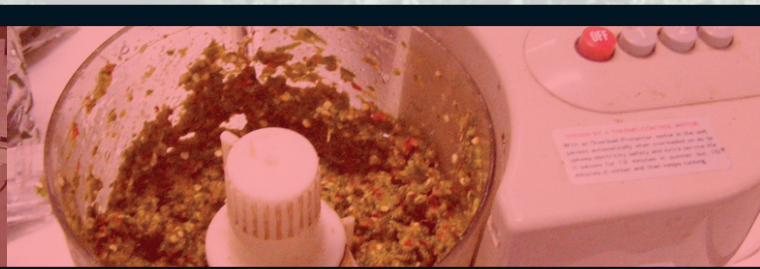
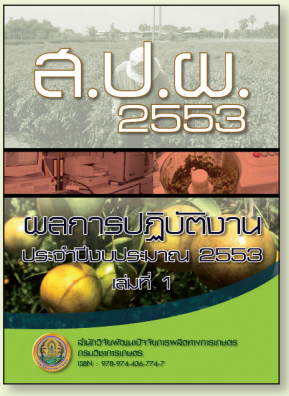
ส.ป.ผ. 2553



ผลการปฏิบัติงาน
ประจำปีงบประมาณ 2553
เล่มที่ 1

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร
ISBN : 978-974-436-774-7



ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2553 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เล่มที่ 1

ISBN: 978-974-436-774-7

คณะผู้จัดทำ

ที่ปรึกษา :

ณัญจณา	ลือตระกูล	ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ยศพร	จันทชุม	หัวหน้ากลุ่มบริหารโครงการวิจัย

รวบรวมข้อมูล :

ให้พร	กิตติกูล	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
ปัญจพร	เลิศรัตน์	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

จัดทำรูปเล่ม :

ให้พร	กิตติกูล	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
จริยา	วงศ์ตรี	กลุ่มเกษตรเคมี
มลิสา	เวชยานนท์	กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
ศุภกาญจน์	ล้วนมณี	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา
สุปรานี	มั่นหมาย	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา
สุปราณี	เขื่อนวัน	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย

จำนวนพิมพ์ : 320 เล่ม

พิมพ์เมื่อ : มิถุนายน 2554

สถานที่ติดต่อ : กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์ 0-2579-1577-8 ต่อ 2101-5
โทรสาร 0-2579-1577

พิมพ์ที่ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด
44/16-17 ถ.เลี่ยงเมืองนนทบุรี ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
โทรศัพท์ 0-2525-4807-9, 0-2525-4853-4
โทรสาร 0-2525-4855

ส.ป.ผ. 2553

ผลการปฏิบัติงาน
ประจำปีงบประมาณ 2553
เล่มที่ 1

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร
ISBN : 978-974-436-774-7

คำนำ

เอกสาร "ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2553 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร" ได้จัดทำขึ้นโดยกลุ่มบริหารโครงการวิจัยร่วมกับกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา เกษตรเคมี วัตถุมีพิษการเกษตร และศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร วัตถุประสงค์ของการจัดทำเอกสารครั้งนี้เพื่อเผยแพร่ผลการปฏิบัติงานที่ได้ดำเนินการในรอบปีงบประมาณ 2553 ของสำนักฯ

เอกสารผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2553 ของสำนักฯ มีทั้งหมด 2 เล่ม โดยเอกสารเล่มนี้เป็นเอกสารเล่มที่ 1 เนื้อหาภายในเล่มเป็นการรายงานผลการปฏิบัติงานด้านวิจัยและพัฒนาของกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร จำนวน 28 เรื่อง กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา จำนวน 11 เรื่อง ส่วนเล่มที่ 2 ประกอบด้วยผลงานวิจัยและพัฒนาของกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา ต่อจากเล่มที่ 1 จำนวน 20 เรื่อง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร จำนวน 1 เรื่อง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี จำนวน 6 เรื่อง และศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร จำนวน 9 เรื่อง ตามลำดับ

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ขอขอบคุณกลุ่มบริหารโครงการวิจัยและนักวิชาการจากกลุ่มวิจัยและศูนย์ฯ ทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือด้านการประสานงาน รวบรวมและส่งข้อมูลผลการปฏิบัติงานให้กลุ่มบริหารโครงการวิจัยตลอดจนร่วมจัดทำรูปเล่มจนสำเร็จ ในการนี้สำนักฯ หวังเป็นอย่างยิ่งว่า เอกสารฉบับนี้จะเกิดประโยชน์แก่ผู้บริหาร นักวิชาการ อาจารย์ นักศึกษา และตลอดจนผู้ที่สนใจในการนำความรู้ไปปรับใช้และต่อยอดงานวิจัยในอนาคตหรือใช้ในธุรกิจและชีวิตส่วนตัวของท่านนอกจากนี้ยังส่งผลต่อประสิทธิภาพ ประสิทธิผลของการใช้จ่ายงบประมาณแผ่นดินอันจะเป็นประโยชน์ต่อประเทศชาติเป็นส่วนรวมด้วย

(นางณัญจณา ลือตระกูล)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร
มิถุนายน 2554

สารบัญ

	เรื่อง	หน้า
1.	ศึกษาความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร chlorpyrifos ในแปลงปลูกพริก ต่อผู้ใช้และผู้บริโภค1 *โดย : วิภา ตั้งนิพนธ์ และคณะ*	1
2.	ศึกษาผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร cypermethrin ในแปลงปลูกคะน้าต่อสัตว์น้ำ พืชน้ำ ดิน น้ำ และตะกอน *โดย : ภิญญา จุลินทร และคณะ*	23
3.	การสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณเกษตรกรรม : แม่น้ำป่าสัก *โดย : มลิสา เวชยานนท์ และคณะ*	34
4.	การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำ โดยใช้ Gas Chromatograph *โดย : มลิสา เวชยานนท์ และคณะ*	47
5.	ศึกษาความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร cypermethrin ในแปลงปลูกคะน้า ต่อผู้ใช้และผู้บริโภค *โดย : ปรีชา ฉัตรสันติประภา และคณะ*	56
6.	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของโอเมทโธเอท (omethoate) ในถั่วเหลืองฝักสดเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง(MRLs)ครั้งที่ 1 และ 2 *โดย : วิสุทธิ เชวงศรี และคณะ*	67
7.	การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม ออร์การโนฟอสฟอรัสในมังคุด *โดย : วิสุทธิ เชวงศรี และคณะ*	75
8.	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ prothiofos ในมะเขือยาว เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1 และ 2 *โดย : จินตนา ภู่มงกุฎชัย และคณะ*	84
9.	การเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวิธีการ QuEChERS ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph *โดย : ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล และคณะ*	95
10.	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างไดเมโทเอต (dimethoate) ในถั่วฝักยาว เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1 และ 2 *โดย : ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล และคณะ*	106
11.	การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง กลุ่ม fungicide ในผักและผลไม้ โดยใช้ Gas Chromatograph/Mass Spectrometry *โดย : พนิดา ไชยยันต์บูรณ์ และคณะ*	115
12.	วิจัยปริมาณสารมีพิษตกค้างของคาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) ในมะเขือยาวเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRLs) ครั้งที่ 1 และ 2 *โดย : พนิดา ไชยยันต์บูรณ์ และคณะ*	127

สารบัญ (ต่อ)

	เรื่อง	หน้า
13.	การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในพืชที่มีซัลเฟอร์สูง *โดย : ศศิมา มั่งนิมิตร์ และคณะ*	137
14.	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของฟิโปรนิลในถั่วฝักยาว เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1 และ 2 *โดย : ศศิมา มั่งนิมิตร์ และคณะ*	143
15.	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของโพรฟิโนฟอสในส้มโอ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 3 และครั้งที่ 4 (MRLS) *โดย : สมสมัย ปาลกูล และคณะ*	151
16.	การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 53 ชนิด อย่างรวดเร็วด้วยวิธี QuECheRS โดยใช้ GC/MS-PTV Inlet *โดย : ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ และคณะ*	160
17.	ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดและผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากต่อปลานิล *โดย : อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ และคณะ*	168
18.	การแก้ปัญหาสารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสในผัก ผลไม้ส่งออก ด้วยการบูรณาการองค์ความรู้ครบวงจร *โดย : อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ และคณะ*	175
19.	ศึกษาความใช้ได้ของชุดตรวจสอบพิษตกค้างของโพรเฟนโนฟอสในผัก ผลไม้ *โดย : อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ*	193
20.	การประเมินข้อมูลการใช้ผลิตภัณฑ์ Cypermethrin, EPN, Chlorpyrifos และผลิตภัณฑ์สารธรรมชาติจากเกษตรกร *โดย : อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ และคณะ*	201
21.	วิจัยสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดหนอนตายหยาก และว่านน้ำเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืช *โดย : รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา และคณะ*	209
22.	การศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารธรรมชาติ *โดย : รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา และคณะ*	219
23.	การปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์สะเดา *โดย : รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา และคณะ*	223
24.	วิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในถั่วเหลืองฝักสด เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง [MRLs] ครั้งที่ 1 และ 2 *โดย : ลมัย ชูเกียรติวัฒนา และคณะ*	228
25.	การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริก *โดย : ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์ และคณะ*	237

สารบัญ (ต่อ)

	เรื่อง	หน้า
26.	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (ครั้งที่ 1-2) *โดย : ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์ และคณะ*	247
27.	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างอีไธออนในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (ครั้งที่ 1-2) *โดย : ยงยุทธ ไผ่แก้ว และคณะ*	259
28.	การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole ในผัก *โดย : ยงยุทธ ไผ่แก้ว และคณะ*	270
29.	การสำรวจและรวบรวมแบคทีเรียผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *โดย : สมปอง หมื่นแจ้ง และคณะ*	283
30.	การสำรวจรวบรวมแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ *โดย : สมปอง หมื่นแจ้ง และคณะ*	288
31.	ศึกษาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด *โดย : พีรพงษ์ เชาวนพงษ์ และคณะ*	293
32.	การใช้ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยชีวภาพ ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และสารปรับปรุงดิน เพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดฝักอ่อน *โดย : พีรพงษ์ เชาวนพงษ์ และคณะ*	299
33.	การจัดการสมดุลธาตุอาหารพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในชุดดินสมอทอด *โดย : ศุภกาญจน์ ล้วนมณี และคณะ*	307
34.	ศึกษาประสิทธิภาพของกากตะกอนบ่อเกรอะในการปรับปรุงดิน ชุดดินปากช่องภายใต้การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ *โดย : ศุภกาญจน์ ล้วนมณี และคณะ*	321
35.	ศึกษาการสลายตัวและพฤติกรรมการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยผสมอินทรีย์เคมี ภายใต้สภาพความชื้นสนาม: การทดลองย่อย ศึกษาการสลายตัวและพฤติกรรมการปลดปล่อยธาตุอาหารของปุ๋ยหมัก *โดย : ศุภกาญจน์ ล้วนมณี และคณะ*	333
36.	ผลของการจัดการดินและปุ๋ยเคมีที่มีต่อผลผลิตข้าวโพดในดินชุดปากช่องในระยะยาว *โดย : ศุภกาญจน์ ล้วนมณี และคณะ*	344
37.	ผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพ ผลตกค้างของวัสดุอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตข้าวโพด *โดย : สมฤทัย ตันเจริญ และคณะ*	358
38.	ศึกษาการสลายตัวและการปลดปล่อยธาตุไนโตรเจนของแหนแดงในดินสภาพต่างๆ *โดย : ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต และคณะ*	369
39.	ศึกษาการใช้ปุ๋ยพืชสดร่วมกับปุ๋ยหมักเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนในการผลิตกระเจี๊ยบเขียว *โดย : เสมอจิตต์ เกื้อหนุน และคณะ*	375

ศึกษาความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร chlorpyrifos ในแปลงปลูกพริก ต่อผู้ใช้และผู้บริโภค

Risk Assessment of Chlorpyrifos Used in Chili Plantation to Applicator and Consumer

วิภา ตั้งนิพนธ์ ประกิจ จันทร์ติ๊บ เอกราช สิทธิมงคล

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาในแปลงพริกมัน (*Capisicum annuum* Linn.) ของเกษตรกร ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี ปลูกพริก ระหว่างเดือนมกราคม 2553 – พฤษภาคม 2553 ฉีดพ่นสารพิษ chlorpyrifos 3 ครั้ง เมื่อต้นพริกมีอายุ 99,106 และ 113 วัน สูตร 40 % W/V EC ในอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยเครื่องยนต์สะพายหลัง ภายหลังการฉีดพ่น เก็บแผ่นผ้าที่ติดบนส่วนต่างๆ ของร่างกาย น้ำล้างมือและน้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่นสารพิษมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ chlorpyrifos ที่ปนเปื้อนบนร่างกาย เก็บตัวอย่างเลือดของผู้ฉีดพ่นก่อนการฉีดพ่นและภายหลังการฉีดพ่นที่ 1 วัน 3 วัน 5 วันและ 7 วัน ตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง (Acetylcholinesterase Activity, AChE Activity) เก็บเกี่ยวพริกภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้ายที่ระยะเวลา 0,1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 และ 30 วัน ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริก ผลการทดลองที่ได้จากการศึกษามาประมวลกับข้อมูลทางพิษวิทยาของ chlorpyrifos เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพอนามัยจากการฉีดพ่นของผู้ใช้พบว่าการฉีดพ่น chlorpyrifos ในแปลงปลูกพริก ผู้ฉีดพ่นมีโอกาสปนเปื้อนสารพิษ chlorpyrifos ปริมาณ 0.4197-0.8215 mg/kg Bw/day เป็นระดับที่มีความเสี่ยงสูง และพบว่าระดับการทำงานของ AChE Activity ของผู้ฉีดพ่นลดลงเหลือ 63 - 84 เปอร์เซนต์ ภายหลังการฉีดพ่นในระยะ 1 วัน ถึง 7 วัน ซึ่งแสดงว่าได้รับผลกระทบจาก chlorpyrifos ปนเปื้อนบนร่างกาย ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริกภายหลังการฉีดพ่นที่ระยะเวลาต่างๆ พบปริมาณตกค้างที่ 0 วัน 0.7691 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเริ่มลดปริมาณสารพิษตกค้างลงอย่างช้าๆแปรผันตามเวลา อัตราการสลายตัวของ chlorpyrifos ในพริกมีค่า half life นาน 17.5 วัน ผลการประเมินความเสี่ยงของการบริโภคพริกภายหลังการฉีดพ่น chlorpyrifos ตั้งแต่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 0 วัน ถึง 19 วัน มีความเสี่ยงสูงเมื่อเปรียบเทียบกับค่า Chronic RfD(Reference Dose) = 0.0003 mg/kg/day ผลการประมวลข้อมูลจากการศึกษา chlorpyrifos ความเสี่ยงสูงต่อผู้ฉีดพ่นสมควรระมัดระวังสวมชุดป้องกันการปนเปื้อนร่างกายในระหว่างการฉีดพ่น ขอเสนอให้มีการเข้มงวดการใช้ ส่วนการบริโภคพริกในระยะเก็บเกี่ยวหลังการฉีดพ่น 0 ถึง 19 วัน ไม่มีความปลอดภัย เกษตรกรต้องงดใช้ chlorpyrifos ฉีดพ่นในแปลงปลูกพริกระยะเริ่มติดผล

คำนำ

Chlorpyrifos เป็นวัตถุมีพิษการเกษตรกลุ่ม non-systemic Organophosphorus insecticide ที่องค์การอนามัยโลก WHO จัดให้มีระดับความเป็นพิษ Moderately hazard class II ประเภทป้องกันกำจัดแมลง เป็นพิษโดยการกินและการสัมผัสมีค่า LD_{50} 82-163 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนูขาวใหญ่ทางปาก (Hartley and Kidd,1991) มีความเป็นพิษรุนแรงต่อผึ้ง ตัวห้ำ ตัวเบียน และสัตว์ป่าทั่วไปเป็นสารพิษที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase Activity, AChE Activity) ที่มีบทบาทในขบวนการสื่อสัญญาณประสาทถ่ายทอดสัญญาณจากเซลล์ประสาทหนึ่งไปสู่อีกเซลล์หนึ่ง เมื่อสารพิษนี้เข้าสู่ร่างกายจะเกิดอาการกล้ามเนื้อเกร็ง ชักกระตุก ถ้ารุนแรงอาจเสียชีวิต

ประเทศไทยนำเข้า chlorpyrifos เพื่อจำหน่ายมากถึง 1,256 ตัน จากรายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรประเภทสารกำจัดแมลงที่มีการนำเข้ามากเป็นลำดับที่ 4 ในปี 2552 จากสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร จึงปรากฏการใช้อย่างกว้างขวางกับพืชทั่วไป แม้ว่าฉลากกลางของสารชนิด chlorpyrifos แนะนำการใช้กับพืชชนิด ถั่วลิสง ถั่วเหลือง มันเทศ ข้าว ฯลฯ ซึ่งเป็นพืชไร่เท่านั้น เนื่องจากผลิตผลของพืชไร่ที่ใช้บริโภคส่วนมากปลอดภัยจากสารพิษตกค้างชนิดนี้ เพราะมีเปลือกหุ้ม และใช้เวลาเก็บในโรงเก็บนานก่อนการบริโภค ซึ่งแตกต่างจากผักและผลไม้ที่ส่วนมากบริโภคได้ทันทีหลังการเก็บเกี่ยวจึงพบรายงานข้อมูลการตรวจพบสารพิษตกค้างในพืชผักผลไม้ ปีงบประมาณ 2546-2548 จากศูนย์บริการทางวิชาการแบบเบ็ดเสร็จกรมวิชาการเกษตร ชนิดสารที่ตรวจพบมาก ได้แก่ methamidophos, cypermethrin, chlorpyrifos และ triazophos และชนิดของผักที่พบสารพิษตกค้างเกินมาตรฐานจำนวนมากในปี 2549 ได้แก่ พริก กระเจี๊ยบเขียว ใบกะเพรา และผักอื่นๆ ซึ่งเป็นสินค้าเพื่อการส่งออกทั้งหมด ผลการสำรวจการผลิตส้มของผู้ประกอบการในเขต อำเภอฝาง แม่อาย และไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ปี 2552 พบสารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus โดยเฉพาะชนิด chlorpyrifos พบในตัวอย่างส้มมากที่สุด แม้ว่าจะมีปริมาณไม่เกินค่า Codex MRL1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ลาภิสรา และคณะ 2553)

chlorpyrifos เป็นสารที่มีวิธีการใช้โดยการฉีดพ่น เกษตรกรใช้สารพิษชนิดนี้เพื่อกำจัดเพลี้ย หนอน ขณะพ่นเกิดละอองฟุ้งในอากาศโอกาสรับสารพิษเข้าสู่ร่างกายได้มากทางลมหายใจแล้วเข้าสู่ปอด และละอองสารพิษยังสัมผัสทุกส่วนของร่างกายตั้งแต่หัวจรดเท้า เมื่อเกษตรกรขาดความระมัดระวังในการป้องกันตัวเองในขณะฉีดพ่น เช่น ไม่ใส่รองเท้า ถุงมือ ผ้าปิดจมูก หมวก โดยเฉพาะอย่างยิ่งไม่รีบชำระล้างร่างกายภายหลังการฉีดพ่นสารพิษติดต่อกันเป็นเวลานาน อีกทั้งอาจรับประทานอาหาร ดื่มน้ำ และสูบบุหรี่ระหว่างปฏิบัติงาน จึงมีรายงานของกระทรวงสาธารณสุขระบุถึงจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับพิษจากการฉีดพ่นวัตถุมีพิษทางการเกษตรอยู่เสมอ นอกจาก chlorpyrifos จะเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้แล้วยังเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคสูงเมื่อบริโภคผลผลิตที่มีสารพิษตกค้าง

กลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร จึงได้จัดทำชุดโครงการวิจัยเพื่อศึกษาประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสสารเคมี chlorpyrifos ที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็ง เป็นการเปรียบเทียบปริมาณสารเคมีที่ร่างกายได้รับ กับค่าความเป็นพิษของสารเคมีนั้น ๆ เพื่อบ่งชี้ว่าปริมาณสารเคมีที่ได้รับมีความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้ใช้ และผู้บริโภคหรือไม่ ประกอบด้วยการศึกษาปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกายผู้ฉีดพ่นในแหล่งปลูกพริก ปริมาณสารพิษปนเปื้อนมือผู้เก็บเกี่ยวพริก การสลายตัวและสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพริกภายหลังการฉีดพ่นเพื่อให้ได้ข้อมูลการประเมินความเสี่ยงของผู้ใช้สารพิษและของผู้บริโภคผลิตผลที่มีสารพิษตกค้าง เป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตรในการพิจารณาบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษที่มีอันตราย เพื่อความเข้มงวดการใช้ การจำกัดการใช้ หรือการห้ามใช้เป็นความปลอดภัยของผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกพริกมัน (*Capisicum annuum Linn.*)
2. แผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 16 แผ่น
3. ผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง chlorpyrifos ที่ใช้ฉีดพ่นในแปลงทดลอง คือ ลอร์สแบน 40% w/v EC
4. เครื่องแก้ว volumetric flask, volumetric pipette, separatory funnel, Erlenmeyer flask, cylinder, beaker, round bottom flask, chromatographic column, filtering funnel, pipette, petri-dish, glass vial, disposable pasteur pipette, test tube
5. เคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ
   5.1 สารเคมี analytical grade (AR) ได้แก่ acetone, ethyl acetate, dichloromethane ,anh. sodium sulphate, sodium chloride
   5.2 สารเคมี pesticide grade (PR) ได้แก่ ethyl acetate
   5.3 สาร substrate ชนิด acetylthiocholine iodide ความเข้มข้น 156 mM
   5.4 สาร reagent ชนิด Dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB) 0.26 mM เตรียมโดยการละลาย 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid M.W. 396.3 ใน phosphate buffer pH 7.2
6. glass wool และ filter paper No.1
7. สารพิษมาตรฐาน chlorpyrifos ความบริสุทธิ์สูง บริษัท Dr. Ehrenstorfer
8. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เครื่องชั่งหยาบ และเครื่องชั่งละเอียด (analytical balance) เครื่องสกัดวัตถุมีพิษชนิด homogenizer และ Blender เครื่องเขย่า (reciprocal shaker) เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator ตู้อบสารเคมี (digital oven) เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace) เครื่องทำสุญญากาศ (Vacuum pump) เครื่องลดปริมาตร ชนิด Nitrogen Evaporator เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) ตู้ดูดความชื้น (Desiccator) ตู้เย็นแช่แข็ง (Deep freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 °C เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge)
9. การวิเคราะห์สารพิษ EPN ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC) พร้อม Auto injector และตัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD) โดยปรับสภาวะการทำงานของเครื่อง ดังนี้

   Detector : Flame Photometric Detector

   Mode : Splitless

   Column : SPB-5 / DB 1701 fused siliga capillary column

   ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 mm ความยาว 30 m สารเคลือบหนา 0.25 µm

   Initial flow : 1.4 ml/นาที Temperature : Injector 230 °C, Detector 280 °C

   Oven : $80^{\circ}C$ (1 นาที) $\xrightarrow{20\ ^{\circ}c/นาที}$ $194^{\circ}C$ (1 นาที) $\xrightarrow{2\ ^{\circ}c/นาที}$ $197^{\circ}C$ (1 นาที) $\xrightarrow{5\ ^{\circ}c/นาที}$ 250 °C (10 นาที)

   Volume injected : 1 ไมโครลิตร

วิธีการ

เลือกแปลงทดลองของเกษตรกรที่ปลูกเพื่อการค้า เหมาะสมสำหรับการทดลองที่ ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี และมีการใช้สารพิษ chlorpyrifos เป็นประจำ ลักษณะแปลงปลูกแบบยกร่องดินขึ้นและมีคูน้ำล้อมรอบ ทดน้ำจากแม่น้ำท่าจีนเข้าสู่สวนเกษตรกรปลูกผักชนิดถั่วฝักยาวและบวบ หมุนเวียนติดต่อกันตลอดทั้งปีเกษตรกรใช้สารพิษอย่างหลากหลาย ระยะการทดลองในแปลง เดือนมกราคม 2553 – พฤษภาคม 2553

การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1. แปลงทดลองพริกมัน มีพื้นที่ขนาด 2 ไร่ ยกร่องปลูก มีร่องน้ำระหว่างแปลงกว้าง 1.5 เมตร ขนาดแปลงปลูก 3.5 X 53.5 เมตร จำนวน 8 แปลง ปลูกพริกมัน จำนวน 4 แถว ในแต่ละแปลง เริ่มเก็บเกี่ยวผลพริก เมื่ออายุ 120 วัน และเก็บผลผลิตได้นานประมาณ 3 เดือน

2. เกษตรกรฉีดพ่นสารพิษเพื่อกำจัดศัตรูพืชเป็นระยะ สารพิษที่ใช้เป็นประจำได้แก่ abamectin, emametin benzoate, buprofezin+cypermethrin, phenthoate, diazinon, metalaxyl, carbendazim, difenoconazole, bacillus subtilis propiconazole+prochloraz และได้ใช้สารพิษ chlorpyrifos เพื่อป้องกันกำจัดหนอนเมื่อพบการระบาด ประมาณ 2 - 3 ครั้งต่อฤดูปลูก

3. กำหนดการฉีดพ่น chlorpyrifos จำนวน 3 ครั้ง การฉีดพ่น chlorpyrifos ครั้งแรก เมื่อพริกอายุ 99 วัน ครั้งที่ 2 เมื่อพริกอายุ 106 วัน และ ครั้งที่ 3 เมื่อพริกอายุ 113 วัน ซึ่งเป็นระยะเริ่มเก็บเกี่ยว อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นด้วยเครื่องยนต์สะพายหลัง และบันทึกเวลาการฉีดพ่นทุกครั้ง

4. การติดแผ่นผ้าบนร่างกายเกษตรกรผู้ฉีดพ่น ก่อนการฉีดพ่นสารพิษทุกครั้ง ติดแผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร บนเสื้อผ้าตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ หมวก แผ่นผ้าปิดจมูก อกเสื้อด้านในอกเสื้อ ไหล่ แขนเสื้อ หลังเสื้อ ด้านในของหลังเสื้อ ต้นขา หน้าแข้ง และด้านในหน้าแข้ง

5. ก่อนเริ่มการฉีดพ่น chlorpyrifos ครั้งสุดท้าย ต้องเก็บตัวอย่างผลพริก ในแปลงทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง รวมทั้งเลือดของเกษตรกรผู้ฉีดพ่น มาตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง เพื่อเป็นค่า Base-line level หรือค่าต่ำสุดก่อนที่ตัวอย่างจะปนเปื้อนสารพิษ

6. หลังการฉีดพ่น chlorpyrifos เก็บตัวอย่างสิ่งต่างๆ ดังต่อไปนี้
   - 6.1 ทันทีที่ฉีดพ่นเสร็จในแต่ละครั้งเก็บแผ่นผ้าที่ติดบนร่างกาย น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่นนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกาย
   - 6.2 เก็บตัวอย่างเลือดของผู้ฉีดพ่น หลังการฉีดพ่น (ครั้งสุดท้าย) 24 ชั่วโมง 3, 5 และ 7 วัน มาตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง
   - 6.3 เก็บตัวอย่างพริกเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะเวลาต่างๆ ดังนี้ ภายหลังการฉีดพ่น 0 วัน เมื่อใบแห้ง (หลังการฉีดพ่น ครั้งสุดท้าย) 1 วัน 3 วัน 5 วัน 7 วัน 10 วัน 15 วัน 20 วัน และ 30 วัน
   - 6.4 ทันทีที่เกษตรกรเก็บตัวอย่าง พริกเสร็จในแต่ละวันที่กำหนดข้างต้น ต้องชำระล้างมือแล้วเก็บน้ำล้างมือนั้นของผู้เก็บพริกเพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos เปื้อนบนมือทุกครั้ง

วิธีการเก็บตัวอย่างแต่ละชนิด

1. การเก็บตัวอย่างแผ่นผ้าจากแต่ละส่วนของร่างกายแยกกันใส่ Erlenmeyer flask และปิดฝาขวด

2. การเก็บตัวอย่างน้ำล้างมือ น้ำล้างเท้าของเกษตรกรผู้ฉีดพ่น และน้ำล้างมือของผู้เก็บพริก โดยการล้างมือหรือเท้าด้วยน้ำประปา ครั้งละ 1 ลิตร แล้วแยกบรรจุใส่ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

3. การเก็บตัวอย่างเลือดของเกษตรกรก่อนและหลังการฉีดพ่น โดยพาเกษตรกรไปอนามัยตำบล เพื่อเจาะเลือดที่ท้องแขน จำนวน 2 มิลลิลิตร 2 หลอด และใส่ EDTA เพื่อเป็น anticoagulant ในสัดส่วน 0.5MEDTA 100 ไมโครลิตร ต่อปริมาณเลือด 1 มิลลิลิตร และนำหลอดตัวอย่างเลือดแช่ในถังน้ำแข็งทันที

4. การเก็บตัวอย่างพริก สุ่มเก็บจากทั้งแปลง โดยเก็บจากหลายๆจุดรวมกันเป็น 1 ตัวอย่าง ให้ได้น้ำหนักไม่ต่ำกว่า 1 กิโลกรัม ต่อตัวอย่าง เก็บใส่ถุงพลาสติก จำนวน 10 ตัวอย่างต่อวันที่กำหนด การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อนำส่งห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างทุกชนิดหลังจากเก็บจากแปลงทดลอง จะเก็บในถุงพลาสติกหรือใส่ภาชนะที่เหมาะสม แล้วปิดให้สนิท พร้อมทั้งเขียนรายละเอียดกำกับให้ชัดเจนในแต่ละตัวอย่าง ได้แก่ ชนิดตัวอย่าง วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง แล้วนำใส่ในถังน้ำแข็งโดยวางน้ำแข็งไว้ข้างล่างและข้างบนของตัวอย่างนำกลับมาตรวจวิเคราะห์หาข้อมูลต่างๆในห้องปฏิบัติการ

วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษ chlorpyrifos

1. วิธีการตรวจวิเคราะห์ chlorpyrifos บนแผ่นผ้า

สกัดตัวอย่างแผ่นผ้า โดยใช้ mixer และ shaker ใช้ ethyl acetate เป็นสารสกัด กรองสารละลายผ่าน anh. Na_2SO_4 นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator ปรับปริมาตรให้แน่นอน ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง GLC/FPD

ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Recovery) ที่ความเข้มข้น 0.5, 2 และ 5 นาโนกรัมต่อ ตารางเซนติเมตร ได้ผลระหว่าง 106 - 128 เปอร์เซนต์ มีค่า LOQ 0.5 นาโนกรัมต่อตารางเซนติเมตร

2. วิธีการตรวจวิเคราะห์ chlorpyrifos ในพืช ใช้วิธีการของ Steinwandter,1985 ดังนี้

นำตัวอย่าง พริกที่บดแล้วชั่ง 25 ± 0.1 กรัม เติม acetone 50 มิลลิลิตร 15 กรัม sodium chloride และ 40 มิลลิลิตร dichloromethane โดยใช้ dispenser แล้วปั่นด้วย homogenizer ที่ระดับความเร็วประมาณ 10,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที รินส่วนใสใส่ Erlenmeyer flask ที่เติม sodium sulfate ไว้ประมาณ 1 ช้อนโต๊ะ (~ 30 กรัม) ปิดฝาแล้วทิ้งไว้นานประมาณ 10 นาที กรองผ่าน sodium sulfate ให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใส่ใน cylinder แล้วเทลง flat bottom flask ล้าง cylinder ด้วย ethyl acetate ~ 10 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วย เครื่อง rotary evaporator ให้เหลือ ประมาณ 1 มิลลิลิตรถ่ายสารละลายใส่ใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร โดยใช้ ethyl acetate PR ปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งสารละลายตัวอย่างลงใน autosampler vial สำหรับฉีดเข้าเครื่อง GC

ความถูกต้องและแม่นยำของวิธีตรวจวิเคราะห์ โดยการหาค่าเปอร์เซนต์ recovery ที่ความเข้มข้น 0.0102, 0.1029, 1.0219, 1.05329 และ 2.0438 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ค่าระหว่าง 87 – 115 เปอร์เซนต์ มีค่า LOQ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

3. วิธีการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส

ใช้วิธีการของ Ellman et al.,1961 อาศัยหลักการทำงานของ photometric method โดยเอนไซม์ acetylcholinesterase เป็นตัวการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของสาร acetylthiocholine ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัว substrate แล้วเกิดสาร thiocholine และ acetate เมื่อ thiocholine ทำปฏิกิริยากับ 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoate ion (DTNB) จะเกิดเป็นสารสีเหลืองของ 5-thio-2-nitro-benzoic acid (TNB)

สมการการเกิดสารสีเหลืองมีดังนี้

$$\text{acethylthiocholine} \xrightarrow{\text{acetylcholinesterase}} \text{thiocholine} + \text{acetate}$$

$$\text{thiocholine} + \text{DTNB} \longrightarrow \text{formation of TNB (yellow colour)}$$

(5-thio-2- nitrobenzoic acid)

ในสภาวะที่สารพิษกลุ่ม organophosphorus ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะทำให้เกิดอัตราการเกิดปฏิกิริยาสีเหลืองน้อยลง โดยการวัดความเข้มของสีเหลือง (reaction rate of color) จากค่าดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ของเครื่อง Spectrophotometer วิธีการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง

วิธีการแยกเม็ดเลือดแดง

เติมน้ำเกลือ (physiological saline) 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใน test tube ที่บรรจุเลือด (whole blood) 1 มิลลิลิตรปิดฝา tube แล้วกลับไปมาเพื่อให้ของเหลวผสมกันอย่างเบาๆ แล้วนำไปปั่นแยกของเหลวออกจากเม็ดเลือดโดยเครื่อง ปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 1,200 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ของเหลวส่วนบนดูดทิ้งไป แล้วล้างเม็ดเลือดอีก 2 ครั้ง ด้วยน้ำเกลือ 2 มิลลิลิตร ดำเนินการเหมือนเดิม เมื่อล้างเม็ดเลือดแดงแล้วเติมน้ำเกลือปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร เท่าเดิม

วิธีการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง (Angerer, et.al, 1990)

นำเม็ดเลือดแดงที่ผ่านการล้างแล้วมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตร เป็น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันดีแล้วดูดมา 20 ไมโครลิตร ใส่ลงใน test tube อีกหลอดที่มี DTNB จำนวน 3,000 มิลลิลิตร เติมสาร Acetylthiocholine iodide 100 ไมโครลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex แล้วเทใส่ cuvette ต่อจากนั้นนำไปวัดด้วย Spectrophotometer แบบ visible ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร วัดทุก 1/2 นาที นาน 2 นาที

การคำนวณอัตราการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส ดังสมการต่อไปนี้

$$R = \frac{A}{0.05 \text{ min} \cdot 1.33 \text{ L} \cdot \text{m mol}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot 10 \text{ mm}} \cdot \frac{3.12 \text{ ml}}{0.02 \text{ ml}}$$

$$= A \cdot \cdot 23460 \ \frac{\mu \text{ mol}}{\text{min} \cdot \text{L}}$$

R = rate in moles substrate hydrolyzed per min per litre of red blood cell or plasma

A = absorbance per 1/2 min

$1.33 \text{ L} \cdot \text{m mol}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$ = the extinction coefficient

การวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลอง

นำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์สารพิษปนเปื้อนบนส่วนต่างๆของร่างกายผู้ฉีดพ่นและผู้เก็บพริก ระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเลือดเกษตรกร และปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพริก ไปวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Regression เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ความแปรปรวน รวมถึงวิเคราะห์เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส และปริมาณสารพิษตกค้างในพริกที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการฉีดพ่น และค่า half life

ประมวลข้อมูลการปนเปื้อนสารพิษบนร่างกายและการสะสมสารพิษในพริกกับข้อมูลทางพิษวิทยาของ chlorpyrifos เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพอนามัยจากการฉีดพ่นและจากการบริโภคโดยใช้หลักเกณฑ์การประเมิน Pesticide Risk Assessment ของ US.EPA (US.EPA,1999)

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2552 ถึงเดือน กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ แปลงทดลองเกษตรกร นายเม้ง แก้วสวัสดิ์ ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกายผู้ฉีดพ่น chlorpyrifos ในแปลงปลูกพริก

ทำการฉีดพ่น chlorpyrifos จำนวน 3 ครั้ง ครั้งแรก เมื่อพริก อายุ 99 วัน ครั้งที่ 2 พริกอายุ 106 วัน และ ครั้งที่ 3 พริกอายุ 113 วัน อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นด้วยเครื่องยนต์สะพายหลังและบันทึกเวลาการฉีดพ่น เพื่อนำไปประเมินความเสี่ยงจากการปนเปื้อนบนตัวเกษตรกรผู้ฉีดพ่น เมื่อเสร็จสิ้นการฉีดพ่นนำแผ่นผ้าฝ้ายที่ติดบนตำแหน่งต่าง ๆ ของร่างกายคือ ที่หัว จมูก ไหล่ ศอก หน้าอก หลัง ต้นขา หน้าแข้ง น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่นไปสกัดหาสารพิษ chlorpyrifos ที่ปนเปื้อน ผลการวิเคราะห์ตรวจพบสารพิษบนแผ่นผ้าบริเวณช่วงล่างของร่างกายที่ ต้นขา แข้งนอก และแข้ง มีสารพิษปนเปื้อนเฉลี่ยมากที่สุด 2,449.67 1,649.05 และ 615.82 ไมโครกรัมต่อ100 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แผ่นผ้าที่ปนเปื้อนน้อยที่สุดริเวณ อกใน และหลังใน ปริมาณเฉลี่ย 10.86 และ 6.11 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ

ส่วนน้ำล้างมือปนเปื้อนสารพิษเฉลี่ย 473.57 ไมโครกรัมต่อลิตร สำหรับน้ำล้างเท้ามีการปนเปื้อนเมื่อฉีดพ่นแล้วเฉลี่ย 9.23 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย เมื่อนำมาคำนวณเป็นปริมาณสารพิษต่อพื้นที่ทั้งหมดของร่างกาย (U.S.EPA. 1987, ตารางที่ 2,3 และ 4) ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ เพื่อประเมินเป็นปริมาณสาร chlorpyrifos สัมผัสบนร่างกาย (Potential Exposure) ของแต่ละครั้งภายหลังการฉีดพ่น คิดเป็นการปฏิบัติงานตามปกติในแต่ละครั้งที่มีการฉีดพ่น พบว่ามีปริมาณ chlorpyrifos ปนเปื้อนระหว่าง 0.4197-0.8215 mg/kg Bw/day ของน้ำหนัก

ร่างกาย 59 กิโลกรัม แล้วนำไปประเมินหาปริมาณสารพิษที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Absorption Dose) จากนั้นเปรียบเทียบกับค่า NOAEL ซึ่งเป็นค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยา แล้วคำนวณหาค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE: Margin of Exposure)

ค่า MOE = NOAEL ÷ Exposure

โดยทั่วไป U.S. EPA กำหนดค่า MOE = 100 หรือมากกว่าเป็นขอบเกณฑ์ความปลอดภัยที่ยอมรับได้จากการคำนวณพบว่า ค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) ของผู้ฉีดพ่นมีเท่ากับ 6.09 - 11.91 ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำมาก หรือกล่าวได้ผู้ฉีดพ่น chlorpyrifos มีความเสี่ยงสูง ตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 1. ปริมาณ chlorpyrifos บนแผ่นผ้าที่ปนเปื้อนบนร่างกาย น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่น

บริเวณปนเปื้อน	ปริมาณปนเปื้อน ครั้งที่ 1 เวลา 32 นาที	ปริมาณปนเปื้อน ครั้งที่ 2 เวลา 31.46 นาที	ปริมาณปนเปื้อน ครั้งที่ 3 เวลา 30.52 นาที	เฉลี่ย	หน่วย
หมวก	29.1606	64.5577	37.6994	43.81 ± 18.47	µg/100cm^2
จมูก	26.2104	93.4030	29.1550	49.59 ± 37.97	µg/100cm^2
บ่า	16.0081	29.7438	29.3715	25.04 ± 7.82	µg/100cm^2
อก-ใน	11.7054	8.5227	12.3517	10.86 ± 2.05	µg/100cm^2
อก-นอก	68.5993	143.0840	15.6596	75.78 ± 64.02	µg/100cm^2
ศอก	123.9403	370.9895	184.0844	226.34 ± 128.83	µg/100cm^2
หลัง-ใน	2.3704	3.1705	12.7839	6.11 ± 5.79	µg/100cm^2
หลัง-นอก	11.9878	24.3612	18.0793	18.14 ± 6.19	µg/100cm^2
ต้นขา	1,840.7500	3,657.4600	1,850.7875	2,449.67 ± 1,045.99	µg/100cm^2
แข้งใน	431.2950	405.3200	1,010.8400	615.82 ± 342.35	µg/100cm^2
แข้งนอก	1,609.8500	2,155.8875	1,181.4100	1,649.05 ± 488.42	µg/100cm^2
น้ำล้างมือ	706.8796	93.7178	620.1250	473.57 ± 331.81	µg/L
น้ำล้างเท้า	9.6994	0.1496	17.8321	9.23 ± 8.85	µg/L

ตารางที่ 2. ปริมาณการได้รับ chlorpyrifos เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่นแปลงพริกจากข้อมูลปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนแผ่นผ้า น้ำล้างมือและล้างเท้า ปี 2553 ครั้งที่ 1 เวลา 32.06 นาที

ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body)	พื้นที่ผิว (Surface area) cm^2	ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า $\mu g/100cm^2$	Penetration factor*	ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย* µg/region
Head and Face	1,300	29.1606 26.2104	-	359.91
Back inside outside	3,550	2.3704 11.9878	0.165090	70.26
Chest inside outside	3,550	11.7054 68.5993	0.145762	354.97
Upper arms (elbow to shoulder)	2,910	16.0081	0.155426	72.40
Fore arms (elbow to wrist)	1,210	123.9403	.155426	233.09
Upper legs (knee to groin)	3,820	1,840.7500	0.211301	14,857.94
Lower legs inside (knee to ankle) outside	2,380	431.2950 1,609.8500	0.211301	8,095.86
Hands				706.88 µg/ l
Feet				9.70 µg/ l
รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการฉีดพ่นต่อวัน				24,761.01µg = 24.76 mg
เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 59 kg จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย ต่อน้ำหนักตัว ต่อวัน				0.4197 mg/kg BW/day

*Penetration factor การคำนวณหาปริมาณสารพิษตกค้างบนเสื้อผ้าที่สวมแล้วมาสัมผัสร่างกาย

= residue on inner dosimeter ÷ (residue on outer + inner dosimeter)

*ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย= พื้นที่ผิว ×ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า (outside) ×Penetration factor

ตารางที่ 3. ปริมาณการได้รับ chlorpyrifos เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่นแปลงพริกจากข้อมูล
ปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนแผ่นผ้า น้ำล้างมือและล้างเท้า ปี 2553 ครั้งที่ 2 เวลา 31.46 นาที

ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body)	พื้นที่ผิว (Surface area) cm^2	ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า $\mu g/100cm^2$	Penetration factor*	ปริมาณปนเปื้อน* ที่สัมผัสร่างกาย µg/region
Head and Face	1,300	64.5577 93.4030	-	1,026.74
Back inside outside	3,550	3.1706 24.3612	0.115160	99.59
Chest inside outside	3,550	8.5227 143.0840	0.056216	285.55
Upper arms (elbow to shoulder)	2,910	29.7438	0.085688	74.17
Fore arms (elbow to wrist)	1,210	370.9895	0.085688	384.65
Upper legs (knee to groin)	3,820	3,657.4600	0.158253	22,110.38
Lower legs inside (knee to ankle) outside	2,380	405.3200 2,155.8875	0.158253	8,120.01
Hands				93.72 µg/ l
Feet				0.15 µg/ l
รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการฉีดพ่นต่อวัน				32,194.96 µg = 32.19 mg
เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 59 kg จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย ต่อน้ำหนักตัว ต่อวัน				0.5457 mg/kg BW/day

*Penetration factor การคำนวณหาปริมาณสารพิษตกค้างบนเสื้อผ้าที่สวมแล้วมาสัมผัสร่างกาย

= residue on inner dosimeter ÷ (residue on outer + inner dosimeter)

*ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย= พื้นที่ผิว ×ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า (outside) ×Penetration factor

ตารางที่ 4. ปริมาณการได้รับ chlorpyrifos เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่นแปลงพริกจากข้อมูลปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนแผ่นผ้า น้ำล้างมือและล้างเท้า ปี 2553 ครั้งที่ 3 เวลา 32.30 นาที

ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body)	พื้นที่ผิว (Surface area) cm^2	ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า $\mu g/100cm^2$	Penetration factor*	ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย* µg/region
Head and Face	1,300	37.6994 29.1550	-	434.55
Back inside outside	3,550	12.7839 18.0793	0.414211	265.85
Chest inside outside	3,550	12.3517 15.6596	0.440954	245.13
Upper arms (elbow to shoulder)	2,910	29.3715	0.427583	365.46
Fore arms (elbow to wrist)	1,210	184.0844	0.427583	952.41
Upper legs (knee to groin)	3,820	1,850.7875	0.461097	32,599.60
Lower legs inside (knee to ankle) outside	2,380	1,010.8400 1,181.4100	0.461097	12,964.92
Hands				620.13 µg/ l
Feet				17.83 µg/ l
รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการฉีดพ่นต่อวัน				48,465.88 µg = 48.47 mg
เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 59 kg จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย ต่อน้ำหนักตัว ต่อวัน				0.8215 mg/kg BW/day

*Penetration factor การคำนวณหาปริมาณสารพิษตกค้างบนเสื้อผ้าที่สวมแล้วมาสัมผัสร่างกาย

= residue on inner dosimeter ÷ (residue on outer + inner dosimeter)

*ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย= พื้นที่ผิว ×ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า (outside) ×Penetration factor

ตารางที่ 5. ระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับ chlorpyrifos เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่นแปลงปลูกพริก

ฉีดพ่น	chlorpyrifos mg/kg BW/day	%Absorption	Absorbed Dose mg/kg BW/day (exposure)	NOAEL mg/kg/day	MOE	ระดับความเสี่ยง
ครั้งที่ 1	0.4197	100	0.4197	5	11.91	Risk
ครั้งที่ 2	0.5457	100	0.5457	5	9.16	Risk
ครั้งที่ 3	0.8215	100	0.8215	5	6.09	Risk

NOAEL = No Observed Adverse Effect Level คือค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ได้ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยา chlorpyrifos = 5 mg/kg BW/day Acute dermal Human (FAO,2006)

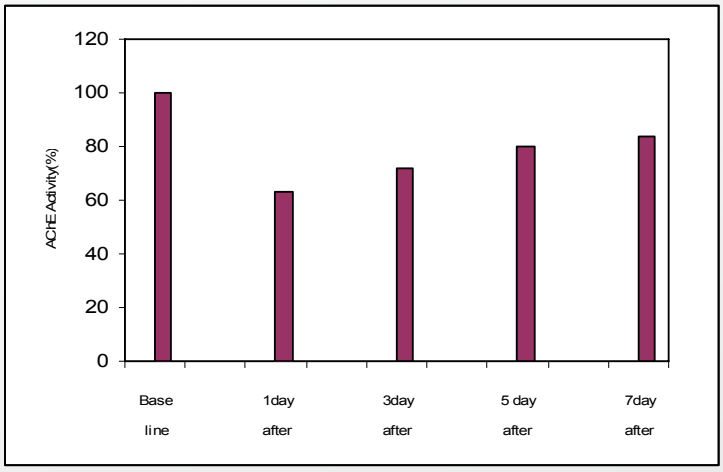
MOE = NOAEL÷ exposure

MOE = Margin of Exposure คือค่าของเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ ค่ายิ่งต่ำยิ่งมีความเสี่ยงสูง

ภายหลังการฉีดพ่น 1,3,5 และ 7 วัน เจาะเลือดเกษตรกรผู้ฉีดพ่นตามวันที่กำหนดไปวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (AChE Activity) เพื่อเปรียบเทียบระดับการทำงาน AChE Activity กับ Base- line Level พบว่าภายหลังการฉีดพ่น 1 วัน และ 3 วัน ระดับการทำงานเอนไซม์ AChE Activity ลดลงจากสภาวะปกติ เหลือ 63-72 % (ตารางที่ 6 และภาพที่ 1) และพบว่าภายหลังการฉีดพ่น 5-7 วัน ระดับการทำงานของเอนไซม์ AChE Activity ฟื้นฟูสูงขึ้นเป็น 80-84 % ของสภาวะปกติ เพราะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสามารถขับสารพิษ chlorpyrifos ออกจากร่างกายได้โดยการทดลองในหนูขาวใหญ่ให้กินทางปาก สามารถขับออกทางปัสสาวะได้ 90 % ภายในเวลา 26 ชั่วโมง และออกทางอุจจาระ 10% ของปริมาณทั้งหมด และมนุษย์มี half life ในการกำจัด chlorpyrifos ใช้เวลา 27 ชั่วโมง (Toxicological Profile, 1997)

ตารางที่ 6. ระดับการทำงานของ AChE Activity ในเม็ดเลือดแดงของผู้ฉีดพ่น chlorpyrifosในแปลงปลูกพริก

ระยะเวลา	Red blood cell AChE Activity(U/L)	Red blood cell AChE Activity (%)
ก่อนการฉีดพ่น (Base line Level)	2,683.49	100.00
หลังการฉีดพ่น 1 วัน	1,683.98	63
หลังการฉีดพ่น 3 วัน	1,942.54	72
หลังการฉีดพ่น 5 วัน	2,140.42	80
หลังการฉีดพ่น 7 วัน	2,251.99	84



ภาพที่ 1. ระดับ AChE Activity ในเม็ดเลือดแดง ก่อนและหลังฉีดพ่นการฉีดพ่น chlorpyrifos

ผลการศึกษาปริมาณสารพิษปนเปื้อนมือของผู้เก็บเกี่ยวพริกภายหลังฉีดพ่น chlorpyrifos

การตรวจสารพิษในน้ำล้างมือของผู้เก็บเกี่ยวพริกหลังการฉีดพ่นที่ระยะวลาต่างๆ กัน พบว่า น้ำล้างมือที่ 0 วัน (1ชั่วโมงหลังการฉีดพ่น) มีการปนเปื้อนสารพิษ 7.3299 ไมโครกรัม (ตารางที่ 7) แล้วปริมาณสารพิษ ค่อย ๆ ลดลง หลังการฉีดพ่น 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 และ 30 วัน ตามลำดับ โดยพบปริมาณต่ำสุด 0.0202 ไมโครกรัม ที่ 30 วัน

ตารางที่ 7. ปริมาณ chlorpyrifos ปนเปื้อนมือผู้เก็บเกี่ยวพริกภายหลังการฉีดพ่นที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

วันที่เก็บตัวอย่าง	ระยะเวลาหลังการฉีดพ่น (วัน)	ช่วงเวลาการเก็บเกี่ยว (ชั่วโมง)	µg
ก่อนฉีดพ่น	control	1.29	0.0503
16 เม.ย.53	0	1.12	7.3299
17 เม.ย.53	1	1.10	0.2016
19 เม.ย.53	3	1.06	0.1487
21 เม.ย.53	5	1.10	0.1720
23 เม.ย.53	7	1.20	0.0889
26 เม.ย.53	10	1.14	0.2707
1 พ.ค. 53	15	1.33	0.0266
7 พ.ค. 53	20	1.15	0.0352
16 พ.ค. 53	30	1.21	0.0202

ข้อมูลปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ที่ปนเปื้อนบนมือของผู้เก็บพริกในแต่ละวันหลังการฉีดพ่นมาประเมินเป็นค่าปริมาณสารพิษที่สัมผัสทั้งวัน เมื่อเข้าไปทำงานเก็บพริก คิดจากจำนวนเวลาที่มีการปฏิบัติงานตามปกติในแต่ละวันนาน 6 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักตัวผู้เก็บเกี่ยว 53.5 กิโลกรัม แล้วคำนวณหา

ค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) พบว่า การเก็บพริกภายหลังการฉีดพ่น 0 วัน ผู้เก็บพริกได้สัมผัส chlorpyrifos ปริมาณ 36.6495 µg เมื่อคำนวณปริมาณ chlorpyrifos ที่ได้รับต่อวันมีค่า 0.0006 mg/kg BW/day (6.8503E-4) (ตารางที่ 8) และได้ค่า MOE สูงถึง 7,298 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ แสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8. การประเมินความเสี่ยงจากปริมาณ chlorpyrifos ปนเปื้อนมือผู้เก็บเกี่ยวพริกภายหลังการฉีดพ่นที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันต่อวัน

ระยะเวลาหลังฉีดพ่น (วัน)	ช่วงเวลาเก็บเกี่ยวจากการทดลอง (ชั่วโมง)	ปริมาณสารพิษบนมือ (µg)	ประมาณการปนเปื้อนใน 6 ชั่วโมงต่อวัน (µg)	mg /kgBW (53.5 kg)/day	NOAEL mg/kg/day	MOE	ระดับความเสี่ยง
control	1.29	0.0503	0.2035	3.8030E-6	5	1,314,751	Accept
0	1.12	7.3299	36.6495	6.8503E-4	5	7,298	Accept
1	1.10	0.2016	1.0368	1.9379E-5	5	258,011	Accept
3	1.06	0.1487	0.8111	1.5160E-5	5	329,815	Accept
5	1.10	0.1720	0.8846	1.6534E-5	5	302,407	Accept
7	1.20	0.0889	0.4001	7.4780E-6	5	668,627	Accept
10	1.14	0.2707	1.3169	2.4614E-5	5	203,136	Accept
15	1.33	0.0266	0.1030	1.9250E-6	5	2,597,402	Accept
20	1.15	0.0352	0.1690	3.1580E-6	5	1,583,280	Accept
30	1.21	0.0202	0.0898	1.6780E-6	5	2,979,737	Accept

ผลการศึกษาการสลายตัวและพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพริก

ภายหลังการฉีดพ่น chlorpyrifos ครั้งที่ 3 นาน 0 วัน (1 ชั่วโมง), 1 , 3 , 5 , 7 , 10, 15, 20 และ 30 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างพริก 10 ตัวอย่าง ตลอดทั้งแปลงทดลอง ในแต่ละวันที่กำหนด เพื่อนำไปสกัดหาสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ GC ชนิด FPD รวม ทั้งหมด 90 ตัวอย่าง รวบรวมข้อมูลผล การวิเคราะห์ ดังตารางที่ 9 พบว่าภายหลังการฉีดพ่น 0 วันและ 1 วัน ตรวจพบสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ปริมาณสูง 0.7691 และ 0.6539 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างทางสถิติ แล้วปริมาณสารพิษจะค่อยๆ ลดลงไป แปรผันตามระยะเวลา จนถึงช่วงของการเก็บเกี่ยวที่ 15 20 และ 30 วัน ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos เหลือ 0.2009 - 0.02784 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยไม่แตกต่างทางสถิติ แสดงว่าสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ที่มีปริมาณต่ำจะสลายตัวได้ช้า มีผลการทดลองฉีดพ่น chlorpyrifos

ลงบนต้น apple และ pear ในอัตรา 1,224 gm a.i. /ha (Dursban E.C 40.8% a.i.) เพียง 1 ครั้ง ตรวจพบสารพิษตกค้างภายหลังการฉีดพ่นนาน 15 - 29 วันในผล apple ปริมาณ 0.16 - 0.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในผล pear ตรวจพบปริมาณ 0.22 - 0.27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ภายหลังการฉีดพ่นนาน 15-29 วัน เช่นกัน(WHO,1972)

ตารางที่ 9. ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ตกค้างในพริก ภายหลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 ในแปลงทดลองที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ กัน

เวลาหลังการฉีดพ่น (วัน)	chlorpyrifos (mg/kg)
0	0.7691 ± 0.2961 d*
1	0.6539 ± 0.2617 d
3	0.4056 ± 0.1589 c
5	0.4887 ± 0.2173 c
7	0.3755 ± 0.1079 bc
10	0.3802 ± 0.1185 bc
15	0.2784 ± 0.0849 ab
20	0.2736 ± 0.1292 ab
30	0.2009 ±0.1059 a

CV = 30.3 %

* ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 5 % โดย DMRT

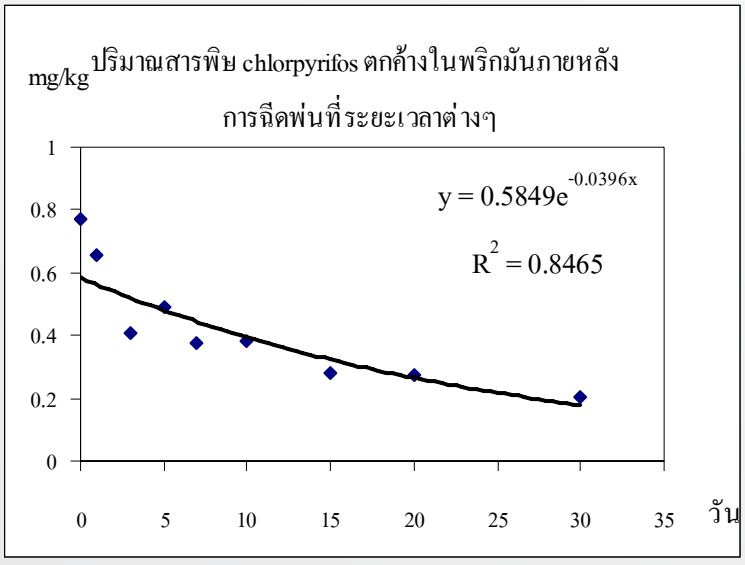
การวัดความสัมพันธ์ระหว่างการสลายตัวของสารพิษตกค้างกับระยะเวลาภายหลังการฉีดพ่น (ภาพที่ 2.) พบว่า ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของสารพิษ chlorpyrifos สลายในพริก = 0.8465 เมื่อคำนวณค่า half life จากสมการ Regression ได้ค่า half life ดังนี้

half life ($T_{½}$) = - 0.693/ b

b = -0.0396 (slope)

ค่า half life ($t_{½}$) = -0.693/ -0.0396

= 17.5 วัน



ภาพที่ 2. การสลายตัวของ chlorpyrifos ในพริก ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ภายหลังการฉีดพ่นในแปลง

เมื่อนำผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพริก ภายหลังการฉีดพ่นมาคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริกของแต่ละวัน ที่เกิดการสลายตัว (ตารางที่ 10) แบบ Exponential ได้ function เป็น รูปสมการ

$$Y = ae^{bx}$$

หรือ $Y = \ln a + bx$

$$Y = 0.5849e^{-0.0396x}$$

$$Y = \ln 0.5849 + (-0.0396X)$$

$$Y = -0.536314 + (-0.0396X)$$

Y = ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริก หน่วย mg/kg

a = ค่า intercept = 0.5849 (ภาพที่ 2)

b = ค่า slope = -0.0396 (ภาพที่ 2)

X = ระยะเวลาการสลายตัวของ chlorpyrifos หน่วย/วัน

ตารางที่ 10. แสดงการคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริกแต่ละวัน ภายหลังการฉีดพ่น

Day	a- intercept	Lna	b-slope	b*x	Lna+bx	Y(EXP)
0	0.5849	-0.53631	-0.0396	0	-0.53631	0.5849
1	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.0396	-0.57591	0.562191
2	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.0792	-0.61551	0.540363
3	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.1188	-0.65511	0.519383
4	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.1584	-0.69471	0.499217

ตารางที่ 10. (ต่อ) แสดงการคำนวณ ปริมาณสารพิษตกค้างchlorpyrifos ในพริกแต่ละวันภายหลังการฉีดพ่น

5	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.198	-0.73431	0.479834
6	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.2376	-0.77391	0.461204
7	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.2772	-0.81351	0.443297
8	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.3168	-0.85311	0.426086
9	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.3564	-0.89271	0.409543
10	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.396	-0.93231	0.393642
11	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.4356	-0.97191	0.378358
12	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.4752	-1.01151	0.363668
13	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.5148	-1.05111	0.349548
14	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.5544	-1.09071	0.335976
15	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.594	-1.13031	0.322932
16	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.6336	-1.16991	0.310394
17	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.6732	-1.20951	0.298342
18	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.7128	-1.24911	0.286759
19	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.7524	-1.28871	0.275625
20	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.792	-1.32831	0.264923
21	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.8316	-1.36791	0.254637
22	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.8712	-1.40751	0.244751
23	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.9108	-1.44711	0.235248
24	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.9504	-1.48671	0.226114
25	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.99	-1.52631	0.217335
26	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.0296	-1.56591	0.208897
27	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.0692	-1.60551	0.200786
28	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.1088	-1.64511	0.19299
29	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.1484	-1.68471	0.185497
30	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.188	-1.72431	0.178295

เมื่อคำนวณได้ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริกของแต่ละวันแล้ว นำไปประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคพริกในแต่ละวันดังนี้ ข้อมูลปริมาณของสารพิษที่ได้รับในแต่ละวันของกลุ่มบุคคลทั่วไปที่ทำการประเมินความเสี่ยงโดยการเปรียบเทียบกับค่า RfD (Referenc dose) หรือ ADI (Acceptable Daily Intake) ที่ได้จากการศึกษาในสัตว์ทดลองถ้าปริมาณสารพิษที่บริโภคน้อยกว่าค่า RfD ประเมินได้ว่ามีความปลอดภัย แต่ในทางตรงข้าม ถ้าปริมาณสารพิษที่บริโภคมากกว่าค่า RfD ก็ประเมินได้ว่ามีความเสี่ยงต่อการได้รับอันตรายจากการบริโภค (ธวัชชัย หงษ์ตระกูล 2550)

โดยตั้งค่ามาตรฐานสำหรับการคำนวณดังนี้ (ตารางที่ 11) คือคนไทยหรือผู้บริโภคน้ำหนักตัวเฉลี่ย 53.5 กิโลกรัม เมื่อกินพริกมากที่สุดหนัก 60 กรัมต่อวัน หรือประมาณ 7.6 ผล (น้ำหนักเฉลี่ย 7.86 กรัม/ผล)(ข้อมูลการบริโภคฯ 2549) พบว่า การกินพริกภายหลังการฉีดพ่นนาน 0-19 วัน จะมีปริมาณสารพิษตกค้าง ตั้งแต่ 0.5849 ถึง 0.2867 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีผลให้สารพิษเข้าสู่ร่างกายในปริมาณ (Dose) ตั้งแต่ 0.000656 ถึง 0.000309 mg/kg BW/day ซึ่งสูงกว่าค่า RfD เป็นค่าทางพิษวิทยาของปริมาณสารพิษชนิด chlorpyrifos โดยกำหนดให้ 0.0003 mg/kg BW/day (U.S. EPA, 2002) ที่ยอมให้เข้าสู่ร่างกายได้ในแต่ละวันโดยไม่ทำให้เกิดพิษต่อร่างกาย ดังนั้นผู้บริโภคพริกจะได้รับสารพิษสูงกว่าค่า RfD ถึง 218.65 - 103.04 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับความเสี่ยงสูงมาก ภายหลังการฉีดพ่นนาน 20 - 30 วัน ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ตกค้างบนพริกลดต่ำลงเหลือ 0.2649-0.1783 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำมาบริโภคและคำนวณปริมาณสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายแล้ว จะมีค่าต่ำกว่า RfD เป็นระดับที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้

ตารางที่ 11. ความเสี่ยงของการบริโภคพริกที่ปนเปื้อน chlorpyrifos ภายหลังการฉีดพ่นในระยะเวลาต่างๆ

day	Residue mg/kg	Consumption kg (60 g)	Potential Exposure mg	Body weight kg	Dose mg/kg	ADI (RfD) mg/kg/day	% Consump /ADI	Risk
0	0.5849	0.06	0.035094	53.5	0.000656	0.0003	218.6542	high
1	0.562191	0.06	0.033731	53.5	0.00063	0.0003	210.1649	high
2	0.540363	0.06	0.032422	53.5	0.000606	0.0003	202.0049	high
3	0.519383	0.06	0.031163	53.5	0.000582	0.0003	194.1619	high
4	0.499217	0.06	0.029953	53.5	0.00056	0.0003	186.6232	high
5	0.479835	0.06	0.02879	53.5	0.000538	0.0003	179.3776	high
6	0.461204	0.06	0.027672	53.5	0.000517	0.0003	172.4127	high
7	0.443298	0.06	0.026598	53.5	0.000497	0.0003	165.7189	high
8	0.426086	0.06	0.025565	53.5	0.000478	0.0003	159.2845	high
9	0.409543	0.06	0.024573	53.5	0.000459	0.0003	153.1002	high
10	0.393642	0.06	0.023619	53.5	0.000441	0.0003	147.1559	high
11	0.378358	0.06	0.022701	53.5	0.000424	0.0003	141.4422	high
12	0.363668	0.06	0.02182	53.5	0.000408	0.0003	135.9507	high
13	0.349548	0.06	0.020973	53.5	0.000392	0.0003	130.6721	high
14	0.335977	0.06	0.020159	53.5	0.000377	0.0003	125.5989	high
15	0.322932	0.06	0.019376	53.5	0.000362	0.0003	120.7222	high
16	0.310394	0.06	0.018624	53.5	0.000348	0.0003	116.0351	high

ตารางที่ 11. (ต่อ) ความเสี่ยงของการบริโภคพริกที่ปนเปื้อน chlorpyrifos ภายหลังการฉีดพ่นในระยะเวลาต่างๆ

17	0.298342	0.06	0.017901	53.5	0.000335	0.0003	111.5297	high
18	0.286759	0.06	0.017206	53.5	0.000322	0.0003	107.1996	high
19	0.275625	0.06	0.016538	53.5	0.000309	0.0003	103.0374	high
20	0.264924	0.06	0.015895	53.5	0.000297	0.0003	99.03701	Accept
21	0.254638	0.06	0.015278	53.5	0.000286	0.0003	95.19178	Accept
22	0.244751	0.06	0.014685	53.5	0.000274	0.0003	91.4957	Accept
23	0.235248	0.06	0.014115	53.5	0.000264	0.0003	87.94318	Accept
24	0.226114	0.06	0.013567	53.5	0.000254	0.0003	84.5286	Accept
25	0.217335	0.06	0.01304	53.5	0.000244	0.0003	81.24673	Accept
26	0.208897	0.06	0.012534	53.5	0.000234	0.0003	78.09234	Accept
27	0.200786	0.06	0.012047	53.5	0.000225	0.0003	75.06019	Accept
28	0.192991	0.06	0.011579	53.5	0.000216	0.0003	72.14617	Accept
29	0.185497	0.06	0.01113	53.5	0.000208	0.0003	69.34467	Accept
30	0.178295	0.06	0.010698	53.5	0.0002	0.0003	66.65234	Accept

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การประเมินความเสี่ยงจากการใช้ chlorpyrifos ในแปลงพริกด้วยอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ตลอดฤดูปลูก ภายหลังการฉีดพ่น พบการปนเปื้อนบนร่างกายเกษตรกรปริมาณสูงสุด0.8215 mg/kg BW/day ได้ค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) ต่ำสุด เท่ากับ 6.09แสดงถึงความเสี่ยงสูงของเกษตรกรที่ผิวหนังมีโอกาสจะได้สัมผัสสารพิษในขณะฉีดพ่น ถ้าไม่สวมใส่เสื้อผ้าเครื่องป้องกันร่างกายที่ถูกต้องตั้งแต่ศีรษะถึงเท้า ระดับการทำงานของเอนไซม์ AChE Activity ของผู้ฉีดพ่น chlorpyrifos ลดลงเหลือ 63 - 72 เปอร์เซนต์ ของระดับปกติ ภายหลังการฉีดพ่น 1 วัน และ 3 วัน ซึ่งแสดงว่าได้รับผลกระทบจาก chlorpyrifos ปนเปื้อนบนร่างกาย ส่วนความเสี่ยงผู้เข้าไปเก็บพริกภายหลังการฉีดพ่น 0 วัน พบการสัมผัสสารพิษที่ติดอยู่บนผิวพริก ทำให้มือปนเปื้อนสารพิษปริมาณสูงถึง 36.6495 ไมโครกรัมต่อวันเมื่อคำนวณค่า MOE แล้วสูงกว่า 100 ดังนั้น ผู้เก็บเกี่ยวพริกมีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอบรับได้ แต่ U.S.EPA ให้คำแนะนำว่าภายหลังการฉีดพ่น chlorpyrifos นาน 24 ชั่วโมงแล้วจึงกลับเข้าทำงานในแปลงได้ต่อไป (Toxicological Profile, 1997)

สำหรับผู้บริโภคพริกมีความเสี่ยงสูงจากสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ภายหลังการฉีดพ่นในระยะ 0 – 19 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างระหว่าง 0.2756-0.5849 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การบริโภคพริกในระยะนี้ไม่มีความปลอดภัย โดยการเปรียบเทียบกับค่า RfD ส่วนค่า half life ของสารพิษ chlorpyrifos ในพริกนานถึง 17.5 วัน การบริโภคพริกให้ปลอดภัยต้องภายหลังการฉีดพ่นนาน 20 วันไปแล้ว การศึกษาครั้งนี้แสดงให้ทราบว่าการใช้ chlorpyrifos ในแปลงพริกมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของเกษตรกร

ผู้ฉีดพ่น เกษตรกรสมควรระมัดระวัง สวมชุดป้องกันการปนเปื้อนร่างกายในระหว่างการฉีดพ่น จึงขอเสนอให้มีการเข้มงวดการใช้ (Restricted) ผู้ที่จะนำไปใช้ฉีดพ่นควรผ่านการฝึกอบรมการใช้อย่างถูกต้อง ส่วนการเก็บเกี่ยวผลิตผลตกค้างสลายตัวช้ามากทำให้การบริโภคมีความเสี่ยง ถ้าค้นพบวัตถุมีพิษชนิดอื่นที่มีพิษต่ำกว่า และมีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชใกล้เคียงกันมาทดแทน chlorpyrifos ได้จะเป็นการดีต่อสภาพแวดล้อมเกษตรกรรม เพราะช่วยลดอันตรายต่อสัตว์น้ำ และลดการสะสมสารพิษในนิเวศเกษตร ซึ่งเป็นโอกาสในการบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษการเกษตรที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงภัยสูงตามภารกิจและจุดประสงค์ของกรมวิชาการเกษตร

การนำไปใช้ประโยชน์

1. เป็นข้อมูลหลักในการประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
2. เป็นข้อมูลในการให้ความรู้แก่เกษตรกรผู้ฉีดพ่นวัตถุมีพิษการเกษตร
3. เป็นข้อมูลในการหาชุดป้องกันการสัมผัสรับสารพิษจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
4. เป็นข้อมูลในการบริหารความเสี่ยงจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
5. เป็นรูปแบบ หลักเกณฑ์ในการศึกษา การคำนวณ และการประมวลข้อมูล สำหรับนำไปใช้ในการประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตรในพืชชนิดนั้นๆ
6. ถ่ายทอดความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำแต่ละปี และรายงานประชุมวิชาการกรมวิชาการเกษตร
7. ผลิตเป็นสื่อการสอนการเรียนแก่นิสิตนักศึกษาสถาบันวิชาการที่เกี่ยวข้อง

เอกสารอ้างอิง

ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย Food Consumption Data for Thailand ปี 2549 สำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (ISBN 974-403-42308)

ธวัชชัย หงษ์ตระกูล (2550) การประเมินความเสี่ยงภัย จากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร (Pesticide Risk Assessment) กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร P.55

รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี 2552 สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ลาภิสรา วงศ์แก้ว สมศักดิ์ ศรีสมบุญ สิรี สุวรรณเขตนิคม ภิญญา จุลินทร และ มัณฑนา มิลน์ 2553 ผลงานวิจัยดีเด่นและผลงานวิจัยที่เสนอเพื่อเข้าร่วมพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2552 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ น.159-174

Angerer,J.and Schaller,K.H.1990 Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials. DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft Volume 3 p 45-60

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V.Jr. and Featherstone, R.M. 1961. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. Biochemical Pharmacology Vol. 7, pp. 88-95.

FAO/WHO. 2000. Codex Alimentarius Commission. Status of Codex Maximum Residue Limits for Residues of Pesticides in Food and Animal Feeds. pp. part 1-72.

FAO. 2006 FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides : Chlorpyrifos http://www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/

Hartly, D.and Kidd, H.1991 The Agrochemicals Handbook. Second Edition - Unwin Brothers Limited, Nottingham, England.

Steinwandter, H. 1985 Universal 5 – min online Method for Extracting and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. Fresenius Z Anal. Chem. 322:752-754

Toxicological Profile for Chlorpyrifos (1997) U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry

US. EPA. 1987.Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision K. Exposure: Re-entry Protection, US. EPA. Washington D.C

US. EPA. 1992.Dermal exposure assessment : principles and application, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C

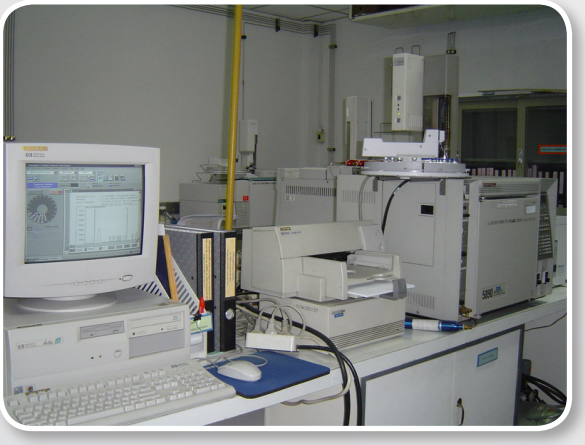
US. EPA. 1999. The Role of Use - Related Information in Pesticide Risk Assessment And Risk Management. Office of Pesticide Program, Item:6039 (June 29, 1999)

US. EPA.2002 Interim Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos p.11

WHO.1972 232 Chlorpyrifos (WHO Pesticide Residue Series 2) p.

http://www.inchem.org(documents/jmpr/jmpmono/v07pr10.htm (22พ.ย. 53)

MARA



ศึกษาผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร cypermethrin ในแปลงปลูกคะน้าต่อสัตว์น้ำ พืชน้ำ ดิน น้ำและตะกอน

Risk Assessment of Cypermethrin Used in Chinese Kale Plantation

ภิญญา จุลินทร วรวิทย์ สุจิรธรรม สิริพร เหลืองสุชนกุล

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้ cypermethrin ในแหล่งปลูกคะน้า ทำการศึกษาที่ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี ในฤดูปลูกตั้งแต่เดือนมกราคม - มีนาคม 2553 ฉีดพ่น cypermethrin สูตร 35 % EC อัตรา 17 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกๆ สัปดาห์ รวม 4 ครั้ง ซึ่งเป็นอัตราการฉีดพ่นสูงสุดตามที่แนะนำบนฉลากเป็นการศึกษาหาข้อมูลในกรณีที่มีการใช้วัตถุมีพิษชนิดนี้อย่างเต็มที่ (worst case scenario) หลังการฉีดพ่นสารพิษในระยะเก็บผลผลิตไปจำหน่าย ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ cypermethrin ในสัตว์น้ำ (ปลาสวายและปลาตะเพียน) พืชน้ำ (ผักกะเฉด) ดิน น้ำ และตะกอน นำผลที่ได้จากการศึกษามาประมวลกับข้อมูลทางพิษวิทยาของ cypermethrin เพื่อประเมินผลกระทบจากการฉีดพ่น cypermethrin ต่อสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตในแหล่งปลูกคะน้า ผลการศึกษาพบว่าหลังการฉีดพ่น cypermethrin ในแหล่งปลูกคะน้า ตรวจพบสารพิษในน้ำตั้งแต่วันที่ฉีดพ่นถึง 30 วัน หลังการฉีดพ่น มีปริมาณตั้งแต่ 1.04 - < 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร พบสารพิษในดินปริมาณค่อนข้างต่ำ ไม่พบสารพิษในตะกอน ไม่มีปลาตาย แต่ตรวจพบสารพิษในเนื้อปลา 24 ตัวอย่าง คิดเป็น 82.8 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด ส่วนใหญ่ปริมาณสารพิษที่พบต่ำ โดยมีปริมาณสารพิษเฉลี่ย 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณสูงสุดที่พบเท่ากับ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบสารพิษในผักกะเฉดค่อนข้างต่ำเช่นกัน ยกเว้นหลังการฉีดพ่นสารพิษครั้งที่ 4 หนึ่งวันพบสารพิษ 0.63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารพิษที่พบกับค่ากำหนด MRL ในผักกินใบชนิดต่างๆ เช่นผักกาดหอมและผักโขมที่กำหนดไว้ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผักคะน้า 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มะเขือเทศและพริก 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มะเขือยาวและแตงกวา 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าปริมาณสารพิษในผักกะเฉดหลังการฉีดพ่น cypermethrin หนึ่งวัน อาจเสี่ยงต่อการบริโภค อย่างไรก็ตามสารพิษสามารถสลายตัวได้หมดภายใน 10 วัน

รหัสการทดลอง 05-01-53-01-01-01-02-53

คำนำ

กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบในการพิจารณาการห้ามใช้และจำกัดการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร หรือสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่างๆ เป็นการปฏิบัติงานเพื่อลดความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อประโยชน์ต่อผู้ใช้และผู้บริโภค และแก้ไขปัญหามลพิษต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากมาตรการพิจารณาการห้ามใช้และจำกัดการใช้แล้ว ยังได้กำหนดโครงการเฝ้าระวังติดตามการใช้และผลกระทบของสารพิษที่มีพิษร้ายแรงที่อาจมีการห้ามใช้ในอนาคต เช่น methomyl, carbofuran, dicrotophos, EPN ฯลฯ หรือสารพิษที่พบพิษตกค้างในผลิตผลเกษตรกรรมในปริมาณสูง และอาจมีปัญหาต่อการส่งผลผลิตไปจำหน่ายยังต่างประเทศ เช่น chlorpyrifos และ cypermethrin เพื่อประเมินความเสี่ยงภัยที่เกิดจากการใช้สารพิษเหล่านี้ด้วย

cypermethrin เป็นสารป้องกันกำจัดแมลง กลุ่ม pyrethroid ที่มีความเป็นพิษในระดับพิษปานกลาง (Moderately Hazardous, class II) ทั้งโดยทางปากและทางผิวหนัง EPA รายงานความเป็นพิษโดยการกิน (oral LD_{50}) ต่อหนูทดลองเพศผู้ 187 – 326 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเพศเมีย 150 – 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รวมทั้งอาจเป็นสารก่อมะเร็งต่อมนุษย์ (possible human carcinogen) มีค่า ADI (Acceptable Daily Intake) 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน US.EPA กำหนดให้ cypermethrin เป็นวัตถุมีพิษที่ให้จำกัดการใช้ (Restricted Use Pesticide) เนื่องจากมีความเป็นพิษต่อปลาและสิ่งมีชีวิตในน้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลังสูง โดยมีค่า LD_{50} (96-hour) ในปลา Rainbow trout 0.0082 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Bluegill sunfish 0.0018 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความเป็นพิษต่อผึ้งสูง แต่ไม่เป็นพิษกับนก (http:ace.orst.edu/info/extoxnet/pipscypermet.htm) มีค่า No Observe Effect Level (NOEL) หรือปริมาณสารพิษที่ไม่ทำให้เกิดความผิดปกติต่อสัตว์ทดลอง 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (http://www.epa.gov/ncea/iris/subst /0380.htm)

cypermethrin เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงที่เกษตรกรนิยมใช้มาก ในปี พ.ศ. 2552 มีปริมาณนำเข้าสูงถึง 770.4 ตัน คิดเป็นสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ (active ingredient ; a.i.) 677.22 ตัน มีมูลค่า 239.25 ล้านบาท จากฉลากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยกรมวิชาการเกษตร cypermethrin ผลิตเป็นสูตร EC (Emulsifiable concentrate) ความเข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์ ใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่นหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก หนอนผีเสื้อ หนอนกอ มอด และเพลี้ยจักจั่นมะม่วง มีวิธีการใช้โดยการฉีดพ่น ดังนั้นโอกาสที่สารพิษจะฟุ้งกระจายในอากาศขณะฉีดพ่น และเกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในสภาพแวดล้อม เมื่อตกลงบนดินหรือในแหล่งน้ำย่อมเกิดขึ้นได้สูง กลายเป็นมลพิษต่อสิ่งมีชีวิตทั้งในดินและในน้ำของบริเวณเกษตรกรรมนั้น

กลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร จึงได้จัดทำชุดโครงการวิจัยเพื่อศึกษาประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร สำหรับงานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาผลกระทบของ cypermethrin ต่อสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตในแหล่งปลูกคะน้า เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ต้องใช้ในการประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้สารพิษ cypermethrin ต่อสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตในน้ำในแหล่งปลูกพืชผัก และเป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตรในการพิจารณาบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษที่มีอันตรายร้ายแรง เช่น การเข้มงวดการใช้ การจำกัดการใช้ หรือการห้ามใช้ เพื่อความปลอดภัยของผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมต่อไป

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง

1.1 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างปลา ผักกะเฉด ดิน น้ำ และตะกอน ได้แก่สวิง ถังพลาสติก ถุงพลาสติก ฯลฯ

1.2 ปลาสวาย และปลาตะเพียน ขนาดลำตัว 1 - 2 นิ้ว ชนิดละ 500 ตัว

1.3 กระชังเลี้ยงปลาในร่องน้ำแปลงคะน้า เป็นตาข่าย รูตาข่ายขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ขนาด กว้าง x ยาว x สูง = 1 x 4 x 1 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 2 อัน พร้อมแผ่นตาข่ายปิดด้านบน

1.4 อาหารปลาเล็กอัดเม็ดสำเร็จรูป

1.5 ผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง cypermethrin ที่ใช้ฉีดพ่นในแปลงทดลอง ชื่อการค้า “ไซเพอร์เมทริน”สูตร 35 % EC

1.6 ชุดตรวจวัดปริมาณออกซิเจนในน้ำ (dissolved oxygen, DO)

1.7 ชุดตรวจวัดค่าความเป็นกรด - ด่างของดินและน้ำ (pH meter)

1.8 เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิน้ำ

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

2.1 เครื่องแก้ว ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, separatory funnel, cylinder, beaker,Erlenmeyer flask, round bottom flask, chromatographic column, filtering funnel, test tube ฯลฯ

2.2 เคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ ได้แก่ สารเคมี analytical grade (AR) และ pesticide grade (PR) ได้แก่ acetone, hexane, petroleum ether, ethyl acetate, dichloromethane, sodium sulphate (granule 12-16 mesh), aluminium oxide 90 active neutral (70-230 mesh), silica gel (20-120 mesh) etc.

2.3 glass wool และ filter paper No.1 & 42

2.4 สารพิษมาตรฐาน cypermethrin ความบริสุทธิ์สูง

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

ได้แก่ เครื่องชั่งหยาบ และเครื่องชั่งละเอียด (Analytical Balance), เครื่องสกัดวัตถุมีพิษชนิด Homogenizer และ Blender, เครื่องลดปริมาตรชนิด Rotary Evaporator, เครื่องลดปริมาตรชนิด Nitrogen Evaporator, ตู้อบสารเคมี (Digital Oven), เตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle Furnace), เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer), ตู้ดูดความชื้น (Desiccator), ตู้เย็นแช่แข็ง (Deep Freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 องศาเซลเซียส, เครื่อง Gas Chromatograph (GC) พร้อมตัวตรวจจับชนิด Electron Capture Detector (ECD)

การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1. ติดต่อได้แปลงปลูกคะน้าที่เหมาะสม ที่ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี มีเนื้อที่ 7 ไร่ ลักษณะปลูกยกเป็นร่องดินขึ้นและมีคูน้ำล้อมรอบ แต่ละร่องมีขนาดกว้าง 3 เมตร ยาว 70 เมตร รับน้ำจากแม่น้ำท่าจีนเข้าสู่แปลงโดยตรง น้ำมีลักษณะใสสะอาด เนื่องจากไม่ได้ผ่านพื้นที่เกษตรอื่นๆ

2. ขุดลอกร่องน้ำในแปลงให้มีความลึก 0.5 เมตร เพื่อวางกระชังปลาสวาย และปลาตะเพียน 2 กระชัง ปลูกผักกะเฉดในร่องน้ำ ก่อนเริ่มการทดลองปล่อยปลาทั้งสองชนิดๆ ละประมาณ 500 ตัว ลงในแต่ละกระชัง เพื่อให้ปลาคุ้นเคยและปรับตัวในสภาพแวดล้อมของแปลงคะน้า เกษตรกรเลี้ยงปลาธรรมชาติในร่องน้ำเช่น ปลานิล ปลาช่อนและปลาสร้อยเพื่อให้กินพืชน้ำ เช่น สาหร่าย บันทึกสภาพภูมิอากาศ เช่น อุณหภูมิน้ำ อุณหภูมิอากาศ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าออกซิเจนละลายในน้ำ

3. ในฤดูปลูกตั้งแต่เริ่มหว่านกล้าจนถึงเก็บผลผลิตไปจำหน่ายใช้เวลาประมาณ 50 วัน เก็บเกี่ยวผลผลิต 2 ครั้ง คือครั้งแรกหลังปลูก 32 วัน เป็นลูกคะน้า หรือเรียกคะน้ากำ และหลังปลูก 50 วัน เป็นคะน้าต้น ฉีดพ่น cypermethrin ตามวิธีปฏิบัติของเกษตรกร เพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชทุกๆ สัปดาห์ ซึ่งจะฉีดพ่นรวมทั้งหมด 4 ครั้ง (ครั้งที่ 1 ระยะคะน้ากำ ครั้งที่ 4 ระยะคะน้าต้น) ในระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2553 เกษตรกรฉีดพ่นสารพิษชนิดอื่นเพื่อเป็นการดูแลรักษาผลผลิตตามความจำเป็นพร้อมกับ cypermethrin สารพิษอื่นๆ ที่ใช้ฉีดพ่นได้แก่ abamectin, dicrotophos, acetamiprid, proconazol+ procloraz, spinosad และ mancozeb การฉีดพ่นสารพิษใช้เครื่องยนต์และลากสายฉีด มีผู้ช่วยคอยช่วยลากสายยาง

4. สารพิษ cypermethrin ที่ใช้ในการทดลอง สูตร 35 % EC ชื่อการค้า “ไซเพอร์เมทริน” ของบริษัท ท.เจริญผลเคมีเกษตร ก่อนเริ่มการทดลอง ตรวจปริมาณสารออกฤทธิ์ (active ingredient) ได้ 35.0 เปอร์เซ็นต์ อัตราตามคำแนะนำบนฉลาก ให้ใช้กำจัดหนอนใยผักในคะน้า อัตรา 7 - 17 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อพบแมลงระบาด ซึ่งจากการศึกษานี้เลือกใช้อัตราสูงสุดคือ 17 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เป็นการศึกษาหาข้อมูลในกรณีที่มีการใช้วัตถุมีพิษชนิดนี้อย่างเต็มที่ (worst case scenario) การฉีดพ่นสารพิษตลอดทั้งแปลงใช้น้ำ 200 ลิตร และใช้เวลาประมาณ 50 - 70 นาที

5. ก่อนเริ่มการฉีดพ่นสารพิษ เก็บดิน น้ำ ตะกอน ปลาและผักกะเฉดที่มีอยู่ตามธรรมชาติในร่องน้ำไปวิเคราะห์หาปริมาณ cypermethrin ซึ่งอาจมีตกค้างอยู่เดิมในสภาพแวดล้อม เพื่อเป็นการตรวจวัดปริมาณสารพิษก่อนเริ่มการทดลอง เป็นค่าตั้งต้นก่อนที่จะมีการใช้สารพิษในแปลง (Reference value)

6. เกษตรกรเก็บคะน้าขาย 2 ครั้ง ครั้งแรกหลังปลูก 32 วัน เป็นลูกคะน้า หรือคะน้ากำ (หลังการฉีดพ่น cypermethrin ครั้งที่ 1) และเก็บคะน้าครั้งที่ 2 หลังปลูก 50 วัน เป็นคะน้าต้น (หลังการฉีดพ่น cypermethrin ครั้งที่ 4) ได้เก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอน ปลาและผักกะเฉดในแปลงปลูก ไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ cypermethrin เพื่อหาอัตราการสลายตัวของ cypermethrin ในตัวอย่างต่างๆ เป็นระยะตั้งแต่ 0 วัน (2 ชั่วโมง ภายหลังฉีดพ่น หรือเมื่อสารพิษบนใบคะน้าเริ่มแห้ง), 1, 3, 5, 7, 10, 15, 30, 45 และ 60 วัน

บันทึกข้อมูลสภาพภูมิอากาศ และข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่นความชื้นดิน อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนในน้ำทุกวันที่มีการเก็บตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างดิน และตะกอน และการสกัดตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

ตากดิน และตะกอนในถาดสแตนเลสที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งดิน/ตะกอนมีความชื้นประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ แล้วบดย่อยให้กระจายเป็นก้อนเล็กที่สุดเท่าที่จะทำได้ เทใส่ขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิทกันความชื้นถ้ายังไม่วิเคราะห์ในทันที ต้องเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อจะนำมาตรวจวิเคราะห์ ต้องตั้งตัวอย่างทิ้งไว้รอจนถึงอุณหภูมิห้อง จึงจะชั่งน้ำหนักดิน/ตะกอน และต้องชั่งใส่ petridish อีก 20 กรัม เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในเวลาเดียวกัน

ชั่งตัวอย่างดิน 20 กรัม ใส่ในขวด Erlenmeyer flask สกัดสารพิษตกค้างตามวิธีของ TNO (The Netherlands), 1993. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง GC/ECD

ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Recovery) ในดินที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ค่า Recovery เฉลี่ย 91 เปอร์เซ็นต์ ค่าปริมาณสารพิษต่ำที่สุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantification; LOQ) 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การเตรียมตัวอย่างน้ำ และการสกัดตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

โดยทั่วไปถ้าน้ำมีลักษณะใส สามารถนำมาสกัดได้ทันที แต่ถ้ามีความขุ่นหรือสกปรกมากให้กรองด้วย Glass wool จนได้สารละลายใส

ตวงน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel ขนาด 1 ลิตร สกัดสารพิษตกค้างตามวิธีของ Agricultural Production Science Research & Development Office : In-house method, 2004. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง GC/ECD

ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Recovery) ในน้ำที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ได้ค่า Recovery เฉลี่ย 95 เปอร์เซ็นต์ ค่าปริมาณสารพิษต่ำที่สุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantification; LOQ) 0.05 ไมโครกรัมต่อลิตร

การเตรียมตัวอย่างปลา และการสกัดตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

ปลามีเกล็ด เช่นปลาตะเพียนให้ขอดเกล็ดออกให้หมด จากนั้นแล่เอาเฉพาะเนื้อด้านข้างของปลาทั้ง 2 ชนิด มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ปั่นด้วย Blender ให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วชั่งใส่ใน Erlenmeyer flask ตัวอย่างละ 20 กรัม เพื่อสกัดสารพิษตกค้างตามวิธีของ Pesticides Laboratory Training Manual, 1996. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง GC/ECD

ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Recovery) ในเนื้อปลาที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ค่า Recovery เฉลี่ย 82.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าปริมาณสารพิษต่ำที่สุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantification; LOQ) 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การเตรียมตัวอย่างผักกะเฉด และการสกัดตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

เก็บผักกะเฉดส่วนยอดลงมาให้ยาวประมาณ 2 ฟุต ให้ได้น้ำหนักตัวอย่างละประมาณ 1 กิโลกรัม ลอกนวมออก ตัดและปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน ชั่งใส่ในขวดแก้วตัวอย่างละ 25 กรัม เพื่อสกัดสารพิษตกค้างตามวิธีของ Steinwandter H., 1985. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง GC/ECD

ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Recovery) ในผักกะเฉดที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ค่า Recovery เฉลี่ย 86 เปอร์เซ็นต์ ค่าปริมาณสารพิษต่ำที่สุดที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantification, LOQ) 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2552 ถึงเดือนกันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง แปลงปลูกคะน้าของเกษตรกร ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี และห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ภายหลังการฉีดพ่นสารพิษ cypermethrin ครั้งที่ 1 ซึ่งเป็นช่วงที่เก็บคะน้าขาย เป็นคะน้ายอด หรือคะน้ากำ และภายหลังการฉีดพ่นสารพิษครั้งที่ 4 ซึ่งเป็นช่วงที่เก็บคะน้าขาย เป็นคะน้าต้น เก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอน ปลาชนิดต่างๆ และพืชน้ำ เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตามช่วงเวลาที่กำหนด คือ ตั้งแต่ 1 - 60 วัน สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ได้ดังนี้ :

ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในน้ำ

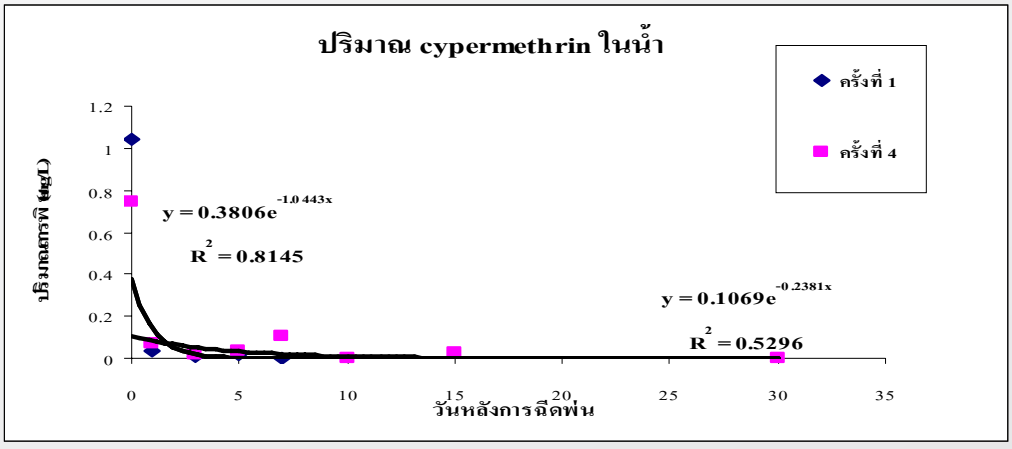
หลังการฉีดพ่น cypermethrin ครั้งที่ 1 ตรวจพบสารพิษในวันที่ฉีดพ่น (0 วัน) จนถึงวันที่ 7 หลังการฉีดพ่น มีปริมาณสารพิษเฉลี่ย (จากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง 10 ซ้ำ) ตั้งแต่ 1.04 ไมโครกรัมต่อลิตร ถึง < 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร

หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 4 ตรวจพบสารพิษในวันที่ฉีดพ่น (0 วัน) จนถึงวันที่ 30 หลังการฉีดพ่น มีปริมาณสารพิษเฉลี่ย ตั้งแต่ 0.75 ไมโครกรัมต่อลิตร ถึง < 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในน้ำในช่วงเวลาต่างๆ

วันหลังการฉีดพ่น	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 1 (N = 10)	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (ไมโครกรัม/ลิตร) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 4 (N = 10)
0	1.04	0.75
1	0.03	0.07
3	< 0.01	0.01
5	0.01	0.04
7	< 0.01	0.11
10	ไม่มีตัวอย่างวิเคราะห์เนื่องจากฉีดพ่นสารพิษครั้งที่ 2	< 0.01
15		0.03
30		< 0.01

ทั้งนี้ปริมาณ cypermethrin ที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ มีค่า LC_{50} (96 hour) ในปลา rainbow trout = 0.0082 มิลลิกรัมต่อลิตร และในปลา bluegill sunfish = 0.0018 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณสารพิษที่ตรวจพบในร่องน้ำแหล่งปลูกคะน้า ต่ำกว่าค่า LC_{50} ที่จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อปลา



ภาพที่ 1. ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในน้ำในช่วงเวลาต่างๆ

ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในดิน

ตรวจพบสารพิษในตัวอย่างดินในปริมาณค่อนข้างต่ำ ตั้งแต่วันที่ฉีดพ่น จนถึง 30 วันหลังการฉีดพ่น และหลังจากนั้นตรวจไม่พบสารพิษอีก

หลังการฉีดพ่น cypermethrin ครั้งที่ 1 ตรวจพบสารพิษในวันที่ฉีดพ่นจนถึงวันที่ 7 หลังการฉีดพ่น และปริมาณสารพิษค่อยๆ ลดลงตามลำดับ

หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 4 ตรวจพบสารพิษในวันที่ฉีดพ่นจนถึงวันที่ 30 หลังการฉีดพ่น ปริมาณสารพิษเฉลี่ย สะสมในดินสูงสุดในวันที่ 3 หลังการฉีดพ่น

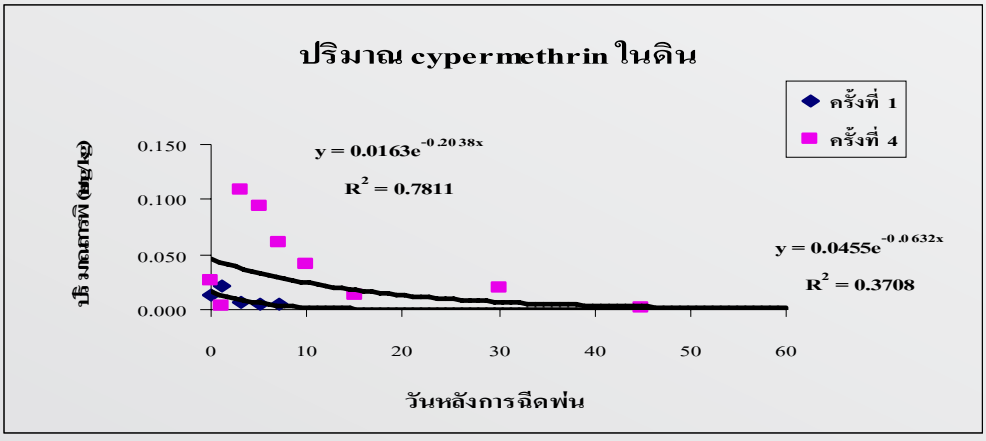
ตารางที่ 2. ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในดินในช่วงเวลาต่างๆ

วันหลังการฉีดพ่น	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 1 (N = 10)	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 4 (N = 10)
0	0.01	0.03
1	0.02	< 0.01
3	< 0.01	0.11
5	< 0.01	0.09
7	< 0.01	0.06
10	ไม่มีตัวอย่างวิเคราะห์เนื่องจากฉีดพ่นสารพิษครั้งที่ 2	0.04
15		0.01

ตารางที่ 2. (ต่อ) ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในดินในช่วงเวลาต่างๆ

วันหลังการฉีดพ่น	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 1 (N = 10)	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 4 (N = 10)
30		0.02
45		ND
60		ND

หมายเหตุ ND = Non Detectable หมายถึง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง



ภาพที่ 2. ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในดินในช่วงเวลาต่างๆ

ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในตะกอน

หลังการฉีดพ่น cypermethrin ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 4 ตรวจพบสารพิษในตะกอนในปริมาณที่ต่ำมาก (< LOQ) ในวันแรกที่ฉีดพ่น จากนั้นตรวจไม่พบสารพิษในทุกตัวอย่าง

ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในปลา

หลังการฉีดพ่นสารพิษทั้ง 2 ครั้ง ไม่พบว่ามีปลาตาย หรือมีอาการผิดปกติ เก็บปลาที่เลี้ยงในกระชังและในร่องน้ำแปลงปลูกคะน้ามาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างหลังการฉีดพ่นสารพิษครั้งสุดท้าย ตั้งแต่ 0 – 60 วัน จำนวน 29 ตัวอย่าง พบสารพิษในเนื้อปลา 24 ตัวอย่าง คิดเป็น 82.8 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่าในเนื้อปลาส่วนใหญ่พบสารพิษตกค้างในปริมาณที่ต่ำ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยที่พบเท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่พบคือ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 3. ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในปลาในช่วงเวลาต่างๆ

วันหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย	ชนิดและจำนวนตัวอย่างปลา	ปริมาณสารพิษ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
0	ปลานิล ปลาตะเพียน (4)	0.01 - 0.06
1	ปลานิล ปลากระดี่ ปลาชะโด	0.01 - 0.02
3	ปลานิล ปลาหมอเทศ (3)	<0.01 - 0.01
5	ปลานิล ปลาตะเพียน (5)	ND - 0.12
7	ปลาสร้อย (1)	0.01
10	ปลาตะโกก (1)	0.01
15	ปลาสลิด ปลากระดี่ (2)	<0.01 - 0.02
30	ปลาสลิด ปลาตะเพียน ปลา	ND - 0.10
45	ปลานิล (2)	ND - <0.01
60	ปลานิล ปลาตะเพียน (4)	0.01 - 0.06

หมายเหตุ ND = Non detectable หมายถึง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

จากรายงานการศึกษาในต่างประเทศก็พบว่า ถึงแม้ในสภาพห้องปฏิบัติการ cypermethrin จะมีความเป็นพิษสูงต่อปลา แต่ในแหล่งน้ำธรรมชาติกลับไม่พบว่า cypermethrin เป็นพิษต่อปลา (Crossland, 1982)

ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในผักกะเฉด

สุ่มเก็บตัวอย่างผักกะเฉดในร่องน้ำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษในเวลาเดียวกับเก็บตัวอย่างปลา ผลการตรวจวิเคราะห์พบสารพิษตกค้างสูงสุดหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้ายหนึ่งวัน ปริมาณ 0.63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และยังคงตรวจพบสารพิษในผักกะเฉดจนถึงวันที่ 10 มีปริมาณ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นเพราะ cypermethrin สลายตัวได้ค่อนข้างช้า เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารพิษที่พบกับค่ากำหนด MRL ในผักกินใบชนิดต่างๆ เช่นผักกาดหอมและผักโขมที่กำหนดไว้ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผักคะน้า 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มะเขือเทศและพริก 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มะเขือยาวและแตงกวา 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าปริมาณสารพิษในผักกะเฉดหลังการฉีดพ่น cypermethrin หนึ่งวันอาจเสี่ยงต่อการบริโภค

ตารางที่ 4. ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในผักกะเฉดในช่วงเวลาต่างๆ

วันหลังการฉีดพ่น	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 1	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 4
0	0.08	0.15
1	0.08	0.63
3	0.16	0.12

ตารางที่ 4. ปริมาณสารพิษ cypermethrin ในผักกะเฉดในช่วงเวลาต่างๆ (ต่อ)

วันหลังการฉีดพ่น	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 1	ปริมาณ cypermethrin เฉลี่ย (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 4
5	0.15	0.19
7	0.04	0.16
10	ไม่มีตัวอย่างวิเคราะห์เนื่องจากฉีดพ่นสารพิษครั้งที่ 2	0.05
15		ND
30		ND
45		ND
60		ND

หมายเหตุ ND = Non detectable หมายถึง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้ cypermethrin ในแหล่งปลูกคะน้า สรุปได้ว่าการฉีดพ่นสารพิษในคะน้า ทำให้สารพิษปนเปื้อนในสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตในแปลงคะน้า แม้ว่าปริมาณการปนเปื้อนจะไม่สูงมากนัก แต่สัตว์น้ำและพืชน้ำเหล่านี้เป็นอาหารของมนุษย์ด้วยเช่นกัน เกษตรกรควรฉีดพ่นสารพิษให้น้อยครั้งลง หรือใช้วัตถุมีพิษชนิดที่สลายตัวได้เร็วกว่า cypermethrin ฉีดพ่นสลับบ้าง ถึงแม้ว่า cypermethrin มีความเป็นพิษในระดับพิษปานกลาง เกษตรกรก็ต้องระมัดระวังและป้องกันตนเองจากการได้รับพิษขณะฉีดพ่น ต้องสวมใส่อุปกรณ์ในการป้องกันการได้รับสารพิษ ต้องปฏิบัติตามคำแนะนำบนฉลาก และต้องปฏิบัติอย่างเคร่งครัดในการเว้นระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพื่อให้สารพิษสลายตัวก่อนเก็บผลผลิตไปจำหน่าย เพื่อเป็นการป้องกันอันตรายจากการใช้วัตถุมีพิษและเพื่อเป็นการบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษทางการเกษตรตามภารกิจและจุดประสงค์ของกรมวิชาการเกษตรต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

ผลการศึกษาการประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้ cypermethrin ในแหล่งปลูกคะน้า นำไปเผยแพร่และแนะนำเกษตรกรผู้ปลูกคะน้าหรือพืชอื่นๆให้ทราบถึงการปนเปื้อนของสารพิษในสภาพแวดล้อมในแหล่งปลูกพืชว่าปริมาณสารพิษที่ตกค้างและปนเปื้อนในสภาพแวดล้อมในบริเวณนั้นอยู่ในระดับที่จะก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในดินและน้ำหรือไม่ เพื่อให้เกษตรกรมีความระมัดระวังในการฉีดพ่นสารพิษ เพื่อความปลอดภัยของเกษตรกรและสิ่งมีชีวิตในสภาพแวดล้อมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Crossland NO. 1982. Aquatic Toxicology of Cypermethrin. II Fate and Biological Effects in Pond Experiments. *Aquatic Toxicology* 2:205-222.

FAO/WHO. 1996. Pesticide Residues in Food 1995. Evaluation Part II. Toxicological and Environment. WHO/PCS/96, 48.

FAO/WHO. 2000. Codex Alimentarius Commission. Status of Codex Maximum Residue Limits for Residues of Pesticides in Food and Animal Feeds. pp. part 1-72.

http:ace.orst.edu/info/extoxnet/pipscypermet.htm

http://www.epa.gov/ncea/iris/subst/0380.htm

IPCS International Programme on Chemical Safety. 1995. Health and Safety Guide No. 97. http://www.epa.gov/REDs

Pesticides Laboratory Training Manual. 1996. Clifton E. Meloan, Ph.D.(ed.) U.S.AID/U.S.EPA/U.S.FDA, AOAC International, Suite 500, 481 N. Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland. 20877-2417 USA.

Steinwandter H. 1985. Universal 5 min on-line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residue and Industrail Chemicals. Fresenius Z. Anal. Chem. No. 1155.

TNO Standard Method. 1996. TNO Nutrition and Food Research Institute. The Netherlands.

การสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรม : แม่น้ำป่าสัก

Accumulation of Pesticide Residues in the main river in Agricultural Area ; The Pasak River

มลิสา เวชยานนท์ สิริพร เหลืองสุชนกุล ประกิจ จันทร์ติ๊บ

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาการสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมของลุ่มแม่น้ำป่าสักและคลองแยก ใช้ระบบกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS) ในการกำหนดจุดเก็บรวม 26 จุด สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำและสัตว์น้ำ ในช่วงเดือนธันวาคม 2552 เดือนกุมภาพันธ์ เมษายน และมิถุนายน 2553 รวม 4 ครั้ง รวมทั้งหมด 242 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำและสัตว์น้ำ จำนวน 99, 99, 29 และ 15 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ 81 ตัวอย่าง คิดเป็น 81 เปอร์เซ็นต์ สารพิษที่ตรวจพบได้แก่ สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์การ์โนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมท และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีนปริมาณ < 0.01 – 0.04, 0.02 – 0.44, 0.03 – 0.44 และ 0.01 – 29.55 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ตะกอน 99 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษ 22 ตัวอย่าง คิดเป็น 22 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีน ปริมาณ < 0.01 – 0.04, < 0.01 และ < 0.01 – 0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ตัวอย่างพืชน้ำ 29 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษ 5 ตัวอย่าง คิดเป็น 17 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มคาร์บาเมทและสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีน ปริมาณ < 0.01 – 0.02, 0.06 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ตัวอย่างสัตว์น้ำ 15 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษ 12 ตัวอย่าง คิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มไพรีทรอยด์และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีนปริมาณ < 0.01 – 0.11, 0.02 – 0.03, 0.01 – 0.09 และ 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

รหัส 05-01-53-01-02-01-01-53

คำนำ

แม่น้ำป่าสักมีต้นกำเนิดมาจากเทือกเขาเพชรบูรณ์ ในเขตพื้นที่อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย ไหลผ่าน 5 จังหวัด ได้แก่จังหวัดเลย จังหวัดเพชรบูรณ์ จังหวัดลพบุรี จังหวัดสระบุรี และไหลไปบรรจบกับแม่น้ำเจ้าพระยาที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา รวมความยาวทั้งสิ้น 500 กิโลเมตร เกษตรกรที่อาศัยอยู่ในเขตลุ่มแม่น้ำนี้ส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมปลูกข้าว ทำไร่อ้อย ไร่ข้าวโพด และส่วนหนึ่งปลูกผักตามฤดูกาล ด้วยระยะความยาวของแม่น้ำประกอบกับมีปริมาณน้ำเพียงพอสำหรับทำการเกษตร จึงทำให้เกษตรกรที่อยู่ในเขตนี้สามารถทำการเพาะปลูกได้อย่างต่อเนื่องตลอดทั้งปี และมีการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันและกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่องควบคู่ไปด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืชที่มีใช้กันอย่างกว้างขวางและทุกฤดูกาลเพาะปลูก ส่งผลทำให้มีการแพร่กระจายของสารพิษเหล่านี้ลงสู่แม่น้ำที่เป็นทั้งแหล่งอุปโภคและบริโภค รวมทั้งเป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำและพืชน้ำ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของมนุษย์และสัตว์อื่นๆ ในห่วงโซ่อาหาร

ตามอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Stockholm convention on Persistent Organic Pollutants, POPs) สารที่จัดอยู่ในสารมลพิษที่ตกค้างยาวนานนี้ได้แก่ aldrin, chlordane, DDT, dieldrin, dioxins, endrin, furans, hexachlorobenzene, heptachlor, mirex, PCBs และ toxaphene ประเทศไทยเป็นรัฐภาคีใน 50 ประเทศ ได้ให้สัตยาบันในเรื่องการเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของสารมลพิษ เพื่อเป็นการคุ้มครองสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจากสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน โดยให้มีการลดและเลิกการใช้สารเหล่านี้ มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 17 พฤษภาคม 2547 (กรมควบคุมมลพิษ, 2547) กลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร รับผิดชอบให้ทำการศึกษาการสะสมของสารพิษตกค้างเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มแม่น้ำและคลองแยกที่สำคัญ ตั้งแต่ปี 2545 (ภิญญา และคณะ, 2545) เป็นต้นมา ได้ศึกษาการสะสมของสารพิษกลุ่มอื่น ๆ ร่วมด้วยได้แก่ สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มไพรีทรอยด์ และกลุ่มคาร์บาเมท รวมทั้งสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีน ซึ่งในปี 2552 (มลิสา และสิริพร, 2552) ได้ทำการศึกษาในเขตแม่น้ำเจ้าพระยาซึ่งเป็นแม่น้ำสายหลักสำคัญในเขตภาคกลาง ยังคงตรวจพบสารพิษตกค้างในกลุ่ม POPs แต่อยู่ในปริมาณค่อนข้างต่ำ ดังนั้นเพื่อเป็นการเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของวัตถุมีพิษการเกษตรในสิ่งแวดล้อมในแหล่งเกษตรกรรมอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะในแหล่งน้ำ ในปี 2553 จึงได้เลือกทำการศึกษาในเขตพื้นที่ลุ่มแม่น้ำป่าสักและคลองแยก ซึ่งถือได้ว่าเป็นแม่น้ำอีกสายหนึ่งที่มีความสำคัญในเขตภาคกลาง รวมทั้งมีพื้นที่สำหรับทำการเพาะปลูกพืชที่มากและหลากหลาย ประกอบกับสถานการณ์การใช้สารพิษที่ผ่านมามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งน่าจะเกิดผลกระทบและเกิดการปนเปื้อนจากการใช้สารพิษนี้ลงสู่แม่น้ำและแหล่งน้ำใกล้เคียง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว

เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัดได้แก่ separatory funnel พร้อมฝาจุกแก้ว/teflon, beaker, cylinder, Erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, glass vial for auto sampler, disposable pasture pipette, ขวดปริมาตร และ glass funnel เครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมสารละลายของสารมาตรฐานและทำ standard calibration curve ได้แก่ auto pipette, volumetric pipette และ volumetric flask class A

2. เคมีภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ

2.1 สารเคมีชนิด analytical grade สำหรับใช้ในการสกัดตัวอย่าง ได้แก่ siliga gel, SPE C18 500 มิลลิกรัม ขนาด 6 มิลลิลิตร, SPE florisil 500 มิลลิกรัม ขนาด 6 มิลลิลิตร, anhydrous sodium sulfate (anh. Na_2SO_4), acetone, dichloromethane, ethyl acetate และ hexane

2.2 สารเคมีชนิด pesticide grade และ HPLC grade สำหรับใช้ในการเตรียมสารละลายของสารมาตรฐานและปรับปริมาตรตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph ได้แก่ acetone, acetonitrile, ethyl acetate, hexane และ iso-octane

2.3 สารพิษมาตรฐาน pesticide grade

2.3.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีน 20 ชนิด ประกอบด้วย aldrin, alpha BHC, alpha endosulfan, beta BHC, beta endosulfan, cis chlordane, dicofol, dieldrin, endosulfan sulfate, endrin, gamma BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, o,p'-DDE, o,p'-DDT, o,p'-TDE, p,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-TDE และ trans chlordane

2.3.2 กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 21 ชนิด ประกอบด้วย azinphos ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos methyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, monocrotophos, parathion methyl, pirimiphos methyl, profenofos, triazophos, methamidophos, omethoate และ phosalone

2.3.3 กลุ่มไพรีทรอยด์ 7 ชนิด ประกอบด้วย bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, lamda cyhalothrin, deltamethrin, fenvalerate และ permethrin

2.3.4 กลุ่มคาร์บาเมท 7 ชนิด ประกอบด้วย carbaryl, carbofuran, fenobucarb, metalaxyl, methomyl, metolcarb และ promecarb

2.3.5 กลุ่มไทรอาซีน 3 ชนิด ประกอบด้วย ametryn, methribuzin และ triazine

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์

เครื่องชั่งละเอียด 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องสกัดวัตถุมีพิษชนิด separatory funnel shaker เครื่อง shaker Homogeneizer เครื่อง food processor เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator เครื่องลดปริมาตรชนิด nitrogen evaporator ตู้อบสารเคมี เครื่องทำสุญญากาศ (vacuum pump) ตู้ดูดความชื้น (desiccator) เครื่องผสมสารละลาย

(vortex mixer) ตู้เย็นอุณหภูมิ 5 ± 3 องศาเซลเซียส ตู้แช่ (Freezer) อุณหภูมิ – 20 ± 5 องศาเซลเซียส และเครื่อง Gas Chromatograph (GC) ของบริษัท Agilent Technology รุ่น HP 6890 พร้อมหัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD) และ Electron Capture Detector (ECD) และ GC รุ่น 5890 พร้อมหัวตรวจวัด Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)

4. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง ได้แก่ แครงทำด้วย stainless steel และขวดพลาสติกชนิด polypropylene พร้อมฝาปิด สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ ช้อนทำด้วย stainless steel และขวดแก้วพร้อมฝาปิด สำหรับเก็บตัวอย่างตะกอน ถุงพลาสติกพร้อมยางรัด สำหรับเก็บตัวอย่างพืชน้ำและสัตว์น้ำ ถังแช่พร้อมฝาปิดสำหรับเก็บรักษาสภาพตัวอย่างในระหว่างขนส่ง

วิธีการ

1. **การสำรวจพื้นที่และกำหนดจุดเก็บ**

สำรวจพื้นที่เกษตรกรรมบริเวณที่แม่น้ำป่าสักไหลผ่านตลอดทั้งสาย เก็บข้อมูลชนิดของพืชที่ปลูกและวัตถุมีพิษที่ใช้จากสำนักงานเกษตรและจากการสัมภาษณ์เกษตรกรในพื้นที่ กำหนดจุดเก็บตัวอย่างโดยเลือกพื้นที่ที่ทำการเกษตรกรรมและอยู่ในเขตที่แม่น้ำป่าสักไหลผ่าน รวมทั้งคลองแยกที่สำคัญ โดยใช้ระบบกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)

2. **การเก็บ และเตรียมตัวอย่าง**

2.1 ตัวอย่างน้ำ กำหนดจุดสำหรับสุ่มเก็บตัวอย่าง ใช้แครงสุ่มตักตัวอย่างน้ำให้ทั่วพื้นที่กำหนด ให้เต็มขวดปริมาตรประมาณ 3 ลิตร

2.2 ตัวอย่างตะกอน จะกำหนดจุดเก็บจุดเดียวกับน้ำ โดยใช้แครงตักตัวอย่างตะกอนในแม่น้ำบริเวณที่กำหนด และใช้ช้อนตักใส่ขวดแก้วให้ได้น้ำหนักประมาณ 500 กรัม ปิดฝาให้สนิท ก่อนนำไปสกัดผึ่งในถาดสแตนเลสที่อุณหภูมิห้อง ให้มีความชื้นประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ (พงศ์ศรีและพูลสุข, 2545) แล้วทุบให้ละเอียดเท่าที่สามารถทำได้ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนนำไปทดสอบและหาเปอร์เซนต์ความชื้น

2.3 ตัวอย่างสัตว์น้ำ (ปลา) เก็บใส่ในถุงพลาสติกซึ่งส่วนใหญ่เป็นปลาที่ชาวบ้านจับโดยใช้ตาข่ายและเบ็ด เพื่อนำมาบริโภค และจำหน่าย ซึ่งในการสุ่มตัวอย่างประเภทนี้จะสอบถามถึงแหล่งที่มาก่อนจะซื้อ เพื่อให้มั่นใจว่าเป็นปลาที่มาจากแหล่งแม่น้ำป่าสักจริง ๆ และจะสุ่มเลือกเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อ นำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง food processor

2.4 ตัวอย่างพืชน้ำ (ผักบุ้ง ผักกระเฉด) จะสุ่มเก็บในบริเวณใกล้เคียงกับบริเวณที่เก็บตัวอย่างน้ำและตะกอน และจะสุ่มเลือกส่วนของพืชทั่วทั้งต้น ให้ได้น้ำหนักมากพอสำหรับการสกัด นำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง food processor

ตัวอย่างน้ำ ตะกอน สัตว์น้ำและพืชน้ำที่สุ่มเก็บได้ เก็บในถังแช่น้ำแข็ง เพื่อป้องกันสารพิษสลายตัวในระหว่างการขนส่ง

3. **การเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน** เตรียม stock standard solution ของสารพิษแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้น ประมาณ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียม Intermediate standard solution ให้ได้สารละลายของสาร

มาตรฐานผสมที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 50-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution ให้ได้สารละลายของสารมาตรฐานผสมของแต่ละกลุ่มให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.01-2.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. วิธีการสกัดตัวอย่าง

4.1 การสกัดสารพิษในน้ำ

4.1.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์ ตวงน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติม hexane (AR) 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าโดยใช้ separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขชั้นบนซึ่งเป็นชั้น hexane กรองผ่าน sodium sulfate anhydrous เก็บใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ชั้นล่างเป็นชั้นของน้ำ เติม hexane (AR) 50 มิลลิลิตรและนำไปเขย่าโดยใช้ separatory funnel shaker นาน 3 นาที ไขเก็บชั้น hexane กรองผ่าน sodium sulfate anhydrous เก็บรวมกับครั้งแรก ทำ 2 ครั้ง เมื่อกรองเสร็จแล้วกลั้ว (rinse) separatory funnel ด้วย hexane (AR) 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ลดปริมาตรสารสกัดด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรให้ได้ 1 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด ECD

4.1.2 กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มไทรอาซีนใช้วิธีการสกัดเช่นเดียวกับวิธีการสกัดสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและไพรีทรอยด์ในน้ำในข้อ 4.1.1 แต่จะเปลี่ยนในส่วนของสารเคมีที่ใช้ในการสกัดจาก hexane เป็น ethyl acetate และนำสารสกัดที่ได้ฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด FPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด NPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมทและกลุ่มไทรอาซีน

4.2 การสกัดสารพิษในตะกอน

4.2.1 การหาความชื้นในตะกอน ตัวอย่างตะกอนที่นำมาตรวจวิเคราะห์จะต้องคำนวณเปอร์เซนต์ความชื้นตามวิธีการ (Back C.A., 1965) เพื่อนำไปลบน้ำหนักตัวอย่างตะกอนที่มีความชื้นจะได้น้ำหนักตะกอนแห้งสุทธิ สำหรับใช้คำนวณในขั้นตอนการหาปริมาณสารพิษ ซึ่งจะแบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่งสำหรับคำนวณเปอร์เซนต์ความชื้นพร้อม ๆ กับแบ่งไปทำการสกัด โดยชั่งและบันทึกน้ำหนัก petri dish และชั่งตัวอย่างตะกอนใส่ใน petri dish นี้ 50 กรัม นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำไปใส่ใน desiccator ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่างตะกอนพร้อม petri dish และนำตัวอย่างอบต่ออีกประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง ชั่งและบันทึกน้ำหนักครั้งที่ 2 ถ้าน้ำหนักที่หายไปจากการอบครั้งที่ 1 และ 2 แตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซนต์ แสดงว่าน้ำระเหยออกจากตัวอย่างหมดแล้ว ถ้ามากกว่า 1 เปอร์เซนต์ จะต้องนำไปอบต่ออีก 3 - 4 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักที่หายไปแตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซนต์ จึงจะนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นและน้ำหนักตะกอนแห้ง

4.2.2 วิธีการสกัด

ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR) 75 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น นำไปเขย่าด้วย shaker นาน 5 ชั่วโมง กรองสารสกัดผ่าน sodium sulfate anhydrous ใส่ใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างขวดใส่ตัวอย่างด้วย ethyl acetate 20 มิลลิลิตร 2 ครั้ง

กรองสารสกัดผ่าน sodium sulfate anhydrous เก็บใน round bottom flask ใบเดิม นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ลดปริมาตรสารสกัดด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ให้ได้ 2 มิลลิลิตร ดูดสารสกัด 1 มิลลิลิตร ใส่ vial for auto sampler ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด FPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และฉีดเครื่อง GC ชนิด NPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมทและกลุ่มไทรอาซีน ส่วนสารสกัดที่เหลือ 1 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 2.5 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด ECD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์

4.3 การสกัดสารพิษในพืชน้ำ (ปรับจากวิธีการของ steinwandter, 1985)

4.3.1 การสกัดตัวอย่าง ชั่งตัวอย่างพืชบด 25 กรัม ใส่ขวดปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติม acetone 50 มิลลิลิตร ปั่นตัวอย่างโดยใช้ homogenizer นาน 1 นาที เติม dichloromethane 40 มิลลิลิตร และ sodium chloride 8 กรัม ปั่นต่อด้วย homogenizer อีก 1 นาที รินเก็บสารละลายส่วนที่ใสแล้วเติม sodium sulfate anhydrous 15 กรัม ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรองที่บรรจุ sodium sulfate anhydrous แบ่งสารละลาย 50 มิลลิลิตร ใส่ round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วย rotary evaporator เกือบแห้ง ปรับปริมาตรสารสกัดด้วย ethyl acetate (PR) ให้ได้ 10 มิลลิลิตร แบ่งสารสกัด 2 มิลลิลิตร ไปตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มไทรอาซีน สารสกัดที่เหลือ4 มิลลิลิตร เก็บไว้สำรอง ส่วนสารสกัดอีก 4 มิลลิลิตร นำไปขจัดสิ่งปนเปื้อน

4.3.2 การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

ชั่ง siliga gel ที่ deactivated ด้วยน้ำ 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 กรัม ใส่ในคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ปิดทับ siliga gel ด้วย sodium sulfate anhydrous สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ล้างคอลัมม์ด้วยhexane 5 มิลลิลิตร ดูดสารสกัดตัวอย่างลงในคอลัมน์ ชะตัวอย่างในคอลัมน์ ด้วยสารผสมของ hexane : dichloromethane (4:1) 5 มิลลิลิตร และสารผสมของ hexane : dichloromethane (1:1) 10 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ใน round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 2 มิลลิลิตรด้วย hexane (PR) ดูดสารสกัดใส่ vial นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด ECD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์

4.4 การสกัดสารพิษในเนื้อปลา ใช้วิธีการของ FEEI SUN (2000)

4.4.1 การสกัด ชั่งตัวอย่างเนื้อปลาบด 10 กรัม ใส่ขวดปริมาตร 125 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 50 มิลลิลิตร สกัดโดยใช้ homogenizer 1 นาที กรองผ่านกระดาษกรองด้วยระบบสุญญากาศ (vacuum pump) ใส่ใน Erlenmeyer flask ล้างขวดใส่ตัวอย่างด้วย acetonitrile 100 มิลลิลิตร ตวงแบ่งสารสกัด 50 มิลลิลิตร ใส่ใน round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง เติม acetonitrile 15 มิลลิลิตร นำไปขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

4.4.2 การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up) ใช้ SPE ชนิด C18 ต่อกับ SPE ชนิด florisil ที่บรรจุเพิ่มด้วย anh. sodium sulfate 2 กรัม เป็นคอลัมน์สำหรับขจัดสิ่งปนเปื้อน ล้างคอลัมน์ด้วย acetonitrile 6 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่าง

จากข้อ 4.4.1 ใส่คอลัมน์และปรับอัตราการไหล 3 หยดต่อวินาที ใส่ใน graduated tube ลดปริมาตรสารสกัดด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตร ด้วย ethyl acetate (PR) ให้ได้ 1 มิลลิลิตร แบ่งสารสกัด 0.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส โดยใช้เครื่อง GC ชนิด FPD และตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมทและไทรอาซีน โดยใช้เครื่อง GC ชนิด NPD สารสกัดที่เหลือ 0.5 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 0.5 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด ECD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2552 ถึง เดือนกันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำและสัตว์น้ำ เพื่อศึกษาการสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณเกษตรกรรมของลุ่มแม่น้ำป่าสักในช่วงเดือนธันวาคม 2552 กุมภาพันธ์ เมษายน และมิถุนายน 2553 ทั้งหมด 4 ครั้ง รวมตัวอย่างที่สุ่มเก็บทั้งหมด 242 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และสัตว์น้ำ จำนวน 99, 99, 29 และ 15 ตัวอย่าง ตามลำดับ ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 5 กลุ่ม แบ่งเป็นสารกำจัดแมลง 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออร์กาโนคลอรีน 20 ชนิด กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 21 ชนิด กลุ่มไพรีทรอยด์ 7 ชนิด และกลุ่มคาร์บาเมท 7 ชนิด และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีน 3 ชนิด ผลการตรวจวิเคราะห์พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ 81 ตัวอย่าง คิดเป็น 81 เปอร์เซ็นต์ สารพิษที่ตรวจพบเป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์การ์โนคลอรีน จำนวน 10 ตัวอย่าง ซึ่งสารพิษที่ตรวจพบส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มสารมลพิษที่มีฤทธิ์ตกค้างยาวนาน (Persistant Organic Pollutants; POPs) ในสิ่งแวดล้อมได้แก่ ชนิด DDT & metabolites และ dieldrin ปริมาณ < 0.01 – 0.02 และ < 0.01 – 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังตรวจพบ endosulfan ซึ่งเป็นวัตถุอันตรายประเภทที่ 4 ที่ประกาศห้ามใช้ตั้งแต่ปี 2547 ปริมาณ 0.01 – 0.04 ไมโครกรัมต่อลิตร ทั้งนี้น่าจะเกิดจากการที่เกษตรกรลักลอบนำมาใช้กำจัดหอยเชอรี่ในนาข้าว ส่วนสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสจะตรวจพบมากในการสุ่มเก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 2 ในเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เข้าสู่ฤดูแล้ง ปริมาณน้ำในบางจุดค่อนข้างน้อย ประกอบกับในบางพื้นที่ยังมีการทำไร่และปลูกผัก จึงทำให้ตรวจพบสารพิษกลุ่มนี้ ได้แก่ ชนิด chlorpyrifos, diazinon, EPN, ethion, omethoate และ profenofos ปริมาณ 0.04, 0.06 – 0.24, 0.04 – 0.10, 0.02 – 0.28, 0.13 – 0.44 และ 0.11 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จำนวน 9 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังตรวจพบสารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมทชนิด carbaryl, carbofuran, fenobucarb และ metalaxyl ปริมาณ 0.19 – 0.44, 0.07 – 0.22, 0.03 – 0.08 และ 0.11 - 0.017 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จำนวน 11 ตัวอย่าง และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีนชนิด ametryn, atrazine และ metribuzin ปริมาณ 0.01 – 8.04, 0.03 – 29.55 และ 0.11 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จำนวน 75 ตัวอย่าง ซึ่งกลุ่มสารกำจัดวัชพืชกลุ่มนี้จะตรวจพบทุกครั้ง และเกือบทุกตัวอย่างในการสุ่มเก็บตัวอย่างทั้ง 4 ครั้ง

ตัวอย่างตะกอน 99 ตรวจพบสารพิษ 22 ตัวอย่าง คิดเป็น 22 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนชนิด DDT & metabolites และ chlordane ปริมาณ < 0.01 และ < 0.01 – 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จำนวน 8 ตัวอย่าง กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสชนิด ethion ปริมาณ < 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 1 ตัวอย่าง และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีนชนิด ametryn และ atrazine ปริมาณ 0.03 – 0.08 และ < 0.01 – 0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จำนวน 16 ตัวอย่าง

ตัวอย่างพืชน้ำเป็นชนิดที่นำมาบริโภคเป็นผักได้แก่ ผักบุ้งน้ำ *(Ipomoea aquatica)* จำนวน 26 ตัวอย่าง และ ผักกระเฉด *(Neptunia oteracea)* จำนวน 3 ตัวอย่าง รวม 29 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษ 5 ตัวอย่าง คิดเป็น 17 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ชนิด DDT & metabolites และ dieldrin ปริมาณ 0.01 – 0.02 และ < 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จำนวน 3 ตัวอย่าง กลุ่มคาร์บาเมท ชนิด carbaryl และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีนชนิด ametryn ปริมาณ 0.06 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จำนวนกลุ่มละ 1 ตัวอย่าง

ตัวอย่างสัตว์น้ำ 15 ตัวอย่าง แบ่งเป็นปลากราย *(Notopterus notopterus)* ปลากดคัง *(Hemibagrus wyckioides)* ปลาช่อน *(Channa striata)* ปลาตะเพียนขาว *(Puntius gonionotus)* ปลาตะเพียนทอง *(Barbonymus altus)* ปลาสร้อย (*Cirrhina jullieni)* ปลากระมัง *(Puntioplites protozsron)* ปลากา *(Morulius chysophekdion)* และปลาหมอ *(Anabas testudineus)* ตรวจพบสารพิษ 12 ตัวอย่าง คิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนชนิด DDT & metabolites และ endosulfan ปริมาณ < 0.01 และ < 0.01 – 0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จำนวน 7 ตัวอย่าง กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ชนิด chlorpyrifos ปริมาณ 0.02 – 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 2 ตัวอย่าง กลุ่มไพรีทรอยด์ชนิด cypermethrin ปริมาณ 0.01 – 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 6ตัวอย่าง และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทรอาซีนชนิด ametryn ปริมาณ 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1. ที่ตั้งของจุดเก็บตัวอย่าง ใช้ระบบกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)

จุดเก็บ	พิกัดภูมิศาสตร์	ที่ตั้ง
1	47 P 750498 1881522	บ.ตะกอย ต.ตะกอย อ. หล่มเก่า จ. เพชรบรูณ์
2	47 P 746509 1883719	ห้วยน้ำข่า บ. ศิลา ต.ศิลา อ.หล่มเก่า จ. เพชรบรูณ์
3	47 P 748204 1867505	บ. ห้วยศรีจันทร์ ต. ท่าอิบุญ อ. หล่มสัก จ. เพชรบรูณ์
4	47 P 739336 1851287	บ. ปากห้วยขอนแก่น ต. ตาลเดี่ยว อ.หล่มสัก จ. เพชรบรูณ์
5	47 P 736126 1842321	บ.จางวาง ม.18 ต.ลานป่า อ.หล่มสัก จ. เพชรบรูณ์
6	47 P 736119 1830115	บ.ทากกตาล ม.11 ต.ดงมูลเหล็ก อ.เมือง จ. เพชรบรูณ์
7	47 P 728488 1793376	บ.หนองแหวน ต.ห้วยสะแก อ.เมือง จ. เพชรบรูณ์
8	47 P 727155 1769300	ต.หนองไผ่ อ.หนองไผ่ จ. เพชรบรูณ์
9	47 P 719750 1751825	บ.ลำตะคร้อ ต.กันจุ อ.บึงสามพัน จ. เพชรบรูณ์
10	47 P 725211 1732045	ต.ท่าโรง อ.วิเชียรบุรี จ.เพชรบรูณ์
11	47 P 725656 1710317	ต.โคกสอาด อ.ศรีเทพ จ.เพชรบรูณ์
12	47 P 737572 1695758	บ.ซับผาสุก ต.ศิลาทิพย์ อ.ชัยบาดาล จ.ลพบุรี
13	47 P 735489 1688703	บ.บัวชุม ต.บัวชุม อ.ชัยบาดาล จ.ลพบุรี
14	47 P 731194 1681066	บ.ท่ามะนาว ต.ท่ามะนาว อ.ชัยบาดาล จ.ลพบุรี
15	47 P 722042 1667180	บ.ถนนโค้ง ต.ท่าหลวง อ.ท่าหลวง จ.ลพบุรี
16	47 P 724314 1641006	บ.คำพราน ต.หนองบัว อ.พัฒนานิคม จ.ลพบุรี
17	47 P 721720 1630552	บ.หินซ้อน ต.หินซ้อน อ.แก่งคอย จ. สระบุรี
18	47 P 719844 1624709	บ. ท่าศาลา ต.ท่าคล้อ อ.แก่งคอย จ. สระบุรี
19	47 P 703714 1609091	บ. ดาวเรือง ต.ดาวเรือง อ.เมือง จ. สระบุรี
20	47 P 700095 1610085	ต. ท่าช้าง อ. เสาไห้ จ. สระบุรี
21	47 P 694110 1611231	บ. หมาก ต. บ้านยาง อ. เสาไห้ จ. สระบุรี
22	47 P 690415 1611095	คลองรพีพัฒน์ ต. ท่าหลวง อ. ท่าเรือ จ. สระบุรี
23	47 P 690769 1610598	บ.ช้าง ต.ท่าหลวง อ.ท่าเรือ จ.สระบุรี
24	47 P 670450 1592263	วัดเกาะแก้ว ต.บ่อโพง อ.นครหลวง จ.พระนครศรีอยุธยา
25	47 P 688070 1607231	คลองรพีพัฒน์ ต.ท่าหลวง อ.ท่าเรือ จ.พระนครศรีอยุธยา
26	47 P 673696 1600169	วัดใหม่ชุมพล ต.นครหลวง อ.นครหลวง จ.พระนครศรีอยุธยา

ตารางที่ 2. ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และสัตว์น้ำในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มแม่น้ำป่าสัก และคลองแยก

ตัวอย่าง	จำนวน		กลุ่มสารพิษ	ปริมาณ	ชนิดของสารพิษ
	ทั้งหมด (242)	ตรวจพบ (120)			
น้ำ	99	81	organochlorines (10)	< 0.01 – 0.02	dieldrin
				0.01 – 0.04	endosulfan
				0.02	o,p′-DDT
				< 0.01	p,p′-DDE
				< 0.01 – 0.01	p,p′-DDT
			organophosphorus (9)	0.04	chlorpyrifos
				0.06 – 0.24	diazinon
				0.04 – 0.10	EPN
				0.02 – 0.28	ethion
				0.13 – 0.44	omethoate
				0.11	profenofos
			carbamates (11)	0.19 – 0.44	carbaryl
				0.07 – 0.22	carbofuran
				0.03 – 0.08	fenobucarb
				0.11 – 0.17	metalaxyl
			triazines (75)	0.01 – 8.04	ametryn
				0.03 – 29.55	atrazine
				0.11	metribuzin
ตะกอน	99	22	organochlorines (8)	< 0.01 – 0.04	chlordane
				< 0.01	o,p′-DDT
				< 0.01	p,p′-DDE
				< 0.01	p,p′-DDT
			organophosphorus (1)	< 0.01	ethion
			triazines (16)	0.03 – 0.08	ametryn
				< 0.01 – 0.70	atrazine
พืชน้ำ	29	5	organochlorines (3)	< 0.01	dieldrin
				0.01 - 0.02	p,p′-DDT
			carbamates (1)	0.06	carbaryl
			triazines (1)	0.03	ametryn
สัตว์น้ำ	15	12	organochlorines (7)	< 0.01 – 0.04	endosulfan
			organophosphorus (2)	0.02 – 0.03	chlorpyrifos
			pyrethroids (6)	0.01 – 0.09	cypermethrin
			triazines (1)	0.09	ametryn

น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อลิตร (μg/L)

ตะกอน พืชน้ำ และสัตว์น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)

ตารางที่ 3. ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (Maximum Allowable Concentration, MAC) ในน้ำ (μg/L)

วัตถุมีพิษ	ประเทศ	ระดับที่กำหนด	เงื่อนไขเฉพาะ
endosulfan &	ออสเตรเลีย	40	น้ำดื่ม [2/]
metabolites	สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน	3.0	น้ำดื่ม [2/]
DDT & metabolites	ไทย	1.0 *	น้ำดื่ม [2/]
		1.0	น้ำอุปโภคและใช้เพื่อการเกษตร [4/]
	WHO	2.0	น้ำดื่ม [3/]
chlordane	WHO	0.2	น้ำดื่ม [3/]
	ออสเตรเลีย	6	น้ำดื่ม [2/]
	แคนาดา	7	น้ำดื่ม [2/]
	อังกฤษ	0.1	น้ำดื่ม [2/]
	สหรัฐอเมริกา	2	น้ำดื่ม [2/]
mevinphos	ออสเตรเลีย	6.0	น้ำดื่ม [2/]
profenofos	ออสเตรเลีย	0.6	น้ำดื่ม [2/]
methomyl	ออสเตรเลีย	60	น้ำดื่ม [2/]
	สหพันธ์สาธารณรัฐ	3	น้ำดื่ม [2/]
	เยอรมัน		
promecarb	ออสเตรเลีย	60	น้ำดื่ม [2/]
2,4-D	ไทย	100 *	น้ำดื่ม [1/]
	ออสเตรเลีย	100	น้ำดื่ม [2/]
	แคนาดา	100	น้ำดื่ม [2/]
	สหพันธ์สาธารณรัฐ	10	น้ำดื่ม [2/]
	เยอรมัน	1,000	น้ำดื่ม [2/]
	อังกฤษ	30	น้ำดื่ม [3/]
	WHO		
paraquat	อังกฤษ	10	น้ำดื่ม [2/]
	แคนาดา	10	น้ำดื่ม [2/]
	ออสเตรเลีย	40	น้ำดื่ม [2/]
atrazine	WHO	2	น้ำดื่ม [3/]
	สหรัฐอเมริกา	3	น้ำดื่ม [2/]
	แคนาดา	60	น้ำดื่ม [2/]
	สหพันธ์สาธารณรัฐ	3	น้ำดื่ม [2/]
	เยอรมัน	2	น้ำดื่ม [2/]
	อังกฤษ		
metribuzin	แคนาดา	80	น้ำดื่ม [2/]
	อังกฤษ	10	น้ำดื่ม [2/]
	ออสเตรเลีย	5	น้ำดื่ม [2/]

1/ : นิรนาม, 2536
2/ : Gustafson, 1993
3/ : WHO (องค์การอนามัยโลก), 1996, 1998
4/ : นิรนาม, 2537
* : ($\mu g/dm^3$)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอนในบริเวณลุ่มแม่น้ำป่าสักและคลองแยกต่างๆ พบสารพิษตกค้างส่วนใหญ่เป็นกลุ่มมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (POPs) แต่อยู่ในระดับต่ำ ไม่เกินค่ากำหนดที่ยอมให้มีได้ (MAC) ในน้ำและไม่อยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยค่า LC_{50} (96 hour) กำหนดไว้ในปลา golden orfe 2 ไมโครกรัมต่อลิตร (Anonymous, 1994) แต่อย่างไรก็ตามสารกลุ่ม POPs ที่ตรวจพบในปริมาณต่ำนี้ก็ยังคงทนอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นาน ส่งผลกระทบไปยังห่วงโซ่อาหารมนุษย์ในฐานะที่เป็นผู้บริโภคควรมีความระมัดระวังและพิจารณาที่จะบริโภคอาหารจากแหล่งเหล่านี้ ซึ่งเป็นเรื่องที่มีความจำเป็นที่จะต้องติดตามตรวจสอบการแพร่กระจาย และการสะสมของสารกลุ่มนี้อย่างต่อเนื่องต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นข้อมูลเพื่อเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์การใช้ การแพร่กระจาย และการสะสมของสารพิษการเกษตรในแหล่งแม่น้ำ และคลองแยกใกล้เคียง
2. เป็นข้อมูลในการติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของสารมลพิษตกค้างยาวนาน (POPs) ตามอนุสัญญาสตอกโฮล์ม
3. เกษตรกรและผู้อาศัยในเขตลุ่มแม่น้ำและคลองแยกที่เกี่ยวข้อง ได้ทราบข้อมูลการปนเปื้อน การแพร่กระจาย และการสะสมของสารพิษการเกษตร ทำให้เกิดความมั่นใจในการตัดสินใจที่จะใช้น้ำจากแหล่งดังกล่าวเพื่อการอุปโภคหรือบริโภค
4. ใช้ประกอบการพิจารณาการห้ามใช้ การยกเลิกการใช้สารพิษบางชนิด ในกรณีที่มีการตรวจพบสารพิษเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อมเกินค่ามาตรฐานที่กำหนด

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ 2547 Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) อนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน 99 หน้า

กรมควบคุมมลพิษ 2552 มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน

ปรีชา ฉัตรสันติประภา และพูลสุข หฤทัยธนาสันติ์ 2545 การแพร่กระจายของสารเอนโดซัลแฟนสู่แม่น้ำสาระสำคัญในเขตภาคกลาง เอกสารประกอบการประชุมวิชาการกองวัตถุมีพิษการเกษตร ครั้งที่ 4 หน้า 74-81.

พงศ์ศรี ใบอดุลย์ และพูลสุข หฤทัยธนาสันติ์ 2545 การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ในดินและน้ำ เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ กองวัตถุมีพิษการเกษตร ครั้งที่ 4 หน้า 240-246.

ภิญญา จุลินทร และคณะ 2545 การแพร่กระจายของวัตถุมีพิษจากแหล่งเกษตรกรรมลงสู่แม่น้ำสายหลักในประเทศไทย เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ กองวัตถุมีพิษการเกษตร ครั้งที่ 4 หน้า 55-63.

Anonymous 1994. The Agrochemical Handbook Third Edition. The Royal Society of Chemical, Cambridge, England.

Anonymous 1998. Guilines for Drinking Water Quality, Vol. I – Recommendation. World Health Organization.

Back C.A. 1965. “Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties”. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.

Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. AOAC Official Method 970.52, 1995.

Organochlorine Pesticides in Water, Gas Chromatographic Method. AOAC Official Method 990.06, 1999.

TNO 1993. Standard Operation Procedure, Zeist. The Netherlands

Steinwandter, H. 1985. Universal 5 min online Method for Extraction and Isolating Pesticide Residues and industrial Chemicals. Fresenius Z. Anal. Chem. 322: 752-754.

