

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. โครงการวิจัย : การศึกษาความรุนแรงของผลกระทบและการแผ่รังสีสารเคมี
ป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีพิษร้ายแรงหรือมีความคงทนใน
สภาพแวดล้อม
กิจกรรม : ศึกษาปัญหาและความรุนแรงของผลกระทบจากการใช้สาร
ป้องกันกำจัดศัตรูพืช
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : การสะสมและการแพร่กระจายสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่
เกษตรกรรม
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณเกษตรกรรม :
แม่น้ำท่าจีน
4. ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Accumulation of Pesticide in the main river in
Agricultural Area: The Thajean River
5. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : นางมลิสา เวชยานนท์
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน : นายนพดล มะโนเย็น
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวจันทิมา ผลกอง
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
6. บทคัดย่อ

ศึกษาการสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณเกษตรกรรมลุ่มแม่น้ำท่าจีนและคลอง
แยก โดยใช้ระบบกำหนดพิกัดภูมิศาสตร์ (Global Positioning System; GPS) จำนวน 24 จุด
สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน และพืชน้ำ 4 ครั้ง ในช่วงเดือนธันวาคม 2557 เดือนมีนาคม พฤษภาคม
และกรกฎาคม 2558 รวมทั้งหมด 178 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างน้ำ ตะกอน และพืชน้ำ จำนวน 96,
51 และ 31 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ 51 ตัวอย่าง คิดเป็น 53
เปอร์เซ็นต์ สารพิษที่ตรวจพบได้แก่สารกำจัดวัชพืชกลุ่มไตรอาซีนชนิด ametryn และ atrazine
ปริมาณ 0.04 – 0.06 และ 0.05 – 0.28 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ตรวจไม่พบสารพิษใน
ตัวอย่างตะกอนและตัวอย่างพืช อย่างไรก็ตามปริมาณสารพิษที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำนี้ไม่เกิน

ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (Maximum Allowable Concentration, MAC) ในน้ำ และไม่อยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อปลา รวมทั้งอยู่ในระดับที่ปลอดภัยสำหรับพืชและสัตว์น้ำ ตลอดจนปลอดภัยต่อผู้บริโภค

Study on accumulation of pesticides in agricultural plantation area of The Thajean River. The sample were collected from 24 sites in difference seasons of 4 times per year by the Global Positioning System; GPS during December 2014, March, May and July 2015 and analyzed for pesticide compounds, insecticide, herbicides and fungicides. The total number of samples 178 samples; water, sediment and aquatic plant were 96, 51 and 31 samples, respectively. The result shows that a total number of 96 water sample, the percentage of positive sample were 53 %. The concentration of pesticide in water were found triazine of herbicide group; ametryn and atrazine amount $<0.04-0.06$ and $0.05-0.28 \mu\text{g/L}$, respectively. For sediment and aquatic plant samples not detected pesticide. However, the concentrations of pesticides found in water were lower than Maximum Allowable Concentration; MAC, Median lethal concentration and their respective Acceptable Daily Intake (ADI) values for Humans.

7. คำนำ

แม่น้ำท่าจีนเป็นแม่น้ำสำคัญสายหนึ่งในเขตภาคกลางของประเทศ แยกจากแม่น้ำเจ้าพระยาที่อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท ไหลผ่านจังหวัดชัยนาท สุพรรณบุรี นครปฐม ไหลออกสู่อ่าวไทยที่ตำบลบางหญ้าแพรก อำเภอเมืองสมุทรสาคร มีความยาวทั้งสิ้นประมาณ 325 กิโลเมตร และมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามพื้นที่ที่แม่น้ำไหลผ่าน เช่นถ้าไหลผ่านจังหวัดชัยนาทเรียกว่าแม่น้ำมะขามเฒ่า ไหลผ่านจังหวัดสุพรรณบุรีเรียกว่าแม่น้ำสุพรรณบุรี ไหลผ่านจังหวัดนครปฐมเรียกว่าแม่น้ำนครชัยศรี และไหลผ่านจังหวัดสมุทรสาครเรียกว่าแม่น้ำท่าจีน แม่น้ำท่าจีน แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ แม่น้ำท่าจีนตอนบน ตั้งแต่จังหวัดชัยนาทถึงอำเภอเมืองสุพรรณบุรีรวมระยะทาง 123 กิโลเมตร แม่น้ำท่าจีนตอนกลาง ตั้งแต่อำเภอเมืองสุพรรณบุรีถึงอำเภอนครชัยศรี นครปฐม รวมระยะทาง 120 กิโลเมตร แม่น้ำท่าจีนตอนล่าง ตั้งแต่อำเภอนครชัยศรี นครปฐมถึงปากแม่น้ำอำเภอเมือง สมุทรสาคร รวมระยะทาง 82 กิโลเมตร

ตามอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Stockholm convention on Persistent Organic Pollutants, POPs) ประเทศไทยเป็นรัฐภาคีใน 50 ประเทศ ได้ให้สัตยาบันในเรื่องการเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของสารมลพิษ เพื่อเป็นการคุ้มครองสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจากสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน โดยให้มีการลดและเลิกการใช้

สารเหล่านี้ มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 17 พฤษภาคม 2547 (กรมควบคุมมลพิษ, 2547) กลุ่มวิจัย วัตถุประสงค์การเกษตรสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้ศึกษาการสะสมและการแพร่กระจายของสารพิษตกค้างเหล่านี้ รวมทั้งสารพิษกลุ่มอื่น ๆ ในบริเวณเกษตรกรรมลุ่มแม่น้ำที่สำคัญ ๆ โดยในปี 2554 (มลิสาและคณะ 2554) ได้ทำการศึกษาในเขตลุ่มแม่น้ำท่าจีน ซึ่งเป็นแม่น้ำสายหลักสำคัญในเขตภาคกลางที่มีการตรวจพบสารพิษตกค้างในกลุ่ม POPs แต่อยู่ในปริมาณค่อนข้างต่ำ ดังนั้นเพื่อเป็นการเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของวัตถุประสงค์การเกษตรในสิ่งแวดล้อมบริเวณเกษตรกรรมอย่างต่อเนื่อง ในปี 2558 จึงได้เลือกทำการศึกษาในเขตพื้นที่ลุ่มแม่น้ำท่าจีนและคลองแยก ซึ่งถือได้ว่าเป็นแม่น้ำอีกสายหนึ่งที่มีความสำคัญในเขตภาคกลาง รวมทั้งมีพื้นที่สำหรับทำการเพาะปลูกพืชที่หลากหลาย ประกอบกับสถานการณ์การใช้สารพิษที่ผ่านมามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (กรมควบคุมพิษและวัสดุทางการเกษตร, 2557) มีความเป็นไปได้ที่จะมีการปนเปื้อนสู่แม่น้ำและแหล่งน้ำใกล้เคียง

8. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วสกัดได้แก่ separatory funnel , beaker, cylinder, Erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, glass vial for auto sampler, volumetric pipette และ volumetric flask

2. เคมีภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ

2.1 สารเคมี analytical grade ได้แก่ silica gel, SPE C18 , SPE florisil , anhydrous sodium sulfate, acetone, dichloromethane, ethyl acetate, ethyl ether, hexane, methanol, sodium hydrogen carbonate, sulfuric acid, sodium hydroxide และ sodium chloride, ammonium chloride สารเคมีชนิด pesticide grade และ HPLC grade ได้แก่ acetone, acetonitrile, ethyl acetate, hexane และ iso-octane

2.3 สารพิษมาตรฐาน pesticide grade กลุ่มออร์กาโนคลอรีน 20 ชนิด ประกอบด้วย aldrin, alpha BHC, alpha endosulfan, beta BHC, beta endosulfan, cis chlordane, dicofol, dieldrin, endosulfan sulfate, endrin, gamma BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, o,p'-DDE, o,p'-DDT, o,p'-TDE, p,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-TDE และ trans chlordane กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 21 ชนิด ประกอบด้วย azinphos ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos methyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, monocrotophos, parathion methyl, pirimiphos methyl, profenofos, triazophos, methamidophos, omethoate และ phosalone กลุ่มไพรีทรอยด์ 7 ชนิด ประกอบด้วย bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, lamda cyhalothrin,

deltamethrin, fenvalerate และ permethrin กลุ่มคาร์บาเมท 7 ชนิด ประกอบด้วย carbaryl, carbofuran, fenobucarb, metalaxyl, methomyl, metolcarb และ promecarb กลุ่มไทโรอาซีน 3 ชนิด ประกอบด้วย ametryn, metribuzin และ triazine กลุ่ม chlorophenoxy compounds ชนิด 2,4-D และกลุ่ม bipyridyliums ชนิด paraquat

