w/w EC และสูตร C น้ำมันกานพลู 60% w/w EC ดัง รูปที่ 4 และลักษณะทางกายภาพของสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลู ดัง ตารางที่ 5 โดยผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 สามารถละลายน้ำได้ดี และมีค่า pH อยู่ในช่วงกรดอ่อน ซึ่งเป็นช่วงที่น้ำมันกานพลูคงสภาพมาก

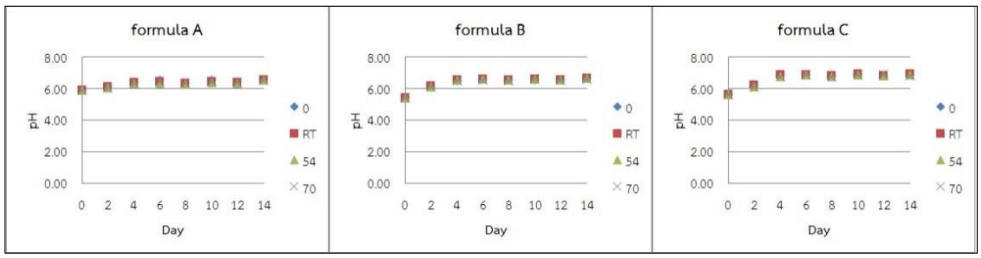


รูปที่ 4 ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู สูตร EC 3 สูตร A 20% w/w, B 40% w/w, C 60% w/w

ตารางที่ 5 ลักษณะทางกายภาพของสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลู

สูตรผลิตภัณฑ์	สีของผลิตภัณฑ์	การละลายน้ำ (1:10)	pH (1%)
A	สีเหลืองใส	ละลายน้ำได้ดี ให้สีขาวขุ่น	5.5
B	สีเหลืองใส	ละลายน้ำได้ดี ให้สีขาวขุ่น	5.1
C	สีเหลืองใส	ละลายน้ำได้ดี ให้สีขาวขุ่น	5.4

การคงตัวของ pH ของสูตรผลิตภัณฑ์ EC (A, B และ C) ที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 0 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิห้อง (RT), 54 องศาเซลเซียส และ 70 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ทุก 2 วัน จนครบ 14 วัน จากการวัดค่า pH ของทั้ง 3 สูตร พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากวันแรกถึงวันที่ 4 และคงที่ ถึงวันที่ 14 และทุกอุณหภูมิมีค่า pH ไม่แตกต่างกัน โดยค่า pH มีค่าในช่วง 5.38-6.91 ซึ่งเป็นช่วงที่น้ำมันกานพลูคงสภาพดี ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 ค่า pH ของผลิตภัณฑ์ A, B และ C ที่ 0-14 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 0, RT, 54 และ 70 องศาเซลเซียส

การคงตัวของสารออกฤทธิ์สูตรผลิตภัณฑ์โดยหาปริมาณสารออกฤทธิ์ Eugenol ก่อนอบ และหลังอบที่อุณหภูมิ 54 ℃ เป็นเวลา 14 วัน เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี HPTLC Inam *et al*., 2014 พบว่าปริมาณสารออกฤทธิ์ Eugenol ก่อนอบ และหลังอบที่อุณหภูมิ 54 ℃ มีค่าไม่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณ Eugenol (% w/w) ในผลิตภัณฑ์ ก่อนอบ และหลังอบที่อุณหภูมิ 54 °C เป็นเวลา 14 วัน

สูตรผลิตภัณฑ์	ปริมาณ Eugenol ก่อนอบ 54 °C (% w/w)	ปริมาณ Eugenol หลังอบ 54 °C (% w/w)
A	18.2	18.8
B	36.3	36.5
C	54.8	53.9

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพเบื้องต้นของสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูต่อการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงชื้อ PDA และปริมาณ eugenol ในผลิตภัณฑ์

กรรมวิธี	eugenol (mg/L)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
สูตร A 0.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	91	6.07 ± 1.94 h
สูตร A 1.00 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	180	24.18 ± 1.08 f
สูตร A 1.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	270	44.01 ± 5.22 d
สูตร A 2.00 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	361	55.35 ± 2.50 c
สูตร A 2.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	449	82.55 ± 1.01 b
สูตร B 0.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	190	16.45 ± 1.32 g
สูตร B 1.00 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	374	42.25 ± 1.96 d
สูตร B 1.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	557	85.35 ± 1.37 b
สูตร B 2.00 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	742	93.60 ± 0.08 a
สูตร B 2.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	923	93.72 ± 0.09 a
สูตร C 0.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	267	33.99 ± 1.56 e
สูตร C 1.00 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	536	93.72 ± 0.09 a
สูตร C 1.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	801	93.72 ± 0.09 a
สูตร C 2.00 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	1069	93.72 ± 0.09 a
สูตร C 2.50 mg/mL ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	1341	93.72 ± 0.09 a
Control	-	2.83 ± 0.27 hi
คาร์เบนดาซิม 2.0g/kg ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	-	93.72 ± 0.09 a
น้ำกลั่น	-	0.00 ± 0.00 i
F-test		**
C.V. (%)		5.71

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผลการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ดังแสดงในตารางที่ 7 โดยเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์จำนวน 3 สูตร A, B และ C ที่ความเข้มข้น 5 อัตรา 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 mg/mL ผลพบว่า สูตร B ที่ความเข้มข้น 2.00 และ 2.50 mg/mL ซึ่งมีปริมาณ eugenol 742 – 923 mg/L สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ได้ถึง 93.72% เช่นเดียวกับสูตร C ที่ความเข้มข้น 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 mg/mL ซึ่งมีปริมาณ eugenol อยู่ในช่วง 536 – 1341 mg/L (ดังตารางที่ 7) หมายความว่า ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลูที่มี eugenol ในช่วงความเข้มข้นนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อคำนวณเป็นอัตราการใช้เท่ากับ 2.0-2.5 g สูตร B/kg PDA และ 1.0-2.5 g สูตร C/kg PDA ซึ่งไม่แตกต่างจากคาร์เบนดาซิม ที่ความเข้มข้น 2.0 g/kg PDA จึงเป็นช่วงความเข้มข้นพื้นฐานที่จะนำไปเลือกทดสอบกับเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนเมล็ดถั่วเหลือง

และในกระถางปลูกเมล็ดถั่วเหลืองในการทดลองที่ 2 การทดสอบสูตรผลิตภัณฑ์จากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* สาเหตุโรคเมล็ดสีม่วง โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาวิธีสกัดและวิธีวิเคราะห์สารกึ่งบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพ (2564)

3.1 ศึกษาวิธีแยกสาร eugenol จากน้ำมันกานพลูด้วยเครื่อง Flash Chromatograph

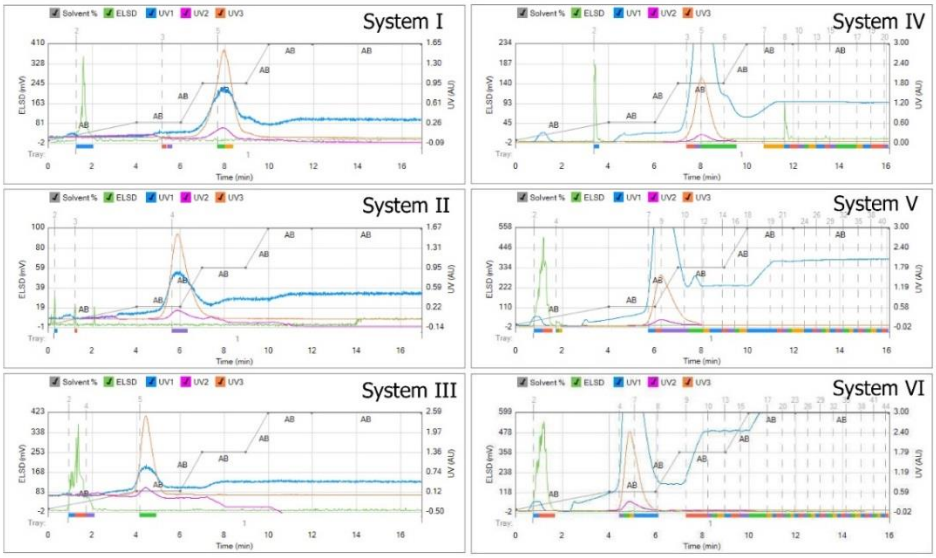
ผลการศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสาร eugenol จากน้ำมันกานพลูด้วยเครื่อง Flash Chromatograph ด้วยตัวทำละลาย 6 ระบบ พบว่า เวลาที่ eugenol ถูกแยกออกแต่ละระบบตัวทำละลายแตกต่างกัน ดังตารางที่ 8 และรูปที่ 6

ตารางที่ 8 เวลาที่ eugenol ถูกแยกและเคลื่อนที่ผ่าน detector

Solvent system	Solvent A	Solvent B	Time
System I	Petroleum ether	10% v/v Ethyl acetate in petroleum ether	7.687 – 8.353
System II (BUCHI)	Petroleum ether	20% v/v Ethyl acetate in petroleum ether	5.611 – 6.310
System III	Petroleum ether	40% v/v Ethyl acetate in petroleum ether	4.164 – 4.879
System IV	Hexane	10% v/v Ethyl acetate in hexane	7.409 – 8.008
System V	Hexane	20% v/v Ethyl acetate in hexane	5.745 – 6.261
System VI	Hexane	40% v/v Ethyl acetate in hexane	4.447 – 5.063

เมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ petroleum ether และ hexane พบว่า eugenol ถูกแยกออกมาที่เวลาไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 8) แต่ระบบตัวทำละลายของ hexane สามารถแยก eugenol ออกจากสารใกล้เคียงได้ดี เมื่อพิจารณาปริมาณสัดส่วน ethyl acetate ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้สัญญาณของ eugenol ออกเร็วขึ้น เนื่องจากโครงสร้างของ eugenol ประกอบด้วย hydroxyl group (-OH) จึงมีสภาพขั้วเป็น polar มากกว่า petroleum ether (P'0.1) และ hexane (P'0.1) (Snyder, 1978) eugenol จึงแยกออกมาได้เร็วกับระบบตัวทำละลายที่มีความเป็น polar สูงขึ้นจากสัดส่วนของ ethyl acetate (P'4.4) แต่การแยกเร็วเกินไปก็ทำให้ไม่สามารถแยกจากสารตัวอื่นได้ดีนัก จากตารางที่ 8 system IV – system VI เวลาต่างกันไม่มาก นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่า absorbance ของ UV (AU) พบว่า ระบบที่ VI ให้ค่าสูงสุดคือ 2.40 (AU) รองลงมาคือ ระบบที่ V 1.90 (AU) และระบบที่ IV 1.50 (AU) ตามลำดับ ดังรูปที่ 6 แต่ ระบบที่ VI ไม่สามารถแยก peak ข้างๆออกได้ ดังนั้น system IV (hexane, 10% ethyl acetate/hexane) จึงเหมาะสมที่สุด

และผลการศึกษาอัตราการไหลของระบบตัวทำละลาย โดยนำ system IV มาศึกษาอัตราการไหล 15, 25 และ 35 mL/min พบว่า อัตราการไหล 35 mL/min สารออกเร็วที่สุด ดังตารางที่ 9 และสามารถแยก eugenol ออกจากพีคข้างเคียงได้ดีที่สุด สำหรับผลการวิเคราะห์สัดส่วน (%) eugenol ใน fraction ที่ได้จากการแยกในแต่ละระบบตัวทำละลาย ซึ่งวิเคราะห์ด้วย GC-MS และเปรียบเทียบสเปคตรัมกับ NIST library ได้ผลดังตารางที่ 10 พบว่าระบบตัวทำละลายทั้ง 6 ระบบ สามารถแยก eugenol ได้อัตราส่วนถึง 99% โดย system IV สามารถแยกได้อัตราส่วนถึง 99.984%



Petroleum ether Hexane

รูปที่ 6 การแยก eugenol จากน้ำมันกานพลูด้วยเครื่อง Flash Chromatograph ผ่านคอลัมน์ ECO Flex silica 12 g ด้วยระบบตัวทำละลาย system I (petroleum ether, 10% ethyl acetate/petroleum ether), system II (petroleum ether, 20% ethyl acetate/petroleum ether), system III (petroleum ether, 40% ethyl acetate/petroleum ether), system IV (hexane, 10% ethyl acetate/hexane), system V (hexane, 20% ethyl acetate/hexane), system VI (hexane, 40% ethyl acetate/hexane) อัตราการไหล 25 mL/min ตรวจวัดด้วย ELSD และ UV ที่ความยาวคลื่น 210, 254, 282 nm

ตารางที่ 9 เวลาที่ eugenol ถูกแยกและเคลื่อนที่ผ่าน detector ที่อัตราการไหลต่างกัน

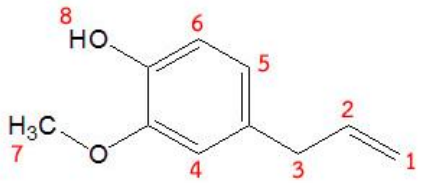
Solvent system	Flow rate (mL/min)	Time
System IV	15	9.488 – 10.371
System IV	25	7.725 – 8.956
System IV	35	5.380 – 6.861

ตารางที่ 10 อัตราส่วน eugenol ใน fractions ที่ได้จากการแยกด้วยระบบตัวทำละลายทั้ง 6 ระบบ

Solvent system	Fraction	% Area		
		eugenol	acetyl eugenol	others
System I	F5	99.978	0.022	-
	F6	99.945	0.037	0.018
System II	F4	99.515	0.297	0.188
System III	F5	92.415	7.569	0.016
System IV	F3	99.984	-	0.016
	F4	99.982	-	0.018
	F5	96.263	3.689	0.048
	F6	11.297	88.612	0.091
System V	F7	99.874	-	0.126
	F8	99.953	0.02	0.027

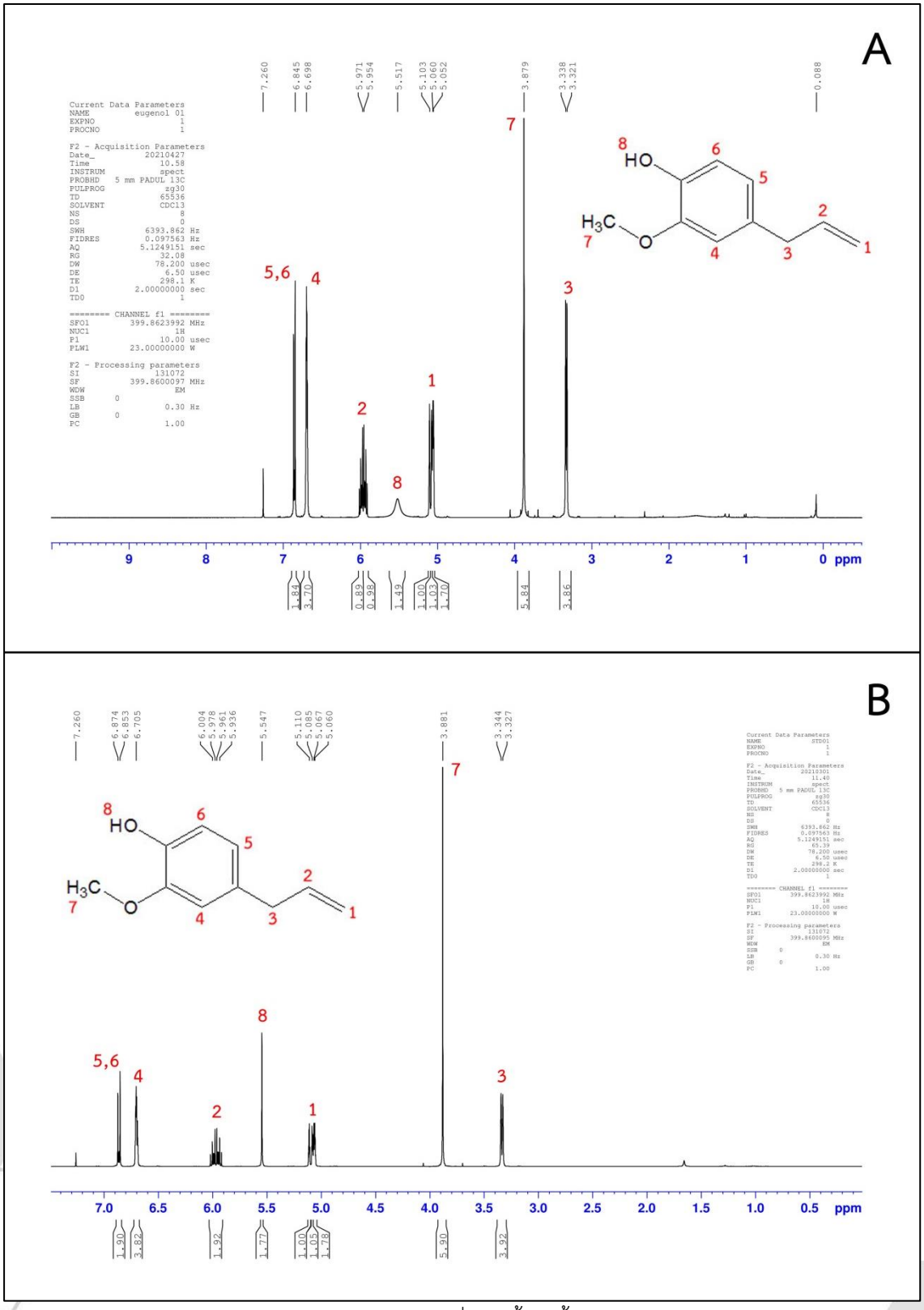
Solvent system	Fraction	% Area		
		eugenol	acetyl eugenol	others
	F9	98.833	1.155	0.012
	F10	85.125	14.875	-
	F11	26.153	73.741	0.106
System VI	F4	99.493	-	0.507
	F5	99.890	0.056	0.054
	F6	99.918	0.079	0.003
	F7	79.287	20.697	0.016
	F8	24.534	75.466	-

นอกจากนี้การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารที่ได้จากการแยกด้วยเทคนิค NMR จะช่วยยืนยันตัวตนสารได้อีกทางหนึ่ง โดย ^{1}H NMR สเปกตรัมของ eugenol (ใน $CDCl_3$) ของสารที่แยกได้จากน้ำมันการพลูด้วยเทคนิค Flash Chromatography มีสเปกตรัมตรงกับสารมาตรฐาน eugenol ดังรูปที่ 7 โดยพิจารณาความถี่ในลักษณะสัมพัทธ์เทียบกับความถี่อ้างอิง ซึ่งเรียกว่า เคมิคอลชิฟต์ (chemical shift) โดยโปรตอนในโครงสร้างจะให้ค่าเคมิคอลชิฟต์แตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลมาจากค่า electronegativity, resonance, hybridization ของอะตอมข้างเคียง ดังตารางที่ 11 เมื่อเปรียบเทียบค่าเคมิคอลชิฟต์ของสารมาตรฐาน eugenol และสารที่แยกได้จากน้ำมันกานพลู พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน จึงยืนยันได้ว่าสารที่แยกได้จากน้ำมันกานพลูคือ eugenol (Handayani *et al*., 2019)



ตารางที่ 11: ค่าเคมิคอลชิฟต์ของ 1H NMR spectra ของ สารมาตรฐาน eugenol และสารที่แยกได้จากน้ำมันกานพลู

Proton	Multiplicity	Chemical shift, δ (ppm)	
		Standard	Fraction from clove oil
H(3)	doublet (d), 2H	3.34	3.34
H(7)	singlet (s), 3H	3.88	3.88
H(1)	doublet of doublet (dd), 2H	5.06-5.11	5.05-5.10
H(8)	singlet (s), 1H	5.55	5.52
H(2)	multiplet (m), 1H	5.94-6.00	5.95-5.97
H(4)	singlet (s), 1H	6.71	6.70
H(5)	doublet (d), 1H	6.85	6.85
H(6)	doublet (d), 1H	6.87	6.86



รูปที่ 7 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ eugenol (ใน $CDCl_3$) A) สารที่แยกได้จากน้ำมันกานพลู และ B) สารมาตรฐาน eugenol

3.2 ศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ (eugenol) ด้วยเทคนิค High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)

ผลการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ eugenol ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู ด้วยเทคนิค HPTLC ของ Inam *et al*., 2014 ตรวจวัดด้วยเครื่อง HPTLC ยี่ห้อ CAMAG ประกอบด้วย Linomat5, ACD2, TLC scanner 4 และ TLC Visualizer โดยใช้แผ่น TLC ชนิด HPTLC plate silica gel 60F254 ขนาด 20x10 cm (Merck) ที่ความยาวคลื่น 282 nm ใช้ toluene : ethyl acetate : acetic acid (9:1:0.12, v/v/v) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ปริมาตร 1 µL/spot วิธีวิเคราะห์นี้ให้ผลการทดสอบดังนี้

1. ความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงการวิเคราะห์ (Linearity and range) วิธีวิเคราะห์นี้ให้ผลการทดสอบปริมาณ eugenol ที่มีช่วงการวัด (range) ในช่วงความเข้มข้น 200-800 mg/L ให้ค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่ correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.9992 ซึ่งเกณฑ์การยอมรับค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.995
2. ความแม่นยำ (Precision) ผลการตรวจสอบความแม่นยำ (Precision) ให้ค่า HORRAT ของ Repeatability และ Within laboratory reproducibility ที่ความเข้มข้น 280, 500 และ 750 mg/L เท่ากับ 1.16, 0.72, 0.91 และ 0.77, 0.75, 0.59 ตามลำดับ (ตารางที่ 12)
3. ความถูกต้อง (Accuracy) ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) ให้ค่า %recovery ที่ความเข้มข้น 100, 300 และ 500 mg/L เท่ากับ 99.65%, 101.49% และ 101.49% ตามลำดับ (ตารางที่ 13)
4. ค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ) ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (limit of detection ; LOD) ที่ความเข้มข้น 60 mg/L และให้ค่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ limit of quantitation (LOQ) ที่ความเข้มข้น 200 mg/L

ตารางที่ 12 ผลทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ eugenol ในสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูด้วยเทคนิค HPTLC

concentration	Repeatability			Within laboratory reproducibility		
	280 mg/L	500 mg/L	750 mg/L	280 mg/L	500 mg/L	750 mg/L
mean (%W/W)	36.73	36.87	37.03	36.80	36.53	37.00
SD	0.65	0.41	0.51	0.66	0.64	0.51
%RSD	1.78	1.11	1.39	1.80	1.75	1.37
HORRAT	1.16	0.72	0.91	0.77	0.75	0.59

ตารางที่ 13 ผลทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ eugenol ในสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลูด้วยเทคนิค HPTLC

Concentration added	accuracy		
	SD	%RSD	%recovery
100 mg/L	1.1187	1.1226	99.65
300 mg/L	0.6382	0.6288	101.49
500 mg/L	0.6268	0.6176	101.49

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นที่แน่นอนของ eugenol ในสูตรผลิตภัณฑ์น้ำมันกานพลู (B) ด้วยวิธี HPTLC จำนวน 10 ซ้ำ พบว่าปริมาณ eugenol เฉลี่ยเท่ากับ 36.87 %W/W ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ 0.41 ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.11

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษาสารออกฤทธิ์ในสารสกัดพืชที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากตัวอย่างพืช 20 ชนิด พบว่า สารสกัดจากกานพลู (น้ำมันกานพลู) ให้ผลดีที่สุด ซึ่งเมื่อทดสอบกลุ่มสารทางพฤกษเคมี พบว่ามีสารกลุ่ม terpenoids (eugenol ในน้ำมันกานพลู) โดยวิธีการสกัดน้ำมันกานพลูที่ดีที่สุด คือ การกลั่นด้วยน้ำ (hydro-distillation) และวิจัยผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู จำนวน 3 สูตร A (น้ำมันกานพลู 20% W/W EC), B (น้ำมันกานพลู 40% W/W EC) และ C (น้ำมันกานพลู 60% W/W EC) พบว่า สูตร B ที่ความเข้มข้น 2.00 และ 2.50 mg/mL สามารถยับยั้งการเจริญเจริญเติบโตของเชื้อรา *Cercospora kikuchii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ถึง 93.72% เช่นเดียวกับสูตร C ที่ความเข้มข้น 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 mg/mL และไม่แตกต่างจากคาร์เบนดาซิม ที่ความเข้มข้น 2.0 g/kg PDA เมื่อคำนวณเป็นอัตราการใช้เท่ากับ 2-2.5 g สูตร B/kg PDA (742-923 mg/L eugenol) และ 1-2.5 g สูตร C/kg PDA (267-1341 mg/L eugenol) นอกจากนี้การแยกสารออกฤทธิ์ในน้ำมันกานพลู eugenol โดยเครื่อง Flash chromatograph ด้วยตัวทำละลาย hexane และ 10% ethyl acetate/hexane ที่อัตราไหล 35 mL/min เมื่อเปรียบเทียบสเปคตรัม ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS กับ NIST library พบว่าสารที่ได้จากการแยกน้ำมันกานพลูคือ eugenol มีอัตราส่วนใน fraction 99% และการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ปริมาณ eugenol ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู ด้วยเทคนิค HPTLC มีความเหมาะสม สามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลถูกต้อง และแม่นยำ ยอมรับได้ตามเกณฑ์การยอมรับสากล และผลวิเคราะห์ปริมาณ eugenol ในสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากน้ำมันกานพลู (B) ได้เท่ากับ 36.87% W/W แต่อย่างไรก็ตาม กานพลูซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในผลิตภัณฑ์ มีราคาสูง เนื่องจากเป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และนำเข้าจากต่างประเทศ จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่จะส่งเสริมการปลูกกานพลูในประเทศไทยให้มากขึ้น นอกจากนี้ การศึกษาพืชชนิดอื่นที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคศัตรูพืช และมีราคาถูก หาได้ง่าย ก็เป็นงานวิจัยในอนาคตที่น่าสนใจเช่นเดียวกัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยนี้ทำให้ได้ข้อมูลสารสกัดพืช และสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้ำมันกานพลูที่สามารถควบคุมเชื้อรา *Cercospora kikuchii* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดสีม่วงในเมล็ดถั่วเหลือง โดยเกษตรกรสามารถนำไปปรับใช้คลุกกับเมล็ดพันธุ์ ในกระบวนการผลิตถั่วเหลือง สามารถนำข้อมูลการผลิตสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปไปพัฒนาผลิตเชิงอุตสาหกรรม เพิ่มรายได้ให้กับชุมชน ซึ่งเป็นการส่งเสริมให้ลดการใช้สารเคมีในภาคการเกษตรเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและเกษตรกร และยังได้วิธีวิเคราะห์สารสำคัญเพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้นักวิชาการ นักวิจัย ด้านถั่วเหลือง สามารถนำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้ำมันกานพลูไปวิจัยหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกในแปลงทดสอบได้

เอกสารอ้างอิง

นพมาศ สุนทรเจริญนนท, อุทัย โสธนะพันธุ, ประไพ วงศสินคงมั่น. 2554. **ทีแอลซี:วิธีอย่างง่ายในการวิเคราะห์คุณภาพเครื่องยาไทย.** กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร มหาวิทยาลัยมหิดล.

Athar, MD.T., E.T. Tamboli, S.H. Ansari, and S. Ahmad. 2013. Quantification of eugenol in hydro-distilled clove oil (Eugenia caryophyllus) and its marketed products by validated GC-MS method. *Journal of Herbs, **Spices & Medicinal Plant*** 19:365-376.

BUCHI. "Application Note Book Reveleris® Technologies A Full Spectrum of Purification Solutions." (online). https://www.buchi.com/sites/default/files/microsite/downloads/Reveleris_Application_Notebook.pdf (May 4, 2020)

Dewanjee, S., M. Gangopadhyay, N. Bhattacharya, R. Khanra, and T.K. Dua. 2015. Bioautography and its scope in the fields of natural product chemistry. ***Journal of Pharmaceutical Analysis*** 5(2):75-84.

Handayani, D.S., R. Prapti, and M. Firdaus. 2019. Synthesis and characterisation of copoly-(eugenol-n,n'-methylenebis(acrylamide)). ***Journal of Physical Science*** 30(3):87-100.

Inam, F., S. Deo, and N. Narkhede. 2014. Quantification of eugenol in various spices using High Performance Thin Layer Chromatography. ***International Journal of Scientific & Engineering Research*** 5(5):1576-1585.

Noriega, P. 2020. Terpenes in essential oils: bioactivity and applications. ***Intechopen*** 1-13.

Snyder, L.R. 1978. Classification of the Solvent Properties of Common Liquids. ***Journal of Chromatography*** 92: 223-234.

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไทอะมีทอกแซม ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

Method Validation for determination of the Active Ingredient of thiamethoxam in Pesticide Products

สุกัญญา คำคง *ทัศนี อัฏฐพรพงษ์*
Sukanya Khomkong *Tassanee Atthapornpong*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Method validation study of active ingredients in pesticide formulation products, such as thiamethoxam. The objectives of this study were validated of method to appropriate with the instrument in laboratory which was developed and adapted from standard method by High Performance Liquid Chromatography technique within the appropriate condition. The results were found that the working concentration range and linearity range of thiamethoxam were 0.20 – 1.40 mg/ml, respectively with the correlation coefficient (r) > 0.998 which had accepted with limit of the correlation coefficient (r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003). The precision of HORRAT values for repeatability and within laboratory repeatability of the analytical substances by the three levels of concentration were in the range of 0.69 – 0.96 and 0.45 – 0.68, respectively. The HORRAT values tested with robustness and ruggedness of thiamethoxam which two factors analysis for change that temperature of column and flow rate by the three levels of concentration were in the range of 0.38 – 0.97 which were followed by the AOAC (2016) that between 0.3 – 1.3. The accuracy of this method was assessed by recovery studied. The percent recoveries of the analytical substances by the three levels of concentration were in the range of 98.4 – 98.8% considered an acceptance by the AOAC (2016) that as 98-102 for analytical concentrations more than 10%. This specificity method did not have interference from other substances. The measured uncertainty of thiamethoxam was 25.4±0.43% , respectively at 95% confidence level. As a result, it was the performance characteristics of this method according to the criteria. Therefore, the method development could be used to determine the active ingredients in pesticide formulation products with accuracy and precision.

Keywords : method validation, thiamethoxam, linearity and working range, precision, repeatability, within laboratory repeatability, robustness and ruggedness, accuracy, specificity, uncertainty

บทคัดย่อ

จากการศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไทอะมีทอกแซม (thiamethoxam) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาวิธีขึ้นมาใหม่หรือดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานให้เหมาะสมกับเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ เพื่อสร้างมาตรฐานการทดสอบ ให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องและแม่นยำ ยอมรับได้ตามเกณฑ์การยอมรับสากล ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) และช่วงของการวัด (working range) มีช่วงความเข้มข้น 0.20 - 1.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) มากกว่า 0.998 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003) ตรวจสอบความแม่นยำ (precision) แบบ repeatability และ within laboratory repeatability ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ มีค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.69 -0.96 และ 0.45 - 0.68 ตามลำดับ ตรวจสอบความคงทน (robustness / ruggedness) โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบแบบ 2 ปัจจัยคือ อุณหภูมิคอลัมน์กับอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.38 - 0.97 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) คือ 0.3 – 1.3 ตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) จาก % recovery ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ อยู่ระหว่าง 98.4 – 98.8 ซึ่งอยู่ในช่วง 98 - 102 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (2016) วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของ thiamethoxam เท่ากับ 25.4±0.43% ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากผลการทดสอบดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า คุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีที่พัฒนานี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

คำสำคัญ : การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ สารออกฤทธิ์ไทอะมีทอกแซม ช่วงความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวัด ความแม่นยำ การทำซ้ำ ความคงทน ความถูกต้อง ความจำเพาะเจาะจง การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด

คำนำ

ประเทศไทยมีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นประเทศเกษตรกรรม สารป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่ผลิตขึ้นจึงนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมและการทำลายศัตรูพืช เพื่อลดความเสียหายของผลิตผลการเกษตรที่เกษตรกรปลูก จะเห็นได้ว่าปริมาณข้อมูลการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชในระหว่างปี 2554 - 2560 มีปริมาณนำเข้าสารป้องกันกำจัดโรคพืช 84,415 ตัน คิดเป็นมูลค่า 32,610 ล้านบาท ดังแสดงในตารางที่ 1 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561)

ตารางที่ 1 ปริมาณการนำเข้าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปี 2554 - 2560

ปี	สารเคมี									
	สารกำจัดวัชพืช (Herbicide)		สารกำจัดแมลง (Insecticide)		สารป้องกันและกำจัดโรคพืช (Fungicide)		อื่นๆ		รวม	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
2554	112,177	11,480	34,672	5,938	12,179	3,875	5,511	777	164,538	22,070
2555	106,860	11,294	16,797	3,686	6,972	3,883	3,748	494	134,480	19,378
2556	137,049	14,873	21,485	4,201	10,350	4,828	3,942	514	172,826	24,416
2557	117,645	13,435	13,910	4,013	10,988	4,708	4,832	656	147,375	22,812
2558	119,971	11,016	12,927	3,684	11,088	3,839	5,560	787	149,546	19,326
2559	125,596	9,688	16,056	3,899	12,915	4,503	6,120	2,487	160,824	20,618
2560	148,979	13,686	21,601	6,166	19,923	6,974	7,814	1,096	198,317	27,922

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2561)

จากตารางแสดงให้เห็นว่า มีการใช้สามารถป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการควบคุมคุณภาพของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 นั้น จะตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ ว่าตรงตามที่ระบุไว้บนฉลากหรือไม่ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีคุณภาพและเกษตรกรนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การตรวจสอบผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชก่อนการนำเข้าประเทศจึงเป็นสิ่งสำคัญ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เป็นหน่วยงานรับผิดชอบในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ทั้งการขึ้นทะเบียนนำเข้าและส่งออก รวมทั้งควบคุมคุณภาพตามพระบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 โดยใช้วิธีมาตรฐาน CIPAC (Collaborative International Pesticide Analytical Council) แต่วิธีการจากวิธีมาตรฐานไม่สามารถทำตามได้ทั้งหมด เนื่องจากไม่มีเครื่องมือ/อุปกรณ์ หรือสารเคมี จึงต้องใช้วิธีดัดแปลง การดัดแปลงวิธีวิเคราะห์นั้นห้องปฏิบัติจึงจำเป็นต้องมีการพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หรือการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้อยู่ถูกต้องแม่นยำ และเหมาะสมตรงตามวัตถุประสงค์ ซึ่งเป็นหนึ่งในข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ได้กำหนดคุณลักษณะเฉพาะวิธีในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี คือ ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ช่วงของการวัด (working Range) ความแม่นยำ (precision) ความคงทนของวิธี (robustness/ruggedness) ความถูกต้อง (accuracy) และความจำเพาะเจาะจง (specificity) รวมทั้งความไม่แน่นอนของ การวัด (Measurement Uncertainty) (ทิพวรรณ, 2549) แล้วนำมาประเมินด้วยวิธีทางสถิติว่าวิธีวิเคราะห์สามารถนำไปใช้งานได้หรือไม่

สารออกฤทธิ์ไทอะมีทอกแซม (thiamethoxam) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ใช้เพื่อป้องกันกำจัด ทำลาย ควบคุมแมลงศัตรูพืช จัดอยู่ในกลุ่ม neonicotinoids มีฤทธิ์ต่อระบบเซลล์ประสาทของแมลง โดยการรบกวนการรับสาร nicotinic acetylcholine ในระบบประสาทส่วนกลางและทำให้กล้ามเนื้อของแมลงกลายเป็นอัมพาต (Kidd and James, 1991) สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไทอะมีทอกแซม (thiamethoxam) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีวิธีมาตรฐานใน CIPAC Handbook (Volume O) โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี (Gas Chromatography: GC) และเทคนิคลิควิดโครมาโทรกราฟี (Liquid Chromatography: HPLC) (Maria and Jim, 2017)

ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไทอะมีทอกแซม (thiamethoxam) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องเหมาะสม สามารถใช้เป็นวิธีทดสอบในห้องปฏิบัติการ และนำไปขอการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 รวมทั้งเพิ่มสมรรถนะของห้องปฏิบัติการในการตรวจสอบวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง high performance liquid chromatograph มีตัวตรวจวัดชนิด DAD หรือ UV
2. คอลัมน์ชนิด LiChroCART® 60 (RP-18) ขนาด 5.0 ไมโครเมตร ความยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง (i.d.) 4.0 มิลลิเมตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ชั่งได้ระดับ 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
4. Ultrasonic bath
6. ขวดวัดปริมาตรชนิด type A ขนาด 25, 200 และ 500 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
7. Auto pipette ขนาด 1 - 10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
8. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
9. ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
10. syringe ขนาด 10 มิลลิลิตร
11. syringe filters 0.22 ไมโครเมตร

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน thiamethoxam 99.65 %
2. สารเมทานอล (HPLC grade)
3. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (HPLC grade)
4. กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4)
5. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช thiamethoxam 25 % W/W WG

วิธีการ

1. การปรับตั้งสภาวะเครื่อง HPLC (DAD/UV) สำหรับการตรวจวิเคราะห์ thiamethoxam

คอลัมน์ : LiChroCART® 60 (RP-18) ขนาด 4.0 x 250 มิลลิเมตร ภายในบรรจุ bonded silica gel ขนาด 5 ไมโครเมตร

อัตราการไหล : 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

เฟสเคลื่อนที่ : อัตราส่วนของกรดฟอสฟอริก (0.1% H_3PO_4) ต่อเมทานอล (Methanol) (60:40)

อุณหภูมิคอลัมน์ : 40 องศาเซลเซียส

ความยาวคลื่น : 225 นาโนเมตร

ปริมาตรการฉีด : 1 ไมโครลิตร

2. ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวัด (linearity/working range)

ชั่งสารมาตรฐาน thiamethoxam 99.65 % ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ครอบคลุมความเข้มข้นช่วงการใช้งาน 6 ความเข้มข้น คือ 0.20 - 1.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมเมทานอลประมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอล แบ่งใส่ในขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่อง HPLC สร้างกราฟ

ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง และคำนวณค่า Correlation coefficient (r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003)

3. ตรวจสอบความแม่นยำ (Precision)

3.1 Repeatability

ตรวจสอบ precision แบบ repeatability ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกัน ดังนี้

3.1.1 การเตรียมสารมาตรฐานแบบ 2 ซ้ำ (duplicate) ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานให้มีสาร thiamethoxam ปริมาณ 20, 25 และ 30 มิลลิกรัม (± 0.1 มิลลิกรัม) ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารเมทานอลปริมาณครึ่งขวด เขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC

3.1.2 การเตรียมตัวอย่างสาร thiamethoxam 25 % W/W WG ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยชั่งสารตัวอย่างให้มีสาร thiamethoxam ปริมาณ 80, 100 และ 120 มิลลิกรัม (± 0.1 มิลลิกรัม) ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารเมทานอลปริมาณครึ่งขวด เขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารเมทานอล และกรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด 0.22 ไมโครเมตร นำสารละลายเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานของแต่ละช่วงความเข้มข้นจากข้อ 3.1.1 คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

ประเมิน precision โดยใช้ HORRAT

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{exp.} / \%RSD_{Horwitz}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\%RSD_r = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

$$C = \text{Concentration ratio}$$

เกณฑ์ยอมรับค่า precision ยอมรับ HORRAT = 0.3 – 1.3

3.2 Within laboratory repeatability

ตรวจสอบ precision แบบ within laboratory repeatability ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาต่างวันกัน วิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 3.1 แต่จะวิเคราะห์ต่างวัน โดยเทียบกับกับสารมาตรฐานของแต่ละช่วงความเข้มข้น คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

4. ตรวจสอบความคงทน (Robustness/Ruggedness)

วิเคราะห์ตัวอย่างสาร thiamethoxam 25 % W/W WG เช่นเดียวกับข้อ 3.1 โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบแบบ 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิคอลัมน์กับอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

5. ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

5.1 เตรียม Stock standard

เตรียมสารละลายมาตรฐาน thiamethoxam ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (มีความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม) ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมสารเมทานอลประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง

ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารเมทานอลจนถึงขีดปริมาตร

5.2 เตรียม Stock sample

เตรียมสารละลายตัวอย่าง thiamethoxam ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารเมทานอลประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารเมทานอลจนถึงขีดปริมาตร

5.3 เตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน thiamethoxam 99.65 % ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ โดยปิเปตสารละลาย stock standard ข้อ 5.1 ปริมาตร 4.7, 5.8 และ 7 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารเมทานอลประมาณครึ่งขวด ปิดจุก เขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC

5.4 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Origin

ปิเปตสารสารละลาย stock sample ข้อ 5.2 ปริมาตร 6, 7.5 และ 9 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยสารเมทานอลจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด 0.22 ไมโครเมตร และแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานในแต่ละช่วงที่เตรียมไว้ ข้อ 5.3

5.5 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Spike

ปิเปตสารสารละลาย stock sample ข้อ 5.2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด ชุดละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลาย stock standard ปริมาตร 4.7, 5.8 และ 7.0 มิลลิลิตร อย่างละ 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วยสารเมทานอลจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด 0.22 ไมโครเมตร และแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานในแต่ละช่วงที่เตรียมไว้ ข้อ 5.3

ประเมินค่า accuracy จากค่า % recovery

$$\% \text{ recovery} = (C_{spike} - C_{origin}) \times 100 / C_{add}$$

C_{spike} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย Spike

C_{origin} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย Origin

C_{add} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่เติมลงในสารละลาย Spike

6. ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

โดยฉีดสารมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างของ thiamethoxam เข้าเครื่อง HPLC ที่ทำการกำหนดสภาวะเครื่องดังข้อ 1 พิจารณาโครมาโทแกรมดูว่ามีสารอื่นแปลกปลอม มารบกวนสารออกฤทธิ์ thiamethoxam หรือไม่

7. ประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty)

ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ thiamethoxam ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช thiamethoxam ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ระยะเวลา

เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

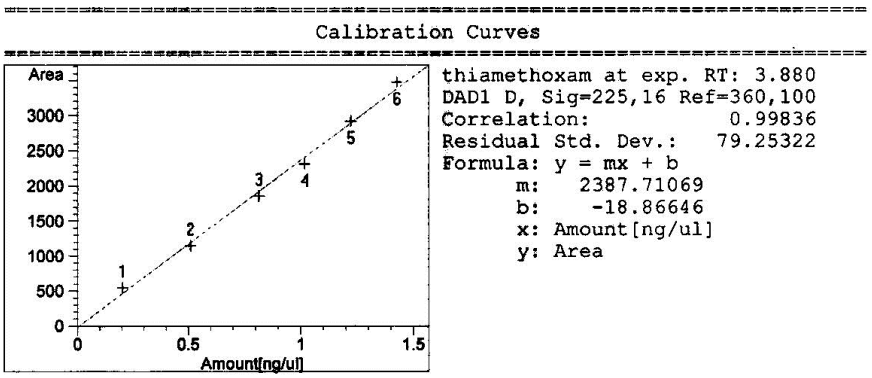
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารกำจัดโรคพืช ไทอะมีทอกแซม (thiamethoxam) ในผลิตภัณฑ์สารสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ได้แก่ linearity, working range, precision, robustness/ruggedness, accuracy, specificity และ uncertainty ประเมินการยอมรับได้ดังนี้

1. การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Working Range)

ตรวจสอบช่วงของการวัด (working range) และ ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) พบว่า ช่วงของการวัดและช่วงความเป็นเส้นตรงของ thiamethoxam อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.2-1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99836 ดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ต้องมีค่า r ≥ 0.990 (CIPAC, 2003)



ภาพที่ 1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) และช่วงของการวัด (working Range) ของสารมาตรฐาน thiamethoxam

2. การตรวจสอบความเที่ยง (Precision)

ตรวจสอบความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ thiamethoxam ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0, 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ประเมินแบบ repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.93, 0.96, 0.69 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ประเมินแบบ within laboratory repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.45, 0.68, 0.54 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3

ตารางที่ 2 Precision results of repeatability and within laboratory repeatability of thiamethoxam

repeatability (n=10)				within laboratory repeatability		
Conc.(mg/ml)	**0.8**	**1.0**	**1.2**	**0.8**	**1.0**	**1.2**
mean (%W/W)	25.00	25.39	24.95	24.61	24.53	24.90
SD	0.57	0.60	0.42	0.27	0.41	0.33
%RSD	2.29	2.37	1.71	1.11	1.68	1.34
HORRAT	0.93	0.96	0.69	0.45	0.68	0.54

3. การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์ (Robustness/Ruggedness)

การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ thiamethoxam โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบแบบ 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิคอลัมน์กับอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0, 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า การเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์ของวิธีวิเคราะห์ thiamethoxam ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.97, 0.62, 0.68 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) การเปลี่ยนอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ของวิธีวิเคราะห์ thiamethoxam ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.84, 0.80, 0.76 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และการเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์กับอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ของวิธีวิเคราะห์ thiamethoxam ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.46, 0.75, 0.38 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3

ตารางที่ 3 Results of robustness/ruggedness (change temperature) of thiamethoxam

	thiamethoxam		
Conc.	**0.8 mg/ml**	**1.0 mg/ml**	**1.2 mg/ml**
mean (%W/W)	25.31	24.93	25.04
SD	0.60	0.37	0.41
%RSD	2.39	1.52	1.66
HORRAT	0.97	0.62	0.68

ตารางที่ 4 Results of robustness/ruggedness (change flow rate) of thiamethoxam

	thiamethoxam		
Robustness/Ruggedness	**0.8 mg/ml**	**1.0 mg/ml**	**1.2 mg/ml**
mean (%W/W)	25.18	25.73	25.76
SD	0.52	0.50	0.48
%RSD	2.08	1.97	1.87
HORRAT	0.84	0.80	0.76

ตารางที่ 5 Results of robustness/ruggedness (change temperature and flow rate) of thiamethoxam

	thiamethoxam		
Robustness/Ruggedness	**0.8 mg/ml**	**1.0 mg/ml**	**1.2 mg/ml**
mean (%W/W)	24.96	24.80	24.61
SD	0.28	0.46	0.23
%RSD	1.14	1.86	0.95
HORRAT	0.46	0.75	0.38

4. การตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

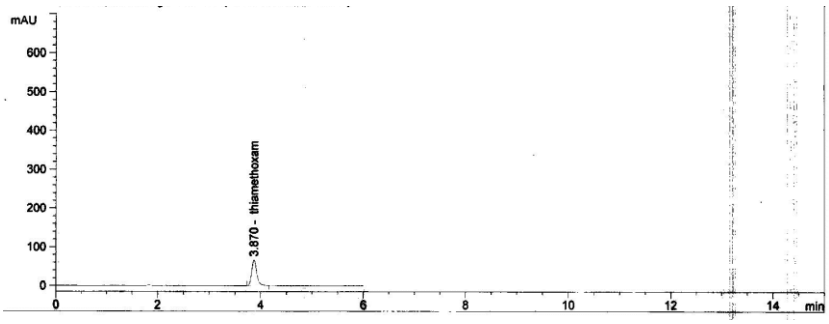
ตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) โดยหาค่า %recovery ของ thiamethoxam ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ จำนวน 10 ซ้ำ คือ 0.8, 1.0, 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่า ได้ %recovery เท่ากับ 98.8%, 98.4%, 98.4% ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 98-102 % ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (2016)

ตารางที่ 6 % Recovery of thiamethoxam

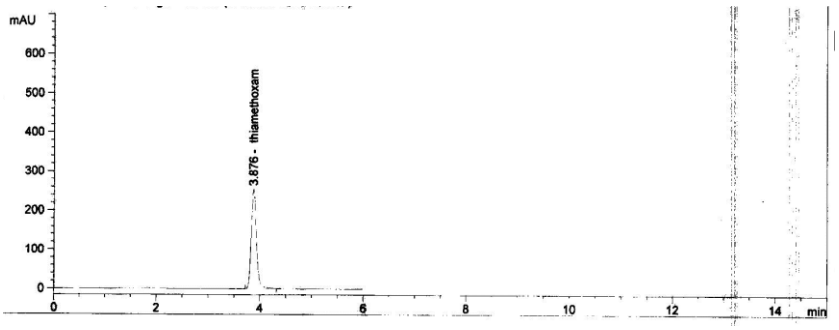
No.	thiamethoxam a.i. content (mg/ml)								
	0.8 mg/ml			1.0 mg/ml			1.2 mg/ml		
	origin	add	result	origin	add	result	origin	add	result
1	0.24	0.56	0.77	0.29	0.70	0.99	0.35	0.84	1.18
2	0.23	0.56	0.78	0.28	0.70	1.00	0.36	0.84	1.15
3	0.23	0.56	0.78	0.27	0.70	0.95	0.36	0.84	1.22
4	0.23	0.56	0.78	0.28	0.70	0.97	0.36	0.84	1.18
5	0.23	0.56	0.78	0.28	0.70	0.95	0.36	0.84	1.21
6	0.23	0.56	0.79	0.29	0.70	0.95	0.36	0.84	1.15
7	0.23	0.56	0.77	0.28	0.70	0.97	0.37	0.84	1.16
8	0.23	0.56	0.77	0.27	0.70	0.96	0.35	0.84	1.19
9	0.23	0.56	0.83	0.29	0.70	0.97	0.35	0.84	1.20
10	0.23	0.56	0.79	0.28	0.70	0.98	0.36	0.84	1.20
mean	**0.231**	**0.560**	**0.784**	**0.280**	**0.700**	**0.969**	**0.358**	**0.840**	**1.185**
SD	**0.003**	**-**	**0.016**	**0.005**	**-**	**0.016**	**0.006**	**-**	**0.024**
%RSD	**1.361**	**-**	**2.002**	**1.725**	**-**	**1.670**	**1.705**	**-**	**2.047**
%Recovery	**-**	**-**	**98.75**	**-**	**-**	**98.42**	**-**	**-**	**98.45**

5. การตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

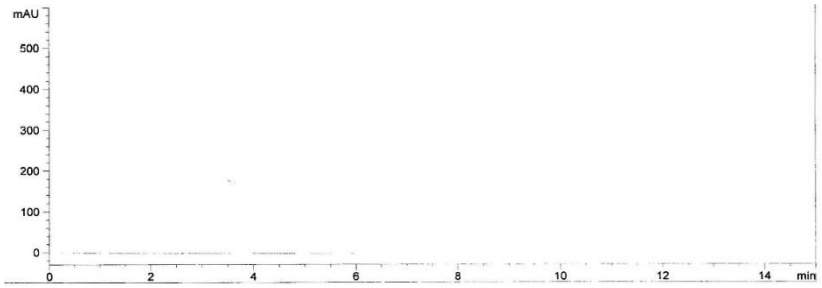
การตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (specificity) ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ thiamethoxam พบว่าโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน สารละลายตัวอย่าง และสารละลายแบลงค์ (blank) ไม่มีพีคอื่นใดมารบกวน (ภาพที่ 2 – 4) แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ thiamethoxam ไม่ตอบสนองต่อสารอื่น แต่จะตอบสนองเฉพาะเจาะจงต่อสารตัวอย่าง



ภาพที่ 2 แสดงโครมาโตรแกรมของสารละลายมาตรฐาน thiamethoxam ที่ไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์



ภาพที่ 3 แสดงโครมาโตรแกรมของสารละลายตัวอย่าง thiamethoxam ที่ไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์



ภาพที่ 4 แสดงโครมาโตรแกรมของตัวทำละลายเมทานอล (Methanol) ที่ไม่มีพีค (peak) ขึ้นตรงกับสารละลายมาตรฐาน

6. การประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty)

ประมาณค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ thiamethoxam พบว่า แหล่งของความไม่แน่นอนการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สาร thiamethoxam 25% WP

6.1 การชั่งน้ำหนัก

6.1.1 การสอบเทียบเครื่องชั่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% $u_x = \frac{a}{d}$

ค่าความไม่แน่นอนขยายจากการสอบเทียบเครื่องชั่งมีค่า = ±0.000035 กรัม, k = 2.07 (ชั่งน้ำหนักที่ 0.010 กรัม)

u_x จากการสอบเทียบ = $\frac{0.000035}{2.07}$ = 1.69082×10^{-5} กรัม

u_x จากการชั่งน้ำหนัก (tare and gross) = $\sqrt{2 \text{ x } (1.69082 \text{ x } 10^{-5})^2}$ = 2.3912×10^{-5} กรัม

ค่าความไม่แน่นอนขยายจากการสอบเทียบเครื่องชั่งมีค่า = ±0.000035 กรัม, k = 2.07 (ชั่งน้ำหนักที่ 0.10 กรัม)

u_x จากการสอบเทียบ = $\frac{0.000035}{2.07}$ = 1.69082×10^{-5} กรัม

u_x จากการชั่งน้ำหนัก (tare and gross) = $\sqrt{2 \text{ x } (1.69082 \text{ x } 10^{-5})^2}$ = 2.3912×10^{-5} กรัม

6.2 การปรับปริมาตรเครื่องแก้ว

6.2.1 เครื่องแก้วสำหรับสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง

ค่าความไม่แน่นอนจากค่าผิดพลาดสูงสุดที่ยอมรับได้ของ Volumetric flask 25 มิลลิลิตร เท่ากับ ±0.0074 มิลลิลิตร, k = 2.00

u_x จากการสอบเทียบเครื่องแก้ว = $\frac{0.0074}{2.00}$ = 3.70×10^{-3} มิลลิลิตร

ขณะใช้งานมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 5 °C ปริมาตรที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิของ organic solvent เท่ากับ 1×10^{-3}

u_x จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ = $(1 \times 10^{-3}) \times 25 \times \frac{5}{\sqrt{3}}$ = 0.07217 มิลลิลิตร

u_x จากการปรับปริมาตรของสารตัวอย่าง = $\sqrt{(3.70 \text{ x } 10^{-3})^2 + (7.217 \text{ x } 10^{-2})^2}$

= 7.2264×10^{-2} มิลลิลิตร

6.3 การทดสอบซ้ำ (repeatability)

ค่าความไม่แน่นอนจาก method validation

$$u_x = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

SD = ความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารมาตรฐานของ intermediate precision ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml อย่างน้อย 10 ซ้ำ จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

n = จำนวนซ้ำของตัวอย่าง 10 ซ้ำ

$$u_x = \frac{0.600}{\sqrt{10}} = 1.8973 \times 10^{-1} \text{ กรัม}$$

6.4 ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน

ความไม่แน่นอนที่เกิดจากการหาความบริสุทธิ์ของสาร จากใบรับรองผลการทดสอบสารมาตรฐาน (Certificate)

สารมาตรฐานมีความบริสุทธิ์ = 99.65 ±0.30%

หรือ = 0.9965 ±0.003 กรัม

ดังนั้น u_x = $\frac{0.003}{2.00}$

= 1.5000×10^{-3} กรัม

6.5 การหาความไม่แน่นอนรวม (u_c)

กรณีหน่วยวัดต่างกันจะต้องเปลี่ยนค่า u_x จากแต่ละแหล่งให้เป็นความเบี่ยงเบนความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard uncertainty, Ru)

โดย $Ru = \frac{u_x}{x}$ เมื่อ x = ค่าของ parameter นั้น

สมการ $U_c = C\sqrt{Ru_1^2+Ru_2^2+\ldots+Ru_n^2}$ เมื่อ C = ผลที่ได้จากการวิเคราะห์

ตารางที่ 7 Possible sources of uncertainty in analysis of thiamethoxam

แหล่งข้อมูล	Unit	Value (x)	u_x	Ru (u_x/x)	Ru^2
u_m	g	0.100	2.3912×10^{-5}	2.3912×10^{-4}	5.718×10^{-8}
u_s	g	0.010	2.3912×10^{-5}	2.3912×10^{-3}	5.718×10^{-6}
$u_{vol.std.samp}$	ml	25	7.2264×10^{-2}	2.8905×10^{-3}	8.355×10^{-6}
u_{std}	-	0.9965	1.5000×10^{-3}	1.5053×10^{-3}	2.296×10^{-6}
u_{Repeat}	g	25.39	1.8973×10^{-1}	7.4729×10^{-2}	5.584×10^{-5}

$$U_c = 25.39\sqrt{(5.718\times10^{-8})+(5.718\times10^{-6})+(8.355\times10^{-6})+(2.296\times10^{-6})+(5.584\times10^{-5})}$$

$u_c = 25.39\ \sqrt{7.227\times10^{-5}}$

$= 25.39 \times (8.501 \times 10^{-3})$

$= 2.158 \times 10^{-1}$

6.6 การหาค่าความไม่แน่นอนขยาย (U)

$U = 2 \times u_c$

$= 2 \times 0.2158$

$= 0.43\ \%$

6.7 รายงานผลการทดสอบตัวอย่าง

การรายงานผลการทดสอบ = C ±U หน่วย

โดยที่ C = ผลวิเคราะห์

= 25.39 %

ดังนั้น การทดสอบสารออกฤทธิ์ thiamethoxam = 25.4 ± 0.43 %W/W

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไทอะมีทอกแซม (thiamethoxam) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธี โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ด้วยการทดสอบคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ของสารออกฤทธิ์ thiamethoxam ให้ค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) และช่วงของการวัด (working Range) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.8 – 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า r มากกว่า 0.998 ซึ่งเกณฑ์การยอมรับ ค่า r ≥ 0.990 (CIPAC, 2003) ตรวจสอบความแม่นยำ (precision) ทั้งแบบ repeatability และ within laboratory repeatability ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.69 – 0.96 และ 0.45 – 0.68 ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบความคงทน (robustness/ ruggedness) โดยการเปลี่ยนแปลงตัวแปรหรือปัจจัยบางอย่างในวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ อุณหภูมิคอลัมน์ และอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ พบว่า ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.38 – 0.97 ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) การตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) จากค่า %recovery ที่ 3 ระดับความเข้มข้น อยู่ระหว่าง 98.4 – 98.8% ซึ่งอยู่ในช่วง 98 – 102 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 10 ของ AOAC (2016) นอกจากนี้การศึกษาความสามารถในการแยก และความจำเพาะเจาะจง (specificity) ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ thiamethoxam พบว่า ให้พีคของสารทดสอบชัดเจน ไม่มีพีคอื่นมารบกวนพีคของสาร แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สามารถแยกและมีความเฉพาะเจาะจงที่ดีต่อสารที่ทำการทดสอบ การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (uncertainty) พบว่า ประมาณค่าความไม่แน่นอนสารออกฤทธิ์ thiamethoxam เท่ากับ 25.4 ± 0.43 %W/W ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนานี้ จึงมีความเหมาะสม ที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดแมลงในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สร้างความน่าเชื่อถือแก่ผลการทดสอบ อีกทั้งเป็นที่ยอมรับในระดับสากล และสามารถนำไปขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามระบบ ISO/IEC 17025: 2017 ได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรในห้องปฏิบัติการ เพื่อการขึ้นทะเบียนนำเข้าและส่งออก รวมทั้งควบคุมคุณภาพวัตถุอันตรายทางการเกษตร ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535 และรวบรวมเป็นวิธีมาตรฐาน สามารถตีพิมพ์เผยแพร่ให้แก่ห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาค ส่วนภาครัฐหรือภาคเอกชน และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้อย่างเป็นที่น่าเชื่อถือ

2. ใช้ยื่นขอขยายขอบข่ายการรับรองคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ตามระบบ ISO/IEC 17025: 2017 เพื่อเพิ่มศักยภาพให้กับหน่วยงานและองค์กร

เอกสารอ้างอิง

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. (2549). แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรุงเทพฯ. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2561). ปริมาณการนำเข้าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปี 2554 - 2560. สืบค้น 1 เม.ย 2565 จาก http://www.oae.go.th/view/1/ปัจจัยการผลิต/TH-TH

Anonymous. (2003). Guidelines on method validation to be performed in support of analytical methods for agrochemical formulations. CIPAC 3807. Retrived April 1, 2022, from https://www.cipac.org/images/pdf/ validat.pdf.

AOAC. (2016). Guidelines for Standard Method Performance Requirements. Retrived April 1, 2022, from http://www.eoma.aoac.org

Kidd H. and James D.R. (1991). *The Agrochemicals Handbook.* 3rd Ed. England. Royal Society of Chemistry. Cambridge.

Maria Celeste Cardeal de Oliveira and Jim Garvel. (2017). CIPAC Handbook volume O Analysis of Technical and Formulated Pesticides. England. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited.

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ เพนดิเมทาลิน (pendimethalin) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
Method Validation for Determination of the Active Ingredients of pendimethalin in Pesticide Products

อิสริยะ สืบพันธุ์ดี *พนิดา มงคลวุฒิกุล*
Issariya Sueppandee *Panida Mongkhonwuttikun*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Method validation of pendimethalin as the active ingredients in pesticide products was determined by Gas Chromatography (GC) and condition was capillary column : HP-5 (30 m x 0.32 mm (i.d.), 0.25 μm), carrier gas : Helium, flow rate 2 ml/minute, split injection : split ratio 50 : 1, injection volume : 1 μl, injector temperature : 270 ºC, oven temperature : 230 ºC hole 6 minute, detector : flame ionization detector (FID), detector temperature : 270 ºC, run time : 6 minute. The results were found that the concentration linearity and range of pendimethalin were 0.10 - 1.50 mg/ml with the coefficient correlation (r) = 0.99992 which had accepted with limit of the correlation coefficient (r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003). The precision were in 3 concentration level 0.8 1.0 and 1.2 mg/ml. The precision of HORRAT values for repeatability (n = 10) and Within laboratory repeatability (n = 10) were in the range of 0.31 – 0.36. The HORRAT values for robustness/ruggedness were in the range of 0.31 – 0.76 which were followed by the AOAC (2016) that between 0.3 – 1.3. The accuracy of this method was assessed by recovery studied. The percent recovery of pendimethalin was in the range of 99.1 % - 100.0 % considered an acceptance by the AOAC (2016) that as 98-102 % for analytical concentrations more than 10 %. This specific method did not have interference from other substances. The measurement uncertainty of pendimethalin was 33 ± 0.71 % W/V at 95 % confidence level. As a result, it was the performance characteristics of this method according to the criteria. This method could be used to determine in pesticide products with accuracy and precision.

Keywords : method validation, active ingredient, pendimethalin

บทคัดย่อ

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ เพนดิเมทาลิน (pendimethalin) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ทดสอบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC) ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบคือ คอลัมน์ (Column) ชนิด Capillary (HP-5) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม (film thickness) 0.25 ไมโครเมตร ใช้แก๊สฮีเลียม (He_2) เป็นแก๊สตัวพา อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที อัตราการ Split injection เท่ากับ 50 : 1 ปริมาณของการฉีดตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิของการฉีดสาร 270 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของ Oven 230 องศาเซลเซียส ชนิดของตัวตรวจวัดที่ใช้คือ Flame Ionization Detector (FID) เวลาการทดสอบต่อตัวอย่างเท่ากับ 6 นาที พบว่าค่า Linearity และ Working range ให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น

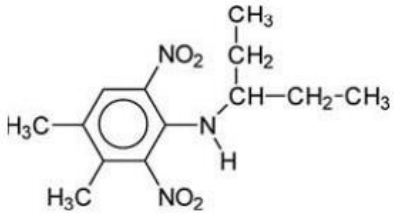
0.10 – 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99992 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003) ตรวจสอบความเที่ยง Repeatability (n = 10) และ Within laboratory repeatability (n = 10) วิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.31 – 0.36 ตรวจสอบ Robustness/Ruggedness ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.31 – 0.76 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) คือ 0.3 – 1.3. ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) ได้ค่า % recovery ของ pendimethalin อยู่ในช่วง 99.1 – 100.0 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10 % ของ AOAC (2016) วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น และประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ pendimethalin เท่ากับ 33 ± 0.71 % W/V ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากผลการทดสอบดังกล่าว พบว่าคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีนี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์วัตถุมีพิษการเกษตรได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ

คำหลัก : ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี สารออกฤทธิ์ เพนดิเมทาลิน

คำนำ

จากสถิติปริมาณการนำเข้าสารกำจัดวัชพืช เพนดิเมทาลิน ระหว่างปี 2560 – 2563 พบว่าปริมาณการนำเข้ามีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี โดยปี 2563 มีการนำเข้าเพนดิเมทาลินสูงเป็นอันดับที่ 8 ของสารกำจัดวัชพืช มีการนำเข้าสูงถึง 1,791,336.41 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 199,529,247.36 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2563)

pendimethalin เป็นสารกำจัดวัชพืชแบบเลือกทำลาย ในกลุ่ม dinitroanilines เป็นสารดูดซึมเข้าทางรากและใบวัชพืช ทำให้วัชพืชตายอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มงอกขณะโผล่พ้นผิวดิน กลไกออกฤทธิ์ต่อส่วนปลายรากของวัชพืช ยับยั้งการสังเคราะห์กรดไขมันสายยาว ส่งผลยับยั้งการแบ่งเซลล์และการยืดตัวของเซลล์ส่วนระบบราก ทำให้ต้นอ่อนวัชพืชชะงักการเจริญและตายก่อนโผล่พ้นผิวดิน ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ pendimethalin (Mohamed, 2019)

กรมวิชาการเกษตรเป็นหน่วยงานหลักในการกำกับดูแล การขึ้นทะเบียน การออกใบสำคัญ การต่ออายุใบสำคัญการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย และการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร โดยกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรมี มีหน้าที่ศึกษา ค้นคว้า วิจัยและพัฒนาระบบและวิธีการตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษทางการเกษตร ตรวจสอบ ทดสอบ พิสูจน์วัตถุอันตราย เพื่อการควบคุมวัตถุอันตรายตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตรายรวมทั้งศึกษาการเสื่อมคุณภาพของวัตถุมีพิษ ตลอดจนให้บริการวิเคราะห์ ตรวจสอบคุณภาพวัตถุอันตรายทางการเกษตร โดยผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรทั้งก่อนและภายหลังการขึ้นทะเบียนต้องมีคุณภาพตรงตามที่แจ้งไว้บนฉลากข้างขวด เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ pendimethalin จึงมีความจำเป็นที่ต้องทำเพื่อเป็นการยืนยันว่าวิธีการทดสอบ pendimethalin มีความน่าเชื่อถือ และเป็นที่ยอมรับได้ในระดับสากล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์/เครื่องมือ

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (Gas Chromatograph, GC) ตัวตรวจวัดที่ใช้คือ Flame Ionization Detector (FID)
2. คอลัมน์ (Column) ชนิด Capillary ภายในเคลือบด้วย 5% phenyl - methylpolysiloxane (HP-5) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม (film thickness) 0.25 ไมโครเมตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ชั่งได้ระดับ 0.1มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
4. เครื่อง Ultrasonic bath
5. ขวดวัดปริมาตรชนิด Type A ขนาด 10 25 50 100 200 500 และ 1,000 มิลลิลิตรที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
6. Auto-pipette ขนาด 1 – 10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
7. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
8. ขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
9. กรวยกรอง

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน pendimethalin 97.34 % W/W
2. ผลิตภัณฑ์สารกำจัดวัชพืช pendimethalin 33 % W/V EC
3. อะซิโตน (Acetone) ชนิด AR grade

วิธีการ

1. การปรับภาวะเครื่อง Gas Chromatograph (GC) ชนิด Flame Ionization Detector (FID) ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ pendimethalin ดังนี้

คอลัมน์ชนิด	:	Capillary ภายในเคลือบด้วย 5% phenyl-methylpolysiloxane (HP-5) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม (film thickness) 0.25 ไมโครเมตร
อุณหภูมิ Injector	:	270 °C
อุณหภูมิ Oven	:	230 °C hole for 6 min
อุณหภูมิ Detector	:	270 °C
Split ratio	:	Split 50 : 1
แก๊สตัวพา	:	แก๊สฮีเลียม (He_2) อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรการฉีดสาร	:	1 ไมโครลิตร
แก๊สจุดเปลวไฟ	:	แก๊สไฮโดรเจน (H_2) อัตราการไหล 45 มิลลิลิตรต่อนาที
	:	Air อัตราการไหล 450 มิลลิลิตรต่อนาที
Make up gas	:	แก๊สไนโตรเจน (N_2) อัตราการไหล 45 มิลลิลิตรต่อนาที

ทดสอบความพร้อมของเครื่อง GC ทุกครั้งก่อนทำการวิเคราะห์ โดยทำการฉีดสารละลายมาตรฐานปริมาณ 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง GC ซ้ำกันหลายๆ ครั้ง จนกระทั่งพื้นที่ใต้ peak ของสารละลายมาตรฐานที่ฉีดติดต่อกันมีความแตกต่างกันไม่เกิน 2% (% RPD)

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ pendimethalin

2.1 ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ชั่งสารมาตรฐาน pendimethalin 97.34 % W/W ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ครอบคลุมช่วงการใช้งาน 6 ความเข้มข้น คือ 0.10 – 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมอะซิโตนประมาณครึ่งขวด ปิดฝา นำไปเขย่าด้วยเครื่องด้วยเครื่อง Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันแบ่งสารละลายตัวอย่าง pendimethalin ใส่ลงในขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง และคำนวณค่า Correlation Coefficient (r) ซึ่งค่า r ต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 0.990

2.2 ตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range)

เลือกความเข้มข้นของสารมาตรฐาน pendimethalin 97.34 % W/W ในช่วงที่เป็นเส้นตรง 6 ความเข้มข้น จากข้อ 2.1 ที่อยู่ใกล้เคียงการใช้งานจริง จากนั้นทำตามขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐานเช่นเดียวกับข้อ 2.1 เพื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง และคำนวณค่า Correlation Coefficient (r) ซึ่งเกณฑ์ยอมรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003)

2.3 ตรวจสอบความเที่ยง (Precision)

2.3.1 ชั่งสารมาตรฐาน pendimethalin 97.34 % W/W ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระดับละ 2 ซ้ำ ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร แบ่งสารละลายตัวอย่างใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

นำตัวอย่าง pendimethalin 33 % W/V EC เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ชั่งตัวอย่างที่ทราบปริมาณแน่นอน ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระดับละ 10 ซ้ำ ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณครึ่งขวด ปิดฝา นำไปเขย่าด้วยเครื่องด้วยเครื่อง Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันแบ่งสารละลายตัวอย่าง pendimethalin ใส่ลงในขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp.}$) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) และประเมินด้วย HORRAT (ทิพวรรณ, 2549 ; AOAC, 2016) โดย HORRAT ต้องมีค่าไม่เกิน 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC, EU และ Codex (ทิพวรรณ, 2549 ; AOAC, 2016)

ประเมิน Precision โดยใช้ HORRAT

$$HORRAT = \%RSD_{exp.} / \%RSD_{Horwitz}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$\%RSD_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$ (สำหรับ repeatability)

$\%RSD_R = 2^{(1-0.5 \log C)}$ (สำหรับ reproducibility)

C = Concentration ratio

เกณฑ์ยอมรับค่า Precision

AOAC (ทิพวรรณ, 2549; AOAC, 2016)	ยอมรับ	HORRAT	<	2
EU, Codex (ทิพวรรณ, 2549)	ยอมรับ	HORRAT	≤	2

2.3.2 Within laboratory repeatability เป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในวันและเวลาต่างกัน โดยชั่งสารมาตรฐาน pendimethalin 97.34 % W/W ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระดับละ 2 ซ้ำ ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมตัวทำละลายจนถึงขีดปริมาตร แบ่งสารละลายตัวอย่างใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

นำตัวอย่าง pendimethalin 33 % W/V EC เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ชั่งตัวอย่างที่ทราบปริมาณแน่นอน ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระดับละ 10 ซ้ำ ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณครึ่งขวด ปิดฝา นำไปเขย่าด้วยเครื่องด้วยเครื่อง Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันแบ่งสารละลายตัวอย่าง pendimethalin ใส่ลงในขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง ($\%RSD_{exp.}$) กับที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) และประเมินด้วย HORRAT (ทิพวรรณ, 2549 ; AOAC, 2016) โดย HORRAT ต้องมีค่าไม่เกิน 2 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC, EU และ Codex (ทิพวรรณ, 2549 ; AOAC, 2016)

ประเมิน Precision โดยใช้ HORRAT

$$HORRAT = \%RSD_{exp.} / \%RSD_{Horwitz}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$\%RSD_r$	=	$0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$	(สำหรับ repeatability)
$\%RSD_R$	=	$2^{(1-0.5 \log C)}$	(สำหรับ reproducibility)
C	=	Concentration ratio	

เกณฑ์ยอมรับค่า Precision

AOAC (ทิพวรรณ, 2549 ; AOAC, 2016)	ยอมรับ	HORRAT	<	2
EU, Codex (ทิพวรรณ, 2549)	ยอมรับ	HORRAT	≤	2

2.4 ตรวจสอบ Robustness และ Ruggedness

วิเคราะห์ตัวอย่าง pendimethalin 33 % W/V เช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 โดยทำการเปลี่ยนเครื่อง GC (ตรวจสอบ Robustness) เปลี่ยนอุณหภูมิของคอลัมน์ในการทดสอบจาก 230 °C เป็น 240 °C เปลี่ยนอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่จาก 2.0 ml/min เป็น 2.2 ml/min และเปลี่ยนทั้งอุณหภูมิของคอลัมน์ในการทดสอบและเปลี่ยนอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ (ตรวจสอบ Ruggedness) คำนวณค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) และประเมินด้วย HORRAT

2.5 ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

2.5.1 เตรียม Strock standard

เตรียมสารละลาย pendimethalin 97.34 % W/W ที่ความเข้มข้น 5.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน pendimethalin 97.34 % W/W ให้ได้น้ำหนักของสารออกฤทธิ์ประมาณ 1027.33 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร นำไปละลายด้วย acetone เทผ่านกรวยกรองสู่ขวดวัดปริมาตรขนาด 200 มิลลิลิตร กลั้วด้วย acetone หลายๆ ครั้ง ปิดฝา นำไปเขย่าด้วยเครื่องด้วยเครื่อง Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรด้วย acetone

3.5.2 เตรียม Strock sample

เตรียมสารละลาย pendimethalin 33 % W/V EC ที่ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งตัวอย่าง pendimethalin 33 % W/V ให้ได้น้ำหนักของสารออกฤทธิ์ประมาณ 1,515.15 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร นำไปละลายด้วย acetone เทผ่านกรวยกรองสู่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร กลั้วด้วย acetone หลายๆ ครั้ง ปิดฝา นำไปเขย่าด้วยเครื่องด้วยเครื่อง Ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรด้วย acetone

3.5.3 เตรียม Original sample

ปิเปต Strock sample จากข้อ 3.5.2 ปริมาตร 6 7.5 และ 9 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวนอย่างละ 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันแบ่งสารละลายตัวอย่าง pendimethalin 33 % W/V ใส่ลงในขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC ได้ค่า F โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานข้อ 2.3.1

3.5.4 เตรียม Fortified sample

ปิเปต Strock sample จากข้อ 3.5.2 ปริมาตร 6 7.5 และ 9 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด ๆ ละ 10 ซ้ำ จากนั้นปิเปตสารละลาย Strock standard จากข้อ 3.5.1 ปริมาตร 2.8 3.5 และ 4.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ อย่างละ 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย acetone เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันแบ่งสารละลายตัวอย่าง pendimethalin ใส่ลงในขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC ได้ค่า F โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานข้อ 2.3.1 และคำนวณค่า % Recovery โดยต้องอยู่ในช่วง 98 - 102 % ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณ 10 % ขึ้นไปของ AOAC (2016)

สูตรการคำนวณหา % Recovery

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(A_{spike} - A_{origin}) \times 100}{A_{add}}$$

A_{spike} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลายตัวออย่างรวมกับสารมาตรฐานที่เติม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

A_{origin} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

A_{add} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่เติมลงในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

3.6 ตรวจสอบ Selectivity และ Specificity

ฉีด Blank solution สารละลายมาตรฐาน และ Sample ของ pendimethalin เข้าเครื่อง GC พิจารณาโครมาโทแกรมดูว่ามีพีคของสารอื่นมารบกวนสารออกฤทธิ์ที่วิเคราะห์หรือไม่

3.7 ตรวจสอบการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการหาปริมาณสาร pendimethalin และรายงานความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.7.1 ขั้นตอนการหาค่าความไม่แน่นอน

1. หาแหล่งที่มาของความไม่นอน
   - เครื่องมือ เช่น ความละเอียดของเครื่องมือ ความเที่ยงของเครื่องมือ
   - สารเคมี เช่น ความบริสุทธิ์ของสารเคมี grade ของสารเคมี
   - วิธีวิเคราะห์
2. หลักการคิดความไม่แน่นอน
   - ความไม่แน่นอนมาตรฐาน (U_x) = $\frac{a}{d}$

     a = ความเบี่ยงเบนมาตรฐานหรือความไม่แน่นอนจากใบรับรองการสอบเทียบ

     d = ตัวหารขึ้นอยู่กับลักษณะการกระจายของข้อมูล
3. การหาความไม่แน่นอนรวม (U_c)
   - กรณีหน่วยวัดเดียวกัน $U_c = \sqrt{U_{x1}^2 + U_{x2}^2 + \cdots + U_{xn}^2}$
   - กรณีหน่วยวัดต่างกันต้องเปลี่ยนค่า U_x จากแต่ละแหล่งให้เป็นความเบี่ยงเบน

     ความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard uncertainty, Ru)

     RU = $\frac{Ux}{X}$

     เมื่อ X = ค่าของ parameter นั้น

     $U_c = C\sqrt{R_{u1}^2 + R_{u2}^2 + \cdots + R_{un}^2}$

เมื่อ C = ผลที่ได้จากการวิเคราะห์

4. การหาความไม่แน่นอนขยาย

   U = $2U_c$
5. รายงานผลการทดสอบตัวอย่าง

   ผลการทดสอบ = C ± U หน่วย

   C = ผลวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

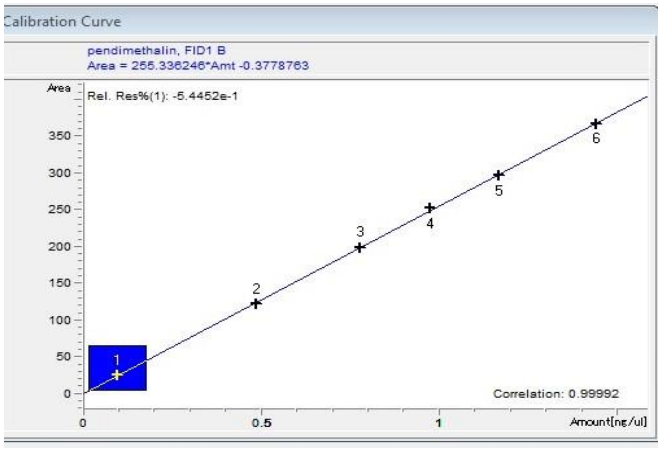
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ เพนดิเมทาลิน (pendimethalin) ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดวัชพืช โดยหาคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ได้แก่ Linearity Working Range Precision Robustness Ruggedness Accuracy Selectivity Specificity และค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ แล้วนำมาหาค่าและประเมินการยอมรับดังนี้

1. ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

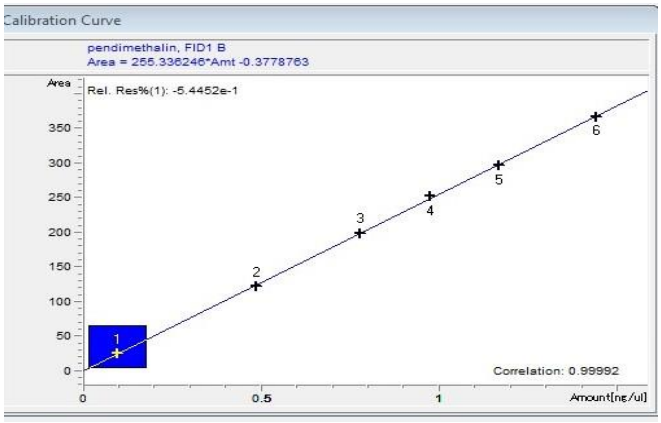
พบว่า pendimethalin ให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.10 – 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.99992 ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของ pendimethalin

2. ตรวจสอบช่วงของการใช้งาน (Working Range)

พบว่า Working Range ของ pendimethalin ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.10 – 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า Correlation Coefficient (r) เท่ากับ 0.99992 ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ตรวจสอบความเป็นเส้นตรงช่วงของการใช้งาน (Working Range) ของ pendimethalin

3. ตรวจสอบความเที่ยง (Precision) สำหรับ Repeatability (n = 10) และ Within laboratory repeatability (n = 10) พบว่า pendimethalin ค่า Precision วิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0.8 1.0 และ 1.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าเฉลี่ยของ pendimethalin อยู่ในช่วง 32.58 – 33.36 % W/V ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation, %RSD) ที่คำนวณได้จากการทดลอง ($\%RSD_{exp.}$) มีค่าน้อยกว่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) ดังนั้นการประเมินด้วย HORRAT ของ pendimethalin มีค่า HORRAT ไม่เกิน 2 (ตารางที่ 1)

อยู่ในเกณฑ์การยอมรับตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และ EU, Codex วิธีวิเคราะห์ pendimethalin ให้ผลการทดสอบ Precision อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ตารางที่ 1 การตรวจสอบ Precision Repeatability (n = 10) และ Within laboratory repeatability (n = 10) ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช	ความเข้มข้น (mg/ml)	Repeatability n = 10				Within laboratory repeatability n = 10			
		mean	$\%RSD_{exp}$	$\%RSD_{horwitz}$	HORRAT	mean	$\%RSD_{exp}$	$\%RSD_{horwitz}$	HORRAT
pendi	0.8	32.99	0.83	2.27	0.36	32.58	0.81	2.27	0.36
methalin	1.0	33.06	0.70	2.27	0.31	33.05	0.72	2.27	0.32
	1.2	33.36	0.70	2.27	0.31	33.15	0.80	2.27	0.35

4. ตรวจสอบ Robustness และ Ruggedness พบว่า pendimethalin วิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าเฉลี่ยของ pendimethalin อยู่ในช่วง 32.58 – 33.59 % W/V ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation,%RSD) ที่คำนวณได้จากการทดลอง ($\%RSD_{exp.}$) มีค่าน้อยกว่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$) ดังนั้นการประเมินด้วย HORRAT ของ pendimethalin มีค่า HORRAT ไม่เกิน 2 (ตารางที่ 2) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC EU และ Codex วิธีวิเคราะห์ pendimethalin ให้ผลการทดสอบ Robustness และ Ruggedness อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ตารางที่ 2 การตรวจสอบ Robustness และ Ruggedness ที่ 3 ระดับความเข้มข้นของเพนดิเมทาลิน

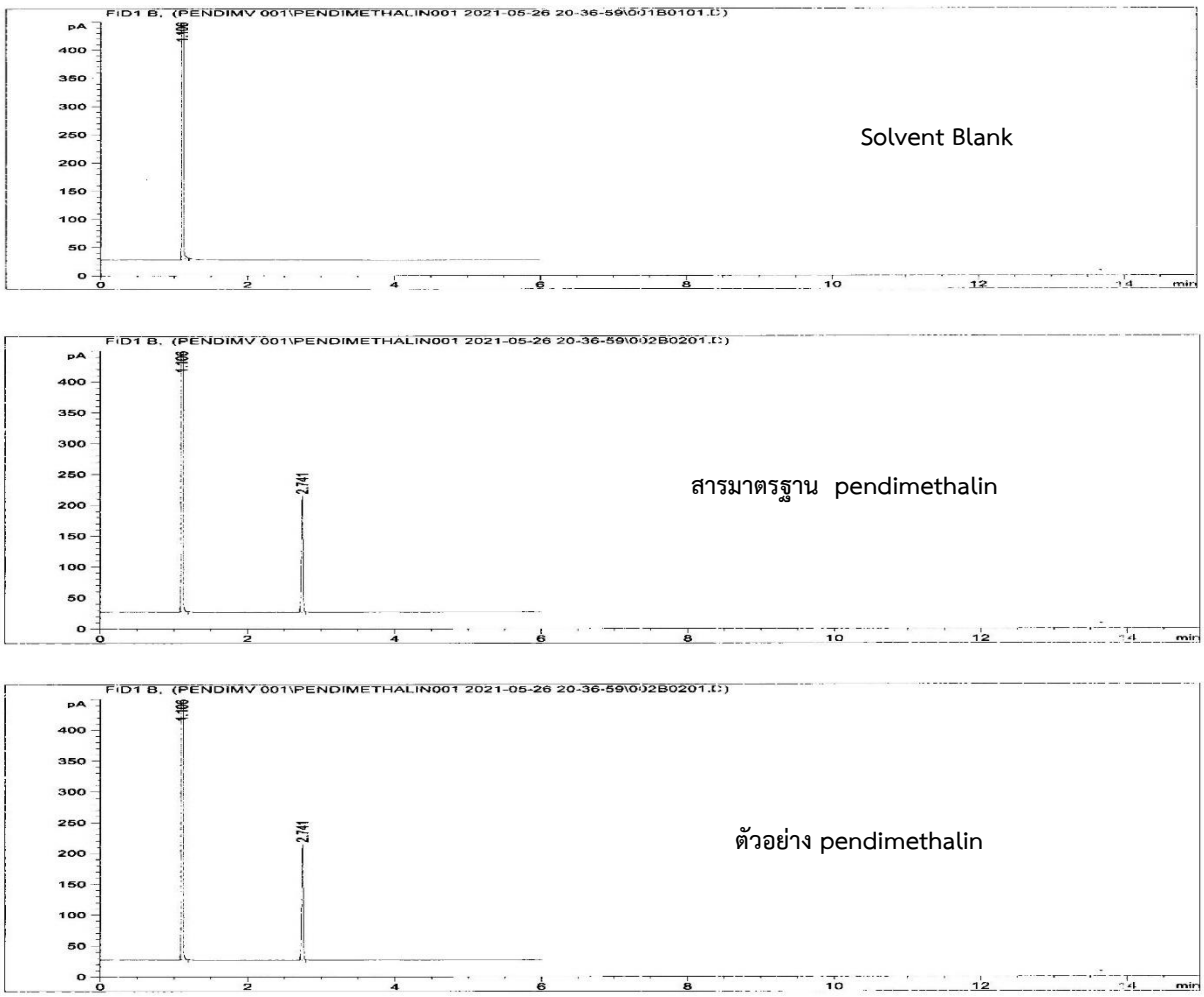
สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช	**Robustness / Ruggedness**					
	สภาวะของเครื่อง	**ความเข้มข้น (mg/ml)**	**mean**	**$\%RSD_{exp}$**	**$\%RSD_{horwitz}$**	**HORRAT**
pendimethalin	เปลี่ยนเครื่อง GC	0.8	32.58	0.81	2.27	0.36
		1.0	33.05	0.72	2.27	0.31
		1.2	33.15	0.80	2.27	0.35
	เปลี่ยนอุณหภูมิของคอลัมน์	0.8	32.67	1.71	2.27	0.76
		1.0	33.29	0.76	2.27	0.34
		1.2	33.06	1.01	2.27	0.45
	เปลี่ยนอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่	0.8	33.10	0.90	2.27	0.40
		1.0	33.11	1.00	2.27	0.44
		1.2	33.59	0.80	2.27	0.35
	เปลี่ยนทั้งอุณหภูมิของคอลัมน์และเปลี่ยนอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่	0.8	33.20	0.93	2.27	0.41
		1.0	33.20	0.93	2.27	0.41
		1.2	33.30	0.87	2.27	0.38

5. ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) โดยหาค่า % Recovery ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไปในสารละลายตัวอย่างมี 3 ระดับความเข้มข้น ระดับละ 10 ซ้ำ พบว่า pendimethalin ค่า Accuracy วิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ % Recovery เท่ากับ 99.5 99.1 และ 100.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับของ AOAC (%Recovery สำหรับสารที่มีความเข้มข้นมากกว่า 10 % คือ 98 – 102)

ตารางที่ 3 การตรวจสอบ Accuracy ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ในตัวอย่าง

ลำดับ	Active ingredient ของ pendimethalin content (mg/ml)								
	Conc. 0.56 mg/ml			Conc. 0.70 mg/ml			Conc. 0.84 mg/ml		
	add	origin	spiked	add	origin	spiked	add	origin	spiked
1	14.0	5.938	19.82	17.5	7.262	24.73	21.0	8.693	29.56
2	14.0	5.670	19.65	17.5	7.103	24.53	21.0	8.675	29.65
3	14.0	5.625	19.59	17.5	7.067	24.33	21.0	8.681	29.91
4	14.0	5.754	19.68	17.5	7.374	24.54	21.0	8.608	29.50
5	14.0	5.423	19.15	17.5	7.282	24.56	21.0	8.865	30.14
6	14.0	5.631	19.39	17.5	6.397	24.03	21.0	8.551	29.22
7	14.0	5.865	19.93	17.5	6.938	24.13	21.0	8.576	29.76
8	14.0	5.606	19.42	17.5	6.958	24.36	21.0	8.567	29.37
9	14.0	5.881	19.92	17.5	7.282	24.60	21.0	8.517	29.48
10	14.0	5.774	19.86	17.5	7.143	24.47	21.0	8.920	30.14
Mean	14.0	5.717	19.64	17.5	7.080	24.43	21.0	8.66	29.67
SD	-	-	0.259	-	-	0.218	-	-	0.313
%Recovery		99.5			99.1			100.0	
%Recovery เฉลี่ย 99.5									

6. ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงโดยฉีด Solvent Blank สารมาตรฐาน pendimethalin และตัวอย่าง pendimethalin พบว่าเป็นวิธีที่สามารถตรวจ pendimethalin ได้ (Selectivity) และมีความจำเพาะเจาะจง (Specificity) เนื่องจาก Chromatogram ของ สารมาตรฐาน มีพีคที่แยกออกจากกันชัดเจน และไม่มีพีคของสารอื่นมารบกวนการวิเคราะห์ ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 Solvent Blank สารมาตรฐาน pendimethalin และ ตัวอย่าง pendimethalin

7. ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์เพนดิเมทาลิน (pendimethalin) ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดวัชพืช พบว่าประมาณค่าของไม่แน่นอนของการทดสอบเป็น 33.0 ± 0.71 % W/V ที่ความเชื่อมั่น 95 % ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงวิธีการคำนวณค่าความไม่แน่นอนของ pendimethalin

แหล่ง	unit	value(X)	ux	Ru(ux/X)	(ux/X)^2
um, balance sample	g	0.076	1.02479E-05	1.348E-04	1.818E-08
us, balance standard	g	0.010	1.02479E-05	1.0248E-03	1.050E-06
u Vol std.	ml	10	2.9073E-02	2.9073E-03	8.452E-06
u Vol sample	ml	25	7.2264E-02	2.8905E03	8.355E-06
u std.	-	0.9734	0.005	5.1366E-03	2.639E-05
repeat	g	33	0.276551	8.3803E-03	7.023E-05
				sum	1.145E-04
				sqrt	1.070E-03
			uc	38.40*sqrt	3.531E-01
			U	uc*2	0.71 %

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์เพนดิเมทาลิน (pendimethalin) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ซึ่งทดสอบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC) ให้ผลการทดสอบที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง จากการตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) พบว่าค่า Linearity และ Working range ให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.10 – 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99992 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003) ตรวจสอบความเที่ยง Repeatability (n = 10) และ Within laboratory repeatability (n = 10) วิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.31 – 0.36 ตรวจสอบ Robustness/Ruggedness ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.31 – 0.76 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) คือ 0.3 – 1.3. ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) ได้ค่า % recovery ของ pendimethalin อยู่ในช่วง 99.1 – 100.0 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10 % ของ AOAC (2016) วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น และประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ pendimethalin เท่ากับ 33 ± 0.71 % W/V ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากผลการทดสอบดังกล่าว พบว่าคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีนี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์วัตถุมีพิษการเกษตรได้อย่างถูกต้องและอยู่ในเกณฑ์กำหนด

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำวิธีการทดสอบที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานเพื่อใช้ในการยื่นขอการรับรองห้องปฏิบัติการหรือขอขยายขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2017 สำหรับห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตร ทั้งในส่วนกลางและส่วนภูมิภาค

2. ใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจสอบคุณภาพวัตถุอันตรายทางการเกษตรให้กับ บริษัท ห้างร้าน ที่ขออนุญาตการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตรกับกรมวิชาการเกษตร เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ฯ ทั้งก่อนและภายหลังจากได้รับการอนุญาตให้จำหน่ายในท้องตลาด และให้เกษตรกรได้ใช้ผลิตภัณฑ์ฯ ที่มีคุณภาพสามารถนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

AOAC official methods of analysis. 2016. Guidelines for standard method performance requirements Appendix F, p. 9-14

CIPAC. (2003). Guidelines on method validation to be performed in support of analytical methods for agrochemical formulations. CIPAC. (2003).

Mohamed, A.A., 2019. Evaluation of the Effectiveness of Some Herbicides in the Growth and Yield of Maize (*Zea mays* L.) and Associated Weed. Ph.D. Mosul University.

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2563. “10 อันดับ การนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี 2563 โดยปริมาณ สารกำจัดวัชพืช”. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา https://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2021/01/10-อันดับ-การนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร-pdf

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ฟลูซิลาโซล (flusilazole) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

Method Validation for Determination the Active Ingredients Flusilazole in Pesticide Products

ดวงรัตน์ วิลาสินี *พินิตนันต์ สรวยเอี่ยม*

Duangrat Wilasinee *Pinitnun Sruay-iam*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Method validation study of flusilazole, the active ingredients in pesticide products for emulsifiable concentrate formulations, was developed by gas chromatography with flame ionization detector (FID). This method used the capillary column coated with 5% phenyl methyl siloxane had a diameter of 0.32 mm and a length of 30 m with 0.25 µm film thickness and He gas was used for carrier gas. The results were found that the working concentration range and linearity range of flusilazole were 0.3 – 1.8 mg/ml with the correlation coefficient (r) > 0.990 which had accepted with limit of the correlation coefficient (r) ≥ 0.990. The precision of HORRAT values for repeatability were in the range of 0.38 – 0.69. The HORRAT values tested with robustness and ruggedness of flusilazole was in the range of 0.41 – 1.25 which were followed by the AOAC due to their 0.3-1.3. The accuracy of this method was assessed by recovery studied. The percent recoveries of flusilazole was in the range of 99.88 – 100.92 considered an acceptance by the AOAC (98-102) for analytical concentrations more than 10%. This specific method did not have interference from other substances. The measured uncertainty of flusilazole was 40.32 ±0.45 %W/V EC at 95% confidence level. As a result, it was the performance characteristics of this method according to the criteria. The developed method, therefore, could be used to determine in pesticide products with accuracy and precision.