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำ โดยใช้ Gas Chromatograph

Method Validation of Pyrethroids in Water by Gas Chromatograph y

มลิสา เวชยานนท์ สิริพร เหลืองสุชนกุล

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำโดยใช้ Gas Chromatograph เป็นการตรวจสอบวิธีการทดสอบสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำที่ใช้ว่ามีความถูกต้องเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีทดสอบที่ดัดแปลงจาก AOAC,1993 ทำการทดสอบและประเมินผลจากการวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ได้แก่ range / linearity, accuracy, precision, LOD และ LOQ สารพิษที่ทำการทดสอบเป็นกลุ่มไพรีทรอยด์ จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate, lambda cyhalothrin และ permethrin ซึ่งจากการทดสอบค่าต่าง ๆ ตามข้อกำหนดได้ range ของวิธีทดสอบ อยู่ระหว่าง 0.05 – 5.60 ไมโครกรัมต่อลิตร และผลการทดสอบ linearity จากค่า correlation coefficient; r มีค่าระหว่าง 0.995 - 0.997 ผลการตรวจสอบ accuracy ประเมินผลจากเปอร์เซนต์ recovery พบว่าที่ความเข้มข้นระดับต่ำ 0.18 – 0.47 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่าระหว่าง 95 - 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นระดับกลาง 0.73 - 1.90 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่าระหว่าง 110 - 117 เปอร์เซนต์ และที่ความเข้มข้นระดับสูง 1.10 – 2.84 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่าระหว่าง 100 - 108 เปอร์เซนต์ การตรวจสอบ precision ประเมินจากเปอร์เซนต์ RSD ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง มีค่าระหว่าง 6.05 – 8.65, 4.76 – 10.19 และ 4.18 – 7.54 ตามลำดับ และเมื่อนำไปประเมิน HORRAT (Horwitz' s ratio) พบว่าทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นมีค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์กำหนด (Horwitz' s ratio < 2) และยอมรับได้ คือระหว่าง 0.14 – 0.36 ค่า LOD และ LOQ ของวิธีทดสอบมีค่า 0.002 - 0.02 และ 0.05 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากการประเมินผลการทดสอบโดยวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ เหล่านี้ พบว่าวิธีทดสอบนี้ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ยอมรับและนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับห้องปฏิบัติการได้

รหัส 05-01-53-02-01-01-01-53

คำนำ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบเป็นข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 สำหรับห้องปฏิบัติการทดสอบที่ต้องการขอการรับรองความสามารถสำหรับวิธีทดสอบนั้น ๆ โดยจะต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามข้อกำหนดต่าง ๆ ก่อนนำไปใช้เป็นวิธีทดสอบมาตรฐานของห้องปฏิบัติการต่อไป สำหรับห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรได้รับการรับรองความสามารถในรายการทดสอบสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography เมื่อวันที่ 3 ตุลาคม 2549 และมีนโยบายในการขยายขอบข่ายของวิธีทดสอบสำหรับขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการเพิ่มทุก ๆ ปี ทั้งนี้เพื่อให้ครอบคลุมรายการทดสอบให้มากที่สุดและทันต่อนวัตกรรมการผลิตสารพิษตัวใหม่ ๆ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษกลุ่มไพรีทรอดย์ในน้ำโดยใช้ Gas Chromatograph จึงเป็นการพิสูจน์วิธีการทดสอบที่ใช้ว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้และเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการทดสอบ โดยจัดทำเป็นรายงานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO/IEC 17025 สำหรับขยายขอบข่ายยื่นขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว
   - 1.1 เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัดได้แก่ separatory funnel พร้อมฝาจุกแก้ว/Teflon, beaker, cylinder, Erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, glass vial for Auto sampler, disposable pasture pipette และ glass funnel
   - 1.2 เครื่องแก้วที่ใช้เตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน และ calibration curve ได้แก่ volumetric pipette class A, volumetric flask class A
2. เคมีภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ
   - 2.1 สารเคมีชนิด analytical grade (AR) สำหรับใช้ในการสกัดตัวอย่าง ได้แก่
     - 2.1.1 hexane ยี่ห้อ J.T. Baker
     - 2.1.2 anhydrous sodium sulfate (anh. Na_2SO_4) ยี่ห้อ J.T.Baker ก่อนใช้นำไปเผาที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง นำมาใส่ใน dessicator ทิ้งไว้ไม่น้อยกว่า 6 ชั่วโมง ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง
   - 2.2 สารเคมีชนิด pesticide grade (PR) สำหรับใช้เตรียมสารละลายของสารมาตรฐานและปรับปริมาตรของตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องGas Chromatograph ได้แก่ iso octane และ hexane
   - 2.3 สารพิษมาตรฐานกลุ่มไพรีทรอยด์ pesticide grade ของ Dr. Ehrenstofer จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate, lambda cyhalothrin และ permethrin

3. วัสดุและเครื่องมือวิทยาศาสตร์ได้แก่ aluminum foil, filter paper No. 1 จุกยาง น้ำจากเขื่อนศรีนครินทร์สำหรับใช้เป็น sample blank เครื่องชั่งละเอียด 5 ตำแหน่ง เครื่องสกัดวัตถุมีพิษชนิด separatory funnel shaker เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator เครื่องลดปริมาตรชนิด nitrogen evaporator ตู้อบสารเคมี (digital oven) เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace) เครื่องทำสุญญากาศ (vacuum pump) ตู้ดูดความชื้น (desiccator) เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ของบริษัท Agilent Technology รุ่น HP 6890 พร้อมหัวตรวจวัดชนิด Electron Capture Detector (ECD)

วิธีการ

1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน เพื่อทำ calibration curve

1.1 เตรียม stock standard solution ของสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ 7 ชนิด ชั่งสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ แต่ละชนิดให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน อยู่ในช่วงประมาณ 10 มิลลิกรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติม iso-octane (PR) เพื่อละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ stock standard solution (sss) ที่มีความเข้มข้นประมาณ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.2 เตรียม intermediate standard solution ใช้ pipette ดูด stock standard solution แต่ละชนิด ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ intermediate standard solution ของสารมาตรฐานแต่ละชนิดมีความเข้มข้นประมาณ 50 - 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.3 เตรียม working standard solution ใช้ pipette ดูดสารละลาย intermediate standard solution ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด ใส่รวมใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ใบเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ mixed working standard solution ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงประมาณ 0.02 – 6.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. เตรียม fortified sample, sample blank และ reagent blank โดยตวงน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ใช้ pipette ดูดสารละลายของสารมาตรฐานผสมในช่วง working standard solution ความเข้มข้นขึ้นอยู่กับช่วงที่จะประเมินผลการทดสอบ ใส่ลงไปแล้วหมุนวนให้สารละลายของสารมาตรฐานผสมกับน้ำเป็นเนื้อเดียวกันตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที เตรียม sample blank เหมือนกับการเตรียม fortified sample แต่จะไม่เติมสารละลายของสารมาตรฐานลงในตัวอย่างน้ำที่ทดสอบ และเตรียม reagent blank จะใช้สารเคมีที่ใช้สกัดในปริมาตรเท่ากับที่ใช้ในการทดสอบเท่านั้น แล้วทำตามขั้นตอนของวิธีการสกัดตัวอย่าง

3. เตรียมเครื่อง Gas Chromatograph ควบคุมสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

mode : splitless

GC column : column DB 1 capillary, 30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness

temperature : injector = 230 °C, detector = 300 °C

oven program : 100 °C (1 min) $\xrightarrow{20\,^{\circ}C/min}$ 225 °C (2 min) $\xrightarrow{1\,^{\circ}C/min}$ 230 °C (3 min) $\xrightarrow{7\,^{\circ}C/min}$ 250 °C (5 min) $\xrightarrow{20\,^{\circ}C/min}$ 260 °C (8 min) $\xrightarrow{20\,^{\circ}C/min}$ 280 °C (2 min)

carrier gas : helium flow 1.4 ml/min

make up gas : nitrogen flow 60 ml/min

injection volume : 1 µl

4. วิธีการสกัดตัวอย่าง

ตวงน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel เติม hexane (AR) 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าโดยใช้ separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขชั้นล่างซึ่งเป็นชั้นน้ำเก็บไว้ใน Erlenmeyer flask ชั้นบนเป็นชั้นของ hexane กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 ที่บรรจุใน funnel รองด้วยกระดาษกรอง ลงใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เทน้ำจาก Erlenmeyer flask ใส่ใน separatory funnel ใบเดิม เติม hexane (AR) 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าโดยใช้ separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งไว้ให้แยกชั้น ไขชั้นน้ำเก็บไว้ใน Erlenmeyer flask ใบเดิม ชั้นบนกรองผ่าน anh. Na_2SO_4 เก็บรวมกับครั้งแรก ทำการสกัดซ้ำอีกครั้งด้วย hexane (AR) 50 มิลลิลิตร และเก็บสารละลายชั้นบนรวมกัน เมื่อกรองเสร็จแล้วกลั้ว (rinse) separatory funnel ด้วย hexane (AR) ประมาณ 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator จนเกือบแห้ง ล้าง (rinse) round bottom flask ด้วย hexane (PR) ครั้งละประมาณ 2 - 3 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer ให้ทั่ว ใช้ pasteur pipette ดูด hexane จากการ rinse แต่ละครั้ง เก็บใน graduated tube ขนาด 12 หรือ 15 มิลลิลิตร ลดปริมาตรด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรให้ได้ 1 มิลลิลิตร นำไป inject ด้วยเครื่อง GC หัวตรวจวัดชนิด Electron Capture Detector (ECD)

5. การทดสอบและประเมินจากการวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ

5.1 ตรวจสอบช่วงความเข้มข้น/ปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (range) และตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่าง response กับความเข้มข้น/ปริมาณของสารที่วิธีทดสอบสามารถจะตรวจวิเคราะห์ที่ให้ค่าเป็นสมการเส้นตรงได้ (linearity)

5.1.1 การหา range

ทดสอบ reagent blank และ fortified sample 7 ความเข้มข้น ๆ ละ 1 ซ้ำ ทำการสกัดตัวอย่างตามวิธีการสกัดในข้อ 4 นำค่าที่ได้ไป plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample (แกน X) กับ response (แกน Y) พิจารณายอมรับค่าความเข้มข้นที่อยู่ในช่วงที่เป็นเส้นตรง

5.1.2 การหา linearity

ทดสอบ reagent blank และ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range ของการทดสอบ 6 ความเข้มข้น ๆ ละ 3 ซ้ำ ทำการสกัดตัวอย่างตามวิธีการสกัดในข้อ 4 นำค่าที่ได้ไป plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample (แกน X) กับ response (แกน Y) คำนวณหา correlation coefficient (r), เกณฑ์การยอมรับ correlation coefficient ; $r \geq 0.995$

5.2 ประเมินค่าความใกล้เคียงกันระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่ศึกษากับค่าอ้างอิงจากตัวอย่าง (accuracy) ทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 3 ระดับความเข้มข้น (low, medium, high) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ทำการสกัดตามวิธีการในข้อ 4 หาค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบที่ลบค่า reagent blank ของ sample blank (X_1) และ fortified sample (X_2) นำไปประเมิน accuracy จากคำนวณค่าเปอร์เซนต์ recovery โดยใช้สูตรดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{X_2 - X_1}{C} \times 100$$

โดยที่ C = ปริมาณสารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่างมีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/ml)

กำหนดเกณฑ์การยอมรับเปอร์เซนต์ recovery โดยใช้เกณฑ์กำหนดของ AOAC peer-Verified Method Nov.1993 ที่ความเข้มข้นของ analyst ในตัวอย่าง 1 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 40 -120 เปอร์เซนต์

5.3 ประเมินค่าความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ (precision) ทดสอบ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 3 ระดับความความเข้มข้น (low, medium, high) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ ($\overline{X}$) และ SD ของผลการทดสอบ คำนวณ % RSD

จากสูตร $\% \text{ RSD} = \frac{SD}{\overline{X}} \times 100$

กำหนดเกณฑ์การยอมรับเปอร์เซนต์ RSD โดยใช้เกณฑ์กำหนดของ AOAC peer-Verified Method Nov.1993 มีค่าไม่เกิน 20 เปอร์เซนต์ ถ้าเปอร์เซนต์ RSD ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด สามารถประเมิน precision โดยใช้ HORRAT (Horwitz ' s ratio) จากสูตร

$$\text{HORRAT (Horwitz ' s ratio)} = \frac{\% \text{ RSD จากการทดลอง}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

Predicted Horwitz RSD คำนวณได้จาก Horwitz equation แบบ Repeatability (RSD_r)

$$RSD_r = 0.66 \times 2^{(1 - 0.5 \log C)}$$

โดยที่ C = Concentration ratio

กำหนดเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC ค่า HORRAT (Horwitz ' s ratio) < 2

5.4 หาค่าความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD)

ทดสอบ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 4 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 10 ซ้ำ คำนวณค่า SD ของผลการทดสอบแต่ละความเข้มข้น plot graph ระหว่างความเข้มข้น (แกน X) กับ SD (แกน Y) หาค่า So โดย extrapolate เส้นกราฟมาตัดแกน Y จะได้ LOD เท่ากับ 3So

5.5 หาค่าความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้อย่างถูกต้อง โดยมี accuracy และ precision ตามที่กำหนด (Limit of Quantitation, LOQ) คำนวณค่า predicted LOQ จากข้อ 5.4 โดย LOQ เท่ากับ 10So และเตรียม fortified sample ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า predicted LOQ (10So) ทดสอบfortified sample 10 ซ้ำ คำนวณค่า accuracy และ precision ต้องผ่านการประเมิน

accuracy และ precision ถ้าไม่ผ่านเกณฑ์จะต้อง fortified ความเข้มข้นในระดับที่สูงขึ้น และทำซ้ำตามขั้นตอนจนผ่านเกณฑ์การประเมินจึงจะยอมรับค่า LOQ

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2552 ถึง เดือนกันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการตรวจสอบและประเมินผลจากการวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำโดยใช้ Gas Chromatograph เมื่อพิจารณาตามเกณฑ์ที่กำหนดจากช่วงที่เป็นเส้นตรงจะได้ range สารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ ทั้ง 7 ชนิด คือ bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate, lambda cyhalothrin และ permethrin อยู่ในช่วง 0.05 – 1.90, 0.05 – 3.60, 0.05 – 5.60, 0.05 – 4.10, 0.05 – 2.70, 0.05 – 1.40 และ 0.05 – 3.50 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำไปตรวจสอบ linearity จะได้ค่า correlation coefficient; r เท่ากับอยู่ในช่วง 0.996, 0.996, 0.997, 0.995, 0.996, 0.995 และ 0.995 ตามลำดับ (ตารางที่ 1.)

ผลการประเมินค่าความใกล้เคียงกันระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่ศึกษากับค่าอ้างอิงจากตัวอย่าง (accuracy) จากค่าเปอร์เซนต์ recovery พบว่าที่ความเข้มข้นระดับต่ำ 0.18 – 0.47 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่า 95 – 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นระดับกลาง 0.73 – 1.90 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่า 110 -117 เปอร์เซ็นต์และที่ความเข้มข้นระดับสูง 1.10-2.84 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่า 100 - 108 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 2) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด (ภาคผนวก 1) และสามารถยอมรับได้

ผลการประเมินค่าความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ (precision) โดยการตรวจสอบ precision ประเมินจากค่าเปอร์เซนต์ RSD ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง มีค่า 6.05 – 8.65, 4.76 – 10.19 และ 4.18 – 7.54 ตามลำดับ และเมื่อนำไปประเมิน HORRAT (Horwitz' s ratio) พบว่าทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นของสารพิษแต่ละชนิดมีค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.14 – 0.36 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนด (Horwitz' s ratio < 2) และยอมรับได้ (ตารางที่ 3.)

ค่าความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD) ของสารพิษแต่ละชนิดโดยการ extrapolate (LOD = 3 S_0) มีค่า LOD ของสารพิษ bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate, lambda cyhalothrin และ permethrin เท่ากับ 0.010, 0.002, 0.003, 0.006, 0.020, 0.006 และ 0.010 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantitation, LOQ) ของสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ ทั้ง 7 ชนิด โดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า predicted 10 So และผ่านการประเมิน accuracy และ precision มีค่า LOQ เท่ากับ 0.05 ไมโครกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.)

ตารางที่ 1. ผลการตรวจสอบ range และ linearity ของวิธีทดสอบ

pesticide	range (μg/L)	linearity (correlation coefficient, r)
bifenthrin	0.05 – 1.90	0.996
cyfluthrin	0.05 – 3.60	0.996
cypermethrin	0.05 – 5.60	0.997
deltamethrin	0.05 – 4.10	0.995
fenvalerate	0.05 – 2.70	0.996
lambda cyhalothrin	0.05 – 1.40	0.995
permethrin	0.05 – 3.50	0.995

ตารางที่ 2. ผลการตรวจสอบ accuracy ประเมินจากเปอร์เซนต์ recovery

pesticide	% recovery		
	low 0.18 – 0.47 (μg/L)	medium 0.73 – 1.90 (μg/L)	high 1.10 -2.84 (μg/L)
bifenthrin	97.7	110.5	107.1
cyfluthrin	95.9	111.3	103.9
cypermethrin	95.2	110.9	100.5
deltamethrin	100.0	117.3	104.9
fenvalerate	99.4	114.6	108.9
lambda cyhalothrin	99.5	112.4	107.9
permethrin	99.9	110.9	105.2

ตารางที่ 3. ผลการตรวจสอบ precision ประเมินจาก % RSD และ HORRAT

pesticide	% RSD			HORRAT (Horwitz ' s ratio)		
	low 0.18 – 0.47 (μg/L)	medium 0.73 – 1.90 (μg/L)	high 1.10 -2.84 (μg/L)	low 0.18 – 0.47 (μg/L)	medium 0.73 – 1.90 (μg/L)	high 1.10 -2.84 (μg/L)
bifenthrin	7.00	4.76	4.18	0.18	0.15	0.14
cyfluthrin	6.94	5.13	6.76	0.21	0.19	0.27
cypermethrin	7.46	6.28	7.54	0.22	0.23	0.29
deltamethrin	6.23	10.19	7.19	0.18	0.36	0.27
fenvalerate	7.63	7.02	5.62	0.22	0.25	0.21
lambda cyhalothrin	8.65	5.98	6.27	0.22	0.19	0.22
permethrin	6.05	7.49	6.33	0.18	0.28	0.25

ตารางที่ 4. ผลการตรวจสอบ LOD และ LOQ ของวิธีทดสอบ

pesticide	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
bifenthrin	0.010	0.05
cyfluthrin	0.002	0.05
cypermethrin	0.003	0.05
deltamethrin	0.006	0.05
fenvalerate	0.020	0.05
lambda cyhalothrin	0.006	0.05
permethrin	0.010	0.05

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำโดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph สารพิษที่ทดสอบ จำนวน 7 ชนิด bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate, lambda cyhalothrin และ permethrin ผลการประเมินและตรวจสอบค่าต่าง ๆ ได้แก่ range/linearity, accuracy, precision, LOD และ LOQ อยู่ในเกณฑ์กำหนดและยอมรับได้ ซึ่งการประเมินผลการทดสอบจากการวิเคราะห์ค่าต่างๆ เหล่านี้ พบว่าวิธีทดสอบสารพิษวิธีนี้ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด และนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำสำหรับห้องปฏิบัติการได้

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำสำหรับห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
2. เป็นข้อมูลสนับสนุนการขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการในรายการทดสอบสารพิษกลุ่มไพรีทรอยด์ในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography

เอกสารอ้างอิง

กนกพร อธิสุข และ ทิพวรรณ นิ่งน้อย . 2547. Method Validation, เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สถาบันอาหาร. 2547. การตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีทดสอบทางเคมี, เอกสารประกอบการอบรมสัมมนาวิชาการด้านอุตสาหกรรมอาหาร.

ISO/IEC 17025, 1999. General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories.

The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, EURACHEM Guide, December 1998

ภาคผนวก 1

เกณฑ์การยอมรับ recovery ใช้เกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ AOAC Peer – Verified Method, Nov.1993

ความเข้มข้นของ analyte ในตัวอย่าง	recovery, %
100 %	98-102
10 %	98-102
1 %	97-103
0.10 %	95-105
100 ppm	90-107
10 ppm	80-110
1 ppm	80-110
100 ppb	80-110
10 ppb	60-115
1 ppb	40-120

ภาคผนวก 2

เกณฑ์การยอมรับ % RSD ใช้เกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ AOAC Peer-Verfied Method, Nov. 1993

ความเข้มข้นของ analyte ในตัวอย่าง	RSD, %
100 %	1.3
10 %	2.8
1 %	2.7
0.10 %	3.7
100 ppm	5.3
10 ppm	7.3
1 ppm	11
100 ppb	15
10 ppb	21
1 ppb	30

ศึกษาความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร cypermethrin ในแปลงปลูกคะน้า ต่อผู้ใช้และผู้บริโภค

Risk Assessment of Cypermethrin Used in Chinese Kale Plantation to Applicator and Consumer

ปรีชา ฉัตรสันติประภา สิริพร เหลืองสุชนกุล เอกราช สิทธิมงคล

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกายผู้ฉีดพ่นวัตถุมีพิษและพืชอาหาร เพื่อประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้ cypermethrin ในแปลงคะน้า โดยฉีดพ่นสารพิษ cypermethrin สูตร 35% W/V EC ในอัตรา 17 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ รวม 4 ครั้ง ตั้งแต่เริ่มปลูกต้นคะน้า จนถึงเวลาเก็บเกี่ยว ภายหลังการฉีดพ่นทุกครั้ง ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษ cypermethrin บนแผ่นผ้าที่ติดตามจุดต่างๆ บนร่างกายของผู้ฉีดพ่น และผู้ช่วยลากสายฉีดพ่น รวมทั้งน้ำล้างมือ-น้ำล้างเท้า และเสื้อ-กางเกงของทั้งผู้ฉีดพ่นและผู้ช่วยลากสายฉีดพ่นด้วย ผลการทดลองฉีดพ่นทั้ง 4 ครั้ง สรุปได้ว่าจุดบนร่างกายที่ผู้ฉีดพ่นมีโอกาสสัมผัสกับละอองวัตถุมีพิษมากที่สุดระหว่างการฉีดพ่นคือ บริเวณหน้าแข้งและต้นขาพบเฉลี่ย 215.66 และ 45.85 ไมโครกรัม/100 ตร.ซม. รองลงมาได้แก่ บ่า และข้อศอก ปริมาณที่พบเฉลี่ย 5.59 และ 4.93 ไมโครกรัม/100 ตร.ซม. ส่วนจมูก ศีรษะ หลัง และหน้าอก มีโอกาสสัมผัสกับละอองวัตถุมีพิษลดลงมาตามลำดับ ปริมาณที่พบเฉลี่ย 3.67, 3.48, 3.39 และ 2.46 ไมโครกรัม/100 ตร.ซม.ตามลำดับ สำหรับผู้ช่วยลากสายฉีดพ่นลักษณะการปนเปื้อนบนร่างกายก็สอดคล้องคล้ายกับของผู้ฉีดพ่น เพียงแต่ปริมาณการปนเปื้อนจะพบน้อยกว่า นอกจากนี้ ได้ศึกษาปริมาณการปนเปื้อนบนมือและเท้าของผู้ฉีดพ่นและผู้ช่วยลากสายฉีดพ่น พบการปนเปื้อนที่เท้าผู้ฉีดพ่นมากกว่าที่มือ และพบมากกว่าในผู้ช่วยลากสายฉีดพ่น และเมื่อนำข้อมูลทั้งหมดมาประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร ได้ค่า MOE มากกว่า 100 ซึ่งมีความหมายว่าการใช้วัตถุมีพิษ cypermethrin ฉีดพ่นในแปลงผักคะน้ายังไม่เกินค่าความเสี่ยงภัยที่จะก่อให้เกิดอันตรายต่อเกษตรกรผู้ฉีดพ่นและผู้ที่ปฏิบัติงานในแปลง ส่วนการศึกษาระยะเวลาการสลายตัวของสารพิษในผักคะน้า ที่ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังการฉีดพ่นพบว่า ช่วงที่เก็บยอดผักคะน้าขาย ตรวจพบสารพิษตกค้างที่ 0, 1, 3, 5 และ7 วัน ภายหลังการฉีดพ่น เฉลี่ย 5.11, 4.23, 2.18, 1.99 และ 1.31 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ และช่วงที่ตัดต้นคะน้าขาย ตรวจพบสารพิษตกค้างที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ภายหลังการฉีดพ่น เฉลี่ย 5.65, 3.57, 1.96, 1.49 และ 0.98 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังทำการตรวจน้ำล้างมือภายหลังการเก็บคะน้าที่ระยะเวลาต่างๆ ของผู้ที่เก็บต้นคะน้าด้วย พบว่าช่วงที่เก็บยอดผักคะน้าขาย ตรวจพบสารพิษตกค้างในน้ำล้างมือที่เก็บผักระยะ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ในปริมาณ 118.73, 27.00, 10.03, 5.19 และ 1.14 ไมโครกรัม และช่วงที่ตัดต้นคะน้าขาย ตรวจพบสารพิษตกค้างในน้ำล้างมือที่เก็บผักระยะ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ในปริมาณ 100.55, 15.05, 7.18, 5.76 และ 2.08 ไมโครกรัม ตามลำดับ

คำนำ

cypermethrin ซึ่งจัดอยู่ในสารกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ เป็นหนึ่งในวัตถุมีพิษการเกษตรหลายชนิดที่เกษตรกรนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแปลงคะน้า และพืชชนิดอื่นๆ อีกมากมาย ในปี 2552 ประเทศไทยมีการนำเข้าสารพิษ cypermethrin ในปริมาณ 750 ตัน คิดเป็นมูลค่า 240 ล้านบาท ซึ่งจัดอยู่ในลำดับที่ 7 ของปริมาณนำเข้าสูงสุดของสารกำจัดแมลง นับได้ว่าเกษตรกรเกือบทุกรายจะต้องมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดนี้ ถึงแม้ว่าสารพิษชนิดนี้จะมีความเป็นพิษจัดอยู่ในระดับปานกลาง (Moderately toxic, class II) และมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ แต่โอกาสที่ผู้ใช้สารพิษชนิดนี้จะสัมผัสกับสารพิษก็มีโอกาสสูงเช่นกัน ทั้งนี้เพราะต้นคะน้ามีความสูงอยู่ระหว่างหัวเข่าของผู้ฉีดพ่น และแปลงคะน้าก็อยู่กลางทุ่ง มีลมพัดตลอดเวลา ซึ่งโอกาสที่ผู้ฉีดพ่นจะสัมผัสกับละอองสารพิษก็ย่อมมีมากไปด้วย ดังนั้นการฉีดพ่น cypermethrin ในแปลงคะน้า นอกจากที่ละอองของสารพิษจะตกลงบนพืชที่เป็นเป้าหมายแล้ว สารพิษบางส่วนจะฟุ้งกระจายไปในอากาศ ตกลงบนพื้นดิน แหล่งน้ำ และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่ไม่ใช่เป้าหมายในการป้องกันกำจัด (non-target organism) รวมถึงตัวผู้ฉีดพ่นเองด้วย ซึ่งผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษชนิดนี้ในคะน้ายังไม่เคยมีการศึกษาถึงความเสี่ยงภัยมาก่อน กรมวิชาการเกษตรจึงได้กำหนดให้มีการเฝ้าระวัง ศึกษาหาข้อมูลการได้รับผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษชนิดนี้ เพื่อประเมินความเสี่ยงภัยที่จะเกิดขึ้น ทั้งนี้เพื่อการควบคุมสารพิษชนิดนี้ทางกฎหมาย ตลอดจนการขออนุญาตขึ้นทะเบียน การจำกัดการใช้หรือการห้ามใช้ต่อไป ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาการปนเปื้อนของสารพิษ cypermethrin บนร่างกายผู้ฉีดพ่น รวมถึงผู้ที่ปฏิบัติงานในแปลงคะน้า เพื่อที่จะใช้ประเมินความเสี่ยงภัยเนื่องจากการใช้ cypermethrin ในแปลงคะน้า และหาปริมาณสารพิษตกค้างปนเปื้อนในผักคะน้าที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตรใช้ประกอบการพิจารณาประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้สารพิษ cypermethrin ในแหล่งปลูกคะน้า สำหรับการขออนุญาตขึ้นทะเบียนในคราวต่อไป ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมอื่นๆ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนนักวิจัย นักวิชาการ และประชาชนทั่วไปที่สนใจเพื่อใช้เป็นข้อมูล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร พร้อมเข็มกลัดซ่อนปลาย
2. ขวดแก้วและฝาปิดสำหรับใส่แผ่นผ้า
3. วัสดุเครื่องแก้วและเคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ
4. เครื่องชั่งหยาบและเครื่องชั่งละเอียด (analytical balance)
5. เครื่องสกัดวัตถุมีพิษชนิด separatory funnel shaker
6. เครื่องเขย่า (reciprocal shaker)
7. เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator
8. เครื่องลดปริมาตรชนิด nitrogen evaporator

9. เครื่องมือวิทยาศาสตร์และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆ ได้แก่ ตู้อบสารเคมี (digital oven) เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace) เครื่องทำสุญญากาศ (vacuum pump) เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) และตู้ดูดความชื้น (desiccator)

10. เครื่อง Gas Chromatograph (GC) พร้อมหัวตรวจจับชนิด Electron Capture Detector (ECD)

11. สารมาตรฐานชนิดป้องกันกำจัดแมลง (insecticide standards) cypermethrin ความบริสุทธิ์สูง

12. ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดแมลงที่ใช้ในแปลงคะน้า กลุ่มไพรีทรอยด์

- cypermethrin สูตร 35% W/V EC ใช้อัตรา 17 ซีซี/น้ำ20 ลิตร

วิธีการ

เลือกแปลงทดลองของเกษตรกรที่ปลูกคะน้าเป็นการค้าและมีการใช้สารพิษ cypermethrin ในระหว่างการดูแลรักษา ได้แปลงคะน้าที่มีความเหมาะสมสำหรับการทดลองที่ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี เนื้อที่ขนาด 7 ไร่ ยกเป็นร่องสำหรับปลูกคะน้า 12 ร่อง แต่ละร่องมีขนาดกว้าง 3.0 เมตร และยาว 70 เมตร ทุกร่องจะมีคูน้ำกว้าง 2 เมตร คั่นไปทุกแปลง ในช่วงที่ดูแลรักษาเกษตรกรมีการฉีดพ่นสารพิษเพื่อกำจัดศัตรูพืชเป็นระยะๆ ทุก 7 วัน ทำการวางแผนการฉีดพ่นทั้งหมด 4 ครั้ง แต่ละครั้งใช้เวลาฉีดพ่นตั้งแต่ 50 นาที ถึง 1 ชั่วโมง 10 นาที โดยผู้ที่ทำการฉีดพ่นและผู้ที่ลากสายฉีดพ่น จะติดแผ่นผ้าไว้ตามจุดต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ หมวก จมูก บ่า หน้าอก (นอก-ใน) หลัง(นอก-ใน) ข้อศอก ต้นขา และหน้าแข้ง (นอก-ใน) เพื่อเป็นการตรวจวัดปริมาณสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษตามจุดต่างๆ บนร่างกายของผู้ปฏิบัติงานภายหลังการฉีดพ่นวัตถุมีพิษว่ามีปนเปื้อนอยู่ตามจุดต่างๆ ในปริมาณเท่าใด และทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างบนเสื้อผ้าของผู้ปฏิบัติงาน รวมทั้งน้ำล้างมือและน้ำล้างเท้าภายหลังการฉีดพ่นแต่ละครั้งด้วย นอกจากนี้ยังเก็บตัวอย่างต้นคะน้าในช่วงเวลาเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังการฉีดพ่นแต่ละครั้ง รวมทั้งน้ำล้างมือของเกษตรกรภายหลังการเก็บคะน้าทุกครั้ง เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างในต้นคะน้า และที่สัมผัสติดมือมาในขณะที่เก็บเกี่ยวต้นคะน้า

การเตรียมตัวอย่าง

<u>ตัวอย่างน้ำ</u> : โดยทั่วไปถ้าน้ำมีลักษณะใส สามารถนำมาสกัดได้ทันที แต่ถ้ามีความขุ่นหรือสกปรกมากให้กรองด้วย Glass wool จนได้สารละลายใส

<u>ตัวอย่างแผ่นผ้า</u> : นำแผ่นผ้าที่เก็บจากแต่ละส่วนของร่างกายทั้งผู้ฉีดพ่นและผู้ลากสายยาง ใส่ในขวด Erlenmeyer flask ที่มีฝาปิดสนิทกันความชื้น

<u>ตัวอย่างผักคะน้า</u> : สุ่มหั่นผักคะน้าให้เป็นชิ้นเล็กๆ ถ่ายใส่เครื่องปั่นละเอียด สุ่มชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ขวดที่มีฝาปิดแน่น

ตัวอย่างทั้งหมดถ้ายังไม่วิเคราะห์ในทันที ต้องเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษ และเมื่อจะนำออกมาตรวจวิเคราะห์ต้องตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ รอจนถึงอุณหภูมิห้อง

การตรวจวิเคราะห์ cypermethrin ในน้ำ แผ่นผ้า และต้นคะน้า

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและแผ่นผ้า : ใช้วิธีของ TNO (The Netherlands), 1993. และ In-house method, 2004.

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ : ตวงน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมสารละลาย hexane 100 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker ที่ความเร็วรอบ 75 รอบ/นาที นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายแยกชั้น ไขชั้นน้ำที่อยู่ชั้นล่างลงใน beaker ขนาด 1,000 มิลลิลิตร สารละลายชั้นบนซึ่งเป็นของชั้น hexane ไขผ่าน anhydrous Na_2SO_4 แล้วสกัดชั้นน้ำซ้ำด้วย hexane 50 มิลลิลิตร อีก 2 ครั้ง นานครั้งละ 3 นาที กรองสารละลายผ่าน anhydrous Na_2SO_4 นำสารละลายที่กรองได้ทั้งหมดมาลดปริมาตรและปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatograph (GLC) ใช้หัวตรวจจับชนิด Electron capture detector (ECD)

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างแผ่นผ้า : นำแผ่นผ้าใส่ในขวด Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย hexane 100 มิลลิลิตร ปิดด้วย aluminum foil และปิดฝาขวด นำไปเขย่าเบาๆ ด้วยเครื่อง shaker นาน 15 นาที กรองสารละลายผ่าน anhydrous Na_2SO_4 เพื่อดูดความชื้น แล้วสกัดตัวอย่างแผ่นผ้าซ้ำด้วย hexane 50 มิลลิลิตร อีก 2 ครั้ง นานครั้งละ 15 นาที กรองผ่าน anhydrous Na_2SO_4 นำสารละลายที่กรองได้ทั้งหมดมาลดปริมาตรและปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatograph (GLC) ใช้หัวตรวจจับชนิด Electron capture detector (ECD)

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผักคะน้า : ใช้วิธีของ Steinwandter H. 1985. วิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง GC/ECD

ระยะเวลา เริ่มดำเนินการทดลอง เดือนตุลาคม 2552 และสิ้นสุดการทดลอง เดือนกันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง แปลงคะน้าของเกษตรกรที่ ต.บางตาเถร อ. สองพี่น้อง จ. สุพรรณบุรี และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง cypermethrin บนแผ่นผ้าที่ติดอยู่ตามส่วนต่างๆของร่างกายผู้ฉีดพ่นและผู้ลากสายฉีดพ่น พบว่ามีการปนเปื้อนบนแผ่นผ้าที่ติดตามร่างกายทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 1) แต่จุดบนร่างกายที่ผู้ฉีดพ่นมีโอกาสสัมผัสกับละอองวัตถุมีพิษมากที่สุดระหว่างการฉีดพ่นคือ บริเวณหน้าแข้งและต้นขาพบเฉลี่ย 215.66 และ 45.85 ไมโครกรัม/100ตร.ซม. ทั้งนี้เป็นเพราะว่าต้นคะน้าอยู่ในระดับหน้าแข้งของผู้ฉีดพ่น เมื่อทำการฉีดละอองวัตถุมีพิษจะฟุ้งกระจายไปทั่วบริเวณในระดับความสูงของต้นคะน้า และเมื่อผู้ฉีดพ่นเดินผ่าน บริเวณระดับหน้าแข้งจึงมีโอกาสสัมผัสกับวัตถุมีพิษได้มากกว่าที่อื่น ดังนั้นวัตถุมีพิษจึงมีโอกาสสัมผัสกับส่วนล่างของร่างกายมากกว่าส่วนบน รองลงมาได้แก่ บ่า และข้อศอก ปริมาณที่พบเฉลี่ย 5.59, และ 4.93 ไมโครกรัม/100ตร.ซม. ส่วนจมูก ศีรษะ หลัง และหน้าอก มีโอกาสสัมผัสกับละอองวัตถุมีพิษลดลงมาตามลำดับ ปริมาณที่พบเฉลี่ย 3.67, 3.48, 3.39 และ 2.46 ไมโครกรัม/100 ตร.ซม.

ตามลำดับ สำหรับผู้ช่วยลากสายฉีดพ่น ลักษณะการปนเปื้อนตามจุดต่างๆบนร่างกายก็สอดคล้องคล้ายกับของผู้ฉีดพ่น เพียงแต่ปริมาณการปนเปื้อนจะพบน้อยกว่า ทั้งนี้เพราะผู้ลากสายจะอยู่ห่างจากผู้ฉีดพ่นประมาณ 5-50 เมตร และเมื่อมีลมพัด ส่วนของร่างกายที่มีโอกาสจะสัมผัสกับละอองของวัตถุมีพิษได้สูง คือที่บริเวณบ่า ปริมาณที่พบเฉลี่ย 2.45 ไมโครกรัม/100 ตร.ซม. รองลงมาได้แก่ ศีรษะ และหน้าแข้ง พบเฉลี่ย 0.99 และ 0.98 ไมโครกรัม/100 ตร.ซม. ส่วนข้อศอก จมูก และต้นขา ปริมาณที่พบเฉลี่ย 0.89, 0.88 และ 0.77 ไมโครกรัม/100 ตร.ซม. ตามลำดับ ที่บริเวณหลังและอก พบการปนเปื้อนน้อยสุดเช่นเดียวกับผู้ฉีดพ่น ปริมาณที่พบเฉลี่ย 0.66 และ 0.63 ไมโครกรัม/100 ตร.ซม. ตามลำดับ

ตารางที่ 1. ปริมาณค่าเฉลี่ย cypermethrin บนแผ่นผ้าที่ติดบนร่างกายผู้ฉีดพ่นและผู้ช่วยลากสายยาง (ไมโครกรัม/100 ตร.ซม.)

บริเวณปนเปื้อน	ผู้ฉีดพ่น	ผู้ช่วยลากสายฉีดพ่น
1. หน้าแข้ง	215.66	0.98
2. ต้นขา	45.85	0.77
3.บ่า	5.59	2.45
4. ข้อศอก	4.93	0.89
5. จมูก	3.67	0.88
6. หมวก(ศีรษะ)	3.48	0.99
7. หลัง	3.39	0.66
8. อก	2.46	0.63

สาเหตุที่ปริมาณการปนเปื้อนที่บ่าของผู้ลากสายฉีดพ่นพบมากกว่าที่บริเวณอื่นๆ อาจเนื่องจากว่าละอองวัตถุมีพิษที่ฟุ้งกระจายอยู่ในอากาศ เมื่อถูกลมพัดจะลอยมาตั้งแต่ระดับยอดต้นคะน้าขึ้นมา ซึ่งก็อยู่ประมาณระดับเอวขึ้นมาของผู้ลากสายฉีดพ่น โอกาสที่ส่วนบนของร่างกายจะสัมผัสกับสารพิษจึงมีมากไปด้วย และวัตถุมีพิษบางส่วนที่ตกลงบนต้นคะน้าและต้นหญ้า เมื่อผู้ลากสายฉีดพ่นเดินตามมา บริเวณหน้าแข้งและต้นขาซึ่งมีความสูงพอดีกับระดับของต้นคะน้าและต้นหญ้า จึงมีโอกาสสัมผัสกับสารพิษมากน้อยลดหลั่นลงมาตามลำดับ ส่วนน้ำล้างมือและน้ำล้างเท้าภายหลังการฉีดพ่นของผู้ฉีดพ่นพบปริมาณสารพิษ cypermethrin ในปริมาณเฉลี่ย 123.06 และ 421.33 ไมโครกรัม/ลิตร ซึ่งพบมากกว่าในน้ำล้างมือและน้ำล้างเท้าของผู้ช่วยลากสายฉีดพ่นที่พบเฉลี่ย 1.92 และ 7.68 ไมโครกรัม/ลิตร และพบในน้ำล้างเท้ามากกว่าในน้ำล้างมือ (ตารางที่ 2.)

ตารางที่ 2. ปริมาณค่าเฉลี่ย cypermethrin ในน้ำล้างมือและน้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่นและผู้ช่วยลากสายภายหลังการฉีดพ่น (ไมโครกรัม/ลิตร)

เกษตรกร / ครั้งที่ฉีดพ่น	ผู้ฉีดพ่น		ผู้ช่วยลากสายฉีดพ่น	
	น้ำล้างมือ	น้ำล้างเท้า	น้ำล้างมือ	น้ำล้างเท้า
ครั้งที่ 1	31.72	233.42	1.44	4.06
ครั้งที่ 2	172.23	548.10	0.78	1.16
ครั้งที่ 3	136.63	544.57	0.87	1.08
ครั้งที่ 4	151.65	359.22	4.59	24.42
เฉลี่ย	**123.06**	**421.33**	**1.92**	**7.68**

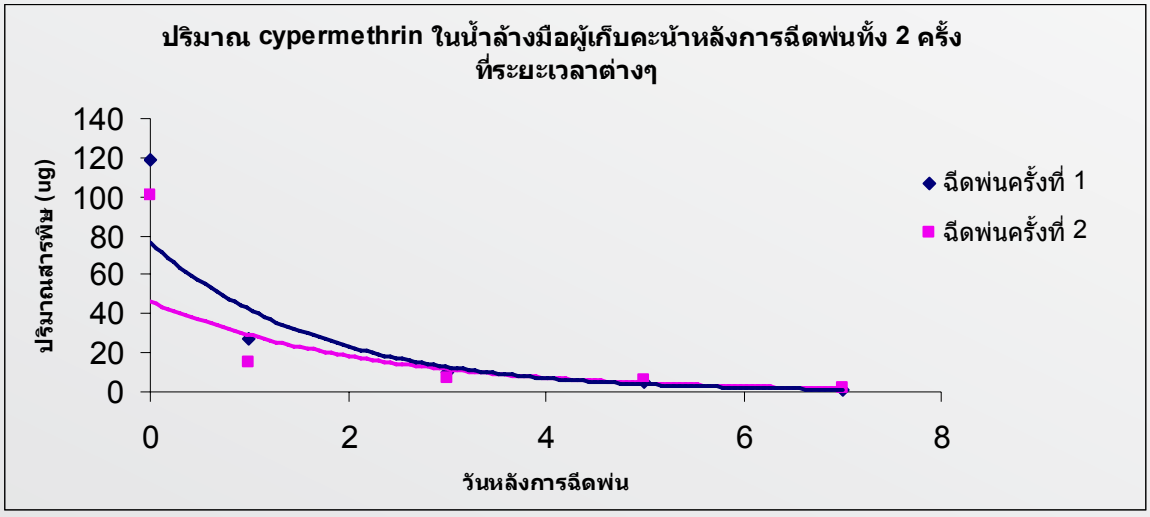
ส่วนชุดที่ใช้สวมใส่ในระหว่างที่ทำการฉีดพ่น พบว่าชุดเสื้อผ้าของผู้ฉีดพ่นมีปริมาณ cypermethrin ตกค้างมากกว่าชุดเสื้อผ้าของผู้ลากสายฉีดพ่น และจะพบตกค้างที่กางเกงมากกว่าที่เสื้อ สำหรับชุดเสื้อผ้าผู้ลากสายฉีดพ่นจะพบปริมาณ cypermethrin ตกค้างที่เสื้อมากกว่าที่กางเกง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะผู้ลากสายอยู่ห่างจากผู้ฉีดพ่น ละอองวัตถุมีพิษที่ฟุ้งกระจายอยู่ในอากาศ เมื่อมีลมพัดส่วนบนของร่างกายจึงมีโอกาสสัมผัสกับละอองวัตถุมีพิษมากกว่าส่วนล่างของร่างกาย (ตารางที่ 3.)

ตารางที่ 3. ปริมาณค่าเฉลี่ย cypermethrin บนเสื้อ-กางเกงของผู้ฉีดพ่นและผู้ช่วยลากสายฉีดพ่น (ไมโครกรัม)

เกษตรกร / ครั้งที่ฉีดพ่น	ผู้ฉีดพ่น		ผู้ช่วยลากสายฉีดพ่น	
	เสื้อ	กางเกง	เสื้อ	กางเกง
ครั้งที่ 1	52.01	552.43	28.56	19.36
ครั้งที่ 2	99.93	2347.9	32.46	22.22
ครั้งที่ 3	175.99	3481.64	47.83	14.44
ครั้งที่ 4	179.56	2054.68	26.93	32.66
เฉลี่ย	**126.87**	**2109.16**	**33.95**	**22.17**

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาปริมาณการปนเปื้อนสารพิษบนมือของผู้เก็บคะน้าหลังการฉีดพ่นที่เก็บในระยะช่วงถอนแยก เพื่อขายเป็นยอดคะน้า และเก็บในระยะที่ตัดต้นคะน้าขาย พบการปนเปื้อนที่มือในปริมาณที่ค่อนข้างมาก โดยช่วงที่เก็บคะน้าในระยะช่วงถอนแยก พบสารพิษตกค้างในน้ำล้างมือในปริมาณ 118.73 ไมโครกรัม ในวันแรกที่ฉีดพ่น ซึ่งปริมาณสารพิษจะลดลงอย่างรวดเร็วในวันต่อมาเหลือ 27.00 ไมโครกรัม จนถึงวันที่ 3 ตรวจพบเหลือ 10.00 ไมโครกรัม และจะลดลงมาเรื่อยๆ อย่างช้าๆ จนเหลือ 5.19 และ 1.14 ไมโครกรัม ที่ 5 และ 7 วัน หลังการฉีดพ่นตามลำดับ ส่วนช่วงที่ตัดต้นคะน้าขาย พบการปนเปื้อนที่มือผู้เก็บต้นคะน้า ที่ 0 วัน หลังการฉีดพ่นในปริมาณ 100.55 ไมโครกรัม และที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน หลังการฉีดพ่น

พบ 15.05, 7.18, 5.76 และ 2.08 ไมโครกรัม ตามลำดับ ซึ่งพบในปริมาณที่ใกล้เคียงกับช่วงแรก และอัตราการสลายตัวก็ใกล้เคียงเช่นกัน (ดังแสดงในภาพที่ 1)



ภาพที่ 1. ปริมาณ cypermethrin ในน้ำล้างมือผู้เก็บคะน้าหลังการฉีดพ่นทั้ง 2 ครั้ง ที่ระยะเวลาต่างๆ

ซึ่งเมื่อนำข้อมูลทั้งหมดมาประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร จะได้ค่า MOE มากกว่า 100 (ตารางที่ 4. และ 5.) ซึ่งมีความหมายว่าการใช้สารพิษ cypermethrin ฉีดพ่นในแปลงคะน้าเกษตรกรมีโอกาสที่จะสัมผัสกับวัตถุมีพิษ แต่ปริมาณที่ได้รับยังไม่เกินค่าความเสี่ยงภัยที่จะเกิดอันตรายต่อเกษตรกรผู้ฉีดพ่นและผู้ที่ปฏิบัติงานในแปลงคะน้า

ตารางที่ 4. ปริมาณการได้รับ cypermethrin เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่น และระดับความเสี่ยงภัย

การฉีดพ่น ครั้งที่	Cypermethrin mg/kg.bw.	NOAEL mg/kg	MOE	ระดับความเสี่ยง
1	0.018464	7.5	406.19	ต่ำ
2	0.023492	7.5	319.26	ต่ำ
3	0.037879	7.5	197.99	ต่ำ
4	0.055737	7.5	134.56	ต่ำ

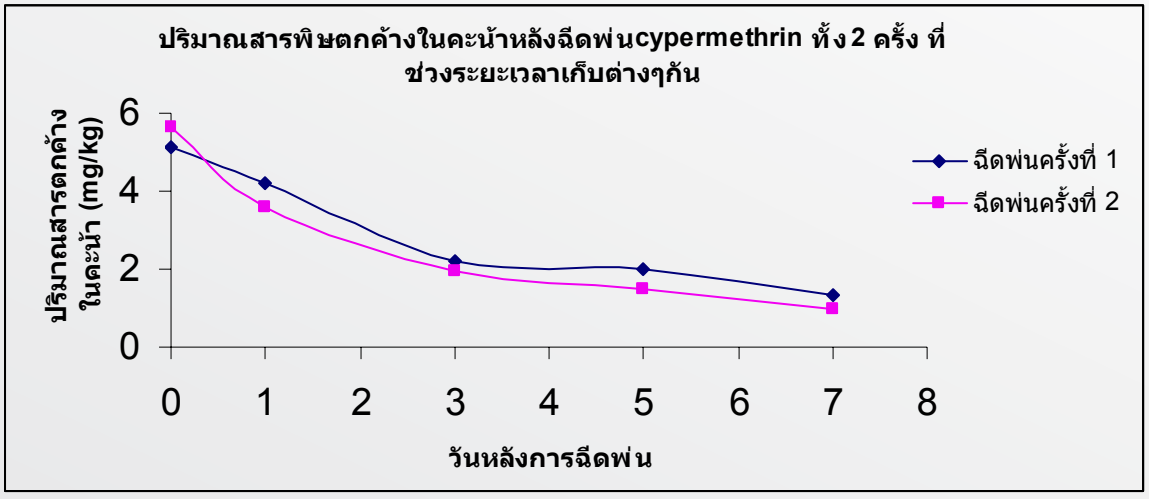
ตารางที่ 5. ปริมาณการได้รับ cypermethrin เข้าสู่ร่างกายของผู้ลากสายฉีดพ่น และระดับความเสี่ยงภัย

การฉีดพ่น ครั้งที่	Cypermethrin mg/kg.bw.	NOAEL mg/kg	MOE	ระดับความเสี่ยง
1	0.001617	7.5	4638.22	ต่ำ
2	0.001682	7.5	4458.96	ต่ำ
3	0.001244	7.5	6028.94	ต่ำ
4	0.001214	7.5	6177.92	ต่ำ

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาระยะเวลาการสลายตัวของสารพิษในผักคะน้า ภายหลังการฉีดพ่นที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่า ช่วงที่เก็บยอดผักคะน้าขาย ตรวจพบสารพิษตกค้างที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ภายหลังการฉีดพ่น เฉลี่ย 5.11, 4.23, 2.18, 1.99 และ1.31 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตามลำดับ และช่วงที่ตัดต้นคะน้าขาย ตรวจพบสารพิษตกค้างที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ภายหลังการฉีดพ่น เฉลี่ย 5.65, 3.57, 1.96, 1.49 และ 0.98 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และภาพที่ 2) นอกจากนี้ยังทำการตรวจน้ำล้างมือภายหลังการเก็บคะน้าที่ระยะเวลาต่างๆ ของผู้ที่เก็บต้นคะน้าด้วย พบว่าช่วงที่เก็บยอดผักคะน้าขาย ตรวจพบสารพิษตกค้างในน้ำล้างมือที่เก็บผักระยะ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ในปริมาณ 118.73, 27.00, 10.03, 5.19 และ 1.14 ไมโครกรัม และช่วงที่ตัดต้นคะน้าขาย ตรวจพบสารพิษตกค้างในน้ำล้างมือที่เก็บผักระยะ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ในปริมาณ 100.55, 15.05, 7.18, 5.76 และ 2.08 ไมโครกรัมตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6. ปริมาณสารพิษ cypermethrin ตกค้างในคะน้าที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ

วันหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย	ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (mg/kg)		ช่วงปริมาณสารพิษต่ำสุด-สูงสุด (mg/kg)
	เก็บผักครั้งที่ 1	เก็บผักครั้งที่ 2	
0	5.11	5.65	4.29 – 7.15
1	4.23	3.57	2.76 – 5.78
3	2.18	1.96	1.59 – 3.02
5	1.99	1.49	1.11 – 2.61
7	1.31	0.98	0.74 – 1.44



ภาพที่ 2. ปริมาณสารพิษตกค้างในคะน้าหลังการฉีดพ่น cypermethrin ทั้ง 2 ครั้ง ที่ช่วงระยะเวลาเก็บต่างๆ กัน

ตารางที่ 7. ปริมาณ cypermethrin จากน้ำล้างมือผู้เก็บคะน้าที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการฉีดพ่น ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

ปริมาณ cypermethrin จากน้ำล้างมือผู้เก็บคะน้าที่ระยะเวลาต่างๆ หลังฉีดพ่น (µg/l)					
ครั้งที่ฉีดพ่น	0 วัน	1 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน
1	118.73	27.00	10.03	5.19	1.14
2	100.55	15.05	7.18	5.76	2.08

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้ cypermethrin ในแปลงคะน้า พอสรุปได้ว่าการใช้สารพิษชนิดนี้ฉีดพ่นในแปลงคะน้ามีความเสี่ยงภัยต่อผู้ฉีดพ่นน้อย และต่อผู้ร่วมปฏิบัติงานน้อยมาก กล่าวคือเกษตรกรผู้ที่ปฏิบัติงานในแปลงมีโอกาสที่จะสัมผัสกับละอองของวัตถุมีพิษที่ใช้ แต่ปริมาณที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายยังไม่เกินค่าความเสี่ยงภัยที่จะเกิดอันตรายต่อเกษตรกรผู้ฉีดพ่นและผู้ที่ปฏิบัติงานในแปลง แต่อย่างไรก็ตามเกษตรกรผู้ปฏิบัติงานในแปลงคะน้าระหว่างที่ฉีดพ่นวัตถุมีพิษ ควรจะระมัดระวังหลีกเลี่ยงการสัมผัสหรือรับละอองวัตถุมีพิษในระหว่างที่ทำการฉีดพ่น ตลอดจนเสื้อผ้าที่สวมใส่ต้องปกปิดร่างกายให้มิดชิด และต้องใช้อุปกรณ์และเครื่องป้องกันตัวอย่างเต็มที่ ทั้งนี้เพราะถึงแม้ว่าวัตถุมีพิษชนิดนี้จะมีความเสี่ยงภัยต่อผู้ฉีดพ่นน้อย แต่ในการฉีดพ่นแต่ละครั้ง เกษตรกรนิยมใช้วัตถุมีพิษหลายชนิดรวมกันในคราวเดียวกัน ซึ่งเป็นผลให้เกษตรกรมีโอกาสรับสารพิษชนิดอื่นเพิ่มมากขึ้นอีกหลายเท่า และการที่เกษตรกรได้รับหรือสัมผัสกับสารพิษชนิดนี้บ่อยๆ ย่อมไม่สมควร เนื่องจากมีการศึกษาที่แสดงว่าสารพิษ cypermethrin อาจก่อให้เกิดความผิดปกติต่อตัวอ่อน ทำลายระบบต่อมไร้ท่อ การสร้างภูมิคุ้มกัน และระบบประสาท นอกจากนี้บางรายงานยังกล่าวว่าสารพิษ cypermethrin อาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง

(Richard A Brain *et al*, 2005.) ดังนั้นเกษตรกรจึงควรที่จะใช้สารพิษชนิดนี้อย่างระมัดระวัง โดยใช้ให้น้อยครั้งที่สุดเท่าที่จำเป็น และเมื่อจำเป็นต้องใช้วัตถุมีพิษทุกครั้ง ควรจะมีการป้องกันการที่จะได้รับสารพิษเป็นอย่างดี หรืออาจใช้วิธีเกษตรผสมผสานร่วมกับการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ หรือใช้สารชีวินทรีย์ร่วมด้วย สำหรับการศึกษาระยะเวลาการสลายตัวในต้นคะน้า พบว่าที่ 7 วัน หลังการฉีดพ่น ยังคงตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างในต้นคะน้ามากเกินกว่าค่า MRLs ดังนั้น เกษตรกรควรจะเว้นระยะเวลาการเก็บเกี่ยวภายหลังการฉีดพ่นให้นานกว่า 7 วัน หรือใช้ปริมาณวัตถุมีพิษที่ใช้ในการฉีดพ่นให้น้อยลง และลดจำนวนครั้งที่ฉีดพ่นให้น้อยครั้งลงไปด้วย หรือใช้สารสกัดจากพืชธรรมชาติ ร่วมกับการใช้สารชีวินทรีย์ควบคู่กันไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงภัยมาใช้แนะนำเกษตรกร และเป็นข้อมูลสำหรับเกษตรกรในการใช้สารพิษ ให้เป็นไปอย่างระมัดระวังและถูกต้อง เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ตลอดจนสิ่งแวดล้อม
2. เป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตร ใช้พิจารณาประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้สารพิษ cypermethrin เพื่อใช้ประกอบการขอขึ้นทะเบียน หรือการห้ามใช้
3. เผยแพร่ข้อมูลที่ได้สู่สาธารณชน และหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนผู้ที่สนใจทั่วไป
4. เพื่อการบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษทางการเกษตรที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงภัยสูง ตามภารกิจของกรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2552. ฐานข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ของปริมาณอาหารที่คนไทยบริโภคและการนำไปใช้ประโยชน์ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ.

กรมวิชาการเกษตร. 2552. สรุปผลการปฏิบัติงานวิจัยและวิเคราะห์บริการประจำปี 2550–2551. กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 66 หน้า.

กองจัดการสารอันตรายจากกากของเสีย, 2536. ค่ามาตรฐานความปลอดภัยของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ในสิ่งแวดล้อม ฝ่ายสารอันตรายจากเกษตรกรรม กรมควบคุมมลพิษ, 31 หน้า

ปรีชา ฉัตรสันติประภา ภิญญา จุลินทร และ ณัฏฐ์ชยธร ขัตติยะพุฒิเมธ, 2552. ปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกายผู้ฉีดพ่นวัตถุมีพิษในแหล่งปลูกพริก: cypermethrin ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2552. เล่มที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 297-308

Hadfield ST, Sadler JK, Bolygo E, Hill S, hill IR. 1993. Pyrethroid residues in sediment and water samples from mesocosm and farm pond studies of simulated accidental aquatic exposure. *Pesticide Science* 38:283-294.

In-house method, 2004. Determination residues of pyrethroid in soil and water. Agricultural Production Science Research and Development Office, Department of Agriculture.

Kaufman D, Russell BA, Helling CS, Kayser AJ. 1981. Movement of cypermethrin, decamethrin, permethrin, and their degradation products in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29:239-245.

Lutnicka H, Bogacka T, Wolska L. 1999. Degradation of pyrethroid in an aquatic ecosystem model. *Water Residue* 33:3441-3446.

Richard A Brain, Angus N Crossan, Lesbia Smith and Keith R Solomon, 2005. The Toxicology of Substances Used in the Production and Refining of Cocaine and Heroin: A Tier- Two Hazard Assessment. (Appendices 6) CICAD OAS Washington, DC, USA. 481 p.

Steinwandter H. 1985. Universal 5 min on-line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residue and Industrail Chemicals. Fresenius Z. Anal. Chem. No. 1155.

TNO Standard Method, 1996. TNO Nutrition and Food Research Institute. The Netherlands.

USEPA. 1988. Pesticide Fact Sheet Number 199: Cypermethrin. Washington, DC, USA: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances.

Wauchope RD, Buttler TM, Hornsby AG, Augustijn-Beckers PW, Burt JP. 1992. Pesticides properties database for environmental decision making, *Review of Environmental Contamination and Toxicology* 123:1-157.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของโอเมทโธเอท (omethoate) ในถั่วเหลืองฝักสด เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRLs) ครั้งที่ 1 และ 2

Pesticide Residue Trial of Omethoate in Vegetable Soybean to Establish Maximum Residue Limit (MRLs) Trial 1 and 2

วิสุทธิ เชวงศรี ลมัย ชูเกียรติวัฒนา ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร ชนิตา ทองแซม

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของโอเมทโธเอทในถั่วเหลืองฝักสดเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง การทดลองครั้งที่ 1 ทำแปลงทดลองในแปลงถั่วเหลืองฝักสดของเกษตรกรที่อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ระหว่างเดือน ธันวาคม 2552 - มีนาคม 2553 การทดลองครั้งที่ 2 ทำแปลงทดลองที่อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน – สิงหาคม 2553 การทดลองเป็น Supervised trial มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี คือ ระยะเวลา สุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารพิษตกค้างหลังการพ่นครั้งสุดท้ายที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน การทดลองแบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย คือ แปลงควบคุม (ไม่พ่นสาร) และแปลงที่พ่น โอเมทโธเอท (Delegate) 50 % w/v SL อัตราแนะนำ 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และใช้น้ำ 100 ลิตร/ไร่ การทดลองครั้งที่ 1 และ 2 มีสารออกฤทธิ์ 102 และ 128 กรัมออกฤทธิ์ต่อไร่ สำหรับการพ่นใช้เครื่องแบบสูบโยกสะพายหลัง โดยพ่นทุกๆ 7 วัน รวม 3 ครั้ง ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ตามลำดับมีดังนี้ การทดลองครั้งที่ 1 พบสารพิษตกค้างเฉลี่ย 1.77, 0.77, 1.41, 0.54, 0.41, 0.30 และ 0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และการทดลองครั้งที่ 2 พบสารพิษตกค้างเฉลี่ย 3.49, 0.99, 0.56, 0.20, 0.10, 0.16 และ 0.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างจากการทดลองทั้ง 2 ครั้ง และการวิเคราะห์สารพิษตกค้างจากการสุ่มตัวอย่างจากแหล่งจำหน่ายจำนวน 20 ตัวอย่าง ปรากฏว่า ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ออร์กาโนคลอรีน และไพรีทรอยด์ ในทุกตัวอย่าง

คำนำ

ถั่วเหลืองฝักสดเป็นพืชอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง นอกจากนี้ยังมีสาร Isoflavones (phytoestrogen) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งเต้านมและมะเร็งต่อมลูกหมาก ซึ่งคนไทยเริ่มนิยมการบริโภคมากขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นพืชส่งออกที่สำคัญชนิดหนึ่ง โดยมีปริมาณการส่งออกปีละประมาณ 10,000 ตัน มูลค่าประมาณ 800 ล้านบาท ประเทศผู้นำเข้าที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา ผลผลิตถั่วเหลืองฝักสดที่บริโภคภายในประเทศและส่งไปจำหน่ายต่างประเทศจะต้องมีคุณภาพที่ดี ไม่มีแมลงศัตรูพืชเจาะทำลายถั่วเหลืองฝักสด ดังนั้น เกษตรกรจึงมีความจำเป็นต้องใช้

วัตถุอันตรายทางการเกษตรเพื่อป้องกันการทำลายของศัตรูพืช ซึ่งโอเมทโธเอทเป็นสารที่ใช้กำจัดหนอน แมลงวันเจาะต้นถั่ว หนอนชอนใบถั่วลิสง เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยถั่วเหลือง แมลงหวี่ขาวยาสูบและไรสองจุดในถั่วเหลือง ผลจากการใช้โอเมทโธเอท อาจก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเป็นปัญหาต่อการส่งออก ดังนั้น การวิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้าง โอเมทโธเอท ในถั่วเหลืองฝักสดเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) เป็นสิ่งจำเป็น ซึ่งจะทำให้ทราบระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม และนำข้อมูลมาประกอบการพิจารณาการกำหนดค่า MRL รวมทั้งใช้ในการแก้ไขปัญหาสารพิษตกค้างต่อไป

โอเมทโธเอท เป็นสารกำจัดแมลง ที่มีชื่อทางเคมีว่า o,o-dimethyl S-[2-(methylamino)-2-oxoethyl] phosphorothioate มีน้ำหนักโมเลกุล 213.2 สูตรโมเลกุล $C_5N_{12}NO_4P$ S ละลายได้ดีในน้ำ alcohol acetone และสารประกอบ hydrocarbon หลายชนิด hydrolysed ในสภาวะที่เป็นด่าง และ hydrolysed ได้ช้าในสภาวะที่เป็นกรด อัตราการสลายตัวของสารไปครึ่งหนึ่ง DT_{50} เท่ากับ 102 วัน ที่ pH 4, 12 วันที่ pH7 และ 22 วันที่ pH 9 ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียล มีค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก acute oral LD_{50} สำหรับหนูทดลองมีค่า 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม WHO จัดระดับความเป็นพิษในระดับ 1b (Annonymous , 2006)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสด
2. เครื่องมือในการเตรียมและสกัดตัวอย่าง เช่น เครื่องชั่ง เครื่องสกัดสารพิษตกค้างชนิดปั่น (Homogenizer) เครื่องลดปริมาตร
3. เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีชนิด AR grade ได้แก่ acetone, dichloromethane, sodium chloride และ sodium sulfate
5. สารเคมีชนิด Pesticide grade ได้แก่ ethyl acetate
6. สารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ได้แก่ DDVP, omethoate , dicrotophos, monocrotophos, pirimiphos-methyl, parathion-methyl, malathion, parathion, methidathion, ethion, triazophos, phosalone, diazinon, methidathion, mevinphos, dimethoate, chlorpyriphos, pirimiphos-methyl, fenitrothiion, prothiophos, azinphos-ethyl, EPN และ profenophos กลุ่มออร์กาโนคลอรีน ได้แก่ α-endosulfan, β- endosulfan, endosulfan sulfate และ กลุ่มไพรีทรอยด์ ได้แก่ lambda-cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate และ deltamethrin
7. เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างชนิดแก๊สโครมาโตกราฟชนิด Flame photometric detector และชนิด Electron capture detector

วิธีการ

1. การทดลองในแปลง

1.1 แปลงทดลอง

1.1.1 แผนการทดลอง วางแผนการทดลองเป็น Supervised ตามคำแนะนำของ Codex เป็นแบบ Special Design การทดลองประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย คือ

การทดลองย่อยที่ 1 แปลงควบคุม (ไม่พ่นสาร)

การทดลองย่อยที่ 2 แปลงที่ทำการพ่นโอเมทโธเอท ตามอัตราแนะนำ แต่ละการทดลองย่อยมี 3 ซ้ำ และมี 7 กรรมวิธี คือ ระยะเวลาที่เก็บเกี่ยวตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ระยะ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย การทดลองครั้งที่ 1 ทำการทดลองในแปลงถั่วเหลืองฝักสดของเกษตรที่ อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ระหว่างเดือน ธันวาคม 2552 – มีนาคม 2553 การทดลองครั้งที่ 2 ทำการทดลองในแปลงถั่วเหลืองฝักสดของเกษตรกรที่ อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี ระหว่างเดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2553

1.1.2 การเตรียมแปลงทดลอง แบ่งแปลงทดลองแต่ละแปลงเป็น 3 แปลงย่อย แต่ละแปลงย่อยมีขนาด 10×16 เมตร และมี Guard row กว้าง 2 เมตร คั่นระหว่างแปลงย่อย

1.1.3 การพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร ทำการพ่นโอเมทโธเอท (Delegate) 50 % w/v SL อัตราแนะนำ 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งกลุ่มกีฏและสัตววิทยา (2553) ได้กำหนดการใช้น้ำในการปลูกถั่วเหลืองคือ 80-100 ลิตรต่อไร่ การทดลองใช้อัตราสูงสุดคือ 100 ลิตรต่อไร่ โดยการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 มีสารออกฤทธิ์ 102 และ 128 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ตามลำดับ ทำการพ่นทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง โดยใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง (knapsack sprayer)

1.1.4 ทำการสุ่มตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดเพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างรวม 7 ครั้ง คือที่ระยะ 0 (2 ชั่วโมงหลังการพ่นสาร) 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน หลังการพ่นครั้งสุดท้าย โดยเก็บตัวอย่างครั้งละ 2 กิโลกรัม

1.2 การเตรียมตัวอย่าง

1.2.1 ทำการสุ่มตัวอย่าง ให้เหลือประมาณ 500 กรัม นำมาปั่นให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน

1.2.2 ชั่งตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสด 25 กรัม เพื่อทำการสกัดสารพิษตกค้าง

1.3 การสกัดสารพิษตกค้าง

1.3.1 การสกัดตัวอย่างจากแปลงทดลองจะต้องคัดเลือกเอาวิธีการที่มีประสิทธิภาพที่สุดที่จะสกัดสารออกมาให้ได้มากที่สุด ซึ่งวิธีการดังกล่าว จะต้องผ่านการทดสอบการเอาสารพิษตกค้างกลับคืนมา (Recovery) โดยให้อยู่ในเกณฑ์เฉลี่ยระหว่าง 70-110 เปอร์เซนต์ โดยวิธีที่ได้คัดเลือกแล้วมีค่าเปอร์เซ็นต์ recovery 85 – 107 เปอร์เซนต์ ซึ่งเป็นวิธีการสกัดสารพิษตกค้างโดยประยุกต์วิธีของ Steinwandter (1985) ดังนี้

1) ปั่นตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสด 25 กรัมด้วย acetone 50 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่อง Homogenizer นานประมาณ 1 นาทีเติม sodium chloride 10 กรัม และ dichloromethane 40 มิลลิลิตร ปั่นประมาณ 1 นาที ตั้งให้แยกชั้น
2) เทส่วนใสใน flask เติม Sodium sulfate ประมาณ 30 กรัม ปิดฝาตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที เขย่าเป็นครั้งคราว
3) กรองใส่ cylinder ให้ได้ 50 มิลลิลิตร .โดยกรองผ่านกรวยกรองที่อุดด้วยสำลีที่มี Sodium sulfate ประมาณ 1 ช้อนโต๊ะ
4) ถ่ายสารละลายตัวอย่างจาก cylinder ใส่ใน round bottom flask ล้าง cylinder ด้วย acetone 5 มิลลิลิตร และเทรวมใน round bottom flask ทำเช่นนี้ทั้งหมด 3 ครั้ง
5) นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่องลดปริมาตรที่ปรับอุณหภูมิ water bath 40 องศาเซลเซียส
6) ล้าง round bottom flask ด้วย ethyl acetate (PR grade)ใส่ใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ถึงขีด
7) นำไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของโอเมทโธเอท ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ชนิด Flame photometric detector (FPD)

2. การเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย

2.1 การสุ่มตัวอย่าง ออกสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดจากแหล่งจำหน่ายในจังหวัดต่างๆ ได้แก่ กรุงเทพฯ ลพบุรี สระบุรี และเพชรบุรี รวมทั้งหมด 20 ตัวอย่างๆ ละ 2 กิโลกรัม.

2.2 การเตรียมตัวอย่าง ทำนองเดี่ยวกับข้อ 1.2

2.3 การสกัดตัวอย่าง

2.3.1 สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส สกัดตามวิธีการประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ตามข้อ 1 ถึงข้อ 6 โดยแบ่งสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร. เพื่อวิเคราะห์กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส

2.3.2 สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์โดยแบ่งสารละลายจากสารสกัดมา 2 มิลลิลิตร ทำการ clean up

การ clean up

1) สารละลายที่แบ่งมา 2 มิลลิลิตร จากข้อ 6) นำมาลดปริมาตรจนเกือบแห้ง นำมาละลายด้วย hexane : dichloromethane (4:1) 2 มิลลิลิตร

2) การเตรียม column โดยการใส่ silicagel ที่ deactivated ด้วยน้ำ 10% ปริมาณ 1 กรัม ลงใน syringe (เข็มฉีดยา) ขนาด 5 มิลลิลิตร ที่อุดปลายด้วยสำลีและมี sodium sulfate สูง 1 เซนติเมตร รองรับอยู่ และปิดชั้นบนของ silicagel ด้วย sodium sulfate สูง1 เซนติเมตร ล้าง column ด้วย hexane 5 มิลลิลิตร

3) เทสารละลายจากข้อ 1) ลงใน column ชะด้วย hexne:dichloromethane (4:1) 5 มิลลิลิตร รองรับส่วนที่ไหลออกจาก syringe ด้วยหลอด test tube เมื่อสารไหลถึงผิวบนของ

sodium sulfate ให้ชะด้วย hexane:dichloromethane (1:1) 10 มิลลิลิตร รองรับด้วย test tube เดิม นำสารละลายที่รองรับได้ไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง แล้วปรับปริมาตรด้วย hexane เป็น 2 มิลลิลิตร

2.4 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้าง

2.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของโอเมทโธเอท จากแปลงทดลอง และกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสจากแหล่งจำหน่าย โดยนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatograph (GLC) ที่มีหัวตรวจวัดชนิด FPD (Flame Photometric Detector)

2.4.2 การวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีน และไพรีทรอยด์ จากแหล่งจำหน่าย โดยตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatograph (GLC) ที่มีหัวตรวจวัดชนิด ECD (Electron Capture Detector)

ระยะเวลา ตุลาคม 2552-กันยายน 2553

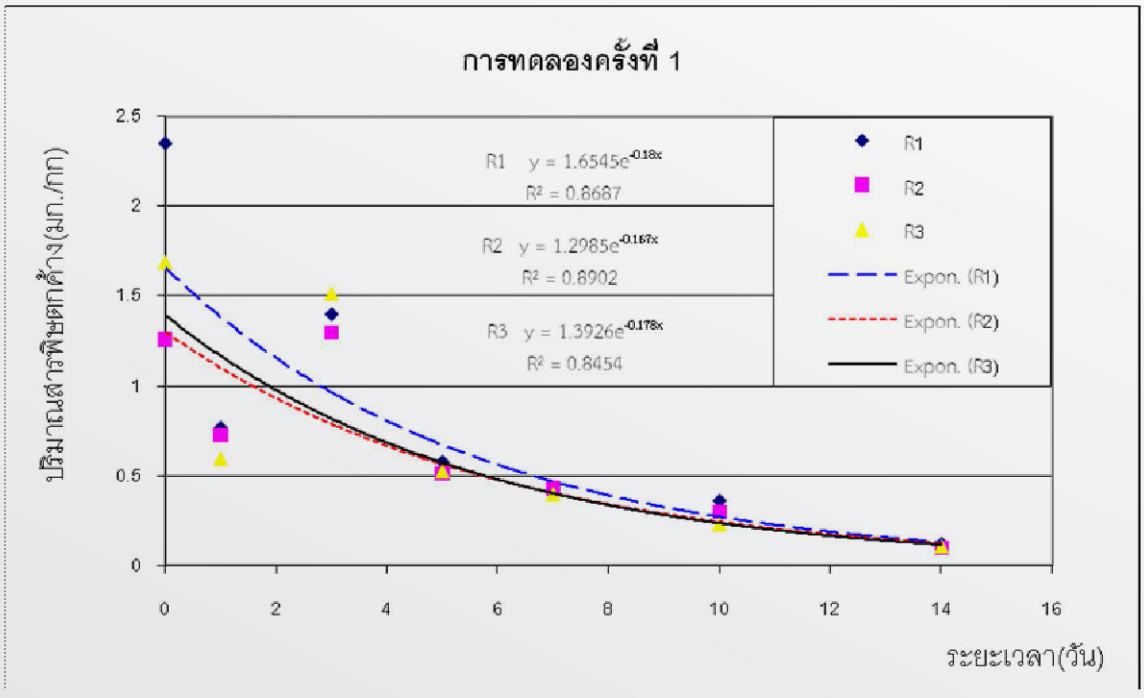
สถานที่ดำเนินการ

การทดลองครั้งที่ 1 แปลงทดลองถั่วเหลืองฝักสดของเกษตรกร อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี
การทดลองครั้งที่ 2 แปลงทดลองถั่วเหลืองฝักสดของเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง

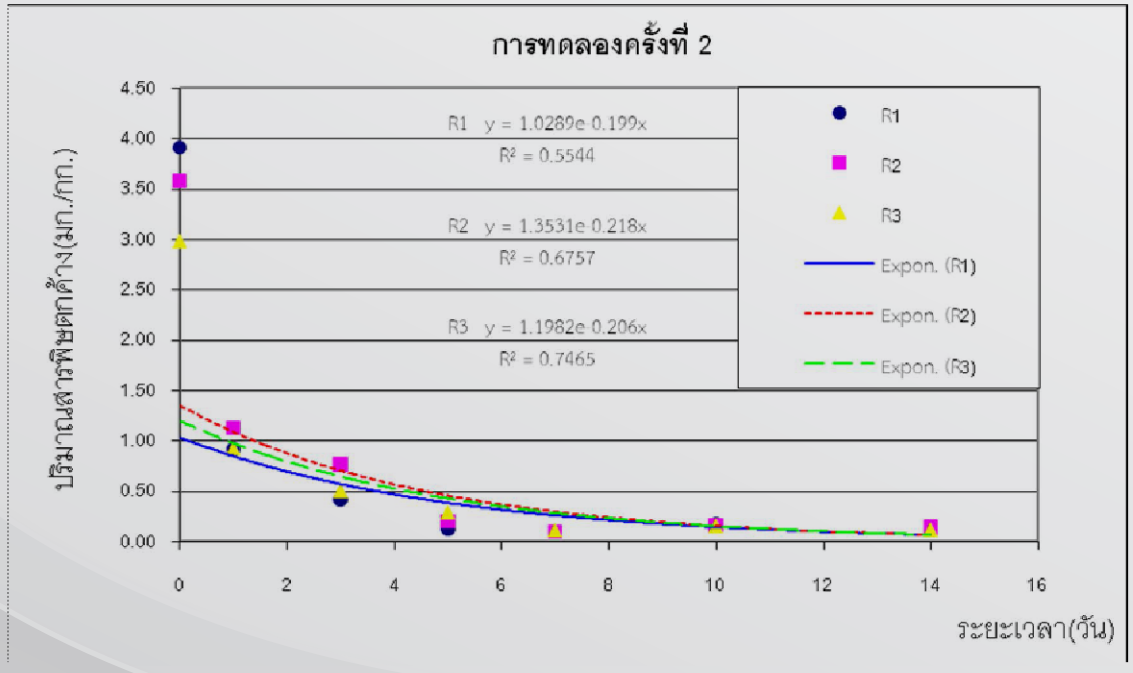
ผลการทดลองและวิจารณ์

ตารางที่ 1. ปริมาณสารตกค้างของ Omethoate ในถั่วเหลืองฝักสดครั้งที่ 1 และ 2

ระยะเวลาหลังการพ่น (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มก./กก.)							
	ครั้งที่ 1				ครั้งที่ 2			
	ซ้ำที่ 1 (R1)	ซ้ำที่ 2 (R2)	ซ้ำที่ 3 (R3)	ค่าเฉลี่ย	ซ้ำที่ 1 (R1)	ซ้ำที่ 2 (R2)	ซ้ำที่ 3 (R3)	ค่าเฉลี่ย
0	2.35	1.26	1.69	1.77	3.9	3.58	2.98	3.49
1	0.77	0.73	0.60	0.70	0.91	1.12	0.93	0.99
3	1.40	1.30	1.52	1.41	0.42	0.76	0.5	0.56
5	0.58	0.51	0.53	0.54	0.12	0.2	0.29	0.2
7	0.40	0.43	0.40	0.41	0.1	0.1	0.12	0.1
10	0.36	0.30	0.23	0.30	0.17	0.16	0.16	0.17
14	0.12	0.10	0.11	0.11	0.14	0.14	0.12	0.13



ภาพที่ 1. แนวโน้มการสลายของโอเมทโธเอทในถั่วเหลืองฝักสดครั้งที่ 1



ภาพที่ 2. แนวโน้มการสลายของโอเมทโธเอทในถั่วเหลืองฝักสดครั้งที่ 2

งานทดลองในแปลง

การพ่น โอเมทโธเอท (Delegate) 50 % w/v SL อัตราแนะนำ 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในแปลงทดลองถั่วเหลืองฝักสด เพื่อศึกษาการสลายตัว ให้ผลการทดลอง ดังนี้

การศึกษาการสลายตัวของโอเมทโธเอทในถั่วเหลืองฝักสดของการทดลองครั้งที่ 1 ที่ อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ระหว่างเดือน ธันวาคม 2552-มีนาคม 2553 พบว่า การใช้โอเมทโธเอท อัตราแนะนำก่อให้เกิดสารพิษตกค้างมากที่สุดที่ 0 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย จากนั้นสารพิษตกค้างจะลดลง โดยพบสารพิษตกค้างเฉลี่ย 1.77, 0.70, 1.41, 0.54, 0.41, 0.30 และ 0.11 *มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม* ที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนแปลงควบคุมซึ่งไม่พ่นสาร ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

สำหรับการศึกษาการสลายตัวของโอเมทโธเอทในถั่วเหลืองฝักสดของการทดลองครั้งที่ 2 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน-สิงหาคม 2553 พบว่าการใช้อัตราแนะนำก่อให้เกิดสารพิษตกค้างเฉลี่ย 3.49 , 0.99, 0.56, 0.20, 0.10, 0.17 และ 0.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ 0, 1, 3, 5 , 7, 10 และ 14 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนแปลงควบคุม ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

เมื่อนำปริมาณการสลายตัวของสารพิษตกค้างของโอเมทโธเอทที่ระยะเวลาต่างๆ จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 มา plot graph จะได้กราฟการสลายตัวเป็นแบบ exponential ดังภาพที่ 1 และ 2 โดยมีค่า half life ของการทดลองที่ 1 และ 2 อยู่ในช่วง 3.85-4.15 และ 3.18-3.48 วัน ตามลำดับ

จากการทดลองพบว่า สารพิษตกค้างพบมากที่สุดที่ 0 วัน หลังจากนั้นสารพิษตกค้างจะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของลมัยและคณะ (2549) ในงานวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไตรอะโซฟอสในถั่วเหลืองฝักสดเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างครั้งที่ 5 และ 6 โดยพบสารตกค้างของไตรอะโซฟอสมากที่สุดที่ 0 วัน หลังจากนั้นสารพิษตกค้างจะลดลงเช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาจากฐานข้อมูลร่างฉลากของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม (preharvest interval ; PHI) เท่ากับ 14 วัน ซึ่งที่ 14 วันพบสารพิษตกค้างจากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ในปริมาณ 0.11 และ 0.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่ง Codex ไม่ได้กำหนดค่า MRL ของโอเมทโธเอทในถั่วเหลืองฝักสด (FAO/WHO,2008) สำหรับญี่ปุ่นได้กำหนดค่า MRL ของโอเมทโธเอทในถั่วเหลืองฝักสดเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2459) เมื่อเปรียบเทียบกับค่า MRL ของญี่ปุ่น ค่า PHI อาจแก้ไขเป็น 5 วัน

การวิเคราะห์สารพิษตกค้างจากการสุ่มเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 20 ตัวอย่าง ปรากฏว่า ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของโอเมทโธเอท นอกจากนี้ยังตรวจไม่พบสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสอื่นๆ ออร์กาโนคลอรีนและไพรีทรอยด์เช่นเดียวกัน

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของโอเมทโธเอทในถั่วเหลืองฝักสด พบว่าถ้าเกษตรกรใช้โอเมทโธเอท 50%w/v SL ตามอัตราแนะนำ และปฏิบัติในแปลงอย่างถูกต้องและปลอดภัย และเว้นระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม (ค่า PHI) 14 วัน หลังการพ่นครั้งสุดท้ายตามฐานข้อมูลร่างฉลาก จะพบสารพิษตกค้างต่ำกว่า JAPAN MRL ซึ่งข้อมูลจากศึกษาสามารถใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRL รวมทั้งการพิจารณาค่า PHI ที่เหมาะสมต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลประกอบการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของโอเมทโธเอท ในถั่วเหลืองฝักสด เพื่อไม่ให้เสียเปรียบทางการค้า และให้เกิดความเชื่อมั่นในระดับสากล

2. ได้ค่าระยะปลอดภัยในการเก็บเกี่ยวผลผลิต (ค่า PHI) ซึ่งสามารถใช้ในการปรับปรุงและแก้ไขฉลากข้างขวดของวัตถุมีพิษทางการเกษตรให้ถูกต้องต่อไป

3. ใช้เป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาสารพิษตกค้าง และการใช้วัตถุมีพิษภายในประเทศ เพื่อความปลอดภัยของเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตว์วิทยา . 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553.เอกสารวิชาการเกษตร สำนักพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร.

ลมัย ชูเกียรติวัฒนา บังเอิญ สีมา และปิยะศักดิ์ อรรคบุตร. 2549. วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไตรอะโซฟอส ในถั่วเหลืองฝักสด เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ครั้งที่ 5 และ ครั้งที่ 6 ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2549 (ฉบับเพิ่มเติม) สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2549. ค่า MRLs สินค้าเกษตรและอาหารของญี่ปุ่น Maximum Residue Limits Under Positive List System in Food Sanitation Law : Japan กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Annonymous. 2006. The Pesticide Manual .Foourteenth edition. British Crop Protection Council.

FAO/WHO. 2008. Codex Committee on Pesticide Residues, Fortieth session, 14-19 April 2008 Hangzhou, China.

Steinwandter,H. 1985. Universal 5 min on – line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. Fresenius Z. Anal Chem No. 115.

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในมังคุด

Development of Organophosphorous Residue Analysis Method in Mangosteen

วิสุทธิ เชวงศรี *ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร* *ชนิตา ทองแซม*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 19 ชนิด ในมังคุด โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ชนิด Flame Photometric Detector (FPD) เพื่อให้ได้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสม รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ต่างๆ รวม 6 วิธีการ คือวิธีการที่ 1 เป็นวิธีประยุกต์ของ Steinwandter 1985 โดยใช้ acetone dichloromethane และ NaCl ในการสกัด วิธีการที่ 2 วิธีประยุกค์ของ Steinwandter (1985) และขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยใช้ sorbent ชนิด SAX และ PSA และชะด้วย acetone : hexane (3:7) วิธีการที่ 3 สกัดวิธีเดียวกับวีธีที่ 1 ขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยการเติม SAX , PSA และ $MgSO_4$ ลงในสารสกัด วิธีการที่ 4 สกัดด้วย acetonitrile และ Na_2SO_4 วิธีการที่ 5 ประยุกต์วิธี QuEChERS ของ Anatacedes, *et al.,*(2003) สกัดด้วย acetonitrile, $MgSO_4$ และ NaCl ขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยใช้ PSA และ $MgSO_4$ วิธีการที่ 6 การประยุกต์วิธี QuEChERS ของ EN Method สกัดด้วย acetonitrile และ Simpli Q EN QuEChERS extraction packet ขจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย Simpli Q EN dispersive SPE ผลการทดลอง พบว่า ทั้ง 6 วิธีการมีประสิทธิภาพในการตรวจสารพิษตกค้างได้เป็นส่วนใหญ่ โดยวิธีการที่ 1, 2, 4 และ 6 มีประสิทธิภาพในการตรวจสารพิษตกค้างได้ 18 ชนิด ยกเว้น azinphos ethyl วิธีการที่ 3 มีประสิทธิภาพในการตรวจสารพิษตกค้างได้ 17 ชนิด ยกเว้น azinphos ethyl และ DDVP ส่วนวิธีการที่ 5 ตรวจสอบสารได้เพียง 16 ชนิด ยกเว้น parathion- ethyl, pirimiphos- ethyl และ ethion สำหรับวิธีที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็วที่สุดคือวิธีการที่ 6

คำนำ

จากการจัดตั้งองค์การการค้าโลก (WTO) ในปี พ.ศ.2538 มีความตกลงที่เกี่ยวข้องกับสุขอนามัยและคุณภาพของอาหาร 2 ฉบับ คือ ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary & Phytosanitary Measure) และความตกลงว่าด้วยอุปสรรคทางเทคนิคต่อการค้า (Agreement on Technical Barrier to Trade, TBT) ที่ให้ประเทศสมาชิกกำหนด หรือใช้บังคับมาตรการเท่าที่จำเป็นในการปกป้องชีวิตหรือสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช ซึ่งประเทศสมาชิกได้มีการนำปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิต ผลิตภัณฑ์การเกษตรและสิ่งแวดล้อม มาใช้เป็นมาตรการกีดกันทางการค้าสำหรับประเทศที่ส่งสินค้าเกษตรเป็นสินค้าออก ดังนั้นประเทศผู้ส่งออกสินค้าเกษตร รวมทั้งประเทศไทยจำเป็นต้องปรับปรุงกฎ ระเบียบ และข้อกำหนดต่างๆ ที่เกี่ยวกับสุขอนามัย และมาตรการว่าด้วยอุปสรรค

ทางเทคนิคต่อการค้า ให้มีความสอดคล้องกับมาตรฐานขององค์การระหว่างประเทศ เช่น Codex, ISO เพื่อแสดงความเท่าเทียมกัน ห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องพัฒนาระบบห้องปฏิบัติการที่มีเป้าหมายใหญ่ คือ การวิจัยและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ (Method development) ให้เป็นมาตรฐาน ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) และทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ (Proficiency testing) เพื่อเป็นการยืนยันถึงวิธีการที่นำมาใช้ในการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถสอบกลับได้ เพื่อขอรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ (Laboratory accreditation) ตามมาตรฐานสากล (ISO/IEC17025) ซึ่งจะทำให้ผลการวิเคราะห์เป็นที่น่าเชื่อถือ และยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล เป็นผลดีต่อการส่งสินค้าเกษตรเป็นสินค้าส่งออกและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

สำหรับงานวิจัยนี้ จะเป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในมังคุด เพื่อให้ได้วิธีรวดเร็ว ประหยัด และมีประสิทธิภาพ และสามารถใช้ในการขยายขอบข่ายของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในมังคุดส่งออกต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องสกัดชนิดปั่นความเร็วสูง (Homogenizer) เครื่องระเหยสารละลายชนิด Flash evaporator, Nitrogen evaporator ตู้อบอุณหภูมิสูง เครื่องชั่งชนิด 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง เครื่องเขย่า shaker

2. เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipet, auto pipet, erenmeyer flask, lab bottle, flat bottle flask และ glass syringe ขนาด 5 มิลลิลิตร

3. สารเคมีชนิด Analytical grade ได้แก่ acetone, dichloromethane, acetonitrile, NaCl, Na_2SO_4 anhydrous, acetic acid, $MgSO_4$ anhydrous

4. สารเคมีชนิด pesticide grade ได้แก่ ethyl acetate, dichloromethane, acetonitrile, trimethyl ammonium strong anion exchange (SAX) , Primary secondary amine (PSA)

5. สารเคมีสำเร็จรูปได้แก่ Sampli Q EN QuEChERS extraction packet ประกอบด้วย $MgSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม sodium citrate 1 กรัม disodium citrate sesquihydrate 0.5 กรัม และ Sampli Q EN dispersive SPE kit ประกอบด้วย PSA 150 มิลลิกรัม Mg SO_4 900 มิลลิกรัม

6. สารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 19 ชนิด ได้แก่ DDVP, mevinphos, dimethoate, diazinon, parathion-methyl, fenitrothion, pirimiphos- methyl, malathion, chlorpyrifos, parathion-ethyl, pirimiphos- ethyl, methidathion, prothiophos, profenophos, ethion, triazophos, EPN, phosalone และ aziphos-ethyl

7. เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง Gas chromatograph (GC) ชนิด Flam Photometric detector (FPD)

วิธีการ

1. เตรียมสารละลายเดี่ยวและสารละลายรวมของสารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 19 ชนิด ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานเดี่ยว และสารละลายมาตรฐานรวมด้วย GC ที่มีหัวตรวจวัดชนิด FPD เพื่อหาค่า Retention time ของสารแต่ละตัว และ sequence ของสารใน chromatogram ที่เป็นสารละลายมาตรฐานรวม และจะต้องปรับสภาวะของเครื่อง GC ให้สารแยกจากกันอย่างชัดเจน

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานรวมของกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสเพื่อทำเป็น spike mixed standard solution และ matrix working mixed standard solution

3. การทดสอบวิธีการ

ทำการ spike mixed standard solution ให้มีความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างมังคุดที่ไม่มีการปนเปื้อนของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ทำการทดลอง 6 วิธีการๆ ละ 5 ซ้ำ โดยมี control sample (ไม่ได้ spike สาร) และ control blank ทำควบคู่ไปกับตัวอย่างที่ spike ทุกวิธีการ

4. วิธีการที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่

4.1. วิธีการที่ 1

ใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ดังนี้

1) ชั่งตัวอย่างมังคุด 25 กรัม ใน lab bottle ขนาด 250 มิลลิลิตร

2) เติม acetone 50 มิลลิลิตร ปั่นด้วย homogenizer ความเร็วประมาณ 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที

3) เติม sodium chloride 8 กรัม และ dichloromethane 40 มิลลิลิตร ปั่นอีก 1 นาที

4) เทสารละลายส่วนใสใน lab bottle ที่มี Na_2SO_4 anhydrous ประมาณ 30 กรัม ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที

5) แบ่งสารละลายตัวอย่างมา 50 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR)

6) นำไปวิเคราะห์ผลโดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph ชนิด Flame Photometric Detector (FPD)

4.2. วิธีการที่ 2

การสกัดใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ขจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยวิธีการประยุกต์ของ Kobe Quarantine Station, 2004

ก. การสกัดใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ตามข้อ 4.1 วิธีการที่ 1 ข้อ 1 ถึงข้อ 5

ข. การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

1) นำ glass syring ซึ่งใส่กระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดประมาณ

เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน glass syringe โดยบรรจุภายในด้วย Na_2SO_4 anhydrous ประมาณ 0.5 กรัมตามด้วย SAX : PSA (1:1) ปริมาณ 1 กรัม และปิดทับด้วย Na_2SO_4 anhydrous ประมาณ 0.5 กรัม

2) ล้าง column ด้วย acetone : hexane (3:7) 5 มิลลิลิตร

3) แบ่งสารละลายตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร นำมาเป่า N_2 ให้แห้งแล้วละลายด้วย acetone : hexane (3:7) 2 มิลลิลิตร เทใส่ column รองรับไว้ชะต่อด้วย acetone : hexane (3:7) อีก 10 มิลลิลิตร

4) นำสารละลายที่รองรับได้ ไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งและปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate นำไป inject เครื่อง GC ชนิด FPD

4.3. วิธีการที่ 3

การสกัดใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ขจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย SAX, PSA และ $MgSO_4$

ก. การสกัด ใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter (1985) ตามข้อ 4.1 วิธีการที่ 1ข้อ 1) ถึงข้อ 5)

ข. การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

1) ดูดสารละลายตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตร ใส่ใน tube ที่มี PSA 50 มิลลิกรัม SAX 50 มิลลิกรัม $MgSO_4$ 300 มิลลิกรัม แล้วนำไปเขย่าด้วย vortex 1 นาที

2) นำไป centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที

3) ดูดสารละลายส่วนใสใส่ขวด GC vial นำไป inject เครื่อง GC ชนิด FPD

4.4. วิธีการที่ 4

สกัดด้วย acetonitrile และ Na_2SO_4

1) ชั่งตัวอย่างมังคุด 25 กรัม ใน lab bottle ขนาด 250 มิลลิลิตร

2) เติม acetonitrile 90 มิลลิลิตร และ Na_2SO_4 anhydrous 45 กรัม นำไปเขย่าด้วยเครื่อง shaker ความเร็ว 350 รอบต่อนาที นาน 10 นาที

3) กรองผ่าน Na_2SO_4 anhydrous

4) แบ่งสารละลายตัวอย่างมา 50 มิลลิลิตร ลงใน round bottom flask ล้างด้วย acetonitrile 5 มิลลิลิตร 2 ครั้ง นำไปลดปริมาตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร ด้วย acetonitrile

5) แบ่งสารละลายมา 1 มิลลิลิตร เป่าให้แห้งด้วย N_2 และปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate นำไป inject เครื่อง GC ชนิด FPD

4.5. วิธีการที่ 5

การประยุกต์วิธี QuEChERS ของ Anatacedes *et al.* (2003)

ก. การสกัด

1) ชั่งตัวอย่างมังคุด 15 กรัม ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร

2) เติม 0.1% acetic acid ใน acetonitrile ปริมาณ 15 มิลลิลิตร NaCl 1.5 กรัม และ $MgSO_4$ 6 กรัม ปิดจุก เขย่าด้วยมือ 1 นาที

3) นำไปเขย่าด้วย vortex 1 นาที แล้วทำการ centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที

ข. การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

1) ดูดสารละลายใส 2 มิลลิลิตร ใส่ centrifuge tube ที่บรรจุด้วย $MgSO_4$ anhydrous 300 มิลลิกรัม และ PSA 300 มิลลิกรัม

2) ปิดจุกเขย่าด้วยมือ และเขย่าด้วย vortex 1 นาที

3) นำไป centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาทีนาน 3 นาที

4) แบ่งสารละลายมา 1 มล. เป่าให้แห้งด้วย N_2 และปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate นำไป inject เครื่อง GC ชนิด FPD

4.6. วิธีการที่ 6

การประยุกต์วิธี QuEChERS ของ European method – EN 15662 (2007)

ก. การสกัด

1) ชั่งตัวอย่างมังคุด 10 กรัม ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มล.

2) เติม acetonitrile ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าด้วยมือ 1 นาที

3) เติม Sampli Q EN QuEChERS extraction packet เขย่าด้วยมือ 1 นาที แล้วทำการ centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

ข. การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)

1) ดูดสารละลาย 6 มิลลิลิตร ใส่ centrifuge tube ที่บรรจุด้วย Sampli Q EN dispersive SPE นำไปเขย่าด้วย vortex 1 นาที แล้วทำการ centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

2) ดูดสารละลายส่วนบน กรองผ่าน nylon syringe filter 0.2 ไมโครเมตร

3) แบ่งสารละลายใส 1 มิลลิลิตร เป่าให้แห้งด้วย N_2

4) ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate ใส่ขวด GC vial นำไป inject เครื่อง GC ชนิด FPD

สำหรับสภาวะการใช้งานของเครื่อง GC ชนิด FPD ได้ทดลองปรับเปลี่ยนสภาวะการใช้งานหลายวิธีการ จนได้สภาวะการใช้งานที่เหมาะสมดังนี้

เครื่อง GC ชนิด FPD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890

Column : DB 5.625 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 mm ยาว 30 m สารเคลือบหนา 0.25µm

Inlet : mode: splitless, temperature 250° C, pressure 11.11 Psi

Purge flow 70 ml/min, purge time 1.00 min

Total flow 75.7 ml/min

Saver flow 20.0 ml/min, Saver time 2.00 min

Gas type : He

Detector : temperature 250º C

Hydrogen flow 150 ml/min, Air flow 110 ml/min

Mode: constant column + make up flow, combined flow 60 ml/min

Make up gas: N_2

Oven : Oven program : 70 º C (3 min) 15 º C /min 120 º C (1 min) 15 º C /min 250 º C (6.33 min) 15 º C/min 260 º C (12 min) run time 35 min

Carrier gas: He flow rate 2 ml/min

ระยะเวลา ตุลาคม 2552 - กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตารางที่ 1. ผลการทดลองประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในมังคุด 6 วิธีการ

ชนิดสาร	วิธีที่ 1		วิธีที่ 2		วิธีที่ 3		วิธีที่ 4		วิธีที่ 5		วิธีที่ 6	
	% recovery	% RSD	% recovery	% RSD	% recovery	% RSD	% recovery	% RSD	% recovery	% RSD	% recovery	% RSD
DDVP	93	1.03	96	9.28	50	19.44	86	3.42	99	5.38	100	13.41
Mevinphos	89	5.22	99	5.76	88	3.16	85	3.93	97	7.81	85	3.56
Dimethoate	99	2.8	81	2.68	84	2.57	82	3.98	80	8.97	86	4.86
Diazinon	90	5.19	106	3.82	84	3.09	79	4.95	107	3.45	96	3.75
Parathion-methyl	93	0.59	100	3.71	86	2.23	87	3.67	107	4.78	101	4.69
Fenitrothion	91	2.75	104	4.79	86	2.66	84	4.2	109	3.27	98	4.1
Pirimiphos-methyl	94	0.89	101	2.86	87	2.5	88	3.92	110	4.01	100	4.85
Malathion	91	1.81	104	4.24	88	3.08	89	4.17	108	2.12	71	1.9
Chlorpyrifos	80	1.89	93	4.96	78	1.93	87	4.17	110	2.01	94	4.36
Parathion-ethyl	92	0.59	101	3.93	87	2.21	88	4.12	115	2.8	102	4.01
Pirimiphos-ethyl	91	2.54	104	4.38	87	2.74	85	4.15	119	2.34	98	4.16
Methidathion	95	4.58	101	4.51	83	2.95	90	9.69	94	4.77	80	2.65
Prothiophos	91	0.92	104	3.66	89	3.28	88	3.8	110	2.34	101	3.59
Profenophos	90	3.45	103	4.3	87	2.21	87	4.02	98	2.5	79	5.88
Ethion	92	0.59	102	3.81	88	2.63	88	4.42	116	2.64	100	4.3
Triazophos	89	4.72	101	4.55	85	2.68	85	4.36	93	4.75	81	12.59
EPN	97	2	106	4.02	83	3.84	87	4.76	109	2.29	96	3.67
Phosalone	96	2.38	110	4.65	85	2.82	83	4.66	105	3.98	81	8.58
Aziphos-ethyl	139	12.69	145	4.23	70	21.71	42	15.93	103	2.87	60	23.63

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 19 ชนิด ในมังคุด โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ชนิด Flame Photometric Detector (FPD) ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในมังคุดที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้ง 6 วิธีการ มีดังนี้

วิธีการที่ 1 เป็นวิธีการประยุกต์ของ Steinwandter (1985) โดยใช้ acetone, dichloromethane และ NaCl ในการสกัด ได้ recovery ในช่วง 80 – 99 เปอร์เซ็นต์ และ RSD ในช่วง 0.59 – 5.22 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น azinphos ethyl ได้ค่า recovery เฉลี่ย 139 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

วิธีการที่ 2 สกัดวิธีเดียวกับวิธีที่ 1 ขจัดสิ่งปนเปื้อน โดยใช้ sorbent ชนิด SAX :PSA (1:1) และชะด้วย acetone :hexane (3:7) ได้ recovery ในช่วง 81 – 110 เปอร์เซ็นต์ และ RSD ในช่วง 2.68 – 9.28 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น azinphos ethyl ได้ค่า recovery เฉลี่ย 145 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

วิธีการที่ 3 สกัดวิธีเดียวกับวิธีที่ 1 ขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยการเติม SAX, PSA, และ $MgSO_4$ ลงในสารสกัดได้ recovery ในช่วง 78 – 89 เปอร์เซ็นต์ และ RSD ในช่วง 1.93 – 3.84 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น azinphos ethyl และ DDVP ได้ค่า recovery เฉลี่ย 70 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

วิธีการที่ 4 สกัดด้วย acetonitrile และ Na_2SO_4 anhydrous ได้ recovery ในช่วง 79 – 90 เปอร์เซ็นต์ และ RSD ในช่วง 3.42 – 9.69 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น azinphos ethyl ได้ค่า recovery เฉลี่ย 42 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

วิธีการที่ 5 ประยุกต์วิธี QuEChERS ของ Anatacedes และคณะ (2003) สกัดด้วย acetonitrile, $MgSO_4$ และ NaCl ขจัดสิ่งปนเปื้อนโดยใช้ PSA และ $MgSO_4$ ได้ recover y ในช่วง 80 – 110 เปอร์เซ็นต์ และ RSD ในช่วง 2.01– 8.97 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น parathion - ethyl, pirimiphos- ethyl และ ethion ได้ recovery ในช่วง 115 – 119 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

วิธีการที่ 6 ประยุกต์วิธี QuEChERS ของ European method - EN 15662 (2007) ได้ recovery ในช่วง 71 – 102 เปอร์เซ็นต์ และ RSD ในช่วง 1.90 – 13.41 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น azinphos ethyl ได้ค่า recovery เฉลี่ย 60 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

CODEX (1995) กำหนดเกณฑ์การยอมรับค่า Recovery ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วง 70-110 เปอร์เซ็นต์ วิธีการทั้ง 6 วิธี จึงมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสได้เป็นส่วนใหญ่ ยกเว้น บางสารเท่านั้นที่ มีค่า recovery ต่ำ หรือสูงเกินช่วงที่ยอมรับได้ โดยพบว่า สารที่ที่มีค่า recovery ไม่ผ่านเกณฑ์มากที่สุดคือ azinphos ethyl สำหรับวิธีการที่ 3 พบว่า DDVP มีค่า recovery ไม่ผ่านเกณฑ์

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในมังคุด วิธีการที่ 1 โดยใช้วิธีประยุกต์ของ Steinwandter เป็นวิธีที่ไม่ได้ผ่านการขจัดสิ่งปนเปื้อน ดังนั้น matrix coextractant เช่น สี สาร tannin และ ยาง รวมทั้งสารอื่นๆ ในมังคุด จะถูกสกัดออกมาด้วย อาจทำให้ประสิทธิภาพของ capillary column ลดน้อยลง อายุการใช้งานสั้นลง และอาจรบกวนการตรวจสารพิษตกค้างที่มีปริมาณน้อย (Schenck *et al*., 2002) ส่วนวิธีการที่ 2 และ 3 เป็นวิธีที่มีการ ขจัดสิ่งปนเปื้อน สารสกัดที่ได้จึงมีสีที่เจือจางกว่าวิธีการ ที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลา และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ วิธีการที่ 3 จะใช้เวลาและค่าใช้จ่ายที่น้อยกว่า วิธีที่ 2 วิธีการที่ 4 เป็นวิธีการที่สกัดด้วย acetonitrile ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษสูง ต่อสุขภาพ วิธีการที่ 5 และ 6 เป็นการประยุกต์ วิธี QuEChERS แต่วิธีการที่ 6 จะใช้ สารเคมีสำเร็จรูป ดังนั้น เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์จะเร็วกว่า แต่ค่าใช้จ่ายจะสูงกว่าวิธีการที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

วิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในมังคุด ที่มีประสิทธิภาพที่สุด และใช้เวลาน้อยที่สุดคือวิธีการที่ 6 ซึ่งประยุกต์วิธี QuEChERS ของ European method – EN 15662 (2007) แต่ค่าใช้จ่ายสูงกว่าวิธีการอื่นๆ ดังนั้น วิธีการที่ 3 น่าจะเป็นทางเลือกของการวิเคราะห์ เนื่องจากค่าใช้จ่ายน้อย

อย่างไรก็ตามวิธีการเหล่านี้ ต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีก่อนนำมาใช้ รวมทั้งเพื่อขยายขอบข่ายการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในมังคุดต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐานของกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร เพื่อนำไปใช้ในงานบริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างรวมทั้งใช้ในงานวิจัย

2. ใช้ในการขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 โดยจะต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ และทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติก่อนการขอการรับรอง

3. ถ่ายทอดวิธีการวิเคราะห์ให้แก่เจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8

4. เสนอผลงานวิจัยเพื่อให้ผู้สนใจนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Anatacedes , M., S.T. Lehotay, D.Stainbaher and F.J. Schenck. 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction / Partitioning and " Dispersive Solid –Phase Extraction "for the Determination of Pesticide Residue in Produce J. of AOAC Int. 86: 412-431

Anonymous. 2006. The Pesticide Manual. Fourteenth edition. British Crop Protection Council.

Codex. 1995. Codex Alimentarius volumn 3. Residues of Veterinary Drugs in Food.

EN 15662 Version 2007-10-24, Foods 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 (EC) .2000. Guidance Document on Residue Analytical Method . SANCO/825/00 rev .6. 20/06/00 16 p.

Kobe Quarantine Station. 2004. JICA Training Course . Risk Assessment and Monitoring for Environment Chemical. Japan. 33 p.

Schenck, F.T., S.J. Lehotay, V.Vega. 2002. Comparison of Solid Phase Extraction Sorbents for Cleanup in Pesticide Residue Analysis of Fresh Fruits and Vegetable . J. Sep. Sci. 25: 883-890

Steinwandter, H. 1985. Universal 5 min. On-line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residue and Industrial Chemicals. Fresenius Z. Anal Chem. No 115

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ prothiofos ในมะเขือยาว เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1 และ 2

Residue Trial of Prothiofos in Egg Plant to Establish Maximum Residue Limit (Trial 1 and 2)

จินตนา ภู่มงกุฎชัย พนิดา ไชยยันต์บูรณ์ สุพัตรี หนูสังข์ บุญทวีศักดิ์ บุญทวี
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การทดลองเพื่อศึกษาการสลายตัวของ prothiofos ในมะเขือยาว ประกอบด้วย 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลอง ครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 การทดลองครั้งที่ 1 ทำการทดลองในแปลงมะเขือยาวของเกษตรกรที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม – มีนาคม 2553 การทดลองครั้งที่ 2 ที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม - เมษายน 2553 แต่ละการทดลองประกอบด้วย 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงควบคุม (ไม่พ่น prothiofos) และแปลงที่พ่น prothiofos ตามอัตราแนะนำ (50 ml./น้ำ 20 L) ทำการพ่น prothiofos ทุกสัปดาห์ สัปดาห์ละครั้งจำนวน 3 ครั้ง เก็บผลผลิตที่ระยะเวลาต่างๆ หลังจากพ่นครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บมะเขือยาวตามระยะเวลาที่กำหนด และนำเข้าห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ prothiofos ด้วย GC/FPD จากการทดลองครั้งที่ 1 พบปริมาณ 0.49, 0.31, 0.10, 0.07, 0.04, 0.06, 0.01 และ 0.01 mg/kg และการทดลองครั้งที่ 2 พบปริมาณ 0.59, 0.18, 0.07, 0.03, ND, ND, ND และ ND mg/kg ที่ระยะเวลา 0, 2, 5, 7, 9, 12, 14 และ 18 วันตามลำดับ จากฉลากกำหนดให้เก็บผลผลิตหลังการพ่น prothiofos 14 วัน prothiofos ตกค้างมีปริมาณ 0.01 และ ND mg/kg (การทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) Codex ไม่ได้กำหนดค่า MRL ไว้ จากการสลายตัวของการทดลองครั้งที่ 1 ที่ระยะเก็บเกี่ยว (pre-harvest interval; PHI) พบปริมาณ 0.01 mg/kg ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์ได้ที่มีความถูกต้องและแม่นยำ และเป็นค่าต่ำสุดที่กำหนดจากประเทศผู้นำเข้าที่ให้มีได้ในสินค้า ส่วนการสลายตัวของการทดลองครั้งที่ 2 ไม่พบสารตกค้างตั้งแต่ที่ 9 วัน เกษตรกรสามารถเก็บมะเขือยาวได้เมื่อทิ้งระยะเวลาหลังจากพ่นครั้งสุดท้าย 14 วัน ส่วนค่าที่บอกถึงความปลอดภัยต่อการบริโภค เป็นค่าที่ได้จากการประเมินการได้รับสัมผัสในอาหารซึ่งประกอบด้วย การได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลันและการได้รับสัมผัสแบบเรื้อรัง จากการทดลองนี้เมื่อคำนวณการได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลันของมะเขือยาวที่มี prothiofos ตกค้าง (ที่เวลา 14 วัน) ปริมาณ 0.01 mg/kg มีความปลอดภัยต่อการบริโภคไม่เกิดอาการเฉียบพลันจากสารพิษตกค้าง prothiofos แต่การได้รับสัมผัสแบบเรื้อรังจะต้องมีข้อมูลเพิ่มเติมมากกว่านี้ จึงจะประเมินได้ ซึ่งค่าทั้ง 2 นี้ จะนำไปใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRL ของ Codex, Asean และ National ต่อไป จากการทำแปลงทดลองได้การสลายตัวของ prothiofos มีอัตราลดลง 0.2425 และ 0.4288 mg/kg/d. ของการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ นอกจากนี้ได้สุ่มสำรวจมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 41 ตัวอย่าง จากจังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี

สุพรรณบุรี ราชบุรี สมุทรสงคราม และสมุทรสาคร ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม organophosphate 23 ชนิด กลุ่ม pyrethroid 7 ชนิดและกลุ่ม endosulfan 3 ชนิด ตรวจพบสารพิษตกค้าง 15 ชนิด ปริมาณ 0.01 – 0.96 mg/kg จำนวน 29 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 71 ได้แก่ cypermethrin ปริมาณ 0.01 – 0.96 mg/kg จำนวน 22 ตัวอย่าง methidathion ปริมาณ 0.08 – 0.31 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง แต่ 5 ตัวอย่างของ cypermethrin และ 1 ตัวอย่างของ methidathion พบสารพิษตกค้างเกินค่า Codex MRL chlorpyrifos ปริมาณ 0.01 – 0.02 mg/kg จำนวน 7 ตัวอย่าง ethion ปริมาณ 0.01 – 0.29 mg/kg จำนวน 7 ตัวอย่าง omethoate ปริมาณ 0.02 – 0.47 mg/kg จำนวน 6 ตัวอย่าง dimethoate ปริมาณ 0.01 – 0.03 mg/kg จำนวน 3 ตัวอย่าง EPN ปริมาณ 0.06 – 0.10 mg/kg จำนวน 3 ตัวอย่าง diazinon ปริมาณ 0.01 mg/kg จำนวน 3 ตัวอย่าง triazophos ปริมาณ 0.06 – 0.34 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง dicrotofos ปริมาณ 0.09 – 0.13 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง profenofos ปริมาณ 0.12 – 0.13 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง deltamethrin ปริมาณ 0.01 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง fenvalerate ปริมาณ 0.07 mg/kg จำนวน 1 ตัวอย่าง L-cyhalothrin ปริมาณ 0.01 mg/kg จำนวน 1 ตัวอย่าง และพบ prothiofos ปริมาณ 0.01 mg/kg จำนวน 1 ตัวอย่าง

คำนำ

Prothiofos เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัส โดยมี Sulphur เป็นองค์ประกอบทำให้สารชนิดนี้มีกลิ่นเฉพาะ มีชื่อทางเคมีตามระบบ IUPAC ว่า 0-2,4-dichlorphenyl o-ethyl s-propyl phosphorodithioate มีชื่อทางการค้าว่า โตกุไธออน (Tokuthion) มีน้ำหนักโมเลกุล 345.2 จุดเดือด 125-128 ^{o}C /13Pa สามารถละลายน้ำได้ 0.07 mg/l (20^{o}C)

Prothiofos เป็นสารยับยั้งการทำงานของ cholinesterase (cholinesterase inhibitor) เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดถูกตัวตายและออกฤทธิ์ในกระเพาะอาหาร ป้องกันกำจัดหนอนกินใบ, เพลี้ยไฟ เป็นต้น มีความเป็นพิษทางปาก (การกิน) LD_{50} สำหรับหนู 1,390-2,200 mg/kg มีค่า ADI/ARfD (acute daily intake / acute reference dose) 0.0001 mg/kg bw และ WHO จัดระดับความเป็นพิษอยู่ใน Class II

ความเป็นพิษในสิ่งแวดล้อมสำหรับนก acute LD_{50} สำหรับ Japanese quail 100-200 mg/kg ปลา LC_{50} (96 h) สำหรับ golden orfe 4-8, rainbow trout 0.5-1 mg/l (500 g/l EC formulation) Daphnia LC_{50} (48h) 0.014 mg/l สาหร่าย ErC_{50} สำหรับ *Scenedesmus subspicatus* 2.3 mg/l และไม่เกิดพิษต่อผึ้งเมื่อใช้ตามคำแนะนำ ในสัตว์ทดลองถ้าได้รับสารจะถูกดูดซึมและเกิด metabolise อย่างรวดเร็ว หลังจากนั้น 72 ชั่วโมง 98% ของปริมาณสารที่ได้รับจะถูกขับออกจากร่างกาย (excrete) prothiofos จะถูกจับอย่างแข็งแรงในดินโดยมี DT_{50}1-2 เดือน (สภาพแปลงทดลอง) และจะเกิดปฏิกิริยาจนกลายเป็น CO_2 ในที่สุด ส่วนในพืชเกิดปฏิกิริยาเช่นเดียวกับในดิน (BCPC, 2003)

มะเขือยาวเป็นพืชผักที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum melongeua* อยู่ใน Family Solanaceae มีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น eggplant ใช้เรียกใน USA , ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์และแคนาดา aubergine ใช้เรียกใน อังกฤษ brinjal ใช้เรียกในอินเดีย แอฟริกาใต้ มาเลเซีย และสิงคโปร์ มะเขือยาวมีต้นกำเนิดจาก

ประเทศเนปาล อินเดีย บังคลาเทศ ปากีสถาน และศรีลังกา มะเขือยาวผลดิบมีรสขมเล็กน้อย มะเขือยาวมีหลายสีตั้งแต่สีเหลือง เขียว ม่วงแดง ถึงม่วงเข้ม แล้วแต่พันธุ์ต่างๆ และมีหลายรูปทรงทั้งทรงรีแบบไข่, ผอมยาว แต่มะเขือยาวมีเมล็ดขนาดเล็กและนุ่มสามารถบริโภคได้ ใช้ประกอบอาหารได้หลายชนิดได้แก่ ผัด ทอด แกง ในครัวอาหารของอินเดีย เรียกมะเขือยาว (brinjal) ว่าเป็น ' King of Vegetables' ประเทศจีน อินเดียและอียิปต์ปลูกได้มากที่สุด มะเขือเทศ พริก และมันฝรั่งเป็นพืชที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับมะเขือ มะเขือยาวมีสาร nicotinoid สารต้านอนุมูลอิสระและเป็นพืชผักที่ให้ folic acid และโปแตสเซียม (Wikipedia) แมลงศัตรูของมะเขือยาวได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi*) หนอนเจาะผลมะเขือ (*Leucinodes orbonalis*) เพลี้ยจักจั่นฝ้าย (*Amrasca biguttula biguttula*) (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) และมีโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคโคนเน่า โรคเหลืองด่างลาย โรคต้นและใบแห้งไหม้ โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) และโรคผลเน่าดำ (Fruit rot) (คลีนิคพืช)

ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกของคณะกรรมการ Codex จึงให้มีศึกษาการสลายตัวของ prothiofos ในมะเขือยาวโดยดำเนินการศึกษาในแปลงทดลองตามวิธีการใช้วัตถุอันตรายอย่างถูกต้องและปลอดภัย เพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นพร้อมสำหรับการกำหนดค่า MRL ในสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศของประเทศไทย เพื่อนำไปประกอบการพิจารณายอมรับและต่อรองกับคณะกรรมการระหว่างประเทศ ในกลุ่ม Asean และพิจารณาค่า maximum residue limits (MRL) เป็นการรักษาผลประโยชน์ในการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษายังใช้ในการจัดการปัญหาสารพิษตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร เพื่อให้เกิดความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค รวมทั้งการใช้วัตถุอันตรายที่ถูกต้องและปลอดภัย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดแมลง prothiofos ชนิด 50% EC มีชื่อการค้า โตกุไธออน 50%อีซี
2. สารมาตรฐานกลุ่ม organophosphate 23 ชนิด ได้แก่ DDVP, omethoate,dicrotophos, monocrotophos, pirimiphos–methyl, parathion–methyl, malathion, parathion, methidathion, ethion, triazophos, phosalone, diazinon, methamidophos, mevinphos, dimethoate, chlorpyrifos, pirimiphos- ethyl, fenitrothion, prothiophos, azinphos-ethyl, EPN และ profenofos

   สารมาตรฐานกลุ่ม pyrethroid 7 ชนิด ได้แก่ bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate, L-cyhalothrin และ permethrin

   สารมาตรฐานกลุ่ม endosulfan 3 ชนิด ได้แก่ a-endosulfan, b-endosulfan และ endosulfan-sulfate
3. สารเคมี
   3.1 ethyl acetate (AR, PR grade)
   3.2 sodium sulphate ชนิด anhydrous granular ขนาดเม็ด 12-60 mesh ก่อนใช้ต้องอบที่อุณหภูมิ 130 $^{\circ}$C นาน 24 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นใน desiccator
   3.3 acetone (AR และ PR grade)

3.4 dichloromethane (AR และ PR grade)

3.5 hexane (AR และ PR grade)

3.6 silica gel

4. เครื่องหั่นและผสมอาหาร (Food Processer)
5. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ ได้แก่ flat bottom flask, volumetric flask, reagent bottle, pipet, เป็นต้น
6. เครื่องสกัดวัตถุมีพิษโดยการปั่น (homoginizer)
7. เครื่องเขย่าสาร (Shaker)
8. เครื่องระเหยสารละลาย (Rotary vacuum evaporator)
9. Vortex mixer
10. เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด (electronic balance) สามารถชั่งน้ำหนักได้ 0.00001 g.
11. เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบหยาบ (electronic balance) สามารถชั่งน้ำหนักได้ 0.01 g.
12. เครื่องตรวจวิเคราะห์วัตถุมีพิษ gas liquid chromatograph (GLC) ที่มีหัวตรวจ (detector) ชนิด flame photometric detector (FPD) และชนิด electron capture detector (ECD)

วิธีการ

ในการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ prothiofos ในมะเขือยาวเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างประกอบด้วย 2 ส่วน ดังนี้

1. การดำเนินงานในแปลงทดลอง

1.1 การวางแผนการทดลองและการทำแปลงทดลอง คัดเลือกและทำแปลงทดลองปลูกมะเขือยาวของเกษตรกร 2 การทดลอง ครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ดังนี้

การทดลองครั้งที่ 1 ที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม ระหว่างเดือน มกราคม–มีนาคม 2553

การทดลองครั้งที่ 2 ที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม ระหว่างเดือน มีนาคม - เมษายน 2553

ทำการทดลองตาม Supervised residue trial (FAO, 2002) แต่ละการทดลองประกอบด้วย 2 แปลงทดลอง คือ

- แปลงเปรียบเทียบ (Control) เป็นแปลงที่ไม่ใช้ prothiofos
- แปลงที่พ่น prothiofos ตามอัตราแนะนำตามฉลาก (recommended dose) คือ 50 ml ต่อน้ำ 20 L

แต่ละแปลงทดลองมี 3 ซ้ำ (replication) การทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 มี 8 วิธีการ (treatment) คือ ระยะเวลาเก็บหลังการพ่น prothiofos ครั้งสุดท้ายได้แก่ 0, 2, 5, 7, 9, 12, 14 และ 18 วัน

การเก็บตัวอย่างมะเขือยาวจากแปลงทดลองในแต่ละวันที่กำหนดตามระยะเวลาต่างๆ หลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย โดยเก็บมะเขือยาวแบบสุ่มกระจายทั่วแปลงให้ได้ 12 ลูก และมีน้ำหนักไม่ต่ำกว่า 2 kg

1.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prothiofos ในมะเขือยาว

1.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่เข้าเครื่องหั่นและผสมอาหาร (food processer) ปั่นให้ละเอียดคลุกเคล้าให้เข้ากัน และชั่งน้ำหนักตัวอย่างละ 25 g

1.2.2 การสกัดตัวอย่าง (ตามวิธีการ Greve และ Hogendoorm, 1998)

ตัวอย่างมะเขือยาว 25 g นำมาสกัดโดยปั่นกับ ethyl acetate และ sodium sulfate ด้วยเครื่องปั่น homoginizer ที่ระดับความเร็วสูงนาน 1 นาที กรองผ่าน sodium sulfate นำสารละลายที่ได้ไปลดปริมาตรที่อุณหภูมิของน้ำ 40°C ลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate นำไปวิเคราะห์ด้วย GC ต่อไป

1.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

i) เตรียมสารละลายมาตรฐานของ prothiofos ที่มีความบริสุทธิ์ 94 % ใน ethyl acetate (PR grade) ให้ได้ความเข้มข้น 1,000 µg/ml

ii) เจือจาง stock standard solution ที่มีความเข้มข้น 100 µg/ml เป็น intermediate standard solution และเจือจางเป็น working standard solution ที่มีความเข้มข้นเหมาะสมสำหรับฉีดเข้าเครื่อง GLC

1.2.4 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC

นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดและสารละลายมาตรฐาน ของ prothiofos (working standard solution) ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ฉีดเปรียบเทียบกันด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์วัตถุมีพิษด้วย GC รายละเอียดดังนี้

GC model : Agilent 6890N

Column : HP –1701P : 0.25 um film thickness ,30 m. length , 0.32 mm.id.

Temperature : injector 200°C , detector , 250°C

Oven temperature program :

100°C (1 min) $\xrightarrow{20°C/min}$ 200°C (5 min) $\xrightarrow{15°C/min}$ 250°C (11 min)

Inject mode : splitless (purge on time = 1 min)

Carrier gas : helium , flow rate 1 ml/min

Make up gas : nitrogen, flow rate 15 ml/min

H_2/Air ratio : 75/150 ml/min

Injection volume : 1 ul

หลังจากฉีดสารละลายมาตรฐานของ prothiofos (working standard solution) 5 ระดับความเข้มข้น นำค่าพื้นที่ใต้ peak และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน prothiofos มาสร้างเป็นกราฟเส้นตรง (calibration curve) โดยมี $R^2 > 0.995$ คำนวณปริมาณของสารพิษตกค้าง prothiofos จาก calibration curve ด้วยการนำค่าพื้นที่ใต้ peak ของสารที่ตรวจวิเคราะห์ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟ

2. การดำเนินการเฝ้าระวังสารพิษตกค้างในมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่าย

เก็บตัวอย่างมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่าย จากจังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ราชบุรี สมุทรสงคราม และสมุทรสาครรวมทั้งหมด จำนวน 41 ตัวอย่าง ๆ ละ 1 kg ระหว่าง มกราคม - กันยายน 2553 นำมาสกัดและตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prothiofos และสารชนิดอื่นในกลุ่ม organophosphate

pyrethroid และ endosulfan โดยมีการเตรียมตัวอย่าง การสกัดตัวอย่าง และการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างดังนี้

2.1 การสกัดตัวอย่าง (Modified Steinwandter, 1985)

ชั่งตัวอย่างมะเขือยาวที่มีการเตรียมตัวอย่าง 25 g. เติม acetone และปั่นด้วย homogenizer นาน 1 นาทีและเติม dichloromethane และ sodium sulphate ปั่นอีกครั้งนาน 1 นาที กรองสารละลายผ่าน Na_2SO_4 และแบ่งปริมาตร 50 ml. นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งและปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate 5 ml. แบ่งออก 2 ml. ส่วนที่เหลือนำไปฉีด GC-FPD เพื่อวิเคราะห์หาสารกลุ่ม organophosphate ส่วนที่แบ่งออก 2 ml. นำไปลดปริมาตรจนแห้ง เปลี่ยนใช้ mixture ของ hexane : dichloromethane ละลาย นำไป clean up ด้วย silica 1 g. ที่ deactivated ด้วยน้ำ 10% โดย elute ด้วย hexane : dichloromethane 4:1 5 ml. และ hexane : dichloromethane 1:1 10 ml. นำปริมาตรทั้งหมดที่ได้ไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งและปรับปริมาตรด้วย hexane 2 ml. ฉีดด้วย GC-ECD เพื่อวิเคราะห์หาสารกลุ่ม pyrethroid และ endosulfan

2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของสารกลุ่ม organophosphate 23 ชนิด ใน ethyl acetate (PR grade) สารมาตรฐานกลุ่ม pyrethroid 7 ชนิดและกลุ่ม endosulfan 3 ชนิด เตรียมใน iso-octane ให้ได้ความเข้มข้น 1,000 µg/ml

2.2.2 mix stock standard solution แยก 2 กลุ่มตามชนิดของ solvent และเจือจางให้มีความเข้มข้นประมาณ 50-100 µg/ml เป็น intermediate standard solution

2.2.3 เจือจาง intermediate standard solution เป็น working standard solution ที่มีความเข้มข้นเหมาะสมสำหรับฉีดเข้าเครื่อง GC

2.3 การตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างด้วย GC

นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดและสารละลายมาตรฐานแต่ละกลุ่มฉีดเปรียบเทียบกันด้วย GC ดังนี้

สารกลุ่ม organophosphate ใช้ GC ที่มี detector เป็น FPD

สารกลุ่ม pyrethroid และ endosulfan ใช้ GC ที่มี detector เป็น ECD

GC model : Agilent 6890 N

Column (FPD) : HP –1701 (14%-Cyanopropylphenyl-86%-Dimethylsiloxane)
0.25 um film thickness , 30 m. length , 0.32 mm.id.

(ECD) : Ultra 1 0.17 um filter thickness, 25m length, 0.32 mm id.

Temperature : injector 200°C , detector , 250°C

Oven temperature program :

100°C (1 min) $\xrightarrow{20°C/min}$ 200°C (5 min) $\xrightarrow{15°C/min}$ 250°C (11 min)

Inject mode : splitless (purge on time = 1 min)

Carrier gas : helium , flow rate 1 ml/min

Make up gas : nitrogen, flow rate 15 ml/min

H_2/Air ratio (FPD) : 75/150 ml/min

Injection volume : 1 ul

ระยะเวลา เริ่มต้น : ตุลาคม 2552 สิ้นสุด : กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

ทำแปลงทดลองปลูกมะเขือยาวของเกษตรกร 2 การทดลองดังนี้

การทดลองครั้งที่ 1 ที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม – มีนาคม 2553

การทดลองครั้งที่ 2 ที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม - เมษายน 2553

และตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

มะเขือยาวที่ไม่พ่น prothiofos (control) ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง มะเขือยาวที่พ่น prothiofos โดยใช้อัตราแนะนำ คือ 50 ml ต่อน้ำ 20 L หลังจากพ่นครั้งสุดท้ายนำมะเขือยาวมาตรวจวิเคราะห์พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างของ prothiofos ในมะเขือยาวลดลงตั้งแต่ 0 วัน การทดลองที่ 1 ลดลงจาก 0.49, 0.31, 0.10, 0.07, 0.04, 0.06, 0.01 และ 0.01 mg/kg และการทดลองที่ 2 ลดลงจาก 0.59, 0.18, 0.07, 0.03, ND, ND, ND และ ND mg/kg ที่ระยะเวลา 0, 2, 5, 7, 9, 12, 14 และ 18 วันตามลำดับ

เนื่องจากมะเขือยาวเป็นพืชทรงพุ่ม ผลที่เกิดจะห้อยตามส่วนต่างๆ บางครั้งอยู่ด้านนอกพุ่ม บางครั้งอยู่ใต้พุ่ม การฉีดพ่นวัตถุมีพิษอาจไม่ทั่วถึงและผิวของมะเขือยาวมีความมัน เมื่อนำปริมาณสารตกค้างไป plot กราฟกับระยะเวลาเก็บมะเขือยาวจะได้สมการ regression ซึ่งเป็นลักษณะ exponential พบอัตราการสลายตัวของ prothiofos เท่ากับ 0.2425 mg/kg/วัน ของการทดลองครั้งที่ 1 (ภาพที่ 1) และ 0.4288 mg/kg/วัน ของการทดลองครั้งที่ 2 (ภาพที่ 2) การสลายตัวของ prothiofos มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาเก็บเกี่ยว ถ้าทิ้งระยะเวลานานมากขึ้นปริมาณสารตกค้างจะลดลงตามลำดับเช่นเดียวกับวัตถุมีพิษชนิดอื่นๆ ประเภทถูกตัวตาย แต่เนื่องจาก Codex ไม่ได้กำหนดค่า MRL ของ prothiofos ไว้ (FAO and WHO,2010) ซึ่งปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะปลอดภัยที่วันเก็บเกี่ยว (PHI) ที่เวลา 14 วัน พบปริมาณสารพิษตกค้าง 0.01 และ ND mg/kg จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ จากที่ Codex ไม่ได้กำหนดค่า MRL ไว้ทำให้ไม่สามารถบอกได้ว่าที่ระยะเวลาเก็บผลผลิตมีปริมาณสารพิษตกค้างเกิน Codex MRL หรือไม่ ค่า MRL ได้จากข้อมูลของการทำแปลงทดลองเป็นหลัก ส่วนค่าที่บอกถึงความปลอดภัยต่อการบริโภค เป็นค่าที่ได้จากการประเมินการได้รับสัมผัสในอาหารซึ่งประกอบด้วย การได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลันและการได้รับสัมผัสแบบเรื้อรัง โดยนำปริมาณสารพิษตกค้างที่พบในพืชนั้นคำนวณกับการบริโภคใน 1 วัน หรือการบริโภครวม และน้ำหนักตัวเฉลี่ย ประเมินทั้งในเด็กและประชาชนทั่วไป ซึ่งจากการทดลองนี้เมื่อคำนวณการได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลันของมะเขือยาวที่มี prothiofos ตกค้าง (ที่เวลา 14 วัน) ปริมาณ 0.01 mg/kg มีความปลอดภัยต่อการบริโภค ไม่เกิดอาการเฉียบพลันจากสารพิษตกค้าง prothiofos แต่การได้รับสัมผัสแบบเรื้อรังจะต้องมีข้อมูลเพิ่มเติม

มากกว่านี้ จึงจะประเมินได้ ซึ่งค่าทั้ง 2 นี้จะนำไปใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRL ของ Codex, Asean และ National ต่อไป

นอกจากนี้ได้สุ่มสำรวจมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่ายจำนวน 41 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม organophosphate 23 ชนิด กลุ่ม pyrethroid 7 ชนิดและกลุ่ม endosulfan 3 ชนิด ตรวจพบสารพิษตกค้าง 15 ชนิด ปริมาณ 0.01 – 0.96 mg/kg จำนวน 29 ตัวอย่างคิดเป็น ร้อยละ 71 ได้แก่ cypermethrin ปริมาณ 0.01 – 0.96 mg/kg จำนวน 22 ตัวอย่าง methidathion ปริมาณ 0.08 – 0.31 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง แต่ 5 ตัวอย่างของ cypermethrin และ 1 ตัวอย่างของ methidathion พบสารพิษตกค้างเกินค่า Codex MRL chlorpyrifos ปริมาณ 0.01 – 0.02 mg/kg จำนวน 7 ตัวอย่าง ethion ปริมาณ 0.01 – 0.29 mg/kg จำนวน 7 ตัวอย่าง omethoate ปริมาณ 0.02 – 0.47 mg/kg จำนวน 6 ตัวอย่าง dimethoate ปริมาณ 0.01 – 0.03 mg/kg จำนวน 3 ตัวอย่าง EPN ปริมาณ 0.06 – 0.10 mg/kg จำนวน 3 ตัวอย่าง diazinon ปริมาณ 0.01 mg/kg จำนวน 3 ตัวอย่าง triazophos ปริมาณ 0.06 – 0.34 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง dicrotofos ปริมาณ 0.09 – 0.13 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง profenofos ปริมาณ 0.12 – 0.13 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง deltamethrin ปริมาณ 0.01 mg/kg จำนวน 2 ตัวอย่าง fenvalerate ปริมาณ 0.07 mg/kg จำนวน 1 ตัวอย่าง L-cyhalothrin ปริมาณ 0.01 mg/kg จำนวน 1 ตัวอย่าง และพบ prothiofos ปริมาณ 0.01 mg/kg จำนวน 1 ตัวอย่าง สารบางชนิด Codex ไม่กำหนดค่า MRL เช่น omethoate triazophos dicrotophos prothiofos เป็นต้น และบางชนิดถอนค่าที่กำหนดไว้เดิม ได้แก่ ethion นอกจากนี้ พบสารพิษตกค้างถึง 15 ชนิด แสดงให้เห็นว่า มะเขือยาวเป็นพืชที่มีโรคและแมลงมาก ต้องมีการดูแลรักษาอย่างดีและถ้าเกษตรกรปลูกให้ได้มะเขือยาวที่สามารถขายในตลาดหรือแหล่งจำหน่ายอื่นๆได้ เกษตรกรต้องใช้วัตถุอันตรายหลายชนิด ประกอบกับมะเขือยาวเป็นพืชที่ไม่ได้เก็บผลผลิตในครั้งเดียว เกษตรกรจะเก็บผลผลิตทุก 4 – 6 วัน การใช้วัตถุอันตรายจะต้องมีการวางแผนอย่างดีและใช้สารที่มีระยะปลอดภัยต่อการเก็บสั้น จึงจะไม่พบสารพิษตกค้างมากชนิดเช่นนี้ ส่วนของประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา (2553) แนะนำให้ใช้ prothiofos และ cypermethrin ในการกำจัดเพลี้ยไฟ หนอนเจาะผลมะเขือ ในมะเขือยาว ส่วนสารพิษตกค้างอีก 13 ชนิดที่พบ เช่น EPN และ ethion ไม่มีกำหนดในฉลาก แสดงให้เห็นว่าเกษตรกรไม่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรตามที่ฉลากกำหนด และพบสารพิษตกค้างมากกว่า 1 ชนิด ในบางตัวอย่างแสดงให้เห็นว่าเกษตรกรใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในการพ่นมะเขือยาวที่ปลูกมากกว่า 1 ชนิด

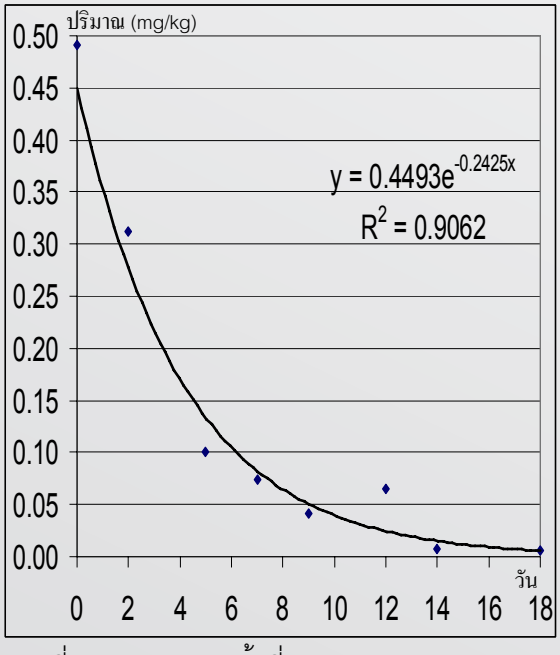
ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ยของ prothiofos ในมะเขือยาว การทดลองที่ 1 และ 2

ระยะเวลาหลังการฉีดพ่น (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้างในมะเขือยาว (mg/kg)	
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2
0	0.49	0.59
2	0.31	0.18
5	0.10	0.07

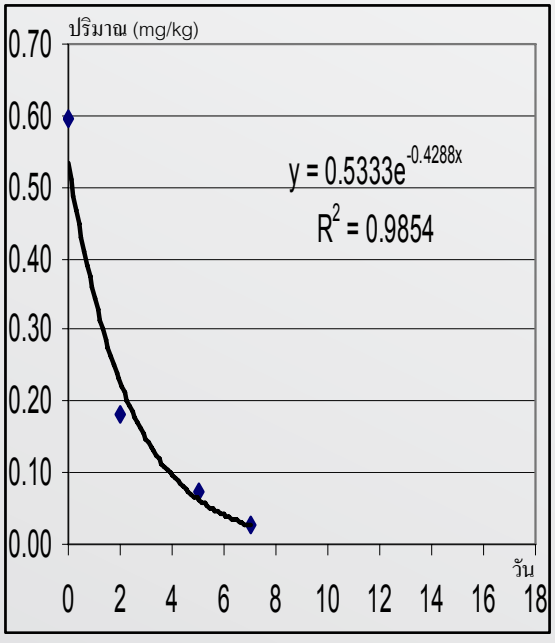
ตารางที่ 1. (ต่อ) ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ยของ prothiofos ในมะเขือยาว การทดลองที่ 1 และ 2

ระยะเวลาหลังการฉีดพ่น (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้างในมะเขือยาว (mg/kg)	
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2
7	0.07	0.03
9	0.04	ND
12	0.06	ND
14	0.01	ND
18	0.01	ND

หมายเหตุ Codex MRL ไม่กำหนดค่า prothiofos ในมะเขือยาว , PHI = 14 วัน



ภาพที่ 1. การทดลองครั้งที่ 1 การสลายตัวของ prothiofos ในมะเขือยาวที่ อ. สามพราน จ.นครปฐม



ภาพที่ 2. การทดลองครั้งที่ 2 การสลายตัวของ prothiofos ในมะเขือยาว ที่ อ. สามพราน จ.นครปฐม

ตารางที่ 2. ชนิดและปริมาณของสารพิษตกค้างในมะเขือยาว 41 ตัวอย่าง พ.ศ.2553

ชนิดของสารพิษตกค้าง	จำนวนตัวอย่าง		ปริมาณ (mg/kg)	ปริมาณ (mg/kg) / พืชที่ใช้เปรียบเทียบ
	ที่พบ	ที่เกิน Codex MRL		
cypermethrin	22	5	0.01 – 0.96	0.2 / eggplant
methidathion	2	1	0.08 – 0.31	0.1 / tomato
chlorpyrifos	7		0.01 – 0.02	0.5 / tomato, 2 / pepper sweet
ethion	7		0.01 – 0.29	ถอนค่า (Revoked)
omethoate	6		0.02 – 0.47	ไม่มีกำหนด
dimethoate	3		0.01 – 0.03	1 / pepper
EPN	3		0.06 – 0.10	ไม่มีกำหนด

ชนิดของสารพิษตกค้าง	จำนวนตัวอย่าง		ปริมาณ (mg/kg)	ปริมาณ (mg/kg) / พืชที่ใช้เปรียบเทียบ
	ที่พบ	ที่เกิน Codex MRL		
diazinon	3		0.01	0.5 / tomato
triazophos	2		0.06 – 0.34	ไม่มีกำหนด
dicrotophos	2		0.09 – 0.13	ไม่มีกำหนด
profenofos	2		0.12 – 0.13	2 / tomato
deltamethrin	2		0.01	0.3 / tomato
fenvalerate	1		0.07	0.5 / pepper sweet, 1 / tomato
L-cyhalothrin	1		0.01	ไม่มีกำหนด
prothiofos	1		0.01	ไม่มีกำหนด

ตารางที่ 3. ปริมาณสารพิษตกค้างในมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่าย 2553

จังหวัด	**จำนวนตัวอย่าง**		**ปริมาณ (mg/kg)**
	ที่ตรวจ	**ที่พบ (%)**	
นครปฐม	10	5	0.01 -0.13
ราชบุรี	9	7	0.01 – 0.30
สมุทรสาคร	7	6	0.01 – 0.96
สมุทรสงคราม	6	5	0.01 – 0.88
กาญจนบุรี	5	3	0.01 – 0.47
สุพรรณบุรี	4	3	0.02 – 0.34
รวม	**41**	**29 (71)**	**0.01 – 0.63**

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การใช้ prothiofos ตามคำแนะนำของฉลากที่ระยะเวลา 14 วัน พบปริมาณสารพิษตกค้าง 0.01 mg/kg ซึ่ง Codex ไม่ได้กำหนดค่า MRL เพื่อให้ปลอดภัยต่อการส่งออก ควรมีระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่นานที่ 14 วัน หมายถึง หลังการพ่น prothiofos และไม่เก็บมะเขือยาวนั้นเป็นเวลา 2 สัปดาห์ หากจำเป็นให้ใช้สารชนิดอื่นที่มีระยะปลอดภัยสั้น และเพื่อให้แน่นอนยิ่งขึ้นควรนำข้อมูลการทดลองอื่นมาพิจารณาร่วมด้วย เช่น รอผลการทดลองครั้งที่ 3 และ 4 เปรียบเทียบผลการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 เพื่อกำหนดค่า Codex MRL, Asean MRL และ National MRL ต่อไป จากข้อมูลการเฝ้าระวังสารพิษตกค้างในมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่าย พบ prothiofos ตกค้าง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกษตรกรมีการใช้ prothiofos ในมะเขือยาวและยังพบวัตถุมีพิษอื่นๆ รวม 15 ชนิด พบ cypermethrin เกิน Codex MRL 5 ตัวอย่าง และ methidathion 1 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าเกษตรกรมีการใช้วัตถุมีพิษชนิดอื่นด้วยและไม่ใช้วัตถุมีพิษตามที่ฉลากกำหนดรวมถึงสารบางชนิด Codex

ไม่ได้กำหนดค่า MRL ไว้ และการประกอบอาหารยังช่วยลดปริมาณสารพิษตกค้างได้เพิ่มขึ้น จากข้อมูลการใช้วัตถุอันตรายไม่ตรงตามฉลากและสารพิษตกค้างชนิดต่างๆในมะเขือยาวสามารถนำไปวางแผนการจัดการปัญหาสารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตร รวมทั้งการใช้วัตถุอันตรายที่ถูกต้อง และในปี 2553 หน่วยงานความปลอดภัยด้านอาหารประจำสหภาพยุโรป (EFSA) ได้เสนอมาตรการเสริมในการควบคุมการตรวจสอบสินค้านำเข้าที่ด่านร้อยละ 50 โดยเฉพาะมะเขือ ซึ่งอาจส่งผลต่อการส่งออกมะเขือยาวของไทยไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำผลการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 รอเพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองครั้งที่ 3 และ 4 เพื่อกำหนดค่า Codex MRL, Asean MRL และ National MRL
2. ผลการทดลองการสำรวจสารพิษตกค้างจากแหล่งจำหน่ายนำเสนอกรมวิชาการเกษตร เพื่อนำข้อมูลร่วมพิจารณากำหนดแนวทางในการแนะนำ การใช้วัตถุมีพิษในมะเขือยาวให้แก่เกษตรกรต่อไป
3. นำข้อมูลชนิดของสารพิษตกค้างที่พบแต่ไม่มีกำหนดในฉลาก นำเสนอกรมวิชาการเกษตรเพื่อแนะนำการเลือกใช้วัตถุอันตรายของเกษตรกร และหาเครือข่ายการให้คำแนะนำการใช้ฯ ที่ถูกต้องจากร้านจำหน่ายวัตถุอันตรายทางการเกษตร
4. นำเสนอกรมวิชาการเกษตรเพื่อกำหนดแนวทางและทิศทางการใช้วัตถุอันตรายในอนาคต และกำหนดนโยบายด้านวัตถุอันตรายตั้งแต่การขึ้นทะเบียนถึงการใช้ของสารที่เป็นปัญหาต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

คลินิกพืช. http://forecast.doae.go.th/web/eggplant.html

British Crop Protection Council : BCPC, 2003. The e-Pesticide Manual (Thirteenth Edition 13) Version 3

DG SANCO, 2008. http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index

FAO, 2002. 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.

FAO and WHO, 2010. http://www.codexalimentarius.net/mrls/ .

Greve, P.A. and Hogendoorm E.A., 1998. Analytical Method of Residues of Pesticide in Food Stuffs (fifth edition).Ministry of Welfare Health and Cultural Affairs, Natherlands,

Steinwandter H., 1985. Universal 5 min on line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. Fresenius. Z.Anal. Chem. No.1155.

