

## การตรวจวัดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่พบในปัสสาวะของเกษตรกรสวนผัก ที่ใช้สารเคมีในการเพาะปลูก ในเขตตำบลบึงพระ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

สุทธิสา ถาน้อย<sup>1,2</sup> ธงชัย นน่อแก้ว<sup>2</sup> และ เสมอ ถาน้อย<sup>1\*</sup>

### The Measurement of Organophosphate Pesticides in Urine Specimens from the Farmers in Bungphra, Muang District, Phitsanulok

Sutisa Nudmamud-Thanoi<sup>1,2</sup>, Thongchai Norkeaw<sup>2</sup> and Samur Thanoi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ <sup>2</sup>หน่วยปฏิบัติการกลางและส่งเสริมงานวิจัย คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

<sup>1</sup>Department of Anatomy, <sup>2</sup>Center for Central facility and Development,  
Faculty of Medical Science, Naresuan University, Thailand.

\*Corresponding Author : Email: samurt@nu.ac.th (S. Thanoi)

#### บทคัดย่อ

อาชีพเกษตรกรอย่างหนึ่งที่นิยมทำกันในจังหวัดพิษณุโลก ก็คือการทำสวนผักเพื่อการบริโภคโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ตำบลบึงพระ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก แต่จากการสำรวจของคณะผู้วิจัยพบว่า เกษตรกรยังขาดความรู้ และความเข้าใจในการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ถูกต้อง และผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นได้ต่อสุขภาพร่างกายและชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้สารเคมีในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ซึ่งมีรายงานถึงผลของสารเคมีกลุ่มนี้ต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางและระบบอื่น ๆ ของร่างกาย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาถึงปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ตรวจพบในปัสสาวะของเกษตรกรภายหลังการฉีดพ่นสารเคมีดังกล่าว เพื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์ถึงการตกค้างหรือสะสมในร่างกาย และแจ้งให้กับเกษตรกรทราบต่อไป เพื่อเสนอแนวทางที่เหมาะสมในการปฏิบัติตัวให้ถูกต้องในการฉีดพ่นสารเคมีในคราวต่อไป การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากเกษตรกรผู้ฉีดพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในเขตตำบลบึงพระจาก 5 หมู่บ้านจำนวน 15 คน โดยตัวอย่างปัสสาวะที่ได้นั้นถูกนำมาตรวจวัดระดับของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดออร์กาโนฟอสเฟต 4 ชนิดด้วยกันได้แก่ Malathion, Fenthion, Diazinon และ Chlorpyrifos โดยวิธี Chromatographic Technique ชนิด High Performance Liquid Chromatography ปัสสาวะของเกษตรกรถูกนำมาตรวจวัดระดับของสารเคมี 3 ครั้ง (วันที่ 1, 3, 5) ภายหลังการฉีดพ่นสารเคมี เพื่อเปรียบเทียบระดับของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในร่างกาย จากการศึกษาดังกล่าวนี้พบว่าเกษตรกรที่เข้าร่วมการศึกษามีตรวจพบสารเคมีกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต 2 ชนิดได้แก่ malathion และ diazinon โดยที่ปริมาณของสารเคมีกลุ่ม Malathion ในร่างกายในวันที่ 1 ภายหลังการฉีดพ่นสารเคมี และปริมาณของสารเคมีในร่างกายของเกษตรกรลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ในวันที่ 3 ภายหลังการฉีดพ่น และไม่พบปริมาณของสารเคมี Malathion ในวันที่ 5 ภายหลังการฉีดพ่นสารเคมี นอกจากนี้ยังพบว่าเกษตรกรอีก 3 ราย ในจำนวน 15 รายที่เข้าร่วมการศึกษามีตรวจพบระดับของสารเคมี diazinon ในวันที่ 1 ภายหลังการฉีดพ่นสารเคมี ซึ่งจากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า สารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ผ่านเข้าสู่ร่างกายของเกษตรกรทุกรายภายหลังการฉีดพ่น และระยะเวลาในการสะสมหรือกำจัดออกจากร่างกายจะแตกต่างกันตามชนิดขององค์ประกอบของสารเคมี ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงความไม่เหมาะสมในขบวนการฉีดพ่นสารเคมีของเกษตรกร และมีการสะสมในร่างกายของสารเคมีดังกล่าว ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ได้เป็นข้อมูลย้อนกลับไปสู่เกษตรกรแต่ละราย เพื่อสร้างความเข้าใจ และแนวปฏิบัติที่ถูกต้องสำหรับการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในคราวต่อไป และข้อมูลเชิงวิชาการเกี่ยวกับผลกระทบต่อร่างกายหากมีการสะสมของสารเคมีดังกล่าวในร่างกาย เพื่อเฝ้าระวังและปฏิบัติให้เหมาะสมในการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และการบริโภคพืชผักที่ผ่านการฉีดพ่นสารเคมีอย่างเหมาะสมต่อไป

คำสำคัญ : สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เกษตรกร ออร์กาโนฟอสเฟต เมลาไทออน ไดอะซินอน

### Abstract

Vegetable farming in Bungphra, Phitsanulok has been known as one of the most productive area of vegetable production in Phitsanulok. However from the surveying, some useful information indicates that the farmers in this area find themselves lacking in their knowledge and skills in dealing with the use of pesticides. Since, the toxicity of pesticides has been reported to induce abnormal functions in central nervous system and other organ systems. Therefore, the aim of this study was to determine the amount of organophosphates in urine of farmers who exposed to organophosphate pesticides.

