โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)
เรื่อง

การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในพื้นที่เกษตรกรรม เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับพัฒนาพื้นที่เกษตรอินทรีย์

Study of the diversity of pesticide residue-detoxifying bacteria from agricultural field for organic farming cultivation

จันทิมา ฑีฆะ
สุจยา ฤทธิศร
อัษฎาวุธ อารีสิริสุข

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

งบประมาณเงินรายจ่าย ประจำปี 2562

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)
เรื่อง

การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในพื้นที่เกษตรกรรม เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับพัฒนาพื้นที่เกษตรอินทรีย์

Study of the diversity of pesticide residue-detoxifying bacteria from agricultural field for organic farming cultivation

จันทิมา ฑีฆะ
สุจยา ฤทธิศร
อัษฎาวุธ อารีสิริสุข

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
งบประมาณเงินรายจ่าย ประจำปี 2562

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำวิจัยขอขอบพระคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ กำนันทองสุข สีลิด และเกษตรกรอำเภอหนองเสือ ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลการเพาะปลูก ตัวอย่างดิน และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยอย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณ Prof. Tsuyoshi Imai เป็นอย่างสูงที่คอยให้คำแนะนำและการสนับสนุน จนทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ในการทำงานครั้งนี้

คณะผู้วิจัย

กันยายน 2562

บทคัดย่อ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ทำการเกษตรกรรมเป็นหลัก เกษตรกรมีการใช้สารเคมีในการทำเกษตรกรรม ซึ่งพาราควอทเป็นสารเคมีกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรมีการใช้กันอย่างแพร่พลาย ส่งผลให้ดินในพื้นที่ทางการเกษตรมีการปนเปื้อนสารเคมีดังกล่าว และส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์ในการคัดแยกจุลินทรีย์จากแปลงเกษตรกรรม ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายพาราควอท ตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารเคมีที่ตกค้างในดินและจุลินทรีย์ที่พบในดิน โดยเก็บตัวอย่างดินแปลงเกษตรกร ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี จำนวน 14 แหล่ง คัดแยกจุลินทรีย์และจัดจำแนกด้วยวิธี16s rRNA พบว่า C02/1 C02/2 C03 C04 C05 C06 C08 C09 C10 และ C11 มีความคล้ายคลึงกับ *Burkholderia cepacia , Bacillus subtilis, Bacillus aryabhattai, Exiguobacterium acetylicum, Staphylococcus epidermidis, Acinetobacter pittii, Bacillus aryabhattai, Pantoea dispersa, Bacillus albus* และ *Chromobacterium violaceum* ที่ระดับความเหมือนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ตามลำดับ

การศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์ในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช พบว่า ในเดือนที่ 3 จุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดคือ C10 ส่วนสายพันธุ์ที่พบรองลงมาได้แก่ C08, C03, C06, C05, C02/1, C02/2, C04, C11 และ C09 ตามลำดับ การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ในการอยู่รอดในดินที่เติมพาราควอทความเข้มข้นต่ำและความเข้มข้นสูง พบว่า C03 C08 C06 C10 C11 C04 และ C02/1 สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ ในเดือนที่ 3

การศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์เดี่ยว 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus agri* Karo_1, *Bacillus subtilis* Karo_2, *Pseudomonas statzeri* H1, *Providencia stuartii* P4, *Bacillus aryabhattai* M4, *Novosphingobium* sp. THA_AIK7 และจุลินทรีย์ผสมของ 6 สายพันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ PMS ที่มีพาราควอท 2 ระดับ คือ ความเข้มข้นต่ำ 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูง 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า จุลินทรีย์ผสมมีปริมาณเชื้อปริมาณสูงสุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ในอาหารที่มีพาราควอททั้ง 2 ระดับ โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 4.653 log CFU/mL และ 4.708 log CFU/mL และสามารถลดปริมาณพาราควอทลงได้ 12.52 และ 2.708 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ PMS ที่มีพาราควอท 2 ระดับ คือ ความเข้มข้นต่ำ 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูง 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า C02/1 C02/2 C04 C11 และ จุลินทรีย์ผสม (Mix) สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง

การวิเคราะห์หาสารเคมีปนเปื้อนในดินด้วยเครื่อง Gas chromatography Mass spectrometry (GC-MS) โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เมทานอลและคลอโรฟอร์ม สามารถวิเคราะห์สารเคมีที่ปนเปื้อนในดินได้มากกว่า 10 ชนิด แต่ไม่สามารถตรวจพบพาราควอท เนื่องจาก

ปริมาณดินและวิธีการสกัดที่ไม่เหมาะสม ผลการวิเคราะห์พาราควอทในดิน SS06 และ SS09.1 มีพาราควอทปริมาณ 0.50 และ 4.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนดิน SS11 ไม่พบพาราควอท เนื่องจากเป็นดินจากแปลงเกษตรอินทรีย์

การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน 14 แหล่ง ด้วยเทคนิค Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) พบจุลินทรีย์ที่เป็นกลุ่มประชากรใหญ่ในดินตัวอย่าง 9 สายพันธุ์ ได้แก่ *Dechloromonas aromatica* RCB, *Pseudomonas* sp. UW4, *Pseudomonas syringae* B728a, *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1, *Nitrosomonas* sp. AL212, *Bacillus subtilis* No.66, *Agrobacterium* sp. H13-3, *Enterobacter* sp. OM1 และ *Sphingobacterium* sp. 21

การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์และสารเคมีในดิน 3 ชุด คือ SS06 SS09.1 และ SS11 ด้วยเทคนิค DGGE และ GC-MS โดยการเติมจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ พบว่า ชนิดและปริมาณสารเคมีในดินที่ลดลง สอดคล้องกับการเพิ่มชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ในดิน จุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ในดินที่มีการเติมพาราควอท ได้แก่ C03 C08 C06 C10 C11 C04 และ C02/1

ผลการวิจัยนี้ พบว่าจุลินทรีย์บางชนิดสามารถปรับตัวมีชีวิตรอด และบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมี แสดงให้เห็นถึงความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารเคมีตกค้างในดิน ดังนั้น การนำกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยสลายสารเคมี ไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพดิน จะช่วยให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และเกษตรกรยังสามารถปรับเปลี่ยนจากการทำเกษตรที่ใช้สารเคมีมาเป็นเกษตรอินทรีย์ได้เร็วขึ้นอีกด้วย

คำสำคัญ : แบคทีเรีย พาราควอท ย่อยสลาย
Bacteria Paraquat degradation

สารบาญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบาญ	ง
สารบาญตาราง	จ
สารบาญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง	28
บทที่ 4 ผลการทดลอง	37
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	78
เอกสารอ้างอิง	80
ภาคผนวก	85

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี 2554 -2560	6
2	ผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ด้วยกระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส (Cholinesterase reactive paper) ในกลุ่มเกษตรกรที่พบว่าเสี่ยงและ/ไม่ปลอดภัย ต่อพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืช พ.ศ. 2554 – 2558	9
3	ความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชใน Silver barb และ Rainbow trout	17
4	สารเคมีที่ใช้ในการทำ 16srRNA PCR ปริมาตร 25 ไมโครลิตร	35
5	การทำงานของเครื่อง Thermocycler	35
6	สารเคมีที่ใช้ในการทำ 8% polyacrylamide gel ปริมาตร 26 มิลลิลิตร	36
7	ข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกร ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี	37
8	ข้อมูลของสารเคมีที่เกษตรกรนิยมใช้	39
9	ลักษณะของดินและค่าความเป็นกรด-ด่าง	40
10	ลักษณะโคโลนีที่สามารถคัดแยกได้จากดินที่มาจากพื้นที่เกษตรกร	41
11	ผลการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่พบในแปลงเกษตรกรรม	42
12	ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ ในดินที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เดือนที่ 0	43
13	ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ ในดินที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เดือนที่ 1	44
14	ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ ในดินที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เดือนที่ 2	44
15	ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ ในดินที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เดือนที่ 3	44
16	จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 0	46
17	จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 1	46
18	จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 2	46
19	จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 3	47

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
20	จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 0	48
21	จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 1	48
22	จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 2	49
23	จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 3	49
24	ความมีชีวิตของจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และจุลินทรีย์ผสมในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ)	50
25	ความมีชีวิตของจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และจุลินทรีย์ผสมในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง)	51
26	ผลการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์เดี่ยวและจุลินทรีย์ผสมที่ย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ)	53
27	ผลการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์เดี่ยวและจุลินทรีย์ผสมที่ย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง)	54
28	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายพาราควอท 87.75 mg/L กับ 1 mg/L (ความเข้มข้นต่ำ) และ 877.5 mg/L กับ 10 mg/L (ความเข้มข้นสูง)	55
29	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 0	55
30	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 1	56
31	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 3	56
32	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 5	57
33	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 7	58
34	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 0	58

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
35	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 1	59
36	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 3	60
37	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 5	60
38	จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 7	61
39	ความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายพาราควอทในอาหารที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำเป็นเวลา 7 วัน	61
40	ความสามารถของจุลินทรีย์ที่มีการย่อยสลายพาราควอทในอาหารที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เป็นเวลา 7 วัน	62
41	กลุ่มของสารเคมีที่พบในดิน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ด้วยเครื่อง GC-MS	63
42	กลุ่มของสารเคมีที่พบในดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มด้วยเครื่องGC-MS	64
43	ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 14 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS	65
44	ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 3 ตัวอย่าง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 0 ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS	66
45	ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 3 ตัวอย่าง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 1 ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS	67
46	ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 3 ตัวอย่าง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 2 ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS	69
47	ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 3 ตัวอย่าง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 3 ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS	70
48	ผลการวิเคราะห์สายพันธุ์จุลินทรีย์ของแถบดีเอนเอ ในดิน 14 ตัวอย่าง	75
49	แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 0	97
50	แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 1	97
51	แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 2	98

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
52	แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 3	98
53	แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 0	99
54	แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 1	99
55	แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 2	100
56	แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 3	100
57	แสดงโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ ในอาหาร PMS ที่เติมพาราควอทความเข้มข้นต่ำ (L)	101
58	แสดงโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ ในอาหาร PMS ที่เติมพาราควอทความเข้มข้นสูง (H)	105

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กระบวนการทางชีวเคมีของความเป็นพิษในพาราควอท	13
2	โครงสร้างของแก๊สโครมาโทรกราฟี (Gas Chromatography)	21
3	หลักการทำงานของเทคนิค DGGE	24
4	โปรแกรม Blast ใน NCBI	25
5	สภาวะที่ใช้วิเคราะห์สารเคมีด้วยเครื่อง GC-MS	34
6	ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ผสม 10 ชนิดที่ใส่ในดินตัวอย่าง ในช่วงเวลา 0-3 เดือน	45
7	การย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตรของจุลินทรีย์	52
8	การย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตรของจุลินทรีย์	53
9	ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดิน 14ตัวอย่าง ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	65
10	ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินตัวอย่าง 3 แหล่ง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 0 ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม(ขวา)	66
11	ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินตัวอย่าง 3 แหล่ง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 1 ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (ขวา)	68
12	ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินตัวอย่าง 3 แหล่ง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 2 ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (ขวา)	69
13	ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินตัวอย่าง 3 แหล่ง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 3 ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (ขวา)	70
14	ผล Gel Electrophoresis ของ PCR Product ดิน 14 ตัวอย่าง	72
15	ผล Gel Electrophoresis ของ PCR product เชื้อจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์ (C2-1, C2-2, C3, C4, C5, C6, C8, C9, C10 และ C11) และกลุ่มจุลินทรีย์ (mix) ที่คัดแยกจากดิน 14 ตัวอย่าง	72
16	ผลการวิเคราะห์ด้วยGel Electrophoresis ของดินตัวอย่าง 3 ชุดการทดลองเดือนที่ 0	73

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
17	ผลการวิเคราะห์ด้วย Gel Electrophoresisของดินตัวอย่าง 3 ชุดการทดลองเดือนที่ 3	73
18	ผล DGGE ของดิน 14 ตัวอย่าง พร้อมตำแหน่งตัดแถบดีเอ็นเอส่งวิเคราะห์	74
19	ผล DGGE ของดินที่แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด เดือนที่ 0 กับ เดือนที่ 1	76
20	ผล DGGE ของดินที่แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด เดือนที่ 2 กับ เดือนที่ 3	76
21	กราฟมาตรฐานของพาราควอท	91
22	รายงานผลการทดสอบการตรวจวิเคราะห์หาพาราควอทที่ตกค้างในดินตัวอย่าง SS06	93
23	รายงานผลการทดสอบการตรวจวิเคราะห์หาพาราควอทที่ตกค้างในดินตัวอย่าง SS09	94
24	รายงานผลการทดสอบการตรวจวิเคราะห์หาพาราควอทที่ตกค้างในดินตัวอย่าง SS11	95
25	ค่าปริมาณสารเคมีของสารเคมีการค้าพาราควอท ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	109
26	ค่าปริมาณสารเคมีของสารเคมีการค้าพาราควอท ที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม	110
27	ค่าปริมาณสารเคมีของตัวอย่างดิน SS06 เดือนที่ 1 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม	111
28	ค่าปริมาณสารเคมีของตัวอย่างดิน SS06 เดือนที่ 1 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	112
29	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C02/1	114
30	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C02/2	115
31	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C03	116
32	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C04	117
33	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C05	118
34	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C06	119
35	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C08	120
36	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C09	121
37	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C10	122
38	ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C11	123

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ทำการเกษตรกรรมเป็นหลัก และส่งออกสินค้าทางการเกษตรไปสู่หลายๆ ประเทศทั่วโลก ในปัจจุบัน หลายๆ ประเทศคำนึงถึงผลเสียของการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ที่ก่อให้อันตรายทั้งต่อเกษตรกรและต่อผู้บริโภค เนื่องจากสารเคมีหลายๆ ชนิด มีความเป็นพิษต่อผู้ใช้และยังคงตกค้างอยู่ในสินค้าทางการเกษตร หลายๆ ประเทศจึงเริ่มปรับเปลี่ยนรูปแบบการผลิตสินค้าทางการเกษตรให้เป็นเกษตรอินทรีย์ เพื่อลดอันตรายที่จะเกิดแก่ผู้บริโภค และลดปัญหาสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม เกษตรกรในประเทศไทย มีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชมาเป็นเวลาหลายสิบปี ทำให้มีสารเคมีตกค้างในดินอยู่ปริมาณมาก เช่น สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ที่สามารถย่อยสลายได้ง่ายในดิน สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ที่ยกเลิกการใช้แล้ว แต่มีความคงทนสูง จึงอาจมีความเป็นไปได้ ที่ยังคงหลงเหลืออยู่ในสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตาม สารเคมีต่างๆ เหล่านี้ หากเข้าสู่วงจรห่วงโซ่อาหาร ก็สามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ [1]

รัศมี และคณะ (2558) สุภาพร และคณะ (2556) จารุพงศ์ และคณะ (2557) และ Siriwong *et al.* (2008) พบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตร ทั้งในผัก ผลไม้ อาหารท้องถิ่น ในแหล่งน้ำ และในแพลงตอน โดยสารเคมีที่พบมีทั้งกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต ตัวอย่างเช่น อะทราซีน คลอไพริฟอส เมโทมิล และ คาร์บาริล ดีดีทีและอนุพันธุ์ของดีดีที เฮปตาคลอ เป็นต้น

จากหลักเกณฑ์และเงื่อนไขของการปรับเปลี่ยนการผลิตมาเป็นแบบเกษตรอินทรีย์ เกษตรกรต้องงดใช้สารเคมีในพื้นที่ อย่างน้อย 1-3 ปี และจากข้อมูลสารเคมีตกค้างในผักและผลไม้ ที่ตรวจสอบโดย Thai-pan ในผลิตภัณฑ์ที่ได้รับตรามาตรฐาน Q และ organic Thailand ยังคงพบสารเคมีตกค้างในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการรับรอง ดังนั้น มีความเป็นไปได้ว่า ดินที่ทำการเพาะปลูกแบบเกษตรอินทรีย์ ยังคงมีสารเคมีตกค้าง แม้ว่าเกษตรกรจะงดใช้สารเคมีตามระยะเวลาที่หน่วยงานรับรองกำหนดแล้วก็ตาม [6]

จุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม มีความสามารถในการย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืช การนำเอาความหลากหลายของจุลินทรีย์เหล่านี้มาใช้ประโยชน์ ในการปรับปรุงพื้นที่ที่เคยทำการเกษตรแบบเคมี เพื่อปรับเปลี่ยนไปทำการเกษตรแบบอินทรีย์ จะช่วยให้พื้นที่ดังกล่าว มีปริมาณสารเคมีตกค้างลดปริมาณลงได้เร็วมากขึ้น [7]

จุลินทรีย์มีบทบาทต่อการทำเกษตร มีอยู่หลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา แอคโนมัยซีท สาหร่าย โปรโตซัว และไวรัส จุลินทรีย์บางชนิดเป็นจุลินทรีย์ที่ดีมีประโยชน์ต่อการทำการเกษตร แต่บางชนิดก็เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต่อพืช จุลินทรีย์มีกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่หรือการแปรสภาพอินทรียวัตถุในดินให้กลายเป็นธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์กับพืช โดยจุลินทรีย์จะมีขั้นตอนของความหลากหลายในกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่ เพราะมีวงจรชีวิตที่สั้น และมีหลายชนิด แต่ละชนิดก็มีปริมาณ หน้าที่และบทบาทต่อกระบวนการต่างๆ ในดินแตกต่างกันไป เพราะฉะนั้นจึงถือได้ว่าจุลินทรีย์ก็คือตัวการที่จะทำให้สารอินทรีย์จากซากพืชซากสัตว์ย้อนกลับไปเป็นธาตุอาหารพืชใหม่ได้อีก

ครั้ง จุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม มีรายงานความสามารถย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ การนำเอาความหลากหลายของจุลินทรีย์เหล่านี้มาใช้ประโยชน์ ในการปรับปรุงพื้นที่ที่เคยทำการเกษตรแบบเคมี เพื่อปรับเปลี่ยนไปทำการเกษตรแบบอินทรีย์ จะช่วยให้พื้นที่ดังกล่าว ลดปริมาณสารเคมีตกค้างลงได้เร็วมากขึ้น [8]

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับสารเคมีที่ตกค้างภายในดินที่การทำการเกษตร การศึกษาความสามารถของจุลินทรีย์ที่สามารถทนต่อสารเคมีที่ตกค้างในดิน หรือมีความสามารถย่อยสลายสารเคมีตกค้างในดินได้ ซึ่งเมื่อทราบชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการทนหรือย่อยสลายสารเคมีที่ตกค้างในพื้นที่เกษตรกรรมแล้ว แนวทางพัฒนาในขั้นตอนต่อไป คือการนำกลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวมาผลิตในรูปแบบของหัวเชื้อจุลินทรีย์ และนำหัวเชื้อจุลินทรีย์นี้ ไปใช้ปรับปรุงแก้ไขปัญหาดินในพื้นที่ทำการเกษตร เพื่อช่วยย่อยสลายสารเคมีที่ตกค้างในดินได้เร็วมากยิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.)

1.2.2 เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในแหล่งเกษตรกรรม

1.2.3 เพื่อทดสอบความสามารถของแบคทีเรียกลุ่มที่คัดแยกได้ ในการย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

1.2.4 เพื่อจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่มที่คัดแยกได้ ด้วยวิธี 16s DNA

บทที่ 2
ทบทวนเอกสาร

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการทำเกษตรกรรมเป็นอาชีพหลักตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ซึ่งพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ ข้าว มันสำปะหลัง ข้าวโพด อ้อย ยางพารา ปาล์มน้ำมัน สับปะรด ลำไย เงาะ ทุเรียน มังคุด มะพร้าว และกาแฟ เกษตรกรส่วนมากมีการใช้สารเคมีร่วมกับการใช้ปุ๋ย เพื่อง่ายต่อการกำจัดวัชพืชในแปลงเกษตรกรรม ด้วยเหตุนี้ประเทศไทยจึงมีการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด ซึ่งสารเคมีที่นิยมใช้มากที่สุด ได้แก่ สารเคมีพาราควอท เพราะมีราคาถูก หาซื้อได้ง่าย [9]

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Pesticide) คือ สารเคมีสังเคราะห์ที่มีวัตถุประสงค์ในการกำจัด ขับไล่ หรือหยุดยั้งการเจริญเติบโตของศัตรูพืช ไม่ว่าจะเป็นแมลง วัชพืช โรคพืช หรือสิ่งที่จะทำลายให้พืชผลเกิดความเสียหาย สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเป็นสารเคมีอันตรายทั้งต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสารเคมีเหล่านี้สามารถทำให้เกิดอาการพิษต่างๆ หรือแม้แต่การเสียชีวิตได้ จุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม มีความสามารถในการย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืช การนำเอาความหลากหลายของจุลินทรีย์เหล่านี้มาใช้ประโยชน์ ในการปรับปรุงพื้นที่ที่เคยทำการเกษตรแบบเคมี เพื่อปรับเปลี่ยนไปทำการเกษตรแบบอินทรีย์ จะช่วยให้พื้นที่ดังกล่าว มีปริมาณสารเคมีตกค้างลดปริมาณลงได้เร็วขึ้น และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้นอีกด้วย [10]

2.1 ประเภทของสารเคมีทางการเกษตร

2.1.1 สารเคมีกำจัดแมลง (Insecticide)

สารเคมีกำจัดแมลงเป็นสารเคมีการเกษตรที่มีจำนวนชนิดมากที่สุด สารเคมีกำจัดแมลงแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ตามชนิดของสารเคมีได้ 4 ประเภท คือ

2.1.1.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine) ซึ่งเป็นกลุ่มของสารเคมีที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้กันมาก เช่น ดีดีที (DDT) ดีลดริน (Dieldrin) ออลดริน (Aldrin) ท็อกซาฟีน (Toxaphene) คลอเดน (Chlordane) และลินเดน (Lindane) เป็นต้น

2.1.1.2 กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ เช่น มาลาไธออน (Malathion) และ เฟนนิโตรไธออน (Fenitrothion) เป็นต้น

2.1.1.3 กลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate) ซึ่งมีคาร์บาริลเป็นองค์ประกอบสำคัญ เช่น คาร์บาริล (Carbaryl) คาร์โบฟูแรน (Carbofuran) และเมโทมิล (Methomyl) เป็นต้น

2.1.1.4 กลุ่มไพรีทรอยด์ (Pyrethroid) เป็นสารเคมีกลุ่มที่สังเคราะห์ขึ้นโดยมีความสัมพันธ์ตามโครงสร้างของไพรีทริน ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่สกัดได้จากพืชไพรีทรัม เช่น เดลตาเมธริน (Deltamethrin) เพอร์เมธริน (Permethrin) เรสเมธริน (Resmethrin) และไบโอเรสเมธริน (Bioresmethrin) เป็นต้น

2.1.2 สารป้องกันกำจัดวัชพืช (Herbicide)

สารเคมีกำจัดวัชพืชแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ จำแนกตามการเลือกทำลายเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

2.1.2.1 สารชนิดเลือกทำลาย (Selective herbicide) โดยทำลายเฉพาะวัชพืช แต่ไม่เป็นอันตรายต่อพืชที่ปลูก เช่น 2,4-D กำจัดวัชพืชใบกว้างโดยไม่เป็นพิษต่อต้นข้าวที่เป็นพืชใบแคบ เป็นต้น

2.1.2.2 สารชนิดไม่เลือกทำลาย (Non-selective herbicide) ทำลายวัชพืชใบแคบ ใบกว้าง หรือกก แนะนำให้ใช้กำจัดวัชพืชในที่ที่ไม่มีการปลูกพืช หรือถ้าจะพ่นในที่ที่มีพืชขึ้นอยู่หรืออยู่ใกล้เคียง ต้องพ่นอย่างระมัดระวัง เช่น พาราควอท (Paraquat) ไกลโฟเสท (Glyphosate) เป็นต้น

2.1.3 สารกำจัดเชื้อรา (Fungicide)

มีอยู่หลายกลุ่ม บางชนิดมีพิษน้อย แต่บางชนิดมีพิษมาก เช่น

2.1.3.1 กลุ่มไดเมทิล ไดไทโอคาร์บาร์เมท (Dimethey Dithiocarbamates) เช่น ไซแรม (Ziram) เฟอแบม (Ferbam) ไธแรม (Thiram) เป็นต้น มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Acetaldehyde dehydrogenase เกิด Antabuse Effect ในคนที่ดื่มสุราร่วมด้วย

2.1.3.2 กลุ่มเอทิลลีนไบด์ ไดไทโอคาร์บาร์เมท (Ethylenebis Dithiocarbamates) เช่น มาแนบ (Maneb) แมนโคแซบ (Mancozeb) ไซแนบ (Zineb) เป็นต้น กลุ่มนี้จะถูก Metabolize เป็น Ethylene Thiourea ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์

2.1.3.3 กลุ่มเมทิลเมอร์คิวรี (Methyl Mercury) ดูดซึมได้ดีทางผิวหนังและมีพิษต่อระบบประสาท

2.1.3.4 กลุ่มเฮกซะคลอโรเบนซีน (Hexachlorobenzene) ยับยั้งเอนไซม์ Uroporphyrinogen Decarboxylase มีพิษต่อตับ ผิวหนัง ข้อกระดูกอักเสบ

2.1.3.5 กลุ่มเพนตะคลอโรเบนซีน (Pentachlorophenol) สัมผัสมากๆ ทำให้ไข้สูง เหงื่อออกมาก หัวใจเต้นเร็ว

2.1.4 สารกำจัดหนูและสัตว์แทะ (Rodenticides)

สารกำจัดหนูและสัตว์แทะที่นิยมใช้กัน ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด ตัวอย่างเช่น วอฟฟาริน (Warfarin) เป็นต้น [11]

2.2 รูปแบบของสารเคมีทางการเกษตร

ประเทศไทยยังไม่สามารถผลิตสารตั้งต้น (Active Ingredient) จึงต้องนำเข้าสารเคมีทั้งแบบสำเร็จรูปและแบบเข้มข้นทั้งประเภท Premix และ Technical grade เพื่อมาปรุงแต่งและแบ่งบรรจุ สารเคมีที่ปรุงแต่งเสร็จแล้วจะมีสารออกฤทธิ์ที่น้อยลง เนื่องจากผ่านการเติมสารผสม (Inert Ingredients) เช่น สารจับใบ สารละลาย สารลดแรงตึงผิว เป็นต้น เพื่อให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นในการใช้ อย่างไรก็ตาม สารผสมเหล่านี้อาจมีความอันตรายเช่นกัน ยกตัวอย่างเช่น สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ผสมกับราวด์อัพ (ไกลโฟเสต) เป็นต้น ที่น่าสนใจคือมีการผสมสารที่ทำให้อาเจียนในสารเคมีกำจัดศัตรูพืชบางชนิด เพื่อลดการเกิดพิษในกรณีที่ถูกใช้ในทางที่ผิด เช่น การฆ่าตัวตาย หรือเมื่อรับสารเข้าไปโดยอุบัติเหตุ

2.2.1 สารเคมีทางการเกษตรมีรูปแบบที่หลากหลาย ชนิดผงมีอยู่ 3 รูปแบบ

2.2.1.1 ผงฝุ่นละเอียด (Dustable powder) ที่เอาไว้โรยและไม่ต้องผสมน้ำ แต่สารเคมีอาจฟุ้งกระจาย

2.2.1.2 ผงผสมน้ำ (Wettable powder) ที่ต้องใช้ทันทีเพื่อไม่ให้ตกตะกอน

2.2.1.3 ผงแบบละลายในน้ำได้ (Soluble power) ซึ่งจะไม่ตกตะกอน แต่เมื่อเก็บไว้นานๆ มักจับตัวเป็นก้อนแข็ง นอกจากนี้ยังมีในส่วนที่เป็นรูปแบบเม็ด (Tablet) แต่ไม่ค่อยเป็นที่นิยม เพราะมีลักษณะคล้ายคลึงกับยารักษาโรค รูปแบบเม็ดทราย (Granule) เพื่อใช้หว่านหรือหยอดในดินเท่านั้น ห้ามละลายน้ำ ออกฤทธิ์ซึมเข้าไปผ่านระบบราก [12]

2.2.2 สารเคมีในรูปแบบของเหลวมีอยู่ประมาณ 5 รูปแบบ

2.2.2.1 ส่วนผสมสารเข้มข้น (Emulsifiable concentrate) ซึ่งเป็นรูปแบบที่นิยมมากที่สุด ต้องผสมน้ำก่อนใช้ มีสีขาวขุ่นและกลิ่นเหม็น สามารถดูดซึมได้ดีจึงต้องใช้อย่างระมัดระวัง

2.2.2.2 แคปซูล (Capsule suspension) ที่มีสารเคมีรูปแบบของเหลวอยู่ข้างใน และจะซึมออกช้าๆ มีฤทธิ์คงทนยาวนาน

2.2.2.3 สารเข้มข้นแขวนลอย (Suspension concentrate) โดยสารออกฤทธิ์จะเป็นของแข็งแขวนลอยในสารละลายไม่ออกฤทธิ์

2.2.2.4 สารเข้มข้นละลายได้ (Soluble concentrate) ซึ่งสารออกฤทธิ์จะละลายในน้ำหรือแอลกอฮอล์ได้ดี

2.2.2.5 ของเหลวปริมาตรต่ำ (Ultra-low volume liquid) ที่ใช้สำหรับเครื่องพ่น อาจนับได้ว่าเป็นแบบ Emulsifiable concentrate ชนิดพิเศษ [10]

2.3 การนำเข้าสารเคมีทางการเกษตรของประเทศไทย

จากข้อมูลของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ปี พ.ศ. 2560 จะพบว่าประเทศไทยมีปริมาณนำเข้าสารกำจัดวัชพืช 148,979 ตัน สารกำจัดแมลง 21,601 ตัน สารป้องกันและกำจัดโรคพืช 19,923 ตัน ปริมาณนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชทุกชนิดเท่ากับ 198,317 ตัน มูลค่ารวม 27,922 ล้านบาท ดังแสดงในตารางที่ 1

การใช้สารเคมีส่วนใหญ่เป็นสารเคมีกำจัดวัชพืชกว่า 70% สารเคมีกำจัดแมลงประมาณ 15% สารเคมีกำจัดโรคพืช 10% ส่วนที่เหลือเป็นสารกำจัดหนู สารรมควัน ฯลฯ โดยสารเคมีที่ใช้มากอันดับหนึ่งคือไกลโฟเสท ตามมาด้วยพาราควอท ซึ่งล้วนแล้วแต่มีความเป็นพิษสูงในกลุ่มสารเคมีกำจัดวัชพืชด้วยกัน ส่วนสารเคมีกำจัดแมลงที่มีการนำเข้าปริมาณสูงสุด คือ คาร์โบฟูรานและเมโทมิล ที่อยู่ในบัญชีวัตถุอันตรายเฝ้าระวังของกรมวิชาการเกษตร ดังนั้น จะเห็นได้ว่าเกษตรกรไทยในภาพรวมนิยมใช้สารเคมีที่ค่อนข้างแรง มีความเป็นพิษสูง

รายงานการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี พ.ศ. 2559 ของกรมวิชาการเกษตร [12] มีการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรจำนวนทั้งสิ้น 259 รายการ จำนวน 160,824 ตัน ปริมาณสารสำคัญ 84,379 ตัน มูลค่าทั้งสิ้น 20,617,705,156 บาท โดยมีสารเคมีที่นำเข้าปริมาณสูงกว่า 1,000 ตัน ได้แก่ atrazine, acetochlor, paraquat dichloride, pirimiphos-methyl, butachlor, carbosulfan, carbendazim, chlorpyrifos, diuron, glyphosate-isopropylammonium, propineb, mancozeb, paclobutrazol, pendimethalin, 2,4-D-sodium, และ 2,4-D-dimethylammonium โดยสารเคมีที่มีการนำเข้าสูงสุด 3 ลำดับแรก ได้แก่ glyphosate-isopropylammonium, paraquat dichloride และ 2,4-D-dimethylammonium

ตารางที่ 1 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี 2554 -2560

ปี	สารเคมี									
	สารกำจัดวัชพืช (Herbicide)		สารกำจัดแมลง (Insecticide)		สารป้องกันและกำจัดโรคพืช (Fungicide)		อื่นๆ*		รวม	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
2554	112,177	11,480	34,672	5,938	12,179	3,875	5,511	777	164,538	22,070
2555	106,860	11,294	16,797	3,686	6,972	3,883	3,748	494	134,480	19,378
2556	137,049	14,873	21,485	4,201	10,350	4,828	3,942	514	172,826	24,416
2557	117,645	13,435	13,910	4,013	10,988	4,708	4,832	656	147,375	22,812
2558	119,971	11,016	12,927	3,684	11,088	3,839	5,560	787	149,546	19,326
2559	125,596	9,688	16,056	3,899	12,915	4,503	6,120	2,487	160,824	20,618
2560	148,979	13,686	21,601	6,166	19,923	6,974	7,814	1,096	198,317	27,922

หน่วย : ปริมาณ : ตัน

มูลค่า : ล้านบาท

หมายเหตุ : * ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารรมควันพิษ สารกำจัดหอยและหอยทาก สารกำจัดไร สารกำจัดหนูและสารกำจัดไส้เดือนฝอย

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร [40]

2.4 ความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

2.4.1 สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง คือ

2.4.1.1 ทางผิวหนัง สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจะเขาสูรางกายผานทางผิวหนังโดยตรง เชน ก่อนฉีดพ่น สัมผัสได้จากการผสมสารโดยไม่ใช้ถุงมือ ขณะฉีดพ่นสัมผัสจากการถูกละอองสารและเสื้อผาที่เปยกชุมดวยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช หลังฉีดพ่นสามารถสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตที่มีสารปนเปื้อนอยู่โดยไม่ใส่ถุงมือ เป็นต้น

2.4.1.2ทางการหายใจ เกษตรกรที่ฉีดพนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช หรือผูคนที่อยูใกลกับพื้นที่ฉีดพนจะไดรับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชผานทางการหายใจได

2.4.1.3 ทางปาก เกิดขึ้นได้โดยบังเอิญ เช่น การใช้มือที่ปนเปื้อนสารเคมีหยิบจับอาหารหรือดื่มเครื่องดื่มที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเข้าไป เป็นต้น หรือ การกิน ดื่มโดยเจตนา

2.4.2 ผลกระทบต่อสุขภาพจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

2.4.2.1 พิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) ผู้ป่วยจะมีอาการแสดงในทันทีหลังจากที่มีการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดหัว ปวดกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อเกร็ง กระตุก ท้องร่วง หายใจติดขัด ตาพร่า แสบตา เป็นต้น

2.4.2.2 พิษเรื้อรัง (Chronic Toxicity) เกิดจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเป็นเวลานานและเกิดพิษสะสมจนก่อให้เกิดโรคหรือปัญหาต่อสุขภาพ เช่น มะเร็ง เบาหวาน อัมพฤกษ์

อัมพาต โรคผิวหนังต่างๆ การเป็นหมัน การพิการของทารกแรกเกิด การสูญเสียการได้ยิน การเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ เป็นต้น

2.4.3 ความเป็นพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืช จำแนกตามชนิดของสารเคมีที่สำคัญ มีดังนี้

2.4.3.1 สารออร์กาโนฟอสเฟต มีฤทธิ์ขัดขวางการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาท รอบนอก โดยจะจับกับตัวเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส ซึ่งมีหน้าที่ส่งสัญญาณประสาทหยุดการทำงาน ผลการจับ ตัวกับเอ็นไซม์ทำให้ปริมาณของเอ็นไซม์ ลดลง และมีผลต่อกล้ามเนื้อต่าง ๆ ต่อมต่าง ๆ และกล้ามเนื้อเรียบซึ่งควบคุมอวัยวะต่าง ๆ ในการทำงานมากกว่าปกติ เนื่องจากปริมาณเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสมีไม่มากพอที่จะ หยุดการทำงาน พบอาการ ม่านตาหรี่ หายใจลำบาก เวียนศีรษะ อาเจียน มือสั่น เดินโซเซ ชัก หมดสติ ระบบกล้ามเนื้อพบอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง ตะคริว ที่กล้ามเนื้อ ต่อมต่าง ๆ ต่อมน้ำลายขับน้ำลายออกมา มาก ต่อมเหงื่อขับเหงื่อออกมามาก

2.4.3.2 สารคาร์บาเมต สารในกลุ่มนี้มีการออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับสารออร์กาโนฟอสเฟต แต่ความเป็นพิษน้อยกว่า อาการที่เกิดขึ้นเหมือนกับการได้รับสารออร์กาโนฟอสเฟต ยกเว้นอาการชักไม่รู้สึกตัวเกิดขึ้นน้อย

2.4.3.3 สารออร์กาโนคลอรีน สารกลุ่มนี้ถูกดูดซึมที่ผิวหนัง เมื่อได้รับมาก ๆจะทำให้ระบบประสาทส่วนกลาง ถูกขัดขวาง พบอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง เวียนศีรษะ ปวดศีรษะ

2.4.3.4 สารไพรีทรอยด์ เป็นสารที่มีความไวทางชีวภาพสูง และใช้แบบเจือจาง สารกลุ่มนี้ถูกกำจัดออกจาก ร่างกาย ไม่ถูกสะสมอยู่ในร่างกาย พบอาการชา หายใจเร็วตื้น เจ็บคอ คอแห้ง แสบจมูก คันตามผิวหนัง ท้องเสีย น้ำลายไหลมาก หนังตากระตุก เดินโซเซ

2.4.3.5 สารกำจัดวัชพืช เช่น สารพาราควอท ที่ออกฤทธิ์เร็วและจะเสื่อมฤทธิ์ทันทีเมื่อตกถึงพื้นดิน สารนี้ ละลายน้ำและแอลกอฮอล์ได้ดี ไม่มีสี มีกลิ่นอ่อน ๆ คล้ายกลิ่นแอมโมเนีย สารนี้มีพิษต่อผิวหนัง และเยื่อเมือกพบอาการผิวหนังแห้งแตก ผื่นแดง เป็นแผล เล็บซีดขาว เล็บเปราะ ระบบหายใจ พบอาการไอ เลือดกำเดาไหล เจ็บคอ หากรับประทานเข้าไปทำให้เกิดพังผืดที่ปอด การหายใจล้มเหลว

2.4.3.6 สารเคมีกำจัดหนู เช่น ซิงค์ฟอสไฟต์ มีความเป็นพิษมากเมื่อถูกน้ำและกรดในกระเพาะอาหารเกิดปฏิกิริยาได้ก๊าซพิษฟอสฟีน ทำลายเซลล์กระเพาะอาหาร ตับ ไต การดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทำให้มีน้ำคั่งในปอด ปวดศีรษะ หายใจขัด ความดันโลหิตสูง อาจทำให้เสียชีวิตภายในระยะเวลา 2-3 ชั่วโมง

2.4.3.7 สารไธโอคาร์บาเมต เป็นสารกลุ่มรักษาโรคพืช ลักษณะอาการเกิดขึ้นมีลักษณะเหมือนไพรีทรอยด์ ทางเดินหายใจพบอาการ คอแห้ง แสบจมูก ไอ ตาพบอาการเคืองตา ตาแดง ผิวหนัง พบอาการคันผิวหนัง มีจุดขาวที่ผิวหนัง ผื่นแดง

2.5 การตกค้างของสารเคมีทางการเกษตรในผักและผลไม้

เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช หรือ Thai-PAN แถลงผลการตรวจสารพิษตกค้างในผักและผลไม้รอบที่ 2 ประจำปี 2559 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผักและผลไม้ที่นิยมบริโภค 16 ชนิดระหว่างวันที่ 23-29 สิงหาคม 2559 ได้แก่ พริกแดง กะเพรา ถั่วฝักยาว คะน้า ผักบุ้ง ผักกาดขาวปลี กะหล่ำปลี แตงกวา มะเขือเปราะ และมะเขือเทศ และ ผลไม้ 6 ชนิด ได้แก่ ส้มสายน้ำผึ้ง มะละกอ แตงโม แคนตา

ลูป ฝรั่ง และแก้วมังกร รวมทั้งสิ้น 158 ตัวอย่าง จากห้างบิ๊กซี แมคโคร เทสโก้โลตัส ตลาดไท ตลาดปฐมมงคล จ.นครปฐม และตลาดศรีเมือง จ.ราชบุรี และเก็บตัวอย่างผักผลไม้ที่ติดฉลากปลอดภัยและเกษตรอินทรีย์จากกูร์เมต์มาร์เก็ต ท็อปส์ โฮมเฟรชมาร์ท แม็กซ์แวลู วิลล่ามาร์เก็ต เลมอนฟาร์ม โกลเด้นเพลส และฟู้ดแลนด์ โดยส่งวิเคราะห์หาสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างแบบ Multi Residue Pesticide Screen (MRPS) พบว่า ผักและผลไม้โดยรวมมีสารพิษตกค้างเกินมาตรฐาน Maximum Residue Limits; MRL) ถึง 56% ของตัวอย่างทั้งหมด 158 ตัวอย่าง โดยพบการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตามรายชื่อวัตถุอันตรายชนิดที่ 4 ซึ่งยกเลิกการใช้แล้ว ได้แก่ ไดโครโตฟอส เอ็นโดซัลแฟน เมทามิโดฟอส และโมโนโครโตฟอส รวมทั้งวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 ที่กรมวิชาการเกษตรไม่อนุญาตทะเบียน 2 ชนิด คือ คาร์โบฟูราน และเมโทมิล ตกค้างอยู่ในผลผลิตรวม 29 จาก 158 ตัวอย่าง หรือคิดเป็น 18.4% [15]

2.6 อัตราป่วยจากพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้สารเคมี โดยข้อมูลการเจ็บป่วยดวยโรคพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ใชขอมูลจากระบบรายงานผูป่วยนอก43 แฟม ของสำนักนโยบายและยุทธศาสตร (สนย.) กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งรหัส ICD - 10 สำหรับอาการบาดเจ็บการไดรับสารพิษและการเจ็บป่วยที่เปนผลจากพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Toxic effect of pesticides) ในกลุ่มต่างๆ มีดังต่อไปนี้

T 60.0 ออรกาโนฟอสเฟตและคารบาเมต (Organophosphate and carbamate insecticides)

T 60.1 ยาฆาแมลงกลุมที่มีสารประกอบฮาโลเจน (Halogenated insecticides)

T 60.2 ยาฆาแมลงชนิดอื่นๆ (Other insecticides)

T 60.3 ยาฆาหญาและยาฆาเชื้อรา (Herbicide and fungicides)

T 60.4 ยาฆาหนู (Rodenticides)

T 60.8 สารกำจัดศัตรูพืชและสัตวอื่นๆ (Other pesticides)

T 60.9 สารกำจัดศัตรูพืชและสัตวอื่นๆ ที่ไมระบุรายละเอียด (Other pesticides - Not specified)

ในปี พ.ศ. 2557 อัตราผู้ป่วยนอกโรคพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (รวมทุกรหัส) เท่ากับ 12.25 ต่อประชากร 100,000 คน เพิ่มขึ้นจากปี 2556 และมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปีข้อมูลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มเกษตรกร [3]

ตารางที่ 2 ผลการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ด้วยกระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส (Cholinesterase reactive paper) ในกลุ่มเกษตรกรที่พบว่าเสี่ยงและ/ไม่ปลอดภัยต่อพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืช พ.ศ. 2554 – 2558

ปี พ.ศ.	จำนวนจังหวัดที่รายงาน	ได้รับการตรวจคัดกรอง (คน)	ผลเสี่ยงและ/หรือไม่ปลอดภัย(คน)	ร้อยละผลเสี่ยงและ/หรือไม่ปลอดภัย
2554	74	533,524	173,243	32.47
2555	31	244,822	75,749	30.94
2556	50	314,805	96,227	30.57
2557	71	317,600	108,062	34.02
2558	71	341,039	110,672	32.45

หมายเหตุ: กระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส (Cholinesterase reactive paper) ใช้สำหรับทดสอบปริมาณเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรส ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่มีหน้าที่ในการทำลายสาร acetylcholine เมื่อร่างกายได้รับสารเคมีกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสหรือสารคาร์บาเมตบางตัวเท่านั้น

กระทรวงอุตสาหกรรมได้ประกาศยกเลิกการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในช่วง ปี 2520-2537 จำนวน 32 ชนิด โดยประกาศในราชกิจจานุเบกษา เมื่อวันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ. 2538 ตัวอย่างเช่น DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารกำจัดแมลง ประกาศห้ามใช้ เมื่อมีนาคม 2526 2,4,5-T ซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารกำจัดวัชพืชประกาศห้ามใช้เมื่อกันยายน 2526 Dieldrin ซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารกำจัดแมลง ประกาศห้ามใช้ เมื่อพฤษภาคม 2531 Aldrin และ Heptachlor ซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารกำจัดแมลง ประกาศห้ามใช้ เมื่อกันยายน 2531 ซึ่งสารเคมีหลายชนิดที่ประกาศยกเลิกการใช้ เป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งแวดล้อมนาน [16]

2.7 สารเคมีที่นำมาใช้ในทางเกษตร

2.7.1 Atrazine ชื่อทางการค้า เช่น Aatrex, Aktikon, Alazine Atrazine ใช้ในการกำจัดวัชพืช มีความเป็นพิษปานกลาง ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Restricted Use Pesticide (RUP) Atrazine สามารถปนเปื้อนในแหล่งน้ำใต้ดิน มีครึ่งชีวิต 60-100 วัน ในสิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้ดี ในสภาวะที่เป็นกรดหรือด่าง หรือระเหยได้เมื่ออุณหภูมิสูง EPA จัด Atrazine ให้เป็นสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งได้ในมนุษย์ [17]

2.7.2 Carbofuran ชื่อทางการค้า เช่น Furadan, Bay 70143, Yaltox, Furacarb Carbofuran เป็นสารกลุ่มคาร์บาเมต ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลง ไส้เดือน Carbofuran มีทั้งแบบชนิดเม็ดและชนิดน้ำ Carbofuran ชนิดเม็ด ถูกยกเลิกการใช้งานโดย EPA ตั้งแต่ปี 1985 ยังคงอนุญาตให้ใช้เฉพาะชนิดน้ำ Carbofuran มีครึ่งชีวิต 3-60 วัน ในสิ่งแวดล้อม ไม่มีรายงานการก่อกลายพันธุ์ในคนและจุลินทรีย์ และสารก่อมะเร็ง อย่างไรก็ตาม สาร N- nitrosocarbamates ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของ Carbofuran สามารถเกิดขึ้นในสภาวะที่เป็นกรด เช่น ในกระเพาะอาหารของสัตว์บางชนิด รวมถึงมนุษย์ด้วย สาร N- nitrosocarbamates นี้ มีรายงานว่าเป็นสารก่อมะเร็ง [17]

2.7.3 2,4-D ชื่อทางการค้า เช่น Weedtrine-II, Aqua-Kleen, Barrage 2,4-D เป็นสารประกอบ chlorinated phenoxy ใช้เป็นยาฆ่าวัชพืชใบกว้าง 2,4-D เป็นหนึ่งในองค์ประกอบของฝนเหลือง ซึ่งใช้ในสงครามเวียดนาม ร่วมกับสารประกอบอีกชนิดคือ 2,4,5-T 2,4-D มีฤทธิ์ระคายเคืองต่อผิวหนังและตา มีความเป็นพิษปานกลาง ไม่พบการก่อกลายพันธุ์ มีรายงานว่าเป็นสารก่อมะเร็งในสวีเดน รัฐแคนซัสและรัฐเนบราสกาของสหรัฐอเมริกา แต่มีรายงานที่ขัดแย้งในวอชิงตัน นิวยอร์ค ออสเตรเลีย และเวียดนาม ว่าไม่เป็นสารก่อมะเร็ง [17]

2.7.4 DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) ชื่อทางการค้า เช่น Zerdane, Pentachlorin, Anofex, Cesarex DDT เป็นสารในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการควบคุมโรคไทฟอยด์และมาลาเรีย แต่ได้ถูกยกเลิกการใช้ในปี ค.ศ. 1972 ในประเทศสหรัฐอเมริกา ความเป็นพิษของ DDT พบว่ามีรายงานการเป็นพิษเรื้อรังต่อระบบประสาท ไต ตับ และระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลอง รายงานการเกิดมะเร็งที่ตับและปอดของหนูทดลอง และผู้ที่ทำงานสัมผัสกับ DDT เป็นเวลานาน พบการเกิดมะเร็งที่ตับอ่อน DDT มีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน DDT มีครึ่งชีวิตระหว่าง 2-15 ปี [17]

2.7.5 Glyphosate ชื่อทางการค้า เช่น Roundup, Rodeo Glyphosate เป็นสารเคมีในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต เป็นยาฆ่าวัชพืชที่มีฤทธิ์กว้าง Glyphosate จัดอยู่ในกลุ่มยาฆ่าหญ้าที่มีฤทธิ์ปานกลาง ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อตา ยังไม่พบรายงานการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์หรือเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ Glyphosate สามารถดูดซับกับดินได้ดี มีครึ่งชีวิตในแหล่งน้ำ 12 วัน ถึง 10 อาทิตย์ [17]

2.7.6 Heptachlor ชื่อทางการค้า เช่น Drinox, Heptagran, H-34 Heptamul, Heptox สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (EPA) ยกเลิกการใช้Heptachlor ในปี 1988 Heptachlor เป็นสารในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ใช้ในการกำจัดแมลง Heptachlor มีความเป็นพิษต่อมนุษย์สูง และสามารถดูดซึมผ่านผิวหนัง ปอด และระบบย่อยอาหาร มีผลต่อสมองและทำลายตับ หากได้รับปริมาณสูงทำให้เสียชีวิตได้ Heptachlorมีรายงานทำให้เกิดมะเร็งตับในหนู สามารถดูดซับกับดินได้ดี ครึ่งชีวิตของ Heptachlor ในดิน 6 เดือน ถึง 3.5 ปี แต่ยังสามารถตรวจพบได้ในดินตั้งแต่ 14-16 ปี หลังการใช้ [17]

2.7.7 Methomyl ชื่อทางการค้า เช่น Lannate, Methavin เป็นสารเคมีที่อยู่ในรายการจำกัดการใช้ (Restricted Use Pesticide; RUP) สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (Environmental Protection Agency; EPA) ของสหรัฐอเมริกา เพราะมีความเป็นพิษต่อมนุษย์สูง Methomyl เป็นสารฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์กว้าง แต่ยังไม่มีรายงานการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ หรือก่อให้เกิดมะเร็ง แต่มีความเป็นพิษสูง หากได้รับผ่านการกิน หรือสัมผัสกับดวงตา หากได้รับปริมาณมาก ทำให้เสียชีวิตได้ Methomyl สามารถย่อยสลายได้ในดิน ในเวลา 3-6 อาทิตย์ สามารถละลายในน้ำได้ดี จึงก่อให้เกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำใต้ดินได้ [17]

2.7.8 Paraquat ชื่อทางการค้า เช่น Crisquat, Dextrone, Dexuron Paraquat ใช้ในการควบคุมวัชพืช ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Restricted Use Pesticide (RUP) ถูกย่อยสลายได้โดยแสงอาทิตย์และจุลินทรีย์ในดิน โดยมีรายงาน พบว่า Paraquat มีครึ่งชีวิตตั้งแต่ 16 เดือน ถึง 13 ปี มีรายงานว่า

Paraquat ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ ในคน จุลินทรีย์ และหนู และมีความเป็นไปได้ ที่จะเป็นสารก่อมะเร็ง [17]

2.7.9 Parathion ชื่อทางการค้า เช่น Panthion, Paramar, Paraphos Parathion จัดอยู่ในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ออกฤทธิ์แบบกว้าง มีพิษแบบเฉียบพลัน ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Restricted Use Pesticide (RUP) ปี 1992 EPA ยกเลิกการใช้ Parathion ในผลไม้ และผัก มีรายงานว่าอาจเป็นสารก่อมะเร็ง Parathion มีครึ่งชีวิต 1-10 วันในสิ่งแวดล้อม [17]

2.8 พาราควอท

พาราควอท มีชื่อทางการค้า ได้แก่ Crisquat, Dextrone, Dexuron, Paraquat ใช้ในการควบคุมวัชพืช ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Restricted Use Pesticide (RUP) ถูกย่อยสลายได้โดยแสงอาทิตย์และจุลินทรีย์ในดิน โดยมีรายงาน พบว่าพาราควอทมีครึ่งชีวิตตั้งแต่ 16 เดือน ถึง 13 ปี มีรายงานว่า พาราควอท ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ ในคน จุลินทรีย์ และหนู และมีความเป็นไปได้ ที่จะเป็นสารก่อมะเร็ง [17]

พาราควอทเป็นสารสังเคราะห์ทางเคมีที่ผลิตขึ้นในปี 1882 แต่ความสามารถในการเป็นสารกำจัดศัตรูพืชถูกค้นพบในปี 1959 โดยพาราควอทมีชื่อทางเคมีว่า เมธิลไวโอโลเจน ไดคลอไรด์ (methyl viologen dichloride) หรือ 1,1 ไดเมธิล-4,4 ไบไพริดิเนียมไดคลอไรด์ (1,1’-dimethyl-4,4’ bipyridinium dichloride) โดยชื่อทางการค้าของพาราควอทที่เป็นที่รู้จัก เช่น กรัมม็อกโซน ไตรควอท หรือเดกซ์ซูรอน กลไกการออกฤทธิ์ของพาราควอท เกิดขึ้นโดยการเข้าไปขัดขวางการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนในกระบวนการการสังเคราะห์แสงของพืช โดยการยับยั้งการรีดิวซ์ NAPD ไปเป็น NADPH ซึ่งการขัดขวางดังกล่าวส่งผลให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระขึ้น จากนั้นอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับไขมันไม่อิ่มตัวในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ออร์กาเนล (organelle) ของพืชถูกทำลาย และเกิดการตายของเซลในที่สุด ลักษณะภายนอกของพาราควอทเป็นผลึกของแข็งที่เป็นสีขาวใสหรือเป็นผงสีขาวค่อนข้าง เหลือง พาราควอทสามารถละลายน้ำได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับสารกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่น โดยมีคุณสมบัติในการละลายน้ำอยู่ที่ 700 กรัมต่อลิตร พาราควอทสามารถคงรูปได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกรด และไม่คงรูปในน้ำที่มีความเป็นด่างสูง [16]

พาราควอท (1,1'dimethyl, 4,4'bipyridyl) จัดเป็นสารกำจัดวัชพืช มีการผลิตในหลายประเทศ รวมถึง จีน ไต้หวัน อิตาลี ญี่ปุ่น สหราชอาณาจักร และสหรัฐอเมริกา มีการใช้ทั่วโลกประมาณ 130 ประเทศ พาราควอทที่มีจำหน่ายจะใช้ในรูปที่เป็นเกลือไดคลอไรด์ และใช้สูตรที่มีสารลดแรงตึงผิว ทั้งคุณสมบัติของสารกำจัดวัชพืชและพิษวิทยานั้นขึ้นอยู่กับความสามารถของประจุบวกที่จะได้รับอิเล็กตรอนเดียว นอกจากนี้ในรูปแบบอนุมูลอิสระซึ่งทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ออกซิเจนนี้อาจทำให้เซลล์ตายโดยตรงหรือโดยอ้อม [19]

พาราควอท ไดคลอไรด์ เป็นสารเคมีที่ใช้ในการเกษตรจัดเป็นสารกำจัดวัชพืช ใช้สำหรับการควบคุมวัชพืชและหญ้า โดยพยายามทำลายกิจกรรมของต้นพืช โดยทำการรบกวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของต้นพืช และทำลายออร์แกเนลล์ของพืช พาราควอทค่อนข้างปลอดภัยเมื่อใช้อย่างถูกต้องแต่อย่างไรก็ตาม พาราควอทเป็นสารประกอบที่เป็นพิษสูงสำหรับมนุษย์และสัตว์ และไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมามีการรายงานกรณีของพิษเฉียบพลัน และการเสียชีวิตจากการสัมผัสโดยไม่ตั้งใจ หรือโดยตั้งใจ และ

มีอัตราการตายสูง การรักษาที่มีประสิทธิภาพเพื่อแก้ไขพิษของยากำจัดวัชพืช ได้แก่ การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ การล้างกระเพาะอาหาร และการฟอกเลือด เป็นต้น [20]

2.8.1 ความเป็นพิษของพาราควอท

ความรุนแรงจากอาการโดนพิษของพาราควอทอาจขึ้นอยู่กับปริมาณ รูปแบบที่ได้รับ รวมทั้งความเข้มข้นของสารในผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตาม พิษจากสารชนิดนี้เป็นอันตรายและออกฤทธิ์รวดเร็ว โดยอาการอาจแบ่งตามรูปแบบการได้รับ ดังนี้

2.8.1.1 การสัมผัส

แม้ว่าพาราควอทเป็นสารที่ดูดซึมผ่านผิวหนังได้น้อย แต่เมื่อสัมผัสกับสารชนิดนี้เป็นเวลานานอาจทำให้เกิดอาการ อย่างผิวหนังระคายเคือง เกิดบาดแผล เป็นผื่นอย่างรุนแรง และหากพาราควอทสัมผัสกับแผล อาจเกิดการดูดซึมเข้ากระแสเลือดและส่งผลให้เนื้อเยื่อของอวัยวะต่าง ๆ เกิดความเสียหาย

2.8.1.2 การสูดดม

การได้รับพาราควอทผ่านทางการสูดดมอาจส่งผลให้ปอดได้รับความเสียหาย และยังเป็นอันตรายต่อทารกได้อีกด้วย

2.8.1.3 การรับประทาน

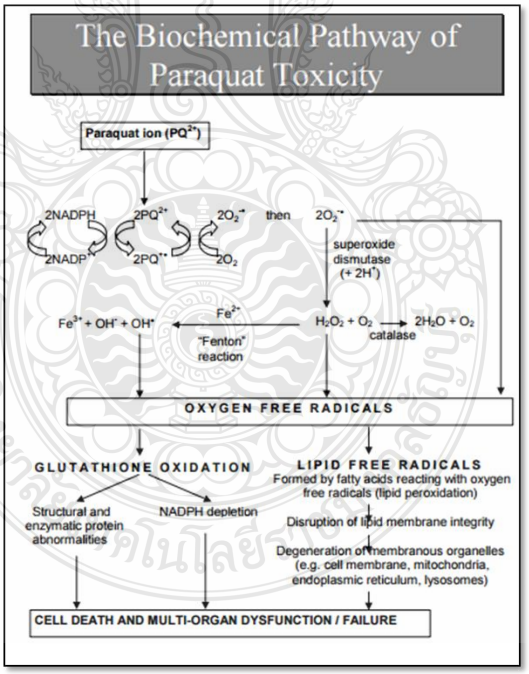
การได้รับสารพิษชนิดนี้ผ่านการรับประทานอาจเป็นอันตรายถึงชีวิต โดยปกติแล้วยากำจัดวัชพืชมักประกอบด้วยพาราควอทที่มีความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการรายงานพบว่าความเข้มข้นในระดับนี้ หากได้รับยากำจัดวัชพืชปริมาณ 15 มิลลิลิตร ผู้ที่ได้รับสารพิษอาจยังมีโอกาสรอดชีวิต แต่ถ้าหากได้รับเกิน 50-60 มิลลิลิตร ผู้ที่ได้รับสารมักเสียชีวิตและอาจเสียชีวิตได้ภายใน 48 ชั่วโมง โดยอาการเป็นพิษอาจเริ่มต้นด้วยความรู้สึกปวดแสบและแสบร้อนภายในช่องปากและลำคอ หายใจลำบาก เลือดกำเดาไหล หายใจไม่อิ่ม ปวดท้อง ท้องเสียและอาจมีเลือดปน อาเจียนหรืออาเจียนเป็นเลือด โดยอาการเหล่านี้อาจทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อน อย่างภาวะขาดน้ำ ภาวะไม่สมดุลของแร่ธาตุในร่างกาย และภาวะความดันโลหิตต่ำที่อาจทำให้เกิดอาการช็อกได้ การได้รับพาราควอทในปริมาณเล็กน้อยถึงปานกลาง อาจส่งผลให้เกิดภาวะอวัยวะ อย่างหัวใจ ปอด ตับ และไตทำงานล้มเหลว โดยอาจเกิดขึ้นหลังจากได้รับสารพิษหลายวันจนถึงหลายสัปดาห์ หากได้รับสารนี้ในปริมาณมาก อาจส่งผลให้หัวใจเต้นเร็ว รู้สึกสับสน กล้ามเนื้ออ่อนแรง เป็นแผลในปอด เกิดภาวะน้ำท่วมปอด หัวใจได้รับบาดเจ็บ ไตวายเฉียบพลัน ตับทำงานล้มเหลว โคม่า ชัก และระบบทางเดินหายใจล้มเหลวซึ่งอาจทำให้เสียชีวิต นอกจากนี้ การได้รับพาราควอทต่อเนื่องกันเป็นเวลานานอาจส่งผลให้อวัยวะล้มเหลว เป็นแผลภายในปอด เกิดพังผืดภายในปอด (Pulmonary fibrosis) และอาจเป็นอันตรายต่อทารกหากผู้สัมผัสกำลังตั้งครรภ์ [21]

กรณีที่พบมากคือ การสัมผัสกับพาราควอททั้งทางตรงและทางอ้อมโดยความบังเอิญ หรือความตั้งใจในมนุษย์และสัตว์ ที่มีการกลืนกินหรือ สูดดม และทางผิวหนัง พาราควอทก่อให้เกิดอาการแสบร้อนและอาการบวมภายในช่องปากและลำคอตามด้วยอาการ ระบบทางเดินอาหาร เช่น ปวดท้อง เบื่ออาหาร คลื่นไส้อาเจียนและท้องเสีย ค่า LD50 ของหนูคือ 110-150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลิงคือ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แมวคือ 48 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสำหรับวัวเป็น 50-70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ประมาณการตายโดยใช้พาราควอทในมนุษย์คือ 35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม LD50 ในผิวหนังของ

กระต่ายเป็น 236-325 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งบ่งบอกความเป็นพิษในระดับปานกลาง โดยส่งผลก่อให้เกิดโรคปอดที่รุนแรง [20]

พิษพาราควอทเป็นกระบวนการที่รวดเร็ว และอาการจะออกฤทธิ์อย่างรวดเร็วทันทีหลังจากการดื่มหรือสูดดม พาราควอทมีความเป็นพิษสูง บุคคลเหล่านั้นจะมีอาการแสบร้อน และปวดภายช่องในปากและลำคอ พาราควอททำให้เกิดความเสียหายของอวัยวะภายในทันทีโดยการสัมผัสโดยตรง หลังจากนั้นไม่นานพวกเขาจะมีอาการ อาการปวดท้อง อาเจียน อาการท้องเสียที่อาจเป็นเลือด โดยอาการระบบทางเดินอาหารมักจะรุนแรง โดยจะมีอาการ ความดันโลหิตต่ำ อาจพบเลือดกำเดาไหลและหายใจลำบาก แม้แต่การกินพาราควอทในปริมาณเล็กน้อยถึงปานกลางก็สามารถทำให้เกิดการเสียชีวิตได้ ภายในเวลาไม่กี่สัปดาห์ ถึงหลายวันหลังจากกลืนเข้าไปในร่างกายเพียงเล็กน้อยเท่านั้นอาจมีอาการปอดอักเสบและอวัยวะภายในล้มเหลวหลายอวัยวะ ซึ่งรวมถึงหัวใจล้มเหลว ไตวายและตับวาย การกินพาราควอทในปริมาณมากจะทำให้ส่งผลให้เกิดเกิดอาการรุนแรงภายในไม่กี่ชั่วโมง อาการเหล่านี้รวมถึงกล้ามเนื้ออ่อนแรง ชัก หายใจล้มเหลว หายใจลำบาก และหัวใจเต้นเร็ว

อาการหลังได้รับพิษจากพาราควอท หลายชั่วโมงหลังจากการกลืนกินหรือสูดดมเข้าไปจำนวนมากพิษของพาราควอทอาจทำให้ ไตวายเฉียบพลัน ตับวาย มีแผลภายในปอด อาการบวมน้ำที่ปอด และระบบหายใจล้มเหลว [22]



ภาพที่ 1 กระบวนการทางชีวเคมีของความเป็นพิษในพาราควอท
ที่มา : Hata (1986)

2.8.2 ความเป็นพิษของพาราควอทต่อสิ่งแวดล้อม

พฤติกรรมของสารพาราควอทในสิ่งแวดล้อมสารพาราควอทมีความสามารถเคลื่อนย้ายในดินได้อย่างจำกัดเพราะถูกอนุภาคดินและอินทรีย์ วัตถุจับยึดไว้ เนื่องจากตัวสารมีสมบัติเป็นประจุบวก จึงสามารถดูดยึดกับดินซึ่งมีประจุลบอย่างแข็งแรง โดยเฉพาะดินเหนียวปรือแร่ดินเหนียว และอินทรียวัตถุ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ เท่ากับ 106 ซึ่งการติดแน่นอยู่กับดินนี้เป็นขีดจำกัดและความเป็นประโยชน์ของสารพาราควอททำลายวัชพืช โดยสารพาราควอทมีการสลายตัวทางชีวภาพ ได้ช้ามาก และมีครึ่งชีวิตในดิน 1,000 วันหรือมากกว่านั้นขึ้นกับชนิดของดิน และในบางกรณีอาจใช้เวลาถึง 3 ปี โดยสารนี้จะไม่ออกฤทธิ์ในดินและไม่เกิดการชะล้างลงสู่ด้านล่าง หรือเกิดน้อยมาก จึงไม่เกิดการปนเปื้อนในเหล่งน้ำใต้ดิน การดูดยึดของสารพาราควอทในดินไม่เกี่ยวข้องกับอุณหภูมิและความชื้นดินไม่แสดงความเป็นพิเศษและไม่มีการเคลื่อนย้ายในพืช มีการทดลองหาอัตราการดูดซับของสารพาราควอท กับชนิดแร่ดินเหนียว พบว่าแร่ดินเหนียวในกลุ่ม montmorillonite จะมีการดูดซับได้สูงกว่าแร่ดินเหนียวชนิดอื่นๆ [23]

ผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมจากการตกตะกอนของพาราควอท บนพื้นดินของพืชที่เกิดจากการย่อยสลายด้วยแสงเป็นสารประกอบที่มีความเป็นพิษต่ำกว่าสารประกอบหลัก เมื่อมีพาราควอทตกค้างในดิน พาราควอท จะกลายเป็นแร่ธาตุดินเหนียวอย่างรวดเร็วและจะทำการดูดซับ กระบวนการนี้จะหยุดกิจกรรมการกำจัดวัชพืช ก็ต่อเมื่อพาราควอทนั้นถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในดินที่อาศัยอยู่ภายในดิน โดยการย่อยสลายพาราควอทด้วยจุลินทรีย์ในดินใช้ระยะเวลายาวนานโดยมีอัตราการย่อยสลายอยู่ที่ 5 - 10% ต่อปี พาราควอทไม่มีผลกระทบต่อสัตว์หน้าดิน หรือกระบวนการของจุลินทรีย์และพาราควอทที่ตกค้างในเหล่งน้ำหายไปได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากมีการดูดซับของวัชพืชน้ำและการดูดซับไปยังโคลนด้านล่าง ความเป็นพิษของพาราควอทสำหรับปลาอยู่ในระดับต่ำ โดยการใช้พาราควอทในการควบคุมวัชพืชในน้ำปกติไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ อย่างไรก็ตามควรใช้ความระมัดระวังเมื่อใช้พาราควอทในน้ำที่มีการเจริญเติบโตอย่างหนักของวัชพืชเพื่อรักษาเพียงบางส่วนของการเจริญเติบโตเนื่องจากออกซิเจนที่ใช้โดยการสลายตัวของวัชพืชที่ตามมาอาจลดระดับออกซิเจนที่ละลายในระดับที่อาจเป็นอันตรายต่อปลาไม่ควรใช้น้ำที่ผ่านการบำบัดเพื่อการชลประทานเป็นเวลา 10 วันหลังจากการบำบัด พาราควอทนั้นไม่ระเหยและหลังจากการพ่นความเข้มข้นของพาราควอทในอากาศนั้นมีค่าต่ำมาก ภายใต้สภาพการทำงานปกติการสัมผัสของคนงานในการพ่นและการเก็บเกี่ยวยังคงต่ำกว่า TLV ในปัจจุบันและการสัมผัสกับผู้คนหรือบุคคลที่อาศัยอยู่ [19]

2.8.2.1 การแพร่กระจายในแหล่งน้ำ

เกิดจากพาราควอทฉีดพ่นวัชพืชในบริเวณที่อยู่ใกล้เหล่งน้ำทำให้ละอองที่เกิดจากการฉีดพ่นปลิวไปตกในเหล่งน้ำดังกล่าว หรืออาจเกิดจากการใช้พาราควอทในการกำจัดวัชพืชโดยตรง การใช้พาราควอทเป็นสารกำจัดวัชพืชในเหล่งน้ำ หากใช้ที่ระดับความเข้มข้นปกติจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ อย่างไรก็ตามหากในเหล่งน้ำมีวัชพืชปกคลุมอยู่หนาแน่นการใช้พาราควอทจะต้องมีความระมัดระวัง ทั้งนี้เนื่องจาก การเน่าเปื่อยของวัชพืชจะทำให้ออกซิเจนในเหล่งน้ำลดน้อยลง ซึ่งจะมีผลกระทบต่อปลาและสิ่งมีชีวิตอื่นๆในน้ำได้ [25]

2.8.2.2 การแพร่กระจายในดิน

จากการใช้พาราควอท ฉีดพ่น เพื่อกำจัดวัชพืชย่อมมีโอกาสที่ทำให้ตกค้างค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ในดินหลายชนิดที่สามารถย่อยสลายพาราควอทที่ตกค้างในดินได้ ตัวอย่างเช่น *Corynebacterium fascians , Clostridium pasteurianum* และ *Lipomyces starkeri* เป็นต้น [25]

2.8.2.3 การแพร่กระจายในอากาศ

พาราควอทสามารถแพร่กระจายอยู่ในอากาศในสภาพที่เป็นหยดละอองเล็กๆ ภายหลังการฉีดพ่นแล้ว มีการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของพาราควอทในอากาศบริเวณที่มีการฉีดพ่นจะอยู่ในระดับสูงถึง 0.55 mg/m^3 แต่ความเข้มข้นดังกล่าวจะมากหรือน้อยก็ขึ้นอยู่กับวิธีการฉีดพ่นว่าถูกต้องหรือไม่ ส่วนในฝุ่นละอองที่ปะปนอยู่ในอากาศทั่วไปพบว่า มีปริมาณพาราควอทอยู่ระหว่าง 0.001-0.004 มิลลิกรัม [25]

2.8.2.4 การแพร่กระจายในพืช

ในการใช้พาราควอทเพื่อประโยชน์ทางด้านเกษตรย่อมเป็นโอกาสที่ทำให้เกิดการตกค้างในพืชผลต่างๆได้พาราควอทส่วนใหญ่จะถูกสะสมอยู่ในส่วนของใบแต้ภายหลังจากการฉีดพ่นแล้วจะเกิดการย่อยสลายโดยกระบานการ photochemical degradation โดยอัตราการย่อยจะสัมพันธ์กับความเข้มของรังสีอุลตร้าไวโอเลต ซึ่งปรากฏอยู่ ระหว่าง 285-310 mu ในสภาวะที่มีแสงแดดจัดปรากฏว่า พาราควอทที่ตกค้างอยู่ในส่วนของใบประมาน 2 ใน 3 ส่วน จะถูกย่อยด้วยกระบวนการดังกล่าว ภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์และจากการตรวจวิเคราะห์พืชที่ผ่านการฉีดพ่นพาราควอทที่ระดับความเข้มข้น 1.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 4 เดือน ผลปรากฏว่ามีปริมาณพาราควอทตกค้างอยู่เท่ากับ 5-200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [25]

2.9 ความเป็นพิษของพาราควอทต่อมนุษย์

ในอาชีพที่เกี่ยวข้องในการใช้สารพาราควอทจะไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพหากมีการปฏิบัติตามคำแนะนำในการใช้งานและมีการปฏิบัติตามแนวทางการทำงานที่ปลอดภัย สิ่งนี้แสดงให้เห็นในงานวิจัยหลายชิ้นที่ประเมินความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นทั้งในระยะสั้นและระยะยาว อย่างไรก็ตามมีการอธิบายถึงความเสียหายของเล็บ และความเสียหายของผิวหนังอย่างช้าๆ และอาจใช้เป็นข้อบ่งชี้ว่าควรมีการทบทวนวิธีปฏิบัติงาน ในจำนวนผู้ป่วยที่ถูกรายงานว่าผู้ที่ได้รับพิษจากพาราควอทซึ่งอ้างว่าเป็นผลมาจากการได้สัมผัสจากการทำงานสาเหตุสามารถระบุได้ว่าเป็นหนึ่งหรือหลายปัจจัยร่วมกัน ได้แก่การปนเปื้อนของผิวหนังด้วยผลิตภัณฑ์ที่เข้มข้นการใช้สารละลายที่เจือจางไม่เพียงพอการใช้อุปกรณ์ที่ผิดพลาดการใช้อุปกรณ์ในทางที่ผิด (เช่น การพ่นไอพ่น) หรือการดำเนินการในกรณีที่มีการปนเปื้อนผิวหนังหรือเสื้อผ้า ความเสียหายที่ตาและผิวหนัง และมีรายงานผู้ป่วยจำนวนมากจากการฆ่าตัวตายหรือการได้รับสารพิษจากพาราควอท หรือในบางกรณีการกินสารกำจัดวัชพืชสูตรเม็ด ซึ่งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตมีสองประเภทที่สามารถจำแนกได้ดังนี้ ชนิดเฉียบพลันที่นำไปสู่การเสียชีวิตภายในไม่กี่วันและรูปแบบระยะยาวอาจเป็นเวลาหลายสัปดาห์จึงส่งผลให้เกิดพังผืดภายในปอด อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับไตตับและอวัยวะอื่น ๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของสารพิษที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย ความเสียหายอย่างกว้างขวางต่อ คอหอยส่วนปาก และหลอดอาหารมักจะเห็นในกรณีที่กลืนสารที่มีความเข้มข้น

หลังจากการกลืนกินสารแล้วควรปฐมพยาบาลโดนเร็วที่สุด และควรสังเกตอาการที่เกิดขึ้นก่อนที่ผู้ป่วยจะมาถึงโรงพยาบาล ซึ่งรักษาพิษจากพาราควอทเป็นที่น่าผิดหวังอย่างมากเนื่องจากยังไม่สามารถค้นพบวิธีการรักษาได้ และอัตราการตายยังคงสูง แต่ในกรณีมีความรุนแรงน้อยไม่มีการสร้างความเสียหายของปอดจะมีวิธีการรักษาได้ ความเป็นไปได้ของการฟื้นตัว อย่างชัดเจน ขึ้นอยู่กับปริมาณของพาราควอทที่ได้รับและช่วงเวลาระหว่างการบริโภคและการเริ่มต้นของการรักษา [19]

2.10 ความเป็นพิษของพาราควอทต่อสัตว์

ลักษณะอาการบาดเจ็บที่เกี่ยวข้องอาจเกิดขึ้นได้ใน หนูเมาส์ สุนัข และลิง แต่ไม่ใช่ในกระต่าย หนูตะเภา และหนูแฮมสเตอร์ ซึ่งมีความเป็นพิษต่อปอดโดยมีลักษณะเริ่มต้น คืออาการบวมน้ำที่ปอด ความเสียหายต่อถุงลม เยื่อบุผิวอาจพัฒนาไปสู่พังผืด และหากมีการสัมผัสกับปริมาณพาราควอทที่สูง ส่งผลต่อระบบประสาท,หัวใจ,หลอดเลือด,ระบบสืบพันธุ์ และต่อมหมวกไตของตัวผู้ [19]

2.10.1 ความเป็นพิษของพาราควอทต่อสัตว์ในดิน

จากการศึกษาถึงผลการทบของพาราควอทที่มีผลการทบต่อสัตว์ในดินจำพวกแมลงขนาดเล็กและไส้เดือนดิน โดยทำการศึกษาในแง่ของผลกระทบต่อองค์ประกอบและจำนวนประชากรของสัตว์ในดินตลอดจนผลต่อการทำกิจกรรมต่างๆ ได้แก่ การหายใจ อัตราการย่อยสลายของสารอินทรีย์ เป็นต้น ผลการศึกษาปรากฏว่าเมื่อใช่พาราควอทในระดับความเข้มข้นปกติประมาณ 32 เท่า จะไม่ก่อให้เกิดอันตราย และผลกระทบต่อการดำเนินชีวิตของสัตว์ในดิน แม้ว่าในบางกรณีจะมีผลต่อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ nitrification

2.10.2 ความเป็นพิษของพาราควอทต่อปลาและสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ

ความเป็นพิษของพาราควอทที่มีต่อปลาจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของปลาตลอดจนสภาพความอ่อนแอและความกระด้างของเหล่งน้ำนั้น จากการทดลองของ Calderbank โดยการฉีดพ่นพาราควอทลงในเหล่งน้ำที่ระดับความเข้มข้น 96 มิลลิกรัมต่อลิตรผลปรากฏว่าไม่มีผลอันตรายต่อปลา แต่จะมีผลทำให้ปริมาณออกซิเจนในเหล่งน้ำนั้นลดลงเนื่องจากการเน่าเปื่อยของวัชพืชน้ำอย่างไรก็ตามการใช้พาราควอทในเหล่งน้ำอาจทำให้เกิดการตกค้างในอวัยวะบางส่วนของปลาได้ [25]

มีการศึกษาค่าความเป็นพิษของสารพาราควอทในสัตว์น้ำหลายประเภทโดยเมื่อทำการเปรียบเทียบกับสารชนิดอื่นพบว่าโดยส่วนใหญ่พาราควอทมีค่า LC50 ซึ่งคือค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้สิ่งมีชีวิตที่ทดลองได้รับผลกระทบครึ่งหนึ่งของจำนวนสัตว์ทดลองสูงกว่าสารกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดจากการเปรียบเทียบในตารางที่ 1 พบว่าพาราควอทมีค่า LC50 สูงกว่าสารกำจัดศัตรูพืชประเภทอื่นยกเว้น คาร์บาริล กล่าวคือพาราควอทมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำน้อย และมีการจัดระดับเพื่อเปรียบเทียบพิษเฉียบพลันของพาราควอทในสัตว์น้ำแต่ละประเภทพบว่าความเป็นพิษเฉียบพลันของพาราควอทต่อปลา แพลงก์ตอนสัตว์ และสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอยู่ในระดับค่อนข้างเป็นพิษ (slightly toxic LC50 10,000-100,000 ไมโครกรัมต่อลิตร) ยกเว้นสัตว์น้ำในกลุ่มกุ้งปู (crustacean) ที่พาราควอทมีพิษอยู่ในระดับปานกลาง (moderate toxic LC50 1,000-10,000 ไมโครกรัมต่อลิตร) [19]

ตารางที่ 3 ความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชใน Silver barb และ Rainbow trout

Pesticide	LC_{50} at 96 hour (mg/L) Silver barb	LC_{50} at 96 hour (mg/L) Rainbow trout	Chemical type of Pesticide
Paraquat	5.05	0.75	Bipyridylium
Carbaryl	6.29	1.95	Carbamate
Carbofuran	1.1	0.38	Carbamate
DDT	0.029	0.0087	Organochlorine
Heptachlor	0.021	0.02	Organochlorine
Fenitrthion	2.84	0.0024	Organophosphate
Mavinphos	4.78	0.119	Organophosphate

ที่มา : นภาพร (2559)

2.11 การดูดซับของสารพาราควอทในดิน

การดูดซับเป็นการสะสมสารหรือวัสดุที่พื้นผิวระหว่างของเข็งและของเหลว รวมถึงการเคลื่อนย้ายโมเลกุลของตัวถูกละลายออกจากสารละลายไปอยู่บนผิวของของแข็ง แต่ไม่รวมถึงขบวนการตกตะกอนที่พื้นผิวหรือกระบวนการโพลิเมอร์ไรซ์เซชั่น

การดูดซับเป็นกระบวนการถ่ายเทมวลของตัวถูกดูดซับ จากสถานะที่เป็นของเหลวไปยังสถานะที่เป็นของแข็ง คือตัวดูดซับ ทำให้เกิดการสะสมของตัวถูกดูดซับ กระบวนการดูดซับเกิดขึ้นเนื่องจากแรงผลักดัน หลัก 2 ชนิด คือ ความสามารถในการละลายของตัวถูกดูดซับ และแรงดึงดูดหรือความชอบของตัวถูกดูดซับที่มีต่อวัตถุตัวดูดซับ คือ สารที่มีความสามารถในการดูดซับ แบ่งออกเป็น 5 ประเภท

1. สารอนินทรีย์ เช่น ดินเหนียวชนิดต่างๆ แมกนีเซียมออกไซด์ ซิลิกากัมมันต์ อลูมิเนียม กัมมันต์ ถ่านกระดูก สินแร่จำพวกอะลูมิโนซิลิเกต
2. ถ่านกัมมันต์ มีพื้นผิวจำเพาะประมาณ 50-200 ตารางที่เมตรต่อกิโลกรัม เป็นตัวดูดซับที่มีประสิทธิภาพ และมีการนำไปใช้อย่างกว้างขวางในด้านต่างๆ
3. สารอินทรีย์สังเคราะห์ ได้แก่ สารแลกเปลี่ยนไอออน (เรซิน) ชนิดพิเศษที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อกำจัดสารอินทรีย์ต่างๆ สารเรซินเหล่านี้มีพื้นที่จำเพาะประมาณ 300-500 ตารางที่เมตรต่อกรัม
4. วัสดุชีวภาพ ส่วนใหญ่เป็นวัสดุเหลือใช้จากเกษตร เช่น ขี้เลื่อย ไคโตซาน กากกาแฟ กากชา กากถั่วเหลือง ฟางข้าวเปลือกไม้ เถ้าแกลบดำ เป็นต้น
5. การดูดซับชีวภาพ ได้แก่ เซลล์จุลินทรีย์ เช่น เซลล์ของแบคทีเรีย

อาจกล่าวโดยสรุป การดูดซับเป็นการแยกสิ่งปนเปื้อนหรือสิ่งเจือปน ออกจากของเหลวหรือก๊าซโดยการใช้ของเหลว หรือของเข็งเป็นตัวดูดซับ [24]

กลไกการดูดซับ กลไกการดูดซับมีอยู่ 3 ระยะคือ

ระยะที่ 1 โมเลกุลของสิ่งสกปรกในสารละลายที่เคลื่อนที่ไปเกาะอยู่รอบนอกของการดูดซับ

ระยะที่ 2 โมเลกุลของสิ่งสกปรกที่แพร่กระจายเข้าไปในรูพรุนของสารดูดซับ

ระยะที่ 3 เกิดการดูดติดผิวในรูพรุน ระหว่างสิ่งสกปรกและพื้นผิวของสารดูดซับ

2.11.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับ

2.11.1.1 ขนาดและพื้นที่ผิวของสารดูดซับ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาจะเปลี่ยนไปตามขนาดของพื้นที่ความสามารถในการดูดซับจึงสัมพันธ์กันโดยตรงกับพื้นที่และอัตราการดูดซับซึ่งเป็นอัตราส่วนผกผัน

2.11.1.2 ลักษณะของสารถูกดูดซับ การดูดซับจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อความสามารถในการละลายน้ำของตัวถูกละลายมีค่าลดลง เนื่องจากในกระบวนการดูดซับหรือตัวถูกละลายจึงถูกดึงออกจากตัวทำละลาย

2.11.1.3 ความเป็นกรด – เบส (pH) มีอิทธิพลต่อการแตกของไอออนและการละลายน้ำของสารต่างๆ จึงมีผลต่อการดูดซับด้วย นอกจากนี้ไฮโดรเจนไอออนและไฮดรอกซิลไอออนก็เป็นไอออนสามารถดูดซับได้อย่างดี โดยทั่วไปการดูดซับของสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อ (pH) ลดลง

2.11.1.4 อุณหภูมิ มีอิทธิพลต่ออัตราเร็วและความสามารถในการดูดซับ คือ เมื่ออัตราเร็วเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น และลดลงตามอุณหภูมิที่ลดลง แต่ความสามารถในการดูดซับจะมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูง และจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิต่ำ เพราะการดูดซับเป็นปฏิกิริยาแบบคายความร้อน

2.11.1.5 ความแปรปรวน อัตราการดูดซับและอัตราการแพร่ การเคลื่อนที่ของอนุภาคหนึ่งไปยังอีกอนุภาคหนึ่ง มีความไม่แน่นอน เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา

2.11.1.6 เวลา เวลาในกระบวนการดูดซับเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญมีผลต่อประสิทธิภาพของการดูดซับ และอายุการใช้งานของการดูดซับแบบต่อเนื่อง [24]

2.12 จุลินทรีย์

2.12.1 ความสำคัญของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์มีบทบาทอย่างมากในกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่หรือการแปรสภาพอินทรียวัตถุในดินให้กลายเป็นธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์กับพืช โดยจุลินทรีย์จะมีขั้นตอนของความหลากหลายในกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่ เพราะมีวงจรชีวิตที่สั้น และมีหลายชนิด แต่ละชนิดก็มีปริมาณที่มาก ซึ่งมีหน้าที่และบทบาทต่อกระบวนการต่างๆ ในดินแตกต่างกันไป เพราะฉะนั้นจึงถือได้ว่าจุลินทรีย์ก็คือ ตัวการที่จะทำให้สารอินทรีย์จากซากพืชซากสัตว์ย้อยกลับไปเป็นธาตุอาหารพืชใหม่ได้อีกครั้ง นั่นคือทำให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารพืชในดิน ดังนั้น ดินบริเวณป่าจึงมักมีอินทรียวัตถุอยู่สูงมีการหมุนเวียนในระบบนิเวศอย่างสมดุล แต่ในปัจจุบันการทำการเกษตรมีการใช้ปุ๋ยเคมีกันมาก เพราะความต้องการผลผลิตที่มากขึ้น เมื่อต้องการผลผลิตมากขึ้นก็จำเป็นต้องนำเอาปัจจัยการผลิตอื่นๆ ใส่เข้าไปเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดปัญหาการใช้อย่างไม่สมดุล เป็นการทำลายมากกว่า จะเห็นได้จากกรณีการเปิดป่า หรือการนำพื้นที่มาใช้จะเริ่มต้นด้วยการเผา ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ส่วนหนึ่งตายไป และอินทรีย์วัตถุส่วนหนึ่งหายไป ส่วนที่เคยอยู่ในระบบก็หายออกไปอยู่นอกระบบ เมื่อจุลินทรีย์หลายชนิดตายไปอีกหลายชนิดก็ลดจำนวนลง อัตราการเกิดกระบวนการหมุนเวียนย้อนกลับไปเป็นปัจจัยการผลิตก็ลดน้อยลง [25]

เมื่อทำการเปิดหน้าดินจะทำลายพืชที่ปกคลุมผิวดิน และเกษตรกรเริ่มมีการเผาในพื้นที่ โดยจะมีผลกระทบคืออินทรียวัตถุในดิน ชนิดของจุลินทรีย์และปริมาณของจุลินทรีย์จะหายไป เมื่อปลูก

พืชต่อเนื่องไปได้ 2-3 ปี จะสังเกตเห็นได้ว่าผลผลิตที่ได้เริ่มลดลงและเพาะปลูกไม่ได้ผล ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นเพราะดินไม่ดี โรคแมลงศัตรูพืชมากขึ้นต้องใช้ปัจจัยการผลิตที่สูงมากขึ้น นั่นคือการขาดความสมดุลในพื้นที่ การทำการเกษตรในบางพื้นที่จะทิ้งพื้นที่บริเวณนั้นไว้ 3-5 ปี จนกระทั่งอินทรียวัตถุเพิ่มมากขึ้นพื้นดินจึงฟื้นกลับมามีความสมดุลอีกครั้ง เพราะการปล่อยพื้นที่ไว้จึงทำให้พืชพันธุ์ต่างๆ เจริญเติบโต และการสลายตัวกลายเป็นธาตุอาหารของพืชคืนกลับสู่ดิน และจากสารอินทรีย์ที่รากพืชปลดปล่อยออกมาในบริเวณใกล้ๆ ราก สิ่งเหล่านี้จะชักนำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้นและเกิดความหลากหลายของจุลินทรีย์อีกครั้ง นอกจากนี้ยังชักนำให้มีสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในดิน จึงส่งผลให้ดินในพื้นที่นั้นกลับมาสมบูรณ์อีกครั้ง ฉะนั้นถ้าให้เวลาธรราชาติสัก 3-5 ปี ทุกอย่างจะพื้นคืนสภาพได้เอง แต่ในปัจจุบันเกษตรกรไม่สามารถรอเวลานั้นได้ เนื่องจากพื้นที่มีจำกัดและความต้องการผลผลิตที่รวดเร็วและปริมาณมากขึ้น เพื่อตอบสนองความต้องการทางเศรษฐกิจ ดังนั้นระบบเกษตรแผนปัจจุบันจึงเลือกใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในการแก้ปัญหานี้ ในขณะที่ระบบเกษตรธรรมชาติและเกษตรอินทรีย์จะใช้วิธีการที่ดีกว่าคือ เติมปุ๋ยอินทรีย์ที่ผลิตจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหรือขยะอินทรีย์ต่างๆ ที่สามารถนำมากลับมาใช้ได้ใหม่ และเพิ่มจุลินทรีย์ธรรมชาติเข้าไปด้วย [25]

2.12.2 จุลินทรีย์ในดิน

จุลินทรีย์ดิน เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทและอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืชมากที่สุด แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

2.12.2.1 จุลินทรีย์พวก heterotroph เป็นกลุ่มที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน เป็นพวกที่มีปริมาณมากที่สุด และมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรียวัตถุในดิน

2.12.2.2 จุลินทรีย์พวกautotroph เป็นกลุ่มที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO2) เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนเพื่อสังเคราะห์สารอินทรีย์มาสร้างเป็นองค์ประกอบของเซลล์ มีบทบาทในการเพิ่มอินทรียวัตถุให้กับดิน

2.12.3 บทบาทและความสำคัญของจุลินทรีย์ดิน

2.12.3.1 การย่อยสลายอินทรียวัตถุ การย่อยสลายอินทรียวัตถุทำให้แร่ธาตุองค์ประกอบของสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายปลดปล่อยกลับออกมาอยู่ในรูปสารประกอบอนินทรีย์ให้พืชหรือจุลินทรีย์นำไปใช้ได้และทาให้เกิดการแปรสภาพสารอินทรีย์บางส่วนไปเป็นสารฮิวมิก

2.12.3.2 การแปรสภาพสารอนินทรีย์การแปรสภาพสารอนินทรีย์ ประกอบด้วย

1) Immobilizationเป็นกระบวนการที่จุลินทรีย์ใช้สารอนินทรีย์เป็นอาหาร เช่น NH_4^+, NO_3^-, $H_2PO_4^-$, SO_42^-, K^+และ Ca_2^+ฯลฯ

2) Oxidationเป็นกระบวนการที่จุลินทรีย์ออกซิไดส์สารประกอบ อนินทรีย์เพื่อให้ได้พลังงานไปใช้ในการดารงชีวิต เช่น NH_4^+ ไปเป็น NO_3^-หรือ S ไปเป็น SO_4^{2-}

3) Reduction เกิดจากการที่จุลินทรีย์ใช้สารอนินทรีย์ไปเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการสร้างพลังงาน เช่น NO_3^-ถูกรีดิวซ์ไปเป็น N_2

2.12.2.3 การตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation)

การตรึงไนโตรเจน โดยจุลินทรีย์เป็นกระบวนการหลักที่ช่วยเพิ่มไนโตรเจนที่พืชสามารถใช้ได้ลงสู่ดิน ชดเชยไนโตรเจนที่เสียไปในรูปต่างๆ เกิดโดย แบคทีเรีย แอกทิโน

ไมซีท และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ขึ้นอยู่กับปริมาณแหล่งของพลังงานและความสามารถในการป้องกันไม่ให้เอนไซม์ Nitrogenes ถูกทำลายโดย O_2

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารสาหรับการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิตของพืชผลการเกษตร แต่มีปริมาณค่อนข้างจำกัดในดินการให้ปุ๋ยเคมี ไนโตรเจนแก่พืชมักให้ผลการนำไปใช้ค่อนข้างต่ำและสร้างมลพิษให้กับสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบของอากาศมีปริมารมากกว่าแก๊สอื่นๆ (ร้อยละ79) และพืชนำมาใช้ได้ยากเนื่องจากต้องอาศัยพลังงานสูงในการเปลี่ยนแปลงพันธะสาม (triple bond) ระหว่างไนโตรเจน สองอะตอมแต่มีจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเอนไซม์ไนโตรจิเนส (nitrogenase) เร่งปฏิกิริยาการตรึงแก๊สไนโตรเจนในอากาศและเปลี่ยนโมเลกุลแก๊สไนโตรเจน (N_2) เป็นแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งจะเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์และรวมกับโมเลกุลอื่นในเซลล์ได้เป็นกรดอะมโนและเกิดปฏิกิริยาเชื่อมต่อด้วยพันธะเปปไทด์ระหว่างโมเลกุลของกรดอะมิโนได้เป็นโมเลกุลโปรตีนสะสมอยู่ภายในเซลล์จุลินทรีย์เมื่อจุลินทรีย์ตายและเกิดการย่อยสลายไนโตเจนที่เป็นส่วนประกอบของเซลล์ทำให้จุลินทรีย์ กลุ่มอื่นในดินเปลี่ยนแปลง ไนโตรเจน ให้อยู่ในรูป ที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น ไนเทรต (NO_3^-) ไนไทรต (NO_2^-) จุลินทรีย์ที่สามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนได้เป็นพวกโพรแคโอตทั้งหมดเรียกพวกนี้ว่า ไดอะโซโทรฟ (diazotrophs) พบในธรรมชาติแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มดำรงชีวิตแบบซิมไบโอซิส (symbiotic microorganism) กลุ่มดำรงชีวิตแบบอิสระ (free living) และกลุ่มดำรงชีวิตเชื่อมโยงกับซิมไบโอซิส (associative symbiosis) [26] จุลินทรีย์ตรึงแก๊สไนโตรเจนในธรรมชาติมีหลากหลายชนิดโดยสามารถเติมธาตุไนโตรเจนให้กับดิน [27]

2.12.2.4 ไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza)

ไมคอร์ไรซา เป็นรูปแบบของการอยู่ร่วมกันแบบ Symbiosis ของเชื้อรากับรากพืช โดยเชื้อราจะแทรกเส้นใยบางส่วนเข้าไปอาศัยอยู่ในรากของพืช และได้รับสารอาหารจากต้นพืช ขณะเดียวกันก็มีเส้นใยอีกส่วนหนึ่งแตกแขนงเจริญเติบโตอยู่ในดิน ทาหน้าที่เปรียบเสมือนระบบรากย่อยที่แยกแขนงไปจากรากพืช สนับสนุนการหาน้ำและอาหารของพืช

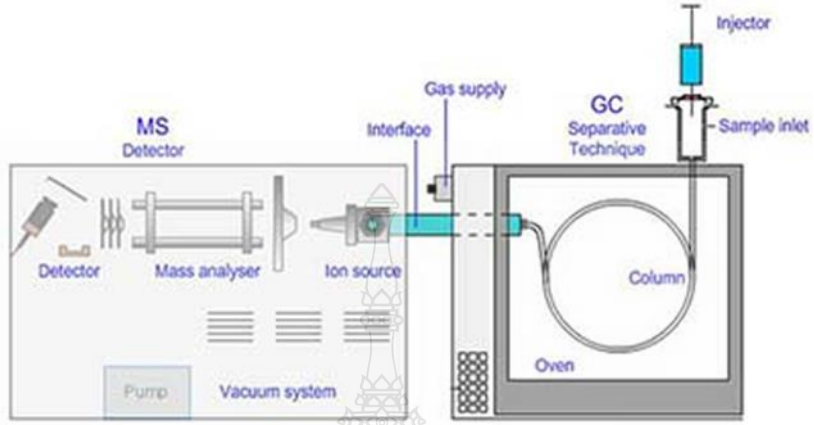
2.12.2.5 การย่อยสลายสารเคมี

จุลินทรีย์ดิน ต้องแข่งขันแก่งแย่งทรัพยากรที่มีอยู่จากัดในดิน ทำให้มีการปรับตัวในการใช้สารประกอบต่างๆ ในดินเป็นอาหารได้ดี จุลินทรีย์ดินจึงเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายหรือแปรสภาพสารเคมีชนิดต่างๆ และมีบทบาทในการช่วยทำลายความเป็นพิษของสารเคมีในพื้นที่ดิน

2.13 เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี (Gas Chromatography)

แก๊สโครมาโทรากราฟีเป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับแยกตัวอย่างที่เป็นสารผสมที่ระเหยได้โดยเปลี่ยนสารผสมให้เป็นไอที่อุณหภูมิหนึ่งไอที่เกิดขึ้นนั้นจะถูกนำเข้าสู่คอลัมน์อาศัยการนำของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือ Carrier gas ตาม flow rate ที่ต้องการภายในคอลัมน์บรรจุด้วยสารที่ทำหน้าที่ในการแยกเรียกว่าเฟสคงที่ (stationary phase) สารผสมจะถูกแยกออกเป็นส่วน ๆ ที่คอลัมน์นี้ด้วยความแตกต่างของสมบัติทางเคมีน้ำหนักโมเลกุลจุดเดือดสารที่สามารถแยกได้จะผ่านออกไปสู่ส่วนตรวจวัด (detector) ทำให้เกิดสัญญาณไฟฟ้าที่จะส่งผ่านไปยังระบบประมวลผล (data System) ซึ่งสามารถทำการคำนวณและรายงานผลออกมาเป็นโครมาโทรแกรมเป็นข้อมูล ทำให้ทราบถึง

องค์ประกอบหรือเทียบปริมาณของสารตัวอย่างอีกทั้งยังสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ [27]



ภาพที่ 2 โครงสร้างของแก๊สโครมาโทรกราฟี (Gas Chromatography)
ที่มา : Gambar (2017)

2.13.1 หลักการและส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี

2.13.1.1 Carrier gases มีหน้าที่นำแก๊สตัวอย่างจากจุดฉีด (injection port) ผ่านเข้าสู่คอลัมน์และไปยัง detector แก๊สที่ใช้งานกับเครื่อง GC เป็นแก๊สเฉื่อยที่ไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารตัวอย่างเช่นแก๊สฮีเลียมไฮโดรเจนหรือไนโตรเจน

2.13.1.2 Injector port เป็นส่วนที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไปมักจะมีตัวให้ความร้อน (heater) ติดตั้งอยู่ด้วยเพื่อทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอการเลือกใช้งานว่าจะใช้ inlet แบบใดนั้นนั้นขึ้นอยู่กับสารตัวอย่าง

2.13.1.3 Column เป็นส่วนที่ใช้แยกสารตัวอย่างคอลัมน์ที่ใช้กันทั่วไปในนั้นมีอยู่ 2 ประเภทคือ packed column และ capillary Column การเลือกใช้คอลัมน์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารผสม

2.13.1.4 Detector หรือส่วนตรวจวัดเป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารเชิงเดี่ยวที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์แล้วส่งสัญญาณไฟฟ้าไปยังระบบประมวลผล

2.13.1.5 Data system หรือระบบประมวลผลเป็นส่วนที่ประมวลผลและข้อมูลต่างๆด้วยระบบคอมพิวเตอร์ซึ่งคำนวณและรายงานผลเป็น retention time คือเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสูงสุดของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรม retention time สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อระบุว่าเป็นสารชนิดใดเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานนอกจากนี้ลักษณะและขนาดของพีคที่ได้จากโครมาโทรแกรมใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้อีกด้วย [28]

2.14 การสกัด DNA และวิเคราะห์ Electrophoresis

2.14.1 สกัดดีเอ็นเอ

ข้อกำหนดเบื้องต้นคือดีเอ็นเอตัวอย่างไม่มีสารเคมีอื่น ๆ เจือปนใช้ RNAase เพื่อย่อยสลายอาร์เอ็นเอในขั้นตอนสุดท้ายของสารละลายดีเอ็นเอในน้ำ (aqueous solution) กำจัดโปรตีนออกโดยใช้ตัวทำละลายที่ทำให้แปลงสภาพปกติคือฟีนอล (phenol) ทำขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ซ้ำหลาย ๆ ครั้งสารละลายที่ได้รับจะมีแต่จะดีเอ็นเอและปราศจากองค์ประกอบอื่น ๆ ข้อสังเกตสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ไม่ใช่โมเลกุลดีเอ็นเอเดิมที่มีความยาวเท่ากับที่พบในเซลล์แต่จะพบเป็นชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีความยาวต่าง ๆ กันเนื่องมาจากกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ถ้าจับถือดีเอ็นเออย่างระมัดระวังในกระบวนการทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์จะได้ดีเอ็นเอที่มีความยาว 1/100 เท่าของความยาวของโครโมโซมทั้งหมด [29]

2.14.2 Electrophoresis

อิเล็กโตรโฟริสิสเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวางวิธีหนึ่งในการศึกษากรดนิวคลีอิกคือเจลอิเล็กโตรโฟริสิส การนำเอาวิธีการอิเล็กโตรโฟริสสเข้ามาใช้ในการปฏิรูปงานวิจัยทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลอิเล็กโตรโฟรีสิสเป็นกระบวนการซึ่งยอมให้โมเลกุลที่มีประจุเคลื่อนที่ไปในสนามไฟฟ้าขนาดของโมเลกุล และความมีประจุเป็นตัวตัดสินอัตราการเคลื่อนที่ในเจลอิเล็กโตรโฟรีสิสกรดนิวคลีอิกแขวนลอยอยู่ในเจลซึ่งทำจากพอลิเอคริลาไมด์หรือเอกาโรสเจลเป็นเส้นใยเชิงซ้อนที่สานกันเป็นตาข่ายและสามารถควบคุมขนาดของรูของเจลโดยวิธีการเตรียมเจลโมเลกุลของกรดนิวคลีอิกเคลื่อนที่ผ่านรูของเจลด้วยอัตราที่ขึ้นอยู่กับน้ำหนัก และรูปร่างของโมเลกุลโมเลกุลเล็ก ๆ หรือโมเลกุลที่อัดกันแน่นเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่หรือโมเลกุลหลวมๆ หลังจากปล่อยให้เคลื่อนที่ไปได้ในระยะเวลาหนึ่งปกติ 2-3 ชั่วโมง สามารถตรวจดูตำแหน่งของดีเอ็นเอโดยการทำให้โมเลกุลของดีเอ็นเอเรืองแสงฟลูโอเรสเซนต์และสังเกตเจลด้วยรังสีอัตราไวโอเลต หลังจากอิเล็กโฟรีสิสนำเจลมาย้อมสีด้วยเอทิเดียมโบรไมด์และสังเกตโดยใช้รังสีอัตราไวโอเลตในแต่ละเลนแสดงดีเอ็นเอหลายชิ้นส่วนสแกนเนอร์ของคอมถูกใช้เพื่อกำหนดตำแหน่งแถบหรือแบนด์ดีเอ็นเอการแยกดีเอ็นเอด้วยวิธีง่าย ๆ นี้เป็นวิธีที่มีประโยชน์อย่างยิ่งแต่โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่มีจำนวนคู่เบสมากกว่า 40, 000 คู่เบสไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ได้มีการพัฒนาเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีสิสแบบใหม่ที่ยอมให้มีการแยกชิ้นส่วนขนาดใหญ่วิธีหนึ่งที่ใช้คือพลัสฟิวเจลอิเล็กโตรโฟรีสิสหรือ Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE) เป็นการส่งกระแสไฟฟ้ากระตุ้นสั้น ๆ เพื่อให้ไปทางแนวอิเล็กโตรดโดยรอบ Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE) และเทคนิคที่เกี่ยวข้องเป็นเทคนิคที่มีคุณค่าในการวิเคราะห์โมเลกุลดีเอ็นเอขนาดที่พบในโครโมโซมต่าง ๆ ของเซลล์ยูคาริโอต [30]

2.15 เทคนิค Polymerase Chain Reaction และ Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

2.15.1 เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

เทคนิค PCR เป็นเทคนิคที่เลียนแบบการสังเคราะห์ DNA ในธรรมชาติเป็นวิธีการเพิ่มปริมาณของ DNA ช่วงใดช่วงหนึ่งซึ่งอยู่ระหว่างส่วนของ DNA ที่ทราบลำดับเบสแล้วเราเรียก DNA

ส่วนที่ยังไม่ทราบลำดับเบสว่า primer เรียก DNA ที่เป็นต้นแบบเพื่อเพิ่มปริมาณว่า template DNA หลักการของ PCR ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังนี้

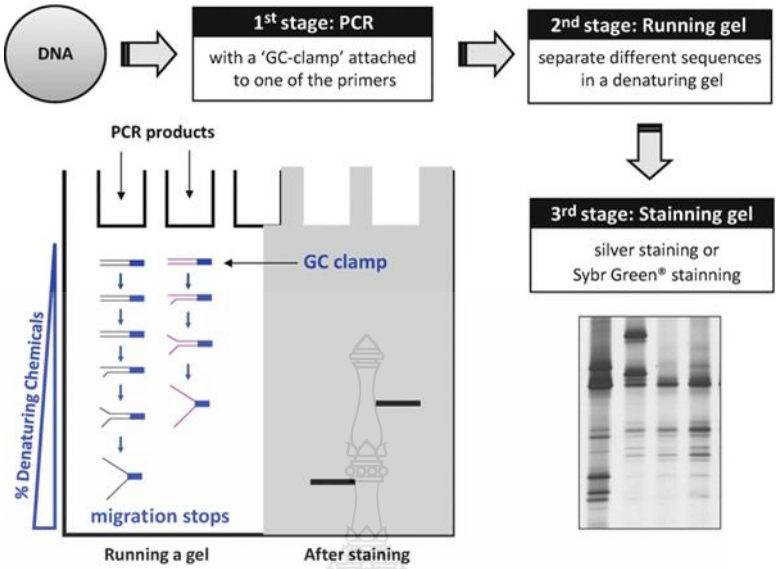
2.15.1.1 Denaturing เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในหลอดทดลองสูงประมาณ 91-96 องศาเซลเซียสtemplate DNA สองสายที่พันกันเป็นเกลียวคู่ (double helix) จะแยกออกจากกันกลายเป็น DNA สายเดี่ยว DNA สายเดี่ยวนี้จะเป็นต้นแบบของการสังเคราะห์ DNA สายใหม่

2.15.1.2 Primer annealing เมื่อลดอุณหภูมิในหลอดทดลองให้ต่ำลงเหลือ 50-56 องศาเซลเซียส primer จะจับกับ DNA สายเดี่ยว เรียกปฏิกิริยานี้ว่า primer Annealing Primer จะจับกัน DNA สายเดี่ยวด้วยเบสที่เป็นคู่สมกัน (complementary) คือ adenine (A) จับกับ thymine (T) และ guanine (G) จับกับ cytosine (C)

2.15.1.3 Primer extension เป็นขั้นตอนของการสังเคราะห์ DNA สายใหม่โดยมี DNA สายเดียวเป็นต้นแบบสร้างต่อออกไปจาก primer โดยมีสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมมีเอนไซม์ Tag DNA polymerase ที่ทนความร้อนช่วยในการสร้าง DNA สายใหม่และมีวัตถุดิบสำหรับการสร้าง DNA สายใหม่ คือ deoxynucleotide triphosphate (dNTP) ซึ่งประกอบด้วย dATP, dTTP, dGTP และ dCTP อย่างละเท่า ๆ กันอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยา primer extension คือ 70-75 องศาเซลเซียส primer จะถูกสร้างต่อไปในทิศทาง 5 ' ไป 3' และลำดับเบสของ DNA สายใหม่ที่สร้างขึ้นจะเป็นคู่สมกันกับเบสของ DNA สายเดียวที่เป็นต้นแบบ (A=T, G=C) DNA สายใหม่จึงมีลักษณะ antiparallel กับ DNA ต้นแบบ [31]

2.15.2 Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

เทคนิค DGGE ได้เข้ามามีบทบาทในการวิเคราะห์ในเชิงเปรียบเทียบของโครงสร้างและรูปแบบของความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียต่างๆนอกจากนี้ส่วนของตัวสาย DNA ที่ถูกแยกมาจากการใช้เทคนิค DGGE คือสายของ 16S rRNA Gene ของแบคทีเรียแต่ละชนิด สามารถนำไปวิเคราะห์หาลำดับเบส และนำไปเปรียบเทียบกับสายของ 16S rRNA Gene ของแบคทีเรียที่ทราบชนิดแล้วในฐานข้อมูล เพื่อตรวจสอบว่าคือชนิดใดโดยชิ้นดีเอ็นเอที่มีความยาวเท่ากันสามารถแยกออกจากกันได้โดยอาศัยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน หรือให้โมเลกุลของดีเอ็นเอเคลื่อนที่ผ่านไปในเจลที่ความเข้มข้นต่างกันส่วนของดีเอ็นเอจะคลายเกลียวที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน [32]



ภาพที่ 3 หลักการทำงานของเทคนิค DGGE
ที่มา : Phadke *et al.* (2017)

2.16 ชีวสารสนเทศ (Bioinformatics)

ชีวสารสนเทศเป็นเครื่องมือสำคัญในการศึกษาอณูชีววิทยาและเป็นศาสตร์ที่ผนวกกับความรู้หลายด้านทั้งทางชีววิทยาเคมีคณิตศาสตร์และคอมพิวเตอร์ชีววิทยาซึ่งมีความเกี่ยวเนื่องกันอย่างไม่สามารถแยกจากกันได้ ปัจจุบันโปรแกรมทางชีวสารสนเทศจำนวนมากเกิดขึ้นเพื่อรองรับความต้องการการใช้งานหรือการนำมาประยุกต์ต่าง ๆ เนื่องจากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทางชีววิทยาทั่วโลกที่มีเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากขึ้นในแต่ละวัน เช่น ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างของยีนลำดับการแสดงออกของยีนรวมทั้งโครงสร้าง และหน้าที่ของโปรตีนมีการสะสมข้อมูลของจีโนมทำให้มีข้อมูลเป็นจำนวนมากเก็บไว้ในฐานข้อมูลทั้งสาธารณะและข้อมูลส่วนบุคคล และนอกจากนี้ข้อมูลทางชีวสารสนเทศยังเป็นเครื่องมือที่สำคัญสำหรับการนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ระบบฮาร์ดแวร์ (hardware) และซอฟต์แวร์ (Software) ในการจัดเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านชีววิทยาโดยเฉพาะข้อมูลลำดับดีเอ็นเอ (Chompunuch Virunanon & Warawut Chulalaksananuku, 2010) ฐานข้อมูลที่นิยมใช้คือ Genbank ซึ่งเป็นฐานข้อมูลสาธารณะที่ใหญ่ที่สุดภายใต้การดูแลของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) ในวอชิงตันดี. ซี. จัดเก็บข้อมูลลำดับเบสมากกว่าพันล้านคู่เบสจากสิ่งมีชีวิตมากกว่า 100, 000 สปีชีส์นอกจาก NCBI จะเป็นแหล่งของข้อมูลแล้วยังออกแบบให้ผู้ใช้เข้าไปในฐานข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลหาลำดับนิวคลีโอไทด์หาลำดับโปรตีนโครงสร้างโมเลกุลข้อมูลจีโนมและเอกสารอ้างอิงประกอบทางวิทยาศาสตร์อีกด้วย [33]

2.16.1 การค้นหาฐานข้อมูลดีเอ็นเอ

ตัวอย่างโปรแกรมที่ใช้ใน NCBI เรียกว่า Basic local Alignment Search Tool (BLAST) ที่ใช้สำหรับการหาลำดับยีนที่ความคล้ายคลึงกับยีนที่โคลน ตัวอย่างเช่น โปรแกรม Blastn ใช้สำหรับค้นหาข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล โดยใช้ข้อมูลของนิวคลีโอไทด์ที่ต้องการมาทำการเปรียบเทียบลงไปเมื่อเข้าเว็บไซต์ Blastn ในช่องสำหรับเติมเพื่อค้นหาให้ใส่ลำดับที่ต้องการหา โดย

เป็นลำดับของดีเอ็นเอเมื่อต้องการทราบว่าลำดับของดีเอ็นเอตรงกับยีนใดในฐานข้อมูลกดปุ่ม Blast จะทราบผลภายในเวลาไม่กี่นาที ทำการเลือก Format เพื่อดูผลการค้นหาหรือเลือกปุ่ม FASTA เพื่อดูลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต้องการ [33] ดังแสดงในภาพที่ 4

ภาพที่ 4 โปรแกรม Blast ใน NCBI
ที่มา : https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE

2.17 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Viriyawattana and Surachat (2014) ทำการแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพาราควอทจากดินแปลงมันสำปะหลัง ในเขตจังหวัดนครราชสีมา จำนวน 283 ตัวอย่าง พบว่า มี 6 สายพันธุ์ ที่ทนต่อพาราควอทที่ความเข้มข้น 1 mM ซึ่งพบว่า เป็น *Clostridium* spp. 4 สายพันธุ์ และ *Aeromonas* spp. อีก 2 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการลดปริมาณของพาราควอท พบว่า เฉพาะ *Aeromonas* sp. 2 สายพันธุ์ คือ NK66 และ NK67 ที่สามารถลดพาราควอทลงได้ถึง 4.9 ppm (24.36%) และ 10.68 ppm (53.4%) ตามลำดับ การศึกษาลำดับยีน พบว่า *Aeromonas* sp. NK67 มีความใกล้เคียงกับ *A. veronii* strain ATCC 35624 ถึง 99 เปอร์เซ็นต์

Hata *et al.* (1986) ศึกษาการย่อยสลายของพาราควอทกับไดควอท ด้วยยีสต์ *Lipomyces starkeyi* โดยใช้สารเคมีทั้งสองชนิดเป็นแหล่งไนโตรเจนแหล่งเดียวในอาหารสังเคราะห์ พบว่า ยีสต์สามารถใช้พาราควอทในการเจริญได้มากกว่าไดควอท โดยทั้งพาราควอทกับไดควอทถูกนำไปใช้อย่างรวดเร็วในช่วง logarithmic phase การศึกษาปริมาณโปรตีนที่ยีสต์สร้าง โดย sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis พบว่า เซลล์ที่เจริญอยู่ในช่วง logarithmic phase มีปริมาณโปรตีนที่มากกว่าในช่วง stationary phase โดยพบว่า ขนาดของแบนโปรตีน 24KD และ 37KD ในเซลล์ที่เลี้ยงด้วยพาราควอทกับไดควอท มีความหนามากกว่าเซลล์ที่เลี้ยงด้วย NH_4Cl ซึ่งอาจเป็นแบนของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายพาราควอทและไดควอท

มัลลิกา และคณะ (2560) ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายพาราควอทโดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยสลายสารพาราควอทที่คัดแยกจากดินบริเวณรอบ ๆ รากต้นมันสำปะหลัง เพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยสลายพาราควอทภายใต้สภาวะต่าง ๆ คือ สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง (15 20 25 30 35 40 และ 45 °C) และความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ (5 6 7 8 และ 9) ตามลำดับ โดยจุลินทรีย์ถูกเพาะเลี้ยงใน อาหารเหลว LB ที่เติม

พาราควอท 10 มก./ล. เพื่อทำให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมที่มีพาราควอทก่อนถูกนำไปเป็นหัวเชื้อในการทดลองต่อไป จากนั้นศึกษาการย่อยสลายพาราควอทในอาหารเลี้ยงเชื้อ paraquat mineral salts medium (PMS) ที่มีสูตรอาหารแตกต่างกัน คือ ใช้พาราควอทเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน (PMS1) ใช้พาราควอท เป็นแหล่งคาร์บอน (PMS2) และใช้พาราควอทเป็นแหล่งไนโตรเจน (PMS3) พบว่าเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายพาราควอท โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร PMS3 (91%) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับการย่อยสลาย พาราควอทโดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงใน PMS1 และ PMS2 เมื่อศึกษาอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการย่อยสลายพาราควอท พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงใน PMS3 สามารถย่อยสลายพาราควอทได้ดีที่อุณหภูมิ 30 °C และความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7 โดยสามารถย่อยสลายพาราควอทได้มากกว่า 90% ภายในระยะเวลา 28 วัน จากนั้นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายพาราควอทถูกคัดแยกด้วยวิธี serial dilution spread plate technique บนอาหารแข็ง PMS3 โดยสามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้ 3 สายพันธุ์ คือ JP1 JP2 และ JP3 จากนั้นนำไปศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า JP1 และ JP3 มีลักษณะเป็นแท่ง และย้อมติดสีซาฟรานินบ่งชี้ว่าเป็นแกรมลบ ในขณะที่ JP2 มีลักษณะกลม และย้อมติดสีคริสตัลไวโอเลตบ่งชี้ว่าเป็นแกรมบวก

รัศมี และคณะ (2558) ทำการเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน ดิน ผักบุ้งและผักกระเฉด ในพื้นที่วิทยาลัยชัยบาดาลพิพัฒน์และตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชทั้งหมด 59 ชนิด โดยเกษตรกรที่มีพื้นที่เพาะปลูกอยู่บริเวณรอบพื้นที่วิทยาลัยชัยบาดาลพิพัฒน์ ส่วนใหญ่ปลูกอ้อย มันสำปะหลัง ข้าว และข้าวโพด ศัตรูพืชส่วนใหญ่เป็นวัชพืช ดังนั้นเกษตรกร จึงใช้สารกำจัดวัชพืชที่เหมือนกัน ได้แก่ ametryn paraquat และ atrazine วิธีการใช้ส่วนใหญ่ใช้ตามอัตราส่วนบนฉลาก และฉีดพ่น 2-3 ครั้งต่อปี ซึ่งงานวิจัยนี้ตรวจพบการปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืชในน้ำกรองที่สูบมาจากบ่อน้ำบาดาลในฤดูฝน ดังนี้ ametryn 0.01 μg/l และ atrazine 0.27 μg/l และฤดูหนาวตรวจพบสาร atrazine 0.26 μg/l จึงแสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของสารกำจัดวัชพืชทั้งสองชนิดลงสู่น้ำใต้ดิน

สุภาพร และคณะ (2556) ศึกษาการตกค้างของสารเคมีฆ่าแมลงในผักพื้นบ้านอีสานและอาหารท้องถิ่น จากจังหวัดอีสานตอนล่าง ได้แก่ อุบลราชธานี อำนาจเจริญ ยโสธร และศรีสะเกษ จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ใบย่านาง ผักขะแยง จิ้งหรีด ตั๊กแตน ปูนา ปลา และตัวอ่อนของแมลงปอ ชนิดละ 100 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 700 ตัวอย่าง นำตัวอย่างมาตรวจสอบสารฆ่าแมลงตกค้าง (GT testkit®) กลุ่ม Organophosphate และ Carbamate ผลการวิจัย พบว่า การตกค้างของสารฆ่าแมลงในกลุ่ม Organophosphate และ Carbamate ในพื้นที่ 4 จังหวัดมีค่อนข้างสูง โดยจิ้งหรีดพบสารตกค้างมากที่สุดถึงร้อยละ 90 ของตัวอย่าง รองลงมาคือ ตั๊กแตน (ร้อยละ 89) นอกจากนี้พบการตกค้างในผักพื้นบ้านอีสานค่อนข้างสูง คือ ผักขะแยง และย่านาง (ร้อยละ 71 และ 86 ตามลำดับ

จารุพงศ์ และคณะ (2557) ทำการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักและผลไม้ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 11 จังหวัด ระหว่างปี 2554 ถึง 2556 โดยวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืช 4 กลุ่ม (ออร์กาโนฟอสเฟต, ออร์กาโนคลอรีน, คาร์บาเมท และไพรีทรอยด์) ในผักและผลไม้จำนวน 36 ชนิด จากแปลงที่ขอรับรอง GAP พบว่าชนิดสารพิษที่พบมากที่สุด คือ คลอไพริฟอส รองลงมา คือ ไซเปอร์เมทริน, เมโทมิล และ คาร์บาริล ตามลำดับ โดยใน ปี 2554 จากตัวอย่างจำนวน 905 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง 173 ตัวอย่าง (19.1%) และพบปริมาณเกินค่า MRL 13 ตัวอย่าง (1.4%) พืชที่

พบสารพิษเกินค่า MRL คือ กะหล่ำปลี ขึ้นฉ่าย ถั่วฝักยาว ผักกาดขาวปลี ผักชี พริก มะเขือ มะม่วง ลำไย และหอมแบ่ง สำหรับในปี 2555 จากตัวอย่างจำนวน 1,027 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง 272 ตัวอย่าง (26.5%) และพบปริมาณเกินค่า MRL 18 ตัวอย่าง (1.8%) พืชที่พบสารพิษเกินค่า MRL คือ กะหล่ำปลีดอก ขึ้นฉ่าย แตงกวา พริก มะม่วง ลิ้นจี่ และหอมแบ่ง และในปี 2556 จากตัวอย่างจำนวน 1,103 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง 332 ตัวอย่าง (30.1%) และพบปริมาณเกินค่า MRL 24 ตัวอย่าง (2.2 %) พืชที่พบสารพิษเกินค่า MRL คือ กะหล่ำดอก ขึ้นฉ่าย คะน้า ผักชี ผักแพว พริก มะนาว มะม่วง มันแกว เห็ด และหอมแบ่ง

Patil and Solanki (2016) ได้รวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้จุลินทรีย์เป็นหัวเชื้อสำหรับปุ๋ยหรือใช้กำจัดแมลง โดยได้รวบรวมรายชื่อของจุลินทรีย์ ที่มีคุณสมบัติในการป้องกันโรคในพืช และสามารถย่อยสลายสารเคมีต่างๆ ไว้มากกว่า 70 สายพันธุ์ การใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมีในการทำการเกษตร เพื่อเพิ่มผลผลิต นอกจากจะทำให้เกิดผลเสียต่อคน สัตว์ สิ่งแวดล้อมแล้ว ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของโรคและแมลง การนำเอาจุลินทรีย์มาใช้เป็นปุ๋ย (biofertilizer) หรือใช้กำจัดแมลง (biopesticide) จะมีข้อดีในการช่วยรักษาสิ่งแวดล้อม ปลอดภัยต่อมนุษย์ และเป็นส่วนที่สำคัญในการทำการเกษตรสมัยใหม่

Siriwong *et al*. (2008) ศึกษาปริมาณสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่ตกค้างในแพลงตอนบริเวณคลองรังสิต (คลอง 7) ปทุมธานี ประเทศไทย พบว่า มีปริมาณสารกลุ่มออร์กาโนคลอรีนตกค้างในรอบ 1 ปี อยู่ในช่วง 0.10–3.65 ng/g น้ำหนักเปียก และสารที่ตกค้างได้แก่ DDT และอนุพันธุ์ > **Σ** endosulfan > **Σ** HCH > **Σ** heptachlor > aldrin และ dieldrin > endrin และ endrin aldehyde > methoxychlor ตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบว่า ปริมาณของ **Σ** HCH, DDT และอนุพันธุ์, และ methoxychlor ในช่วงหน้าฝน จะมีปริมาณสูงกว่าช่วงหน้าแล้ง

Thabit and Naggar (2013) ศึกษาการย่อยสลายของ malathion ในดิน โดยใช้แบคทีเรียที่แยกได้ 5 ชนิด ได้แก่ *Bacillus amyloliquefaciens, Staphylococcus sciuri, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus pseudomycoides* และ *Bacillus licheniformis* พบว่า *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus pseudomycoides* และ *Bacillus licheniformis* สามารถเร่งการย่อยสลายของ malathion ในดินได้เร็วมากขึ้นกว่าดินกลุ่มควบคุม

บทที่ 3
วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือ

3.1.1.1 เครื่อง PCR Thermal Cycler

3.1.1.2 เครื่องคอมพิวเตอร์ (Computer)

3.1.1.3 เครื่องชั่งสาร (Balance) จุดทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง

3.1.1.4 เครื่องถ่ายและวิเคราะห์ภาพเจล (Gel Documentation)

3.1.1.5 เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Clinical Centrifuge)

3.1.1.6 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH Meter)

3.1.1.7 ตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า (Shaking incubator)

3.1.1.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Biological Safety Cabinet)

3.1.1.9 ตู้อบลมร้อน (Hot air Over)

3.1.1.10 เตาอบไมโครเวฟ (Microwave)

3.1.1.11 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.1.1.12 เครื่อง Denaturing. Gradient Gel Electrophoresis

3.1.1.13 ตู้ดูดอากาศ (Hood)

3.1.1.14 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.1.1.15 เครื่องสกัดดิน (Solid Phase Extraction)

3.1.1.16 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3.1.1.17 เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex mixer) ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E

3.1.1.18 ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า (Shaking incubator) ยี่ห้อ Innova40 บริษัท Scientific

3.1.1.19 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave)

3.1.1.20 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น DR6000

3.1.1.21 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar flow)

3.1.1.22 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) รุ่น NB-1100 บริษัท NBIOTEA

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

3.1.2.2 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.2.3 ไมโครปิเปต (Micro pipette) 2.5 10 20 200 และ1000 ไมโครลิตร

3.1.2.4 หลอดทดลอง (Tube)

3.1.2.5 หลอดทดลองขนาดเล็ก (Microtube)

3.1.2.6 หลอดพีซีอาร์ (PCR tube)

3.1.2.7 หลอดหยดสาร (Dropper)

3.1.2.8 กระบอกตวง (Cylinder) 50 100 และ1000 มิลลิลิตร

3.1.2.9 กล่องโฟมใส่น้ำแข็ง

3.1.2.10 ขวดดูแรน (Laboratory bottle) 250 500 มิลลิลิตร

3.1.2.11 ขวดรูปชมพู (Erlenmeyer flask) 500 มิลลิลิตร

3.1.2.12 เครื่องเขย่า (Vortex Mixer)

3.1.2.13 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.1.2.14 ชุดรันเจล (Gel Electrophoresis chamber)

3.1.2.15 ชุดสกัดดีเอ็นเอ (QIAamp DNA Stools Mini Kit (50), Qiagen)

3.1.2.16 เตาให้ความร้อน (Hot plate)

3.1.2.17 ทิป (Tip)

3.1.2.18 ฟรอยด์

3.1.2.19 หนังยาง

3.1.2.20 ถุงพลาสติก

3.1.2.21 เครื่อง Spin-down

3.1.2.22 ปั๊มสุญญากาศ (Pump)

3.1.2.23 จอบเสียม

3.1.2.24 สายยาง

3.1.2.25 ถุงมือยางไซต์ S และ L

3.1.2.26 ดินตัวอย่าง 14 แหล่ง

3.1.2.27 ขวดสีชาขนาดเล็ก (Vial)

3.1.2.28 Cellulose filter 0.45 มิลลิเมตร

3.1.2.29 PVDF membrane 0.45 ไมโครเมตร

3.1.2.30 จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)

3.1.2.31 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) 125 มิลลิลิตร

3.1.2.32 ขวดใส่สารฝาเกลียว (Laboratory Bottle)

3.1.2.33 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.2.34 ทิปผ่านการฆ่าเชื้อ (Autoclaved tip)

3.1.2.35 แท่งแก้วสามเหลี่ยม (Spreader)

3.1.2.36 หลอดไมโครเซนติฟิว (Microcentrifuge)

3.1.2.37ขวดเก็บสาร (Duran bottle) ขนาด 100 มิลลิลิตร

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 6X Loading Dye Solution

3.1.3.2 Acetone alcohol

3.1.3.3 Agarose Power

3.1.3.4 Methanol HPLC Grade

3.1.3.5 Chloroform

3.1.3.6 DNA Template

3.1.3.7 Ethidium Bromide

3.1.3.8 SYBR Gold

3.1.3.9 Primer 338F-GC

3.1.3.10 Primer 518R

3.1.3.11 Sterile distilled water

3.1.3.12 1X, 10X, และ50X TAE Buffer

3.1.3.13 Formamide

3.1.3.14 40% Polyacrylamide

3.1.3.15 Temed

3.1.3.16 Ammonium per sulfate

3.1.3.17 Urea

3.1.3.18 Green PCR Master Mix

3.1.3.19 2X DNA Marker 50 UG/mL

3.1.3.20 Nutrient Broth

3.1.3.21 Nutrient agar (NA)

3.1.3.22 Nutrient broths (NB)

3.1.3.23 Minimal medium (MM)

3.1.3.24 Distilled water (DI)

3.1.3.25 Sodium chloride (NaCl)

3.1.3.26 Agar

3.1.3.27 Calcium chloride ($CaCl_2$)

3.1.3.28 Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)

3.1.3.29 Iron(II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4$)

3.1.3.30 Magnesium Sulfate heptahydrate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)

3.1.3.31 Monopotassium phosphate (KH_2PO_4)

3.1.3.32 Nutrient broth (NB)

3.1.3.33 Paraquat

3.1.3.34 Sodium Chloride (NaCl)

3.1.3.35 Sodium dithionite ($Na_2S_2O_4$)

3.1.3.36 Sodium hydroxide (NaOH)

3.1.4 จุลินทรีย์เดี่ยวที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายพาราควอท

3.1.4.1 *Novosphingobium sp.* THA_AIK7

3.1.4.2 *Brevibacillus agri* Karo_1

3.1.4.3 *Pseudomonas stutzeri* H1

3.1.4.4 *Providencia stuartii* P4

3.1.4.5 *Bacillus subtilis* Karo_2

3.1.4.6 *Bacillus aryabhattai* M4

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การสำรวจพื้นที่และการเก็บตัวอย่างดิน

ลงพื้นที่สำรวจแปลงเกษตรบริเวณ ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ทำการเก็บข้อมูลเกี่ยวกับประวัติการใช้สารเคมี ลักษณะทางกายภาพของดิน ชนิดของพืชที่เพาะปลูกในพื้นที่ของเกษตร จำนวน 12 ราย เก็บดินตัวอย่างในพื้นที่เพาะปลูกบริเวณที่แตกต่างกัน 14 ตัวอย่าง โดยเก็บดินที่ระดับความลึก 40 เซนติเมตร [43] ตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม บรรจุลงในถุงพลาสติกที่เตรียมไว้และมัดปากถุงให้เรียบร้อย นำดินตัวอย่างมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และระบุชนิดของดิน ค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน จากนั้นนำตัวอย่างส่งวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้าง ที่ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด ซึ่งสามารถวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ทั้งหมด 25 กลุ่ม จำนวนมากกว่า 80 ชนิด

3.2.2 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

นำตัวอย่างดินจาก ข้อ 3.2.1 มาเป็นแหล่งของแบคทีเรีย โดยนำดิน 1 กรัม ใส่ลงในอาหารสูตร Nutrient broth บ่มที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนกระทั่งเชื้อมีการเจริญ จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างแบบ ten-fold dilution ที่ระดับ 10^{-1} – 10^{-4} ใน 0.85% NaCl และ Spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar บ่มที่ 33 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Thabit and Naggar, 2013) [39] ทำการคัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะที่แตกต่างกัน และคัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยวิธีการ Streak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar ศึกษาสัณฐานวิทยาและย้อมแกรม เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ไว้ใน 15% glycerol ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

3.2.3 การจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียที่คัดเลือกได้ด้วยวิธี 16S rDNA

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ มาสกัดดีเอนเอ ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป (DNA extraction kit) และนำมาเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ 16S rDNA Universal primer 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') และ 1492R (5'-GGTTACCTTG TTACGACTT-3') ใน 1x buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 200 μM dNTPs, 320 pM primer และ 0.625 U of Taq polymerase โดยใช้อุณหภูมิดังนี้คือ initial denature ที่ 95 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที denaturing ที่ 95 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 1 นาที Extension ที่ 72 องศาเซลเซียส เวลา 2 นาที และ final extension 72 องศาเซลเซียส 10 นาที [44] เป็นจำนวน 30 รอบ นำไปทำ Agarose gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบแถบ DNA ของ PCR product จากนั้นส่งไปวิเคราะห์ลำดับเบส (sequencing) เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์เมื่อได้ข้อมูลนำไปเปรียบเทียบโดยใช้ฐานข้อมูล Eztaxon

3.2.4 การทดสอบการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

นำจุลินทรีย์จำนวน 10 สายพันธุ์ (C02/1, C02/2, C3, C4, C5, C6, C8, C9, C10 และ C11) ที่คัดแยกได้จากดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Nutrient broth ในขวดรูปชมพู่ เพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย โดยใช้ปริมาตรอาหาร 25 มิลลิลิตร ควบคุมอัตราการกวนที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นำแบคทีเรียที่ได้มาผสมกัน แล้วนำไปใส่ในดินที่นำมาจากแปลงเกษตรกรรม 10 แหล่ง ได้แก่ ดินรหัส SS01, SS02, SS03, SS04, SS06, SS09.1, SS09.2, SS10.1 , SS10.3 และ SS10.4 แหล่งละ 10 มิลลิลิตรต่อตัวอย่างดิน 200 กรัม (ดัดแปลงจาก Tariq *et al*., 2016) [45] ผสมให้เข้ากัน ใส่ในกล่องพลาสติก ปิดฝากล่องด้วยผ้าขาวบาง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้ความชื้นแก่ดินเป็นระยะ (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) เก็บตัวอย่างดินไปวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ ทุกๆ 1 เดือน เป็นเวลา 3 เดือน โดยนำตัวอย่างดิน 1 กรัม ละลายใน 9 มิลลิลิตร ของ 0.85% NaCl ทำการเจือจางแบบ Ten-fold dilution และกระจายลงบนอาหาร nutrient agar นับจำนวนเชื้อและลักษณะของเชื้อที่ตรวจพบ โดยเทียบกับกลุ่มควบคุมของดินแต่ละแหล่ง ที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย

3.2.5 การทดสอบการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในดินที่มีการเติมพาราควอท

นำดินจากแหล่งเกษตรกรรมอย่างน้อย 3 แหล่ง นำมาผสมพาราควอท ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการกำจัดวัชพืช โดยผสมพาราควอทในดินที่ระดับความเข้มข้นของพาราควอทต่างกัน 2 ระดับ จากนั้นนำกลุ่มแบคทีเรียที่เตรียมด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 3.2.4 นำมาผสมกับดิน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1-3 เดือน ให้ความชื้นแก่ดินเป็นระยะ เก็บตัวอย่างดินไปวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีตกค้าง ทุกๆ 1 เดือน โดยเทียบกับกลุ่มควบคุมของดินแต่ละแห่งที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทำการตรวจสอบเชื้อที่ยังคงมีชีวิต ทุกๆ 1 เดือน โดยนำตัวอย่างดินมาละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และ spread plate ลงบนอาหาร nutrient agar นับจำนวนเชื้อและลักษณะของเชื้อที่ตรวจพบ

3.2.6 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในอาหารสังเคราะห์ที่เติมพาราควอท (Paraquat Mineral Salt; PMS) ในการย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

3.2.6.1 การทดสอบความมีชีวิตของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ 10 สายพันธุ์ (C02/1, C02/2, C3, C4, C5, C6, C8, C9, C10 และ C11) โดยนำมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีพาราควอท (PMS) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่ทำการเติมพาราควอทที่มีความเข้มข้นต่างกัน 2 ระดับ โดยจะควบคุมอัตราการกวนที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยจะทำการเก็บผลในวันที่ 0 1 3 5 7 จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างแบบ ten-fold dilution ที่ระดับ 10^{-1} – 10^{-4} ใน 0.85% NaCl และ Spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar นับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ด้วยวิธีคำนวณ CFU/g และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 600 nm ด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น DR6000

3.2.6.2 การทดสอบความมีชีวิตของจุลินทรีย์เดี่ยว 6 สายพันธุ์ (*Novosphingobium* sp. THA_AIK7, *Brevibacillus agri Karo*_1, *Pseudomonas stutzeri* H1, *Providencia stuartii* P4, *Bacillus subtilis* Karo_2, *Bacillus aryabhattai* M4) และจุลินทรีย์กลุ่มของจุลินทรีย์ 6 ชนิด ในอาหารสังเคราะห์ที่มีพาราควอท ดูดเชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำมาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส (ตามสภาวะ

ที่เหมาะสมของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์) เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ดูดเชื้อเริ่มต้น (starter) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Paraquat Mineral Salt (PMS) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (มัลลิกา และคณะ, 2560) ที่มีความเข้มข้นของพาราควอท 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ) และ 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง) โดยคำนวณปริมาณสารจากฉลากบรรจุผลิตภัณฑ์พาราควอททางการค้า จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ โดยนำตัวอย่างมาปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางมาใน 0.85% NaCl ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ทำการเจือจางความเข้มข้นแบบ Ten-fold dilution จากนั้นเลือกการเจือจางที่เหมาะสมมาปริมาตร 100 ไมโครลิตรเพื่อทำการกระจายเชื้อลงบนอาหาร NA จากนั้นนำไปบ่มที่ 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับโคโลนีและคำนวณหาปริมาณเชื้อ

3.2.6.3 การทดสอบการย่อยสลายพาราควอทของจุลินทรีย์เดี่ยว 6 สายพันธุ์ จุลินทรีย์กลุ่ม และจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ โดยนำตัวอย่างวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงจากข้อ 3.2.6.1 และ 3.2.6.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณของพาราควอท โดยเติม 2 เปอร์เซ็นต์ของ Sodium dithionite ใน 0.3 M Sodium hydroxide ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำมาวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (ดัดแปลงจากมัลลิกา และคณะ, 2560) [37] โดยเทียบกับอาหารสังเคราะห์ที่ไม่มีการเติมพาราควอท

3.2.7 การวิเคราะห์สารเคมีในดิน

แบ่งการวิเคราะห์ดิน 2 ขั้นตอน ได้แก่ 1. การวิเคราะห์ดินตัวอย่าง 14 แหล่ง โดยชั่งดินตัวอย่างแหล่งละ 100 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร 2. สุ่มเลือกดินตัวอย่าง 3 แหล่ง จาก 14 แหล่ง ชั่งดินใส่กล่องพลาสติกที่มีฝาปิด 3 กล่อง กล่องละ 400 กรัม ต่อดิน 1 แหล่ง ซึ่งแบ่งดินแต่ละแหล่งออกเป็น 3 ชุด คือ ชุดที่ 1 ชุดควบคุม ชุดที่ 2 ดินที่มีการเติมจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์ ที่คัดแยกจากดินในแปลงเกษตร และชุดที่ 3 ดินที่มีการเติมจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์ ที่คัดแยกจากดินในแปลงเกษตร ร่วมกับการเติมสารเคมีทางการเกษตรปริมาณ 2.6 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่าง 100 กรัม มาวิเคราะห์ทุก 1 เดือน

3.2.7.1 การสกัดดินด้วยตัวทำละลายเมทานอล

ชั่งดินปริมาณ 100 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติมตัวทำละลายเมทานอล 150 มิลลิลิตร นำไปบ่มเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที 24 ชั่วโมง [46] แยกส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำไปสกัดด้วยเครื่อง Solid Phase Extraction (SPE) โดยใช้คอลัมน์ C18 [47] เพื่อสกัดสารเคมีที่ปนเปื้อนภายในดิน เพิ่มความเข้มข้นด้วยหม้อต้มอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ระเหยจนได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปกรองด้วยเซลลูโลสฟิลเตอร์ 0.45 มิลลิเมตร เก็บในขวดสีชาขนาดเล็กตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

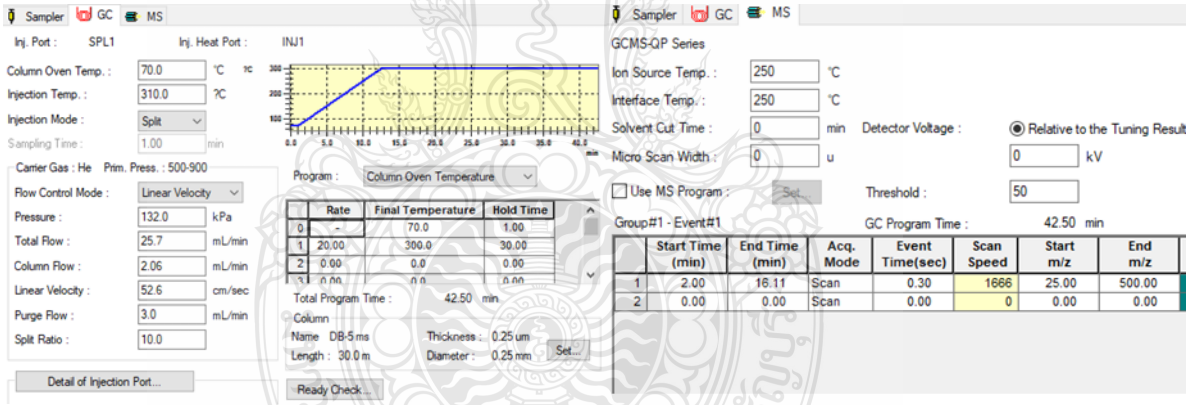
3.2.7.2 การสกัดดินด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม

นำดินในขวดรูปชมพู่จากข้อ 3.2.7.1 มาระเหยเมทานอลออก จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม 150 มิลลิลิตร นำไปบ่มเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที 24

ชั่วโมง (Arora, 2019) แยกส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำไปสกัดด้วยเครื่อง Solid Phase Extraction (SPE) โดยใช้คอลัมน์ C18 [47] เพื่อสกัดสารเคมีที่ปนเปื้อนภายในดิน เพิ่มความเข้มข้นที่อุณหภูมิห้องในตู้ดูดควัน ระเหยจนได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปกรองด้วยพีวีดีเอฟ เมมเบรนด์ 0.45 ไมโครเมตร เก็บในขวดสีชาขนาดเล็กตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2.7.3 การวิเคราะห์สารเคมีด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS)

วิเคราะห์สารเคมีด้วยคอลัมน์ DB-5 ในสภาวะที่ใช้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 250 องศาเซลเซียส (Interface Temp) จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย 310 องศาเซลเซียส (Injection Temp) ควบคุมอุณหภูมิคอลัมภ์ในตู้อบที่ 70 องศาเซลเซียส (Column Oven Temp) รูปแบบการฉีดเลือกการฉีดแบบ Split (Injection Mode) โดยมีอัตราการฉีดอยู่ที่ 10.0 (Split Ratio) ที่อุณหภูมิคอลัมน์ในตู้อบ 70 องศาเซลเซียส มีระยะเวลาในการฉีดค้างไว้เป็นเวลา 1 นาที และในอุณหภูมิที่ 310 องศาเซลเซียส ได้ฉีดค้างไว้เป็นเวลา 30 นาที ในแต่ละตัวอย่างรวมทั้งสิ้นใช้เวลาในการฉีดวิเคราะห์สารเคมี (Total Program Time) ที่ 42.50 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง โดยที่ในหนึ่งตัวอย่างจะมีปริมาณสารที่สกัดจากชุดสกัด SPE และกรองผ่านเซลลูโลสขนาด 0.45 ไมครอนอยู่ที่ 2 ไมโครลิตร ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 สภาวะที่ใช้วิเคราะห์สารเคมีด้วยเครื่อง GC-MS

3.2.8 การวิเคราะห์จุลินทรีย์ในดิน

นำดิน 14 ตัวอย่าง จากแปลงเกษตร 12 แปลง และดินตัวอย่างที่แบ่งออกเป็น 3 ชุด จากข้อ 3.2.7 มาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Stools Mini Kit

3.2.8.1 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

นำ DNA product มาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วย 16srRNA gene Polymerase Chain Reaction (PCR) ใช้ไพรเมอร์ Primer 338F-GC กับ Primer 518R โดยเติมส่วนผสมดัง ตารางที่ 2 ลงในหลอดพีซีอาร์

ตารางที่ 4 สารเคมีที่ใช้ในการทำ 16s rRNA PCR ปริมาตร 25 ไมโครลิตร

สารละลาย	ปริมาตรที่ใช้ (µl)
Green PCR Master Mix	12.5 µl
Primer 338F-GC	0.5 µl
Primer 518R	0.5 µl
DNA Template	4 µl
DNase Free Distilled Water	7.5 µl

นำหลอดพีซีอาร์ใส่ในเครื่อง Thermocycler และตั้งค่าการทำงานของเครื่องดัง ตารางที่ 5 โดยทุกคู่ไพรเมอร์จะใช้สภาวะเดียวกันใน Step Initial Denaturation, Denaturation, Annealing, Extension และ Final Extension

ตารางที่ 5 การทำงานของเครื่อง Thermocycler

	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	
Initial Denaturation	95 °C	5 นาที	
Denaturation	95 °C	30 วินาที	25 Cycles
Annealing	52 °C	40 วินาที	
Extension	72 °C	90 วินาที	
Final Extension	72 °C	5 นาที	

เก็บ PCR products ที่ได้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เตรียมบัฟเฟอร์ 1X TAE ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ลงในขวด Duran ขนาด 1000 มิลลิลิตร โดยการนำบัฟเฟอร์ 50X TAE ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำกลั่นปริมาตร 980 มิลลิลิตรปริมาตร รวมเท่ากัน 1000 มิลลิลิตร เตรียม 1.2% agarose gel โดยชั่ง agarose 0. 36 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมบัฟเฟอร์ 1X TAE ลงใน agarose ที่ชั่งไว้ปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปเข้าไมโครเวฟ 2-3 นาที จนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมชุด gel chamber จากนั้นเท agarose gel ลงในชุด gel chamber รอให้เจลเซ็ทตัวจนแข็งจากนั้นย้ายเจลที่แข็งตัวพร้อมถาดรองลงในเครื่อง Gel Electrophoresis เทบัฟเฟอร์ 1X TAE ให้ท่วมเจลแล้วนำหวีออกจากเจล เทบัฟเฟอร์จนถึงขีดที่กำหนด โหลด DNA marker 5 ไมโครลิตร DNA marker ที่ใช้คือ DNA marker 1 kb ลงช่องแรกของเจล และช่องถัดไปโหลด PCR Product ปริมาตร 5 ไมโครลิตร นำ PCR Product ไปแยกขนาดผ่าน Agarose Gel Electrophoresis ต่อเข้ากับขั้ว Electrode เข้ากับ Power Supply โดยให้กระแสไฟฟ้าเป็นตัวนำสารละลายดีเอ็นเอเคลื่อนที่จากประจุลบไปหาประจุบวกจะเห็นสีแยกออกจากกัน แต่ต้องระวังไม่ให้ดีเอ็นเอออกนอกเจล นำเจลที่ดีเอ็นเอแยกแล้วไปย้อมด้วยสาร Ethidium Bromide เป็นเวลาประมาณ 5 นาที นำเจลที่ย้อมด้วยสาร Ethidium Bromide ล้างออกด้วยน้ำกลั่นประมาณ 5 นาที จากนั้นนำเจลเข้าไปส่องที่เครื่องวิเคราะห์

เจล (gel document) และวิเคราะห์ภาพเจล (gel documentation) ภาพจะแสดงผลที่หน้าจอคอมพิวเตอร์ [30]

3.2.8.2 วิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Denaturing. Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

นำPCR product ที่ได้จากขั้นตอน PCR amplification ตัวอย่างละ 20 ไมโครลิตร ผสมกับ 6X Loading dye 1 ไมโครลิตร มาโหลดใน 8% polyacrylamide gel (40% Acrylamide/Bis 29 : 1) ความเข้มข้น 30%-70% (100% ความเข้มข้น 5.6 M urea และ 32% formamide) ส่วนผสมดัง ตารางที่ 4

ตารางที่ 6 สารเคมีที่ใช้ในการทำ 8% polyacrylamide gel ปริมาตร 26 มิลลิลิตร

	30 %	70 %
DSSA (0 %)	8.125 ml	1.625 ml
DSSB (100 %)	4.875 ml	11.375 ml
20% APS	100 µl	100 µl
TEMED	15 µl	15 µl

ในสารละลาย 1X TAE buffer ตั้งค่าระบบเครื่อง DGGE ระยะเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า 80V หลังจากนั้นย้อมสีเจลด้วย SYBR Gold เป็นเวลา 30 นาที วิเคราะห์ผลด้วยเครื่องวิเคราะห์เจล Gel Documentation ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลต ตัดเจล เลือกแถบดีเอ็นเอที่สนใจมาบ่มใน DNA SE 25 ไมโครลิตร อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำมาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งโดยใช้ Primer 338F-GC กับ Primer 518R จากนั้นส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

3.2.9 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสารเคมีและจุลินทรีย์ในดิน

นำผลการวิเคราะห์ข้อมูลของสารเคมีในดินที่ได้จากเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลของจุลินทรีย์ในดิน ที่ได้จากเทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์โดยเปรียบเทียบจากค่าพื้นที่ใต้กราฟ Heat map กับปริมาณความหนาแน่นของแถบแบนดีเอ็นเอที่พบใน 8% polyacrylamide gel จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาพัฒนาต่อยอดเพื่อประยุกต์ใช้ในการแก้ไขปัญหาด้านการเกษตรและสิ่งแวดล้อม

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การสำรวจและสัมภาษณ์เกษตรกร

จากการลงพื้นที่สำรวจแปลงเกษตรและสัมภาษณ์เกษตรกรบริเวณ ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี จำนวน 12 ราย เกี่ยวกับประวัติการใช้สารเคมีในพื้นที่แปลงเกษตร พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ในพื้นที่ ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี นิยมปลูกพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ ข้าว กล้วย และตะไคร้ เป็นหลัก แสดงได้ดังตารางที่ 7 ประเภทของกลุ่มสารเคมีที่เกษตรกรนิยมใช้ ได้แก่ กลุ่มคาบาเมต กลุ่มสารประกอบไบไพริดิล กลุ่มไกลโฟเสต กลุ่มสารประกอบออกาโนฟอสฟอรัส แสดงได้ดังตารางที่ 8 ดินส่วนใหญ่ในแปลงเกษตรมีลักษณะเป็นดินเหนียว อุ้มน้ำ มีค่าความเป็นกรด-ด่างโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 5.27 ใส่รหัสดินขึ้นต้นด้วย SS นำหน้าตามลำดับ ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 7 ข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกรบริเวณ ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี

รหัส	ชื่อ – สกุล	ลักษณะของดิน	ชนิดและอัตราการใช้สารเคมี
SS 01	น.ส.ชมพูนุช ทับทิม (084-7672986)	ดินเหนียว ลักษณะสีดำ บาง พื้นที่เป็นดินผสม	อะบาต่อโฟวาโด้ (ยาฆ่าแมลง) พาราควอทต่อไกลโฟเสต (ยาฆ่าหญ้า)
SS 02	น.ส.จันทนา สุดสวาด (089-0820657)	ดินผสม (ดินร่วน ผสมดินเหนียว)	ก่อนปลูกใช้พาราควอทฆ่าหญ้าก่อน เพาะปลูก ใช้สารเคมียี่ห้ออาโมเรฆ่าเชื้อ ราในพืช ใช้พอร์ชฆ่าหนอน มีการโรยฟู ลาดานก่อนการเก็บเกี่ยว 2-3 เดือน (2 ลิตรของสารเคมีต่อ12ไร่) ตะไคร้มีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 5 เดือน ได้ราคาดี มีการใส่กระดูกและใช้เลนเพื่อปรับหน้า ดิน ศัตรูของพืช คือ หนอนกอ
SS 03	น.ส.พรพิศ สินพยุง (093-5326514)	ดินเหนียว ลักษณะสีดำ	ไม่มีการใช้สารเคมี
SS 04	น.ส.สายชล ทิพณีย์ (097-1989009)	ดินเหนียว ลักษณะสีดำ	ใช้ยาฆ่าหญ้า กรัมม็อคโซน ต่อ ไกลโฟเสท ฉีดแบบดูดซึมก่อนเพาะปลูก ใช้ยาฆ่า แมลงแลนเนต (ยาน็อคหนอน) ใช้ยากัน รา เมทาซิล มีการฉีดฮอร์โมนเพิ่มเติม
SS 05.1	นายสุกาญจน์ ศิลาวรรณ (095-849-9137)	ดินเหนียว มีความ เป็นกรดสูง	ไม่ใช้สารเคมีมา 7-8 ปี ใช้ปุ๋ยอินทรีย์และ ปุ๋ยหมัก ที่หมักจากซากสิ่งมีชีวิต (ปลา ขี้ ไก่ ขี้วัว ขี้หมู) ใช้อัตรา 1 ตันต่อ 1 ไร่
SS 05.2	นายสุกาญจน์ ศิลาวรรณ (095-849-9137)	ดินเหนียว มีความ เป็นกรดสูง	ไม่ใช้สารเคมีมา 7-8 ปี ใช้ปุ๋ยอินทรีย์และ ปุ๋ยหมัก ที่หมักจากซากสิ่งมีชีวิต (ปลา ขี้ ไก่ ขี้วัว ขี้หมู) ใช้อัตรา 1 ตันต่อ 1 ไร่

รหัส	ชื่อ – สกุล	ลักษณะของดิน	ชนิดและอัตราการใช้สารเคมี
SS 06	นางสุณี พุฒจันทร์ (061-648-2473)	ดินเหนียว อมน้ำ เล็กน้อย	ใช้สารเคมีผสมกับสารอินทรีย์ ใช้ปุ๋ยตรา เรือใบสูตรเสมอ ในอัตราส่วน 50 กิโลกรัมต่อ 1 ไร่ มีการใช้ขี้ไก่รองพื้น สารเคมีหลักที่ใช้ได้แก่ อามูเร่ ใช้สำหรับกันเชื้อราที่ใบสีส้มเหลืองของตะไคร่
SS 07.1	นายขวัญ บุญประสงค์ (086-000-6147)	ดินแข็ง	ใช้สารเคมีไกลโฟเสท พาราควอทและ ใช้อะบามิสซิน ฆ่าหญ้าก่อนลงปลูก ใช้ พอร์ชฆ่าเพี้ย ยาฆ่าแมลง 1 ครั้ง ใช้ 2 ขวด ต่อ น้ำ 20 ลิตรต่อการฉีดพ่น ประมาณ 10 ครั้ง ต่อการเก็บเกี่ยว หว่านปุ๋ยยูเรียบางๆ ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ผสมกับสารเคมี
SS 08.1	นายบุญส่ง พูนบุญธรรม	ดินเหนียว	ปุ๋ยเคมี ใช้ยากำจัดเพลี้ยในนาข้าว ปุ๋ย อินทรีย์ที่ใช้ทำกันในกลุ่มชาวบ้าน ได้จาก ขี้ไก่ แกลบ หัวเชื้อ ขี้วัว
SS 08.2	นายบุญส่ง พูนบุญธรรม	ดินเหนียว	ปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้ทำกันในกลุ่มชาวบ้าน ได้ จาก ขี้ไก่ แกลบ หัวเชื้อ ขี้วัว
SS 09.2	นายวีระพรต แสวงผล (083-8965380)	ดินเหนียว ลักษณะสีดำ	มีการใช้สารเคมีไกลโฟเสทเพื่อฆ่าหญ้า 4
SS 09.2	นายวีระพรต แสวงผล (083-8965380)	ดินเหนียว ลักษณะสีดำ	สารเคมียี่ห้ออาโมเร่เพื่อกันเชื้อรา มีการ ใช้ฮอร์โมนเพื่อเร่งราก ฉีดพ่นยากัน หนอน มีการใช้ปุ๋ยเคมีอยู่ตลอดถึงการ เก็บเกี่ยว
SS 10.1	น.ส.มรกต สินพยุง (093-5326514)	ดินเหนียวผสมดิน ร่วน	มีการใช้สารเคมีสลับกับสารอินทรีย์ ยา ฆ่าหญ้าใช้กรัมม็อคโซน ต่อ พาราควอท ต่อ ไกลโฟเสท ยาฆ่าแมลง ใช้มาลาไทอ้อน พีวาทอล แมนคอแซบ
SS 10.2	น.ส.มรกต สินพยุง (093-5326514)	ดินเหนียวผสมดิน ร่วน	มีการใช้สารเคมีสลับกับสารอินทรีย์ ยา ฆ่าหญ้าใช้กรัมม็อคโซน ต่อ พาราควอท ต่อ ไกลโฟเสท ยาฆ่าแมลง ใช้มาลาไทอ้อน พี วาทอล แมนคอแซบ
SS 10.3	น.ส.มรกต สินพยุง (093-5326514)	ดินเหนียวผสมดิน ร่วน	มีการใช้สารเคมีสลับกับสารอินทรีย์ ยา ฆ่าหญ้าใช้กรัมม็อคโซน ต่อ พาราควอท ต่อ ไกลโฟเสท ยาฆ่าแมลง ใช้มาลาไทอ้อน พี วาทอล แมนคอแซบ
SS 10.4	น.ส.มรกต สินพยุง (093-5326514)	ดินเหนียวผสมดิน ร่วน	มีการใช้สารเคมีสลับกับสารอินทรีย์ ยา ฆ่าหญ้าใช้กรัมม็อคโซน ต่อ พาราควอท ต่อ ไกลโฟเสท ยาฆ่าแมลง ใช้มาลาไทอ้อน พี วาทอล แมนคอแซบ

รหัส	ชื่อ – สกุล	ลักษณะของดิน	ชนิดและอัตราการใช้สารเคมี
SS 11	กำนันทองสุข สีลิด	ดินเหนียว และ ดินเปรี้ยว	เลิกใช้สารเคมีมา 3 ปีเดิมใช้ฟูลาดาน ยา ฆ่าหญ้า ยา ฆ่าแมลง ปัจจุบันใช้ สารอินทรีย์ แทนสารเคมี ใช้ น้ำมัน มะพร้าว ยาคูล แป้งข้าวหมาก ซีอิ้ว เป็น ตัว ไล่แมลง ใช้ (50- 100 cc. ต่อ 1 ไร่)
SS 12	นายยอดชาย ศิลปผดุง (081-9891599)	ดินเหนียว	มีการใช้ไกลโฟเสทเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 8 ข้อมูลของสารเคมีที่เกษตรกรนิยมใช้

ชื่อการค้า	ชื่อสามัญ	สูตรเคมี	ชนิด	ประเภทของกลุ่มสารเคมี	ชื่อทางเคมี
โปรวาโด	อิมิดาโคลพริด	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	ยาฆ่าแมลง	คาบาเมต	N-[1-[(6-Chloro-3-pyridyl)methyl]-4,5 -dihydroimidazole-2-yl]nitramide
พาราควอท	พาราควอท ไดคลอไรด์	$C_{12}H_{14}Cl_2N_2$	สารกำจัดวัชพืช	สารประกอบไบไพริดิล	1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride
ไกลโฟเสต	ไกลโฟเซตไอโซโพรพิลแอมโมเนียม	$C_3H_8NO_5P$	สารกำจัดวัชพืช	ไกลโฟเสต	N-(phosphonomethyl)glycine
พอสซ์	คาโบฟูราน	$C_{12}H_{15}NO_3$	ยาฆ่าแมลง	คาบาเมต	2,3-dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl methylcarbamate
แลนเนท	เมทาแล็กซิล	$C_{15}H_{21}NO_4$	ยาฆ่าแมลง	คาบาเมต	Methyl 2-[(2,6-dimethylphenyl)(methoxyacetyl) amino]propanoate
มาลาไธออน	มาลาไธออน	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	ยาฆ่าแมลง	สารประกอบออกาโนฟอสฟอรัส	Diethyl 2-[(dimethoxyphosphorothioyl) sulfanyl]butanedioate
พรีวาธอน	คลอแรนทรานิลิโพรล	$C_{18}H_{14}BrCl_2N_5O_2$	ยาฆ่าแมลง	คาบาเมต	5-bromo-N-[4-chloro-2-methyl-6-(methylcarbamoyl)phenyl]-2-(3-chloropyridin-2-yl)pyrazole-3-carboxamide
ฟูลาดาน	คาโบฟูราน	$C_{20}H_{32}N_2O_3S$	ยาฆ่าแมลง	คาบาเมต	2,3-dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl (dibutylaminothio) methylcarbamate

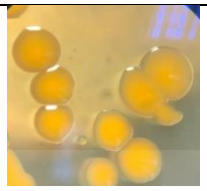
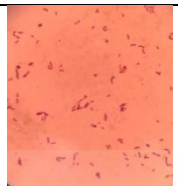
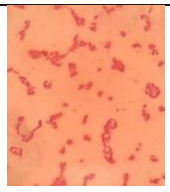
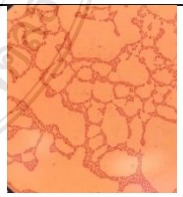
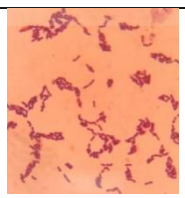
ตารางที่ 9 ลักษณะของดินและค่าความเป็นกรด-ด่าง

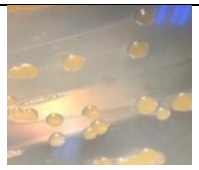
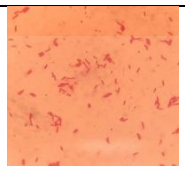
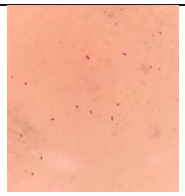
แปลง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดพืชที่ปลูก	ลักษณะดิน	ค่า pH
1	SS 01	กล้วย	ดินผสม	6.34
2	SS 02	ตะไคร้	ดินผสม	5.92
3	SS 03	ฝรั่ง / มะเขือพวง	ดินเหนียว	4.85
4	SS 04	ตะไคร้	ดินเหนียว	4.95
5	SS 05.1	ตะไคร้	ดินเหนียว	4.37
6	SS 06	ตะไคร้	ดินเหนียว	4.32
7	SS 07.1	พริก	ดินแข็ง	6.76
8	SS 08.1	นาข้าว	ดินเหนียว	4.29
9	SS 09.1	กล้วยหอม	ดินเหนียว	4.72
10	SS 10.1	กล้วย	ดินเหนียว	4.76
11	SS 10.2	มะไฟ	ดินเหนียว	6.55
12	SS 10.3	มะพร้าว	ดินเหนียว	5.88
13	SS 11	ข้าวหอมปทุม	ดินเหนียว	4.44
14	SS 13	-	ดินเหนียว	5.69

4.2 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

จากการศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างพื้นที่การเกษตร จากในพื้นที่อำเภอหนองเสือ ตำบลบึงกาสาม จังหวัดปทุมธานี ที่ทำการเกษตรแบบเคมี สามารถแยกจุลินทรีย์ได้ ทั้งหมด 10 สายพันธุ์และทำการย้อมแกรมเพื่อดูลักษณะของแบคทีเรีย พบลักษณะของแบคทีเรียแกรมลบจำนวน 6 สายพันธุ์และแบคทีเรียแกรมลบจำนวน 4 สายพันธุ์มีลักษณะรูปท่อน 6 สายพันธุ์ รูปร่างกลม 4 สายพันธุ์

ตารางที่ 10 ลักษณะโคโลนีที่สามารถคัดแยกได้จากดินที่มาจากพื้นที่เกษตรกร

ชื่อไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	ภาพใต้กล้อง
C02/1		
C02/2		
C03		
C04		
C05		
C06		
C08		

ชื่อไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	ภาพใต้กล้อง
C09		
C10		
C11		

4.3 การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่พบในแปลงเกษตรกรรม และการจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียที่คัดเลือกได้

จากการคัดเลือกสายพันธ์จุลินทรีย์ทั้งหมด 10 ชนิด เมื่อนำมาจำแนกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ พบว่าในแต่ละชนิดมีค่า Per.Ident ที่มากกว่า 95 ดังนั้นเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับเบสของตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกับลำดับเบสในฐานข้อมูลจึงสามารถยืนยันได้ว่าเป็นสายพันธ์ของจุลินทรีย์ตามลำดับ

ตารางที่ 11 ผลการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่พบในแปลงเกษตรกรรม

Isolates	Description	Per.Ident	Bitscore	E-value
C02/1	*Burkholderia cepacia* (NR_104978.1)	99.25	2649	0.0
C02/2	*Bacillus subtilis* (NR_102783.2)	99.26	2699	0.0
C03	*Bacillus aryabhattai* (NR_115953.1)	99.60	2704	0.0
C04	*Exiguobacterium acetylicum* (NR_043479.1)	99.20	2706	0.0
C05	*Staphylococcus epidermidis* (NR_113957.1)	99.53	2687	0.0
C06	*Acinetobacter pittii* (NR_117621.1)	99.12	2658	0.0

Isolates	Description	Per.Ident	Bitscore	E-value
C08	*Bacillus aryabhattai* (NR_115953.1)	99.47	2721	0.0
C09	*Pantoea dispersa* (NR_116797.1)	97.03	2492	0.0
C10	*Bacillus albus* (NR_157729.1)	98.06	2601	0.0
C11	*Chromobacterium violaceum* (NR_113595.1)	97.88	2525	0.0

4.4 การทดสอบการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

จากการทดสอบด้วยวิธี การเติมจุลินทรีย์ทั้งหมด 10 ชนิด ที่สามารถแยกจากเหล่งดินที่มีการปนเปื้อน โดยนำมาผสมกับดินตัวอย่าง พบว่าปริมาณของจุลินทรีย์รวมทั้งหมดมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในระยะเวลา 2 เดือนแรก และลดปริมาณลงในเดือนที่ 3 (ภาพที่ 6) โดยจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดคือ *Bacillus albus* C10 อาจเพราะสามารถทนต่อสารเคมี ทนต่อสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และปริมาณความชื้นต่ำ จึงพบปริมาณมากที่สุดในดินทุกแหล่ง นอกจากนั้น จุลินทรีย์ไอโซเลท C08, C03, C06, C05, C2.1, C2.2, C04, C11 และ C09 มีปริมาณลดลงตามลำดับ อาจเป็นเพราะไม่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมและสารเคมีในดินได้ดีเท่า C10

ตารางที่ 12 ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ ในดินที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เดือนที่ 0

ดิน	ปริมาณจุลินทรีย์ Control (log CFU/g)	Spread plate 10^{-5}				ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/g)
		ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	
SS01	6.792	84	43	64	63	7.799
SS02	6.771	48	56	103	69	7.839
SS03	6.914	66	54	33	51	7.708
SS04	6.892	102	65	36	67	7.826
SS006	6.653	68	89	33	63	7.799
SS09.1	6.763	48	68	37	51	7.708
SS09.2	6.991	104	82	42	76	7.881
SS10.1	7.114	109	92	132	111	8.041
SS10.3	7.204	118	50	57	75	7.875
SS10.4	7.380	164	89	53	102	8.000

ตารางที่ 13 ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ ในดินที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เดือนที่ 1

ดิน	ปริมาณจุลินทรีย์ Control (log CFU/g)	Spread plate 10^{-5}				ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/g)
		ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	
SS01	7.009	118	140	153	137	8.146
SS02	7.072	140	125	114	126	8.230
SS03	6.756	74	45	48	56	7.748
SS04	6.881	59	36	82	59	7.771
SS006	7.107	94	108	120	107	8.041
SS09.1	6.839	109	110	113	110	8.041
SS09.2	7.212	180	137	146	154	8.176
SS10.1	6.987	94	108	120	107	8.041
SS10.3	7.093	95	125	102	107	8.041
SS10.4	6.672	61	98	74	78	7.892

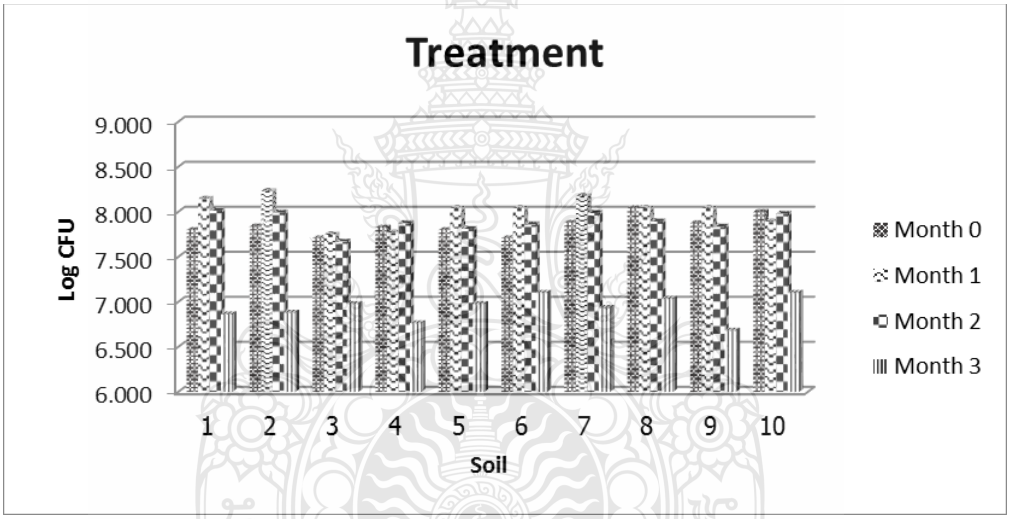
ตารางที่ 14 ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ ในดินที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เดือนที่ 2

ดิน	ปริมาณจุลินทรีย์ Control (log CFU/g)	Spread plate 10^{-5}				ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/g)
		ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	
SS01	7.037	100	103	110	104	8.017
SS02	6.964	86	106	107	99	7.996
SS03	6.748	43	51	47	47	7.672
SS04	6.973	73	112	40	75	7.875
SS006	6.681	45	99	52	65	7.813
SS09.1	7.000	57	92	70	73	7.863
SS09.2	6.892	114	65	117	98	7.991
SS10.1	7.068	78	72	88	79	7.898
SS10.3	6.881	59	66	83	69	7.839
SS10.4	7.057	93	99	98	96	7.982

ตารางที่ 15 ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ ในดินที่ปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เดือนที่ 3

ดิน	ปริมาณจุลินทรีย์ Control (log CFU/g)	Spread plate 10^{-4}				ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/g)
		ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	
SS01	6.863	89	44	87	73	6.863
SS02	6.944	64	85	80	76	6.881

ดิน	ปริมาณจุลินทรีย์ Control (log CFU/g)	Spread plate 10^{-4}				ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/g)
		ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย	
SS03	7.111	102	98	87	95	6.978
SS04	6.886	52	59	65	58	6.763
SS006	6.987	77	89	120	95	6.978
SS09.1	7.207	60	120	198	126	7.100
SS09.2	6.982	78	93	87	86	6.934
SS10.1	6.991	107	111	108	108	7.033
SS10.3	6.851	49	45	51	48	6.681
SS10.4	7.204	82	187	110	126	7.100



ภาพที่ 6 ความมีชีวิตของจุลินทรีย์ผสม 10 ชนิดที่ใส่ในดินตัวอย่าง ในช่วงเวลา 0-3 เดือน

4.5 ความสามารถของจุลินทรีย์ ในการอยู่รอดในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมี

4.5.1 การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ ในการอยู่รอดในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมีจัดอยู่ใน การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม ในการย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

4.5.1.1 การทดสอบด้วยวิธี การเติมจุลินทรีย์ทั้งหมด 10 ชนิด ที่สามารถแยกจากแหล่งดินที่มีการปนเปื้อน และทำการผสมพาราควอทที่มีความเข้มข้นที่ต่างกัน

1) การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ ที่มีการผสมของพาราควอทที่มีความเข้มข้นต่ำ โดย คำนวณปริมาณสารได้จาก วิธีการใช้ข้างผลิตภัณฑ์ที่มีการบรรจุ พาราควอท

ตารางที่ 16 จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 0

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS06	159	150	210	173	1.73×10^{6}	C08 > C10 > C05 > C06
SS09.2	282	223	262	245.7	2.46×10^{6}	C08 > C10 > C02/1 > C06
SS11	106	79	183	122.7	1.23×10^{6}	C08 > C10 > C09 > C02/1
Control (SS06)	154	-	-	154	1.54×10^{6}	C08 > C10
Control (SS09.2)	220	-	-	220	2.20×10^{6}	C08 > C10
Control (SS11)	109	-	-	109	1.10×10^{6}	C08 > C10 > C06 > C02/1

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 0 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีแนวโน้มไปตาม ชุดควบคุม ที่มีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมโดยมีเชื้อที่เจริญมากที่สุดคือ C8 และ C10

ตารางที่ 17 จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำเดือนที่ 1

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS06	133	193	62	129.3	1.29×10^{6}	C06 > C08 > C01 > C05
SS09.2	160	298	93	183.7	1.83×10^{6}	C08 > C06 > C10 > C02/1
SS11	50	41	118	69.7	6.97×10^{5}	C08 > C06 > C02/1
Control (SS06)	127	-	-	127	1.27×10^{6}	C08 > C02/1
Control (SS09.2)	84	-	-	84	8.40×10^{5}	C08 > C06 > C09
Control (SS11)	102	-	-	102	1.02×10^{6}	C08

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 1 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญมีการเปลี่ยนแปลงโดยในตัวอย่างดิน SS06 และ SS09.2 มีการเจริญเติบโตน้อยลงเมื่อเทียบกับเดือนที่ 0 แต่ในตัวอย่าง SS11 มีการลดปริมาณของจุลินทรีย์อย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับเดือนที่ 0 โดยมีเชื้อที่เจริญมากที่สุดคือ C08

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดควบคุมพบว่ามีปริมาณของจุลินทรีย์ลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับเดือนที่ 0

ตารางที่ 18 จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 2

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS06	110	60	124	98	9.80×10^{5}	C01 > C08
SS09.2	45	90	280	138	1.38×10^{6}	C08 > C02/1

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS11	96	34	260	130	1.30×10^{6}	C08 > C02/1
Control (SS06)	107	-	-	107	1.07×10^{6}	C08 > C02/1
Control (SS09.2)	43	-	-	43	4.30×10^{5}	C08
Control (SS11)	203	-	-	203	2.03×10^{6}	C08 > C02/1

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 2 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญมีการเปลี่ยนแปลงโดยในตัวอย่างดิน SS06 SS09.2 และ SS11 มีการเจริญเติบโตน้อยลงเมื่อเทียบกับเดือนที่ 1 โดยมีเชื้อที่เจริญมากที่สุดคือ C08

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดควบคุมพบว่ามีปริมาณของจุลินทรีย์ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับเดือนที่ 1

ตารางที่ 19 จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 3

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS06	263	287	267	272.3	2.72×10^{6}	C03 > C08 > C06
SS09.2	152	124	50	108.6	1.09×10^{6}	C08 > C03 > C06
SS11	32	68	72	57.3	5.73×10^{5}	C08 > C03 > C06 > C10
Control (SS06)	46	-	-	46	4.60×10^{5}	C03 > C06
Control (SS09.2)	60	-	-	60	6.00×10^{5}	C03 > C06 > C08
Control (SS11)	147	-	-	147	1.47×10^{6}	C03 > C06 > C08

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 3 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญมีการเปลี่ยนแปลงโดยในตัวอย่างดิน SS06 และ SS09.2 มีการเจริญเติบโตน้อยลงเมื่อเทียบกับเดือนที่ 2 แต่ ตัวอย่างดิน SS11 มีการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับเดือนที่ 2 โดยมีเชื้อที่เจริญมากที่สุดคือ C03 และ C08 ตามลำดับ

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดควบคุมในตัวอย่างดิน SS06 และ SS09.2 พบว่ามีประชากรของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเดือนที่ 2 และตัวอย่างดิน SS11 ยังคงมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่ลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเทียบกับเดือนที่ 0 ถึงเดือนที่ 2

การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ที่มีการผสมของพาราควอทที่มีความเข้มข้นต่ำ พบว่ามีชนิดของจุลินทรีย์และจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ที่ลดลงอย่างต่อเนื่องจากเดือนที่ 0 มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นคือ 1.81×10^{6} CFU/g มีลดลงเหลือ 1.46×10^{6} CFU/g พบว่ามีจุลินทรีย์ที่มีความสามารถทนต่อพาราควอท มีดังนี้ C03 C08 C06 C10 ตามลำดับ

2) การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ที่มีการผสมของพาราควอทที่มีความเข้มข้นสูง โดย คำนวณปริมาณสารได้จาก วิธีการใช้ข้างผลิตภัณฑ์ที่มีการบรรจุพาราควอท

ตารางที่ 20 จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 0

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS06	154	141	145	146.7	1.47×10^{6}	C08 > C10 > C05
SS09.2	180	202	140	174	1.74×10^{6}	C10 > C08 > C06 > C02/1
SS11	59	221	71	117	1.17×10^{6}	C10 > C08 > C06 > C02/1
Control (SS06)	37	-	-	37	3.70×10^{5}	C08
Control (SS09.2)	251	-	-	251	2.51×10^{6}	C08 > C06
Control (SS11)	35	-	-	35	3.50×10^{5}	C08 > C02/1

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 0 ไม่สอดคล้องกับชุดควบคุม ซึ่งชุดทดลองมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่มากกว่าอย่างเห็นได้ชัด และจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดคือ C08

ตารางที่ 21 จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 1

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS06	40	49	72	53.7	5.37×10^{6}	C08 > C02/1 > C05
SS09.2	80	81	82	81	8.10×10^{5}	C10 > C08 > C06 > C01
SS11	256	281	36	191	1.91×10^{6}	C10 > C08 > C02/1
Control (SS06)	209	-	-	209	2.09×10^{6}	C08
Control (SS09.2)	71	-	-	71	7.10×10^{5}	C08 > C06
Control (SS11)	113	-	-	113	1.13×10^{6}	C08 > C10 > C02/1

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่1 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญมีการเปลี่ยนแปลงโดยในตัวอย่างดิน SS06 และ SS11 มีปริมาณของจุลินทรีย์น้อยลงเมื่อเทียบกับเดือนที่0 แต่ ตัวอย่างดิน SS09.2 มีการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับเดือนที่ 0 โดยมีเชื้อที่เจริญมากที่สุดคือ C08 และ C10 ตามลำดับ

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดควบคุมในตัวอย่างดิน SS06 และSS11 พบว่ามีปริมาณของจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเทียบกับเดือนที่ 0 และตัวอย่างดิน SS09.2 ยังคงมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเดือนที่ 0

ตารางที่ 22 จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 2

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS06	135	62	50	82	8.20×10^{5}	C01 > C08 > C10
SS09.2	35	69	47	50	5.00×10^{5}	C08 > C06 > C02/1 > C10 > C12
SS11	54	36	39	43	4.30×10^{5}	C08 > C01 > C10
Control (SS06)	49	-	-	49	4.90×10^{5}	C08 > C02/1
Control (SS09.2)	134	-	-	134	1.34×10^{6}	C08 > C02/1
Control (SS11)	53	-	-	53	5.30×10^{5}	C02/1 > C08

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 2 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญมีการเปลี่ยนแปลงโดยในตัวอย่างดิน SS06 SS09.2 และ SS11 มีปริมาณของจุลินทรีย์น้อยลงเมื่อเทียบกับเดือนที่1 โดยมีเชื้อที่เจริญมากที่สุดคือ C08

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดควบคุมในตัวอย่างดิน SS06 SS09.2 และ SS11 พบว่ามีปริมาณของจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเทียบกับเดือนที่ 0

ตารางที่ 23 จำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 3

ดิน	Spread plate 10^{-3}				(CFU/g)	ลักษณะโคโลนีที่พบ
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย		
SS06	278	33	294	201.6	2.02×10^{6}	C03 > C05 > C08 > C06 > C04
SS09.2	92	95	58	81.6	8.16×10^{5}	C06 > C08 > C10 > C03
SS11	237	41	30	102.6	1.03×10^{6}	C08 > C03 > C10 > C06 > C02/1
Control (SS06)	196	-	-	196	1.96×10^{6}	C03 > C08 > C06
Control (SS09.2)	163	-	-	163	1.63×10^{6}	C06 > C11 > C08
Control (SS11)	245	-	-	245	2.45×10^{6}	C02/1 > C08 > C05

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 3 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญมีการเปลี่ยนแปลงโดยในตัวอย่างดิน SS06 และมีปริมาณของจุลินทรีย์น้อยลงเมื่อเทียบกับเดือนที่ 2 แต่ ตัวอย่างดิน SS09.2 มีการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับเดือนที่ 2 โดยมีเชื้อที่เจริญมากที่สุดคือ C08 C03 และ C06 ตามลำดับ

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดควบคุมในตัวอย่างดิน SS06 และSS11 พบว่ามีประชากรของจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเทียบกับเดือนที่ 2 และตัวอย่างดิน SS09.2 ยังคงมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นเทียบกับเดือนที่ 2

การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ที่มีการผสมของพาราควอทที่มีความเข้มข้นสูง พบว่า มีชนิดของจุลินทรีย์และปริมาณจุลินทรีย์ที่ลดลงอย่างต่อเนื่อง มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นคือ 1.46×10^{6} CFU/g มีลดลงเหลือ 1.29×10^{6} CFU/g ภายในระยาเวลา 3 เดือน ทั้งนี้ ทำให้พบว่ามีจุลินทรีย์ที่มีความสามารถทนต่อ พาราควอท มีดังนี้ C03 C06 C08 C10 C11 C04 C02/1 ตามลำดับ

4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในอาหารสังเคราะห์ (PMS) ในการย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

4.6.1 ความมีชีวิตและการย่อยสลายพาราควอทของจุลินทรีย์เดี่ยว 6 สายพันธุ์และจุลินทรีย์กลุ่มในอาหารสังเคราะห์ที่มีพาราควอท

การศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ ได้แก่ *Bacillus agri* (Karo_1), *Bacillus subtilis* (Karo_2), *Pseudomonas statzeri* (H1), *Providencia stuartii* (P4), *Bacillus aryabhattai* (M4), *Novosphingobium* sp. (THA_AIK7) และเชื้อจุลินทรีย์ผสมทั้ง 6 สายพันธุ์ ในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ) และพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง) ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน และนำมา Spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Nutrient Agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนโคโลนี ผลการทดลองพบว่า เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และเชื้อจุลินทรีย์ผสมสามารถเจริญเติบโตได้ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองการศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และเชื้อจุลินทรีย์ผสมในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ) พบว่าในวันที่ 0 นับจำนวนโคโลนีได้ 4.863 – 6.193 log CFU/ mL วันที่ 1 นับจำนวนโคโลนีได้ตั้งแต่ 2.74 - 5.230 log CFU/ mL วันที่ 3 นับจุลินทรีย์ได้ตั้งแต่ 2.505 - 4.954 log CFU/ mL วันที่ 5 นับจุลลินทรีย์ได้ตั้งแต่ 2.342 – 4.724 log CFU/ mL จุลินทรีย์เริ่มมีอัตราการเจริญลดลงตามลำดับในวันที่ 1 จนถึงวันที่ 7 ซึ่งมีจุลินทรีย์คงเหลืออยู่ที่ 2.176 – 4.653 log CFU/ mL (ตารางที่ 24)

จากผลการทดลองการศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และเชื้อจุลินทรีย์ผสมในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง) พบว่าในวันที่ 0 นับจำนวนโคโลนีได้ 3.756 – 5.924 log CFU/ mL วันที่ 1 นับจำนวนโคโลนีได้ตั้งแต่ 2.771 - 5.104 log CFU/ mL วันที่ 3 นับจุลินทรีย์ได้ตั้งแต่ 2.362 – 5.004 log CFU/ mL วันที่ 5 นับจุลลินทรีย์ได้ตั้งแต่ 2.380 – 4.763 log CFU/ mL จุลินทรีย์เริ่มมีอัตราการเจริญลดลงตามลำดับในวันที่ 1 จนถึงวันที่ 7 ซึ่งมีจุลินทรีย์คงเหลืออยู่ที่ 2.279 – 5.246 log CFU/ mL (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 24 ความมีชีวิตของจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และจุลินทรีย์ผสมในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ)

วัน	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/mL)						
	Karo_1	Karo_2	H1	P4	M4	THA_AIK7	จุลินทรีย์ผสม
0	4.991	4.863	6.158	6.173	5.037	4.919	6.193
1	3.130	4.193	5.230	5.253	4.029	2.740	5.225
3	3.531	4.170	4.806	4.954	3.996	2.505	4.740
5	3.602	4.107	3.591	4.623	3.973	2.342	4.724

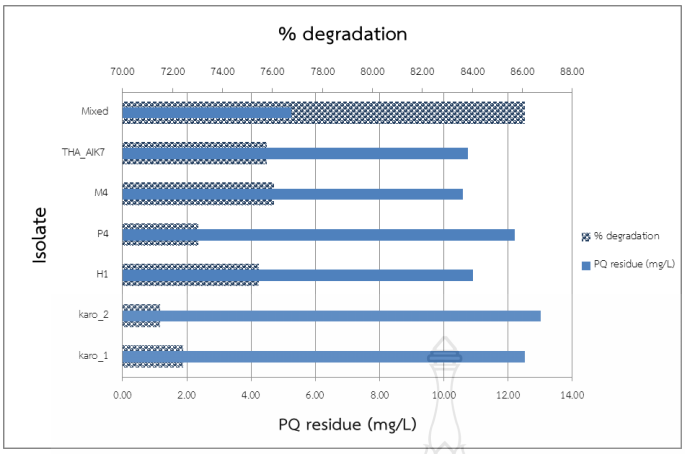
วัน	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/mL)						
	Karo_1	Karo_2	H1	P4	M4	THA_AIK7	จุลินทรีย์ผสม
7	3.477	4.049	3.519	4.491	3.820	2.176	4.653

ตารางที่ 25 ความมีชีวิตของจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และจุลินทรีย์ผสมในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง)

วัน	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/mL)						
	Karo_1	Karo_2	H1	P4	M4	THA_AIK7	จุลินทรีย์ผสม
0	4.919	4.845	5.924	5.716	5.173	3.756	5.100
1	3.260	4.246	4.898	5.250	4.708	2.771	5.104
3	3.643	4.185	4.568	5.004	4.491	2.362	4.886
5	3.505	4.033	3.756	5.260	4.000	2.380	4.763
7	2.833	3.940	3.591	5.246	3.914	2.279	4.708

จากผลการเจริญความเข้มข้นพาราควอท 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ) และความเข้มข้นพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง) พบว่าจุลินทรีย์ผสมมีแนวโน้มในการเจริญในอาหารที่มีพาราควอทได้น้อยกว่าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ ความเข้มข้นของพาราควอทที่สูงขึ้น ส่งผลให้จำนวนของจุลินทรีย์ที่เจริญได้ มีจำนวนลดลง เนื่องจากความเป็นพิษของพาราควอท

จากงานวิจัยของ Martani *et al*. (2001) [48] ทำการศึกษาอิทธิพลของเชื้อ *Rhizobium* sp. ที่มีผลในการยับยั้งพาราควอท โดยในงานวิจัยทำการศึกษาเชื้อ *Rhizobium* sp. ทั้งหมด 35 สายพันธุ์ และ *Rhizobium japonicum* ที่สามารถคัดแยกจากดิน และรากเน่าได้อีก 6 สายพันธุ์ ซึ่งทำการทดสอบโดยใช้พาราควอทที่มีความเข้มข้นที่ 0, 20, 40, 100 และ 400 ppm เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมงพบว่าเชื้อ *Rhizobium japonicum* ทั้ง 6 สายพันธุ์สามารถทนพาราควอทได้ถึง 400 ppm และเชื้อ *Rhizobium sp.* ทั้งหมด 35 สายพันธุ์สามารถทนพาราควอทได้ 20 – 40 ppm เนื่องจากเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินที่ปนเปื้อนพาราควอท และระยะเวลาในการทดลองที่สั้นกว่า จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถทนพาราควอทได้ดีกว่าเชื้อจุลินทรีย์ผสม และเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ทั้ง 6 สายพันธุ์ที่ทำการทดลองเป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 7 การย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตรของจุลินทรีย์

การศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และเชื้อจุลินทรีย์ผสมในการย่อยสลายพาราควอทในระดับการทดลองแบบฟลาสก์ โดยใช้อาหารเหลว Paraquat Mineral Salt Medium (PMS) ความเข้มข้นพาราควอท 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ) โดยเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่ใช้ในการทดลองมีจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 6 สายพันธุ์ และจุลินทรีย์ผสมของทั้ง 6 สายพันธุ์ โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ Karo_1, Karo_2, H1, P4, M4, THA_AIK7 และจุลินทรีย์ผสม ในอาหารสังเคราะห์ สูตร PMS ที่มีพาราควอทเริ่มต้นปริมาณความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน มีจุลินทรีย์คงเหลืออยู่ที่ 3.477, 4.049, 3.518, 4.491, 3.819, 2.176 และ 4.653 log CFU/ mL ตามลำดับ และสามารถย่อยสลายพาราควอทคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ 1.880, 1.171, 4.245, 4.717, 2.353, 4.481 และ 12.520 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

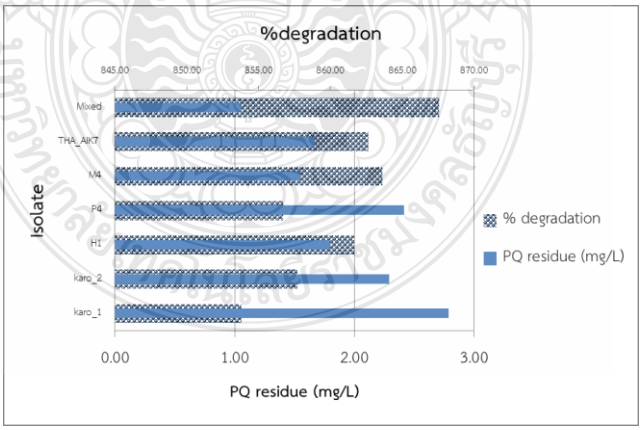
เมื่อเปรียบเทียบจากเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ทั้ง 6 สายพันธุ์ และเชื้อจุลินทรีย์ผสม พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ผสมมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายพาราควอทได้ดีที่สุด ที่สามารถย่อยสลายพาราควอทได้ดีรองลงมา ได้แก่ P4, THA_AIK7, H1, M4, Karo_1, และ Karo_2 ตามลำดับ

งานวิจัยของ ฐิตาภา (2559) [49] ทำการศึกษาการคัดแยกราที่มีความสามารถในการย่อยสลายพาราควอท ซึ่งพบว่า ราไอโซเลต *Neosartorya fischeri* (PQ 5) สามารถย่อยสลายพารา ควอทได้ประมาณ 37 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพาราควอทเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ และราไอโซเลต *Phoma* sp. (A319) สามารถย่อยสลายพาราควอทได้ 37 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพาราควอทเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ผสมในการทดลองนี้ มีความสามารถในการย่อยสลายพาราควอทที่มีความเข้มข้นสูงกว่า (0.1 เปอร์เซ็นต์ (w/v)) ได้ 72.337 เปอร์เซ็นต์แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ผสมมีความสามารถในการย่อยสลายพาราควอทได้ดีกว่รา *Neosartorya fischeri* (PQ 5) และรา *Phoma* sp. (A319) เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่นำมาใช้ในการทดลองแบคทีเรียแต่ละชนิดมีคุณสมบัติและโครงสร้างที่สามารถเปลี่ยนโครงสร้างและสลายโครงสร้างสารเคมีได้ จึงทำให้จุลินทรีย์ผสมมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายพาราควอทได้ดีกว่รา *Neosartorya fischeri* (PQ 5) และ *Phoma* sp. (A319)

ตารางที่ 26 ผลการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์เดี่ยวและจุลินทรีย์ผสมที่ย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ)

เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณพาราควอทคงเหลือ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เปอร์เซ็นต์ การย่อยสลาย (%)
Karo_1	86.099	1.88
Karo_2	86.721	1.171
H1	84.024	4.245
P4	85.684	4.717
M4	83.609	2.353
THA_AIK7	83.817	4.481
จุลินทรีย์ผสม	76.763	12.52

การศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และเชื้อจุลินทรีย์ผสมในการย่อยสลายพาราควอทในระดับการทดลองแบบฟลาสก์ โดยใช้อาหารเหลว Paraquat Mineral Salt Medium (PMS) ความเข้มข้นพาราควอท 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง) โดยเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่ใช้ในการทดลองมีเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 6 สายพันธุ์ และเชื้อจุลินทรีย์ผสมของทั้ง 6 สายพันธุ์ โดยทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ Karo 1, Karo_2, H1, P4, M4, THA_AIK7 และจุลินทรีย์ผสม ในอาหารสังเคราะห์ สูตร PMS ที่มีพาราควอทเริ่มต้นปริมาณความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน มีจุลินทรีย์คงเหลืออยู่ที่ 2.832, 3.939, 3.591, 5.245, 3.913, 2.278 และ 4.707 log CFU/ mL ตามลำดับ และสามารถย่อยสลายพาราควอทคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ 1.053, 1.526, 1.999, 2.235, 1.407, 2.117 และ 2.708 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



ภาพที่ 8 การย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตรของจุลินทรีย์

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ และเชื้อจุลินทรีย์ผสมในการย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทดสอบที่ระยะเวลาการย่อยสลายพาราควอทที่ 7 วัน พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ผสมมีประสิทธิภาพการย่อยสลายพาราควอท รองลงมา ได้แก่ P4, THA_AIK7,

H1, Karo_2, M4 และ Karo_1 ตามลำดับ ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ผสมสามารถย่อยสลายพาราควอทที่ความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ดีที่สุด

จากงานวิจัยของ มัลลิกา และคณะ (2560) [37] ที่ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายพารา ควอทโดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากรากต้นมันสำปะหลัง เพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยสลายพาราควอทที่มีความเข้มข้น 0.87 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกันไป สูตรอาหารที่ 1 ใช้พาราควอทเป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ในสูตรอาหารที่ 2 ใช้พาราควอทเป็นแหล่งคาร์บอน และสูตรที่ 3 ใช้พาราควอทเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายพาราควอทโดยกลุ่มจุลินทรีย์ในอาหารสูตรที่ 3 สามารถย่อยสลายพาราควอทได้ 91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสถิติ ($p<0.05$) และลำดับถัดมาเป็นอาหารสูตรที่ 2 สามารถย่อยสลายพาราควอทได้ 59.9 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสูตรที่ 1 สามารถย่อยสลายพาราควอทได้ 56.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากรามันสำปะหลังสามารถย่อยสลายพาราควอทได้ดี เนื่องจากมีสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายพาราควอทจึงทำให้สามารถย่อยสลายพาราควอทได้ดีกว่ากลุ่มจุลินทรีย์ผสมที่ย่อยสลายพาราควอทได้ 26.625 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 27 ผลการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์เดี่ยวและจุลินทรีย์ผสมที่ย่อยสลายพาราควอทความเข้มข้น 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง)

เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณพาราควอทคงเหลือ (มิลลิกรัมกรัมมิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย(%)
Karo_1	868.257	1.053
Karo_2	864.107	1.526
H1	859.958	1.999
P4	865.145	2.235
M4	857.883	1.407
THA_AIK7	858.921	2.117
จุลินทรีย์ผสม	853.734	2.708

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยพาราควอทของจุลินทรีย์ทั้ง 6 สายพันธุ์กับงานวิจัยของ เนาวรัตน์และสุรีย์วรรณ (2561) [50] ที่ทดสอบการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้ง 6 สายพันธุ์ในอาหารสังเคราะห์ที่เติมพาราควอท 2 ระดับ คือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นต่ำ) และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นสูง) พบว่า จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายพาราควอทได้ในช่วง 70.95-91.00 เปอร์เซ็นต์ และ 83.54 – 93.01 เปอร์เซ็นต์ ในพาราควอทความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 28) ในขณะที่งานวิจัยนี้ ใช้พาราควอทความเข้มข้นสูงขึ้น 87.75 เท่า ซึ่งเป็นระดับที่ใกล้เคียงกับอัตราส่วนที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำให้เกษตรกรใช้ในการเตรียมแปลงก่อนการเพาะปลูก (8.625 กรัมต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร) พบว่า จุลินทรีย์กลุ่ม ยังคงความสามารถในการย่อยสลายพาราควอทได้ถึง 12.52 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น จุลินทรีย์กลุ่มนี้ จึงสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงแปลงเกษตรกรรม เพื่อลดความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ในการปรับเปลี่ยนจากการทำเกษตรที่ใช้สารเคมี มาเป็นเกษตรอินทรีย์ได้

ตารางที่ 28 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายพาราควอท 87.75 mg/L กับ 1 mg/L (ความเข้มข้นต่ำ) และ 877.5 mg/L กับ 10 mg/L (ความเข้มข้นสูง)

Isolate	พาราควอทความเข้มข้นต่ำ				พาราควอทความเข้มข้นสูง			
	Log CFU	PQ residue (mg/L)	% degradation (87.75 mg/L)	% degradation (1 mg/L)*	Log CFU	PQ residue (mg/L)	% degradation (877.5 mg/L)	% degradation (10 mg/L)*
karo_1	3.477	86.10	1.88	85.47	2.833	868.26	1.05	89.41
karo_2	4.049	86.72	1.17	70.95	3.940	864.11	1.53	90.73
H1	3.519	84.02	4.25	90.31	3.591	859.96	2.00	85.89
P4	3.820	85.68	2.35	83.40	3.914	865.15	1.41	85.13
M4	4.491	83.61	4.72	86.16	5.246	857.88	2.24	85.58
THA_AIK7	2.176	83.82	4.48	86.86	2.279	858.92	2.12	83.54
Mixed	4.653	76.76	12.52	91.00	4.708	853.73	2.71	93.01

* ข้อมูลจากงานวิจัย เนาวรัตน์และสุรีย์วรรณ (2561)

4.6.2 ความมีชีวิตและการย่อยสลายพาราควอทของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ในอาหารสังเคราะห์ที่มีพาราควอท

การทดสอบความสามารถความอยู่รอดของจุลินทรีย์และปริมาณสารเคมีที่ลดลงโดยมีการผสมของพาราควอทที่มีความเข้มข้นต่ำ และความเข้มข้นสูง โดย คำนวณปริมาณสารได้จากวิธีการใช้ข้างผลิตภัณฑ์ที่มีการบรรจุพาราควอท

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 0 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C03 C04 C05 C06 C08 C09 C11 และจุลินทรีย์ผสมของทั้ง 10 สายพันธุ์ (Mix) ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้ ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อ รหัส C09 มีการปริมาณเชื้อมากที่สุดในวันที่ 0

ตารางที่ 29 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 0

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	-	-	-	-
C02/2	-	-	-	-
C03	$45x10^{-5}$	-	$45 x10^{-5}$	$4.5x10^{7}$
C04	$119 x10^{-5}$	$121 x10^{-5}$	$120 x10^{-5}$	$1.2x10^{8}$

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C05	235 $x10^{-5}$	66 $x10^{-5}$	150.5 $x10^{-5}$	$1.51x10^{8}$
C06	271 $x10^{-4}$	-	271 $x10^{-4}$	$2.71x10^{7}$
C08	69 $x10^{-3}$	123 $x10^{-3}$	96 $x10^{-3}$	$9.6x10^{5}$
C09	-	169 $x10^{-5}$	169 $x10^{-5}$	$1.69x10^{8}$
C10	-	-	-	-
C11	185 $x10^{-4}$	161 $x10^{-4}$	173 $x10^{-4}$	$1.73x10^{7}$
Mix	48 $x10^{-5}$	58 $x10^{-5}$	53 $x10^{-5}$	$5.3x10^{7}$

ตารางที่ 30 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 1

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	-	-	-	-
C02/2	-	-	-	-
C03	-	-	-	-
C04	$157x10^{-5}$	138 $x10^{-5}$	147.5 $x10^{-5}$	$1.47x10^{8}$
C05	79 $x10^{-5}$	-	79 $x10^{-5}$	$7.9x10^{7}$
C06	63 $x10^{-5}$	-	63 $x10^{-5}$	$6.3x10^{7}$
C08	134 x10	86 $x10^{-3}$	110 $x10^{-3}$	$1.1x10^{6}$
C09	-	168 $x10^{-5}$	168 $x10^{-5}$	$1.68x10^{8}$
C10	43 $x10^{-2}$	-	43 $x10^{-2}$	$4.3x10^{4}$
C11	51 $x10^{-5}$	32 $x10^{-5}$	41.5 $x10^{-5}$	$4.15x10^{7}$
Mix	36 $x10^{-5}$	132 $x10^{-5}$	84 $x10^{-5}$	$8.4x10^{7}$

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 1 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C04 C05 C06 C08 C09 C10 C11 และ Mix ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อรหัส C09 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 1 เมื่อเทียบกับผลทดลองของวันที่ 0 แต่ทั้งนี้มีจุลินทรีย์มีจำนวนที่ลดลง

ตารางที่ 31 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 3

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	-	-	-	-
C02/2	-	-	-	-
C03	-	-	-	-

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C04	-	-	-	-
C05	-	-	-	-
C06	$103x10^{-5}$	$174 x10^{-5}$	$138.5 x10^{-5}$	$1.38x10^{8}$
C08	$51 x10^{-3}$	$36 x10^{-3}$	$43.5 x10^{-3}$	$4.35x10^{5}$
C09	$171 x10^{-4}$	$103 x10^{-4}$	$137 x10^{-4}$	$1.37x10^{7}$
C10	$36 x10^{-2}$	-	$36 x10^{-2}$	$3.6x10^{4}$
C11	$79 x10^{-4}$	$86 x10^{-4}$	$82.5 x10^{-4}$	$8.25x10^{6}$
Mix	$69 x10^{-5}$	$143 x10^{-5}$	$106 x10^{-5}$	$1.06x10^{8}$

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 3 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C06 C08 C09 C10 C11 และ Mix ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อรหัส C06 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 3 เมื่อเทียบกับผลทดลองของวันที่ 1 แต่ทั้งนี้มีจุลินทรีย์มีจำนวนที่เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 32 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 5

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	-	-	-	-
C02/2	-	-	-	-
C03	-	-	-	-
C04	-	$69x10^{-5}$	$69x10^{-5}$	$6.9x10^{7}$
C05	-	-	-	-
C06	$52x10^{-5}$	-	$52x10^{-5}$	$5.2x10^{7}$
C08	-	-	-	-
C09	-	-	-	-
C10	-	-	-	-
C11	-	-	-	-
Mix	$137x10^{-4}$	$89x10^{-4}$	$113x10^{-4}$	$1.13x10^{7}$

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 5 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C04 C06 และ Mix ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อรหัส C04 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 5 เมื่อเทียบกับผลทดลองของวันที่ 3 แต่ทั้งนี้มีจุลินทรีย์มีจำนวนที่เพิ่มขึ้นโดยจุลินทรีย์ รหัส C02/1 C02/2 C03 C05 C08 C09 C10 C11 ไม่พบการรอดชีวิต

ตารางที่ 33 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 7

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	36	-	36	$3.6x10^{2}$
C02/2	-	-	-	-
C03	-	-	-	-
C04	$87x10^{-5}$	$82 x10^{-5}$	$84.5 x10^{-5}$	$8.45x10^{7}$
C05	-	-	-	-
C06	-	-	-	-
C08	-	-	-	-
C09	-	-	-	-
C10	-	-	-	-
C11	-	-	-	-
Mix	$137 x10^{-5}$	$82 x10^{-5}$	$109.5 x10^{-5}$	$1.1x10^{8}$

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 7 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C02/1 C04 และ Mix ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อรหัส C04 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 7 เมื่อเทียบกับผลทดลองของวันที่ 5 แต่ทั้งนี้มีจุลินทรีย์มีจำนวนที่เพิ่มขึ้นโดยจุลินทรีย์ รหัส C02/2 C03 C05 C06 C08 C09 C10 C11 ไม่พบการรอดชีวิต

ตารางที่ 34 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 0

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	-	-	-	-
C02/2	-	-	-	-
C03	-	-	-	-
C04	-	-	-	-
C05	-	-	-	-
C06	-	-	-	-
C08	$113x10^{-3}$	$108 x10^{-3}$	$110.5 x10^{-3}$	$1.1x10^{6}$
C09	-	-	-	-
C10	-	$31 x10^{-2}$	$31 x10^{-2}$	$3.1x10^{4}$

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C11	109 $x10^{-4}$	152 $x10^{-4}$	130.5 $x10^{-4}$	$1.3x10^{7}$
Mix	159 $x10^{-4}$	40 $x10^{-4}$	99.5 $x10^{-4}$	$9.95x10^{6}$

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 0 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C08 C10 C11 และ Mix ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ตารางที่ 35 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 1

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	-	-	-	-
C02/2	-	-	-	-
C03	-	-	-	-
C04	-	-	-	-
C05	-	-	-	-
C06	-	-	-	-
C08	167 $x10^{-2}$	157 $x10^{-2}$	162 $x10^{-2}$	$1.62x10^{5}$
C09	81 $x10^{-5}$	127 $x10^{-5}$	104 $x10^{-5}$	$1.04x10^{8}$
C10	31 $x10^{-2}$	-	31 $x10^{-2}$	$3.1x10^{4}$
C11	209 $x10^{-4}$	153 $x10^{-4}$	181 $x10^{-4}$	$1.81x10^{7}$
Mix	63 $x10^{-5}$	92 $x10^{-5}$	77.5 $x10^{-5}$	$7.75x10^{6}$

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อ รหัส C11 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 0 แต่ทั้งนี้จุลินทรีย์ รหัส C02/1 C02/2 C03 C04 C05 C06 C09 C11 ไม่พบการรอดชีวิต อาจเนื่องด้วยปริมาณพาราควอทมีความเข้มข้นที่สูงเกินไป

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 1 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C08 C09 C10 C11 และ Mix ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อ รหัส C09 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 1 เมื่อเทียบกับผลการทดลองวันที่ 0 แต่ทั้งนี้จุลินทรีย์ รหัส C02/1 C02/2 C03 C04 C05 C06 ไม่พบการรอดชีวิต อาจเนื่องด้วยปริมาณพาราควอทมีความเข้มข้นที่สูงเกินไป

ตารางที่ 36 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 3

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	-	-	-	-
C02/2	-	-	-	-
C03	-	-	-	-
C04	94 $x10^{-5}$	81 $x10^{-5}$	87.5 $x10^{-5}$	$8.75x10^{7}$
C05	-	-	-	-
C06	64 $x10^{-4}$	146 $x10^{-4}$	105 $x10^{-4}$	$1.05x10^{7}$
C08	-	37 $x10^{-4}$	37 $x10^{-4}$	$3.7x10^{6}$
C09	-	-	-	-
C10	-	-	-	-
C11	92 $x10^{-4}$	-	92 $x10^{-4}$	$9.2x10^{6}$
Mix	-	-	-	-

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 3 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C04 C06 C08 C11 และ Mix ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อรหัส C04 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 3 เมื่อเทียบกับผลการทดลองวันที่ 1 แต่ทั้งนี้จุลินทรีย์ รหัส C02/1 C02/2 C03 C05 C09 C10 ไม่พบการรอดชีวิต อาจเนื่องด้วยปริมาณพาราควอทมีความเข้มข้นที่สูงเกินไป

ตารางที่ 37 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 5

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	-	-	-	-
C02/2	-	-	-	-
C03	-	-	-	-
C04	-	-	-	-
C05	32 $x10^{-4}$	81 $x10^{-4}$	56.5 $x10^{-4}$	$5.65x10^{6}$
C06	-	-	-	-
C08	-	-	-	-
C09	-	-	-	-
C10	-	-	-	-
C11	-	-	-	-
Mix	-	-	-	-

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 5 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C05 ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อรหัส C05 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 5 เมื่อเทียบกับผลการทดลองวันที่ 3 แต่ทั้งนี้จุลินทรีย์ รหัส C02/1 C02/2 C03 C04 C06 C08 C09 C10 C11 และ Mix ไม่พบการรอดชีวิต

ตารางที่ 38 จำนวนโคโลนีที่พบใน PMS ที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 7

รหัส	Spread plate			CFU/ml
	ซ้ำ 1	ซ้ำ2	ค่าเฉลี่ย	
C02/1	101×10^{-1}	117×10^{-1}	109×10^{-1}	1.09×10^{4}
C02/2	39	-	39	39×10^{2}
C03	-	-	-	-
C04	67×10^{-3}	57×10^{-3}	62×10^{-3}	6.2×10^{5}
C05	-	-	-	-
C06	-	-	-	-
C08	-	-	-	-
C09	-	-	-	-
C10	-	-	-	-
C11	-	36×10^{-4}	36×10^{-4}	3.6×10^{6}
Mix	-	-	-	-

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 7 พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญหรือมีการใช้พาราควอทเป็นเหล่งอาหารคือ C02/1 C02/2 C04 C11 ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร PMS ได้

ผลการทดลองการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอท ในชุดการทดลองพบว่าเชื้อรหัส C11 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดในวันที่ 5 เมื่อเทียบกับผลการทดลองวันที่ 3 แต่ทั้งนี้จุลินทรีย์ รหัส C03 C05 C06 C08 C09 C10 และ Mix ไม่พบการรอดชีวิต

ตารางที่ 39 ความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายพาราควอทในอาหารที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำเป็นเวลา 7 วัน

รหัส	ปริมาณพาราควอทคงเหลือ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
	0	1	3	5	7
C02/1	0.069	0.073	0.078	0.077	0.081
C02/2	0.088	0.077	0.084	0.083	0.088
C03	0.084	0.081	0.077	0.078	0.083

รหัส	ปริมาณพาราควอทคงเหลือ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
	0	1	3	5	7
C04	0.081	0.074	0.075	0.077	0.084
C05	0.079	0.071	0.074	0.076	0.076
C06	0.076	0.079	0.086	0.081	0.077
C08	0.077	0.080	0.082	0.079	0.078
C09	0.075	0.079	0.084	0.078	0.080
C10	0.085	0.080	0.088	0.079	0.078
C11	0.079	0.073	0.078	0.077	0.076
Mix	0.084	0.092	0.092	0.094	0.095

จากผลการทดลองการศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ วันที่ 0 1 3 5 และวันที่ 7 พบว่ามีปริมาณพาราควอทที่เพิ่มขึ้นจาก 0.084 เป็น 0.095 คิดเป็น 0.0001 เปอร์เซ็นต์ (Mix) หรือไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ผลการทดลองการคงอยู่ของปริมาณพาราควอททั้งหมด 7 วัน มีการลดลงของปริมาณพาราควอทที่ลดลงมากที่สุดคือ รหัส C05 และ C10

ตารางที่ 40 ความสามารถของจุลินทรีย์ที่มีการย่อยสลายพาราควอทในอาหารที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เป็นเวลา 7 วัน

รหัส	ปริมาณพาราควอทคงเหลือ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
	0	1	3	5	7
C02/1	0.750	0.739	0.798	0.817	0.867
C02/2	0.802	0.602	0.788	0.880	0.830
C03	0.769	0.694	0.797	0.812	0.845
C04	0.858	0.841	0.791	0.817	0.846
C05	0.758	0.734	0.766	0.816	0.828
C06	0.786	0.908	0.853	0.819	0.776
C08	0.807	0.930	0.950	0.790	0.845
C09	0.787	0.810	0.757	0.819	0.845
C10	0.774	0.879	0.964	0.804	0.887
C11	0.654	0.739	0.798	0.817	0.706
Mix	0.870	0.905	0.889	0.873	0.842

จากผลการทดลองการศึกษา การอยู่รอดของจุลินทรีย์ที่มีการเติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง วันที่ 0 1 3 5 และวันที่ 7 พบว่ามีปริมาณพาราควอทที่ลดลงจาก 0.870 เป็น 0.842 คิดเป็น 0.007 เปอร์เซ็นต์ (Mix) หรือ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณพาราควอททั้งหมด 7 วัน พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณพาราควอทมากที่สุดคือ รหัส C02/1 และ C04 อย่างไรก็ตาม ผลการตรวจวิเคราะห์พาราควอทที่พบว่ามีค่าของพาราควอทเพิ่มสูงขึ้น อาจเนื่องมาจากปริมาณพาราควอทในตัวอย่างวันที่ 0-7 มีปริมาณไม่แตกต่างกันมาก เมื่อนำตัวอย่างมาเจือจางและทดสอบด้วยวิธีทางสเปคโตรโฟโตเมตรี ทำให้ค่าที่วิเคราะห์มีความผิดพลาดได้สูง นอกจากนั้น จุลินทรีย์กลุ่มซึ่งมีการนำจุลินทรีย์เดี่ยว 10 สายพันธุ์มาเลี้ยงร่วมกัน กลับให้ผลการรอดชีวิตและการย่อยสลายพาราควอทได้น้อยกว่าจุลินทรีย์เดี่ยว อาจเนื่องจากการยับยั้งกันเองของจุลินทรีย์ เนื่องจากไม่ได้มีการทดสอบความสามารถในการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์แต่ละชุด ก่อนนำมาเลี้ยงร่วมกันทั้ง 10 สายพันธุ์

4.7 การวิเคราะห์สารเคมีในดิน

ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล เปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มด้วยเครื่อง GC-MS คอลัมน์ DB-5 จากการวิเคราะห์พบว่า สามารถวิเคราะห์สารเคมีที่ปนเปื้อนในดินด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มได้มากกว่าตัวทำละลายเมทานอล เนื่องจากสารเคมีส่วนใหญ่ที่เกษตรกรใช้เป็นกลุ่มสารละลายไม่มีขั้ว แสดงได้ดังตารางที่ 41 และ 42

ตารางที่ 41 กลุ่มของสารเคมีที่พบในดิน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ด้วยเครื่อง GC-MS

ชื่อสามัญ	สูตรเคมี	ชื่อ IUPAC	แหล่งที่มา
Isophorone	$C_9H_{14}O$	3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexen-1-one	พบได้ตามธรรมชาติ
Methyl palmitate	$C_{17}H_{34}O_2$	methyl hexadecanoate	น้ำบาดาล
Farnesyl bromide	$C_{15}H_{25}Br$	1-bromo-3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-triene	-
2,4-Di-tert-butylphenol	$C_{14}H_{22}O$	2,4-ditert-butylphenol	การผลิตสารเคมีทั่วไป
Maltol	$C_6H_6O_3$	3-hydroxy-2-methylpyran-4-one	การผลิตสารเคมีทั่วไป
Diethylene glycol monododecyl ether	$C_{16}H_{34}O_3$	2-(2-dodecoxyethoxy)ethanol	การผลิตสารเคมีทั่วไป
Allyl(dimethyl) silanol	$C_5H_{12}OSi$	hydroxy-dimethyl-prop-2-enylsilane	-
Hexamethylcyclotrisiloxane	$C_6H_{18}O_3Si_3$	2,2,4,4,6,6-hexamethyl-1,3,5,2,4,6-trioxatrisilinane	การผลิตสารเคมีทั่วไป

ที่มา: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

ตารางที่ 42 กลุ่มของสารเคมีที่พบในดิน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ด้วยเครื่อง GC-MS

ชื่อสามัญ	สูตรเคมี	ชื่อ IUPAC	แหล่งที่มา
Methyl palmitate	$C_{17}H_{34}O_2$	methyl hexadecanoate	น้ำบาดาล
Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-	$C_{14}H_{34}Si_2$	trimethyl(8-trimethylsilyloctyl)silane	-
Methyl oleate	$C_{19}H_{36}O_2$	methyl (Z)-octadec-9-enoate	สารเคมีทางการเกษตร (ที่ไม่ใช่ยาฆ่าแมลง)
Methyl linoleate	$C_{19}H_{34}O_2$	methyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate	การผลิตสารเคมีทั่วไป
Hexadecane	$C_{16}H_{34}$	Hexadecane	สารกำจัดศัตรูพืช
Methyl triacontanoate	$C_{31}H_{62}O_2$	methyl triacontanoate	-
4,6-Dimethyldodecane	$C_{14}H_{30}$	4,6-dimethyldodecane	-
Methyl heneicosanoate	$C_{22}H_{44}O_2$	methyl henicosanoate	-

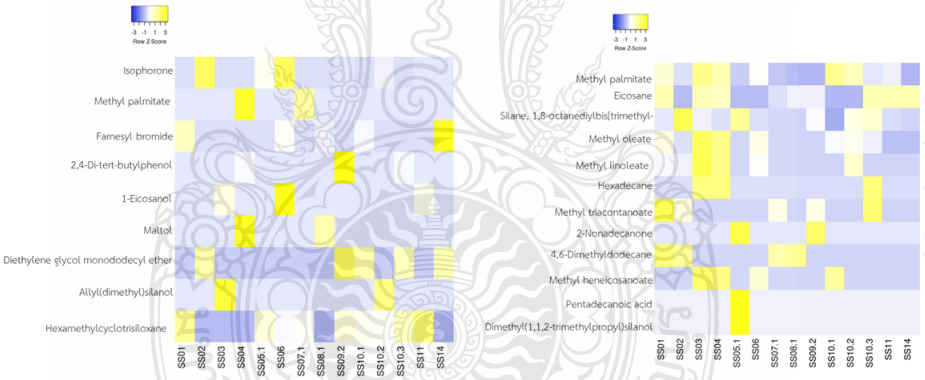
ที่มา: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายเมทานอลด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในตัวอย่างดิน 14 แหล่ง มีการปนเปื้อนของสาร Isophorone, Methyl palmitate, Farnesyl bromide, 2,4-Di-tert-butylphenol, 1-Eicosanol, Maltol, Diethylene glycol monododecyl ether, Allyl(dimethyl)silanol, Hexamethylcyclotrisiloxane อยู่ในปริมาณมากในแต่ละตัวอย่าง เนื่องจากสารละลายได้ดึงสารเคมีปนเปื้อนออกมาจากตัวอย่างดิน

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายคลอโรฟอร์มด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในตัวอย่างดิน 14 แหล่ง มีการปนเปื้อนของสาร Methyl palmitate, Eicosane, Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-, Methyl oleate, Methyl linoleate, Hexadecane, Methyl triacontanoate, 4,6-Dimethyldodecane, Methyl heneicosanoate, Pentadecanoic acid, Dimethyl(1,1,2-trimethylpropyl)silanol อยู่ในปริมาณมากในแต่ละตัวอย่าง เนื่องจากสารละลายได้ดึงสารเคมีปนเปื้อนออกมาจากตัวอย่างดินได้มากกว่าสารละลายเมทานอล เพราะว่าสารเคมีที่เกษตรกรใช้ส่วนใหญ่เป็นสารเคมีที่ไม่มีขั้วจึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ดังแสดงในตารางที่ 43 และภาพที่ 9

ตารางที่ 43 ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 14 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ	สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ
Isophorone	104512	Methyl palmitate	10817962
Methyl palmitate	204981	Eicosane	1905658
Farnesyl bromide	245348	Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-	3444003
2,4-Di-tert-butylphenol	925769	Methyl oleate	13989342
1-Eicosanol	280022	Methyl linoleate	5120917
Maltol	104512	Hexadecane	1186438
Diethylene glycol monododecyl ether	74724	Methyl triacontanoate	2338926
Allyl(dimethyl)silanol	85540	4,6-Dimethyldodecane	602496
Hexamethylcyclotrisiloxane	141505	Methyl heneicosanoate	990920
-	-	Pentadecanoic acid	493807
-	-	Dimethyl(1,1,2trimethylpropyl)silanol	2529663



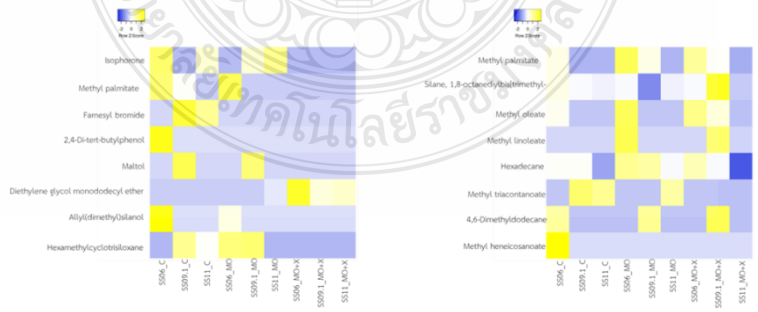
ภาพที่ 9 ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดิน 14 ตัวอย่าง ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (ขวา)

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายเมทานอลด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือน 0 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Farnesyl bromide, 2,4-Di-tert-butylphenol, Maltol, Diethylene glycol monododecyl ether, Allyl(dimethyl)silanol อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์ พบว่าการปนเปื้อนของสาร Maltol , Allyl(dimethyl)silanol ยังคงอยู่แต่มีปริมาณลดลง ในขณะที่สาร Farnesyl bromide, 2,4-Di-tert-butylphenol ได้หายไปในชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมี เนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี หรือเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายคลอโรฟอร์มด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือน 0 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Methyl triacontanoate, 4,6-Dimethyldodecane, Methyl heneicosanoate อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าการปนเปื้อนของสาร Methyl triacontanoate, 4,6-Dimethyldodecane ยังคงอยู่แต่มีปริมาณลดลง ในขณะที่สาร Methyl heneicosanoate ได้หายไปในชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมี เนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี หรือเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้ ดังแสดงในตารางที่ 44 และภาพที่ 10

ตารางที่ 44 ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 3 ตัวอย่าง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 0 ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ	สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ
Isophorone	79367	Methyl palmitate	1804612
Methyl palmitate	271580	Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-	1921556
Farnesyl bromide	70991	Methyl oleate	1594916
2,4-Di-tert-butylphenol	50607	Methyl linoleate	549641
Maltol	33499	Hexadecane	524879
Diethylene glycol monododecyl ether	115648	Methyl triacontanoate	337800
Allyl(dimethyl)silanol	881852	4,6-Dimethyldodecane	716264
Hexamethylcyclotrisiloxane	83076	Methyl heneicosanoate	452985



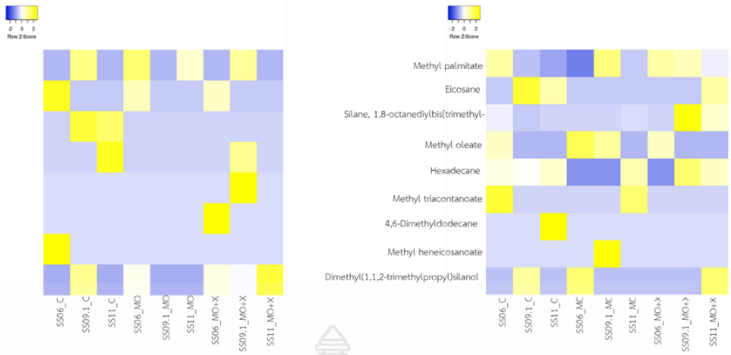
ภาพที่ 10 ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินตัวอย่าง 3 แหล่ง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 0 ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (ขวา)

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายเมทานอลด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือน 1 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Farnesyl bromide, 2,4-Di-tert-butylphenol, Maltol, Allyl(dimethyl)silanol อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าสาร Farnesyl bromide, 2,4-Di-tert-butylphenol, Maltol, Allyl(dimethyl)silanol ได้หายไป เนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี หรือเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้ และในชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมี พบว่า Isophorone และ 2,4-Di-tert-butylphenol ยังคงอยู่แต่มีปริมาณลดลง

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายคลอโรฟอร์มด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือน 1 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Eicosane, Methyl triacontanoate, 4,6-Dimethyldodecane อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าสาร Methyl triacontanoate ยังคงอยู่แต่มีปริมาณสารที่ลดลง ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมีพบว่าสาร Eicosane, Methyl triacontanoate, 4,6-Dimethyldodecane ได้หายไปเนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี หรือเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้ ดังแสดงในตารางที่ 45 และภาพที่ 11

ตารางที่ 45 ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 3 ตัวอย่าง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 1 ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ	สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ
Isophorone	104512	Methyl palmitate	1766958
Methyl palmitate	204981	Eicosane	545911
Farnesyl bromide	245348	Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-	1558136
2,4-Di-tert-butylphenol	925769	Methyl oleate	825162
Maltol	104512	Methyl linoleate	655217
Diethylene glycol monododecyl ether	74724	Hexadecane	375069
Allyl(dimethyl)silanol	85540	Methyl triacontanoate	287523
Hexamethylcyclotrisiloxane	141505	4,6-Dimethyldodecane	320409
-	-	Methyl heneicosanoate	612614
-	-	Pentadecanoic acid	440019
-	-	Dimethyl(1,1,2-trimethylpropyl)silanol	342892



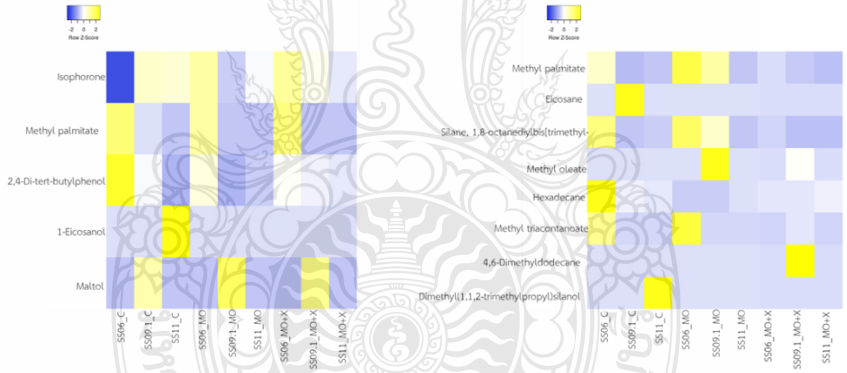
ภาพที่ 11 ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินตัวอย่าง 3 แหล่ง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 1 ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (ขวา)

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายเมทานอลด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือน 2 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Methyl palmitate, 2,4-Di-tert-butylphenol, 1-Eicosanol, Maltol อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าสาร Methyl palmitate, 2,4-Di-tert-butylphenol, Maltol ยังคงอยู่แต่มีปริมาณสารที่ลดลงและสาร 1-Eicosanol ได้หายไปเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้ ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมีพบว่าสาร Maltol ยังคงอยู่ในตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อน และสาร Methyl palmitate, 2,4-Di-tert-butylphenol, 1-Eicosanol ได้หายไปเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้ หรือเนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายคลอโรฟอร์มด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือน 2 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Eicosane , Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-, adecane, Methyl triacontanoate, Dimethyl(1,1,2-trimethylpropyl)silanol อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าสาร Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-, Methyl triacontanoate ยังคงอยู่แต่มีปริมาณสารที่ลดลง ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมีพบว่าสาร Eicosane, Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-, Hexadecane, Methyl triacontanoate, Dimethyl(1,1,2-trimethylpropyl)silanol ได้หายไปเนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี หรือเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้ ดังแสดงในตารางที่ 46 และภาพที่ 12

ตารางที่ 46 ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 3 ตัวอย่าง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 2 ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ	สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ
Isophorone	39596	Methyl palmitate	5371188
Methyl palmitate	126802	Eicosane	207446
2,4-Di-tert-butylphenol	70448	Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-	4619843
Maltol	38589	Methyl oleate	1335862
1-Eicosanol	34021	Hexadecane	2184064
Maltol	25873	Methyl triacontanoate	1739570
-	-	4,6-Dimethyldodecane	124095
-	-	Dimethyl(1,1,2-trimethylpropyl)silanol	301948



ภาพที่ 12 ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินตัวอย่าง 3 แหล่ง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 2 ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (ขวา)

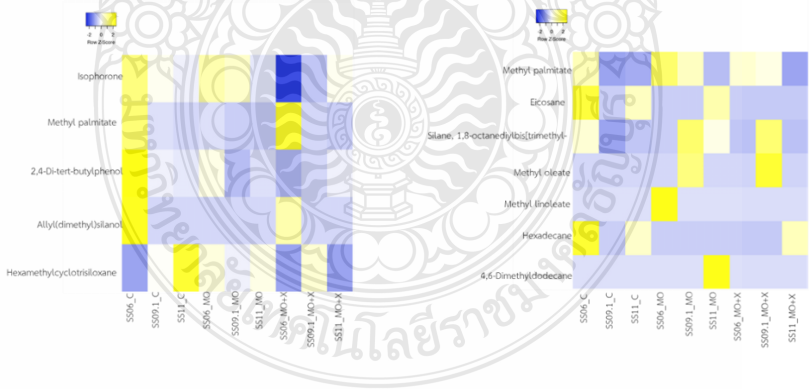
จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายเมทานอลด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือน 3 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Isophorone , Methyl palmitate, 2,4-Di-tert-butylphenol , Allyl(dimethyl)silanol อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าสาร Isophorone , Methyl palmitate, 2,4-Di-tert-butylphenol , Allyl(dimethyl)silanol ยังคงอยู่แต่มีปริมาณสารที่ลดลงและสาร ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมีพบว่าสาร Isophorone , 2,4-Di-tert-butylphenol ยังคงอยู่ในตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนแต่มีปริมาณสารลดลง

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายคลอโรฟอร์มด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือนที่ 3 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของ

สาร Eicosane, Hexadecane อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าสาร Eicosane, Hexadecane ยังคงอยู่แต่มีปริมาณสารที่ลดลง ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมีพบว่า Eicosane, Hexadecan ได้หายไปเนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี หรือเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้ ดังแสดงในตารางที่ 47 และภาพที่ 13

ตารางที่ 47 ค่าพื้นที่ใต้กราฟปริมาณของสารเคมีจากดิน 3 ตัวอย่าง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 3 ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ	สารเคมีที่พบจากดินที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ
Isophorone	79367	Methyl palmitate	1801003
Methyl palmitate	271580	Eicosane	438546
Farnesyl bromide	70991	Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl-	1907710
2,4-Di-tert-butylphenol	50607	Methyl oleate	746707
Maltol	33499	Methyl linoleate	450464
Diethylene glycol monododecyl ether	115648	Hexadecane	587747
Allyl(dimethyl)silanol	881852	4,6-Dimethyldodecane	219673
Hexamethylcyclotrisiloxane	83076	-	-



ภาพที่ 13 ผลการวิเคราะห์สารเคมีในดินตัวอย่าง 3 แหล่ง 3 ชุดควบคุม เดือนที่ 3 ในรูปของ Heatmap ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ซ้าย) สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (ขวา)

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายเมทานอลด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือนที่ 0 ถึงเดือนที่ 3 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Farnesyl bromide, 2,4-Di-tert-butylphenol, Maltol, Allyl(dimethyl)silanol, Methyl palmitate, 1-Eicosanol อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าสารเคมีปนเปื้อนบางตัวยังอยู่ในตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนแต่มีปริมาณสารเคมีที่ลดลง

และในชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมีพบว่าสาร Maltol , Diethylene glycol monododecyl ether, Farnesyl bromide ได้หายไปในชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมี เนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี หรือเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้

จากผลการวิเคราะห์สารเคมีปนเปื้อนในสารละลายคลอโรฟอร์มด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) พบว่าในเดือนที่ 0 ถึงเดือนที่ 3 ดินชุดควบคุมมีการปนเปื้อนของสาร Methyl triacontanoate , 4,6-Dimethyldodecane , Methyl heneicosanoate , Eicosane , Hexadecane , Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl- , Dimethyl(1,1,2-trimethylpropyl)silanol อยู่ในปริมาณมาก ชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์พบว่าสารเคมีปนเปื้อนบางตัวยังอยู่ในตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนแต่มีปริมาณสารเคมีที่ลดลง และในชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมีพบว่าสาร Methyl triacontanoate , Eicosane ได้หายไปในชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์และเติมสารเคมี เนื่องจากการระเหยที่ความร้อนสูงและครึ่งชีวิตของสารเคมี หรือเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมสามารถบำบัดสารเคมีปนเปื้อนในดินได้

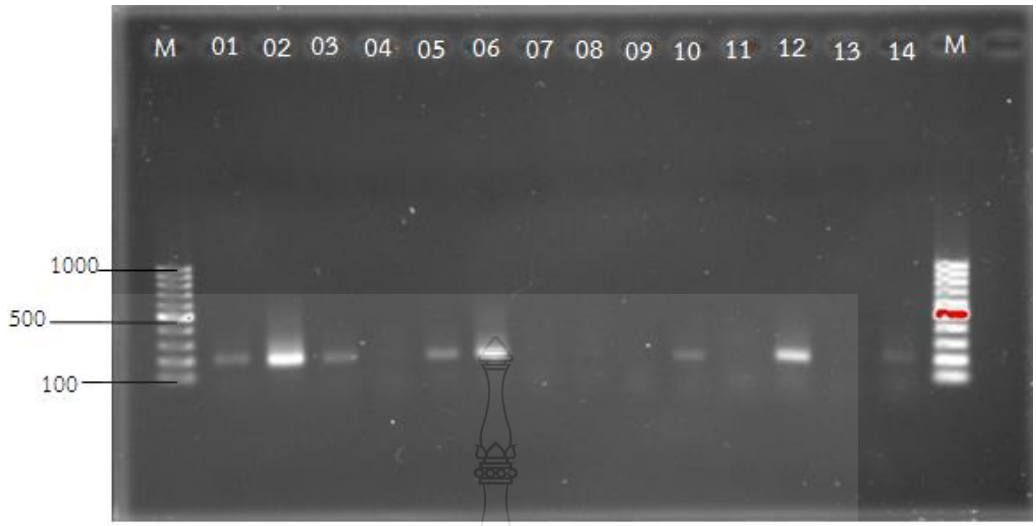
จากข้อมูลที่กล่าวมากข้างต้นคาดการว่าสาเหตุที่ทำให้การวิเคราะห์สารเคมีในดินด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GCMS) ไม่พบสารเคมีพาราควอท อาจเป็นเพราะปริมาณดินที่นำมาสกัดเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาสารเคมีด้วยเครื่อง GC-MS ใช้ปริมาณน้อยเกินไป รวมถึงวิธีการสกัดสารเคมีออกจากดิน เพราะห้องปฏิบัติการกลางใช้ตัวอย่างดินปริมาณ 1 กิโลกรัม ในการวิเคราะห์หาสารเคมีพาราควอท ซึ่งในการทดลองเราใช้ตัวอย่างดินเพียง 100 กรัมเท่านั้น อาจทำให้สารเคมีพาราควอทที่สกัดออกมาได้มีปริมาณน้อยเกินไป จึงทำให้เครื่อง GC-MS ตรวจวิเคราะห์ไม่พบ โดยผลจากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินจากห้องปฏิบัติการกลาง (ภาคผนวก ค) ดินตัวอย่างรหัส SS06 พบสารเคมีพาราควอทปริมาณ 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดินตัวอย่างรหัส SS09.1 SS06 พบสารเคมีพาราควอทปริมาณ 4.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และดินตัวอย่างรหัส SS11ซึ่งเป็นดินจากแปลงเกษตรอินทรีย์ ตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารเคมีพาราควอท

4.8 การวิเคราะห์จุลินทรีย์ในดิน

นำดิน 14 ตัวอย่าง กับดิน 3 ตัวอย่าง ที่มีการทดสอบการเติมจุลินทรีย์ร่วมกับการเติมสารเคมี (เก็บตัวอย่างทุกๆ 1 เดือนเป็นเวลา 3 เดือน) มาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอ วัดค่าความบริสุทธิ์ของดีเอนเอด้วยนาโนดรอป นำไปเพิ่มปริมาณดีเอนเอด้วย PCR และวิเคราะห์จุลินทรีย์ในดินด้วยเทคนิค DGGE

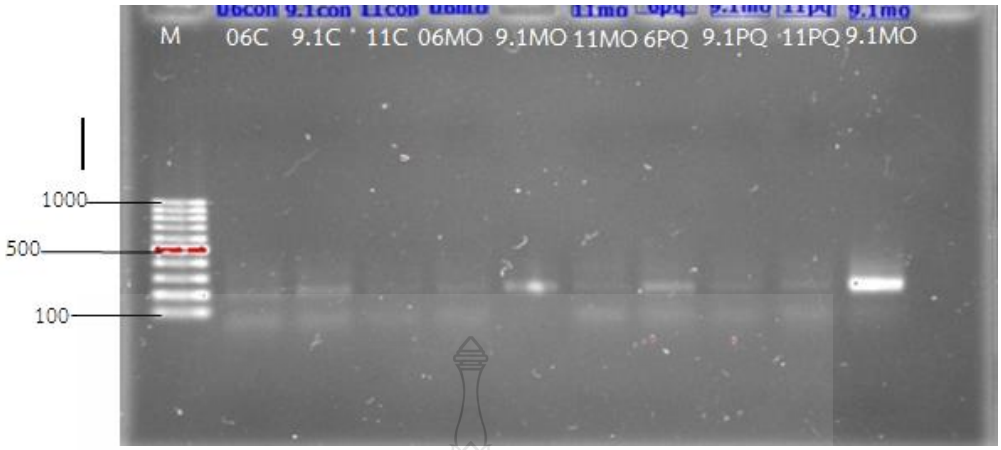
4.8.1 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)

นำดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณ โดยใช้ไพรเมอร์ Primer 338F-GC กับ Primer 518R ที่จำเพาะกับยีน 16s rRNA โดยทำปฏิกิริยาในปริมาตร 25 ไมโครลิตร จากนั้นนำผลจากปฏิกิริยา PCR มาทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยใช้ agarose gel ที่มีความเข้มข้น 1. 2 % ย้อมด้วยเอทธิเดียมโบรไมด์พบว่ามีผลผลิตของพีซีอาร์ (PCR product) ขนาด 180 bp ดังแสดงในภาพที่ 14-17



ภาพที่ 14 ผล Gel Electrophoresis ของ PCR Product ดิน 14 ตัวอย่าง
หมายเหตุ: M = DNA marker 1 kb, 1-14 = ดีเอ็นเอของตัวอย่าง

ภาพที่ 15 ผล Gel Electrophoresis ของ PCR product เชื้อจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์ (C2-1, C2-2, C3, C4, C5, C6, C8, C9, C10 และC11) และกลุ่มจุลินทรีย์ (mix) ที่คัดแยกจากดิน 14 ตัวอย่าง
หมายเหตุ: M = DNA marker 1 kb



ภาพที่ 16 ผลการวิเคราะห์ด้วย Gel Electrophoresis ของดินตัวอย่าง 3 ชุดการทดลอง เดือนที่ 0
หมายเหตุ: M = DNA marker 1 kb
เรียงจาก 6C 9.1C 11C 6MO 9.1MO 11MO 6X 9.1X และ11X ตามลำดับในแต่ละเดือน

ภาพที่ 17 ผลการวิเคราะห์ด้วย Gel Electrophoresis ของดินตัวอย่าง 3 ชุดการทดลอง เดือนที่ 3
หมายเหตุ: M = DNA marker 1 kb
เรียงจาก 6C 9.1C 11C 6MO 9.1MO 11MO 6X 9.1X และ11X ตามลำดับในแต่ละเดือน

ภาพที่ 16-17 C = ดินชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์และสารเคมี
MO = ดินที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์
X = ดินที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมีทางการเกษตร

4.8.2 การวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Denaturing. Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

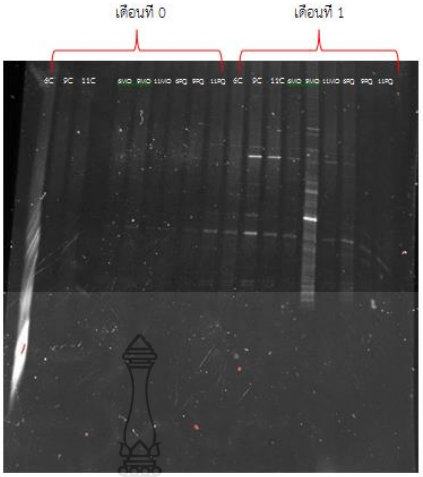
นำ PCR product ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ 6X loading dye 1 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE โดยโหลดตัวอย่างลง 8% acrylamide gel ใน 1X TAE buffer อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ด้วยกำลังไฟ 80V เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นย้อมด้วย SYBR gold นำไปส่องภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลต เพื่อดูความหลากหลายของจุลินทรีย์ จากนั้นนำแถบดีเอ็นเอที่สนใจส่งวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ในดิน 14 ตัวอย่างที่เก็บจากแปลงเกษตร ในตัวอย่างที่ 2 3 7 11 และ 12 พบความหลากหลายของจุลินทรีย์มาก จึงเลือกตัดแถบดีเอ็นเอสีเข้มในตัวอย่างที่ 2 3 7 และ12 ดังภาพที่ 18 ส่งวิเคราะห์หาสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Dechloromonas aromatica* RCB, *Pseudomonas* sp. UW4, *Pseudomonas syringae* B728a, *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 , *Nitrosomonas* sp. AL2 1 2 , *Bacillus subtilis* No.6 6 , *Agrobacterium* sp. H1 3 -3 , *Enterobacter* sp. OM1 และ *Sphingobacterium* sp. 21 (ตารางที่ 48) โดยจุลินทรีย์ที่วิเคราะห์ได้จากการตัดแถบดีเอนเอใน DGGE มีความแตกต่างกันกับจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดิน 9 สายพันธุ์ (ยกเว้น *Bacillus subtilis*) อาจเนื่องจากหลายสาเหตุ เช่น สภาวะในการเพาะเลี้ยง ทั้งอาหาร อุณหภูมิ และปัจจัยอื่นๆ ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และสายพันธุ์ที่คัดแยกได้ไม่ใช่กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีจำนวนประชากรจำนวนมากในดิน ทำให้การเลือกตัดแถบดีเอนเอซึ่งเลือกตัดแถบที่มีความหนา ไม่ตรงกับสายพันธุ์ที่คัดแยกได้ทั้ง 9 สายพันธุ์ จึงทำให้ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์จากทั้ง 2 การทดลอง มีความแตกต่างกัน

ภาพที่ 18 ผล DGGE ของดิน 14 ตัวอย่าง พร้อมตำแหน่งตัดแถบดีเอ็นเอส่งวิเคราะห์

ตารางที่ 48 ผลการวิเคราะห์สายพันธุ์จุลินทรีย์ของแถบดีเอนเอ ในดิน 14 ตัวอย่าง

ตำแหน่งตัด	สายพันธุ์แบคทีเรีย	% ความเหมือน
11	*Dechloromonas aromatica* RCB	97 %
2.1, 2.3	*Pseudomonas* sp. UW4	99 %
5.3	*Pseudomonas syringae* B728a	98 %
6.4	*Pseudomonas fluorescens* Pf0-1	96 %
7.2, 7.5	*Nitrosomonas* sp. AL212	99 %
8.1	*Bacillus subtilis* No.66	93 %
8.2	*Agrobacterium* sp. H13-3	94 %
9.2	*Enterobacter* sp. OM1	96 %
10.3	*Sphingobacterium* sp. 21	94 %

การวิเคราะห์จุลินทรีย์ในดินที่มีการเติมสารเคมี โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด ได้แก่ ดินชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์และสารเคมี (C) ดินที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์ (MO) และดินที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมีทางการเกษตร (X) โดยใช้ดินจากแปลง 3 แปลง ได้แก่ SS06 SS09.1 และ SS11 พบว่า ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดินสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์สารเคมีด้วย GC-MS เมื่อปริมาณของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น (ซึ่งเห็นได้จากจำนวนแถบและความหนาของแถบดีเอนเอที่เพิ่มขึ้น) สารเคมีที่วิเคราะห์ได้จากดิน มีจำนวนชนิดและค่าพื้นที่ใต้กราฟลดลง แสดงให้เห็นถึงชนิดและปริมาณของสารเคมีที่มีค่าลดลง โดยแถบดีเอ็นเอที่มีความเข้มมาก แสดงถึงประชากรจุลินทรีย์ที่มีมากในดินทั้ง 14 ตัวอย่าง ซึ่งดินในเดือนที่ 2 และ 3 มีจำนวนแถบของดีเอนเอมากกว่าในเดือนที่ 0 และ 1 แสดงให้เห็นว่า จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 19 และ 20) นอกจากนั้น ในดินที่มีการเติมจุลินทรีย์และสารเคมี (X) มีความหลากหลายของแถบดีเอนเอมากกว่าในดินชุดควบคุมและดินที่มีการเติมเฉพาะจุลินทรีย์อย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์ ที่คัดแยกจากดิน 14 ตัวอย่าง ซึ่งเติมลงไปในดิน 3 ตัวอย่าง สามารถย่อยสารเคมีหรือใช้สารเคมีในการเจริญได้



ภาพที่ 19 ผล DGGE ของดินที่แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด เดือนที่ 0 กับ เดือนที่ 1
หมายเหตุ: เรียงจาก 6C 9.1C 11C 6MO 9.1MO 11MO 6X 9.1X และ11X ตามลำดับในแต่ละเดือน
C = ดินชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์และสารเคมี
MO = ดินที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์
X = ดินที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมีทางการเกษตร

ภาพที่ 20 ผล DGGE ของดินที่แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด เดือนที่ 2 กับ เดือนที่ 3
หมายเหตุ: เรียงจาก 6C 9.1C 11C 6MO 9.1MO 11MO 6X 9.1X และ 11X ตามลำดับในแต่ละเดือน
C = ดินชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์และสารเคมี
MO = ดินที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ 10 สายพันธุ์
X = ดินที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมีทางการเกษตร

การวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดินด้วยเทคนิค DGGE ร่วมกับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารเคมี (พื้นที่ใต้กราฟ) ด้วยเทคนิค GC-MS แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของสารเคมีที่มีต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ในดิน นอกจากนั้น การเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ในดินที่สัมพันธ์กับชนิดและปริมาณของสารเคมีที่ลดลง แสดงให้เห็นถึง ความสามารถในการย่อยสลายหรือการนำสารเคมีไปใช้จุลินทรีย์ 6 ชนิด (*Novosphingobium* sp. THA_AIK7 , *Brevibacillus agri* Karo_1 , *Pseudomonas stutzeri* H1 , *Providencia stuartii* P4 , *Bacillus subtilis* Karo_2 , *Bacillus aryabhattai* M4) มีรายงานการย่อยสลายสารเคมี หรือทนต่อสารเคมี หรือดูดซับสารเคมีที่ย่อยสลายได้ยากหลายชนิด ดังนี้ *Novosphingobium* sp. ย่อยสลาย polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), carbofuran, polychlorophenol และ carbazole (Ishihara *et al*., 2008; Yan *et al*., 2007; Yuan *et al*., 2009 and Tiirola *et al*., 2005) [51-54] *Brevibacillus agri* ใช้ hydrocarbon หลายชนิด เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ เช่น n-Pentanol, n-butanol, cyclohexane, n-hexane (Kongpol *et al*., 2009) [55] *Pseudomonas stutzeri* ดูดซับแคดเมียมและย่อยสลาย Naphthalene (Halder and Basu, 2016; Feijoo-Siota *et al*., 2008) [56-57] *Providencia stuartii* ย่อยสลาย Chlorpyrifos และทนต่อนิเกิล (Rani *et al*., 2008; Alboghobeish *et al*., 2014) [58-59] *Bacillus subtilis* ทนต่อ Cypermethrin และย่อยสลาย glyphosate (Radhika and Kannahi, 2014; Yu *et al*., 2015) [60-61] และ *Bacillus aryabhattai* สามารถเปลี่ยนโครงสร้างของ arsenic (Singh *et al*., 2016) [62] ดังนั้น การนำเอาจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ ร่วมกับจุลินทรีย์อีก 6 สายพันธุ์ดังกล่าว ไปใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อปรับปรุงพื้นที่การเกษตรกรรม ในการลดสารเคมีตกค้างในแปลง จะทำให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น รวมถึงเกษตรกรยังสามารถที่จะปรับเปลี่ยนจากการทำเกษตรสารเคมีไปทำการเกษตรอินทรีย์ได้เร็วขึ้นอีกด้วย

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณแปลงเกษตร ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี จำนวน 14 ตัวอย่าง พบว่า พืชที่มีการเพาะปลูกมากได้แก่ ข้าว ตะไคร้ และกล้วย ดินมีลักษณะเป็นดินเหนียว เกษตรกรส่วนใหญ่ยังคงใช้สารเคมีในการทำการเกษตรกรรม เมื่อนำดินจากแปลงเกษตร กรรมมาคัดแยกจุลินทรีย์ สามารถแยกจุลินทรีย์ได้จำนวนทั้งหมด 10 สายพันธุ์ ได้แก่ C02/1 C02/2 C03 C04 C05 C06 C08 C09 C10 และ C11 ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับ *Burkholderia cepacia, Bacillus subtilis, Bacillus aryabhattai, Exiguobacterium acetylicum, Staphylococcus epidermidis, Acinetobacter pittii, Bacillus aryabhattai, Pantoea dispersa, Bacillus albus* และ *Chromobacterium violaceum* ที่ระดับความเหมือนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ตามลำดับ

จากการศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์ในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช โดยทำการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ลงในดินและติดตามการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในดินเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าปริมาณของจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 1-2 และลดลงในเดือนที่ 3 โดยจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุด คือ C10 เพราะสามารถทนต่อสารเคมี ทนต่อสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ สามารถอยู่ได้ในสภาวะที่มีความชื้นต่ำ ส่วนสายพันธุ์ที่พบรองลงมาได้แก่ C08, C03, C06, C05, C02/1, C02/2, C04, C11 และ C09 ตามลำดับ

การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ในการอยู่รอดของจุลินทรีย์ในดินที่เติมพาราควอทความเข้มข้นต่ำและความเข้มข้นสูง ลักษณะโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทที่ความเข้มข้นต่ำ (87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร) ได้แก่ C03 C08 C06 และ C10 ลักษณะโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทที่ความเข้มข้นสูง (877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ได้แก่ C03 C08 C06 C10 C11 C04 และ C02/1 ชุดการทดลองที่มีการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์มากกว่าในชุดควบคุมที่ไม่ได้มีการเติมพาราควอท อาจเกิดจากการที่จุลินทรีย์บางสายพันธุ์สามารถใช้พาราควอทเป็นแหล่งอาหารได้

การศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์เดี่ยว 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus agri* Karo_1, *Bacillus subtilis* Karo_2, *Pseudomonas statzeri* H1, *Providencia stuartii* P4, *Bacillus aryabhattai* M4, *Novosphingobium* sp. THA_AIK7 และจุลินทรีย์ผสมของ 6 สายพันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ PMS ที่มีพาราควอท 2 ระดับ คือ ความเข้มข้นต่ำ 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูง 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า จุลินทรีย์ผสมมีปริมาณเชื้อปริมาณสูงสุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ในอาหารที่มีพาราควอททั้ง 2 ระดับ โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 4.653 log CFU/mL และ 4.708 log CFU/mL และสามารถลดปริมาณพาราควอทลงได้ 12.52 และ 2.708 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้นต่ำและความเข้มข้นสูง ตามลำดับ

การศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ PMS ที่มีพาราควอท 2 ระดับ คือ ความเข้มข้นต่ำ 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูง 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า C02/1 C04 และ จุลินทรีย์ผสม (Mix) ยังพบการเจริญในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ในอาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้นต่ำ ส่วน C02/1 C02/2 C04 และ C11 สามารถรอดชีวิตได้ใน

อาหารที่มีพาราควอทความเข้มข้นสูง ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณของพาราควอทที่ลดลงในแต่ละชุดการทดลอง มีปริมาณน้อยมาก ถือว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง

การวิเคราะห์หาสารเคมีปนเปื้อนในดินด้วยเครื่อง Gas chromatography Mass spectrometry (GC-MS) โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เมทานอลและคลอโรฟอร์ม พบว่า สามารถวิเคราะห์สารเคมีที่ปนเปื้อนในดินด้วยตัวทำละลายเมทานอล ได้แก่ Isophorone, Methyl palmitate, 2,4-Di-tert-butylphenol, Allyl(dimethyl)silanol, Hexamethylcyclotrisiloxane ในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ได้แก่ Methyl palmitate, Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl], Methyl oleate, Methyl linoleate, Hexadecane, 4,6 Dimethyldodecane, Eicosane ซึ่งตัวทำละลายคลอโรฟอร์มสามารถดึงสารเคมีออกจากดินได้ดีกว่าเมทานอล เนื่องจากสารเคมีส่วนใหญ่ที่เกษตรกรใช้เป็นสารละลายไม่มีขั้ว

การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน 14 แหล่ง ด้วยเทคนิค Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) พบจุลินทรีย์ที่เป็นกลุ่มประชากรใหญ่ในดินตัวอย่าง 9 สายพันธุ์ ได้แก่ *Dechloromonas aromatica* RCB, *Pseudomonas* sp. UW4, *Pseudomonas syringae* B728a, *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1, *Nitrosomonas* sp. AL212, *Bacillus subtilis* No.66, *Agrobacterium* sp. H13-3, *Enterobacter* sp. OM1 และ *Sphingobacterium* sp. 21

การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์และสารเคมีในดิน 3 ชุด คือ SS06 SS09.1 และ SS11 ด้วยเทคนิค DGGE และ GC-MS โดยการเติมจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ พบว่า ในเดือนที่ 3 ชนิดและปริมาณสารเคมีลดน้อยลง (heat map และพื้นที่ใต้กราฟ) สอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนแถบและความหนาของแถบดีเอนเอ (DGGE) ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบว่ายังมีชีวิตอยู่ในดินที่มีการเติมพาราควอท ได้แก่ C03 C08 C06 C10 C11 C04 และ C02/1 จึงเป็นไปได้ว่า ปริมาณสารเคมีที่ลดลงเกิดจากการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ร่วมกับการเสื่อมสภาพไปตาม half life ของสารนั้นๆ

จากผลการวิจัยนี้ พบว่าจุลินทรีย์บางชนิดสามารถปรับตัวมีชีวิตรอด และบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมี แสดงให้เห็นถึงความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารเคมีตกค้างในดิน ดังนั้น การนำกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยสลายสารเคมี ไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพดิน จะช่วยให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และเกษตรกรยังสามารถปรับเปลี่ยนจากการทำเกษตรที่ใช้สารเคมีมาเป็นเกษตรอินทรีย์ได้เร็วขึ้นอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

[1] สมคิด ดีจริง และ วรางคณา สงวนพงษ์. 2556. การศึกษาคุณภาพดินในแปลงข้าวเกษตรอินทรีย์และเกษตรแบบเดิมเพื่อการปรับปรุงคุณภาพการผลิตข้าวอินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

[2] รัศมี แสงศิริมงคลยิ่ง มลิสา เวชยานนท ปภัสรา คุณเลิศ และพรชนก ชโลปกรณ. การศึกษาการปนเปอนของสารกำจัดศัตรูพืชสูสิ่งแวดลอมในวิทยาลัยชัยบาดาลพิพัฒน. วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร ปที่ 10 ฉบับที่2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2558.

[3] สุภาพร ใจการุณ สังวาล สมบูรณ และ สามารถ วันชะนะ. 2556. การตกคางของสารเคมีฆาแมลงใน ผักพื้นบานอีสานและอาหารทองถิ่น. วารสารวิจัยสาธารณสุขศาสตรมหาวิทยาลัยขอนแกน. 6(3): หน้า 122-129

[4] จารุพงศ์ ประสพสุข ปริยานุช สายสุพรรณ และวัชราพร ศรีสวางวงศ. 2557. การวิเคราะหสารพิษตกคางในผักและผลไมเพื่อการรับรองระบบการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืชในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน. แกนเกษตร. 42 ฉบับพิเศษ 2: หน้า 430-439.

[5] Siriwong W., et al. 2008. Organochlorine Pesticide Residues in Plankton, Rangsit Agricultural Area, Central Thailand. Bull Environ Contam Toxicol. 81(6): P 608–612. doi:10.1007/s00128-008-9532-4.

[6] เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. 2559. ผลการเฝ้าระวังสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผักและผลไม้ประจำปี 2559. เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช, 1(1), 1-14 [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.pesticide_doc24_press_4_5_2559-1.pdf

[7] จุลินทรีย์สิ่งมีชีวิตทรงพลัง. [ออนไลน์]. ได้จาก : https://www.nstda.or.th/agritec/78-featured-article/422-microbe.

[8] บัญชา รัตนีทู. 2555. ปุ๋ยอินทรีย์กับการปรับปรุงดินเสื่อมคุณภาพ. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์. 4(2): 115-127.

[9] พาราควอต : 1 ใน 3 สารเคมีอันตรายในอุตสาหกรรมการเกษตร. [ออนไลน์]. ได้จาก https://www.bbc.com/thai/thailand-45312985.

[10] เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. 2555. นานาสาระสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช [ออนไลน์]. ได้จาก : https://www.thaipan.org

[11] สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและผลกระทบต่อสุขภาพ [ออนไลน์]. ได้จาก : http://envocc.ddc.moph.go.th/contents/view/405

[12] Wattasit Siriwong. 2006. Organochlorine pesticide residues in aquatic ecosystem and health risk assessment of local agricultural community.

[13] สถานการณ์ปัญหาโรคและภัยสุขภาพจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช [ออนไลน์]. ได้จาก : http://envocc.ddc.moph.go.th/contents/view/404

[14] รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี พ.ศ. 2559 [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.doa.go.th/ard/?option=com_content&view=article&id=2

[15] ความจริงอันเจ็บปวด ปัญหาสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผักและผลไม้ปี 2559 [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.thaipan.org/node/831

[16] วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ประกาศห้ามใช้แล้ว [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.thaipan.org/sites/default/files/file_info/pesticide_doc8.pdf 6.

[17] Pesticide Active Ingredient Information [ออนไลน์]. เข้าถึงได้ : http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/index.html

[18] นภาพร เลียดประถม. 2559. ความเป็นพิษของพาราควอทต่อสัตว์น้ำ. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 31:2. 95-101.

[19] Geneva W. 1984. INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc39.htm

[20] Suntres ZE. 2018. Exploring the potential benefit of natural product extracts in paraquat toxicity. Fitoterapia. 2018;131:160-167. doi:10.1016/j.fitote.2018.10.026

[21] พาราควอต สารพิษอันตรายและการปฐมพยาบาล [ออนไลน์]. ได้จาก : https://www.pobpad.com

[22] Marcin. J., 2018. Paraquat poisoning [ออนไลน์]. ได้จาก : https://www.healthline.com/health/paraquat-poisoning.

[23] พระมหาธรานัส สายสอน. 2553. ความสามารถในการดูดซับสารพาราควอตของดิน และตะกอนดินในลุ่มน้ำย่อยมวบ อำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน . วิทยานิพนธ์. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์/กรุงเทพฯ.

[24] กรมควบคุมมลพิษ. 2541. พาราควอท. กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์อินทิเกรเต็ด โปรโมชั่น เทคโนโลยีจำกัด. พิมพ์ครั้งที่ 2.

[25] ผักหวานบ้าน. 2557. บทบาทและความสำคัญของจุลินทรีย์ในการเกษตร. [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.pakwanban.com/article

[26] Scragg A., 2005. Environmental Biotechnology. 2nd ed. New York: Oxford University.

[27] อรุณ และคณะ. 2559. การนำจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในระบบเกษตรกรรมแบบยงยั่งยืน, 1(1), 398-412. [ออนไลน์]. ได้จาก : https//User/Downloads/8123-24363-6-PB.pdf

[28] McNair, H. M., Miller, J. M., & Snow, N. H. 2019. Basic Gas Chromatography.

[29] ต้นกล้า อินสว่าง. 2558. RIC KKU NEWSLETTER(7). 1-8. https://www.ric.kku.ac.th

[30] Suradee Rangkakanok. 2010. COMPARISON OF NUCLEOTIDE SEQUENCE POSITION 8271-8873 OF MITOCHONDRIA DNA IN THAI AND MYANMAR MALES

[31] Kanyarat Wangmanao. 2011. Conserved Ortholog Set Determination of Genetic Variation in Dendrobium Cultivars Using Conserved Ortholog Set Type DNA Markers.

[32] อำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์. 2534. Polymerase Chain Reaction. ความรู้พื้นฐานเวชพันธุศาสตร์. หน้า 469-477. [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.tsh.or.th/file_upload/files/v1%20n4%20469.pdf

[33] Nicholson, M. J., Evans, P. N., & Joblin, K. N. 2007. Analysis of Methanogen Diversity in the Rumen Using Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis: Identification of Uncultured Methanogens. Microbial Ecology, 54(1): P 141–150. https://doi.org/10.1007/s00248-006-9182-1.

[34] ณลักขณา คิดเหมาะ พยุง มีสัจ และ สุนันทา สดสี. 2558. การสำรวจงานวิจัยด้านชีวสารสนเทศและการประยุกต์ใช้. วารสารแม่โจ้เทคโนโลยีสารสนเทศและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 1(2) : 16-31.

[35] Viriyawattana N. and S. Surachat. 2014. Biodegradation of Paraquat by the Novel Bacteria strain *Aeromonas veronii* NK67 from Cassava Fields in Thailand. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental*. 16(1): P 35-40.

[36] Hata S., Shirata K. and Takagishi H. 1986. Degradation of Paraquat and Diquat by the Yeast Lipomyces starkeyi. J Gen Appl Mierobiol. 32: 193-202.

[37] มัลลิกา ธีระกุล ปิยะวดี สราภิรมย์ และ อลิศรา เรืองแสง. 2560. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อสลายพาราควอทโดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากบริเวณดินรอบๆรากพืช (Optimization of Paraquat Degradation by Microbial Consortium from Rhizosphere Soil). วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 11(2) : 90-99.

[38] Patil JH. and Solanki KM. 2016. Microbial Inoculant: Modern Era of Fertilizers and Pesticides. Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity. DOI 10.1007/978-81- 322-2647-5_19.

[39] Thabit MAT. and EL-Naggar AHM. 2013. Malathion degradation by soil isolated bacteria and detection of degradation products by GC-MS. *International Journal of Environmental Sciences*. 3(5): P 1467-1476.

[40] ข้อมูลเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [ออนไลน์]. ได้จาก : http://oaezone.oae.go.th/ view/1/ปัจจัยการผลิต/TH -TH

[41] Gambar, K. 2017. GCMS Terpasang, Penelitian harus Lebih Maju . [ออนไลน์]. ได้จาก : http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/berita/gcms-terpasang-penelitian-haruslebihmaju/?fbclid=IwAR1bUJEDWpm45pXr5wdAB2QUoRDunnQvxNcMeIlN3kq1TPp-pS_3bFLWKH4.

[42] Phadke S, Salvador AF, Alves JI, Bretschger O, Alves MM, Pereira MA. Harnessing the Power of PCR Molecular Fingerprinting Methods and Next Generation Sequencing for Understanding Structure and Function in Microbial

Communities. Methods Mol Biol. 2017; 1620:225-248. doi:10.1007/978-1-4939-7060-5_16.

[43] Almeida LGd., Moraes LABd., Trigo JR., Omoto C. and CoÃnsoli FL. 2017. The gut microbiota of insecticide-resistant insects houses insecticide-degrading bacteria: A potential source for biotechnological exploitation. PLoS ONE. 12(3): e0174754.

[44] Weisburg WG., Barns SM., Pelletier DA. and Lane DJ. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of bacteriology. 173: 697-703.

[45] Tariq M., et al. 2016. Effect of Fungicides and Bioinoculants on Pisum sativum. Research & Reviews: Journal of Botanical Sciences. 5(2); 36-40.

[46] Arora, S. 2019. Rice pest management with reduced risk pesticides in India. Environmental Monitoring and Assessment. (pp. 191-241)

[47] Guide to Solid Phase Extraction. [อ อ น ไ ล น์] ไ ด้ จ า ก : https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Supelco/Bulletin/t197910.pdf

[48] Martani, E., Wibowo, K., Radjagukguk B., and Margino, S. 2001. Influence of Paraquat Herbicide on Soil Bacteria, *Rhizobium* sp. Manusia dam Lingkungan. 8(2): 82-90.

[49] ฐิตาภา ช่วยคงทอง. 2559. การคัดแยกรายย่อยสลายพาราควอตและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง. วิทยานิพนธ์. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 95 หน้า.

[50] เนาวรัตน์ สุขอารมณ์ และสุรีย์วรรณ สายสุด. 2561. ความสามารถการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์และเชื้อผสมในอาหารที่มีพาราควอท. โครงงานด้านชีววิทยา. สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

[51] Ishihara A., Dumeignil F., Aoyagi T., Nishikawa M., Hosomi M., Qian EW. and Kabe Y. 2008. Degradation of carbazole by Novosphingobium sp. strain NIY3. J Jpn Petroleum Inst. 51: 174–179.

[52] Yan QX., Hong Q., Han P., Dong XJ., Shen YJ. and Li S.P. 2007. Isolation and characterization of a carbofuran-degrading strain Novosphingobium sp. FND-3. FEMS Microbiol Lett. 271: 207–213.

[53] Yuan J., Lai Q., Zheng T. and Shao Z. 2009. Novosphingobium indicum sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from a deep-sea environment. Int J Syst Evol Microbiol. 59: 2084–2088.

[54] Tiirola MA., Busse HJ., Kampfer P. and Mannisto MK. 2005. Novosphingobium lentum sp. nov., a psychrotolerant bacterium from a polychlorophenol bioremediation process. Int J Syst Evol Microbiol. 55: 583–588.

[55] Kongpol A., Pongtharangkul T., Kato J., Honda K., Ohtake H. and Vangnai AS. 2009. Characterization of an organic-solvent-tolerant Brevibacillus agri strain13 able to stabilize solvent/water emulsion. FEMS Microbiol Lett. 297; 225–233.

[56] Halder D. and Basu M. 2016. Role of Pseudomonas stutzeri MTCC101 in Cadmium Bioremediation. Int J Curr Microbiol App Sci. 5(2): 139-148.

[57] Feijoo-Siota L., Rosa-Dos-Santos F., de Miguel T. and Villa TG. 2008. Biodegradation of Naphthalene by Pseudomonas stutzeri in Marine Environments: Testing Cells Entrapment in Calcium Alginate for Use in Water Detoxification. Bioremediation Journal. 12(4): 185-192. DOI: 10.1080/10889860802477168

[58] Rani MS., Lakshmi KV., Devi PS., Madhuri RJ., Jyothi SAK., Narasimha G. and Venkateswarlu K. 2008. Isolation and characterization of a chlorpyrifos degrading bacterium from agricultural soil and its growth response. African Journal of Microbiology Research. 2: 026-031.

[59] Alboghobeish H., Tahmourespour A. and Doudi M. 2014. The study of Nickel Resistant Bacteria (NiRB) isolated from wastewaters polluted with different industrial sources. Journal of Environmental Health Science & Engineering. 12: 44.

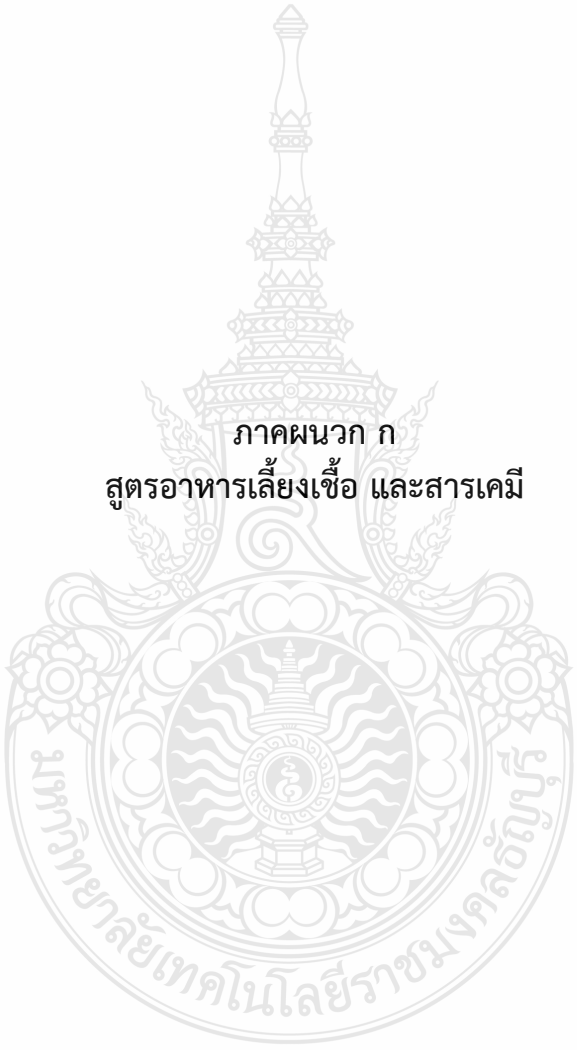
[60] Radhika M. and Kannahi M. 2014. Bioremediation of pesticide (Cypermethrin) using bacterial species in contaminated soil. Int J Curr Microbiol App Sci. 3(7): 427-435.

[61] Yu XM., Yu T., Yin GH., Dong QL., An M., Wang HR. and Ai CX. 2015. Glyphosate biodegradation and potential soil bioremediation by Bacillus subtilis strain Bs-15. Genetics and Molecular Research. 14(4): 14717-14730.

[62] Singh N., Gupta S., Marwa N., Pandey V., Verma PC., Rathaur S. and Singh N. 2016. Arsenic mediated modifications in Bacillus aryabhattai and their biotechnological applications for arsenic bioremediation. Chemosphere. 164: 524-534.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี



1. Nutrient Broth

Peptone	5.0	กรัม
Beef Extract	3.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมข้างต้นด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางที่นิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. Nutrient Agar

Peptone	5.0	กรัม
Beef Extract	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมข้างต้นด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางที่นิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. Paraquat mineral salt (PMS) (เตรียม 1 ลิตร)

Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)	1.6	กรัม
Monopotassium phosphate (KH_2PO_4)	0.4	กรัม
Magnesium Sulfate heptahydrate($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.2	กรัม
Sodium Chloride (NaCl)	0.1	กรัม
Calcium chloride ($CaCl_2$)	0.02	กรัม
Stock trace-element	1.0	มิลลิลิตร
Stock vitamin solution	1.0	มิลลิลิตร
Stock Iron(II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4.H_2O$)	1.0	มิลลิลิตร
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมข้างต้นด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางที่นิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. Stock trace-element

Manganese sulfate ($MnSO_4.H_2O$)	1.8	กรัม
Zinc sulfate ($ZnSO_4$)	0.2	กรัม
Copper sulfate ($CuSO_4$)	0.1	กรัม
Sodium molybdate (Na_2MoO_4)	0.25	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

5. Stock Iron(II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4.H_2O$)

Iron(II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4.H_2O$)	5	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6. Stock vitamin solution (Thiamine)

Thiamine	100	มิลลิกรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

7. Stock vitamin solution (Biotin)

Biotin	40	มิลลิกรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ฆ่าเชื้อด้วยการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สารเคมี

1. 1X TAE buffer

Distilled water	980	มิลลิลิตร
50X TAE buffer	20	มิลลิลิตร

2. 1.2 % Agarose Gel

1X TAE buffer	30	มิลลิลิตร
Agarose	0.36	กรัม

นำไปละลายด้วยความร้อนจนละลายเป็นสารละลายใสจากนั้นเทลงในพิมพ์ ทิ้งให้เย็น

3. DSSA (0%)

40% acrylamide/Bis (29:1)	9	มิลลิลิตร
50X TAE buffer	0.9	มิลลิลิตร
DI water	35.1	มิลลิลิตร

4. DSSB (100%)

40% acrylamide/Bis (29:1)	9	มิลลิลิตร
50X TAE buffer	0.9	มิลลิลิตร
DI water	5.57	มิลลิลิตร
Urea 5.6 M	15.14	กรัม
100% formamide solution	14.4	มิลลิลิตร

5. 20% Ammonium persulfate

Ammonium persulfate	0.2	กรัม
Distilled water	1	มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ปริมาณพาราควอท

1. การวิเคราะห์ปริมาณพาราควอท

1.1 สารเคมี

เตรียม โซเดียมไดไธโอไนต์ 2 เปอร์เซ็นต์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.3 โมลาร์ โดยเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซต์ 0.3 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นชั่งโซเดียมไดไธโอไนต์ปริมาณ 2 กรัม ลงไปผสม ละลายให้เข้ากัน

1.2 การวิเคราะห์

1.2.1 ปิเปตส่วนใสที่ได้มาจากการปั่นเหวี่ยงตัวอย่างมาปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

1.2.2 เติมโซเดียมไดไธโอไนต์ 2 เปอร์เซ็นต์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.3 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

1.2.3 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตร

1.2.4 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของของแข็งที่ละลายในสารละลาย

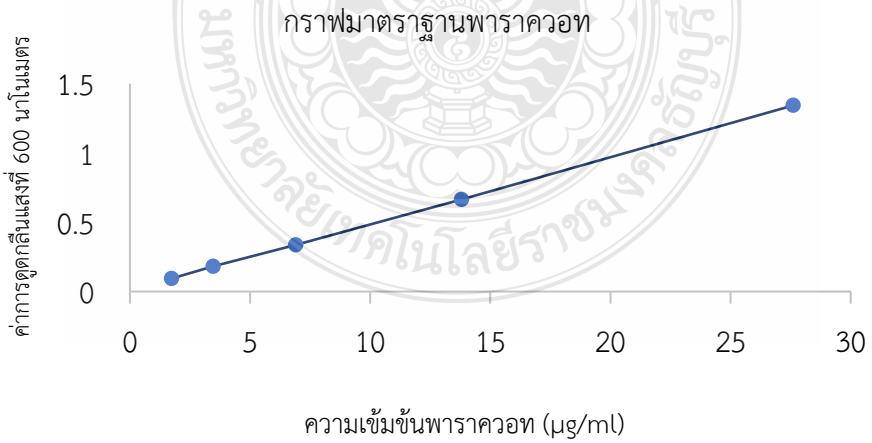
1.3 การทำกราฟมาตรฐานพาราควอท [28]

1.3.1 นำสารละลายพาราควอท 2 เปอร์เซ็นต์มาทำการเจือจางกับน้ำกลั่นจนได้ความเข้มข้นเท่ากับ 27.6 13.8 6.9 3.45 และ 1.72 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายที่เจือจางแล้วมาปริมาตร 5 มิลลิลิตรใส่ลงในทดลอง

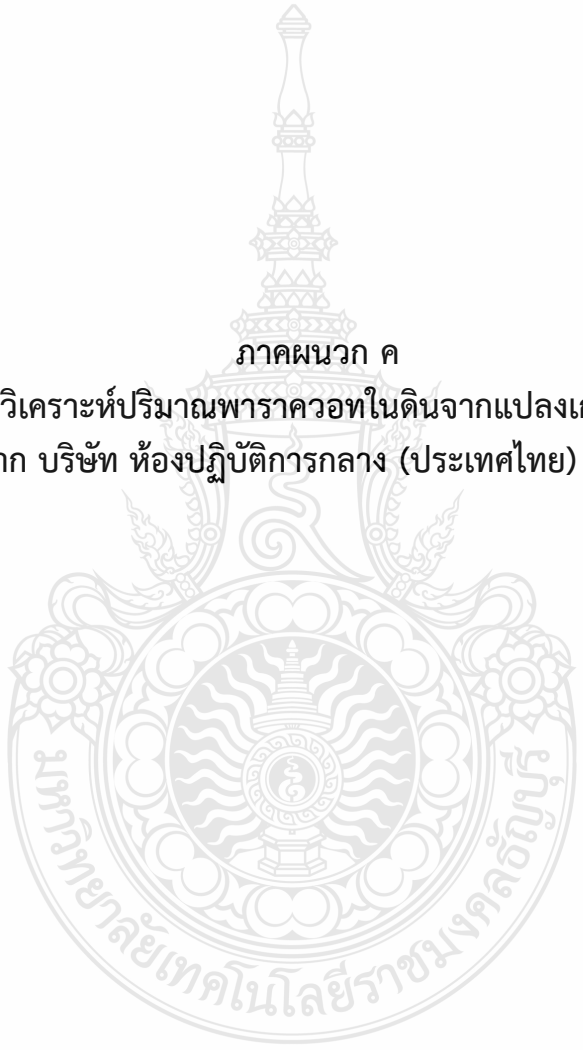
1.3.2 เติมโซเดียมไดไธโอไนต์ 2 เปอร์เซ็นต์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.3 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

1.3.3 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตร

1.3.4 นำค่า OD ที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน



ภาคผนวก ค
ผลการวิเคราะห์ปริมาณพาราควอทในดินจากแปลงเกษตรกรรม จาก บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 917-4567-8, (662) 940-6881-3 Ext. 155, 219 Fax : (662) 579-6895, (662) 940-6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 13 กุมภาพันธ์ 2563
เอกสารรายงาน TRBK63/04722
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า น.ส. จันทิมา ทีนะ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
39 หมู่ 1 ตำบลคลองหก อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

รายละเอียดตัวอย่าง SS 06
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK63/01748-001

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : ดิน
ภาชนะบรรจุ : ถุงพลาสติกมัดปากถุง, จำนวน : 1 ถุง, น้ำหนัก/ปริมาตร : 1 กิโลกรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 28 มกราคม 2563
วันที่ทดสอบ 29 มกราคม 2563 - 13 กุมภาพันธ์ 2563

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Paraquat	0.50	mg/kg	-	In-house method TE-CH-342 based on ZENECA Agrochemicals, Paraquat and Diquat in crops and soils (1997) by LC-MS

-End of Report-

อนุมัติโดย

(นางวณิดา ทีนะวรรณ)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพฯ

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบนี้จะไม่ถูกทำสำเนาลอกเลียนบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-B04(16/10/61)P1/1

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ภาพที่ 22 รายงานผลการทดสอบการตรวจวิเคราะห์พาราควอทที่ตกค้างในดินตัวอย่าง SS06

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 90 Pholyothin Rd., Lodyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561-4567-8, (662) 940-6861-3 Ext. 144, 219 Fax : (662) 579-4895, (662) 940-6861-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 13 กุมภาพันธ์ 2563
เลขที่รายงาน TRBK63/04723
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า น.ส. จันทิมา ทีนะ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
39 หมู่ 1 ตำบลคลองหก อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

รายละเอียดตัวอย่าง SS 09.2
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK63/01748-002

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : ดิน
ภาชนะบรรจุ : ถุงพลาสติกมัดปากถุง, จำนวน : 1 ถุง, น้ำหนักปริมาตร : 1 กิโลกรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 28 มกราคม 2563
วันที่ทดสอบ 29 มกราคม 2563 - 13 กุมภาพันธ์ 2563

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Paraquat	4.19	mg/kg	-	In-house method TE-CH-342 based on ZENECA Agrochemicals, Paraquat and Diquat in crops and soils (1997) by LC-MS

--End of Report--

อนุมัติโดย

(นางวนิสา มีศรีชัย)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพฯ
CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R04(16/10/61)P1/1

ภาพที่ 23 รายงานผลการทดสอบการตรวจวิเคราะห์พาราควอทที่ตกค้างในดินตัวอย่าง SS09.1

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.

Central Lab

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 13 กุมภาพันธ์ 2563
เลขที่รายงาน TRBK63/04724
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า น.ส. จันทิมา พืชนะ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
39 หมู่ 1 ตำบลคลองหก อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

รายละเอียดตัวอย่าง SS 11
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK63/01748-003

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : ดิน
ภาชนะบรรจุ : ถุงพลาสติกปิดปากถุง, จำนวน : 1 ถุง, น้ำหนัก/ปริมาตร : 1 กิโลกรัม
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 28 มกราคม 2563
วันที่ทดสอบ 29 มกราคม 2563 - 13 กุมภาพันธ์ 2563

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Paraquat	Not Detected	mg/kg	0.01	In-house method TE-CH-342 based on ZENECA Agrochemicals, Paraquat and Diquat in crops and soils (1997) by LC-MS

~End of Report~

อนุมัติโดย

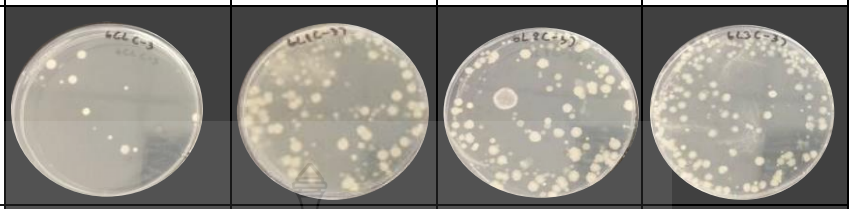
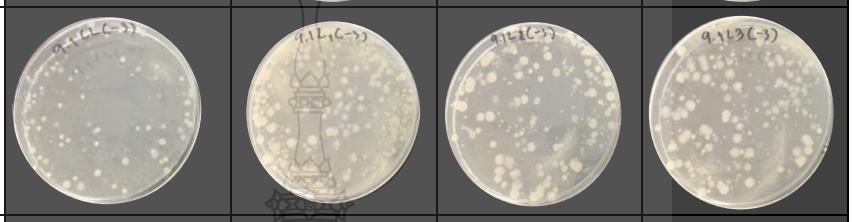
(นางนิสา [illegible])
[illegible]
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพฯ
CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบนี้ห้ามมิให้ลูกค้านำไปอ้างอิงเพื่อการโฆษณาประชาสัมพันธ์ หรือการใช้งานอื่นใดที่ไม่ได้รับอนุญาตจากห้องปฏิบัติการ
FM-QP-24-01-001-R04(16/10/61)P1/1

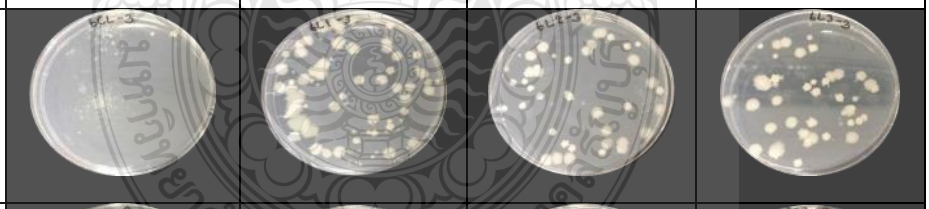
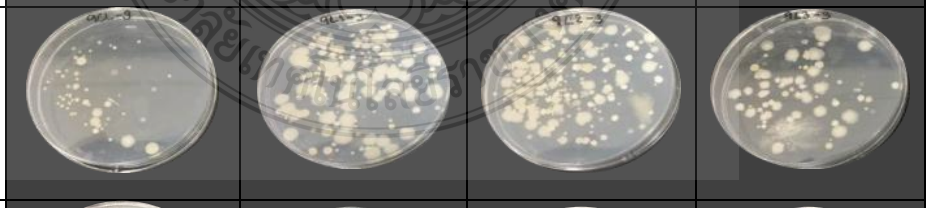
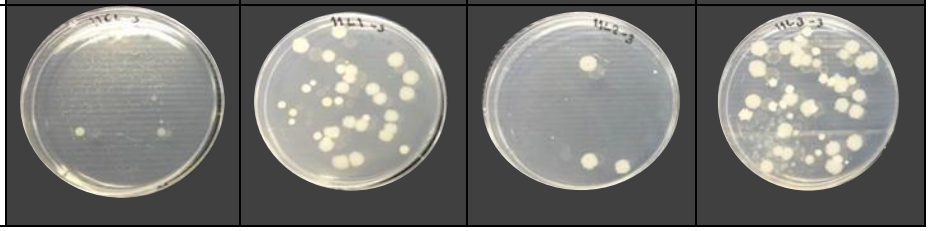
ภาพที่ 24 รายงานผลการทดสอบการตรวจวิเคราะห์พาราควอทที่ตกค้างในดินตัวอย่าง SS11

ภาคผนวก ง
ภาพแสดงการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในดินที่เติมพาราควอท

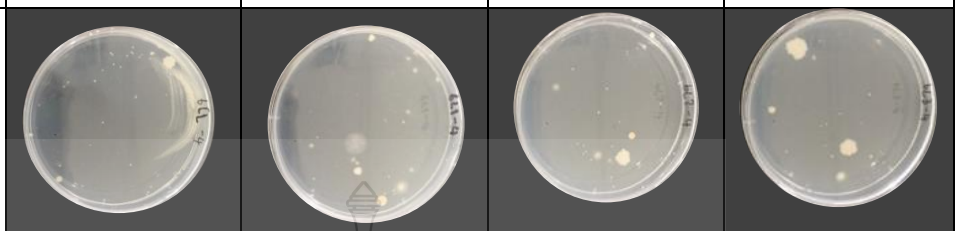
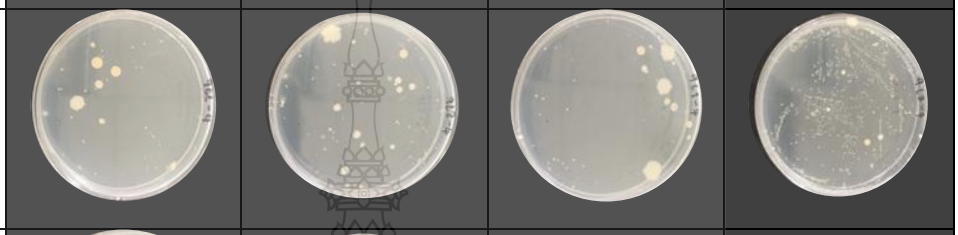
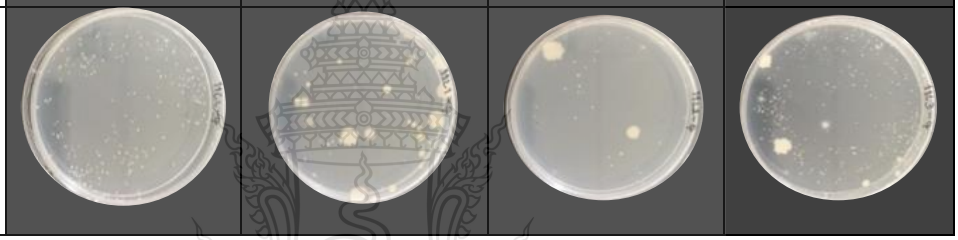
ตารางที่ 49 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 0

รหัส	Control	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
SS06				
SS09.2				
SS11				

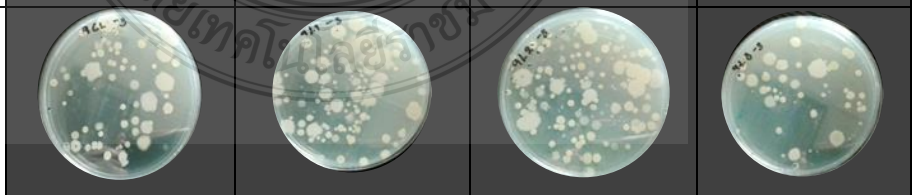
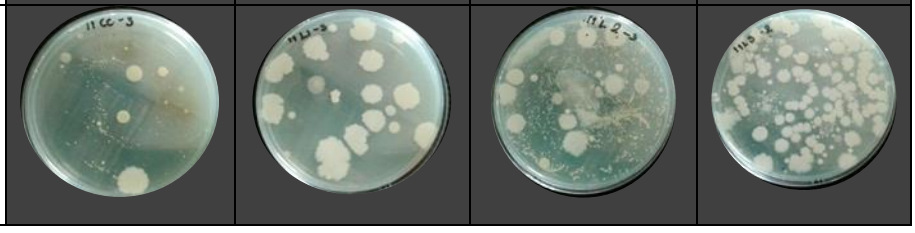
ตารางที่ 50 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 1

รหัส	Control	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
SS06				
SS09.2				
SS11				

ตารางที่ 51 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 2

รหัส	Control	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
SS06				
SS09.2				
SS11				

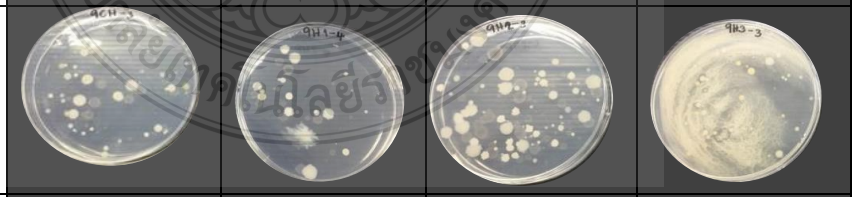
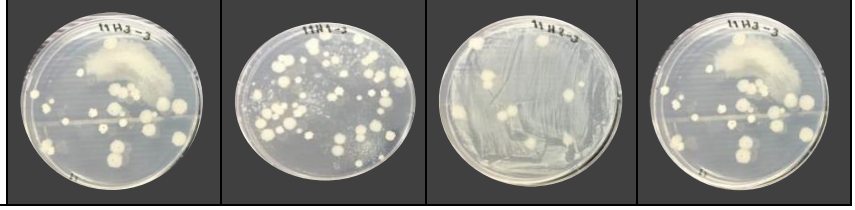
ตารางที่ 52 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นต่ำ เดือนที่ 3

รหัส	Control	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
SS06				
SS09.2				
SS11				

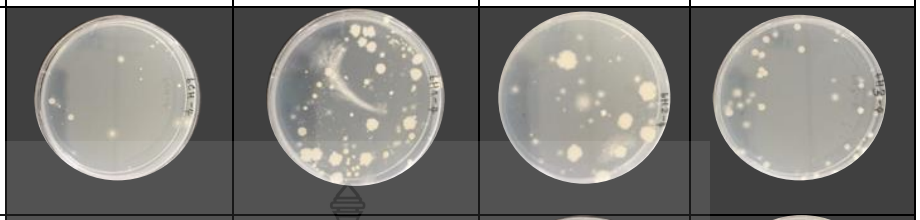
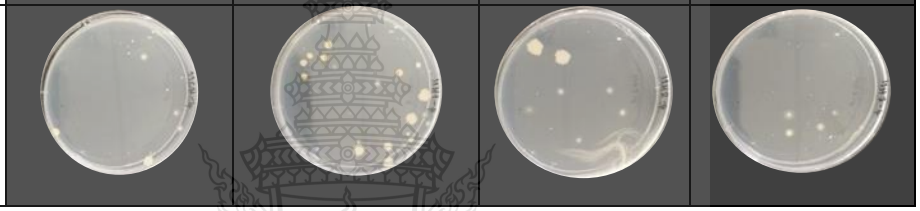
ตารางที่ 53 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 0

รหัส	Control	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
SS06				
SS09.2				
SS11				

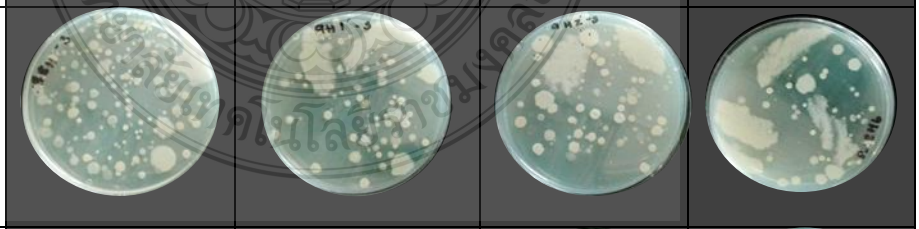
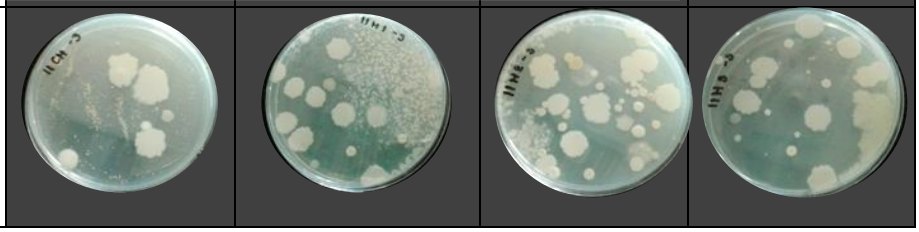
ตารางที่ 54 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 1

รหัส	Control	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
SS06				
SS09.2				
SS11				

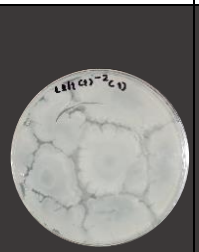
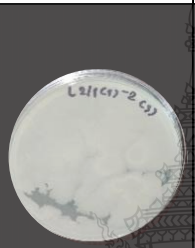
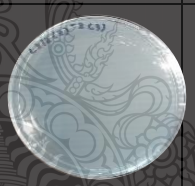
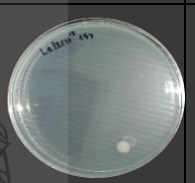
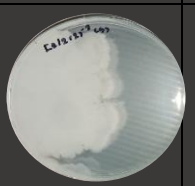
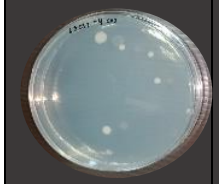
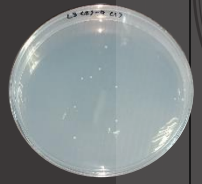
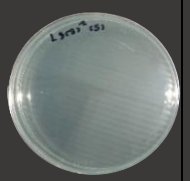
ตารางที่ 55 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 2

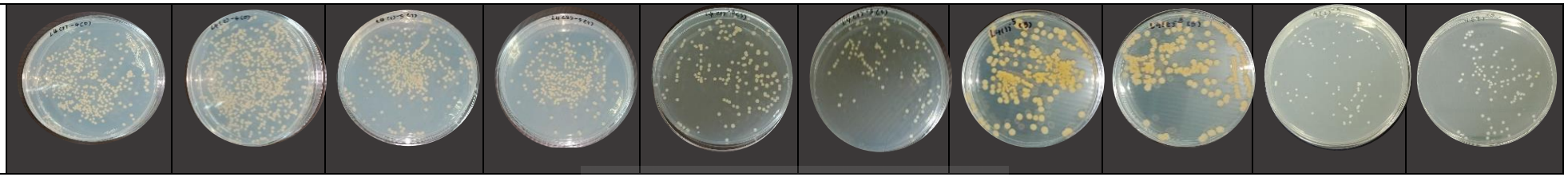
รหัส	Control	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
SS06				
SS09.2				
SS11				

ตารางที่ 56 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบในดินที่เติมพาราควอทในความเข้มข้นสูง เดือนที่ 3

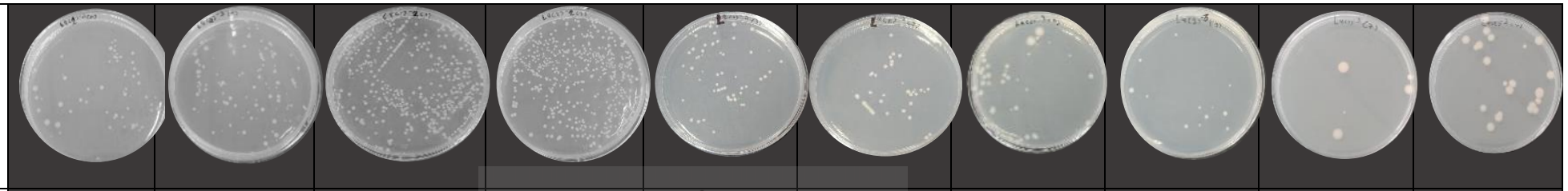
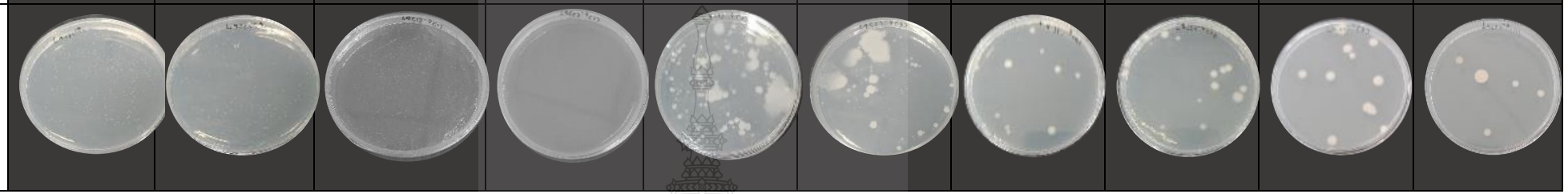
รหัส	Control	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
SS06				
SS09.2				
SS11				

ตารางที่ 57 แสดงโคโลนีของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ ในอาหาร PMS ที่เติมพาราควอทความเข้มข้นต่ำ (L)

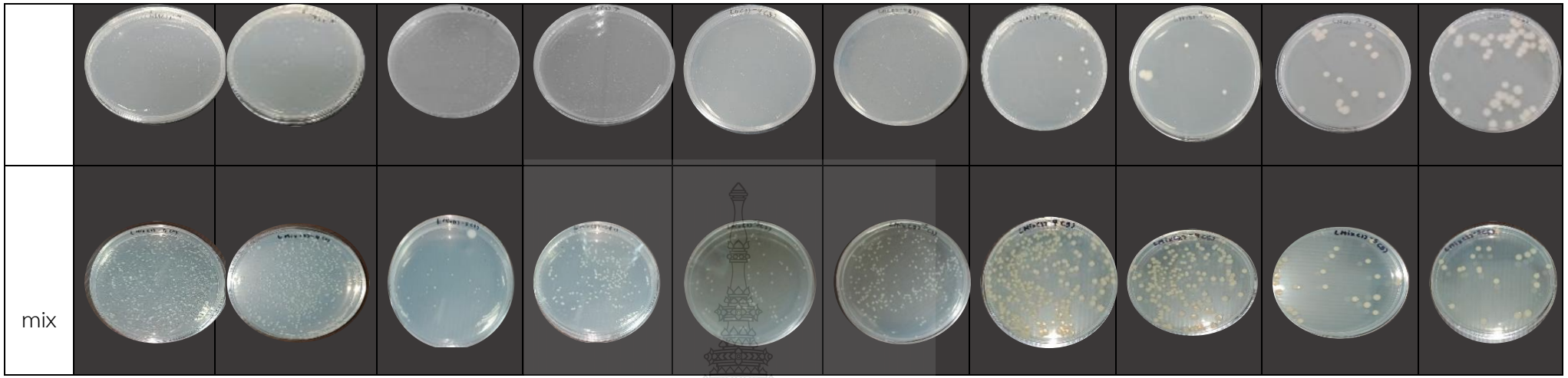
พาราควอทที่ความเข้มข้นต่ำ (L)										
รหัส	วันที่ 0		วันที่ 1		วันที่ 3		วันที่ 5		วันที่ 7	
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
C2/1										
C2/2										
C3										

C4	

พาราควอทที่ความเข้มข้นต่ำ (L)										
รหัส	วันที่ 0		วันที่ 1		วันที่ 3		วันที่ 5		วันที่ 7	
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
C5										
C6										

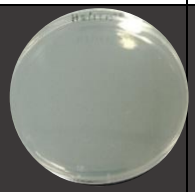
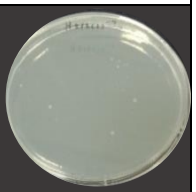
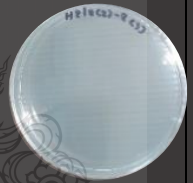
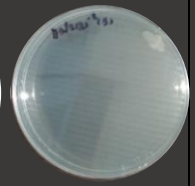
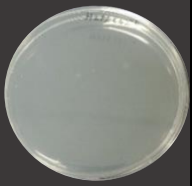
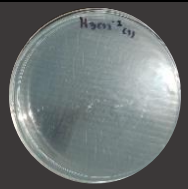
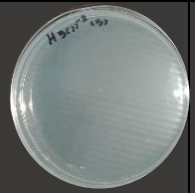
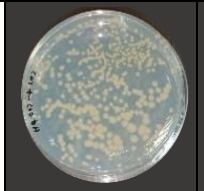
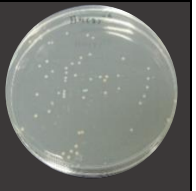
C8	
C9	

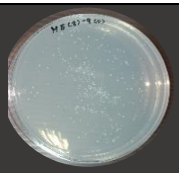
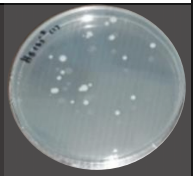
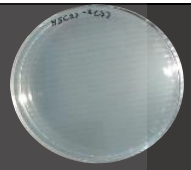
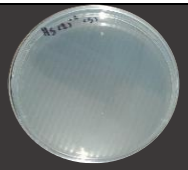
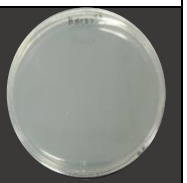
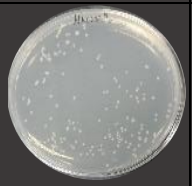
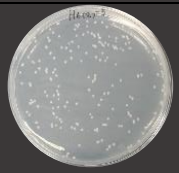
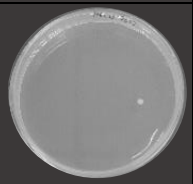
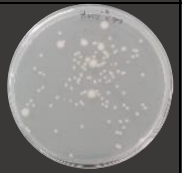
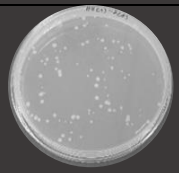
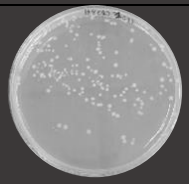
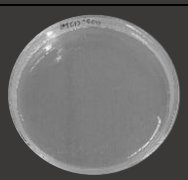
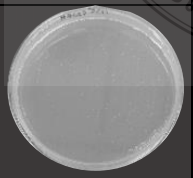
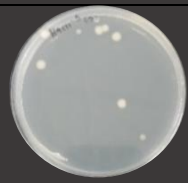
พาราควอทที่ความเข้มข้นต่ำ (L)										
รหัส	วันที่ 0		วันที่ 1		วันที่ 3		วันที่ 5		วันที่ 7	
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
C10										
C11										

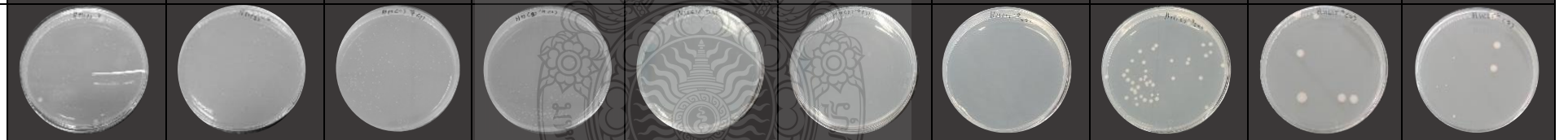
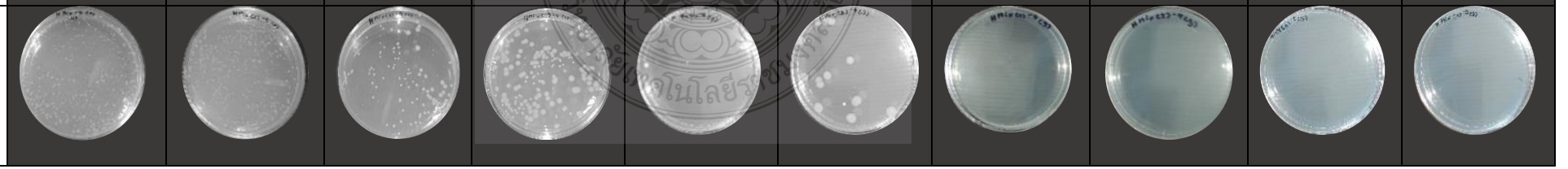


มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

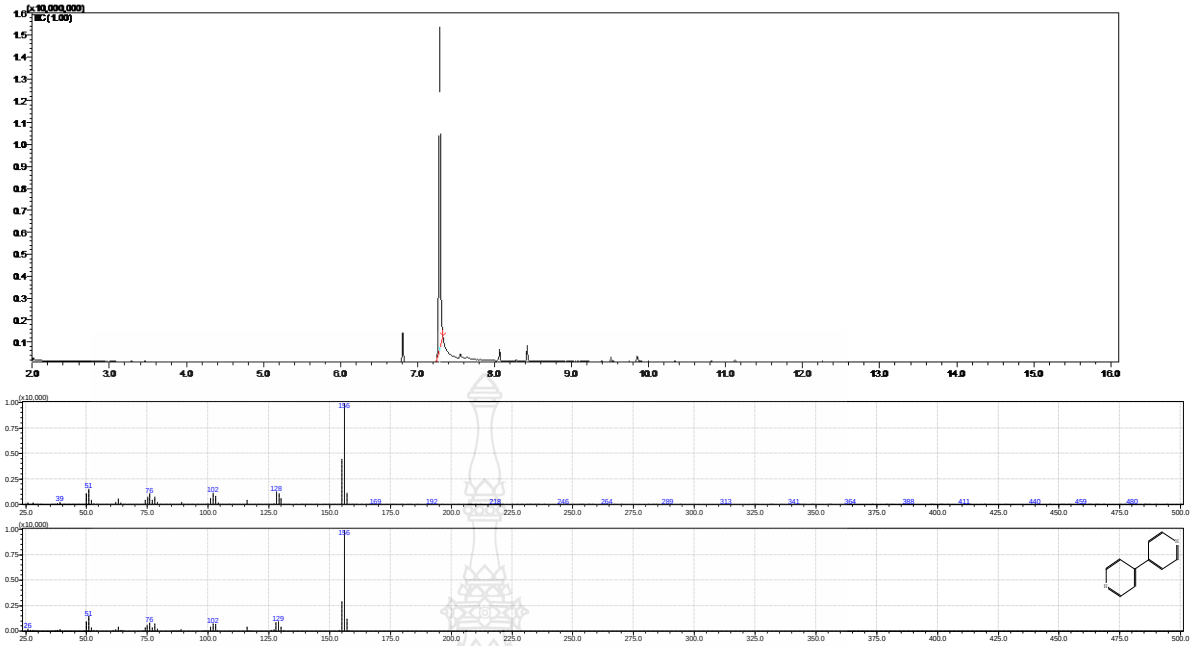
ตารางที่ 58 แสดงโคโลนีของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ ในอาหาร PMS ที่เติมพาราควอทความเข้มข้นสูง (H)

พาราควอทที่ความเข้มข้นสูง (H)										
รหัส	วันที่ 0		วันที่ 1		วันที่ 3		วันที่ 5		วันที่ 7	
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
C02/1										
C02/2										
C03										
C04										

พาราควอทที่ความเข้มข้นสูง (H)										
รหัส	วันที่ 0		วันที่ 1		วันที่ 3		วันที่ 5		วันที่ 7	
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
C05										
C06										
C08										
C09										

พาราควอทที่ความเข้มข้นสูง (H)										
รหัส	วันที่ 0		วันที่ 1		วันที่ 3		วันที่ 5		วันที่ 7	
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
C10										
C11										
mix										

ภาคผนวก จ
ผลการวิเคราะห์สารเคมีด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer



ภาพที่ 25 ค่าปริมาณสารเคมีของสารเคมีการค้าพาราควอท ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล

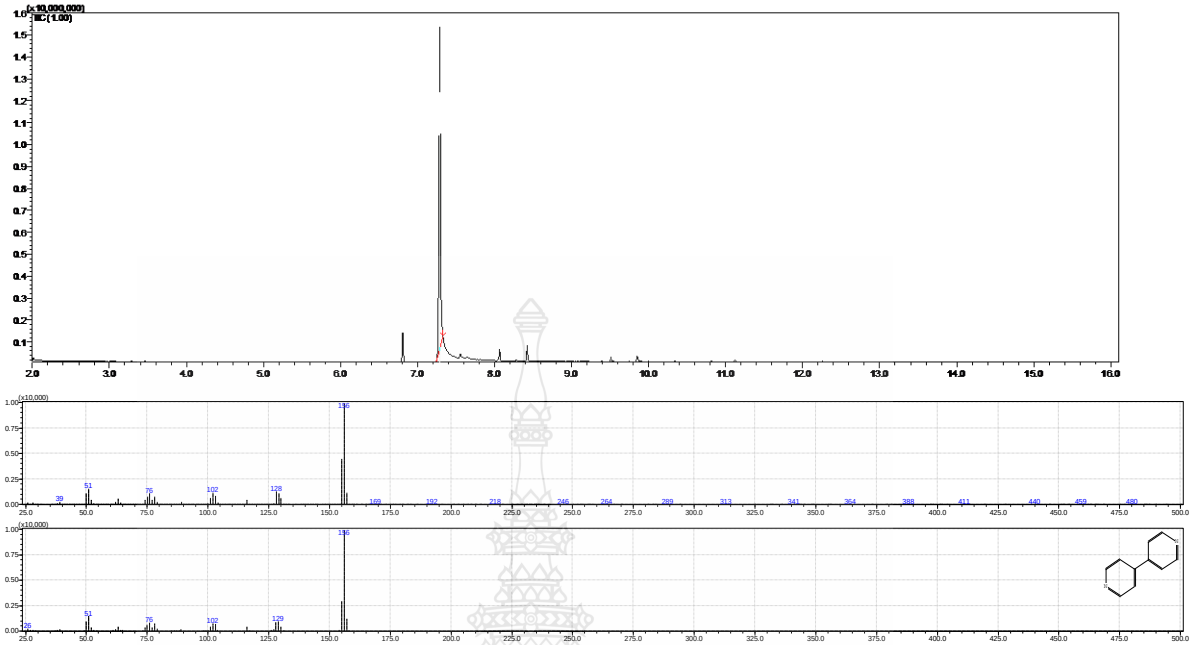
หมายเหตุ: ค่าความคล้ายคลึง : 96

ชื่อสามัญ : 4,4'-Bipyridine

น้ำหนักโมเลกุล : 156

สูตรเคมี : C10H8N2

จากตัวอย่าง : SD_27,600 mg (Methanol)



ภาพที่ 26 ค่าปริมาณสารเคมีของสารเคมีการค้าพาราควอท ที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม

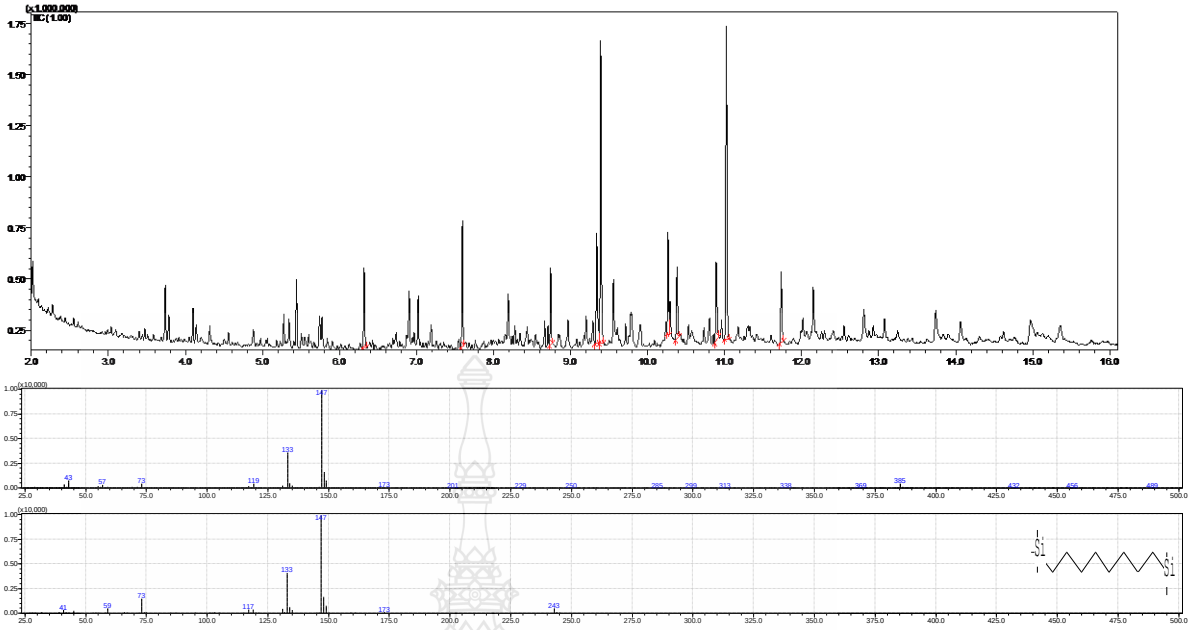
หมายเหตุ: ค่าความคล้ายคลึง : 96

ชื่อสามัญ : 4,4'-Bipyridine

น้ำหนักโมเลกุล : 156

สูตรเคมี : C10H8N2

จากตัวอย่าง : SD_27,600 mg (Chloroform)



ภาพที่ 27 ค่าปริมาณสารเคมีของตัวอย่างดิน SS06 เดือนที่ 1 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม

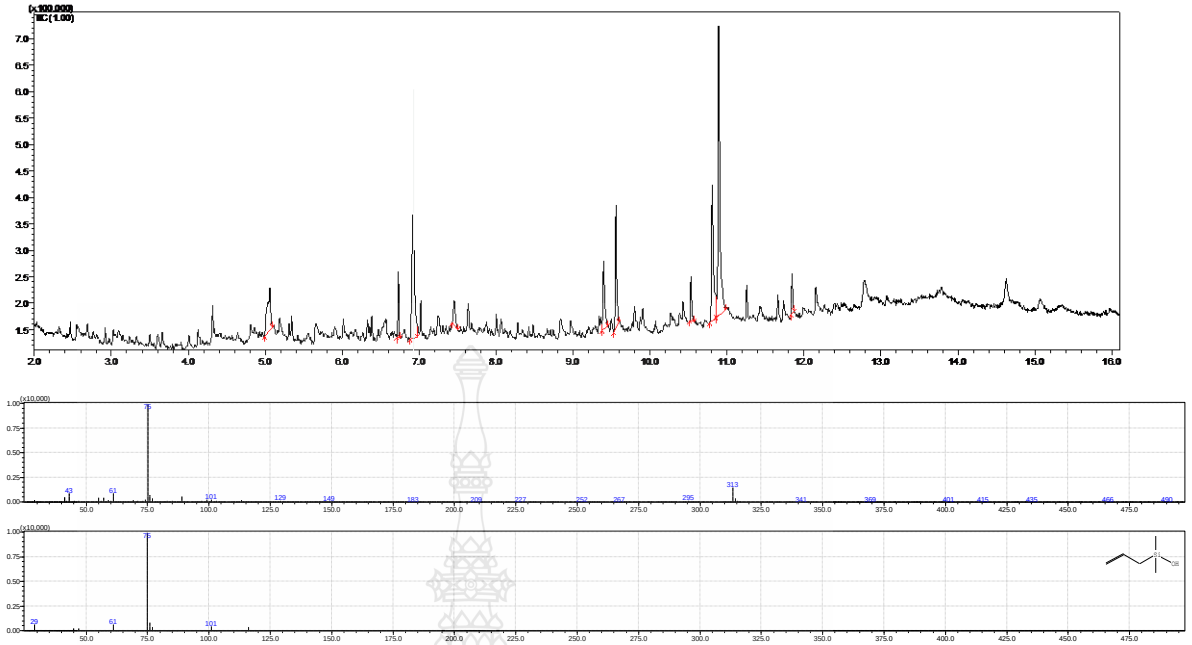
หมายเหตุ: ค่าความคล้ายคลึง : 89

ชื่อสามัญ : Silane, 1,8-octanediylbis[trimethyl]

น้ำหนักโมเลกุล : 258

สูตรเคมี : C14H34Si2

จากตัวอย่าง : SS06_Control _Chloroform_M1



ภาพที่ 28 ค่าปริมาณสารเคมีของตัวอย่างดิน SS06 เดือนที่ 1 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล

หมายเหตุ: ค่าความคล้ายคลึง : 85

ชื่อสามัญ : Allyl(dimethyl) silanol

น้ำหนักโมเลกุล : 116

สูตรเคมี : C5H12OSi

จากตัวอย่าง : SS06_Control _methanol_M1

ภาคผนวก ฉ
ลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์

>C02/1
ccccccctttcaaccggggttcccccccccacgaaaaaaggaaaggggtttttttttttt
ttttttttttttttttcttcatttctcccccccggcggtttttttttttttttgggtttttc
ttcttcagattgacgctggcggcatgccttacacatgcaagtcgaacggcagcacgggtg
cttgcacctggtggcgagtggcgaacgggtgagtaatacatcggaacatgtcctgtagtg
ggggatagcccggcgaaagccggattaataccgcatacgatctacggatgaaagcggggg
accttcgggcctcgcgctatagggttggccgatggctgattagctagttggtggggtaaa
ggcctaccaaggcgacgatcagtagctggtctgagaggacgaccagccacactgggactg
agacacggcccagactcctacgggaggcagcagtggggaattttggacaatgggcgaaag
cctgatccagcaatgccgcgtgtgtgaagaaggccttcgggttgtaaagcacttttgtcc
ggaaagaaatccttggctctaatacagccgggggatgacggtaccggaagaataagcacc
ggctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgtagggtgcaagcgttaatcggaattac
tgggcgtaaagcgtgcgcaggcggtttgctaagaccgatgtgaaatccccgggctcaacc
tgggaactgcattggtgactggcaggctagagtatggcagaggggggtagaattccacgt
gtagcagtgaaatgcgtagagatgtggaggaataccgatggcgaaggcagccccctgggc
caatactgacgctcatgcacgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagt
ccacgcgggaaaagatgtcactagttgttggggattcatttccttagtaacgtagctaac
gcgtgaagttgaccgcctggggagtacggtcgcaagattaaaactcaaaggaattgacgg
ggacccgcacaagcggtggatgatgtggattaattcgatgcaacgcgaaaaaccttacct
acccttgacatggtcggaatcctgctgagaggtgggagtgctcgaaagagaaccggcgca
caggtgctgcatggctgtcgtcagctcgtgtcgtgagatgttgggttaagtcccgcaacg
agcgcaacccttgtccttagttgctacgcaagagcactctaaggagactgccggtgacaa
accggaggaaggtggggatgacgtcaagtcctcatggcccttatgggtagggcttcacac
gtcatacaatggtcggaacagagggttgccaacccgcgagggggagctaatcccagaaaa
ccgatcgtagtccggattgcactctgcaactcgagtgcatgaagctggaatcgctagtaa
tcgcggatcagcatgccgcggtgaatacgttcccgggtcttgtacacaccgcccgtcaca
ccatgggagtgggttttaccagaagtggctagtctaaccgcaaggaggacggtcaccacg
gtaggattcatgactggggtgaagtctaccaagggggaaccaaaaaccccggtgtcccccc
cagctcgtatgcccaaatactccgggtaaaccccgggctattccccacccccaggacccgc
accgatgtaagaggtcacacgttcgg

ภาพที่ 29 ลำดับเบสของจุลินทรียสายพันธุ์ C02/1

>C02/2
ccccaaaccctgaggatttctttaaaccgcttatacattaacccacccccttcccccccccc
gcaaatttttttttctttttttttagggtttttttccctcgctcaggacgaacgctggcggcg
tgcctaatacatgcaagtcgagcggacagatgggagcttgctccctgatgttagcggcgg
acgggtgagtaacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccgggaaaccggg
gctaataccggatggttgtttgaaccgcatggttcaaacataaaaggtggcttcggctac
cacttacagatggacccgcggcgcattagctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcg
acgatgcgtagccgacctgagagggtgatcggccacactgggactgagacacggcccaga
ctcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaac
gccgcgtgagtgatgaaggttttcggatcgtaaagctctgttgttagggaagaacaagta
ccgttcgaatagggcggtaccttgacggtacctaaccagaaagccacggctaactacgtg
ccagcagccgcggtaatacgtaggtggcaagcgttgtccggaattattgggcgtaaaggg
ctcgcaggcggtttcttaagtctgatgtgaaagcccccggctcaaccggggagggtcatt
ggaaactggggaacttgagtgcagaagaggagagtggaattccacgtgtagcggtgaaat
gcgtagagatgtggaggaacaccagtggcgaaggcgactctctggtctgtaactgacgct
gaggagcgaaagcgtggggagcgaacaggattagataccctggtagtccacgcagaggga
gatgagtgctagtgttaggggtttccgccccttagtgctgcagctaacgcattaagcac
tccgcctggggagtacggtcgcaagactgaaactcaaaggaattgacgggggcccgcaca
agcggtggagcatgtggtttaattcgaagcaacgcgaagaaccttaccaggtcttgacat
cctctgacaatcctagagataggacgtccccttcgggggcagagtgacaggtggtgcatg
gttgtcgtcagctcgtgtcgtgagatgttgggttaagtcccgcaacgagcgcaacccttg
atcttagttgccagcattcagttgggcactctaaggtgactgccggtgacaaaccggagg
aaggtggggatgacgtcaaatcatcatgccccttatgacctgggctacacacgtgctaca
atggacagaacaaagggcagcgaaaccgcgaggttaagccaatcccacaaatctgttctc
agttcggatcgcagtctgcaactcgactgcgtgaagctggaatcgctagtaatcgcggat
cagcatgccgcggtgaatacgttcccgggccttgtacacaccgcccgtcacaccacgaga
gtttgtaacacccgaagtcggtgaggtaacctttaggagccagccgccgaaggtgggac
agatgattggggtgaagtctaaaaggggggaaccaaaaaaaaccccccccccggcctttc
ccccccccctccgggtttaaaccgggggaagcccccctggattaaagggtttttccccc
tacttccccgatttaccaggccc

ภาพที่ 30 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C02/2

>C03
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaataacccccccccctttttttttttttttttttttg
tttttctctcttcaggatgacgctggcggcgtgcctaatacatgcaagtcgagcgaactg
attagaagcttgcttctatgacgttagcggcggacgggtgagtaacacgtgggcaacctg
cctgtaagactgggataacttcgggaaaccgaagctaataccggataggatcttctcctt
catgggagatgattgaaagatggtttcggctatcacttacagatgggcccgcggtgcatt
agctagttggtgaggtaacggctcaccaaggcaacgatgcatagccgacctgagagggtg
atcggccacactgggactgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagtagggaat
cttccgcaatggacgaaagtctgacggagcaacgccgcgtgagtgatgaaggctttcggg
tcgtaaaactctgttgttagggaagaacaagtacgagagtaactgctcgtaccttgacgg
tacctaaccagaaagccacggctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgtaggtggc
aagcgttatccggaattattgggcgtaaagcgcgcgcaggcggtttcttaagtctgatgt
gaaagcccacggctcaaccgtggagggtcattggaaactggggaacttgagtgcagaaga
gaaaagcggaattccacgtgtagcggtgaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtgg
cgaaggcggcttttggtctgtaactgacgctgaggcgcgaaagcgtggggagcaaacag
gattagataccctggtagtccacgcttaaagagatgagtgctagtgttagagggtttccg
ccctttagtgctgcagctaacgcattaagcactccgcctggggagtacggtcgcaagact
gaaactcaaaggaattgacgggggcccgcacaagcggtggagcatgtggtttaattcgaa
gcaacgcgaagaaccttaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgtt
cccccttcgggggacagagtgacaggtggtgcatggttgtcgtcagctcgtgtcgtgagat
gttgggttaagtcccgcaacgagcgcaaccccttgatcttagttgccagcatttagttggg
cactctaaggtgactgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatca
tgccccttatgacctgggctacacacgtgctacaatggatggtacaaagggctgcaagac
cgcgaggtcaagccaatcccataaaaccattctcagttcggattgtaggctgcaactcgc
ctacatgaagctggaatcgctagtaatcgcggatcagcatgccgcggtgaatacgttccc
gggccttgtacacaccgcccgtcacaccacgagagtttgtaacacccgaagtcggtggag
taaccgtaaggagctagccgcctaaggtgggacagatgattggggtgaagtcaaaaaggg
gggacccaaaaaaaaggtttttttctggtttttttccccgccgtttgggccggaaaaacgaa
gaagtacccgtttggaaaaggaggttggccccccccctccccccccgaccccacg

ภาพที่ 31 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C03

>C04
ttttttttataaaaaaaaaaaaaaaagggatataaaaaaggtaaaaaatctttttcgggtct
tttttgaaaaaaatacccccccccttcccccccctttttttttttttttttttttttttttt
ttcttctctcagacgaacgctggcggcgtgcctaatacatgcaagtcgagcgcaggaaac
tgacggaactcttcggagggaaggcagtggaatgagcggcggacgggtgagtaacacgta
aggaacctgcctcaaggattgggataactccgagaaatcggagctaataccggatagttc
aacggaccgcatggtccgctgatgaaaggcgcttcggcgtcaccttgagatggccttgcg
gtgcattagctagttggtggggtaacggcccaccaaggcgacgatgcatagccgacctga
gagggtgatcggccacactgggactgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagt
agggaatcttccacaatggacgaaagtctgatggagcaacgccgcgtgagtgatgaaggt
tttcggatcgtaaaactctgttgtaagggaagaacacgtacgagagggaatgctcgtacc
ttgacggtaccttacgagaaagccacggctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgt
aggtggcaagcgttgtccggaattattgggcgtaaagcgcgcgcaggcggcctttttaagt
ctgatgtgaaagcccccggctcaaccggggagggccattggaaactggaaggcttgagta
cagaagagaagagtggaattccacgtgtagcggtgaaatgcgtagagatgtggaggaaca
ccagtggcgaaggcgactctttggtctgtaactgacgctgaggcgcgaaagcgtggggag
caaacaggattagataccctggtagtccacgggaccgacgatgagtgctaggtgttgggg
ggtttccgcccctcagtgctgaagctaacgcattaagcactccgcctggggagtacggcc
gcaaggctgaaactcaaaggaattgacggggacccgcacaagcggtggagcatgtggttt
aattcgaagcaacgcgaagaaccttaccaactcttgacatcccattgaccgcttgagaga
tcaagttttcccttcggggacaatggtgacaggtggtgcatggttgtcgtcagctcgtgt
cgtgagatgttgggttaagtcccgcaacgagcgcaacccctatccttagttgccagcatt
cagttgggcactctagggagactgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtca
aatcatcatgcccctatgagttgggctacacacgtgctacaatggacggtacaaagggc
agcgagaccgcgaggtggagccaatcccataaagccgttcccagttcggattgcaggctg
caactcgcctgcatgaagtcggaatcgctagtaatcgcaggtcagcatactgcggtgaat
acgttcccgggtcttgtacacaccgcccgtcacaccacgagagtttgcaacacccgaagc
cggtgaggtaaccgcaaggagccagccgtcgaaggtggggtagatgattggggtgaagtc
taaaaggggaaaccaaaaaaaaccccccaggccctttttttgggccggaattggattttaa
agcaccaaacgcccgggggtccaaaagggatttaccttccttgtgccatttttcccccccg
g

ภาพที่ 32 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C04

>C05
tttccccgggggtttcggcggccacccacgggttgtaaaatttttgggggctttttt
tttttaaaaaccccggcccccccccccctgttttttttttttagatttttttctctgct
caggatgaacgctggcggcgtgcctaatacatgcaagtcgagcgaacagacgaggagctt
gctcctctgacgttagcggcggacgggtgagtaacacgtggataacctacctataagact
gggataacttcgggaaaccggagctaataccggataatatattgaaccgcatggttcaat
agtgaaagacggttttgctgtcacttatagatggatccgcgccgcattagctagttggta
aggtaacggcttaccaaggcaacgatgcgtagccgacctgagagggtgatcggccacact
ggaactgagacacggtccagactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatgg
gcgaaagcctgacggagcaacgccgcgtgagtgatgaaggtcttcggatcgtaaaactct
gttattagggaagaacaaatgtgtaagtaactatgcacgtcttgacggtacctaatcaga
aagccacggctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgtaggtggcaagcgttatccg
gaattattgggcgtaaagcgcgcgtaggcggtttttaagtctgatgtgaaagcccacgg
ctcaaccgtggagggtcattggaaactggaaaacttgagtgcagaagaggaaagtggaat
tccatgtgtagcggtgaaatgcgcagagatatggaggaacaccagtggcgaaggcgactt
tctggtctgtaactgacgctgatgtgcgaaagcgtggggatcaaacaggattagataccc
tggtagtccacgccgaggtgatgagtgctagtgttaggggtttccgccccttagtgct
gcagctaacgcattaagcactccgcctggggagtacgaccgcaaggttgaaactcaaagg
aattgacggggacccgcacaagcggtggagcatgtggtttaattcgaagcaacgcgaaga
accttaccaaatcttgacatcctctgaccccctctagagatagagttttccccttcgggggg
acagagtgacaggtggtgcatggttgtcgtcagctcgtgtcgtgagatgttgggttaagt
cccgcaacgagcgcaacccttaagcttagttgccatcattaagttgggcactctaagttg
actgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgccccttatga
tttgggctacacacgtgctacaatggacaatacaaagggtagcgaaaccgcgaggtcaag
caaatcccataaagttgttctcagttcggattgtagtctgcaactcgactatatgaagct
ggaatcgctagtaatcgtagatcagcatgctacggtgaatacgttcccgggtcttgtaca
caccgcccgtcacaccacgagagtttgtaacacccgaagccggtggagtaaccatttgga
gctagccgtcgaaggtgggacaaatgattggggtgaagtctaaaaggggaaacaaaaaa
aaaactttccgggccgtaaccggaaccaaaatggggtaaaggggggggaaacaaccggaa
tccgaaacggtgggacccctaacttgggaaatttttccccccga

ภาพที่ 33 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C05

>C06
acccccccctttttttttttttttttttctctctgtttaaaaagaggggggatttttttt
ttttttttttttattttctcttcctcccccccccccttttttttttttgtttttttaatttg
ggttttcccctctctcagattgaacgctggcggcaggcttaacacatgcaagtcgagcgg
agagaggtagcttgctactgatcttagcggcggacgggtgagtaatgcttaggaatctgc
ctattagtgggggacaacatttcgaaaggaatgctaataccgcatacgtcctacgggaga
aagcaggggatcttcggaccttgcgctaatagatgagcctaagtcggattagctagttgg
tggggtaaaggcctaccaaggcgacgatctgtagcgggtctgagaggatgatccgccaca
ctgggactgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagtggggaatattggacaat
gggcgcaagcctgatccagccatgccgcgtgtgtgaagaaggccttatggttgtaaagca
ctttaagcgaggaggaggctactttagttaatacctagagatagtggacgttactcgcag
aataagcaccggctaactctgtgccagcagccgcggtaatacagagggtgcaagcgttaa
tcggatttactgggcgtaaagcgcgcgtaggcggctaattaagtcaaatgtgaaatcccc
gagcttaacttgggaattgcattcgatactggttagctagagtgtgggagaggatggtag
aattccaggtgtagcggtgaaatgcgtagagatctggaggaataccgatggcgaaggcag
ccatctggcctaacactgacgctgaggtgcgaaagcatggggagcaaacaggattagata
ccctggtagtcccacaatctatcgtgagtctctagccgttggggcctttgaggctttagt
ggcgcagctaacgcgataagtagaccgcctggggagtacggtcgcaagactaaaactcaa
atgaattgacgggggcccgcacaagcggtggagcatgtggtttaattcgatgcaacgcga
agaaccttacctggccttgacatagtaagaactttccagagatggattggtgccttcggg
aacttacatacaggtgctgcatggctgtcgtcagctcgtgtcgtgagatgttgggttaag
tcccgcaacgagcgcaaccctttccttatttgccagcgagtaatgtcgggaactttaag
gatactgccagtgacaaactggaggaaggcggggacgacgtcaagtcatcatggcccttа
cggccagggctacacacgtgctacaatggtcggtacaaagggttgctacctagcgatagg
atgctaatctcaaaaagccgatcgtagtccggattggagtctgcaactcgactccatgaa
gtcggaatcgctagtaatcgcggatcagaatgccgcggtgaatacgttcccgggccttgt
acacaccgcccgtcacaccatgggagtttgttgcaccagaagtagctagcctaactgcaa
agagggcggttaccacggtgtggccgatgactggggtgaagtcgtacaaggggaacccaa
accgttgtcggcacattccgatgcgtaactcaccgttcgcactcgccccacgacgctgct
ccccgctgcagtcgacttgctggtcgactcgccgcgtgtccg

ภาพที่ 34 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C06

>C08
cccaaggtatttaaaggagcccccccccccccgggggttttttttgggggggggcgata
ttaacacacccaatgcgcccccgatttttttttctttttttttgggggttttttcctctct
caggatgaacgctggcggcgtgcctaatacatgcaagtcgagcgaactgattagaagctt
gcttctatgacgttagcggcggacgggtgagtaacacgtgggcaacctgcctgtaagact
gggataacttcgggaaaccgaagctaataccggataggatcttctccttcatgggagatg
attgaaagatggtttcggctatcacttacagatgggcccgcggtgcattagctagttggt
gaggtaacggctcaccaaggcaacgatgcatagccgacctgagagggtgatcggccacac
tgggactgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatg
gacgaaagtctgacggagcaacgccgcgtgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactc
tgttgttagggaagaacaagtacgagagtaactgctcgtaccttgacggtacctaaccag
aaagccacggctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgtaggtggcaagcgttatcc
ggaattattgggcgtaaagcgcgcgcaggcggtttcttaagtctgatgtgaaagcccacg
gctcaaccgtggagggtcattggaaactggggaacttgagtgcagaagagaaaagcggaa
ttccacgtgtagcggtgaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtggcgaaggcggct
ttttggtctgtaactgacgctgaggcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagatacc
ctggtagtccacgccggaggcgatgagtgctagtgttagagggtttccgccctttagtgc
tgcagctaacgcattaagcactccgcctggggagtacggtcgcaagactgaaactcaaag
gaattgacgggggcccgcacaagcggtggagcatgtggtttaattcgaagcaacgcgaag
aaccttaccaggtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttcccccttcgggg
gacagagtgacaggtggtgcatggttgtcgtcagctcgtgtcgtgagatgttgggttaag
tcccgcaacgagcgcaacccttgatcttagttgccagcatttagttgggcactctaaggt
gactgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgccccttatg
acctgggctacacacgtgctacaatggatggtacaaagggctgcaagaccgcgaggtcaa
gccaatcccataaaaccattctcagttcggattgtaggctgcaactcgcctacatgaagc
tggaatcgctagtaatcgcggatcagcatgccgcggtgaatacgttcccgggccttgtac
acaccgcccgtcacaccacgagagtttgtaacacccgaagtcggtggagtaaccgtaagg
agctagccgcctaaggtgggacagatgattggggtgaagtctacaaggggaaccaaaaa
aacctttttttcccctttgccgtccttggttatgcggaaatacccggaggatacccgga
aattaaagatgttttacccggcttgttctccccccgccccccc

ภาพที่ 35 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C08

>C09
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaatatttttatttttttttat
tttttaaaaaaaggggggttttttttccgcccggtgtgtttttttttttttaaggtttttca
cactgtcagattgaacgctggcggcaggcctaacacatgcaagtcggacggtagcacagg
ggagcttgctctccgggtgacgagtggcggacgggtgagtaatgtctgggaaactgcccg
gtggaggggataactactggaaacggtagctaataccgcataacgtcttcggaccaaag
tgggggatcttcggacctcacgccaccggatgtgcccagatgggattagctggtaggtga
ggtaacggctcacctaggcgacgatccctagctggtctgagaggatgaccagccacactg
gaactgagacacggtccagactcctacgggaggcagcagtggggaatattgcacaatggg
cgcaagcctgatgcagccatgccgcgtgtatgaagaaggccttcgggttgtaaagtactt
tcagcggggaggaaggcggtgaggttaataaccttgccgattgacgttacccgcagaaga
agcaccggctaactccgtgccagcagccgcggtaatacggagggtgcaagcgttaatcgg
aattactgggcgtaaagcgcacgcaggcggtctgttaagtcagatgtgaaatccccgggc
ttaacctgggaactgcatttgaaactggcaggcttgagtctcgtagaggggggtagaatt
ccaggtgtagcggtgaaatgcgtagagatctggaggaataccggtggcgaaggcggcccc
ctggacgaagactgacgctcaggtgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccct
ggtagtccacgcagacggtgatgtcgacttggaggctgttccctgaggagtggcttccgg
agctaacgcgttaagtcgaccgcctggggagtacggccgcaaggttaaaactcaaatgaa
ttgacgggggcccgcacaagcggtggagcatgtggtttaattcgatgcaacgcgaagaac
cttacctggccttgacatccagagaacttagcagagatgctttggtgccttcgggaactc
tgagacaggtgctgcatggctgtcgtcagctcgtgttgtgaaatgttgggttaagtcccg
caacgagcgcaacccttatcctttgttgccagcgggtgatgccgggaactcaaaggagac
tgccggtgataaaccggaggaaggtggggatgacgtcaagtcatcatggcccttacggcc
agggctacacacgtgctacaatggcgcatacaaagagaagcgacctcgcgagagcaagcg
gacctcataaagtgcgtcgtagtccggatcggagtctgcaactcgactccgtgaagtcgg
aatcgctagtaatcgtagatcagaatgctacggtgaatacgttcccgggccttgtacaca
ccgcccgtcacaccatgggagtgggttgcaaaagaagtaggtagcttaacctccgggagg
gcgcttaccactttgtgattcatgactggggtgaagtctaaaaaggggggaaacaaaaaaa
atgggccccaaaccttttcccccctttgggggggaaaatttcgggggcgggggggggaattttt
tccccccgggttttcccccccaaattcccccgggtttcccccccc

ภาพที่ 36 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C09

>C10
ggggcaagaaagaacgcccacccccccgggggttttttttttgggggggggccttttttttt
tcccccacccactccctttttttttttttttttttttttagggttttcccccctgctcagga
tgaacgctggcggcgtgcctaatacatgcaagtcgagcgaaccgattaagagcttgctct
taagaagttagcggcggacgggtgagtaacacgtaggtaacctgcctataagactgggat
aactccgggaaaccggggctaataccggataacattttgcaccgcatggtgcgaaattga
aaggcggcttcggctgtcacttatagatggacctgcggcgcattagctagttggtgaggt
aacggctcaccaaggcgacgatgcgtagccgacctgagagggtgatcggccacactggga
ctgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacga
aagtctgacggagcaacgccgcgtgaacgatgaaggctttcgggtcgtaaagttctgttg
ttagggaagaacaagtgctagttgaataagctggcaccttgacggtacctaaccagaaag
ccacggctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgtaggtggcaagcgttatccggaa
ttattgggcgtaaagcgcgcgcaggtggtttcttaagtctgatgtgaaagcccacggctc
aaccgtggagggtcattggaaactgggagacttgagtgcagaagaggaaagtggaattcc
atgtgtagcggtgaaatgcgtagagatatggaggaacaccagtggcgaaggcgactttct
ggtctgtaactgacactgaggcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctgg
tagtccacgccctacgagatgagtgctagtgttagagggtttccgccctttagtgctgaa
gttaacgcattaagcactccgcctggggagtacggccgcaaggctgaaactcaaaggaat
tgacgggggcccgcacaagcggtggagcatgtggtttaattcgaagcaacgcgaagaacc
ttaccaggtcttgacatcctctgacaaccctagagatagggcttcccccttcgggggcaga
gtgacaggtggtgcatggttgtcgtcagctcgtgtcgtgagatgttgggttaagtcccgc
aacgagcgcaacccttgatcttagttgccatcattaagttgggcactctaaggtgactgc
cggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgccccttatgacctgg
gctacacacgtgctacaatggacggtacaaagagtcgcaagaccgcgaggtggagctaat
ctcataaaaccgttctcagttcggattgtaggctgcaactcgcctacatgaagctggaat
cgctagtaatcgcggatcagcatgccgcggtgaatacgttcccgggccttgtacacaccg
cccgtcacaccacgagagtttgtaacacccgaagtcggtggggtaacctttttggagccag
ccgcctaaggtgggacagatgattggggtgagtcgaaaaggggggaaacaaaaaaaaaaac
ccccccccgccttgcaccatccgggaggggctcaaaagcggcggcccccccccccccccgcc
ccccccccccccccccccccccccccccccc

ภาพที่ 37 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C10

>C11
ttttcccccccccccccccccaattcaaaaaaaggggggggaagttttttttttttt
ttttttttttttttttttttttcccgccccctttttttttttttttttttttttgg
ttttccccccctctcagattgacgctggcggcatgctttacacatgcaagtcgaacggcag
cacgggagcttgctcctggtggcgagtggcgaacgggtgagtaatgcatcggaatgtacc
gtgtaatgggggatagctcggcgaaagccggattaataccgcatacgccctgaggggggaa
agcgggggatcgaaagacctcgcgttatacgagcagccgatgtctgattagctagttggt
gaggtaagagctcaccaaggcgacgatcagtagcgggtctgagaggatgatccgccacac
tgggactgagacacggcccagactcctacgggaggcagcagtggggaattttggacaatg
ggcgcaagcctgatccagccatgccgcgtgtctgaagaaggccttcgggttgtaaaggac
ttttgtcagggaggaaatccctagcgctaataccgctgggggatgacagtacctgaagaa
taagcaccggctaactacgtgccagcagccgcggtaatacgtagggtgcaagcgttaatc
ggaattactgggcgtaaagcgtgcgcaggcggttgtgcaagtctgatgtgaaagccccgg
gcttaacctgggaacggcattggagactgcacgactagagtgcgtcagaggggggtagaa
ttccacgtgtagcagtgaaatgcgtagagatgtggaggaataccgatggcgaaggcagcc
ccctgggatgacactgacgctcatgcacgaaagcgtggggagcaaacaggattagatacc
ctggtagtccacgcggacctcgatgtcactagctgttgggggtttgaatccttggtagcg
tagctaacgcgtgaagttgaccgcctggggagtacggccgcaaggttaaaactcaaagga
attgacggggacccgcacaagcggtggatgatgtggattaattcgatgcaacgcgaaaaa
ccttacctgctcttgacatgtacggaacttgccagagatggcttggtgcccgaaagggag
ccgtaacacaggtgctgcatggctgtcgtcagctcgtgtcgtgagatgttgggttaagtc
ccgcaacgagcgcaacccttgtcattagttgccatcattcagttgggcactctaatgaga
ctgccggtgacaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaagtcctcatggcccttatgag
cagggcttcacacgtcatacaatggtcggtacagagggttgccaagccgcgaggtggagc
taatctcagaaaaccgatcgtagtccggatcgcactctgcaactcgagtgcgtgaagtcg
gaatcgctagtaatcgcagatcagcatgctgcggtgaatacgttcccgggtcttgtacac
accgcccgtcacaccatgggagtgagtttcaccagaagtgggtaggctaaccgcaaggag
gccgcttaccacggtgggattcatgactggggtgaatcgaaaggggggccaaaaaaaag
aaaaacccgggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggg
gggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggcgggggg
gggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggggg
gggg

ภาพที่ 38 ลำดับเบสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ C11

แบบสรุปผลงานวิจัย / โครงการวิจัย

ประเภทงบประมาณโครงการวิจัย

- ■ งบประมาณรายจ่ายประจำปี ... 2562...
- ☐ งบประมาณเงินรายได้ประจำปี
- ☐ เงินรายได้งบกลางมหาวิทยาลัยฯ.....
- ☐ เงินรายได้สะสมคณะ.....
- ☐ เงินรายได้สะสมมหาวิทยาลัยฯ.....
- ☐ งบประมาณกองทุนส่งเสริมงานวิจัยฯ .....
- ☐ งบประมาณภายนอก .....
- ☐ อื่นๆ (ระบุ).....

ประเภทเงินอุดหนุนโครงการวิจัย

☐ เงินอุดหนุนโครงการวิจัยพื้นฐาน ■ เงินอุดหนุนโครงการวิจัยประยุกต์ ☐ เงินอุดหนุนโครงการวิจัยและพัฒนา

ผลผลิตผลงานวิจัย

☐ ผลผลิตเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยี ■ ผลผลิตเพื่อสร้างองค์ความรู้

---

๑. ชื่อผลงาน / โครงการ การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในพื้นที่เกษตรกรรม เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับพัฒนาพื้นที่เกษตรอินทรีย์

๒. ชื่อผลงาน / โครงการ Study of the diversity of pesticide residue-detoxifying bacteria from agricultural field for organic farming cultivation

๓. ชื่อ นามสกุล นักวิจัย นางสาวจันทิมา ฑีฆะ

๔. ชื่อ นามสกุล นักวิจัย Miss Jantima Teeka

๕. ที่อยู่ที่ติดต่อได้ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
เบอร์โทร 02-549-4179-80 อีเมล์ jan_pokpong@yahoo.com

๖. ชื่อหน่วยงาน สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

๗. ปี พ.ศ. ที่ดำเนินงานเสร็จ 2563

๘. คำค้น (keywords) แบคทีเรีย พาราควอท ย่อยสลาย

๙. อ้างอิง -

๑๐. รูปภาพ หรือภาพเคลื่อนไหว -

๑๑. คำอธิบาย ๕ บรรทัด (font Tahoma ขนาด ๑๐ แบบ Regular)

งานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่อยู่ในดินแปลงเกษตรกรรม คัดแยกจุลินทรีย์จากดิน จัดจำแนกสายพันธุ์ นำจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มาทดสอบการรอดชีวิตในดินที่ปนเปื้อนสารเคมี นำจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้และจุลินทรีย์เดี่ยว 6 สายพันธุ์ มาทดสอบการรอดชีวิตและการย่อยสลายสารเคมีในอาหารสังเคราะห์ที่เติมพาราควอท 2 ระดับ คือ 87.75 และ 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำดินที่มีการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้และเติมสารเคมี มาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารเคมี ด้วยเทคนิค GC-MS และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ ด้วยเทคนิค DGGE

๑๒. ลักษณะการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (ระบุพร้อมแนบเอกสาร และกรอบแบบฟอร์ม IRD_08)

- ■ การใช้ประโยชน์เชิงวิชาการ
- ☐ การใช้ประโยชน์เชิงสาธารณะ
- ☐ การใช้ประโยชน์เชิงเชิงนโยบาย
- ☐ การใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์

๑๓. การเผยแพร่ผลงาน (การตีพิมพ์หรือการนำเสนอผลงานทางวิชาการหรืออื่นๆ พร้อมแนบเอกสาร)

-

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ทำการเกษตรกรรมเป็นหลัก เกษตรกรมีการใช้สารเคมีในการทำเกษตรกรรม ซึ่งพาราควอทเป็นสารเคมีกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ส่งผลให้ดินในพื้นที่ทางการเกษตรมีการปนเปื้อนสารเคมีดังกล่าว และส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์ในการคัดแยกจุลินทรีย์จากแปลงเกษตรกรรม ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายพาราควอท ตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารเคมีที่ตกค้างในดิน และจุลินทรีย์ที่พบในดิน โดยเก็บตัวอย่างดินแปลงเกษตรกร ตำบลบึงกาสาม อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี จำนวน 14 แหล่ง คัดแยกจุลินทรีย์และจัดจำแนกด้วยวิธี16s rRNA พบว่า C02/1 C02/2 C03 C04 C05 C06 C08 C09 C10 และ C11 มีความคล้ายคลึงกับ *Burkholderia cepacia , Bacillus subtilis, Bacillus aryabhattai, Exiguobacterium acetylicum, Staphylococcus epidermidis, Acinetobacter pittii, Bacillus aryabhattai, Pantoea dispersa, Bacillus albus* และ *Chromobacterium violaceum* ที่ระดับความเหมือนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ตามลำดับ

การศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์ในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช พบว่า ในเดือนที่ 3 จุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดคือ C10 ส่วนสายพันธุ์ที่พบรองลงมาได้แก่ C08, C03, C06, C05, C02/1, C02/2, C04, C11 และ C09 ตามลำดับ การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ในการอยู่รอดในดินที่เติมพาราควอทความเข้มข้นต่ำและความเข้มข้นสูง พบว่า C03 C08 C06 C10 C11 C04 และ C02/1 สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ ในเดือนที่ 3

การศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์เดี่ยว 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus agri* Karo_1, *Bacillus subtilis* Karo_2, *Pseudomonas statzeri* H1, *Providencia stuartii* P4, *Bacillus aryabhattai* M4, *Novosphingobium* sp. THA_AIK7 และจุลินทรีย์ผสมของ 6 สายพันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ PMS ที่มีพาราควอท 2 ระดับ คือ ความเข้มข้นต่ำ 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูง 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า จุลินทรีย์ผสมมีปริมาณเชื้อปริมาณสูงสุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีพาราควอททั้ง 2 ระดับ โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 4.653 log CFU/mL และ 4.708 log CFU/mL และสามารถลดปริมาณพาราควอทลงได้ 12.52 และ 2.708 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การศึกษาความมีชีวิตของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ PMS ที่มีพาราควอท 2 ระดับ คือ ความเข้มข้นต่ำ 87.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูง 877.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า C02/1 C02/2 C04 C11 และจุลินทรีย์ผสม (Mix) สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง

การวิเคราะห์หาสารเคมีปนเปื้อนในดินด้วยเครื่อง Gas chromatography Mass spectrometry (GC-MS) โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เมทานอลและคลอโรฟอร์ม สามารถวิเคราะห์สารเคมีที่ปนเปื้อนในดินได้มากกว่า 10 ชนิด แต่ไม่สามารถตรวจพบพาราควอท เนื่องจากปริมาณดินและวิธีการสกัดที่ไม่เหมาะสม ผลการวิเคราะห์พาราควอทในดิน SS06 และ SS09.1 มีพาราควอทปริมาณ 0.50 และ 4.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนดิน SS11 ไม่พบพาราควอท เนื่องจากเป็นดินจากแปลงเกษตรอินทรีย์

การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน 14 แหล่ง ด้วยเทคนิค Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) พบจุลินทรีย์ที่เป็นกลุ่มประชากรใหญ่ในดินตัวอย่าง 9 สายพันธุ์ ได้แก่ *Dechloromonas aromatica* RCB, *Pseudomonas* sp. UW4, *Pseudomonas syringae* B728a, *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1, *Nitrosomonas* sp. AL212, *Bacillus subtilis* No.66, *Agrobacterium* sp. H13-3, *Enterobacter* sp. OM1 และ *Sphingobacterium* sp. 21

การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์และสารเคมีในดิน 3 ชุด คือ SS06 SS09.1 และ SS11 ด้วยเทคนิค DGGE และ GC-MS โดยการเติมจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ 10 สายพันธุ์ พบว่า ชนิดและปริมาณสารเคมีในดินที่ลดลง สอดคล้องกับการเพิ่มชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ในดิน จุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ในดินที่มีการเติมพาราควอท ได้แก่ C03 C08 C06 C10 C11 C04 และ C02/1

ผลการวิจัยนี้ พบว่าจุลินทรีย์บางชนิดสามารถปรับตัวมีชีวิตรอด และบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีการปนเปื้อนสารเคมี แสดงให้เห็นถึงความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารเคมีตกค้างในดิน ดังนั้น การนำกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยสลายสารเคมี ไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพดิน จะช่วยให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และเกษตรกรยังสามารถปรับเปลี่ยนจากการทำเกษตรที่ใช้สารเคมีมาเป็นเกษตรอินทรีย์ได้เร็วขึ้นอีกด้วย

คำสำคัญ : แบคทีเรีย พาราควอท ย่อยสลาย
Bacteria Paraquat degradation

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)

แบบฟอร์มการนำผลงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ไปใช้ประโยชน์

งานวิจัย หรือ งานสร้างสรรค์ เรื่อง การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียย่อยสลายสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในพื้นที่เกษตรกรรม เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับพัฒนาพื้นที่เกษตรอินทรีย์

หัวหน้าโครงการ นางสาวจันทิมา ฑีฆะ คณะ/หน่วยงาน สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

นิสิตผู้ช่วยวิจัย/ผู้ช่วยวิจัย ปาริฉัตร ปานฟัก ภัทรวดี ชื่นเรือง นันท์นภัส คำปาน ลภัสรดา สุ่มมาตย์ แสงเดือน วัติวงษ์ มณีรัตน์ ศรีเดช และ ธิดาพร โพธิ์ทอง

ชื่อหน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

การนำไปใช้ประโยชน์

หน่วยงาน/บุคคล ได้นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ทางด้านใด (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

(√) 1.เชิงวิชาการ โปรดระบุรายละเอียด

นำองค์ความรู้และจุลินทรีย์ที่ได้ ไปใช้ในการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์และทดสอบการย่อยสลายสารเคมีในแปลงเกษตรกรรมในระดับต่อไป

( ) 2.เชิงสาธารณะ โปรดระบุรายละเอียด

.....

( ) 3.เชิงนโยบาย โปรดระบุรายละเอียด

.....

( ) 4.เชิงพาณิชย์ โปรดระบุรายละเอียด

.....

โปรดระบุถึงหลักฐานการนำไปใช้ประโยชน์ พร้อมแนบหลักฐานประกอบ

.....

(.....)

(นางสาวจันทิมา ฑีฆะ)

ผู้รับรองการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ตำแหน่ง หัวหน้าโครงการวิจัย

วันที่ให้ข้อมูล ...../...../.....

เบอร์โทรติดต่อ..... E-mail : .....

หมายเหตุ : - ผู้รับรองการนำไปใช้ประโยชน์อาจเป็นคณบดี/หัวหน้าหน่วยงาน/ผู้นำชุมชน/บุคคลที่นำผลงานไปใช้

- แนบหลักฐานการนำไปใช้ประโยชน์ตามที่ได้ระบุไว้ข้างต้น

<u>คำชี้แจงเพิ่มเติม</u>

การนำงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์มาใช้อันก่อให้เกิดประโยชน์อย่างชัดเจน หมายถึง การมีหลักฐานแสดงว่าได้มีการนำผลงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ไปใช้ประโยชน์ตามวัตถุประสงค์หรือข้อเสนอแนะที่ระบุไว้ในรายงานการวิจัยอย่างถูกต้อง และมีหลักฐานปรากฏชัดเจนถึงการนำไปใช้จนก่อนให้เกิดประโยชน์ได้จริง ประเภทของการใช้ประโยชน์จากงานวิจัย และงานสร้างสรรค์มีดังนี้

1. การใช้ประโยชน์เชิงวิชาการ เช่น การใช้ประโยชน์ในการให้บริการวิชาการ (สอน/บรรยาย/ฝึกอบรม) การใช้ประโยชน์ในการพัฒนารูปแบบการจัดการเรียนการสอน การเขียนตำรา แบบเรียน การใช้ประโยชน์ในด้านการให้บริการ หรือเป็นงานวิจัยเพื่อต่อยอดโครงการวิจัย เป็นต้น

2. การใช้ประโยชน์ในเชิงสาธารณะ เช่น งานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ที่สร้างองค์ความรู้แก่สาธารณชนในเรื่องต่างๆ เช่น องค์ความรู้ในด้านศิลปวัฒนธรรม สาธารณสุข การบริหารจัดการสำหรับวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (SME) ประชาธิปไตยภาคประชาชน วิถีชีวิตแบบเศรษฐกิจพอเพียง เป็นต้น คุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นของประชาชน อันเป็นผลมาจากการนำข้อความรู้จากการวิจัยไปใช้เป็นสิ่งที่สะท้อนถึงการนำผลการวิจัยไปใช้ให้เกิดประโยชน์

3. การใช้ประโยชน์เชิงนโยบาย ระดับประเทศ เช่น งานวิจัยเชิงนโยบายไม่ว่าจะเป็นการนำผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเรื่องนั้นๆ ไปเป็นข้อมูลส่วนหนึ่งของการประกาศใช้กฎหมายหรือมาตรการต่างๆ ในองค์กร หรือหน่วยงานของภาครัฐและเอกชน

4. การใประโยชน์เชิงพาณิชย์ เช่น งานวิจัยและ/หรืองานสร้างสรรค์เพื่อพัฒนาสิ่งประดิษฐ์ หรือผลิตภัณฑ์ซึ่งก่อให้เกิดรายได้ตามมา

<u>ตัวอย่างหลักฐานการนำมาใช้อันก่อให้เกิดประโยชน์อย่างชัดเจน</u>

- หลักฐานที่แสดงผลดีที่เกิดขึ้นอย่างเป็นรูปธรรมจากการนำสิ่งประดิษฐ์อันเป็นผลจากงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์มาใช้ตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย เช่น บันทึกซึ่งแสดงระยะเวลาที่สามารถลดได้ในการปอกเปลือกกุ้ง เมื่อนำเครื่องปอกเปลือกกุ้งซึ่งเป็นสิ่งประดิษฐ์จากการวิจัยไปใช้งาน เป็นต้น
- หลักฐานที่แสดงผลดีที่เกิดขึ้นอย่างเป็นรูปธรรมจากการนำงานวิจัยปฏิบัติการในชั้นเรียน มาใช้ในการแก้ไขปัญหาการจัดการเรียนการสอนตามวัตถุประสงค์ที่ระบุไว้ในงานวิจัย เช่น ผลจากการสังเกตพฤติกรรมนักศึกษา ผลจากการสัมภาษณ์อาจารย์ บันทึก ผลการทดสอบวัดความรู้/ทักษะของนักศึกษาที่แสดงไว้ว่า นักศึกษามีพัฒนาการทางการเรียนดีขึ้น หรือมีพฤติกรรมระหว่างการเรียนดีขึ้น เป็นต้น
- หลักฐานที่แสดงผลดีที่เกิดขึ้นอย่างเป็นรูปธรรมจากการนำนโยบาย/กฎหมาย/มาตรการ ที่เป็นผลมาจากงานวิจัยนโยบาย มาใช้ในองค์กร/คณะ/สถาบัน เช่น มีจำนวนคณาจารย์ในสถาบันอุดมศึกษาที่ทำงานวิจัยด้านสหวิทยาการมากขึ้น หลักจากสถาบันฯ ได้กำหนดนโยบายที่จะเป็นผู้นำทางด้านการวิจัยสหวิทยาการภายในปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 โดยนโยบายดังกล่าว เป็นผลจากการวิจัยนโยบายเพื่อกำหนดทิศทางด้านการทำวิจัยของสถาบัน เป็นต้น
- หลักฐานที่แสดงผลดีที่เกิดขึ้นอย่างเป็นรูปธรรมจากการนำหลักสูตรการสอน/ทฤษฎีการสอน/โสตทัศนูปกรณ์ประกอบการเรียนการสอน/ตำราประกอบการสอน ฯลฯ ที่เป็นผลจากการวิจัยหรืองานสร้างสรรค์มาใช้ตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย เช่น ผลจากการสังเกตพฤติกรรมนักศึกษา ผลจากการสัมภาษณ์อาจารย์ บันทึก ผลการทดสอบวัดความรู้/ทักษะของนักศึกษาที่แสดงได้ว่า นักศึกษามีพัฒนาการทางการเรียนดีขึ้น หรือมีพฤติกรรมระหว่างการเรียนดีขึ้น เป็นต้น