The Japan Food Chemical Research Foundation. http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html

Wikipedia. http://en.wikipedia.org/wiki/Eggplant

การเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวิธีการ QuEChERS ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph โดยใช้ Analytical Protectants

Effectiveness of Analytical Protectants for Improving QuEChERS Analysis by Gas Chromatograph

ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล *วิทยา บัวศรี*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

Analytical Protectants เป็นสารประกอบมีขั้วจำพวกน้ำตาลและอนุพันธ์ของน้ำตาล มีความสามารถในการเข้าไปรบกวนการเกาะยึดตรงส่วนที่ active site บน GC-inlet และบนพื้นผิวของ column ของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ทำการทดสอบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวิธีการ QuEChERS ด้วยเครื่อง GC/FPD โดยใช้สารละลายผสมของ Sorbitol Shikimic acid D-(-)Gluconic acid-δ-lactone และ3-Ethoxy-1,2-propanediol เติมลงในตัวอย่างที่อยู่ในสารละลาย acetronitrile (MeCN) และสารละลาย Matrix (พริก) ที่สกัดเสร็จแล้ว พบว่าการเติมสารละลาย Analyte Protectants ช่วยทำให้รูปร่างและความสูงของ peak และ peak intensity ในตัวอย่างดีขึ้น ลดการเกิด peak tailing โดยให้ผลเหมือนกับการใช้ matrix matched standard แต่การใช้ Analyte Protectants เป็นวิธีการที่สะดวกกว่าการใช้ matrix matching standard ในการยืนยันการตรวจวิเคราะห์ เมื่อทำการฉีดตัวอย่างเป็นจำนวนครั้งมากๆ (long sequence) ตัวอย่างที่เติมสารละลาย Analyte Protectants จะให้ relative standard deviation (RSDs) ของพื้นที่ใต้ peak (peak area) ความสูง (heights) อัตราส่วนระหว่างความสูงกับพื้นที่ (height-to-area ratio) ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants นอกจากนี้ Analyte Protectants ยังช่วยการแก้ไขข้อผิดพลาดของการเกิด matrix-induced enhancement effects ได้อีกด้วย

คำนำ

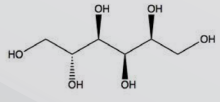
การเกิดปรากฏการณ์ของ matrix-induced chromatographic response enhancement effect โดยการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC ได้มีการศึกษากันอย่างต่อเนื่องในระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมา การเกิด Matrix-Induced enhancement effects นั้นมีผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ โดยเฉพาะ coextracted matrix component ทำให้สารมีความสามารถในการตรวจวัดที่ต่ำ การรายงานผลการวิเคราะห์ผิดพลาดจาก false positive หรือ negative (Maštovská, *et al.,* 2005) matrix (สิ่งรบกวนของสารที่มีอยู่ในตัวอย่าง) จะช่วยให้รูปร่างของ peak และ peak intensity ในตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ดีขึ้น เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มี matrix ลักษณะของ peak ที่ได้จะไม่ดี มีค่า response ต่ำ แต่เมื่อใช้สารละลาย solvent ที่ไม่มี matrix เป็น calibration standards จะทำให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่มี

ค่าสูงกว่าค่าที่เป็นจริง (overestimated results) (Anastassiades, *et al*., 2006)

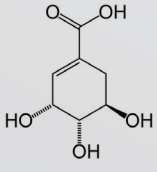
การลดการเกิด matrix effect มีอยู่ด้วยกันหลายวิธี เช่น การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up)ในตัวอย่าง การดูแลรักษาเครื่องมือการตรวจวิเคราะห์ การใช้ inert material แต่วิธีการเหล่านี้ก็ยังไม่สามารถกำจัดการเกิด matrix effect ให้หมดไปได้ วิธีที่มีประสิทธิภาพสามารถที่จะแก้ไขปัญหาการเกิด matrix effect คือ การใช้ matrix-matched standards และ standard additions แต่ก็ยังมีปัญหาอยู่บ้างในเรื่องการเตรียมสารละลาย ส่วนการใช้ isotopically labeled (ISTDs) สามารถแก้ปัญหาได้ดีที่สุด แต่ยังไม่เหมาะที่จะนำมาใช้สำหรับการวิเคราะห์แบบ multiresidue เนื่องจากมีราคาแพง และมีข้อจำกัดบางประการ (Anastassiades, *et al*., 2006)

ได้มีการริเริ่มการใช้ Analyte protectants (APs) ในปี 2002 โดยหน่วยงาน EPRW ในกรุงโรม ประเทศอิตาลี Aps เป็นสารเคมีที่เติมลงไปในตัวอย่างที่สกัดแล้วและเป็นสารมาตรฐานที่ใช้สำหรับทำ calibration เพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณลักษณะ peak ของสารป้องกันกำจัดแมลงและปรับ matrix effects ให้เกิดการสมดุล โดย APs จะทำหน้าที่ในการรบกวนการเข้าไปเกาะยึดตรงส่วนที่ active site บน GC-inlet และบนพื้นผิวของ column ของสารป้องกันกำจัดแมลง ที่เป็นสาเหตุในการแยกที่ไม่ดี ลักษณะของ peak ที่เตี้ย และกว้าง (Maštovská, *et al*., 2005)

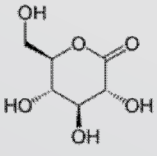
สารละลาย Analyte protectants สามารถใช้เติมเข้าไปในตัวอย่างเป็นชนิดเดี่ยวหรือทำเป็นสารละลายผสม โดยที่ปริมาณความเข้มข้นของสารต้องมากกว่าสารป้องกันกำจัดแมลงที่มีอยู่ในตัวอย่าง ส่วนใหญ่จะเป็นสาร polar ได้แก่ สารจำพวกน้ำตาลและอนุพันธ์ของน้ำตาล เช่น Sorbitol Shikimic acid D-(-)Gluconic acid-δ-lactone และ 3-Ethoxy-1,2-propanediol ซึ่งมีความสามารถในการเข้าไปจับที่พันธะไฮโดรเจน ประโยชน์ของ APs ช่วยในการแก้ไขข้อผิดพลาดของการเกิด matrix-induced enhancement effects และเป็นวิธีการที่สะดวกกว่าการใช้ matrix matching standard ในการยืนยันการตรวจวิเคราะห์ (Anastassiades, *et al*., 2006)



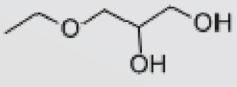
Sorbitol



Shikimic acid



D-(-)Gluconic acid-δ-lactone



3-Ethoxy-1,2-propanediol

วิธีการดำเนินการ

1. การเตรียม Standard Stock solution **ของ** Analyte Protectant

1.1 ชั่ง Sorbitol 500 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยสารละลายผสม acetronitrile :น้ำ (60:40) มิลลิลิตร

1.2 ชั่ง D-(-)Gluconic acid-δ-lactone 500 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยสารละลายผสม acetronitrile:น้ำ (60:40) มิลลิลิตร

1.3 ชั่ง Shikimic acid 500 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยสารละลายผสม acetronitrile:น้ำ (60:40) มิลลิลิตร

2. การเตรียม Analyte Protectant Mixture (AP)

ชั่ง 3-Ethoxy-1,2-propanediol 2 กรัม ลงใน volume matrix flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติม Stock solution ของ D-(-)Gluconic acid-δ-lactone 2 มิลลิลิตร Sorbitol 1 มิลลิลิตร และ Shikimic acid 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายผสม acetronitrile:น้ำ (60:40) มิลลิลิตร เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

3. การเตรียมสารละลายสกัด Matrix เตรียมสารละลายสกัดจากตัวอย่างพริก ที่ผ่านการสกัดและการ clean ด้วยวิธี QuEChERS (Anastassiades[1], *et al*., 2003) ดังนี้

3.1 ชั่งตัวอย่างพริก ตัวอย่างละ 10 กรัม ใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 0.1% acetic acid ใน acetonitile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer ที่ระดับความเร็วรอบสูงสุด นาน 1 นาที เติม magnesium sulfate 4.0 กรัม และ sodium chloride 1.0 กรัม ปิดฝาแล้ว เขย่าด้วย vortex ต่อ อีก 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

3.2 การขจัดสิ่งปนเปื้อน (Dispersive-SPE Clean up) ดูดสารละลายของตัวอย่าง ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่ใส่ PSA 25 มิลลิกรัม และ magnesium sulfate 150 มิลลิกรัม ไว้แล้ว เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex ที่ระดับความเร็วรอบสูงสุด นาน 30 วินาที นำไป centrifuge ที่ระดับความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที

4. การเตรียม matrix standard เตรียมสารละลายสกัด Matrix ที่ผ่านการสกัดและการ clean up ตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐานทั้ง 9 ชนิดได้แก่ dichlorvos methamidophos mevinphos omethoate dimethoate chlorpyrifos-methyl methidathion phosalone azinphos-ethyl ให้มีความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/ม ล. ดูดสารละลายสกัด Matrix จากข้อ 3.2 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ลงใน volume matrix flask ขนาด 2 ml เพื่อนำไปลดปริมาตรลง 50% ให้เหลือประมาณ 1 มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง N_2 Evaporator จากนั้นเติมสารละลาย AP จำนวน 60 ไมโครลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายสกัด Matrix นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC-FPD

5. การเตรียมสารละลายมาตรฐานวัตถุมีพิษ (standard solution)

5.1 Solvent mixed standard solution เป็นการเตรียมสารมาตรฐาน 9 ชนิด ได้แก่ dichlorvos methamidophos mevinphos omethoate dimethoate chlorpyrifos-methyl methidathion phosalone azinphos-ethyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย toluene ชนิด PR grade

5.2 การเตรียม solvent mixed standard solution+ AP เป็นการเตรียมสารมาตรฐาน 9 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เติมสารละลาย AP จำนวน 30 ไมโครลิตรต่อ 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetronitrile (MeCN) ชนิด PR grade

6. การวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC-μECD/FPD)

เครื่อง Gas Chromatograph ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector : FPD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 คอลัมน์ที่ใช้ capillary column DB-1701P ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม liquid phase ที่ใช้เคลือบในคอลัมน์ 0.25 ไมโครเมตร มีสภาวะการใช้งานดังนี้

- Temperature: Injector 250 °C Carrier gas: Helium
- Splitless mode Constant flow 2.2 ml/min , Inject volume: 1 µl
- Oven temperature program

70 °C(3 min) $\xrightarrow{15\,^{\circ}C/min}$ 120 °C(1 min) $\xrightarrow{15\,^{\circ}C/min}$ 250 °C(6.33 min) $\xrightarrow{15\,^{\circ}C/min}$ 250 °C(3 min)

- Detector 250 °C, H_2 flow 150 ml/min, Air flow 110 ml/min, N_2 flow 60 ml/min
- ระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ต่อตัวอย่าง (Run time) 26 นาที

6.1 การตั้ง Sequence สำหรับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC มีการเรียงลำดับสำหรับการฉีดตัวอย่าง ดังนี้

ชุดที่ 1

(1) Test injection 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย MeCN ที่ไม่เติมสารละลาย AP

(2-9) สารละลาย solvent mixed standard ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

(10-17) สารละลาย matrix standard ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ชุดที่ 2

(18) Test injection 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย MeCN ที่ไม่เติมสารละลาย AP

(19-26) สารละลาย solvent mixed standard + AP ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

(27) Test injection 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย MeCN ที่ไม่เติมสารละลาย AP

(28-35) สารละลาย matrix standard + AP ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25

(28-35) สารละลาย matrix standard + AP ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

(36) Test injection 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย MeCN ที่ไม่เติมสารละลาย AP

(37-44) สารละลาย solvent mixed standard + AP ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ชุดที่ 2 ทำการฉีดทั้งหมด 5 ชุด รวม 135 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ตัวอย่างที่มีสารละลาย Analyte Protectants จำนวน 120 ตัวอย่าง และสารสกัด Matrix จำนวน 40 ตัวอย่าง

ชุดที่ 3

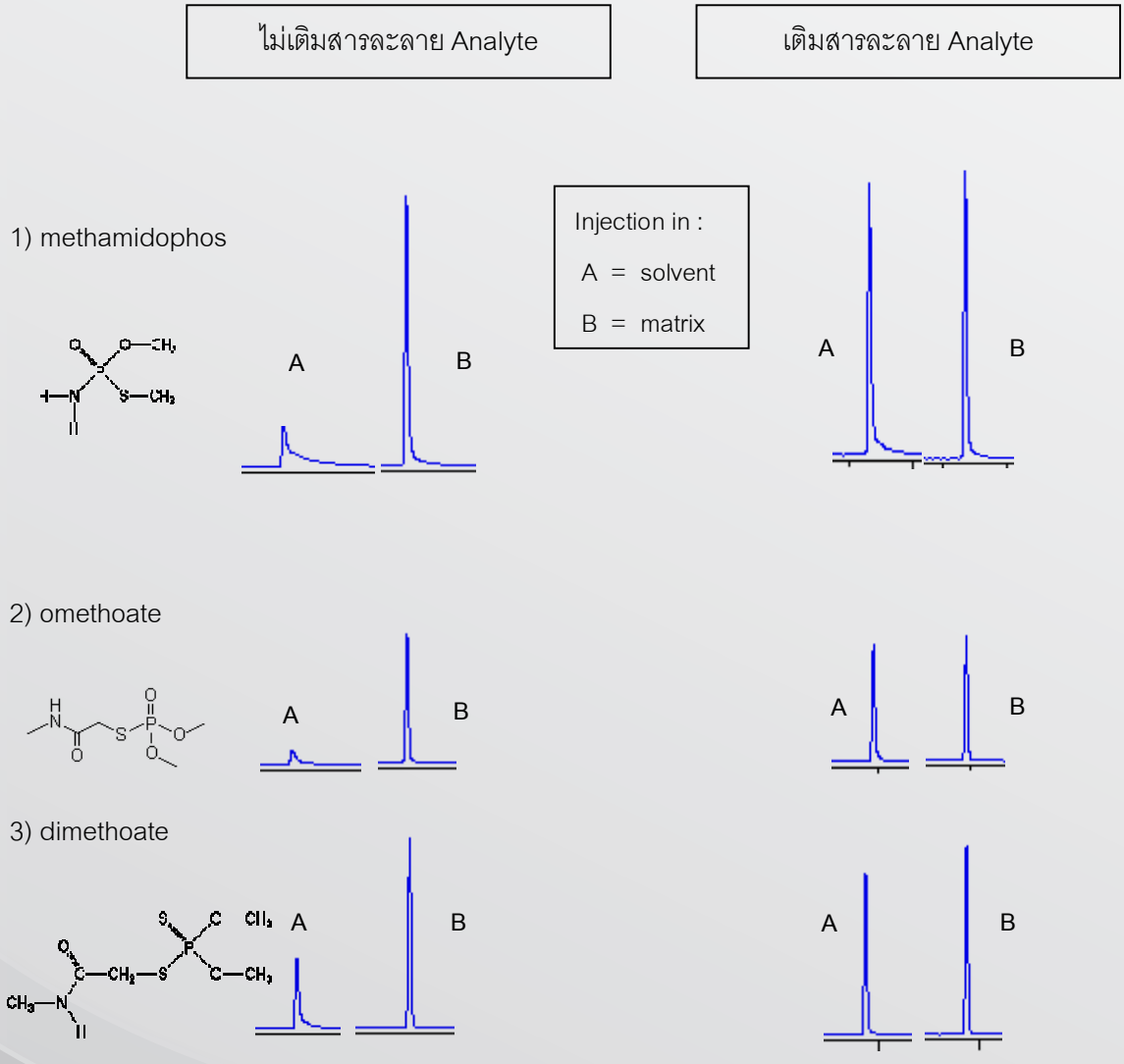
(136) Test injection 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย MeCN ที่ไม่เติมสารละลาย AP

(137-144) สารละลาย matrix standard + AP ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.25 0.5 1.0 1.25 2.5 และ 5.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

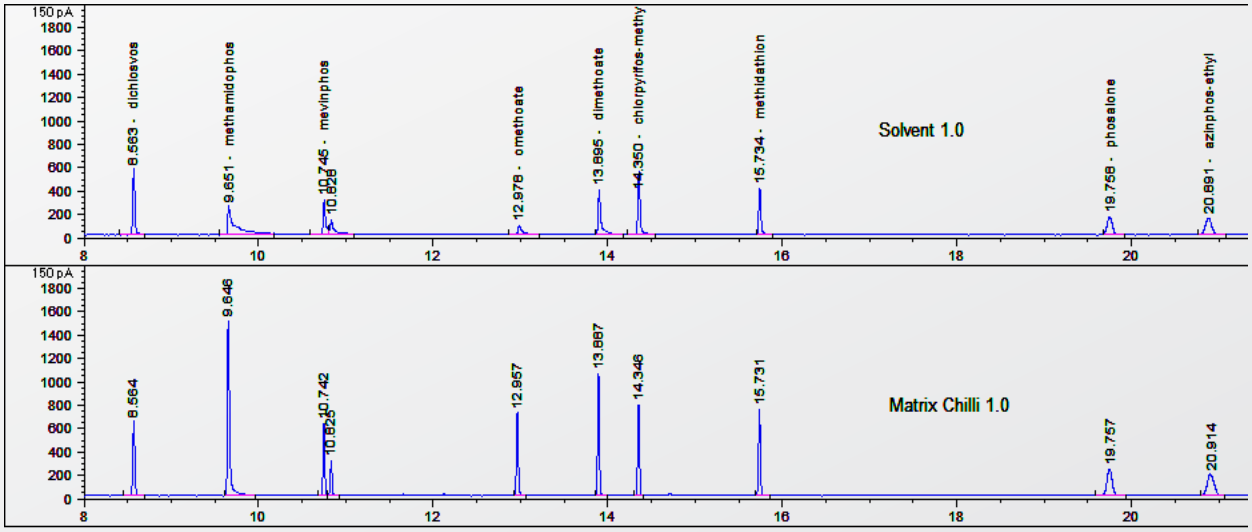
(145) Test injection 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย MeCN ที่ไม่เติมสารละลาย AP

ผลการทดลองและวิจารณ์

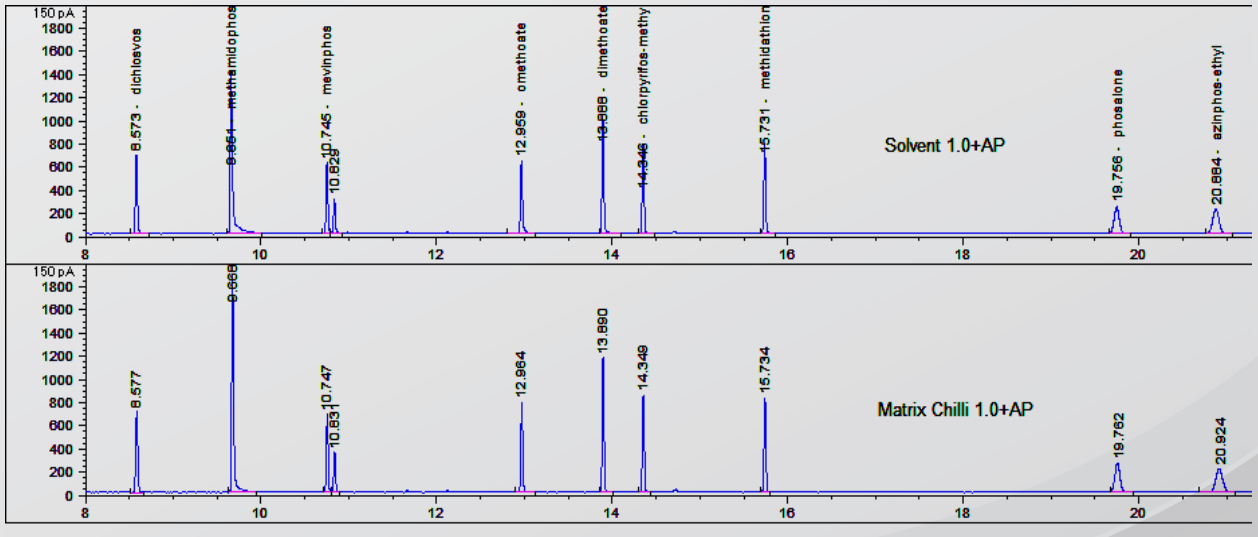
เมื่อเปรียบเทียบรูปร่าง ความสูงและ intensity ของ peak ของวัตถุมีพิษ 4 ชนิด ในสารละลาย matrix (พริก) และ solvent (acetonitrile) โดยการเติมสารละลาย Analyte Protectants ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลปรากฏว่ารูปร่างและความสูงของ peak ของวัตถุมีพิษทั้ง 3 ชนิดในตัวอย่างที่มีการเติมสารละลาย Analyte Protectants ให้ผลไม่แตกต่างกันทั้งในสารละลาย matrix และ solvent นอกจากนี้ยังช่วยลดการเกิด peak tailing



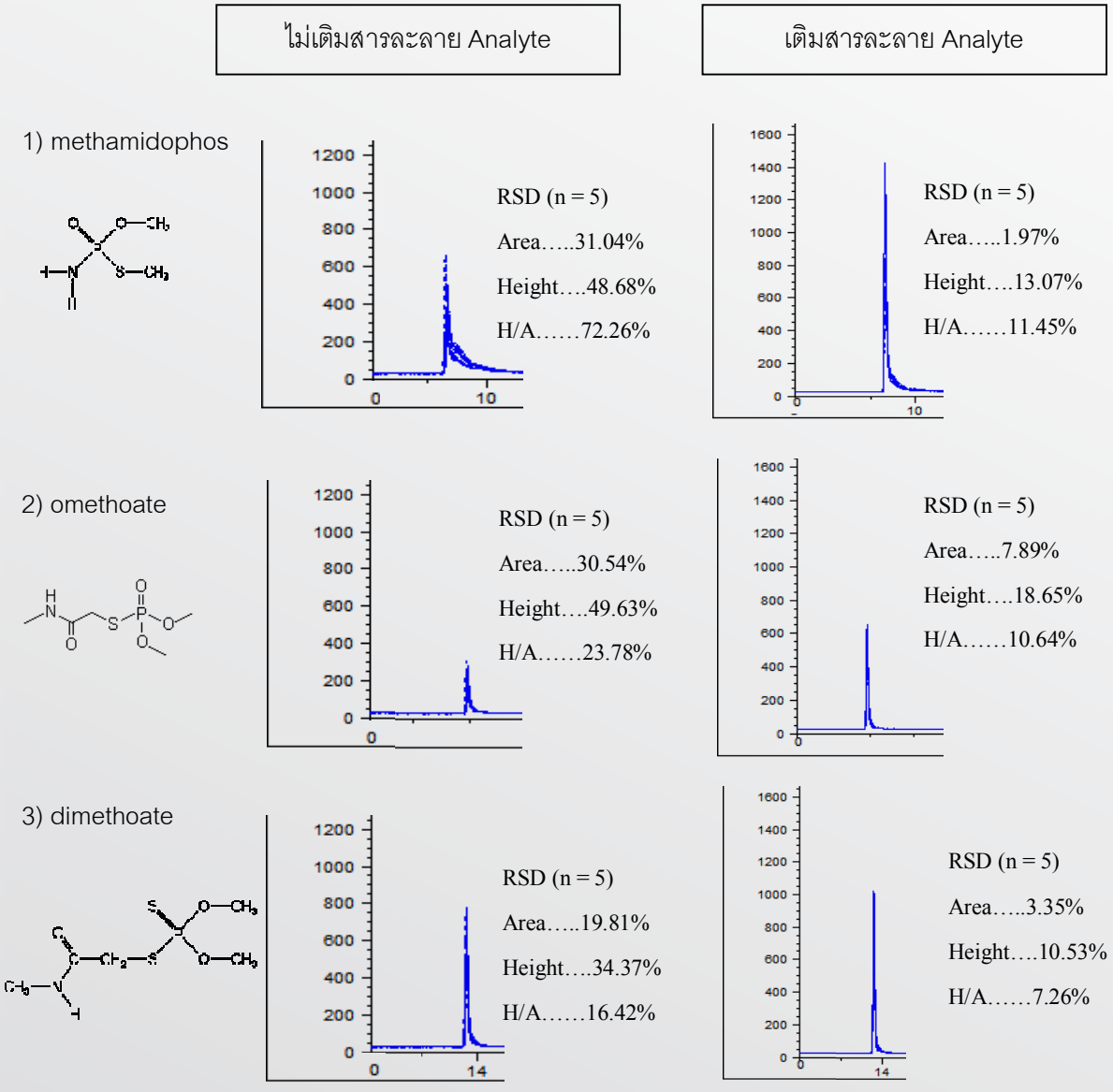
ภาพที่ 1. เปรียบเทียบรูปร่าง และ intensity ของ peak ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย matrix (พริก) และ solvent (acetonitrile) โดยไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants และการเติมสารละลาย Analyte Protectants



ภาพที่ 2. เปรียบเทียบรูปร่าง และ intensity ของ peak ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย matrix (พริก) และ solvent (acetonitrile) โดยไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants



ภาพที่ 3. เปรียบเทียบรูปร่าง และ intensity ของ peak ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย matrix (พริก) และ solvent (acetonitrile) โดยการเติมสารละลาย Analyte Protectants



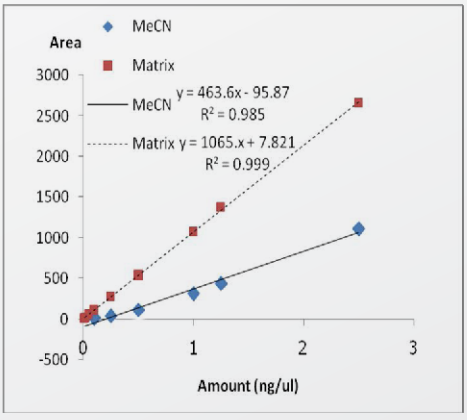
ภาพที่ 4. Overlay chromatograms ของ methamidophos omethoate และ dimethoate ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ใน acetonitrile ที่เติม Analyte Protectants และ Test injection 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย acetonitrile ที่ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants (n = 5)

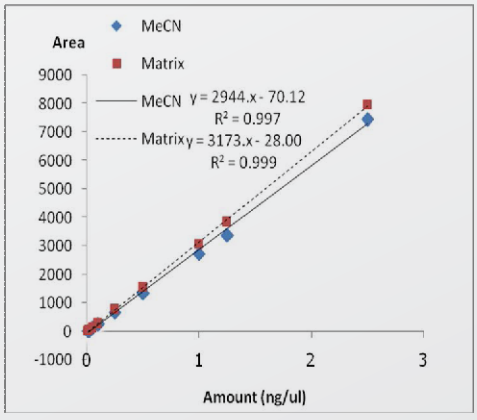
จากภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่าสัญญาณการตรวจวัดของ methamidophos omethoate และ dimethoate จะลดลงเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งของการฉีดตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เติมสารละลาย Analyte Protectants จะให้ relative standard deviation (RSDs) ของพื้นที่ใต้ peak (peak area) ความสูง (heights) และอัตราส่วนระหว่างความสูงกับพื้นที่ (height-to-area ratio) น้อยกว่า ตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants เมื่อทำการฉีดตัวอย่างเป็นจำนวนครั้งมากๆ (long sequence)

สำหรับตัวอย่างที่มีลักษณะของ peak ที่เตี้ยและเป็น tailing เช่น methamidophos พื้นที่ใต้ peak จะให้ reproduce มากกว่าความสูงของ peak และเป็นเหตุผลหนึ่งว่าทำไมจึงเลือกพื้นที่ใต้ peak ในการวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพ (quantitation) สำหรับการตรวจวัตถุมีพิษด้วยเครื่อง GC โดยการวิเคราะห์แบบ multiresidue analysis

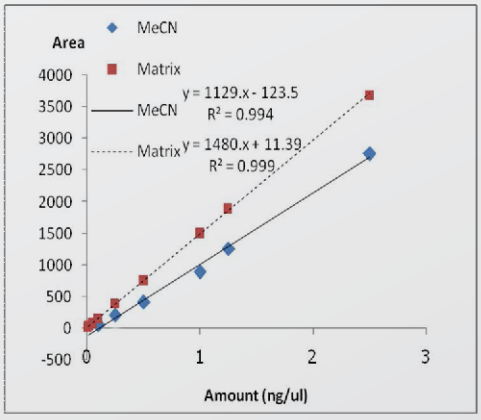
ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants	เติมสารละลาย Analyte Protectants

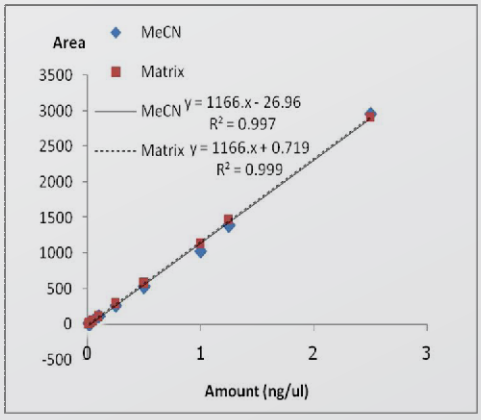
1) methamidophos



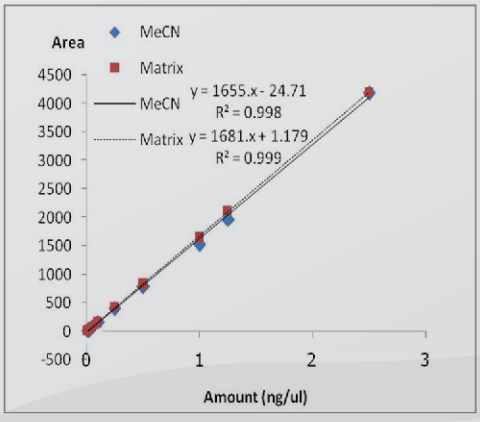


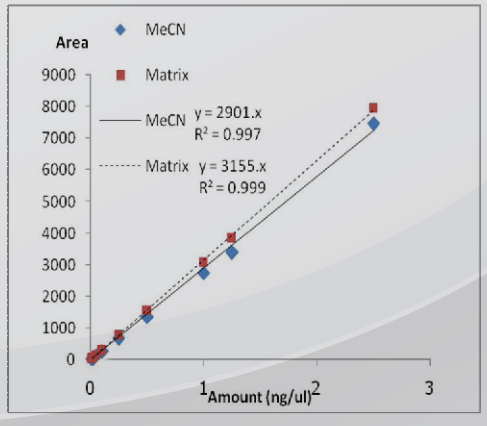
2) omethoate





3) dimethoate





ภาพที่ 5. เปรียบเทียบ calibration curve ของ methamidophos omethoate และ dimethoate ในสารละลาย acetonitrile (MeCN) และสารละลายmatrix (พริก) ที่ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants และเติมสารละลาย Analyte Protectants

เมื่อเปรียบเทียบ calibration curve ของ methamidophos omethoate และ dimethoate ในสารละลาย acetonitrile (MeCN) และสารละลาย matrix (พริก) ที่ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants และเติมสารละลาย Analyte Protectants (ภาพที่ 5) พบว่า calibration curve ของ methamidophos omethoate และ dimethoate ในสารละลาย acetonitrile (MeCN) ที่ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants จะให้กราฟที่มีลักษณะไม่เป็นเส้นตรง (nonlinear calibration curves) และมี slope และ intercept ที่น้อยกว่าในสารละลาย matrix สาเหตุเกิดจากผลของ matrix-induced enhancement effect ของการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ซึ่งมีผลต่อความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์ที่จะทำให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์มีค่าสูงกว่าค่าที่เป็นจริง (overestimated results) เมื่อใช้สารละลาย solvent ที่ไม่มี matrix เป็น calibration standards

การเติมสารละลาย Analyte Protectants ในสารละลาย acetonitrile (MeCN) และสารละลาย matrix (พริก) จากภาพที่ 5 จะเห็นว่าไม่มีความแตกต่างกันในสารละลายทั้งสองชนิด ดังนั้นการเติมสารละลาย Analyte Protectants จะช่วยแก้ปัญหาเรื่องความแตกต่างระหว่างผลของ calibration ในสารละลาย matrix กับ สารละลายที่ไม่มี matrix

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวิธีการ QuEChERS ด้วยเครื่อง GC โดยใช้ Analytical Protectants ที่เป็นสารละลายผสมของ 3-Ethoxy-1,2-propanediol D-(-)Gluconic acid-δ-lactone Sorbitol และ Shikimic acid เติมลงในสารละลาย acetronitrile (MeCN) และในสารละลาย Matrix จะช่วยลดการเกิด matrix-induced enhancement effect ลดการเกิด peak tailing จะให้รูปร่างของ peak และ peak intensity relative standard deviation (RSDs) ของพื้นที่ใต้ peak (peak area) ความสูง (heights) อัตราส่วนระหว่างความสูงกับพื้นที่ (height-to-area ratio) ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลาย Analyte Protectants ช่วยแก้ปัญหาเรื่องความแตกต่างระหว่างผลของ calibration ในสารละลาย matrix กับสารละลายที่ไม่มี matrix ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง

การใช้ Analyte Protectants เป็นวิธีการที่สะดวกกว่าการใช้ matrix matching standard ที่ต้องใช้เวลา แรงงานในการเตรียม และการเลือกตัวอย่าง (blank material) ให้เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการเตรียม matrix matching standard อีกทั้งจะเป็นการเพิ่มภาระหนักเมื่อตัวอย่างที่วิเคราะห์มีหลากหลายชนิดพืช สามารถพบได้เสมอในการตรวจวิเคราะห์ที่ทำเป็นงานประจำ

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ทำเป็นงานประจำและต้องการผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว
2. ใช้เป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาและพัฒนาเพื่อเป็นมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผลไม้และผักชนิดอื่นๆ

3. นำไปถ่ายทอดให้แก่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8 เพื่อเป็นการพัฒนาและเพิ่มศักยภาพของห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตร
4. จัดทำเป็นเอกสารเผยแพร่เพื่อให้ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างทั้งในภาครัฐและเอกชนนำไปทดสอบและใช้ในการปฏิบัติงานจริงได้

เอกสารอ้างอิง

Anastassiades,M.,[1] Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., and Schenck, F.J. 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce. J. AOAC Int. 86, 412-431.

Anastassiades, M., Tasdelen, B., and Scherbaum, E., 2006. Investigations on the use of analyte protectants for multiresidue GC analysis. EPRW, Stuttgart, Germany,

Anastassiades, M.,[2] Maštovská, K., and Lehotay, S. J., 2003. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. J. Chromatograph A, 1015, 163-184.

Maštovská, K., Lehotay, S. J., and Anastassiades, M., 2005. Combination of Analyte Protectants to Overcome Matrix Effects in Routine GC Analysis of Pesticide Residues in Food Matrixes. Analytical Chemistry, Vol. 77, No. 24, 8129-8137.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างไดเมโทเอต (dimethoate) ในถั่วฝักยาว เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1 และ 2

Residue Trial of Dimethoate in Yardlong Bean to Establish Maximum Residue Limit (MRL)

ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล ศศิมา มั่งนิมิตร์ วิทยา บัวศรี

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไดเมโทเอต (dimethoate) ในถั่วฝักยาว หลังการใช้สารพิษอย่างถูกต้องและเหมาะสม(GAP) โดยทำการทดลองแบบ supervised trial ตาม Codex Guideline รวม 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2553 ครั้งที่ 2 อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม 2553 พ่นวัตถุมีพิษไดเมโทเอต 40% w/v ปริมาณ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ตามอัตราแนะนำ ทุก 7วัน รวม 4 ครั้ง สุ่มเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์สารพิษตกค้างในวันที่ 0 1 3 5 7 10 และ 14 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างไดเมโทเอตในถั่วฝักยาวของการทดลองครั้งที่ 1 พบสารพิษตกค้าง 3.86, 2.12, 0.17, และ < 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การทดลองครั้งที่ 2 พบสารพิษตกค้าง 4.81, 1.93, 0.47, และ 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0 1 3 และ 5 วัน ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลาอื่นๆ ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง สำหรับแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ซึ่งวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้มีค่า LOQ เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่า Thai MRL และ Codex MRL ของ dimethoate ในถั่วฝักยาว และ Common bean (pods and/or immature seeds) กำหนดให้มีสารพิษตกค้างเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไดเมโทเอตมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วและเปลี่ยนรูปเป็นโอเมโทเอต และ Codex ได้พิจารณายกเลิกค่า MRL ของ omethoate (FAO/WHO, 2011) ดังนั้นหลังการพ่นสาร dimethoate แล้ว 7 วัน จึงจะสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตที่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค จากการสุ่มเก็บตัวอย่างถั่วฝักยาวตามแหล่งผลิต และแหล่งจำหน่ายในจังหวัดต่างๆ จำนวน 46 ตัวอย่าง เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง กลุ่ม Organophosphates Pyrethriods และ endosulfan ตรวจพบสารพิษตกค้างในถั่วฝักยาว จำนวน 11 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 23.91 โดยพบ dimethoate จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ <0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม chlorpyrifos 6 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01 - 0.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบเกินค่า Codex MRL (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) 4 ตัวอย่าง ตรวจพบ EPN จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม dicrotophos จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ diazinon 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

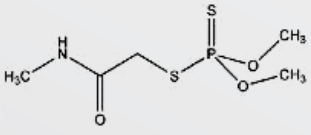
คำนำ

ปัจจุบันสถานการณ์การค้าโลกมีความเปลี่ยนแปลง เนื่องจากระเบียบการค้าโลกเริ่มมีความเข้มข้นขึ้น อีกทั้งตลาดต่างประเทศที่เป็นตลาดสำคัญของไทยนั้นเป็นประเทศพัฒนาแล้ว ประชากรส่วนใหญ่มีความต้องการสินค้าที่ต้องมีทั้งคุณภาพมาตรฐาน และความปลอดภัย จึงมีการกำหนดบังคับใช้กฎ ระเบียบต่างๆ ที่เป็นเงื่อนไขสำคัญในการค้าสินค้าอาหารมากขึ้น ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ปัญหาหลักสำคัญที่เกิดขึ้นในเรื่องของความปลอดภัยในอาหาร จึงมีที่มาจากสารเคมีที่ใช้ในทางการเกษตร การที่มีสารพิษตกค้างอยู่ในผลิตผลทางการเกษตรในปริมาณสูง ทำให้เกิดปัญหาเมื่อสินค้าเกษตรต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผัก ผลไม้ ที่ส่งไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ เมื่อประเทศผู้นำเข้าซึ่งมีระบบตรวจสอบสารพิษตกค้างเข้มงวด ตรวจพบชนิดสารพิษและปริมาณที่เกินค่ากำหนดสากล ผลผลิตเกษตรต่าง ๆ ดังกล่าว จึงถูกปฏิเสธการนำเข้าบ่อยครั้ง ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ และเสียชื่อเสียงของประเทศเป็นอย่างมาก นอกจากนี้หากผลผลิตประเภทเดียวกันนั้นถูกบริโภคภายในประเทศก็จะเกิดอันตรายแก่สุขภาพของประชากรในประเทศเช่นเดียวกัน

การกำหนดค่ามาตรฐานเกี่ยวกับปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมรับให้มีได้ในผลิตผลเกษตร (Maximum Residue Limits - MRLs) วัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นหลักในการปฏิบัติให้เกิดความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค และช่วยให้การดำเนินธุรกิจเป็นไปอย่างราบรื่น โดยมีมาตรฐานที่กำหนดขึ้นมานี้เป็นสิ่งที่ช่วยในการตัดสินใจ ตามปกติการกำหนดค่า MRLs ดำเนินการโดยคณะกรรมการร่วมของ Codex ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญจากองค์การอาหารและเกษตร (FAO) ร่วมกับองค์การอนามัยโลก (WHO) ค่าที่กำหนดขึ้นมาจะส่งให้ประเทศสมาชิกพิจารณาว่าเหมาะสมหรือไม่ และสามารถต่อรองได้ถ้ามีข้อมูลที่เหมาะสม ค่า MRLs นี้มีที่มาจากองค์ประกอบหลายประการ ส่วนหนึ่งมาจากการศึกษาทางพิษวิทยากับสัตว์ทดลองได้ค่าปริมาณที่สามารถรับสารเข้าสู่ร่างกาย แล้วไม่เกิดอันตรายหรือเกิดผลข้างเคียงที่ผิดปกติ เรียกค่านี้ว่า allowable daily intake : ADI เมื่อได้ค่าทางพิษวิทยาแล้วจะต้องทำการศึกษาในแปลงทดลอง (experimental field trial) ปลูกพืชโดยใช้สารเคมีตามคำแนะนำภายใต้การปฏิบัติการทางการเกษตรที่ถูกต้องและเหมาะสม (Good Agricultural Practice:GAP) แล้วตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างภายหลังการเก็บเกี่ยว ค่าปริมาณสารพิษตกค้างภายหลังการเก็บเกี่ยวจะถูกเสนอให้เป็น proposed MRL ซึ่งจะเหมาะสมหรือไม่ จะต้องตรวจสอบโดยการศึกษาทางพิษวิทยาร่วมกับข้อมูลการบริโภคอาหาร (Food Consumption Data) ถ้าพิจารณาได้ว่าปริมาณสารที่รับเข้าไปน้อยกว่าค่า ADI ถือว่าปลอดภัยและการใช้สารนั้นเหมาะสม ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวตามการทดลองนั้นถูกต้องสามารถนำไปแนะนำและกำหนดในฉลากเป็นคำแนะนำที่ถูกต้อง (FAO, 1990)

ประเทศพัฒนาแล้วจะมีข้อมูลในเรื่องนี้อย่างครบถ้วน สามารถใช้ในการตัดสินใจกำหนดมาตรฐานสารพิษตกค้างได้อย่างเหมาะสม รวมทั้งใช้เป็นตัวกำหนดในสินค้านำเข้าจากประเทศอื่นด้วย ประเทศไทยเองจำเป็นต้องศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในผลิตผล เพื่อใช้กำหนดค่า MRLs ในประเทศ และเพื่อประโยชน์ในการต่อรองทางด้านการค้า ซึ่งเป็นเรื่องสำคัญที่จะต้องดำเนินต่อไปอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สามารถปฏิบัติตามมาตรฐานที่ประเทศอื่นกำหนดได้โดยไม่เสียประโยชน์

ถั่วฝักยาว เป็นพืชที่ได้รับการแจ้งเตือนตรวจพบสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเกินค่าตกค้างสูงสุด (MRL) ที่กำหนดจากสหภาพยุโรปผ่านระบบ Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) สารตกค้างที่ตรวจพบบ่อย คือ dimethoate, omethoate และ dicrotophos สหภาพยุโรปจึงได้ประกาศระเบียบ Regulation No 669/2009 เมื่อวันที่ 24 กรกฎาคม 2552 เพิ่มความเข้มงวดในการตรวจสอบสินค้าจากไทย จำนวน 3 รายการ คือ ถั่วฝักยาว ผักในตระกูลมะเขือ และผักในตระกูลกะหล่ำ ถูกสุ่มตรวจสอบสารตกค้าง ณ ด่านนำเข้า 50% ของปริมาณสินค้า มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 25 มกราคม 2553 (กลุ่มงานมาตรการ SPS สำนักมาตรการทางการค้า, 2553)



ไดเมทโทเอต (dimethoate) จัดเป็นวัตถุมีพิษในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสชนิดถูกตัวตายและดูดซึมโดยมีผลในการยับยั้งการทำงานของ enzyme acetylcholinesterase ใช้ในการป้องกันกำจัด เพลี้ย แมลงวัน และหนอน ในพืชผักและผลไม้ น้ำหนักโมเลกุล 229.3 ค่า ADI 0.01 mg/kg/day การสลายตัวในพืชจะเปลี่ยนรูปเป็น omethoate (น้ำหนักโมเลกุล 213.2) มีกลไกการทำงานทางชีวเคมีเช่นเดียวกับ dimethoate แต่มีค่าความเป็นพิษสูงกว่า (EFSA, 2010) คำแนะนำในฉลากให้ใช้ไดเมทโทเอต 40% W/V EC เพื่อป้องกันกำจัด เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น และหนอนแมลงวันเจาะโคนกล้าถั่วในถั่วฝักยาวปริมาณ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยมีระยะเวลาหลังจากใช้ครั้งสุดท้ายถึงการเก็บเกี่ยวผลผลิต (pre harvest interval:PHI) เท่ากับ 14 วัน

dimethoate มีการสลายตัวอย่างรวดเร็วในพืช เป็น omethoate ซึ่งเป็น primary methabolite ของ dimethoate ที่มีความเป็นพิษมากที่สุด ส่วนสาร metabolites อื่นๆ ได้แก่ Odesmethyl omethoate carboxylic acid (XX), O-desmethyl iso-dimethoate (XII) และ dimethoate carboxylic acid (III) มีความสามารถน้อยในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cholinesterase การกำหนดค่าสารพิษตกค้างให้แยกระหว่าง dimethoate และ omethoate (EFSA, 2010)

ในปัจจุบันถั่วฝักยาวมีการปลูกเพื่อบริโภคสดภายในประเทศและส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ อีกทั้งยังพบปัญหาเรื่องสารพิษตกค้าง การศึกษาการสลายตัวของไดเมทโทเอตในถั่วฝักยาว จึงเป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) จากการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัยตามมาตรฐานของ Codex เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค เป็นข้อมูลในการแนะนำการใช้วัตถุมีพิษที่ถูกต้องและปลอดภัยแก่เกษตรกร ในการแก้ปัญหาการปนเปื้อนของวัตถุมีพิษการเกษตรในผลผลิต ใช้ในการต่อรองและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายสินค้าเกษตร

วิธีดำเนินการ

1. การทำแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial มี 4 ซ้ำ (replication) และ 6 กรรมวิธี คือ ระยะเวลาของการเก็บตัวอย่างที่ 0 1 3 5 7 10 และ 15 วัน หลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองย่อย (Experiments) ได้แก่ แปลงควบคุม(พ่นด้วยน้ำเปล่า) และแปลงที่ใช้

ไดเมทโทเอต 40% w/v อัตราแนะนำ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) ใช้เครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง พ่นวัตถุมีพิษไดเมทโทเอตทุก 7 วัน รวม 4 ครั้ง สุ่มเก็บตัวอย่างถั่วฝักยาวมาวิเคราะห์สารพิษตกค้างไดเมทโทเอต ตามระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 และ 14 วัน หลังการใช้วัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย น้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม (FAO, 1990)

2 ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

2.1 การหาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รวม 3 ความเข้มข้น ทำการทดลองความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC-FPD) ค่า %recovery อยู่ในช่วง 92-112 93-100 และ 88-92 ตามลำดับ โดยมีค่าปริมาณสารพิษตกค้างต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์ได้ (limit of quantitation: LOQ) ของวิธีการนี้ เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.2 การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

สกัดตัวอย่างและขจัดสิ่งปนเปื้อน ตามวิธีวิเคราะห์ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003) ดังนี้

1) ชั่งตัวอย่างถั่วฝักยาว ตัวอย่างละ 10 กรัม ใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 0.1% acetic acid ใน acetonitile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer ที่ระดับความเร็วรอบสูงสุด นาน 1 นาที เติม magnesium sulfate 4.0 กรัม และ sodium chloride 1.0 กรัม ปิดฝาแล้ว เขย่าด้วย vortex นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

2) การขจัดสิ่งปนเปื้อน (Dispersive-SPE Cleanup) ดูดสารละลายของตัวอย่าง ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่ใส่ PSA 25 มิลลิกรัม และ magnesium sulfate 150 มิลลิกรัม ไว้แล้ว เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex ที่ระดับความเร็วรอบสูงสุด นาน 30 วินาที นำไป centrifuge ที่ระดับความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ดูดสารละลายส่วนบนของตัวอย่างใส่ GC-vial จากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของไดเมทโทเอต

2.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC-FCD)

เครื่อง Gas Chromatograph ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector : FPD ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 คอลัมน์ที่ใช้ capillary column DB-1701P ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม liquid phase ที่ใช้เคลือบในคอลัมน์ 0.25 ไมโครเมตร มีสภาวะการใช้งานดังนี้

- Temperature: Injector 250 °C Carrier gas: Helium
- Splitless mode Constant flow 1.9 ml/min, Inject volume: 1 µl
- Oven temperature program

  100 °C(1 min) $\xrightarrow{15\,^{\circ}C/min}$ 180 °C(5 min) $\xrightarrow{23\,^{\circ}C/min}$ 250 °C(5 min)
- Detector 250 °C, H_2 flow 150 ml/min, Air flow 110 ml/min, N_2 flow 60 ml/min
- ระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ต่อตัวอย่าง (Run time) 19.38 นาที

ระยะเวลา 1. ทดลองครั้งที่ 1 มกราคม – กุมภาพันธ์ 2553
2. ทดลองครั้งที่ 2 กุมภาพันธ์ – มีนาคม 2553

สถานที่ดำเนินการ 1. การทดลองครั้งที่ 1 อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี
2. การทดลองครั้งที่ 2 อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาการสลายตัวของไดเมโทเอตในถั่วฝักยาวของการทดลองครั้งที่ 1 ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างไดเมโทเอตและโอเมโทเอตในแปลงควบคุม ตรวจพบสารพิษตกค้างไดเมโทเอต ปริมาณ 3.86 2.12 0.17 และ < 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตรวจพบสารพิษตกค้างโอเมโทเอต ปริมาณ 0.12 0.17 0.10 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงที่พ่นตามอัตราแนะนำ ที่ระยะเวลา 0 1 3 และ 5 วัน ตามลำดับ หลังการใช้สารครั้งสุดท้าย การทดลองครั้งที่ 2 พบสารพิษตกค้างไดเมโทเอต 4.81 1.93 0.47 และ 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตรวจพบสารพิษตกค้างโอเมโทเอต ปริมาณ 0.19 0.63 0.46 และ 0.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0 1 3 และ 5 วัน ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลาอื่นๆตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง (ตารางที่1) เมื่อดูค่าปริมาณสารพิษตกค้างจากทั้ง 2 การทดลองพบว่า ที่ระยะเวลา 14 วันหลังการพ่นวัตถุมีพิษตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้างของไดเมโทเอตและโอเมโทเอต ซึ่งตามคำแนะนำในฉลากให้เก็บเกี่ยวได้ที่ระยะ 14 วันหลังการใช้สารไดเมโทเอตครั้งสุดท้าย จากผลการทดลองพบว่าที่ระยะ 3 วันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย จะมีปริมาณสารพิษตกค้างไดเมโทเอตในถั่วฝักยาวของทั้ง 2 การทดลองเท่ากับ 0.17 และ 0.47 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งน้อยกว่าค่า Codex MRL และ MRL ของประเทศไทย ที่กำหนดให้มีสารพิษตกค้างของไดเมโทเอตในถั่วฝักยาวเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2552) จากการทดลองทั้ง 2 การทดลอง พบว่า ไดเมโทเอต มีการสลายตัวอย่างรวดเร็วและเปลี่ยนรูปเป็น โอเมโทเอต ซึ่งเป็น primary methabolite ของ ไดเมโทเอต ที่มีความเป็นพิษมากที่สุด (EFSA, 2010) ตั้งแต่ 0 วัน และเพิ่มสูงสุดใน 1 วันหลังการพ่นสาร จากนั้นค่อยๆลดลงจนตรวจไม่พบที่ 7 วัน หลังการใช้สารครั้งสุดท้าย Codex ได้พิจารณายกเลิกค่า MRL ของ omethoate (FAO/WHO, 2011)

สุ่มเก็บตัวอย่างถั่วฝักยาวตามแหล่งผลิต และแหล่งจำหน่ายในจังหวัดนครนายก ปทุมธานี ราชบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ชลบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี นนทบุรี และกรุงเทพมหานคร จำนวน 46 ตัวอย่าง เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง กลุ่ม Organophosphates Pyrethriods และ endosulfan ตรวจพบสารพิษตกค้างในถั่วฝักยาว จำนวน 11 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 23.91 พบ dimethoate จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ <0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม chlorpyrifos 6 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01 - 0.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบเกินค่าปลอดภัย Codex MRL (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) 4 ตัวอย่าง ตรวจพบ EPN จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม dicrotophos จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ diazinon 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งวัตถุมีพิษทั้ง 2 ชนิดไม่มีการกำหนดค่า Codex MRL ในถั่วฝักยาว (ตารางที่2)

ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษตกค้างของไดเมโทเอตและโอเมโทเอตในถั่วฝักยาวที่ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังการใช้วัตถุมีพิษ

ระยะเวลาเก็บตัวอย่างหลังการใช้วัตถุมีพิษ (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มก./กก.)				
	แปลงควบคุม	แปลงอัตราแนะนำ (40 มล./น้ำ 20 ลิตร)			
		การทดลองครั้งที่1		การทดลองครั้งที่2	
		ไดเมโทเอต (dimethoate)	โอเมโทเอต (omethoate)	ไดเมโทเอต (dimethoate)	โอเมโทเอต (omethoate)
0[1/]	ND[2/]	3.86	0.12	4.81	0.19
1	ND	2.12	0.17	1.93	0.63
3	ND	0.17	0.10	0.47	0.46
5	ND	< 0.05	0.03	0.06	0.32
7	ND	ND	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND	ND
15	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ

0[1/] หมายถึง 2 ชั่วโมงหลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย

ND[2/] หมายถึง Not Detected

Limit of quantification: (LOQ) : dimethoate และ omethoate มีค่า 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ภาพที่1. และ 2. แนวโน้มการสลายตัวของไดเมโทเอตและโอเมทเอตในถั่วฝักยาว การทดลองครั้งที่ 1 และ 2

ตารางที่ 2. สารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษที่ตรวจพบในถั่วฝักยาว จากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่าย จำนวน 46 ตัวอย่าง

ชนิดวัตถุมีพิษ	ปริมาณ (มก./กก.)	จำนวนที่พบ	จำนวนที่เกินค่าMRL	ค่า Codex MRLs (มก./กก.)
chlorpyrifos	0.01-0.14	6	4	0.01
EPN	0.01-0.02	2	-	-
dicrotophos	0.02	1	-	-
dimethoate	< 0.05	1	-	1.0
diazinon	0.02	1	-	0.2

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองโดยการฉีดพ่นวัตถุมีพิษไดเมทโทเอต (40%W/V EC) ตามอัตราแนะนำ (40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) ทุก 7 วัน รวม 4 ครั้ง เมื่อนำข้อมูลการทดลองมาเปรียบเทียบกับค่า Codex MRL และ MRL ของประเทศไทย พบว่าที่ระยะ 3 วันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย จะมีปริมาณสารพิษตกค้างไดเมทโทเอตในถั่วฝักยาวต่ำกว่าค่า MRL ที่กำหนด แต่เนื่องจากไดเมทโทเอตมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วและเปลี่ยนรูปเป็นโอเมทโทเอต และ Codex ได้พิจารณายกเลิกค่า MRL ของ omethoate (FAO/WHO, 2011) ที่ระยะเวลา 7 วันจะตรวจไม่พบโอเมทโทเอต เพื่อความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคและลดปัญหาสารพิษตกค้างสำหรับการส่งออกควรเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการใช้ 7 วัน และเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนและแน่นอนมากขึ้นจะต้องนำข้อมูลการทดลองในครั้งที่ 3 และ 4 มาพิจารณา เปรียบเทียบผลการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 เพื่อใช้ในการกำหนดค่า National MRL Asean MRL และ Codex MRL ต่อไป

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างถั่วฝักยาวตามแหล่งผลิต และแหล่งจำหน่ายในจังหวัดต่างๆ วัตถุมีพิษที่ตรวจพบมากที่สุด คือ chlorpyrifos และพบเกินค่า Codex MRL จำนวน 4 ตัวอย่าง สำหรับวัตถุมีพิษ dimethoate พบเพียง 1 ตัวอย่าง และยังตรวจพบวัตถุมีพิษชนิดอื่นๆ ในถั่วฝักยาวได้แก่ EPN dicrotophos และ diazinon ข้อมูลของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร มีเพียงวัตถุมีพิษ dimethoate เพียงชนิดเดียวที่ขึ้นทะเบียนให้ใช้ในถั่วฝักยาว สำหรับวัตถุมีพิษ chlorpyrifos ได้รับการขึ้นทะเบียนในพืช ได้แก่ กล้วย ส้มเขียวหวาน ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วเขียว มันเทศ ข้าวเปลือก นุ่น ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว นุ่น และข้าวเปลือกเฉพาะที่ใช้ทำพันธุ์ วัตถุมีพิษ EPN ขึ้นทะเบียนใช้ในฝ้ายและข้าวโพด วัตถุมีพิษ dicrotophos ขึ้นทะเบียนใช้ในผักกวางตุ้งและผักกาดหัว วัตถุมีพิษ diazinon ขึ้นทะเบียนใช้ในฝ้าย พืชตระกูลกะหล่ำ ข้าวโพด และข้าวฟ่าง ดังนั้นการเกิดปัญหาเรื่องสารพิษตกค้างในพืชดังกล่าวภายหลังการใช้ เกิดเนื่องจากคุณสมบัติของสารที่สลายตัวได้เร็วช้าแตกต่างกัน การที่เกษตรกรผู้ใช้ขาดความรู้เกี่ยวกับสารเคมีที่ใช้อย่างถูกต้องตาม GAP การไม่ปฏิบัติตามฉลากที่ให้รายละเอียดที่ระบุให้ใช้กับพืชชนิดใดและจะต้องทิ้งระยะเวลาก่อนการเก็บเกี่ยวให้เหมาะสม จึงส่งผลให้มีการตรวจพบสารพิษตกค้างในพืชอาหารในปริมาณสูง เนื่องจากพืชอาหารเป็นสินค้าที่ผู้บริโภคนำไปใช้บริโภคโดยตรง หากเกิดปัญหาในเรื่องความปลอดภัย ก็จะส่งผลต่อร่างกายผู้บริโภคโดยตรงอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้

การนำไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลการทดลองไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ของประเทศไทย และกลุ่มประเทศอาเซียน (ASEAN MRL) และใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาจัดตั้งค่า Codex เพื่อให้สินค้าเกษตรของไทยสามารถส่งไปขายต่างประเทศได้มากขึ้น

2. เป็นข้อมูลในการแนะนำการใช้วัตถุมีพิษที่ถูกต้องและปลอดภัยแก่เกษตรกร เพื่อลดปัญหาสารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตรและสิ่งแวดล้อม

3. นำข้อมูลด้านสารพิษตกค้างไปใช้ในการแก้ปัญหาการปนเปื้อนของวัตถุมีพิษการเกษตรในผลิตผลการเกษตรเพื่อประโยชน์ในการต่อรองสินค้าเกษตรส่งออก และช่วยลดอุปสรรคจากการกีดกันทางการค้า

4. นำข้อมูลไปใช้ประกอบการพิจารณาทบทวนฉลากวัตถุอันตราย ในการยกเลิกการใช้วัตถุมีพิษหรือแก้ไขฉลากคำแนะนำ เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษที่มีคุณภาพเหมาะสมและปลอดภัย

5. ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจตัวอย่างจากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่าย จะเป็นข้อมูลพื้นฐานทำให้ทราบถึงสถานการณ์สารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตรและคุณภาพของผลิตผลเพื่อเป็นข้อมูลในการคุ้มครองผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. เอกสารวิชาการ คำแนะนำ การป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช ปี 2553. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร,กรุงเทพฯ.

กลุ่มงานมาตรการ SPS สำนักมาตรการทางการค้า (23 กันยายน 2553). http://www.dft.moc.go.th/the_files/$$11/level4/food_safety2.htm

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ค่า MRL สารพิษตกค้างของประเทศไทย (17 พฤศจิกายน 2552) http://www.acfs.go.th/showMRL.php?Product=0&Residue=14&out_style=by+Commodity

Anastassiades,M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., and Schenck, F.J. 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. J. AOAC Int. 86, 412-431.

EFSA (European Food Safety Authority), 2010 Reasoned opinion of EFSA on the Modification of the existing MRLs for dimethoate in various crops, *EFSA Journal* 2010; 8(3):1528.

FAO, 1990. Guideline on producing pesticide residue data from supervised trial. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.

FAO/WHO, 2011. Codex Committee on Pesticide Residues 43rd Session, 4-9 April 2011, Beijing, P.R. China.

ภาพที่ 3. เตรียมวัตถุมีพิษสำหรับการพ่นสาร ในแปลงทดลอง

ภาพที่ 4. พ่นวัตถุมีพิษในแปลงทดลอง

ภาพที่ 5. หนอนเจาะฝักถั่ว

ภาพที่ 6. สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงทดลอง หลังการพ่นสาร

ภาพที่ 7. เตรียมตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 8. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง กลุ่ม fungicide ในผักและผลไม้ โดยใช้ Gas Chromatograph/Mass Spectrometry

Method Development of fungicide Residues Analysis in Fruits and Vegetables

พนิดา ไชยยันต์บูรณ์ จินตนา ภู่มงกุฎชัย บุญทวีศักดิ์ บุญทวี สุพัตรี หนูสังข์
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง กลุ่ม fungicide 15 ชนิดได้แก่ caboxin, dicloran, edifenphos, etridiazole, flutolanil, fomozadon, hexaconazole, iprobenfos, iprodione, myclobutanil, oxadixyl, pyrazophos, tricyclazole, trifloxystrobin และ triflumizole ในหน่อไม้ฝรั่ง โดยใช้ Gas Chromatograph/Mass Spectrometry, Large Volumn Injection และใช้ mode SIM โดยทดสอบวิธีวิเคราะห์ 2 วิธีคือ วิธีการที่ 1 ใช้วิธีการสกัดที่ ปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) สกัดตัวอย่างด้วย acetone และ dichloromethane โดยใช้เครื่อง homogenizer ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 ส่วนคือ ตัวอย่างที่ไม่มีการ clean up และมีการ clean up โดยวิธี dispersive SPE วิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003) โดยใช้ PSA และ GCB วิธีการที่ 2 วิธีการ QuEChERS (Lehotay, 2007) โดยสกัดตัวอย่างด้วย acetonitril โดยการเขย่าด้วยมือ และใช้เครื่อง centrifuge และ clean up โดยวิธี dispersive SPE โดยใช้ PSA ผลการทดสอบใช้การผ่านหลักเกณฑ์ % recovery , %RSD และ matching ของ mass ของสารเพื่อยืนยันชนิดสาร พบว่า วิธีการที่ 1 (Steinwandter (1985)) โดยมีการ clean up ตัวอย่าง ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีกว่าวิธีการอื่น เนื่องจากตัวอย่างมีความสะอาด มีคลอโรฟิลด์น้อย และมีการลดปริมาตรตัวอย่างให้มีความเข้มข้นขึ้น ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้ 9 ชนิดในปริมาณที่ต่ำระดับ 0.01 mg/kg และที่ระดับ 0.05 mg/kg ตรวจวิเคราะห์สารได้ 13 ชนิด วิธีการนี้ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ได้รับการรับรองห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025 ในปัจจุบัน จึงสามารถนำไปขยายขอบข่ายวิธีวิเคราะห์ได้ วิธีการที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีรองลงมาได้แก่ วิธีการที่ 2 QuEChERS (Lehotay, 2007) วิธีการนี้สามารถให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดี ที่ความเข้มข้นที่ 0.05 mg/kg ขึ้นไป (ที่ 0.05 mg/kg ตรวจวิเคราะห์สารได้ 7 ชนิด) และที่ความเข้มข้น 1 mg/kg ตรวจวิเคราะห์สารได้ทั้ง 15 ชนิด แต่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สารปริมาณที่ต่ำได้ดีโดยที่ระดับ 0.01 mg/kg สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้เพียง 2 ชนิด วิธีการนี้เป็นวิธีที่น่าสนใจ เพราะง่าย ใช้สารเคมีและเครื่องมือน้อย ตัวอย่างสะอาด แต่ต้องมีการปรับวิธีโดยลดปริมาตรของสารละลายตัวอย่างให้เข้มข้นขึ้นจึงสามารถตรวจวิเคราะห์สารในตัวอย่างที่ระดับต่ำได้ ส่วนวิธีการสกัดวิธีการที่ 1 โดยไม่มีการ clean up ตัวอย่าง เป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมเนื่องจากตัวอย่างมีความสกปรกทำให้มีปัญหากับเครื่อง GC/MS และไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สาร ปริมาณที่ต่ำได้ดี โดยที่ระดับ 0.01 mg/kg ตรวจวิเคราะห์สารได้เพียง 3 ชนิด วิธีการนี้ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดี ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/kg ขึ้นไป(ตรวจวิเคราะห์สารได้ 8 ชนิด) สำหรับสารที่มีปัญหาการตรวจวิเคราะห์ได้แก่ edifenphos และ iprodione ซึ่งมี response กับเครื่อง MS ต่ำ จึงต้องใช้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ชนิดอื่นที่เหมาะสมกว่า

คำนำ

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์เพื่อศึกษาวิธีวิเคราะห์ต่าง ๆ ว่ามีความสามารถของวิธีวิเคราะห์ว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ โดยมีปรับวิธีการตามความเหมาะสม โดยวิธีการที่ได้ต้องมีความถูกต้องแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ยอมรับและมีความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ได้ในระดับต่ำที่น้อยกว่าหรือเท่ากับค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตร (maximum residue limit : MRL) วิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างมีหลายวิธี การเลือกใช้ขึ้นกับความเหมาะสมของเครื่องมือ อุปกรณ์และความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน รวมทั้งต้องคำนึงถึงต้นทุนในการตรวจวิเคราะห์ การใช้สารเคมีต้องมีความปลอดภัย ลดการใช้สารเคมี และลดเวลาในการปฏิบัติงาน

วิธีการของ Steinwandter (1985) มีการสกัดตัวอย่างด้วย acetone และ dichloromethane โดยใช้เครื่อง homogenizer และลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator เป็นวิธีการที่กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรใช้ขอการรับรองห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างในระบบ ISO/IEC 17025 ในการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่ม organophosphorus, organochlorine, pyrethroid และ carbamate ในมะม่วง เป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการมีความพร้อมทั้งด้าน เครื่องมือ อุปกรณ์และความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน

วิธี QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดย Anatassiades และคณะ (2003) ใช้การสกัดโดยการเขย่าด้วยมือและเครื่อง votex mixer ส่วนการ clean up ใช้เทคนิค dispersive SPE โดยเขย่าสารละลายตัวอย่างกับสารที่ใช้ clean up วิธีการตรวจวิเคราะห์นี้ได้รับความสนใจในปัจจุบัน เนื่องจากมีความรวดเร็ว ใช้สารเคมีน้อย มีต้นทุนถูก ใช้เครื่องมือน้อยและมีประสิทธิภาพ โดยกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรได้ทำการศึกษากับสารพิษตกค้างหลายชนิด สำหรับสารกลุ่ม fungicide ได้ดำเนินการศึกษารวม 24 ชนิด ได้แก่ azoxystrobin, benalaxyl, biteranol, chlorothalonil, cyproconazole, difenoconazole, diflufenican, dimethomorph, epoxiconazole, flusilazole, folpet, imazalil, iprovalicarb, kresoxim-methyl, metalaxyl ,prochloraz, procymidone, propiconazole, quintozene, tebuconazole, tetraconazole, tolclofos–methyl, triadimefon และ vinclozolin ตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างมะม่วง โดยใช้เทคนิค GC/MS โดยใช้ Large Volume Injection (ประชาธิปัตย์ และปฏิมาภรณ์, 2552) และมีการศึกษาสาร 10 ชนิดได้แก่ vinclozolin, metalaxyl, tetraconazole, kresoxim-methyl, cyproconazole, propiconazole, tebuconazole, epoxiconazole, chlorothalonil และ azoxystrobin ในตัวอย่างผักกาดหอม โดยใช้เทคนิค GC/MS โดยใช้ Large Volume Injection เช่นกัน (ศศิมา และคณะ, 2552) ซึ่งในการศึกษาสารพิษตกค้าง กลุ่ม fungicide 15 ชนิดในหน่อไม้ฝรั่งในครั้งนี้ ได้เลือกชนิดของสารพิษตกค้าง ที่แตกต่างจากที่เคยศึกษามาแล้ว เพื่อขยายให้สามารถตรวจชนิดของสารพิษตกค้างที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีการนำวิธีการและชนิดของสารพิษตกค้างที่เคยศึกษา มาปรับใช้เพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ในครั้งเดียว และนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตร อีกทั้งมีการทดสอบเพื่อตรวจวิเคราะห์พืชชนิดอื่นๆ ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัตถุมีพิษมาตรฐาน fungicide 15 ชนิด ความบริสุทธิ์ 93.5-99.9 %

2. สารเคมี ได้แก่ acetone, dichloromethane, ethyl acetate, actonitrile, soldium sulfate, soldium chloride, sodium acetate, anhydrous magnesium sulfate, primary secondary amine (PSA) และ graphite carbon black (GCB)

3. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง, food processor , rotary evaporator, homogenizer และ centrifuge

4. เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ขวดแก้วปากกว้างมีฝาปิด, กระบอกตวง, บิกเกอร์ ,volumetric pipet, test tube, volumetric flask, กรวยแก้ว และ centrifuge tubes ขนาด 15 และ 50 ml

5. เครื่องตรวจวิเคราะห์วัตถุมีพิษเครื่อง GC/MS Single Quadrupole, Agilent:7890, MSD:5973 N

6. ตัวอย่างผัก ได้แก่ หน่อไม้ฝรั่ง

วิธีการ

การศึกษาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง fungicide 15 ชนิด ในตัวอย่าง หน่อไม้ฝรั่ง โดยทดสอบวิธีสกัด 2 วิธีการ คือ วิธีการของ Steinwandter (1985) และวิธีการ QuEChERS (Lehotay, 2007) โดยวิธีการสกัดของ Steinwandter (1985) ได้ทดสอบตัวอย่างที่ไม่มีการ clean up และตัวอย่างที่มีการ clean up ด้วยวิธี Dispersive-SPE ตามวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003) ทำการศึกษา acuracy และ precision ของวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างโดยการ spike สารที่ระดับความเข้มข้นในตัวอย่าง 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg (วิธีการของ Steinwandter, 1985) ความเข้มข้นในตัวอย่าง 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 และ 1 mg/kg (วิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003)) แต่ละความเข้มข้นทดสอบ 5 ซ้ำ

เตรียมตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่ง โดยนำมาปั่นละเอียดด้วย food processor และชั่งน้ำหนักตามวิธีการที่ตรวจวิเคราะห์

1. วิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

1.1 วิธีการที่ 1 วิธีการสกัดปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up) ปรับตามวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003)

1.1.1 การสกัด

ตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่ง 25 g สกัดด้วย acetone, dichloromethane และ soldium chloride โดยใช้เครื่อง homogenizer กรองสารละลายผ่าน sodium sulfate นำสารละลาย 50 ml ไปลดปริมาตรตัวทำละลายด้วยเครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40^0 C จนเกือบแห้งแล้วเป่าด้วย แก๊สไนโตรเจนจนแห้ง ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 ml ด้วย ethyl acetate นำตัวอย่างใส่ vial และนำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC/MS

1.1.2 การ clean up

นำสารละลายตัวอย่างจากการสกัดปริมาตร 2 ml ใส่ลงใน centrifuge tubes ขนาด 15 ml เป่าด้วยแก๊สไนโตรเจนจนแห้ง เติม acetonitrile 2 ml เขย่าให้ละลาย เติม $MgSO_4$ 300 mg, PSA 200 mg และ GCB 50 mg ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer นาน 30 วินาที นำไป centrifuge ด้วย ที่ระดับความเร็วรอบ >3,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ดูดสารละลาย ใส่ใน GC-vial นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC/MS

1.2 วิธีการที่ 2 วิธีการสกัดและ clean up วิธีการ QuEChERS (Lehotay, 2007)

1.2.1 ตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่ง 15 g ใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 ml เติม 1% acetic acid ใน acetonitile 15 ml เขย่าด้วยมือ เติม magnesium sulfate 6 g และ sodium acetate 1.5 g ปิดฝาเขย่าด้วยมือ และเขย่าด้วย vortex mixer ระดับความเร็วรอบสูงสุดนาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที นำสารละลายตัวอย่าง 5 ml ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 ml

1.2.2 เติม $MgSO_4$ 750 mg และ PSA 250 mg ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer นาน 30 วินาที นำไป centrifuge ด้วย ที่ระดับความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ดูดสารละลายใส่ใน GC-vial นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC/MS

2. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC / MS

2.1 เครื่อง GC/MS Single Quadrupole ยี่ห้อ Agilent รุ่น Agilent-7890A, MSD:5975C

2.1.1 capillary column ชนิด DB-5MS เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิลม์ liquid phase ที่ใช้เคลือบใน column 0.25 μm carrier gas ใช้ mode : constant flow อัตราไหล 1.5 ml/นาที

2.1.2 oven อุณหภูมิ เริ่มต้นที่ 60^0 C คงไว้นาน 6.13 นาที เพิ่มอุณหภูมิอัตรา 30^0 C /นาที จนถึง 150^0C คงไว้นาน 2 นาที และ อัตรา 3^0 C /นาที จนถึง 205^0C คงไว้นาน 0 นาที และเพิ่มอุณหภูมิอัตรา 10^0 C/นาที จนถึง 250^0 C คงไว้นาน 25 นาที ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์แต่ละตัวอย่าง (run time) 58.9 นาที

2.1.3 inlet ใช้ Mode PTV Solvent vent ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ 60^0 C คงไว้นาน 3.2 นาที เพิ่มอุณหภูมิอัตรา 200^0 C /นาที จนถึง 320^0C ตั้งอัตราการไหลของ carrier gas ดังนี้ Vent Flow 400 มล./นาที Vent Pressure 0 psi จนกระทั่ง 3 นาที ,Vent Purge Flow to split Vent 50 มล./นาที ที่ 5.5 นาที และ gas saver 50 มล./นาที ที่ 7 นาที

2.1.4 ปริมาณสารที่ฉีด 10 μl

2.1.5 Mass Spectrometer ตั้งสภาวะของเครื่องดังนี้ อุณหภูมิ transfer line 280 °C, Quadrupole 150 °C และ MS source 230 °C ใช้ solvent delay 10 นาที ใช้ Mode SIM และใช้ Atune.u

3. **การเตรียมสารละลายมาตรฐาน**

เตรียม mixed working standard solution ของ fungicide 15 ชนิด ในสารละลายที่สกัดจาก Blank Sample ตามวิธีการสกัด เพื่อทำ calibration curve รวม 5 ระดับความเข้มข้นครอบคลุมช่วงของการวิเคราะห์

ระยะเวลา : ตุลาคม 2552 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ : กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สปผ. กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดสอบวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง fungicide 15 ชนิด ได้แก่ caboxin, dicloran, edifenphos, etridiazole, flutolanil, fomozadon, hexaconazole, iprobenfos, iprodione, myclobutanil, oxadixyl, pyrazophos, tricyclazole, trifloxystrobin และ triflumizole ในหน่อไม้ฝรั่ง มีรายละเอียดดังนี้

1. **วิธีการสกัดและการ clean up**

หาปริมาณสารพิษตกค้างโดยเปรียบเทียบกับ calibration curve (จากสารมาตรฐาน 5 ความเข้มข้น) มีค่า correlation coefficient (R^2) = 0.995 ผลการวิเคราะห์ที่ผ่านเกณฑ์ยอมรับคือมี % recovery ในช่วง 60-120 (Codex, 1995) % RSD ของ Horwitz ที่ 0.01 = 21.1 % 0.05 = 16.6 % 0.5=11.7 % ค่า% RSD ที่ยอมรับคือไม่เกิน 2 เท่าของ % RSD ของ Horwitz (Horwitz, 2000) และมีการเปรียบเทียบความเหมือนของอัตราส่วนของ response ของ mass ที่เป็น Quantifier ion และ Qualifier ion เทียบกับสารมาตรฐานเพื่อยืนยันชนิดของสาร (Q value) มีค่า > 80 % แต่ที่พบส่วนใหญ่มีค่า 95-100 %

1.1 **วิธีการที่ 1** วิธีการสกัดปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up) ปรับตามวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003) สรุปได้ดังนี้

วิธีการที่ไม่มีการ clean up ตัวอย่าง ศึกษาการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg พบว่าสารที่ผลการตรวจวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์ยอมรับ ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg มี 3 , 4 และ 8 ชนิดตามลำดับ(จากสาร 15 ชนิด) เนื่องจากตัวอย่างมีสี และสิ่งปนเปื้อน ที่ให้มี background ของ MS สูงไม่ผ่านเกณฑ์ % recovery และ Q value (ตารางที่ 1-2)

วิธีการที่มีการ clean up ปรับตามวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003) พบว่าสารที่ผลการตรวจวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์ยอมรับ ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg มี 9 , 13 และ 13 ชนิดตามลำดับ (จากสาร 15 ชนิด) เนื่องจากมีการขจัดสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่างด้วยสาร PSA และขจัดสีในตัวอย่างด้วย GCB ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้หลายชนิดที่ความเข้มข้นต่ำระดับ 0.01 mg/kg วิธีการนี้สามารถให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดี ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 mg/kg ขึ้นไป (ตารางที่ 3-4) สารที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ ได้แก่ edifenphos และ iprodione ซึ่งมี response กับ MS ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนชนิดของสารที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากวิธีการที่ปรับจากวิธีของ Steinwandter (1985) พบว่าวิธีที่มีการ clean up ตัวอย่างในผลการวิเคราะห์ที่ดีกว่าวิธีที่ไม่มีการ clean up ตัวอย่าง โดยวิธีที่มีการ clean up สามารถตรวจวิเคราะห์สารที่ระดับความเข้มข้นในตัวอย่าง 0.01 mg/kg ได้ 9 ชนิด

และ 0.05 และ 0.5 mg/kg ได้ 13 ชนิด และ วิธีที่ไม่มีการ clean up ตัวอย่างสามารถตรวจวิเคราะห์สารที่ 0.01 mg/kg ได้ 3 ชนิด 0.05 mg/kg ได้ 4 ชนิด และ 0.5 mg/kg ได้ 8 ชนิด (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 1. ผลการทดสอบวิธีการสกัดปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) และไม่มีการ clean up ตัวอย่าง ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg ทดสอบ 5 ซ้ำ

Conc. Mg/kg	No.	Name	% Recovery						
			R1	R2	R3	R4	R5	average	%RSD
0.01	1	flutolanil	92	88	90	88	84	88	3.3
	2	hexaconazole	86	70	90	78	89	83	10.3
	3	pyrazophos	94	93	85	109	101	96	9.3
0.05	1	dicloran	99	95	102	93	89	96	5.1
	2	flutolanil	83.6	79	91	79	89	84	6.9
	3	hexaconazole	82	83	92	82	93	86	6.8
	4	pyrazophos	76	73	101	69	90	82	16.3
0.5	1	dicloran	91	104	76	89	74	87	14.0
	2	etridiazole	78	95	88	86	66	83	13.5
	3	flutolanil	84	107	68	88	71	84	18.4
	4	hexaconazole	78	102	67	85	65	79	19.0
	5	iprobenfos	86	94	72	86	73	82	11.3
	6	myclobutanil	86	113	62	89	64	83	25.2
	7	pyrazophos	99	111	79	93	72	91	17.1
	8	trifloxystrobin	103	119	76	91	66	91	23.1

ตารางที่ 2. % recovery เฉลี่ย และ % RSD ของวิธีการสกัดปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) และไม่มีการ clean up ตัวอย่าง ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg ทดสอบ 5 ซ้ำ

No.	Name	0.01		0.05		0.5	
		average	%RSD	average	%RSD	average	%RSD
1	caboxin	-	-	-	-	-	-
2	dicloran	-	-	96	5.1	87	14.0
3	edifenphos	-	-	-	-	-	-
4	etridiazole	-	-	-	-	83	13.5
5	flutolanil	88	3.3	84	6.9	84	18.4
6	fomozadon	-	-	-	-	-	-
7	hexaconazole	83	10.3	86	6.8	79	19.0
8	iprobenfos	-	-	-	-	82	11.3
9	iprodione	-	-	-	-	-	-
10	myclobutanil	-	-	-	-	83	25.2
11	oxadixyl	-	-	-	-	-	-
12	pyrazophos	96	9.3	82	16.3	91	17.1
13	tricyclazole	-	-	-	-	-	-
14	trifloxystrobin	-	-	-	-	91	23.1
15	triflumizole	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 3. ผลการทดสอบวิธีการสกัดปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) และมีการ clean up ตัวอย่างปรับตามวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003) ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg ทดสอบ 5 ซ้ำ

Conc. mg/kg	No.	Name	% Recovery						
			R1	R2	R3	R4	R5	average	%RSD
0.01	1	caboxin	85	85	87	78	81	83	4.3
	2	dicloran	94	94	84	80	87	88	7.1
	3	flutolanil	79	79	84	67	73	76	8.8
	4	hexaconazole	96	96	88	75	81	87	10.5
	5	iprobenfos	83	83	79	72	67	77	9.5
	6	myclobutanil	90	90	97	77	60	83	17.6
	7	oxadixyl	95	95	97	85	90	92	5.3
	8	pyrazophos	96	96	97	83	84	91	7.8
	9	trifloxystrobin	92	92	95	83	85	90	5.7
0.05	1	caboxin	73	69	65	64	72	69	6.0
	2	dicloran	74	79	72	72	77	75	4.4
	3	etridiazole	73	72	77	74	78	75	3.4
	4	flutolanil	82	80	82	78	83	81	2.6
	5	fomozadon	67	72	68	72	83	72	8.8
	6	hexaconazole	76	73	75	72	77	75	3.0
	7	iprobenfos	85	87	80	82	85	84	3.5
	8	myclobutanil	85	71	86	81	75	80	7.9
	9	oxadixyl	87	84	84	83	88	85	2.5
	10	pyrazophos	80	79	79	77	84	80	2.9
	11	tricyclazole	74	71	74	71	77	73	3.4
	12	trifloxystrobin	82	82	82	80	84	82	2.0
	13	triflumizole	76	73	76	71	78	75	3.9
0.5	1	caboxin	81	96	94	88	90	90	6.5
	2	dicloran	88	103	82	87	86	89	8.9
	3	etridiazole	62	76	66	64	80	70	11.5
	4	flutolanil	85	111	82	78	87	89	14.4
	5	fomozadon	78	113	79	71	74	83	20.7
	6	hexaconazole	76	101	73	71	79	80	15.1
	7	iprobenfos	91	110	84	89	90	93	10.7
	8	myclobutanil	83	110	79	77	85	87	15.3
	9	oxadixyl	79	104	77	76	82	83	14.4
	10	pyrazophos	81	107	79	79	86	87	13.7
	11	tricyclazole	67	95	67	65	74	74	16.7
	12	trifloxystrobin	86	112	84	83	88	90	13.5
	13	triflumizole	81	110	56	74	85	81	24.1

1.2 **วิธีการที่** 2 วิธีการสกัดและ clean up วิธีการ QuEChERS (Lehotay, 2007) สรุปได้ดังนี้

ศึกษาการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้นในตัวอย่าง 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 และ 1 mg/kg ผลการศึกษา (ตารางที่ 6-7) พบว่าสารที่ผลการตรวจวิเคราะห์ผ่านเกณฑ์ยอมรับ ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 และ 1 mg/kg มี 2, 7, 12, 14 และ 15 ชนิดตามลำดับ (จากสาร 15 ชนิด) วิธีการนี้มีการ clean up ตัวอย่าง เพื่อขจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยสาร PSA จึงลดปัญหา background ของ MS สูงได้ แต่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้หลายชนิดที่ระดับความเข้มข้น 0.01 ที่เนื่องจากวิธีการนี้ไม่มีการลด

ปริมาตรตัวอย่างทำให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นของสารในสารละลายต่ำเกินไป จึงไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วย MS วิธีการนี้ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดี เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง โดยสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ดีที่ความเข้มข้น 0.05 mg/kg ขึ้นไป และที่ความเข้มข้น 1 mg/kg สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้ทั้ง 15 ชนิด

ตารางที่ 4. % recovery เฉลี่ย และ % RSD ของวิธีการสกัดปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) และ มีการ clean up ตัวอย่าง ปรับตามวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003) ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg ทดสอบ 5 ซ้ำ

No.	Name	0.01		0.05		0.5	
		average	%RSD	average	%RSD	average	%RSD
1	caboxin	83	4.3	69	6.0	90	6.5
2	dicloran	88	7.1	75	4.4	89	8.9
3	edifenphos	-	-	-	-	-	-
4	etridiazole	-	-	75	3.4	70	11.5
5	flutolanil	76	8.8	81	2.6	89	14.4
6	fomozadon	-	-	72	8.8	83	20.7
7	hexaconazole	87	10.5	75	3.0	80	15.1
8	iprobenfos	77	9.5	84	3.5	93	10.7
9	iprodione	-	-	-	-	-	-
10	myclobutanil	83	17.6	80	7.9	87	15.3
11	oxadixyl	92	5.3	85	2.5	83	14.4
12	pyrazophos	91	7.8	80	2.9	87	13.7
13	tricyclazole	-	-	73	3.4	74	16.7
14	trifloxystrobin	90	5.7	82	2.0	90	13.5
15	triflumizole	-	-	75	3.9	81	24.1

ตารางที่ 5. % recovery เฉลี่ย (5 ซ้ำ) ของผลการทดสอบวิธีการสกัดปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) และ ไม่มีการ clean up ตัวอย่าง และมีการ clean up ตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg

No.	Name	No clean up						Clean up					
		0.01		0.05		0.5		0.01		0.05		0.5	
		% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD
1	caboxin	-	-	-	-	-	-	83	4.3	69	6.0	90	6.5
2	dicloran	-	-	96	5.1	87	14.0	88	7.1	75	4.4	89	8.9
3	edifenphos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	etridiazole	-	-	-	-	83	13.5	-	-	75	3.4	70	11.5
5	flutolanil	88	3.3	84	6.9	84	18.4	76	8.8	81	2.6	89	14.4
6	fomozadon	-	-	-	-	-	-	-	-	72	8.8	83	20.7
7	hexaconazole	83	10.3	86	6.8	79	19.0	87	10.5	75	3.0	80	15.1
8	iprobenfos	-	-	-	-	82	11.3	77	9.5	84	3.5	93	10.7
9	iprodione	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	myclobutanil	-	-	-	-	83	25.2	83	17.6	80	7.9	87	15.3
11	oxadixyl	-	-	-	-	-	-	92	5.3	85	2.5	83	14.4
12	pyrazophos	96	9.3	82	16.3	91	17.1	91	7.8	80	2.9	87	13.7
13	tricyclazole	-	-	-	-	-	-	-	-	73	3.4	74	16.7
14	trifloxystrobin	-	-	-	-	91	23.1	90	5.7	82	2.0	90	13.5
15	triflumizole	-	-	-	-	-	-	-	-	75	3.9	81	24.1

ตารางที่ 6. ผลการทดสอบวิธีการ QuEChERS ((Lehotay, 2007)ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 และ 1 mg/kg ทดสอบ 5 ซ้ำ

Conc. mg/kg	No.	Name	% Recovery						
			R1	R2	R3	R4	R5	average	%RSD
0.01	1	hexaconazole	82	71	90	95	94	86	11.7
	2	pyrazophos	85	94	91	-	-	90	5.1
0.05	1	dicloran	105	98	96	92	91	97	6.0
	2	etridiazole	102	102	105	96	92	99	5.3
	3	flutolanil	105	103	89	98	88	97	8.0
	4	hexaconazole	99	97	84	91	97	94	6.6
	5	oxadixyl	102	101	87	107	113	102	9.5
	6	pyrazophos	109	101	87	101	99	99	8.1
	7	trifloxystrobin	103	99	85	88	98	95	8.2
0.1	1	dicloran	87	85	81	100	98	90	9.3
	2	etridiazole	89	112	91	85	84	92	12.4
	3	flutolanil	75	72	76	92	87	80	10.8
	4	hexaconazole	79	76	75	92	90	82	9.8
	5	iprobenfos	83	81	78	98	88	85	9.3
	6	iprodione	74	70	74	97	89	81	14.6
	7	myclobutanil	77	74	75	95	91	82	11.8
	8	oxadixyl	76	76	70	90	94	81	12.6
	9	pyrazophos	80	80	77	99	94	86	11.3
	10	tricyclazole	89	85	84	96	91	89	5.6
	11	trifloxystrobin	77	78	74	94	87	82	10.0
	12	triflumizole	79	79	76	89	86	82	6.6
0.2	1	caboxin	74	75	72	77	74	75	2.3
	2	dicloran	91	93	108	99	94	97	6.8
	3	etridiazole	84	86	70	77	75	78	8.6
	4	flutolanil	96	97	95	94	91	95	2.5
	5	fomozadon	95	112	85	90	90	94	11.1
	6	hexaconazole	94	94	89	93	89	92	2.9
	7	iprobenfos	102	101	108	99	98	102	3.9
	8	iprodione	89	101	103	99	97	98	5.8
	9	myclobutanil	95	96	93	94	90	93	2.3
	10	oxadixyl	99	95	102	98	96	98	3.0
	11	pyrazophos	99	97	104	99	99	100	2.6
	12	tricyclazole	99	97	93	104	96	98	4.0
	13	trifloxystrobin	98	95	97	96	92	96	2.2
	14	triflumizole	94	92	94	94	88	92	2.7
1.0	1	caboxin	92	99	85	89	68	86	13.4
	2	dicloran	93	97	90	96	86	92	5.0
	3	edifenphos	76	72	81	87	80	79	6.7
	4	etridiazole	91	103	95	100	96	97	4.7
	5	flutolanil	96	100	92	93	88	94	4.7
	6	fomozadon	103	99	100	87	89	95	7.4
	7	hexaconazole	94	99	91	93	87	93	4.9
	8	iprobenfos	93	97	90	98	88	93	4.9
	9	iprodione	98	101	98	101	91	98	4.0
	10	myclobutanil	95	99	91	91	87	92	5.1
	11	oxadixyl	95	100	93	94	89	94	4.3
	12	pyrazophos	96	99	91	93	86	93	5.4
	13	tricyclazole	96	99	89	91	89	93	4.8
	14	trifloxystrobin	96	100	92	94	87	94	5.0
	15	triflumizole	91	95	87	90	82	89	5.6

ตารางที่ 7. % recovery เฉลี่ย และ % RSD ของวิธีการ QuEChERS ((Lehotay, 2007) ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 และ 1 mg/kg ทดสอบ 5 ซ้ำ

No.	Name	0.01		0.05		0.1		0.2		1	
		% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD	% Rec.	% RSD
1	caboxin	-	-	-	-	-	-	75	2.3	86	13.4
2	dicloran	-	-	97	6.0	90	9.3	97	6.8	92	5.0
3	edifenphos	-	-	-	-	-	-	-	-	79	6.7
4	etridiazole	-	-	99	5.3	92	12.4	78	8.6	97	4.7
5	flutolanil	-	-	97	8.0	80	10.8	95	2.5	94	4.7
6	fomozadon	-	-	-	-	-	-	94	11.1	95	7.4
7	hexaconazole	86	11.7	94	6.6	82	9.8	92	2.9	93	4.9
8	iprobenfos	-	-	-	-	85	9.3	102	3.9	93	4.9
9	iprodione	-	-	-	-	81	14.6	98	5.8	98	4.0
10	myclobutanil	-	-	-	-	82	11.8	93	2.3	92	5.1
11	oxadixyl	-	-	102	9.5	81	12.6	98	3.0	94	4.3
12	pyrazophos	90	5.1	99	8.1	86	11.3	100	2.6	93	5.4
13	tricyclazole	-	-	-	-	89	5.6	98	4.0	93	4.8
14	trifloxystrobin	-	-	95	8.2	82	10.0	96	2.2	94	5.0
15	triflumizole	-	-	-	-	82	6.6	92	2.7	89	5.6

2. **การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง** GC / MS

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง fungicide 15 ชนิด ซึ่งมี molecular weight อยู่ในช่วง 189-408 ทดสอบสภาวะของเครื่องเพื่อหา Retention Time, Quantifier ion และ Qualifier ion ที่เหมาะสม โดยการฉีดสารแต่ละชนิด ได้สภาวะของเครื่องตามวิธีการ (ข้อ 2) สารพิษตกค้างมีค่า retention time , Quantifier ion เพื่อใช้ในการหาปริมาณ และ Qualifier ion รวม 3 ion เพื่อใช้ในการยืนยันผล ดังตารางที่ 8

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดสอบวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง fungicide 15 ชนิด ได้แก่ caboxin, dicloran, edifenphos, etridiazole, flutolanil, fomozadon, hexaconazole, iprobenfos, iprodione, myclobutanil, oxadixyl, pyrazophos, tricyclazole, trifloxystrobin และ triflumizole ในหน่อไม้ฝรั่ง โดยเทคนิค GC/MS, Large Volumn Injection และใช้ mode SIM ผลการทดสอบใช้การผ่านหลักเกณฑ์ % recovery , %RSD และ matching ของ mass ของสารเพื่อยืนยันชนิดสาร พบว่า **วิธีการที่ 1** วิธีการสกัดปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) มีการ clean up ตัวอย่างตามวิธีการ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003) ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีกว่าวิธีการอื่น เนื่องจากตัวอย่างมีความสะอาด มีคลอโรฟิลล์น้อยเนื่องจากมีการใช้ PSA และ GCB ในการ clean up และมีการลดปริมาตรตัวอย่างทำให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นขึ้น ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้ 9 ชนิดในปริมาณที่ต่ำระดับ 0.01 mg/kg และที่ระดับ 0.05 mg/kg สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้ 13 ชนิด วิธีการตรวจวิเคราะห์นี้เป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ได้รับการรับรองห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025 ในปัจจุบัน จึงสามารนำไปขยายขอบข่ายวิธีวิเคราะห์ได้ วิธีการที่ให้ผลการตรวจวิเคราะห์

ที่ดีรองลงมาได้แก่ **วิธีการที่ 2** สกัดและ clean up วิธีการ QuEChERS ((Lehotay, 2007) วิธีการนี้ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดี ที่ความเข้มข้นที่ 0.05 mg/kg ขึ้นไป (ที่ 0.05 mg/kg สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้ 7 ชนิด) และที่ความเข้มข้น 1 mg/kg ตรวจวิเคราะห์สารได้ทั้ง 15 ชนิด เป็นวิธีที่น่าสนใจเพราะง่าย ใช้สารเคมีและเครื่องมือน้อย ตัวอย่างสะอาด แต่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สาร ปริมาณที่ต่ำได้ดีโดยที่ระดับ 0.01 mg/kg สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้เพียง 2 ชนิด ต้องมีการปรับวิธีโดยลดปริมาตรของสารละลายตัวอย่างให้เข้มข้นขึ้นจึงสามารถตรวจวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างระดับต่ำได้ ส่วนวิธีการสกัด **วิธีการที่ 1** โดยไม่มีการ clean up ตัวอย่าง เป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมเนื่องจากตัวอย่างมีความสกปรก ทำให้มีปัญหากับเครื่อง GC/MS และไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สาร ปริมาณที่ต่ำได้ดี โดยที่ระดับ 0.01 mg/kg ตรวจวิเคราะห์สารได้เพียง 3 ชนิด วิธีการนี้ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดี ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/kg ขึ้นไป (ตรวจวิเคราะห์สารได้ 8 ชนิด) สารที่มีปัญหาการตรวจวิเคราะห์ได้แก่ edifenphos และ iprodione ซึ่งมี response กับเครื่อง MS ต่ำ จำเป็นต้องใช้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ชนิดอื่นที่เหมาะสม

ตารางที่ 8. แสดงค่า Retention Time Quantifier ion และ Quantifier Ion จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph /Mass Spectrometer

No.	Name	Retention Time	Molecular Formular	m.w	Quant. ion(s) (*m/z*)	Qual. ion 1 (*m/z*)	Qual. ion 2 (*m/z*)	Qual. ion 3 (*m/z*)
1	etridiazole	12.43	$C_5H_5Cl_3N_2OS$	247.5	211	185	213	183
2	dicloran	17.56	$C_6H_4Cl_2N_2O_2$	207	176	124	206	208
3	iprobenfos	20.56	$C_{13}H_{21}O_3PS$	288.3	91	204	123	122
4	triflumizole	27.75	$C_{15}H_{15}ClF_3N_3O$	345.7	278	179	206	287
6	hexaconazole	29.07	$C_{14}H_{17}Cl_2N_3O$	314.1	214	216	231	256
5	tricyclazole	29.19	$C_9H_7N_3S$	189.2	189	162	161	135
7	flutolanil	29.48	$C_{17}H_{16}F_3NO_2$	323.3	173	145	281	323
8	carboxin	30.03	$C_{12}H_{13}NO_2S$	235.3	143	235	87	236
9	myclobutanil	30.25	$C_{15}H_{17}ClN_4$	288.8	179	150	181	288
10	iprodione	31.59	$C_{13}H_{13}Cl_2N_3O_3$	330.2	187	124	244	189
11	oxadixyl	31.77	C14H19N2O4	278.3	163	120	132	133
12	edifenphos	32.61	$C_{14}H_{15}O_2PS_2$	310.4	310	201	218	173
13	trifloxystrobin	33.18	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	408.4	116	131	132	222
14	pyrazophos	34.12	$C_{14}H_{20}N_3O_5PS$	373.4	221	373	237	232
15	famoxadone	49.71	$C_{22}H_{18}N_2O_4$	374.4	330	329	196	224

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นวิธีการในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง fungicide ในผัก
2. สามารถถ่ายทอดวิธีการไปยังห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ของกรมวิชาการเกษตร
3. ใช้ในการขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ของห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง
4. ขยายผลนำวิธีการไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ สารพิษตกค้างในพืชอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ และปฏิมาภรณ์ สังข์น้อย. 2552. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 53 ชนิด อย่างรวดเร็วด้วยวิธี QuECheRS โดยใช้ GC/MS-PTV Inlet. กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.

ศศิมา มั่งนิมิตร์ ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล และวิทยา บัวศรี. 2552. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิเคราะห์สารกำจัดโรคพืชในผักโดยวิธี QuEChERS ด้วย Gas Chromatography/Mass Spectrometry. กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร, สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.

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.

Codex. 1995. Codex Alimentarius volume 3. Residues of Veterinary Drugs in Food.

Horwitz, W. 2000. The Potential Use of Quality Control Data to Validate Pesticide Residue Method Performance. In : Principle and Practice of Method Validation. A. Fajgeij and A. Ambrus (eds.), the Royal Society of Chemistry 2000, UK. 305 p.

Lehotay, S. J. 2007. Determination of Pesticides Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium sulfate : Collaborative Study. J.AOAC. Int. 90, 485-520.

Steinwandter H.1985. Universal 5 min on-line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residue and Industral Chemicals. Fresenius Z. Anal. Chem. No. 1155.

วิจัยปริมาณสารมีพิษตกค้างของคาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) ในมะเขือยาว เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRLs) ครั้งที่ 1 และ 2

Residue Trial of Carbosulfan in Egg Plant to Establish Maximum Residue Limit (MRLs) (Trial 1 and 2)

พนิดา ไชยยันต์บูรณ์ จินตนา ภู่มงกุฎชัย บุญทวีศักดิ์ บุญทวี สุพัตรี หนูสังข์

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

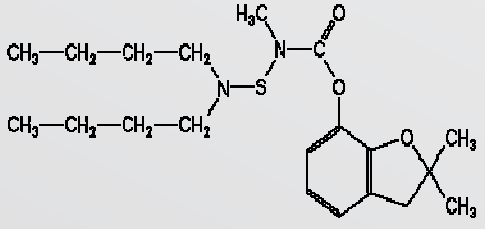
บทคัดย่อ

ทำการแปลงทดลองศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ carbosulfan ในมะเขือยาว ครั้งที่ 1 ในช่วงเดือนธันวาคม 2552-กุมภาพันธ์ 2553 และครั้งที่ 2 ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์- เมษายน 2553 ในพื้นที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม โดยวางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial มี 3 ซ้ำ (replication) แบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย ได้แก่ แปลงทดลองที่ใช้ carbosulfanในอัตราแนะนำ คือ carbosulfan 20% EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และแปลงทดลองที่ไม่ใช้ carbosulfan เป็นแปลงเปรียบเทียบ พ่นสาร carbosulfan ทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายเก็บตัวอย่างมะเขือยาวมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง carbosulfan และ carbofuran (ผลรวมของ carbofuran และ 3-OH carbofuran ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของ carbosulfan) ที่ระยะเวลา 0, 2, 5, 7, 9, 12, 14, 15 และ 18 วัน (treatment) ผลการทดลอง พบสารพิษตกค้างที่มีค่าสูงสุดในซ้ำของการทดลองแต่ละวัน (จากข้อมูล 3 ซ้ำ) ดังนี้ การทดลอง ครั้งที่ 1 พบ carbosulfan ปริมาณ 0.31, 0.17, 0.04 และ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 2, 5 และ 7 วัน ตามลำดับ (ส่วนที่ระยะเวลาอื่นไม่พบสารพิษตกค้าง carbosulfan) พบ carbofuran ปริมาณ 0.03, 0.07, 0.07, 0.05, 0.03, 0.04, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 2, 5, 7, 9, 12, 14 และ 15 ตามลำดับ (ส่วนที่ระยะเวลา18 วัน ไม่พบสารพิษตกค้าง carbofuran) การทดลองครั้งที่ 2 พบ carbosulfan ปริมาณ 0.48, 0.08, 0.04 และ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 2, 5 และ 7 วัน ตามลำดับ (ส่วนที่ระยะเวลาอื่นไม่พบสารพิษตกค้าง carbosulfan) พบ carbofuran ปริมาณ 0.07, 0.10, 0.08, 0.07, 0.03, 0.01, nd, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0,2, 5, 7, 9, 12, 14, 15 และ 18 ตามลำดับ พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างจากการใช้ carbosulfan ในอัตราแนะนำ ต่ำกว่าค่า MRL ของไทย (0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ตั้งแต่ที่ 0 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย และที่ 15 วัน ซึ่งเป็นค่า PHI ที่กำหนดไว้ตามฉลาก พบสารพิษตกค้างปริมาณน้อยมาก ส่วนการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่ม carbamate ในตัวอย่างมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่ายในพื้นที่ใกล้เคียงสถานที่ทำแปลงทดลอง จำนวน 41 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้าง 12 ตัวอย่าง (29%) โดยพบ carbofuran 6 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02-0.06 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทุกตัวอย่างไม่เกินค่า MRL ของไทย (0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) พบ methomyl 10 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

เกินค่า MRL ของไทย (0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) 1 ตัวอย่าง แต่ไม่เกินค่า Codex MRL (0.7 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และพบ methiocarb 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.07 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่เกินค่า Codex MRL (Peppers, Sweet เท่ากับ 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ซึ่งค่า MRL ของประเทศไทยไม่มีการกำหนด

คำนำ

carbosulfan เป็นสารกำจัดไส้เดือนฝอย (nematicides) และสารกำจัดแมลง (insecticide) สารกำจัดพยาธิภายนอก (miticide) เป็นสารกลุ่ม carbamate มีสูตรโมเลกุล (Molecular formula) $C_{20}H_{32}N_2O_3S$ มี molecular weight เท่ากับ 380.6 มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้น้อยคือประมาณ 0.3 มิลลิกรัม/ลิตร ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ สารบริสุทธิ์เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล ค่าความเป็นพิษมีดังนี้ ความเป็นพิษ ต่อหนู (female rat) จากการกิน ค่า LD_{50} เท่ากับ 185 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม ความเป็นพิษทางผิวหนังต่อหนู (rat) มีค่า LD_{50} > 2,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม ความเป็นพิษต่อการหายใจต่อหนู (female rat) มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.61 mg/l มีการระคายเคืองต่อผิวหนังปานกลาง ไม่มีการระคายเคืองต่อตาและก่อให้เกิดการแพ้ทางผิวหนัง สาร carbosulfan มีพิษสูงกับปลา ผึ้งและนก โดยพิษกับนก มีค่าความเป็นพิษจากการกิน LD_{50} เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (mallard ducks) พิษกับปลามีค่า LC_{50} (96 hr) เท่ากับ 0.042 มิลลิกรัมต่อลิตร (rainbow trout) พิษต่อผึ้งจากการกินทางปากมีค่า LD_{50} (24 hour) เท่ากับ 1.046 ไมโครกรัม/ bee และจากการสัมผัสมีค่า LD_{50} (24 hour) เท่ากับ 0.28 ไมโครกรัม/ bee สำหรับสูตรโมเลกุลของ carbosulfan ดังภาพที่ 1 (C D S Tomlin (ed.), 2009)



ภาพที่ 1. สูตรโครงสร้างโมเลกุลของ carbosulfan

carbosulfan เป็นสารดูดซึมมีฤทธิ์ทางการสัมผัสและทางการกิน ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงปากดูดปากกัด ทั่วไป ในพืชผัก และไม้ผลต่างๆ สำหรับมะเขือยาวมีศัตรูที่สำคัญได้แก่ หนอนเจาะผลมะเขือ เพลี้ยไฟฝ้าย และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย ในฉลากมีคำแนะนำให้ใช้ carbosulfan 20% W/V EC เพื่อกำจัดแมลงในมะเขือยาวปริมาณ 20-60 มล./น้ำ 20 ลิตร โดยมีระยะเวลาหลังจากใช้ครั้งสุดท้ายถึงการเก็บเกี่ยวผลผลิต (pre harvest interval: PHI) เท่ากับ 15 วัน กลุ่มกีฏและสัตววิทยา (2551) แนะนำให้ใช้ carbosulfan ในการกำจัดหนอนเจาะผลมะเขือ และเพลี้ยไฟฝ้าย ในมะเขือเปราะและมะเขือยาว โดยใช้ carbosulfan 20% W/V EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตรและกำหนด PHI เท่ากับ 15 วัน

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง carbosulfan ในมะเขือยาวเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL)นั้น ข้อมูลที่ได้จะนำมาใช้ในการพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานด้านสารพิษตกค้างของประเทศเพื่อใช้ในการต่อรองและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายสินค้าเกษตรระหว่างประเทศเพื่อความเป็นธรรมสำหรับแต่ละประเทศ สำหรับประเทศไทย มะเขือยาวเป็นสินค้าเกษตรส่งออกชนิดหนึ่งซึ่งมีปัญหาด้านสารพิษตกค้าง ข้อมูลที่ได้จากการศึกษายังใช้ในการจัดการปัญหาสารพิษตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร เพื่อให้เกิดความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค รวมทั้งแนะนำการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ถูกต้องแก่เกษตรกรด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารมาตรฐาน carbosulfan, carbofuran และ 3-OH carbofuran ซึ่งมีความบริสุทธ์ 97.0, 99.5 และ 97.0 % ตามลำดับ และผลิตภัณฑ์ carbosulfan ชนิด 20% W/V EC ชื่อการค้า พอสซ์ (Posse) ตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ เท่ากับ 20.2 % W/V
2. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง
3. เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง
4. สารเคมี ได้แก่ acetone, dichloromethane, ethyl acetate, methanol, actonitrile, soldium sulfate , soldium chloride, magnesium sulfate, primary secondary amine (PSA), graphite carbon black (GCB), thioflour, o-phthaldehyde (OPA), sodium hydroxide solution และ OPA diluent
5. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น กระบอกตวง บิกเกอร์ และ volumetric flask และ centrifuge tubes ขนาด 15 มิลลิลิตร เป็นต้น
6. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ food processor, rotary evaporator , homogenizer และ centrifuge
7. เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดแก๊สโครมาโตกราฟ (gas chromatograph : GC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 ซึ่งมีหัวตรวจชนิด Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)
8. เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิด high performance liquid chromatograph : HPLC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1100 ซึ่งมีหัวตรวจชนิด Fluoresence Detection (FLD) ต่อกับเครื่อง Post Column Derivatization (Pickering)

วิธีดำเนินการ

1. **การทำแปลงทดลอง**

วางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial มี 3 ซ้ำ (replication) และมี 9 วิธีการ (treatment) ตามวันเก็บตัวอย่างผลผลิตมะเขือยาวหลังจากการพ่น carbosulfan ครั้งสุดท้ายคือ 0,2,5,7,9,12,14,15 และ 18 วัน โดยแบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย คือแปลงควบคุมที่ไม่ใช้ carbosulfan และแปลงที่ใช้ carbosulfanในอัตราแนะนำ คือชนิด 20% W/V EC ปริมาณ 60 มล./น้ำ 20 ลิตร (ฉลาก 20-60 มล./น้ำ 20 ลิตร) โดยใช้น้ำ

120 ลิตร/ไร่ (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2551) ทำแปลงทดลอง รวม 2 ครั้งคือ ครั้งที่ 1 ในช่วงเดือนธันวาคม 2552-กุมภาพันธ์ 2553 และครั้งที่ 2 ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์- เมษายน 2553 ในพื้นที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม พ่น carbosulfan ทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง พ่นครั้งสุดท้ายเมื่อมะเขือยาวอายุประมาณ 137 วัน (การทดลองครั้งที่ 1) และประมาณ 151 วัน (การทดลองครั้งที่ 2) เก็บตัวอย่างมะเขือยาว มาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ระยะเวลาต่างๆ ตามที่กำหนด โดยแต่ละตัวอย่างสุ่มเก็บ อย่างน้อย 12 ผล จาก 12 ต้น น้ำหนักไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม

2. **การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง**

ทำการหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ การสกัดสารพิษตกค้าง และการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง carbosulfan ด้วยเครื่อง GC สารพิษตกค้าง carbofuran แล 3-OH carbofuran ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ carbosulfan, carbofuran และ 3-OH carbofuranในตัวอย่างมะเขือยาว ทำการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.10 และ 0.50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม รวม 4 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ พบว่าค่า % recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 75.4-108.3 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับค่าปริมาณต่ำสุดของวิธีการที่ตรวจวิเคราะห์ได้ (limited of quantitation) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1. ผลการทดสอบความถูกต้องแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ carbosulfan, carbofuran และ 3-OH carbofuran ในตัวอย่างมะเขือยาว

สารพิษตกค้าง / mg/kg	% recovery			
	0.01	0.05	0.10	0.50
carbosulfan	75.6 ± 5.7	90.8 ± 7.6	75.4 ± 4.8	91.2 ± 4.7
carbofuran	91.9 ± 7.5	91.3 ± 4.0	100.0 ±2.3	106.8 ± 4.0
3-OH carbofuran	88.6 ± 3.7	98.8 ± 7.1	97.9 ± 1.6	108.3 ± 4.8

วิธีวิเคราะห์

การสกัดตัวอย่าง ปรับจากวิธีการของ Steinwandter (1985) และขจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยวิธีการของ QuEChERS (Anastassiades, *et al.,* 2003)

นำตัวอย่างมะเขือยาวตัดขั้วออก ปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องเตรียมตัวอย่าง สุ่มชั่งตัวอย่างละ 25 กรัม สกัดด้วย acetone, dichloromethane และ soldium chloride โดยใช้เครื่อง homogenizer กรองสารละลายผ่าน sodium sulfate นำสารละลาย 50 มิลลิลิตร ไปลดปริมาตรตัวทำละลายด้วยเครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40^0 C จนเกือบแห้งแล้วเป่าด้วย แก๊สไนโตรเจนจนแห้ง ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate นำสารละลายตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร ใส่ลงใน centrifuge tubes ขนาด 15 มิลลิลิตร เป่าด้วยแก๊สไนโตรเจนจนแห้ง แล้วเติม acetomitrile 2 มิลลิลิตรเขย่าให้ละลาย นำไปขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up) ต่อไป

เติม $MgSO_4$ 300 มิลลิกรัม PSA 200 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer นาน 30 วินาที นำไป centrifuge ด้วย ที่ระดับความเร็วรอบ >3,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาที กรองผ่าน syringe filter 0.2 ไมโครเมตร แบ่งสารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน GC-vial เป่าด้วย แก๊สไนโตรเจนจนแห้ง แล้วเติม ethyl acetate 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลาย นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง carbosulfan ด้วยเครื่อง GC/NPD ส่วนสารละลายที่เหลือ ใส่ใน GC-vial นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง carbofuran ด้วยเครื่อง HPLC/FLD

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง carbosulfan ด้วยเครื่อง GC/NPD

การตั้งค่าสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟในการตรวจวิเคราะห์ มีรายละเอียดดังนี้

gas chromatograph ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 หัวตรวจ Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)

capillary column ชนิด Ultra-5 เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิลม์ liquid phase ที่ใช้เคลือบใน column 0.25 ไมโครเมตร

อุณหภูมิ oven เริ่มต้นที่ 70^0C คงไว้นาน 1 นาที เพิ่มอุณหภูมิอัตรา 150^0C /นาที จนถึง 180^0C คงไว้นาน 3 นาที และ อัตรา 30^0C /นาที จนถึง 250^0C คงไว้นาน 11.33 นาที run time 25 นาที

อุณหภูมิ injector 250^0C

อุณหภูมิ detector 300^0C

ใช้ helium เป็น carrier gas อัตราไหล 2.2 มิลลิลิตร/นาที

volume inject 1 ไมโครลิตร

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง carbofuran ด้วยเครื่อง HPLC/FLD

การตั้งค่าสภาวะของเครื่อง HPLC ในการตรวจวิเคราะห์ มีรายละเอียดดังนี้

HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1100 หัวตรวจชนิด Fluoresence Detection (FLD) ต่อกับเครื่อง Post Column Derivatization (Pickering)

column ชนิด Lichrosphere 60 -RP select B เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.0 มิลลิเมตร ความยาว 250 มิลลิเมตร particle size 5 ไมโครเมตร

mobile phase

Time (min)	water	methanol	acetonitril	flow rate (ml/min)
2	87	3	10	0.8
5	74	6	20	0.8
12	54	6	40	1.0
20	46	3	51	0.8
26	24	6	70	0.8
26	27	3	70	0.8
30	92	3	5	0.8

excitation 330 นาโนเมตร และ emission 465 นาโนเมตร
volume inject 20 ไมโครลิตร

การสำรวจและเก็บตัวอย่างมะเขือยาว

เก็บตัวอย่างมะเขือยาวจากพื้นที่ใกล้เคียงกับสถานที่ทำแปลงทดลองได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และสุพรรณบุรี จำนวน 41 ตัวอย่าง นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง carbosulfan และสารกลุ่ม carbamate

ระยะเวลา : การทดลองครั้งที่ 1 ในช่วงเดือนธันวาคม 2552- กุมภาพันธ์ 2553

การทดลองครั้งที่ 2 ในช่วงเดือนเดือนกุมภาพันธ์- เมษายน 2553

สถานที่ดำเนินการ : อ.สามพราน จ.นครปฐม และกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาปริมาณสารมีพิษตกค้างของ carbosulfan และ carbofuran จากการใช้วัตถุอันตราย carbosulfan ในมะเขือยาวหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ที่ 0,2, 5, 7, 9, 12, 14,15 และ 18 วัน ผลการทดลองพบสารพิษตกค้างที่มีค่าสูงสุดในซ้ำของการทดลองแต่ละวัน (จากข้อมูล 3 ซ้ำ) ดังนี้ การทดลองครั้งที่ 1 พบ carbosulfan ปริมาณ 0.31, 0.17, 0.04 และ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 2, 5 และ 7 วัน ตามลำดับ (ส่วนที่ระยะเวลาอื่นไม่พบสารพิษตกค้าง carbosulfan) พบ carbofuran (เป็นผลรวมของ carbofuran+ 3OH carbofuran) ปริมาณ 0.03, 0.07, 0.07, 0.05,0.03, 0.04, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 2, 5, 7, 9, 12, 14 และ 15 ตามลำดับ (ส่วนที่ระยะเวลา 18 วัน ไม่พบสารพิษตกค้าง carbofuran) การทดลองครั้งที่ 2 พบ carbosulfan ปริมาณ 0.48, 0.08, 0.04 และ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0,2, 5 และ 7 วัน ตามลำดับ (ส่วนที่ระยะเวลาอื่นไม่พบสารพิษตกค้าง carbosulfan) พบ carbofuran ปริมาณ 0.07, 0.10, 0.08, 0.07, 0.03, 0.01, nd, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 2, 5, 7, 9, 12, 14, 15 และ 18 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ผลการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 จากการใช้สาร carbosulfanในอัตราที่กำหนด พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างcarbosulfan และ carbofuran ในมะเขือยาว ที่ 0 วัน หลังการพ่นครั้งสุดท้ายมีปริมาณ 0.20-0.48 และ 0.02-0.07 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตการเกษตร (Maximum Residue Limit : MRL) ของไทยที่กำหนดไว้ในมะเขือยาว คือ carbosulfan เท่ากับ 0.5 mg/kg และ carbofuran เท่ากับ 0.5 mg/kg (มกอช., 2551) ซึ่งระยะเวลาที่ปลอดภัยในการเก็บเกี่ยวผลผลิต (PHI) ที่กำหนดไว้ตามฉลากเท่ากับ 15 วัน ซึ่งปริมาณสารพิษตกค้างที่ 15 วัน ของทั้ง 2 การทดลอง พบ carbofuran ปริมาณ 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แต่ไม่พบสารพิษตกค้าง carbosulfan (ตารางที่ 1) จึงสามารถกำหนดค่า PHI ได้ น้อยกว่า 15 วันได้ อย่างไรก็ตาม Codex MRL (FAO/WHO, 2008) ไม่กำหนดค่าในของ carbosulfan และcarbofuran ใน fruiting vegetables

การตรวจวิเคราะห์สารกลุ่ม carbamate ได้แก่ carbosulfan ,carbofuran ,3-OH carbofuran, carbaryl , isoprocarb, methiocarb และ fenobucarb ในตัวอย่างมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่ายได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และสุพรรณบุรี จำนวน 41 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2) พบสารพิษตกค้าง 12 ตัวอย่าง (29%) โดยพบ carbofuran จำนวน 6 ตัวอย่าง (15%) ปริมาณ 0.02-0.06 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทุกตัวอย่างไม่เกินค่า MRL ของ ไทย (0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) พบ methomyl จำนวน 10 ตัวอย่าง (24%) ปริมาณ 0.01-0.25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เกินค่า MRL ของไทย (0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) 1 ตัวอย่าง (2%) ไม่เกินค่า Codex MRL (0.7 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และพบ methiocarb 1 ตัวอย่าง (2%) ปริมาณ 0.07 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ปริมาณไม่เกิน Codex MRL (methiocarb ใน Peppers, Sweet เท่ากับ 2 mg/Kg) แต่ประเทศไทยไม่มีการกำหนดค่า MRL จากผลการทดลองพบว่าสารพิษตกค้าง ในกลุ่ม carbamate ในมะเขือยาวที่พบมากได้แก่ methomyl และ carbofuran แต่ไม่พบสารพิษตกค้าง carbosulfan ในทุกตัวอย่าง

ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษตกค้าง ของ carbosulfan ในมะเขือยาวจากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2

Residue of carbosulfan and carbofuran in egg plant (trial 1)						
Days	Residue (mg/kg) / Replication					
	Carbosulfan			Carbofuran+3-OH carbofuran		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	0.31	0.22	0.20	0.02	0.02	0.03
2	0.12	0.11	0.17	0.06	0.05	0.07
5	0.01	0.01	0.04	0.05	0.05	0.07
7	0.01	0.01	0.01	0.05	0.03	0.04
9	ND	ND	ND	0.02	0.01	0.03
12	ND	ND	ND	0.04	0.03	0.01
14	ND	ND	ND	0.01	ND	ND
15	ND	ND	ND	0.01	0.01	ND
18	ND	ND	ND	ND	ND	ND

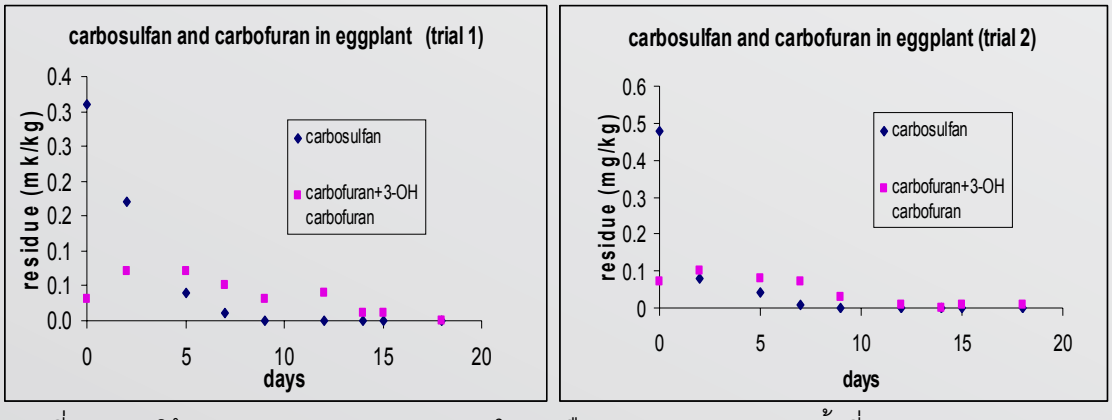
ตารางที่ 1. (ต่อ) ปริมาณสารพิษตกค้าง ของ carbosulfan ในมะเขือยาวจากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2

Residue of carbosulfan and carbofuran in egg plant (trial 2)						
Day	Residue (mg/kg) / Replication					
	Carbosulfan			Carbofuran+3-OH carbofuran		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
0	0.33	0.48	0.36	0.06	0.07	0.04
2	0.08	0.05	0.07	0.10	0.10	0.08
5	0.03	0.04	0.04	0.06	0.07	0.08
7	0.01	0.01	0.01	0.07	0.06	0.04
9	ND	ND	ND	0.02	0.03	0.02
12	ND	ND	ND	0.01	0.01	0.01
14	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	ND	ND	ND	0.01	ND	ND
18	ND	ND	ND	0.01	0.01	ND

หมายเหตุ nd-not detectable

Thai MRL ในมะเขือยาว carbosulfan = 0.5 mg/kg carbofuran = 0.5 mg/kg

Codex MRL ไม่กำหนดค่าใน carbosulfan และ carbofuran ใน fruiting vegetables



ภาพที่ 2. แนวโน้มการสลายตัว carbosulfan ในมะเขือยาวจากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2

ตารางที่ 2. ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม carbamate ในมะเขือยาว จากแหล่งจำหน่าย ในพื้นที่ใกล้เคียงสถานที่ทำแปลงทดลอง เก็บตัวอย่างในช่วง เดือน มกราคม-กรกฎาคม 2553

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่พบสารพิษตกค้าง	ชนิดสารพิษ(จำนวนตัวอย่างที่พบ)	ปริมาณ mg/kg	> Thai MRL	> Codec MRL
กาญจนบุรี	5	1	carbofuran (1)	0.06	-	*
นครปฐม	10	4	carbofuran (2)	0.02-0.04	-	*
			methomyl (4)	0.01-0.25	1	-
ราชบุรี	9	3	carbofuran (2)	0.04-0.06	-	*
			methomyl (3)	0.03-0.14	-	-
			methiocarb(1)	0.07	*	-
สมุทรสงคราม	6	4	carbofuran (1)	0.02	-	*
			methomyl (3)	0.04-0.09	-	-
สมุทรสาคร	7	-	ND	-	-	-
สุพรรณบุรี	4	-	ND	-	-	-
6 จังหวัด	41	12 (29%)	carbofuran (6)(15%)	0.02-0.06	-	*
			methomyl (10)(24%)	0.01-0.25	1(2%)	-
			methiocarb(1)(2%)	0.07	*	-

หมายเหตุ 1. ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง : carbosulfan ,carbofuran ,3-OH carbofuran, carbaryl isoprocarb, methiocarb และ fenobucarb

2. Thai MRL carbofuran -มะเขือยาว = 0.5 mg/kg
methomyl -มะเขือยาว มะเขือเปราะ และมะเขืออื่นๆ ไม่รวมมะเขือเทศ = 0.2 mg/kg
methiocarb- * ไม่กำหนดค่า MRL

3. Codex MRL carbofuran- * ไม่กำหนด fruiting vegetables
methomyl - Peppers = 0.7 mg/Kg
methiocarb -Peppers, Sweet (including pimento or pimiento) = 2 mg/Kg

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้ carbosulfanในมะเขือยาวในอัตราแนะนำและ เก็บเกี่ยวผลผลิตที่ระยะเวลา 15 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามคำแนะนำของฉลาก มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ผลการทดลองพบว่าที่ระยะเวลา 0 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย มีปริมาณของสารพิษตกค้าง carbosulfan และ carbofuran ต่ำกว่าค่า MRL ของประเทศไทย

จากข้อมูลการสำรวจสารพิษตกค้าง carbamate ในตัวอย่างมะเขือยาวจากแหล่งจำหน่ายได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และสุพรรณบุรี จำนวน 41 ตัวอย่าง ไม่พบการตกค้างของ carbosulfan ในผลผลิต แต่พบการตกค้างของ methomyl และ carbofuran แสดงให้เห็นว่าสาร 2 ชนิดนี้ ซึ่งอยู่ในกลุ่ม carbamate มีการใช้ในมะเขือยาวและพบว่ามีการตกค้างในผลผลิตซึ่งอาจเป็นปัญหาต่อไป สามารถใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดชนิดของวัตถุอันตรายเพื่อศึกษาการสลายตัวของสารในกลุ่มนี้ในมะเขือยาวและในพืชชนิดอื่นๆ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ผลการทดลองทำให้ทราบข้อมูลการสลายตัวของวัตถุอันตราย carbosulfan และ carbofuran (เกิดจากการสลายตัวของ carbosulfan) และเพื่อยืนยันว่า ค่า PHI ที่แนะนำไว้ในฉลากว่ามีความปลอดภัยต่อการบริโภค หรือเพื่อปรับค่า PHI ให้ผลผลิตมีความปลอดภัยต่อการบริโภค

2. ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง สามารถใช้ในการกำหนดค่า National MRL, ASEAN MRL และ Codex MRL

3. ผลการทดลอง การสำรวจสารพิษตกค้าง ได้นำเสนอกรมวิชาการเกษตร เพื่อนำข้อมูลไปร่วมพิจารณากำหนดแนวทาง ในการแนะนำ การใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในมะเขือยาวให้แก่เกษตรกรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2551. คำแนะนำ การป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช ปี 2551. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร,กรุงเทพฯ.

มกอช. 2551. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9002-2551 “สารพิษตกค้าง : ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด, PESTICIDE RESIDUES : MAXIMUM RESIDUE LIMITS”. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

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, p412-431.

C D S Tomlin (ed.). 2009. The Pesticide Manual. Fifteenth edition, BCBC (British Crop Production Council), UK

FAO/WHO. 2008. Maximum Residue limits in Food and Feed. Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on pesticide Residues .

Steinwandter H. 1985. Universal 5 min on-line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residue and Industral Chemicals. Fresenius Z. Anal. Chem. No. 1155.

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในพืชที่มีซัลเฟอร์สูง

Method Development for Organophosphorus Pesticide Analysis in High Sulphur Content Plant

ศศิมา มั่งนิมิตร์ ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล วิทยา บัวศรี

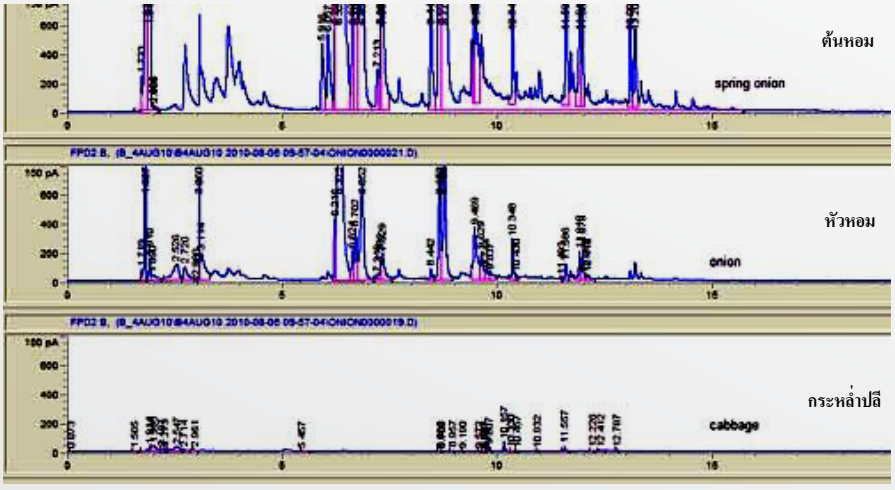
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในพืชที่มีซัลเฟอร์สูง โดยใช้เครื่องแกสโครมาโตกราฟ (Gas chromatograph) ที่มีหัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD) เพื่อให้ได้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีสกัดสารพิษตกค้างจากวิธีต่างๆ คือ วิธี QuEChERS และ วิธีดัดแปลงจาก Steiwandter, 1985 ตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 21 ชนิด ทำการทดสอบ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0.02 0.05 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างความเข้มข้นระดับละ 5 ซ้ำ ผลการทดสอบจาก % recovery พบว่าได้ค่าเฉลี่ยของวิธี QuEChERS เท่ากับ 70-115 % และวิธีดัดแปลงจาก Steiwandter เท่ากับ 70-118 % ตามลำดับ

คำนำ

วัตถุมีพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส เป็นวัตถุมีพิษที่มีการใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างแพร่หลายเพราะป้องกันกำจัดแมลงได้ดี และมีราคาถูก เครื่องแกสโครมาโตกราฟชนิดหัวตรวจวัด Flame photometric detector (GC-FPD) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างวัตถุมีพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสที่ให้ประสิทธิภาพของการตรวจวัดของเครื่องมือวิเคราะห์สูง แต่ปัญหาที่มักพบจากการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างพืชที่มีสารประกอบซัลเฟอร์ เช่นต้นหอม หัวหอม และกะหล่ำปลี คือตัวอย่างที่สกัดได้จะมีสารประกอบซัลเฟอร์ปนมาในตัวอย่างซึ่งจะรบกวนการวิเคราะห์ (ภาพที่ 1) มีรายงานการศึกษาการขจัดสารประกอบดังกล่าวในเบื้องต้น 2 วิธี คือนำตัวอย่างแช่แข็งแล้วนำมาบดย่อยในกรดฟอสฟอริกเจือจาง หรือให้ความร้อนระยะสั้นจากเตาไมโครเวฟแก่ตัวอย่างก่อนจะนำไปหั่นเป็นชิ้นย่อย แล้วนำไปสกัดด้วยวิธีทางเคมีเพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาจากเอนไซม์ในพืชซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดพีครบกวนการวิเคราะห์ ซึ่งวิธีดังกล่าวมีข้อจำกัดคือสิ้นเปลืองเวลาและใช้สารเคมีจำนวนมากในการเตรียมตัวอย่างและเกิดการสลายตัวของสารพิษตกค้าง จึงได้ทำการทดลองเพื่อหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพสำหรับการขจัดสารซัลเฟอร์ในตัวอย่างที่มีซัลเฟอร์สูงเพื่อลดปัญหาในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสในตัวอย่างพืชดังกล่าว



ภาพที่ 1. Chromatogram ของพืชที่มีสารซัลเฟอร์สูงโดยวิธีสกัดดัดแปลงจาก Steinwandter,1985

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, beaker, cylinder, funnel, round bottom flask, centrifuge tubes ขนาด 1.5 และ 50 มิลลิลิตร, vials for GC ขนาด 1.5 มิลลิลิตร, auto-pipette ขนาด 0.1- 1 มิลลิลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร

2. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่งและ 2 ตำแหน่ง, Food processor, Vortex mixer, เครื่อง centrifuge

3. เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษเครื่อง Gas Chromatograph รุ่น 6890N (Agilent Technologies) ชนิดหัวตรวจวัด Flame Photometric Detector

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน กลุ่มสารออร์กาโนฟอสฟอรัส 21 ชนิด ประกอบด้วย dichlorvos, methamidophos, dicrotophos, pirimiphos-methyl, ethion, triazophos, ethoprofos, chlorpyrifos-methyl, chlorpyrifos, methyl-parathion, fenitrothion, prothiofos, diazinon, pirimiphos-ethyl dimethoate, malathion, parathion, profenofos, methidathion, phosalone และ azinphos-methyl

2. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดได้แก่ acetonitrile, ethyl acetate, toluene PR grade (J.T. Beaker)

3. สารเคมีทั่วไป anhydrous magnesium sulfate, sodium chloride, sodium sulfate, SPE sorbent ชนิด primary-secondary-amine (PSA)

วิธีการ

1. ค้นคว้าเอกสารและวางแผนการการทดลอง

2. เตรียมสารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสที่ใช้ในการทดสอบให้มีความเข้มข้นระหว่าง 0.02-1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประกอบด้วย dichlorvos, methamidophos, dicrotophos, pirimiphos-methyl, ethion triazophos, ethoprofos, chlorpyrifos-mthyl, chlorpyrifos, methyl-parathion, fenitrothion, prothiofos, diazinon, pirimiphos-ethyl, dimethoate, malathion, parathion, profenofos, methidathion, phosalone และ azinphos-methyl

3. ทดสอบในเบื้องต้นเกี่ยวกับปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการลดสารประกอบซัลเฟอร์ในพืชโดยการใช้ความร้อนจากเตาไมโครเวฟ จากนั้นทำการทดสอบโดยวิธีทางเคมี เพื่อหาประสิทธิภาพการคืนกลับได้ของวิธีการวิเคราะห์ โดยใช้ตัวอย่างต้นหอมเป็นตัวแทนทำการทดสอบ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0.02, 0.05, 0.1, และ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้มข้นระดับละ 5 ซ้ำ

3.1 วิธีการที่1 การสกัดโดยวิธีQuEChERSจาก Anastassiades, 2003

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดตัวอย่างด้วย acetonitile จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer ที่ความเร็วรอบสูงสุด 1 นาที เติม NaCl 1 กรัม และ $MgSO_4$ 4 กรัม เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาทีนำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm. นาน 5 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบนตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรใส่ micro centrifuge tube 1.5 มิลลิลิตร ที่ใส่ PSA 0.025 กรัม $MgSO_4$ 0.15กรัม เขย่าด้วย vortex 30 วินาที นำไป centrifuge อีกครั้ง จากนั้นใช้ autopipette ดูดสารละลายส่วนบน ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยแกสไนโตรเจนจนแห้งแล้วปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย GC/FPD

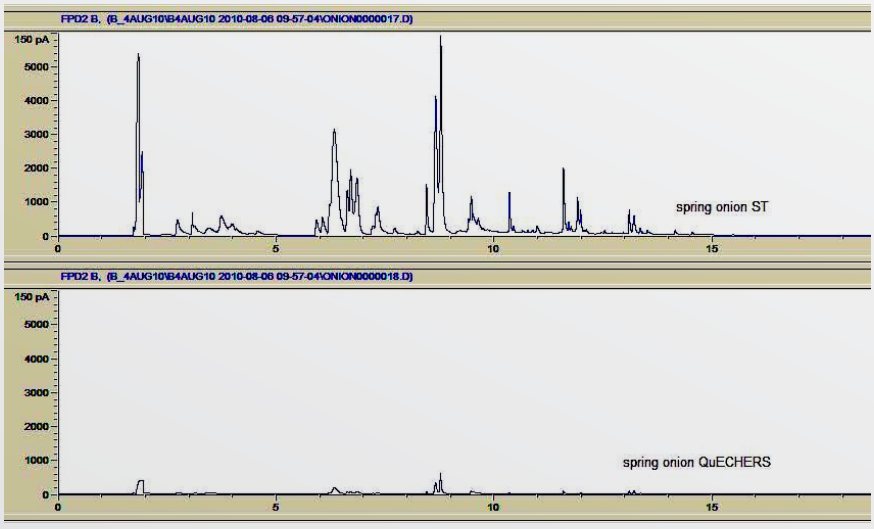
3.2 วิธีการที่ 2 การสกัดโดยวิธีการประยุกต์จาก Steinwandter,1985

ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม เติม Acetone 50 มล. ปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer 1 นาที ที่ 11,000 รอบ/นาที. เติม dichlomethane 40 มิลลิลิตร. และ NaCl 8 กรัม ปั่นอีกครั้งนาน 1 นาที เทส่วนใสใส่ขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร.ที่มีฝาปิดเติม sodium sulfate 20 กรัม เขย่าให้เข้ากันและทิ้งไว้นาน 10 นาที กรองสารละลายผ่าน sodium sulfate ถ่ายสารที่กรองได้จำนวน 50 มิลลิลิตร.ลงใน flat bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ล้าง cylinder ด้วย dichloromethane ครั้งละ 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง รวมสารละลายใส่ใน flat bottom flask ใบเดิม นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 ^{0} C นำไปเป่าด้วยแกสไนโตรเจนจนแห้ง เติม ethyl acetate เพื่อปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ด้วย GC-FPD ต่อไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบโดยเปรียบเทียบวิธีสกัดสารพิษตกค้างจากตัวอย่างโดยวิธีดัดแปลงจาก Steinwandter,1985 และวิธี QuEChERS พบว่าตัวอย่างที่สกัดโดยวิธี QuEChERS มีความสะอาดและมีพีคปนเปื้อนน้อยกว่า (ภาพที่ 2) เนื่องจากในขั้นตอนการสกัดตัวอย่างจะเกิดความร้อนจากปฏิกิริยาของ

แมกนีเซียมซัลเฟตกับน้ำซึ่งความร้อนที่เกิดอาจลดการเกิดสารประกอบซัลเฟอร์จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ในพืชดังกล่าวได้ คล้ายกับการให้ความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟ เพราะความร้อนจะทำให้เอนไซม์ในพืชสลายตัว นอกจากนั้นวิธี QuEChERS มีขั้นตอนการการขจัดสิ่งปนเปื้อน ซึ่งทำให้ตัวอย่างที่สกัดได้มีความสะอาดมากขึ้น



ภาพที่ 2. Chromatogram เปรียบเทียบระหว่างการสกัดโดยวิธีดัดแปลงจาก Steinwandter,1985 (บน) และการสกัดโดยวิธี QuEChERS (ล่าง)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการคืนกลับได้ของวิธีวิเคราะห์ (% recovery) ของวัตถุพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยวิธี QuEChERS และวิธีดัดแปลงจาก Steinwandter โดยทำการทดสอบวัตถุมีพิษออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 21 ชนิด ทำการทดสอบ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0.02 0.05 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างต้นหอมความเข้มข้นระดับละ 5 ซ้ำ พบว่าประสิทธิภาพการคืนกลับได้ของวิธีวิเคราะห์ (%recovery) โดยวิธี QuEChERS อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คือ 70-110% เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีดัดแปลงจาก Steinwandter พบว่าสารออร์กาโนฟอสฟอรัสบางชนิด ให้ผลใกล้เคียงกัน เช่นใน ethion ได้ค่า % recovery ที่ระดับ 0.02 0.05 0.1และ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเท่ากับ 107 94 108 และ 70 % ตามลำดับ ส่วนวิธี Steinwandter ได้ 81 106 107 และ 89% เป็นต้น (ตารางที่ 1) ส่วนสารบางตัวให้ค่า % recovery สูงเกินเกณฑ์ยอมรับซึ่งอาจมีผลจาก matrix effects ทำให้ได้ค่าสูงกว่าค่าที่ spike สารมาก แต่วิธี QuEChERS เกิดผลของ matrix effects น้อยกว่าวิธีดัดแปลงจาก Steinwandter

ตารางที่ 1. ผลของประสิทธิภาพการคืนกลับได้ของวิธีวิเคราะห์ QuEChERS และวิธีดัดแปลงจาก Stainwander

Pesticide	QuEChERS				Stainwander			
	Spiking level (mg/kg) n=5				Spiking level (mg/kg) n=5			
	0.02 Recovery %	0.05 Recovery %	0.1 Recovery %	0.2 Recovery %	0.02 Recovery %	0.05 Recovery %	0.1 Recovery %	0.2 Recovery %
dichlorvos	102	84	109	61	-	-	-	-
methamidophos	-	-	-	83	-	101	-	-
ethoprofos	93	99	101	60	102	67	87	-
diazion	68	76	94	56	-	-	-	-
dicrotophos	-	-	-	108	-	82	107	72
chlorpyrifos-methyl	107	111	107	70	84	-	73	86
dimethoate	88	-	-	77	116	-	-	-
pirimiphos-methyl	89	85	101	60	78	69	86	103
chlorpyrifos	91	104	115	70	-	-	-	-
pirimiphos	95	99	106	69	89	118	116	107
parathion-methyl	-	112	107	73	83	-	79	-
malathion	95	106	100	70	-	-	-	-
fenitrothion	82	101	104	67	91	88	107	-
parathion	86	98	102	63	-	-	81	-
prothiofos	79	84	96	58	70	97	102	-
profenofos	109	115	112	74	-	-	-	-
methidathion	63	109	106	77	106	-	-	-
ethion	107	94	108	70	81	106	107	89
triazophos	-	-	-	101	106	116	-	112
phosalone	-	-	109	75	-	-	-	-
azinphos-methyl	-	-	83	80	-	-	-	-

- ค่า % recovery สูงมากเกินเกณฑ์การยอมรับ

สรุปผลการทดลอง

ผลการทดสอบพบว่าวิธีวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสโดยวิธี QuEChERS สามารถลดปริมาณสารประกอบซัลเฟอร์ในตัวอย่างพืชที่มีสารประกอบซัลเฟอร์สูง ให้ chromatogram ของตัวอย่างที่สะอาดไม่รบกวนการวิเคราะห์ เมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วย GC-FPD เมื่อเทียบกับวิธีดัดแปลงจาก Stainwander ที่กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรใช้ตรวจวิเคราะห์พืชผักในปัจจุบัน ให้ผลการทดสอบประสิทธิภาพการคืนกลับได้ของวิธีทดสอบวัตถุพิษกลุ่มสารออร์กาโนฟอสฟอรัส อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยขึ้นกับคุณสมบัติการละลายน้ำและคุณสมบัติอื่นๆ ของแต่ละสาร เนื่องจากวิธี QuEChERS เป็นการตรวจวิเคราะห์โดยรวม จึงอาจไม่ครอบคลุมสารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสที่เลือกมาเป็นตัวแทนการทดสอบทั้งหมด

การนำไปใช้ประโยชน์

ได้ผลการทดสอบวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มสารออร์กาโนฟอสฟอรัสที่ลดปริมาณสารประกอบซัลเฟอร์ในพืชที่มีซัลเฟอร์สูง ที่ประหยัดเวลา แรงงานและสารเคมี ซึ่งสามารถนำไปตรวจสอบความใช้ได้ เพื่อนำไปขยายขอบข่ายการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักเพื่อการรับรองสำหรับการส่งออกและเผยแพร่ให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตร และผู้สนใจต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

Steinwandter H. 1985. Universal 5 min on-line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residue and Industral Chemicals. Fresenius Z. Anal. Chem. No. 1155.