Keywords : flusilazole, method validation, pesticide

บทคัดย่อ

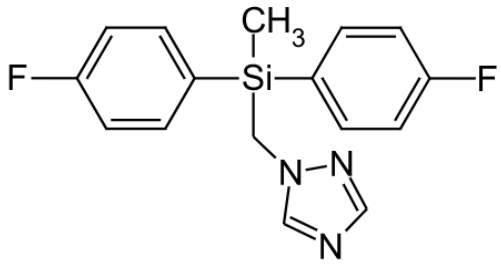
จากการศึกษาการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ ฟลูซิลาโซล (flusilazole) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันและกำจัดศัตรูพืช เป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas-Chromatography, GC) ชนิด Flame Ionization detector (FID) ใช้คอลัมน์ชนิด Capillary ภายในเคลือบด้วย 5%Phenyl Methyl Siloxane (HP-5) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร โดยมีก๊าซ He เป็นตัวพา จากผลการทดสอบพบว่าช่วงของการวัด (Working range) และค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.3 – 1.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) มากกว่า 0.990 ซึ่งเกณฑ์ยอมรับค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ≥ 0.990 การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) แบบ Repeatability ค่า HORRAT ของ flusilazole อยู่ในช่วง 0.38 – 0.69 ตรวจสอบ Robustness และ Ruggedness ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.41 – 1.25 ซึ่งไม่เกิน 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) จากค่าเปอร์เซ็นต์ recovery ของแต่ละความเข้มข้นอยู่ในช่วง 99.88 – 100.92 ซึ่งอยู่ในช่วง 98-102

ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น และประมาณค่าความไม่แน่นอนของ flusilazole เท่ากับ 40.32 ±0.45 %W/V EC ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ จากผลการทดสอบดังกล่าว พบว่าคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีที่พัฒนานี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์วัตถุมีพิษการเกษตรได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

คำหลัก : ฟลูซิลาโซล การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

คำนำ

ฟลูซิลาโซล (flusilazole) มีชื่อ IUPAC คือ bis(4-fluorophenyl)(methyl)(1*H*-1,2,4-triazole-1-ylmethyl)silane; 1-[[bis(4-fluorophenyl)(methyl)silyl]methyl]-1*H*-1,2,4-triazole สูตรโมเลกุลคือ $C_{16}H_{15}F_2N_3Si$ น้ำหนักโมเลกุล 315.4 g mol^{-1} เป็นยาฆ่าเชื้อรา ประโยชน์ใช้ในการควบคุมการติดเชื้อราในพืชผักและผลไม้หลากหลายชนิด ป้องกันและรักษาโรคราแป้ง โรคกุ้งแห้ง โรคแอนแทรคโนส โรคผลแตก โรคใบจุด ใบจุดดำ โรคราเขม่าดำ โรคใบจุดสีม่วง โรคกาบใบแห้ง โรคเมล็ดด่าง ใช้ได้ในกับพืชที่ปลูก เช่น หอม กระเทียม หองหัวใหญ่ ข้าว พริก องุ่น ถั่วฝักยาว ผักกาดขาวปลี ลำไย มะม่วง พืชผักต่างๆ และพิชตระกูลถั่ว กุหลาบ เบญจมาศ ไม้ดอกและไม้ประดับทั่วไป (BCPC, 2006)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้าง ฟลูซิลาโซล (flusilazole)

ในการพัฒนาวิธีการทดสอบ Flusilazole จึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารดังกล่าว โดยศึกษาคุณลักษณะต่างๆ ได้แก่ ช่วงของการวัด (Working range) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linerarity) ความแม่นยำ (Precision) ความถูกต้อง (Accuracy) และความจำเพาะเจาะจง(Specificity/Selectivity) (Eurachem, 2014; SANCO/3030/99 rev. 4, 2000) รวมถึงการคำนวณค่าความไม่แน่นอนของวิธีการทดสอบ (Eurachem, 2012) เพื่อเป็นการตรวจสอบว่าวิธีวิเคราะห์ที่กำหนดขึ้นมานั้นให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector
2. คอลัมน์ชนิด Capillary ภายในเคลือบด้วย 5%Phenyl Methyl Siloxane (HP-5) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ชั่งได้ระดับ 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
4. Ultrasonic bath
5. ขวดวัดปริมาตรชนิด type A ขนาด 10 25 100 250 500 และ1000 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบ
6. ปิเปตชนิด type A ขนาด 1 2 3 4 5 และ 10 มิลลิลิตร Auto pipette ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
7. บีกเกอร์ ขนาด 50 100 250 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน ฟลูซิลาโซล (flusilazole) 97.0 %
2. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ฟลูซิลาโซล (flusilazole) 40 %W/V EC
3. Acetone ชนิด AR grade

วิธีการ

1. การปรับภาวะเครื่อง Gas Chromatograph ชนิด Flame Ionization Detector (GC-FID) ดังนี้

1.1 สภาวะสำหรับวิเคราะห์สารฟลูซิลาโซล (flusilazole)

คอลัมน์ชนิด	:	Capillary คอลัมน์ภายในบรรจุด้วย 5% Phenyl Methyl Siloxane (HP-5) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร			
อุณหภูมิ injector	:	260	องศาเซลเซียส		
อุณหภูมิ oven	:	250	องศาเซลเซียส		
อุณหภูมิ detector	:	260	องศาเซลเซียส		
Split ratio	:	50 : 1			
Injection volume	:	1.0	ไมโครลิตร		
ก๊าซตัวพา	:	He	อัตราการไหล	2	มิลลิลิตรต่อนาที
ก๊าซจุดเปลวไฟ	:	H_2	อัตราการไหล	40	มิลลิลิตรต่อนาที
	:	Air	อัตราการไหล	450	มิลลิลิตรต่อนาที
Make up gas	:	N_2	อัตราการไหล	40	มิลลิลิตรต่อนาที

ทดสอบความพร้อมของเครื่อง GC ทุกครั้งก่อนทำการวิเคราะห์ โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานปริมาณ 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง GC ซ้ำกันหลาย ๆ ครั้งจนกระทั่งพื้นที่ใต้ peak ของสารละลายมาตรฐานที่ฉีดติดต่อกัน %RSD มีความแตกต่างกันไม่เกิน 2%

2. ตรวจสอบช่วงของการวัด(Working range)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน flusilazole 6 ความเข้มข้น ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ได้แก่ 0.3 0.8 1.0 1.2 1.5 1.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric Flask ขนาด 10 มิลลิลิตรแล้ว เติม acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าใน Ultrasonic bath 5-10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม acetone จนถึงขีดปริมาตรเขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตรเพื่อฉีดสารละลายเข้าเครื่อง Gas Chromatograph (GC) ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector ที่ทำการกำหนดสภาวะดังข้อ 1 แล้วนำมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน flusilazole (แกนx) กับ response (แกนy) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยคำนวณค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.990 (CIPAC No.3807, 2003)

3. ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน flusilazole 6 ความเข้มข้น ครอบคลุมช่วงที่ใช้งาน ได้แก่ 0.3 0.8 1.0 1.2 1.5 1.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric Flask ขนาด 10 มิลลิลิตรแล้ว เติม acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าใน Ultrasonic bath 5-10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม acetone จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตรเพื่อฉีดสารละลายเข้าเครื่อง Gas-Chromatograph (GC) ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector ที่ทำการกำหนดสภาวะดังข้อ 1

สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน flusilazole (แกน x) กับ response (แกน y) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยคำนวณค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.990 (CIPAC No.3807, 2003)

4. ตรวจสอบความแม่นยำ(Precision)

4.1 ตรวจสอบความแม่นยำ Repeatability

ตรวจสอบ Precision แบบ Repeatability ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกัน

ชั่งผลิตภัณฑ์ flusilazole 40 %W/V EC ที่เขย่าให้เข้ากันแล้ว 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.5 1.0 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่ใช้งานจริง อย่างละ 10 ซ้ำ ใส่ขวดปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณครึ่งขวด เขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 5 -10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย acetone จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดสารละลายเข้าเครื่อง Gas Chromatograph (GC) ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector ที่ทำการกำหนดสภาวะดังข้อ 1 วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ flusilazole เทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานแบบ 2 ซ้ำ (duplicate) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้งานจริง คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดยพิจารณาตาม AOAC ต้องได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.3-1.3 (AOAC, 2016)

คำนวณ % RSD ตามสูตร $\%\ RSD = \frac{SD}{\overline{X}} \times 100$

ประเมิน precision โดยใช้ HORRAT (ทิพวรรณ, 2549)

$$HORRAT = \frac{RSD\ experimental}{Predicted\ Horwitz\ RSD}$$

4.2 ตรวจสอบความแม่นยำ Robustness/Ruggedness

วิเคราะห์ตัวอย่าง flusilazole เช่นเดียวกันกับข้อ 4.1 โดยทำการเปลี่ยนสภาวะในการวิเคราะห์ ดังนี้

4.2.1 ทำการเปลี่ยน flow rate จาก 2.0 mL/min เป็น 1.8 mL/min

4.2.2 ทำการเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์จาก 250 ºC เป็น 240 ºC

4.2.3 ทำการเปลี่ยน flow rate และอุณหภูมิคอลัมน์

4.2.4 วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ และการคำนวณค่า HORRAT ประเมินค่า HORRAT โดยพิจารณาตาม AOAC ต้องได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.3-1.3 (AOAC, 2016)

5.ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

5.1 เตรียม Stock standard

เตรียมสารละลายมาตรฐาน flusilazole 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงใน volumetric flask 500 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติม acetone จนถึงขีดปริมาตร

5.2 เตรียม Stock sample

เตรียมสารละลายตัวอย่าง flusilazole 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงใน volumetric flask 1,000 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติม acetone จนถึงขีดปริมาตร

5.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานให้ครอบคลุมช่วงใช้งาน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานแบบ 2 ซ้ำ (duplicate) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้งานจริง ลงใน volumetric flask 10 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณครึ่งขวด ปิดจุก นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติม acetone จนถึงขีดปริมาตร แบ่งสารละลายตัวอย่างใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่อง GC

5.4 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Origin

ปิเปตสารสารละลาย Stock sample ข้อ 5.2 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย acetone จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งสารละลายใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดสารละลายเข้าเครื่อง GC โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานข้อ 5.3 เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่แน่นอน

5.5 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Spike

ปิเปตสารสารละลาย Stock sample ข้อ 5.2 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด ชุดละ 10 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลาย Stock standard ปริมาตร 4.0, 5.0 และ 6.0 มิลลิลิตร อย่างละ 10 ซ้ำ ปรับปริมาตรด้วย acetone จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งสารละลายใส่ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดสารละลายเข้าเครื่อง GC โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานข้อ 5.3

5.6 ประเมินค่า Accuracy จากค่า % recovery ดังนี้

$$\% \text{ Recovery} = (C_{spike} - C_{origin}) \times 100 / C_{add}$$

C_{spike} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย Spike

C_{origin} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย Origin

C_{add} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่เติมลงในสารละลาย Spike

6. การหา Specificity / selectivity

ทดลองโดยฉีดสารมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างของ flusilazole เข้าเครื่อง Gas Chromatograph (GC) ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector ที่ทำการกำหนดสภาวะดังข้อ 1 เพื่อดูว่ามีสารอื่นแปลกปลอม มารบกวนสารออกฤทธิ์ flusilazole หรือไม่

7. การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กลุ่มสารกำจัดวัชพืชในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช flusilazole

ประเมินที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทิพวรรณ, 2549)

ระยะเวลา ตุลาคม 2562 – กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาช่วงของการวัด(Working range) และ ช่วงความเป็นเส้นตรง(Linearity)

ตรวจสอบช่วงของการวัด (Working range) และ ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) พบว่าช่วงของการวัดและช่วงความเป็นเส้นตรง ของ flusilazole อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.3 – 1.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า correlation coefficient (r) = 0.9991 และ 0.9992 ตามลำดับ ซึ่งเกณฑ์การยอมรับค่า correlation coefficient (r) ≥ 0.990

2. การตรวจสอบความเที่ยง (Precision)

การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) สำหรับ Repeatability ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า flusilazole ได้ค่าเฉลี่ย (mean) 40.56 40.32 40.59 %W/W ตามลำดับ ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 0.938 0.573 0.862 ตามลำดับ และประเมินด้วย HORRAT ได้ค่าเป็น 0.62 0.38 0.57 ตามลำดับ และทดสอบ Repeatability ชุดที่ 2 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าเฉลี่ย (mean) เท่ากับ 40.29 40.36 40.72 %W/W ตามลำดับ ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 0.606 0.642 1.04 ตามลำดับ และประเมินด้วย HORRAT ได้ค่าเป็น 0.40 0.42 0.69 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) โดย HORRAT ต้องมีค่า 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC วิธีวิเคราะห์ flusilazole ให้ผลการทดสอบ Precision อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความเที่ยงแบบ repeatability ของวิธีวิเคราะห์ flusilazole 40 %W/V EC ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

Repeatability (n=10)	**0.5 mg/ml**	**1.0 mg/ml**	**1.5 mg/ml**
mean (%W/W)	40.56	40.32	40.59
%RSD	0.938	0.573	0.862
HORRAT	0.62	0.38	0.57
Repeatability ชุดที่ 2 (n=10)			
mean (%W/W)	40.29	40.36	40.72
%RSD	0.606	0.642	1.04
HORRAT	0.40	0.42	0.69

การตรวจสอบความคงทนของวิธี (Robustness/Ruggedness) ของการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ flusilazole โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเครื่อง 3 ปัจจัย ดังนี้ ปัจจัยที่ 1 ทดสอบโดยการปรับภาวะของเครื่อง GC-FID โดยเปลี่ยน flow rate จาก 2.0 ml/min เป็น 1.8 ml/min ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พบว่าได้ค่าเฉลี่ย (mean) เท่ากับ 39.88 39.65 40.72 %W/W ตามลำดับ ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RSD) 0.619 0.355 1.858 ตามลำดับ และ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.41 0.59 และ 1.23 ปัจจัยที่ 2 ทดสอบโดยการปรับสภาวะของเครื่อง GC-FID โดยเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์จากอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็น อุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น เข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พบว่าได้ค่าเฉลี่ย (mean) เท่ากับ 39.58 39.82 39.71 %W/W ตามลำดับ ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RSD) 0.801 1.276 1.899 ตามลำดับ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.53 0.84 และ 1.25 และปัจจัยที่ 3 ทดสอบโดยการปรับภาวะของเครื่อง GC-FID โดยเปลี่ยน flow rate จาก 2.0 ml/min เป็น 1.8 ml/min และปรับสภาวะของเครื่อง GC-FID โดยเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์จากอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็น อุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น เข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พบว่าได้ค่าเฉลี่ย (mean) เท่ากับ 39.95 39.82 40.05 %W/W ตามลำดับ ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RSD) 0.424 1.241 0.855 ตามลำดับ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.70 0.82 และ 0.56 (ตารางที่ 2) ซึ่งผลการทดสอบผ่านเกณฑ์การยอมรับ โดยพิจารณา

ตาม AOAC ต้องได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.3 – 1.3 วิธีวิเคราะห์ flusilazole ให้ผลการทดสอบ Robust/Ruggedness อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ตารางที่ 2 การตรวจสอบ Robustness/Ruggedness ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช flusilazole 40 %WV EC

	0.5 mg/ml	**1.0 mg/ml**	**1.5 mg/ml**
<u>ปัจจัยที่ 1</u> ทดสอบโดยการปรับสภาวะของเครื่อง GC-FID โดยเปลี่ยน flow rate ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น (n=10)			
mean (%W/W)	39.88	39.65	40.72
%RSD	0.619	0.355	1.858
HORRAT	0.41	0.59	1.23
<u>ปัจจัยที่ 2</u> ทดสอบโดยการปรับสภาวะของเครื่อง GC-FID โดยเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น (n=10)			
mean (%W/W)	39.58	39.82	39.71
%RSD	0.801	1.276	1.899
HORRAT	0.53	0.84	1.25
<u>ปัจจัยที่ 3</u> ทดสอบโดยการปรับสภาวะของเครื่อง GC-FID โดยเปลี่ยน flow rate และ อุณหภูมิคอลัมน์ ทำการทดสอบที่ 3 ระดับความเข้มข้น (n=10)			
mean (%W/W)	39.95	39.82	40.05
%RSD	0.424	1.241	0.855
HORRAT	0.70	0.82	0.56

3. ผลการศึกษาความถูกต้อง (Accuracy)

ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) โดยหาค่า %Recovery พบว่า ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในสารละลายตัวอย่างมี 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระดับละ 10 ซ้ำ ค่า %Recovery ของ flusilazole เท่ากับ 100.92 100.92 และ 99.88 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 98 - 102 % ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC ดังนั้นวิธีวิเคราะห์นี้สามารถนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ได้อย่างถูกต้อง

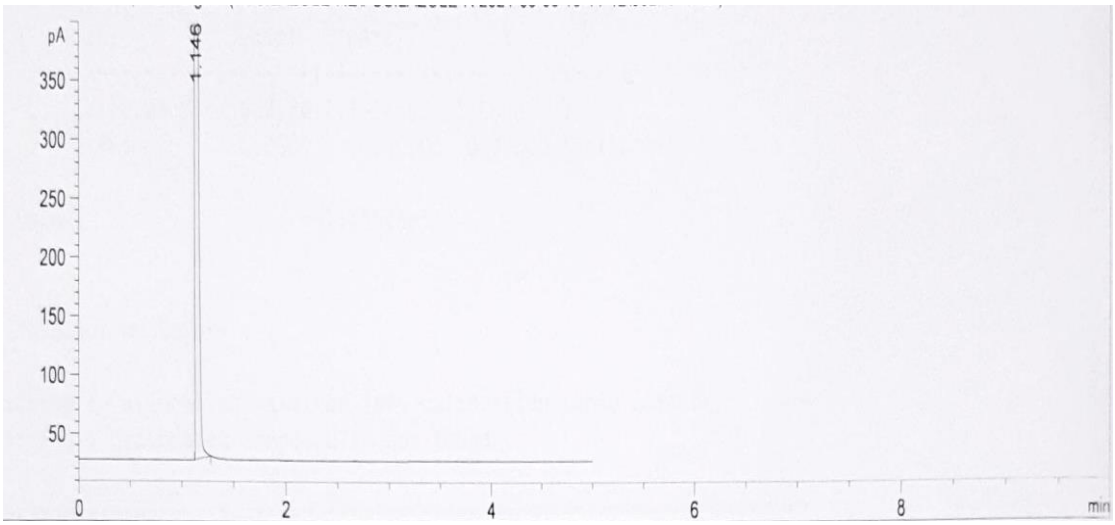
ตารางที่ 3 ความเข้มข้นสารละลาย Origin

ลำดับ	flusilazole a.i. content (mg/ml)		
	Origin for Conc. 0.8 mg/ml	Origin for Conc. 1.0 mg/ml	Origin for Conc. 1.2 mg/ml
1	0.2036	0.2211	0.2054
2	0.2039	0.2200	0.2044
3	0.2022	0.2217	0.2009
4	0.2020	0.2195	0.2010
5	0.1998	0.2156	0.1993
6	0.2027	0.2157	0.1979
7	0.2008	0.2146	0.2042
8	0.2034	0.2139	0.1997
9	0.2034	0.2228	0.2039
10	0.2043	0.2209	0.1998
Mean	0.2026	0.2186	0.2016
SD	0.0014	0.0033	0.0026
%RSD	0.7070	1.5024	1.2909

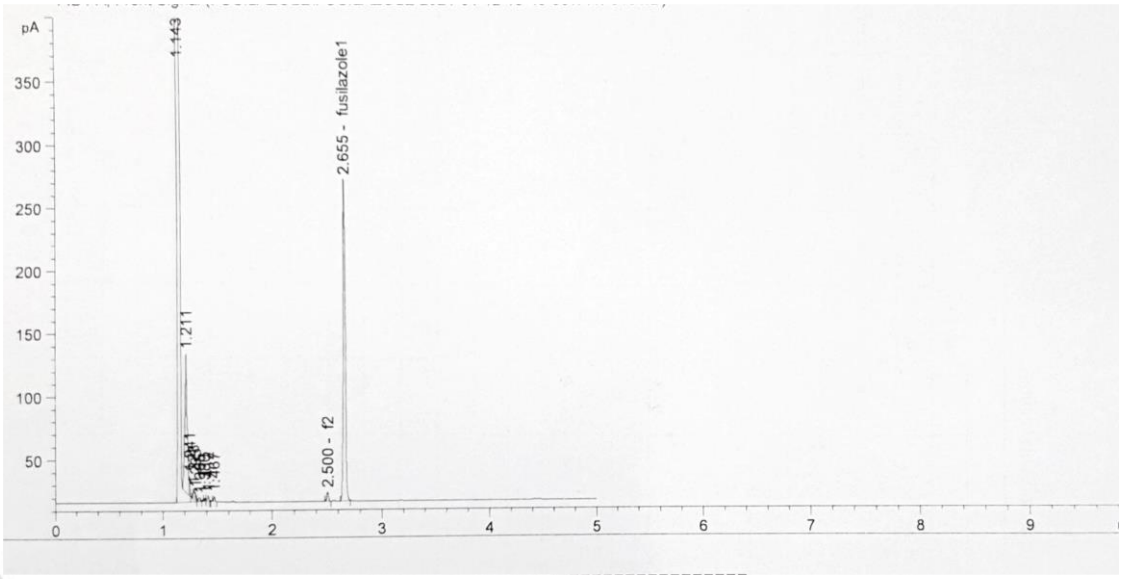
ตารางที่ 4 ตรวจสอบ % Recovery ของ flusilazole

ลำดับ	flusilazole a.i. content (mg/ml)					
	Conc. 0.8		Conc. 1.0		Conc. 1.2	
	Origin=0.2026	Add=1.000	Origin=0.2186	Add=1.200	Origin=0.2016	Add=1.400
	result	%Recovery	result	%Recovery	result	%Recovery
1	1.0124	101.23	1.2285	100.99	1.4145	101.08
2	1.0114	101.10	1.2351	101.65	1.4169	101.28
3	1.0157	101.64	1.2278	100.92	1.4029	100.11
4	0.9953	99.09	1.2157	99.71	1.4100	100.70
5	1.0122	101.20	1.2252	100.66	1.3977	99.68
6	1.0124	101.23	1.2179	99.93	1.3891	98.96
7	1.0082	100.70	1.2250	100.64	1.3784	98.07
8	1.0111	101.06	1.2371	101.85	1.4038	100.189
9	1.0142	101.45	1.2278	100.92	1.3945	99.41
10	1.0064	100.48	1.2376	101.90	1.3935	99.33
Mean	1.0099	100.92	1.2278	100.92	1.4001	99.88
SD	0.0058	0.7240	0.0074	0.7419	0.0119	0.9945
%RSD	0.5735	0.7174	0.6042	0.7351	0.8523	0.9957

4. ผลการศึกษา Specificity / selectivity



ภาพที่ 2 Chromatogram ของ Solvent Blank



ภาพที่ 3 Chromatogram ของฟลูซิลาโซล (flusilazole)

จากการฉีด solvent blank และสารละลายตัวอย่าง flusilazole เข้าเครื่อง GC-FID พบว่า โครมาโทรแกรมของ solvent blank และสารตัวอย่าง flusilazole ไม่มี peak อื่นใดมารบกวน peak ของ flusilazole ตามภาพที่ 2 และภาพที่ 3 ตามลำดับ แสดงว่าวิธีนี้มี Specificity และ selectivity ที่ดี

5. การประมาณค่าความไม่แน่นอน

ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการหาปริมาณสารออกฤทธิ์กลุ่มสารกำจัดวัชพืชในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช flusilazole พบว่าประมาณค่าความไม่แน่นอนเป็น 40.32 ±0.45 %W/V EC ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Mill, J.N. and Mill, J.C., 2005; Eurachem, 2012)

ตารางที่ 5 แสดงรายละเอียดจากแหล่งข้อมูลทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์หาความไม่แน่นอนรวม (u_c)

แหล่งข้อมูล	Unit	Value (x)	u_x	Ru (u_x/x)	Ru^2
u_m,balance sample	g	0.010	7.7782×10^{-6}	7.7782×10^{-4}	6.0500×10^{-7}
u_s,balance std.	g	0.050	7.7782×10^{-6}	1.5556×10^{-4}	2.4200×10^{-8}
$u_{vol.std}$	ml	10	2.9073×10^{-2}	2.9073×10^{-3}	8.4524×10^{-6}
$u_{vol.samp}$	ml	25	7.2264×10^{-2}	2.8905×10^{-3}	8.3552×10^{-6}
u_{std}	g	0.970	1.5000×10^{-3}	1.5464×10^{-3}	2.3913×10^{-6}
u_{Repeat}	g	40.32	1.3337×10^{-1}	3.3077×10^{-3}	1.0941×10^{-5}
$u_{density}$	-	1.000	5.8000×10^{-5}	5.7942×10^{-5}	3.3573×10^{-9}

$$U_c = 40.32\sqrt{(6.0500 \times 10^{-7}) + (2.4200 \times 10^{-8}) + (8.4524 \times 10^{-6}) + (8.3552 \times 10^{-6}) + (2.3913 \times 10^{-6}) + (1.0941 \times 10^{-5}) + (3.3573 \times 10^{-9})}$$

u_c = 0.2237%

6.5 การหาค่าความไม่แน่นอนขยาย (U)

$U = 2 \times u_c$

$= 2 \times 0.2237\%$

$= 0.45\%$

สรุปผลการทดลอง

ผลของการศึกษาการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรฟลูซิลาโซล (flusilazole) โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector ที่ทำการกำหนดสภาวะต่างๆ เพื่อพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีด้วยการหาคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ได้แก่ ช่วงของการวัด (Working range) และค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) ในช่วงความเข้มข้น 0.3 – 1.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า r เท่ากับ 0.9991 และ 0.9992 ตามลำดับ ซึ่งเกณฑ์ยอมรับค่า r ≥ 0.990 ตรวจสอบความเที่ยง (Precision) แบบ Repeatability ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 flusilazole ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.38 – 0.69 ตรวจสอบ Robustness และ Ruggedness ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.41 – 1.25 ซึ่งอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC และตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy) จากค่าเปอร์เซ็นต์ recovery เฉลี่ยของ flusilazole แต่ละความเข้มข้นอยู่ในช่วง 99.88 – 100.92 ซึ่งอยู่ในช่วง 98 - 102 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC และวิธีการทดสอบ flusilazole นี้มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น การประมาณค่าความไม่แน่นอนเท่ากับ 40.32 ±0.45 %W/V EC ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากผลการทดสอบดังกล่าว พบว่าคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีที่พัฒนานี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตรได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สร้างความน่าเชื่อถือแก่ผลการทดสอบ อีกทั้งเป็นที่ยอมรับในระดับสากล และสามารถนำไปขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามระบบ ISO/IEC 17025 ได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเพื่อการควบคุมคุณภาพวัตถุอันตรายทางการเกษตรตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535
2. สามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ที่เผยแพร่แก่ห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐและเอกชนได้อย่างเป็นที่น่าเชื่อถือ
3. ใช้ยื่นขอขยายขอบข่ายการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ตามระบบ ISO / IEC 17025

เอกสารอ้างอิง

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. ***แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว.*** กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

AOAC. 2016, Guidelines for Standard Method Performance Requirements. AOAC INTERNATIONNAL 2016. Available Source: http://www.eoma.aoac.org. April 1, 2017.

BCPC: The e-Pesticide Manual. [CD-ROM]. (Thirteenth Edition) Version 3.0 BCPC. (British Crop Protection Council), 2006.

Eurachem/ CITAC Guide CG 4. 2012. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3rd ed. Available Source: https://www.eurachem.org. April 1, 2017.

Eurachem Guide. 2014. The Fitness for Purpose of analytical Method A Laboratory Guide to method Validation and Related Topics. 2nd ed. Eurachem. Available Source: https://www.eurachem.org. April 1, 2017.

Guidelines on method validation to be performed in support of analytical method for agrochemical formulations. 2003. This document is a transcript - with errata corrected of the printed. CIPAC No. 3807. Available Source: https://www.cipac.org/images/pdf/validat.pdf. April 1, 2017.

Mill, J.N. and Mill, J.C. Statistics and chemometrics for analytical chemical. 5th Ed. Pearson Education Limited. England, 2005.

SANCO/3030/99 rev. 4 (2000). European Commission Directorate General for Health and Consumer Affairs. Technical Material and Preparations: Guidance for generating and reporting methods of analysis in support of pre- and post-registration data requirements for Annex II (part A, Section 4) and Annex III (part A, Section 5) of Directive 91/414. Working document, 11th July 2000. Available Source: https://www. ec.europa.eu. July 9, 2015

การศึกษาร่วมกันในวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์อะมีทรีน (ametryn) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร

Collaborative Study for Determination the Active Ingredients ametryn in Pesticide Products

พิเชษฐ์ ทองละเอียด พินิตนันต์ สรวยเอี่ยม สุกัญญา คำคง ภัทรฤทัย คมน์ณัฐ นงพะงา โอลเสน [1] สุธินี สาสีลัง [2] สุภาพร บ้งพรม [3] มณฑาทิพย์ อรุณวรากรณ์ [4] ประไพ หงษา [5] นิกร โคตรสมบัติ [6] สาวิตรี เขมวงศ์ [7]

Pichet Tongla-eard Pinitnun Sruay-iam Sukanya Khomkong Phatruethai Kumnat Nongpanga Olsen [1] Sutinee Saseelung [2] Supapron Bongprom[3] Montatip Arunwarakorn [4] Prapai Hongsa [5] Nikorn Kotsombate [6] Sawitri Khemvong [7]

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The collaborative study of ametryn in pesticide product. The method was adapted some parameter from CIPAC Handbook vol. H. This method was determined by GC-FID using Capillary column HP-5. This procedure was the first step from join up the participating laboratories, homogeneity testing, stability test and document that the procedure was the same step for 2 days. Finally was evaluated of the test results of the participating laboratories with outlier statistic by Cochran's test, Grubbs' test and HORAAT. The results from 16 participating laboratories of ametryn 80%WP (WP1, WP2), ametryn 80%WG (WG1, WG2) and ametryn 50%W/V SC (SC1, SC2). The test results of all 16 participating laboratories had HORRAT values 0.67-1.15 acceptance criteria of 0.5-2.0 based on AOAC (2016). The results obtained in this parameter was acceptable. This method can be used as a standard method of Department of Agriculture.

Keywords : collaborative study

[1] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1
[1] Office of Agricultural Research and Development Region 1
[2] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2
[2] Office of Agricultural Research and Development Region 2
[3] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4
[3] Office of Agricultural Research and Development Region 4
[4] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5
[4] Office of Agricultural Research and Development Region 5
[5] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6
[5] Office of Agricultural Research and Development Region 6
[6] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7
[6] Office of Agricultural Research and Development Region 7
[7] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8
[7] Office of Agricultural Research and Development Region 8

บทคัดย่อ

การศึกษาร่วม Collaborative study ในวิธีวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ametryn เป็นการพัฒนาร่วมกันเพื่อศึกษาวิธีการทดสอบที่ดัดแปลงวิธีบางประการจากวิธีมาตรฐาน CIPAC Handbook Vol. H โดยวิธีที่ทำการร่วมศึกษาใช้เทคนิค GC-FID ด้วยแคปปิลารี่คอลัมน์ HP-5 ขั้นตอนการร่วมศึกษาโดยทำการรับสมัครห้องปฏิบัติการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและการคงตัวของผลิตภัณฑ์ จัดส่งตัวอย่างทดสอบและเอกสารให้กับห้องปฏิบัติการซึ่งทำทดสอบขั้นตอนเดิมเป็นเวลา 2 วัน การประเมินผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วม ด้วยการตรวจสอบค่า Outlier โดยใช้สถิติ Cochran's test, Grubbs' test และค่า HORRAT ผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการ 16 แห่งที่เข้าร่วมของ ametryn 80 %WP (WP1, WP2), ametryn 80 %WG (WG1, WG2) และ ametryn 50 %W/V SC (SC1, SC2) ผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการ 16 แห่งที่เข้าร่วมทุกห้องปฏิบัติการมีค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.67-1.15 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) มีเกณฑ์ยอมรับอยู่ที่ 0.5-2.0 ซึ่งแต่ละสูตรความเข้มข้นผ่านเกณฑ์ยอมรับ จึงสามารถนำวิธีทดสอบ ametryn ที่ผ่านการร่วมศึกษาใช้เป็นวิธีมาตรฐานการทดสอบของกรมวิชาการเกษตรได้

คำหลัก : การศึกษาร่วม

คำนำ

วิธีวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์อะมีทรีน (ametryn) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร มีระบุไว้ใน CIPAC Handbook Volume H (Dobrat and Martijn, 1998) โดยวิธี Gas chromatography และใช้ Column glass ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ ametryn ในประเทศไทยมีการทดสอบด้วยวิธี Gas chromatography กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตรจึงได้เลือกเทคนิคนี้มากำหนดเป็นวิธีทดสอบความถูกต้องและทดสอบความถูกต้องของวิธีโดยห้องปฏิบัติเดียวที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร นำค่าที่ได้มาประเมินผลทางสถิติ พบว่าเป็นวิธีที่เหมาะสม จึงนำวิธีนี้มาทำการศึกษาร่วมกัน (Collaborative Study) โดยคัดเลือกห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐและเอกชน จำนวน 16 แห่ง

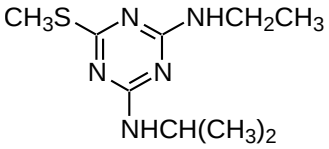
เตรียมตัวอย่างที่มีสารออกฤทธิ์ ametryn โดยแบ่งเป็น 3 สูตรของผลิตภัณฑ์ สูตรละ 2 ตัวอย่าง รวม 6 ตัวอย่าง ส่งให้ห้องปฏิบัติการพร้อมวิธีที่จัดทำขึ้น นำผลที่ได้จากห้องปฏิบัติการมาประเมินผลโดยใช้สถิติที่เหมาะสมตาม Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis (George and Latimer, 2016)

การทำ Collaborative study จัดเป็น multi – laboratory method validation เป็นการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่สมบูรณ์และน่าเชื่อถือที่สุดซึ่งต้องมีการดำเนินการตามขั้นตอน (protocol) ที่นานาชาติยอมรับส่งผลให้วิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการทำ collaborative study มีความน่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับในระดับนานาชาติ (ทิพวรรณ , 2549)

Ametryn มีลักษณะทางเคมีต่างๆดังนี้

Chemical name: N2-ethyl-N4-isopropyl-6-methylthio-1,3,5-triazine-2,4-diamine
Common name: ametryn
CAS RN: 834-12-8

Structure:



Molecular weight: 227.3

Empirical formula: $C_9H_{17}N_5S$

Activity: Herbicide

คงสภาพในธรรมชาติและสภาวะที่เป็นกรดและด่างอ่อนๆ เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสโดยกรดแก่ pH 1 และด่างแก่ pH 13 และสลายตัวช้าๆด้วยแสง (Turner, 2018)

การทำ collaborative study ครั้งนี้เพื่อให้ได้วิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ametryn และเป็นที่ยอมรับของผู้ที่เกี่ยวข้องทุกภาคส่วน และนำไปใช้เป็นวิธีวิมาตรฐานของห้องปฏิบัติการในส่วนของกรมวิชการเกษตร และส่วนของบริษัทเอกชนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง gas chromatography ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด flame ionization detector (FID)
2. คอลัมน์ชนิด capillary ภายในเคลือบด้วย 5% phenyl methyl siloxane (HP-5)
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ชั่งได้ระดับ 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
4. Ultrasonic bath
5. ขวดปริมาตรชนิด type A ขนาด 10 และ 50 มิลลิลิตรที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
6. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
7. vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
8. syringe ขนาด 10 มิลลิลิตร
10. syringe filters 0.22 ไมโครเมตร
11. สารมาตรฐาน ametryn purity 99.32 %
12. ametryn 80% W/W WP1
13. ametryn 80% W/W WP2
14. ametryn 80% W/W WG1
15. ametryn 80% W/W WG2
16. ametryn 50% W/V SC1
17. ametryn 50% W/V SC2
18. Acetone AR grade

วิธีการ

1. ส่งแบบตอบรับไปยังห้องปฏิบัติการ

ส่งแบบตอบรับการเข้าร่วมไปยังห้องปฏิบัติที่สนใจการศึกษาร่วมกัน (collaborative study) ทั้งในส่วนราชการและเอกชน

2. ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity test)

ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างแบบ random ในแต่ละสูตรของผลิตภัณฑ์ตัวอย่างละ 10 ขวด ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ ametryn โดยทดสอบแบบสุ่มขวดละ 2 ซ้ำ นำผลที่ได้มาทดสอบความแตกต่างระหว่างตัวอย่าง (between sample variation) โดยใช้สถิติ One-way ANOVA (Analysis of Variance) ค่า F ที่คำนวณได้ต้องน้อยกว่า F critical ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการเดียว

โดยเลือกวิธีที่มีการทดสอบความถูกต้องของห้องปฏิบัติการเดียวที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตรได้จัดทำขึ้น

การหาความเข้มข้นของ ametryn โดยวิธี Gas chromatography มี condition ดังนี้

Capillary column	:	HP-5 (30 m x 0.32 mm (i.d.) film thickness 0.25 µm)
Oven temperature	:	210 °C
Injector temperature	:	250 °C
Detector temperature	:	250 °C
Split injector	:	Split ratio 50:1
Carrier gas	:	Helium 2.0 ml/min
Gas detector	:	Hydrogen 40.0 ml/min
	:	Air 400.0 ml/min
Make up gas	:	Nitrogen 40.0 ml/min
Injection volume	:	1 µl
Run time	:	5 min

3.1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ametryn

ชั่งสารมาตรฐาน ametryn ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 10±2 mg จำนวน 2 ซ้ำ (C_1, C_2) ลงในขวดวัดปริมาตร 10 ml ละลายด้วย acetone ปริมาตร 5 ml เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารปรับตัวที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้เป็น 10 ml ด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

3.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษทางการเกษตร ametryn สูตร WP, WG และ SC ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 50 ±10 mg ตัวอย่างละ 1 ซ้ำ ลงในขวดวัดปริมาตร 50 ml ละลายด้วย acetone ปริมาตร 25 ml เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารปรับตัวที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้เป็น 50 ml ด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

3.3 วิธีฉีดสารละลายมาตรฐาน และสารลายตัวอย่าง

นำสารละลายสารมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมข้างต้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID โดยทำการฉีดสารมาตรฐาน C_1 จำนวน 8 ซ้ำเพื่อทำ Equilibrate ตรวจสอบความพร้อมของเครื่อง จากนั้นทำการฉีดตามลำดับดังนี้ C_1, $WP_{1\text{-}1}$, $WP_{1\text{-}2}$, C_2, C_1, $WP_{2\text{-}1}$, $WP_{2\text{-}2}$, C_2, C_1, $WG_{1\text{-}1}$, $WG_{1\text{-}2}$, C_2, C_1, $WG_{2\text{-}1}$, $WG_{2\text{-}2}$, C_2, C_1, $SC_{1\text{-}1}$, $SC_{1\text{-}2}$, C_2, C_1, $SC_{2\text{-}1}$, $SC_{2\text{-}2}$, C_2,

3.4 ทดสอบซ้ำตามข้อ 1-4 ในวันถัดไป

3.5 นำผลทดสอบที่ได้บันทึกลงในตารางบันทึกผล

4. การส่งตัวอย่างทดสอบและเอกสารวิธีวิเคราะห์ให้ห้องปฏิบัติการ

ส่งตัวอย่างวิธีวิเคราะห์ คำแนะนำ แบบรายงานผล และแบบสอบถามรายละเอียดเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์ เพื่อใช้ในการติดต่อกับผู้ดำเนินการ ส่งทางไปรษณีย์ลงทะเบียน โดยแต่ละห้องปฏิบัติการจะได้รับตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ขวดที่มีรหัสต่างกัน โดยไม่ทราบว่าทั้ง 2 ขวดเป็นตัวอย่างเดียวกัน

5. การทดสอบความคงตัว (Stability test)

เมื่อครบกำหนดที่ให้แต่ละห้องปฏิบัติการส่งผลการวิเคราะห์กลับมาแล้ว ดำเนินการคัดเลือกตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน เป็นตัวแทนในการทดสอบการคงตัวของตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างมา 5 ขวด ทำการวิเคราะห์หลังจากวันที่ครบกำหนดการส่งผล ทำการวิเคราะห์ขวดละ 2 ซ้ำ และนำผลวิเคราะห์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับผลวิเคราะห์จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้สถิติ t-test ค่า t จะต้องน้อยกว่า t critical ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. การประเมินทางสถิติ (Statistic evaluation of results)

6.1 ทวนสอบข้อมูลผลการวิเคราะห์และข้อมูลต่างๆ จากทางห้องปฏิบัติการที่ได้ส่งกลับมา โดยศึกษาข้อมูลในแบบรายงานผลและแบสอบถามรายละเอียดเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์ของแต่ละห้องปฏิบัติการ เพื่อกำจัดผลวิเคราะห์ที่ไม่ถูกต้อง หรือผลวิเคราะห์ที่เห็นได้ชัดว่าไม่น่าเชื่อถือ ออกก่อนนำไปประมวลผลทางสถิติ เพื่อให้มั่นใจว่าได้ข้อมูลที่ถูกต้องและน่าเชื่อถือมาใช้ในการประเมินผล

6.2 การทดสอบค่าสุดต่าง (Outliers test) โดยข้อมูลที่มีค่าแตกต่างกันทั้งมากและน้อยจากข้อมูลในชุดเดียวกันที่ทำให้สงสัยว่าเป็นข้อมูลที่ไม่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน จะถูกนำมาทดสอบค่าสุดต่าง โดยสถิติ Cochran's test และ Grubbs' test ดำเนินการตาม Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis

6.2.1 ทดสอบค่าสุดต่างของห้องปฏิบัติการเดียว (within-laboratory outliers test)

ผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มีความแตกต่างของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ของคู่เดียวกันมากที่สุดเมื่อเทียบกับผลวิเคราะห์ของคู่ตัวอย่างเดียวกันจากห้องปฏิบัติการอื่นๆ จะถูกนำมาทดสอบค่าสุดต่างหรือไม่โดยใช้สถิติ Cochran's test

$$C = \frac{(D^2_{max}) \times 100}{(\sum D_i^2)}$$

เมื่อ D_{max} = ค่าแตกต่างของคู่ตัวอย่างที่มีค่าสูงสุด

D_i = ค่าแตกต่างของคู่ตัวอย่างที่ i เมื่อ i = 1, 2, 3,.....n

เปรียบเทียบค่า C ที่คำนวณได้กับค่าวิกฤตในตาราง ที่ระดับ P = 2.5% (1-tail) เมื่อ L คือจำนวนห้องปฏิบัติการ หรือจำนวนคู่ของตัวอย่างเดียวกัน ถ้าค่าที่คำนวณได้มากกว่าค่าวิกฤตแสดงว่ามีความแตกต่างของผลวิเคราะห์ตัวอย่างนั้นถือว่าค่าที่สงสัยนั้นเป็น outlier ให้ตัดค่าผลวิเคราะห์คู่ตัวอย่างนั้นออก

6.2.2 ทดสอบค่าสุดต่างระหว่างห้องปฏิบัติการ (inter-laboratory outliers test)

6.2.2.1 ค่าสงสัยมีค่าเดียว (single Grubbs' test)

คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลทั้งหมด (S) คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลเมื่อไม่มีค่าต่ำสุดของข้อมูล (S_L) และเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลเมื่อไม่มีค่าสูงสุดของข้อมูล (S_H) คำนวณค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ลดลงดังนี้

$G_L = 100 \times [1 - (S_L/S)]$

$G_H = 100 \times [1 - (S_H/S)]$

เมื่อ G_L เท่ากับร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ลดลงเมื่อไม่มีค่าต่ำสุดของข้อมูล

เมื่อ G_H เท่ากับร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ลดลงเมื่อไม่มีค่าสูงสุดของข้อมูล

เปรียบเทียบค่า G_L, G_H ที่คำนวณได้กับตารางค่าวิกฤตในตาราง Grubbs' test ที่จำนวน L ข้อมูล ถ้าค่า G สูงกว่าค่าวิกฤตที่ P = 2.5% (2-tail) แสดงว่าค่าที่สงสัยเป็น outlier

6.2.2.2 ค่าสงสัยมี 2 ค่า (double Grubbs' test)

คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลทั้งหมด (S) คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลเมื่อไม่มีค่าต่ำสุด 2 ค่าของข้อมูล (S_{2L}) และเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลเมื่อไม่มีค่าสูงสุด 2 ของข้อมูล (S_{2H}) และเมื่อไม่มีค่าต่ำสุดและสูงสุดของข้อมูล (S_{HL}) คำนวณค่า G_{2L}, G_{2H}, และ G_{HL} ตามสูตรดังนี้

$G_{2L} = 100 \times \left[1 - (S_{2L}/S)\right]$

$G_{2H} = 100 \times \left[1 - (S_{2H}/S)\right]$

$G_{HL} = 100 \times \left[1 - (S_{HL}/S)\right]$

เมื่อ G_L เท่ากับร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ลดลงเมื่อไม่มีค่าต่ำสุดของข้อมูล

เมื่อ G_H เท่ากับร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ลดลงเมื่อไม่มีค่าสูงสุดของข้อมูล

เมื่อ G_{HL} เท่ากับร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ลดลงเมื่อไม่มีค่าต่ำและค่าสูงสุดของข้อมูล

เปรียบเทียบค่า G_L, G_H และ G_{HL} ที่คำนวณได้กับตารางค่าวิกฤตในตาราง Grubbs' test ที่จำนวน L ข้อมูล ถ้าค่า G สูงกว่าค่าวิกฤตที่ P = 2.5% (2-tail) แสดงว่าค่าที่สงสัยเป็น outlier

6.2.3 คำนวณความเที่ยงของวิธี (precision)

นำข้อมูลที่เหลือจากการตัดค่าสุดต่างออกทั้ง Cochran's test และ Grubbs' test แล้วนำไปคำนวณค่าทางสถิติอื่นๆ โดยการคำนวณ

Repeatability standard deviation; $S_r = (\sum d^2_i /2L)^{(1/2)}$

เมื่อ d_i = ความต่างของผลวิเคราะห์ของคู่ตัวอย่างเดียวกัน

L = จำนวนห้องปฏิบัติการ (หรือจำนวนคู่ของตัวอย่างเดียวกัน)

Repeatability relative standard deviation; $\%RSD_r = \frac{(S_r \times 100)}{\text{mean}}$

Repeatability limit; $r = 2.8\ S_r$

Reproducibility standard deviation; $S_R = \{(S^2_d + S^2_r)/2\}^{1/2}$

เมื่อ $S^2_d = \frac{\sum(T_i - T)^2}{2(L - 1)}$

T_i = ผลรวมค่าของคู่ของตัวอย่าง i ของแต่ละห้องปฏิบัติการ

T = ค่าเฉลี่ยของค่า T_i ของทุกห้องปฏิบัติการ

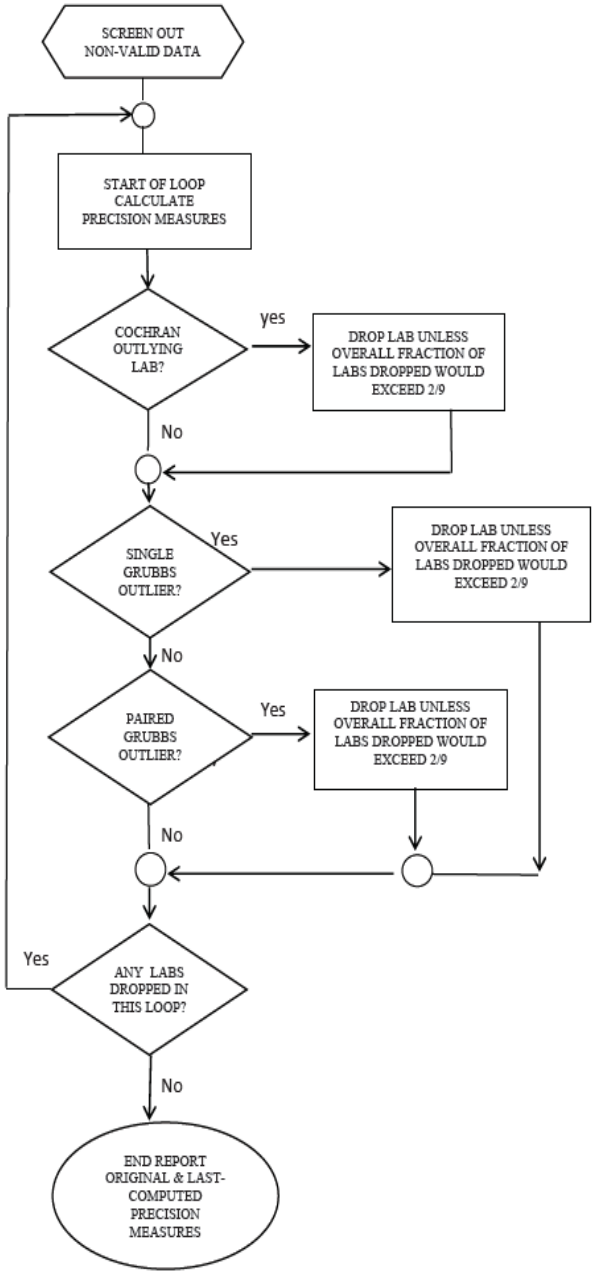
L = จำนวนห้องปฏิบัติการ (หรือจำนวนคู่ของตัวอย่างเดียวกัน)

Reproducibility relative standard deviation; $\%RSD_R = \frac{(S_R \times 100)}{\text{mean}}$

Reproducibility limit; $R = 2.8\ S_R$

6.2.4 HORRAT

โดยค่า HORRAT คือ อัตราส่วนระหว่าง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation, $\%RSD_R$) ค่า Horwitz's equation ($\%RSD_{Horwitz}$)



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการประเมินผลทางสถิติ (George and Latimer, 2016)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity testing)

จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง ametryn ทั้ง 3 ตัวอย่าง โดยใช้ one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P=0.05) พบว่าทุกตัวอย่าง มีค่า F น้อยกว่าค่า F-critical แสดงว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน แสดงผลดังตาราง 1-3

ตารางที่ 1 Anova: Single Factor WP

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
replicate 1	10	806.64	80.664	0.345537778
replicate 2	10	805.62	80.562	0.456395556

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	0.05202	1	0.05202	0.12973647	0.722897214	4.413873419
Within Groups	7.2174	18	0.400966667			
Total	7.26942	19				

ตารางที่ 2 Anova: Single Factor WG

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
replicate 1	10	813.42	81.342	0.358328889
replicate 2	10	810.79	81.079	1.073121111

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	0.345845	1	0.345845	0.483209333	0.495848799	4.413873419
Within Groups	12.88305	18	0.715725			
Total	13.228895	19				

ตารางที่ 3 Anova: Single Factor SC

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
replicate 1	10	464.74	46.474	0.175004444
replicate 2	10	468.23	46.823	0.566312222

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	0.609005	1	0.609005	1.643036039	0.216174782	4.413873419
Within Groups	6.67185	18	0.370658333			
Total	7.280855	19				

2. การส่งตัวอย่างทดสอบและเอกสารวิธีวิเคราะห์ให้ห้องปฏิบัติการ

นำตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว พร้อมด้วยสารมาตรฐานและเอกสารต่างๆให้กับห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการจำนวน 16 ห้องปฏิบัติการ ดังภาพที่ 2

ภาพที่ 2 สารมาตรฐานและตัวอย่างเตรียมส่งห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ

3. การทดสอบความคงตัว (Stability test)

ผลวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ ametryn ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร โดยตัวอย่างละ 5 ขวด ขวดละ 2 ซ้ำ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับผลวิเคราะห์จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง ด้วยสถิติ t-test พบว่าค่า *P-value* มากกว่า 0.05 ดังนั้นตัวอย่างจึงมีความคงตัวตลอดช่วงการดำเนินโครงการ (ตารางที่ 4-6)

ตารางที่ 4 ทดสอบการคงสภาพของ ametryn สูตร WP

รายการทดสอบ	N	*Average*	SD	t Stat	*P-value* (t-test)>0.05
homogeneity WP	20	80.613	0.382	1.425	0.164
stability WP	10	80.291	0.250		

ตารางที่ 5 ทดสอบการคงสภาพของ ametryn สูตร WG

รายการทดสอบ	N	*Average*	SD	t Stat	*P-value* (t-test)>0.05
homogeneity WG	20	81.210	0.696	0.431	0.669
stability WG	10	81.078	0.486		

ตารางที่ 6 ทดสอบการคงสภาพของ ametryn สูตร SC

รายการทดสอบ	N	*Average*	SD	t Stat	*P-value* (t-test)>0.05
homogeneity SC	20	46.648	0.383	0.753	0.457
stability SC	10	46.488	0.132		

4. การประเมินทางสถิติ (Statistic evaluation of results)

4.1 ทวนสอบข้อมูลผลการวิเคราะห์และข้อมูลต่างๆ จากทางห้องปฏิบัติการที่ร่วมทดสอบโดยศึกษาข้อมูลในแบบรายงานผลและแบบสอบถามรายละเอียดเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์ของแต่ละห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบ ametryn ในสูตรต่างๆของแต่ละห้องปฏิบัติการ

Lab no.	สูตร WP		สูตร WG		สูตร SC	
	WP1	WP2	WG1	WG2	SC1	SC2
1	79.672	78.592	79.358	45.765	45.765	45.765
2	79.494	78.841	79.774	45.891	45.891	45.891
3	78.383	78.159	78.777	45.615	45.615	45.615
4	81.879	82.423	82.160	47.482	47.482	47.482
5	80.487	79.903	80.311	46.694	46.694	46.694
6	80.355	80.328	79.814	45.936	45.936	45.936
7	79.348	79.547	79.329	45.862	45.862	45.862
8	81.587	81.250	81.352	47.276	47.276	47.276
9	79.558	80.436	81.636	46.644	46.644	46.644
10	80.324	80.254	80.394	46.480	46.480	46.480
11	79.607	80.754	79.920	46.085	46.085	46.085
12	80.239	79.829	79.134	46.573	46.573	46.573
13	83.743	86.143	85.507	48.798	48.798	48.798
14	81.146	81.112	80.372	46.837	46.837	46.837
15	81.120	81.475	83.698	45.754	45.754	45.754
16	80.768	78.592	80.711	46.075	46.075	46.075

4.2 การทดสอบค่าสุดต่าง (Outliers test) โดยข้อมูลที่มีค่าแตกต่างกันทั้งมากและน้อยจากข้อมูลในชุดเดียวกันที่ทำให้สงสัยว่าเป็นข้อมูลที่ไม่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน จะถูกนำมาทดสอบค่าสุดต่าง โดยสถิติ Cochran's test และ Grubbs' test (ตารางที่ 8-13)

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบค่าสุดต่างของ ametryn 80% WP1 แต่ละห้องปฏิบัติการ

Lab no.	Day1	Day2	Mean	Std.Dev.	Notes
1	79.84	79.51	79.67	0.231	
2	80.40	78.59	79.49	1.278	
3	78.08	78.69	78.38	0.432	
4	79.98	83.78	81.88	2.688	
5	80.44	80.54	80.49	0.071	
6	79.42	81.29	80.36	1.325	
7	80.03	78.67	79.35	0.964	
8	82.07	81.10	81.59	0.686	
9	80.69	78.43	79.56	1.599	
10	79.43	81.22	80.32	1.269	
11	78.93	80.29	79.61	0.960	
12	79.96	80.52	80.24	0.397	
13	87.95	79.54	83.74	5.946	C
14	81.12	81.17	81.15	0.033	
15	80.00	80.63	81.12	1.590	
16	80.63	80.91	80.77	0.197	

C – Cochran outlier, **G** – Grubb outlier

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบค่าสุดต่างของ ametryn 80% WP2 แต่ละห้องปฏิบัติการ

Lab no.	Day1	Day2	Mean	Std.Dev.	Notes
1	78.79	78.40	78.59	0.275	
2	78.93	78.75	78.84	0.127	
3	78.07	78.25	78.16	0.128	
4	80.86	83.99	82.42	2.210	
5	80.58	79.22	79.90	0.962	
6	79.88	80.78	80.33	0.636	
7	79.70	79.40	79.55	0.213	
8	81.78	80.72	81.25	0.752	
9	80.35	80.52	80.44	0.123	
10	80.73	79.78	80.25	0.666	
11	80.45	81.06	80.75	0.431	
12	79.89	79.77	79.83	0.085	
13	89.41	82.88	86.14	4.615	C
14	80.85	81.37	81.11	0.365	
15	81.62	81.33	81.48	0.202	
16	81.58	79.34	80.46	1.581	

C – Cochran outlier, **G** – Grubb outlier

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบค่าสุดต่างของ ametryn 80% WG1 แต่ละห้องปฏิบัติการ

Lab no.	Day1	Day2	Mean	Std.Dev.	Notes
1	79.78	78.93	79.36	0.600	
2	77.77	81.78	79.77	2.834	
3	78.83	78.73	78.78	0.071	
4	80.81	83.51	82.16	1.916	
5	80.34	80.28	80.31	0.045	
6	79.30	80.33	79.81	0.734	
7	79.78	78.88	79.33	0.634	
8	81.71	80.99	81.35	0.508	
9	80.71	82.56	81.64	1.308	
10	81.13	79.66	80.39	1.044	
11	79.49	80.35	79.92	0.610	
12	79.95	78.31	79.13	1.160	
13	86.32	84.70	85.51	1.145	
14	80.51	80.24	80.37	0.188	
15	83.24	84.15	83.70	0.644	
16	80.57	80.85	80.71	0.196	

C – Cochran outlier, **G** – Grubb outlier

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบค่าสุดต่างของ ametryn 80% WG2 แต่ละห้องปฏิบัติการ

Lab no.	Day1	Day2	Mean	Std.Dev.	Notes
1	79.63	79.15	79.39	0.339	
2	80.12	77.01	78.57	2.199	
3	79.94	77.99	78.46	0.672	
4	78.53	82.80	80.66	3.024	
5	80.47	79.91	80.19	0.390	
6	78.97	80.01	79.49	0.730	
7	78.43	79.12	78.78	0.493	
8	81.47	80.57	81.02	0.634	
9	78.30	81.14	79.72	2.003	
10	81.07	81.46	81.27	0.277	
11	79.49	80.65	80.07	0.820	
12	78.32	78.71	78.52	0.279	
13	83.37	79.33	81.35	2.853	
14	80.19	80.39	80.29	0.139	
15	87.35	81.56	84.45	4.095	G
16	79.82	78.90	79.36	0.644	

C – Cochran outlier, **G** – Grubb outlier

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบค่าสุดต่างของ ametryn 50% SC1 แต่ละห้องปฏิบัติการ

Lab no.	Day1	Day2	Mean	Std.Dev.	Notes
1	45.93	45.92	45.92	0.005	
2	48.43	46.31	47.37	1.496	
3	45.86	45.73	45.79	0.091	
4	45.93	47.60	46.76	1.185	
5	46.27	46.32	46.30	0.038	
6	45.69	45.73	45.71	0.031	
7	45.71	45.97	45.84	0.185	
8	46.50	46.41	46.45	0.064	
9	45.88	47.58	46.73	1.102	
10	46.02	46.08	46.05	0.042	
11	45.66	46.17	45.92	0.358	
12	47.01	47.08	47.04	0.049	
13	53.59	45.78	49.68	5.520	C
14	47.20	47.13	47.16	0.047	
15	44.18	46.48	45.33	1.628	
16	45.48	45.38	45.43	0.074	

C – Cochran outlier, **G** – Grubb outlier

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบค่าสุดต่างของ ametryn 50% SC2 แต่ละห้องปฏิบัติการ

Lab no.	Day1	Day2	Mean	Std.Dev.	Notes
1	45.96	45.57	45.77	0.227	
2	46.78	45.00	45.89	1.257	
3	45.51	45.72	45.61	0.146	
4	46.70	48.26	47.48	1.104	
5	46.62	46.77	46.69	0.103	
6	45.84	46.04	45.94	0.141	
7	45.75	45.98	45.86	0.165	
8	47.55	47.00	47.28	0.386	
9	46.47	46.82	46.64	0.245	
10	46.38	46.58	46.48	0.145	
11	45.93	46.24	46.09	0.215	
12	46.35	46.80	46.57	0.317	
13	50.57	47.03	48.80	2.505	C
14	46.86	46.82	46.84	0.028	
15	45.16	46.35	45.75	0.843	
16	46.66	45.49	46.08	0.829	

C – Cochran outlier, **G** – Grubb outlier

จากการประเมินผลทางสถิติของผลการทดลองทั้ง 16 ห้องปฏิบัติการด้วย Cochran's test outliers และ Grubbs' test outliers (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 สรุปผล Cochran's test outliers และ Grubbs' test outliers ของแต่ละตัวอย่าง ทั้ง 16 ห้องปฏิบัติการ

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนห้องปฏิบัติการทั้งหมด	Cochran's test outliers	Grubbs' test outliers
WP1	16	1	0
WP2	16	1	0
WG1	16	0	0
WG2	16	0	1
SC1	16	1	0
SC2	16	1	0

4.3 การหาความเที่ยงของวิธี (precision)

นำข้อมูลที่ตัดค่า outlier ออกจากการประเมินด้วย Cochran's test และ Grubbs' test นำข้อมูลไปคำนวณค่าทางสถิติ (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ผลการคำนวณหาค่าความเที่ยงของวิธี (precision)

สถิติที่ใช้ทดสอบ	ชนิดตัวอย่าง					
	WP1	WP2	WG1	WG2	SC1	SC2
Total mean, X (wt%)	80.5	80.6	80.8	80.1	46.5	46.5
L	16	16	16	16	16	16
n	16	16	16	16	16	16
$S_r = (\sum d^2_i/2L)^{1/2}$	1.16	0.83	1.10	1.40	0.73	0.56
$S_R = \{(S^2_d+S^2_r)/2\}^{1/2}$	1.25	1.28	1.91	1.40	0.82	0.70
$RSD_r\% = (S_r*100)/mean$	1.44	1.03	1.26	1.75	1.57	1.21
$RSD_R\% = (S_R*100)/mean$	1.55	1.60	2.37	1.75	1.77	1.51
RSD%	2.0680	2.0680	2.0680	2.0680	2.2191	2.2191
$PRSD_R\%$	2.07	2.07	2.06	2.07	2.24	2.24
HORRAT	0.75	0.77	1.15	0.85	0.79	0.67
Repeatability limit; $R = 2.8\ S_r$	3.24	2.32	3.07	3.91	2.04	1.57
Reproduccibility limit; $R = 2.8\ S_R$	3.49	3.59	5.35	3.92	2.30	1.96

Total mean, X (wt%) = average

L = number of laboratories

S_r = repeatability standard deviation

S_R = reproducibility standard deviation

RSD_r = repeatability relative standard deviation

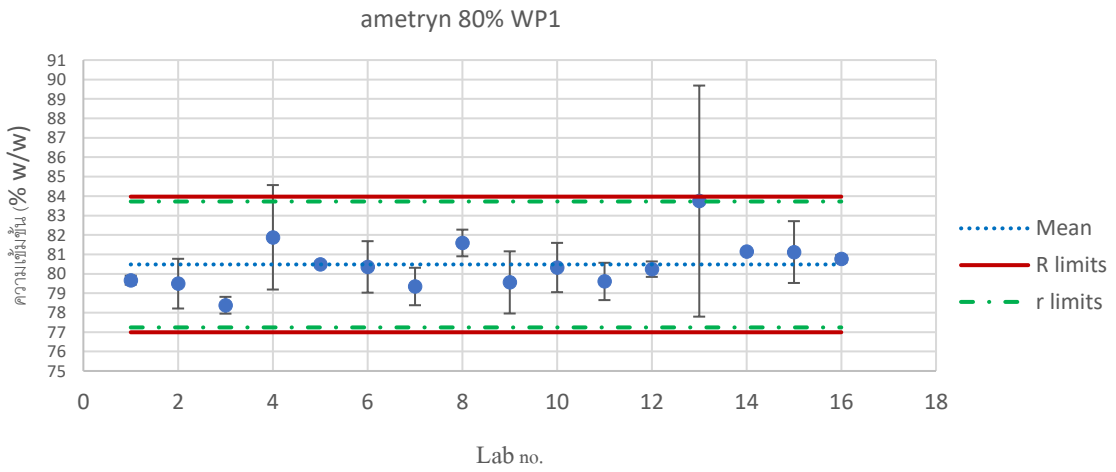
RSD_R = reproducibility relative standard deviation

n = number of data

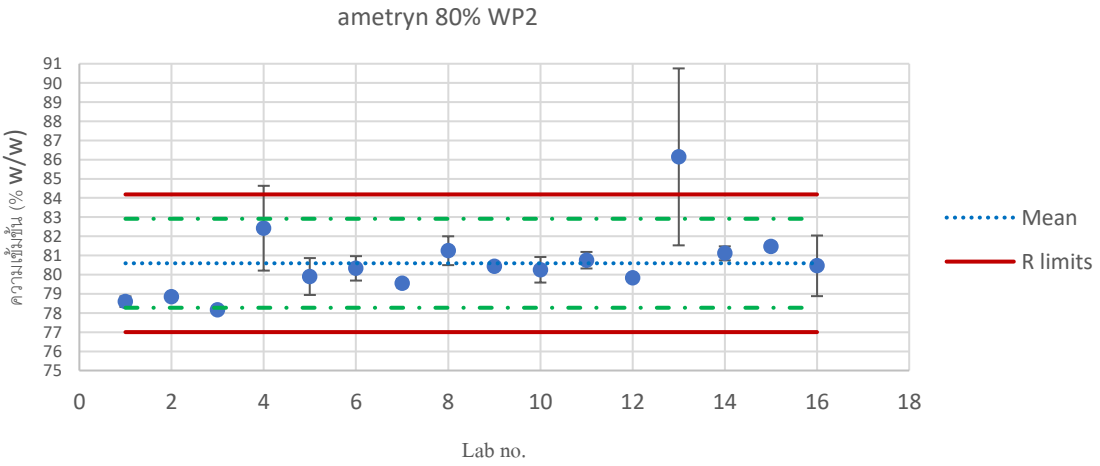
r = repeatability limit

R = reproducibility limit

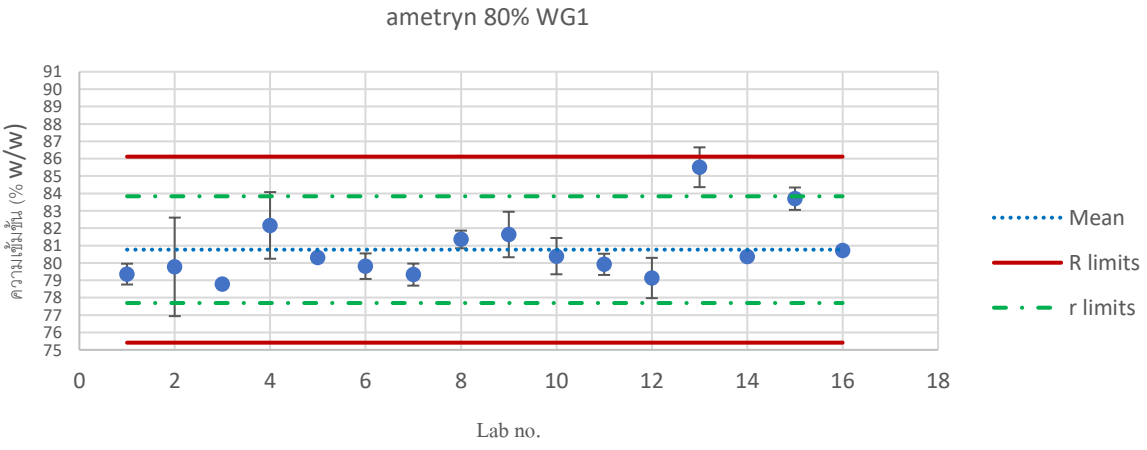
5. นำข้อมูลทุกห้องปฏิบัติการมาทำเป็นกราฟการเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย



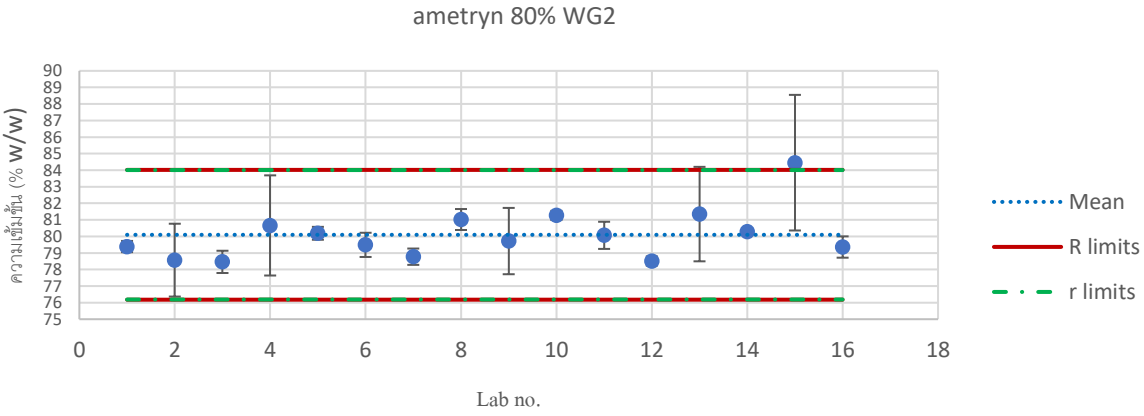
ภาพที่ 3 กราฟการเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย ของ WP1



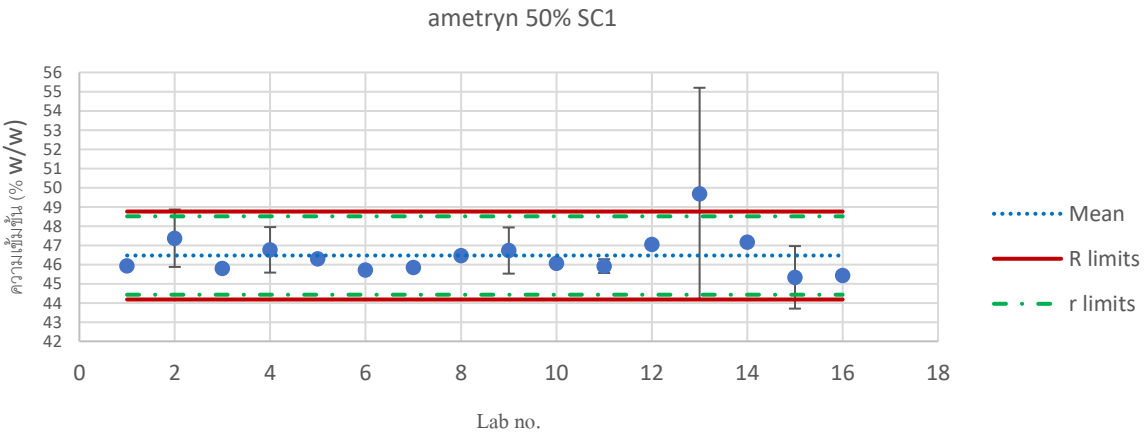
ภาพที่ 4 กราฟการเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย ของ WP2



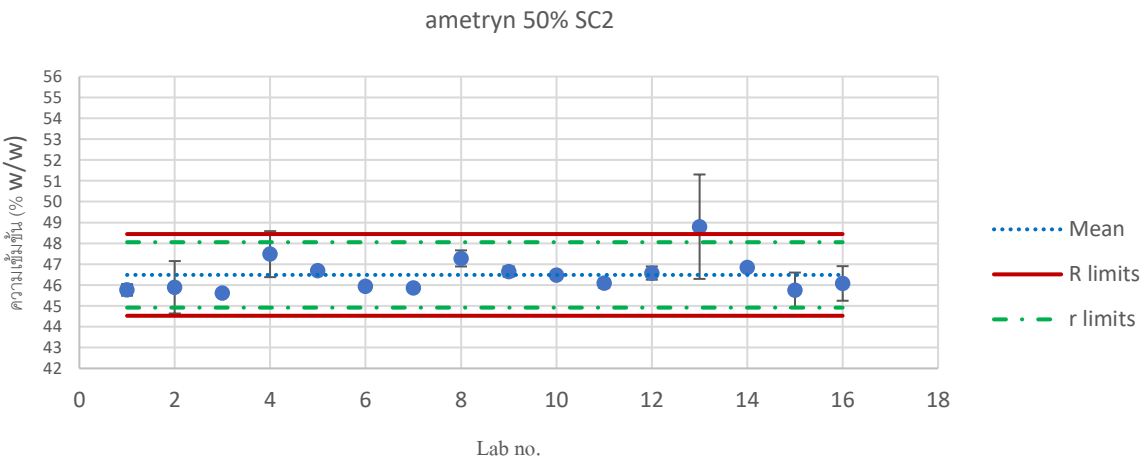
ภาพที่ 5 กราฟการเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย ของ WG1



ภาพที่ 6 กราฟการเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย ของ WG2



ภาพที่ 7 กราฟการเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย ของ SC1



ภาพที่ 8 กราฟการเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย ของ SC2

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์อะมีทรีน (ametryn) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ได้มีการพัฒนาจากการใช้ pack column จนได้เปลี่ยนมาเป็น capillary column ซึ่งเป็นที่นิยมในปัจจุบัน อีกทั้งเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการหลายแห่งในประเทศเลือกใช้

ศึกษา collaborative study สารออกฤทธิ์อะมีทรีน (ametryn) สูตร 80% WP, 80% WG และ 50% W/V SC โดยทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว ของตัวอย่างโดยสถิติ one-way ANOVA พบว่า มีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความคงตัวจึงมีความเหมาะสมในการใช้ทำกิจกรรมนี้ มีห้องปฏิบัติการที่ร่วมทดสอบรวม 16 แห่ง

การศึกษา outlier ของข้อมูลโดยใช้สถิติ Grubbs' test พบว่ามีผลการทดสอบเป็น outlier สำหรับห้องปฏิบัติการที่ 15 ในตัวอย่าง WG2 และเมื่อใช้สถิติ Cochran's test พบว่ามีผลการทดสอบเป็น outlier สำหรับห้องปฏิบัติการที่ 13 ในตัวอย่าง WP1, WP2, SC1, SC2 ความเที่ยงแสดงด้วยค่า HORRAT มีค่าอยู่ที่ 0.67-1.15 เป็นค่าที่สอดคล้องกับค่าที่ยอมรับอยู่ในช่วง 0.5-1.5 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (George and Latimer, 2016)

การศึกษา collaborative study ได้นำผลการทดสอบที่ได้จากห้องปฏิบัติการมาประเมินผลโดยใช้สถิติที่เหมาะสมตาม Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis (George and Latimer, 2016) เพื่อให้ได้วิธีที่จะใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์อะมีทรีน (ametryn) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร โดยแต่ละห้องปฏิบัติการสามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์อะมีทรีน (ametryn) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์อะมีทรีน (ametryn) ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร

2. ห้องปฏิบัติการในส่วนภูมิภาคของกรมวิชาการเกษตร และบริษัทเอกชนสามารถนำวิธีนี้ไปเป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ได้

เอกสารอ้างอิง

ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวทางปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. นนทบุรี. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 10.

Dobrat, W. and A. Martijn. 1998. CIPAC Handbook Vol. H. Analysis of Technical and Formulated Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, Black Bear Press Ltd., England. p. 22-25.

George W. and Jr., Latimer. 2016. Official methods of analysis of AOAC international. Appendix D: Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of method of analysis. 20th ed. AOAC international, 2016. p. 1-12.

Turner, J. A. 2018. A World Compendium The Pesticide Manual. 18th ed. BCPC., UK. p. 35-36.

การศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลงเฟนโทเอต (phenthoate)

Degradation Study of Phenthoate Insecticide Products

อนุชา ผลไสว ศศิมา มั่งนิมิตร ภัทรฤทัย คมน์ณัฐ ฉลองรัตน์ หมื่นขวา

Anucha Phonswai Sasima Mungnimit Phatruethai Kumna Charongrat Muenkhwa

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Degradation of phenthoate at room temperature (29.2°C, 76.4 %RH) and higher temperature (54±2°C) was continuously examined within 18 months. Phenthoate samples (sample 1: S1, sample 2: S2 and sample 3: S3) were taken every 3 months to investigate the amount of active ingredient, the impurities content (water content and acidity) and physical properties. The amount of active ingredient of S1, S2 and S3 at room temperature was decreased about 0.1%, 0.3% and 0.4% (per month) respectively. Only S1 samples displayed the result in a benchmark for active ingredient, however, S2 and S3 samples were substandard during 3 months. The impurities were examined at room temperature in 18 months. The acidity of S1 samples increased with time and was greater than permissible limit after 15 months. However, all S2 samples had the impurities within acceptable level. Moreover, both water content and acidity of S3 were found the high value than acceptable value after 3 and 6 months respectively. Then Physical properties and the emulsion test were observed at room temperature in 18 months and all brands demonstrated good properties.

The effect of different storage conditions was investigated at higher temperature (54±2°C), all brands showed a loss of active ingredient in 3 months. Phenthoate was degraded readily at high temperature. The amount of active ingredient of S1, S2 and S3 was decreased about 1.0%, 2.5% and 1.7% (rate per month) respectively. A comparison of this data with that room temperature condition displayed clearly that degradation rates of high temperature condition were higher than normal condition about 2.4(S1), 8.9(S2) and 3.6(S3) times per month. The studies of impurities in all samples, the results were not within the standard criteria. The water content of S2 and S3 also displayed value above the limit after 9 and 3 months, respectively. Moreover, the S1, S2 and S3 showed a high value of acidity than the acceptable value after 6 3 and 6 months, respectively. The physical properties and emulsion test of S1 and S2 at high temperature displayed good stability during 18 months. However, Physical change occurred in the S3 sample, since the crystals were observed at the bottom of the container after 15 months while the emulsion test was normal.

Keywords : Phenthoate

บทคัดย่อ

ศึกษาการเสื่อมสภาพผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง phenthoate 50 %W/V EC ตัวอย่างที่ 1 (S1) ตัวอย่างที่ 2 (S2) และตัวอย่างที่ 3 (S3) ที่สภาวะอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 76.4 เปอร์เซ็นต์ และเก็บที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 เดือน ในระยะเวลาทุก 3 เดือน ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร phenthoate และสิ่งเจือปนในตัวอย่างได้แก่ ปริมาณน้ำเจือปนและความเป็นกรด ผลการทดสอบที่สภาวะอุณหภูมิห้อง พบว่าปริมาณสาร phenthoate ในตัวอย่างมีปริมาณลดลงเฉลี่ย 0.1 0.3 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ตามลำดับ ตัวอย่าง S1 ปริมาณสาร phenthoate อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนตัวอย่าง S2 และ S3 พบปริมาณสาร phenthoate ลดลงต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานตั้งแต่เดือนที่ 3 การตรวจสอบปริมาณสิ่งเจือปนในตัวอย่าง S1 ค่าความเป็นกรดเกินเกณฑ์มาตรฐานในเดือนที่ 15 ตัวอย่าง S2 ปริมาณสิ่งเจือปนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตลอดการทดลอง ส่วนตัวอย่าง S3 ค่าที่เพิ่มขึ้นมากกว่าเกณฑ์มาตรฐาน คือปริมาณน้ำเจือปน ในเดือนที่ 3 และค่าความเป็นกรด ในเดือนที่ 15 ลักษณะทางกายภาพและการเกิดอิมัลชันของตัวอย่างทั้ง 3 เป็นปกติ

ผลการทดสอบตัวอย่างที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส พบปริมาณสาร phenthoate ทั้ง 3 ตัวอย่าง สลายตัวได้ง่าย ปริมาณสารลดลงต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานตั้งแต่เดือนที่ 3 ตัวอย่าง S1 S2 และ S3 ปริมาณลดลงเฉลี่ย 1.0 2.5 และ 1.7 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate กับที่สภาวะอุณหภูมิห้องในตัวอย่าง S1 S2 และ S3 การเสื่อมสภาพเพิ่มขึ้น 2.4 8.9 และ 3.6 เท่า ตามลำดับ ผลการตรวจสอบปริมาณสิ่งเจือปนในตัวอย่างผลที่ได้ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานดังนี้ ปริมาณน้ำเจือปนในตัวอย่าง S2 และ S3 เพิ่มขึ้นมากกว่าเกณฑ์มาตรฐานตั้งแต่เดือนที่ 9 และ 3 ตามลำดับ ในตัวอย่าง S1 S2 และ S3 ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นมากกว่าเกณฑ์มาตรฐานตั้งแต่เดือนที่ 6 3 และ 6 ตามลำดับ ลักษณะทางกายภาพและการเกิดอิมัลชันของตัวอย่าง S1 และ S2 เป็นปกติ ส่วนตัวอย่าง S3 เกิดการตกผลึกบริเวณก้นขวดตั้งแต่เดือนที่ 15 ส่วนการเกิดอิมัลชันเป็นปกติ

คำหลัก : เฟนโทเอต

ทะเบียนวิจัย : 03-69-63-01-03-00-01-63

คำนำ

สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่พัฒนาขึ้นโดยผู้ผลิตสารเคมีทางการเกษตรมีกำหนดระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ และมีการทดสอบการคงสภาพของผลิตภัณฑ์ทั้งปริมาณสารออกฤทธิ์และการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์ด้วยทดสอบจากการเร่งสภาวะการเก็บรักษาด้วยสภาวะอุณหภูมิสูงต่อตัวอย่าง การทดสอบการคงสภาพตามมาตรฐานขององค์การอาหารและการเกษตรนานาชาติ (FAO) กำหนดสภาวะเร่งอุณหภูมิไว้ที่ 54±2 องศาเซลเซียสใช้เวลาบ่ม 14 วัน ผลการทดสอบดังกล่าวจะเทียบเท่าอายุของการเก็บรักษาในสภาวะอุณภูมิห้องเป็นเวลา 2 ปี การทดสอบดังกล่าวใช้เป็นมาตรฐานสากล (FAO/WHO, 2016) แต่สภาวะการเก็บรักษาของแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกันของสภาพอุณหภูมิและความชื้น ซึ่งอาจส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแต่ละเขตภูมิอากาศที่แตกต่างกัน

การเสื่อมสภาพของสาร phenthoate ในสภาวะอุณหภูมิห้องทดสอบเพื่อเป็นตัวแทนการเก็บรักษาในสภาวะการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย โดย WHO ได้กำหนดและแบ่งเขตภูมิอากาศ (Climatic zone) ที่ประกอบด้วยอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบ่งออกเป็น 5 เขตภูมิอากาศแสดงดัง ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การกำหนดเขตภูมิอากาศ (Climatic zone)

Climatic Zone	Temperature	Humidity	Type of climate
Zone I	21°C±2°C	45%RH±5%RH	Temperate
Zone II	25°C±2°C	60%RH±5%RH	Sub-tropical
Zone III	30°C±2°C	35%RH±5%RH	Hot and dry
Zone IVa	30°C±2°C	65%RH±5%RH	Hot and tumid or tropical
Zone IVb	30°C±2°C	75%RH±5%RH	Hot / higher humidity

(Pharmaceutical guidelines, 2010)

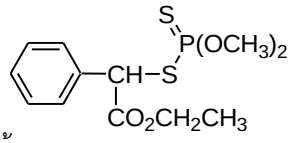
ข้อมูลการแบ่งเขตภูมิอากาศประเทศไทยถูกจัดอยู่ในกลุ่มเขตภูมิอากาศ Zone IVb คือเขตอากาศร้อน/ความชื้นสูงมากกว่า (Hot /Higher humidity) ทำให้การศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์ phenthoate ในสภาวะอุณหภูมิห้องเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งในการทดสอบจึงต้องเก็บข้อมูลภูมิอากาศของสถานที่ทดสอบ เพื่อเทียบกับข้อมูลกับเขตภูมิอากาศที่กำหนดไว้ โดยแหล่งผลิตสาร phenthoate ส่วนใหญ่อยู่ในประเทศจีนซึ่งจัดอยู่ในเขตภูมิอากาศ Zone I II และ IVa และอีกส่วนหนึ่งผลิตในประเทศอินเดียจัดอยู่ในเขตภูมิอากาศ Zone III และ IVb (Pharmaceutical guidelines, 2010) แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 1 จากข้อมูลสภาพภูมิอากาศของแหล่งผลิตโดยรวมอากาศค่อนข้างเย็นกว่าอุณหภูมิของประเทศไทย เมื่อทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาพภูมิอากาศประเทศไทยอาจส่งผลต่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ phenthoate ได้

การศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นการศึกษาปัจจัยด้านอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์สาร phenthoate ซึ่งการเสื่อมสภาพอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในทุกขั้นตอนตั้งแต่ขบวนการผลิต การเก็บรักษาในโรงงานผลิต การรถขนส่ง ในร้านจำหน่าย รวมทั้งในการเก็บรักษาของผู้ใช้งาน การคงสภาพผลิตภัณฑ์มีความหมายหลายอย่าง เช่น การคงสภาพทางเคมีของสารออกฤทธิ์ สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพ เช่น ความเป็นเนื้อเดียวกัน การละลายน้ำ การเกิดเป็นอิมัลชัน การเกิดตะกอนแขวนลอย เป็นต้น การศึกษาการเสื่อมสภาพผลิตภัณฑ์ทำให้ทราบคุณภาพผลิตภัณฑ์แล้วยังทำให้ทราบถึงอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เทียบกับเกณฑ์กำหนด การศึกษาการคงสภาพทำการทดสอบสมบัติต่าง ๆ ที่สำคัญและเกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาและมีแนวโน้มที่จะส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ สำหรับผลิตภัณฑ์ใหม่มีการศึกษาแบบสภาวะเร่งอุณหภูมิเป็นระยะเวลา 14 วัน ตามข้อกำหนดมาตรฐานของ FAO (FAO/WHO, 2016) ไม่ได้มีกำหนดการศึกษาแบบระยะยาวตลอดช่วงระยะเวลาจริงของการหมดอายุของผลิตภัณฑ์

แนวทางการทดสอบการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate 50 %W/V EC ในผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง ทำการศึกษาใน 2 สภาวะได้แก่ สภาวะเร่งด้วยการเพิ่มอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ทดสอบ ทำการศึกษาเพื่อเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของสาร phenthoate หรือกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีหรือการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ทำการเก็บตัวอย่างในสภาวะที่รุนแรงกว่าสภาวะปกติ และทดสอบที่สภาวะอุณหภูมิห้องเป็นการศึกษาการคงสภาพเพื่อทดสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาหลังจากการผลิต (Niessen, 1975) การศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์แบ่งเป็นหัวข้อใหญ่ๆ เช่น การทดสอบปริมาณสาร phenthoate การทดสอบทางด้านเคมี การทดสอบสิ่งเจือปน การทดสอบทางกายภาพ การทดสอบการใช้งาน เป็นต้น (ชนิตา, 2558) จากผลการทดสอบปริมาณสาร phenthoate ในผลิตภัณฑ์จากการเฝ้าระวังคุณภาพสินค้าของกรมวิชาการเกษตรพบปัญหาเสื่อมสภาพของสารเร็วกว่ากำหนด การศึกษาการเสื่อมสภาพดังกล่าวจะทำให้ทราบปัจจัยด้านอุณหภูมิต่อการเสื่อมสภาพ และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาพภูมิอากาศประเทศไทย

สมบัติเฉพาะของสาร phenthoate จัดเป็นสารกลุ่ม Organophosphate มีน้ำหนักโมเลกุล 320.4 กรัม สูตรทางเคมี $C_{12}H_{17}O_4PS_2$ มีสูตรโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 1 ละลายน้ำได้น้อย (10 มิลลิกรัม/ลิตร) ละลายได้ดีในสารละลายอินทรีย์ อาทิ เมทานอล (methanol) อะซิโตน (acetone) ไซลีน (xylene) และ n-hexane (116 กรัม/ลิตร) เป็นต้น (Kidd and James, 1993) จัดกลุ่มตาม IRAC คือ 1B ทำงานด้วยการเป็นสารยับยั้งอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

(Acetylcholinesterase inhibitor) (Roberts et al., 1999) ใช้เป็นสารกำจัดแมลงและสารกำจัดไร เป็นสารชนิดไม่ดูดซึมการกำจัดแมลงเป็นแบบสัมผัสตัวและกินตาย ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชจำพวก เพลี้ยอ่อน (Aphididae, aphids) เพลี้ยหอย (Coccidae & Diaspididae, scale insects) เพลี้ยจักจั่น (Leafhoppers) มวลแดง (Pyrrhocoridae, red bugs) มวนหน้ากาก (Pentatomidae, shield bugs) และเพลี้ยไฟ (Thripidae, thrips) เป็นต้น ใช้ป้องกันแมลงศัตรูพืชในไม้ผล เช่น มะนาว มะกอก ลูกพลับ เกาลัด หรือพืชปลูกจำพวกฝ้าย ธัญพืช ข้าวโพด ข้าว กาแฟ ชา ทานตะวัน อ้อย ยาสูบ ผัก พืชตระกูลกะหล่ำปลี และพืชพวกไม้ประดับ (Kidd and James, 1993)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของ phenthoate (Kidd and James, 1993)

การคงสภาพของสาร phenthoate พบว่าสารเกิดการสลายตัว (decompose) ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายน้ำจะสามารถคงอยู่ได้ในสภาวะที่ค่า pH เป็นกลางและสภาวะกรด แต่เกิดการเสื่อมสภาพได้ในสภาวะที่เป็นด่าง (Tomlin, 2006) การศึกษาการสลายตัวจากการเกิดไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ของสาร phenthoate ในสารละลายที่เป็นน้ำ พบสามารถเกิดได้ที่ตำแหน่งของหมู่คาร์โบอีทอกซี (carboethoxy) ทำให้โครงสร้างของ phenthoate แตกออกตรงตำแหน่งพันธะของฟอสฟอรัสกับซัลเฟอร์ (P-S) และคาร์บอนกับซัลเฟอร์ (C-S) ทำให้เกิดเป็นสารอื่น และส่งผลให้เกิดการลดลงของสาร phenthoate และมีการศึกษาการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate โดยใช้สารคาร์บอน-14 (^{14}C) และฟอสฟอรัส-32 (^{32}P) ในโครงสร้างของ phenthoate เพื่อศึกษาการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate ที่ค่า pH 6 7 และ 8 พบว่าโดยทั่วไปมีความคงทนค่อนข้างดี แต่พบการเสื่อมเร็วที่ pH 8 ได้ค่าการสลายตัว 50 เปอร์เซ็นต์ (DT_{50}) ใช้เวลาเพียง 12 วัน ได้สารที่เกิดขึ้นจากการเกิดไฮโดรไลซีสคือ สารเฟนโทเอต คาร์โบอีทอกซีแอซิด (phenthoate carboethoxy acid) (Roberts et al., 1999)

การศึกษาการสลายตัวของสาร phenthoate ด้วยแสงแดดทำการทดลองด้วยการทำให้สาร phenthoateกระจายตัวเป็นแผ่นฟิล์มบนกระจกสไลด์แล้วให้โดนแสงแดดเป็นเวลา 42 ชั่วโมง พบว่าสาร phenthoate เกิดการระเหยกลายเป็นไอ รวมทั้งเกิดการสลายตัวจากแสงแดดทำให้ค่าความเข้มข้นของสาร phenthoate ลดลงครึ่งหนึ่ง (DT_{50}) ใช้เวลา 15 ชั่วโมง และพบว่าหลังจากเวลาผ่านไป 42 ชั่วโมง สาร phenthoate หายไป 90% เกิดสารหลักจากการสลายตัวด้วยแสงคือ phenthoate oxon ซึ่งจะเพิ่มขึ้น 20-30 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเกิดการสลายตัวผ่านไป 35 ชั่วโมง เกิดสารชนิดรองหลายชนิดจากการสลายตัวด้วยแสงของสาร phenthoate คือ desmethylphenthoate, mandelic acid, bis-[α-(carboethoxy) benzyl] disulfide, bis-[α-carboxybenzyl] disulfide และ **O**,**O**-dimethyl phosphorodithioate (Roberts et al., 1999) การคงสภาพของการเก็บรักษาสารความเข้มข้นสูงของสาร phenthoate ที่อุณหภูมิห้องในภาชนะเดิมที่ปิดสนิทเป็นเวลาหนึ่งปีพบว่าปริมาณสาร phenthoate จะลดลงประมาณ 1-2 เปอร์เซ็นต์ของค่าเริ่มต้น ทั้งนี้ปริมาณสาร phenthoate จะลดลง 1-4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หลังจากเวลาผ่านไปหนึ่งเดือน และการเก็บในสารละลายเอทานอลในน้ำอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ของบัฟเฟอร์ pH 3.9 5.8 และ 7.8 จะเกิดการสลายของ phenthoate ค่อนข้างน้อยหลังจากเวลาผ่านไปประมาณ 20 วัน ส่วนการเก็บที่บัฟเฟอร์ pH 9.7 จะเกิดการย่อยสลายของ phenthoate จะอยู่ที่ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผ่านเวลาผ่านไป 20 วัน (Inchem, 1980) จากการศึกษาการเสื่อมสลายของสาร phenthoate ทำให้ทราบว่าสาร phenthoate สามารถสลายตัวได้จากการเกิดไฮโดรไลซีส (hydrolysis) การสลายตัวด้วยแสงแดดหรือโฟโตไลซีส (photolysis) และอิทธิของค่า pH ที่เร่งการสลายตัวของสาร phenthoate ในการเกิดไฮโดรไลซีส (Roberts et al., 1999)

สูตรผสมของผลิตภัณฑ์สาร phenthoate มีการผลิตและขึ้นทะเบียนคือ สูตรน้ำมันเข้มข้น (emulsifiable concentrates, EC) ความเข้มข้น 50 %W/V ซึ่งเป็นสูตรผสมที่ใช้ตัวทำละลายเป็นสารอินทรีย์ มีปริมาณน้ำเจือปนอยู่ในปริมาณน้อยข้อดีคือ ป้องการเกิดไฮโดรไลซีสต่อสาร phenthoate ได้ การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ของสาร

phenthoate โดย FAO specifications (FAO, 1980) ได้มีการกำหนดหัวข้อการทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ในการขึ้นทะเบียนของสาร phenthoate ไว้ โดยกำหนดให้ใช้วิธีวิเคราะห์สาร phenthoate ตามวิธีทดสอบใน CIPAC volume 1 (Ashworth et al., 1970) โดยระบุใช้เทคนิค Gas chromatography และการทดสอบสมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพสำหรับผลิตภัณฑ์สูตรน้ำมันข้น (EC) กำหนดให้ทดสอบสิ่งเจือปนคือ ปริมาณน้ำเจือปน และความเป็นกรดหรือด่างตามวิธีทดสอบของ CIPAC (FAO, 1980) ส่วนการทดสอบค่า pH เพื่อศึกษาความสอดล้องกับผลของความเป็นกรดของสิ่งเจือปนข้างต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Gas Chromatograph (GC) รุ่น 7890 B มีตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID)
2. คอลัมน์ Capillary ชนิด DB-5 (30 m × 0.32 mm (i.d.) film thickness 0.25 µm) หรือ HP-5 (30 m × 0.32 mm (i.d.) film thickness 0.25 µm)
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (±0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบ
4. เครื่องแก้ว เช่น ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) type A ขนาด 10 และ 25 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบ บีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร และกระบอกตวง 100 มิลลิลิตร
5. ขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร และฝาปิด
6. เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic bath)
7. เครื่องวัดความหนาแน่น (Density meter)
8. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณน้ำ (Karl fischer titrator)
10. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) และ Electrode system
11. เครื่องไตเตรทอัตโนมัติ (Auto titrator) วิเคราะห์ปริมาณกรด-ด่าง
12. เตาอบ (Oven)
13. อุปกรณ์เก็บข้อมูลอุณหภูมิ (Data logger) และ เทอร์โมมิเตอร์
14. เครื่องวัดความชื้น (Hygrometer)
15. สารเคมี
    - 15.1 สารมาตรฐาน phenthoate ที่มีความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 90.0 เปอร์เซ็นต์
    - 15.2 Acetone, AR grade
    - 15.3 Buffer solutions, pH 4 7 และ 9
    - 15.4 Deionized water, Standard water D
    - 15.5 Sodium hydroxide, standardized solutions (NaOH) 0.1 mol/L
    - 15.6 Disodium tartrate dihydrate analytical grade
    - 15.7 Combined titration solutions ผสม Iodine กับ SO_2
    - 15.8 Imidazole in methanol
    - 15.9 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ phenthoate 50 % W/V EC

