



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ สารฆ่าวัชพืชที่ตกค้างในปูนา *Esantheiphusa nani* จากพื้นที่เกษตรกรรม
จังหวัดน่าน

Herbicide residues in the rice field crab *Esantheiphusa nani*
living in Nan Province

ชื่อนิสิต นางสาวธัญญลักษณ์ บุญสร้าง

เลขประจำตัว 5932028123

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารฆ่าวัชพืชที่ตกค้างในปูนา *Esantheiphusa nani* จากพื้นที่เกษตรกรรมจังหวัดน่าน

Herbicide residues in the rice field crab *Esantheiphusa nani* living in Nan
Province

นางสาวธัญญลักษณ์ บุญสร้าง

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพดล กิตนะ

โครงการวิทยาศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

โครงการวิทยาศาสตร์ฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจาก

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ	: สารฆ่าวัชพืชที่ตกค้างในปูนา <i>Esantheiphusa nani</i> จากพื้นที่เกษตรกรรมจังหวัดน่าน
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	: นางสาวธัญญลักษณ์ บุญสร้าง
อาจารย์ที่ปรึกษา	: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพดล กิตนะ
ภาควิชา	: ชีววิทยา

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันมีการใช้สารฆ่าวัชพืชปริมาณมากเพื่อเพิ่มผลผลิตและลดการสูญเสียจากศัตรูพืชในการทำเกษตรกรรม โดยจังหวัดน่านเป็นหนึ่งในจังหวัดที่มีการนำเข้าและใช้สารฆ่าวัชพืชเป็นปริมาณมาก สารฆ่าวัชพืชเหล่านี้สามารถตกค้างและปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมและอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในพื้นที่นั้นได้ ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบสารฆ่าวัชพืช ได้แก่ พาราควอต และแอทราซีน ที่ตกค้างในปูนา *Esantheiphusa nani* ซึ่งเป็นสัตว์เฝ้าระวังที่ใช้ในพื้นที่โดยเก็บตัวอย่างปูนาจากพื้นที่เกษตรกรรม 2 พื้นที่ คือ พื้นที่เกษตรกรรมตำบลไหล่น่าน ซึ่งเป็นพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชมากกว่า 10 ปี และพื้นที่เกษตรกรรมตำบลบ้านसान อำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน ซึ่งเป็นพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชอย่าง ต่อเนื่องเป็นประจำ จากนั้นทำตัวอย่างมาทำแห้ง สกัดและตรวจสอบการตกค้างของสารด้วยวิธี ELISA พบว่าปริมาณพาราควอตที่ตกค้างในเนื้อเยื่อปูนาจากพื้นที่อ้างอิงมีค่า 4.39 ถึง 73.75 ng/g น้ำหนักแห้ง และจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชอยู่ในช่วง 29.31 ถึง 466.60 ng/g น้ำหนักแห้ง ส่วนปริมาณการปนเปื้อนของแอทราซีนในเนื้อเยื่อปูนาจากพื้นที่อ้างอิงอยู่ในระหว่าง 3.01 ถึง 15.07 ng/g น้ำหนักแห้ง และจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชอยู่ในช่วง 3.77 ถึง 8.34 ng/g น้ำหนักแห้ง โดยการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปเผยแพร่ให้เกษตรกรตระหนักถึงผลกระทบจากการใช้สารเคมีในพื้นที่เกษตรกรรมต่อสุขภาพของสัตว์เฝ้าระวัง เกษตรกร ตลอดจนสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: นาข้าว, พาราควอต, สัตว์เฝ้าระวัง, แอทราซีน

Research Title : Herbicide residues in rice field crab *Esantheiphusa nani*
living in agricultural areas at Nan Province

Student name : Miss Thunyaluk Boonsrang

Advisor : Assistant Professor Noppadon Kitana, Ph.D.

Department of : Biology

Abstract

Nowadays, herbicide has been intensively used in agricultural activities in order to increase the yield of the crop. Nan province is one of the provinces that imports large quantity of herbicides. These herbicides can be contaminated as residues in the environment and affects the organisms in the field. This study aimed to examine for residue of herbicides, including atrazine and paraquat, in the rice field crab *Esantheiphusa nani*, a sentinel species in this area. Crab samples were field collected from 2 agricultural areas in Wiangsa district, Nan province including 1) a reference agricultural area in Lai Nan sub-district where there is no record of herbicide utilization for more than 10 years, and 2) an agricultural area in San sub-district where herbicides were intensively and routinely used. The crab samples were freeze-dried, extracted and assayed for the herbicide residue by ELISA. The results showed that paraquat residue in rice field crabs from the reference site was 4.39-73.75 ng/g (dry weight) and 29.31-466.60 ng/g (dry weight) in crabs from the potential contaminated site. The atrazine residue in crabs from the reference site was 3.01 to 15.07 ng/g (dry weight) and 3.77 to 8.34 ng/g (dry weight) in crabs from the potential contaminated site. The result of this study should be disseminated to the local farmers to raise awareness on the potential impact of herbicide utilization on health of the sentinel species, farmers, and the environment.

Keywords: atrazine, paraquat, rice field, sentinel species

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นพดล กิตนะ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ให้ความกรุณาในการให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือ ทั้งในด้านการติดต่อขอใช้สถานที่ศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค อำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน และอำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี การวิเคราะห์ข้อมูล ตลอดจนตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล ทำให้โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ทำให้การจัดทำงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรารัช กิตนะ นายรชตะ มณีอินทร์ นางสาวสุชาวดี ทองทา นายเพชร สิทธิชีวภาค นายชิฎิภัทร์ ณ ระนอง นางสาวณัฏษ์ภัส รัตนันท์ธนพงศ์ นางสาวญาณิศา กิ่งแก้ว และนางสาวณัฐฐณิชา หริ่งกระโทก รวมถึงสมาชิก BioSentinel Laboratory ทุกคน ที่คอยให้คำแนะนำทั้งในด้านการออกภาคสนามและการทำงานในห้องปฏิบัติการตลอดจนให้กำลังใจในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชษฐ คุนซื่อ นายเอกชัย ปัญญาอินทร์ นายวิโรจน์ กาสีมา และบุคลากรศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาคทุกท่าน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ด้านที่พัก และให้ความช่วยเหลือด้านการเก็บตัวอย่างภาคสนาม อำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการ BioSentinel และห้องปฏิบัติการเนื้อเยื่อวิทยาและไมโครเทคนิค ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านสารเคมี เครื่องมือและห้องปฏิบัติการตลอดการทำงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.จันทรเพ็ญ จันทรเจ้า ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชัย ดำรงโรจน์วัฒนา และอาจารย์ ดร.เกรียง กาญจนวดี อาจารย์ผู้ประสานงานรายวิชา โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาคการศึกษาปลาย ปีการศึกษา 2562 ที่ให้คำแนะนำในองค์ประกอบของเอกสารที่เกี่ยวข้องกับโครงการ

สุดท้ายขอขอบพระคุณกำลังใจจากครอบครัวที่คอยห่วงใยให้กำลังใจ สนับสนุนการศึกษา และเป็นแรงใจสำคัญที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	ก
ABSTRACT.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1. ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ.....	1
1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการ.....	2
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	3
2.1. เกษตรกรรมในจังหวัดน่าน.....	3
2.2. สารฆ่าวัชพืช.....	3
2.2.1 สารฆ่าวัชพืชไกลโฟเสต.....	3
2.2.2 สารฆ่าวัชพืชพาราควอต.....	5
2.2.3 สารฆ่าวัชพืชแอตราซีน.....	6
2.2 สิ่งมีชีวิตเฝ้าระวัง (sentinel species).....	8
2.3 ปูนา <i>Esanthelphusa nani</i>	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน.....	11
3.1 การเก็บตัวอย่างปูนา.....	11
3.2 การสกัดสารฆ่าวัชพืชจากตัวอย่างปูนา.....	12
3.2.1 การสกัดสารฆ่าวัชพืชชนิดพาราควอต.....	13
3.2.2 การสกัดสารฆ่าวัชพืชชนิดแอตราซีน.....	14
3.3 การตรวจสอบสารฆ่าวัชพืชด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)...14	
3.3.1 การตรวจสอบสารฆ่าวัชพืชพาราควอต.....	14
3.3.2 การตรวจสอบสารฆ่าวัชพืชแอตราซีน.....	14
3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	15
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	18
4.1 การปนเปื้อนของพาราควอตในเนื้อเยื่อปูนา.....	17
4.2 การปนเปื้อนของแอตราซีนในเนื้อเยื่อปูนา.....	20

บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา.....	24
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	26
6.1 สรุปผลการศึกษา.....	26
6.2 ประเด็นที่ควรศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต.....	24
เอกสารอ้างอิง	27
ภาษาไทย	27
ภาษาอังกฤษ.....	28
ภาคผนวกที่ 1 ตัวอย่างปูนที่เก็บจากพื้นที่อ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช ต.ไหล่น่าน อ. เวียงสา จ. น่าน	34
ภาคผนวกที่ 2 ตัวอย่างปูนที่เก็บจากพื้นที่เกษตรที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช ต.บ้านसान อ. เวียงสา จ. น่าน.....	36

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 2.1 สมบัติบางประการของสารฆ่าวัชพืชชนิดพาราควอตและแอทราซีน.....	8
ตาราง 4.1 ปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในปุนาเพศผู้และเพศเมียจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชและพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2562.....	18
ตาราง 4.2 เปรียบเทียบปริมาณพาราควอตของปุนาเพศผู้ในแต่ละเดือนจากพื้นที่เกษตรกรรมตำบลไหล่น่าน ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562.....	19
ตาราง 4.3 ปริมาณการปนเปื้อนแอทราซีนในปุนาเพศผู้และเพศเมียจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชและพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2562.....	20
ตาราง 4.4 เปรียบเทียบปริมาณแอทราซีนของปุนาเพศผู้ในแต่ละเดือน จากพื้นที่เกษตรกรรมตำบลบ้านสำน ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562.....	21
ตาราง 4.5 เปรียบเทียบปริมาณแอทราซีนของปุนาเพศเมียในแต่ละเดือน จากพื้นที่เกษตรกรรมตำบลไหล่น่าน ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562.....	21
ตาราง 4.6 เปรียบเทียบปริมาณแอทราซีนของปุนาเพศเมียในแต่ละเดือน จากพื้นที่เกษตรกรรมตำบลบ้านสำน ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562.....	21
ตาราง 5.1 เปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนสารฆ่าวัชพืชในเนื้อเยื่อปุนาจากพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชและพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช ในเดือนกรกฎาคม และเดือนตุลาคม พ.ศ.2562 กับงานวิจัยก่อนหน้าของรชตะ มณีอินทร์ (2555).....	24

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2-1 โครงสร้างทางเคมีของไกลโฟเสต.....	4
ภาพที่ 2-2 ปริมาณการนำเข้าไกลโฟเสตสู่ประเทศไทยระหว่างปีพ.ศ.2560 – 2562.....	4
ภาพที่ 2-3 โครงสร้างทางเคมีของพาราควอต.....	5
ภาพที่ 2-4 ปริมาณการนำเข้าพาราควอตสู่ประเทศไทยระหว่างปีพ.ศ.2560 – 2562.....	6
ภาพที่ 2-5 โครงสร้างทางเคมีของแอทราซีน.....	6
ภาพที่ 2-6 ปริมาณการนำเข้าแอทราซีนสู่ประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.2560 – 2562.....	7
ภาพที่ 2-7 ปูนา <i>Esanthelphusa nani</i> (Naiyanetr, 1984).....	9
ภาพที่ 3-1 พื้นที่เกษตรกรรม ต.ไหล่น่าน และ ต.บ้านसान อ.เวียงสา จ.น่าน.....	11
ภาพที่ 3-2 ตัวอย่างปูนาจากพื้นที่เกษตรกรรม อ.เวียงสา จ.น่าน.....	12
ภาพที่ 3-3 ตัวอย่างปูนาที่ผ่านกระบวนการทำแห้ง.....	12
ภาพที่ 3-4 ตัวอย่างปูนาที่ถูกสกัดสารพาราควอตด้วย 10% TCA.....	13
ภาพที่ 3-5 ตัวอย่างปูนาที่ถูกกำจัดไขมันด้วย Hexane.....	14
ภาพที่ 4-1 ปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในปูนาเพศผู้จากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช และพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2562.....	19
ภาพที่ 4-2 ปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในปูนาเพศเมียจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช และพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2562.....	20
ภาพที่ 4-3 ปริมาณการปนเปื้อนแอทราซีนในปูนาเพศผู้จากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช และพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2562.....	22
ภาพที่ 4-4 ปริมาณการปนเปื้อนแอทราซีนในปูนาเพศเมียจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช และพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2562.....	22

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

ปัจจุบันการเกษตรในประเทศไทยมีการใช้สารฆ่าวัชพืชเป็นปริมาณมากเพื่อเพิ่มผลผลิตและลดการสูญเสียจากศัตรูพืชในการทำเกษตรกรรม ซึ่งถือเป็นอาชีพหลักของคนไทย โดยนานเป็นหนึ่งจังหวัดที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชจำนวนมาก โดยจากรายงานการนำเข้าสารเคมีสู่จังหวัดน่านในปี พ.ศ. 2551 พบว่า 92.4% เป็นสารฆ่าวัชพืช เช่น ไกลโฟเสต พาราควอต และ แอทธาซีน (ประพันธ์ จันทร์ผง, 2551) และจากรายงานการนำเข้าสารฆ่าวัชพืชของประเทศไทยในครึ่งปีแรกของปี พ.ศ. 2559 อยู่ที่ 81 ล้านกิโลกรัม โดยเป็นข้อมูลการนำเข้าของจังหวัดน่าน 1.2 ล้านกิโลกรัม คิดเป็น 1.5% (พวงรัตน์ ขจิตวิทยานุกูล, 2559) สารฆ่าวัชพืชเหล่านี้สามารถปนเปื้อนอยู่ในน้ำและดินได้ (Cheah et al., 1998) จึงอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในบริเวณนั้น เช่น แอทธาซีน ครอบคลุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง (Hayes et al., 2011) และในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Matozzo et al., 2008) ส่วนไกลโฟเสต สามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์มะเร็งผ่าน estrogen receptor (Thongprakaisang et al., 2013) และเป็นสารรบกวนระบบต่อมไร้ท่อในหอย *Biomphalaria alexandrina* (Omran and Salama, 2013) ในขณะที่ พาราควอตยับยั้งการสร้าง testosterone ในอวัยวะของกบเพศผู้ และยับยั้งการสร้าง 17β -estradiol ในรังไข่ของกบเพศเมีย (Quassinti et al., 2008)

จากข้อมูลที่แสดงว่าสารฆ่าวัชพืชมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ และอาจส่งผลกระทบต่อมนุษย์ได้ จึงจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังเพื่อติดตามการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม การใช้สัตว์เฝ้าระวัง (sentinel species) ในพื้นที่เกษตรกรรมเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของสารเคมี และยังบอกถึงผลกระทบของการปนเปื้อนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในระดับโครงสร้างและการทำงานในร่างกายของสัตว์เฝ้าระวัง (National Research Council, 1991) เช่น การใช้ปู *Chasmagnathus granulata* ตรวจสอบการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลง organochlorine ในระบบนิเวศป่าโกงกาง (Souza et al., 2008) และการใช้ปู *Eriocheir sinensis* สำหรับการตรวจสอบผลกระทบของ dioxin และ polychlorinated biphenyls ที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ (Clark et al., 2009)

การศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ปูนา *Esantheiphusa nani* เนื่องจากปูนาชนิดนี้อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ต้องการตรวจสอบการปนเปื้อนของสารฆ่าวัชพืช และสามารถสัมผัสกับสารฆ่าวัชพืชได้โดยตรง เพราะอยู่ในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อน และพฤติกรรมที่มีกินตะกอนดินเข้าไป (Doolgindachbaporn, 2001) จึงทำให้สารเคมีสามารถเข้าไปตกค้างในตัวปูได้ ปูนามักถูกจับมาประกอบอาหาร หรือนำไป

แปรรูปเป็นอาหารอื่น เช่น น้ำปู ซึ่งเป็นอาหารพื้นเมืองของชุมชนในจังหวัดน่านและจังหวัดอื่น ๆ ในภาคเหนือของประเทศไทย ดังนั้นหากมีสารฆ่าวัชพืชตกค้างในตัวปู ก็มีโอกาที่สารตกค้างเหล่านั้นจะมาสะสมในร่างกายของผู้บริโภคได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจที่จะศึกษาปริมาณการปนเปื้อนสารฆ่าวัชพืชในปูนาที่อาศัยในพื้นที่เกษตรที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช และพื้นที่อ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชในจังหวัดน่าน

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อตรวจสอบการตกค้างของสารฆ่าวัชพืช ได้แก่ atrazine และ paraquat ในปูนา *Esantheiphusa nani* จากพื้นที่เกษตรกรรมในอำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1. เกษตรกรรมในจังหวัดน่าน

จังหวัดน่านมีพื้นที่ 11,472 ตารางกิโลเมตร โดยเป็นพื้นที่เกษตร 1,754 ตารางกิโลเมตร (สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดน่าน, 2557) จากข้อมูลพืชเศรษฐกิจจังหวัดน่านในปีพุทธศักราช 2557 พบว่าจังหวัดน่านมีการปลูกข้าวโพดสำหรับเลี้ยงสัตว์มากที่สุด รองลงมาคือลำไย และข้าวนาปี ตามลำดับ โดยการปลูกข้าวของจังหวัดน่านมีด้วยกัน 2 ระบบ คือ ข้าวไร่ที่ปลูกในที่สูง ซึ่งอยู่บริเวณต้นน้ำของแม่น้ำน่าน (ชัยฤทธิ์ ดำรงเกียรติ, 2555) และข้าวที่ปลูกในที่นาซึ่งส่วนใหญ่จะปลูกในที่ลุ่ม (ชาอุชัย แสงชโยสวัสดิ์ และคณะ, 2556) อาทิ การปลูกข้าวในอำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน

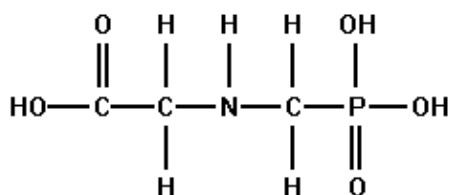
การปลูกข้าวในที่ลุ่ม เกษตรกรต้องมีการเตรียมพื้นที่สำหรับทำนา อาทิ การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมวัชพืชหรือสารฆ่าวัชพืช เช่น ไกลโฟเสต และพาราควอต จัดเป็นสารเคมีที่ใช้พ่นก่อนการเตรียมดิน เพื่อกำจัดวัชพืชที่ขึ้นอยู่ก่อนแล้ว จากนั้นจึงไถเตรียมดิน (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, ม.ป.ป.) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เกษตรกรมีการใช้สารฆ่าวัชพืชในปริมาณที่สูง โดยมีรายงานการนำเข้าสารเคมีสู่จังหวัดน่าน พบว่าในปีพุทธศักราช 2551 มีปริมาณถึง 1,274,100 กิโลกรัม เป็นสารฆ่าวัชพืช 1,172,700 กิโลกรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 92.04 (ประพันธ์ จันทรมง, 2551) และในปีพุทธศักราช 2559 พบว่าระหว่างเดือนมกราคมถึงกรกฎาคมมีการนำเข้าสารเคมีทางการเกษตรเข้าสู่จังหวัดน่าน 1,200,000 กิโลกรัม (พวงรัตน์ ขจิตวิษยานุกูล, 2559)

สารฆ่าวัชพืชที่เกษตรกรนิยมใช้ในการปลูกข้าวได้แก่ พาราควอต (Wongwichit et al., 2012) และจากการสำรวจพื้นที่และร้านค้าทางการเกษตรรวมทั้งสอบถามจากเกษตรกรในอำเภอเวียงสาโดยตรงพบว่ามีการใช้แอตราซีนร่วมกับพาราควอตด้วย

2.2. สารฆ่าวัชพืช

2.2.1 สารฆ่าวัชพืชไกลโฟเสต

สารฆ่าวัชพืชไกลโฟเสต หรือ N-phosphonomethyl glycine สามารถใช้ในการฆ่าวัชพืชได้ทุกชนิด โดยในไกลโฟเสตมีเกลือโซเดียมที่ใช้ในการควบคุมการเจริญเติบโตของต้นและผลโดยการรบกวนวิถีของกรดซิกมิก (Shikimic acid pathway) ซึ่งเป็นวิถีที่จำเป็นต่อพืชและจุลินทรีย์ ทำให้วัชพืชไม่สามารถเติบโตได้ (Zabalza et al., 2017)



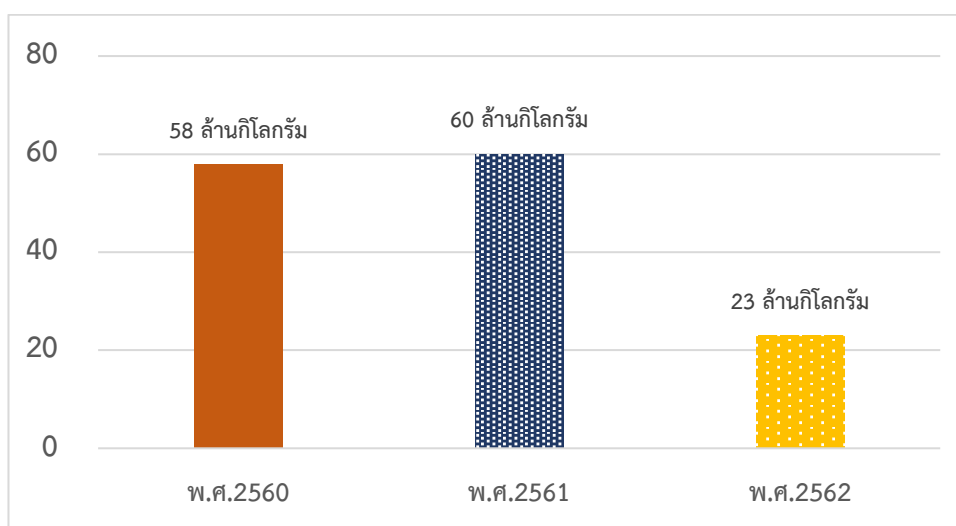
ภาพที่ 2-1 โครงสร้างทางเคมีของไกลโฟเสต หรือ N-phosphonmethyl glycine

(<https://th.wikipedia.org/wiki/ไกลโฟเสต>)

จากรายงานพบว่าไกลโฟเสตมีค่าครึ่งชีวิตในดินประมาณ 60 วัน และในน้ำประมาณ 7 ถึง 14 วัน ซึ่งจุลินทรีย์ในดินสามารถย่อยสลายไกลโฟเสตให้กลายเป็นอนุพันธ์ของกรด aminomethyl phonic ซึ่งเป็นแหล่งของคาร์บอน ไนโตรเจนและ ฟอสฟอรัสได้ (Petit et al., 1995)

ผลกระทบของไกลโฟเสตต่อมนุษย์นั้นพบว่า ไกลโฟเสตมีความเกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดโรคหลายชนิด เช่น เบาหวาน โรคอ้วน และอัลไซเมอร์ (Swanson et al., 2014) และสถาบันวิจัยมะเร็งนานาชาติภายใต้การอนามัย โลกได้เผยแพร่รายงานในปี 2558 โดยกำหนดให้ไกลโฟเสตเป็นสารที่น่าจะก่อมะเร็ง (probably carcinogenic to humans) ซึ่งไกลโฟเสตนั้นมีผลต่อการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม (Thongprakaisang et al., 2013)

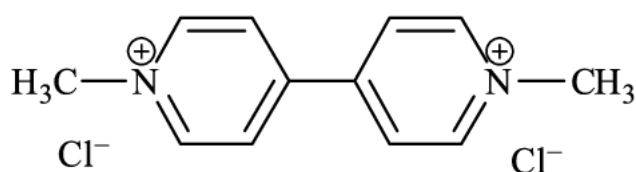
รายงานการนำเข้าไกลโฟเสตสู่ประเทศไทยพบว่าในปี พ.ศ.2562 มีการนำเข้า 23 ล้าน กิโลกรัม หรือมีมูลค่า 1,310 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุเกษตร, 2560 - 2562)



ภาพที่ 2-2 ปริมาณการนำเข้าไกลโฟเสตสู่ประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.2560 – 2562

2.2.2 สารฆ่าวัชพืชพาราควอต

สารฆ่าวัชพืชพาราควอต หรือ 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_{14}N_2$ (Watts, 2011) ใช้เป็นสารควบคุมหญ้าและวัชพืชใบกว้าง รวมทั้งพืชสวน (Paraquat Information Centre, 2020) โดยพาราควอตเป็นตัวรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำของใบวัชพืช (Dinis-Oliveira et al., 2006)



ภาพที่ 2-3 โครงสร้างทางเคมีของพาราควอต (https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-paraquat-dichloride_fig1_242012691)

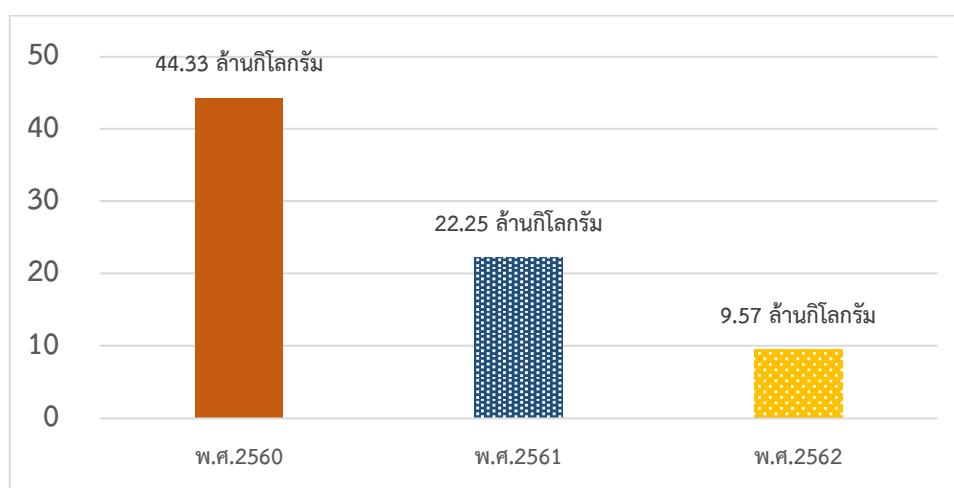
พาราควอตเป็นสารฆ่าวัชพืชที่สามารถพบได้ทั้งน้ำเหนือผิวดินและน้ำใต้ดิน โดยพาราควอตที่ปนเปื้อนในน้ำสามารถถูกสลายโดยรังสียูวี และจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำ (Eisler, 1990) มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับค่าครึ่งชีวิตของพาราควอตในน้ำว่ามีค่าอยู่ในช่วง 2-820 ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแสงแดดและความลึกของน้ำ (Watts, 2011) แต่พาราควอตที่ตกค้างในดินมีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่มากกว่า 10 ปี (US EPA, 1993) ทั้งนี้เนื่องจากพาราควอตสามารถยึดจับกับอนุภาคของดินได้อย่างเสถียรและแข็งแรง (Eisler, 1990)

การศึกษาผลกระทบของพาราควอตต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังพบว่าพาราควอตเป็นพิษระดับปานกลางใน *Daphnia magna* และสัตว์จำพวก amphipod (US EPA, 1997) พาราควอตสามารถสร้าง reactive oxygen species เช่น H_2O_2 ซึ่งทำให้เซลล์เกิดความเสียหายโดยการไปรบกวนกระบวนการชีวเคมีของเซลล์ (Gómez-Mendikute and Cajaraville, 2003; El-Shenaly, 2009; Lushchak et al., 2009)

การประเมินความเป็นพิษของพาราควอตต่อมนุษย์นั้นพบว่า พาราควอตเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคมาร์กินสัน (Berry et al., 2010) และการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าพาราควอตสามารถยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนอินซูลินได้ ซึ่งนำไปสู่การเป็นโรคเบาหวาน (Kimura et al., 2010) และยังสามารถสร้างความเสียหายอื่น ๆ ให้ผู้ที่ใช้สารเคมีชนิดนี้ อาทิ การบาดเจ็บที่บริเวณดวงตา เลือดกำเดาไหล เล็บเสียหายและการระคายเคืองที่ผิวหนัง (Watts, 2011) อีกทั้งพาราควอตยังสามารถส่งผ่านจากรกของมารดาที่ทานพาราควอตเพื่อฆ่าตัวตายไปสู่ทารกภายในครรภ์ได้ (Jenq et

al., 2005) โดยงานวิจัยของมหาวิทยาลัยมหิดลยังตรวจพบพาราควอตในชีรั่มของมารดาและสายสะดือของทารกจากประชากรที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เกษตรกรรมในประเทศไทยอีกด้วย (Kongtip et al., 2018)

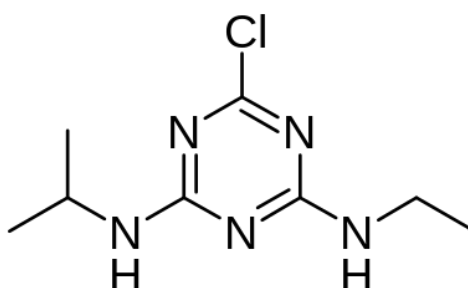
รายงานการนำเข้าพาราควอตสู่ประเทศไทยพบว่าในปี พ.ศ.2562 มีการนำเข้า 9.57 ล้าน กิโลกรัม หรือมีมูลค่า 757 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุเกษตร, 2560 - 2562)



ภาพที่ 2-4 ปริมาณการนำเข้าพาราควอตสู่ประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.2560 – 2562

2.2.3 สารฆ่าวัชพืชแอตราซีน

แอตราซีน (atrazine) หรือ 6-chloro-N2-ethyl-N4-isopropyl-1,3,5- triazine-2,4 diamine เป็นสารเคมีที่ใช้ควบคุมวัชพืชใบกว้าง โดยการยับยั้งการสังเคราะห์แสงด้วยการแย่งจับอิเล็กตรอนกับ plastoquinone II ในขั้นตอนการส่งถ่ายอิเล็กตรอน (Electron transport process) (Devine et al., 1993)



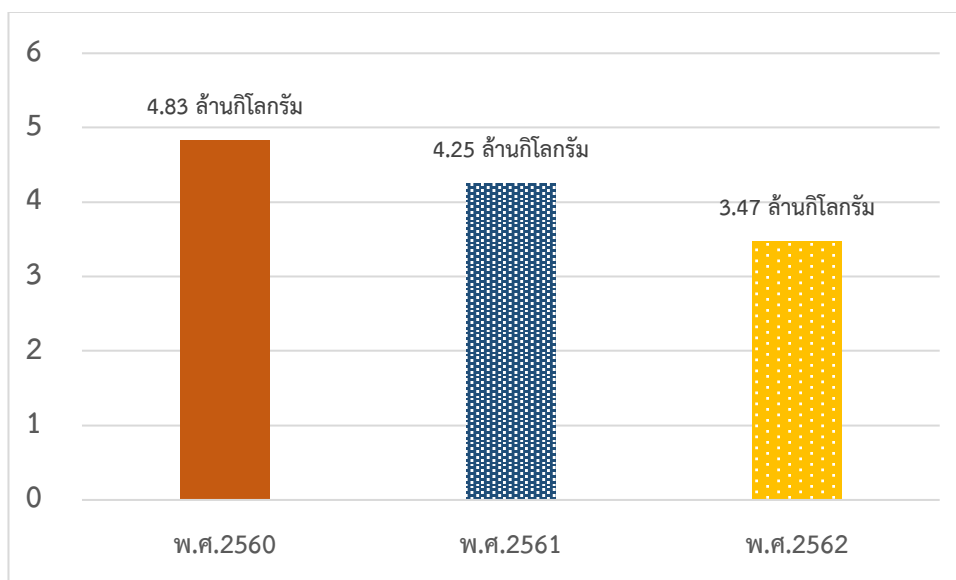
ภาพที่ 2-5 โครงสร้างทางเคมีของแอตราซีน (<https://en.wikipedia.org/wiki/Atrazine>)

แอมโทรซีนมีค่าครึ่งชีวิตในดินประมาณ 13-161 วัน และในน้ำมีค่าประมาณ 578 วัน การสลายตัวของแอมโทรซีนที่ตกค้างในน้ำใช้เวลามากกว่าในดินเนื่องจากแอมโทรซีนสามารถถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน (US EPA, 2003) และแอมโทรซีนที่ตกค้างในแหล่งน้ำนั้นจะอยู่ในรูปวงแหวน s-triazine ซึ่งเป็นรูปที่สามารถป้องกันการย่อยของจุลินทรีย์ได้ (Solomon et al., 1996) โดยในสิ่งแวดล้อมประเทศไทยมีรายงานค่าครึ่งชีวิตของแอมโทรซีนในดินมีค่ามากกว่า 60 วัน จนถึง 7-8 เดือน (Suvanakhethikhom, 2004)

การศึกษาผลกระทบของแอมโทรซีนต่อสิ่งมีชีวิต แอมโทรซีนนั้นรบกวนการทำงานของระบบสืบพันธุ์ทั้งในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Matozzo et al., 2008) และสัตว์มีกระดูกสันหลัง รวมถึงรบกวนการทำงานของฮอร์โมนเพศในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Hayes et al., 2011)

ในส่วนผลกระทบของแอมโทรซีนต่อมนุษย์ แอมโทรซีนเป็นเคมีที่สามารถก่อมะเร็ง อาทิ มะเร็งต่อมไทรอยด์ (Koutros et al., 2010) และมะเร็งต่อมลูกหมาก (Freeman et al., 2011) อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่อตัวทารกในครรภ์ เช่น การคลอดก่อนกำหนดอันเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของทารก (Savitz et al., 1997)

รายงานการนำเข้าแอมโทรซีนสู่ประเทศไทยพบว่าในปี พ.ศ.2562 มีการนำเข้า 3.47 ล้านกิโลกรัม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุเกษตร, 2560 - 2562)



ภาพที่ 2-6 ปริมาณการนำเข้าแอมโทรซีนสู่ประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.2560 – 2562

ตาราง 2.1 สมบัติบางประการของสารฆ่าวัชพืชชนิดพาราควอตและแอตราซีน

	พาราควอต	แอตราซีน
คุณสมบัติ		
- องค์ประกอบ	bipyridylum	triazine
- จุดเดือด	300 °C	172-175 °C
- ความสามารถในการละลาย	700 g/l (20 °C)	33 mg/l (25 °C)
ค่าครึ่งชีวิตในน้ำ	7 ถึง 30 วัน	578 วัน
ค่าครึ่งชีวิตในดิน	มากกว่า 10 ปี	13 ถึง 161 วัน
อ้างอิง	(US EPA, 1993)	(US EPA, 2003)

จากงานวิจัยก่อนหน้าพบการตกค้างของสารฆ่าวัชพืชทั้งสองชนิดในสัตว์ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เกษตรกรรมในจังหวัดน่าน และส่งผลกระทบต่อระบบภายในร่างกายของสัตว์ อาทิ ปูนาที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยา (Maneein, 2012) และในกบหนองพบว่า กบหนองมีขนาดของตับที่ใหญ่ขึ้น (Thammachoti, 2012) อีกทั้งยังพบว่าสารฆ่าวัชพืชเหล่านี้มีการปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำที่อยู่ใกล้เคียง อาทิ พบการตกค้างของสารฆ่าวัชพืชในหอยกาน้ำจืด (Thitiphuree, 2012) และแหล่งน้ำเหล่านั้นก็ไหลรวมสู่แม่น้ำน่าน เนื่องจากมีการตรวจพบการปนเปื้อนในปลากระมัง โดยปลากระมังยังมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดตับและไต (Achayapunwanich, 2012) รวมทั้งมีความเสี่ยงในการเปลี่ยนแปลงต่อระบบสืบพันธุ์ (Senarat, 2012)

2.1 สิ่งมีชีวิตเฝ้าระวัง (sentinel species)

สิ่งมีชีวิตเฝ้าระวัง หรือ sentinel species คือ การใช้สิ่งมีชีวิตเพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนสารเคมีและการตอบสนองทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ต้องการศึกษาการปนเปื้อน โดยการใช้สิ่งมีชีวิตเฝ้าระวังนี้สามารถวางแผนเพื่อใช้ในการประเมินความเสี่ยงหรืออันตรายต่อสุขภาพของสัตว์ในพื้นที่นั้น ๆ ที่เกิดจากการสัมผัสสารเคมีตกค้างว่าส่งผลกระทบต่อสุขภาพหรือได้ หากส่งผลกระทบต่อแล้ว ผลนั้นมีความเสี่ยงที่จะกระทบต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ อย่างไร (National Research Council, 1991) โดยการสิ่งมีชีวิตเฝ้าระวังควรเลือกจากสัตว์ที่มีคุณสมบัติต่อไปนี้

1. สิ่งมีชีวิตเฝ้าระวังควรมีแหล่งอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ต้องการศึกษา ไม่ควรใช้สัตว์ที่อยู่ห่างออกไปจากบริเวณที่ศึกษาและเข้ามาในพื้นที่เพียงไม่กี่ครั้ง (NRC, 1991)

2. สิ่งมีชีวิตเฝ้าระวังควรเป็นสัตว์ที่มีขนาดที่สามารถจับและนับจำนวนได้ง่าย เช่น หนูและหนูพุก ซึ่งเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีขนาดเล็ก และจับได้ง่ายกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีขนาดใหญ่ ขนาดของสิ่งมีชีวิตเฝ้าระวังนั้นเป็นสิ่งสำคัญ หากมีขนาดใหญ่พอ จะสามารถติดอุปกรณ์ประเภทต่าง ๆ เพื่อส่งสัญญาณวิทยุในการระบุตำแหน่ง หรือติดตามการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาได้ (NRC, 1991)
3. สิ่งมีชีวิตเฝ้าระวังต้องมีขนาดและความหนาแน่นของประชากรที่มากเพียงพอ ควรหลีกเลี่ยงสายพันธุ์ที่มีจำนวนน้อย เนื่องจากจำนวนอาจไม่เพียงพอเพื่อใช้ในการประเมินผลกระทบ(NRC, 1991)
4. สิ่งมีชีวิตเฝ้าระวังต้องสามารถตอบสนอง รวมถึงการสะสมสารเคมีที่ต้องการศึกษาไว้ในเนื้อเยื่อได้ เพื่อที่จะสามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงจากสรีรวิทยาและการตอบสนองต่อการปนเปื้อนของสารเคมี (NRC, 1991)

2.3 ปูนา *Esanthelphusa nani*

การจำแนกปูนาทางอนุกรมวิธาน สามารถจำแนกได้ดังนี้

Kingdom Animalia

Phylum Arthropoda

Subphylum Crustacea

Class Crustacean

Superorder Brachyura

Order Decapoda

Family Gecarcinucidae

Genus *Esanthelphusa*

Species *Esanthelphusa nani* (Naiyanetr, 1984)



ภาพที่ 2-7 ปูนา *Esanthelphusa nani* (Naiyanetr, 1984)

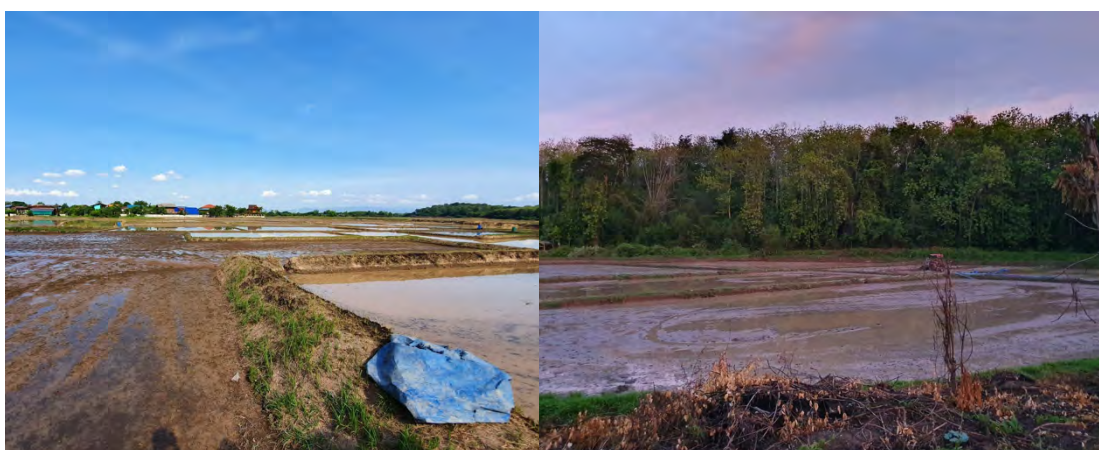
Esanthelephusa nani ถูกพบครั้งแรกที่จังหวัดน่าน (Naiyanetr, 1984) กระจดองกว้างและค่อนข้างเรียบ มีร่องรูปตัว Y อยู่ด้านบนกระดอง และมีลักษณะเด่นของ *Parathelphusa* คือ มีการแยกของ epibranchial ออกจาก epigastric cristae tooth พร้อมกับบริเวณปลายของ postorbital cristae ที่มีลักษณะคล้ายตัว H กล้ามมีขนาดที่แตกต่างกันระหว่างด้านซ้ายและด้านขวา พร้อมทั้งมี carpus ที่แข็งแรง อีกทั้งยังมีร่องกลางท้องเป็นรูปตัว T ซึ่งเป็นลักษณะที่พบในเฉพาะเพศผู้

ปูนาชนิดนี้มีคุณสมบัติที่สามารถใช้ป็นสิ่งมีชีวิตเฝ้าระวังได้ ตามหลักของ National Research Council เนื่องจากมีแหล่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหารอยู่ในนาข้าว ซึ่งทำให้สามารถสัมผัสกับสารเคมีที่มีการใช้ในนาข้าวได้ อีกทั้งปูนายังสามารถจับได้ง่ายในช่วงเวลากลางคืนฤดูฝน เนื่องจากเป็นเวลาที่ปูนาจะออกหาอาหาร และในช่วงฤดูแล้งปูนาจะอาศัยอยู่ในรูตามคันนา รูปูนาจะเป็นแนวเอียงประมาณ 30 ถึง 60 องศากับแนวระดับ โดยปูนาชนิดนี้มีอายุขัยเพียงไม่กี่ปีและสามารถสืบพันธุ์ให้รุ่นต่อไปได้ค่อนข้างเร็ว จึงทำให้มีประชากรเพิ่มขึ้นในทุกปี (Doolgindachbaporn et al, 2001) นอกจากนี้ปูนา ยังถูกนำมาประกอบอาหารเพื่อบริโภคของชาวบ้าน นั่นอาจเป็นจุดเชื่อมโยงที่ทำให้เกิดจากถ่ายโอนสารปนเปื้อนสู่มนุษย์ได้

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน

3.1 การเก็บตัวอย่างปูนา

เก็บตัวอย่างปูนาจากอำเภอเวียงสา จังหวัดน่านในช่วงฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ.2562) โดยเก็บตัวอย่างเดือนละหนึ่งครั้งในช่วงเวลาเดียวกัน ซึ่งเก็บตัวอย่างปูนาจากพื้นที่เกษตรกรรม 2 พื้นที่ คือ พื้นที่เกษตรกรรมตำบลไหล่น่าน (GPS: 47Q 0686779, UTM 2047187) โดยเป็นพื้นที่เกษตรกรรมที่ปราศจากการใช้สารวัชพืชมาเป็นเวลา 12 ปี และพื้นที่เกษตรกรรมตำบลบ้านसान (GPS: 47Q 068772, UTM 2054283) โดยในแต่ละเดือนจะเก็บปูนาตัวเต็มวัย (พิจารณาจากความกว้างของกระดองจากส่วนที่ยาวที่สุดทางด้านซ้ายไปจนถึงส่วนที่ยาวที่สุด ทางด้านขวาในตำแหน่งที่ตรงกันให้มีความกว้างมากกว่า 30 มิลลิเมตร) พื้นที่ละ 10 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว โดยตัวอย่างปูนาจะถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C จากนั้นนำตัวอย่างปูนาทั้งหมดมาผ่านกระบวนการทำแห้งภายใต้สภาวะเยือกแข็ง (CHRIST® รุ่น Epsilon 2 -10D LSC) เพื่อลดข้อผิดพลาดจากปริมาณน้ำในตัวอย่าง ณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านโรงงานต้นแบบแปรรูปอาหาร โครงการพัฒนาที่ดิน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ.แก่งคอย จ.สระบุรี โดยปรับอุณหภูมิเพื่อกระบวนการทำแห้งภายใต้สภาวะเยือกแข็งดังนี้ ที่อุณหภูมิ -10°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ถัดมาปรับอุณหภูมิเป็นที่ 0°C 10 ชั่วโมง และที่ 10°C 3 ชั่วโมง สุดท้ายที่ความเย็น 20°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างปูนามาบดให้ละเอียดเพื่อนำไปใช้ในการสกัดสารฆ่าวัชพืช



ภาพที่ 3-1 พื้นที่เกษตรกรรม ต.ไหล่น่าน (ซ้าย) และ ต.บ้านसान (ขวา) อ.เวียงสา จ.น่าน



ภาพที่ 3-2 ตัวอย่างปูนาจากพื้นที่เกษตรกรรม อ.เวียงสา จ.น่าน



ภาพที่ 3-3 ตัวอย่างปูนาที่ผ่านกระบวนการทำแห้ง

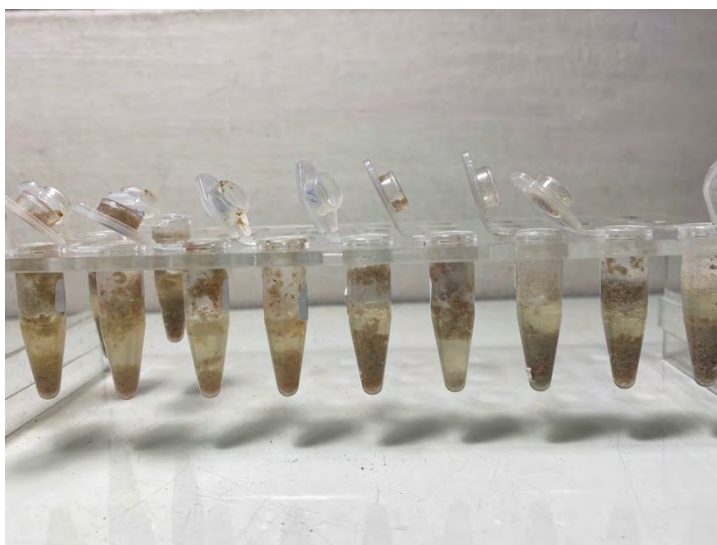
3.2 การสกัดสารฆ่าวัชพืชจากตัวอย่างปูนา

แม้ว่าจังหวัดน่านจะมีการนำเข้าสารฆ่าวัชพืช เช่น ไกลโฟเสต พาราควอต และ แอทธาซีน (ประพันธ์ จันทรังษ, 2551) เพื่อใช้ในกิจกรรมทางการเกษตร ซึ่งจำเป็นต้องติดตามการปนเปื้อนสารฆ่าวัชพืชทั้ง 3 ชนิดในสิ่งมีชีวิตदैรระวัง แต่จากการศึกษาของ Maneein (2012) และ ปิ่นมณัส นนทนา (2560) พบว่าการสกัดสารฆ่าวัชพืชชนิดไกลโฟเสตจากปูนามีประสิทธิภาพในการสกัดต่ำมาก (recovery of extraction เท่ากับ 14.71 ถึง 22.00 %) ซึ่งมีผลต่อความถูกต้องและแม่นยำของปริมาณการปนเปื้อน ในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้เลือกตรวจสอบการปนเปื้อนในปูนาเฉพาะสารฆ่าวัชพืชชนิด พาราควอต และ แอทธาซีน เท่านั้น

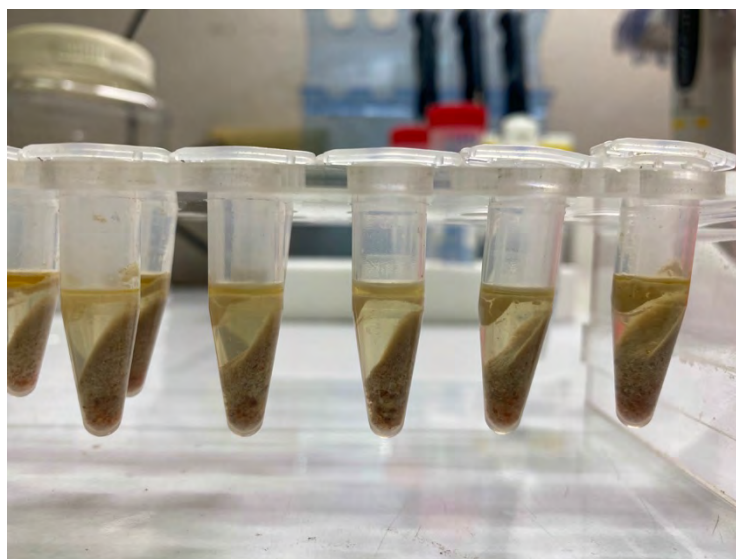
3.2.1 การสกัดสารฆ่าวัชพืชชนิดพาราควอต

การสกัดสารฆ่าวัชพืชพาราควอตอ้างอิงจาก Brown และคณะ ในปี 1996 โดยนำปุ๋ยมานำที่ผ่านการทำแห้งแล้วปริมาณ 100 mg ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 200 μ L ภายใน microtube แล้วนำไปเขย่าโดยใช้เครื่อง Shaker เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติม hexane 200 μ L เพื่อกำจัดไขมันที่เป็นสิ่งรบกวนกระบวนการสกัดพาราควอต และ 10% trichloroacetic acid ปริมาตร 600 μ L สำหรับทำการสกัดพาราควอตออกจากตัวอย่างในสถานะที่เป็นกรด ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที นำตัวอย่างไปปั่นแยกที่ความเร็ว 2000xg 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำส่วน aqueous phase ที่ได้จากการปั่นแยกปริมาตร 400 μ L ใส่ใน microtube ก่อนนำสารตัวอย่างที่เหลือมาสกัดอีกครั้งโดยการเติม 10% trichloroacetic acid ปริมาตร 250 μ L ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที นำสารตัวอย่างไปปั่นแยกที่ความเร็ว 2000xg เป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง นำ aqueous phase ที่ได้จากการปั่นแยกครั้งที่สองปริมาตร 200 μ L ใส่ลงใน microtube ที่มี aqueous phase ที่ได้จากการปั่นแยกครั้งแรก สุทธิแล้วได้ปริมาตร aqueous phase ทั้งสิ้น 700 μ L แล้วจึงนำขึ้น aqueous phase ทั้งหมดไปกำจัดไขมันอีกครั้งด้วย hexane 400 μ L ผสมให้เข้ากัน 5 นาที นำไปปั่นแยกที่ความเร็ว 2000xg เป็นเวลา 15 นาที เก็บขึ้น aqueous phase ปริมาตร 600 μ L ใส่ microtube สุดท้ายปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 2M tris-base ตามปริมาตรที่เหมาะสม เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C จนถูกนำไปทดสอบ ELISA

สำหรับการตรวจสอบค่า recovery of extraction สามารถทำได้โดยการนำตัวอย่างปุ๋ยมานำผสมกับสารละลายพาราควอต 7.5 ng/ml ปริมาตร 200 μ L (เทียบเท่าพาราควอตปริมาณ 1.5 ng) จากนั้นทำการสกัดพาราควอตตามวิธีการที่กล่าวไปข้างต้น โดยพบว่าค่า recovery of extraction เท่ากับ 49 %



ภาพที่ 3-4 ตัวอย่างปุ๋ยมานำที่ถูกสกัดสารพาราควอตด้วย 10% TCA



ภาพที่ 3-5 ตัวอย่างปุณาที่ถูกกำจัดไขมันด้วย Hexane

3.2.2 การสกัดสารฆ่าวัชพืชชนิดแอฟราซิน

การสกัดสารฆ่าวัชพืชแอฟราซินอ้างอิงจาก Jacomini และคณะในปี 2003 โดยนำปุณาที่ผ่านการทำแห้งแล้วปริมาณ 100 mg ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 mL ภายใน conical tube ขนาด 15 mL แล้วเติม 1.5 M NaOH ปริมาตร 200 μ L เพื่อปรับ pH สาร จากนั้นเติม dichloromethane 4 mL เพื่อสกัดแอฟราซินออกจากตัวอย่าง เนื่องจากแอฟราซินเป็นสารไม่มีขั้ว ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Shaker เป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างไปปั่นแยกที่ความเร็ว 1800xg ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงเก็บส่วน organic phase ที่ได้จากการปั่นแยกปริมาตร 3 mL ไประเหยภายใต้แก๊สไนโตรเจน (N_2) จนแห้ง เติม methanol ปริมาตร 100 μ L และน้ำกลั่นปริมาตร 900 μ L ผสมให้เข้ากันเพื่อชะแอฟราซินออกจากเครื่องแก้ว เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$ C จนนำไปทดสอบ ELISA

สำหรับการตรวจสอบค่า recovery of extraction สามารถทำได้โดยการนำตัวอย่างปุณา ผสมกับสารละลายแอฟราซิน 5 ng/ml ปริมาตร 200 μ L (เทียบเท่าแอฟราซินปริมาณ 1 ng) จากนั้นทำการสกัดแอฟราซินตามวิธีการที่กล่าวไปข้างต้น โดยพบว่าค่า recovery of extraction เท่ากับ 132 %

3.3 การตรวจสอบสารฆ่าวัชพืชด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

3.3.1. การตรวจสอบสารฆ่าวัชพืชชนิดพาราควอต

การตรวจสอบสารฆ่าวัชพืชชนิดพาราควอตในงานวิจัยนี้ใช้ชุดตรวจสอบของบริษัท Abnova โดยก่อนการทดสอบต้องนำ 96-wells microtiter plate ที่เคลือบด้วย anti-paraquat antibody และสารที่อยู่ในชุดทดสอบมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารพาราควอตมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 0.375, 0.75, 1.5, 2.5, 5 และ 7.5 ng/mL และสารตัวอย่างลงหลุม โดยใส่อย่างละ 2 หลุม ที่ปริมาตร 25 μ L และสารพาราควอตมาตรฐานสำหรับควบคุมคุณภาพ (QC: 2.5 ng/mL) จำนวน 8 หลุม หลุมละ 25 μ L จากนั้นเติม paraquat-horseradish peroxidase conjugate ปริมาตร 100 μ L ลงในทุกหลุมทดสอบ ปิด plate ด้วยพาราฟิล์มแล้วนำไปวางบน orbital shaker เพื่อผสมให้สารในแต่ละหลุมเข้ากันเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45 นาที เมื่อครบเวลาการบ่ม ล้างแต่ละหลุมด้วย wash buffer ปริมาตร 250 μ L 3 ครั้ง เพื่อล้างสารฆ่าวัชพืชพาราควอตจากปูนาและ paraquat-horseradish peroxidase conjugate ที่ไม่ถูกจับกับ anti-paraquat antibody ออก จากนั้นเติม substrate solution (hydrogen peroxide และ 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; TMB) ปริมาตร 100 μ L ลงในทุกหลุมทดสอบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องอีกครั้งเป็นเวลา 15 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย stop solution (3M hydrochloric acid) ปริมาตร 100 μ L สุดท้ายอ่านค่าความเข้มของสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง microplate reader ที่ช่วงความยาวคลื่น 450 nm.

การคำนวณปริมาณพาราควอตที่ตกค้างนั้นจะคำนวณจากสารพาราควอตมาตรฐาน เริ่มจากการนำค่าการดูดกลืนแสงของพาราควอตมาตรฐานมาหาค่าเฉลี่ย แล้วนำไปคำนวณหา %inhibition จากสูตร $100 - (OD/OD_0) \times 100$ ซึ่งค่า OD คือ ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง และค่า OD_0 คือ ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของพาราควอตมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0 ng/mL โดยค่า %inhibition ของพาราควอตมาตรฐานจะนำมาสร้างกราฟ โดยแกน X คือ ค่าความเข้มข้นของสารพาราควอตมาตรฐาน (0, 0.375, 0.75, 1.5, 2.5, 5 และ 7.5 ng/mL) ส่วนแกน Y คือ ค่า %inhibition ของสารพาราควอตมาตรฐานเช่นกัน จากกราฟจะได้สมการมาตรฐานที่เป็นเส้นตรงอยู่ในรูป $Y = a \ln(X) + b$ จากนั้นจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างมาแทนในค่า Y เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของพาราควอตออกมา โดยความเข้มข้นของพาราควอตนี้จะมีปริมาณอยู่ในหน่วย ppb (ng/mL) แล้วจึงนำไปคำนวณค่าพาราควอตต่อน้ำหนักแห้ง

จากการทดสอบโดยใช้พาราควอตมาตรฐานสำหรับควบคุมคุณภาพ (QC: 2.5 ng/mL) จำนวน 8 หลุม (4 ซ้ำ) เมื่อนำความเข้มข้นของพาราควอตที่อ่านได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานแล้ว พบว่ามีค่า coefficient of variation เท่ากับ 12.67%

3.3.2 การตรวจสอบสารฆ่าวัชพืชชนิดแอทธาซีน

การตรวจสอบสารฆ่าวัชพืชชนิดแทรราชีนในงานวิจัยนี้ใช้ชุดตรวจสอบของบริษัท Abraxis ก่อนการทดสอบต้องนำ 96-wells microtiter plate ที่เคลือบด้วย triazine-antibody และสารที่อยู่ในชุดทดสอบมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม assay buffer ปริมาตร 25 μL ในทุกหลุมเพื่อทำการกระตุ้นการทำงานของชุดตรวจสอบ แล้วจึงใส่สารแทรราชีนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 0.05, 0.10, 0.25, 1.0, 2.5 และ 5.0 ng/mL สารแทรราชีนสำหรับควบคุมคุณภาพ (Positive Control และ Negative Control) และสารตัวอย่าง ปริมาตร 25 μL ใส่อย่างละ 2 หลุม แล้วจึงเติม Enzyme conjugate solution (triazine-horseradish peroxidase-conjugate) ปริมาตร 50 μL ปิดด้วยพาราฟิล์ม และนำไปวางบน orbital shaker (PSU 2-T mini shaker) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาจึงเทสารในหลุมทิ้ง แล้วล้างด้วย wash buffer ความเข้มข้น 1X ปริมาตร 250 μL จำนวน 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งต้องทำให้ wash buffer ออกจากหลุมให้หมด ต่อมาเติม Substrate solution (hydrogen peroxide และ 3,3',5,5'- tetramethylbenzidine; TMB) ปริมาตร 100 μL ลงในแต่ละหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องบนเครื่อง orbital shaker เป็นเวลา 15 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย stop solution จากนั้นนำไปอ่านค่าความเข้มสีด้วย microplate reader ที่ความยาวคลื่น 450 nm

การคำนวณปริมาณแทรราชีนที่ตกค้างนั้นจะคำนวณจากแทรราชีนมาตรฐาน เริ่มจากการนำค่าการดูดกลืนแสงของแทรราชีนมาตรฐานมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อนำไปคำนวณค่า $\%B/B_0$ โดยค่า B คือค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง และค่า B_0 คือ ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของแทรราชีนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0 ng/mL เมื่อได้ค่า $\%B/B_0$ ของแทรราชีนมาตรฐาน ขั้นต่อไปคือการนำค่าเหล่านั้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยแกน X คือ ความเข้มข้นของแทรราชีนมาตรฐาน (0, 0.05, 0.10, 0.25, 1.0, 2.5 และ 5.0 ng/mL) และแกน Y คือ $\%B/B_0$ ของแทรราชีนมาตรฐาน จากกราฟจะได้สมการมาตรฐานที่เป็นเส้นตรงอยู่ในรูป $Y = a \ln(X) + b$ จากนั้นจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างมาแทนในค่า Y เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของแทรราชีนหรือค่า X โดยค่าความเข้มข้นของแทรราชีนที่ได้จะมีปริมาณอยู่ในหน่วย ppb (ng/mL) แล้วจึงนำไปคำนวณค่าแทรราชีนต่อน้ำหนักแห้ง

จากการทดสอบโดยใช้แทรราชีนสำหรับควบคุมคุณภาพ (positive control: 5 ng/mL) จำนวน 8 หลุม (4 ซ้ำ) เมื่อนำความเข้มข้นของแทรราชีนที่อ่านได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานแล้ว พบว่ามีค่า coefficient of variation เท่ากับ 4.27%

3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ข้อมูลแต่ละชุดที่ได้จากการจัดกลุ่มแบบแยกเพศ เดือนและพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างจะถูกนำมาทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลว่าเป็น normal distribution และ homogeneity of variance หรือไม่ โดยใช้ Shapiro test จากนั้นเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างเพศที่อยู่ในเดือนและพื้นที่เดียวกัน

โดยใช้ Student *t*-test ในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) หรือใช้ Mann-whitney U-test สำหรับข้อมูลที่มีการกระจายตัวไม่เป็นแบบปกติ (non-normal distribution) หากข้อมูลระหว่างเพศให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจะนำข้อมูลเหล่านั้นรวมเป็นข้อมูลชุดเดียวกัน ขั้นต่อมาคือเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างเดือนโดยใช้ one way ANOVA และใช้ Tukey's HSD สำหรับข้อมูลที่มีการกระจายตัวแบบปกติ หรือใช้ Kruskal-Wallis test และใช้ Dunn's test สำหรับข้อมูลที่มีการกระจายตัวไม่เป็นแบบปกติ หากข้อมูลระหว่างเพศให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจะนำข้อมูลเหล่านั้นรวมเป็นข้อมูลชุดเดียวกัน และสุดท้ายเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างพื้นที่โดยใช้ Student *t*-test หรือ Mann-whitney U-test ตามการกระจายตัวของข้อมูล

บทที่ 4 ผลการศึกษา

4.1 การปนเปื้อนของพาราควอตในเนื้อเยื่อปูนา

จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณพาราควอตที่ปนเปื้อนในปูนาในช่วงเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ.2562 จากพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชอยู่ในระหว่าง 4.39 - 73.75 ng/g น้ำหนักแห้ง และจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชอยู่ในช่วง 29.31 - 466.60 ng/g น้ำหนักแห้ง

ตาราง 4.1 ปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในปูนาเพศผู้และเพศเมียจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชและพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562

พาราควอต	พื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช (ตำบลไหล่น่าน)		พื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช (ตำบลบ้านसान)	
	เพศผู้ (ng/g)	เพศเมีย (ng/g)	เพศผู้ (ng/g)	เพศเมีย (ng/g)
กรกฎาคม	56.15 ± 13.65	28.39 ± 2.27	50.17 ± 23.82	42.82 ± 11.34
สิงหาคม	38.24 ± 6.56	27.84 ± 8.13	51.93 ± 14.98	48.80 ± 11.46
กันยายน	20.32 ± 11.72	34.25 ± 3.99	74.30 ± 48.24	197.24 ± 149.01
ตุลาคม	44.26 ± 8.60	33.70 ± 16.95	160.76 ± 8.60	221.74 ± 153.42

หมายเหตุ : Limit of detection เท่ากับ 0.05 ng/mL หรือเท่ากับ 0.61 ng/g น้ำหนักแห้ง
Recovery of extraction เท่ากับ 49.20%

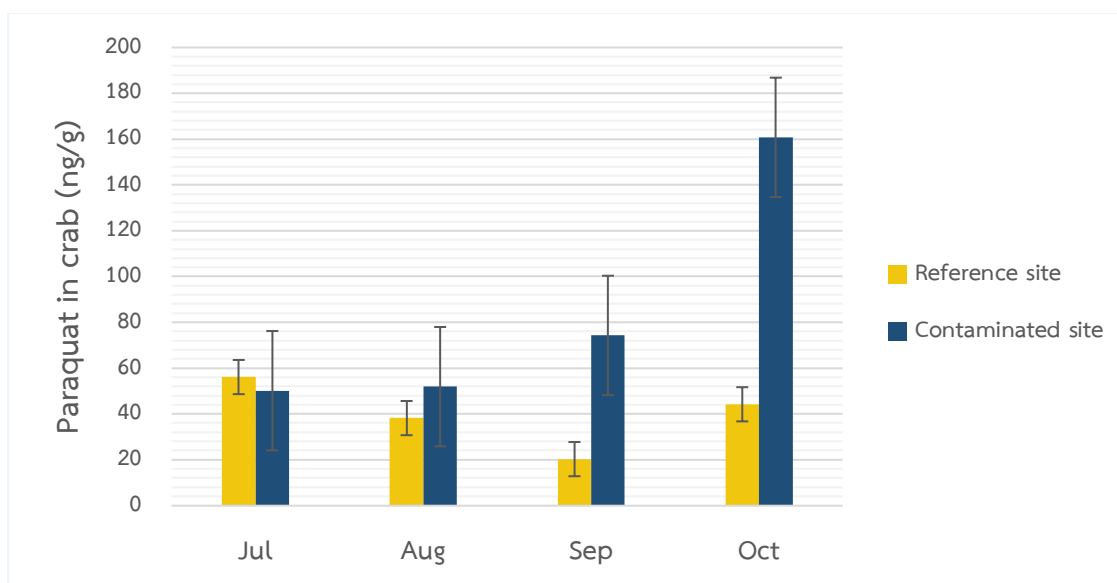
ปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในเนื้อเยื่อปูนาระหว่างเพศผู้และเพศเมียในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนกรกฎาคม 2562 จากพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชหรือพื้นที่เกษตรกรรมตำบลไหล่น่าน และปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเพศผู้จากพื้นที่เกษตรกรรมตำบลไหล่น่าน (ตาราง 4.2)

ตาราง 4.2 เปรียบเทียบปริมาณพาราควอตของปูนาเพศผู้ในแต่ละเดือน จากพื้นที่เกษตรกรรมตำบล ไหล่น่าน ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562

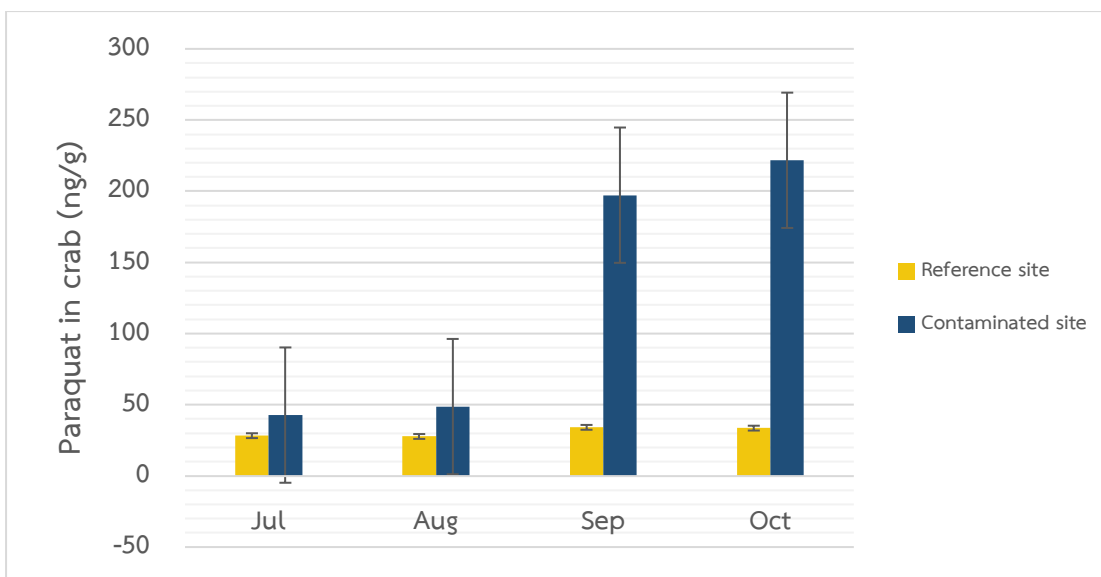
เดือน	ปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในปูนา (ng/g)
กรกฎาคม (n=4)	56.15 ± 17.95 ^B
สิงหาคม (n=5)	38.24 ± 2.93 ^B
กันยายน (n=5)	20.32 ± 5.24 ^A
ตุลาคม (n=5)	44.26 ± 3.85 ^B

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากการเปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในเนื้อเยื่อปูจากพื้นที่เกษตรกรรมทั้ง 2 พื้นที่ พบว่าระหว่างเพศผู้ในเดือนกันยายน และตุลาคม และเพศเมียในเดือนสิงหาคม และตุลาคม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนพาราควอตในเนื้อเยื่อปูจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานใช้สารฆ่าวัชพืชนั้นมีค่ามากกว่า



ภาพที่ 4.1 ปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในปูนาเพศผู้จากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช และพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562



ภาพที่ 4.2 ปริมาณการปนเปื้อนพาราควอตในปูนาเพศเมียจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชและพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562

4.2 การปนเปื้อนของแอทราซีนในเนื้อเยื่อปูนา

จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณแอทราซีนที่ปนเปื้อนในปูนาในช่วงเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ.2562 จากพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชอยู่ในระหว่าง 3.01 – 15.07 ng/g น้ำหนักแห้ง และจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชอยู่ในช่วง 3.77 – 8.34 ng/g น้ำหนักแห้ง

ตาราง 4.3 ปริมาณการปนเปื้อนแอทราซีนในปูนาเพศผู้และเพศเมียจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชและพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562

แอทราซีน	พื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช (ตำบลไหล่น่าน)		พื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช (ตำบลบ้านसान)	
	เพศผู้ (ng/g)	เพศเมีย (ng/g)	เพศผู้ (ng/g)	เพศเมีย (ng/g)
กรกฎาคม	3.90 ± 0.63	5.02 ± 1.58	5.06 ± 0.75	4.69 ± 0.31
สิงหาคม	6.79 ± 2.99	4.12 ± 0.31	6.51 ± 0.41	6.63 ± 0.20
กันยายน	5.02 ± 1.21	7.85 ± 2.49	4.56 ± 0.61	6.00 ± 0.78
ตุลาคม	7.83 ± 4.28	6.43 ± 1.40	6.15 ± 1.69	6.88 ± 1.28

หมายเหตุ : Limit of detection เท่ากับ 0.04 ng/mL หรือเท่ากับ 0.53 ng/g น้ำหนักแห้ง
Recovery of extraction เท่ากับ 131.85%

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอม تراซินที่ตกค้างในเนื้อเยื่อปุนาระหว่างเพศของแต่ละเดือนพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในเดือนกันยายนของพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่า วัชพืช และปริมาณแอม تراซินที่ตกค้างในเนื้อเยื่อปุนาระหว่างเดือน มีความแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในเพศผู้จากพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช

ตาราง 4.4 เปรียบเทียบปริมาณแอม تراซินของปุนาเพศผู้ในแต่ละเดือน จากพื้นที่เกษตรกรรมตำบล บ้านส้าน ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562

เดือน	ปริมาณการปนเปื้อนแอม تراซินในปุนา (ng/g)
กรกฎาคม (n=4)	5.06 ± 0.75 ^{AB}
สิงหาคม (n=5)	6.51 ± 0.41 ^B
กันยายน (n=5)	4.56 ± 0.61 ^A
ตุลาคม (n=5)	6.15 ± 1.69 ^{AB}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตาราง 4.5 เปรียบเทียบปริมาณแอม تراซินของปุนาเพศเมียในแต่ละเดือน จากพื้นที่เกษตรกรรม ตำบลไหล่นาน ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562

เดือน	ปริมาณการปนเปื้อนแอม تراซินในปุนา (ng/g)
กรกฎาคม (n=4)	5.02 ± 1.58 ^{AB}
สิงหาคม (n=5)	4.12 ± 0.31 ^A
กันยายน (n=5)	7.85 ± 2.49 ^B
ตุลาคม (n=5)	6.43 ± 1.40 ^{AB}

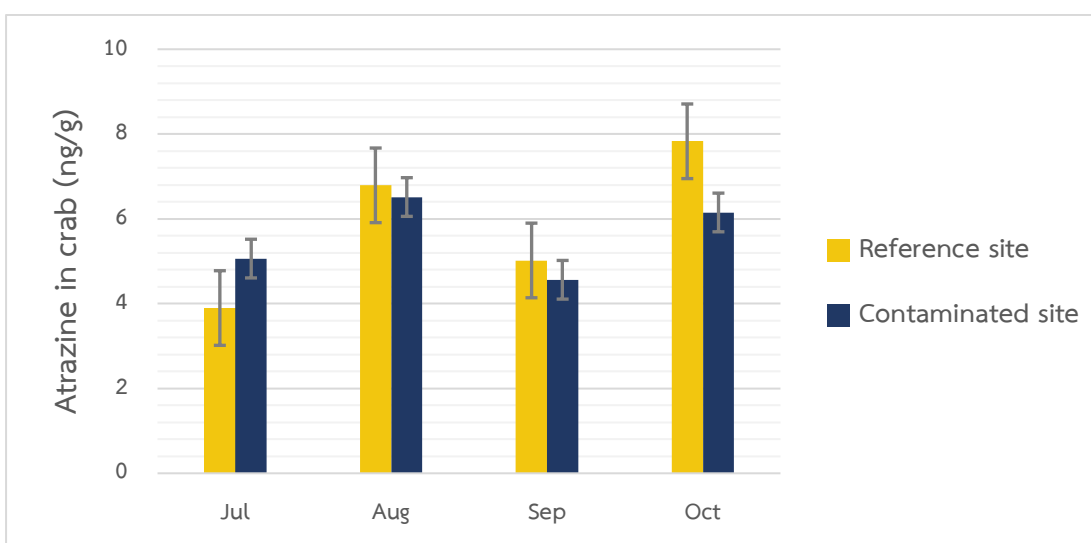
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตาราง 4.6 เปรียบเทียบปริมาณแอะทราซีนของปูนาเพศเมียในแต่ละเดือน จากพื้นที่เกษตรกรรม ตำบลบ้านส้าน ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562

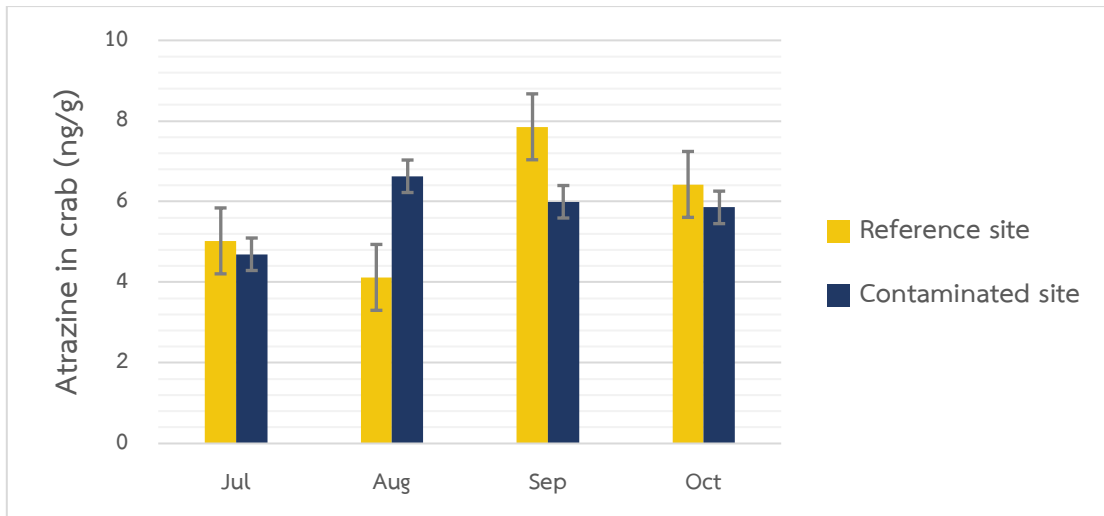
เดือน	ปริมาณการปนเปื้อนแอะทราซีนในปูนา (ng/g)
กรกฎาคม (n=4)	4.69 ± 0.31 ^A
สิงหาคม (n=5)	6.63 ± 0.20 ^B
กันยายน (n=5)	6.00 ± 0.78 ^{AB}
ตุลาคม (n=5)	6.88 ± 1.28 ^B

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากการเปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนแอะทราซีนในเนื้อเยื่อปูจากพื้นที่เกษตรกรรมทั้ง 2 พื้นที่ พบว่าระหว่างเพศผู้ในเดือนกรกฎาคม และเพศเมียในเดือนสิงหาคม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนแอะทราซีนในเนื้อเยื่อปูจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานใช้สารฆ่าวัชพืชนั้นมีค่ามากกว่า



ภาพที่ 4.3 ปริมาณการปนเปื้อนแอะทราซีนในปูนาเพศผู้จากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช และพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม 2562



ภาพที่ 4.4 ปริมาณการปนเปื้อนแอตราซีนในปูนาเพศเมียจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชและพื้นที่เกษตรกรรมอ้างอิงที่ไม่มีการใช้สารฆ่าวัชพืชระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม

บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษาพบว่าแม้ในพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชมาเป็นเวลาดูติดต่อกันกว่า 12 ปี ก็ยังสามารถที่จะพบการปนเปื้อนของสารฆ่าวัชพืชได้ ทั้งพาราควอต และแอทราซีน ทั้งนี้อาจเกิดจากการตกค้างของสารฆ่าวัชพืชที่มีอยู่แต่แรก หรือเกิดจากการที่ปุ๋ยมุขผสมผสานกับสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของสารฆ่าวัชพืช อาทิ แหล่งน้ำ หรือตะกอนดินในพื้นที่เกษตรกรรมใกล้เคียงที่ยังมีการใช้สารฆ่าวัชพืช เนื่องจากปุ๋ยมุขมีพฤติกรรมการกักตะกอนดิน จึงอาจทำให้มีการสะสมสารเคมีไว้ภายในตัว

โดยเมื่อนำข้อมูลปริมาณสารฆ่าวัชพืชที่ตกค้างในเนื้อเยื่อปุ๋ยมุขทั้งสองชนิดที่เก็บตัวอย่างในเดือนกรกฎาคม และตุลาคม 2562 มาเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้าของรชตะ มณีอินทร์ (2555) ซึ่งเก็บตัวอย่างจากพื้นที่เกษตรกรรมเดียวกันและช่วงเวลาใกล้เคียงกัน โดยคาดว่าในช่วงมีการกิจกรรมการทำเกษตรกรรมที่คล้ายคลึงกัน ในเดือนตุลาคม 2553 และเดือนกรกฎาคม 2554 พบว่าข้อมูลส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5.1)

พาราควอตมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นทั้งจากพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชตำบลไหล่นาน และพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชตำบลบ้านसान ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการตกค้างของการใช้พาราควอตก่อนหน้า ซึ่งพาราควอตนั้นมีครึ่งชีวิตอยู่ที่ 10 ปี (US EPA, 1993) อีกทั้งจังหวัดน่านมีการนำเข้าสารเคมีเกี่ยวกับการเกษตรเพิ่มขึ้นจาก 1.2 ล้านกิโลกรัมต่อปี เป็น 2.4 ล้านกิโลกรัมต่อปี (พวงรัตน์ ขจิตวิษยานุกูล, 2559) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของการเกษตรที่เพิ่มขึ้น โดยในพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชนั้นมีพื้นที่ที่ติดกับแปลงเกษตรที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช จึงทำให้พาราควอตซึ่งเป็นสารที่มีขั้วและละลายน้ำได้ดี (US EPA, 1997) ถูกชะล้างสู่แหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง ซึ่งอาจทำให้ปุ๋ยมุขผสมผสานสารฆ่าวัชพืช จึงทำให้สารฆ่าวัชพืชที่ตกค้างในเนื้อเยื่อปุ๋ยมุขมีค่าเพิ่มขึ้น

ส่วนปริมาณแอทราซีน เมื่อเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้าของ Maneein (2012) พบว่างานวิจัยนี้มีการตกค้างที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งสองพื้นที่ ซึ่งนอกจากจะเป็นเพราะการตกค้างที่มากขึ้นแล้ว ยังอาจเป็นเพราะประสิทธิภาพการสกัดที่แตกต่างกัน โดยงานวิจัยของ Maneein (2012) มีค่า recovery of extraction เท่ากับ 96.79% ในขณะที่งานวิจัยนี้มีค่า recovery of extraction อยู่ที่ 131.85%

ตาราง 5.1 เปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนสารฆ่าวัชพืชในเนื้อเยื่อปูนาจากพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชและพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช ในเดือนกรกฎาคม และเดือนตุลาคม พ.ศ.2562 กับงานวิจัยก่อนหน้าของรชตะ มณีอินทร์ (2555)

สารฆ่าวัชพืช			กรกฎาคม			ตุลาคม		
			พ.ศ. 2554	พ.ศ. 2562	การทดสอบทางสถิติ	พ.ศ. 2553	พ.ศ. 2562	การทดสอบทางสถิติ
พาราควอต	เพศผู้	Reference site	44.65 ± 9.13	56.15 ± 13.65	p = 0.267	36.31 ± 2.59	44.26 ± 8.60	p = 0.180
		Contaminated site	44.13 ± 0.80	50.17 ± 23.82	p = 0.601	38.81 ± 4.61	160.76±67.74	p = 0.034*
	เพศเมีย	Reference site	37.59 ± 3.88	28.39 ± 2.27	p = 0.009*	38.00 ± 3.70	33.70± 16.94	p = 0.180
		Contaminated site	33.99 ± 5.32	42.82 ± 11.34	p = 0.274	41.23 ± 3.02	221.74±153.42	p = 0.096
แอทราซีน	เพศผู้	Reference site	3.70 ± 2.88	3.90 ± 0.63	p = 0.895	3.22 ± 1.64	7.83 ± 4.28	p = 0.132
		Contaminated site	6.97 ± 0.29	5.06 ± 0.75	p = 0.006*	5.40 ± 2.94	6.15 ± 1.69	p = 0.685
	เพศเมีย	Reference site	4.25 ± 3.11	5.02 ± 1.58	p = 0.648	4.83 ± 3.78	6.43 ± 1.39	p = 0.546
		Contaminated site	4.67 ± 4.89	4.69 ± 0.31	p = 0.993	10.67 ± 2.85	6.87 ± 1.28	p = 0.037*

หมายเหตุ : * แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการศึกษา

จากผลการศึกษาพบว่า การปนเปื้อนพาราควอตในเนื้อเหี่ยวปูนาจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการใช้สารฆ่าวัชพืช มีแนวโน้มที่มากกว่าปูนาจากพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช และการปนเปื้อนแอทราซีนในเนื้อเหี่ยวปูนาจากพื้นที่เกษตรกรรมที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชนั้นมีแนวโน้มที่น้อยกว่าแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปูนาที่เก็บมาจากพื้นที่เกษตรกรรมที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช

6.2 ประเด็นที่ควรศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

การศึกษาสารฆ่าวัชพืชที่ตกค้างในปูนา จากพื้นที่เกษตรกรรม ควรศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นต่างๆ ดังนี้ ประการที่หนึ่งคือ ตรวจสอบการปนเปื้อนของสารฆ่าวัชพืชในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน และแหล่งน้ำที่บริเวณพื้นที่ทำการเก็บตัวอย่าง เพื่อนำมาช่วยวิเคราะห์ผลการปนเปื้อนสารฆ่าวัชพืชในตัวปูนา เนื่องจากปูนาในพื้นที่ที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืชมาเป็นเวลา 12 ปี ก็ยังสามารถพบการปนเปื้อนของสารฆ่าวัชพืชได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสภาพแวดล้อมโดยรอบ ประการที่สอง คือ การเก็บตัวอย่างควรเก็บในทุกฤดูกาล เพื่อดูแนวโน้มการปนเปื้อนของสารฆ่าวัชพืชในสิ่งมีชีวิตเป้าหมาย และประการสุดท้าย คือ การตรวจสอบการปนเปื้อนของสารฆ่าวัชพืชที่ตกค้างในปูนาไปศึกษาในพื้นที่อื่นที่นอกเหนือพื้นที่จังหวัดน่าน เพื่อเป็นข้อมูลให้เกษตรกรตระหนักถึงการใช้สารฆ่าวัชพืช

เอกสารอ้างอิง

- ชาญชัย แสงชโยสวัสต์, พนมศักดิ์ พรหมบุรณย์, กุศล ทองงาม และเทวินทร์ แก้วเมืองมูล. 2556. โครงการประเมินประสิทธิภาพการใช้น้ำบนพื้นที่สูงเพื่อการจัดการน้ำของชุมชน. รายงานฉบับสมบูรณ์. เชียงใหม่: สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน).
- ชัยฤทธิ์ ดำรงเกียรติ. 2555. ข้าวไร่กับการสร้างความมั่นคงทางอาหารบนพื้นที่สูง. การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2 (หน้า 2-4). กรุงเทพมหานคร: โรงแรมสวิสโฮเทล เลอคองคอร์ด
- ประพันธ์ จันทร์ผง. 2551. ข้อมูลบันทึกด้านเกษตรกรรม ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ในจังหวัดน่าน พ.ศ. 2551. สำนักงานส่งเสริมการเกษตรจังหวัดน่าน, จังหวัดน่าน, ประเทศไทย.
- ปิ่นมณัส นนทนา. 2559. สารฆ่าวัชพืชที่ตกค้างในปูนา *Esanthelphusa nani* (Naiyanetr, 1984) และอาหารพื้นเมืองจากปูนาในจังหวัดน่าน ปริญญาณีพนธ์, สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พวงรัตน์ ขจิตวิษยานุกุล. 2559. โครงการการวิจัยเชิงบูรณาการเพื่อเสริมสร้างศักยภาพหน่วยงานท้องถิ่นใน การจัดการและป้องกันการปนเปื้อนของสารพิษบนพื้นที่ต้นน้ำน่าน ระยะที่ 2. ใน การประชุมวิชาการเพื่อเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืชปี 2559. เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช, กรุงเทพมหานคร.
- รังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2547. สารป้องกันกำจัดวัชพืช. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2560. รายงานสรุปการนำเข้าวันตุอันตรายปี 2560 [ออนไลน์]. กรมวิชาการเกษตร. แหล่งที่มา http://www.doa.go.th/ard/?page_id=386 [12 มิถุนายน 2563].
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2561. รายงานสรุปการนำเข้าวันตุอันตรายปี 2561 [ออนไลน์]. กรมวิชาการเกษตร. แหล่งที่มา http://www.doa.go.th/ard/?page_id=386 [12 มิถุนายน 2563].
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2562. รายงานสรุปการนำเข้าวันตุอันตรายปี 2562 [ออนไลน์]. กรมวิชาการเกษตร. แหล่งที่มา http://www.doa.go.th/ard/?page_id=386 [12 มิถุนายน 2563].
- สำนักงานการเกษตรและสหกรณ์จังหวัดน่าน. 2557. การใช้ประโยชน์ที่ดินเพื่อการเกษตร. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.moac-info.net/modules/reports/R102.php> [22 มีนาคม 2563].
- สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. ม.ป.ป.. องค์ความรู้เรื่องข้าว. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.ricethailand.go.th/Rkb/weed/index.php- file=content.php&id=41>.

htm [22 มีนาคม 2563].

- Achayapunwanich, O. (2012). Correlation between herbicide contamination and effects on liver and kidney of cyprinid fish in *Puntioplites proctozysron* Nan rive, Wiangsa district, Nan prinvince. Master's Thesis, Department of Biology, Fuculty of Science, Chulalongkorn University.
- Brown, W.J., Charlto, A., Cuthbert, M., Barnett, L., Ross, L., Green, M., Gillies, L., Shaw, K., and Fletcher, M. 1996. Identification of pesticide poisoning in wildlife. Journal of Chromatography A 745: 463-478.
- Cheah, U.B., Kirkwood, R.C., and Lum, K.Y. 1998. Degradation of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 1217-1223.
- Clark, P.F., Mortimer, D.N., Law, R.J., Averbs, J.M., Cohen, B.A., Wood, D., Rose, M.D., Fernandes, A.R., and Rainbow, P.S. 2009. Dioxin and PCB contamination in Chinese mitten crabs: Human consumption as a control mechanism for an invasive species. Environmental Science and Technology 43: 1624-1629.
- Devine, M. D., Duke, S. O., and Fedtke, C. 1993. Physiology of Herbicide Action. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
- Dinis-Oliveira RJ, Remião F, Carmo H, Duarte JA, Navarro AS, Bastos ML, Carvalho F. 2006. Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. Neurotoxicology 27(6): 1110-22.
- Doolgindachbaporn, S., Jaruratjamorn, P., Khongsai, S., and Doolgindachbaporn, T. 2001. Studies on age and growth of rice-field crab, *Esanthelphusa dugasti* (Rathbun). Proceedings of the 39th Kasetsart University Annual Conference: Fisheries, Agro-Industry. Kasetsart University, Bangkok. 260-265
- Eisler, R. 1990. Paraquat hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. Contaminant Hazard Reviews 22: 1-38.
- El-Shenawy, S.N. 2009. Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. Experimental and Toxicologic Pathology 28: 379-385.
- Freeman B.L., Rusiecki J.A., Hoppin J.A., Lubin J.H., Koutros, S., Andreotti, G., Zahm

- S.H., Hines C.J., Coble, J.B., Barone A.F., Sloan, J., Sandler, D.P., Blair, A., and Alavanja M.C. 2011. Atrazine and cancer incidence among pesticide applicators in the agricultural health study (1994-2007). Environmental Health Perspectives 119: 9-1253
- Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., Clair, E., Chagnonb, C.M., and Séralini, E.G. 2009. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. Toxicology 262: 184-191.
- Gómez-Mendikute, A., and Cajaraville, M.P. 2003. Comparative effects of cadmium, copper, paraquat and benzo[a]pyrene on the actin cytoskeleton and production of reactive oxygen species (ROS) in mussel haemocytes. Toxicology In Vitro 17: 539–546.
- Hayes, T.B., Anderson, L.L., Beasley, V.R., Solla, S.R., Iguchi, T., Ingraham, H., Kestemont, P., Kniewald, J., Kniewald, K., Langlois, V.S., Luque, E.H., McCoy, K.A., Muñoz-de-Toro, M., Oka, T., Oliveira, C.A., Orton, F., Ruby, S., Suzawa, M., Tavera-Mendoza, L.E., Trudeau, V.L., Victor-Costa, A.B., and Willingham, E . 2011. Demasculinization and feminization of male gonads by atrazine: Consistent effects across vertebrate classes. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 127: 64-73.
- Jacomini, A.E., Bonato, P.S., and Avelar, W.E.P. 2003. HPLC method for the analysis of atrazine in freshwater bivalves. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies 26: 1885–1894.
- Jantawongsri, K. (2014) Immune response of rice frog *Fejervarya limnocharis* (Gravenhorst, 1829) in herbicide utilized agricultural area at Wiangsa district, Nan Province Master's Thesis, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.
- Jeng, C.C.; Wu, C.D.; Lin, J.L. 2005. Mother and fetus both survive from severe paraquat intoxication Clinical Toxicology 43: 291–295
- Kimura K, Katsumata Y, Ozawa T, Tawara S, Igarashi K, Cho Y, Shibata N, Hakuno F, Takahashi S-I, Takenaka A. 2010. Effect of paraquat-induced oxidative stress on insulin regulation of insulin-like growth factor-binding protein-1 gene expression Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 46: 157-67.

- Kongtip, P., Nangkongnab, N., Phupancharoensuk, R., Palarach, C., Sujirarat, D., Sangprasert, S., Sermsuk, M., Sawattrakool, N., and Woskie S.R. 2017. Glyphosate and paraquat in maternal and fetal serums in Thai Women. Journal of Agromedicine 22: 282-289.
- Koutros, S., Alavanja, C.M., Lubin, H.J., Sandler, P.D., Hoppin, A.J., Lynch, F.C., Knott, C., Blair, A., and Freeman B.L. 2010. An update of cancer incidence in the Agricultural Health Study Journal of Occupational and Environmental Medicine 52: 1098-1105.
- Lushchak, O.V., Kubrak, O.I., Storey, J.M., Storey, K.B., and Lushchak, V.I. 2009. Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. Chemosphere 76: 932-937.
- Maneein, R. (2012). Biologic responses of rice field crab *Esantheiphusa nani* (NAIYANETR, 1984) to herbicide in paddy fields, Nan province. Master's Thesis, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University
- Matozzo, V., Gagné, F., Marin, M.G., Ricciardi, F., and Blaise, C. 2008 Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic invertebrates: A review. Environment International 34: 531-545.
- Naiyanetr, P. 1984. Two new species of Pu Na of Thailand. Abstracts of the 22nd Conference Fisheries Section, Kasetsart University. p. 14. Bangkok.
- National Research Council. 1991. Animal as Sentinel of Environmental Health Hazard. Washington D.C.: National Academy Press.
- Omran, N.E., and Salama, W.M. 2013. The endocrine disruptor effect of the herbicides atrazine and glyphosate on *Biomphalaria alexandrina* snails. Toxicology and Industrial Health 32: 656-665.
- Paraquat Information Centre. 2020. Use. [Online]. From: <https://paraquat.com/en/use> [22 March 2020].
- Petit, V., Carbirdenc, R., Swannell, R.P.J., and Sokhi, R.S. 1995. Review of strategies for modeling the environmental fate of pesticides discharged into riverine systems. Environment International 21: 167-176.

- Quassinti, L., Maccari, E., Murri, O., and Bramucci, M. 2008. Effects of paraquat and glyphosate on steroidogenesis in gonads of the frog *Rana esculenta* in vitro. Pesticide Biochemistry and Physiology 93: 91–95.
- Ray S, Sengupta A, Ray A. 2007. Effects of paraquat on anti-oxidant system in rats. Indian Journal of Experimental Biology 45: 432-8.
- Savitz, D.A., Arbuckle, T., Kaczor, D., and Curtis, K.M. 1997. Male pesticide exposure and pregnancy outcome. American Journal of Epidemiology 146: 36-1025.
- Senarat, S. (2012). Correlation between herbicide contamination and effects on reproductive system of cyprinid fish *Puntius proctozysron* in Nan river, Wiangsa district, Nan province. Master's Thesis, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.
- Solomon, K.R., Baker, D.B., Richards, R.P., Dixon, K.R., Klaine, S.J., La Point, T.W., Kendall, R.J., Weisskopf, C.P., Giddings, J.M., Giesy, J.P., Hall Jr, L.W., and Williams, W.M. 1996. Ecological risk assessment of atrazine in North America surface waters. Environmental Toxicology and Chemistry 15: 31-76.
- Souza, A.S., Torres, J.P., Meire, R.O., Neves, R.C., Couri, M.S., and Serejo, C.S. 2008. Organochlorine pesticides (OCs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments and crabs (*Chasmagnathus granulata*, Dana, 1851) from mangroves of Guanabara Bay, Rio de Janeiro State, Brazil. Chemosphere 73: 186-192.
- Swanson, L.N., Leu, A., Abrahamson, J., and Wallet B. 2014. Genetically engineered crops, glyphosate and the deterioration of health in the United States of America. Journal of Organic Systems 9: 6-37.
- Thammachoti, P. (2012). Influence of herbicides on morphology and population of rice frog *Fejervarya limnocharis* (Gravenhorst, 1829) in paddy fields, Nan Province. Master's Thesis, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.
- Thitiphuree, T. (2012). Association between herbicide contamination and reproductive effects in freshwater mussel *uniandra contradens* in agricultural areas, Nan province. Master's Thesis, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

- Thongprakaisang, S., Thiantanawat, A., Rangkadilok, N., Suriyo, T., and Satayavivad, J. 2013. Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. Food Chemistry and Toxicology 59: 129-136.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1993. Reregistration Eligibility Decision Document Glyphosate. List A Case 0178 Special Review and Registration Division, Office of Pesticides Program, U.S. Environmental Protection Agency.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1997. Reregistration Eligibility Decision (RED) Paraquat Dichloride. List A Case 0262 Special Review and Registration Division, Office of Pesticides Program, U.S. Environmental Protection Agency.
- Watts, M. 2011. Paraquat. Penang, Malaysia: Pesticide Action Network Asia and the Pacific.
- Wongwichit, D., Siriwong, W., and Robson, M. G. 2012. Herbicide exposure to maize farmers in northern Thailand: Knowledge, attitude, and practices. Journal of Medicine and Medical Sciences 3: 34-38.
- World Health Organization. 2015. Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. IARC Monographs Volume 112. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Zabalza, A., Orcaray, L., Escalada, F.M., González, Z.A., and Royuela, M. 2017. The pattern of shikimate pathway and phenylpropanoids after inhibition by glyphosate or quinate feeding in pea roots. Pesticide Biochemistry and Physiology 141: 96-102.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 ตัวอย่างปูนาที่เก็บจากพื้นที่อ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช ต.ไหล่น่าน
อ. เวียงสา จ. น่าน

หมายเลข	เดือนที่เก็บ	เพศ	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)
RM0701	กรกฎาคม 2562	ผู้	28.55	9.62
RM0702	กรกฎาคม 2562	ผู้	12.50	5.20
RM0703	กรกฎาคม 2562	ผู้	19.48	7.51
RM0704	กรกฎาคม 2562	ผู้	20.93	7.67
RM0705	กรกฎาคม 2562	ผู้	26.55	10.92
RF0701	กรกฎาคม 2562	เมีย	18.48	6.80
RF0702	กรกฎาคม 2562	เมีย	17.97	6.42
RF0703	กรกฎาคม 2562	เมีย	21.27	7.38
RF0704	กรกฎาคม 2562	เมีย	14.63	4.89
RF0705	กรกฎาคม 2562	เมีย	20.89	7.10
RM0801	สิงหาคม 2562	ผู้	22.34	7.48
RM0802	สิงหาคม 2562	ผู้	30.90	7.20
RM0803	สิงหาคม 2562	ผู้	24.15	8.96
RM0804	สิงหาคม 2562	ผู้	36.70	12.71
RM0805	สิงหาคม 2562	ผู้	16.30	5.53
RF0801	สิงหาคม 2562	เมีย	18.89	6.67
RF0802	สิงหาคม 2562	เมีย	12.51	6.16
RF0803	สิงหาคม 2562	เมีย	11.68	4.42
RF0804	สิงหาคม 2562	เมีย	16.63	3.97
RF0805	สิงหาคม 2562	เมีย	18.37	6.55

ภาคผนวกที่ 1 ตัวอย่างปูนที่เก็บจากพื้นที่อ้างอิงที่ไม่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช ต.ไหล่น่าน
อ. เวียงสา จ. น่าน (ต่อ)

หมายเลข	เดือนที่เก็บตัวอย่าง	เพศ	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)
RM0901	กันยายน 2562	ผู้	31.79	12.45
RM0902	กันยายน 2562	ผู้	28.71	10.27
RM0903	กันยายน 2562	ผู้	25.69	9.36
RM0904	กันยายน 2562	ผู้	29.70	6.87
RM0905	กันยายน 2562	ผู้	36.75	12.00
RF0901	กันยายน 2562	เมีย	11.55	4.22
RF0902	กันยายน 2562	เมีย	14.12	4.42
RF0903	กันยายน 2562	เมีย	15.65	5.07
RF0904	กันยายน 2562	เมีย	10.72	2.93
RF0905	กันยายน 2562	เมีย	12.77	4.59
RM1001	ตุลาคม 2562	ผู้	36.71	16.11
RM1002	ตุลาคม 2562	ผู้	25.09	10.31
RM1003	ตุลาคม 2562	ผู้	33.65	12.63
RM1004	ตุลาคม 2562	ผู้	23.45	9.55
RM1005	ตุลาคม 2562	ผู้	21.01	7.96
RF1001	ตุลาคม 2562	เมีย	15.85	6.51
RF1002	ตุลาคม 2562	เมีย	20.23	7.45
RF1003	ตุลาคม 2562	เมีย	20.18	8.91
RF1004	ตุลาคม 2562	เมีย	18.99	5.91
RF1005	ตุลาคม 2562	เมีย	20.34	7.61

ภาคผนวกที่ 2 ตัวอย่างปูนาที่เก็บจากพื้นที่เกษตรที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช ต.บ้านสำน
อ. เวียงสา จ. น่าน

หมายเลข	เดือนที่เก็บตัวอย่าง	เพศ	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)
CM0701	กรกฎาคม 2562	ผู้	13.35	3.90
CM0702	กรกฎาคม 2562	ผู้	24.45	7.28
CM0703	กรกฎาคม 2562	ผู้	18.27	6.51
CM0704	กรกฎาคม 2562	ผู้	14.47	5.46
CM0705	กรกฎาคม 2562	ผู้	11.02	4.77
CF0701	กรกฎาคม 2562	เมีย	17.55	6.17
CF0702	กรกฎาคม 2562	เมีย	18.38	5.77
CF0703	กรกฎาคม 2562	เมีย	17.87	5.84
CF0704	กรกฎาคม 2562	เมีย	15.90	5.78
CF0705	กรกฎาคม 2562	เมีย	20.99	7.10
CM0801	สิงหาคม 2562	ผู้	12.51	4.82
CM0802	สิงหาคม 2562	ผู้	26.44	10.39
CM0803	สิงหาคม 2562	ผู้	10.20	3.94
CM0804	สิงหาคม 2562	ผู้	14.35	4.11
CM0805	สิงหาคม 2562	ผู้	14.15	4.60
CF0801	สิงหาคม 2562	เมีย	20.26	6.94
CF0802	สิงหาคม 2562	เมีย	11.71	4.57
CF0803	สิงหาคม 2562	เมีย	8.04	2.62
CF0804	สิงหาคม 2562	เมีย	10.30	3.92
CF0805	สิงหาคม 2562	เมีย	7.93	3.05

ภาคผนวกที่ 2 ตัวอย่างปูนที่เก็บจากพื้นที่เกษตรที่มีรายงานการใช้สารฆ่าวัชพืช ต.บ้านसान
อ. เวียงสา จ. น่าน (ต่อ)

หมายเลข	เดือนที่เก็บตัวอย่าง	เพศ	น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง (g)
CM0901	กันยายน 2562	ผู้	39.21	16.65
CM0902	กันยายน 2562	ผู้	33.19	7.71
CM0903	กันยายน 2562	ผู้	30.49	13.50
CM0904	กันยายน 2562	ผู้	43.94	18.08
CM0905	กันยายน 2562	ผู้	40.48	17.49
CF0901	กันยายน 2562	เมีย	15.28	5.86
CF0902	กันยายน 2562	เมีย	9.12	3.44
CF0903	กันยายน 2562	เมีย	10.53	4.60
CF0904	กันยายน 2562	เมีย	18.96	5.95
CF0905	กันยายน 2562	เมีย	4.03	1.86
CM1001	ตุลาคม 2562	ผู้	13.31	3.97
CM1002	ตุลาคม 2562	ผู้	17.85	7.13
CM1003	ตุลาคม 2562	ผู้	28.26	11.51
CM1004	ตุลาคม 2562	ผู้	48.00	20.12
CM1005	ตุลาคม 2562	ผู้	12.82	4.95
CF1001	ตุลาคม 2562	เมีย	11.16	3.39
CF1002	ตุลาคม 2562	เมีย	14.62	5.53
CF1003	ตุลาคม 2562	เมีย	21.68	9.30
CF1004	ตุลาคม 2562	เมีย	13.25	3.80
CF1005	ตุลาคม 2562	เมีย	21.11	6.65