Wang. S., Yang. S., Ren. L., Qian. C., Liu. F. and Jiang.S. 2009. Determination of Organophorphourus Pesticide in Leek (*Allium porru*m L.) by GC-FPD. J.Chromatographia. vol.69,79-84

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของฟิโปรนิลในถั่วฝักยาวเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1 และ 2

Residue Trial of Fipronil in Yard long Bean to Establish Maximum Residue Limit (MRLs) (Trial1 and 2)

ศศิมา มั่งนิมิตร์ ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล วิทยา บัวศรี

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ ฟิโปรนิล (fipronil)ในถั่วฝักยาวเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1 และ 2 ทำการทดลองที่สถานที่ต่างๆ ดังนี้ ครั้งที่ 1 ที่ อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี ระหว่างเดือนมกราคม-มีนาคม 2553 ครั้งที่ 2 ที่ อ.เมือง จ.ราชบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน 2553 วางแผนการทดลองแบบ supervise residue trial มี 2 การทดลองย่อย คือ การทดลองย่อยที่ 1 แปลงที่พ่นวัตถุมีพิษ fipronil 5% SC อัตราแนะนำ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และการทดลองย่อยที่ 2 แปลงควบคุมไม่มีการพ่นวัตถุมีพิษ ดำเนินการพ่นวัตถุมีพิษก่อนระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 1 เดือน โดยพ่น fipronil 7 วันต่อครั้ง รวม 4 ครั้ง สุ่มเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลาต่างๆ กันคือ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน หลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ fipronil ในถั่วฝักยาว การทดลองครั้งที่ 1 พบว่าเมื่อใช้วัตถุมีพิษตามอัตราแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง ที่ระยะเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน ดังนี้ 0.257, 0.130, 0.035 และ0.009 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ การทดลองครั้งที่ 2 พบปริมาณสารพิษตกค้าง ที่ระยะเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน ดังนี้ 0.307, 0.323, 0.085 และ 0.016 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลาอื่นๆ ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ส่วนแปลงควบคุม ตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างของการทดลอง ปัจจุบันไม่มีค่า Codex MRL ของ fipronil ในถั่วฝักยาวหรือพืชตระกูลถั่ว แต่มีการกำหนดค่าในพืชบางชนิดเช่น กะหล่ำปลี เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กล้วยเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กลุ่มประเทศสหภาพยุโรปกำหนดค่า EU-MRL ของ fipronil ในผลไม้ เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนในประเทศญี่ปุ่นกำหนดค่า MRL ของ fipronil ในกะหล่ำปลี เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับประเทศไทยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ(มกอช.)ไม่ได้กำหนดค่า THAI-MRL ของ fipronil ในพืชใดๆ ข้อมูลฉลากข้างผลิตภัณฑ์ระบุให้เก็บเกี่ยวผลผลิตได้หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย 7 วัน ผลจากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 พบว่าสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ตามฉลากระบุ การสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างถั่วฝักยาวจากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่ายในพื้นที่ใกล้เคียงและจังหวัดต่างๆ ได้แก่ปทุมธานี นนทบุรี นครนายก นครปฐม สมุทรสงคราม ราชบุรี เพชรบุรี ชลบุรี ปราจีนบุรี และกรุงเทพมหานคร จำนวน 46 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบสารพิษ fipronil ในทุกตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างจำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.08 ของตัวอย่างทั้งหมด วัตถุมีพิษที่พบจำแนกได้ดังนี้ พบ chlorpyrifos 6 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.01-0.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบ dimethoate 2 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ

อยู่ในช่วง 0.02-0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบ diazinon 1 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบ dicrotophos 1 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบ cypermehrin 7 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.02-0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

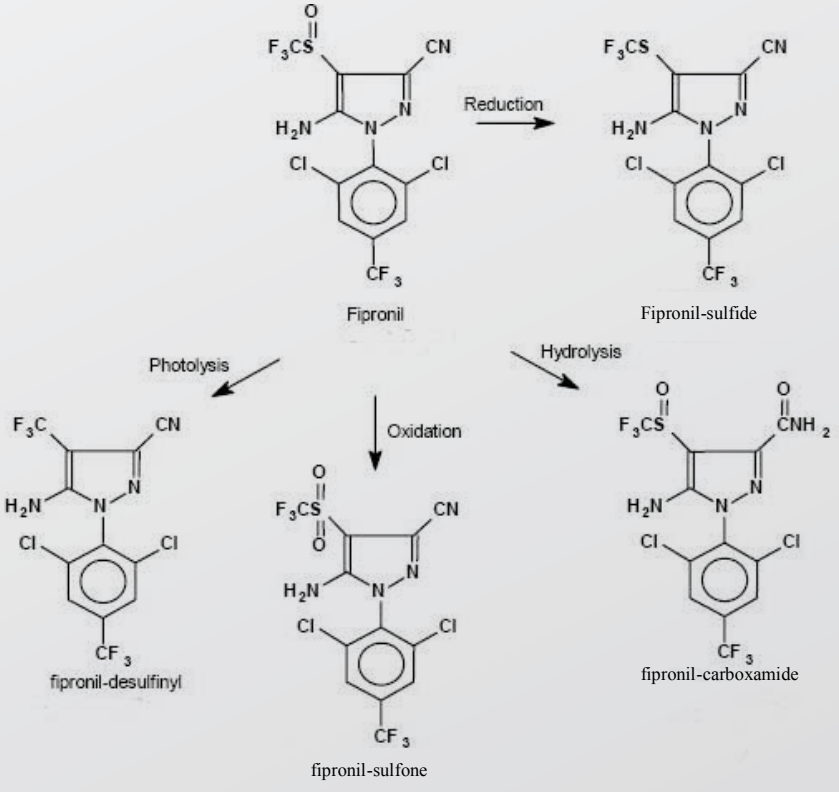
คำนำ

คณะกรรมการมาตรฐานอาหารสากล โดยองค์การอาหารและเกษตรและองค์การอนามัยโลก (Codex) FAO/WHO เป็นคณะกรรมการที่จัดตั้งขึ้นเพื่อพิจารณากำหนดมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ เพื่อปกป้องคุ้มครองผู้บริโภคและให้เกิดความเป็นธรรมในการค้าระหว่างประเทศ โดยมีประเทศต่างๆ ทั่วโลกเป็นสมาชิกประมาณ 170 ประเทศ คณะกรรมการดังกล่าวจะพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในผลผลิต และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (Maximum Residue Limits; MRLs) ซึ่งจะมีการจัดประชุมทุกปีเพื่อพิจารณากำหนดข้อมูลและการยอมรับค่า MRLs ที่ประเทศสมาชิกเสนอ โดยข้อมูลผลการทดลองปริมาณสารพิษตกค้างของประเทศสมาชิกจะต้องทำการศึกษาภายใต้การปฏิบัติการทางการเกษตรที่เหมาะสม (GAP) การกำหนดค่าปริมาณสูงสุด MRLs จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุมีพิษและชนิดของพืช โดยการทดลองจะต้องทำซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง ต่างสถานที่หรือต่างฤดูกาล นำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากพ่นวัตถุมีพิษตามอัตราที่หน่วยราชการแนะนำ ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการพ่นครั้งสุดท้าย มาประกอบการพิจารณาร่วมกับข้อมูลศึกษาความเป็นพิษของวัตถุมีพิษชนิดนั้น ๆ

ถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata var.sesquipedalis*) มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนและอินเดีย เป็นพืชที่มีการปฏิบัติดูแลรักษาง่ายสามารถปลูกได้ตลอดปี เก็บเกี่ยวได้หลังจากปลูกประมาณ 55-75 วัน ระยะเวลาการให้ผลผลิตของถั่วฝักยาวอยู่ในช่วง 1-2 เดือน ถั่วฝักยาวเป็นพืชที่มีศักยภาพในการส่งออก เกษตรกรผู้ปลูกถั่วฝักยาวจึงต้องมีการดูแลอย่างดีเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของโรคและแมลง การใช้วัตถุมีพิษที่ถูกต้องตามคำแนะนำจึงเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดปริมาณสารพิษตกค้างมากเกินไปในผลผลิต ซึ่งจะปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

fipronil จัดเป็นวัตถุมีพิษในกลุ่ม Phenylpyrazole มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_4C_{l2}F_6N_4OS$ มีน้ำหนักโมเลกุล 437.1 สารออกฤทธิ์เป็นผงสีขาว มีจุดหลอมเหลวที่ 203 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น acetone 546.5 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ethyl acetate 26.55 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ค่าความเป็นพิษทางปาก (oral) ในหนูตัวผู้มีค่า LD_{50} 18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนูตัวเมีย15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าความเป็นพิษทางผิวหนัง (dermal) ในหนูมีค่า LD_{50} >2000 fipronil มีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์น้ำ มีสูตรผสมหลายรูปแบบ เช่น SC FS WG GR UL และ EC fipronil ถูกค้นพบครั้งแรกโดยนักวิทยาศาสตร์ของบริษัทโรห์ปูแรงค์ที่ประเทศอังกฤษ (Rhone-Poulenc, Inc., 1996) และนำมาใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกาเพื่อกำจัดแมลงที่เป็นอันตรายต่อสัตว์เลี้ยง แมลงในที่พักอาศัย และแมลงในสนามกอล์ฟ นอกจากนั้นยังใช้แทนที่สาร chlorpyrifos ในผลิตภัณฑ์สำหรับป้องกันกำจัดแมลงในสัตว์เลี้ยง แมลงในบ้าน ปลวก มด แมลงสาบ และแมลงศัตรูข้าวโพดต่อมาในปลายปี พ.ศ.2533 ประเทศสหรัฐอเมริกายกเลิกการใช้สาร carbofuran ในการป้องกันกำจัดด้วงงวงในนาข้าว (water rice weevil) จึงมีการขึ้นทะเบียน fipronil เพื่อใช้

ทดแทนสารดังกล่าว (Stout, *et al*., 2002) มีรายงานว่าสาร fipronil มีการเปลี่ยนแปลงเกิด metabolite ได้หลายรูปแบบตามแต่สภาวะแวดล้อมและปฏิกริยาทางเคมี เช่น เมื่อถูกแสง (photolysis) จะสลายตัวเป็น fipronil-desulfinyl หรือเกิดเป็นสาร fipronil-sulfone fipronil-sulfide fipronil-carboxamide จากปฏิกิริยา oxidation reduction และ hydrolysis ตามลำดับ (ภาพที่1) นอกจาก metabolite หลัก 4 ชนิดดังกล่าวนี้ ยังมี metabolite ย่อยอีก 3 ชนิด แต่โดยนิยามของสารตกค้าง fipronil เพื่อการประเมินความเสี่ยงจากการได้รับสารพิษตกค้างทั้งในระยะสั้นและระยะยาวจากพืชและสัตว์จะหมายถึงผลรวมของ fipronil fipronil-desulfinyl fipronil-sulfone และ fipronil-sulfide ซึ่ง metabolite ที่เกิดบางชนิดมีความเป็นพิษสูงกว่าสารตั้งต้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อสัตว์น้ำ อัตราการใช้ของ fipronil ขึ้นอยู่กับอายุ และชนิดของพืช เช่น อัตราแนะนำสำหรับถั่วฝักยาวใช้สูตร 5 % SC. อัตราแนะนำ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันเจาะต้นถั่ว (*Ophiomyia phaseoli, Melanagromyza* sp.)



ภาพที่ 1. สูตรโครงสร้างของ Fipronil และ metabolite

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ fipronil ในถั่วฝักยาว จึงเป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในพืช (MRLs) จากการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และเพื่อประโยชน์ในการต่อรองทางด้านสินค้าเกษตรส่งออก

วิธีดำเนินการ

1. อุปกรณ์

1.1 Teflon centrifuge tubes ขนาด 50 ml

1.2 Auto- pipette ขนาด 0.1- 1 ml

1.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง 3 ตำแหน่งและ 2 ตำแหน่ง

1.4 เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor) และเครื่องผสมตัวอย่าง (Vortex mixer)

1.5 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder

1.6 เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษ Gas Chromatography (GC) Agilent technologies รุ่น 6890N ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Micro Electron Capture Detector (μECD)

2. สารเคมี

2.1 สารมาตรฐานของ fipronil , fipronil- desulfinyl, fipronil- sulfone, fipronil- sulfide และ fipronil-carboxamide

2.2 ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษ fipronil 5 % SC

2.3 Acetonitrile, Hexane และ Toluene ชนิด Pesticide grade (J.T baker)

2.4 Anhydrous Magnesium sulfate (ACS powder-Fisher) เผาที่ 500 ^{0}C นาน 5 ชั่วโมง

2.5 Sodium chloride ชนิด Analytical grade (Merck)

2.6 SPE sorbent ชนิด Primary-Secondary-Amine (PSA varian)

วิธีการ

คัดเลือกและทำแปลงทดลองถั่วฝักยาวโดยเลือกแปลงทดลองที่มีการปลูกตามหลักการเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agriculture Practice; GAP) จำนวน 2 การทดลองดังนี้ การทดลองที่ 1 ครั้งที่ 1 ที่ อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี ระหว่างเดือนมกราคม -มีนาคม 2553 การทดลองที่ 2 ครั้งที่ 2 ที่ อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์-เมษายน 2553 วางแผนการทดลอง แบบ Supervised Trial มี 2 การทดลอง (experiments) การทดลองที่ 1 พ่นสาร fipronil ความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (Recommended Dose, R) ตามฉลากอัตรา 20 ml ต่อน้ำ 20 L และการทดลองที่ 2 พ่นด้วยน้ำเปล่าในปริมาณที่เท่ากับการทดลองที่ 1 (Control, C) การทดลอง มี 7 กรรมวิธี (treatment) คือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตถั่วฝักยาวไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างภายหลังการพ่นวัตถุมีพิษ fipronil ครั้งสุดท้ายที่ 0 (2 ชั่วโมงหลังการพ่น) 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ตามลำดับ ทำการพ่นสารทุก 7 วันติดต่อกันรวม 4 ครั้ง การสกัดสารพิษตกค้างตามวิธีการของ Anastassiades (2003) ชั่งตัวอย่าง 10 g ใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 ml เติม acetonitile จำนวน 10 ml ปิดฝาเขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที เติม sodium chloride 1.0 g และ magnesium sulfate 4 g ปิดฝาแล้ว เขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 5 นาที แล้วใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 1ml ใส่ micro

centrifuge tube ขนาด 1.5 ml ที่ใส่ PSA 0.025g และ magnesium sulfate 0.15 g ไว้แล้ว เขย่าด้วย vortex mixer นาน 30 วินาที นำไป centrifuge อีกครั้ง นาน 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนของตัวอย่าง 0.5 ml ใส่ micro centrifuge tube หลอดใหม่ นำไปลดปริมาตรด้วยแก๊สไนโตรเจนจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane ให้ได้ 0.5 ml ถ่ายสารละลายตัวอย่าง ใส่ GC-vial นำไปตรวจวิเคราะห์ สารพิษตกค้าง fipronil ด้วยเครื่อง GC/μECD ต่อไป การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 ชนิด Micro Electron Capture Detector (μECD) โดยมีสภาวะการใช้ งานดังนี้

Column : Capillary column DB-1, 30 m. length 0.32 mm.(id) 0.25 μm. film thickness

Temperature : Injector 250 ° C Detector 300 ° C

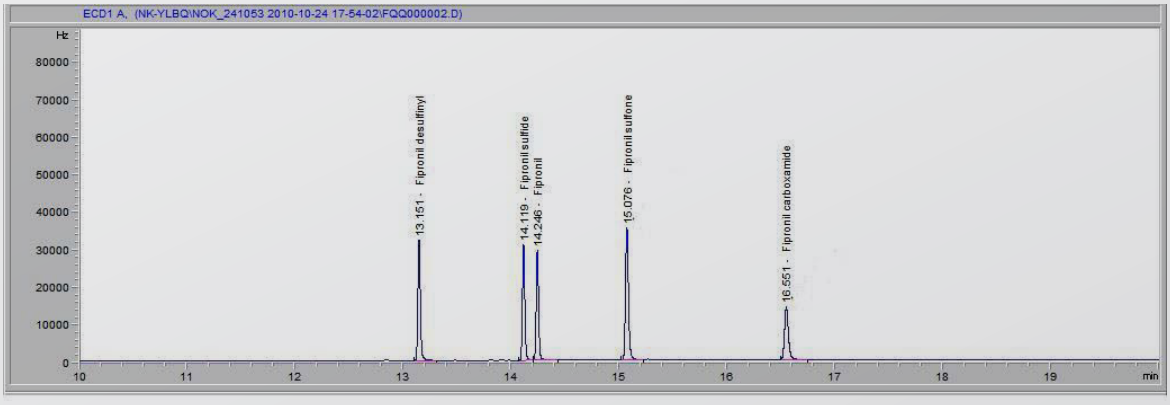
Oven temperature program

80 ° C (1min) 15 ° C / min → 180 ° C(3min) 25 ° C/min → 250 ° C (17 min)

Flow rate: carrier gas ; helium 1.8 ml/min

Injection mode: splitless Injection volume : 1 μl

- วัตถุมีพิษ fipronil มีค่า retention time (ระยะเวลาจากเริ่ม inject จนถึงจุดสูงสุดของ peak) ดังแสดงในภาพที่ 2
- ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์แต่ละตัวอย่าง (Run time) 30.47 นาที



ภาพที่ 2. Chromatogram ของการวิเคราะห์สาร fipronil

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ fipronil ในถั่วฝักยาวเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ระหว่างเดือนตุลาคม 2552–กันยายน 2553 โดยพ่นวัตถุมีพิษ fipronil 5% SC อัตราแนะนำ 20 ml/น้ำ 20L เปรียบเทียบกับแปลงควบคุม (ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า) และเก็บถั่วฝักยาวที่ระยะเวลาต่างๆ กัน หลังการฉีดพ่นสารครั้งสุดท้ายมาวิเคราะห์ มีรายละเอียดดังนี้

การทดลองที่ 1 ครั้งที่ 1 ที่ อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี ระหว่างเดือนมกราคม-มีนาคม 2553 ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม ตรวจพบสารพิษตกค้าง fipronil ปริมาณ 0.257, 0.130, 0.035 และ 0.009 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงที่พ่นตามอัตราแนะนำ ที่ระยะ 0, 1, 3 และ 5 วัน ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลาอื่นๆ ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง (ตารางที่ 1)

การทดลองที่ 2 ครั้งที่ 2 ที่ อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน 2553 ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม ตรวจพบสารพิษตกค้าง fipronil ปริมาณ 0.307, 0.323 0.085, 0.016 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงที่ฉีดพ่นตามอัตราแนะนำที่ระยะ 0, 1, 3 และ 5 วัน ตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลาอื่นๆ ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษตกค้างของ fipronil ในถั่วฝักยาวที่ระยะเวลาต่างๆ จากการทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

ระยะเวลาหลังการฉีดพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	แปลงควบคุม	แปลงอัตราแนะนำ	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
0[1/]	ND[2/]	0.257	0.307
1	ND	0.130	0.323
3	ND	0.035	0.085
5	ND	0.009	0.016
7	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND
14	ND	ND	ND

1/ ระยะเวลา 2 ชั่วโมงหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย

2/ ND คือ Not Detected

จากการทดลองศึกษาการสลายตัวของ fipronil ในถั่วฝักยาวครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าเมื่อฉีดพ่นวัตถุมีพิษตามอัตราแนะนำที่ระยะเวลา 7 วัน ตรวจไม่พบปริมาณของสารพิษตกค้าง fipronil ทั้งสองการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา fipronil ในคะน้าของพนิดา (2544) โดยพบสารพิษตกค้างในแปลงอัตราแนะนำ 0.478, 0.118, 0.018 และ 0.004 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ 0, 1, 3 และ 5 วันตามลำดับ ส่วนที่ระยะเวลา 7, 10 และ 14 วัน ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง อย่างไรก็ดี ถั่วฝักยาวเป็นพืชที่ให้ผลผลิตได้ต่อเนื่องโดยสามารถเก็บเกี่ยวได้วันเว้นวัน ดังนั้น หากเกษตรกรใช้วัตถุมีพิษตามอัตราแนะนำอย่างเคร่งครัดจะสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 7 วันหลังการฉีดพ่นสารครั้งสุดท้าย เนื่องจาก Codex ไม่ได้กำหนดค่า MRL ของ fipronil ในพืชตระกูลถั่วหรือในพืชใกล้เคียง มีเพียงพืชตระกูลกะหล่ำเท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กล้วยเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปกำหนดค่า EU-MRL ของ fipronil ใน

ผลไม้เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนในประเทศญี่ปุ่นกำหนดค่า MRL ของ fipronil ในกะหล่ำปลีเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับประเทศไทยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ไม่ได้กำหนดค่า THAI-MRL ของ fipronil ในพืชใดๆ ดังนั้น ข้อมูลจากการทดลองที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการพิจารณากำหนดค่า MRL สารพิษตกค้างของประเทศไทยสำหรับ fipronil ในถั่วฝักยาวต่อไป

การสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่าง

การสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างถั่วฝักยาวจากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่ายในพื้นที่ใกล้เคียงและจังหวัดต่างๆ ได้แก่ ปทุมธานี นนทบุรี นครนายก นครปฐม สมุทรสงคราม ราชบุรี เพชรบุรี ชลบุรี ปราจีนบุรี และกรุงเทพมหานคร จำนวน 46 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์สาร fipronil สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กลุ่มออร์กาโนคลอรีน และกลุ่มไพรีทรอยด์ โดยเครื่อง GC พบสารพิษตกค้างจำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.08 ของตัวอย่างทั้งหมด วัตถุมีพิษที่พบจำแนกได้ดังนี้ พบ chlopyrifos 6 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.01-0.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบ dimethoate 2 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.02-0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบ diazinon 1 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบ dicrotophos 1 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบ cypermethrin 7 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.02-0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการสลายตัวของ fipronil ในถั่วฝักยาวโดยการทำการทดลองแบบ Supervised residue trial ครั้งที่ 1-2 พบว่าเมื่อใช้สาร fipronil อัตราแนะนำ คือสูตร 5 % SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นถั่วฝักยาว 7 วันต่อครั้ง รวม 4 ครั้ง พบว่า fipronil มีการสลายตัวอย่างรวดเร็วสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 7 วันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายและควรใช้ตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัด เนื่องจาก fipronil สามารถสลายตัวให้สาร metabolite ซึ่งมีพิษสูงต่อสัตว์น้ำและปลา ดังนั้น เกษตรกรผู้ปลูกถั่วฝักยาวจึงควรปฏิบัติตามหลัก GAP และเลือกใช้วัตถุอันตรายเพื่อป้องกันและควบคุมศัตรูพืชตามการระบาดเท่านั้น

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลการสลายตัวของ fipronil ในถั่วฝักยาวเพื่อนำไปใช้ในการพิจารณากำหนดค่า MRL ของประเทศไทย ตลอดจนนำไปเสนอเพื่อกำหนดค่า MRL ของอาเซียน และของ Codex ต่อไป

2. ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจถั่วฝักยาวจากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่ายจะเป็นข้อมูลพื้นฐานให้ทราบถึง สถานการณ์สารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตร เพื่อเป็นข้อมูลในการคุ้มครองผู้บริโภค และแนวทางในการแก้ปัญหาสารพิษตกค้างในถั่วฝักยาวหรือพืชผักอื่นๆ เพื่อให้การผลิตผักของประเทศไทยมีคุณภาพปลอดภัยเป็นที่ยอมรับทั้งในประเทศและต่างประเทศ

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 303 หน้า

พนิดา ไชยยันต์บูรณ์ ธีรพล อุ่นจิตต์วรรธนะ และจินตนา ภู่มงกุฎชัย. 2544 การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 1, 11-13 กรกฎาคม 2544 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ กรุงเทพฯ การประชุมและบทคัดย่อ หน้า 140

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2551 ค่า MRL สารพิษตกค้างของประเทศไทย Available Source: http://www.acfs.go.th/standard/download/residue_limits.pdf

Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D. and Schenck,F.J. 2003 "Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce." J AOAC. 86: 412-431.

FAO/WHO. 2001. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues Geneva, 20-29 September Available source: http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/2001_eva/08%20 Fipronil.pdf

FAO/WHO. 2008. Codex Committee on Pesticides Residues. Fortieth Session, 14-19 April 2008, Hangzhou, China.

Rhone-Polenc, Inc., 1996. Fipronil: Research Triangle Park, N.C., Worldwide Technical Bulletin, p. 2

Stout, M.J., Rice, W.C., and Ring, D.R. 2002 Integrated management of the rice water weevil: Louisiana Agriculture, V45, no.1, p20-21

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของโพรฟิโนฟอสในส้มโอ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 3 และครั้งที่ 4 (MRLS)

Residue Trial of Profenofos in Pomelo to Establish Maximum Residue LimitTrial III and IV (MRLS)

สมสมัย ปาลกูล [1/] *ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ* [2/] *วิษณุ แจ้งใบ* [3/] *ปฏิมาภรณ์ สังข์น้อย* [4/]
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาการสลายตัวของโพรฟิโนฟอสในส้มโอ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง โดยกำหนดการทดลองตามวิธีการศึกษาการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย (Good Agricultural Practice) ทำการทดลองในแปลงเกษตรกร ณ อำเภอมโนรมย์ จังหวัดชัยนาท ครั้งที่ 3 และอำเภอศรีมโหสถ จังหวัดปราจีนบุรี ครั้งที่ 4 ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2552 ถึงเดือนมกราคม 2553 และเดือนกรกฎาคม 2553 ถึงเดือนสิงหาคม 2553 โดยวางแผนการทดลองแบบ supervised trial แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลง คือแปลงควบคุม (ไม่ฉีดพ่นวัตถุมีพิษ) และแปลงอัตราตามคำแนะนำ (20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) มี 3 ซ้ำ (replication) และ 7 วิธีการ (วันเก็บเกี่ยว) ฉีดพ่นโพรฟิโนฟอสในแปลงส้มโอ (ซุปเปอร์ครอน 500 อีซี) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง จำนวน 4 ครั้ง ภายหลังฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ทิ้งให้วัตถุมีพิษแห้งสนิท จึงเก็บเกี่ยวส้มโอที่ระยะเวลา 0, 1, 5, 10, 14, 21 และ 28 วัน นำมาสกัดสารพิษตกค้างโดยวิธีทางเคมี และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของโพรฟิโนฟอสด้วยเครื่อง gas chromatograph ปรากฏผลการวิเคราะห์ดังนี้ ส้มโอแปลงฉีดพ่นโพรฟิโนฟอสครั้งที่ 3 ใช้อัตราตามคำแนะนำ (20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) พบสารพิษตกค้างในส้มโอทั้งผล (เนื้อรวมเปลือก) ปริมาณสูงสุด 1.18, 1.03, 0.90, 0.85, 0.81, 0.73 และ 0.66 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และส้มโอแปลงฉีดพ่นโพรฟิโนฟอส ครั้งที่ 4 พบปริมาณสูงสุด 0.72, 0.74, 0.55, 0.53, 0.31, 0.22 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ สำหรับแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง จากการสำรวจเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย และแหล่งปลูกในจังหวัดต่าง ๆ เช่น เชียงราย ลำปาง ตาก พิจิตร นครศรีธรรมราช ชุมพร นนทบุรี ราชบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี นครนายก อุทัยธานี และ ชัยนาท จำนวน 60 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างในส้มโอทั้งผล จำนวน 22 ตัวอย่าง ได้แก่ cypermethrin, chlorpyrifos ,malathion, ethion และ profenofos ปริมาณสารพิษตกค้างส่วนใหญ่อยู่ในระดับปลอดภัย

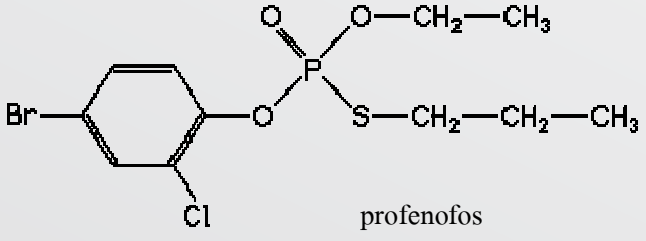
ประเทศสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่น กำหนดค่าปลอดภัยของโพรฟิโนฟอสในพืชตระกูลส้ม (Citrus fruit) เท่ากับ 0.05 มก./กก. ประเทศไทย (มก.อช.) กำหนดเท่ากับ 0.1 มก./กก. สำหรับ Codex MRL และ Asean MRL ยังไม่กำหนดค่าปลอดภัย

1/ 2/ 3/ และ 4/ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สปผ. 02-5793577 ต่อ 2402

คำนำ

ส้มโอจัดเป็นไม้ผลตระกูลส้มที่สามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ดีเกือบทุกภูมิภาคของประเทศไทย จำแนกได้หลายพันธุ์ได้แก่ ทองดี ขาวแป้น ขาวพวง ขาวน้ำผึ้ง ขาวหอม ขาวใหญ่ ท่าข่อย และพันธุ์อื่นๆ เนื่องจากส้มโอเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง เกษตรกรจึงนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายเพื่อบริโภคภายในประเทศและปลูกเป็นการค้าส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ ซึ่งตลาดต่างประเทศที่สำคัญมีการนำเข้ามากได้แก่ สิงค์โปร์ ฮ่องกง มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ อเมริกา แคนาดา และประเทศในยุโรป และเริ่มขยายไปทางตะวันออกกลางเช่น บาร์เรน คูเวต ซาอุดิอารเบีย โอมาน ดังนั้นการผลิตส้มโอให้ได้คุณภาพดีและเพิ่มปริมาณได้ตามความต้องการของตลาดนั้น ปัจจัยหนึ่งการผลิตส้มโอมีความจำเป็นต้องใช้วัตถุมีพิษเพื่อป้องกันกำจัดแมลง โรคและศัตรูพืช ฉะนั้นการใช้วัตถุมีพิษจะต้องใช้อย่างถูกต้องและปลอดภัย เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในส้มโอซึ่งส่งผลกระทบต่อการส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ

โพรฟิโนฟอส เป็นวัตถุมีพิษชนิดหนึ่งที่มีการใช้ในแปลงส้มโอเพื่อป้องกันกำจัดหนอนชอนใบส้ม ประเภทไม่ดูดซึมออกฤทธิ์เมื่อสัมผัสถูกและกินตาย WHO ได้จัดความเป็นพิษอยู่ใน class II คือมีความเป็นพิษปานกลาง ค่า LD_{50} ทางปากของหนูเท่ากับ 358 มก./กก.



profenofos

การศึกษา Supervised trials เป็นการศึกษาในแปลงทดลองโดยใช้วัตถุมีพิษอัตราตามคำแนะนำที่ระบุบนฉลากของวัตถุมีพิษที่ใช้กับพืชชนิดนั้นๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลด้านสารพิษตกค้างสำหรับนำไปพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ของวัตถุมีพิษในผลิตผล การศึกษา Supervised trial ตาม FAO Guidelines (1990) ต้องมีการวางแผนปฏิบัติงานอย่างระมัดระวังและรอบคอบ เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ถูกต้อง ทั้งนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆปัจจัย ที่มีผลต่อการทดลองได้แก่ ขนาดของสารที่ใช้ ภูมิประเทศ ภูมิอากาศ วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่าง การวิเคราะห์ตัวอย่าง เป็นต้น กรณีวัตถุมีพิษบางชนิดระบุอัตราการใช้ตามคำแนะนำบนฉลากเป็นช่วงต่ำสุดถึงสูงสุดนั้นได้กำหนดแนวทางปฏิบัติให้ใช้อัตราความเข้มข้นสูงสุดของสารตามคำแนะนำที่ระบุบนฉลาก และฉีดพ่นตามวิธีการที่เกษตรกรปฏิบัติทั่ว ๆ ไป จำนวนครั้งฉีดพ่นมากที่สุดที่แนะนำบนฉลากนั้น โดยไม่คำนึงถึงว่าขณะนั้นมีศัตรูพืชที่ต้องการกำจัดด้วยสารนั้นมีการระบาดหรือไม่ เพื่อให้ได้ปริมาณสารพิษตกค้างสูงที่สุดในอัตราตามคำแนะนำ นอกจากนี้ FAO Guideline กำหนดให้เลือกสถานที่ทำการทดลองในพื้นที่หลักที่ทำการเพาะปลูกพืชนั้นอย่างน้อย 2 ฤดูกาล หรือ 2 พื้นที่ แต่ไม่ควรทำการทดลองในพื้นที่ที่มีสภาวะผิดปกติ เพื่อให้ได้ข้อมูลเป็นตัวแทนของพื้นที่และสภาวะต่างๆ การศึกษา Supervised trial ของวัตถุมีพิษที่ใช้ในแต่ละพืชจะต้องศึกษาอย่างน้อย 5 การทดลอง เพื่อให้ได้ข้อมูลเพียงพอต่อการประเมินกำหนดค่า Codex MRL จึงจำเป็นต้องศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของโพรฟิโนฟอสในส้มโอครั้งที่ 3 และ 4

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

1. สารเคมีชนิดต่างๆ สารมาตรฐานมีความบริสุทธิ์ 98 %,ผลิตภัณฑ์ซุปเปอร์ครอน 500 อีซี (profenofos 50% W/V EC) acetone AR grade, dichloromethane AR grade, hexane AR และ PR grade, ethyl acetate PR grade, sodium chloride (NaCl), sodium sulfate (Na_2SO_4) anhydrous

2. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ บีคเกอร์ (beaker) กระบอกตวง (cylinder) กรวยแก้ว (funnel) ขวดแก้วก้นกลม (round bottom flask) ปิเปต (pipette) ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขวดตัวอย่าง (vial) ขวดมีฝาปิด (erlenmeyer flask) ขวดแก้ว (duran)

3. เครื่องมือชนิดต่างๆ เช่น เครื่องพ่นวัตถุมีพิษชนิดเครื่องยนต์ เครื่องปั๊มสุญญากาศ เครื่องสกัดตัวอย่าง (ultra turrax) เครื่องลดปริมาตรสารละลาย เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างชนิด Gas Liquid Chromatograph (GLC) ชนิด Flame Photometric Detector (FPD), phosphorus mode และ Electron Capture Detector(ECD) ประกอบด้วย capillary column ชนิด DB -5.625 เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร. ความยาว 30 เมตร เคลือบฟิล์มหนา 0.25 ไมโครเมตร และ DB -1 เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร. ความยาว 30 เมตร เคลือบฟิล์มหนา 0.25 ไมโครเมตร

4. วิธีการวางแผนการทดลอง Supervised Residue/Field Trial ปฏิบัติตามแนวของ FAO Guide lines (1990) ดังนี้

4.1 การเลือกสถานที่ สำรวจพื้นที่ปลูกส้มโอและสอบถามข้อมูลจากเกษตรกรเจ้าของสวนนั้นๆ ซึ่งจะต้องเลือกแปลงส้มโอที่ไม่มีการใช้วัตถุมีพิษชนิดโพรฟิโนฟอส ต้นส้มโอต้องมีขนาดเหมาะสมในการฉีดพ่นวัตถุมีพิษได้อย่างทั่วถึง มีผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวเพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างจนเสร็จสิ้นการทดลอง นอกจากนี้เจ้าของสวนต้องยินยอมให้ความร่วมมือ และปฏิบัติตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัดในแปลงทดลอง

4.2 การทดลอง (experiment) วางแผนการทดลอง แบบ Special design มี 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 แปลง ต้นเปรียบเทียบ/ควบคุม (Control,C) เป็นต้นฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า

การทดลองที่ 2 แปลง ต้นที่ฉีดพ่นสารอัตราตามคำแนะนำ (Recommended dose,R) บนฉลากผลิตภัณฑ์ แนะนำให้ใช้ 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

4.3 จำนวนซ้ำ (replicates) แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำโดยใช้ต้นส้มโอ 4 ต้นต่อ 1 ซ้ำ

4.4 วิธีการ (treatment) คือระยะเวลาเก็บเกี่ยวส้มโอ ที่ 0, 1, 5, 10, 14, 21 และ 28 วัน ภายหลังฉีดพ่นสารครั้งสุดท้าย รวมเป็น 7 ช่วงเวลา

5. การสำรวจสุ่มเก็บตัวอย่างส้มโอ

สุ่มเก็บตัวอย่างจากแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่ายที่มีพื้นที่ปลูกส้มโอค่อนข้างมาก จำนวน 60 ตัวอย่าง เก็บรักษาโดยบรรจุใส่ถุงพลาสติก ปิดป้ายเขียนรายละเอียด ซ้อนถุงอีก 1 ชั้น ใส่ในถังน้ำแข็ง เพื่อรักษาตัวอย่างให้อยู่ในสภาพดี

6. การทำแปลงทดลอง

วางแผนทำแปลงทดลอง ครั้งที่ 3 ณ สวนส้มโอของเกษตรกรอำเภอมโนรมย์ จังหวัดชัยนาท ต้นส้มโอมีอายุ 13 ปี และครั้งที่ 4 อำเภอศรีมโหสถ จังหวัดปราจีนบุรี ต้นส้มโอมีอายุ 13 ปี โดยเลือกต้นที่มีขนาดทรงพุ่มใกล้เคียงกัน และมีผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวนำมาวิเคราะห์ ส้มโออายุ 13 ปี ใช้น้ำประมาณต้นละ 13 ลิตร

เตรียมผสมโพรฟิโนฟอส อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นให้ทั่วต้นส้มโอใน 1 ซ้ำต่อ 4 ต้น (replicates) ทำการฉีดพ่นโพรฟิโนฟอสสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันรวมเป็น 4 ครั้ง ดังนี้

วันที่ฉีดพ่นโพรฟิโนฟอสในแปลงส้มโอ

ครั้งที่	วันที่ฉีดพ่นโพรฟิโนฟอส	
	จังหวัดชัยนาท	จังหวัดปราจีนบุรี
1	22 พฤศจิกายน 2552	6 กรกฎาคม 2553
2	1 ธันวาคม 2552	13 กรกฎาคม 2553
3	8 ธันวาคม 2552	20 กรกฎาคม 2553
4	15 ธันวาคม 2552	27 กรกฎาคม 2553

7. การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลอง (Supervised Field Trial) เมื่อฉีดพ่นครั้งสุดท้ายและทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้วัตถุมีพิษแห้ง สุ่มเก็บผลส้มโอทีละต้น เริ่มจากต้นกลุ่ม C และกลุ่ม R เป็นตัวอย่างเก็บที่ 0 วัน และเก็บผลส้มโอในวันที่ 1, 5, 10, 14, 21 และ 28 วัน รวมทั้งสิ้น 7 ครั้ง การเก็บตัวอย่างส้มโอทุกครั้งเก็บใส่ถุงพลาสติก บันทึกรายการข้างถุง และปิดปากถุงให้แน่นสนิท ซ้อนถุงอีก 1 ชั้น บรรจุแช่ในถังน้ำแข็ง เพื่อรักษาตัวอย่างไม่ให้เสื่อมสภาพเร็ว แล้วรีบนำเข้าสู่ห้องปฏิบัติการเพื่อทำการสกัดและวิเคราะห์

8. วิธีการวิเคราะห์ ใช้วิธีวิเคราะห์รวม Multi-residue Method (MRM) ของ Steinwandter (1985) ที่ได้ดัดแปลงและศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการว่าสามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษทั้ง 4 กลุ่ม ซึ่งใน 4 กลุ่มนี้มีโพรฟิโนฟอส รวมอยู่ด้วย และมีเปอร์เซ็นต์การหาค่ากลับคืน (% Recovery test) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 70-110%

9. วิธีการสกัด

การสกัดตัวอย่างจากแปลงทดลอง ชั่งตัวอย่างส้มโอ 25 กรัมใส่ในขวดแก้ว เติม acetone AR grade 50 มิลลิลิตร. sodium chloride 8 กรัม และ dichloromethane AR grade 40 มิลลิลิตร. ปั่นที่ความเร็วสูงนาน 1 นาที เทสารละลายลงในขวดที่มีฝาปิด และเติม sodium sulfate 1 ช้อนโต๊ะ คนให้เข้ากัน ปิดฝา ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วกรองสารละลาย ผ่าน sodium sulfate 50 มิลลิลิตร.ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร. นำไปลดปริมาตรสารละลายโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator อุณหภูมิ water bath 40 องศาเซลเซียส ลดปริมาตรจนแห้งพอดีและปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate PR grade 5-10 มิลลิลิตร. ดูดสารใส่ขวด GC vial นำไปวิเคราะห์ปริมาณของโพรฟิโนฟอส ด้วยเครื่อง GC-FPD

การสกัดตัวอย่างจากแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่าย วิเคราะห์วัตถุมีพิษ 4 กลุ่ม โดยใช้วิธีวิเคราะห์ Multi-residue Method (MRM) เช่นเดียวกับการสกัดตัวอย่างในแปลงทดลอง สำหรับวัตถุมีพิษกลุ่มออร์แกโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์ ต้องผ่านการกำจัดสารปนเปื้อนก่อน นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Liquid Chromatograph ชนิด Electron Capture Detector

10. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายของสารมาตรฐานโพรฟิโนฟอส ความบริสุทธิ์ 98 % ใน ethyl acetate, PR grade ให้ได้ความเข้มข้นระดับ 1,000 ppm (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น stock standard solution และเจือจาง stock solution ลง 10 เท่าด้วย ethyl acetate, PR grade ได้สารละลายความเข้มข้นระดับ 100 ppm (100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น intermediate standard solution และเจือจางเป็นสารละลายความเข้มข้นระดับ 10 ppm (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เตรียม working standard solution โดยการเจือจาง intermediate standard solution ด้วย ethyl acetate, PR grade ให้มีความเข้มข้น 0.13, 0.25, 0.51, 1.01 และ 2.05 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับฉีดเข้าเครื่อง GC เพื่อทำ calibration curve

11. การวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง gas chromatograph

การทำงานของเครื่อง GC ปรับสภาวะการทำงานดังนี้

11.1 Column : capillary column ชนิด DB-5.625 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร.

ความยาว 30 เมตร, เคลือบฟิล์มหนา 0.25 ไมโครเมตร

Temperature : Oven : 80 องศาเซลเซียส (1 นาที), 15 องศาเซลเซียสต่อนาที ถึง 180 องศาเซลเซียส (3 นาที), 30 องศาเซลเซียสต่อนาที ถึง 250 องศาเซลเซียส (17 นาที) รวมเวลา 30 นาที

Injector : splitless mode, 250 องศาเซลเซียส Detector : 250 องศาเซลเซียส

Carrier gas : He 2 มิลลิลิตรต่อนาที, H_2 150 มิลลิลิตรต่อนาที, Air 100 มิลลิลิตร ต่อนาที

makeup gas : N_2 60 มิลลิลิตรต่อนาที

11.2 Column : capillary column ชนิด DB -1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร. ความยาว 30 เมตร, เคลือบฟิล์มหนา 0.25 ไมโครเมตร

Temperature : Oven : 80 องศาเซลเซียส (1 นาที), 15 องศาเซลเซียสต่อนาที ถึง 180 องศาเซลเซียส (3 นาที), 30 องศาเซลเซียสต่อนาทีถึง 250 องศาเซลเซียส (17 นาที) รวมเวลา 30 นาที

Injector : splitless mode, 250 องศาเซลเซียส Detector : 300 องศาเซลเซียส

Carrier gas : He 1.7 มิลลิลิตรต่อนาที, makeup gas : N_2 60 มิลลิลิตรต่อนาที

ระยะเวลา (เริ่มต้น - สิ้นสุด)

- ตุลาคม 2552 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

- อำเภอมโนรมย์ จังหวัดชัยนาท และ อำเภอศรีมโหสถ จังหวัดปราจีนบุรี
- ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาการสลายตัวของโพรฟิโนฟอสในส้มโอ ครั้งที่ 3 ณ แปลงเกษตรกรอำเภอมโนรมย์ จังหวัดชัยนาท ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2552 ถึงเดือนมกราคม 2553 เมื่อฉีดพ่นสารโพรฟิโนฟอสกับต้นส้มโอใช้อัตราตามคำแนะนำ (20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง จำนวน 4 ครั้ง ติดต่อกัน พบสารพิษตกค้างในส้มโอทั้งผลปริมาณสูงสุด 1.18, 1.03, 0.90, 0.85, 0.81, 0.73 และ 0.66 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ในวันที่ 0, 1, 5, 10, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ (ตารางที่1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติหาค่า correlation. ในส้มโอทั้งผลได้ค่า R^2 = 0.9108 และสมการ $Y= 1.0574e^{-0.0178X}$ พบว่ามีอัตราการสลายตัว 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (ภาพที่ 1) แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง สำหรับการทดลองครั้งที่ 4

ณ แปลงเกษตรกรอำเภอศรีมโหสถ จังหวัดปราจีนบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนสิงหาคม 2553 พบสารพิษตกค้างในส้มโอทั้งผลปริมาณสูงสุด 0.72, 0.74, 0.55, 0.53, 0.31, 0.22 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ในวันที่ 0, 1, 5, 10, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติหาค่า correlation.ในส้มโอทั้งผลได้ค่า R^2 = 0.9714 และสมการ $Y=0.7619e^{-0.0567X}$ พบว่ามีอัตราการสลายตัว 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (ภาพที่ 2) แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง จะเห็นได้ว่าสารพิษตกค้างของ โพรฟิโนฟอสในส้มโอจากการทดลองครั้งที่ 3 พบปริมาณสูงกว่าการทดลองครั้งที่ 4 เนื่องจากในช่วงการทดลองครั้งที่ 4 มีฝนตกชุกและโพรฟิโนฟอสจัดเป็นวัตถุมีพิษชนิดไม่ดูดซึมทำให้น้ำฝนชะล้างออกได้บางส่วน จึงมีผลต่อปริมาณสารตกค้างและอัตราการสลายตัวต่อวันของโพรฟิโนฟอส

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย และแหล่งปลูกในจังหวัดต่าง ๆ เช่น เชียงราย ลำปาง ตาก พิจิตร นครศรีธรรมราช ชุมพร นนทบุรี ราชบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี นครนายก อุทัยธานี และชัยนาท จำนวน 60 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างในส้มโอทั้งผล จำนวน 22 ตัวอย่าง ได้แก่ cypermethrin ,chlorpyrifos ,malathion, ethion และ profenofos ปริมาณสารพิษตกค้างส่วนใหญ่อยู่ในระดับปลอดภัย และเมื่อพิจารณาปริมาณสารพิษตกค้างของ profenofos ethion และ malathion กับค่าปลอดภัยของประเทศสหภาพยุโรป พบว่าปริมาณเกินค่าปลอดภัยจำนวน 4 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันประเทศสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่น กำหนดค่าปลอดภัยของโพรฟิโนฟอสในส้มโอเท่ากับ 0.05 มก./กก. สำหรับ Codex MRL และ Asean MRLยังไม่กำหนดค่าปลอดภัย ปริมาณสารพิษตกค้างจากการทดลองนี้เมื่อเปรียบเทียบกับค่าปลอดภัยของประเทศสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่นแล้ว พบว่าส้มโอฉีดพ่นโพรฟิโนฟอสอัตราตามคำแนะนำและทิ้งช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยว 21 วัน ตามที่ระบุบนฉลากมีปริมาณสารพิษตกค้างสูงกว่าค่าปลอดภัยที่กำหนด ฉะนั้นการผลิตส้มโอเพื่อส่งออกไปจำหน่ายประเทศดังกล่าวควรหลีกเลี่ยงการใช้โพรฟิโนฟอสฉีดพ่นส้มโอช่วงก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตและทิ้งช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวนานๆ เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างก่อนส่งออก ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะแนะนำให้เกษตรกรทราบและนำไปปฏิบัติในแปลงส้มโอได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม ช่วยลดและแก้ไขปัญหาสารพิษตกค้างของโพรฟิโนฟอสในส้มโอได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา Supervised residue trial ในส้มโอและข้อมูลการวิเคราะห์ตัวอย่างส้มโอจากแหล่งจำหน่ายและแหล่งปลูก สามารถนำเสนอต่อสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารซึ่งเป็นหน่วยงานประสานส่งข้อมูลเสนอการประชุม Asean MRL และ Codex MRL เพื่อพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของโพรฟิโนฟอสในส้มโอ สำหรับใช้เป็นค่ามาตรฐานสากลในการซื้อ ขายสินค้าส่งไปจำหน่ายต่างประเทศ และคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศ

2. การทดลอง Supervised residue trial ของโพรฟิโนฟอส ใช้กับต้นส้มโอในสภาพพื้นที่ที่มีภูมิอากาศของประเทศไทย ทำให้ทราบค่าการสลายตัวของโพรฟิโนฟอสที่แท้จริง และสามารถนำไปตรวจสอบการกำหนดค่า PHI ที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำไว้บนฉลากข้างขวด ซึ่งข้อมูลจากการศึกษานี้ สามารถนำไปพิจารณาเปลี่ยนแปลงแก้ไขคำแนะนำบนฉลากข้างขวดได้ตามความเหมาะสม

3. ข้อมูลนี้สามารถนำไปแนะนำเกษตรกรใช้วัตถุมีพิษฉีดพ่นสวนส้มโอได้อย่างถูกต้อง ปลอดภัยและเหมาะสม ทำให้ไม่มีปัญหาด้านสารพิษตกค้างในการส่งส้มโอไปจำหน่ายต่างประเทศ

4. ข้อมูลจากการทดลองนี้นำไปเผยแพร่ในการประชุมวิชาการประจำปี ของกรมวิชาการเกษตร ข้าราชการ นิสิต นักศึกษา และประชาชนทั่วไป เพื่อให้รับทราบผลการใช้วัตถุมีพิษอย่างไม่ถูกต้องและไม่เหมาะสม

นั้น ก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในส้มโอได้ และใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณามาตรการแก้ไขและป้องกันการเกิดปัญหาสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษในผลิตผลการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม,2551. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มก.อช.9002-2547, สารพิษตกค้าง:ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Anonymous, 2008. Codex Alimentarius Commission, List of Maximum Residue Limits for Pesticide Residues in Food and Animal Feeds.

Anonymous, 2006. Maximum Residue Limits Under Positive List System Food Sanitaion Law:Japan

FAO, 1990. Guideline on Producing Pesticide Residue Data from Supervised Trial. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome

Steinwandter, H. 1985. Universal 5 Min on - line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. Fresenius Z. Anal. Chem (1985) 322 : 752 -754.

ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษตกค้างของโพรฟิโนฟอสในส้มโอ อัตราตามคำแนะนำ (20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) การทดลองครั้งที่ 3 และ 4

วันเก็บเกี่ยว	ปริมาณสารพิษตกค้าง อัตราตามคำแนะนำ (มก./กก.)							
	การทดลองครั้งที่ 3 จังหวัดชัยนาท				การทดลองครั้งที่ 4 จังหวัดปราจีนบุรี			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าสูงสุด	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าสูงสุด
0	1.18	1.05	1.15	1.18	0.60	0.55	0.72	0.72
1	1.03	0.95	1.01	1.03	0.55	0.56	0.74	0.74
5	0.90	0.90	0.89	0.90	0.38	0.42	0.55	0.55
10	0.81	0.85	0.83	0.85	0.37	0.39	0.53	0.53
14	0.73	0.79	0.81	0.81	0.23	0.26	0.31	0.31
21	0.72	0.66	0.73	0.73	0.20	0.16	0.22	0.22
28	0.66	0.66	0.58	0.66	0.11	0.13	0.16	0.16

ตารางที่ 2. สารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษในส้มโอ จากการเก็บตัวอย่าง ปี พ.ศ.2553 จำนวน 60 ตัวอย่าง

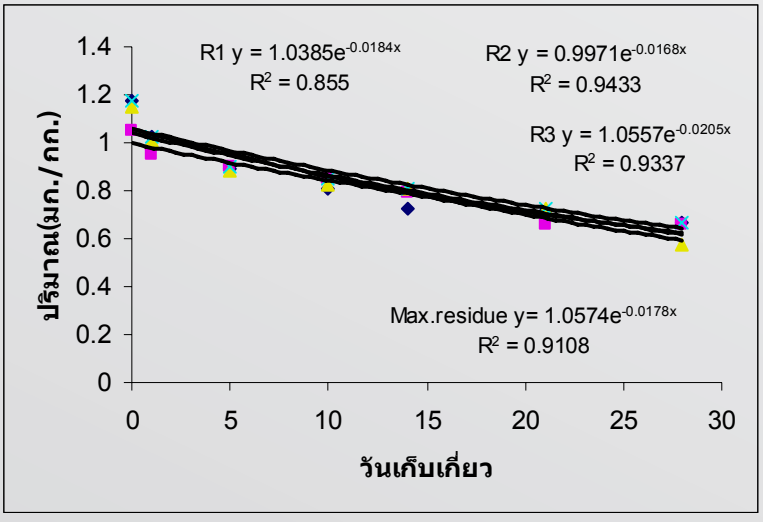
ชนิดวัตถุมีพิษ	ตัวอย่างที่พบ		ปริมาณสารพิษตกค้าง มก./กก.	ตัวอย่างเกินค่าปลอดภัย (EU MRL)		ค่า MRLs			
	จำนวน	ร้อยละ		จำนวน	ร้อยละ	1 1/	2 2/	3 3/	4 4/
cypermethrin	20	33	0.01 – 0.34	-	-	2	2	2	2
chlorpyrifos	4	7	0.01 – 0.03	-	-	1	0.3	1	-
ethion	2	3	0.01 – 0.44	1	2	5	0.01	5	1
malathion	4	7	0.01 – 0.09	2	3	7	0.02	4	7
profenofos	2	3	0.05 – 0.20	1	2	-	0.05	0.05	0.1

1/ ค่า Codex MRL

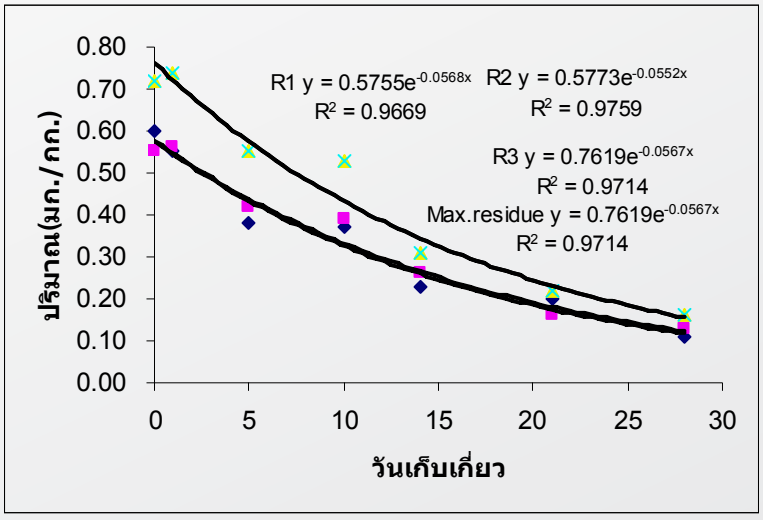
2/ ค่า EU MRL

3/ ค่า Japan MRL

4/ ค่า มก.อช (ประเทศไทย)



ภาพที่ 1. แสดงแนวโน้มการสลายตัวของโพรฟิโนฟอสในส้มโอโดยใช้อัตราตามคำแนะนำ (20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร.) การทดลองครั้งที่ 3 จังหวัดชัยนาท



ภาพที่ 2. แสดงแนวโน้มการสลายตัวของโพรฟิโนฟอสในส้มโอโดยใช้อัตราตามคำแนะนำ (20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) การทดลองครั้งที่ 4 จังหวัดปราจีนบุรี

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 53 ชนิด อย่างรวดเร็ว ด้วยวิธี QuECheRS โดยใช้ GC/MS-PTV Inlet

Rapid determination of 53 pesticides by QuECheRS method with GC/MS-PTV Inlet

ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ *ปฏิมาภรณ์ สังข์น้อย*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

สารพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรได้เข้ามามีบทบาทมากขึ้นเนื่องจากมีการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรอย่างแพร่หลายในวงการเกษตรกรรม การค้าระหว่างประเทศ รวมไปถึงด้านความปลอดภัยอาหาร ดังนั้นจึงต้องมีตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตร ในการวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาวัตถุมีพิษการเกษตรจำนวน 53 ชนิด โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่มีหัวตรวจวัดชนิดแมสสเปคโตรมิเตอร์ตรวจวิเคราะห์ภายหลังจากสกัดด้วยวิธี QuECheRS โดยใช้ตัวอย่างมะม่วงเป็นตัวแทนของผลไม้ LOD และ LOQ ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างนี้มีค่าเท่ากับ 0.002 และ 0.02 mg/kg ตามลำดับ Recovery ของวิธีทดสอบจะอยู่ในช่วง 74-126% และวิธีทดสอบนี้ให้ค่า RSD น้อยกว่า 20%

บทนำ

ในปี พ.ศ. 2547 รัฐบาลได้ประกาศให้เป็นปีอาหารปลอดภัย (Food Safety) กรมวิชาการเกษตรได้กำหนดให้มีนโยบายควบคุมคุณภาพของผลิตผลการเกษตรที่ส่งไปขายยังต่างประเทศ จึงได้มอบหมายให้กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ทำการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของวัตถุอันตรายทางการเกษตรในผลิตผลการเกษตรที่เป็นสินค้าส่งออก เพื่อออกใบรับรองคุณภาพของสินค้าเกษตร โดยในปัจจุบันวัตถุอันตรายทางการเกษตรแนวโน้มที่จะเพิ่มปริมาณมากขึ้น และเมื่อพิจารณาถึงความเป็นพิษของวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่มีต่อสิ่งแวดล้อม และโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อตัวผู้บริโภคผ่านทางอาหารและน้ำ ทำให้องค์การอนามัยโลกต้องกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum residue limit; MRLs) โดยอ้างอิงพื้นฐานมาจากพฤติกรรมปริมาณการบริโภคที่ได้มาจากปริมาณการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในแปลงของเกษตรกร ปริมาณสารพิษตกค้างในน้ำดื่มและในอาหารที่บริโภค

เพื่อเป็นการลดปัญหาการตรวจพบสารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตรเกินค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในประเทศปลายทาง โดยปกติสารพิษมีระดับความมีขั้วมากจนถึงระดับความมีขั้วปานกลาง เมื่อทำการสกัดแล้วจะสามารถทำการตรวจวิเคราะห์ได้โดยเครื่อง Gas Chromatograph Mass Sprectrometer

(GC/MS) ที่มีหัวตรวจวัดชนิด Single Quadrupole (SQ) หรือ Triple Quadruple Mass Spectrometer (QQQ) ตามวิธีมาตรฐานของ DIN Norm 12393 parts 1-3 ที่ดัดแปลงมาจาก German Norm DFG S19 หรือตามวิธีของ Luke และวิธีล่าสุดคือวิธีที่ดัดแปลงจาก QuECheRS (ย่อมาจาก “Quick, Easy, Rugged และ Safe) ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในปัจจุบันได้นำเครื่อง (GC/MS) มาใช้มากขึ้นเพื่อช่วยในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างจำนวนมากในผลิตผลทางการเกษตร

การศึกษาครั้งนี้เพื่อที่จะทดสอบการใช้ได้ของวิธีทดสอบการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยวิธี QuECheRS ในตัวอย่างผลิตผลทางการเกษตร โดยใช้ GC/SQ-MS สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างแบบ multiresidue จำนวน 53 ชนิด

วิธีดำเนินการ

1. สารเคมี

1.1 สารมาตรฐานวัตถุมีพิษการเกษตร: Dr.Ehrenstorfer

1.2 Magnesium sulfate anhydrous

1.3 Sodium chloride

1.4 Sodium citrate dihydrate

1.5 Di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate

1.6 Ultra-residue reagent toluene

1.7 Ultra-residue reagent ethyl acetate

Single standard stock solution จะเตรียมโดยละลายสามาตรฐานวัตถุมีพิษปริมาณ 10 mg ใน 10 ml toluene GC/MS multicompound standard stock solution จะเตรียมโดยละลาย 1 mg ของสารมาตรฐานแต่ละตัวใน 100 ml ethyl acetate และเจือจางต่อไปจนได้ความเข้มข้น 0.02 ug/ml, 0.05 ug/ml, 0.07 ug/ml และ 0.1 ug/ml Matrix-matched multicompound standards จะเตรียมโดยนำ multicompound standard solution ความเข้มข้น 10 ug/ml ปริมาณ 10 ml มาเป่าด้วยไนโตรเจนอย่างช้าๆ จนเกือบแห้ง แล้วนำมาละลายด้วย blank extract ของมะม่วง จนได้ปริมาตร 10 ml แล้วนำมาเจือจางต่อจนได้ความเข้มข้นสำหรับใช้งาน สารละลายมาตรฐานทั้ง single และ multicompound จะเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 C และห่างจากแสง

ในการศึกษาครั้งนี้ เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างโดยสกัดด้วยวิธี QuECheRS และตรวจด้วย GC/MS พบว่าตรวจไม่พบสารพิษตกค้างใน Blank samples ที่นำมาใช้ในการทดลองทั้งในส่วนของการทดลองการทดสอบประสิทธิภาพของวิธี และในการทำ matrix-matched standards

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 Homogenise ตัวอย่างมะม่วงปริมาณ 500 g

2.2 ชั่งตัวอย่างประมาณ 10 g ที่ homogenise แล้วลงใน 50 ml Teflon centrifuge tube.

2.3 เติม 10 ml acetonitrile (ACN) แล้วเขย่าโดยใช้ vortex mixer เป็นระยะเวลา 1 นาที

2.4 เติม 4 g magnesium sulfate anhydrous ($MgSO_4$) 1 g sodium chloride (NaCl) 1 g sodium citrate dihydrate ($C_6H_5Na_3O_7*2H_2O$) และ 0.5 g di-sodium hydrogen citrate esequihydrate ($C_6H_6Na_2O_7*1.5H_2O$) แล้วนำไปเขย่าทันทีด้วยเครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที

2.5 ตัวอย่างที่มีความเป็นกรดจะเติมสารละลาย 6 N NaOH 600 ul เพื่อให้ได้ค่า pH อยู่ในช่วง 5-5.5

2.6 Centrifuge สารละลายที่สกัดได้ ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที

2.7 Aliquot สารละลายส่วนใสปริมาตร 6 ml ใส่ใน 15 ml Teflon centrifuge tube ที่มี 150 mg PSA และ 950 mg $MgSO_4$

2.8 Centrifuge สารละลายที่สกัดได้ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที

2.9 ถ่ายสารละลายที่สกัดได้ใส่ใน autosampler vial ที่มีสารละลาย 5% formic acid 15 ul (เพื่อกันสารละลายที่สกัดได้เกิดการสลายตัว)

3. การตรวจวิเคราะห์

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างจะใช้เครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ คือ Hewlette-Packard (Agilent Technologies) GC/Ms model 6890N Series gas chromatograph ต่อกับ 5973N mass selective detectors. ใช้คอลัมน์ชนิด HP 5MS (30 m x 0.25 mm i.d.) (Agilent Technologies, USA) fused silica capillary column ที่มีขนาดความหนาของฟิล์ม 0.25 um และใช้ฮีเลียมเป็น carrier gas ที่ constant pressure และทำการปรับความดันทุกวันโดยใช้โปรแกรม RT-Lock (Haloxyfop-ethyl RT relocked ที่เวลา 15.40 นาที)

Inlet	EPC PTV		
Mode	Solvent vent	Oven	
Temp ramp	C/min next°C	Oven ramp	C/min
Cryo	On		
Cryo use temp	100°C	Total runtime	26 min
Cryo timeout	10.00 min (On)	Equilibration time	0.5 min
Cryo fault	On	Oven max	325°C
Pressure	11.77 psi (On)	Front Injector	
Vent time	0.60 min	Injection volume	5 microliters
Vent flow	100.0 mL/min	Syringe size	10 microliters
Vent pressure	0.0 psi	MSD	
Purge flow	50.0 mL/min	Low mass	50 amu
Purge time	2.50 min	High mass	500 amu
Total flow	53.9 mL/min	Quad temp	180°C
Gas saver	Off	Source temp	300°C
Gas type	Helium	Transfer line temp	280°C
PTV Liner	Agilent multi-baffle liner		
	no packing		

การระบุชนิดของสารพิษตกค้างจะเป็นไปตามคำแนะนำของ European SANCO นั่นคือ ในกรณีของ Single Quadrupole จะใช้ 1 target ion และ 2 qualifier ions สำหรับสารพิษทั่วไปและ 1 target ion และ 3 qualifier ions สำหรับสารพิษที่มีการประกาศยกเลิกการใช้

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Validation Study)

ในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกสารพิษ 53 ชนิด มาศึกษา โดยพิจารณาจากชนิดของวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่มีการขึ้นทะเบียนในประเทศไทย ตามคุณสมบัติทาง chromatograhic และตามวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวิธี QuECheRS โดยเลือกให้มะม่วงเป็นตัวแทนของผลไม้

LOD และ LOQ ของวิธีทดสอบจะทำโดยการทำ full scan สำหรับ target ion และ parent ion ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่เห็นพีคจะต้องมีค่า S/N ratio มากกว่า 3 และ 10 ตามลำดับ การตรวจสอบค่า Accuracy และ Precision จะพิจารณาจากค่า recovery ของการทดสอบที่มีการทำซ้ำ 10 ซ้ำ ตัวอย่างที่มีการ spike จะทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที ก่อนเริ่มการสกัดเพื่อให้วัตถุอันตรายทางการเกษตรแทรกตัวเข้าไปอยู่ในเนื้อมะม่วง

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. Linearity ของสารมาตรฐาน Matrix-matched standard solution

จากผลการทดลองสารพิษตกค้าง จำนวน 53 ชนิด ได้แสดงคุณสมบัติความเป็นเส้นใน SIM mode ในช่วงของความเข้มข้น 0.02 - 0.1 ug/ml โดยสารพิษตกค้างทุกตัวมีค่า correlation coefficient R^2 มากกว่า 0.99 และพบว่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของความเข้มข้นจะยังคงเป็นเส้นตรงอยู่แม้ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานมีค่าเพิ่มขึ้น และค่ากำลังของการยืนยันมาค่ามากยิ่งขึ้น (order of magnitude, MS^3)

2. LOD และ LOQ

จากผลการทดลอง ค่า LOD และ LOQ ของวิธีการตรวจวิเคราะห์มีค่าเท่ากับ 0.002 mg/kg และ 0.02 mg/kg ค่า LOD และ LOQ จากวิธีการวิเคราะห์นี้มีเหมาะสมเนื่องจากเป็นไปตามข้อกำหนดของการทำ organic farming foodstuff ที่กำหนด threshold ไว้ที่ 10 ug/kg

3. Recovery

ในตารางที่ 1 จะแสดง recovery และ repeatability ของการทดสอบ fortification ที่ระดับความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.07 และ 0.1 mg/kg จากตารางพบว่า recovery อยู่ในช่วง 74-126 % โดยมีค่าเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ใน SANCO guideline ที่กำหนดไว้ในช่วง 70-110 % ซึ่งสารพิษที่มีค่าเกินที่กำหนดไว้มีไม่ถึง 1 % ของสารพิษทั้งหมดที่ทำการทดสอบ เมื่อพิจารณาค่า %RSD ของผลการวิเคราะห์ทั้งหมด พบว่าเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ของการหา precision ของวิธีการวิเคราะห์โดยมีค่า %RSD ต่ำกว่า 30 และ predicted Horwitz RSD ที่น้อยกว่า 2

การตรวจสอบ Precision ของวิธีทดสอบ โดยทำ Fortified Sample ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.02, 0.05, 0.10, 0.50 และ 1.00 มก./กก. ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ แล้วนำมาประเมิน Precision โดยใช้ค่า %RSD หรือ HORRAT (Horwitz's ratio)

ผลการทดสอบ Precision ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.07 และ 0.10 mg/kg ตามลำดับ

ตารางที่ 1. แสดงค่า %RSD และ HORRAT ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมท ที่ระดับ 0.10 มก./กก. ในมะม่วง

Compounds/Recovery	Fortified (mg/kg)	Average Recovery	%RSD
Carbaryl	0.1	115	14
Methiocarb	0.1	119	8
Propoxur	0.1	100	12
Ethoprophos	0.1	124	12
Cadusafos	0.1	116	10
Promecarb	0.1	66	26
Cabofuran	0.1	126	9
Quintozene	0.1	101	12
Pirimicarb	0.1	107	34
Propanil	0.1	115	24
Acetochlor	0.1	98	16
Tolclofos-methyl	0.1	100	11
Alachlor	0.1	126	19
Metalaxyl	0.1	107	12
Fenitrothion	0.1	86	8
Pirimiphos-methyl	0.1	97	10
Thiobencarb	0.1	129	20
Malathion	0.1	100	13
Fenthion	0.1	101	9
Parathion	0.1	92	11
Triadimefon	0.1	96	11
Tetraconazole	0.1	101	12
Isoxaflutole	0.1	96	7
Fipronil	0.1	100	11
Quinalphos	0.1	72	24
Phenthoate	0.1	94	10
Folpet	0.1	123	23

ตารางที่ 1. (ต่อ)แสดงค่า %RSD และ HORRAT ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มคาร์บาเมท ที่ระดับ 0.10 มก./กก. ในมะม่วง

Compounds/Recovery	Fortified (mg/kg)	Average Recovery	%RSD
Procymidone	0.1	111	10
Methidathion	0.1	59	23
Haloxyfop-ethyl	0.1	100	12
Flumetralin	0.1	76	9
Prothiofos	0.1	120	34
Oxadiazon	0.1	111	18
Flusilazole	0.1	93	13
Iprovalicarb	0.1	103	30
Triazophos	0.1	69	13
Propiconazole	0.1	106	14
Tebuconazole	0.1	100	13
Epoxiconazole	0.1	99	13
Spiromesifen	0.1	76	11
Bifenthrin	0.1	95	9
Methoxychlor	0.1	90	13
Fenpropathrin	0.1	96	18
Tebufenpyrad	0.1	92	12
Fenazaquin	0.1	90	12
Tetradifon	0.1	97	7
Cyhalofop-butyl	0.1	106	8
Acrinathrin	0.1	98	16
Permethrin	0.1	107	12
Pyridaben	0.1	82	27
Quizalofop-ethyl	0.1	101	12
Etofenprox	0.1	100	11
Difenoconazole	0.1	101	10
Indoxacarb	0.1	107	20

จากตารางที่ 1. สรุปผลการทดสอบ Precision ของวิธีทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.07 และ 0.10 mg/kg ได้ HORRAT < 2 จึงสามารถสรุปได้ว่า precision ของวิธีทดสอบนี้ที่ระดับความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.07 และ 0.10 mg/kg อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง QuECheRS เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักและผลไม้ที่เป็น apolar, middle polar และ polar ได้มากถึง 53 ชนิดใน reference matrices นั้นๆ

ผลการทดลองของ recovery, repeatability และ accuracy ของวิธีวิเคราะห์นี้ให้ผลอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของสารพิษตกค้างทั้ง 53 ชนิด โดยผล recovery นั้นอยู่ในช่วง 74-126% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และมีสารพิษตกค้างบางตัว (<1%) ที่ให้ผล recovery มากกว่า 110% นอกจากนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์นี้มีผลของ repeatability ซึ่งแสดงโดยค่า RSD น้อยกว่า 30% ตามข้อกำหนดของ European SANCO Guideline (Commission of the European Communities, 2006)

สามารถสรุปได้ว่า การตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างด้วยวิธี QuECheRS สามารถนำมาเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการสกัดสารพิษตกค้าง ซึ่งได้พิสูจน์แล้วว่าเป็นวิธีที่เหมาะสมเมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS โดยเป็นวิธีที่รวดเร็วและให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องและแม่นยำ

เอกสารอ้างอิง

Anastassiades, M., & Lehotay, S. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive SPE” for the determination of pesticide residues in produce. Journal of AOAC International, 86, 412-431

Commission of the European Communities. (2002). Directive 2002/657/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Directorate General Health and Consumer Protection, Brussels, Belgium.

Commission of the European Communities. (2006). Directive SANCO/10232/2006 on the quality control procedures for the pesticide residues analysis. Directorate General Health and Consumer Protection, Brussels, Belgium.

Stan, H.-J. (2000). Pesticide residue analysis in foodstuff applying capillary gas chromatography with mass spectrometric detection: State-of-the-art use of modified DFG-multimethod S19 and automated data evaluation. Journal of Chromatography A, 892, 347-377

ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดและผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากต่อปลานิล

Acute Toxicity of *Stemona burkilli* P. Extract and Formulationon on *Tilapia nilotica*

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา พรรณีกา อัตตนนท์
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดหนอนตายหยาก *(Stemona burkilli* P.) เก็บมาจากจังหวัดอุตรดิตถ์ มาทำการสกัดโดยสกัดรากสด รากแห้ง และสารสกัดทางพฤกษเคมีของหนอนตายหยากชนิดนี้ โดยใช้ผงรากสด 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ใช้ผงรากแห้ง 100 มิลลิกรัมต่อเอทธานอล 1 ลิตร สารประกอบที่สกัดได้ทางพฤกษเคมี โดยใช้รากแห้ง จะได้อัลคาลอยด์ (Alkaloids) 2.6% เทอร์ปินอยด์ (terpenoids) 0.38% น้ำมัน (oils) 0.14% และ n-oxides 0.34% หลังจากนั้นนำสารเหล่านี้มาทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันกับลูกปลานิลขนาดลำตัว 2-3 เซนติเมตร ในห้องปฏิบัติการทดสอบพิษวิทยา วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ความเข้มข้น 4 ซ้ำ ได้ค่า LC_{50} เฉลี่ย ดังนี้ รากหนอนตายหยากสดหมักน้ำ LC_{50} เฉลี่ย 2,288 ppm (mg/l) รากหนอนตายหยากแห้งหมักเอทธานอล LC_{50} เฉลี่ย 448.8 ppm (mg/l) alkaloids จากรากหนอนตายหยาก LC_{50} เฉลี่ย 1.72 ppb (µg/l) terpenoids จากรากหนอนตายหยาก LC_{50} เฉลี่ย 0.20 ppb (µg/l) Oils จากรากหนอนตายหยาก LC_{50} เฉลี่ย 0.19 ppb (µg/l) และ n-oxides จากรากหนอนตายหยาก LC_{50} เฉลี่ย 0.68 ppb (µg/l)

ส่วนการทดลองความเป็นพิษกับลูกปลานิลขนาด 2-3 เซนติเมตร โดยใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากที่ผลิตในห้องปฏิบัติการให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 765 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากที่ผลิตในโรงงานต้นแบบให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 225 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อ Bison ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 3,500 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อ Stemo-9 ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 27,000 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อ Stemona Extract Liquid ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 3,800 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อ Plant Safe MT ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 7.1 ppm ในเวลา 96 ชม.ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อไบโอทิพย์ M-301 ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 8.5 ppm.ในเวลา 96 ชม.

ในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดใช้วัตถุดิบในการผลิตเป็นหนอนตายหยากคนละ species จึงเปรียบเทียบได้ในระหว่างยี่ห้อเท่านั้น และกระบวนการผลิตแตกต่างกัน ใช้ตัว carrier และ inert ingredients ไม่เหมือนกัน ซึ่งอาจออกฤทธิ์เป็นตัวเสริมฤทธิ์หรือต้านฤทธิ์แตกต่างกัน เช่น ยี่ห้อ Plant Safe MT และ ยี่ห้อไบโอทิพย์ มีส่วนผสมของน้ำมันสนซึ่งออกฤทธิ์ความเป็นพิษสูงกับปลา เป็นต้น เมื่อเปรียบเทียบกับความเป็นพิษเฉียบพลันของโรติโนนในสารสกัดจากรากโล่ติ๊น (0.17%) และผลิตภัณฑ์ (0.24%) กับลูกปลานิลขนาด 2.75$\pm$0.28 ซ.ม. ในเวลา 96 ชั่วโมงได้ค่า LC_{50} ของ โรติโนนในสารสกัด 0.0007 ppm (mg/l) และในผลิตภัณฑ์ 0.0008 ppm (mg/l)

รหัสโครงการ 07 01 49 05 01 01 09 52

คำนำ

การศึกษาความเป็นพิษสารสกัดหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* G.) ต่อสัตว์น้ำบางชนิด พบว่าเมื่อใช้สารสกัดด้วยน้ำของรากหนอนตายหยาก ออกฤทธิ์ทำให้ศัตรูธรรมชาติของปลานิล คือ มวนวน ลูกน้ำยุงลาย และไรแดง ตาย 100% คือ LC_{100} มวนวน 700 mg/l LC_{100} ลูกน้ำยุงลาย 300 mg/l LC_{100} ไรแดง 1,000 mg/l ส่วนสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ของรากหนอนตายหยาก ทำให้ศัตรูธรรมชาติของปลานิล ตาย ให้ค่า LC_{100} ดังนี้ LC_{100} มวนวน 900 mg/l LC_{100} ลูกน้ำยุงลาย 300 mg/l LC_{100} ไรแดง 1,000 mg/l และความเข้มข้นดังกล่าวของสารสกัดรากหนอนตายหยากด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ ทำให้ลูกปลานิลตายเฉลี่ยไม่เกิน 10% (โรงเรียนพนมสารคาม, 2551)

การศึกษาความเป็นพิษสารสกัดหนอนตายหยาก (*S. curtisii* ; *S. burkilli* ; *S. kerrii*) กับ brine shrimp (Lethality test) พบมีความเป็นพิษสูงกับ brine shrimp ในเวลา 24 ชม. LC_{50} 0.072 mg/l (Issaakul, *et al,;* 2007)

สารสกัดหนอนตายหยากเข้มข้น 25 ppm. มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกำจัดหอยเชอรี่ โดยทำให้หอยทุกขนาดตาย 100% ภายใน 48 ชม. LC_{50} หอยขนาดใหญ่และขนาดกลาง 20 ppm. ที่ 48 ชม. (บังอรและคณะ , 2551)

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* G.) ต่อสัตว์น้ำชนิดต่างๆ พบความเป็นพิษดังนี้ ในเวลา 24 ชม. LC_{50} ลูกปลานิล 720 ppm. LC_{50} ลูกปลาไน 1,200 ppm. LC_{50} มวนวน 180 ppm. LC_{50} ยุงลาย 104 ppm. LC_{50} ไรแดง 600 ppm. ในเวลา 96 ชั่วโมง LC_{50} ลูกปลานิล 640 ppm. LC_{50} ลูกปลาไน 1,200 ppm. (ณุฉัตรา, 2528)

งานวิจัยชิ้นนี้เป็นการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดและสารประกอบที่แยกทางพฤกษเคมีของรากหนอนตายหยาก (*S. burkilli* Prain) ที่เก็บมาจากจังหวัดอุตรดิตถ์ และผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด และที่ผลิตขึ้นมาเองของกรมวิชาการเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ อ่างเลี้ยงปลาขนาด 40x70x40 ซม. พร้อมอุปกรณ์ทำ Oxygen ถังชนิด Low density polyethylene ขนาด 10 ลิตร อาหารอัดเม็ดแห้งสำหรับเลี้ยงปลา น้ำประปาที่กักไว้นาน 1 สัปดาห์ ก่อนนำไปเลี้ยงปลา สารสกัดรากสดและรากแห้งของหนอนตายหยากทั้ง crude extract และที่สกัดทาง phytochemistry สารเคมีที่ใช้ คือ ethanol, hexane, dichloromethane, methanol ฯลฯ เครื่องกวนใช้สกัดหยาบ (crude) เรียก Homogenize.เครื่องลดปริมาตร (flash evaporator) เครื่องแก้วเช่น separatory funnel, beaker, cylinder, volummetric flask, funnel, vial, conical flas k, vial เก็บตัวอย่างสารสกัดเข้มข้น pipette, Thermometer ใช้วัดอุณหภูมิน้ำที่ใช้ทดลอง และอุณหภูมิห้องทดลอง อุปกรณ์ที่ทำให้เกิดฟองอากาศเพื่อถ่ายเท Oxygen ให้มีอยู่ในน้ำตลอดเวลา.โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (IRRISTAT) ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากที่วางจำหน่ายยี่ห้อต่างๆ ในประเทศไทย ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากของกรมวิชาการเกษตร

วิธีการ

1. วางแผนการทดลองของปลาตัวเล็กแบบ CRD มี 2 ปัจจัย คือ Treatment เป็นความเข้มข้นระดับต่างๆ ระดับความเข้มข้นขึ้นกับชนิดของสารสกัดหนอนตายหยาก และจำนวนซ้ำในการทดลอง คือ

(1.1) สารสกัดน้ำมี 5 ระดับความเข้มข้น คือ 1,444 1,716 2,288 2,860 และ 3,432 ppm

(1.2) สารสกัดแอลกอฮอล์ มี 5 ระดับความเข้มข้น คือ 112.2 224.4 448.8 673.2 และ 1,122 ppm

(1.3) สาร alkaloids มี 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0.8 1.6 2.4 3.3 และ 4.1 ppb

(1.4) สาร terpenoids มี 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0.05 0.10 0.25 0.30 0.40 ppb

(1.5) สาร fat มี 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0.06 0.12 0.18 0.24 ppb

(1.6) สาร n-oxides มี 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0.30 0.45 0.60 0.68 0.83 ppb

(1.7) ผลิตภัณฑ์ของกรมวิชาการเกษตร ทั้งผลิตในห้องปฏิบัติการและระดับโรงงาน โดยผลิตในห้องปฏิบัติการมี 5 ระดับความเข้มข้น คือ 316.70 633.40 760.08 823.42 950.10 ppm

ผลิตระดับโรงงานมี 5 ระดับความเข้มข้น คือ 120.8 181.2 211.4 241.6 271.8 ppm และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ดำเนินการในทำนองเดียวกัน

2. ทำการทดลองเหมือนการทดลองความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาและผลิตภัณฑ์ต่อลูกปลานิล (อุดมลักษณ์ และคณะ 2542)

3. แต่ละ treatment มี 4 replication จะทำการสังเกตผลการทดลองในเวลา 24, 48, 96 ชั่วโมง หลังจากปล่อยปลาลงไปในอ่างทดลอง

4. นำจำนวนปลาที่ตายที่ 96 ชั่วโมงมาคำนวณหา % mortality โดยวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ ใช้โปรแกรม Irristat

5. นำค่าเฉลี่ยมา Plot graph ระหว่าง % mortality กับความเข้มข้น (เป็น ppm or ppb)

6. หาค่า LC_{50} ของสารสกัดและผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด ของหนอนตายหยากต่อลูกปลานิล

7. บันทึกน้ำหนักตัวปลาเป็น (กรัม) และขนาดความยาวของตัวปลา (ซม.) ค่า LC_{50} ของสารสกัดแต่ละชนิด ของรากหนอนตายหยาก *(Stemona burkilli* P.) ที่เก็บมาจากอุตรดิถต์ และผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากแต่ละยี่ห้อ ที่เก็บมาจากจังหวัดต่างๆ ในประเทศไทย

8. สรุปผล และเขียนรายงานประจำปี

เวลาและสถานที่ดำเนินการ

ตุลาคม 2551-กันยายน 2553 (ปี 2552 ทำพิษสารสกัด ปี 2553 ทำพิษผลิตภัณฑ์) ที่กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลอง 15 ซ้ำ รวม Control มาชั่งน้ำหนักตัวปลาแล้วเฉลี่ย 0.34 กรัม และวัดขนาดความยาวของลำตัวปลา เฉลี่ย 2.27 เซนติเมตร ค่า pH 7.2 อุณหภูมิน้ำที่ทดลอง 25 $\pm$ 0.8องศาเซลเซส การเหนี่ยวนำไฟฟ้า (Conductivity) 280 (mhos/cm at 25^0 c) Ca 2.04 , Mg 0.57, Na 0.8, K 0.10, Cl^- 0.48, HCO_3^- 1.00, $SO_4^=$ 0.90 ,วัตถุมีพิษชนิด organophosphates และ pyrethroids ไม่พบ เพื่อที่การทดลองจะได้ผลแม่นยำถูกต้อง

ตารางที่ 1. ค่าเฉลี่ย % Mortality ของลูกปลานิลที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัด crude รากหนอนตายหยาก *(Stemona burkilli* P.) ที่เก็บมาจากอุตรดิตถ์ (ที่สกัดด้วยน้ำ)

(Crude น้ำ) ความเข้มข้น (ppm)	ค่า LC_{50} *(Stemona burkilli* P.)
1,144	15.00 a
1,716	30.00 b
2,288	50.00 c
2,860	67.50 d
3,432	82.50 e

CV = 12.8% LSD. (5%) = 9.6423 LSD. (1%) = 13.5158

ค่า LC_{50} จากการ plot graph ระหว่าง concentration กับ % Mortality = 2,288 ppm

ค่าความเข้มข้นต่างๆ แต่ละระดับของสารสกัดมีความสัมพันธ์กัน Significant ที่ 99% และจำนวนซ้ำที่ทำการทดลองมีความเชื่อมั่นที่ 95%

ส่วนความเป็นพิษของสารสกัด crude รากหนอนตายหยาก *(Stemona burkilli* P.) ที่เก็บมาจากอุตรดิตถ์ (ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์) และสารสกัดทางพฤกษเคมี (Phytochemical analysis) ของรากหนอนตายหยาก เช่น alkaloids, terpenoids, fats, และ n-oxides ได้ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วย โปรแกรม irristat เหมือนกับตารางที่ 1 แล้วหาค่า LC_{50} จากการ plot graph ระหว่าง concentration กับ % Mortality ผลแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ค่า LC_{50} ของสารสกัดแบบต่างๆ ของรากหนอนตายหยาก *(Stemona burkilli* P.) ที่เก็บมาจากอุตรดิตถ์

สารสกัด	ค่า LC_{50}
สารสกัดน้ำ (Crude)	2,288 ppm.
สารสกัดแอลกอฮอล์ (Crude)	448.8 ppm.
Alkaloids	17.2 ppb.
Terpenoids	0.18 ppb.
Fats	0.20 ppb.
N-oxides	0.68 ppb.

ความเป็นพิษของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อลูกปลานิล แอลกอฮอล์สกัดสารออกฤทธิ์ออกมาได้ดีกว่าน้ำ ดังนั้นความเป็นพิษของสารสกัดแอลกอฮอล์มีความเป็นพิษสูงกว่าน้ำ ค่า LC_{50} ของสารสกัดน้ำมีค่าสูงกว่าค่า LC_{50} ของสารสกัดแอลกอฮอล์ ประกอบกับสกัดด้วยน้ำใช้สกัดรากสด แต่สกัดแอลกอฮอล์ใช้รากแห้ง จากรากสดเมื่อนำมาทำเป็นรากแห้งโดยการผึ่งลม และอบที่ 50^0 c น้ำหนักจะเหลือเพียง 16% ของรากสด ซึ่งประกอบด้วย alkaloids 2.67% terpenoids 0.38% น้ำมันหรือไขมัน (Fats) 0.14% และ N-oxides 0.34% สารประกอบเหล่านี้ค่อนข้างบริสุทธิ์กว่าสารสกัดหยาบ (Crude) จึงทำให้มีความเป็นพิษสูงขึ้น สังเกตได้จากค่า LC_{50} มีค่าต่ำมาก แต่เวลาเกษตรกรนำไปใช้นิยมใช้ในรูปสารสกัดหยาบ (Crude) ที่สกัดด้วยน้ำ เวลาทำเป็นผลิตภัณฑ์จึงสกัดด้วยแอลกอฮอล์

ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับที่ทางโรงเรียนพนมสารคามได้ทดลองรากหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* G.) กับลูกปลานิล พบว่าสารสกัดน้ำ 1,000 mg/l (ppm)ไม่ทำให้ลูกปลานิลตาย แต่สารสกัดแอลกอฮอล์1,000 mg/l (ppm) ทำให้ลูกปลาตายไม่เกิน 10% ได้ผลแตกต่างกันในการทดลองครั้งนี้ เนื่องจากใช้รากหนอนตาย หยากคนละ species กัน ที่ทำการทดลองที่นี่ใช้รากหนอนตายหยาก *(Stemona burkilli* P.) และการทดลองนี้ได้ผลใกล้เคียงกับที่ณุฉัตรา 2528 ได้ศึกษาวิจัยไว้ ถึงแม้ว่าจะเป็นคนละ species ก็ตาม ซึ่งได้ผลให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 640 ppm. ในเวลา 96 ชม. โดยใช้รากหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* G.) และในการทดลอง ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 448.8 ppm. ในเวลา 96 ชม. โดยใช้รากหนอนตายหยาก *(Stemona burkilli* P.)

ส่วนความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากชนิดต่างๆ ได้ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม irristat เหมือนกับของตารางที่ 1 แล้วหาค่าค่า LC_{50} จากการ plot graph ระหว่าง concentration กับ % Mortality ผลแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. ค่า LC_{50} ของผลิตภัณฑ์รากหนอนตายหยากของกรมวิชาการเกษตรและผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในตลาดประเทศไทย

ผลิตภัณฑ์	ค่า LC_{50}
ห้องปฏิบัติการ ของกรมวิชาการเกษตร	765 ppm.
โรงงานต้นแบบ ของกรมวิชาการเกษตร	225 ppm.
ยี่ห้อ Bison	3,500 ppm.
ยี่ห้อ Stemo-9	27,000 ppm.
ยี่ห้อ Stemona Extract Liquid	3,800 ppm.
ยี่ห้อ Plant Safe MT	7.1 ppm.
ยี่ห้อไบโอทิพย์ M-301	8.5 ppm.

เห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Plant Safe MT และยี่ห้อไบโอทิพย์ M-301 มีความเป็นพิษต่อลูกปลานิลสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับยี่ห้ออื่นๆ เป็นเพราะ 2 ยี่ห้อนี้มีส่วนผสมของน้ำมันสน (pine oil) ซึ่งมีความเป็นพิษสูงมากกับปลา เช่น ปลา Bluegill *(Lepomis macrochirus)* ให้ค่า LC_{50} 54.20 ppm. และปลา Rainbow Donaldson trout *(Oncorhynchus mykiss)* ให้ค่า LC_{50} 18.35 ppm. ในเวลา 96 ชั่วโมง (Anonymous, 2010) ส่วนผลิตภัณฑ์ของกรมวิชาการเกษตรของโรงงานต้นแบบความเป็นพิษสูงกว่าทำในห้องปฏิบัติการ เพราะใช้หนอนตายหยากคนละสายพันธุ์ (species) เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้ออื่นๆ ในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดใช้วัตถุดิบในการผลิตเป็นหนอนตายหยากคนละ species จึงเปรียบเทียบได้ในระหว่างยี่ห้อเท่านั้น และกระบวนการผลิตแตกต่างกัน ใช้ตัว carrier และ inert ingredients ไม่เหมือนกัน ซึ่งอาจออกฤทธิ์เป็นตัวเสริมฤทธิ์หรือต้านฤทธิ์แตกต่างกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ความเป็นพิษของสารสกัดรากหนอนตายหยาก (*Stemona burkilli*) ต่อลูกปลานิล 2-3 ซม. ในเวลา 96 ชั่วโมง ในห้องปฏิบัติการ มีอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิน้ำที่ใช้ทดลอง 25-27^0 c ให้ค่า LC_{50} เฉลี่ย ดังนี้ รากหนอนตายหยากสดสกัดด้วยน้ำ (crude) LC_{50} เฉลี่ย 2,288 ppm (mg/l) รากหนอนตายหยากแห้งสกัดด้วยแอลกอฮอล์(Crude) LC_{50} เฉลี่ย 448.8 ppm (mg/l) Alkaloids LC_{50} เฉลี่ย 1.72 ppb (µg/l) Terpenoids LC_{50} เฉลี่ย 0.20 ppb (µg/l) Fats LC_{50} เฉลี่ย 0.19 ppb (µg/l) N-oxides LC_{50} เฉลี่ย 0.68 ppb (µg/l)

ส่วนการทดลองความเป็นพิษกับลูกปลานิลขนาด 2-3 เซนติเมตร โดยใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากที่ผลิตในห้องปฏิบัติการให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 765 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากที่ผลิตในโรงงานต้นแบบให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 225 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อ Bison ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 3,500 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อ Stemo-9 ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 27,000 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อ Stemona Extract Liquid ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 3,800 ppm ในเวลา 96 ชม. ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อ Plant Safe MT ให้ค่า LC_{50} ลูกปลานิล 7.1 ppm. ในเวลา 96 ชม.ใช้ผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากยี่ห้อไบโอทิพย์ M-301 ให้ค่ LC_{50} ลูกปลานิล 8.5 ppm.ในเวลา 96 ชม.

ในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดใช้วัตถุดิบในการผลิตเป็นหนอนตายหยากคนละ species จึงเปรียบเทียบได้ในระหว่างยี่ห้อเท่านั้น และกระบวนการผลิตแตกต่างกัน ใช้ตัว carrier และ inert ingredients ไม่เหมือนกัน ซึ่งอาจออกฤทธิ์เป็นตัวเสริมฤทธิ์หรือต้านฤทธิ์แตกต่างกัน เช่น ยี่ห้อ Plant Safe MT และ ยี่ห้อไบโอทิพย์ มีส่วนผสมของน้ำมันสนซึ่งออกฤทธิ์ความเป็นพิษสูงกับปลา เป็นต้น

การนำไปใช้ประโยชน์

เพื่อประโยชน์ในการขึ้นทะเบียนสารสกัดจากพืช (หนอนตายหยาก) เพื่อเป็นวัตถุอันตรายจากสารสกัดจากพืช และเกษตรกรที่จะนำรากหนอนตายหยากไปใช้ในการล้างบ่อเลี้ยงปลา จะได้ใช้ในอัตราที่ไม่ทำให้ลูกปลาตาย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายบุญมี เสียงเพราะ นักวิชาการเกษตร และนายเศรษฐพงศ์ นุ้ยเมือง นักวิชาการเกษตร พนักงานราชการ ที่ช่วยทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ณุฉัตรา วีระฉัตร, 2528. “ผลของสารสกัดหนอนตายหยาก *(S. collinsae* Graib) ต่อสัตว์น้ำบางชนิด” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) ม. เกษตรศาสตร์ 43 หน้า.

บังอร แถวโนนงิ้ว, สมพร บัวกลาง, สุคนทิพย์ เศวตนลินทล, 2551. “ประสิทธิภาพของสารสกัดหนอนตายหยากที่มีต่อหอยโข่งเทศ *(Pomacea cannliculata*) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม. สารคาม Available on http://www.scisoc.or.th/stt/30/sec_b/paper/stt30_BO153.pdf(2p.) 2008

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ เฉลิมชัย สุวรรณรัตน์ อารมย์ แสงวนิชย์ 2542 “ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดและผลิตภัณฑ์สะเดาต่อลูกปลานิล (*Telapia nilotica* L.)” การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 บางเขน กรุงเทพฯ 10 หน้า

โรงเรียนพนมสารคาม “พนมอดุลวิทยา” อ. พนมสารคาม จ. ฉะเชิงเทรา, 2551. “ ผลของสารสกัดหนอนตายหยาก *(S. collinsae* Graib) ต่อสัตว์น้ำบางชนิด” ม. ปลายชนะเลิศการประกวดรางวัลชมเชยสาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ภาคตะวันออก (คง 2551 ป. 050) available on http://www.elib.ipst.ac.th/elib/cgi-bin/opecexe? (1 P.)

Anonymous, 2010. “Toxicity of Pine Oil to Fish” available on http://www.pestieideinfo-org/List-Aquire All. jsp? Rec_Id=PC 37. (1 pp.)

Issakul, K. ; Pawelzik, E. ; Jatisatienr, C.; Vearasilp, S. ; 2007. “Screening on Thai Local Plant Extracts for their Insecticide Effictiveness and the Effect of its Active Compound on Diamondback Moth Larvae”. Tropentag 2007. Available on http;//www.tropentag.de/2007/abstracts/full/121.pdf (4 pp.)

การแก้ปัญหาสารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอส ในผักผลไม้ส่งออก ด้วยการบูรณาการองค์ความรู้ครบวงจร

Problem Correction of Cypermethrin and Chlorpyrifos Residues In Exported Vegetables and Fruits by Integrating Multidiscipline Knowledges

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ [1] จิตตานันท์ สรวยเอี่ยม [1] ผกาสินี คล้ายมาลา [1] ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล [1]
ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์ [2] สุภาภรณ์ บ้งพรม [3] ไกรสีห์ ชูดี [4] รัชดา ปรัชเจริญวนิชย์ [5] อุทัย เซ็นต์ภักดี [6]

บทคัดย่อ

จากประเด็นปัญหาตรวจพบสารพิษตกค้างของสารไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผักผลไม้ส่งออกมาตั้งแต่ปี 2547-2552 โดยตรวจพบมากเป็นอันดับ 1 และอันดับ 2 ของทุกปี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร มิได้นิ่งนอนใจ ตั้งแต่ปี 2549 -2552 ได้ดำเนินการงานบูรณาการระหว่างกลุ่มงานต่างๆ ภายในกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร และหน่วยงานต่างๆ นอกกรมวิชาการเกษตร เริ่มตั้งแต่การตรวจเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ของสารพิษทั้ง 2 ชนิดในผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าในปี 2552 -2553 ผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทรินสูตร 10%, 15%, 25%, และ 35% w/v EC ตรวจพบสารออกฤทธิ์ผิดมาตรฐาน 69% และผลิตภัณฑ์คลอไพริฟอสสูตร 20%, 25%, 40% w/v EC ตรวจพบสารออกฤทธิ์ผิดมาตรฐาน 49% ซึ่งสารวัตรเกษตรควรติดตามคุณภาพผลิตภัณฑ์หลังการขึ้นทะเบียนด้วย

ในการสำรวจการใช้สารพิษของเกษตรกรในการปลูกผักและผลไม้ ทั้งในแปลงผักส่งออกและบริโภคภายในประเทศของทุกภาคในประเทศไทย (547 ราย) พบว่าเกษตรกรของทุกภาคเป็นชายมากกว่าหญิง และมีอายุมากกว่า 50 ปีขึ้นไป การฉีดพ่นสารเคมีภาคกลางและภาคเหนือ ทำการฉีดพ่นสารเคมีมากกว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ สารเคมีที่ใช้ฉีดพ่นเหมือนกันทุกภาค คืออันดับ 1 ที่เกษตรกรนิยมใช้ คือ ไซเปอร์เมทริน และรองลงมาได้แก่ คลอไพริฟอส ส่วนสารธรรมชาติที่เกษตรกรใช้สลับกับการใช้สารเคมี ได้แก่ สะเดา และน้ำหมักปลา หอย ผัก และผลไม้ ส่วนการฉีดพ่นสารเคมี เกษตรกรทุกภาคนิยมฉีดพ่น 4-7 วัน/ ครั้ง อัตราที่เกษตรกรทุกภาคใช้ เกษตรกรมากกว่า 80% ใช้ตามอัตราที่ระบุบนฉลาก การเก็บเกี่ยวผลผลิต เกษตรกรส่วนใหญ่ของทุกภาคเก็บหลังฉีดพ่นครั้งสุดท้าย 4-7 วัน

[1] กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
[2] ศูนย์วิจัยพืชสวน ศรีสะเกษ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร
[3] สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร
[4] ศูนย์วิจัยพืชสวน กาญจนบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร
[5] ศูนย์วิจัยพืชไร่ นครราชสีมา กรมวิชาการเกษตร
[6] กลุ่มประสานการตรวจรับรองมาตรฐาน สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช

จากการสำรวจถั่วฝักยาวในแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่ายทั้งหมด 104 ตัวอย่าง ใน 15 จังหวัด ตรวจพบสารไซเปอร์เมทรินตกค้าง 0.01-1.313 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม พบเกินค่า MRL (Maximum residue limits) 5 ตัวอย่าง (ค่า Codex MRL ของไซเปอร์เมทริน ในถั่วฝักยาว 0.5 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) ระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยของไซเปอร์เมทรินในถั่วฝักยาว คือ 7 วัน และตรวจพบสารคลอไพริฟอสตกค้าง 0.03-0.81 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม พบเกินค่า MRL 2 ตัวอย่าง (Codex MRL ของคลอไพริฟอส 0.01มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) และระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยของคลอไพริฟอสใน ถั่วฝักยาวคือ 15 วัน

ในการสำรวจลิ้นจี่ในแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่ายทั้งหมด 40 ตัวอย่าง ใน 5 จังหวัดภาคเหนือ ตรวจพบสารไซเปอร์เมทรินตกค้าง 16 ตัวอย่างปริมาณ 0.01-0.98 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (Codex MRL ของไซเปอร์เมทริน ในลิ้นจี่ 0.5 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) ตรวจพบสารคลอไพริฟอส 19 ตัวอย่างปริมาณ 0.01-0.43 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (Codex MRL ของคลอไพริฟอสในลิ้นจี่ 0.05 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) ระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยของไซเปอร์เมทรินในลิ้นจี่ 14-27 วัน ระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยของคลอไพริฟอสในลิ้นจี่ 28-34 วัน เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เกษตรกรควรใช้สารพิษตามที่ฉลากแนะนำเท่านั้น และใช้ในช่วงเวลาที่เหมาะสม เช่น ก่อนติดผล และช่วงดอกบาน เป็นต้น ควรทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยวตามคำแนะนำบนฉลาก เพื่อให้ผลผลิตมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

แนวทางในการแก้ปัญหาสารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสตกค้างในผักผลไม้ส่งออก ควรเริ่มตั้งแต่เข้มงวดผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสที่วางจำหน่าย ไม่ควรมีปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ผิดมาตรฐานในผลิตภัณฑ์ เกษตรกรต้องใช้ฉีดพ่นในอัตราที่ระบุบนฉลากเท่านั้น และเกษตรกรต้องทิ้งระยะเวลาของการเก็บเกี่ยวผลผลิตให้ตรงตามที่ระบุไว้บนฉลากเท่านั้น (ได้มาจากการทดลองทางวิชาการ) เนื่องจากไซเปอร์เมทรินมี Hafe-life ในดินนาน 7-20 วัน และคลอไพริฟอสมี Hafe-life ในดินนาน 10 วัน พร้อมทั้งถ่ายทอดให้ความรู้ที่ถูกต้องแก่เจ้าหน้าที่ของรัฐ เกษตรกร และสำคัญที่สุดก่อนผลผลิตออกจากแปลงสู่แหล่งจำหน่ายและผู้บริโภค ควรมีการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยชุดตรวจสอบของกรมวิชาการเกษตรก่อนว่า ตรวจพบสารไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสหรือไม่ ถ้าตรวจพบแสดงว่าเกินค่า MRL ควรระงับการออกจากแปลง แล้วนำมาตรวจซ้ำในห้องปฏิบัติการ ถ้าทำได้ตามระบบนี้เหมือนในนานาประเทศ ปัญหาสารพิษตกค้างของสารพิษทั้ง 2 ชนิดนี้ในผักผลไม้ส่งออก ต้องลดลงอย่างแน่นอน

คำนำ

ในการส่งออกผักผลไม้ตั้งแต่ปี 2547 -2552 ไทยส่งออกมากปีละประมาณ 6,000 – 20,000 กว่าตัวอย่าง สารพิษที่ตรวจพบตกค้างเหมือนๆ กันทุกปี คือ ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส จะถูกตรวจพบมากเป็นอันดับ 1 และ 2 ปริมาณที่พบจะค่อยๆ ลดปริมาณลง รวมทั้งที่พบเกินค่า MRL ก็ค่อยๆ ลดปริมาณลงในปีต่อๆ มา เช่นเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 และตารางที่ 2

ตารางที่ 1. สารไซเปอร์เมทรินที่ตรวจพบในผักผลไม้ส่งออกปี 2547-2552 (อุทัย, 2547-2552)

ปี	พบปกติ ผัก	พบเกิน MRL ผัก	ผัก ทั้งหมด	พบปกติ ผลไม้	พบเกิน MRL ผลไม้	ผลไม้ ทั้งหมด
2547	47.31%	9.93%	10,845	53.23%	10.96%	10,884
2548	56.92%	4.81%	8,236	50.95%	6.00%	9,684
2549	64.69%	12.35%	9,238	73.80%	7.00%	10,134
2550	23.88%	3.60%	3,640	29.88%	3.16%	7,278
2551	17.91%	2.20%	5,677	12.29%	2.91%	9,255
2552	32.21%	1.17%	5,999	17.42%	2.97%	5,466

ตารางที่ 2. สารคลอไพริฟอสที่ตรวจพบในผักผลไม้ส่งออกปี 2547-2552 (อุทัย, 2547-2552)

ปี	พบปกติ ผัก	พบเกิน MRL ผัก	ผัก ทั้งหมด	พบปกติ ผลไม้	พบเกิน MRL ผลไม้	ผลไม้ ทั้งหมด
2547	44.58%	9.36%	10,845	50.71%	10.46%	10,884
2548	44.75%	3.92%	8,236	66.21%	21.15%	9,684
2549	34.56%	6.58%	9,238	55.25%	23.35%	10,134
2550	17.03%	2.23%	3,640	17.03%	5.31%	3,108
2551	10.23%	1.87%	5,677	6.21%	1.55%	9,255
2552	17.04%	2.63%	5,999	10.45%	1.88%	5,466

ตั้งแต่ปี 2550-2552 พบว่าผักที่ตรวจพบไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสเกินค่า MRL จะเหมือนกันทั้ง 3 ปี คือ พริก กระเจี๊ยบเขียว และหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนในผลไม้ที่ตรวจพบไซเปอร์เมทริน และสารคลอไพริฟอสเกินค่า MRL จะเหมือนกันทั้ง 3 ปี คือ ทุเรียน ลิ้นจี่ ลำไย มะม่วง และมังคุด (อุทัย,2550-2552)

ไซเปอร์เมทรินเป็นสารเคมีกลุ่มไพเรทรอยด์ ที่ใช้ป้องกันกำจัดแมลง (Insecticides) มีความเป็นพิษกับปลา ระดับความเป็นพิษปานกลาง สลายตัวเร็ว ปัจจุบันผลิตอยู่ 2 รูปแบบ คือในรูป EC (Emulsifier concentrates) และ WP (Wettable powder) มีความเป็นพิษปานกลางกับสัตว์เลือดอุ่นโดยดูดซึมเข้าทางผิวหนังและโดยการกิน ความเป็นพิษทางปาก EPA กำหนดค่า LD_{50} 187-326 mg/kg ในหนู ตัวผู้ (male rats) และ 150-500 mg/ kg ในหนูตัวเมีย (female rats) ค่าความเป็นพิษจะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่าง cis/trans isomers ความเป็นพิษทางผิวหนัง LD_{50} (rats) 1,600 mg/kg และสำหรับกระต่าย LD_{50} > 2,000 mg/kg ค่า ADI (คน) 0.05 mg/ kg day ไม่มีพิษกับนก มีความเป็นพิษทางปากต่อนกเป็ดน้ำ (mallard duck) LD_{50} > 4,640 mg/ kg, นกกระทา (bobwhite quail) LD_{50} > 20,000 ppm. มีความเป็นพิษสูงมากกับปลาตัวเล็กๆ และสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลัง ค่า LC_{50} (96 ชั่วโมง) ปลา rainbow trout 0.0082 mg/l; ปลา blue gill sunfish LC_{50} 0.0018 mg/ l Daphnia magna 0.0002 mg/l ไซเปอร์เมทรินจะถูก metabolized และถูกขับถ่ายออกมาช้ามากในปลา จึงทำให้มีความเป็นพิษสูงมาก มีความเป็นพิษกับผึ้ง (Agrochemicals, 2000)

คลอไพริฟอส เป็นสารเคมีกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต ที่ใช้ป้องกันกำจัดแมลง (Insecticides) มีความเป็นพิษแบบ contact, stomach, respiratory (ระบบหายใจ) ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (cholinesterase enzyme) มีความเป็นพิษต่อหนู (rats) LD_{50} 135-163 mg/kg หนูตะเภา (guinea pig) 504 mg/kg กระต่าย (rabbit) 1,000-2,000 mg/kg มีความระคายเคืองเล็กน้อยต่อตา มีพิษร้ายแรงต่อระบบหายใจ LC_{50} (4 ชั่วโมง) หนู (rats) > 0.2 mg/l ค่า NOEL (rats) 0.03 mg/kg/day ค่า NOEL (dogs) 0.01 mg/kg/day จัดอยู่ใน class II (WHO) และ EPA toxicity class II มีค่า ADI (Acceptable daily intake) คน 0.01 mg/day

มีความเป็นพิษกับนก มีความเป็นพิษกับลูกไก่ ให้ค่า LD_{50} (oral) กับลูกไก่ (chicken) 32 mg/kg มีความเป็นพิษสูงมากกับปลา ปลา rainbow trout ให้ค่า LC_{50} (96 ชม.) 0.003 mg/l ปลาทอง (gold fish) ให้ค่า LC_{50} (96 ชม.) 0.18 mg/l มีความเป็นพิษกับพวกปู กุ้ง หอย (Crustaceans) มีความเป็นพิษกับผึ้งโดยพิษทางสัมผัส LD_{50} 59 ng/bee ทางปาก 250 ng/bee (Agrochemicals, 20000)

ในการตรวจความผิดมาตรฐานของสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ ทำการตรวจ 4 ประเภท คือ

1. ผลิตภัณฑ์ที่ส่งจากส่วนสารวัตรเกษตร สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
2. ผลิตภัณฑ์ที่ส่งมาเพื่อการขึ้นทะเบียน
3. ผลิตภัณฑ์ที่ส่งมาจากภาคเอกชน และที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด
4. ผลิตภัณฑ์ที่ส่งมาจากด่านตรวจพืช

การตรวจความผิดมาตรฐานของสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ในการทดลองนี้เพื่อการติดตามคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดเพื่อควบคุมคุณภาพให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามที่กฎหมายกำหนดไว้

การตรวจสารพิษตกค้างเบื้องต้นก่อนออกจากแปลงสู่แหล่งจำหน่าย เป็นการตรวจสอบเบื้องต้นว่าพบสารพิษเกินค่า MRL หรือไม่ โดยใช้วิธีการตรวจที่ถูกต้อง ใช้งานง่าย ประหยัดเวลาแรงงาน ค่าใช้จ่าย และสะดวกนำไปตรวจที่ใดก็ได้ (ได้รับรางวัลจากสภาวิจัยแห่งชาติ) (อุดมลักษณ์, 2550)

ดังนั้น การแก้ปัญหาสารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผักผลไม้เพื่อการส่งออก โดยเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์สารพิษตกค้างตั้งแต่แปลงปลูกจนถึงผู้บริโภค จะเป็นแนวทางหนึ่งที่จะเพิ่มคุณค่าและมูลค่าผลผลิตผักผลไม้ของไทยให้เป็นที่ต้องการของต่างประเทศ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อแก้ปัญหาสารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผักผลไม้เพื่อการส่งออก เพิ่มคุณค่าและมูลค่าผลผลิตผักผลไม้ของไทยให้เป็นที่ต้องการของต่างประเทศ

2. เพื่อเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์สารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผักผลไม้ตั้งแต่แปลงปลูกจนถึงผู้บริโภค

วิธีดำเนินการ

1. วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสเพื่อหาการผิดมาตรฐานของสารออกฤทธิ์

2. เก็บข้อมูลการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสของเกษตรกรปลูกผักในภาคต่างๆ ทั่วประเทศไทย

3. ตรวจสอบพิษตกค้างไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผลผลิตก่อนจากแปลง GAP และแปลงเกษตรกร สู่แหล่งจำหน่าย โดยใช้ Test Kit และ GC โดยรถปฏิบัติการทำการเคลื่อนที่

4. ตรวจสอบพิษตกค้างไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผลผลิตที่วางขายในท้องตลาดจากการสำรวจเก็บมาตรวจในห้องปฏิบัติการ และผลผลิตที่ส่งออก

5. ตรวจสอบพิษตกค้างไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผลผลิตโดยการทำแปลงศึกษาค่า MRL ในผัก ผลไม้ เพื่อนำมาใช้ในการเปรียบเทียบหาระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม

6. หาระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค หรือระยะเวลาที่ไม่มีความเสี่ยงต่อการบริโภค

7. ทำการเผยแพร่และถ่ายทอดความรู้ให้แก่เจ้าหน้าที่ของรัฐ เกษตรกร และประชาชนทั่วไป

เวลาและสถานที่ดำเนินการ

เวลา ปี 2549 -2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร แปลงเกษตรกรจังหวัดศรีสะเกษ อุบลราชธานี กาญจนบุรี นครราชสีมา กลุ่มประสานการตรวจรับรองมาตรฐาน สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. **วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส เพื่อหาการผิดมาตรฐานของสารออกฤทธิ์** โดยการตรวจติดตามคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสที่จำหน่ายตามท้องตลาดทาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2552-2553 จำนวน 337 ตัวอย่าง ใน 31 จังหวัด โดยทำการตรวจสอบคุณภาพของสารออกฤทธิ์และการคงสภาพของอิมัลชันตามวิธีการ CIPAC F และ M พบว่าผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทรินสูตร 10%, 15%, 25%, 35% w/v EC จำนวน 162 ตัวอย่าง ได้มาตรฐานร้อยละ 31% ผิดมาตรฐานร้อยละ 69% ส่วนคลอไพริฟอส จำนวน 144 ตัวอย่าง สูตร 20%, 25%, 40% w/v EC ได้มาตรฐานร้อยละ 51% ผิดมาตรฐานร้อยละ 49% เห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทรินมีผิดมาตรฐานสูงถึง 69 % จึงมีผลทำให้เกษตรกรใช้สารพิษในปริมาณไม่ถูกต้องทั้งๆ ที่ได้ใช้ตามฉลากที่ระบุแล้วก็ตาม จึงเกิดปัญหาทำให้เกษตรกรต้องเพิ่มปริมาณโดยการใช้ให้ถี่ขึ้น ทำให้มีผลตามมาเรื่องสารพิษตกค้างในผลผลิต (จิตตานันท์และคณะ , 2552-2553)

2. **เก็บข้อมูลการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสของเกษตรกรปลูกผักในภาคต่างๆ ทั่วประเทศ** (ปี 2552-2553) จากการสำรวจเกษตรกรปลูกผักในภาคกลาง และภาคตะวันออก (147 ราย) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (150 ราย) ภาคเหนือ (117 ราย) และภาคใต้ (133 ราย) พบว่า เกษตรกรจะเป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิง อายุส่วนใหญ่จะเกิน 50 ปีขึ้นไป ในการปลูกผักจะใช้สารฆ่าแมลงเคมีโดยเฉลี่ยประมาณ 65% และสารธรรมชาติ 35% โดยใช้สลับกันในภาคกลางและภาคตะวันออก ส่วนภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ในการปลูกผักจะใช้สารฆ่าแมลงเคมีโดยเฉลี่ยประมาณ 85% และสารธรรมชาติ 15% สารพิษที่เกษตรกรนิยมใช้กันทุกภาค อันดับแรกได้แก่ไซเปอร์เมทริน รองลงมา คือคลอไพริฟอส อะบาเม็ดติน เมทโธมิลและคาร์โบซัลแฟน ตามลำดับ ทาง ภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกจะมีการใช้สารพิษหลายชนิดมากกว่าทางภาคภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้

ส่วนสารธรรมชาติเกษตรกรทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือ ภาคใต้ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นิยมใช้สะเดา น้ำหมักปลาน้ำหมักหอย เหมือนกัน แต่ทางภาคกลางและภาคตะวันออกนิยมใช้หางไหล ข่า ตะไคร้หอม รองลงมาจากสะเดา ส่วนภาคตะวันออกเฉียงเหนือนิยมใช้ดาวเรือง ข่า ตะไคร้หอม บีที ภาคเหนือนิยมใช้หนอนตายหยาก บอระเพ็ด ขี้เหล็ก และภาคใต้นิยมใช้ยาเส้น และกาแฟ เนื่องจากแต่ละพื้นที่มีวัตถุดิบที่แตกต่างกัน เกษตรกรจึงพยายามหาวัตถุดิบที่มีในท้องถิ่นมาประยุกต์ใช้เป็นสารฆ่าแมลงตามภูมิปัญญาท้องถิ่นของตนเอง

ในการฉีดพ่นสารพิษเกษตรกรทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้นิยมฉีดพ่น 4-7 วัน/ ครั้ง แต่ภาคใต้ ภาคกลางและภาคตะวันออกจะมีบางกลุ่ม ฉีดพ่น 0-3 วัน/ ครั้ง สาเหตุเพราะแมลงศัตรูพืชระบาดมาก เกษตรกรส่วนใหญ่จะใช้สารพิษในการฉีดพ่นตามที่ระบุไว้บนฉลาก และเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 4-7 วันสำหรับเกษตรกรส่วนใหญ่ในภาคกลางและภาคตะวันออก ภาคเหนือ และภาคใต้ ส่วนภาคตะวันออกเฉียงเหนือเกษตรกรเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 4-7 วันพอๆ กับ 8-15 วัน ดังนั้นผลผลิตจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือน่าจะปลอดภัยกว่าทุกภาคในการนำมาบริโภค เห็นได้ว่าเกษตรกรทุกภาคนิยมใช้สารพิษไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส เนื่องจากแนะนำต่อๆ กันมาว่าราคาไม่แพงมากนักและสามารถป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ดีและหลายชนิด จึงเป็นสาเหตุทำให้ตรวจพบตกค้างในผักผลไม้เป็นส่วนใหญ่ (อุดมลักษณ์ และคณะ , 2552-2553)

3. ตรวจสอบพิษตกค้างไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผลผลิตก่อนจากแปลง GAP และแปลงเกษตรกรสู่แหล่งจำหน่าย โดยใช้ Test Kit และตรวจสอบด้วย GC โดยรถปฏิบัติการทำการเคลื่อนที่ ตรวจสอบสารพิษตกค้างของสารไซเปอร์เมทรินในแปลงปลูกพริก GAP ที่จังหวัดอุบลราชธานีและศรีสะเกษ ตรวจไม่พบสารตกค้างโดยใช้ Test kit (minimum limit of detection 0.2 ppm) แต่ในแปลงเกษตรกรตรวจพบสารพิษตกค้างของสารไซเปอร์เมทรินในแปลงปลูกพริกร้อยละ 30 ส่วนคลอไพริฟอสตรวจพบตกค้างร้อยละ 2 ในแปลง GAP ส่วนในแปลงเกษตรกรตรวจพบคลอไพริฟอสตกค้างร้อยละ 20 (minimum limit of detection 0.01 ppm) ส่วนที่จังหวัดนครราชสีมาคลอไพริฟอสตรวจพบตกค้างร้อยละ 3 ในแปลง GAP ส่วนในแปลงเกษตรกรตรวจพบคลอไพริฟอสตกค้างร้อยละ 23 ส่วนที่จังหวัดกาญจนบุรี ทำการตรวจสอบสารพิษตกค้างของสารไซเปอร์เมทรินในแปลงปลูกพริก GAP ตรวจพบตกค้างร้อยละ 5 แต่ในแปลงเกษตรกรตรวจพบสารพิษตกค้างของสารไซเปอร์เมทรินในแปลงปลูกพริกร้อยละ 35 ส่วนคลอไพริฟอสตรวจพบตกค้างร้อยละ 7 ในแปลง GAP ส่วนในแปลงเกษตรกรตรวจพบคลอไพริฟอสตกค้างร้อยละ 30 (อุดมลักษณ์ และคณะ, 2551)

การตรวจสอบโดยใช้ Test kit เป็นการตรวจสอบเบื้องต้นว่าพบสารตกค้างเกินค่า MRL หรือไม่เท่านั้น ไม่สามารถบอกรายละเอียดว่าปริมาณเท่าใด เป็นการช่วยลดปริมาณตัวอย่างที่จะมาตรวจในห้องปฏิบัติการ ทำให้ประหยัดเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่าย

ในปี 2550 ได้ทำการตรวจสารพิษตกค้างในลำไยในแปลงเกษตรกร GAP ด้วย GC โดยรถปฏิบัติการเคลื่อนที่ที่จังหวัดเชียงใหม่ พบไซเปอร์เมทรินตกค้าง 36 ตัวอย่าง คิดเป็น 13.95% ปริมาณที่พบ 0.01-0.85 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบเกินค่า MRL 15 ตัวอย่าง และพบคลอไพริฟอส 26 ตัวอย่าง คิดเป็น 10.08% ปริมาณที่พบ 0.01-0.16 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบเกินค่า MRL 1 ตัวอย่าง (ประภัสสรา และคณะ, 2551)

4. ตรวจสอบพิษตกค้างไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผลผลิตที่วางขายในท้องตลาดจากการสำรวจเก็บมาตรวจในห้องปฏิบัติการ และผลผลิตที่ส่งออก จากการเก็บตัวอย่างผักผลไม้ในจังหวัดที่ไปทำการทดลองแปลง MRL พบว่ายังคงมีปริมาณสารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสในผักผลไม้เกินค่าความปลอดภัย (MRL) บ้างเหมือนกัน ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. ปริมาณไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสที่ตรวจพบในผักผลไม้จากการสำรวจแหล่งต่างๆ (จังหวัดที่ทำแปลง MRL และใกล้เคียง) (ลักษมี, 2553)

จังหวัด	พบไซเปอร์เมทริน (ppm)	พบคลอไพริฟอส (ppm)	จำนวนตัวอย่าง
กาญจนบุรี	0.04 -1.20 (5)*	0.31 – 0.81 (2)*	31 (ถั่วฝักยาว)
ราชบุรี	0.06 – 1.12 (3)*	0.03 -0.07 (2)*	33 (ถั่วฝักยาว)
เชียงราย	0.01 – 0.98 (4)*	0.03-0.43(2)*	40 (ลิ้นจี่)
ปราจีนบุรี	0.01 – 1.09 (7)*	0.01 -0.44 (5)*	78 (ส้มโอ)
ปทุมธานี	0.06 – 1.12 (3)*	0.03 – 0.07 (2)*	33 (ถั่วฝักยาว)

( )* หมายถึง จำนวนที่พบเกินค่า Codex MRL

จากการตรวจสอบตัวอย่างผักและสมุนไพรต่างๆ เช่น คะน้า ขึ้นฉ่าย กวางตุ้ง ถั่วลันเตา ถั่วแขก ถั่วฝักยาว กะเพรา โหระพา ผักชี ผักชีฝรั่ง สะระแหน่ และพริกจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ ทั่วประเทศพบว่า ยังคงมีปริมาณสารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสในผักและสมุนไพรต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5 (ลมัยและคณะ, 2552ก ; 2552 ข: จินตนาและคณะ 2552 ก; 2552 ข)

ตารางที่ 4. ปริมาณไซเปอร์เมทรินที่ตรวจพบในผักและสมุนไพรต่างๆ จากการสำรวจทั่วประเทศ

พืช	ตัวอย่างทั้งหมด	ตัวอย่างที่พบ	ปริมาณ (ppm)
คะน้า	60	16 (26.7%)	0.01-2.28
คื่นฉ่าย	59	27 (45.8%)	0.01-10.95
กวางตุ้ง	58	23 (39.7%)	0.01-4.50
ถั่วลันเตา	52	27 (51.9%)	0.01-2.05
ถั่วแขก	28	12 (42.9%)	0.01-1.32
ถั่วฝักยาว	89	25 (28.1%)	0.01-2.29(5)*
พริก	107	44 (41%)	0.01-0.66
กะเพรา	52	20 (39%)	0.01-1.63
โหระพา	50	21 (42%)	0.01-6.27 (4)*
ผักชี	51	13 (26%)	0.02-1.41 (2)*
ผักชีฝรั่ง	50	26 (52%)	0.01-4.93 (3)*
สะระแหน่	48	25 (52%)	0.01-11.92 (7)*

ตารางที่ 5. ปริมาณคลอไพริฟอสที่ตรวจพบในผักและสมุนไพรต่างๆ จากการสำรวจทั่วประเทศ

พืช	ตัวอย่างทั้งหมด	ตัวอย่างที่พบ	ปริมาณ (ppm)
คะน้า	60	9 (15%)	0.01-0.05
คื่นฉ่าย	59	35 (59.3%)	0.01-3.23
กวางตุ้ง	58	2 (3.4%)	0.01-0.03
ถั่วลันเตา	52	0	0
ถั่วแขก	28	1 (3.6%)	0.01-0.06
พริก	107	41 (38%)	0.01-1.25
กะเพรา	52	9 (17%)	0.01-1.96 (1)*
โหระพา	50	9 (18%)	0.01-0.05
ผักชี	51	20 (39%)	0.01-1.86 (1)*
ผักชีฝรั่ง	50	15 (30%)	0.01-14.46 (3)*
สะระแหน่	45	25 (52%)	0.01-8.32 (5)*

( )* หมายถึง จำนวนที่พบเกินค่า Codex MRL

สารพิษที่พบในผักกินใบ (คะน้า คื่นฉ่าย กวางตุ้ง) ได้แก่ ไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอส ส่วนในตระกูลถั่วพบเฉพาะไซเปอร์เมทริน ผักคื่นฉ่ายมีจำนวนพบเกินค่า MRL มากกว่าผักชนิดอื่นๆ พริกและสมุนไพรตรวจพบไซเปอร์เมทรินเป็นจำนวนมากและปริมาณที่พบค่อนข้างสูง มีบางตัวอย่างพบเกินค่า MRL ส่วนคลอไพริฟอสตรวจพบในสมุนไพรมากกว่าที่พบในผักและปริมาณที่พบสูงกว่าด้วย

ถั่วฝักยาวที่สำรวจตามแหล่งจำหน่ายต่างๆ ตรวจพบสารตกค้างไซเปอร์เมทรินที่มีปริมาณเกินค่า MRL ทั้งของไทยและของ Codex มีมาก ดังนั้น ผู้ที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและภาคเอกชน ต้องให้ความสำคัญเรื่องการใช้สารไซเปอร์เมทรินของเกษตรกรในผลผลิตที่จะส่งออกไปจำหน่ายในต่างประเทศ โดยเฉพาะญี่ปุ่นและสหภาพยุโรปที่กำหนดกฎระเบียบด้านความปลอดภัยของสินค้าอาหารอย่างเข้มงวด

จากการสำรวจแปลงที่ได้รับการรับรอง Q จากกรมวิชาการเกษตร ซึ่งวางขายในซุปเปอร์มาเก็ต ยังคงตรวจพบสารตกค้างถึงร้อยละ 93 ปริมาณที่พบ 0.01-0.58 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และมี 1 ตัวอย่างพบเกินค่า Codex MRL (จินตนา, 2552 ข) ดังนั้น กรมวิชาการเกษตรควรเพิ่มความเข้มงวดต่อการรับรองการผลิตพืชตามระบบ GAP ในอนาคตกรมวิชาการเกษตรกำลังจะถ่ายโอนงาน GAP ไปให้ภาคเอกชนทำ ยังไม่แน่ใจว่าจะทำได้ดีกว่า หรือยังคงตรวจพบสารตกค้างของไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสอยู่เช่นเดิมในผลผลิต และที่สำคัญควรให้ความรู้เพิ่มเติมด้านการใช้ผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสที่มีเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ผิดมาตรฐานตามที่ FAO กำหนด การฉีดพ่นตามอัตราที่ระบุบนฉลาก และการทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตตามที่ฉลากกำหนด จะได้เพิ่มศักยภาพในการปลูกและการส่งออกในอนาคต

จากการตรวจสอบผักผลไม้ที่ส่งออกไปขายยังต่างประเทศ เป็นข้อมูลที่ได้มาจากกลุ่มประสานการตรวจรับรองมาตรฐาน สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืชปี 2550 – 2552 ยังคงตรวจพบไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสตกค้างในผักและผลไม้เหมือนกัน แต่จำนวนตัวอย่างที่พบและพบเกินค่า MRL มีเปอร์เซ็นต์ลดลงเห็นได้ชัดดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 ข้างต้น แต่ปริมาณที่ตรวจพบสูงสุดยังคงมีปริมาณสูงมาก ดังแสดงในตารางที่ 6 และ 7

ตารางที่ 6. ปริมาณไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสที่ตรวจพบในผักส่งออกปี 2550 – 2552

ปี	พบไซเปอร์เมทริน (ppm)	พบคลอไพริฟอส (ppm)	จำนวนตัวอย่าง
2550	0.01-17.44 (262)*	0.01 -10.10 (612)*	7,278
2551	0.01-19.80 (125)*	0.01-10.34 (106)*	5,677
2552	0.01 -11.34 (140)*	0.02 – 1.78 (158)*	5,999

( )* หมายถึง จำนวนที่พบเกินค่า Codex MRL

ผักที่ส่งออก มี ชะอม หน่อไม้ฝรั่ง พริก คื่นฉ่าย ผักชี ขิง คะน้า ผักแขยง ใบมะกรูด ตะไคร้ กระเจี๊ยบเขียว ถั่วฝักยาว โหระพา และที่พบเกินค่า MRL ได้แก่ พริก กะเพรา กระเจี๊ยบเขียว และโหระพา

ตารางที่ 7. ปริมาณไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสที่ตรวจพบในผลไม้ส่งออกปี 2550 – 2552

ปี	พบไซเปอร์เมทริน (ppm)	พบคลอไพริฟอส (ppm)	จำนวนตัวอย่าง
2550	0.01-4.06 (162)*	0.01 -1.63 (630)*	11,868
2551	0.01-7.82 (269)*	0.01-1.38 (143)*	9,255
2552	0.01 -6.90 (328)*	0.02 – 1.28 (208)*	11,045

( )* หมายถึง จำนวนที่พบเกินค่า Codex MRL

ผลไม้ที่ส่งออก มีกล้วย ทุเรียน ลิ้นจี่ ลำไย มะม่วง มังคุด ส้มโอ มะขาม และที่พบเกินค่า MRL ได้แก่ ทุเรียน ลิ้นจี่ ลำไย มะม่วง มังคุด

พริกที่ส่งออกตรวจพบสารพิษตกค้างไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสค่อนข้างสูง และมีจำนวนตัวอย่างเกินค่า MRL พริกขี้หนูที่ส่งออกไปสหรัฐอาหรับเอมิเรตส์ปริมาณมากที่สุด และยังไม่มีการกำหนดค่าสารพิษตกค้างก่อนนำเข้า ส่วนพริกชี้ฟ้าส่งออกไปสหพันธรัฐเยอรมันปริมาณมากที่สุด และต้องใช้ค่า EU MRL เป็นค่าเปรียบเทียบในการนำเข้า ทำให้ต้องระมัดระวังในการใช้ไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอส ถ้าผลผลิตถูกสุ่มตรวจที่ประเทศปลายทาง ทั้งที่ร้านค้าย่อยและด่านนำเข้า แล้วพบปริมาณสารตกค้างมากกว่าที่กำหนด จะทำให้ผลผลิตที่ส่งจากไทยต้องเข้มงวดในการสุ่มตรวจมากขึ้น และถ้ายังพบซ้ำ อาจทำให้ผลผลิตที่ส่งจากไทยถูกระงับการนำเข้าทันที ดังนั้น เกษตรกรผู้ผลิต และ

ผู้ประกอบการต้องให้ความสนใจกับการใช้ไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสในแปลงปลูก โดยจะต้องเว้นระยะในการเก็บเกี่ยวหลังการฉีดพ่นสารครั้งสุดท้ายให้ได้ตามที่กำหนดบนฉลาก (PHI, Pre-harvest interval) และปฏิบัติตามฉลากอย่างเคร่งครัด

พืชสมุนไพรของไทยส่งออกไปกลุ่มประเทศสหภาพยุโรปเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน นำเข้า กะเพรา โหระพา ผักชี และสะระแหน่ ส่วนเนเธอร์แลนด์นำเข้าผักชีมากที่สุด เกษตรกรนิยมใช้ทั้งไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสในการปลูกพืชสมุนไพร ทำให้ตรวจพบสารทั้งไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสเกินค่า EU MRL เป็นจำนวนมาก เพราะค่า EU MRL มีปริมาณต่ำมาก (0.01มิลลิกรัม / กิโลกรัม) การปลูกพืชทั้งผักและผลไม้ ถ้าจะขยายตลาดเพื่อการส่งออกต้องมีการเตรียมตัวรับสถานการณ์ที่ต้องทำให้ผลผลิตมีสารตกค้างไม่เกินค่า MRL โดยเฉพาะของสหภาพยุโรปต้องไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัม / กิโลกรัม

ประเทศไทยจำเป็นที่จะต้องเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์สารพิษตกค้างโดยการศึกษาวิจัยชนิดและปริมาณสารตกค้างในผลผลิตทางการเกษตรที่ใช้บริโภคภายในประเทศและที่เป็นปัญหาในการส่งออก ต้องมีการเขียนแผนและกำหนดมาตรการเพื่อแก้ปัญหาให้เป็นที่ยอมรับของประเทศผู้ซื้อ และภาครัฐกับภาคเอกชนต้องสนับสนุนการวิจัยอย่างต่อเนื่อง เพื่อสร้างขีดความสามารถในการแข่งขัน และสร้างความเชื่อมั่นให้กับประเทศคู่ค้า และผู้บริโภคเกิดความเชื่อมั่นในความปลอดภัยของสินค้าอาหาร

5. ตรวจสอบพิษตกค้างไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในผลผลิตโดยการทำแปลงศึกษาค่า MRL ในผัก ผลไม้ เพื่อนำมาใช้ในการเปรียบเทียบหาระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม

การทำแปลงทดลองเพื่อการกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างในพืชเป็นสิ่งจำเป็นมาก เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการค้าเสรีในการนำเข้าสารเคมีและจำหน่ายในประเทศจำนวนมาก เกษตรกรมีโอกาสเลือกใช้สารเคมีหลายชนิด แต่ในการนี้จะเน้นเฉพาะไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส ค่า MRL ที่กำหนดไว้แล้วของไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสมีไม่มากพอที่จะครอบคลุมพืชทุกชนิด จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อการค้าพืชผลการเกษตรและความปลอดภัยอาหารด้านพืชในโลกต่อไป

ในการศึกษาค่า MRL ของพืชแต่ละชนิดเป็นการศึกษาวิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้างหลังการใช้ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส เพื่อการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในพืชอาหาร ในพืชส่งออก 9 ชนิด ได้แก่ หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วฝักยาว กระเจี๊ยบเขียว พริก ทุเรียน ลิ้นจี่ ลำไย มะม่วง และมังคุด ในพื้นที่ของเกษตรกรในจังหวัดต่างๆในประเทศไทย เพื่อนำข้อมูลไปกำหนดค่า National MRL โดยประกอบกับข้อมูลพิษวิทยา และค่า ADI ผลจากการนำข้อมูลงานวิจัยนี้เสนอให้ Asian และ Codex พิจารณา ปรากฏว่าผลงานวิจัยการสลสายตัวของไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสที่ได้จากการทำแปลง ได้ถูกนำมากำหนดเป็นค่าสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ทั้งใน Asian และ Codex

ตัวอย่างค่า Codex MRL และ Thai MRL ในผักและผลไม้ที่ส่งออก (มกอช, 2553)

ชนิดพืช	คลอไพริฟอส (ppm)	ไซเปอร์เมทริน (ppm)
พริก	0.5 (Codex)	0.5 (Codex)
หน่อไม้ฝรั่ง	0.01 (Codex)	0.01(Codex)
กะเพรา	-	1.0 (Codex)
โหระพา	-	1.0 (Codex)
คื่นช่าย	-	2.0 (Codex)
ส้มโอ	-	1.0 (Thai MRL 0.5)
ทุเรียน	-	2.0 (Thai MRL 0.5)
ลิ้นจี่	0.5 (Thai MRL)	1.0 (Thai MRL 0.5)
ลำไย	0.5 (Thai MRL)	1.0 (Thai MRL 0.5)
มะม่วง	0.5 (Thai MRL)	0.7

ค่า MRL ของแต่ละประเทศที่นำเข้าจะมีค่าไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับว่าประเทศใดจะเข้มงวดมากกว่ากัน ประเทศนำเข้าจะเป็นผู้กำหนดค่า MRL เองในพืชแต่ละชนิด ดังนั้นการส่งออกไปยังสหภาพยุโรปและญี่ปุ่น จึงมีโอกาสเสี่ยงสูงที่จะตรวจพบสารพิษตกค้างเกินค่า MRL ผลกระทบที่ตามมา คือ การสุ่มตรวจที่ด่านนำเข้าของประเทศปลายทางจะมีถี่ขึ้น และถ้าพบเกินค่า MRL ซ้ำอีกในครั้งต่อไป พืชชนิดนั้นอาจถูกระงับการนำเข้า โดยเฉพาะในสหภาพยุโรปจะมีผลบังคับใช้ทั้งกลุ่มประเทศสมาชิก

6. หาระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค หรือระยะเวลาที่ไม่มีความเสี่ยงต่อการบริโภค ความเสี่ยงต่อการบริโภคคือ ระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตที่ปลอดภัยได้มาจากการทำแปลงทดลองปลูกพืช แล้วฉีดพ่นสารพิษตามอัตราแนะนำบนฉลาก ทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตตามระยะเวลาต่างๆ หลังจากนั้นนำค่าสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในระยะเวลาต่างๆ หลังการฉีดพ่นมาเปรียบเทียบกับค่า MRL ถ้าระยะใดตรวจพบสารพิษตกค้างต่ำกว่าค่า MRL ถือว่าระยะเวลาที่ตรงจุดนั้นเป็นระยะเวลาที่ไม่มีความเสี่ยงภัยต่อการบริโภค ในการทดลองปลูกถั่วฝักยาว ใช้คลอไพริฟอส 40% WV EC ฉีดพ่นอัตรา 50 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร โดยฉีดพ่นเพียงครั้งเดียวเมื่อถั่วฝักยาวอายุได้ 60 วัน พบว่าระยะเวลาที่มีความเสี่ยงต่อการบริโภคน้อยที่สุด คือ 8-13 วัน เพราะตรวจพบสารตกค้างเพียง 0.01 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (เท่ากับค่า MRL ในถั่วฝักยาว = 0.01 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) ดังนั้นระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คือ 8-13 วัน (วิภาและคณะ, 2553)

ในการปลูกพริกใช้ไซเปอร์เมทริน 10% W/V EC ฉีดพ่น อัตรา 30 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร โดยฉีดพ่นเมื่อย้ายกล้าแล้ว 1 เดือน ฉีดพ่นซ้ำทุก 20-30 วัน จำนวน 4 ครั้ง พบว่าระยะเวลาที่มีความเสี่ยงต่อการบริโภคน้อยที่สุด คือ 3 วัน เพราะตรวจพบสารตกค้างเพียง 0.147 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (ค่า MRL ในพริก = 0.5 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) ดังนั้นระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คือ 3 วัน (วิภาและคณะ, 2553)

ในการปลูกมะม่วงใช้ไซเปอร์เมทริน 35% W/V EC ฉีดพ่น อัตรา 4 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร โดยฉีดพ่นเมื่อมะม่วงมีช่อดอก ฉีดพ่นซ้ำทุก 15 วัน จำนวน 7 ครั้ง พบว่าระยะเวลาที่มีความเสี่ยงต่อการบริโภคน้อยที่สุด คือ 28 วัน ในมะม่วงสุก เพราะตรวจพบสารตกค้างเพียง 0.188 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (ค่า MRL ในมะม่วงสุก = 0.05 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) ดังนั้น ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คือ 28 วัน (วิภาและคณะ, 2553)

ในการปลูกลิ้นจี่ใช้คลอไพริฟอส 50% W/V EC และไซเปอร์เมทริน 5% W/V EC ฉีดพ่นอัตรา 30 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร โดยใช้ร่วมกับสารจับใบ ฉีดพ่นต้นละ 10 ลิตร จำนวน 3 ครั้งติดต่อกันโดยห่างกันครั้งละ 7 วัน พบว่าระยะเวลาที่มีความเสี่ยงต่อการบริโภคน้อยที่สุดของไซเปอร์เมทริน คือ 14 -27 วันในลิ้นจี่ (ค่า MRL ในลิ้นจี่ = 0.5 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) ส่วนระยะเวลาที่มีความเสี่ยงต่อการบริโภคน้อยที่สุดของคลอไพริฟอส คือ 28-34 วันในลิ้นจี่ (ค่า MRL ในลิ้นจี่ = 0.5 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม) (ศิริพันธ์และคณะ, 2550)

7. **ทำการเผยแพร่และถ่ายทอดความรู้ให้แก่เจ้าหน้าที่ของรัฐ เกษตรกร และประชาชนทั่วไป** การแก้ปัญหาโดยการใช้เทคโนโลยีนี้ได้เผยแพร่ให้กับสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 3 4 และ 5 ของกรมวิชาการเกษตร สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ศูนย์วิจัยพืชผักนานาชาติ (Asian Vegetable Research and Development Center, AVRDC) กำแพงแสน นครปฐม และเกษตรกรผู้สนใจในงานนิทรรศการต่างๆ

สรุปผลการดำเนินงานและคำแนะนำ

จากการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสที่วางจำหน่ายในท้องตลาด พบสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ไซเปอร์เมทริน ผิดมาตรฐาน 69% และพบสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์คลอไพริฟอสผิดมาตรฐาน 49% ทำให้เกษตรกรใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีสารออกฤทธิ์ไม่ตรงตามอัตราที่ระบุบนฉลาก ซึ่งสารวัตรเกษตรควรติดตามคุณภาพผลิตภัณฑ์หลังการขึ้นทะเบียนด้วย และกรมวิชาการเกษตรควรมีมาตรการที่เข้มงวดในการบริหารจัดการทางกฎหมายกับผู้ผลิตและผู้ประกอบการ ที่ตั้งใจทำให้ผลิตภัณฑ์ผิดมาตรฐาน

ในการสำรวจการใช้วัตถุอันตรายในการปลูกพืชผัก เกษตรกรส่วนใหญ่ในทุกภาคของไทยใช้ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสในการป้องกันกำจัดแมลง ถ้าผลิตภัณฑ์ของวัตถุอันตรายทั้ง 2 ชนิดนี้มีสารออกฤทธิ์ไม่ได้มาตรฐาน เกษตรกรที่นำไปใช้ จะใช้ในอัตราที่ไม่ถูกต้อง ทำให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตอย่างแน่นอน

การตรวจสอบผลผลิตพืชผักและผลไม้ก่อนออกจากแปลง GAP และแปลงเกษตรกรสู่แหล่งจำหน่าย พบว่ายังคงตรวจพบสารไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอสตกค้างเกินค่า MRL จึงสมควรให้ความรู้เพิ่มเติมด้านการใช้ผลิตภัณฑ์ การฉีดพ่นตามอัตราที่ระบุบนฉลาก และการทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยว

ผลผลิตตามที่ฉลากกำหนด กรมวิชาการเกษตรควรเพิ่มความเข้มงวดและเคร่งครัดต่อการรับรองการผลิตพืชตามระบบ GAP เพื่อจะได้เพิ่มศักยภาพในการปลูกและส่งออกในอนาคต

ในการเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์สารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส ในผักผลไม้ และสมุนไพรต่างๆ ทั้งแหล่งปลูก แหล่งจำหน่าย รวมทั้งการส่งออก ยังคงตรวจพบไซเปอร์เมทรินมากเป็นอันดับ 1 และคลอไพริฟอสมากเป็นอันดับ 2 และมีพบเกินค่า MRL ดังนั้นเกษตรกร ผู้ผลิตและผู้ประกอบการต้องให้ความใส่ใจเป็นพิเศษกับการใช้ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส ในแปลงปลูก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเว้นระยะในการเก็บเกี่ยวหลังการฉีดพ่นสารครั้งสุดท้าย ต้องปฏิบัติตามฉลากอย่างเคร่งครัด กรมวิชาการเกษตรควรเพิ่มความเข้มงวดต่อการบังคับใช้ไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส ของเกษตรกรให้มากยิ่งขึ้น และให้ความสำคัญต่อการแนะนำ ให้ความรู้แก่เกษตรกรในด้านการใช้อย่างถูกต้องและปลอดภัย เพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออกผักผลไม้ไปต่างประเทศ ข้อมูลสารพิษตกค้างของไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส ในพืชบางชนิดยังไม่ได้กำหนดค่า Codex MRL, EU MRL, Japan MRL และ Thai MRL สมควรสนับสนุนให้ทำการทดลองเพิ่มเติม เพื่อจะได้มีค่า MRL เป็นตัวกำหนดในการส่งออกพืชชนิดนั้นๆได้ในอนาคต

การแก้ปัญหาเรื่องไซเปอร์เมทริน และคลอไพริฟอส ตกค้างในผักและผลไม้ส่งออก จำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์สารตกค้างโดยศึกษาวิจัยชนิดและปริมาณสารตกค้างในผักและผลไม้ที่ใช้บริโภคภายในประเทศ และที่เป็นปัญหาในการส่งออกอย่างสม่ำเสมอ พร้อมกับกำหนดแผนและมาตรการในการแก้ปัญหาให้เป็นที่ยอมรับของประเทศผู้ซื้อ ภาครัฐและภาคเอกชนต้องสนับสนุนงานวิจัยอย่างจริงจังและต่อเนื่องเพื่อใช้แก้ปัญหาให้สำเร็จ เป็นการสร้างขีดความสามารถในการแข่งขันและสร้างความเชื่อมั่นให้กับประเทศคู่ค้าด้วย

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 3 4 และ 5 ของกรมวิชาการเกษตร ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ศูนย์วิจัยพืชผักนานาชาติ (Asian Vegetable Research and Development Center, AVRDC) กำแพงแสน นครปฐม ได้นำกระบวนการของการแก้ปัญหานี้ ไปใช้ในการตรวจสอบผักและผลไม้ ก่อนออกจากแปลงตามแหล่งปลูกต่างๆ โดยใช้ Test kit

2. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ได้นำกระบวนการของการแก้ปัญหานี้ ไปใช้ในการตรวจสอบผักและผลไม้ ที่ตลาดค้าส่ง เช่นตลาดไท และตลาดรังสิต ก่อนจะนำมาขายในตลาดภายในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑลโดยใช้ Test kit อบรมเมื่อ วันที่ 25 มกราคม 2551

3. สมาคมพืชสวนแห่งประเทศไทย สมาคมไทยธุรกิจเกษตร และบริษัทเดอะมอลล์กรุ๊ป ได้นำกระบวนการของการแก้ปัญหานี้ ไปใช้ในการตรวจสอบผักและผลไม้ ที่ส่งเข้าประกวดผลไม้ยักษ์ ที่จัดขึ้นที่เดอะมอลล์บางแค และเดอะมอลล์บางกะปิ เมื่อวันที่ 15-21 พฤษภาคม 2551

4. กรมวิชาการเกษตรได้นำกระบวนการของการแก้ปัญหานี้ในการตรวจสอบ คลอไพริฟอส และไซเปอร์เมทริน อย่างรวดเร็ว ประหยัด และพกพาไปตรวจที่ใดก็ได้ ไปถวายรายงานแด่สมเด็จพระนางเจ้าฯ พระบรมราชินีนาถ ตอนเสด็จพระราชดำเนินทอดพระเนตรพิธีอัญเชิญแม่โพสพคืนนา ที่ฟาร์มตัวอย่างตามพระราชดำริ ต. สีบัวทอง อ. แสวงหา จ. อ่างทอง โดยอธิบดีกรมวิชาการเกษตรในขณะนั้นเมื่อวันที่ 8 สิงหาคม 2551

5. ผู้บริหารระดับสูงของกรมอารักขาพืชเวียตนาม กระทรวงเกษตรและพัฒนาชนบท ประเทศสาธารณรัฐเวียตนาม ให้ความสนใจในการนำเทคโนโลยีการตรวจสอบสารตกค้างเบื้องต้น ไปใช้ตรวจผลผลิตผักและผลไม้ในเวียตนาม ก่อนออกสู่ตลาด ได้มาศึกษาดูงานที่กรมวิชาการเกษตร เมื่อวันที่ 15 มิถุนายน 2552 เพื่อนำกลับไปใช้ภายในประเทศ

6. ผู้เชี่ยวชาญจาก Department of Economic Development ประเทศสาธารณรัฐกัมพูชาให้ความสนใจในการนำเทคโนโลยีการตรวจสอบสารตกค้างเบื้องต้นไปใช้ตรวจผลผลิตผักและผลไม้ในกัมพูชาก่อนออกสู่ตลาด ได้มาศึกษาดูงานที่กรมวิชาการเกษตร เมื่อวันที่ 9 เมษายน 2551 เพื่อนำกลับไปใช้ในโครงการ Safe to eat ภายในประเทศ

7. การเผยแพร่เอกสารทางวิชาการ

7.1) รายงานประจำปี 2552 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ณ. สวนนงนุช อ. สัตหีบ จ. ชลบุรี เมื่อ วันที่ 15-17 มิถุนายน 2553

7.2) เอกสารประกอบการฝึกอบรมให้กับนักวิชาการนานาชาติ ที่ศูนย์วิจัยพืชผักนานาชาติ (AVRDC) อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม เรื่อง “Simple and Rapid Method for Pyrethroids Residues Analysis before going to Market ” เมื่อวันที่ 28 มกราคม 2550 วันที่ 8 ธันวาคม 2551 และวันที่ 30 ตุลาคม 2552

7.3) เอกสารประกอบการฝึกอบรมให้กับเจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร ที่สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร กรุงเทพฯ เรื่อง “การตรวจสอบผักผลไม้ก่อนออกจากแปลงสู่แหล่งจำหน่าย อย่างง่าย รวดเร็ว และประหยัด” เมื่อวันที่ 26 กรกฎาคม 2550

7.4) เอกสารประกอบการฝึกอบรมให้กับเจ้าหน้าที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตรวจสอบผลผลิตที่ตลาดไทและตลาดรังสิต ที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่อง “การตรวจสอบผลผลิตสินค้าเกษตรจากตลาดค้าส่งสู่ตลาดค้าปลีกในเขตกรุงเทพฯและปริมณฑล ด้วยวิธีที่ง่าย รวดเร็วและประหยัด” เมื่อวันที่ 15 กุมภาพันธ์ 2551

8. การบรรยายทางวิชาการ

8.1) บรรยายเรื่อง “ชุดตรวจสอบสารตกค้างในปัจจุบัน” ในการประชุมประจำปี 2552 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ณ. สวนนงนุช อ. สัตหีบ จ. ชลบุรี เมื่อ วันที่ 15-17 มิถุนายน 2553

8.2) บรรยายในการฝึกอบรมให้กับนักวิชาการนานาชาติ ที่ศูนย์วิจัยพืชผักนานาชาติ (AVRDC) อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม เรื่อง “Simple and Rapid Method for Pyrethroids Residues Analysis before going to Market ” เมื่อวันที่ 28 มกราคม 2550 วันที่ 8 ธันวาคม 2551 และวันที่ 30 ตุลาคม 2552

8.3) บรรยายในการฝึกอบรมให้กับเจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร ที่สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร กรุงเทพฯ เรื่อง “การตรวจสอบผักผลไม้ก่อนออกจากแปลงสู่แหล่งจำหน่าย อย่างง่าย รวดเร็ว และประหยัด” เมื่อวันที่ 26 กรกฎาคม 2550

8.4) บรรยายในการฝึกอบรมให้กับเจ้าหน้าที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตรวจสอบผลผลิตที่ตลาดไทและตลาดรังสิต ที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่อง “การตรวจสอบผลผลิตสินค้าเกษตรจากตลาดค้าส่งสู่ตลาดค้าปลีกในเขตกรุงเทพฯและปริมณฑล ด้วยวิธีที่ง่าย รวดเร็วและประหยัด” เมื่อวันที่ 15 กุมภาพันธ์ 2551

9. การเผยแพร่ทางสื่อสารมวลชน

9.1) ออกอากาศทางสถานีวิทยุ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รายการร่วมแรงร่วมใจกับวิจัยวิชาการเกษตร เมื่อวันที่ 4 มิถุนายน 2550 เรื่อง “การตรวจสอบผลผลิตอย่างง่าย รวดเร็ว และประหยัดก่อนออกจากแปลง GAP สู่แหล่งจำหน่าย”

9.2) ออกอากาศทางสถานีโทรทัศน์ไอทีวี รายการก้าวไกลกับกรมวิชาการเกษตร เมื่อ วันที่ 3 สิงหาคม 2550 เรื่อง “การตรวจสอบสารตกค้างในผลผลิตก่อนออกจากแปลงด้วยชุดตรวจสอบสารตกค้าง”

9.3) ออกอากาศทางสถานีโทรทัศน์ช่อง 7 สี รายการตามทันเกษตร เมื่อวันที่ 10 กุมภาพันธ์ 2552 เรื่อง” การตรวจสอบผลผลิตผักและผลไม้ ก่อนสู่ผู้บริโภคอย่างง่าย รวดเร็วและประหยัด”

9.4) ออกอากาศทางสถานีโทรทัศน์ช่อง 5 รายการวิทยาการงานวิจัยเกษตร เมื่อวันที่ 15 กุมภาพันธ์ 2552 เรื่อง “การตรวจสอบผักผลไม้ให้แน่ใจก่อนบริโภค”

9.5) ออกอากาศทางทีวีไทย รายการไทยมุง เมื่อวันที่ 5 มีนาคม 2552 เรื่อง “การปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงในผักผลไม้ ทราบได้อย่างไร”

เอกสารอ้างอิง

จิตตานันท์ สรวยเอี่ยม จิรพรรณ ทองหยอด พนิดา มงคลวุฒิกุล สุวิทย์ สุขเพิ่ม นพพร ถนอมวงษ์ยุพดี จิตต์ไพศาล จุฑารัตน์ เศรษฐวัชราวนิชย์ พจนาจน์ ทองพึ่งกลิ่น ณัญจณา ลือตระกูล, 2553. “การศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ Cypermethrin, EPN และ Chlorpyrifos” เอกสารการสัมมนาวิชาการประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร 15-17 มิถุนายน 2553 หน้า 45-49.