วิธีการ

รูปแบบและวิธีการทดลอง

1. รูปแบบการทดลอง

1.1 สำรวจและรวบรวมตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง phenthoate ทดสอบสมบัติทางเคมีและสมบัติทางกายภาพในเวลาเริ่มต้น

1.1.1 ทำการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างผลิตภัณฑ์สาร phenthoate ในสูตรน้ำมันข้น (EC) 50 %W/V จากแหล่งผลิตหรือแหล่งจำหน่ายที่มีการขึ้นทะเบียนภายในประเทศโดยให้ทราบวันผลิตที่แน่นอน และเป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นใหม่ๆ อย่างน้อย 3 แหล่ง

1.1.2 ทำการทดสอบปริมาณสารออกฤทธิ์สาร phenthoate รวมทั้งทดสอบสมบัติทางเคมี (chemical properties) และสิ่งเจือปน (Impurities) ได้แก่ การหาปริมาณน้ำเจือปน (water content) ค่าความเป็นกรด (acidity) ค่า pH และสมบัติทางกายภาพ (physical properties) ในเวลาเริ่มต้น และทำการทดสอบการคงสภาพที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ตาม FAO-Specifications

1.2 ทำการศึกษาการเสื่อมสภาพในระยะยาวด้วยการเก็บรักษาตัวอย่างที่สภาวะอุณหภูมิห้องและสภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ตลอดช่วงเวลาการทดสอบ และทำการทดสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ สมบัติทางเคมี สิ่งเจือปน และสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างในการเก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิห้องและสภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส เมื่อครบช่วงเวลาทุก 3 เดือนจนครบ 18 เดือน โดยทำการทดสอบที่ 0 3 6 9 12 15 และ 18 เดือน ตามลำดับ

2. วิธีการทดลอง

2.1 วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1.1 จัดเตรียมเครื่องมือและอุปกรณ์ เช่น GC ที่มีตัวตรวจจับ FID สารเคมี วัสดุ และอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ และทดสอบทุกหัวข้อให้พร้อมใช้งาน

2.1.2 จัดเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ phenthoate จากบริษัทผู้ผลิตหรือนำเข้าเพื่อการขอขึ้นทะเบียนหรือจากร้านจำหน่ายได้แก่ ผลิตภัณฑ์ชนิดชนิดสูตรน้ำมันข้น Emulsifiable concentrate (EC) ที่มีความเข้มข้น 50 %W/V โดยทราบวันผลิตที่แน่นอน และตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่นำมาทำการศึกษาเป็นตัวอย่างที่ผลิตขึ้นใหม่ทำการเก็บตัวอย่างจาก 3 แหล่งผลิต เป็นแหล่งผลิตจากผู้ผลิตเริ่มต้น (basic producer) หรือแหล่งอื่นๆ ถ้าจำเป็น

2.1.3 ทำการบันทึกรายละเอียดของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ phenthoate ได้แก่ แหล่งผลิต บริษัทนำเข้า บริษัทจำหน่าย ชื่อสามัญ ชื่อการค้า วันที่ผลิต ชนิดของสูตร และความเข้มข้น เป็นต้น

2.1.4 ทำการจัดเตียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบจากตัวอย่างที่ได้มาทั้ง 3 แหล่ง ซึ่งต้องมีจำนวนตัวอย่างแหล่งละ 16 ขวด แบ่งย่อยเป็น 2 ชุด ๆ ละ 8 ขวด ดังนี้

ตัวอย่างชุดที่ 1 นำไปเก็บที่สภาวะอุณหภูมิห้อง จำนวน 8 ขวด ทั้ง 3 แหล่ง

ตัวอย่างชุดที่ 2 นำไปเก็บที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส จำนวน 8 ขวด ทั้ง 3 แหล่ง

2.1.5 ทำการทดสอบสมบัติของตัวอย่างก่อนการทดลองตามข้อข้อกำหนด FAO-Specifications ของสาร phenthoate (FAO, 1980) ดังนี้

2.1.5.1 นำตัวอย่างขวดที่ 1 ของตัวอย่างชุดที่ 1 ทั้ง 3 แหล่ง ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ phenthoate และทำการทดสอบความเป็นกรด ปริมาณน้ำเจือปน ค่า pH และทดสอบลักษณะทางกายภาพ บันทึกเป็นผลการทดสอบเริ่มต้น

2.1.5.2 นำตัวอย่างทำการทดสอบการคงสภาพของผลิตภัณฑ์ด้วยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส จนครบเวลา 14 วันแล้ว มาทำการทดสอบเช่นเดียวกันกับการทดสอบตัวอย่างที่สภาวะอุณหภูมิห้อง โดยการนำขวดที่ 1 ของตัวอย่างชุดที่ 2 ทั้ง 3 แหล่ง บันทึกเป็นผลทดสอบการคงสภาพเริ่มต้น

2.1.6 ทำการเก็บรักษาตัวอย่างทั้ง 2 ชุดเมื่อครบระยะเวลา 3 เดือน ให้นำตัวอย่างขวดที่ 3 ของทั้ง 2 ชุด ทั้ง 3 แหล่ง มาทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ phenthoate และทดสอบความเป็นกรด ปริมาณน้ำเจือปน ค่า pH และทดสอบสมบัติทางกายภาพ ทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ จากนั้นทำการทดสอบตัวอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลาทุก 3 เดือน จากตัวอย่างขวดที่ 4 ถึง 8 จนครบระยะเวลา 18 เดือน บันทึกผลการทดสอบที่ได้

2.1.7 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ phenthoate ด้วยเทคนิค Gas Chromatography ตาม CIPAC volume 1 (Ashworth et al, 1970) วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อเนื่องทุก 3 เดือนเป็นเวลา 18 เดือน บันทึกผลการวิเคราะห์

2.1.8 การทดสอบปริมาณน้ำเจือปน โดยใช้เครื่อง Karl Fisher Titrator ตามวิธี MT 30.5 CIPAC J (Dobrat and Martin, 1995) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อเนื่องทุก 3 เดือน ระยะเวลา 18 เดือน บันทึกผลการวิเคราะห์

2.1.9 การตรวจทดสอบความเป็นกรด (acidity) โดยใช้เครื่อง Auto Titrator ตามวิธี MT 191 CIPAC L (Dobrat and Martin, 2006) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อเนื่องทุก 3 เดือน ระยะเวลา 18 เดือน บันทึกผลการทดสอบ

2.1.10 การทดสอบค่า pH โดยใช้เครื่อง pH meter ตามวิธี MT 75.3 CIPAC K (Dobrat and Martin, 2000) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อเนื่องทุก 3 เดือน ระยะเวลา 18 เดือน บันทึกผลการทดสอบ

2.2 การบันทึกข้อมูล

2.2.1 บันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร phenthoate ผลการทดสอบปริมาณน้ำเจือปน ความเป็นกรด ค่า pH และสมบัติทางกายภาพ ของตัวอย่างทดสอบ

2.2.2 บันทึกผลของ อุณหภูมิห้องและความชื้น สถานที่เก็บรักษาตัวอย่างทดสอบที่อุณหภูมิห้อง และบันทึกอุณหภูมิของตู้อบที่เก็บรักษาตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

2.2.3 รวบรวมข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร phenthoate ผลการทดสอบปริมาณน้ำเจือปน ความเป็นกรด ค่า pH และสมบัติทางกายภาพ และข้อมูลสิ่งแวดล้อมทางด้านอุณหภูมิ เพื่อสรุปจากผลการทดลองที่ได้

3. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

3.1 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร phenthoate

3.1.1 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร phenthoate ด้วยวิธี GC การปรับตั้งสภาวะการใช้งานของเครื่อง GC-FID ดังนี้

Capillary column	:	DB-5, 30 x 0.32 mm (id), 5% phenyl-methyl polysiloxane
Oven temperature	:	260 องศาเซลเซียส
Injection temperature	:	230 องศาเซลเซียส
Detector temperature	:	260 องศาเซลเซียส
Split mode	:	split ratio 50:1
Carrier gas	:	Helium flow 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที
Detector gas	:	Hydrogen 40.0 มิลลิลิตรต่อนาที
		Air 400.0 มิลลิลิตรต่อนาที
Make up gas	:	Nitrogen 40.0 มิลลิลิตรต่อนาที
injection volume	:	1 ไมโครลิตร
run time	:	5 นาที

3.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน phenthoate จำนวน 2 ซ้ำ (C_1 และ C_2) โดยชั่งสารมาตรฐานให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 10±2 มิลลิกรัม จำนวน 2 ซ้ำ ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ทำละลายด้วย acetone ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้ครบด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

3.1.3 เตรียมสารละลายตัวอย่าง (S_1 S_2 และ S_3) โดยชั่งสารตัวอย่าง ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 25±5 มิลลิกรัม จำนวน 3 ซ้ำ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ทำละลายด้วย acetone ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้ครบด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

3.1.4 เตรียมสารละลาย control sample จำนวน 2 ซ้ำ (H_1 และ H_2) โดยชั่งสาร control sample ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 25±5 มิลลิกรัม จำนวน 2 ซ้ำ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ทำละลายด้วย acetone

ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้ครบด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

3.1.5 ตรวจสอบความพร้อมของเครื่องมือในการวิเคราะห์ ตรวจสอบโดยการฉีดสารละลายมาตรฐาน (C_1) เข้าเครื่องอย่างน้อย 5 ซ้ำ จนกระทั่ง peak area หรือ peak height ร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ไม่เกิน 2

3.1.6 การควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control)

3.1.6.1 ทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 25±5 องศาเซลเซียส

3.1.6.2 เตรียมสารละลาย control sample ดำเนินการในข้อ 3.1.4 จำนวนอย่างน้อย 2 ซ้ำ ค่าร้อยละความแตกต่างสัมพัทธ์ (%RPD) ของสารละลายแตกต่างไม่เกิน 3

3.1.6.3 ฉีดสารละลาย control sample ที่ทราบปริมาณสารออกฤทธิ์แน่นอน ควบคู่กับตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ทุกครั้ง เทียบผลใหม่กับผลเดิม ตรวจสอบผลของการทดสอบ control sample ค่าร้อยละความแตกต่างสัมพัทธ์ (%RPD) ของผลใหม่กับผลเดิมไม่เกิน 4

3.1.7 การหาค่าความหนาแน่นของตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Density meter ตามวิธีการใช้เครื่อง density meter บันทึกค่าความหนาแน่นที่ได้

3.1.8 คำนวณปริมาณสารออกฤทธิ์จากวิธีการวิเคราะห์

3.2 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณน้ำ (water content)

โดยใช้เครื่อง Karl fischer titrator ตามวิธี MT 30.5 CIPAC F หัวข้อ Karl Fischer method using pyridine-free reagent (Dobrat and Martin, 1995) วิธีวิเคราะห์แบบใช้ base ชนิด imidazole แทนสาร pyridine ทำ standardization โดยใช้สาร disodium tartrate dihydrate ใช้สารละลาย Combined titration solutions ผสม Iodine กับ SO_2 และไทเทรตด้วย imidazole ในสารละลาย dried methanol ขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

3.2.1 ทำการ pre-titration ใส่ dried methanol ให้ท่วม prob Pt-electrode ทำการไทเทรตเพื่อวิเคราะห์น้ำใน dried methanol

3.2.2 ทำ standardization ด้วยการชั่งสาร disodium tartrate dihydrate ประมาณ 0.2-0.25 มิลลิกรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 0.1 มิลลิกรัม (W_1) ทำการไทเทรตจนได้ปริมาตรที่จุดยุติ (V_1) แล้วเปลี่ยนสารละลายทิ้ง

3.2.3 วิเคราะห์ปริมาณน้ำในตัวอย่างด้วยการทำ pre-titration ก่อน แล้วเติมตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (W_2) ลงไปแล้วทำการไทเทรตจนได้ปริมาตรสารที่จุดยุติ (V_2) นำข้อมูลมาคำนวณหาปริมาณน้ำในตัวอย่างดังสมการ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

$$\%\text{water} = \frac{(15.66 \times W_1 \times 1000 \times V_2)}{(100 \times V_1 \times W_2)}$$

3.3 ตรวจวิเคราะห์ความเป็นกรด (acidity)

โดยใช้เครื่อง auto titrator ตามวิธี MT 191 CIPAC L หัวข้อ Acidity or alkalinity of formulated pesticide (Dobrat and Martin, 2006) โดยการชั่งสารตัวอย่างน้ำหนัก 10 กรัม (W) เติมลงในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำ DI จนครับ 100 มิลลิลิตร กวนและทำการไทเทรตโดยใช้ electrode วัดให้ได้ค่า pH 7 ที่อุณหภูมิห้อง ใช้สารละลาย sodium hydroxide (t) หรือสารละลาย hydrochloric acid (s) ขึ้นอยู่กับค่า pH ของสารละลายตัวอย่าง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

$$\text{Acidity calculated as } H_2SO_4 = \frac{4.904 \times t \times C_1}{W} \ \%m/m$$

C_1=$C_{(NaOH)}$, mol/l (normality) ของสารละลาย sodium hydroxide

3.4 ทดสอบค่า pH

การทดสอบค่า pH ของสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำ DI โดยใช้เครื่องวัดค่า pH ใช้ระบบ electrode ตามวิธีทดสอบ MT 75.3 CIPAC J ในหัวข้อ pH values (Dobrat and Martin, 2000) ด้วยการเตรียมสารละลาย 1% W/V หรือ

1% V/V จากการชั่งตัวอย่าง 1 กรัม เติมลงในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำ DI ประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำ DI จนครับ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันอย่างดีเทลงในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตรตั้งไว้ 1 นาทีแล้วให้อุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องทำการวัด pH ของสารละลายโดยจุ่ม electrode probe ก่อนอ่านค่า 1 นาที ถ้าค่าที่อ่านเปลี่ยนเกิน 0.1 หน่วยให้อ่านค่าที่ 10 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ระยะเวลาดำเนินการ เริ่มเดือนตุลาคม 2562 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบการเสื่อมสภาพผลิตภัณฑ์ของสาร phenthoate มีดังนี้

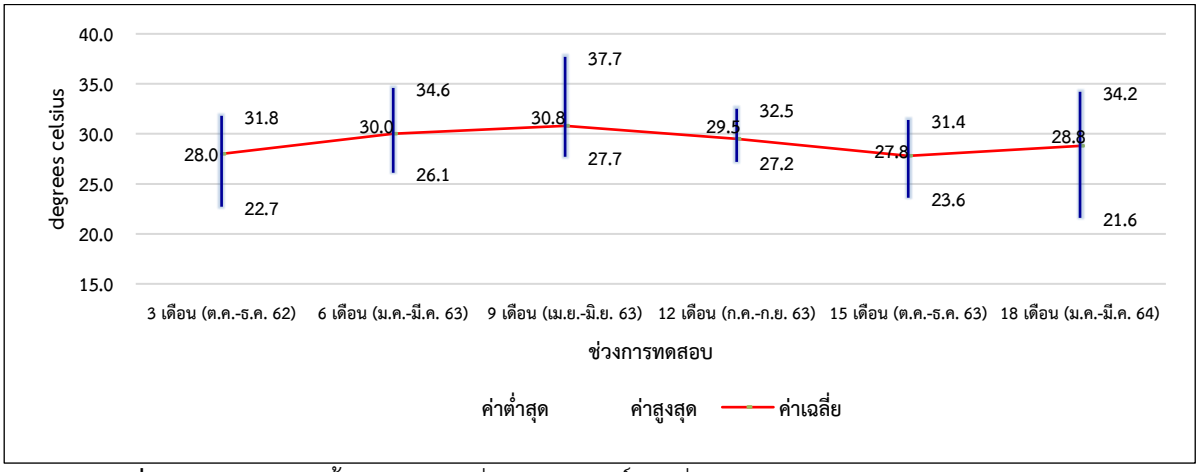
1. ปัจจัยหลักในการทดสอบคือ การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง และสภาวะอุณหภูมิที่ 54±2 องศาเซลเซียส ผลการบันทึกอุณหภูมิดังนี้

1.1 สภาวะอุณหภูมิห้องและความชื้นสัมพัทธ์ที่ทำการเก็บผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทดสอบสาร phenthoate บันทึกอุณหภูมิโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ บันทึกความชื้นสัมพัทธ์ด้วยเครื่องวัดความชื้นระยะเวลา 18 เดือน แสดงผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการบันทึกข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ของสถานที่ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ phenthoate แสดงช่วงละ 3 เดือน ระยะเวลา 18 เดือน

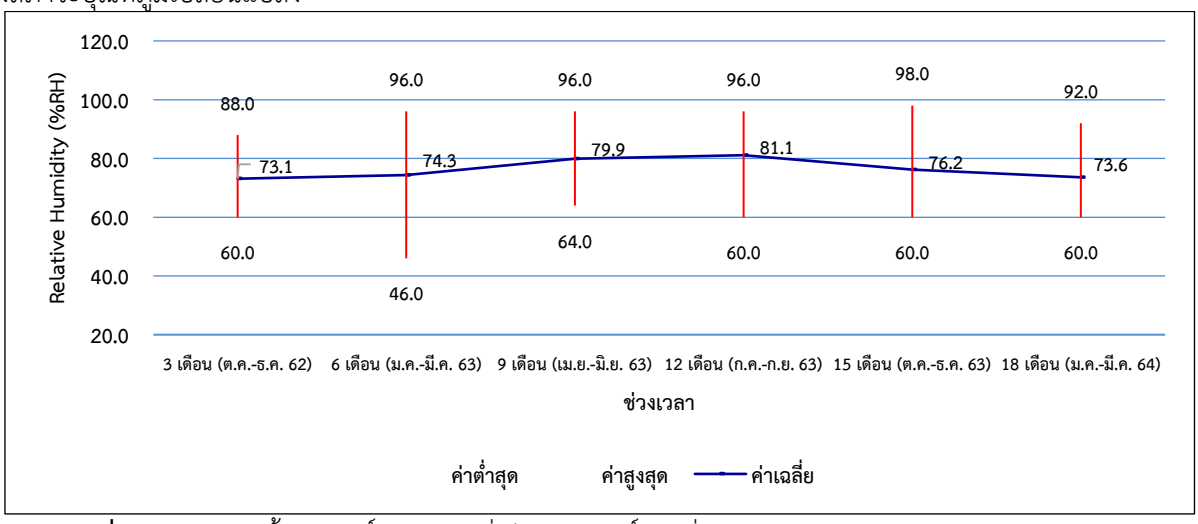
ระยะเวลา (เดือน)	ช่วงเดือน	อุณหภูมิห้อง(°C)		ความชื้นสัมพัทธ์ (RH%)	
		ค่าเฉลี่ย	ค่าต่ำ-ค่าสูง	ค่าเฉลี่ย	ค่าต่ำ-ค่าสูง
3	ตุลาคม-ธันวาคม, 2562	28.0	22.7-31.8	73.1	60.0-88.0
6	มกราคม-มีนาคม, 2563	30.0	26.1-34.6	74.3	46.0-96.0
9	เมษายน-มิถุนายน, 2563	30.8	27.7-37.7	79.9	64.0-96.0
12	กรกฎาคม-กันยายน, 2563	29.5	27.2-32.5	81.1	60.0-96.0
15	ตุลาคม-ธันวาคม, 2563	27.8	23.6-31.4	76.2	60.0-98.0
18	มกราคม-มีนาคม, 2564	28.8	21.6-34.2	73.6	60.0-92.0

ผลการบันทึกข้อมูลอุณหภูมิห้อง และความชื้น ของสถานที่เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของสาร phenthoate โดยแสดงช่วงละ 3 เดือน จากทั้งหมด 18 เดือน เพื่อให้สอดคล้องกับช่วงการทดสอบสาร phenthoate พบว่าอุณหภูมิตลอดการทดสอบอยู่ในช่วง 21.6–37.7 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.2 องศาเซลเซียส และผลการบันทึกความชื้นสัมพัทธ์ด้วยเครื่องวัดความชื้น ความชื้นสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 46.0–98.0 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 76.4 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้การพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ชัดเจนมากขึ้นนำมาวาดกราฟความสัมพันธ์เทียบกับระยะเวลาแสดงดังภาพที่ 2 และภาพที่ 3



ภาพที่ 2 แสดงอุณหภูมิห้องของสถานที่เก็บผลิตภัณฑ์ตัวอย่างสาร phenthoate ระยะเวลา 18 เดือน

ภาพที่ได้แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงเวลาละ 3 เดือนมีค่า ค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และเส้นแนวโน้มของสภาวะอุณหภูมิเปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 3 แสดงความชื้นสัมพัทธ์ของสถานที่เก็บผลิตภัณฑ์ตัวอย่างสาร phenthoate ระยะเวลา 18 เดือน

ภาพที่ได้แสดงการเปลี่ยนแปลงความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงเวลาละ 3 เดือน มีค่า ค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และเส้นแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงความชื้นสัมพัทธ์ของข้อมูลทั้ง 18 เดือน

ตารางที่ 3 ผลของอุณหภูมิห้องและความชื้นสัมพัทธ์ของสถานที่ทดสอบเทียบกับเกณฑ์ของ Climatic zone

รายการ	อุณหภูมิห้อง (°C)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%RH)
เกณฑ์ Zone IVb ของ Climatic zone ของ WHO	30±2	75±5
ค่าเฉลี่ย (ค่าต่ำ-ค่าสูง)	29.2 (21.6–37.7)	76.4 (46.0–98.0)

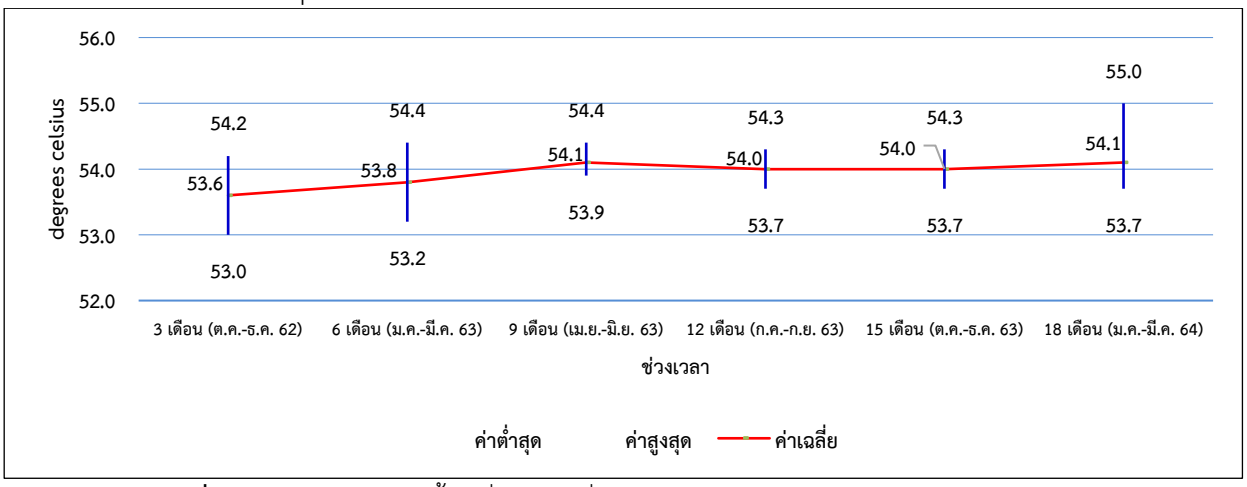
จากตารางรายงานอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของสถานที่เก็บตัวอย่างทดสอบในสภาวะอุณหภูมิห้อง แสดงให้เห็นว่าสถานที่ทำการทดสอบจัดอยู่ใน Zone IVb ของ climatic zone กล่าวคืออยู่ในเขตอากาศร้อนและความชื้นสูงมากกว่า (hot/higher humidity) ตามเกณฑ์ของ WHO กำหนด (Pharmaceutical guidelines, 2010) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาลของประเทศ

1.2 สภาวะอุณหภูมิของสถานที่ทำการเก็บผลิตภัณฑ์ของสาร phenthoate ในสภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส โดยการบ่มในตู้อบเพื่อควบคุมอุณหภูมิ ทำการเก็บข้อมูล 18 เดือน แสดงผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงอุณหภูมิของตู้อบที่ 54±2 องศาเซลเซียส ของการเก็บตัวอย่างทดสอบสาร phenthoate ระยะเวลา 18 เดือน

ระยะเวลา (เดือน)	ช่วงเดือน	ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิ(°C)	ช่วงอุณหภูมิ(°C)
3	ตุลาคมถึงธันวาคม ปี 2562	53.6	53.0-54.2
6	มกราคมถึงมีนาคม ปี 2563	53.8	53.2-54.4
9	เมษายนถึงมิถุนายน ปี 2563	54.1	53.9-54.4
12	กรกฎาคมถึงกันยายน ปี 2563	54.0	53.7-54.3
15	ตุลาคมถึงธันวาคม ปี 2563	54.0	53.7-54.3
18	มกราคมถึงมีนาคม ปี 2564	54.1	53.7-55.0

จากข้อมูลของการบันทึกอุณหภูมิของตู้อบที่อุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ในช่วงเดือนต่าง ๆ ที่ทำการเก็บตัวอย่างทดสอบของสาร phenthoate นำมาพลอตกราฟ ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงอุณหภูมิของตู้อบที่เก็บตัวอย่างทดสอบสาร phenthoate ระยะเวลา 18 เดือน

สภาวะอุณหภูมิที่ 54±2 องศาเซลเซียส ข้อมูลตลอดการทดสอบทั้ง 18 เดือน อุณหภูมิของการทดสอบอยู่ในช่วง 53.0-55.0 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 53.9 องศาเซลเซียส ในสภาวะอุณหภูมิดังกล่าวตู้อบสามารถควบคุมอุณหภูมิได้ดี

2. การทดสอบปริมาณสาร phenthoate ปริมาณน้ำเจือปน ความเป็นกรด และสมบัติต่าง ๆ ตามลักษณะสูตรของผลิตภัณฑ์ มีดังนี้

จากผลของการเก็บข้อมูลสภาวะแวดล้อมซึ่งเป็นปัจจัยในการทดสอบ เก็บข้อมูลของอุณหภูมิตามสภาวะอากาศของประเทศไทยและในสภาวะเร่งอุณหภูมิ ทำการทดสอบการเสื่อมสภาพระยะยาวของสาร ในช่วงเวลา 18 เดือน โดยทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ตัวอย่างได้ผลของการทดสอบปริมาณสาร phenthoate และผลการทดสอบสิ่งเจือปนคือ ปริมาณน้ำเจือปน ความเป็นกรด และสมบัติต่าง ๆ ตามลักษณะสูตรของผลิตภัณฑ์ คือ ค่า pH ลักษณะทางกายภาพ การทดสอบการการเกิดอิมัลชัน ซึ่งคาดว่าจะส่งผลเกี่ยวข้องกันกับการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์รายละเอียดดังนี้

การทดสอบการคงสภาพตาม FAO กำหนดสำหรับการขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์จะต้องทำการอบผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นทะเบียนในสภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน และทำการวิเคราะห์ปริมาณ phenthoate หลังจากอบแล้วเกณฑ์กำหนดต้องผ่าน 95 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสาร phenthoate ก่อนอบ (FAO, 1980) ผลแสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร phenthoate ในตัวอย่างเริ่มต้นและที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส เวลา 14 วัน

รายการทดสอบ (เกณฑ์ยอมรับ)	ตัวอย่าง S1		ตัวอย่าง S2		ตัวอย่าง S3	
	เริ่มต้น	สภาวะอุณหภูมิ 54±2 °C, 14 วัน	เริ่มต้น	สภาวะอุณหภูมิ 54±2 °C, 14 วัน	เริ่มต้น	สภาวะอุณหภูมิ 54±2 °C,14 วัน
phenthoate (47.5-52.5%)	51.0	49.7	49.0	47.2	49.4	48.3
phenthoate (>95%ของเริ่มต้น)	-	97.5	-	96.3	-	97.8
Water content (<0.5%)	0.36	0.33	0.19	0.22	0.41	0.17
Acidity (<0.2%)	0.05	0.04	0.03	0.05	0.04	0.04

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร phenthoate เริ่มต้น และผลการทดสอบสิ่งเจือปน (Impurities) คือ ปริมาณน้ำเจือปน (Water content) ความเป็นกรด (Acidity) ตาม FAO กำหนด ทุกหัวข้อตัวอย่างทดสอบทั้ง 3 แหล่งผ่านเกณฑ์การขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตร ผลการทดสอบการคงสภาพที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน พบปริมาณสาร phenthoate ต่ำกว่า 47.5-52.5 เปอร์เซ็นต์ ของเกณฑ์ผลิตภัณฑ์ปกติแต่ผลการทดสอบถือได้ว่าผ่านเกณฑ์กำหนดของ FAO ที่กำหนดว่าให้ปริมาณสาร phenthoate หลังการทดสอบการคงสภาพต้องไม่น้อยกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ ของสารเริ่มต้น (FAO, 1980)

ผลิตภัณฑ์ phenthoate ที่ผ่านการตรวจสอบสมบัติตามเกณฑ์กำหนดการขึ้นทะเบียนแล้วนำมาทำการศึกษาการเก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิห้อง (สถานที่ทำการทดลอง) และในที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบตัวอย่างทดสอบแสดงดัง ตารางที่ 6 และ 7

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบตัวอย่างผลิตภัณฑ์สาร phenthoate ทั้ง 3 แหล่ง ระยะเวลา 18 เดือน

ตัวอย่าง	สภาวะการเก็บ	รายการทดสอบ	ระยะเวลา (เดือน)							ค่าเฉลี่ย phenthoate (ลดลงต่อเดือน)
			0	3	6	9	12	15	18	
S1	อุณหภูมิห้อง	phenthoate (47.5-52.5%W/V)	51.0	47.6	49.7	49.2	48.6	48.1	49.3	ลดลง 0.1%
		Water content (<0.5%)	0.36	0.32	0.33	0.33	0.34	0.38	0.42	
		Acidity (<0.2%)	0.05	0.05	0.11	0.16	0.15	0.39*	0.19	
		pH (mean=3.45)	3.24	3.57	3.53	3.42	3.53	3.45	3.42	
	สภาวะอุณหภูมิ 54±2°C	phenthoate (47.5-52.5%W/V)	51.0	45.1*	44.9*	47.1*	47.4*	33.1*	40.4*	ลดลง 1.0%
		Water content (<0.5%)	0.33	0.22	0.26	0.33	0.40	0.49	0.49	
		Acidity (<0.2%)	0.04	0.16	0.39*	0.54*	0.31*	0.33*	0.36*	
		pH (mean=3.11)	3.40	3.21	2.98	2.86	3.05	3.20	3.07	
S2	อุณหภูมิห้อง	phenthoate (47.5-52.5%W/V)	49.0	46.0*	45.8*	43.7*	44.3*	43.8*	42.8*	ลดลง 0.3%
		Water content (<0.5%)	0.19	0.16	0.19	0.23	0.26	0.30	0.33	
		Acidity (<0.2%)	0.03	0.10	0.04	0.04	0.06	0.18	0.13	
		pH (mean=3.33)	3.58	3.44	3.34	3.27	3.29	3.21	3.16	
	สภาวะอุณหภูมิ 54±2°C	phenthoate (47.5-52.5%W/V)	49.0	38.7*	33.6*	25.4*	15.0*	7.4*	3.3*	ลดลง 2.5%
		Water content (<0.5%)	0.22	0.27	0.40	0.51*	0.63*	0.58*	0.63*	
		Acidity (<0.2%)	0.05	0.32*	0.56*	0.49*	0.61*	0.50*	0.56*	
		pH (mean=2.91)	3.60	3.01	2.79	2.80	2.81	2.70	2.68	
S3	อุณหภูมิห้อง	phenthoate (47.5-52.5%W/V)	49.4	47.0*	47.0*	45.8*	44.9*	41.6*	41.5*	ลดลง 0.4%
		Water content (<0.5%)	0.41	0.56*	0.70*	0.55*	0.72*	0.72*	0.72*	
		Acidity (<0.2%)	0.04	0.03	0.05	0.10	0.04	0.43*	0.36*	

ตัวอย่าง	สภาวะการเก็บ	รายการทดสอบ	ระยะเวลา (เดือน)							ค่าเฉลี่ย phenthoate (ลดลงต่อเดือน)
			0	3	6	9	12	15	18	
		pH (mean=3.35)	3.66	3.66	3.39	3.23	3.18	3.08	3.25	
	สภาวะ	phenthoate (47.5-52.5%W/V)	49.4	43.0*	37.5*	32.8*	28.5*	27.9*	18.6*	ลดลง 1.7%
	อุณหภูมิ	Water content (<0.5%)	0.17	0.55*	0.54*	0.56*	0.79*	1.22*	1.22*	
	54±2°C	Acidity (<0.2%)	0.04	0.02	0.42*	0.28*	0.81*	2.36*	2.48*	
		pH (mean=2.86)	3.31	3.18	2.94	2.81	2.72	2.44	2.65	

*, _____ หมายถึง ข้อมูลหรือมีข้อมูลไม่ผ่านเกณฑ์

ผลการทดลอง ตัวอย่าง S1 สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องปริมาณสาร phenthoate เริ่มต้น 51.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไปทุกช่วงพบว่าปริมาณสารยังคงมีปริมาณอยู่ในเกณฑ์ 47.5-52.5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มลดลงเฉลี่ย 0.1 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.32-0.42 เปอร์เซ็นต์ผ่านเกณฑ์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และความเป็นกรด 0.05-0.39 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มสูงกว่าเกณฑ์กำหนดของ FAO 0.2 เปอร์เซ็นต์ และค่า pH 3.24-3.57 ที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ช่วงเดือนที่ 3 พบว่าปริมาณสาร phenthoate มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ 47.5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มลดลงเฉลี่ย 1.0 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.22-0.49 เปอร์เซ็นต์ผ่านเกณฑ์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด 0.04-0.54 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มสูงกว่าเกณฑ์ ค่า pH อยู่ในช่วง 2.86-3.40 มีแนวโน้มลดลง

ตัวอย่าง S2 สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องปริมาณ phenthoate เริ่มต้น 49.0 เปอร์เซ็นต์ ช่วงเดือนที่ 3 ปริมาณ phenthoate มีค่า 46.0 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าเกณฑ์ 47.5-52.5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มลดลงเฉลี่ย 0.3 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.16-0.33 เปอร์เซ็นต์ และความเป็นกรด 0.10-0.18 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดผ่านเกณฑ์แต่มีแนวโน้มสูงขึ้น ค่า pH 3.16-3.58 มีแนวโน้มลดลงที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ปริมาณสาร phenthoate ช่วงเดือนที่ 3 มีค่า 38.7 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าเกณฑ์ มีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วเฉลี่ย 2.5 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.22-0.63 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่เดือนที่ 9 ไม่ผ่านเกณฑ์ ความเป็นกรด 0.05-0.61 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 3 ไม่ผ่านเกณฑ์กำหนดมีแนวโน้มสูงกว่าเกณฑ์ พบไม่ผ่านเกณฑ์เล็กน้อยไม่มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลง ค่า pH อยู่ในช่วง 2.68-3.60 มีแนวโน้มลดลง

ตัวอย่าง S3 สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องปริมาณสาร phenthoate เริ่มต้น 49.4 เปอร์เซ็นต์ ช่วงเดือนที่ 3 มีค่า 47.0 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าเกณฑ์มีแนวโน้มลดลงเฉลี่ย 0.4 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.41-0.72 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มสูงขึ้น และความเป็นกรด 0.03-0.43 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มสูงขึ้น ทั้งสองข้อไม่ผ่านเกณฑ์กำหนดค่า pH 3.18-3.66 มีแนวโน้มลดลง ที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ปริมาณสาร phenthoate ช่วงเดือนที่ 3 มีค่า 43.0 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าเกณฑ์ มีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วค่าเฉลี่ย 1.7 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.54-1.22 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 3 ไม่ผ่านเกณฑ์ ความเป็นกรด 0.02-2.48 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 6 ไม่ผ่านเกณฑ์กำหนดและมีแนวโน้มสูงขึ้นค่า pH อยู่ในช่วง 2.44-3.31 มีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงผลทดสอบของปริมาณสารออกฤทธิ์ ปริมาณน้ำเจือปน ความเป็นกรด และ pH ของตัวอย่างทดสอบ phenthoate

ตัวอย่าง	สภาวะการเก็บรักษา	การเปลี่ยนแปลงสมบัติของผลิตภัณฑ์ phenthoate				
		สารออกฤทธิ์ ลดลง	ปริมาณน้ำเจือปน เพิ่มขึ้น	ปริมาณน้ำเจือปน คงที่	ความเป็นกรด เพิ่มขึ้น	pH ลดลง
S1	อุณหภูมิห้อง	✓		✓	✓	✓
	สภาวะอุณหภูมิ 54±2°C	✓	✓		✓	✓
S2	อุณหภูมิห้อง	✓	✓		✓	✓
	สภาวะอุณหภูมิ 54±2°C	✓	✓		✓	✓
S3	อุณหภูมิห้อง	✓	✓		✓	✓
	สภาวะอุณหภูมิ 54±2°C	✓	✓		✓	✓

จากตารางเมื่อปริมาณสาร phenthoate ลดลง สิ่งเจือปนเปลี่ยนแปลงไปดังนี้ ปริมาณน้ำเจือปนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น 5 ใน 6 ของการทดสอบ และค่าความเป็นกรดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกตัวอย่างทดสอบ และค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงแบบผกผันกับค่าความเป็นกรด

ตารางที่ 8 อัตราการเสื่อมของ phenthoate เปรียบเทียบการเก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส กับอุณหภูมิห้อง จากสมการเส้นตรงของผลการทดลอง

ตัวอย่าง	สภาวะการเก็บรักษา	สมการเส้นตรงของการลดลงของ phenthoate	R^2	คำนวณอัตราการเสื่อมสภาพจากสมการเส้นตรง (สภาวะเร่งอุณหภูมิกับอุณหภูมิห้อง)	ระยะเวลาสารลดลงต่ำกว่า 47.5% (เดือน)
S1	อุณหภูมิห้อง	Y = -0.1932X + 50.943	0.9972	-	มากกว่า 18 เดือน
	สภาวะอุณหภูมิ 54±2°C	Y = -0.4686X + 49.074	0.7083	2.4 เท่า	น้อยกว่า 3 เดือน
S2	อุณหภูมิห้อง	Y = -0.2917X + 47.682	0.8221	-	น้อยกว่า 3 เดือน
	สภาวะอุณหภูมิ 54±2°C	Y = -2.5988X + 48.018	0.9910	8.9 เท่า	น้อยกว่า 3 เดือน
S3	อุณหภูมิห้อง	Y = -0.4357X + 49.236	0.9357	-	น้อยกว่า 3 เดือน
	สภาวะอุณหภูมิ 54±2°C	Y = -1.5667X + 48.057	0.9718	3.6 เท่า	น้อยกว่า 3 เดือน

ความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของสาร phenthoate เทียบกับระยะเวลาการทดลอง วาดกราฟโดยใช้สมการถดถอยอย่างง่าย (Simple Regression Analysis) แสดงความสัมพันธ์ในรูปสมการเชิงเส้นหรือเส้นตรง โดยมีรูปแบบของสมการเส้นตรง $y = a + bx$ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ดังตารางที่ 8 นำสมการมาคำนวณหาปริมาณสาร phenthoate และระยะเวลาการลดลงต่ำกว่าเกณฑ์กำหนดและเปรียบเทียบอัตราการเสื่อมของสาร phenthoate ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน ได้อัตราการลดลงของสาร phenthoate จากผลของอุณหภูมิ โดยคำนวณจากการสมการเส้นตรงของการลดลงของสาร phenthoate พบว่า ตัวอย่าง S1 การเก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส สาร phenthoate เสื่อมสภาพเพิ่มขึ้นกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 2.4 เท่า ระยะเวลาสารลดลงต่ำกว่า 47.5 เปอร์เซ็นต์ของการเก็บที่สภาวะอุณหภูมิห้องใช้เวลามากกว่า 18 เดือนและการเก็บตัวอย่างที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียสใช้เวลาน้อยกว่า 3 เดือน ตัวอย่าง S2 สภาวะการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส การเสื่อมสภาพเพิ่มขึ้นกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 8.9 เท่า เวลาที่สารลดลงต่ำกว่า 47.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 2 สภาวะการเก็บตัวอย่างใช้เวลาน้อยกว่า 3 เดือน ตัวอย่าง S3 สภาวะการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส เสื่อมสภาพเพิ่มขึ้นกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง 3.6 เท่า เวลาที่สารลดลงน้อยกว่า 47.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 2 สภาวะการเก็บตัวอย่างใช้เวลาน้อยกว่า 3 เดือน

การทดสอบสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างทดสอบโดยการสังเกตลักษณะภายนอกและทดสอบการใช้งาน โดยการพิจารณาการเกิดอิมัลชันตามลักษณะสูตรของผลิตภัณฑ์ได้ผลแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ลักษณะทางกายภาพและผลทดสอบการใช้งานของผลิตภัณฑ์ phenthoate ของการทดลอง

ระยะเวลา (เดือน)		ตัวอย่าง S1		ตัวอย่าง S2		ตัวอย่าง S3	
		อุณหภูมิห้อง	สภาวะอุณหภูมิ 54±2℃	อุณหภูมิห้อง	สภาวะอุณหภูมิ 54±2℃	อุณหภูมิห้อง	สภาวะอุณหภูมิ54±2℃
0	ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด	
	การใช้งาน	เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์	
3	ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด	
	การใช้งาน	เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์	
6	ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด	
	การใช้งาน	เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์	
9	ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด	
	การใช้งาน	เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์	
12	ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด	
	การใช้งาน	เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์	
15	ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด <u>เกิดผลึกแข็งที่ก้นขวด*</u>
	การใช้งาน	เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์	
18	ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด		ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ไม่หนืด <u>เกิดผลึกแข็งที่ก้นขวด*</u>
	การใช้งาน	เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์		เกิดอิมัลชันสมบูรณ์	

ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของตัวอย่าง S1 และ S2 ทั้ง 2 สภาวะการเก็บรักษา และตัวอย่าง S3 ของการเก็บที่สภาวะอุณหภูมิห้อง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง และผลการทดสอบการใช้งานตัวอย่างทดสอบสามารถเกิดอิมัลชันได้เป็นปกติ ส่วนตัวอย่าง S3 ของการเก็บตัวอย่างที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส พบลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนแปลงโดยเกิดผลึกแข็งเกาะบริเวณก้นขวดตั้งแต่เดือนที่ 15 แต่ผลการทดสอบการใช้งานของตัวอย่างทดสอบสามารถเกิดอิมัลชันได้ปกติ

การเสื่อมสภาพของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สาร phenthoate ที่เกิดขึ้นโดยพิจารณาจากการลดลงของสารออกฤทธิ์ประเมินกับการเปลี่ยนแปลงของสิ่งเจือปนที่สำคัญ เช่น การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำเจือปน และค่าความเป็นกรดที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของสาร phenthoate ซึ่งเกิดความแตกต่างตามแหล่งผลิตที่ต่างกัน โดยมีอุณหภูมิของสภาวะแวดล้อมเป็นตัวเร่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวซึ่งส่งผลต่ออัตราการเสื่อมสภาพของตัวอย่างผลิตภัณฑ์สาร phenthoate ดังนั้นในทุกขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ phenthoate จะต้องให้ความระมัดระวังในเรื่องการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไม่ให้สัมผัสกับความร้อนโดยตรงหรืออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงซึ่งจะส่งผล ทำให้สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพได้เร็วขึ้น

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

ผลการทดสอบการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง phenthoate

1. ปัจจัยที่ศึกษาด้านอุณหภูมิของการเก็บรักษา ได้ผลดังรายละเอียด

1.1 สภาวะอุณหภูมิห้องพบว่า ตลอดการทดสอบอยู่ในช่วง 21.6–37.7 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 46.0–98.0 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 76.4 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าสถานที่ทำการทดลองจัดอยู่ใน Zone IVb คือเขตอากาศร้อนและความชื้นสูงมากกว่า (hot/higher humidity) ตามเกณฑ์ของ WHO ที่กำหนดค่าอุณหภูมิเฉลี่ยเท่ากับ 30±2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 75±5 เปอร์เซ็นต์ ตามการแบ่งเขตภูมิอากาศ (Pharmaceutical guidelines, 2010)

1.2 สภาวะอุณหภูมิที่ 54±2 องศาเซลเซียส ข้อมูลสรุปทั้ง 18 เดือน พบว่าอุณหภูมิตลอดการทดสอบอยู่ในช่วง 53.0-55.0 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 53.9 องศาเซลเซียส สามารถควบคุมได้ตามเกณฑ์ที่กำหนด

2. การทดสอบปริมาณสาร phenthoate ปริมาณน้ำเจือปน ความเป็นกรด และสมบัติต่าง ๆ ตามลักษณะสูตรของผลิตภัณฑ์

จากสภาวะการเก็บตัวอย่างได้ทำการทดสอบตัวอย่างทุก ๆ 3 เดือนตลอดการทดลอง 18 เดือน ตัวอย่าง 3 แหล่งทำทดสอบ 7 ครั้ง ๆ ละ 2 ชุดสภาวะทดสอบ ทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และมีตัวอย่างอีกจำนวนชุด 1 สำหรับทดสอบการคงสภาพตามเกณฑ์ทดสอบของ FAO ได้ผลการทดสอบดังนี้

ตัวอย่าง S1 สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องพบปริมาณสาร phenthoate เริ่มต้น 51.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าปริมาณสาร phenthoate ยังคงมีปริมาณอยู่ในเกณฑ์ 47.5-52.5 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มลดลงเฉลี่ย 0.1 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.32-0.42 เปอร์เซ็นต์ ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนค่าความเป็นกรด 0.05-0.39 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมากกว่าเกณฑ์กำหนด 0.2 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH 3.24-3.57 ผลการทดสอบที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ช่วงเดือนที่ 3 พบว่าปริมาณสาร phenthoate มีค่าลดลงน้อยกว่าเกณฑ์ 47.5 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มลดลงเฉลี่ย 1.0 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.22-0.49 เปอร์เซ็นต์ ผ่านเกณฑ์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรด 0.04-0.54 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมากกว่าเกณฑ์ และค่า pH อยู่ในช่วง 2.86-3.40 มีแนวโน้มลดลง

ตัวอย่าง S2 สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องพบปริมาณ phenthoate เริ่มต้น 49.0 เปอร์เซ็นต์ และช่วงเดือนที่ 3 มีค่า 46.0 เปอร์เซ็นต์ ลดลงน้อยกว่าเกณฑ์ 47.5-52.5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มลดลงเฉลี่ย 0.3 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.16-0.33 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรด 0.10-0.18 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดผ่านเกณฑ์แต่มีค่าแนวโน้มเพิ่มขึ้น ค่า pH 3.16-3.58 มีแนวโน้มลดลง ที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ปริมาณสาร phenthoate ช่วงเดือนที่ 3 มีค่า 38.7 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่าเกณฑ์ มีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วเฉลี่ย 2.5 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.22-0.63 เปอร์เซ็นต์ ไม่ผ่านเกณฑ์ตั้งแต่เดือนที่ 9 ค่าความเป็นกรด 0.05-0.61 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 3 ไม่ผ่านเกณฑ์และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ค่า pH อยู่ในช่วง 2.68-3.60 มีแนวโน้มลดลง

ตัวอย่าง S3 สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องปริมาณสาร phenthoate เริ่มต้น 49.4 เปอร์เซ็นต์ และช่วงเดือนที่ 3 มีค่า 47.0 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่ากว่าเกณฑ์มีแนวโน้มลดลงเฉลี่ย 0.4 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.41-0.72 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และค่าความเป็นกรด 0.03-0.43 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ทั้งสองข้อไม่ผ่านเกณฑ์กำหนด ค่า pH 3.18-3.66 มีแนวโน้มลดลง ที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ปริมาณสาร phenthoate ช่วงเดือนที่ 3 มีค่า 43.0 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่ากว่าเกณฑ์และมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็วค่าเฉลี่ย 1.7 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ปริมาณน้ำเจือปน 0.54-1.22 เปอร์เซ็นต์ไม่ผ่านเกณฑ์ตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 3 ค่าความเป็นกรด 0.02-2.48 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 6 ไม่ผ่านเกณฑ์และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ค่า pH อยู่ในช่วง 2.44-3.31 มีแนวโน้มลดลง

พิจารณาปริมาณสาร phenthoate พบว่าสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องของตัวอย่าง S1 ปริมาณสาร phenthoate อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน 47.5-52.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดการทดลอง ตัวอย่าง S2 และ S3 ลดลงน้อยกว่าเกณฑ์มาตรฐานตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 3 และมีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลอง และสภาวะการเก็บที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศา

เซลเซียส ตัวอย่างทั้ง 3 มีปริมาณสาร phenthoate ลดลงน้อยกว่าเกณฑ์มาตรฐานตั้งแต่ช่วงเดือนที่ 3 และมีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลอง

พิจารณาอัตราการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate พบว่า ตัวอย่าง S1 การเก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิที่ 54±2 องศาเซลเซียส สาร phenthoate เสื่อมสภาพเพิ่มขึ้นกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 2.4 เท่า ระยะเวลาสารลดลงน้อยกว่า 47.5 เปอร์เซ็นต์ สภาวะอุณหภูมิห้องใช้เวลามากกว่า 18 เดือนและที่สภาวะอุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส ใช้เวลาน้อยกว่า 3 เดือน ตัวอย่าง S2 สภาวะอุณหภูมิที่ 54±2 องศาเซลเซียส เสื่อมสภาพเพิ่มขึ้นกว่าที่อุณหภูมิห้อง 8.9 เท่า เวลาที่สารลดลงน้อยกว่า 47.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 2 สภาวะใช้เวลาน้อยกว่า 3 เดือน ตัวอย่าง S3 สภาวะอุณหภูมิที่ 54±2 องศาเซลเซียส เสื่อมสภาพเร็วกว่าที่อุณหภูมิห้อง 3.6 เท่า เวลาที่สารลดลงน้อยกว่า 47.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 2 สภาวะใช้เวลาน้อยกว่า 3 เดือน

พิจารณาสถานะการณ์การเปลี่ยนแปลงของสิ่งเจือปนเมื่อปริมาณสาร phenthoate ในผลิตภัณฑ์ลดลง มีการเปลี่ยนแปลงไปดังนี้ ปริมาณน้ำเจือปนเพิ่มขึ้น 5 ใน 6 ของการทดสอบ ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นทุกการทดสอบ และค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงแบบผกผันกับค่าความเป็นกรด

พิจารณาลักษณะทางกายภาพของตัวอย่าง S1 ตัวอย่าง S2 ทั้ง 2 สภาวะการเก็บรักษา รวมทั้งตัวอย่าง S3 ของการเก็บที่สภาวะอุณหภูมิห้อง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง และผลการทดสอบการใช้งานผลิตภัณฑ์สามารถเกิดอิมัลชันได้ปกติ ส่วนตัวอย่าง S3 ลักษณะทางกายภาพเกิดผลึกแข็งเกาะบริเวณก้นขวดตั้งแต่เดือนที่ 15 ที่สภาวะอุณหภูมิที่ 54±2 องศาเซลเซียส แต่ผลการทดสอบการใช้งานผลิตภัณฑ์สามารถเกิดอิมัลชันได้ปกติ

การเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สาร phenthoate สามารถเกิดขึ้นเร็วพบได้จากทั้ง 2 สภาวะการเก็บรักษาคือ สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเกิดขึ้นจากกรณีที่ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์เก็บได้น้อยกว่า 3 เดือน มีความเป็นไปได้จริงอาจเนื่องมาจากเสถียรภาพของการคงสภาพผลิตภัณฑ์ไม่ดีเกิดขึ้นเฉพาะตัวอย่างนั้นๆ ไม่ได้เกิดทุกตัวอย่าง แต่เกิดกับ 2 ใน 3 ตัวอย่างทดสอบ เมื่อพิจารณาปริมาณของสิ่งเจือปนที่สำคัญ (Relevant impurities) ในการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate ร่วมด้วยพบว่า ปริมาณน้ำเจือปน และค่าความเป็นกรดมีปริมาณเพิ่มขึ้นชัดเจนในทุกตัวอย่างทดสอบที่เสื่อมสภาพเร็วซึ่งเกิดขึ้น 5 ใน 6 ของการทดสอบ สิ่งเจือปนที่สำคัญทั้ง 2 ข้อ มีเกณฑ์กำหนดปริมาณให้สิ่งเจือปนได้ตามข้อกำหนดเฉพาะของ FAO ไว้อย่างชัดเจน จึงถือได้ว่าการลดลงของปริมาณสาร phenthoate เกิดจากการเปลี่ยนแปลงภายในผลิตภัณฑ์นั้นจริง และจากการเก็บรักษาในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 54±2 องศาเซลเซียส พบการลดลงของปริมาณสาร phenthoate สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของสิ่งเจือปนที่สำคัญทั้ง 2 ชนิดที่เพิ่มขึ้นชัดเจนและเสื่อมสภาพเร็วกว่าการเก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิห้องในทุกตัวอย่างทดสอบ

จากสมการการสลายตัว ได้กราฟแนวโน้มที่เป็นเส้นตรงในการลดลงของสาร phenthoate พบว่าการลดลงเป็นผลมาจากปัจจัยด้านอุณหภูมิของการเก็บรักษาซึ่งเป็นตัวกระตุ้นที่สำคัญ เพราะการลดลงของสารที่สภาวะอุณหภูมิห้องมีค่าความชันเส้นกราฟการลดลงน้อยกว่าสภาวะเร่งอุณหภูมิที่ 54±2 องศาเซลเซียส ในทุกตัวอย่างทดสอบ และอัตราการสลายตัวของสาร phenthoate ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตั้งต้นจึงทำให้ได้สมการการลดลงของสาร phenthoate เป็นสมการถดถอยเชิงเส้นในทุกตัวอย่างได้เป็นเส้นตรง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลจากการศึกษาดังกล่าวทำให้ทราบถึงปัจจัยด้านอุณหภูมิที่เร่งการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลงที่ทำให้ปริมาณสาร phenthoate ในผลิตภัณฑ์นั้นลดลงส่งผลต่อประสิทธิภาพโดยตรง จากการศึกษาการเสื่อมสภาพระยะยาวและการศึกษาในสภาวะเร่งอุณหภูมิ ส่งผลให้ทราบถึงอัตราการเสื่อมสภาพที่เร็วขึ้นชัดเจนจึงสามารถนำผลจากงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ได้หลายแนวทางดังนี้

1. ด้านการผลิตผู้ประกอบการผลิตสารสารกำจัดแมลง phenthoate ได้ทราบถึงความสำคัญของปัจจัยด้านอุณหภูมิที่ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพเร็วขึ้น เพื่อนำไปพัฒนาการผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพที่ดีมีอายุในการเก็บรักษาที่ยาวขึ้นในสภาวะอากาศของประเทศในเขตอากาศร้อน/ความชื้นสูงมากกว่า (hot/higher humidity) หรือประเทศในแถบศูนย์สูตร

2. ด้านการขนส่งจะได้ป้องกันปัจจัยด้านอุณหภูมิสูงที่จะส่งผลเสียต่อผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง phenthoate ให้มากที่สุดเพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

3. ด้านการเก็บรักษาประเทศไทยจัดอยู่ในประเทศเขตอากาศร้อน/ความชื้นสูงมากกว่า (hot/higher humidity) ดังนั้นผู้ประกอบการร้านค้าและเกษตรกรผู้ใช้สารสารกำจัดแมลง phenthoate จำเป็นจะต้องเก็บผลิตภัณฑ์ให้เหมาะสมเพื่อป้องกันปัจจัยด้านอุณหภูมิสูงส่งผลกระทบต่อการสลายตัวของสาร phenthoate

4. ด้านการเฝ้าระวังเจ้าหน้าที่ของรัฐใช้ข้อมูลจากผลการศึกษาการเสื่อมสภาพของสารกำจัดแมลงชนิด phenthoate ในการเฝ้าระวังผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย

5. ด้านการศึกษาวิจัยเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาการเสื่อมสภาพของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ใช้เป็นแนวทางในการออกแบบการทดลองเพื่อทำนายวันหมดอายุของผลิตภัณฑ์ของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

6. การศึกษาที่ได้นี้สามารถถ่ายทอดให้แก่หน่วยงานราชการอื่น และหน่วยงานเอกชนที่จะนำไปใช้เพื่อการควบคุมและเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในภาคการเกษตรของประเทศต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ชนิตา เพชรสังฆาต. 2558. การศึกษาการคงสภาพของผลิตภัณฑ์ยา. **วารสาร เพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม ปีที่ 22 ฉบับที่ 3 ประจำเดือนกรกฎาคม-กันยายน** 2558.: 22-25.

Ashworth R. de B., J. Henriet, and G. R. Raw (Ed.).1970. Phenthoate Content (-/M/1.4). **CIPAC Handbook. Volume I. Analysis of Technical and Formulated Pesticides.** Collaborative International Pesticides Analytical Council Ltd.

Dobrat, W. and A. Martin. 1995. MT 30.5 Karl Fischer method using pyridine-free reagent. **CIPAC Handbook Volume F, Physico-chemical Methods for Technical and Formulated Pesticides.** Collaborative International Pesticides Analytical Council. Limited. pp. 120-125.

Dobrat, W. and A. Martin. 2000. MT 75.3 determination of pH values. **CIPAC Handbook Volume J, Analysis of Technical and Formulated Pesticides.** Collaborative International Pesticides Analytical Council. Limited. pp. 143-144.

Dobrat, W. and A. Martin. 2006. MT 191 Acidity or alkalinity of formulated pesticide. **CIPAC Handbook Volume L, Analysis of Technical and Formulated Pesticides.** Collaborative International Pesticides Analytical Council. Limited. pp. 131-132.

FAO. 1980. **Phenthoate APG: CP/89**. FAO specifications for plant protection products. Food and agriculture organization of the united nations Rome 1980.

FAO/WHO. 2016. Storage stability. **Manual on development and use of FAO and WHO Specifications for Pesticides First edition-third revision**, Joint Meeting on Pesticide Specifications (JMPS). World health organization food and agriculture organization of the united nations Rome. P61-64.

Inchem. 1980. Stability of technical material. Phenthoate (Pesticide residues in food: 1980 evaluations). Joint meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues Rome, 6-15 October 1980. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://inchem.org. (24 กันยายน 2564)

Kidd, H. and D.R. James. 1993. Phenthoate. **The Agrochemicals Handbook Third edition update 4.** Royal Society of chemistry/Information Services, England.

Niessen, H. J. 1975. Importance of Storage Stability Studies in Development of Pesticide Formulations. **Presented at the CIPAC symposium held in London on 7 June 1974.** Bayer AG, Pflanzenschutz Anwendungstechnik, 0-5090 Leverkusen, West Germany. Pestic. Sci. 1975, 6, PP. 181-188.

Pharmaceutical guidelines. 2010. Climatic zones for stability studies. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.pharmaguideline.com/2010/12/different-climatic-zones-for-stability.html Atul. (24 กันยายน 2564)

Roberts, T. R., D. H. Hutson, P.J. Jewess, P.W. Lee., P.H. Nicholls and J.R. Plimmer. 1999. Metabolic Pathways of Agrochemicals. Phenthoate. **Part 2: Insecticides and Fungicides.** The royal Society of chemistry/Information Services, England pp. 422-427.

Tomlin, C D S. 2006. Phenthoate. **The Pesticide Manual Fourteenth Edition.** ©2000 BCPC (British crop protection council): 820-821.

การศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืชเบโนมิล (benomyl)

Study on Stability of Fungicide Product: benomyl

ฉลองรัตน์ หมื่นขวา *ศศิมา มั่งนิมิตร์* *ภัทรฤทัย คมน์ณัฐ* *อนุชา ผลไสว*

Chalongrat Muenkhwa *Sasima Mungnimitr* *Phatruethai Kumnat* *Anucha Phonswai*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Study on stability of Fungicide Products: benomyl in commercial product as benomyl 50% WP from Thailand producers. Determination active ingredient and Physical property (pH) from random 3 producers. Study 24 months, stability (2 years) and test 3 month/time. The sample have 18 samples and separate sample 2 set using set 1 maintain normal temperature (26 - 36.5°C) and set 2 maintain accelerated conditions (54°C) using thermometer control temperature. The results were found active ingredient in normal temperature (26 - 36.5°C) of producer No. 2, 3 were accepted in FAO (active ingredient as 47.5 - 52.5 % W/W) at 24 months but producer No. 1 was decrease as 43.1% in 15 month and decrease as 25.4% in 24 months. Active ingredient of accelerated conditions (54 °C) of 3 producers were decrease in 24 months. Producer No.1 was decrease as 31.8% in 6 month and 25.8% in 24 months. Producer No. 2 was decrease as 40.5% in 6 month and 25.1% in 24 months. And producer No. 3 was decrease as 45.0% in 15 month and 22.3% in 24 months. Then physical property (pH) of normal temperature (26 - 36.5°C) and accelerated conditions (54 °C) of producers No. 2, 3 were accepted in FAO in 24 months (pH as 5 - 8). Both producers No. 1 maintain in normal temperature and maintain accelerated conditions of pH were over specification as 8.09 and 8.31 in 6 month that were unaccepted in FAO.

keyword: Fungicide product stability benomyl

บทคัดย่อ

ศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช เบโนมิล (benomyl) ในรูปแบบสูตรผสม 50% WP จากแหล่งผลิตที่จำหน่ายในประเทศ โดยการตรวจสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ (active ingredient) และสมบัติทางกายภาพ (ค่า pH) ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง benomyl จาก 3 แหล่งผลิต ศึกษาการเสื่อมสภาพที่ระยะเวลา 24 เดือน (2 ปี) ทำการทดสอบพารามิเตอร์ต่างๆ ทุก 3 เดือน ได้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากแหล่งผลิต แหล่งละ 18 ตัวอย่าง แยกตัวอย่างออก 2 ชุด โดยที่ชุดที่ 1 วางในชั้นที่สภาวะปกติ (อุณหภูมิ 26-35 °C) และชุดที่ 2 วางในตู้อบที่สภาวะเร่ง (อุณหภูมิ 54°C) ใช้เทอร์โมมิเตอร์ตรวจสอบอุณหภูมิตลอดเวลาการทดลอง ผลการทดลอง ชุดที่ 1 สารออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์แหล่งผลิตที่ 2 และ 3 อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามค่ามาตรฐาน FAO (active ingredient เท่ากับ 47.5 -52.5%) ยกเว้นแหล่งผลิตที่ 1 สารออกฤทธิ์ลดลง 43.1%ในเดือนที่ 15 และลดลงเหลือ 25.4% ในเดือนที่ 24 และชุดที่ 2 สารออกฤทธิ์ทั้ง 3 แหล่งมีแนวโน้มลดลง คือ แหล่งผลิตที่ 1 สารออกฤทธิ์ ลดลงเหลือ 31.8% ในเดือนที่ 6 ลดลงเหลือ 24.8% ในเดือนที่ 24 แหล่งผลิตที่ 2 สารออกฤทธิ์ลดลงเหลือ 40.5% ในเดือนที่ 6 ลดลงเหลือ 25.1% ในเดือนที่ 24 และแหล่งผลิตที่ 3 สารออกฤทธิ์ลดลงเหลือ 45.0% ในเดือนที่15 ลดลงเหลือ 22.3% ในเดือนที่ 24 และการศึกษาสมบัติทางกายภาพ

ประเมินจากค่า pH ทั้งชุดตัวอย่างที่สภาวะปกติ และที่เก็บในที่สภาวะเร่ง ผลิตภัณฑ์จากแหล่งที่ 2 และ3 มีค่า pH อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของ FAO (pH เท่ากับ 5-8) ยกเว้นแหล่งผลิตที่ 1 มีค่ามากกว่าค่ามาตรฐานทั้งชุดที่เก็บไว้ที่สภาวะปกติและที่สภาวะเร่ง มีค่า pH 8.09 และ 8.13 ในเดือนที่ 6 ตามลำดับ

คำสำคัญ : ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช การเสื่อมคุณภาพ เบโนมิล

คำนำ

ปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรของเกษตรกรทั้งจากการใช้ที่มากเกินไปหรือน้อยเกินไปต่างก็ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมทางการเกษตรทั้งสิ้น หากเกษตรกรใช้ในปริมารมากเกินไปก็จะทำให้โรคหรือแมลงศัตรูพืชมีการดื้อต่อสารเคมีเกษตรชนิดนั้นและทำให้เพิ่มต้นทุนการผลิตมากขึ้น แต่ถ้าใช้น้อยเกินไปก็ทำให้ไม่สามารถป้องกันกำจัดโรคและแมลงได้และยังทำให้เกิดภูมิต้านทางโรคและแมลงจากรุ่นต่อรุ่นได้อีกด้วย ดั้งนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์สารเคมีทางการเกษตรที่มีคุณภาพตรงตามที่กำหนดไว้บนฉลากเป็นเรื่องที่กรมวิชาการให้ความสำคัญและต้องควบคุมให้มีคุณภาพ รวมทั้งจำเป็นต้องศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์นั้นๆเพื่อเป็นข้อมูลในการแนะนำให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และปลอดภัย แม้ว่าสถิติปริมาณการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร มีปริมาณคงที่ในช่วงปีที่ผ่านมาอันอาจเกิดผลกระทบจากโควิท19 และเหตุไม่สงบในต่างประเทศ ประกอบกับที่ราคาวัสดุทางการเกษตรมีราคาสูงขึ้น การใช้ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีคุณภาพจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องควบคุม และสารป้องกันกำจัดโรคพืชยังถือว่ามีความจำเป็นและมีการนำเข้าสูง โดยในปี 2563 มีการนำเข้ามาถึง 15 ล้านกิโลกรัม ลดลงจาก ปี 2562 ที่นำเข้า 19 ล้านกิโลกรัม (สรุปรายงานการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร. สำนักควบคุมวัชพืชและวัสดุการเกษตร, ออนไลน์)

ประเทศไทยถือได้ว่าเป็นประเทศเกษตรกรรมซึ่งปัจจุบันเกษตรกรประสบปัญหามากมายในขั้นตอนการผลิตผลิตผลทางการเกษตรอันเนื่องมาจากสภาพภูมิอากาศในปัจจุบันเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องจากผลกระทบด้านต่างๆ ทั้งด้านสภาพอากาศ ปัญหาการเสื่อมจากการใช้ทรัพยากรที่ดิน หรือแม้แต่นำทรัพยากรที่มีไปใช้ผิดประเภทอันส่งผลกระทบต่อผลผลิตทางการเกษตร ทำให้เกษตรกรต้องเผชิญกับโรคและแมลงมากขึ้นจึงยากที่เกษตรกรจะหลีกเลี่ยงการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและรักษาคุณภาพของผลผลิต ดังนั้นเพื่อเป็นการเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืชให้มีปริมาณตรงตามที่ขึ้นทะเบียนไว้และให้ใช้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาวิจัยการเสื่อมสภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช โดยศึกษาการเสื่อมคุณภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl จากแหล่งผลิตภายในประเทศ

สาร benomyl เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืชกลุ่มเดี่ยวกับสาร carbendazim คือ เป็นสารป้องกันและกำจัดเชื้อรา กลุ่ม benzimidazole ออกฤทธิ์ดูดซึมและสัมผัสโดยผ่านทางใบและราก เช่นเดียวกับ thiabendazole และ fuberidazole และนอกจากนี้สาร benomyl มีคุณสมบัติที่สำคัญประการหนึ่ง คือ เมื่อผสมน้ำจะสลายตัวเป็นสาร MBC และ EBC ซึ่งปัจจุบันนี้สาร MBC จะถูกเรียกว่า carbendazim ดั้งนั้น benomyl ที่ใช้กันอยู่นั้นไม่ได้มีบทบาทอย่างแท้จริง จะอาศัยการสลายมาเป็นสาร MBC ซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อรา ดังนั้นสาร MBC จึงเป็นสารที่เป็นพิษต่อเชื้อราที่แท้จริง (ธรรมศักดิ์, 2528) นอกจากนี้ในสภาวะแวดล้อมทั่วไป benomyl สามารถสลายตัวได้ เป็น carbendazim และ thiophanate methyl (Anonymous, 1993) เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของสาร benomyl ให้ได้ปริมาณตามข้อกำหนดขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติและองค์การอนามัยโลก (FAO and WHO specification for Pesticides) ดังนั้นในการศึกษา จึงตรวจสอบทั้งปริมาณสารออกฤทธิ์ และคุณสมบัติทางเคมี (ค่า pH) เพื่อเป็นหลักประกันว่าเกษตรกรจะได้ใช้ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีคุณภาพ มีปริมาณสารออกฤทธิ์ตรงตามที่ระบุบนฉลาก ลดปัญหาสารคุณภาพต่ำหรือใช้ไม่ได้ผล และยังเป็นการเฝ้าติดตามสารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ได้มาตรฐานออกไปจากท้องตลาด ซึ่งหน่วยงานต่างๆของกรมวิชาการเกษตร ในฐานะผู้กำกับดูแลมาตรฐานผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ให้ความสำคัญในเรื่องนี้เป็นอย่างมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง High Performance liquid Chromatograph (HPLC) มีตัวตรวจวัดชนิด Diode Array Detector (DAD)
2. เครื่องชั่ง ความละเอียด 4 ตำแหน่ง (ชั่งได้ระดับ 0.1 มิลลิกรัม) ผ่านการสอบเทียบ
3. เครื่อง ultrasonic bath
4. ขวดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร (class A) ผ่านการสอบเทียบ
5. ขวด vial พร้อมฝาปิด ขนาด 2 มิลลิลิตร
6. เครื่องวัด pH พร้อมอุปกรณ์
7. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
8. filter membrane ขนาด 0.22 ไมโคเมตร

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน benomyl purity ≥98.0%
2. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ benomyl 50%WP
3. สาร acetonitrile ชนิด HPLC grade
4. น้ำปราศจากไอออน (deionization water, DI)
5. ชุดน้ำยาปรับค่า pH
6. กรด acetic acid glacial

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างของสารป้องกันกำจัดโรคพืชเบโนมิลจากแหล่งผลิตที่จำหน่ายในประเทศไทยที่ผลิตใหม่ 3 แหล่งผลิต แหล่งผลิตละ 18 ตัวอย่าง และนำมาแยกออก เป็น 2 ชุด ชุดละ 9 ตัวอย่าง จากนั้นนำชุดตัวอย่างไปเก็บไว้ที่ชั้นที่เตรียมไว้ โดยชุดที่หนึ่งเก็บไว้ที่สภาวะปกติ (26 - 36.5°C) และชุดที่สองเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง (54 °C) ติดหมายเลข 1-9 ต่อมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ และสมบัติทางเคมีกายภาพเริ่มต้น จากนั้นนำตัวอย่างมาทดสอบทุกๆ 3 เดือน หนึ่งตัวอย่างต่อการวิเคราะห์หนึ่งครั้ง เป็นเวลา 24 เดือน หรือ 2 ปี พร้อมบันทึกอุณหภูมิ ชั้นเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพ

2. ทำการตรวจสอบคุณภาพของสารตัวอย่าง โดย การวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ และคุณสมบัติทางกายภาพ

2.1 วิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ benomyl ใช้ความเข้มข้น 0.1 mg/ml วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC-DAD วิธีวิเคราะห์อ้างอิงตาม CIPAC Handbook D (Dobrat W. and Martijn A., 1984) โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยชั่งสารมาตรฐาน benomyl ให้มีความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ ประมาณ 0.1 mg/ml จำนวน 2 ซ้ำ ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml จากนั้นเติม acetonitrile ปริมาตร 60 ml นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 15 นาที ตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตร กรองสารผ่าน filter membrane ขนาด 0.22 ไมโคเมตร ในขวด vial ขนาด 2 ml จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ด้วยเครื่อง HPLC – DAD

2.1.2 เตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืชเบโนมิล เตรียมสารละลายตามข้อ 2.1.1

2.1.3 เตรียมสภาวะเครื่อง HPLC – DAD โดยปรับสภาวะเครื่องในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์แต่ละชนิด แสดงดัง Table 1

2.1.4 นำขวด vial จากข้อ 2.1.1 กับ 2.1.2 ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC ตามสภาวะของต้น ก่อนทำการวิเคราะห์ตามข้อ 2.1.3 ทำการฉีดสารเพื่อหาค่า relative percent different (%RPD) ก่อนเพื่อให้

ได้ค่า %RPD ไม่เกิน 3% จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ต่อไป โดยวิเคราะห์เทียบปริมาณสารออกฤทธิ์กับสารมาตรฐาน เบโนมิล จะได้เปอร์เซนต์ของปริมาณสารออกฤทธิ์ในแต่ละตัวอย่างผลิตภัณฑ์

Table 1 condition HPLC for analytical active ingredient of benomyl

active ingredient	mobile phase	column	mobile phase (ratio)	temperature (°C)	wave length (nm)	flow rate (ml/min)	stop time (min)
benomyl	ACN: 2% acetic acid	C-18	80 : 20	-	290 or 280	1.0	4

remark *ACN = acetonitrile

2.2 ตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ ทำการตรวจสอบคุณสมบัติค่า pH

ตรวจสอบค่า pH ตามวิธีมาตรฐาน MT 75.3 CIPAC J (Dobrat W. and Martijn A., 2000) ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 ml เติมน้ำ deionization water, DI ปริมาตรเป็น 100 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที แล้ววัดค่า pH ของสารละลาย

3. การคำนวณพารามิเตอร์ต่างๆในการทดลอง

3.1 การหา relative percent different (%RPD)

$$\%RPD = \frac{(Max - Min) \times 100}{Mean}$$

สารละลายมาตรฐานทั้ง 2 ซ้ำ ต้องมีค่า%RPD ไม่เกิน 3% โดยใช้ค่า response factor ในการคำนวณ

การหาค่า response factor $= \frac{\text{น้ำหนัก} \times \text{Purity}}{\text{Peak area}}$ หรือ $f = \frac{S \times P}{Hs}$

S = น้ำหนักของสารมาตรฐาน (mg)

P = เปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน

Hs = พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน

3.2 การคำนวณหาปริมาณสารออกฤทธิ์ (active ingredient) ดังสมการต่อไปนี้

ตัวอย่าง เช่น active ingredient $= \frac{Hw \times f}{W}$

Hw = พื้นที่ใต้พีค หรือ ความสูงของพีคของสารละลายตัวอย่าง

F = ค่าเฉลี่ย response factor

W = น้ำหนักของสารตัวอย่าง หน่วยเป็น (mg)

4. การบันทึกข้อมูล

จดรายละเอียดอุณหภูมิในการเก็บรักษา ทุกวัน ช่วงเวลาเช้า - บ่าย และเก็บผลการวิเคราะห์ในรูป โครมาโทรแกรม จากเครื่อง HPLC

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบ ตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ benomyl จากแหล่งผลิตได้ทั้งหมด 3 แหล่งผลิตเป็นสูตรชนิดผง (50%WP) โดยตัวอย่างที่ได้มีลักษณะทางกายภาพเป็นผงละเอียดสีขาว จากการทดสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ เริ่มต้นได้ ปริมาณสารออกฤทธิ์จากแหล่งผลิตที่ 1 2 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ เท่ากับ 51.1% 51.9% และ 50.4% ตามลำดับ การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ (โดยการทดลองครั้งนี้ใช้ค่า pH เป็นตัวแทนในการศึกษา) ค่า pH ที่วัดได้เริ่มต้นจากแหล่งผลิต เท่ากับ 6.29 5.93 และ 5.42 ตามลำดับ โดยที่ทั้งเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์และค่าของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามข้อกำหนด FAO ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ benomyl ที่สามารถขึ้นทะเบียนเพื่อวางจำหน่ายได้ (FAO specification ของ benomyl declared content active ingredient 50% เท่ากับ 47.5-52.5% (ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง การกำหนดอัตราความเข้มข้นในแต่ละสูตรของวัตถุอันตรายที่รับขึ้นทะเบียน (ฉบับที ๖), 2560) และค่า pH ที่เหมาะสม เท่ากับ 5 - 8) การศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกะจัดโรคพืชของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ Benomyl ศึกษาการเสื่อมสภาพเป็นระยะเวลา 24 เดือน (หรือ 2 ปี) ทำการตรวจวัดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ทุก 3 เดือน และเพื่อให้สอดคล้องกับข้อกำหนดของ FAO เรื่องการศึกษาการคุณภาพของสารเพื่อการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตร ซึ่งทดสอบสารที่อุณหภูมิปกติ (อุณหภูมิ 26-35°C) และสภาวะเร่ง (อุณหภูมิ54 °C) ได้ผลการทดลอง ดัง Table 2

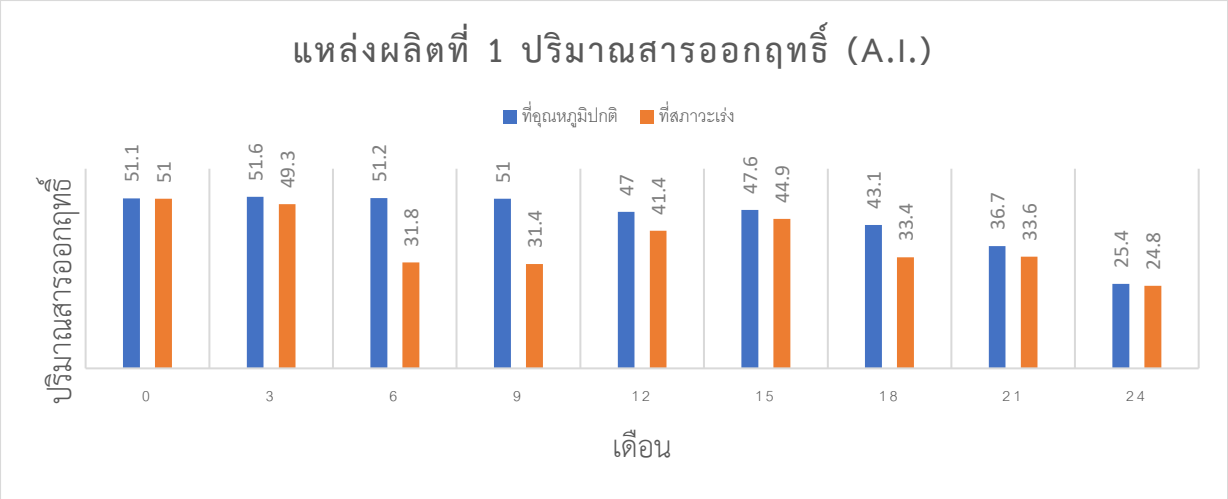
Table 2 stability (%active ingredient and pH) of pesticide product: Benomyl at 0 to 24 months

number/ Producer	Test item	0-14 days October - November 2019		3 month December 2019		6 month March 2020	
		Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)	Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)	Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)
1	%active ingredient	51.1	51.0	51.6	49.3	51.2	31.8
	pH	6.29	7.14	7.11	7.59	8.09	8.13
2	%active ingredient	51.9	51.5	52.4	49.7	53.6	40.5
	pH	5.93	6.42	6.37	6.80	7.40	7.38
3	%active ingredient	50.4	50.1	51.2	49.5	51.7	51.5
	pH	5.42	5.85	5.92	6.28	6.97	6.78

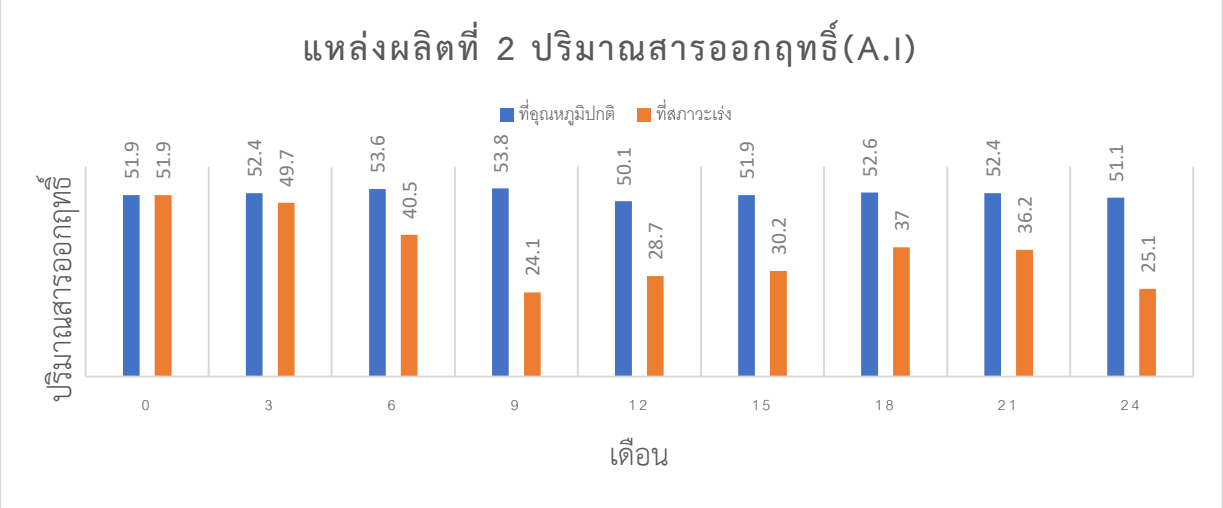
number/ Producer	Test item	9 month June 2020		12 month September 2020		15 month December 2020	
		Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)	Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)	Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)
1	%active ingredient	51.0	34.1	47.0	41.4	47.6	44.9
	pH	8.30	7.24	8.26	6.61	8.14	7.11
2	%active ingredient	53.8	24.1	50.1	28.7	51.9	30.2
	pH	7.38	7.98	7.56	6.51	7.65	7.00
3	%active ingredient	51.5	49.2	49.8	49.2	51.0	45.0
	pH	7.39	6.47	7.34	5.83	7.43	6.60

number/ Producer	Test item	18 month March 2021		21 month June 2021		24 month December 2021	
		Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)	Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)	Temperature (26-36.5°C)	Temperature (54±2°C)
1	%active ingredient	43.1	33.4	36.7	33.6	25.4	24.8
	pH	7.99	7.13	7.33	7.32	8.09	7.59
2	%active ingredient	52.6	37.0	52.4	36.2	51.1	25.1
	pH	7.76	7.01	7.23	6.68	7.53	6.80
3	%active ingredient	50.2	35.7	50.8	31.0	52.4	22.3
	pH	7.42	6.42	6.72	6.50	6.78	6.59

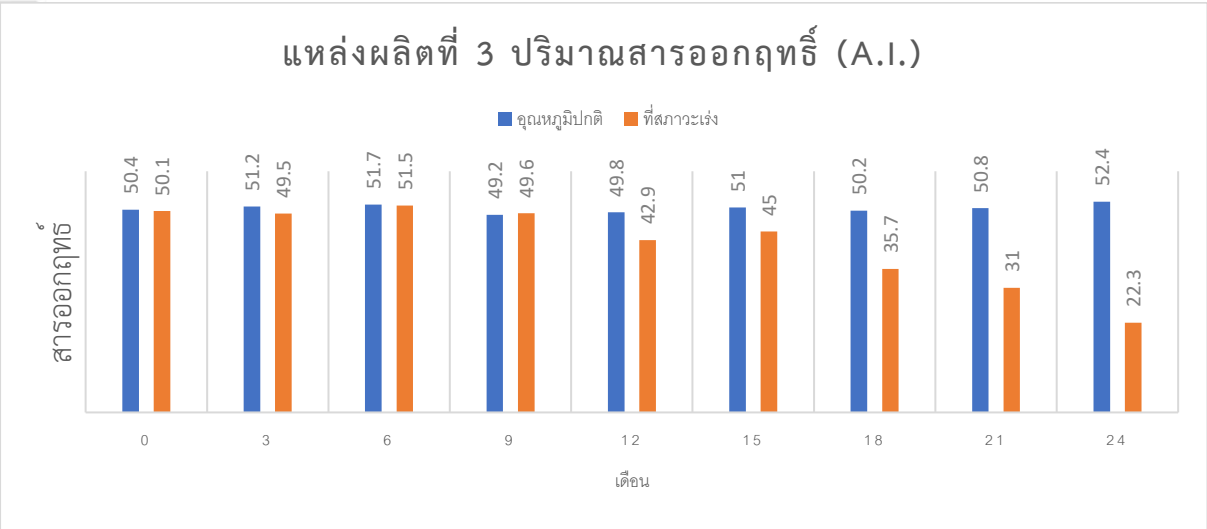
สามารถแสดงผลการทดลองแผนภูมิกราฟแท่ง ดังแสดงในภาพที่ 1-6



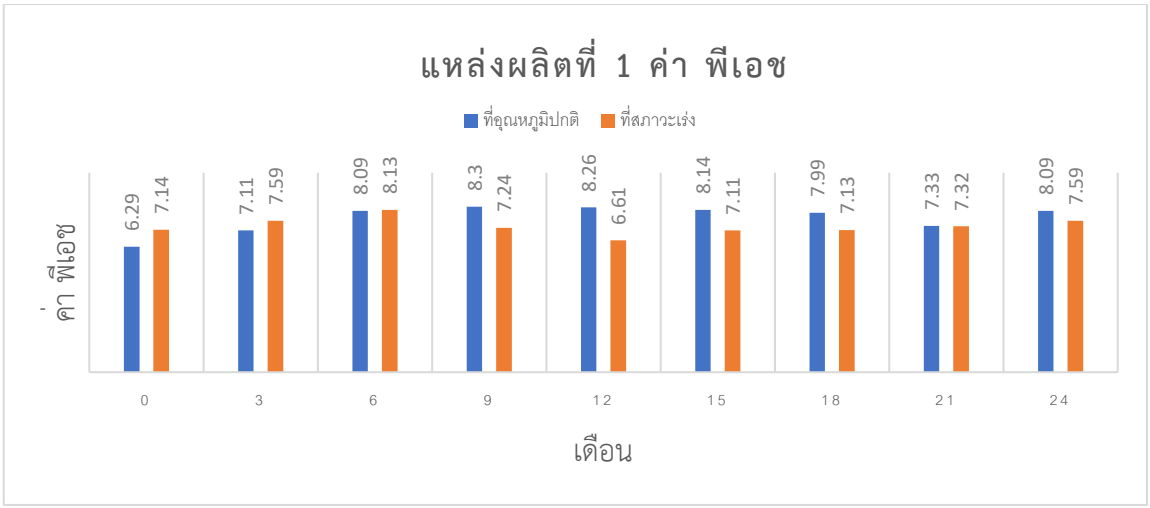
ภาพที่ 1 ปริมาณสารออกฤทธิ์ (active ingredient) ของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl แหล่งผลิตที่ 1



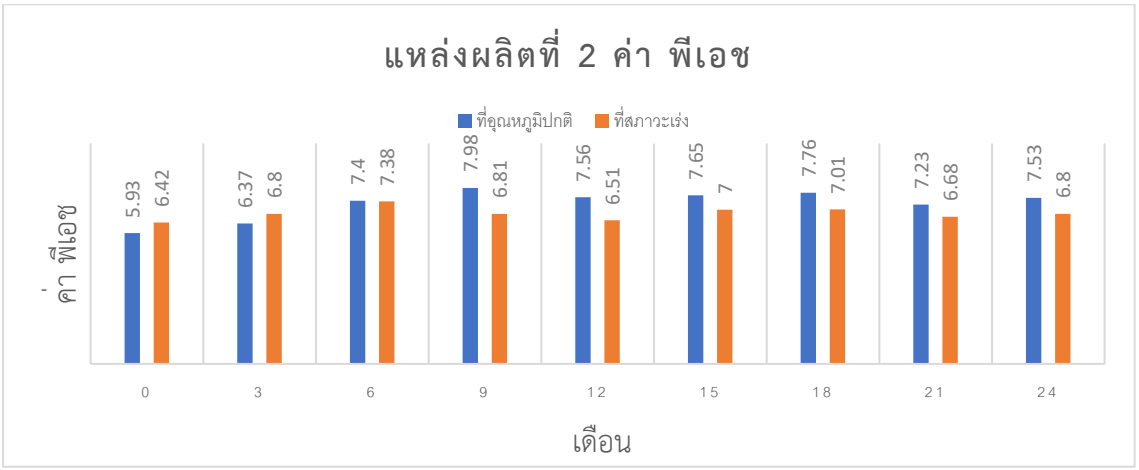
ภาพที่ 2 ปริมาณสารออกฤทธิ์ (active ingredient) ของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl แหล่งผลิตที่ 2



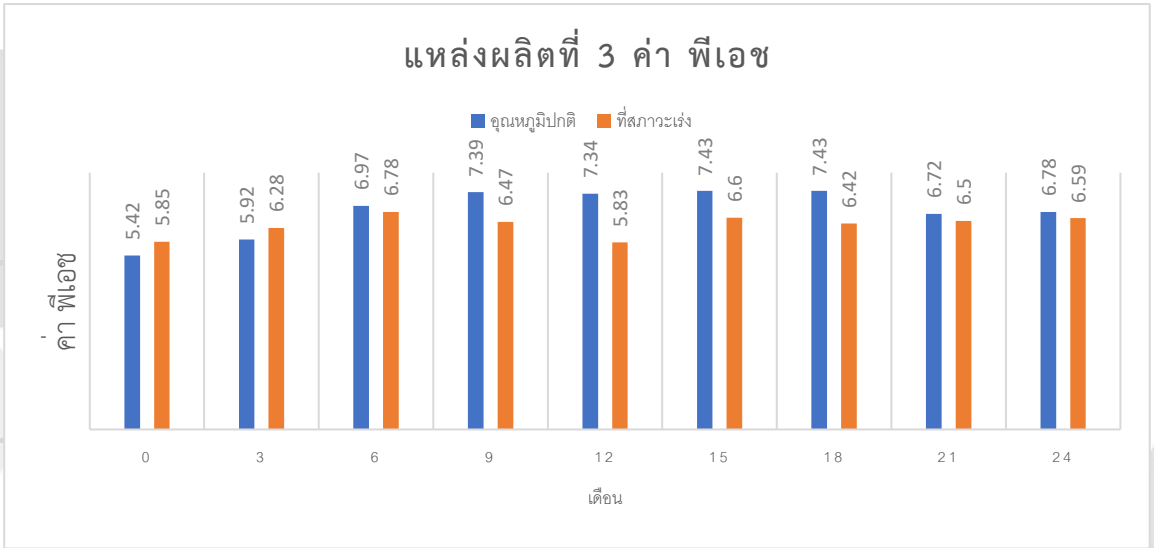
ภาพที่ 3 ปริมาณสารออกฤทธิ์ (active ingredient) ของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl แหล่งผลิตที่ 3



ภาพที่ 4 ค่า pH (พีเอช) ของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl แหล่งผลิตที่ 1



ภาพที่ 5 ค่า pH (พีเอช) ของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl แหล่งผลิตที่ 2



ภาพที่ 6 ค่า pH (พีเอช) ของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl แหล่งผลิตที่ 3

จากการศึกษาปริมาณสารสารออกฤทธิ์ benomyl แหล่งผลิตที่หนึ่งนั้น ที่อุณหภูมิปกติ (26.0-36.5^{0}C) สารออกฤทธิ์จะเริ่มลดลงไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานในเดือนที่ 9 และจะเริ่มลดลงมากในเดือนที่ 12 เป็นต้นไป ส่วนสารออกฤทธิ์ในแหล่งผลิตที่ 2 และ 3 นั้น อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานทั้ง 24 เดือน สำหรับกรณีที่เก็บไว้ที่สภาวะเร่ง (สภาวะเร่งที่ 54 ^{0}C 14 วัน เทียบเท่า 2 ปี) สารออกฤทธิ์ทั้ง 3 แหล่งมีแนวโน้มลดลง คือ แหล่งผลิตที่ 1 สารออกฤทธิ์ ลดลงเหลือ 31.8% ในเดือนที่ 6 ลดลงเหลือ 24.8% ในเดือนที่ 24 แหล่งผลิตที่ 2 สารออกฤทธิ์ลดลงเหลือ 40.5% ในเดือนที่ 6 ลดลงเหลือ 25.1% ในเดือนที่ 24 และแหล่งผลิตที่ 3 สารออกฤทธิ์ลดลงเหลือ 45.0% ในเดือนที่15 ลดลงเหลือ 22.3% ในเดือนที่ 24 ตามลำดับ การศึกษาต่อมา ค่า pH ที่อุณหภูมิปกติ (26.0-36.5^{0}C) พบ ว่าเฉพาะแหล่งผลิตที่ 1 เท่านั้นที่มีค่า pH เกินเกณฑ์มาตรฐานในเดือนที่ 6 และมีค่าที่ไม่นิ่งไปจนถึงเดือนที่ 24 จะเริ่มไม่ได้ตามเกณฑ์มาตรฐานช่วงเดือนที่ 6 และ ค่า pH ที่อุณหภูมิเร่งที่ 54 ^{0}C พบว่ามีเกณฑ์เช่นเดียวกับปกติ คือแหล่งผลิตที่ 1 มีค่า pH เกินเกณฑ์มาตรฐานในเดือนที่ 6 เช่นกัน และจากการศึกษาองค์ประกอบทางกายภาพ พบ ว่าภาชนะบรรจุของแหล่งผลิตที่ 1 จะเป็นการบรรจุมาในกระปุกพลาสติก แต่แหล่งผลิตที่ 2 และ 3 จะบรรจุมาในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ดังนั้น ภาชนะบรรจุที่ต่างกันจะมีผลกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการที่ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เป็นสูตรผง (benomyl 50% WP) คุณสมบัติของสูตรผสมประเภทนี้จะดูดอากาศ ดูดความชื้นในอากาศได้ อันอาจทำให้อากาศเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารในระหว่างการเก็บรักษาได้ จึงทำให้สารออกฤทธิ์มีปริมาณลดลงและ benomyl เป็นสารที่สลายตัวได้ง่ายในความชื้น และเมื่อสำผัสกับน้ำ จะแตกตัวเกิดเป็นสารชนิดใหม่ คือ BMC (carbendazim) หรือ thiophanate methyl อีกทั้งค่า pH ที่อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เหมาะสมก็ทำให้สารผลิตภัณฑ์ benomyl เสื่อมสภาพ และในการตรวจสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ในครั้งนี้ ไม่สารถทำตามวิธีของวิธีมาตรฐาน CIPAC Handbook D ได้ทั้งหมด เนื่องจากไม่สามารถนำเข้าสาร n-Butyl isocyanate เนื่องจากเป็นสารต้องห้ามใช้และเป็นสารอันตรายไม่สามารถนำเข้าภายในประเทศได้ อันเป็นสารที่จำเป็นในการเตรียมสารละลาย เพื่อไม่ให้โครมาโตแกรมของ benomyl และ BMC (carbendazim) แยกออกจากกัน จึงทำให้การวิเคราะห์สารมี 2 โครมาโตแกรมและในวิธีมาตรฐาน CIPAC D รวมทั้งในใบ Certificate ของสารมาตรฐาน benomyl ไม่ได้แสดงโครมาโทแกรมไว้ และตามทฤษฎีผลิตภัณฑ์สารป้องกันโรคพืช benomyl จะละลายน้ำออกมาให้สาร EBC และสาร BMC (carbendazim) โดยใช้ฤทธิ์ของสาร BMC ในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืช ผู้ทดลองจึงถือว่าโครมาโทแกรมของสาร BMC เป็น benomyl ด้วย

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการเสื่อมคุณภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช benomyl ในระยะเวลา 24 เดือน นั้นสารออกฤทธิ์แหล่งผลิตที่ 2 และ 3 ส่วนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิปกติยังคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตาม FAO ยกเว้นแหล่งผลิตที่ 1 มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่สำหรับที่เก็บไว้ที่สภาวะเร่ง (54 ^{0}C) มีการเปลี่ยนแปลงมากจนถึงระดับต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน เหตุที่สารเสื่อมเร็วที่อุณหภูมิ 54 ^{0}C เนื่องจากว่าสารอยู่ในสภาวะเร่ง 14 วันเท่ากับ 2 ปี ถึงแม้ว่าสารที่ทดสอบที่ 6 เดือน แต่จะมีเวลาเทียบเท่าเวลาปกติถึง 12 ปี แนวโน้มที่สารลดลงและมีค่าไม่คงที่เนื่องจากสามารถสลายตัวเป็นสารได้หลายชนิด สำหรับค่า pH ทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิปกติและที่สภาวะเร่ง สารจากแหล่งผลิตที่ 1 เท่านั้นที่มีค่าไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน จึงทำให้สารเสื่อมมาตรฐานได้แม้ไม่ครบอายุ 2 ปี แต่อีก 2 แหล่งผลิตที่เหลือ ไม่พบมีค่า pH เกินเกณฑ์มาตรฐาน ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า การเก็บสารผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ไว้ที่อุณหภูมิสูง และภาชนะบรรจุไม่เหมาะสมทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพลง นอกจากนี้จากผลการศึกษายังพบอีกว่าค่า pH ความชื้น อากาศ และสถานที่เก็บของผลิตภัณฑ์มีผลโดยตรงต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ สำหรับในการทำการวิจัยครั้งต่อไป ควรมุ่งศึกษาอุณหภูมิเก็บรักษาที่เหมาะสม ใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิแทนการจดบันทึก ภาชนะบรรจุที่เหมาะสม การเก็บรักษาไว้ที่เหมาะสมเพื่อกันความชื้นให้มากที่สุด และนอกจากนี้ทำการละลายตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์อย่างดี เนื่องจากสูตรที่ใช้ในการศึกษาเป็นสูตรผง (WP) ที่กระบวนการผลิตทำเป็นสารเนื้อเดียวกันได้อยากและตรวจการวิเคราะห์แม่นยำได้ยากเช่นกัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถเผยแพร่ไปยังผู้ที่เกี่ยวข้องทั้งเกษตรกรผู้ใช้และร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ถึงวิธีเก็บรักษาคุณภาพและข้อควรระวังสำหรับผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดโรคพืช benomyl

2. เป็นข้อมูลสนับสนุนในการเฝ้าระวังและควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ผ่านการขึ้นทะเบียนแล้วของผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร

3. นำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพสำหรับหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตรายทางการเกษตร พ.ศ.2535 และเพิ่มเติม พ.ศ.2551 เพื่อการกำกับดูแลคุณภาพผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรข้างต้น

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. ปี พ.ศ. 2560 ประกาศ เรื่อง การกำหนดอัตราความเข้มข้นในแต่ละสูตรของวัตถุอันตรายที่รับขึ้นทะเบียน (ฉบับที ๖). ประกาศ ณ วันที่ 3 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2560 ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 134 ตอนพิเศษ 74 ง. 12น. ลงวันที่ 10 มีนาคม พ.ศ. 2560

สรุปรายงานการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร. สำนักควบคุมวัชพืชและวัสดุการเกษตร [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา https://www.doa.go.th/ard/?page_id=386 (8 มกราคม 2565)

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2528. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Anonymous. 1993. The Agrochemicals Handbook 3rd. ed. The Royal Society of Chemistry Cambridge, England.

