ศึกษาผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร chlorpyrifos ในแปลงปลูกพริกต่อสัตว์น้ำ พืชน้ำ ดิน น้ำ และตะกอน

Impact of Chlorpyrifos Used in Chili Plantation to Aquatic Organisms, Soil, Water and Sediment

ผกาสินี คล้ายมาลา วรวิทย์ สุจิรธรรม ประกิจ จันทร์ติ๊บ

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ทำการทดลองในแปลงปลูกพริกของเกษตรกร ที่ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือน มกราคม พ.ศ. 2553 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2553 โดยเกษตรกร ได้ใช้ chlorpyrifos สูตร 40% W/V EC เมื่อพบการระบาดของศัตรูพืช ประมาณ 2-3 ครั้งต่อฤดูปลูก ในอัตรา 40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นด้วยเครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง โดยเกษตรกรฉีดพ่น chlorpyrifos จำนวน 3 ครั้ง ฉีดพ่นเมื่อพริกอายุ 99, 106 และ 113 วัน ซึ่งเป็นระยะเริ่มเก็บเกี่ยว ก่อนและหลังจากฉีดพ่น chlorpyrifos ครั้งที่ 3 ได้เก็บตัวอย่างปลานิล (*Oreocromis niloticus*, chitrada strain) ปลาตะเพียน (*Barbonymus gonionotus* common silver barb) นำมาตรวจวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างในเนื้อปลา และวัดระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase activity, AChE activity) ในสมองปลา ส่วนผักกระเฉด (*Neptunia oleracea* Lour., water mimosa) ดิน น้ำ และตะกอน นำมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง หลังการฉีดพ่น 1 ชั่วโมง (0 วัน) ถึง 30 วัน ผลการทดลองตรวจพบ chlorpyrifos ในปลานิลและปลาตะเพียน ปริมาณ <LOQ – 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่า LOQ ในปลา 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) พบปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดในปลาตะเพียนหลังฉีดพ่น 1 วัน ส่วนระดับ AChE activity ในสมองปลาทั้งสองชนิดลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับปลาควบคุม (control) บ่งชี้ว่า ปลาได้รับผลกระทบจาก chlorpyrifos ที่ปนเปื้อนลงสู่ร่องน้ำในวันที่ฉีดพ่น หลังฉีดพ่น 1 วัน จึงมีปลาตายจำนวนมาก สำหรับผักกระเฉดในร่องน้ำแปลงพริกพบปริมาณของ chlorpyrifos <LOQ – 1.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่า LOQ ในผักกระเฉด 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยพบปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดในวันที่ฉีดพ่น ส่วนในดินพบปริมาณ chlorpyrifos 0.04 – 0.34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในน้ำพบปริมาณ chlorpyrifos 0.02 – 3.47 ไมโครกรัมต่อลิตร และในตะกอนพบปริมาณ chlorpyrifos <LOQ – 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่า LOQ ในดิน และตะกอน 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) หลังฉีดพ่น 30 วัน ไม่พบปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในตะกอน แต่ยังตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างในดินและน้ำในปริมาณต่ำๆ ดังนั้น การฉีดพ่น chlorpyrifos ในแปลงพริกด้วยเครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลังตามอัตราและวิธีข้างต้น พบว่าเกษตรกรควรระมัดระวังความถี่ในการใช้สาร chlorpyrifos เนื่องจากอาจทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

คำนำ

chlorpyrifos เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส (organophosphorus insecticide) ชื่อทางเคมีตาม IUPAC name คือ O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl สูตรทางเคมี $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ จัดเป็นสารที่ออกฤทธิ์กว้าง (broad-spectrum organophosphorus insecticide) ใช้ในการควบคุมยุง แมลงในบ้านเรือน แมลงศัตรูพืชหลายชนิดทั้งที่กัดกินใบพืช รวมถึงแมลงในดิน โดยใช้เป็น soil treatment และ seed treatment ก่อนการปลูกพืชด้วย WHO ได้จัด technical grade active ingredient ของ chlorpyrifos ให้อยู่ใน Class II Moderately hazadous หรือกลุ่มพิษปานกลาง ค่า LD_{50} 135 mg/kg (WHO, 2010) chlorpyrifos สามารถยึดเกาะกับอนุภาคดินได้ดี ค่า sorption coefficient (soil K_{OC}) เท่ากับ 6,070 สารนี้มีความคงทนในดิน 60 – 120 วัน โดยค่าครึ่งชีวิตในดิน (soil half-life) ประมาณ 30 วัน chlorpyrifos เกิดการสลายตัวได้โดยจุลินทรีย์ในดินเปลี่ยนเป็นสาร 3,5,6-trichloro-2-pyridinol สารนี้มีคลอรีนและคาร์บอนไดออกไซด์เป็นองค์ประกอบ chlorpyrifos เป็นสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase Activity, AChE activity) ในเอกสารคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชปี 2551 ไม่มีคำแนะนำการใช้ chlorpyrifos ในพริก แต่มีคำแนะนำการใช้ chlorpyrifos ในข้าวเพื่อกำจัดหนอนกอข้าว เช่น หนอนกอสีครีม (*Scirpophaga incertulas*) ในข้าวโพดเพื่อกำจัดเพลี้ยไฟ เช่น เพลี้ยไฟข้าวโพด (*Frankliniella williamsi*) และในถั่วเหลืองเพื่อกำจัดหนอน เช่น หนอนแมลงวันเจาะต้นถั่ว (*Melanagromyza sojae*) และหนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) เป็นต้น (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2551) แต่เกษตรกรยังใช้สารนี้อย่างน้อย 1 ครั้ง ในการป้องกันการระบาดของศัตรูพืชในพริก ซึ่งอาจเกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายในการกำจัด เช่น ปลา พืชน้ำ และสัตว์น้ำอื่นๆ ด้วย ในปีพ.ศ. 2550 ผกาสินีและคณะได้ศึกษาผลกระทบต่อปลาจีน ปลาดุก ปลานิล และพืชน้ำได้แก่ จอกหูหนู เมื่อเกษตรกรมีการฉีดพ่นสารพิษ chlorpyrifos สูตร 40 % EC โดยใช้อัตรา 50 ml ต่อ น้ำ 20 ลิตร เมื่อถั่วฝักยาวอายุ 60 วัน ด้วยเครื่องยนต์ติดตั้งบนเรือลาก พบว่าหลังจากฉีดพ่น chlorpyrifos ปลานิลมีระดับการทำงานเอนไซม์ลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับปลานิลควบคุม สารพิษตกค้างในเนื้อปลา 0.02 – 0.29 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพืชน้ำ คือ จอกหูหนู 0.26 – 1.76 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

chlorpyrifos จัดอยู่ในกลุ่มสารกำจัดแมลงที่มีการนำเข้าสูงสุด 10 อันดับแรก ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2552 ปริมาณนำเข้า 1,256,037.94 กิโลกรัม โดยปริมาณสารสำคัญ 1,105,658.18 กิโลกรัม รวมเป็นมูลค่า 210,213,096.78 บาท สำหรับงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลกระทบของ chlorpyrifos หลังการฉีดพ่นในแปลงพริกต่อปลา ผักกระเฉดในร่องน้ำ การปนเปื้อนของสารพิษตกค้าง และการสลายตัวในดิน น้ำ และตะกอน เพื่อเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังการใช้ chlorpyrifos ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างปลา พืชน้ำ ดิน น้ำ และตะกอน ได้แก่ กระชอนตักตัวอย่างปลา, ถังพลาสติกใส่ปลา แครงตักน้ำและตะกอน ช้อนตักดิน ขวดใส่น้ำ ขวดแก้ว และถุงพลาสติก

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่

2.1 ปลา 2 ชนิด ได้แก่ ปลานิล (*Oreocromis niloticus*, chitrada strain) และปลาตะเพียน (*Barbonymus gonionotus*, common silver barb) ขนาดลำตัวยาว 3 - 3.5 นิ้ว จำนวน 1,200 ตัว

2.2 พืชน้ำ ได้แก่ ผักกระเฉด (*Neptunia oleracea* Lour., water mimosa) ที่เกษตรกรปลูกไว้ในร่องน้ำ

2.3 กระชังปลาควบคุม (control) ในร่องน้ำข้างบ้านเกษตรกรและกระชังปลาตัวอย่างในร่องน้ำแปลงพริก ลักษณะเป็นตาข่ายทรงสี่เหลี่ยม ขนาด 1x1x1 ลูกบาศก์เมตร 4 อัน พร้อมแผ่นตาข่ายพรางแสงปิดด้านบน

2.4 ผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง chlorpyrifos สูตร 40 % W/V EC ที่ใช้ฉีดพ่นในแปลงทดลอง

2.5 ชุดตรวจวัดคุณภาพน้ำ สำหรับอุณหภูมิ วัดความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH) และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen content, DO)

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

3.1 เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัดได้แก่ separatory funnel, erlenmeyer flask, cylinder, beaker, round bottom flask, filtering funnel และ pipette เป็นต้น

3.2 เครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมสารมาตรฐาน ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette

3.3 เคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ ได้แก่ สารเคมีสำหรับใช้ในการสกัด การเตรียมสารมาตรฐาน และปรับปริมาตรตัวอย่าง เช่น acetonitrile, ethyl acetate ชนิด analytical grade (AR) และ pesticide grade (PR), phosphate buffer, acetylthiocholine iodide, dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB) , Protein standard, sodium sulphate

3.4 สาร substrate ชนิด acetylthiocholine iodide 0.075 โมล

3.5 สาร reagent ชนิด dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB) 0.01 โมล โดยการละลาย 5,5-dinitrobis-2-nitrobenzoic acid ใน phosphate buffer pH 7

3.6 สารละลาย bioquant®

3.7 สารพิษมาตรฐาน chlorpyrifos ความบริสุทธิ์สูง 98.50%

3.8 เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่งหยาบ, เครื่องชั่งละเอียด (analytical balance), อุปกรณ์ผ่าตัดสมองปลา, เครื่องปั่นชนิด homogenizer, เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator, เครื่องลดปริมาตรชนิด nitrogen evaporator, เครื่อง spectrophotometer แบบ visible ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร, gas chromatograph พร้อม auto injector ตัวตรวจวัดชนิด flame photometric detector (FPD)

วิธีดำเนินการ

1. การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1.1 การเตรียมแปลงทดลอง จากการสำรวจแปลงในพื้นที่ต่างๆ ได้แปลงพริกที่มีความเหมาะสมสำหรับการทดลอง ที่ ต.บางตาเถร อ.สองพี่น้อง จ.สุพรรณบุรี ขนาด 2 ไร่ ยกร่องปลูก มีร่องน้ำระหว่างแปลงกว้าง 1.5 เมตร ขนาดแปลงปลูก 3.5 x 53.5 ตารางเมตร จำนวน 8 แปลง ปลูกพริกจำนวน 4 แถวต่อแปลง สูบน้ำใช้จากแม่น้ำท่าจีน

เข้าสู่แปลง โดยเกษตรกรได้ใช้สารพิษ chlorpyrifos เพื่อป้องกันกำจัดหนอนเมื่อพบการระบาดประมาณ 2-3 ครั้งต่อฤดูปลูก เริ่มเก็บเกี่ยวผลพริก เมื่ออายุ 120 วัน และเก็บผลผลิตพริกได้นาน 3 เดือน

1.2 การเตรียมปลาและพืชน้ำสำหรับทดลอง โดยวางกระชังเลี้ยงปลาขนาด 1x1x1 ลูกบาศก์เมตร ลงในร่องน้ำของแปลงปลูกพริก ปลาจากแหล่งเพาะพันธุ์ปลาขนาดตัวใกล้เคียงกันและแข็งแรง ได้แก่ ปลานิลและปลาตะเพียน 300 ตัว ต่อ 1 กระชัง ชนิดละ 3 กระชัง ในร่องน้ำ control 1 กระชัง พร้อมแผ่นตาข่ายปิดด้านบน เลี้ยงด้วยอาหารปลาเล็ก เกษตรกรปลูกผักกระเฉดในร่องน้ำเพื่อเก็บจำหน่ายระหว่างรอผลผลิตพริก

1.3 การเตรียมอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง นำขวดเก็บน้ำและขวดเก็บตะกอน ทำความสะอาดโดยการล้างด้วยน้ำและ acetone แล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง ส่วนดิน ปลา และพืชน้ำ เก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติก เตรียมอุปกรณ์เก็บดิน แครงเก็บน้ำและตะกอน

1.4 การฉีดพ่นวัตถุมีพิษ การปลูกพริกและดูแลรักษาตามแบบของเกษตรกรปฏิบัติ โดยเกษตรกรฉีดพ่น chlorpyrifos จำนวน 3 ครั้ง ฉีดพ่นครั้งแรก เมื่อพริกอายุ 99 วัน ครั้งที่ 2 เมื่อพริกอายุ 106 วัน และครั้งที่ 3 เมื่อพริกอายุ 113 วัน ซึ่งเป็นระยะเริ่มเก็บเกี่ยว ได้ฉีดพ่น chlorpyrifos อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในพื้นที่แปลงปลูกพริก ฉีดพ่นด้วยเครื่องยนต์สะพายหลัง ตลอดฤดูปลูกเกษตรกรฉีดพ่นสารพิษเพื่อกำจัดศัตรูพืชเป็นระยะ สารพิษที่ใช้เป็นประจำได้แก่ abamectin, emamectin benzoate, buprofezin+cypermethrin, phenthoate, diazinon, metalaxyl, carbendazim, difenoconazole, bacillus subtilis propiconazole+prochloraz และได้ใช้สารพิษ chlorpyrifos เพื่อป้องกันกำจัดหนอนต่างๆ เมื่อพบการระบาดประมาณ 2-3 ครั้งต่อฤดูปลูก เกษตรกรมีการปลูกผักอื่นๆ หมุนเวียนติดต่อกันตลอดทั้งปี เกษตรกรใช้ปุ๋ยเคมี 14-14-21 อัตรา 30 กก.ต่อไร่ ปูนเปลือกหอยอัตรา 75 กก. ต่อไร่ ส่วนวัชพืชกำจัดโดยการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชก่อนการหยอดเมล็ด ระหว่างการทดลอง ได้ขอให้เกษตรกรงดใช้สารกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นๆใน กลุ่ม Carbamate และ Organophosphorus

1.5 การเก็บตัวอย่างปลาและพืชน้ำ ก่อนเริ่มการฉีดพ่น chlorpyrifos เก็บตัวอย่างปลานิลและผักกระเฉด ในแปลงทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างเพื่อเป็นค่า base line value หลังการฉีดพ่น chlorpyrifos ได้เก็บตัวอย่างปลาที่ระยะเวลาต่างๆ กัน คือ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 15 วัน โดยจับปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันและยังมีชีวิตอยู่ชนิดละ 10 ตัว และเก็บพืชน้ำ ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน คือ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 15 และ 20 วัน ใส่ถุงพลาสติกแช่ในถังน้ำแข็งทันที ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่วิเคราะห์ไม่ทันต้องเก็บตัวอย่างปลาไว้ในตู้แช่แข็ง โดยก่อนการตรวจวิเคราะห์ได้วัดความยาวลำตัว ชั่งน้ำหนัก และจดบันทึกไว้

1.6 การเก็บตัวอย่างดิน น้ำ และตะกอน เก็บตัวอย่างก่อนการฉีดพ่น และภายหลังการฉีดพ่น ครั้งที่ 3 ที่ระยะเวลาต่างๆ คือ หลังฉีดพ่น (0 วัน), 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 และ 30 วัน ดังจุดเก็บที่แสดงไว้ในภาพที่ 1 รวม 210 ตัวอย่าง ใส่ในภาชนะที่เตรียมไว้ แต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่างต้องเขียนรายละเอียดกำกับตัวอย่าง เช่น ชนิดตัวอย่าง วันที่เก็บตัวอย่าง แล้วนำใส่ในถังน้ำแข็ง เพื่อนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างน้ำสกัดตามวิธีการ ส่วนดินและตะกอนนำไปชั่งหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น และสกัดตามวิธีการ

2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจด้วย Spectrophotometer ตามวิธีของวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Ellman, et. al., 1961)

2.2 การวัดปริมาณโปรตีนจากสมองปลา ด้วยวิธี Total protein FS (Thomas, L, 1998 และ Johnson, *et. al.*, 1999)

2.3 สกัดสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในเนื้อปลา ตาม TNO Standard method (1996) และใช้การ Clean up ตามวิธีของ Dale และ Miles (1976)

2.4 สกัดสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในผักกระเฉด ใช้วิธี Anastassiades *et al.*, (2003)

2.5 วิธีการตรวจวิเคราะห์ chlorpyrifos ในน้ำ ใช้วิธี TNO (1993)

2.6 วิธีการตรวจวิเคราะห์ chlorpyrifos ในดินและตะกอน ใช้วิธี In house method (2550)

2.7 การหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นดิน นำตัวอย่างดินและตะกอนที่เก็บมา นำไปตากไว้ในที่ร่มจนมีความชื้นอยู่ในช่วง 10 – 20 % จากนั้นนำไปชั่งในวันเวลาเดียวกันกับการชั่งตัวอย่างเพื่อสกัดและการคำนวณน้ำหนักตัวอย่างดินและตะกอนแห้ง

2.8 การคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง ในตัวอย่างปลา พืชน้ำ ดิน น้ำ และตะกอน ใช้สูตร

$$C = \frac{(R_x - B_0)}{A_0} \times \frac{V}{W} \times D$$

เมื่อ C คือ ความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง (น้ำ หน่วย ไมโครกรัมต่อลิตร ปลา พืชน้ำ ดิน และตะกอน หน่วย มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

R_x คือ Response (area/height) ของสารในตัวอย่าง

B_0 คือ intercept ของ calibration curve

A_0 คือ slope ของ calibration curve

V คือ ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม) หรือ ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

D คือ dilution factor

2.9 การคำนวณค่าครึ่งชีวิต (half- life, $t_{1/2}$) จากสมการ exponential ใช้สูตร

half- life ($t_{1/2}$) = -0.693/b

เมื่อ b คือ slope ของ curve จากสมการ exponential

$y = ae^{bx}$

2.10 ประสิทธิภาพของวิธีการสกัด (% Recovery) ตามสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C_1 - C_2) \times 100}{C_{fortified}}$$

เมื่อ C_1 คือ ความเข้มข้นของสารใน Fortified sample

C_2 คือ ความเข้มข้นของสารใน Sample blank

$C_{fortified}$ คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงใน Fortified sample

โดยการเติมสารมาตรฐาน chlorpyrifos ที่ระดับความเข้มข้น 0.4-1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างปลา และ 0.02-0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในผักกระเฉดที่ไม่มีการปนเปื้อน ใช้วิธีการสกัดเช่นเดียวกับตัวอย่างใน

เนื้อปลาตรวจวิเคราะห์ได้ % recovery ระหว่าง 70 - 76 % ค่า Limit of Quantitation หรือ LOQ มีค่า 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผักกระเฉด ได้ % recovery 75 - 106 % LOQ มีค่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างน้ำเติมสารละลายมาตรฐาน chlorpyrifos ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 - 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ในน้ำตรวจวิเคราะห์ได้ % recovery ระหว่าง 84 - 91 % LOQ มีค่า 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร ในตัวอย่างดิน 0.05 – 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างทดสอบไม่มีการปนเปื้อน ใช้วิธีการสกัดเช่นเดียวกับตัวอย่าง ดินได้ % recovery ระหว่าง 89 - 93 % LOQ มีค่า 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตะกอนใช้วิธีการสกัดเช่นเดียวกันกับดิน

2.11 ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง spectrophotometer แบบ visible ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร

2.12 ตรวจวิเคราะห์ด้วย Gas Chromatograph (GC) พร้อม Auto injector และตัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD)

2.13 การวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลอง

นำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ระดับ AChE activity ในสมองปลาปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในเนื้อปลาและพืชน้ำ ไปวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของระดับ AChE activity ในสมองปลา ปริมาณสารพิษตกค้างในเนื้อปลาและพืชน้ำ ที่ระยะเวลาต่างๆ หลังการฉีดพ่น รวมถึงคำนวณอัตราการสลายตัวจากกราฟ

ระยะเวลา

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2552 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

1. แปลงพริกที่ใช้ในการทดลองของเกษตรกร นายเม้ง ศรีสวัสดิ์ ต.บางตาเถร อ.สองพี่น้อง จ.สุพรรณบุรี

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอน ปลา และผักกระเฉด หลังเกษตรกรฉีดพ่น chlorpyrifos ในพริกใช้อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งเป็นอัตราแนะนำตามฉลาก เมื่อพบการระบาดของศัตรูพืช 3 ครั้งต่อฤดูปลูก ด้วยเครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง เก็บตัวอย่างทุกชนิดหลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในตัวอย่างดิน 0.02 – 0.34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบปริมาณสูงสุด 0.34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในวันที่ฉีดพ่น ส่วนตัวอย่างน้ำ มีปริมาณ 0.02 – 3.47 ไมโครกรัมต่อลิตร พบปริมาณของ chlorpyrifos ในน้ำสูงสุด 3.47 ไมโครกรัมต่อลิตร ในวันที่ฉีดพ่น หลังจากนั้นภายใน 30 วัน chlorpyrifos ในดินและน้ำ สลายตัวไปจนมีปริมาณ 0.04 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนในตัวอย่างตะกอน พบ chlorpyrifos ในปริมาณ 0.02 – 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบปริมาณสูงสุด 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หลังการฉีดพ่น 1 วัน ดังตารางที่ 1

chlorpyrifos จัดอยู่ในสารประเภทมีความคงทนในดินปานกลาง (moderately persistent) สารนี้ละลายในน้ำได้ต่ำ ค่า sorption solubility 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่มีแนวโน้มว่าจะเคลื่อนย้ายไปสู่ชั้นสารอินทรีย์ (organic

phase) ได้ในสิ่งแวดล้อม (WHO, 2004 และ Vogue, 1994) เนื่องจากค่า pesticide movement rating ค่อนข้างต่ำการเคลื่อนย้ายไปสู่ชั้นน้ำใต้ดินพบปริมาณน้อย จึงไม่ค่อยพบการปนเปื้อนลงสู่น้ำใต้ดิน การปนเปื้อนและความคงทนของ chlorpyrifos ในน้ำ จะแตกต่างกันตามสูตร (formulation) ที่ผลิตออกจำหน่าย เช่น สูตรละลายสำหรับผสมน้ำ เช่น สารละลายน้ำมันเข้มข้น (emulsifiable concentrates, EC) โดยในน้ำความเข้มข้นของ chlorpyrifos อาจถูกดูดซับไว้ในตะกอน หรือในรูปแขวนลอยของ soil colloids จึงมีรายงานการศึกษาหลายเรื่องที่ตรวจพบความเข้มข้นของ chlorpyrifos ในน้ำไม่สูงนัก การระเหย (vaporization) เป็นสาเหตุหนึ่งของการสลายตัวในน้ำ โดยค่า half-life ของน้ำในหนองน้ำ 3.5 - 20 วัน ส่วนค่า soil half-life เป็นค่าที่ใช้ประมาณความคงทนของสารพิษในดิน มีรายงานค่า soil half-life ของ chlopyrifos ในดิน 60 - 120 วัน หรือนาน 2 สัปดาห์ ถึง 1 ปี โดยขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความแตกต่างของพื้นที่ ลักษณะของดิน ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส จุลินทรีย์ดิน และฤดูกาล เป็นต้น มีรายงานการศึกษา soil half-life ในดินชนิดต่างๆ กันจากดินร่วนปนทราย (loamy sand) ถึงดินเหนียว (loam) ค่า pH 5.4 – 7.4 พบว่า chlopyrifos มีความคงทนต่ำในดินที่มีค่า pH สูงขึ้น (Extoxnet, 1996) ในการเตรียมแปลงเพื่อปลูกพริกเกษตรกรใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 14-14-21 ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ และปูนเปลือกหอยในอัตรา 75 กิโลกรัมต่อไร่ จากการส่งตรวจความอุดมสมบูรณ์ของดิน ด้วยความอนุเคราะห์จากกลุ่มวิจัยเกษตรเคมีและกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา พบว่า ลักษณะดินแปลงพริกเป็นดินเหนียว สภาพความเป็นกรดด่าง 6.9 – 7.0 เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช อินทรียวัตถุอยู่ในระดับต่ำถึงปานกลาง 1.77 – 2.25 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองเมื่อนำมาคำนวณค่า half-life ของ chlorpyrifos ในดิน 10.34 วัน ในน้ำ 4.75 วัน และในตะกอน 22.35 วัน

ตารางที่ 1. ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในดินตะกอน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, mg/kg) และน้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร, µg/L) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 ในพริก

เวลาหลังการฉีดพ่น	ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos		
(วัน)	ดิน (mg/kg)	น้ำ (µg/L)	ตะกอน (mg/kg)
Control	< LOQ	ND	ND
0	0.34	3.47	0.02
1	0.12	1.20	0.05
3	0.25	0.73	0.04
5	0.08	0.17	0.03
7	0.12	1.17	0.03
10	0.05	0.22	0.02
15	0.07	0.13	0.02
20	0.04	0.06	0.02
30	0.04	0.02	ND

หมายเหตุ LOQ ของ chlorpyrifos ในดินและตะกอน เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
LOQ ของ chlorpyrifos ในน้ำ เท่ากับ 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร
ND = not detected คือ ตรวจไม่พบ

ในการฉีดพ่น chlorpyrifos ครั้งที่ 2 และ 3 หลังฉีดพ่น 1 วัน มีปลาตายจำนวนมาก ได้มีการเก็บตัวอย่างปลาหลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 ผลการตรวจวิเคราะห์ในปลา 2 ชนิด ได้แก่ ปลานิล และปลาตะเพียน พบปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos < LOQ – 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่า LOQ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยพบสารพิษตกค้างมากที่สุดหลังฉีดพ่น 1 วัน โดยปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos พบในปลาตะเพียนสูงกว่าในปลานิล ส่วนระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (AChE Activity) ในปลาทั้งสองชนิด เมื่อเทียบกับปลากลุ่มควบคุม จะมีการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ลดลงจากระดับปกติ ภายหลังการฉีดพ่น 1 วัน โดยแต่ละกระชังมีปลาทั้งสองชนิดตายจำนวนมาก ซึ่งอาจเป็นผลจากการได้รับความเข้มข้นของสารปนเปื้อนอยู่ในน้ำ ความเข้มข้นของ chlorpyrifos ในน้ำจึงเป็นตัวแปรสำคัญต่อการยับยั้งระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในปลาแต่ละชนิด ในการที่ระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส มีการลดลงมากกว่า 50% เมื่อเทียบกับระดับปกติ นั่นเป็นสาเหตุของการตายได้ (Ludke, *et al.*, 1975) พบปริมาณสารพิษในเนื้อปลาตะเพียนสูงกว่าในปลานิล ในปลาทั้งสองชนิดที่อยู่ในร่องน้ำได้รับผลกระทบจากการฉีดพ่น chlorpyrifos ในแปลงพริก ค่าเฉลี่ยของระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (AChE activity) ในสมองปลาลดลงเมื่อเทียบกับปลากลุ่มควบคุม ดังตารางที่ 3 และ 4

เนื่องจาก chlorpyrifos เป็นสารที่มีความเป็นพิษสูง (highly toxic) ต่อปลาและสัตว์น้ำ ความเป็นพิษของ chlorpyrifos อยู่ใน class II - moderately toxic ค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง ในปลา mature rainbow trout 0.009 มิลลิกรัมต่อลิตร, ปลา lake trout 0.098 มิลลิกรัมต่อลิตร, ปลา goldfish 0.806 มิลลิกรัมต่อลิตร, ปลา bluegill 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร, และปลา fathead minnow 0.331 มิลลิกรัมต่อลิตร บางรายงานบ่งชี้ว่า chlorpyrifos อาจสะสมในเนื้อของสัตว์น้ำได้ จากการศึกษาในปลาตั้งแต่ระยะตัวอ่อนถึงระยะโตเต็มวัย ได้ค่า bioconcentration 58 – 5,100 โดยขึ้นอยู่กับค่าที่ใช้ในการศึกษาความเป็นพิษ (acute toxicity) และความคงทนของสารนี้ในตะกอน (Extoxnet, 1996) สำหรับค่าดัชนีคุณภาพน้ำได้ตรวจวัดค่าออกซิเจนละลายในร่องน้ำ 1.9 – 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำ 6.8 – 7.4 อุณหภูมิน้ำ 28.0 – 33.3 องศาเซลเซียส ส่วนผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักกระเฉด พบว่ามีปริมาณ < LOQ – 1.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่า LOQ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยพบปริมาณสารพิษตกค้างสูงที่สุดในวันที่ฉีดพ่น ดังตารางที่ 2 และสารพิษตกค้างในผักกระเฉดมีปริมาณลดลงต่ำกว่าค่า LOQ ภายในหนึ่งเดือน

จากข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างในผักกระเฉดและปลา สามารถนำไปประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคผักกระเฉดดิบและปลาสุก ในแต่ละวันของผู้บริโภค เปรียบเทียบกับค่า RfD (Reference dose) หรือ ADI (Acceptable Daily Intake) ที่มีการศึกษาในสัตว์ทดลอง ค่า RfD ของ chlorpyrifos 0.0003 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน โดยประเมินการได้รับสัมผัส โดยใช้สมการพื้นฐาน

$$\text{การได้รับสัมผัสทางการบริโภค (dietary intake)} = \frac{\text{ระดับการปนเปื้อนสารพิษ} \times \text{ปริมาณการบริโภค}}{\text{น้ำหนักตัวผู้บริโภค}}$$

ตารางที่ 2. ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในปลา และผักกระเฉด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, mg/kg) หลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 ในพริก

เวลาหลังการฉีดพ่น (วัน)	ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos (mg/kg)		
	ปลานิล	ปลาตะเพียน	ผักกระเฉด
Control	< LOQ	ND	ND
0	0.02	0.08	1.32
1	0.03	0.09	0.53
3	0.02	0.07	0.10
5	0.02	0.04	0.06
7	0.03	0.07	0.32
10	< LOQ	0.03	0.12
15	ND	ND	0.04
20	NA	NA	0.01
30	NA	NA	< LOQ

หมายเหตุ LOQ ของ chlorpyrifos ในปลาเท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
LOQ ของ chlorpyrifos ในผักกระเฉด และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
NA = not analyzed คือ ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์ ND = not detected คือ ตรวจไม่พบ

โดยในคนไทยผู้บริโภคน้ำหนักตัวเฉลี่ย 53.5 กิโลกรัม หากประเมินการบริโภคผักกระเฉด ในลักษณะของอาหารดิบ ที่พิจารณาจากการบริโภคระดับสูงที่ 97.5 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 82 กรัมต่อคนต่อวัน จะทำให้ได้ผลการคำนวณค่าการได้รับสารพิษ (intake) สูงสุด (มกอช., 2549) เมื่อคำนวณแล้วพบว่า ผู้บริโภคผักกระเฉดดิบ จะได้รับสารพิษสูงกว่าค่า RfD หลังฉีดพ่น chlorpyrifos ในพริก ช่วง 0 – 5 วัน เท่ากับ 224.70 – 103.52% จัดว่ามีความเสี่ยงสูงมาก (High) ภายหลังจาก 5 วันไปแล้ว ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ในผักกระเฉดลดลง จากการคำนวณการได้รับสารพิษจากการบริโภคจะอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (accept) โดยเมื่อพิจารณาค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum residue limits, MRLs) ของไทย (มกอช., 2551) ในพริก 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หลังฉีดพ่น 0 และ 1 วัน ค่าสารพิษตกค้างในผักกระเฉดเกินค่า MRL ของ chlorpyrifos ในพริก และค่อยๆ ลดลงจนสารพิษตกค้างไม่เกินค่า MRL

เมื่อคำนวณการได้รับสัมผัสทางการบริโภคเช่นเดียวกับผักกระเฉด หากประเมินการบริโภคปลา ในลักษณะของอาหารสุก ที่พิจารณาจากการบริโภคระดับสูงที่ 97.5 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 168 กรัมต่อคนต่อวัน พบว่า ผู้บริโภคปลาตะเพียนและปลานิลที่มีการปนเปื้อน การได้รับสารพิษจากการบริโภคจะอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (accept) เมื่อพิจารณาค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs) ของไทย (มกอช., 2551) ในเนื้อสุกร (ไขมัน) 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หลังฉีดพ่น chlorpyrifos ค่าสารพิษตกค้างในปลาทั้ง 2 ชนิด เกินค่า MRL ของ chlorpyrifos ในสุกร (ไขมัน) ส่วนค่า half-life ของ chlorpyrifos ในผักกระเฉด 10.34 วัน และ ในปลาตะเพียน 7.53 วัน ในปลานิล 11.74 วัน