จินตนา ภู่มงกุฎชัย และพนิดา ไชยยันต์บูรณ์ 2552 ก. “วิจัยการเฝ้าระวังสารพิษตกค้างในพืชสมุนไพร” ผลการปฏิบัติงานประจำปี เล่มที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 102 - 113.

จินตนา ภู่มงกุฎชัย และพนิดา ไชยยันต์บูรณ์ 2552 ข. “วิจัยการเฝ้าระวังสารพิษตกค้างในพริก” ผลการปฏิบัติงานประจำปี เล่มที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 115 - 123.

ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์ ศิริพันธ์ สุขมาก สมสมัย ปาลกูล วิสุทธิ เชวงศรี มารศรี อุดมโชคลมัย เกียรติวัฒนา จินตนา ภู่มงกุฎชัย พนิดา ไชยยันต์บูรณ์ ยงยุทธ ไผ่แก้ว ศศิมา มั่งนิมิตร์ ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล บังเอิญ สีมา จินตนา แสนทวีสุข ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร วิทยา บัวศรี 2551. “การบูรณาการเพื่อแก้ปัญหาสารพิษตกค้าง” ผลงานประจำปี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร หน้า 19-27.

มกอช. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ 2553. “ค่ามาตรฐานสารตกค้าง” ทั้งของประเทศไทยและของ Codex, available on www.acfs.go.th

ลมัย ชูเกียรติวัฒนา บังเอิญ สีมา ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร 2552 ก. “ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในถั่วฝักยาว” ผลการปฏิบัติงานประจำปี เล่มที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 163 - 170.

ลมัย ชูเกียรติวัฒนา บังเอิญ สีมา ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร 2552 ข. “ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในพืชผัก” ผลการปฏิบัติงานประจำปี เล่มที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 153 - 162.

ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล 2553. “การศึกษาสารพิษตกค้างในผัก ผลไม้ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของ Cypermethrin ในถั่วฝักยาวและส้มโอ” เอกสารการสัมมนาวิชาการประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร 15-17 มิถุนายน 2553 หน้า 60-68.

วิภา ตั้งนิพนธ์ ภิญญา จุลินทร ปรีชา ฉัตรสันติประภา ผกาสินี คล้ายมาลา มลิสา เวชยานนท์ วรวิทย์ สุจิรธรรม ธวัชชัย หงษ์ตระกูล 2553. “ความเสี่ยงจากการใช้วัตถุมีพาเกษตร” เอกสารการสัมมนาวิชาการประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร 15-17 มิถุนายน 2553 หน้า 1-19.

ศิริพันธ์ สุขมาก ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ 2550. “วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างไซเปอร์เมทรินและคลอไพริฟอสเพื่อกำหนดค่าสูงสุดของสารพิษตกค้าง” ผลการปฏิบัติงานประจำปี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 34-49.

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์ สุภาภรณ์ เพชรคง ไกรสีห์ ชูดี พิศวาท บัวรา รัชดา ปรัชเจริญวนิชย์ 2551. “วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างไพเรทรอยด์ที่แปลง” ผลการปฏิบัติงาน เล่มที่ 2/2 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 324 - 333.

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ พิเชษฐ์ ทองละเอียด ยุพดี จิตต์ไพศาล บุญมี เสียงเพราะ 2552-2553. “การประเมินข้อมูลการใช้ผลิตภัณฑ์ Cypermethrin, EPN, Chlorpyrifos และผลิตภัณฑ์สาร ธรรมชาติจากเกษตรกร” ผลการปฏิบัติงานประจำปี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร (10 หน้า)

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ ประสงค์ เล็กประเสริฐ บุญมี เสียงเพราะ 2550. “ชุดตรวจสอบสารตกค้างไซเปอร์เมทรินอย่างง่าย เพื่อใช้ในแปลง GAP” ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร หน้า 256-261. และเป็นผลงานที่ได้รับรางวัลสิ่งประดิษฐ์คิดค้นจากสภาวิจัยแห่งชาติปี 2552 (6 หน้า)

อุทัย เซ็นต์ภักดี 2547 – 2552. “ข้อมูลสารพิษตกค้างในผักผลไม้ส่งออก” กลุ่มประสานการตรวจรับรองมาตรฐาน สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานพืช กรมวิชาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

Agrochemicals, 2000. “Composition, production, toxicity, applications: Edited by Franz Muller, Wiley - VCH Verlug Cmbtt”, Germany, 1031 pp.

ศึกษาความใช้ได้ของชุดตรวจสอบพิษตกค้างของโพรเฟนโนฟอสในผักผลไม้

Profenofos Residue Test Kit Validation

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาความใช้ได้ของชุดตรวจสอบสารตกค้างโพรเฟนโนฟอสในผักผลไม้โดยนำชุดตรวจสอบที่คิดค้นมาในปี 2552 มาหาอายุการใช้งานของแผ่นตรวจสอบที่ความเข้มข้น 0.05 ppm พบว่า ที่อายุ 2 เดือนได้ % recovery 85.80% ที่อายุ 4 เดือนได้ % recovery 85.30% ที่อายุ 6 เดือนได้ % recovery 84.20% ที่อายุ 8 เดือนได้ % recovery 83.10% ที่อายุ 10 เดือนได้ % recovery 84.60% ที่อายุ 12 เดือนได้ % recovery 83.50% และได้ทดลองหาค่า linearity range โดยการนำมาวัดการดูดกลืนแสง UV ที่ช่วงคลื่น 285 nm. โดยใช้เครื่อง HPTLC ได้ค่า linearity range อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.10 ppm ค่า R = 0.9839 เมื่อนำมาหาค่า Precision ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.04, 0.06, 0.08 ppm. มีค่า n = 10 ได้ค่า SD= 7.4423 , %RSD = 2.6473 , HR= 0.2091 (0.03 ppm) ได้ค่า SD= 9.7665 , %RSD= 2.5685 , HR= 0.2119 (0.04 ppm) ได้ค่า SD= 13.9607 , %RSD= 2.1601 , HR= 0.1894 (0.06 ppm) ได้ค่า SD= 20.6355 , %RSD= 2.1658 , HR= 0.2395 (0.08 ppm) ได้ค่า SD= 30.6649 , %RSD= 3.2673 , HR= 0.3074 (0.10 ppm) เห็นได้ว่าค่า HR ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.03-0.10 ppm สามารถเชื่อถือได้ในการนำไปทดสอบในภาคสนาม เนื่องจากมีค่า HR น้อยกว่า 2 และเมื่อนำไปให้เกษตรกรใช้ตรวจในแปลงปลูกพริก จังหวัดอุบลราชธานี ขอนแก่นและกาญจนบุรี พบว่า ผู้นำกลุ่มเกษตรกรสามารถตรวจพบสารโพรเฟนโนฟอสในพริกร้อยละ 15 และตัวอย่างพริกที่ตรวจไม่พบด้วยชุดตรวจสอบนำมายืนยันด้วย GC (FPD) ในห้องปฏิบัติการพบว่าปริมาณที่พบน้อยกว่า 0.03 ppm.

รหัสโครงการ 05 01 49 01 01 03 01 52

คำนำ

ในปี 2551 หลังจากพบว่าตั้งแต่ปี 2546-2551 พบสารพิษตกค้างของคลอไพริฟอสตกค้างในผักและผลไม้มากที่สุดในสารพิษกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต และสารพิษคลอไพริฟอสมีความเป็นพิษสูงทั้งในสัตว์เลือดอุ่นและระบบนิเวศน์ ทำให้เกิดปัญหาในการส่งออก ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรได้ประดิษฐ์ชุดตรวจสอบสารพิษตกค้างของคลอไพริฟอส สำหรับใช้ตรวจสอบในภาคสนามได้สำเร็จและมีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ประกอบกับทางราชการได้รณรงค์ให้เกษตรกรเปลี่ยนมาใช้สารพิษชนิดอื่นทดแทนคลอไพริฟอส เพื่อจะได้ลดปัญหาสารพิษตกค้างของคลอไพริฟอส โดยการกำหนดให้สารคลอไพริฟอสเป็น

สารพิษที่ต้องเฝ้าระวัง (Watch list) ในการนำมาใช้ในทางการเกษตร เพื่อจะได้ลดปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษคลอไพริฟอสในผักและผลไม้ที่ส่งออกด้วย (OSS, 2546-2551)

จากการที่เกษตรกรเปลี่ยนมาใช้สารโพรเฟนโนฟอสแทนสารคลอไพริฟอสนี้เอง ทำให้สารโพรเฟนโนฟอสถูกตรวจพบในผักส่งออกปี 2551 สูงถึง 9.7% และในผลไม้ถูกตรวจพบ 1.17% โดยเฉพาะในพริกส่งออกถูกตรวจพบสูงสุดถึง 5.96 ppm (พบเกินค่า MRLs 130 ตัวอย่างจากพริก 1,843 ตัวอย่าง) ในขณะที่ค่า Codex MRLs กำหนดไว้ที่ 0.05 ppm และในผักคื่นฉ่ายถูกตรวจพบสูงถึง 9.38 ppm (พบเกินค่า MRLs 1 ตัวอย่างจากผักคื่นฉ่าย 1 ตัวอย่าง) ในขณะที่ค่า Codex MRLs กำหนดไว้ที่ 0.05 ppm ในใบมะกรูดถูกตรวจพบสูงสุดถึง 0.96 ppm (พบเกินค่า MRLs 3 ตัวอย่างจากใบมะกรูด 311 ตัวอย่าง) ในขณะที่ค่า Codex MRLs กำหนดไว้ที่ 0.05 ppm ในตะไคร้ถูกตรวจพบสูงสุดถึง 0.33 ppm (พบเกินค่า MRLs 1 ตัวอย่าง จากตะไคร้ 352 ตัวอย่าง) ในขณะที่ค่า Codex MRLs กำหนดไว้ที่ 0.05 ppm (OSS, 2551; Codex MRLs, 2009)

ส่วนในผลไม้ส่งออกถูกตรวจพบสารโพรเฟนโนฟอสเช่นเดียวกับในผัก ในปี 2551 ถูกตรวจพบในทุเรียน 0.44 ppm (พบเกินค่า MRLs 2 ตัวอย่าง จากทุเรียน 764 ตัวอย่าง) ในลำไยถูกตรวจพบ 0.25 ppm (พบเกินค่า MRLs 2 ตัวอย่าง จากลำไย 4,132 ตัวอย่าง) ในมะม่วงถูกตรวจพบ 0.11 ppm (พบเกินค่า MRLs 4 ตัวอย่างจากมะม่วง 3,038 ตัวอย่าง) ในมังคุดถูกตรวจพบ 0.37 ppm (พบเกินค่า MRLs 3 ตัวอย่างจากมังคุด 714 ตัวอย่าง) (OSS, 2551)

ชุดตรวจสอบสารโพรเฟนโนฟอสเบื้องต้นนี้มีคุณสมบัติและลักษณะเด่น คือ เป็นสิ่งที่คิดขึ้นมาใหม่ มีความแปลกใหม่ สามารถพกพาไปใช้ตรวจสารพิษตกค้างในภาคสนามได้ ประหยัดเงินและเวลาในการตรวจวิเคราะห์ (จากเดิมตรวจด้วย GC ราคา 3,500 บาท /ตัวอย่างแต่ใช้ชุดตรวจสอบราคา 180 บาท / ตัวอย่าง) และตรวจสอบได้รวดเร็วกว่าเดิม (ตรวจด้วย GC ใช้เวลา 2 วัน / ตัวอย่าง แต่ตรวจด้วยชุดตรวจสอบใช้เวลา 15 นาที / 12 ตัวอย่าง) 1 ชุดสามารถตรวจสอบได้ 24 ตัวอย่าง และปริมาณต่ำสุดที่ตรวจได้มีค่าต่ำกว่าค่าความปลอดภัย (Codex MRLs) (อุดมลักษณ์, 2552)

ชุดตรวจสอบสารโพรเฟนโนฟอสที่คิดค้นขึ้นมานี้เหมาะกับที่จะใช้ในปัจจุบันอย่างยิ่ง เนื่องจากพบว่าในปี 2551-2552 สารโพรเฟนโนฟอสถูกตรวจพบตกค้างในผักและผลไม้ส่งออกรองลงมาจากคลอไพริฟอส (OSS, 2551; 2552) ซึ่งสอดคล้องกับการทำประเมินการใช้สารพิษของเกษตรกรในแปลงปลูกปี 2552 เพื่อลดความเสี่ยงภัยและความรุนแรงของผลกระทบการใช้วัตถุมีพิษ พบว่าคลอไพริฟอสและโพรเฟนโนฟอสเกษตรกรนิยมใช้ในแปลงปลูกผักทั้งในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อุดมลักษณ์และคณะ, 2552)

ในงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาความใช้ได้ของชุดตรวจสอบสารพิษตกค้างของสารโพรเฟนโนฟอสในผักผลไม้ที่นำไปใช้ในภาคสนาม ที่ทำให้ผู้ตรวจมีความสะดวก รวดเร็วประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายในการตรวจที่เป็นการตรวจสอบเบื้องต้นก่อนออกจากแปลงสู่แหล่งจำหน่าย เกิดความเชื่อมั่นในชุดตรวจสอบ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ 1. มีดหั่นตัวอย่างและเขียง

2. เครื่องปั่น (Vortex mixer) ปรับความเร็วได้ 2 ระดับ คือ ระดับต่ำและระดับสูง

3. เครื่องกรอง (Suction filter pump)

4. เครื่องลดปริมาตร (Rotary vacuum evaporator)

5. แผ่นตรวจสอบชุดโมโนโครโตฟอส (กวก.3)

6. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น beaker ขนาด 100, 250, 400 ml; cylinder ขนาด 100, 250 ml; round bottom flask ขนาด 250 ml; syringe หยด TLC

7. สารเคมี เช่น acetone (AR),hexane (AR)

8. สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอส และผลิตภัณฑ์โพนเฟนโนฟอส (10%w/v)

วิธีการ 1. ทดสอบหาอายุการใช้งานของแผ่นตรวจสอบที่ใช้ในชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอส โดยการหาค่า %recovery ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm ที่อายุ 2,4,6,8,10 และ 12 เดือนตามลำดับ

2. หา % การคืนกลับของสารพิษ (Recovery) ของโพรเฟนโนฟอสในผักคะน้า ชั่งตัวอย่างผักคะน้าที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ มา 5 กรัม ใส่ในขวดสกัดตัวอย่าง เติม acetone ลงไป 5 ml ปิดฝาขวดแล้วเขย่า 2-3 นาที จะได้เป็น control

3. ถ้าเป็น blank ใช้ acetone ใส่ในขวดสกัดตัวอย่าง 5 ml แล้วสกัดเหมือน control แต่ไม่ใส่ผักคะน้า

4. ส่วนตัว Recovery ใส่สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอสลงไป 0.15 µg + คะน้า 5 กรัม + acetone 5 ml (0.03 ppm) ใส่สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอสลงไป 0.20 µg + คะน้า 5 กรัม + acetone 5 ml (0.04 ppm) ใส่สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอสลงไป 0.25 µg + คะน้า 5 กรัม + acetone 5 ml (0.05 ppm) ใส่สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอสลงไป 0.30 µg + คะน้า 5 กรัม + acetone 5 ml (0.06 ppm) ใส่สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอสลงไป 0.35 µg + คะน้า 5 กรัม + acetone 5 ml (0.07 ppm) ใส่สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอสลงไป 0.40 µg + คะน้า 5 กรัม + acetone 5 ml (0.08 ppm) ใส่สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอสลงไป 0.45 µg + คะน้า 5 กรัม + acetone 5 ml (0.09 ppm) ใส่สารมาตรฐานโพรเฟนโนฟอสลงไป 0.50 µg + คะน้า 5 กรัม + acetone 5 ml (0.10 ppm) ทุกขวดเติม acetone ลงไป 10 ml แล้วสกัดเหมือน control

5. เตรียมผลิตภัณฑ์โพนเฟนโนฟอส (10%w/v) ให้มีความเข้มข้น ตามที่ระบุในข้อ 4

6. หลังจากนั้นนำผลิตภัณฑ์โพนเฟนโนฟอสความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ ในข้อ 5 และตัวอย่างในข้อ 2, 3, 4 มาหยดลงบนแผ่นตรวจสอบของชุดโพนเฟนโนฟอส เป็น 4 จุด เรียงความเข้มข้นตามลำดับ เพื่อนำมาหาค่า %recovery, linearity, linearity range, SD, %RSD, Predicted HR และค่า HR (n=10)

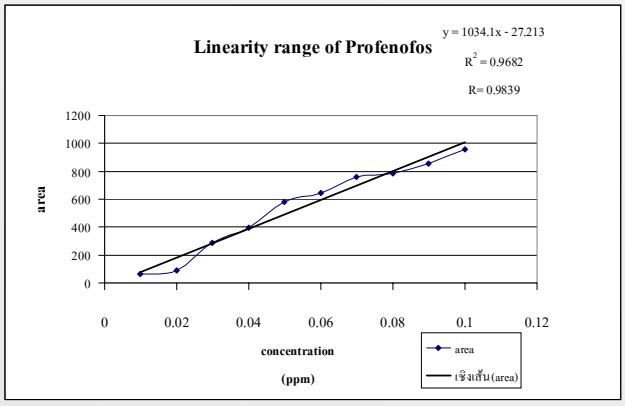
7. ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำมาอบในถังที่มี reducing agent ครึ่งวินาที จะมองเห็นจุดสีเหลืองบนพื้นสีส้ม ชัดเจนมาก ได้ค่า Rf 0.41 สามารถหา Limit of determination ได้จากการ plot graph ระหว่างค่า SD กับความเข้มข้น (LOD= $3S_0$, LOQ= $10\ S_0$)

เวลาและสถานที่ดำเนินการ

ปี 2553 ที่กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองหา linearity, linearity range ที่ความเข้มข้น 0.01-0.10 ppm ของชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอสได้ค่า R^2 = 0.9682 , R= 0.9839



ภาพที่ 1. แสดง linearity, linearity range ที่ความเข้มข้น 0.01-0.10 ppm

จากภาพแสดงว่าชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอสนี้มีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับดีเพราะค่า R= 0.9839 มีค่าเข้าใกล้ 1

ตารางที่ 1. แสดงค่า SD, mean, n, %RSD, Horrat, Predicted Horwitz ของชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอส

ค่า	0.03 ppm.	0.04 ppm.	0.06 ppm.	0.08 ppm.	0.10 ppm.
SD	7.4423	9.7665	13.9607	20.6355	30.6649
mean	281.1208	380.2373	646.3077	788.8817	938.5493
n	10	10	10	10	10
%RSD	2.6473	2.5685	2.1601	2.1658	3.2673
Horrat	0.2091	0.2119	0.1894	0.2395	0.3074
Predicted Horwitz	12.6580	12.1216	11.4040	10.9207	10.5600

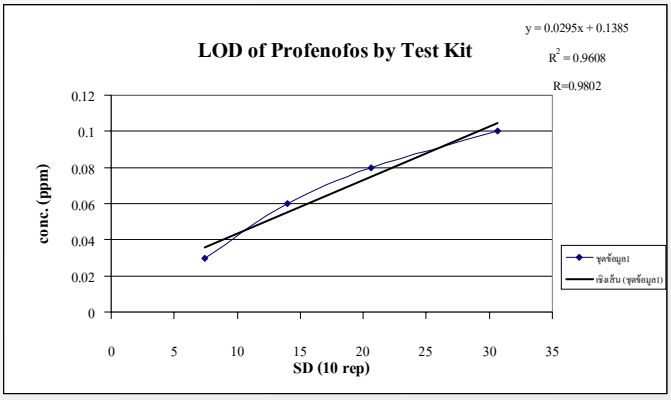
N = 10

%RSD = SD x 100 / mean

HR. (Horrat) = %RSD experiment/ Predicted Horwitz RSD Should be less than 2

Predicted Horwitz RSD=0.66x2(1-0.5 log C) c = ppm.

เห็นได้ว่าค่า Horrat (HR.) มีค่าน้อยกว่า 2 แสดงว่าชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอสมีความเชื่อถือได้ทางวิทยาศาสตร์ เมื่อนำค่า SD มา plot กับค่าความเข้มข้นต่างๆ จะได้ค่า S_0, 3 S_0 (LOD), 10 S_0 (LOQ)



ภาพที่ 2. แสดงค่า LOD และ LOQ ของชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอส ได้ค่า S_0 = 0.01 ppm. 3 S_0 (LOD) = 0.03 ppm, 10 S_0 (LOQ)= 0.3 ppm. ,R^2 = 0.9608 , R= 0.9802

จากภาพแสดงว่าชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอสนี้มีความน่าเชื่อถืออยู่ในระดับดีเพราะค่า R= 0.9802 มีค่าเข้าใกล้ 1

ตารางที่ 2. แสดงอายุการใช้งานของแผ่นตรวจสอบของชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอส ได้ค่า % recovery ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm. ดังนี้

อายุการเก็บแผ่นตรวจ	2 เดือน	4 เดือน	6 เดือน	8 เดือน	10 เดือน	12 เดือน
%recovery	85.80	85.30	84.20	83.10	84.60	83.50

อายุการใช้งานของแผ่นตรวจสอบที่ความเข้มข้น 0.05 ppm. สามารถมีอายุเก็บได้นาน 1 ปี

หลังจากทดสอบความใช้ได้ให้ผลเป็นที่น่าพอใจอย่างยิ่ง ได้นำชุดตรวจสอบนี้ไปให้หัวหน้ากลุ่มเกษตรกรที่ทำการปลูกพริกในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานีและศรีสะเกษทดลองใช้ ผู้นำไปใช้พอใจมาก เนื่องจากใช้ง่าย สามารถใช้ได้เอง สะดวกในการพกพา ประหยัดเงินและเวลาในการตรวจ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอสมีอายุการใช้งานของแผ่นตรวจสอบที่ความเข้มข้น 0.05 ppm อย่างน้อยเป็นเวลา 1 ปี จากการทดลองพบว่า ที่อายุ 2 เดือนได้ % recovery 85.80% ที่อายุ 4 เดือนได้ % recovery 85.30% ที่อายุ 6 เดือนได้ % recovery 84.20% ที่อายุ 8 เดือนได้ % recovery 83.10% ที่อายุ 10 เดือนได้ % recovery 84.60% ที่อายุ 12 เดือนได้ % recovery 83.50%

เมื่อศึกษาความเชื่อมั่นของชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอสได้ค่า linearity range อยู่ในช่วงความเข้มข้นช่วงความเข้มข้น 0.01-0.10 ppm. ค่า R = 0.9839 ค่า Precision ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.04, 0.06, 0.08 ppm. มีค่า n=10 ได้ค่า SD= 7.4423 , %RSD= 2.6473 , HR= 0.2091 (0.03 ppm) ได้ค่า SD= 9.7665 , %RSD= 2.5685 , HR= 0.2119 (0.04 ppm) ได้ค่า SD= 13.9607 , %RSD= 2.1601 , HR= 0.1894 (0.06 ppm) ได้ค่า SD= 20.6355 ,

%RSD= 2.1658 , HR= 0.2395 (0.08 ppm) ได้ค่า SD= 30.6649 , %RSD= 3.2673 , HR= 0.3074 (0.10 ppm) เห็นได้ว่าค่า HR ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.03-0.10 ppm. สามารถเชื่อถือได้ในการนำไปทดสอบในภาคสนาม เนื่องจากมีค่า HR น้อยกว่า 2

ชุดตรวจสอบสารโพรเฟนโนฟอสเบื้องต้นนี้มีคุณสมบัติและลักษณะเด่น คือ เป็นสิ่งที่คิดขึ้นมาใหม่ มีความแปลกใหม่ สามารถพกพาไปใช้ตรวจสารพิษตกค้างในภาคสนามได้ ประหยัดเงินและเวลาในการตรวจวิเคราะห์ (จากเดิมตรวจด้วย GC ราคา 3,500 บาท /ตัวอย่างแต่ใช้ชุดตรวจสอบราคา 180 บาท / ตัวอย่าง) และตรวจสอบได้รวดเร็วกว่าเดิม (ตรวจด้วย GC ใช้เวลา 2 วัน / ตัวอย่าง แต่ตรวจด้วยชุดตรวจสอบใช้เวลา 15 นาที / 12 ตัวอย่าง) 1 ชุดสามารถตรวจสอบได้ 24 ตัวอย่าง และปริมาณต่ำสุดที่ตรวจได้มีค่าต่ำกว่าค่าความปลอดภัย (Codex MRLs)

ชุดตรวจสอบสารโพรเฟนโนฟอสที่คิดค้นขึ้นมานี้เหมาะกับที่จะใช้ในปัจจุบันอย่างยิ่ง เนื่องจากพบว่าในปี 2551-2552 สารโพรเฟนโนฟอสถูกตรวจพบตกค้างในผักและผลไม้ส่งออกรองลงมาจากคลอไพริฟอส (OSS, 2551; 2552) ซึ่งสอดคล้องกับการทำประเมินการใช้สารพิษของเกษตรกรในแปลงปลูกปี 2552 เพื่อลดความเสี่ยงภัยและความรุนแรงของผลกระทบการใช้วัตถุมีพิษ พบว่าคลอไพริฟอสและโพรเฟนโนฟอสเกษตรกรนิยมใช้ในแปลงปลูกผักทั้งในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อุดมลักษณ์ และคณะ, 2552)

การนำไปใช้ประโยชน์

หน่วยงานที่จะนำไปตรวจสารตกค้างในผักผลไม้ ได้แก่

หน่วยงานราชการที่จะนำไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

หน่วยงานเอกชนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ ศูนย์วิจัยพืชผักนานาชาติ (Asian Vegetable Research and Development Center, AVRDC) เกษตรกรผู้ปลูกผักส่งออก และปลูกผักเพื่อส่งแหล่งจำหน่ายทั่วประเทศ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายยงยุทธ ไผ่แก้ว ในการช่วยฉีด GC ยืนยันผลการตรวจวิเคราะห์ และขอขอบคุณนางสาวณัฏฐ์ชยธร ขัตติยะพุฒิเมธ สวพ. 3 นางสุภาภรณ์ บ้งพรม สวพ. 4 นายไกสีห์ ชูดี ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี ที่พาไปตรวจสารตกค้างในแหล่งปลูกพริกและถั่วฝักยาวในพื้นที่ โดยใช้ชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอสและท้ายสุดขอขอบคุณ นายบุญมี เสียงเพราะ นักวิชาการเกษตร (พนักงานราชการ) ในการช่วยทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ; 2552. “ชุดตรวจสอบสารพิษตกค้างโพรเฟนโนฟอส” ผลงานวิจัยนวัตกรรมสนับสนุนปัจจัยการผลิตปี 2552 ผลงานวิจัยประจำปี กลุ่มวิจัยวัตถุมีการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร (8 หน้า)

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ และจิราพร โชติสมิทธิกุล; 2552 . “การประเมินข้อมูลการใช้ผลิตภัณฑ์ Cypermethrin, EPN และผลิตภัณฑ์สารธรรมชาติจากเกษตรกร” ผลงานวิจัยประจำปี กลุ่มวิจัยวัตถุมีการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร (8 หน้า)

Codex MRLs, Thai MRLs, 2009. Available on http://www.aseansec.org/agr_pub/crops1.doc. (2009)

OSS, ศูนย์บริการทางวิชาการแบบเบ็ดเสร็จ, 2551. “ข้อมูลสารพิษตกค้างในผักผลไม้ส่งออก” ประจำปี 2546-2551

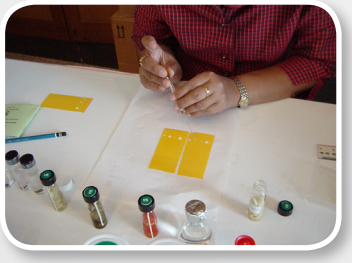
OSS, ศูนย์บริการทางวิชาการแบบเบ็ดเสร็จ, 2552. “ข้อมูลสารพิษตกค้างในผักผลไม้ส่งออก” ประจำปี 2551-2552

ภาคผนวก
ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์สารโพรเฟนโนฟอสในภาคสนาม

ภาพที่ 1. ชุดตรวจสอบโพรเฟนโนฟอส

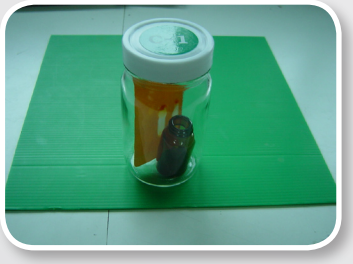
ภาพที่ 2. การสกัดตัวอย่างผัก

ภาพที่ 3. ตัวอย่างผักพร้อมตรวจสอบ



ภาพที่ 4. การหยดสารพิษลงบนแผ่นตรวจสอบ

ภาพที่ 5. นำแผ่นตรวจสอบใส่ในขวดแยกสาร



ภาพที่ 6. การทำให้เห็นจุดสารพิษชัดเจนยิ่งขึ้น

ภาพที่ 7. แสดงจุดสารโพรเฟนโนฟอส 2.9 ซม.

ภาพที่ 8. แสดงจุดสารโพรเฟนโนฟอส 2.9 ซม. ในพริก ถั่วฝักยาว

การประเมินข้อมูลการใช้ผลิตภัณฑ์ Cypermethrin, EPN, Chlorpyrifos และผลิตภัณฑ์สารธรรมชาติจากเกษตรกร

Evaluation of Chemical and Natural Pesticide Uses in Farm

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ[1] พิเชษฐ์ ทองละเอียด[2] ยุพดี จิตต์ไพศาล[2]

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจการใช้วัตถุมีพิษเคมีและวัตถุมีพิษจากสารธรรมชาติจากเกษตรกรปลูกผักจังหวัดต่างๆ ในภาคกลางและภาคตะวันออกทั้งหมด 147 ราย แบ่งเป็น ฉะเชิงเทรา 8 ราย กาญจนบุรี 28 ราย อยุธยา 11 ราย ปทุมธานี 16 ราย กรุงเทพฯ 9 ราย สระบุรี 8 ราย นนทบุรี 15 ราย นครปฐม 13 ราย ชลบุรี 21 ราย และอ่างทอง 18 ราย พบมีการใช้สารธรรมชาติ 37% และการใช้สารเคมี 63% ยาฆ่าแมลงที่ใช้ 5 อันดับแรก ได้แก่ Cypermethrin 30%, abamectin 17%, methomyl 9%, chlorpyrifos 8%, carbosulfan 7% และยาเคมีอื่นๆ 29% ส่วนสารธรรมชาติที่ใช้มาก 5 อันดับแรก คือ สะเดา 30% น้ำหมักปลาน้ำหมักหอย 13% หางไหล 9% ข่า 8% ตะไคร้หอม 6% อื่นๆ 34% (น้ำส้มควันไม้ น้ำหมักสมุนไพร หนอนตายหยาก Bt. ฯลฯ)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือสำรวจ ทั้งหมด 150 ราย แบ่งเป็น ศรีสะเกษ 26 ราย นครราชสีมา 12 ราย ขอนแก่น 5 ราย สกลนคร 3 ราย อุบลราชธานี 81 ราย และอุดรธานี 23 ราย พบมีการใช้สารเคมี 91% และใช้สารธรรมชาติ 9% ยาฆ่าแมลงที่ใช้ 5 อันดับแรกได้แก่ Cypermethrin 27%, abamectin 19%, chlorpyrifos 16%, mancozeb 11%, methomyl 8%, carbosulfan 7%, และยาเคมีอื่นๆ 12% ส่วนสารธรรมชาติที่ใช้ 5 อันดับแรก คือ สะเดา 40% น้ำหมักปลาและพืช 30% ดาวเรือง 14% ข่า ตะไคร้หอม บีที ชนิดละ 4% หางไหลและสมุนไพรพื้นบ้าน 4% อื่นๆ 8%

ภาคเหนือสำรวจทั้งหมด 117 ราย แบ่งเป็น เชียงราย 19 ราย เชียงใหม่ 10 ราย ลำพูน 12 ราย ตาก 10 ราย อุตรดิตถ์ 15 ราย พิจิตร 12 ราย กำแพงเพชร 24 ราย และเพชรบูรณ์ 15 ราย พบมีการใช้สารเคมี 95% และใช้สารธรรมชาติ 5% ยาฆ่าแมลงที่ใช้ 5 อันดับแรก ได้แก่ Cypermethrin 24%, chlorpyrifos 15%,abamectin 10%, methomyl 10%, carbosulfan 5% และยาเคมีอื่นๆ 36% ส่วนสารธรรมชาติที่ใช้ 5 อันดับแรก คือ สะเดา 34% น้ำหมักผลไม้ 24% ขี้เหล็ก 14% บอระเพ็ดและหางไหล อย่างละ 9% อื่นๆ 10%

ภาคใต้สำรวจทั้งหมด 133 ราย แบ่งเป็น ประจวบคีรีขันธ์ พังงา นครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี พบมีการใช้สารเคมี 89% และใช้สารธรรมชาติ 11% ยาฆ่าแมลงที่ใช้ 5 อันดับแรก ได้แก่ Cypermethrin 33%, abamectin 19%, chlorpyrifos 17%, methomyl, carbofuran, mancozeb, carbendazim อย่างละ 3%, และยาเคมีอื่นๆ 19% ส่วนสารธรรมชาติที่ใช้ 5 อันดับแรก คือ สะเดา 56% น้ำหมักผลไม้และยาฉุนอย่างละ 19% กาแฟ 6%

ในการฉีดพ่นวัตถุมีพิษเกษตรกรของทุกภาคนิยมฉีด 4-7 วัน/ ครั้ง แต่จะมีบางกลุ่มฉีด 0-3 วัน/ ครั้ง และการเก็บผลผลิตหลังการฉีดครั้งสุดท้ายจะเก็บที่ 4-7 วัน พอๆ กับเก็บที่ 8-15 วัน และเกษตรกรส่วนใหญ่จะใช้วัตถุมีพิษตามอัตราที่แนะนำบนฉลาก

รหัสโครงการ 05 01 49 01 01 03 01 52

คำนำ

ตั้งแต่ปี 2547 เป็นต้นมาจนถึงปัจจุบัน การส่งออกผักผลไม้ของไทยไปขายยังต่างประเทศ จะพบปัญหาสารตกค้างในผลผลิตอยู่ 2 ชนิด คือ กลุ่มไพเรทรอยด์ และกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต กลุ่มไพเรทรอยด์ตัวที่เป็นปัญหามากที่สุด คือ Cypermethrin ในผักที่ส่งออกในปี 2547 ถูกตรวจพบ 47.31% ปี 2548 ถูกตรวจพบ 54.92% ปี 2549 ถูกตรวจพบ 64.69% ปี 2550 ถูกตรวจพบ 23.88% และปี 2551 ถูกตรวจพบ 39.61% เช่นเดียวกับในผลไม้ Cypermethrin มีการตรวจพบมากในผลไม้ส่งออก ปี 2547 ถูกตรวจพบ 53.23% ปี 2548 ถูกตรวจพบ 50.95% ปี 2549 ถูกตรวจพบ 73.80% ปี 2550 ถูกตรวจพบ 49.88% และปี 2551 ถูกตรวจพบ 51.17% (OSS, 2547-2551)

ส่วนกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟตตัวที่เป็นปัญหามากที่สุด คือ Chlorpyrifos ในผักที่ส่งออกปี 2547 ถูกตรวจพบ 44.58% ปี 2548 ถูกตรวจพบ 44.75% ปี 2549 ถูกตรวจพบ 34.56% ปี 2550 ถูกตรวจพบ 17.03% และปี 2551 ถูกตรวจพบ 22.63% เช่นเดียวกับในผลไม้ Chlorpyrifos มีการตรวจพบมากในผลไม้ส่งออก ปี 2547 ถูกตรวจพบ 50.71% ปี 2548 ถูกตรวจพบ 60.21% ปี 2549 ถูกตรวจพบ 55.25% ปี 2550 ถูกตรวจพบ 47.03% และปี 2551 ถูกตรวจพบ 25.81% เช่นเดียวกับในผลไม้ (OSS, 2547-2551)

เห็นได้ว่าทั้ง Cypermethrin และ Chlorpyrifos ล้วนเป็นปัญหาในการส่งออกผักและผลไม้ของไทยเป็นอย่างมาก ในเรื่องปัญหาสารพิษตกค้าง ดังนั้น งานวิจัยชิ้นนี้เป็นการไปสอบถามข้อมูลการใช้สารพิษทั้งสารเคมีและสารธรรมชาติของเกษตรกรในภาคต่างๆ ของไทย เพื่อนำมาประเมินการใช้สารพิษของเกษตรกรว่าสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากปัญหาสารตกค้างในผักผลไม้ที่ส่งออกหรือไม่ จะได้ทราบว่าสาเหตุที่แท้จริงมาจากสิ่งใด ทำให้แก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในการส่งออกได้ถูกต้อง และเป็นการติดตามการรณรงค์ให้เกษตรกรหันมาใช้สารธรรมชาติเพื่อลดการใช้สารเคมี ในสถานการณ์ที่แท้จริงเป็นอย่างไร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ 1. แบบสอบถามข้อมูลการใช้วัตถุมีพิษการเกษตรในแปลงปลูกผักปี 2552

2. หนังสือ “ทำเนียบกลุ่มผู้ผลิตพืช ที่ได้รับการรับรองมาตรฐานความปลอดภัย” ของกรมส่งเสริมการเกษตร เพื่อใช้เป็นแผนที่ไปยังแปลงปลูกผัก

3. เครื่องเขียน เช่น ปากกา ดินสอ ยางลบ ฯลฯ

4. แผนที่ที่ print มาจาก internet ในการสืบค้นสถานที่ที่ปลูกผักตามที่แนะนำในหนังสือ ข้อ 2

5. ระบบสืบค้นข้อมูล google earth เพื่อหาแผนที่ที่จะไปสู่เป้าหมายที่กำหนด

วิธีการ 1. วางแผนการทดลอง โดยในปี 2552 จะดำเนินการในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนในปี 2553 จะดำเนินการในภาคเหนือและภาคใต้

2. ทำการนัดแนะเกษตรกรปลูกผัก ตามวัน เวลาที่กำหนดตามแผน

3. เดินทางพร้อมแบบสอบถาม และแผนที่ที่สืบค้นมาจาก google earth ไปยังพื้นที่เป้าหมายพร้อมกับคณะทำงาน

4. ทำการสัมภาษณ์เกษตรกรปลูกผักที่นัดแนะไว้ ตามแบบสอบถามที่กำหนด

5. นำมาสรุปเป็นข้อมูลต่างๆ ดังนี้

5.1) ข้อมูลส่วนบุคคล แบ่งเป็น จำนวนเกษตรกรทั้งหมด จำนวนเกษตรกรชาย จำนวนเกษตรกรหญิง อายุของเกษตรกร

5.2) ข้อมูลการใช้สารพิษ ได้แก่ จำนวนเกษตรกรใช้สารเคมีฆ่าแมลง และจำนวนเกษตรกรใช้สารธรรมชาติ

5.3) สารฆ่าแมลงเคมีและสารธรรมชาติที่เกษตรกรนิยมใช้ 5 อันดับแรก

5.4) วิธีทำการฉีดพ่นของเกษตรกร ฉีดพ่นกี่วัน/ครั้ง

5.5) การใช้สารพิษให้ถูกต้องตามฉลาก

5.6) วิธีการเก็บเกี่ยวผลผลิตของเกษตรกร ควรทิ้งระยะเวลานานเท่าใด

6. สรุปผลของทุกภาค เขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่ดำเนินการ

ปี 2552-2553 ที่กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และแหล่งพื้นที่ปลูกผักของเกษตรกรภาคกลาง ภาคตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือ

ปี 2553-2554 ที่กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และแหล่งพื้นที่ปลูกผักของเกษตรกรภาคเหนือ และภาคใต้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เกษตรกรทุกภาคทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคใต้เป็นเกษตรกรชายมากกว่าเกษตรกรหญิง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. ข้อมูลส่วนบุคคลของเกษตรกรปลูกผักภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือและภาคใต้

ข้อมูล	ภาคกลาง และภาคตะวันออก	ภาคตะวันออก เฉียงเหนือ	ภาคเหนือ	ภาคใต้
เกษตรกรทั้งหมด	147 ราย	150 ราย	117 ราย	133 ราย
ชาย	57%	65%	57%	52%
หญิง	43%	35%	43%	48%

เกษตรกรส่วนใหญ่ที่มีอาชีพปลูกผัก มักมีอายุมากกว่า 51 ปีขึ้นไป รองลงมาเป็นอายุในช่วง 41-50 ปี อายุน้อยๆ ไม่นิยมทำการเกษตรในหมู่บ้าน จะออกไปทำงานต่างถิ่นที่สามารถทำเงินได้มากกว่า ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. อายุของเกษตรกรปลูกผักภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือและภาคใต้

อายุ (ปี)	ภาคกลาง ภาคตะวันออก (%)	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (%)	ภาคเหนือ (%)	ภาคใต้ (%)
20-30	8	6	9	0
31-40	20	14	14	15
41-50	34	28	27	37
51 ปีขึ้นไป	38	52	50	48

เกษตรกรส่วนใหญ่ที่ไปสัมภาษณ์ยังคงมีความฝังใจว่าการใช้สารฆ่าแมลงเคมีเห็นผลได้ทันใจกว่าสารฆ่าแมลงธรรมชาติ จึงนิยมใช้ในปริมาณที่มากกว่าการใช้สารธรรมชาติในการป้องกันกำจัด ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. ข้อมูลการใช้ยาฆ่าแมลง ทั้งสารเคมีและสารธรรมชาติของเกษตรกรภาคต่างๆ

ข้อมูลการใช้ยา	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคเหนือ	ภาคใต้
การฉีดพ่นตลอดการปลูก	380 ครั้ง	390 ครั้ง	514 ครั้ง	352 ครั้ง
ใช้ยาฆ่าแมลงเคมี	63%	91%	95%	89%
ใช้สารธรรมชาติ	37%	9%	5%	11%

เกษตรกรทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคใต้นิยมใช้ Cypermethrin มากที่สุด รองลงมาเป็น Chlorpyrifos ในการป้องกันกำจัดแมลง ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการตรวจพบสารพิษตกค้างในผักและผลไม้ส่งออกของกรมวิชาการเกษตรตั้งแต่ปี 2547-2552 ส่วน abamectin เพิ่งมานิยมใช้เมื่อปี 2550 เป็นต้นมา และสารนี้สลายตัวเร็วมาก เพราะเป็นสารสังเคราะห์จากเชื้อแบคทีเรีย (*Streptomyces avermitilis*) จึงไม่พบเป็นปัญหาสารพิษตกค้างในปัจจุบัน ส่วน chlorpyrifos กำลังจะยกเลิกการใช้ในไม่ช้า แต่ยังคงเป็นที่นิยมของเกษตรกรเหมือนเดิม เพราะยังหาสารพิษตัวอื่นที่ออกฤทธิ์เหมือน chlorpyrifos ทดแทนไม่ได้ ส่วน methomyl และ carbosulfan เป็นสารพิษกลุ่มคาร์บาเมท สลายตัวได้รวดเร็ว จึงไม่พบปัญหาเรื่องสารพิษตกค้างในผลผลิตเหมือนกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต สารพิษฆ่าแมลงเคมี 5 อันดับแรก ที่เกษตรกรนิยมใช้จะคล้ายๆ กันทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคใต้ ดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4. ข้อมูลสารฆ่าแมลงเคมี 5 อันดับแรกที่เกษตรกรนิยมใช้ในการปลูกผักตามภาคกลาง ภาคตะวันออกและตะวันออกเฉียงเหนือ

สารฆ่าแมลง	ภาคกลางและภาคตะวันออก	สารฆ่าแมลง	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
cypermethrin	30%	cypermethrin	27%
abamectin	17%	abamectin	19%
methomyl	9%	methomyl	8%
chlorpyrifos	8%	chlorpyrifos	16%
carbosulfan	7%	carbosulfan	7%
[1] อื่นๆ (< 7%)	29%	[2] อื่นๆ (< 7%)	23%

หมายเหตุ [1] สารเคมีอื่นๆ 2-7% ได้แก่ carbendazim, methyl parathion, dimethoate, mancozeb, carbaryl, profenofos, imidacloprid, metalaxyl, carbofuran, captan, dicrotophos, tophenpyrate, chlorfenapyr, omethoate, EPN, malathion, triflubenzuron, monochrotophos, dicofol, spinosad, cyfluthrin, permethrin, endosulfan, fipronil, buprofezin, triflubenzuron, methamidophos

หมายเหตุ[2] สารเคมีอื่นๆ 2-7% ได้แก่ carbofuran, methyl parathion, carbendazim, dicrotophos, monochrotophos, dichlorvos, mancozeb, dimethoate, glyphosate, cyhalothrin

ตารางที่ 5. ข้อมูลสารฆ่าแมลงเคมี 5 อันดับแรก ที่เกษตรกรนิยมใช้ในการปลูกผักตามภาคเหนือและภาคใต้

สารฆ่าแมลง	ภาคเหนือ	สารฆ่าแมลง	ภาคใต้
cypermethrin	24%	cypermethrin	33%
chlorpyrifos	15%	chlorpyrifos	17%
abamectin	10%	abamectin	19%
methomyl	10%	methomyl	14%
carbosulfan	5%	carbosulfan	3%
[3] อื่นๆ (< 5%)	36%	[4] อื่นๆ (< 2%)	14%

หมายเหตุ [3] สารเคมีอื่นๆ (< 5%) ได้แก่ amitraz, carbaryl, carbendazim, carbofuran, captan, chitosan, chlorothalonil, copper oxychloride, cyhalothrin, 2,4-D, deltamethrin, dicrotophos, dimethoate, EPN, fenvalerlate, fipronil, flufenoxuron, formethanate, glyphosate, imidacloprid, malathion, mancozeb, metalaxyl, methyl parathion, oxufluofen, paraquat, pendimetalin, phosalone, prochloraz, prppanil, spinosad, teflubenzuron,

หมายเหตุ [4] สารเคมีอื่นๆ < 2%ได้แก่ aldicarb, carbofuran, chitosan, maneb, mancozeb, metalaxyl, metamidophos, omethoate

สารพิษที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เกษตรกรทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคใต้ นิยมใช้กันมาก 5 อันดับแรกจะใกล้เคียงกันมากที่สุด ส่วนสารพิษชนิดอื่นๆ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือใช้สารพิษหลายชนิดมากกว่าเกษตรกรทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ เป็นเพราะเศรษฐกิจของเกษตรกรภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือดีกว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และการซื้อหาสารพิษใหม่ๆ หาได้ง่ายเพราะอยู่ใกล้กรุงเทพฯ และภาคใต้นิยมปลูกยางพาราและปาล์มน้ำมันมากกว่าผัก ทำให้มีการใช้สารพิษน้อยชนิดกว่าภาคอื่น

ส่วนสารธรรมชาติเกษตรกรทุกภาคนิยมใช้สะเดามากที่สุด รองลงมาเป็นพวกน้ำหมักผักผลไม้และน้ำหมักปลา ส่วนสมุนไพรอื่นๆ เกษตรกรใช้ภูมิปัญญาท้องถิ่นเป็นพืชที่ปลูกกันมากในท้องถิ่นมาป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดังแสดงใน ตารางที่ 6

ตารางที่ 6. ข้อมูลสารธรรมชาติที่เกษตรกรนิยมใช้ในการปลูกผักในภาคต่างๆ

สมุนไพร	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคเหนือ	ภาคใต้
สะเดา	30%	40%	34%	56%
น้ำหมักปลาและหอยหรือผักผลไม้	13%	30%	24%	19%
หางไหลและยาสูบ	9%	2%	9%	19%
ข่าและขี้เหล็ก	8%	4%	14%	0
ตะไคร้หอมและบอระเพ็ด	6%	4%	9%	0
บีที หรือ อีเอ็ม	0	4%	5%	0
[5] อื่นๆ	34%	16%	5%	6%

หมายเหตุ [5] ได้แก่ น้ำส้มควันไม้ น้ำหมักสมุนไพร หนอนตายหยาก บีที บอระเพ็ด พริก น้ำหมักผลไม้ ยูคาลิปตัส อบเชย เมล็ดมันแกว ว่านน้ำ กลอย ยาสูบ ไพล มะกรูด กาแฟ

วิธีการฉีดพ่นสารพิษในแปลงผัก จากการสำรวจ 147 ราย ในภาคตะวันออกและภาคกลาง 150 รายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 117 ราย ในภาคเหนือ และ 133 ราย ในภาคใต้ พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่นิยมทำการฉีดพ่น 4-7 วัน/ ครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7. ข้อมูลการฉีดพ่นสารพิษทั้งวัตถุเคมีและสารธรรมชาติในภาคต่างๆ

วิธีการ	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคเหนือ	ภาคใต้
ฉีด 0-3 วัน/ ครั้ง	24%	3%	18%	21%
ฉีด 4-7 วัน/ ครั้ง	56%	50%	74%	60%
ฉีด 8-15 วัน/ ครั้ง	20%	47%	8%	19%

เกษตรกรที่ทำการฉีดพ่น 0-3 วัน/ครั้ง พบในภาคกลางและภาคตะวันออกมากกว่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือและภาคใต้ เป็นการใช้สารพิษมากเกินไป ทำให้มีผลต่อสารพิษตกค้างในผลผลิต เพราะสารพิษจะไปสะสมในต้นพืชและผลผลิต

ส่วนอัตราการใช้สารพิษในการฉีดพ่นต้นพืช ไม่พบปัญหามากนัก จากการสำรวจพบว่าเกษตรกรส่วนมากใช้สารพิษตามที่ระบุไว้ที่ฉลากข้างขวด ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8. ข้อมูลอัตราการใช้สารพิษของเกษตรกรในการปลูกผักภาคต่างๆ

วิธีการ	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคเหนือ	ภาคใต้
ใช้ตามที่ฉลากระบุ	78%	91%	85%	82%
ใช้น้อยกว่าที่ฉลากระบุ	9%	1%	0%	12%
ใช้มากกว่าที่ฉลากระบุ	13%	8%	15%	6%

เกษตรกรบางส่วนยังคงมีความเชื่อว่า ถ้าแมลงระบาดรุนแรงมาก ต้องใช้สารพิษให้มีปริมาณมากกว่าที่ระบุบนฉลาก ทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ มีจำนวนใกล้เคียงกัน

การเก็บเกี่ยวผลผลิตของเกษตรกรหลังการฉีดพ่นสารพิษครั้งสุดท้าย พบว่าในภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคใต้ นิยมเก็บผลผลิตหลังการฉีดพ่นสารพิษครั้งสุดท้าย 4-7 วันเหมือน กันทุกภาค ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9. ข้อมูลการเก็บเกี่ยวผลผลิตของเกษตรกรในการปลูกผักภาคต่างๆ

วิธีการ	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคเหนือ	ภาคใต้
เก็บหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 0-3 วัน	20%	2%	17%	29%
เก็บหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 4-7 วัน	50%	50%	48%	36%
เก็บหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 8-15 วัน	22%	47%	32%	27%
เก็บหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 16-30 วัน	8%	1%	3%	8%

เห็นได้ว่าเกษตรกรในภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือ และภาคใต้ยังคงเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 0-3 วัน มากถึง 17-30% ยกเว้นภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนเก็บหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 4-7 วันใกล้เคียงกันทุกภาค ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือยังมีการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 8-15 วัน มากกว่าภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ ทำให้พืชผักที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ มีความปลอดภัยมากกว่าผักจากภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจเกษตรกรปลูกผักในภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคใต้ พบว่า เกษตรกรจะเป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิง อายุส่วนใหญ่จะเกิน 50 ปีขึ้นไป ในการปลูกผักจะใช้สารฆ่าแมลงเคมีโดยเฉลี่ยประมาณ 65% และสารธรรมชาติ 35% โดยใช้สลับกัน.ในภาคกลางและภาคตะวันออก ส่วนภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ในการปลูกผักจะใช้สารฆ่าแมลงเคมีโดยเฉลี่ยประมาณ 85% และสารธรรมชาติ 15%

สารพิษที่เกษตรกรนิยมใช้กันทุกภาค อันดับแรกได้แก่ Cypermethrin รองลงมา คือ chlorpyrifos, abamectin, methomyl และ carbosulfan ตามลำดับ ทางภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกจะมีการใช้สารพิษหลายชนิดมากกว่าทางภาคภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้

ส่วนสารธรรมชาติเกษตรกรทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือ ภาคใต้ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นิยมใช้สะเดา น้ำหมักปลาน้ำหมักหอย เหมือนกัน แต่ทางภาคกลางและภาคตะวันออกนิยมใช้หางไหล ข่า ตะไคร้หอม รองลงมาจากสะเดา ส่วนภาคตะวันออกเฉียงเหนือนิยมใช้ดาวเรือง ข่า ตะไคร้หอม บีที ภาคเหนือนิยมใช้หนอนตายหยาก บอระเพ็ด ขี้เหล็ก และภาคใต้นิยมใช้ยาเส้น และกาแฟ เนื่องจากแต่ละพื้นที่มีวัตถุดิบที่แตกต่างกัน เกษตรกรจึงพยายามหาวัตถุดิบที่มีในท้องถิ่นมาประยุกต์ใช้เป็นสารฆ่าแมลงตามภูมิปัญญาท้องถิ่นของตนเอง

ในการฉีดพ่นสารพิษ เกษตรกรทั้งภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้นิยมฉีดพ่น 4-7 วัน/ ครั้ง แต่ภาคใต้ ภาคกลางและภาคตะวันออก จะมีบางกลุ่ม ฉีดพ่น 0-3 วัน/ ครั้ง สาเหตุเพราะแมลงศัตรูพืชระบาดมาก เกษตรกรส่วนใหญ่จะใช้สารพิษในการฉีดพ่นตามที่ระบุไว้บนฉลาก และเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 4-7 วัน สำหรับเกษตรกรส่วนใหญ่ในภาคกลางและภาคตะวันออก ภาคเหนือ และภาคใต้ ส่วนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เกษตรกรเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการฉีดครั้งสุดท้าย 4-7 วันพอๆ กับ 8-15 วัน ดังนั้น ผลผลิตจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือน่าจะปลอดภัยกว่าทุกภาคในการนำมาบริโภค

การนำไปใช้ประโยชน์

ทำให้ทราบปัญหาว่าสารพิษตกค้างในผักที่ส่งออกนั้น ควรแก้ไขที่ตรงจุดไหน ควรให้ความรู้และคำแนะนำแก่เกษตรกรผู้ปลูกผักอย่างไร และสารพิษที่เป็นปัญหานั้นมาจากแหล่งปลูกส่วนใดของประเทศ สามารถตรวจสอบย้อนกลับ และปรับปรุงให้ผักผลไม้ส่งออกและบริโภคภายในประเทศมีคุณภาพดีขึ้นได้

เอกสารอ้างอิง

OSS, ศูนย์บริการทางวิชาการแบบเบ็ดเสร็จ, 2547-2551. “ข้อมูลสารพิษตกค้างในผักผลไม้ส่งออก” ประจำปี 2547, 2548, 2549, 2550, 2551 และ 2552. (6 เล่ม)

กรมส่งเสริมการเกษตร 2546. “ทำเนียบกลุ่มผู้ผลิตพืช ที่ได้รับการรับรองมาตรฐานความปลอดภัย” โครงการรณรงค์การผลิตพืชปลอดภัยจากสารพิษแห่งชาติ กลุ่มงานส่งเสริมและพัฒนาการบริการอารักขาพืช ส่วนบริหารศัตรูพืช สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร (204 หน้า)

วิจัยสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดหนอนตายหยาก และว่านน้ำเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืช

Plant Extract Formulations from *Stemona* spp. and *Acorus calamus* L. for Plant Protection

รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา เสริม สีมา สมบัติ แผนดี อิสริยะ สืบพันธุ์ดี
อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

หนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) และว่านน้ำ เป็นพืชที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในรากหนอนตายหยากมีสารสำคัญพวกอัลคาลอยด์ (alkaloids) เก็บตัวอย่างรากหนอนตายหยากจากจังหวัดต่างๆ มาตรวจหาปริมาณอัลคาลอยด์ทั้งหมด (Total alkaloids) พบว่า มีปริมาณอยู่ระหว่าง 1.16 – 6.60 % สกัดรากหนอนตายหยาก *Stemona burkillii* Prain และ *Stemona phyllantha* Gagnep ด้วยเอทานอล นำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดแยกส่วนโดยใช้ hexane, dichloromethane และ ethyl acetate ตรวจ alkaloids ในส่วนที่แยก พบว่าอยู่ในส่วนของ dichloromethane ในส่วนของ hexane พบว่ามีกรดไขมันที่อิ่มตัว (C16:0, C18:0) และไม่อิ่มตัว (C18:1, C18:2, C18:3) รวมทั้ง 4-methoxy benzoic acid, methyl ester ส่วนของ dichloromethane จาก *S. burkillii* Prain มี total alkaloids 20.01 % *S.phyllantha* Gagnep มี Total alkaloids 8.09 % non-alkaloid 27.40 % ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบกับหนอนใยผักวัยสอง พบว่าสารสกัดหยาบของ *S. burkillii* และ *S. phyllantha* เข้มข้น 1% ทำให้หนอนตาย 76.7% และ 36% ในเวลา 3 วัน และในส่วนของ dichloromethane เข้มข้น 1% ทำให้หนอนตาย 93.3 % และ 53% ผลิตภัณฑ์จาก *S. burkillii* อัตรา 5 และ 10 มิลลิลิตรต่อเอทานอล 100 มิลลิลิตร ทำให้หนอนตาย 80 และ 100 % ใน 3 วัน

สกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าว่านน้ำด้วยวิธี hydrodistillation พบว่ามีน้ำมันหอมระเหย 1.35 % ซึ่งมีปริมาณสารสำคัญ เบต้า อาซาโรน 85.10% สกัดเหง้าแห้งด้วยเมทานอลและเอทานอลได้สารสกัดหยาบ 21.87% และ 8.73 % มีเบต้าอาซาโรน 8.43 % และ 22.86 % น้ำมันว่านน้ำ 1.0 % และสารสกัดหยาบจากเอทานอล 2.5 % ทำให้หนอนใยผักวัยสองตาย 100 % ใน 48 ชั่วโมง

07-01-49-05-01-01-01-49

คำนำ

ศัตรูพืชเป็นปัญหาสำคัญในการทำเกษตรกรรม การจัดการศัตรูพืชของเกษตรกรส่วนใหญ่มักใช้สารเคมี อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีสังเคราะห์เพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างไม่ถูกต้องก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม เช่น การปนเปื้อนสารเคมีในแหล่งน้ำ สารพิษตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อมเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และสัตว์เลี้ยงทั่วไป รวมทั้งสัตว์ที่เป็นอาหารของมนุษย์ การลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยการใช้สารสกัดจากพืชเป็นทางเลือกหนึ่งของการใช้ปัจจัยการผลิตที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ซึ่งทำให้ผลผลิตทางการเกษตรมีคุณภาพปลอดภัยต่อการบริโภคและสนับสนุนให้เกษตรกรใช้เป็นทางเลือกที่ดีและปลอดภัย ลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้าสารเคมีสังเคราะห์จากต่างประเทศ และเป็นการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ในประเทศให้เกิดประโยชน์ปัจจุบันได้มีการนำสารสกัดจากพืช (botanical pesticides) มาใช้ป้องกันและกำจัดศัตรูพืชทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ (Jacobson, 1989) เพิ่มขึ้น หนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) และว่านน้ำ เป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

หนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) เป็นไม้พุ่มกึ่งเลื้อยในตระกูล Stemonaceae หัวเป็นพวงคล้ายกระชาย ขึ้นในป่าทั่วๆ ไป มีมากแถบภาคกลางและภาคเหนือ ในประเทศไทยพบอย่างน้อย 7 ชนิด ซึ่งแต่ละท้องถิ่นเรียกชื่อแตกต่างกันไป รากของหนอนตายหยากมีฤทธิ์ฆ่าหนอน ชาวบ้านจึงนำไปใส่ไหปลาร้าเพื่อฆ่าแมลง (ธาวดี, 2524; มยุรา, 2537) วีรพลและคณะ (2536) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากหนอนตายหยากต่อเห็บโค พบว่าสามารถฆ่าเห็บโคในระยะวัยอ่อนและเต็มวัย หนอนตายหยากเป็นทั้งยาฆ่าแมลงและยารักษาโรค เช่น เป็นยาขับพยาธิ รักษาโรคไต โรคเจ็บหน้าอก แก้ไอ เป็นต้น สารสำคัญที่มีอยู่ในรากหนอนตายหยากประกอบด้วยสารกลุ่มพวกอัลคาลอยด์ (alkaloids) เป็นส่วนใหญ่ เช่น stemotinine, isostemonamine, tuberostemonone (Xu *et al*., 1982; Lin *et al*., 1992) นอกจากนี้ยังพบสารที่ไม่ใช่อัลคาลอยด์ได้แก่ สารประกอบไบเบนซิล (bibenzyl) สติลบีนอยด์ (stilbenoids) และกลุ่มโรตินอยด์ (rotenoids) Pacher *et al*., (2002) ได้สกัด stilbenoids จาก *Stemona collinsae* และพบว่ามีคุณสมบัติกำจัดเชื้อรา (antifungal activity) สารอัลคาลอยด์ที่พบในรากหนอนตายหยากมีคุณสมบัติในการกำจัดแมลง (Brem *et al*., 2002; Kaltenegger, 2003) ซึ่ง Greger (2006) ได้แสดงความสัมพันธ์ของโครงสร้างกับคุณสมบัติด้าน biological activity ของอัลคาลอยด์ในพืชพวกหนอนตายหยาก (Stemona alkaloids)

ว่านน้ำเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Araceae มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในเขตอบอุ่นของทวีปเอเชีย เป็นพืชที่ขึ้นอยู่กับโคลน เลน หรือริมบ่อ หนอง บึง ว่านน้ำเป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อน มีเหง้าอยู่ใต้ดิน มีการนำว่านน้ำมาใช้เป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตั้งแต่ต้น ค.ศ. 1600 ในประเทศแถบทวีปยุโรป นำมาใช้เป็นสารไล่แมลง ซึ่งมีการใช้มาก่อนที่จะใช้หางไหล (Thacker, 2009) มงคล แก้วเทพ (2547) ได้รายงานวิจัยที่ระบุถึงฤทธิ์ในการกำจัดแมลงของว่านน้ำว่ามีผลต่อระบบสืบพันธุ์ การวางไข่และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลง สารสกัดเมทธานอลของว่านน้ำทำให้ด้วง*ข้าว* *Sitophilus oryzae* (L.) และด้วงถั่วเหลือง *Callosobruchus chinensis* ที่โตเต็มวัยตายมากกว่า 90% หลังจากการสัมผัสสารสกัดโดยตรง 3 – 4 วัน น้ำมันหอมระเหยจากเหง้าว่านน้ำพบสาร β-asarone (2,4,5-trimethoxypropenylbenzenes), acorangermacrone และ

asarylaldehyde ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อแมลงวันผลไม้ 3 ชนิด *คือ Ceratitis capitata*, *Dacus cucurbita* และ *D. dorsalis* เมื่อนำว่านน้ำ สะเดา และโล่ติ๊นมาผสมในอัตราส่วน 1:1:1 พบว่ามีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการกินอาหารของตัวอ่อนผีเสื้อกลางคืน *Earias vittella* (Fab) นอกจากนี้ว่านน้ำยังสามารถใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บได้ (Kim *et al*., 2003) เมื่อนำข้าวสาลีไปคลุกกับน้ำมันว่านน้ำที่ความเข้มข้น 100, 500 และ 1,000 ppm สามารถป้องกันมอดแป้ง *Tribolium castaneum* ได้ และเมื่อมอดแป้งถูกสารสกัดที่มีความเข้มข้น 200 ppm พบว่าทำให้การเจริญเติบโตของตัวอ่อนและตัวโตเต็มวัยลดลง และสาร asarones ซึ่งสกัดแยกมาจากน้ำมันหอมระเหยจากรากว่านน้ำมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการกินอาหารของผีเสื้อกลางคืนชนิด *Peridramasaucia* Nawamaki and Kuroyanagi (1996) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากว่านน้ำในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหอม ประเทศอินเดียมีการนำว่านน้ำมาใช้เป็นยารักษาโรคในปลาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *(Aeromonas hydrophila*) (Bhuvaneswari and Balasundaram,2009.) ในประเทศจีนมีการนำว่านน้ำมาใช้ป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยและแมลง โดยพบว่าในว่านน้ำมีสาร Phenylpropanoids α และ β-asarone เป็นสารออกฤทธิ์ (Perrett and Whitfield, 2006) ในประเทศไทยใช้ว่านน้ำในการป้องกันกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่อง *(Aedes aegypti*) มีค่า LC_{50} 16.0-48.2 mg/l (Narumon, *et al.,* 2006) น้ำมันจากว่านน้ำ (Calamus oils) ทำให้ผิวหนัง และตาเกิดการระคายเคืองเมื่อสัมผัสโดยตรง เมื่อหายใจเข้าไปเกิดระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ สามารถตกค้างอยู่ได้ในผิวดินและผิวน้ำในระบบนิเวศน์หลังการใช้ ควรหลีกเลี่ยงการบรรจุในภาชนะที่มีสารที่เป็นกรด ด่าง หรือ oxidizing agents Calamus oils มีค่า LD_{50} (oral, rat) 777 mg/kg ค่า LD_{50} (dermal, rabbit) >5,000 mg/kg มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (aquatic organisms) มีความเป็นพิษถ้ากลืนกินเข้าไป (Lluch, 2009)

ดังนั้น จึงทำการวิจัยการสกัด แยกและหาปริมาณสารออกฤทธิ์ในรากหนอนตายหยากและเหง้าว่านน้ำ เพื่อนำมาเป็นตัวชี้วัด (marker) คุณภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป รวมทั้งศึกษากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากรากหนอนตายหยากและเหง้าว่านน้ำ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถังสเตนเลสขนาด 20 ลิตร สำหรับแช่/หมักรากหนอนตายหยาก
2. เครื่องชั่งหยาบ (2 ตำแหน่ง) และละเอียด (4 ตำแหน่ง)
3. เครื่องบดตัวอย่าง ตู้อบตัวอย่าง เครื่องกวนตัวอย่าง
4. เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary evaporator)
5. ขวดก้นกลมขนาดต่างๆ กรวยกรอง กรวยแยก บีกเกอร์ กระดาษวัดความเป็นกรดด่าง
6. เอทานอล 95 %, เมทานอล, คลอโรฟอร์ม, ไดคลอโรมีเทน, hexane, Dragendroff spray reagent, hydrochloric acid, ammonium hydroxide
7. Chromatographic tank สำหรับ Thin Layer Chromatography (TLC)
8. เครื่องแก้วและสารเคมีอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง

9. เครื่อง Gas chromatography-Mass spectrometer (GC-MS)
10. เครื่องระเหยแห้ง (freeze dry)
11. ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย

วิธีการ หนอนตายหยาก

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างรากหนอนตายอยากมาล้างด้วยน้ำให้สะอาด สับเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบในตู้อบที่ 50°C จนแห้งแล้วนำมาบดโดยเครื่องบดตัวอย่างพืช เก็บตัวอย่างไว้ในถุงพลาสติก

ศึกษาปริมาณอัลคาลอยด์ทั้งหมด (Total alkaloids)

เก็บตัวอย่างรากหนอนตายหยากจากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ นำมาเตรียมตัวอย่างและสกัดหาอัลคาลอยด์(Natori *et al.*, 1981)เพื่อเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยใช้เมทานอลสกัด (1:20) กรอง นำกากไปสกัดซ้ำด้วยเมทานอลอีก 2 ครั้ง รวม filtrate ที่ได้ไประเหยที่อุณหภูมิ 40 °C โดยใช้เครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาละลายใน 1M HCl สกัดด้วย dichloromethane 2 ครั้ง นำส่วนที่เป็นน้ำมาปรับ pH ด้วย dil. NH_4OH ให้ pH = 10 แล้วสกัดอัลคาลอยด์ด้วย dichloromethane นำส่วนที่เป็น dichloromethane มาระเหยให้แห้ง ชั่งปริมาณอัลคาลอยด์ทั้งหมดที่ได้

ตรวจสอบอัลคาลอยด์ด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC) ตามวิธีของ Svendsen and Verpoorte (1983) Developing solvent คือ Chloroform:Methanol (9:1) โดยใช้ Dragendroff reagent เป็น spray reagent วัดระยะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (solvent front) และระยะที่สารเคลื่อนที่ คำนวณหาค่า retardation factor (R_f)

สกัดแยกสารด้วยการแบ่งส่วน (Partition)

นำรากหนอนตายหยากที่เตรียมไว้มาสกัดด้วยเอทานอล 95 % (1:10) โดยแช่ทิ้งไว้ 5 วัน นำมากวนด้วยเครื่องกวนตัวอย่าง 1 ชั่วโมง กรองด้วยเครื่อง suction pump นำกากที่ได้ไปสกัดด้วยเอทานอลซ้ำอีก 2 ครั้ง นำ filtrate ที่ได้มาระเหยให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ นำมาละลายใน 50% เอทานอล (1:10) ถ่ายใส่ในกรวยแยก แล้วสกัดด้วย hexane 3 ครั้ง ด้วยปริมาตรเท่ากับ 50% เอทานอล รวมส่วน hexane เข้าด้วยกัน ส่วนที่เป็นน้ำนำไปสกัดต่อด้วย dichloromethane 3 ครั้ง รวมส่วน dichloromethane เข้าด้วยกัน ส่วนที่เป็นน้ำนำไปสกัดต่อด้วย ethyl acetate 3 ครั้ง รวมส่วน ethyl acetate เข้าด้วยกัน ระเหย fraction ที่ได้จากการสกัด แล้วนำแต่ละ fraction ไป spot ลงบนแผ่น HPTLC ทำเช่นเดียวกับการตรวจหาอัลคาลอยด์ แล้วพ่นด้วย Dragendroff reagent บันทึกการเกิดสี

ตรวจหาองค์ประกอบทางเคมีของ hexane fraction ด้วย GC-MS

ละลาย hexane fraction 10 mg ด้วย hexane ใน volumetric flask 10 ml กรองสารละลายด้วย syringe filter Nylon 66 pore size 45 um ใส่ในขวดฉีดตัวอย่างขนาด 2 ml นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ตรวจสอบหาสารโดยเปรียบเทียบ spectrum กับสารมาตรฐานหรือ reference spectrum ใน library search

ตรวจปริมาณอัลคาลอยด์ใน dichloromethane fraction

นำ dichloromethane fraction ที่ระเหยแล้ว มาละลาย 50% เอทานอล (1:10) ปรับ pH (~5) ให้เป็นกรดด้วย 5% HCl แล้วสกัดด้วย dichloromethane ปริมาตร 2 เท่าโดยใช้กรวยแยก นำชั้นที่เป็นน้ำมาปรับ pH (9-10) ด้วย dil. ammonium hydroxide สกัดด้วย dichloromethane นำส่วน dichloromethane ทั้ง 2 ครั้งไประเหยให้แห้ง จดน้ำหนักของแต่ละครั้ง

การแยกสารสำคัญด้วย semi-prep. HPLC

นำส่วนของ dichloromethane fraction ที่ระเหยแล้วมา 50 ml ละลายในเมทานอล HPLC grade กรองสารละลายที่ได้ด้วย syringe filter Nylon 66 pore size 45 um นำสารละลายที่กรองแล้วฉีดเข้าเครื่อง semi-prep HPLC ที่มี UV detector ตรวจจับที่ความยาวคลื่น 254 nm ใช้ 75 % เมทานอลเป็น mobile phase เก็บสารละลายที่แยกตามพีคที่เกิด นำแต่ละส่วนของพีคที่เก็บได้ไประเหยจนหมดเมทานอลเหลือแต่น้ำ นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dry นำสารที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงระดับห้องปฏิบัติการกับหนอนใยผักวัยสอง

การผสมปรุงแต่งเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

จากการทดสอบข้างต้นพบว่าสารอัลคาลอยด์ทั้งหมดอยู่ในส่วนของ dichloromethane fraction จึงนำส่วนนี้มาผสมปรุงแต่ง นำ dichloromethane fraction จากรากหนอนตายหยากจากจังหวัดอุตรดิตถ์ และ ราชบุรี คือ *Stemona burkillii* Prain และ *Stemona phyllantha* Gagnep มาผสมกับ propylene glycol และ Tween 80 ใช้ 50% เอทานอล เป็นตัวทำละลายแล้วนำสูตรผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการกับหนอนใยผักวัย 2 แล้วจึงนำสูตร (fraction 2.5 %w/w, อุตรดิตถ์) ที่มีประสิทธิภาพดีไปทดสอบในแปลงทดสอบกับแมลงศัตรูคะน้าคือด้วงหมัดผักเปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงฟิโปรนิล

ว่านน้ำ

เตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างว่านน้ำจากจังหวัดราชบุรีมาล้างด้วยน้ำจนสะอาด แยกเหง้าและใบ เป็นตัวอย่างทดสอบสดและแห้ง ส่วนที่ทดสอบแบบใช้ตัวอย่างแห้ง ให้นำเหง้าว่านน้ำมาสับเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบในตู้อบที่ 50 °C จนแห้ง บดด้วยเครื่องบด เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติก ปิดไม่ให้อากาศเข้า

กลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี hydrodistillation ด้วยชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย โดยใช้รากสด 500 กรัมต่อน้ำ 350 ml เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เก็บน้ำมันที่ได้

สกัดตัวอย่างอบแห้งด้วยเอทานอล และเมทานอล โดยใช้เหง้าว่านน้ำบดที่เตรียมไว้ 10 กรัมต่อตัวทำละลาย 300 ml แช่ค้างคืน แล้วนำมากวนด้วยเครื่องกวน 1 ชั่วโมง กรอง นำกากมาสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง นำ filtrate ที่ได้ไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator จนแห้ง จดน้ำหนักที่ได้

ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันและสารสกัดหยาบจากเหง้าว่านน้ำกับหนอนใยผักวัยสองด้วยวิธี Leaf Disc Feeding Test

ตรวจหาปริมาณเบต้าอาซาโรนโดย GC-MS

ดูดน้ำมันว่านน้ำมา 2 ul ละลายใน abs. ethanol 10 ml กรองผ่าน filter Nylon 66 ใส่ขวดฉีดตัวอย่างสำหรับฉีดเข้าเครื่อง GC-MS สารสกัดหยาบจากเมทานอลและเอทานอล ทำเช่นเดียวกันโดยใช้สารสกัด 50 mg ละลายใน abs. ethanol 25 ml กรองผ่าน filter Nylon 66 ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง GC-MS เพื่อแยกและวัดปริมาณสารเบต้าอาซาโรน โดยใช้ operating condition ดังนี้

Column: RTx-5 W/Integra-Guard capillary column (Restek) 30 mx0.25 mm, film thickness 0.25 um

Temperature: Injector 200°C Mass transfer line 280°C

Column oven: Initial 50°C initial time 1 min rate 5°C/min final temp 230 °C final time 10 min

Solvent delay	4 min
Energy ion source	70eV, EI mode
Mass range	40-500 amu
Injection volume	1 ul
Carrier gas	Helium 1 ml/min

ระยะเวลา ตุลาคม 2549 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

หนอนตายหยาก

การศึกษาปริมาณอัลคาลอยด์ทั้งหมด (Total alkaloids) ในรากหนอนตายหยากเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยเก็บตัวอย่างรากหนอนตายหยากจากจังหวัดในภาคต่างๆ พบว่ามีปริมาณอยู่ระหว่าง 1.16 – 6.60 % ดังแสดงในตารางที่ 1 รากหนอนตายหยากจากจังหวัดนครราชสีมามีปริมาณอัลคาลอยด์สูงสุด 6.60 % จังหวัดตรังมีปริมาณต่ำสุด คือ 1.16 % ตรวจสอบสารประกอบพวกอัลคาลอยด์เบื้องต้นด้วยวิธี TLC โดยใช้ solvent system chloroform : methanol (9:1) พบว่าหนอนตายหยากจากทุกแหล่งเก็บตัวอย่างที่มีอัลคาลอยด์จะมีค่า R_f ทั้งเท่าและแตกต่างกัน ซึ่งแสดงว่าเป็นอัลคาลอยด์ต่างชนิดกัน

สกัดรากหนอนตายหยากจากอุตรดิตถ์ (*Stemona burkillii* Prain) ด้วย เอทานอล 95 % ได้สารสกัดหยาบ 19.75 % รากหนอนตายหยากจากราชบุรี (*Stemona phyllantha* Gagnep) 18.45 % สกัดสารสกัดหยาบโดย partition กับ hexane, dichloromethane และ ethyl acetate แล้วตรวจหาอัลคาลอยด์พบอยู่ในส่วนของ dichloromethane ส่วนของ ethyl acetate พบแต่มีความเป็นขั้วสูงยากต่อการแยกสารจึงนำส่วนของ dichloromethane มาศึกษา ส่วนของ hexane เมื่อนำไปตรวจด้วย GC-MS พบสารที่เป็นกรดไขมันอิ่มตัว (C16:0, C18:0) และไม่อิ่มตัว (C18:1, C18:2, C18:3) รวมทั้ง 4-methoxy benzoic acid, methyl

ester ส่วนของ dichloromethane ของสารสกัดจาก *S. burkillii* Prain มี total alkaloids 20.01 % *S.phyllantha* Gagnep มี Total alkaloids 8.09 % non-alkaloid 27.40 % จากการแยกสารในส่วนของ dichloromethane ด้วย semi-preparative HPLC ได้สารบริสุทธิ์ 1 ตัวมีน้ำหนักโมเลกุล 398 (ตรวจด้วย LC-MS) เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพที่ความเข้มข้น 0.01 และ 0.1 % กับหนอนใยผักทำให้หนอนตาย 96.67 และ 100% ที่ 3 วัน แต่เนื่องจากปริมาณที่แยกได้น้อยมากไม่เพียงพอที่จะนำมาใช้แสดงเป็นสารออกฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบกับหนอนใยผักวัยสอง พบว่าสารสกัดหยาบของ *S. burkillii* และ *S. phyllantha* เข้มข้น 1% ทำให้หนอนตาย 76.7% และ 36% ในเวลา 3 วัน และส่วนของ dichloromethane เข้มข้น 1% ทำให้หนอนตาย 93.3 % และ 53% จึงนำ *S. burkillii* มาใช้ในการทำเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปให้มีความเข้มข้น 1-2.5 % w/w แล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพพบว่า ผลิตภัณฑ์จาก *S. burkillii* (2.5% w/w) อัตรา 5 และ 10 มิลลิลิตรต่อเอทานอล 100 มิลลิลิตร ทำให้หนอนตาย 80 และ 100 % ใน 3 วัน จากการทดลองในแปลงเกษตรกรพบว่าสารสกัดหนอนตายหยาก (fraction 2.5%w/w, อุตรดิตถ์) อัตรา 100 และ 200 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร ทำให้ด้วงหมัดผักลดลง 68.32 % สารฟิโปรนิลทำให้ด้วงหมัดผักลดลง 79.35 % (เสริม และคณะ, 2551)

ตารางที่ 1. ปริมาณ Total alkaloids ในรากหนอนตายหยากจากแหล่งต่างๆ

แหล่งที่มา	ปริมาณ Total alkaloids (%)	R_f
อุตรดิตถ์ (*Stemona burkillii* Prain)	5.60	0.71
เชียงใหม่ (*Stemona burkillii* Prain)	4.05	0.71, 0.60
พิษณุโลก (*Stemona* spp.)	2.55	0.71
แพร่ (*Stemona* spp.)	4.30	0.78,0.66,0.57
นครราชสีมา (*Stemona* spp.)	6.60	0.76,0.71
ปราจีนบุรี (*Stemona* spp.)	2.45	0.71
กาญจนบุรี (*Stemona curtisii* Hook)	2.10	0.71,0.68
นครสวรรค์ (*Stemona* spp.)	6.05	0.77
ราชบุรี (*Stemona phyllantha* Gagnep)	1.45	0.65,0.29,0.08
ราชบุรี (*Stemona* spp.)	1.63	0.73,0.69
เพชรบุรี (*Stemona curtisii* Hook)	1.70	0.71
สงขลา (*Stemona curtisii* Hook)	2.00	0.63,0.53
ตรัง (*Stemona curtisii* Hook)	1.16	0.63,0.53

ว่านน้ำ

สกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าว่านน้ำด้วยวิธี hydrodistillation พบว่ามีน้ำมันหอมระเหย 1.35 % ซึ่งมีปริมาณสารสำคัญ เบต้า อาซาโรน 85.10% เมื่อสกัดด้วยเมทานอลและเอทานอลได้สารสกัดหยาบ 21.87% และ 8.73 % มีเบต้าอาซาโรน 8.43 % และ 22.86 % น้ำมันว่านน้ำ 1.0 % และสารสกัดหยาบจากเอทานอล 2.5 % มีประสิทธิภาพทำให้หนอนใยผักวัยสองตาย 100 % ใน 48 ชั่วโมง

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ปริมาณอัลคาลอยด์ทั้งหมดในรากหนอนตายหยากจากแหล่งต่างๆ มีปริมาณอยู่ระหว่าง 1.16 – 6.60 % พบอยู่ในส่วนของ dichloromethane นอกจากอัลคาลอยด์แล้วยังพบกรดไขมันที่อิ่มตัว (C16:0, C18:0) และไม่อิ่มตัว (C18:1, C18:2, C18:3) 4-methoxy benzoic acid, methyl *Stemona burkillii* Prain มี total alkaloids 20.01 % *Stemona phyllantha* Gagnep มี Total alkaloids 8.09 % ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบกับหนอนใยผักวัยสอง พบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจาก *S. burkillii* มีประสิทธิภาพกว่า *S. phyllantha* ผลิตภัณฑ์จาก *S. burkillii* อัตรา 5 และ 10 มิลลิลิตรต่อเอทานอล 100 มิลลิลิตร ทำให้หนอนตาย 80 และ 100 % ใน 3 วัน เนื่องจากตัวชี้วัดคุณภาพในผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากใช้ปริมาณอัลคาลอยด์เป็นตัวแสดงสารออกฤทธิ์ ซึ่งแต่ละพันธุ์สารอัลคาลอยด์แตกต่างกัน คุณภาพผลิตภัณฑ์อาจแตกต่างกัน ดังนั้นในผลิตภัณฑ์ควรระบุชนิดของหนอนตายหยากที่นำมาใช้

เหง้าว่านน้ำมีสารสำคัญคือ เบต้าอาซาโรน ปริมาณอาซาโรนในน้ำมันจากเหง้าว่านน้ำมีสูงกว่าในสารสกัดหยาบ สารสกัดหยาบจากเมทานอลและเอทานอล มีเบต้าอาซาโรน 8.43 % และ 22.86 % ในขณะที่น้ำมันมีสารสำคัญ เบต้าอาซาโรน 85.10% น้ำมันว่านน้ำ 1.0 % และสารสกัดหยาบจากเอทานอล 2.5 % ทำให้หนอนใยผักวัยสองตาย 100 % ใน 48 ชั่วโมง ซึ่งจะดำเนินการวิจัยสูตรผลิตภัณฑ์ว่านน้ำต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำไปใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยเฉพาะในการปลูกพืชอินทรีย์ เป็นการลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ลดต้นทุนการผลิต เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม
2. ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์และวิธีการใช้อย่างมีประสิทธิภาพให้กับเกษตรกรและผู้ประกอบการผลิตสารธรรมชาติจากพืชเพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรม
3. นำข้อมูลงานวิจัยไปบรรยายให้แก่เกษตรกร นักวิชาการและผู้สนใจ ในการฝึกอบรมเกษตรกรหลักสูตรการใช้สารสกัดเพื่อควบคุมศัตรูพืช จัดโดย สปผ. 8 เม.ย. 2552

เอกสารอ้างอิง

ธาวดี ผ่องลักษณ์. 2524. พืชที่ใช้ฆ่าและไล่แมลงใน ***วารสารวิทยาศาสตร์*** ปีที่ 35(8): 559-569.

มงคล แก้วเทพ. 2547.ว่านน้ำสมุนไพรฆ่าแมลง **จุลสารข้อมูลสมุนไพร** ปีที่ 21 ฉบับที่ 4 หน้า 8-11

มยุรา สุนย์วีระ. 2537. พืชสมุนไพรไทย: พืชฆ่าแมลง. ***รายงานการสัมมนาเรื่องการฟื้นฟูพืชสมุนไพรไทยเพื่อสังคมไทย,*** โรงแรมมารวยการ์เด้น กรุงเทพมหานคร, หน้า จ-1 ถึง จ-27.

วีระพล จันทร์สวรรค์, สุภาพร จิตตปาลพงศ์ และนงนุช จันทรราช. 2536. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากหนอนตายหยากต่อเห็บโค ***ว.เกษตรศาสตร์(วิทย์)*** 27: 336-340.

เสริม สีมา, รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา, พรรณีกา อัตตนนท์, อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ, อิสริยะ สืบพันธุ์ดี และวัชรพงศ์ เมธีทวีพิทักษ์. 2551. การทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูคะน้า . ***รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร*** กรมวิชาการเกษตร ณ โรงแรมฮอลิเดย์ อินน์ รีสอร์ท รีเจ้นท์ บีช เพชรบุรี หน้า 12-18.

Bhuvaneswari, R.and Balasundaram, C.; 2009. “Anti-bacterial activity of *Acorus calamus* and some of its derivatives against fish pathogen (*Aeromous hydrophila*)” ***J. of Medicinal Plants Research***, v.3 (7), p.538-547.

Brem, B., Seger, C., Pacher, T., Hofer, O., Vajrodaya, S. and Greger, H. 2002. Feeding Deterrence and Contact Toxicity of *Stemona* Alkaloids-A Source of Potent Natural Insecticides. **J. Agric. Food Chem**. 50:6383-6388.

Greger, H. 2006. Structure Relationships, Distribution and Biological Activities of *Stemona* Alkaloids. *Planta Med.* 72: 99-113.

Jacobson, M. 1989. Botanical Pesticides: Past, Present, and Future *In* Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series 387, American Chemical Society, Washington D. C., 1989: pp. 1-10.

Kaltenegger, E., Brem, B., Mereiter, K., Kalchhauser, H., Kahlig, H., Hofer, O., Vajrodaya, S. and Greger, H. 2003. Insecticidal pyrido[1,2-α]azepine alkaloids and related derivatives from *Stemona* species. ***Phytochemistry.*** 63: 803-816.

Kim, S.; Park, C. and Ohh, M. 2003a. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasiderma serricorne* ***Journal of Stored Products Research*** 39:11-19.

Kim, S.; Roh, J.; Kim, D. Lee, H. and Ahn, Y. 2003b. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Stiophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis* ***Journal of Stored Products Research*** 39:293-303.

Lin, W., Ye,Y. and Xu, R.S. 1992. Chemical Studies on New *Stemona* Alkaloids, IV Studies on New Alkaloids from *Stemona tuberose*. ***J. Nat. Prod.*** 551 (5): 571-576.

Lluche, 2009. "Calamus Oils" Material Safety Data Sheet, available on http://www.Lluche.com/eng/pdf/00408QQQL IN.pdf. (2009).

Natori, S., Ikekawa, N. and Suziki, M. 1981. Extraction and Isolation of Biological Active Compounds. ***In Advance in Natural Products Chemistry*** John Wiley&Sons, New York: chapter 23.

Nawamaki, K. and Kuroyanagi, M. 1996. Sesquiterpenods from *Acorus calamus* as Ggermination Inhibitors ***Phytochemistry*** 43(6) :1175-1182.

Pacher, T., Seger, C., Engelmeier, D. Vajrodaya, S., Hofer, O.and Greger, H. 2002. Antifungal Stilbenoids from Stemona collinsae. ***J. Nat. Prod***. 65: 820-827.

Perrett, S.; Whitfield, P.J.; 2006. "Anthelmintic and Pesticidal activity of *Acorus gramineus* (Araceae) is associated with Phenylpropanoids Asarone" ***Phytotherapy Research,*** v.9 (6), p. 405-409.

Svendsen, A.B. and Verpoorte, R. 1983. Chromatography of Alkaloids Part A: Thin –layer Chromatography. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam: Pp. 3-57.

Thacker, J.R.M., 2009. "An Introduction to Arthropod Pest Control" Dept. of Biological Science, Universityof Paisley, UK, available on http: //assets.cambridge.org/97805215/61068/sample /978052156068

Xu, R.S., Lu, Y.J., Chu, J.H., Iwashita, T., Naoki,H., Naya, T. and Nakanishi, K. 1982. Study on some new *Stemona* alkaloids, A diagnostically useful 1H NMR line-broadening effect. ***Tetrahedron.*** 38(17): 2667-2670.

Zhao, W.M., Quin, G.W., Ye, Y., Xu, R.S. and Le, X.F. 1995. Bibenzyl from *Stemona tuberose. Phytochemistry.* 38(3): 711-713.

การศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารธรรมชาติ

Study on Natural Pesticide Products Qualities on the Market

รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา อิสริยะ สืบพันธุ์ดี ธิติยาภรณ์ ประยูรมหิศร
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การเฝ้าระวังคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารธรรมชาติให้ได้มาตรฐาน โดยตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์สารธรรมชาติที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด ในภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศไทยในปี พ.ศ.2552-2553 จำนวน 214 ตัวอย่าง โดยสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากสารธรรมชาติที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เป็นตัวอย่างจากภาคเหนือ 51 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 55 ตัวอย่าง ภาคตะวันออก 12 ตัวอย่าง ภาคกลาง 77 ตัวอย่างและภาคใต้ 19 ตัวอย่าง เป็นสารสกัดจากพืชชนิดเดียว 82 ตัวอย่าง (38.32% ของตัวอย่างทั้งหมด) ได้แก่สะเดา 68 ตัวอย่าง หางไหล 4 ตัวอย่าง หนอนตายหยาก 3 ตัวอย่าง กากชา 3 ตัวอย่าง ใบยาสูบ 1 ตัวอย่าง ตะไคร้หอมบด 1 ตัวอย่าง ขมิ้นชัน 1 ตัวอย่าง และเปลือกมังคุด 1 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างพืชสมุนไพรหลายชนิดผสมกันในหนึ่งผลิตภัณฑ์ 132 ตัวอย่าง (61.68% ของตัวอย่างทั้งหมด) ผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาไม่มีตัวอย่างใดที่มีปริมาณแอซาดิแรคติน (azadirachtin) ตามที่ระบุในฉลาก ปริมาณแอซาดิแรคติน ในผลิตภัณฑ์สารสกัดที่มีสะเดาเป็นส่วนประกอบพบว่าอยู่ระหว่าง 0 - 0.05 % w/v ตรวจไม่พบสารโรติโนน (rotenone) ในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากหางไหล ตรวจพบสารซาโปนิน (saponin) ในกากชามีปริมาณเฉลี่ย 13.15 % w/w ไม่พบสารออกฤทธิ์ ซิโทรเนลลัล (citronellal) ซิโทรเนลลอล (citronellol) และเจอรานิออล (geraniol) ในตัวอย่างตะไคร้หอมบด

คำนำ

เนื่องจากความจำเป็นในการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ทำให้มีการนำเข้าสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นจำนวนมาก และต่อมาได้พบว่าสารเคมีสังเคราะห์เหล่านี้ ก่อให้เกิดปัญหาต่าง ๆ อย่างมาก เช่น การตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร การปนเปื้อนในอากาศและแหล่งน้ำ ปัจจุบันมีการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อใช้ควบคุมศัตรูพืชทดแทนสารเคมี (Jacobson, 1989) เพิ่มขึ้น และผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป เนื่องจากสารสกัดธรรมชาติที่ใช้ด้านกำจัดศัตรูพืชไม่มีอันตรายต่อผู้ใช้และผู้บริโภค ไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและศัตรูธรรมชาติซึ่งเป็นการเกษตรยั่งยืนและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม จากข้อมูลการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ในปี พ.ศ. 2551 ประเทศไทยมีการนำเข้าสารชีวินทรีย์กำจัดศัตรูพืช (Bio-pesticides) 61.6 ตัน ลดลงจากปี พ.ศ. 2550 (142.5 ตัน) จึงเห็นได้ว่าแนวโน้มการนำเข้าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากธรรมชาติลดลงอาจเนื่องมาจากเกษตรกรผลิตสารสกัดธรรมชาติใช้เอง จากการสำรวจผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช (สะเดา) ที่มีจำหน่ายใน

ประเทศ ตรวจพบความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ต่ำมาก ไม่ตรงตามฉลาก ทำให้ประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร (Promsattha, 2003) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกษตรกรขาดความเชื่อมั่นว่าสารสกัดจากธรรมชาติมีฤทธิ์สามารถใช้ในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชได้ดี สารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ในพืชสะเดาคือ azadirachtin (Klaus,1995) หางไหลคือ rotenone (Trease and Evan, 1985) ในตะไคร้หอมได้แก่ citronellal, citronellol, geraniol และอื่นๆ (อารมณ์ และคณะ, 2537) มีสารสกัดจากพืชหลายชนิดจำหน่ายในท้องตลาดและไม่ขึ้นทะเบียนหรือแจ้งปริมาณสารออกฤทธิ์ ดังนั้นจึงต้องมีการสำรวจรวบรวมข้อมูลชนิดของพืชที่นำมาผลิตเป็นสารสกัดในผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดและตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ เพื่อเป็นข้อมูลแสดงแนวโน้มการใช้สารสกัดจากพืชทดแทน/ลดการใช้สารเคมี เป็นแนวทางในการกำหนดค่าความเข้มข้นมาตรฐานของสารที่สกัดได้จากธรรมชาติและเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ใช้ให้มีความเชื่อมั่นในคุณภาพของผลิตภัณฑ์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง HPLC (High performance liquid chromatography)
2. เครื่อง GC-MS (Gas chromatography-mass spectrometry)
3. เครื่อง Densitometer
4. เครื่องหยดสารอัตโนมัติบนแผ่น TLC (Thin layer chromatography Autospot)
5. เครื่องกวนตัวอย่าง, ชุด reflux
6. สารมาตรฐาน ได้แก่ azadirachtin, rotenone, saponin, citronellal, citronellol และ geraniol
7. ตัวทำละลาย HPLC grade ได้แก่ น้ำ, methanol, acetonitrile ตัวทำละลาย AR grade ได้แก่ ethanol, methanol, dichloromethane และ sodium sulfate anhydrous
8. เครื่องแก้วและวัสดุสำหรับการทดลอง เช่น beaker, กรวยกรอง, กระดาษกรอง เป็นต้น

วิธีการ ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากสารธรรมชาติจากร้านค้าสารเคมีเกษตรเป็นตัวอย่างจากภาคเหนือได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน พิษณุโลก น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ สุโขทัย กำแพงเพชร 51 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้แก่จังหวัด ขอนแก่น อุดรธานี หนองคาย นครพนม กาฬสินธุ์ เพชรบูรณ์ เลย นครราชสีมา 55 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกได้แก่ จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด 12 ตัวอย่าง ภาคกลางได้แก่จังหวัด กรุงเทพ นนทบุรี อ่างทอง อุทัยธานี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี สิงห์บุรี นครสวรรค์ ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครปฐม 77 ตัวอย่างและภาคใต้ ได้แก่จังหวัด ระนอง สุราษฎร์ธานี สงขลา นครศรีธรรมราช ชุมพร 19 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 214 ตัวอย่าง เป็นสารสกัดจากพืชชนิดเดียว 82 ตัวอย่าง (38.32% ของตัวอย่างทั้งหมด) ได้แก่สะเดา 68 ตัวอย่าง หางไหล 4 ตัวอย่าง หนอนตายหยาก 3 ตัวอย่าง กากชา 3 ตัวอย่าง ใบยาสูบ 1 ตัวอย่าง ตะไคร้หอมบด 1 ตัวอย่าง ขมิ้นชัน 1 ตัวอย่าง และ

เปลือกมังคุด 1 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างพืชสมุนไพรหลายชนิดผสมกันในหนึ่งผลิตภัณฑ์ 132 ตัวอย่าง (61.68% ของตัวอย่างทั้งหมด)

2. รวบรวมข้อมูลตัวอย่างผลิตภัณฑ์ธรรมชาติว่าสกัดมาจากพืชชนิดใดและข้อมูลอื่นๆ เช่น ฉลาก เลขทะเบียนผลิต วันที่ผลิต วันหมดอายุ การใช้

3. วิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ตามชนิดพืชที่ระบุในผลิตภัณฑ์

ตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ azadiractin ในผลิตภัณฑ์สะเดาด้วยวิธี reversed phase HPLC, mobile phase acetronitrile : น้ำ (40:60) มีdetector ชนิด DAD ที่ความยาวคลื่น (wavelength) 213 nm

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณโรติโนนในผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี reversed phase HPLC, mobile phase methanol: น้ำ (75:25) มีdetector ชนิด DAD ที่ความยาวคลื่น (wavelength) 290 nm

ตรวจวิเคราะห์ซาโปนินในกากชาโดย สกัดซาโปนินจากกากชาโดยการ Reflux ด้วย 50 % i-propanol เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปแยกสารด้วยวิธี TLC โดยหยด (spot) สารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง ลงบนแผ่น TLC ลงในแผ่นเดียวกันด้วยเครื่องหยดตัวอย่างอัตโนมัติ (Auto TLC spot) ใช้ Butanol: EtOH: H_2O: HOAc อัตราส่วน 108:36:27:2 เป็น developing solvent และนำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วย Densitometer ที่ความยาวคลื่น 535 nm

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ citronellal, citronellol และ geraniol ในผลิตภัณฑ์ตะไคร้หอม โดยสกัดด้วย dichloromethane แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปแยกและวิเคราะห์สารด้วยเครื่อง GC-MS

ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากสารธรรมชาติที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ในปี 2552-2553 จำนวน 214 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างจากภาคเหนือ 51 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 55 ตัวอย่าง ภาคตะวันออก 12 ตัวอย่าง ภาคกลาง 77 ตัวอย่างและภาคใต้ 19 ตัวอย่าง เป็นสารสกัดจากพืชชนิดเดียว 82 ตัวอย่าง (38.32% ของตัวอย่างทั้งหมด) ได้แก่สะเดา 68 ตัวอย่าง หางไหล 4 ตัวอย่าง หนอนตายหยาก 3 ตัวอย่าง กากชา 3 ตัวอย่าง ใบยาสูบ 1 ตัวอย่าง ตะไคร้หอมบด 1 ตัวอย่าง ขมิ้นชัน 1 ตัวอย่าง และเปลือกมังคุด 1 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างพืชสมุนไพรหลายชนิดผสมกันในหนึ่งผลิตภัณฑ์ 132 ตัวอย่าง (61.68% ของตัวอย่างทั้งหมด)

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ azadiractin ในผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาไม่มีตัวอย่างใดที่มีปริมาณ azadirachtin ตามที่ระบุในฉลาก ปริมาณ azadirachtin ในผลิตภัณฑ์สารสกัดที่มีสะเดาเป็นส่วนประกอบพบว่าอยู่ระหว่าง 0 - 0.05 % w/v ตรวจไม่พบสารโรติโนนในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากหางไหล ตรวจพบซาโปนินเฉลี่ยในกากชา 13.15 % w/w ไม่พบสารออกฤทธิ์ citronellal, citronellol และ geraniol ในตัวอย่างตะไคร้หอมบด

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากสารธรรมชาติพบว่า ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ไม่ระบุปริมาณสารออกฤทธิ์ในส่วนของผลิตภัณฑ์ที่ระบุปริมาณสารออกฤทธิ์ตรวจไม่พบปริมาณตรงตามที่ระบุ ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์สารสกัดธรรมชาติมีคุณสมบัติในการสลายตัวค่อนข้างเร็วเมื่อเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิสูง ถูกแสงและอากาศ ดังนั้นควรเก็บผลิตภัณฑ์สารธรรมชาติที่สกัดจากพืชในที่เย็น ไม่ให้ถูกความร้อนและแสง ไม่ควรใช้ผลิตภัณฑ์ที่เกินวันหมดอายุ หรือผลิตไว้เกิน 1 ปี

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เป็นข้อมูลให้กับสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรในการตรวจติดตามคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากสารธรรมชาติที่ใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชภายหลังการขึ้นทะเบียน
2. เป็นข้อมูลสำหรับการพิจารณาการขึ้นทะเบียนสารสกัดจากพืช

เอกสารอ้างอิง

อารมณ์ แสงวนิชย์, ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี, เศรษฐพงศ์ เลขะวัฒนะ และ ทวีพงศ์ สุวรรณโร 2537. สมุนไพรพื้นบ้านเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืช เอกสารวิชาการ กรมส่งเสริมการเกษตร, หน้า 18-20.

Jacobson, M. 1989. Botanical Pesticides: Past, Present, and Future *In Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series 387*, American Chemical Sociaty, Washington,DC., 1989: Pp. 1-10.

Klaus,W. 1995 Biologically Active Ingredents *In The Neem Tree Source of Unique Natural Productsfor Integrated Pest Management, Medicine, industry and Other Purposes*: Schmutterer, H.,Ed., VCH Verlaggesellschaft mbH, Weinheim, Germany Pp. 372-373.

Promsattha, R. 2003. Production and Application of Bio-botanical Neem Based Pesticides in Thailand. *In Country paper of Workshop on Production and Application of Bio-botanical Neem Based Pesticides.* November 10-14, 2003, Maruay Garden Hotel, Bangkok, Thailand. 4p.

Trease G.E. and Evan, W.C. 1985. Pesticides of Natural Origin and Antibiotics. *In Pharmarcognosy.* The Alder Press. Oxford, Great Britain, Pp. 679-711.

การปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์สะเดา

Improvement of Neem Formulations Quality

รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา อิสริยะ สืบพันธุ์ดี วิทยา ลีลากุด เศรษฐพงศ์ นุ้ยเมือง
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

สารออกฤทธิ์ที่สำคัญในผลิตภัณฑ์สะเดาคือ azadirachtin เป็นสารบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ azadirachtin สลายตัวได้ง่าย เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์จึงเติมสารช่วยลดการสลายตัวได้แก่ curcumin อัตรา 2 กรัม/100 ซีซี สารสกัดจากขมิ้นชัน 5 กรัม/100 ซีซี เปลือกมังคุดบดละเอียด อัตรา 2 กรัม/ 100 ซีซีและ 5 กรัม/100 ซีซี Propylene glycol อัตรา 10 ซีซี/100 ซีซี ในผลิตภัณฑ์สะเดาชนิดของเหลวละลายน้ำ พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชัน เปลือกมังคุดบดละเอียดและ propylene glycol ไม่สามารถลดการสลายตัวของ azadirachtin เมื่อเก็บที่ภายนอกห้องปรับอากาศได้ แต่ผลิตภัณฑ์สะเดาที่เติม curcumin เมื่อเก็บไว้นอกห้องปรับอากาศ 12 เดือน ยังพบแอซาดิแรคติน 0.05 % w/vในขณะที่การเติมสารอื่นๆตรวจไม่พบ azadirachtin การผลิตผลิตภัณฑ์สะเดาผงด้วยวิธีทำให้แห้งแบบพ่นฝอยโดยเครื่อง spray dryer ใช้ chitosan ใน 1% acetic acid และ lactose 10 % เป็นตัวทำละลายก่อนเข้าเครื่อง spray dryer พบว่าปริมาณ azadirachtin ลดลงจากสารเริ่มต้นมากเนื่องจากต้องใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิต ผลการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สะเดาที่เติมสารป้องกันการสลายตัวกับหนอนใยผักวัย 2 พบว่าผลิตภัณฑ์สะเดาที่เติมสารสกัดขมิ้นชัน อัตรา 5 กรัม/100 ซีซี เปลือกมังคุดบดละเอียดอัตรา 5 กรัม/ 100 ซีซี ที่ความเข้มข้น 40 พีพีเอ็ม และ propylene glycol 10 ซีซี /100 ซีซี เข้มข้น 35 พีพีเอ็มทำให้หนอนตายภายใน 72 ชั่วโมง 96.7, 93.1 และ 90 % ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์สะเดาที่ไม่ได้เติมสาร ทำให้หนอนใยผักตาย 86.7 %

คำนำ

ปัจจุบันได้มีการนำสารสกัดจากพืช (botanical pesticides) มาใช้ป้องกันและกำจัดศัตรูพืชทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ (Jacobson, 1989) เพิ่มขึ้น เนื่องจากสารสกัดธรรมชาติที่ใช้ไม่มีอันตรายต่อผู้ใช้และผู้บริโภค ไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและศัตรูธรรมชาติ ซึ่งเป็นการเกษตรที่ยั่งยืนและอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม มีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปเพื่อสะดวกต่อการใช้ ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากสะเดาเป็นผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชที่มีผู้นิยมใช้กันมากในขณะนี้ สารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สะเดาคือ azadirachtin (Klaus, 1995) จากการสำรวจผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช (สะเดา) ที่มีจำหน่ายในประเทศ ตรวจพบความเข้มข้นของ

07-01-49-05-01-01-14-52

สารออกฤทธิ์ต่ำมากไม่ตรงตามฉลาก ทำให้ประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชได้ผลดีเท่าที่ควร (Promsattha, 2003) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกษตรกรขาดความเชื่อมั่นว่าสารสกัดจากธรรมชาติมีฤทธิ์ในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช

ผลิตภัณฑ์สารสกัดธรรมชาติมีคุณสมบัติในการสลายตัวค่อนข้างเร็ว เมื่อเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิสูง ถูกแสงและอากาศ การสลายตัวของสาร azadirachtin ในผลิตภัณฑ์สะเดาพบว่า ถ้าความเข้มข้นของสาร azadirachtin ในผลิตภัณฑ์สะเดาสูงกว่า 0.9 % จะสลายตัวเร็วในช่วง 0-4 เดือนแรกที่ผลิต ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.5 % จะสลายตัวช้า (กรมวิชาการเกษตร, 2541) การสลายตัวของ azadirachtin A และ B ในผลิตภัณฑ์สะเดาขึ้นกับปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์ อุณหภูมิและแสง azadirachtin ในผลิตภัณฑ์สะเดาที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตร มีค่าครึ่งชีวิต (half-life) 112 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 30 °C และเมื่อถูกแสง (254 nm) นาน 6 ชั่วโมง สลายตัว 11 % (Promsattha, 2003) เพื่อลดการสลายตัวของสารสำคัญ azadirachtin ในผลิตภัณฑ์สะเดา จึงต้องพัฒนาคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของผลิตภัณฑ์สะเดาเพื่อให้สารสำคัญมีความเสถียร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ 1.ขวดบรรจุภัณฑ์สีชาขนาด 150 มิลลิลิตร

2. Volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร

3. Acetonitrile, methanol และ น้ำ HPLC grade

4. สารมาตรฐาน azadirachtin

5. เครื่องแก้วและสารเคมีอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง

6. เครื่อง HPLC ที่มีตัวตรวจวัดชนิด DAD

7. เครื่องทำให้แห้งแบบพ่นฝอย (Lab Plant Spray dryer SD-05)

วิธีการ 1. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์สะเดาชนิดของเหลวละลายน้ำมาตรวจสอบหาสารสำคัญ azadirachtin แล้วนำมา 100 ซีซี บรรจุในขวดสีชาขนาด 150 ซีซี เติมสารเพื่อป้องกันการสลายตัวได้แก่

1.1 สาร curcumin (AR grade) อัตรา 2 กรัม/100 ซีซี และสารสกัดจากขมิ้นชัน 5 กรัม/100 ซีซี

1.2 เปลือกมังคุดบดละเอียด อัตรา 2 กรัม/ 100 ซีซีและ 5 กรัม/100 ซีซี

1.3 Propylene glycol อัตรา 10 ซีซี/100 ซีซี

จำนวน 5 ซ้ำต่อวิธี เก็บตัวอย่างไว้ในห้องปรับอากาศ (-24 °C) และนอกห้องปรับอากาศ (-30°C) ตรวจหาปริมาณ azadirachtin ที่ 6 เดือนและ 12 เดือน ด้วยวิธี HPLC ซึ่งมีตัวตรวจวัดชนิด DAD ที่ 214 nm, acetonitrile:น้ำ (40:60) เป็น mobile phase

2. ผลิตผลิตภัณฑ์สะเดาผงด้วยวิธีทำให้แห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้เครื่อง spray dryer

สกัดสาร azadirachtin จากเมล็ดสะเดาตามวิธีของ Schroeder and Nakanishi (1987) เพื่อให้ได้สารสกัดที่มี azadirachtin สูง นำสารสกัดที่ได้ไปทำเป็นผลิตภัณฑ์สะเดาผง โดยใช้ chitosan 1% acetic acid และ lactose 10 % เป็นตัวทำละลายก่อนเข้าเครื่อง spray dryer โดยหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง

พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดคือ อุณหภูมิของ chamber 120 °C แรงดันของปั๊ม 10 air flow 24 ml/min exhaust temp. 60°C นำผลิตภัณฑ์สะเดาผงที่ได้ไปหาปริมาณ azadirachtin

3. ทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สะเดาที่เติมสารป้องกันการสลายตัวกับหนอนใยผักวัย 2 เพื่อตรวจสอบว่าสารที่เติมมีผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนใยผักหรือไม่ โดยดูดสารละลายของผลิตภัณฑ์แต่ละกรรมวิธีมา 0.5 ซีซี ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย เอทานอล 50% แล้วนำไปทดสอบกับหนอนใยผักด้วยวิธี Leaf Disc Feeding Test

ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเติมสาร curcumin อัตรา 2 กรัม/100 ซีซี สารสกัดจากขมิ้นชัน อัตรา 5 กรัม/100 ซีซี เปลือกมังคุดบดละเอียด อัตรา 2 กรัม/ 100 ซีซี และ 5 กรัม/100 ซีซี และ Propylene glycol อัตรา 10 ซีซี/100 ซีซี ลงในผลิตภัณฑ์สะเดาชนิดของเหลวละลายน้ำที่มีปริมาณ azadirachtin 0.10 %w/v ไม่สามารถลดการสลายตัวของ azadirachtin เมื่อเก็บที่ภายนอกห้องปรับอากาศ และไม่มีความแตกต่างในการลดการสลายตัว ยกเว้นสารสกัดสะเดาที่เติม curcumin (AR grade) เมื่อทิ้งไว้นอกห้องปรับอากาศ 12 เดือน ยังพบแอซาดิแรคติน 0.05 % w/v ซึ่งปริมาณลดลง 50% ในขณะที่การเติมสารอื่นๆ ตรวจไม่พบ azadirachtin (ตารางที่ 1) ทั้งนี้ อาจเนื่องจาก curcumin เป็นสารต้านการเติมออกซิเจน (Jayaprakasha *et al.*, 2006) จึงสามารถลดการสลายตัวที่เกิดจากปฏิกิริยาที่มีออกซิเจนร่วมด้วย ผลิตภัณฑ์ที่เก็บในห้องปรับอากาศ อุณหภูมิประมาณ 24 °C ปริมาณ azadirachtin ลดลงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิจึงมีผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 1. ปริมาณ azadirachtin (%w/v) ในสารสกัดที่เก็บในห้องปรับอากาศ (-24 °C) และนอกห้องปรับอากาศ (-30 °C)

ผลิตภัณฑ์	0 เดือน	6 เดือน		12 เดือน	
		ในห้องปรับอากาศ	นอกห้องปรับอากาศ	ในห้องปรับอากาศ	นอกห้องปรับอากาศ
สารสกัดสะเดา	0.10	0.08	0.06	0.07	0.01
สารสกัดสะเดา+curcumin อัตรา 2 กรัม/100 ซีซี	0.10	0.08	0.06	0.07	0.05
สารสกัดสะเดา+ สารสกัดขมิ้นชัน อัตรา 5 กรัม/100 ซีซี	0.10	0.08	0.06	0.07	ไม่พบ
สารสกัดสะเดา+เปลือกมังคุด	0.10	0.08	0.06	0.07	ไม่พบ

ผลิตภัณฑ์	0 เดือน	6 เดือน		12 เดือน	
		ในห้องปรับอากาศ	นอกห้องปรับอากาศ	ในห้องปรับอากาศ	นอกห้องปรับอากาศ
อัตรา 2 กรัม/ 100 ซีซี สารสกัดสะเดา+เปลือกมังคุด	0.10	0.08	0.06	0.08	ไม่พบ
อัตรา 5 กรัม/ 100 ซีซี Propylene glycol	0.10	0.07	0.06	0.07	ไม่พบ

การผลิตผลิตภัณฑ์สะเดาผงด้วยวิธีทำให้แห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้เครื่อง spray dryer ใช้ chitosan ใน 1% acetic acid และ lactose 10 % เป็นตัวทำละลายก่อนเข้าเครื่อง spray dryer พบว่าปริมาณ azadirachtin ลดลงจากสารเริ่มต้นมาก เมื่อใช้ chitosan ใน 1% acetic acid ปริมาณเริ่มต้นของ azadirachtin 4.73 % w/w เมื่อผ่านเครื่อง spray dryer สะเดาผงที่ได้มีปริมาณ azadirachtin 0.24 %w/w เมื่อใช้ lactose 10% เป็นตัวทำละลาย ปริมาณ azadirachtin เริ่มต้น 1.08 % w/w เมื่อผ่านเครื่อง spray dryer สะเดาผงที่ได้มีปริมาณ azadirachtin 0.01 %w/w ทั้งนี้ เนื่องจากอุณหภูมิใน chamber ของเครื่อง spray dryer สูง 120 °C จึงทำให้ azadirachtin สลายตัว สะเดาผงที่มี chitosan เป็นส่วนประกอบ ละลายน้ำได้น้อยมาก ไม่สามารถนำไปใช้โดยตรง (ละลายน้ำ) ได้

ผลการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สะเดาที่เติมสารป้องกันการสลายตัวกับหนอนใยผักวัย 2 พบว่าผลิตภัณฑ์สะเดาที่เติมสารสกัดขมิ้นชัน อัตรา 5 กรัม/100 ซีซี เปลือกมังคุดบดละเอียด อัตรา 5 กรัม/100 ซีซี ที่ความเข้มข้น 40 พีพีเอ็ม และ propylene glycol ที่ความเข้มข้น 35 พีพีเอ็มทำให้หนอนตายภายใน 72 ชั่วโมง 96.7, 93.1 และ 90 % ตามลำดับ สารสกัดสะเดาที่ไม่ได้เติมสาร ทำให้หนอนใยผักตาย 86.7 % (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2. เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักวัย 2 (*Plutella xylostella*) เมื่อทดสอบโดยวิธี Leaf Disc Feeding Test

ผลิตภัณฑ์	% การตายของหนอนใยผัก	% azadirachtin
สารสกัดสะเดา	86.7	0.08
สารสกัดสะเดา+ curcumin อัตรา 2 กรัม/100 ซีซี	86.7	0.08
สารสกัดสะเดา+ สารสกัดขมิ้นชัน อัตรา 5 กรัม/100 ซีซี	96.7	0.08
สารสกัดสะเดา+เปลือกมังคุด อัตรา 2 กรัม/100 ซีซี	86.7	0.08
สารสกัดสะเดา+เปลือกมังคุด อัตรา 5 กรัม/100 ซีซี	93.1	0.08
Propylene glycol	90	0.07

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ความคงตัวของสาร azadirachtin ขึ้นกับอุณหภูมิของการเก็บรักษา ดังนั้นต้องเก็บในที่เย็นหรือห้องปรับอากาศ สาร curcumin สามารถช่วยลดการสลายตัวของ azadirachtin ได้มากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชัน เปลือกมังคุดบดละเอียดและ propylene glycol สะเดาผงที่ผลิตโดยวิธีพ่นฝอยมีการสูญเสียสาร azadirachtin มากในกระบวนการผลิตเนื่องจากต้องใช้อุณหภูมิสูง สารสกัดจากขมิ้นชัน เปลือกมังคุดบดและ propylene glycol มีผลทำให้หนอนใยผักวัย 2 ตายเพิ่มขึ้นแต่ไม่สามารถลดการสลายตัวของ azadirachtin

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำไปใช้เป็นข้อมูลในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สะเดาเพื่อรักษาคุณภาพให้คงที่

เอกสารอ้างอิง

สำนักวิจัยและพัฒนาการผลิตสารธรรมชาติ 2541. การประชุมวิชาการประจำปี 2541 กรมวิชาการเกษตร ณ อาคารสารนิเทศ 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 25-29 เมษายน 2541, 16 หน้า.

Jacobson, M. 1989. Botanical Pesticides: Past, Present, and Future ***In Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series 387***, American Chemical Society, Washington D. C., 1989: Pp. 1-10.

Jayaprakasha, G.K., Rao, L.J. and Sakariah, K.K. 2006. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. ***Food Chemistry***. 98:720-724.

Klaus, W. 1995. Biological Active Ingredients ***In The Neem Tree Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes***: Schmutterer, H., Ed., VCH Verlaggesellschaft mbH, Weinheim, Germany. pp 372-373.

Promsattha, R. 2003. Production and Application of Bio-botanical Neem Based Pesticides in Thailand. ***In Country paper of Workshop on Production and Application of Bio-botanical Neem Based Pesticides***. November 10-14, 2003, Maruay Garden Hotel, Bangkok, Thailand. 4 p.

Schroeder, D.R. and K. Nakanishi. 1987. A Simplified Isolation Procedure for Azadirachtin. ***Journal of Natural Products***. Vol. 50(2) : 241-244.

วิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในถั่วเหลืองฝักสดเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง [MRLs] ครั้งที่ 1 และ 2

Residue Trial of Chlorpyrifos in Vegetable Soybean to Establish Maximum Residue Limit [MRLs] Trial 1 and 2

ลมัย ชูเกียรติวัฒนา *ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร*

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การศึกษาการสลายตัวของคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดครั้งที่ 1 และ 2 ได้ทำแปลงทดลองที่อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี ระหว่างเดือนมกราคมถึงมีนาคม 2553 และที่อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึง สิงหาคม 2553 ตามลำดับ โดยทำการทดลองแบบ Supervised Trial มี 2 การทดลอง คือแปลงควบคุมและแปลงอัตราแนะนำ (พ่นคลอร์ไพริฟอสชนิด 40% W/V EC อัตรา 50 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตรซึ่งเท่ากับ 100 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อน้ำ100 ลิตรต่อไร่) แปลงอัตราแนะนำมี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธีซึ่งได้แก่ ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดมาวิเคราะห์สารพิษตกค้าง (0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันภายหลังการพ่นคลอร์ไพริฟอสครั้งสุดท้าย) เริ่มพ่นคลอร์ไพริฟอสครั้งแรกเมื่อถั่วเริ่มติดฝักและพ่นทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้สารในอัตราแนะนำถั่วเหลืองฝักสดมีคลอร์ไพริฟอสตกค้าง 4.63, 1.26, 0.71, 0.80, 0.55, 0.37 และ 0.10 มก./กก. ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นครั้งสุดท้ายตามลำดับ ส่วนแปลงทดลองครั้งที่ 2 พบว่าเมื่อใช้สารในอัตราแนะนำถั่วเหลืองฝักสดมีคลอร์ไพริฟอสตกค้าง 5.87, 5.83, 2.11, 1.04, 0.73, 0.58 และ 0.31 มก./กก. ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10และ 14 วันภายหลังการพ่นครั้งสุดท้ายตามลำดับ แต่เนื่องจากค่า Codex MRLs และ Japan MRLs ของคลอร์ไพริฟอสใน peas (pod and immature seeds) กำหนดไว้เท่ากันคือ 0.01 มก./กก ดังนั้น ถ้าเกษตรกรใช้คลอร์ไพริฟอสกับถั่วเหลืองฝักสดตามคำแนะนำของฉลาก ก็ยังคงพบสารตกค้างคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดเกินค่า MRLs เพราะที่ระยะ 14 วัน ภายหลังการพ่นครั้งสุดท้าย ถั่วเหลืองฝักสดมีคลอร์ไพริฟอสตกค้าง 0.10-0.31 มก./กก. ดังนั้นการใช้คลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดควรเว้นระยะก่อนการเก็บเกี่ยวมากกว่า 14 วัน เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่เป็นอุปสรรคในการส่งออก และจากการเก็บตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 20 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในทุกตัวอย่าง

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร โทร.02-5793577

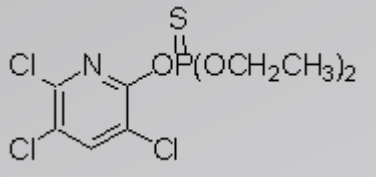
คำนำ

ถั่วเหลืองฝักสด (vegetable soybean) คือ ถั่วเหลืองที่นำมาบริโภคก่อนที่เมล็ดจะแก่โดยทั่วไปจะเรียกว่าถั่วแระ ถั่วเหลืองฝักสดเป็นที่นิยมบริโภคกันทั่วไปโดยเฉพาะอย่างยิ่งชาวญี่ปุ่น ซึ่งจะรับประทานเป็นกับแกล้มสำหรับเบียร์หรือไวน์ ญี่ปุ่นนำเข้าถั่วเหลืองฝักสดแช่แข็งจากไต้หวัน ไทยและจีน (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2535) ในช่วงปี พ.ศ.2543-2546 ญี่ปุ่นนำเข้าถั่วเหลืองฝักสดปริมาณ 60,000-77,000 ตันต่อปี ในปี พ.ศ. 2546 ญี่ปุ่นนำเข้าถั่วเหลืองฝักสดจากไทยประมาณ 11,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 700 ล้านบาท เนื่องจากญี่ปุ่นบริโภคถั่วเหลืองฝักสดมากเป็นอันดับหนึ่งจึงเป็นผู้กำหนดมาตรฐานคุณภาพไว้โดยดูลักษณะภายนอกสวยงามเป็นอันดับแรก รสชาดรองลงมา ลักษณะที่ตลาดญี่ปุ่นต้องการ คือ ฝักมีขนาดใหญ่ความยาวไม่น้อยกว่า 4.5 ซม มี 2-3 เมล็ดต่อฝัก ฝักมีสีเขียวสด ไม่มีรอยตำหนิใด ๆ ขนบนฝักมีสีขาวหรือสีเทา (กองส่งเสริมพืชไร่นา,2535) เมล็ดพันธุ์ที่ปลูกเพื่อส่งออกยังต้องนำเข้าจากไต้หวันและญี่ปุ่น พันธุ์ที่นำเข้าถ้าสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมเมืองไทยก็จะมีการขยายพันธุ์เพื่อใช้ต่อไป สำหรับพันธุ์ที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำและส่งเสริมให้ปลูกเพื่อบริโภคในประเทศได้แก่พันธุ์เชียงใหม่ 1 ถั่วเหลืองฝักสดสามารถปลูกได้ทุกฤดูกาล ถ้ามีแหล่งน้ำเพียงพอ แต่ช่วงที่เหมาะสมอยู่ในช่วงเดือนตุลาคมถึงมกราคม การปลูกในฤดูร้อนหรือฝนมักจะเกิดปัญหาดอกทะยอยบานเป็นระยะเวลาค่อนข้างยาวนาน (มากกว่า 14 วัน) ทำให้การแก่ของฝักไม่พร้อมกันยากต่อการกำหนดวันเก็บเกี่ยวและเป็นเหตุให้ผลผลิตต่ำ

แมลงศัตรูที่สำคัญของถั่วเหลืองฝักสด ได้แก่ หนอนแมลงวันเจาะต้นถั่ว (Beanfly) หนอนม้วนใบถั่ว (Bean leaf roller) เพลี้ยอ่อนถั่วเหลือง (Soybean aphid) แมลงหวี่ขาว (Tobacco whitefly) และหนอนเจาะฝัก (Pod borer) เป็นต้น สำหรับโรคที่พบในถั่วเหลืองฝักสด ได้แก่ โรคใบจุดนูน โรคแอนแทรคโนส โรคราน้ำค้าง และโรคโคนต้นดำ เป็นต้น (เอนก,2540)

ถั่วเหลืองฝักสด จัดเป็นแหล่งอาหารโปรตีนชนิดหนึ่ง จากรายงานของกองส่งเสริมพืชไร่นา (2535) พบว่าถั่วเหลืองฝักสดมีโปรตีนร้อยละ 13.6 น้ำมันร้อยละ 6.3 แป้งร้อยละ 3.6 น้ำตาลร้อยละ 3.3 เส้นใยร้อยละ 1.5 และความชื้นร้อยละ 66 นอกจากนี้ยังมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยมากขึ้น เนื่องจากเป็นพืชที่สามารถส่งออกจึงได้มีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ให้ฝักและเมล็ดใหญ่ รสชาติหวานเหมาะแก่การบริโภคฝักสดเป็นการใช้ประโยชน์เช่นเดียวกับพืชผัก ดังนั้นการปลูกถั่วเหลืองฝักสดจึงต้องปฏิบัติเช่นเดียวกับการปลูกผักซึ่งต้องการน้ำและดินอุดมสมบูรณ์ การลงทุนด้านปุ๋ยและสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชค่อนข้างสูงเพื่อผลผลิตที่มีคุณภาพ แต่เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าสารเคมีก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมจึงมีความจำเป็นต้องเลือกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกต้องและปลอดภัย ซึ่งรวมถึงการเว้นช่วงการเก็บเกี่ยวภายหลังการพ่นสารเคมีเพื่อจะได้ไม่มีสารพิษตกค้างกับฝักถั่วเหลืองฝักสดทำให้ผู้บริโภคปลอดภัยจากสารพิษต่างๆ และเป็นผลดีต่อการส่งออกด้วย

คลอร์ไพริฟอส (chlorpyriphos) มีสูตรโมเลกุล คือ $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ มีสูตรโครงสร้างดังต่อไปนี้



เป็นของเหลวสีเหลือง เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงและไรแบบครอบจักรวาล (broad-spectrum insecticide and acaricide) เป็นสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตชนิดไม่ดูดซึม ออกฤทธิ์ทั้งแบบสัมผัสและกัดกินตาย คลอร์ไพริฟอสเป็นวัตถุมีพิษที่ใช้ในการเกษตรประเภทมีพิษร้ายแรง มีค่า LD_{50} (ปาก) ของหนู 135-163 มก./กก. (Tomlin,2001)

คลอร์ไพริฟอส เป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ใช้กับถั่วเหลือง แต่กรณีถั่วเหลืองฝักสด เกษตรกรจะเก็บผลผลิตก่อนถั่วเหลือง ดังนั้นการศึกษาการสลายตัวของคลอร์ไพริฟอส ในถั่วเหลืองฝักสดจึงมีความสำคัญมาก เพื่อจะได้ข้อมูลในการร่วมพิจารณา การกำหนดค่า MRL ระดับประเทศและระดับสากล อีกทั้งยังเป็นการสร้างความเชื่อมั่นว่าเป็นสินค้าเกษตรของไทยมีมาตรฐานด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ เกษม1, เครื่องพ่นวัตถุมีพิษแบบสูบโยกสะพายหลัง, ปุ๋ยยูเรีย, คลอร์ไพริฟอส 40 %W/V EC (ชื่อการค้า นูฟอส 40) ซึ่งใช้พ่นในแปลงตรวจ % a.i. ได้ 38.3 %W/V ,
2. สารมาตรฐาน chlorpyriphos
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมและสกัดตัวอย่างได้แก่
   - เครื่องผสมอาหาร(food processer)
   - เครื่องสกัดตัวอย่างชนิด homoginizer ยี่ห้อ IKA
   - เครื่องระเหยสารละลาย ยี่ห้อ Buchi รุ่น 114
   - เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ round bottom flask , cylinder , beakerทรงสูง (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 ซม. สูง 20 ซม.) ,glass funnel ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.5 ซม., volumetric flask และ vial
4. สารเคมี ได้แก่
   - ethyl acetate ชนิด pesticide grade (J.T. Baker) เพื่อใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และเตรียมตัวอย่างในขั้นตอนสุดท้ายก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas Liquid Chromatograph
   - ethyl acetate ชนิด analytical grade (J.T. Baker) เพื่อใช้สกัดตัวอย่าง
   - sodium sulfate anhydrous ขนาด 10 – 60 mesh (Merck) ก่อนใช้ต้องอบที่ 130° C นานข้ามคืน แล้วตั้งไว้ให้เย็นใน desiccator
5. เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้าง ชนิด Gas Liquid Chromatograph (GLC)

วิธีการ

1. <u>การทำแปลงทดลอง</u>

ทำแปลงทดลองคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสด ครั้งที่ 1 และ 2 ในพื้นที่ของเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี ระหว่างเดือนมกราคมถึงมีนาคม 2553 และที่อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ระหว่าง

เดือนมิถุนายนถึง สิงหาคม 2553 ตามลำดับ โดยปลูกถั่วเหลืองในพื้นที่ 800 ตารางเมตร ทำการทดลองแบบ Supervised Trials มี 2 การทดลองได้แก่

1.1 การทดลองที่ 1 ไม่พ่นสารคลอร์ไพริฟอส สำหรับเป็นแปลงเปรียบเทียบกับแปลงถั่วเหลืองที่พ่นคลอร์ไพริฟอส การทดลองนี้มี 1 ซ้ำ 7 กรรมวิธีได้แก่ระยะเวลาเก็บตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ 0 วัน (1 ชั่วโมงหลังการพ่นครั้งสุดท้าย) , 1 , 3 , 5 , 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ขนาดแปลงของแต่ละซ้ำเท่ากับ 10 x 12 เมตร ระยะปลูกระหว่างแถว 50 ซม. ระยะระหว่างหลุม 20 ซม. ปลูกหลุมละ 2 ต้น

1.2 การทดลองที่ 2 เป็นแปลงถั่วเหลือง ที่พ่นคลอร์ไพริฟอสตามอัตราแนะนำของฉลาก (recommended dose) เริ่มพ่นคลอร์ไพริฟอสครั้งแรก เมื่อถั่วเหลืองอายุ 28 วัน โดยพ่นทุก 7 วัน รวมทั้งสิ้น 3 ครั้ง การทดลองนี้มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี

2. <u>การเก็บตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดจากแปลงทดลอง</u>

ในแต่ละซ้ำจะเก็บตัวอย่างโดยเว้นระยะ 0.5 เมตร ห่างจากขอบทั้งสี่ด้านของแปลงที่ไม่เก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโดยสุ่มถอนต้นถั่วเหลืองไม่น้อยกว่า 12 ต้น/หลุม เด็ดฝักถั่วจากต้นนำมารวมกัน ตัวอย่างฝักถั่วเหลืองที่เก็บจากแปลงแต่ละซ้ำต้องไม่น้อยกว่า 1 กก. นำมาวิเคราะห์สารพิษตกค้างในห้องปฏิบัติการ (FAO, 1986)

3. <u>การวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอส</u>

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างฝักถั่วเหลืองฝักสดจากแปลง 1 กก. สุ่มตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ 0.5 กก. 11 นำไปบด (chop) ให้ละเอียดด้วยเครื่องผสมอาหาร นำไปชั่งน้ำหนักตามวิธีการสกัดต่อไป

3.2 การหาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

เติมสารละลายมาตรฐานคลอร์ไพริฟอส ลงในตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดที่ไม่มีสารพิษตกค้างให้มีความเข้มข้น 0.04 และ 0.4 mg/kg พร้อมทั้งทำตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลายมาตรฐานคลอร์ไพริฟอสเพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบ นำมาวิเคราะห์หาปริมาณคลอร์ไพริฟอส ด้วยวิธีการเดียวกับที่นำไปใช้กับตัวอย่างจากแปลง ผลการวิเคราะห์พบว่าเมื่อเติมสารมาตรฐาน0.04 และ 0.4 mg/kg สามารถวิเคราะห์กลับได้ 82และ 89 % ตามลำดับ โดยมีค่า LOQ เท่ากับ 0.01 mg/kg

3.3 การสกัดตัวอย่าง (ปรับจากวิธีการของ Andersson และ Palsheden , 1991)

ชั่งตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดที่บดแล้วใน beaker ทรงสูง 50 กรัม นำมาสกัดโดยปั่นกับ ethyl acetate 150 ml. และ sodium sulfate anhydrous 50 กรัม ด้วยเครื่อง homoginizer ที่ระดับความเร็วสูงนาน 2 นาที รินสารละลายส่วนใสกรองผ่าน sodium sulfate anhydrous 20 กรัม ส่วนที่กรองได้แบ่งไปลดปริมาตรด้วยเครื่องระเหยสารละลายที่ตั้งอุณหภูมิไว้ 40° C จนเกือบแห้ง จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 2 ml. ด้วย ethyl acetate

3.4 การทำ calibration curve

นำสารละลายมาตรฐานคลอร์ไพริฟอส ที่มีความเข้มข้น 0.4, 1.2 และ 2.4 ng/ μl ฉีดเข้าเครื่อง GLC เมื่อได้โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานวัดค่า retention time และวัดพื้นที่ใต้พีคของสาร แล้วนำมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีค จะได้calibration curve ของสารมาตรฐานคลอร์ไพริฟอส

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

ตัวอย่างหลังการสกัด ที่ปรับปริมาตรแน่นอนแล้ว นำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของคลอร์ไพริฟอส โดยใช้เครื่อง Gas Liquid Chromatograph (GLC)

สภาวะการใช้งานของเครื่อง GLC Hewlett Packard 6890N ชนิด Flame Photometric Detector (FPD) โดยมีสภาวะการใช้งานดังนี้

column : DB –5 , 0.25 um thickness , 30 m. length , 0.32 mm.id.

temperature : injector 200 °C , detector , 250° C

oven temperature program : 100° C (1 min) 25 °C/ min 250° C (12 min)

inject mode : splitless (purge on time = 1 min)

carrier gas : nitrogen , flow rate 1 ml/min

make up gas : nitrogen, flow rate 50 ml/min

H_2/Air ratio : 150/110 ml/min

injection volume : 1 ul

3.7 การคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง

3.7.1 นำสารละลายตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง GLC เมื่อได้โครมาโตแกรมของสารตัวอย่าง วัดค่า retention time ของพีค นำไปเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน (ภาพที่ 1) ถ้าเป็นสารชนิดเดียวกันจะมีค่า retention time เท่ากัน

3.7.2 วัดพื้นที่ใต้พีคของสารในตัวอย่าง แล้วนำไปอ่านค่าความเข้มข้นจาก calibration curve นำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณกลับเพื่อหาปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่าง โดยคำนวณจากสูตรดังนี้

$$C = M \times V / W$$

โดย C = ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่าง (mg/kg)

M = ความเข้มข้นของสารพิษที่อ่านจาก calibration curve (ng/ μl)

V = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ปรับครั้งสุดท้าย (ml)

W = น้ำหนักของตัวอย่างที่นำมาสกัด (g)

ระยะเวลา เดือนธันวาคม 2552 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

- ปลูกถั่วเหลืองฝักสดที่อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี และอำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี
- วิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

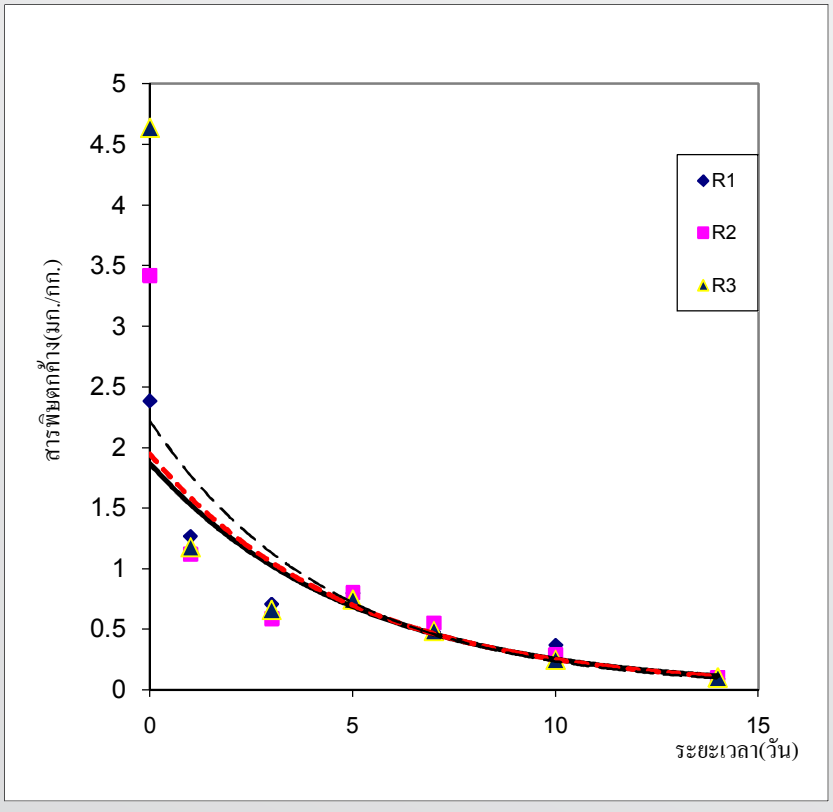
จากการศึกษาการสลายตัวของคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสด แปลงควบคุมไม่พบสารตกค้างคลอร์ไพริฟอสในทุกตัวอย่างทั้งแปลงทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ตารางที่ 1 แสดงผลการทดลองครั้งที่ 1 พบว่าเมื่อใช้สารในอัตราแนะนำถั่วเหลืองฝักสดมีคลอร์ไพริฟอสตกค้าง 4.63, 1.26, 0.71, 0.80, 0.55, 0.37 และ 0.10 มก./กก. ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นครั้งสุดท้ายตามลำดับ ภาพที่ 1 แสดงการสลายตัวของคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดในแต่ละซ้ำของทั้ง 3 ซ้ำ ของแปลงทดลองครั้งที่ 1 จะเห็นได้ว่าปริมาณคลอร์ไพริฟอสจะลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 1-3 และจะค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 14 ยังคงพบปริมาณสารตกค้างคลอร์ไพริฟอสในปริมาณ 0.09-0.1 มก./กก. ส่วนแปลงทดลองครั้งที่ 2 (ตารางที่ 2) พบว่าเมื่อใช้สารในอัตราแนะนำ ถั่วเหลืองฝักสดมีคลอร์ไพริฟอสตกค้าง 5.87, 5.83, 2.11, 1.04, 0.73, 0.58 และ 0.31 มก./กก. ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันภายหลังการพ่นครั้งสุดท้ายตามลำดับ การสลายตัวของคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดจะลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 1-3 และจะค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 14 ดังภาพที่ 2 จะเห็นได้ว่าการสลายตัวของคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดในแปลงทดลองครั้งที่ 1 และ 2 เป็นไปในทำนองเดียวกัน แต่เนื่องจากค่า Codex MRLs และ Japan MRLs ของคลอร์ไพริฟอสใน peas (pod and immature seeds) กำหนดไว้เท่ากันคือ 0.01 มก./กก แต่จากแปลงทดลองครั้งที่ 1 และ 2 พบสารตกค้างคลอร์ไพริฟอสปริมาณ 0.1 -0.31 มก./กก.ที่ระยะ 14 วัน ภายหลังการพ่นครั้งสุดท้าย ดังนั้น ถ้าเกษตรกรใช้คลอร์ไพริฟอสกับถั่วเหลืองฝักสดตามคำแนะนำของฉลาก ก็ยังคงพบสารตกค้างคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดเกินค่า MRLs ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะคลอร์ไพริฟอส เป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ใช้กับถั่วเหลือง แต่กรณีถั่วเหลืองฝักสดเกษตรกรจะเก็บผลผลิตก่อนถั่วเหลือง ทำให้พบสารตกค้างคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดเกินค่า MRLs ดังนั้นการใช้คลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดควรเว้นระยะก่อนการเก็บเกี่ยวมากกว่า 14 วัน เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่เป็นอุปสรรคในการส่งออก แต่จากการเก็บตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดจากแหล่งจำหน่ายจำนวน 20 ตัวอย่างมาวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในทุกตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในถั่วเหลืองฝักสดของเกษตรกรไม่ก่อให้เกิดปัญหา จากผลการทดลองนี้ ทำให้ทราบระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย หรือ PHI ภายหลังการใช้คลอร์ไพริฟอส ในถั่วเหลืองฝักสด เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการพิจารณาทบทวนฉลากวัตถุอันตรายในโอกาสต่อไป

ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสด ของแปลงทดลองครั้งที่ 1

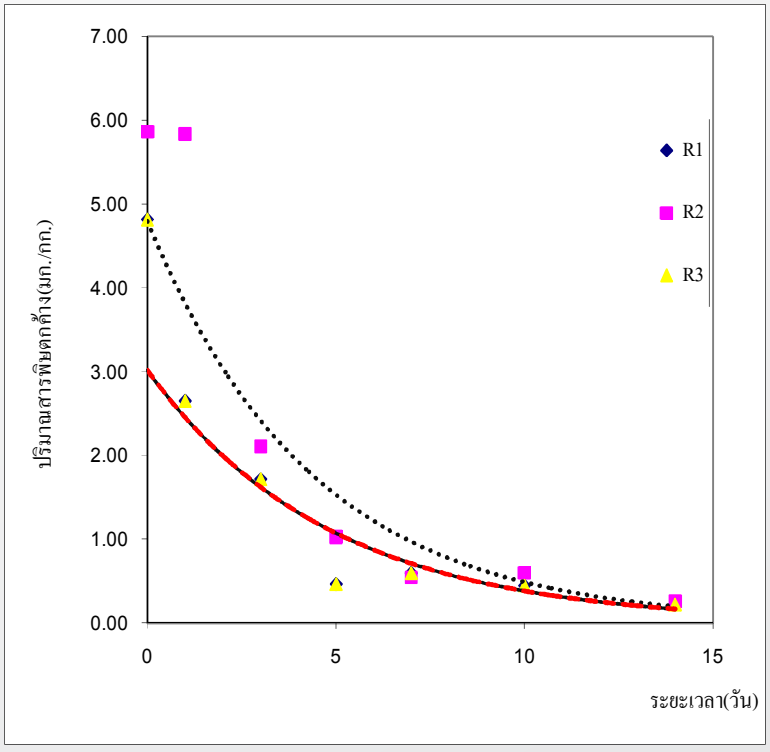
วัน	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าสูงสุด
0	2.38	3.42	4.63	4.63
1	1.26	1.12	1.17	1.26
3	0.71	0.58	0.66	0.71
5	0.80	0.80	0.74	0.80
7	0.48	0.55	0.48	0.55
10	0.37	0.29	0.25	0.37
14	0.09	0.10	0.10	0.10

ตารางที่ 2. ปริมาณสารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสด ของแปลงทดลองครั้งที่ 2

วัน	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าสูงสุด
0	4.82	5.87	4.51	5.87
1	2.65	5.83	3.32	5.83
3	1.72	2.11	1.99	2.11
5	0.65	1.03	1.04	1.04
7	0.59	0.54	0.73	0.73
10	0.44	0.58	0.33	0.58
14	0.22	0.26	0.31	0.31



ภาพที่ 1. แสดงการสลายตัวของคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดทั้ง 3 ซ้ำ ของแปลงทดลองครั้งที่ 1



ภาพที่ 2. แสดงการสลายตัวของคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดทั้ง 3 ซ้ำ ของแปลงทดลองครั้งที่ 2

สรุปผลการทดลอง

คลอร์ไพริฟอส เป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ใช้กับถั่วเหลือง แต่กรณีถั่วเหลืองฝักสดเกษตรกรจะเก็บผลผลิตก่อนถั่วเหลือง ทำให้พบสารตกค้างคลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดเกินค่าMRLs แม้ว่าเกษตรกรจะใช้คลอร์ไพริฟอสกับถั่วเหลืองฝักสดตามคำแนะนำของฉลาก ดังนั้น การใช้คลอร์ไพริฟอสในถั่วเหลืองฝักสดควรเว้นระยะก่อนการเก็บเกี่ยวมากกว่า 14 วัน เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่เป็นอุปสรรคในการส่งออก แต่จากการเก็บตัวอย่างถั่วเหลืองฝักสดจากแหล่งจำหน่ายจำนวน 20 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในทุกตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในถั่วเหลืองฝักสดของเกษตรกรไม่ก่อให้เกิดปัญหา จากผลการทดลองนี้ ทำให้ทราบระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยหรือ PHI ภายหลังการใช้คลอร์ไพริฟอส ในถั่วเหลืองฝักสด เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการพิจารณาทบทวนฉลากวัตถุอันตรายในโอกาสต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ทำให้ทราบระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยหรือ PHI (Post Harvest Interval) เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการพิจารณาทบทวนฉลากวัตถุอันตรายในโอกาสต่อไป และนำข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่า Asean MRLs

เอกสารอ้างอิง

กองส่งเสริมพืชไร่นา. 2535. รายงานผลการดำเนินงานวันรณรงค์ ถั่วเหลืองฝักสดเพื่อการบริโภค และอุตสาหกรรมการส่งออก กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ. 86 น.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2535. เอกสารประกอบการฝึกอบรม การใช้เทคโนโลยีเพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองฝักสด. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

เอนก โชติญาณวงษ์ 2540. เอกสารวิชาการเรื่องถั่วเหลืองฝักสด. ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร 107 น.