Dobrat W. and Martijn A. 1984. CIPAC Handbook Vol. D: Analysis of Technical and Formulated Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, The Black Bear Press, England.

Dobrat W. and Martijn A. 2000. CIPAC Handbook Vol. J: Analysis of Technical and Formulated Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, The Black Bear Press, England.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไพริดาเบน (pyridaben) ในส้มเขียวหวานเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Pesticide residue trials of pyridaben in mandarin to establish maximum residue limits (MRLs)

ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ *พรนภัส วิชานนะณานนท์* *พชร เมินหา*
ศิริพันธ์ สมุทรศรี *มติมล แสงสว่าง*
Prachathipat Pongpinyo *Pornnaphat Wichannananon* *Pachara Meanha*
Siripan Samutsri *Matimon Sangsawang*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on the pyridaben residues in mandarin after the use of the pesticide according to good agricultural practice (GAP) was conducted through five supervised field trials in many crop production areas namely, Pathum Thani province, Prachinburi province and Sukhothai province during 2019 to 2021 for establish maximum residue limit (MRL). The supervised field trials were divided into two sub plots that consisted of the control plot and treated plot (pyridaben applied). A formulation of 20% pyridaben wettable powder (WP) was applied on mandarin trees for 3 times every 5 days at a recommended dosage of 15 gram per 20 liters of water. After last application, randomly 2 kg of mandarin samples were collected at 0, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days from each plot for residue analysis with QuEChERS method (EN15662, 2008) by using Liquid Chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The limit of quantification (LOQ) was 0.01 mg/kg. The results shown that residues were not detected or lower than LOQ in all untreated samples while treated samples were found the residue in range of 0.01 – 0.07, 0.06 - 0.43, 0.34 – 0.73, 0.30 – 0.53 and 0.35 – 0.56 mg/kg for field trial No. 1, 2, 3, 4 and 5, respectively. Moreover, the storage stability of pyridaben in mandarin was study and the result found that the fortified samples stable at least 180 days. According the results of this research, the proposed pre-harvest interval after the last application (PHI) value was 14 days. (The safe harvesting period after application of pyridaben in mandarin was 14 days).

Keywords: pyridaben, mandarin, residue, MRL, PHI

บทคัดย่อ

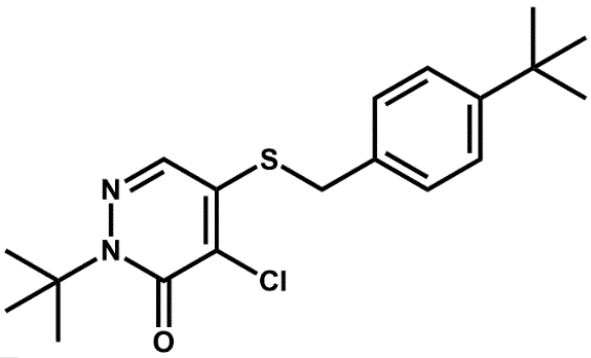
งานวิจัยนี้ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน หลังการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agricultural Practices: GAP) เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง โดยทำการทดลองแบบ Supervised trial จำนวน 5 แปลงทดลอง ในหลายพื้นที่ ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี จังหวัดปราจีนบุรี และจังหวัดสุโขทัย ระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 - 2564 โดยแต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงควบคุม ที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษ pyridaben และแปลงทดลอง ที่ใช้ pyridaben 20% WP ตามอัตราแนะนำ 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ในอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น พ่นวัตถุมีพิษ pyridaben 3 ครั้ง เว้นระยะห่างกันครั้งละ 5 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานทั้งผล (whole fruit) โดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662: 2008) และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Liquid Chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) ซึ่งวิธีวิเคราะห์มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการทดลองพบว่าตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงควบคุมทุกแปลง พบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับตัวอย่างจากแปลงทดลองที่ใช้ pyridaben ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben อยู่ในช่วง 0.01 - 0.07, 0.06 – 0.43, 0.34 - 0.73, 0.30 – 0.53 และ 0.35 - 0.56 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างจากแปลงทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาความคงสภาพของสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวานที่เก็บที่อุณหภูมิ -20±5 °C พบว่าสามารถเก็บตัวอย่างได้นานถึง 180 วัน โดยไม่มีการสลายตัวของสารพิษตกค้าง เมื่อนำข้อมูลจากการทดลองไปพิจารณาค่าระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (PHI) พบว่าสามารถกำหนดค่า PHI ได้เท่ากับ 14 วัน

คำหลัก: ไพริดาเบน ส้มเขียวหวาน สารพิษตกค้าง

คำนำ

ส้มเป็นหนึ่งในผลไม้ยอดนิยมของคนไทย ซึ่งปัจจุบันเกษตรกรผู้ปลูกส้มในไทยมีการขยายสวนส้มอย่างต่อเนื่อง ทำให้ปริมาณผลผลิตในประเทศเพิ่มขึ้น จนส่งผลให้ราคาส้มมีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้เกษตรกรยังประสบปัญหาในเรื่องของโรคและศัตรูพืชที่ทำให้ผลผลิตต่อต้นลดน้อยลง ซึ่งปัญหาดังกล่าวไม่ได้เกิดจากแมลงศัตรูพืชเพียงอย่างเดียว แต่ในปัจจุบันพบว่า ไร (mite) ก็เป็นหนึ่งในศัตรูพืชที่สำคัญของพืชตระกูลส้ม จึงนำไปสู่การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดสารกำจัดไร (acaricide) อย่างแพร่หลาย เมื่อพิจารณาข้อมูลการขึ้นทะเบียนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร พบว่า ไพริดาเบน (pyridaben) เป็นสารป้องกันกำจัดไร ที่ได้รับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายในการป้องกันกำจัดไรแดงแอฟริกันในส้มเขียวหวาน

ไพริดาเบน (pyridaben) มีกลไกการออกฤทธิ์แบบยับยั้งขบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอน ในไมโตรคอนเดรียคอมเพล็กซ์ที่ 1 (Devine *et al*., 2001) และมีลักษณะโครงสร้างทางเคมี ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ pyridaben

หากเกษตรกรมีการใช้สารป้องกันกำจัดไร (acaricide) ในปริมาณที่มากเกินกว่าที่ฉลากแนะนำ อาจทำให้มีสารพิษตกค้างอยู่บนผลผลิตและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยวิธีที่น่าเชื่อถือ รวมถึงการศึกษาการสลายตัวของสารดังกล่าว และนำข้อมูลการศึกษาที่ได้เสนอต่อ Codex และ ASEAN เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (maximum residue limit for pesticide; MRL) และกำหนดเป็น Codex MRLs และ ASEAN MRLs ต่อไป ซึ่งจะส่งผลให้ประเทศไทยมีเกณฑ์การค้าระหว่างประเทศ ทำให้ผลิตผลทางการเกษตรของไทยมีมาตรฐานความปลอดภัยเป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้า อีกทั้งยังสามารถให้ข้อมูลการใช้สารป้องกันกำจัดไรที่ถูกต้องแก่เกษตรกรด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.การทำแปลงทดลอง

1.1 ผลิตภัณฑ์ pyridaben 20 % WP

1.2 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น กระบอกตวง บีกเกอร์ แท่งแก้วคนสาร เป็นต้น

1.3 เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบสะพายหลัง (Motorized knapsack sprayer)

1.4 ชุดป้องกันสารพิษ

1.5 นาฬิกาจับเวลา

1.6 เครื่องวัดความเร็วลม

1.7 เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger)

1.8 ดิจิตอลเทอร์โมมิเตอร์

1.9 ตลับเมตร

1.10 เชือกฟางและหมุดหัวน็อต

2. ห้องปฏิบัติการ

2.1 สารมาตรฐาน pyridaben ซึ่งมีความบริสุทธิ์ 99.8 %

2.2 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น autosampler vial กระบอกตวง บีกเกอร์ ขวดแก้ว ขวดปรับปริมาตร และแท่งแก้วคนสาร เป็นต้น

2.3 หลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร

2.4 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งและ 5 ตำแหน่ง

2.5 ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร และ 100-1,000 ไมโครลิตร

2.6 ตัวกรองชนิด PTFE (PTFE syringe filter) ขนาด 0.2 ไมครอน

2.7 เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ Centrifuge และ Vortex mixer

2.8 สารเคมีต่างๆ ได้แก่ Acetonitrile (HPLC grade), Magnesium sulphate anhydrous ($MgSO_4$), tri-Sodium citrate dihydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), Sodium chloride (NaCl), Di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$), Primary-secondary amine (PSA), graphitized carbon black (GCB), Ammonium formate และ formic acid

2.9 เครื่องตรวจวิเคราะห์ Liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC-MS/MS)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

1.1 สำรวจและเลือกแปลงทดลองที่เหมาะสมจำนวน 5 แปลง ที่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เพียงพอและเป็นตัวแทนที่ดีในการตรวจปริมาณสารพิษตกค้าง โดยแต่ละแปลงทดลองต้องห่างกันอย่างน้อย 30 กิโลเมตร หรือมีฤดูกาลเพาะปลูกแตกต่างกัน และไม่มีการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิดเดียวกับที่ทำการทดลอง

1.2 วางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial โดยแบ่งแปลงทดลองเป็น 2 แปลงย่อย คือ

- แปลงควบคุม (Control) คือแปลงที่ไม่มีการใช้วัตถุมีพิษ pyridaben
- แปลงทดลอง (Treated) คือที่พ่นวัตถุมีพิษ pyridaben ตามอัตราแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

1.3 ทำแปลงทดลองส้มเขียวหวาน จำนวน 5 แปลง โดยเลือกแปลงทดลองในหลากหลายพื้นที่ และหลากหลายฤดูกาล โดยมีรายละเอียดดังนี้

แปลงที่ 1 : อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ทำการทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายน - เดือนธันวาคม 2561

แปลงที่ 2 : อำเภอนาดี จังหวัดปราจีนบุรี ทำการทดลองระหว่างเดือนเมษายน - เดือนพฤษภาคม 2562

แปลงที่ 3 : อำเภอนาดี จังหวัดปราจีนบุรี ทำการทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายน - เดือนธันวาคม 2562

แปลงที่ 4 : อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม - เดือนธันวาคม 2563

แปลงที่ 5 : อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม - เดือนธันวาคม 2563

โดยแปลงทดลองที่ 4 และ 5 ตั้งอยู่ห่างกันเกิน 30 กิโลเมตร

1.4 Calibrate เครื่องพ่น Motorized knapsack sprayer และปรับการเดินของผู้พ่น ก่อนการพ่นวัตถุมีพิษ pyridaben เพื่อให้การพ่นวัตถุมีพิษมีความแม่นยำและสม่ำเสมอ ทำการ Calibrate เครื่องพ่นโดยการพ่นน้ำเป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำที่พ่นใน 1 นาที ส่วนการปรับการเดินของผู้พ่น จะจับเวลาการเดิน ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย ซึ่งในการทำ Calibrate เครื่องพ่นและปรับการเดินของผู้พ่นนั้น แต่ละครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกิน 5% จากการทำการทดลองติดต่อกัน 3 ครั้ง จึงจะอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

1.5 ดำเนินการพ่นวัตถุมีพิษ pyridaben20 % WP ตามอัตราแนะนำ 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น ในแปลงทดลอง (Treated plot) 3 ครั้ง พ่นแต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน

1.6 เก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ที่ 0 (2 ชั่วโมง), 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่าง อย่างน้อย 2 กิโลกรัม 2 ซ้ำต่อวัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุมก่อนแล้วจึงสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงที่ใช้วัตถุมีพิษ pyridaben

1.7 บรรจุตัวอย่างในถุงเก็บตัวอย่างที่มีป้ายชนิดตัวอย่างและชื่อวัตถุมีพิษระบุไว้อย่างชัดเจน บรรจุน้ำแข็งใส่ถุง และบรรจุถุงน้ำแข็งและถุงเก็บตัวอย่างลงในกล่องโฟมที่ใช้บรรจุตัวอย่าง เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างระหว่างการขนส่ง ขนส่งตัวอย่างจากแปลงทดลองไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยใช้ Temperature data logger ติดตามอุณหภูมิตลอดการขนส่ง เมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการ หั่นตัวอย่าง เก็บในตู้แช่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20±5 °C

2. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 6-10 ซ้ำ พิสูจน์ความแม่นยำ (Accuracy) จากร้อย ละการกลับคืน (% Recovery) และพิสูจน์ความเที่ยง (Precision) จากร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (%RSD)

3. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน

3.1 เตรียมตัวอย่าง ส้มทั้งผล (whole fruit) โดยหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปบดกับไนโตรเจนเหลวด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20±5 °C

3.2 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน ตามวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) ที่ได้ศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แล้ว โดยมีวิธีการดังนี้

ชั่งตัวอย่างส้ม 10 กรัม ใส่หลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดด้วย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที เติม $MgSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ 1 กรัม และ $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$ 0.5 กรัม แล้วเขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นปิเปตเฉพาะสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตรที่มี $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม นำไป Vortex เป็นเวลา 1 นาที และ Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน PTFE filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน autosampler vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS

การสกัดตัวอย่างแต่ละครั้ง ต้องทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง โดยหาร้อยละการกลับคืน (% recovery) ของ spiked sample เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง

3.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานของวัตถุมีพิษ pyridaben ด้วย matrix blank ส้มที่สกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) โดยเตรียม 7 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน pyridaben ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

3.4 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

สภาวะการทำงานของเครื่อง มีอัตราส่วนของ mobile phase ดังตารางที่ 1 และรายละเอียดการตั้งค่า MS ดังตารางที่ 2

<u>การเตรียมสภาวะ LC</u>

HPLC Column	: Kinetex 2.6 µM XB-C18 100 Å 100 x 2.1 mm.
Column temperature	: 40 °C
Flow rate	: 0.4 ml/min
Injection volume	: 2 µL
Mobile phase A	: 5mM ammonium formate + 0.01% Formic acid
Mobile phase B	: Acetonitrile

ตารางที่ 1 อัตราส่วนของ mobile phase

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0	50	50
1	50	50
5	5	95
6	5	95
7	50	50
8	50	50

การเตรียมสภาวะ MS

Ion source	: ESI, Positive mode
Gas temperature	: 300 °C
Gas flow	: 11 L/min
Nebulizer	: 15 psi
Capillary	: 4000 V

ตารางที่ 2 รายละเอียดการตั้งค่า MS

Precursor ion	Product ion	Dwell time	Fragmentor (V)	Collision energy (V)
365.1449	309.0823	100	50	10
365.1449	146.9778	100	50	20

3.5 ศึกษาสภาวะความคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน

ทดสอบความคงตัวของสารตกค้างระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) โดย fortified สารมาตรฐาน pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ความเข้มข้น 10 เท่าของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้หรือค่า LOQ (FAO, 2016) ที่ระยะเวลา 0, 15, 30, 60, 90 และ 180 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่างในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20±5 °C เมื่อถึงระยะเวลาที่ศึกษานำตัวอย่างที่ fortified มาสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

การสกัดตัวอย่างแต่ละครั้ง ต้องทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (concurrent recovery) เปรียบเทียบตัวอย่าง storage stability กับ concurrent recovery ที่สกัดภายในวันเดียวกัน เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2561 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

ปีงบประมาณ 2562 แปลงส้มเขียวหวาน จังหวัดปทุมธานีและ ปราจีนบุรี	พฤศจิกายน 2561 - พฤษภาคม 2562
ปีงบประมาณ 2563 แปลงส้มเขียวหวาน จังหวัดปราจีนบุรี	พฤศจิกายน - ธันวาคม 2562
ปีงบประมาณ 2564 แปลงส้มเขียวหวัดสุโขทัย	ตุลาคม - ธันวาคม 2563

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองของการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของการทำแปลงทดลองและส่วนของการดำเนินการในห้องปฏิบัติการ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. การทำแปลงทดลอง

แปลงทดลอง (Treated plot) พ่นสาร pyridaben 20 % WP ตามอัตราแนะนำ 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น พ่น 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน มีการพิจารณาประสิทธิภาพการพ่นสาร ซึ่งแสดงถึงปริมาณวัตถุมีพิษ pyridaben ที่พ่นลงแปลงทดลองเทียบกับปริมาณที่กำหนดซึ่งคำนวณจากอัตราของสารที่ใช้และปริมาณน้ำที่พ่นต่อต้น พบว่าประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษ ได้ 100 – 101 % ของปริมาณสารที่กำหนด ดังแสดงในตารางที่ 3

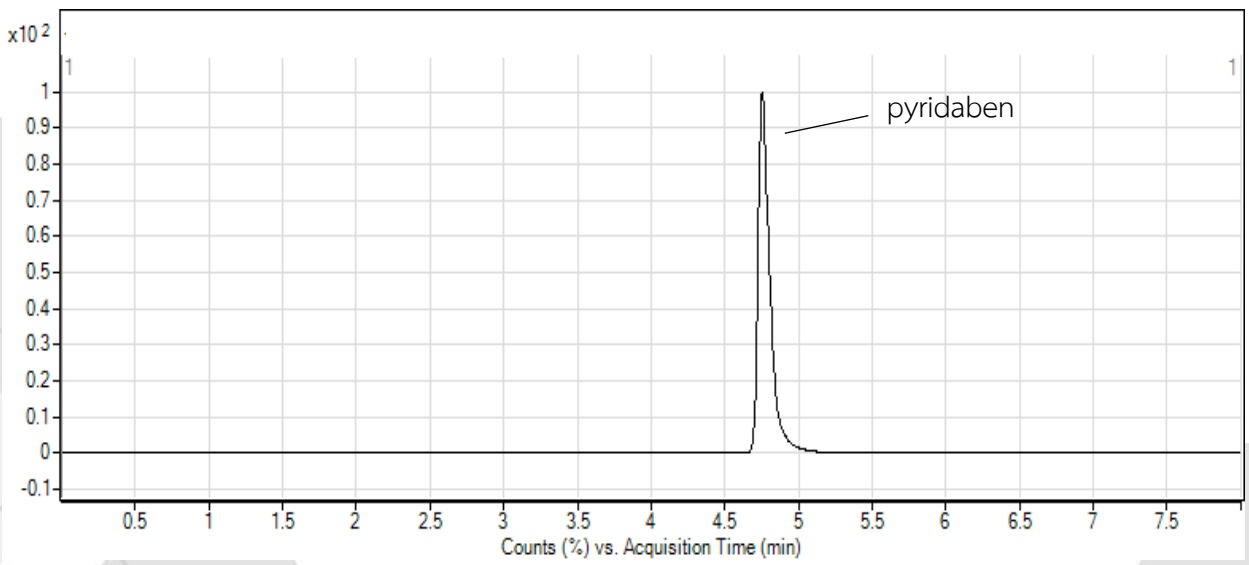
ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษ pyridaben ในแปลงส้ม

Trial No.	Efficiency (%)		
	1st spraying	2nd spraying	3rd spraying
1	101	101	101
2	100	100	100
3	100	100	100
4	100	101	101
5	100	100	101

2. การดำเนินงานในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS แสดงโทเทิลไอออนโครมาโตแกรม (Total ion chromatogram หรือ TIC) ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 Total Ion Chromatogram (TIC) ของ pyridaben

2.2 การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) สารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน (Whole fruit) ด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662: 2008) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย (% Recovery) ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน อยู่ระหว่างร้อยละ 78-106 และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) อยู่ระหว่างร้อยละ 5-6 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ % Recovery อยู่ในช่วง 70-120% และ % RSD ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20% (SANTE, 2017) ดังแสดงในตารางที่ 4 และปริมาณต่ำสุดของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง (Limited of Quantification หรือ LOQ) pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน (Whole fruit)

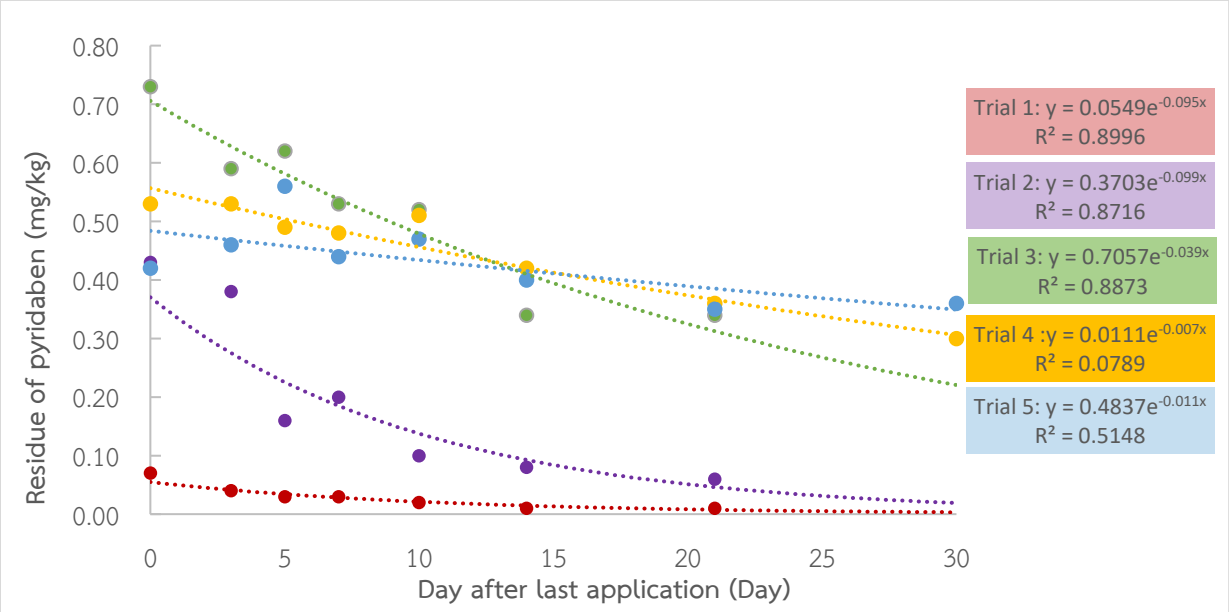
Concentration (mg/kg)	Recovery (%)	Average recovery (%)	%RSD
0.01	89, 84, 78, 80, 87, 91, 92, 92, 87, 91	87	6
0.10	103, 104, 106, 104, 103, 92	102	5
1.00	103, 103, 104, 98, 98, 92	100	5

2.3 ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben พบว่าส้มเขียวหวานจากแปลงควบคุมหรือแปลงที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษ pyridaben ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีทดสอบที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง (Limit of quantification หรือ LOQ) และตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลองที่ใช้วัตถุมีพิษ pyridaben ตามอัตราแนะนำในส้ม พบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben หลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ดังแสดงในตารางที่ 5 จากผลการทดลองพบว่าแปลงทดลองที่ 1 และ 2 พบปริมาณสารพิษตกค้างในช่วงความเข้มข้นที่ต่ำกว่าแปลงอื่นๆ โดยสาเหตุที่พบค่าปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างจากแปลงทดลองในช่วงความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นผลมาจากหลากหลายปัจจัย เช่น ลักษณะแปลงปลูกที่แตกต่างกัน การให้น้ำ ฤดูกาลที่ทำการทดลอง แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสารพิษตกค้างของทุกแปลงทดลองมีแนวโน้มลดลง เมื่อจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการสลายตัวของวัตถุมีพิษ pyridaben ดังแสดงในภาพที่ 3

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน (Whole fruit) จากแปลงทดลองที่ใช้วัตถุอันตราย pyridaben ตามอัตราแนะนำ

Day after last application	Residues of pyridaben (mg/kg)				
	Trial No.1	Trial No.2	Trial No.3	Trial No.4	Trial No.5
0	0.07	0.43	0.73	0.53	0.42
3	0.04	0.38	0.59	0.53	0.47
5	0.03	0.16	0.63	0.49	0.57
7	0.03	0.20	0.53	0.49	0.45
10	0.02	0.11	0.52	0.51	0.48
14	0.01	0.08	0.34	0.42	0.41
21	<0.01	0.06	0.34	0.36	0.36
30	-	-	-	0.30	0.36



ภาพที่ 3 กราฟแสดงการสลายตัวของสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน (Whole fruit) แปลงที่ 1 - 5

การควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง พบว่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ในการสกัดตัวอย่างแปลงที่ 1-5 อยู่ในช่วง 75 - 110 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (SANTE, 2017) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การควบคุมคุณภาพของการตรวจวิเคราะห์ pyridaben ในชุดการทดสอบ ของตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง

Concentration (mg/kg)	Recovery (%)				
	Trial No.1	Trial No.2	Trial No.3	Trial No.4	Trial No.5
0.01	102, 110	75, 80	100, 94	99, 99	79, 82
0.10	101, 102	87, 86	95, 94	102, 102	92, 90
1.00	102, 100	85, 84	99, 102	112, 107	89, 91

2.4. ความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) ของ pyridaben ในส้มเขียวหวาน

การศึกษาความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) ของ pyridaben ในส้มเขียวหวานที่ความเข้มข้น 0.1 mg/kg ที่ระยะเวลา 0, 15, 30, 60, 90 และ 180 วัน พบว่าค่าเฉลี่ย ร้อยละสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานที่เก็บไว้ตั้งแต่ระยะเวลา 0 ถึง 180 วัน มีค่าอยู่ระหว่าง 88-106 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (FAO, 2016) คือสารพิษตกค้างไม่สลายตัวไปเกินกว่าร้อยละ 30 ของความเข้มข้นที่ศึกษา หรือค่าเฉลี่ยสารพิษตกค้างที่เหลืออยู่ต้องมากกว่า 70% และ % Concurrent recovery อยู่ในช่วง 91-105 ดังแสดงในตารางที่ 7 จึงสรุปได้ว่าสามารถเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่มีสารพิษตกค้าง pyridaben ไว้ได้นาน 180 วัน ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20±5 °C โดยการสลายตัวของสารพิษตกค้างอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ

ตารางที่ 7 ค่าการคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานที่ระยะเวลาต่างๆ

Time (Day)	Concurrent Recovery (%)	Residues in stored fortified sample (mg/kg)	Average uncorrected residues remained (%)
0	98, 95	0.10, 0.09	95
15	101, 98	0.11, 0.10	103
30	97, 101	0.10, 0.10	98
60	104, 105	0.11, 0.11	106
90	100, 105	0.09, 0.08	88
180	94, 91	0.08, 0.10	90

*Homogenized mandarins stored at freezer temperature approximate -20±5 °C.

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทำการทดลองแบบ Supervised residue trials โดยพ่นวัตถุมีพิษตามอัตราแนะนำคือ pyridaben 20% WP ปริมาณ 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น พ่นวัตถุมีพิษ 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน พบว่าการพ่นวัตถุมีพิษ pyridaben ในแปลงทดลองทั้ง 5 การทดลอง สามารถประเมินปริมาณวัตถุมีพิษ pyridaben ที่ลงแปลงทดลองได้เท่ากับร้อยละ 100 - 101 ของปริมาณที่กำหนด

เก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย นำตัวอย่างมาสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากผลการวิเคราะห์พบว่า pyridaben มีการสลายตัวเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลองทั้ง 5 แปลง มีปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง < 0.01 - 0.73 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง มีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 75 – 110 แปลงควบคุมมีปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben < LOQ ในทุกตัวอย่าง และสามารถเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่มีสารพิษตกค้าง pyridaben ไว้ได้นาน 180 วัน ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20±5 ºC โดยความคงตัวของสารในตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ

นำข้อมูลจากแปลงทดลองทั้ง 5 แปลง มาประเมินความปลอดภัยจากแบบจำลองการได้รับการสัมผัสแบบเฉียบพลัน (%ADI) และแบบเรื้อรัง (%ARfD) ทำให้สามารถพิจารณากำหนดค่า PHI สำหรับสาร pyridaben ในส้มเขียวหวานได้เท่ากับ 14 วัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ส้มจัดอยู่ในกลุ่มหลัก 001 ผลไม้ตระกูลส้ม (citrus fruit) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) ซึ่ง Codex ยังไม่มีการกำหนดค่า MRLs ของ pyridaben ในพืชตระกูลส้ม (FAO/WHO, 2019) จึงสามารถนำข้อมูลการศึกษาการสลายตัวของวัตถุมีพิษ pyridaben ในส้มทั้ง 5 การทดลองที่ได้ ไปเสนอเพื่อพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRLs) ของ Codex, ASEAN และประเทศไทย

จากการประชุม The Experts Working Group on the Harmonization of Maximum Residue Limits (EWG-MRLs) of Pesticides among ASEAN Countries ครั้งที่ 26 เมื่อวันที่ 17-18 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 เพื่อพิจารณากำหนดมาตรฐานค่า ASEAN Maximum Residue Limit (MRL) สำหรับวัตถุอันตรายทางการเกษตร ประเทศไทยได้ใช้ข้อมูลจากการศึกษาทดลองสารพิษตกค้าง เสนอค่า MRLs ของ pyridaben ในพืชตระกูลส้มเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และกำหนดค่า PHI เท่ากับ 14 วัน โดยที่ประชุมมีมติเห็นชอบร่างค่า ASEAN Harmonized MRLs ดังกล่าว ในขั้นต้น และจะนำไปพิจารณาให้ความเห็นชอบในการประชุมครั้งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE-QuEChERS-method.

FAO/WHO. 2019. “Codex Alimentarius International Food Standards. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://shorturl.asia/zynNg (26 มกราคม 2565)

Devine, G.J., M. Barber and l. Denholm. 2001. Incidence and inheritance of resistance to METI-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (Tetranychus urticae) (Acari: Tetranychidae). ***Pest Management Science*** 57:443-448.

European commission directorate general for health and food safety. (2017) Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues and analysis in food and feed. ***SANTE***, 11813, 1-42.

FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed 3rded. ***FAO Plant Production and Protection Paper*** 225. 286p.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ***การจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช CLASSIFICATION OF AGRICULTURAL COMMODITIES: CROP***. กรุงเทพฯ.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไดฟีโนโคนาโซล (difenoconazole) ในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Pesticide residue trials of difenoconazole in mandarin to establish maximum residue limits (MRLs)

พรนภัส วิชานนะณานนท์ ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ พชร เมินหา มติมล แสงสว่าง ศิริพันธ์ สมุทรศรี

Pornnaphat Wichannananon Prachatipat Pongpinyo Pachara Meanha

Matimon Sangsawang Siripan Samutsri

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Difenoconazole is a systematic triazole fungicide that inhibits a variety of disease caused by fungi. Such a compound is broadly used in several fruits, vegetables, cereals and other field crops. In this research, we aim to study degradation of difenoconazole on mandarin under environmental condition and develop analytical protocol to quantify the amount of difenoconazole residue in mandarin by using solid-phase extraction (QuEChERS method EN15662:2008) and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Supervised residue trials of difenoconazole on mandarin were conducted in 5 locations coverage major productions in Thailand. Mandarin samples in each field were divided into two groups including treated and untreated samples with recommended dose rate of difenoconazole, 20 milliliters of 25% EC difenoconazole in 20 liters of water with spray volume 5 liters for each mandarin tree. All treated samples collected at 0, 3, 5, 7, 10, 14, 21 and 30 days after the last application were found the range amount of difenoconazole as 0.21-1.24 mg/kg. While, target analytes could not be observed in untreated samples. These data set suggested that 30 days was a suitable pre-harvest interval (PHI) after the last fungicide treatments. The PHI of these fungicide residue in mandarin samples would signify the importance of harvesting time for agricultural products. Moreover, these data will be submitted to set THAI, ASEAN and CODEX maximum residue limits (MRLs) for further work.

Keywords : difenoconazole, mandarin, residue, pre-harvest interval (PHI), maximum residue limits (MRLs)

บทคัดย่อ

ไดฟีโนโคนาโซลเป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม triazole ประเภทดูดซึม ใช้ในการกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อราได้อย่างหลากหลายทั้งในไม้ผล ผัก ธัญพืช และอื่นๆ งานวิจัยนี้ ศึกษาการสลายตัวของสารป้องกันกำจัดเชื้อราไดฟีโนโคนาโซลในส้มภายใต้สภาพแวดล้อมและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างไดฟีโนโคนาโซลโดยใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (วิธี QuEChERS, EN15662:2008) และเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี-แทนเดมแมสสเปกโทรเมทรี (LC-MS/MS) ในการทำแปลงทดลองสารพิษตกค้างเพื่อศึกษาการสลายตัวของสารป้องกันกำจัดเชื้อราไดฟีโนโคนาโซลในส้มเขียวนั้น มีทั้งหมด 5 แปลงทดลองในแหล่งเพาะปลูกส้มเขียวหวานของประเทศไทย โดยแต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงย่อย ได้แก่ แปลงที่ไม่ใช้ไดฟีโนโคนาโซลซึ่งเป็นแปลงควบคุมและแปลงที่ใช้ไดฟีโนโคนาโซลตามคำแนะนำ (ไดฟีโนโคนาโซล 25% EC 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ในอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้นส้ม) สุ่มเก็บตัวอย่างส้มที่ 0 3 5 7 10 14 21 และ 30 วันหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายตรวจวิเคราะห์พบปริมาณสารพิษตกค้างไดฟีโนโคนาโซลทุกตัวอย่างจากแปลงที่ใช้ไดฟีโนโคนาโซลของแปลงทดลองที่ 1 ถึง 5 โดยอยู่ในช่วง 0.21 ถึง 1.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้างไดฟีโนโคนาโซลในตัวอย่างจากแปลงที่ไม่ใช้ไดฟีโนโคนาโซล นำข้อมูลสารพิษตกค้างที่ได้ไปพิจารณาเพื่อเสนอขอกำหนดระยะเวลาที่ปลอดภัยในการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย (pre harvest interval หรือ PHI) ที่ 30 วัน ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญในการเก็บเกี่ยวผลผลิตทางการเกษตร นอกจากนี้ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นส่วนหนึ่งในการพิจารณาเสนอขอกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (maximum residue limits หรือ MRL) สำหรับประเทศไทย อาเซียน และ codex ต่อไป

คำหลัก: ไดฟีโนโคนาโซล ส้มเขียวหวาน สารพิษตกค้าง ระยะเวลาที่ปลอดภัยในการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

คำนำ

ส้มเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญ และบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย มีแหล่งเพาะปลูกกระจายอยู่ทั่วทุกภูมิภาค ในการเจริญเติบโตของส้มตั้งแต่ผลิตาอ่อนจนกระทั่งผลแก่เริ่มเก็บเกี่ยวใช้ระยะเวลาประมาณ 1 ปี ซึ่งการเข้าทำลายของศัตรูพืชจะมีความสัมพันธ์กับพัฒนาการของส้มตั้งแต่ผลิใบจนถึงระยะผล ศัตรูพืชที่เข้าทำลายส้มจึงมีมากมายหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรคพืช แมลง วัชพืช หรือสัตว์ต่างๆ ปัญหาหนึ่งที่สำคัญในการผลิตพืชตระกูลส้มซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ใบส้มร่วงก่อนกำหนด ส่งผลให้ต้นส้มทรุดโทรมและผลผลิตลดลง คือ การระบาดของโรคในกลุ่มเมลาโนสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา ได้แก่ โรคเมลาโนสและโรคกรีสซีเมลาโนส ดัง Figure 1 สำหรับโรคส้มในกลุ่มนี้สามารถพบได้ตลอดปี จึงจำเป็นต้องมีการป้องกันกำจัดการระบาดของโรคกลุ่มนี้ในสวนส้ม (สวนเกษตรผสมผสานนครปฐม, 2563) เมื่อพิจารณาข้อมูลการขึ้นทะเบียนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร พบว่า ไดฟีโนโคนาโซล (difenoconazole) เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ได้รับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายในการป้องกันกำจัดโรคเมลาโนสและโรคกรีสซีเมลาโนสในส้ม (อรพรรณ, 2554)

Difenoconazole เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม conazole fungicide ซึ่งมีกลุ่ม triazole ($C_2H_3N_3$) เป็นองค์ประกอบ ดังแสดงใน Figure 2 สารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดนี้เป็นสารประเภทดูดซึม (systematic fungicide) ที่สามารถใช้ป้องกันและกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราได้หลายชนิด โดยจะเข้าทำการยับยั้งการงอกของสปอร์และขบวนการสร้างเส้นใยของเชื้อรา difenoconazole บริสุทธิ์มีลักษณะเป็นผงคริสตัลสีขาวเบจ มีสูตรโมเลกุล (molecular formula) เป็น $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$ และมวลโมเลกุล (molecular weight) เท่ากับ 406.3 (Tomlin, 2006)

Figure 1 (a) Citrus melanose and (b) Greasy melanose on citrus (สวนเกษตรผสมผสาน นครปฐม, 2563)

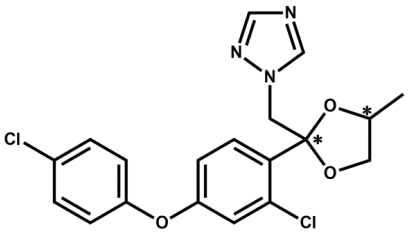


Figure 2 Chemical structure of difenoconazole (Elin, *et al.*, 2012)

การศึกษาการสลายตัวของ difenoconazole ในส้มเขียวหวานนี้ ดำเนินงานวิจัยตามหลักเกณฑ์การทำแปลงทดลองสารพิษตกค้าง (supervised residue trials) และตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามหลักเกณฑ์ของหลักปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practice หรือ GLP) เพื่อให้ได้ข้อมูลสารพิษตกค้าง difenoconazole ที่มีคุณภาพและเป็นไปตามมาตรฐานสากล ข้อมูลจากการทดลองสามารถประเมินระยะเวลาที่ปลอดภัยในการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย (pre harvest interval หรือ PHI) ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญในการเก็บเกี่ยวผลผลิตทางการเกษตร นอกจากนี้ จะนำเสนอข้อมูลที่ได้ไปเสนอขอกำหนดค่า MRLs สำหรับประเทศไทย อาเซียน และ codex ต่อไป โดยค่า MRLs นั้น เป็นค่าที่ใช้ในทางการค้า ทำให้ประเทศไทยสามารถส่งออกสินค้าเกษตรไปยังกลุ่มประเทศสมาชิกอาเซียนและ codex ได้อย่างเสรี

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. การทำแปลงทดลอง
    1) ผลิตภัณฑ์ difenoconazole (Score 250 EC)
    2) เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น กระบอกตวง บีกเกอร์ ขวดแก้ว เป็นต้น
    3) เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack sprayer)
    4) ชุดป้องกันสารพิษ
    5) นาฬิกาจับเวลา
    6) เครื่องวัดความเร็วลม
    7) เครื่องวัดและบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger หรือ TDL)
    8) เทอร์โมมิเตอร์
    9) เชือกฟางและหมุดหัวน็อต
2. ห้องปฏิบัติการ
    2.1 สารมาตรฐาน difenoconazole ซึ่งมีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.58
    2.2 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น autosampler vial กระบอกตวง บีกเกอร์ ขวดแก้ว ขวดปรับปริมาตร และแท่งแก้วคนสาร เป็นต้น
    2.3 หลอด centrifuge ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
    2.4 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งและ 5 ตำแหน่ง
    2.5 micropipet 10-100 ไมโครลิตร และ 100-1,000 ไมโครลิตร
    2.6 syringe filter ชนิด PTFE 0.2 ไมครอน
    2.7 เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ homogenizer และ centrifuge
    2.8 สารเคมีต่างๆ ได้แก่ acetonitrile, ammonium formate ($HCOONH_4$), formic acid (HCOOH), magnesium sulphate anhydrous ($MgSO_4$), primary-secondary amine (PSA), sodium chloride (NaCl), sodium citrate dihydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) และ di-sodium hydrogen citrate esequihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$)
    2.9 เครื่องตรวจวิเคราะห์ high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS-MS)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง
    1.1 สำรวจและเลือกแปลงส้มเพื่อเป็นแปลงทดลอง โดยแต่ละแปลงควรห่างกันอย่างน้อย 30 กม. และพิจารณาเลือกแปลงที่มีความแตกต่างกัน เช่น อายุ ชนิดของดินที่ปลูก และการดูแลรักษา
    1.2 วางแผนการทดลองแบบ supervised trial โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 กรรมวิธี (treatment) คือ
กรรมวิธีที่ 1 แปลงที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษ difenoconazole เป็นแปลงควบคุม
กรรมวิธีที่ 2 แปลงที่ใช้วัตถุมีพิษ difenoconazole ตามอัตราแนะนำ คือ difenoconazole 25% EC 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ในอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้นส้ม (กรมวิชาการเกษตร, 2553)
    1.3 ทำแปลงทดลองจำนวน 5 แปลง มีรายละเอียด ดังนี้
แปลงที่ 1 ทำในพื้นที่อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี
แปลงที่ 2 ทำในพื้นที่อำเภอนาดี จังหวัดปราจีนบุรี
แปลงที่ 3 ทำในพื้นที่อำเภอนาดี จังหวัดปราจีนบุรี
แปลงที่ 4 ทำในพื้นที่อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย

แปลงที่ 5 ทำในพื้นที่อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย

1.4 ก่อนการพ่นวัตถุมีพิษ difenoconazole จะ calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตรายและปรับการเดินของผู้พ่นสาร เพื่อให้การพ่นสารมีความแม่นยำและสม่ำเสมอ ในการทำ calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตรายนั้น ทำโดยการพ่นน้ำเป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย ส่วนการปรับการเดินของผู้พ่นวัตถุอันตราย จะจับเวลาการเดิน ซึ่งในการทำ calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตรายและปรับการเดินของผู้พ่นนั้น แต่ละครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกินร้อยละ 5 จากการทำการทดลองติดต่อกัน 3 ครั้ง

1.5 การพ่นวัตถุมีพิษ difenoconazole ในแต่ละแปลงทดลอง พ่น 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ดังนี้

แปลงที่ 1 พ่นในวันที่ 12, 19 และ 26 พฤศจิกายน 2561

แปลงที่ 2 พ่นในวันที่ 4, 11 และ 18 เมษายน 2562

แปลงที่ 3 พ่นในวันที่ 29 ตุลาคม 6 และ 12 พฤศจิกายน 2562

แปลงที่ 4 พ่นในวันที่ 21, 28 ตุลาคม และ 4 พฤศจิกายน 2563

แปลงที่ 5 พ่นในวันที่ 21, 28 ตุลาคม และ 4 พฤศจิกายน 2563

1.6 สุ่มเก็บตัวอย่างหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 0 3 5 7 10 14 21 และ 30 (แปลงที่ 4 และ 5) วัน เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ซึ่งแต่ตัวอย่างจะสุ่มเก็บอย่างน้อย 2 กิโลกรัม วันละ 2 ซ้ำ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุมและแปลงที่ใช้วัตถุมีพิษ difenoconazole ตามลำดับ

1.7 หลังจากสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลอง ทำการบรรจุตัวอย่างใส่ลังโฟมที่มีน้ำแข็ง พร้อมติดตามอุณหภูมิขณะขนส่งตัวอย่างด้วยเครื่องวัดและบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger หรือ TDL) เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้างระหว่างการขนส่งตัวอย่างจากแปลงทดลองกลับห้องปฏิบัติการ

2. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง difenoconazole

2.1 การเตรียมตัวอย่าง ทำโดยใส่ไนโตรเจนเหลวในตัวอย่างส้ม แล้วบดด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง และเก็บที่อุณหภูมิ -20±5ºC

2.2 วิธีวิเคราะห์ (QuEChERS Method, EN 15662:2008) สุ่มชั่งตัวอย่างส้ม 10 กรัมในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดด้วย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที เติม $MgSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ 1 กรัม และ $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$ 0.5 กรัม แล้วเขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นดูดสารละลาย 5 มิลลิลิตร ใส่หลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตรที่มี $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ C18 50 มิลลิกรัม เขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วย syringe filter ใส่ขวดแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร ดูดสารละลายที่ได้ใส่ autosampler vial ไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ด้วยเครื่อง LC/MS-MS

2.3 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS: Agilent 1200 HPLC และ Agilent 6410 Triple Quadrupole LC/MS-MS มีรายละเอียด ดังนี้

<u>High performance liquid chromatograph</u>

Column:	Phenomenex Kinetex^{TM} 1.7 µm XB-C18 100 Å ขนาด 100 x 2.1 mm
Mobile phase:	A: สารละลาย 5 mM $HCOONH_4$ และ 0.1% HCOOH ในน้ำ
	B: acetonitrile
Flow rate:	0.4 mL/min
Column oven control temperature:	40ºC
Injection volume:	2 µL

Gradient program:	Time	A (%)	B (%)
	0.0	80	20
	1.0	80	20
	2.0	50	50
	3.0	35	65
	6.0	35	65
	7.0	50	50
	8.0	80	20
	9.0	80	20

Mass spectrometer

Ionization mode:	electrospray ionization in positive mode
Gas temperature:	325°C
Gas flow:	10 L/min
Nebulizer:	45 psi
Sheath Gas Heater:	400°C
Sheath Gas Flow:	10
Capillary:	3,500 V
MS/MS scan parameter:	multi reaction monitoring (MRM)

	Precursor ion	Product ion	Frag (V)	CE (V)
Difenoconazole	406.1	291	80	40
	406.1	251	80	40
	406.1	188	80	60

2.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน difenoconazole ด้วย matrix blank ที่ 7 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน difenoconazole (แกน x) กับ peak area (แกน y) ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

2.5 การตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้ม ทดสอบโดย spiked samples ที่ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.1, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

ระยะเวลา

ตุลาคม พ.ศ. 2561 - กันยายน พ.ศ. 2564

สถานที่ทำการทดลอง

พื้นที่เพาะปลูกส้มเขียวหวานในจังหวัดปทุมธานี ปราจีนบุรี และสุโขทัย และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้มเขียวหวาน แบ่งผลการทดลองเป็น 2 ส่วน คือ ผลการทดลองในแปลงทดลองและในห้องปฏิบัติการ มีรายละเอียด ดังนี้

1. แปลงทดลอง

การพ่นวัตถุมีพิษ difenoconazole ในแปลงทดลองทั้ง 5 แปลง แปลงละ 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการพ่นสาร ซึ่งเป็นการประเมินปริมาณวัตถุมีพิษ difenoconazole ที่ลงแปลงทดลองด้วยอัตราการใช้ difenoconazole 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ในอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น คิดเป็นร้อยละ 100 ในการพ่นวัตถุมีพิษ difenoconazole ทั้ง 5 แปลงทดลองนั้น พบว่า ประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษ difenoconazole อยู่ในช่วงร้อยละ 99-102 ของปริมาณวัตถุมีพิษ ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Efficiency of the difenoconazole treatment in mandarin fields

Field trial number	Treatment efficiency (%)		
	1	2	3
1	102	101	100
2	100	100	100
3	100	100	99
4	101	101	101
5	100	100	100

2. ห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง difenoconazole ด้วยเครื่อง LC/MS-MS

การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง difenoconazole ด้วยเครื่อง LC/MS-MS แสดงโทเทิลไอออนโครมาโตแกรม (total ion chromatogram หรือ TIC) ดัง Figure 3

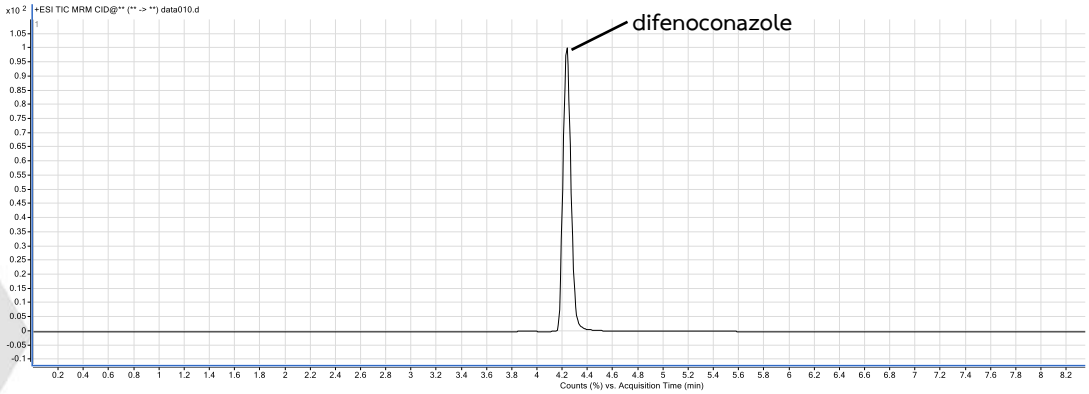


Figure 3 Total ion chromatogram (TIC) of difenoconazole residue

2.2 การศึกษาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้ม

ก่อนการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในตัวอย่างส้มจากแปลงทดลอง ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method validation หรือ MV) โดยทำที่ 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0.01, 0.1, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า ร้อยละการกลับคืน (%recovery) อยู่ในช่วงร้อยละ 74-115 และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วงร้อยละ 4-16 ดังแสดงใน Table 2 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คือ ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วงร้อยละ 70-120 และ ร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่าร้อยละ 20 (European commission directorate general for health and food safety, 2017) การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้มนี้ มีขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (limited of quantification หรือ LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในการสกัดตัวอย่างจากแปลงทดลอง มีการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (concurrent recovery หรือ QC) พบว่า ร้อยละการกลับคืนในการสกัดตัวอย่างจากแปลงทดลองอยู่ในช่วงร้อยละ 71-105 และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วงร้อยละ 8-11

Table 2 Method validation and concurrent recovery results of difenoconazole residue in mandarin determination

Experiment	Fortified concentration ($mg \cdot kg^{-1}$)	Recovery (%)	Average of recovery (%)	RSD (%)
MV	0.01	105, 81, 74, 76, 110, 113, 115, 103, 91, 85	95	16
	0.1	96, 95, 95, 88, 84, 99	93	6
	1.0	103, 100, 97, 89, 89, 88	94	7
	2.0	102, 96, 101, 94, 92, 96	97	4
QC	0.01	104, 99, 93, 96, 78, 96, 98, 89, 103, 105	96	8
	0.1	83, 80, 90, 92, 96, 96, 80, 83, 73, 81	85	9
	1.0	86, 86, 99, 97, 99, 99, 82, 93, 89, 89	92	7
	2.0	99, 98, 71, 81, 96, 97, 91, 90	90	11

2.3 การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในตัวอย่างส้มจากแปลงทดลอง

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในตัวอย่างส้มจากแปลงทดลอง พบว่าทุกตัวอย่างจากแปลงควบคุมหรือแปลงทดลองที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษ difenoconazole พบปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีทดสอบที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง และตัวอย่างจากแปลงทดลองที่ใช้วัตถุมีพิษ difenoconazole ตามอัตราแนะนำในส้ม พบปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในตัวอย่างที่เก็บเกี่ยวหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 0, 3, 5, 7, 10, 14, และ 21 วัน ในแปลงที่ 1, 2 และ 3 ที่ 0, 3, 5, 7, 10, 14, 21 และ 30 วัน ในแปลงที่ 4 และ 5 ดังแสดงใน Table 3 ที่ 0 วัน พบสารตกค้างเฉลี่ยจากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เก็บจากแปลงทดลอง 2 ซ้ำต่อวัน อยู่ในช่วง 0.76 ถึง 1.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีแนวโน้มลดลง โดยที่ 21 วัน พบสารตกค้างอยู่ในช่วง 0.21 ถึง 1.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และที่ 30 วัน ในแปลงที่ 4 และ 5 พบสารตกค้าง อยู่ในช่วง 0.21 ถึง 0.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จึงสังเกตได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้ม กับจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายเป็นความสัมพันธ์แบบ non-linear ดังแสดงใน Figure 4 ซึ่งเกิดจากสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของสารป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดนี้ และนอกจากนี้ พบว่าความเข้มข้นเริ่มต้นและอัตราการสลายของ difenoconazole ในแต่ละแปลงทดลองแตกต่างกัน อาจเป็นผลจากสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น การได้รับแสง ความร้อน ลม และความชื้น เป็นต้น (Min, *et al.*, 2016)

Table 3 Amount of difenoconazole residue in treated mandarin sample from the field trails

Days after last application (days)	Amount of difenoconazole residue (mg•kg^{-1})				
	Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5
0	0.96	1.23	1.24	0.71	0.76
3	0.44	1.15	1.18	0.59	0.73
5	0.50	0.78	1.36	0.64	0.67
7	0.42	0.60	1.45	0.48	0.60
10	0.42	0.39	1.07	0.46	0.67
14	0.25	0.34	1.11	0.44	0.48
21	0.21	0.23	1.11	0.41	0.41
30	-	-	-	0.21	0.32

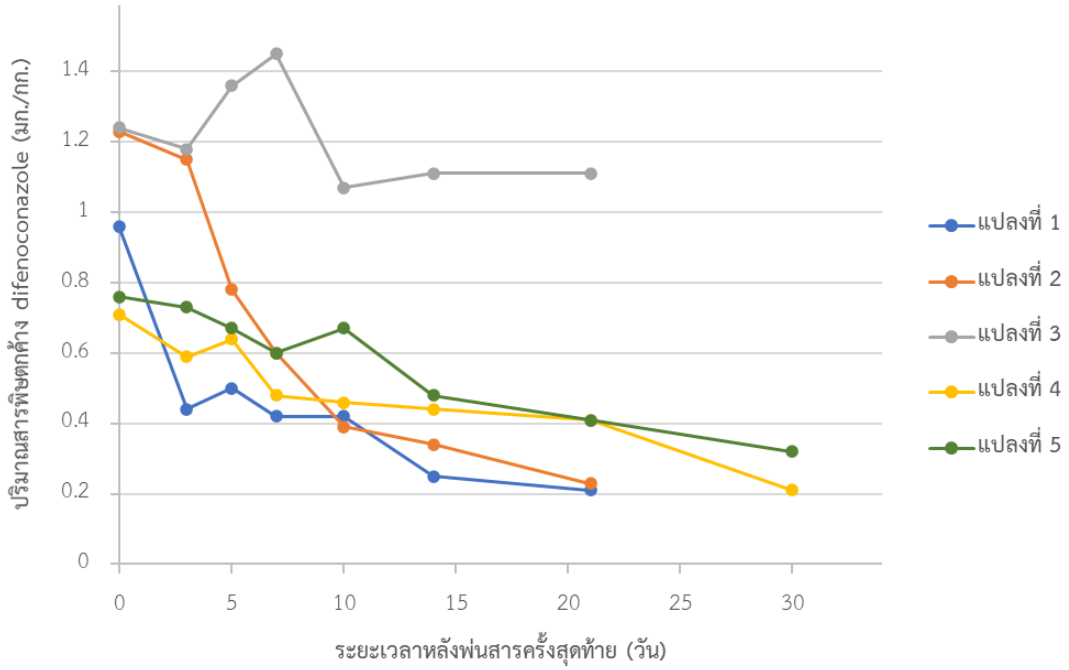


Figure 4 Degradation behavior of difenoconazole residue in mandarin from field trail 1, 2, 3, 4 and 5

จากการพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้มเขียวหวานกับจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายใน Figure 4 พบว่าการสลายตัวของ difenoconazole ในแปลงที่ 3 นั้น ปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ที่ 21 วันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายไม่ลดลง ดังนั้น ในการกำหนดระยะเวลาที่ปลอดภัยในการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการใช้สารครั้งสุดท้าย (pre harvest interval หรือ PHI) จึงนำข้อมูลจากการทดลองในแปลงที่ 1, 2, 4 และ 5 มาพิจารณาเป็นหลัก โดยสร้างเส้นแนวโน้มในนำกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้มเขียวหวานกับจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ดัง Figure 5 พบว่ามีการสลายตัวแบบ exponential โดยการสลายตัวเริ่มต้นเป็นไปอย่างรวดเร็วและค่อยๆช้าลงเมื่อระยะเวลานานขึ้น มีค่า coefficient of determination (R^2) และสมการความสัมพันธ์ ดัง Table 4 นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาค่า MRL ของประเทศต่างๆ พบว่าประเทศจีนและฮ่องกงมีการกำหนดค่า MRL ของ difenoconazole ใน mandarin อยู่ที่ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จึงลากเส้นกราฟขนานที่ปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ที่ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่า MRL ของ difenoconazole ใน mandarin ของประเทศจีนและฮ่องกง กับแกน x พบว่าจะตรงกับระยะเวลาหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ มากกว่า 30 วัน ซึ่งจากการทดลองมีการสุ่มเก็บตัวอย่างหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน จึงนำปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 30 วันของทั้ง 2 แปลงไปประเมินความเสี่ยงจากการบริโภค (risk assessment for dietary intake) โดยการพิจารณาปริมาณสารที่ได้รับระยะยาวและระยะสั้น (long-term dietary intake และ short-term dietary intake) พบว่า มีความปลอดภัยในการบริโภคทั้งแบบเฉียบพลัน (acute) และแบบเรื้อรัง (chronic) (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016) ดังนั้น จึงขอเสนอ PHI ของ difenoconazole ในส้มเขียวหวานที่ 30 วัน

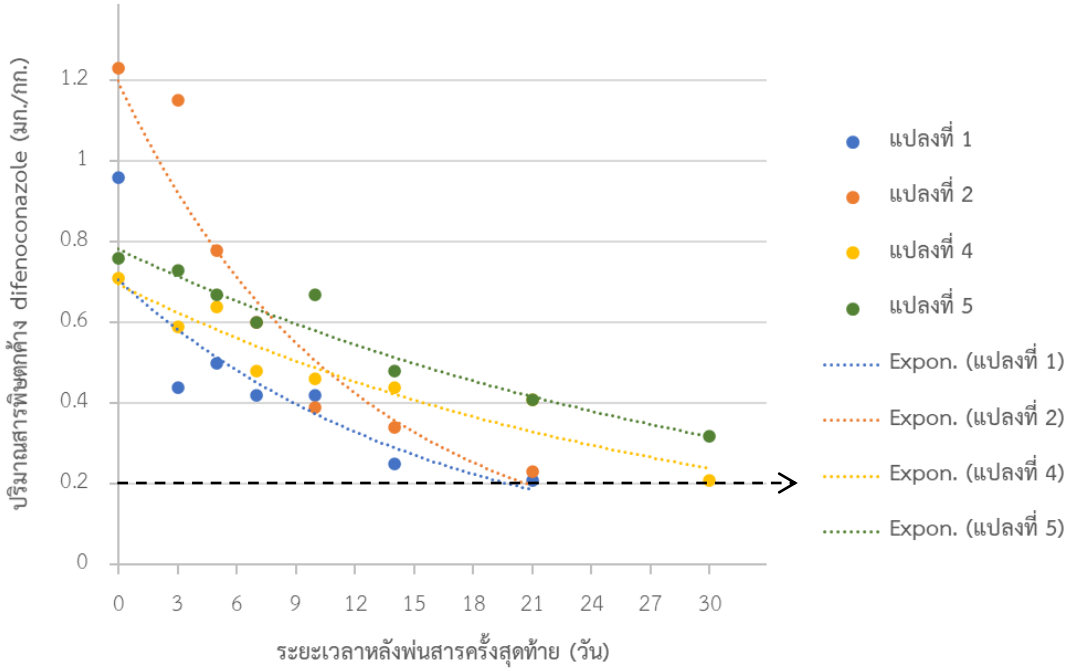


Figure 5 Trend of difenoconazole residue degradation in mandarin from field trail 1, 2, 4 and 5

Table 4 coefficient of determination (R^2) and equation of trendline from studying difenoconazole residue degradation in mandarin from field trail 1, 2, 4 and 5

แปลงที่	coefficient of determination (R^2)	equation of trendline
1	0.7787	$y = 0.7067e^{-0.063x}$
2	0.9385	$y = 1.1981e^{-0.086x}$
4	0.9010	$y = 0.6956e^{-0.036x}$
5	0.9367	$y = 0.782e^{-0.03x}$

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การพ่นวัตถุมีพิษ difenoconazole ในแปลงทดลองทั้งสองสามารถประเมินปริมาณวัตถุมีพิษ difenoconazole ที่ลงแปลงทดลองได้เท่ากับร้อยละ 99 - 102

การวิจัยปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้มเขียวหวาน โดยพ่นวัตถุมีพิษ difenoconazole ตามอัตราแนะนำ พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้ม กับจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายเป็นความสัมพันธ์แบบ non-linear โดยการสลายตัวเริ่มต้นเป็นไปอย่างรวดเร็วและค่อยๆช้าลงเมื่อระยะเวลานานขึ้น สารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้มเขียวหวานจากแปลงทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.25 ถึง 0.96, 0.34 ถึง 1.23, 1.07 ถึง 1.11, 0.21 ถึง 0.71 และ 0.32 ถึง 0.76 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง มีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วงร้อยละ 73 – 105

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการมีวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง difenoconazole ในส้มเขียวหวานที่ถูกต้องและแม่นยำ
2. การกำหนดระยะเวลาที่ปลอดภัยในการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการใช้ครั้งสุดท้าย (pre harvest interval หรือ PHI) สร้างความมั่นใจถึงความปลอดภัยในการบริโภคให้แก่ประชาชน
3. การส่งข้อมูลสารพิษตกค้าง เพื่อเสนอขอกำหนดค่า MRL สำหรับประเทศไทย อาเซียน และ codex

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชปี 2553*. เอกสารวิชาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 303 หน้า

สวนเกษตรผสมผสาน นครปฐม. *โรคเมลาโนส*. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.kasetkawna.com/article/154/โรคเมลาโนส (14 เมษายน 2563).

อรพรรณ วิเศษสังข์. 2554. *คู่มือการเลือกใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed. *FAO Plant Production and Protection Paper 225*. 3rd ed. 286 pages

Tomlin, C. D.S. (Eds.). 2006. *The pesticide manual: A World Compendium*. 14th ed. Hampshire, UK: British Crop Production Council.

Elin M. U., Candice N. M., Michael R. G., William T. F. 2012. Chiral pesticides: identification, description, and environmental implications. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 217, 1-74.

European commission directorate general for health and food safety. (2017) Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. *Sante*, 11813, 1-42.

Min H., Chunhong J., Ercheng Z., Li C., Pingzhong Y. Junjie J., Yongquan Z. 2016. Concentrations and dissipation of difenoconazole and fluxapyroxad residues in apples and soil, determined by ultrahigh-performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental Science and Pollution Research*. 23, 5618–5626

QuEChERS EN 15662. 2008. *Food of Plant Origin-Determination of Pesticide Residue Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method*.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอีมาเมกตินเบนโซเอต (Emamectin benzoate) ในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (ครั้งที่ 1-2)

Residue Trial of Emamectin benzoate in Mandarin to Establish Maximum Residue Limit (MRL) (Trial 1-2)

พชร เมินหา พรนภัส วิชานนะณานนท์ ศิริพันธ์ สมุทรศรี มติมล แสงสว่าง ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ

Pachara Meanha Pornnaphat Wichannananon Siripan Samutsri

Matimon Sangsawang Prachathipat Pongpinyo

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Pesticide residue of emamectin benzoate in mandarin was determined to establish MRL. The study was conducted during October 2020 – December 2020 for 1st and 2nd trials. The trial was located at Si Satchanalai district Sukhothai province for 1st and for 2nd trials. Trial sites must be separated by at least 30 km. The supervised field trial were consisted of 2 plots which were treated plot (emamectin benzoate 1.92% w/v EC, application with recommended rate: 15 g/ 20 L of water, rate of water: 5 L/tree) and control plot (untreated). The formulation was applied with 3 times to treated plots at 5 day intervals. The experiment was assigned for 7 treatments in decline study type (sampling date for residue analysis after the last application at 0, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days). After applied emamectin benzoate mandarin sample were collected and determinate residue of emamectin benzoate in mandarin by QuEChERS method then analyzed with Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) technique. For this study, the limit of quantitation was 0.01 mg/kg. The residue from emamectin benzoate level were raised up at day 0 for all sample and declined down after. The results were not detected at all in control samples. In contrast, the result of the field trial no. 1 was found emamectin benzoate in mandarin at amount 0.04, 0.02, and 0.01 mg/kg at 0, 3 and 5 days after last application, respectively and not found emamectin benzoate in mandarin at 7, 10, 14 and 21 days after last application. The field trial no. 2 was found emamectin benzoate in mandarin at amount 0.04, 0.01 and 0.01 mg/kg at 0, 3 and 5 days after last application, respectively and not found emamectin benzoate in mandarin at 7, 10, 14 and 21 days after last application.

Keywords: emamectin benzoate, mandarin

บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน ทำการทดลองแปลง 2 ครั้ง โดยแปลงที่ 1 และ 2 ทดลองในพื้นที่อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย ช่วงเดือนตุลาคม 2561 ถึง ธันวาคม 2561 โดยมีระยะห่างกัน 30 กิโลเมตร แต่ละแปลงแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงทดลองที่ไม่พ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate เป็นแปลงควบคุม (untreated) และแปลงทดลอง (treated) ที่พ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate 1.92% w/v EC ในอัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น พ่น 3 ครั้ง ทุกๆ 5 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันหลังจากการพ่นครั้งสุดท้าย เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate โดยวิธี QuEChERS ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Liquid hromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) พบว่าการวิเคราะห์ emamectin benzoate ในส้มเขียวหวานมีค่าปริมาณต่ำสุดของวิธีการวิเคราะห์ได้ (Limit Of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากแปลงทดลองจากการใช้สาร emamectin benzoate ในอัตราที่กำหนด พบว่าปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate สูงที่สุด ที่ 0 วัน ในตัวอย่างส้มเขียวหวานหลังจากการพ่นสาร และปริมาณสารพิษตกค้างค่อยลดลงตามระยะ ส่วนแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง emamectin benzoate สำหรับแปลงทดลองที่ 1 พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.04, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1 และ 5 วันหลังการพ่น ตามลำดับ ที่ 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่นตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง แปลงทดลองที่ 2 พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.04, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1 และ 5 วันหลังการพ่น ตามลำดับ ที่ 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่นตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

คำหลัก : อีมาเมกติน เบนโซเอท ส้มเขียวหวาน

คำนำ

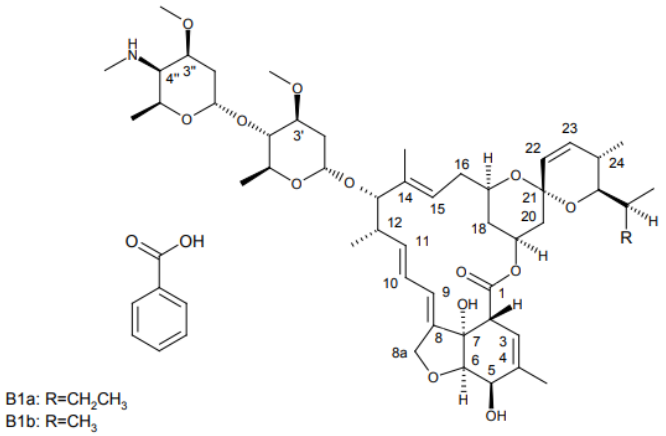
เกษตรกรรมของประเทศไทยปัจจุบันมีการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรหลากหลายชนิดเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากพบปัญหาโรคพืชและศัตรูพืชที่ส่งผลต่อผลผลิต จึงก่อให้เกิดผลกระทบที่ตามมาคือ การตกค้างของสารพิษในผลิตผลทางการเกษตร และส่งผลอันตรายให้กับผู้บริโภคได้ถ้าหากมีปริมาณที่สูงและเกินเกณฑ์มาตรฐานกำหนด อีกทั้งยังส่งผลต่อการส่งออกสินค้าทางการเกษตรไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ เมื่อประเทศผู้นำเข้าซึ่งมีระบบตรวจสอบสารพิษตกค้างที่เข้มงวด หากตรวจพบสารพิษตกค้างในปริมาณที่เกินค่ากำหนดสากล ผลผลิตทางการเกษตรต่างๆ ดังกล่าวจึงถูกปฏิเสธการนำเข้าบ่อยครั้ง ทำให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจของประเทศ

ส้มเขียวหวาน เป็นส้มชนิดหนึ่ง ที่พัฒนาสายพันธุ์มาจากส้มจีน (C. *reticulata*) โดยลักษณะทั่วไปของส้มเขียวหวานมีรูปกลมมน แป้นเล็กน้อย ฐานผลกลมมน ด้านล่างเป็นแอ่งตื้นๆ ผิวผลเรียบ มีเปลือกบาง เนื้อส้มภายในเป็นสีส้มอมทอง ฉ่ำน้ำ กลีบแยกออกจากกันได้โดยง่าย มีรสชาติอร่อยหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย เมื่อแกะออกมาแล้วกลิ่นจะติดจมูก ทำให้เป็นที่นิยมกันเป็นอย่างมาก ทั้งในรูปของผลไม้สดและในรูปของน้ำส้มคั้น ซึ่งนอกจากจะให้คุณค่าทางอาหารสูงแล้ว การบริโภคในลักษณะที่รวมทั้งเส้นใยและกากจะเป็นยาระบายอ่อนๆได้เป็นอย่างดี ส้มเขียวหวานที่ผลิตในแต่ละปีจะใช้บริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออกไปจำหน่ายประเทศเพื่อนบ้าน โดยส้มจัดเป็นพืชสวนที่มีการส่งออกสำหรับประเทศไทยไปยังต่างประเทศ ในการปลูกพบว่าโรคสำคัญที่พบในส้มและพบระบาดในแหล่งปลูกส้มต่างๆ ได้แก่ โรคแคงเกอร์ โรครากเน่าและโคนเน่า โรคใบเปื้อนน้ำหมาก หรือโรคเมลาโนส โรคแผลสะเก็ดหรือโรคสแค็บ โรคผลร่วงหรือโรคขั้วผลเน่า เป็นต้น ส่วนโรคแมลงและไรศัตรูส้มที่สำคัญ ซึ่งทำลายก่อให้เกิดความเสียหายแก่การปลูกส้ม ได้แก่ หนอนชอนใบส้ม หนอนแก้วส้ม เพลี้ยไฟ ไรแดง และไรสนิม หนอนเจาะลำต้น หนอนเจาะดอก หนอนเจาะผล เป็นต้น (มูลนิธิโครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2564)

Emamectin benzoate ใช้ป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ หนอนเจาะลำต้น หนอนเจาะดอก หนอนเจาะผล หนอนเจาะฝัก หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยไฟ การออกฤทธิ์เป็นสารประเภทดูดซึม ออกฤทธิ์แบบกินตาย ถูกตัวตาย และสามารถดูดซึมเข้าไปสู่ใบพืชได้เร็ว ออกฤทธิ์ทันทีหลังจากฉีดพ่นลงบนพืช ทำลายระบบประสาทและการทำงานของกล้ามเนื้อ

ทำให้แมลงหยุดกินทันทีที่สัมผัส จึงถูกนำมาใช้กับการกำจัดแมลงในต้นส้มเขียวหวาน ข้อมูลด้านพิษวิทยาของ emamectin benzoate ที่ละลายใน carboxymethylcellulose มีค่า LD50 คือ 53–237 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัว ในหนู (rat) 2 ตัว มีค่า LD50 สำหรับemamectin benzoate hydrate ที่ละลายในcarboxymethylcellulose คือ 58 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัว ค่า LD50 สำหรับ emamectin hydrochloride ในตัวพาน้ำ คือ 67–88 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัวในหนู (rat) 2 ตัว ค่า LD50 สำหรับการสัมผัส 500–2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัวในหนู (rats) และที่ 4 ชั่วโมงการสูดดมค่า LC50 คือ 0.663 มิลลิกรัมต่อลิตร ในหนูตัวเมีย (female rats) และ 1.049 มิลลิกรัมต่อลิตรในหนูตัวผู้ (male rats) และพบว่ามีการระคายเคืองต่อตาและผิวหนังของกระต่าย (rabbits) และไม่พบว่าแพ้ในการทดสอบในต่อมน้ำเหลืองของหนู (mice)

emamectin benzoate (MK-0244) ชื่อสามัญคือ 4"-deoxy-4"-epi-methylaminoavermectin B1 (MAB1) โดยเป็นสารผสมของ 4"-deoxy-4"-epi-methylamino-avermectin B1a benzoate (MAB1a หรือ emamectin B1a benzoate) และ 4"-deoxy-4"-epi-methylamino-avermectin B1b benzoate (MAB1b หรือ emamectin B1b benzoate) โดย avermectins ใน emamectin benzoate มีสัดส่วนของสาร MAB1a:MAB1b=90:10 (w/w) ซึ่งต่างกันตรงที่หมู่ methylene ที่ C26 alkyl substituent: –CH2CH3 สำหรับMAB1a และ -CH3 สำหรับ MAB1b. (FAO, 2005) ดังภาพที่ 1



R = CH_2CH_3 for emamectin B1a benzoate; R = CH_3 for emamectin B1b benzoate

Metabolites referred to in the appraisal by codes:

ภาพที่ 1 Structure formula of emamectin benzoate.

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน เป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในพืช (MRLs) จากการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้อง และปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex ข้อมูลที่ได้จะนำไปใช้พิจารณากำหนดค่ามาตรฐานอ้างอิงด้านสารพิษตกค้างของประเทศ เพื่อใช้ในการต่อรองและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายสินค้าเกษตรกรระหว่างประเทศสำหรับการส่งออก เพื่อความเป็นธรรมของแต่ละประเทศ โดยที่กรมวิชาการเกษตรได้ทำการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน เพื่อนำไปเสนอพิจารณาค่า Thai-MRL, Asian MRL และ Codex MRL ต่อไป

วิธีดำเนินการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (spray equipment) แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack electrical sprayer, Mitsudaiwa รุ่น MS0735W)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง เช่น เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger) และกระดาษวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ

3. หลอดทดลอง (screw-capped polypropylene centrifuge tubes) ขนาด 50 มิลลิลิตร

4. หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge tubes) ขนาด 15 มิลลิลิตร

5. ขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

6. อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 2-20, 10-100, 20-200, 100-1,000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร

7. เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง

8. เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor)

9. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 50 มิลลิลิตร

10. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder

11. ตัวกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร

12. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Triple Quad Liquid Chromatography Mass Spectrometer (LC-MS/MS) LC รุ่น QSight^{tm} LX50 และ MS/MS รุ่น QSight^{tm} 210 ยี่ห้อ PerkinElmer

สารเคมี

1. สารมาตรฐานของ emamectin benzoate 96.49% จากบริษัทผู้ผลิต Dr. Ehrenstorfer

2. วัตถุอันตรายทางการเกษตรใช้ในแปลงทดลอง คือ emamectin benzoate 1.92% W/V EC ของบริษัท ทีแอนด์เอ็นเคมีเกษตร

3. Acetonitrile (CH_3CN) ชนิด LC-MS grade

4. Formic acid (CH_2O_2) ชนิด analytical grade

5. Anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$) เผาที่ 500 ^{O}C นาน 5 ชั่วโมง

6. Sodium citrate tribasic dyhydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \bullet 2H_2O$) ชนิด analytical grade

7. Disodium hydrogen citrate sesquehydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \bullet 1.5H_2O$) ชนิด analytical grade

8. Sodium chloride (NaCl) ชนิด analytical grade

9. Ammonium formate ชนิด analytical grade

10. PSA ชนิด analytical grade

11. น้ำกลั่น (distilled water)

วิธีการ

ทำการบันทึกข้อมูลการทดลองทั้งหมดในเอกสาร และสามารถย้อนกลับมาตรวจสอบได้

1. **การตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ**

1.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

1) การเตรียมตัวอย่างส้มเขียวหวาน

ตัวอย่างส้มเขียวหวานที่นำมาทดลอง หั่นและบดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว เป็นเนื้อเดียวกันโดย food processer และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20±5ºC เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้างในตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

2) การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

สกัดตัวอย่างส้มเขียวหวานด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) สุ่มชั่งตัวอย่างส้มเขียวหวาน 10 กรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดด้วย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที เติม $MgSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ 1 กรัม และ $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$ 0.5 กรัม แล้วเขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นดูดสารละลาย 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี $MgSO_4$ จำนวน 750 มิลลิกรัม PSA จำนวน 125 มิลลิกรัม และ C18 จำนวน 50 มิลลิกรัม เขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วกรองสารละลายที่ได้จากนั้นกรองตัวอย่างผ่าน PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

3) การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate โดยมีสภาวะของเครื่อง LC-MS/MS ดัง Table. 1 – 3

Table 1. Conditions for Mass Spectrometer during LC-MS/MS Measurement

LC Parameter	Condition
Injection Volume (µL)	5
Column type	Kinetex 2.6 um XB-C18, 100A, 100x2.1 mm
Column Temperature (°C)	40
Mobile phase A (aqueous phase)	0.01% formic acid ใน 5 mM ammonium formate
Mobile phase B (organic phase)	Acetonitrile
Mobile phase flow (mL/min)	0.3
Total run time (min)	12.0
3Q Source Parameter	**Value (+)**
Drying Gas (°C)	120
HSID Temperature (°C)	200
Nebulizer gas1	350
ElectroSpray V1Pos	5000
Source 1 Temperature (°C)	340

Table 2. MS/MS: Multi Reaction Monitorting (MRM)

Compound	m/z quant	Precursor Ion	Product Ion	Dwell time	EV (V)	CCL2 (V)	CC (V)
emamectin benzoate-B1a	1008.24	886.5	302.2	200	25	-126	-43
			270.0	200	25	-126	-43
			158.0	200	25	-126	-43

Table 3. Mobile phase

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0.0	80	20
8.0	10	90
10.0	80	20
12.0	80	20

4) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

โดยใช้วิธี matrix match standard ของวัตถุมีพิษ emamectin benzoate ด้วย matrix blank ที่ 7 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.006, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน emamectin benzoate (แกน x) กับ peak area (แกน y) ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995 และคำนวณหาปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate จากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ด้วยการนำพื้นที่ใต้ peak ของสารที่ตรวจวิเคราะห์ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟ

1.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

ตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน ด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS การพิสูจน์ความแม่น (accuracy) ด้วยการเติมสารมาตรฐาน (fortified standard) ลงในตัวอย่างส้มเขียวหวาน ให้มีความเข้มข้นในตัวอย่าง 0.01, 0.10 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการหาร้อยละที่ได้กลับคืนมา (%recovery) พิสูจน์ความเที่ยง (precision) โดยการประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และหาค่าต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

1.3 ทดสอบความคงตัว (storage stability)

ทดสอบความคงตัวของ emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน โดยการ fortified ของ emamectin benzoate ลงในตัวอย่างส้มเขียวหวาน ที่ระดับ 10 เท่าของระดับ LOQ (FAO, 2016) หลังจาก fortified ของ emamectin benzoate ลงในตัวอย่างส้มเขียวหวาน และเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานข้างต้นในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บถึงระยะเวลาที่ศึกษาคือ 0, 30, 60 และ 120 วัน นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกันกับตัวอย่างจากแปลงทดลอง เพื่อตรวจสอบความคงตัวของสาร ซึ่งระยะเวลาการทดสอบความคงตัวของ emamectin benzoate ลงในตัวอย่างส้มเขียวหวาน ต้องครอบคลุมระยะเวลาตั้งแต่เก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลองจนถึงวันที่วิเคราะห์สารพิษตกค้าง

2. การทำแปลงทดลอง

2.1 การสำรวจแปลงปลูกและวางแผนการทดลอง

การสำรวจและเลือกแปลงส้มเขียวหวานของเกษตรเพื่อทำการทดลอง แต่ละแปลงทดลองต้องห่างกันอย่างน้อย 30 กิโลเมตร หรือแตกต่างฤดูกัน เพื่อวางแผนการทดลอง การปฏิบัติงาน และกำหนดระยะเวลาพ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate ซึ่งเลือกแปลงทดลองที่มีการปลูกตามหลักการเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agriculture Practice; GAP) โดยแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 ทดลอง ช่วงเดือนตุลาคม 2563 ถึง เดือนมกราคม 2564

วางแผนการทดลอง แบบ Supervised Trial ตาม Codex Guidelines มี 2 การทดลองย่อย (experiments)

การทดลองย่อยที่ 1 แปลง Control ไม่พ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate สำหรับใช้เป็นแปลงเปรียบเทียบกับแปลงที่พ่นวัตถุมีพิษ

การทดลองย่อยที่ 2 แปลง treated ที่พ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate 1.92% W/V EC ใช้อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราตามคำแนะนำ 5 ลิตรต่อต้น (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) พ่น emamectin benzoate ห่างกันเป็นเวลา 5 วัน จำนวน 3 ครั้งติดกัน โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ (replicate)

แต่ละการทดลอง มี 7 กรรมวิธี (treatment) คือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตส้มเขียวหวานไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างภายหลังการพ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate ครั้งสุดท้ายและสุ่มเก็บตัวอย่าง

2.2 การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง และการเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง

ปฏิบัติในแปลงทดลองส้มเขียวหวาน ดำเนินการปฏิบัติงานในแปลงทดลองตามระบบ GLP (Good Laboratory Practice) ดังนี้ บันทึกสภาพพื้นที่ ความลาดเอียง ลักษณะของแปลง วิธีการเพาะปลูก ระยะปลูก รูปแบบการให้น้ำ การให้ปุ๋ย ทิศทางลม การใช้ปัจจัยการผลิตในพื้นที่

การ calibrate เครื่องพ่น เพื่อให้การพ่นสารมีความแม่นยำและสม่ำเสมอ จะทำการตรวจสอบหัวฉีด (nozzles) ดูการกระจายละอองของสาร และวัดอัตราการไหลของเครื่องพ่นที่จะใช้งาน (discharge calibration) ซึ่ง calibrate เครื่องพ่น ทำโดยการพ่นน้ำเป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย และนำมาคำนวณเวลามาตรฐานที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยว (target time) สำหรับแปลงทดลองต่างๆ ที่มีขนาดพื้นที่แตกต่างกัน จะได้ target time ที่แตกต่างกัน และกำหนดรูปแบบและจำนวนเที่ยวเดิน (pass) ของการเดินพ่นในพื้นที่แปลงทดลอง ซึ่งเดินสไลด์จากซ้ายไปขวามือของผู้พ่น โดยนำ target time ที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยวเดินมาทำการทดลองเดิน เดินสะพายเครื่องพ่น และเดินสะพายเครื่องพ่นพร้อมพ่น ที่มี Metronome ช่วยควบคุมจังหวะการเดิน เพื่อให้การพ่นมีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง ทำการทดลองเดินซ้ำอย่างละ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย ก่อนการปฏิบัติงานพ่นในพื้นที่แปลงทดลองจริงในการทำ calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตราย และปรับการเดินของผู้พ่นนั้น แต่ละครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ของ target time จากการทำการทดลองติดต่อกัน 3 ครั้ง จึงจะอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

การพ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate ผู้พ่นสารและผู้จับเวลา ต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันให้ถูกต้อง และพ่นสารตาม target time ที่ได้ข้างต้น เมื่อพ่นสารในแต่ละเที่ยวเดินเสร็จ ผู้จดบันทึกต้องลงบันทึกเวลาที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยว ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ ±5 เปอร์เซ็นต์ของ target time พร้อมทั้งบันทึกทิศทางการเดิน หลังจากนั้นต้องคำนวณเปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุมีพิษ emamectin benzoate ที่พ่นลงในพื้นที่แปลงทดลอง เพื่อหาประสิทธิภาพในการพ่นวัตถุมีพิษในแปลงทดลอง (Actual application rate) ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ -5 เปอร์เซ็นต์ ถึง +10 เปอร์เซ็นต์ จึงจะยอมรับ

การสุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานตามระยะเวลาต่างๆ ที่ 0 (หลังพ่น 2 ชั่วโมง) 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย วันที่สุ่มเก็บตัวอย่างแต่ละแปลงดัง Table 4. โดยการสุ่มให้ทั่วทุกต้น ยกเว้นหัวท้ายของแปลงทดลอง โดยแปลง control และ treated สุ่มเก็บตัวอย่างให้ได้อย่างน้อย 2 กิโลกรัม แปลงละ 2 ซ้ำ ของทุกช่วงระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง และใส่ถุงพลาสติกที่มีป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง ปิดถุงให้สนิทบรรจุลงในกล่องที่บรรจุน้ำแข็ง ภายในกล่องมีเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (data logger) และนำตัวอย่างส้มเขียวหวานมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate

Table 4. Residue sample collection.

ระยะเวลาหลังการฉีดพ่น ครั้งสุดท้าย	Trial No. 1 อ. ศรีสัชนาลัย จ.สุโขทัย	Trial No. 1 อ. ศรีสัชนาลัย จ.สุโขทัย
0 วัน (2 ชั่วโมงหลังการพ่น)	6 พฤศจิกายน 2563	6 พฤศจิกายน 2563
3 วัน	7 พฤศจิกายน 2563	7 พฤศจิกายน 2563
5 วัน	9 พฤศจิกายน 2563	9 พฤศจิกายน 2563
7 วัน	11 พฤศจิกายน 2563	11 พฤศจิกายน 2563
10 วัน	14 พฤศจิกายน 2563	14 พฤศจิกายน 2563
14 วัน	18 พฤศจิกายน 2563	18 พฤศจิกายน 2563
21 วัน	25 พฤศจิกายน 2563	25 พฤศจิกายน 2563

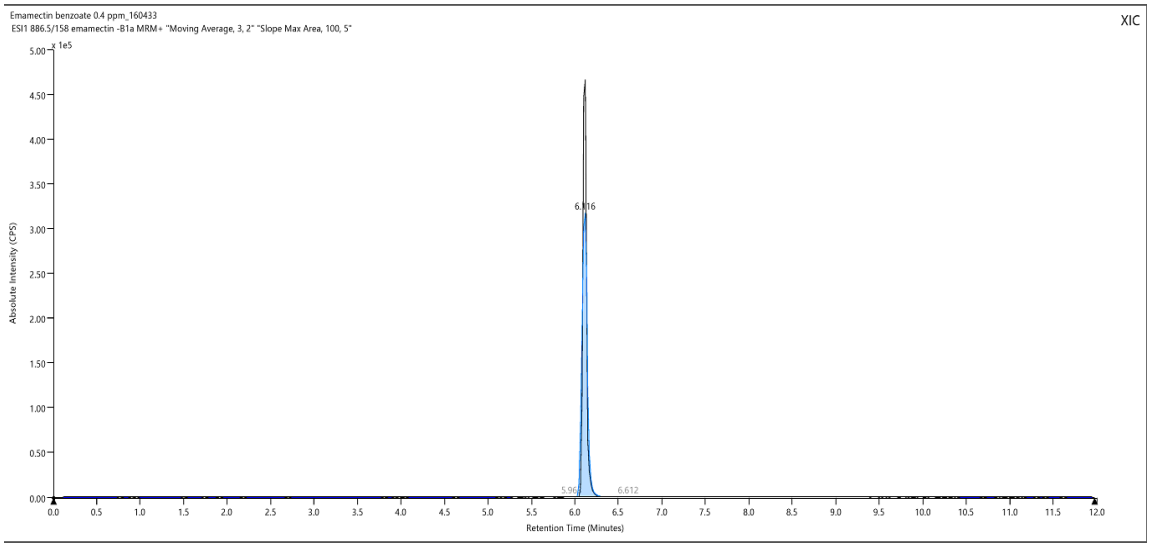
ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2563 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร
แปลงทดลองครั้งที่ 1 ที่ หมู่ 6 ต. แม่สิน อ. ศรีสัชนาลัย จ.สุโขทัย
แปลงทดลองครั้งที่ 2 ที่ หมู่ 21 ต. แม่สิน อ. ศรีสัชนาลัย จ.สุโขทัย

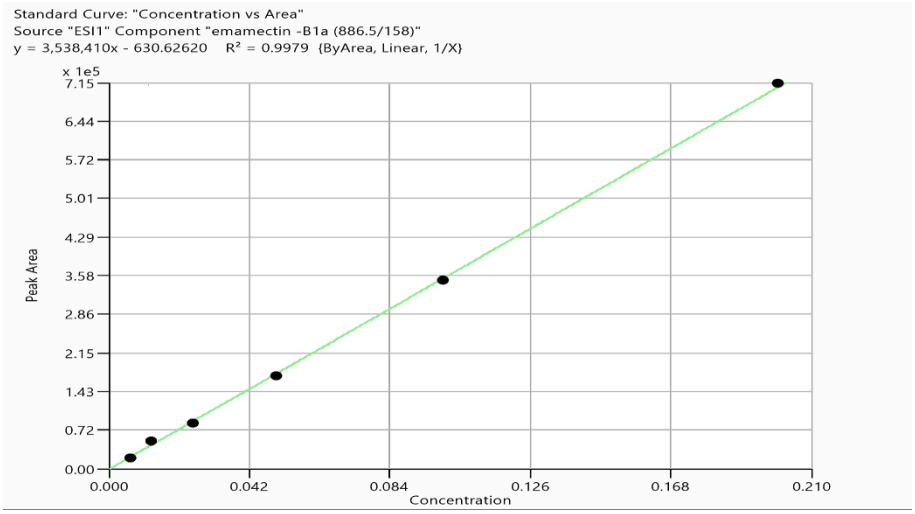
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ตรวจวิเคราะห์สารมาตรฐาน emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน ใช้วิธี matrix match standard โดยเตรียมสารสารมาตรฐาน ในสารละลายตัวอย่างส้มเขียวหวาน ที่สกัด โดยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ลักษณะพีคของแต่ละสารที่ระดับความเข้มข้น 0.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสัญญาณของสารจะออกมาในนาทีที่ 6.11 แสดงในภาพที่ 2 ฉีดสารละลายมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน emamectin benzoate (แกน x) กับ peak area (แกน y) ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995 (r^2=0.9979) โดยลักษณะ calibration curve ภาพที่ 3



ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของ emamectin benzoate ระดับความเข้มข้น 0.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3 calibration curve ของ emamectin benzoate ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.00625 ถึง 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

2.1 Accuracy

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์พบว่าร้อยละที่ได้กลับคืนมา ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 80-116 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่ 70-120 การหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ได้จากการทำซ้ำ พบว่าอยู่ในช่วง 5.55-14.11 โดยมีเกณฑ์การยอมรับที่ ≤20 เปอร์เซ็นต์ (SANCO, 2013)

2.2 Limit of Quantitation, LOQ

กำหนดให้ LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่ง ร้อยละการกลับคืน (%) จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เท่ากับ 94 และ %RSD เท่ากับ 14.11 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับดังแสดงใน Table 5. ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

Table 5. Result of recovery on method validation for emamectin benzoate.

Fortification level (mg/kg)	Recovery (%)	Average of recovery (%)	%RSD
0.01	110, 110, 110, 80, 90, 95, 82, 80, 102 and 80	94	14.11
0.10	113, 114, 112, 116, 100, and 98	109	7.13
1.00	116, 113, 117, 104, 103 and 106	110	5.55

2.3 การทดสอบความคงตัว (storage stability)

ผลการทดสอบความคงตัวของ emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน โดยการ fortified สารมาตรฐานของ emamectin benzoate ลงในส้มเขียวหวาน ที่ระดับ 10 เท่าของระดับ LOQ คือที่ 0.10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การพบสารพิษตกค้างคงอยู่ (Average uncorrected residues remained) ตลอดระยะเวลา 60 วัน อยู่ในช่วง 85-116 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่ามากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ นั่นคือสารพิษตกค้างในตัวอย่างสลายตัวไปไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ ของความเข้มข้นที่ศึกษา และอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (FAO, 2016) แสดงถึงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างส้มเขียวหวานนาน 60 วัน ก่อนวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ยังมีความคงสภาพของสารซึ่งเป็นส่วนสนับสนุนผลของการทดลองที่มีความน่าเชื่อถือ ดัง Table 6.

Table 6. Result of Storage stability of emamectin benzoate in mandarin

Fortification level (mg/kg)	Storage interval (Day)	Procedural Recovery (%)	Residues in stored fortified samples (mg/kg)		Average uncorrected residues remained (%)
0.10	0	116, 116	0.116	0.116	116
	30	89, 89	0.089	0.089	89
	60	89, 85	0.089	0.085	87
	120	86, 83	0.086	0.083	85

3. การทำแปลงทดลอง

3.1 ประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษในแปลงทดลอง (Actual application rate)

การศึกษาประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate ในแปลงทดลอง 2 สถานที่ (แปลงทดลอง) แต่ละแปลงทดลองประกอบด้วย 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงที่ไม่พ่นสารใช้เป็นแปลง control และแปลง treated ที่พ่นวัตถุมีพิษในอัตราคำแนะนำ emamectin benzoate 1.92% W/V EC ใช้อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราตามคำแนะนำ 5 ลิตรต่อต้น คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ทำการพ่นสาร 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน แล้วคำนวณหาประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate ลงในแปลงทดลองแต่ละครั้ง พบว่าจากการทดลองประสิทธิภาพของการพ่นที่ได้อยู่ในช่วง 99.8-100.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในช่วงการยอมรับได้ที่ 95-110 เปอร์เซ็นต์ (FAO, 1999) ดัง Table 7.

Table 7. Actual application rate of emamectin benzoate in mandarin trials.

Trial No.	Location	No. of application	Actual application rate (%)
1	อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย	1	100.0
		2	100.6
		3	100.6
2	อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย	1	99.8
		2	100.4
		3	100.4

3.2 ปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน

จากแปลงทดลองที่พ่น emamectin benzoate 1.92% W/V EC ใช้อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราตามคำแนะนำ 5 ลิตรต่อต้น เก็บส้มเขียวหวานที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่น ผลการทดลองมีดัง Table 8.

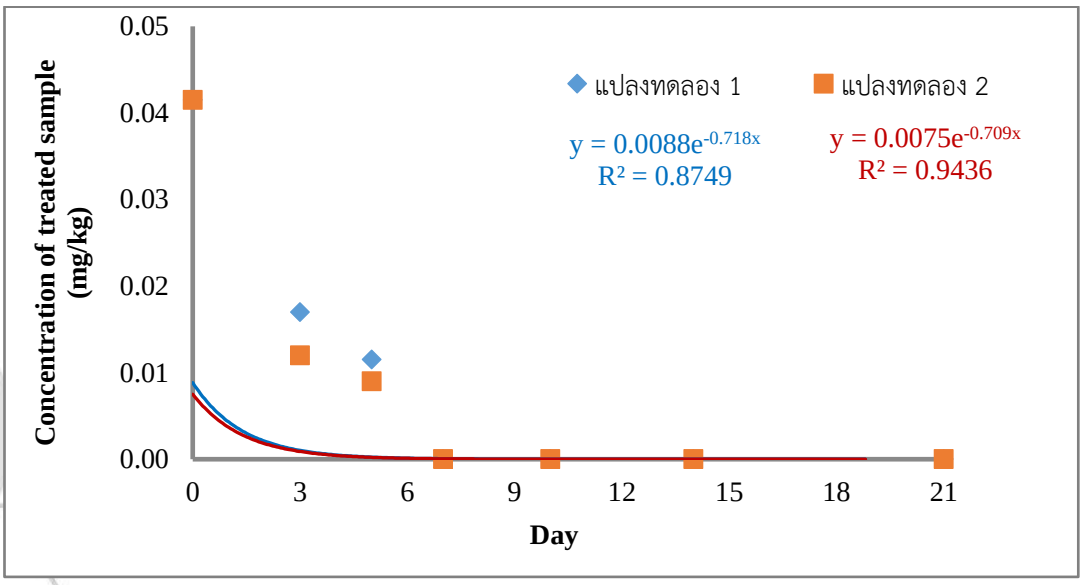
แปลงทดลองที่ 1 ที่ อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่น emamectin benzoate 1.92% W/V EC ตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ยจากตัวอย่างที่เก็บจากแปลงทดลอง 2 ซ้ำต่อวัน 0.04, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 3 และ 5 วันหลังการพ่นตามลำดับ สำหรับที่ 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่นตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

แปลงทดลองที่ 2 ที่ อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่น emamectin benzoate 1.92% W/V EC ตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ยจากตัวอย่างที่เก็บจากแปลงทดลอง 2 ซ้ำต่อวัน 0.04, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 3 และ 5 วันหลังการพ่นตามลำดับ สำหรับที่ 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่น ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

Table 8. The amount of emamectin benzoate in mandarin from the trial No. 1 and 2.

Day	Concentration (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	
	Trial No. 1	Trial No. 2
0	0.04	0.04
3	0.02	0.01
5	0.01	0.01
7	<0.01	<0.01
10	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01
21	<0.01	<0.01

หมายเหตุ: แปลงควบคุม ของทั้งห้าแปลงทดลองไม่พบสารพิษตกค้าง emamectin benzoate
LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



ภาพที่ 4 กราฟแสดงการสลายตัวของปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่างๆ ในแปลงทดลองที่ 1 และ 2

ภาพที่ 4 แสดงผลการทดลองหาปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน ทั้ง 2 แปลงทดลองหลังการพ่นระยะวันแรกที่เก็บเกี่ยวมีค่าที่สูงกว่าวันอื่นๆ และมีการลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 5 หลังการพ่น ซึ่งพิจารณาปริมาณสารพิษตกค้างที่พบในส้มเขียวหวาน เมื่อนำปริมาณสารพิษตกค้างไป plot กราฟกับ

ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตส้มเขียวหวาน จะได้สมการความสัมพันธ์การลดลงของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน กับระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่น และสำหรับที่ 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่นตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ทั้งนี้ในตัวอย่างแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของทั้งสองแปลงทดลอง

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ของวิธีวิเคราะห์ emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน โดย QuEChERS ด้วย LC-MS/MS มี accuracy เฉลี่ยอยู่ในช่วง 80-117 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับ precision ประเมินจากค่า %RSD พบว่าอยู่ในช่วง 5.55-14.11 และมีค่า LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

การทดสอบความคงตัว (storage stability) ของ emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน สารพิษตกค้างในตัวอย่างสลายตัวไปไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม ดังนั้นสามารถเก็บส้มเขียวหวานมีสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ไว้ได้นาน 60 ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส โดยสารพิษตกค้างไม่สลายตัว

ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่น emamectin benzoate 1.92% W/V EC ตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ยที่ 0 วันมากที่สุด และลดน้อยลงตามระยะเวลา ดังนั้นค่า Pre Harvest Interval, PHI ที่แนะนำคือ 2 วัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างสามารถนำวิธีวิเคราะห์ที่ได้นี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน

ข้อมูลการศึกษาการสลายตัวของวัตถุอันตราย emamectin benzoate ในส้มเขียวหวาน เสนอผลการศึกษาต่อสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ซึ่งได้เสนอกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของประเทศไทย

ผลที่ได้จากกการทดลองสามารถนำไปตรวจสอบกับค่า Pre Harvest Interval, PHI ที่บริษัทผลิตแนะนำไว้บนฉลากของบรรจุภัณฑ์ว่าถูกต้องหรือไม่ ซึ่งข้อมูลจากการศึกษานี้บริษัทผู้ผลิตสามารถนำไปพิจารณาแก้ไขคำแนะนำบนฉลากข้างบรรจุภัณฑ์ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. ***คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช.*** กรุงเทพ: สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช กรมวิชาการเกษตร.

มูลนิธิโครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. “โรคและแมลงสัตรูสำหรับส้ม.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.saranukromthai.or.th/sub/book/book.php?book=26&chap=7&page=t26-7-infodetail08.html (13 พฤษภาคม 2564)

FAO. 1999. Guidelines on Producing Pesticide Residues Data from Supervised Trials Part 3 Supervised Residue Trials in Crops and Plant Products. FAO, Rome.

FAO. 2005. “EMAMECTIN BENZOATE (247).” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report11/Emamectin.pdf. (13 พฤษภาคม 2564)

FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residue data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. FAO, Rome.

QuEChERS EN 15662. 2008. Food of Plant Origin-Determination of Pesticide Residue Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method.

SANCO. 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Union, Health and Consumer Protection Directorate General.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของสไปโรมีซิเฟน (spiromesifen) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Residue Trials of Spiromesifen in Chili to Establish Maximum Residue Limit (MRL)

สุพัตรี หนูสังข์ จินตนา ภู่มงกุฎชัย ศศิณิฎา คงแช่มดี บุญทวีศักดิ์ บุญทวี ประพันธ์ เคนท้าว

Supattri Noosang Jintana Poomongkutchai

Sasinida khongchamdee Boonthaweesak Boonthawee Praphan Kenthao

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on residue trials of spiromesifen in chili to establish maximum residue limit. The three field trials were consisted of the control plot (spiromesifen was not applied on control) and the treated plot which spiromesifen 24% W/V SC were applied with recommendation dosage at 30 mL/20 L of water. Spiromesifen were sprayed on chili for 2 times every 5 days. After the last application, chili sample were collected at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days and all samples were analyzed by using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) technique. The results showed that the residues were not detect in all control samples. In contrast, the residues from treated plots were found at amount of 0.02-0.74, 0.02-0.60 and 0.06-1.45 milligrams per kilogram for trial 1, 2 and 3 respectively. The results of three experiments corresponded to each other which when the harvesting period pesticide residues are reduced is longer. The residue of spiromesifen is lower than Codex MRL at day 5 after the last application. The Codex MRL of spiromesifen in peppers are 0.5 milligrams per kilogram.

Keywords: Maximum Residue Limit (MRL), Spiromesifen, Chili

บทคัดย่อ

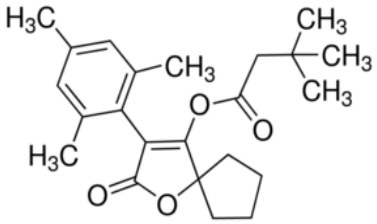
ศึกษาการสลายตัวของสารตกค้างสไปโรมีซิเฟนในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทำการทดลองในแปลงพริกทั้งหมด 3 แปลงทดลอง แต่ละแปลงแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงควบคุม (แปลงที่ไม่พ่นสไปโรมีซิเฟน) และแปลงที่มีการพ่นสารสไปโรมีซิเฟน 24% W/V SC ตามอัตราแนะนำในพริก คือ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยพ่นสไปโรมีซิเฟน รวม 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างพริกไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารตกค้างสไปโรมีซิเฟน ที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย โดยวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) ผลการศึกษา พบว่า ตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างจากแปลงควบคุม สำหรับแปลงทดลองที่มีการพ่นสารสไปโรมีซิเฟน พบสารตกค้างเฉลี่ย 0.02-0.74 0.02-0.60 และ 0.06-1.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับแปลงที่ 1 แปลงที่ 2 และแปลงที่ 3 ตามลำดับ โดยผลการทดลองทั้ง 3 แปลงสอดคล้องกัน คือ เมื่อทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยวนานขึ้นสารตกค้างสไปโรมีซิเฟนจะลดลง และสารตกค้างสไปโรมีซิเฟน ที่ 5 วัน มีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตร (MRL) ของ Codex ที่กำหนดไว้ใน peppers คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำหลัก: ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) สไปโรมีซิเฟน พริก

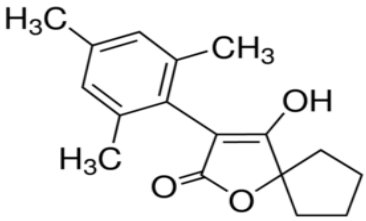
คำนำ

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด หรือปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limit; MRL) หมายถึง ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในสินค้าเกษตร (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) เป็นค่ามาตรฐานเพื่อใช้บอกถึงปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ยอมให้มีได้ และใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิต การค้า และใช้ในการควบคุมตรวจสอบสินค้าเกษตรที่ผลิต นำเข้า และส่งออก ค่า MRL นี้ จะถูกกำหนดขึ้นโดยหน่วยงานของแต่ละประเทศ ข้อมูลการสลายตัวของสารพิษตกค้าง เป็นข้อมูลสำคัญ ที่นำไปใช้ในการกำหนดค่า MRL สำหรับสารเคมีหรือวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ผ่านการขึ้นทะเบียนและมีการกำหนดแล้วว่าสามารถใช้กับพืชใดได้บ้างนั้น ต้องมีการจัดทำข้อมูลการสลายตัว จากการทดลองหาการตกค้างของสารในพืชแต่ละชนิด โดยเฉพาะในพืชเศรษฐกิจที่มีปริมาณการบริโภคและปริมาณการส่งออกสูง พริกเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย ทั้งพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า พริกจินดา พริกกะเหรี่ยง หรือพริกพันธุ์อื่น ๆ ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในรูป ผลสด พริกแห้ง รวมถึงผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เป็นพืชที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ทั้งอาหารและยารักษาโรค นิยมนำมาบริโภคทั้งภายในประเทศและเป็นพืชส่งออกที่สำคัญ ที่สามารถสร้างรายได้ให้กับประเทศไทยปีละหลายล้านบาท ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น และเยอรมณี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562)

สไปโรมีซิเฟน (spiromesifen) เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช จัดในกลุ่มสารออกฤทธิ์กับขบวนการเมตาโบลิซึม ในการสังเคราะห์ไขมัน (lipid synthesis) และการยับยั้งการเจริญเติบโต (growth regulation) จุดทำลายแมลงคือการยับยั้งขบวนการทางชีวเคมีในการสังเคราะห์ เป็นสารที่มีการขึ้นทะเบียนแล้วในประเทศไทย มีชื่อทางการค้าคือ โอเบรอน 240 SC ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด สำหรับสารอนุพันธ์ของ spiromesifen ได้แก่ spiromesifen-enol (M01), 4-hydroxymethylspiromesifen-enol (M02), จากการกำหนดชนิดสารพิษตกค้างที่ให้ตรวจ (definition of residues) เพื่อกำหนดค่า MRL ของ spiromesifen นั้น Codex กำหนดให้ใช้ผลรวมของ spiromesifen และสารอนุพันธ์ คือ spiromesifen-enol (คำนวณในรูปของ spiromesifen) (Codex, 2019) ดังนั้น เพื่อศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง spiromesifen ในพริก และนำไปกำหนดค่า MRL การทดลองนี้จึงได้ทำการตรวจวิเคราะห์สารตกค้าง ได้แก่ spiromesifen และ spiromesifen-enol ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างของสาร แสดงดังภาพที่ 1



spiromesifen



spiromesifen-enol

ภาพที่ 1. โครงสร้างทางเคมีของ spiromesifen และสารอนุพันธ์

โดยวางแผนการทำแปลงทดลองแบบ supervised residue trials ตามหลักเกณฑ์หรือตามมาตรฐานของ Codex (FAO, 2016) และเก็บตัวอย่างพริกที่ได้จากแปลงทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง และจัดส่งข้อมูลการสลายตัวทั้งหมดให้ทาง มกอช. เพื่อเสนอคณะกรรมการพิจารณากำหนดค่า Thai MRL และเสนอต่อคณะกรรมการ Codex เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณากำหนดค่า Codex MRLs ต่อไป ส่งผลให้ประเทศไทยมีเกณฑ์การค้าของประเทศ ช่วยเพิ่มผลผลิตของไทยให้มีมาตรฐานความปลอดภัยเป็นไปตามมาตรฐานสากลและมาตรฐานของประเทศผู้นำเข้า ทำให้ต่างประเทศมีความต้องการสินค้าเกษตรของไทยมากขึ้นลดการกีดกันทางการค้าและเพิ่มมูลค่าในการส่งออกสินค้าพริกไปยังประเทศต่าง ๆ มากยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 ml ขวดบรรจุสาร (vial) ขนาด 1.5 และ 15 ml กระบอกตวง (cylinder) บีกเกอร์ (beaker) ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) และตัวกรองชนิด PTFE (PTFE syring filter) ขนาด 0.2 µm

2. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่ง 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ เครื่องปั่นตัวอย่าง (food processer) ไมโครปิเปต (micro pipette) ขนาด 100-5,000 µl เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

3. เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (Motorized Knapsack sprayer) ขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร

4. อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ นาฬิกาจับเวลา เครื่องบันทึกอุณหภูมิ เครื่องวัดความเร็วลม ชุดป้องกันสารพิษ

5. เครื่องตรวจวิเคราะห์วัตถุมีพิษ Liquid Chromatograph Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) และคอลัมน์ Synergi fusion-RP 100A ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0 mm ความยาว 100 mm

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน spiromesifen และ spiromesifen-enol (M01) ซึ่งมีความบริสุทธิ์ 99.5% และ 99.8% ตามลำดับ

2. ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษ spiromesifen 24% W/V SC (ชื่อทางการค้า โอเบรอน)

3. สารเคมี ได้แก่ hexane (PR grade), acetonitrile (HPLC grade), formic acid (PR grade), ammonium formate (PR grade), water (HPLC grade), sodium chloride (NaCl), magnesium sulphase ($MgSO_4$), trisodiumcitrate di-hydrate (Na_3citrate 2.H_2O), disodium hydrogencitrate (Na_2Hcitrate 1.5.H_2O), primary secondary amine (PSA), graphitized carbon black (GCB)

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน และการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ในการตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ สารอนุพันธ์ (spiromesifen-enol)

เป็นการนำสารมาตรฐาน primary มาละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ และนำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1.1 การเตรียม stock standard solution โดยชั่งสารมาตรฐาน spiromesifen และ spiromesifen-enol ให้ได้น้ำหนักประมาณ 10 mg ใน volumetric flask ขนาด 10 mL และนำค่า % purity มาคำนวณกลับเป็นน้ำหนักสารที่แท้จริง ให้มีความเข้มข้นของสารมาตรฐานประมาณ 1,000 µg/mL โดยใช้ acetonitrile (HPLC grade) เป็นตัวทำละลาย ในการเตรียม stock solution ของสารละลายมาตรฐานสามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (µg/mL)} = \frac{\text{น้ำหนักที่ชั่ง (mg)} \times \text{ความบริสุทธิ์ของสาร (\%)} \times 10^3}{\text{ปริมาตรที่เตรียม (mL)} \times 100}$$

1.2 การเตรียม intermediate standard solution เจือจางสารละลายจาก stock standard solution ในตัวทำละลายที่เหมาะสม ให้มีความเข้มข้น 100 µg/ml และ 10 µg/ml ใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดยที่ N_1 = ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (µg/mL)
N_2 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม (µg/mL)
V_1 = ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องดูดมา (mL)
V_2 = ปริมาตรของสารที่ต้องการเตรียม (mL)

1.3 การเตรียม working standard solution ที่ความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ0.50 µg/ml ในตัวทำละลาย matrix ของพริก โดยใช้สูตรการคำนวณเช่นเดียวกับข้อ 1.2

1.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งเป็นเทคนิคที่ให้ความไวในการวิเคราะห์สูง (high sensitivity) และให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ ทำได้โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม spiromesifen ให้มีความเข้มข้น 0.10 µg/ml และนำไปตรวจวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค LC-MSMS โดยมีสภาวะของเครื่อง ดังนี้

การเตรียมสภาวะเครื่อง LC_สำหรับตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol

Column	:	Synergi Fusion-RP 100A, 100 mm × 2.0 mm
Column Temperature	:	25 °C
Flow rate	:	0.4 mL/min
Injection Volume	:	5 µL
Mobile phase	:	5 mM ammonium formate in H_2O (A) and ACN (B)

อัตราส่วนการชะสารออกจากคอลัมน์แบบ Gradient

เวลา (นาที)	อัตราไหล	สารละลาย A (%)	สารละลาย B(%)
0.0	0.4	80	20
5.0	0.4	20	80
8.0	0.4	20	80
10.0	0.4	80	20

สภาวะเครื่อง Triple Quadrupole Mass Spectrometer ดังนี้

Ion mode : Positive ESI
Nebulizer : 45 psi
Drying gas flow : 11 L/min
Capillary : 4000V
Drying gas temp : 350 $^{\circ}$ C

Parameter ต่างๆ ของ mass spectrometer ที่เหมาะสม

Compound	Precursor	Product ion	Dwell time	Fragmentor	Collission
spiromesifen	371	273	50	102	4
	273	255	50	140	10
	273	187	50	140	15
spiromesifen-enol	273	255	50	140	10
	273	187	50	140	15

2. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารตกค้าง spiromesifen และ spiromesifen-enol ในพริก

การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol ในพริก สามารถพิสูจน์ความแม่น (accuracy) ประเมินค่าจาก %recovery โดยการเติมสารมาตรฐาน spiromesifen และ spiromesifen-enol ลงในตัวอย่างพริก ให้มีความเข้มข้น ในตัวอย่าง เท่ากับ 0.01 0.10 และ 0.50 mg/kg ทำการทดลองความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ โดยผลของ %recovery ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 70-120% และพิสูจน์ความเที่ยง (precision) ประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ ≤20% (SANTE, 2017) พร้อมทั้งศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) โดย LOD เท่ากับ 3×SD และศึกษาขีดจำกัดการการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) โดย LOQ เท่ากับ 10×SD (Eurachem, 2014)

3. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง spiromesifen ในพริก

3.1 การทำแปลงทดลองพริก

3.1.1 ทำการสำรวจและเลือกพื้นที่แปลงทดลองพริก จำนวน 3 แปลง แต่ละแปลงห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร โดยทำการทดลองในพื้นที่ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดนครปฐม

3.1.2 แต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงควบคุม (untreated) เป็นแปลงที่ไม่ได้พ่น spiromesifen และแปลงที่พ่น spiromesifen 24% W/V SC (treated) ในอัตราแนะนำ คือ 30 ml ต่อน้ำ 20 l อัตราการใช้น้ำ 80 l/rai (กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2563)

3.1.3 ทำการ calibrate เครื่องพ่นก่อนการพ่น spiromesifen เพื่อหาอัตราการไหลของเครื่อง (flow rate) คำนวณหาปริมาณน้ำ ปริมาณ spiromesifen ที่ใช้พ่น คำนวณเวลาที่ใช้ในการพ่น (target time) และปรับเวลาการเดินของผู้พ่น เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง

3.1.4 การพ่นวัตถุอันตราย spiromesifen ในแต่ละแปลงทดลอง (treated) โดยพ่น 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน ช่วงเวลาทำการทดลอง ดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 พ่นวันที่ 27 กุมภาพันธ์ และ 3 มีนาคม 2563
แปลงทดลองที่ 2 พ่นวันที่ 14 และ 19 กุมภาพันธ์ 2564
แปลงทดลองที่ 3 พ่นวันที่ 25 และ 30 เมษายน 2564

3.1.5 สุ่มเก็บตัวอย่างพริกจากแปลงควบคุม และแปลงทดลอง ตามมาตรฐานการทำแปลงแบบ supervised residue trials ให้ได้น้ำหนักอย่างน้อย 2 กิโลกรัม โดยสุ่มแปลงละ 2 ซ้ำ ที่ระยะเวลา 0 (หลังพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย นำตัวอย่างพริกแพ็คใส่ถุงพร้อมเขียนป้ายเก็บถุงตัวอย่างในกล่องโฟมที่มีการบรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพตัวอย่างตลอดการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์ โดยมีช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่าง ดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 วันที่ 3 4 6 8 10 13 17 และ 24 มีนาคม 2563
แปลงทดลองที่ 2 วันที่ 19 20 22 24 26 กุมภาพันธ์ และ วันที่ 1 5 12 มีนาคม 2564
แปลงทดลองที่ 3 วันที่ 30 มีนาคม และ 3 5 7 10 14 21 พฤษภาคม 2564

3.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างในตัวอย่างจากแปลงทดลอง

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างพริก โดยเด็ดขั้วพริกออก และนำไปปั่นกับไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง เก็บตัวอย่างที่ปั่นเสร็จไว้ที่อุณหภูมิ -20±5 °C

3.2.2 วิเคราะห์ตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่างพริก ตัวอย่างละ 10±0.1 กรัม ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร ก่อนนำไปสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์

3.2.3 วิธีการสกัดตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์สารตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์ ในพริก สกัดตัวอย่างตามวิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) โดยเติมตัวทำละลาย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ 1 นาที เติมสารสกัด $MgSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม Na_2Hcitrate 1.5.H_2O 0.5 กรัม และ Na_3citrate 2.H_2O 1.0 กรัม เขย่าด้วยมือ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มีสารผสมของ PSA 125 มิลลิกรัม $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม เขย่าด้วยมือ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

ระยะเวลา

เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

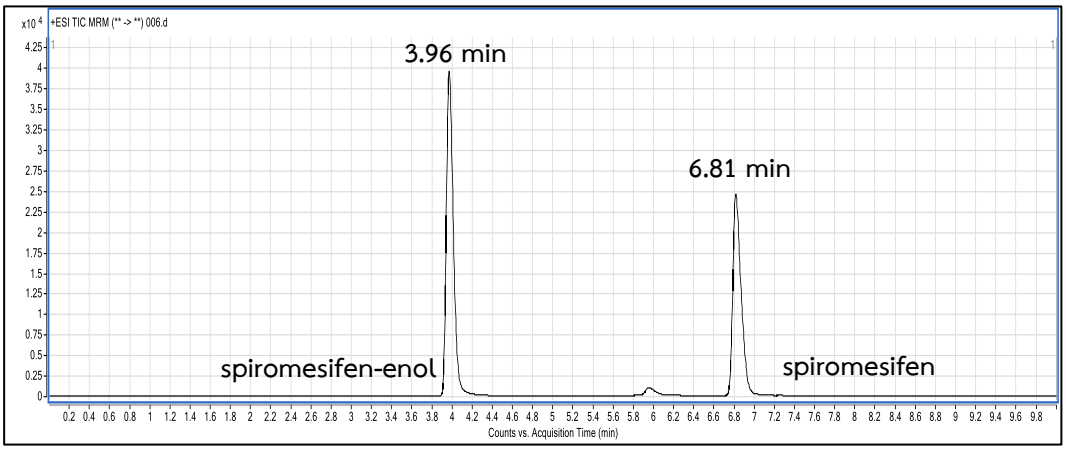
สถานที่ทำแปลงทดลองของเกษตรกร ในพื้นที่จังหวัดนครปฐม และจังหวัดกาญจนบุรี ทั้งหมด 3 แปลง

สถานที่ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง spiromesifen ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

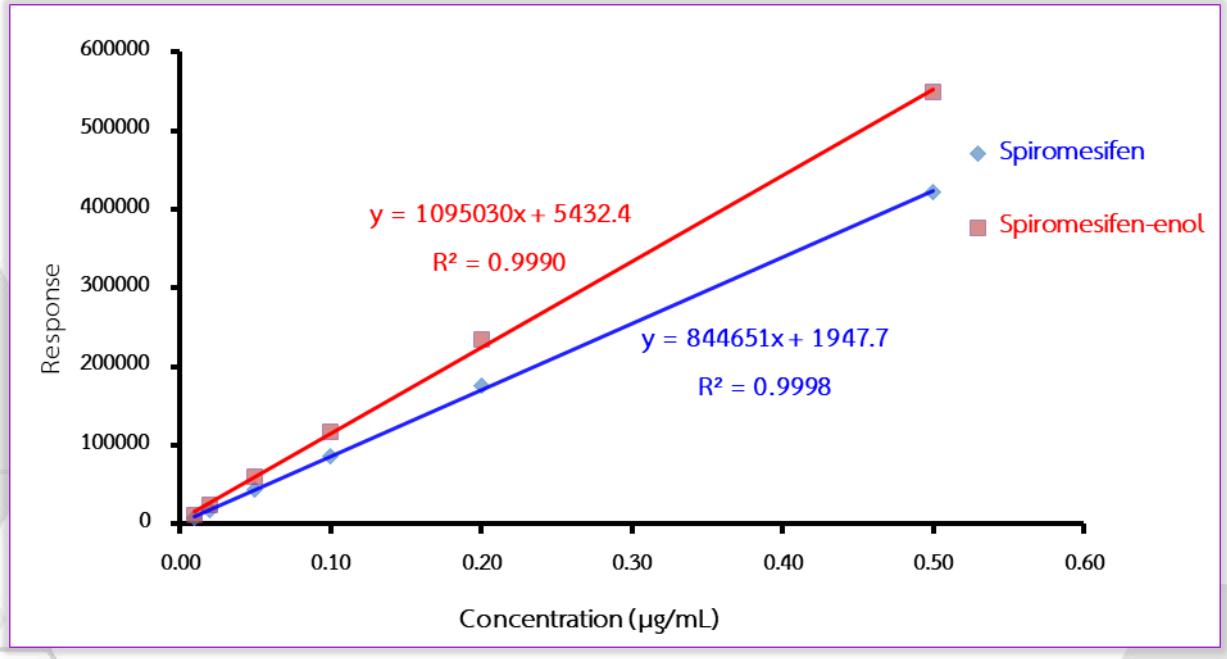
1. การตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ สารอนุพันธ์ (spiromesifen-enol) ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน mix spiromesifen ในตัวทำละลาย acetonitrile และฉีดสารดังกล่าวที่ความเข้มข้น 0.10 µg/mL พบว่า ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสาร spiromesifen มีค่า retention time ที่ 6.81 นาที ส่วนสาร spiromesifen-enol มีค่า retention time ที่ 3.96 นาที (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ลักษณะโครมาโทแกรมของสารผสม spiromesifen ตรวจวัดด้วยเทคนิค LC-MS/MS

จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า spiromesifen และ spiromesifen-enol ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 0.005-0.50 µg/mL มีค่า R^2 = 0.9998 และ 0.9993 ตามลำดับ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ความเป็นเส้นตรงของสาร spiromesifen และ spiromesifen-enol ในตัวอย่างสารสกัดพริก

2. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารตกค้าง spiromesifen และ spiromesifen-enol ในพริก

จากการพิสูจน์ความแม่น (accuracy) ซึ่งประเมินค่าจาก %recovery สำหรับวิธีการสกัด สารตกค้าง spiromesifen ในพริก พบว่า ให้ %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 85-104 ซึ่งพบว่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (70-120) สำหรับการพิสูจน์ความเที่ยง (precision) ซึ่งประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) พบว่าอยู่ในช่วง 7-9 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ ≤20% (ตารางที่ 1) ดังนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างพริกจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ มีประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์ โดยมี LOD เท่ากับ 0.005 และ LOQ เท่ากับ 0.01 mg/kg

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบ %recovery ของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง spiromesifen ในพริก

spiked level	spiromesifen			spiromesifen-enol		
(mg/kg)	%recovery (n=7)	SD	%RSD	%recovery (n=7)	SD	%RSD
0.01	85	7.93	9	92	4.85	5
0.10	92	6.59	7	83	2.35	3
0.50	104	7.35	7	85	2.89	3

LOD = 0.005 mg/kg, LOQ = 0.01 mg/kg

3. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง spiromesifen ในพริก

การศึกษาปริมาณสารตกค้าง spiromesifen ในพริก ทั้งหมด 3 แปลงทดลอง โดยพบว่า ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ผลการศึกษา พบว่า แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างจาก สำหรับแปลงทดลองที่มีการพ่นสาร spiromesifen พบ spiromesifen และสารอนุพันธ์ ดังตารางที่ 2 จากตารางจะเห็นได้ว่า ปริมาณสารพิษตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์มีปริมาณลดลงทั้ง 3 แปลง เมื่อทิ้งระยะเก็บเกี่ยวนานขึ้น

ตารางที่ 2 ปริมาณสารตกค้างเฉลี่ยของ spiromesifen และสารอนุพันธ์ในพริก จากการทดลองแปลงที่ 1, 2 และแปลงที่ 3

Days after last application	Average of pesticide residues (mg/kg)					
	spiromesifen			Spiromesifen-enol		
	1	2	3	1	2	3
0	0.72	0.59	1.40	0.02	0.01	0.05
1	0.41	0.56	-*	0.02	0.01	-*
3	0.16	0.23	0.57	0.02	0.01	0.02
5	0.08	0.11	0.32	0.01	0.01	0.01
7	0.07	0.08	0.22	<0.01	ND	0.01
10	0.05	0.05	0.15	<0.01	ND	0.01
14	0.03	0.04	0.10	ND	ND	ND
21	0.02	0.02	0.06	ND	ND	ND

-* For day 1 on trial 3 is not collected

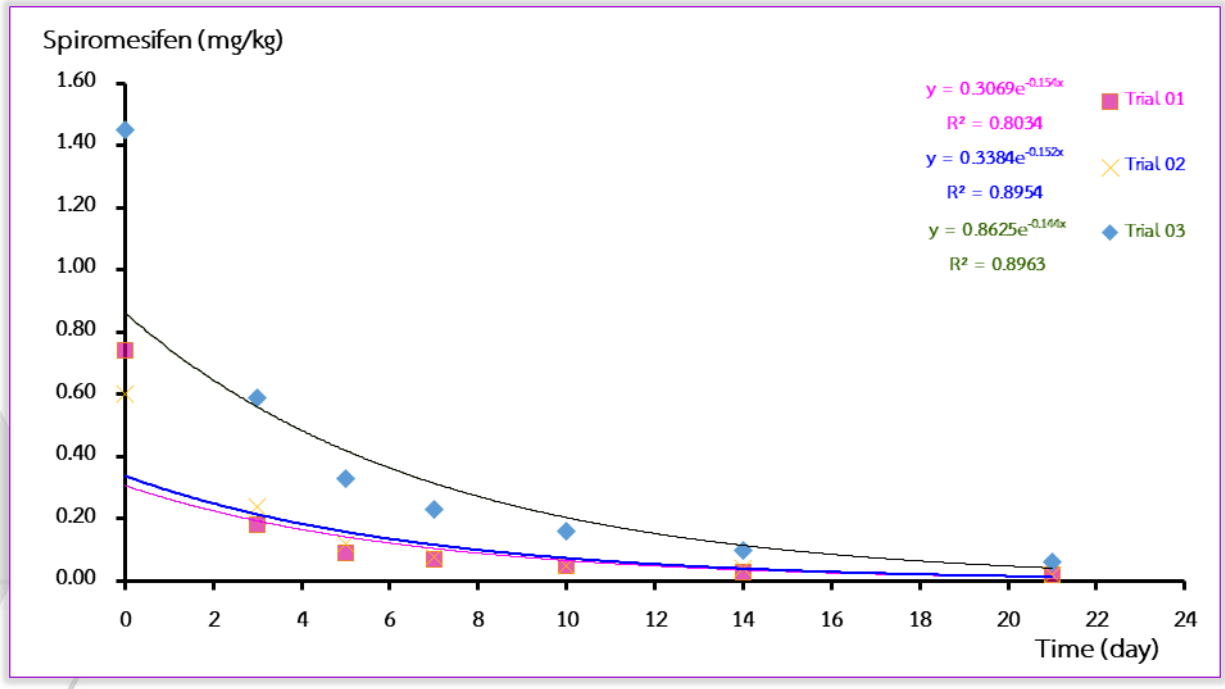
ND = Not Detectable (<LOD, LOD=0.005 mg/kg)

การศึกษาปริมาณสารตกค้าง spiromesifen ในพริก โดยคำนวณจากผลรวมของ spiromesifen และ spiromesifen-enol (คำนวณในรูปของ spiromesifen) ตามที่ Codex กำหนด พบสารตกค้างเฉลี่ย แปลงที่ 1 เท่ากับ 0.74, 0.43, 0.18, 0.09, 0.07, 0.05, 0.03 และ 0.02 mg/kg แปลงที่ 2 พบ 0.60, 0.57, 0.24, 0.12, 0.08, 0.05, 0.04 และ 0.02 mg/kg และแปลงที่ 3 พบ 1.45, 0.59, 0.33, 0.23, 0.16, 0.10 และ 0.06 mg/kg ที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารตกค้างเฉลี่ยของ spiromesifen ในพริก จากการทดลองแปลงที่ 1, 2 และ แปลงที่ 3

Days after last application	Sum of spiromesifen and its metabolites* (mg/kg)		
	Trial 1	Trial 2	Trial 3
0	0.74	0.60	1.45
1	0.43	0.57	-
3	0.18	0.24	0.59
5	0.09	0.12	0.33
7	0.07	0.08	0.23
10	0.05	0.05	0.16
14	0.03	0.04	0.10
21	0.02	0.02	0.06

* Sum of spiromesifen and 4-hydroxy-3-(2,4,6-trimethylphenyl)-1-oxaspiro[4.4]non-3-en-2-one, expressed as spiromesifen



ภาพที่ 4 กราฟแนวโน้มการสลายตัวของ spiromesifen ในพริก ทั้ง 3 แปลงทดลอง

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง spiromesifen ในพริก ทั้ง 3 แปลง พบเส้นแนวโน้มการสลายตัวที่สอดคล้องกัน คือ มีการสลายตัวและปริมาณมีแนวโน้มลดลง เมื่อทิ้งระยะเก็บตัวอย่างนานขึ้น (ภาพที่ 4) โดยสารตกค้าง spiromesifen ที่ 5 วัน มีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตร (MRL) ของ CODEX ที่กำหนดค่า MRL สำหรับ spiromesifen ใน peppers (VO 0051) คือ 0.5 mg/kg ทั้งนี้สำหรับประเทศไทยถ้าจะต้องมีการกำหนดค่า MRL สำหรับสารดังกล่าว จำเป็นต้องมีการศึกษา

การสลายตัวของ spiromesifen ในพริก โดยต้องมีการทำแปลงทดลองเพิ่มเติม เพื่อให้มีข้อมูลที่เพียงพอและสามารถนำข้อมูลที่ได้เสนอ มกอช.เพื่อพิจารณากำหนดค่า MRL ต่อไป

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

1. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ spiromesifen ในพริก พบว่า %recovery อยู่ในช่วงตั้งแต่ 85-104 มี %RSD เท่ากับ 7-9 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้น วิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีความถูกต้อง และแม่นยำ โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรง (linear range) ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ ตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.50 mg/kg ค่า $R^2 > 0.999$

2. การวิจัยสารตกค้าง spiromesifen ในพริก พบว่ามีการสลายตัวเพิ่มขึ้น เมื่อทิ้งระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยวนานขึ้น โดยปริมาณสารพิษตกค้าง spiromesifen ที่ 5 วัน มีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตร (MRL) ของ CODEX ที่กำหนดค่า MRL สำหรับ spiromesifen ใน peppers (VO 0051) คือ 0.5 mg/kg ดังนั้น จากกราฟแนวโน้มการสลายตัว พบว่า ระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัยหลังการพ่นสาร (Pre Harvest Interval; PHI) สำหรับ spiromesifen ในพริก เท่ากับ 5 วัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างสามารถนำวิธีที่ได้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์ ในพริก และในพืชอื่น ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและศักยภาพให้กับห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง และสามารถถ่ายทอดวิธีการดังกล่าวให้แก่เจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8 และหน่วยงานอื่น ๆ ที่สนใจได้

2. หากมีการศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง spiromesifen ในแปลงทดลองพริกเพิ่มเติม สามารถนำข้อมูลที่ได้ ไปใช้ประกอบการพิจารณาเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ในพริก สำหรับประเทศไทย (Thai MRL) และเสนอข้อมูลดังกล่าวให้ Codex, ASEAN และประเทศคู่ค้า เพื่อนำไปพิจารณาอัปเดตค่า MRL และค่า Import tolerance ของประเทศคู่ค้า และกำหนดเป็นเกณฑ์การค้าระหว่างประเทศ ลดการกีดกันทางการค้า

3. ข้อมูลการสลายตัวและปริมาณสารพิษตกค้างของ spiromesifen ในพริก สามารถนำไปใช้กำหนดค่า Pre Harvest Interval (PHI) สำหรับบริษัทผู้ผลิตและนำเข้า บนฉลากข้างภาชนะบรรจุได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และสามารถใช้ในการประกอบการพิจารณา เปลี่ยนแปลงแก้ไขคำแนะนำการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรของกรมวิชาการเกษตร เกษตรกรสามารถใช้วัตถุอันตราย spiromesifen ได้อย่างปลอดภัย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2563. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัยจากงานวิจัย. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช. กรมวิชาการเกษตร.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. สถานการณ์การผลิตพริก. แหล่งที่ข้อมูล. http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2563/37-38.pdf

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร. มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Codex. 2019. Pesticides Database Search. Codex Alimentarius International Food Standard. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=294. (15 มกราคม 2563)

EN 15662: 2008. Foods of plant origin- Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partition and clean-up by dispersive SPE- QuEChERS-method.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.

FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed 3rd ed. FAO Plant Production and Protection Paper 225.

SANTE. 2017. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Commission, Directorate General for Health and Food Safety. Safety of the Food Chain Pesticides and Biocides.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไตรฟลอกซี่สโตรบิน (tirfloxystrobin) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Pesticide Residue Trials of trifloxystrobin chili to established Maximum Residue Limit (MRLs)

บุญทวีศักดิ์ บุญทวี *จินตนา ภู่มงกฎชัย* *สุพัตรี หนูสังข์*
ศศิณิฎา คงแช่มดี *ประพันธ์ เคนท้าว*
Boonthaweesak Boonthawee *Jintana Poomongkutchai* *Supattri Noosang*
Sasinida Khongchamdee *Praphan kenthao*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Pesticide residue trials trifloxystrobin in chili for 3 trials on February 2020 to May 2021 in the areas of Nakhonpathom and Kanchanaburi Province. For each 3 trials the experimental plot was divided into 2 sub-experiments with 2 replications. Control plot do not spray trifloxystrobin and treated plot spray with trifloxystrobin every 7 days for 3 times at maximum recommended dose rate 50% WG 6 grams per 20 liters of water which recommended dose rate 80 liters per rai. The amount Sprayed volume for treated plot 102.48%, 101.71% and 99.49% of the recommended rate, 12.27 grams, 12.20 grams and 10.60 grams a.i. per rai respectively. After the last spraying chili samples were collected for analysis of trifloxystrobin residue at the time of 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days. The results of pesticide residue for first trial found 0.81, 0.51, 0.32, 0.25, 0.19, 0.18, 0.12, 0.09 mg/kg second trial found 0.19, 0.14, 0.06, 0.05, 0.03, 0.03, 0.02, 0.01 mg/kg and third trial found 0.49, 0.30, 0.20, 0.18, 0.12, 0.08, 0.05 mg/kg respectively and not detected trifloxystrobin for control samples for each 3 trials. Since Codex, EU, Japan and Thailand did not set the MRL of trifloxystrobin in chili. Therefore if there are more trials and more data could be submit MRL for trifloxystrobin in chili.

Keywords : trifloxystrobin, Pesticide residue, MRL

บทคัดย่อ

ทำแปลงทดลองศึกษาการตกค้างของ trifloxystrobin ในพริกจำนวน 3 ครั้ง ในช่วงเดือนเดือนกุมภาพันธ์ 2563 ถึง พฤษภาคม 2564 ในพื้นที่ ต.โพรงมะเดื่อ อ.เมือง จ.นครปฐม จำนวน 2 ครั้ง และ ต.พระแท่น อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี 1 ครั้ง โดยแต่ละครั้งวางแผนการทดลองเป็น 2 การทดลองย่อย มี 2 ซ้ำ ได้แก่ แปลงควบคุมที่ไม่พ่นสาร trifloxystrobin และแปลงที่พ่นสาร trifloxystrobin อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ในอัตราแนะนำสูงสุดคือ trifloxstrobin 50% WG อัตรา6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ห่างกันทุก 7 วัน ปริมาณสารที่พ่นในพื้นที่แปลงทดลองครั้งที่ 1 เท่ากับ 102.48 % ของอัตราแนะนำ หรือคิดเป็นปริมาณ 12.27 กรัม a.i. ต่อไร่ ครั้งที่ 2 เท่ากับ 101.71 % ของอัตราแนะนำ หรือคิดเป็นปริมาณ 12.20 กรัม a.i. ต่อไร่ และครั้งที่ 3 เท่ากับ 99.49 % ของอัตราแนะนำ หรือคิดเป็นปริมาณ 10.60 กรัม a.i. ต่อไร่ ตามลำดับ หลังการพ่นครั้งสุดท้ายเก็บตัวอย่างพริกมาตรวจวิเคราะห์การตกค้างของสาร trifloxstrobin ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, และ 21 วัน ผลการทดลองพบการตกค้างของ trifloxstrobin

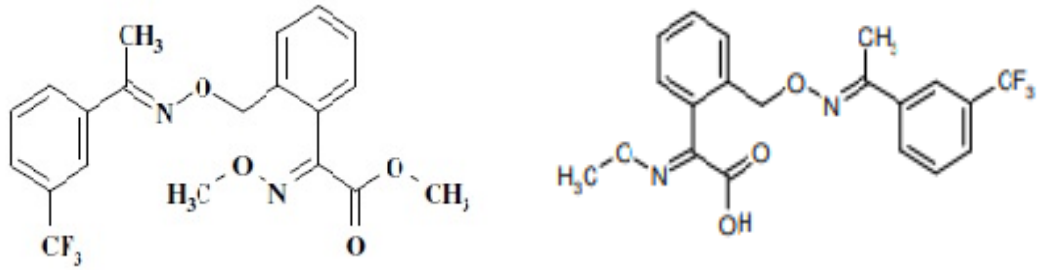
ในแปลงที่ 1 เท่ากับ 0.81, 0.51, 0.32, 0.25, 0.19, 0.18, 0.12, 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงที่ 2 เท่ากับ 0.19, 0.14, 0.06, 0.05, 0.03, 0.03, 0.02, 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 3 เท่ากับ 0.49, 0.30, 0.20, 0.18, 0.12, 0.08, 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และตรวจไม่พบ trifloxstrobin ในแปลงควบคุม ทั้ง 3 แปลง เนื่องจาก Codex, EU, Japan และ Thai MRL ไม่ได้กำหนดค่า MRL ของ trifloxstrobin ในพริก ข้อมูลที่ได้ จะสามารถนำ ไปเสนอเพื่อกำหนดค่า MRL ต่อไป

คำหลัก : ไตรฟลอกซี่สโตรบิน สารพิษตกค้าง ปริมาณสารสูงสุด

คำนำ

พริกเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย ที่ใช้เป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการประกอบอาหาร และเป็นพืชส่งออกที่มีความสำคัญ ทำรายได้เข้าสู่ประเทศอย่างมาก อย่างไรก็ตามการผลิตพริกที่มีคุณภาพ เกษตรกรจำเป็นต้องให้ความดูแลอย่างดี เนื่องจากมีปัญหาศัตรูพืชมากมายหลายชนิด ทั้งแมลง ไร โรคพืช และวัชพืช บางชนิดมีการระบาดที่รุนแรง และบางชนิดเป็นศัตรูชนิดใหม่ (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2557) การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของไตรฟลอกซี่สโตรบิน ในพริก เป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในพืช (MRLs) จากการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้อง และปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex ข้อมูลที่ได้จะนำไปใช้พิจารณากำหนดค่ามาตรฐานอ้างอิงด้านสารพิษตกค้างของประเทศ เพื่อใช้ในการต่อรองและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายสินค้าเกษตรกรระหว่างประเทศสำหรับการส่งออก เพื่อความเป็นธรรมของแต่ละประเทศ จากการสืบค้นพบว่า Codex, EU, Japan, Asian ยังไม่ได้มีการกำหนดค่า MRL ดังนั้นกรมวิชาการเกษตรจึงได้ทำการศึกษาการตกค้างของสารไตรฟลอกซี่สโตรบิน ในพริก เพื่อใช้เป็นข้อมูลนำไปเสนอในการพิจารณำหนดค่า Thai-MRL, Asian MRL และ Codex MRL ต่อไป

ไตรฟลอกซี่สโตรบิน เป็นสารที่ใช้พ่นทางใบ มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อรา เช่นในกลุ่ม *Ascomycetes*, *Deuteromycetes*, *Basidiomycetes* และ *Oomycetes* ในต่างประเทศมีการใช้กับโรคราแป้ง โรคใบจุดในผลทับทิม องุ่น และกล้วย ไตรฟลอกซี่สโตรบิน มีความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากต่ำในหนูมีค่า LD_{50} > 5000 mg/kg ความเป็นพิษเฉียบพลันทางผิวหนังในหนูและกระต่าย LD_{50} > 2000 mg/kg ความเป็นพิษเฉียบพลันทางการหายใจในหนูในระดับที่ต่ำ LD_{50} > 4650 mg/m^3 และมีผลระคายเคืองเล็กน้อยในกระต่าย (WHO, 2004)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของ trifloxystrobin และ trifloxystrobin acid (FAO, 2022)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (spray equipment) แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack electrical sprayer, Mitsudaiwa รุ่น MS0735W)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง เช่น เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger) และกระดาษวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ

3. หลอดทดลอง (screw-capped polypropylene centrifuge tubes) ขนาด 50 มิลลิลิตร

4. หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge tubes) ขนาด 15 มิลลิลิตร

5. ขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

6. อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 2-20, 10-100, 20-200, 100-1,000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร

7. เครื่องชั่งไฟฟ้า (electricalbalances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง

8. เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor)

9. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 50 มิลลิลิตร

10. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder

11. กระบอกฉีดยาที่มีกระดาษกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร

12. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง

13. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Triple Quad Liquid Chromatography Mass Spectrometer (LC-MS/MS) LC

สารเคมี

1. สารมาตรฐานของ trifloxystrobin purity 99.2 % และ trifloxystrobin acid purity 98.9 % จากบริษัทผู้ผลิต Dr. Ehrenstorfer

2. วัตถุอันตรายทางการเกษตรใช้ในแปลงทดลอง คือ trifloxystrobin 50%WG ของบริษัท bayer

3. Acetonitrile (CH_3CN) ชนิด LC-MS grade

4. Formic acid (CH_2O_2) ชนิด analytical grade

5. Anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$)

6. Sodium citrate tribasic dyhydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) ชนิด analytical grade

7. Disodium hydrogen citrate sesquehydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$) ชนิด analytical grade

8. Sodium chloride (NaCl) ชนิด analytical grade

9. Ammonium formate ชนิด analytical grade

10. PSA ชนิด analytical grade

11. น้ำกลั่น (distilled water)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

1) ทำการทดลองไตรฟลอกซี่สโตรบินในพริกในแปลงเกษตรกร โดยครั้งที่ 1 และ 2 ในพื้นที่ อ.เมือง จ.นครปฐม ครั้งที่ 3 ต.พระแท่น อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2563 ถึง พฤษภาคม 2564 แต่ละการทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองดังนี้

1.1) แปลงทดลองที่ 1 แปลงควบคุมไม่พ่นสารไตรฟลอกซี่สโตรบิน

1.2) แปลงทดลองที่ 2 เป็นแปลงพริก ที่พ่นสารไตรฟลอกซี่สโตรบินในอัตราแนะนำสูงสุดคือ trifloxstrobin 50% WG 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ปริมาณ 80 ลิตร ต่อไร่ โดยพ่นทุก 7 วัน รวมทั้งสิ้น 3 ครั้ง โดยปริมาณสารที่พ่นในแปลงของการทดลองครั้งที่ 1 เท่ากับ 102.48 % ของอัตราแนะนำ หรือคิดเป็นปริมาณ 12.27 กรัม a.i. ต่อไร่ การทดลองครั้งที่ 2 เท่ากับ 101.71 % ของอัตราแนะนำ หรือคิดเป็นปริมาณ 12.20 กรัม a.i. ต่อไร่ และครั้งที่ 3 เท่ากับ 99.49 % ของอัตราแนะนำ หรือคิดเป็นปริมาณ 10.60 กรัม a.i. ต่อไร่ ตามลำดับ การทดลองมี 8 กรรมวิธีได้แก่ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างพริกมาตรวจวิเคราะห์หาสารตกค้างที่ 0 วัน (2 ชั่วโมงหลังการพ่นครั้งสุดท้าย) 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย

2) การพ่นสารไตรฟลอกซี่สโตรบิน

2.1) การปรับและหาอัตราการไหลของเครื่องพ่น ใช้เครื่องฉีดพ่นสะพายหลังแบบแบตเตอรี่ความจุถัง 20 ลิตร ใช้กระบอกตวงๆน้ำ 15 ลิตรใส่ถัง ใช้ปากกาขีดระดับน้ำในถัง ปรับอัตราการพ่นที่อัตราสูงสุด พ่นและจับเวลาประมาณ 60 วินาที คำนวณอัตราการพ่นในเวลา 60 วินาที เพื่อให้ได้อัตราการพ่นเป็นลิตรต่อนาที คำนวณค่า ± 5% ของอัตราการพ่นต่อนาที

2.2) คำนวณขนาดพื้นที่แปลงทดลอง ปริมาณน้ำ ปริมาณสารไตรฟลอกซี่สโตรบินที่ใช้

2.3) คำนวณเวลาที่ใช้ในการพ่นทั้งแปลงทดลอง จากอัตราการพ่นต่อนาที ซ้อมการเดินให้ได้อัตราการเดินสัมพันธ์กับเวลาที่คำนวณไว้ โดยเวลาที่ใช้ในการพ่นต้องอยู่ในช่วงของค่า ± 5% ของเวลาที่คำนวณไว้

2.4) ผสมสารไตรฟลอกซี่สโตรบินและพ่นพร้อมทั้งจับเวลา

3) การเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลอง

ในแต่ละซ้ำเก็บตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม บรรจุถุงพลาสติกมัดให้แน่น บรรจุในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งซึ่งบรรจุอยู่ในถุงพลาสติก ใส่เครื่องบันทึกอุณหภูมิ ปิดฝาและปิดผลึกด้วยเทปกาว โดยบรรจุแยกกล่องระหว่างตัวอย่างที่ไม่พ่นสารและตัวอย่างที่พ่นสาร ขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์สารพิษตกค้างไตรฟลอกซี่สโตรบิน

1) การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างถั่วฝักยาวตัดขั้วออก หั่นเป็นชิ้นเล็กๆนำไปปั่นกับไนโตรเจนเหลว โดยใช้เครื่องปั่น robot coupe จนกระทั่งตัวอย่างละเอียด นำไปชั่งน้ำหนักตามวิธีการสกัด

2) หาประสิทธิภาพและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

เติมสารละลายมาตรฐานไตรฟลอกซี่สโตรบิน ในตัวอย่างพริกที่ไม่มีสารพิษตกค้างให้มีความเข้มข้นในตัวอย่าง 0.005, 0.01, 0.10, 1.0 mg/kg นำไปวิเคราะห์หาปริมาณไตรฟลอกซี่สโตรบิน

3) การสกัดตัวอย่างใช้วิธี QuEChERS method (EN 15662, 2008) modified (Xingang Liu. *et al*., 2011) มีขั้นตอนดังนี้

3.1) ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.2) เติม acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที

3.3) เติม sodium chloride 1.0 กรัม และ magnesium sulfate 4 กรัม ปิดฝาแล้ว เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที

3.4) นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 5 นาที

3.5) ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 5 มิลลิลิตร ใส่ centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่ใส่ C18 50 มิลลิกรัม และ magnesium sulfate 0.750 กรัม ไว้แล้ว เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 5 นาที

3.6) ดูดสารละลายส่วนบน กรองผ่าน PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตรแล้ว นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารไตรฟลอกซี่สโตรบินด้วยเครื่อง LC-MS/MS

4) การตั้งสภาวะของเครื่อง LC-MSMS

Injection volume : 5 μl

Column temperature : 30 ℃

Flow rate : 0.30 ml/ min.

Column : Synergy fusion-RP C18 100A, 100mm x 2.0 mm

Ionisation mode : ESI positive

Gas temp. : 350 ℃

Gas flow : 8 /min

Nubilizer : 45 psi

Sheath gas heater : 400 ℃

Sheath gas flow : 10 l/min

Capillary : 4500 V

Post time : 2 min

Mobile phase : A : 2mM ammonium formate in water (with 0.1% formic acid)

B: methanol

Gredient :

Time (min)	Flow rate (ml/min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0	0.30	95	5
1.0	0.30	95	5
1.1	0.30	70	30
7	0.30	2	98
10	0.30	2	98
10.1	0.30	95	5

QQQ mass spectrometer papameter :

Compound	Precusor ion	Product Ion	Dwell time	Fragment (V)	CE (V)	Cell Acc. (V)	Polarity
trifloxystrobin	409.13	206.08	100	120	10	7	positive
trifloxystrobin	409.13	186.05	100	120	15	7	positive
trifloxystrobin	409.13	145	100	120	10	7	positive
Trifloxystrobin acid	395.1	186	100	120	15	7	positive
Trifloxystrobin acid	395.1	145	100	120	10	7	positive

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 – สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

สถานที่ทำแปลงทดลองครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ในพื้นที่ อ.เมือง จ.นครปฐม ครั้งที่ 3 ที่ ต.พระแท่น อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี

ตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การหาประสิทธิภาพวิธีการวิเคราะห์

ทดสอบประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ของ trifloxystrobin และ trifloxystrobin acid ที่ความเข้มข้นในตัวอย่าง 0.005, 0.01, 0.10, 1.0 mg/kg ผลดังแสดงในตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2 ตามลำดับ

ตารางที่1 ผลการหาประสิทธิภาพและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ trifloxystrobin

Conc. in sample(mg/kg)	(n)	% Rec.	% RSD
0.005	7	96-104	3.6
0.01	7	93-113	7.9
0.10	7	86-118	13.3
1.0	6	81-99	7.8

n คือ จำนวนซ้ำของการสกัด

ตารางที่ 2 ผลการหาประสิทธิภาพและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ trifloxystrobin acid

Conc. in sample(mg/kg)	(n)	% Rec.	% RSD
0.005	7	78-86	3.3
0.01	7	76-108	13.1
0.10	7	77-101	10.6
1.0	6	80-91	5.2

n คือ จำนวนซ้ำของการสกัด

ในตารางที่ 1 และตารางที่ 2 ค่า % Recovery อยู่ในช่วง 70-120 % และค่า %RSD น้อยกว่า 20% (SANTE/11813, 2017) แสดงว่าวิธีที่ใช้มีประสิทธิภาพและความเหมาะสม ในการใช้ตรวจวิเคราะห์ไตรฟลอกซี่สโตรบินในพริกโดย trifloxystrobin และ trifloxystrobin acid มีค่า LOQ เท่ากับ 0.005 mg/kg

2. ผลวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างจากแปลงทดลอง

จากการทดลองการสลายตัวของสารไตรฟลอกซี่สโตรบินในพริก จากแปลงควบคุมและแปลงที่ใช้ trifloxystrobin 50% WG อัตรา 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ปริมาณ 80 ลิตร ต่อไร่ โดยพ่นทุก 7 วัน รวมทั้งสิ้น 3 ครั้ง โดยทำแปลงทดลองรวม 3 แปลงทดลอง ผลวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างที่ 0, 1, 3, 5, 7, 14 และ 21 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้ายพบว่าที่ 0 วัน ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ยจากการเก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำต่อวันของ trifloxystrobin อยู่ในช่วง 0.19 ถึง 0.81 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีแนวโน้มลดลง ตามระยะเวลาหลังการพ่นครั้งสุดท้าย ซึ่งที่ 21 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง 0.01 ถึง 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วน trifloxystrobin acid พบว่ามีปริมาณ <0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 3 ถึง ตารางที่ 5) การสลายตัวของสารไตรฟลอกซี่สโตรบินในพริก แสดงดังภาพที่ 2

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณสารพิษตกค้าง trifloxystrobin และ trifloxystrobin acid ในพริก แปลงที่ 1

Days after last application	Trifloxystrobin (mg/kg)			Trifloxystrobin acid (mg/kg)		
	Sampling 1	Sampling 2	average	Sampling 1	Sampling 2	average
0	0.78	0.83	0.81	<0.005	<0.005	<0.005
1	0.48	0.58	0.53	<0.005	<0.005	<0.005
3	0.32	0.33	0.32	<0.005	<0.005	<0.005
5	0.28	0.23	0.26	<0.005	<0.005	<0.005
7	0.19	0.20	0.20	<0.005	<0.005	<0.005
10	0.19	0.17	0.18	<0.005	<0.005	<0.005
14	0.12	0.12	0.12	<0.005	<0.005	<0.005
21	0.10	0.09	0.09	<0.005	<0.005	<0.005

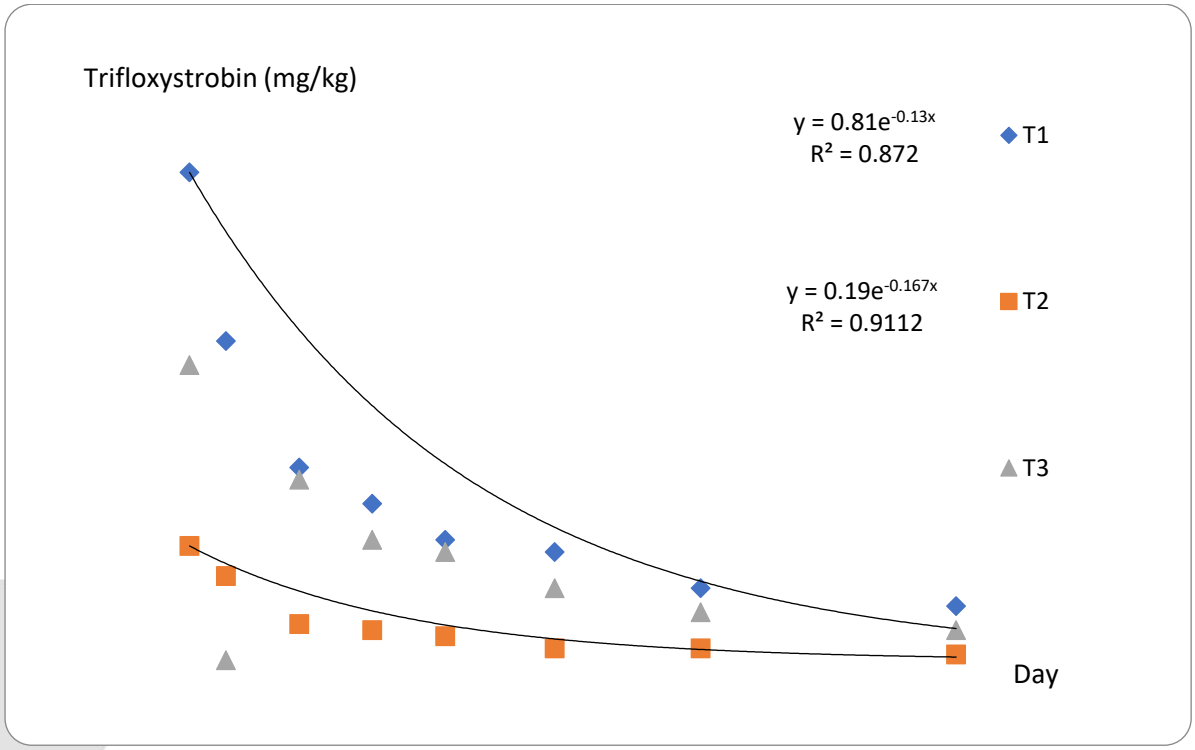
ตารางที่ 4 แสดงปริมาณสารพิษตกค้าง trifloxystrobin และ trifloxystrobin acid ในพริก แปลงที่ 2

Days after last application	Trifloxystrobin (mg/kg)			Trifloxystrobin acid (mg/kg)		
	Sampling 1	Sampling 2	average	Sampling 1	Sampling 2	average
0	0.20	0.19	0.19	<0.005	<0.005	<0.005
1	0.15	0.14	0.14	<0.005	<0.005	<0.005
3	0.06	0.06	0.06	<0.005	<0.005	<0.005
5	0.05	0.05	0.05	<0.005	<0.005	<0.005
7	0.03	0.04	0.03	<0.005	<0.005	<0.005
10	0.03	0.02	0.03	<0.005	<0.005	<0.005
14	0.02	0.02	0.02	<0.005	<0.005	<0.005
21	0.01	0.01	0.01	<0.005	<0.005	<0.005

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารพิษตกค้าง trifloxystrobin และ trifloxystrobin acid ในพริก แปลงที่ 3

Days after last application	Trifloxystrobin (mg/kg)			Trifloxystrobin acid (mg/kg)		
	Sampling 1	Sampling 2	average	Sampling 1	Sampling 2	average
0	0.45	0.52	0.49	<0.005	<0.005	<0.005
3	0.31	0.29	0.30	<0.005	<0.005	<0.005
5	0.21	0.19	0.20	<0.005	<0.005	<0.005
7	0.17	0.19	0.18	<0.005	<0.005	<0.005
10	0.11	0.12	0.12	<0.005	<0.005	<0.005
14	0.07	0.09	0.08	<0.005	<0.005	<0.005
21	0.05	0.05	0.05	<0.005	<0.005	<0.005

LOQ : trifloxystrobin เท่ากับ 0.005 mg/kg
trifloxystrobin acid เท่ากับ 0.005mg/kg



ภาพที่ 2 แสดงการสลายตัวไตรฟลอกซี่สโตรบินในพริกทั้ง 3 การทดลอง (3 trials)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดลองการตกค้างของ trifloxstrobin ในพริก ทั้ง 3 แปลงการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ supervised trials แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุม (ไม่พ่น trifloxstrobin) และ แปลงที่พ่น trifloxstrobin 50% WG อัตรา 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ห่างกันทุก 7 วัน เก็บตัวอย่างแปลงละ 2 ซ้ำ (replication) ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน เพื่อตรวจวิเคราะห์การตกค้างของไตรฟลอกซี่สโตรบิน จากการทำแปลงทดลองรวม 3 แปลงทดลอง พบการตกค้างของ trifloxstrobin ในแปลงที่ 1 เท่ากับ 0.81, 0.51, 0.32, 0.25, 0.19, 0.18, 0.12, 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงที่ 2 เท่ากับ 0.19, 0.14, 0.06, 0.05, 0.03, 0.03, 0.02, 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 3 เท่ากับ 0.49, 0.30, 0.20, 0.18, 0.12, 0.08, 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาต่างๆ ตามลำดับ และตรวจไม่พบ trifloxstrobin ในแปลงควบคุม ทั้ง 3 แปลงทดลอง เนื่องจากสำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559) Codex Alimentarius International Food Standards (Codex.2022) ประเทศกลุ่มสหภาพยุโรป (EU.2022) รวมถึงประเทศญี่ปุ่น (The Japan Food Chemical Research and Foundation.2022) ไม่ได้มีการกำหนดค่า default limit สำหรับ trifloxstrobin เอาไว้ จึงได้นำค่าการตกค้างของ trifloxstrobin สูงที่สุดที่ 0 วัน ทำการประเมินความเสี่ยงในระยะสั้น (IESTI) ค่า % acute RfD rounded ของทั้ง 3 กลุ่มประชากรคือ ผู้ใหญ่ วัยรุ่น และเด็กเล็ก มีค่า 0% และความเสี่ยงในระยะยาว (IEDI) ค่า Rounded % ADI ของทุกกลุ่มประชากร มีค่าน้อยกว่า 100% โดยในกลุ่มที่เป็นคนไทย (G09) ค่า Rounded % ADI เท่ากับ 5% ดังนั้นที่ระยะเวลา 0 วัน หลังการพ่น trifloxstrobin ครั้งสุดท้าย ซึ่งพบการตกค้างของ trifloxstrobin สูงที่สุด ก็ยังมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (WHO, 2014) จึงกำหนดค่า PHI ของ trifloxstrobin ในพริกไว้ที่ 3 วัน

ควรมีการทดลอง trifloxstrobin ในพริกเพิ่มเติมเพื่อให้มีข้อมูลที่เพียงพอ เพื่อเสนอ Asean และ Codex เพื่อประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRL ของ trifloxstrobin ในพริกต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถประมาณระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (Pre Harvest Interval: PHI)
2. สามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการพิจารณาเพื่อกำหนดค่า MRL ของ trifloxstrobin ในพริกของ Thai, Asean และ Codex

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.9002-2559 สารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด Pesticide Residues:Maximum Residue Limit สำนักงานมาตรฐานสินค้า เกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2557. ศัตรูพริก: กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Codex Alimentarius International Food Standards. 2019. Pesticide database. [on line] https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=213 (18 February 2022)

EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method

EU. 2022. EU Pesticide database. [on line] https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/index.cfm?event=search.pr&p=271%25252C273%25252C281&v=1

FAO. Trifloystrobin (213). [on line] http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation04/TRIFLOXYSTROBIN.pdf (18 February 2022)

SANTE/11813/2017. 2017 . Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed

The Japan Food Chemical Research and Foundation.2022. [on line] http//www.db.ffcr.or.jp/front/

WHO.2014. International estimated short-term intake (IESTI). [online] https://cdn.who.int/media/docs/default-source/food-safety/gems-food/guidance-iesti-2014.pdf?sfvrsn=9b24629a_2

WHO. 2004. Pesticide residues in food – 2004 evalutions 2004 part II – Toxicological. Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group. : 387-450

Xingang Liu, Xu Wang, Jun Xu, Fengsshou Dong, Wencheng Song and Yongquan Zheng. 2011. Determination of tebuconazole, trifloxystrobin and it metabolite in fruit and vetables by Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) method using gas chromatography with a nitrogen-phosphorus detector and ion trap mass spectrometry. Biochemical Chromatography. : 1801-1090

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอิมาเม็กติน เบนโซเอท ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
Residue trial of Emamectin benzoate in Chili to Establish Maximum Residue Limit

ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร *ชนิตา ทองแซม* *วีระสิงห์ แสงวรรณ*
Piyasak Akcaboot *Chanita Thongsam* *Weerasing Saengwan*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on the emamectin benzoate in chilli after the use of pesticide according to Good Agricultural Practice (GAP) was conducted through 2 supervised field trials in accordance with the FAO Plant Production and Protection Guideline. The first supervised field trial conducted April-May, 2021 in Saraburi province the second supervised field trial conducted June-August, 2021 in Kanchanaburi province. Emamectin benzoate 1.92 % w/v EC with concentration of 20 ml/20 liter of water was sprayed weekly for 2 times. Later, random samples of whole plants were taken from plot for analysis at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after the final application of pesticide. For this study, all samples were analyzed by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). The Limit of Quantitation (LOQ) of emamectin benzoate in chilli was 0.01 mg/kg. The residues for the field trial no. 2 were 0.01 mg/kg at 0 day and undetected at 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days and the field trial no. 3 were 0.01 mg/kg at 0 day and undetected at 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days.

Keywords : Pesticide Residue, Emamectin benzoate, Chilli

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณของสารพิษตกค้างอิมาเม็กติน เบนโซเอท (emamectin benzoate) ในพริกพันธุ์จินดา หลังการใช้วัตถุอันตรายอย่างถูกต้องตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) โดยทำแปลงทดลองแบบ supervised trial (FAO, 2016) จำนวน 2 การทดลอง การทดลองครั้งที่ 2 อำเภอเฉลิมพระเกียรติฯ จังหวัด สระบุรี ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม 2564 การทดลองครั้งที่ 3 อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในช่วง เดือนกรกฎาคมถึงเดือนสิงหาคม 2564 ทำการทดลองโดยวิธีการพ่นวัตถุอันตราย emamectin benzoate 1.92% W/V EC ปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ตามอัตราแนะนำ ทุก 7 วัน รวม 2 ครั้ง และสุ่มเก็บตัวอย่างพริกเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารตกค้าง emamectin benzoate ที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 และ 14 วันหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในพริกโดยเทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) มีค่า Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการวิจัยพบว่า ในการทดลองครั้งที่ 2 พบปริมาณ emamectin benzoate ตกค้างในพริกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หลังจากการพ่นสารที่ 0 วัน และตรวจไม่พบสารที่ 1 3 5 7 10 และ 14 วันการทดลองครั้งที่ 3 พบปริมาณ emamectin benzoate ตกค้างในพริกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หลังจากการพ่นสารที่ 0 วัน และตรวจไม่พบสารที่ 1 3 5 7 10 และ 14 วัน

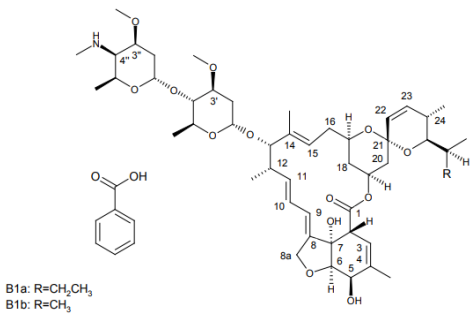
คำหลัก : สารพิษตกค้าง อิมาเม็กตินเบนโซเอท พริก

คำนำ

ในปี 2562 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกพริกทั้งหมด 167,443 ไร่ พื้นที่เก็บเกี่ยว 343,566 ไร่ ผลผลิต 283,515 ตัน พริกที่ปลูกมากที่สุด คือ พริกขี้หนูผลใหญ่ มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 145,929 ไร่ ผลผลิตรวม 127,295 ตัน คิดเป็นมูลค่า 5,036.72 ล้านบาท รองลงมาคือ พริก ขี้หนูผลเล็ก มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 177,447 ไร่ ผลผลิตรวม 142,986 ตัน คิดเป็นมูลค่า 6,966.28 ล้านบาท และพริกใหญ่ ได้แก่ พริกหนุ่ม พริก บางช้าง พริกมัน พริกเหลือง และพริกใหญ่ ลูกผสมพันธุ์ต่างๆ มีพันธุ์ต่างๆ มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 17,491 ไร่ ผลผลิต 26,368 ตัน คิดเป็นมูลค่า 773.90 ล้านบาท นอกจากนั้นเป็นพริกหยวก และพริกหวาน มีพื้นที่เก็บ เกี่ยว 2,151 ไร่ คิดเป็นมูลค่า 56.60 ล้านบาท (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2020) เกษตรกรของประเทศไทยจึงจำเป็นต้องใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรหลากหลายชนิดเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากพบปัญหาโรคพืชและศัตรูพืชที่ส่งผลต่อผลผลิต จึงก่อให้เกิดผลกระทบที่ตามมาคือ การตกค้างของสารพิษในผลิตผลทางการเกษตร และส่งผลอันตรายให้กับผู้บริโภคได้ถ้าหากมีปริมาณที่สูงและเกินเกณฑ์มาตรฐานกำหนด อีกทั้งยังส่งผลต่อการส่งออกสินค้าทางการเกษตรไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ เมื่อประเทศผู้นำเข้าซึ่งมีระบบตรวจสอบสารพิษตกค้างที่เข้มงวด หากตรวจพบสารพิษตกค้างในปริมาณที่เกินค่ากำหนดสากล ผลผลิตทางการเกษตรต่างๆ ดังกล่าวจึงถูกปฏิเสธการนำเข้าบ่อยครั้ง ทำให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจของประเทศ

emamectin benzoate ใช้ป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ หนอนเจาะลำต้น หนอนเจาะดอก หนอนเจาะผล หนอนเจาะฝัก หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยไฟ การออกฤทธิ์เป็นสารประเภทดูดซึม ออกฤทธิ์แบบกินตาย ถูกตัวตาย และสามารถดูดซึมเข้าไปสู่ใบพืชได้เร็ว ออกฤทธิ์ทันทีหลังจากฉีดพ่นลงบนพืช ทำลายระบบประสาทและการทำงานของกล้ามเนื้อ ทำให้แมลงหยุดกินทันทีที่สัมผัส จึงถูกนำมาใช้กับการกำจัดแมลงในพริก ข้อมูลด้านพิษวิทยาของ emamectin benzoate ที่ละลายใน carboxymethylcellulose มีค่า LD_{50} คือ 53–237 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม bw ในหนู (rat) 2 ตัว มีค่า LD_{50} สำหรับ emamectin benzoate hydrate ที่ละลายใน carboxymethylcellulose คือ 58 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม bw ค่า LD_{50} สำหรับ emamectin hydrochloride ในตัวพาน้ำ คือ 67–88 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม bw ในหนู (rat) 2 ตัว ค่า LD_{50} สำหรับการสัมผัส 500–2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม bw ในหนู (rats) และที่ 4 ชั่วโมงการสูดดมค่า LC_{50} คือ 0.663 mg/L ในหนูตัวเมีย (female rats) และ 1.049 mg/L ในหนูตัวผู้ (male rats) และพบว่ามีการระคายเคืองต่อตาและผิวหนังของกระต่าย(rabbits) และไม่พบว่าแพ้ในการทดสอบในต่อมน้ำเหลืองของหนู (mice) (FAO, 2005)

emamectin benzoate (MK-0244) ชื่อสามัญคือ 4"-deoxy-4"-epi-methylaminoaver mectin B1 (MAB1) โดยเป็นสารผสมของ 4"-deoxy-4"-epi-methylamino-avermectin B1a benzoate (MAB1a หรือ emamectin B1a benzoate) และ 4"-deoxy-4"-epi-methylamino-avermectin B1b benzoate (MAB1b หรือ emamectin B1b benzoate) โดย avermectins ใน emamectin benzoate มีสัดส่วนของสาร MAB1a:MAB1b=90:10 (w/w) ซึ่งต่างกันตรงที่หมู่ methylene ที่ C26 alkyl substituent: $–CH_2CH_3$ สำหรับMAB1a และ $-CH_3$ สำหรับ MAB1b. (FAO, 2005) ดังภาพที่ 1.



$R = CH_2CH_3$ for emamectin B1a benzoate; $R = CH_3$ for emamectin B1b benzoate

Metabolites referred to in the appraisal by codes:

ภาพที่ 1. Structure formula of emamectin benzoate.

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในพริก เป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในพืช (MRLs) จากการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้อง และปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex ข้อมูลที่ได้จะนำไปใช้พิจารณากำหนดค่ามาตรฐานอ้างอิงด้านสารพิษตกค้างของประเทศ เพื่อใช้ในการต่อรองและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายสินค้าเกษตรกรระหว่างประเทศสำหรับการส่งออก เพื่อความเป็นธรรมของแต่ละประเทศ โดยที่กรมวิชาการเกษตรได้ทำการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในพริก เพื่อนำไปเสนอพิจารณาค่า Thai-MRL, Asian MRL และ Codex MRL ต่อไป

วิธีดำเนินการ

1. เครื่องมือและอุปกรณ์
   - 1.1 เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (Motorized Knapsack sprayer) รุ่น MS0735W ยี่ห้อ MARUYAMA ขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร
   - 1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง เช่น เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger) และกระดาษวัดค่า ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ
   - 1.3 หลอดทดลอง (screw-capped polypropylene centrifuge tubes) ขนาด 50 มิลลิลิตร
   - 1.4 หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge tubes) ขนาด 15 มิลลิลิตร
   - 1.5 ขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
   - 1.6 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 2-20, 10-100, 20-200, 100-1,000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร
   - 1.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง
   - 1.8 เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor)
   - 1.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 50 มิลลิลิตร
   - 1.10 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder
   - 1.11 เข็มที่มีกระดาษกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร
   - 1.12 เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography Mass Spectrometer (LC-MS/MS) LC รุ่น Agilent G6460A Series triple quardupole
2. สารเคมี
   - 2.1 สารมาตรฐานของ emamectin benzoate 96.49% จากบริษัทผู้ผลิต Dr. Ehrenstorfer
   - 2.2 วัตถุอันตรายทางการเกษตรใช้ในแปลงทดลอง คือ emamectin benzoate 1.92% W/V EC ของบริษัท ทีแอนด์เอ็นเคมีเกษตร
   - 2.3 Acetonitrile (CH_3CN) ชนิด LC-MS grade
   - 2.4 Formic acid (CH_2O_2) ชนิด analytical grade
   - 2.5 Anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$) เผาที่ 500 ^{O}C นาน 5 ชั่วโมง
   - 2.6 Sodium citrate tribasic dyhydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) ชนิด analytical grade
   - 2.7 Disodium hydrogen citrate sesquehydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$) ชนิด analytical grade
   - 2.8 Sodium chloride (NaCl) ชนิด analytical grade
   - 2.9 Ammonium formate ชนิด analytical grade
   - 2.10 PSA ชนิด analytical grade
   - 2.11 น้ำกลั่น (distilled water)
   - 2.12 C18 ชนิด analytical grade

วิธีการ

1. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

1.1 การเตรียมตัวอย่างพริก

ตัวอย่างพริกที่นำมาทดลอง หั่นและบดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว เป็นเนื้อเดียวกันโดย food processer และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20±5ºC เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้างในตัวอย่าง ก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

1.2 การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

สกัดตัวอย่างพริกด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) สุ่มชั่งตัวอย่างพริก 10 กรัมใส่หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดด้วย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที เติม $MgSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ 1 กรัม และ $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$ 0.5 กรัม แล้วเขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นดูดสารละลาย 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี $MgSO_4$ จำนวน 750 มิลลิกรัม PSA จำนวน 125 มิลลิกรัม และ C18 จำนวน 50 มิลลิกรัม เขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป Centrifuge ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วกรองสารละลายที่ได้จากนั้นกรองตัวอย่างผ่าน PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

1.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate โดยมีสภาวะของเครื่อง LC-MS/MS ดังแสดงใน ตารางที่ 1 ตารางที่ 2 และตารางที่ 3

ตารางที่ 1 สภาวะของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ emamectin Benzoate ในตัวอย่างพริก

LC Parameter	Condition
Injection Volume (µL)	5
Column type	Kinetex 2.6 um XB-C18, 100A, 100x2.1 mm
Column Temperature (°C)	40
Mobile phase A	0.01% formic acid in 5 mM ammonium formate in water
Mobile phase B	Acetonitrile
Mobile phase flow (mL/min)	0.3
Total run time (min)	12.0
QQQ Source Parameter	**Value (+)**
Drying Gas (°C)	120
HSID Temperature (°C)	200
Nebulizer gas1	350
ElectroSpray V1Pos	5000
Source 1 Temperature (°C)	340

ตารางที่ 2 พารามิเตอร์ของ MS/MS: Multi Reaction Monitorting (MRM)

Compound name	Precursor ion	Product ion	Dwell	Fragmentor	Collision Energy	Cell Accelerator Voltage
emamectin B1a	886.5	158	100	150	40	7
emamectin B1a	886.5	302	100	180	27	7
emamectin B1b	872.5	158	100	180	40	7
emamectin B1b	872.5	302	100	180	27	7

ตารางที่ 3 แสดงระยะเวลาและอัตราที่ใช้ของ mobile phase

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0.0	80	20
8.0	10	90
10.0	80	20
12.0	80	20

1.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน primary มาละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์และนำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่เหมาะสมต่อไป โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1.4.1.การเตรียม stock standard solution โดยชั่งสารมาตรฐาน emamectin benzoate ให้ได้น้ำหนักประมาณ 10 mg ใน volumetric flask ขนาด 10 ml และนำค่า %purity มาคำนวณกลับเป็นน้ำหนักสารที่แท้จริง ให้มีความเข้มข้นของสารมาตรฐานประมาณ 1,000 µg/ml โดยใช้ acetonitrile (HPLC grade) เป็นตัวทำละลายในการเตรียม stock standard solution ของสารละลายมาตรฐานสามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (µg/ml)} = \frac{\text{น้ำหนักที่ชั่ง (mg)} \times \text{ความบริสุทธิ์ของสาร (\%)} \times 10^3}{\text{ปริมาตรที่เตรียม (ml)} \times 100}$$

1.4.2 การเตรียม intermediate standard solution เจือจางสารละลายจาก stock standard solution ในตัวทำละลาย acetonitrile ให้มีความเข้มข้น 100 µg/ml และ 10 µg/ml ใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดยที่ N_1 = ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (µg/ml)

N_2 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม (µg/ml)

V_1 = ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องดูดมา (ml)

V_2 = ปริมาตรของสารที่ต้องการเตรียม (ml)

1.4.3 การเตรียม working standard solution ที่ความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลาย acetonitrile หรือในสารละลายตัวอย่าง blank ของพริก ที่สกัดด้วยวิธี EN QuEChERS (EN15662: 2008) ในการเตรียมใช้สูตรการคำนวณเช่นเดียวกับข้อ 1.4.2

1.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate ในพริก

เมื่อได้วิธีการสกัดตัวอย่างและการตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสม จึงดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตาม parameter ต่างๆ ดังนี้

1.5.1 ช่วงการใช้งาน/ความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ (Working range/linearity)

การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยการ Spike สารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ลงใน ตัวอย่างพริก 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบ 6 ซ้ำ สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662: 2008) สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการสกัดตัวอย่าง (แกน y) และความ เข้มข้นของสาร emamectin benzoate ที่spike (แกน X) โดยค่า coefficient of determination (R^2) ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ($R^2 \geq 0.990$) ซึ่งทุกความเข้มข้นที่ศึกษา มีความแม่น (accuracy) อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ

1.5.2 ความแม่น (accuracy)

1.5.2.1 %Recovery โดยหาเปอร์เซ็นต์ของการตรวจวิเคราะห์กลับคืนของสารพิษตกค้างที่เติมลงในตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นดังกล่าวสามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\%Recovery = (Cf/Ca) \times 100$$

เมื่อ Cf = ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ (มีการ spike)

Ca = ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารที่เติมลงในตัวอย่าง

เกณฑ์การยอมรับของ %recovery ใช้เกณฑ์กำหนดของห้องปฏิบัติการในสหภาพยุโรป (SANCO, 2013) คือ 70-120 ค่าที่วิเคราะห์ได้ทุกๆความเข้มข้นจะต้องผ่านเกณฑ์ดังกล่าว

1.5.2.2 Precision เป็นการวัดความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ โดยนำผลการวิเคราะห์ % recovery มาหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation) หรือ %RSD สามารถคำนวณได้จากสมการ ดังนี้

$$\%\ RSD = \frac{SD \times 100}{C_{mean}}$$

SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้

C_{mean} = ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้

เกณฑ์การยอมรับของ precision คือ มี %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 (SANCO, 2013)

1.5.3 ขีดจำกัดการตรวจวัดของวิธีการสกัด (Limit of detection, LOD)

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้โดยไม่จำเป็นต้องมีปริมาณที่แน่นอน (ไม่จำเป็นต้องมี accuracy) หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ ประเมินค่า LOD เท่ากับ 3SD (Eurachem, 2014) และได้ทำการพิสูจน์ค่า LOD โดยการ Spike สารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ที่ความเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณ ลงในตัวอย่างพริก 6 ซ้ำ

1.5.4 ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจวิเคราะห์หาปริมาณได้โดยมีความแม่น (accuracy) และความเที่ยง (precision) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ศึกษาโดยการ spike สารละลาย มาตรฐาน emamectin benzoate ลงในตัวอย่างพริก ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถพิสูจน์ accuracy และ precision ได้) ทำการทดสอบ 6 ซ้ำ คำนวณ %recovery และ %RSD ค่าที่ได้ต้องอยู่ใน เกณฑ์ที่ยอมรับ และหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ประเมินค่า LOQ เท่ากับ 10SD (Eurachem, 2014)

2. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง emamectin benzoate จากแปลงทดลองพริก

2.1 ทำการสำรวจและเลือกพื้นที่แปลงทดลองพริกจำนวน 3 แปลง แต่ละแปลงห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร ในพื้นที่ภาคกลาง และภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัด นครปฐม สระบุรี และจังหวัดกาญจนบุรี

2.2 แต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงควบคุม (Control plot) เป็น แปลงที่ไม่ได้พ่น emamectin benzoate และแปลงที่พ่น emamectin benzoate 1.92 % W/V EC (treated plot) ในอัตราแนะนำ คือ 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ตามคำแนะนำของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2557)

2.3 ทำการ (calibrate) เครื่องพ่นก่อนการพ่น emamectin benzoate เพื่อหาอัตราการไหล ของเครื่อง (flow rate) คำนวณหาปริมาณน้ำปริมาณ emamectin benzoate ที่ใช้พ่น คำนวณเวลาที่ใช้ในการพ่น (target time) และปรับเวลาการเดินของผู้พ่น เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง

2.4 การพ่นวัตถุอันตราย emamectin benzoate ในแต่ละแปลงทดลอง (treated plot) โดยพ่น emamectin benzoate 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ช่วงเวลาในการพ่น ได้แก่

แปลงทดลองที่ 1 วันที่ 3 กรกฎาคม และ 10 กรกฎาคม 2563

แปลงทดลองที่ 2 วันที่ 16 และ 25 เมษายน 2564

แปลงทดลองที่ 3 วันที่ 9 และ 16 กรกฎาคม 2564

2.5 สุ่มเก็บตัวอย่างพริกจากแปลงควบคุม และแปลงทดลอง ตามมาตรฐานการทำแปลง Supervised residue trials ให้ได้น้ำหนักอย่างน้อย 1 กิโลกรัม โดยสุ่มตัวอย่างแปลงละ 2 ซ้ำ ที่ระยะเวลา 0 (หลังฉีดพ่น 2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 และ 14 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง emamectin benzoate นำตัวอย่างพริกบรรจุส่ถุงพร้อมเขียนป้าย เก็บถุงตัวอย่างในกล่องโฟมที่มีการบรรจุน้ำแข็ง เพื่อรักษาสภาพตัวอย่าง และมีการควบคุมบันทึกอุณหภูมิของตัวอย่างด้วย Temperature Data Logger ตลอดการขนส่งมายัง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยมีช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่าง ดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 วันที่ 10 11 14 16 18 21 และ 25 กรกฎาคม 2563

แปลงทดลองที่ 2 วันที่ 25 26 28 30 เมษายน, และ 2 5 9 พฤษภาคม 2564

แปลงทดลองที่ 3 วันที่ 16 17 19 21 23 26 และ 30 กรกฎาคม 2564

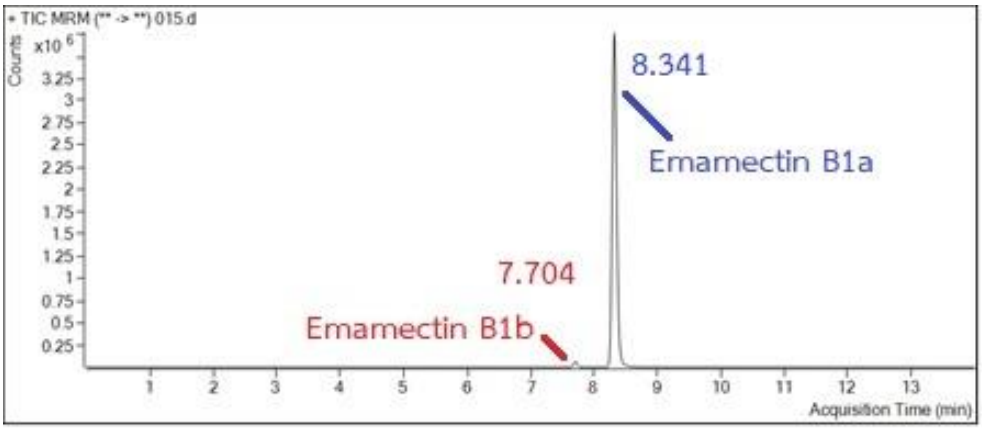
ระยะเวลา ตุลาคม 2562 - กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

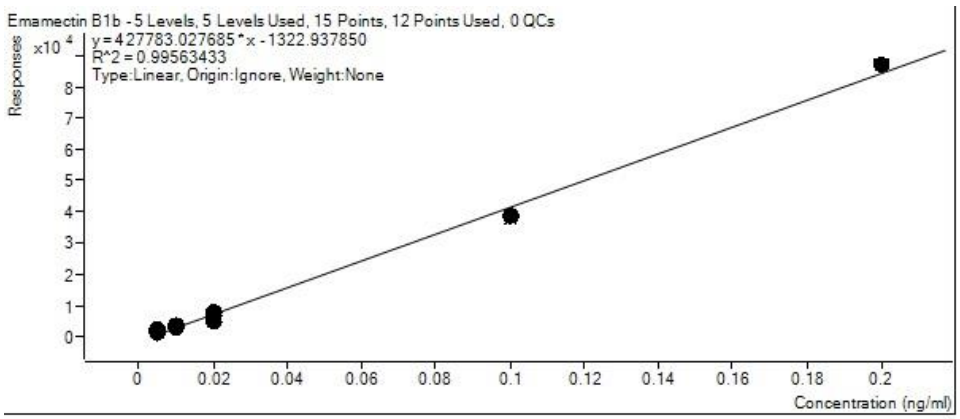
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ในการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยการ เตรียมสารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ในตัวทำละลาย Acetonitrile ที่ความเข้มข้น 0.10 ug/ml พบว่า ภายใต้ สภาวะที่เหมาะสมสาร emamectin benzoate โดยมีเมตาบอไลท์คือ emamectin B1a มีค่า retention time ที่ 7.704 นาที และ emamectin B1b มีค่า retention time 8.341 นาที แสดงลักษณะโครมาโทแกรม ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ลักษณะโครมาโทแกรมของ emamectin benzoate และเมตาบอไลท์ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS



ภาพที่ 3 ความเป็นเส้นตรงของสาร emamectin benzoate ในตัวทำละลาย matrix ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า emamectin benzoate ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ระดับความเข้มข้น 0.005-0.20 ug/ml มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of determination; R^2) = 0.99563

2. การศึกษาประสิทธิภาพการวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ emamectin benzoate ในพริกด้วยวิธี QuEChERS (EN15662: 2008)

การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ emamectin benzoate ในพริก สามารถพิสูจน์ความแม่น (accuracy) ประเมินค่าจาก % recovery โดยการเติมสารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ลงในตัวอย่างพริกให้มีความเข้มข้นในตัวอย่าง 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง) ได้แก่ 0.01, 0.10 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ความเข้มข้น ละ 6 ซ้ำ) การสกัด emamectin benzoate ในพริก ด้วยวิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) โดยการเตรียม Working Standard solution ในสารละลายตัวอย่าง blank ที่สกัดโดยวิธีการเดียวกัน

จากการทดลอง พบว่า ให้ %recovery เฉลี่ย เท่ากับ 76, 86 และ 95 ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.10 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งพบว่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (70-120) ของ SANCO (SANCO, 2013) (ข้อมูลในตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 %recovery ของการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate ลงในตัวอย่างในพริก ที่ระดับความเข้มข้นต่าง

spiked level	%recovery								
mg/kg	1	2	3	4	5	6	average	SD	%RSD
0.01	80	75	74	78	81	72	77	5	6
0.1	92	84	89	84	76	88	86	6	7
0.5	95	99	94	96	92	93	95	2	3

จากผลการทดสอบ LOQ โดยการ spike ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำ 6 ซ้ำหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) LOQ เท่ากับ 10 × SD ได้ค่า LOQ จากการคำนวณที่ระดับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ข้อมูลในตารางที่ 5)

จากข้อมูลตารางที่ 5 เมื่อคำนวณค่า LOD พบว่า emamectin benzoate มี LOD เท่ากับ 0.0011 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำมากจึงทำการพิสูจน์โดยการฉีดแต่เพื่อเพิ่มความมั่นใจในการวิเคราะห์ว่าที่ความเข้มข้นดังกล่าวเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate ได้ ในการทดลองนี้จึงเลือกความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็น LOD (ข้อมูลในตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 LOD และ LOQ ของ emamectin benzoate ในพริกที่สกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662: 2008)

No.of repeat	concentration of emamectin benzoate (mg/kg)
1	0.0080
2	0.0075
3	0.0074
4	0.0078
5	0.0081
6	0.0072
mean	0.0077
SD	0.0004
3SD (LOD)	0.0011
10SD (LOQ)	0.0107

ตารางที่ 6 การพิสูจน์ค่า LOD ที่ความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

No.of repeat	concentration of emamectin benzoate (mg/kg)
1	0.0030
2	0.0038
3	0.0032
4	0.0031
5	0.0032
6	0.0039
mean	0.0034

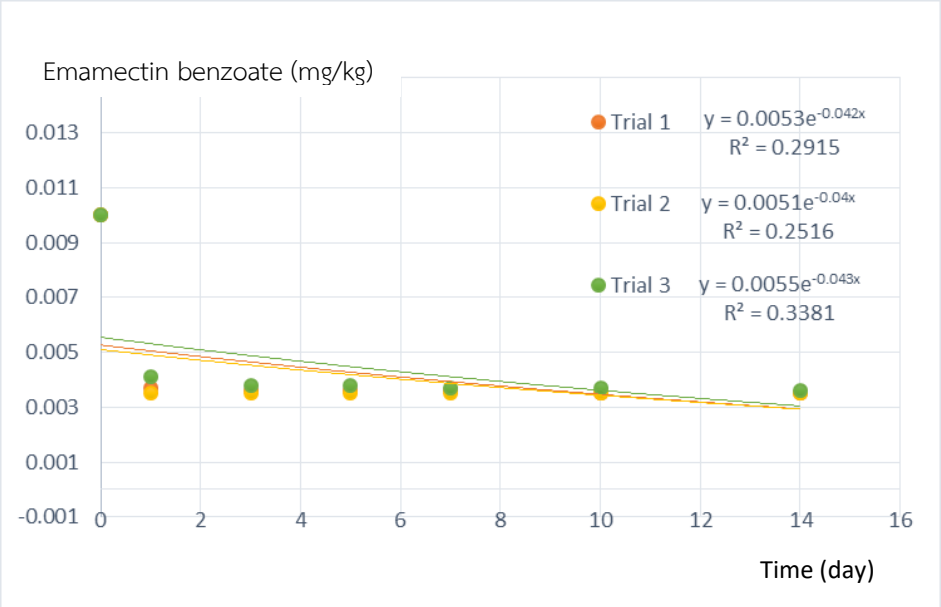
3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างพริกจากแปลงทดลอง

การศึกษาปริมาณสารตกค้าง emamectin benzoate ในพริกพันธุ์จินดาทั้งหมด 3 แปลงทดลอง พบว่าภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ผลการศึกษาตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างจากแปลงควบคุม สำหรับแปลงทดลองที่มีการพ่นสาร emamectin benzoate พบสารตกค้างเฉลี่ย แปลงที่ 1 เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 2 พบ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงที่ 3 พบ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0 วัน และพบว่า ทั้ง 3 แปลง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างตั้งแต่ 1 วัน (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ปริมาณสารตกค้าง emamectin benzoate ในพริก ทั้ง 3 แปลงทดลอง

Time (day)	emamectin benzoate (mg/kg)		
	Trial 1	Trial 2	Trial 3
0	0.01	0.01	0.01
1	ND	ND	ND
3	ND	ND	ND
5	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND
14	ND	ND	ND

<LOD รายงาน ND= not detected (LOD=0.005 mg/kg)



ภาพที่ 4 กราฟแนวโน้มการสลายตัวของ emamectin benzoate ในพริก ทั้ง 3 แปลงทดลอง

จากการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในพริก ทั้ง 3 แปลง พบเส้นแนวโน้มการสลายตัวแบบ exponential คือ มีการลดลงอย่างรวดเร็วในระยะแรกและจะช้าลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ มีการสลายตัวและมีปริมาณลดลง เมื่อทิ้งระยะเก็บตัวอย่างนานขึ้น (ภาพที่ 4) สอดคล้องกับการทดลอง ใน Report JMPR ปี 2005 ผลการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในพืชกลุ่ม Fruiting vegetables, other than Cucurbits ได้แก่ มะเขือเทศและพริกหวาน ในประเทศ อิตาลี ฮังการี และสเปน ได้รายงานการทำแปลงทดลองพบว่า เมื่อทิ้งระยะเก็บเกี่ยวนานขึ้นสารพิษตกค้าง emamectin benzoate มีปริมาณลดลง และมีการกำหนดค่า PHI เท่ากับ 3 วัน (FAO, 2005)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ emamectin benzoate ในตัวอย่างพริก สกัดตัวอย่างโดยใช้วิธี EN QuEChERS (EN 15662, 2008) พบว่าวิธีดังกล่าวให้ %recovery อยู่ในช่วง 72-99 มีค่าร้อยละส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 3-7 โดยมีช่วงการวิเคราะห์ของวิธีทดสอบที่ 0.01-0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า R^2 เท่ากับ 0.99563 มีขีดจำกัดการการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงคุณภาพ (Limit of detection, LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น วิธีการตรวจวิเคราะห์นี้สามารถนำมาสกัดตัวอย่างพริกจากแปลงทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง emamectin benzoate ในพริก ทั้ง 3 แปลง พบว่ามีการลดลงอย่างรวดเร็วในระยะแรกและจะช้าลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีการสลายตัวมากขึ้นเมื่อทิ้ง ระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยวนานขึ้น โดยสารตกค้าง emamectin benzoate สามารถกำหนดค่า PHI สำหรับ emamectin benzoate ในพริกที่ 3 วัน เมื่อนำข้อมูลอ้างอิงกับรายงานผลการประชุมของ JMPR

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อนำข้อมูลเสนอผ่าน สำนักงานมาตรฐานเกษตรและอาหารแห่งชาติ ไปประกอบการพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างสำหรับประเทศไทย, Asean และ Codex MRL
2. เพื่อกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริกที่ปลอดภัย (PHI) ภายหลังการพ่น emamectin benzoate ครั้งสุดท้าย
3. เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาปรับปรุงคำแนะนำการใช้ emamectin benzoate กับพริก

เอกสารอ้างอิง

สถาบันวิจัยพืชสวน. 2020. เทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์พริก. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.doa.go.th/hort/?p=18784 (15 ตุลาคม 2563)

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2557. ศัตรูพริก: กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

EN 15662. 2008. Foods of plant origin- Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partition and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method.

Eurachem. 2014 The Fitness for purpos of Analytical Method : A Laboratory Guide to Method ralidation and Related Topics.

FAO. 2005. Food and Agriculture Organization of the United Nations.List of Pesticides evaluated by JMPR and JMPS. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report11/Emamectin.pdf (27 มกราคม 2565)

FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of Maximum Residue Levels in food and feed. Pesticide Residues. 3rd Edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO Plant Production and Protection Paper. 225, 298 pp.

SANCO. 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Union, Health and Consumer Protection Directorate General.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Residue Trial of Chlorantraniliprole in Chili to Establish Maximum Residue Limit (MRL)

ชนิกัณดา เทสสิริ *วิชุตา ตวรหัตร์* *วาเลนไทน์ เจือสกุล*

Chanikanda Tessiri *Wichuta Kuanhut* *Valentine Juasakul*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Study on the state of chlorantraniliprole residue in Chili. A supervised field trial 1-3 was conducted in Kanchanaburi province and Saraburi province between October 2019 - September 2021. Step 1 for study before the analysis. The method validation of the detection of chlorantraniliprole by using LC-MS/MS. The Linearity concentration range of 0.01-0.45 mg / kg with the correlation coefficient (R^2) of 0.9998 and working range concentration range of 0.01-0.45 mg / kg % recovery 86–105% In this study, the matrix effect was studied concentration range of 0.01-0.45 mg / kg found that % matrix effect 108-118, indicating that the matrix no effect on the analysis of chlorantraniliprole. The accuracy and precision were achieved by 0.01, 0.1, 0.5 mg/kg. In each experiment, 10 repetitions found that %recovery at 0.01 mg/kg was 92-100%, 0.1 mg/kg was 96-102%, and 0.5 mg/kg was 80 - 95 %. According to the Codex standard, the analysis was determined at a concentration range of 0.01 mg/kg, %recovery of 60-120 percent, and precision analysis of the analytical method. Considering the HORRAT value, AOAC acceptance is <2, and Codex, EU is <2 at concentration of 0.01, 0.1, 0.5 mg / kg and HORRAT is 0.13, 0.12, 0.49 which is the standard. Show that the method for analyzing the residue content chlorantraniliprole in chili is reliable. Provides accurate values according to acceptance standards, with an LOQ of 0.01 mg / kg and an LOD of 0.005 mg / kg.

Results of chlorantraniliprole residue analysis in chili found that the comparative plot without spraying Chlorantraniliprole in chili (untreated plot), no pesticide residues were detected, and plot 2 (treat plot) was sprayed with chlorantraniliprole formula 5.17 % W/V SC at the recommended rate for chili 20 ml per 20 liters of water at periods 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 days The results showed that the amount of pesticide residues can persist for more than 21 days.

Keywords : Chili, Chlorantraniliprole, Residue

บทคัดย่อ

การวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limit : MRL) โดยพริกที่ใช้ในการทดลอง คือ พันธุ์พริกจินดา ทำการทดลอง 3 แปลง ดังนี้ แปลงที่ 1 ตำบลหนองลาน อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี แปลงที่ 2 ตำบลนายาว อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และแปลงที่ 3 ตำบลทุ่งทอง อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ด้วยแผนการทดลองแบบ Supervised Trial วิธีการที่ใช้ในการตรวจปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ใช้เทคนิคลิควิดโครมาโท-กราฟฟีแมสสเปกโทรมิเตอร์ (LC-MS/MS) โดยก่อนทำการตรวจวิเคราะห์ ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) พบว่า Linearity ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.45 mg/kg ได้ค่า correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 0.9998 และ Working range ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.45 mg/kg ได้เปอร์เซ็นต์คืนกลับ (%recovery) ช่วง 86–105 เปอร์เซ็นต์ ในการนี้ศึกษาผลกระทบจากเมทริกซ์ (Matrix Effect) มีค่า % Matrix Effect ช่วง 108-118 แสดงว่า Matrix ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณสารคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก และจากการหาค่า ความแม่น (accuracy) และ ความเที่ยง (precision) ช่วงความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.5 mg/kg โดยทำการทดลองแต่ละความเข้มข้นที่ 10 ซ้ำ พบว่า %recovery ที่ความเข้มข้น 0.01 mg/kg เท่ากับ 92-100 ความเข้มข้น 0.1 mg/kg เท่ากับ 96-102 และความเข้มข้น 0.5 mg/kg เท่ากับ 80-95 ทั้งนี้ ตามเกณฑ์มาตรฐาน Codex กำหนดการวิเคราะห์ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01 mg/kg ค่า %Recovery เท่ากับ 60-120 เปอร์เซ็นต์ และการวิเคราะห์ความแม่นยำ (precision) ของวิธีวิเคราะห์ โดยพิจารณาจากค่า HORRAT ซึ่งเกณฑ์การยอมรับ AOAC มีค่า <2 และ Codex, EU มีค่า $\leq$ 2 ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.5 mg/kg มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.13, 0.12, 0.49 ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน แสดงว่า วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก มีความน่าเชื่อถือ ให้ค่าถูกต้อง แม่นยำ ตามมาตรฐานการยอมรับ โดยมีค่า LOQ เท่ากับ 0.01 mg/kg และ LOD เท่ากับ 0.005 mg/kg

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) ในพริก พบว่าแปลงเปรียบเทียบที่ไม่มีการฉีดพ่น Chlorantraniliprole ในพริก ตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง และแปลงที่ 2 ฉีดพ่น Chlorantraniliprole สูตร 5.17 % W/V SC ตามอัตราแนะนำสำหรับพริก 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 , 21 วัน ผลการทดลองพบปริมาณสารพิษตกค้างสามารถตกค้างอยู่ได้นานกว่า 21 วัน

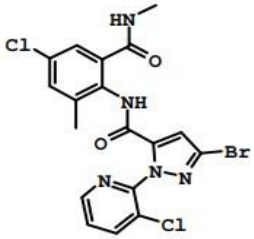
คำหลัก : พริก คลอแรนทรานิลิโพรล สารพิษตกค้าง

คำนำ

พริก เป็นผักบริโภคผลนอกเหนือจากตระกูลแตง (fruiting vegetables other than cucurbits) อยู่กลุ่มเดียวกับ มะเขือเทศ มะเขือ กระเจี๊ยบแดง (มกษ.9045-2016) จำพวกวงศ์ *Solanaceae* สกุล *Capsicum* ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ พริกหวาน และ พริกเผ็ดมาก ในประเทศไทยพันธุ์พริกที่นิยมปลูกได้แก่ พริกชี้ฟ้า พริกจินดา พริกขี้หนูสวน พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกกะเหรี่ยง (วิกิพีเดีย, 2563) แต่ด้วยประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนการปลูกพริกจำเป็นต้องรักษาไม่ให้เกิดโรคและแมลงศัตรูพืชเข้าทำลาย โดยโรคที่พบมากในพริก ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสหรือโรคกุ้งแห้ง และศัตรูพืช เช่น หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย เป็นต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2563) เพื่อป้องกันผลผลิตเสียหายจากโรค และ ศัตรูพืช ซึ่งนับเป็นปัจจัยทำให้เกษตรกรมีการใช้สารพิษซึ่งอัตราการใช้ตามคำแนะนำในฉลาก ระยะเวลาที่ใช้ สารพิษอาจเกิดการตกค้างและเป็นสาเหตุทำให้เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค นอกจากนั้นการส่งออกถ้าตรวจพบมีปริมาณสารพิษตกค้างในพริกเกินค่ามาตรฐานที่แต่ละประเทศกำหนดก็จะทำให้ไม่สามารถส่งออกผลผลิตพริกได้ ดังนั้น เพื่อเป็นการพัฒนาเศรษฐกิจ ผู้บริโภคสามารถบริโภคพริกได้อย่างปลอดภัย เป็นไปตามหลักความปลอดภัยด้านอาหาร (Food safety) ทำให้มีการศึกษาการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย (Good Agricultural Practice) เรียกย่อว่า GAP โดยพิจารณาจากปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ซึ่งประเทศไทยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ได้กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดในพริก อาทิ คาร์บาริล (carbaryl) คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin) เป็นต้น

(สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2553) และมีวัตถุมีพิษจำพวกกำจัด ศัตรูพืชอีกหลายชนิดที่ใช้ประกอบการปลูกพริก ซึ่งคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) เป็นวัตถุมีพิษชนิดหนึ่งที่ใช้กำจัดศัตรูพืช

คลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) เป็นสารเคมีกลุ่มหลักและกลไกการเข้าทำลายกลุ่มที่ 28 กลุ่ม Diamides ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทและกล้ามเนื้อ รบกวนการทำงานตัวรับไรยาโนดิน (ryanodine receptor modulators) มีประสิทธิภาพกำจัดศัตรูพืชประเภท หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย มีความเป็นพิษ LD_{50} acute oral ของหนูตะเภา >5,000 mg/kg bw (JMPR 2008, น.127) และปริมาณที่บริโภคได้ต่อวัน (Acceptable Daily Intake : ADI) 0-2 มิลลิกรัมของสารต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว (CODEX MRL, 2563) ทั้งนี้ CODEX ให้นิยาม chlorantraniliprole หมายถึง ปริมาณ สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ของพืช โครงสร้างของสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ 3-bromo-N-[4-chloro-2-methyl-6-[(methylamino)carbonyl]phenyl]-1-(3-chloro-2-pyridinyl)-1H-pyrazole -5-carboxamide ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 สูตรโครงสรางของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole)

วิธีดำเนินการ

วิธีดำเนินการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1. เตรียมสารเคมีและอุปกรณ์

ขั้นตอนที่ 2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) สารพิษตกค้างคลอแรน-ทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก

ขั้นตอนที่ 3. การทำแปลงทดลอง คลอแรนทรานิลิโพรล ในพริก

ขั้นตอนที่ 4. การศึกษาความคงตัว (stability) ของคลอแรนทรานิลิโพรลในตัวอย่างพริก

ขั้นตอนที่ 5. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1. เตรียมสารเคมีและอุปกรณ์

1.1 สารเคมี

1.1.1 สารมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ความบริสุทธิ์ 97.8%

1) ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช คลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) สูตร 5.17% W/V SC ผ่านการทดสอบเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เท่ากับ 5.19% W/V

1.1.3 Acetonitrile (CH_3CN) ชนิด HPLC grade

1.1.4 Magnesium sulfate ($MgSO_4$)

1.1.5 Sodium chloride (NaCl)

1.1.6 tri-Sodium citrate dihydrate ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$)

1.1.7 Sodium hydrogen citrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7.1.5H_2O$)

1.1.8 Graphitized carbon black (GCB)

1.1.9 Primary-secondary- amine (PSA)

1.1.10 น้ำ Milli-Q

1.1.11 ตัวอย่างพริก จากแปลงการทดลองฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช คลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) แปลงทดลองที่ 1, 2 และ 3

1.2 อุปกรณ์

1.2.1 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ ได้แก่ ขวดปรับปริมาตร, บีกเกอร์, กระบอกตวง, แท่งแก้ว

1.2.2 ขวดใส่สารตัวอย่าง (Vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร

1.2.3 Auto pipette ที่ผ่านการสอบเทียบ ขนาด 100, 200, 1000 ไมโครลิตร

1.2.4 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง

1.2.5 ไซริงค์ฟิลเตอร์ PTFE ขนาด 0.2 ไมครอน

1.2.6 เครื่องมือ ได้แก่ เครื่อง Centrifuge, vortex mixture

1.2.7 เครื่อง Liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC-MS/MS)

ขั้นตอนที่ 2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) สารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก

2.1 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Method Validation)

2) Linearity/ Working range

ตรวจวิเคราะห์ Linearity หาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของผลการตรวจวิเคราะห์ spiked sample (แกน y) กับความเข้มข้นของตัวอย่าง (แกน x) ที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (Eurachem, 2562) โดยเตรียม spiked/fortified sample 7 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.25, 0.30, 0.45 mg/L พิจารณาค่า correlation coefficient (r) $\geq$ 0.990 (Codex,2001)

ตรวจวิเคราะห์ Linearity/ Working range ในช่วงความเข้มข้นต่ำสุดถึงช่วงสูงสุด โดยเตรียม spiked/fortified sample 7 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.25, 0.30, 0.45 mg/L พิจารณาร้อยละการคืนกลับ (% recovery) ดังนี้ (Codex, 2001)

Concentration	%recovery
> 1 ug/kg $\leq$ 0.01 mg/kg	60 – 120
> 0.01 mg/kg $\leq$ 0.1 mg/kg	70 – 120
> 0.1 mg/kg $\leq$ 1 mg/kg	70 – 110

3) วิเคราะห์ผลกระทบจากเมทริกซ์ (Matrix Effect)

ตรวจวิเคราะห์โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) โดยใช้ Acetonitrile (ACN) ปรับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานให้ได้ความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.2, 0.3, 0.5 mg/L (solvent standards) เทียบกับการเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลใช้ matrix solution จากพริกที่ไม่มีสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชคลอแรนทรานิลิโพรล เป็นสารละลายปรับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน (matrix-matched standards) ให้ได้ความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.2, 0.3, 0.5 mg/L โดยผลที่ได้มาคำนวณร้อยละของผลกระทบจากแมทริกซ์ และ เปรียบเทียบ response ของ solvent standards กับ matrix-matched standards ดังนี้ (SANTE/11813.2017)

$$\% \text{ Matrix Effect} = [\ C_{ma} \times 100\ ] / C_{ac}$$

เมื่อ C_{ma} หมายถึง สารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลในสารละลาย Matrix

C_{ac} หมายถึง สารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลในสาร Acetonitrile

4) หาความแม่น (accuracy) และ ความเที่ยง (precision)

ตรวจวิเคราะห์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยเตรียม Sample Blank , Reagent blank และเตรียม spiked/ fortified sample 3 ความเข้มข้น สูง กลาง ต่ำ ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ร้อยละการคืนกลับ (% recovery) ของสารพิษตกค้างที่เติมลงในตัวอย่าง ตามวิธีคำนวณดังนี้

$$\% \text{ recovery} = [C_c \times 100] / C_{spiked}$$

เมื่อ C_c หมายถึง ค่าความเข้มข้นของคลอแรนทรานิลิโพรลที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ (mg/kg)

C_{spiked} หมายถึง ค่าความเข้มข้นคลอแรนทรานิลิโพรลทีเติมลงในตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์ (mg/L)

ตรวจวิเคราะห์ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน(CV) หรือ ร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) และรายงานความเที่ยง โดยพิจารณาจากค่า HORRAT ซึ่งเกณฑ์การยอมรับมีค่า <2 (AOAC,2002) และ Codex, EU มีค่า ≤ 2 ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากการคำนวณ Predicted Horwitz RSD เทียบกับ %RSD ดังนี้

$$\text{HORRAT} = \%\text{RSD} / \text{Predicted Horwitz RSD}$$

$$\% \text{ RSD} = [\text{SD} \times 100] / C_{av}$$

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

เมื่อ SD หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard diviation)

C_{av} หมายถึง ค่าความเข้มข้นคลอแรนทรานิลิโพรลเฉลี่ย (mg/kg)

C หมายถึง ผลสัดส่วนความเข้มข้นของคลอแรนทรานิลิโพรลเฉลี่ย (mg/kg)

4) วิเคราะห์ Limit of Quantitation (LOQ)

การตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีทดสอบสารพิษตกค้าง หรือ ค่า LOQ เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างที่ให้ความถูกต้อง และ แม่นยำ ผลการทดลองอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้น 0.01 mg/kg 10 ซ้ำ และนำผลมาคำนวณหาค่า LOQ (LOQ = 10SD)

5) วิเคราะห์ Limit of Detection (LOD)

ความเข้มข้นต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์ หรือ ค่า LOD เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สามารถจะตรวจวิเคราะห์ได้ โดยไม่ต้องพิสูจน์ค่าความถูกต้อง และ แม่นยำ โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้น 0.01 mg/kg 10 ซ้ำ และนำผลมาคำนวณหาค่า LOD (LOD = 3SD)

6) วิเคราะห์ความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity)

การวิเคราะห์ความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity) ทำโดยการวิเคราะห์ matrix blank เทียบกับโครมาโทรแกรมของสารมาตรฐาน (matrixmatched standards) ต้องมีพีคแยกออกชัดเจน โดยไม่มีพีคอื่นมารบกวนการวิเคราะห์ ที่ retention time (RT) เดียวกัน ถ้า response ของ matrix blank น้อยมากเมื่อเทียบกับ response ของ matrixmatched standards แสดงว่าไม่มีการรบกวนจากสารอื่นในตัวอย่าง (SANTE/11813.2017)

2.2 วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole

1) การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม ในการใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟฟีแมสสเปกโทรมิเตอร์ (LC-MS/MS) โดยใช้คอลัมน์ Kinetex XB-C18 ณ สภาวะอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาชะสารออกจาก

คอลัมน์ 9 นาที ด้วยระบบการแยกสารแบบ gradient elution โดยใช้ Mobile phase A คือ 5 mM ammonium format in water ผสมกับ 0.01% formic acid และ Mobile phase B คือ Acetonitrile (LCMS grade) การทดสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ (method validation) สำหรับการวิเคราะห์คลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก ดังนี้ สภาวะการทำงานของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง Chlorantraliniprole ในพริก มีดังนี้

สภาวะเครื่องส่วน LC

Column Kinetex XB-C18 2.6 µm [Particle size] 100 Å [Pore size]
100 mm [Length] 2.1 mm [Internal diameter]

Flow rate 0.3 ml/min โดย Injection volume 2.00 µl

Mobile Phase A คือ 5 mM Ammonium formate [$(NH_4)HCO_2$: 0.01% Formic acid (CH_2O_2) in water
B คือ Methanol : ACN [1:1]

อัตราส่วน Mobile Phase [A : B] [(EC) No.1107/2009 และ CIPAC No.794]

เวลา	สารละลาย A (%)	สารละลาย B (%)
0.0	85	15
3.0	56	44
5.0	5	95
7.0	5	95
8.0	85	15
9.0	85	15
10.0 Stop Time	Post Time 2 minutes	

สภาวะเครื่องส่วน MS [QQQ Mass Spectrometer]

Precursor ion	Product ion	Dwell time	Fragmentor[v]	Collision[v]
484	453	90	135	20
484	286	90	135	20
484	177	90	135	50

Source Parameters

Gas Temperature	350°	C
Gas Flow	10	L/min
Nebulizer	45	psi
Capillary	3500	V
Ionization mode	ESI	
Polarity mode	Positive	
Column temperature Set	40° C	

2) การสกัดสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล ในตัวอย่างพริก

วิธีการตรวจสอบสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก โดยวิธีการวิเคราะห์จากวิธี QuEChERS (QuEChERS EN 15662, 2008) ด้วยวิธีวิเคราะห์ต่อไปนี้

ชั่งตัวอย่างพริก 10 g ใส่ใน Centrifuge tube ขนาด 50 ml

↓ เติม 10 ml Acetonitrile

เขย่า เป็นเวลา 1 นาที

↓

เติม $MgSO_4$ 4 g + NaCl 1 g + $C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$ 1 g + $C_6H_6Na_2O_7.1.5H_2O$ 0.5 g

↓ เขย่า เป็นเวลา 1 นาที

นำไป Centrifuge ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

↓

ปิเปตสารละลายส่วนใส 6 ml ใส่ใน Centrifuge tube ขนาด 15 ml

↓

เติม $MgSO_4$ 885 mg + PSA 150 mg + GCB 15 mg

↓ Vortex mixer เป็นเวลานาน 1 นาที

นำไป Centrifuge ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที (ต่อ)

↓

กรองสารละลายด้วย ไซริงค์ฟิลเตอร์ PTFE ขนาด 0.2 ไมครอน

↓

นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ใส่ autosample vial ตัวอย่างละ 1 ml

↓

วิเคราะห์ Chlorantraniliprole ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ขั้นตอนที่ 3. การทำแปลงทดลอง คลอแรนทรานิลิโพรล ในพริก

1) วางแผนการทดลอง

การวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของโพรคลอราซในพริก วางแผนการทดลองแบบ Supervised Residue Trial ดังนี้

1.1 การทำแปลงทดลองพ่นวัตถุมีพิษคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก

1.1.1 คัดเลือกสถานที่ ที่จะทำแปลงพริกทดลอง โดยต้นพริกต้องโตอยู่ในช่วงที่สามารถเก็บผลผลิตมาทำการวิเคราะห์ได้

1.1.2 สอบถามข้อมูลจากเจ้าของแปลง เพราะแปลงที่จะทำการทดลองต้องไม่มีการใช้วัตถุมีพิษคลอแรนทรานิลิโพรล

1.1.3 กำหนดขอบเขตพื้นที่ทำการทดลองในแต่ละครั้ง แบ่งแปลง เป็น 2 การส่วน คือ แปลงการทดลองที่ 1 แปลงที่ไม่มีการพ่นวัตถุมีพิษคลอแรนทรานิลิโพรล กำหนดเป็นแปลงเปรียบเทียบ หรือ แปลงควบคุม (Control) ส่วนแปลงการทดลองที่ 2 แปลงที่มีการพ่นวัตถุมีพิษคลอแรนทรานิลิโพรล ตามคำแนะนำบนฉลากทางการค้า โดยใช้คลอแรนทรานิลิโพรล 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

2) เตรียมการทดลอง

2.1 การทดลองทำที่ 3 แปลง ดังนี้ แปลงที่ 1 ตำบลหนองลาน อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี แปลงที่ 2 ตำบลนายาว อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และแปลงที่ 3 ตำบลทุ่งทอง อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

2.2 คำนวณปริมาณวัตถุมีพิษคลอแรนทรานิลิโพรล ต่อ ความเข้มข้น ต่อ พื้น และกำหนดวันทดลองพ่นคลอแรนทรานิลิโพรลในแปลงทดลองที่ 2 โดยทำการพ่น 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน หลังการพ่นโพรคลอราซจะเริ่มระยะเวลาเก็บพริกที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 14 และ 21 วัน ภายหลังจากการฉีดพ่นโพรคลอราซครั้งสุดท้ายทิ้งระยะเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง และทำการเก็บผลผลิตนับระยะเวลา คือ 0 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหนึ่งตัวอย่าง 2 กิโลกรัม ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ซึ่งพริกในการทำการวิจัย เป็นพริกขี้หนูพันธุ์พริกจินดา ทำการพ่นวัตถุมีพิษ (treated) คลอแรนทรานิลิโพรล สูตร 5.17 % W/V SC

ขั้นตอนที่ 4. การศึกษาความคงตัว (stability) ของคลอแรนทรานิลิโพรลในตัวอย่างพริก

การศึกษาความคงตัวของคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก โดยนำพริกตัวอย่าง fortified สารมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลที่ความเข้มข้น 0.10 mg/kg หรือที่ความเข้มข้น 10 เท่า ของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้หรือค่า LOQ และเก็บตัวอย่างพริกดังกล่าวแต่ละตัวไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20+5 °C เพื่อทดสอบความคงตัวคลอแรน-ทรานิลิโพรลในพริก ที่ระยะเวลา 0, 7, 45, 60 และ 360 วัน ด้วยวิธีการที่ใช้ในการทดสอบตัวอย่างจากแปลงทดลองโดยตัวอย่าง stability จะทำการวิเคราะห์เทียบกับ concurrent recovery ที่ทำการสกัดในสภาวะการทดลองเดียวกันวันเดียวกัน เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 – สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ขั้นตอนที่ 5. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

5.1.1 Linearity / Working range

ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.45 mg/kg ได้ค่า correlation coefficient (R^2) = 0.9998 โดยค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับซึ่งเกณฑ์มาตรฐาน Codex $R^2 \geq 0.995$ และ recovery เท่ากับ 85-102 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์หา Linearity ของ คลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole)

fortified sample Concentration (mg/kg)	ผลการวิเคราะห์ Concentration (mg/kg)	% Recovery
0.010	0.0102	102.0
0.020	0.0199	99.5
0.030	0.0262	87.3
0.050	0.0426	85.2
0.250	0.2496	99.8
0.300	0.2969	99.0
0.450	0.4256	94.6

ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.45 mg/kg อย่างละ 3 ซ้ำ ได้ค่า correlation coefficient (r) = 0.9998 และ % recovery เท่ากับ 86– 105 ซึ่งค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับตามเกณฑ์มาตรฐาน Codex $r \geq 0.990$ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์หา Working range ของ คลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole)

Concentration (mg/kg)	Treated No.			Average	% Recovery เฉลี่ย Average	SD	%RSD
	1	2	3				
0.01	0.0102	0.0106	0.0107	0.0105	105	0.0003	2.52
0.02	0.0199	0.0191	0.0182	0.0191	95	0.0009	4.46
0.03	0.0262	0.0254	0.0258	0.0258	86	0.0004	1.55
0.05	0.0426	0.0446	0.0439	0.0437	87	0.0010	2.32
0.25	0.2496	0.2582	0.2539	0.2539	102	0.0043	1.69
0.30	0.2969	0.2802	0.2784	0.2852	95	0.0102	3.58
0.45	0.4256	0.4573	0.4460	0.4430	98	0.0161	3.63

5.1.2 ผลกระทบจากเมทริกซ์ (Matrix Effect) ของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก (ตารางที่ 3) โดยการคำนวณร้อยละของผลกระทบจากแมทริกซ์ ระหว่าง standards in matrix และ standards in Acetonitrile และเปรียบเทียบ response ของ solvent standards กับ matrix-matched standards ภาพที่ 2

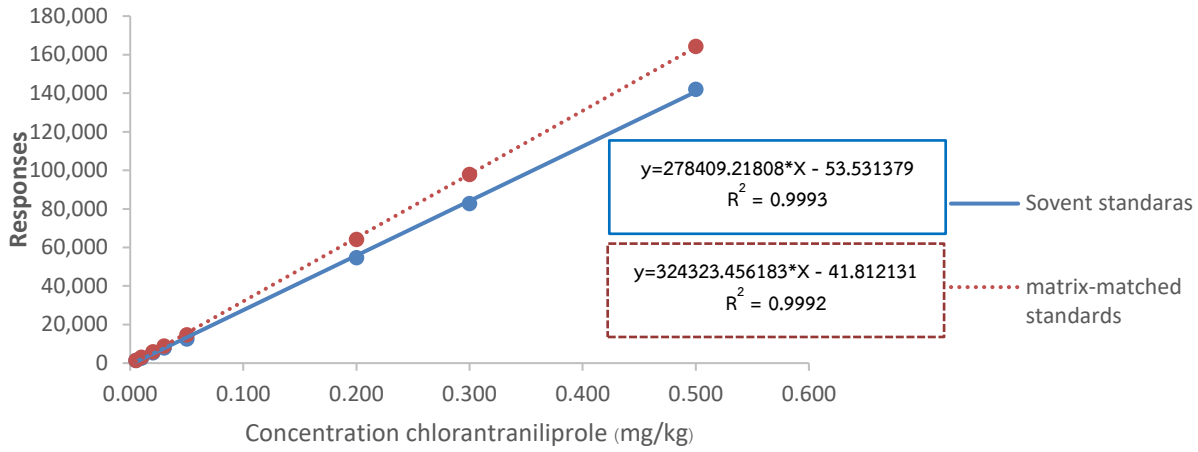
$$\% \text{ Matrix Effect} = [\, C_{ma} \times 100 \,] / C_{ac}$$

เมื่อ C_{ma} หมายถึง response สารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลในสารละลาย Matrix

C_{ac} หมายถึง response สารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลในสาร Acetonitrile

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ผลกระทบจากเมทริกซ์ (Matrix Effect) ของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในพริก

Concentration (mg/L)	solvent standards	matrix-matched standards	% Matrix Effect	% Different response
0.005	1,348	1,457	108	8
0.010	2,625	3,034	116	16
0.020	5,368	5,931	110	10
0.030	7,845	8,803	112	12
0.050	12,432	14,686	118	18
0.200	54,678	64,154	117	17
0.300	82,773	97,907	118	18
0.500	142,051	164,230	116	16



<u>ภาพที่ 2</u> แสดงสัญญาณการตรวจวัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในตัวทำละลาย และความสัมพันธ์เชิงเส้น ของ standards in matrix และ standards in Acetonitrile

ผลจากการทำการทดลองทั้ง standards in matrix และ standards in Acetonitrile มี % Matrix Effect ในช่วง 108-118 เกณฑ์ยอมรับคือมี response ของ standards in matrix แตกต่างจาก standards in acetonitrile ไม่เกิน ±20% (SANTE/11813.2017) แสดงว่า Matrix ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณสารคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก

5.1.3 ผลการวิเคราะห์หาความแม่น (accuracy) และ ความเที่ยง (precision)

การวิเคราะห์ accuracy ช่วงความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.5 mg/kg เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน Codex (2001) ซึ่งกำหนดการวิเคราะห์ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.5 mg/kg และจากผลการทดลองพบว่าได้ค่า % recovery ที่ความเข้มข้น 0.01 mg/kg เท่ากับ 92-100 ความเข้มข้น 0.1 mg/kg เท่ากับ 96-102 และความเข้มข้น 0.5 mg/kg เท่ากับ 79-94 อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับ

การวิเคราะห์ความแม่นยำ (precision) ของวิธีวิเคราะห์ โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน(CV) หรือ ร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) และรายงานความเที่ยง โดยพิจารณาจากค่า HORRAT ซึ่งเกณฑ์การยอมรับ มีค่า <2 (AOAC, 2002) และ Codex, EU มีค่า ≤ 2 ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากการคำนวณ Predicted Horwitz RSD เทียบกับ %RSD โดยช่วงความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.5 mg/kg ผล HORRAT เท่ากับ 0.13, 0.12, 0.49 ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน แสดงว่า วิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำ ผลตามตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ accuracy ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.10, 0.50 mg/kg

Concentration (mg/kg)	Accuracy										
	% Recovery										Average
0.01	92	93	100	96	96	95	95	98	99	98	96
0.1	102	102	102	100	99	101	96	101	100	101	100
0.5	85	91	93	80	84	84	81	95	86	90	87

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ precision ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.10, 0.50 mg/kg

Concentration (mg/kg)	Average (mg/kg)	% Recovery	Precision					
			SD	%RSD	C	1-0.5 logC	Predicted Horwiz RSD	HORRAT
0.01	0.0096	92-100	2.57	2.84	9.6×10^{-9}	5.01	21.27	0.13
0.10	0.1005	96-102	1.77	1.77	1.005×10^{-7}	4.50	14.93	0.12
0.50	0.4339	80-95	5.07	5.83	4.339×10^{-7}	4.18	11.96	0.49

5.1.4 ผลการวิเคราะห์ Limit of Quantitation (LOQ)

การทดลองทำ 10 ครั้ง ความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีทดสอบสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล ที่ให้ความถูกต้อง และ แม่นยำ อยู่ในช่วงความสัมพันธ์ความเป็นเส้นตรง ที่ LOQ จากการประเมินค่า เท่ากับ 0.01 mg/kg และ LOD เท่ากับ 0.005 mg/kg

จากผลการทดลองที่ความเข้มข้น 0.01 mg/kg พบว่ามี accuracy และ precision อยู่ในเกณฑ์ยอมรับของ Codex คือ % recovery อยู่ในช่วง 70-120 และ AOAC ยืนยันจากค่า HORRAT <2 จึงกำหนดค่า LOQ เท่ากับ 0.01 mg/kg ส่วน LOD เท่ากับ 0.005 mg/kg

5.1.5 ผลความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity)

ผลจากการวิเคราะห์ความเฉพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity) จากการทดลองพบว่าโครมาโทรแกรมของสารมาตรฐานมีพีคแยกออกชัดเจน โดยไม่มีพีคอื่นมารบกวนการวิเคราะห์ ที่ retention time (RT) ของ matrix blank ซึ่งมี RT 4.550 response 72 และ matrixmatched standards ที่ช่วง 0.01 mg/kg มี RT เท่ากับ 4.550 response 3,034 เมื่อนำค่ามาเทียบกันพบว่า response ของ matrix blank มีน้อยมาก พิจารณาค่าที่ได้แสดงว่าไม่มีการรบกวนจากสารอื่นในตัวอย่าง

5.2 ปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) ในพริก แปลงทดลองที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งแต่ละแปลงการทดลองแบ่งแปลงออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

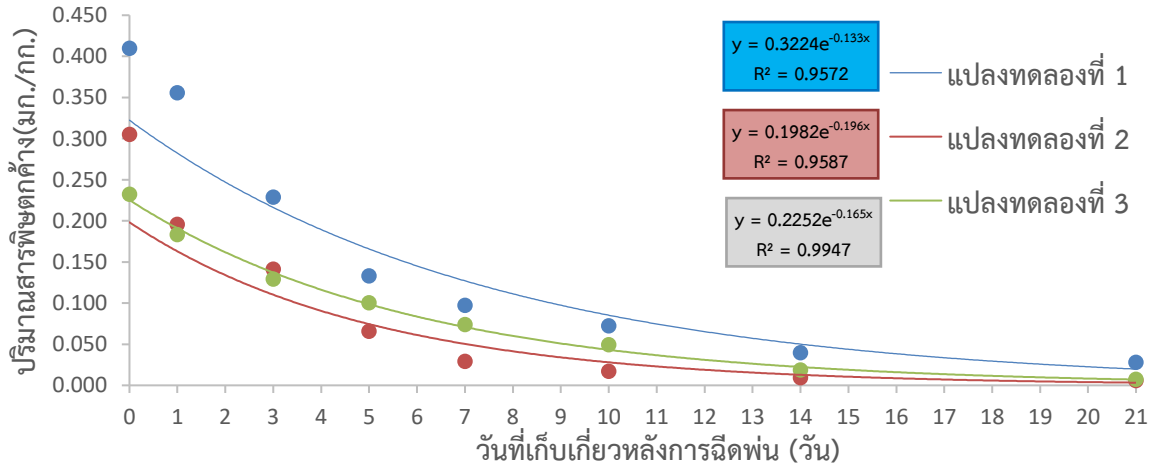
1) แปลง Untreat (แปลงควบคุม) เป็นแปลงเปรียบเทียบที่ไม่มีการฉีดพ่น Chlorantraniliprole ในพริก ซึ่งจากการทดลองแปลงควบคุมนี้ตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าวของคลอแรนทรานิลิโพรล

2) แปลง Treat แปลงฉีดพ่น Chlorantraniliprole สูตร 5.17 % W/V SC ตามอัตราแนะนำสำหรับพริก 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อศึกษาอัตราการสลายตัวของสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ผลการทดลองดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการทดลองศึกษาอัตราการสลายตัวของสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล ของแปลงทดลองที่ 1,2 และ 3 (Chlorantraniliprole) ระหว่างระยะเวลาการได้รับสารพิษคลอแรนทรานิลิโพรล 0 วัน ถึง 21 วัน

วันที่เก็บเกี่ยวหลังการฉีดพ่น (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (มก./กก.)			เฉลี่ย
	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2	แปลงที่ 3	
0	0.410	0.305	0.232	0.316
1	0.356	0.196	0.183	0.245
3	0.229	0.141	0.129	0.167
5	0.133	0.066	0.100	0.100
7	0.097	0.029	0.074	0.067
10	0.072	0.017	0.050	0.046
14	0.040	0.009	0.019	0.023
21	0.028	0.006	0.007	0.014

จากการทดลองเมื่อเทียบระยะเวลาจาก 0 วัน ถึง 21 วัน นำระยะเวลาการฉีดพ่นไปหาความสัมพันธ์กับปริมาณสารพิษตกค้าง พบว่าระยะเวลาที่ 0, 1, 3 , 5 วัน Chlorantraniliprole มีการสลายตัวได้เร็วและจะเริ่มสลายตัวช้าตามลำดับ ดังแสดงภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงอัตราการสลายตัวของคลอแรนทรานิลิโพรลในพริกที่ระยะเวลาการฉัดพ่น 0-21 วัน LOQ คือ 0.01 mg/kg

การทดลองเมื่อนำค่าที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในพริกมาพิจารณาเปรียบเทียบกับค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit : MRL) และช่วงเวลาก่อนการเก็บเกี่ยว(Pre-Harvest Interval:PHI) โดย Codex-MRL (กลุ่ม Fruiting vegetables other than cucurbits) กำหนดเท่ากับ 0.6 mg/kg (http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius) และ PHI จากพืชตัวแทน (มะเขือเทศ) ที่ 1 วัน แต่การประเมินค่า MRL จากข้อมูลการทดลองจะใช้ MRL OECD Maximum Residue Limit Calculator (OECD, 2020)

ส่วนค่า PHI ได้จากกราฟที่ plot ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้างกับวันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย โดยวันที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคต้องมีปริมาณสารพิษตกค้างไม่เกินค่า MRL ซึ่งค่า PHI ต่ำสุดที่กำหนด (default) มีค่า 2 วัน (จินตนา, 2663) และจากการทดลองทั้งสิ้น 3 การทดลอง ได้ค่า Rounded MRL ตาม OECD ที่ 0-21 วัน อยู่ในช่วง 1.0-0.07 mg/kg จึงกำหนด PHI 3 วัน

5.3 ผลการทดลองศึกษาความคงตัว (stability) ของคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก

การศึกษาความคงตัวของคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก โดยพริกตัวอย่างได้ fortified สารมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลที่ความเข้มข้น 0.10 mg/kg หรือที่ความเข้มข้น 10 เท่า ของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้หรือค่า LOQ และเก็บตัวอย่างพริกดังกล่างแต่ละตัวไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20$\pm$5 °C เพื่อทดสอบความคงตัวคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก ที่ระยะเวลา 0, 7, 45, 60 และ 360 วัน ด้วยวิธีการที่ใช้ในการทดสอบตัวอย่างจากแปลงทดลอง โดยตัวอย่าง **stability** จะทำการวิเคราะห์เทียบกับ concurrent recovery ที่ทำการสกัดในสภาวะการทดลองเดียวกัน วันเดียวกัน เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการวิเคราะห์โดยพิจารณาจากค่า %recovery ที่ได้ซึ่งต้องอยู่ในช่วงการยอมรับในช่วงร้อยละ 70-120 (Codex Alimentarius, 1993) ผลการทดลองปรากฏดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงค่าความคงตัวของสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลที่ความเข้มข้น 0.10 mg/kg ในพริก

ระยะเวลา	% concurrent recovery		ปริมาณคลอแรนทรานิลิโพรล (mg/kg)		ค่าเฉลี่ยร้อยละคลอแรนทรานิลิโพรล
(วัน)	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ที่เหลืออยู่ (%recovery)
0	109	115	0.1092	0.1145	112
7	109	115	0.0956	0.0948	95
45	103	104	0.0975	0.0952	96
60	94	88	0.0734	0.0755	74
360	77	78	0.0739	0.0717	73

จากการทดลองค่าความคงตัวคลอแรนทรานิลิโพรลในพริกที่ระยะเวลา 0-360 วัน ที่ %concurrent recovery เท่ากับ 77-115% พบค่าเฉลี่ยการสลายตัวของคลอแรนทรานิลิโพรลในพริกมี %recovery เหลืออยู่ 73-112% แสดงว่ามีอัตราการสลายตัวไม่ถึงร้อยละ 30 เมื่อเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20$\pm$5 °C

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) ซึ่งเป็นสารฆ่าแมลงมีกลไกลการออกฤทธิ์กลุ่มที่ 28 รบกวนการทำงานตัวรับไรยาโนดิน (Ryanodine receptor modulators) กลุ่มย่อยไดเอไมด์ (Diamides) ซึ่งการทำวิจัยนี้ ได้วางแผนทำลองฉีดพ่นสารพิษดังกล่าวในพืชตัวอย่างพริก (chili) ที่อัตราแนะนำการใช้น้ำ 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 วัน ผลการทดลองพบปริมาณสารพิษตกค้างในแปลงทดลองที่ 1 ถึง 3 ปรากฏตามตารางที่ 7 ซึ่งแสดงอัตราการสลายตัวของคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก พบว่าที่ 21 วันยังคงมีปริมาสารพิษตกค้างเหลืออยู่ 0.03, 0.01 และ 0.01 mg/kg ตามลำดับ ทั้งนี้ พบว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในพริก Thai-MRL ยังไม่มีการกำหนดจึงพิจารณาที่ค่าดีฟอลด์ลิมิต ซึ่งคือ 0.01 mg/kg (มกษ. 9002-2559) และ, Codex-MRL พิจารณาจากกลุ่ม Fruiting vegetables other than cucurbits เท่ากับ 0.6 mg/kg และเมื่อพิจารณาของ Japan-MRL ซึ่งยังไม่ได้กำหนดค่า MRL ในพืชตัวอย่างพริกเช่นกัน จึงพิจารณาจากกลุ่มพืชตัวแทน (มะเขือเทศ) เท่ากับ 0.7 mg/kg และ EU-MRL (code number 0231020) เท่ากับ 1.0 mg/kg ดังนั้น การทำวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) จึงสรุปได้ว่า ค่าปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรา-นิลิโพรลในพริก ที่ระยะเวลา 21 วัน ยังคงมีค่าไม่สูงกว่าค่าดีฟอลด์ลิมิต Thai-MRL และ Codex-MRL ส่วนค่าความคงตัวที่อุณหภูมิ -20$\pm$5 °C ที่ 360 วัน ยังคงมีค่าความคงตัวของสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลมากกว่าร้อยละ 70

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การทำวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) ทำให้สามารถคาดการณ์การสลายตัวของคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) ในพริก สามารถเป็นแนวทางในการกำหนดระยะเวลาการเก็บเกี่ยวพริกภายหลังการพ่นคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ครั้งสุดท้ายเป็นระยะปลอดภัยจากสารพิษตกค้าง และใช้แก้ไขปัญหาปริมาณสารพิษตกค้างในพริก ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อประชาชนและผู้บริโภค สอดคล้องกับหลักความปลอดภัยด้านอาหาร (Food safety)

2. เพื่อนำข้อมูลไปประกอบการพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) ในพริก สำหรับประเทศไทย Thai-MRL ซึ่งจะทำให้ประเทศไทยสามารถใช้ประกอบการพิจารณาส่งออกสินค้าไปต่างประเทศ มีเกณฑ์มาตรฐานเป็นค่าในการต่อรองทางการค้าผลผลิตทางการเกษตรของไทยกับนานาประเทศ ด้วยมาตรฐานการผลิตระดับสากล

3. เพื่อนำข้อมูลไปประกอบการพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรล (Chlorantraniliprole) ในพริก สำหรับ Asean-MRL และ Codex-MRL ต่อไป

4. เพื่อนำข้อมูลไปประกอบการพิจารณาศึกษาสารพิษตกค้าง Chlorantraniliprole ในพริก โดยมีกลุ่มเป้าหมาย คือ เกษตรกร นักวิจัย ผู้ที่ต้องการศึกษาสารพิษตกค้าง Chlorantraniliprole ในพริก ทั้งหน่วยงานภาครัฐและเอกชน

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. การป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศตรูพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2563. การป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศตรูพืช อย่างปลอดภัย จากงานวิจัย 2563. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

จินตนา ภู่มงกุฎชัย. 2563. การประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคโดยใช้ข้อมูลการศึกษาการสลายตัวของสารกำจัดศัตรูพืชในผักเพื่อกำหนดค่า Maximun Residue Limit (MRL) และ Pre-harvest Interval (PHI). [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา https://www.doa.go.th/research. (30 เมษายน 2563).

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (มกษ. 9002-2559). สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 39

CIPAC 794. 2015. Chlorantraniliprole CIPAC Assay Method. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://cipac.org (5 กันยายน 2562)

Codex Alimentarius. 2563. Codex Alimentarius Commission Procedure.sohk 230. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/ (5 กันยายน 2562)

Codex Alimentarius commission. 2001. JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.maff.go.jp. (5 กันยายน 2562)

EU Pesticides Database.2020. Chlorantraniliprole [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls (10 กันยายน 2562)

EUROPEAN COMMISSION Regulation (EC) No 1107/2009.2013. “Review report for the active chlorantraniliprole” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://ec.europa.eu. (10 กันยายน 2562)

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. FAO PLANT PRODUCTION AND PROTECTION PAPER 225. หน้า 33

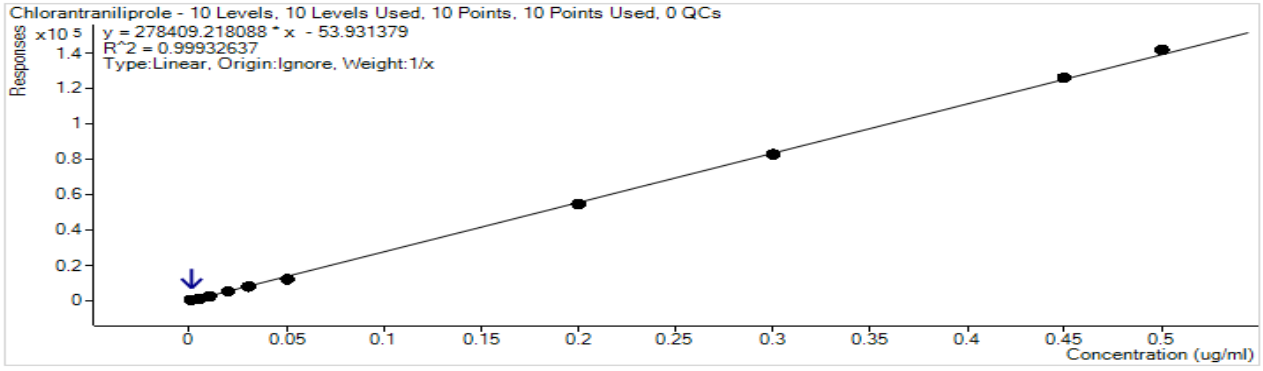
JMPR.2008. Chlorantraniliprole. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report08/Chlorantraniliprole.pdf. (16 กุมภาพันธ์ 2562)

Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committree on Pesticide Residues. April 2015.

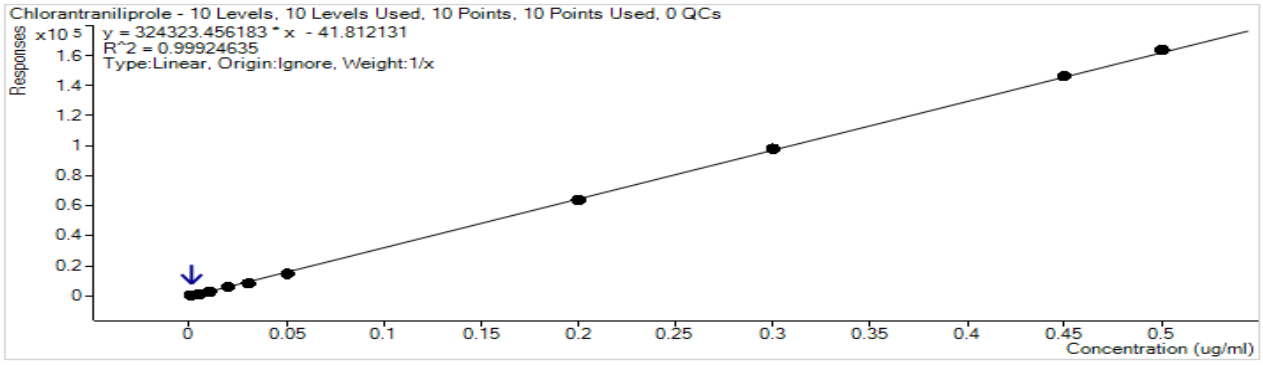
Latimer,G.W. 2002. Official Methodes of Analysis of AOAC International. 20 th Ed. AOAC Internationol Gaithersburg, Margland. USA

QuEChERS EN 15662. 2008. Food of plant Origin-Determination of Pesticide Residue Using GC-MSand/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method.

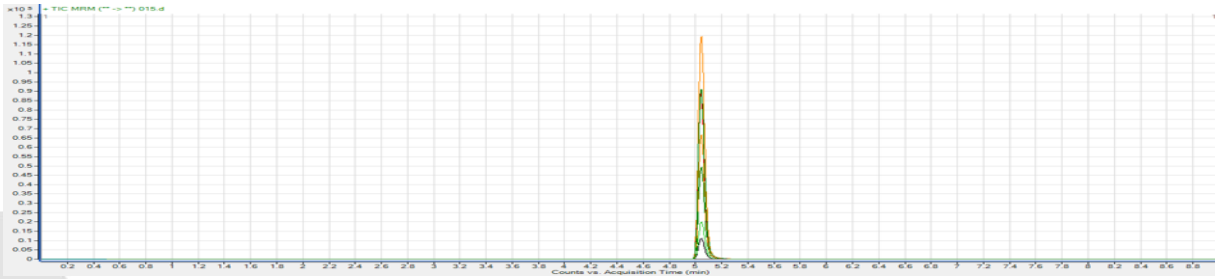
SANTE/11813. 2017. Guidance document on analytical quality control and method validation producedures for pesticide residues and analysis in food and feed.



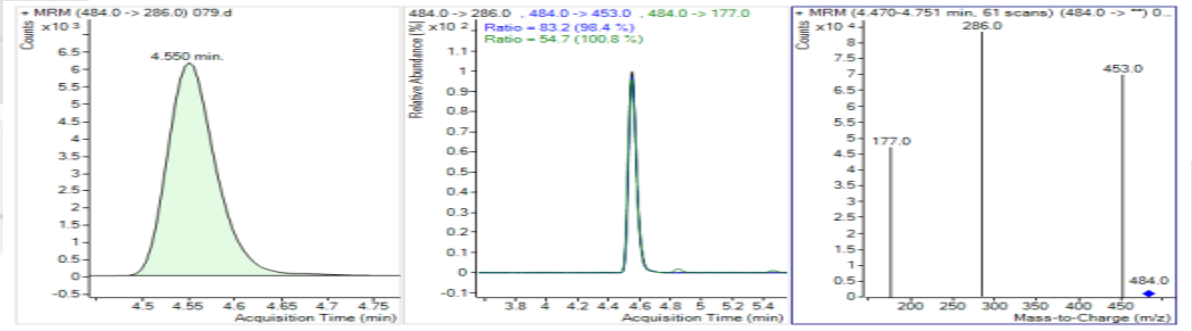
ภาพที่ 4 แสดงสัญญาณการตรวจวัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และ standards in Acetonitrile



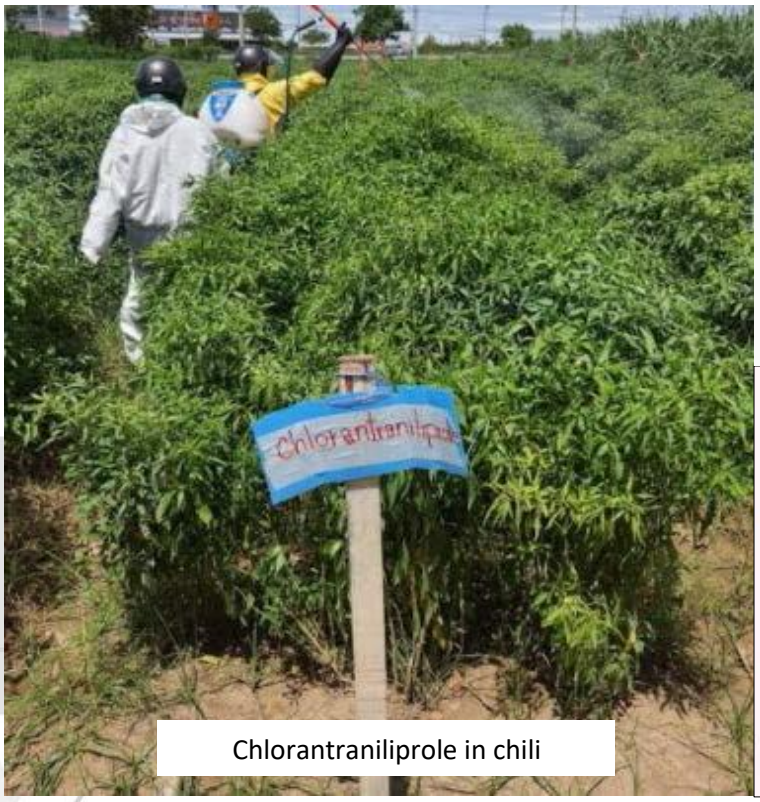
ภาพที่ 5 แสดงสัญญาณการตรวจวัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ standards in matrix



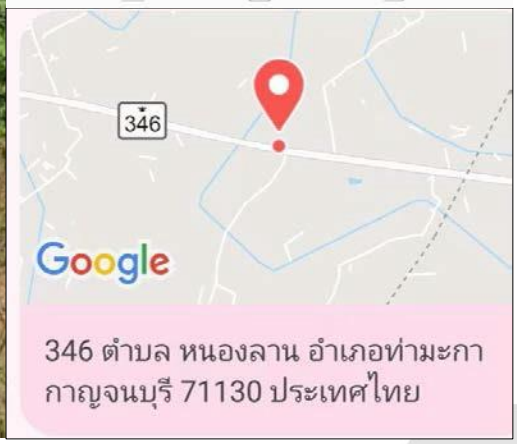
ภาพที่ 6 โครมาโทแกรม ของ Chlorantraniliprole in Matrix Chili



ภาพที่ 7 โครมาโทแกรม ของ Chlorantraniliprole ในตัวอย่างพริก



Chlorantraniliprole in chili



ภาพ 8 แปลงพริกทำการทดลองฉีดพนสารพิษตกค้าง Chlorantraniliprole

.....

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอินดอกซาคาร์บ (indoxacarb) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Residue Trial of Indoxacarb in Chili to Establish Maximum Residue Limit (MRL)

วิทยา บัวศรี *มัลลิกา ทองเขียว* *ภาสินี ไชยชนะ* *ปกป้อง ทะนันชัย*

Wittaya Buasri *Malliga Thongkheaw* *Pasinee Chaichana* *Pokpong Thanachai*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study of indoxacarb residue in chili was conducted in 3 trial field locations; Si Prachan district Suphan Buri province (trial 1) Doem Bang Nang Buat district Suphan Buri province (trial 2) Tha Muang district Kanchana Buri province (trial 3). All of the field trials, each consisted of two plots which were treated and untreated with indoxacarb 15% W/V EC at 30 ml/water 20 L. The formulation was applied 3 times to treated plots at 7- day intervals. Chili fruits were collected to determine indoxacarb residues using the QuEChERS method. The untreated sample was analyzed for indoxacarb residues which were not detected in all cases. The treated samples were collected and determined their indoxacarb residues at 0, 1, 3, 5, 7, 14 and 21 days after the last application. The samples were found to contain maximum residue in 3 trials of 1.16, 1.01, 0.42, 0.20, 0.13, 0.07 and 0.03 mg/kg, respectively. Currently, JMPR has set the codex-MRL value of indoxacarb in peppers to 0.3 mg/kg. EU countries set the EU-MRL value of indoxacarb in sweet peppers/bell peppers at 0.3 mg/kg. In Japan, the MRL value of indoxacarb in pimento (sweet pepper) is 1 mg/kg. For Thailand, the National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards has not set Thai-MRL of indoxacarb in eggplant. Therefore, these experimental results will be useful for the further determination of PHI and MRL values of indoxacrab residues in the chili of Thailand. When comparing the information from MRLs, it is able to indicate that 5 days after the last application is the safety time for harvesting.

Keyword : indoxacarb, Chili and Maximum Residue Limit (MRL)

บทคัดย่อ

การวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอินดอกซาคาร์บ (indoxacarb) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง วางแผนการทดลองแบบ supervised residue trial ตาม Codex Guidelines ทำการทดลอง จำนวน 3 แปลง ต่างพื้นที่กัน แปลงที่ 1 อ.โพธาราม จ.ราชบุรี ในปี 2563 แปลงที่ 2 อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี และแปลงที่ 3 อ.เมือง จ.นครปฐม ในปี 2564 แต่ละแปลงทดลองมี 2 การทดลองย่อย คือ การทดลองย่อยที่ 1 เป็นแปลงควบคุม และแปลงทดลองย่อยที่ 2 เป็นแปลงที่พ่นสารตามคำแนะนำ คือ indoxacarb 15% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ทำการทดลองในพริกหนุ่ม พันธุ์หยกสวรรค์ และพริกจินดา พันธุ์ซูเปอร์ฮอต โดยพ่นสาร indoxacarb 7 วันต่อครั้ง จำนวน 3 ครั้ง โดยก่อนการพ่นสารทำการสอบเทียบอัตราการไหลของเครื่องพ่นให้สม่ำเสมอ ตามระบบ OECD-GLP (Good Laboratory Practice) สุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตจากแปลงทดลองที่ระยะเวลาต่างๆ กันคือ 0 (2 ชั่วโมงหลังการพ่น), 1, 3, 5, 7, 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ indoxacarb ในพริก ด้วยวิธีการ QuEChERS ซึ่งทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการแล้ว ตรวจวัด

โดยใช้เทคนิค LC-MS/MS พบปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดจากการทดลองในแปลงที่ 1 – 3 มีค่าดังนี้ 1.16, 1.01, 0.42, 0.20, 0.13, 0.07 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาต่างๆ ตามลำดับ ส่วนแปลงควบคุม ตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างของการทดลองทั้ง 3 แปลง ปัจจุบันได้มีการกำหนดค่า Codex MRL ของ indoxacarb (peppers) เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Japanese MRL (pimento (sweet pepper)) เท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ EU MRL (sweet peppers/bell peppers) เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดค่า MRL indoxacarb ในพริก ดังนั้น ข้อมูลจากการทดลองที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพิจารณากำหนดค่า PHI และค่า MRL สารพิษตกค้างของ indoxacarb ในพริกสำหรับประเทศไทยต่อไป เมื่อพิจารณาข้อมูลสารพิษตกค้างกับค่า MRLs แล้ว สามารถระบุให้เก็บเกี่ยวผลผลิตได้หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย 5 วัน ถือว่ามีความปลอดภัย

คำสำคัญ : อินดอกซาคาร์บ พริก และ ค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

คำนำ

คณะกรรมการมาตรฐานอาหารสากล โดยองค์การอาหารและเกษตรและองค์การอนามัยโลก (Codex) FAO/WHO เป็นคณะกรรมการที่จัดตั้งขึ้นเพื่อพิจารณากำหนดมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศเพื่อปกป้องคุ้มครองผู้บริโภค และให้เกิดความเป็นธรรมในการค้าระหว่างประเทศ โดยมีประเทศต่างๆ ทั่วโลกเป็นสมาชิกในปัจจุบันทั้งที่เป็นประเทศและองค์กรประเทศทั้งสิ้น 189 ประเทศ ซึ่งประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกตั้งแต่ปี 1963 (Codex Alimentarius, 2022) คณะกรรมการดังกล่าวจะพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในผลผลิต และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (Maximum Residue Limits: MRLs) ซึ่งจะมีการจัดประชุมทุกปีเพื่อพิจารณากำหนดข้อมูลและการยอมรับค่า MRLs ที่ประเทศสมาชิกเสนอ โดยข้อมูลผลการทดลองปริมาณสารพิษตกค้างของประเทศสมาชิกจะต้องทำการศึกษาภายใต้การปฏิบัติการทางการเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP) การกำหนดค่าปริมาณสูงสุด MRLs จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุอันตรายทางการเกษตร และชนิดของพืช โดยการทดลองจะต้องทำซ้ำอย่างน้อย 5-6 ครั้ง ต่างสถานที่หรือต่างฤดูกาล นำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรตามอัตราแนะนำ ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการพ่นครั้งสุดท้าย มาประกอบการพิจารณาร่วมกับข้อมูลศึกษาความเป็นพิษของวัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิดนั้นๆ

อินดอกซาคาร์บ (indoxacrb) จัดเป็นสารฆ่าแมลงในกลุ่ม oxadiazine ชนิดไม่ดูดซึม (non-systemic) น้ำหนักโมเลกุล 527.84 กรัมต่อโมล ค่า ADI 0.006 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน และค่า ARfD 0.125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน ชื่อทางเคมี (ISO common name) indoxacarb ซึ่งจะอยู่ในรูป *S*-enantiomer แต่ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป (technical material) สำหรับใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช อยู่ในรูปสารผสมของ active *S*-isomer (900 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นอย่างน้อย) และ inactive *R*-isomer (10 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นอย่างน้อย) ค่าปริมาณสารพิษตกค้างของ indoxacarb ให้ใช้ผลรวมของ indoxacarb และ *R*-enantiomer สาร indoxacarb ออกฤทธิ์โดยจับกับ sodium channels ของแมลงทำให้ถูกยับยั้งการไหลของ sodium ions เข้าสู่เซลล์ประสาท จนระบบประสาทของแมลงบกพร่องเกิดอัมพาต และตายในที่สุด (European Food Safety Authority, 2012) ข้อมูลจากเอกสารวิชาการเกษตร คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี 2553 แนะนำให้ใช้ indoxacarb สำหรับกำจัดหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ในพริก (chili) ในสูตรความเข้มข้น 15% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ indoxacarb ในพริก จึงเป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในพืช (MRLs) จากการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้อง และปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และเพื่อประโยชน์ในการต่อรองทางด้านสินค้าเกษตรส่งออก โดยที่กรมวิชาการเกษตรได้ทำการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ indoxacarb ในพริก เพื่อนำไปเสนอพิจารณากำหนดค่า PHI ค่า Thai-MRL, Asian MRL และ Codex MRL ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 เครื่องพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (spray equipment) แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack electrical sprayer, Mitsudaiwa รุ่น TP-20)

1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง เช่น เครื่องจับเวลา เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น และเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) ที่สอบเทียบแล้ว

1.3 หลอดทดลอง (screw-capped polypropylene centrifuge tubes) ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.4 หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge tubes) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

1.5 ขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

1.6 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 2-20, 10-100, 20-200, 100-1,000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร ที่สอบเทียบแล้ว

1.7 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารเคมีจากขวด (dispenser) ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่สอบเทียบแล้ว

1.8 เครื่องชั่งไฟฟ้า (electronic balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่งและ 2 ตำแหน่ง ที่สอบเทียบแล้ว

1.9 เครื่องบดตัวอย่าง (food processor)

1.10 ตู้อบ (hot air oven) และเตาเผา (muffle furnace)

1.11 เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer)

1.12 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 50 มิลลิมิตร

1.13 เครื่องปั่นเหวี่ยงหลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge) สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 1.5 มิลลิมิตร

1.14 เครื่องลดปริมาตรสารโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตนเจน (nitrogen evaporator)

1.15 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder

1.16 เข็มพร้อมเยื่อกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร

1.17 เครื่อง ultra performance liquid chromatography (UPLC) ต่อกับ mass spectrometry (LC-MS/MS) Agilent technologies รุ่น 6460

1.18 เครื่อง gas chromatography ต่อกับ tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) Agilent technologies รุ่น 7000C

2. สารเคมี

2.1 สารมาตรฐานของ indoxacarb ($C_{22}H_{17}ClF_3N_3O_7$) ความบริสุทธิ์ 97.7%

2.2 ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช indoxacarb 15% W/V EC ชื่อการค้า แอมเมท 15 อีซี

2.3 acetonitrile (CH_3CN) ชนิด pesticide grade (PR)

2.4 acetonitrile และ water (H_2O) ชนิด LC-MS grade

2.5 anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$) เผาที่ 500 ^{o}C นาน 5 ชั่วโมง

2.6 sodium citrate tribasic dyhydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \bullet 2H_2O$)

2.7 disodium hydrogen citrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \bullet 1.5H_2O$)

2.8 ammonium formate

2.9 formic acid

วิธีการ

1. การสำรวจแปลงปลูกและวางแผนการทดลอง

1.1 สำรวจแปลงปลูกพริกของเกษตรกร เพื่อวางแผนการทดลอง การปฏิบัติงาน และกำหนดระยะเวลาพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยเลือกแปลงทดลองที่มีการปลูกตามหลักการเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agriculture Practice; GAP) ติดต่อขอความร่วมมือจากเกษตรกรเพื่อดำเนินการทดลองจำนวน 3 แปลงต่างพื้นที่กัน แปลงที่ 1 ทำการทดลองที่ ต.บ้านสิงห์ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน มกราคม – กุมภาพันธ์ 2563 ในพริกหนุ่มพันธุ์หยกสวรรค์ แปลงที่ 2 ทำการทดลองที่ ต.ท่าม่วง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – มีนาคม 2564 ในพริกจินดา พันธุ์ซูเปอร์ฮอต และแปลงที่ 3 ทำการทดลองที่ ต.บ้านยาง อ.เมือง จ.นครปฐม ทำการทดลองในระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – มีนาคม 2564 ในพริกจินดา พันธุ์ซูเปอร์ฮอต ซึ่งเกษตรกรยินยอมที่จะปฏิบัติตามแผนการดำเนินงานที่กำหนด

1.2 วางแผนการทดลอง แบบ Supervised Residue Trial (FAO, 2016) ตาม Codex Guidelines มี 2 การทดลองย่อย (experiments) การทดลองย่อยที่ 1 แปลงควบคุม (Control) ไม่พ่นสารสำหรับใช้เป็นแปลงเปรียบเทียบกับแปลงที่พ่นสาร และการทดลองย่อยที่ 2 แปลงทดลอง (Experimental treatment) พ่นสาร indoxacarb 15% W/V EC ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (Recommended Dose) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช, 2553) ทำการพ่นสาร indoxacarb 7 วันต่อครั้ง จำนวน 3 ครั้ง รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 วันที่พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช indoxacarb 15% W/V EC ในแปลงพริก

สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช	ครั้งที่	วันที่พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช		
		แปลงทดลองที่ 1 14°40'07.5"N 100°12'06.0"E	แปลงทดลองที่ 2 13°58'54.7"N 99°38'49.0"E	แปลงทดลองที่ 3 13°51'34.4"N 99°56'60.0"E
indoxacarb 15% W/V EC ชื่อการค้า แอมเมท 15 อีซี	1	6 มกราคม 2563	17 กุมภาพันธ์ 2564	22 กุมภาพันธ์ 2564
	2	13 มกราคม 2563	24 กุมภาพันธ์ 2564	1 มีนาคม 2564
	3	20 มกราคม 2563	3 มีนาคม 2564	8 มีนาคม 2564

การทดลอง มี 6 กรรมวิธี (treatment) คือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริกไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างภายหลังการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช indoxacarb ครั้งสุดท้าย และสุ่มเก็บตัวอย่าง รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตจากแปลงทดลอง

ระยะเวลาหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย	วันที่เก็บเกี่ยวผลผลิตจากแปลงทดลอง		
	แปลงทดลองที่ 1 อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	แปลงทดลองที่ 2 อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	แปลงทดลองที่ 3 อ.เมือง จ.นครปฐม
0 วัน (2 ชั่วโมงหลังการพ่น)	20 มกราคม 2563	3 มีนาคม 2564	8 มีนาคม 2564
1 วัน	21 มกราคม 2563	4 มีนาคม 2564	9 มีนาคม 2564
3 วัน	23 มกราคม 2563	6 มีนาคม 2564	11 มีนาคม 2564
5 วัน	25 มกราคม 2563	8 มีนาคม 2564	13 มีนาคม 2564
7 วัน	27 มกราคม 2563	10 มีนาคม 2564	14 มีนาคม 2564
14 วัน	3 กุมภาพันธ์ 2563	17 มีนาคม 2564	22 มีนาคม 2564
21 วัน	11 กุมภาพันธ์ 2563	24 มีนาคม 2564	29 มีนาคม 2564

2. การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง และการเก็บตัวอย่างพริกจากแปลงทดลอง

ปฏิบัติในแปลงทดลองปลูกพริก กำหนดพื้นที่เขตกรรม ขนาดพื้นที่ของแปลงทดลอง กว้าง x ยาว ดำเนินการปฏิบัติงานในแปลงทดลองตามระบบ OECD-GLP (Good Laboratory Practice) ดังนี้ บันทึกสภาพพื้นที่ ความลาดเอียง ลักษณะของแปลง วิธีการเพราะปลูก ระยะปลูก รูปแบบการให้น้ำ การใช้ปัจจัยการผลิตในพื้นที่

ตรวจสอบหัวฉีด (nozzle) การกระจายละอองของสารและกำหนดอัตราการไหลของเครื่องพ่นที่จะใช้งาน (discharge calibration) ก่อนการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทุกครั้งต้องตรวจสอบอัตราการไหลของเครื่องให้อยู่ในช่วง ±5 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราการไหลที่จะใช้งาน คำนวณเวลามาตรฐานที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยว (target time) ทำการทดลองเดินไม่สะพายเครื่องพ่น เดินสะพายเครื่อง และเดินสะพายเครื่องพร้อมพ่น ทุกครั้งก่อนการปฏิบัติงานพ่นในพื้นที่เขตกรรม คำนวณอัตราการพ่นสารต่อพื้นที่ (spray volume) ปริมาตรของสารและปริมาตรของน้ำในการผสม จดบันทึกข้อมูลผลิตภัณฑ์ของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่จะใช้รวมถึงวิธีการขนส่งผลิตภัณฑ์ไปยังแปลงทดลอง ขั้นตอนและเวลาในการผสม อุณหภูมิและ pH ของน้ำ กำหนดรูปแบบและจำนวนเที่ยว (pass) ของการเดินพ่นในพื้นที่เขตกรรม โดยผู้พ่นต้องเดินจากทางขวาไปซ้าย

การบันทึกข้อมูลในการปฏิบัติงานในพื้นที่เขตกรรม ดังนี้ อายุของพืช (crop growth stage) ความสูงของต้นพืช (crop height) พื้นที่ทรงพุ่มของพืชที่ปกคลุมผิวดินโดยประมาณ (estimated % of soil area covered by crop canopy) วัดอุณหภูมิของอากาศ (measured air temperature) วัดความเร็วลมและทิศทางลม (measured wind speed and wind direction) ปริมาณของเมฆในท้องฟ้าโดยประมาณ (estimated % of clouds in the sky) วัดปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (measured relative humidity, %) ลักษณะของดิน (description of soil tilth) ความชื้นของผิวดินโดยประมาณ (estimated of soil surface moisture) อุณหภูมิของดิน (soil temperature) และความลึกของดินที่วัดอุณหภูมิ (depth of measurement of soil temperature)

ในการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ผู้พ่นสารและผู้จับเวลา ต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกัน ทำการพ่นตามรายละเอียดในตารางที่ 1 โดยใช้เครื่องพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (spray equipment) แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack) เมื่อพ่นสารในแต่ละเที่ยวเสร็จ ผู้จดบันทึกต้องลงบันทึกเวลาที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยว ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ ±5 เปอร์เซ็นต์ของเวลามาตรฐาน บันทึกทิศทางการเดิน (direction of that pass) หลังจากนั้นต้องคำนวณร้อยละของปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ที่พ่นลงในพื้นที่แปลงทดลอง (amount of test substance applied per hectare) ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ -5% ถึง +10% จึงจะยอมรับผลการปฏิบัติงานในครั้งนั้นได้ โดยผู้ตรวจสอบ จะต้องสังเกตและบันทึกผลการปฏิบัติงานให้เป็นไปตามที่กำหนดและให้คำแนะนำในระหว่างการปฏิบัติงาน ร้อยละของปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่พ่นลงในพื้นที่

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมะเขือเปราะตามระยะเวลาต่างๆ ดังรายละเอียดในตารางที่ 2 โดยสุ่มเก็บผลมะเขือเปราะกระจายให้ทั่วทรงพุ่ม ทั่วทั้งแปลงทดลอง ให้ได้น้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม โดยสุ่มเก็บตัวอย่างแปลงละ 2 ซ้ำ เก็บใส่ถุงพลาสติกที่มีป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้อมูล รหัสการทดลอง (field ID) ชื่อตัวอย่างพืช (crop fraction) ชื่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (test substance) วันที่เก็บตัวอย่าง (sample date) และผู้รับผิดชอบแปลงทดลอง (filed research director name) พร้อมทั้งหมายเลขโทรศัพท์ที่ใช้การติดต่อ ทั้งนี้ในการเก็บตัวอย่างต้องบันทึกชื่อผู้สุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละแปลง พร้อมทั้งเวลาที่ใช้ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง ปิดถุงให้แน่นบรรจุลงในกล่องที่บรรจุน้ำแข็งซึ่งระบุประเภทของตัวอย่างไว้บนกล่อง ภายในกล่องมีเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) เพื่อขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการต่อไป โดยต้องบันทึกระยะเวลา อุณหภูมิและวิธีการในการนำส่งตัวอย่างด้วย

3. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง indoxacarb

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างมะเขือเปราะจากแปลงทดลอง บันทึกในเอกสารรับตัวอย่าง เวลารับตัวอย่าง สภาพของตัวอย่าง อุณหภูมิระหว่างการขนส่งและเมื่อถึงห้องปฏิบัติการ บันทึกน้ำหนักตัวอย่าง และจำนวนผลต่อตัวอย่าง กำหนดรหัสตัวอย่างสำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ (lab sample ID) ตัวอย่างมะเขือเปราะจะถูกหั่นให้มีขนาดเล็ก และใช้เครื่องบดสับตัวอย่าง (food processor) เพื่อให้ตัวอย่างเป็นมีความละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วชั่งตัวอย่างจากการทดลอง

ย่อยที่ 1 แปลงควบคุม และการทดลองย่อยที่ 2 แปลงทดลอง น้ำหนัก 10±0.05 กรัม ลงในหลอดทดลอง ขนาด 50 มิลลิลิตร และทำการชั่งเก็บตัวอย่างๆ ละอย่างน้อย 100 กรัม เพื่อเก็บรักษาหลังการทดสอบ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ทุกขั้นตอนในการหั่น บดสับ ชั่ง และเก็บตัวอย่าง ต้องมีการจดบันทึกเวลาการทำงานด้วย จากนั้นนำตัวอย่างที่ชั่งแล้วไปสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

3.2.1 เตรียม stock solution ของสารละลายมาตรฐาน indoxacarb โดยชั่งสารมาตรฐานให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 มิลลิลิตร และนำค่า %purity มาคำนวณกลับเป็นน้ำหนักสารที่แท้จริง ให้มีความเข้มข้นของสารมาตรฐานประมาณ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยใช้ acetonitrile PR grade เป็นตัวทำละลาย

3.2.2 เตรียม standard solution ของสารละลายมาตรฐาน indoxacarb ความเข้มข้น 100, 10, 5 และ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการผสม stock solution ของสารละลายมาตรฐาน indoxacarb จากความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานในข้อ 3.2.1 ให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผสม 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยใช้อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ที่สอบเทียบแล้ว แล้วทำการเจือจางสารละลายมาตรฐานผสมดังกล่าว ให้มีความเข้มข้นของสารละลายผสม เท่ากับ 5 และ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยใช้ acetonitrile PR grade เป็นตัวทำละลาย

3.2.3 เตรียม working standard in matrix solution จากความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานในข้อ 3.2.2 standard solution นำมาเตรียมให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผสมที่จะใช้งาน เท่ากับ 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยใช้ matrix solution จากการสกัดตัวอย่างแปลงควบคุม เป็นตัวทำละลาย

3.2.4 ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมที่จะใช้งาน (working standard solution in matrix) ให้มีค่า Correlation coefficient (r) ของ linear regression ของสารละลายมาตรฐาน indoxacarb โดยต้องมีค่า $R^2 \geq 0.995$ ซึ่งเป็นเกณฑ์ที่ยอมรับได้

3.3 การหาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

เพื่อทดสอบวิธีการที่นำมาใช้ในการทดลองว่าเป็นวิธีการที่เหมาะสมหรือไม่ โดยการเติมสารมาตรฐาน indoxacarb ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนในตัวอย่างพริกที่ไม่มีสารพิษตกค้างของ indoxacarb โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ (Eurachem, 2014) แล้วนำมาวิเคราะห์โดยใช้วิธีการสกัด การขจัดสิ่งปนเปื้อนและการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ตามวิธีการวิเคราะห์ ในข้อ 3.4 เพื่อทดสอบหาประสิทธิภาพการเอาสารกลับคืน (recovery) โดยใช้วิธี QuEChERS (EN 15662, 2008)

3.4 การสกัดและ clean up ตัวอย่าง

การสกัดตัวอย่าง (Extraction/Partition) สกัดสารพิษตกค้าง indoxacarb โดยวิธีวิเคราะห์ QuEChERS มีขั้นตอนดังนี้

3.4.1 ชั่งตัวอย่าง 10±0.05 กรัม ใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.4.2 เติม acetonitrile ชนิด pesticide grade (PR) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที

3.4.3 เติม sodium chloride 1.0 กรัม magnesium sulfate 4 กรัม sodium citrate tribasic dyhydrate 1 กรัม และ disodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัม ปิดฝาแล้ว เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที

3.4.4 นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 5 นาที

3.4.5 ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 1 มิลลิลิตร ใส่ micro centrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มี PSA 0.05 กรัม และ magnesium sulfate 0.15 กรัม เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm นาน 5 นาที

3.4.6 ดูดสารละลายส่วนบนของตัวอย่าง กรองผ่านเข็มปริมาตร 3 มิลลิลิตร พร้อมเยื่อกรองขนาด 0.20 ไมโครเมตร (syringe with membrane filter) ลงในขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ สารพิษตกค้าง indoxacarb ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ต่อไป

3.5 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง indoxacarb ตามวิธีการที่กำหนด ด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยกำหนดค่า Condition ของเครื่องมือวิเคราะห์ ดังนี้

3.5.1 เครื่องมือ (Equipment): LC-MS/MS Agilent

3.5.2 คอลัมน์ (Column): Kinetex 26u XB-C18 100A, 100 x 2.1 mm

3.5.3 Mobile phase: A: 5 mM ammonium formate+0.01% formic acid, B: acetonitrile

ตารางที่ 3 แสดงระยะเวลาและอัตราที่ใช้ของ mobile phase

Time (min)	A (%)	B (%)
0.00	80	20
0.50	80	20
6.00	20	80
9.00	20	80
10.00	80	20

3.5.4 Flow: 0.45 ml/min, Temp. 40 °C, Injection volume: 2 µl

3.5.5 Post time: 1 min, Total cycle time: 10 min

3.5.6 MS conditions: Positive mode, Gas temp.: 350 °C, Gas flow: 12 L/min, Nebulizer: 40 psi, Capillary: 3,500 V และกำหนดค่า MRM Precusor/Product Ion Transitions and Instrument Condition ได้ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 MRM Precursor/Product Ion Transitions and Instrument Condition

Analyte	Molecular formula	t_R[a] (min)	Ion transition (primary)	Dwell time	Frag (V)	CE (V)	Ion transition (secondary)	Dwell time	Frag (V)	CE (V)
indoxacarb	$C_{22}H_{17}ClF_3N_3O_7$	6.197	528.1→249.0	100	135	10	528.1→150.0	100	135	16

หมายเหตุ [a] t_R = Retention time

3.6 การทำ Calibration curve

นำสารละลายมาตรฐาน working standard in matrix solution ของ indoxacarb ในข้อ 3.2.3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยใช้ matrix solution จากการสกัดตัวอย่างแปลงควบคุม เป็นตัวทำละลาย ฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS เพื่อทำ calibration curve ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐาน มีค่า Correlation coefficient (r) ของ linear regression ของสารละลายมาตรฐาน indoxacarb เท่ากับ 0.9993 โดยมีค่า $r \geq 0.995$ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

4. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพริกที่เก็บตัวอย่างพริกจากแหล่งผลิต และแหล่งจำหน่าย

4.1 เก็บตัวอย่างพริกจากแหล่งผลิต แหล่งจำหน่าย นำมาสกัดและตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ QuEChERS ตามวิธีการทดสอบในข้อ 3.4 วิเคราะห์สาร indoxacarb โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS

4.2 วิเคราะห์ตัวอย่างพริกจากแหล่งผลิต แหล่งจำหน่าย ตามวิธีของห้องปฏิบัติการที่ได้รับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 เพื่อหาปริมาณสารพิษตกค้าง ดังนี้ ใช้วิธี QuEChERS (TM-T04-R05) ในการสกัดตัวอย่าง

วิเคราะห์สาร multi-residue 129 ชนิด โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS วิธี Ethyl Acetate Method (TM-T04-R06) ในการสกัดตัวอย่าง วิเคราะห์สารกลุ่มไพรีทรอยด์ (pyrethroid) 17 ชนิด และออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) 47 ชนิด โดยใช้เครื่อง GC-MS/MS วิธี Ethyl Acetate Method (TM-T04-R07) ในการสกัดตัวอย่าง วิเคราะห์สารกลุ่ม คาร์บาเมท (carbamate) 16 ชนิด และ multi-residue ชนิดอื่นๆ อีก 16 ชนิด โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS รวมจำนวนทั้งสิ้น 225 ชนิดสาร ในปี 2563 และ 161 ชนิดสาร ในปี 2564 เนื่องจากไม่ได้วิเคราะห์ในวิธี Ethyl Acetate Method (TM-T04-R06) (กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2562)

5. การทดสอบความคงตัวของสารพิษตกค้าง indoxacarb ในตัวอย่างพริก

เป็นการศึกษาข้อมูลความคงตัวของสารพิษตกค้าง indoxacarb ในตัวอย่างพริก ที่ได้จากแปลงทดลอง เพื่อประเมินว่าการเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส นั้น ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณสารพิษตกค้างที่วิเคราะห์ได้ภายในช่วงเวลาของการทดสอบ โดยการเติมสารละลายมาตรฐาน indoxacarb ลงในตัวอย่างจากแปลงควบคุม ให้มีความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิที่ควบคุมให้ต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างที่เก็บไว้มาวิเคราะห์สารพิษตกค้างในวันที่ 0, 7, 14, 21, 28, 58, 91 และ 182 หลังจากวันที่เก็บรักษาตัวอย่าง

ระยะเวลา ตุลาคม 2562 - กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

แปลงพริกของเกษตรกร ต.บ้านสิงห์ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี ต.ท่าม่วง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี และ ต.บ้านยาง อ.เมือง จ.นครปฐม

ผลการทดลองและวิจารณ์

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ indoxacarb ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง วางแผนการทดลองแบบ supervised residue trial ตาม Codex Guidelines วิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยวิธีการ QuEChERS ซึ่งทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ ตรวจวัดโดยใช้เทคนิค LC-MS/MS พบว่า มี %recovery อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ 70 – 120 (SANTE, 2019) ทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งต้องวิเคราะห์ข้อมูลให้อยู่ในรูปผลรวมของ indoxacarb และ R-enantiomer ของ indoxacarb (JMPR, 2015) คำนวณค่า HORRAT จากสมการ Horwitz (Horwitz and Albert, 1995) มีค่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ HORRAT ≤ 2 และประเมินค่า Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ซึ่งต้องพิจารณาด้วยว่าค่า $\%RSD_r$ < Horwitz $\%RSD_r$ จึงจะสามารถนำค่า SD มาคำนวณได้ (Codex Alimentarius, 2015) เมื่อประเมินด้วยวิธีการคำนวณและทำการยืนยันผลการประเมินแล้วพบว่าค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ รายละเอียดผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง indoxacarb

Analyte	Linearity / Range (mg/kg)	Spike Level (mg/kg)	Replicate (n)	%Recovery				$\%RSD_r$	Horwitz $\%RSD_r$	HORRAT	LOD	LOQ
				min	max	mean	SD					
indoxacarb	0.005-0.1	0.005	7	86	102	94	6.26	6.64	23.64	0.28	0.005	0.01
		0.01	7	92	104	98	4.95	5.06	21.18	0.24		
		0.02	6	87	105	95	7.08	7.46	19.18	0.39		
		0.05	7	96	109	101	4.54	4.49	16.55	0.27		
		0.1	7	93	102	97	2.79	2.88	15.00	0.19		

ทำการทดลองในพริกหนุ่ม พันธุ์หยกสวรรค์ จำนวน 1 แปลง และพริกจินดา พันธุ์ซูเปอร์ฮอต จำนวน 2 แปลง รวม 3 แปลงในพื้นที่ต่างกัน ดังนี้ แปลงที่ 1 ทำการทดลองที่ ต.บ้านสิงห์ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน มกราคม – กุมภาพันธ์ 2563 แปลงที่ 2 ทำการทดลองที่ ต.ท่าม่วง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – มีนาคม 2564 และแปลงที่ 3 ทำการทดลองที่ ต.บ้านยาง อ.เมือง จ.นครปฐม ทำการทดลองในระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – มีนาคม 2564 แต่ละแปลงทดลองมี 2 การทดลองย่อย คือ การทดลองย่อยที่ 1 แปลงควบคุมไม่พ่นสารสำหรับใช้เป็นแปลงเปรียบเทียบกับแปลงที่พ่นสาร และการทดลองย่อยที่ 2 พ่นสาร indoxacarb 15% W/V EC ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (Recommended Dose) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช, 2553) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแปลงพริก (*Capsicum spp.*) ก่อนระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 21 วัน โดยพ่นสาร indoxacarb 7 วันต่อครั้ง จำนวน 3 ครั้ง ก่อนการพ่นสารทุกครั้งต้องตรวจสอบอัตราการไหลของเครื่องพ่นให้สม่ำเสมอตามระบบ GLP

ตารางที่ 6 ร้อยละของปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช indoxacarb ที่พ่นลงในพื้นที่แปลงทดลอง

แปลงทดลอง	พื้นที่ (m^2)	ร้อยละของปริมาณ indoxacarb ที่พ่นลงในพื้นที่แปลงทดลอง อัตราแนะนำ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่				วัตถุมีพิษ indoxacarb (กรัม ai/ไร่)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
1	66.0	98.34	100.72	97.99	99.02	17.82
2	93.8	100.66	100.83	104.20	101.90	18.34
3	75.85	103.54	103.97	101.33	102.95	18.53

สุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตจากแปลงทดลองที่ระยะเวลาต่างๆ กันคือ 0 (2 ชั่วโมงหลังการพ่น), 1, 3, 5, 7, 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ indoxacarb ในพริก ด้วยวิธีการ QuEChERS ซึ่งทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการแล้ว ตรวจวัดโดยใช้เทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) มีรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 7

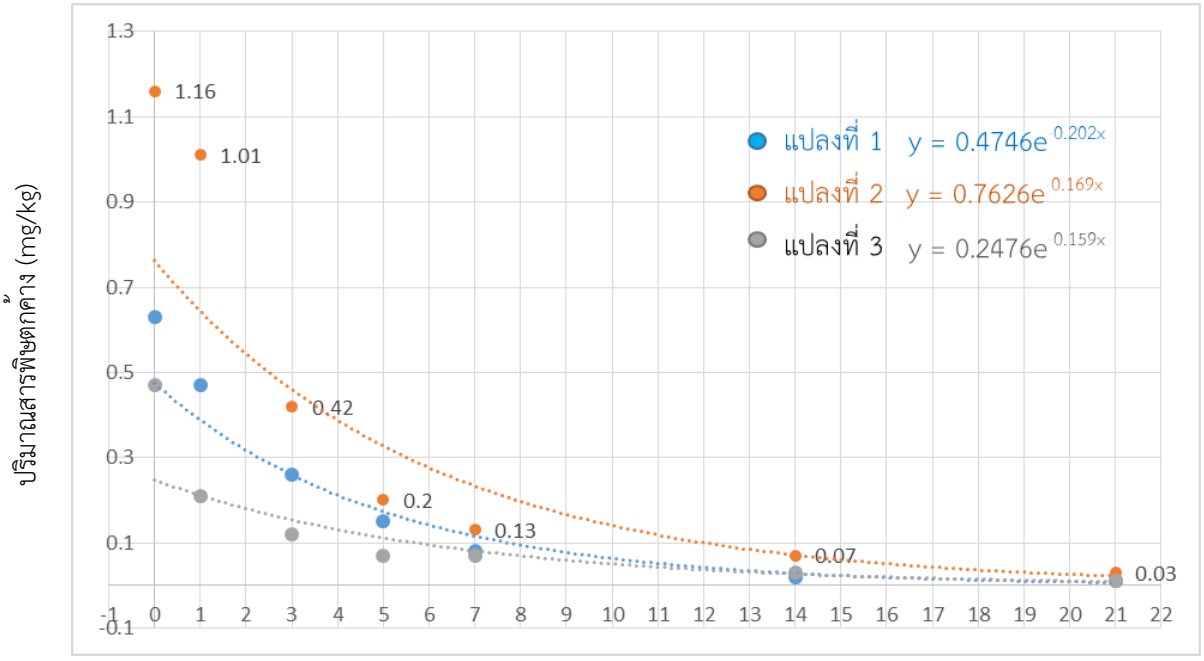
ตารางที่ 7 ปริมาณสารพิษตกค้างของ indoxacarb ในพริกที่ระยะเวลาต่างๆ ของแปลงทดลองที่ 1-3

ระยะเวลาหลังการพ่นครั้งสุดท้าย (วัน)	**ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, mg/kg)**			
	แปลงควบคุม	**แปลงอัตราแนะนำ**		
		แปลงทดลองที่ 1 อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	**แปลงทดลองที่ 2** อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	**แปลงทดลองที่ 3** อ.เมือง จ.นครปฐม
0[1/]	ND[2/]	0.63	1.16	0.47
1	ND	0.47	1.01	0.21
3	ND	0.26	0.42	0.12
5	ND	0.15	0.20	0.07
7	ND	0.08	0.13	0.07
14	ND	0.02	0.07	0.03
21	ND	ND	0.03	0.01

[1/] ระยะเวลา 2 ชั่วโมงหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย

[2/] ND คือ not detected (< LOD 0.005 mg/kg)

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้สารกำจัดศัตรูพืชตามอัตราแนะนำ ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างโดยใช้เทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) ซึ่งต้องวิเคราะห์ข้อมูลให้อยู่ในรูปผลรวมของ indoxacarb และ R enantiomer ของ indoxacarb พบปริมาณสารพิษตกค้าง indoxacarb ในแปลงทดลองที่ 1 ดังนี้ สารพิษตกค้าง indoxacarb ตรวจพบ 0.63, 0.47, 0.26, 0.15, 0.08 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลา 21 วัน ตรวจไม่พบสารตกค้าง ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 14 และ 21 วัน พบปริมาณสารพิษตกค้าง indoxacarb ในแปลงทดลองที่ 2 ดังนี้ 1.16, 1.01, 0.42, 0.20, 0.13, 0.07 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และแปลงทดลองที่ 3 ดังนี้ 0.47, 0.21, 0.12, 0.07, 0.07, 0.03 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ



ภาพที่ 1 แสดงอัตรากาสลายตัวของสารพิษตกค้างของindoxacarb ในพริก แปลงทดลองที่ 1-3

จากภาพที่ 1 พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างของ indoxacarb ในพริก มีปริมาณการตกค้างสูงสุดจากการทดลองในแปลงที่ 1 – 3 ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 14 และ 21 วัน ดังนี้ 1.16, 1.01, 0.42, 0.20, 0.13, 0.07 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

จากการสำรวจตัวอย่างพริก จำนวน 21 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี ในช่วงเดือนมกราคม – กุมภาพันธ์ 2563 และตัวอย่างพริก จำนวน 20 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม ราชบุรี ปทุมธานี และอยุธยา ในช่วงเดือนมิถุนายน 2564 พบว่า ตัวอย่างพริก ที่พบสารพิษตกค้าง จำนวน 41 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างทั้งหมด โดยตัวอย่างทั้งหมดพบสารพิษตกค้างมากกว่า 2 ชนิดต่อตัวอย่าง ชนิดของสารที่ตรวจพบ มีดังนี้ acetamiprid, alachlor, azoxystrobin, bifenthrin, carbaryl, carbofuran, carbosulfan, chlorpyrifos, clothianidin, cypermethrin, cyproconazole, difenoconazole, dimethoate, diuron, epoxiconazole, ethion, etofenprox, formetanate, imidacloprid, indoxacarb, iprovalicarb, mepronil, metalaxyl, methamidophos, methomyl, myclobutanil, omethoate, penconazole, prochloraz, profenofos, propamocarb, propanil, propiconazole, pyraclostrobin, pyridaben, tebuconazole thiamethoxam, triazophos และ trifloxystrobin รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างในพริกที่ตรวจพบจากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่ายในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ

ที่	สารพิษตกค้างที่ตรวจพบ			การกำหนดค่า MRLs ของหน่วยงานต่างๆ ค่า MRL (mg/kg) (จำนวนที่เกินค่า MRL)			
	ชนิดสาร	จำนวนตัวอย่าง	ปริมาณ (mg/kg)	Thai	Codex	EU	Japan
1	acetamiprid	6	0.01 - 0.06	-	0.2	0.3	1
2	alachlor	3	0.01	-	-	0.01*	-
3	azoxystrobin	1	0.03	-	3	3	3
4	bifenthrin	4	< 0.01 - 0.65	-	-	0.5	-
6	carbaryl	2	0.02 - 0.10	0.5	0.5	0.01* (2)	-
7	carbofuran	6	< 0.01 - 0.17	0.5	-	0.002* (6)	0.01 (5)
8	carbosulfan	5	< 0.01 - 0.17	0.5	-	-	-
9	chlorpyrifos	12	< 0.01 - 0.34	3	2	0.01* (10)	-
10	clothianidin	5	< 0.01 - 0.12	-	-	0.04 (2)	-
11	cypermethrin	13	< 0.01 - 0.16	2	2	0.5	-
12	cyproconazole	2	0.01 - 0.02	-	-	0.05*	0.05
13	difenoconazole	5	0.01 - 0.03	-	0.9	0.9	2
14	dimethoate	1	0.01	-	0.5	0.01*	-
15	diuron	2	0.03	-	-	0.01* (2)	0.05
16	epoxiconazole	3	0.01 - 0.09	-	-	0.05* (1)	-
17	ethion	4	< 0.01 - 0.11	3	-	0.01* (3)	-
18	etofenprox	5	0.01 - 0.03	-	-	0.01* (4)	0.5
19	formetanate	3	< 0.01 - 0.17	-	-	0.01* (2)	-
20	imidacloprid	22	< 0.01 - 0.90	-	1	1	3
21	indoxacarb	18	< 0.01 - 0.02	-	1	0.3	-
22	iprovalicarb	2	0.03	-	-	0.01* (2)	-
23	mepronil	9	0.01 - 0.06	-	1	0.01* (5)	-
24	metalaxyl	7	< 0.01 - 0.62	-	1	0.5 (1)	2
25	methamidophos	1	0.05	-	-	0.01* (1)	-
26	methomyl	5	0.10 - 0.44	1	-	0.04 (4)	-
27	myclobutanil	1	0.14	-	-	0.5	-
28	omethoate	1	0.01	-	-	0.01*	-
29	penconazole	2	0.01	-	0.2	0.2	0.05
30	prochloraz	4	< 0.01 - 0.09	-	-	0.03* (2)	3
31	profenofos	5	0.01 - 0.37	3	3	0.01* (4)	-
32	propamocarb	3	< 0.01 - 0.02	-	-	3	-
33	propanil	9	0.01 - 0.02	-	-	0.01* (1)	-
34	propiconazole	3	0.01 - 0.02	-	-	0.01* (1)	-
35	pyraclostrobin	5	< 0.01 - 0.04	-	0.5	0.5	1
36	pyridaben	9	< 0.01 - 0.18	-	-	0.3	3
37	tebuconazole	2	0.02 - 0.05	-	1	0.6	1
38	thiamethoxam	3	0.01 - 0.07	-	-	0.7	-
39	triazophos	5	0.02 - 0.04	-	-	0.01* (5)	-

* คือ Indicates lower limit of analytical determination

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่า MRLs ที่กำหนด พบว่า สารพิษตกค้างที่มีการกำหนดค่า Thai-MRL คือ carbaryl, carbofuran, carbosulfan, chlorpyrifos, cypermethrin, ethion, methomyl และ profenofos มีปริมาณไม่เกินค่า MRLs ในทุกตัวอย่าง และสารพิษตกค้างที่มีการกำหนดค่า Codex-MRL คือ acetamiprid, azoxystrobin, carbaryl, chlorpyrifos, cypermethrin, difenoconazole, dimethoate, imidacloprid, indoxacarb, metalaxyl, penconazole, profenofos, pyraclostrobin tebuconazole และ thiamethoxam มีปริมาณไม่เกินค่า MRLs ในทุกตัวอย่าง ส่วนสารพิษตกค้างที่มีการกำหนดค่า EU-MRL นั้น พบว่ายังมีปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่าที่กำหนดในบางชนิดสาร ดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งค่าที่เกินกำหนดส่วนใหญ่เกิดจากค่า Indicates lower limit of analytical determination ของวิธีการวิเคราะห์ ที่กำหนดค่าให้อยู่ระดับที่ต่ำมาก จึงพบว่ายังมีค่าสารพิษตกค้างในบางตัวอย่างเกินเกณฑ์ที่กำหนดดังกล่าว

ผลทดสอบความคงตัวของสารพิษตกค้างในตัวอย่าง จากข้อมูลการศึกษาความคงตัว (stability) ของสารพิษตกค้าง indoxacarb ในพริก ที่เป็น fortified sample ระดับความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยทำการศึกษาที่อุณหภูมิ –20±5 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0, 7, 14, 21 วัน และ 1, 2, 3, 6 เดือน ทำการสุ่มตัวอย่างทดสอบมาวิเคราะห์ 2 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบความคงตัวของสารตกค้างในตัวอย่าง บันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ ความเข้มข้นเฉลี่ย และ %recovery ที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ และเปรียบเทียบความแตกต่าง (%RPD : Relative Percent Difference) ของผลการทดสอบที่ระยะเวลาต่างๆ กับค่า fortified sample และทำการศึกษาเปอร์เซ็นต์ของปริมาณสารเทียบความเข้มข้นที่ fortified sample เมื่อคิดความเข้มข้นที่ fortified sample เป็น 100 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 9 ผลทดสอบความคงตัวของสารพิษตกค้าง indoxacarb ในพริก

Spike Level (mg/kg)	Storage Interval (day)	Concurrent Recovery (%)	Residue in Stored Samples (mg/kg)	%RPD	%Residue
0.10	0	98, 99	0.1015	-1.49	102
	7	94, 98	0.0920	8.18	92
	14	98, 96	0.0867	13.99	87
	21	97, 96	0.0953	4.94	95
	28	94, 93	0.0853	15.73	85
	58	91, 96	0.0869	14.16	87
	91	96, 106	0.1064	-6.79	106
	182	93, 89	0.0728	29.60	73

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอินดอกซาคาร์บ (indoxacarb) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limit, MRL) วางแผนการทดลองแบบ Supervised residue trial ตาม Codex Guidelines ทำการทดลอง จำนวน 3 แปลงต่างพื้นที่กัน พบว่าเมื่อใช้สาร indoxacarb 15% W/V EC อัตราแนะนำ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ พ่นสาร indoxacarb ในแปลงพริกทุก 7 วันต่อครั้ง รวม 3 ครั้ง โดยศึกษาในพริกพริกหนุ่ม พันธุ์หยกสวรรค์ และพริกจินดา พันธุ์ซูเปอร์ฮอต พบว่า indoxacarb มีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว โดยที่แปลงทดลองที่ 1 ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน ตรวจพบ 0.63, 0.47, 0.26, 0.15, 0.08 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลา 21 วัน ตรวจไม่พบสารตกค้าง แปลงทดลองที่ 2 ตรวจพบ 1.16, 1.01, 0.42, 0.20, 0.13, 0.07 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาต่างๆ ตามลำดับ และแปลงทดลองที่ 3 ดังนี้ 0.47, 0.21, 0.12, 0.07, 0.07, 0.03 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาต่างๆ ตามลำดับ ส่วนแปลงควบคุม ตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างของการทดลองทั้ง 3 แปลง กำหนดให้ค่า LOD และ LOQ ของวิธีการทดสอบ เท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งพบว่าข้อมูลการตกค้างจากแปลงที่ 2 เป็นปริมาณการตกค้างสูงสุดจากการทดลอง โดยที่ช่วงเวลาการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในห้องปฏิบัติการนั้นสารพิษตกค้าง indoxacarb ในพริก มีความคงตัวอยู่ได้ตลอดช่วงเวลาการวิเคราะห์ ตามข้อมูลผลการทดสอบความคงตัว หากพิจารณาข้อมูลการจากตรวจพบสารตกค้างเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MRL indoxacarb ในพริก มีการกำหนดจากหน่วยงานต่างๆ ดังนี้ Codex MRL (peppers) เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Japanese MRL (pimento (sweet pepper)) เท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ EU MRL (sweet peppers/bell peppers) เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดค่า MRL indoxacarb ในพริก ดังนั้น ข้อมูลจากการทดลองที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพิจารณากำหนดค่า MRL สารพิษตกค้างของประเทศไทยสำหรับ indoxacarb ในพริกต่อไป

เมื่อพิจารณาตามหลักการในการกำหนดค่า PHI ที่ได้จากการทดลองเปรียบเทียบกับค่า MRL ตามชนิดพืชสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ที่ได้ทำการทดลองสารพิษตกค้างแล้ว โดยใช้ข้อมูลสารพิษตกค้างที่ตรวจพบเปรียบเทียบกับค่า Codex-MRL, EU-MRL และ Japan-MRL กำหนดให้การใช้สาร indoxacarb 15% W/V EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในพริก มีค่า PHI เท่ากับ 5 วัน จึงจะสามารถบริโภคพริกหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายได้อย่างปลอดภัย แต่ทั้งนี้เกษตรกรผู้ปลูกพริกก็ควรปฏิบัติตามหลัก GAP และเลือกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อป้องกันและควบคุมศัตรูพืชตามการระบาดเท่านั้น และควรใช้ตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัด ถึงแม้ indoxacarb จะเป็นสารที่มีพิษต่ำก็ตาม

จากการสำรวจตัวอย่างพริก จำนวน 41 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี ในช่วงเดือนมกราคม – กุมภาพันธ์ 2563 และตัวอย่างพริก จำนวน 20 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม ราชบุรี ปทุมธานี และอยุธยา ในช่วงเดือนมิถุนายน 2564 พบว่า ตัวอย่างพริก ที่พบสารพิษตกค้าง จำนวน 41 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างทั้งหมด โดยตัวอย่างทั้งหมดพบสารพิษตกค้างมากกว่า 2 ชนิดต่อตัวอย่าง เป็นสารพิษตกค้าง indoxacarb ที่ตรวจพบ 18 ตัวอย่าง ซึ่งไม่เกินค่า MRL ที่กำหนดจาก Codex และ EU MRL

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลการสลายตัวของ indoxacarb ในพริก เพื่อนำไปใช้ในการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างของประเทศไทย ตลอดจนนำไปเสนอ เพื่อกำหนดค่า MRL ของอาเซียนและของ Codex ต่อไป

2. ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจพริกจากแหล่งผลิต และแหล่งจำหน่ายจะเป็นข้อมูลพื้นฐานให้ทราบถึง สถานการณ์สารพิษตกค้างในผลผลิตทางการเกษตร เพื่อเป็นข้อมูลในการคุ้มครองผู้บริโภค และแนวทางในการแก้ปัญหาสารพิษตกค้างในพริก หรือพืชผักอื่นๆ เพื่อให้การผลิตพืชผลทางการเกษตรของประเทศไทยมีคุณภาพปลอดภัยเป็นที่ยอมรับทั้งในประเทศและต่างประเทศ

3. ระยะเวลาหลังจาก 5 วันหลังจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช indoxacarb ในพริก ตามอัตราแนะนำเป็นระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมและปลอดภัย ซึ่งสามารถนำไปแนะนำให้เกษตรกรใช้เก็บเกี่ยวผลผลิตอย่างถูกต้องและปลอดภัย เพื่อลดปัญหาสารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตรและสิ่งแวดล้อมซึ่งจะช่วยให้เกิดความปลอดภัยต่อ ผู้บริโภคและในการส่งออก

4. นำข้อมูลระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมที่ได้มาร่วมพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างของ indoxacarb ในผลผลิตการเกษตรในประเทศ (National MRL) ซึ่งเป็นผลดีในด้านเศรษฐกิจ โดยใช้เป็นค่าต่อรองและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายผลผลิตทางการเกษตรระหว่างประเทศ

5. ข้อมูลจากการทดลองนี้นำไปเผยแพร่แก่นักวิชาการในกรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง นิสิต นักศึกษา ประชาชน เกษตรกร ได้ทราบถึงสารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช indoxacarb ในพริก และระมัดระวังการบริโภคให้ปลอดภัย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช, กรมวิชาการเกษตร. 303 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, 2562. In-house method TM-T04-R05 base on QuEChERS EN 15662:2008 by LC-MS/MS และ In-house method TM-T04-R06, TM-T04-R07 base on Ethyl Acetate Method (EURL-FV) by GC-MS/MS. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร.

Codex Alimentarius. 2015. Codex Alimentarius Commission Procedure Manual, 23rd ed.

Codex Alimentarius. 2022. “Members” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/members/en/ (18 เมษายน 2565)

EN 15662. 2008. Foods of plant origin-determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method.

Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd ed. 62 p.

European Food Safety Authority, 2012 EFSA Journal 2012;10(7):2833. Reasoned opinion on the modification of the existing MRLs for indoxacarb in various crops1, European Food Safety Authority 2, European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, p 1-33.

SANTE. 2019. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. Document No SANTE/12682/2019, Implemented 2020.

FAO. 2016. FAO plant production and protection paper 225. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. FAO, Rome. 286 p.

Horwitz, W. and R. Albert. 1995. Precision in analytical measurements: Expected values and consequences in geochemical analysis. Fresenius J Anal Chem, 351:507-513

JMPR. 2015. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Pesticide Residues 47th Session. Beijing, P.R. China, 13-18 April 2015.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1-3

Residue Trials of Lufenuron in Chinese broccoli to Establish Maximum Residue Limit (MRL) Trials 1-3

ศศิณิฎา คงแช่มดี สุพัตรี หนูสังข์ บุญทวีศักดิ์ บุญทวี
ประพันธ์ เคนท้าว จินตนา ภู่มงกุฎชัย
Sasinida Khongchamdee Supattri Noosang Boonthaweesak Boonthawee
Praphan Kenthao Jintana Poomongkutchai

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The research studies on residue trials of lufenuron in Chinese broccoli to establish maximum residue limit. This study had three field trials were experimentally under the guideline and standard located in Nakhon Pathom Provinces (field trial 1 and 3) and Nonthaburi Provinces (field trial 2) from 2020 to 2021. The experimenters divided into 2 sub plots that consisted of the untreated plot and the treated plot which applied recommended dosage of lufenuron (trade name Match) 5% W/V EC performed with 30 mL/20 L of water (120 liters of water per rai). The lufenuron were applied on Chinese broccoli for 2 times every 7 days interval. After the last application, Chinese broccoli samples were collected at after application 2 hours (0 day), 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days. For residue analysis, lufenuron were determined via using LC-MS/MS. The limit of quantification (LOQ) was 0.005 mg/kg. The results showed that residues were not detected at all samples from the untreated plots. In contrast, the amounts of residues from the treated plots found 2.429, 2.354, 1.337, 1.141, 0.421, 0.391 and 0.147 mg/kg for the field trial 1. The residues for the field trial 2 were detected 2.880, 1.734, 0.848, 0.371, 0.393, 0.175 and 0.126 mg/kg. In the same way, the field trial 3 found 2.413, 1.219, 0.745, 0.446, 0.465, 0.211 and 0.141 mg/kg, respectively. From the results concluded that the Pre Harvest Interval (PHI) of lufenuron in Chinese broccoli at 5 days after application.

Keywords : Maximum Residue Limit (MRL), lufenuron, Chinese broccoli

บทคัดย่อ

การวิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้างลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ดำเนินการปฏิบัติงานทดลองพ่นวัตถุอันตราย lufenuron ภายใต้คำแนะนำและมาตรฐานของวิธีใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย โดยทำการทดลองในแปลงคะน้าของเกษตรกรทั้งหมด 3 แปลงทดลอง ในพื้นที่จังหวัดนครปฐมและนนทบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2564 วางแผนการทดลอง supervised residue trials ตามข้อกำหนดของ FAO Plant Production and Protection Paper 225 (FAO, 2016) แปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุมที่ไม่พ่นวัตถุอันตราย lufenuron และแปลงที่ใช้วัตถุอันตราย lufenuron ชื่อการค้า แมทช์ สูตร 5% W/V EC ตามอัตราแนะนำที่ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสาร lufenuron 2 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าตามระยะเวลาที่กำหนด ได้แก่ หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง (0 วัน) 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการวิเคราะห์ พบว่า แปลงควบคุมทั้ง 3 แปลงทดลอง ตรวจไม่พบสารตกค้าง lufenuron ในคะน้าทุกตัวอย่าง ส่วนแปลงทดลองที่พ่นสาร lufenuron ตามอัตราการใช้ที่แนะนำ ได้ปริมาณสารพิษตกค้าง ดังนี้ แปลงทดลองที่ 1 ตรวจพบสารตกค้างปริมาณ 2.429, 2.354, 1.337, 1.141, 0.421, 0.391 และ 0.147 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 2 พบสารตกค้างปริมาณ 2.880, 1.734, 0.848, 0.371, 0.393, 0.175 และ 0.126 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงทดลองที่ 3 พบสารตกค้างปริมาณ 2.413, 1.219, 0.745, 0.446, 0.465, 0.211 และ 0.141 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาต่างๆ ตามลำดับ จากข้อมูลปริมาณสารตกค้างดังกล่าวสามารถประเมินระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (PHI) ภายหลังการใช้สาร lufenuron สูตร 5% W/V EC ตามอัตราแนะนำที่ 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ในคะน้าเท่ากับ 5 วัน

คำหลัก: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ลูเฟนนูรอน คะน้า

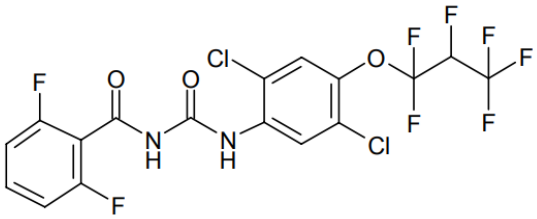
คำนำ

โดยทั่วไปการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่ยังมีความจำเป็นต่อภาคเกษตรกรรม ถึงแม้ว่าจะมีหลายวิธีที่สามารถใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ แต่เนื่องจากสารเคมีให้ประสิทธิภาพในระยะเวลาอันรวดเร็ว ประหยัดแรงงาน ช่วยลดความเสียหายจากการเข้าทำลายผลผลิตของศัตรูพืช ไม่ว่าจะเป็นแมลง โรคพืช วัชพืช หรือสัตว์ศัตรูพืช สามารถยับยั้งการระบาดที่เกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่อง ทำให้ผลผลิตสม่ำเสมอ ไม่มีร่องรอยการถูกทำลาย ผลผลิตที่ได้ตรงต่อความต้องการของผู้บริโภคที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ตลอดทั้งปีประเทศไทยสามารถปลูกผักและผลไม้ได้หลากหลายชนิด จึงทำให้มีศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายให้แก่ผลผลิตทางการเกษตรได้เป็นจำนวนมาก คะน้าเป็นพืชอีกชนิดที่มักพบปัญหาการระบาดทั้งจากโรคและแมลงศัตรูพืช จึงทำให้มีต้นทุนในการผลิตและจัดการค่อนข้างสูง

คะน้า (Chinese broccoli) เป็นพืชในตระกูลกะหล่ำที่นิยมนำมาบริโภค ไม่ว่าจะเป็นคะน้าต้นเล็กและต้นใหญ่ เนื่องจากหาซื้อง่าย ราคาไม่แพง สามารถบริโภคได้ทุกส่วน ทั้งลำต้น ยอด หรือใบ คะน้ามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ Brassica alboglabra จัดอยู่ในวงศ์ Cruciferae คะน้าปลูกได้ง่าย เจริญเติบโตได้ดีในทุกสภาพดิน ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการปลูกคะน้าจะอยู่ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนเมษายน มีระยะเวลาเก็บเกี่ยวสั้นประมาณ 45-55 วัน คะน้ามักจะพบปัญหาการระบาดของโรคแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรคราน้ำค้าง โรคโคนคะน้าเน่า โรคแผลน้ำตาลไหม้ แมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนใยผัก หนอนคืบกะหล่ำ หนอนกระทู้ผัก หรือด้วงหมัดแถบลาย โดยสามารถพบการระบาดได้ทุกฤดู เกิดความเสียหายได้มากเนื่องจากเป็นหนอนที่มีขนาดใหญ่ เมื่อฟักออกจากไข่แล้ว หนอนจะกัดกินทุกส่วนของพืชทั้งใบ ก้าน ดอก และผล ทำให้คุณภาพของผลผลิตลดต่ำลง เกษตรกรผู้ปลูกจึงต้องมีความรู้เพื่อจัดการปัญหาได้อย่างถูกต้อง การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจึงเป็นอีกทางเลือกที่ได้ผลดี เพราะต้องการความสะดวกและประสิทธิภาพ จากคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำและรวบรวมวิธีการ

ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในคะน้า ทั้งการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสารชีวภัณฑ์ โดยให้ใช้เท่าที่จำเป็น เน้นการใช้สารที่มีฤทธิ์ตกค้างสั้น เพื่อเป็นหลักประกันความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค

ลูเฟนนูรอน (lefenuron) เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มเบนโซอิลยูเรีย (Benzoylureas) โดยมีโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 1 มีชื่อทางเคมีตามระบบ IUPAC คือ (RS)-1-[2,5-dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoro-propoxy)-phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)-urea สูตรโมเลกุล $C_{17}H_8Cl_2F_8N_2O_3$ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 511.2 องค์การอนามัยโลกได้จัดให้ lufenuron อยู่ในกลุ่ม Class III (Slightly) ซึ่งมีระดับอันตรายน้อย โดยมีค่า LD_{50} (ขนาดที่ทำให้หนูทดลองตายจำนวนร้อยละ 50) มากกว่า 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีรายงานการกำหนดปริมาณของ lufenuron ที่มนุษย์สามารถบริโภคได้ต่อวัน (Acceptable Daily Intake, ADI) ได้ไม่เกิน 0-0.02 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว (WHO, 2019) lufenuron ออกฤทธิ์ควบคุมการเจริญเติบโต (Growth regulation) ยับยั้งการลอกคราบของหนอน โดยจะไปหยุดกระบวนการสร้างไคติน (chitin) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของผนังลำตัวแมลง ในระยะตัวอ่อนที่มีการสร้างไคตินใหม่ทดแทนของเดิม เมื่อถูกยับยั้งจะทำให้หนอนลอกคราบได้ไม่สมบูรณ์ ไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยและตายในที่สุด สารกลุ่มนี้นิยมใช้ป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อหลายชนิดเช่น หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม นอกจากนี้ยังมีผลต่อแมลงในกลุ่มอื่น เช่น ระยะหนอนของกลุ่มด้วง ตัวอ่อนของเพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แมลงหวี่ขาว ตัวอ่อนของกลุ่มแมลงวัน เป็นต้น (สุเทพ, 2552) จากคู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปแนะนำการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักโดยใช้ lefenuron 5% EC ในพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น ผักคะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดเขียวปลี ผักกาดขาวปลี ผักกาดหัว ในอัตราแนะนำ 20-30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง โดยเว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2560)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของ lufenuron (FAO, 2015)

สำหรับการกำหนดชนิดของสารพิษตกค้างที่กำหนดให้ตรวจวิเคราะห์ (definition of the residue) ของวัตถุอันตราย lufenuron ที่ประชุม JMPR (FAO, 2015) ได้กำหนดให้การวิเคราะห์ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) และการประเมินความเสี่ยงทางด้านอาหาร (dietary risk assessment) ในพืชและสินค้าเกษตรจากผลิตภัณฑ์สัตว์ โดยพิจารณาปริมาณของ lufenuron แม้ว่า lufenuron จะมีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ในกลุ่มพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ความเป็นพิษอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างต่ำ แต่พบว่าปัจจุบันยังไม่มีการกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ lufenuron ในกลุ่มพืชของประเทศไทย (Thai-MRL) (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) เช่นเดียวกันกับมาตรฐานของโคเด็กซ์ (CODEX)

ดังนั้น การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของ lefenuron ในคะน้า จะทำให้ได้ข้อมูลสารพิษตกค้าง lufenuron ในคะน้า เพื่อประกอบการพิจารณากำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด สามารถใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิตและควบคุมตรวจสอบ ทั้งยังสามารถกำหนดระยะเวลาตั้งแต่พ่นสารครั้งสุดท้ายจนถึงวันเก็บเกี่ยวหรือระยะปลอดภัยของการพ่นสารก่อนเก็บเกี่ยว (pre harvest interval: PHI) เพื่อให้เกษตรกรและผู้ที่สนใจนำสารไปใช้อย่างถูกต้องและมีความปลอดภัย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิดเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) ขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร ชุดป้องกันสารพิษขณะพ่นวัตถุอัตรายพร้อมหน้ากาก ถุงมือแว่นตา หมวกและรองเท้าบูท (Personal Protective Equipment; PPE) นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (thermometer/humidity) เครื่องวัดความเร็วลม กระบอกตวงพลาสติกขนาด 2 ลิตร ถังน้ำพลาสติกขนาดบรรจุ 80-100 ลิตร กระดาษวัดค่า pH (universal pH paper) เครื่องแก้ว เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) และอุปกรณ์อำนวยความสะดวกอื่นๆ

2. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าความละเอียดทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว ตู้แช่ตัวอย่าง (freezer) เครื่องปั่นตัวอย่าง (food processer) ไมโครปิเปต (auto pipette) ปริมาตร 10-100, 20-200, 100-1000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว เครื่องเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge) เครื่องผสมตัวอย่างสาร (vortex mixer)

3. เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ หลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด กระบอกตวง (cylinder) บีกเกอร์ (beaker) ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) หลอดหยดสาร (dropper) หลอดฉีดยา (syring) ขนาด 10 มิลลิลิตร และตัวกรองชนิด PTFE (PTFE syring filter) ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ขวดบรรจุสาร (vial) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และขวดบรรจุสาร (auto sampler) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

4. เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมตรี Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) ยี่ห้อ Agilent Technologies, LC รุ่น 1290 infinity, MS/MS รุ่น 6410 Triple Quad และคอลัมน์ชนิด Kinetex 2.6 µm XB-C18 100 A (2.1×100 mm) H15-21798 5603-0148

สารเคมี

1. วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้ในแปลงทดลอง lufenuron 5% W/V EC

2. สารมาตรฐาน lufenuron ความบริสุทธิ์ 98.56% (Dr. Ehrenstorfer)

3. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile (CH_3CN) ชนิด HPLC grade, formic acid (CH_2O_2), ammonium formate, anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$), disodium hydrogencitrate ($Na_2C_3H_5O(CO_2)_3.1.5H_2O$), trisodiumcitrate di-hydrate ($Na_3C_3H_5O(CO_2)_3.2H_2O$), sodium chloride (NaCl), primary secondary amine (PSA), graphitize carbon black (GCB), water (H_2O) ชนิด HPLC grade

วิธีการ

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation)

ก่อนตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะน้า ทำการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์และ parameter ต่างๆ ดังนี้ ประเมินค่าความแม่น (accuracy) จากร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) ประเมินค่าความเที่ยง (precission) โดยหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (Limit of Quantitation, LOQ) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (limit of detection, LOD) โดยเติมสารมาตรฐาน lufenuron ลงในตัวอย่างคะน้าที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (fortified sample) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ สกัดตัวอย่างคะน้าตามวิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) ดังนี้

1.1 ปั่นตัวอย่างคะน้าด้วยไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) ให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นชั่งตัวอย่างคะน้า 10±0.1 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมตัวละลาย acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่านาน 1 นาที

1.2 เติมสารสกัดที่ผสม anhydrous $MgSO_4$ 4.00 กรัม $Na_3C_3H_5O(CO_2)_3.2H_2O$ 1 กรัม NaCl 1.00 กรัม และ $Na_2C_3H_5O(CO_2)_3.1.5H_2O$ 0.50 กรัม ลงในหลอด centrifuge ดังกล่าว เขย่านาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

1.3 ปิเปตสารละลายเฉพาะส่วนใสปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารผสมของ GCB 50 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ anhydrous $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน (dispersive-SPE clean up) จากนั้นนำไป vertex นาน 1 นาที centrifuge ตัวอย่างดังกล่าวที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

1.4 กรองสารละลายส่วนใสผ่าน syringe filter ชนิด PTFE ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติม 10% formic acid ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในคะน้า ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งสภาวะเหมาะสมของเครื่องตรวจวิเคราะห์แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 1

1.5 เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.0005-0.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (working standard solution) โดยใช้ตัวอย่างคะน้า (matrix solution) จากวิธีที่สกัดตัวอย่าง QuEChERS (EN 15662: 2008) ปรับปริมาตร สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานในแกน x และสัญญาณของเครื่องมือที่ตรวจวัด (response) ในแกน y ซึ่งคำนวณจากพื้นที่ใต้พีค (peak area) ของสาร ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of determination; R^2) ที่ได้จากสมการกราฟเส้นตรงต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด $R^2 \geq 0.995$ (SANCO, 2013)

ตารางที่ 1 สภาวะการทำงานของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

Column:	Kinetex 2.6 µm XB-C18 100 A (2.1×100 mm) H15-21798 5603-0148			
Temperature (°C):	40 °C			
Mobil phase A:	5 mM ammonium formate in water+ 0.1% formic acid			
Mobil phase B:	acetronitrile			
Inject volume:	5 µL			
Total run time:	10.00 min			
Elution gradient	Time (min)	Flow rate (mL/min)	Mobile phase A	Mobile phase B
	4	0.30	95	5
	7	0.30	5	95
	9	0.30	5	95
	10	0.30	95	5
Ion source:	AJS ESI			
Source parameter:	Gas temp (°C):	300		
	Gas flow (l/min):	5		
	Nebulizer (psi):	45		
	Capillary (V):	3500		

Mass parameter

Compound	Precursor ion	Product ion	Dwell	CE (V)
lufenuron	511	158	200	20
	511	141	200	45

2. การทำแปลงทดลองคะน้า

2.1 วางแผนการทดลองแบบ supervised residue trials โดยแบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุมที่ไม่พ่นวัตถุอันตราย (untreated plot) และแปลงที่ใช้วัตถุอันตราย lufenuron 5% W/V EC ชื่อการค้า แมทช์ ในอัตราแนะนำ 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร (treated plot) อัตราน้ำที่แนะนำให้ใช้กับคะน้าปริมาณ 120 ลิตรต่อไร่ ทำการพ่นวัตถุอันตราย 2 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน

2.2 ก่อนพ่นวัตถุอัตราย lufenuron 5% W/V EC จะต้องทำการ calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้ คำนวณหาอัตราไหลของเครื่อง (flow rate) อัตราการใช้น้ำ ปริมาณวัตถุอันตราย เวลาที่ใช้เดินพ่นวัตถุอันตราย (target time) ต่อพื้นที่แปลงทดลอง และทดสอบจังหวะการเดินของผู้พ่น (speed calibration) เพื่อให้การพ่นสารมีความสม่ำเสมอ บันทึกข้อมูลดังกล่าว โดยคำนวณค่าร้อยละความถูกต้องของการพ่นวัตถุอันตราย (percent of target rate) รวมไปถึงข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในการดำเนินการทดลอง

2.3 หลังการพ่นวัตถุอันตรายครั้งสุดท้ายแล้ว สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าให้ได้ปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม โดยเว้นระยะไม่สุ่มตัวอย่างที่หัวแปลงและท้ายแปลง สุ่มตัวอย่างจำนวน 2 ซ้ำ ตามระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่กำหนด ได้แก่ หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง (0 วัน) 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน บรรจุตัวอย่างคะน้าลงในถุงพลาสติก ปิดให้สนิท ติดป้ายฉลากให้ชัดเจน และบันทึกข้อมูลของการเก็บตัวอย่าง

2.4 ตัวอย่างคะน้าที่ถูกสุ่มเก็บมาจะต้องอยู่ในสภาพเย็น เพื่อรักษาสภาพตัวอย่าง ภายในบรรจุเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) เพื่อบันทึกอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการให้นำตัวอย่างเก็บในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20±5 องศาเซลเซียส โดยจะต้องบันทึกรหัสตัวอย่าง ระยะเวลาที่ใช้ในการขนส่ง และอุณหภูมิของตัวอย่าง หลังจากนั้นจึงดำเนินการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะน้าต่อไป

3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะน้า

สกัดตัวอย่างคะน้าด้วยวิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) ดังแสดงรายละเอียดตามขั้นตอนการสกัดตัวอย่างคะน้าตามวิธี EN QuEChERS ตามข้อ 1.1 ถึง 1.4 นอกจากนี้ในแต่ละแปลงทดลองจะต้องมีการประกันคุณภาพของผลการทดสอบด้วยการหา %recovery ของ fortified sample ที่ความเข้มข้นระดับต่ำสุดหรือความเข้มข้นระดับ LOQ ที่ระดับความเข้มข้นกลาง และระดับความเข้มข้นสูงสุด โดยจะต้องครอบคลุมปริมาณของสารตกค้างที่ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ ทำการสกัดตัวอย่างซ้ำ (duplicate) เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีความน่าเชื่อถือในแต่ละครั้งที่ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในคะน้าด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการทดลอง สถานที่ทำแปลงทดลอง

แปลงที่ 1 อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม – เมษายน 2563
แปลงที่ 2 อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม – เมษายน 2564
แปลงที่ 3 อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม ระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2564

สถานที่ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง lufenuron
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation)

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง lufenuron ด้วยเครื่อง LC-MS/MS พบว่า lufenuron มีค่า retention time ที่ 5.18 นาที จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ สารพิษตกค้าง lufenuron ในคะน้า ด้วย วิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) สามารถประเมินค่า accuracy จากร้อยละการได้กลับคืน (%recover) ที่ระดับความเข้มข้น 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 95-115 ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ร้อยละ70-120 สำหรับ precision สามารถหาจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ได้จากการทำซ้ำ พบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 2-4 โดยช่วง %RSD ที่ยอมรับได้ คือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 (SANCO, 2013) แสดงให้เห็นได้ว่าวิธีนี้มีความถูกต้องและแม่นยำสูง ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (Limit of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (limit of detection, LOD) เท่ากับ 0.002 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง lufenuron ในคะน้า

spiked level (mg/kg)	%recovery (n=10)	%recovery average	SD	% RSD
0.002	95, 95, 95, 95, 95, 96, 100, 100, 101, 105	98	3.93	4
0.005	100, 102, 104, 105, 106, 108, 110, 111, 112, 114	107	4.57	4
0.01	106, 111, 112, 115, 116, 116, 117, 118, 118, 119	115	4.02	4
0.02	106, 110, 111, 112, 113, 113, 114, 116, 117, 118	113	3.52	3
0.05	92, 94, 94, 94, 94, 94, 95, 96, 96, 97	95	1.43	2
0.10	102, 108, 108, 109, 109, 109, 110, 111, 111, 115	109	3.34	3

LOD = 0.002 mg/kg, LOQ = 0.005 mg/kg

2. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะน้าจากแปลงทดลอง

ผลการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของสารกำจัดแมลง lufenuron ในตัวอย่างคะน้าจากแปลงของเกษตรกรทั้งหมด 3 แปลง โดยพ่น lufenuron 5% EC ตามอัตราแนะนำ 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นวัตถุอันตราย 2 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าตามระยะเวลาที่กำหนดนั้น พบว่าแปลงควบคุม (untreated plot) ทั้ง 3 แปลงทดลอง ตรวจไม่พบปริมาณสารตกค้างของ lufenuron ในทุกตัวอย่าง สำหรับแปลงที่พ่นวัตถุอันตราย lufenuron ตามอัตราแนะนำ (treated plot) ตรวจพบปริมาณสารตกค้าง lufenuron ดังนี้

2.1 แปลงทดลองคะน้าครั้งที่ 1 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม พิกัดแปลงทดลอง 13°52’09.2”N 100°04’20.7”E ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 2.429, 2.354, 1.337, 1.141, 0.421, 0.391 และ 0.147 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

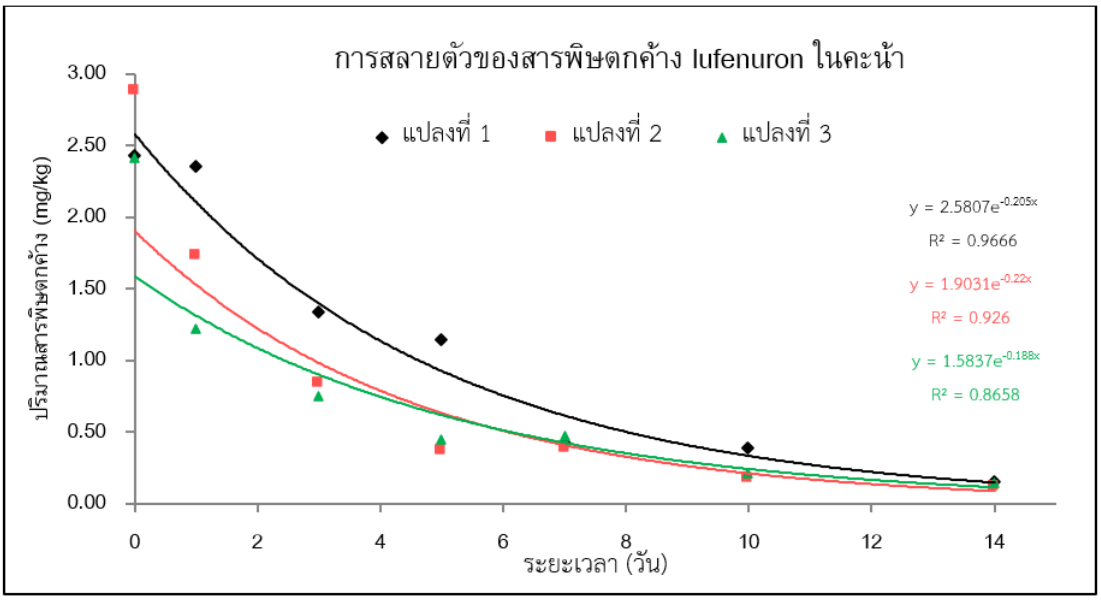
2.2 แปลงทดลองคะน้าครั้งที่ 2 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี พิกัดแปลงทดลอง 13°54’42.7”N 100°25’04.8”E ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 2.880, 1.734, 0.848, 0.371, 0.393, 0.175 และ 0.126 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

2.3 แปลงทดลองคะน้าครั้งที่ 3 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.เมืองนครปฐม จ. นครปฐม พิกัดแปลงทดลอง 13°51’37.7”N 99°56’57.8”E ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 2.413, 1.219, 0.745, 0.446, 0.465, 0.211 และ 0.141 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ รายละเอียดปริมาณสารตกค้างและเส้นแนวโน้มการสลายตัวแสดงดังตารางที่ 3 และภาพที่ 2

ตารางที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะน้าที่ระยะเวลาต่างๆ จากแปลงทดลองครั้งที่ 1-3

คะน้า	ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จากระยะเวลาหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย (วัน)						
	0 วัน	1 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน	10 วัน	14 วัน
แปลงที่ 1	2.429	2.354	1.337	1.141	0.421	0.391	0.147
แปลงที่ 2	2.880	1.734	0.848	0.371	0.393	0.175	0.126
แปลงที่ 3	2.413	1.219	0.745	0.446	0.465	0.211	0.141
เฉลี่ย	2.574	1.769	0.977	0.653	0.426	0.259	0.138

LOD = 0.002 mg/kg, LOQ = 0.005 mg/kg



ภาพที่ 2 แนวโน้มการสลายตัวของสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะน้าจากแปลงทดลองที่ 1-3

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในคะน้าทั้ง 3 แปลงทดลอง พบว่ามีการสลายตัวและปริมาณสารตกค้างลดลงเมื่อเว้นระยะวันในการเก็บเกี่ยวตัวอย่างให้นานขึ้น แต่อย่างไรก็ตามประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ (Maximum Residue Limit; MRL) ของ lufenuron ในคะน้าหรือกลุ่มพืชใกล้เคียง เช่นเดียวกับมาตรฐานโคเด็กซ์ (CODEX) มาตรฐานของกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป (EU-MRL) และมาตรฐานของประเทศญี่ปุ่น (JAPAN MRL) มีเพียงมะเขือเทศและแตงกวาที่ระบุค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ lufenuron เท่ากับ 0.4 และ 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Codex, 2021) สำหรับสหภาพยุโรปกำหนดปริมาณสารตกค้างของ lufenuron ไว้ในบร็อกโคลี คะน้า (kale) เป็นค่า default limit ระบุให้ตรวจพบได้ไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (EU, 2021) เช่นเดียวกับประเทศญี่ปุ่น (Japan MRLs) กำหนดค่า lufenuron ในกะหล่ำปลีเท่ากับ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในคะน้า (kale) เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผักกาดขาว 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม บร็อกโคลี 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มะเขือเทศ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นต้น (The Japan Food Chemical Research Foundation, 2017)

สำหรับการประเมินระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (Pre Harvest Interval; PHI) นั้น เนื่องจากยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ของ lufenuron ในคะน้าตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น จึงพิจารณาจากค่า MRL ของกลุ่มพืชใกล้เคียงที่ประเทศญี่ปุ่นกำหนดไว้ในคะน้า (kale) เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในคะน้าที่ได้จากงานวิจัยนี้ ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง) มีค่าปริมาณสารพิษตกค้างต่ำกว่าค่า Japan MRLs ที่กำหนด และเมื่อนำปริมาณสารตกค้างที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวดังกล่าว มาประเมินความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นต่อการได้รับสัมผัสจากการบริโภค โดยพิจารณาทั้งแบบเฉียบพลัน (acute dietary exposure) และแบบเรื้อรัง (chronic dietary exposure) ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง) ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัย ซึ่งตรงกับค่าความปลอดภัยจากการได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลัน (acute reference dose; ArfD) จากที่ประชุม JMPR (FAO, 2015) ซึ่งได้กำหนดให้ใช้เป็นค่าอ้างอิงได้ระบุไว้ว่า ArfD ของ lufenuron ไม่จำเป็นต้องพิจารณา (unnecessary) เนื่องจากที่มติที่ประชุมเห็นควรว่าการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร lufenuron ไม่ส่งผลกระทบที่น่ากังวลที่อาจจะทำให้ความเสี่ยงต่อสุขภาพ แต่อย่างไรก็ตามเพื่อความปลอดภัยต่อการบริโภคสูงสุดนั้น จึงควรเว้นระยะเก็บเกี่ยวภายหลังการใช้สาร lufenuron ในคะน้าตั้งแต่ 5 วันเป็นต้นไป

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด โดยทำการทดลองการพ่นวัตถุอันตราย lufenuron ในคะน้า ตามอัตราแนะนำ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นวัตถุอันตราย 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าหลังการพ่นวัตถุอันตราย นำตัวอย่างมาสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662: 2008) และวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากผลการวิเคราะห์ พบว่า lufenuron มีการสลายตัวและมีปริมาณลดลงเมื่อเว้นระยะในการเก็บตัวอย่างตามระยะเก็บเกี่ยวที่กำหนด เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร lufenuron ที่ตกค้างในตัวอย่างคะน้า หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง (0 วัน) 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบว่า มีปริมาณสารตกค้างในตัวอย่างคะน้าเฉลี่ยจากทั้ง 3 แปลงทดลองเท่ากับ 2.574, 1.769, 0.977, 0.653, 0.426, 0.259 และ 0.138 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างคะน้าที่สุ่มเก็บจากแปลงควบคุมทั้ง 3 แปลงทดลอง ตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในทุกตัวอย่าง จากข้อมูลปริมาณสารตกค้างดังกล่าว เมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นต่อการได้รับสัมผัสจากการบริโภค โดยพิจารณาทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง เพื่อความปลอดภัยต่อการบริโภคสูงสุดนั้น เห็นควรให้เว้นระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัยหลังการใช้สาร lufenuron ในคะน้าเท่ากับ 5 วัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลปริมาณสารตกค้าง lufenuron ที่ได้จากการทดลอง และระยะปลอดภัยของการเก็บเกี่ยวภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเพื่อนำไปใช้สำหรับกำหนดเป็นค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ (Maximum Residue Limit; MRL) เผยแพร่แก่บุคคลหรือหน่วยงานที่สนใจได้ทราบ ทั้งยังใช้ในการตรวจสอบคำแนะนำบนฉลากให้เหมาะสมตรงกับกลุ่มพืชที่ใช้

เอกสารอ้างอิง

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2560. คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 53 หน้า

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร. มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุเทพ สหายา. 2552. สารป้องกันกำจัดแมลง และไรศัตรูพืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรแมลงและสัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14, 20 – 24 เมษายน 2552 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 45 หน้า

CODEX – Pesticides database. 2021. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.fao.org/fao-who codexalimentarius/codextexts/dbs/pestres/pesticide detail/en/?p_id=286 (5 กรกฎาคม 2564)

EN 15662: 2008. Foods of plant origin- Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC MS/MS following acetonitrile extraction/partition and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method.

EU – Pesticides database. 2021. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticidesdatabase/mrls/?event =details&pest_res_ids=329&product_ids=135,143,142,144&v=1 (5 กรกฎาคม 2564)

FAO. 2015. List of Pesticides evaluated by JMPR and JMPS [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation2015/LUFENURON__286_.pdf (30 เมษายน 2564)

FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of Maximum Residue Levels in food and feed. Pesticide Residues. 3rd Edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO Plant Production and Protection Paper. 225, 298 pp.

The Japan Food Chemical Research Foundation. 2017. “Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=79300 (5 กรกฎาคม 2564)

SANCO. 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Union, Health and Consumer Protection Directorate General.

WHO. 2019. The WHO Recommended Classification of Pesticide by Hazard and Guidelines to Classification [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332193/9789240005662-eng.pdf?ua=1 (30 เมษายน 2564)

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Research on the chlorantraniliprol in Chinese broccoli to determine the maximum residue Limit.

ประพันธ์ เคนท้าว บุญทวีศักดิ์ บุญทวี สุพัตรี หนูสังข์ ศศิณิฎา คงแช่มดี จินตนา ภู่มงกุฎชัย

Praphan Kenthao Boonthaweesak Boonthawee Supatti Noosung Sasinida Khongchamdee Jintana Poomongkutchai

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This research aimed to determine the residues of chlorantraniliprole in Chinese broccoli, the experiment was performed on three farmers' plots at Bang Bua Thong District, Nonthaburi Province and Mueang Nakhon Pathom District, Nakhon Pathom Province in February 2020 - June 2021, one trial plot was split into 2 sub-experimental plots (control and treated plot). Treated plot was sprayed with 40 mL of 5.17% W/V SC Prevathon™ per 20 L of water and water consumption rate was 120 L/rai, sprayed every 7 days for 3 times. The samples were collected after the last application at 0 (2 hrs), 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 and 17 days and extracted by QuEChERS (EN 15662: 2008). The pesticide residue was analyzed by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) technique and validity of the test method was verified. It was found that the linearity of test method was in the range of 0.01 - 0.5 mg/kg, the qualitative and quantitative limits were 0.005 and 0.01 mg/kg, respectively and the residue content of chlorantraniliprole in three trial plots are in the range 0.01 - 6.16 mg/kg.

Keywords : chlorantraniliprole, Chinese broccoli, maximum residue limit

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองหาปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้า ณ แปลงทดลองของเกษตรกรจำนวนสามแปลงทดลองสองพื้นที่เพาะปลูกด้วยกันคือ อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี และ อ. เมืองนครปฐม จ. นครปฐม ในช่วงเดือน กุมภาพันธ์ 2563 - เดือนมิถุนายน 2564 แต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงควบคุม และแปลงทดสอบที่พ่นสารคลอแรนทรานิลิโพรล (5.17% W/V SC (Prevathon™) อัตราแนะนำ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 14 และ 17 วัน สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS, EN 15662 : 2008 ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทรกราฟ-แมสสเปคโทรเมตรี (LC-MS/MS) พร้อมทั้งตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ พบว่าความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบอยู่ในช่วง 0.01 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณมีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้ามีค่าอยู่ในช่วง 0.01 - 6.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำหลัก : คลอแรนทรานิลิโพรลคะน้า ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด

คำนำ

คะน้า (Chinese broccoli) นับเป็นพืชผักทางเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของไทย เนื่องจากเกษตรกรนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายเพราะเป็นพืชผักที่เจริญเติบโตไวมีช่วงอายุสั้น ปลูกได้ตลอดทั้งปี และตลาดผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศมีความต้องการสูง แต่ทั้งนี้คะน้าก็มีความอ่อนแอและถูกแมลงศัตรูเข้าทำลายก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตที่เกษตรกรพึงได้รับ โดยแมลงศัตรูที่สำคัญได้แก่ หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม และหนอนเจาะสมอฝ้าย เป็นต้น ดังนั้นสารคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) จึงถูกนำมาใช้ในการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้เพื่อป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชอาจก่อให้เกิดผลเสียร้ายแรงต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้หากมีการใช้งานไม่ถูกต้องเหมาะสม ดังนั้นประเทศต่างๆที่นำเข้าผลิตผลทางการเกษตรจึงตระหนักในปัญหานี้ และได้กำหนดมาตรการที่เข้มงวดในการอนุญาตให้นำเข้าเฉพาะสินค้าทางการเกษตรที่มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limits; MRLs) (สิรินาฏ, 2554) อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดเท่านั้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการทดลองหาค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ chlorantraniliprole ในคะน้าโดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS, EN 15662 : 2008 (British Standards Institution, 2008) และวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปแนะนำเกษตรกรผู้ปลูกคะน้าในการใช้สารให้ถูกต้องเหมาะสม มีการเว้นระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิต (PHI) ที่ปลอดภัย และนำไปประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRLs สำหรับใช้ต่อรองกับประเทศคู่ค้าในการส่งออกคะน้าเพื่อประโยชน์สูงสุดทางการค้าของประเทศไทยในอนาคตต่อไป

วิธีดำเนินการ

เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี

1. เครื่องพ่นวัตถุมีพิษทางการเกษตรด้วยมอเตอร์แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) และอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment; PPE)

2. อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ ป้ายปักแปลง เชือกฟาง หมุดหัวน็อต นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นแบบดิจิตอล เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) กระดาษวัดค่า pH (universal test paper) กระบอกตวงพลาสติกขนาด 1-2 ลิตร

3. เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องบดตัวอย่าง (food processor) เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer) เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ตู้แช่แข็ง (deep freezer) และเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography equipped with Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) ยี่ห้อ Agilent Technologies, LC รุ่น 1290 infinity, MS/MS รุ่น 6410 Triple Quad และคอลัมน์ Kinetex 2.6 µm XB-C18 100 Å, size 100 x 2.1 mm

4. อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ บีกเกอร์ (beaker) ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร ตัวกรองสำหรับกระบอกฉีดยา (syringe filter) ชนิด PTFE ขนาด 0.20 ไมโครเมตร กระบอกฉีดยา (syringe) อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลายระดับไมโครลิตร (micropipette)

5. วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้พ่นในแปลงทดลอง คือ 5.17% W/V SC (Prevathon^{TM})

6. สารมาตรฐาน chlorantraniliprole (Dr. Ehrenstorfer)

7. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile (ACN), LC-MS water, anhydrous magnesium sulfate ($MgSO_4$), sodium chloride (NaCl), tri-sodium citrate dihydrate ($C_6H_5Na_3O_7{\cdot}2H_2O$) และdi-sodium hydrogencitrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7{\cdot}1.5H_2O$

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

สำรวจแปลงเกษตรกรและเลือกพื้นที่ทำแปลงทดลอง โดยแต่ละแปลงทดลองต้องมีระยะทางห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร ซึ่งวางแผนการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในแปลงทดลองแบบ Supervised Residue Trial ตามหลักเกณฑ์ Food and Agriculture Organization of the United Nations (พิศาล, 2551 และ Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงเปรียบเทียบ (control) เป็นแปลงที่ไม่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่เราต้องการศึกษา และแปลงที่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ต้องการทดลอง (treatment) โดยพ่น chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2557) และอัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) แล้วสุ่มเก็บตัวอย่างหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ระยะเวลา 0 (2 ชม.) 1 3 5 7 10 14 และ 17 วันโดยเก็บตัวอย่างแปลงละ 2 ซ้ำต่อวัน บรรจุตัวอย่างในถุงพลาสติกและใช้ยางรัดปากถุงให้แน่น แช่ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็ง และใส่ temperature data logger ลงไปในกล่องตัวอย่างเพื่อบันทึกอุณหภูมิของตัวอย่าง แล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างเพื่อทำการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่าง

2. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างคะน้าที่ได้จากแปลงทดลองมาปั่นกับไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง (food processor) เก็บตัวอย่างที่ปั่นเสร็จแล้วในถุงพลาสติกชนิดเย็น และเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง (deep freezer) ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 ºC

3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method validation) ศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์ ตามระเบียบวิธีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยวิธีวิเคราะห์ QuEChERS Method (EN 15662 : 2008)

1) ชั่งตัวอย่างคะน้าปั่นละเอียดจำนวน 10 $\pm$ 0.10 กรัม ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือนาน 1 นาที

2) เติม anhydrous magnesium sulfate 4.00 กรัม sodium chloride 1.00 กรัม tri-sodium citrate dihydrate 1.00 กรัม และ di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate 0.50 กรัม เขย่าด้วยมือนาน 1 นาที

3) นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาทีนาน 5 นาที

4) กรองสารละลายส่วนใสผ่าน syringe ที่ต่อกับ PTFE syringe filter ขนาด 0.20 ไมโครเมตร ใส่ลงใน auto sampler vial แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยใช้คอลัมน์ C-18 (2.1×100 mm, 5 µm) อุณหภูมิ 25ºC ใช้ Mobile phase A และ B เป็นสารสารละลาย 5mM Ammonium formate ผสมกับ 0.1% formic acid และ Acetonitrile ตามลำดับ

5. วิเคราะห์ข้อมูลและรายงานปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน พ.ศ. 2564

เวลาและสถานที่ดำเนินการทดลอง

ลำดับแปลงทดลอง	สถานที่	ระยะเวลา
แปลงทดลองที่ 1	อ. เมืองนครปฐม จ. นครปฐม	กุมภาพันธ์ - เมษายน พ.ศ. 2563
แปลงทดลองที่ 2	อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี	มีนาคม - พฤษภาคม พ.ศ. 2564
แปลงทดลองที่ 3	อ. เมืองนครปฐม จ. นครปฐม	พฤษภาคม - มิถุนายน พ.ศ. 2564
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กทม.		ตุลาคม 2562 - กันยายน พ.ศ. 2564

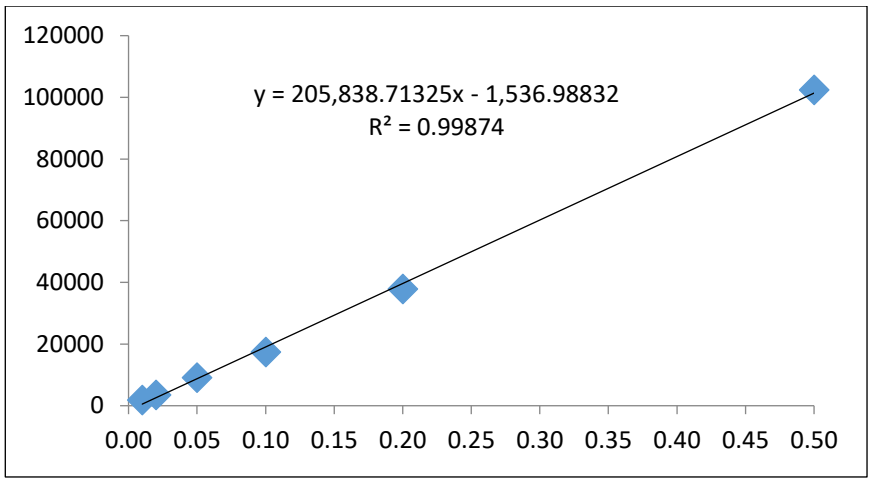
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาถึงขั้นตอนที่เหมาะสมในการสกัดสารคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้า พบว่าสามารถใช้วิธี QuEChERS: EN : 15662 : 2008 ที่ประกอบไปด้วยสารสกัด 4.0 g $MgSO_4$, 1.0 g NaCl, 1.0 g Na_3-citrate.$2H_2O$ และ 0.5 g Na_2-Hcitrate.$1.5H_2O$ โดยปราศจากการ Clean upในการสกัดตัวอย่างได้เป็นอย่างดี จากนั้นทำการตรวจสอบปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์ ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงดังต่อไปนี้

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method validation)

1.1) ช่วงการใช้งาน (Range)

ตรวจวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลที่เตรียมในตัวทำละลาย acetronitrile ที่ความเข้มข้น 0.005 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 0.5 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากนั้นทำการ fortified สารละลายมาตรฐานดังกล่าวที่ช่วงความเข้มข้นเดียวกันนี้ลงในตัวอย่างคะน้า จุดความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS อีกครั้ง สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกับค่าสัญญาณที่ตรวจวัดได้ พบว่าช่วงความเข้มข้นที่ตอบสนองเชิงเส้นตรงของวิธีทดสอบอยู่ในช่วง 0.01 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยให้ค่า R^2 มากกว่า 0.990 ดังภาพที่ 1 และ % recovery อยู่ในช่วง 70 - 120%



ภาพที่ 1 สัญญาณที่ตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานในช่วง 0.01 – 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

1.2) ขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงคุณภาพ(Limit of detection: LOD)

จากการตรวจสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลที่ fortified ในตัวอย่างคะน้าที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เพื่อประเมินหาค่า LOD จากสามเท่าของค่า SD พบว่าค่า LOD ที่ได้มีค่าเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจากการยืนยันผลการวิเคราะห์โดยทดสอบในตัวอย่างคะน้าจำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นจุดดังกล่าวพบสัญญาณการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลในทุกตัวอย่างคะน้าที่ทดสอบทุกตัว จึงได้กำหนดให้วิธีทดสอบนี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

1.3) ขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation: LQD)

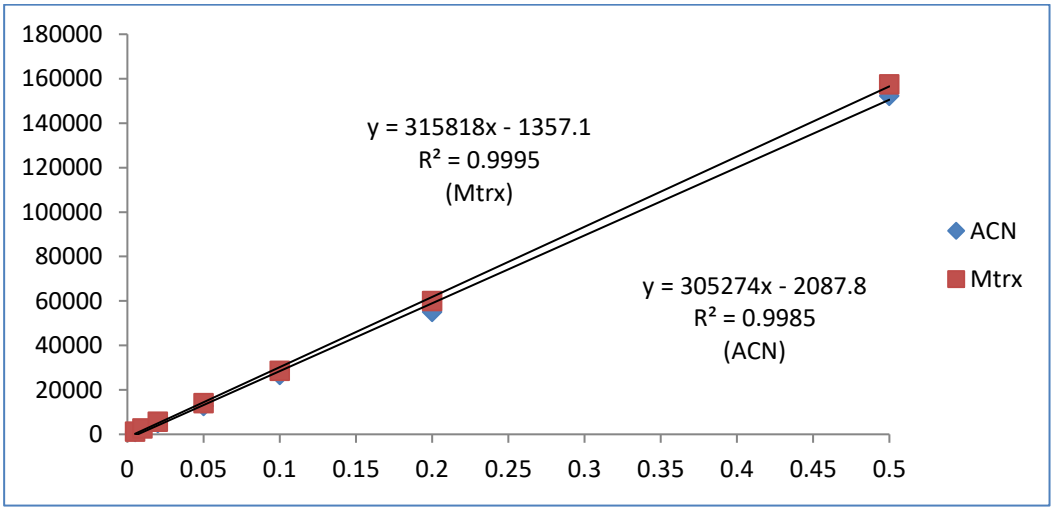
ประเมินค่า LOQ จากสิบเท่าของค่า SD ที่ระดับความเข้มข้นการ fortified สารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรล 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในตัวอย่างคะน้าจำนวน 10 ซ้ำ พบว่า LOQ มีค่าเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ดังตารางที่ 1) โดยพิจารณาจาก % Recovery ที่ทุกตัวอย่างให้ค่าอยู่ในช่วง 70 - 120 % ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณของสารคลอแรนทรานิลิโพรลในตัวอย่างคะน้า ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ

List	LOD testing at 0.01mg/kg												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Avg.	SD	%RSD
% Recovery	88	91	90	89	89	92	89	83	90	89	89	2.40	2.70
Respond	3,850	4,003	3,941	3,921	3,888	4,024	3,922	3,646	3,927	3,884	3,901	103.67	2.66

1.4) Matrix effect

คำนวณหาอิทธิพลสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่าง (Matrix effect) จากค่าความชัน (slope) ของการ fortified สารมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลในตัวอย่างคะน้า (Mtrx) กับ slope ของสารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลที่เตรียมในตัวทำละลาย acetronitrile (ACN) ตามสมการ % Matrix effect = (slope Mtrx/slope ACN) x 100 ดังภาพที่ 2 พบว่ามีค่าเท่ากับ 103.5 ซึ่งแตกต่างกันไม่เกิน 10 % ดังนั้นจึงไม่มีผลของ Matrix ทำให้สามารถเตรียมสารละลายมาตรฐานในตัวทำละลาย acetronitrile เพื่อตรวจวิเคราะห์หาสารคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้าได้



ภาพที่ 2 การตรวจสอบ Matrix effect ของสารคลอแรนทรานิลิโพรลที่ fortified ในตัวอย่างคะน้า (Mtrx) กับสารมาตรฐานที่เตรียมในตัวทำละลาย ACN

1.5) ความเสถียรของสารคลอแรนทรานิลิโพรลในตัวอย่างคะน้า

ทำการ fortified สารละลายมารฐานของสารคลอแรนทรานิลิโพรลที่ความเข้มข้นสิบเท่าของค่า LOQ (จากการทดลองเบื้องต้นพบค่า LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) หรือที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างคะน้าแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ Freezer เพื่อรอการสกัดในช่วงเวลาต่างๆ จากนั้นสกัดตัวอย่างโดยอ้างอิงจากวิธี QuEChERS (EN 15662 : 2008) ที่ประกอบด้วยสารสกัด 4.0 g $MgSO_4$, 1.0 g NaCl, 1.0 g Na_3-citrate·$2H_2O$ และ 0.5 g Na_2-Hcitrate·$1.5H_2O$ โดยปราศจากการ Clean up สารละลายส่วนใส แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากศึกษาความเสถียรของสารฯในตัวอย่างที่เวลา 0 1 2 และ 3 เดือน พบว่ามีค่า % recovery เท่ากับ 88% 87% 87% และ 81% ตามลำดับ ซึ่งยืนยันถึงความเสถียรของสารฯที่ตกค้างในตัวอย่างคะน้าได้เป็นอย่างดี

1.6) ปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้า

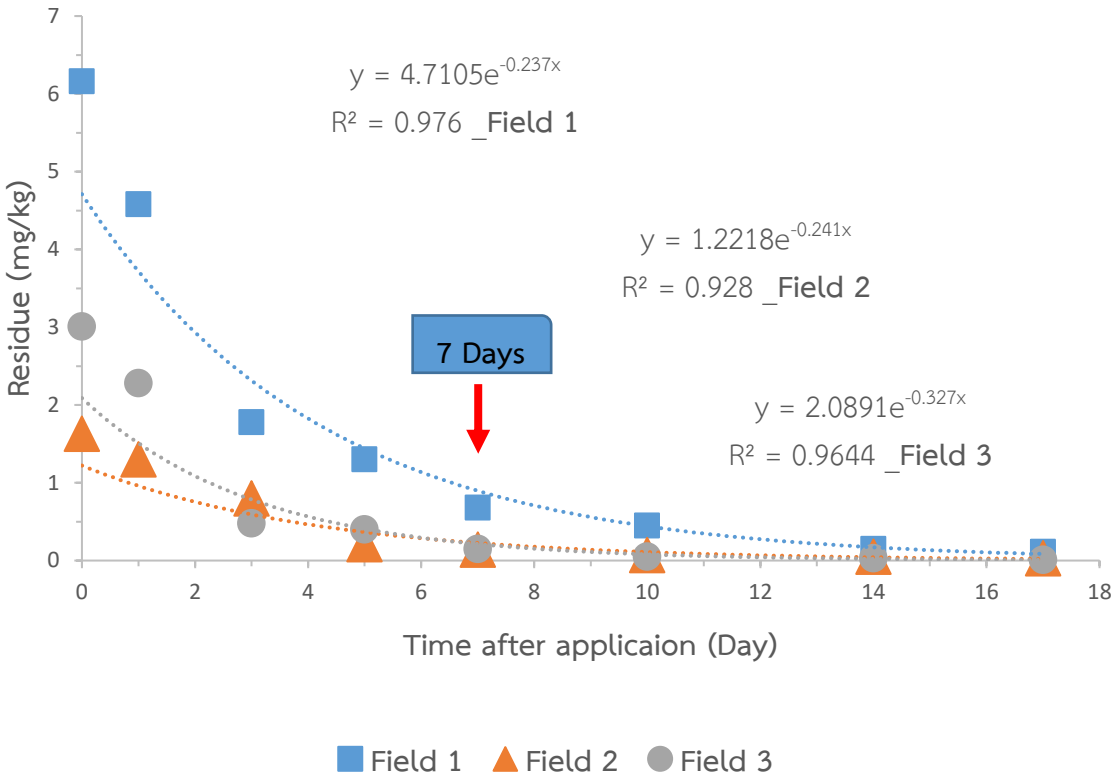
จากการทำแปลงทดลองคะน้าทั้ง 3 แปลงทดลองในพื้นที่จังหวัดนครปฐม และจังหวัดนนทบุรี ในช่วงปี พ.ศ. 2562 — 2564 ซึ่งแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อยคือแปลงที่พ่นสารคลอแรนทรานิลิโพรล (treated plot) 5.17% W/V SC (Prevathon™) ที่อัตราแนะนำ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง และแปลงควบคุม (control plot) คือแปลงที่ไม่มีการใช้สารคลอแรนทรานิลิโพรลสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 14 และ 17 วัน หลังการพ่นสารฯครั้งสุดท้าย จากนั้นสกัดตัวอย่างโดยวิธี QuEChERS (EN 15662 : 2008) โดยไม่มีการ Clean up-นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยใช้เฟสเคลื่อนที่คือ เฟส A: 5mM-ammonium formate + 0.01% formic acid และ เฟส B: aetonitrile จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้าที่ระยะเวลา 0 - 17 วัน สำหรับแปลงทดลองที่ 1 - 3 ให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารคลอแรนทรานิลิโพรลในตัวอย่างคะน้า สำหรับแปลงทดลองที่ 1 - 3 ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่างๆ

Day after application	Pesticide residue (mg/kg)			
(Day)	Field 01	Field 02	Field 03	Control
0 (2 hr)	6.16	1.63	3.01	ND
1	4.58	1.30	2.28	ND
3	1.78	0.80	0.48	ND
5	1.30	0.21	0.40	ND
7	0.68	0.14	0.15	ND
10	0.45	0.07	0.05	ND
14	0.15	0.05	0.03	ND
17	0.11	0.03	0.01	ND

ND = 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

นำผลการทดลองที่ได้ไปประเมินค่า PHI ของคะน้า พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างมีค่าลดต่ำลงเมื่อระยะเวลาการเก็บตัวอย่างหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งชี้บ่งได้ว่าสารดังกล่าวที่ตกค้างในพืชผักมีการสลายตัวอย่างต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาผ่านไป ทำให้สามารถกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยได้โดยพบว่าค่า PHI ของการทดลองนี้มีค่าอยู่ที่ 7 วัน โดยพิจารณาจากภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้างของสารคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้าทั้งสามแปลงทดลอง

สรุปผลการทดลอง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าที่พ่นสารคลอแรนทรานิลิโพรลจำนวน 3 ซ้ำ ทุกๆ 7 วัน ที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 14 และ 17 วัน สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS, EN 15662 : 2008 เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS พร้อมทั้งตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ พบว่าวิธีทดสอบมีช่วงใช้งานอยู่ในช่วง 0.01 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงคุณภาพ0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณมีค่าเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้าในแปลงทดลองที่ 1 2 และ 3 ค่าเท่ากับ 6.164.581.781.300.680.450.150.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 1.63 1.30 0.80 0.21 0.14 0.07 0.05 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 3.01 2.28 0.48 0.40 0.15 0.05 0.03 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาต่างๆตามลำดับ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ส่งข้อมูลสารพิษตกค้างให้คณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตรเรื่องสารพิษตกค้างเพื่อกำหนดค่า MRL ของประเทศไทย

2. ค่า PHI ส่งให้คณะทำงานและผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินเอกสารข้อมูลพิษวิทยาและพิษตกค้างเพื่อการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตรเพื่อใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่า PHI สำหรับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย

3. นำองค์ความรู้การสลายตัวของสารพิษตกค้างส่งให้กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตรใช้เป็นแนวทางการทำวิจัยเรื่องสารพิษตกค้างในผักและผลไม้

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. ***คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช ปี 2553.*** พิมพ์ครั้งที่ 17. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กลุ่มบริหารศัตรูพืช. 2557. ***คู่มือป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุง).*** สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

พิศาล พงศาพิชณ์. 2551. ***คู่มือการจัดทำข้อมูลและข้อเสนอการกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศด้านสารพิษตกค้างสำหรับสินค้าเกษตรไทย.*** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

สิรินาฏ พรศิริประทาน. 2554. “การส่งออกผักและผลไม้สดไทยไปสหภาพยุโรป” [ออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://thaifranchisedownload.com/dl/group12720130102143938.pdf (14 พฤษภาคม 2564).

British Standards Institution, EN 15662. 2008. ***Foods of plant origin-determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method.***

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. ***Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed.*** FAO Plant Production and Protection Paper 225. 3rd ed.Rome : FAO.

Organtini K., G. Cleland, E. McCall and S. Hird. 2017. ***LC-MS/MS and GC-MS/MS Multi Residue Pesticide Analysis in Fruit and Vegetable Extracts on a Single Tandem Quadrupole Mass Spectrometer.*** Chromatography today.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอีมาเมกติน เบนโซเอต (emamectin benzoate) ในผักชีฝรั่ง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Residue trials of emamectin benzoate in stink weed to establish maximum residue limit (MRL)

วาเลนไทน์ เจือสกุล วิชุตา ควรหัตร์ วีระสิงห์ แสงวรรณ ชนิตา ทองแซม ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร

Valentine Juasakul Wichuta Kuanhut Weerasing Saengwan Chanita TongSam Piyasak Akcaboot

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study of supervised residue trial on emamectin benzoate in stink weed for establish Maximum Residue Limit (MRL) was conducted 3 trials at Nakhon Pathom province and Kanchanaburi province, central of Thailand from 2020 to 2021. The application was performed with 10 ml of emamectin benzoate per 20 liters of water (120 liters of water per rai). The supervised residue trial consisted of untreated plot (control section) and treated plot (application section). The formulation of 1.92% EC emamectin benzoate was applied twice at 7 days interval on treated plot. After the last application, samples were collected at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days for residue analysis following QuEChERS method (EN15662, 2008) by using LC-MS/MS instrument. The limit of quantification (LOQ) was 0.01 mg/kg. The results shown that all untreated samples, the residue were not detected or lower than 0.01 mg/kg while treated samples were found the residue contained between lower than 0.01 to 0.05 mg/kg. The storage stability on emamectin benzoate in stink weed was study and the result shown that emamectin benzoate is stable in stink weed for a year following stored under frozen condition (-20±5 °C) without degradation of the residue.

Keywords : emamectin benzoate, stink weed, MRL, supervised residue trial, QuEChERS, LC-MS/MS

บทคัดย่อ

ศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างอีมาเมกติน เบนโซเอต (emamectin benzoate) ในผักชีฝรั่ง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทดลองในแปลงผักชีฝรั่งของเกษตรกรทั้งหมด 3 แปลง ระหว่างปี 2563 ถึง 2564 ที่จังหวัดนครปฐมและกาญจนบุรี วางแผนการทดลองแบบ supervised residue trial โดยแต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงทดลองที่ไม่พ่น emamectin benzoate เป็นแปลงควบคุม (untreated plot) และแปลงทดลองที่พ่น emamectin benzoate เป็นแปลงทดลอง (treated plot) พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารทุก 7 วัน ติดต่อกัน 2 ครั้ง ภายหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายสุ่มเก็บตัวอย่างผักชีฝรั่งที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 และ 14 วัน นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate โดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟฟีแมสสเปกโทรมิเตอร์ (LC-MS/MS) ซึ่งมีความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างจากแปลงควบคุม (untreated) ทั้ง 3 แปลง

มีปริมาณสารพิษตกค้างน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ตัวอย่างจากแปลงทดลอง (treated) พบปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ระหว่างน้อยกว่า 0.01 ถึง 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจากการทดสอบความคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งที่เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง (Freezer) ที่อุณหภูมิ -20±5 ºC พบว่ามีความคงตัวนาน 360 วัน โดยไม่มีการสลายตัวของสารพิษตกค้าง

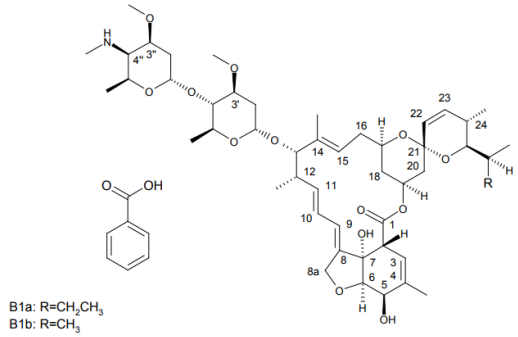
คำหลัก : อีมาเมกตินเบนโซเอต ผักชีฝรั่ง ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

คำนำ

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (Maximum Residue Limit; MRL) หมายถึงปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในสินค้าเกษตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมสินค้าเกษตร ซึ่งพิจารณากำหนดโดยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรของประเทศไทย ส่วนการกำหนดค่า MRL ของ Codex Alimentarlus (Codex MRL) เป็นการพิจารณาร่วมกันของคณะกรรมาธิการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ โดยพิจารณาจากข้อมูลผลการทดลองของประเทศสมาชิกภายใต้แนวทางการดำเนินงานตามหลักเกณฑ์การทำแปลงทดลองสารพิษตกค้างของ Codex Guideline และหลักการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agricultural Practice) ในการกำหนดค่า MRL จะพิจารณาตามชนิดของวัตถุมีพิษและชนิดของพืช โดยส่วนใหญ่คณะกรรมาธิการจะพิจารณาพืชและวัตถุมีพิษที่ใช้กันมากในสหภาพยุโรปและประเทศในซีกโลกตะวันตก สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศในแถบเอเชียและมีการส่งออกผักและผลไม้เมืองร้อน จึงมีความจำเป็นต้องทำการทดลองในพืชเมืองร้อนเพื่อให้มีการกำหนดค่า MRL ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการต่อรองทางการค้าและป้องกันการกีดกันทางด้านการค้าสำหรับพืชและวัตถุมีพิษที่ Codex ไม่มีการกำหนดค่า MRL ไว้ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

ผักชีฝรั่ง (culantro, stink weed, stinking) จัดอยู่ในวงศ์ผักชี (Apiaceae) เป็นผักที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีใบสีเขียวอ่อนและเข้ม ขอบใบมีลักษณะคล้ายฟันเลื่อย เป็นพืชที่ปลูกง่าย โตเร็ว และให้ผลตอบแทนสูง สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติได้จัดผักชีฝรั่งอยู่ในกลุ่มสมุนไพรและเครื่องเทศ (herbs and spices) กลุ่มย่อยไม้ล้มลุก ซึ่งอยู่ในกลุ่มเดียวกับกะเพรา โหระพา และใบแมงลัก (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) ผักชีฝรั่งนิยมบริโภคใบสดและนำมาปรุงแต่งรสอาหาร แม้ว่าผักชีฝรั่งจะเป็นพืชที่ปลูกง่ายและปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย แต่จากข้อมูลของกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2560) พบแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ได้แก่ แมลงหวี่ขาว หนอน และเพลี้ยไฟ เป็นต้น ทำให้เกษตรกรประสบปัญหาผลผลิตที่ลดลงหรือผลผลิตคุณภาพต่ำ จึงจำเป็นต้องใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ดังนั้นผู้บริโภคจึงต้องระวังสารเคมีตกค้างอยู่ที่ใบก่อนที่จะนำไปรับประทาน

emamectin benzoate เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตร จัดอยู่ในกลุ่ม avermectin เป็นสารป้องกันแมลงศัตรูพืชประเภทดูดซึม (systemic pesticide) ออกฤทธิ์แบบกินตาย ถูกตัวตาย สามารถดูดซึมเข้าไปสู่ใบพืชได้อย่างรวดเร็ว ออกฤทธิ์ทันทีหลังจากพ่นสารลงบนพืช ทำลายระบบประสาทและการทำงานของกล้ามเนื้อทำให้แมลงหยุดกินใบพืชทันทีที่สัมผัส (JMPR, 2005) ใช้ป้องกันกำจัดหนอนชอนใบ (leafminer) เพลี้ยไฟ (thrips) หนอนเจาะสมอฝ้าย (cotton bollworm) ในพืชตระกูลกะหล่ำ กะเพรา โหระพา แมงลัก และผักชี อัตราแนะนำที่ใช้กำจัดเพลี้ยไฟในกลุ่มพืชสมุนไพร คือ emamectin benzoate 1.92% EC ปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2560) และในการกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ emamectin benzoate ตามชนิดสารพิษตกค้างที่กำหนดให้ตรวจ (definition of residues) กำหนดให้ใช้ค่าปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin B1a benzoate เท่านั้น (FAO/WHO, 2021)



R = CH_2CH_3 for emamectin B1a benzoate; R = CH_3 for emamectin B1b benzoate

Figure 1 Structural formula of emamectin benzoate (JMPR, 2005)

แม้ว่า emamectin benzoate จะมีฤทธิ์ป้องกันแมลงศัตรูพืชในกลุ่มพืชสมุนไพร แต่ประเทศไทยและ Codex ยังไม่มีข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) และระยะหยุดพ่นสารก่อนเก็บเกี่ยว (Pre harvest interval: PHI) สำหรับพืชตระกูลนี้ ดังนั้นการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งแบบ supervised trials โดยแปลงทดลองต้องมีหลักการปลูกแบบ GAP (Good Agricultural Practice) มีการบันทึกและการทำงานตามหลัก GLP (Good Laboratory Practice) จะทำให้ได้ข้อมูลเพื่อนำไปประกอบการพิจารณากำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของประเทศไทย ASEAN และ Codex เพื่อใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิตและตรวจสอบผักชีฝรั่งที่ผลิต นำเข้า และส่งออก อีกทั้งยังสามารถกำหนดระยะเวลาปลอดภัยของการพ่นสารครั้งสุดท้ายจนถึงวันเก็บเกี่ยวหรือระยะหยุดพ่นสารก่อนเก็บเกี่ยว (PHI) เพื่อให้เกษตรกรใช้ emamectin benzoate กับพืชอย่างถูกต้องและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ และสารเคมี

1. การทำแปลงทดลอง ได้แก่ เครื่องพ่นแบบติดเครื่องยนต์สะพายหลังขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร (Motorized knapsack sprayer) ชุดสวมใส่ป้องกันสารเคมี แว่นและหมวกป้องกันสารเคมี หน้ากากอนามัย ถุงมือ นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (Temperature Hygrometer) เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger) ตลับเมตร เชือกฟาง แผ่นป้ายชื่อวัตถุมีพิษ ไม้ปักแปลง หมุดหัวน็อต กระบอกตวง บีกเกอร์ (Beaker) ปิเปตต์ (Pipette) และวัตถุอันตรายอีมาเมกตินเบนโซเอต (emamectin benzoate) 1.92% EC ชื่อการค้า โปรเคลม

2. ห้องปฏิบัติการ ได้แก่ สารมาตรฐาน emamectin benzoate ความบริสุทธิ์ 96.87% เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องปั่นตัวอย่าง (ยี่ห้อ Retsch รุ่น GM300) ตู้แช่แข็ง (Freezer) เครื่องแก้ว ได้แก่ กระบอกตวง บีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขวดใส่สารละลาย (lab bottle) autosampler vial และแท่งแก้วคนสาร micropipette ขนาด 10-20 10-100 และ 100-1,000 ไมโครลิตร centrifuge tube ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร syringe filter PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร เครื่อง vortex mixer เครื่อง centrifuge สารเคมี ได้แก่ acetonitrile, magnesium sulfate anhydrous, primary-secondary amine (PSA), graphitized carbon black (GCB), sodium chloride, trisodium citrate dihydrate, di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate, ammonium formate, formic acid และไนโตรเจนเหลว เครื่องตรวจวิเคราะห์ Liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC-MS/MS)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

1.1) สำรวจและเลือกแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ supervised trial แต่ละแปลงทดลองต้องห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร ภายใต้การทำแปลงทดลองในปีเดียวกัน ซึ่งสถานที่ทำแปลงทดลอง มีดังนี้

แปลงที่ 1 ตำบลดอนข่อย อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ทำการทดลองระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม 2563

แปลงที่ 2 ตำบลตะครั้ำเอน อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ทำการทดลองระหว่างเดือนมีนาคมถึงเดือนเมษายน 2564

แปลงที่ 3 ตำบลดอนข่อย อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ทำการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม 2564

1.2) แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงควบคุม (untreated plot) เป็นแปลงทดลองที่ไม่พ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate และแปลงทดลองที่พ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate 1.92% EC (treated plot) ตามอัตราแนะนำคือ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553)

1.3) calibrate เครื่องพ่น Motorized knapsack sprayer ก่อนทำการทดลอง เพื่อหาอัตราการใช้น้ำ (flow rate) และเวลา (target time) ในการเดินพ่นวัตถุมีพิษต่อพื้นที่แปลงทดลอง และทดสอบผู้พ่นวัตถุมีพิษให้เดินตรงกับเวลาที่ได้จากการ calibrate เพื่อควบคุมการพ่นวัตถุมีพิษให้มีความสม่ำเสมอและถูกต้องแม่นยำ

1.4) พ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate 1.92% EC ในแปลงทดลองย่อย treated plot โดยพ่นสารทุก 7 วัน 2 ครั้งติดต่อกัน หลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างผักชีฝรั่งที่ระยะ 0 1 3 5 7 10 และ 14 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate โดยน้ำหนักตัวอย่างที่สุ่มเก็บต้องไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม แต่ละแปลงทดลองย่อยจะสุ่มเก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุม (untreated plot) ก่อน จากนั้นจึงสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงที่พ่นวัตถุมีพิษ (treated plot)

1.5) ขนส่งตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงทดลองมาที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร โดยบรรจุตัวอย่างใส่ถุงเก็บตัวอย่าง แต่ละถุงมีป้ายชื่อตัวอย่างและชื่อวัตถุมีพิษระบุชัดเจน บันทึกน้ำหนักตัวอย่าง อุณหภูมิ และเวลาที่สุ่มเก็บตัวอย่าง จากนั้นนำถุงตัวอย่างใส่ในกล่องโฟมที่มีถุงใส่น้ำแข็งบรรจุอยู่เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างระหว่างการขนส่ง วางเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger) ไว้ในกล่องโฟมกับถุงใส่ตัวอย่างเพื่อตรวจสอบอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการให้เก็บตัวอย่างในตู้แช่แข็ง (Freezer) ที่อุณหภูมิ -20±5 ºC

2. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง

2.1) ทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์

2.1.1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน stock standard solution ของ emamectin benzoate ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานที่เป็น primary standard ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 5 ตำแหน่ง ให้ได้น้ำหนักเนื้อสาร 10 มิลลิกรัมโดยประมาณ ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลาย acetonitrile ลงใน volumetric flask ทีละน้อย เขย่าจน primary standard ละลายหมด จากนั้นจึงเติม acetonitrile จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน เทสารละลายมาตรฐานลงขวดใส่สารละลาย (lab bottle) ติดฉลาด ระบุชื่อสาร ความเข้มข้น ชื่อผู้เตรียม สารละลายที่ใช้ และวันที่เตรียมให้ชัดเจน เก็บสารมาตรฐานที่เตรียมในตู้แช่แข็ง (Freezer) ที่อุณหภูมิ -20±5 ºC โดยความเข้มข้นของสารมาตรฐานสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักที่ชั่ง (มิลลิกรัม)} \times \text{ความบริสุทธิ์ของสาร (\%)} \times 1000}{\text{ปริมาตรที่เตรียม (มิลลิลิตร)} \times 100}$$

2.1.2) เตรียม intermediate standard solution ของ emamectin benzoate ที่ความเข้มข้น 100 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดยที่ N_1 = ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

N_2 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

V_1 = ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องดูดมา (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของสารที่ต้องการเตรียม (มิลลิลิตร)

ใช้ micropipette ดูด stock standard solution ในปริมาตรที่คำนวณไว้ ลงใน volumetric flask เติม acetonitrile ลงใน volumetric flask จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเทสารละลายมาตรฐานลงขวดใส่สารละลาย (lab bottle) ติดฉลาด ระบุชื่อสาร ความเข้มข้น ชื่อผู้เตรียม สารละลายที่ใช้ และวันที่เตรียมให้ชัดเจน เก็บสารมาตรฐานที่เตรียมในตู้แช่แข็ง (Freezer) ที่อุณหภูมิ -20±5 °C

2.1.3) ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งโดยการสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 8 ซ้ำ พิสูจน์ความแม่น (accuracy) จากร้อยละการกลับคืน (%recovery) และพิสูจน์ความเที่ยง (precision) จากร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (%RSD)

2.2) วิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008)

2.2.1) เตรียมตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างผักชีฝรั่งที่แช่แข็งไปปั่นกับไนโตรเจนเหลวด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ปั่นแล้วในตู้แช่แข็ง (Freezer) ที่อุณหภูมิ -20±5 °C

2.2.2) ชั่งตัวอย่างผักชีฝรั่ง 10 กรัม ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) โดยเติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที เติม magnesium sulfate anhydrous 4 กรัม sodium chloride 1 กรัม trisodium citrate dihydrate 1 กรัม และ di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัม เขย่าอีก 1 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที อีก 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนบน 5 มิลลิลิตร ใส่ centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี magnesium sulfate anhydrous 750 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ GCB 38 มิลลิกรัม เขย่าโดยใช้เครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที อีก 5 นาที กรองสารละลายที่ได้ด้วย syringe filter ขนาด 2 ไมโครเมตร ใส่ขวดแก้ว (lab bottle) ขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายที่กรองแล้วด้วย micropipette ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ autosampler vial และเติม 10% formic acid 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

2.2.3) เตรียมสารละลายมาตรฐานของ emamectin benzoate ในสารละลายที่สกัดจาก sample blank ตามวิธีสกัดตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 0.01 0.05 0.1 0.2 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (working standard solution) เพื่อสร้าง calibration curve ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน emamectin benzoate (แกน x) กับ peak area (แกน y) ซึ่งต้องมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

2.3) ศึกษาความคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง

ทดสอบสภาวะการสลายตัวระหว่างการเก็บรักษาของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง ที่ระยะเวลา 0 14 30 60 90 120 180 และ 360 วัน โดย spiked สารมาตรฐาน emamectin benzoate ลงในตัวอย่างผักชีฝรั่ง จำนวน 16 ขวด ที่ความเข้มข้น 10 เท่าของ LOQ (FAO, 2016) จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ spiked แล้วในตู้แช่แข็ง (Freezer) ที่อุณหภูมิ -20±5 °C เมื่อถึงระยะเวลาที่ศึกษานำตัวอย่างมาสกัดและวิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกันกับตัวอย่างจากแปลงทดลอง และในการวิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละครั้งจะทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (procedural recovery) เพื่อเปรียบเทียบตัวอย่าง storage stability และ procedural recovery ที่สกัดภายในวันเดียวกัน ซึ่งเป็นการตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

2.4) สภาวะการทำงานของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง

Column: Phenomenex 2.6 µm XB C18 100A, 100 mm × 2.1 mm

Temperature : 40 °C

Ion mode : ESI (positive)

Source parameters : Gas Temp (°C) 300

Gas Flow (L/min) 5

Nebulizer (psi) 45

Capiilary (V) 3500

Injection volume : 5 µL

Mass parameters :

	Precursor ion	Product ion	Dwell	CE (V)
Emamectin B1a	886.5	302.2	100	27
	886.5	270.0	100	32
	886.5	158.0	100	40
Emamectin B1b	872.5	302.2	100	27
	872.5	158.2	100	40

Mobile phase : 5 mM ammonium formate in water (A), acetonitrile (B)

Run time : 8 min

Time	Flow rate	Solvent A (%)	Solvent B (%)
0	0.4	80	20
0.5	0.4	80	20
3.0	0.4	5	95
5.0	0.4	5	95
7.0	0.4	80	20
8.0	0.4	80	20

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการทดลอง ปี 2563 จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม
ปี 2564 จังหวัดกาญจนบุรีและนครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม-กรกฎาคม
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. แปลงทดลอง

พ่นวัตถุมีพิษ emamectin benzoate 1.92% EC ในแปลงทดลองย่อย treated plot ตามอัตราแนะนำคือ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นทุก 7 วัน จำนวน 2 ครั้งติดต่อกัน ปริมาณวัตถุมีพิษที่ลงในแปลงทดลองสามารถหาได้จากประสิทธิภาพการพ่นสาร ซึ่งจะคำนวณจากเวลาในการพ่นสารเทียบกับ target time โดยทั้ง 3 แปลงทดลองมีประสิทธิภาพการพ่นสารอยู่ในเกฑณ์การยอมรับระหว่าง 97-101% (Table 1)

Table 1 Efficiency of test substance apply per plot.

Trial	Efficiency of test substance (%)	
	1st application	2nd application
1	100	101
2	97	100
3	101	101

2. ทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์

วิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) โดยศึกษาที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามี %recovery อยู่ในช่วง 81-105% และ %RSD อยู่ในช่วง 6-11% (Table 2) ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (SANTE, 2017) และความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง ที่สามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (Limited of quantification; LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Table 2 Result of method validation of emamectin benzoate in stink weed.

Concentration (mg/kg)	%recovery	average of %recovery	%RSD
0.01*	94, 90, 85, 87, 96, 105, 94, 98	94	7
0.1	91, 84, 86, 85, 88, 100, 96, 92	90	6
0.5	81, 82, 99, 104, 99, 101, 81, 84	91	11

* Limited of quantification; LOQ

3. ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งจากแปลงทดลอง

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งจากแปลงทดลองที่พ่นสารตามอัตราแนะนำ พบว่าหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ระยะเก็บเกี่ยว 0 ถึง 14 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างลดลงตามระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นแนวโน้มเดียวกันทั้ง 3 แปลงทดลอง โดยจะเห็นว่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 0 และ 1 วัน การสลายตัวของสารพิษตกค้างเกิดขึ้นค่อนข้างรวดเร็ว ในขณะที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 3 ถึง 14 วัน การสายตัวของสารพิษตกค้างจะคงที่โดยมีปริมาณสารพิษตกค้างน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นการสลายตัวแบบ exponential (Figure 2) โดยแปลงทดลองที่ 1 พบว่าสารพิษตกค้างมีปริมาณน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตั้งแต่ระยะเก็บเกี่ยวที่ 1 วัน ส่วนแปลงทดลองที่ 2 และ 3 มีปริมาณสารพิษตกค้างน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเก็บเกี่ยว 3 วัน (Table 3) และตัวอย่างจากแปลงควบคุม (untreated plot) ทั้ง 3 แปลง มีปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงให้เห็นว่ามีการสลายตัวของ emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามประเทศไทย และ Codex ยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ของ emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งหรือในกลุ่มพืชสมุนไพร (FAO/WHO, 2021) แต่สหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่นได้กำหนดค่า EU MRL (EU, 2022) และ Japan MRL (JFCRF, 2021) ของ emamectin

benzoate ในกลุ่มพืชสมุนไพร เท่ากับ 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากค่า MRL ของสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่นที่ใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงชั่วคราว จะเห็นว่าที่ระยะเก็บเกี่ยว 1 วัน ปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งทั้ง 3 แปลง มีค่าน้อยกว่า 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยกว่า MRL ของทั้งสองประเทศ แต่อย่างไรก็ตามการพิจารณากำหนดค่า MRL นั้น จะต้องนำปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้ไปประเมินความเสี่ยงจากการบริโภค (Risk assessment for dietary intake) ทั้งแบบเฉียบพลัน (Acute) และแบบเรื้อรัง (Chronic) ก่อนที่จะนำมาพิจารณากำหนดค่า PHI โดยจะต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากที่สุด

Table 3 Total residue of emamectin benzoate in stink weed.

Day after last application (DALA)	Total residue of emamectin benzoate (mg/kg)		
	Trial 1	Trial 2	Trial 3
0	0.04	0.05	0.03
1	<0.01	0.01	0.01
3	<0.01	<0.01	<0.01
5	<0.01	<0.01	<0.01
7	<0.01	<0.01	<0.01
10	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01

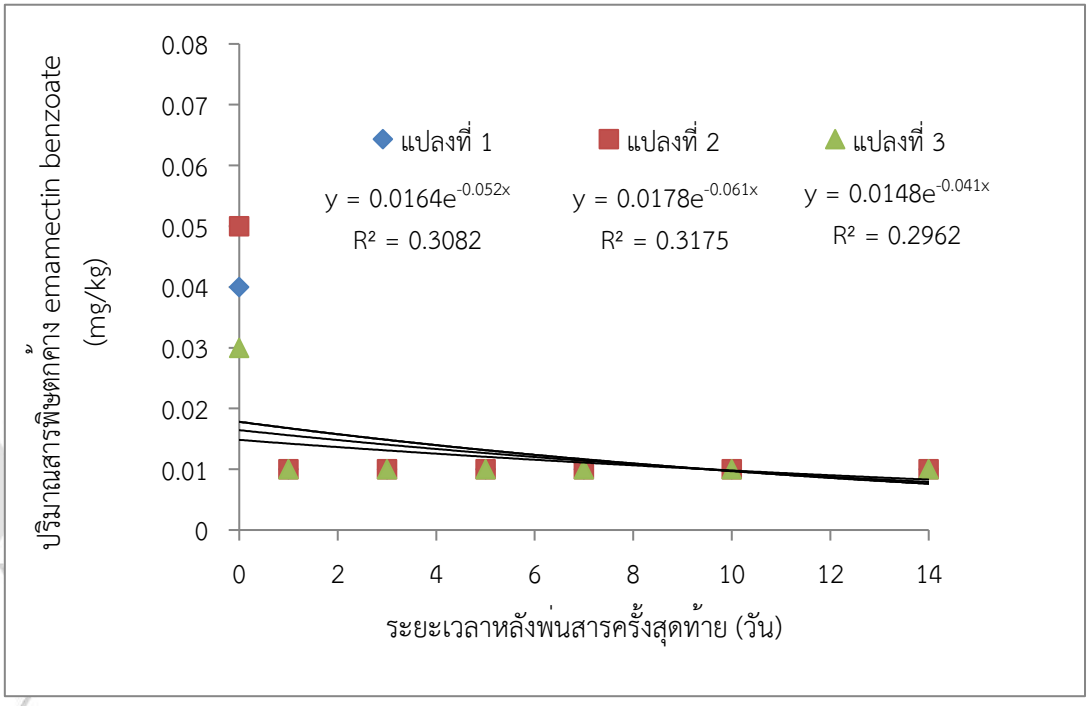


Figure 2 Trend line of decline study on emamectin benzoate in stink weed.

4. ความคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง

จากการทดสอบสภาวะการสลายตัวหรือความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) ของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง ที่ระยะเวลา 0 ถึง 360 วัน โดย spiked สารมาตรฐาน emamectin benzoate ลงในตัวอย่างผักชีฝรั่งที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ในตู้แช่แข็ง (Freezer) ที่อุณหภูมิ -20±5 °C เมื่อถึงระยะเวลาที่ศึกษานำตัวอย่างมาสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (procedural recovery) เปรียบเทียบ %recovery ของตัวอย่าง storage stability กับ procedural recovery ที่สกัดภายในวันเดียวกัน เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละสารพิษตกค้างที่เหลืออยู่ของ emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งที่เก็บไว้ตั้งแต่ 0 ถึง 360 วัน อยู่ในช่วง 83-91% (Table 4) กล่าวคือสารพิษตกค้างต้องไม่สลายตัวไปเกินกว่า 30% ของความเข้มข้นที่ศึกษาหรือค่าเฉลี่ยร้อยละสารพิษตกค้างที่เหลืออยู่ต้องมากกว่า 70% (FAO, 2016) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสามารถเก็บตัวอย่างผักชีฝรั่งที่มีสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ไว้ได้นาน 360 วัน ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20±5 °C โดยไม่มีการสลายตัวของสารพิษตกค้าง

Table 4 Result of storage stability study on emamectin benzoate in stink weed.

Storage interval (Day)	Procedural recovery (%)		Residues in stored spiked samples (mg/kg)		Average uncorrected residues remained (%)
	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 1	Replicate 2	
0	88	90	0.091	0.086	89
14	86	92	0.087	0.085	86
30	89	89	0.087	0.088	88
60	97	99	0.090	0.091	91
90	92	93	0.083	0.090	87
120	88	85	0.091	0.084	88
180	99	89	0.085	0.083	84
360	102	103	0.081	0.085	83

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการทำแปลงทดลองและศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างหรือ MRL โดยทำการทดลองแบบ supervised residue trials ทั้งหมด 3 แปลงทดลอง ระหว่างปี 2562 ถึง 2564 มีหลักการปลูกพืชแบบ GAP (Good Agricultural Practice) มีหลักการบันทึกและการทำงานในห้องปฏิบัติการแบบ GLP (Good Laboratory Practice) พ่นวัตถุมีพิษตามอัตราแนะนำ คือ emamectin benzoate 1.92% EC ปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นวัตถุมีพิษห่างกัน 7 วัน จำนวน 2 ครั้งติดต่อกัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างผักชีฝรั่งที่ระยะ 0 1 3 5 7 10 และ 14 วัน นำตัวอย่างจากแปลงควบคุม (untreated plot) และแปลงทดลอง (treated plot) มาสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2018) และวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งมีการสลายตัวเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างจากแปลงทดลองทั้ง 3 แปลง มีปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ระหว่างน้อยกว่า 0.01 ถึง 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ตัวอย่างจากแปลงควบคุมมีปริมาณสารพิษตกค้างน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำปริมาณสารพิษตกค้างของแต่ละวันมาพิจารณาเทียบกับค่า MRL ของสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่นที่ใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงชั่วคราว พบว่าที่ระยะเก็บเกี่ยว 1 วัน ปริมาณสารพิษตกค้างของ emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งทั้ง 3 แปลง มีค่าน้อยกว่า 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยกว่า MRL ของทั้งสองประเทศ และจากการศึกษาความคงตัวของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง พบว่ามีความคงตัวนานถึง 360 วัน ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20±5 ºC โดยไม่เกิดการสลายตัวของสารพิษตกค้าง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในผักชีฝรั่งที่ได้จากการทำแปลงทดลองนี้ สามารถนำไปประกอบการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด ไม่ว่าจะเป็นค่า MRL ของประเทศไทย ASEAN MRL และ Codex MRL เพื่อใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิต การค้า และการควบคุมตรวจสอบผักชีฝรั่งที่ผลิต นำเข้า และส่งออก

2. จากการศึกษาการสลายตัวของ emamectin benzoate ในผักชีฝรั่ง ทำให้ทราบอัตราแนะนำที่ใช้กับพืชและระยะเวลาการเก็บเกี่ยว (PHI) ซึ่งสามารถนำข้อมูลไประบุบนฉลากหรือคำแนะนำการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร เพื่อให้เกษตรกรนำสารนี้ไปใช้ได้อย่างถูกต้องและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553.* กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 303 หน้า

กลุ่มบริหารศัตรูพืช. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. 53 หน้า

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9045-2016. *การจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช CLASSIFICATION OF AGRICULTURAL COMMODITYES: CROP.* กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 117 หน้า

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9045-2016. *สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS.* กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 55 หน้า

EN15662. 2008. *Food of Plant Origin-Determination of Pesticide Residue Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method*.

European Commission. 2022. Eu Pesticides Database. *Pesticide residue(s) and maximum residue levels (mg/kg).* [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/?event=details&pest_res_ids=2931&product_ids=&v=1&e=search.pr (25 มกราคม 2565).

FAO. 2016. *Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed*. 3rded. FAO Plant Production and Protection Paper 225. 286p

FAO/WHO. 2021. *Codex Alimentarius International Food Standard.* [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=247 (25 มกราคม 2565).

JMPR. 2005. *Joint FAO/JMPR Meeting on Pesticide Residues.* [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/RepoRe11/Emamectin.pdf (15 มกราคม 2565).

SANTE. 2017. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed.

The Japan Food Chemical Research Foundation. 2021. *Residue Limits of Agricultural Chemicals.* [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา https://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=11900 (25 มกราคม 2565).

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในกะเพรา เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Pesticide Residue Trial of Lufenuron in Holy Basil to Establish Maximum Residue Limit

วิชุตา ควรหัตร์ *วาเลนไทน์ เจือสกุล* *ชนิตา ทองแซม*

Wichuta Kuanhut *Valentine Juasakul* *Chanita Thongsam*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on the fate of lufenuron residues in holy basil using of the pesticide according to Good Agricultural Practices (GAP) was conducted through supervised field trials completed in accordance with FAO Plant Production and Protection Paper 225. The three field trials of lufenuron in holy basil including the 1st trial conducted during January – February, 2020 in Mueang Nakhon Pathom District, Nakhon Pathom Province, the 2nd trial conducted during March – April, 2021 in Tha Muang District, Kanchanaburi Province and the 3rd trial conducted during June – July, 2021 in Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province. Holy basil of the treated plot was sprayed with lufenuron 5% W/V EC at recommended dose (10 mL/water 20 L) and 120 L/rai of water to compare with an untreated plot (not sprayed). Each of field trial was done 2 applications of spraying in every 7 days. Two samples of fresh holy basil were collected from each of the untreated plot and treated plot after last application to analyze lufenuron residues using LC-MS/MS. The results showed that the untreated samples were not found lufenuron residue at all but the treated samples were found it all field trials. The field trial no. 1 was found lufenuron residues in holy basil amount 1.25, 1.21, 0.66, 0.40, 0.29, 0.20, 0.07 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 days after last application, respectively. In the same way, the field trial no. 2 was found 2.27, 1.58, 0.95, 0.37, 0.21, 0.10, 0.02 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 days after last application, respectively and not found it at 21 days after last application. Finally, the residues for the field trial no. 3 were 3.22, 2.85, 2.02, 1.75, 0.80, 0.29, 0.22, 0.04 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 days after last application, respectively.

Keywords : lufenuron, holy basil, residue

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในกะเพรา ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรตามหลักวิธีปฏิบัติทางเกษตรที่ดีและเหมาะสม (Good Agricultural Practice; GAP) โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 แปลงทดลอง ได้แก่ แปลงทดลองที่ 1 อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ 2563 แปลงทดลองที่ 2 อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือนมีนาคมถึงเมษายน 2564 และแปลงทดลองที่ 3 อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม 2564 ในการทดลองแต่ละครั้ง วางแผนการทดลองแบบ Supervised Residue Trial ตามหลักเกณฑ์ FAO Plant Production and Protection Paper 225 ประกอบด้วย 2 แปลงย่อย คือ แปลงที่ไม่มีการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร (untreated plot) ใช้เป็นแปลงควบคุม และแปลงที่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ทดลอง (treated plot) ตามอัตราแนะนำ โดยการพ่น lufenuron 5% W/V EC ในอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ แล้วสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ตัวอย่าง (replication) ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS พบว่าแปลงที่ไม่มีการพ่น lufenuron (untreated plot) ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในทุกตัวอย่างของแปลงทดลอง ส่วนแปลงที่พ่น lufenuron (treated plot) ตามอัตราแนะนำ สำหรับแปลงทดลองที่ 1 มีปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในกะเพราเท่ากับ 1.25, 1.21, 0.66, 0.40, 0.29, 0.20 และ 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ แปลงทดลองที่ 2 เท่ากับ 2.27, 1.58, 0.95, 0.37, 0.21, 0.10, 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 21 วัน ไม่พบ lufenuron ตกค้าง และแปลงทดลองที่ 3 เท่ากับ 3.22, 2.85, 2.02, 1.75, 0.80, 0.29, 0.22 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ

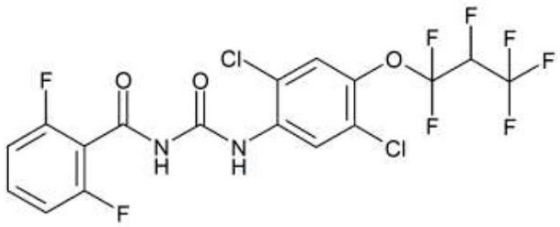
คำหลัก : ลูเฟนนูรอน กะเพรา สารพิษตกค้าง

คำนำ

กะเพรา (holy basil) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum tenuiflorum* L. จัดอยู่ในวงศ์ Lamiaceae เป็นไม้ล้มลุก มีลักษณะทรงพุ่มคล้ายๆ กับแมงลักและโหระพา ใบมีลักษณะเป็นรูปใบไข่ ปลายแหลมหรือมน ขอบใบหยักหรือคลื่น ช่อดอกเป็นแบบช่อฉัตร มักแยกแขนง โคนช่อย่อย มีใบประดับขนาดเล็ก รูปไข่ ก้านดอกยาว 2-4 มิลลิเมตร มีขนสำหรับผล เป็นแบบผลแห้งไม่แตก มีกลีบเลี้ยงติดทนและขยายใหญ่โอบรอบผล เมล็ด มีลักษณะรูปรี ยาว 1-1.5 มิลลิเมตร พอง และเป็นเมือกเมื่อถูกน้ำ กะเพรามี 2 พันธุ์ คือ กะเพราขาว มีลำต้นและใบสีเขียว กลีบดอกสีขาว และกะเพราแดง มีลำต้น และใบสีม่วงแดง ดอกสีขาวหรือสีขาวปนสีม่วงแดง ตามตำรายาไทยกล่าวว่า กะเพราแดงมีรสเผ็ดร้อนแรงกว่ากะเพราขาว ส่วนองค์ประกอบหลักในใบกะเพรา เป็นน้ำมันระเหยง่าย (volatile oil) พบได้ถึงร้อยละ 2 น้ำมันระเหยง่ายนี้ประกอบด้วยกลุ่มสารเทอร์ฟินอยด์ (terpenoids) ที่สำคัญ เช่น ยูจีนอล (eugenol), เมทิลยูจินอล (methyl eugenol), แอลฟา-แคริโอฟิลลีน (α-careyophyllene) และบีตา-แคริโอฟิลลีน (β-caryophyllene) เป็นต้น ซึ่งชนิดของสารและปริมาณขึ้นอยู่กับแหล่งที่ปลูก นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่มแทนนิน (tannins) และเมทิลชาวิคอล (methyl chavicol) เป็นต้น กะเพรามีเขตการกระจายพันธุ์ในเขตร้อนทั่วโลก พบได้ตามพื้นที่ราบต่ำไปจนถึงที่สูง 1,200 เมตร และในประเทศไทยพบได้ทั่วทุกภาค (สำนักงานจัดการกัญชาและกระท่อมทางการแพทย์แผนไทย, 2562) กะเพราเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย นำเงินตราเข้าประเทศปีละหลายสิบล้านบาท ส่งออกไปยังสหภาพยุโรป นอร์เวย์ และสมาพันธรัฐสวิส ทั้งในรูปของผักสดและอบแห้ง สร้างรายได้ให้กับผู้ส่งออกของไทย ถึงแม้ว่ากะเพราของไทยจะมีมูลค่าการส่งออกมากในแต่ละปี แต่เรื่องการส่งออกมักประสบปัญหาด้านแมลงศัตรูพืช และปัญหาสารพิษตกค้าง ซึ่งประเทศผู้นำเข้าเข้มงวดในการนำเข้าผักสดเป็นอย่างมาก โดยเน้นตรวจแมลงศัตรูพืชที่อาจติดมากับผักสด เพื่อป้องกันการแพร่ขยายพันธุ์ในประเทศ และตรวจสอบปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชหรือสารพิษตกค้างในผักสด เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค แต่ละประเทศจึงมีมาตรการกำหนดระดับสารปนเปื้อนของสารกำจัดแมลงศัตรูพืชหรือกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs – Maximum Residue Limits) ไว้ในพืชสำหรับใช้เป็นเกณฑ์ในการนำเข้าผักสด

(สิรินาฏ, 2554) และสำนักงานส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2556) ดังนั้นการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช และการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในกะเพรา เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง จึงมีความสำคัญ แมลงศัตรูพืชที่สำคัญในกะเพรา ได้แก่ เพลี้ยไฟโหระพา (thrips) แมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly) หนอนชอนใบ (leafminer) เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid) และหนอนเจาะสมอฝ้าย (cotton bollworm) เป็นต้น (กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2560)

ลูเฟนนูรอน (lufenuron) มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 1 เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงประเภทดูดซึมที่สามารถกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ในวงกว้าง โดยออกฤทธิ์ต่อตัวอ่อนของแมลง ซึ่ง lufenuron จะยับยั้งการสังเคราะห์ไคตินผ่านการรบกวนการทำงานของเอนไซม์ เพื่อไม่ให้ตัวอ่อนสามารถลอกคราบได้ ทำให้ตัวอ่อนไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวแก่ต่อไปได้ ส่วนความเป็นพิษของ lufenuron นั้น มีความเป็นพิษต่ำ เมื่อทดสอบทั้งทางปาก ผิวหนัง และการหายใจกับหนู และทำให้เกิดระคายเคืองต่อตาและผิวหนังของกระต่ายน้อยมาก สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในตัวอย่างกะเพรา เพื่อกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit; MRL) และระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (Pre Harvest Interval; PHI) จะพิจารณาตามคำจำกัดความสารพิษตกค้างของโคเด็กซ์ (Codex residue definition) คือ For compliance with MRL and for estimation of dietary intake for plant and animal commodities: lufenuron หมายความว่า จะวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างและรายงานผลในรูปของ lufenuron นั่นเอง (JMPR, 2015)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของลูเฟนนูรอน (lufenuron)
ที่มา: JMPR, 2015

lufenuron เป็นสารที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่สำคัญในกะเพรา นั่นคือ หนอนเจาะสมอฝ้าย ซึ่งสามารถกัดกินได้ทุกส่วนของต้นพืช ทั้งใบและดอก ทำให้เกิดความเสียหายมากกว่า 50% และหนอนขนาดใหญ่มีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงสูงอีกด้วย (กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2560) ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาการสลายตัวของ lufenuron ในกะเพรา จะได้มีข้อมูลสารพิษตกค้างของ lufenuron ในกะเพรา สำหรับพิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในกะเพราของประเทศไทย (Thai MRL) และกำหนดระยะเวลาที่ปลอดภัยในการเก็บเกี่ยว (Pre Harvest Interval; PHI) เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นวัตถุมีพิษทางการเกษตรด้วยมอเตอร์แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) และอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment; PPE)

2. อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ ป้ายปักแปลง เชือกฟาง หมุดหัวน็อต นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นแบบดิจิตอล เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (data logger) กระดาษวัดค่า pH (universal test paper) กระบอกตวงพลาสติกขนาด 1-2 ลิตร ถังน้ำ จอบ ถุงเก็บตัวอย่าง และกลองโฟม

3. เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องบดตัวอย่าง (food processor) เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer) เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ตู้แช่แข็ง (deep freezer) และเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography equipped with Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) ยี่ห้อ Agilent Technologies, LC รุ่น 1290 infinity, MS/MS รุ่น 6460 Triple Quad และคอลัมน์ Kinetex 2.6 µm XB-C18 100 Å, size 100 x 2.1 mm

4. อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ บีกเกอร์ (beaker) ขวดปริมาตร (volumetric flask) หลอดปั่น (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร ตัวกรองสำหรับกระบอกฉีดยา (syringe filter) ชนิด PTFE ขนาด 0.20 ไมโครเมตร กระบอกฉีดยา (syringe) อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลายระดับไมโครลิตร (micropipette) ชุดกรองสารละลาย (filtration assembly) และautosampler vial

5. วัตถุมีพิษทางการเกษตรที่ใช้พ่น คือ lufenuron 5% W/V EC (ชื่อการค้า แมทช์)

6. สารมาตรฐาน lufenuron ความบริสุทธิ์ 98.97% และ98.56% (Dr. Ehrenstorfer)

7. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile (ACN), LC-MS water, magnesium sulphate anhydrous ($MgSO_4$), sodium chloride (NaCl), tri-sodium citrate dihydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$), primary secondary amine (PSA), carbon SPE bulk sorbent (GCB), ammonium formate (NH_4HCO_2) formic acid (HCO_2H) และไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen)

วิธีการ

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

1.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method validation) ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างกะเพราจากแปลงทดลอง ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ lufenuron ในกะเพรา ตัวที่บ่งชี้ความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (accuracy) นั่นคือ การหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) โดยการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างกะเพรา (fortified sample) ที่ไม่มีสารพิษตกค้างของ lufenuron ซึ่งศึกษา %recovery ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection; LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และความเข้มข้นต่ำสุดของสารวิเคราะห์ที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ ซึ่งมีความถูกต้องและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ (Limit of Quantitation; LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และที่ระดับความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 2.00 และ4.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ หาช่วงของวิธีทดสอบ (working range) โดยการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บนแกน y และความเข้มข้นของ fortified sample บนแกน x โดยค่า coefficient of determination (R^2) ไม่น้อยกว่า 0.990

1.2 ขั้นตอนการสกัดตัวอย่าง และวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง โดยวิธีวิเคราะห์ QuEChERS Method (EN 15662, 2008)

1) ชั่งตัวอย่างกะเพราปั่นละเอียด ตัวอย่างละ 10±0.10 กรัม ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร (เติมสารมาตรฐานลงไปในตัวอย่าง) เติมน้ำ 3.00 mL เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ไว้ในตู้แช่แข็ง (deep freezer) ทิ้งไว้ 10 นาที นำตัวอย่างออกจากตู้แช่แข็ง เติม acetonitrile จำนวน 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer 1 นาที

2) เติม magnesium sulphate anhydrous 4.00 กรัม sodium chloride 1.00 กรัม tri-sodium citrate dihydrate 1.00 กรัม และdi-sodium hydrogencitrate sesquihydrate 0.50 กรัม ลงในตัวอย่าง ปิดฝาแล้วเขย่าทันทีด้วย vortex mixer 1 นาที

3) นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm นาน 5 นาที

4) กำจัดสิ่งปนเปื้อน (dispersive-SPE clean up) โดยใช้ micropipette ดูดสารละลายส่วนใส (ส่วนบน) ของตัวอย่างจำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร เติม primary secondary amine 0.125 กรัม anhydrous magnesium sulfate 0.750 กรัม และcarbon SPE bulk sorbent 0.038 กรัม ปิดฝาแล้วเขย่าทันทีด้วย vortex mixer 1 นาที

5) นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm นาน 5 นาที

6) กรองสารละลายส่วนใส (ส่วนบน) ผ่าน syringe ที่ต่อกับ PTFE syringe filter ขนาด 0.20 ไมโครเมตร ใส่ลงในขวด auto sampler vial แล้วจึงนำไปตรวจเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างกะเพราด้วยเครื่อง LC-MS/MS

1.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10 และ 0.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปรับปริมาตรด้วยสารละลายจากการสกัดตัวอย่างกะเพรา (matrix) ซึ่งใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

เมื่อ C_1 = ความเข้มข้นของสารละลายตั้งต้น C_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการเตรียม

V_1 = ปริมาตรของสารละลายตั้งต้น V_2 = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการเตรียม

1.4 ปรับสภาวะการทำงานในส่วนต่างๆ ของเครื่อง LC-MS/MS มีรายละเอียด ดังตารางที่ 1-3

ตารางที่ 1 สภาวะสำหรับการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน lufenuron ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

LC Parameter	**Condition**
Injection volume (µL)	5.00
Column type	Kinetex 2.6 µm XB-C18 100 Å, size 100 x 2.1 mm
Column temperature (°C)	40
Mobile phase A	5 mM ammonium formate in water + 0.01% formic acid
Mobile phase B	acetonitrile (ACN)
Mobile phase flow rate (mL/min)	0.45
Total run time (min)	8.00
Post time (min)	2.00
MS QQQ Parameter	**Value**
Ion source	ESI, positive mode
Gas temperature (°C)	300
Gas flow rate (L/min)	11
Nebulizer (psi)	35
Capillary (V)	4,000
Dalta EMV	400

ตารางที่ 2 อัตราส่วนของ mobile phase ที่ใช้

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0	50	50
3	2	98
4	2	98
5	50	50
6	50	50

ตารางที่ 3 รายละเอียดการตั้งค่า MS/MS

Compound name	Precursor ion	Product ion	Dwell time	Fragmentor (V)	Collision energy (V)	Cell accelerator voltage (V)
lufenuron	510.9	158	120	138	20	2
	510.9	141	120	138	45	2

2. การทำแปลงทดลอง

2.1 สำรวจแปลงเกษตร และเลือกพื้นที่ทำแปลงทดลอง จำนวน 3 แปลง โดยแต่ละแปลงทดลองดำเนินการในพื้นที่และเวลาที่ต่างกันดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 ต.หนองปากโลง อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม เดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ 2563

แปลงทดลองที่ 2 ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี เดือนมีนาคมถึงเมษายน 2564

แปลงทดลองที่ 3 ต.ทุ่งบัว อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม เดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม 2564

แต่ละแปลงทดลองมีระยะทางห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร พื้นที่ของแปลงย่อยที่ทำการทดลองต่างกัน ให้ผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย

2.2 วางแผนการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในแปลงทดลองแบบ Supervised Residue Trial ตามหลักเกณฑ์ FAO Plant Production and Protection Paper 225 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 2 แปลงย่อย คือ แปลงที่ไม่มีการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร (untreated plot) ใช้เป็นแปลงควบคุม และแปลงที่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ทดลอง (treated plot) ตามอัตราแนะนำ โดยการพ่น lufenuron 5% W/V EC ในอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน (กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2560) และอัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) ซึ่งคิดเป็น 3 กรัมของสารออกฤทธิ์ต่อไร่

2.3 ปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1) ตรวจสอบอัตราการไหลของเครื่องพ่น (calibrated discharge rate) ก่อนทำการทดลองเพื่อนำไปคำนวณเวลาที่ใช้ในการพ่น (target time) และทดสอบจังหวะการเดินของผู้พ่น (speed calibration) ได้แก่ เดินขณะไม่มีอุปกรณ์พ่นสาร เดินพร้อมอุปกรณ์พ่นสาร และเดินพ่นน้ำ จนได้เวลาตามที่กำหนด เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง

2) ตรวจสอบสภาพภูมิอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิและค่า pH ของน้ำ อุณหภูมิและความชื้นของอากาศ อุณหภูมิดิน เก็บดินเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ และวัดความเร็วลม

3) พ่น lufenuron 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน โดยใช้เครื่องพ่นวัตถุมีพิษทางการเกษตรด้วยมอเตอร์แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) ซึ่งแต่ละแปลงทดลองใช้วิธีการพ่นทางใบ (foliar application) โดยมีระยะเวลาในการพ่นสาร ดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 พ่นสารในวันที่ 14 และ 21 มกราคม พ.ศ. 2563

แปลงทดลองที่ 2 พ่นสารในวันที่ 11 และ 18 มีนาคม พ.ศ. 2564

แปลงทดลองที่ 3 พ่นสารในวันที่ 15 และ 22 มิถุนายน พ.ศ. 2564

4) สุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ตัวอย่าง จากแปลงทดลองทั้ง untreated plot และtreated plot ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ระยะเวลา 0 (หลังการพ่นสารอย่างน้อย 2 ชั่วโมง) 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน (สำหรับ 21 วัน เก็บตัวอย่างเพิ่มสำหรับแปลงทดลองที่ 2 และ3 เท่านั้น) ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างสุ่มเก็บน้ำหนักอย่างน้อย 1 กิโลกรัม โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำ บรรจุตัวอย่างในถุงพลาสติกและใช้ยางรัดให้แน่น แช่ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพของตัวอย่าง และใส่ data logger ลงไปในถังน้ำแข็ง สำหรับบันทึกอุณหภูมิ แล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง เพื่อเตรียมตัวอย่างสำหรับทำการสกัดสารพิษตกค้างในตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างกะเพราปั่นกับไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง (food processor) ตักตัวอย่างที่บดละเอียดใส่ถุงพลาสติกและมัดปากถุงให้แน่น แล้วจึงนำถุงตัวอย่างที่ได้ไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง (deep freezer) ซึ่งมีอุณหภูมิ -20±5 ºC เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในกะเพราต่อไป

3. ทดสอบความคงตัวของสาร (storage stability)

ได้ทดสอบความคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง โดยการเติมสารมาตรฐาน lufenuron ลงในตัวอย่างกะเพราที่ไม่มีสารพิษตกค้าง (fortified sample) ที่ระดับ 10 เท่าของระดับ LOQ (LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) คือ ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างครอบคลุมช่วงของการวิเคราะห์ทั้งหมด 360 วัน

วิธีการบันทึกข้อมูล บันทึกข้อมูลในการทำแปลงทดลองลงในแบบฟอร์ม Field Data Book และบันทึกขั้นตอนการดำเนินงานต่างๆ ในการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างลงในแบบฟอร์มของห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

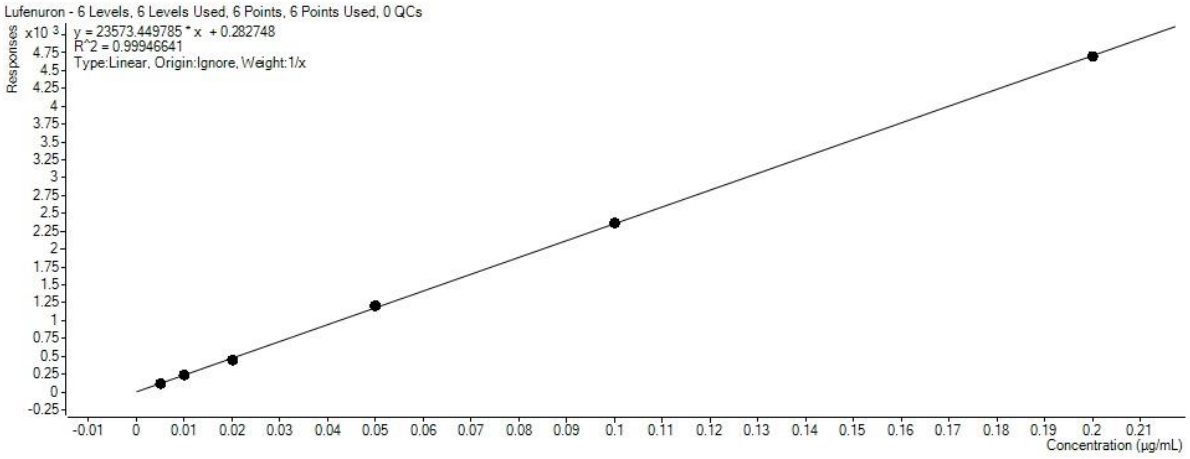
สถานที่ทำการทดลอง

1. แปลงทดลองของเกษตรกรจังหวัดนครปฐม และกาญจนบุรี
2. ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

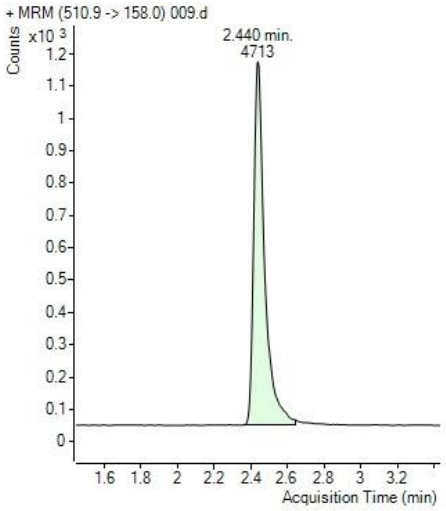
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

จากผลการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น สามารถนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานในช่วงการใช้งานบนแกน x กับสัญญาณจากเครื่องมือ (responses) บนแกน y ซึ่งคำนวณจากพื้นที่ใต้พีค (peak area) ของสาร โดยค่า coefficient of determination (R^2) ไม่น้อยกว่า 0.990 ดังแสดงในภาพที่ 2 สำหรับใช้ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐาน ซึ่ง lufenuron มี retention time เท่ากับ 2.44 นาที โดยมีลักษณะโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของ lufenuron ใน matrix กะเพรา

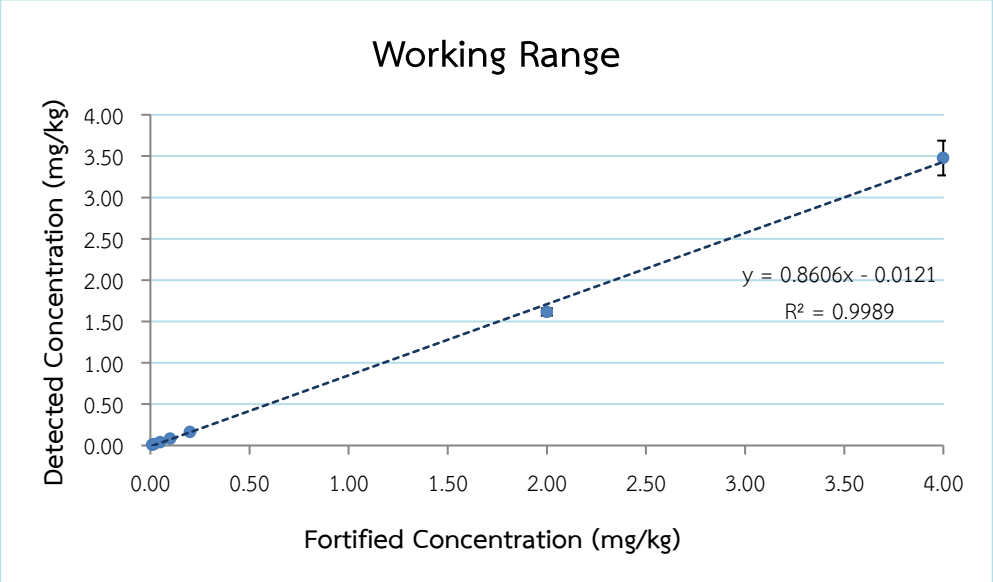


ภาพที่ 3 ลักษณะโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน lufenuron

จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ lufenuron ในกะเพรา (ตารางที่ 4) พบว่า %recovery ทั้งหมดอยู่ในช่วง 74 - 100% ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 70 - 120% และตัวบ่งชี้ความเที่ยง (precision) คือ การหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation; %RSD) ที่ได้จากการทำซ้ำ พบว่า %RSD อยู่ในช่วง 2.80 - 9.98 ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์การการยอมรับที่ ≤20% (SANTE/12682/2019, 2020) โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection; LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นต่ำสุดของสารวิเคราะห์ที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ ซึ่งมีความถูกต้องและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ (Limit of Quantitation; LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และช่วงของวิธีทดสอบ (working range) ในช่วง 0.01 - 4.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า coefficient of determination (R^2) เท่ากับ 0.9989 ดังแสดงในภาพที่ 4 จึงสามารถยืนยันผลการทดสอบได้ว่า วิธีวิเคราะห์นี้ มีความถูกต้อง มีความเที่ยงตรง และมีความน่าเชื่อถือในแต่ละครั้งที่ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในตัวอย่างกะเพรา

ตารางที่ 4 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ lufenuron ในกะเพรา

Fortification level (mg/kg)	Recovery (%)	%Average recovery	%RSD
0.005	74, 80, 84, 88, 89, 97, 97, 98, 99, 100	91	9.98
0.01	83, 85, 86, 87, 87, 89, 89, 90, 92, 95	88	3.96
0.02	76, 77, 79, 82, 82, 82, 87	81	4.62
0.05	77, 78, 79, 79, 81, 85, 86	81	4.33
0.10	74, 79, 81, 81, 87, 89, 91	83	7.30
0.20	77, 79, 80, 80, 84, 89, 89	83	5.89
2.00	78, 79, 80, 81, 81, 82, 85	81	2.80
4.00	78, 83, 85, 86, 90, 92, 93	87	6.16



ภาพที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเข้มข้นของ fortified sample สำหรับช่วงของวิธีทดสอบ (working range)

2. ปริมาณสารพิษตกค้างจากแปลงทดลอง

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในกะเพรา พบว่า ตัวอย่างจาก untreated plot ของทั้ง 3 แปลงทดลอง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ส่วนตัวอย่างจาก treated plot ที่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ทดลองตามอัตราแนะนำ สำหรับแปลงทดลองที่ 1 ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในกะเพรา เท่ากับ 1.25, 1.21, 0.66, 0.40, 0.29, 0.20 และ 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ แปลงทดลองที่ 2 เท่ากับ 2.27, 1.58, 0.95, 0.37, 0.21, 0.10, 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ แต่ที่ระยะเวลา 21 วัน ไม่พบ lufenuron ตกค้าง และแปลงทดลองที่ 3 เท่ากับ 3.22, 2.85, 2.02, 1.75, 0.80, 0.29, 0.22 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ (ตารางที่ 5) และในแต่ละแปลงทดลองที่ทำการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างกะเพรา มีการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ (Quality Assurance; QA) ด้วยการทำ fortified sample ที่ความเข้มข้นระดับ 0.01 (LOQ), 0.05, 0.20 และระดับเดียวกันกับปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ตรวจพบในตัวอย่างกะเพรา ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ เพื่อคำนวณหา %concurrent recovery ซึ่งผล %concurrent recovery พบว่า อยู่ในช่วง 71 - 111 (ตารางที่ 6) อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ 70 – 120

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในกะเพราจาก treated plot ที่ระยะเวลาต่างๆ หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายของแปลงทดลองที่ 1-3

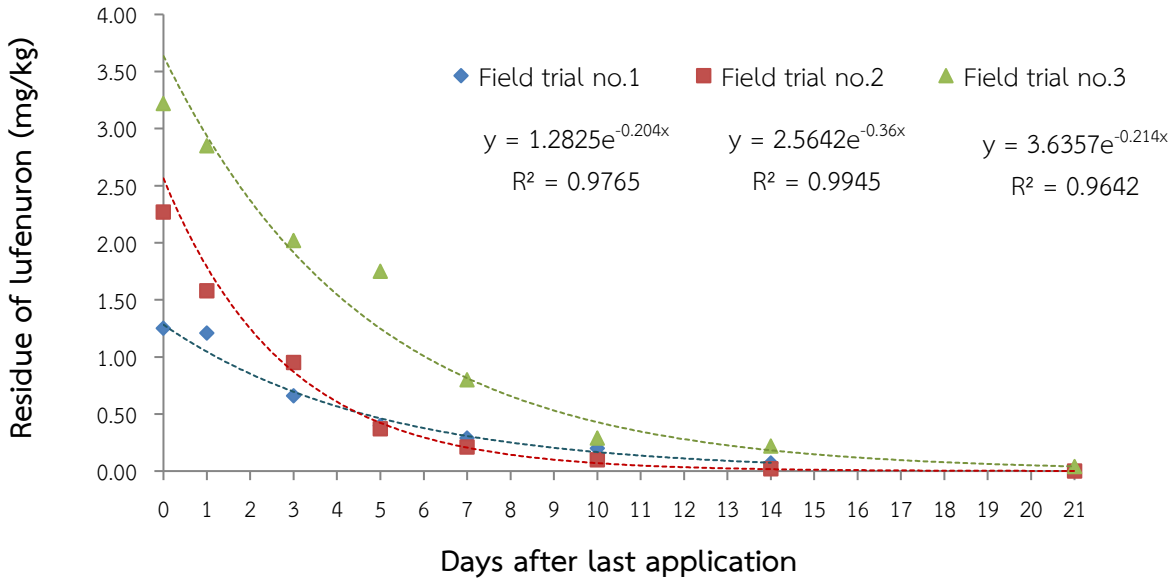
Days after last application	Residue of lufenuron (mg/kg)								
	Field trial no.1			Field trial no.2			Field trial no.3		
	Rep.1	Rep.2	Average	Rep.1	Rep.2	Average	Rep.1	Rep.2	Average
0	1.22	1.28	1.25	2.20	2.35	2.27	3.18	3.27	3.22
1	1.03	1.40	1.21	1.51	1.66	1.58	3.02	2.69	2.85
3	0.68	0.64	0.66	0.97	0.92	0.95	2.11	1.93	2.02
5	0.39	0.40	0.40	0.38	0.36	0.37	1.58	1.91	1.75
7	0.30	0.29	0.29	0.24	0.17	0.21	0.92	0.68	0.80
10	0.20	0.20	0.20	0.09	0.10	0.10	0.29	0.29	0.29
14	0.05	0.08	0.07	0.02	0.03	0.02	0.22	0.22	0.22
21	-	-	-	ND	ND	ND	0.03	0.04	0.04

หมายเหตุ ND = Not detected
LOD = 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และLOQ=0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
Rep. = Replication ของการเก็บตัวอย่าง

ตารางที่ 6 %Concurrent recovery ในการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในกะเพราของแปลงทดลองที่ 1-3

Fortification level (mg/kg)	Concurrent recovery (%)		
	Field trial no.1	Field trial no.2	Field trial no.3
0.01	85, 97	71, 74	86, 106
0.05	82, 106	71, 87	86, 90
0.20	86, 94	92, 96	98, 98
1.50	101, 111	-	-
2.00	-	80, 85	-
4.00	-	-	85, 92

เมื่อนำผลการวิเคราะห์ที่ได้นี้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron กับระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ดังแสดงในภาพที่ 5 จากกราฟ จะเห็นว่า ความชันของกราฟน้อย ปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในตัวอย่างกะเพราของทั้ง 3 แปลงทดลอง มีแนวโน้มค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น การที่อัตราการสลายตัวของ lufenuron ในกะเพราค่อนข้างช้า เนื่องจากกะเพรามีขนสามารถกักเก็บวัตถุอันตรายที่พ่นไว้ ทำให้อัตราการสลายตัวของ lufenuron ค่อนข้างช้า



ภาพที่ 5 กราฟแสดงการสลายตัวของปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในกะเพราที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการพ่นการสารครั้งสุดท้ายของแปลงทดลองที่ 1-3

เมื่อพิจารณาค่า Codex MRL ของ lufenuron ในกะเพรา MRL ยังไม่มีการกำหนด รวมทั้งประเทศอื่นๆ มีเพียงแต่ทางคณะกรรมาธิการยุโรป (European Commission) ได้กำหนดค่า MRL ของ lufenuron (any ratio of constituent isomers) ในตระกูลกะเพราและดอกไม้ที่กินได้ (Basil and edible flowers) เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ ที่เรียกว่า lower limit of analytical determination ใช้เป็นค่าอ้างอิง MRL ของทางคณะกรรมาธิการยุโรปเท่านั้น (European commission, 2020) และได้ทำการประเมินความเสี่ยงในการบริโภคเบื้องต้น เพื่อประเมินค่า PHI โดยนำค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Highest Residue : HR) และค่ามัธยฐานปริมาณสารพิษตกค้าง (Supervised Trial Median Residue : STMR) ของแต่ละวันที่เก็บตัวอย่างหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายมาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเฉียบพลัน และแบบเรื้อรังว่าปลอดภัยหรือไม่ โดยเทียบกับค่าอ้างอิงใน JMPR ของ lufenuron ซึ่งระบุว่า Acute Reference Dose (ARfD) ไม่มีความจำเป็น (unnecessary) และ Acceptable Daily Intake (ADI) เท่ากับ 0-0.02 mg/kg bw (JMPR, 2015) เมื่อทำการประเมินแล้วจะอยู่ในรูปของเปอร์เซ็นต์ หากมีค่าน้อยกว่า 100% หมายถึงปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างปลอดภัยต่อผู้บริโภค จากผลการประเมิน พบว่า หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3 วัน ได้ %ADI ประมาณ 2% และ%ARfD เท่ากับ 0% ทุกช่วงวัย ดังนั้นหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3 วัน จึงเป็นระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย แต่อย่างไรก็ตามประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ของ lufenuron ในกะเพรา และค่า PHI (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) ดังนั้นกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง จะได้นำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากการทดลองนี้เสนอต่อคณะกรรมการวิชาการพิจารณาสินค้าเกษตร สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เพื่อพิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit; MRL) ของประเทศไทย และระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (PHI) ต่อไป

3. ผลการทดสอบความคงตัวของสาร

ผลการทดสอบความคงตัวของ lufenuron ในกะเพรา ซึ่งมีระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างครอบคลุมช่วงของการวิเคราะห์ทั้งหมด 360 วัน ดังแสดงในตารางที่ 7 พบว่า lufenuron ยังมีความคงตัวของสารตลอดระยะเวลา 360 วัน หรือ 1 ปี โดยมีเปอร์เซ็นต์ของสารพิษตกค้างที่ยังคงเหลืออยู่ในกะเพรา (%residue remained) เท่ากับ 81, 102, 80, 95, 104, 108 และ 93 ที่ระยะเวลา 0, 30, 60, 90, 120, 180 และ 360 วัน นับจากวันที่เติมสารลงในกะเพรา ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงยอมรับ 70-120

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบความคงตัว (storage stability) ของ lufenuron ในกะเพรา

Fortification level (mg/kg)	Storage interval (days)	Concurrent recovery (%)	Residue in stored fortified sample (mg/kg)	Average uncorrected residue remained (%)
0.10	0	88, 73	0.0802, 0.0816	81
	30	99, 112	0.1014, 0.1027	102
	60	91, 81	0.0842, 0.0765	80
	90	90, 94	0.0960, 0.0946	95
	120	70, 83	0.1058, 0.1031	104
	180	70, 99	0.1088, 0.1067	108
	360	98, 104	0.0924, 0.0927	93

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

ในการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในกะเพรา เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทำให้ได้ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างในกะเพราทั้งหมด 3 แปลง ตัวอย่างจาก untreated plot ทั้งหมดตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ส่วนตัวอย่างจาก treated plot มีปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในกะเพรา ค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ และได้ทำการประเมินความเสี่ยงในการบริโภคเบื้องต้นของแต่ละวันที่เก็บตัวอย่างหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายมาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเฉียบพลัน และแบบเรื้อรังว่าปลอดภัยหรือไม่ โดยเทียบกับค่าอ้างอิง Acute Reference Dose (ARfD) และAcceptable Daily Intake (ADI) ใน JMPR พบว่า หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3 วัน ได้ %ADI ประมาณ 2% และ%ARfD เท่ากับ 0% ทุกช่วงวัย ดังนั้นหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3 วัน จึงเป็นระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย อย่างไรก็ตามข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากการทดลองนี้ จะนำเสนอเพื่อพิจารณากำหนดเป็นค่า MRL ของประเทศไทย และระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (PHI) เพื่อใช้เป็นค่าอ้างอิงในการส่งออกสินค้าและเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลไปกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวกะเพราที่ปลอดภัย (Pre Harvest Interval; PHI) ตามอัตราการใช้ที่แนะนำ ซึ่งสามารถใช้เป็นคำแนะนำในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตรและเป็นคำแนะนำในฉลากวัตถุอันตรายทางการเกษตร
2. เสนอข้อมูลไปพิจารณากำหนดค่า Thai MRL, ASEAN MRL และCodex MRL

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรกรมวิชาการเกษตร. 2553. ***คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช ปี 2553.*** พิมพ์ครั้งที่ 17. กรุงเทพฯ : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 2560. ***คู่มือป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม).*** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

สิรินาฏ พรศิริประทาน. 2554. “การส่งออกผักและผลไม้สดไทยไปสหภาพยุโรป.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://thaifranchisedownload.com/dl/group12720130102143938.pdf (14 ตุลาคม 2564).

สำนักงานจัดการกัญชาและกระท่อมทางการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 2562. ***สมุนไพรในตำรับยาแผนไทยที่ประกาศกำหนดให้เป็นตำรับยาเสพติดให้โทษประเภท ๕ ที่มีกัญชาปรุงผสมอยู่ที่อนุญาตให้เสพเพื่อรักษาโรคหรือการศึกษาวิจัยได้ ตามแนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดตำรับยาเสพติดให้โทษประเภท ๕ ที่มีกัญชาปรุงผสมอยู่ ที่ให้เสพเพื่อรักษาโรคหรือการศึกษาวิจัยได้ พ.ศ. ๒๕๖๒.*** นนทบุรี : กระทรวงสาธารณสุข.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ***มาตรฐานสินค้าเกษตร สารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (มกษ. 9002 – 2559).*** กรุงเทพฯ : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักงานส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. 2556. “ปัญหาการนำเข้าสินค้าผักสดจากไทยมายังสหราชอาณาจักรและสหภาพยุโรป.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.ditp.go.th/contents_attach/74293/74293.pdf (14 ตุลาคม 2564).

EN 15662. 2008. ***Foods of plant origin-determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method.*** UK : British Standards Institution.

European commission. 2020. “EU Pesticides Database.” [Online]. Available : https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides- database/mrls/?event=search.pr (2022, January 15).

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. ***Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed.*** FAO Plant Production and Protection Paper 225. 3rd ed. Rome : FAO.

JMPR. 2015. Lufenuron. Pesticide Residues in Food 2015. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Report, 2015. ***FAO Plant Production and Protection Paper.*** 223 : 271-287.

SANTE/12682/2019. 2020. ***Analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed.*** Health&Consumer Protection Directorate-General, European Commission.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของเมทอกซีฟีโนไซด์ (methoxyfenozide) ในกะเพรา เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Pesticide Residue Trial of Methoxyfenozide in Holy basil to Establish Maximum Residue Limit [MRL]

ชนิตา ทองแซม *ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร* *วีระสิงห์ แสงวรรณ*

Chanita Thongsam *Piyasak Akcaboot* *Weerasing Sangwan*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on the methoxyfenozide in Holy basil after the use of pesticide according to Good Agricultural Practice (GAP) was conducted through 3 supervised field trials in accordance with the FAO Plant Production and Protection Paper 225. The first supervised field trial conducted January-March 2020 in Nakhon Pathom province the second supervised field trial conducted March-May 2021 in Kanchanaburi province and the third supervised field trial conducted June-August, 2021 in Nakhon Pathom province. Methoxyfenozide 15% w/v EC with concentration of 10 ml/20 liter of water was sprayed weekly for 2 times. Later, random samples of whole plants were taken from plot for analysis at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days after the final application of pesticide. For this study, all samples were analyzed by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). The Limit of Quantitation (LOQ) of methoxyfenozide in Holy basil was 0.01 mg/kg and the set of result showed that were found of methoxyfenozide residue 11.16 10.01, 3.35, 2.52, 1.36 and 0.13 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days in Nakhon Pathom province, 8.51, 5.50, 2.34, 0.51,0.18, 0.093, 0.015 and <LOQ at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days in Kanchanaburi province and 6.51, 5.40, 4.18, 3.85, 2.02, 1.77, 0.15 and 0.061 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days in Nakhon Pathom province

Keywords: methoxyfenozide**,** Holy basil

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณของสารพิษตกค้างเมทอกซีฟีโนไซด์ (methoxyfenozide) ในกะเพรา หลังการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรอย่างถูกต้องตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) โดยทำแปลงทดลองแบบ supervised trial ตาม FAO Plant Production and Protection Paper 225 จำนวน 3 การทดลอง การทดลองครั้งที่ 1 ตำบลหนองปากโลง อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม ในช่วงเดือนมกราคมเดือนเมษายน 2563 การทดลองครั้งที่ 2 ตำบลทุ่งทอง อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนพฤษภาคม 2564 การทดลองครั้งที่ 3 ตำบลทุ่งบัว อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนสิงหาคม 2564 ทำการทดลองโดยวิธีการพ่นวัตถุอันตราย methoxyfenozide 24% W/V SC ในอัตราแนะนำ ปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ ทุก 7 วัน รวม 2 ครั้ง และสุ่มเก็บตัวอย่างกะเพราเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างที่ 0 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน หลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย โดยสุ่มตัวอย่าง 2 ซ้ำต่อวัน ตรวจวิเคราะห์โดยเทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) ซึ่งวิธีวิเคราะห์มีค่า Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการตรวจวิเคราะห์ methoxyfenozide ในตัวอย่างกะเพราจากแปลงทดลอง พบว่า การทดลองครั้งที่ 1 พบปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 11.16 10.01 3.35 2.52 1.36 และ 0.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ 0 1 3 5 7 10 และ 14 วัน ตามลำดับ การทดลองครั้งที่ 2 พบปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 8.51 5.50 2.34 0.51 0.18 0.093 0.015 และ น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ 0 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ตามลำดับ และการทดลองครั้งที่ 3 พบปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 6.51 5.40 4.18 3.85 2.02 1.77 0.15 และ 0.061 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ 0 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ตามลำดับ

คำหลัก: เมทอกซีฟีโนไซด์ กะเพรา

คำนำ

กะเพราเป็นพืชผักสวนครัวที่ในอดีตปลูกเพื่อการบริโภคภายในประเทศเท่านั้น แต่ปัจจุบันมีการส่งออกจำหน่ายยังประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น ในประเทศญี่ปุ่นที่มีการนำเข้าพืชผักสวนครัวจากประเทศไทยมากกว่า 200 ตันต่อปี นอกจากนี้ยังส่งไปจำหน่ายยังประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป(European Union: EU) โดย EU เป็นตลาดส่งออกของผักและผลไม้ที่สำคัญของไทย พืชผักที่ส่งออก เช่น กะเพรา โหระพา แมงลัก ผักชีฝรั่ง พริก โดยสินค้าเหล่านี้ส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้ใน กิจการร้านอาหารไทยในต่างประเทศ เป็นการสนับสนุนนโยบาย “ครัวไทยสู่ครัวโลก” ซึ่งทางสหภาพยุโรปได้มีกฎระเบียบของสหภาพยุโรป Commission Regulation (EC) No. 669/2009 ประกาศควบคุมอย่างเข้มงวดในการนำเข้าสินค้าอาหาร และอาหารสัตว์ที่มีแหล่งกำเนิดจากพืชที่จัดว่าเป็นสินค้าที่มีความเสี่ยงสูงจากประเทศนอกสหภาพยุโรปบางประเทศ โดยการนำเข้าสินค้าผักสดจากไทยที่เข้าข่ายต้องถูกตรวจสอบตามกฎระเบียบดังกล่าวถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มสินค้าผักสดที่มีปัญหาการตกค้างของยาฆ่าแมลง คือ พริกสด ผักชี โหระพา ถั่วฝักยาว มะเขือ และกะหล่ำ และกลุ่มสินค้าผักสดที่มีปัญหาปนเปื้อนเชื้อ Salmonella คือ ผักชี ใบโหระพา และใบสะหระแหน่ โดยสินค้าผักดังกล่าวจะถูกกักเพื่อสุ่มตรวจการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชว่าสูงกว่าค่า MRL (Maximum Residue Limit) ดังนั้นการลดปริมาณเพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ และแมลงหวี่ขาว ให้มีปริมาณน้อยที่สุด และไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างต่าง ๆ ก่อนนำผลผลิตเข้าไปในโรงคัดบรรจุ เป็นการพัฒนาระบบการผลิตกะเพราให้เป็นไปตามมาตรฐานของสหภาพยุโรปกำหนด จากการสำรวจแมลงศัตรูพืชกะเพรา โหระพา แมกลัก ผักชี พบแมลงศัตรูสำคัญ ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว หนอนแมลงวันชอนใบ เพลี้ยอ่อน หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม และหนอนม้วนใบ (สัญญาณี, 2559)

หนอนเจาะสมอฝ้าย (cotton bollworm) ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Helicoverpa armigera* (Hubner) ชื่อสามัญอื่นๆ ได้แก่ หนอนเจาะสมออเมริกัน และหนอนเจาะผล เป็นศัตรูสำคัญของพืชผัก พืชไร่และไม้ผลหลายชนิด กัดกินใบ ดอก หรือเจาะฝัก หนอนกัดกินทุกส่วนของต้นพืชทำให้เกิดความเสียหายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ หนอนขนาดใหญ่ (วัย 4-5) มีความต้านทานต่อสาฆ่าแมลงสูง พืชอาหาร ได้แก่ มะเขือเทศ มะเขือ ถั่วฝักยาว ถั่วลันเตา ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ข้าวโพด ยาสูบ ฝ้าย ปอกระเจา พริก กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง กะเพรา ส้มเขียวหวาน มะม่วงหิมพานต์ สตรอเบอรี่

กุหลาบ เบญจมาศ คาร์เนชั่น และเยอบีร่า การป้องกันและกำจัด ถ้าพบหนอนมากกว่า 0.5 ตัวต่อต้น ให้ใช้ lambdacyhalothrin (Karate Zeon 2.5% CS) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ gammacyhalothrin (Proaxis 1.5% CS) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ methoxyfenozide (Prodigy 24 % SC) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ methoxyfenozide (Proclaim1.92% EC) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ fipronil (Ascend 5 % SC) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ lufenuron (Math 5%EC) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ Bacillus thuringiensis (Bactospene FC) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (มานิตา, ม.ป.ป.)

เมทอกซีฟีโนไซด์ (methoxyfenozide) จัดอยู่ในกลุ่ม 18 ตามการแบ่งกลุ่มสารฆ่าแมลงและไรตามกลไกลสารออกฤทธิ์ เป็นสารกลุ่มที่ทำให้ตัวรับฮอร์โมนเอคไดโซนทำงาน มีกลไกลทำงานออกฤทธิ์ต่อระบบการเจริญเติบโต สารกลุ่มนี้ ได้แก่ สารกลุ่มไดเอซิลไฮดราซีน (diacylhydrazines) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของไฮดราซีน (H_2N-NH_2) สารฆ่าแมลงกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ควบคุมการเจริญเติบโตของแมลง โดยจะไปเหนี่ยวนำให้แมลงเกิดการลอกคราบก่อนเวลาที่สมควร กลไกการออกฤทธิ์ของสารฆ่าแมลงกลุ่มนี้คือการเลียนแบบการทำงานของฮอร์โมนเอ็คไดโซน (ecdysone) ที่ทำหน้าที่ในการลอกคราบ โดยโมเลกุลของสารฆ่าแมลงจะไปจับกับตัวรับฮอร์โมนเอ็คไดโซน (ecdysone receptors) ทำให้ตัวรับฮอร์โมนเอ็คไดโซนเกิดการกระตุ้นและทำงานโดยส่งสัญญาณให้ยีนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการลอกคราบทำงาน (gene expression) ในช่วงจังหวะเวลาที่ไม่เหมาะสม ผลที่ได้คือแมลงมีการสร้างผนังลำตัวใหม่ที่ผิดปกติ ไม่สมบูรณ์แมลงไม่สามารถลอกคราบเก่าออกจากลำตัวได้ ทำให้การลอกคราบผิดปกติและแมลงจะตายในที่สุด สารกลุ่มนี้ออกฤทธิ์กับหนอนผีเสื้อและหนอนด้วง (คณะนักวิจัยกลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2564)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นวัตถุมีพิษแบบสูบโยกสะพายหลัง
2. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. เครื่อง vortex mixer
5. เครื่องผสมอาหาร (food processer)
6. เครื่อง centrifuge
7. เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ cylinder, beaker และ volumetric flask เป็นต้น
8. เครื่องตรวจวิเคราะห์วัตถุมีพิษเครื่อง Liquid Chromatography - Mass Spectrometer/ Mass-Spectrometer (LC-MS/MS)Triple Quadrupole, Agilent: 7890, MSD: 5973N
9. ใช้ column: Kinetex™ 2.6 µm XB-C18 100 Å, LC Column 100 x 2.1 mm

สารเคมี

1. ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษ methoxyfenozide 24 % SC (ชื่อการค้า โปรดิจี้ 240 เอสซี)
2. สารมาตรฐาน methoxyfenozide purity 99.0 %
3. sodium citrate dihydrate
4. di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate
5. sodium chloride anhydrous (NaCl)
6. magnesium sulfate (MgSO4)
7. primary secondary amine (PSA)
8. graphite carbon black (GCB)
9. acetonitrile HPLC Grade

10. acetonitrile LC-MS/MS Grade
11. deionized water

วิธีการ

1. ทำแปลงทดลอง

1.1. ทำแปลงทดลองแบบ supevised trial แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลง ได้แก่ แปลงเปรียบเทียบ (untreated) คือ แปลงที่ไม่พ่นสาร methoxyfenozide และแปลงทดลอง (treated) คือแปลงที่พ่นสาร imethoxyfenozide ซึ่งทั้ง 2 แปลงต้องมีระยะห่างหรือแนวป้องกัน (guard raw) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารจากแปลงทดลองไปสู่แปลงเปรียบเทียบ

1.2. พ่นสาร methoxyfenozide 24% W/V SC อัตราการใช้สารแนะนำ (Recommended dose) 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 10 ลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) โดยฉีดพ่นทุกๆ 7 วัน จำนวน 2 ครั้ง ในแปลงทดลอง (treated)

1.3. สุ่มเก็บตัวอย่างทั่วแปลง โดยเว้นห่างจากขอบแปลงระยะ 0.5 เมตร ทั้งสี่ด้าน เก็บจำนวนแปลงละ 2 ตัวอย่าง (replication) น้ำหนักไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม สุ่มตัวอย่าง 2 ซ้ำต่อวัน ที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงเปรียบเทียบและแปลงทดลอง ตามลำดับ นำกลับห้องปฏิบัติการเก็บในตู้แช่ตัวอย่างอุณหภูมิ -20°C

2. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างกะเพราปั่นร่วมกับไนโตรเจนเหลวด้วยเครื่องผสมอาหาร (Food Processor) ให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

3.1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ methoxyfenozide ในกะเพรา (Method Validation) ปรับจากวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, et al., 2003) ตามคุณลักษณะเฉพาะของวิธี (method performance characteristic) ดังนี้

3.1.1. Working range / Linearity
3.1.2. Accuracy
3.1.3. Precision
3.1.4. Limit of Quantitation (LOQ)
3.1.5. Matrix effect (ME)

3.2. การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง methoxyfenozide ปรับจากวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, et al., 2003) มีขั้นตอนดังนี้

ชั่งตัวอย่างกะเพรา 5 กรัมใส่ใน centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำ 5 มิลลิลิตร วางทิ้งไว้ 10 นาที เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าโดยใช้ vortex mixer นาน 1 นาที เติม magnesium sulfate anhydrous ($MgSO_4$) 4 กรัม sodium chloride 1 กรัม sodium citrate dihydrate1 กรัม และ di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัมแล้วเขย่าโดย vortex mixer นาน 1 นาที นำสารละลายที่สกัดได้ไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แบ่งสารละลายส่วนใส 6 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tubes ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี $MgSO_4$ 900 มิลลิกรัม PSA 150 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม เขย่าด้วย vortex mixer นาน 30 วินาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายใสกรองผ่านตัวกรองขนาด 0.2 ไมครอนใส่ใน vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

3.3. การวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS (Agilent 1200 HPLC และ Agilent 6410 triple quadrupole LC/MS ชนิด Electrospray Ionization) โดยปรับสภาวะของเครื่อง ให้เหมาะสมกับการตรวจวิเคราะห์ เพื่อให้ได้ความสามารถในการตรวจได้สูงสุด (Optimized condition) ดังนี้

3.3.1. สภาวะการทำงานของเครื่อง HPLC

Column:	KinetexTX 2.6 µm XB-C18 100 A°, 100 x 2.1 mm
Flow rate:	0.4 mL/min
Column Temperature:	40°C
Injection volume:	2.00 µL
Mobile Phase:	A, 5 mM Ammonium formate + 0.1% Formic acid
	B, Acetonitrile
Run time:	11 min

3.3.2. สภาวะการทำงานของเครื่อง MS

Positive mode	
Gas temp:	300°C
Gas flow:	7 L/min
Nebulizer:	45 Psi
Capillary:	4000 v
Precursor ion:	369
Product ion:	313 149 และ 133

ระยะเวลา ตุลาคม 2562 - กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง แปลงกะเพราเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี และ จังหวัดนครปฐม และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

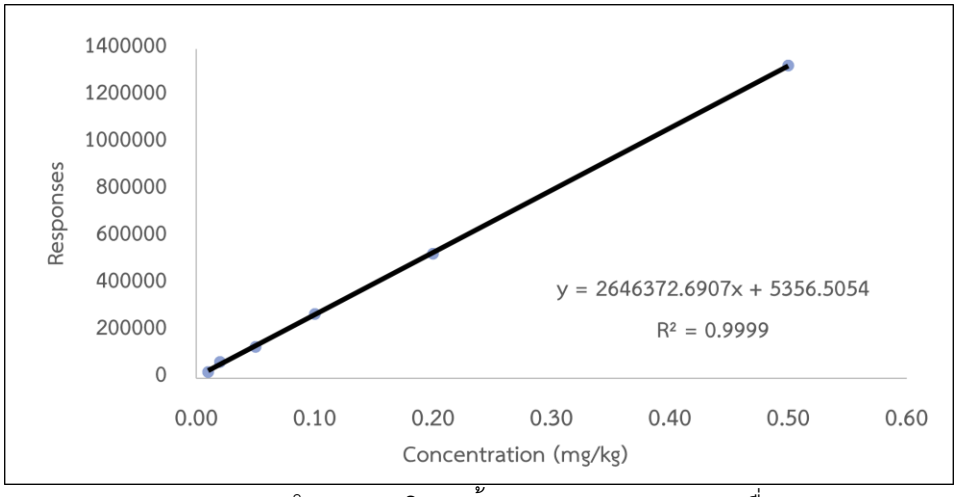
1. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ methoxyfenozide ในกะเพรา (Method Validation) ตามคุณลักษณะเฉพาะของวิธี (method performance characteristic) สรุปได้ดังนี้

1.1 Working range / Linearity

ผลการตรวจสอบ working range จากการ spike สารมาตรฐาน methoxyfenozide ในตัวอย่างที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ ดังตารางที่ 1 นำข้อมูลที่ได้สร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นแต่ละความเข้มข้น แสดงดังภาพที่ 2 มีค่า Coefficient of Determination (R^2) = 0.9999 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด (Eurachem, 2014)

ตารางที่ 1 พื้นที่ใต้พีคของ 6 ระดับความเข้มข้นในตัวอย่าง

Fortified (mg/kg)	Responses
0.01	26948
0.02	68321
0.05	133011
0.10	272546
0.20	530123
0.50	1329998

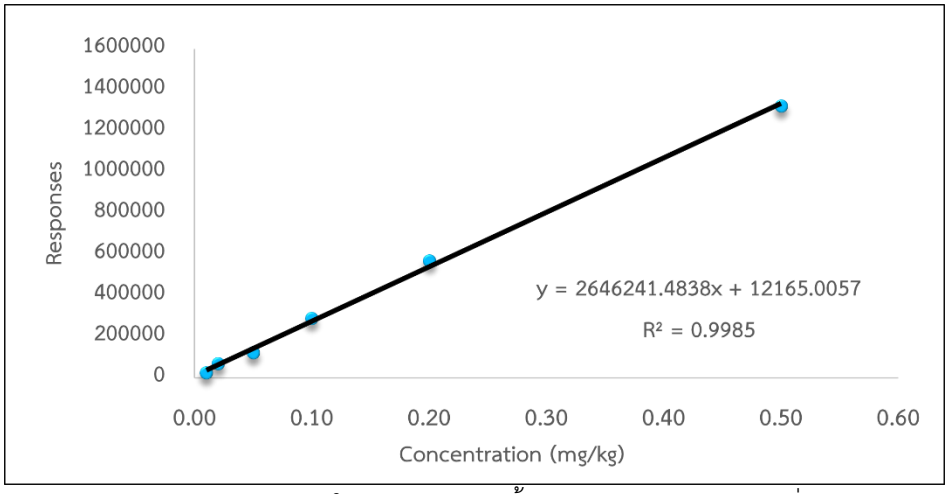


ภาพที่ 1 Coefficient of Determination (R^2) ของสารพิษตกค้าง methoxyfenozide เพื่อตรวจสอบ working range

ผลการตรวจสอบ Linearity จากการ spike สารมาตรฐาน methoxyfenozide ในตัวอย่างที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แสดงดังตารางที่ 2 นำข้อมูลที่ได้สร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นแต่ละความเข้มข้น แสดงดังภาพที่ 2 มีค่า Coefficient of Determination (R^2) = 0.9985 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด (Eurachem, 2014)

ตารางที่ 2 พื้นที่ใต้พีคของ 6 ระดับความเข้มข้นในตัวอย่าง

Fortified	Responses			
(mg/kg)	Replication 1	Replication 2	Replication 3	Average
0.01	26948	26801	25706	26485
0.02	68321	69602	68987	68970
0.05	133011	119005	115259	122425
0.10	272546	299010	297995	289850
0.20	530123	546020	635959	570701
0.50	1329998	1330050	1309706	1323251



ภาพที่ 2 Coefficient of Determination (R^2) ของสารพิษตกค้าง methoxyfenozide เพื่อตรวจสอบ linearity

1.2 Accuracy

ผลการตรวจสอบ Accuracy จากการ spike สารมาตรฐาน methoxyfenozide ในตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.10 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และคำนวณหา %recovery ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 %recovery อยู่ในช่วง 76-119 ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 %recovery อยู่ในช่วง 88-110 และที่ระดับความเข้มข้น 0.50 %recovery อยู่ในช่วง 89-109 ผลที่ได้อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ซึ่งเกณฑ์ %Recovery ที่กำหนดคือ ความเข้มข้น ≥ 1 ถึง < 10 µg/kg เกณฑ์ยอมรับอยู่ในช่วง 60-120 ความเข้มข้น ≥ 10 ถึง < 100 µg/kg เกณฑ์ยอมรับอยู่ในช่วง 70-110 และความเข้มข้น ≥100 µg/kg เกณฑ์ยอมรับอยู่ในช่วง 80-110 (AOAC, 2002) แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 %Recovery ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพรา ความเข้มข้น 0.01-0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (10 ซ้ำ)

Fortified	%Recovery											
(mg/kg)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Min	Max
0.01	119	83	76	82	83	83	82	88	88	76	76	119
0.10	97	93	89	90	110	108	92	92	88	91	88	110
0.50	89	95	96	1077	107	93	105	109	92	103	89	109

1.3 Precision

ผลการตรวจสอบ precision จากการ spike สารมาตรฐาน methoxyfenozide ในตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.10 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ประเมิน precision โดยการหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้ (SD) นำมาคำนวณหาค่าร้อยละความเบี่ยงเบนของค่าเฉลี่ย %RSD ระดับความเข้มข้น 0.01 %RSD เท่ากับ 14.2 ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 %%RSD เท่ากับ 8.2 และที่ระดับความเข้มข้น 0.50 %RSD เท่ากับ 7.5 ซึ่งผลที่ได้ผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ มีค่า %RSD น้อยกว่า 20 (European Commission, 2017) ทุกความเข้มข้น

ตารางที่ 4 %RSD ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพรา ความเข้มข้น 0.01-0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (10 ซ้ำ)

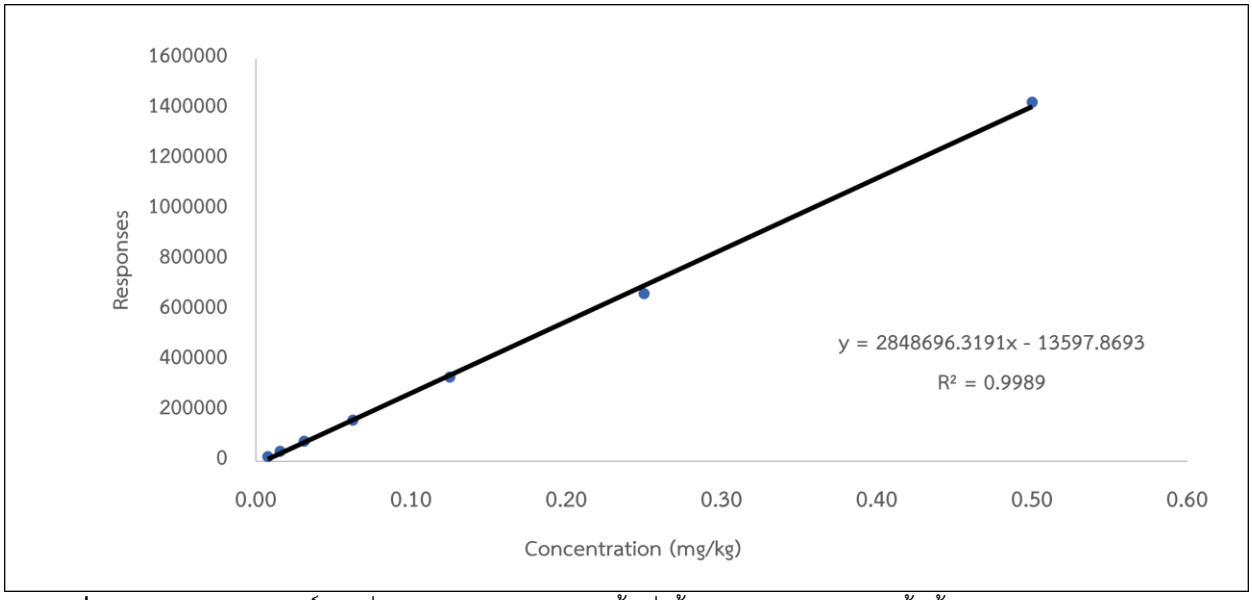
Replication	Concentration (mg/kg)		
	0.01	**0.10**	**0.50**
1	0.012	0.097	0.44
2	0.0083	0.093	0.47
3	0.0076	0.089	0.48
4	0.0082	0.090	0.53
5	0.0083	0.11	0.54
6	0.0083	0.11	0.47
7	0.0082	0.092	0.52
8	0.0088	0.092	0.55
9	0.0088	0.088	0.46
10	0.0076	0.091	0.51
Average	0.0086	0.095	0.50
SD	0.0012	0.0077	0.037
%RSD	14.2	8.2	7.5

1.4 Limit of Quantitation (LOQ)

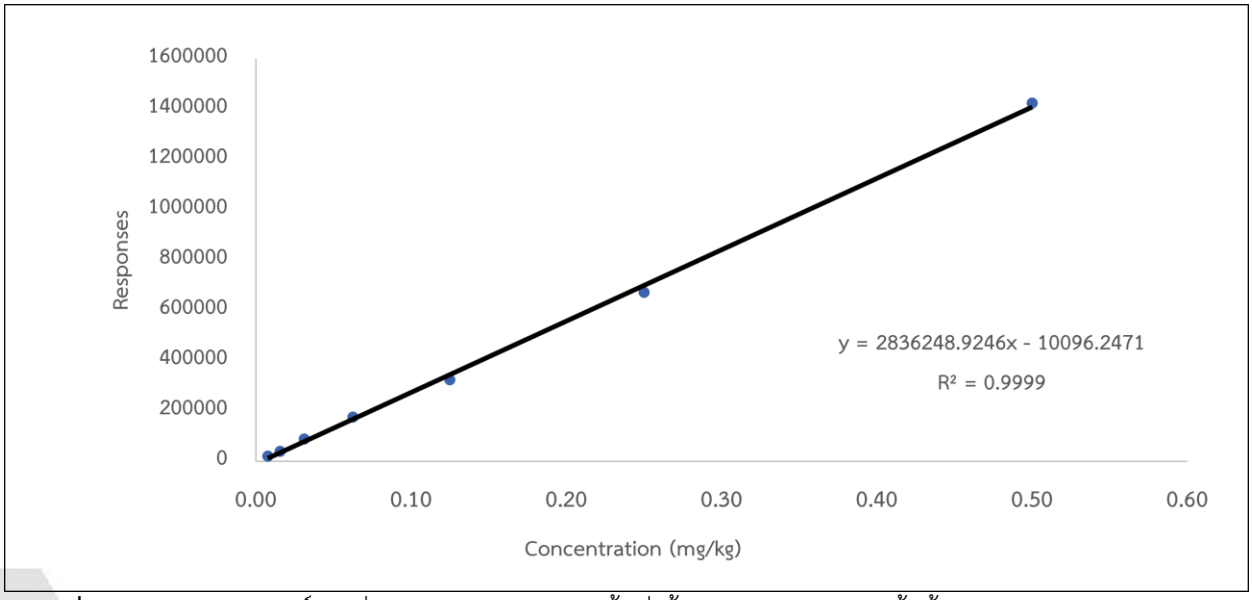
จากการ spike สารมาตรฐาน methoxyfenozide ในตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ 0.01 mg/kg 10 ซ้ำ สามารถประเมิน accuracy และ precision ได้ คือคำนวณ %Recovery อยู่ในช่วง 76-119 และ %RSD เท่ากับ 14.2 ดังนั้นที่ระดับความเข้มข้น 0.01 mg/kg สามารถกำหนดเป็นค่า LOQ ได้เนื่องจากสามารถประเมิน accuracy และ precision อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

1.5 Matrix effect (ME)

ผลการทดสอบ matrix effect จากการนำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัด standard in matrix และ standard in solvent มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดหรือพื้นที่ใต้พีคบนแกน y กับความเข้มข้นของสารในตัวอย่างบนแกน x แสดงดังภาพที่ 4 และ 5 ตามลำดับ จากนั้นนำความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in matrix และความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in solvent มาคำนวณหา %ME พบว่า วิธีนี้มี %ME เท่ากับ 0.4 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 10% แสดงว่าความชันไม่มีความแตกต่างกัน (NATA, 2018) คือไม่เกิดสิ่งรบกวนจากตัวอย่าง



ภาพที่ 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดหรือพื้นที่ใต้พีคบนแกนกับความเข้มข้นของ standard in matrix



ภาพที่ 5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดหรือพื้นที่ใต้พีคบนแกนกับความเข้มข้นของ standard in solvent

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ methoxyfenozide ในกะเพราจากแปลงทดลอง

การทดลองที่ 1 ทำการทดลองในแปลงกะเพราของเกษตรพื้นที่ ตำบลหนองปากโลง อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม พบว่าแปลงเปรียบเทียบ มีปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในทุกตัวอย่าง และแปลงทดลองพ่น methoxyfenozide ในกะเพราตามอัตราแนะนำ พบสารพิษตกค้าง methoxyfenozide ที่ระยะเวลา 0 วันหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย ที่ระยะเวลา 1 3 5 7 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นครั้งสุดท้าย พบปริมาณสารตกค้าง methoxyfenozide เฉลี่ย 11.16 10.01 3.35 2.52 1.36 และ 0.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แสดงปริมาณสารตกค้าง methoxyfenozide ดังตารางที่ 5

การทดลองที่ 2 ทำการทดลองในแปลงกะเพราของเกษตรพื้นที่ ตำบลทุ่งทอง อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าแปลงเปรียบเทียบ มีปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในทุกตัวอย่าง และแปลงทดลองพ่น methoxyfenozide ในกะเพราตามอัตราแนะนำ พบสารพิษตกค้าง methoxyfenozide ที่ระยะเวลา 0 วันหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย ที่ระยะเวลา 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นครั้งสุดท้าย พบปริมาณสารตกค้าง methoxyfenozide เฉลี่ย 8.51 5.50 2.34 0.51 0.18 0.093 0.015 และ น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แสดงปริมาณสารตกค้าง methoxyfenozide ดังตารางที่ 6

การทดลองที่ 3 ทำการทดลองในแปลงกะเพราของเกษตรพื้นที่ ตำบลหนองปากโลง อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม พบว่าแปลงเปรียบเทียบ มีปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในทุกตัวอย่าง และแปลงทดลองพ่น methoxyfenozide ในกะเพราตามอัตราแนะนำ พบสารพิษตกค้าง methoxyfenozide ที่ระยะเวลา 0 วันหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย ที่ระยะเวลา 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นครั้งสุดท้าย พบปริมาณสารตกค้าง methoxyfenozide เฉลี่ย 6.51 5.40 4.18 3.85 2.02 1.77 0.15 และ 0.061 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แสดงปริมาณสารตกค้าง methoxyfenozide ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพรา (การทดลองที่ 1)

ระยะเวลาหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)					
	แปลงควบคุม			แปลงทดลอง		
	Rep.1	Rep.2	เฉลี่ย	Rep.1	Rep.2	เฉลี่ย
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	10.02	12.29	11.16
1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	10.21	9.82	10.01
3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.25	3.45	3.35
5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.44	2.60	2.52
7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.36	1.36	1.36
10	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.85	0.69	0.77
14	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.14	0.11	0.13

Rep. = Replication (ซ้ำของการเก็บตัวอย่าง)

LOQ = 0.01 mg/kg

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพรา (การทดลองที่ 2)

ระยะเวลาหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)					
	แปลงควบคุม			แปลงทดลอง		
	Rep.1	Rep.2	เฉลี่ย	Rep.1	Rep.2	เฉลี่ย
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	8.46	8.56	8.51
1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6.06	4.94	5.50
3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.51	2.17	2.34
5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.54	0.48	0.51
7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.18	0.18	0.18
10	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.10	0.090	0.093
14	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.014	0.016	0.015
21	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Rep. = Replication (ซ้ำของการเก็บตัวอย่าง)

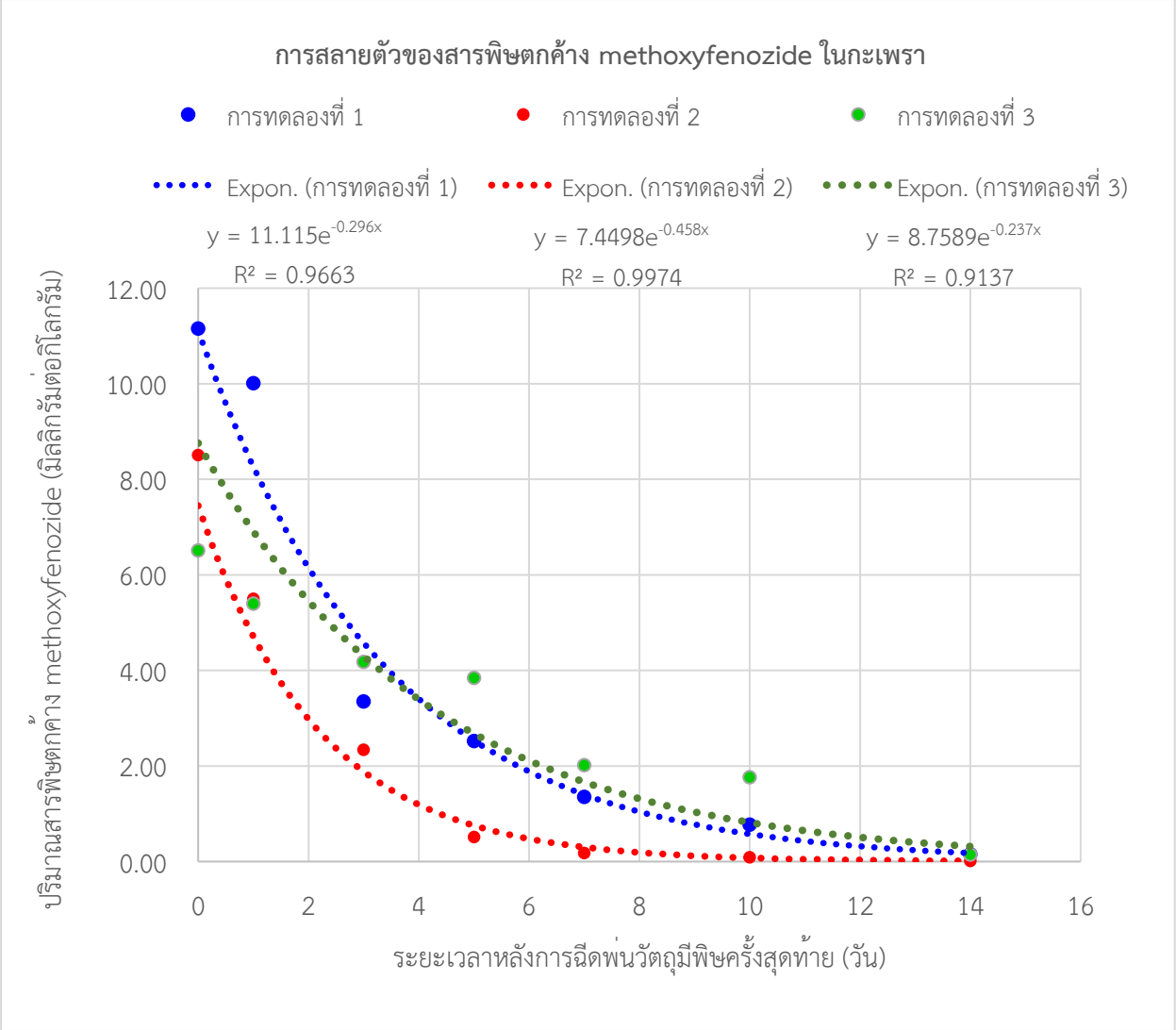
LOQ = 0.01 mg/kg

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพรา (การทดลองที่ 3)

ระยะเวลาหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)					
	แปลงควบคุม			แปลงทดลอง		
	Rep.1	Rep.2	เฉลี่ย	Rep.1	Rep.2	เฉลี่ย
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6.74	6.28	6.51
1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5.80	5.00	5.40
3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.86	4.49	4.18
5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.97	3.73	3.85
7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.97	2.06	2.02
10	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.77	1.76	1.77
14	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.15	0.15	0.15
21	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.064	0.058	0.061

Rep. = Replication (ซ้ำของการเก็บตัวอย่าง)

LOQ = 0.01 mg/kg

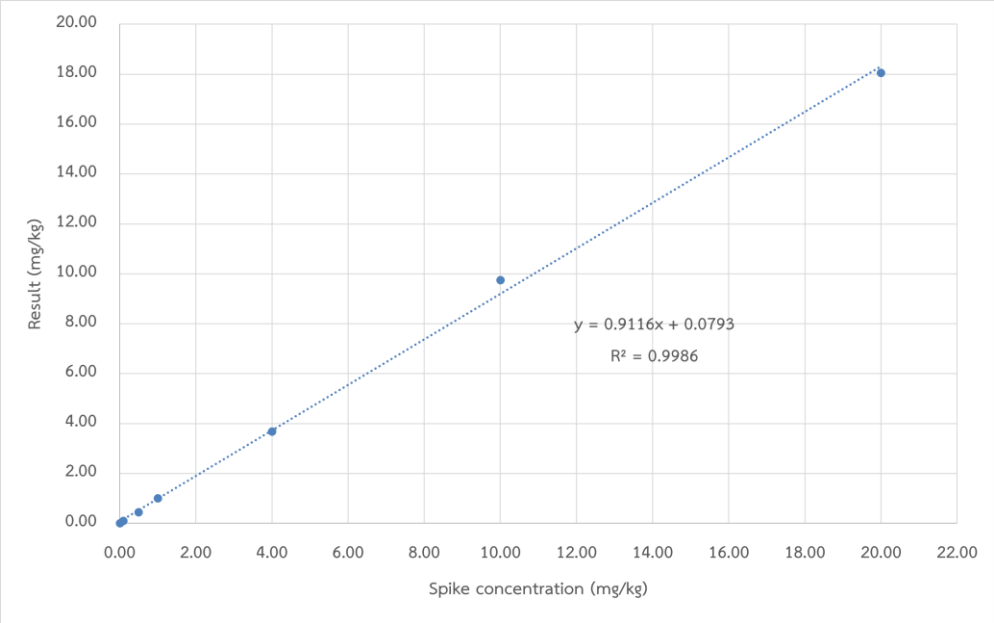


ภาพที่ 3 แสดงการสลายตัวของ methoxyfenozide ในกะเพราของการทดลองครั้งที่ 1 2 และ 3

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพราได้ทำการตรวจสอบการ working range โดยการนำข้อมูลผล Recovery ของการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ (QC) ในแต่ละครั้งของการวิเคราะห์ดังตารางที่ 8 มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างปริมาณที่วิเคราะห์ได้กับความเข้มข้นแต่ละความเข้มข้นที่เติมลงไป แสดงดังภาพที่ 4 มีค่า Coefficient of Determination (R2) = 0.9986 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด (Eurachem, 2014)

ตารางที่ 8 ผลการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพรา

Spiked concentration (mg/kg)	Result (mg/kg)				
	Recovery 1	Recovery 2	Recovery 3	Average	Standard Deviation
0.010	0.012	0.0083	0.0076	0.0093	0.0023
0.10	0.097	0.093	0.089	0.093	0.0040
0.50	0.44	0.45	0.45	0.45	0.0033
1.00	1.00	1.00	1.01	1.00	0.0053
4.00	3.66	3.66	3.69	3.67	0.013
10.00	9.80	9.51	9.92	9.74	0.21
20.00	18.06	18.12	17.97	18.05	0.076



ภาพที่ 4 Coefficient of Determination (R^2) การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพรา

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การสลายตัวของ methoxyfenozide ในกะเพรา ในการทดลองครั้งที่ 1 2 และ 3 เป็นไปในทำนองเดียวกัน คือ สลายตัวลดลงอย่างรวดเร็วหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย 1-7 วัน และค่อยๆลดลง ในที่ 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย เนื่องจาก Codex และประเทศไทย ยังไม่ได้กำหนดค่า MRLs ของ methoxyfenozide ในกะเพรา แต่กลุ่มสหภาพยุโรป(European Union: EU) กำหนดค่า MRLs ในกะเพรา (Holy Basil/tulsi) เท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นเมื่อนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้าง methoxyfenozide ในกะเพรา ทั้ง 3 การทดลอง พิจารณากำหนดค่าระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยหรือ PHI (Pre Harvest Interval) ประกอบกับค่า EU MRLs จะได้ค่า PHI ที่ 7 วัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำไปเป็นค่ากำหนดในการเก็บเกี่ยวผลผลิตอย่างถูกต้องและปลอดภัย สำหรับเกษตรกร หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง และใช้เป็นค่าแนะนำสำหรับการปลูกพืช ตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) และนำข้อมูลการสลายตัวของสารพิษตกค้าง เพื่อใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่า Thai MRLs และ Asean MRLs ของ methoxyfenozide ในกลุ่มพืชสมุนไพร

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

คณะนักวิจัยกลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุมกีฏและสัตววิทยา. คำแนะนำการปองกันกำจัดแมลง-สัตวศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยจากงานวิจัย ปี 2564. เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์ ไพศาล รัตนเสถียร อัจฉรา หวังอาษา และวรจิต ผาภูมิ. 2548. ประสิทธิภาพและวิธีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูของพืชผักสวนครัว. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2548 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร. หน้า 590-617.

มานิตา คงชื่นสิน. คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป(ฉบับปรับปรุง). กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร. หน้า 36-38

สัญญาณี ศรีคชา. แมลงศัตรูพืช กะเพรา โหรพา แมงลัง ผักชี และการป้องกันกำจัด. 2559. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร.

Anastassiades. M., Lehotay. S.J., Stajbaher. D. and Schenck F.J. 2003. Fast and Easy Multiresidues employing Actonitrile Extraction/Paritioning and “Dispersive solid- Phase Extraction” for determination of Pesticide Residues in Produce. J. AOAC. Int.86, 412-431.

AOAC. 2002. Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. https://www.aoac.org

Eurachem. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Second Edition.

European Commission. 2017. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. Directorate General for Health and Food Safety. Safety of the Food Chain Pesticides and Biocides. SANTE/11813/2017 21-22 November 2017 rev.0.

FAO Plant Production and Protection Paper 225. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Rome, 2016 Third edition.

NATA. 2018. General Accreditation Guidance-Validation and verification of quantitative and qualitative test methods. January, Australia.

บันทึกข้อความ

บันทึกข้อความ

บันทึกข้อความ

บันทึกข้อความ

เล่ม 1

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

เลขที่ 50 ถนนพหลโยธิน ลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900