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์

เครื่องชั่งละเอียด, เครื่องสกัดชนิด separatory funnel shaker, shaker, Homogeneizer เครื่อง food processor เครื่องลดปริมาตร, เครื่อง spectrophotometer, เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ของบริษัท Agilent Technology รุ่น HP 6890 หัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD) และ Electron Capture Detector (ECD), เครื่อง Gas Chromatograph-Mass spectrometry รุ่น 5973

4. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง ได้แก่ แคร่งทำด้วย stainless steel และขวดพลาสติกชนิด polypropylene พร้อมฝาปิด สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ ช้อนทำด้วย stainless steel และขวดแก้วพร้อมฝาปิด สำหรับเก็บตัวอย่างตะกอน ถังพลาสติกพร้อมที่ผูก สำหรับเก็บตัวอย่างพีชีน้ำและสัตว์น้ำ ถังแช่พร้อมฝาปิด สำหรับเก็บรักษาสภาพตัวอย่างในระหว่างขนส่ง

- วิธีการ

1. สำรวจพื้นที่และกำหนดจุดเก็บตัวอย่างบริเวณที่พื้นที่เกษตรกรรมที่แม่น้ำท่าจีนไหลผ่านตลอดทั้งสาย โดยใช้ระบบกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)

2. การเก็บ และเตรียมตัวอย่าง

2.1 ตัวอย่างน้ำ สุ่มเก็บให้เต็มขวดปริมาตรประมาณตัวอย่างละ 4 ลิตร

2.2 ตัวอย่างตะกอน สุ่มเก็บจุดเดียวกับน้ำ ให้ได้น้ำหนักประมาณ 500 กรัม ปิดฝาให้สนิท ก่อนนำไปสกัดผึ่งในภาตสแตนเลสที่อุณหภูมิห้อง ให้มีความชื้นประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ (พงศศิริและพลสุข, 2545) แล้วทุบให้ละเอียดผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ก่อนนำไปสกัดและหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

2.3 ตัวอย่างสัตว์น้ำ (ปลา) เก็บใส่ในถุงพลาสติก เตรียมตัวอย่างโดยเลือกเฉพาะส่วนเนื้อนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง food processor

2.4 ตัวอย่างพีชีน้ำ (ผักบุ้ง ผักกระเฉด) จะสุ่มเก็บในบริเวณใกล้เคียงกับบริเวณที่เก็บน้ำและตะกอน ให้ได้น้ำหนักมากพอสำหรับการสกัด นำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง food processor ตัวอย่างน้ำ ตะกอน สัตว์น้ำและพีชีน้ำที่สุ่มเก็บได้ เก็บในถังแช่แข็งเพื่อป้องกันสารพิษสลายตัวในระหว่างการขนส่ง

3. การเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน เตรียม stock standard solution ของสารพิษแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้น ประมาณ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียม Intermediate standard solution ให้ได้สารละลายของสารมาตรฐานผสมที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 20 - 200

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution ให้ได้สารละลายของสารมาตรฐานผสมของแต่ละกลุ่มให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.01-2.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. วิธีการสกัดตัวอย่าง

4.1 การสกัดสารพิษในน้ำ

4.1.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์ ตวงตัวอย่างน้ำ 1,000 มิลลิลิตร สกัดด้วย hexane (AR) 100 มิลลิลิตร เขย่านาน 3 นาที ชั้นบนกรองผ่าน anhyd. Na_2SO_4 เก็บใน round bottom flask ชั้นล่างเป็นชั้นน้ำนำไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วย hexane (AR) 50 มิลลิลิตร เก็บรวมกับครั้งแรก นำไปลดปริมาตร โดยใช้ rotary evaporator จนเกือบแห้ง ปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 1 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิดหัวตรวจวัด ECD

4.1.2 กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมต และกลุ่มไตรอาซีนใช้วิธีการสกัดเช่นเดียวกับวิธีการสกัดข้อ 4.1.1 แต่จะเปลี่ยนในส่วนของการสกัดที่ใช้ในการสกัดจาก hexane เป็น ethyl acetate และนำสารสกัดที่ได้ฉีดเครื่อง GC ชนิด FPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และฉีดเครื่อง GC - MS เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมตและกลุ่มไตรอาซีน