Andersson, A. and H.Palsheden.1991. Comparison of the efficiency of different GLC Multi-residue methods on crops containing pesticide residues. Fresenius' J.Anal. Chem. 339:365-367.

Anonymous. 1985. Multi-residues method for the determination of organophosphorus organochlorine pesticides and for synthetic pyrethroids. Deutsche gemeinschaft.(DFG). 24p. (published).

FAO. 1986. "guidelines on pesticide residue trials to provide data for the registration of pesticides and the establishment of maximum residue limits" Rome Italy. 40p.

FAO/WHO.2002. Draft and proposed draft maximum residue limits in foods and feeds at steps 7 and 4, Codex Alimentarius Commission.

Tomlin, C.D.S. 2001. The e-pesticide manual. 12ed. Version2.1 The british crop protection council. (CD-ROM)

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริก

Method Development of Prochloraz Residue Analysis in Chilli

ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์ *วะนิดา สุขประเสริฐ* *ยงยุทธ ไผ่แก้ว*
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

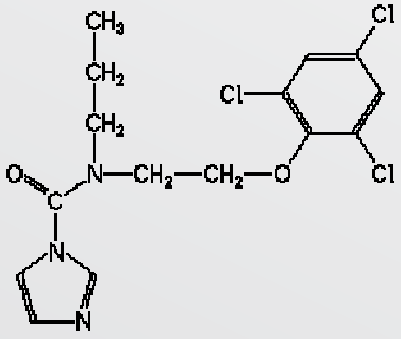
บทคัดย่อ

การทดลองเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz ในพริก สามารถใช้วิธีการของ Navarro *et. al*. (2002) ที่สกัดตัวอย่างและเก็บรักษาในสภาวะเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารพิษตกค้างจะละลายอยู่ในน้ำได้น้อยมาก และเคลื่อนย้ายมาอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ ได้สารกลับคืนร้อยละ 81.0 – 109.1 ที่ระดับ 0.02 – 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนวิธีการของ Nguyen *et. al*. (2008) หรือดัดแปลงวิธีการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 TM-T04-R02 แต่ใช้เครื่องวิเคราะห์ GC-ECD ได้สารกลับคืนในช่วงร้อยละ 24.9 – 49.7 และ 19.9 – 61.9 ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อย่างไรก็ตาม ต้องมีการบำรุงรักษาเครื่องในทุก Batch ที่ทดลอง จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำนำ

ในปัจจุบันการผลิตพืชอาหารมักพึ่งพาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นหลัก คณะกรรมการ Codex ได้กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ขึ้น รวมทั้งประเทศคู่ค้าก็ได้กำหนดค่า MRL ขึ้น บังคับใช้ควบคุมดูแลเพื่อความปลอดภัยของอาหาร ค่า MRL เหล่านี้นับวันจะมีค่าต่ำลงเรื่อยๆ จึงต้องมีวิธีทดสอบที่ตอบสนองความต้องการ และยังคงมีความเฉพาะและมีความไวต่อสารที่จะวิเคราะห์ อย่างไรก็ตามวิธีการอาจต้องปรับเปลี่ยนไปตามคุณสมบัติของสารพิษและตัวอย่างพืชที่วิเคราะห์ ให้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี ทั้งนี้ยังต้องให้ผลที่มีความถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้ (Anonymous, 1998) เทคนิคทางโครมาโตกราฟฟีโดยใช้เทคนิค Gas Liquid Chromatography ในปี 1959 เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมมากในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างพวกสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชและสามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้างได้มากชนิดในการวิเคราะห์ครั้งเดียว (Zweig, 1964) เทคนิคดังกล่าวมีการใช้กันมากขึ้นจนถึงปัจจุบันนี้ กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ได้ปรับปรุงและได้ขอรับรองวิธีการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 ไปแล้วนั้น ใช้ได้ผลดีกับสารที่เป็น non-polar ส่วนสารที่เป็น polar เล็กน้อย เช่น prochloraz จะเป็นปัญหากับประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สำหรับสารป้องกันกำจัดโรคพืชนี้ เพื่อสร้างมาตรฐานและขยายขอบข่ายการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชให้ครอบคลุมสารเคมีที่ใช้ให้มากที่สุด และเพื่อการยอมรับสินค้าเกษตรของไทยทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศและการค้าในประชาคมโลก

Prochloraz เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืช (fungicides) กลุ่ม imidazole fungicides (Wood, 2010) (ดังแสดงในภาพที่ 1) สารนี้มีชื่อทางเคมี IUPAC ว่า *N*-propyl-*N*-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy) ethyl] imidazole-1-carboxamide รหัสที่ขึ้นทะเบียนสากล 67747-09-5 และสูตรโมเลกุล $C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 376.67 ละลายในน้ำได้ 55 กรัมต่อลิตรที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิต่ำลงจะละลายในน้ำได้ลดลงมาก เหลือเพียง 0.039 กรัมต่อลิตรที่ 20 องศาเซลเซียส มีความเป็นพิษต่อหนูมีค่า LD_{50} เท่ากับ 1,600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Bayer Cropscience, 2011) และละลายได้ดีในตัวทำละลายหลายชนิด กองโรคพืชและจุลชีววิทยา (2544) ได้แนะนำให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดแอนแทรกโนส (Anthracnose) ในพืชหลายชนิด (ดังแสดงในตารางที่ 1) สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (2553) รายงานว่าในปี 2551 ขึ้นทะเบียนแล้ว 127 ทะเบียน มีการนำเข้าช่วงปี 2548 – 2552 ในปริมาณมากกว่า 560 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 212 ล้านบาท และยังมีการนำเข้าสารผสมของ prochloraz กับ propiconazole ระหว่างปี 2550-2551 อีกในปริมาณ 90 ตัน คิดเป็นเงินกว่า 40 ล้านบาท



ภาพที่ 1. สูตรโครงสร้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz (Wood, 2010)

ตารางที่ 1. คำแนะนำการใช้สาร prochloraz ของกรมวิชาการเกษตร

พืช	โรคพืช	อัตราการใช้	การใช้
กระเจี๊ยบเขียว	โรคแอนแทรคโนส	20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	พ่นทุก 7 วัน
กุยช่าย	โรคใบเน่าหรือแอนแทรคโนส	20-30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	พ่นทุก 7 วัน 4 ครั้ง
ข้าว	โรคถอดฝักดาบ หรือโรคหลาว หรือโรคข้าวตัวผู้ หรือโรคโคนเน่า	3 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	คลุกก่อนปลูก 7-15 วัน หรือแช่ในสารละลาย 1-2 วันก่อนปลูก
หอมใหญ่ หอมแดง หอมแบ่ง กระเทียม	โรคใบเน่าหรือแอนแทรคโนส โรคหอมเลื้อย (Onion twister disease)	20-30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	พ่นทุก 3-5 วัน ไม่ควรเกิน 4 ครั้ง เพราะจะทำให้ดื้อยา

ที่มา : กองโรคพืชและจุลชีววิทยา (2544)

การวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟฟีนี้ สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องมือหลายชนิดขึ้นกับทรัพยากรที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ และความชำนาญของผู้ทดสอบห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตรทั้งส่วนกลางและส่วนภูมิภาค ได้ติดตั้งเครื่อง GC-ECD/FPD/NPD และมีความชำนาญในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างมาเป็นเวลานานแล้ว การวิเคราะห์สารพิษตกค้างประเภทสารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิด prochloraz ในพริก เนื่องจากมีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ จึงสามารถวิเคราะห์ด้วย GC-ECD ได้ การเตรียมตัวอย่างพริกซึ่งเป็นพืชที่มีสีเข้มรบกวนการวิเคราะห์ ต้องมีพัฒนาวิธีการให้เหมาะสม โดยใช้สารเคมีที่เป็นพิษน้อยและสิ่งอำนวยความสะดวกที่มีอยู่จึงมีความสำคัญ เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องแม่นยำและง่ายต่อการปฏิบัติงาน และยังสามารถตรวจสอบรับรองสารพิษตกค้างได้มากขึ้น ช่วยลดงบประมาณและเวลาของเจ้าหน้าที่ได้อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

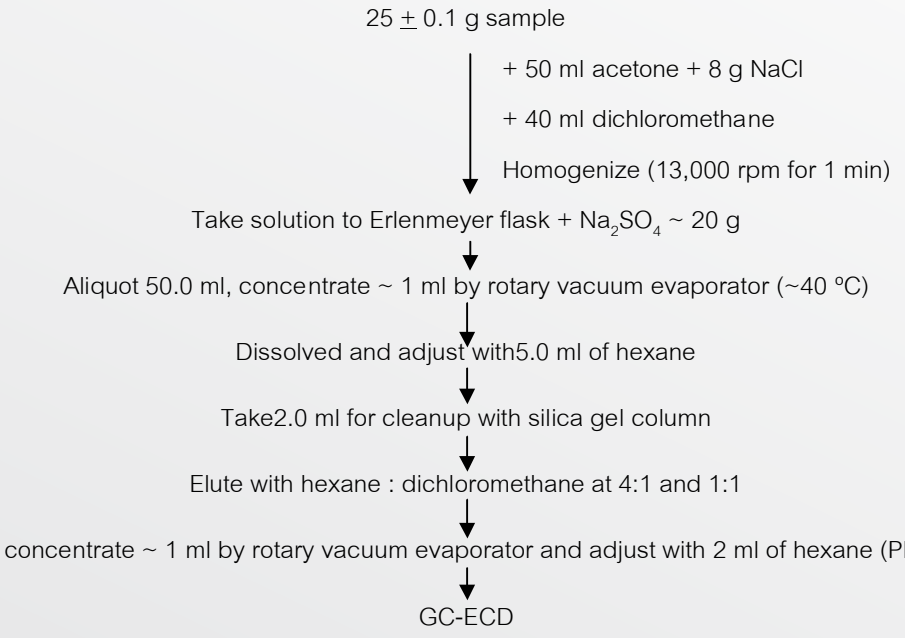
1. จัดเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์

สารเคมี ได้แก่ prochloraz จาก Dr.Ehrenstorfer GmbH ความบริสุทธิ์ 98.0% ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ acetone, A.R. grade, dichloromethane; A.R. grade, acetonitrile; A.R. grade, hexane; P.R. grade, sodium sulfate anhydrous; A.R. grade, sodium chloride; A.R. grade, magnesium sulfate; A.R. grade, PSA และ graphite carbon

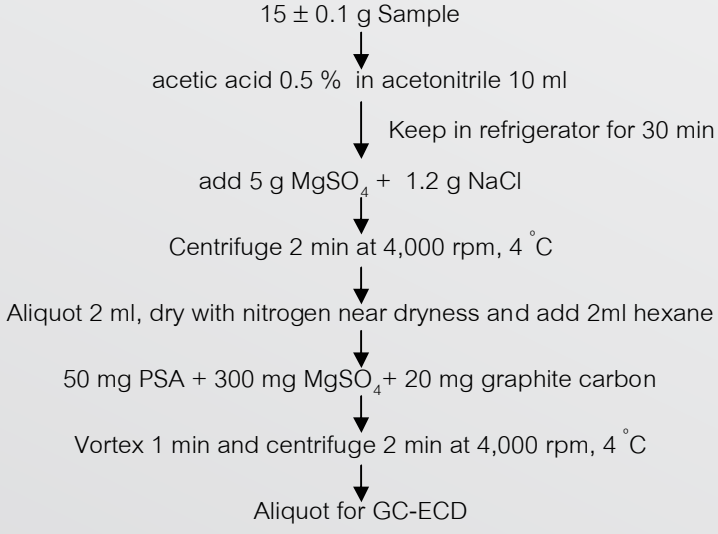
เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆ ได้แก่ ขวดแก้วสำหรับบรรจุตัวอย่างพร้อมฝา ขนาด 250 มิลลิลิตร เครื่องชั่งชนิด 2 และ 4 ตำแหน่ง ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว กรวยกรองทำด้วยแก้ว Cylinder ขนาด 50 มิลลิลิตร ขวดก้นแบน (flat bottom flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ขวดปรับปริมาตร ขนาด 5 มิลลิลิตร ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว เครื่องสกัดความเร็วสูง (Homogenizer) Ultra Turrax รุ่น T 25 Basic หัวจ่ายสารละลาย (Dispenser) ขนาด 1 – 50 มิลลิลิตร Auto-pipette ขนาด 100 – 1,000 ไมโครลิตร ปิเปต ขนาด 1-10 มิลลิลิตร ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator) Vials สำหรับบรรจุตัวอย่างเข้าเครื่อง Gas Chromatograph (GC) และเครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างชนิด ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 มีหัวตรวจวัดชนิด Electron Captured Detector (ECD)

2. วิธีการ

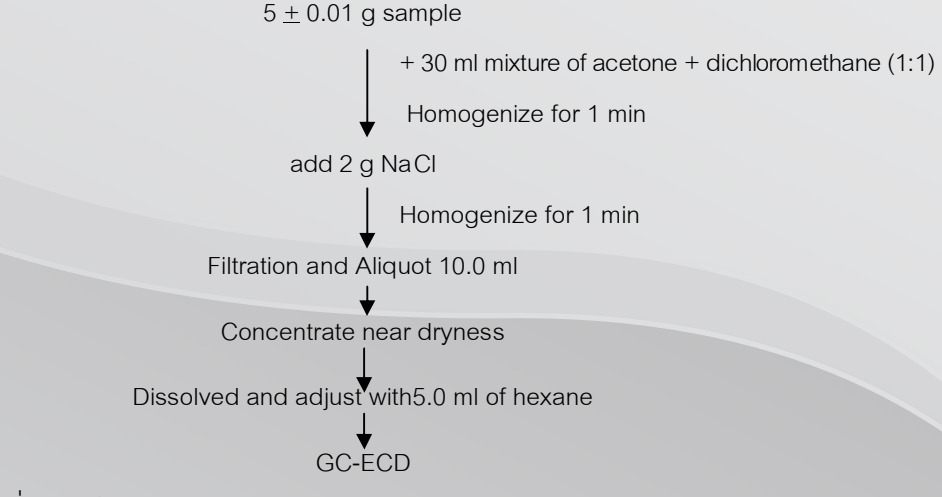
การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิด prochloraz ในพริก โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟชนิด GC-ECD ด้วยวิธีการทดสอบหาปริมาณสารพิษตกค้างของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง ที่ใช้ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างแบบรวม (Multiresidue Analysis) (ดังแสดงในภาพที่ 2) จากนั้นจึงดำเนินการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชตามวิธีการของ Nguyen *et. al.* (2008) (ภาพที่ 3) และวิธีการของ Navarro *et. al*. (2000) (ภาพที่ 4) บันทึกผล %Recovery แล้วนำทุกวิธีการเปรียบเทียบกัน



ภาพที่ 2. วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ตาม TM-T04-R03 ที่ทำการทดสอบ



ภาพที่ 3. วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ของ Nguyen *et. al*. (2008)



ภาพที่ 4. วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ของ Navarro *et. al*. (2002)

3. การเตรียมสารมาตรฐานและ GC-ECD

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Stock solution โดยผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชทั้ง 5 ชนิด ให้มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ isooctane (PR) เป็นตัวทำละลาย เตรียม Intermediate solution ที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม Working stock solution ที่มีความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงเตรียม Working solution โดยดูด Working stock solution แล้วเจือจางด้วย hexane (PR) ให้ได้สารละลายมาตรฐานสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช ที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารละลายมาตรฐานสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชไปวิเคราะห์แล้วสร้าง calibration curve วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างพืชที่ความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชที่ระดับ 0.05, 0.2 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยใช้ GC-ECD โดยมีสภาวะการใช้งานดังนี้

Column : HP-Ultra 1, 0.17μm thickness, 25m length, 0.32mm.id.

Temperature: injector 260 °C, detector 300 °C, oven temperature program ดังนี้

: 120 °C (1 min) ⟶ 20°C/min 220 °C (2 min) ⟶

1°C/min 230 °C (3 min) ⟶ 10 °C/min 250 °C (3 min)

Inject mode : splitless **Carrier gas** : helium, flow rate 2 ml/min

Make up gas : nitrogen, flow rate 60 ml/min

Injection volume : 1 μl

4. การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

คำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง โดยวัดค่า retention time ของพีค นำไปเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน พีคของสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชในสารละลายตัวอย่าง ต้องมี retention time เท่ากับสารละลายมาตรฐานหรือมีการเคลื่อนไปจากเดิมไม่เกินร้อยละ 5 ของ retention time คำนวณความเข้มข้นของสารพิษตกค้างสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชในสารละลายตัวอย่าง ด้วยฟังก์ชั่น ESTD (External Standard) คำนวณโดยโปรแกรมสำเร็จรูปในเครื่อง GC ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับ Calibration curve ที่มีค่า Correlation ไม่น้อยกว่า 0.99 หาความเข้มข้นของสารในตัวอย่างตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$C_{sample} = C_{calib.} \times V_{sample} \times F / W_{sample}$$

โดยที่ C_{sample} = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

$C_{calib.}$ = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง ที่ได้จากการเทียบ Calibration curve ใน GC Report (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังนี้

$$C_{calib.} = \frac{\text{Area of sample} \times \text{Conc. of Standard}}{\text{Area of Standard}}$$

V_{sample} = ปริมาตรที่ปรับครั้งสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างก่อนการฉีด

W_{sample} = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาสกัด

F = Correction Factor ขึ้นกับวิธีการการสกัด

5. การวิเคราะห์และประเมินผลข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ หาค่าเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของข้อมูล นำผลการวิเคราะห์ทั้งหมดมาสรุปข้อมูลช่วงความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ตรวจวิเคราะห์ได้ และเปรียบเทียบวิธีการและชนิดของตัวอย่างพืช

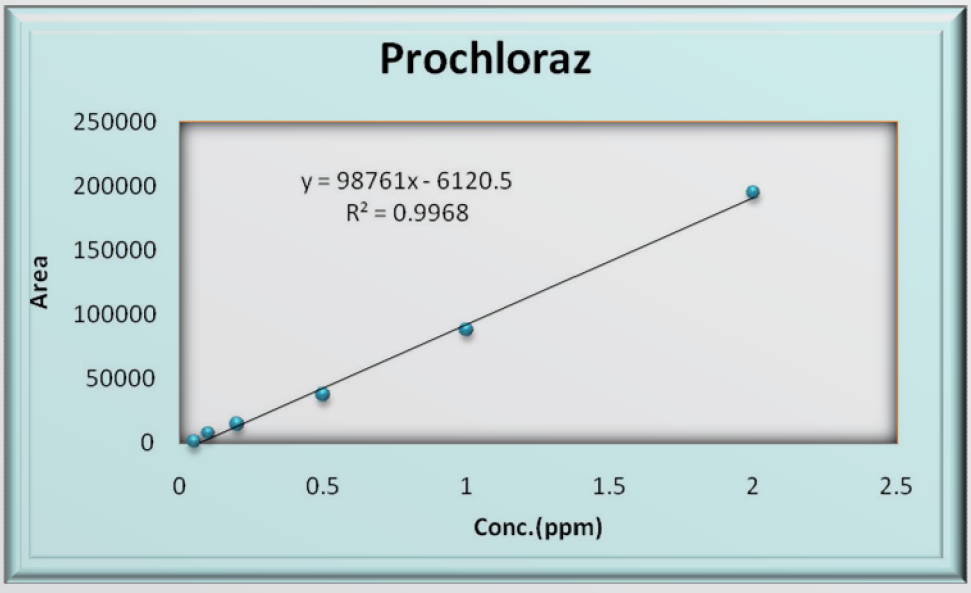
ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2552 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

วิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช ชนิด prochloraz ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามี retention time เท่ากับ 13.971 นาที จากนั้นจึงนำพื้นที่ใต้พีคในแต่ละความเข้มข้น มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ ได้สมการเส้นตรง y = 98761x – 6120.5 โดยมี Correlation (R^2) เท่ากับ 0.9968 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ดังแสดงในภาพที่ 5)



ภาพที่ 5. สมการเส้นตรงของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ

ทดสอบประสิทธิภาพของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริก ด้วยวิธี TM-T04-R03 กวพ. พบว่ามีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ค่อนข้างต่ำมาก อยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 10 เท่านั้น เนื่องจากคุณสมบัติของสารนี้ละลายในน้ำได้มากถึง 55 กรัมต่อลิตรที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิต่ำลงจะละลายในน้ำได้ลดลงมาก เหลือเพียง 0.039 กรัมต่อลิตรที่ 20 องศาเซลเซียส (Bayer Cropscience, 2011) ดังนั้น ถ้านำตัวอย่างมาเตรียมในสภาพที่เย็น (< 20°C) ก็จะสามารถสกัดสารพิษตกค้างได้ ดังจะได้กล่าวถึงในการทดสอบต่อไปตามวิธีการของ Navarro *et. al*. (2002) นอกจากนี้ ขั้นตอน Cleanup ด้วยคอลัมน์ silica gel ที่ deactivated ด้วย 10% water และชะด้วยสารละลายผสม hexane และ dichloromethane น่าจะทำให้

สารพิษตกค้างเหล่านี้ตกค้างอยู่ในคอลัมน์ ทำให้ตรวจพบสารกลับคืนได้น้อยมาก จากนั้นจึงทำการทดลองสกัด ด้วยวิธีการ TM-T04-R02 กวพ. ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์คาร์บาเมต โดยการเติม magnesium sulfate, PSA และ graphite carbon เพื่อกำจัดสารอินทรีย์อื่นๆ (ไม่ใช้เทคนิค column chromatography) เขย่าด้วยเครื่อง Centrifuge แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วย GC-ECD ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

จากการทดลองพบว่า %recovery ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับพริกเป็นพืชที่มีสารอินทรีย์อื่นรบกวนมาก อยู่ในช่วงร้อยละ 19.9 – 61.9 ต่ำกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (70 – 110%) จากนั้นจึงทำการทดลองสกัดตัวอย่างพริก ตามวิธีการของ Nguyen *et al*. (2008) พบว่าสามารถวิเคราะห์ % recovery ไม่แตกต่างจากวิธี Multi-residues method ของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง พบว่าได้สารกลับคืนอยู่ระหว่างร้อยละ 24.9 – 49.7 ต่ำกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ดังแสดงในตารางที่ 2) และเมื่อนำตัวอย่างที่สกัดไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทดลองลดขั้นตอนในการสกัด โดยเตรียมตัวอย่างที่ไม่ผ่านการ Cleanup เพียงแต่ผ่านกระดาษกรองตามวิธีการของ Navarro *et al*. (2002) พบว่า สามารถสกัดสารพิษตกค้าง prochloraz ได้อย่างมีประสิทธิภาพในช่วงความเข้มข้นที่ระดับ 0.02 – 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้สารกลับคืนในช่วงร้อยละ 81.0 – 109.1 (ดังแสดงในตารางที่ 2) เมื่อมีการทำซ้ำในช่วงเวลาต่างๆ พบว่า repeatability อยู่ในเกณฑ์ดี ร้อยละของสาร prochloraz ที่ได้กลับคืน อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่วิธีการนี้สร้างปัญหาให้กับเครื่อง GC-ECD ประสิทธิภาพจะลดลงอย่างมากเนื่องจากสารอินทรีย์อื่นๆ ในพริกที่รบกวนประสิทธิภาพการวิเคราะห์ของหัววัด ECD จำเป็นต้องมีการบำรุงรักษาเครื่องในทุก Batch ที่ทดลองจึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 2. ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ prochloraz ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก TM-T04-R02

ชื่อสารพิษ	Conc.	ปริมาณสารพิษตกค้าง (mg/kg)					ค่าเฉลี่ย	SD	%CV
	(mg/kg)	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5			
TM-T04-R02	0.2	24.6	61.9	43.3	19.9	30.8	36.1	16.887	46.8
Nguyen *et al*. (2008)	0.2	30.9	35.8	35.3	24.9	32.5	31.9	4.414	13.8
Nguyen *et al*. (2008)	0.4	35.2	49.7	45.3	30.5	43.9	40.9	7.841	19.2
Navarro *et al*. (2002)	0.02	86.0	96.0	84.2	99.8	88.5	90.9	6.693	7.4
Navarro *et al*. (2002)	0.02	87.9	85.8	89.4	89.2	79.8	86.4	3.986	4.6
Navarro *et al*. (2002)	0.05	83.3	89.1	81.0	89.7	82.2	85.1	4.054	4.8
Navarro *et al*. (2002)	0.2	86.1	88.7	99.1	97.4	82.9	90.8	7.098	7.8
Navarro *et al*. (2002)	0.2	78.8	96.5	88.6	81.5	88.7	86.8	6.964	8.0
Navarro *et al*. (2002)	0.4	103.1	92.3	100.2	105.8	95.7	99.4	5.458	5.5
Navarro *et al*. (2002)	1	83.4	94.4	85.9	98.2	87.5	89.9	6.176	6.9
Navarro *et al*. (2002)	1	104.1	110.5	90.4	109.1	99.8	102.8	8.124	7.9

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดลองเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz ในพริก สามารถใช้วิธีการของ Navarro *et al*. (2002) ที่สกัดตัวอย่างและเก็บรักษาในสภาวะเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารพิษตกค้างจะละลายอยู่ในน้ำได้น้อยมาก และเคลื่อนย้ายมาอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ ได้สารกลับคืนร้อยละ 81.0 – 109.1 ที่ระดับ 0.02 – 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนวิธีการของ Nguyen *et al*. (2008) หรือดัดแปลงวิธีการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 TM-T04-R02 แต่ใช้เครื่องวิเคราะห์ GC-ECD ได้สารกลับคืนในช่วงร้อยละ 24.9 – 49.7 และ 19.9 – 61.9 ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อย่างไรก็ตาม ต้องมีการบำรุงรักษาเครื่องในทุก Batch ที่ทดลอง จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. จัดพิมพ์เอกสารการพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริกเพื่อเผยแพร่แก่นักวิชาการทั้งภาครัฐ เอกชน และผู้สนใจ

2. ใช้เป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชเพื่อการส่งออกและนำเข้า ที่เป็นงานประจำวันของห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตรทั้งในส่วนกลาง ส่วนภูมิภาค และห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของเอกชน

3. นำวิธีการที่ได้พัฒนาแล้วอย่างเหมาะสม ไปตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีทดสอบตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025:2005 เพื่อยื่นรายงานขอขยายขอบข่ายสารพิษตกค้างที่ตรวจวิเคราะห์ ของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

1. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2544. คำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชด้วยสารเคมี. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 171 หน้า.

2 สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2553. ปริมาณนำเข้าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชปี 2548 – 2552. กรมวิชาการเกษตร. http://m.doa.go.th/ard/stat2

3. Anonymous. 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Method; A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. EURCHEM Guide, First English edition. (www.eurachem.bam.de/guide/vald.pdf)

4. Bayer Cropscience. 2011. Crop Compendium : Prochloraz. http://compendium.bayercropscience .com /BAYER/CropScience/CropCompendium/BCSCropComp.nsf/id/prochloraz.htm

5. Fodor-Csorba, K. 1992. Chromatographic methods for the determination of pesticides in foods. *Journal of Chromatography,* 624 : 353-367.

6. Navarro, M., Y. Pico, R.Marin and J. Manes. 2002. Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of a new generation of fungicides in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 968 : 201–209.

7. Nguyen, T.D., M.H. Lee and G.H. Lee. 2008. Multiresidue determination of 156 pesticides in watermelon by dispersive solid phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Bull. Korean Chem. Soc*., Vol. 29 (12) : 2482-2486.

8. Wood, A. 2010. Fungicides Data Sheet. http://www.alanwood.net/pesticides/class_fungicides.html Available on-line 27 Jan 2010.

9. ZWEIG, G. 1964. Chromatographic Techniques for Pesticide Residue Analysis. Agricultural Toxicology and Residue Research Laboratory, University of California, U.S.A. 19 p.

.....

ภาพการทดลองพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริก

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (ครั้งที่ 1-2)

Residue Trial of Methidathion in Orange to Establish Maximum Residue Limit (MRL)(Trial 1-2)

ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์ วะนิดา สุขประเสริฐ ยงยุทธ ไผ่แก้ว
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวาน ณ แปลงของเกษตรกรจำนวน 2 แปลง ในพื้นที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนตุลาคม ถึงเดือน ธันวาคม 2552 และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนกรกฎาคม 2553 ในแต่ละแปลง แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ฉีดพ่นสารเมทธิดาไธออน 42% W/V EC ตามอัตราแนะนำในส้มโอ คือ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนการทดลองที่ 2 ไม่มีการฉีดพ่นสารเป็นแปลงเปรียบเทียบ แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 4 ต้น ฉีดพ่นสารเมทธิดาไธออนในระยะที่ผลส้มเขียวหวานมีอายุก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 1 เดือน ฉีดพ่นรวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน หลังจากฉีดพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออน ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยใช้เทคนิคทางแก๊สโครมาโตกราฟฟี ผลการวิจัย ในแปลงทดลองที่ 1 จ.เชียงใหม่ พบปริมาณเมทธิดาไธออนตกค้างในส้มเขียวหวานมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.24, 1.91, 1.72, 1.47, 1.00, 0.26 และ 0.18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงทดลองที่ 2 จ.ชัยนาท พบปริมาณเมทธิดาไธออนตกค้างในส้มเขียวหวานมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.80, 1.56, 1.20, 0.41, 0.33, 0.26 และ 0.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะ 0, 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ตามลำดับ พบว่าต้องทิ้งระยะเพื่อเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยมากถึง 21 วัน นอกจากนี้ยังได้สำรวจตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ ทั่วประเทศ จำนวน 59 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออน จำนวน 21 ตัวอย่าง (ร้อยละ 35.6) ในปริมาณ 0.03 – 0.61 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Codex MRL ได้กำหนดค่าของสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในพืชตระกูลส้ม (Citrus fruits) ไว้เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ของประเทศไทยกำหนดไว้ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำนำ

พืชในสกุลส้ม (Citrus) มี 4 กลุ่มย่อยคือ กลุ่มส้มเกลี้ยง (Orange Group) กลุ่มส้มเปลือกล่อน (Mandarins) กลุ่มส้มโอ และ เกรฟฟรุต (Pummelos and Grapefrits) และกลุ่มส้มที่มีรสเปรี้ยวจัด (Common Acid Members) สำหรับ ส้มเขียวหวาน (Tangerine) อยู่ในกลุ่มส้มเปลือกล่อน จัดเป็นส้มกลุ่มที่ปลูกกันมากที่สุดในทวีปเอเชียซึ่งรวมทั้งประเทศไทยด้วย คาดว่าได้มีการนำเข้ามาในประเทศไทยเมื่อกว่า 100 ปีที่ผ่านมา พร้อมกับชาวจีนที่อพยพและได้มีการปลูกและขยายพันธุ์จนได้เป็นส้มเขียวหวานในที่สุด แหล่งที่ผลิตสำคัญได้แก่ ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ จีน ไต้หวัน ไทย อินเดีย ออสเตรเลีย และย่านเมดิเตอร์เรเนียน

ส่วนประเทศในเอเชียที่มีปลูกค่อนข้างมาก ได้แก่ ฟิลิปปินส์และอินโดนีเซีย รวมทั้งประเทศไทย สายพันธุ์ส้มที่สำคัญของไทยได้แก่ ส้มเขียวหวาน และส้มโชกุน (กาญจน์ และคณะ, 2553) ในปี พ.ศ.2549 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกส้มเปลือกล่อนไม่น้อยกว่า 500,000 ไร่ กระจายอยู่ทั่วประเทศ โดยมีแหล่งปลูกสำคัญอยู่ในเชียงใหม่ ลำปาง แพร่ เชียงราย สุโขทัย ตาก และชุมพร ได้ผลผลิตรวมกว่า 740,000 แสนตัน/ปี หรือเฉลี่ย 1,950 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งปี 2548 ไทยมีการส่งออกส้มคิดเป็นมูลค่ารวมกว่า 111.12 ล้านบาท ขณะเดียวกันไทยก็ยังมีการนำเข้าส้มจากต่างประเทศในปริมาณมากถึง 2,429.48 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 50.22 ล้านบาท (นิรนาม, 2549)

ส้มเขียวหวานเป็นพืชมีศัตรูรบกวนหลายชนิด ทั้งแมลงและไรศัตรูมาก กรมวิชาการเกษตร (2552) และกลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (2551) ได้แนะนำลักษณะการเข้าทำลายและการป้องกันกำจัดไว้ดังนี้

1. หนอนชอนใบส้ม กัดกินใบอ่อนโดยไชชอนอยู่ระหว่างผิวใบ มักพบทำลายด้านใต้ใบมากกว่าบนใบ บริเวณที่ถูกทำลายเป็นรอยสีขาวกวน ใบมีลักษณะบิดงอลงทางด้านที่มีการถูกทำลาย ทำให้ใบเสียรูปร่าง ช่วงเวลาที่ระบาดมักเป็นช่วงระยะส้มแตกยอดอ่อนในฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคม-ตุลาคม ควรมีการจัดการให้ส้มแตกยอดอ่อนพร้อมกัน หากพบปริมาณหนอนชอนใบส้มมากกว่าร้อยละ 50 ให้ทำการกำจัดด้วยอิมิดาโคลพริด หรือฟลูเฟนนอกซูรอน

2. เพลี้ยไฟพริก ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย เพลี้ยไฟพริกดูดกินน้ำเลี้ยงจากยอดอ่อน ใบอ่อนและผลอ่อน ทำให้ใบมีลักษณะแคบเรียว กร้าน และไม่เจริญเติบโต ผลส้มจะแคระแกรน ระบาดมากระหว่างเดือนมกราคม-มิถุนายน หรือช่วงที่มีอากาศร้อนและแห้งแล้ง หากพบปริมาณเพลี้ยไฟที่ส่วนยอดอ่อนมากกว่าร้อยละ 20 ให้ทำการกำจัดด้วยอิมิดาโคลพริด หรือโฟซาโลน

3. เพลี้ยไก่แจ้ส้ม ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนตาและยอดอ่อนของต้นส้มเขียวหวาน ขณะดูดกินน้ำเลี้ยงตัวอ่อนจะกลั่นสารสีขาวมีลักษณะคล้ายเส้นด้าย และอาจเกิดราดำขึ้นตามส่วนที่ถูกทำลาย ใบมีลักษณะเป็นคลื่น ใบร่วง และเป็นแมลงพาหะของโรค Greening ควรกำจัดเมื่อพบตัวเต็มวัยด้วยอิมิดาโคลพริด

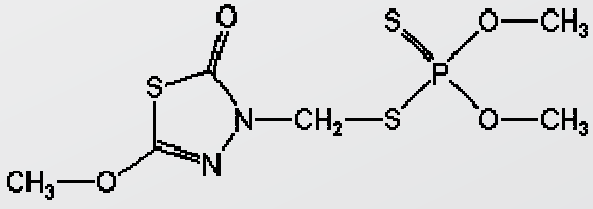
4. หนอนเจาะสมอฝ้าย ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน ตัวหนอนกัดกินทำลายดอกและผลอ่อน หนอนวัยแรกจะกินช่อดอกและใบ และเมื่อโตขึ้นจะเข้าทำลายผลส้มที่มีขนาดใหญ่ ทำให้ผลเน่าและร่วงในช่วงส้มออกดอกและผลอ่อนกำจัดด้วยคลอร์ฟลูอาซูรอน

5. เพลี้ยอ่อน ดูดกินน้ำเลี้ยงตามยอดอ่อน ใต้ใบอ่อน แมลงจะขับถ่ายมูลหวาน ทำให้เกิดราดำบนส่วนต่างๆ ที่แมลงทำลาย ให้ตัดและเก็บส่วนที่ถูกทำลายเผา และกำจัดด้วยคาร์โบซัลแฟน

6. ไรแดงแอฟริกัน มีขนาดเล็กมาก มีสีแดง ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงที่ผิวใบและเปลือกผลส้ม การป้องกันกำจัดกระทำเมื่อพบเข้าทำลายใบมากกว่าร้อยละ 60 หรือผลอ่อนมากกว่าร้อยละ 20 ให้ทำการกำจัดด้วยโพรพาร์ไจต์ หรือ อามีทราซ

7. ไรสนิมส้ม ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและผล ทำให้ใบมีลักษณะกระด้างสีเขียวคล้ำไม่เป็นมัน การกำจัดเมื่อพบมีการระบาด ทำการกำจัดด้วยกำมะถันหรือไพริดาเบน

เมทธิดาไธออน (methidathion) เป็นสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตประเภท non-systemic (EXTOXNET, 2009) พวกไธไดอะโซล ออร์กาโนไธโอฟอสเฟต (thiadiazole organothiophosphate insecticide) มีทั้งไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบ มีชื่อทาง IUPAC ว่า 3-dimethoxyphosphinothioylthiomethyl-5-methoxy-1,3,4-thiadiazol-2(3*H*)-one สูตรโครงสร้างเป็น $C_6H_{11}N_2O_4PS_3$ ดังแสดงในภาพที่ 1 (Wood, 2009) มีมวลโมเลกุล 302.331 เลขทะเบียนบ่งชี้ (CAS No.) 950-37-8 สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน โดยการยับยั้งเอนไซม์อะเซทธิลโคลีเนสเทอเรส (cholinesterest inhibitor) (PAN, 2009) มีความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลองประเภท rat และ mouse ที่ระดับ LD_{50} 25-225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และต่อกระต่ายที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ถ้าได้รับโดยตรงอาจก่อให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดช่องท้อง ท้องเสีย น้ำลายฟูมปาก ปวดศีรษะ กล้ามเนื้อกระตุก หายใจลำบาก เกิดอาการตาพร่ามัว และแน่นหน้าอก แต่ไม่ระคายเคืองต่อตา อาจมีผลบ้างในระบบสืบพันธุ์แต่ไม่เป็นสารก่อกลายพันธุ์ องค์การสิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกาจัดให้สารนี้มีความเป็นไปได้ที่จะเป็นสารก่อมะเร็ง (EXTOXNET, 2009)



ภาพที่ 1. สูตรโครงสร้างของสารเมทธิดาไธออน (Wood, 2009)

ในประเทศไทย สารเมทธิดาไธออนที่จดทะเบียนไว้กับสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยอัตราแนะนำสำหรับฆ่าหนอนชอนใบส้มและเพลี้ยไฟพริก พ่นเมทธิดาไธออน 42% W/V EC ในต้นส้มเขียวหวานตามที่ระบุในฉลาก เท่ากับ 40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร และควรทิ้งระยะเก็บเกี่ยวภายหลังการพ่นสาร 28 วัน สำหรับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มทั้งชนิดหวานและเปรี้ยว กำหนดไว้ที่ระดับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีการใช้ค่านี้มาเป็นเวลานาน และจะมีการพิจารณาค่าใหม่ในปี 2556 แต่ค่ามาตรฐานของไทยกำหนดไว้เพียง 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งแตกต่างจากค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างของกลุ่มประเทศในสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่น ที่กำหนดไว้ที่ระดับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวาน เพื่อการพิจารณาปรับปรุงค่า PHI ค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวานของไทย และส่งข้อมูลไปพิจารณาค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างที่เหมาะสมในระดับอาเซียน และ Codex ต่อไป

วิธีดำเนินการ

ทำแปลงทดลองส้มเขียวหวานในแปลงเกษตรกรที่ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท รวม 2 แปลงทดลอง มีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial มี 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ทดลองในต้นส้มเขียวหวานที่พ่นสารเมทธิดาไธออนในอัตราแนะนำ เท่ากับ 40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร โดยใช้สารเมทธิดาไธออน 42% W/V EC ซึ่งมีการตรวจเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ก่อน มีค่าเท่ากับ 41.8% W/V EC

การทดลองที่ 2 เป็นแปลงเปรียบเทียบ (Control) คือ ต้นส้มเขียวหวาน ที่ไม่มีการพ่นเมทธิดาไธออน โดยพ่นเฉพาะน้ำเปล่า

แต่ละการทดลองมี 8 กรรมวิธี (Treatment) หรือระยะเวลาที่สุ่มเก็บส้มเขียวหวานมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 0 วัน (2 ชั่วโมง หลังการพ่นเมทธิดาไธออนครั้งสุดท้าย) 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน ภายหลังการพ่นสารเมทธิดาไธออนครั้งสุดท้าย รวมเก็บตัวอย่าง 7 ครั้ง และทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีส้มเขียวหวาน 4 ต้น

ขั้นตอนที่ 2 การทำแปลงทดลอง

ทำแปลงทดลองส้มเขียวหวานในแปลงของเกษตรกรที่ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท รวม 2 แปลงทดลอง ในปี 2552-2553 เป็นสวนส้มเขียวหวานที่มีระบบให้น้ำแบบท่อน้ำหยดและแบบสปริงเกอร์ ตามลำดับ อายุของต้นส้มเขียวหวานประมาณ 10 ปี ในแต่ละการทดลองมีต้นส้มเขียวหวานเปรียบเทียบ

ขั้นตอนที่ 3 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 เลือกต้นส้มเขียวหวานที่มีขนาดของต้นใกล้เคียงกัน 24 ต้น และมีผลผลิตมากพอที่จะทดลอง แบ่งเป็น 2 กลุ่มๆละ 12 ต้น ติดป้ายระบุว่าเป็น treatment หรือ control และซ้ำที่ 1-3

3.2 กำหนดให้เกษตรกรปฏิบัติดูแลให้น้ำ ใส่ปุ๋ย และพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอื่น ๆ ตามปกติ ยกเว้นสารฆ่าแมลงเมทธิดาไธออนจะผสมและกำกับดูแลการพ่นเอง

3.3 ก่อนทำการพ่นสาร ต้องทดสอบปริมาณการใช้น้ำของส้มเขียวหวานแต่ละต้น ที่สามารถฉีดพ่นสารให้สม่ำเสมอและทั่วต้นส้มเขียวหวาน จากการทดสอบพบว่าใช้น้ำ 10 ลิตรต่อต้น จึงสามารถเตรียมสารละลายเมทธิดาไธออนที่ใช้ฉีดพ่นในแปลงทดลองได้

3.4 จากอัตราแนะนำของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แนะนำให้ใช้เมทธิดาไธออน 42% W/V EC เท่ากับ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จึงตวงเมทธิดาไธออน ปริมาตร 80 มิลลิลิตร ผสมน้ำ 40 ลิตร สำหรับการฉีดพ่นส้มเขียวหวาน 4 ต้น หรือ 1 Replication ฉีดพ่นต้นส้มเขียวหวานให้สม่ำเสมอทั่วทั้งต้นในแต่ละซ้ำ และฉีดพ่นทุก 7 วัน อย่างต่อเนื่องรวม 4 ครั้ง วัดปริมาตรสารละลายที่เหลือเพื่อคำนวณปริมาณสารที่พ่นในแปลงทดลอง

3.5 จดบันทึก อุณหภูมิ สภาพดินฟ้าอากาศ ตลอดช่วงการทดลอง

ขั้นตอนที่ 4 การสุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์

4.1 สุ่มตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง ภายหลังการพ่นเมทธิดาไธออนครั้งสุดท้าย โดยทิ้งระยะเวลาไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้สารที่พ่นแห้ง (เป็นตัวอย่างที่ 0 วัน)

4.2 สุ่มตัวอย่างส้มเขียวหวาน ในวันที่ 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ตามลำดับ รวม 8 ครั้ง

4.3 สุ่มผลที่เจริญเติบโตเต็มที่อย่างน้อย 5 ผลต่อต้นรวมเป็น 1 ตัวอย่าง โดยสุ่มรอบต้นและจากทุกส่วนของต้น (ด้านบนและล่าง ด้านนอกและด้านในทรงพุ่ม) บรรจุในถุงพลาสติกปิดถุงให้แน่น บันทึกรายละเอียดของตัวอย่าง แช่ในถังน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพของตัวอย่าง รีบนำกลับห้องปฏิบัติการ

4.4 สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวม 18 จังหวัด นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง รวมตัวอย่างส้มเขียวหวานทั้งหมด 59 ตัวอย่าง

ขั้นตอนที่ 5 การเตรียมตัวอย่างและการสกัดตัวอย่าง

5.1 สุ่มตัวอย่างส้มเขียวหวานทุกผล ทั้งส่วนเนื้อและเปลือกมา 1 ใน 2 ส่วนของแต่ละผล หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่นละเอียดอีกครั้งด้วยเครื่องเตรียมตัวอย่าง (Lab Micronizer) คนให้เข้ากันแล้วสุ่มชั่งตัวอย่างละ 25±0.1 กรัม สกัดหาสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนแต่ละต้น แล้วนำข้อมูล 4 ต้นมาหาค่าเฉลี่ยเป็นข้อมูลของซ้ำ

5.2 สกัดตัวอย่างส้มเขียวหวานตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Steinwandter (1985) โดยชั่งตัวอย่างส้มเขียวหวานที่บดแล้ว 25±0.1 กรัม ใส่ beaker สำหรับสกัด นำมาสกัดโดยปั่นกับ acetone 50 ml ด้วยเครื่อง homogenizer นาน 1 นาที ที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที แล้วเติม dichloromethane 40 ml และ sodium chloride 8 กรัม ปั่นอีกครั้งนาน 1 นาที เติม sodium sulfate anhydrous 25 กรัม เขย่าเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ 10นาที เทส่วนใสปริมาตร 50 ml นำสารละลายที่ได้กรองผ่าน sodium sulfate anhydrous 20 กรัม นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่องระเหยสารละลายที่ตั้งอุณหภูมิไว้ 40°C จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 5 ml ด้วย ethyl acetate (PR) ถ้าปริมาตรเกินให้ลดปริมาตรด้วยการเป่าด้วยไนโตรเจน และถ่ายลงใน vial สำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วย GC (FPD)

5.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

5.3.1 Stock solution : เตรียมโดยชั่งสารมาตรฐานเมทธิดาไธออน น้ำหนักที่แน่นอน และนำค่า purity มาคำนวณกลับเป็นน้ำหนักสารที่แท้จริง ใน volumetric flask ขนาด10 ml ให้มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ isooctane (PR) เป็นตัวทำละลาย

5.3.2 Intermediate solution : เตรียมโดยใช้ volumetric pipette 1 ml ดูด stock solution ใส่ลงใน volumetric flask 10 ml แล้วเจือจางด้วย hexane (PR) จะได้สารละลายมาตรฐานเมทธิดาไธออนที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

5.3.3 Working stock solution : เตรียมโดยใช้ volumetric pipette ดูด intermediate solution 1 ml ใส่ลงใน volumetric flask 50 ml แล้วเจือจางด้วย hexane (PR) จะได้สารละลายมาตรฐานเมทธิดาไธออน ที่มีความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

5.3.4 Working solution : เตรียมโดยใช้ volumetric pipette ดูด working stock solution มา 1, 2.5 และ 5 ml ใส่ลงใน volumetric flask 10 ml แล้วเจือจางด้วย ethyl acetate (PR) จะได้สารละลายมาตรฐานเมทธิดาไธออน ที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

5.4 การทำ calibration curve : นำสารละลายมาตรฐานเมทธิดาไธออน ที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่อง GC เมื่อได้โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน วัดค่า retention time (ระยะเวลาตั้งแต่ฉีดสารจนปรากฏพีคของสารนั้น) และวัดพื้นที่ใต้พีคของสาร แล้วนำมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีค จะได้ calibration curve ของสารเมทธิดาไธออน

5.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง หลังการสกัดตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ปรับปริมาตรแน่นอนแล้ว นำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของเมทธิดาไธออน โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC) : Agilent 6890 ชนิด Flame Photometric Detector (FPD) โดยมีสภาวะการใช้งานดังนี้

Column : DB-1701P, 0.25μm thickness, 30m length, 0.32mm.id.

Temperature: injector 250°C, detector 250°C, oven temperature program ดังนี้

: 120°C (2 min) ⟶ 10°C/min 210°C (2 min) ⟶

2°C/min 220°C (2 min) ⟶ 10°C/min 250°C (5 min)

Inject mode : splitless (purge on time= 1 min)

Carrier gas : helium, flow rate 2 ml/min

Make up gas : nitrogen, flow rate 58 ml/min

Flame gas : hydrogen, flow rate 75 ml/min

air, flow rate 100 ml/min

Injection volume : 1 μl

5.6 การคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง

5.6.1 การวิเคราะห์คุณภาพ : นำสารตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง GC เมื่อได้โครมาโตแกรมของสารตัวอย่าง วัดค่า retention time ของพีค นำไปเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน ถ้าเป็นสารชนิดเดียวกันจะมีค่า retention time เท่ากัน

5.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณ : การคำนวณความเข้มข้นของสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในสารละลายตัวอย่าง ปรับปริมาตรสารตัวอย่างให้มีปริมาตรที่แน่นอน แล้วฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC พีคของเมทธิดาไธออน ในสารละลายตัวอย่าง ต้องมี retention time เท่ากับสารละลายมาตรฐานหรือมีการเคลื่อนไปจากเดิมไม่เกินร้อยละ 5 ของ retention time เครื่องจะคำนวณหาพื้นที่ใต้พีคของสารละลายตัวอย่างอัตโนมัติ เมื่อเลือกฟังก์ชั่นเป็น ESTD (External Standard) ในส่วนของโปรแกรมสำเร็จรูปเพื่อรายงานผล การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออน ที่ตรวจพบ คำนวณโดยโปรแกรมสำเร็จรูปในเครื่อง GC สามารถหาได้โดยการอ่านค่าความเข้มข้นที่ได้จาก Calibration curve โดยได้คำนวณสมการ Linear Regression และต้องมีค่า Correlation ไม่น้อยกว่า 0.99 หาความเข้มข้นของสารในตัวอย่างตามสูตรดังต่อไปนี้

$$C_{sample} = C_{calib.} \times V_{sample} \times F / W_{sample}$$

โดยที่ C_{sample} = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

$C_{calib.}$ = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง ที่ได้จากการเทียบ Calibration curve ใน GC Report (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังนี้

$$C_{calib.} = \frac{\text{Area of sample x Conc. of Standard}}{\text{Area of Standard}}$$

V_{sample} = ปริมาตรที่ปรับครั้งสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างก่อนการฉีด (มิลลิลิตร)

W_{sample} = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาสกัด (กรัม)

F = Correction Factor = 90 ml/50 ml

ขั้นตอนที่ 6 การวิเคราะห์และประเมินผลข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ แปรผลข้อมูลและเขียนกราฟการสลายตัวของสารพิษตกค้าง และได้สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวม 59 ตัวอย่าง นำผลการวิเคราะห์ทั้งหมดมาสรุปข้อมูลช่วงความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ และเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2552 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

ทำแปลงทดลองส้มเขียวหวานของเกษตรกร ในอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท วิเคราะห์สารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวาน ณ ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง ของกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ และห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

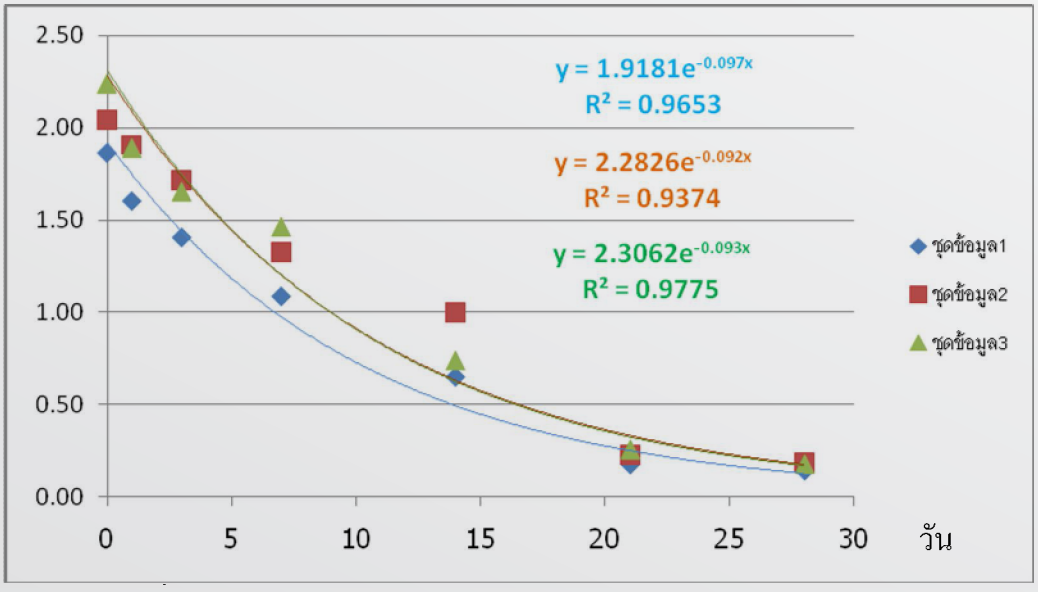
การทดลองเพื่อศึกษาการสลายตัวของสารเมทธิดาไธออน ในส้มเขียวหวาน โดยการทำแปลงทดลอง 2 แปลง เป็นแปลงทดลองครั้งที่ 1 และ 2 โดยปลูกในสถานที่แตกต่างกัน ที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ตามลำดับ ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออน ในส้มเขียวหวานที่ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังการพ่นสารเมทธิดาไธออนตามอัตราแนะนำ โดยมีต้นส้มเปรียบเทียบ และสุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ตามกรรมวิธี ผลปรากฏดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ลักษณะพื้นที่ปลูกเป็นที่ราบสูงในหุบเขา บริเวณท้ายเขื่อนแม่งัด ให้น้ำจากคูส่งน้ำชลประทานจากเขื่อนโดยต่อท่อไปตามแนวปลูก ให้น้ำทุกๆ 2 วัน มีแสงแดดจัด ไม่มีฝนตก อากาศค่อนข้างหนาวที่ระดับ 15 – 25 องศาเซลเซียส และมีลมกรรโชกในช่วงสายของทุกวันที่ทำการทดลอง พ่นสารที่ทดสอบในช่วงเช้าจำนวน 3 ครั้งๆ ละ 7 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บผลส้มตาม Codex Guidelines และนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง ของกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามกรรมวิธี พบสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวานเฉลี่ยเท่ากับ 2.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ 0 วัน แล้วค่อยๆ ลดลงเป็น 1.91, 1.72, 1.47, 1.00, 0.26 และ 0.18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในวันที่ 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ เมื่อนำค่าปริมาณสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนทั้ง 3 ซ้ำ มาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่เก็บเกี่ยว (ดังแสดงในภาพที่ 2) จะพบเส้นแนวโน้มการสลายตัวของสารพิษนี้ ในลักษณะเดียวกัน โดยมีการสลายตัวและปริมาณมีแนวโน้มลดลงเมื่อทิ้งระยะเก็บเกี่ยวมากขึ้น และเป็นไปดังสมการ $y = 1.9181e^{-0.097x}$, $y = 2.2826e^{-0.092x}$ และ $y = 2.3062e^{-0.093x}$ ของการทดลองซ้ำที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยมีค่า R^2 มากกว่า 0.9 ทุกซ้ำ จากการทดลองพบว่า ถ้าต้องการให้สารพิษตกค้างสลายตัวเหลือประมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวานของประเทศไทย ต้องทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้ 16 วัน แต่ถ้า

ปรับเพิ่มค่า MRL ของไทยเป็น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้เพียง 7 วันเท่านั้น ซึ่งค่า MRL นี้ ยังมีค่าต่ำกว่า Codex MRL ที่กำหนดไว้ที่ระดับ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

แปลงทดลองที่ 2 อำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ลักษณะพื้นที่ปลูกเป็นที่ราบยกคันดินตามแนวปลูก ให้น้ำจากบ่อเก็บน้ำที่มาจากฝนและน้ำบาดาล โดยต่อท่อไปตามแนวปลูกต้นส้มและให้น้ำบริเวณใกล้โคนต้น ให้น้ำทุกๆ 2 วัน ถ้าอากาศร้อนมากจะให้น้ำทุกวัน มีแสงแดดจัด มีฝนตกเบาๆในช่วงบ่ายถึงค่ำในบางวัน อากาศค่อนข้างร้อนที่ระดับ 28 – 35 องศาเซลเซียส ลมค่อนข้างสงบในทุกวันที่ทำการทดลองพ่นสารที่ทดสอบในช่วงเช้าจำนวน 3 ครั้งๆ ละ 7 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสุ่มเก็บผลส้มตาม Codex Guidelines และนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง ของงานวิจัยสารพิษตกค้าง

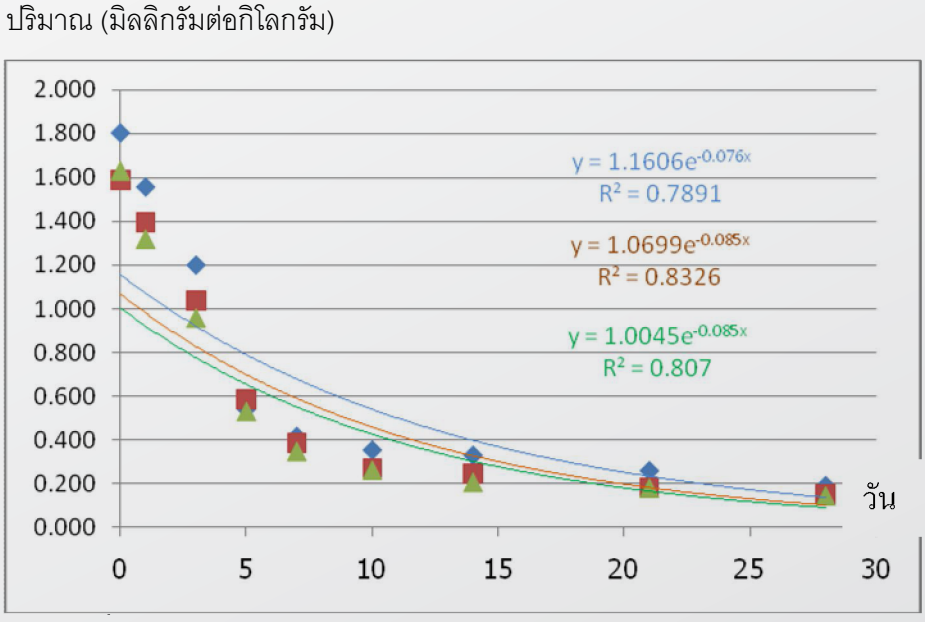
ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)



ภาพที่ 2. การสลายตัวของสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวาน
แปลงที่ 1 อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามกรรมวิธี พบสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออน ในส้มเขียวหวานเฉลี่ยเท่ากับ 1.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ 0 วัน หลังจากนั้นสารพิษตกค้างจะลดลง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.56, 1.20, 0.41, 0.33, 0.26 และ 0.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในระยะ 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน ภายหลังจากการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในแปลงทดลองที่ 1 แม้ว่าในวันแรกจะพบสารพิษตกค้างในปริมาณต่ำกว่าค่า Codex MRL แต่สารพิษก็ยังคงสลายตัวอย่างช้าๆ เมื่อนำค่าปริมาณสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนทั้ง 3 ซ้ำ มาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่เก็บเกี่ยว (ดังแสดงในภาพที่ 3) จะพบเส้นแนวโน้มการสลายตัวของสารพิษนี้ ในลักษณะเดียวกัน โดยมีการสลายตัวและปริมาณมีแนวโน้มลดลงเมื่อทิ้งระยะเก็บเกี่ยวมากขึ้น และเป็นไปดังสมการ $y = 1.1606e^{-0.076x}$, $y = 1.0699e^{-0.085x}$ และ $y = 1.0045e^{-0.085x}$ ของการทดลองซ้ำที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยมีค่า R^2 อยู่ระหว่าง 0.78-0.83 จากการทดลองพบว่า การสลายตัวค่อนข้างเร็วในช่วง 3-5 วัน ภายหลังการพ่นสาร หลังจากนั้นการสลายตัวเป็นไปอย่างช้าๆ แต่โดยภาพรวมแล้วสลายตัวเร็วกว่าแปลงที่ 1 อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ เนื่องจากการทดลองนี้ทำในฤดูฝน ช่วงเวลาที่ทดลองมีฝนตกและอากาศค่อนข้างร้อน มีผลทำให้เกิดการ

สลายตัวของสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออน มากขึ้น ถ้าต้องการให้สารพิษตกค้างสลายตัวเหลือประมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวานของประเทศไทย ต้องทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้เพียง 11 วัน แต่ถ้าปรับเพิ่มค่า MRL ของไทยเป็น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้เพียง 3 วันเท่านั้น ซึ่งค่า MRL นี้ ยังมีค่าต่ำกว่า Codex MRL ที่กำหนดไว้ที่ระดับ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



ภาพที่ 3. การสลายตัวของสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวาน แปลงที่ 2 อำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท

นอกจากนี้ได้สำรวจตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ ใน 18 จังหวัด จำนวน 59 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้าง 58 ตัวอย่าง (ร้อยละ 98.3) และพบว่า เกษตรกรมักใช้สารเคมีมากกว่า 1 ชนิดในการพ่นต้นส้มเขียวหวาน ในตัวอย่างเดียวพบสารพิษตกค้างสูงสุด 4 ชนิด และพบสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออน จำนวน 21 ตัวอย่าง (ร้อยละ 35.6) ในปริมาณ 0.03 – 0.61 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (เกินค่ามาตรฐานของไทย 1 ตัวอย่าง) ทำให้มีความเสี่ยงต่อการบริโภคได้ แม้จะตรวจพบไม่เกินค่า Codex MRL (2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แต่ตรวจพบสารอื่นๆ รวม 10 ชนิด ที่พบมากคือ cypermethrin, ethion และ chlorpyrifos ร้อยละ 76.3, 69.5 และ 67.8 ตามลำดับ จึงต้องมีการเฝ้าระวังสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวาน และแนะนำเกษตรกรให้ใช้สารชนิดอื่นที่สลายตัวเร็ว หรือใช้สารเมทธิดาไธออนในอัตราที่แนะนำเท่านั้น พร้อมกับมีการแก้ไขระยะเวลาที่ทิ้งไว้ให้สารพิษสลายตัวก่อนการเก็บเกี่ยวจาก 28 วัน เป็น 21 วัน แนะนำให้ใช้สารฆ่าแมลงเพียงชนิดเดียวและศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างชนิดอื่นประกอบ เพื่อการพิจารณาการใช้ที่ถูกต้องไม่จำเป็นต้องใช้สารพิษหลายชนิด และเพื่อให้ยังมีการบริโภคอย่างปลอดภัย

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดลองเพื่อศึกษาการสลายตัวของสารเมทธิดาไธออน ในส้มเขียวหวาน โดยการทำแปลงทดลอง 2 แปลง เป็นแปลงทดลองครั้งที่ 1 และ 2 โดยปลูกในสถานที่แตกต่างกัน ที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ตามลำดับ ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวานที่ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังการพ่นสารเมทธิดาไธออนตามอัตราแนะนำ โดยมีต้นส้มเปรียบเทียบ และสุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ตามกรรมวิธี พบว่าแนวโน้มการสลายตัวของสารพิษนี้เป็นไปในลักษณะเดียวกันทั้งสองแปลง โดยมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วในช่วงแรก (หลังพ่นสารจนถึง 5 วัน) และปริมาณมีแนวโน้มลดลงอย่างช้าๆ เมื่อทิ้งระยะเก็บเกี่ยวมากขึ้น ถ้าต้องการให้สารพิษตกค้างสลายตัวเหลือประมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวานของประเทศไทย ต้องทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้ 21 วัน แต่ถ้าปรับเพิ่มค่า MRL ของไทยเป็น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้เพียง 14 วันเท่านั้น ซึ่งค่า MRL นี้ ยังมีค่าต่ำกว่า Codex MRL ที่กำหนดไว้ที่ระดับ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พร้อมกับมีการแก้ไขระยะเวลาที่ทิ้งไว้ให้สารพิษสลายตัวก่อนการเก็บเกี่ยวจาก 28 วัน เป็น 21 วัน และจากการสำรวจตัวอย่างส้มจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ พบสารตกค้างมากถึง 10 ชนิด บางตัวอย่างเกินค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างและพบสารพิษตกค้างมากถึง 4 ชนิด ในตัวอย่างเดียว จึงควรแนะนำให้ใช้สารฆ่าแมลงเพียงชนิดเดียว และศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างชนิดอื่นประกอบ เพื่อการพิจารณาการใช้ที่ถูกต้อง ไม่จำเป็นต้องใช้สารพิษหลายชนิดเพื่อกำจัดศัตรูพืชชนิดเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะนำไปพิจารณาค่ามาตรฐานสารพิษชนิดนี้ในส้มเขียวหวานสำหรับประเทศไทย (National MRL) และกลุ่มประเทศอาเซียน (Asean MRL) และใช้เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการพิจารณาทบทวนค่า MRL ของสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวานของ Codex MRL ต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

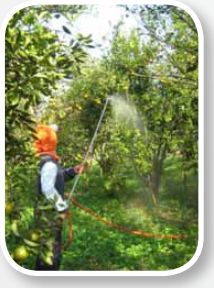
1. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา วิจัยปริมาณสาร พิษตกค้างเมทธิดาไธออน ในส้มเขียวหวานเพื่อนำไปกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง สามารถนำไปใช้ประกอบการพิจารณาค่ามาตรฐานสารพิษชนิดนี้ในส้มเขียวหวานสำหรับประเทศไทย (National MRL) และกลุ่มประเทศอาเซียน (Asean MRL) และใช้เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการพิจารณาจัดตั้งค่า Codex MRL หรือเป็นการทบทวนค่า MRL ทุกๆ 15 ปีต่อไป เนื่องจากข้อมูลที่ได้จากการทดลองจากแต่ละประเทศ ซึ่งอาจมีสภาพแวดล้อมต่างกันจะมีค่าแตกต่างกันไป ข้อมูลที่ได้เหล่านี้จะนำไปใช้ประกอบการพิจารณากำหนด ค่า Codex MRL ของส้มเขียวหวานต่อไป ซึ่งตามปกติ JMPR ได้จัดตั้งค่า MRL ของสารเมทธิดาไธออน ในส้มเขียวหวานที่ระดับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประเทศไทยจะส่งข้อมูลจากงานวิจัยนี้สนับสนุนความปลอดภัยจากสารเมทธิดาไธออนในส้มเขียวหวาน และเสนอให้ยังคงกำหนดสารพิษตกค้างเมทธิดาไธออน ในส้มเขียวหวาน ที่ระดับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต่อไป และใช้เป็นค่า MRL ของประเทศไทยด้วย ซึ่งเดิมกำหนดไว้ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนประเทศญี่ปุ่นได้กำหนดไว้ใน Positive Lists มีค่ามากถึง 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เช่นเดียวกันกับสหภาพยุโรปที่กำหนดไว้ที่ระดับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2. ได้ข้อมูลเพื่อแนะนำให้เกษตรกร ทิ้งระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตส้มเขียวหวาน เพื่อจำหน่ายให้ผู้บริโภคได้ทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยไม่เสียเปรียบทางการค้าโดยเฉพาะกับประเทศคู่แข่งที่มีการกีดกันทางการค้าที่มิใช่ภาษี และในปัจจุบันนี้ แต่ละประเทศคำนึงถึงเรื่องความปลอดภัยในการบริโภคอาหารมากขึ้น จึงใช้ค่า MRL เป็นสิ่งบ่งบอกถึงคุณภาพของสินค้าเกษตร และมักเผยแพร่ให้แก่ประเทศอื่นๆ ทั่วโลก ทำให้สินค้าไทยมีมาตรฐานที่สามารถปฏิบัติและจำหน่ายได้มากยิ่งขึ้น

3. ทำให้ได้ข้อมูลการสลายตัวของเมทธิดาไธออน ในส้มเขียวหวานและใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตส้มเขียวหวานที่ปลอดภัย ภายหลังจากการพ่นสารเมทธิดาไธออน ครั้งสุดท้าย 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับค่า MRL ของไทยที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเว้นระยะเก็บเกี่ยวไว้ 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับค่า MRL ของ Codex ที่ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับการส่งออก และได้เสนอต่อคณะกรรมการวัตถุอันตรายของกรมวิชาการเกษตร เพื่อการพิจารณาปรับปรุงฉลากต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. กาญจน์ จันทร์ลอย, สามารถ เศรษฐวิทยา, นางมณฑา วงศ์มณีโรจน์ และรวี เสรฐภักดี, 2553. ความหลากหลายของสายพันธุ์พืชตระกูลส้ม. ศูนย์วิจัยและพัฒนาไม้ผลเขตร้อน สถาบันวิจัยและพัฒนากำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ http://www.rdi.ku.ac.th/ kasetresearch52/04-plant/kanchana/plant 00.html Available online 16 มีนาคม 2553.
2. นิรนาม. คุมส้มเปลือกล่อนไทย. หนังสือพิมพ์ข่าวสด ประจำวันอังคารที่ 26 ธันวาคม พ.ศ.2549 http://news.sanook.com/economic/economic_71343.php Available-online16Mar2010
3. กรมวิชาการเกษตร, 2552. คู่มือ GAP ส้มเปลือกล่อน. http://gap.doa.go.th/gap/acadamic.html Available-online 11Oct2009.
4. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2551. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2551. เอกสารวิชาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 295 หน้า.
5. EXTOXNET (The Extension Toxicology Network), 2009. Pesticide Information Profile : Methidathion. http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/haloxyfop-methylparathion/methidathion-ext.html Available-online 15Oct2009.
6. PAN (Pesticide Action Network), 2009. Pesticide Database : Methidathion. http://www.pesticideinfo.org/Detail_ChemUse.jsp?Rec_Id=PC32869 Available-online 15 Oct 2009.
7. Wood, A. 2009. Methidathion Data Sheet. http://www.alanwood.net/pesticides/methidathion.html Available-online 11Oct2009



ภาพแปลงทดลองและการสกัดสารพิษตกค้าง methidathion ในส้มเขียวหวาน

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างอีไธออนในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (ครั้งที่ 1-2)

Residue Trial of Ethion in Tangerine to Establish Maximum Residue Limit (MRL)(Trial 1-2)

ยงยุทธ ไผ่แก้ว น้ำเย็น ศิริพัฒน์ ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของอีไธออนในส้มเขียวหวาน ณ แปลงของเกษตรกร จำนวน 2 แปลง ในพื้นที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนตุลาคม ถึงเดือน ธันวาคม 2552 และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนกรกฎาคม 2553 ในแต่ละแปลง แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ฉีดพ่นสารอีไธออน 50% W/V EC ตามอัตราแนะนำในส้มโอ คือ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนการทดลองที่ 2 ไม่มีการฉีดพ่นสารเป็นแปลงเปรียบเทียบ แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 4 ต้น ฉีดพ่นสารอีไธออนในระยะที่ผลส้มเขียวหวานมีอายุก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 1 เดือน ฉีดพ่นรวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน หลังจากฉีดพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างอีไธออน ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยใช้เทคนิคทางแก๊สโครมาโตกราฟฟี ผลการวิจัย ในแปลงทดลองที่ 1 จ. เชียงใหม่ พบปริมาณอีไธออนตกค้างในส้มเขียวหวานมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.72, 1.44, 1.14, 0.98, 0.60, 0.13 และ 0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงทดลองที่ 2 จ. ชัยนาท พบปริมาณอีไธออนตกค้างในส้มเขียวหวานมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.90, 1.59, 1.09, 0.27, 0.09, 0.06 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะ 0, 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ตามลำดับ พบว่าต้องทิ้งระยะเพื่อเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยนาน 14 วัน นอกจากนี้ยังได้สำรวจตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ ทั่วประเทศ จำนวน 59 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้างอีไธออน จำนวน 41 ตัวอย่าง (ร้อยละ 69.5) ในปริมาณ 0.02 – 2.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Codex MRL ได้กำหนดค่าของสารพิษตกค้างอีไธออนในพืชตระกูลส้ม (Citrus fruits) ไว้เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ของประเทศไทยกำหนดไว้ที่ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

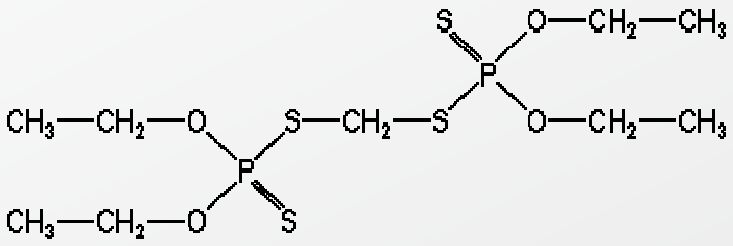
คำนำ

ส้มเขียวหวาน (Tangerine) อยู่ในกลุ่มส้มเปลือกล่อน (Mandarins) จัดเป็นส้มกลุ่มที่ปลูกกันมากที่สุดในทวีปเอเชียซึ่งรวมทั้งประเทศไทยด้วย แหล่งที่ผลิตสำคัญได้แก่ ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ จีน ไต้หวัน อินเดีย ออสเตรเลีย และย่านเมดิเตอร์เรเนียน ส่วนประเทศในเอเชียที่มีปลูกค่อนข้างมาก ได้แก่ ฟิลิปปินส์และอินโดนีเซีย รวมทั้งประเทศไทย สายพันธุ์ส้มที่สำคัญของไทยได้แก่ ส้มเขียวหวาน และส้มโชกุน (กาญจน์และคณะ, 2553) ในปี พ.ศ.2549 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกส้มเปลือกล่อนไม่น้อยกว่า 500,000 ไร่ กระจายอยู่ทั่วประเทศ โดยมีแหล่งปลูกสำคัญอยู่ในเชียงใหม่ ลำปาง แพร่ เชียงราย สุโขทัย ตาก และชุมพร ได้ผลผลิต

รวมกว่า 740,000 แสนตัน/ปี หรือเฉลี่ย 1,950 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งปี 2548 ไทยมีการส่งออกส้มคิดเป็นมูลค่ารวมกว่า 111.12 ล้านบาท ขณะเดียวกันไทยก็ยังมีการนำเข้าส้มจากต่างประเทศในปริมาณมากถึง 2,429.48 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 50.22 ล้านบาท

ส้มเขียวหวานเป็นพืชมีศัตรูรบกวนหลายชนิด ทั้งแมลงและไรศัตรูมาก กรมวิชาการเกษตร (2552) และกลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา (2553) ได้แนะนำลักษณะการเข้าทำลายและการป้องกันกำจัดไว้ได้แก่ หนอนชอนใบส้ม กัดกินใบอ่อนโดยไชชอนอยู่ระหว่างผิวใบ มักพบทำลายด้านใต้ใบมากกว่าบนใบ บริเวณที่ถูกทำลายเป็นรอยสีขาวกวน ใบมีลักษณะบิดงอลงทางด้านที่มีการถูกทำลาย ทำให้ใบเสียรูปร่าง ให้ทำการกำจัดด้วยอิมิดาโคลพริด หรือฟลูเฟนนอกซูรอน เพลี้ยไฟพริก ดูดกินน้ำเลี้ยงจากยอดอ่อน ใบอ่อนและผลอ่อน ให้ทำการกำจัดด้วยอิมิดาโคลพริด หรือโฟซาโลน เพลี้ยไก่แจ้ส้ม ดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนตาและยอดอ่อนของต้นส้มเขียวหวาน ขณะดูดกินน้ำเลี้ยงตัวอ่อนจะกลั่นสารสีขาวมีลักษณะคล้ายเส้นด้าย และอาจเกิดราดำขึ้นตามส่วนที่ถูกทำลาย ใบมีลักษณะเป็นคลื่น ใบร่วง ควรกำจัดเมื่อพบตัวเต็มวัยด้วยอิมิดาโคลพริด หนอนเจาะสมอฝ้าย กัดกินทำลายดอกและผลอ่อน หนอนวัยแรกจะกินช่อดอกและใบ และเมื่อโตขึ้นจะเข้าทำลายผลส้มที่มีขนาดใหญ่ ทำให้ผลเน่าและร่วงในช่วงส้มออกดอกและผลอ่อน กำจัดด้วยคลอร์ฟลูอาซูรอน เพลี้ยอ่อน ดูดกินน้ำเลี้ยงตามยอดอ่อน ใต้ใบอ่อน แมลงจะขับถ่ายมูลหวาน ทำให้เกิดราดำ ให้ตัดและเก็บส่วนที่ถูกทำลายเผา และกำจัดด้วยคาร์โบซัลแฟน ไรแดงแอฟริกัน มีขนาดเล็กมาก มีสีแดง ดูดกินน้ำเลี้ยงที่ผิวใบและเปลือกผลส้ม ให้ทำการกำจัดด้วยโพรพาร์ไจต์ หรือ อามีทราซ ไรสนิมส้ม ดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและผล ทำให้ใบมีลักษณะกระด้าง สีเขียวคล้ำไม่เป็นมัน การกำจัดเมื่อพบมีการระบาด ทำการกำจัดด้วยกำมะถันหรือไพริดาเบน

อีไธออน (ethion) เป็นสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตประเภท non-systemic (EXTOXNET, 2011) พวกอะลิฟาติก ออร์กาโนไธโอฟอสเฟต (aliphatic organothiophosphate insecticide) มีทั้งซัลเฟอร์และฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบ มีชื่อทาง IUPAC ว่า *O,O,O′,O′*-tetraethyl *S,S′*-methylene bis(phosphorodithioate) สูตรโครงสร้างเป็น $C_9H_{22}O_4P_2S_4$ ดังแสดงในภาพที่ 1 (Wood, 2009) มีมวลโมเลกุล 384.48 เลขทะเบียนบ่งชี้ (CAS No.) 563-12-2 สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน โดยการยับยั้งเอนไซม์อะเซทธิลโคลีเนสเทอเรส (cholinesterest inhibitor) (PAN, 2009) มีความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลองประเภทหนูทางปาก ที่ระดับ LD_{50} 21-191 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทางผิวหนังต่อหนูที่ระดับ 62 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และต่อผิวหนังกระต่ายที่ระดับ 890 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ถ้าได้รับโดยตรงอาจก่อให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดช่องท้อง ท้องเสีย น้ำลายฟูมปาก ปวดศีรษะ กล้ามเนื้อกระตุก หายใจลำบาก เกิดอาการตาพร่ามัว และแน่นหน้าอก ไปจนถึงเสียชีวิตได้ อาจมีผลบ้างในระบบสืบพันธุ์แต่ไม่เป็นที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ ไม่เป็นสารก่อกลายพันธุ์ และไม่เป็นสารก่อมะเร็ง อาการหลักคือยับยั้งระบบประสาท (EXTOXNET, 2011)



ภาพที่ 1. สูตรโครงสร้างของสารอีไธออน (Wood, 2009)

ในประเทศไทย สารอีไธออนที่จดทะเบียนไว้กับสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยอัตราแนะนำสำหรับฆ่าหนอนชอนใบส้มและเพลี้ยไฟพริก พ่นอีไธออน 50% W/V EC ในต้นส้มเขียวหวานตามที่ระบุในฉลาก เท่ากับ 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร และควรทิ้งระยะเก็บเกี่ยวภายหลังการพ่นสาร 21 วัน (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) สำหรับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างอีไธออนในส้มทั้งชนิดหวานและเปรี้ยว Codex ไม่ได้กำหนดไว้ มีค่า ADI ที่ระดับ 0.002 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน และค่า Acute Reference Dose อยู่ที่ระดับ 0.0005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ประเทศไทยกำหนดค่ามาตรฐานของอีไธออนไว้ที่ระดับ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งแตกต่างจากค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างของกลุ่มประเทศในสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่น ที่กำหนดไว้ที่ระดับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างอีไธออนในส้มเขียวหวาน เพื่อการพิจารณาปรับปรุงค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวานของไทย และส่งข้อมูลไปพิจารณาค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างที่เหมาะสมในระดับอาเซียนและ Codex ต่อไป

วิธีดำเนินการ

ทำแปลงทดลองส้มเขียวหวานในแปลงเกษตรกรที่ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท รวม 2 แปลงทดลอง มีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1. วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial มี 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ทดลองในต้นส้มเขียวหวานที่พ่นสารอีไธออนในอัตราแนะนำ เท่ากับ 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร โดยใช้สาร อีไธออน 50% W/V EC ซึ่งมีการตรวจเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ก่อน มีค่าเท่ากับ 50.2% W/V EC

การทดลองที่ 2 เป็นแปลงเปรียบเทียบ (Control) คือ ต้นส้มเขียวหวาน ที่ไม่มีการพ่นอีไธออน โดยพ่นเฉพาะน้ำเปล่า

แต่ละการทดลองมี 8 กรรมวิธี (Treatment) หรือระยะเวลาที่สุ่มเก็บส้มเขียวหวานมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 0 วัน (2 ชั่วโมง หลังการพ่นอีไธออนครั้งสุดท้าย) 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน หลังการพ่นสารอีไธออนครั้งสุดท้าย รวมเก็บตัวอย่าง 7 ครั้ง และทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีส้มเขียวหวาน 4 ต้น

2. การทำแปลงทดลอง

ทำแปลงทดลองส้มเขียวหวานในแปลงของเกษตรกรที่ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท รวม 2 แปลงทดลอง ในปี 2552-53 เป็นสวนส้มเขียวหวานที่มีระบบให้น้ำแบบท่อน้ำหยดและแบบสปริงเกอร์ ตามลำดับ อายุของต้นส้มเขียวหวานประมาณ 10 ปี ในแต่ละการทดลองมีต้นส้มเขียวหวานเปรียบเทียบ

3. วิธีการดำเนินการทดลอง

เลือกต้นส้มเขียวหวานที่มีขนาดของต้นใกล้เคียงกัน 24 ต้น และมีผลผลิตมากพอที่จะทดลอง แบ่งเป็น 2 กลุ่มๆละ 12 ต้น ติดป้ายระบุว่าเป็น treatment หรือ control และซ้ำที่ 1-3 กำหนดให้เกษตรกรปฏิบัติดูแลให้น้ำ ใส่ปุ๋ย และพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอื่น ๆ ตามปกติ ยกเว้นสารฆ่าแมลงอีไธออนจะผสมและกำกับดูแลการพ่นเอง ก่อนทำการพ่นสาร ต้องทดสอบปริมาณการใช้น้ำของส้มเขียวหวานแต่ละต้นที่สามารถฉีดพ่นสารให้สม่ำเสมอและทั่วต้นส้มเขียวหวาน จากการทดสอบพบว่าใช้น้ำ 10 ลิตรต่อต้น จึงสามารถเตรียมสารละลายอีไธออนที่ใช้ฉีดพ่นในแปลงทดลองได้ จากอัตราแนะนำของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แนะนำให้ใช้อีไธออน 50% W/V EC เท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จึงตวงอีไธออน ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ผสมน้ำ 40 ลิตร สำหรับการฉีดพ่นส้มเขียวหวาน 4 ต้น หรือ 1 Replication ฉีดพ่นต้นส้มเขียวหวานให้สม่ำเสมอทั่วทั้งต้นในแต่ละซ้ำ และฉีดพ่นทุก 7 วัน อย่างต่อเนื่องรวม 4 ครั้ง วัดปริมาตรสารละลายที่เหลือเพื่อคำนวณปริมาณสารที่พ่นในแปลงทดลอง จดบันทึก อุณหภูมิ สภาพดินฟ้าอากาศ ตลอดช่วงการทดลอง

4. การสุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์

สุ่มตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง ภายหลังการพ่นอีไธออนครั้งสุดท้าย โดยทิ้งระยะเวลาไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้สารที่พ่นแห้ง (เป็นตัวอย่างที่ 0 วัน) จากนั้นสุ่มตัวอย่างส้มเขียวหวาน ในวันที่ 1, 3, 5, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ รวม 8 ครั้ง โดยสุ่มผลที่เจริญเติบโตเต็มที่อย่างน้อย 5 ผลต่อต้นรวมเป็น 1 ตัวอย่าง โดยสุ่มรอบต้นและจากทุกส่วนของต้น (ด้านบนและล่าง ด้านนอกและด้านในทรงพุ่ม) บรรจุในถุงพลาสติกปิดถุงให้แน่น บันทึกรายละเอียดของตัวอย่าง แช่ในถังน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพของตัวอย่าง รีบนำกลับห้องปฏิบัติการ

นอกจากนี้ ยังได้สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวม 18 จังหวัด นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง รวมตัวอย่างส้มเขียวหวานทั้งหมด 59 ตัวอย่าง

5. การเตรียมตัวอย่างและการสกัดตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างส้มเขียวหวานทุกผล ทั้งส่วนเนื้อและเปลือก มา 1 ใน 2 ส่วนของแต่ละผล หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่นละเอียดอีกครั้งด้วยเครื่องเตรียมตัวอย่าง (Lab Micronizer) คนให้เข้ากันแล้วสุ่มชั่งตัวอย่างละ 25±0.1 กรัม สกัดหาสารพิษตกค้างอีไธออนในแต่ละซ้ำ ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Steinwandter (1985) สกัดโดยปั่นกับ acetone 50 ml ด้วยเครื่อง homogenizer นาน 1 นาที ที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที แล้วเติม dichloromethane 40 ml และ sodium chloride 8 กรัม ปั่นอีกครั้งนาน 1 นาที เติม sodium sulfate anhydrous 20 กรัม เขย่าเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ 10นาที เทส่วนใสปริมาตร 50 ml นำสารละลายที่ได้กรองผ่าน sodium sulfate anhydrous 20 กรัม นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่องระเหยสารละลายที่ตั้งอุณหภูมิไว้ 40°C จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 5 ml ด้วย ethyl acetate (PR) ถ้าปริมาตร

เกินให้ลดปริมาตรด้วยการเป่าด้วยไนโตรเจน และถ่ายลงใน vial สำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วย GC (FPD)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Stock solution ให้มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ isooctane (PR) เป็นตัวทำละลาย เตรียม Intermediate solution ที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม Working stock solution ที่มีความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงเตรียม Working solution โดยดูด Working stock solution มา 1, 2.5 และ 5 ml ใส่ลงใน volumetric flask 10 ml แล้วเจือจางด้วย ethyl acetate (PR) จะได้สารละลายมาตรฐานอีไธออน ที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารละลายมาตรฐานอีไธออนไปหา calibration curve ที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร แล้วการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง หลังการสกัดตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ปรับปริมาตรแน่นอนแล้ว นำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของอีไธออน โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC) : Agilent 6,890 ชนิด Flame Photometric Detector (FPD) โดยมีสภาวะการใช้งานดังนี้

Column : DB-1701P, 0.25μm thickness, 30m length, 0.32mm.id.

Temperature: injector 250°C, detector 250°C, oven temperature program ดังนี้

: 120°C (2 min) ⟶ 10°C/min 210°C (2 min) ⟶

2°C/min 220°C (2 min) ⟶ 10°C/min 250°C (5 min)

Inject mode : splitless (purge on time= 1 min) **Carrier gas** : helium, flow rate 2 ml/min

Make up gas : nitrogen, flow rate 58 ml/min

Flame gas : hydrogen, flow rate 75 ml/min; air, flow rate 100 ml/min

Injection volume : 1 μl

การคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง โดยวัดค่า retention time ของพีค นำไปเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน ถ้าเป็นสารชนิดเดียวกันจะมีค่า retention time เท่ากัน คำนวณความเข้มข้นของสารพิษตกค้างอีไธออน ในสารละลายตัวอย่าง ปรับปริมาตรสารตัวอย่างให้มีปริมาตรที่แน่นอน แล้วฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC พีคของอีไธออน ในสารละลายตัวอย่าง ต้องมี retention time เท่ากับสารละลายมาตรฐานหรือมีการเคลื่อนไปจากเดิมไม่เกินร้อยละ 5 ของ retention time เครื่องจะคำนวณหาพื้นที่ใต้พีคของสารละลายตัวอย่างอัตโนมัติ เมื่อเลือกฟังก์ชั่นเป็น ESTD (External Standard) ในส่วนของโปรแกรมสำเร็จรูปเพื่อรายงานผล การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างอีไธออน ที่ตรวจพบคำนวณโดยโปรแกรมสำเร็จรูปในเครื่อง GC สามารถหาได้โดยการอ่านค่าความเข้มข้นที่ได้จาก Calibration curve โดยได้คำนวณสมการ Linear Regression และต้องมีค่า Correlation ไม่น้อยกว่า 0.99 หาความเข้มข้นของสารในตัวอย่างตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$C_{sample} = C_{calib.} \times V_{sample} \times F / W_{sample}$$

โดยที่ C_{sample} = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

$C_{calib.}$ = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง ที่ได้จากการเทียบ Calibration curve ใน GC Report (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังนี้

$$C_{calib.} = \frac{\text{Area of sample x Conc. of Standard}}{\text{Area of Standard}}$$

V_{sample} = ปริมาตรที่ปรับครั้งสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างก่อนการฉีด (มิลลิลิตร)

W_{sample} = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาสกัด (กรัม)

F = Correction Factor = 90ml/50ml

6. การวิเคราะห์และประเมินผลข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ แปรผลข้อมูลและเขียนกราฟการสลายตัวของสารพิษตกค้าง หาค่าสมการของกราฟการสลายตัว และได้สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ รวม 59 ตัวอย่าง นำผลการวิเคราะห์ทั้งหมดมาสรุปข้อมูลช่วงความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ และเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2552 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

ทำแปลงทดลองส้มเขียวหวานของเกษตรกร ในอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท วิเคราะห์สารพิษตกค้างอีไธออนในส้มเขียวหวาน ณ ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง ของกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ และห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ

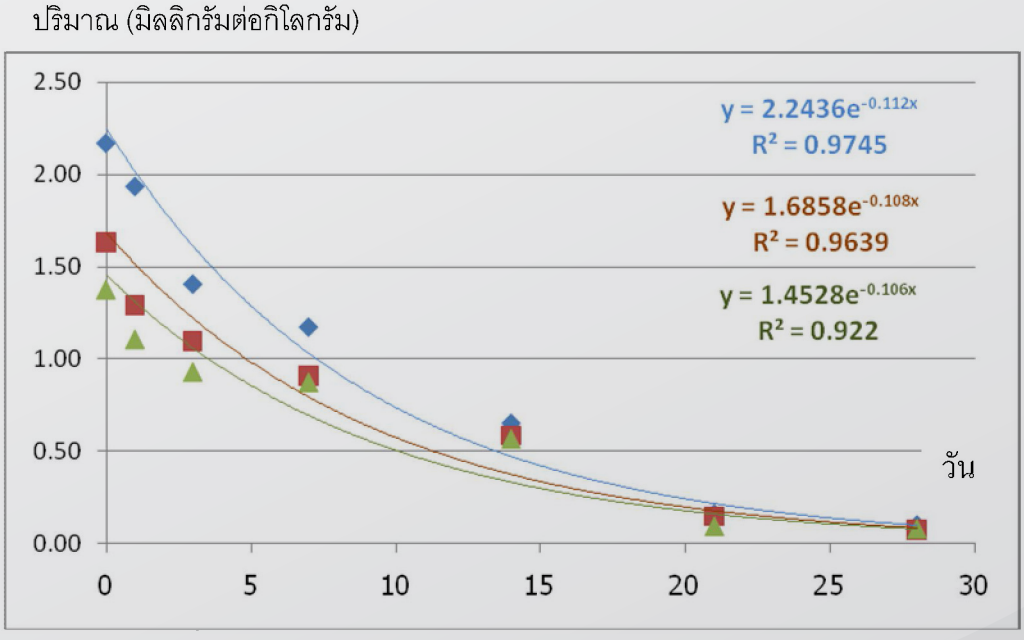
ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองเพื่อศึกษาการสลายตัวของสารอีไธออน ในส้มเขียวหวาน โดยการทำแปลงทดลอง 2 แปลง เป็นแปลงทดลองครั้งที่ 1 และ 2 โดยปลูกในสถานที่แตกต่างกัน ที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ตามลำดับ ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างอีไธออน ในส้มเขียวหวานที่ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังการพ่นสารอีไธออนตามอัตราแนะนำ โดยมีต้นส้มเปรียบเทียบ และสุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ตามกรรมวิธี ผลปรากฏดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ลักษณะพื้นที่ปลูกเป็นที่ราบสูงในหุบเขา มีแสงแดดจัด ไม่มีฝนตก อากาศค่อนข้างหนาวที่ระดับ 15 – 25 องศาเซลเซียส พ่นสารที่ทดสอบในช่วงเช้า จำนวน 3 ครั้ง สุ่มเก็บผลส้มตาม Codex Guidelines และนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง ของกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามกรรมวิธี พบสารพิษตกค้างอีไธออนในส้มเขียวหวานเฉลี่ยเท่ากับ 1.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ 0 วัน แล้วค่อยๆ ลดลงเป็น 1.44, 1.14, 0.98, 0.60, 0.13 และ 0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในวันที่ 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ เมื่อนำค่าปริมาณสารพิษตกค้างอีไธออนทั้ง 3 ซ้ำ มาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่เก็บเกี่ยว (ดังแสดงในภาพที่ 2) จะพบเส้นแนวโน้มการสลายตัวของสารพิษนี้ ในลักษณะเดียวกัน โดยมีการสลายตัวและปริมาณมีแนวโน้มลดลงเมื่อทิ้งระยะเก็บเกี่ยวมากขึ้น และเป็นไปดังสมการ $Y = 2.2436e^{-0.112x}$,

$Y = 1.6858e^{-0.108x}$ และ $y = 1.4528e^{-0.106x}$ ของการทดลองซ้ำที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยมีค่า R^2 มากกว่า 0.9 ทุกซ้ำ จากการทดลองพบว่า ถ้าต้องการให้สารพิษตกค้างสลายตัวเหลือประมาณ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวานของประเทศไทย ต้องทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้ 7 วัน แต่ถ้าปรับลดค่า MRL เป็น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามค่ามาตรฐานของสหภาพยุโรป จะต้องทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้มากกว่า 21 วัน ซึ่งนานมากในทางปฏิบัติ ค่าที่เหมาะสมในทางปฏิบัติและยังคงปลอดภัยควรจะเป็น 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และควรทิ้งระยะเก็บเกี่ยวที่ 14 วัน

แปลงทดลองที่ 2 อำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ลักษณะพื้นที่ปลูกเป็นที่ราบยกคันดินตามแนวปลูก มีแสงแดดจัด มีฝนตกเบาๆในช่วงบ่ายถึงค่ำในบางวัน อากาศค่อนข้างร้อนที่ระดับ 28 – 35 องศาเซลเซียส พ่นสารที่ทดสอบ 3 ครั้ง หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสุ่มเก็บผลส้มนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง ของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามกรรมวิธี พบสารพิษตกค้างอีไธออน ในส้มเขียวหวานเฉลี่ยเท่ากับ 1.90, 1.59, 1.09, 0.27, 0.09, 0.06 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะ 0, 1, 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน ภายหลังจากการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในแปลงทดลองที่ 1 แม้ว่าในวันแรกจะพบสารพิษตกค้างในปริมาณต่ำกว่าค่า Codex MRL แต่สารพิษก็ยังคงสลายตัวอย่างช้าๆ

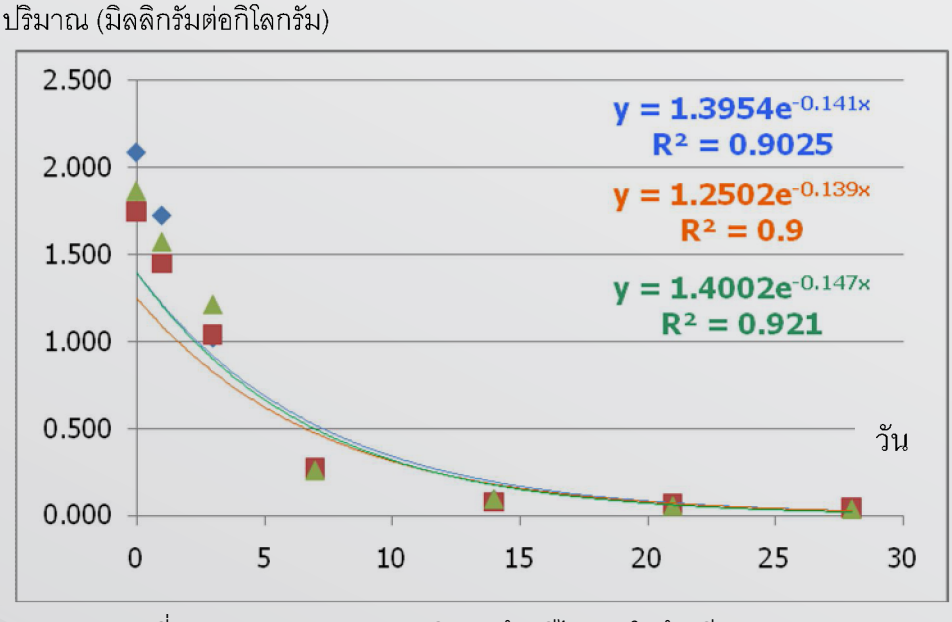


ภาพที่ 2. การสลายตัวของสารพิษตกค้างอีไธออนในส้มเขียวหวาน
แปลงที่ 1 อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

เมื่อเขียนกราฟความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่เก็บเกี่ยว (ดังแสดงในภาพที่ 3) จะพบเส้นแนวโน้มการสลายตัวของสารพิษนี้ ในลักษณะเดียวกัน โดยมีการสลายตัวและปริมาณมีแนวโน้มลดลงเมื่อทิ้งระยะเก็บเกี่ยวมากขึ้น และเป็นไปดังสมการ $Y = 1.3954e^{-0.141x}$, $Y = 1.2502e^{-0.139x}$ และ $y = 1.4002e^{-0.147x}$ ของการทดลองซ้ำที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยมีค่า R^2 มากกว่า 0.9 พบว่ามีการสลายตัวค่อนข้างเร็วในช่วง 0-5 วัน ภายหลังการพ่นสาร หลังจากนั้นการสลายตัวเป็นไปอย่างช้าๆ แต่เร็วกว่าแปลงที่ 1 เล็กน้อย เนื่องจากการ

ทดลองนี้ทำในฤดูฝน ช่วงเวลาที่ทดลองมีฝนตกและอากาศค่อนข้างร้อน มีผลทำให้เกิดการสลายตัวของสารพิษตกค้างอีไธออนมากขึ้น ถ้าต้องการให้สารพิษตกค้างสลายตัวเหลือ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต้องทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้เพียง 3 วัน แต่ถ้าปรับลดค่า MRL ของไทยเป็น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะต้องทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้ 14 วัน ซึ่งยังน้อยกว่าฉลากที่กำหนดไว้ที่ 21 วัน

นอกจากนี้ ได้สำรวจตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ ใน 18 จังหวัด จำนวน 59 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่า ตรวจพบสารพิษตกค้าง 58 ตัวอย่าง (ร้อยละ 98.3) และพบว่า เกษตรกรมักใช้สารเคมีมากกว่า 1 ชนิดในการพ่นต้นส้มเขียวหวาน ในตัวอย่างเดียวพบสารพิษตกค้างสูงสุด 4 ชนิด และพบสารพิษตกค้างอีไธออน จำนวน 41 ตัวอย่าง (ร้อยละ 69.5) ในปริมาณ 0.02 – 2.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกินค่ามาตรฐานของไทย (1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) 5 ตัวอย่าง ทำให้มีความเสี่ยงต่อการบริโภคได้ และเกินค่ามาตรฐานของสหภาพยุโรป (0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ถึง 30 ตัวอย่าง และยังตรวจพบสารอื่นๆ รวม 10 ชนิด ที่พบมากคือ cypermethrin และ chlorpyrifos ร้อยละ 76.3 และ 67.8 ตามลำดับ จึงต้องมีการเฝ้าระวังสารพิษตกค้างในส้มเขียวหวาน และแนะนำเกษตรกรให้ใช้สารชนิดอื่นที่สลายตัวเร็ว หรือใช้สารอีไธออนในอัตราที่แนะนำและต้องทิ้งระยะเวลาไว้มากกว่า 14 วัน จึงเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ทั้งนี้จะได้ส่งข้อมูลเพื่อปรับปรุงฉลากในการทิ้งระยะเวลาหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย จาก 21 วัน เป็น 14 วัน และแนะนำให้ใช้สารฆ่าแมลง



ภาพที่ 3. การสลายตัวของสารพิษตกค้างอีไธออนในส้มเขียวหวาน
แปลงที่ 2 อำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท

เพียงชนิดเดียวและศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างชนิดอื่นประกอบ เพื่อการพิจารณาการใช้ที่ถูกต้อง ไม่จำเป็นต้องใช้สารพิษหลายชนิด และเพื่อให้ยังมีการบริโภคอย่างปลอดภัย

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดลองเพื่อศึกษาการสลายตัวของสารอีไธออนในส้มเขียวหวาน จำนวน 2 แปลง ที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท พบว่าแนวโน้มการสลายตัวของสารพิษนี้เป็นไปในลักษณะเดียวกันทั้งสองแปลง โดยมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วในช่วงแรก และปริมาณมีแนวโน้มลดลงอย่างช้าๆ เมื่อทิ้งระยะเก็บเกี่ยวมากขึ้น ถ้าต้องการให้สารพิษตกค้างสลายตัวเหลือ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต้องทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้ 14 วัน แต่ถ้าปรับลดค่า MRL ของไทยเป็น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะทิ้งระยะเก็บเกี่ยวไว้นานถึง 21 วัน ซึ่งยากแก่การปฏิบัติของเกษตรกร และจากการสำรวจตัวอย่างส้มจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ พบสารตกค้างมากถึง 10 ชนิด บางตัวอย่างเกินค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างและพบสารพิษตกค้างมากถึง 4 ชนิดในตัวอย่างเดียว จึงควรแนะนำให้ใช้สารฆ่าแมลงเพียงชนิดเดียว และศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างชนิดอื่นประกอบ เพื่อการพิจารณาการใช้ที่ถูกต้อง ไม่จำเป็นต้องใช้สารพิษหลายชนิดเพื่อกำจัดศัตรูพืชชนิดเดียวกัน อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะนำไปพิจารณาปรับปรุงค่ามาตรฐานสารพิษชนิดนี้ในส้มเขียวหวานสำหรับประเทศไทย (National MRL) และใช้เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการพิจารณาทบทวนค่า MRL ของสารพิษตกค้างอีไธออนในส้มเขียวหวานของกลุ่มประเทศอาเซียน (Asean MRL) และของ Codex MRL ต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างอีไธออน ในส้มเขียวหวานเพื่อนำไปกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง สามารถนำไปใช้ประกอบการพิจารณาปรับปรุงค่ามาตรฐานสารพิษชนิดนี้ในส้มเขียวหวานสำหรับประเทศไทย (National MRL) และใช้เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการพิจารณาจัดตั้งค่า MRL ของกลุ่มประเทศอาเซียน (Asean MRL) และของ Codex MRL

2. เพื่อนำข้อมูลการสลายตัวไปเจรจาต่อรองกับสหภาพยุโรปที่กำหนดไว้ที่ระดับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้ปรับเป็น 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เพื่อประโยชน์ทางการค้าและยังคงความปลอดภัย

3. ได้ข้อมูลเพื่อแนะนำให้เกษตรกร ทิ้งระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตส้มเขียวหวาน เพื่อจำหน่ายให้ผู้บริโภคได้ทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยไม่เสียเปรียบทางการค้าโดยเฉพาะกับประเทศคู่แข่งที่มีการกีดกันทางการค้าที่มิใช่ภาษี และในปัจจุบันนี้ แต่ละประเทศคำนึงถึงเรื่องความปลอดภัยในการบริโภคอาหารมากขึ้น จึงใช้ค่า MRL เป็นสิ่งบ่งบอกถึงคุณภาพของสินค้าเกษตร และมักเผยแพร่ให้แก่ประเทศอื่นๆ ทั่วโลก ทำให้สินค้าไทยมีมาตรฐานที่สามารถปฏิบัติและจำหน่ายได้มากยิ่งขึ้น

4. ทำให้ได้ข้อมูลการสลายตัวของอีไธออน ในส้มเขียวหวานและใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตส้มเขียวหวานที่ปลอดภัย ภายหลังจากการพ่นสารอีไธออน ครั้งสุดท้ายที่ 14 วัน เมื่อปรับค่า MRL ของไทยจาก 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นที่ระดับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจะได้เสนอต่อคณะกรรมการวัตถุอันตรายของกรมวิชาการเกษตร เพื่อการพิจารณาปรับปรุงฉลากต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. กาญจน์ จันทร์ลอย, สามารถ เศรษฐวิทยา, นางมณฑา วงศ์มณีโรจน์ และรวี เสรฐภักดี, 2553. ความหลากหลายของสายพันธุ์พืชตระกูลส้ม. ศูนย์วิจัยและพัฒนาไม้ผลเขตร้อน สถาบันวิจัยและพัฒนากำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ http://www.rdi.ku.ac.th/ kasetresearch52/04-plant/kanchana/plant 00.html Available online 16 มีนาคม 2553.
2. กรมวิชาการเกษตร. 2552. คู่มือ GAP ส้มเปลือกล่อน. http://gap.doa.go.th/gap/acadamic.html Available-online 11Oct2009.
3. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เอกสารวิชาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 303 หน้า.
4. EXTOXNET (The Extension Toxicology Network), 2011. Pesticide Information Profile : Ethion. http://extoxnet.orst.edu/pips/ethion.htm Available-online 15Jan2011.
5. PAN (Pesticide Action Network), 2009. Pesticide Database : Ethion. http://www.pesticideinfo.org/Detail_ChemUse.jsp?Rec_Id=PC32869 Available-online 15 Jan 2011.
6. Wood, A. 2009. Ethion Data Sheet. http://www.alanwood.net/pesticides/ethion.html Available-online 11 Oct 2009

ภาพแปลงทดลองและ
การสกัดสารพิษตกค้าง
ethion ในส้มเขียวหวาน

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole ในผัก

Method Development of Cyproconazole, Hexaconazole, Propiconazole, Tebuconazole and Tetraconazole Residue Analysis in Vegetables

ยงยุทธ ไผ่แก้ว น้ำเย็น ศิริพัฒน์ ประภัสสรา พิมพ์พันธุ์

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

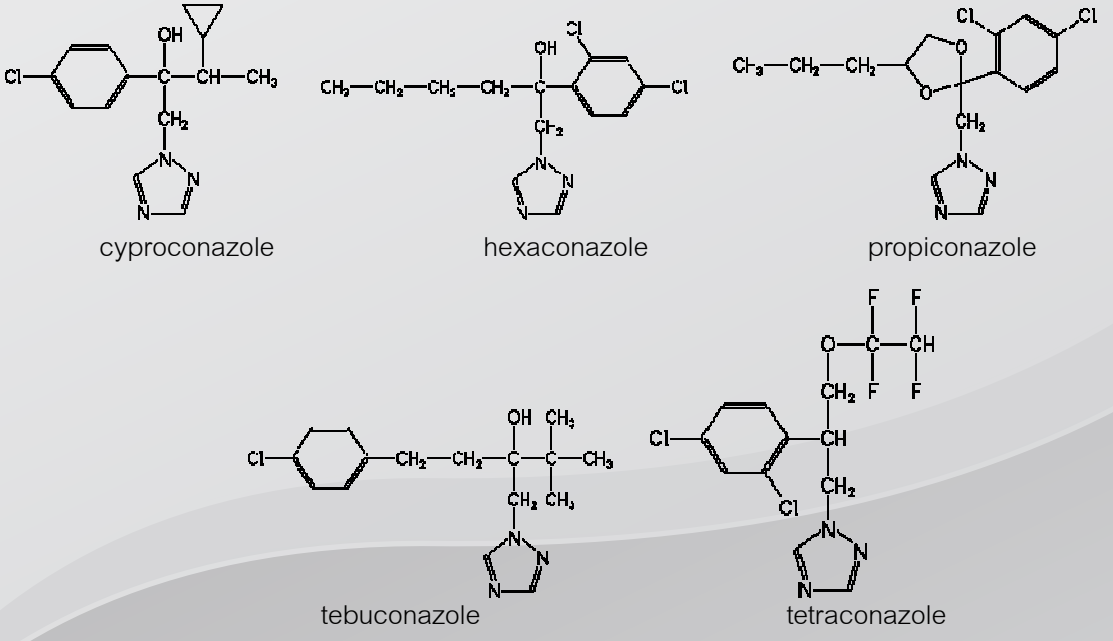
การทดลองเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole ในผักชนิดต่างๆ ได้แก่ ถั่วฝักยาว ผักกาดขาว กะหล่ำปลี และพริก สามารถใช้วิธีการของ Navarro *et al* (2002) หรือ Nguyen *et al* (2008) หรือดัดแปลงวิธีการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 TM-T04-R02 โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ GC-ECD ได้สารกลับคืนในช่วงร้อยละ 41.7–133.2, 77.1–106.6 และ 79.6–109.7 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 – 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งนี้ ต้องมีการบำรุงรักษาเครื่อง GC-ECD ในทุก Batch ที่ทดลอง จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำนำ

การผลิตพืชอาหารในปัจจุบันมักพึ่งพาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นหลัก เพื่อการผลิตพืชให้มากพอกับตามความต้องการของมนุษย์ แต่วัตถุมีพิษการเกษตรเหล่านี้ทำให้เกิดสารพิษตกค้างในพืช และสร้างปัญหาให้กับการค้าพืชผลเกษตรในตลาดการค้าเสรี วิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างเพื่อให้รู้ถึงคุณภาพของผลผลิตจึงต้องมีการพัฒนาโดยเร่งด่วน กอร์ปกับองค์การอนามัยโลกและองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติที่จัดตั้งคณะกรรมการ Codex ได้กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ขึ้น รวมทั้งประเทศคู่ค้าก็ได้กำหนดค่า MRL ขึ้น บังคับใช้ควบคุมดูแลเพื่อความปลอดภัยของอาหาร ค่า MRL เหล่านี้นับวันจะมีค่าต่ำลง จึงต้องมีวิธีทดสอบที่ตอบสนองความต้องการ และยังคงมีความเฉพาะและมีความไวต่อสารที่จะวิเคราะห์ วิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ดีจึงควรเป็นวิธีการวิเคราะห์แบบรวม (Multi-residue method) หรือการวิเคราะห์สารพิษตกค้างได้หลายชนิดจากการสกัดตัวอย่างเพียงครั้งเดียว (Fodor-Csorba, 1992) อย่างไรก็ตามวิธีการอาจต้องปรับเปลี่ยนไปตามคุณสมบัติของสารพิษและตัวอย่างพืชที่วิเคราะห์ ให้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี ทั้งนี้ ยังต้องให้ผลที่มีความถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้ (Anonymous, 1998) เทคนิคทางโครมาโตกราฟฟีเป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมมากในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ตั้งแต่ปี 1952 ใช้เทคนิค Paper Chromatography ต่อมาเริ่มใช้เทคนิค Gas Liquid Chromatography ในปี 1959 และสามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้างได้มากชนิดในการวิเคราะห์ครั้งเดียว (Zweig, 1964) เทคนิคดังกล่าวมีการใช้กันมากขึ้นจนถึงปัจจุบันนี้

มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกันอย่างมาก วิธีการวิเคราะห์แบบรวมโดยการสกัดตัวอย่างเพียงครั้งเดียว ไม่เฉพาะสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมท และไพรีทรอยด์เท่านั้น วิธีการสำหรับตรวจสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม triazine หรือ thiocarbamate และสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชหลายชนิด ก็มีการพัฒนาหาวิธีการที่เหมาะสมกันมากเพื่อการตรวจสอบรับรองคุณภาพของผลิตผลเกษตร (Fodor-Csorba, 1992) กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ได้ปรับปรุงและได้ขอรับรองวิธีการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 ไปแล้วนั้น ใช้ได้ผลดีกับสารที่เป็น non-polar ส่วนสารที่เป็น polar เล็กน้อย จะเป็นปัญหากับประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์แบบรวมสำหรับสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช ที่ใช้ในการผลิตพืชในประเทศไทย เพื่อสร้างมาตรฐานและขยายขอบข่ายการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชให้ครอบคลุมสารเคมีที่ใช้ให้มากที่สุด เพื่อการยอมรับสินค้าเกษตรของไทยทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศและการค้าในประชาคมโลก

สารพิษตกค้างที่ทำการทดลองเป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช (fungicides) กลุ่ม conazole fungicides หรือ triazoles จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole ทุกสารจะประกอบด้วยกลุ่ม triazole ($C_2H_3N_3$) เป็น benzonitrile และมีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ แต่มีสูตรโครงสร้างแตกต่างกันบ้าง (Wood, 2010) ดังแสดงในภาพที่ 1 มีชื่อทางเคมี รหัสที่ขึ้นทะเบียนสากล และสูตรโมเลกุล แสดงไว้ในตารางที่ 1 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา (2544) ได้แนะนำให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น โรคใบจุดสีดำ โรคราสนิมขาว และโรคราแป้งในไม้ดอกไม้ประดับ โรคกาบใบเน่าและโรคเมล็ดด่างในข้าว โรคเน่าดำในถั่วเขียว โรคลำต้นเน่าในถั่วลิสง โรคแส้ดำและโรคกลิ่นสับปะรดในอ้อย เป็นต้น สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (2553) ได้รายงานว่า มีการนำเข้าสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชทั้ง 5 ชนิดนี้ ช่วงปี 2548-2552 ในปริมาณรวม 853,860 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 424 ล้านบาท



ภาพที่ 1. สูตรโครงสร้างของสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช 5 ชนิด ที่ทดสอบ (Wood, 2010)

ตารางที่ 1. ชื่อทางเคมี รหัสที่ขึ้นทะเบียนสากล และสูตรโมเลกุล ของสารพิษที่ทดลอง

สารพิษ	ชื่อตาม IUPAC	เลขทะเบียนสากล	สูตรโมเลกุล
cyproconazole	(2*RS*,3*RS*;2*RS*,3*SR*)-2-(4-chlorophenyl)-3-cyclopropyl-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol	94361-06-5	$C_{15}H_{18}ClN_3O$
hexaconazole	(*RS*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)hexan-2-ol	79983-71-4	$C_{14}H_{17}Cl_2N_3O$
propiconazole	(2*RS*,4*RS*;2*RS*,4*SR*)-1-[2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl]-1*H*-1,2,4-triazole	60207-90-1	$C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$
tebuconazole	(*RS*)-1-*p*-chlorophenyl-4,4-dimethyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol	107534-96-3	$C_{16}H_{22}ClN_3O$
tetraconazole	(*RS*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl 1,1,2,2-tetrafluoroethyl ether	112281-77-3	$C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$

ที่มา : Wood (2010)

วิธีการวิเคราะห์แบบรวมโดยการสกัดตัวอย่างเพียงครั้งเดียว สำหรับสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชกลุ่ม conazole fungicides มีผู้ศึกษากันมากแต่ยังคงต้องมีการพัฒนาหาวิธีที่เหมาะสม Navarro *et.al.* (2002), Anastassiades และ Lehotay (2003), Rissato *et.al.* (2005), Nguyen *et.al.* (2008) และ Banerjee *et.al.* (2009) ได้ใช้วิธีการวิเคราะห์แบบรวมโดยการสกัดตัวอย่างเพียงครั้งเดียว แต่มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือที่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่จะสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ให้อยู่ในตัวทำละลาย มีการกำจัดสิ่งเจือปนที่ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างพืช Navarro *et.al.* (2000) สกัดตัวอย่างองุ่นด้วย acetone และ dichloromethane แล้วกรองโดยไม่มีการกำจัดสิ่งเจือปน วิเคราะห์ hexaconazole ได้สารกลับคืนร้อยละ 87.3 และ 97 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จากนั้น Navarro *et.al.* (2002) ได้ใช้วิธีเดียวกันนี้ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักผลไม้ เช่น ส้ม แอปเปิ้ล มะเขือเทศ และแครอท เป็นต้น ได้สารกลับคืนร้อยละ 62-102 ที่ระดับความเข้มข้น 0.04 – 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Anastassiades และ Lehotay (2003) มีการกำจัดสิ่งเจือปนประเภท polar หลายชนิด เช่น กรดอินทรีย์ สี และน้ำตาล เป็นต้น ด้วย dispersive solid-phase extraction โดยการเติม magnesium sulfate และ PSA (primary secondary amine) ลงไปในตัวอย่างที่สกัดด้วย acetonitrile ได้สารกลับคืนร้อยละ 85-101 ส่วนใหญ่อยู่ที่ร้อยละ 95 โดยเฉพาะสารพิษตกค้างที่เป็น non-polar เมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS ส่วน Rissato *et.al.* (2005) ได้ใช้ SFE (super critical fluid extraction) ในการสกัดและกำจัดสิ่งเจือปนในบรรยากาศที่ความดัน 400 bar โดยใช้ methanol ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ผ่านคอลัมน์ C-18 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.04 – 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้สารกลับคืนร้องละ 70 – 97 และ detection limit ต่ำกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-ECD สำหรับ Nguyen *et.al.* (2008) ชาวเกาหลีใต้ได้ใช้วิธีการวิเคราะห์แบบรวมสำหรับหาสารพิษตกค้าง 156 ชนิดในแตงโม ด้วย acetonitrile และ dispersive

solid-phase extraction ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 – 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้ววิเคราะห์ด้วย GC-MS ได้สารกลับคืนร้องละ 70 – 121 มีค่าความแปรปรวน 17% และหาค่า LOQ (limit of quantitation) อยู่ที่ระดับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานสารพิษในอาหารของประเทศเกาหลีใต้ ส่วน Banerjee *et.al.* (2009) จากสถาบัน National Research Centre for Grapes ของประเทศอินเดีย ได้วิเคราะห์ด้วย LC-MS-MS สามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้างได้ต่ำสุดที่ระดับ 2.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม หรือ 0.0025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟฟีนี้ สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องมือหลายชนิดขึ้นกับทรัพยากรที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ และความชำนาญของผู้ทดสอบ ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตรทั้งส่วนกลางและส่วนภูมิภาค ได้ติดตั้งเครื่อง GC-ECD/FPD/NPD และมีความชำนาญในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างมาเป็นเวลานานแล้ว การวิเคราะห์สารพิษตกค้างประเภทสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชกลุ่ม triazoles นี้ เนื่องจากมีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ จึงสามารถวิเคราะห์ด้วย GC-ECD ได้ การเตรียมตัวอย่างที่ต้องพัฒนาวิธีการให้เหมาะสมโดยใช้สารเคมีที่เป็นพิษน้อยและสิ่งอำนวยความสะดวกที่มีอยู่จึงมีความสำคัญ เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องแม่นยำและง่ายต่อการปฏิบัติงาน สามารถตรวจสอบรับรองสารพิษตกค้างได้มากขึ้น ทั้งยังช่วยลดงบประมาณและเวลาของเจ้าหน้าที่ได้อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

1. จัดเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์

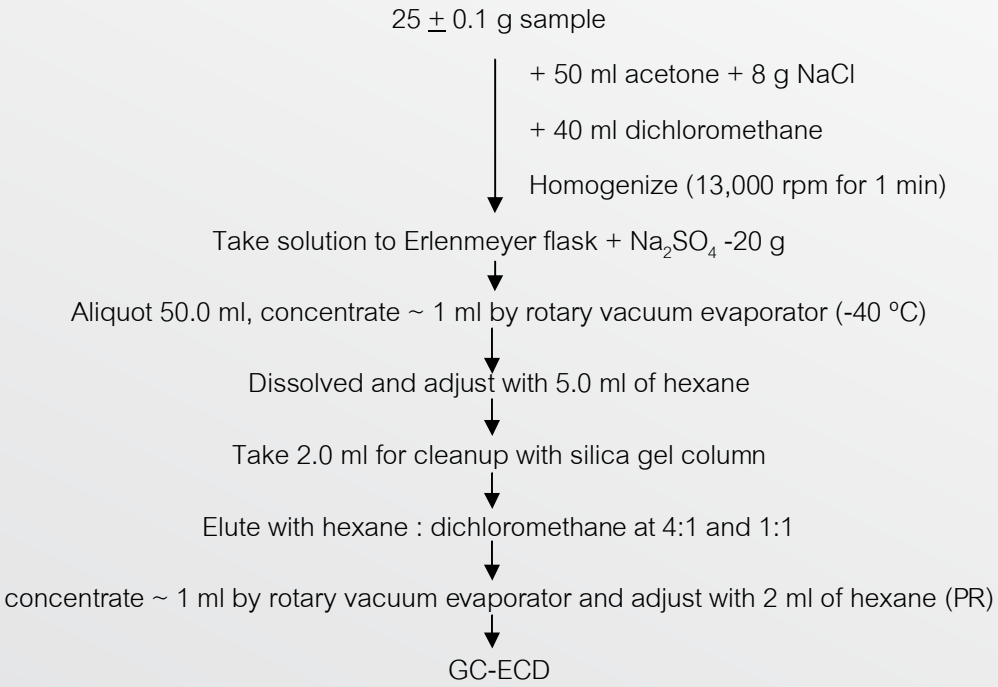
สารเคมี ได้แก่ cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole จาก Dr.Ehrenstorfer GmbH ความบริสุทธิ์ 96.5 – 99.5% ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ acetone, A.R. grade; dichloromethane, A.R. grade; acetonitrile, A.R. grade; hexane, P.R. grade; sodium sulfate anhydrous, A.R. grade; sodium chloride, A.R. grade; magnesium sulfate, A.R. grade; PSA และ graphite carbon

เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆ ได้แก่ ขวดแก้วสำหรับบรรจุตัวอย่างพร้อมฝา ขนาด 250 มิลลิลิตร เครื่องชั่งชนิด 2 และ 4 ตำแหน่ง ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว กรวยกรองทำด้วยแก้ว Cylinder ขนาด 50 มิลลิลิตร ขวดก้นแบน (flat bottom flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ขวดปรับปริมาตร ขนาด 5 มิลลิลิตร ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว เครื่องสกัดความเร็วสูง (Homogenizer) Ultra Turrax รุ่น T 25 Basic หัวจ่ายสารละลาย (Dispenser) ขนาด 1 – 50 มิลลิลิตร Auto-pipette ขนาด 100 – 1,000 ไมโครลิตร ปิเปต ขนาด 1-10 มิลลิลิตร ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator) Vials สำหรับบรรจุตัวอย่างเข้าเครื่อง GC และเครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Gas Chromatograph (GC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 มีหัวตรวจวัดชนิด Electron Captured Detector (ECD)

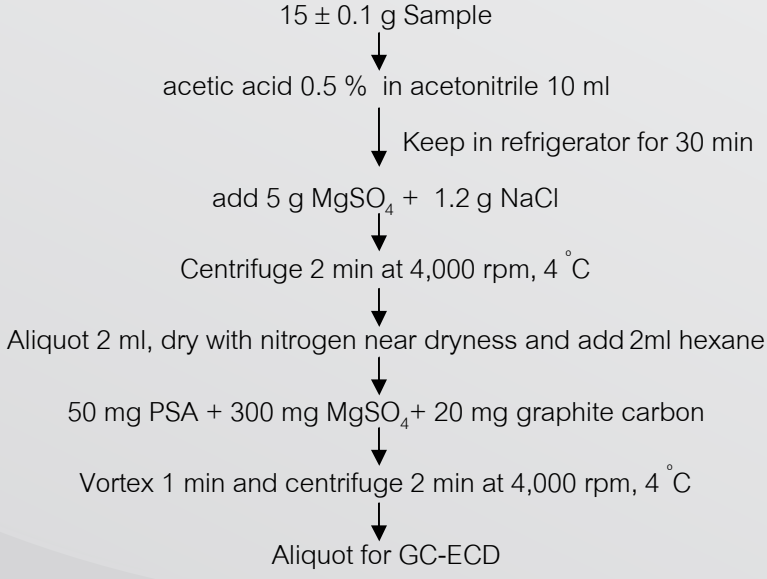
2. วิธีการ

พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช 5 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole ในผัก โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟชนิด GC-ECD ด้วยวิธีการทดสอบหาปริมาณสารพิษตกค้าง ของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างที่ใช้ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างแบบรวม (Multiresidue Analysis) (ดังแสดงในภาพที่ 2) จากนั้นจึง

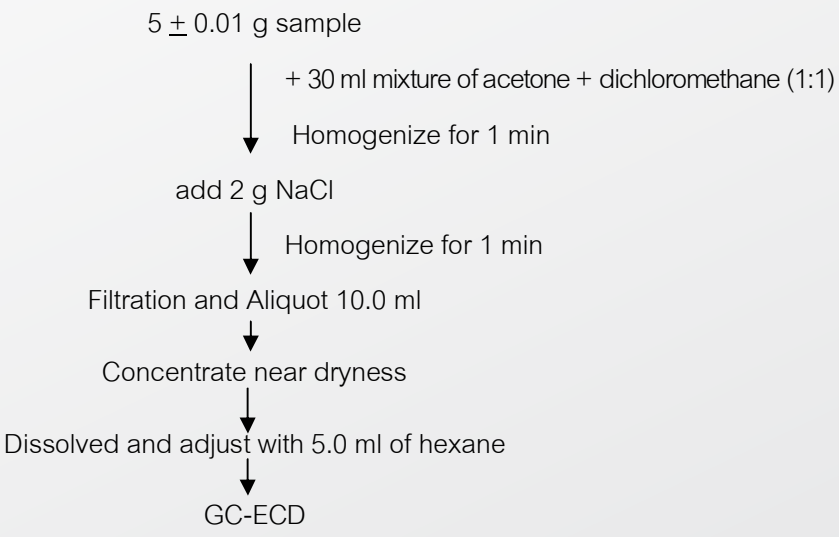
ดำเนินการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชตามวิธีการของ Nguyen *et.al*. (2008) (ภาพที่ 3) และวิธีการของ Navarro *et.al*. (2000) (ภาพที่ 4) บันทึกผล %Recovery แล้วนำทุกวิธีการเปรียบเทียบกัน



ภาพที่ 2. วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ตาม TM-T04-R03 ที่ทำการทดสอบ



ภาพที่ 3. วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ของ Nguyen *et.al*. (2008)



ภาพที่ 4. วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ของ Navarro *et.al*. (2002)

3. การเตรียมสารมาตรฐานและ GC-ECD

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Stock solution โดยผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชทั้ง 5 ชนิดให้มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ isooctane (PR) เป็นตัวทำละลาย เตรียม Intermediate solution ที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม Working stock solution ที่มีความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงเตรียม Working solution โดยดูด Working stock solution แล้วเจือจางด้วย hexane (PR) ให้ได้สารละลายมาตรฐานสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช ที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารละลายมาตรฐานสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชไปวิเคราะห์แล้วสร้าง calibration curve วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างพืชที่ความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชที่ระดับ 0.05, 0.2 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC) โดยมีสภาวะการใช้งานดังนี้

Column : HP-Ultra 1, 0.17μm thickness, 25m length, 0.32mm.id.

Temperature: injector 260°C, detector 300°C, oven temperature program ดังนี้

: 120°C (1 min) ⟶ 20°C/min 220°C (2 min) ⟶

1°C/min 230°C (3 min) ⟶ 10°C/min 250°C (3 min)

Inject mode : splitless **Carrier gas** : helium, flow rate 2 ml/min

Make up gas : nitrogen, flow rate 60 ml/min

Injection volume : 1 μl

4. การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

คำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง โดยวัดค่า retention time ของพีค นำไปเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน พีคของสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชในสารละลายตัวอย่าง ต้องมี retention time เท่ากับสารละลายมาตรฐานหรือมีการเคลื่อนไปจากเดิมไม่เกินร้อยละ 5 ของ retention time คำนวณความเข้มข้นของสารพิษตกค้างสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชในสารละลายตัวอย่าง ด้วยฟังก์ชั่น ESTD (External Standard) คำนวณโดยโปรแกรมสำเร็จรูปในเครื่อง GC ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับ Calibration curve ที่มีค่า Correlation ไม่น้อยกว่า 0.99 หาความเข้มข้นของสารในตัวอย่างตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$C_{sample} = C_{calib.} \times V_{sample} \times F / W_{sample}$$

โดยที่ C_{sample} = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

$C_{calib.}$ = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง ที่ได้จากการเทียบ Calibration curve ใน GC Report (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังนี้

$$C_{calib.} = \frac{\text{Area of sample x Conc. of Standard}}{\text{Area of Standard}}$$

V_{sample} = ปริมาตรที่ปรับครั้งสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างก่อนการฉีด

W_{sample} = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาสกัด

F = Correction Factor ขึ้นกับวิธีการการสกัด

5. การวิเคราะห์และประเมินผลข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ หาค่าเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของข้อมูล นำผลการวิเคราะห์ทั้งหมดมาสรุปข้อมูลช่วงความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ตรวจวิเคราะห์ได้ เปรียบเทียบวิธีการและชนิดของตัวอย่างพืช

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2552 – กันยายน 2553

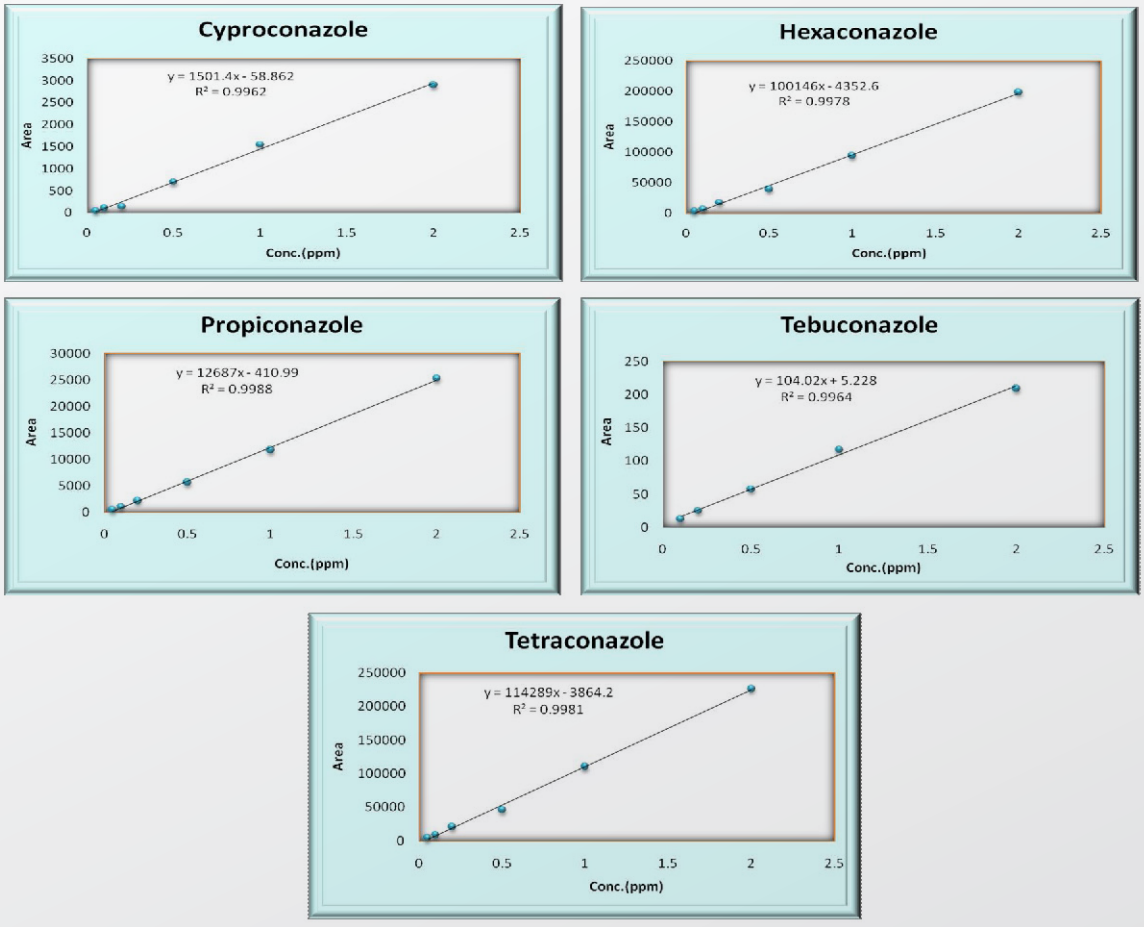
สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ช่วงความเข้มข้นที่ตรวจวิเคราะห์

วิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามี retention time ดังนี้ คือ 6.266, 7.093, 7.516, 8.452, 8.594 และ 8.882 นาที ของสาร tetraconazole, hexaconazole, cyproconazole, propiconazole และ tebuconazole ตามลำดับ โดยที่สาร propiconazole มี 2 พีคที่ 8.452 และ 8.594 นาที จากนั้นจึงนำพื้นที่ใต้พีคในแต่ละความเข้มข้น มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ ได้สมการเส้นตรงที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยมี Correlation (R^2) มากกว่า 0.99 ทุกสารที่ทำการทดสอบ (ดังแสดงในภาพที่ 5)



ภาพที่ 5. สมการเส้นตรงของสารป้องกันกำจัดโรคพืช ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ

2. ประสิทธิภาพของการวิเคราะห์

ประสิทธิภาพของการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช ด้วยวิธี TM-T04-R03 กวพ. พบว่ามีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ค่อนข้างต่ำ อยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 20 เท่านั้น โดยผักที่ทดลองได้แก่ ถั่วฝักยาว ผักกาดขาว กะหล่ำปลี และพริก ขั้นตอน Cleanup ด้วยคอลัมน์ silica gel และชะด้วยสารละลายผสม hexane และ dichloromethane น่าจะทำให้สารพิษตกค้างเหล่านี้ค้างอยู่ในคอลัมน์ ทำให้ตรวจพบสารกลับคืนได้น้อยมาก แต่วิธีการสกัดสารพิษตกค้างที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ด้วย acetone และ dichloromethane น่าจะยังคงมีความเหมาะสมเมื่อเปรียบเทียบวิธีการกับ Nguyen *et.al.* (2008) จากนั้นจึงทำการทดลองสกัด ด้วยวิธีการ TM-T04-R02 กวพ. ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์คาร์บาเมต โดยการเติม magnesium sulfate, PSA และ graphite carbon เพื่อกำจัดสารอินทรีย์อื่นๆ เขย่าด้วยเครื่อง Centrifuge แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วย GC-ECD ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก TM-T04-R02

ชื่อสารพิษ	ปริมาณสารพิษตกค้าง (mg/kg)							Ave.	SD	%CV
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Rep 6	Rep 7			
ถั่วฝักยาว										
cyproconazole	102.3	100.5	105.1	124.4	118.3	121.0	103.2	110.7	10.11	9.1
hexaconazole	75.4	61.1	69.8	85.3	76.9	67.2	104.3	77.1	14.24	18.5
propiconazole	82.7	79.3	80.6	99.2	89.6	83.4	90.3	86.4	7.02	8.1
tebuconazole	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	-
tetraconazole	79.7	66.0	76.4	86.9	76.0	70.7	107.2	80.4	13.53	16.8
ผักกาดขาว										
cyproconazole	138.0	68.2	118.3	125.4	64.3	177.8	160.3	121.8	42.97	35.3
hexaconazole	93.0	95.1	103.3	101.2	105.5	217.2	114.2	118.5	44.08	37.2
propiconazole	108.4	103.0	120.5	111.1	121.4	215.6	152.3	133.2	39.73	29.8
tebuconazole	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	-
tetraconazole	110.8	107.7	114.7	106.3	122.3	230.4	125.4	131.1	44.36	33.8
กะหล่ำปลี										
cyproconazole	80.0	99.8	104.1	73.0	111.0	108.2	81.0	93.9	15.45	16.5
hexaconazole	39.4	45.6	47.1	39.8	40.1	42.6	37.2	41.7	3.59	8.6
propiconazole	99.1	104.9	106.0	115.5	101.0	104.3	97.6	104.1	5.95	5.7
tebuconazole	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	-
tetraconazole	49.0	53.7	54.6	52.3	46.7	52.3	47.2	50.8	3.19	6.3
พริก										
cyproconazole	70.2	60.6	71.2	65.0	62.1	55.6	58.6	63.3	5.82	9.2
hexaconazole	73.2	64.3	72.8	62.3	72.4	66.3	65.8	68.1	4.55	6.7
propiconazole	78.2	63.7	53.2	91.0	54.8	72.6	85.3	71.3	14.65	20.6
tebuconazole	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.00	-
tetraconazole	107.5	109.4	105.4	107.7	105.6	95.6	91.1	103.2	6.98	6.8

จากการทดลองพบว่า ไม่สามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้าง tebuconazole สำหรับ %recovery ของถั่วฝักยาว อยู่ในช่วงร้อยละ 80.4 – 110.7 ส่วนผักกาดขาว และกะหล่ำปลี อยู่ระหว่างร้อยละ 41.7 – 133.2 เนื่องจากในผักกาดขาวและกะหล่ำปลีมีสารซัลเฟอร์รบกวนการวิเคราะห์ ทำให้ผลการทดลองมีความแปรปรวนสูง สำหรับพริกเป็นพืชที่มีสารอินทรีย์อื่นรบกวนมาก มีเพียง tetraconazole ที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ จากนั้นจึงทำการทดลองสกัดเฉพาะตัวอย่างพริก ตามวิธีการของ Nguyen *et.al*. (2008) พบว่าสามารถวิเคราะห์ % recovery อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (70 – 110%) เป็นส่วนใหญ่ ยกเว้นสาร propiconazole ที่ระดับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ได้ 68.2% ส่วนสาร tebuconazole ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ (ดังแสดงในตารางที่ 3)

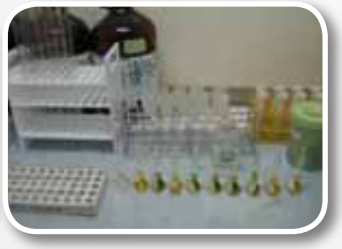
ตารางที่ 3. ประสิทธิภาพของการสกัดสารพิษตกค้าง 5 ชนิดในพริก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ตามวิธีการของ Nguyen *et.al*. (2008)

สารพิษ	Conc.	1	2	3	4	5	Ave.	SD	%CV
cyproconazole	0.2	70.2	60.6	71.2	65.0	62.1	78.3	14.44	18.4
	0.2	88.5	91.6	98.7	95.9	79.2			
	0.4	70.4	78.3	75.0	94.5	89.1	81.5	10.03	12.3
hexaconazole	0.02	104.6	107.4	94.5	107.3	76.5	98.1	13.16	13.4
	0.04	119.0	90.1	112.6	109.0	102.5	106.6	11.02	10.3
	0.2	70.6	92.0	94.2	87.8	93.0	80.2	10.06	12.5
	0.2	73.2	74.3	72.8	72.3	72.4			
propiconazole	0.02	78.2	63.7	53.2	91.0	54.8	68.2	16.14	23.7
	0.2	71.0	80.8	84.6	73.9	73.0	77.1	5.63	7.3
	0.2	78.2	87.8	73.5	72.4	76.5			
tebuconazole	0.02	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0			
tetraconazole	0.02	94.3	86.5	90.6	87.9	86.1	89.1	3.40	3.8
	0.04	93.3	71.0	70.1	95.6	78.7	81.7	12.09	14.8
	0.2	107.5	109.4	105.4	107.7	105.6	99.9	8.79	8.8
	0.2	97.0	92.3	97.5	82.0	94.5			

เพื่อเป็นการลดขั้นตอนในการสกัด โดยเตรียมตัวอย่างที่ไม่ผ่านการ Cleanup เพียงแต่ผ่านกระดาษกรองตามวิธีการของ Navarro *et.al*. (2002) พบว่า สามารถสกัดสารพิษตกค้างทั้ง 5 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพในช่วงความเข้มข้นที่ระดับ 0.02 – 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้สารกลับคืนในช่วงร้อยละ 79.6 – 109.7 (ดังแสดงในตารางที่ 4) แต่วิธีการนี้สร้างปัญหาให้กับเครื่อง GC-ECD ประสิทธิภาพจะลดลงอย่างมาก เนื่องจากสารอินทรีย์อื่นๆ ในพืชที่รบกวนการวิเคราะห์ จำเป็นต้องมีการบำรุงรักษาเครื่องในทุก Batch ที่ทดลอง จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดลองเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole ในผักชนิดต่างๆ ได้แก่ ถั่วฝักยาว ผักกาดขาว กะหล่ำปลี และพริก สามารถใช้วิธีการของ Navarro *et.al*. (2002) หรือ Nguyen *et.al*. (2008) หรือดัดแปลงวิธีการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 TM-T04-R02 แต่ใช้เครื่องวิเคราะห์ GC-ECD ได้สารกลับคืนในช่วงร้อยละ 41.7–133.2, 77.1–106.6 และ 79.6–109.7 ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 – 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งนี้ ต้องมีการบำรุงรักษาเครื่องในทุก Batch ที่ทดลอง จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างสารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด ในผัก

ตารางที่ 4. ประสิทธิภาพของการสกัดสารพิษตกค้าง 5 ชนิด ในพริก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จำนวน 5 ซ้ำ ตามวิธีการของ Navarro *et.al*. (2002)

สารพิษ	Conc.	1	2	3	4	5	Ave.	SD	%CV
cyproconazole	0.02	84.2	107.3	86.5	86.0	84.5	89.7	9.86	11.0
	0.05	84.2	110.0	81.0	80.2	107.0	92.5	14.74	15.9
	0.2	80.6	90.4	93.1	91.7	76.4	85.4	8.76	10.3
	0.2	92.7	84.1	70.3	71.3	97.6			
	0.2	78.0	92.2	80.2	94.5	87.9			
	0.4	103.1	93.0	84.2	84.8	93.7	91.7	7.73	8.4
	0.6	81.0	83.5	86.0	99.2	82.3	86.4	7.40	8.6
hexaconazole	0.02	83.7	84.8	79.5	93.1	85.2	93.7	10.30	11.0
	0.02	104.6	107.4	94.5	107.3	96.5			
	0.04	108.8	99.2	86.3	89.1	102.3	97.2	9.34	9.6
	0.05	104.0	93.1	93.6	99.2	103.1	98.6	5.13	5.2
	0.1	106.1	105.0	83.5	103.6	114.0	102.4	11.34	11.1
	0.2	95.1	105.1	95.5	107.7	91.1	89.2	9.70	10.9
	0.2	81.0	91.3	80.6	98.3	86.1			
	0.2	78.6	89.7	82.1	79.1	77.3			
	1	79.4	87.9	71.8	83.8	75.2	79.6	6.48	8.1
propiconazole	0.02	95.9	104.4	84.9	97.5	105.2	97.6	8.19	8.4
	0.2	76.0	96.0	83.5	79.1	76.6	91.6	10.76	11.7
	0.2	79.5	89.5	76.7	93.4	86.3			
	0.2	99.4	91.2	98.3	99.0	87.3			
	0.2	109.7	108.5	100.2	105.9	95.5			
	0.5	104.8	116.8	106.0	104.7	111.6	108.8	5.33	4.9
	1	91.3	95.9	83.8	84.2	89.6	89.0	5.06	5.7
tebuconazole	1	90.3	88.4	84.3	91.6	93.4	91.9	6.09	6.6
	1	100.9	97.4	82.7	90.1	99.8			
tetraconazole	0.02	80.9	109.5	90.6	126.0	108.6	96.1	14.07	14.6

สารพิษ	Conc.	1	2	3	4	5	Ave.	SD	%CV
	0.02	94.3	86.5	90.6	87.9	86.1			
	0.04	89.1	87.3	85.7	82.4	88.3	86.6	2.68	3.1
	0.05	95.2	87.0	74.6	80.1	75.2	82.4	8.70	10.6
	0.1	112.9	114.2	100.2	106.7	114.8	109.8	6.24	5.7
	0.2	87.5	80.2	81.6	79.8	79.0	81.3	3.45	4.2
	0.2	83.5	85.1	78.5	82.2	75.6			

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. จัดพิมพ์เอกสารการพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole ในผัก เพื่อเผยแพร่แก่นักวิชาการทั้งภาครัฐ เอกชน และผู้สนใจ

2. ใช้เป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชเพื่อการส่งออกและนำเข้า ที่เป็นงานประจำวันของห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตรทั้งในส่วนกลาง ส่วนภูมิภาค และห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของเอกชน

3. นำวิธีการที่ได้พัฒนาแล้วอย่างเหมาะสม ไปตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีทดสอบ ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025:2005 เพื่อยื่นรายงานขอขยายขอบข่ายสารพิษตกค้างที่ตรวจวิเคราะห์ ของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

1. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2544. คำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชด้วยสารเคมี. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 171 หน้า.

2. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2553. ปริมาณนำเข้าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชปี 2548 – 2552. กรมวิชาการเกษตร. http://m.doa.go.th/ard/stat2

3. Anastassiades, M. and S. J. Lehotay. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction / partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. *J. of AOAC Inter.* 86 (2) : 412-431.

4. Anonymous. 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Method; A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. EURCHEM Guide, First English edition. (www.eurachem.bam.de/guide/vald.pdf)

5. Banerjee, K., D.P. Oulkar, S.B. Patil, M.R. Jadhav, S. Dasgupta, S.H. Patil, S. Bal and P.G. Adsule. 2009. Multiresidue determination and uncertainty analysis of 87 pesticides in mango by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 57 (10) : 4068–4078.

6. Fodor-Csorba, K. 1992. Chromatographic methods for the determination of pesticides in foods. *Journal of Chromatography*, 624 : 353-367.

7. Garland, S.M., R.C. Menary and N.W. Davies. 1999. Dissipation of propiconazole and tebuconazole in peppermint crops (*Mentha piperita* (Labiatae)) and their residues in distilled oils. *J. Agric. Food Chem.*, 47 (1) : 294–298.

8. Navarro, M., Y. Pico, R.Marin and J. Manes. 2002. Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of a new generation of fungicides in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 968 : 201–209.

9. Navarro, S., A. Barba, G. Navarro, N.Vela and J. Oliva. 2000. Multiresidue method for the rapid determination in grape, must and wine of fungicides frequently used on vineyards. *Journal of Chromatography A*, 882 : 221-229.

10. Nguyen, T.D., M.H. Lee and G.H. Lee. 2008. Multiresidue determination of 156 pesticides in watermelon by dispersive solid phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Bull. Korean Chem. Soc.*, Vol. 29 (12) : 2482-2486.

11. Rissato, S.R., M.S. Galhiane, B.M. Apon and M.S.P. Arruda. 2005. Multiresidue analysis of pesticides in soil by supercritical fluid extraction / gas chromatography with electron-capture detection and confirmation by gas chromatography mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 53 (1) : 62–69.

12. Wood, A. 2010. Fungicides Data Sheet. http://www.alanwood.net/pesticides/class_fungicides.html Available on-line 27 Jan 2010.

13. ZWEIG, G. 1964. Chromatographic Techniques for Pesticide Residue Analysis. Agricultural Toxicology and Residue Research Laboratory, University of California, U.S.A. 19 p.

การสำรวจและรวบรวมแบคทีเรียผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

Survey and Collection of Plant Growth Promoting Rhizobacteria

สมปอง หมื่นแจ้ง[1] และ กัลยกร โปร่งจันทึก[1]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

.....

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดิน ราก ลำต้น ใบ เพื่อแยกแบคทีเรียผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (พีจีพีอาร์) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินและพืช ในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก รวมทั้งหมด 75 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยที่แตกต่างกัน ทั้งพืชไร่ พืชสวนและพืชอื่นๆ โดยเก็บตัวอย่างดินประมาณ 1 กิโลกรัม และตัวอย่างราก ต้น และใบ พืชเป้าหมายใส่ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างให้มิดชิด ใส่กระติกน้ำแข็ง ดำเนินการนับและแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ผลการดำเนินงานตั้งแต่ ปี 2549-2553 ได้เชื้อพีจีพีอาร์ทั้งสิ้น 350 ไอโซเลท แยกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Azotobacter* spp. มีทั้งหมด 100 ไอโซเลท คัดเลือกไอโซเลทที่มีศักยภาพในการผลิต IAA สูงที่สุด 1 ไอโซเลท คือ DASF 02082 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากหน่อไม้ฝรั่ง ในแปลงหน่อไม้ฝรั่งอินทรีย์ของเกษตรกร ต.วังสมบูรณ์ อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว สามารถผลิต IAA ได้ 56.6 $\pm$ 5 มก./ลิตร กลุ่มที่ 2 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Azospirillum* spp. มีทั้งหมด 215 ไอโซเลท คัดเลือกไอโซเลทที่มีศักยภาพในการผลิต IAA สูงที่สุด คือ DASF 04153 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากเงาะในแปลงผลิตเงาะอินทรีย์ของเกษตรกร ต.นาขวัญ อ.เมือง จ.ระยอง ผลิต IAA ได้ 90.5 $\pm$ 0.1 มก./ลิตร และ กลุ่มที่ 3 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Beijerinckia* spp. มีทั้งหมด 35 ไอโซเลท คัดเลือกไอโซเลทที่มีศักยภาพในการผลิต IAA สูงที่สุด คือ DASF 06020 ซึ่งเก็บจากต้นข้าว ในแปลงเกษตรกร ต.หนองแวงโสพระ อ.พล จ.ขอนแก่น ผลิต IAA ได้ 20.1 $\pm$ 0.3 มก./ลิตร

ผลจากการทดลองทำให้สามารถรวบรวมแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้รวม 3 สกุล 350 ไอโซเลท และสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในแต่ละสกุลได้จำนวน 1 ไอโซเลท รวม 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อไป

ทะเบียนวิจัย 09-02-49-01-02-01-02-49

[1] กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

บทนำ

จุลินทรีย์เป็นทรัพยากรสิ่งมีชีวิตที่มีคุณค่าและมีบทบาทสำคัญมากต่อวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในโลก จุลินทรีย์มีการกระจายไปอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีความหลากหลายมากที่สุดและสามารถดำรงชีวิตและเจริญอยู่ในสภาวะแวดล้อมต่าง ๆได้ดี ทั้งสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม หรือสภาพแวดล้อมที่มีความหลากหลาย เช่น บริเวณปล่องภูเขาไฟ บริเวณน้ำแข็งขั้วโลก หรือบริเวณก้นทะเลลึก เป็นต้น แสดงว่าจุลินทรีย์เหล่านี้ต้องมีสมบัติพิเศษที่ถูกกำหนดโดยพันธุกรรมที่ไม่อาจพบในสิ่งมีชีวิตอื่นได้ จึงอาจกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์เป็นทรัพยากรชีวภาพที่มีจำนวนและคุณค่ามหาศาล ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้ เมื่อจุลินทรีย์เกิดขึ้นมาในโลก มีการแพร่กระจายไปยังสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันไปทั่วโลก ทำให้เกิดมีวิวัฒนาการแยกออกเป็นชนิดต่าง ๆ เพื่อให้เหมาะกับการดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อมนั้นๆ มีขบวนการต่างๆ มากมายเกิดขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์มีบทบาททั้งทางด้าน กายภาพ เคมี และชีวเคมี จึงอาจกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดแรกที่ได้อุ้มชูสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ให้เกิดมีวิวัฒนาการต่อมาถึงปัจจุบันและต่อเนื่องไปในอนาคต

จุลินทรีย์เป็นแหล่งความหลากหลายของปฏิกิริยาทางเคมีและชีวเคมี มีขบวนการสังเคราะห์และย่อยสลายทางเคมีและชีวเคมีที่ควบคุมโดยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมาโดยจุลินทรีย์ บางชนิดผลิตสารสำคัญที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์หรือเพื่อพัฒนาต่อยอดไปใช้ประโยชน์ เช่น สารปฏิชีวนะ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารที่เป็นประโยชน์ทางด้านการเกษตรกรรม อุตสาหกรรม ทางการแพทย์ เป็นต้น

วิสุทธิ์ (2542, 2544) กล่าวว่า การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพแม้เพียงน้อยนิดในระดับพันธุกรรม หรือระดับชนิด ไปจนถึงการกระทบกระเทือนของระบบนิเวศน์ ย่อมหมายถึงการสูญเสียโอกาสและทางเลือกของสิ่งมีชีวิตที่จะปรับตัวให้เข้ากับสภาวะเปลี่ยนแปลงของบรรยากาศโลก ทั้งในระยะสั้นและระยะยาว ดังนั้นทุกคนต้องใส่ใจ และช่วยกันอนุรักษ์ทรัพยากรชีวภาพอันทรงคุณค่าต่อนิเวศวิทยา และต่อการอยู่รอดของมนุษย์ให้คงอยู่คู่โลกนี้ต่อไป

จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในด้านการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินหรือเรียกว่า ปุ๋ยชีวภาพ มีความสำคัญในระบบการผลิตทางการเกษตรทั้งด้าน การเพิ่มผลผลิต ช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี นอกจากนี้ จุลินทรีย์บางชนิดยังสามารถผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สามารถรักษาสมดุลธรรมชาติในระบบนิเวศ จึงช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรได้ จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาเปลี่ยนเป็นรูปอินทรีย์ไนโตรเจน เพื่อเป็นอาหารของจุลินทรีย์เอง และสามารถปลดปล่อยให้กับพืชอาศัยได้ การตรึงไนโตรเจนนี้ แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ 1) จุลินทรีย์อยู่ร่วมกับพืชอาศัยแบบจำเพาะเจาะจง พึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว และ 2) จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่ในดินและพืชแบบอิสระ ปัจจุบันพบว่ามีจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนชนิดใหม่ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช (Endophyltic N_2-fixing Bacteria) ซึ่งรอการค้นพบรวบรวม และคัดเลือกอีกมากมาย จุลินทรีย์เหล่านี้มีรายงานว่าอาศัยอยู่กับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญได้แก่ ข้าว ข้าวป่า อ้อย สับปะรด และไม้ผลบางชนิด จากการศึกษาพบว่า จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีการกลายพันธุ์หรือมีประสิทธิภาพการทำงานของยีน (gene) ที่เปลี่ยนแปลงได้ง่ายตามสภาพแวดล้อม ดังนั้นงานค้นคว้า รวบรวม สำรวจ คัดเลือก จำแนก ตลอดจนการเก็บรักษาจุลินทรีย์เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ยังคงต้องดำเนินต่อไป เพื่อค้นคว้าเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์กับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญมากขึ้น การรวบรวมคัดเลือกจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระในพืช คือ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย สับปะรด

วิธีการดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. สารเคมีและเครื่องแก้ว
2. อุปกรณ์สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ
3. ตู้ปลอดเชื้อ
4. ตู้บ่มเชื้อ
5. ตู้เก็บเชื้ออุณหภูมิต่ำ -80 ºC

วิธีการดำเนินงาน

การเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างดิน ราก ลำต้น ใบ เพื่อแยกแบคทีเรียผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 3 สกุล คือ สกุล *Azotobacter Beijerinckia* และ *Azospirillum* โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง ในภาคภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก รวมทั้งหมดประมาณ 75 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยที่แตกต่างกัน ทั้งพืชไร่ พืชสวนเศรษฐกิจ และพืชอื่นๆ โดยเก็บตัวอย่างดินประมาณ 1 กิโลกรัม และตัวอย่างรากต้น และใบพืชเป้าหมายใส่ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างให้มิดชิด ใส่กระติกน้ำแข็ง ส่งเข้าแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ตามวิธี ของ Dobereiner, (1980).

การแยกเชื้อแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดำเนินการในอาหารจำเพาะของแบคทีเรียแต่ละสกุล ตามรายงานของ Dobereiner (1980) โดยแบคทีเรียคล้ายสกุล *Azotobacter* ใช้อาหารแข็งปราศจากไนโตรเจน (LG medium) *Beijerinckia* ใช้อาหารแข็งปราศจากไนโตรเจน (BG medium) และ *Azospirillum* ใช้อาหารปราศจากไนโตรเจนกึ่งเหลว (Nfb semisolid medium) ทั้งนี้ รูปแบบอาหารเลี้ยงเชื้อมีความแตกต่างกันตามปริมาณ อ๊อกซิเจนที่แบคทีเรียแต่ละกลุ่มใช้ในการตรึงไนโตรเจน การนับปริมาณเชื้อจากตัวอย่างดิน รากและลำต้น สำหรับ *Azotobacter* และ *Beijerinckia* ใช้วิธี Plate count มีหน่วยเป็น Colony Forming Unit (CFU) ต่อกรัมตัวอย่างสดส่วน *Azospirillum* ใช้วิธี MPN มีหน่วยเป็นเซลล์ต่อกรัมตัวอย่างสด โดยตัวอย่างก่อนตรวจนับและแยกเชื้อต้องทำการเจือจางแบบ 10 เท่า ตามหลักการ serial dilution (Zuberer. 1994)

การประเมินประสิทธิภาพในการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการผลิตสาร indole acetic acid (IAA) ตามวิธีที่กล่าวถึงโดย Meunchang et al.,2004. โดยทำ 4 ซ้ำวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนทางสถิติโดยใช้ standard deviation (SD) เก็บรวบรวมเชื้อทั้ง 3 สกุล ได้ทั้งหมด 350 ไอโซเลท เก็บรักษาไว้ใน glycerol 10% ในตู้เย็นอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา เดือน

1 ตุลาคม 2548 – 30 กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจรวบรวมแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช จากตัวอย่างดินรอบๆ ราก ต้น และใบพืช ได้ดำเนินการในพื้นที่เกษตรกรรมในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตัวอย่างดินและต้นพืชที่เก็บได้แก่ ข้าว อ้อย ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ต้นหญ้าป่า กะหล่ำปลี หน่อไม้ฝรั่ง มะเขือเทศ องุ่น ชา กาแฟ เงาะ และมังคุด เก็บจากพื้นที่ต่างๆ รวมปีละ 15 ตัวอย่าง ดำเนินการตั้งแต่ ปี 2549-2553 รวมทั้งสิ้น 75 ตัวอย่าง ได้เชื้อพีจีพีอาร์ ทั้งสิ้น 350 ไอโซเลท สามารถจัดกลุ่มเป็น 3 สกุล ตามชนิดอาหารจำเพาะและจำแนกตามหลักการจำแนกแบคทีเรียเบื้องต้นของ Bergey's manual of SYSTEMATIC BACTERIOLOGY 2005. สามารถจัดกลุ่มแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่แยกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Azotobacter* spp. มีทั้งหมด 100 ไอโซเลท รหัส DASF 02001 ถึง DASF 02100 มีศักยภาพในการผลิต indole acetic acid (IAA) 0-56.6 $\pm$ 5 มก./ลิตร ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการผลิต IAA สูงที่สุด คือ DASF 02082 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากหน่อไม้ฝรั่ง ในแปลงหน่อไม้ฝรั่งอินทรีย์ของเกษตรกร ต.วังสมบูรณ์ อ.วังสมบูรณ์ จ.สระแก้ว สามารถผลิต IAA ได้ 56.6 $\pm$ 5 มก./ลิตร (ไม่ได้แสดงตาราง)

กลุ่มที่ 2 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Azospirillum* spp. มีทั้งหมด 215 ไอโซเลท รหัส DASF 04001 ถึง DASF 04215 มีศักยภาพในการผลิต IAA 0-90.5 $\pm$ 5 มก./ลิตร ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการผลิต IAA สูงที่สุด คือ DASF 04153 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากเงาะในแปลงผลิตเงาะอินทรีย์ของเกษตรกร ต.นาขวัญ อ.เมือง จ.ระยอง ผลิต IAA ได้ 90.5 $\pm$ 0.1 มก./ลิตร (ไม่ได้แสดงตาราง)

กลุ่มที่ 3 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Beijerinckia* spp. มีทั้งหมด 35 ไอโซเลท รหัส DASF 06001 ถึง DASF 06035 มีศักยภาพในการผลิต IAA 0-20.1 $\pm$ 0.3 มก./ลิตร ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการผลิต IAA สูงที่สุด คือ DASF 06020 ซึ่งเก็บจากต้นข้าว ในแปลงเกษตรกร ต.หนองแวงโสพระ อ.พล จ.ขอนแก่น ผลิต IAA ได้ 20.1 $\pm$ 0.3 มก./ลิตร (ไม่ได้แสดงตาราง)

ผลจากการทดลองทำให้สามารถรวบรวมแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้รวม 3 สกุล 350 ไอโซเลท และสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในแต่ละสกุลได้จำนวน 1 ไอโซเลทรวม 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อไป

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลจากการทดลองทำให้สามารถรวบรวมแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้รวม 3 สกุล 350 ไอโซเลท และสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในแต่ละสกุลได้จำนวน 1 ไอโซเลท รวม 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์สำหรับพืชชนิดต่างๆต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งเชื้อพันธุ์ในการวิจัยพัฒนาการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์สำหรับการผลิตพืชชนิดต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

วิสุทธิ์ ใบไม้. 2542. รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 3, 11-14 ตุลาคม 2542 ณ โรงแรมเจ. บี หาดใหญ่ สงขลา

Döbereiner J. 1980. Forages grasses and grain crops. *In* Methods for evaluating biological nitrogen fixation. pp 535-555. Ed. F.J. Bergersen. John Wiley & Sons Ltd., New York.

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

Zuberer D. 1994. Recovery and numeration of viable bacteria pp.118-144. In R.W. Weaver *et al.,* eds. Method of Soil Analysis Part 2 Microbiological and Biochemical Properties. Soil Science Society of America, Madison, WI. USA.

การสำรวจรวบรวมแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ

Survey and Collection of Non-Symbiotic N_2-fixing Bacteria in Thailand

สมปอง หมื่นแจ้ง[1] และ กัลป์ยกร โปร่งจันทึก[1]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

.....

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดิน ราก ลำต้น ใบ เพื่อแยกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินและพืชในภาคภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก รวมทั้งหมด 75 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยที่แตกต่างกัน ทั้งพืชไร่ พืชสวนและพืชอื่นๆ โดยเก็บตัวอย่างดินประมาณ 1 กิโลกรัม และตัวอย่างรากต้น และใบ พืชเป้าหมายใส่ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างให้มิดชิด ใส่กระติกน้ำแข็ง ดำเนินการนับและแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ผลการดำเนินงานตั้งแต่ ปี 2549-2553 ได้เชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระทั้งสิ้น 350 ไอโซเลท แยกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Azotobacter* spp. มีทั้งหมด 100 ไอโซเลท คัดเลือกไอโซเลทที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 1 ไอโซเลท คือ DASF 02007 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากชา ในแปลงรวบรวมพันธุ์ชาโครงการหลวง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ. เชียงใหม่ มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน 1,500 $\pm$ 297 nmole $C_2H_4/10^9$CFU/h^{-1} กลุ่มที่ 2 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Azospirillum* spp. มีทั้งหมด 215 ไอโซเลท คัดเลือกไอโซเลทที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด คือ DASF 04178 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากหน่อไม้ฝรั่งอินทรีย์ของเกษตรกร ต.ทัพพริก อ. อรัญประเทศ จ.สระแก้ว มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน 189 $\pm$ 3.2 nmole C_2H_4/tube/h^{-1} และ กลุ่มที่ 3 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Beijerinckia* spp. มีทั้งหมด 35 ไอโซเลท คัดเลือกไอโซเลทที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด คือ DASF 06026 ซึ่งเก็บจากแปลงเงาะอินทรีย์ของเกษตรกร ต.นาขวัญ อ.เมือง จ.ระยอง มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน 1,800 $\pm$ 147 nmole$C_2H_4/10^9$ CFU/h^{-1}

ผลจากการทดลองทำให้สามารถรวบรวมแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระได้รวม 3 สกุล 350 ไอโซเลท และสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในแต่ละสกุลได้จำนวน 1 ไอโซเลท รวม 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อไป

ทะเบียนวิจัย 09-02-49-01-02-01-01-49

[1] กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

บทนำ

จุลินทรีย์เป็นทรัพยากรสิ่งมีชีวิตที่มีคุณค่าและมีบทบาทสำคัญมากต่อวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในโลก จุลินทรีย์มีการกระจายไปอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีความหลากหลายมากที่สุดและสามารถดำรงชีวิตและเจริญอยู่ในสภาวะแวดล้อมต่าง ๆได้ดี ทั้งสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม หรือสภาพแวดล้อมที่มีความหลากหลาย เช่น บริเวณปล่องภูเขาไฟ บริเวณน้ำแข็งทั่วโลก หรือบริเวณก้นทะเลลึก เป็นต้น แสดงว่าจุลินทรีย์เหล่านี้ต้องมีสมบัติพิเศษที่ถูกกำหนดโดยพันธุกรรมที่ไม่อาจพบในสิ่งมีชีวิตอื่นได้ จึงอาจกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์เป็นทรัพยากรชีวภาพที่มีจำนวนและคุณค่ามหาศาล ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้ เมื่อจุลินทรีย์เกิดขึ้นมาในโลก มีการแพร่กระจายไปยังสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันไปทั่วโลก ทำให้เกิดมีวิวัฒนาการแยกออกเป็นชนิดต่าง ๆ เพื่อให้เหมาะกับการดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อมนั้นๆ มีขบวนการต่างๆ มากมายเกิดขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์มีบทบาททั้งทางด้าน กายภาพ เคมี และชีวเคมี จึงอาจกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดแรกที่ได้อุ้มชูสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ให้เกิดมีวิวัฒนาการต่อมาถึงปัจจุบันและต่อเนื่องไปในอนาคต

จุลินทรีย์เป็นแหล่งความหลากหลายของปฏิกิริยาทางเคมีและชีวเคมี มีขบวนการสังเคราะห์และย่อยสลายทางเคมีและชีวเคมีที่ควบคุมโดยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมาโดยจุลินทรีย์ บางชนิดผลิตสารสำคัญที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์หรือเพื่อพัฒนาต่อยอดไปใช้ประโยชน์ เช่น สารปฏิชีวนะ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารที่เป็นประโยชน์ทางด้านการเกษตรกรรม อุตสาหกรรม ทางการแพทย์ เป็นต้น

วิสุทธิ์ (2542, 2544) กล่าวว่า การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพแม้เพียงน้อยนิดในระดับพันธุกรรม หรือระดับชนิด ไปจนถึงการกระทบกระเทือนของระบบนิเวศน์ ย่อมหมายถึงการสูญเสียโอกาสและทางเลือกของสิ่งมีชีวิตที่จะปรับตัวให้เข้ากับสภาวะเปลี่ยนแปลงของบรรยากาศโลก ทั้งในระยะสั้นและระยะยาว ดังนั้นทุกคนต้องใส่ใจ และช่วยกันอนุรักษ์ทรัพยากรชีวภาพอันทรงคุณค่าต่อนิเวศวิทยา และต่อการอยู่รอดของมนุษย์ให้คงอยู่คู่โลกนี้ต่อไป

จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในด้านการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินหรือเรียกว่า ปุ๋ยชีวภาพ มีความสำคัญในระบบการผลิตทางการเกษตรทั้งด้าน การเพิ่มผลผลิต ช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี นอกจากนี้ จุลินทรีย์บางชนิดยังสามารถผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สามารถรักษาสมดุลธรรมชาติในระบบนิเวศ จึงช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรได้ จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาเปลี่ยนเป็นรูปอินทรีย์ไนโตรเจน เพื่อเป็นอาหารของจุลินทรีย์เอง และสามารถปลดปล่อยให้กับพืชอาศัยได้ การตรึงไนโตรเจนนี้ แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ 1) จุลินทรีย์อยู่ร่วมกับพืชอาศัยแบบจำเพาะเจาะจง พึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว และ 2) จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่ในดินและพืชแบบอิสระ ปัจจุบันพบว่ามีจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนชนิดใหม่ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช (Endophyltic N_2-fixing Bacteria) ซึ่งรอการค้นพบ รวบรวม และคัดเลือกอีกมากมาย จุลินทรีย์เหล่านี้มีรายงานว่าอาศัยอยู่กับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญได้แก่ ข้าว ข้าวป่า อ้อย สับปะรด และไม้ผลบางชนิด จากการศึกษาพบว่า จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีการกลายพันธุ์หรือมีประสิทธิภาพการทำงานของยีน (gene) ที่เปลี่ยนแปลงได้ง่ายตามสภาพแวดล้อม ดังนั้น งานค้นคว้า รวบรวม สำรวจ คัดเลือก จำแนก ตลอดจนการเก็บรักษาจุลินทรีย์เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ยังคงต้องดำเนินต่อไป โดยจะดำเนินงานค้นคว้าเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์กับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญมากขึ้น การรวบรวมคัดเลือกจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระในพืช คือ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย สับปะรด

วิธีการดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. สารเคมีและเครื่องแก้ว
2. อุปกรณ์สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ
3. ตู้ปลอดเชื้อ
4. ตู้บ่มเชื้อ
5. ตู้เก็บเชื้ออุณหภูมิต่ำ -80 °C
6. Gas chromatograph

วิธีการดำเนินงาน

การเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างดิน ราก ลำต้น ใบ เพื่อแยกแบคทีเรียที่เรียตรึงไนโตรเจนอิสระ 3 สกุล คือ สกุล *Azotobacter* *Beijerinckia* และ *Azospirillum* โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง ในภาคภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก รวมทั้งหมดประมาณ 75 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยที่แตกต่างกัน ทั้งพืชไร่ พืชสวนเศรษฐกิจ และพืชอื่นๆ โดยเก็บตัวอย่างดินประมาณ 1 กิโลกรัม และตัวอย่างรากต้น และใบพืชเป้าหมายใส่ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างให้มิดชิด ใส่กระติกน้ำแข็ง ส่งเข้าแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ตามวิธี ของ Dobereiner, (1980).

การแยกเชื้อแบคทีเรียที่เรียตรึงไนโตรเจนอิสระ ดำเนินการในอาหารจำเพาะของแบคทีเรียแต่ละสกุล ตามรายงานของ Dobereiner,(1980).กล่าวคือ สกุล *Azotobacter* ใช้อาหารแข็งปราศจากไนโตรเจน (LG medium) *Beijerinckia* ใช้อาหารแข็งปราศจากไนโตรเจน (BG medium) ส่วนสกุล *Azospirillum* ใช้อาหารปราศจากไนโตรเจนกึ่งเหลว (Nfb semisolid medium) ทั้งนี้ รูปแบบอาหารเลี้ยงเชื้อมีความแตกต่างกันตามปริมาณอ๊อกซิเจนที่แบคทีเรียแต่ละกลุ่มใช้ในการตรึงไนโตรเจน การนับปริมาณเชื้อจากตัวอย่างดิน ราก และลำต้น สำหรับ *Azotobacter* และ *Beiejrinckia* ใช้วิธี Plate count มีหน่วยเป็น Colony Forming Unit (CFU) ต่อกรัมตัวอย่างสด ส่วน *Azospirillum* ใช้วิธี MPN มีหน่วยเป็นเซลล์ต่อกรัมตัวอย่างสด โดยตัวอย่างก่อนตรวจนับและแยกเชื้อต้องทำการเจือจางแบบ 10 เท่า ตามหลักการ serial dilution (Zuberer. 1994)

การประเมินประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของเชื้อโดยการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนรูปแก๊ส C_2H_2 เป็น C_2H_4 ตามวิธี Acetylene Reduction Activity ที่กล่าวถึงโดย Meunchang *et al.*, 2004. โดยทำ 4 ซ้ำ วิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนทางสถิติโดยใช้ standard deviation (SD) โดยเก็บรวบรวมเชื้อทั้ง 3 สกุลได้ทั้งหมด 350 ไอโซเลท เก็บรักษาไว้ใน glycerol 10% ในตู้เย็นอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา เดือน

1 ตุลาคม 2548 – 30 กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจรวบรวมแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน จากตัวอย่างดินรอบๆ ราก ต้น และใบพืช ได้ดำเนินการในพื้นที่เกษตรกรรมในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตัวอย่างดินและต้นพืชที่เก็บได้แก่ ข้าว อ้อย ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ต้นหญ้าป่า กะหล่ำปลี หน่อไม้ฝรั่ง มะเขือเทศ องุ่น ชา กาแฟ เงาะ และมังคุด เก็บจากพื้นที่ต่างๆ รวมปีละ 15 ตัวอย่าง ดำเนินการตั้งแต่ ปี 2549-2553 รวมทั้งสิ้น 75 ตัวอย่าง ได้เชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนทั้งสิ้น 350 ไอโซเลท สามารถจัดกลุ่มเป็น 3 สกุลโดยใช้อาหารจำเพาะ และจำแนกตามหลักการจำแนกแบคทีเรียเบื้องต้นของ Bergey's manual of SYSTEMATIC BACTERIOLOGY 2005. สามารถจำแนกแบคทีเรียทั้งหมดได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Azotobacter* spp. มีทั้งหมด 100 ไอโซเลท รหัส DASF 02001 ถึง DASF 02100 มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน 0-1,500 nmole $C_2H_4/10^9CFU/h^{-1}$ ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด คือ DASF 02007 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากชา ในแปลงรวบรวมพันธุ์ชา โครงการหลวง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ สามารถตรึงไนโตรเจนได้ 1500 $\pm$ 297 nmole $C_2H_4/10^9CFU/h^{-1}$(ไม่ได้แสดงตาราง)

กลุ่มที่ 2 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Azospirillum* spp. มีทั้งหมด 215 ไอโซเลท รหัส DASF 04001 ถึง DASF 04215 มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน 0-189 nmole $C_2H_4/tube/h^{-1}$ ไอโซเลทที่มีศักยภาพในตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด คือ DASF 04178 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากหน่อไม้ฝรั่ง ในแปลงหน่อไม้ฝรั่งอินทรีย์ของเกษตรกร ต.ทัพพริก อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว ตรึงไนโตรเจนได้ 189 $\pm$ 3.2 nmole $C_2H_4/tube/h^{-1}$ (ไม่ได้แสดงตาราง)

กลุ่มที่ 3 คล้ายแบคทีเรียสกุล *Beijerinckia* spp. มีทั้งหมด 35 ไอโซเลท รหัส DASF 06001 ถึง DASF 06035 มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน 0-1,800 nmole $C_2H_4/10^9CFU/h^{-1}$ ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด คือ DASF 02026 ซึ่งเก็บจากดินรอบรากเงาะ ในแปลงเงาะอินทรีย์ของเกษตรกร ต.นาขวัญ อ.เมือง จ.ระยอง สามารถตรึงไนโตรเจนได้ 1,800 $\pm$ 147 nmole $C_2H_4/10^9CFU/h^{-1}$(ไม่ได้แสดงตาราง)

ผลจากการทดลองทำให้สามารถรวบรวมแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระได้ 3 สกุล รวมทั้งสิ้น 350 ไอโซเลท และสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในแต่ละสกุลได้จำนวน 1 ไอโซเลท รวมทั้งสิ้น 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อไป

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลจากการทดลองทำให้สามารถรวบรวมแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระได้รวม 3 สกุล 350 ไอโซเลท และสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในแต่ละสกุลได้จำนวน 1 ไอโซเลท รวมทั้วสิ้น 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำไปใช้เป็นแหล่งเชื้อพันธุ์ในการวิจัยพัฒนาการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์สำหรับการผลิตพืชชนิดต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

วิสุทธิ์ ใบไม้. 2542. รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 3, 11-14 ตุลาคม 2542 ณ โรงแรมเจ. บี หาดใหญ่ สงขลา

Döbereiner J. 1980. Forages grasses and grain crops. *In* Methods for evaluating biological nitrogen fixation. pp 535-555. Ed. F.J. Bergersen. John Wiley & Sons Ltd., New York.

Meunchang, S., Panichsakpatana, S., Ando, S., Yokoyama, T. 2004. Phylogenetic and physiological characterization of indigenous *Azospirillum* isolates in Thailand. Soil Sci. Nutr., 50 (3), 413-421.

Zuberer D. 1994. Recovery and numeration of viable bacteria pp.118-144. In R.W. Weaver *et al*., eds. Method of Soil Analysis Part 2 Microbiological and Biochemical Properties. Soil Science Society of America, Madison, WI. USA.

ศึกษาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด

Organic Fertilizer Granulation

พีรพงษ์ เชาวนพงษ์ สมบูรณ์ ประภาพรรณพงศ์ ศรีสุดา รื่นเจริญ รัฐกร สืบคำ ทิวาพร ผดุง
กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้ 1)ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว 2) ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต 3) ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) 4) ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์ 5) ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์ โดยใช้สัดส่วนผสมเท่ากับ 9:1 มาปั้นเม็ดในจานปั้นเม็ด และวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสเฟตทั้งหมด โพแทชทั้งหมด อินทรียวัตถุ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน การย่อยสลายที่สมบูรณ์ ผลการทดลองพบว่า ปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดทุกกรรมวิธีมีคุณภาพผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ.2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 ยกเว้นการปั้นเม็ดปุ๋ยอินทรีย์ด้วยกรรมวิธีใช้ ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) ที่มีคุณสมบัติการย่อยสลายที่สมบูรณ์ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 โดยความแกร่งของเม็ดปุ๋ยที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.40-2.85 มม. ทนทานต่อการกดทับของทุกกรรมวิธีอยู่ในระดับปานกลาง มีค่าอยู่ในช่วงมาตรฐาน 1.4-2.3 กก./เม็ด และมีเปอร์เซ็นต์ขนาดเม็ดปุ๋ยที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 1.2 มม. สูงสุด 93.24 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุด 53.94 เปอร์เซ็นต์

คำนำ

ปุ๋ยเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดปัจจัยหนึ่ง ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าการใช้ปุ๋ยเคมีมีความสำคัญในการยกระดับผลผลิตพืชทั้งปริมาณและคุณภาพ แต่มีข้อเสียคือในปัจจุบันมีราคาแพงมากและเมื่อใส่ลงไปในดินจะเกิดการสูญเสียธาตุอาหารได้ง่ายอีกทั้งผู้ใช้ต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมีประสิทธิภาพจึงจะเกิดประโยชน์สูงสุด สำหรับปุ๋ยอินทรีย์เริ่มมีบทบาทสำคัญในการเกษตรเพราะการใช้ปุ๋ยอินทรีย์เป็นการบริหารจัดการดินพื่อให้เกิดระบบการผลิตพืชอย่างยั่งยืน ทั้งตามแนวทฤษฎีใหม่และเกษตรอินทรีย์ เป็นการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม อีกทั้งปุ๋ยอินทรีย์เป็นสิ่งสำคัญในการเพิ่มคุณภาพและมาตรฐานการผลิต การผลิตปุ๋ยอินทรีย์แบบเม็ดเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เพราะปุ๋ยอินทรีย์แบบเม็ดสามารถใช้งานได้สะดวก เก็บรักษาได้นาน และขนย้ายได้ง่ายซึ่งเป็นข้อดีที่แตกต่างจากปุ๋ยอินทรีย์ชนิดผง และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่ปุ๋ยอินทรีย์ ซึ่งจากการสำรวจปุ๋ยอินทรีย์ตามร้านค้าพบว่ามีปุ๋ยอินทรีย์ที่ตรงตามมาตรฐานจำนวนน้อยมากเนื่องจากกรรมวิธีการผลิตและการใช้วัตถุดิบไม่เหมาะสม ทำให้ปุ๋ยอินทรีย์ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดส่วนใหญ่ไม่มีคุณภาพ โดยเฉพาะปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด ที่ส่วนใหญ่ปริมาณอินทรียวัตถุมีน้อยกว่ามาตรฐานตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ.2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยาจึงได้ทำการศึกษาทดลองเพื่อหาวิธีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด โดยการใช้ปุ๋ยหมักเป็นวัตถุดิบหลักในการศึกษาวิธีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและเผยแพร่แก่เกษตรกรและผู้สนใจทั่วไป

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ปุ๋ยอินทรีย์ หินฟอสเฟต ภูไมท์ ลีโอนาร์ไดท์ ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส)
2. จานปั้นเม็ด
3. สารเคมี ตู้อบ เครื่องมือวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

1) ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว

2) ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต

3) ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส)

4) ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์

5) ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์

นำปุ๋ยอินทรีย์ที่ผลิตได้และผ่านมาตรฐานตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 นำมาปั้นเม็ดในจานปั้นเม็ดกับวัสดุผสมตามกรรมวิธีที่กำหนด ซึ่งใช้ปุ๋ยอินทรีย์กับวัสดุผสมเท่ากับ 9:1 โดยใช้น้ำเป็นตัวประสานในการเพิ่มความชื้นให้ปุ๋ยเพื่อให้ผงปุ๋ยค่อยๆรวมตัวกันเป็นเม็ด แล้วนำปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดที่ได้ไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดมาวิเคราะห์ความเป็นกรดเป็นด่าง ค่าการนำไฟฟ้า ความชื้น ปริมาณอินทรียวัตถุ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสเฟตทั้งหมด และโพแทชทั้งหมด วิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) วัดโดยใช้อัตราส่วนปุ๋ยอินทรีย์ต่อน้ำเท่ากับ 1:2 แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง, ค่าการนำไฟฟ้า (EC) วัดสภาพการนำไฟฟ้าเป็นการวัดปริมาณเกลือที่ละลายน้ำได้ในปุ๋ยอินทรีย์ โดยใช้อัตราส่วนปุ๋ยอินทรีย์ต่อน้ำเท่ากับ 1:10 แล้ววัดค่า EC ด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า, ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) ประยุกต์วิธีของ Walkley and Black (1965) โดยการย่อยตัวอย่างด้วยกรดกำมะถัน (H_2SO_4) เข้มข้นและ $K_2Cr_2O_7$ หาปริมาณคาร์บอนโดยการไตเตรทด้วยสารละลาย Ammonium ferrous sulfate ส่วนปริมาณอินทรียคาร์บอนโดยการคำนวณจากปริมาณอินทรียวัตถุ คือ อินทรียคาร์บอนมี 58% ของอินทรียวัตถุ, ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio), ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (T-N) โดยวิธี Kjeldahl Method ย่อยตัวอย่างด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น แล้วนำสารละลายที่ได้ไปกลั่นหาปริมาณไนโตรเจน, ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (T-P_2O_5) โดยย่อยปุ๋ยอินทรีย์ด้วยกรดผสม ($HClO_4$:HNO_3=1:1) ได้สารละลาย ปิเปตสารละลายที่ได้ทำให้เกิดสีกับสารละลาย Ammonium metavanadate (Barton's solution) วัดปริมาณด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร, ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด (T-K_2O) วัดโพแทสเซียมซึ่งอยู่ในรูปสารละลายที่ผ่านขบวนการย่อยด้วยกรดผสม ($HClO_4$:HNO_3=1:1)โดยใช้ Flame Photometer และดัชนีการงอกของเมล็ด

(GI) โดยการวัดดัชนีการงอก (Germination Index) ทดสอบการงอกโดยการใช้น้ำปุ๋ยอินทรีย์ อัตราส่วน 1:10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เปรียบเทียบกับน้ำกรอง เพาะเมล็ดพืช ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง วัดเปอร์เซ็นต์การงอกและความยาวรากของต้นพืช

ระยะเวลา เดือน ตุลาคม 2552 ถึงเดือน กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองวิจารณ์

สมบัติทางเคมี และการย่อยสลายที่สมบูรณ์ของปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด(ตารางที่ 1) พบว่า

1. ปริมาณอินทรียวัตถุพบว่ากรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์ มีค่าสูงสุดเท่ากับ 39.06% แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว กรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์ ที่มีค่าเท่ากับ 36.51, 31.32 และ 31.00% ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) ที่มีค่าเท่ากับ 37.41% ปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดทุกกรรมวิธีจะได้ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 (มากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์)

2. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด พบว่ากรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) มีค่าสูงสุดเท่ากับ 2.05% แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์ และกรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว ที่มีค่าเท่ากับ 1.74% และ 1.72% ตามลำดับ ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต ที่มีค่าเท่ากับ 1.54% แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์ ที่มีค่าเท่ากับ 1.62% อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีจะได้ปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 (มากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์)

3. ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดพบว่ากรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต มีค่าสูงสุดเท่ากับ 6.00% แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว กรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์ กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์ และกรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) ที่มีค่าเท่ากับ 1.56%, 1.25%, 1.24% และ 1.22% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีจะได้ปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดที่มีปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 (มากกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์)

4. ปริมาณโพแทชทั้งหมดพบว่ากรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว และกรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์ มีค่าเท่ากับ 1.68% และ 1.54% มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์ และกรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต ที่มีค่าเท่ากับ 1.34%, 1.32% และ 1.30% ตามลำดับ สำหรับปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดทุกกรรมวิธีมีค่าโพแทช

ทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 (มากกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์)

5. อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) พบว่าปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 10.60-13.06 อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 (ไม่เกิน 20)

6. ค่าการนำไฟฟ้า (EC) พบว่า ปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดทุกกรรมวิธีมีค่าระหว่าง 4.63-8.76 เดซิซีเมนต่อเมตร โดยมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 (ไม่เกิน 10 เดซิซีเมนต่อเมตร)

7. การย่อยสลายที่สมบูรณ์ของปุ๋ย พบว่าปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดกรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว กรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์ และกรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์ ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของโดยมีค่าเท่ากับ 83.59, 80.24, 93.33 และ 85.82 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 (มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์) ยกเว้นกรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส(ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) ที่มีค่าเท่ากับ 26.70 เปอร์เซ็นต์

8. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของปุ๋ย พบว่าปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 5.83-6.96

สมบัติทางกายภาพปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด (ตารางที่ 2) พบว่า

1. ความแกร่งของเม็ดปุ๋ย (crushing strength of fertilizer granules) คือความทนทานต่อการที่กดทับ ของเม็ดปุ๋ยที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.40-2.85 มม. โดยแบ่งความแกร่งได้ 3 ระดับคือ (1) ทนทานได้น้อย มีค่าน้อยกว่า 1.4 กก./เม็ด (2) ทนทานได้ปานกลาง มีค่า 1.4-2.3 กก./เม็ด และ (3) ทนทานได้มาก มีค่ามากกว่า 2.3 กก./เม็ด จากการศึกษาพบว่าปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ดทุกกรรมวิธีมีความแกร่งของเม็ดอยู่ในระดับปานกลาง โดยกรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์ มีค่าสูงสุดเท่ากับ 2.26 กก./เม็ด รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) กรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์ และกรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต ที่มีค่าเท่ากับ 1.95, 1.86, 1.82 และ 1.47 กก./เม็ด ตามลำดับ

2. ขนาดของเม็ดปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด พบว่ากรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว กรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์ + หินฟอสเฟต กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยอินทรีย์ + ภูไมท์ และกรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยอินทรีย์ + ลีโอนาร์ไดท์ มีเม็ดปุ๋ยเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 1.2 มม. เท่ากับ 84.46%, 93.24%, 80.37%, 53.94% และ 90.55% ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลอง พบว่าการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด ทุกกรรมวิธีมีคุณภาพผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 ยกเว้นการปั้นเม็ดปุ๋ยอินทรีย์ด้วยกรรมวิธีใช้ ปุ๋ยอินทรีย์ + ฮิวมัส (ของเหลือทิ้งจากโรงงานผงชูรส) ที่มีคุณสมบัติการย่อยสลายที่

สมบูรณ์ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ตาม พรบ.ปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พรบ. ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550 โดยความแกร่งของเม็ดปุ๋ยที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.40-2.85 มม. ทนทานต่อการกดทับของทุกกรรมวิธีอยู่ในระดับปานกลาง มีค่าอยู่ในช่วงมาตรฐาน 1.4-2.3 กก./เม็ด และมีเปอร์เซ็นต์ขนาดเม็ดปุ๋ยที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 1.2 มม. สูงสุด 93.24 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุด 53.94 เปอร์เซ็นต์

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถใช้เป็นข้อมูลแนะนำให้กับเกษตรกร และผู้ประกอบการค้าปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในวัสดุที่นำมาผสมในการปั้นเม็ดปุ๋ยอินทรีย์

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2548. คู่มือจัดตั้งและบริหารโรงงานผลิตปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพ ชุมชน (ฉบับร่างครั้งที่ 3). 165 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2544. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช ISBN: 974-436-054-2. กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 164 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2548. คู่มือการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ ISBN: 974-436-452-1. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 45 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2548. วัสดุอินทรีย์และปุ๋ยคอกในพื้นที่ทำการเกษตร ISBN: 974-436-521-8. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 216 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2548. เอกสารประกอบการประชุมเรื่องโครงการวิจัยส่งเสริมการผลิตและการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ครั้งที่ 3 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 12 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2552. พระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. ๒๕๑๘ แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ ๒) พ.ศ. ๒๕๕๐. ฝ่ายปุ๋ยเคมี ส่วนใบอนุญาตและขึ้นทะเบียน สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 66 หน้า.

Bell, R.G. 1971. The role of compost and composting in modern agriculture. Compost Science, V.14, No.6, p.14.

Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 1990. Virginia, USA. 684p.

Walkley,A.and I.A.Black. 1934. An examination of wet digestion method for determination soil organic matter and a propose modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37 : 29-38.

ตารางที่ 1. คุณสมบัติทางเคมีของปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด

กรรมวิธี	pH	EC (dS/m)	OM (%)	C/N	T-N (%)	T-P_2O_5 (%)	T-K_2O (%)	GI (%)
1. ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว	6.89	4.63	36.51 b	12.34	1.72 b	1.59 b	1.68 a	83.59
2. ปุ๋ยอินทรีย์+หินฟอสเฟต	6.96	4.84	31.32 c	11.57	1.57 c	6.00 a	1.30 b	80.24
3. ปุ๋ยอินทรีย์+ฮิวมัส	5.83	8.76	37.41 ab	10.60	2.05 a	1.22 b	1.34 b	26.70
4. ปุ๋ยอินทรีย์+ภูไมท์	6.92	4.69	31.00 c	11.11	1.62 bc	1.24 b	1.32 b	93.33
5. ปุ๋ยอินทรีย์+ลีโอนาร์ไดท์	6.40	6.07	39.06 a	13.06	1.74 b	1.25 b	1.54 a	85.82
เฉลี่ย	6.60	5.80	35.06	11.74	1.74	2.26	1.43	73.94
F - test			**		**	**	**	
CV. (%)			4.1		5.3	11.8	7.16	

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2. คุณสมบัติทางกายภาพของปุ๋ยอินทรีย์ปั้นเม็ด

กรรมวิธี	ความแกร่งของเม็ดปุ๋ย (Kg)	เปอร์เซ็นต์ขนาดเม็ดปุ๋ย		
		+6 เมช (>3.3 มม.)	+14 เมช (>1.2 มม.)	-14 เมช (<1.2 มม.)
1. ปุ๋ยอินทรีย์อย่างเดียว	1.86	44.68	84.46	15.54
2. ปุ๋ยอินทรีย์+หินฟอสเฟต	1.47	66.86	93.24	6.76
3. ปุ๋ยอินทรีย์+ฮิวมัส	1.95	47.62	80.37	19.63
4. ปุ๋ยอินทรีย์+ภูไมท์	1.82	6.05	53.94	46.06
5. ปุ๋ยอินทรีย์+ลีโอนาร์ไดท์	2.26	55.75	90.55	9.45

การใช้ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยชีวภาพ ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และสารปรับปรุงดิน เพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดฝักอ่อน

Efficiency of Chemical Fertilizer Bio- Fertilizer Organic Fertilizer Organo Mineral Fertilizer and Soil Amendment for Minimization of Chemical Fertilizer on Baby Corn Production

พีรพงษ์ เชาวนพงษ์ สมบูรณ์ ประภาพรรณพงศ์ ศรีสุดา รื่นเจริญ รัฐกร สืบคำ ทิวาพร ผดุง
กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยชีวภาพ ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และสารปรับปรุงดินเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดฝักอ่อน วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี คือ (1)ไม่มีการให้ปุ๋ย (2)ให้ปุ๋ย 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) (3)ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) (4)ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) (5)ให้ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) (6)ให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต (7)ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) ที่แปลงเกษตรกรใน จ.กาญจนบุรี ผลการทดลอง พบว่า การให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 2,735.2 กิโลกรัม/ไร่ แตกต่างทางสถิติกับไม่มีการให้ปุ๋ย ที่ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกต่ำสุดเฉลี่ยเท่ากับ 1,539.0 กิโลกรัม/ไร่ สำหรับการให้ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่), 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) และปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกเฉลี่ยเท่ากับ 2,529.5, 2,236.2, 2,196.2, 2,186.7 และ 1,758.1 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ และมีแนวโน้มให้น้ำหนักฝักอ่อนสดปอกเปลือกสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 341.0 กิโลกรัม/ไร่ รองลงมาคือการให้ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) และไม่มีการให้ปุ๋ย ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดปอกเปลือกเฉลี่ยเท่ากับ 301.0, 293.3, 293.3, 281.9, 221.0 และ 198.1 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ

ด้านผลตอบแทนและความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ พบว่า การให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต มีรายได้สุทธิสูงสุดเท่ากับ 7,478 บาท รองลงมาได้แก่ การให้ปุ๋ย 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่), ไม่มีการให้ปุ๋ย, ปุ๋ย 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)

+ ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) และปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) มีรายได้สุทธิเท่ากับ 5,730, 5,454, 5,307, 4,617, 4,599 และ 2,274 บาท ตามลำดับ

คำนำ

ข้าวโพดฝักอ่อนเป็นพืชที่สำคัญชนิดหนึ่ง นิยมปลูกมากในภาคกลาง ประเทศไทยส่งข้าวโพดฝักอ่อนไปยังต่างประเทศจำนวนมาก เกษตรกรนิยมใช้ปุ๋ยเคมีกันมาก เนื่องจากให้ผลรวดเร็ว แต่ก็เกิดการสูญเสียของปุ๋ยที่ต้องใส่บ่อยครั้ง ปัจจุบันมีการนำเข้าปุ๋ยเคมีเป็นจำนวนมาก ในปี 2547 มีปริมาณนำเข้าประมาณ 38,829,649 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 33,244.50 ล้านบาท เพื่อลดการนำเข้าปุ๋ยเคมีจึงจำเป็นต้องศึกษาหาวิธีลดการใช้ปุ๋ยเคมีและได้เทคโนโลยีการใช้ปุ๋ยในข้าวโพดฝักอ่อน จากการทดลองของ เรวดี และคณะ (2538) พบว่าปุ๋ยอินทรีย์-เคมีทำให้คุณภาพของกล้วยหอม มีรสชาติดีกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างเดียว และการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ผสมกับปุ๋ยเคมีอย่างละครึ่งจะสามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ครึ่งหนึ่ง (สมบูรณ์ และคณะ, 2539) และในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์เม็ด เมื่อผสมกับปุ๋ยเคมี (10%) จะทำให้ความแข็งของเม็ดปุ๋ยเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีผลึกเกลือแทรกในโครงสร้างของเม็ดปุ๋ย ปุ๋ยที่ได้สามารถทานต่อแรงกระแทกที่เกิดจากการขนย้ายได้ และสะดวกต่อการนำไปใช้ (Beaker. *et al,* 1991) การผลิตปุ๋ยอินทรีย์เคมี สามารถผสมปุ๋ยอินทรีย์เสมือนเป็น Filler ได้ถึง 40% (Juang. *et al,* 1996) การใช้ Humicin, Terra-Sorb และปุ๋ยคอกให้การเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การใช้ปุ๋ยคอกร่วมกับปุ๋ยรองพื้นและยูเรียให้การเจริญเติบโตดีที่สุด (ธรณัส, 2536) การใช้ปุ๋ยคอกร่วมกับปุ๋ยยูเรีย ทำให้ผักบุ้งจีนมีการเจริญเติบโตและผลผลิตสูงที่สุด (วิรัตน์, 2536) การใส่ปุ๋ยมูลไก่ผสมแกลบ อัตรา 800 กก./ไร่ มันสำปะหลังให้ผลผลิตสูงที่สุด และสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยและการใส่ปุ๋ยมูลไก่ชนิดและอัตราอื่นๆ (จำลอง และคณะ, 2545) จากการใช้ซีโอไลท์และ/หรือปุ๋ยอินทรีย์คลุกผสมกับดินร่วนทรายชุดสตึกในอัตราส่วน 1:1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีพบว่า การใส่ซีโอไลท์ร่วมกับปุ๋ยเคมีทำให้ N และ K ถูกชะล้างน้อยกว่าการใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว หากพิจารณาถึงปริมาณธาตุอาหารในรูปที่เป็นประโยชน์ที่เหลืออยู่ในดิน การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับซีโอไลท์ผสมกับปุ๋ยอินทรีย์เป็นวิธีการที่ดีที่สุด (นงลักษณ์ และพวงเล็ก, 2541) ดังนั้น จึงควรศึกษาการใช้ปุ๋ยแบบผสมผสานอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดฝักอ่อน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ปุ๋ยเคมี ยูเรีย (46-0-0) ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (18-46-0) และ โพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต
2. จอบ เสียม พลั่ว ตาชั่ง เข่ง และอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง
3. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน
4. สารเคมี ตู้อบ เครื่องมือวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี

1. ไม่มีการให้ปุ๋ย
2. ให้ปุ๋ย 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)
3. ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่)
4. ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่)
5. ให้ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่)
6. ให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต
7. ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)

ปลูกข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ SG 17 ซุปเปอร์ ในแปลงเกษตรกร จ.กาญจนบุรี ในช่วงเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนกันยายน ปลูกระบบแถวเดี่ยวในแปลงขนาด 6x7 เมตร พื้นที่เก็บเกี่ยว 3x5 เมตร ใช้ระยะปลูก 75x25 เซนติเมตร ได้ 8 แถว/แปลงการทดลอง ปลูกจำนวน 1 ต้น/หลุม แบ่งใส่ปุ๋ยเคมี 2 ครั้งๆ ละเท่าๆ กัน ครั้งแรกรองก้นหลุมตอนปลูกที่เหลือใส่เมื่อข้าวโพดงอกได้ประมาณ 20-25 วัน โดยวิธีโรยข้างแถว ยกเว้นปุ๋ยอินทรีย์ใส่รองพื้นพร้อมปลูกครั้งเดียว วัดความสูงของต้นข้าวโพดเมื่ออายุ 30 และ 50 วัน เมื่อข้าวโพดเริ่มให้ช่อดอกตัวผู้ ทำการตัดช่อดอกตัวผู้ทิ้ง (detasseling) เก็บเกี่ยวข้าวโพดเมื่อไหมโผล่พ้นจากปลายฝักประมาณ 1-2 เซนติเมตร เก็บเกี่ยวทุกวันจนไม่สามารถให้ฝักอ่อนได้ เก็บตัวอย่างต้นและใบข้าวโพดฝักอ่อนเพื่อหาสมบัติทางเคมี

ระยะเวลา เดือน ตุลาคม 2551 ถึงเดือน กันยายน 2552

สถานที่ทำการทดลอง แปลงเกษตรกร จ.กาญจนบุรี และกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการ ผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเจริญเติบโตข้าวโพดฝักอ่อน (ตารางที่ 1)

การเจริญเติบโตของข้าวโพดฝักอ่อนเมื่ออายุ 30 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 6 ให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต กรรมวิธีที่ 2 ให้ปุ๋ย 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 4 ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) และกรรมวิธีที่ 7 ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 74.78, 74.43, 72.66 และ 72.63 เซนติเมตรตามลำดับ มีค่าแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่มีการให้ปุ๋ย ที่มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 51.78 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 5 ให้ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) และกรรมวิธีที่ 3 ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) ที่มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 65.23 และ 56.85 เซนติเมตร

เมื่ออายุ 50 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 2 ให้ปุ๋ย 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 6 ให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต กรรมวิธีที่ 4 ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5

($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 7 ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) และกรรมวิธีที่ 5 ให้ปุ๋ย 16-4-4 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 153.24, 146.76, 141.41, 140.89 และ 138.25 เซนติเมตรตามลำดับ มีค่าแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่มีการให้ปุ๋ย และกรรมวิธีที่ 3 ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) ที่มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 99.60 และ 94.57 เซนติเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 1. แสดงการเจริญเติบโตของข้าวโพดฝักอ่อน

กรรมวิธี	ข้าวโพดฝักอ่อนเมื่ออายุ 30 วัน (เซนติเมตร)	ข้าวโพดฝักอ่อนเมื่ออายุ 50 วัน (เซนติเมตร)
1. ไม่มีการให้ปุ๋ย	51.78 b	94.57 b
2. ให้ปุ๋ย 20-5-5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กก./ไร่)	74.43 a	153.24 a
3. ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่)	56.85 ab	99.60 b
4. ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กก./ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กก./ไร่)	72.66 a	141.41 a
5. ให้ปุ๋ย 16-4-4 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กก./ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กก./ไร่)	65.23 ab	138.25 a
6. ให้ปุ๋ย 20-0-5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กก./ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	74.78 a	146.76 a
7. ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กก./ไร่)	72.63 a	140.89 a
เฉลี่ย	66.91	130.67
CV (%)	17.1	19.4

1/ ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลผลิตฝักอ่อน (ตารางที่ 2)

น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือก พบว่า กรรมวิธีที่ 6 คือให้ปุ๋ย 20-0-5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 2,735.2 กิโลกรัม/ไร่ และแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่มีการให้ปุ๋ย ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกต่ำสุด เฉลี่ย 1,539.0 กก./ไร่ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่เหลือ และการให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกรองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 5 ให้ปุ๋ย 16-4-4 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 2 ให้ปุ๋ย 20-5-5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 4 ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 7 ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 ($N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) และกรรมวิธีที่ 3 ให้ปุ๋ย

อินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกเฉลี่ยเท่ากับ 2,529.5, 2,236.2, 2,196.2, 2,186.7 และ 1,758.1 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ

น้ำหนักฝักอ่อนสดปอกเปลือก พบว่า ทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักฝักอ่อนสดปอกเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 6 คือให้ปุ๋ย 20-0-5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดปอกเปลือกสูงสุด เฉลี่ย 341.0 กิโลกรัม/ไร่ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 5 ให้ปุ๋ย 16-4-4 ($N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 7 ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 2 ให้ปุ๋ย 20-5-5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 4 ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) และกรรมวิธีที่ 3 ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกเฉลี่ยเท่ากับ 301.0, 293.3, 293.3, 281.9 และ 221.0 กิโลกรัม/ไร่ และกรรมวิธีที่ 1 ไม่มีการให้ปุ๋ย ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดปอกเปลือกต่ำสุด เฉลี่ย 198.1 กิโลกรัม/ไร่

ตารางที่ 2. แสดงผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน

กรรมวิธี	ผลผลิตฝักอ่อนสดทั้งเปลือก 1/ (กก./ไร่)	ผลผลิตฝักอ่อนสดปอกเปลือก (กก./ไร่)
1. ไม่มีการให้ปุ๋ย	1,539.0 b	198.1
2. ให้ปุ๋ย 20-5-5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กก./ไร่)	2,236.2 ab	293.3
3. ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่)	1,758.1 ab	221.0
4. ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กก./ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กก./ไร่)	2,196.2 ab	281.9
5. ให้ปุ๋ย 16-4-4 ($N-P_2O_5-K_2O$ กก./ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กก./ไร่)	2,529.6 ab	301.0
6. ให้ปุ๋ย 20-0-5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กก./ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	2,735.3 a	341.0
7. ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กก./ไร่)	2,186.7 ab	293.3
เฉลี่ย	2,168.7	275.7
CV (%)	30.3	32.2

1/ ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลตอบแทนและความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ (ตารางที่ 3)

ผลตอบแทนและความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ พบว่า กรรมวิธีที่ 6 คือให้ปุ๋ย 20-0-5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต มีรายได้สุทธิสูงสุดเท่ากับ 7,478 บาท รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ 2 ให้ปุ๋ย 20-5-5 ($N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 7 ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 ($N-P_2O_5-K_2O$

กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 5 ให้ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) กรรมวิธีที่ 1 ไม่มีการให้ปุ๋ย กรรมวิธีที่ 4 ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) และ กรรมวิธีที่ 3 ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) มีรายได้สุทธิเท่ากับ 5,730, 5,454, 5,307, 4,617, 4,599 และ 2,274 บาทตามลำดับ

ตารางที่ 3. แสดงผลตอบแทนและความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

กรรมวิธี	ผลผลิตฝักอ่อนสดทั้งเปลือก (กก./ไร่)	รายได้ (บาท/ไร่)	ต้นทุนการใช้ปุ๋ย (บาท/ไร่)	รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)
1. ไม่มีการให้ปุ๋ย	1,539.0	4,617	0	4,617
2. ให้ปุ๋ย 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กก./ไร่)	2,236.2	6,708	978	5,730
3. ให้ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่)	1,758.1	5,274	3,000	2,274
4. ให้ปุ๋ย 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กก./ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กก./ไร่)	2,196.2	6,588	1,989	4,599
5. ให้ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กก./ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กก./ไร่)	2,529.6	7,587	2,280	5,307
6. ให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กก./ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	2,735.3	8,205	727	7,478
7. ให้ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กก./ไร่)	2,186.7	6,558	1,104	5,454

หมายเหตุ : ข้าวโพดฝักอ่อนสดทั้งเปลือก กิโลกรัมละ 3 บาท
ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ราคากระสอบละ 550 บาท
ปุ๋ยไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (18-46-0) ราคากระสอบละ 1,500 บาท
ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ราคากระสอบละ 1,300 บาท
ปุ๋ยอินทรีย์ ราคาตันละ 3,000 บาท
ปุ๋ยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ราคาถุงละ 30 บาท
ราคา เดือนกรกฎาคม 2553

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลอง พบว่าการให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่)+ ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต เป็นกรรมวิธีที่ให้ผลผลิตฝักอ่อนสดทั้งเปลือก น้ำหนักฝักอ่อนสดปอกเปลือก และผลตอบแทนและความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 2,735.3, 341.0 กิโลกรัม/ไร่ และรายได้สุทธิเท่ากับ 7,478 บาท รองลงมาในด้านการให้ผลผลิตได้แก่การให้ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์

(500 กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ย 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ย 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) และไม่มีการให้ปุ๋ย ให้น้ำหนักฝักอ่อนสดทั้งเปลือกเฉลี่ยเท่ากับ 2,529.6, 2,236.2, 2,196.2, 2,186.7, 1,758.1 และ 1,539.0 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ และให้น้ำหนักฝักอ่อนสดปอกเปลือกเฉลี่ยเท่ากับ 301.0, 293.3, 281.9, 293.3, 221.0 และ198.1 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ

ด้านผลตอบแทนและความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ พบว่า การให้ปุ๋ย 20-0-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต มีรายได้สุทธิสูงสุดเท่ากับ 7,478 บาท รองลงมาได้แก่ การให้ปุ๋ย 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ยอินทรีย์เคมี 20-5-5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่), ปุ๋ย 16-4-4 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่), ไม่มีการให้ปุ๋ย, ปุ๋ย 10-2.5-2.5 (N-P_2O_5-K_2O กิโลกรัม/ไร่) + ปุ๋ยอินทรีย์ (500 กิโลกรัม/ไร่) และ ปุ๋ยอินทรีย์ (1 ตัน/ไร่) มีรายได้สุทธิเท่ากับ 5,730, 5,454, 5,307, 4,617, 4,599 และ 2,274 บาทตามลำดับ

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถใช้เป็นข้อมูลแนะนำให้กับเกษตรกร
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในชุดดินต่างๆ ที่มีการปลูกข้าวโพดฝักอ่อนแบบต่อเนื่องระยะยาว เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติและการให้ผลผลิตของดิน

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2544. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช ISBN: 974-436-054-2. กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 164 หน้า.

จำลอง กกรัมย์, บุญเหลือ ศรีมุงคุณ, วงเดือน ประสมทอง และนพรัตน์ พานิชยธรรม. 2545. ผลของชนิดและอัตราปุ๋ยมูลไก่ต่อผลผลิตมันสำปะหลังที่ปลูกในสภาพดินร่วนปนทราย. วารสารดินและปุ๋ย 24 (4):142-151

ธรณัส จั่นเพ็ชร. 2536. อิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของผักคะน้า. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงลักษณ์ วิบูลสุข และพวงเล็ก โมรากุล. 2541.ผลของการใช้ซีโอไลท์ร่วมกับปุ๋ยเคมีต่อการชะล้างธาตุอาหารและการเจริญเติบโตของพืช. เอกสารประกอบการบรรยายในการสัมมนาวิชาการ,สมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย.

เรวดี ดีมาก, สมบูรณ์ ประภาพรรณพงศ์, ลัดดาวัลย์ มีสุข, จันทิรา อริยธัช, ยุพิน สรวิสูตร, นรีลักษณ์ ชูวรเวช, ประเทือง ลักษณะวิมล และปกรณ์ ลิ้มสมุทรชัยพร เจ้าหน้าที่สถานีทดลองข้าวคลองหลวง. 2538. การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยเคมีในรูปอัดเม็ดและไม่อัดเม็ดต่อผลผลิตกล้วยหอม. เอกสารประชุมวิชาการด้านปฐพีวิทยา. หน้า 129-138.

วิรัตน์ เอี้ยสกุล 2536. ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของผักบุ้งจีน. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมบูรณ์ ประภาพรรณพงศ์, จันทิรา อริยธัช และลัดดาวัลย์ มีสุข. 2539. อิทธิพลของการใช้ Activated Sludge Cake, Filter Cake และ Slop Ash ในรูปของปุ๋ยอัดเม็ดต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพดในดินชุดมาบบอน.เอกสารประชุมวิชาการด้านปฐพีวิทยา. หน้า 11-18.

Beaker, ERI. 1991. Method of preparing fertilizer from manure. “United States Patent (1992) US 5,118,387. 8p.

Eliades, G., and C. Hadjiloucas. 1985. A simple fertilizer-injection pump. Misc. Reports. 19. Agric. Res. Inst., Cyprus. 4 pp.

Hairston, J.E., J.S. Schepers, and W.L. Convill. 1981. A trickle irrigation system for frequent application of nitrogen to experimental plots. Soil Science Socity of America Journal. 43:880-882.

Juang T.C. 1996. The manufacturing and application of organic compound fertilizers, Food and Fertilizer Technology Center. Extension Bulletin No. 431. October 1996. 10 p.

Papadopoulos, I. 1985. Constant feeding of field grown tomatoes irrigated with sulphate water. Plant and Soil. 88:231-236.

การจัดการสมดุลธาตุอาหารพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในชุดดินสมอทอด

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี *ชลวุฒิ ละเอียด*[2] *สมฤทัย ตันเจริญ*[1]
เข็มพร เพชราภรณ์ *ศิริขวัญ ภู่นา*[1] *สาธิต อารีรักษ์* *อนันต์ ทองภู*[1]
กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ความสมดุลระหว่างปริมาณธาตุอาหารที่สูญหายออกไปและปริมาณธาตุอาหารที่ใส่กลับลงไปในพื้นที่มีความสำคัญต่อการรักษาศักยภาพการผลิตพืชของดินอย่างยั่งยืน ดังนั้นจึงได้วิจัยเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการจัดการสมดุลธาตุอาหารพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เป็นดินด่างชุดดินสมอทอด โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block มี 3 ซ้ำ ๆ ละ 8 กรรมวิธี ซึ่งเป็นการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับมูลไก่ในอัตราต่างๆ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว

ผลการทดลอง สมดุลของธาตุอาหารในพื้นที่ปีที่ 1 ซึ่งไม่ได้ไถกลบเศษซากข้าวโพด พบว่า กรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยทำให้ปริมาณธาตุอาหารในพื้นที่ขาดดุลเฉลี่ยเทียบเท่า 10.9 - 9.4 - 8.4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ หรือแม้แต่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ก็ยังคงทำให้ปริมาณธาตุอาหารในพื้นที่ขาดดุลเช่นกันเฉลี่ย 5.0 – 8.2 – 6.7 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ในปีที่ 2 เมื่อไถกลบเศษซากพืช พบว่าไนโตรเจนและโพแทสเซียมในกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีปริมาณเกินดุลเฉลี่ย 0.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ และ 2.4 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ แต่ฟอสฟอรัสยังมีปริมาณขาดดุลเฉลี่ย 5.4 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ ส่วนกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ทำให้ไนโตรเจนและโพแทสเซียมมีปริมาณเกินดุลเฉลี่ย 8.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ และ 6.3 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ แต่ฟอสฟอรัสยังมีปริมาณขาดดุลเฉลี่ย 3.9 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับการใส่มูลไก่ทำให้ธาตุอาหารในพื้นที่มีค่าเกินดุลหรือมีธาตุอาหารเหลือตกค้างในดินมากกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวอย่างเห็นได้ชัด การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2 ในชุดดินสมอทอดโดยใช้ปุ๋ยเคมี 6-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับมูลไก่ 400 กิโลกรัมต่อไร่ ยังคงมีปริมาณธาตุอาหารเกินดุล โดยที่ข้าวโพดให้ผลผลิตเฉลี่ย 957 กิโลกรัมต่อไร่ สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย (618 กิโลกรัมต่อไร่) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจสูงกว่าทุกกรรมวิธี

[1] กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร โทร.0-2579-7513

[2] ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่ โทร. 0-5624-1019

บทนำ

การรักษาศักยภาพการผลิตพืชของดินอย่างยั่งยืนนั้นจำเป็นต้องรักษาสมดุลระหว่างปริมาณธาตุอาหารที่ใส่ลงไป (inputs) กับปริมาณที่สูญหาย (outputs) ตามหลักการของสมดุลธาตุอาหารพืช ซึ่ง inputs – outputs = 0 หรือ inputs = outputs หากผลต่างมีค่าเป็นบวกแสดงว่าธาตุอาหารที่ใส่ลงไปมีปริมาณมากกว่าที่สูญหาย ในกรณีเช่นนี้จะทำให้มีธาตุอาหารเหลือสะสมอยู่ในดิน ซึ่งอาจเป็นผลดีสำหรับดินที่ต้องการยกระดับความอุดมสมบูรณ์ แต่ในกรณีที่ดินมีความอุดมสมบูรณ์เพียงพอและเหมาะสมต่อการผลิตพืชอยู่แล้ว การจัดการธาตุอาหารพืชที่ทำให้ inputs เหลืออยู่ในพื้นที่มากเกินไปเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและอาจทำให้ธาตุอาหารในดินมากเกินความต้องการของพืชได้ ในทางกลับกันหากให้ค่าเป็นลบแสดงว่าธาตุอาหารที่สูญหายออกไปมีปริมาณมากกว่า ก็จะเป็นผลให้ดินมีธาตุอาหารลดลง และหากปล่อยให้มีค่าติดลบไปเรื่อยๆ ศักยภาพในการผลิตพืชของดินก็จะลดน้อยถอยลง

ธาตุอาหารในพื้นที่ส่วนใหญ่สูญหายออกไปกับผลผลิตพืชเป็นหลัก ซึ่งมีปริมาณการสูญหายของธาตุอาหารไปกับผลผลิตแตกต่างกันไปตามพืชแต่ละชนิด และคุณสมบัติของดินก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสูญหายของธาตุอาหารพืช เช่น ดินด่างเสี่ยงต่อการสูญหายของไนโตรเจนในรูปของก๊าซแอมโมเนีย โดยพบว่าเมื่อพีเอชของดินเพิ่มขึ้นจาก 6 เป็น 7 และจาก 7 เป็น 8 จะมีแอมโมเนียเพิ่มขึ้นจาก 0.1 เป็น 1.0 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เป็น 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Freney *et al.*, 1983 อ้างโดย Freney *et al.*, 1998) และ Du Preez and Burger (1988) พบว่าการใส่ปุ๋ยยูเรีย ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต และ แอมโมเนียมซัลเฟต ในดินร่วนเหนียวทำให้ไนโตรเจนจากปุ๋ยสูญหายไปในรูปของก๊าซแอมโมเนีย 26-47 19-43 และ 15-34 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ย ตามลำดับ และสูญหายมากขึ้นในดินเหนียว ในขณะที่พื้นที่ที่มีความลาดเทสูงเสี่ยงต่อการสูญหายของธาตุอาหารไปโดยน้ำไหลบ่า (run-off) หรือตะกอนดิน กอบเกียรติ และคณะ (2552) รายงานว่า การปลูกมันสำปะหลังในชุดดินแม่ริมที่มีความลาดเทของพื้นที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์ หากไม่ใส่ปุ๋ยจะทำให้ปริมาณธาตุอาหารในพื้นที่ขาดดุลเทียบเท่าเนื้อปุ๋ย 4.2-3.0-2.2 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีวิธีการจัดการสมดุลธาตุอาหารพืชในพื้นที่อย่างเหมาะสม ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของพืช คุณสมบัติของดิน (เนื้อดิน พีเอช ปริมาณธาตุอาหารในดิน ฯลฯ) ความลาดเทของพื้นที่ และปริมาณน้ำฝน เป็นต้น

สำหรับการศึกษาครั้งนี้คำนวณสมดุลของธาตุอาหารพืชจากปัจจัยหลักๆ เช่น ปริมาณธาตุอาหารพืชในผลผลิต เศษซากพืช ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และการสูญหายของไนโตรเจนในรูปของก๊าซแอมโมเนีย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมในการจัดการสมดุลธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม สำหรับการผลิตข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 ในชุดดินสมอทอด สำหรับใช้ในการให้คำแนะนำต่อไป

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

ดำเนินการทดลองในชุดดินสมอทอด (Very fine, smectitic, isohyperthermic Chromic Haplusterts) ใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block มี 3 ซ้ำ ๆ ละ 8 กรรมวิธี ดังตารางที่ 1 เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ทำการทดลองที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร นำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดินก่อนทำการทดลอง และสุ่มเก็บตัวอย่างมูลไก่ นำมาวิเคราะห์ความชื้นและคุณสมบัติทางเคมี

ไถเตรียมดินและแบ่งแปลงย่อยให้มีขนาด 6 × 8 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร ใส่มูลไก่ (OF) ก่อนปลูกข้าวโพด 1 สัปดาห์ ตามอัตราที่กำหนดและพรวนกลบลงไปในดิน โดยปีที่ 1 และ 2 ใส่มูลไก่ 800 และ 1,600 กิโลกรัม น้ำหนักสดต่อไร่ และในปีที่ 3 และ 4 ใส่มูลไก่ 400 และ 800 กิโลกรัม น้ำหนักสดต่อไร่ การใส่ปุ๋ยเคมี (CF) ในปีที่ 1-2 เป็นดังนี้ คือ ครั้งที่ 1 พร้อมปลูก โดยใส่ปุ๋ยเชิงประกอบ (16-8-8) เพื่อให้ได้เนื้อปุ๋ย 10-5-5 8-4-4 และ 6-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และ ครั้งที่ 2 หลังปลูก 1 เดือน ใส่ปุ๋ยยูเรียเพื่อให้ได้เนื้อปุ๋ย 5 4 และ 3 กิโลกรัม N ต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนปีที่ 3-4 ใส่ปุ๋ยเคมีครั้งที่ 1 พร้อมปลูก โดยใส่ปุ๋ยเชิงประกอบ (15-15-15) เพื่อให้ได้เนื้อปุ๋ย 10-10-10 8-8-8 5-5-5 และ 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และ ครั้งที่ 2 หลังปลูก 1 เดือน ใส่ปุ๋ยยูเรียเพื่อให้ได้เนื้อปุ๋ย 10 8 5 และ 3 กิโลกรัม N ต่อไร่ ตามลำดับ ปลูกข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 โดยใช้ระยะระหว่างแถว 0.75 เมตร และระยะระหว่างต้น 0.25 เมตร ถอนแยกข้าวโพดให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม และเก็บเกี่ยวข้าวโพดที่อายุ 110-120 วัน ในพื้นที่เก็บเกี่ยว 3 × 4 เมตร เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่เก็บเกี่ยวที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร มาวิเคราะห์พีเอช อินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัสทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียมทั้งหมด และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ตามวิธีเดียวกับการวิเคราะห์ดินก่อนปลูก

ตารางที่ 1. กรรมวิธีในปีที่ 1-2 และปีที่ 3-4 พร้อมอักษรย่อของแต่ละกรรมวิธี

Treatments (1^{st} – 2^{nd} years)	Treatments (3^{rd} – 4^{th} years)	Treatment abbreviation
1. Control	1. Control	Control
2 CF 15-5-5 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	2 CF 20-10-10 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	CF
3. CF 9-3-3 + OF 800 kg/rai	3. CF 6-3-3 + OF 400 kg/rai	CF1+OF1
4. CF 12-4-4 + OF 800 kg/rai	4. CF 10-5-5 + OF 400 kg/rai	CF2+OF1
5. CF 15-5-5 + OF 800 kg/rai	5. CF 16-8-8 + OF 400 kg/rai	CF3+OF1
6. CF 9-3-3 + OF 1,600 kg/rai	6. CF 6-3-3 + OF 800 kg/rai	CF1+OF2
7. CF 12-4-4 + OF 1,600 kg/rai	7. CF 10-5-5 + OF 800 kg/rai	CF2+OF2
8. CF 15-5-5 + OF 1,600 kg/rai	8. CF 16-8-8 + OF 800 kg/rai	CF3+OF2

บันทึกปริมาณธาตุอาหารที่ใส่ลงไปในพื้นที่จากการใส่ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และการไถกลบเศษซากพืช และปริมาณธาตุอาหารที่สูญหายไปจากพื้นที่โดยผลผลิต (เมล็ดและซัง) เพื่อนำมาใช้ในการคำนวณสมดุลของธาตุอาหารในพื้นที่ปลูกข้าวโพด ดังนี้

$N,P,K_{Balance} = N,P,K_{input} - N,P,K_{Loss}$

ปีที่ 1 $N,P,K_{input} = N,P,K_{CF} + N,P,K_{OF}$

$N_{loss} = N_{Stover} + N_{grain+cob} + N_{gas}$ และ $P,K_{loss} = P,K_{Stover} + P,K_{grain+cob}$

ปีที่ 2 – 4 $N,P,K_{input} = N,P,K_{CF} + N,P,K_{OF} + N,P,K_{Stover}$

$N_{loss} = N_{grain+cob} + N_{gas}$ และ $P,K_{loss} = P,K_{grain+cob}$

โดยที่ $N,P,K_{balance}$: สมดุลของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม

N,P,K_{input} : ปริมาณของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ที่ใส่ลงไป

N_{loss} และ P,K_{loss} : ปริมาณของไนโตรเจน และฟอสฟอรัส โพแทสเซียมที่สูญหายออกไป

N,P,K_{CF} : ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากปุ๋ยเคมี

N,P,K_{OF} : ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากปุ๋ยอินทรีย์

N,P,K_{Stover} : ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากเศษซากต้นและใบข้าวโพด

$N,P,K_{grain+cob}$: ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ที่ติดออกไปกับเมล็ดและซัง

N_{gas} : ปริมาณไนโตรเจนที่สูญหายไปในรูปก๊าซแอมโมเนีย (คาดคะเนจากผลทดลองในห้องปฏิบัติการ)

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2548 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

1) แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์

2) ห้องปฏิบัติการวิจัยเคมีดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. คุณสมบัติของดินก่อนทำการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ดิน เฉลี่ยจาก 3 ซ้ำๆ ละ 8 ตัวอย่าง (8 แปลงย่อย) พบว่า ดินมีพีเอช 7.8 มีอินทรียวัตถุปานกลาง 1.8 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนทั้งหมด 1,651 มิลลิกรัม N ต่อดิน 1 กิโลกรัม ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 38 มิลลิกรัม P ต่อดิน 1 กิโลกรัม ฟอสฟอรัสทั้งหมด 375 มิลลิกรัม P ต่อดิน 1 กิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 170 มิลลิกรัม K ต่อดิน 1 กิโลกรัม และโพแทสเซียมทั้งหมด 739 มิลลิกรัม K ต่อดิน 1 กิโลกรัม (ตารางที่ 2) ซึ่งจัดว่าเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง

ตารางที่ 2. คุณสมบัติของดินก่อนทำการทดลอง (ที่ระดับความลึก 0 – 15 เซนติเมตร)

Parameters	Rep 1[1/]	Rep 2[1/]	Rep 3[1/]	Average
pH	7.7	7.9	7.9	7.8
Organic matter (%)	1.9	1.9	1.7	1.8
Total N (mg N/kg soil)	1,774	1,630	1,550	1,651
Available P (mg P/kg soil)	35	42	36	38
Total P (mg P/kg soil)	381	360	384	375
Exchangeable K (mg K/kg soil)	180	170	160	170
Total K (mg K/kg soil)	673	760	784	739

หมายเหตุ [1/] เป็นค่าเฉลี่ยจาก 8 ตัวอย่าง (8 แปลงย่อย)

2. ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยอินทรีย์

ปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองคือ มูลไก่ผสมแกลบ ซึ่งวัตถุประสงค์เพื่อเป็นแหล่งของธาตุอาหารแก่พืช และเพื่อเพิ่มความร่วนซุยให้กับดิน โดยจากการสุ่มเก็บตัวอย่างมูลไก่ผสมแกลบจากกองปุ๋ยมาวิเคราะห์ พบว่า มีค่าเฉลี่ยของความชื้น 23 เปอร์เซ็นต์ อินทรีย์คาร์บอน 28.5 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจน 2.5 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสทั้งหมด 3.2 เปอร์เซ็นต์ P_2O_5 และโพแทสเซียมทั้งหมด 2.3 เปอร์เซ็นต์ K_2O ดังนั้น เมื่อใส่มูลไก่ในอัตรา 400 กิโลกรัมน้ำหนักสด (หรือ 325 กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง) จะได้อินทรีย์คาร์บอน 92.6 กิโลกรัม C ต่อไร่ ไนโตรเจนทั้งหมด 8.1 กิโลกรัม N ต่อไร่ ฟอสฟอรัสทั้งหมด 10.4 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และโพแทสเซียมทั้งหมด 7.5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3. คุณสมบัติและปริมาณธาตุอาหารของมูลไก่ผสมแกลบเมื่อใส่ในอัตราต่างๆ

Parameters	Analytical data	Fresh weight of applied chicken manure		
		400 kg/rai	800 kg/rai	1,600 kg/rai
Moisture	23%			
Organic carbon	28.5%	92.6 kg C/rai	185.2 kg C/rai	370.4 kg C/rai
Total N	2.5%	8.1 kg N/rai	16.2 kg N/rai	32.4 kg N/rai
Total P	3.2%P_2O_5	10.4 kg P_2O_5/rai	20.8 kg P_2O_5/rai	41.6 kg P_2O_5/rai
Total K	2.3%K_2O	7.5 kg K_2O/rai	15.0 kg K_2O/rai	30.0 kg K_2O/rai

3. ปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพด

ข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 ให้มวลน้ำหนักแห้งของต้นและใบ 1,496 กิโลกรัมต่อไร่ เมล็ด 844 กิโลกรัมต่อไร่ และซัง 160 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อคำนวณปริมาณของธาตุอาหารจากส่วนต่างๆ ของข้าวโพด พบว่า คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากส่วนของต้นและใบ 492 11.5 2.4 และ 8.4 กิโลกรัมของ C, N, P_2O_5, K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ จากส่วนของเมล็ด 294 14.5 9.7 และ 6.7 กิโลกรัม

ของ C, N, P_2O_5, K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ และจากส่วนของซัง 56 0.8 0.1 และ 0.9 กิโลกรัมของ C, N, P_2O_5, K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ดังนั้น ธาตุอาหารในพื้นที่มีโอกาสสูญหายโดยติดออกไปกับผลผลิตหรือส่วนของเมล็ดและซังซึ่งเป็นส่วนที่ต้องนำออกไปจากพื้นที่ทุกปี เท่ากับ 15.3-9.8-7.6 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ต่อฤดูปลูก (ตารางที่ 4) และหากไม่ไถกลบเศษซากพืชกลับลงไปในพื้นที่ จะทำให้มีธาตุอาหารสูญหายออกไปทั้งหมด 26.8-12.2-16.0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ต่อฤดูปลูก (ตารางที่ 4) ดังนั้น จึงจำเป็นต้องใส่ปุ๋ย กลับลงไปเพื่อทดแทนปริมาณธาตุอาหารที่สูญหายออกไป มิฉะนั้นก็จะมีผลทำให้ดินมีคุณภาพเสื่อมถอยลง และมีศักยภาพในการผลิตพืชลดต่ำลง

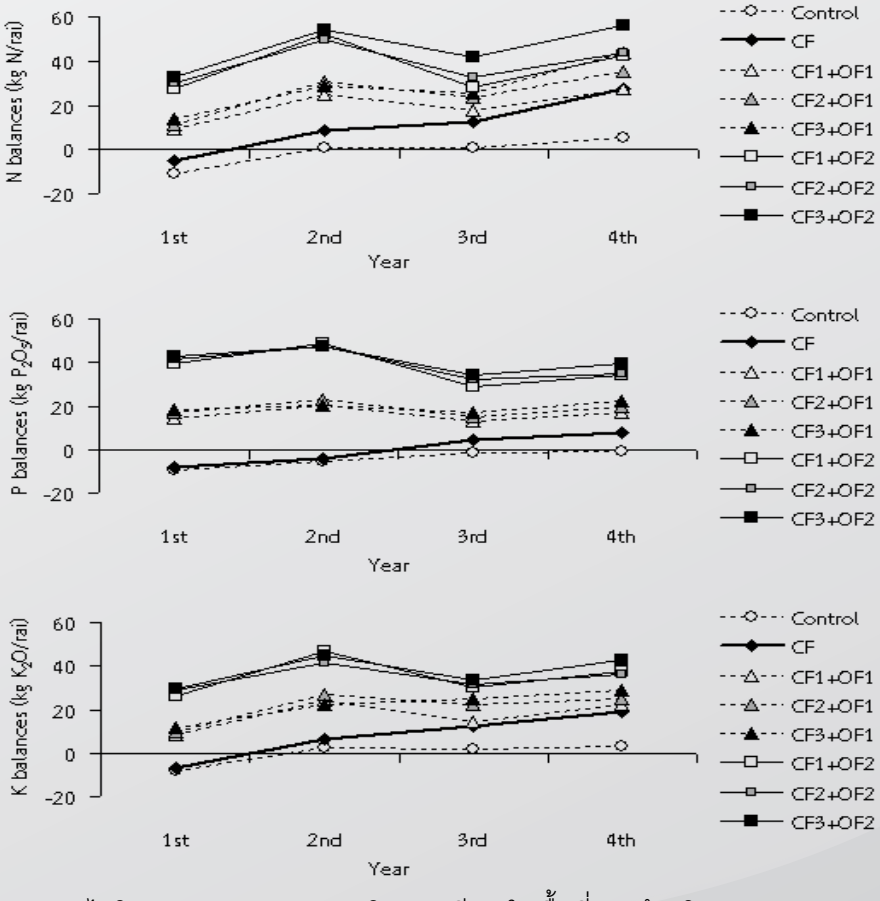
ตารางที่ 4. ปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในส่วนต่างๆ ของข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 ที่ปลูกในชุดดินสมอทอด (ค่าเฉลี่ยจากทุกกรรมวิธี)

Plant parts	Dry matter (kg/rai)	Nutrient concentration (%)				Amount of nutrient (kg/rai)			
		C	N	P	K	C	N	P_2O_5	K_2O
Stover	1,496	32.9	0.77	0.07	0.47	492	11.5	2.4	8.4
Grain	844	34.8	1.72	0.50	0.66	294	14.5	9.7	6.7
Cob	160	34.7	0.47	0.03	0.46	56	0.8	0.1	0.9

4. สมดุลของธาตุอาหาร

การวิเคราะห์สมดุลของธาตุอาหารในพื้นที่ในปีที่ 1 ซึ่งไม่ได้ไถกลบเศษซากข้าวโพด พบว่า กรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยทำให้ธาตุอาหารในพื้นที่มีค่าติดลบหรือขาดดุลเฉลี่ยคิดเป็นเนื้อปุ๋ย 10.9 - 9.3 - 8.4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ หรือแม้แต่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ก็ยังคงทำให้ธาตุอาหารในพื้นที่มีค่าติดลบหรือขาดดุลเช่นกันเฉลี่ย 5.0 – 8.1 – 6.7 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใส่มูลไก่ 800 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมี 9-3-3 12-4-4 และ 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เกินดุลเฉลี่ย 9.5-13.7 กิโลกรัม N ต่อไร่ 14.7 -18.5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 8.2-12.0 กิโลกรัม K_2Oต่อไร่ ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มปริมาณมูลไก่เป็น 1,600 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมีทั้ง 3 อัตราดังกล่าว พบว่าปริมาณธาตุอาหารยิ่งมีค่าเกินดุลเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 1) ในปีที่ 2 เมื่อรวมปริมาณธาตุอาหารที่ได้จากการไถกลบเศษซากพืช พบว่า ปริมาณไนโตรเจนและโพแทสเซียมของกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีค่าเกินดุลเฉลี่ย 0.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ และ 2.4 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ แต่ฟอสฟอรัสยังมีค่าขาดดุลเฉลี่ย 5.4 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ ส่วนกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ทำให้ไนโตรเจนและโพแทสเซียมมีค่าเกินดุลเฉลี่ย 8.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ และ 6.3 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ แต่ฟอสฟอรัสยังมีค่าขาดดุลเฉลี่ย 3.9 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ ต่างจากกรรมวิธีที่ใส่มูลไก่ 800 และ 1,600 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมี 9-3-3 12-4-4 และ 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ซึ่งทำให้ธาตุอาหารในพื้นที่มีค่าเกินดุลทั้งไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (ภาพที่ 1)

จากผลวิเคราะห์ รวม 2 ปี พบว่า เมื่อใส่มูลไก่ในอัตรา 1,600 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมี 9-3-3 12-4-4 และ 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม มีค่าเกินดุลสูง 39.9-43.2 กิโลกรัม N ต่อไร่ 44.3-45.1 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 35.1-37.0 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่เกินดุลนี้อาจมากเกินความจำเป็น เพราะแม้แต่การใส่มูลไก่อัตรา 800 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมีทั้ง 3 อัตรา ก็ยังทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม มีค่าเกินดุล 17.3-21.3 กิโลกรัม N ต่อไร่ 17.5-20.0 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 16.3-18.4 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ดังนั้น จึงควรปรับอัตราการใช้มูลไก่ร่วมกับปุ๋ยเคมีอย่างเหมาะสม เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการรักษาสมดุลของธาตุอาหารในพื้นที่พร้อมทั้งเพิ่มปริมาณผลผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์



ภาพที่ 1. สมดุลของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด

ตารางที่ 5. สมดุลของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม วิเคราะห์รวม 2 ปี (ปีที่ 1 และ 2)

Treatments	N Balances (kg N/rai)	P Balances (kg P_2O_5/rai)	K Balances (kg K_2O/rai)
1. Control	-5.2 e	-7.3 d	-3.0 c
2 CF 15-5-5 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	1.8 d	-6.0 d	-0.2 c
3. CF 9-3-3 + OF 800 kg/rai	17.3 c	17.5 c	16.3 b
4. CF 12-4-4 + OF 800 kg/rai	20.8 bc	20.0 b	18.4 b
5. CF 15-5-5 + OF 800 kg/rai	21.3 b	19.5 b	17.2 b
6. CF 9-3-3 + OF 1,600 kg/rai	40.1 a	45.1 a	36.5 a
7. CF 12-4-4 + OF 1,600 kg/rai	39.9 a	44.3 a	35.1 a
8. CF 15-5-5 + OF 1,600 kg/rai	43.2 a	45.1 a	37.0 a
F-test	**	**	**
CV (%)	14.3	5.6	15.1

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ** : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6. สมดุลของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม วิเคราะห์รวม 2 ปี (ปีที่ 3 และ 4)

Treatments	N Balances (kg N/rai)	P Balances (kg P_2O_5/rai)	K Balances (kg K_2O/rai)
1. Control	2.9 e	-1.0 f	2.5 e
2 CF 20-10-10 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	20.3 d	6.0 e	16.0 d
3. CF 6-3-3 + OF 400 kg/rai	22.4 d	15.0 d	18.4 d
4. CF 10-5-5 + OF 400 kg/rai	29.3 c	17.4 c	23.5 c
5. CF 16-8-8 + OF 400 kg/rai	34.7 b	19.4 c	26.7 c
6. CF 6-3-3 + OF 800 kg/rai	35.3 b	31.5 b	33.7 b
7. CF 10-5-5 + OF 800 kg/rai	38.3 b	33.4 b	34.0 b
8. CF 16-8-8 + OF 800 kg/rai	48.8 a	36.8 a	38.1 a
F-test	**	**	**
CV (%)	15.0	10.3	11.7

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ** : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

5. ผลของการจัดการสมดุลของธาตุอาหารพืชต่อปริมาณธาตุอาหารในดิน

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร หลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดปีที่ 1 และ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราสูง (15-5-5 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่) ร่วมกับมูลไก่ 1,600 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้ดินมีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงสุดเฉลี่ย 222 มิลลิกรัม K ต่อดิน 1 กิโลกรัม ในขณะที่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวในอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย มีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 136 และ 115 มิลลิกรัม K ต่อดิน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ และมีแนวโน้มว่าการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับมูลไก่ทุกกรรมวิธีทำให้ดินมีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2 และตารางที่ 7) เช่นเดียวกับฟอสฟอรัส ซึ่งพบว่า กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับมูลไก่อัตราต่าง ๆ ทำให้ดินมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวในอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ และกรรมวิธีควบคุม ตามลำดับ (ภาพที่ 2 และตารางที่ 7)

เมื่อปรับเปลี่ยนกรรมวิธีในปีที่ 3 และ 4 พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมีอัตรา 16-8-8 10-5-5 และ 6-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับมูลไก่ 800 กิโลกรัมต่อไร่ ดินมีอินทรียวัตถุเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.4-2.6 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 110-116 มิลลิกรัม P ต่อดิน 1 กิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 299-354 มิลลิกรัม K ต่อดิน 1 กิโลกรัม สูงกว่ากรรมวิธีที่ใส่เคมีทั้ง 3 อัตราดังกล่าวร่วมกับมูลไก่ 400 กิโลกรัมต่อไร่ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอย่างเดียวอัตรา 20-10-10 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ และกรรมวิธีควบคุม ตามลำดับ (ภาพที่ 2 และตารางที่ 8)

ตารางที่ 7. สมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดินที่ระดับความลึก 0-15 ซม. หลังเก็บเกี่ยวข้าวโพด วิเคราะห์ รวม 2 ปี (ปีที่ 1 และ 2)

Treatments	pH	OM (%)	Total N (mg N/kg soil)	Available P (mg P/kg soil)	Exchangeable K (mg K/kg soil)
1. Control	8.0	2.2	1,247	30 c	115 d
2. CF 15-5-5 kg $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/rai	8.0	2.1	1,619	35 c	136 cd
3. CF 9-3-3 + OF 800 kg/rai	7.9	2.2	1,317	43 bc	159 bcd
4. CF 12-4-4 + OF 800 kg/rai	7.8	2.3	1,559	42 bc	179 abc
5. CF 15-5-5 + OF 800 kg/rai	7.9	2.2	1,429	59 ab	168 bc
6. CF 9-3-3 + OF 1,600 kg/rai	7.9	2.3	1,464	65 a	200 ab
7. CF 12-4-4 + OF 1,600 kg/rai	8.0	2.2	1,530	47 abc	158 bcd
8. CF 15-5-5 + OF 1,600 kg/rai	7.8	2.3	1,463	57 ab	222 a
F-test	ns	ns	ns	*	**
CV(%)	2.1	6.6	27.7	35.9	23.9

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ns : ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ * , ** : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

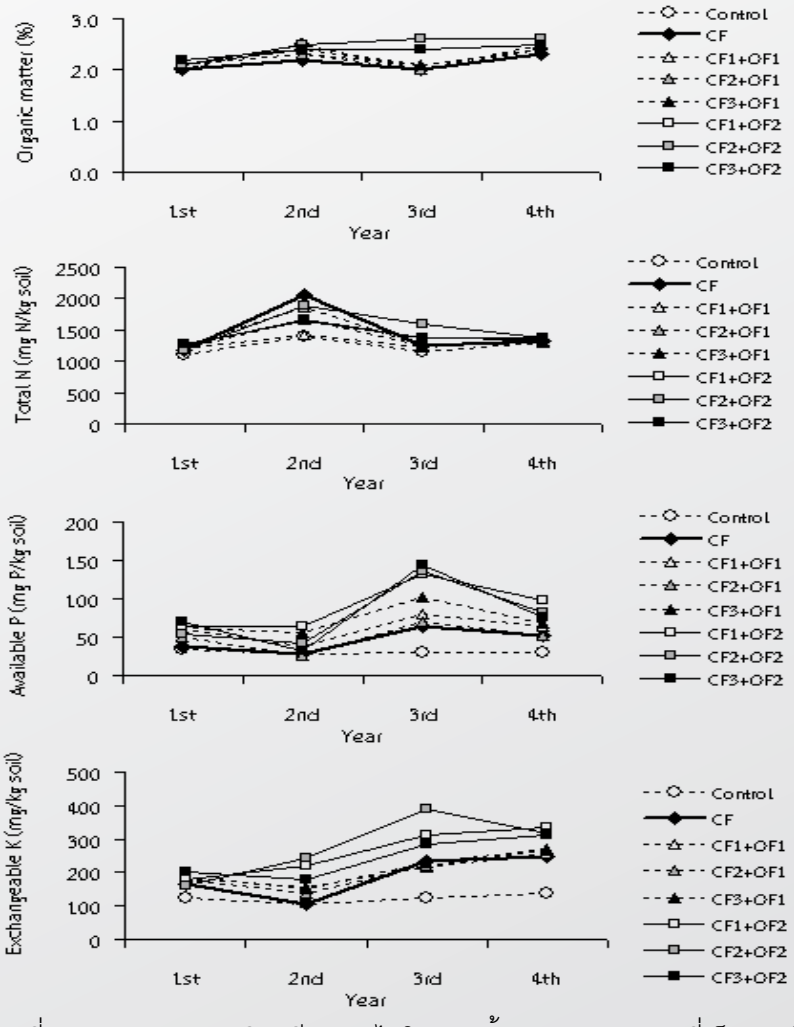
ตารางที่ 8. สมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดินที่ระดับความลึก 0-15 ซม. หลังเก็บเกี่ยวข้าวโพด วิเคราะห์รวม 2 ปี (ปีที่ 3 และ 4)

Treatments	pH	OM (%)	Total N (mg N/kg soil)	Available P (mg P/kg soil)	Exchangeable K (mg K/kg soil)
1. Control	7.9 a	2.2 c	1,234 c	31 d	132 e
2. CF 15-5-5 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	7.9 a	2.1 c	1,298 bc	59 cd	242 d
3. CF 9-3-3 + OF 800 kg/rai	7.9 a	2.2 c	1,271 bc	72 c	235 d
4. CF 12-4-4 + OF 800 kg/rai	7.9 a	2.3 bc	1,276 bc	62 c	244 d
5. CF 15-5-5 + OF 800 kg/rai	7.7 bc	2.3 bc	1,281 bc	85 bc	249 cd
6. CF 9-3-3 + OF 1,600 kg/rai	7.8 ab	2.4 ab	1,367 b	116 a	324 ab
7. CF 12-4-4 + OF 1,600 kg/rai	7.8 ab	2.6 a	1,480 a	110 ab	354 a
8. CF 15-5-5 + OF 1,600 kg/rai	7.7 bc	2.5 a	1,372 b	110 ab	299 bc
F-test	*	**	**	**	**
CV(%)	1.8	6.5	6.7	29.4	16.3

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT * , ** : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

6. การให้ผลผลิตของข้าวโพด

การให้ผลผลิตของข้าวโพดปีที่ 1 และ 2 (เฉลี่ย 2 ปี) พบว่า กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 12-4-4 และ 9-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับมูลไก่ 800 และ 1,600 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ผลผลิตข้าวโพดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1,111 – 1,134 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอย่างเดียวอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (ผลผลิต 1,056 กิโลกรัมต่อไร่) แต่ให้ผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย (ผลผลิต 812 กิโลกรัมต่อไร่) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) (ตารางที่ 9) ส่วนในปี ที่ 3 และ 4 (เฉลี่ย 2 ปี) เมื่อปรับเปลี่ยนอัตราของปุ๋ยเคมีเป็น 16-8-8 10-5-5 และ 6-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ใส่ร่วมกับมูลไก่ 400 และ 800 กิโลกรัมต่อไร่ พบว่า ข้าวโพดให้ผลผลิตเฉลี่ยอยู่ในช่วง 906 – 969 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอย่างเดียวในอัตรา 20-10-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ แต่ให้ผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (*P<0.01*) (ตารางที่ 9) นั่นแสดงว่า การใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับมูลไก่ 400 กิโลกรัมต่อไร่ เพียงพอต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ นครสวรรค์ 2 ที่ปลูกในชุดดินสมอทอด



ภาพที่ 2. การเปลี่ยนแปลงของระดับอินทรียวัตถุ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ในดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร หลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดแต่ละปี

ตารางที่ 9. ผลผลิตที่ระดับความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2 ที่ปลูกในชุดดินสมอทอด เฉลี่ยปีที่ 1 และ 2 และ เฉลี่ยปีที่ 3 และ 4

Treatments of the 1st and 2nd years	Yield (kg/rai)	Treatments of the 3rd and 4th years	Yield (kg/rai)
1. Control	812 b	1. Control	618 b
2 CF 15-5-5 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	1,056 a	2 CF20-10-10kgN-P_2O_5-K_2O/rai	986 a
3. CF 9-3-3 + OF 800 kg/rai	1,111 a	3. CF 6-3-3 + OF 400 kg/rai	957 a
4. CF 12-4-4 + OF 800 kg/rai	1,115 a	4. CF 10-5-5 + OF 400 kg/rai	965 a
5. CF 15-5-5 + OF 800 kg/rai	1,117 a	5. CF 16-8-8 + OF 400 kg/rai	957 a
6. CF 9-3-3 + OF 1,600 kg/rai	1,133 a	6. CF 6-3-3 + OF 800 kg/rai	969 a
7. CF 12-4-4 + OF 1,600 kg/rai	1,121 a	7. CF 10-5-5 + OF 800 kg/rai	906 a
8. CF 15-5-5 + OF 1,600 kg/rai	1,134 a	8. CF 16-8-8 + OF 800 kg/rai	930 a
F-test	*		**
CV(%)	14.0		11.61

หมายเหตุ : ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT * : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

7. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ผลการวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือ ค่า Value to Cost Ratio (VCR) พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ร่วมกับมูลไก่ 400 กิโลกรัมต่อไร่ ให้ค่า VCR สูงสุดถึง 3.4 (ตารางที่ 10) และหากพิจารณาประกอบกับข้อมูลการให้ผลผลิตของข้าวโพด และการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุอาหารในดิน ก็พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ร่วมกับมูลไก่ 400 กิโลกรัมต่อไร่ เป็นวิธีการที่ดีที่สุดทั้งในแง่ของผลตอบแทนทางเศรษฐกิจและการปรับปรุงดินเพื่อรักษาศักยภาพการผลิตพืชของดินได้อย่างยั่งยืน

ตารางที่ 10. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ วิเคราะห์ผลรวม 2 ปี (ปีที่ 3 และ 4)

Treatments	Yield (kg/rai)	Yield increase (%)	Gross return (Baht/rai)	Cost of fertilizer (Baht/rai)	Net return (Baht/rai)	Value/Cost ratio (VCR)
1. Control	618	-	-	-	-	-
2 CF20-10-10kgN-P_2O_5-K_2O/rai	969	56.8	2,282	1,509	772	1.5
3. CF 6-3-3 + OF 400 kg/rai	957	54.9	2,204	653	1,551	3.4
4. CF 10-5-5 + OF 400 kg/rai	965	56.1	2,256	954	1,301	2.4
5. CF 16-8-8 + OF 400 kg/rai	957	54.9	2,204	1,407	797	1.6
6. CF 6-3-3 + OF 800 kg/rai	969	56.8	2,282	853	1,429	2.7
7. CF 10-5-5 + OF 800 kg/rai	906	46.6	1,872	1,154	718	1.6
8. CF 16-8-8 + OF 800 kg/rai	930	50.5	2,028	1,607	421	1.3

หมายเหตุ : อ้างอิงจากราคาปุ๋ยเคมี ณ วันที่ 17 พฤษภาคม 2553 ดังนี้ 15-15-15 18.4 บาทต่อกิโลกรัม 46-0-0 13.0 บาทต่อกิโลกรัม และมูลไก่ผสมแกลบ 0.5 บาทต่อกิโลกรัม ราคาผลผลิต (ความชื้นไม่ต่ำกว่า 14 เปอร์เซ็นต์) 6.50 บาทต่อกิโลกรัม

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ปริมาณธาตุอาหารที่สูญหายออกไปจากพื้นที่โดยติดออกไปกับส่วนของผลผลิต (เมล็ดและซัง) เฉลี่ย 15.3-9.8-7.5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ต่อฤดูปลูก ส่วนปริมาณธาตุอาหารในส่วนของต้นและใบเทียบเท่ากับปุ๋ย 11.5-2.4-8.4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ต่อฤดูปลูก

2. การปลูกข้าวโพดในชุดดินสมอทอดโดยไม่ใส่ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยอินทรีย์เลย จะทำให้ปริมาณของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในพื้นที่มีค่าขาดดุลเทียบเท่าอัตราปุ๋ยเฉลี่ย 10.9-9.3-8.4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ หากใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ แต่ไม่ไถกลบเศษซากต้นและใบข้าวโพดกลับลงไปในพื้นที่ ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในพื้นที่มีค่าขาดดุลเฉลี่ย 5.0-8.1-6.7 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ แต่หากไถกลบเศษซากข้าวโพดกลับลงไปในพื้นที่ ปริมาณไนโตรเจนและโพแทสเซียมจะมีค่าเกินดุล 8.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ และ 6.3 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ แต่ฟอสฟอรัสยังมีค่าขาดดุล 3.9 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ ดังนั้นในกรณีที่ใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวควรใส่ในปริมาณที่ให้ธาตุอาหารอย่างน้อย 6.5-8.9-0 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ เพื่อให้ปริมาณธาตุอาหารที่ใส่ลงไปสมดุลกับปริมาณธาตุอาหารที่มีโอกาสสูญหาย

3. การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับการใส่มูลไก่ทำให้ธาตุอาหารในพื้นที่มีค่าเกินดุลหรือมีธาตุอาหารเหลือตกค้างในดินมากกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวอย่างเห็นได้ชัด และการใช้ปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับมูลไก่ 400 กิโลกรัมต่อไร่ และไถกลบเศษซากพืช เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งนอกจากไม่

ทำให้ธาตุอาหารในพื้นที่ขาดดุลและช่วยปรับปรุงบำรุงดินแล้ว ยังให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจสูงสุด อย่างไรก็ตาม การจัดการธาตุอาหารโดยวิธีการดังกล่าวยังมีปริมาณธาตุอาหารเหลืออยู่ในพื้นที่มีค่าเกินดุลอยู่ในปริมาณสูง ดังนั้น อาจสามารถปรับลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีหรือมูลไก่ลงได้อีกบางส่วนตามความเหมาะสม

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สามารถนำไปใช้ในการให้คำแนะนำการจัดการเศษซากพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพด และการพัฒนาคำแนะนำการใช้ปุ๋ยต่อไป และสามารถนำไปปรับใช้กับชุดดินอื่นหรือในพื้นที่อื่นในระดับไร่-นาซึ่งจะเป็นประโยชน์กับนักวิชาการเกษตรที่นำไปใช้ในการพัฒนางานวิจัยด้านดินและปุ๋ยได้อย่างถูกหลักวิชาการ และสามารถให้คำแนะนำการจัดการดินและการใช้ปุ๋ยอย่างถูกต้องกับเกษตรกรได้

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ ไพโรจน์ พันธุ์พฤกษ์ สรัตนา เสนาะ และ นารูโอ มัสซูโมโต. 2552. การจัดการสมดุลธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เพื่อการผลิตมันสำปะหลังอย่างยั่งยืน. วารสารดินและปุ๋ย ปีที่ 31 เล่มที่ 2 หน้า 94-106

Freney J.R., M.B. Peoples, and A.R. Mosier. 1998. Efficient Use of Fertilizer Nitrogen by Crops. Food & Fertilizer Technology Transfer Center. http://www.agnet.org/library/eb/414/

Johnson, J. M. F., W. W. Wilhelm, D. L . Karlen, D. W. Archer, B. Wienhold, D. T. Lightle, D. Laird, J. Baker, T. E. Ochsner, J. M. Novak, A. D. Halvorson, F. Arriaga, N. Barbour. 2010. Nutrient removal as a function of corn stover cutting height and cob harvest. Bioenergy Res. 3: 342-352.

DU PREEZ C.C. and R. DU T. BURGER Ammonia losses from ammonium-containing and – forming fertilizers after surface application at different rates on alkaline soils Fertilizer Research 15:71-78 (1988)

ศึกษาประสิทธิภาพของกากตะกอนบ่อเกรอะในการปรับปรุงดินชุดดินปากช่องภายใต้การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี *เข็มพร เพชราภรณ์* *สมฤทัย ตันเจริญ* *อนันต์ ทองภู*
กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

กากตะกอนบ่อเกรอะเป็นแหล่งของวัสดุอินทรีย์ที่สำคัญแต่มีข้อจำกัดในการนำมาใช้ประโยชน์โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปนเปื้อนของเชื้อโรค การผลิตปุ๋ยอินทรีย์โดยการอบความร้อนเป็นอีกเทคโนโลยีหนึ่งที่เหมาะสมต่อการผลิตปุ๋ยอินทรีย์จากกากตะกอนบ่อเกรอะ ทำให้ได้ปุ๋ยอินทรีย์ที่ปราศจากเชื้อโรคและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ อย่างไรก็ตามปุ๋ยอินทรีย์ที่ผลิตโดยวิธีดังกล่าวอาจมีประสิทธิภาพแตกต่างกันไปตามคุณสมบัติของวัตถุดิบและวิธีการผลิต ดังนั้นจึงนำกากตะกอนบ่อเกรอะที่อบความร้อนที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส มาทดสอบประสิทธิภาพในการปรับปรุงดิน โดยวางแผนการทดลองแบบ 3x4 factorials in RCB มี 12 กรรมวิธี 4 ซ้ำ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกากตะกอนบ่อเกรอะที่ผ่านการอบความร้อนกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ กรรมวิธีที่ใส่กากตะกอนน้ำเสียที่ผ่านการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในระบบ activated sludge และกรรมวิธีที่ใส่มูลไก่อัดเม็ด โดยใส่ในอัตราที่ให้ไนโตรเจน 20 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมี 0-8-4 8-8-4 และ 16-8-4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ทำการทดลองในชุดดินปากช่องและปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2

ผลการทดลองพบว่า การใส่กากตะกอนบ่อเกรอะที่อบความร้อนทำให้ดินมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เพิ่มขึ้นโดยมีความเข้มข้นเฉลี่ย 17-25 มิลลิกรัม P ต่อดิน 1 กิโลกรัม 128-174 มิลลิกรัม K ต่อดิน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ แต่ต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใส่มูลไก่อัดเม็ดซึ่งพบว่าดินมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 47-60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 215-259 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในขณะที่การใส่กากตะกอน activated sludge ทำให้ดินมีทองแดงและสังกะสีเพิ่มขึ้นสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.01) ส่วนปริมาณอินทรียวัตถุในดินในกรรมวิธีต่างๆ ไม่แตกต่างกัน การใส่ปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ร่วมกับปุ๋ยเคมี 0-8-4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้ผลผลิตข้าวโพด 1,076 – 1,159 กิโลกรัม ต่อไร่ สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ซึ่งให้ผลผลิต 952 กิโลกรัมต่อไร่ แต่เมื่อใส่ปุ๋ยเคมี 8-8-4 และ 16-8-4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ พบว่าทุกกรรมวิธีทั้งไม่ใส่และใส่ปุ๋ยอินทรีย์ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน โดยให้ผลผลิตอยู่ในช่วง 1,068 – 1,157 กิโลกรัม/ไร่ ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากากตะกอนจากบ่อเกรอะที่อบความร้อนจนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส สามารถใช้ในการปรับปรุงดินและการผลิตพืชได้ โดยมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากกากตะกอน activated sludge แต่ด้อยกว่ามูลไก่อัดเม็ด

บทนำ

กากตะกอนจากบ่อเกรอะเป็นแหล่งของวัสดุอินทรีย์ที่สำคัญและมีศักยภาพในการนำมาใช้ในการปรับปรุงดินหรือเป็นแหล่งของธาตุอาหารพืช Gurung (1997) รายงานว่าในอุจจาระมนุษย์มีพีเอช 5.2-5.6 มีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม 4 1.53 และ 1.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การใช้กากตะกอนจากบ่อเกรอะหรืออุจจาระของมนุษย์มีข้อจำกัดเกี่ยวกับการปนเปื้อนจากเชื้อโรคและมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ ดังนั้นจึงได้มีการคิดค้นวิธีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์จากกากตะกอนบ่อเกรอะโดยการอบความร้อน โรงบำบัดน้ำเสียแห่งเมือง Milwaukee รัฐ Wisconsin ใช้วิธีการอบความร้อนกับกากตะกอนน้ำเสียในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1920 และเทคโนโลยีดังกล่าวได้รับความนิยมมากขึ้นในปี 1980 เป็นต้นมา (US EPA., 1979) นอกจากนี้ United State Environmental Protection Agency (USEPA) ยังได้กำหนดให้ใช้วิธีการอบความร้อนในการผลิต Biosolids จากกากตะกอนน้ำเสียอีกด้วย มีผู้ทำการศึกษาการลดปริมาณเชื้อโรคในมูลของสัตว์ปีกโดยใช้วิธีอบแห้ง พบว่า การอบแห้งที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรีย coliform ทุกชนิด และการอบแห้งที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อโรคในมูลสัตว์ปีก (Bellows and Baker, 2005) แต่การใช้วิธี Autoclave ที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ถึง 120 นาที ไม่เพียงพอในการลดปริมาณของเชื้อโรค (Bellows and Baker, 2005) ในขณะที่ Moce-Llivina et al (2003) พบว่า การอบความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 – 60 นาที ได้รับการยอมรับในการผลิต Class A biosolids ส่วน Turner (2002) พบว่า ต้องใช้อุณหภูมิสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในการยับยั้งเชื้อ *E. Coli* และ Jiang (2003) พบว่า ปุ๋ยหมักที่ผ่านการอบนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclaved compost) มีเชื้อ *E. Coli* ลดลงเหลือ 10^4 CFU/g เมื่อใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง หรือ 55 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 65 องศาเซลเซียส 2 นาที หรือ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาน้อยกว่า 1 นาที นอกจากนี้ The European Commission ได้แนะนำให้อบความร้อนกากตะกอนน้ำเสียเพื่อกำจัดความชื้นให้เหลือน้อยกว่า 10% พร้อมทั้งกำจัดเชื้อโรค โดยการอบความร้อนกากตะกอนน้ำเสียในระบบ Moist heat ที่อุณหภูมิอย่างน้อย 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หรือใช้อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส 20 นาที หรือ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง (Carrington, 2001) สำหรับในการศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของกากตะกอนบ่อเกรอะที่ผ่านการอบความร้อนแบบ Indirect-heating เปรียบเทียบกับวัสดุอินทรีย์ชนิดอื่น ในการปรับปรุงดินชุดดินปากช่องภายใต้การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

ดำเนินการทดลองในชุดดินปากช่อง (Very fine, kaolinitic, isohyperthermic Rhodic Kandiustox) ใช้แผนการทดลองแบบ 3x4 factorials in RCB มี 4 ซ้ำ ๆ ละ 12 กรรมวิธี ดังตารางที่ 1 เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ทำการทดลองที่ระดับความลึก 0 -15 เซนติเมตร นำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดินก่อนทำการ และสุ่มเก็บตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ นำมาวิเคราะห์ความชื้น และปริมาณธาตุอาหาร

ไถดะเตรียมดินพื้นที่ 36 x 44 เมตร และแบ่งแปลงย่อยให้มีขนาด 4.5 × 5.0 เมตร ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ก่อนปลูกข้าวโพด 1 สัปดาห์ ตามอัตราที่กำหนดและพรวนกลบลงไปในดิน โดยใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชครั้งเดียว คือใส่พร้อมปลูก ส่วนปุ๋ยไนโตรเจนแบ่งใส่ 2 ครั้ง ๆ ละครึ่งอัตราที่กำหนด โดยครั้งที่ 1 ใส่พร้อมปลูก และ ครั้งที่ 2 หลังปลูก 1 เดือน ปลูกข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 โดยใช้ระยะระหว่างแถว 0.75 เมตร และระยะระหว่างต้น 0.25 เมตร (ได้ 6 แถว ๆ ละ 20 ต้น) ถอนแยกข้าวโพดให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม และ เก็บเกี่ยวข้าวโพดที่อายุ 110-120 วัน ในพื้นที่เก็บเกี่ยว 3 × 3 เมตร (เก็บเกี่ยวจากแถวกลาง 4 แถว เว้นแถวริม ข้างละ 1 แถว และเว้นระยะจากหัวแปลงและท้ายแปลง ด้านละ 1 เมตร) เก็บเกี่ยวผลผลิต พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างดินและพืชมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 1. กรรมวิธีการทดลอง พร้อมอักษรย่อของแต่ละกรรมวิธี

Treatments	Treatment abbreviation
1. CF 0-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	0-8-4 No OF
2. CF 0-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Heated sludge	0-8-4 + HS
3. CF 0-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Activated sludge	0-8-4 + AS
4. CF 0-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Chicken manure	0-8-4 + CM
5. CF 8-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	8-8-4 No OF
6. CF 8-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Heated sludge	8-8-4 + HS
7. CF 8-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Activated sludge	8-8-4 + AS
8. CF 8-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Chicken manure	8-8-4 + CM
9. CF 16-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	16-8-4 No OF
10. CF 16-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Heated sludge	16-8-4 + HS
11. CF 16-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Activated sludge	16-8-4 + AS
12. CF 16-8-4 kg N-P_2O_5-K_2O/rai + Chicken manure	16-8-4 + CM

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2548 – กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

1) แปลงทดลองในไร่เกษตรกร ตำบลโป่งตาลอง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
2) ห้องปฏิบัติการวิจัยเคมีดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. คุณสมบัติของดินก่อนทำการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ดิน เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 12 ตัวอย่าง (12 แปลงย่อย) พบว่า ดินเป็นกรดจัดมีพีเอช 5.0 มีอินทรียวัตถุปานกลาง 2.5 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับปานกลาง 13 มิลลิกรัม P ต่อดิน 1 กิโลกรัม ส่วนโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในระดับสูงมาก 208 มิลลิกรัม K ต่อดิน 1 กิโลกรัม และมีทองแดง สังกะสี ที่สามารถสกัดได้ 2.4 และ 1.1 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2. คุณสมบัติของดินก่อนทำการทดลอง (ที่ระดับความลึก 0 – 15 เซนติเมตร)

Parameters	Rep 1[1/]	Rep 2[1/]	Rep 3[1/]	Rep 4[1/]	Average
pH	4.8	4.9	5.2	5.1	5.0
Organic matter (%)	2.3	2.5	2.7	2.6	2.5
Available P (mg P/kg soil)	12	16	15	11	13
Exchangeable K (mg K/kg soil)	166	207	244	214	208
Extractable Cu (mg Cu/kg soil)	2.3	2.2	2.4	2.6	2.4
Extractable Zn (mg Cu/kg soil)	1.0	1.0	1.2	1.3	1.1

หมายเหตุ [1/] เป็นค่าเฉลี่ยจาก 12 ตัวอย่าง (12 แปลงย่อย)

2. ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยอินทรีย์

กากตะกอนบ่อเกรอะที่ผ่านการอบความร้อนที่ระดับอุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส ตามวิธีของ Kurita Co. Ltd, Japan มีความชื้นน้อยมากเพียง 0.6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ง่ายต่อการขนส่งและการหว่านในแปลง ในขณะที่กากตะกอนจากโรงบำบัดน้ำเสียหนองแขมที่ผ่านการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ในระบบ activated sludge หลังจากนำมาตากแห้งทิ้งไว้สักระยะยังคงมีความชื้นสูงถึง 47.1 เปอร์เซ็นต์ อาจทำให้ไม่สะดวกในการขนย้ายหรือการนำไปใช้ประโยชน์ ส่วนมูลไก่อัดเม็ดมีความชื้น 22.1 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) พีเอชของปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด มีค่าอยู่ระหว่าง 6.3 – 7.2 ซึ่งจัดอยู่ในระดับที่เหมาะสม ค่าการนำไฟฟ้าของกากตะกอนบ่อเกรอะเท่ากับ 1.8 เดซิซีเมนต่อเมตร ส่วนกากตะกอน activated sludge มีค่าการนำไฟฟ้า 3.8 เดซิซีเมนต่อเมตร ในขณะที่มูลไก่อัดเม็ดมีค่าการนำไฟฟ้าค่อนข้างสูง 5.5 เดซิซีเมนต่อเมตร (ตารางที่ 3) สัดส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนของปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด มีค่าอยู่ระหว่าง 5.2 – 9.9 จัดว่าเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ กากตะกอนบ่อเกรอะและกากตะกอนน้ำเสียจากระบบ activated sludge มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูง แต่มีโพแทสเซียมต่ำ ส่วนมูลไก่อัดเม็ดมีธาตุอาหารสูงทั้ง 3 ธาตุ โดยมีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมทั้งหมด 3.1 8.0 และ 2.7 เปอร์เซ็นต์ N, P_2O_5, K_2O ตามลำดับ (ตารางที่ 3) กากตะกอนบ่อเกรอะและกากตะกอนน้ำเสียจากระบบ activated sludge มีสังกะสีทั้งหมดอยู่ในปริมาณสูงถึง 1,330 และ 1,563 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และมีเพียงกากตะกอนน้ำเสียจากระบบ activated sludge เท่านั้นที่มีทองแดงทั้งหมดอยู่ในปริมาณสูง (2,187 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (ตารางที่ 3) สอดคล้องกับ

รายงานของ Parkpian *et al.* (2000) ซึ่งพบว่า กากตะกอนน้ำเสียจากโรงบำบัดน้ำเสียสี่พระยามีทองแดงและสังกะสีทั้งหมดอยู่ในปริมาณสูง 801 และ 1,326 มิลลิกรัม Cu, Zn ต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และ Parkpian *et al* (2001) พบว่า กากตะกอนน้ำเสียจากโรงบำบัดน้ำเสียห้วยขวางมีทองแดงและสังกะสีทั้งหมด 300 และ 2,462 มิลลิกรัม Cu, Zn ต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

ดังนั้น เมื่อใส่ปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดในอัตราที่ให้ไนโตรเจน 20 กิโลกรัม N ต่อไร่ เท่ากัน ทำให้กรรมวิธีที่ใส่กากตะกอนบ่อเกรอะอบความร้อนให้ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม 25 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 1.9 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีที่ใส่กากตะกอน activated sludge ให้ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม 49.6 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 5.2 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใส่มูลไก่อัดเม็ดให้ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมสูงถึง 51.6 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 17.4 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ใส่กากตะกอน activated sludge ให้ทองแดงและสังกะสี 1.62 กิโลกรัม Cu ต่อไร่ และ 1.16 กิโลกรัม Zn ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3. คุณสมบัติและระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารในปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

Parameters	Heated sludge	Activated sludge	Chicken manure
Moisture (% Dry weight basis)	0.6	47.1	22.1
pH	6.3	6.5	7.2
EC (dS/m)	1.8	3.8	5.5
Organic carbon (%C)	26.8	17.4	30.6
Total N (%N)	5.2	2.7	3.1
C/N ratio	5.2	6.4	9.9
Total P (%P_2O_5)	6.5	6.7	8.0
Total K (%K_2O)	0.5	0.7	2.7
Total Cu (mg/kg)	316	2,187	195
Total Zn (mg/kg)	1,330	1,563	306

ตารางที่ 4. ปริมาณธาตุอาหารที่ได้จากการใส่กากตะกอนบ่อเกรอะ กากตะกอน activated sludge และมูลไก่อัดเม็ด

Materials	Application rate		N	P	K	Cu	Zn
	kg fresh weight	kg dry weight	kg N/rai	kg P_2O_5/rai	kg K_2O/rai	kg Cu/rai	kg Zn/rai
Heated sludge	387	385	20	25.0	1.9	0.12	0.51
Activated sludge	1,090	741	20	49.6	5.2	1.62	1.16
Chicken manure	788	645	20	51.6	17.4	0.13	0.20

3. ผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ต่อปริมาณธาตุอาหารในดิน

การใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-8-4 8-8-8 และ 16-8-4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ พบว่าไม่ทำให้ดินมีคุณสมบัติแตกต่างกัน (ตารางที่ 5) แต่การใส่ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดต่างๆ ทำให้ดินมีพีเอช ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ทองแดงและสังกะสีที่สามารถสกัดได้ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) แต่ระดับอินทรียวัตถุไม่แตกต่างกัน

การใส่กากตะกอนบ่อเกรอะร่วมกับปุ๋ยเคมีทั้ง 3 อัตรา มีแนวโน้มว่าทำให้ดินมีอินทรียวัตถุและฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ การใส่กากตะกอน activated sludge ทำให้ดินมีการสะสมทองแดงและสังกะสีอย่างเด่นชัด โดยพบว่าดินมีทองแดงเฉลี่ย 6.3 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และมีสังกะสีเฉลี่ย 2.8 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม (ตารางที่ 6) ในขณะที่การใส่มูลไก่อัดเม็ดทำให้ดินมีพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด โดยมีพีเอชเฉลี่ย 5.6 ทั้งนี้เนื่องจากมูลไก่อัดเม็ดมีพีเอชสูงถึง 7.2 ในขณะที่กากตะกอนบ่อเกรอะ และกากตะกอน activated sludge มีพีเอช 6.3 และ 6.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีที่ใส่มูลไก่อัดเม็ดมีการสะสมของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในดินสูง โดยมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เฉลี่ย 54 กิโลกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และ 237 กิโลกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5. ผลของปุ๋ยเคมีต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดินที่ระดับความลึก 0-15 ซม. หลังเก็บเกี่ยวข้าวโพด

Chemical fertilizer application (CF)	pH	OM (%)	Avail.P (mg/kg)	Exch.K (mg/kg)	Extr.Cu (mg/kg)	Extr.Zn (mg/kg)
0-8-4	5.4	2.48	28	167	3.4	2.0
8-8-4	5.4	2.53	26	162	3.4	1.9
16-8-4	5.3	2.53	27	176	3.4	1.9
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	4.8	7.0	93.9	31.2	48.5	45.9

หมายเหตุ ns :ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6. ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดินที่ระดับความลึก 0-15 ซม. หลังเก็บเกี่ยวข้าวโพด

Organic fertilizer application (OF)	pH	OM (%)	Avail.P (mg/kg)	Exch.K (mg/kg)	Extr.Cu (mg/kg)	Extr.Zn (mg/kg)
No OF	5.3 b	2.48	15 b	155 b	2.5 b	1.2 c
HS	5.2 b	2.56	21 b	152 b	2.5 b	1.6 c
AS	5.3 b	2.51	17 b	129 c	6.3 a	2.8 a
CM	5.6 a	2.52	54 a	237 a	2.3 b	2.1 b
F-test	*	ns	**	**	**	**
CV (%)	4.8	7.0	93.9	31.2	48.5	45.9

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ns :ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ *, **: แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 7. ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ต่อคุณสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดินที่ระดับความลึก 0-15 ซม. หลังเก็บเกี่ยวข้าวโพด

Treatments (CF x OF)	pH	OM (%)	Avail.P (mg/kg)	Exch.K (mg/kg)	Extr.Cu (mg/kg)	Extr.Zn (mg/kg)
0-8-4	5.3	2.45 bc	23	159	2.1 d	1.2
0-8-4 + HS	5.3	2.59 ab	25	155	2.7 cd	1.7
0-8-4 + AS	5.4	2.52 abc	16	137	6.5 ab	2.9
0-8-4 + CM	5.5	2.38 c	47	215	2.2 d	2.0
8-8-4	5.4	2.45 bc	10	139	3.5 c	1.5
8-8-4 + HS	5.2	2.52 abc	21	128	2.3 cd	1.4
8-8-4 + AS	5.3	2.55 ab	16	123	5.5 b	2.6
8-8-4 + CM	5.8	2.64 a	55	259	2.4 cd	2.2
16-8-4	5.3	2.55 ab	13	166	2.0 d	0.8
16-8-4 + HS	5.2	2.58 ab	17	174	2.6 cd	1.6
16-8-4 + AS	5.2	2.45 bc	20	128	6.9 a	3.0
16-8-4 + CM	5.4	2.55 ab	60	237	2.2 d	2.0
F-test	ns	*	ns	ns	*	ns
CV %	4.8	7.0	93.9	31.2	48.5	45.9

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ * : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4. การให้ผลผลิตของข้าวโพด

การใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-8-4 8-8-8 และ 16-8-4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ พบว่าข้าวโพดให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,079 1,101 และ 1,123 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลผลิตของข้าวโพดเพิ่มขึ้นตามอัตราของปุ๋ยเคมี อย่างไรก็ตามผลจากการใส่ปุ๋ยเคมีทั้ง 3 ระดับต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8) เช่นเดียวกับผลของการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดต่างๆ ซึ่งพบว่าข้าวโพดให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่ากรรมวิธีที่ใส่มูลไก่อัดเม็ดให้ผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีที่ใส่กากตะกอนบ่อเกรอะอบความร้อน กากตะกอน activated sludge และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์มีผลต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยพบว่า การใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-8-4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ทำให้ข้าวโพดให้ผลผลิต 1,076 – 1,159 กิโลกรัมต่อไร่ สูงกว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวในอัตรา 0-8-4 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ซึ่งให้ผลผลิต 952 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 10) แสดงว่า การใส่ปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดในอัตราที่ให้ไนโตรเจน 20 กิโลกรัม N ต่อไร่ สามารถปลดปล่อยไนโตรเจนให้พืชนำไปใช้

ได้อย่างเพียงพอต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในชุดดินปากช่อง ซึ่งสามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนได้ 100 เปอร์เซ็นต์

เมื่อใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 8-8-4 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดพบว่า ข้าวโพดให้ผลผลิต 1,068 – 1,157 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างกันกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวในอัตรา 8-8-4 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ซึ่งให้ผลผลิต 1,110 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 10) อาจเป็นเพราะการใช้ปุ๋ยเคมีในอัตรา 8-8-4 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ เพียงอย่างเดียวนั้นอยู่ในระดับที่เพียงพอแก่ความต้องการของพืชแล้ว ดังนั้นเพิ่มเติมปริมาณธาตุอาหารโดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์จึงไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตของข้าวโพด

นอกจากนี้ พบว่า การใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวในอัตรา 16-8-4 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ มีแนวโน้มให้ผลผลิตสูงกว่าการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราดังกล่าวร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด อาจเป็นเพราะการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 16-8-4 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ที่ให้ไนโตรเจนสูงถึง 20 กิโลกรัม N ต่อไร่ นั้นอาจสูงเกินกว่าความต้องการของพืช จึงทำให้ข้าวโพดมีแนวโน้มให้ผลผลิตลดลง (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 8. ผลของปุ๋ยเคมีต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2 ที่ปลูกในชุดดินปากช่อง ตำบลโป่งตาลอง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

Chemical fertilizers application (CF)	Yield (kg/rai)
0-8-4	1,079
8-8-4	1,101
16-8-4	1,123
F-test	ns
CV (%)	10.68

หมายเหตุ ns :ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 9. ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2 ที่ปลูกในชุดดินปากช่อง ตำบลโป่งตาลอง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

Organic fertilizers application (OF)	Yield (kg/rai)
No OF	1,082
HS	1,104
AS	1,082
CM	1,136
F-test	ns
CV (%)	10.68

หมายเหตุ ns :ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 10. ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2 ที่ปลูกในชุดดินปากช่อง ตำบลโป่งตาลอง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

Treatments (CF x OF)	Yield (kg/rai)
0-8-4	952 c
0-8-4 + HS	1,128 ab
0-8-4 + AS	1,076 b
0-8-4 + CM	1,159 ab
8-8-4	1,110 ab
8-8-4 + HS	1,069 b
8-8-4 + AS	1,068 b
8-8-4 + CM	1,157 ab
16-8-4	1,184 a
16-8-4 + HS	1,117 ab
16-8-4 + AS	1,101 ab
16-8-4 + CM	1,1091 ab
F-test	**
CV %	10.7

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ** : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

5. ปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพด

ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในส่วนต่างๆ ของข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 ที่ปลูกในชุดดินปากช่อง เป็นดังนี้ คือ ส่วนของต้นและใบมีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม 0.94 0.06 และ 1.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เมล็ดมีธาตุดังกล่าว 1.90 0.60 และ 0.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 11) โดยส่วนของต้นและใบนั้นให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 1,302 กิโลกรัม ดังนั้นจะมีปริมาณธาตุอาหารที่อยู่ในส่วนของต้นและใบเทียบเท่าเนื้อปุ๋ย 12.2 - 1.8 - 24.8 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ในขณะที่เมล็ดมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 1,007 กิโลกรัมต่อไร่ คำนวณปริมาณธาตุอาหารในส่วนของเมล็ดได้เทียบเท่าเนื้อปุ๋ย 19.1 – 13.8 – 8.7 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ดังนั้นหากต้องการรักษาศักยภาพของดินสำหรับการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ควรใส่ปุ๋ยให้ได้เนื้อธาตุอย่างน้อยเท่ากับส่วนที่สูญหายออกไปจากพื้นที่หรือในส่วนของผลผลิต

ตารางที่ 11. ปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในส่วนต่างๆ ของข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 ที่ปลูกในชุดดินปากช่อง

Plant parts	Dry matter (kg/rai)	Nutrient concentration (%)			Amount of nutrient (kg/rai)		
		N	P	K	N	P_2O_5	K_2O
Stover	1,302	0.94	0.06	1.59	12.2	1.8	24.8
Grain	1,007	1.90	0.60	0.72	19.1	13.8	8.7
Total	2,309				31.3	15.6	33.5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. กากตะกอนบ่อเกรอะที่ผ่านกรรมวิธีอบความร้อนมีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ โดยมีความชื้นต่ำ สามารถขนย้ายได้ง่าย มีลักษณะทางเคมีที่เหมาะสม และมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูง แต่มีโพแทสเซียมค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการนำกากตะกอนบ่อเกรอะมาใช้ประโยชน์อาจลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนและฟอสเฟตได้ แต่ต้องใส่ปุ๋ยโพแทชเพิ่มเติมให้เพียงพอแก่ความต้องการของพืช

2. กากตะกอนน้ำเสียที่ได้จากกระบวนการ activated sludge มีความชื้นสูงมาก ดังนั้นก่อนนำมาใช้ประโยชน์ควรรีดน้ำหรือปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งเสียก่อน ส่วนปริมาณธาตุอาหารในกากตะกอน activated sludge นั้นมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูง แต่มีโพแทสเซียมต่ำเช่นเดียวกับกากตะกอนบ่อเกรอะ การใช้กากตะกอนน้ำเสียเป็นปุ๋ยอินทรีย์สามารถลดการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยฟอสเฟตได้ แต่ทำให้มีทองแดงและสังกะสีตกค้างสะสมในดินสูง

3. มูลไก่อัดเม็ดมีธาตุอาหารสูงทั้งไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ดังนั้นการใช้มูลไก่อัดเม็ดในการผลิตพืชสามารถลดการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสเฟต และโพแทชได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยนี้สามารถนำไปถ่ายทอดเพื่อเป็นแนวทางให้กับสำนักงานกรุงเทพมหานครเพื่อนำไปใช้ในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์จากกากตะกอนบ่อเกรอะ หรือถ่ายทอดให้กับเอกชนหรือชุมชนสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์จากกากตะกอนบ่อเกรอะหรือวัสดุอินทรีย์ชนิดอื่นที่มีความชื้นสูง

เอกสารอ้างอิง

Bellows, B. and Baker, B. 2005. Dehydrated manure in organic farming. Organic Materials Review Institute. 16 P.

Gurung, J.B. 1997. Review of Literature on Effects of Slurry Use on Crop Production. Nepal. 96 p.

Jiang, X.P., J. Morgan, and M.P. Doyle. 2003. Thermal Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in cow manure compost. Journal of Food Protection. 66: 1771 – 1777.

Moce-Llivina, L., M. Munisa, H. Pimenta-Vale, F. Lucena, and J. Jofre. 2003. Survival of bacterial indicator species and bacteriophages after thermal treatment of sludge and sewage. Applied and Environmental Microbiology. 69: 1452 – 1456.

Parkpian, P., S. Sreesai, D. Delaune. 2000. Bioavailability of heavy metals in sewage sludge-amended Thai soils. Water, Air, and Soil Pollution. 122: 163-182.

Parkpian, P., S.T. Leong, P. Laortanakul, J. Juntaramitree. 2001. An environmentally sound method for disposal of both ash and sludge wastes by mixing with soil: a case study of Bangkok plain. Environmental Monitoring and Assessment 00: 1-17

Petrick, M. 1954. Utilization of night-soil, sewage, and sewage sludge in agriculture. Bull. Wld Hlth Org., 10: 207-228.

Turner, C. 2002. The thermal inactivation of *E. coli* in straw and pig manure. Bioresource Technology. 84: 57 – 61.

US EPA. 1979. Process Design Manual for Sludge Treatment and Disposal. U.S. Environmental Protection Agency. Washington DC.

