



ANNUAL REPORT 2022



ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2565

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

**AGRICULTURAL PRODUCTION SCIENCE
RESEARCH AND DEVELOPMENT DIVISION**

ISBN : 978-974-436-985-7



<https://qr.page/g/2NugIQ4DJiK>

ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2565 (ANNUAL REPORT 2022)

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ISBN : 978-974-436-985-7

คณะที่ปรึกษา :

นางจิราพรรณ	ทองหยอด	ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวศุภกัญญา	ล้วนมณี	ผู้เชี่ยวชาญด้านดินและปุ๋ย
นางนางมลิสา	เวชยานนท์	รักษาราชการในตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ
นางสาวจรีรัตน์	กุศลวิริยะวงศ์	รักษาราชการในตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตร
นายประชาติปัติย์	พงษ์ภิญโญ	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร
นางสาววรรณรัตน์	ชุตินบุตร	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี
นายอนุสรณ์	เทียนศิริฤกษ์	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา
นางสาววนิดา	โนบรรเทา	ผู้อำนวยการกลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางอุษฎา	สุขจันทร์	ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ขอนแก่น

คณะผู้จัดทำและประสานงาน :

นางสาวณัฐธิดา	ทองนาค	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวสุนารี	แก้วดี	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวนัฐบล	จันทชุม	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวฤทัยรัตน์	น้อยจาด	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย

จำนวนพิมพ์: 50 เล่ม
พิมพ์เมื่อ: กรกฎาคม 2566
สถานที่ติดต่อ: กลุ่มบริหารโครงการวิจัย กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
โทรศัพท์ 0 2940 5754 ต่อ 2115 และ 2117
โทรสาร 0 2579 157

คำนำ

เอกสาร “ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร” ได้จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวม และเผยแพร่ผลงานวิจัยที่ได้ดำเนินการศึกษาวิจัยตามแผนงาน/โครงการวิจัยของกรมวิชาการเกษตร และการนำผลงานวิจัยของกรมวิชาการเกษตรที่กลุ่มเป้าหมายนำไปใช้ประโยชน์เพื่อพัฒนาการเกษตรประจำปีงบประมาณ 2565 ประกอบด้วยผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กลุ่มวิจัยวัสดุมีพิษการเกษตร และกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี โดยมีกลุ่มบริหารโครงการวิจัยเป็นผู้ประสานงาน รวบรวมและดำเนินการตีพิมพ์ผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยต่างๆ จำนวน 1 เล่ม รวม 10 เรื่อง

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร หวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารผลการปฏิบัติงานประจำปีฉบับนี้ จะเกิดประโยชน์ต่อภาครัฐ ภาคเอกชน เกษตรกร ตลอดจนนักวิชาการและผู้สนใจทั่วไป ให้สามารถนำงานวิจัยไปประยุกต์ใช้ และต่อยอดงานวิจัยได้อย่างมีประสิทธิภาพอันจะเป็นประโยชน์ต่อประเทศชาติในการพัฒนา งานวิจัยต่อไป และขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญด้านดินและปุ๋ย ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ และผู้เชี่ยวชาญด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตร กลุ่มบริหารโครงการวิจัย นักวิชาการเจ้าของผลงาน และผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ในการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย



(นางจिरาพรรณ ทองหยอด)

ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

กรกฎาคม 2566

สารบัญ

<u>กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา</u>	หน้า
1 การศึกษากระบวนการผลิตชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล <i>Hapalosiphon</i> ที่มีประสิทธิภาพเพื่อการเลี้ยงขยายในระดับภาคสนาม <i>ประไพ ทองระอา และคณะ</i>	1
2 ศึกษาการใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วันที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริคส์ 3 <i>กัลยกร ไปร่งจันทิก และคณะ</i>	13
3 ศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 <i>กัลยกร ไปร่งจันทิก และคณะ</i>	25
4 ศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 <i>กัลยกร ไปร่งจันทิก และคณะ</i>	36
<u>กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร</u>	
5 การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชด้วยเทคนิค GC-MS <i>วิษขรณม์ แกระวงค์ และคณะ</i>	48
6 การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะทราซีนตกค้างในข้าวโพดฝักสด ต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม <i>ปภัสรา คุณเลิศ และคณะ</i>	61
7 การสำรวจสารพิษตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมจากแหล่งปลูกพืชผักในจังหวัดราชบุรี <i>ปภัสรา คุณเลิศ และคณะ</i>	79
8 การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช 2,4-D ในอ้อยต่อเกษตรกร ผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม <i>อำนาจ กะฐินเทศ และคณะ</i>	99
<u>กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี</u>	
9 พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง (Screening method) สารปรับปรุงดิน ปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม <i>จิตติรัตน์ ชูชาติ และคณะ</i>	114
10 พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง (Screening method) สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน โซโตโคนิน ในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ สารสกัดจากพืช ที่ไม่ระบุชนิด (Unknown sample) ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปคโตรเมทรี (LC-MS/MS) <i>สุพิศสา ทองเขียว และคณะ</i>	128



กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา



การศึกษากระบวนการผลิตชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Hapalosiphon*
ที่มีประสิทธิภาพเพื่อการเลี้ยงขยายในระดับภาคสนาม

Study on Cultivation Process of Blue-Green Alga *Hapalosiphon* sp.
DASH05101 on Biomass Production Efficiency for Application
under Field Condition

ประไพ ทองระอา ณัฐนันท์ ไกรเลิศรัตน์ชัย แววตา พลกุล ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต
วนิดา โนบรرتها ศุภกาญจน์ ล้วนมณี

Praphai Thongra-ar Nattanan Krailertrattanachai Waewta Polkul Sirilak Kaewsuralikhit
Wanida Nobuntou Suphakarn Luanmanee

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Nitrogen fixing blue-green alga *Hapalosiphon* sp. DASH05101 is a continually renewable biomass source that can release the soluble organic substances as extracellular products to the environment such as amino acids, growth promoters, etc. which can improve plant growth and productivity. To study the cultivation process of *Hapalosiphon* on biomass production efficiency for application under field condition, 3 steps of the process were conducted: the 1st step, study on cultivation process of *Hapalosiphon* inoculant in BG-11₀ medium containing in a 400 mL zippered plastic; the 2nd step, study on utilization of chicken manure compost tea for being a substitute for the BG-11₀ medium in a 5 L plastic bag and the 3rd step, study on the biomass production of *Hapalosiphon* in a 18.9 L plastic tank. The result of the 1st study revealed that inoculation of 10% *Hapalosiphon* starter culture in BG-11₀ medium and incubation under continual control condition (light intensity of 4,000 lux, temperature of 27°C, 24 hours light cycle) for 7 days, the number of *Hapalosiphon* colonies was 4.569 log₁₀ cfu/mL was not different from increment incubation periods. Then, the result of chicken manure compost tea for being a substitute for the BG-11₀ was found that the inoculation of 10% *Hapalosiphon* in a 250-diluted autoclaved chicken manure compost tea under aerated condition and light intensity of 7,000-10,000 lux for 7 days, the number of *Hapalosiphon* colonies was 5.123 log₁₀ cfu/mL which was not different from increment incubation periods. Afterward, the biomass production of *Hapalosiphon* in plastic tank when inoculated with 10% *Hapalosiphon* in a 250-diluted autoclaved chicken manure compost tea under shading condition at light intensity of 7,000-10,000 lux and aerating continuously for 45 days showed the highest biomass yield of *Hapalosiphon* was 7.40 g/L which was greater than BG-11₀ N-free medium by 63.3%.

Key words: nitrogen fixing blue-green algae, *Hapalosiphon* sp., biomass, chicken manure compost, cultivation

บทคัดย่อ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้สกุล *Hapalosiphon* สามารถสร้างสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ เช่น สารคล้ายฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน และกรดอะมิโน ซึ่งสารดังกล่าวสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สารสกัดสาหร่ายเพื่อใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืชได้ ดังนั้นจึงทำการศึกษาระบวนการผลิตชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Hapalosiphon* ที่มีประสิทธิภาพเพื่อการเลี้ยงขยายในระดับภาคสนาม ได้ทำการศึกษาแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ 1) ศึกษาการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้น *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในอาหารเหลว BG-11₀ ปริมาตร 360 มิลลิลิตร ในถุงพลาสติกซิบบ 2) ศึกษาการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้น *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ปริมาตร 3,600 มิลลิลิตร ในถุงพลาสติก และ 3) ศึกษาการผลิตชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 โดยใช้ปุ๋ยหมักมูลไก่ปริมาตร 16 ลิตร ในถังพลาสติก ผลการทดลองพบว่า การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้น *Hapalosiphon* ในอาหารเหลว BG-11₀ ในถุงพลาสติกซิบบที่ปลูกเชื้อให้มีความเข้มข้น 10 เพอร์เซ็นต์ และบ่มเชื้อไว้ภายใต้สภาพควบคุมอุณหภูมิและแสง ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ นาน 24 ชั่วโมงต่อวัน เมื่อบ่มเชื้อที่ระยะเวลา 7 วัน ทำให้ได้หัวเชื้อตั้งต้นที่มีชีวิตและมีความแข็งแรงปริมาณสูง (\log_{10} cfu/mL) เท่ากับ 4.569 ไม่แตกต่างจากการบ่มเชื้อที่ระยะเวลาที่นานกว่า ส่วนผลการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้น *Hapalosiphon* ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่พบว่า น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ที่อัตราเจือจาง 1:250 (ปุ๋ย:น้ำ) หรือเจือจาง 250 เท่า มีปริมาณธาตุอาหารใกล้เคียงกับอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BG-11₀ และเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้น *Hapalosiphon* ในถุงพลาสติกภายใต้สภาพที่ร่มที่มีความเข้มแสงในช่วงวัน 7,000-10,000 ลักซ์ และมีการเติมอากาศด้วยปั๊มลม พบว่า การเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 7 วัน ทำให้ได้หัวเชื้อตั้งต้นที่มีชีวิตทั้งหมด (\log_{10} cfu/mL) เท่ากับ 5.123 ไม่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลาที่นานกว่า ด้านผลการผลิตชีวมวลสด พบว่า การเพาะเลี้ยงโดยใช้น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ให้ผลผลิตชีวมวลสด 7.40 กรัมต่อลิตร สูงกว่าการใช้อาหารเหลว BG-11₀ หรือมีประสิทธิภาพการผลิตเพิ่มขึ้นจากการใช้อาหารเหลว BG-11₀ 63.3 เพอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้, ฮาปาโลไซฟอน, ชีวมวล, ปุ๋ยหมักมูลไก่, การเพาะเลี้ยง

บทนำ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanobacteria) หรือ blue-green algae จำพวกที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้สามารถใช้เป็นแหล่งชีวมวลที่สำคัญซึ่งสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้โดยไม่มีวันหมด (renewable biomass source) โดยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในรูปแบบปุ๋ยชีวภาพในนาข้าว และในรูปแบบสารสกัดสาหร่ายในพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งการใช้ในรูปสารสกัดสาหร่ายสามารถช่วยปรับปรุงการเจริญเติบโตของพืช ปรับปรุงผลผลิต ช่วยการดูดใช้ธาตุอาหารพืช ซึ่งส่งผลดีต่อพืชนอกเหนือจากการใช้ปุ๋ยอย่างเดียว (Drobek *et al.*, 2019; Ronga *et al.*, 2019; Sekar *et al.*, 1995; ประไพ และคณะ, 2562) ดังนั้น เพื่อให้เกษตรกรมีต้นแบบการผลิตผลิตภัณฑ์สารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอย่างง่าย สำหรับใช้ในฟาร์มเพื่อการผลิตพืชผักปลอดภัยอย่างยั่งยืน จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาระบวนการผลิตชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Hapalosiphon* ที่มีประสิทธิภาพ เพื่อให้ได้ขั้นตอนการผลิตชีวมวลสาหร่ายสำหรับการพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอย่างง่าย เพื่อใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืชผักปลอดภัยในฟาร์มของเกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 จากกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กรมวิชาการเกษตร
2. สารเคมีสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้ สูตร BG-11₀ (N-free medium) ได้แก่ MgSO₄, Na₂CO₃, CaCl₂·2H₂O, Citric acid, FeNH₄ citrate, Na₂ EDTA, K₂ HPO₄, H₃BO₃, MnSO₄·H₂O, MoO₃, ZnSO₄·7H₂O, CuSO₄·5H₂O, K₂Cr₂(SO₄)₄·24H₂O, NiSO₄·6H₂O, Co(NO₃)₂·6H₂O, Na₂WO₄·2H₂O, TiO₂ และ NH₄VO₃
3. ผงวุ้น
4. จานแก้วเพาะเชื้อ
5. ไมโครปิเปตต์
6. วัสดุสำหรับบรรจุอาหารเพาะเลี้ยงหัวเชื้อและเลี้ยงขยายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ได้แก่ ถังพลาสติกซิบบนขนาด 15x23 เซนติเมตร ถังพลาสติกเย็น ขนาด 14x22 นิ้ว และถังพลาสติกขนาดปริมาตร 18.9 ลิตร
7. บั้มลมสำหรับให้อากาศ
8. หม้อนิ่งฆ่าเชื้อ
9. ปู่หมักมูลไก่

วิธีการ

1. ศึกษาวิธีการเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหาร BG-11₀ แบบเหลวในสภาพห้องปฏิบัติการ

1.1 เตรียมอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสูตร BG-11₀ ตามวิธีของ Allen and Arnon (1955) และเติมผงวุ้นความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ กวนให้เข้ากันจากนั้นนำไปนิ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เมื่ออาหารเหลวเย็นลง แบ่งใส่ถังพลาสติกซิบบนขนาด 15x23 เซนติเมตร ถังละ 324 มิลลิลิตร สำหรับใช้เพิ่มปริมาณหัวเชื้อต่อไป

1.2 เลี้ยงหัวเชื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในอาหารเหลว BG-11₀ ปริมาตร 5 ลิตร ในขวดรูปชมพู่ โดยเพาะเลี้ยงในสภาพควบคุมแสงที่ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส มีการเติมอากาศอย่างต่อเนื่อง เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะปลายของ Logarithmic phase นำไปปลูกเชื้อลงในถังอาหารเหลวให้มีความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใส่หัวเชื้อสาหร่ายถังละ 36 มิลลิลิตร (รวมปริมาตรอาหารในถังพลาสติกซิบบนเท่ากับ 360 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มไว้ภายใต้สภาพควบคุมแสงที่ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ นาน 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

-วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 9 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ได้แก่ 1) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 0 วัน 2) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 7 วัน 3) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 14 วัน 4) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 21 วัน 5) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 30 วัน 6) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 45 วัน 7) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 60 วัน 8) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 90 วัน และ 9) บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 120 วัน

บันทึกข้อมูล ปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมด (viable cells) โดยวิธี plate count นำข้อมูลที่ได้ในหน่วย colony forming unit per milliliter (cfu/mL) ไปแปลงค่าให้อยู่ในรูป log₁₀ cfu/mL จากนั้นนำข้อมูลไปวิเคราะห์สถิติ และคัดเลือกระยะเวลาการบ่มเชื้อที่เหมาะสม สำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพื่อเพาะเลี้ยงขยายในขั้นตอนที่ 2

2. ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับสายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหารเหลวจากน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ในถุงพลาสติกขนาด 5 ลิตร ในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.1 วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองในปุ๋ยหมักมูลไก่ ได้แก่ ไนโตรเจนทั้งหมด โดยวิธี Kjeldahl ฟอสฟอรัสทั้งหมด โปแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมทั้งหมด โดยวิธีการย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสม (HNO_3 - HClO_4 ; 2:1) ฟอสฟอรัสทั้งหมดวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โปแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมทั้งหมดวัดด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) และวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารเสริม ได้แก่ เหล็ก แมงกานีส ทองแดง สังกะสี และนิกเกิล โดยการย่อยตัวอย่างด้วยวิธี aqua regia ด้วยกรดผสม (HNO_3 - HCl ; 3:1) ใน digestion tube แบบปิด (McGrath and Cunliffe, 1985) และวัดด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าการนำไฟฟ้าที่อัตราส่วนของปุ๋ยต่อน้ำ เท่ากับ 1:2 (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551) เพื่อทราบปริมาณธาตุอาหารและสมบัติทางเคมีในปุ๋ยหมักมูลไก่

2.2 ศึกษาอัตราการเจริญของปุ๋ยหมักมูลไก่ด้วยน้ำ เพื่อคัดเลือกอัตราการเจือจางที่ปราศจากไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ โดยนำปุ๋ยหมักมูลไก่มาเจือจางด้วยน้ำที่อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำ เท่ากับ 1:50 1:100 1:150 1:200 1:250 และ 1:300 (น้ำหนักต่อปริมาตร) นำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ คัดเลือกอัตราการเจือจางที่ปราศจากไนโตรเจนไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โดยวิธี Ascorbic Acid (กรรณิการ์, 2525) โปแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง สังกะสี และนิกเกิล ที่เป็นประโยชน์ โดยวิธีวัดโดยตรงด้วยเครื่อง ICP-OES เพื่อทราบองค์ประกอบของธาตุอาหารในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจางเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อสายสีเขียวแกมน้ำเงินปราศจากไนโตรเจน สูตร BG-11₀

2.3 ทดสอบการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับสายสีเขียวแกมน้ำเงิน ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจางที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.2 โดยนำปุ๋ยหมักมูลไก่ที่นิ่งมาเชื้อแล้วมาละลายน้ำตามอัตราการเจือจางที่กำหนด กรองน้ำปุ๋ยหมักด้วยผ้ากรองแพลงตอนขนาด 30 ไมครอน จากนั้นแบ่งน้ำปุ๋ยหมักใส่ถุงพลาสติก ถุงละ 3,240 มิลลิลิตร นำหัวเชื้อตั้งต้น *Hapalosiphon* sp. DASH05101 จากถุงพลาสติกซิบบ่มเชื้อแล้วในขั้นตอนที่ 1 ปริมาตร 360 มิลลิลิตร ปลูกเชื้อลงในถุงอาหารเหลวให้มีความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ (รวมปริมาณอาหารในถุงพลาสติกเท่ากับ 3,600 มิลลิลิตร) ทำการเติมอากาศด้วยปั๊มลมและเพาะเลี้ยงในที่ร่ม ที่มีความเข้มแสงประมาณ 7,000-10,000 ลักซ์ ได้รับแสงนาน 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

-วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ได้แก่ 1) เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 0 วัน 2) เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 7 วัน 3) เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 14 วัน 4) เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 21 วัน 5) เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 30 วัน 6) เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 45 วัน และ 7) เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 60 วัน

-บันทึกข้อมูล ปริมาณสายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมดโดยวิธี plate count นำข้อมูลที่ได้ในหน่วย cfu/mL ไปแปลงค่าให้อยู่ในรูป \log_{10} cfu/mL จากนั้นนำข้อมูลไปวิเคราะห์สถิติ และคัดเลือกระยะเวลาการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อที่เหมาะสม สำหรับใช้ในการเลี้ยงขยายชีวมวลสายสีเขียวแกมน้ำเงินในขั้นตอนที่ 3 ต่อไป

3. ศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายชีวมวลสำหรับสายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในถังพลาสติก ขนาด 18.9 ลิตร โดยใช้ปุ๋ยหมักมูลไก่ในสภาพโรงเรือน

ซึ่งปุ๋ยหมักมูลไก่แห้งตามอัตราการเจือจางที่กำหนด นำมาเจือจางด้วยน้ำและกรองด้วยผ้ากรองแพลงตอน ขนาด 30 ไมครอน แบ่งน้ำปุ๋ยหมักเจือจางใส่ถังพลาสติก ถังละ 14.4 ลิตร นำหัวเชื้อสายสีเขียวแกมน้ำเงิน ปริมาตร 1.60 ลิตร จากถุงพลาสติกที่เพาะเลี้ยงในขั้นตอนที่ 2 ปลูกเชื้อลงในถังอาหารเหลวน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ให้มีความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการเติมอากาศด้วยปั๊มลม และเลี้ยงขยายในที่ร่มที่มี

ความเข้มแสงประมาณ 7,000-10,000 ลักซ์ ได้รับแสงนาน 12 ชั่วโมงต่อวัน เปรียบเทียบกับการเลี้ยงขยายด้วยอาหารเหลวสูตร BG-11₀ ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของวิธีทดลองโดยใช้ t-test มี 10 ซ้ำ 2 กรรมวิธี คือ 1) เลี้ยงด้วยอาหารเหลวสูตร BG-11₀ และ 2) เลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง

การบันทึกข้อมูล

1. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง ชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ระยะเวลาการเลี้ยง 45 วัน
2. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในชีวมวล
3. ต้นทุนการผลิต เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่และอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสูตร BG-11₀

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาวิธีการเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหาร BG-11₀ แบบเหลว ในสภาพห้องปฏิบัติการ

เมื่อปลูกเชื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินให้มีความเข้มข้น 10 เพอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลวสูตร BG-11₀ ในถุงพลาสติกซิปลงและบ่มเชื้อไว้ในสภาพควบคุมที่มีการให้แสงต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง ที่ระยะเวลา 0 7 14 21 30 45 60 90 และ 120 วัน ผลการทดลองพบว่า การบ่มเชื้อตั้งแต่ระยะเวลา 7-120 วัน ทำให้มีปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมดสูงใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่า \log_{10} cfu/mL ระหว่าง 4.530-4.793 ซึ่งแตกต่างจากการบ่มเชื้อที่ระยะเวลา 0 วัน ที่มีปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมดต่ำกว่า โดยมีค่า \log_{10} cfu/mL เท่ากับ 3.378 (ตารางที่ 1) จะเห็นว่าการปลูกเชื้อที่ความเข้มข้น 10 เพอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลว BG-11₀ ที่มีการให้แสงอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง จะทำให้สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วทำให้ไม่มีระยะ lag phase แต่สามารถเข้าสู่ระยะปลาย log phase ได้อย่างรวดเร็วที่ระยะเวลาการบ่มเชื้อที่ 7 วัน ดังนั้นระยะเวลาการบ่มเชื้อที่ 7 วัน จึงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการบ่มหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสำหรับใช้เพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณต่อไป (ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมดในถุงพลาสติกซิปลง ปริมาตร 360 มิลลิลิตร เมื่อบ่มเชื้อภายใต้สภาพควบคุมที่มีความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ นาน 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

กรรมวิธี	ปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมด (log ₁₀ cfu/mL)
1. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 0 วัน	3.378 b
2. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 7 วัน	4.569 a
3. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 14 วัน	4.670 a
4. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 21 วัน	4.792 a
5. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 30 วัน	4.730 a
6. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 45 วัน	4.530 a
7. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 60 วัน	4.666 a
8. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 90 วัน	4.660 a
9. บ่มเชื้อที่ระยะเวลา 120 วัน	4.793 a
CV.(%)	4.3

ตัวเลขในสมมติเดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 1 การบ่มหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในถุงพลาสติกซิปลงสภาพห้องปฏิบัติการ

2. ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหารเหลวจากน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ ในถุงพลาสติกขนาด 5 ลิตร ในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.1 สมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยหมักมูลไก่

พบว่า ในปุ๋ยหมักมูลไก่มีค่า pH เป็นกลาง เท่ากับ 7.20 ค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 8.96 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร มีปริมาณธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริมปริมาณสูง (ตารางที่ 2) ซึ่งเพียงพอต่อการนำไปใช้เตรียมเป็นอาหารเหลวเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้

2.2 เมื่อนำปุ๋ยหมักมูลไก่มาเจือจางด้วยน้ำที่อัตราส่วนปุ๋ยหมักต่อน้ำ เท่ากับ 1:50 1:100 1:150 1:200 1:250 และ 1:300 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และนำมาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ พบว่า อัตราส่วนการเจือจางที่ 1:250 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตรวจไม่พบไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ (ตารางที่ 3) จึงคัดเลือกอัตราส่วนการเจือจางดังกล่าวเพื่อใช้เตรียมเป็นอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้น

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินให้สามารถตรึงไนโตรเจนได้ และเมื่อนำน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่อัตราส่วน 1:250 ไปวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินปราศจากไนโตรเจน สูตร BG-11₀ ผลการเปรียบเทียบสมบัติทางเคมี พบว่า น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจางที่อัตราส่วน 1:250 และอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11₀ มีค่า pH เป็นด่างอ่อนใกล้เคียงกัน เท่ากับ 7.63 และ 7.80 ตามลำดับ ส่วนค่าการนำไฟฟ้าพบว่า ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจางมีค่าสูงกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11₀ ถึงสามเท่า โดยมีค่าเท่ากับ 0.64 และ 0.20 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริม พบว่า ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง มีปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่ำกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11₀ เกือบทุกธาตุ ยกเว้นธาตุโพแทสเซียมที่ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจางมีปริมาณสูงกว่า (ตารางที่ 4) ดังนั้นอัตราส่วนการเจือจางปุ๋ยหมักมูลไก่ด้วยน้ำที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินให้ตรึงไนโตรเจนได้ คือ อัตราส่วน 1:250 (ปุ๋ยหมัก : น้ำ) หรือเจือจาง 250 เท่า

2.3 การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในถุงพลาสติก ขนาด 5 ลิตร โดยใช้ น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า

เมื่อนำหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากถุงพลาสติกซิบปลุกเชื้อลงในถุงอาหารเหลว น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ให้มีความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการเติมอากาศอย่างต่อเนื่องด้วยปั๊มลมและให้ได้รับแสงในช่วงวันที่ความเข้มแสงประมาณ 7,000-10,000 ลักซ์ ผลการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อ ที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่า การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อที่ระยะเวลา 0 7 14 21 30 45 และ 60 วัน ทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีปริมาณที่มีชีวิตทั้งหมดสูงใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีค่า \log_{10} cfu/mL เท่ากับ 5.123 5.302 5.306 5.345 5.172 และ 5.161 ตามลำดับ แต่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 0 วัน ที่มีปริมาณสาหร่ายที่มีชีวิตทั้งหมดต่ำกว่า โดยมีค่า \log_{10} cfu/mL เท่ากับ 2.783 (ตารางที่ 5 และ ภาพที่ 2) ดังนั้นน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า จึงสามารถใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้ ซึ่งพบว่ามีรูปแบบการเจริญเติบโตคล้ายกันกับการเลี้ยงด้วยอาหารเหลว BG-11₀ ในถุงพลาสติกซิบ โดยสาหร่ายจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 7 วัน หลังจากปลุกเชื้อ หลังจากนั้นจะเจริญเติบโตอย่างช้า ๆ และคงที่ ดังนั้น การใช้ น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จะต้องใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน 7 วัน จึงจะทำให้ได้ปริมาณสาหร่ายที่มีชีวิตทั้งหมดสูงเพียงพอสำหรับนำไปเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวลในระดับที่ใหญ่มากขึ้นได้

ตารางที่ 2 สมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยหมักมูลไก่

ชนิด	pH	EC (1:2) (เดซิซีเมนส์/ม.)	ธาตุอาหารหลัก (%)			ธาตุอาหารรอง (%)		ธาตุอาหารเสริม (มก./กก.)				
			T-N	T-P	T-K	T-Ca	T-Mg	T-Fe	T-Mn	T-Zn	T-Cu	T-Ni
ปุ๋ยหมักมูลไก่	7.20	8.96	1.96	3.33	1.34	10.5	1.09	4,315	1,757	948	290	8.63

ตารางที่ 3 ปริมาณไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจางที่อัตราส่วนต่าง ๆ

อัตราส่วนปุ๋ยหมักมูลไก่ : น้ำ (w/v)	ไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ (มก./ล.)
1:50	33.9
1:100	14.2
1:150	6.09
1:200	3.57
1:250	nd
1:300	nd

nd = not detected

ตารางที่ 4 สมบัติทางเคมี และปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ปราศจากไนโตรเจน สูตร BG-11₀ และน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง อัตราส่วน 1:250 (น้ำหนักต่อปริมาตร) (เจือจาง 250 เท่า)

สมบัติทางเคมี/ปริมาณธาตุอาหาร	อาหารสูตร BG-11 ₀	น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า
pH	7.80	7.63
EC (เดซิซีเมนส์/ม.)	0.20	0.64
N (มก./ล.)	nd	nd
P (มก./ล.)	9.66	4.44
K (มก./ล.)	26.9	40.1
Ca (มก./ล.)	8.30	3.03
Mg (มก./ล.)	7.78	2.14
Fe (มก./ล.)	0.08	0.03
Mn (มก./ล.)	0.51	0.02
Zn (มก./ล.)	0.12	0.01
Cu (มก./ล.)	0.04	0.03
Ni (มก./ล.)	nd	nd

nd = not detected

ตารางที่ 5 ปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมดในถุงพลาสติก ปริมาตร 3,600 มิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ในสภาพที่ร่มที่มีความเข้มแสงประมาณ 7,000 - 10,000 ลักซ์ และมีการเติมอากาศอย่างต่อเนื่องที่ระยะเวลาต่าง ๆ

กรรมวิธี	ปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมด (log ₁₀ cfu/mL)
1. เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 0 วัน	2.783 b
2. เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 7 วัน	5.123 a
3. เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 14 วัน	5.302 a
4. เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 21 วัน	5.306 a
5. เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 30 วัน	5.345 a
6. เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 45 วัน	5.172 a
7. เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 60 วัน	5.161 a
CV.(%)	4.4

ตัวเลขในสคตมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT



(ก)

(ข)

ภาพที่ 2 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ที่ระยะเวลา 0 วัน (ก) และที่ระยะเวลา 7 วัน (ข)

3. ศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในถังพลาสติกขนาด 18.9 ลิตร โดยใช้ปุ๋ยหมักมูลไก่ในสภาพโรงเรือน

3.1 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณไนโตรเจน

เมื่อเลี้ยงขยายชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ระยะเวลา 45 วัน หลังจากปลูกเชื้อ พบว่า การเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า มีปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเซลล์สาหร่ายสูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารเหลวสูตร BG-11₀ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 7.40 และ 0.52 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นเพราะในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่มีปริมาณโพแทสเซียมสูงกว่าในอาหารเหลว BG-11₀ ซึ่งสาหร่ายสามารถนำไปใช้เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ไนโตรจีเนสสำหรับใช้ในกระบวนการตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายได้ (Hasanuzzaman *et al.*, 2017) ส่วนปริมาณไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์

สำหรับพบว่า การเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่และอาหารเหลือสูตร BG-11₀ มีปริมาณไนโตรเจนใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 6 และภาพที่ 3) ด้านประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลสด พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า มีประสิทธิภาพการผลิตเพิ่มขึ้นจากการใช้อาหารเหลือ BG-11₀ ถึง 63.3 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

3.2 ต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า มีต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยงต่ำกว่าอาหารเหลือ BG-11₀ ถึง 500 เท่า โดยมีค่าอาหารเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.04 บาทต่อลิตร ส่วนอาหารเหลือ BG-11₀ มีค่าอาหารเพาะเลี้ยงเท่ากับ 20 บาทต่อลิตร ซึ่งการเพาะเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจางสามารถลดต้นทุนค่าอาหารเหลือสังเคราะห์ได้ 19.96 บาทต่อลิตร (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 6 ปริมาณน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบในเซลล์สำหรับเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า และอาหารเหลือสูตร BG-11₀

กรรมวิธี	น้ำหนักสด ^{1/} (กรัม/ลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ลิตร)	ไนโตรเจน (%)
1. เลี้ยงด้วยอาหารเหลือสูตร BG-11 ₀	4.53	0.32	3.52
2. เลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า	7.40	0.52	3.65
	*	*	ns

*ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/}ที่เปอร์เซ็นต์ความชื้นต่อน้ำหนักสดเท่ากับ 93%

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลสดของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า เปรียบเทียบกับอาหารเหลือสูตร BG-11₀

กรรมวิธี	น้ำหนักสด ^{1/} (กรัม/ลิตร)	ประสิทธิภาพการผลิตเพิ่มขึ้น (%)
1. เลี้ยงด้วยอาหารเหลือสูตร BG-11 ₀	4.53	-
2. เลี้ยงด้วยน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า	7.40	63.3

^{1/}ที่เปอร์เซ็นต์ความชื้นต่อน้ำหนักสดเท่ากับ 93%

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อใช้อาหารเหลือสูตร BG-11₀ และน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า

อาหารเพาะเลี้ยง	ราคา (บาท/ลิตร)	ลดต้นทุน (บาท/ลิตร)
1. อาหารเหลือสูตร BG-11 ₀	20.0	-
2. น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า	0.04	19.96

หมายเหตุ : ปุ๋ยหมักมูลไก่แห้งราคากิโลกรัมละ 10 บาท สามารถเตรียมอาหารเหลือได้ 250 ลิตร



ภาพที่ 3 การเลี้ยงขยายชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยใช้น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า และอาหารเหลว BG-11₀ ปริมาตร 16 ลิตร ในถังพลาสติกขนาด 18.9 ลิตร ในสภาพโรงเรือน

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ



1. การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในอาหาร BG-11₀ แบบเหลวแขวนลอยปริมาตร 360 มิลลิลิตร ในถุงพลาสติกซิปลที่มีประสิทธิภาพคือ การใช้หัวเชื้อตั้งต้นในการปลูกเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ และบ่มเชื้อไว้ภายใต้สภาพควบคุม ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ นาน 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลานาน 7 วัน จะทำให้มีปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมด (\log_{10} cfu/mL) เท่ากับ 4.569 ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นในการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้เพิ่มขึ้น 10 เท่า

2. การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในอาหารเหลวน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ปริมาตร 3,600 มิลลิลิตร ที่มีประสิทธิภาพคือ เพาะเลี้ยงในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ในถุงพลาสติกใส และใช้หัวเชื้อตั้งต้นในการปลูกเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพที่ร่มที่มีความเข้มแสงระหว่าง 7,000-10,000 ลักซ์ พร้อมมีการเติมอากาศด้วยปั๊มลม เป็นเวลานาน 7 วัน จะทำให้ได้หัวเชื้อตั้งต้นที่มีปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมด (\log_{10} cfu/mL) เท่ากับ 5.123 ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณสาหร่ายได้เพิ่มขึ้น 10 เท่า

3. การผลิตชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 โดยใช้น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ปริมาตร 16 ลิตร ในสภาพโรงเรือน ให้ผลผลิตชีวมวลสูงกว่าการใช้อาหารเหลว BG-11₀ หรือมีประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลเพิ่มขึ้นจากการใช้อาหารเหลว BG-11₀ 63.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถลดต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยงลงได้ 500 เท่า หรือลดต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยงเท่ากับ 19.96 บาทต่อลิตร



การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

กระบวนการผลิตชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยใช้น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ เกษตรกรสามารถนำไปใช้เป็นตัวแบบเพื่อการผลิตเป็นสารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอย่างง่าย เพื่อใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืชผักได้หลายชนิด ช่วยเพิ่มผลผลิตส่งผลให้เกษตรกรมีกำไรเพิ่มขึ้น



เอกสารอ้างอิง

- กรรณิการ์ สิริสิงห. 2525. เคมีของน้ำโสโครกและการวิเคราะห์. มหาวิทยาลัยมหิดล: กรุงเทพฯ. 387 หน้า
- กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2551. คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. ควิกปรีนท์ ออฟเซ็ท: กรุงเทพฯ. 49 หน้า
- ประไพ ทองระอ่า ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต และนิศารัตน์ ทวีนุต. 2562. ผลของการใช้สารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโต การดูดใช้ธาตุอาหารและผลผลิตของผักกวางตุ้ง. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ. ณ โรงแรมวรวรนา หัวหิน โฮเต็ล แอนด์ คอนเวนชั่น. ประจวบคีรีขันธ์. 26-28 มิถุนายน 2562.
- Allen, M. B. and D.I. Arnon. 1955. Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. *Plant Physiol.* 30:366-372.
- Drobek, M., M. Frac and J. Cybulska. 2019. Plant biostimulants : importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress -A review. *Agronomy* 9:1-18.
- Hasanuzzaman, M., K. Nahar, A. Rahman, J.Al. Mahmud, M. S. Hossain, M. K. Alam, H. Oku, and M. Fujita.2017. Part III Plant nutrition and abiotic stress. *In: Naeem, M., A.A. Ansari and S.S. Gill (eds.) Essential plant nutrients uptake, use efficiency and management.* Springer International Publishing AG. pp. 213-274.
- McGrath, S.P. and C.H. Cunliffe. 1985. A simplified method for the extraction of the metal Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co, and Mn from soils and sewage sludge. *J. Sci. Food & Agri.* 36: 794-798.
- Ronga, D., E. Biazzi, K. Parati, D. Carminati, E. Carminati and A. Tava. 2019. Microalgae biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy* 9:1-22.
- Sekar, R., N. Thangaraju and R. Rengasamy. 1995. Effect of seaweed fertilizer from *Ulva LactucaonVigna unguiculata* (L.) Walp. *Phykos.* 34: 49-53.



ศึกษาการใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์-วันที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวโพดหวาน
พันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3

Study on the Utilization of PGPR-I Biofertilizer Suitable for Sweet Corn
Variety Hi-brix 3 Production

กัลยกร โปร่งจันทิก¹ สรัตนา เสนาะ¹ เอมร์ชด์พัชร เขียววิชัย²

Kunlayakorn Prongjunthuek¹ Sarattana Sanoh¹ Choeratphatchara Kheiwwichai²

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Canned sweet corn in Thailand has the world's number 1 export value and quantity. Sweet corn is therefore classified as another important economic crop in Thailand. But farmers still face the problem of the higher cost of production because of agricultural production. In particular, the price of chemical fertilizers has increased dramatically. The purpose of this experiment was to study the utilization of PGPR-I biofertilizer suitable for sweet corn variety Hi-brix 3 production under farmland conditions. Two types of PGPR-I biofertilizers with different bacterial species and aseptic carriers were used together with chemical fertilizer application of 75–100 percent of the recommended rates based on soil analysis values. Chemical fertilizers in combination with PGPR-I biofertilizers were used to grow sweet corn variety Hi-brix 3 under medium fertility and high exchangeable potassium content in farmland gave the results in the same direction as the experiments in the experimental field of the research center. The sweet corn variety Hi-brix 3 had un-husked ear yields between 3,100–4,253 kg per rai and the husked ear yields ranged from 1,607–2,440 kg per rai and all treatments were not statistically different. In addition, all treatments also had length of ear without husk and sweetness standards according to the THAI AGRICULTURAL STANDARD TAS.1512–2011 and when calculating the economic return by finding the ratio between the income from increased productivity from fertilization (Value to Cost Ratio, VCR) that considers a VCR lower than two, fertilizing will not be able to generate a profitable return to the farmers, it was found that treatment 2, 3 and 5 had a VCR at 6.48, 5.45 and 6.90 respectively.

Key words: PGPR biofertilizer, sweet corn, Hi-brix 3

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี

² Lop Buri Seed Research and Development Center

บทคัดย่อ

ข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องของไทยมีปริมาณและมูลค่าการส่งออกเป็นอันดับ 1 ของโลก ข้าวโพดหวานจึงจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอีกชนิดของไทย แต่เกษตรกรยังประสบปัญหาในเรื่อง ต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้นเพราะว่าปัจจัยการผลิต โดยเฉพาะราคาปุ๋ยเคมีที่เพิ่มสูงขึ้นแบบก้าวกระโดด การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิอาร์-วัน ที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3 ในสภาพพื้นที่เกษตรกร โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิอาร์-วัน 2 แบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียและวัสดุพาที่ใช้วิธีปลอดเชื้อแตกต่างกัน ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75–100 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ผลการทดลอง พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิอาร์-วัน ในการปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3 ในสภาพพื้นที่เกษตรกรซึ่งมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลางและมีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูง ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยฯ โดยข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกอยู่ระหว่าง 3,100–4,253 กิโลกรัมต่อไร่ และน้ำหนักฝักสดเปลือกอยู่ระหว่าง 1,607–2,440 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งทุกกรรมวิธีทดลองไม่แตกต่างทางสถิติ นอกจากนี้ทุกกรรมวิธีทดลองยังมีความยาวฝักเปลือกและความหวานได้มาตรฐานตาม มกษ.1512-2554 และเมื่อคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจโดยหาอัตราส่วนระหว่างรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย (Value to Cost Ratio, VCR) ถ้าค่า VCR ต่ำกว่า 2.0 การใส่ปุ๋ย จะไม่สามารถสร้างผลตอบแทนที่ทำให้กำไรให้แก่เกษตรกร พบว่า กรรมวิธีทดลองที่ 2, 3 และ 5 มีค่า VCR เท่ากับ 6.48 5.45 และ 6.90 ตามลำดับ

คำสำคัญ: ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิอาร์ ข้าวโพดหวาน พันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3

คำนำ

ประเทศไทยเป็นฐานการผลิตและส่งออกข้าวโพดหวานที่สำคัญของโลก ปัจจุบัน ข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องมีปริมาณและมูลค่าการส่งออกอันดับ 1 ของโลก (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2550) ส่วนแบ่งมูลค่าและปริมาณในตลาดโลก 22 และ 27 เปอร์เซ็นต์ โดยในปี 2563 ประเทศไทยส่งออกข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋อง มูลค่า 6,722 ล้านบาท โดยส่งออก 115 ประเทศทั่วโลก ในขณะที่ข้าวโพดหวานแช่แข็งส่งออก 18 ประเทศทั่วโลก มูลค่า 168 ล้านบาท ซึ่งโรงงานแปรรูปในประเทศมีความต้องการผลผลิต 1,200 ตันต่อวัน และคาดว่าปริมาณความต้องการจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากความต้องการด้านอาหารมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยพื้นที่เพาะปลูกสำคัญอยู่ทางภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคกลาง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) ถึงแม้ว่าเกษตรกรนิยมการเพาะปลูกข้าวโพดหวานเป็นจำนวนมากแต่ก็ยังคงต้องเผชิญกับปัญหาต่าง ๆ เช่น ผลผลิตต่ำ ต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้นเพราะว่าปัจจัยการผลิต เช่น ปุ๋ย สารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชและศัตรูพืชมีราคาแพง และปัญหาคุณภาพของผลผลิตไม่ได้มาตรฐาน ทำให้กำไรที่ได้จากการเพาะปลูกข้าวโพดหวานของเกษตรกรลดลง เกษตรกรจึงเปลี่ยนไปปลูกพืชอื่น ๆ ทดแทน เช่น อ้อย มันสำปะหลัง เป็นต้น จึงเป็นสาเหตุทำให้พื้นที่เพาะปลูกและผลผลิตข้าวโพดหวานมีแนวโน้มลดลง

ปัจจุบันนักวิจัยได้มีความสนใจศึกษาประโยชน์ของแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณรอบ ๆ รากพืช (rhizosphere bacteria) เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากพบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้มีศักยภาพในการใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพได้ (Diem, 1978; Bashan and Levany, 1990) โดยประโยชน์ที่สำคัญของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) ที่อาศัยอยู่รอบ ๆ รากพืชเหล่านี้ คือ การตรึงไนโตรเจน (Boddey *et al.*, 1995; Meunchang *et al.*, 2004) ผลิตฮอร์โมนสำหรับพืช เช่น indole acetic acid

(Meunchang *et al.*, 2004) ช่วยให้รากมีพื้นที่ผิวมากขึ้นมีผลช่วยให้พืชดูดน้ำและธาตุอาหารได้เพิ่มมากขึ้นกว่าเดิม (Jacoud *et al.*, 1999) จึงนำมาพัฒนาเป็น ปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัล ซึ่งเป็นปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช ทั้งบริเวณดินรอบๆ ราก ผิวยาง ราก ภายในราก ต้นและใบพืช การใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลในการช่วยเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง อนึ่ง การวิจัยการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลในการปลูกข้าวโพดหวานก็ยังประสบปัญหาจากด้านอื่น ๆ เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พันธุ์ข้าวโพดหวานที่ใช้ และการจัดการดินและน้ำ ซึ่งทำให้ผลผลิตที่ได้รับจากการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลแตกต่างกันออกไป นอกจากนี้ประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ สกูลและสายพันธุ์แบคทีเรีย ชนิดของพืช สมบัติของดิน ประชากรจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์ และเงื่อนไขทางสภาพแวดล้อม โดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อม ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก (Bashan and Levany, 1988) การศึกษาการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลที่เฉพาะเจาะจงกับพันธุ์ข้าวโพดหวานที่เกษตรกรนิยมปลูก จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจซึ่งควรทำความเข้าใจกับการจัดการปุ๋ยและปัจจัยอื่น ๆ เพื่อวิจัยพัฒนาเป็นเทคโนโลยีช่วยเพิ่มศักยภาพในการผลิตและปริมาณผลผลิตข้าวโพดหวานเพื่อการส่งออกและจำหน่ายภายในประเทศต่อไป การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัล-วันที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริด 3 ในสภาพพื้นที่เกษตรกร โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัล-วัน 2 แบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียและวัสดุพาที่ใช้วิธีปลอดเชื้อแตกต่างกันรวมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75-100 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ตามรายงานวิจัยของ กัลยกรและคณะ (2560) ที่ได้ทำการวิจัยการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัล-วันร่วมกับปุ๋ยเคมีในการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริด 3 เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาคำแนะนำการใช้ประโยชน์และพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริด 3
2. ปุ๋ยเคมี 46-0-0 18-46-0 0-46-0 และ 0-0-60
3. ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัล-วัน
4. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช
5. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างพืชและผลผลิต เช่น ถังกระดาษ ถังตาข่าย เป็นต้น

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างดินก่อนดำเนินการทดลองที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีบางประการ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (Peech, 1965) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Walkley and Black, 1934) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray and Kurtz, 1945) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Thomas, 1982) สำหรับใช้คำนวณอัตราปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2564)

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

3. บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิต เมื่ออายุ 55-65 วัน และหลังการเก็บเกี่ยวเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับปริมาณฟิสิกัลไนโตรเจน รากพร้อมวัดอัตราการตรึงไนโตรเจน (Acetylene Reduction Assay : ARA) ตามวิธีของ Hardy *et al.*, (1968)

4. วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และค่าทางสถิติอื่น ๆ สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ และคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากอัตราส่วนระหว่างรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย (Value to Cost Ratio, VCR) ดังนี้

$$VCR = \frac{\text{รายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย}}{\text{รายจ่ายจากการใส่ปุ๋ย}}$$

*ถ้าค่า VCR ต่ำกว่า 2.0 การใส่ปุ๋ยจะไม่สามารถสร้างผลตอบแทนที่คุ้มค่าให้แก่เกษตรกร

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

1. ใส่ปุ๋ย 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน)
2. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจน-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ย 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจน-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ย 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
4. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจน-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ย 22.5-4.5-7.5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
5. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจน-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ย 22.5-4.5-7.5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

เตรียมแปลงปลูก วางระบบน้ำ ดำเนินการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 19 พฤษภาคม 2565 ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น/หลุม เมื่อวันที่ 26 พฤษภาคม 2565 และใส่ปุ๋ยแต่งหน้า เมื่อวันที่ 9 มิถุนายน 2565 และทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อวันที่ 2 กันยายน 2565

หมายเหตุ – ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจน-วัน แบบที่ 1 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจนที่ใช้วัสดุพาแบบนิ่งฆ่าเชื้อประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดยใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากดินบริเวณรอบ ๆ รากหญ้าแฝก (*Vetiver grass*) (Meanchang *et al.*, 2004) และมีปริมาณ *Azospirillum* sp. 2.70×10^7 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. 1.45×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. 2.10×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจน-วัน แบบที่ 2 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจนที่ใช้วัสดุพาแบบฉายรังสีประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดยใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากรากข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริด 3 (*Zea mays saccharata*) (Prongjunthuek *et al.*, 2019) และมีปริมาณ *Azospirillum* sp. 2.65×10^7 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. 1.53×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. 2.30×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- การใส่ปุ๋ย ปุ๋ยเคมีทำการแบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ใส่รองพื้นพร้อมปลูกอัตรา 50%N-100%P-100%K ของกรรมวิธีต่าง ๆ และครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้าเมื่อข้าวโพดอายุ 21 วันหลังปลูก อัตรา 50%N ของกรรมวิธีต่าง ๆ โดยโรยข้างแถวแล้วพูนโคนและกำจัดวัชพืช ส่วนปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจน ทั้ง 2 แบบ ใช้คลุกเมล็ดพร้อมปลูก อัตราส่วนปุ๋ยชีวภาพฟิสิกัลไนโตรเจน 500 กรัม ต่อเมล็ดข้าวโพด 3 กิโลกรัมต่อไร่ (Figure 3)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักรากสด น้ำหนักผลผลิตสด และจำนวนฝักเก็บเกี่ยว
2. หลังเก็บเกี่ยวบันทึกข้อมูล น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากแห้ง และน้ำหนักผลผลิตแห้ง
3. บันทึกปริมาณฟิสิกัลไนโตรเจนบริเวณรอบ ๆ ราก และองค์ประกอบผลผลิตอื่น ๆ
4. ค่าวิเคราะห์ดินก่อนปลูกและหลังปลูก

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565
 สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และไรเคษตรกร
 จังหวัดลพบุรี พิกัดแปลง 47P X= 721398 Y= 1662419

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Soil fertility)

ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร และนับปริมาณจุลินทรีย์ในดินก่อนปลูก จาก Table 1 พบว่า ดินในแปลงเกษตรกรมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง (กองสำรวจดิน, 2523 และ เอ็บ, 2548) โดยมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 0.91 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.26 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 105 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถคำนวณปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ได้ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Soil analysis, chemical fertilizer recommendation rate and number of PGPR in soil of farmer plot in Lop Buri province

OM (%)	Available P (mg/kg)	Extractable K (mg/kg)	pH (1:1)	Chemical fertilizer recommendation rate (kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/rai)	Number of PGPR in soil (Log ₁₀ CFU/g)		
					<i>Azospirillum sp.</i>	<i>Azotobacter sp.</i>	<i>Beijerinckia sp.</i>
0.91	34	105	6.26	30-6-10	4.69	4.52	5.69

2. ความสูงวันเก็บเกี่ยว (Height of harvest)

ความสูงวันเก็บเกี่ยวของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองไม่แตกต่างทางสถิติ และมีความสูงวันเก็บเกี่ยวอยู่ระหว่าง 190.2–201.0 เซนติเมตร (Table 2) โดยกรรมวิธีที่ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3 มีความสูงวันเก็บเกี่ยวสูงสุด คือ กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 22.5-4.5-7.5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความสูงวันเก็บเกี่ยว 201.0 เซนติเมตร รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ซึ่งให้เห็นว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ทั้งสองแบบร่วมกับปุ๋ยเคมีทำให้ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3 มีความสูงไม่แตกต่างกัน แม้ในกรรมวิธีที่ 4 และ 5 ที่ลดการใส่ปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

3. ผลผลิต (Un-husked ear and husked ear yields)

ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3 ที่ปลูก ณ แปลงเกษตรกร จังหวัดลพบุรี พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลอง มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือก (un-husked ear yields) และน้ำหนักฝักสดปอกเปลือก (husked ear yields) ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงสุด คือ 4,253 และ 2,440 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือก คือ 4,053 และ 2,267 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่า กรรมวิธีที่ 2 และ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน คนละแบบ แต่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดจ์ 3 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกไม่แตกต่างทางสถิติ ซึ่งให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ทั้งสองแบบมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ 1 ที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว ดังแสดงใน Table 2 นอกจากนี้ยังพบว่า

กรรมวิธีที่ 5 ซึ่งใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วันแบบเดียวกับกรรมวิธีที่ 3 คือ ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 แต่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียง 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดเปลือก (4,013 และ 2,317 กิโลกรัมต่อไร่) ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 และ 4 ที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน คือ 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำ จากผลการทดลองข้างต้น สามารถสรุปได้ว่า ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ทั้งสองแบบช่วยเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตในเรื่องของการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ สอดคล้องกับผลการทดลองของ กัลยกรและคณะ (2560) ที่รายงานว่า ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วันช่วยเพิ่มผลผลิต ลดการใช้ปุ๋ยเคมี และลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดส์ 3 ได้

4. ความกว้างฝักและความยาวฝักเปลือก (Width of ear and length of ear without husk)

จาก Table 2 พบว่า ความกว้างฝักและความยาวฝักเปลือกของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดส์ 3 ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความกว้างฝักและความยาวฝักเปลือกสูงที่สุด คือ 5.30 และ 20.40 เซนติเมตร รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 22.5-4.5-7.5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความกว้างฝักและความยาวฝักเปลือก 5.21 5.13 19.90 และ 19.80 เซนติเมตร ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่า กรรมวิธีที่ 2 และ 3 ใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน คนละแบบ ซึ่งให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ทั้งสองแบบมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดส์ 3 มีความยาวฝักเปลือกจัดอยู่ในระดับ 1 (> 20 เซนติเมตร) และ ระดับ 2 (> 15 ถึง 20 เซนติเมตร) ตามพระราชบัญญัติสินค้าเกษตร พ.ศ. 2551 มกษ.1512-2554 (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) ดังแสดงใน Table 2

5. ความหวาน (Sweetness)

ตามมาตรฐาน มกษ.1512-2554 (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) ได้กำหนดนิยามของ ข้าวโพดหวาน ว่า หมายถึง ข้าวโพดที่มีความหวาน โดยมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ไม่น้อยกว่า 9 องศาบริกซ์ ในลักษณะทั้งฝักที่มีหรือไม่มีเปลือกหุ้มเมล็ดติดกับซัง จากผลการทดลอง พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริดส์ 3 มีค่าความหวานไม่แตกต่างทางสถิติ และทุกกรรมวิธีมีความหวานอยู่ระหว่าง 14.40–15.25 ° brix ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน มกษ.1512-2554 (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Height of harvest, un-husked ear yield, husked ear yield, width of ear without husk, length of ear without husk and sweetness of sweet corn variety Hi-Brix 3 of farmer plot in Lop Buri province

Treatments	Height of harvest	Un-husked ear yield	Husked ear yield	Width of ear without husk	Length of ear without husk	Sweetness
	(cm)	(kg/rai)		(cm)	(cm)	(°brix)
1	197.1	3,100	1,607	4.90	19.30	14.88
2	199.2	4,253	2,440	5.21	19.90	14.40
3	196.4	4,053	2,267	5.30	20.40	15.23
4	190.2	3,253	1,793	4.92	19.53	15.25
5	201.0	4,013	2,317	5.13	19.80	15.08
C.V. (%)	10.27	10.05	4.52	9.01	8.70	5.10
Significant	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Remarks: ns = non-significant

6. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ (Value to Cost Ratio)

การคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยหาอัตราส่วนระหว่างรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย (Value to Cost Ratio, VCR) ซึ่ง $VCR = \frac{\text{รายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย}}{\text{รายจ่ายจากการใส่ปุ๋ย}}$ นั้น ในการทดลองนี้ทำการเทียบจากการกรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ย 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) พบว่า กรรมวิธีทดลองที่ 2, 3 และ 5 มีผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ หรือ VCR เท่ากับ 6.48 5.45 และ 6.90 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าระดับค่าวิกฤต (2.00) ซึ่งให้เห็นว่า กรรมวิธีที่ 2 และ 3 ที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ทั้งสองแบบ มีผลทำให้อัตราผลตอบแทนเพิ่มขึ้น (Table 3) นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ 5 ที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 2 และลดปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 2 ช่วยลดต้นทุนการผลิตในเรื่องการลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ สอดคล้องกับรายงานของ กัลยกรและคณะ (2560) ที่รายงานว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ช่วยเพิ่มผลผลิตลดการใช้ปุ๋ยเคมี และลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บรिซ 3 ได้

Table 3 Value to Cost Ratio of sweet corn variety Hi-brix 3 production with combination between PGPR-I biofertilizer and chemical fertilizer at farmer plot in Lop Buri province

Treatments	Unhusked ear yield (kg/rai)	Increase yield (kg/rai)	Fertilizer cost (baht) ¹	Increase income (baht) ²	VCR ³
1	3,100	0	2,215	0	0
2	4,253	1,135	2,275	14,755	6.48
3	4,053	953	2,275	12,389	5.45
4	3,253	153	1,721	1,989	1.16
5	4,013	913	1,721	11,869	6.90

¹ Chemical fertilizer price: 15-15-15 = 20 baht/kg, 46-0-0 = 22 baht/kg, 0-0-60 = 20 baht/kg and PGPR-I = 60 baht/bag (1 bag/rai)

² Sweet corn price = 13,000 baht/ton

³ (Value to Cost Ratio, VCR) VCR = (increase income from fertilizer /fertilizer cost), a VCR lower than 2.00, fertilizing will not be able to generate a profitable return to the farmers

7. ปริมาณพีจีพีอาร์และปริมาณการตรึงไนโตรเจน (Number of PGPR in soil and Nitrogen fixation of PGPR from root area)

ก่อนดำเนินการทดลอง ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยในแปลงทดลองมีจำนวนประชากร *Azospirillum* sp. 4.69 Log₁₀ CFU/g *Azotobacter* sp. 4.52 Log₁₀ CFU/g และ *Beijerinckia* sp. 5.69 Log₁₀ CFU/g และหลังการทดลอง พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองที่ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ทำให้จำนวนประชากร *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. ในดินเพิ่มสูงขึ้น ดังแสดงใน Table 1 และ Figure 1 และเมื่อวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน พบว่า แบคทีเรียทั้งสามสกุลสามารถส่งเสริมให้มีการตรึงไนโตรเจนในราก โดยมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.427–0.605 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_2 \text{ hr}^{-1}$ (Figure 2) ซึ่งโดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณประชากรแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อมซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก (Bashan and Levanony, 1990; สมปองและศุภมาศ, 2551; Meunchang *et al.*, 2006a; Meunchang *et al.*, 2006b)

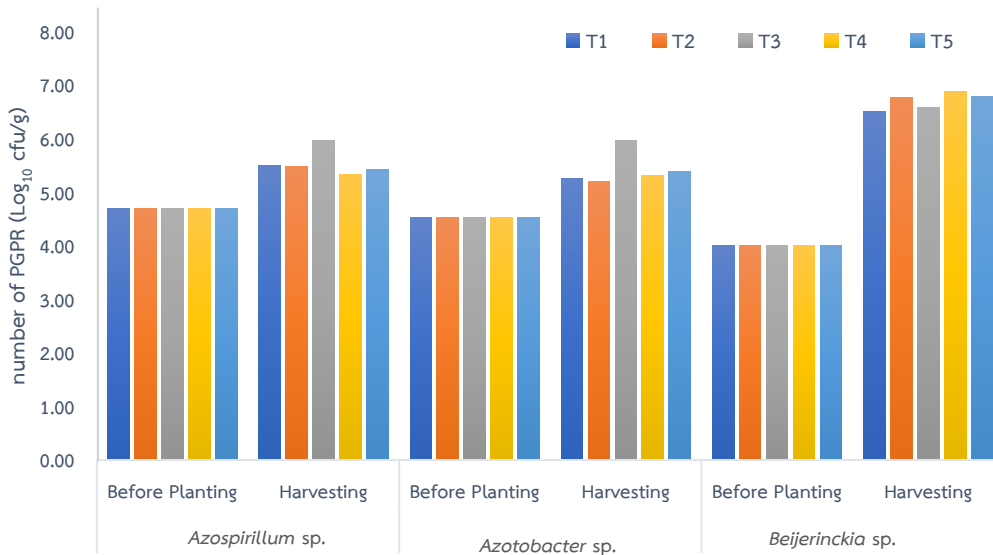


Figure 1 Number of PGPR in soil before planting and harvesting of sweet corn variety Hi-brix 3 at farmer plot in Lop Buri province

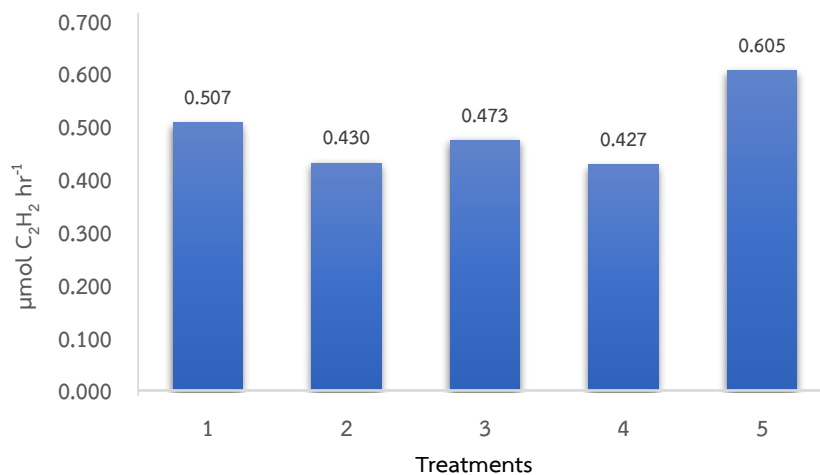


Figure 2 Nitrogen fixation of PGPR from root area at farmer plot in Lop Buri province

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิอาร์-วัน ทั้งสองแบบในการปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ในสภาพพื้นที่เกษตรกรซึ่งมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลางและมีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูง ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยฯ ซึ่งข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮ-บริกซ์ 3 ทุกกรรมวิธีทดลองมีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือก (3,100–4,253 กิโลกรัมต่อไร่) และน้ำหนักฝักสดปอกเปลือก (1,607–2,440 กิโลกรัมต่อไร่) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี ปุ๋ยเคมี 30-6-10 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำ) ให้ผลผลิตสูงที่สุดและมีค่า VCR เท่ากับ 6.48 และกรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 22.5-4.5-7.5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (75 เปอร์เซ็นต์อัตราแนะนำ) ให้ผลผลิตรองลงมาแต่มีค่า VCR สูงที่สุด คือ 6.90 อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมและต่อเนื่องและควรมีการศึกษาการยอมรับของเกษตรกรเพิ่มเติมด้วย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถช่วยเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิตจากการใช้ปุ๋ยเคมีลดลง นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรและเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตและเพิ่มความมั่นคงทางด้านอาหารในอนาคตได้อีกด้วย ในด้านประโยชน์ทางวิชาการ นักวิชาการและผู้ที่มีสนใจสามารถนำงานวิจัยไปต่อยอดและใช้เป็นแนวทางในการลดต้นทุนการผลิตกับพืชชนิดอื่นหรือข้าวโพดสายพันธุ์อื่นได้

เอกสารอ้างอิง



- กัลยกร โปร่งจันทิก ภัศชญณณ์ หมิ่นแจ่ม นงลักษณ์ บันลาย และวีระพงษ์ เย็นอ่วม. 2560. ผลการใช้ปุ๋ยชีวภาพ ฟิซีฟิอาร์-วันต่อการลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวาน. หน้า 346-354. ใน: รายงานการประชุมวิชาการดิน และปุ๋ยแห่งชาติ ครั้งที่ 5. ณ โรงแรมเซ็นทรา บาย เซ็นทารา แจ้งวัฒนะ กรุงเทพฯ.
- กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2564. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่ เศรษฐกิจ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ISBN: 978-616-358-578-3.
- กองสำรวจดิน. 2523. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของที่ดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ เล่มที่ 28. กองสำรวจดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 76 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. ข้าวโพดหวาน: เนื้อที่เพาะปลูก เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ รวมทั้ง ประเทศ ปี 2562. แหล่งข้อมูล <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/sweet%20corn62.pdf>. สืบค้น : 15 มกราคม 2564.
- สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2554. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.1512-2554: ข้าวโพดหวาน. 18 หน้า. ICS 67.080.20. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สมปอง หมิ่นแจ่ม และศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา. 2551. การใช้ผลพลอยได้จากโรงงานน้ำตาลแบคทีเรีย ตรัง ไนโตรเจนและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการผลิตพืช. รางวัลสภาวิจัยแห่งชาติ : รางวัลวิทยานิพนธ์ ประจำปี 2550. หน้า 250-252.
- ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. 2550. ข้าวโพดหวาน : ผลกระทบจากภาษีตอบโต้การทุ่มตลาดในสหภาพยุโรป (มอง เศรษฐกิจ ฉบับที่ 1963). แหล่งข้อมูล <https://www.kasikornresearch.com/th/analysis/k-econ/business/Pages/8897.aspx>. สืบค้น : 15 มกราคม 2564
- เอิบ เขียวรัตน์มย์. 2548. การสำรวจดิน. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 733 น.
- Bashan, Y. and Levanony, H. 1988. Adsorption of the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd to soil, sand and peat particles. *Journal of General Microbiology*. 134: 1811-1820.
- Bashan, Y. and H. Levanony. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation Technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Canadian Journal of Microbiology*. 36: 591-608.
- Boddey, R.M. 1995. Biological nitrogen fixation associated with sugarcane and rice: contribution and prospects for improvement. *Plant and Soil*. 174: 195-209.
- Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils, *Soil Science*. 59: 39-45.

- 
- 
- Diem, G. 1978. Colonization of rice roots by diazotroph bacteria. In Environmental role of nitrogen-fixing blue-green algae and asymbiotic bacteria. Edited by U. Granhall. Ecol. Bull. (Stockholm). 26: 305–311.
- Hardy R. W. F., R. D., Holsten, E. K., Jackson and R. C. Burns. 1968. The Acetylene- Ethylene Assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiology*. 43: 1,185–1,207.
- Hungria, M., R.J. Campo, E.M. Souza and F.O. Pedrosa. 2010. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant Soil*. 331: 413–425.
- Jacoud, C. 1999. Initiation of root growth stimulation by *Azospirillum lipoferum* CTR1 during maize seed germination. *Canadian Journal of Microbiology*. 45: 339–342.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana, S. Ando and T. Yokoyama. 2004. Phylogenetic and physiological characterization of indigenous *Azospirillum* isolates in Thailand. *Soil Science and Plant Nutrition*. 50(3): 413–421.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana and R. W. Weaver. 2006a. Tomato growth in soil amended with Sugar mill by-products compost containing N₂-fixing bacteria. *Plant and Soil*. 280: 171–176.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana, S. Ando, T. Yokoyama and R. W. Weaver. 2006b. Bio-organic Fertilizer production development from compost and plant growth promoting rhizobacteria. Abstract of 14th world fertilizer congress. January 21–27, 2006. Chiang Mai Thailand.
- Peech, M. 1965. Hydrogen-ion activity in Methods of Soil Analysis Part 2; C.A. Black, ed. pp. 914–926.
- Prongjunthuek, K., P., Meunchang and S. Panichsakpatana. 2019. Effects of *Azospirillum* on germination and seedling growth of commercial sweet corn varieties Insee 2 and Hi-Brix 3. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 41(4): 838–845.
- Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. In: Methods of Soil Analysis. (AL Page *et al*, eds) Agronomy. 9: 154–157 (Madison).
- Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. 37: 29–38.

ภาคผนวก



Figure 3 (a) prepared sweet corn variety Hibrix 3 seed for each treatments, (b) cultivation of sweet corn variety HiBrix 3 using planters and (c) sweet corn variety HiBrix 3 aged 7 days after planting.



ศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพด
ข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25

Study on effect of PGPR Biofertilizer on Growth and Yield of Waxy Corn
Variety Sweet White 25

กัลยกร โปร่งจันทิก¹ สรตนา เสนาะ¹ วีระพงษ์ เย็นอ่วม²
Kunlayakorn Prongjunthuek¹ Sarattana Sanoh¹ Werapong Yenoum²

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

In the past, studies on the utilization of PGPR-I biofertilizer by the Department of Agriculture were conducted on sweet corn and maize. The utilization of waxy corn production has not yet been studied to support the needs of farmers in reducing production costs. Therefore, research on waxy corn has been conducted. The purpose of this experiment was to increase production efficiency and reduce production costs of Sweet White 25 waxy corn cultivar under farmer's field conditions. Two types of PGPR-I biofertilizers with different bacterial species and aseptic carriers were used together with chemical fertilizer application at 75–100 percent of the recommended rates based on soil analysis values. In order to use the results to develop recommendations for the utilization and development of PGPR-I biofertilizer products in the future. Sweet White 25 waxy corn was grown in moderately fertile farmland. Yielded unclear experimental results. Sweet White 25 waxy corn was tested in all treatments. The weight of the un-husked ear yields was between 1,738–1,600 kg per rai and the husked ear yields ranged from 1,180–1,268 kg per rai. All treatments were not statistically different. In addition, Sweet White 25 waxy corn ear width and ear length were statistically significantly different. By treatment 3, PGPR-I biofertilizer type 1 was added together with chemical fertilizer 20-8-20 kg. N-P₂O₅-K₂O per rai, with the highest ear width and ear length without husk being 4.15 and 16.93 cm. The economic returns for treatments 2, 4 and 5 have a negative VCR and treatment 3 has a VCR at 0.07 which is lower than 2.00. Indicating that adding both PGPR-I biofertilizer to Sweet White 25 waxy corn production, despite reducing chemical fertilizers use by 25 percent, it did not increase the yields of farmers.

Key words: PGPR biofertilizer, waxy corn, sweet white 25

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 5

² Office of Agricultural Research and Development Region 5

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์-วัน ของกรมวิชาการเกษตร ที่ผ่านมามีการศึกษาในข้าวโพดหวานและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ยังไม่มีการศึกษาการใช้ประโยชน์ในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวเพื่อรองรับความต้องการของเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิตจึงเริ่มดำเนินการวิจัยในข้าวโพดข้าวเหนียว การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 ในสภาพพื้นที่เกษตรกร โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์-วัน 2 แบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียและวัสดุพาที่ใช้วิธีปลอดเชื้อแตกต่างกัน ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75-100 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาคำแนะนำการใช้ประโยชน์และพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์-วัน ต่อไปในอนาคต ผลการทดลอง พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์-วัน ในการปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 ในสภาพพื้นที่เกษตรกรซึ่งมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ให้ผลการทดลองที่ยังไม่ชัดเจน โดยทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกอยู่ระหว่าง 1,738-1,600 กิโลกรัมต่อไร่ และน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกอยู่ระหว่าง 1,180-1,268 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ นอกจากนี้ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความกว้างฝักและความยาวฝักปอกเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำ) มีความกว้างฝักและความยาวฝักสูงที่สุด คือ 4.15 และ 16.93 เซนติเมตร ส่วนการคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจกรรมวิธีที่ 2, 4 และ 5 มีค่า VCR ติดลบ และกรรมวิธีที่ 3 มีค่า VCR เท่ากับ 0.07 ซึ่งต่ำกว่า 2.00 ชี้ให้เห็นว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์-วัน ทั้งสองแบบเพิ่มในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ สวีทไวท์ 25 แม้จะลดปริมาณปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้เกษตรกรได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์-วัน ข้าวโพดข้าวเหนียว พันธุ์สวีทไวท์ 25

คำนำ

พื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี ทำรายได้ให้แก่เกษตรกร 10,000-20,000 บาท ต่อไร่ต่อฤดู คิดเป็นมูลค่าประมาณ 1,000 ล้านบาทต่อปี (พีระวรรณ, 2551) มีการส่งออกข้าวโพดข้าวเหนียวไปยังต่างประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย บังคลาเทศ กัมพูชา เยอรมนี และเวียดนาม เป็นต้น โดยข้าวโพดข้าวเหนียวที่ส่งออกส่วนใหญ่อยู่ในรูปของเมล็ดพันธุ์ และฝักสดแช่แข็ง โดยมีปริมาณการส่งออกปี 2561-2564 เพียง 41 15 14 และ 10 ตัน ตามลำดับ คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 10 8 8 และ 8 ล้านบาท ตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร, 2565) ปัจจุบันความนิยมบริโภคข้าวโพดฝักสดเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเป็นแหล่งโภชนาการที่สำคัญโดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) อาทิ แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) จากข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งแอนโทไซยานินช่วยเสริมสร้างการทำงานของเม็ดเลือดแดง ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวาน ช่วยลดการเกิดไขมันอุดตันในหลอดเลือด ช่วยลดการเกิดมะเร็ง ลดภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ เพิ่มความสามารถในการมองเห็นและชะลอความเสื่อมของดวงตา (ณัฐนีและคณะ, 2559) ทำให้ในปัจจุบันเกิดการพัฒนาลักษณะที่หายากของข้าวโพดอย่างต่อเนื่อง และจากการวิเคราะห์ประเด็นปัญหาการผลิตพบว่าเทคโนโลยีการผลิตไม่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ประกอบปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ การระบาดของศัตรูพืชที่สำคัญ ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูง ผลผลิตต่ำ คุณภาพผลผลิตไม่ได้มาตรฐาน (อุดมและคณะ, 2565) จึงจำเป็นต้องวิจัยเทคโนโลยีในการเพิ่มผลผลิตต่อไร่ให้สูงขึ้น โดยการใช้ปัจจัยการผลิตอย่างมีประสิทธิภาพ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อให้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการและคุณภาพผลผลิตสูง

กรมวิชาการเกษตรได้ทำการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ ซึ่งเป็นปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช ทั้งบริเวณดินรอบ ๆ ราก ผิวนอก ราก ภายในราก ต้นและใบพืช ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ก็ให้ผลที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของแต่ละสกุล โดยสกุลแบคทีเรียที่นิยมใช้กับข้าวโพด ได้แก่ *Azospirillum* เช่นเดียวกับรายงานของ Hungria et al. (2010) ที่กล่าวว่า การใส่เชื้อจุลินทรีย์ *Azospirillum brasilense* ก่อนการปลูกสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวโพดได้ 24-30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม การเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับชนิดพืชมากที่สุดก็จะช่วยส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีและให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น รวมถึงช่วยลดปริมาณการใช้ ปุ๋ยเคมีในการผลิตพืช นอกจากนี้ประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ สกุลและสายพันธุ์ แบคทีเรีย ชนิดของพืช สมบัติของดิน ประชากรจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์ และเงื่อนไขทางสภาพแวดล้อม โดยทั่วไป หลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อม ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก (Bashan and Levanony, 1988) อนึ่งการวิจัยที่ผ่านมาเป็นการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ในการปลูกข้าวโพดหวาน และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์การค้าและพันธุ์ที่กรมวิชาการเกษตรพัฒนาขึ้นมา ซึ่งยังประสบปัญหาจากด้านอื่น ๆ เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พันธุ์ข้าวโพดที่ใช้ รวมถึงการจัดการดินและน้ำ ซึ่งทำให้ผลผลิตที่ได้รับจากการใช้ ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์แตกต่างกันออกไป และยังไม่มีการศึกษาการใช้ประโยชน์ในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว เพื่อรองรับความต้องการของเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิตจึงเริ่มดำเนินการวิจัยในข้าวโพดข้าวเหนียว

การศึกษการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์กับข้าวโพดข้าวเหนียวจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจซึ่งควรทำความเข้าใจกับการจัดการปุ๋ยและปัจจัยอื่น ๆ เพื่อวิจัยพัฒนาเป็นเทคโนโลยีช่วยเพิ่มศักยภาพในการผลิตและปริมาณผลผลิต ข้าวโพดข้าวเหนียวซึ่งในปัจจุบันเกษตรกรนิยมปลูกเพิ่มมากขึ้น การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ การผลิตและลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 ในสภาพพื้นที่เกษตรกร โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ 2 แบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียและวัสดุพาที่ใช้วิธีปลอดเชื้อแตกต่างกันรวมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75-100 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาคำแนะนำการใช้ประโยชน์และพัฒนา ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25
2. ปุ๋ยเคมี 46-0-0 18-46-0 0-46-0 และ 0-0-60
3. ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์
4. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช
5. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างพืชและผลผลิต เช่น ถังกระดาษ ถังตาข่าย เป็นต้น

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างดินก่อนดำเนินการทดลองที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมี บางประการ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (Peech, 1965) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Walkley and Black, 1934) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray and Kurtz, 1945) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Thomas, 1982) เพื่อคำนวณปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2564)

2. ดำเนินการทดลองในพื้นที่ดินร่วนปนเหนียวที่แปลงเกษตรกร จังหวัดชัยนาท ขนาดแปลงทดลองย่อยขนาด 6.0x5.0 เมตร ระยะปลูก 0.80x0.25 เมตร แปลงละ 7 แถว แถวละ 20 หลุม หลุมละ 1 ต้น ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์และปุ๋ยเคมีตามกรรมวิธีที่กำหนด ดูแลรักษาและกำจัดวัชพืชตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

3. บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิต เมื่ออายุ 62-64 วัน และหลังการเก็บเกี่ยวเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับปริมาณฟิซีฟิอาร์รอบ ๆ รากพร้อมวัดอัตราการตรึงไนโตรเจน (Acetylene Reduction Assay : ARA) ตามวิธีของ Hardy *et al.*, (1968)

4. วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และค่าทางสถิติอื่น ๆ สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ และคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากอัตราส่วนระหว่างรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย (Value to Cost Ratio, VCR) ดังนี้

$$VCR = \frac{\text{รายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย}}{\text{รายจ่ายจากการใส่ปุ๋ย}}$$

*ถ้าค่า VCR ต่ำกว่า 2.0 การใส่ปุ๋ยจะไม่สามารถสร้างผลตอบแทนที่คุ้มค่าให้แก่เกษตรกร

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

1. ใส่ปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน)
2. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
4. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ย 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
5. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ย 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

เตรียมแปลงปลูก วางระบบน้ำ ดำเนินการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 2 กุมภาพันธ์ 2565 ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม วันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2565 และใส่ปุ๋ยแต่งหน้า เมื่อวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2565 และทำการเก็บเกี่ยวผลผลิต เมื่อวันที่ 5 เมษายน 2565

หมายเหตุ - ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ที่ใช้วัสดุพาแบบนึ่งฆ่าเชื้อประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดย *Azospirillum* sp. ที่ใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากดินบริเวณรอบ ๆ รากหญ้าแฝก (Vetiver grass) (Meanchang *et al.*, 2004) และมีปริมาณ *Azospirillum* sp. 2.70×10^7 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. 1.45×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. 2.10×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ที่ใช้วัสดุพาแบบฉายรังสีประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดย *Azospirillum* sp. ที่ใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากรากข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริดส์ 3 (*Zea mays saccharata*) (Prongjunthuek *et al.*, 2019) และมีปริมาณ *Azospirillum* sp. 2.65×10^7 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. 1.53×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. 2.30×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- การใส่ปุ๋ย ปุ๋ยเคมีทำการแบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ใส่รองพื้นพร้อมปลูกอัตรา 50%N-100%P-100%K ของกรรมวิธีต่าง ๆ และครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้าเมื่อข้าวโพดอายุ 21 วันหลังปลูก อัตรา 50%N ของกรรมวิธีต่าง ๆ โดยโรยข้างแถวแล้วพูนโคนและกำจัดวัชพืช ส่วนปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ทั้ง 2 แบบ ใช้คลุกเมล็ดพร้อมปลูก อัตราส่วนปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน 500 กรัม ต่อเมล็ดข้าวโพด 3 กิโลกรัมต่อไร่ (Figure 3)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักรากสด น้ำหนักผลผลิตสด และจำนวนฝักเก็บเกี่ยว
2. หลังเก็บเกี่ยวบันทึกข้อมูล น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากแห้ง และน้ำหนักผลผลิตแห้ง
3. บันทึกปริมาณพีจีฟิอาร์บริเวณรอบ ๆ ราก และองค์ประกอบผลผลิตอื่น ๆ
4. ค่าวิเคราะห์ดินก่อนปลูกและหลังปลูก

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และไร่เกษตรกร
จังหวัดชัยนาท พิกัดแปลง 47P X= 629745 Y= 1673120

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Soil fertility)

ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร และนับปริมาณจุลินทรีย์ในดินก่อนปลูก จาก Table 1 พบว่า ดินในแปลงเกษตรกรมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง (กองสำรวจดิน, 2523 และ เอ็ม, 2548) โดยมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 1.74 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.13 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถคำนวณปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินได้ 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Soil analysis, chemical fertilizer recommendation rate and number of PGPR in soil of farmer plot in Chai Nat province

OM	Available P	Extractable K	pH	Chemical fertilizer recommendation rate	Number of PGPR in soil (Log ₁₀ CFU/g)		
(%)	(mg/kg)	(mg/kg)	(1:1)	(kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/rai)	<i>Azospirillum</i> sp.	<i>Azotobacter</i> sp.	<i>Beijerinckia</i> sp.
1.74	14	55	6.13	20-8-20	4.69	4.69	5.59

2. ความสูงวันเก็บเกี่ยว (Height of harvest)

ความสูงวันเก็บเกี่ยวของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติและมีความสูงวันเก็บเกี่ยวอยู่ระหว่าง 164.5–172.6 เซนติเมตร (Table 2) โดยกรรมวิธีที่ข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความสูงวันเก็บเกี่ยวสูงสุด คือ กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความสูงวันเก็บเกี่ยว 172.6 เซนติเมตร รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความสูงวันเก็บเกี่ยว 170.0 เซนติเมตร ซึ่งให้เห็นว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีฟิอาร์-วัน ทั้งสองแบบร่วมกับปุ๋ยเคมีทำให้ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความสูงไม่แตกต่างกัน แม้ในกรรมวิธีที่ 4 และ 5 ที่ลดการใส่ปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงใน Table 2

3. ผลผลิต (Un-husked ear and husked ear yields)

ผลผลิตของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 ที่ปลูก ณ แปลงเกษตรกร จังหวัดชัยนาท พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองน้ำหนักฝักสดรวมเปลือก (un-husked ear yields) และน้ำหนักฝักสดปอกเปลือก (husked ear yields) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20

กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกสูงที่สุด คือ 1,747 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 2) รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือก 1,738 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่กรรมวิธีที่ 1 ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีน้ำหนักฝักสดปกเปลือกสูงที่สุด คือ 1,268 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 3 1,238 กิโลกรัมต่อไร่ จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่า กรรมวิธีที่ 1 และ 3 ใส่ปุ๋ยเคมี อัตราเดียวกัน แต่กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 แสดงให้เห็นว่า ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้ นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ ซึ่งใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วันแบบเดียว ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปกเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ช่วยเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิตในเรื่องของการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ ดังแสดงใน Table 2

4. ความกว้างฝักและความยาวฝักปกเปลือก (Width of ear and length of ear without husk)

จาก Table 2 พบว่า ความกว้างฝักและความยาวฝักปกเปลือกของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ มีความกว้างฝักและความยาวฝักปกเปลือกสูงที่สุด คือ 4.15 และ 16.93 เซนติเมตร รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 1 ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ (อัตราแนะนำ) มีความกว้างฝัก 4.10 เซนติเมตร และกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ มีความยาวฝัก 16.50 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่า กรรมวิธีที่ 1 2 และ 3 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน ซึ่งให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วันทั้งสองแบบ สามารถช่วยเพิ่มคุณภาพผลผลิตได้ นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีที่ 2 และ 3 ใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน คนละแบบ แสดงให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ทั้งสองแบบมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน (Table 2)

5. ความหวาน (Sweetness)

ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 เป็นพันธุ์การค้าที่มีการปรับปรุงพันธุ์โดยห้างหุ้นส่วนจำกัดศรแดง การเกษตร ซึ่งระบุไว้ว่า เป็นพันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาให้มีเมล็ดหวานมากขึ้นถึง 25 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองใน Table 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความหวานไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีความหวานอยู่ระหว่าง 10.83-11.95 องศาบริกซ์ และเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐาน มกษ.1512-2554 ที่ได้กำหนดนิยามของ ข้าวโพดหวาน ว่า หมายถึง ข้าวโพดที่มีความหวาน โดยมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ไม่น้อยกว่า 9 องศาบริกซ์ ในลักษณะทั้งฝักที่มีหรือไม่มีเปลือกหุ้ม เมล็ดติดกับซัง (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) จากผลการทดลองข้างต้น พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความหวานอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน มกษ.1512-2554 (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Height of harvest, unhusked ear yield, husked ear yield, width of ear without husk, length of ear without husk and sweetness of waxy corn variety Sweet white 25 of farmer plot in Chai Nat province

Treatments	Height of harvest (cm)	Un-husked ear yield (kg/rai)	Husked ear yield	Width of ear without husk (cm)	Length of ear without husk (cm)	Sweetness (°brix)
1	166.2	1,738	1,268	4.10 ab	15.92 b	11.48
2	166.6	1,625	1,195	4.00 bc	16.50 ab	11.95
3	172.6	1,747	1,238	4.15 a	16.93 a	10.95
4	170.0	1,685	1,213	4.00 bc	16.33 ab	11.08
5	164.5	1,600	1,180	3.95 c	16.18 b	10.83
C.V. (%)	4.24	8.62	10.07	2.83	3.31	9.30
Significant	ns	ns	ns	*	*	ns

Remarks: ns = nonsignificant

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

6. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ (Value to Cost Ratio)

การคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยหาอัตราส่วนระหว่างรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย (Value to Cost Ratio, VCR) ซึ่ง $VCR = (\text{รายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย} / \text{รายจ่ายจากการใส่ปุ๋ย})$ นั้น ในการทดลองนี้ทำการเทียบจากการกรรวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) พบว่า กรรวิธีที่ 3 มีผลตอบแทนค่าปุ๋ย หรือ VCR เท่ากับ 0.07 ส่วนกรรวิธีทดลองที่ 2, 4 และ 5 มีค่า VCR ติดลบ ซึ่งต่ำกว่าระดับค่าวิกฤต (2.00) ซึ่งให้เห็นว่า การใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกส์-วันทั้งสองแบบเพิ่มในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 แม้วจะลดปริมาณปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้เกษตรกรได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น (Table 3) จึงควรมีการศึกษาต่อในระยะยาวเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนมากขึ้น

Table 3 Value to Cost Ratio of waxy corn variety Sweet white 25 production with combination between PGPR-I biofertilizer and chemical fertilizer at farmer plot in Chai Nat province

Treatments	Unhusked ear yield (kg/rai)	Increase yield (kg/rai)	Fertilizer cost (baht) ¹	Increase income (baht) ²	VCR ³
1	1,738	0	2,441	0	0
2	1,625	-113	2,501	-2,260	-0.90
3	1,747	9	2,501	180	0.07
4	1,685	-53	2,608	-1,060	-0.41
5	1,600	-138	2,608	-2,760	-1.06

¹ Chemical fertilizer price: 15-15-15 = 20 baht/kg, 46-0-0 = 22 baht/kg, 0-0-60 = 20 baht/kg and PGPR-I = 60 baht/bag (1 bag/rai)

² Waxy corn price = 20,000 baht/ton

³ (Value to Cost Ratio, VCR) $VCR = (\text{increase income from fertilizer} / \text{fertilizer cost})$, a VCR lower than 2.00, fertilizing will not be able to generate a profitable return to the farmers

7. ปริมาณพีจีพีอาร์และปริมาณการตรึงไนโตรเจน (Number of PGPR in soil and Nitrogen fixation of PGPR from root area)

ก่อนดำเนินการทดลองได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยในแปลงทดลองมีจำนวนประชากร *Azospirillum* sp. 4.69 Log₁₀ CFU/g *Azotobacter* sp. 4.69 Log₁₀ CFU/g และ *Beijerinckia* sp. 5.59 Log₁₀ CFU/g และหลังการทดลอง พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองที่ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทำให้จำนวนประชากร *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. ในดินเพิ่มสูงขึ้น ดังแสดงใน Table 1 และ Figure 1 ซึ่งโดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณประชากรแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อมซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก (Bashan and Levanony, 1990; สมปองและศุภมาศ, 2551; Meunchang *et al.*, 2006a; Meunchang *et al.*, 2006b) และเมื่อวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน พบว่าแบคทีเรียทั้งสามสกุลสามารถส่งเสริมให้มีการตรึงไนโตรเจนในราก โดยมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.185-0.338 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_2 \text{ hr}^{-1}$ (Figure 2)

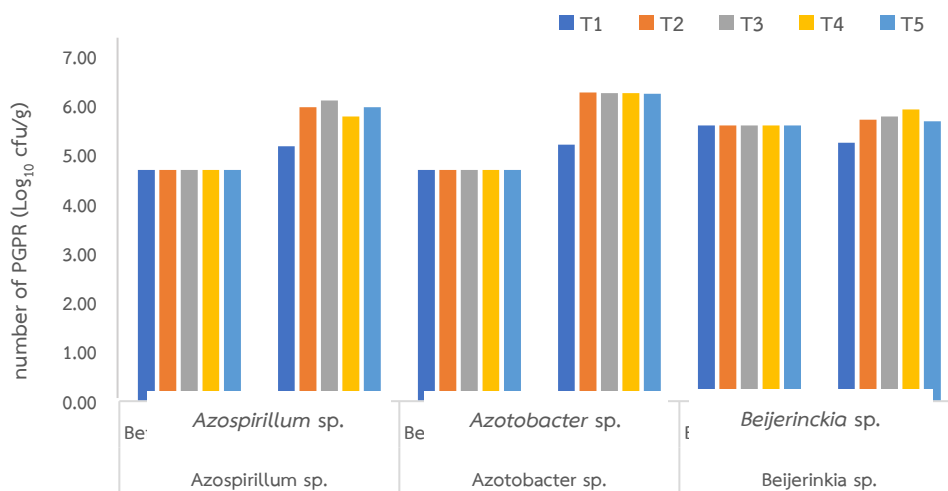


Figure 1 Number of PGPR in soil before planting and harvesting of waxy corn variety Sweet white 25 at farmer plot in Chai Nat province

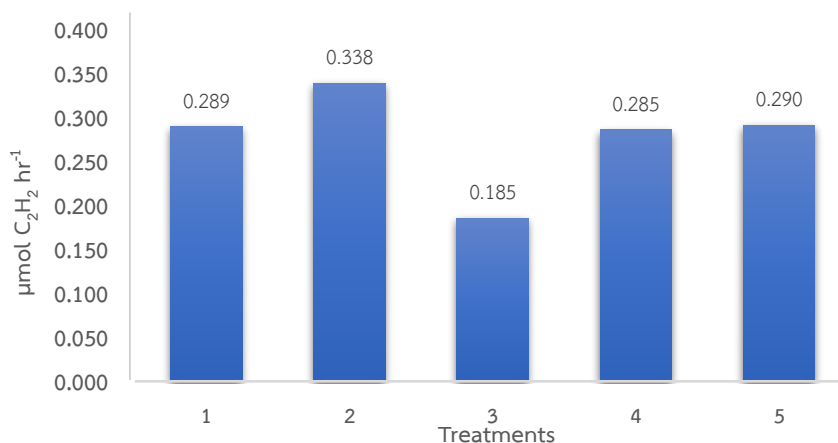


Figure 2 Nitrogen fixation of PGPR from root area of waxy corn variety Sweet white 25 at farmer plot in Chai Nat province

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ในการปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 ในสภาพพื้นที่เกษตรกรซึ่งมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ให้ผลการทดลองที่ยังไม่ชัดเจน โดยทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกอยู่ระหว่าง 1,738–1,600 กิโลกรัมต่อไร่ และน้ำหนักฝักสดเปลือกอยู่ระหว่าง 1,180–1,268 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งทุกกรรมวิธีทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความกว้างฝักและความยาวฝักเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความกว้างฝักและความยาวฝักเปลือกสูงที่สุด คือ 4.15 และ 16.93 เซนติเมตร ส่วนการคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจพบว่า กรรมวิธีที่ 3 มีค่า VCR เท่ากับ 0.07 ส่วนกรรมวิธีที่ 2, 4 และ 5 มีค่า VCR ติดลบซึ่งต่ำกว่าค่าวิกฤต (2.00) แสดงให้เห็นว่าการใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ทั้งสองแบบในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 แม้จะลดปริมาณปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้เกษตรกรได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมและต่อเนื่องในระยะยาวเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนมากขึ้น พร้อมทำการศึกษาการยอมรับของเกษตรกรควบคู่กันไปด้วย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถช่วยเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิตจากการใช้ปุ๋ยเคมีลดลง นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรและเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตและเพิ่มความมั่นคงทางด้านอาหารในอนาคตได้อีกด้วย ในด้านประโยชน์ทางวิชาการ นักวิชาการและผู้ที่สนใจสามารถนำงานวิจัยไปต่อยอดและใช้เป็นแนวทางในการลดต้นทุนการผลิตกับพืชชนิดอื่นหรือข้าวโพดสายพันธุ์อื่นได้

เอกสารอ้างอิง

- กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2564. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ISBN: 978-616-358-578-3.
- กองสำรวจดิน. 2523. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของที่ดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ เล่มที่ 28. กองสำรวจดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 76 หน้า.
- ณัฐณี จุติโรจน์ปกรณ์, พิรณัฐ จอมพุก, วิจิตร ใจอารีย์ และชูศักดิ์ จอมพุก. 2559. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมเดี่ยวสีม่วง. หน้า 22-31. ใน: รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 13 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. วันที่ 8-9 ธันวาคม 2559.
- พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2551. เอกสารวิชาการ โรคข้าวโพดฝักสด. สำนักวิจัยการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 72 หน้า.
- สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2554. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.1512-2554: ข้าวโพดหวาน. 18 หน้า. ICS 67.080.20. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สมปอง หมั่นแจ่ม และศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา. 2551. การใช้ผลพลอยได้จากโรงงานน้ำตาลเบคทีเรีย ตรึงไนโตรเจนและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการผลิตพืช. รางวัลสภาวิจัยแห่งชาติ : รางวัลวิทยานิพนธ์ ประจำปี 2550. หน้า 250-252.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร. 2565. ข้อมูลการนำเข้า-ส่งออกข้าวโพดฝักสดของประเทศไทย ปี 2560-



2564. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร.

อุดม วงศ์ชัยชนะ, เพ็ญลักษณ์ ชูดี และสุภาพร สุขโต. 2565. ความสำคัญของข้าวโพดฝักสดในภาคกลางและภาคตะวันตก. หน้า 1-17. ใน: *เอกสารวิชาการการจัดการความรู้เรื่อง เทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดที่เหมาะสมในเขต พื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตก*. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เอิบ เขียวรัตน์มัย. 2548. การสำรวจดิน. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 733 น.

Bashan, Y. and Levanony, H. 1988. Adsorption of the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd to soil, sand and peat particles. *Journal of General Microbiology*. 134: 1811-1820.

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

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

Hardy R. W. F., R. D., Holsten, E. K., Jackson and R. C. Burns. 1968. The Acetylene- Ethylene Assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiology*. 43: 1,185-1,207.

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

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

Meunchang, S., S. Panichsakpatana and R. W. Weaver. 2006a. Tomato growth in soil amended with Sugar mill by-products compost containing N₂-fixing bacteria. *Plant and Soil*. 280: 171-176.

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

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

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



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

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

ภาคผนวก



Figure 3 (a) planting and (b) plucking and replanting of waxy corn variety sweet white 25



ศึกษาผลของปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพด
ข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2

Study on effect of PGPR Biofertilizer on Growth and Yield of Waxy Corn
Variety Chai Nat 2

กัลยกร โปร่งจันทิก¹ สรัตนา เสนาะ¹ วีระพงษ์ เย็นอ่วม²
Kunlayakorn Prongjunthuek¹ Sarattana Sanoh¹ Werapong Yenoum²

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

In the past, studies on the utilization of PGPR-I biofertilizer, Department of Agriculture study on sweet corn and maize only. The utilization in waxy corn production has not been studied. To support the farmers in reducing production costs and issuing planting recommendations for different varieties of waxy corn that the Department of Agriculture conducted research. Therefore, began to conduct research on glutinous rice corn. The objective of this experiment was to increase production efficiency and reduce production costs of waxy corn variety Chai Nat 2 under farmer's field conditions. Two types of PGPR-I biofertilizers with different bacterial species and aseptic carriers were used together with chemical fertilizer application at 75–100 percent of the recommended rates based on soil analysis values. In order to use the results to develop recommendations for utilization and development of PGPR-I biofertilizer products in the future. The experimental results are still unclear. There should be further studies and long-term continuation, together with a study on farmer acceptance. In all treatments, there was no statistical difference in un-husked ear yields. The Chai Nat 2 variety has the un-husked ear yields between 1,738–1,881 kg per rai. However, every treatment, had statistically significant differences in husked ear yields. The husked ear yields ranged from 1,119–1,285 kg per rai. which is lower than the average of the varieties at the Chai Nat Field Crops Research Center, Department of Agriculture stated. In addition, all treatments of Chai Nat 2 were not significantly different in ear width and ear length without husk. By treatment 4, PGPR-I biofertilizer type 1 was added together with chemical fertilizer 15-6-15 kg. N-P₂O₅-K₂O per rai. The highest ear width without leng was 4.63 cm. Chai Nat field crops research center, Department of Agriculture stated as. For the calculation of economic returns, treatment 3–5 had a negative VCR value which was lower than 2.00, indicating that adding PGPR biofertilizers in Chai Nat 2 waxy corn production, despite reducing of chemical fertilizers use by 25 percent, did not increase farmers' yields.

Key words: PGPR biofertilizer, waxy corn, Chai Nat 2

¹ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Production Science Research and Development Division

² สำนักวิจัยและพัฒนากการเกษตร เขตที่ 5

² Office of Agricultural Research and Development Region 5

บทคัดย่อ

ที่ผ่านมาการศึกษาการใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ของกรมวิชาการเกษตรทำการศึกษาในข้าวโพดหวานและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เท่านั้น ยังไม่มีการศึกษาการใช้ประโยชน์ในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว เพื่อรองรับความต้องการของเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิตและการออกคำแนะนำการปลูกสำหรับข้าวโพดข้าวเหนียวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่กรมวิชาการเกษตรเป็นผู้ทำการวิจัย จึงเริ่มดำเนินการวิจัยในข้าวโพดข้าวเหนียว การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 ในสภาพพื้นที่เกษตรกร โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน 2 แบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียและวัสดุพาที่ใช้วิธีปลดปล่อยแตกต่างกัน ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75-100 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาคำแนะนำการใช้ประโยชน์และพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ต่อไปในอนาคต ผลการทดลอง พบว่าการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ทั้งสองแบบในการปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 ในสภาพพื้นที่เกษตรกรซึ่งมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ให้ผลการทดลองที่ยังไม่ชัดเจน ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมและต่อเนื่องในระยะยาวพร้อมทำการศึกษารยอมรับของเกษตรกรควบคู่กันไปด้วย โดยทุกกรรมวิธีทดลองมีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกอยู่ระหว่าง 1,738-1,881 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกอยู่ระหว่าง 1,119-1,285 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตรระบุไว้ นอกจากนี้ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความกว้างฝักและความยาวฝักปอกเปลือกไม่แตกต่างทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความกว้างฝักปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 4.63 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตรระบุไว้ ส่วนการคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจกรรมวิธีที่ 3-5 มีค่า VCR ติดลบซึ่งต่ำกว่า 2.00 ชี้ให้เห็นว่าการใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน เพิ่มในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 แม้จะลดปริมาณปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้เกษตรกรได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ ข้าวโพดข้าวเหนียว พันธุ์ชัยนาท 2

คำนำ

พื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี ทำรายได้ให้แก่เกษตรกร 10,000-20,000 บาท ต่อไร่ต่อฤดู คิดเป็นมูลค่าประมาณ 1,000 ล้านบาทต่อปี (พีระวรรณ, 2551) การส่งออกข้าวโพดข้าวเหนียวไปยังต่างประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย บังคลาเทศ กัมพูชา เยอรมนี และเวียดนาม เป็นต้น โดยข้าวโพดข้าวเหนียวที่ส่งออกส่วนใหญ่อยู่ในรูปของเมล็ดพันธุ์ และฝักสดแช่แข็ง โดยมีปริมาณการส่งออกปี 2561-2564 เพียง 41 15 14 และ 10 ตัน ตามลำดับ คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 10 8 8 และ 8 ล้านบาท ตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร, 2565) ปัจจุบันความนิยมบริโภคข้าวโพดฝักสดเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเป็นแหล่งโภชนาการที่สำคัญโดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) อาทิ แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) จากข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งแอนโทไซยานินช่วยเสริมสร้างการทำงานของเม็ดเลือดแดง ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวาน ช่วยลดการเกิดไขมันอุดตันในหลอดเลือด ช่วยลดการเกิดมะเร็ง ลดภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ เพิ่มความสามารถในการมองเห็นและชะลอความเสื่อมของดวงตา (ณัฐนีและคณะ, 2559) ทำให้ในปัจจุบันเกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ภายใต้ห่วงโซ่คุณค่าของข้าวโพดอย่างต่อเนื่อง และจากการวิเคราะห์ประเด็นปัญหาการผลิต

พบว่าเทคโนโลยีการผลิตไม่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ประกอบปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ การระบาดของศัตรูพืชที่สำคัญ ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูง ผลผลิตต่ำ คุณภาพผลผลิตไม่ได้มาตรฐาน (อุดมและคณะ, 2565) จึงจำเป็นต้องวิจัยเทคโนโลยีในการเพิ่มผลผลิตต่อไร่ให้สูงขึ้น โดยการใช้ปัจจัยการผลิตอย่างมีประสิทธิภาพ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อให้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการและคุณภาพผลผลิตสูง

กรมวิชาการเกษตรได้ทำการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ ซึ่งเป็นปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช ทั้งบริเวณดินรอบ ๆ ราก ผิวนอก ราก ภายในราก ต้นและใบพืช ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ก็ให้ผลที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของแต่ละสกุล โดยสกุลแบคทีเรียที่นิยมใช้กับข้าวโพด ได้แก่ *Azospirillum* เช่นเดียวกับรายงานของ Hungria et al. (2010) ที่กล่าวว่า การใส่เชื้อจุลินทรีย์ *Azospirillum brasilense* ก่อนการปลูกสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวโพดได้ 24-30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม การเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับชนิดพืชมากที่สุดก็จะช่วยส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีและให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น รวมถึงช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตพืช นอกจากนี้ประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ สกุลและสายพันธุ์แบคทีเรีย ชนิดของพืช สมบัติของดิน ประชากรจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์ และเงื่อนไขทางสภาพแวดล้อม (Bashan and Levany, 1988) อนึ่งการวิจัยที่ผ่านมาเป็นการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วันในการปลูกข้าวโพดหวานและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์การค้าและพันธุ์ที่กรมวิชาการเกษตรพัฒนาขึ้นมา ซึ่งยังประสบปัญหาจากด้านอื่น ๆ เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พันธุ์ข้าวโพดที่ใช้ รวมถึงการจัดการดินและน้ำ ซึ่งทำให้ผลผลิตที่ได้รับจากการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แตกต่างกันไป และยังไม่มีการศึกษาการใช้ประโยชน์ในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวเพื่อรองรับความต้องการของเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิตจึงเริ่มดำเนินการวิจัยในข้าวโพดข้าวเหนียว

ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 เป็นข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมของกรมวิชาการเกษตร ความสูงต้น 200-210 เซนติเมตร ความสูงฝัก 100-120 เซนติเมตร อายุวันออกดอกตัวผู้ 43 วัน อายุวันออกไหม 44 วัน อายุวันเก็บเกี่ยว 62-64 วัน ให้ผลผลิตฝักทั้งเปลือก 2,132 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตฝักเปลือก 1,306 กิโลกรัมต่อไร่ ฝักเปลือกมีความยาว 17.5 เซนติเมตร ฝักกว้าง 4.3 เซนติเมตร ลักษณะเด่น เนื้อเหนียวนุ่ม รสชาติฝักต้มดี เมล็ดสีขาวปนม่วง พื้นดินแนะนำ สามารถปลูกได้ทั่วไปในพื้นที่ที่เหมาะสมที่เป็นแหล่งปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว เช่น จังหวัดชัยนาท สุพรรณบุรี กาญจนบุรี และสงขลา ข้อยกจำกัด เป็นพันธุ์ที่ไม่ต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง และโรคใบไหม้ แผลใหญ่ (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, 2564) การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 ในสภาพพื้นที่เกษตรกร โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน 2 แบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียและวัสดุพาที่ใช้วิธีปลดเชื้อแตกต่างกันรวมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75-100 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาคำแนะนำการใช้ประโยชน์และพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2
2. ปุ๋ยเคมี 46-0-0 18-46-0 0-46-0 และ 0-0-60
3. ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์
4. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช
5. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างพืชและผลผลิต เช่น ถังกระดาษ ถังตาข่าย เป็นต้น

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างดินก่อนดำเนินการทดลองที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมี บางประการ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (Peech, 1965) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Walkley and Black, 1934) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray and Kurtz, 1945) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Thomas, 1982) เพื่อคำนวณปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2564)

2. ดำเนินการทดลองในพื้นที่ดินร่วนปนเหนียวที่แปลงเกษตรกร จังหวัดชัยนาท ขนาดแปลงทดลองย่อยขนาด 6.0x5.0 เมตร ระยะปลูก 0.80x0.25 เมตร แปลงละ 7 แถว แถวละ 20 หลุม หลุมละ 1 ต้น ปลูกข้าวโพด ข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์และปุ๋ยเคมีตามกรรมวิธีที่กำหนด ดูแลรักษาและกำจัดวัชพืช ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

3. บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิต เมื่ออายุ 62-64 วัน และหลังการเก็บเกี่ยวเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับปริมาณฟิสิกซ์ฟิวเจอร์รอบ ๆ รากพร้อมวัดอัตราการตรึงไนโตรเจน (Acetylene Reduction Assay : ARA) ตามวิธีของ Hardy *et al.* (1968)

4. วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และค่าทางสถิติอื่น ๆ สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ และคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากอัตราส่วนระหว่างรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย (Value to Cost Ratio, VCR) ดังนี้

$$VCR = \frac{\text{รายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย}}{\text{รายจ่ายจากการใส่ปุ๋ย}}$$

*ถ้าค่า VCR ต่ำกว่า 2.0 การใส่ปุ๋ยจะไม่สามารถสร้างผลตอบแทนที่ทำกำไรให้แก่เกษตรกร

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

1. ใส่ปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน)
2. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
4. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ย 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่
5. ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ย 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

เตรียมแปลงปลูก วางระบบน้ำ ดำเนินการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 3 กุมภาพันธ์ 2565 ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม วันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2565 และใส่ปุ๋ยแต่งหน้า เมื่อวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2565 และทำการเก็บเกี่ยวผลผลิต เมื่อวันที่ 5 เมษายน 2565

หมายเหตุ – ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์-วัน แบบที่ 1 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์ที่ใช้วัสดุพาแบบนิ่งฆ่าเชื้อประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดยใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากดินบริเวณรอบ ๆ รากหญ้าแฝก (Vetiver grass) (Meanchang *et al.*, 2004) และมีปริมาณ *Azospirillum* sp. 2.70×10^7 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. 1.45×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. 2.10×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์-วัน แบบที่ 2 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพฟิสิกซ์ฟิวเจอร์ที่ใช้วัสดุพาแบบฉายรังสีประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดยใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากรากข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริดส์ 3 (*Zea mays saccharata*) (Prongjunthuek *et al.*, 2019) และมีปริมาณ *Azospirillum* sp. 2.65×10^7 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ *Azotobacter* sp. 1.53×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ และ *Beijerinckia* sp. 2.30×10^6 โคโลนี ต่อ 1 กรัมปุ๋ยชีวภาพ

- การใส่ปุ๋ย ปุ๋ยเคมีทำการแบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ใส่รองพื้นพร้อมปลูกอัตรา 50%N-100%P-100%K ของกรรมวิธีต่าง ๆ และครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้าเมื่อข้าวโพดอายุ 21 วันหลังปลูก อัตรา 50%N ของกรรมวิธีต่าง ๆ โดยโรยข้างแถวแล้วพูนโคนและกำจัดวัชพืช ส่วนปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ทั้ง 2 แบบ ใช้คลุกเมล็ดพร้อมปลูก อัตราส่วนปุ๋ยชีวภาพ ฟิซีฟิอาร์-วัน 500 กรัม ต่อเมล็ดข้าวโพด 3 กิโลกรัมต่อไร่ (Figure 3)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักรากสด น้ำหนักผลผลิตสด และจำนวนฝักเก็บเกี่ยว
2. หลังเก็บเกี่ยวบันทึกข้อมูล น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากแห้ง และน้ำหนักผลผลิตแห้ง
3. บันทึกปริมาณฟิซีฟิอาร์บริเวณรอบ ๆ ราก และองค์ประกอบผลผลิตอื่น ๆ
4. ค่าวิเคราะห์ดินก่อนปลูกและหลังปลูก

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และไร่เกษตรกร จังหวัดชัยนาท พิกัดแปลง 47P X= 629745 Y= 1673120

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Soil fertility)

ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร และนับปริมาณจุลินทรีย์ในดินก่อนปลูก จาก Table 1 พบว่า ดินในแปลงเกษตรกรมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง (กองสำรวจดิน, 2523 และ เอ็บ, 2548) โดยมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 1.74 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.13 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถคำนวณปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินได้ 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Soil analysis, chemical fertilizer recommendation rate and number of PGPR in soil of farmer plot in Chai Nat province

OM (%)	Available P (mg/kg)	Extractable K (mg/kg)	pH (1:1)	Chemical fertilizer recommendation rate (kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/rai)	Number of PGPR in soil (Log ₁₀ CFU/g)		
					<i>Azospirillum sp.</i>	<i>Azotobacter sp.</i>	<i>Beijerinckia sp.</i>
1.74	14	55	6.13	20-8-20	4.69	4.69	5.59

2. ความสูงวันเก็บเกี่ยว (Height of harvest)

ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่มีความสูงวันเก็บเกี่ยวสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความสูงวันเก็บเกี่ยว 187.6 เซนติเมตร รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความสูงวันเก็บเกี่ยว 185.9 เซนติเมตร (Table 2) นอกจากนี้ยังพบว่า 2 กรรมวิธีข้างต้น ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความสูงวันเก็บเกี่ยวไม่แตกต่างทางสถิติ กับกรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ที่มีความสูงวันเก็บเกี่ยว 181.2 เซนติเมตร ซึ่งให้เห็นว่า การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ทำให้ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความสูงไม่แตกต่างกัน แม้จะลดการใส่ปุ๋ยเคมีลง 25

เปอร์เซ็นต์ (Table 2) นอกจากนี้ยังพบว่า ความสูงวันเก็บเกี่ยวของทุกกรรมวิธีต่ำกว่าที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตรระบุไว้ว่า ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความสูงต้น 200-210 เซนติเมตร (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, 2564)

3. ผลผลิต (Un-husked ear and husked ear yields)

ผลผลิตของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 ที่ปลูก ณ แปลงเกษตรกร จังหวัดชัยนาท พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองน้ำหนักฝักสดรวมเปลือก (un-husked ear yields) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้ำหนักฝักสดปอกเปลือก (husked ear yields) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกสูงที่สุด คือ 1,881 (Table 2) รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือก 1,875 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่กรรมวิธีที่ 1 ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 1,285 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือก 1,225 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับวิธีที่ 1 จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่า กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน แต่กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 แสดงให้เห็นว่า ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้ นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ซึ่งใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบเดียว ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 2) ผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับรายงานของ กัลยกรและคณะ (2560) ที่รายงานว่า ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน สามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ 25 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ผลผลิตของข้าวโพดหวานไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินเพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน นอกจากนี้ยังพบว่า ผลผลิตของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 ทุกกรรมวิธีทดลองต่ำกว่าที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตรระบุไว้ว่า สามารถให้ผลผลิตฝักทั้งเปลือก 2,132 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตฝักปอกเปลือก 1,306 กิโลกรัมต่อไร่ (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, 2564) ดังแสดงใน Table 2

4. ความกว้างฝักและความยาวฝักปอกเปลือก (Width of ear and length of ear without husk)

ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 เป็นพันธุ์ที่มีการปรับปรุงพันธุ์โดยศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตร ซึ่งระบุไว้ว่า ฝักปอกเปลือกมีความกว้างฝักเฉลี่ย 4.3 เซนติเมตร และมีความยาวฝักเฉลี่ย 17.5 เซนติเมตร (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, 2564) จาก Table 2 พบว่า ความกว้างฝักและความยาวฝักปอกเปลือกของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 ทุกกรรมวิธีทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความกว้างฝักปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 4.63 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ ซึ่งเห็นว่าปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วันสามารถช่วยเพิ่มคุณภาพผลผลิตได้ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความกว้างฝักปอกเปลือก 3.95 เซนติเมตร ส่วนความยาวฝักปอกเปลือกของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองมีความยาวฝักปอกเปลือกต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ โดยกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความยาวฝักปอกเปลือกสูงสุด คือ 16.95 เซนติเมตร รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-

P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความยาวฝักปกเปลือก 16.65 เซนติเมตร จากผลการทดลองดังกล่าว พบว่า กรรมวิธีที่ 2 และ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบเดียวกัน แต่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราต่างกัน และกรรมวิธีที่ 4 และ 5 ซึ่งใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน คนละแบบ แต่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน ซึ่งให้เห็นว่าปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วันทั้งสองแบบ มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน (Table 2)

5. ความหวาน (Sweetness)

จากผลการทดลองใน Table 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความหวานแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว มีค่าความหวาน 12.65 องศาบริกซ์ ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ที่มีค่าความหวาน 12.18 และ 12.08 ° brix ตามลำดับ จากผลการทดลองข้างต้น กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ใช้ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน และกรรมวิธีที่ 2 และ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน แบบเดียวกัน ซึ่งให้เห็นว่าเมื่อใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ร่วมกับปุ๋ยเคมี 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ทำให้ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความหวานใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว และเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐาน มกษ.1512-2554 ที่ได้กำหนดนิยามของ ข้าวโพดหวาน ว่า หมายถึง ข้าวโพดที่มีความหวาน โดยมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ไม่น้อยกว่า 9 องศาบริกซ์ ในลักษณะทั้งฝักที่มีหรือไม่มีเปลือกหุ้มเมล็ดติดกับซัง (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) จากผลการทดลองข้างต้น พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความหวานอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน มกษ.1512-2554 ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Height of harvest, unhusked ear yield, husked ear yield, width of ear without husk, length of ear without husk and sweetness of waxy corn variety Chai Nat 2 of farmer plot in Chai Nat province

Treatments	Height of harvest (cm)	Unhusked ear yield (kg/rai)	Husked ear yield	Width of ear without husk (cm)	Length of ear without husk (cm)	Sweetness (°brix)
1	184.9 a	1,875	1,285 a	3.88	16.43	12.65 a
2	187.6 a	1,881	1,222 ab	3.95	16.95	12.18 ab
3	185.9 a	1,744	1,119 b	3.88	16.58	11.50 b
4	175.3 b	1,819	1,225 ab	4.63	16.58	12.08 ab
5	181.2 ab	1,738	1,160 ab	3.95	16.65	11.58 b
C.V. (%)	5.26	8.19	8.27	17.88	2.14	5.87
Significant	*	ns	*	ns	ns	*

Remarks: ns = nonsignificant

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

6. ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ (Value to Cost Ratio)

การคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยหาอัตราส่วนระหว่างรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย (Value to Cost Ratio, VCR) ซึ่ง $VCR = \frac{\text{รายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย}}{\text{รายจ่ายจากการใส่ปุ๋ย}}$ นั้น ในการ

ทดลองนี้ทำการเทียบจากการกรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) พบว่า กรรมวิธีทดลองที่ 3-5 มีค่า VCR ติดลบ ซึ่งต่ำกว่าระดับ 2.00 ซึ่งให้เห็นว่า การใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน เพิ่มในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 แม้จะลดปริมาณปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้เกษตรกรได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น (Table 3) จึงควรมีการศึกษาต่อในระยะยาวเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนมากขึ้น

Table 3 Value to Cost Ratio of waxy corn variety Chai Nat 2 production with combination between PGPR-I biofertilizer and chemical fertilizer at farmer plot in Chai Nat province

Treatments	Unhusked ear yield (kg/rai)	Increase yield (kg/rai)	Fertilizer cost (baht) ¹	Increase income (baht) ²	VCR ³
1	1,875	0	2,441	0	0
2	1,881	6	2,501	120	0.05
3	1,744	-131	2,501	-2,620	-1.05
4	1,819	-56	2,275	-1,120	-0.49
5	1,738	-137	2,275	-2,740	-1.20

¹ Chemical fertilizer price: 15-15-15 = 20 baht/kg, 46-0-0 = 22 baht/kg, 0-0-60 = 20 baht/kg and PGPR-I = 60 baht/bag (1 bag/rai)

² Waxy corn price = 20,000 baht/ton

³ (Value to Cost Ratio, VCR) VCR = (increase income from fertilizer /fertilizer cost), a VCR lower than 2.00, fertilizing will not be able to generate a profitable return to the farmers

7. ปริมาณฟิซีฟิอาร์และปริมาณการตรึงไนโตรเจน (Number of PGPR in soil and Nitrogen fixation of PGPR from root area)

ก่อนดำเนินการทดลองปี 2559-2564 ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยในแปลงทดลองมีจำนวนประชากร *Azospirillum* sp. 4.69 Log₁₀ CFU/g *Azotobacter* sp. 4.69 Log₁₀ CFU/g และ *Beijerinckia* sp. 5.59 Log₁₀ CFU/g และหลังการทดลอง พบว่า เกือบทุกกรรมวิธีทดลองที่ใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ทำให้จำนวนประชากร *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. ในดินเพิ่มสูงขึ้น ดังแสดงใน Table 1 และ Figure 1 ซึ่งโดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณประชากรแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อมซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก (Bashan and Levany, 1990; สมปองและศุภมาศ, 2551; Meunchang *et al.*, 2006a; Meunchang *et al.*, 2006b) และเมื่อวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน พบว่า แบคทีเรียทั้งสามสกุลสามารถส่งเสริมให้มีการตรึงไนโตรเจนในราก โดยมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.154-0.294 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_2 \text{ hr}^{-1}$ (Figure 2)

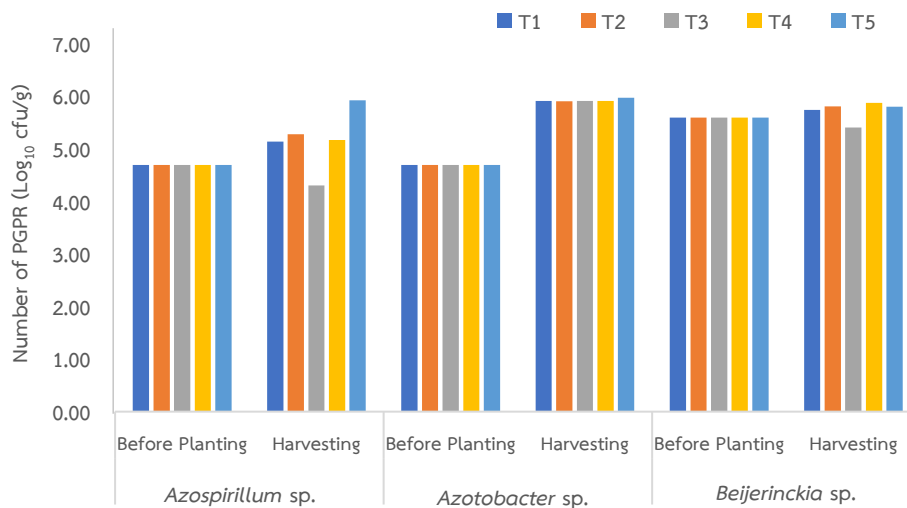


Figure 1 Number of PGPR in soil before planting and harvesting of waxy corn variety Chai Nat 2 at farmer plot in Chai Nat province

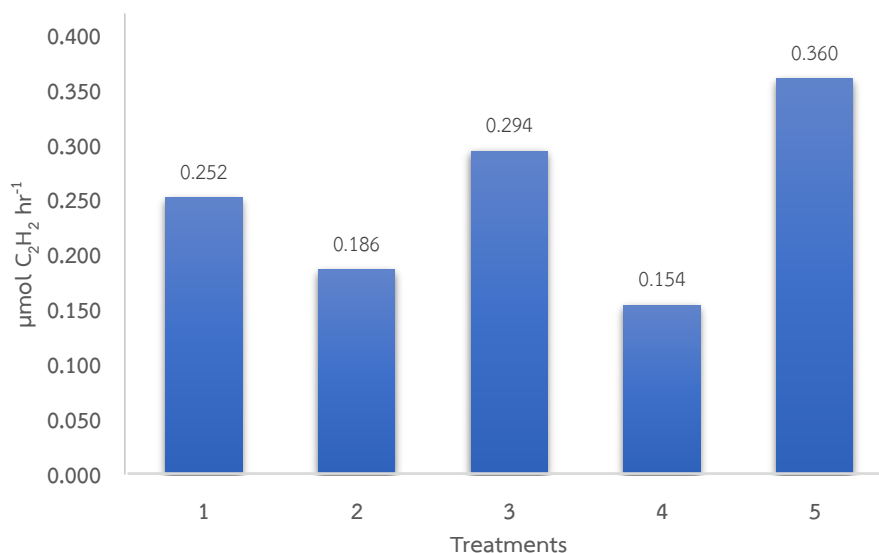


Figure 2 Nitrogen fixation of PGPR from root area of waxy corn variety Chai Nat 2 at farmer plot in Chai Nat province

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ในการปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 ในสภาพพื้นที่เกษตรกรรมซึ่งมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ให้ผลการทดลองที่ยังไม่ชัดเจน โดยทุกกรรมวิธีทดลองมีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกอยู่ระหว่าง 1,738–1,881 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีน้ำหนักฝักสดเปลือกเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีน้ำหนักฝักสดเปลือกอยู่ระหว่าง 1,119–1,285 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตรระบุไว้ นอกจากนี้ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพด

ข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีความกว้างฝักและความยาวฝักปกเปลือกไม่แตกต่างทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความกว้างฝักปกเปลือกสูงที่สุด คือ 4.63 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตร ระบุไว้ ส่วนการคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจกรรมวิธีที่ 3-5 มีค่า VCR ติดลบ ซึ่งต่ำกว่า 2.00 ชี้ให้เห็นว่า การใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน เพิ่มในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 แม้จะลดปริมาณปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้เกษตรกรได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมและต่อเนื่องในระยะยาวพร้อมทำการศึกษายอมรับของเกษตรกรควบคู่กันไปด้วย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถช่วยเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิตจากการใช้ปุ๋ยเคมีลดลง นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรและเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตและเพิ่มความมั่นคงทางด้านอาหารในอนาคตได้อีกด้วย ในด้านประโยชน์ทางวิชาการ นักวิชาการและผู้สนใจสามารถนำงานวิจัยไปต่อยอดและใช้เป็นแนวทางในการลดต้นทุนการผลิตกับพืชชนิดอื่นหรือข้าวโพดสายพันธุ์อื่นได้

เอกสารอ้างอิง

- กัลยกร โปร่งจันทิก ภัสชญณ หมื่นแจ่ม นงลักษณ์ บันลาย และวีระพงษ์ เย็นอ่วม. 2560. ผลการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันต่อการลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวาน. หน้า 346-354. ใน: รายงานการประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติ ครั้งที่ 5. ณ โรงแรมเซ็นทารา บาย เซ็นทารา แจ้งวัฒนะ กรุงเทพฯ.
- กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2564. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ISBN: 978-616-358-578-3.
- กองสำรวจดิน. 2523. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของที่ดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ เล่มที่ 28. กองสำรวจดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 76 หน้า.
- ณัฐณี จุติโรจน์ปกรณ์, พิรณุช จอมพุก, วิทิตร์ ใจอารีย์ และชูศักดิ์ จอมพุก. 2559. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมเดี่ยวสีม่วง. หน้า 22-31. ใน: รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 13 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. วันที่ 8-9 ธันวาคม 2559.
- พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2551. เอกสารวิชาการ โรคข้าวโพดฝักสด. สำนักวิจัยการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 72 หน้า.
- สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2554. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.1512-2554: ข้าวโพดหวาน. 18 หน้า. ICS 67.080.20. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สมปอง หมื่นแจ่ม และศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา. 2551. การใช้ผลพลอยได้จากโรงงานน้ำตาลแบคทีเรีย ตรึงไนโตรเจนและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการผลิตพืช. รางวัลสภาวิจัยแห่งชาติ : รางวัลวิทยานิพนธ์ ประจำปี 2550. หน้า 250-252.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร. 2565. ข้อมูลการนำเข้า-ส่งออกข้าวโพดฝักสดของประเทศไทย ปี 2560-2564. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร.
- อุดม วงศ์ชัยชนะ, เพ็ญลักษณ์ ชูดี และสุภาพร สุขโต. 2565. ความสำคัญของข้าวโพดฝักสดในภาคกลางและภาคตะวันตก. หน้า 1-17. ใน: เอกสารวิชาการการจัดการความรู้เรื่อง เทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดที่

เหมาะสมในเขต พื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตก. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 กรมวิชาการ
เกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เอิบ เขียวรัตน์มย์. 2548. การสำรวจดิน. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 733 น.
ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท. 2564. ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2. ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 –
ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท (doa.go.th). สืบค้น : 8 ตุลาคม 2564

Bashan, Y. and Levanony, H. 1988. Adsorption of the rhizosphere bacterium *Azospirillum
brasilense* Cd to soil, sand and peat particles. *Journal of General Microbiology*. 134:
1811-1820.

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

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

Hardy R. W. F., R. D., Holsten, E. K., Jackson and R. C. Burns. 1968. The Acetylene- Ethylene
Assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiology*. 43: 1,185-1,207.

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

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

Meunchang, S., S. Panichsakpatana and R. W. Weaver. 2006a. Tomato growth in soil
amended with Sugar mill by-products compost containing N₂-fixing bacteria. *Plant and
Soil*. 280: 171-176.

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

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

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

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

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

ภาคผนวก



Figure 3 (a) prepared waxy corn variety Chai Nat 2 seed for each treatment, (b) waxy corn variety Chai Nat 2 aged 21 days after planting and (c) get rid of weeds



กลุ่มวิจัยวัตภูมิพิชการเกษตร



การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์
และสารสกัดจากพืชด้วยเทคนิค GC-MS

Identification of 30 Pesticides in Biological Products and Plant Extracts by GC-MS

วิชชภรณ์ แกระวงศ์ พิเชษฐ์ ทองละเอี๊ยด ดวงรัตน์ วิลาลินี พนิดา มงคลวุฒิกุล
สุกัญญา คำคง ปินิตนันต์ สรวายเอี่ยม อีสริยะ สืบพันธุ์ดี ทศนี อัฐพรพงษ์
อนุชา ผลไสว ณัฐฐา ศรีสุภาพ

Witchaporn Kraewong Pichet Tongla-eard Duanrat Wilasinee Panida
Mongkhonwuttikun

Sukanya Khomkong Pinitnun Sruay-iam Issariya Sueppandee Tassanee
Atthapornpong Anucha Phonswai Natta Srisupap

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Identification of 30 pesticides in biological product and plant extracts has been developed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Optimization of GC-MS conditions was studied for separation 30 compounds in single run. A capillary column (HP-5ms) was used for separation with a helium gas flow rate 1 mL/min. The temperature of column, ion source and MS quadruple were 90-270, 230 and 150°C, respectively. Injection volume was 1 µL. Under optimum condition, the matrix effect was in the range of 0.01 to 8.98% which was within the acceptance criteria of the NATA (%ME<10%). Indicated that all other component in sample except for the target analyst did not effect to results. Moreover, this method displayed high specificity/selectivity that all chromatogram of 30 pesticides could be separated without interference. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.50-1.00 and 1.25-2.50 mg/L, respectively. It appears that this multi-pesticides method by GC-MS is rapid, facilitate and efficient way. In addition, this method might be reduce the process and chemical waste. Therefore this developed method can be used for identification pesticides in biological products and plant extracts.

Key words: pesticides, biological products, plant extracts, GC-MS

บทคัดย่อ

การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) ศึกษาภาวะเหมาะสมที่ทำให้สารผสมทั้ง 30 ชนิด สามารถแยกกันได้ใน การวิเคราะห์เพียงครั้งเดียว โดยใช้คอลัมน์ HP-5ms ไซกาซอีเลียมเป็นก๊าซตัวพาที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ ion source และ MS quadruple คือ 90-270 230 และ 150 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ปริมาตรในการฉีดสารตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของวิธีได้ทดสอบ ผลกระทบจากสิ่งรบกวน (matrix effect, ME) ของสารทั้ง 30 ชนิด คำนวณ %ME พบว่าอยู่ในช่วง 0.01-8.98% ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ %ME<10% แสดงว่าผลกระทบขององค์ประกอบอื่นในตัวอย่างไม่รบกวนการวิเคราะห์ และวิธีทดสอบมีความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) ที่ดีพบว่าสารที่ทำการตรวจวิเคราะห์ทั้ง 30 ชนิด สามารถแยกกันได้ ไม่มีการรบกวนของสารอื่น ผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) อยู่ใน ช่วง 0.50-1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (LOQ) อยู่ใน ช่วง 1.25-2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบรวม (multi-pesticides method) ด้วยเทคนิค GC-MS จึงเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สะดวก รวดเร็ว ลดขั้นตอน และลดของเสียจากการตรวจวิเคราะห์ได้ จึงมีความเหมาะสมที่จะนำวิธีไปวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ และสารสกัดจากพืชที่ไม่ทราบชนิด

คำสำคัญ: สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ สารสกัดจากพืช GC-MS

บทนำ

ประเทศไทยมีการเพาะปลูกพืชหลายชนิดที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ มีศัตรูพืชที่ก่อให้เกิด ความเสียหายทั้งด้านผลผลิตและคุณภาพของผลิตภัณฑ์การเกษตรที่ส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศ ทำให้เกษตรกรมีความจำเป็นต้องใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช เมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานศัตรูพืช หลายชนิดสามารถพัฒนาการดื้อต่อสารเคมีเหล่านั้น ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณการใช้และการนำเข้าสารเคมีเพื่อกำจัด ศัตรูพืชมากขึ้น (เชษฐธิตา, 2564) จากข้อมูลการนำเข้าวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ.2564 พบว่าสารกำจัด วัชพืชมีการนำเข้าสูงที่สุด ปริมาณมากกว่าเจ็ดสิบล้านกิโลกรัมและคิดเป็นมูลค่ามากกว่าหนึ่งหมื่นล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2564) โดยปริมาณและมูลค่าการนำเข้าที่สูงแสดงให้เห็นว่าประเทศไทย มีการใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้มีสารเคมีตกค้างในผลผลิตและ สิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพต่อผู้บริโภคและเกษตรกร ดังนั้นการป้องกันกำจัดศัตรูพืชด้วยผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ และสารสกัดจากพืชจึงเป็นปัจจัยทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีทางการเกษตรได้อย่างมี ประสิทธิภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จากการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีชีวภาพและนวัตกรรมในการพัฒนา ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช เพื่อให้เกิดการทำเกษตรที่ปลอดภัยจะเป็นการช่วยเกษตรกรให้ได้รับ ผลผลิตที่ดีขึ้นทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ เป็นการสร้างความปลอดภัยต่อผลผลิตทางการเกษตร ผู้บริโภค เกษตรกร และสิ่งแวดล้อม อีกทั้งเป็นการลดการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศ (สำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืช, 2563)

การผลักดันและสนับสนุนให้มีการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชในการควบคุมศัตรูพืชทดแทน การใช้สารเคมีทางการเกษตร ทำให้มีผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชออกมาจำหน่ายในท้องตลาดเป็น จำนวนมาก บางชนิดมีการปลอมปนสารเคมีการเกษตรเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น กรมวิชาการเกษตรซึ่งมี หน้าที่กำกับดูแลตามกฎหมายพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535 จึงต้องตรวจสอบผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และ สารสกัดจากพืชว่ามีสารปนเปื้อนของสารเคมีหรือไม่ เพื่อเกษตรกรไม่ถูกเอาเปรียบจากผลิตภัณฑ์และสามารถผลิต พืชแบบเกษตรอินทรีย์ได้อย่างแท้จริงไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมีอันตราย โดยห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนา ระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทาง

การเกษตรเป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุดิบทางการเกษตรทั้งการขึ้นทะเบียน นำเข้า และส่งออก รวมทั้งตรวจสอบคุณภาพตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 จากข้อมูลปริมาณงานทดสอบ (วันที่ 1 ม.ค.-31 ส.ค. 65) กลุ่มงานพัฒนาระบบฯ ให้บริการตรวจวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์วัตถุดิบทางการเกษตร ทั้งหมด 2,720 ตัวอย่าง (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2565) ซึ่งปัจจุบันการดำเนินการตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารออกฤทธิ์ในตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรเป็นการตรวจวิเคราะห์แบบสารเดี่ยว เพราะสารแต่ละชนิดมีการวิเคราะห์ที่สภาวะแตกต่างกัน เพื่อให้สามารถรองรับจำนวนตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีจำนวนมาก และมีความหลากหลายของชนิดตัวอย่างที่นำส่งมาวิเคราะห์โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่ไม่ทราบชนิด (unknown sample) จึงต้องศึกษาเทคนิควิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบรวม (multi-pesticides method) เพื่อให้สามารถดำเนินการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุดิบทางการเกษตรได้อย่างรวดเร็ว โดยพบว่ามีงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

เทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารแบบรวม ได้ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์เพื่อแยกสารผสมของเบนโซฟีโนนและอนุพันธ์อีก 5 ชนิด ด้วยเทคนิค GC-MS ร่วมกับ isotope dilution mass spectrometry (IDMS) โดยทำการเปลี่ยนอนุกรมและอัตราการเพิ่มอนุกรมของคอลัมน์ทำให้สามารถแยกสารอันตรายทั้ง 6 สาร ได้ภายในเวลา 24 29 และ 41 นาที ตามลำดับ และเลือกจากวิธีที่ใช้เวลาในการทดสอบสั้นที่สุด คือ 24 นาทีเป็นวิธีที่เหมาะสม (หนึ่งฤทัย, 2561) สำหรับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างประเภทสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชด้วยเทคนิคการตรวจวิเคราะห์แบบรวม ได้ศึกษาการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ออร์กาโนคลอรีน ไพรีทรอยด์ คาร์บาเมต และไตรอะซีนในเนื้อปลา ด้วยเครื่อง GC ใช้ตัวตรวจวัดแตกต่างกัน ได้แก่ GC-ECD, GC-FPD และ GC-NPD ผลการศึกษาพบว่าสามารถตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างหลายชนิดได้ในคราวเดียว โดยให้ผลการทดสอบถูกต้อง และแม่นยำ (มลิสาและคณะ, 2562) ปัจจุบันเทคนิค GC-MS เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมในการตรวจวัดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างบนผลิตผลทางการเกษตร เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความไวในการวิเคราะห์ซึ่งสามารถวิเคราะห์สารที่สนใจได้ในระดับไมโครกรัมต่อกรัม ($\mu\text{g}/\text{kg}$; ppb) และยังมีรูปแบบการทำงานแบบที่จำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ ได้ศึกษาการตรวจหาสารพิษตกค้างจำนวน 220 ชนิดและอนุพันธ์ โดยใช้เทคนิค GC-MS total ion current (TIC) ผลการศึกษาพบว่าสามารถแยกสารทั้ง 220 ชนิดได้ในการวิเคราะห์เพียงครั้งเดียวใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นที่สุดคือ 49.6 นาที และมีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพอยู่ในช่วง 2.34-44.22 ng/ml และ 0.78-14.74 ng/ml ตามลำดับ สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารที่มีความหลากหลายชนิดได้อย่างรวดเร็วจะเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์และสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวิธีทดสอบของห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม เช่น ในดิน น้ำ และอาหาร (EL-Saeid *et al.*, 2021) นอกจากนี้ได้ศึกษาการตรวจหาสารพิษตกค้างจำนวนทั้งหมด 74 ชนิด ในพืชตระกูลโสม (panax notoginseng) โดยใช้เทคนิค GC-MS/MS พร้อมทั้งตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่าความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบอยู่ในช่วง 10-500 ng/ml ค่า correlation coefficients ≥ 0.9950 ค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) อยู่ในช่วง 70-120% ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) $\leq 20\%$ ค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพอยู่ในช่วง 0.94-6.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ และ 0.28-2.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ตามลำดับ (Li *et al.*, 2021)

ดังนั้นเพื่อให้การตรวจวิเคราะห์เป็นไปอย่างสะดวก รวดเร็ว ลดขั้นตอนและลดของเสียจากการตรวจวิเคราะห์ งานวิจัยนี้จึงต้องศึกษาพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบรวม (multi-pesticides method) ด้วยเทคนิค GC-MS ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะ (specificity) และความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) สูง ทำการทดสอบผลกระทบจากสิ่งรบกวน (matrix effect) หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (limit of detection, LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation,

LOQ) ของวิธีวิเคราะห์โดยเลือกศึกษาในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชที่มีส่วนประกอบทางเคมีหลากหลายชนิด เช่น สารสำคัญชนิดต่างๆ กรดอินทรีย์ สารสีหรือน้ำมันระเหย โปรตีน ไขมัน เถ้า โยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต (ศิริวรรณ, 2562) และนำวิธีวิเคราะห์ที่ได้ไปทดสอบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (gas chromatograph-mass spectrometer: GC-MS) GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890N และ MS ยี่ห้อ Agilent 5973
2. คอลัมน์ชนิด capillary ภายในเคลือบด้วย (5%-Phenyl)-methylpolysiloxane (HP-5 ms) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ
4. ขวดวัดปริมาตรชนิด type A ขนาด 10 25 และ 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบ
5. บีเปต (class A) ที่ผ่านการสอบเทียบ
6. ปีกเกอร์
7. ultrasonic bath

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน จากบริษัทผู้ผลิต Dr. Ehrenstorfer ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 95% จำนวน 30 ชนิด ได้แก่ acetochlor,alachlor, ametryn, atrazine, azoxystrobin, bromacil, buprofezin, chlorfenapyr, chlorfluazuron, clomazone, chlorothalonil, diazinon, difenoconazole, etofenprox, fenoxaprop-P-ethyl, flusilazole, hexaconazole, metalaxyl, metolachlor, oxadiazon, pendimethalin, pretilachlor, procymidone, profenofos, propargite, propiconazole, tebuconazole, tebufenpyrad, tetraconazole และ thiobencarb
2. acetone ชนิด AR grade
3. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช

วิธีการ

การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชด้วยเทคนิค GC-MS ศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์ ทำการทดสอบ matrix effect ทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (limit of detection, LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ) ของวิธีวิเคราะห์

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์ให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด
 - 1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน
 - 1.1.1 เตรียม stock standard solutions ของสารมาตรฐาน 30 ชนิด ให้มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานแต่ละชนิดให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 10 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 15 นาที นำออกมาตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วย acetone จนถึงขีดปริมาตร

1.1.2 เตรียม mixed standard solution โดยผสมสารละลายสารมาตรฐานทั้ง 30 ชนิด ด้วยการคำนวณปริมาตรของการปิเปต stock standard solutions ของสารละลายสารมาตรฐานแต่ละชนิด (ข้อ 1.1.1) ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 7.50-15.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetone จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

1.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช ให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการชั่งตัวอย่างลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณ 15 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 15 นาที นำออกมาตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วย acetone จนถึงขีดปริมาตร

1.3 ปรับสถานะเครื่อง gas chromatograph-mass spectrometer: GC-MS สำหรับการวิเคราะห์

Column	:	HP-5ms (30 m x 0.25 mm, film thickness 0.25 μ m)		
Oven temperature	:	Rate ($^{\circ}$ C/min)	Final temp ($^{\circ}$ C)	Hold time (min)
			90	2
		10	150	2
		4	220	5
		4	270	8
Injection temperature	:	250 $^{\circ}$ C		
Injection volume	:	1 μ L		
Flow rate	:	1 mL/min		
MS Source	:	230 $^{\circ}$ C		
MS Quad	:	150 $^{\circ}$ C		
Total run time	:	53 min		

2. การทดสอบ matrix effect

เตรียม mixed standard solution ของสารมาตรฐานจำนวน 30 ชนิด ความเข้มข้นในช่วง 1.25-10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 2 ชุด ชุดที่ 1 เตรียมในตัวทำละลาย acetone (standard in solvent) และชุดที่ 2 เตรียมในสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช (standard in matrix) ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติม acetone ประมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 15 นาที นำออกมาตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วย acetone จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน กรองตัวอย่างด้วย nylon syringe filter 0.2 ไมครอน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

ข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัด standard in matrix และ standard in solvent นำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดหรือพื้นที่ใต้พีคบนแกน y กับความเข้มข้นของสารในตัวอย่างเป็นแกน x พิจารณาค่าความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in matrix และความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in solvent คำนวณหา %matrix effect (%ME) การคำนวณแสดงดังสมการ

$$\%ME = \frac{(X1-X2)}{X2} \times 100$$

โดยที่ X1 = ความเข้มข้นของ standard in matrix

X2 = ความเข้มข้นของ standard in solvent

ถ้า %ME น้อยกว่า 10% แสดงว่า matrix ไม่มีผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ (NATA, 2018)

3. การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) ของวิธีวิเคราะห์

ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยการฉีด solvent blank สารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC-MS ตามสภาวะของวิธีวิเคราะห์ พิจารณาโครมาโตแกรมดูว่ามีสารอื่นแปลกปลอมรบกวนสารออกฤทธิ์หรือไม่ (Eurachem, 2014)

4. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ของวิธีวิเคราะห์ (limit of detection, LOD)

ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้ ทดสอบโดยการเติมสารละลายสารมาตรฐานรวมลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ หาค่า SD ประเมินค่า LOD เท่ากับ $3 \times SD$ (Eurachem, 2014) ความเข้มข้นดังกล่าวที่ทดสอบทั้ง 10 ครั้ง ต้องมีสัญญาณการวัด signal to noise ratio (S/N) ≥ 3 จึงจะถือว่าเป็นค่า LOD ของวิธี

5. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ)

ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจวิเคราะห์หาปริมาณได้ โดยมีค่า accuracy และ precision อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ทดสอบโดยการเติมสารละลายสารมาตรฐานลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ประเมินค่า LOQ เท่ากับ $10 \times SD$ (Eurachem, 2014)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

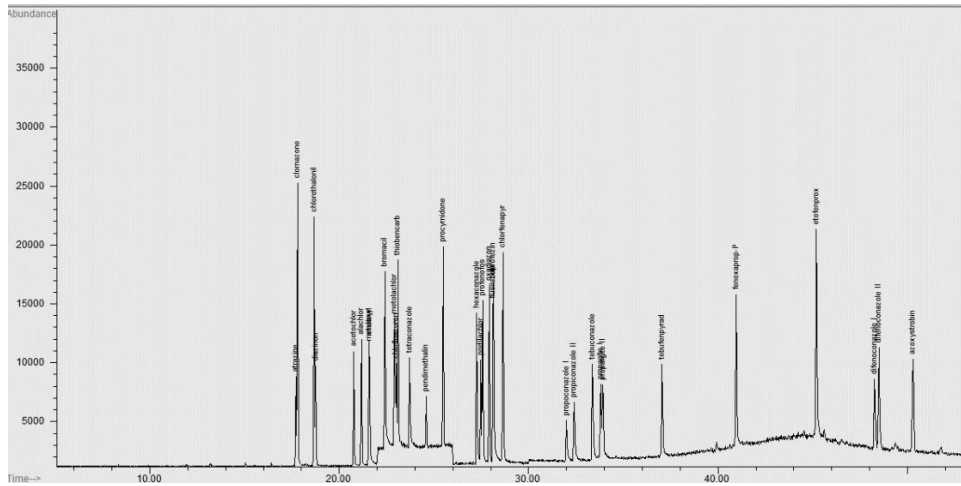
สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตร

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด

จากการวิเคราะห์หาสภาวะในการตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด ด้วยเครื่อง GC-MS ทำการปรับตั้งค่าอุณหภูมิและอัตราการเปลี่ยนอุณหภูมิของคอลัมน์ เพื่อให้สามารถวิเคราะห์สารทั้ง 30 ชนิดได้ในเวลาที่เร็วที่สุด พบว่าตามวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวได้โครมาโตแกรมของสารละลายสารมาตรฐานรวม (mixed standard solution) แสดงดังภาพที่ 1 และปรากฏค่า retention time, qualified ions และ dwell time ของสารละลายสารมาตรฐานแต่ละชนิด รายละเอียดดังตารางที่ 1



ภาพที่ 1 โครมาโตแกรมสารละลายสารมาตรฐานรวมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 30 ชนิด

ตารางที่ 1 retention time, qualified ion และ dwell time ของสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืช 30 ชนิด

No.	Pesticide	RT	Qualified ions			Dwell time
			1	2	3	
1	atrazine	17.71	200	215	202	30
2	clomazone	17.81	125	204	127	30
3	chlorothalonil	18.69	266	264	268	30
4	diazinon	18.77	179	137	199	30
5	acetochlor	20.79	146	162	223	30
6	alachlor	21.18	160	188	45	30
7	metalaxyl	21.57	206	132	160	30
8	ametryn	21.61	227	212	170	30
9	bromacil	22.43	205	207	188	30
10	metolachlor	22.94	162	238	146	30
11	chlorfluazuron	23.02	347	349	350	30
12	thiobencarb	23.12	100	72	125	30
13	tetraconazole	23.7	336	338	171	30
14	pendimethalin	24.62	252	162	280	30
15	procymidone	25.49	283	96	285	30
16	hexaconazole	27.25	83	214	231	30
17	pretilachlor	27.49	162	238	176	30
18	profenofos	27.58	337	339	97	30
19	oxadiazon	27.93	175	177	258	30
20	flusilazole	28.09	233	206	234	30
21	buprofezin	28.15	105	172	106	30
22	chlorfenapyr	28.66	59	247	75	30

ตารางที่ 1 (ต่อ)

No.	Pesticide	RT	Qualified ions			Dwell time
			1	2	3	
23	propiconazole I,II	31.98, 32.40	173	259	69	30
24	tebuconazole	33.38	125	250	70	30
25	propargite	33.95	135	173	81	30
26	tebufenpyrad	37.07	171	318	333	30
27	fenoxaprop-P-ethyl	40.98	288	361	290	30
28	etofenprox	45.19	163	135	107	30
29	difenoconazole I,II	48.23, 48.52	265	323	267	30
30	azoxystrobin	50.32	344	388	345	30

2. การทดสอบ matrix effect

ข้อมูลจากการวิเคราะห์ standard in matrix และ standard in solvent นำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดบนแกน y กับความเข้มข้นของสารในตัวอย่างบนแกน x นำค่าความชันจากสมการเส้นตรง ทำการคำนวณหา %matrix effect (%ME) พบว่า %ME ของสารละลายสารมาตรฐาน จำนวน 30 ชนิด อยู่ในช่วง 0.01 ถึง 8.98% มีค่าน้อยกว่า 10% อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ %ME<10% ของ National Association of Testing Authorities (NATA, 2018) แสดงว่าผลกระทบขององค์ประกอบอื่นในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชไม่รบกวนการวิเคราะห์ สารละลายสารมาตรฐานที่เตรียมในตัวทำละลายทั้งสองชนิดให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด ในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช matrix effect ไม่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์ทดสอบ จึงสามารถเตรียม standard curve ได้ทั้งใน solvent และ matrix solvent รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการศึกษา matrix effect ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช

No.	Pesticide	slope of standard curve		%ME	Matrix effect (%ME<10%)
		standard in matrix	standard in solvent		
1	atrazine	2104	2018	4.28	Not different
2	clomazone	5732	5872	-2.37	Not different
3	chlorothalonil	4392	4767	-7.87	Not different
4	diazinon	1184	1138	4	Not different
5	acetochlor	1394	1396	-0.16	Not different
6	alachlor	1493	1455	2.57	Not different
7	metalaxyl	1107	1100	0.59	Not different
8	ametryn	2278	2188	4.11	Not different
9	bromacil	2220	2037	8.98	Not different
10	metolachlor	4675	4803	-2.67	Not different
11	chlorfluazuron	2514	2356	6.72	Not different

ตารางที่ 2 (ต่อ)

No.	Pesticide	slope of standard curve		%ME	Matrix effect (%ME<10%)
		standard in matrix	standard in solvent		
12	thiobencarb	4797	4540	5.65	Not different
13	tetraconazole	3397	3324	2.2	Not different
14	pendimethalin	2000	2000	0.01	Not different
15	procymidone	3013	2909	3.59	Not different
16	hexaconazole	1233	1216	1.37	Not different
17	pretilachlor	1769	1700	4.02	Not different
18	profenofos	881	886	-0.48	Not different
19	oxadiazon	3190	3247	-1.75	Not different
20	flusilazole	5252	5048	4.04	Not different
21	buprofezin	2467	2395	3.03	Not different
22	chlorfenapyr	4169	4259	-2.1	Not different
23	propiconazole	654	657	-0.39	Not different
24	tebuconazole	1539	1541	-0.11	Not different
25	propargite	2306	2323	-0.71	Not different
26	tebufenpyrad	2214	2204	0.45	Not different
27	fenoxaprop-P-ethyl	2302	2251	2.25	Not different
28	etofenprox	9343	9244	1.07	Not different
29	difenoconazole	977	979	-0.12	Not different
30	azoxystrobin	2521	2523	-0.09	Not different

3. การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) ของวิธีวิเคราะห์

เทคนิค GC-MS มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ทำการวิเคราะห์ โดยสารมาตรฐานทั้ง 30 ชนิด สามารถแยกกันได้โดยใช้ค่ามวลของไอออนของสารที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของ solvent blank สารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่าง พบว่าไม่มีการรบกวนของสัญญาณการตรวจวัดของตัวอย่างต่อสารมาตรฐาน แสดงให้เห็นถึงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ในการแยกสารที่สนใจวิเคราะห์ออกจากสารอื่นๆ รวมทั้งสารปนเปื้อน สารที่เกิดจากการสลายตัว และเมทริกซ์ (Belouafa *et al.*, 2017) ดังนั้น วิธีวิเคราะห์นี้มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวิเคราะห์

4. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ของวิธีวิเคราะห์ (limit of detection, LOD)

ทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานรวม (fortified mix standard) ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชที่ระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ จำนวน 10 ซ้ำ ทำการตรวจวิเคราะห์ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ประเมินค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้จาก LOD เท่ากับ 3SD (Eurachem, 2014) พบว่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 30 ชนิด มีค่า LOD ด้วยวิธีการคำนวณอยู่ในช่วง 0.134-0.645 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 3 จะเห็นว่าค่าจากการประเมินด้วยวิธีการคำนวณมีค่าต่ำ และเมื่อตรวจสอบค่า LOD พบว่ามีสารบางชนิดตรวจวัดสัญญาณได้ค่า signal to noise (S/N) น้อยกว่า 3 ดังนั้นจึงปรับ

ความเข้มข้นของ LOD ให้อยู่ในช่วง 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการตรวจวิเคราะห์ พบว่ามีสัญญาณการตรวจวัดทั้งหมดและมีค่า signal to noise (S/N) มากกว่า 3 จึงสรุปได้ว่าค่า LOD ของวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด ในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชอยู่ในช่วง 0.50-1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

5. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ)

ทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานรวม (fortified mix standard) ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชที่ระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ จำนวน 10 ซ้ำ ทำการตรวจวิเคราะห์ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ประเมินค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ จาก LOQ เท่ากับ 10SD พบว่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 30 ชนิด มีค่า LOQ ด้วยวิธีการคำนวณอยู่ในช่วง 0.447-2.150 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 3 แต่ผลการทดสอบสารบางชนิดไม่มีความแม่นยำ เมื่อคำนวณค่า %recovery ไม่อยู่ในช่วงเกณฑ์ที่กำหนด จึงปรับค่า LOQ ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1.25 และ 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ยืนยันค่า LOQ โดยการคำนวณ %recovery และ %RSD พบว่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้ง 30 ชนิด อยู่ในเกณฑ์ยอมรับโดยมีค่า %recovery อยู่ในช่วง 70-120% และ %RSD ไม่เกิน 20% (SANTE/11312, 2021) เป็นการยืนยันได้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่ระดับ LOQ มีความถูกต้อง แม่นยำ ดังนั้นค่า LOQ ของวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จำนวน 30 ชนิด ในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชอยู่ในช่วง 1.25-2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร

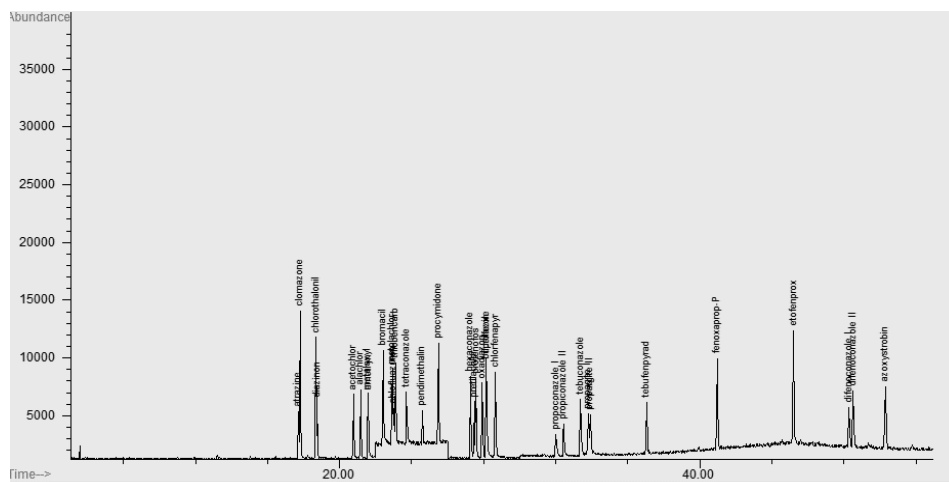
ตารางที่ 3 การประเมิน LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิดในสารสกัดจากพืช

No.	Pesticide	SD	LOD			LOQ			
			(3SD) _{cal}	Conc. (mg/L)	S/N	(10SD) _{cal}	Conc. (mg/L)	%recovery	%RSD
1	atrazine	0.08	0.24	0.5	4.6	0.8	1.25	74	9
2	clomazone	0.056	0.169	0.5	10.3	0.563	1.25	72	6
3	chlorothalonil	0.074	0.224	0.5	7.6	0.747	1.25	83	7
4	diazinon	0.097	0.291	0.5	3.9	0.972	1.25	108	7
5	acetochlor	0.092	0.278	0.5	3.9	0.926	1.25	90	8
6	alachlor	0.088	0.265	0.5	4.3	0.885	1.25	88	8
7	metalaxyl	0.098	0.294	0.5	3.4	0.981	1.25	90	9
8	ametryn	0.071	0.215	0.5	5.5	0.718	1.25	92	6
9	bromacil	0.101	0.304	1	5.3	1.014	2.5	73	6
10	metolachlor	0.1	0.301	0.5	8.4	1.004	1.25	94	9
11	chlorfluazuron	0.056	0.17	0.5	3.4	0.567	2.5	80	7
12	thiobencarb	0.069	0.209	0.5	7.9	0.699	2.5	85	10
13	tetraconazole	0.094	0.284	0.5	5.7	0.948	1.25	98	8
14	pendimethalin	0.093	0.279	0.5	6.7	0.932	2.5	102	4
15	procymidone	0.095	0.286	0.5	4	0.954	1.25	74	10
16	hexaconazole	0.159	0.478	1	4.3	1.594	2.5	82	8
17	pretilachlor	0.087	0.263	0.5	4.2	0.877	1.25	98	7

ตารางที่ 3 (ต่อ)

No.	Pesticide	SD	LOD			LOQ			
			(3SD) _{cal}	Conc. (mg/L)	S/N	(10SD) _{cal}	Conc. (mg/L)	%recovery	%RSD
18	profenofos	0.084	0.252	1	4.6	0.841	2.5	90	4
19	oxadiazon	0.061	0.184	0.5	5.4	0.616	2.5	98	9
20	flusilazole	0.044	0.134	0.5	6.6	0.447	1.25	83	4
21	buprofezin	0.128	0.385	0.5	4.2	1.285	1.25	77	13
22	chlorfenapyr	0.128	0.386	1	7.2	1.288	2.5	83	13
23	propiconazole	0.215	0.645	1	3.5	2.15	2.5	99	9
24	tebuconazole	0.136	0.409	1	3.9	1.365	2.5	87	6
25	propargite	0.173	0.519	1	3.8	1.732	2.5	74	9
26	tebufenpyrad	0.047	0.142	0.5	4.4	0.473	1.25	89	4
27	fenoxaprop-P-ethyl	0.102	0.307	1	10.3	1.024	2.5	100	4
28	etofenprox	0.068	0.205	0.5	7.1	0.685	1.25	93	6
29	difenoconazole	0.149	0.448	1	4	1.495	2.5	112	5
30	azoxystrobin	0.158	0.475	1	6	1.586	2.5	115	5

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชนำไปทดสอบในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ เพื่อตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ต่างชนิดกัน พบว่าวิธีวิเคราะห์สามารถตรวจวัดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิดในผลิตภัณฑ์ที่ต่างกันได้ ดังภาพที่ 2 แสดงให้เห็นว่าวิธีตรวจสอบสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบรวมด้วยเทคนิค GC-MS ที่ได้มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชได้



ภาพที่ 2 โครมาโตแกรมสารละลายสารมาตรฐานรวมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 30 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ



การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิด ด้วยเทคนิค GC-MS ได้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารทั้ง 30 ชนิดให้สามารถแยกกันได้ ผลทดสอบ matrix effect (%ME) ในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 0.01-8.98% ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับน้อยกว่า 10% แสดงว่า matrix ไม่มีผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) โดยพิจารณาโครมาโตแกรมของ solvent blank สารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่าง ไม่พบสารอื่นรบกวนสารออกฤทธิ์ ทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจวัดได้ (LOD) อยู่ในช่วง 0.50-1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (LOQ) อยู่ในช่วง 1.25-2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร นำวิธีวิเคราะห์ที่ได้ไปทดสอบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ พบว่าวิธีวิเคราะห์สามารถตรวจวัดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 30 ชนิดในผลิตภัณฑ์ที่ต่างกันได้ ดังนั้นวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบรวม ด้วยเทคนิค GC-MS จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่ไม่ทราบชนิด (unknown sample) ซึ่งจะทำให้การตรวจวิเคราะห์เป็นไปอย่างรวดเร็ว ลดขั้นตอน และลดของเสียจากการตรวจวิเคราะห์ได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำวิธีทดสอบนี้ไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ไม่ทราบชนิด (unknown sample) ที่เป็นงานประจำ (routine) ของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร เพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีจำนวนมาก และมีความหลากหลาย ทั้งยังเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและศักยภาพของห้องปฏิบัติการ
2. นำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและเป็นแนวทางในการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารเคมีแบบรวมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีความหลากหลายชนิด เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 2565. การเปลี่ยนแปลงปริมาณและประเภทงานทดสอบที่ขอรับรอง. รายงานการประชุมทบวงการบริหารห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ครั้งที่1/2565. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร. 9 กันยายน 2565.
- เชษฐธิดา ศรีสุขสาม. 2564. ชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชเพื่อการขับเคลื่อนเกษตรกรรมยั่งยืน. รายงานวิจัยการประชุมทางวิชาการประจำปี สวทช ครั้งที่16. ปทุมธานี : อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย. 25-30 มีนาคม 2564.
- มลิสสา เวชยานนท์, จันทิมา ผลกอง และอำนาจ กะจูนเทศ. 2562. การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine) ไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) คาร์บาเมต (Carbamate) และไตรอะซีน (Triazine) ในเนื้อปลา. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2562. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. หน้า 468-475.
- ศิริวรรณ จำแนกสาร. 2562. องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบฝรั่งและการยับยั้งออกซิเดชันของลิพิดในกุนเชียงในระหว่างการเก็บรักษา. เทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 14(1): 12-25.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 2564. ข้อมูลสถิติการนำเข้าวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร. แหล่งข้อมูล https://www.doa.go.th/ard/?page_id=386 สืบค้น: 9 กันยายน 2565.

- 
- 
- สำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 2563. *ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช*. กรุงเทพฯ: บริษัทนิเวศมตาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด. 240 หน้า.
- หนึ่งฤทัย แสแสงสีรุ่ง. 2561. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค GC-MS ร่วมกับเทคนิค IDMS ในการแยกสารผสมเบนโซฟีโนน และอนุพันธ์ในกระดาศบรรจุภัณฑ์อาหาร. *Bulletin of Applied Sciences*. 7(7): 104-114.
- Belouafa, S., F. Habti, S. Benhar, B. Belafkih, S. Tayane, S. Hamdouch, A. Bennamara, and A. Abourriche. 2017. Statistical tools and approaches to validate analytical methods: methodology and practical examples. *International Journal of Metrology and Quality Engineering*. 8: 1-10.
- EL-Saeid, M.H., A.S. Hassanin, A.Y. Bazeyad, and M.T. Al-Otaibi. 2021. Rapid analytical method for the determination of 220 pesticide with their isomers by GCMS-TIC. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 28(8): 4173-4182.
- Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd ed. 62 p.
- Li, H., J. Wu, C. Chen, W. Xin, and W. Zhang. 2021. Simultaneous determination of 74 pesticide residues in Panax notoginseng by QuEChERS coupled with gas chromatography tandem mass spectrometry. *Food Science and Human Wellness*. 10: 241-250.
- NATA. 2018. General accreditation guidance-validation and verification of quantitative and qualitative test methods. Australia.
- SANTE/11312. 2021. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed.

การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะทราซีนตกค้างในข้าวโพด
ฝักสด ต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

Risk Assessment of Atrazine Herbicide Residues in Specialty Corns to
Farmer, Consumer and Environment

ปภัศรา คุณเลิศ
Paphatsara Khunlert

ประกิจ จันทร์ดี
Prakit Chuntib

พกาสิณี คล้ายมาลา
Pakasinee Klaimala

กลุ่มวิจัยวัชพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Atrazine is a commonly used herbicide which plays an important role in the agriculture. Using this pesticide may affect the health of farmers and environment around the cultivation area. Herbicide application of Atrazine in specialty corns production maybe cause pesticide residues in the product, and there is a risk to the health of farmers and consumers. Thus, the effects of Atrazine on specialty corns production on the environment were studied and evaluated in the field located at Don Tum District, Nakhon Pathom Province during October 2021 to September 2022. The usage rate of 90% WG of Atrazine was 350 g.ai/rai by high-pressure power sprayer. After spraying, the pad was attached to a different position on the body, water from hand, and foot washing were collected. The soil, water, sediment, and specialty corn yield in the harvest stage were collected and analyzed using Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD). The result showed that, Atrazine contamination on the sprayer was 0.32 mg/kg body weight per day. The data were processed together with toxicological data of Atrazine for risk assessment (Margin of exposure, MOE = 78.99), the result of risk assessment is in the risk level (MOE <100). In the soil, atrazine was $0.03 \pm 0.01 - 1.71 \pm 0.93$ mg/kg dry weight which has the highest pesticide residue after spraying for 1 day. In the water, Atrazine was less than 0.01 $\mu\text{g/L}$. Atrazine residues in the sediment and corn were not found in all samples. The half-life of atrazine in the soil was 10.4 days. The health risk assessment was calculated using Hazard Quotient (HQ) values for the ages of 6-12 years (the average was 9.22×10^{-5}), and for the age of 70 years (the average value was 2.96×10^{-5}) which the values are less than 1. It is an acceptable level. In addition, the risk assessment was calculated using Risk Quotient (RQ) values in soil that the average was 5.39×10^{-2} which the risk an acceptable level ($\text{RQ} \leq 0.1$). It can be concluded that the atrazine herbicide has health risk for farmer but has no health risk for consumption and did not affect in environment. Therefore, the result of this research should be distributed to farmers to reduce the risk form herbicide use and to help them solve the problems related to the health risk that may occur in the future.

Key words: atrazine herbicide; Margin of exposure (MOE); hazard quotient (HQ); risk quotient (RQ)

บทคัดย่อ

อะทราซีนเป็นสารกำจัดวัชพืชมีบทบาทสำคัญในภาคการเกษตร การใช้อย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อมบริเวณโดยรอบแหล่งเพาะปลูก การใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช atrazine ในการผลิตข้าวโพดฝักสดทำให้เกิดสารพิษตกค้างในผลผลิต มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค ดังนั้น จึงได้ศึกษาและประเมินผลกระทบของสาร atrazine ในการผลิตข้าวโพดฝักสดต่อสิ่งแวดล้อม ในแปลงทดลองอำเภอดอนตูม จังหวัดนครปฐม ระหว่างตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 โดยใช้สาร atrazine สูตร 90% WG อัตรา 350 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ฉีดพ่นสารด้วยเครื่องฉีดพ่นแบบสะพายหลังแรงดันน้ำสูง จากนั้นเก็บตัวอย่างแผ่นผ้าที่ติดบนส่วนต่างๆ ของร่างกาย น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า รวมทั้งสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพดฝักสดที่ระยะเก็บเกี่ยว เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD) การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ atrazine ที่ปนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่นสาร มีปริมาณปนเปื้อน 0.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน นำข้อมูลมาประมวลผลกับข้อมูลทางพิษวิทยาของสาร atrazine เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสจากค่าขอบเขตความปลอดภัย (Margin of exposure, MOE = 78.99) พบว่ามีความเสี่ยงจากการใช้สาร atrazine (MOE <100) การตรวจวิเคราะห์ดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพดฝักสด พบสาร atrazine ในดินปริมาณ $0.03 \pm 0.01 - 1.71 \pm 0.93$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักดินแห้ง มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 1 วัน ในน้ำมีปริมาณค่อนข้างต่ำ <0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร ในตะกอนดินและข้าวโพดฝักสดไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง ค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของ atrazine ในดินเท่ากับ 10.4 วัน เมื่อวิเคราะห์ประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพด้วยค่า Hazard quotient (HQ) ช่วงอายุ 6-12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 9.22×10^{-5} และช่วงอายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 2.96×10^{-5} ซึ่งน้อยกว่า 1 จึงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า Risk quotient (RQ) ในดินมีค่าเฉลี่ย 5.39×10^{-2} ถือว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ \leq 0.1$) สรุปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine มีความเสี่ยงต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ แต่ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพผู้บริโภคข้าวโพดฝักสด และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยควรนำข้อมูลที่ได้มาเผยแพร่ให้คำแนะนำแก่เกษตรกร ลดความเสี่ยงอันตรายจากการใช้สารกำจัดวัชพืช เพื่อนำไปสู่การแก้ไขปัญหาผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต

คำสำคัญ: สารกำจัดวัชพืชอะทราซีน, ค่าขอบเขตความปลอดภัย, ค่าดัชนีบ่งชี้อันตราย, ค่าดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

คำนำ

ข้าวโพดฝักสดเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีหลายชนิด ได้แก่ ข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวโพดหวาน และข้าวโพดฝักอ่อน เป็นต้น สำหรับข้าวโพดข้าวเหนียวปัจจุบันมีความนิยมนำมารับประทานกันมากขึ้น เนื่องจากมีรสชาติดี มีความเหนียวนุ่ม ปัจจุบันเป็นสินค้าที่มีความต้องการสูงทั้งในและต่างประเทศ เช่น จีน เวียดนาม ไต้หวัน และเกาหลีใต้ โดยมียอดส่งออกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวไม่ต่ำกว่าปีละ 70 - 80 ล้านบาท (ภาวิณี และคณะ, 2559 ; บุญฤทธิ์ และคณะ, 2559) atrazine เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ใช้กันอย่างแพร่หลาย มีบทบาทสำคัญในการกำจัดวัชพืชที่นอกจากเมล็ด และต้นอ่อนวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาว หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้าตีนติด และหญ้าตีนกา ประเภทใบกว้าง เช่น ปอวัชพืช ผักโขมหนาม และผักเบี้ยหิน พันธุ์ดินก่อนข้าวโพดและวัชพืชชงอกแล้วมีใบ 2-3 ใบ วัชพืชทำให้ผลผลิตและคุณภาพของข้าวโพดลดลง (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554; Halime *et al.*, 2020) ในปี 2564 มีการนำเข้า atrazine ปริมาณ 2,635,406 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 362,553,564.16 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2565) ลักษณะกายภาพของสาร

atrazine เป็นผลึกขาวใส ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลว 175 - 177 องศาเซลเซียส สภาพการละลายน้ำ 33 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพเป็นกลาง มีพิษระดับปานกลางทั้งทางปากและผิวหนัง ค่า acute oral LD₅₀ มีค่า 1,075 - 1,886 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Turner, 2018) ในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เมื่อได้รับที่ความเข้มข้นสูง จะเกิดอาการ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง กล้ามเนื้อล้า และไอรยะจะทำให้เกิดอาการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ และ สะสมในปอด (Zhang *et al.*, 2014) เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor chemical; EDC) ทำให้เกิดมลภาวะทางฮอร์โมนเพศ (sex-hormone pollution) มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ ทั้งในคน ปลา และสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ เป็นสารที่ถูกห้ามใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Freeman *et al.*, 2011; Raj and Anni, 2011) สำหรับพฤติกรรมในสิ่งแวดล้อม หลังพ่น atrazine ในแหล่งเกษตรกรรม พบสารฟุ้งกระจายไปในอากาศ บางส่วนถูกชะล้างด้วยน้ำฝน ไหลสู่แม่น้ำลำคลองตกค้างในดิน บางส่วนสามารถเคลื่อนย้าย (mobility) จากดินสู่แหล่งน้ำใต้ดิน (Halime *et al.*, 2020; Raziye, 2023) เกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในน้ำดื่มของ U.S.EPA (2018) (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) ในดิน atrazine จะถูกดูดซับในดินเหนียว มากกว่าดินร่วนเหนียวปนทราย และดินร่วนปนทราย (Oliveira *et al.*, 2001) ถูกย่อยสลายด้วยปฏิกิริยา photolysis ด้วยแสงแดด ปฏิกิริยา hydrolysis ด้วยน้ำและออกซิเจน จุลินทรีย์และแบคทีเรียในธรรมชาติ สามารถตกค้างในดินตั้งแต่ 8 - 60 วัน ขึ้นอยู่กับสมบัติของดิน ความชื้น และอุณหภูมิในอากาศ (Raj and Anni, 2011) ค่าครึ่งชีวิต (half-life, t_{1/2}) ในดินของสาร atrazine อยู่ระหว่าง 2- 4 สัปดาห์ (Halime *et al.*, 2020) เกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในดินเพื่อเกษตรกรรมของกรมควบคุมมลพิษ (2547) (ไม่เกิน 22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

อย่างไรก็ตามการใช้สาร atrazine อย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้พ่น และ สิ่งแวดล้อมบริเวณโดยรอบแหล่งเพาะปลูก เนื่องจากขณะพ่นสาร atrazine ละอองสารเกิดการฟุ้งกระจายไปใน อากาศ ตกค้างในผลผลิต สะสมในดิน ชะละลายลงสู่แหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง เกิดการเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อม สะสมในสิ่งมีชีวิต และปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร ส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค เนื่องจากสาร atrazine ที่ตกค้าง ในสิ่งแวดล้อม สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์โดยตรงจากการหายใจ การสัมผัส ดิน น้ำ ตะกอนดิน และผลผลิต ดังนั้นเกษตรกรจึงเป็นกลุ่มแรกที่มีความเสี่ยงอันตรายจากการได้รับสารพิษ เพื่อเป็นการแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อประเมินความเสี่ยงจากการใช้สาร atrazine ในสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อ สุขภาพเกษตรกร การสลายตัว และสะสมใน ดิน น้ำ ตะกอนดิน การตกค้างในผลผลิต รวมทั้งประเมินผลกระทบ ของสาร atrazine ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอน ได้แก่ แครงตักน้ำและตะกอน ขวดพลาสติกชนิด PTFE ใส่ตัวอย่างน้ำ เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และ ถังพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ เครื่องวัดความเร็วลม นาฬิกาจับเวลา และเครื่องพ่นแบบสะพาย หลังแรงดันน้ำสูง
2. เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, cylinder, beaker, erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, glass vial และ separatory funnel
3. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐานอะทราซีน (atrazine) C₈H₁₄ClN₅ 99.5%, acetonitrile (CH₃CN), acetone (C₃H₆O), ethyl acetate (C₄H₈O₂), anhydrous magnesium sulfate (Mg₂SO₄), sodium chloride

(NaCl), sodium hydroxide (NaOH), trisodium citrate dehydrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), disodium hydrogen citrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$) และ primary secondary amines (PSA)

4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งที่สอบเทียบแล้ว, ตู้เย็นแช่แข็ง (deep Freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 องศาเซลเซียส, เครื่องบดตัวอย่าง (food processor), เตาเผา (muffle furnace), ตู้อบ (hot air oven), เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer), เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), เครื่องลดปริมาตร (rotary evaporator), เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator), เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างน้ำ (separatory funnel shaker), เครื่อง Ultrasonic bath และ เครื่อง Gas Chromatograph (GC) บริษัท Agilent technologies รุ่น 7890B ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

1.1 การสำรวจแปลงและวางแผนการทดลอง

สำรวจแปลงปลูกข้าวโพดของเกษตรกร เพื่อวางแผนการทดลอง และกำหนดเวลาพ่นสาร atrazine ในอำเภอดอนตูม จังหวัดนครปฐม ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 แปลงขนาด 1 ไร่ ลักษณะแปลงปลูกยกเป็นร่องดินขึ้น ระยะระหว่างแถวปลูก 1 เมตร ระหว่างต้น 0.5 เมตร ใช้น้ำจากคลองชลประทานเข้าแปลง ลักษณะทางกายภาพของเนื้อดิน เป็นดินร่วน มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างต่ำ (1.12%) ดินมีค่า pH เท่ากับ 7.3 มีลักษณะเป็นกลาง (6.6-7.3) ค่าการนำไฟฟ้า (soil electrical conductivity) เท่ากับ 0.113 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร น้ำในบ่อและคลองส่งน้ำ มีค่า pH ระหว่าง 7.2 - 7.8 มีของแข็งละลายน้ำ (Total Dissolved Solid; TDS) ระหว่าง 129 - 212 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity) ระหว่าง 258 - 424 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร วัชพืชในแปลงข้าวโพด ได้แก่ หญ้าดอกขาว หญ้าตีนติด ปอวัชพืช และผักเบี้ยหิน แมลงศัตรูพืช ได้แก่ หนอนเจาะลำต้นและฝักข้าวโพด หนอนกะทู้ และหนอนชอนใบ โรคพืชที่สำคัญคือ โรคราน้ำค้าง และโรคใบไหม้แผลใหญ่ เกษตรกรดูแลแปลง โดยรดน้ำแปลงข้าวโพด วันละหนึ่งครั้ง ส่วนวันที่พ่นสารให้เว้นรดน้ำเป็นเวลา 1 วัน

1.2. การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1.2.1 ทำการติดตั้งป้ายเก็บตัวอย่าง เพื่อกำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง แปลงทดลองมีขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 30.50 x 52.45 ตารางเมตร แบ่งออกเป็น 10 แถว โดยกำหนดให้ 2 แถวเป็น 1 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 5 ตัวอย่าง สำหรับเก็บตัวอย่างดิน และตัวอย่างข้าวโพดฝักสด ส่วนตัวอย่างน้ำและตะกอนดิน กำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างในคลองชลประทาน บ่อพักน้ำ และคลองส่งน้ำ รวมทั้งหมด 4 ตัวอย่าง จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine ไว้เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ก่อนและหลังพ่นสาร atrazine คือ ดิน จำนวน 5 ตัวอย่าง น้ำและตะกอนดินจำนวนตัวอย่างละ 4 ตัวอย่าง

1.2.2 ศึกษาปริมาณการปนเปื้อนสารพิษบนร่างกายผู้พ่นสาร ทำตามวิธีการทดลอง Methods for measuring dermal exposure; Patch method (U.S.EPA, 2009) โดยก่อนพ่นสารติดแผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10 x 10 เซนติเมตร บนเสื้อผ้าตามส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้พ่นสาร ได้แก่ หมวก (1), แผ่นผ้าปิดจมูก (1), ออกเสื้อ (1), ด้านในอกเสื้อ (1), บ่า (2), คอก (2), หลังเสื้อ (1) ด้านในของหลังเสื้อ (1), ต้นขา (2), หน้าแข้ง (2) และด้านในหน้าแข้ง (2)

1.2.3 พ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine 90% WG อัตรา 350 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ด้วยเครื่องพ่นแบบสะพายหลังแรงดันน้ำสูง (High pressure pump sprayer) ใช้ระยะเวลาการพ่น 24 นาที ความเร็วลม 1.2 เมตรต่อวินาที

1.2.4 หลังพ่นสาร atrazine เก็บตัวอย่างแผ่นผ้าที่ติดตามร่างกายผู้พ่นสารแต่ละชั้นลงในขวดแก้วที่มีฝาปิด น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้าของผู้พ่น และสู่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ และตะกอนดินที่ระยะเวลาหลังพ่น คือ 0 วัน (2 ชั่วโมง หลังพ่น), 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 45 และ 60 วัน นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

1.2.5 เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่ระยะเก็บเกี่ยวหลังพ่นสาร 63 วัน สู่มเก็บตัวอย่างข้าวโพดกระจายให้ทั่วทั้งแปลงทดลอง ให้ได้น้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม จำนวน 10 ตัวอย่าง

1.2.6 การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อนำส่งห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างทุกชนิดหลังจากเก็บจากแปลงทดลอง จะเก็บในถุงพลาสติกหรือภาชนะที่เหมาะสม มีป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง ประกอบด้วย รหัสสารทดลอง ชื่อตัวอย่าง ชื่อสารกำจัดวัชพืช วันที่เก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งเวลาที่สู่มเก็บตัวอย่าง ปิดถุงให้แน่นบรรจุลงในกล่องที่บรรจุน้ำแข็ง ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการ

2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1.1 เตรียม stock solution ของสารละลายมาตรฐาน atrazine โดยชั่งสารมาตรฐานให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร และนำค่า %purity มาคำนวณกลับเป็นน้ำหนักสารที่แท้จริง ให้มีความเข้มข้นของสารมาตรฐานประมาณ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ ethyl acetate PR grade เป็นตัวทำละลาย

2.1.2 เตรียม intermediate standard solution ให้ได้สารละลายของสารมาตรฐาน ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 10 - 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution ของสาร atrazine ที่ 6 ระดับความเข้มข้น เท่ากับ 0.04, 0.10, 0.20, 0.51, 1.03 และ 2.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity) มีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

2.2 การหาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

เพื่อทดสอบหาวิธีสกัดที่เหมาะสม โดยเติมสารมาตรฐาน atrazine ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนในตัวอย่างแผ่นผ้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพดที่ไม่มีสาร atrazine ตกค้าง แล้วนำมาสกัด และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD) เพื่อทดสอบหาประสิทธิภาพการเอาสารกลับคืน (recovery) เกิดจากการยอมรับ recovery อยู่ระหว่าง 70 - 120% (SANTE/11813, 2017) ทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD) และค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantitation; LOQ)

2.3 การเตรียมตัวอย่าง

2.3.1 ตัวอย่างดิน ก่อนนำไปสกัด นำตัวอย่างดินและตะกอนดินใส่ภาชนะตากไว้ในที่ร่ม ให้มีความชื้นประมาณ 10 - 20 เปอร์เซ็นต์ กรณีที่มีการปนเปื้อนของหินหรือเศษซากพืช ให้แยกออก จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด เพื่อให้ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน ทำการชั่งตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ชั่ง น้ำหนัก 20 ± 0.05 กรัม ลงในขวด Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ชั่ง ไปสกัดและตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง และชั่งตัวอย่างดิน 50 ± 0.05 กรัม ใส่ใน petri dish ที่มีฝาปิด สำหรับนำไปตรวจหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นดิน

2.3.2 ตัวอย่างข้าวโพด ปอกเปลือก แล้วนำฝักมาหั่นให้มีขนาดเล็ก จากนั้นใช้เครื่องบดสับตัวอย่าง (food processor) เพื่อให้ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน ทำการชั่งตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ชั่ง น้ำหนัก 5 ± 0.05 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ชั่ง ไปสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

2.4 วิธีการสกัดตัวอย่าง

2.4.1 การสกัดตัวอย่างแผ่นผ้า (U.S.EPA, 2009) นำขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีแผ่นผ้า เติม ethyl acetate (AR) 100 มิลลิลิตร ใส่เครื่อง shaker ความเร็วรอบ 210 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่บรรจุ sodium sulfate ลงใน cylinder จดปริมาตร เทใส่ round bottom flask ทำการสกัดซ้ำด้วย ethyl acetate (AR) 25 มิลลิลิตร นำไปใส่เครื่อง shaker เป็นเวลา 30 นาที กรองสารละลายและจัดบันทึกปริมาตร จากนั้นนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-NPD

2.4.2 ตัวอย่างดิน

1) การหาความชื้นในตัวอย่างดิน (Back, 1965) นำตัวอย่างดินที่ซั่งใส่ใน petri dish ที่มีฝาปิด นำเข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำออกมาวางใส่ในโถดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ซั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่างดินพร้อม petri dish และนำตัวอย่างอบต่ออีกประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง นำออกมาใส่โถดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ซั่งและบันทึกน้ำหนักครั้งที่ 2 ถ้าน้ำหนักที่หายไปจากการอบครั้งที่ 1 และ 2 แตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ นำไปคำนวณหาความชื้นและน้ำหนักดินแห้ง ดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักดินก่อนอบ} - \text{น้ำหนักดินหลังอบ})}{(\text{น้ำหนักดินหลังอบ} - \text{น้ำหนัก Petri dish})} \times 100 \quad \dots\dots\dots(\text{สมการ 1})$$

2) การสกัดตัวอย่างดินและตะกอนดิน ประยุกต์ใช้วิธี Ultrasonic (Babic *et al.*, 1998) นำตัวอย่างดินและตะกอนดินที่ซั่งไว้ น้ำหนัก 20 ± 0.05 กรัม เติม ethyl acetate (AR) 75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปใส่ในเครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 25 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่บรรจุ sodium sulfate ไว้ด้านบน ล้างด้วย ethyl acetate (AR) 2 ครั้งๆ ละ 20 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-NPD

2.4.3 การสกัดตัวอย่างน้ำ น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า โดยใช้วิธี In-house method based on EPA method 8141A, rev.1, 1994. (U.S. EPA, 1994) ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตรใส่ใน separatory funnel เติม ethyl acetate (AR) 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไซเก็บชั้น ethyl acetate ผ่านกระดาษกรองที่บรรจุ sodium sulfate ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วย ethyl acetate (AR) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-NPD

2.4.4 การสกัดตัวอย่างข้าวโพด ประยุกต์ใช้วิธี EN Extraction: EN Method 15662 (Zeying *et al.*, 2015) นำตัวอย่างข้าวโพดที่ซั่งไว้ น้ำหนัก 5 ± 0.05 กรัม ในหลอดทดลอง เติมน้ำ (purified water) 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติม ceramic ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมสารสกัด anhydrous magnesium sulfate (anh.MgSO₄) 4 กรัม และ 1 กรัม sodium citrate, 0.5 กรัม sodium hydrogen citrate sesquihydrate และ 1 กรัม sodium chloride (NaCl) เขย่า และ voter mixer นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 6 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุ 150 มิลลิลิตร PSA, 150 มิลลิลิตร C18 และ 900 มิลลิลิตร anhydrous

magnesium sulfate (anh.MgSO₄) เขย่าให้เข้ากันด้วย voter mixer นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 3 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง นำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-NPD

2.5 ตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง atrazine ในตัวอย่างสารละลายที่สกัดได้ของ แผ่นผ้า น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพด ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD) โดยกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

Column	: DB-35, 30 m length x 0.25 mm id. x 0.25 um film thickness
Detector	: NPD, Injection
mode	: pulsed spitless
Temperature conditioning	: injector = 230 °C, detector = 300 °C
Oven program	: 65°C (1 min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 195 °C (2 min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 230 °C (1 min) $\xrightarrow{20^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 250 °C (1 min) $\xrightarrow{15^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 280 °C (1 min)
Carrier gas	: helium flow 1.4 ml/min
Ignite gas	: hydrogen 2 ml/min, air 120 ml/min
Injection volume	: 1 uL
run time	: 25.5 min

2.6 การประเมินความเสี่ยง

2.6.1 การประเมินความเสี่ยงจากการสัมผัส (Exposure and Risk Assessment) ต่อเกษตรกรผู้ใช้ คำนวณจากค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (Margin of Exposure, MOE) โดยใช้เกณฑ์การประเมินความเสี่ยง อ้างอิงจาก Pesticide Risk Assessment (U.S. EPA, 2005) ดังสมการ

$$\text{MOE} = \text{NOAEL}/\text{Exposure} \quad \dots\dots\dots(\text{สมการ 2})$$

เมื่อ NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) คือ ค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยาของ atrazine และ Exposure คือปริมาณ atrazine ที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (mg/kg bw/day) การแปลผลจากค่า MOE ที่คำนวณได้เปรียบเทียบกับค่า Pesticide uncertainty factor หากค่า MOE มีค่าต่ำกว่าค่า Pesticide uncertainty factor จะถือว่ามีความเสี่ยง (Risk) และค่า MOE \geq 100 ถือว่าอยู่ในระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (Acceptable risk)

2.6.2 การศึกษาผลกระทบจากการแพร่กระจาย (Environmental Fate and Transport) โดย คำนวณหาระยะเวลาที่สาร atrazine สลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life, t_{1/2}) ในตัวอย่างดิน น้ำ และ ตะกอนดิน จากสมการ t_{1/2} = -0.693/b โดย b ได้มาจากสมการ y=ae^{bx} ซึ่งหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณสาร atrazine ตกค้าง และระยะเวลาหลังพ่นสาร atrazine (วัน)

2.6.3 การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการสัมผัสทางผิวหนังกับดินที่ปนเปื้อน (Exposure and Risk Assessment) โดยใช้ดัชนีบ่งชี้ความอันตราย (HQ) ซึ่งค่า HQ คำนวณจากค่า ADD (ปริมาณค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสาร atrazine ต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือ ปริมาณสารพิษที่น้อยสุดที่ร่างกายรับได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ ดังนี้

$$ADD = (C_{soil} * CF * IR_{soil} * EF * ED) / (BW * AT) \dots\dots\dots(\text{สมการ 3})$$

- เมื่อ: ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสาร atrazine ตกค้างในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน),
 C_{soil} คือ ความเข้มข้นของสาร atrazine ตกค้างในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม),
 CF คือ unit conversion factor = 10⁻⁶ กิโลกรัมต่อมิลลิกรัม
 IR_{soil} คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างในดิน (มิลลิกรัมต่อวัน), 200 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับเด็ก, 100 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ (U.S. EPA., 2008)
 EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วัน/ปี),
 ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่
 BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม); สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี (33.38 กิโลกรัม), ผู้ใหญ่ (47 กิโลกรัม)
 AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย (365 วัน) (EF*ED)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจากค่า ADD และค่า RfD ดังสมการต่อไปนี้

$$HQ = ADD/RfD \dots\dots\dots(\text{สมการ 4})$$

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสาร atrazine เท่ากับ 0.035 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (IUPAC, 2019)

- เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ HQ ≥ 1 หมายถึง สาร atrazine ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk)
 HQ < 1 หมายถึง สาร atrazine ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (Acceptable risk)

2.6.4 การประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) โดยใช้ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดในสิ่งแวดล้อม และ PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

$$RQ = MEC/PNEC \dots\dots\dots(\text{สมการ 5})$$

- เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ RQ ≤ 0.1 หมายถึง ไม่มีความเสี่ยง (no hazard exists)
 RQ > 0.1 – 1.0 หมายถึง มีความเสี่ยงต่ำ (hazard is low)
 RQ > 1.1 - 10 หมายถึง มีความเสี่ยงระดับปานกลาง (hazard is moderate)
 RQ > 10 หมายถึง มีความเสี่ยงสูง (hazard is high) (U.S. EPA., 2014)

การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลภาคสนาม ได้แก่ ขนาดแปลงทดลอง ระยะเวลาในการพ่นสาร atrazine ในแปลงทดลอง ความเร็วลมขณะพ่น และคุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของน้ำ และดิน
2. ผลการตรวจวิเคราะห์สาร atrazine ในตัวอย่างแผ่นผ้า หน่วยเป็นไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ($\mu\text{g}/100\text{cm}^2$), ตัวอย่างน้ำ น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า หน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g}/\text{L}$), ตัวอย่างดิน ตะกอนดิน และข้าวโพด หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)
3. ข้อมูลประเมินความเสี่ยงจากการใช้สาร atrazine ในแปลงปลูกข้าวโพด

ระยะเวลา	เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565
สถานที่ทำการทดลอง	1) แปลงทดลองข้าวโพด ในอำเภอดอนตูม จังหวัดนครปฐม 2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

ทดสอบประสิทธิภาพของวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง atrazine สามารถพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีการสกัดแผ่นผ้า ดิน น้ำ และข้าวโพด ประเมินค่าจากค่าร้อยละการได้คืนกลับ (%recovery) โดยผลของ %recovery อยู่ในช่วง 80.39 – 97.58% พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือ 70 – 120% (SANTE/11813, 2017) ดังนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าว สามารถนำมาสกัดตัวอย่างแผ่นผ้า ดิน น้ำ และข้าวโพดจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง (ตารางที่1) โดยมีขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) ในตัวอย่างแผ่นผ้าเท่ากับ (0.01 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร), ดิน(0.009 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (0.009 ไมโครกรัมต่อลิตร) และข้าวโพด (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (ประเมินค่า LOD เท่ากับ 3XSD) และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) ในตัวอย่าง แผ่นผ้าเท่ากับ (0.02 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร), ดิน (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (0.02 ไมโครกรัมต่อลิตร) และข้าวโพด (0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (ประเมินค่า LOQ เท่ากับ 10XSD)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง atrazine

ตัวอย่าง	Linearity/ Range	Concentration	Recovery (%)	(LOD)	(LOQ)
แผ่นผ้า	0.02 -2.05	1.06 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$	97.58	0.01 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$	0.02 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$
ดิน	0.01 -2.05	1.19 mg/kg	86.55	0.009 mg/kg	0.01 mg/kg
น้ำ	0.02 -2.05	0.56 $\mu\text{g}/\text{L}$	94.36	0.009 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.02 $\mu\text{g}/\text{L}$
ข้าวโพด	0.05 -2.05	1.13 mg/kg	80.39	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg

2. ปริมาณสาร atrazine บนผิวหนังร่างกายผู้พ่น และการประเมินความเสี่ยงต่อเกษตรกรผู้ใช้ในแปลงข้าวโพด

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ atrazine บนแผ่นผ้าที่ติดตามส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้พ่น พบการปนเปื้อนบริเวณ หมวก (2.76), จมูก (2.70), บ่า (8.75), อก-ใน (0.56), อกนอก (27.47), ศอก (51.15), หลัง-ใน (2.93), หลัง-นอก (9.74), ต้นขา (14.49), แขนง-ใน (11.60) และแขนง-นอก (15.09) ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ซึ่งพบปริมาณปนเปื้อนสูงที่สุดบริเวณข้อศอกปริมาณ 51.15 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร เนื่องจากในขณะพ่นสาร atrazine ในแปลงปลูกข้าวโพด เกษตรกรผสมสาร atrazine ด้วยตนเองทำให้สารละลายบางส่วนปนเปื้อนสูงบริเวณข้อศอก ส่วนน้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า ปนเปื้อนปริมาณ 725.23 และ 34.91 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณ atrazine ที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย รวมทั้งปนเปื้อนที่มือและเท้า เมื่อนำมาคำนวณเป็นปริมาณสารพิษต่อพื้นที่ทั้งหมดของร่างกาย (U.S.EPA 2009) ที่ได้จากการทดลองเพื่อประเมินปริมาณ atrazine ปนเปื้อนบนร่างกาย (Potential Exposure) ภายหลังจากพ่น คิดเป็นการปฏิบัติงานตามปกติในแต่ละวัน พบว่ามีปริมาณ atrazine ปนเปื้อน 0.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน แสดงในตารางที่ 2

นำข้อมูลปริมาณสาร atrazine ที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าที่ได้จากการศึกษามาคำนวณเพื่อประเมินปริมาณสาร atrazine บนร่างกาย (Potential Exposure) เมื่อคิดเป็นการปฏิบัติงานทั้งวัน แล้วนำไปประเมินหาปริมาณสารพิษที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Absorption Dose) จากรายงานการวิจัยของ Raj and Anni (2011) สามารถดูดซึมที่ผิวหนัง (16%) นำมาเปรียบเทียบกับค่า NOAEL ซึ่งเป็นค่าทางด้านพิษวิทยาของการทำให้เกิดพิษแล้วคำนวณหาค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) ผลการประเมินระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสัมผัสสาร atrazine เข้าสู่ร่างกายผู้พ่นสารในแปลงปลูกข้าวโพด โดยใช้เกณฑ์การประเมินอ้างอิงของ Pesticide Risk Assessment (U.S. EPA, 2005) กำหนดค่า NOAEL มีค่าเท่ากับ 4.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน (Raj and Anni, 2011) คำนวณหาค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) เท่ากับ 78.99 ซึ่งค่า MOE มีค่าน้อยกว่า 100 ถือว่าเกษตรกรมีความเสี่ยงจากการใช้สาร atrazine ในแปลงปลูกข้าวโพด ดังตารางที่ 3 โดยเกณฑ์ค่า MOE น้อยกว่าหรือเท่ากับ 100 ถือว่าเป็นระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (U.S. EPA, 2005) สอดคล้องกับงานวิจัยของวิภา และคณะ (2555) หลังการพ่น atrazine ในต้นอ้อยอายุ 3.5 เดือน ช่วงฤดูฝน มีค่า MOE อยู่ในช่วง 6 - 12 และหลังพ่น atrazine ในสัปดาห์ต่อมาอายุ 7 เดือน ช่วงฤดูฝน มีค่า MOE อยู่ในช่วง 0.73 - 22.98 ถือว่าเกษตรกรมีความเสี่ยงจากการใช้สาร atrazine ในไร่อ้อยและสัปดาห์ต่อมา

ตารางที่ 2 ปริมาณ atrazine บนแผ่นผ้าที่ปนเปื้อนบนร่างกาย น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้าของผู้พ่นสาร

ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body)	พื้นที่ผิว (Surface area) (cm ²)	ปริมาณปนเปื้อน บนแผ่นผ้า (µg/100 cm ²)	Penetration factor	ปริมาณปนเปื้อน ที่สัมผัสร่างกาย (µg/ region)
หัว - หมวก	1300	2.76	1.00	35.51
- จมูก		2.70		
บ่า 2	2910	8.75	0.21	31.95
อก - ใน	3550	0.56	0.10	19.64
- นอก		27.47		
ศอก 2	1210	51.15	0.21	77.69

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body)	พื้นที่ผิว (Surface area) (cm ²)	ปริมาณปนเปื้อน บนแผ่นผ้า (µg/100 cm ²)	Penetration factor	ปริมาณปนเปื้อน ที่สัมผัสร่างกาย (µg/ region)
หลัง - ใน	3550	2.93	0.31	79.87
- นอก		9.74		
ตบขา 2	3820	14.49	0.97	536.86
แขน - ใน	2380	11.60	0.51	156.07
- นอก		15.09		
มือ	820		1.00	613.43
เท้า	1310		1.00	47.64
รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการพ่นนาน 24 นาที				1,598.65
ปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการพ่นนาน 24 นาที ต่อวัน				15,347.05
เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 47 kg จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย ต่อน้ำหนักตัว ต่อวัน				0.32 mg/kg bw/day

ตารางที่ 3 ระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสาร atrazine เข้าสู่ร่างกายผู้พ่นในแปลงข้าวโพด

ผู้ปฏิบัติงาน	atrazine (mg/kg bw/day)	%Absorption	Absorbed dose (mg/kg bw/day)	NOAEL ¹⁾ (mg/kg/day)	MOE ²⁾	ระดับความ เสี่ยง
ผู้พ่นสาร	0.32	16	0.05	4.1	78.99	Risk

หมายเหตุ 1) NOAEL = No Observed Adverse Effect Level คือ ค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยาของ atrazine

2) MOE = Margin of Exposure คือ ค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ ค่ายิ่งต่ำยิ่งมีความเสี่ยงสูง

3. ปริมาณสารพิษตกค้าง atrazine ในดิน น้ำ และตะกอนดิน หลังพ่น

หลังจากพ่นสาร atrazine ได้สัมผัสกับตัวอย่างดินในแปลงปลูกข้าวโพด รวมทั้งน้ำ ตะกอนดินในบ่อและคลองส่งน้ำรอบแปลงทดลอง มาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง ผลการตรวจวิเคราะห์ดิน พบการตกค้างของสาร atrazine ในดินทุกตัวอย่าง ตั้งแต่หลังพ่น จนถึง 60 วัน ปริมาณ 0.03 ± 0.01 - 1.71 ± 0.93 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักดินแห้ง มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 1 วัน เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของเนื้อดินเป็นดินร่วน มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างต่ำ (1.12%) ดินมีค่า pH เท่ากับ 7.3 มีลักษณะเป็นกลาง ซึ่งปริมาณ atrazine ที่ตรวจพบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในดินเพื่อเกษตรกรรมของกรมควบคุมมลพิษ (2547) (ไม่เกิน 22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในดินแปลงสับปรดตั้งแต่วันพ่นจนถึง 60 วัน ปริมาณ 0.19 - < 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ประกิจ และคณะ, 2555) เช่นเดียวกับ

รายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างดินแปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบ atrazine ตกค้างในดินเฉลี่ย 133.59 - 183.23 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (อรอนงค์ และคณะ, 2554) ในต่างประเทศ Sun *et al.* (2017) ตรวจพบ atrazine ปริมาณน้อยกว่า 0.01 - 113 นาโนกรัมต่อกรัม ในดินแปลงปลูกข้าวโพดจากแหล่งเกษตรกรรมบริเวณสามเหลี่ยมปากแม่น้ำแยงซีในประเทศจีน

ในน้ำพบปริมาณค่อนข้างต่ำน้อยกว่า 0.02 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณ atrazine ที่ตรวจพบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในน้ำดื่มของ U.S.EPA (2018) (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) เนื่องจากบ่อและคลองส่งน้ำอยู่ห่างจากแปลงข้าวโพด รวมทั้งเกษตรกรมีการสูบน้ำจากคลองชลประทานเข้าสู่บ่อเป็นประจำ ทำให้น้ำเกิดการหมุนเวียนตลอดเวลา ค่า pH ของน้ำในบ่อและคลองส่งน้ำ มีค่าระหว่าง 7.2 - 7.8 ซึ่ง atrazine มีคุณสมบัติละลายน้ำได้น้อย 33 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 7 อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส และสามารถสลายตัวได้อย่างรวดเร็วด้วยแสงแดด เกิดปฏิกิริยา hydrolysis ที่ pH 7 (Halime *et al.*, 2020) และในตัวอย่างตะกอนดิน ตรวจไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง เนื่องจากปริมาณสารที่ตรวจพบในน้ำค่อนข้างต่ำ จึงทำให้ไม่เกิดการสะสมและดูดซับในตะกอนดิน นอกจากนี้ในประเทศไทยมีรายงานการวิจัยของ รัชมี และคณะ (2558) ตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำทั้งสามฤดูจากวิทยาลัยพยาบาลพัฒน จังหัดลพบุรี 10 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.14 - 0.82 ไมโครกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับ อรอนงค์ และคณะ (2554) ตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำทำบริเวณพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ลุ่มน้ำห้วยกะโปะ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์ ในช่วงฤดูน้ำหลาก (เดือนสิงหาคม ถึงพฤศจิกายน 2551) พบ atrazine ตกค้างในน้ำท่า 38 ตัวอย่าง (63%) มีค่าเฉลี่ย 4.70 ไมโครกรัมต่อลิตร และน้ำท่า 15 ตัวอย่าง (39%) มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนในน้ำ (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) นอกจากนี้ Tongchai *et al.* (2013) ตรวจพบ atrazine ในน้ำจากแหล่งเกษตรกรรมในจังหวัดน่านปริมาณ 0.16 ไมโครกรัมต่อลิตร และตะกอนดิน 0.23 ไมโครกรัมต่อกรัม นอกจากนี้ยังตรวจพบ atrazine ในน้ำใต้ดินบริเวณเกษตรกรรมพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง ปริมาณ 0.03 - 0.16 ไมโครกรัมต่อลิตร (เอกราช และคณะ, 2554) และพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ปริมาณ 0.02 - 0.21 ไมโครกรัมต่อลิตร (ประกิจ และคณะ, 2554) ในต่างประเทศ มีรายงานการวิจัยของ Noelia *et al.* (2022) ตรวจพบ atrazine ในน้ำบาดาล ปริมาณ 0.07 - 1.40 ไมโครกรัมต่อลิตร จากฟาร์มโคนม 18 แห่ง ในประเทศอาร์เจนตินา นอกจากนี้ในประเทศอิหร่านยังตรวจพบ atrazine ในน้ำ 0 - 2,175.8 ไมโครกรัมต่อลิตร ในลุ่มน้ำจากแหล่งปลูกอ้อยและข้าวโพด (Halime *et al.*, 2020)

นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4 ไปศึกษาผลกระทบจากการแพร่กระจาย (Environmental Fate and Transport) ของสาร atrazine โดยคำนวณหาอัตราการสลายตัวของ atrazine และหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้างกับระยะเวลาหลังพ่นสาร atrazine ในช่วงเวลาต่างๆ จะได้สมการการสลายตัวของสาร atrazine ในรูป Exponential ดังภาพ 1 ซึ่งมีสมการการสลายตัวเป็น $y = ae^{bx}$ จากสมการนำไปคำนวณระยะเวลาที่สารพิษสลายตัวจนลดลงมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life; $t_{1/2}$) ด้วยสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ จากภาพที่ 1 คำนวณหาครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของ atrazine ในดิน มีค่าเท่ากับ 10.4 วัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในดินแปลงสับปรดมีค่าครึ่งชีวิต (half-life, $t_{1/2}$) เท่ากับ 14 วัน (ประกิจ และคณะ, 2555)

ตารางที่ 4 ปริมาณสาร atrazine ตกค้างในดิน น้ำ และตะกอนดิน หลังพ่นในแปลงข้าวโพด

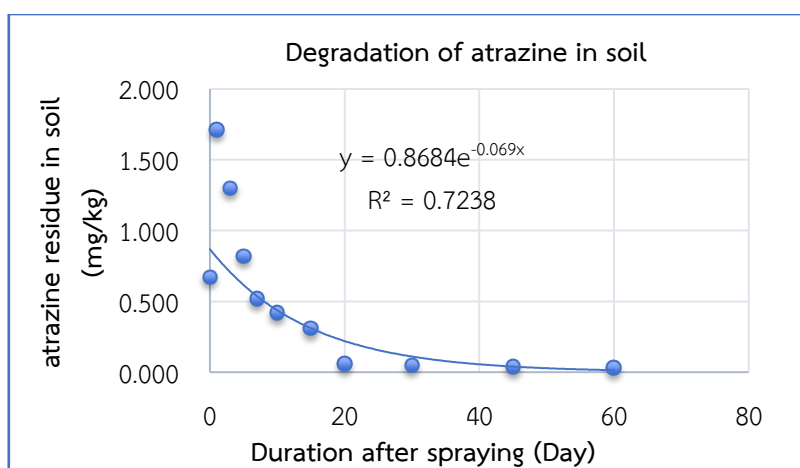
เวลาหลังการพ่น (วัน)	ปริมาณ atrazine เฉลี่ยใน ดิน (mg/kg) หลังการพ่น (N= 5)	ปริมาณ atrazine เฉลี่ยใน น้ำ (µg/L) หลังการพ่น (N= 4)	ปริมาณ atrazine เฉลี่ยใน ตะกอนดิน (mg/kg) หลังการพ่น (N= 4)
0	0.67 ± 0.04	<LOQ	ND
1	1.71 ± 0.93	<LOQ	ND
3	1.30 ± 0.55	ND	ND
5	0.82 ± 0.23	ND	ND
7	0.52 ± 0.12	ND	ND
10	0.42 ± 0.11	ND	ND
15	0.31 ± 0.03	ND	ND
20	0.06 ± 0.02	ND	ND
30	0.05 ± 0.02	ND	ND
45	0.04 ± 0.01	ND	ND
60	0.03 ± 0.01	ND	ND

หมายเหตุ : 1/ดิน และตะกอนดิน ; Limit of Detection; LOD = 0.009 mg/kg ; Limit of Quantification; LOQ = 0.01 mg/kg

2/ ดิน ±; standard of deviation of 5 replicates

3/ น้ำ; Limit of Detection; LOD = 0.009 µg/L; Limit of Quantification; LOQ = 0.02 µg/L

4/ ND คือ not detectable



ภาพที่ 1 แสดงปริมาณสารพิษตกค้าง atrazine ในดิน

4. ปริมาณสารพิษตกค้าง atrazine ในข้าวโพดระยะเก็บเกี่ยว

ระยะการเก็บเกี่ยวข้าวโพดเว้นช่วงห่างจากการพ่นครั้งสุดท้าย 63 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวโพดตลอดทั้งแปลง 10 ตัวอย่าง เพื่อนำไปสกัดหาสารพิษตกค้าง atrazine ในข้าวโพดด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD) ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในข้าวโพด

ทุกตัวอย่างที่ระดับ LOQ 0.05 และ LOD 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ atrazine ในข้าวโพดเมล็ดแห้ง เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) สอดคล้องกับงานวิจัยของ วิภา และคณะ (2555) ตรวจไม่พบสาร atrazine ในอ้อยและสับปะรด ในทุกตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยของ Zeying *et al.* (2015) ได้สุ่มตรวจตัวอย่างสารกำจัดวัชพืช 200 ชนิด ในตัวอย่างข้าวโพด 20 ตัวอย่าง พบปริมาณสารพิษตกค้าง dichlorvos 9.58 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม แต่ไม่พบสารกำจัดวัชพืชในทุกตัวอย่าง

5. การประเมินความเสี่ยงของสาร atrazine ในดินที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สาร atrazine ตกค้างในดิน มาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสทางผิวหนังกับดินที่ปนเปื้อน (Exposure and Risk Assessment) สาร atrazine ตกค้างที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็ง โดยคำนวณจากค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพด ในช่วงอายุ 6 – 12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 9.22×10^{-5} และผู้ใหญ่ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 2.96×10^{-5} ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณในตารางที่ 5 พบว่า ความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ < 1$) ดังนั้น การประเมินความเสี่ยงสาร atrazine ตกค้างในดินแปลงปลูกข้าวโพดต่อสุขภาพเกษตรกรในช่วงอายุ 6 – 12 ปี และ 70 ปี สรุปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และเมื่อนำไปประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) ด้วยค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) ในดินมีค่าเฉลี่ย 5.39×10^{-2} ถือว่า ไม่มีความเสี่ยง ($RQ \leq 0.1$)

ตารางที่ 5 ประเมินความเสี่ยงของสาร atrazine ในดินที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

Herbicides	Concentration		Hazard quotient		Risk quotient	Risk Levels
	(mg/kg)		(HQ)			
atrazine	Min	Max	Child	Adult	5.39×10^{-2}	1) acceptable risk 2) no hazard exists
	0.03	1.71	9.22×10^{-5}	2.96×10^{-5}		

หมายเหตุ : 1) $HQ > 1$ หมายถึง สาร atrazine ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk) , $HQ < 1$ หมายถึง สาร atrazine ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (acceptable risk)

2) $RQ \leq 0.1$ หมายถึง ไม่มีความเสี่ยง (no hazard exists), $RQ > 0.1 - 1.0$ หมายถึง มีความเสี่ยงต่ำ (hazard is low), $RQ > 1.1-10$ หมายถึง มีความเสี่ยงระดับปานกลาง (hazard is moderate) และ $RQ > 10$ หมายถึง มีความเสี่ยงสูง (hazard is high) (U.S. EPA., 2014)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืช atrazine 90% WG อัตรา 350 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ในแปลงข้าวโพด จังหวัดนครปฐม พ่นสารด้วยเครื่องพ่นแบบสะพายหลังแรงดันน้ำสูง ใช้เวลาพ่นนาน 24 นาที ภายหลังจากพ่น พบการปนเปื้อน atrazine บนร่างกายผู้พ่นสาร มีปริมาณปนเปื้อน 0.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวต่อวัน นำข้อมูลมาประมวลผลกับข้อมูลทางพิษวิทยาของสาร atrazine เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสจากค่าขอบเขตความปลอดภัย (Margin of exposure, MOE = 78.99) พบว่ามีความเสี่ยงจากการใช้สาร atrazine ($MOE < 100$) การตรวจวิเคราะห์ดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพดฝักสด พบสาร atrazine ในดินปริมาณ $0.03 \pm 0.01 - 1.71 \pm 0.93$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักดินแห้ง มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 1 วัน ในน้ำมีปริมาณค่อนข้างต่ำ < 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร ในตะกอนดินและข้าวโพดฝักสดไม่พบการตกค้าง

ในทุกตัวอย่าง ค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของ atrazine ในดินเท่ากับ 10.4 วัน เมื่อวิเคราะห์ประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพด้วยค่า Hazard quotient (HQ) ช่วงอายุ 6–12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 9.22×10^{-5} และช่วงอายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 2.96×10^{-5} ซึ่งน้อยกว่า 1 จึงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า Risk quotient (RQ) ในดินมีค่าเฉลี่ย 5.39×10^{-2} ถือว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ \leq 0.1$) สรุปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine มีความเสี่ยงต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ แต่ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพผู้บริโภคข้าวโพดฝักสด และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยควรนำข้อมูลที่ได้มาเผยแพร่ให้คำแนะนำแก่เกษตรกรสวมอุปกรณ์ป้องกันในการปฏิบัติงาน เพื่อลดความเสี่ยงอันตรายจากการใช้สารกำจัดวัชพืช นำไปสู่การแก้ไขปัญหาผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้ไปแนะนำเกษตรกรในการใช้สาร atrazine ในแหล่งปลูกข้าวโพดได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาสารพิษตกค้างที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภคข้าวโพด และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม
2. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการใช้ประกอบในการทำวิจัยด้านการประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืช
3. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำปี และการประชุมวิชาการในระดับชาติ รวมทั้งเผยแพร่ในวารสารวิชาการภายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษ. 2547.ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 25 (พ.ศ. 2547) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. *ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 121 ตอนพิเศษ 119 ง*, ลงวันที่ 20 ตุลาคม 2547.
- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554*. สำนักวิจัยการพัฒนารองการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 133 น.
- บุญฤทธิ์ สิ้นค้างาม, วรชมน มงคล และสุรศักดิ์ วัฒนพันธุ์สอน. 2559. การพัฒนาสายพันธุ์แท้ข้าวโพดข้าวเหนียวต้านทานต่อโรคใบไหม้ แผลใหญ่ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. ปีที่ 24 ฉบับที่ 5 (ฉบับพิเศษ).
- ประกิจ จันทร์ดี, ผกาสินี คล้ายมาลา และวรวิทย์ สุจิรธรรม. 2555. ศึกษาการสลายตัวและสะสมสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ในดิน น้ำ และตะกอนในแหล่งปลูกพืชสวนและพืชไร่: ชนิด atrazine ในไร่สับปะรด. *ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2555 เล่ม 1* สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.
- ประกิจ จันทร์ดี และปัทมา คุณเลิศ. 2554. การสะสมสารพิษตกค้างในแหล่งน้ำใต้ดินบริเวณเกษตรกรรม พื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. *ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2555 เล่ม 1* สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.

ภาวินี จันทรวิจิตร, สุรศักดิ์ ปิตความลับ และบุญฤทธิ์ สิ้นค่างาม. 2559. การพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียว
ลูกผสมเพื่อการบริโภคฝักสดในเขตภาคเหนือตอนบน. *วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร*. 33
ฉบับที่ 3 1-8.

รัศมี แสงศิริมงคลยิ่ง, มลิสสา เวชยานนท์, ปภัสรา คุณเลิศ และพรชนก ชโลปกรณ์. 2558. การศึกษาการ
ปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชสู่สิ่งแวดล้อมในวิทยาลัยชัยบาดาลพัฒนา. *วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร*
10 (2): 22 – 37.

วิภา ตั้งนิพนธ์, ผกาสินี คล้ายมาลา, ประกิจ จันทร์ดีป, ปภัสรา คุณเลิศ, สิริพร เหลืองสุขนกุล และปรีชา ฉัตรสันติ
ประภา. 2555. การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ชนิด Atrazine ในพืช
เศรษฐกิจ ต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และ สิ่งแวดล้อม. *เอกสารประกอบการประชุมวิชาการประจำปีงบประมาณ*
2555 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2565. “รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ. 2565”.
แหล่งข้อมูล http://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2019/04/HASTAT58_01.
สืบค้น: 4 กันยายน 2565.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. “ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด”
แหล่งข้อมูล [https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-
LIMITS.pdf](https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf) สืบค้น: 11 กุมภาพันธ์ 2565.

เอกราช สิทธิมงคล และ วรวิทย์ สุจิระธรรม. 2554. การสะสมสารพิษตกค้างในแหล่งน้ำใต้ดินบริเวณเกษตรกรรม
พื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง. *ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2555 เล่ม 1* สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัย
การผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.



อรอนงค์ ผิวนิล, ศุภมาศ พนิชศักดิ์ พัฒนา, นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์, บงกชรัตน์ ปิตยนต์ และ น้ำเย็น ศิริพัฒน์.
2554. การศึกษาการตกค้างและเคลื่อนย้ายสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนในดินพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
ตะกอนดิน และน้ำท่าบริเวณลุ่มน้ำห้วยกะโปะ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์. *การประชุมทาง
วิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49: สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม*, น. 1-11.


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

Babic, S., M. Petrovic and K. Kastelan-Macan. 1998. Ultrasonic solvent extraction of Pesticides
from soil. *Journal of Chromatography Analysis*. 823: 3-9.

Freeman, L. E. B., Rusiecki, J. A., Hoppin, J. A., Lubin, J. H., Koutros, S., Andreotti, G., et al. 2011.
Atrazine and cancer incidence among pesticide applicators in the agricultural health
study (1994–2007). *Environmental Health Perspectives*. 119(9): 1253–1259.

Halime A., Afshin T., Nematollah J., Ali A. B., Yaser T. B., Bahman C., Amal S. and Sah and J. 2020.
Spatial distribution, ecological and health risk assessment and source identification of
atrazine in Shadegan international wetland, Iran. *Marine Pollution Bulletin*. 160: 111569.

- 
- 
- IUPAC. 2019. "Global availability of information on agrochemicals. Pesticide Properties DataBase". Available at: <https://www.sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>. Accessed : March 25, 2019.)
- Noelia U.,R. Bachetti. F. Biolo. V. Morgante and C. Morganta. 2022. Atrazine pollution in groundwater and raw bovine milk: Water quality, bioaccumulation and human risk assessment. *Science of the Total Environment*. 852: 158498.
- Oliveira, R.S., Koskinen, W.C. and Ferreira, F.A. 2001. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Research*. 41, 97-100.
- Raj K. P. and Anil K. D. 2011. Atrazine and Human Health. *International Journal of Ecosystem*. 1(1): 14-23.
- Raziye H., M. Ziaee and V. Mahdavi. 2023. Pesticide residues in corn and soil of corn fields of Khuzestan, Iran, and potential health risk assessment. *Journal of Food composition and Analysis*. 15, 104972.
- SANTE/11813. 2017. Implemented by 01/01/2020. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. Available at: https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/AqcGuidance_SANTE_2019_12682.pdf. Accessed : February 3, 2021
- Sun J. T., L. L. Pan., Yu Zhan., Daniel C. W. Tsang, L. Z. Zhu and X. D. Li. 2017. Atrazine contamination in agricultural soils from the Yangtze River Delta of China and associated health risks. *Environ Geochem Health*. 39: 369–378.
- Tongchai T., J. Kitana, P. Varanusupakul and N. Kitana. 2013. Atrazine Contamination and Potential Health Effects on Freshwater Mussel *Unio andra contradens* Living in Agricultural Catchment at Nan Province, Thailand. *Environment Asia*. 6(1): 13-18.
- Turner, C. Ed. 2018. *The Pesticide Manual*. British Crop Protection Council. 18th Ed. U.S. EPA. 2003. Example Exposure Scenarios. EPA/600/R-03/036. National Center for Environmental Assessment, Washington, DC. 124 pp.
- U.S. EPA. 1994. *Organophosphorus compound by Gas Chromatography capillary column technique*. In-house method. 2005. EPA method 8141A, Revision 1.
- U.S. EPA. 2005. Characterizing Risk and Hazard. Human Health Risk Assessment Protocol, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C.
- U.S. EPA. 2008. *Child-Specific Exposure Factors Handbook*. EPA/600/R-06/096F. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 687 pp.
- U.S. EPA. 2009. *Occupational and Residential Exposure Test Guidelines: OPPTS 875.2400 Dermal Exposure*. Available at: <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQOPPT-2009-0157-0012> Accessed : March 30, 2022.
- U.S. EPA. 2014. *Technical Overview of Ecological Risk Assessment Risk Characterization*. Washington, D.C.



U.S. EPA. 2018. "National Primary Drinking Water Regulations. United States Environmental Protection Agency." Available at: <http://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> Accessed : February 10, 2022.

Zeying He, Lu Wang, Yi Peng, Ming Luo, Wenwen Wang and Xiaowei Liu. 2015. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography–tandem mass spectrometry-based method. *Food Chemistry*. 169: 372 - 380.

Zhang, J. J., Lu, Y. C., Zhang, J. J., Tan, L. R., & Yang, H. 2014. Accumulation and toxicological response of atrazine in rice crops. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 102: 105–112.

การสำรวจสารพิษตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมจากแหล่งปลูกพืชผักในจังหวัดราชบุรี
Survey of Pesticide residues in vegetation and the Environment from
vegetables crops at Ratchaburi Province

ปภัศรา คุณเลิศ
Paphatsara Khunlert

ประกิจ จันทร์ดี
Prakit Chuntib

พกาสินี คล้ายมาลา
Pakasinee Klaimala

กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The main objective of this study was to survey of pesticide residues in vegetables crops, consumption and evaluate the affected in environment. In Amphor Chom Bueng Ratchaburi Province. The farmers were interviewed, the samples of soil, water, sediment and vegetables were collected in dry and wet seasons. All samples were analyzed using Chromatography. The results showed that the levels of pesticide residues were found in 34 samples (44%) including soil (0.02-0.18 mg/kg) pesticide residues of 6 pesticide were found. They were atrazine, ametryn, acetochlor, profenofos, cypermethrin and permethrin. In water (0.02-1.02 µg/L) pesticide residues of 4 pesticide were found. They were atrazine, ametryn, acetochlor and permethrin. In vegetables (0.02-0.07 mg/kg) pesticide residues of 3 pesticide were found. They were profenofos, carbaryl and cypermethrin. The health risk assessment was calculated using Hazard quotient (HQ) were less than 1 in soil, water and vegetables. It is in acceptable level (HQ<1.0). Environmental risk assessment was also calculated using Risk quotient (RQ) were less than 0.1 in soil and water which the acceptable level (RQ≤0.1). However, farmer should consider the residues of these insecticides used in cultivation.

Key words: Ratchaburi Province, Hazard quotient (HQ), Pesticide residues, Risk quotient (RQ)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในแหล่งปลูกพืชผักต่อความเสี่ยงที่มีต่อสุขภาพเกษตรกร และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในพื้นที่อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และผัก ในฤดูแล้งและฤดูฝน รวมทั้งหมด 78 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชจำนวน 65 ชนิด ด้วยเทคนิค Chromatography ผลการตรวจวิเคราะห์พบสารพิษตกค้าง 34 ตัวอย่าง (44%) ในดินพบสารกำจัดศัตรูพืช 6 ชนิด ได้แก่ atrazine, ametryn, acetochlor, profenofos, cypermethrin และ permethrin ปริมาณ 0.02-0.18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในน้ำพบสาร 4 ชนิด ได้แก่ atrazine, ametryn, acetochlor และ permethrin ปริมาณ 0.02-1.02 ไมโครกรัมต่อลิตร ในผักพบสาร 3 ชนิด ได้แก่ profenofos, carbaryl และ cypermethrin ปริมาณ 0.02-0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่พบการตกค้างในตะกอนดินทุกตัวอย่าง เมื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพด้วยค่า Hazard quotient (HQ) ในดิน และผัก มีค่าน้อยกว่า 1 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ<1.0) ส่วนน้ำมีค่ามากกว่า 1 ถือว่ามีความเสี่ยง (HQ>1.0) และประเมินผลกระทบต่อ

ต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า Risk quotient (RQ) ในดิน และน้ำ มีค่าน้อยกว่า 0.1 พบว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ \leq 0.1$) อย่างไรก็ตามเกษตรกรควรคำนึงถึงการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการเพาะปลูก

คำสำคัญ: จังหวัดราชบุรี, ความเสี่ยงจากสารกำจัดศัตรูพืช, ค่าดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม, สารพิษตกค้าง

คำนำ

ปัจจุบันสารกำจัดศัตรูพืชมีบทบาทสำคัญในภาคเกษตรกรรมจำพวกพืชผัก เนื่องจากประชาชนยังนิยมบริโภคผักที่มีลักษณะสวยงาม จึงเป็นสาเหตุทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารกำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น เพื่อควบคุมโรคและแมลงในผลผลิต (ปัทมา และคณะ, 2563) ผักสดเป็นผลิตผลทางการเกษตรที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เนื่องจากผักอุดมด้วยแร่ธาตุและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (วิจิตร และคณะ, 2563) จังหวัดราชบุรี มีพื้นที่ 3,247,789 ไร่ ตั้งอยู่ในภาคตะวันตกของประเทศไทย มีประชากรจำนวน 869,313 คน สภาพภูมิประเทศเป็นที่ราบสูงทางฝั่งตะวันตก ลาดมาสู่ที่ราบตอนกลาง และที่ราบลุ่ม พื้นที่ราบตอนกลาง เป็นพื้นที่เหมาะสำหรับปลูกพืชผัก ผลไม้ จึงเป็นภาคการผลิตที่สำคัญในการขับเคลื่อนสภาพเศรษฐกิจของจังหวัด ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรม ในอำเภอจอมบึงมีพื้นที่ปลูกผักจำนวน 11,998 ไร่ (สภาเกษตรแห่งชาติ, 2565) ในปี 2564 มีปริมาณการนำเข้าวัตถุดิบทางการเกษตร ปริมาณ 136,101,302.39 กิโลกรัม มูลค่า 25,263,511,942.33 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2565) ปัจจุบันผู้บริโภคมีความตระหนักในการรักษาสุขภาพมากขึ้น การตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในผลผลิตทางการเกษตร ได้กลายเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้ ผู้บริโภค (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2565; ภาณุพันธ์ และสยาม, 2558) จากรายงานวิจัยของ Jitpaka *et al.* (2015) ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างบล็อคโคลี่ ตำลึง ถั่วฝักยาว และผักโขม จำนวน 934 ตัวอย่าง จากตลาดค้าส่ง พบสารตกค้าง (22.3%) ปริมาณ $< 0.01 - 5.9$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ยังมีรายงานการตรวจพบสาร lambda-cyhalothrin, cypermethrin, fenvalerate และ deltamethrin มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.135, 0.418, 0.687 และ 0.104 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในกะหล่ำปลีที่ยังไม่ได้ล้างน้ำ (วนิดา, 2555) นอกจากสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชผักแล้ว ยังสามารถตกค้างในดิน น้ำ ตะกอนดิน ในพื้นที่บริเวณใกล้เคียงที่เกษตรกรพ่นสารกำจัดศัตรูพืช จากรายงานวิจัยของ รัตมี และคณะ (2558) ตรวจพบสารกำจัดศัตรูพืชภายในวิทยาลัยพยาบาลพิพัฒน์ จังหวัดลพบุรี พบสารกำจัดวัชพืชในตัวอย่างน้ำ 2 ชนิด คือ ametryn ตรวจพบในฤดูฝน จำนวน 3 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.03 ไมโครกรัมต่อลิตร และ atrazine ตรวจพบทั้งสามฤดู ในตัวอย่างน้ำ 10 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.14 - 0.82 ไมโครกรัมต่อลิตร

อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อมบริเวณโดยรอบแหล่งเพาะปลูก เนื่องจากขณะพ่นสารกำจัดศัตรูพืช ละอองสารเกิดการฟุ้งกระจายไปในอากาศ ตกค้างในผลผลิต สะสมในดิน ชะละลายลงสู่แหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง เกิดการเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อมสะสมในสิ่งมีชีวิต และปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร ส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค เพื่อให้สอดคล้องกับนโยบาย Thailand 4.0 ยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปี แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 12 และก้าวเข้าสู่เป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืนขององค์การสหประชาชาติ (Sustainable Development Goals) เพื่อยกระดับมาตรฐานสินค้าเกษตร ให้สามารถตรวจสอบข้อมูลได้ตลอดกระบวนการผลิต เป็นการสร้างความเชื่อมั่นด้านความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2565) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในแหล่งปลูกพืชผัก ในดิน น้ำ ตะกอนดิน และผลผลิต เพื่อประเมินความเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในพื้นที่อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ แครงสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอน ขวดพลาสติกชนิด PTFE ใส่ตัวอย่างน้ำ เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และถุงพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ และ เครื่องมือที่มีระบบระบุตำแหน่งบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)
2. เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, cylinder, beaker, erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, vial, separatory funnel และ glass funnel
3. สารเคมี ได้แก่ acetonitrile (CH_3CN), hexane (C_6H_{14}), acetone ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), ethyl acetate ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), anhydrous magnesium sulfate (Mg_2SO_4), sodium chloride (NaCl), sodium hydroxide (NaOH), trisodium citrate dehydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), disodium hydrogencitrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), primary secondary amines (PSA), carbon SPE bluk sorbent (GCB) และ น้ำกลั่น (distilled water)
4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งที่สอบเทียบแล้ว ตู้เย็นแช่แข็ง (deep freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 องศาเซลเซียส เครื่องบดตัวอย่าง (food processor) เตาเผา (muffle furnace) และตู้อบ (hot air oven) เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เครื่องลดปริมาตร (rotary evaporator) เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator) เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างน้ำ (separatory funnel shaker) เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างดิน (shaker homogenizer)

วิธีการ

1. การสำรวจและกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง

เลือกตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจงในหมู่บ้านที่มีอาชีพปลูกผักเชิงพาณิชย์ คือ หมู่ที่ 12 ต.ด่านทับตะโก อ.จอมบึง จ.ราชบุรี เป็นหมู่บ้านที่ปลูกผักเป็นอาชีพมากกว่า 20 ปี เกษตรกรมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง ทำการสำรวจแปลงปลูกผัก และสัมภาษณ์เกษตรกร ได้ข้อมูลเกษตรกรที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชจำนวน 11 ราย ทำการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในช่วงฤดูแล้ง (มกราคม 2565) และฤดูฝน (มิถุนายน 2565) สุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และผัก (ตารางภาคผนวกที่ 1 และ 2) เพื่อนำไปวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง และวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของดิน และน้ำ (ตารางภาคผนวกที่ 3 และ 4)

2. วิธีการเก็บตัวอย่าง

2.1 ตัวอย่างดินจากแปลงตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร, 2548) ทำการสุ่มเก็บให้ทั่วแปลง (random sampling) แปลงละ 10 จุด ใช้ช้อนตักดินลงไปเป็นหลุมรูปตัววี (V) ลึกประมาณ 6-7 นิ้วจากผิวดิน ทั้งดินส่วนแรกแล้วใช้เสียมขุดดินข้างหลุม ข้างใดข้างหนึ่งหนาประมาณ 1-2 นิ้ว รวมดินทั้งหมดจากทุกจุดเข้าเป็นตัวอย่างเดียวกัน แล้วเก็บในถุงพลาสติกบรรจุให้ได้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง หรือถ้าตัวอย่างมีความชื้นสูง นำไปผึ่งในสถานที่อุณหภูมิห้อง ให้มีความชื้นประมาณ 10 - 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วทุบให้ละเอียด หรือผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนนำไปทดสอบ และหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของตัวอย่างดิน

2.2 ตัวอย่างน้ำ ใช้แครงสุ่มตักตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อหรือจุดรวบรวมน้ำสำหรับใช้ในแปลงผัก ให้เต็มขวดพลาสติก ขนาด 1 ลิตร จำนวน 3 ขวด ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยัง

ไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น ถ้าไม่มีลักษณะใสสะอาด สามารถนำไปสกัดได้ทันที แต่ถ้ามีความขุ่นหรือสกปรกให้กรองผ่านกระดาษกรองเพื่อแยกสิ่งปนเปื้อนออกก่อนการตรวจวิเคราะห์ รวมทั้งตรวจวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพน้ำจากค่าพารามิเตอร์ในน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH) การนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity; EC, $\mu\text{S}/\text{cm}$) และค่าของแข็งทั้งหมด (Total Dissolve Solid: TDS, mg/L)

2.3 ตัวอย่างตะกอนดิน ใช้เครื่องสุ่มตักตัวอย่างตะกอนจากท้องน้ำบริเวณเดียวกับจุดเก็บน้ำให้ได้ประมาณ 0.5-1 กิโลกรัม นำใส่ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท หุ้มด้วยกระดาษหรือวัสดุกันกระแทกใส่ลงในถุงพลาสติกขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น

2.4 ตัวอย่างผัก สุ่มเก็บตัวอย่างผักระยะเก็บเกี่ยวประมาณ 2 กิโลกรัม นำใส่ในถุงพลาสติก ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง เมื่อจะทำการเตรียมตัวอย่างให้นำออกจากตู้เย็นหรือตู้แช่แข็งตั้งไว้ให้ได้อุณหภูมิห้อง จากนั้นเตรียมตัวอย่างโดยหั่นตัวอย่างผักเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นย่อย (food processor) ก่อนนำไปทดสอบ

3. วิธีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบหาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างน้ำ ตะกอนดิน ดิน และผัก จำนวน 65 ชนิด แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของสารกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจวิเคราะห์

สารกำจัดศัตรูพืช	ชนิดของสารที่ตรวจวิเคราะห์	เครื่องมือตรวจวิเคราะห์
กลุ่ม Organochlorine 16 ชนิด*	aldrin, alpha-BHC, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, 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	Gas Chromatograph ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น HP6890 หัวตรวจวัดชนิด Electron Capture Detector (ECD)
กลุ่ม Pyrethroid 7 ชนิด*	bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, lambda-cyhalothrin, deltamethrin, fenvalerate, permethrin	
กลุ่ม Triazole 4 ชนิด*	difenoconazole, tetraconazole, hexaconazole, propiconazole	
กลุ่ม Chloroacetamide 3 ชนิด*	alachlor, acetochlor, s-metolachlor	
สารกำจัดวัชพืช 3 ชนิด*	oxyfluorfen, oxadiazon, pendimethalin	
กลุ่ม Organophosphorus 22 ชนิด*	azinphos ethyl, chlorpyrifos methyl, chlorpyrifos ethyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, monocrotophos, parathion methyl, pirimiphos methyl, profenophos, triazophos, methamidophos, omethoate, phosalone	Gas Chromatograph ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น HP6890 หัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD)
กลุ่ม Carbamate 6 ชนิด*	carbaryl, carbofuran, isoprocarb, promecarb, metocarb, methomyl	Gas Chromatograph ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 7890

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สารกำจัดศัตรูพืช	ชนิดของสารที่ตรวจวิเคราะห์	เครื่องมือตรวจวิเคราะห์
กลุ่ม Acylalanines 1 ชนิด*	metalaxyl	หัวตรวจวัดชนิด Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)
กลุ่ม Triazine 3 ชนิด *	ametryn, metribuzine, atrazine	

หมายเหตุ: *ยืนยันผลการตรวจวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometry ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 5973

3.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ

(1) กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon (In house method TM-T04-I01 (2560) based on AOAC 990.06 (2016a) ตวงน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel เติม hexane (AR grade) 100 มิลลิลิตร ใส่ลงใน separatory funnel นำไปเขย่าโดยใช้เครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น นำชั้นของ hexane กรองผ่าน anhydrous sodium sulfate ลงใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร สกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วย hexane (AR grade) 50 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนสารเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR grade) ใส่ vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง กลุ่ม Organochlorines, กลุ่ม Pyrethroids, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon ด้วยเครื่อง GC-ECD

(2) กลุ่ม Organophosphorus, กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine, กลุ่ม Acylalanines และ กลุ่ม Phenylamide akylalanine (In house method TM-T04-I03 based on EPA method 8141 A, Revision 1 (1994) ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR grade) 100 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไซเก็บชั้น ethyl acetate กรองผ่าน anhydrous sodium sulfate สกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วย ethyl acetate ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตร ด้วย ethyl acetate (PR grade) ใส่ vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD

3.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างดินและตะกอนดิน

(1) กลุ่ม Organophosphorus, กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine, กลุ่ม Phenylamide akylalanine, กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Acylalanines, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon (In house method TM-T04-I02 based on AOAC Official method 970.52 (2016b) ชั่งตัวอย่างดิน (ตะกอนดิน) ปริมาณ 20.0 กรัม สกัดด้วย ethyl acetate (AR grade) โดยใช้เครื่องเขย่า reciprocal shaker กรองสารสกัดผ่าน anhydrous sodium sulfate นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 2 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR grade) ดูดสารสกัด 1 มิลลิลิตร ใส่ vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และหาสารพิษกลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD สารสกัดที่เหลือ 1 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วย เครื่อง nitrogen evaporator ปรับปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) แบ่งสารสกัด 1 มิลลิลิตร ใส่ vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon ด้วยเครื่อง GC-ECD

3.3 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างผัก

ประยุกต์ใช้วิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง จำนวน 65 ชนิด ซั่งตัวอย่างผัก 10 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วย เครื่อง vortex mixer 1 นาที เติม MgSO₄ 4 กรัม NaCl 1 กรัม Na₃Citrate dehydrate 1 กรัม และ Na₂HCitrate sesquihydrate 0.5 กรัม เขย่า นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 6 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุ PSA 125 มิลลิกรัม MgSO₄ 750 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม เขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนบน 3 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง นำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) 3 มิลลิลิตร ดูดสารละลาย 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD หาสารพิษตกค้างกลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD สารสกัดที่เหลือ 1.5 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) 1.5 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon ด้วยเครื่อง GC-ECD

4. การประเมินความเสี่ยง

4.1 การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ (Exposure and Risk Assessment) โดยใช้ดัชนีบ่งชี้ ความอันตราย (HQ) ซึ่งค่า HQ คำนวณจากค่า ADI (ปริมาณค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสารกำจัดศัตรูพืชต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือ ปริมาณสารพิษที่น้อยสุดที่ร่างกายรับได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษ ต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ ดังนี้

$$ADI = (C*CF*IR*EF*ED)/(BW*AT) \dots\dots\dots(สมการ 1)$$

เมื่อ: ADI คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน ผัก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)

- C คือ ความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน ผัก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)
- CF คือ unit conversion factor = 10⁻⁶ กิโลกรัมต่อมิลลิกรัมในดิน
- IR คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างในดิน 200 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับเด็ก, 100 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ ในน้ำ 0.745 ลิตรต่อวัน สำหรับเด็ก, 0.943 ลิตรต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ (U.S. EPA., 2008)
- EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วันต่อปี)
- ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่
- BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม); สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี (33.38 กิโลกรัม), ผู้ใหญ่ (68 กิโลกรัม)
- AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย (365 วัน) (EF*ED)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจาก ค่า ADI และค่า RfD ดังสมการต่อไปนี้

$$HQ = ADI/RfD \dots\dots\dots(สมการ 2)$$

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดศัตรูพืช (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) ใช้ค่า RfD ตามข้อมูล Pesticide Properties Database (PPDB) (IUPAC, 2019)

เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ HQ >1 หมายถึง สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk)

HQ <1 หมายถึง สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (Acceptable risk)

4.2 การประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) โดยใช้ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดได้ในสิ่งแวดล้อม และ PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

$$RQ = MEC/PNEC \quad \dots\dots\dots(\text{สมการ 3})$$

เกณฑ์การตัดสิน กำหนดให้ RQ ≤ 0.1 หมายถึง ไม่มีความเสี่ยง (no hazard exists; acceptable risk)

RQ >0.1 – 1.0 หมายถึง มีความเสี่ยงต่ำ (hazard is low)

RQ >1.1 - 10 หมายถึง มีความเสี่ยงระดับปานกลาง (hazard is moderate)

RQ >10 หมายถึง มีความเสี่ยงสูง (hazard is high) (U.S. EPA., 2014)

การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลภาคสนาม ได้แก่ ข้อมูลสัมภาษณ์เกษตรกร จุดเก็บตัวอย่าง และคุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของน้ำและดิน
2. ผลการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างน้ำหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L), ตัวอย่างดินตะกอนดิน และผัก หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) ข้อมูลประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืชในแปลงปลูกผัก

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ทำการทดลอง 1) แปลงผักใน อ.จอมบึง จ.ราชบุรี
2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การจัดการศัตรูพืชในแปลงผักของเกษตรกร

จากการสัมภาษณ์เกษตรกรจำนวน 11 ราย พบว่าในขั้นตอนการเตรียมแปลงก่อนปลูกผัก จะใช้สารกำจัดวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่ acetochlor, oxadiazon และ quizalofop-P-ethyl เพื่อกำจัดหญ้าหนวดข้าว หญ้าแดง และหญ้าตีนกา หลังปลูกผัก เมื่อพบการระบาดของหนอนเจาะฝักลายจุด (bean pod borer) หนอนกะทู้ผัก (common cutworm) ดวงหมัดผัก (flea beetle) เพลี้ยไฟ (thrips) และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย (cotton leafhopper) เกษตรกรจะพ่นสารตามการระบาดของแมลง สารกำจัดแมลงที่ใช้ได้แก่ emamectin benzoate, carbaryl, cypermethrin, dichlorvos, imidacloprid, profenofos และเมื่อพบการระบาดของโรคราน้ำค้าง และโรคใบจุด เกษตรกรจะใช้สาร mancozeb และ metalaxyl พ่นภายในแปลง อัตราการพ่นเกษตรกรจะพ่นตามคำแนะนำในฉลาก นอกจากนี้เกษตรกรยังมีการใช้สารชีวภัณฑ์ในการกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส วาร์โรไต เคอร์สตากิ (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*), บาซิลลัส ทูริงเยนซิส ซับสปีชีส์ ไอซาไว (*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) และสะเดา ซึ่งความถี่ในการพ่นแต่ละรอบฤดูการปลูก ขึ้นอยู่กับการระบาดของศัตรูพืช อย่างไรก็ตามชนิดสารกำจัดศัตรูพืชที่เกษตรกรใช้ในแปลงปลูกผัก เป็นข้อมูลการสัมภาษณ์ และสังเกตภายในแปลง ซึ่งอาจมีบางส่วนที่เกษตรกรไม่ได้ให้ข้อมูล แต่ตรวจพบเมื่อนำไปวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างในห้องปฏิบัติการ

2. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างดิน

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างดินครั้งที่ 1 ช่วงเดือนมกราคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 11 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 11 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 22 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ในฤดูแล้ง พบสารพิษตกค้างจำนวน 8 ตัวอย่าง (73%) ได้แก่ profenofos จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม atrazine จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 - 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ ametryn จำนวน 8 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 - 0.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม cypermethrin จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 - 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ acetochlor ปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในฤดูฝน ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างจำนวน 4 ตัวอย่าง (36%) ได้แก่ atrazine จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 - 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม permethrin จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ acetochlor จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.15 - 0.18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างดินทั้งหมด 22 ตัวอย่าง พบปริมาณสารพิษตกค้าง 12 ตัวอย่าง (54%) ในฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน (ตารางที่ 2 และ 3) ลักษณะของดินในแปลงส่วนใหญ่เป็นดินร่วนทราย ซึ่งชนิดสารที่ตรวจพบปริมาณสูงที่สุดคือ ametryn ปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจากแปลงปลูกผักชี และ atrazine จากแปลงปลูกกะหล่ำปลี ปริมาณ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในดินเพื่อเกษตรกรของ กรมควบคุมมลพิษ (2547) (ไม่เกิน 22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังภาพที่ 1 สอดคล้องกับปริมาณน้ำที่ตรวจพบในแปลงผัก ซึ่งสาร ametryn และ atrazine ที่ตรวจพบเป็นสารที่กรมวิชาการเกษตรไม่แนะนำให้ใช้ในแปลงปลูกผัก (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) ทั้งนี้เนื่องจากภายในแปลงผักไม่ได้มีการใช้สาร ametryn และ atrazine ปริมาณสารที่ตรวจพบน่าจะเกิดจากการเคลื่อนย้ายของสาร ametryn และ atrazine ในแปลงปลูกอ้อย ที่เกษตรกรเตรียมแปลงหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิต สอดคล้องกับงานวิจัยของ Oliveira *et al.* (2001) พบว่าสาร atrazine จะถูกดูดซับในดินเหนียวมากกว่าดินร่วนเหนียวปนทราย และดินร่วนปนทราย และสามารถเคลื่อนย้ายได้ดีในดินร่วนปนทราย เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างดินปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในช่วงฤดูน้ำหลากพบ atrazine ตกค้างในดิน เฉลี่ย 133.59 - 183.23 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (อรอนงค์ และคณะ, 2554) นอกจากนี้ยังตรวจพบสาร acetochlor ปริมาณ 0.18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงปลูกแขนงกะหล่ำ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกร เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบสาร acetochlor ปริมาณ 0.01 , cypermethrin ปริมาณ 0.03 - 0.12 และสาร profenofos ปริมาณ 0.01 - 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น (จารุพงศ์ และคณะ, 2562) นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน ประกอบด้วยความถี่ในการพ่นเกิดการสะสมของสารพิษ ลักษณะของเนื้อดินในแปลงส่วนใหญ่เป็นดินร่วนทราย มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ (0.096 - 0.456%) ค่อนข้างต่ำ ค่า pH ของดินอยู่ในช่วง 5.1 - 8.1 แสดงดังตารางภาคผนวกที่ 3 เมื่อพิจารณาค่าอัตราการสลายตัวครึ่งหนึ่งในดิน (DT_{50}) พบว่ามีค่า DT_{50} ค่อนข้างสั้นกว่าอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิต โดย acetochlor มีค่า DT_{50} 12.1 วัน, cypermethrin DT_{50} 21.1 วัน, permethrin DT_{50} 26 วัน และ profenofos DT_{50} 7 วัน นอกจากนี้สารกำจัดวัชพืช atrazine และ ametryn ที่ตรวจพบ มีค่า DT_{50} 60 วัน นานกว่าอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิต ดังนั้นกลุ่มวิจัยวัชพืช (2554) จึงไม่แนะนำให้ใช้ในแปลงปลูกผัก

3. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำ และตะกอนดิน

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำครั้งที่ 1 ช่วงเดือนมกราคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 10 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 10 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 20 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ในฤดูแล้ง พบสารพิษตกค้าง จำนวน 3 ตัวอย่าง (30%) คือสาร atrazine ปริมาณ 0.02 - 0.86 ไมโครกรัมต่อลิตร และในฤดูฝน ตรวจพบสารพิษตกค้างจำนวน 4 ตัวอย่าง (40%) ได้แก่สาร atrazine จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.23 - 0.67,

ametryn ปริมาณ 0.65, permethrin ปริมาณ 0.12 ไมโครกรัมต่อลิตร และ acetochlor จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.61 - 1.02 ไมโครกรัมต่อลิตร สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างไม่ทั้งหมด 20 ตัวอย่าง พบปริมาณ สารพิษตกค้างจำนวน 7 ตัวอย่าง (35%) ในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง (ตาราง 2 และ 3) ซึ่งเป็นตัวอย่างน้ำจากแหล่ง น้ำธรรมชาติที่เกษตรกรใช้ในแปลงปลูกผัก เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารที่ตรวจพบในตัวอย่างไม่ พบสารกำจัด วัชพืช acetochlor ตกค้างในปริมาณสูง สอดคล้องกับข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกร รองลงมาคือสาร atrazine, ametryn และ permethrin ดังภาพที่ 2 ซึ่งสาร atrazine และ ametryn ที่ตรวจพบทั้งสองฤดู เป็นสารที่ กรมวิชาการเกษตรไม่แนะนำให้ใช้ในแปลงปลูกผัก (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) ทั้งนี้เนื่องจากภายในแปลงผักไม่ได้มี การใช้สาร atrazine และ ametryn ปริมาณสารที่ตรวจพบน่าจะเกิดจากการเคลื่อนย้ายของสาร atrazine และ ametryn ในแปลงปลูกอ้อย บริเวณพื้นที่รอบแปลงผักที่มีการใช้สารดังกล่าว ทั้งนี้แปลงผักซี และกะหล่ำปลี เป็นพื้นที่ลาดต่ำ จึงเป็นพื้นที่รับน้ำโดยเฉพาะในฤดูฝน ตรวจพบสาร atrazine ปริมาณ 0.65 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งต่ำกว่าในฤดูแล้งที่พบปริมาณ 0.86 ไมโครกรัมต่อลิตร ในบ่อปิดที่น้ำไม่สามารถไหลไปที่อื่นได้ จึงสะสมอยู่นาน กว่าแหล่งน้ำธรรมชาติ ที่มีการไหลเวียนตลอดเวลา ปริมาณสาร atrazine ที่ตรวจพบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในน้ำดื่มตามค่า maximum contamination level (MCL) ของ U.S.EPA (2018) (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำ จากวิทยาลัย ชัยบาดาลพิพัฒน์ จ. ลพบุรี ปริมาณ 0.14 - 0.82 ไมโครกรัมต่อลิตร (รัศมีและคณะ, 2558) เช่นเดียวกับ อรอนงค์ และคณะ (2554) ตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำท่า 38 ตัวอย่าง (63%) มีค่าเฉลี่ย 4.70 ไมโครกรัมต่อลิตร บริเวณพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในช่วงฤดูน้ำหลาก และตะกอนดิน ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารกำจัด ศัตรูพืชตกค้างในทุกตัวอย่าง

4. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างพืช

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างพืชระยะเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 ช่วงเดือนมกราคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 15 ตัวอย่าง และ ครั้งที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 15 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง (ตาราง 2 และ 3; ภาพ 3) ประกอบด้วย แตงกวา (1), แขนงกะหล่ำ(9), ผักซี (4), ถั่วฝักยาว (1), มะเขือเปราะ (2), ผักกาดขาวปลี (2), กะหล่ำปลี (5), บวบ (1) หัวไชเท้า (1) กวางตุ้งดอก (1) และกวางตุ้ง (2) ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างจำนวน 15 ตัวอย่าง (50%) ได้แก่ 1) แขนงกะหล่ำ ตรวจพบจำนวน 7 ตัวอย่าง ประกอบด้วยสาร profenofos จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม cypermethrin จำนวน 5 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02 - 0.06 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม carbaryl จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.03 - 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 2) ถั่วฝักยาว ตรวจพบ สาร cypermethrin จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบ สารตกค้างในถั่วฝักยาวจำนวน 248 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง (33.9%) ปริมาณที่ตรวจพบ <0.01 - 5.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Jitpaka *et al.*, 2015) นอกจากนี้ Supawat and Veerapas (2020) ตรวจพบ dichlorvos และ bromophos-methyl ปริมาณ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในถั่วฝักยาวจากตลาดสดในจังหวัดลำปาง 3) กะหล่ำปลี ตรวจพบสาร cypermethrin จำนวน 4 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.04 - 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ carbaryl จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สอดคล้องกับรายงานการตรวจพบสารพิษตกค้าง ในพืชตระกูลกะหล่ำ ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ ผักกาดเขียวปลี จำนวน 85 ตัวอย่าง พบสารพิษ ตกค้าง 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10.6 ปริมาณที่พบ 0.01 - 0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (บุญทวีศักดิ์ และคณะ, 2564) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Supawat and Veerapas (2020) ตรวจพบสาร azinphos ethyl ปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในกะหล่ำปลีจากตลาดสดในจังหวัดลำปาง 4) ผักกาดขาวปลี ตรวจพบสาร profenofos 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ cypermethrin 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 5) กวางตุ้ง ตรวจพบ

สาร cypermethrin 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการวิเคราะห์ผักที่มีปริมาณสารพิษตกค้างมากที่สุดคือ แขนงกะหล่ำ พบสารตกค้าง 3 ชนิด (profenofos, cypermethrin และ carbary) รองลงมาคือ กะหล่ำปลี (cypermethrin และ carbary) ผักกาดขาวปลี (profenofos และ cypermethrin) พบสารตกค้าง 2 ชนิด และพบสารตกค้าง 1 ชนิด ในผักกวางตุ้งและถั่วฝักยาว (cypermethrin) ดังภาพที่ 3 ปริมาณสารที่ตรวจพบน้อยกว่าค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) แสดงดังตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และผักในพื้นที่ปลูกพืชผัก ในจังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 1 เดือนมกราคม 2565 (ฤดูแล้ง)

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง		กลุ่มสารพิษ	ชนิดสารที่พบ	ปริมาณ	ค่ามาตรฐาน
	ทั้งหมด	ตรวจพบ				
ดิน	11	8 (73%)	Organophosphorus (1)	profenofos	0.04 mg/kg	-
			Triazines (8)	atrazine (2)	0.02 - 0.03 mg/kg	22 mg/kg ¹⁾
				ametryn (8)	0.02 - 0.25 mg/kg	-
			Pyrethroids (3)	cypermethrin	0.02 - 0.06 mg/kg	-
			Herbicide (1)	acetochlor	0.02 mg/kg	-
น้ำ	10	3 (30%)	Triazines (3)	atrazine	0.02 - 0.86 µg/L	3 ug/L ²⁾
ตะกอนดิน	3	0 (0%)	ND	ND	ND	
ผัก	15	10 (67%)				
กวางตุ้งดอก	1	0	ND	ND	ND	-
แขนงกะหล่ำ	4	4	Organophosphorus (1)	profenofos	0.06 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
			Pyrethroids (3)	cypermethrin	0.02 - 0.06 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
			Carbamate (2)	carbaryl	0.05 - 0.06 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
ผักชี	2	0	ND	ND	ND	-
ผักบุ้ง	1	0	ND	ND	ND	-
ผักกาดขาวปลี	1	1	Organophosphorus (1)	profenofos	0.06 mg/kg	0.5 mg/kg ³⁾
			Pyrethroids (1)	cypermethrin	0.07 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
กะหล่ำปลี	4	4	Pyrethroids (3)	cypermethrin	0.05 - 0.06 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
			Carbamate (1)	carbaryl	0.05 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
หัวไชเท้า	1	0	ND	ND	ND	-
กวางตุ้ง	1	1	Pyrethroids (1)	cypermethrin	0.03 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
รวม	39	21 (54%)	ตัวอย่าง			

หมายเหตุ : น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L), ดิน ตะกอนดิน และผัก : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)
 ND: not detected คือ ตรวจไม่พบ, ค่า LOD และ LOQ ดิน ตะกอนดิน น้ำ และผัก แสดงดังตารางภาคผนวกที่ 5

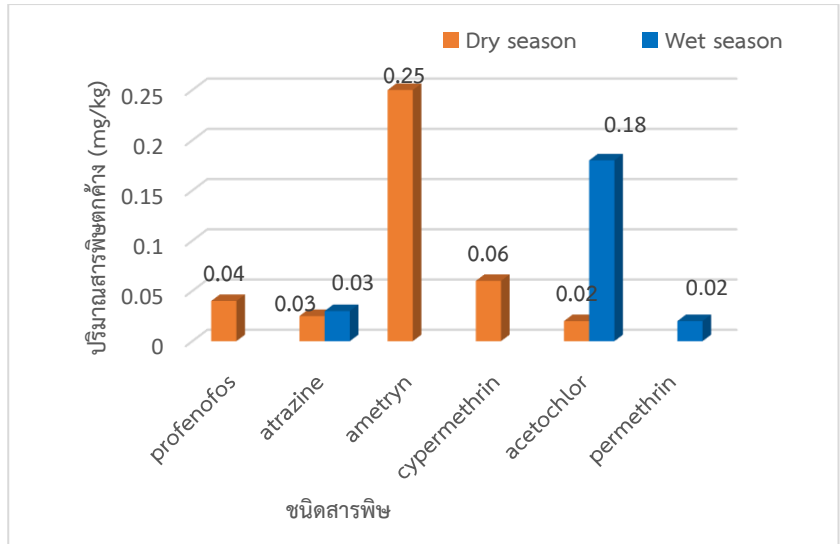
- 1) ค่ามาตรฐานคุณภาพดิน ในดินเพื่อเกษตรกรรม กำหนดค่า atrazine เท่ากับ 22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)
- 2) ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มที่สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (Environmental Protection Agency, EPA) กำหนดไว้ในน้ำดื่มตามค่า maximum contamination level (MCL) ของ atrazine เท่ากับ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L) (U.S. EPA., 2018)
- 3) ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของผัก (mg/kg) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และผักในพื้นที่ปลูกพืชผัก ในจังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน 2565 (ฤดูฝน)

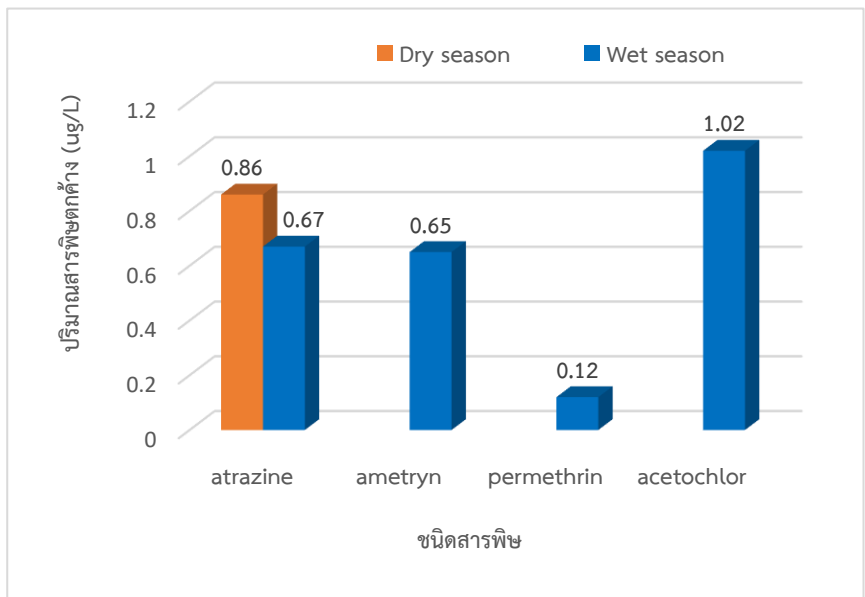
ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง		กลุ่มสารพิษ	ชนิดสารที่พบ	ปริมาณ	ค่ามาตรฐาน
	ทั้งหมด	ตรวจพบ				
ดิน	11	4 (36%)	Triazines (2)	atrazine	0.02 - 0.03 mg/kg	22 mg/kg ¹⁾
			Pyrethroids (1)	permethrin	0.02 mg/kg	-
			Herbicide (2)	acetochlor	0.15 - 0.18 mg/kg	-
น้ำ	10	4 (40%)	Triazines (3)	atrazine	0.23 - 0.67 µg/L	3 ug/L ²⁾
				ametryn	0.65 µg/L	-
			Pyrethroids (1)	permethrin	0.12 µg/L	-
		Herbicide (2)	acetochlor	0.61 - 1.02 µg/L	-	
ตะกอนดิน	3	0 (0%)	ND	ND	ND	-
ผัก	15	5 (33%)				
แตงกวา	1	0	ND	ND	ND	-
แขนงกะหล่ำ	5	3	Pyrethroids (2)	cypermethrin	0.03 - 0.06 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
			Carbamate (1)	carbaryl	0.03 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
ผักชี	2	0	ND	ND	ND	-
ถั่วฝักยาว	1	1	Pyrethroids (1)	cypermethrin	0.06 mg/kg	0.7 mg/kg ³⁾
มะเขือเปราะ	2	0	ND	ND	ND	-
ผักกาดขาวปลี	1	0	ND	ND	ND	-
กะหล่ำปลี	1	1	Pyrethroids (1)	cypermethrin	0.04 mg/kg	1 mg/kg ³⁾
บวบ	1	0	ND	ND	ND	-
กวาดตุง	1	0	ND	ND	ND	-
รวม	39	13 (33%)	ตัวอย่าง			

หมายเหตุ : น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L), ดิน ตะกอนดิน และผัก: ปริมาณที่พบหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)
 ND: not detected คือ ตรวจไม่พบ, ค่า LOD และ LOQ ดิน ตะกอนดิน น้ำ และผัก แสดงดังตารางภาคผนวกที่ 5

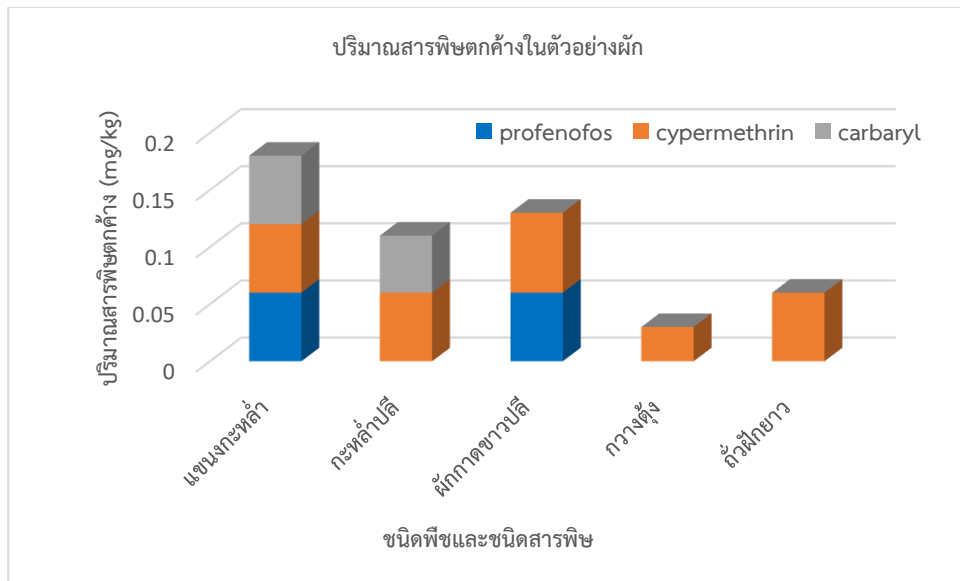
- 1) ค่ามาตรฐานคุณภาพดิน ในดินเพื่อเกษตรกรรม กำหนดค่า atrazine เท่ากับ 22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)
- 2) ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มที่สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (Environmental Protection Agency, EPA) กำหนดไว้ในน้ำดื่มตามค่า maximum contamination level (MCL) ของ atrazine เท่ากับ 3 ไมโครกรัมต่อลิตร (µg/L) (U.S. EPA., 2018)
- 3) ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของผัก (mg/kg) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)



ภาพที่ 1 แสดงปริมาณสารพิษตกค้างในดิน



ภาพที่ 2 แสดงปริมาณสารพิษตกค้างในน้ำ



ภาพที่ 3 แสดงปริมาณสารพิษตกค้างในผัก

5. การประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน น้ำ และผัก ที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน น้ำ และผัก มาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัส (Exposure and risk assessment) สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็ง โดยคำนวณจากค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร ในดิน ช่วงอายุ 6 – 12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 2.39×10^{-6} – 2.39×10^{-2} และผู้ใหญ่อายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 2.94×10^{-7} – 5.88×10^{-3} ในน้ำ ช่วงอายุ 6 – 12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 0.05 – 1.61 และผู้ใหญ่อายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 0.03 – 1.0 เมื่อกำหนดการบริโภคและปริมาณการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในร่างกายพบว่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่ยอมรับให้เข้าสู่ร่างกายได้ในแต่ละวัน (Acceptable Daily Intake; ADI) ในผัก ช่วงอายุ 6 – 12 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 2.00×10^{-3} – 0.58 และผู้ใหญ่อายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ย 1.80×10^{-3} – 0.29 ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณในตารางที่ 4 พบว่าในดิน และผัก มีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ < 1$) ส่วนในน้ำ พบว่าช่วงอายุ 6 – 12 ปี มีความเสี่ยงจากการได้รับสัมผัสสาร ametryn และ acetochlor ค่า HQ เท่ากับ 1.61 และ 1.14 ($HQ > 1$) และเมื่อนำไปประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) ด้วยค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) ในดินมีค่าเฉลี่ย 0.2×10^{-2} – 2.5×10^{-1} และน้ำมีค่าเฉลี่ย 1.2×10^{-1} – 0.10 ถือว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ \leq 0.1$)

ตารางที่ 4 ประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน น้ำ และผักที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

ชนิดตัวอย่าง	Pesticides	Concentration		Hazard quotient (HQ)		Risk quotient (RQ)	Risk Levels
		Min	Max	Child	Adult	(RQ)	
ดิน *	profenofos	-	0.04	2.39×10^{-2}	5.88×10^{-3}	0.4×10^{-2}	^{1,2} acceptable
	atrazine	0.02	0.03	5.13×10^{-6}	1.26×10^{-6}	0.3×10^{-2}	^{1,2} acceptable
	ametryn	0.02	0.25	1.74×10^{-4}	4.27×10^{-5}	2.5×10^{-1}	^{1,2} acceptable
	cypermethrin	0.02	0.06	5.13×10^{-6}	1.26×10^{-6}	0.6×10^{-2}	^{1,2} acceptable
	acetochlor	0.02	0.18	5.39×10^{-5}	1.32×10^{-5}	1.8×10^{-1}	^{1,2} acceptable
	permethrin	-	0.02	2.39×10^{-6}	2.94×10^{-7}	0.2×10^{-2}	^{1,2} acceptable

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชนิดตัวอย่าง	Pesticides	Concentration		Hazard quotient (HQ)		Risk quotient (RQ)	Risk Levels
		Min	Max	Child	Adult		
น้ำ *	atrazine	0.02	0.86	0.55	0.34	8.6×10^{-1}	^{1,2} acceptable
	ametryn	-	0.65	1.61	1.00	6.5×10^{-1}	¹ risk ² acceptable
	permethrin	-	0.12	0.05	0.03	1.2×10^{-1}	^{1,2} acceptable
	acetochlor	0.61	1.02	1.14	0.71	0.10	¹ risk ² acceptable
แขนงกะหล่ำ *	profenofos	-	0.06	0.23	0.11	-	^{1,2} acceptable
	cypermethrin	0.02	0.06	3.30×10^{-3}	1.62×10^{-3}	-	^{1,2} acceptable
	carbaryl	0.03	0.06	2.31×10^{-3}	9.50×10^{-3}	-	^{1,2} acceptable
ผักกาดขาวปลี *	profenofos	-	0.06	0.58	0.29	-	^{1,2} acceptable
	cypermethrin	-	0.07	9.80×10^{-3}	4.80×10^{-3}	-	^{1,2} acceptable
กะหล่ำปลี *	cypermethrin	0.04	0.06	2.00×10^{-3}	1.80×10^{-3}	-	^{1,2} acceptable
	carbaryl	-	0.05	1.14×10^{-2}	5.60×10^{-3}	-	^{1,2} acceptable
กวาดตุง *	cypermethrin	-	0.03	3.90×10^{-3}	9.00×10^{-4}	-	^{1,2} acceptable
ถั่วฝักยาว *	cypermethrin	-	0.06	6.80×10^{-3}	3.30×10^{-3}	-	^{1,2} acceptable

หมายเหตุ : *น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$), *ดิน และผัก: ปริมาณที่พบหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)

- HQ > 1 หมายถึง สาร atrazine ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (risk), HQ < 1 หมายถึง สาร atrazine ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (acceptable risk)
- RQ \leq 0.1 หมายถึง ไม่มีความเสี่ยง (acceptable risk, no hazard exists), RQ > 0.1 – 1.0 หมายถึง มีความเสี่ยงต่ำ (hazard is low), RQ > 1.1-10 หมายถึง มีความเสี่ยงระดับปานกลาง (hazard is moderate) และ RQ > 10 หมายถึง มีความเสี่ยงสูง (hazard is high) (U.S. EPA., 2014)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การสำรวจสารพิษตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมจากแหล่งปลูกพืชผักในจังหวัดราชบุรี ผลการตรวจวิเคราะห์ ดิน น้ำ ตะกอนดิน และผัก ในฤดูแล้งและฤดูฝน รวมทั้งหมด 78 ตัวอย่าง พบการตกค้างในฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน เมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพในดิน และผัก พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ส่วนน้ำในช่วงอายุ 6 – 12 ปี มีความเสี่ยงจากการได้รับสัมผัสสาร ametryn และ acetochlor จากผลการประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในแหล่งปลูกผักในจังหวัดราชบุรี จากข้อมูลทำให้ทราบว่าเกษตรกรยังมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจึงควรมีแนวทางในการแก้ไขปัญหาในการลดการใช้สารกำจัดศัตรูพืช รวมถึงมีการให้ความรู้แก่เกษตรกรให้เข้าใจถึงผลกระทบจากสารกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อสุขภาพ สิ่งแวดล้อม และเศรษฐกิจ ส่งเสริมการปลูกพืชอินทรีย์ ตลอดจนการให้ความรู้ในเรื่องการเก็บเกี่ยวผลผลิต และในส่วนของผู้บริโภคนั้น ควรตระหนักถึงอันตรายจากสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อน จึงควรล้างให้สะอาดก่อนการบริโภค เพื่อเป็นการเฝ้าระวัง ควรมีการเก็บข้อมูลการใช้สารของเกษตรกร รวมถึงสำรวจเก็บตัวอย่างที่ต่อเนื่อง เพื่อลดความเสี่ยงต่อการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อติดตามตรวจสอบสถานการณ์การตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืช จากการใช้ในแหล่งปลูกพืชผัก ในจังหวัดราชบุรี
2. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการใช้ประกอบในการทำวิจัยด้านสารพิษตกค้าง
3. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำปี และการประชุมวิชาการในระดับชาติ รวมทั้งเผยแพร่ในวารสารวิชาการภายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2565. แผนปฏิบัติการด้านการเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2566 – 2570. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 120 น.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2547.ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 25 (พ.ศ. 2547) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. *ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 121 ตอนพิเศษ 119 ง*, ลงวันที่ 20 ตุลาคม 2547.
- กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2548. คู่มือการใช้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง คุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตรและสารธรรมชาติ. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 55 น.
- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554*. สำนักวิจัยการพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 133 น.
- จารุงศ์ ประสพสุข , สุวิทย์ เลหาศิริวงศ์ , อรุณี พรหมคำบุตร และ ชุติมาศ บุญไทย อิวาย. 2562. การประเมินความเสี่ยงสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้ปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น. *วารสารวิชาการเกษตร*. 37 (3): 278 - 285.
- บุญทวีศักดิ์ บุญทวี, จินตนา ภูมังกุญชัย, สุพัตรี หนูสังข์, ศศิณิภา คงเข้มดี และประพันธ์ เคนท้าว. 2564. ศีรษะสารพิษตกค้างในพืชผัก พืชที่ปลูกในน้ำ พืชหัวใต้ดิน พืชสมุนไพร และพืชตระกูลกะหล่ำ. *ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2564 เล่ม 2* สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.
- ปัทมา เสนทอง, กชพรรณ หนูชนะ, จันทิมา เอกรัชชฤทธิ์, ธนวัฒน์ สายเมธา, จิรจิตต์ ดวงมุสิก, ภคินี ปิยะพันธ์ และ กฤตภาพ ไทรทองคำ. 2563. การตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน น้ำที่ใช้ในการบริโภค และผักสวนครัว ในครัวเรือนที่อยู่ในสวนเงาะและสวนทุเรียน. *วารสารวิจัย มข*. 20 (3): 86 – 94.
- ภาณุพันธ์ อินแก้ว และ สยาม อรุณศรีมรกต. 2558. การศึกษาเปรียบเทียบสารกำจัดแมลงตกค้างในผักใบเขียวของการปลูกพืชแบบทั่วไป แบบปลอดสารพิษ และแบบอินทรีย์ในจังหวัดนครปฐม. *วารสารร่มพฤษ*. 33: 55–75.
- รัศมี แสงศิริมงคลยิ่ง, มลิสสา เวชยานนท์, ปกัสร่า คุณเลิศ และพรชนก ชโลปกรณ์. 2558. การศึกษาการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชสู่สิ่งแวดล้อมในวิทยาลัยชัยบาดาลพัฒนา. *วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร* 10 (2): 22 – 37.
- วนิดา จันทร์โสม. 2555. การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการล้างผักกะหล่ำปลี และผักกาดขาว เพื่อลดปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มไพรีทรอยด์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- วิจิตรา เหลียวตระกูล, วชิรญา เหลียวตระกูล, ปรียานุช เพียนเลี้ยงชีพ และวีรวัฒน์ เต็มขันมณี. 2563. การตรวจสอบสารเคมีตกค้างกลุ่มออร์แกนอโฟสเฟตและคาร์บาเมตในผักสดในจังหวัดพระนครศรีอยุธยาและประสิทธิภาพในการล้างผักต่อสารเคมีตกค้างในผักคะน้า. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า* 131 – 138.

สภาเกษตรกรแห่งชาติ. 2565. แผนพัฒนาเกษตรกรรมระดับจังหวัดราชบุรี พ.ศ. 2565-2569. แหล่งข้อมูล:

<http://www.nfcrbr.or.th/site/attachments/article/319/%E0%B8%A3%E0%B8%B9%E0%B8%9B%E0%B9%80%E0%B8%A5%E0%B9%88%E0%B8%A1%E0%B9%81%E0%B8%9C%E0%B8%99%E0%B8%88%E0%B8%B1%E0%B8%87%E0%B8%AB%E0%B8%A7%E0%B8%B1%E0%B8%94%E0%B8%A3%E0%B8%B2%E0%B8%8A%E0%B8%9A%E0%B8%B8%E0%B8%A3%E0%B8%B5%202565-2569.pdf> สืบค้น: 8 มกราคม 2566.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2565. “รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ. 2564”.

แหล่งข้อมูล: https://www.doa.go.th/ard/?page_id=386 สืบค้น: 11 มกราคม 2566.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. “ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด”

แหล่งข้อมูล: <https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf> สืบค้น: 11 กุมภาพันธ์ 2565.

อรอนงค์ ผิววิล, ศุภมาศ พนิชศักดิ์ พัฒนา, นิพนธ์ ตั้งคณาภิรักษ์, บงกชรัตน์ ปิตยรัตน์ และ น้ำเย็น ศิริพัฒน์. 2554.

การศึกษาการตกค้างและเคลื่อนย้ายสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนในดินพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ตะกอนดิน และน้ำท่าบริเวณลุ่มน้ำห้วยกะโปะ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49: สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม*, น. 1-11.

AOAC. 2016a. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 970.52. In house method TM-T04-I02.

AOAC. 2016b. Organochlorine Pesticides in Water Gas Chromatographic Method. 2005. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 990.06. In house method TM-T04-I01.

EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LCMS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – QuEChERS method.

IUPAC. 2019. “Global availability of information on agrochemicals. Pesticide Properties DataBase”.

Available at: <https://www.sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>. Accessed : March 25, 2019.

Jitpaka S., Wischada J., Thongsuk P., Rattiyakorn S. and Weerawut W. 2015. Monitoring of pesticide residues in domestic vegetables in Thailand during 2015. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*: 23. 04.

Oliveira, R.S., Koskinen, W.C. and Ferreira, F.A. 2001. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Research*. 41: 97-100.

Supawat Chaikasem and Veerapas Na Roi-et. 2020. Health Risk Assessment of Pesticide Residues in Vegetables from River Basin Area Applied. *Environmental Research App. Envi. Res.* 42(2): 46-61.

U.S. EPA, 1994. Organophosphorus compound by Gas Chromatography capillary column technique. In-house method. 2005. EPA method 8141A, Revision 1.

U.S. EPA. 2008. Child-Specific Exposure Factors Handbook. EPA/600/R-06/096F. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 687 pp.

U.S. EPA. 2014. Technical Overview of Ecological Risk Assessment Risk Characterization. Washington, D.C.

U.S. EPA. 2018. "National Primary Drinking Water Regulations. United States Environmental Protection Agency." Available at: <http://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> Accessed : February 10, 2022.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 จุดเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และผักในจังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 1 วันที่ 10 – 12 มกราคม 2565 ใน (ฤดูแล้ง)

แปลง	พิกัดแปลง		ตัวอย่าง				
			ดิน	น้ำ	ตะกอนดิน	ผัก	
1	13°40'21.0 N	99°27'27.1 E	S 1	W 1	-	กวาดตุงดอก (V 1.1)	แขนงกะหล่ำ (V 1.2)
2	13°40'21.0 N	99°27'27.1 E	S 2	W 2	-	ผักชี (V 2.1)	ผักบุ้ง (V 2.2)
3	13°40'20.8 N	99°27'23.3 E	S 3	-	-	ผักกาดขาวปลี (V 3.1)	-
4	13°40'21.0 N	99°27'27.1 E	S 4	W 4	-	ผักชี (V 4.1)	-
5	13°40'21.0 N	99°27'27.1 E	S 5	W 5	-	กะหล่ำปลี (V 5.1)	-
6	13°45'23.0 N	99°30'31.1 E	S 6	W 6	-	แขนงกะหล่ำ (V 6.1)	-
7	13°47'24.0 N	99°31'32.1 E	S 7	W 7	Sd 7	หัวไชเท้า (V 7.1)	แขนงกะหล่ำ (V 7.2)
8	13°47'25.0 N	99°31'33.1 E	S 8	W 8	-	กะหล่ำปลี (V 8.1)	-
9	13°47'26.0 N	99°31'44.1 E	S 9	W 9	Sd 9	กวาดตุง (V 9.1)	แขนงกะหล่ำ (V 9.2)
10	13°50'13.0 N	99°49'33.1 E	S 10	W 10	-	กะหล่ำปลี (V 10.1)	-
11	13°58'23.0 N	99°50'32.2 E	S 11	W 11	Sd 11	กะหล่ำปลี (V 11.1)	-

ตารางผนวกที่ 2 จุดเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และผักในจังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 วันที่ 20 – 22 มิถุนายน 2565 ใน (ฤดูฝน)

แปลง	พิกัดแปลง		ตัวอย่าง				
			ดิน	น้ำ	ตะกอนดิน	ผัก	
1	13°40'21.0 N	99°27'27.1 E	S 1	W 1	-	แขนงกะหล่ำ (V 1.1)	-
2	13°40'21.0 N	99°27'27.1 E	S 2	-	-	ถั่วฝักยาว (V 2.1)	แตงกวา (V 2.2)
3	13°40'20.8 N	99°27'23.3 E	S 3	W 3	-	บวบ (V 3.1)	ผักชี (V 3.2)
4	13°40'21.0 N	99°27'27.1 E	S 4	W 4	-	มะเขือเปราะ (V 4.1)	-
5	13°40'21.0 N	99°27'27.1 E	S 5	W 5	-	ผักชี (V 5.1)	-
6	13°45'23.0 N	99°30'31.1 E	S 6	W 6	-	กวาดตุง (V 6.1)	-
7	13°47'24.0 N	99°31'32.1 E	S 7	W 7	Sd 7	กะหล่ำปลี (V 7.1)	-
8	13°47'25.0 N	99°31'33.1 E	S 8	W 8	-	แขนงกะหล่ำ (V 8.1)	-
9	13°47'26.0 N	99°31'44.1 E	S 9	W 9	Sd 9	แขนงกะหล่ำ (V 9.1)	-
10	13°50'13.0 N	99°49'33.1 E	S 10	W 10	-	ผักกาดขาวปลี (V 10.1)	แขนงกะหล่ำ (V 10.2)
11	13°58'23.0 N	99°50'32.2 E	S 11	W 11	Sd 11	มะเขือเปราะ (V 11.1)	แขนงกะหล่ำ (V 11.2)

ตารางผนวกที่ 3 คุณสมบัติทางเคมี และฟิสิกส์ของดินในแปลงผัก จังหวัดราชบุรี

แปลง	พารามิเตอร์ในการวิเคราะห์								เนื้อดิน
	pH	EC (ds/m)	OM (%)	Avail P (mg/kg)	Avail K (mg/kg)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	
1	7.7	0.096	0.83	38	323	65.0	25.2	9.8	ดินร่วนทราย
2	8.1	0.129	0.79	155	212	59.8	26.4	13.8	ดินร่วนทราย
3	5.1	0.456	0.75	175	200	67.8	22.4	9.8	ดินร่วนทราย
4	5.6	0.318	1.02	90	182	63.0	27.2	9.8	ดินร่วนทราย
5	7.4	0.114	0.68	125	70	64.8	26.0	9.2	ดินร่วนทราย
6	6.6	0.297	1.25	441	118	53.8	30.8	15.4	ดินร่วนทราย
7	7.5	0.321	1.57	326	178	47.8	34.8	17.4	ดินร่วน
8	6.8	0.404	1.44	218	176	47.8	34.8	17.4	ดินร่วน
9	6.5	0.278	2.18	98	227	14.8	47.6	37.6	ดินร่วนเหนียวปนทรายแป้ง
10	6.8	0.127	1.40	848	193	30.8	49.6	19.6	ดินร่วน
11	6.1	0.127	0.68	34	89	49.8	36.8	13.4	ดินร่วน

ตารางผนวกที่ 4 คุณสมบัติทางเคมี และฟิสิกส์ของน้ำจากแปลงผัก จังหวัดราชบุรี

แปลง	อุณหภูมิของน้ำ (°C)	กรด-ด่างของน้ำ (pH)	การนำไฟฟ้า (Conductivity, $\mu\text{s}/\text{cm}$)	ค่าของแข็งทั้งหมด (Total Dissolve Solid, mg/L)
1	27.3	6.10	928	464
3	30.5	6.73	1,072	536
4	32.6	6.49	1,558	779
5	32.3	6.82	1,800	900
6	22.7	6.61	1,083	542
7	25.9	7.11	1,431	715
8	27.0	7.39	218	109
9	27.2	7.25	746	373
10	29.2	6.60	977	488
11	29.5	9.58	1,017	508

ตารางผนวกที่ 5 ผลวิเคราะห์ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ) ของสารกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่าง ดิน ตะกอนดิน น้ำ และผัก

กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืช	ชนิดสารกำจัดศัตรูพืช	ดิน และตะกอนดิน (mg/kg)		น้ำ (µg/L)		ผัก (mg/kg)	
		LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
Organochlorine 16 ชนิด*	aldrin	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	alpha-BHC	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	alpha-endosulfan	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	beta-endosulfan	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	dieldrin	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	endosulfan sulfate	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	endrin	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	gamma-BHC	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	heptachlor	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	heptachlor epoxide	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	<i>o,p'</i> -DDE	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	<i>o,p'</i> -DDT	0.003	0.01	0.004	0.02	0.02	0.05
	<i>o,p'</i> -TDE	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	<i>p,p'</i> -DDE	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
	<i>p,p'</i> -DDT	0.003	0.01	0.004	0.02	0.02	0.05
	<i>p,p'</i> -TDE	0.003	0.01	0.002	0.01	0.02	0.05
Pyrethroid 7 ชนิด*	bifenthrin	0.007	0.02	0.02	0.07	0.009	0.02
	cyfluthrin	0.007	0.02	0.02	0.07	0.02	0.05
	cypermethrin	0.007	0.02	0.02	0.07	0.009	0.02
	lambda-cyhalothrin	0.007	0.02	0.02	0.07	0.02	0.05
	deltamethrin	0.007	0.05	0.02	0.07	0.009	0.02
	fenvalerate	0.007	0.02	0.02	0.07	0.009	0.02
	permethrin	0.007	0.02	0.02	0.07	0.02	0.05
Triazole 4 ชนิด*	difenoconazole	0.02	0.20	0.02	0.20	0.05	0.10
	tetraconazole	0.02	0.08	0.02	0.08	0.05	0.10
	hexaconazole	0.02	0.08	0.02	0.08	0.05	0.10
	propiconazole	0.02	0.16	0.02	0.16	0.05	0.16
Chloroacetamide 3 ชนิด*	alachlor	0.01	0.06	0.05	0.10	0.05	0.10
	acetochlor	0.009	0.02	0.05	0.10	0.05	0.10
	s-metolachlor	0.01	0.06	0.05	0.10	0.05	0.10
สารกำจัดวัชพืช 3 ชนิด*	oxyfluorfen	0.01	0.06	0.05	0.10	0.05	0.10
	oxadiazon	0.01	0.06	0.05	0.10	0.05	0.10
	pendimethalin	0.01	0.04	0.05	0.10	0.05	0.10
Organophosphorus 22 ชนิด*	azinphos ethyl	0.05	0.12	0.05	0.12	0.05	0.12
	chlorpyrifos methyl	0.009	0.05	0.05	0.10	0.05	0.10
	chlorpyrifos ethyl	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10
	diazinon	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืช	ชนิดสารกำจัดศัตรูพืช	ดิน และตะกอนดิน		น้ำ		ผัก	
		(mg/kg)		(µg/L)		(mg/kg)	
		LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
	dicrotophos	0.01	0.09	0.05	0.10	0.05	0.10
	dimethoate	0.05	0.15	0.05	0.15	0.05	0.15
	EPN	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10
	ethion	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10
	ethoprophos	0.009	0.04	0.05	0.10	0.05	0.10
	fenthion	0.05	0.11	0.05	0.11	0.05	0.11
	fenitrothion	0.05	0.10	0.05	0.10	0.05	0.10
	malathion	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10
	methidathion	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10
	monocrotophos	0.05	0.12	0.05	0.12	0.05	0.12
	parathion methyl	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10
	pirimiphos methyl	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10
	profenophos	0.003	0.01	0.02	0.10	0.01	0.06
	triazophos	0.003	0.01	0.02	0.10	0.02	0.10
	methamidophos	0.009	0.05	0.05	0.08	0.05	0.08
	omethoate	0.05	0.12	0.05	0.12	0.05	0.12
	phosalone	0.05	0.18	0.05	0.18	0.05	0.18
Carbamate *	carbaryl	0.01	0.36	0.01	0.03	0.01	0.03
6 ชนิด	carbofuran	0.01	0.33	0.01	0.33	0.01	0.33
	isoprocarb	0.01	0.30	0.01	0.30	0.01	0.30
	promecarb	0.01	0.31	0.01	0.31	0.01	0.31
	metocarb	0.01	0.29	0.01	0.29	0.01	0.29
	methomyl	0.01	0.51	0.01	0.51	0.01	0.51
Triazine 3 ชนิด *	ametryn	0.009	0.02	0.009	0.02	0.02	0.05
	metribuzine,	0.05	0.37	0.05	0.37	0.05	0.37
	atrazine	0.009	0.02	0.009	0.02	0.02	0.05
Acylalanines 1 ชนิด *	metalaxyl	0.01	0.30	0.01	0.30	0.01	0.30

การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช 2,4-D ในอ้อย
ต่อเกษตรกร ผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

Risk assessment of 2,4-D herbicide in sugarcane plantation
for the user, consumer and environment

อำนาจ กะฐินเทศ
Amnaj Katintet

ปภัศรา คุณเลิศ
Paphatsara Khunlert

จันทิมา ผลทอง
Jantima Phonkong

พกาสินี คล้ายมาลา
Pakasinee Klaimala

กลุ่มวิจัยวัชฎมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) is an endocrine disruptor herbicide that may affect health and the environment. The study risk assessment of the use of 2,4-D for the user, consumer and environment in a one-rai sugarcane plantation in Doem Bang Nang Buat District Suphanburi province between January to September 2022 by spraying 2,4-D formula 84% W/V SL at the rate 240 ml per 80 liters of water per rai with a high-pressure sprayer on twice about a month and two months later. Risk assessment of the user exposure by attaching patches size 10x10 cm in different parts of the sprayer body at 16 points and collecting hand wash water and foot wash water after spraying and after on spraying the second time (at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30 and 60 days) to sampling water, soil, sediment and sugarcane (at harvest). The 2,4-D residue was analyzed by Liquid Chromatograph. Risk assessment of the exposure for the user and consumer using the Margin of Exposure (MOE) and the Hazard Quotient (HQ). The results of the analysis highest residues in the patch attached to the lower leg out averaged at 787.69 $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^2$, hand wash water and foot wash water averaged 1,526 and 137 $\mu\text{g}/\text{l}$. The soil sample was 0 and 1 day were 0.22 and 0.19 mg/kg. The water, sediment and sugarcane samples were not detected. The Margin of Exposure (MOE) for user values from both sprays were 22.29 and 65.64, which are unsafe risks to users ($\text{MOE} \geq 100$, safety). The Hazard Quotient (HQ) for consumers can safely consume sugarcane ($\text{HQ} \leq 1$). Risks in the environment were lower than the standard values of the soil ($< 7,500 \text{ mg}/\text{kg}$). The half-life ($t_{1/2}$) in soil was 2.5 days.

Key words: patch, soil, Margin of Exposure, Liquid Chromatograph

บทคัดย่อ

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เป็นสารกำจัดวัชพืชที่มีความเป็นอันตรายรอบกวนการทำงาน ของต่อมไร้ท่อ การใช้และสัมผัสสัมผัสต่อเนื่องเป็นระยะเวลาอันยาวนาน อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม การศึกษานี้ได้ทำการประเมินความเสี่ยงจากการใช้ 2,4-D ต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมในแปลงอ้อยตอ พื้นที่ 1 ไร่ อำเภอเดิมบางนางบวช จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคมถึงกันยายน 2565 โดยพ่น 2,4-D สูตร 84% W/V SL อัตรา 240 มิลลิลิตรต่อน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ด้วยเครื่องพ่นแรงดันน้ำสูง จำนวน 2 ครั้ง หลังเจียนตอ ประมาณ 1 เดือน และ 2 เดือน ประเมินความเสี่ยงจากการสัมผัสสัมผัสต่อผู้ใช้ โดยติดแผ่นผ้าขนาด 10x10 เซนติเมตร บริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกายของผู้พ่น จำนวน 16 จุด และเก็บน้ำล้างมือ-น้ำล้างเท้าหลังพ่น หลังพ่น สารครั้งที่ 2 (ที่ 0 1 3 5 7 10 15 20 30 และ 60 วัน) สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ดิน ตะกอน และอ้อย (ที่ระยะเก็บเกี่ยว) วิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างด้วยเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟี ประเมินความเสี่ยงการสัมผัสสัมผัสเข้าสู่ร่างกายต่อผู้ใช้ และผู้บริโภค โดยใช้ค่าขอบเขตความปลอดภัย (Margin of Exposure, MOE) และสัดส่วน ความเสี่ยง (Hazard Quotient, HQ) ผลการตรวจวิเคราะห์พบสารตกค้างบริเวณส่วนแขนงนอกมากที่สุด ปริมาณเฉลี่ย 787.69 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ในน้ำล้างมือและน้ำล้างเท้า ปริมาณเฉลี่ย 1,526 และ 137 ไมโครกรัมต่อลิตร ในดินพบสารตกค้างที่ 0 และ 1 วัน ปริมาณ 0.22 และ 0.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนใน ตัวอย่างน้ำ ตะกอน และอ้อย ไม่พบสารตกค้าง ประเมินความเสี่ยงต่อผู้ใช้ ได้ค่า MOE จากการพ่นสารทั้ง 2 ครั้ง เท่ากับ 22.29 และ 65.64 ซึ่งเป็นความเสี่ยงที่ไม่ปลอดภัยต่อผู้ใช้ (MOE \geq 100, ปลอดภัย) สำหรับผู้บริโภค สามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย (HQ \leq 1) ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมพบสารตกค้างต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดให้มีได้ในดิน (<7,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ค่า half-life ($t_{1/2}$) ในดิน เท่ากับ 2.5 วัน

คำสำคัญ: แผ่นผ้า, ดิน, ค่าขอบเขตความปลอดภัย, เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี

บทนำ

ปัจจุบันมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร ทำให้มีการใช้วัตถุมีพิษการเกษตรเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้ได้ ผลผลิตที่เพียงพอต่อการบริโภค จากการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรทำให้เกิดการตกค้างสารพิษในผลผลิต และ สิ่งแวดล้อม ส่งผลต่อสุขภาพ ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงจากการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรจึงเป็นสิ่งจำเป็น และสำคัญ เพื่อเพิ่มความปลอดภัยต่อเกษตรกรผู้ใช้ และลดความเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคอ้อย

อ้อย (Sugarcane) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Saccharum officinarum* อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของ ประเทศไทย มีเนื้อที่การปลูกประมาณ 11 ล้านไร่ ผลผลิตรวมประมาณ 105 ล้านตัน (สำนักงานคณะกรรมการ อ้อยและน้ำตาล, 2564/65) ซึ่งปลูกสำหรับบริโภคและแปรรูปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ จากความต้องการอ้อย ในปริมาณที่สูง เกษตรกรจึงนิยมปลูกอย่างแพร่หลาย เกิดปัญหาวัชพืชขึ้นปกคลุมอย่างหนาแน่น ส่งผลต่อการ เจริญเติบโตของอ้อย ทำให้ผลผลิตตกต่ำ จากสาเหตุดังกล่าวเกษตรกรจึงนิยมนำสารป้องกันกำจัดวัชพืช 2,4-D มาใช้ในการกำจัดวัชพืช เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตให้มากขึ้น

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เป็นสารป้องกันกำจัดวัชพืช (herbicide) แบบเลือกทำลาย เฉพาะพืชใบกว้าง (selective herbicide) หลังออกทางใบ (ธันซ์สัณห์ และมณฑิตา, 2563) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม คลอโรฟีนอกซี (chlorophenoxy compound) มีสูตรโมเลกุล $C_8H_6Cl_2O_3$ และ มวลโมเลกุล 221.03 กรัมต่อโมล (g/mol) สูตรโครงสร้างแสดงดัง Figure 1

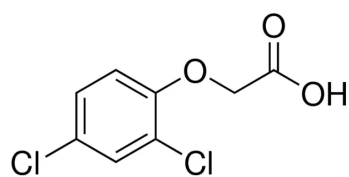


Figure 1 The chemical structure of 2,4-D.

(ที่มา: <https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/product/supelco/n10609>)

ลักษณะทางกายภาพมีลักษณะเป็นผงสีขาวไม่มีสี จุดเดือด (boiling point) 160 °C โดยค่าความเป็นพิษ median lethal dose (LD₅₀) พิษเฉียบพลันทางปาก (acute oral) ในหนู mice มีค่า LD₅₀ 138 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) และหนู LD₅₀ 639-764 mg/kg พิษเฉียบพลันทางการรับสัมผัส (acute dermal) ในกระต่าย ค่า LD₅₀ >1,600 mg/kg และหนู LD₅₀ >2,400 mg/kg สำหรับการตกค้างในสิ่งแวดล้อม พบค่า degradation time (DT₅₀) ในดินมีค่า <7 วัน (Turner, 2017) โดย 2,4-D มีฤทธิ์รบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor) เมื่อได้รับสัมผัสจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อาการทางระบบประสาท ชัก ชี้น และกล้ามเนื้ออ่อนแรง กลไกการออกฤทธิ์ต่อพืช จะออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนออกซิน (auxin hormone) โดยส่งผลให้พืชมีความผิดปกติของฮอร์โมน ทำให้ฮอร์โมนไม่เสถียรและพืชตายในที่สุด (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) ซึ่งนิยมนำมาใช้กำจัดวัชพืชในพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วเหลือง ข้าวโอ๊ต และอ้อย (Gervais *et al.*, 2008) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้น เกษตรกรจึงนิยมนำมาใช้ป้องกันกำจัดวัชพืชทางการเกษตร เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมและผลผลิตทางการเกษตร และปัญหาสุขภาพ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจทำการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างชนิด 2,4-D ที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม และผลผลิตทางการเกษตร นำข้อมูลที่ได้ประเมินความเสี่ยงต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมในแปลงอ้อย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ภาคสนามและห้องปฏิบัติการ

- 1.1 ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำชนิด HDPE ขนาด 1 ลิตร
- 1.2 ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างตะกอน ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 1.3 ชุดเสื้อแขนยาวและกางเกงขายาวสำหรับผู้พ่น และแผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10x10 เซนติเมตร
- 1.4 เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger)
- 1.5 เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำภาคสนาม ได้แก่ pH meter
- 1.6 สารป้องกันกำจัดวัชพืชชนิด 2,4-Dimethylammonium สูตร 84% W/V SL
- 1.7 Solid phase extraction ชนิด C₁₈ (SPE-C₁₈ cartridge)
- 1.8 หลอดทดลอง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
- 1.9 กระดาษกรองเมมเบรน (filter membrane) ชนิด Nylon และ Cellulose acetate (0.45 µm)
- 1.10 ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 50 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 1.11 ไมโครไปเปต (micropipette) ขนาด 50 200 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 1.12 กระดาษกรอง (syringe filter) ชนิด PTFE (0.45 µm)

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีชนิด AR grade ได้แก่ hydrochloric acid (HCl), acetic acid (CH₃COOH), magnesium sulphate (MgSO₄), sodium chloride (NaCl), di-sodium hydrogen citrate (Na₂C₆H₆O₇), tri-sodium citrate dihydrate (Na₃C₆H₅O₇•H₂O) และ Primary Secondary Amine (PSA)

2.2 สารเคมีชนิด HPLC grade ได้แก่ water, methanol, acetonitrile และ ammonium formate (NH₃HCOOH)

2.3 สารมาตรฐาน 2,4-D ที่มีความบริสุทธิ์ 99.50%

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์

3.1 เครื่อง Ultrasonic bath

3.2 เครื่อง Centrifuge

3.3 เครื่อง pH meter

3.4 เครื่อง Vacuum pump พร้อมชุดเครื่องมือ Vacuum elute cartridge manifolds

3.5 เครื่องชั่ง (Balance) ความละเอียดทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง

3.6 เครื่อง Ultra-High Performance Liquid Chromatography ตัวตรวจวัดชนิด Diode Array (UHPLC-DAD) ยี่ห้อ Agilent technology รุ่น 1290 และคอลัมน์ reverse phase C₁₈ (250 x 4.6 mm, 5µm)

วิธีการ

1. การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1.1 การสำรวจข้อมูลแปลงอ้อยในจังหวัดสุพรรณบุรี

ได้เลือกแปลงทดลองอ้อยต่อ อำเภอเดิมบางนางบวช จังหวัดสุพรรณบุรี พิกัด (14.779664, 100.201476) พื้นที่ 1 ไร่ ลักษณะแปลงสี่เหลี่ยมผืนผ้า คลองน้ำใช้น้ำจากคลองชลประทาน วัชพืช ได้แก่ หญ้าใบแคบ และใบกว้าง ทำการพ่นประมาณ 1-2 ครั้ง เมื่อพบการงอกใหม่ ซึ่งการทดลองนี้จะทำการศึกษาในแปลงอ้อยโดยใช้ 2,4-D สูตร 84% W/V SL (ผลการทดสอบเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์มีค่า 83.2% W/V) ปริมาณที่ใช้ 200 กรัม สารออกฤทธิ์ต่อไร่ (อัตรา 240 มิลลิลิตรต่อน้ำ 80 ลิตรต่อไร่) ตามอัตราคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2554) ใช้เทคนิคการพ่นด้วยเครื่องยนต์แบบแรงดันน้ำสูง (high pressure pump sprayer) ก่อนทำการพ่นสาร 2,4-D ในแปลงทดลอง ได้เก็บตัวอย่างควบคุม (control sample) ได้แก่ น้ำ ดิน ตะกอน และอ้อย ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างชนิด 2,4-D เพื่อใช้เป็นค่าอ้างอิงในการทดลอง

1.2 การติดแผ่นผ้าขนาด 10x10 เซนติเมตร (OECD, 1997) บนเสื้อผ้าและกางเกงบริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้พ่นสาร จำนวน 16 จุด ได้แก่ บริเวณหมวก (1) แผ่นผ้าปิดจมูก (1) บ่า (2) ศอก (2) หน้าอก (ด้านนอกและด้านในเสื้อ 2) หลัง (ด้านนอกและด้านในเสื้อ 2) ต้นขา (2) และหน้าแข้ง (ด้านนอก 2 และด้านในกางเกง 2) เก็บตัวอย่างแผ่นผ้า และน้ำล้างมือ-น้ำล้างเท้า ครั้งที่ 1 และ 2

1.3 ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชชนิด 2,4-D ในแปลงอ้อย โดยพ่นทั้งหมด 2 ครั้ง ระยะห่างประมาณ 30 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่างแผ่นผ้า และน้ำล้างมือ-ล้างเท้า หลังพ่นครั้งที่ 2 สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ดิน และตะกอน โดยเก็บหลังการพ่น 2 ชั่วโมง ที่ 0 วัน (US.EPA, 1987) จากนั้นเก็บ 1 3 5 7 10 15 20 30 และ 60 วัน และอ้อย (ระยะเวลาเก็บเกี่ยว)

2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

2.1 การเตรียมสารละลายชนิดต่างๆ

2.1.1 เตรียมสารละลายความเข้มข้น 0.1M HCl

ตวงน้ำ (HPLC grade) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ปริมาตร 8.3 มิลลิลิตร ค่อยๆเทลงในขวดวัดปริมาตร ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สุดท้ายปรับปริมาตรด้วยน้ำ (HPLC grade) ให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.1.2 เตรียมสารละลายความเข้มข้น 10% v/v Formic acid (HCOOH)

ตวงน้ำ (HPLC grade) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นตวง HCOOH ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ค่อยๆ เทลงในขวดวัดปริมาตร สุดท้ายปรับปริมาตรด้วยน้ำให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2.1.3 เตรียมสารละลาย Elution solution ความเข้มข้น 5% v/v NH₃HCOOH

ชั่ง NH₃HCOOH ปริมาณ 5.0 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วย methanol (HPLC grade) เทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร สุดท้ายปรับปริมาตรด้วย methanol ให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2.1.4 เตรียมสารละลายผสม methanol:water:acetic acid อัตราส่วน 80:20:2.5 v/v

ตวง methanol (HPLC grade) ปริมาตร 80 มิลลิลิตร น้ำ (HPLC grade) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และ acetic acid ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เทใส่รวมกันในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.1.5 เตรียมสารละลายมาตรฐาน 2,4-D ความเข้มข้น 1,000 µg/ml สำหรับ Stock solution

ชั่งสารมาตรฐาน 2,4-D ปริมาณ 10.00 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ละลายด้วย methanol (HPLC grade) สุดท้ายปรับปริมาตรด้วย methanol (HPLC grade) ให้เป็น 10 มิลลิลิตร

2.1.6 เตรียมโมบายเฟส (Mobile phase) ความเข้มข้น 5mM NH₃HCOOH

ชั่ง NH₃HCOOH ปริมาณ 0.3135 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำ (HPLC grade) เทใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปริมาตรประมาณ 800 มิลลิลิตร นำไปปรับ pH ด้วย 1% v/v HCOOH ให้เป็น 4.00±0.05 ด้วยเครื่อง pH meter จากนั้นเทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.2 การเตรียมตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดิน และตะกอน มาแยกเศษหิน กรวด และอินทรีย์วัตถุออก ฝั่งให้มีความชื้นประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ บดตัวอย่างดินให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปชั่งวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความชื้น และวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง 2,4-D

2.3 การหาความชื้นในตัวอย่างดิน

ชั่งตัวอย่างดิน 50.00 กรัม ลงใน petri dish นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105±5°C นาน 24 ชั่วโมง นำออกมาวางไว้ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักและบันทึก นำตัวอย่างดินไปอบต่อ 3-4 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำหนักคงที่ ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึก

สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักดินก่อนอบ} - \text{น้ำหนักดินหลังอบ}) \times 100}{(\text{น้ำหนักดินหลังอบ} - \text{น้ำหนัก Petri dish})}$$

2.4 เตรียมสารละลายมาตรฐาน 2,4-D ที่ 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.0561 0.1403 0.2807 1.1227 และ 7.0167 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/ml) ทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity)

2.5 ทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection, LOD) ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantitation, LOQ) และค่าร้อยละการได้คืนกลับ (%recovery) สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างน้ำ ดิน ตะกอน แผ่นผ้า และอ้อย เกณฑ์การยอมรับ recovery อยู่ระหว่าง 60-115% (AOAC, 2016)

2.6 การสกัดตัวอย่างในน้ำ น้ำล้างมือ-ล้างเท้า ดิน ตะกอน แผ่นผ้า และอ้อย โดยมีวิธีสกัดตัวอย่าง ดังนี้

2.6.1 การสกัดตัวอย่างในน้ำ และน้ำล้างมือ-ล้างเท้า ตวงตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกรอง ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปรับ pH น้ำให้เป็น 1 ด้วย 6M HCl จากนั้นปรับสภาวะการแยก (condition) SPE-C₁₈ ด้วย acetonitrile ปริมาตร 5 มิลลิลิตร methanol ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ acidified water (pH 1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ปรับ pH=1 โหลดผ่าน SPE-C₁₈ cartridge ด้วย pump อัตราการไหล 3-4 มิลลิลิตรต่อนาที (ml/min) นำ SPE-C₁₈ ไปเป่าให้แห้งด้วยไนโตรเจนเหลว นาน 30 นาที จากนั้น elute เก็บสารละลายตัวอย่างด้วย 5% w/v NH₃HCOOH ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร เติม 6M HCl ปริมาตร 250 ไมโครลิตร (μL) ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer กรองสารละลายตัวอย่างผ่านกระดาษกรอง (syringe filter) ชนิด PTFE ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวด vial นำตัวอย่างไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Thorstensen *et al.*, 2000; Hammani *et al.*, 2017)

2.6.2 การสกัดตัวอย่างในดินและตะกอน ชั่งตัวอย่างดินและตะกอน 10±0.02 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสม methanol:water:acetic acid ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำตัวอย่างไป sonicate นาน 30 นาที ด้วยเครื่อง ultrasonic bath จากนั้นนำไปตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm/min นาน 10 นาที กรองสารละลายใส่ผ่านกระดาษ whatman no.1 ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดซ้ำอีกครั้ง สุดท้ายปรับปริมาตรด้วย methanol:water:acetic acid เป็น 50 มิลลิลิตร กรองสารละลายตัวอย่างผ่าน syringe filter ชนิด PTFE ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวด vial นำตัวอย่างไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Sutherland *et al.*, 2003)

2.6.3 การสกัดตัวอย่างในแผ่นผ้า นำตัวอย่างแผ่นผ้าขนาด 10x10 เซนติเมตร ใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสม methanol:water:acetic acid ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำตัวอย่างไป sonicate นาน 30 นาที ด้วยเครื่อง ultrasonic bath กรองสารละลายใส่ผ่านกระดาษ whatman no.1 ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดซ้ำอีกครั้ง สุดท้ายปรับปริมาตรด้วย methanol:water:acetic acid เป็น 50 มิลลิลิตร กรองสารละลายตัวอย่างผ่าน syringe filter ชนิด PTFE ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวด vial นำตัวอย่างไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Sutherland *et al.*, 2003)

2.6.4 การสกัดตัวอย่างในอ้อย ชั่งตัวอย่างอ้อย 10±0.02 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสม methanol:water:acetic acid ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 1 นาที จากนั้นเติม 4 กรัม MgSO₄ 1 กรัม NaCl 0.5 กรัม Na₂C₆H₆O₇ และ 1 กรัม Na₃C₆H₅O₇·H₂O เขย่าผสมให้เข้ากัน นำตัวอย่างไป sonicate นาน 30 นาที ด้วยเครื่อง ultrasonic จากนั้นนำไปตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm/min นาน 10 นาที กรองสารละลายใส่ผ่านกระดาษ whatman no.1 ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดซ้ำ 2 ครั้งด้วย methanol:water:acetic acid ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ สุดท้ายปรับปริมาตรด้วย methanol:water:acetic acid เป็น 50 มิลลิลิตร บีบอัดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร clean-up ด้วย 50 มิลลิกรัม PSA และ 300 มิลลิกรัม MgSO₄ เขย่าให้เข้ากัน นาน 1 นาที นำไปตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,500 rpm/min นาน 10 นาที

กรองสารละลายตัวอย่างผ่าน syringe filter ชนิด PTFE ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวด vial นำตัวอย่างไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Sutherland *et al.*, 2003; Anastassiades *et al.*, 2008)

2.7 เครื่อง Ultra-High Performance Liquid Chromatography ตัวตรวจวัดชนิด Diode Array (UHPLC-DAD) สภาวะการแยก Isocratic elution (Amarante *et al.*, 2003) ดังนี้

ชนิดคอลัมน์ (Column)	: BDS Hypersil™ C ₁₈ (ขนาด 250 x 4.6 mm; 5 μm)
สารตัวพา (Mobile phase)	: 5mM NH ₃ HCOOH (pH 4.00) และ Methanol อัตราส่วน (50:50)
อัตราการไหล (Flow rate)	: 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (mL/min)
ปริมาตรในการฉีด (Volume Injection)	: 20 ไมโครลิตร (μL)
ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max})	: 230 nm

2.8 คำนวณหาเวลาที่สารพิษสลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (Half-life, $t_{1/2}$) ในตัวอย่างน้ำ ดิน และตะกอน จากสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ โดย b ได้มาจากสมการ $y=ae^{bx}$ ซึ่งหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษและระยะเวลาหลังการปนสารพิษในช่วงเวลาต่างๆ

2.9 ประเมินสารพิษที่ปนเปื้อนบนร่างกายผู้ปนสาร และประเมินความเสี่ยงจากการใช้วัตถุมีพิษ คำนวณค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (Margin of Exposure, MOE) ตามหลักเกณฑ์ของ US. EPA โดยนำค่า NOAEL (No observed adverse effect level) หารด้วยปริมาณที่ได้รับ (Exposure) ซึ่งค่า MOE ที่คำนวณได้ให้นำมาเปรียบเทียบกับค่า Pesticide uncertainty factor เกณฑ์ที่กำหนด $MOE \geq 100$ คือ ความเสี่ยงที่ยอมรับได้

2.10 ประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคผลผลิตการเกษตร (Hazard Quotient, HQ) (US.EPA, 2005) โดยคำนวณหาปริมาณเฉลี่ยของสารพิษในผลผลิตการเกษตรที่คนได้รับจากการบริโภคต่อวันต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (Average Daily Dose, ADD) หารด้วยปริมาณสารเคมีที่มนุษย์สามารถรับเข้าสู่ร่างกายได้ทุกวัน โดยไม่ทำให้เกิดความผิดปกติใดๆ ต่อสุขภาพอนามัย (Reference Dose, RfD) เกณฑ์ที่กำหนด $HQ \leq 1$ ถือว่าผู้บริโภคสามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

สถานที่ทำการทดลอง

1. แปลงออย จังหวัดสุพรรณบุรี
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน 2,4-D ที่ 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.0561 0.1403 0.2807 1.1227 และ 7.0167 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/ml}$) โดยโครมาโทแกรม แสดงดัง Figure 2 ผลการทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง มีค่า correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 1.0000 แสดงดัง Figure 3

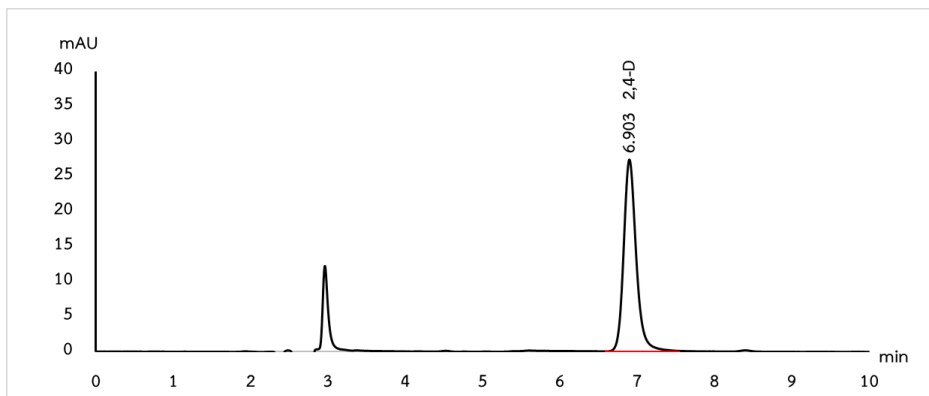


Figure 2 Chromatogram of 2,4-D.

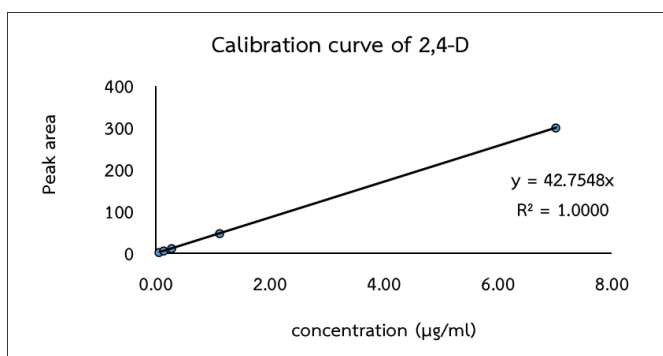


Figure 3 Calibration curve of 2,4-D standard solution 5 levels.

2. การหาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์

ทำการทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOD) ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (LOQ) และ ค่าร้อยละการได้คืนกลับ (%recovery) ในตัวอย่างน้ำ ดิน ตะกอน แผ่นผ้า และอ้อย โดย fortified สารมาตรฐาน 2,4-D ลงในตัวอย่างทดสอบ โดยทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ผลการทดสอบในน้ำ ดิน ตะกอน แผ่นผ้า และอ้อย มีค่า LOD เท่ากับ 0.25 $\mu\text{g/L}$ 0.03 mg/kg 0.03 mg/kg 0.05 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ และ 0.05 mg/kg ตามลำดับ ค่า LOQ เท่ากับ 0.85 $\mu\text{g/L}$ 0.10 mg/kg 0.10 mg/kg 0.20 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ และ 0.20 mg/kg ตามลำดับ และ ร้อยละการได้คืนกลับเท่ากับ 93.50, 88.11, 86.50, 95.11 และ 65.85% ตามลำดับ โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์ 2,4-D มีความถูกต้อง และแม่นยำ แสดงใน Table 1

Table 1 The results of Limit of Detection (LOD), Limit of Quantitation (LOQ) and percent recovery of 2,4-D in samples.

Samples	Concentration fortified	Average of percent recovery (n=3)	(LOD)	(LOQ)
Water	21.4188 µg/L	93.50	0.25 µg/L	0.85 µg/L
Soil	5.3547 mg/kg	88.11	0.03 mg/kg	0.10 mg/kg
Sediment	5.3547 mg/kg	86.50	0.03 mg/kg	0.10 mg/kg
Patch	1.0709 µg/100cm ²	95.11	0.05 µg/100cm ²	0.20 µg/100cm ²
Sugarcane	7.0167 mg/kg	65.85	0.05 mg/kg	0.20 mg/kg

สำหรับผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุม (control sample) ในน้ำ ดิน ตะกอน และอ้อย ไม่พบการตกค้างสารชนิด 2,4-D ในแปลงอ้อย ก่อนทำการพ่นสาร

3. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างน้ำ

ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างน้ำ ผลการตรวจวิเคราะห์ ไม่พบการตกค้าง แสดงใน Table 2 ซึ่งค่าการตรวจวัดทางเคมีในน้ำแปลงอ้อย มีค่าดังนี้ ค่า pH 7.20 และค่าการนำไฟฟ้า 320 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร (µS/cm) จากการทดลองพ่น 2,4-D ในแปลงอ้อย ซึ่งสภาพดินเป็นดินเหนียว ก่อนพ่นมีฝนตกหนักดินมีความชื้นและมีน้ำในเนื้อดินสูง โดยคุณสมบัติ 2,4-D สามารถละลายน้ำได้ (solubility in water 900 mg/L, 25°C) จึงเกิดการ leaching ลงไปในชั้นดินที่ลึกมาก และไม่เกิดการเคลื่อนย้าย (run-off) ลงไปสู่แหล่งน้ำ (Ghassemi, *et al.*, 1981) โดยค่ามาตรฐาน Maximum acceptable concentration (MAC) ในน้ำดื่มได้กำหนดไว้ไม่เกิน 0.10 mg/L (Guideline Technical Document for Public Consultation, 2020)

Table 2 The results pesticide residue analysis of 2,4-D in water.

Sample	2,4-D residue (µg/L) (n=3)									
	day0	day1	day3	day5	day7	day10	day15	day20	day30	Day60
Water	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Remark: ND = Not detected, LOD = 0.25 µg/L, LOQ = 0.85 µg/L

4. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างน้ำล้างมือ-น้ำล้างเท้า เกษตรผู้พ่นสาร

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในน้ำล้างมือ-น้ำล้างเท้าเกษตรกรผู้พ่นสารแปลงอ้อย ภายหลังจากพ่นครั้งที่ 1 และ 2 ผลการวิเคราะห์ในน้ำล้างมือคนพ่น พบตกค้าง ปริมาณ 1,524 และ 1,528 µg/L โดยปริมาณเฉลี่ย 1,526 µg/L และน้ำล้างเท้าคนพ่น ปริมาณ 203 และ 71 µg/L โดยปริมาณเฉลี่ย 137 µg/L แสดงใน Table 3 จากการตกค้าง 2,4-D ในน้ำล้างมือคนพ่นปริมาณที่สูง เนื่องจากเกษตรกรผู้พ่นสารได้ผสม 2,4-D สำหรับพ่น โดยไม่ได้ใส่อุปกรณ์ป้องกัน คือ ถุงมือยาง ทำให้เกษตรกรได้รับสัมผัสสารโดยตรง ส่วนน้ำล้างเท้าคนพ่นพบการตกค้าง เนื่องจากการพ่นเป็นลักษณะการเดินตามแถวยาวพ่นแนวตั้งส่วนยอดลงมา จึงทำให้ได้รับสัมผัสสารโดยตรง

Table 3 The results pesticide residue analysis of 2,4-D in hand wash water and feet wash water.

Farmer	2,4-D residue ($\mu\text{g/L}$)		average 2,4-D residue ($\mu\text{g/L}$)
	Spray no.1	Spray no.2	
Hand wash water	1,524	1,528	1,526
Feet wash water	203	71	137

Remark: ND = Not detected, LOD = 0.25 $\mu\text{g/L}$, LOQ = 0.85 $\mu\text{g/L}$

5. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างน้ำล้างมือคนเก็บอ้อย

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในน้ำล้างมือคนเก็บอ้อย ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวอ้อย 240 วัน ผลการตรวจวิเคราะห์ ไม่พบการตกค้าง แสดงใน Table 4 โดยผู้เก็บอ้อยวิเคราะห์ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว อ้อยจะดูดซึม 2,4-D ไปใช้ในกระบวนการเพิ่มขนาดเซลล์เนื้อเยื่อ มีผลให้อ้อยเจริญเติบโตได้ดีขึ้น (Gervais J.A., *et al.*, 2008)

Table 4 The results pesticide residue analysis of 2,4-D in picker's hand wash water.

Sample	2,4-D residue ($\mu\text{g/L}$)						
	1	2	3	4	5	6	7
Picker's hand wash water	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Remark: ND = Not detected, LOD = 0.25 $\mu\text{g/L}$, LOQ = 0.85 $\mu\text{g/L}$

6. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างดิน และตะกอน

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างดิน และตะกอน ผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างตะกอน ไม่พบการตกค้าง สำหรับตัวอย่างดิน พบการตกค้างที่ 0 และ 1 วัน ปริมาณ 0.22 และ 0.19 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งเมื่อระยะเวลาผ่านไปที่ 3 ถึง 60 วัน จะไม่พบการตกค้าง (โดยผู้เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-15 cm) แสดงใน Table 5 ผลการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีดินมีรายละเอียด ดังนี้ ค่า pH (6.6) EC (0.195 dS/m) OM (3.22%) Available P (49 mg/kg) Available K (127 mg/kg) Sand (11.6%) Silt (26.3%) Clay (62.1%) เนื้อดินจัดเป็นดินเหนียว จากค่าการวิเคราะห์ดินแปลงอ้อย เมื่อพ่น 2,4-D ลงไปในดินเหนียวที่มีค่า pH 6.6 โดยที่สภาวะดินก่อนพ่นเปียก มีความชื้นและน้ำในเนื้อดินสูง (ฝนตกต่อเนื่องที่ระยะเวลาหนึ่งสัปดาห์) ทำให้ 2,4-D ไม่ถูกจับกับดินเหนียว เกิดการ leaching ลงไปในชั้นดินที่ลึกมากขึ้น ภายในระยะเวลา 2 วัน จึงไม่พบการตกค้างที่ 3 ถึง 60 วัน จากการทบทวนเอกสาร การตกค้าง 2,4-D ในดินร่วนปนทราย ที่สภาวะฝนตก จะขึ้นอยู่กับค่า pH และค่า organic matter (OM) ซึ่งดินที่ pH 6.4 สารพิษ 2,4-D จะถูกดูดซับในเนื้อดินได้ที่ระยะเวลาสั้นๆ พบการตกค้างที่ระยะเวลา 1-3 วัน และดินที่ pH 3.25 สารพิษ 2,4-D จะถูกดูดซับในเนื้อดินได้นานกว่าดิน pH 6.4 พบการตกค้างที่ระยะเวลาประมาณ 7-30 วัน (JMPR/FAO, 1997) และ 2,4-D จะเกิดการ leaching ลงไปในชั้นดินที่ลึกมากขึ้น (สภาวะฝนตกและดินร่วนปนทราย) ที่ระยะเวลา 2 วัน 2,4-D จะเกิดการ leaching ที่ระดับความลึก 24 cm และที่ระยะเวลา 5 วัน จะเกิดการ leaching ที่ระดับความลึก 40 cm และพบการตกค้างในน้ำใต้ดินประมาณ 30 วัน (Ghassemi *et al.*, 1981) โดยค่ามาตรฐานที่กำหนดให้มีได้ในดิน <7,500 mg/kg (ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2564)

Table 5 The results pesticide residue analysis of 2,4-D residue in soil and sediment.

Samples	2,4-D residue (mg/kg) (n=3)									
	day0	day1	day3	day5	day7	day10	day15	day20	day30	Day60
Soil	0.22	0.19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Sediment	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Remark: ND = Not detected, LOD = 0.03 mg/kg, LOQ = 0.10 mg/kg										

7. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างแผ่นผ้า

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในแผ่นผ้าที่ติดตามบริเวณส่วนต่างๆของร่างกาย หลังการพ่นครั้งที่ 1 และ 2 ผลการตรวจวิเคราะห์ตามบริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกายมีปริมาณดังนี้ บริเวณหมวก 38.77, 1.36 จมูก 73.59, 4.20 บ่าทั้งสองข้าง 147.67, 22.73 ออกใน -, - ออกนอก 14.55, - ศอกทั้งสองข้าง 75.83, 17.59 หลังใน -, - หลังนอก 46.12, 5.69 ต้นขาทั้งสองข้าง 276.06, 209.68 แข้งใน 35.03, 12.82 และแข้งนอก 729.88, 845.50 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ ตามลำดับ แสดงใน Table 6 จากผลการทดลองจะพบบริเวณที่มีสารพิษ 2,4-D ตกค้างมากที่สุด คือ บริเวณส่วนแข้งนอกปริมาณ 729.88 และ 845.50 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ (เฉลี่ย 787.69 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$) รองลงมาคือส่วนบริเวณต้นขาทั้งสองข้างปริมาณ 276.06 และ 209.68 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ (เฉลี่ย 242.87 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$) เนื่องจากการพ่นของเกษตรกรเป็นลักษณะการเดินตามแถวยาวพ่นแนวตั้งส่วนยอดลงมา สภาพอากาศเย็น มีหมอกในตอนเช้า ความชื้นสัมพัทธ์สูง 65-85% และมีกระแสลมความเร็ว 10-20 กิโลเมตร/ชั่วโมง ละอองสารจึงเกิดการฟุ้งกระจาย ทำให้ละอองสาร 2,4-D จับกับแผ่นผ้าได้มากขึ้น จึงพบการตกค้างในปริมาณที่สูง (พยากรณ์อากาศเพื่อการเกษตร, 2565)

Table 6 The results pesticide residue analysis of 2,4-D in patch.

Region of body	2,4-D residue ($\mu\text{g}/100\text{cm}^2$)		Average 2,4-D residue ($\mu\text{g}/100\text{cm}^2$)
	Spray no.1	Spray no.2	
1. Head			
- Hat	38.77	1.36	20.07
- Nose	73.59	4.20	38.90
2. Shoulder	147.67	22.73	85.20
3. Chest			
- Chest in	ND	ND	-
- Chest out	14.55	ND	7.27
4. Elbow	75.83	17.59	46.71
5. Back			
- Back in	ND	ND	-
- Back out	46.12	5.69	25.91
6. Upper leg	276.06	209.68	242.87
7. Lower leg			
- Lower leg in	35.03	12.82	23.92
- Lower leg out	729.88	845.50	787.69
Remark: ND = Not detected, LOD = 0.05 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$, LOQ = 0.20 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$			

8. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างอ้อย

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างอ้อย ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 240 วัน ผลการตรวจวิเคราะห์ ไม่พบการตกค้าง แสดงใน Table 7 โดยอ้อยจะดูดซึม 2,4-D เข้าสู่ลำต้นผ่านระบบราก ซึ่ง 2,4-D จะทำหน้าที่คล้ายกับฮอร์โมนออกซิน (auxin) โดยมีผลทำให้ปริมาณ auxin เพิ่มสูงมากขึ้น ซึ่ง auxin จัดเป็น plant growth hormone โดยจะไปกระตุ้นเซลล์เนื้อเยื่อให้เกิดการขยายตัว ท่อลำเลียงอาหารมีขนาดเพิ่มมากขึ้น โดยมีการลำเลียงอาหารไปเลี้ยงส่วนต่างๆได้มากขึ้น ส่งผลให้ใบและขนาดลำต้นอ้อยขยายโตเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้จะมีการยับยั้งการเจริญเติบโตของตาข้าง เมื่ออ้อยใช้ 2,4-D ในกระบวนการดังกล่าวข้างต้น จึงไม่พบการตกค้าง 2,4-D ในอ้อย และจากสภาพแวดล้อมแปลงอ้อย ที่มีแสงแดดจัดและความชื้นสูง จึงทำให้ง่ายต่อการเกิดปฏิกิริยา photolysis และ hydrolysis เกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 5 วัน (Ghassemi *et al.*, 1981)

Table 7 The results pesticide residue analysis of 2,4-D in sugarcane.

Sample	2,4-D residue (mg/kg)						
	1	2	3	4	5	6	7
Sugarcane	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Remark: ND = Not detected, LOD = 0.05 mg/kg, LOQ = 0.20 mg/kg

9. การคำนวณระยะเวลาในการสลายตัวของ 2,4-D (Half-life, $t_{1/2}$) ในน้ำ ดิน และตะกอน

การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในตัวอย่างน้ำ ดิน และตะกอน ผลการวิเคราะห์ ไม่พบการตกค้างในน้ำและตะกอน จึงไม่สามารถกำหนดค่า half-life ได้ สำหรับตัวอย่างดิน พบการตกค้างที่ 0 และ 1 วัน ปริมาณ 0.22 และ 0.19 mg/kg ตามลำดับ จากนั้นนำค่าปริมาณที่วิเคราะห์ได้ไปพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษ 2,4-D ที่ตกค้าง และระยะเวลาหลังการพ่นสาร เพื่อหาค่าการสลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง ($t_{1/2}$) ด้วยสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ ผลการประเมิน พบค่า half-life ในดินที่ 2.5 วัน

10. ประเมินปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกายเกษตรกรและความเสี่ยงจากการใช้ 2,4-D ในแปลงอ้อย

ผลการคำนวณสารพิษตกค้าง 2,4-D ที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าในบริเวณส่วนต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ ส่วนศีรษะ (บริเวณหมวกและजूม) บ่า ออก (บริเวณอกในและอกนอก) ศอก หลัง (บริเวณหลังในและหลังนอก) ต้นขา และแข้ง (บริเวณแข้งในและแข้งนอก) พบมีการปนเปื้อนมากที่สุดบริเวณแข้ง ปริมาณ 79,533.30 และ 30,078.97 $\mu\text{g}/\text{region}$ รองลงมาคือบริเวณต้นขา ปริมาณ 48,294.39 และ 11,972.72 $\mu\text{g}/\text{region}$ และบริเวณศีรษะ ปริมาณ 730.34 และ 36.14 $\mu\text{g}/\text{region}$ ตามลำดับ

ผลการคำนวณผู้พ่นมีโอกาสปนเปื้อนสารพิษตกค้าง 2,4-D ในครั้งที่ 1 และ 2 ปริมาณ 19.34 และ 6.57 mg/kg bw/day ตามลำดับ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ประเมินระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสัมผัสสาร 2,4-D เข้าสู่ร่างกายผู้พ่นสาร โดยใช้เกณฑ์การประเมินจาก Pesticide Risk Assessment (US.EPA, 1999) ซึ่งได้กำหนดค่า NOAEL ที่ 25 mg/kg bw/day และ %Absorption ที่ 5.80 (US.EPA, 2005) เพื่อคำนวณหาค่า MOE ซึ่งได้ค่า MOE เท่ากับ 22.29 และ 65.64 ตามลำดับ จากการประเมิน พบว่าค่า MOE มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด จึงถือว่ามีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสาร (เกณฑ์ที่กำหนดค่า MOE ≥ 100 ถือว่าอยู่ในระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้) แสดงใน Table 8

Table 8 Risk assessment of 2,4-D in farmer.

Farmer	Spray No.	2,4-D (mg/kg bw/day)	% Absorption	Exposure (mg/kg bw/day)	NOAEL (mg/kg bw/day)	MOE	Risk
Sprayer	1	19.34	5.80	1.12	25	22.29	Risk
Sprayer	2	6.57	5.80	0.38	25	65.64	Risk

Remark: Absorbed dose or Exposure (mg/kg bw/day) = (concentration of 2,4-D (mg/kg bw/day) x %Absorption) / 100
 Margin of Exposure (MOE) = (NOAEL/Exposure)

11. ประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคผลอ้อย (Hazard Quotient, HQ)

จากการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอ้อย ผลการวิเคราะห์ ไม่พบการตกค้าง (เกณฑ์กำหนดค่า HQ ≤1) สรุปได้ว่าการใช้ 2,4-D ในแปลงอ้อย ผู้บริโภคสามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย จากรายงานได้กำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limits, MRLs) ในอ้อย 0.05 mg/kg (FAO/WHO, 2023)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช 2,4-D ในแปลงอ้อย จังหวัดสุพรรณบุรี สูตร 84% W/V SL อัตรา 240 มิลลิลิตรต่อน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ พ่นสาร 2 ครั้ง ระยะเวลาห่างกัน 30 วัน โดยใช้เทคนิคการพ่นด้วยเครื่องยนต์แรงดันน้ำสูง พ่นครั้งที่ 1 และ 2 เก็บตัวอย่างแผ่นผ้า น้ำล้างมือ-น้ำล้างเท้าคนพ่น หลังพ่นครั้งที่ 2 สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ดิน ตะกอน และอ้อย ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 2,4-D ในแผ่นผ้า พบบริเวณที่มี 2,4-D ตกค้างมากที่สุด คือ บริเวณส่วนแขนงอก ปริมาณเฉลี่ย 787.69 µg/100 cm² รองลงมาคือ ส่วนบริเวณต้นขา ปริมาณเฉลี่ย 242.87 µg/100 cm² น้ำล้างมือคนพ่น พบตกค้างปริมาณเฉลี่ย 1,526 µg/L น้ำล้างเท้าคนพ่น พบตกค้างปริมาณเฉลี่ย 137 µg/L ตัวอย่างดิน พบการตกค้างที่ 0 และ 1 วัน ปริมาณ 0.22 และ 0.19 mg/kg สำหรับตัวอย่างน้ำ น้ำล้างมือคนเก็บอ้อย ตะกอน และอ้อย ไม่พบการตกค้าง ผลการประเมินค่าการสลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life) ในดิน ที่ 2.5 วัน ผลการประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสารเข้าสู่ร่างกายของผู้พ่นสาร ค่าขอบเขตความปลอดภัย (MOE) มีค่า 22.29 และ 65.64 ซึ่งมีความเสี่ยงจากการรับสัมผัสสาร ไม่ปลอดภัยต่อการปฏิบัติงาน (เกณฑ์ MOE ≥100) ผลการประเมินความเสี่ยงต่อผู้บริโภคอ้อย (HQ) ผู้บริโภคสามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ (เกณฑ์กำหนด HQ ≤1) การใช้สารกำจัดวัชพืช 2,4-D เกษตรกรผู้พ่นสารควรระมัดระวังในการพ่นและควรใช้อุปกรณ์ป้องกัน เช่น หน้ากาก ถุงมือ รองเท้าบูท เป็นต้น และต้องปฏิบัติตามคำแนะนำในการใช้วัตถุอันตรายชนิด 2,4-D ของกรมวิชาการเกษตร อย่างเคร่งครัด

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เป็นข้อมูลสำหรับเกษตรกรเพื่อให้การใช้สาร 2,4-D เป็นไปอย่างระมัดระวังและถูกต้อง เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ตลอดจนสิ่งแวดล้อม
2. เป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตร ใช้พิจารณาประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้สารพิษ 2,4-D เพื่อใช้ประกอบการขอขึ้นทะเบียน หรือการห้ามใช้
3. เผยแพร่ข้อมูลที่ได้อู่สาธารณชน และหน่วยงานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนผู้ที่สนใจทั่วไป
4. เพื่อการบริหารจัดการควบคุมวัตถุพิษทางการเกษตรที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงภัยสูง ตามภารกิจของกรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง



- กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 2554. *คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2554*. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- ชนัชสันต์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์ และมนต์ทิศา วะชู. 2563. ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชบางชนิดต่อการควบคุมเห็บหมัดและความเป็นพิษต่อข้าวโพด. *วารสารเกษตรนเรศวร*.17(1):48-57.
- ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2564. กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. แหล่งข้อมูล <http://www.pcd.go.th/laws/25162> สืบค้น: 25 มกราคม 2566
- พยากรณ์อากาศเพื่อการเกษตร. 2565. พยากรณ์อากาศเพื่อการเกษตร. แหล่งข้อมูล <https://www.ryt9.com/s/tmd/3295281> สืบค้น: 20 ธันวาคม 2565
- สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล. 2564/65. รายงานสถานการณ์ การปลูก อ้อยปี การผลิต 2564/65. แหล่งข้อมูล <https://www.industry.go.th/th/agencies> สืบค้น: 2 ธันวาคม 2565
- 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. 2022. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid analytical standard 94-75-7. Available at: <https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/product/supelco/n10609>. Accessed : December 21, 2022
- Anastasiades, M., D.I. Kolberg, D. Mack, I. Sigalova, D. Roux and D. Fugel. 2008. Quick Method for the Analysis of Residues of Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin Involving Simultaneous Extraction with Methanol and LC-MS/MS Determination. 6:1-37.
- AOAC. 2016. Guidelines for Standard Method Performance Requirements: Official Method of Analysis, Association of Official Analytical Chemists. Available at: https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf. Accessed : May 1, 2023.
- de Amarante, O.P., Jr. N.M. Brito, T.C.R. dos Santos, G.S. Nunes and M.L. Ribeiro. 2003. Determination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis. *Talanta*. 60:115-121.
- FAO/WHO. 2023. Codex Pesticides Residues in Food Online Database. Available at: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/commodities-detail/en/?c_id=165. Accessed : January 25, 2023
- Gervais, J.A., B. Luukinen, K. Buhl and D. Stone. 2008. 2,4-D Technical Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. Available at: <https://www.npic.orst.edu/faactsheets/2,4-DTech.pdf>. Accessed : December 7, 2022
- Ghassemi, M., L. Fargo, P. Painter, S. Quinlivan, R. Scofield and A. Takata. 1981. Environmental Fates and Impacts of Major Forest Used Pesticides. *TRW Environmental Division*. 1-436.
- Guideline Technical Document for Public Consultation. 2020. 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) in Drinking Water. Water and Air Quality Bureau, Health Canada.
- Hammani, B., M. Bahri, S.B. Hassine and M.R. Driss. 2017. Development of Liquid Chromatography Separation and a Solid-Phase Extraction Method for Phenoxy Alkanoic Acid Herbicides in Water. *Modern Chemistry & Applications* 5:4:1-8.
- JMPR/FAO. 1997. Report of the 1997 Joint FAO/WHO Meeting of Experts: 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D).
- OECD. 1997. Method for measuring dermal exposure. Guidance Document for the Conduct of Studies of Occupational Exposure to Pesticides During Agricultural Application.

- 
- 
- Sutherland, D.J., G. Kim Stearman and M.J.M. Wells. 2003. Development of an Analytical Scheme for Simazine and 2,4-D in Soil and Water Runoff from Ornamental Plant Nursery Plots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:14-20.
- Thorstensen, C.W., O. Lode and A.L. Christiansen. 2000. Development of a Solid-phase Extraction Method for Phenoxy Acids and Bentazone in Water and Comparison to a Liquid-Liquid Extraction Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:5829-5833.
- Turner, J.M. 2017. *The Pesticide Manual: A World Compendium*. 8th ed. UK. British Crop Production Council.
- 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. 2005. Characterizing Risk and Hazard. Human Health Risk Assessment Protocol. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- US.EPA. 2005. Reregistration Eligibility Decision for 2,4-D. U.S. Environmental Protection Agency Office of Pesticides and Toxic Substance, Washington, D.C.



กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี





พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง (Screening method) สารปรับปรุงดิน
ปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม

Development of Screening Method for Marl, Dolomite, Hydrated lime
and Gypsum

จิตติรัตน์ ชูชาติ สุภา โปธิจันทร์ ญาณธิชา จิตต์สะอาด สงกรานต์ มะลิสรณ

พจมาลย์ ภูสาร กัญธรรมา คล้ายแก้ว กอริอะ บิลหาลี

Jittirat Choochat Supha Photichan Yanthicha Jittsa-aad Songkrant Malisorn

Pojjamarn Poosam Kanthana Klaigaew Korreah Binlee

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The objective of this study was to develop and validate a rapid, non-destructive technique for the determination of marl, dolomite, hydrated lime and gypsum in soil conditioners. For this purpose, x-ray diffraction (XRD) conditions were varied, and the method for concurrent detection of these substances was optimized. Scanning parameters like step size and time per step were experimented on measurement scan range 5 - 120 °2θ with Cu Kα energy ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) at 25 °C. The identification of these phases were performed using the Rietveld refinement method, simultaneously detecting them based on the 2θ of peak position and miller indices (*hkl*) values. Crystalline phases were confirmed using the search library match databases ICDD (PDF- 4). Depending on the observation, 6.12 seconds per step with a step size 0.0110° combination was found to be optimal in overall measurement time 5.33 minutes. XRD Diffractogram, position, intensities and d-spacing values of pure and crystalline standards under optimized conditions use to validate the XRD method, in which statistical validation parameters such as accuracy, precision and limit of detection. In summary, XRD method was validated, which can be used as screening method for the determination of marl, dolomite, hydrated lime and gypsum in soil conditioners.

Key words: Screening method, Method validation, X-ray Diffraction (XRD), Soil conditioners (Marl, Dolomite, Hydrated lime and Gypsum)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ที่มีความรวดเร็ว และไม่ทำลายตัวอย่าง สำหรับการตรวจคัดกรองปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ในผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) โดยการวิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ (Crystalline phase) ของสารปรับปรุงดิน โดยตั้งค่ามุมวิเคราะห์ $5 - 120^\circ 2\theta$ ใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็นโลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์ (λ) เท่ากับ 1.5406 \AA ที่ 25 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึก และส่วนประกอบเชิงแร่ ด้วยเทคนิค Rietveld refinement โดยอ้างอิงจากค่า 2θ ของตำแหน่งพีก และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก และตรวจสอบกับฐานข้อมูล ICDD (PDF-4) ทดสอบสถานะของเครื่องเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ในการตรวจวิเคราะห์คัดกรองผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน พบว่า การวิเคราะห์ด้วย step size ขนาด 0.0110° ใช้เวลาวิเคราะห์แต่ละ step 6.12 วินาที และใช้เวลาวิเคราะห์รวม 5.33 นาที ให้ค่า 2θ ของตำแหน่งพีกที่สามารถใช้จำแนกได้ว่าเป็นปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม และจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Validate) โดยหาความถูกต้อง และความเที่ยง ของตำแหน่งพีก (Position) ความสูงของพีก (Intensities) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) รวมทั้งหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ พบว่า สามารถนำวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) มาประยุกต์ใช้ในงานตรวจคัดกรองผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินได้

คำสำคัญ : วิธีการตรวจคัดกรอง, การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี, เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD), ผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน (ปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม)

คำนำ

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction; XRD) เป็นการวิเคราะห์แบบไม่ทำลายตัวอย่าง (Non-destructive analysis) ถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของสารประกอบและแร่ หรือการจัดเรียงตัวของอะตอมในโมเลกุลของสารประกอบต่างๆ ซึ่งเป็นองค์ประกอบของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ จะมีรูปแบบโครงสร้างผลึกที่จัดเรียงกันอย่างเป็นรูปแบบต่างๆ เมื่อลำแสงของรังสีเอกซ์ ตกกระทบกับผิวของผลึก รังสีเอกซ์จะเกิดการเลี้ยวเบน (Diffract) ในขณะที่บางส่วนจะผ่านทะลุลงไปยังผลึกที่อยู่ต่ำลงไป และจะเกิดการเลี้ยวเบนอีกครั้ง ทำให้รูปแบบ (XRD Pattern) ของการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์แตกต่างกันตามชนิดของสารประกอบ ผลการวิเคราะห์จาก XRD ทำให้สามารถแยกประเภท และชนิดของวัสดุว่ามีรูปแบบโครงสร้างผลึกแบบใด หรือจำแนกได้ว่าวัสดุนั้นเป็นแร่ชนิดใด โดยทำการวัดค่าความเข้มของรังสีที่สะท้อนออกมาที่มุมต่าง ๆ โดยที่ขนาดและประจุของอะตอม ของสารประกอบแต่ละชนิดจะมีรูปแบบ (XRD pattern) เฉพาะตัว เปรียบได้กับลายนิ้วมือของคนที่แตกต่างกัน หลังจากนั้น นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลมาตรฐานที่ทำการตรวจวัดโดยองค์กร The International Centre for Diffraction Data ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์เหล่านั้นจริง (Reid *et al.*, 2006; ICDD, 2019)

งานวิจัยนี้จึงได้นำเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction; XRD) มาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน โดยศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบต่างๆ ที่ทำให้สามารถแยกประเภทชนิดของวัสดุ หรือสิ่งเจือปนในผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินได้ (Reid *et al.*, 2006) โดยมุ่งเน้นที่จะนำมาใช้ในการตรวจคัดกรอง เพื่อตรวจสอบว่าผลิตภัณฑ์นั้นเป็นปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม หรือมีส่วนผสมของปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ตามที่ระบุบนฉลากหรือไม่ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินที่มีการใช้ทางการเกษตรมีจำนวนมาก และหลากหลายราคา จึงจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินให้ครอบคลุมมากขึ้น และสอดคล้องกับสถานการณ์การใช้งานในปัจจุบันมากขึ้น (Tamer, 2013; Shinde *et al.*, 2019)

นอกจากนี้การนำเทคโนโลยีเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction; XRD) เข้ามาใช้มีข้อดีคือ ประหยัด รวดเร็ว ใช้ตัวอย่างน้อย ไม่ใช้สารเคมี ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถนำวิธีที่พัฒนาได้ไปตรวจสอบและอ้างอิงได้ตามฐานสากล โดยมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ตามมาตรฐานสากล โดยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณ โดยตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ความถูกต้อง (Trueness) จำเพาะเจาะจง (Selectivity/Specificity) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ เพื่อเป็นการยืนยันว่าวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรองที่พัฒนาขึ้น มีความถูกต้อง จำเพาะเจาะจงกับตัวอย่าง และเหมาะสมที่จะใช้เป็นวิธีมาตรฐานห้องปฏิบัติการได้ (ICH, 2005; Eckardt *et al.*, 2012; Gaudin *et al.*, 2017; Döbelin, 2020)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction; XRD)
- เครื่องบด XRD-mill
- ที่ใส่ตัวอย่าง (Sample holder)
- เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทดสอบ

2. สารเคมี

- สารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนตความบริสุทธิ์ 99.6% (CaCO_3 , purity 99.6%, Merck Germany)
- สารมาตรฐานแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตความบริสุทธิ์ 98.0% ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, purity 98.0%, Central Geological Laboratory, Mongolia)
- สารมาตรฐานแคลเซียมไฮดรอกไซด์ความบริสุทธิ์ 95.7% ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, purity 95.7%, Sigma Aldrich, USA)
- สารมาตรฐานแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรตความบริสุทธิ์ 99.7% ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, purity 99.7%, Merck, Germany)
- Isopropyl alcohol

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์สารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน และสารมาตรฐานอ้างอิง สำหรับการใช้ในการวิเคราะห์ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ประกอบด้วย สารมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนตความบริสุทธิ์ 99.6% (CaCO_3 , purity 99.6%, Merck Germany) สารมาตรฐานแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตความบริสุทธิ์ 98.0% ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, purity 98.0%, Central Geological Laboratory, Mongolia) สารมาตรฐานแคลเซียมไฮดรอกไซด์ความบริสุทธิ์ 95.7% ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, purity 95.7%, Sigma Aldrich, USA) สารมาตรฐานแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรตความบริสุทธิ์ 99.7% ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, purity 99.7%, Merck, Germany) และตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินปริมาณ 1 - 2 กรัม ในรูปของแข็งที่เป็นผงขนาดเล็กกว่า 45 ไมครอน จะถูกบรรจุลงใน Sample holder ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 27 มิลลิเมตร ความหนา 2 มิลลิเมตร และอัดด้วยแรงสม่ำเสมอเท่ากันทุกทิศทางจนมีผิวหน้าเรียบ และมีการจัดเรียงตัวของผลึกอย่างอิสระ (random orientation)

2. การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

ตัวอย่างสารมาตรฐาน และผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน จะถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ยี่ห้อ PANalytical ใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็นโลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์ (λ) เท่ากับ 1.5406 Å ที่ 25 องศาเซลเซียส (Cu anode, K α at wavelength 1.5406 Å at 25 °C) วิเคราะห์ด้วยมุม 5 – 120 องศา (5 - 120 °2 θ) รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) ถูกประเมินด้วยเทคนิค Rietveld Refinement โดยใช้โปรแกรม PANalytical X'Pert High Score Plus (Ver. 4.9a (4.9.1.29739) 2021; Malvern PANalytical B.V. Almelo, The Netherlands) เพื่อตรวจสอบชนิดของสารประกอบ ข้อมูลโครงสร้างผลึก และส่วนประกอบเชิงแร่ (Crystalline phase) ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอ้างอิงจากค่า 2 θ ของตำแหน่งพีค (Position) คาระนาบระหวางผลึก (d-spacing) และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก (miller indices (hkl) values) และตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) (ICDD, 2019)

3. การวิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึก และส่วนประกอบเชิงแร่ ด้วยเทคนิค Rietveld refinement

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Rietveld refinement เป็นการเปรียบเทียบระหว่างผลการวิเคราะห์ XRD ที่ได้จากการทดลองกับแบบจำลองโครงสร้างที่กำหนดขึ้น โดยหลักการของ Rietveld refinement จะประเมินรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) ที่ได้จากการทดลอง กับรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) ของแบบจำลองโครงสร้างที่คำนวณขึ้นมา โดยมีพารามิเตอร์ในการคำนวณเพื่อสร้างแบบจำลองสมการ และพิจารณาค่า R Factors ; R_p , R_{exp} , R_{wp} ควรมีค่าน้อยกว่า 15 ถือเป็นค่าที่เหมาะสม และมีค่าน้อยกว่า 10 ถือเป็นค่าที่ดีที่สุด ในขณะที่ค่า Goodness of fit (GOF); X^2 ควรมีค่าน้อยกว่า 4 จึงจะทำให้ผลการคำนวณมีค่าผิดพลาดน้อยกว่า $\pm 5\%$ (Rietveld, 1969; Young 1993; Toby, 2006)

ข้อมูลแสดงลักษณะเฉพาะ (Profile Factor; R_p)

$$R_p = 100 \frac{\sum_i |y_i^{obs} - y_i^{calc}|}{\sum_i y_i^{obs}}$$

แฟกเตอร์ของข้อมูลโดยน้ำหนัก (Weighted Profile Factor; R_{wp})

$$R_{wp} = 100 \left[\frac{\sum_i |y_i^{obs} - y_i^{calc}|^2}{\sum_i w_i y_i^{obs}^2} \right]^{\frac{1}{2}}$$

แฟกเตอร์ค่าความคาดหวัง (Expected Factor; R_{exp})

$$R_{exp} = 100 \left[\frac{n-p}{\sum_i w_i y_i^{obs}^2} \right]^{\frac{1}{2}}$$

ค่าความถูกต้อง (Goodness of fit (GOF); X^2)

$$X^2 = \left[\frac{R_{wp}}{R_{exp}} \right]^2$$

เมื่อ	R_p	คือ	ค่าน้อยที่สุดที่ได้จากสมการกำลังสองน้อยสุด (Least-square)
	R_{wp}	คือ	ค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนักของความสูงพีคที่อยู่เหนือสัญญาณพื้นหลัง
	R_{exp}	คือ	ค่าประมาณที่ดีที่สุดสำหรับชุดข้อมูล
	n	คือ	จำนวนของข้อมูลทั้งหมด
	p	คือ	จำนวนพารามิเตอร์ที่ปรับแต่ง
	X^2	คือ	ค่าความถูกต้อง
	y_i^{obs}	คือ	Pattern ที่ได้จากการทดลอง

y_i^{calc} คือ Pattern ของแบบจำลองโครงสร้างที่คำนวณขึ้นจากการทดลอง
 w_i คือ ค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนัก (Statistical Weight) ที่ได้จากการทดลอง

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง

ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง ตามแนวทางของ ICH Q2(R1) Guideline (ICH, 2005) ทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ในการวิเคราะห์สารมาตรฐานผสม CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ อัตรา 1 : 1 : 1 : 1 โดยทำการทดสอบ step size ขนาดต่างๆ ได้แก่ 0.1087° , 0.0435° และ 0.0110° และเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์แต่ละ step (Time per step) เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์เพื่อจำแนกระบุโครงสร้างและส่วนประกอบ ผลึกเชิงคุณภาพ ทดสอบความเที่ยง (Precision) ของตำแหน่งพีค (Position) ความสูงของพีค (Intensities) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) ประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%relative standard deviation, %RSD) โดยทดสอบสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จำนวน 7 ซ้ำ พิจารณาค่า %RSD ของตำแหน่งพีค (Position) ความสูงของพีค (Intensities) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) โดยกำหนดให้ค่าเกณฑ์การยอมรับ %RSD ต้องมีค่าน้อยกว่า 2% และตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) สามารถจำแนกได้ว่าเป็นสาร CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ จึงผ่านเกณฑ์การทดสอบเชิงปริมาณ ทดสอบความเที่ยง (Precision) และความถูกต้อง (Accuracy) ของปริมาณสารมาตรฐานผสม CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ อัตรา 1 : 1 : 1 : 1 (ปริมาณ 25.34 : 24.94 : 24.35 : 25.37 %) ตามลำดับ จำนวน 7 ซ้ำ ความเที่ยง (Precision) ประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%relative standard deviation, %RSD) %RSD ต้องมีค่าน้อยกว่า 2% ความถูกต้อง (Accuracy) ประเมินจากค่าร้อยละการคืนกลับ (%recovery) และนำค่าที่ได้มาคำนวณ %recovery เกณฑ์การยอมรับ 95 - 105% (ICH, 2005) และหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ โดยทำการเติมสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 0.5 – 10% ลงในผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน $\text{Mg}(\text{OH})_2$ พิจารณารูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) ที่ปรากฏตำแหน่งและความสูงของพีคที่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot$ (ICH, 2005; Eckardt *et al.*, 2012; Gaudin *et al.*, 2017; Döbelin, 2020)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565
สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD)

ผลการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) ในการวิเคราะห์สารมาตรฐานผสม CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ โดยทำการทดสอบ step size ขนาดต่างๆ ได้แก่ 0.1087° , 0.0435° และ 0.0110° และเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์แต่ละ step (Time per step) เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์เพื่อจำแนกระบุโครงสร้างผลึก และส่วนประกอบเชิงแร่ พบว่า ที่ step size ขนาด 0.1087° พีคมีความสูง (Intensities) อยู่ระหว่าง 3,000 – 5,000 ในขณะที่ step size ขนาด 0.0435° พีคมีความสูง อยู่ระหว่าง 5,000 – 15,000 และการวิเคราะห์โดยใช้ step size ขนาด 0.0110° ให้ความสูงของพีคสูงที่สุด (22,000 – 80,000) เมื่อใช้เวลาในการวิเคราะห์ 5.33 นาที โดยปรากฏตำแหน่งพีค 2θ ของสารมาตรฐาน CaCO_3 ที่ตำแหน่ง 29.37° (1 0 4), 35.96° (1 1 0), 39.40° (1 1 3), 43.15° (2 0 2), 47.47° (0 1 8) และ 48.47° (1 1 6) มีความสูงของพีค เท่ากับ $6,878 \pm 67$, 758 ± 14 , 957 ± 14 , 805 ± 12 , $1,129 \pm 17$ และ $1,118 \pm 8$ ตามลำดับ สารมาตรฐาน $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ปรากฏพีคที่ ตำแหน่ง 31.00° (1 0 4), 33.58° (0 0 6), 41.19° (1 1 3), 44.99° (2 0 2), 50.56° (0 1 8) และ 51.11° (1 1 6) มีความสูงของพีค เท่ากับ $14,133 \pm 68$, 522 ± 10 , 986 ± 18 , 530 ± 10 , $1,146 \pm 17$ และ $1,003 \pm 9$ ตามลำดับ สารมาตรฐาน $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ปรากฏพีคที่ ตำแหน่ง 18.05° (0 0 1), 28.67° (1 0 0), 34.10° (1 0 1), 47.10° (1 0 2), 50.78° (1 1 0) และ 54.34° (1 1 1) มีความสูงของพีค เท่ากับ $1,117 \pm 20$, 435 ± 8 , $1,640 \pm 27$, 521 ± 7 , 515 ± 9 และ 239 ± 4 ตามลำดับ และสารมาตรฐาน $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ปรากฏพีคที่ตำแหน่ง 11.59° (0 2 0), 20.72° (0 2 1), 23.40° (0 4 0), 29.10° (0 4 1), 35.40° (0 6 0) และ 47.83° (0 8 0) มีความสูงของพีค เท่ากับ $81,185 \pm 65$, $2,625 \pm 35$, $10,976 \pm 195$, $4,318 \pm 43$, 360 ± 6 และ 982 ± 10 ตามลำดับ (Figure 1) ซึ่งจะเห็นได้ว่าขนาดของ step size และเวลาในการวิเคราะห์ส่งผลต่อความสูงของพีค (ICDD, 2019; Uvarov, 2019)

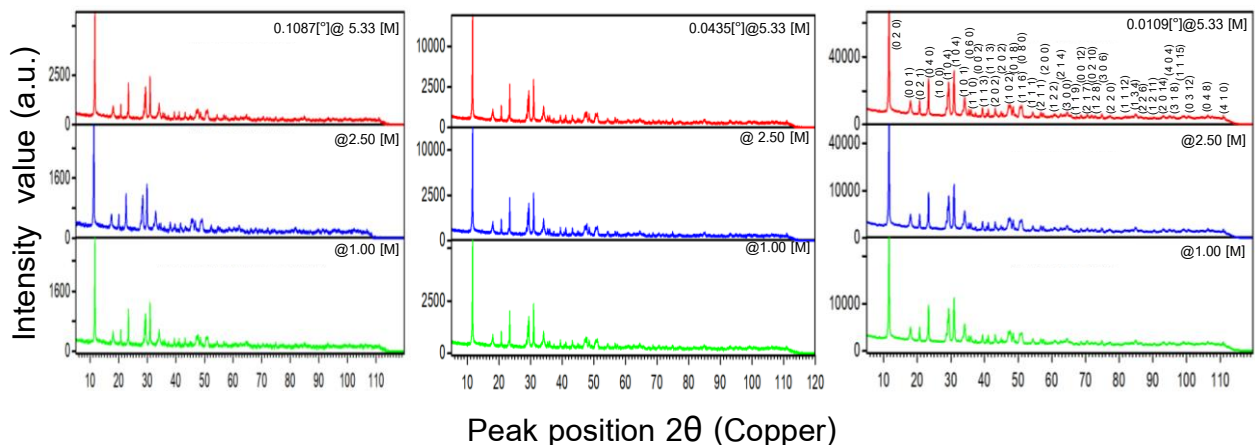


Figure 1. Observed XRD patterns during scanning optimization of CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ standards

2. การศึกษาโครงสร้างผลึก และส่วนประกอบเชิงแร่ (Phase identification) เทคนิค Rietveld refinement

การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกและ ส่วนประกอบเชิงแร่ด้วย XRD ของตัวอย่างสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ด้วยเทคนิค Rietveld refinement พบว่า รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) ของสารมาตรฐาน CaCO_3 ปรากฏตำแหน่งพีค 2θ ที่ 29.37° , 35.96° , 39.40° ,

43.15°, 47.47° และ 48.47° ตามลำดับ สารมาตรฐาน $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ปรากฏตำแหน่งพีค 2 θ ที่ 31.00°, 33.58°, 41.19°, 44.99°, 50.56° และ 51.11° ตามลำดับ สารมาตรฐาน $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ปรากฏตำแหน่งพีค 2 θ ที่ 18.05°, 28.67°, 34.10°, 47.10°, 50.78° และ 54.34° ตามลำดับ และสารมาตรฐาน $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ปรากฏตำแหน่งพีค 2 θ ที่ 11.59°, 20.72°, 23.40°, 29.10°, 35.40° และ 47.83° ตามลำดับ สามารถเทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) พบว่าสารมาตรฐาน CaCO_3 สอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD 01-072-1937 ซึ่งระบุว่าเป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต หรือแร่แคลไซต์ (Calcite) ที่มีโครงสร้างผลึกแบบบรอมโบฮีดรัล (Rhombohedral) เช่นเดียวกับกับสารมาตรฐาน $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ สอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD 00-036-0426 ที่ระบุว่าเป็นโครงสร้างผลึกแบบบรอมโบฮีดรัล (Rhombohedral) ของสารประกอบแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต หรือแร่โดโลไมท์ (Dolomite) และสารมาตรฐาน $\text{Ca}(\text{OH})_2$ สอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD 00-044-1481 ที่เป็นสารประกอบแคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือแร่พอร์ตแลนด์ (Portlandite) ที่มีโครงสร้างผลึกแบบเฮกซะโกนอล (Hexagonal) ในขณะที่สารมาตรฐาน $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ สอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD 00-033-0311 ซึ่งเป็นสารประกอบแคลเซียมซัลเฟตไฮเดรต หรือแร่ยิปซัม (Gypsum) ที่มีโครงสร้างผลึกแบบโมโนคลินิก (Monoclinic) (ICDD, 2019) (Figure 2 and Table 1)

ผลการตรวจสอบชนิดของสารประกอบ ข้อมูลโครงสร้างผลึก และส่วนประกอบเชิงแร่ของสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้แบบจำลองโครงสร้างที่กำหนดขึ้นด้วยเทคนิค Rietveld refinement และฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (ICDD, 2019) พบว่ารูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) สอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD ซึ่งระบุได้ว่าเป็นแร่ Calcite, Dolomite, Portlandite และ Gypsum ตามลำดับ โดยผลวิเคราะห์สารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ มีค่า R_p เท่ากับ 11.06, 12.32, 11.96 และ 9.01 มีค่า R_{exp} เท่ากับ 10.85, 4.71, 3.60 และ 5.84 มีค่า R_{wp} เท่ากับ 14.35, 14.97, 14.35 และ 13.62 และมีค่า $GOF (X^2)$ เท่ากับ 1.32, 3.18, 3.98 และ 2.33 ตามลำดับ ซึ่งค่า R_p , R_{exp} , R_{wp} มีค่าน้อยกว่า 15 และค่า $GOF (X^2)$ มีค่าน้อยกว่า 4 แสดงว่า ข้อมูลผลการวิเคราะห์มีความสอดคล้องกับฐานข้อมูลอ้างอิงที่จะจำแนกสารประกอบได้อย่างถูกต้องสูง (Table 1) ทั้งนี้ ผลการวิเคราะห์โดยอ้างอิงจากค่า 2 θ ของตำแหน่งพีค และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก ของสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ พบพีคที่ดีที่สุดสำหรับการวิเคราะห์จำแนกอยู่ที่ 29.3717° (hkl : (1 0 4)), 31.0007° (hkl : (1 0 4)), 34.1024° (hkl : (1 0 1)) และ 11.5882° (hkl : (0 2 0)) ตามลำดับ ซึ่งมีค่าระยะห่างผลึก (d-spacing) เท่ากับ 3.041, 2.885, 2.631 และ 7.626 Å ตามลำดับ (Table 2) สอดคล้องกับฐานข้อมูลที่มีพีคอ้างอิง (Reference peak) ของ ICDD ในการจำแนกคือ 29.3685° (hkl : (1 0 4)), 30.9381° (hkl : (1 0 4)), 34.1013° (hkl : (1 0 1)) และ 11.5882° (hkl : (0 2 0)) และค่าระยะห่างผลึก (d-spacing) เท่ากับ 3.039, 2.888, 2.627 และ 7.630 Å ตามลำดับ ซึ่งพีคเหล่านี้สูงที่สุดและไม่ทับซ้อนกับพีคอื่น (Zhao et al., 2017; Uvarov, 2019)

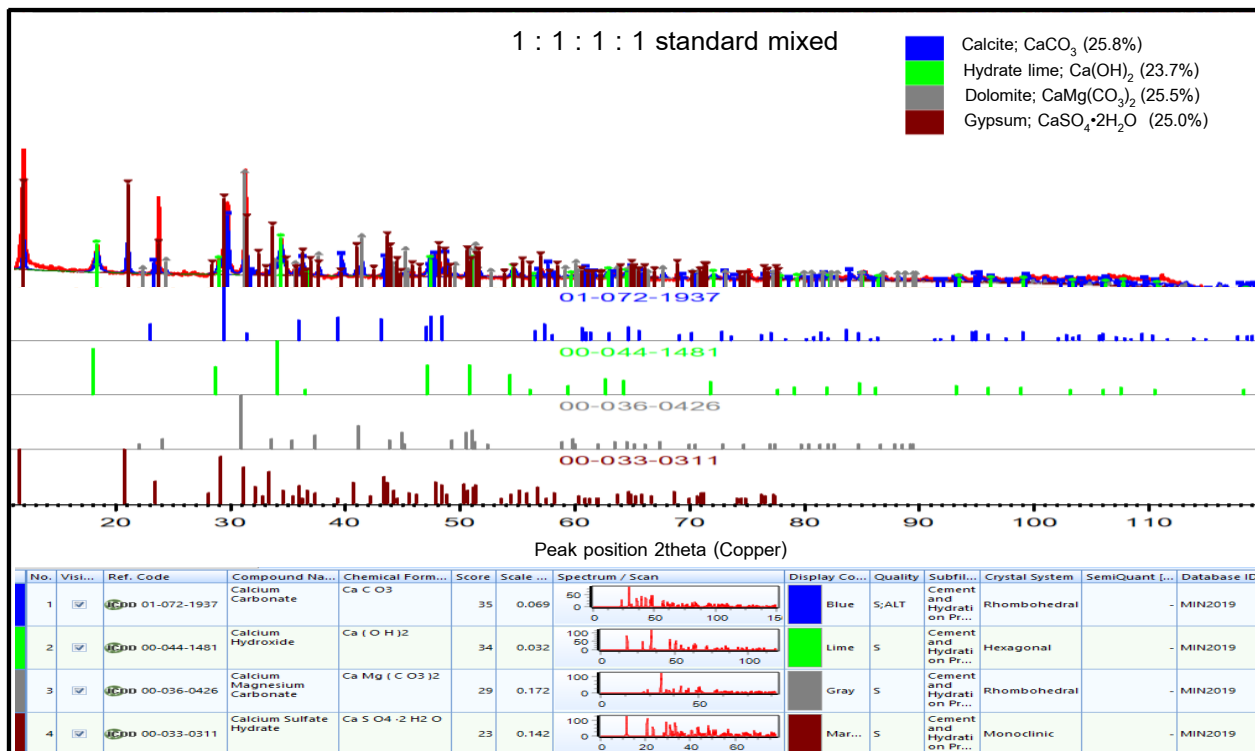


Figure 2. Phase analysis of CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ diffraction patterns on scanning optimization at ICDD databases

Table 1 Observed crystallographic information of CaCO₃, CaMg(CO₃)₂, Ca(OH)₂ and CaSO₄•2H₂O phases

General Parameters	Reference database ICDD Code			
	01-072-1937	00-036-0426	00-044-1481	00-033-0311
Scan axis	Gonio			
Start scan position	5.0054 [°2 θ]			
End scan position	119.9994 [°2 θ]			
Step size	0.0109 [°2 θ]			
Scan step time	6.1200 [s] 5.33 [M]			
Type of scan	Continuous			
Cu K- α	1.5406 [Å]			
Cu K- α 2	1.5444 [Å]			
Cu K-Beta	1.3922 [Å]			
Compound name	<i>Calcium Carbonate</i>	<i>Calcium Magnesium Carbonate</i>	<i>Calcium Hydroxide, Hydrated lime</i>	<i>Calcium Sulfate Dihydrate</i>
Mineral name	<i>Calcite</i>	<i>Dolomite</i>	<i>Portlandite</i>	<i>Gypsum</i>
Chemical formula	CaCO ₃	CaMg(CO ₃) ₂	Ca(OH) ₂	CaSO ₄ •2H ₂ O
Space group	R-3c (167)	R-3 (148)	P-3m1 (164)	C2/c (15)
Crystal system	Rhombohedral	Rhombohedral	Hexagonal	Monoclinic
a [Å]	4.994	4.809	3.590	6.285
b [Å]	4.999	4.809	3.590	15.208
c [Å]	17.081	16.020	4.916	5.678
α (Alpha) [°]	90.00	90.00	90.00	90.00
β (Beta) [°]	90.00	90.00	90.00	114.09
γ (Gamma) [°]	120.00	120.00	120.00	90.00
Profile	Pseudo Voigt	Pseudo Voigt	Pseudo Voigt	Pseudo Voigt
R (profile); <i>R_p</i>	11.06	12.32	11.96	9.01
R (expected); <i>R_{exp}</i>	10.85	4.71	3.60	5.84
R (weighted profile); <i>R_{wp}</i>	14.35	14.97	14.35	13.62
GOF; χ^2	1.32	3.18	3.98	2.33
Density g/cm ³	2.7053	2.8688	2.242	2.32
Cell volume (Å ³)	368.93	320.88	54.87	495.37

Table 2 Reproducibility data's of profiling (position, intensities, d-spacing, and FWHM values) of CaCO₃, CaMg(CO₃)₂, Ca(OH)₂ and CaSO₄•2H₂O standards under optimized conditions

miller indices (hkl) values	[°2θ]	Average of peak profiling results (n = 7)							
		RSD [%]	Peak intensity [cts]	Relative intensity [%]	RSD [%]	d-spacing [Å]	RSD [%]	FWHM [°2θ]	RSD [%]
CaCO₃									
(1 0 4)	29.3717	0.01	6,878 ± 67	100.00	0.97	3.041 ± 0.0003	0.01	0.130 ± 0.0001	0.00
(1 1 0)	35.9562	0.03	758 ± 14	9.64	1.84	2.498 ± 0.0008	0.03	0.130 ± 0.0001	0.00
(1 1 3)	39.4011	0.01	957 ± 14	13.91	1.46	2.287 ± 0.0001	0.01	0.130 ± 0.0001	0.00
(2 0 2)	43.1456	0.01	805 ± 12	11.71	1.49	2.097 ± 0.0001	0.01	0.130 ± 0.0001	0.00
(0 1 8)	47.4747	0.01	1,129 ± 17	16.41	1.50	1.915 ± 0.0001	0.01	0.130 ± 0.0001	0.00
(1 1 6)	48.4702	0.01	1,118 ± 8	16.26	0.71	1.879 ± 0.0001	0.01	0.130 ± 0.0001	0.00
CaMg(CO₃)₂									
(1 0 4)	31.0007	0.01	14,133 ± 68	100.00	0.48	2.885 ± 0.0002	0.01	0.173 ± 0.0001	0.00
(0 0 6)	33.5754	0.02	522 ± 10	3.69	1.91	2.669 ± 0.0004	0.02	0.173 ± 0.0001	0.00
(1 1 3)	41.1909	0.02	986 ± 18	6.98	1.82	2.192 ± 0.0005	0.02	0.173 ± 0.0001	0.00
(2 0 2)	44.9912	0.01	530 ± 10	3.70	1.88	2.015 ± 0.0002	0.01	0.173 ± 0.0001	0.00
(0 1 8)	50.5635	0.01	1,146 ± 17	8.11	1.48	1.805 ± 0.0002	0.01	0.173 ± 0.0001	0.00
(1 1 6)	51.1082	0.01	1,003 ± 9	7.09	0.89	1.787 ± 0.0001	0.00	0.173 ± 0.0001	0.00
Ca(OH)₂									
(0 0 1)	18.0516	0.03	1,117 ± 20	68.12	1.79	4.914 ± 0.0013	0.03	0.217 ± 0.0001	0.00
(1 0 0)	28.6736	0.01	435 ± 8	26.52	1.83	3.113 ± 0.0009	0.03	0.217 ± 0.0001	0.00
(1 0 1)	34.1024	0.02	1,640 ± 27	100.00	1.64	2.631 ± 0.0004	0.02	0.217 ± 0.0001	0.00
(1 0 2)	47.1038	0.02	521 ± 7	31.47	1.34	1.929 ± 0.0004	0.02	0.217 ± 0.0001	0.00
(1 1 0)	50.7797	0.02	515 ± 9	31.39	1.74	1.798 ± 0.0003	0.02	0.217 ± 0.0001	0.00
(1 1 1)	54.3379	0.01	239 ± 4	14.07	1.67	1.688 ± 0.0006	0.03	0.217 ± 0.0001	0.00
CaSO₄•2H₂O									
(0 2 0)	11.5882	0.01	81,185 ± 653	100.00	0.80	7.626 ± 0.0104	0.14	0.108 ± 0.0001	0.00
(0 2 1)	20.7236	0.02	2,625 ± 35	3.32	1.33	4.284 ± 0.0008	0.02	0.108 ± 0.0001	0.00
(0 4 0)	23.3970	0.01	10,976 ± 195	13.52	1.77	3.802 ± 0.0003	0.01	0.108 ± 0.0001	0.00
(0 4 1)	29.1043	0.01	4,318 ± 43	5.32	0.99	3.068 ± 0.0001	0.00	0.108 ± 0.0001	0.00
(0 6 0)	35.3970	0.01	360 ± 6	1.21	1.66	2.535 ± 0.0005	0.02	0.108 ± 0.0001	0.00
(0 8 0)	47.8288	0.00	982 ± 10	0.47	1.01	1.902 ± 0.0001	0.00	0.108 ± 0.0001	0.00

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง

ผลการทดสอบความเที่ยง (precision) ของวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรองเชิงคุณภาพ ในการตรวจคัดกรองเพื่อจำแนกโครงสร้างผลึก และส่วนประกอบเชิงแร่ โดยการประเมิน %RSD ของตำแหน่งพีค (Position) ความสูงของพีค (Intensities) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) โดยทดสอบสารมาตรฐาน CaCO₃, CaMg(CO₃)₂, Ca(OH)₂ และ CaSO₄•2H₂O ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (Döbelin, 2020) พบว่า แต่ละตำแหน่งพีคของสารมาตรฐาน CaCO₃, CaMg(CO₃)₂, Ca(OH)₂ และ CaSO₄•2H₂O มีค่า %RSD อยู่ระหว่าง 0.00 - 0.03%

ความสูงของพีค มีค่า %RSD อยู่ระหว่าง 0.48 - 1.91% และค่าระนาบระหว่างผลึก มีค่า %RSD อยู่ระหว่าง 0.00 - 0.14% มีค่าน้อยกว่า 2% ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และตรวจสอบความถูกต้องของการจำแนกกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) พบว่า ตำแหน่งพีคที่ใช้ในการจำแนกสาร CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ตรงกับ hkl : (1 0 4), hkl : (1 0 4), hkl : (1 0 1) และ hkl : (0 2 0) ตามลำดับ โดยพีคเหล่านี้เป็นพีคที่มี Relative intensity เท่ากับ 100% (Zhao *et al.*, 2017; ICDD, 2019) (Table 2 and Figure 3) ผลการทดสอบความเที่ยง (precision) และความถูกต้อง (Accuracy) เชิงปริมาณของสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 25.34 : 24.94 : 24.35 : 25.37 % ตามลำดับ พบว่า มีค่า %RSD เท่ากับ 1.15, 1.82, 1.71 และ 1.09 ตามลำดับ มีค่าน้อยกว่า 2% ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และมีค่า %recovery เท่ากับ 102.44, 100.93, 95.63 และ 100.85 ตามลำดับ อยู่ระหว่าง 95 - 105% ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (Table 3) และผลการทดสอบหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ โดยทำการเติมสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 0.5 - 10 % ลงในผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน $\text{Mg}(\text{OH})_2$ พิจารณารูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) พบว่า ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เท่ากับ 2 % และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ เท่ากับ 4 % (Figure 4)

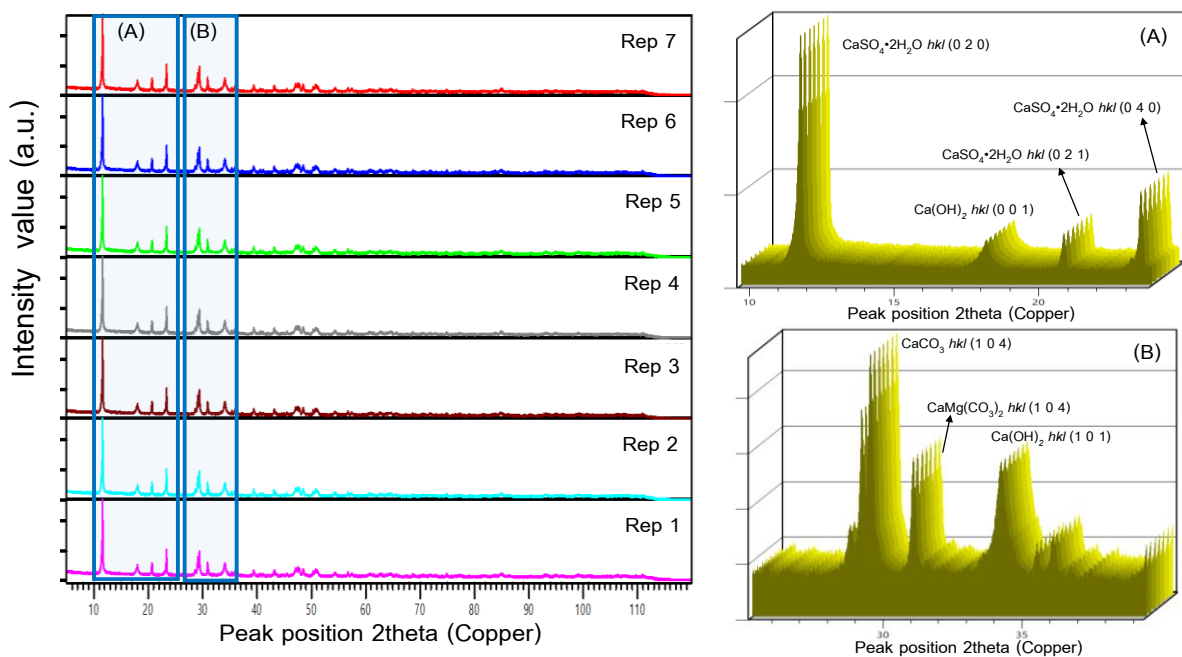


Figure 3 XRD patterns of repeatability ($n = 7$) studies for CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ phase identifications at the optimized conditions

Table 3 Accuracy and precision on weight fraction quantifications for 1 : 1 : 1 : 1 (25.34 : 24.94 : 24.35 : 25.37 %) CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ standard mixtures. The goodness of fit between the calculated and measured powder X-ray diffraction patterns at the end of quantitative phase analysis is presented as *Rwp*

Mixtures	XRD weight percent measurement				<i>Rwp</i>
	CaCO_3 %	$\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ %	$\text{Ca}(\text{OH})_2$ %	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ %	
1	25.80	25.50	23.70	25.00	13.52
2	26.10	24.90	23.30	25.70	14.27
3	25.50	25.30	23.60	25.60	12.82
4	25.90	25.70	22.80	25.60	13.29
5	26.20	24.40	23.70	25.70	14.63
6	25.80	25.50	22.80	25.90	12.76
7	26.40	24.90	23.10	25.60	13.44
Accuracy (%recovery)	102.44	100.93	95.63	100.85	
Precision (%RSD)	1.15	1.82	1.71	1.09	

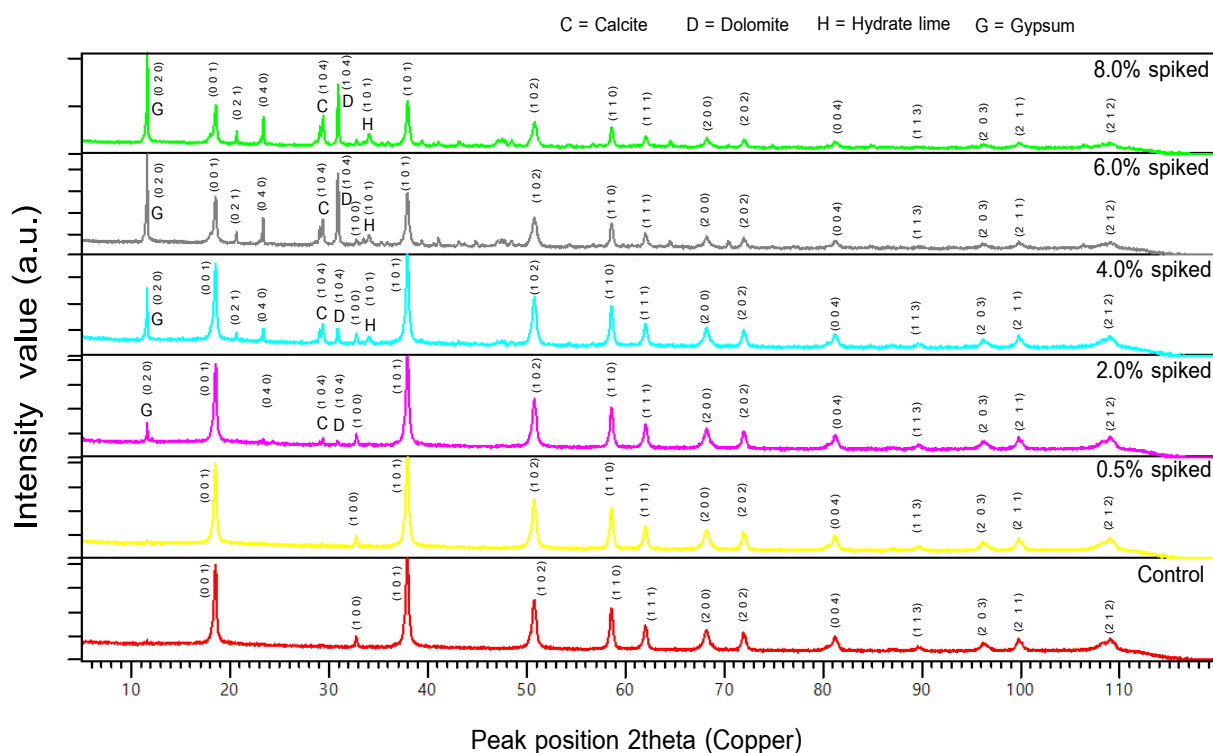


Figure 4 XRD patterns of Calcite (CaCO_3), Dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), Hydrate lime ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) and Gypsum ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) phases spiked soil conditioner powder at the optimized conditions

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ



การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์คัดกรองปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ในผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน โดยการวิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ (Quantitative phase analysis) และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative phase analysis) ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) สามารถทำได้โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างสารมาตรฐาน CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ที่มีความบริสุทธิ์สูงมากกว่า 95% และสารมาตรฐานผสม CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ อัตรา 1 : 1 : 1 : 1 วิเคราะห์โดยตั้งค่านุมวิเคราะห์ 5 – 120 °2 θ ใช้ Step size ขนาด 0.0110° วิเคราะห์แต่ละ step ใช้เวลา 6.12 วินาที และใช้เวลาวิเคราะห์รวม 5.33 นาที นำผลรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) มาประเมินด้วยเทคนิค Rietveld Refinement โดยใช้โปรแกรม PANalytical X'Pert High Score Plus เพื่อตรวจสอบชนิดและปริมาณของสารประกอบ และส่วนประกอบเชิงแร่ (Crystalline phase) ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอ้างอิงจากค่า 2 θ ของตำแหน่งพีค (Position) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก (miller indices (hkl) values) และตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์คัดกรองเชิงคุณภาพ โดยการทดสอบความเที่ยงของตำแหน่งพีค (Position) ความสูงของพีค (Intensities) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) พบว่ามีค่า %RSD ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และตรวจสอบความถูกต้องกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4) พบว่าสามารถจำแนกได้ว่าเป็นสาร CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ โดยมีค่า Rwp น้อยกว่า 15 และมีค่า Goodness of fit (GOF); χ^2 น้อยกว่า 4 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในการตรวจคัดกรองเชิงปริมาณ พบว่า ผลการทดสอบความเที่ยง (precision) มีค่า %RSD น้อยกว่า 2% และความถูกต้อง (Accuracy) มีค่า %recovery อยู่ระหว่าง 95 - 105% ผ่านเกณฑ์การยอมรับ หาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ พบว่า ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ CaCO_3 , $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$, และ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ได้ เท่ากับ 2 % และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ได้ เท่ากับ 4 % ซึ่งจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรองปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ในผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) พบว่าสามารถนำวิธีการตรวจคัดกรองมาใช้ในงานตรวจคัดกรองผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินในห้องปฏิบัติการได้

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริม วิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ และขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ที่ให้คำปรึกษา และขอแนะนำ ตลอดจนการทำงานวิจัยที่ทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง (Screening method) สารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม สามารถใช้เป็นวิธีมาตรฐานที่มีความน่าเชื่อถือของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ ในการตรวจวิเคราะห์คัดกรองผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน สามารถนำวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) มาประยุกต์ใช้ในงานตรวจคัดกรองผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินได้ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการประเมินคุณภาพของสารปรับปรุงดิน ในการควบคุม ดูแลคุณภาพที่ผลิตและจำหน่าย ส่งเสริมให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพและได้มาตรฐาน ใช้เป็นข้อมูลประกอบตามประกาศของคณะกรรมการว่าด้วยฉลาก ว่าด้วยเรื่องให้ผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินเป็นสินค้าที่ควบคุมฉลาก เพื่อให้มีข้อกำหนดกฎหมายเข้ามารองรับ เพื่อรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกรและผู้บริโภค ที่จะสามารถใช้ผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินได้อย่างมีคุณภาพ



เอกสารอ้างอิง

- Döbelin, N. 2020. Validation of XRD phase quantification using semi-synthetic data. *Powder Diffraction*. 1 : 1-14.
- Eckardt, R., E. Krupicka and W. Hofmeister. 2012. Validation of powder X-ray diffraction following EN ISO/IEC 17025. *J. Forensic Sci.* 57 : 722–737.
- Gaudin, V., A. Rault, C. Hedou, C. Soumet and E. Verdon. 2017. Strategies for the screening of antibiotic residues in eggs: comparison of the validation of the classical microbiological method with an immunobiosensormethod. *Food Addit & Contam : Part A*. 34 (9) : 1510 - 1527.
- International Center for Diffraction Data (ICDD). 2019. Powder Diffraction file (PDF-4 / Minerals). International Center for Diffraction Data, Pennsylvania, USA.
- Reid, J. W., A. Jason and J. Hendry. 2006. Rapid, Accurate Phase Quantification of Multiphase Calcium Phosphate Materials Using Rietveld Refinement. *Journal of Applied Crystallography*. 39 : 536-543.
- Rietveld, H. M. A. 1969. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. *Journal of Applied Crystallography*. 2: 65-71.
- Shinde, R., P. K. Sarkar and N. Thombare. 2019. Soil Conditioners. *Agriculture & Food: e-Newsletter*. 1 (10) : 1-5.
- Tamer, M. 2013. Quantitative Phase Analysis Based on Rietveld Structure Refinement for Carbonate Rocks. *Journal of Modern Physics*. 4 : 1149-1157.
- The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). 2005. Validation of analytical procedures Q2(R1). Harmonized guideline validation of analytical procedures text and methodology.
- Toby, B. H. 2006. *R* factors in Rietveld analysis: How good is good enough?. *Powder Diffraction*. 21 (1) : 67 – 70.
- Uvarov, V. 2019. The influence of XRD pattern angular range on Rietveld refinement results at its use for quantitative analysis, crystallite size calculation and unit cell parameters refinement. *J. Appl. Cryst.* 52: 252 - 261.
- Young, R. A. 1993. The Rietveld Method. International Union of Crystallography. Oxford University Press, Oxford. 298 p.
- Zhao, P., X. Liu, A. G. De la Torre, L. Lu and K. Sobolev. 2017. Assessment of quantitative accuracy of Rietveld/XRD analysis of the crystalline and amorphous phases in fly ash. *Anal. Method*. 9 :2415 - 2424.

พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง (Screening method) สารควบคุม
การเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโตไคนิน ในผลิตภัณฑ์
สารชีวภัณฑ์ สารสกัดจากพืช ที่ไม่ระบุชนิด (unknown sample) ด้วยเทคนิค
ลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปคโตรเมทรี (LC-MS/MS)

Development of a Screening Method for Auxin, Gibberellin, and
Cytokinin Plant Growth Regulators in Unknown Sample in Biologics and
Plant Extract Products using LC-MS/MS Technique

สุพิศสา ทองเขียว เพชรรัตน์ ศิริวิ สุวัลกษ์มี ไชยทอง สาทิดา โฟธีน้อย
Supissa Thongkheaw Phetcharat Siriwi Suwaluck Chaitong Sathida Phono

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The objective of this research was to study and validate a screening method of plant growth regulators in biologics and plant extract products consisting of 2 auxins (indole-3-acetic acid (IAA) and indole-3-butyric acid (IBA)), 3 gibberellins (gibberellin A3 (GA₃), gibberellin A4 (GA₄), gibberellin A7 (GA₇)), and 4 cytokinins (zeatin, kinetin, 6-benzylaminopurine (6-BAP), Forchlorfenuron (CPPU)) by LC-MS/MS technique. From the results, the optimum condition for separating was a gradient elution between 0.1% formic acid and acetonitrile within 10 minutes. False positive and negative rate were less than 5%. Average sensitivity and specificity were greater than 95%. The detection capability of IAA and IBA in biologics product were 1.4 and 1.8 ng/mL, GA₃, GA₄, and GA₇ were 1.1, 3.5 and 3.7 ng/mL, Zeatin, Kinetin, 6-BAP and CPPU were 1.0, 0.9, 1.1 and 2.9 ng/mL, respectively. The detection capability of IAA and IBA in plant extract were 1.7 and 2.2 ng/mL, GA₃, GA₄, and GA₇ were 0.9, 3.7 and 3.9 ng/mL, Zeatin, Kinetin, 6-BAP and CPPU were 1.2, 1.2, 0.9 and 2.7 ng/mL, respectively. The method was able to rapidly screen the compounds of plant growth regulators in agricultural products, minimizing time of analysis.

Key word: Screening method, Auxin, Gibberellin, Cytokinin, Biologics

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและตรวจสอบวิธีคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ สารสกัดจากพืช ประกอบด้วย สารกลุ่มออกซิน 2 ชนิดคือ Indole-3-acetic acid (IAA) และ Indole-3-butyric acid (IBA) กลุ่มจิบเบอเรลลิน 3 ชนิดคือ Gibberellin A3 (GA₃), Gibberellin A4 (GA₄), Gibberellin A7 (GA₇) และกลุ่มไซโตไคนิน 4 ชนิดคือ Zeatin, Kinetin, 6-benzylaminopurine (6-BAP) และ Forchlorfenuron (CPPU) ด้วยเทคนิค LC-MS/MS จากการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร คือ Gradient elution ระหว่าง 0.1% Formic acid กับ Acetonitrile ในระยะเวลา 10 นาที วิธีคัดกรองมีผลบวกเท็จและผลลบเท็จน้อยกว่า 5% มีความไวและความจำเพาะเจาะจงในการคัดแยกชนิดสารโดยเฉลี่ยมากกว่า 95% สามารถคัดกรอง IAA และ IBA ในสารชีวภัณฑ์ที่ความเข้มข้นต่ำสุด เท่ากับ 1.4 และ 1.8 ng/mL ตามลำดับ สาร GA₃ GA₄ และ GA₇ เท่ากับ 1.1, 3.5 และ 3.7 ng/mL ตามลำดับ และสาร Zeatin, Kinetin, 6-BAP และ CPPU เท่ากับ 1.0, 0.9, 1.1 และ 2.9 ng/mL ตามลำดับ และสามารถคัดกรอง IAA และ IBA ในสารสกัดจากพืช ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1.7 และ 2.2 ng/mL ตามลำดับ GA₃, GA₄ และ GA₇ ได้ต่ำสุดที่ 0.9, 3.7 และ 3.9 ng/mL ตามลำดับ Zeatin, Kinetin, 6-BAP และ CPPU ได้ต่ำสุดที่ 1.2, 1.2, 0.9 และ 2.7 ng/mL ตามลำดับ วิธีนี้จึงสามารถนำมาใช้ตรวจสอบคัดกรองชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดได้อย่างรวดเร็วและลดระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ

คำสำคัญ: วิธีคัดกรอง ออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโตไคนิน สารชีวภัณฑ์

คำนำ

ผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดโดยส่วนใหญ่ไม่ระบุชนิดหรือปริมาณของสาร แต่มีการระบุบนฉลากผลิตภัณฑ์ว่ามีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนพืชหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่กลุ่มออกซิน (Auxins) จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) และไซโตไคนิน (Cytokinins) เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดในกลุ่มดังกล่าวพืชสามารถสร้างเองได้ เช่น กรดอินโดลอะซิติก พืชสามารถสร้างได้จากกรดอะมิโน (Rivier and Crozier, 1987) นอกจากนี้อาจมีการเติมสารลงไปผลิตผลิตภัณฑ์เพื่อให้มีคุณสมบัติดังที่กล่าวอ้างไว้ในฉลาก ด้วยภารกิจของกรมวิชาการเกษตรที่มีหน้าที่ให้บริการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และจากการตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณการส่งวิเคราะห์เพิ่มขึ้นต่อปีถึงร้อยละ 75 ที่ไม่ระบุชนิดสาร (Unknown sample) ซึ่งทำให้ยากต่อการตรวจสอบต้องใช้สารเคมีจำนวนมากซึ่งเป็นสารระเหยที่เป็นอันตรายต่อผู้วิเคราะห์ และใช้ระยะเวลาวิเคราะห์นานทำให้เกิดความล่าช้า เนื่องจากจะต้องวิเคราะห์ที่ละชนิดสาร ดังนั้นเพื่อเป็นการลดข้อจำกัดของการวิเคราะห์ทางเคมีลงในการทดสอบหาสารหลายชนิด ที่มีการวิเคราะห์หลายขั้นตอนและระยะเวลา จึงต้องมีการนำเทคโนโลยีที่ทันสมัยอย่างเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปคโตรเมทรี (LC-MS/MS) ที่สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์และตรวจวัดสารได้ถึงระดับมวลโมเลกุล เพื่อใช้ยืนยันการวิเคราะห์สารแต่ละชนิดทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ ทั้งนี้ยังสามารถนำมาตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชและสารประกอบที่เกี่ยวข้องในสารสกัดจากพืชได้ถึง 19 ชนิดสารในคราวเดียวกัน (Pan *et al.*, 2008) และจากการศึกษาของ Liu *et al.* (2017) ได้ทำการสกัดตัวอย่างและตรวจวิเคราะห์หาสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ตกค้างในผักและผลไม้ ได้แก่ มะเขือ ถั่วฝักยาว แตงโม เซอร์รี่ และองุ่น ด้วยเทคนิค LC-MS/MS พบว่า โดยส่วนใหญ่ตรวจพบสาร IAA GA₃ 6-BAP และ CPPU มีการปนเปื้อนอยู่ในผักและผลไม้ แต่อย่างไรก็ตามการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ยังไม่มีข้อมูลที่เป็น Library สำหรับการวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการแยกชนิดสาร วิธีการตรวจวิเคราะห์คัดกรอง และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตามมาตรฐานที่สากลยอมรับ (European

commission directorate general for health and food safety, 2017) เพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์คัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชได้อย่างถูกต้อง สะดวก รวดเร็ว มีความไวและจำเพาะเจาะจง และเพื่อใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชสำหรับห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องลิกวิตโครมาโทกราฟีแมสสเปคโตรมิเตอร์ (LC-MS/MS: ExionLC™ และ Sciex 4500 Triple Quadrupole)
2. เครื่องมืออื่นๆ ได้แก่ เครื่องซังไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง, เครื่องอัลตราโซนิก, เครื่องเขย่าสาร และเครื่องปั่นเหวี่ยง เป็นต้น
3. อุปกรณ์การกรอง ได้แก่ บั้มแรงดัน เครื่องแก้วกรองสาร ขวดปริมาตร และกระดวยกรอง 0.22 ไมโครเมตร เป็นต้น
4. เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น โถดูดความชื้น ขวดวัดปริมาตร ปีกเกอร์ ไซริงค์แก้ว และ ขวดฉีดสาร ขนาด 2 มิลลิลิตร เป็นต้น
5. วัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ คอลัมน์ Phenomenex synergi fision RP 80 A° ขนาด 50 x 2 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 4 ไมโครเมตร ปีเปตอัตโนมัติ ขนาด 10-100, 20-200 และ 1000 ไมโครลิตร และหลอดปั่นเหวี่ยง เป็นต้น
6. สารมาตรฐานและสารเคมี ได้แก่ Indole-3-acetic acid (IAA) 99.6% Indole-3-butyric acid (IBA) 99.2%, Gibberellin A3 (GA₃) 98.8% Gibberellin A4 (GA₄) 99.7%, Gibberellin A7 (GA₇) 99.9%, Kinetin 99%, 6-benzylaminopurine (6-BAP) 98.5%, Forchlorfenuron (CPPU) 99.5%, Zeatin 97%, Acetonitrile (ACN) LC-MS grade > 99%, Formic acid (FA) >98% และ Ammonium acetate >99%
7. ผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช

วิธีการ

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

1.1 การปรับตั้งสภาวะของเครื่อง LC-MS/MS ในการตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ส่วนของ Mass ทำการศึกษา Precursor ion, Product ion 1, Product ion 2, Fragmentor และ Collision ที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิด โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานแยกแต่ละชนิดสาร ทั้ง 9 ชนิด ที่ความเข้มข้น 0.1 µg/mL ฉีดเข้าเครื่อง MS ที่สภาวะต่างๆ ค่าที่ได้นำมาปรับตั้งสภาวะของเครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์

ส่วนของ LC ศึกษาการแยกสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานแยกแต่ละชนิดสาร ทั้ง 9 ชนิด ที่ความเข้มข้น 0.1 µg/mL ฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS เปรียบเทียบค่า Response ของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิด จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานรวม (Mixed standard solution) ของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 9 ชนิดที่ความเข้มข้น 0.1 µg/mL ฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS อีกครั้ง พิจารณา Response และ Retention time (RT) ของสาร

1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

1.2.1 ศึกษาสารละลายเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานรวมของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด ความเข้มข้น 0.1 µg/mL นำไปฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS โดยทำการปรับเปลี่ยนสารละลายเฟสเคลื่อนที่ 4 สภาวะการทดสอบ (Table 1) จากนั้นพิจารณาค่า Response, Retention time และ Chromatogram ของแต่ละชนิดสาร ที่มีการปรับเปลี่ยนชนิดสารละลายเฟสเคลื่อนที่

Table 1 Condition of mobile phase using plant growth regulator analysis

สภาวะการทดสอบ	ชนิดเฟสเคลื่อนที่	
	A	B
สภาวะที่ 1	0.1% Formic acid in H ₂ O	Acetonitrile
สภาวะที่ 2	0.1% Formic acid +1mM Ammonium acetate	Acetonitrile
สภาวะที่ 3	0.1% Formic acid in H ₂ O	Methanol
สภาวะที่ 4	0.1% Formic acid +1mM Ammonium acetate	Methanol

1.2.2 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานรวมของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด ความเข้มข้น 0.1 µg/mL โดยละลายในตัวทำละลายที่ต่างชนิดกัน 5 ชนิด (Table 2) แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS พิจารณา Response, Retention time และ Chromatogram

Table 2 Type of solvents used in the sample preparation of plant growth regulators

สภาวะการทดสอบ	ชนิดของตัวทำละลาย
สภาวะที่ 1	0.1% Formic acid in H ₂ O
สภาวะที่ 2	0.1% Formic acid in Acetonitrile
สภาวะที่ 3	0.1% Formic acid in Methanol
สภาวะที่ 4	50:50 0.1% Formic acid in H ₂ O/Acetonitrile
สภาวะที่ 5	50:50 0.1% Formic acid in H ₂ O /Methanol

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

2.1 ผลบวกเท็จ (False positive rate) และผลลบเท็จ (False negative rate)

ทดสอบ False positive rate โดยนำ Sample blank จำนวน 25 ตัวอย่าง ฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS พิจารณา False positive ของการวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด และคำนวณค่า False positive rate ตามวิธีของ Trullols *et al.* (2004) ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{False positive rate} = \frac{fp}{tn + fp}$$

เมื่อ fp = ตัวอย่างทดสอบที่เป็น false positive

tn = ตัวอย่างทดสอบที่ทราบว่ามีผลเป็นลบจริง

ส่วน False negative rate ทดสอบโดยทำการ Spiked สารละลายมาตรฐานรวมใน Sample blank โดยเตรียมความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นเท่ากับ Detection limit ทำการทดสอบจำนวน 25 ตัวอย่าง นำไปฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS พิจารณา Chromatogram, Response, False negative และคำนวณค่า False negative rate ตามวิธีของ Trullols *et al.* (2004) มีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{False negative rate} = \frac{fn}{tp + fn}$$

เมื่อ fn = ตัวอย่างทดสอบที่เป็น false negative

tp = ตัวอย่างทดสอบที่ทราบว่ามีผลเป็นบวกจริง

2.2 ความไว (Sensitivity)

ความไว คือ สัดส่วนของผลบวกที่แท้จริงสำหรับสภาวะนั้นๆ โดยการหา Sensitivity rate คำนวณได้ตามวิธีของ Trullols *et al.* (2004) ประเมินค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ของความไว ซึ่งถ้าหากวิธีนั้นมีความไวสูง โอกาสที่จะให้ผลลบเท็จ (False negative) จะต่ำ มีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{Sensitivity rate} = \frac{tp}{tp + fn}$$

เมื่อ tp = ตัวอย่างทดสอบที่ทราบว่ามีผลเป็นบวกจริง

fn = ตัวอย่างทดสอบที่เป็น false negative

2.3 ความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

ความจำเพาะเจาะจง คือ สัดส่วนของผลลบที่แท้จริงสำหรับสภาวะนั้นๆ โดยการหา Specificity rate คำนวณได้ตามวิธีของ Trullols *et al.* (2004) ประเมินค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ของความจำเพาะเจาะจง ซึ่งถ้าหากวิธีนั้นมีความจำเพาะเจาะจงสูงโอกาสที่จะให้ผลบวกเท็จ (False positive) จะต่ำ มีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{Specificity rate} = \frac{tn}{tn + fp}$$

เมื่อ tn = ตัวอย่างทดสอบที่ทราบว่ามีผลเป็นลบจริง

fp = ตัวอย่างทดสอบที่เป็น false positive

2.4 ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Detection limit)

ทดสอบโดยเตรียมสารละลาย Sample blank และ Spike สารละลายมาตรฐานรวมของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยเตรียมความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดให้เป็นครึ่งหนึ่งของค่า Maximum residue limits (MRL) ซึ่งค่า MRL ของทุกสารเท่ากับ 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ตามวิธี CRLs (2010) ฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS และคำนวณปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด

3. การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation)

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบเป็นตัวอย่างสารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่มีลักษณะเป็นสารละลายใส และทำการเตรียมตัวอย่างอย่างง่าย เพื่อความสะดวก รวดเร็วในการตรวจวิเคราะห์ โดยเขย่าและเทตัวอย่างใส่ใน Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เจือจางสารละลาย 10 เท่า กรองด้วยตัวกรองสารขนาดอนุภาค 0.22 ไมโครเมตร ใส่ในขวดใส่สารขนาด 2 มิลลิลิตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาสถานะที่เหมาะสมของวิธีคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

1.1 การปรับตั้งสถานะของเครื่อง LC-MS/MS ในการตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

การตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชด้วยเครื่อง LC-MS/MS ยังไม่มีฐานข้อมูลหรือ Library เพื่อใช้เป็นแนวทางในการตรวจวิเคราะห์ ดังนั้นจึงต้องมีการหาสถานะของเครื่อง Mass ที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ค่ากำหนดที่ใช้ในการตรวจวัดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ทั้ง 9 ชนิดในคราวเดียวกัน ซึ่งได้แก่ Precursor ion (Q1) Product ion (Q3) Declustering potential (DP) Entrance potential (EP) Collision energy (CE) Collision cell exit potential (Cxp) (Table 3)

Table 3 MRM precursor/product ion transitions for 9 plant growth regulators via electrospray ionization

Analytes	Precursor ion (Q1)	Scan mode	Product ion (Q3)	Declustering potential (DP)	Entrance potential (EP)	Collision energy (CE)	Collision cell exit potential (Cxp)
IAA	176	Positive	130	18	11	23	10
			103	18	11	42	7
IBA	204	Positive	186.1	25	10	19	13
			130	25	10	37	10
GA ₃	345.1	Negative	143	-70	-7	-35	-10
			239	-70	-7	-21	-7
GA ₄	331.1	Negative	243.1	-31	-5	-27	-14
			257	-31	-5	-34	-20
GA ₇	329	Negative	223	-41	-5	-27	-15
			211	-41	-5	-38	-7
Zeatin	220.1	Positive	136.1	56	7	26	10
			148	56	7	23	11
Kinetin	216	Positive	81	38	8	34	8
			148	38	8	18	11
6-BAP	224	Negative	133	-92	-9	-28	-8
			106	-92	-9	-45	-10
CPPU	248	Positive	129	18	12	25	9
			155	18	12	21	5

จากนั้นนำค่าที่ได้ไปปรับตั้งค่าของเครื่อง MS/MS และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC เพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งมีสภาวะดังนี้

Mass conditions Ionization mode : Electrospray ionization (ESI) Positive-Negative mode
 Curtain gas : 25 psig,
 Collision gas : 9 psig,
 Ion Spray Voltage : Positive (5500 V) Negative (-4500 V),
 Temperature : 500 °C,
 Ion Source (Gas1) : 50 psig,
 Ion Source (Gas2) : 60 psig,
 MS/MS Scan Parameter : Multi Reaction Monitoring (MRM)

LC conditions Column: Phenomenex Synergi fision RP 80 A° 50 x 2 mm., 4 µm
 Column oven temperature: 40 °C
 Injection volume: 5 µL
 Flow rate: 300 µL/min
 Gradient Program:

time	A:0.1%Formic acid	B:Acetonitrile
0	95	5
1	95	5
4	5	95
6	5	95
8	95	5
10	95	5

1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการแยกชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

1.2.1 จากการศึกษาสารละลายเฟสเคลื่อนที่สำหรับการแยกสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชทั้ง 9 ชนิด โดยพิจารณาจากโครมาโทแกรมและเปรียบเทียบค่า Intensity ของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ละสภาวะการทดสอบจำนวน 4 สภาวะ พบว่า การตรวจวัดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 4 สภาวะการทดสอบให้ค่า Intensity ของสารที่แตกต่างกัน (Figure 1)

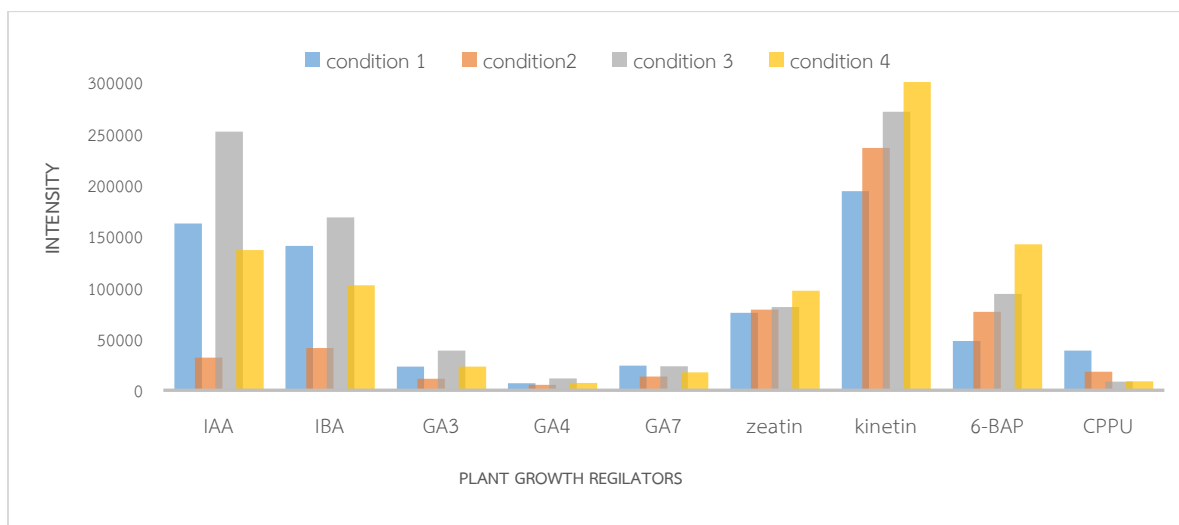


Figure 1 Comparison of intensity for plant growth regulators detection in various mobile phase types

จากผลการทดลอง พบว่าสารแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะเจาะจงกับสารละลายเฟสเคลื่อนที่ต่างกัน แต่มีเพียงการทดสอบด้วยสภาวะที่ 1 คือใช้เฟสเคลื่อนที่ 0.1% FA in H₂O/ACN ให้ผลที่ดีกับทุกสาร มีค่า Intensity ที่สูงและทำให้พีคของสารสามารถแยกจากพีคที่รบกวนได้ สำหรับการทดสอบในสภาวะที่ 3 และ 4 พบว่าสาร GA₇ มีพีคของสารอื่นมารบกวน ส่วนการทดสอบในสภาวะที่ 2 ให้ค่า Intensity ของสาร GA₇, IAA และ IBA ที่ต่ำกว่าสภาวะการทดสอบที่ 1 ดังนั้นจึงพิจารณาเลือกสารละลายเฟสเคลื่อนที่ 0.1% FA in H₂O/ACN ในการทดสอบตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อไป

1.2.2 ตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากโครมาโทแกรมและเปรียบเทียบค่า Intensity ของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ละสภาวะการทดสอบที่มีการปรับเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลาย จำนวน 5 ชนิด (Figure 2)

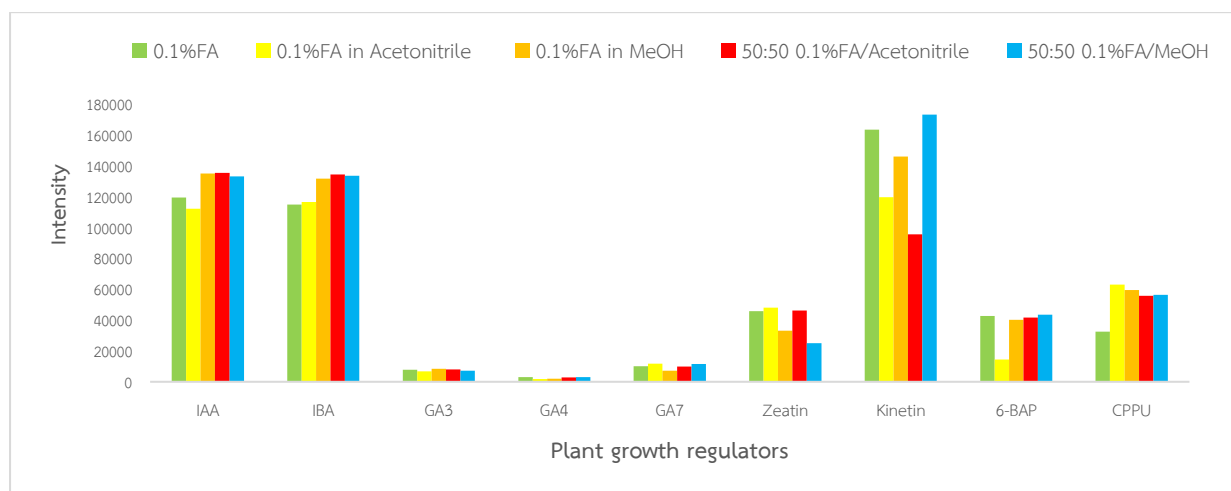


Figure 2 Comparison of intensity of detect for plant growth regulators with 5 different solvent types

จากการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม พบว่าการปรับเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลาย 5 ชนิด ให้ค่า Intensity ที่ไม่แตกต่างกัน ยกเว้นผลการวิเคราะห์สาร Kinetin แต่การเลือกใช้ตัวทำละลายนั้นจะต้องพิจารณาโครมาโทแกรมที่ได้ด้วย ซึ่งพบว่าการเตรียมสารละลายด้วย 0.1% FA in MeOH และ 0.1% FA in H₂O/ACN อัตราส่วน 50:50 ทำให้พีคของ Kinetin มีฐานกว้าง ไม่สามารถแยกออกจากเมทริกซ์อื่น ๆ ได้ (Figure 3) และการละลายด้วย 0.1% FA in ACN ทำให้พีคของ 6-BAP ที่ได้ไม่สมมาตร นอกจากนี้ การเตรียมสารละลายด้วย 0.1% FA in H₂O /MeOH อัตราส่วน 50:50 ทำให้พีคของ Zeatin ถูกชะออกมาเร็ว และมีพีคของสารอื่นรบกวน (Figure 4) ดังนั้นจึงได้เลือกใช้ตัวทำละลาย 0.1% FA in H₂O ในการเตรียมสารละลาย ซึ่งให้ผลของโครมาโทแกรม และค่า Intensity ที่ดีสำหรับทุกชนิดสารที่ทดสอบ

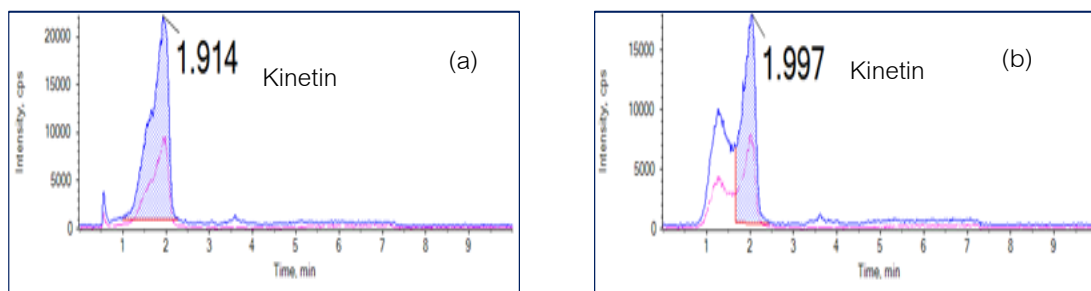


Figure 3 Chromatogram of kinetin as preparation (a) 0.1% FA in MeOH (ii) 50:50 of 0.1% FA in H₂O/ACN

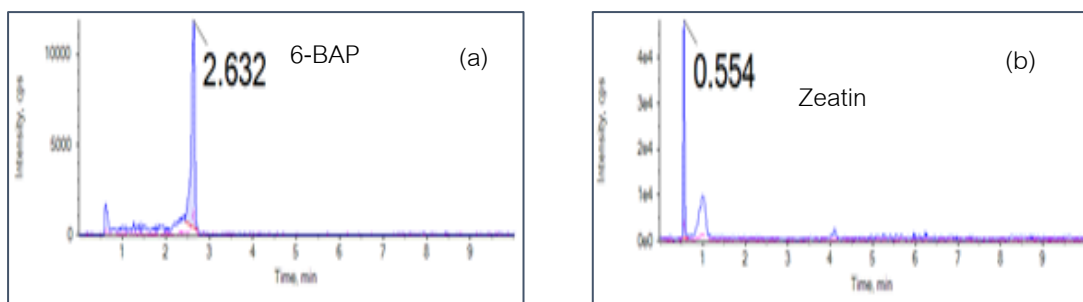


Figure 4 Chromatogram of PGRs preparation (a) 6-BAP prepare by 0.1% FA in ACN (b) zeatin prepare by 50:50 of 0.1% FA in H₂O/MeOH

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

2.1 ผลบวกเท็จ (False positive rate) และผลลบเท็จ (False negative rate)

จากการทดสอบบวกเท็จในตัวอย่างสารชีวภัณฑ์ โดยพิจารณาค่า Response ที่ได้จากการฉีด Sample blank จำนวน 25 ตัวอย่าง พบว่า ตรวจไม่พบสาร IAA, GA₃, GA₄, GA₇, Zeatin และ Kinetin ในตัวอย่าง Sample blank ทุกตัวอย่าง และมีการตรวจพบสาร IBA, 6-BAP และ CPPU อย่างละ 1 ตัวอย่าง ในจำนวนทั้งหมด 25 ตัวอย่าง เมื่อคิดเป็น False positive rate มีค่าเท่ากับ 4% ส่วนการทดสอบ False negative rate ในตัวอย่างสารชีวภัณฑ์ พบว่า ตรวจพบสาร IAA IBA, GA₇, Kinetin 6-BAP และ CPPU ในตัวอย่างทั้งหมด 25 ตัวอย่าง คิดเป็นผลการตรวจพบ 100% ส่วนสาร GA₃, GA₄ และ Zeatin และ มีการตรวจพบสารใน 24 ตัวอย่างของตัวอย่างทั้งหมด คิดเป็นผลการตรวจพบ 96% โดยทุกสารคิดเป็น False negative rate มีค่าเท่ากับ 4% ซึ่งผลบวกเท็จและผลลบเท็จโดยเฉลี่ยมีค่าน้อยกว่า 5% (Table 4)

Table 4 False positive and false negative rate of 9 PGRs in biologics samples

PGRs	True negative	False positive rate (Fp< 5%)	True positive	False negative rate (Fn< 5%)
IAA	25/25	0%	25/25	0%
IBA	24/25	4%	25/25	0%
GA ₃	25/25	0%	24/25	4%
GA ₄	25/25	0%	24/25	4%
GA ₇	25/25	0%	25/25	0%
Zeatin	25/25	0%	24/25	4%
Kinetin	25/25	0%	25/25	0%
6-BAP	24/25	4%	25/25	0%
CPPU	24/25	4%	25/25	0%

จากการทดสอบผลบวกเท็จในตัวอย่างสารสกัดจากพืช โดยพิจารณาค่า Response ที่ได้จากการฉีด Sample blank จำนวน 25 ตัวอย่าง พบว่า ตรวจไม่พบสาร IAA, GA₃, IBA, GA₄, GA₇, Zeatin และ Kinetin ในตัวอย่าง Sample blank ทุกตัวอย่าง และมีการตรวจพบสาร 6-BAP และ CPPU อย่างละ 1 ตัวอย่าง ในจำนวนทั้งหมด 25 ตัวอย่าง เมื่อคิดเป็น False positive rate มีค่าเท่ากับ 4% ส่วนการทดสอบ False negative rate ในตัวอย่างสารสกัดจากพืช พบว่า ตรวจพบสาร IAA, Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างทั้งหมด 25 ตัวอย่าง คิดเป็นผลการตรวจพบ 100% ส่วนสาร IBA, GA₃, GA₄, GA₇, Zeatin และ CPPU มีการตรวจพบสาร

ใน 24 ตัวอย่างของตัวอย่างทั้งหมด คิดเป็นตรงพบ 96% โดยทุกสารคิดเป็น False negative rate มีค่าเท่ากับ 4% ซึ่งผลบวกเท็จและผลลบเท็จโดยเฉลี่ยมีค่าน้อยกว่า 5% (Table 5)

Table 5 False positive and false negative rate of 9 PGRs in plant extracted samples

PGRs	True negative	False positive rate (Fp< 5%)	True positive	False negative rate (Fn< 5%)
IAA	25/25	0%	25/25	0%
IBA	25/25	0%	24/25	4%
GA ₃	25/25	0%	24/25	4%
GA ₄	25/25	0%	24/25	4%
GA ₇	25/25	0%	24/25	4%
Zeatin	25/25	0%	24/25	4%
Kinetin	25/25	0%	25/25	0%
6-BAP	24/25	4%	25/25	0%
CPPU	24/25	4%	24/25	4%

2.2 ความไว (Sensitivity)

จากการทดสอบหาความไวในการตรวจวัดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด ในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ พบว่า มีความไวในการตรวจวัดสาร IAA, IBA, GA₇, Kinetin, 6-BAP และ CPPU คิดเป็น 100% นั่นคือมีโอกาสได้ผลลบเท็จที่ 0% และมีความไวในการตรวจวัดสาร GA₃, GA₄ และ Zeatin คิดเป็น 96% นั่นคือมีโอกาสได้ผลลบเท็จที่ 4% คิดเป็นความไวเฉลี่ยเท่ากับ 98.7% และจากการทดสอบหาความไวในการตรวจวัดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด ในสารสกัดจากพืช พบว่า มีความไวในการตรวจวัดสาร IAA, Kinetin และ 6-BAP มีความไวอยู่ที่ 100% นั่นคือมีโอกาสได้ผลลบเท็จที่ 0% และมีความไวในการตรวจวัดสาร IBA, GA₃, GA₄, GA₇, Zeatin และ CPPU มีความไวที่ 96% นั่นคือมีโอกาสได้ผลลบเท็จที่ 4% คิดเป็นความไวเฉลี่ยเท่ากับ 97.3%

2.3 ความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

จากการทดสอบหาความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด ในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ พบว่า วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงกับสาร IAA, GA₃, GA₄, GA₇, Zeatin และ Kinetin คิดเป็น 100% นั่นคือมีโอกาสได้ผลบวกเท็จที่ 0% และมีความจำเพาะเจาะจงกับสาร IBA, 6-BAP และ CPPU คิดเป็น 96% นั่นคือมีโอกาสได้ผลบวกเท็จที่ 4% คิดเป็นความจำเพาะเจาะจงเฉลี่ยเท่ากับ 98.7% และจากการทดสอบหาความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิดในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช พบว่า วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงกับสาร IAA, IBA, GA₃, GA₄, GA₇, Zeatin และ Kinetin คิดเป็น 100% นั่นคือมีโอกาสได้ผลบวกเท็จที่ 0% และมีความจำเพาะเจาะจงกับสาร 6-BAP และ CPPU คิดเป็น 96% นั่นคือมีโอกาสได้ผลบวกเท็จที่ 4% คิดเป็นความจำเพาะเจาะจงเฉลี่ยเท่ากับ 99.1%

2.4 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Detection limit)

จากการหาขีดจำกัดของการตรวจพบสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ พบว่าวิธีนี้สามารถคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโตไคนิน ทั้งหมด 9 ชนิดสาร โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ของสาร IAA และ IBA เท่ากับ 1.4 และ 1.8 ng/mL ตามลำดับ สาร GA₃, GA₄ และ GA₇ เท่ากับ 1.1, 3.5 และ 3.7 ng/mL ตามลำดับ และสาร Zeatin, Kinetin, 6-BAP และ CPPU เท่ากับ 1.0, 0.9, 1.1 และ 2.9 ng/mL ตามลำดับ และจากการหาขีดจำกัดของการตรวจพบสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

ในตัวอย่างสารสกัดจากพืช พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ของสาร IAA และ IBA เท่ากับ 1.7 และ 2.2 ng/mL ตามลำดับ สาร GA₃ GA₄ และ GA₇ เท่ากับ 0.9, 3.7 และ 3.9 ng/mL ตามลำดับ และสาร Zeatin, Kinetin, 6-BAP และ CPPU เท่ากับ 1.2, 1.2, 0.9 และ 2.7 ng/mL ตามลำดับ

3. การตรวจคัดกรองสารมาตรฐานสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช จากการฉีดสารละลายมาตรฐานรวมตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้ พบว่าสารแต่ละชนิดถูกชะออกมาจากคอลัมน์และตรวจวัดได้ตามลำดับของสารดังนี้ Zeatin, Kinetin, 6-BAP, GA₃, IAA, IBA, GA₇, GA₄, และ CPPU ซึ่งมี Retention time เท่ากับ 1.05, 2.02, 2.78, 2.84, 3.00, 3.34, 3.45, 3.47 และ 3.47 นาที ตามลำดับ (Figure 5)

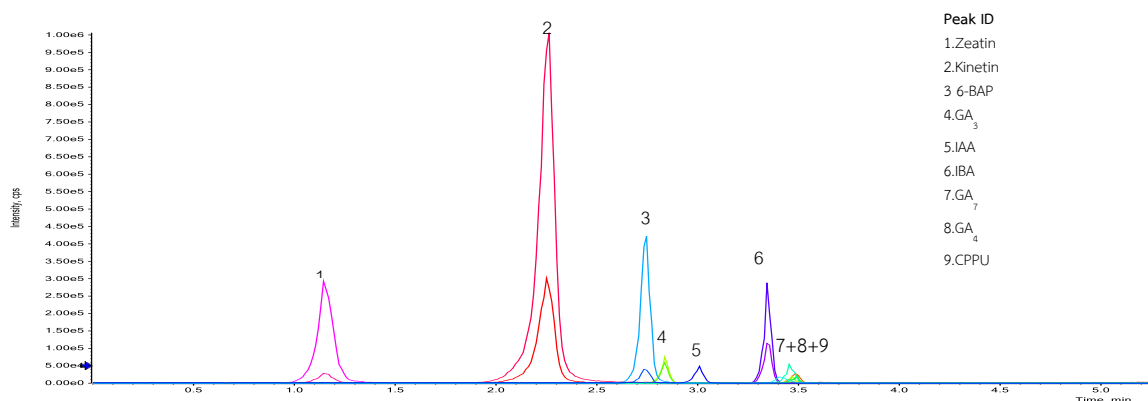


Figure 5 The typical overlapped MRM chromatograms for 9 PGRs

จากการตรวจคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในตัวอย่างสารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช (Figure 6) พบว่าตรวจพบสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชจำนวน 3 ชนิด คือ 6-BAP, GA₃ และ IAA ในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ (Figure 6a) และจากการตรวจคัดกรอง พบว่าตรวจพบสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชจำนวน 3 ชนิด คือ 6-BAP, IBA และ CPPU ในตัวอย่างสารสกัดจากพืช (Figure 6b)

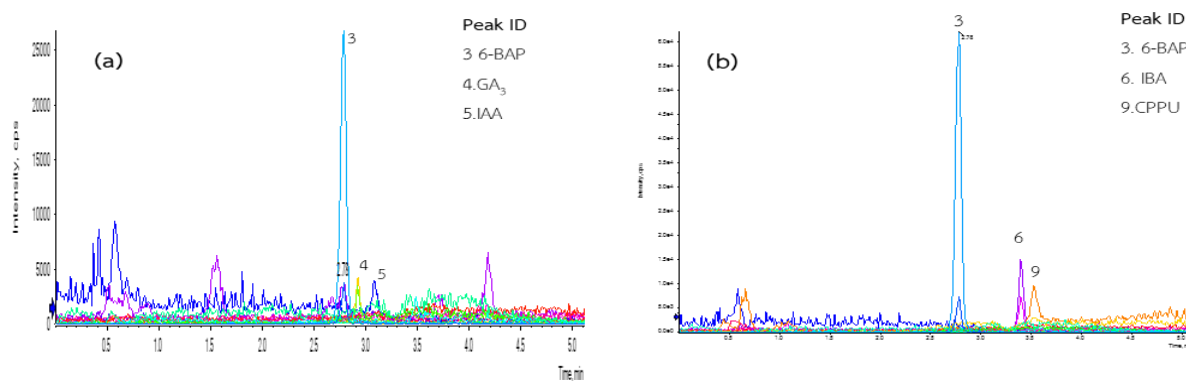


Figure 6 The typical overlapped MRM chromatogram for 9 PGRs in sample (a) biologics sample (b) plant extract sample

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการตรวจวิเคราะห์คัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชด้วยเทคนิค LC-MS/MS สามารถสรุปได้ดังนี้

1. สามารถตรวจคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิดได้ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ทั้ง Positive และ Negative mode ทำให้ได้สถานะที่เหมาะสมในการคัดแยกสารด้วยคอลัมน์ Phenomenex synergis RP 80 A° ขนาด 50 x 2 มิลลิเมตร อนุภาค 4 ไมโครเมตร ภายใต้สภาวะการแยกสารด้วย Gradient elution ระหว่าง 0.1% Formic acid ในน้ำ กับ Acetonitrile ภายในระยะเวลา 10 นาที และใช้ 0.1% Formic acid ในน้ำ เป็นตัวทำละลาย

2. วิธีการตรวจคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีผลบวกเท็จและค่าผลลบเท็จน้อยกว่า 5% มีความไวและความจำเพาะเจาะจงในการคัดแยกชนิดสารโดยเฉลี่ยมากกว่า 95%

3. การตรวจวิเคราะห์คัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิด ในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดสาร IAA และ IBA เท่ากับ 1.4 และ 1.8 ng/mL ตามลำดับ สาร GA₃ GA₄ และ GA₇ เท่ากับ 1.1, 3.5 และ 3.7 ng/mL ตามลำดับ และสาร Zeatin, Kinetin, 6-BAP และ CPPU เท่ากับ 1.0, 0.9, 1.1 และ 2.9 ng/mL ตามลำดับ

4. การตรวจวิเคราะห์คัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9 ชนิดในผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืช ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดสาร IAA และ IBA เท่ากับ 1.7 และ 2.2 ng/mL ตามลำดับ สาร GA₃ GA₄ และ GA₇ เท่ากับ 0.9, 3.7 และ 3.9 ng/mL ตามลำดับ และสาร Zeatin, Kinetin, 6-BAP และ CPPU เท่ากับ 1.2, 1.2, 0.9 และ 2.7 ng/mL ตามลำดับ

5. จากวิธีคัดกรองสามารถตรวจพบสาร 6-BAP, GA₃ และ IAA ในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช และสาร 6-BAP, IBA และ CPPU ในตัวอย่างสารสกัดจากพืช

จากผลการศึกษาจึงพิสูจน์ได้ว่าวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนั้นมีความเหมาะสมในการนำไปใช้ตรวจคัดกรองคุณภาพสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรประเภทสารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช อีกทั้งยังเป็นแนวทางในการพัฒนาในการตรวจคัดกรองสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรประเภทอื่นๆ ได้

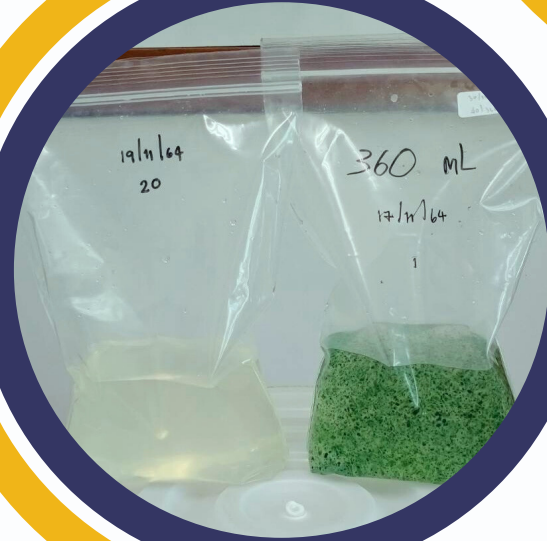
การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำไปใช้เป็นฐานข้อมูล (Library) ของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ในตรวจวิเคราะห์คัดกรองสารกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโตไคนิน ในผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ และสารสกัดจากพืช ที่ไม่ระบุชนิดสาร (Unknown sample) ได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้อง ลดระยะเวลาในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ



เอกสารอ้างอิง

- Community reference laboratories residues (CRLs). 2010. Guidelines for the validation of screening method for residues of veterinary medicines (initial validation and transfer). Available at: http://food.ec.europa.eu/system/files/2016-10/cs_vet-med-residues_guideline_validation_screening_en.pdf, Accessed: August 10, 2022.
- European commission directorate general for health and food safety. 2017. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. *SANTE*. 118(13): 1-42.
- Liu, S., Y. Wu, C. Fang, Y. Cui, N. Jiang and H. Wang. 2017. Simultaneous determinations of 19 plant growth regulator residues in plant originated foods by QuEChERS and stable isotope dilution-ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical sciences*. 33: 1047-1052.
- Pan, X., R. Welti and X. Wang. 2008. Simultaneous quantification of major phytohormones and related compounds in crude plant extracts by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Phytochemistry*. 69: 1773-1781.
- Rivier, L. and A. Crozier. 1987. Principles and practice of plant hormone analysis. Vol. 2. Academic press Inc. (London) Ltd, London.
- Trullols, E., I. Ruisánchez and F.X. Rius. 2004. Validation of qualitative analytical method. *Trends in Analytical Chemistry*. 23(2): 137-145.



T1R1