4.1.3 กลุ่ม chlorophenoxy compound ชนิด 2,4-D ตวงตัวอย่างน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วย 18 N H_2SO_4 ให้ได้ ≤ 2 เติม methanol : ethyl ether (2:8) 100 มิลลิลิตร เขย่านาน 3 นาที กรองผ่าน anhyd. Na_2SO_4 เก็บใน round bottom flask ชั้นล่างเป็นชั้นน้ำนำไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วย methanol : ethyl ether (2:8) 50 มิลลิลิตร เก็บรวมกับครั้งแรก เติม 10 M NaOH 10 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ water bath 60 องศาเซลเซียส นาน 35 นาที เทตัวอย่างใส่ separatory funnel ล้าง round bottom flask ที่ใส่ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติม dichloromethane 25 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ทั้งชั้น dichloromethane ปรับ pH ด้วย 18 N H_2SO_4 (เย็น) ให้ได้ ≤ 2 เติม dichloromethane 25 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ กรองผ่าน anhyd. Na_2SO_4 ลงใน round bottom flask สกัดด้วย dichloromethane 25 มิลลิลิตร ซ้ำอีก 2 ครั้ง ล้าง separatory funnel ที่ใส่ตัวอย่างด้วย dichloromethane 10 มิลลิลิตร ลดปริมาตรด้วย rotary evaporator ให้เหลือประมาณ 1 มิลลิลิตร เติม methanol:conc. H_2SO_4 (9:1) 5 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เทตัวอย่างลงใน separatory funnel ล้าง round bottom flask ด้วยน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร เติม hexane (PR) 10 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที ทั้งชั้นล่าง เติม 0.5 M NaHCO_3 15 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ทั้งชั้นล่าง ชั้นบน กรองผ่าน anhyd. Na_2SO_4 ลงใน graduated tube นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD

4.1.4 กลุ่ม bipyridilium ชนิด paraquat ตัวอย่างน้ำ 500 มิลลิลิตร นำไป clean up โดยใช้ burette อุดปลายด้วย glass wool บรรจุ cation exchange resin 5 กรัม ใส่ใน burette เติม sat^d NaCl 50 มิลลิลิตร ไซทิง เติม น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ไซทิง เติมตัวอย่าง ปรับ

อัตราการใช้ประมาณ 10 -12 มิลลิลิตรต่อนาที่ เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร 2 N HCl 50 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร 2.5 % NH_4Cl 50 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ทั้งหมดปรับอัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาที่ สะท้อนด้วย sat^d NH_4Cl 50 มิลลิลิตร ปรับอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที่ นำไปตรวจวัดเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร

4.2 การสกัดสารพิษในตะกอน

4.2.1 การหาความชื้นในตะกอน ตัวอย่างตะกอนที่นำมาตรวจวิเคราะห์จะต้องคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นตามวิธีการ (Back C.A., 1965) เพื่อนำไปลบน้ำหนักตัวอย่างตะกอนที่มีความชื้นจะได้น้ำหนักตะกอนแห้งสุทธิ สำหรับใช้คำนวณในขั้นตอนการหาปริมาณสารพิษ ซึ่งจะแบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่งสำหรับคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นพร้อม ๆ กับแบ่งไปสกัด โดยชั่งและบันทึกน้ำหนัก petri dish และชั่งตัวอย่างตะกอนใส่ใน petri dish นี้ 50 กรัม นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำไปใส่ใน desiccator ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่างตะกอนพร้อม petri dish และนำตัวอย่างอบต่ออีกประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง ชั่งและบันทึกน้ำหนักครั้งที่ 2 ถ้าน้ำหนักที่หายไปจากการอบครั้งที่ 1 และ 2 แตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าน้ำระเหยออกจากตัวอย่างหมดแล้ว ถ้ามากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ จะต้องนำไปอบต่ออีก 3 - 4 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักที่หายไปแตกต่างกันไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ จึงจะนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นและน้ำหนักตะกอนแห้ง

4.2.2.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มไพรีทรอยด์ กลุ่มคาร์บาเมท และกลุ่มไตราซีน ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม ใส่ Erlenmeyer flask เติม ethyl acetate (AR) 75 มิลลิลิตร เขย่าด้วย shaker นาน 5 ชั่วโมง กรองสารสกัดผ่าน anhyd. Na_2SO_4 ใส่ใน round bottom flask ล้างขวดใส่ตัวอย่างด้วย ethyl acetate 20 มิลลิลิตร 2 ครั้ง นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ให้ได้ 2 มิลลิลิตร ดูดสารสกัด 1 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด FPD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และฉีดเครื่อง GC-MS เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมทและกลุ่มไตราซีน ส่วนสารสกัดที่เหลือ 1 มิลลิลิตร เปลี่ยนและปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 2.5 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด ECD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์

4.2.2.2 กลุ่ม chlorophenoxy compound ชนิด 2,4-D ตะกอน 20 กรัม ใส่ Erlenmeyer flask เติม methanol:water (8:2) 100 มิลลิลิตร เขย่านาน 30 นาที กรองผ่าน anhyd. Na_2SO_4 เก็บใน round bottom flask เติม 10 M NaOH 10 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ water bath 60 องศาเซลเซียส นาน 35 นาที เทตัวอย่างใส่ separatory funnel ล้าง round bottom flask ที่ใส่ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติม dichloromethane 25 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ทั้งชั้น dichloromethaneปรับ pH ด้วย 3M H_2SO_4 ให้ได้ < 3 เติม dichloromethane 25 มิลลิลิตร เขย่า

เบา ๆ กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 ลงใน round bottom flask สกัดด้วย dichloromethane 25 มิลลิลิตร ซ้ำอีก 2 ครั้ง ล้าง separatory funnel ที่ใส่ตัวอย่างด้วย dichloromethane 10 มิลลิลิตร ลดปริมาตรด้วย rotary evaporator ให้เกือบแห้งเติม methanol : conc. H_2SO_4 (9:1) 5 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เทตัวอย่างลงใน separatory funnel ล้าง round bottom flask ด้วยน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร เติม hexane (PR) 10 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที ทิ้งชั้นล่าง(ชั้นน้ำ) เติม 0.5 M NaHCO_3 15 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ทิ้งชั้นล่าง (ชั้น NaHCO_3) ชั้นบนกรองผ่าน anh. Na_2SO_4 ลงใน graduated tube นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/ECD

4.2.2.3 กลุ่ม bipyridilium ชนิด paraquat ตัวอย่างตะกอน 25 กรัม ใส่ round bottom flask เติมน้ำ 65 มิลลิลิตร เติม 18 N H_2SO_4 35 มิลลิลิตร และ octanal 1 มิลลิลิตร นำไป reflux นาน 5 ชั่วโมง กรองตัวอย่างผ่าน cillite ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตรและนำไป clean up โดยใช้ burette อุดปลายด้วย glass wool บรรจุ cation exchange resin 5 กรัม ใส่ใน burette เติม sat^d NaCl 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมตัวอย่าง เติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร 2 N HCl 100 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร 2.5 % NH_4Cl 25 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ทั้งหมดปรับอัตราการไหล 5 มิลลิลิตรต่อนาทีและใช้ทั้ง เซตตัวอย่างด้วย sat^d NH_4Cl 50 มิลลิลิตรปรับอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บชิ้นสารละลายที่ได้ไปตรวจวัดปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 396 นาโนเมตร

4.3 การสกัดสารพิษในพีชน้ำ (ดัดแปลงจาก steinwandter, 1985)

4.3.1 การสกัด ชั่งตัวอย่างพืชสด 25 กรัม ใส่ขวดปริมาตร เติม acetone 50 มิลลิลิตร ปั่นด้วย homogenizer นาน 1 นาที เติม dichloromethane 40 มิลลิลิตร และ NaCl 8 กรัม ปั่นต่ออีก 1 นาที เทสารละลายส่วนที่ใส ใส่ Erlenmeyer flask เติม anh. NaSO_4 15 กรัม ตั้งไว้ประมาณ 20 นาที กรองผ่าน anh. NaSO_4 แบ่งสารละลาย 50 มิลลิลิตร ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ให้ได้ 10 มิลลิลิตร แบ่งสารสกัด 2 มิลลิลิตร ไปตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารพิษกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส โดยใช้เครื่อง GC ชนิด FPD และตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมตและไทโรอาซีน โดยใช้เครื่อง GC - MS ส่วนสารสกัดอีก 4 มิลลิลิตร นำไปขจัดสิ่งปนเปื้อน

4.3.2 การขจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up) ชั่ง silica gel ที่ deactivated ด้วยน้ำ 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 กรัม ใส่ในคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ปิดทับ silica gel ด้วย anh. NaSO_4 สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ล้างคอลัมน์ด้วย hexane 5 มิลลิลิตร ดูดสารสกัดตัวอย่างลงในคอลัมน์ เซตตัวอย่างในคอลัมน์ด้วยสารผสมของ hexane:dichloromethane (4:1) 5 มิลลิลิตร และสารผสมของ hexane:dichloromethane (1:1) 10 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ใน round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 2 มิลลิลิตรด้วย hexane (PR) ดูดสารสกัดใส่ vial นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด ECD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์

4.4 การสกัดสารพิษในเนื้อปลา ใช้วิธีของ FEEI SUN (2000)

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

4.4.2 การจัดสิ่งปนเปื้อน (clean up) ใช้ SPE ชนิด C18 ต่อกับ SPE ชนิด florisil ที่บรรจุเพิ่มด้วย anh. NaSO₄ 2 กรัม ล้างคอลัมน์ด้วย acetonitrile 6 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างจากข้อ 4.4.1 ใส่คอลัมน์และปรับอัตราการไหล 3 หยดต่อวินาที ใส่ใน graduated tube ลดปริมาตรสารสกัดด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR) ให้ได้ 1 มิลลิลิตร แบ่งสารสกัด 0.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส โดยใช้เครื่อง GC ชนิด FPD และตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มคาร์บาเมตและไทโรอาซีน โดยใช้เครื่อง GC –MS สารสกัดที่เหลือ 0.5 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง และปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ให้ได้ 0.5 มิลลิลิตร นำไปฉีดเครื่อง GC ชนิด ECD เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพรีทรอยด์

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้นตุลาคม 2557 – สิ้นสุดกันยายน 2558 และสถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัย วัสดุพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน และพืชน้ำ เพื่อศึกษาการสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม บริเวณเกษตรกรรมของกลุ่มแม่น้ำท่าจีนทั้งหมด 4 ครั้งในช่วงเดือนธันวาคม 2557 เดือนมีนาคม พฤษภาคม และเดือนกรกฎาคม 2558 รวมตัวอย่างที่สุ่มเก็บทั้งหมด 178 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างน้ำ ตะกอน และพืช น้ำ จำนวน 96, 51 และ 31 ตัวอย่าง ตามลำดับ ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 5 กลุ่ม เป็นสารกำจัดแมลง 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออร์กาโนคลอรีน 20 ชนิด กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 21 ชนิด กลุ่มไพรีทรอยด์ 7 ชนิด และกลุ่มคาร์บาเมต 7 ชนิด และสารกำจัดวัชพืช 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มไทโรอาซีน 3 ชนิด กลุ่มคลอโรพีนอกซี คอมพาวด์ 1 ชนิด กลุ่มไปไพริดีเลียม 1 ชนิด ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษในตัวอย่างน้ำ 96 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง 51 ตัวอย่าง คิดเป็น 53 เปอร์เซ็นต์ สารพิษที่ตรวจพบได้แก่สารกำจัดวัชพืชกลุ่มไทโรอาซีน ชนิด ametryn และ atrazine ปริมาณ 0.04 – 0.06 และ 0.05 – 0.28 ไมโครกรัม ตามลำดับ ซึ่งสารกำจัดวัชพืชกลุ่มนี้ตรวจพบทุกครั้งที่สุ่มเก็บตัวอย่าง อย่างไรก็ตาม สารกำจัดวัชพืชชนิด ametryn และ atrazine ไม่จัดอยู่ในสารกลุ่ม POPs และไม่ได้กำหนดค่า MAC ของน้ำทางการเกษตรและน้ำผิวดินไว้ ปริมาณที่ตรวจพบค่อนข้างสูงในช่วงเริ่มทำการเพาะปลูกเดือนพฤษภาคมจึงมีการใช้มาก ทำให้มีการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำ ค่า LC₅₀ (96 hour) ที่เป็นพิษต่อปลา rainbow trout มีค่า 8.8

มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นปริมาณที่พบจึงไม่อยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อปลา (Anonymous 1994) ส่วนสารพิษชนิดอื่น ๆ ที่ตรวจพบยังไม่เกินค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (Maximum Allowable Concentration, MAC) ในน้ำ ($\mu\text{g/L}$) (ตารางที่ 3)

ตัวอย่างตะกอน 51 ตัวอย่างและตัวอย่างพืชน้ำเป็นชนิดที่นำมาบริโภคเป็นผักได้แก่ ผักบุ้งน้ำ (*Ipomoea aquatica*) จำนวน 26 ตัวอย่าง และ ผักกระเฉด (*Neptunia oleracea*) จำนวน 5 ตัวอย่าง รวม 31 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

ตารางที่ 1. จุดเก็บตัวอย่าง จากการกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)

รหัส	x	y	สถานที่
P1	613486	1687695	จุดแยกจากแม่น้ำเจ้าพระยา (จุดเริ่มต้น) ใกล้วัดปากคลองมะขามเฒ่า ต.ปากคลองมะขามเฒ่า อ.วัดสิงห์ จ.ชัยนาท
P2	615254	1682373	ประตูระบายน้ำพลเทพ ต.หาดท่าเสา อ.เมือง จ.ชัยนาท
P3	612261	1674168	ต.หนองน้อย อ.วัดสิงห์ จ.ชัยนาท
P4	610392	1667175	ต.หนองหวาย อ.สามง่ามพระโบสถ์ จ.ชัยนาท
P5	608738	1657477	ต.หันคา อ.หันคา จ.ชัยนาท
P6	607916	1650268	บ้านหนองทรภู ต.บ้านเข็ญ อ.หันคา จ.ชัยนาท
P7	616114	1650571	วัดปากน้ำ ต.เดิมบาง อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี
P8	618058	1641482	วัดเขาพระ ต.เขาพระ อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี
P9	622494	1620460	วัดพังม่วง ต.พังม่วง อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี
P10	623385	1611624	วัดไก่อเตี้ย ต.วังยาง อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี
P11	620216	1607370	คลองชลประทาน บ้านวังกุ่ม ต.วังกุ่ม อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี
P12	620668	1604043	วัดพระนอน ต.พิหารแดง อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี
P13	626906	1590365	คลองบางยี่หน บ้านปากคลองกุ่ม ต.มะค่า อ.บางปลาม้า จ.สุพรรณบุรี
P14	623607	1584606	วัดสุขเกษม ต.บ้านแหลมพัฒนา อ.บางปลาม้า จ.สุพรรณบุรี
P15	620407	1566909	ต.บางตะเคียน อ.สองพี่น้อง จ.สุพรรณบุรี (จุดบรรจบคลองลาดปากเกร็ดและแม่น้ำท่าจีน)
P16	620863	1561107	คลองบางหลวง ต.บางหลวง อ.บางเลน จ.นครปฐม
P17	629823	1540210	วัดสุขวัฒนาราม ต.บางระกำ อ.บางเลน จ.นครปฐม
P18	627292	1546351	วัดบางปลา ต.บางหลวง อ.บางเลน จ.นครปฐม
P19	632125	1529106	วัดสำโรง ต.วัดสำโรง อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม
P20	626990	1526576	คลองเจดีย์บูชา บ้านสะพานหก ต.วัดแขก อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม

รหัส	x	y	สถานที่
P21	630537	1515576	ปากคลองจินดา ต.บางช้าง อ.สามพราน จ.นครปฐม
P22	631151	1509583	สะพานบางยางรุ่งสันทพัฒนา ต.บางยาง อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร
P23	630102	1509634	สะพานท่าจีน 2 ต.ท่าเสา อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร
P24	635111	1497380	วัดใหญ่จอมปราสาท ต.ท่าจีน อ.เมือง จ.สมุทรสาคร

ตารางที่ 2. ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ ตะกอน และพืชน้ำ ในบริเวณเกษตรกรรม
ลุ่มแม่น้ำท่าจีน และคลองแยก

sampling time	sample	total sample/ positive sample	pesticide	concentration	no. of positive sample
1 st Dec, 2014	water	24/12	ametryn	0.04 – 0.06	5
			atrazine	0.07 – 0.09	8
	sediment	13/0	ND	ND	0
	aquatic plant	11/0	ND	ND	0
2 nd Mar, 2015	water	24/0	ND	ND	0
	sediment	16/0	ND	ND	0
	aquatic plant	5/0	ND	ND	0
3 rd May, 2015	water	24/18	atrazine	0.06 – 0.28	18
	sediment	11/0	ND	ND	0
	aquatic plant	6/0	ND	ND	0
4 th July, 2015	water	24/21	atrazine	0.05 – 0.21	21
	sediment	11/0	ND	ND	0
	aquatic plant	9/0	ND	ND	0

หมายเหตุ : น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$)

ตะกอน พืชน้ำ และสัตว์น้ำ : ปริมาณที่พบหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)

ND : Not detectable หมายถึงตรวจไม่พบ

ตารางที่ 3. ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน

ดัชนีคุณภาพน้ำ	หน่วย	เกณฑ์มาตรฐานสูงสุด ตามการแบ่งประเภทคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์			
		ประเภท 1	ประเภท 2	ประเภท 3	ประเภท 4
สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ชนิดที่มีคลอรีนทั้งหมด (Total Organochlorines Pesticides)	มิลลิกรัมต่อลิตร	๕	0.05		
ดีดีที (DDT)	ไมโครกรัมต่อลิตร	1.0	1.0		
บีเอชซีชนิดแอลฟา (alpha BHC)	ต่อลิตร		0.02		
ดิลดริน (Dieldrin)			0.1		
อัลดริน (Aldrin)			0.1		

เฮปตาคลอร์ และเฮปตาคลออีพอกไซด์ (heptachlor & heptachlor epoxide)			0.2
--	--	--	-----

ธ : เป็นไปตามธรรมชาติ

ประเภท 1 : แหล่งน้ำที่คุณภาพน้ำมีสภาพตามธรรมชาติ โดยปราศจากน้ำทิ้งจากกิจกรรมทุกประเภทและสามารถใช้ประโยชน์

- 1) การอุปโภคและบริโภคต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติก่อน
- 2) การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิตระดับพื้นฐาน
- 3) การอนุรักษ์ระบบนิเวศน์ของแหล่งน้ำ

ประเภท 2 : แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท และสามารถเป็นประโยชน์

- 1) การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติ และผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไปก่อน
- 2) การอนุรักษ์สัตว์น้ำ
- 3) การประมง
- 4) การว่ายน้ำและกีฬาทางน้ำ

ประเภท 3 : แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภทและสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

- 1) การอุปโภคและบริโภคโดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติ และผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไปก่อน
- 2) การเกษตร

ประเภท 4 : แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท และสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

- 1) การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติ และผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำเป็นพิเศษก่อน
- 2) การอุตสาหกรรม

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน และพืชน้ำในบริเวณลุ่มแม่น้ำท่าจีนและคลองแยกตรวจพบสารพิษตกค้างส่วนใหญ่เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่มไตรอาซีน แต่อยู่ในระดับต่ำ ไม่เกินค่ากำหนดที่ยอมให้มีได้ (MAC) ในน้ำและไม่อยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยค่า LC_{50} (96 hour) กำหนดไว้ในปลา golden orfe 2 ไมโครกรัมต่อลิตร (Anonymous, 1994) ถึงแม้จะตรวจไม่พบสารกลุ่ม POPs ในทุกตัวอย่างด้วยคุณสมบัติที่คงทนอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นาน ส่งผลกระทบไปยังห่วงโซ่อาหาร มนุษย์ในฐานะที่เป็นผู้บริโภคควรมีความระมัดระวังและพิจารณาที่จะบริโภคอาหารจากแหล่งเหล่านี้ซึ่งเป็นเรื่องที่มีความจำเป็นที่จะต้องติดตามตรวจสอบการแพร่กระจาย และการสะสมของสารกลุ่มนี้อย่างต่อเนื่องต่อไป

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นข้อมูลเพื่อเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์การใช้ การแพร่กระจาย และการสะสมของสารพิษการเกษตรในแหล่งแม่น้ำ และคลองแยกใกล้เคียง
2. เป็นข้อมูลในการติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของสารมลพิษตกค้างยาวนาน (POPs) ตามอนุสัญญาสตอกโฮล์ม
3. เกษตรกรและผู้อาศัยในเขตลุ่มแม่น้ำท่าจีนและคลองแยกที่เกี่ยวข้อง ได้ทราบข้อมูล การปนเปื้อน การแพร่กระจาย และการสะสมของสารพิษการเกษตร ทำให้เกิดความมั่นใจในการตัดสินใจที่จะใช้น้ำจากแหล่งดังกล่าวเพื่อการอุปโภคหรือบริโภค
4. ใช้ประกอบการพิจารณาการห้ามใช้ การยกเลิกการใช้สารพิษบางชนิด ในกรณีที่มีการตรวจพบสารพิษเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อมเกินค่ามาตรฐานที่กำหนด

12. เอกสารอ้างอิง

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

ส่วนแหล่งน้ำจัด สำนักงานจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม 2552 มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน

พงศ์ศรี ไบอดุลย์ และพูลสุข หฤทัยธนาสันต์ 2545 การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ในดินและน้ำ เอกสารประกอบการประชุมวิชาการกองวัตถุมีพิษ การเกษตร ครั้งที่ 4 หน้า 240-246.

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

สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร 2557 สถิติการนำเข้าวัตถุมีพิษทางการเกษตร 2557

มลิสา เวชยานนท์ และคณะ 2554 การสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณเกษตรกรรม : แม่น้ำท่าจีนปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2554 หน้า 51-63

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

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

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