ศึกษาการสลายตัวและพฤติกรรมการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยผสมอินทรีย์เคมี ภายใต้สภาพความชื้นสนาม: การทดลองย่อย ศึกษาการสลายตัวและพฤติกรรมการปลดปล่อยธาตุอาหารของปุ๋ยหมัก

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี สมฤทัย ตันเจริญ ภาวนา ลิกขนานนท์ สุปรานี มั่นหมาย

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ปุ๋ยอินทรีย์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติ ปริมาณธาตุอาหาร และการปลดปล่อยธาตุอาหารแตกต่างกัน ในขณะที่ผู้ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการปลดปล่อยธาตุอาหารของปุ๋ยอินทรีย์ ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับนำมาถ่ายทอดให้ความเข้าใจแก่ผู้ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ จึงทำการศึกษาการปลดปล่อยไนโตรเจนของปุ๋ยหมักและปุ๋ยคอกชนิดต่างๆ ในชุดดินยโสธรและชุดดินปากช่องภายใต้ความสภาพความชื้นสนาม โดยทำการบ่มมูลสุกร มูลโค มูลไก่ ปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอน ในชุดดินยโสธร และชุดดินปากช่อง ปรับความชื้นของดินให้อยู่ที่ 60%ของความสามารถในการอุ้มน้ำของดิน และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เก็บตัวอย่างที่ระยะการบ่มต่างๆมาวิเคราะห์แอมโมเนียมไนเตรท และดักจับคาร์บอนไดออกไซด์

ผลการทดลองพบว่ามูลสุกร มูลโค และมูลไก่ เมื่อบ่มในชุดดินยโสธร สามารถปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนประมาณ 15-20 กรัม N ต่อ 100 กรัมของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบ โดยอัตราการปลดปล่อยจะเกิดขึ้นสูงใน 2 สัปดาห์แรก ประมาณ 3 - 12 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมด และหลังจากสัปดาห์ที่ 2 อัตราการปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนจะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย ส่วนการบ่มปุ๋ยหมักกากตะกอน ปุ๋ยหมักมูลสุกร และปุ๋ยหมักมูลโค ในชุดดินปากช่อง พบว่า ปุ๋ยหมักกากตะกอนปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนประมาณ 35 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบ ในขณะที่ปุ๋ยหมักมูลสุกรและ ปุ๋ยหมักมูลโค ปลดปล่อยอนินทรีย์ 20 และ 5 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดตามลำดับ โดยอัตราการปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนของปุ๋ยหมักกากตะกอน ปุ๋ยหมักมูลสุกร และปุ๋ยหมักมูลโค เกิดขึ้นสูงสุดในวันแรกของการบ่ม ประมาณ 5-10 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดต่อวัน แล้วลดลงเหลือต่ำกว่า 1 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดต่อวัน ภายใน 7-14 วันหลังการบ่ม

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าภายใน 2 สัปดาห์แรกปุ๋ยอินทรีย์ชนิดต่างๆปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนได้ประมาณ 15-35 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบซึ่งแตกต่างจากปุ๋ยเคมีที่สามารถละลายน้ำและให้ธาตุอาหารในรูปที่เป็นประโยชน์ให้พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร โทร.0-2579-7513

บทนำ

ปุ๋ยอินทรีย์โดยทั่วไปมีปริมาณธาตุอาหารต่าง ๆ ค่อนข้างครบทุกธาตุ กล่าวคือ มีทั้งส่วนที่เป็นธาตุอาหารหลัก (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม) ธาตุอาหารรอง (แคลเซียม แมกนีเซียม) และธาตุอาหารเสริม (เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี) แต่จะมีธาตุอาหารหลักอยู่ในปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมี นอกจากนี้ ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยอินทรีย์ไม่สามารถบอกได้เป็นค่าตายตัว แม้จะเป็นปุ๋ยอินทรีย์ซึ่งได้มากจากวัตถุดิบชนิดเดียวกัน แต่ก็อาจมีปริมาณธาตุอาหารแตกต่างกันได้ เช่น มูลไก่ อาจมีไนโตรเจนตั้งแต่ 1.2% ถึง 4.9% หรือมีฟอสฟอรัส (P_2O_5) ตั้งแต่ 1.2% ถึง 9.1% ปุ๋ยอินทรีย์หลังจากใส่ลงไปในดินเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม เช่น มีความชื้นพอเหมาะ ธาตุอาหารส่วนที่ละลายน้ำได้ในปุ๋ยอินทรีย์จะถูกปลดปล่อยออกมาให้พืชและจุลินทรีย์นำไปใช้ได้ ในขณะที่อินทรีย์สารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์อย่างรวดเร็ว ส่วนสารประกอบอินทรีย์ที่มีโมเลกุลค่อนข้างซับซ้อนก็จะถูกย่อยสลายอย่างช้า ๆ

การสลายตัวของวัสดุอินทรีย์เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของปุ๋ย/วัสดุอินทรีย์ ได้แก่พวก heterotroph คือพวกที่ต้องได้รับแหล่งพลังงานและคาร์บอนจากอินทรียสาร และในระหว่างการสลายตัวจะมีคาร์บอนส่วนหนึ่งถูกปลดปล่อยออกมาในรูปของก๊าซ CO_2 คาร์บอนบางส่วนจะถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ในการสร้างเซลล์ และที่เหลือก็เป็นส่วนหนึ่งของอินทรียวัตถุในดิน (Stevenson, 1986) ในสภาพที่ดินมีการถ่ายเทอากาศดี พบว่า ประมาณ 20% ถึง 40% ของคาร์บอนจากปุ๋ย/วัสดุอินทรีย์จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนของเซลล์จุลินทรีย์ ส่วนที่เหลือจะเปลี่ยนเป็น CO_2 และสารประกอบอื่น

การสลายตัวและการปลดปล่อยธาตุอาหารของปุ๋ยอินทรีย์หรือวัสดุอินทรีย์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น คุณสมบัติของวัสดุอินทรีย์ และสภาพแวดล้อม ปุ๋ยอินทรีย์หรือวัสดุอินทรีย์แต่ละชนิดมีส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน โดยประกอบไปด้วยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์หลากหลายชนิด สารประกอบที่มีมากที่สุดในวัสดุอินทรีย์จากพืช ได้แก่ เซลลูโลส ประมาณ 15% ถึง 60% รองลงมาเป็นเฮมิเซลลูโลส 10% ถึง 30% ลิกนิน 5% ถึง 30% อินทรียสารที่ละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน และพวก aliphatic acid รวมกัน 5% ถึง 30% นอกจากนี้จะเป็นสารประกอบจำพวก fat, oil, wax, protein, และแร่ธาตุต่าง ๆ (minerals) ประมาณ 1% ถึง 13% (สมศักดิ์, 2528) น้ำตาล กรดอะมิโน และกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ที่ละลายน้ำได้มักเป็นส่วนที่จุลินทรีย์นำไปใช้ได้เลย สำหรับแป้งหรือโปรตีนต้องถูกย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลหรือกรดอะมิโนก่อน จากนั้นจุลินทรีย์จึงสามารถนำไปใช้ได้ แต่แป้งและโปรตีนก็จัดเป็นสารประกอบประเภทที่สลายตัวได้ง่ายเช่นกัน โดยสารประกอบที่ได้จากการย่อยสลายได้ง่ายเหล่านี้เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียและราเพิ่มจำนวนประชากรอย่างรวดเร็วในช่วงแรก ๆ ของการสลายตัวของปุ๋ย/วัสดุอินทรีย์ เฮมิเซลลูโลสเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างที่ง่ายต่อการย่อยสลายเช่นกัน แต่มักอยู่ร่วมกับสารประกอบชนิดอื่น เช่น เซลลูโลส และลิกนิน เกิดเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน ทำให้ย่อยสลายได้ยากขึ้น ส่วนเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเช่นเดียวกับแป้ง แต่มีโครงสร้างแข็งแรงย่อยสลายได้ยาก ลิกนินเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างโมเลกุลซับซ้อน โดยมีสารประกอบประเภท aromatic ring เป็นแกนหลักของโมเลกุล ทำให้สลายตัวได้ยากมาก จากการที่ลิกนินย่อยสลายได้ยากและมีอยู่ในปริมาณ

ค่อนข้างมาก จึงทำให้ลิกนินเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่จะกำหนดว่าเศษพืชจะย่อยสลายได้ยากหรือง่าย เช่น ต้นข้าวโพด ซึ่งเป็นวัสดุอินทรีย์ที่มีลิกนินอยู่ค่อนข้างมาก จึงย่อยสลายได้ช้ากว่าเศษพืชชนิดอื่น ๆ

วัสดุอินทรีย์แต่ละชนิดจะมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนแตกต่างกันไป โดยทั่วไปจะมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณใกล้เคียงกัน คือประมาณ 30-40% แต่จะมีไนโตรเจนในปริมาณที่แตกต่างกันมาก ดังนั้นวัสดุอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนสูง หรือมีอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนต่ำ จะสลายตัวได้เร็วกว่า และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนของวัสดุอินทรีย์จะลดลงเรื่อย ๆ จนมีค่าประมาณ 10:1 ซึ่งเป็นอัตราที่ใกล้เคียงกับอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนในอินทรียวัตถุในดิน

ส่วนปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ได้แก่ ความชื้น การระบายอากาศ อุณหภูมิ และพีเอชของดิน เป็นต้น ความชื้นในดินมีอิทธิพลอย่างมากต่อการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ ตลอดจนการละลายของสารประกอบต่าง ๆ และการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ในดิน ระดับความชื้นในดินที่พอเหมาะต่อการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ คือที่ค่าศักย์น้ำ (water potential) ประมาณ -0.01 ถึง -0.05 megapascal หากดินมีความชื้นมากกว่า -0.01 megapascal ไปจนถึงสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ อัตราการสลายตัวของวัสดุอินทรีย์จะลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเกิดการขาดออกซิเจน Terry *et. al.* (1981) พบว่า การเกิด nitrification ของไนโตรเจนในดินที่ใส่กากตะกอนน้ำเสีย เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อดินมีความชื้น -0.25 และ -0.5 บาร์ มากกว่าดินที่มีความชื้น -1 บาร์ หากความชื้นของดินค่อย ๆ ลดต่ำลงจากระดับที่เหมาะสม อัตราการสลายตัวของวัสดุอินทรีย์จะค่อย ๆ ลดลงตามลำดับ โดยในสภาพที่ดินมีความชื้นค่อนข้างต่ำ จุลินทรีย์ที่มีบทบาทมากในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์จะเป็นเชื้อรา และแอคทิโนมัยซีท เพราะจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวสามารถทนทานต่อสภาพแห้งแล้งได้ดีกว่าแบคทีเรีย

การระบายอากาศของดินมีผลต่อการหายใจและการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยในสภาพที่มีออกซิเจนหรือดินมีการระบายอากาศดี การย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์จะเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) เชื้อรา และแอคทิโนมัยซีท ซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและสมบูรณ์กว่าการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน แต่มีข้อเสียคือทำให้อินทรียวัตถุสูญหายไปจากดินได้เร็ว ทำให้อินทรียวัตถุในดินเหลืออยู่ในดินค่อนข้างน้อย ในทางตรงกันข้าม หากดินที่อยู่ในสภาพน้ำขังหรืออยู่ในสภาพขาดอากาศ อัตราการสลายตัวของวัสดุอินทรีย์จะลดลงอย่างมาก และจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในสภาพที่ขาดออกซิเจนจะเป็นแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) ส่วนเชื้อราและแอคทิโนมัยซีทจะชะงักการเจริญเติบโตเมื่อดินขาดออกซิเจน

อุณหภูมิมีผลควบคุมกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดิน โดยที่อุณหภูมิ 25°-35 °ซ เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ Terry *et. al.* (1981) พบว่า เมื่อบ่มดินด้วยกากตะกอนที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แอมโมเนียมในดินลดลงเหลือน้อยกว่า 10% แต่การบ่มที่อุณหภูมิ 21°ซ และ 15°ซ แอมโมเนียมในดินเหลืออยู่ 44%-78% ดังนั้นหากดินมีอุณภูมิสูง จึงทำให้การสลายตัวของวัสดุอินทรีย์ในดินเกิดมากขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อินทรียวัตถุในดินเขตร้อนชื้นลดน้อยลงได้ง่าย การปรับปรุงดินในเขตร้อนชื้นจึงจำเป็นต้องใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในปริมาณมากและใส่อย่างต่อเนื่องจึงสามารถเพิ่มอินทรียวัตถุในดินได้

สภาพความเป็นกรดด่างของดิน (pH) มีผลต่อการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งจะส่งผลต่อการสลายตัวของวัสดุอินทรีย์ โดยทั่วไปเมื่อดินมี pH เป็นกลาง การสลายตัวของวัสดุอินทรีย์เกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่าในช่วงที่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป หากดินมี pH ต่ำกว่า 4.5 (ดินเป็นกรดจัด) หรือประมาณ 9 (ดินเป็นด่างจัด) การสลายตัวของวัสดุอินทรีย์จะเกิดขึ้นน้อยลง

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ข้อมูลการสลายตัวและการปลดปล่อยไนโตรเจนของวัสดุอินทรีย์ชนิดต่างๆ ในดินที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันภายใต้ความสภาพความชื้นสนาม

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาการสลายตัวและพฤติกรรมการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของมูลสุกร มูลโค และมูลไก่ในชุดดินยโสธร

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ได้แก่ 1) มูลสุกร 2) มูลโค และ 3) มูลไก่

การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาการสลายตัวและพฤติกรรมการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอน ในชุดดินปากช่อง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 3 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ปุ๋ยหมักมูลสุกร 2) ปุ๋ยหมักมูลโค และ 3) ปุ๋ยหมักกากตะกอน

โดยทั้ง 2 การทดลองย่อยมีวิธีปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกันดังนี้

1. การเตรียมดินและปุ๋ยอินทรีย์สำหรับใช้ในการบ่ม

นำดินในชุดดินยโสธร และชุดดินปากช่อง มาตากแห้ง บดและร่อนผ่านตะแกรง 2 มม. และ นำปุ๋ยอินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ มูลสุกร มูลโค มูลไก่ ปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอน นำมาอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส แล้วบดและร่อนผ่านตะแกรง 2 มม.

2. การเตรียมตัวอย่างสำหรับบ่ม

การทดลองย่อยที่ 1 ชั่งดินในชุดดินยโสธร 50 กรัม ใส่ในขวดโหลแก้ว แล้วชั่งปุ๋ยอินทรีย์แต่ละชนิด ได้แก่ มูลสุกร มูลโค และมูลไก่ ให้ได้ไนโตรเจนทั้งหมด 0.10 กรัม (มูลสุกร มูลโค และมูลไก่ มีไนโตรเจนทั้งหมด 2.49 1.32 และ 1.01 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังนั้นจึงใช้ในปริมาณ 4.02 7.58 และ9.90 กรัม ตามลำดับ)

การทดลองย่อยที่ 2 ชั่งดินในชุดดินปากช่อง 50 กรัม ใส่ในขวดโหลแก้ว แล้วชั่งปุ๋ยอินทรีย์แต่ละชนิด ได้แก่ ปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอน ให้ได้ไนโตรเจนทั้งหมด 0.10 กรัม (ปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักมูลไก่ มีไนโตรเจนทั้งหมด 1.19 2.26 และ 2.32 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังนั้นจึงใช้ในปริมาณ 4.48 8.40 และ4.31 กรัม ตามลำดับ)

ผสมคลุกเคล้าดินกับปุ๋ยอินทรีย์ให้เข้ากัน เติมน้ำกรองที่ปราศจากไอออน (De-ionized water) ลงไปในดินเพื่อปรับความชื้นของดินให้อยู่ที่ 60%ของความจุความชื้น นำขวดแก้วที่บรรจุสารละลายมาตรฐาน 2*N* NaOH 15 มิลลิลิตร วางลงไปในขวดโหลแก้ว เพื่อใช้ในการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวของวัสดุอินทรีย์และจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระหว่างการบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เก็บตัวอย่างทุก 2 วัน ในสัปดาห์แรกของการบ่ม จากนั้นสัปดาห์ที่

2-6 เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุก 7 วัน และสัปดาห์ที่ 7-13 เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุก 14 วัน พร้อมปรับความชื้นของดินให้คงที่อย่างสม่ำเสมอ

เก็บตัวอย่างดินในแต่ละระยะมาสกัดด้วยสารละลาย *2N* KCl แล้วนำสารละลายที่สกัดได้มาวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมและไนเตรทที่ปลดปล่อยออกมาโดยวิธีการกลั่น และวิเคราะห์หาปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ดูดจับไว้ในสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยการตกตะกอนคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยสารละลายแบเรียมคลอไรด์ แล้วไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน *2 N* HCl (Anderson, 1982)

นำปริมาณแอมโมเนียม ไนเตรท และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปลดปล่อยออกมาจากดินที่ไม่ได้ผสมกับวัสดุอินทรีย์มาหักลบจากปริมาณแอมโมเนียม ไนเตรท และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปลดปล่อยออกมาจากดินที่ผสมกับวัสดุอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ก็จะได้เป็นปริมาณแอมโมเนียม ไนเตรท และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปลดปล่อยออกมาซึ่งเป็นผลมาจากการใส่วัสดุอินทรีย์แต่ละชนิดลงไปในดิน

บันทึกสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุที่นำมาใช้ในการทดลอง ได้แก่ ปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนทั้งหมด แอมโมเนียมและไนเตรท บันทึกปริมาณแอมโมเนียมและไนเตรตในดินที่ปลดปล่อยออกมาจากปุ๋ยหรือวัสดุอินทรีย์หลังจากการบ่ม และบันทึกปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ดักจับไว้ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ปลดปล่อยออกมาหลังจากการบ่ม

3. การวิเคราะห์ดินและปุ๋ยอินทรีย์

นำตัวอย่างดินมาตากแห้งในที่ร่ม บด และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นนำตัวอย่างดินมาวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:1 วิเคราะห์อินทรียวัตถุในดินโดยวิธีของ Walkley and Black (Allison, 1965) วิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยการย่อยสลายปุ๋ยอินทรีย์ด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น แล้วนำมากลั่นด้วย Kjedahl distillation apparatus

นำตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์มาอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60°ซ จากนั้นนำมาบด และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร นำตัวอย่างปุ๋ยอินทรียน์มาวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1: 5 วิเคราะห์อินทรียวัตถุในดินโดยวิธีของ Walkley and Black (Allison, 1965) วิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยการย่อยสลายปุ๋ยอินทรีย์ด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น แล้วนำมากลั่นด้วย Kjedahl distillation apparatus

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสลายตัวและการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของมูลสุกร มูลโค และมูลไก่ ในชุดดินยโสธร

ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินทรายในชุดดินยโสธรมีพีเอช 5.06 ซึ่งถือว่าเป็นกรดจัด มีอินทรียวัตถุ 0.52% และไนโตรเจนทั้งหมด 0.02% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ต่ำมาก และสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 13.11 (ตารางที่ 1) ปุ๋ยคอกที่ใช้ในการทดลองได้ แก่ มูลสุกร มูลโค และมูลไก่ โดยมูลสุกรมีอินทรีย์คาร์บอนสูงถึง 30% แต่มีไนโตรเจนทั้งหมด 1.0% มีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างสูงสำหรับปุ๋ยอินทรีย์ ซึ่งหากจะนำมูลสุกรไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์อาจนำไปหมักหรือปล่อยให้สลายตัวไปสักระยะหนึ่งก่อนเพื่อให้สัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงมาต่ำกว่า 20 ส่วนมูลโคมีอินทรีย์คาร์บอน 17.1% และมีไนโตรเจนทั้งหมด 1.3% ทำให้มีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 13.2 ซึ่งเหมาะที่จะนำไปใช้ได้ทันที เช่นเดียวกันกับมูลไก่ ซึ่งมีอินทรีย์คาร์บอน 31.1 % ใกล้เคียงกันกับมูลสุกร แต่มูลไก่มีไนโตรเจนทั้งหมดสูงถึง 2.5% จึงทำให้มีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 12.4 (ตารางที่ 2)

การปลดปล่อยไนโตรเจนของมูลสุกร มูลโค และมูลไก่ ในชุดดินยโสธร ที่สภาพความชื้น 60%ของความจุอุ้มน้ำของดิน พบว่า มูลสุกรมีการปลดปล่อยแอมโมเนียมสูงในช่วงสัปดาห์แรกของการบ่ม และหลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว แสดงว่ามูลสุกรอาจมีไนโตรเจนอยู่ในรูปของสารอินทรีย์อยู่ในปริมาณสูง จึงพบการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียมในระยะแรกของการบ่ม ซึ่งเกิดจากการแปรสภาพของอินทรีย์ไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียมโดยผ่านกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (ammonification) และหลังจากที่แอมโมเนียม ลดลงในสัปดาห์ที่ 2 พบว่ามีไนเตรทเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากแอมโมเนียมถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไนเตรท ตามกระบวนการไนตริฟิเคชัน (nitrification) อย่างไรก็ตาม หลังจากสัปดาห์ที่ 2 ไนเตรทลดลงอย่างรวดเร็ว อาจเป็นผลมาจากการเกิดกระบวนการรีดักชัน ทำให้ไนเตรทสูญหายไปในรูปของก๊าซไนโตรเจน เนื่องจากมูลสุกรมีอินทรีย์คาร์บอนในปริมาณสูง หากอินทรีย์คาร์บอนดังกล่าวอยู่ในรูปที่สลายตัวได้ง่าย ก็จะทำให้เกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วและชักนำให้ดินอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนได้ ส่วนมูลโคและมูลไก่มีการปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปแบบที่คล้ายคลึงกัน โดยปลดปล่อยแอมโมเนียมออกมาในปริมาณสูงในระยะสัปดาห์แรก ส่วนการปลดปล่อยไนเตรทพบว่ามีปริมาณสูงหลังจากสัปดาห์ที่ 3 ของการบ่ม และจะปลดปล่อยเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาของการบ่ม

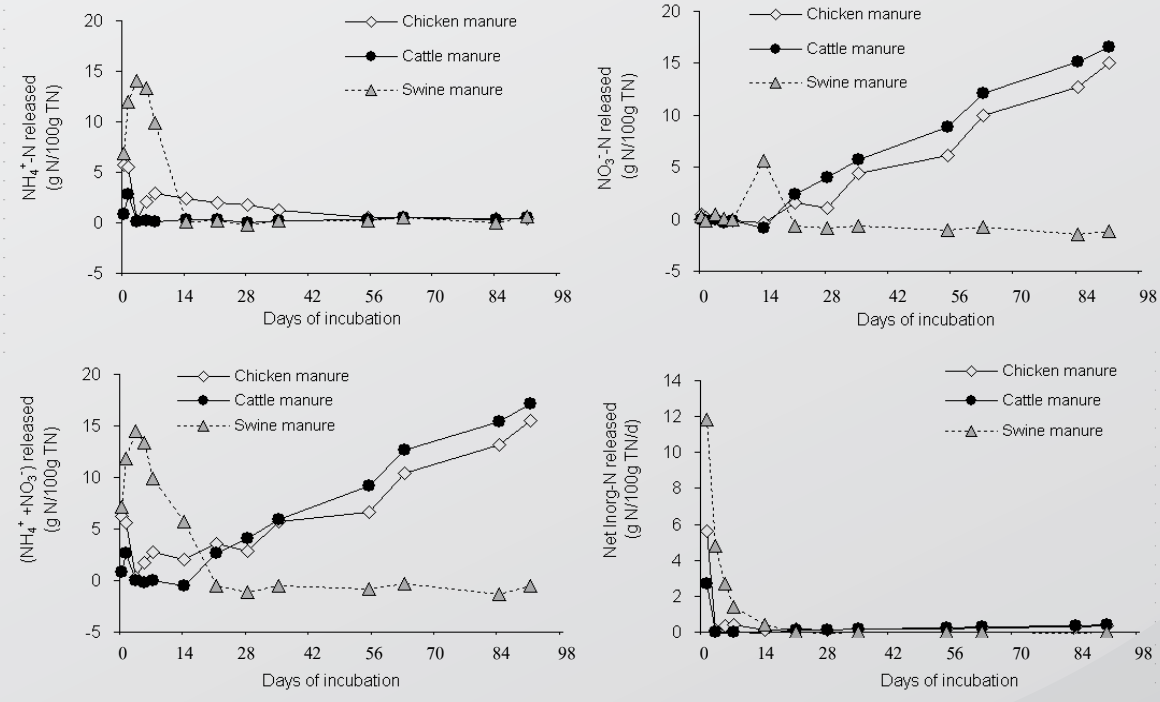
ปริมาณการปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนของมูลสุกร มูลโค และมูลไก่ เกิดขึ้นประมาณ 15-20% ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในปุ๋ยอินทรีย์ดังกล่าว โดยอัตราการปลดปล่อยจะเกิดขึ้นสูงใน 2 สัปดาห์แรก โดยมีอัตราการปลดปล่อยตั้งแต่ 3 - 12 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดของปุ๋ยอินทรีย์ และหลังจากสัปดาห์ที่ 2 อัตราการปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนจะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1. สมบัติทางเคมีของดินในชุดดินยโสธรที่ใช้ในการทดลอง

Soil Series	pH	Organic matter (%)	Organic carbon (%)	Total nitrogen (%)	C:N ratio
Yasothorn	5.06	0.52	0.30	0.02	13.11

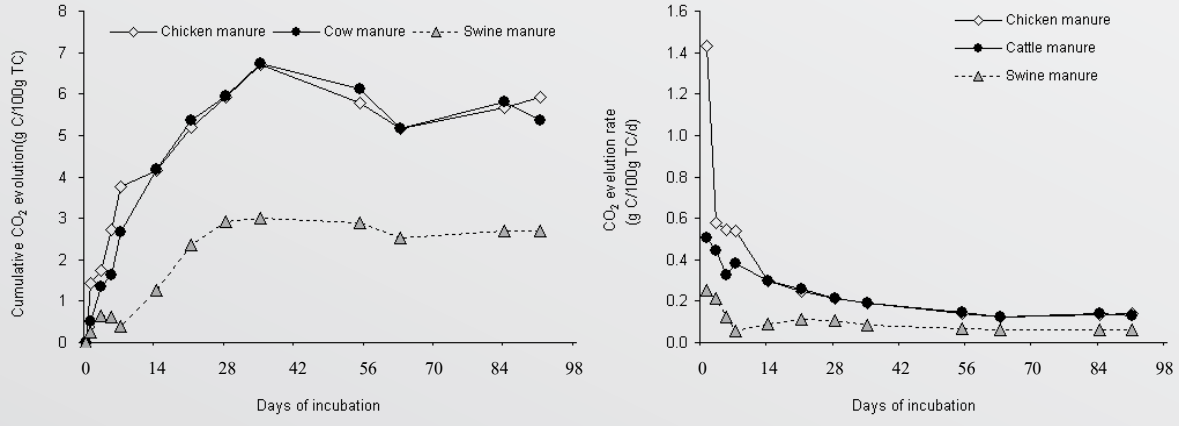
ตารางที่ 2. สมบัติทางเคมีของปุ๋ยคอก

Organic fertilizers	Organic matter (%)	Organic carbon (%)	Total nitrogen (%)	C:N ratio
Swine manure	51.8	30.0	1.0	30.0
Cattle manure	29.5	17.1	1.3	13.2
Chicken manure	53.6	31.1	2.5	12.4



ภาพที่ 1. การปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนจากการบ่มมูลสุกร มูลโค และมูลไก่ ในชุดดินยโสธร

สำหรับการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์จากการบ่มมูลสุกร มูลโค และมูลไก่ ในชุดดินยโสธร ในภาพที่ 2 พบว่า มูลไก่และมูลโค มีคาร์บอนไดออกไซด์ปลดปล่อยออกมาในปริมาณใกล้เคียงกัน และมีรูปแบบที่เหมือนกัน เช่นเดียวกับปริมาณและรูปแบบในการปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจน ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะมูลโคและมูลไก่อยู่ในสภาพที่คงตัวมากกว่ามูลสุกร ซึ่งสังเกตจากสัดส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนที่พบว่ามูลไก่และมูลโคมีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนค่อนข้างต่ำ (ตารางที่ 1) ในขณะที่มูลสุกรมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นค่อนข้างต่ำ ซึ่งเป็นผลมาจากการสลายตัวที่เกิดขึ้นค่อนข้างช้า เนื่องจากมูลสุกรมีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนสูงถึง 30 (ตารางที่ 1) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์จากการบ่มมูลสุกร มูลโค และมูลไก่ ในชุดดินยโสธรเกิดขึ้นประมาณ 3 – 7%ของปริมาณคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบของปุ๋ยอินทรีย์



ภาพที่ 2. การปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์จากการบ่มมูลสุกร มูลโค และมูลไก่ ในชุดดินยโสธร

2. การสลายตัวและการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอน ในชุดดินปากช่อง

ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินทรายในชุดดินยโสธรมีพีเอช 4.74 ซึ่งถือว่าเป็นกรดจัด มีอินทรียวัตถุ 2.62% และไนโตรเจนทั้งหมด 1.46% มีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 9.53 (ตารางที่ 3) ส่วนปุ๋ยหมักที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอน โดยปุ๋ยหมักมูลสุกรเป็นปุ๋ยหมักที่มีอินทรีย์คาร์บอน 27.2% และมีไนโตรเจนทั้งหมด 2.2% มีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนพบว่าเท่ากับ 12.2 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ของปุ๋ยอินทรีย์ เหมาะที่จะนำไปใช้ได้ทันที ปุ๋ยหมักมูลโคมีอินทรีย์คาร์บอน 16.9% และมีไนโตรเจนทั้งหมด 1.2% ทำให้มีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 14.3 ส่วนปุ๋ยหมักกากตะกอนมีอินทรีย์คาร์บอน 15.7% ใกล้เคียงกันกับปุ๋ยหมักมูลโค แต่มีไนโตรเจนทั้งหมดสูงถึง 2.3% จึงทำให้มีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 6.8 (ตารางที่ 4)

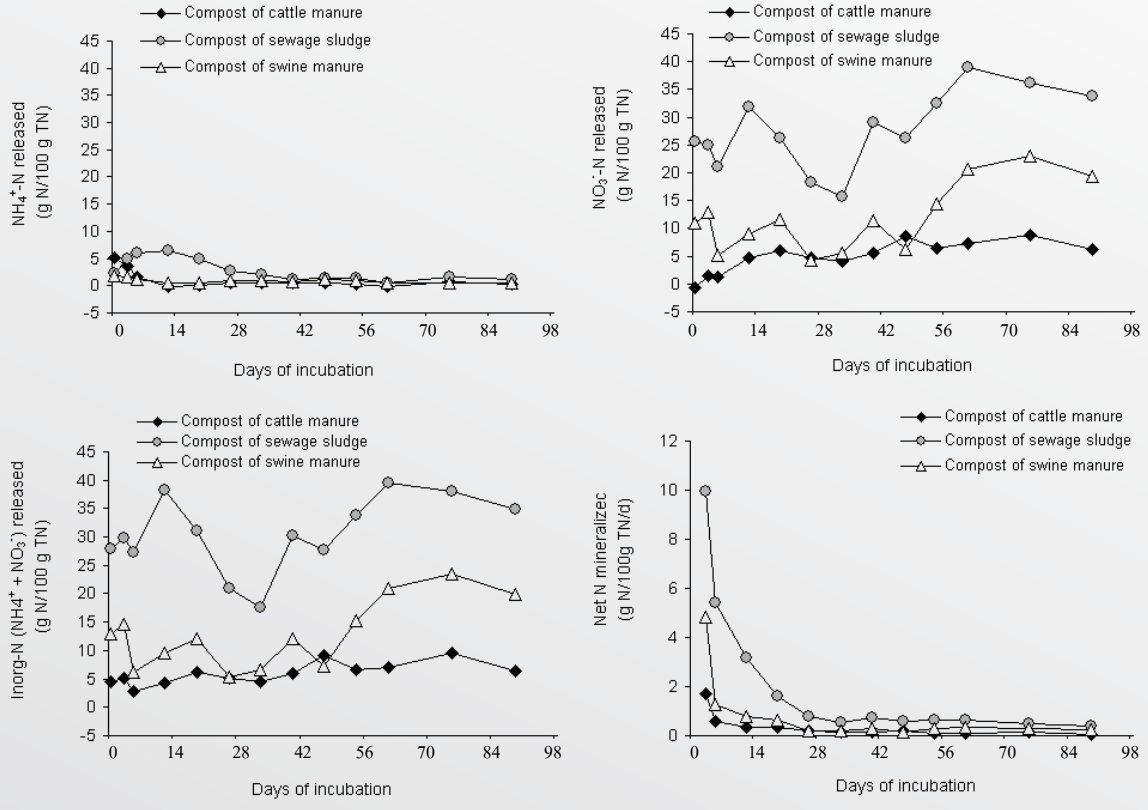
ตารางที่ 3. สมบัติทางเคมีของดินในชุดดินปากช่องที่ใช้ในการทดลอง

Soil Series	pH	Organic matter (%)	Organic carbon (%)	Total nitrogen (%)	C:N ratio
Pak Chong	4.74	2.62	1.46	0.15	9.53

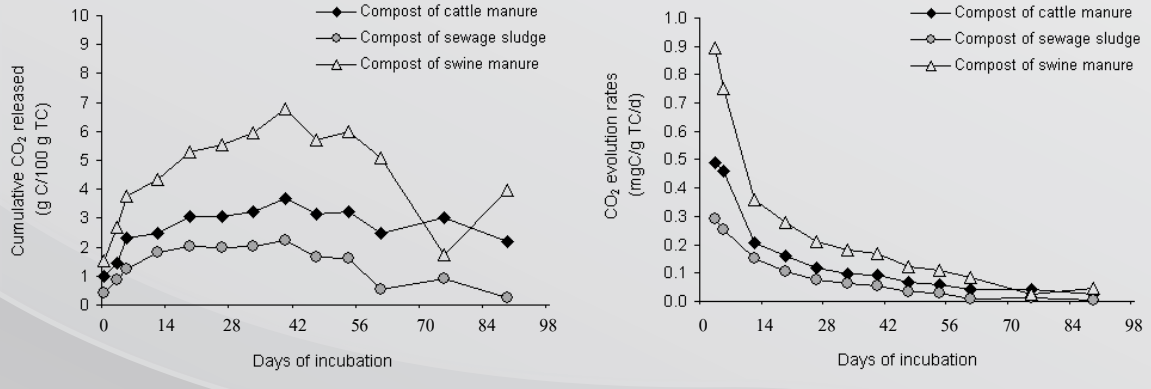
ตารางที่ 4. สมบัติทางเคมีของปุ๋ยหมัก

Organic fertilizers	Organic matter (%)	Organic carbon (%)	Total nitrogen (%)	C:N ratio
Compost of swine manure	47.0	27.2	2.2	12.2
Compost of cattle manure	29.2	16.9	1.2	14.3
Compost of sewage sludge	27.0	15.7	2.3	6.8

ปุ๋ยหมักกากตะกอนมีอนินทรีย์ไนโตรเจนปลดปล่อยออกมาประมาณ 35 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบ สูงกว่าปุ๋ยหมักมูลสุกรและปุ๋ยหมักมูลโค ซึ่งมีการปลดปล่อยอนินทรีย์ปลดปล่อย 20 และ 5 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมด ตามลำดับ (ภาพที่ 3) โดยอัตราการปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนของปุ๋ยหมักกากตะกอนในวันแรกของการบ่มเท่ากับ 10 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดต่อวัน แล้วลดลงเหลือต่ำกว่า 1กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดต่อวันภายใน 28 วันหลังการบ่ม ในขณะที่ปุ๋ยหมักมูลสุกรมีอัตราการปลดปล่อยไนโตรเจนสูงสุดในวันแรกของการบ่มเท่ากับ 5 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดต่อวัน และลดลงเหลือต่ำกว่า 1 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดต่อวันภายใน 7 วัน ส่วนปุ๋ยหมักมูลโคมีอัตราการปลดปล่อยไนโตรเจนต่ำสุด ซึ่งในวันแรกมีอัตราการปลดปล่อยไนโตรเจนเพียง 2 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดต่อวัน และจากนั้นลดลงเหลือต่ำกว่า 0.5 กรัม N ต่อ 100 กรัมของไนโตรเจนทั้งหมดต่อวันภายใน 7 วัน



ภาพที่ 3. การปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนจากการบ่มปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอนในชุดดินปากช่อง



ภาพที่ 4. การปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์จากการบ่มปุ๋ยหมักมูลสุกร ปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอนในชุดดินปากช่อง

จากการบ่มปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชนิด พบว่า ปุ๋ยหมักมูลสุกรมีการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์สูงสุดที่ 7 กรัม C ต่อ 100 กรัมของคาร์บอนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบ สูงกว่าการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์จากปุ๋ยหมักมูลโค และปุ๋ยหมักกากตะกอน ซึ่งปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 3 และ 2 กรัม C ต่อ 100 กรัมของคาร์บอนทั้งหมด (ภาพที่ 4) ทั้งนี้ อาจเนื่องจากปุ๋ยหมักมูลสุกรมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบสูงกว่า จึงมีแหล่งของคาร์บอนให้กับจุลินทรีย์ได้มากกว่า และคาร์บอนไดออกไซด์ก็จะถูกปลดปล่อยออกมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลงานวิจัยเกี่ยวกับการสลายตัวและการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของปุ๋ยอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่า ปุ๋ยอินทรีย์แต่ละชนิดสามารถสลายตัวและปลดปล่อยธาตุอาหารได้แตกต่างกันทั้งในปริมาณและรูปแบบของการปลดปล่อย โดยอนินทรีย์ไนโตรเจนในปุ๋ยอินทรีย์สามารถปลดปล่อยออกมาให้พืชใช้ประโยชน์ได้เพียง 10 – 40% ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ในขณะที่ไนโตรเจนส่วนที่เหลือจะค่อย ๆ ปลดปล่อยออกมาทีละน้อยอย่างช้า ๆ เนื่องจากปุ๋ยอินทรีย์ต้องผ่านกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ก่อนแล้วจึงปลดปล่อยธาตุอาหารพืชออกมาให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปุ๋ยอินทรีย์แต่ละชนิดนอกจากจะมีธาตุอาหารในปริมาณต่ำแล้ว ยังปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาอย่างช้า ๆ นอกจากนี้ การสลายตัวและการปลดปล่อยธาตุอาหารของปุ๋ยอินทรีย์ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนในปุ๋ยอินทรีย์ สัดส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน ความเป็นกรด-ด่างของดิน เนื้อดิน ความชื้น อุณหภูมิ เป็นต้น ซึ่งหากจะทำการเกษตรโดยใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพียงอย่างเดียว จำเป็นต้องใส่ในปริมาณมากจึงจะได้ธาตุอาหารในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของพืช

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลจากการวิจัยครั้งนี้ได้นำไปถ่ายทอดให้นักวิชาการเกษตรของกรมวิชาการเกษตรในการฝึกอบรมเรื่องเทคโนโลยีการผลิตและการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ ระหว่างวันที่ 9-10 กรกฎาคม 2550 และระหว่างวันที่ 5-6 มิถุนายน 2551 เพื่อให้นักวิจัยได้มีความรู้ความเข้าใจคุณสมบัติด้านธาตุอาหารและการปลดปล่อยธาตุอาหารของปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อให้สามารถใช้ปุ๋ยอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น และสามารถถ่ายทอดแก่เกษตรกรต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

สมศักดิ์ วังใน. 2528. จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. บริษัท โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด. 193 หน้า

Stevenson, F.J. 1986. Cycles of Soil Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients. John Wiley & Sons, Inc. U.S.A. 380 p.

Terry, R.E., Nelson, D.W., Sommers, L.E. 1981. Nitrogen transformations in sewage sludge-amended soils as affected by soil environmental factors. Soil Sci. Soc. Am. J. 45: 506-513

ผลของการจัดการดินและปุ๋ยเคมีที่มีต่อผลผลิตข้าวโพด ในดินชุดปากช่องในระยะยาว

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี[1] *นงลักษ์ ปั้นลาย*[2] *สมฤทัย ตันเจริญ*[1]
เข็มพร เพชราภรณ์[1] *ศิริขวัญ ภู่นา*[1] *อนันต์ ทองภู*[1]

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของการจัดการดินและปุ๋ยเคมีอย่างต่อเนื่องระยะยาวต่อผลผลิตข้าวโพดที่ปลูกในชุดดินวังสะพุง (Loamy, isohyperthermic, Typic Haplustalfs) ซึ่งมีเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย ดำเนินการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี ในแปลงทดลองที่มีการใช้วัสดุอินทรีย์ปรับปรุงดินอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ.2519-2548 สำหรับการทดลองในปี พ.ศ.2549-2553 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block ประกอบด้วย 12 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำ กรรมวิธีเป็นการผสมผสานระหว่างการใช้ปุ๋ยเคมี วัสดุอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ การปลูกพืชแซมหรือพืชตาม และการไม่ไถพรวนดิน

ผลการทดลองปีที่ 31-35 พบผลตกค้างจากการใช้ปุ๋ยเคมีและวัสดุอินทรีย์อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน โดยพบว่าการไถกลบเศษซากข้าวโพดและถั่วเขียวติดต่อกันเป็นเวลานานถึง 35 ปี ทำให้อินทรียวัตถุในชั้นดินบน (0-15 เซนติเมตร) เพิ่มขึ้นจาก 1.1 เปอร์เซ็นต์ (ในปีที่ 1) เป็น 1.33 เปอร์เซ็นต์ (ปีที่ 35) สำหรับการใช้ฟางข้าวคลุมดินในอัตรา 640 กิโลกรัมต่อไร่ ต่อเนื่องถึง 30 ปี และหยุดใส่ในปีที่ 31-35 พบว่าในปีที่ 33 ดินในกรรมวิธีที่เคยใส่ฟางข้าวร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราต่ำ (6.7-6.7-6.7 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) และปุ๋ยเคมีอัตราสูง (10-10-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) มีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เฉลี่ย 105 และ 145 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และเมื่อใส่เปลือกไม้ยูคาลิปตัสแทนฟางข้าวในปีที่ 34-35 ในอัตรา 703 กิโลกรัมน้ำหนักแห้งต่อไร่ พบว่ากรรมวิธีที่ใส่เปลือกไม้ยูคาลิปตัสร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราต่ำ และปุ๋ยเคมีอัตราสูง ทำให้ชั้นดินบนในปีที่ 35 มีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 81 และ 115 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานมีผลทำให้ดินมีพีเอชลดลง และทำให้ดินมีฟอสฟอรัสตกค้างสะสมอยู่ในดินอย่างเห็นได้ชัด

การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับการปลูกพืชตามชนิดต่างๆ ทำให้ข้าวโพดให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน แต่ให้ผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการใส่เปลือกไม้ยูคาลิปตัสร่วมกับปุ๋ยเคมีในอัตราต่ำมีแนวโน้มทำให้ข้าวโพดขาดธาตุไนโตรเจนได้และให้ผลผลิตต่ำ แต่เมื่อใส่เปลือกไม้ยูคาลิปตัสร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราสูงพบว่าไม่มีผลกระทบต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพด นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำฝนในช่วงฤดูปลูกหรือช่วงการเจริญเติบโตของข้าวโพดมีความสำคัญต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดเป็นอย่างยิ่ง

[1] กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร โทร.0-2579-7513

[2] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 โทร. 0-3649-9180

บทนำ

การใช้ที่ดินในการผลิตพืชผลทางการเกษตรอย่างต่อเนื่องโดยไม่มีการจัดการดินที่ดีและเหมาะสม เป็นสาเหตุหลักทำให้ความอุดมสมบูรณ์และศักยภาพการผลิตพืชของดินลดลง เนื่องจากธาตุอาหารในดินถูกนำออกไปจากพื้นที่โดยติดออกไปกับผลผลิตทุกฤดูปลูก ดังนั้นหากใส่ปุ๋ยหรือปรับปรุงดินโดยไม่ถูกวิธี อาจทำให้ธาตุอาหารในดินลดลงอย่างต่อเนื่อง ศุภกาญจน์ และคณะ (2549) ศึกษาสมดุลของธาตุอาหารพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 ในดินด่าง พบว่า หากข้าวโพดให้ผลผลิต 1,170 กิโลกรัมต่อไร่ จะมีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม อยู่ในส่วนของเมล็ดและซังข้าวโพดคิดเป็นปริมาณ 18-27 1-2 และ 10-13 กิโลกรัม N-P-K ต่อไร่ ตามลำดับ นั่นหมายถึงปริมาณธาตุอาหารที่สูญหายออกไปจากพื้นที่ ซึ่งหากต้องการรักษาสมดุลของธาตุอาหารพืชในพื้นที่จะต้องใส่ธาตุอาหารเพิ่มเติมกลับลงไปในดินในปริมาณที่เท่ากัน

แปลงทดลองซึ่งมีการจัดการดินโดยการใช้ปุ๋ยเคมี วัสดุอินทรีย์ และไถกลบเศษซากพืชอย่างต่อเนื่องติดต่อกันเป็นระยะเวลานานกว่า 30 ปี มีความสำคัญต่อการติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดินและการเก็บสะสมของคาร์บอนในดินซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการจัดการดินและปุ๋ยโดยวิธีการต่าง ๆ ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงผลของการจัดการดินและการใช้ปุ๋ยต่อคุณสมบัติทางเคมีของดินและการให้ผลผลิตของข้าวโพด เพื่อใช้ในการให้คำแนะนำการจัดการดินและวัสดุอินทรีย์ที่เหมาะสมและยั่งยืนสำหรับการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อไป

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block ประกอบด้วย 12 กรรมวิธีๆละ 3 ซ้ำ (ตารางที่ 1) ส่วนประวัติแปลงทดลองตั้งแต่ปีที่ 1 (พ.ศ.2519) จนถึงปีที่ 30 (พ.ศ.2548) แสดงไว้ในตารางที่ 2 ดินในพื้นที่ทำการทดลองเดิมได้ระบุเป็นชุดดินปากช่อง ซึ่งได้จากการจำแนกชุดดินในอดีตที่ผ่านมาตั้งแต่ปี 2519 แต่ในปี พ.ศ.2551 ได้ทำการขุดเจาะโปรไฟล์ดินอีกครั้ง กลับพบว่าดินในพื้นที่ดังกล่าวมีลักษณะจัดอยู่ในชุดดินวังสะพุง (Loamy, isohyperthermic, Typic Haplustalfs) ซึ่งเป็นดินตื้น มีเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย และพบหินกรวดในปริมาณมากที่ระดับความลึก 50 เซนติเมตร ลงไป

การทดลองในปี 2549-2551 มีวิธีการปลูกพืชตาม ดังนี้ คือ ปอเทืองและถั่วเวลเวท ปลูกแซมระหว่างแถวข้าวโพดก่อนเก็บเกี่ยวข้าวโพดประมาณ 20 วัน ส่วนถั่วเขียว ถั่วเหลือง และทานตะวัน ปลูกหลังจากเก็บเกี่ยวข้าวโพด โดยใช้ระยะปลูกเช่นเดียวกันกับการปลูกข้าวโพด ส่วนการทดลองในปี 2552-2553 มีวิธีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ดังนี้คือ มูลไก่ใส่ในอัตรา 20 กิโลกรัมน้ำหนักสดต่อแปลง (หรือประมาณ 800 กิโลกรัมน้ำหนักแห้งต่อไร่) โดยคลุกเคล้าลงไปในดินก่อนปลูกข้าวโพด 1 สัปดาห์ ส่วนเปลือกยูคาลิปตัสใส่ในอัตรา 50 กิโลกรัมน้ำหนักสดต่อแปลง (หรือประมาณ 700 กิโลกรัมน้ำหนักแห้งต่อไร่) โดยโรยให้ทั่วแปลงไม่คลุกเคล้าลงไปใน ส่วนการปลูกพืชตาม เช่น ถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และข้าวฟ่าง ปลูกหลังจากเก็บเกี่ยวข้าวโพด โดยใช้ระยะปลูกเช่นเดียวกันกับการปลูกข้าวโพด

แปลงย่อยมีขนาด 5.25×6.00 เมตร ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2 ใช้ระยะระหว่างแถวปลูก 0.75 เมตร และระยะระหว่างต้น 0.25 เมตร การใส่ปุ๋ยเคมีทำโดยโรยข้างแถวปลูกในอัตราที่กำหนดตามกรรมวิธี โดยปุ๋ยไนโตรเจนแบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ครั้งแรกใส่พร้อมปลูก และครั้งที่ 2 ใส่หลังจากปลูกข้าวโพด 1 เดือน ส่วนปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชใส่ครั้งเดียวพร้อมปลูก เก็บเกี่ยวข้าวโพดที่อายุประมาณ 110-120 วันหลังปลูก พื้นที่เก็บเกี่ยว 15 ตารางเมตร เศษซากต้นข้าวโพด ปอเทือง ถั่วเวลเวท ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ทานตะวัน ถั่วพุ่ม และข้าวฟ่าง ไถกลบกลับลงไปในดิน

เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มรวม 5 จุดต่อแปลง ที่ระดับความลึก 0-15 และ 15-30 เซนติเมตร (ปี พ.ศ.2549-2551) หรือที่ระดับความลึก 0-10 10-20 และ 20-30 เซนติเมตร (ปี พ.ศ.2552-2553) มาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดินก่อนปลูกและหลังเก็บเกี่ยว โดยวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุตามวิธีของ Walkley and Black ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้จากการสกัดดินด้วยวิธี Bray II และทำให้เกิดสีด้วยวิธี Molybdenum Blue วัดการเกิดสีด้วย Spectrophotometer วิเคราะห์โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้จากการสกัดดินด้วย 1N NH_4OAc pH 7 และวัดปริมาณด้วย Atomic Absorption Spectrophotometer

ตารางที่ 1. กรรมวิธีการทดลองปี พ.ศ.2549-2551 และ ปี พ.ศ.2552-2553

Treatments	31^{st} – 33^{rd} years (2006-2008)	34^{th} – 35^{th} years (2009-2010)
1	0-0-0 , Mungbean	0-0-0, Mungbean
2	6.7-6.7-6.7, Crotalaria	9-3-3 , Cowpea
3	6.7-6.7-6.7, Velvet	9-3-3, Sorghum
4	6.7-6.7-6.7, No till, Mungbean	9-3-3, No till, Eucalyptus bark, Mungbean
5	6.7-6.7-6.7, Soybean	9-3-3, Chicken manure, Cowpea
6	6.7-6.7-6.7, Sunflower	9-3-3, Chicken manure, Sorghum
7	10-10-10 , Mungbean	15-5-5, Mungbean
8	10-10-10, Crotalaria	15-5-5, Cowpea
9	10-10-10, Velvet	15-5-5, Sorghum
10	10-10-10, No till, Mungbean	15-5-5, No till, Eucalyptus bark, Mungbean
11	10-10-10, Soybean	15-5-5, Chicken manure, Cowpea
12	10-10-10, Sunflower	15-5-5, Chicken manure, Sorghum

ตารางที่ 2. ประวัติแปลงทดลองตั้งแต่ปีที่ 1 (พ.ศ.2519) ถึงปีที่ 30 (พ.ศ.2548)

No.	1st – 4th years (1976-1979)	5th – 15th years (1980-1990)	16th – 20th years (1991-1995) and 21st-30th years (1996-2005)
1	0-0-0, Mungbean	0-0-0, Mungbean	0-0-0, Mungbean
2	0-0-0, Crotalaria	0-0-0, Crotalaria	0-0-0, Crotalaria
3	0-0-0, Mimosa	0-0-0, Mimosa	0-0-0, Mimosa
4	0-0-0, No-till, Rice straw, Mungbean	0-0-0, No-till, Rice straw, Mungbean	0-0-0, No-till, Rice straw, Mungbean
5	0-0-0, Ricebean	0-0-0, Ricebean	0-0-0, Ricebean
6	0-0-0, City compost 3.2 t/rai	0-0-0, City compost 3.2 t/rai	0-0-0, City compost 1t/rai
7	16-8-8, Mungbean	10-10-0, Mungbean	10-10-10, Mungbean
8	16-8-8, Crotalaria	10-10-0, Crotalaria	10-10-10, Crotalaria
9	16-8-8, Mimosa	10-10-0, Mimosa	10-10-10, Mimosa
10	16-8-8, No-till, Rice straw, Mungbean	10-10-0, No-till, Rice straw, Mungbean	10-10-10, No-till, Rice straw, Mungbean
11	16-8-8, Ricebean	10-10-0, Ricebean	10-10-10, Ricebean
12	16-8-8, City compost 3.2 t/rai	10-10-0, City compost 3.2 t/rai	10-10-10, City compost 1t/rai

หมายเหตุ ประวัติแปลงทดลองในปีที่ 21 – 30 เช่นเดียวกับปีที่ 16-20 ยกเว้นเฉพาะกรรมวิธีที่ 6 และ 12 ซึ่งยุติการใส่ปุ๋ยหมัก กทม.

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) 1 ตุลาคม 2549 จนถึง 30 กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

ดำเนินการในแปลงทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 และปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช ณ กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะของหน้าตัดดิน

จากการขุดเจาะสำรวจหน้าตัดดินขนาดหลุม 1.5 × 1.5 × 1.5 เมตร พบว่า ชั้นดินบน (0-30 เซนติเมตร) มีเนื้อดินเป็นดินร่วน พบปริมาณกรวด 27-30% และชั้นดินล่าง (ต่ำกว่า 30 เซนติเมตรลงไป) มีเนื้อดินเป็นดินเหนียว พบหินกรวดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 5 มิลลิเมตร ประมาณ 53 – 70 เปอร์เซ็นต์ มีความลึกของหน้าตัดดิน 75 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) ซึ่งความลึกของหน้าตัดดินดังกล่าวนี้จะมีผลจำกัดการไชชอนของรากลงสู่ชั้นดินล่าง ดังนั้นเมื่อเกิดสภาวะแห้งแล้ง พืชอาจแสดงอาการขาดน้ำได้ง่าย ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดได้

2. คุณสมบัติของวัสดุอินทรีย์

วัสดุอินทรีย์ใส่ลงไปเพื่อปรับปรุงดินได้แก่ เปลือกยูคาลิปตัส และมูลไก่แกลบ จากการวิเคราะห์พบว่า เปลือกยูคาลิปตัสมีความชื้นสูงมากถึง 260.9 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเมื่อใส่เปลือกยูคาลิปตัสในอัตรา 2,540 กิโลกรัมน้ำหนักสดต่อไร่ จะได้น้ำหนักแห้ง 703 กิโลกรัมต่อไร่ เปลือกยูคาลิปตัสมีอินทรีย์คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม 32.7 1.0 0.1 และ 1.9 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) ดังนั้นเมื่อใส่ในอัตรา 703 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อไร่ จึงมีคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ใส่ลงไปในพื้นที่ 230 7.0 0.7 และ 13.4 กิโลกรัม C N P K ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ส่วนมูลไก่แกลบมีความชื้น 23.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใส่ในอัตรา 1,016 กิโลกรัมน้ำหนักสดต่อไร่ จะได้น้ำหนักแห้งเท่ากับ 823 กิโลกรัมต่อไร่ มูลไก่แกลบมีอินทรีย์คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม 21.6 2.5 1.3 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) ดังนั้นเมื่อใส่ในอัตรา 823 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อไร่ จึงมีคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ใส่ลงไปในพื้นที่ 178 20.6 10.7 และ 6.6 กิโลกรัม C N P K ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 3. ลักษณะของหน้าตัดดิน

Profile No.	Depth (cm)	Texture	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Gravel (%)	pH
Profile No.1	0-13	Loam	50.99	35.18	13.83	27.1	5.8
UTM 47P	13-27	Loam	45.99	35.18	18.83	31.4	5.7
693718	27-50	Clay loam	40.99	20.18	38.83	53.1	5.1
1636909	50-75	Clay	35.99	15.18	48.83	69.5	4.0

ตารางที่ 4. คุณสมบัติของเปลือกยูคาลิปตัสและมูลไก่แกลบ

Properties	Eucalyptus bark	Chicken manure
Moisture	260.9	23.4
Application rate (kg dry weight/rai)	703	823
Organic carbon (%)	32.7	21.6

Properties	Eucalyptus bark	Chicken manure
Total nitrogen (%)	1.0	2.5
Total phosphorus (%P)	0.1	1.3
Total potassium (%K)	1.9	0.8

ตารางที่ 5. ปริมาณธาตุอาหารที่ได้จากวัสดุอินทรีย์

Organic materials	Dry matter (kg/rai)	C (kg C/rai)	N (kg N/rai)	P (kg P/rai)	K (kg K/rai)
Eucalyptus bark	703	230	7.0	0.7	13.4
Chicken manure	803	178	20.6	10.7	6.6

3. ผลของการจัดการดินและวัสดุอินทรีย์อย่างต่อเนื่องระยะยาวต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของดิน

1) อินทรียวัตถุ จากประวัติของแปลงทดลองในปีเริ่มต้น (ปี พ.ศ. 2519) พบว่าดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร มีปริมาณอินทรียวัตถุ 1.10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อไถกลบเศษซากข้าวโพดและพืชตามกลับลงไปในดินติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน 35 ปี พบว่าทำให้ดินมีอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด โดยค่าเฉลี่ยของอินทรียวัตถุในดินในปีที่ 31-33 (ปี พ.ศ. 2549-2551) ของกรรมวิธีควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี) ซึ่งไถกลบเศษซากข้าวโพดและถั่วเขียวติดต่อกันทุกปี พบว่าดินมีอินทรียวัตถุ 1.48 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) และทำให้ค่าเฉลี่ยของอินทรียวัตถุดินในชั้นบนที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร ในปีที่ 34-35 (ปี พ.ศ.2552-2553) มีอินทรียวัตถุ 1.35 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7) ทั้งนี้ เนื่องจากการไถกลบเศษซากต้น ใบ และกาบฝักของข้าวโพดทำให้มีคาร์บอนใส่กลับลงไปดินเฉลี่ยประมาณ 488.7 กิโลกรัม C ต่อไร่ (ตารางที่ 8) ในขณะที่ Matsumoto *et al.* (2008) รายงานไว้ว่าการไถกลบเศษซากข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 5 ที่ปลูกในดินทรายชุดดินสตึกทำให้มีคาร์บอนใส่กลับลงไปในดินจากส่วนของเศษซากต้น ใบ และกาบฝัก 176 – 352 กิโลกรัม C ต่อไร่ การไถกลบเศษซากของพืชที่ปลูกตามหลังข้าวโพดเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้อินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้น โดยพบว่าถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และข้าวฟ่าง ให้มวลน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 288 609 และ 1,596 กิโลกรัมต่อไร่ การไถกลบเศษซากต้นถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และข้าวฟ่าง ทำให้มีคาร์บอนกลับลงไปในดิน 90.1 192.4 และ517.1 กิโลกรัม C ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 6. คุณสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดินหลังเก็บเกี่ยว ที่ระดับความลึก 0-15 ซม. วิเคราะห์รวม 3 ปี (ปี พ.ศ.2549 - 2551)

Treatments	Organic matter (%)	Available P (mg/kg)	Exchangeable K (mg/kg)
T1) 0-0-0, mungbean	1.48 e	16 d	48 e
T2) 6.7-6.7-6.7, crotalaria	1.54 de	13 d	47 e
T3) 6.7-6.7-6.7, velvet	1.93 ab	16 d	72 cd
T4) 6.7-6.7-6.7, no-till, mungbean	1.71 c	21 d	139 b
T5) 6.7-6.7-6.7, soybean	1.54 de	20 d	44 e
T6) 6.7-6.7-6.7, sunflower	2.02 a	180 b	58 de
T7) 10-10-10, mungbean	1.46 e	62 c	59 de
T8) 10-10-10, crotalaria	1.62 cd	67 c	75 cd
T9) 10-10-10, velvet	1.85 b	70 c	86 c
T10) 10-10-10, no-till, mungbean	1.95 ab	66 c	178 a
T11) 10-10-10, soybean	1.60 cd	63 c	75 cd
T12) 10-10-10, sunflower	2.04 a	243 a	90 c
F-test	**	**	**
CV (%)	7.45	23.32	31.87

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ** : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

2) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ การใช้ปุ๋ยเคมีและวัสดุอินทรีย์กรรมวิธีต่างๆ ทำให้ดินมีปริมาณฟอสฟอรัสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยพบว่า การใส่ปุ๋ยเคมีอัตราสูงในกรรมวิธีที่ 7-12 ทำให้ดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร (ตารางที่ 6) หรือ 0-10 เซนติเมตร (ตารางที่ 7) มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในกรรมวิธีที่ 1 ซึ่งไม่ใส่ปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีที่ 2-6 ซึ่งใส่ปุ๋ยเคมีในอัตราต่ำ (ตารางที่ 6 และ 7) นอกจากนี้ยังพบว่าแปลงทดลองที่เคยใส่ปุ๋ยหมัก กทม. (กรรมวิธีที่ 6 และ 12) อย่างต่อเนื่องถึง 20 ปี และหยุดใส่ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 เป็นต้นมา มีฟอสฟอรัสในดินสูงมาก โดยค่าเฉลี่ยของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร ปีที่ 31-33 (ปี พ.ศ.2549 – 2551) เท่ากับ 175 และ 231 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 6) และค่าเฉลี่ยของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร ปีที่ 34-35 (ปี พ.ศ.2552 – 2553) เท่ากับ 137และ 135 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 7) ซึ่งหากดินมีฟอสฟอรัสตกค้างสะสมในความเข้มข้นสูงในลักษณะดังกล่าวนี้ สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้

3) โพแทสเซียม การใช้ฟางข้าวคลุมดินในอัตรา 640 กิโลกรัมต่อไร่ ติดต่อกันเป็นระยะเวลานานถึง 30 ปี และหลังจากหยุดใส่ฟางข้าวตั้งแต่ปีที่ 31 กลับพบว่าค่าเฉลี่ยของโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร ในปีที่ 31-33 (ปี พ.ศ.2549-2551) ของกรรมวิธีที่ 4 และ 10 ยังคงมีความเข้มข้นสูงเฉลี่ย 139 และ 178 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6) สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (*P<0.01*) และค่าเฉลี่ยของโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร ในปีที่ 34-35 (ปี พ.ศ. 2552-2553) เฉลี่ย 53 และ 78 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 7) ทั้งนี้เนื่องจากฟางข้าวมีโพแทสเซียมเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณสูง ซึ่งกลุ่มงานวิจัยความอุดมสมบูรณ์ของดินและปุ๋ยพืชไร่ (2541) ได้รายงานว่าฟางข้าวโดยทั่วไปมีโพแทสเซียม 1.72 กรัมต่อ 100 กรัม ดังนั้น หากใส่ฟางข้าวในอัตรา 640 กิโลกรัมต่อไร่ จะมีโพแทสเซียมเท่ากับ 11 กิโลกรัม K ต่อไร่ ดังนั้นเมื่อใช้ฟางข้าวคลุมดินติดต่อกันทุกปีเป็นระยะเวลานานจึงทำให้มีโพแทสเซียมสะสมในดินเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 7. คุณสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในดินหลังเก็บเกี่ยว ที่ระดับความลึก 0-10 ซม. วิเคราะห์รวม 2 ปี (ปี พ.ศ.2552 - 2553)

Treatments	Organic matter (%)	Available P (mg/kg)	Exchangeable K (mg/kg)
T1) 0-0-0, Mungbean	1.35 g	8 c	37 ef
T2) 9-3-3 , Cowpea	1.42 defg	10 c	34 f
T3) 9-3-3, Sorghum	1.67 bc	54 b	58 cdef
T4) 9-3-3, No till, Eucalyptus bark, Mungbean	1.50 cdefg	7 c	85 bc
T5) 9-3-3, Chicken manure, Cowpea	1.60 cd	40 bc	68 bcdef
T6) 9-3-3, Chicken manure, Sorghum	1.94 a	137 a	73 bcd
T7) 15-5-5, Mungbean	1.37 fg	36 bc	45 def
T8) 15-5-5, Cowpea	1.40 efg	24 bc	66 bcdef
T9) 15-5-5, Sorghum	1.56 cde	42 bc	70 bcde
T10) 15-5-5, No till, Eucalyptus bark, Mungbean	1.64 bc	37 bc	124 a
T11) 15-5-5, Chicken manure, Cowpea	1.54 cdef	58 b	71 bcde
T12) 15-5-5, Chicken manure, Sorghum	1.80 ab	135 a	95 ab
F-test	**	**	**
CV (%)	10.27	71.37	42.73

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ** : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

4. การดูดใช้ธาตุอาหารสู่ส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพด และพืชตามชนิดต่าง ๆ

ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด 1 ไร่ จะได้มวลน้ำหนักแห้งของต้นและใบ เมล็ด และซังข้าวโพด เฉลี่ย 1,532 713 145 กิโลกรัม ตามลำดับ โดยส่วนของต้นและใบข้าวโพดมีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นองค์ประกอบเฉลี่ย 0.79 0.08 และ 0.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นการไถกลบเศษซากต้นและใบข้าวโพดที่เหลืออยู่ในแปลงทำให้มีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ใส่กลับลงไปในดินเฉลี่ย 12.6 1.2 และ 14.8 กิโลกรัม N, P, K ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ซึ่งคิดเป็นมูลค่าเทียบเท่ากับปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่ได้จากการใส่ปุ๋ยยูเรีย ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต และโพแทสเซียมคลอไรด์ เท่ากับ 1,433.84 บาท (ตารางที่ 9) อย่างไรก็ตาม การเทียบมูลค่าของธาตุอาหารที่ได้จากการไถกลบเศษซากพืชกับปุ๋ยเคมีนี้ เป็นเพียงการเปรียบเทียบในเชิงปริมาณของธาตุที่เป็นองค์ประกอบเท่านั้น แต่การปลดปล่อยธาตุอาหารของปุ๋ยอินทรีย์แตกต่างจากปุ๋ยเคมี เนื่องจากธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในเศษซากพืชหรือวัสดุอินทรีย์นั้น ต้องผ่านการสลายตัวก่อนแล้วจึงสามารถปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาให้พืชใช้ประโยชน์ได้ ในขณะที่ปุ๋ยเคมีสามารถละลายหรือแตกตัวให้ธาตุอาหารที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที ศุภกาญจน์ (2551) ได้รายงานไว้ว่าวัสดุอินทรีย์ที่ใส่ลงไปในดินจะปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนอย่างรวดเร็วเพียง 10-30% ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบ โดยการปลดปล่อยจะเกิดขึ้นเร็วในช่วง 2 สัปดาห์แรกของการใส่วัสดุอินทรีย์ลงไปในดิน และหลังจากนั้นการปลดปล่อยไนโตรเจนจะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยและเป็นไปอย่างช้าๆ

เมล็ดของข้าวโพดมีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นองค์ประกอบเฉลี่ย 33.8 1.72 0.37 และ 0.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ที่สูญหายออกไปจากพื้นที่โดยติดไปกับผลผลิต (เมล็ด) เฉลี่ย 12.4 2.9 และ 4.6 กิโลกรัม N, P, K ต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนซังข้าวโพดซึ่งเป็นอีกส่วนหนึ่งที่นำออกไปจากพื้นที่คิดเป็นปริมาณธาตุอาหารเฉลี่ย 0.8 0.1 และ 1.0 กิโลกรัม N, P, K ต่อไร่ (ตารางที่ 8)

การไถกลบเศษซากพืชที่ปลูกตามหลังจากเก็บเกี่ยวข้าวโพดเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้มีธาตุอาหารใส่กลับลงไปในพื้นที่ โดยพบว่าถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และข้าวฟ่าง ให้มวลน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 288 609 และ 1,596 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ต้นถั่วเขียว ต้นถั่วพุ่ม และต้นข้าวฟ่างมีธาตุอาหารเป็นองค์ประกอบดังนี้ ไนโตรเจน 1.84 2.25 และ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ฟอสฟอรัส 0.24 0.28 และ 0.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และโพแทสเซียม 1.66 1.99 และ 0.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การไถกลบเศษซากต้นถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และข้าวฟ่าง ทำให้มีธาตุอาหารใส่กลับลงไปในดินดังนี้ ไนโตรเจน 5.3 13.7 และ 13.6 กิโลกรัม N ต่อไร่ ตามลำดับ ฟอสฟอรัส 0.7 1.7 และ 5.9 กิโลกรัม P ต่อไร่ ตามลำดับ และโพแทสเซียม 4.8 12.1 และ 12.8 กิโลกรัม K ต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 8. น้ำหนักแห้งและปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่างๆ ของข้าวโพด

Plant parts	Dry matter (kg/rai)	Nutrient concentration (%)				Nutrient uptake (kg/rai)			
		C	N	P	K	C	N	P	K
Stover	1,532	31.9	0.79	0.08	0.91	488.7	12.6	1.2	14.8
Grain	713	33.8	1.72	0.37	0.74	241.0	12.4	2.9	4.6
Cob	145		0.53	0.06	0.70		0.8	0.1	1.0

ตารางที่ 9. มูลค่าของธาตุอาหารในส่วนต่างๆ ของข้าวโพด เมื่อคำนวณเทียบเท่ากับมูลค่าของธาตุอาหารที่ได้จากปุ๋ยเคมี

Plant parts	Nutrients (kg/rai)				Nutrient values (Baht/rai)				
	C	N	P_2O_5	K_2O	C	N	P_2O_5	K_2O	Total
Stover	488.7	12.6	2.7	17.8	1,065.37	356.08	246.50	831.26	2,499.21
Grain	241.0	12.4	6.6	5.5	525.38	350.14	602.58	256.85	1,734.95
Cob		0.8	0.2	1.2		21.76	18.26	56.04	96.06

หมายเหตุ ราคามูลไก่ผสมแกลบ (ความชื้น 23%) 0.62 บาทต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (2.18 บาทต่อ 1 กิโลกรัม C) ยูเรีย 650 บาทต่อ 50 กิโลกรัม (28.26 บาทต่อ 1 กิโลกรัม N) ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 2,100 บาทต่อ 50 กิโลกรัม (91.3 บาทต่อ 1 กิโลกรัม P_2O_5) และโพแทสเซียมคลอไรด์ 1,400 บาทต่อ 50 กิโลกรัม (46.7 บาทต่อ 1 กิโลกรัม K_2O)

ตารางที่ 10. น้ำหนักแห้งและปริมาณธาตุอาหารในส่วนเหนือดินของถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และข้าวฟ่าง

Plant parts	Dry matter (kg/rai)	Nutrient concentration (%)				Nutrient uptake (kg/rai)			
		C	N	P	K	C	N	P	K
Mungbean	288	31.3	1.84	0.24	1.66	90.1	5.3	0.7	4.8
Cowpea	609	31.6	2.25	0.28	1.99	192.4	13.7	1.7	12.1
Sorghum	1,596	32.4	0.85	0.37	0.80	517.1	13.6	5.9	12.8

5. ผลของการจัดการดินและวัสดุอินทรีย์อย่างต่อเนื่องระยะยาวต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพด

การให้ผลผลิตของข้าวโพดในปีที่ 31 (ปี พ.ศ.2549) ในกรรมวิธีต่างๆแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 10-10-10 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และปลูกถั่วเวลเวทก่อนเก็บเกี่ยวข้าวโพด (กรรมวิธีที่ 9) ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1,151 กิโลกรัมต่อไร่ ตามด้วยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 6.7-6.7-6.7 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปลูกถั่วเวลเวท (กรรมวิธีที่ 3) ซึ่งให้ผลผลิต 1,021 กิโลกรัมต่อไร่

ในขณะที่กรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยเคมีแต่ปลูกถั่วเขียวหลังจากเก็บเกี่ยวข้าวโพด (กรรมวิธีที่ 1) ให้ผลผลิตต่ำสุดเฉลี่ย 440 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 11) แต่การให้ผลผลิตของข้าวโพดในปีที่ 32 และ 33 (ปี พ.ศ.2550 และ 2551) ในกรรมวิธีต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และได้ผลผลิตต่ำกว่าผลผลิตในปีที่ 31 ทั้งนี้เนื่องจากในปี พ.ศ.2550 และ 2551 ในช่วงฤดูปลูกมีปริมาณน้ำฝนน้อย 356 และ 413 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 12) ซึ่งอาจไม่เพียงพอแก่ความต้องการของข้าวโพดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงให้ผลผลิต เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำฝนในปี พ.ศ.2549 ซึ่งพบว่ามีปริมาณน้ำฝนสะสมในช่วงการเจริญเติบโตของข้าวโพดเท่ากับ 575 มิลลิเมตร จึงทำให้ได้ผลผลิตสูงกว่าในปี พ.ศ.2550-2551 ซึ่งสอดคล้องกับที่ Fageria *et al*. (1997) ระบุว่าปริมาณน้ำฝนในช่วงการเจริญเติบโตของข้าวโพดควรอยู่ในช่วง 460-600 มิลลิเมตร

เมื่อปรับเปลี่ยนกรรมวิธีใหม่ในปี พ.ศ.2552-2553 พบว่า กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราต่ำ (9-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) ร่วมกับใส่เปลือกไม้ยูคาลิปตัส (กรรมวิธีที่ 4) ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีในอัตราเดียวกัน (ตารางที่ 11) ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะเปลือกไม้ยูคาลิปตัสมีคาร์บอนสูงถึง 32.7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่มีไนโตรเจน 1.0 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 32.7:1 (ตารางที่ 4) ซึ่งค่อนข้างสูง ดังนั้น อาจมีผลทำให้เกิดกระบวนการ immobilization และทำให้พืชขาดไนโตรเจนได้ ซึ่งจากการสังเกตลักษณะของต้นข้าวโพดในแปลงทดลองในกรรมวิธีที่ใส่เปลือกไม้ยูคาลิปตัสพบว่าต้นข้าวโพดมีใบเหลืองกว่าในกรรมวิธีอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีในอัตราสูง 15-5-5 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับเปลือกไม้ยูคาลิปตัส ข้าวโพดเจริญเติบโตและให้ผลผลิตไม่แตกต่างจากกรรมวิธีอื่นๆ แสดงว่า หากใส่เปลือกไม้ยูคาลิปตัสในอัตรา 703 กิโลกรัมน้ำหนักแห้งต่อไร่ ต้องใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนในอัตราสูงเพื่อไมให้เกิด immobilization และเพื่อให้มีไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ในระดับที่เพียงพอต่อความต้องการของพืช หรืออาจนำเปลือกไม้ยูคาลิปตัสไปผ่านกระบวนการหมักเสียก่อนเพื่อให้สัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงต่ำกว่า 20:1

ตารางที่ 11. ผลของการจัดการดินและวัสดุอินทรีย์อย่างต่อเนื่องระยะยาวต่อการให้ผลผลิตของข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 2 ปีที่ 31-33 (ปี พ.ศ.2549 - 2551) และ ปีที่ 34-35 (ปี พ.ศ.2552 และปี พ.ศ. 2553)

Treatments	Yield (kg/rai)				Yield (kg/rai)		
	2006	2007	2008	Average 3 years	2009	2010	Average 2 years
T1	440 d	538	590	523 d	376 c	631 b	504 c
T2	926 abc	762	718	802 ab	596 ab	991 a	794 ab
T3	1,021 ab	724	628	791 abc	728 ab	1,073 a	901 a
T4	697 cd	706	624	675 bc	559 bc	753 b	656 b
T5	885 abc	715	620	740 abc	684 ab	1,069 a	877 a
T6	888 abc	772	740	800 ab	780 a	1,042 a	911 a
T7	768 bc	772	612	718 bc	599 ab	1,165 a	882 a
T8	755 bc	716	489	653 cd	681 ab	1,121 a	901 a
T9	1,151 a	830	608	863 a	764 ab	1,080 a	922 a
T10	884 abc	741	656	760 abc	644 ab	1,078 a	861 a
T11	916 abc	645	617	726 abc	667 ab	1,052 a	859 a
T12	861 abc	818	730	803 ab	746 ab	1,132 a	939 a
F-test	*	ns	ns	*	*	**	**
CV (%)	21.61	15.51	22.81	20.33	18.79	13.20	15.40

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT ns : ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ * : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ** : แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 13. ปริมาณน้ำฝนสะสมตลอดทั้งปี และปริมาณน้ำฝนสะสมในช่วงฤดูปลูกแต่ละปี

Year	Annual rainfall (mm)	Cumulative rainfall (mm) during cropping season (Planting date – Harvesting date)
2006	1,252	575 (17 May – 4 Sep. 2006)
2007	610	356 (11 May – 7 Sep. 2007)
2008	1,453	413 (15 May – 27 Aug. 2008)
2009	1,277	384 (4 May – 17 Aug. 2009)
2010	1,604	997 (25 May – 13 Sep. 2010)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การไถกลบเศษซากต้นข้าวโพดและพืชที่ปลูกตาม เช่น ถั่วเขียว ปอเทือง ถั่วเหลือง ถั่วเวลเวท ถั่วพุ่ม ทานตะวัน และข้าวฟ่าง กลับลงไปในดิน สามารถทำให้ดินมีอินทรีย์คาร์บอนเพิ่มขึ้น และหากมีการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมด้วยก็จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงดินมากขึ้น และการใช้ฟางข้าวคลุมดินทำให้โพแทสเซียมในดินเพิ่มขึ้นสูงกว่าวิธีอื่นๆ ส่วนการใช้ปุ๋ยหมักจากขยะทำให้ดินมีอินทรีย์คาร์บอนและฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด

การไถกลบเศษซากต้นและใบข้าวโพดที่เหลืออยู่ในแปลงทำให้มีคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ใส่กลับลงไปในดินเฉลี่ย 488.7 12.6 1.2 และ 14.8 กิโลกรัม N, P, K ต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นมูลค่าเทียบเท่ากับปริมาณคาร์บอนจากมูลไก่ และปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่ได้จากการใส่ปุ๋ยยูเรีย ทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต และโพแทสเซียมคลอไรด์ เท่ากับ 2,500 บาทต่อไร่ ดังนั้นจึงควรส่งเสริมให้เกษตรกรได้เล็งเห็นความสำคัญและมูลค่าของธาตุอาหารในเศษซากข้าวโพด และส่งเสริมให้ไถกลบเศษซากข้าวโพดเพื่อปรับปรุงบำรุงดิน ซึ่งช่วยให้ลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ส่วนหนึ่ง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากการศึกษาดังกล่าว สามารถนำไปใช้ในการให้คำแนะนำการใช้ปุ๋ยและการจัดการวัสดุอินทรีย์ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด โดยสามารถชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของการไถกลบเศษซากพืช ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถรักษาศักยภาพการผลิตของดินได้อย่างยั่งยืน

เอกสารอ้างอิง

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี สันติ ธีราภรณ์ ชลวุฒิ ละเอียด ดิสสพันธุ์ ธรรมาภิรมย์ สุปรานี มั่นหมาย พัชรินทร์ นามวงษ์ ลาวัณย์ จันทร์อัมพร สมควร คล้องช้าง และการุณ จิตวิโชติ. 2549. สมดุลของธาตุอาหารพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดชุดดินลพบุรี, น. 144-155 *ใน* ผลงานวิจัยเพื่อพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2549. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี. 2551. ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในปุ๋ยอินทรีย์, น. 88-102 , *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตและการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ ระหว่างวันที่ 5-6 มิถุนายน 2551. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

Fronning, B.E., K.D. Thelen, and D.H. Min. 2008. Use of Manure, Compost, and Cover Crops to Supplant Crop Residue Carbon in Corn Stover Removed Cropping Systems. Agron. J. 100 (6):1703-1710.

Fageria, N.K., V.C. Baligar, and C.A.Jones.1997. Growth and Mineral Nutrition of Field Crops. Marcel Dekker, Inc., New York, USA. 624 p.

Grant, R.F., N.G. Juma, J.A. Robertson, R.C. Izaurralde, and W.B. McGill. 2001. Long-Term Changes in Soil Carbon under Different Fertilizer, Manure, and Rotation: Testing the Mathematical Model Ecosystem with Data from the Breton Plots. Soil Sci. Soc. Am. J. 65: 205-214.

Matsumoto, N., K. Paisancharoen, and T. Hakamata. 2008. Carbon Balance in Maize Fields under Cattle Manure Application and No-Tillage Cultivation in Northeast Thailand. Soil Sci. Plant Nutr. 54: 277-288.

Rasmussen, P.E. and W.J. Parton. 1994. Long-Term Effects of Residue Management in Wheat-Fallow: I. Inputs, Yield, and Soil Organic Matter. Soil Sci. Soc. Am. J. 58: 523-530.

ผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพ ผลตกค้างของวัสดุอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตข้าวโพด

Effect of Biofertilizer, Organic Materials and Chemical Fertilizer on Corn Production

สมฤทัย ตันเจริญ[1] *สันติ ธีราภรณ์*[1] *ศุภกาญจน์ ล้วนมณี*[1] *ชลวุฒิ ละเอียด*[2] *สาธิต อารีรักษ์*[2]
สมควร คล้องช้าง[1] *ศิริขวัญ ภู่นา*[1] *อนุสรณ์ เทียนศิริฤกษ์*[1]
กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพ วัสดุอินทรีย์ และปุ๋ยเคมี ต่อผลผลิตข้าวโพดในดินเหนียวสีแดง วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี ดังนี้ (1) กรรมวิธีควบคุม (2) ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (3) ใส่ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ (4) ใส่ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ + ปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) (5) ใส่ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ (6) ใส่ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ + ปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) (7) ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ (8) ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ + ปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต)

ผลการทดลองพบว่า การเจริญเติบโตด้านความสูงของข้าวโพดที่อายุ 60 วัน และที่ระยะเก็บเกี่ยว การใช้ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ + ปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ทำให้ข้าวโพดมีความสูงสุด เท่ากับ 229.0 และ 227.6 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่ใส่ปุ๋ยเคมี กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว กรรมวิธีทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ และกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในด้านความสูงที่ระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโต โดยให้ค่าเฉลี่ยความสูงไม่แตกต่างกัน สำหรับองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตของข้าวโพดพบว่า ในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยมูลไก่ และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ไม่ทำให้จำนวนต้นต่อไร่ จำนวนฝักต่อไร่ แตกต่างกัน แต่ทำให้น้ำหนักต้นต่อไร่และผลผลิตของข้าวโพดในกรรมวิธีทดลองที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ มีผลผลิตของข้าวโพดสูงที่สุด เท่ากับ 1,207.8 กิโลกรัมต่อไร่

[1] กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

[2] ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

คำนำ

ดินเป็นองค์ประกอบหนึ่งในการผลิตพืช การใช้ที่ดินในการทำการเกษตรติดต่อกันย่อมทำให้สมบัติทางเคมีของดิน ได้แก่ ความเป็นกรดเป็นด่างเปลี่ยนแปลง ธาตุอาหารพืชลดน้อยลง อันเนื่องมากจากการชะล้างซึมลงสู่ชั้นล่างของดิน ถูกพัดพาไปกับดิน หรือถูกนำออกไปโดยผลผลิต ส่งผลทำให้สมบัติของดินเสื่อมลงไป เมื่อการจัดการดินขาดการบำรุงรักษา เช่น ไถดินที่ระดับเดียวต่อเนื่องเป็นเวลานานจะทำให้เกิดชั้นดินดาน หน้าดินแข็ง การปลูกพืชหรือไถเตรียมดินตามความลาดเททำให้มีการชะล้างพังทลายของดินสูง เป็นต้น การใช้สารเคมีกำจัดโรคแมลงและสารกำจัดวัชพืชสูง ทำให้นิเวศวิทยาของดินเปลี่ยนแปลงไปเป็นเหตุให้จุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตในดินลดต่ำลงอย่างมาก จากสาเหตุเหล่านี้เป็นผลทำให้ผลผลิตของพืชลดลง ดินที่ทำการเกษตรควรได้รับการแก้ไข เช่น ดินขาดความอุดมสมบูรณ์ควรจะมีการใช้ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพ และปุ๋ยพืชสด ที่พอเหมาะและเพียงพอแก่ความต้องการพืช

การปลูกพืชให้ได้ผลผลิตสูงๆ จำเป็นต้องมีการจัดการดินและพืชให้เหมาะสม ทั้งนี้ควรคำนึงถึงต้นทุนที่ใช้ในการผลิตและเพิ่มผลผลิตด้วย การใช้ปุ๋ยเคมีเป็นวิธีหนึ่งในการเพิ่มผลผลิต เนื่องจากปุ๋ยเคมีเป็นประโยชน์ต่อพืชทันที จึงสามารถใส่ให้ตรงกับเวลาที่พืชต้องการ แต่ก็เกิดการสูญเสียของปุ๋ยที่ต้องใส่บ่อยครั้งและใช้ในอัตราที่สูงเกินความต้องการของพืช ทำให้ความสมดุลของธาตุอาหารในดินเสียไปจึงเป็นการสูญเสียปุ๋ยโดยเปล่าประโยชน์ และปัจจุบันปุ๋ยเคมีมีราคาแพง ดังนั้นการนำปุ๋ยชีวภาพ วัสดุอินทรีย์มาใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในการจัดการดินและเพิ่มผลผลิตพืช และตอบสนองนโยบายของรัฐบาลที่ต้องการให้เกษตรกรลดการใช้ปุ๋ยเคมี แต่การใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพียงอย่างเดียวยังมีปริมาณธาตุอาหารที่ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของพืช ซึ่งวัตถุประสงค์ที่ใช้ปุ๋ยอินทรีย์นั้นเพื่อปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของดินเป็นหลัก ช่วยให้ธาตุอาหารพืชในดินสามารถปลดปล่อยออกมาและเป็นประโยชน์แก่พืชได้มากขึ้นแต่จะสามารถปลดปล่อยธาตุอาหารพืชออกมาอย่างช้า ๆ ต่างจากปุ๋ยเคมี เกิดการสูญเสียได้น้อยลงและปุ๋ยอินทรีย์ยังเป็นตัวที่ช่วยปรับโครงสร้างของดินด้วย ปุ๋ยอินทรีย์ช่วยปรับปรุงสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของดินได้มากกว่าปุ๋ยเคมี เพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในดินบางชนิดมากกว่าปุ๋ยเคมี (สมปอง และคณะ, 2549) การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ผสมกับปุ๋ยเคมีอย่างละครึ่งจะสามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ครึ่งหนึ่ง (สมบูรณ์ และคณะ, 2539) ส่วนปุ๋ยชีวภาพมีจุลินทรีย์ช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้แก่พืช เมื่อใส่ลงไปในดินแล้วจะเกิดการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ และยังคงมีอยู่ในดินหลังจากเก็บเกี่ยวพืช จึงไม่จำเป็นต้องใช้ปุ๋ยชีวภาพอีกจนกว่าจำนวนจุลินทรีย์ลดลง ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการใช้ปุ๋ยชีวภาพ (อำนาจ, 2551) จึงได้มีการศึกษาการใช้ปุ๋ยอย่างผสมผสานในการผลิตพืช ทั้งปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ เพื่อลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีลง โดยทำการศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพ วัสดุอินทรีย์ และปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตข้าวโพด เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิชาการและเป็นเทคโนโลยีในการจัดการปุ๋ยแบบผสมผสานที่เหมาะกับพืชสำหรับการนำไปแนะนำและเผยแพร่ให้แก่เกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 3
2. ปุ๋ยเคมีที่ใช้ทดลอง ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต โพแทสเซียมคลอไรด์
3. ปุ๋ยชีวภาพ จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต
4. ปุ๋ยมูลไก่

วิธีการ

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี ดังนี้ (1) กรรมวิธีควบคุม (2) ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (3) ใส่ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ (4) ใส่ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ + ปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) (5) ใส่ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ (6) ใส่ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ + ปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) (7) ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ (8) ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ + ปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต)

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง

ไถเตรียมดิน 2 ครั้ง ครั้งแรกทำการไถด้วยผาล 3 ตากดินไว้ 10 วัน แล้วไถแปรครั้งที่ 2 ด้วยผาล 7 ปรับพื้นที่และเก็บวัชพืชออกจากแปลง ปักหลักแบ่งแปลงย่อย โดยมีขนาดของแปลงย่อย 6x6 เมตร ระยะปลูกข้าวโพด 0.75x0.25 เมตร จำนวน 1 ต้นต่อหลุม ก่อนปลูกทำการหว่านปุ๋ยอินทรีย์มูลไก่อัตรา 1 ตันต่อไร่ ในกรรมวิธีทดลองที่ใช้ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตให้ใส่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยมูลไก่ โดยทำการหว่านมูลไก่และใส่ปุ๋ยชีวภาพก่อนปลูก 2 สัปดาห์ แล้วสับกลบคลุกเคล้าให้เข้ากับดิน ใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจน ½N ร่วมกับปุ๋ยทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ทั้งหมดรองก้นร่องตอนปลูกข้าวโพด แล้วสับกลบปุ๋ยเคมีลงดินก่อนปลูกข้าวโพด ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหลือ ½N ใส่เมื่อข้าวโพดอายุ 30 วัน โดยโรยทั้งสองข้างของแถวข้าวโพดแล้วพรวนดินกลบ พื้นที่เก็บเกี่ยวข้าวโพด 3x4 เมตร ทำการเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร มาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในดินก่อนปลูกและหลังเก็บเกี่ยว โดยวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และตัวอย่างปุ๋ยมูลไก่มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา และบันทึกข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตข้าวโพด ได้แก่ จำนวนต้นต่อไร่ จำนวนฝักต่อไร่ น้ำหนักต้นต่อไร่ ผลผลิตข้าวโพด วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในพืชหลังเก็บเกี่ยว วิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติของ IRRISTAT เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และเปรียบเทียบผลตอบแทนทางเศรษฐกิจโดยใช้อัตราผลตอบแทนกำไรสูงสุด (value cost ratio, VCR)

ระยะเวลา ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์
ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลอง

ดินที่ใช้ทำการทดลองเป็นดินร่วนปนดินเหนียวสีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลปนแดง ชุดดินวังไฮ (Wang Hai series: Wi) จัดอยู่ในอันดับ Alfisols ในระบบอนุกรมวิธานจัดอยู่ในจำพวก Oxyaquic (Ultic) Paleustalfs, fine, mixed, active, isohyperthermic และจัดอยู่ในกลุ่มชุดดินที่ 31 (www.ldd.go.th) เป็นดินลึกมาก มีการระบายน้ำดี น้ำซึมผ่านได้ปานกลางถึงช้า การไหลบ่าของน้ำบนผิวดินเร็วถึงปานกลาง ความอุดมสมบูรณ์ของดินปานกลาง ดินบนเป็นดินร่วนปนดินเหนียวหรือดินร่วนเหนียวปนทรายแป้งสีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลปนแดงเข้ม ดินล่างเป็นดินเหนียวหรือดินร่วนปนดินเหนียวสีน้ำตาลปนแดง สีน้ำตาลถึงสีแดงปนเหลืองหรือสีแดง จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลองพบว่า ดินที่ทำการทดลองมีความอุดมสมบูรณ์ของดินปานกลาง โดยดินมีปฏิกิริยาดินเป็นกรดเล็กน้อย (pH 6.19) ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับต่ำ (1.46 เปอร์เซ็นต์) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินอยู่ในระดับที่ต่ำ (0.10 เปอร์เซ็นต์) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชปานกลาง (16.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์มีอยู่ในระดับปานกลาง (80.28 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินอยู่ในระดับปานกลาง เท่ากับ 3,825 และ 161.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1)

2. สมบัติทางเคมีของวัสดุอินทรีย์

วัสดุอินทรีย์สำหรับทำการทดลองเป็นปุ๋ยมูลไก่ ซึ่งนำมาวิเคราะห์สมบัติของวัสดุอินทรีย์ก่อนนำไปใช้ทดลองให้ผลวิเคราะห์ดังนี้ pH เป็นกลาง (7.47) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) 4.34 เดซิซีเมนต่อเมตร ปริมาณอินทรียวัตถุ 27.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสเฟตทั้งหมด และโพแทชทั้งหมดของปุ๋ยมูลไก่ มีค่า 0.97 1.98 และ 3.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

3. สมบัติทางเคมีของดินหลังทดลอง

สมบัติทางเคมีของดินหลังการทดลอง (ตารางที่ 3) พบว่า ดินมีปฏิกิริยาดินกรดแก่ถึงกรดเล็กน้อย (5.55-6.51) ค่าการนำไฟฟ้าโดยเฉลี่ย 0.02 มิลลิซีเมนต่อเมตร ปริมาณอินทรียวัตถุในดินอยู่ในระดับต่ำแต่มีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นกว่าดินก่อนทำการทดลอง เนื่องจากการใส่ปุ๋ยอินทรีย์จะช่วยเพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุในดินให้อยู่ในระดับที่สูงขึ้น ส่วนที่เหลือจากการที่พืชดึงดูดธาตุอาหารไปใช้ก็จะยังคงสะสมอยู่ในดิน โดยกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ดินจะมีปริมาณอินทรียวัตถุสูงกว่ากรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว แตกต่างทางสถิติอย่างนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินเฉลี่ยอยู่ในระดับปานกลาง (0.093 เปอร์เซ็นต์) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ก็ให้ผลการทดลองทำนองเดียวกัน โดยหลังการทดลองดินจะมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงขึ้นจากดินก่อนการทดลอง มีเฉลี่ยเท่ากับ 35.9 และ 142.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินในทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 ร่วมกับมูลไก่และปุ๋ยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต และ จะมีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงสุด เท่ากับ 175.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่แตกต่างกับการใช้ ปุ๋ยเคมี 10-5-5 ร่วมกับมูลไก่ แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 3)

4. การเจริญเติบโตของข้าวโพด

4.1 ความสูงของข้าวโพดที่อายุ 30 วัน

การเจริญเติบโตของข้าวโพดด้านความสูงที่อายุ 30 วัน พบว่า กรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ และการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ ความสูงของข้าวโพดโดยเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีการใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ของ $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ข้าวโพดมีความสูงมากที่สุดที่อายุ 30 วัน เท่ากับ 112.6 เซนติเมตร (ตารางที่ 4)

4.2 ความสูงของข้าวโพดที่อายุ 60 วัน

การใช้ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ของ $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ทำให้ข้าวโพดมีความสูงมากสุด เท่ากับ 229 เซนติเมตร แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ และกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) (ตารางที่ 4)

4.3 ความสูงของข้าวโพดที่ระยะก่อนเก็บเกี่ยว

ความสูงของข้าวโพดที่ระยะก่อนเก็บเกี่ยว ให้ผลในทำนองเดียวกันกับความสูงของข้าวโพดที่อายุ 60 วัน พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ของ $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ทำให้ข้าวโพดมีความสูงมากสุด เท่ากับ 227.6 เซนติเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ และกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพในทุกกรรมวิธี และกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 4)

5. องค์ประกอบผลผลิตข้าวโพด

5.1 จำนวนต้นต่อไร่

ในทุกกรรมวิธีพบว่า การใช้ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยมูลไก่ และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ไม่ทำให้จำนวนต้นต่อไร่ แตกต่างกันกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5) การใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ของ $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ ให้จำนวนต้นต่อไร่สูงสุดเท่ากัน คือ 8,489 ต้นต่อไร่

5.2 จำนวนฝักต่อไร่

การใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ของ $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ ทำให้จำนวนฝักต่อไร่ของข้าวโพดสูงสุด เท่ากับ 8,533 ฝักต่อไร่ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว กรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ และกรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ (ตารางที่ 5)

5.3 น้ำหนักต้นต่อไร่

ในกรรมวิธีทดลองที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ทำให้น้ำหนักต้นต่อไร่ สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม และการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ของ $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) มีน้ำหนักต้นต่อไร่ของข้าวโพดสูงที่สุด เท่ากับ 2,525.9 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5)

5.4 น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์

การใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ของ N-P_2O_5-K_2O และการใช้ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5 กิโลกรัมต่อไร่ของ N-P_2O_5-K_2O ทั้งที่มีการใส่หรือไม่ใส่ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ จะให้น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้ปุ๋ยเคมีลดลงเป็น 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ของ N-P_2O_5-K_2O จะให้น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ต่ำกว่า จำเป็นจะต้องใช้ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) เพื่อให้มีธาตุอาหารในปริมาณที่เพียงพอสำหรับข้าวโพดไว้ใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างเมล็ด (ตารางที่ 5)

5.5 ผลผลิตข้าวโพด

การใช้ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยมูลไก่ และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ทำให้ผลผลิตข้าวโพดในกรรมวิธีทดลองที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ มีผลผลิตข้าวโพดสูงที่สุด เท่ากับ 1,207.8 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5)

6. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ จากการใช้ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยมูลไก่ และปุ๋ยชีวภาพในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า มีค่า VCR อยู่ในช่วง 1.32-2.92 การใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน 20-10-10 มีค่า VCR สูงสุดเท่ากับ 2.92 ใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยเคมี 10-5-5 ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ ซึ่งมีค่า VCR เท่ากับ 2.84 นั่นแสดงให้เห็นว่า สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้ โดยการใช้ปุ๋ยเคมีลดลงครึ่งอัตราร่วมกับมีการใช้ปุ๋ยมูลไก่ โดยที่ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 6)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การใช้ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ต่อผลผลิตข้าวโพดในดินเหนียวสีแดง ทำให้ดินมีปริมาณอินทรียวัตถุในดิน และเพิ่มปริมาณธาตุอาหารพืชที่อยู่ในดินให้เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้น โดยจะช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน

การใช้ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ทำให้ความสูงของข้าวโพดที่อายุ 60 วัน และที่ระยะเก็บเกี่ยว แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่ใส่ปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว กรรมวิธีทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ และกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในด้านความสูงที่ระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโต โดยให้ค่าเฉลี่ยความสูงไม่แตกต่างกัน

สำหรับองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตของข้าวโพดพบว่า ในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยมูลไก่ และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ไม่ทำให้จำนวนต้นต่อไร่ จำนวนฝักต่อไร่ แตกต่างกัน แต่ทำให้น้ำหนักต้นต่อไร่และผลผลิตของข้าวโพดในกรรมวิธีทดลองที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใช้ปุ๋ยเคมี 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ ของ N-P_2O_5-K_2O ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ มีผลผลิตข้าวโพดสูงที่สุด เท่ากับ 1,207.8 กิโลกรัมต่อไร่ การใช้ปุ๋ยเคมีอัตรา 20-10-10 กิโลกรัมต่อไร่ของ N-P_2O_5-K_2O และการใช้ปุ๋ยเคมีอัตรา 15-7.5-7.5 กิโลกรัม

ต่อไร่ของ N-P_2O_5-K_2O ทั้งที่มีการใส่หรือไม่ใส่ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่และปุ๋ยชีวภาพ ผลผลิตข้าวโพดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ถ้าอัตราการใช้ปุ๋ยเคมีลดลงเป็น 10-5-5 กิโลกรัมต่อไร่ของ N-P_2O_5-K_2O จำเป็นจะต้องใช้ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ และปุ๋ยชีวภาพ (จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต) ทั้งนี้เนื่องจากปุ๋ยไนโตรเจนจำเป็นต่อการเพิ่มผลผลิตข้าวโพด การใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนในอัตราต่ำลงทำให้ผลผลิตข้าวโพดต่ำกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีที่มีไนโตรเจนอัตราสูง จึงต้องใส่ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพร่วมด้วยเพื่อให้มีธาตุอาหารในปริมาณที่เพียงพอสำหรับข้าวโพดไว้ใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างเมล็ด

เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ การใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน 20-10-10 มีค่า VCR สูงสุดเท่ากับ 2.92 ใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยเคมี 10-5-5 ร่วมกับปุ๋ยมูลไก่ ซึ่งมีค่า VCR เท่ากับ 2.84 ดังนั้น สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้ โดยการใช้ปุ๋ยเคมีลดลงครึ่งอัตราร่วมกับมีการใช้ปุ๋ยมูลไก่ โดยที่ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว

การนำไปใช้ประโยชน์

นำไปใช้ประโยชน์ โดยแนะนำให้เกษตรกรและนักวิชาการเกษตร ทราบวิธีการใช้ปุ๋ยเคมี ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพอย่างผสมผสาน เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตพืช และช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ ทำให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนการผลิตพืชลง โดยการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน 20-10-10 ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ (กำไร) สูงสุด ใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินลดลงครึ่งอัตราร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์มูลไก่

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2541. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยพืชไร่อย่างมีประสิทธิภาพ. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 60 หน้า

จิระศักดิ์ อรุณศรี ภาวนา ลิกขนานนท์ สุภาพร ธรรมสุระกุล และสมปอง หมื่นแจ้ง. 2548. ปุ๋ยชีวภาพและผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 40 หน้า

สมบูรณ์ ประภาพรรณพงศ์ จันทิรา อริยธัช และลัดดาวัลย์ มีสุข. 2539. อิทธิพลของการใช้ Activated Sludge Cake, Filter Cake และ Slop Ash ในรูปของปุ๋ยอัดเม็ดต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพดในดินชุดมาบบอน.เอกสารประชุมวิชาการด้านปฐพีวิทยา. หน้า 11-18.

สมปอง หมื่นแจ้ง สุวพันธ์ รัตนะรัตน์ สมบูรณ์ ประภาพรรณพงศ์ ภาวนา ลิกขนานนท์ และ ไพฑูรย์ พูลสวัสดิ์. 2549. คู่มือปุ๋ยอินทรีย์ (ฉบับนักวิชาการ) เอกสารวิชาการกรมวิชาการเกษตร.กรุงเทพฯ. 162 หน้า.

อำนาจ สุวรรณฤทธิ์. 2551. ปุ๋ยกับการเกษตรและสิ่งแวดล้อม. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 156 หน้า.

www.ldd.go.th

ภาคผนวก

ตารางที่ 1. สมบัติทางเคมีของดินเหนียวสีแดงก่อนปลูกปี 2551

pH (1:1)	EC (มล.ซีเมนซ์/ซม.)	O.M. (%)	Total N (%)	Avai. P (มก./กก.)	Exch. K (มก./กก.)	Exch. Ca (มก./กก.)	Exch. Mg (มก./กก.)
6.19	0.03	1.46	0.10	16.02	80.28	3825	161.3

ตารางที่ 2. สมบัติทางเคมีของวัสดุอินทรีย์ (มูลไก่)

pH (1:5)	EC (มล.ซีเมนซ์/ซม.)	O.M. (%)	Total N (%)	Total P_2O_5 (%)	Total K_2O (%)
7.47	4.34	27.6	0.97	1.98	3.98

ตารางที่ 3. สมบัติทางเคมีของดินเหนียวสีแดงหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพด (เฉลี่ย 3 ปี)

กรรมวิธี	pH (1:1)	EC (มล.ซีเมนซ์/ซม.)	OM (%)	Total N (%)	Avai. P (มก./กก.)	Exch. K (มก./กก.)
1. กรรมวิธีควบคุม	6.51 a	0.03 a	1.48 b	0.099 a	19.1 c	112.2 b
2. ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (20-10-10)	5.85 abc	0.02 ab	1.54 ab	0.089 a	37.6 abc	114.1 b
3. ปุ๋ยเคมี 20-10-10+มูลไก่	6.24 ab	0.03 a	1.60 ab	0.089 a	39.7 abc	143.3 ab
4. ปุ๋ยเคมี 20-10-10+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	5.88 ab	0.02 ab	1.69 a	0.095 a	55.9 a	175.7 a
5. ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5+มูลไก่	5.55 c	0.01 b	1.69 a	0.092 a	28.3 bc	133.8 ab
6. ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	6.47 a	0.03 a	1.62 abc	0.087 a	45.4 ab	156.3 ab
7. ปุ๋ยเคมี 10-5-5+มูลไก่	6.10 abc	0.02 ab	1.71 a	0.098 a	37.4 abc	174.8 a
8. ปุ๋ยเคมี 10-5-5+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	5.78 bc	0.02 ab	1.68 a	0.094 a	23.9 bc	132.4 ab
เฉลี่ย	6.04	0.02	1.62	0.093	35.9	142.8
F-test	*	ns	ns	<1	ns	*
C.V. (%)	5.7	27.0	6.3	11.8	36.0	17.6

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4. ความสูงเฉลี่ย 3 ปี ของข้าวโพดเมื่ออายุ 30 วัน 60 วัน และก่อนเก็บเกี่ยว ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์

กรรมวิธีทดลอง	ความสูง (ซม.)		
	อายุ 30 วัน	อายุ 60 วัน	ก่อนเก็บเกี่ยว
1. กรรมวิธีควบคุม	90.7 b	196.9 c	192.4 b
2. ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (20-10-10)	103.9 a	221.2 b	219.6 a
3. ปุ๋ยเคมี 20-10-10+มูลไก่	110.2 a	224.1 ab	222.8 a
4. ปุ๋ยเคมี 20-10-10+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	112.6 a	227.6 a	224.8 a
5. ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5+มูลไก่	108.9 a	224.6 ab	222.4 a
6. ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	107.4 a	225.3 ab	223.4 a
7. ปุ๋ยเคมี 10-5-5+มูลไก่	111.4 a	224.6 ab	222.5 a
8. ปุ๋ยเคมี 10-5-5+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	111.7 a	229.0 a	227.6 a
เฉลี่ย	107.1	221.7	219.4
F-test	**	**	**
C.V. (%)	5.5	1.2	1.9

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5. องค์ประกอบผลผลิต และผลผลิตเฉลี่ยของข้าวโพด เฉลี่ย 3 ปี

กรรมวิธีทดลอง	จำนวนต้น (ต้น/ไร่)	จำนวนฝัก (ฝัก/ไร่)	น้ำหนักต้น (กก./ไร่)	น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 15% (กรัม/100 เมล็ด)	ผลผลิต (กก./ไร่)
1. กรรมวิธีควบคุม	8,504 a	8,415 a	1,259.3 c	3.9 b	523.7 b
2. ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (20-10-10)	8,370 a	8,415 a	2,222.2 b	8.7 a	1,156.8 a
3. ปุ๋ยเคมี 20-10-10+มูลไก่	8,489 a	8,533 a	2,429.6 ab	9.0 a	1,197.7 a
4. ปุ๋ยเคมี 20-10-10+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	8,415 a	8,444 a	2,525.9 ab	9.1 a	1,207.8 a
5. ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5+มูลไก่	8,444 a	8,489 a	2,407.4 ab	9.0 a	1,193.5 a
6. ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	8,459 a	8,459 a	2,266.7 ab	8.6 a	1,151.3 a
7. ปุ๋ยเคมี 10-5-5+มูลไก่	8,370 a	8,400 a	2,348.1 ab	8.5 a	1,139.5 a
8. ปุ๋ยเคมี 10-5-5+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	8,430 a	8,459 a	2,355.6 ab	8.8 a	1,175.6 a
เฉลี่ย	8,435	8,452	2,227.6	8.0	1,093.0
F-test	<1	<1	**	**	**
C.V. (%)	1.1	1.2	6.9	5.5	5.4

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 6. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพด เฉลี่ย 3 ปี

กรรมวิธีทดลอง	ผลผลิต (กก./ไร่)	ผลผลิตเพิ่ม	มูลค่าผลผลิตเพิ่ม	มูลค่าปุ๋ยที่ใช้ (บาท/ไร่)	กำไร	VCR
1. กรรมวิธีควบคุม	523.7	-	-	-	-	-
2. ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (20-10-10)	1,156.8	633.1	4,394	1,506	2,888	2.92
3. ปุ๋ยเคมี 20-10-10+มูลไก่	1,197.7	674.0	4,678	2,256	2,422	2.07
4. ปุ๋ยเคมี 20-10-10+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	1,207.8	684.1	4,748	2,356	2,392	2.02
5. ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5+มูลไก่	1,193.5	669.8	4,648	1,879	2,769	2.47
6. ปุ๋ยเคมี 15-7.5-7.5+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	1,151.3	627.6	4,356	1,979	2,377	2.20
7. ปุ๋ยเคมี 10-5-5+มูลไก่	1,139.5	615.8	4,274	1,503	2,771	2.84
8. ปุ๋ยเคมี 10-5-5+มูลไก่+จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	1,175.6	651.9	4,524	1,602	2,922	2.82

ราคาปุ๋ยยูเรีย	13.15	บาท/กิโลกรัม
ราคาปุ๋ยเคมี 15-15-15	18.30	บาท/กิโลกรัม
ราคาปุ๋ยมูลไก่แกลบ	0.75	บาท/กิโลกรัม
ราคาปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต	30	บาท/500 กรัม
ราคาเมล็ดข้าวโพด	6.94	บาท/กิโลกรัม

VCR = มูลค่าผลผลิตที่เพิ่ม/มูลค่าปุ๋ยที่ใช้

ศึกษาการสลายตัวและการปลดปล่อยธาตุไนโตรเจนของแหนแดงในดินสภาพต่าง ๆ

ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต *ประไพ ทองระอา*
กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

แหนแดงเป็นปุ๋ยชีวภาพชนิดหนึ่งซึ่งถูกนำมาใช้ในรูปของปุ๋ยพืชสด สามารถขยายตัวได้รวดเร็ว ให้ผลผลิตเป็นปุ๋ยพืชสด 3 ตันต่อไร่ และตรึงไนโตรเจนได้สูงถึง 5–10 กิโลกรัมต่อไร่ การศึกษาการปลดปล่อยไนโตรเจนของแหนแดงในดินสองลักษณะคือ ชุดดินตาคลีตัวแทนดินขังน้ำและชุดดินร้อยเอ็ดตัวแทนดินไร่ เพื่อเป็นข้อมูลในการใช้แหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสดให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยบ่มดินร่วมกับแหนแดงในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา พบว่าชุดดินตาคลีมีการปลดปล่อยแอมโมเนียมสูงสุดในวันที่ 14 มีปริมาณเท่ากับ 3,013 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนในชุดดินร้อยเอ็ดมีการปลดปล่อยสูงสุดในวันที่ 21 มีปริมาณเท่ากับ 4,949 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับปริมาณการปลดปล่อยไนเตรทของทั้ง 2 ชุดดินก็พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับการปลดปล่อยแอมโมเนียม โดยในชุดดินตาคลีมีการปลดปล่อยไนเตรทสูงสุดในวันที่ 14 มีปริมาณเท่ากับ 3,391 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนในชุดดินร้อยเอ็ดมีการปลดปล่อยสูงสุดในวันที่ 21 มีปริมาณเท่ากับ 4,529 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเมื่อนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด พบว่าชุดดินตาคลีมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 1.9×10^6 cfu/มิลลิลิตร ในขณะที่ชุดดินร้อยเอ็ดมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 1.8×10^5 cfu/มิลลิลิตร

บทนำ

แหนแดงเป็นปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์ในรูปของปุ๋ยพืชสด เนื่องจากมีองค์ประกอบของไนโตรเจนสูง โดยไนโตรเจนที่ได้นั้นผ่านมาจากกระบวนการตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อาศัยอยู่ในโพรงใบของแหนแดง โดย Singh (1979) รายงานว่าความสามารถของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในแหนแดงนั้นสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ 6-10 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ภายในระยะเวลา 30 วัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Watanabe และคณะ (1980) พบว่าแหนแดงสามารถตรึงไนโตรเจนได้ถึงปีละ 70 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งเป็นปริมาณไนโตรเจนที่สูงเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของพืช นอกจากนี้แหนแดงยังสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตน้ำหนักสดถึง 3 ตันต่อไร่ ในระยะเวลาเพียง 4-6 สัปดาห์ และเนื่องจากแหนแดงมีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำทำให้การสลายตัวค่อนข้างรวดเร็ว และปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปที่เป็นประโยชน์แก่พืช โดยกระบวนการ mineralization จึงทำให้แหนแดงเหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งของไนโตรเจนและอินทรียวัตถุในการผลิตพืช เนื่องจากมีต้นทุนการผลิตต่ำ และสามารถผลิตใช้ได้เองในพื้นที่จำนวนมาก

การปลดปล่อยไนโตรเจนจะขึ้นอยู่กับกระบวนการ N-mineralisation โดยเป็นการเปลี่ยนรูปจากสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนไปอยู่ในรูปสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจน (Knoepp และคณะ, 2000) ซึ่งกระบวนการทางชีวเคมีนี้ จะมีจุลินทรีย์ในดินแสดงบทบาทสำคัญในการทำให้เกิด N-mineralisation โดยขึ้นอยู่กับปัจจัย ต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความ เป็นกรด-ด่าง และชนิดของอินทรียสารในดิน การศึกษาดินที่อยู่ในสภาพขังน้ำ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมี กายภาพ และชีวภาพที่แตกต่างจากสภาพดินไร่ (ทัศนีย์, 2543) ปกติโดยทั่วไปการใช้แหนแดงนั้นจำกัดอยู่เฉพาะในนาข้าว เนื่องจากแหนแดงจะเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็วในสภาพน้ำขังนิ่ง แต่การใช้ประโยชน์จากแหนแดงไม่เพียงแต่จะจำกัดอยู่เฉพาะในนาข้าวแต่ยังสามารถใช้ประโยชน์กับในพืชชนิดอื่นๆ ด้วย นอกจากแหนแดงสามารถจะใช้เพื่อเพิ่มไนโตรเจนแล้วยังช่วยเพิ่มอินทรียวัตถุในดินได้อย่างเห็นได้ชัด (Ramesh และ Chandrasekaran, 2004) การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงรูปแบบและปริมาณการปลดปล่อยไนโตรเจนทั้งในชุดดินตาคลีในสภาพขังน้ำและชุดดินร้อยเอ็ดในสภาพความจุความชื้นสนาม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ชุดดินร้อยเอ็ดและชุดดินตาคลี
2. แหนแดง
3. ขวดสำหรับ incubation
4. เครื่องกลั่นไนโตรเจน
5. ตู้บ่ม
6. เครื่องเขย่า
7. อุปกรณ์ที่ใช้ทดลองในห้องปฏิบัติการทางเคมีทั่วไป เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง ฯลฯ
8. สารเคมีต่างๆ

วิธีการ

นำชุดดินตาคลีและชุดดินร้อยเอ็ดมาตากแห้ง แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี และทำการทดลอง จากนั้นนำดินที่ได้มาชั่งแล้วคลุกเคล้ากับแหนแดง โดยชั่งดิน 10 กรัม ผสมกับแหนแดงแห้งที่บดละเอียด ปริมาณ 1 กรัม ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วใส่ในขวดแก้ว ปรับสภาพความชื้นเป็น 2 ระดับคือ

- ชุดดินตาคลี สภาพขังน้ำ โดยเติมน้ำ 15 มิลลิลิตร
- ชุดดินร้อยเอ็ด ระดับความจุความชื้นสนาม (60 % water holding capacity)

ปิดฝาขวดแก้ว แล้วนำไปทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70, 84 และ 98 วันตามลำดับ เมื่อครบกำหนดในแต่ละช่วง นำดินในขวดแก้วมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียม (NH_4^+) และไนเตรต (NO_3^-) โดยสกัดดินที่บ่มด้วยน้ำยา KCl ความเข้มข้น 2N โดยใช้อัตราดินต่อน้ำ 1:10 แล้วกลั่นด้วยวิธีของ Kjeldahl

ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2552

สถานที่ทำการวิจัย

กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การปลดปล่อยไนโตรเจนในรูป NH_4^+-N ของดินที่ผสมแหนแดงโดยการบ่มดินในสภาพขังน้ำของชุดดินตาคลีและในสภาพความจุความชื้นสนามของชุดดินร้อยเอ็ดนั้น พบว่ามีการปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมนั้น เริ่มตั้งแต่ในวันแรกของการบ่มในสภาพของดินขังน้ำ จากนั้นจะมีการปลดปล่อยสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีค่าสูงสุดในวันที่ 14 ของการบ่ม โดยมีปริมาณเท่ากับ 3,013 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นจะลดลงและคงที่อยู่ประมาณหนึ่งสัปดาห์ แล้วจึงลดลงอย่างรวดเร็วอีกครั้ง สำหรับในสภาพความจุความชื้นสนามของชุดดินร้อยเอ็ดนั้น พบว่าในระยะ 7 วันแรกของการบ่ม การปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมนั้นน้อยกว่าในสภาพดินขังน้ำ แต่หลังจากนั้นจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและมีค่าสูงสุดในวันที่ 21 มีปริมาณเท่ากับ 4,949 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นจะลดลงและคงที่ประมาณ 2 สัปดาห์ แล้วจึงลดลงเป็นกราฟรูปแบบเดียวกันกับดินสภาพขังน้ำ (ภาพที่ 1) และจากการทดลองพบว่าในดินที่มีสภาพความจุความชื้นสนามจะมีการปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมสูงกว่า 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นานถึง 5 สัปดาห์ ในขณะที่ดินสภาพขังน้ำจะปลดปล่อยได้นาน 3 สัปดาห์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในชุดดินตาคลีที่อยู่สภาพดินขังน้ำถึงแม้ว่าจะปริมาณจุลินทรีย์ดินสูงกว่าในเริ่มต้น (ตารางที่ 2) แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ส่วนใหญ่จะมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพที่มีออกซิเจน ดังนั้นจึงเห็นว่าในช่วงแรกจะมีการปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมที่สูงกว่าในชุดดินร้อยเอ็ดโดยเป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ในสภาพไม่มีออกซิเจน แต่เมื่อเวลาผ่านไปจุลินทรีย์ในดินที่มีความจุความชื้นสนามซึ่งเหมาะสมกว่า ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณได้สูงขึ้นและสามารถทำให้เกิดกิจกรรมการเปลี่ยนรูปจากสารอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นสารอนินทรีย์ไนโตรเจนได้สูงกว่าในดินสภาพขังน้ำ

จากการศึกษาปริมาณการปลดปล่อยไนเตรท NO_3^- - N ของทั้ง 2 ชุดดินก็พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับการปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม โดยในดินตาคลีมีการปลดปล่อยไนเตรทสูงสุดในวันที่ 14 มีปริมาณเท่ากับ 3,391 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนในดินร้อยเอ็ดมีการปลดปล่อยสูงสุดในวันที่ 21 มีปริมาณเท่ากับ 4,529 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 2)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองพบว่าการปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมและไนเตรท ในชุดดินร้อยเอ็ดที่สภาพความจุความชื้นสนามมีปริมาณการปลดปล่อยไนโตรเจนที่สูงและนานกว่าในชุดดินตาคลีที่สภาพขังน้ำ และในดินที่สภาพความจุความชื้นสนามปริมาณการปลดปล่อยไนโตรเจนจะยาวนานถึง 7 สัปดาห์ ซึ่งเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในแปลงพืชผัก และอื่นๆ เนื่องจากเป็นช่วงการของเจริญเติบโตของพืช และทำให้ทราบถึงรูปแบบและปริมาณการปลดปล่อยไนโตรเจน เพื่อประเมินประสิทธิภาพในการใช้ธาตุไนโตรเจนจากแหนแดง ทั้งในสภาพขังน้ำและในสภาพความจุความชื้นสนาม สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ทั้งในนาข้าวหรือในการปลูกพืชอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

ทัศนีย์ อัตตะนันทน์. 2543. ดินที่ใช้ปลูกข้าว. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Knoepp,J.D., D.C. Coleman, D.A. Crossley Jr., and J.S. Clark. 2000. Biological indices of soil quality: an ecosystem case study of their use. For. Ecol. Manage. 138:357-368.

Ramesh, K. and B. Chandrasekaran. 2004. Soil Organic carbon bulk-up and dynamics in rice-rice cropping systems. J. Agron. Crop Sci. 190:21-27.

Shiga, H. and W. Ventura. 1976. Nitrogen supplying ability of paddy soils under field conditions in the Philippines. Soil Sci. Plant Nutr. 22:387-399.

Singh, P.K. 1979. Use of azolla in rice production in India. pp. 405-418. *In* Nitrogen and Rice. IRRI. Los Banos.

Watanabe, I., N.S. Berja, and D.C. Del-Rosario. 1980. Growth of Azolla in paddy fields as affected by phosphorus fertilizer. Soil Sci. Plant Nutr. 26:301-307.

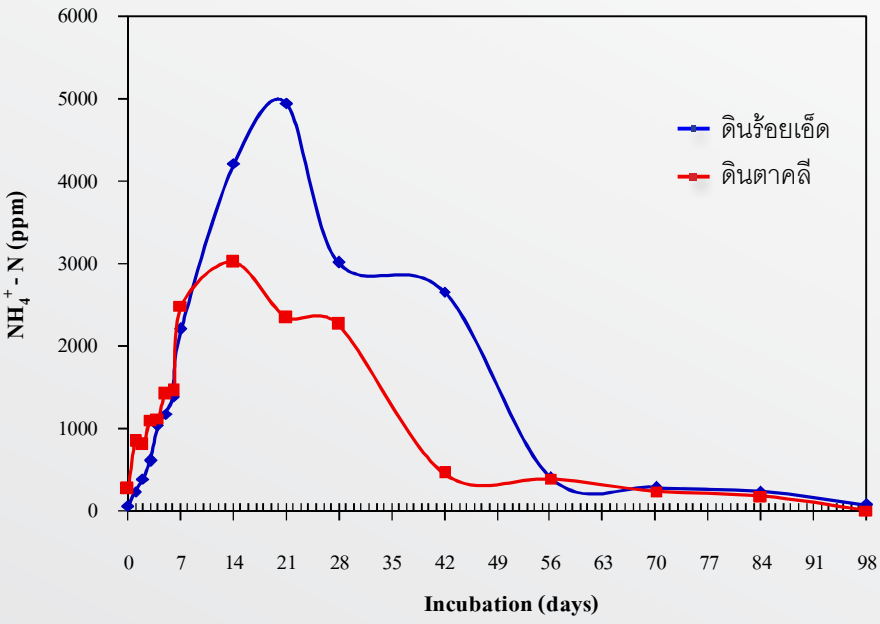
ตารางที่ 1. แสดงค่าองค์ประกอบทางเคมีของแหนแดง (*Azolla microphylla*)[1/]

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณที่วิเคราะห์ได้
ไนโตรเจน (%)	4.62
ฟอสฟอรัส (%)	0.65
โพแทสเซียม (%)	5.27
แคลเซียม (%)	2.54
แมกนีเซียม (%)	0.37
เหล็ก (%)	0.18
แมงกานีส (%)	0.17
ทองแดง (ppm)	15.57
สังกะสี (ppm)	66.2
อินทรียวัตถุ (%)	22.3

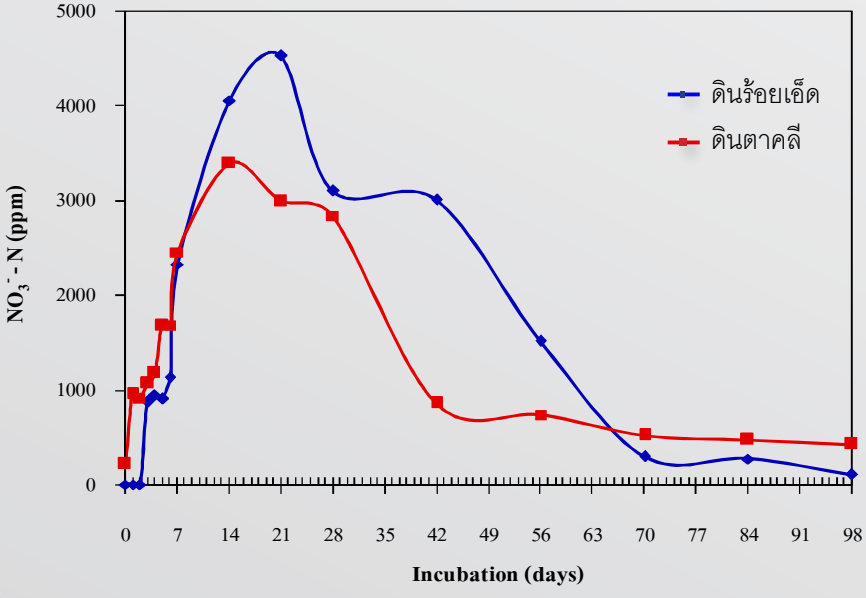
หมายเหตุ ; [1/] หมายถึง วิเคราะห์โดยกลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

ตารางที่ 2. แสดงคุณสมบัติบางประการของดินที่ใช้ศึกษา

ชุดดิน	pH	OM (%)	P (มก./กก.)	K (มก./กก.)	เนื้อดิน	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด	ปริมาณราทั้งหมด
ชุดดินร้อยเอ็ด	5.5	1.30	6.0	30	ร่วนปนทราย	$1.8x10^5$	-
ชุดดินตาคลี	5.2	2.09	2.82	96.7	เหนียว	$1.9x10^6$	$1.1x10^4$



ภาพที่ 1. แสดงปริมาณการปลดปล่อยแอมโมเนียมในชุดดินตาคลีและชุดดินร้อยเอ็ด



ภาพที่ 2. แสดงปริมาณการปลดปล่อยไนเตรทในชุดดินตาคลีและชุดดินร้อยเอ็ด

ศึกษาการใช้ปุ๋ยพืชสดร่วมกับปุ๋ยหมักเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนในการผลิตกระเจี๊ยบเขียว

Integrated Use of Green Manure and Compost to Decrease Nitrogen Fertilizer Use for Okra Production

เสมอจิตต์ เกื้อหนุน สรัตนา เสนาะ สมปอง หมื่นแจ้ง พัชรินทร์ นามวงษ์ ศิริขวัญ ภู่นา
กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

.....

บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้ปุ๋ยพืชสดร่วมกับปุ๋ยหมักเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนในการผลิตกระเจี๊ยบเขียว ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี จ.กาญจนบุรี ในชุดดินทัพกวาง โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Completed Block (RCB) มี 8 ตำรับการทดลอง 4 ซ้ำ คือ (1) ไม่ใส่ปุ๋ย (2) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่ (3) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก (4) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก+ปุ๋ยพืชสด (5) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 18 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก (6) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 18 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก+ปุ๋ยพืชสด (7) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก (8) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก+ปุ๋ยพืชสด โดยทุกตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและโพแทชรองพื้น อัตรา 8 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 16 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ตามลำดับ

ผลการทดลองปรากฏว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับการใส่ปุ๋ยหมักที่มีปริมาณไนโตรเจน 20 กิโลกรัม N ต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง ทำให้กระเจี๊ยบเขียวมีผลผลิตฝัก น้ำหนักแห้งตอซัง ปริมาณการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในฝักและต้นเพิ่มขึ้นสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยเลยอย่างเด่นชัด แต่ไม่แตกต่างกับตำรับการทดลองปุ๋ยอื่นๆ ดังนั้น การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ อัตรา 18 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยหมัก จึงเป็นการลดการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนลง ทำให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ (VCR) จากการใช้ปุ๋ยในการผลิตกระเจี๊ยบเขียวสูงสุด

คำนำ

การใช้ที่ดินเพาะปลูกเป็นเวลานาน และการนำเอาธาตุอาหารออกไปจากพื้นที่ในรูปผลผลิต ส่งผลให้ดินมีศักยภาพในการผลิตลดลง จำเป็นต้องมีการทดแทนด้วยปุ๋ยเคมี เพราะมีปริมาณธาตุอาหารอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์และพืชสามารถดูดใช้ได้ทันที (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) ประเทศไทยมีการนำเข้าปุ๋ยเคมีเพิ่มมากขึ้นและปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีภายในประเทศก็เพิ่มขึ้นเป็นลำดับ ซึ่งจากสถิติปริมาณการนำเข้าปุ๋ยเคมีในปี พ.ศ. 2544-2547 มีปริมาณ 3.396, 3.456, 3.838 และ 3.946 ล้านเมตริกตัน คิดเป็นมูลค่า 20.89, 20.93, 25.75 และ 34.08 หมื่นล้านบาท ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2547) เนื่องจากปุ๋ยเคมีมีราคา

แพงและสูงขึ้นทุกปี อาจส่งผลให้เพิ่มต้นทุนในการผลิตและทำให้ความสามารถในการผลิตในเชิงปริมาณมีรายได้ไม่คุ้มการลงทุนได้

การใช้พืชตระกูลถั่วเป็นปุ๋ยพืชสด ช่วยปรับปรุงคุณภาพและความอุดมสมบูรณ์ของดินและเป็นแหล่งธาตุอาหารที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจนที่สะสมในต้นแล้วจะถูกปลดปล่อยออกมา โดยกระบวนการ mineralization ในรูปของแอมโมเนียม (NH_4^+) ซึ่งพืชสามารถดูดนำไปใช้ได้ ส่วนปุ๋ยหมักเป็นปุ๋ยอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายกลายสภาพเป็นปุ๋ย โดยเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ซึ่งพืชสามารถดูดใช้ได้ มีคุณสมบัติในการดูดยึดธาตุอาหารพืชในรูปคอลลอยด์ ซึ่งเป็นรูปที่จะปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาอย่างช้าๆ การใช้ปุ๋ยปรับปรุงบำรุงดิน ควรมีการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ให้เหมาะสม เพราะปุ๋ยเคมีจะช่วยเพิ่มธาตุอาหารแก่พืชโดยตรง ส่วนปุ๋ยอินทรีย์ช่วยปรับปรุงดินให้โปร่งและร่วนซุย แม้มีธาตุอาหารในปริมาณน้อย แต่มีครบเกือบทุกธาตุ จึงช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้กับดินและพืช การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยเคมีในอัตราที่เหมาะสม ทำให้ลดปริมาณปุ๋ยเคมีลงได้ เนื่องจากปุ๋ยอินทรีย์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุอาหารจากปุ๋ยเคมีได้มากขึ้น อนึ่ง การใช้ปุ๋ยเคมีอย่างเดียวติดต่อกันอย่างต่อเนื่องอาจทำให้เกิดการเสียสมดุลธาตุอาหาร (nutrient imbalance)

ดังนั้น การจัดการดินแบบบูรณาการโดยการผสมผสานการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยเคมี จะช่วยฟื้นฟูสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของดินให้ดีขึ้น เพิ่มศักยภาพในการผลิตพืชและทำให้การใช้ปุ๋ยเคมีมีประสิทธิภาพสูงขึ้น รักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน นำไปสู่การลดการใช้ปุ๋ยเคมีและส่งผลให้เกิดการทำการเกษตรอย่างยั่งยืนในที่สุด

วิธีการดำเนินการ

ทำการศึกษาตั้งแต่ปี 2549-2553 ในชุดดินทัพกวาง (Tw: Fine, mixed, isohyperthremic Ultic Paleustalf) ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี จ.กาญจนบุรี เก็บตัวอย่างดินระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร วิเคราะห์สมบัติดินขั้นพื้นฐานในห้องปฏิบัติการ การศึกษาในสภาพแปลงวางแผนการทดลองแบบ Randomized Completed Block (RCB) ขนาด 4.0x6.0 เมตร จำนวน 32 แปลงย่อย ระยะปลูก 0.5x1.0 เมตร มี 8 ตำรับการทดลอง คือ (1) ไม่ใส่ปุ๋ย (2) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่ (3) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก (4) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก+ปุ๋ยพืชสด (5) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 18 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก (6) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 18 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก+ปุ๋ยพืชสด (7) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก (8) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัม N ต่อไร่+ปุ๋ยหมัก+ปุ๋ยพืชสด โดยทุกตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและโพแทชรองพื้น อัตรา 8 กิโลกรัมP_2O_5ต่อไร่ และ 16 กิโลกรัมK_2Oต่อไร่ ตามลำดับ โดยปุ๋ยเคมีไนโตรเจนใส่ในรูปยูเรีย (46 %N) ปุ๋ยฟอสเฟตและโพแทช ในรูปทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต (46 %P_2O_5) และ โพแทสเซียมคลอไรด์ (60 %K_2O) ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยพืชสด (GM) หว่านเมล็ดพันธุ์ถั่วพร้าอัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ สับแล้วไถกลบในระยะออกดอก เก็บตัวอย่างต้นวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมัก (C) ให้มีไนโตรเจนทั้งหมด

20 กิโลกรัม N ต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง ปลูกกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ฮิต 9701 จำนวน 1 ต้นต่อหลุม ปี 2549 เก็บผลผลิต 3 เดือน ส่วนปี 2551 และ 2552 เก็บผลผลิต 2 เดือน แต่ในปี 2550 กระเจี๊ยบเขียวเสียหายเนื่องจากโรคระบาด หลังการเก็บเกี่ยว เก็บตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวโดยแยกฝัก ใบและต้นส่วนเหนือดิน ในแต่ละตำรับการทดลองนำไปอบแห้ง บด เพื่อนำไปวิเคราะห์ธาตุอาหารและปริมาณการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในฝัก ใบและต้นส่วนเหนือดิน เก็บตัวอย่างดินในแต่ละตำรับการทดลอง วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สมบัติของชุดดินทัพกวาง

มีเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียว (Clay loam) ปฏิกิริยาดินเป็นด่างอ่อน (pH 7.6) ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับปานกลาง เท่ากับ 2.00 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง ปริมาณโซเดียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำมาก ปริมาณทองแดง แมงกานีส และเหล็กที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับพอเพียง ปริมาณสังกะสีอยู่ในระดับต่ำ

2. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมักปุ๋ยพืชสดต่อผลผลิตกระเจี๊ยบเขียวปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารและสมบัติทางเคมีของดินหลังการเก็บเกี่ยวกระเจี๊ยบเขียว

ผลจากการจัดการปุ๋ยแบบผสมผสานในการผลิตกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 3 ปี ปรากฏว่า กระเจี๊ยบเขียวตำรับที่ได้รับการใส่ปุ๋ยในรูปเคมีไนโตรเจนหรือใส่ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมักและปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมักกับปุ๋ยพืชสด ทั้งในอัตรา 24, 18 และ 12 กิโลกรัม N ต่อไร่ มีผลผลิตฝักและน้ำหนักแห้งตอซัง (ตารางที่ 1 และ2) สูงกว่าตำรับที่ไม่ได้รับการใส่ปุ๋ยเลยอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่ทุกตำรับปุ๋ยดังกล่าวไม่แตกต่างกัน ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า หากมีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ โดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับการใส่ปุ๋ยหมักที่มีปริมาณไนโตรเจน 20 กิโลกรัม N ต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง เพียงพอต่อการผลิตกระเจี๊ยบเขียว

เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ จากการใช้ปุ๋ยอย่างผสมผสานในการผลิตกระเจี๊ยบเขียว พบว่า หากเกษตรกรซื้อปุ๋ยหมักมาใช้ ทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้นไร่ละ 3,820-5,090 บาท (ขึ้นอยู่กับราคาปุ๋ยหมัก) แต่หากเกษตรกรผลิตปุ๋ยอินทรีย์ใช้เอง (ไม่มีค่าใช้จ่ายของปุ๋ยหมัก) ทุกตำรับการทดลองจะให้ผลตอบแทนในค่า VCR มากกว่า 2 ดังนั้น เกษตรกรควรผลิตปุ๋ยหมักใช้เอง การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ อัตรา 18 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยหมัก (20 กิโลกรัม N ต่อไร่) ทำให้ลดปุ๋ยเคมีไนโตรเจนอัตราแนะนำ (24 กิโลกรัม N ต่อไร่) ลงประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารในฝักและต้นกระเจี๊ยบเขียว ได้จากปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่เป็นองค์ประกอบในฝักและต้นกับน้ำหนักแห้งฝักและตอซัง พบว่า ตำรับที่ไม่ได้รับการใส่ปุ๋ยเลย มีการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในฝักและต้นต่ำสุด แต่ทุกตำรับปุ๋ยอื่นๆ มีการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 3, 4, 5, 6, 7 และ 8)

กระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทุกอัตรา ร่วมกับปุ๋ยหมักและร่วมกับปุ๋ยหมักกับปุ๋ยพืชสด มีการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในฝักและต้นไม่แตกต่างกับตำรับที่ได้รับการใส่ปุ๋ยในรูปเคมีไนโตรเจน

(ตารางที่ 3, 4, 5, 6, 7 และ 8) อาจเนื่องจาก ปุ๋ยหมักมีการปลดปล่อยธาตุอาหารในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ทำให้เกิดสมดุลธาตุอาหารในดิน กระเจี๊ยบเขียวเจริญเติบโตและดูดธาตุอาหารเพิ่มขึ้น ชัยฤกษ์ (2536) รายงานว่า การใส่ปุ๋ยหมักที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายดีแล้วและการไถกลบปุ๋ยพืชสดถั่วพร้า ทำให้ธาตุอาหารต่างๆในดินเป็นประโยชน์เพิ่มขึ้น เกิดจากการปลดปล่อยแอมโมเนียมและไนเตรทออกมา ซึ่งสอดคล้องกับ

เมื่อพิจารณากระเจี๊ยบเขียวตำรับที่ได้รับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ก็มีการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในฝักและต้นไม่แตกต่างกับตำรับที่ได้การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมักกับปุ๋ยพืชสด อาจเนื่องจาก ปุ๋ยหมักที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายดีแล้ว มีการปลดปล่อยธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืชออกมา กระเจี๊ยบเขียวจึงมีการเจริญเติบโตและดูดใช้ธาตุอาหารได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ศุภกาญจน์ (2551) ปุ๋ยหมักมีการแปรสภาพจากอินทรีย์ไนโตรเจน (organic-N) เป็นแอมโมเนียน้อยและแอมโมเนียมในปุ๋ยหมัก จะถูกออกซิไดซ์เป็นไนเตรท ทำให้มีการสะสมไนเตรทในดินปริมาณมาก ขณะเดียวกัน Arja and Maritta (1997) รายงานว่า การใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในรูปของปุ๋ยหมัก ทำให้เกิดการระเหยของไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียน้อยกว่าปุ๋ยอินทรีย์ที่ได้จากการไถกลบปุ๋ยพืชสด

การวิเคราะห์ดินหลังการเก็บเกี่ยวกระเจี๊ยบเขียว พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุในดินตำรับปุ๋ยอื่นๆ ร่วมกับปุ๋ยหมักและปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมักกับปุ๋ยพืชสด มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสูงกว่าตำรับที่ไม่ได้รับการใส่ปุ๋ยเลย (1.94 เปอร์เซ็นต์) แต่ทุกตำรับปุ๋ยมีปริมาณอินทรียวัตถุไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 2.13-2.40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9) ณัฐา (2550) รายงานว่า การไถกลบปุ๋ยพืชสดถั่วเขียว ถั่วลิสงและถั่วเหลือง สามารถเพิ่มปริมาณอินทรียวัตถุในดินชุดดินปากช่องได้ถึง 22.43, 15.86 และ 12.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมักและปุ๋ยพืชสดถั่วพร้า เพื่อหาแนวทางในการลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนเพื่อการผลิตกระเจี๊ยบเขียว พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 12 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยหมักที่มีปริมาณไนโตรเจน 20 กิโลกรัม N ต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง ทำให้กระเจี๊ยบเขียวมีผลผลิตฝักน้ำหนักตอซัง ปริมาณการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในฝักและต้นเพิ่มขึ้นสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยเลยอย่างเด่นชัด แต่ไม่แตกต่างกับตำรับการทดลองปุ๋ยอื่นๆ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมากเกินไปกระเจี๊ยบเขียวจะเฝือใบ ดังนั้น การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ อัตรา 18 กิโลกรัม N ต่อไร่ ร่วมกับการใส่ปุ๋ยหมักที่มีปริมาณไนโตรเจน 20 กิโลกรัม N ต่อไร่ โดยน้ำหนักแห้ง ทำให้ลดปุ๋ยเคมีไนโตรเจนอัตราแนะนำ (24 กิโลกรัม N ต่อไร่) ลงประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ผลตอบแทนในค่า VCR สูงสุด แต่ทุกตำรับการทดลองให้ค่า VCR มากกว่า 2 การจัดการดินด้วยปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์แบบผสมผสานอย่างต่อเนื่อง มีผลทำให้ปริมาณอินทรียวัตถุในดินภายใต้ตำรับการจัดการปุ๋ยต่างๆกัน มีแนวโน้มสูงกว่าตำรับที่ไม่ได้รับการใส่ปุ๋ยเลย แต่ไม่มีความแตกต่างในทุกตำรับปุ๋ยดังกล่าว อนึ่ง อัตราปุ๋ยที่เหมาะสมทางเศรษฐกิจไม่จำเป็นต้องมีระดับผลผลิตสูงสุดเสมอไป เป็นอัตราที่เปลี่ยนแปลงไปอยู่เสมอ ขึ้นอยู่กับภาวะราคาปุ๋ยและราคาผลผลิตในขณะนั้นๆ ทำให้การพิจารณารายปีมีผลให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจแตกต่างกัน

การนำไปใช้ประโยชน์

เกษตรกรและภาคเอกชนสามารถนำเทคโนโลยีในรูปแบบของคำแนะนำการใช้ปุ๋ยที่ได้จากการศึกษาไปใช้ในการผลิตกระเจี๊ยบเขียว นำไปสู่การลดการใช้ปุ๋ยเคมีและช่วยลดต้นทุนในการผลิต ทำให้สามารถผลิตในเชิงปริมาณที่ให้รายได้คุ้มการลงทุน ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพตรงตามความต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศเพิ่มมากขึ้น มูลค่าการผลิตในภาพรวมของประเทศเพิ่มสูงขึ้น

เอกสารอ้างอิง

ชัยฤกษ์ สุวรรณรัตน์. 2536. **ความอุดมสมบูรณ์ของดิน**. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณัฐา เฮงเจริญ. 2551. **การสะสมไนโตรเจนในถั่วเหลือง ถั่วเขียวและถั่วลิสง เพื่อใช้เป็นปุ๋ยพืชสดสำหรับข้าวโพดฝักอ่อนที่ปลูกในกระถางในชุดดินปากช่อง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2547. **ตัวชี้วัดทางเศรษฐกิจการเกษตรของประเทศไทย พ.ศ. 2547**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี. 2551. ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในปุ๋ยอินทรีย์, น.88-103 *ใน* **เอกสารประกอบการฝึกอบรม เทคโนโลยีการผลิตและการใช้ปุ๋ยอินทรีย์, 5-6 มิถุนายน 2551**. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

Arja, H.V. and H.S. Maritta. 1997. Evolution of microbiological and chemical parameters during manure and straw co-composting in drum composting system. **Agric.Ecosyst.Environ**. 66-19.

ตารางที่ 1. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อผลผลิตน้ำหนักสดฝักกระเจี๊ยบเขียว

ตำรับการทดลอง	ผลผลิตฝัก (กก./ไร่)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	2,086b	1,400c	1,065d	1,517
24-8-16	2,538a	2,171b	1,629c	2,113
24-8-16+C	2,531a	2,253b	1,656c	2,147
24-8-16+C+GM	2,581a	2,280b	1,981a	2,281
18-8-16+C	2,665a	2,273b	1,798abc	2,245
18-8-16+C+GM	2,643a	2,237b	1,913ab	2,265
12-8-16+C	2,463a	2,344ab	1,687c	2,164
12-8-16+C+GM	2,565a	2,507a	1,706bc	2,259
เฉลี่ย	2,509	2,183	1,679	2,124
F-test	**	**	**	
C.V (%)	5.2	6.0	12.2	

หมายเหตุ: ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อน้ำหนักตอซังกระเจี๊ยบเขียว

ตำรับการทดลอง	ตอซัง (กก./ไร่)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	832cd	323c	285b	480
24-8-16	1,214ab	730b	563a	836
24-8-16+C	1,332a	747b	640a	906
24-8-16+C+GM	1,304a	793b	662a	920
18-8-16+C	1,267ab	813b	607a	896
18-8-16+C+GM	1,332a	769b	672a	924
12-8-16+C	1,160b	768b	691a	873
12-8-16+C+GM	1,243ab	927a	688a	953
เฉลี่ย	1,210	734	601	848
F-test	**	**	**	
C.V (%)	6.3	10.2	16.6	

หมายเหตุ: ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อปริมาณการดูดใช้ไนโตรเจนในฝักกระเจี๊ยบเขียว

ตำรับการทดลอง	ไนโตรเจน (กก./ไร่)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	23.6b	16.5c	11.3d	17.2
24-8-16	32.8a	25.4b	22.1bc	26.8
24-8-16+C	31.3a	29.4ab	21.7bc	27.7
24-8-16+C+GM	33.4a	29.6a	28.7a	30.6
18-8-16+C	33.1a	29.0a	20.1c	27.4
18-8-16+C+GM	30.4a	31.4a	24.9b	28.9
12-8-16+C	29.4a	28.9ab	20.8bc	26.3
12-8-16+C+GM	33.6a	30.9a	21.2bc	28.5
เฉลี่ย	31.1	27.6	21.3	26.7
F-test	**	**	**	
C.V (%)	8.5	8.7	13.6	

หมายเหตุ: ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อปริมาณการดูดใช้ฟอสฟอรัสในฝักกระเจี๊ยบเขียว

ตำรับการทดลอง	ฟอสฟอรัส (กก./ไร่)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	4.3c	2.9c	1.6c	2.9
24-8-16	4.9abc	4.4b	2.4b	3.8
24-8-16+C	5.1ab	4.7ab	2.4b	4.1
24-8-16+C+GM	5.3ab	5.2a	3.2a	4.6
18-8-16+C	5.1ab	4.8ab	2.9ab	4.3
18-8-16+C+GM	5.0ab	4.9ab	2.7ab	4.2
12-8-16+C	4.6bc	5.0a	2.6ab	4.1
12-8-16+C+GM	5.5a	5.3a	2.3b	4.4
เฉลี่ย	5.0	4.6	2.5	4.0
F-test	**	**	**	
C.V (%)	8.5	8.4	14.0	

หมายเหตุ: ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อปริมาณการดูดใช้โพแทสเซียมในฝักกระเจี๊ยบเขียว

ตำรับการทดลอง	โพแทสเซียม (กก./ไร่)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	13.3c	9.2d	7.6c	10.0
24-8-16	17.2bc	15.2ab	12.0ab	14.8
24-8-16+C	23.5a	11.0cd	11.0bc	15.2
24-8-16+C+GM	23.8a	14.6abc	15.4a	17.9
18-8-16+C	20.7ab	13.6bc	13.9ab	16.0
18-8-16+C+GM	21.2ab	16.9ab	14.0ab	17.3
12-8-16+C	17.1bc	17.9a	12.5ab	15.8
12-8-16+C+GM	20.1ab	16.9ab	13.7ab	16.9
เฉลี่ย	19.6	14.0	12.5	15.5
F-test	**	**	**	
C.V (%)	14.0	20.1	17.9	

หมายเหตุ ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 6. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อปริมาณการดูดใช้ไนโตรเจนในตอซัง

ตำรับการทดลอง	ไนโตรเจน (กก./ไร่)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	8.19c	3.14c	3.78b	5.03c
24-8-16	16.06ab	11.45b	10.25a	12.58ab
24-8-16+C	16.48ab	13.58ab	12.96a	14.34a
24-8-16+C+GM	16.42ab	12.30ab	12.11a	13.61ab
18-8-16+C	14.03ab	13.12ab	11.21a	12.79ab
18-8-16+C+GM	16.84a	12.08ab	12.26a	13.73ab
12-8-16+C	13.32a	10.75b	11.91a	11.99b
12-8-16+C+GM	14.28ab	14.82a	11.66a	13.58ab
เฉลี่ย	14.45	11.41	10.77	12.21
F-test	**	**	**	
C.V (%)	15.0	15.9	21.8	

หมายเหตุ : ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 7. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อปริมาณการดูดใช้ฟอสฟอรัสในตอซัง

ตำรับการทดลอง	ฟอสฟอรัส (กก./ไร่)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	2.38c	1.31c	1.15b	1.61c
24-8-16	3.71ab	3.01b	2.23a	2.99b
24-8-16+C	3.55ab	3.13b	2.52a	3.07b
24-8-16+C+GM	4.11a	3.29ab	2.59a	3.33ab
18-8-16+C	3.38b	3.42ab	2.19a	2.99b
18-8-16+C+GM	4.05a	3.20b	2.49a	3.25ab
12-8-16+C	3.55ab	3.21b	2.65a	3.14ab
12-8-16+C+GM	3.96ab	3.48a	2.68a	3.49a
เฉลี่ย	3.59	3.05	2.31	2.98
F-test	**	**	**	
C.V (%)	11.0	11.7	20.0	

หมายเหตุ: ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 8. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อปริมาณการดูดใช้โพแทสเซียมในตอซัง

ตำรับการทดลอง	โพแทสเซียม(กก./ไร่)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	7.18b	5.13d	4.11a	5.47
24-8-16	10.20a	10.38c	7.32d	9.29
24-8-16+C	11.42a	11.45bc	8.83cd	10.57
24-8-16+C+GM	11.22a	12.49bc	12.06a	11.92
18-8-16+C	10.81a	13.17ab	9.27bcd	11.08
18-8-16+C+GM	12.24a	11.56bc	11.39ab	11.73
12-8-16+C	10.54a	12.47bc	11.01abc	11.34
12-8-16+C+GM	11.47a	15.02a	11.08a	12.76
เฉลี่ย	10.63	11.46	9.47	10.52
F-test	*	**	**	
C.V (%)	15.0	11.2	17.9	

หมายเหตุ: * แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 9. ผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสดต่อปริมาณอินทรียวัตถุ (OM.)ในดิน หลังการเก็บเกี่ยวกระเจี๊ยบเขียว

ตำรับการทดลอง	OM. (%)			เฉลี่ย
	2549[1/]	2551[1/]	2552[1/]	
ไม่ใส่ปุ๋ย	1.58b	2.18	2.08b	1.94c
24-8-16	1.93ab	2.38	2.08b	2.13bc
24-8-16+C	2.15a	2.50	2.55a	2.40a
24-8-16+C+GM	1.80ab	2.25	2.40ab	2.15bc
18-8-16+C	1.98ab	2.23	2.25ab	2.15bc
18-8-16+C+GM	1.90ab	2.25	2.38ab	2.18b
12-8-16+C	1.98ab	2.28	2.35ab	2.20ab
12-8-16+C+GM	1.83ab	2.35	2.50a	2.23ab
เฉลี่ย	1.89	2.30	2.32	2.17
F-test	**	ns	*	
C.V (%)	6.9	14.0	11.4	

หมายเหตุ: [ns] ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร