รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2558

1. ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

2. โครงการวิจัย การพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์พืชและปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กิจกรรมที่ 1 พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารสกัด และวัตถุอันตรายทางการเกษตร

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 พัฒนาเทคนิคระบบการตรวจวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์พืช

3. ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย) การศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช paclobutrazol ที่ตกค้างในดินสำหรับการปลูกพืช

ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) The study quantitative for residues paclobutrazol in soil for plant

4. คณะผู้ดำเนินงาน

ชื่อหัวหน้าโครงการ	นางจิติมา ยถาภูธานนท์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
หัวหน้าการทดลอง	นางสาธิดา โพธิ์น้อย	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน	นางสาวสุพิศสา ทองเขียว	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นางสาวนันทกานต์ ขุนโหร	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นางสาวสุภา โพธิจันทร์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นายมนต์ชัย อินท่าอิฐ	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

5. บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณ paclobutrazol (PBZ) ที่ตกค้างในดินสำหรับปลูกพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณและวิธีการวิเคราะห์สาร PBZ ในดิน โดยทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ จากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณ PBZ ในตัวอย่างดินจากสวนเกษตรกรจังหวัดนครราชสีมา สุพรรณบุรี และจังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ระยะความลึก 0-10 และ 10-20 เซนติเมตร จากการศึกษาพบว่า การสกัดปริมาณสาร PBZ ในดิน ด้วยตัวทำละลายเมทานอล จะให้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (% recovery) สูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน โดยที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร มี เปอร์เซ็นต์ recovery เท่ากับ 73.73 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความลึก 10-20 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์ recovery เท่ากับ 79.18 เปอร์เซ็นต์ และขนาดของดินที่ให้ผลการสกัดดีที่สุดคือที่ขนาดเล็กกว่า 1.00 เซนติเมตร จากนั้นศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ PBZ ในดิน ด้วยเทคนิค GC-FID และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ โดยการตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity) ขีดจำกัดต่ำสุด ที่สามารถตรวจได้ (LOD) ขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้อย่างถูกต้อง (LOQ) ค่าความถูกต้อง (accuracy) และค่าความแม่นยำ (precision) ผลการตรวจสอบวิธีการนี้มี LOD เท่ากับ 0.1456 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน LOQ เท่ากับ 0.4852 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน มีค่า accuracy ที่ได้จาก เปอร์เซ็นต์ recovery อยู่ระหว่าง 63.09-95.94 เปอร์เซ็นต์ (80-110%, AOAC) มีค่า precision ที่ได้จากค่า HORRAT อยู่ระหว่าง 0.49-13.25 (HORRAT$\leq$2, AOAC) ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ PBZ ในตัวอย่างดินจากสวนเกษตรกร จำนวน 20 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบ ทั้งนี้

อาจเป็นผลเนื่องมาจากเครื่องมือไม่เหมาะสมกับการตรวจวิเคราะห์ในระดับต่ำกว่า 0.1456 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน

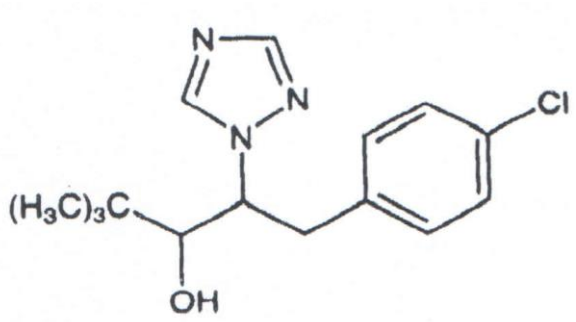
Abstract

Study on the paclobutrazol (PBZ) residual effect in soil to plant growth. This purpose for analyst PBZ residue in soil and to study the method validation of PBZ. The soil samples were obtained after cultivation of mango at depths 5-10 and 10-20 centimeters in Nakhon Ratchasima, Suphan buri and Chachoengsao province, commonly used PBZ. The results showed that, the extraction of PBZ from soil with methanol highest recovery was 73.73% (mg/kg soil) depts soil 0-10 and 79.18% (mg/kg soil) depths soil 10-20 centimeter. The size extract best of soil is smaller 1.00 millimeters. Then, using GC-FID detection, was used to determine the PBZ residues. The GC-FID determination was optimized and validated according to the parameters of linearity, limit of detection, limit of quantification, accuracy and precision. The results showed that, LOD as 0.1456 mg/kg soil, LOQ as 0.4852 mg/kg soil, accuracy (recovery) between 63.09-95.94 %, (80-110%, AOAC) and precision (HORRAT) between 0.49-13.25 (HORRAT $\leq$2, AOAC). Then were used to determine the PBZ residues in twenty soil sample. The result show that, non detected. This may, The GC-FID determination was not optimized lower level 0.1456 mg/kg soil

6. คำนำ

แพคโคลบิวทราโซล (paclobutrazol, PBZ)

สารแพคโคลบิวทราโซล เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่จัดอยู่ในกลุ่มของ สารชะลอการเจริญเติบโต (plant growth retardants) ชื่อทางเคมีคือ beta-((4-chlorophenyl)-alpha-(1,1-dimethyle 1,2,4-triazole-1-ethanol น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 293.80 สูตรโมเลกุล $C_{15}H_{20}ClN_3O$ (Susan *et al*.,1996) มีสูตรโครงสร้างดังนี้



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของสารแพคโคลบิวทราโซล

ที่มา : Susan *et al*. (1996)

PBZ เป็นสารอินทรีย์สังเคราะห์ ช่วยยับยั้งการแบ่งเซลล์และขยายขนาดของเซลล์ ควบคุมความสูง โดยยับยั้งการทำงานของจิบเบอเรลลินภายในพืช เร่งการออกดอก เพิ่มความหนาของใบและลำต้น เพิ่มการสังเคราะห์แสง เนื่องจากพื้นที่ของใบลดลง แต่คลอโรฟิลล์เท่าเดิม ทำให้มีการสังเคราะห์แสงมากขึ้น (พีรเดช, 2537) และพบว่า สารนี้สามารถบังคับให้มะม่วงออกดอกนอกฤดูได้ จากคุณสมบัติที่มากมายดังกล่าว เกษตรกรจึงมีการใช้สารนี้กันอย่างแพร่หลาย ทำให้มีการนำเข้าสาร PBZ จากต่างประเทศเป็นอันดับหนึ่งของการนำเข้าสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่างๆ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2557)

มะม่วงเป็นผลไม้เศรษฐกิจที่นิยมปลูกกันมาก เพราะนอกจากจะเป็นผลไม้ที่ผลิตขึ้นเพื่อบริโภคภายในประเทศส่วนใหญ่แล้วยังเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพอันดับต้นๆในการส่งออกของประเทศไทย ปริมาณการส่งออกมะม่วงผลสดในปี 2557 เท่ากับ 45,544,160 กิโลกรัม มูลค่า 1,264,782,691.0 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์4 และสีทอง ประสบปัญหาความผิดปกติของช่อดอกมะม่วง ส่งผลให้ไม่มีการติดผลเกิดความเสียหายกับเกษตรกร บางพื้นที่เสียหายถึง 100 เปอร์เซ็นต์ จึงมีการศึกษาถึงสาเหตุในเบื้องต้นศึกษาปริมาณธาตุอาหาร (จุลศักดิ์ และคณะ, 2551) อีกสาเหตุที่อาจเป็นผลทำให้เกิดความผิดปกติของอาการดังกล่าวคือปริมาณสารตกค้างของสาร PBZ ซึ่งมีการใช้กับมะม่วงโดยเฉพาะการราดลงดิน งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาถึงปริมาณสาร PBZ ในดินที่ใช้ปลูกพืช โดยเฉพาะในดินที่ใช้ปลูกมะม่วง และวิธีการวิเคราะห์สาร PBZ ในดิน

7. วิธีดำเนินการ

7.1 อุปกรณ์

เครื่อง gas chromatography รุ่น 6890N ที่มีตัวตรวจจับชนิด flam ionization detector (FID), เครื่องชั่งทศนิยม 5 ตำแหน่ง รุ่น TA 201, เครื่องเขย่าผสมสารเคมี (vortex mixer), เครื่องระเหยลดความดัน (rotary evaporator), เครื่องเขย่า (shaker), ขวดรูปชมพู่ขนาด 125, 250 และ 500 มิลลิลิตร, หลอดทดลองขนาด 2, 5, 10 และ 15 มิลลิลิตร, ขวดวัดปริมาตร ขนาด10, 50, 100 และ 1000 มิลลิลิตร,ขวดระเหยขนาด 250 มิลลิลิตร ขวดฉีดตัวอย่างขนาด 2 มิลลิลิตร, บีกเกอร์ ขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร, ปิเปตปริมาตร ขนาด 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร

7.2 สารเคมี

อะซิโตน ชนิด GR grade, Di-(2-ethylhexyl)-phthalate, สารมาตรฐาน paclobutrazol เข้มข้น 99%, paclobutrazol เข้มข้น 96% tech, เมทานอล ชนิด GR grade, celite, poracil

7.3 ตัวอย่างดิน

ตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-10 และ 10-20 เซนติเมตร จากสวนเกษตรกรที่ปลูกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง ได้แก่ ดินจากแปลงเกษตรกรที่ปลูกมะม่วงในจังหวัดนครราชสีมา, ดินจากแปลงเกษตรกรที่ปลูกมะม่วงในจังหวัดสุพรรณบุรี, ดินจากแปลงเกษตรกรที่ปลูกมะม่วงในจังหวัดฉะเชิงเทรา

7.4 วิธีการ

7.4.1 ศึกษาวิธีการสกัดดินเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ paclobutrazol (PBZ) ในดิน

7.4.1.1 การเตรียมดิน จากตัวอย่างดินที่ไม่มีการใช้สาร PBZ เก็บที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร และ 10-20 เซนติเมตร นำมาผึ่งลมให้แห้งสนิท จากนั้นนำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2.00 มม. 1.00 มม. และ 600 ไมโครเมตร ได้ดินที่มีขนาด 2.00 มม. 1.00 ถึง 1.00 มม. และ น้อยกว่า 1.00 มม.

7.4.1.2 การสกัดดิน ชั่งดินให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 50.00 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิเมตร จำนวน 6 ซ้ำ ในดินแต่ละขนาดที่เตรียมได้จากข้อ1.1 เติมเมทานอลลงไป 100 มิลลิลิตร จำนวน 3 ซ้ำ เติมอะซิโตน เช่นเดียวกับเมทานอล ชั่ง PBZ 96 % tech ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 7 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดตัวอย่างดินทุกขวด (จะได้ตัวอย่างดินที่มี PBZ เข้มข้นประมาณ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทำ blank ควบคู่กับตัวอย่าง นำไปเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์5 ใส่ในขวดระเหยขนาด 250 มิลลิลิตร นำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยลดความดัน ที่อุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส ล้างตัวอย่างในขวดด้วยเมทานอลไม่เกิน 25 มิลลิลิตร

7.4.1.3 การทำ partition clean-up นำตัวอย่างมากรองผ่าน celite คอลัมน์ และเก็บสารที่กรองผ่าน poracil B-c18 คอลัมน์ ล้างด้วย 50 % เมทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เก็บสาร PBZ ด้วย 85% เมทานอล ทิ้ง ส่วนแรกที่ elution 0.8 มิลลิลิตร ส่วนที่เหลือเก็บใส่ขวด นำไประเหยแห้ง เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

7.4.2 ศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ paclobutrazol ในดิน ด้วยเทคนิค chromatograph

7.4.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณ paclobutrazol ในดิน ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) ด้วย UV ดีเทคเตอร์

ก. ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างดิน จากข้อ 7.4.1 ก่อนนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ด้วย UV ดีเทคเตอร์

ข. สภาวะของเครื่อง

Column	: stainless steel column 250x4.6 mm, μ-bondapac C18,10μm.
Mobile phase	: MeoH: acetonitrile: water (44:14:42)
Injection volumn	: 10μL

Flow rate : 1.3 ml /min

Detection : UV 230 nm

ค. เตรียมสารมาตรฐาน paclobutrazol

- ชั่ง paclobutrazol 99.6 % จำนวน 0.05055 กรัม ละลายด้วยเมทานอล ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (ได้สารละลายเข้มข้น 503.478 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปิเปตสารละลายมา 2 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล (ได้สารละลายเข้มข้น 10.06956 มิลลิกรัมต่อลิตร)

- นำสารละลายจากข้อ ก มาทำ calibration curve โดย ปิเปตมา 0.5 1.0 2.0 3.0 และ 4.0 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย mobile phase กรองด้วยแมมแบรนขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ขวดฉีดขนาด 4 มิลลิลิตร เพื่อฉีดเข้าเครื่อง HPLC (ได้สารละลายเข้มข้น 0.5035, 1.0069, 2.0139, 3.0209 และ 4.0278 มิลลิกรัมต่อลิตร)

- ดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่างดินที่สกัดได้จากข้อ ก. มาวิเคราะห์ควบคู่กับสารมาตรฐาน ตามสภาวะของเครื่อง HPLC ในข้อ ค.

7.4.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณ paclobutrazol ในดิน ด้วยเครื่อง gas liquid chromatography (GC) ที่มี flam ionization detector (FID)

ก. ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างดิน จากข้อ 7.4.1 ก่อนนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID

ข. สภาวะของเครื่อง GC-FID

capillary column	: HP-5, 30 m x 0.320 mm x 0.25 µm
column temperature	: 220 ^{0}C
injection temperature	: 250 ^{0}C
detector temperature	: 300 ^{0}C
carrier gas	: He : 2 ml/min
gas detector	: hydrogen 45.0 ml/min: air 350 ml/min
makeup gas	: nitrogen 45.0 ml/min
injection volume	: 1.0 µl
run time	: 15 min
system temperature	: isothermal

ค. การเตรียมสารมาตรฐานเพื่อทำ calibration curve

ชั่งสาร paclobutrazol ความเข้มข้นสูง 99.6 % w/w จำนวน 0.05288 กรัม ลงในขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetone (ได้สารละลายเข้มข้น 507.648 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปิเปตมา 2 มิลลิลิตร ลงในขวดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetone (ได้สารละลายเข้มข้น 10.15296 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทำ calibration curve จากสารละลายเข้มข้น 10.15296 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิเปตมา 0.05 0.10 0.50 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มิลลิลิตร ลงในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย

acetone ทำความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ (ได้สารละลายเข้มข้น 0.05076 0.09849 0.49247 0.98493 1.96987 2.95480 3.93974 และ 4.92467 มิลลิกรัมต่อลิตร) ถ่ายใส่ขวดฉีด ขนาด 2 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมฉีดเข้าเครื่อง GC

ง. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างจากข้อ 7.4.1 ที่ระเหยเมทานอลออกแล้ว มาละลายด้วย acetone ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetone จากนั้นถ่ายใส่ขวดฉีด ขนาด 2 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

7.4.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ paclobutrazol (PBZ) ในดิน

(เลือกจากสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดตัวอย่างดินอ้างอิงและเครื่องมือที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์)

7.4.3.1 การตรวจสอบ ค่า LOD และ LOQ

นำตัวอย่างดินมาดำเนินการตามขั้นตอนของการวิเคราะห์ในข้อ 7.4.1 โดยการเติมสารมาตรฐาน PBZ ที่ความเข้มข้น 1.0000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 ซ้ำ แล้วหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) นำมาคำนวณหาค่า LOD และ LOQ ที่ 3SD และ 10SD ตามลำดับ

7.4.3.2 การตรวจสอบช่วง (range) ของวิธี

นำตัวอย่างดินมาดำเนินการตามขั้นตอนของการวิเคราะห์ในข้อ 7.4.1 โดยการเติมสารละลาย PBZ ที่เตรียมได้จากข้อ 7.4.1.4 มาฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย (mean) นำมาพิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงที่ให้ค่า Correlation coefficient (r) $\geq$ 0.995

7.4.3.3 การตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity) ของวิธี

ดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ ข. เลือกความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานช่วงที่เป็นเส้นตรงจากค่า range มา 6 ความเข้มข้น ฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ พิจารณาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นจากความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีคสารที่ให้ค่า correlation coefficient (r) $\geq$ 0.995

7.4.3.4 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) ของวิธี

ดำเนินการตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ ข. เลือกความเข้มข้นจากค่า range มา 3 ค่า พิจารณาเลือกความเข้มข้นที่ ต่ำ กลาง สูง มาดำเนินการวิเคราะห์ คำนวณความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้เพื่อ

หาค่า Accuracy จากสูตร % recovery = (x2-x1)/c x 100

โดย x2 = ค่าที่วิเคราะห์ได้

x1 = ค่าจริง

C = ความเข้มข้นที่เติม

หาค่า precision จาก ค่า mean, SD และ %RSD ของแต่ละชุดความเข้มข้น จากสูตร

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

$$\text{Predicted Horwitz RSD} = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)}$$, C= ความเข้มข้นที่วิเคราะห์

-เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2556 ถึง กันยายน 2558

สถานที่ กลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืช วัตถุเคมีการเกษตร และนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร
กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 ศึกษาวิธีการสกัดดินเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ paclobutrazol (PBZ) ในดิน

จากตัวอย่างดินที่ไม่มีการใช้สาร PBZ เก็บที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร และ 10-20 เซนติเมตร นำมาผึ่งลมให้แห้งสนิท จากนั้นนำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2.00 มม. 1.00 มม. และ 600 ไมโครเมตร ได้ดินที่มีขนาด 2.00 มม. 1.00 ถึง 1.00 มม. และ น้อยกว่า 1.00 มม. แล้วนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย คือ เมทานอล และอะซิโตน จากนั้นทำ partition clean-up แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID ผลการสกัดปริมาณ paclobutrazol (PBZ) ในดินด้วยเมทานอลได้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%recovery) มีค่าระหว่าง 29.24-79.18 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ PBZ ที่พบมีค่าอยู่ระหว่าง 0.2396-0.5543 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของดิน (ตารางที่1) และการสกัดด้วยอะซิโตน ได้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%recovery) มีค่าระหว่าง 33.56-48.32 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ PBZ ที่พบมีค่าอยู่ระหว่าง 0.2047-0.5212 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของดิน (ตารางที่2)

ตารางที่ 1 การสกัดดินขนาด 2.00 มม. 1.00 ถึง 1.00 มม. และ น้อยกว่า 1.00 มม. ด้วยเมทานอล ที่เติม PBZ ปริมาณ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของดิน

ระดับความลึก (cm)	ขนาด (mm)	Recovery (%)	ซ้ำ	SD	PBZ (mg/kg soil)	
					ปริมาณที่ใส่	ปริมาณที่พบ
0-10	<1.00	73.73	3	22.32	0.7102	0.5161
0-10	1.00	64.25	3	19.02	0.7311	0.4497
0-10	2.00	29.24	3	9.48	0.7134	0.2047
10-20	<1.00	79.18	3	23.54	0.7223	0.5543
10-20	1.00	34.23	3	12.52	0.7154	0.2396
10-20	2.00	45.26	3	13.23	0.7267	0.3168

ตารางที่ 2 การสกัดดินขนาด 2.00 มม. 1.00 ถึง 1.00 มม. และ น้อยกว่า 1.00 มม. ด้วยอะซิโตน ที่เติม PBZ ปริมาณ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของดิน

ระดับความลึก (cm)	ขนาด (mm)	Recovery (%)	ซ้ำ	SD	PBZ (mg/kg soil)	
					ปริมาณที่ใส่	ปริมาณที่พบ
0-10	<1.00	47.12	3	12.34	0.7102	0.4533
0-10	1.00	35.45	3	9.12	0.7311	0.3741
0-10	2.00	55.32	3	10.35	0.7134	0.3914

10-20	<1.00	33.56	3	12.42	0.7223	0.5212
10-20	1.00	48.32	3	11.81	0.7154	0.3354
10-20	2.00	42.60	3	15.30	0.7267	0.3096

จากผลการทดลองจะพบว่า การสกัดดินด้วยตัวทำละลายเมทานอลจะให้ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน โดยที่ระดับความลึกดิน 0-10 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์การคืนกลับเท่ากับ 73.73 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความลึก 10-20 เซนติเมตร มี เปอร์เซ็นต์การคืนกลับเท่ากับ 79.18 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าขนาดของดินที่ให้ผลการสกัดดีที่สุดคือที่ขนาดเล็กกว่า 1.00 มิลลิเมตร

8.2 ศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ paclobutrazol ในดิน ด้วย เทคนิค gas chromatograph

8.2.1 การตรวจสอบ ค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

การหาค่า limit of detection (LOD) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ PBZ ในดินด้วยเทคนิค GC-FID ซึ่งใช้ sample blank เป็นดินที่ไม่มีการใช้สาร PBZ จากการตรวจสอบสามารถหาค่าต่ำสุดของวิธการวิเคราะห์หรือ LOD เท่ากับ 0.1456 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน จึงนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่สามารถตรวจสอบและรายงานผลได้หรือ LOQ เท่ากับ 0.4852 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ค่า LOD และ LOQ ในตัวอย่างดิน จำนวน 10 ซ้ำ

No.	ปริมาณ PBZ (mg/kg soil)
1	0.6501
2	0.6439
3	0.6206
4	0.6847
5	0.5201
6	0.6302
7	0.5926
8	0.5764
9	0.6503
10	0.5731
mean	0.6142
SD	0.0485
LOD (3 X SD)	0.1456

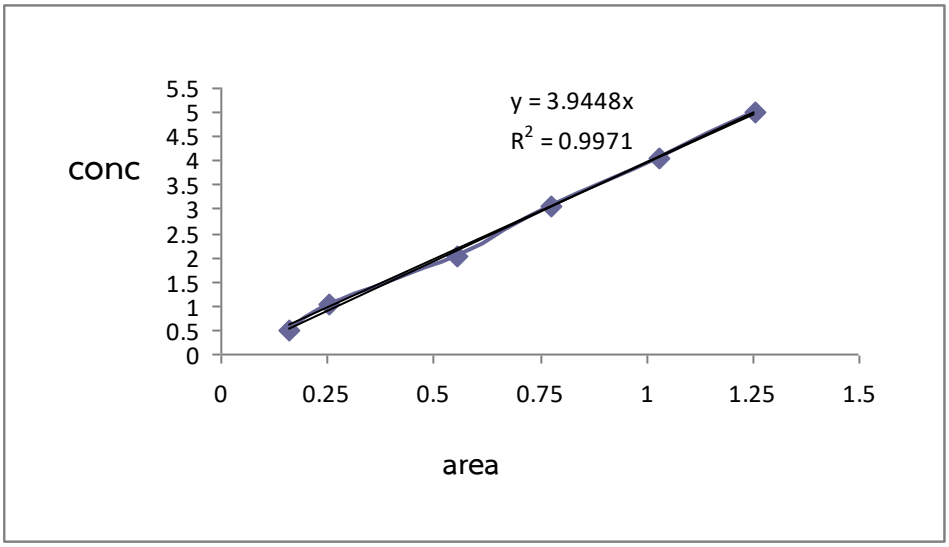
LOQ (10 X SD)	0.4852

8.2.2 การตรวจสอบช่วง (range) ของวิธี

การตรวจสอบช่วงของวิธีการวิเคราะห์ ซึ่งได้ทำการตรวจสอบที่ความเข้มข้น 0.05-5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน มาฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย (mean) นำมาพิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงที่ให้ค่า Correlation coefficient (r) $\geq$ 0.995 พบว่าช่วงของการตรวจสอบอยู่ระหว่าง 0.5-5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน (ภาพที่ 2) เนื่องจากที่ความเข้มข้น 0.05-5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน ตรวจไม่พบพีคของตัวอย่าง ทำให้ไม่สามารถวัดค่าได้ จึงทำการตรวจสอบที่ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.5-5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน จึงนำค่าที่ได้ไปทำการตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity) ของวิธีต่อไป

8.2.3 การตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity) ของวิธี

เลือกความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานช่วงที่เป็นเส้นตรงจากค่า range มา 6 ความเข้มข้น ฉีดเข้าเครื่อง GC-FID ความเข้มข้นละ 1 ซ้ำ พิจารณาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นจากความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีคที่ให้ค่า correlation coefficient (r) $\geq$ 0.995 (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 Range และ Linearity ของวิธีการวิเคราะห์ paclobutrazol ในดินที่ความเข้มข้น 0.5-5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน

8.2.4 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) ของวิธี

ผลวิเคราะห์ค่าความถูกต้อง (accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์ PBZ ในดิน ที่ 3 ระดับความเข้มข้น จาก % recovery พบว่า ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร ความเข้มข้นของ PBZ ที่ 0.4924, 0.9849 และ 1.9698 มี% recovery เฉลี่ยระหว่าง 89.1755-95.8976, 90.9331-95.9387 และ 63.0927-87.7703 ที่ระดับความลึก 10-20 เซนติเมตร มี% recovery เฉลี่ยระหว่าง 81.8846-88.5662, 90.5168-94.6390 และ 96.3803-

97.5378 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ซึ่งค่าเฉลี่ยของ% recovery ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 1-10 mg/l ต้องมี recovery เท่ากับ 80-110 %

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ accuracy ของ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน ที่ระดับความลึกของดินเท่ากับ 0-10 และ 10-20 เซนติเมตร

No.	ระดับความลึกดิน (ซม.)	ความเข้มข้นของ PBZ (mg/kg soil)					
		0.4924		0.9849		1.9698	
		วิเคราะห์ได้	recovery (%) เฉลี่ย	วิเคราะห์ได้	recovery (%) เฉลี่ย	วิเคราะห์ได้	recovery (%) เฉลี่ย
1นายฮุย	0-10	0.4506	91.5110	0.9449	95.9387	1.7289	87.7703
2หนึ่งนุช	0-10	0.4391	89.1755	0.9212	93.5323	1.2428	63.0927
3สมสกุล	0-10	0.4722	95.8976	0.8956	90.9331	1.6987	86.2372
1นายฮุย	10-20	0.4032	81.8846	0.8915	90.5168	1.8985	96.3803
2หนึ่งนุช	10-20	0.4112	83.5093	0.9189	93.2988	1.9015	96.5326
3สมสกุล	10-20	0.4361	88.5662	0.9321	94.6390	1.9213	97.5378

จากผลการตรวจสอบแสดงให้เห็นว่า ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ อยู่ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน ซึ่งให้ค่า recovery มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของทุกตัวอย่างวิเคราะห์

ผลการวิเคราะห์ความเที่ยง (Precision) ของวิธีการวิเคราะห์ PBZ ในดิน ที่ 3 ระดับความเข้มข้น จาก HORRAT พบว่า ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร ความเข้มข้น 0.4924, 0.9849 และ 1.9698 mg/l ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 2.80, 2.00 และ13.25 ตามลำดับ ระดับความลึก 10-20 เซนติเมตร มีค่า HORRAT เท่ากับ 3.11, 1.71 และ 0.49 (ตารางที่ 5) ซึ่งตามเกณฑ์มาตรฐาน AOAC ต้องมีค่า HORRAT $\leq$ 2 แต่จากผลการทดลองพบว่าค่า HORRAT ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานอยู่ที่ความเข้มข้น 0.9849 mg/l ทั้งสองระดับความลึกของดิน และที่ความเข้มข้น 1.9698 mg/l ที่ระดับความลึกของดิน 10-20 เซนติเมตร

ตารางที่ 5 การหาค่า precision จาก HORRAT ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ ของ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับความลึกของดินเท่ากับ 0-10 และ 10-20 เซนติเมตร

No.	ระดับความลึกดิน (ซม.)	ความเข้มข้นของ PBZ (mg/kg soil)					
		0.4924		0.9849		1.9698	
		วิเคราะห์ได้	HORRAT	วิเคราะห์ได้	HORRAT	วิเคราะห์ได้	HORRAT
1นายฮุย	0-10	0.4506		0.9449		1.7289	
2หนึ่งนุช	0-10	0.4391		0.9212		1.2428	

3สมสกุล	0-10	0.4722	2.80	0.8956	2.00	1.6987	13.25
1นายฮุย	10-20	0.4032	3.11	0.8915	1.71	1.8985	0.49
2หนึ่งนุช	10-20	0.4112		0.9189		1.9015	
3สมสกุล	10-20	0.4361		0.9321		1.9213	

เมื่อนำวิธีการที่ได้มาตรวจสอบปริมาณสาร PBZ ในดินตัวอย่างจากสวนของเกษตรกรที่ปลูกมะม่วงในจังหวัดนครราชสีมา สุพรรณบุรี และฉะเชิงเทรา ทั้งสิ้นจำนวน 20 ตัวอย่าง โดยแบ่งตัวอย่างเป็น ระยะเวลาของการปลูก คือ ไม่เกิน 10 ปี, 10-20 ปี และ มากกว่า 20 ปี จากตัวอย่างดิน ที่ระดับความลึก 0-10 และ 10-20 เซนติเมตร ผลการตรวจสอบไม่พบปริมาณสารตกค้าง PBZ ในทุกตัวอย่างดิน อาจเป็นผลสืบเนื่องจาก ไม่มีสารตกค้างในดินที่ทำการตรวจสอบ หรือวิธีการดังกล่าวไม่สามารถตรวจตัวอย่างที่มีค่าความเข้มข้นของ PBZ ในระดับที่ต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิธีการวิเคราะห์สาร PBZ ในดิน ต้องเตรียมดินให้มีความละเอียดน้อยกว่า 1.00 มม. และทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ก่อนทำการ clean up ตัวอย่างเพื่อ นำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID โดยค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ เท่ากับ 0.1456 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน และค่าที่วิเคราะห์ได้ถูกต้องแม่นยำ คือที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาวิธีการที่วิเคราะห์ที่ได้ค่าต่ำกว่า ควรศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องเทคนิคการสกัดดินเพื่อให้ตัวอย่างปราศจากสารปนเปื้อนอื่นๆ นอกจากสารที่เราสนใจ

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำวิธีการที่ได้ไปศึกษาเพิ่มเติมและเป็นข้อมูลในการศึกษาวิธีการอื่นๆ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง Paclobutrazol เพื่อควบคุมปริมาณการใช้สารเคมีชนิดนี้ไม่ให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรและสิ่งแวดล้อมต่อไป

11. คำขอบคุณ(ถ้ามี)

-

12. เอกสารอ้างอิง

จุลศักดิ์ บุญรัตน์ และ คณะ. 2551. **โครงการแก้ไขปัญหาดอกพลาสติกของมะม่วง**. *ใน* ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2551 เล่มที่1/2.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. **ฮอร์โมนและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย** พิมพ์ครั้งที่ 4 วิชัยการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2557 **รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตราย ปี 2557 (ชื่อสาร)**

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557 แหล่งที่มา http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php. 15 พฤษภาคม 2557.

Susan, B., M.J.O'Neil, A. Smith, P. Heckelman and J.F. Kinneary. 1996. **The Merck Index of Chemicals, Drugs and Biological**. 12th ed . Merck Research Laboratories. Division of. Merck & CO., INC. Whitehouse Station, NJ, USA.

13. ภาคผนวก

ตารางภาคผนวก1 สถิติการนำเข้าสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ปี 2557 (ชื่อสาร)

No.	Common Name	Quantity (kg)	Value (Bht)	Ai (kg)
1	1-nephylacetic acid	3	3,840.00	2.94
2	butralin	20,124.00	6,561,319.08	7,244.64
3	ethephon	203,770.00	22,793,281.00	105,315.76
4	gibberillic acid	34	1,052.38	7.89
5	hydrogen cyanamide	17,000.00	4,163,806.00	8,840.00
6	paclobutrazol	1,285,511.00	107,512,308.51	168,507.80
7	nitrophenol	66,737.00	19,844,424.00	1,290.13
8	trinexapec-ethyl	1,248.00	2,483,750.40	1,398.00

ที่มา : สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร พ.ศ. 2557