Fifteen farmers from five districts volunteered to this study and the amounts of organophosphate in the body were examined in urine using a chromatographic technique with the high performance liquid chromatography. The amounts of organophosphates were determined 3 times (day 1, 3, 5) after exposure to pesticides.

There are two subtypes of organophosphates found in urine specimen. The results showed that the amount of malathion was found in the urine of volunteer farmers 1 day after exposed. The amount of malathion was significantly reduced ( $p < 0.05$ ) in 3 days after exposure. However, there was no malathion detected in day 5 after the farmers exposed the pesticides. In addition, 3 of 15 cases, the amount of diazinon was observed in urine specimen in 1 day after exposure. These results indicated that the organophosphate pesticides appeared to be left inside the body for some interval depend upon type of chemicals and skills of individual in dealing with the use of pesticides. These results also were reflected to each individual with consultation of the proper way in dealing with the pesticides.

The results from this study can provide useful information for the farmers and any sectors involved in order to either educate or prevent the serious problems in the use of pesticides in the farmers which can lead to good quality of life in both farmers and consumers in the future.

**Keywords :** Pesticides, Farmer, Organophosphate, Malathion, Diazinon

### บทนำ

สารเคมีทางการเกษตร มีการจำแนกตามลักษณะการใช้ประโยชน์เป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้ 5 กลุ่ม ได้แก่

1. กลุ่มยาฆ่าแมลง (insecticides) ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ป้องกัน กำจัด หรือขับไล่ศัตรูพืช และสัตว์
2. กลุ่มยาฆ่าวัชพืช (herbicides) ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ทำลายวัชพืชที่แย่งน้ำ อาหาร และแสงสว่างจากพืชเพาะปลูก
3. กลุ่มยาฆ่าเชื้อรา (fungicides) ได้แก่ สารเคมีฆ่าเชื้อรา
4. กลุ่มยาฆ่าหนู หรือสัตว์ฟันแทะอื่นๆ (rodenticides)
5. กลุ่มสารรมควัน (fumigants) ได้แก่ สารเคมีซึ่งเมื่ออยู่ภายใต้ความดัน และอุณหภูมิที่กำหนด จะอยู่ในสภาพก๊าซ และเมื่อมีความเข้มข้นเพียงพอจะใช้ฆ่าศัตรูพืชได้ (พาลาก, 2535)

ปัจจุบันยาฆ่าแมลงสังเคราะห์ ได้รับความนิยมนำมาใช้แพร่หลายในเกษตรกร ซึ่งสามารถแบ่งตามสูตรโครงสร้าง และกลไกการออกฤทธิ์ได้ดังนี้

1. ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate insecticides)
2. ยาฆ่าแมลงกลุ่มคาร์บาเมต (carbamate insecticide)
3. ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์แกโนคลอรีน (organochlorine insecticides)
4. ยาฆ่าแมลงกลุ่มกลุ่มอื่น ๆ ได้แก่ ยาฆ่าแมลงที่เป็นสารสังเคราะห์เลียนแบบสารเคมีที่ได้จากพืชธรรมชาติ เช่น กลุ่ม พัยรีธรัม (Pyrethrum) (พาลาภ, 2535)

ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate insecticides) มีสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบสำคัญ เป็นยากำจัดศัตรูพืชที่ใช้กันมากในขณะนี้ ซึ่งมีอยู่หลายอย่างด้วยกัน ในจำพวกนี้ที่แพร่หลายและเป็นที่รู้จักกันดีทั่วไปก็คือ พาราไธออน (parathion) หรือในนามของยาโฟลิดอล (folidol E 605) หรือยาเขียวฆ่าแมลง หรือยาฆ่าแมลงตราหัวกระโหลกไขว้ ถึงแม้ว่าจะมีการใช้ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กับผลิตผลทางการเกษตรอย่างแพร่หลาย แต่พบว่างานวิจัยถึงผลกระทบของการได้รับยาเข้าสู่ร่างกายยังมีจำนวนน้อย โดยเฉพาะในประเทศไทย การใช้ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตนั้นมีรายงานว่า เมื่อเข้าไปในร่างกายจะไปจับกับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (cholinesterase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในร่างกายที่ใช้ในการสลายสารสื่อประสาท อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ที่เกิดขึ้นในร่างกายให้หมดไปตามธรรมชาติ เมื่อมีการสะสมของยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในร่างกายมากขึ้น ก็ทำให้ลดปริมาณของเอนไซม์ cholinesterase และทำให้ร่างกายมี acetylcholine คั่งหรือเพิ่มมากขึ้นทุกที จนเกิดเป็นพิษต่อร่างกาย (Kwong, 2002) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาผลของยาฆ่าแมลง (insecticides) ระบบประสาทพบว่า ยาฆ่าแมลงมีผลต่อนigrostriatal dopaminergic nerve pathways ในสมองของสัตว์ทดลอง ซึ่งการเสื่อม (degeneration) ของทางเดินประสาทชนิดนี้จะทำให้เกิดโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) (Bloomquist et al., 2002) โรคพาร์กินสันนั้นเป็นโรคที่เกิดขึ้นเนื่องจากการลดลงของสารสื่อประสาทโดพามีน (dopamine) โดยอาจเกิดจากการเสื่อมของเซลล์ประสาทที่หลั่งสารชนิดนี้ ในปัจจุบันนี้ยังไม่มีทราบสาเหตุของการเกิดโรคนี้แน่ชัด แต่มีการรายงานไว้ว่า โรคนี้อาจเกิดขึ้นจากการได้รับยาฆ่าแมลง

การศึกษาผลกระทบของการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่อร่างกายนั้น ยังพบถึงผลของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระบบสืบพันธุ์ จากการศึกษาในเกษตรกรที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการใช้ยาฆ่าแมลงและมีสภาพเป็นหมัน พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมที่มีการแตกหัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโครโมโซมเพศชาย (Y chromosome) (Shabtai et al., 1978) นอกจากนี้ยาฆ่าแมลงกลุ่ม organophosphate ยังมีผลทำให้เกิดการตายของเซลล์สืบพันธุ์เพศชาย (Bustos-Obregon et al., 2001) การศึกษาในสัตว์ทดลองด้วยยาฆ่าแมลงชนิด parathion ที่มีความเข้มข้นสูง (20 mg/kg bodyweight) ในลักษณะ intrapleural injection พบว่ามีผลทำให้จำนวนอสุจิ (sperm) ลดลงและมีรูปร่างผิดปกติมากขึ้น (Sobarzo and Bustos-Obregon, 2000) นอกจากนี้ยังพบว่ายาฆ่าแมลงชนิด profenofos และ malathion ซึ่งเป็นยาฆ่าแมลงกลุ่ม organophosphate ก็มีผลต่อขบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในเพศชายเช่นเดียวกัน (El Nahas et al., 1989; Contreras and

Bustos-Obregon, 1999; Sinha et al., 1995) ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับผลต่อระบบสืบพันธุ์เพศหญิงนั้น ได้มีการศึกษาในสัตว์ทดลองโดยการให้กิน monocrotophos ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่ม organophosphate ในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าที่ความเข้มข้น 66, 10 และ 13 mg/kg bodyweight มีผลทำให้จำนวนเซลล์ไข่ในรังไข่ลดลง (Rao and Kaliwal, 2002)

จากรายงานดังกล่าวข้างต้นพบว่า การได้รับการสะสมสารเคมีทางการเกษตรในร่างกายนั้น มีผลกระทบต่อการทำงานของร่างกายให้ผิดปกติไป ในการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการตรวจวัดระดับของสารเคมีในร่างกายหลังจากการได้รับสารเคมีของเกษตรกร และวัดระยะเวลาของการสลายของสารเคมีในร่างกายหลังจากไม่ได้รับสารพิษทางการเกษตร เพื่อเป็นข้อมูลให้กับเกษตรกรในการดูแลสุขภาพ และผู้บริโภคต่อไป

การทำสวนผักในจังหวัดพิษณุโลกได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสภาพภูมิศาสตร์และดินฟ้าอากาศที่เอื้ออำนวย ตลอดจนผลผลิตที่ได้ก็เป็นไปตามความต้องการของตลาดและผู้บริโภค อย่างไรก็ตามจากการที่คณะผู้วิจัยได้เดินทางไปสำรวจ และเก็บข้อมูลเบื้องต้นจากเกษตรกรผู้ทำสวนผักในเขตจังหวัดพิษณุโลก พบว่ายังมีปัญหาอีกหลายประการที่ยังรอการศึกษาวิจัย เพื่อหาทางป้องกันและแก้ไขผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากการทำสวนผัก อาทิ การตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ปัญหาความเสื่อมสภาพของดินจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และปัญหาที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพของเกษตรกรจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

จากการเข้าสำรวจในพื้นที่ และการได้สัมภาษณ์กับเกษตรกร พบว่าเกษตรกรนิยมการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืช โดยไม่ได้คำนึงถึงผลกระทบที่อาจจะก่อให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพเท่าที่ควร ตลอดจนขาดความรู้หรือข้อมูลเชิงวิชาการถึงผลกระทบจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ต่อปัญหาด้านสุขภาพของเกษตรกร สอดคล้องกับรายงานปัญหาด้านการสาธารณสุขของจังหวัดพิษณุโลก (ข้อมูลจากการอภิปรายของนายแพทย์สาธารณสุขจังหวัด เรื่อง “สภาพปัญหาในด้านต่างๆ ของจังหวัดพิษณุโลกที่รอรับการวิจัย” วันที่ 14 ตุลาคม 2547 ณ มหาวิทยาลัยนเรศวร) พบว่าโรคที่เกิดจากการประกอบอาชีพที่มากที่สุดโรคหนึ่งในเขตจังหวัดพิษณุโลก คือ พิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช จากการสำรวจผู้ที่ป่วยจากการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเดือนมกราคมถึงเดือนกันยายน 2547 มีจำนวน 86 คน คิดเป็น 9.92 อัตราป่วยต่อแสนประชากร ซึ่งจัดเป็นปัญหาที่พบบ้านโรคเฝ้าระวังที่สูงที่สุดในโรคที่เกิดจากการประกอบอาชีพ คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาวิจัยในส่วนที่เกี่ยวข้องกับผลกระทบของการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อสุขภาพร่างกายของเกษตรกร โดยจะทำการศึกษาการตรวจวัดระดับของสารเคมีในร่างกายของเกษตรกร และระยะเวลาของการสลายของสารเคมี และขับออกจากร่างกาย เพื่อจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรในการจัดการเกี่ยวกับการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ถูกต้องต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

### การขออนุมัติทำวิจัยในมนุษย์

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาการทำวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการพิจารณางานวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

### กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มเกษตรกรอาสาสมัคร เขตตำบลบึงพระ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก จำนวน 15 คน อายุระหว่าง 20-60 ปี ไม่มีประวัติเจ็บป่วยร้ายแรง เป็นเกษตรกรที่ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเป็นประจำ กลุ่มตัวอย่างจะได้รับการชี้แจงข้อมูลในการทำวิจัยอย่างเข้าใจ ก่อนที่จะลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมในการทำวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างกลุ่มเกษตรกรผู้ทำสวนผัก ในตำบลบึงพระ จำนวน 5 หมู่บ้าน พบว่าเกษตรกรผู้ฉีดพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช จะเป็นกลุ่มเกษตรกรกลุ่มเดียวกันที่ทำหน้าที่รับจ้างในการฉีดพ่นสารเคมีให้กับเกษตรกรทั่วไป ทำให้จำนวนผู้ที่ฉีดพ่นสารเคมีมีจำนวนไม่มากตามที่คาดการณ์ไว้ อย่างไรก็ตามพบว่าเกษตรกรผู้ฉีดพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มดังกล่าว ให้ความร่วมมือในการทำการศึกษาครั้งนี้เป็นอย่างดี

กลุ่มควบคุม จำนวน 13 คน เป็นกลุ่มอาสาสมัครที่ไม่ได้มีประวัติในการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช มีอายุ และเพศที่ใกล้เคียงกับกลุ่มเกษตรกร

### แบบสำรวจข้อมูลเบื้องต้น

แบบสัมภาษณ์ข้อมูลทั่วไป และข้อมูลด้านสุขภาพของกลุ่มตัวอย่าง เพื่อนำมาประกอบการวิเคราะห์ข้อมูล

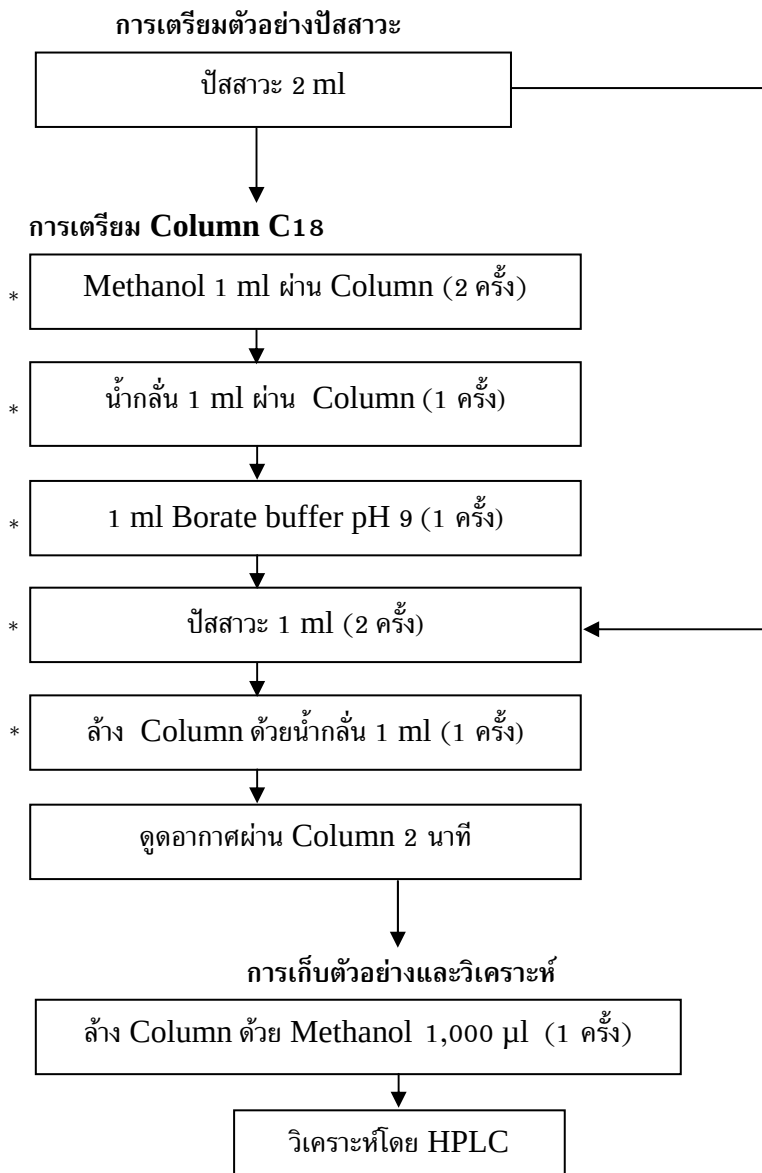
### การเก็บตัวอย่าง

- ตัวอย่างปัสสาวะจะถูกเก็บจากเกษตรกรอาสาสมัครภายหลังจากการได้รับสารเคมี และเก็บอย่างต่อเนื่อง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของสารเคมีกลุ่ม organophosphate ที่หลงเหลือ
- ตัวอย่างปัสสาวะของกลุ่มตัวอย่างทุกคนจะได้รับการเก็บภายหลังจากการฉีดพ่นสารประมาณ 24 ชั่วโมง (1 วัน) 72 ชั่วโมง (3 วัน) และ 120 ชั่วโมง (5 วัน) โดยปัสสาวะถูกเก็บในตอนเช้า และเก็บเวลาเดียวกัน เพื่อได้ความเข้มข้นของสารในปัสสาวะสูงสุด (Wessels et al., 2003) และเก็บไว้ในที่ตู้เย็น ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) ก่อนที่จะนำตัวอย่างมาเตรียมเพื่อการวิเคราะห์
- ตัวอย่างปัสสาวะของกลุ่มควบคุม จะเก็บในตอนเช้าเช่นเดียวกับกลุ่มตัวอย่าง และเก็บไว้ในที่ตู้เย็น ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) ก่อนนำมาวิเคราะห์ เพื่อเป็นข้อมูลเปรียบเทียบ

### การเตรียมตัวอย่าง และการวิเคราะห์สารเคมีกลุ่ม organophosphate ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ปัสสาวะปริมาณ 2 มิลลิลิตรถูกใส่ผ่านเข้าไปใน column C18 (GL science Inc.) เพื่อสกัดเอาเฉพาะสารกลุ่ม organic ออกมาวิเคราะห์ โดย column ถูกเตรียมดังแผนภาพ (พัฒนาจากวิธีการของ J.T. Baker Inc., )

## ขั้นตอนการสกัด Organophosphate pesticides จากปัสสาวะ



หมายเหตุ : \* หมายถึง ดำเนินการต่อเนื่องไม่ให้อากาศผ่าน

HPLC Method

UV : 235 nm

Mobile phase : 65% ACN 35% H<sub>2</sub>O

Flow rate : 2.0 ml/min

### วิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบค่าที่ได้กับสารมาตรฐาน (standard reagents) และคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ได้ จากนั้นนำมาเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของกลุ่มตัวอย่าง กับกลุ่มควบคุม และเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของกลุ่มตัวอย่างที่ได้เก็บอย่างต่อเนื่อง ด้วยวิธีทางสถิติ one-way ANOVA โดยใช้โปรแกรมสถิติ SPSS

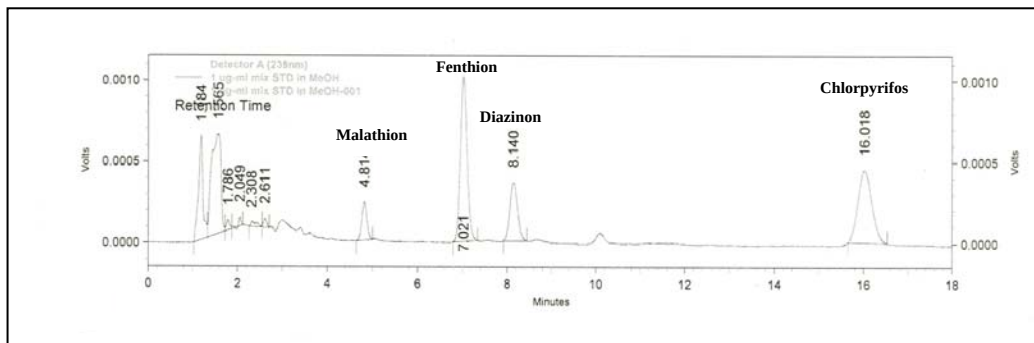
### ผลการวิจัย

#### การพัฒนาเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) สำหรับการวัดสารเคมีทางการเกษตรกลุ่ม organophosphate

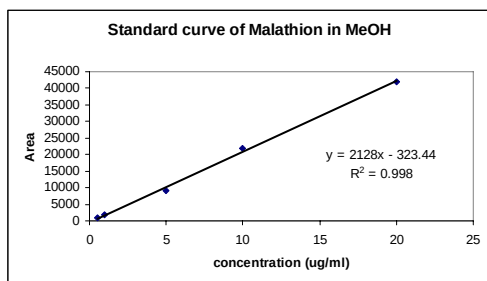
ระบบ HPLC (Shimadzu cooperation, Kyoto, Japan) ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อมาใช้วัดสารเคมีทางการเกษตรโดยใช้ column ชนิด C18 ขนาด 5 ไมโครเมตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร และมีความยาว 250 มิลลิเมตร โดยสารละลายที่ใช้เป็น mobile phase ได้แก่ acetonitrile 65% และน้ำกลั่น 35% UV detector ถูกตั้งค่าที่ 250 นาโนเมตร และมี flow rate 2 มิลลิลิตรต่อนาที สารมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้แก่ Malathion, Fenthion, Diazinon และ Chlorpyrifos ซึ่งได้ถูกเตรียมในสารเมทานอล สารละลาย 20 ไมโครลิตร ถูกฉีดเข้าไปใน column และสารกลุ่ม organophosphates เหล่านี้ถูกแยกออกจากสารตัวอื่น ๆ ด้วยเวลาที่ต่างกัน ได้แก่ Malathion ที่ 4.8 นาที Fenthion ที่ 7 นาที Diazinon ที่ 8.1 นาที Chlorpyrifos ที่ 16 นาที (ตารางที่ 1) Chromatographic peaks ของตัวอย่างวิเคราะห์ถูกเปรียบเทียบกับเวลาของสารมาตรฐานที่เกิด chromatographic peak (ภาพที่ 1) สำหรับการวิเคราะห์ความเที่ยงตรงของการวัดสาร organophosphates จากตัวอย่างนั้น สารมาตรฐานถูกเติมในตัวอย่างปัสสาวะก่อนการ extraction (ภาพที่ 2) โดยแสดงค่าเฉลี่ยจากการทำซ้ำ (3 ซ้ำ) ของเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (percentage of recovery) ของสารหลัง extraction เท่ากับ  $91.82 \pm 8.023$  (ตารางที่ 2) จากผลแสดงให้เห็นถึงความเที่ยงตรงของเทคนิคในการทำซ้ำ โดยแสดง linearity ของกราฟ (ภาพที่ 2 และ 3) ข้อมูลถูกวิเคราะห์จากค่าความสูงของ peak ที่เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน และคำนวณ peak area เปรียบเทียบความเข้มข้นของสาร organophosphates ที่วัดได้ในปัสสาวะของเกษตรกรกับสารมาตรฐาน

ตารางที่ 1 Retention time ของสารมาตรฐานที่วิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC

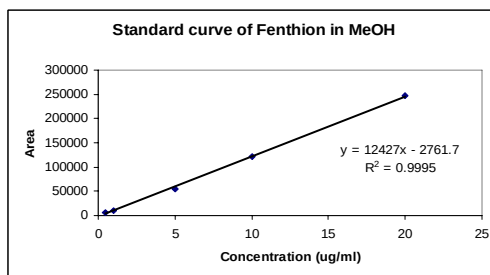
| สารมาตรฐาน   | Retention time (minutes) |
|--------------|--------------------------|
| Malathion    | 4.81                     |
| Fenthion     | 7.02                     |
| Diazinon     | 8.14                     |
| Chlorpyrifos | 16.02                    |



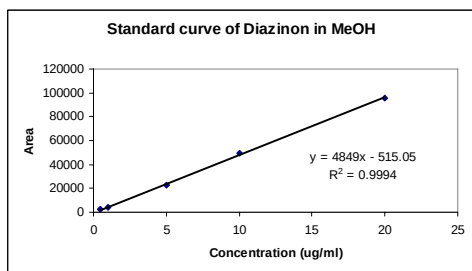
ภาพที่ 1 แสดง Chromatogram สารมาตรฐาน



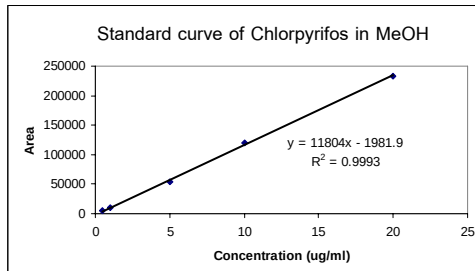
A



B



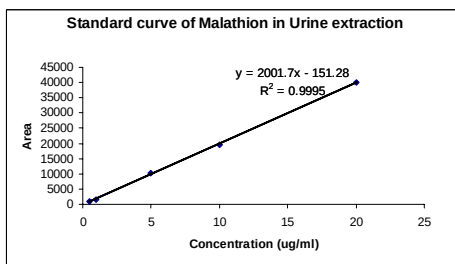
C



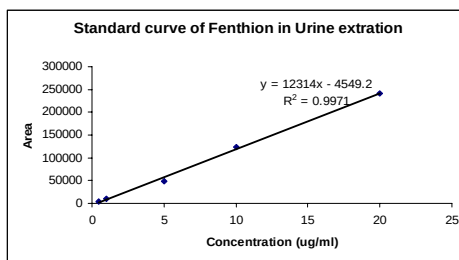
D

ภาพที่ 2 แสดง Standard curve ของสารมาตรฐาน organophosphates ที่ถูกเตรียมในเมทานอล  
(A) Malathion (B) Fenthion (C) Diazinon (D) Chlorpyrifos

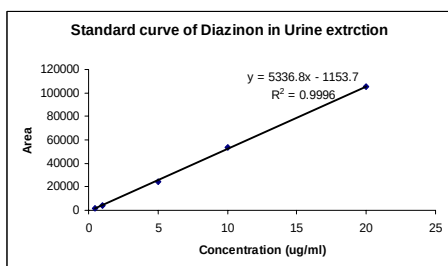




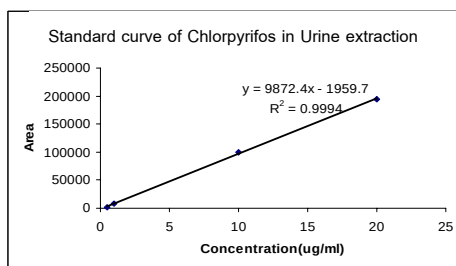
**A**



**B**



**C**



**D**

ภาพที่ 3 แสดง Standard curve ของสารมาตรฐาน organophosphates ที่ถูกเติมในตัวอย่างปัสสาวะก่อนการสกัด (extraction) (A) Malathion (B) Fenthion (C) Diazinon (D) Chlorpyrifos

ตารางที่ 2 แสดงค่าการคืนกลับของสาร (% recovery) ของสารมาตรฐานรวมที่เติมลงไปในปีสภาวะสกัดผ่าน SPE column C18

| สาร                    | Concentration<br>(ug/ml) | Area               |                     | % Recovery          |
|------------------------|--------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
|                        |                          | in MeOH            | in Urine Extraction |                     |
| Malathion              | 0.5                      | 1032.5             | 997.5               | 96.61               |
|                        | 1                        | 1844.5             | 1522.5              | 82.54               |
|                        | 10                       | 21952.5            | 19453               | 88.61               |
|                        | 20                       | 42002              | 39976.5             | 95.18               |
|                        | <b>Mean</b>              |                    |                     | <b>90.74±6.477</b>  |
| Fenthion               | 0.5                      | 5414.5             | 4136.5              | 76.40               |
|                        | 1                        | 10644.5            | 10086               | 94.75               |
|                        | 10                       | 121426             | 123009.5            | 101.30              |
|                        | 20                       | 246646.67          | 241632              | 97.97               |
|                        | <b>Mean</b>              |                    |                     | <b>92.61±11.132</b> |
| Diazinon               | 0.5                      | 2112               | 1860                | 88.07               |
|                        | 1                        | 4332               | 4395                | 101.45              |
|                        | 10                       | 49391.5            | 53198               | 107.71              |
|                        | 20                       | 96049.667          | 105413.5            | 109.75              |
|                        | <b>Mean</b>              |                    |                     | <b>101.74±9.777</b> |
| Chlorpyrifos           | 1                        | 9651.5             | 7697                | 79.75               |
|                        | 10                       | 119357             | 99854               | 83.66               |
|                        | 20                       | 233299             | 193989.5            | 83.15               |
|                        | <b>Mean</b>              |                    |                     | <b>82.19±2.126</b>  |
| <b>Mean % Recovery</b> |                          | <b>91.82±8.023</b> |                     |                     |

ผลการตรวจวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม organophosphate ในเกษตรกรอาสาสมัคร

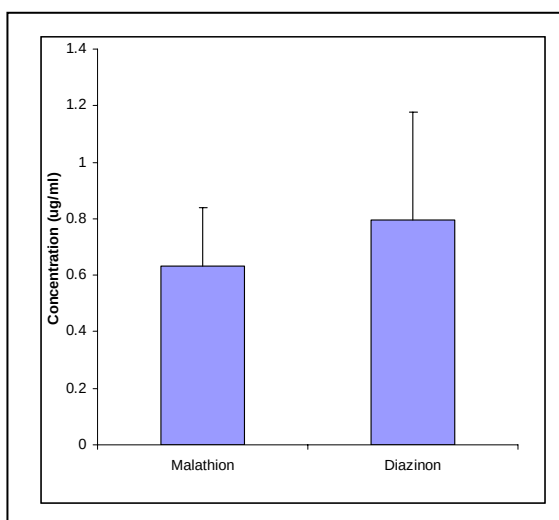
จากตารางที่ 3 แสดงถึงผลของการตรวจวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม organophosphate ได้แก่ Malathion Fenthion Diazinon และ Chlorpyrifos ในกลุ่มเกษตรกรอาสาสมัครจำนวน 15 คน พบว่า เกษตรกรทั้งหมดได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิด Malathion นอกจากนั้นยังพบว่ามีจำนวน 3 ตัวอย่างใน 15 ตัวอย่างที่พบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิด Diazinon อย่างไรก็ตามไม่พบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิด Diazinon และ Chlorpyrifos ในปีสภาวะของเกษตรกรกลุ่มตัวอย่างส่วนกลุ่มควบคุม 13 คน ไม่พบการปรากฏของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดใดเลยในปีสภาวะ

ตารางที่ 3 แสดงชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบในเกษตรกรกลุ่มตัวอย่าง

| กลุ่ม                                         | Malathion | Fenthion | Diazinon | Chlorpyrifos |
|-----------------------------------------------|-----------|----------|----------|--------------|
| กลุ่มตัวอย่างเกษตรกรที่ได้รับสารพิษ<br>(n=15) | 15/15     | <        | 3/15     | -            |
| กลุ่มควบคุม (n=13)                            | -         | -        | -        | -            |

#### เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบในปัสสาวะของเกษตรกร

จากผลการวิจัยระดับความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบในปัสสาวะของเกษตรกรพบว่าระดับความเข้มข้น malathion ที่ตรวจพบในปัสสาวะของเกษตรกร (n=15) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.633 µg/ml และระดับความเข้มข้นของ diazinon ที่ตรวจพบในปัสสาวะของเกษตรกร (n=3) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.797 µg/ml (ภาพที่ 4)

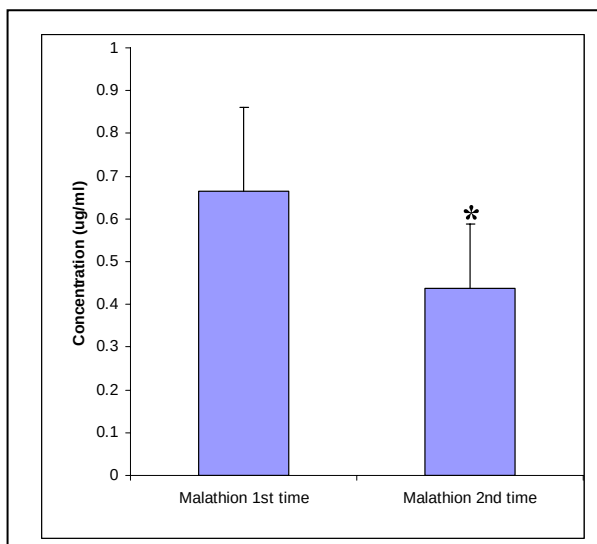


ภาพที่ 4 แสดงระดับความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิด Malathion และ Diazinon ที่ตรวจพบในปัสสาวะของเกษตรกรกลุ่มตัวอย่าง

#### เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ Malathion ที่ตรวจวัดได้ในปัสสาวะของเกษตรกร

การตรวจวัดระดับของความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช Malathion ได้ตรวจวัดทั้งหมด 3 ครั้งโดยครั้งที่ 1 ได้เก็บตัวอย่างในเช้าวันรุ่งขึ้นภายหลังจากการฉีดพ่นสารประมาณ 24 ชั่วโมง ครั้งที่ 2 เก็บตัวอย่างในวันที่ 3 ภายหลังจากการฉีดพ่นสาร และครั้งที่ 3 เก็บตัวอย่างในวันที่ 5 ภายหลังจากการฉีดพ่นสาร โดยการเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้งนั้นเก็บในเวลาเดียวกัน จากผลการทดลองพบว่า สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในปัสสาวะของอาสาสมัครเกษตรกรในครั้งที่ 2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบกับครั้งที่ 1

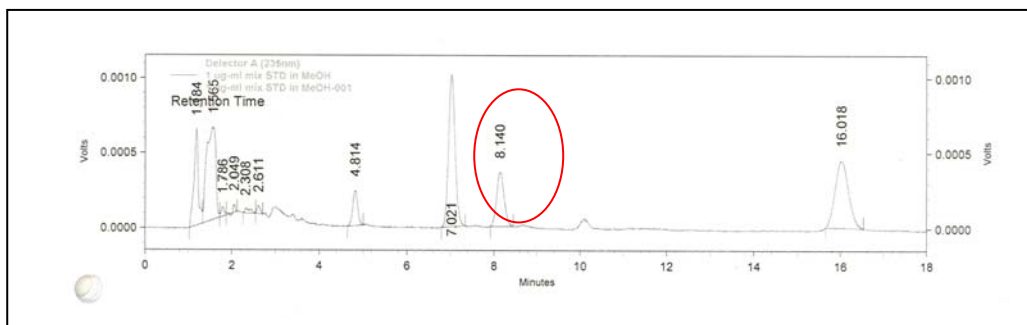
( $P=0.049$ , ANOVA,  $n=13$ ) อย่างไรก็ตามไม่สามารถเปรียบเทียบกับครั้งที่ 3 ได้เนื่องจากตรวจไม่พบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างครั้งนี้



ภาพที่ 5 แสดงระดับความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิด Malathion ที่ตรวจพบในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในปัสสาวะของเกษตรกรกลุ่มตัวอย่าง \*  $P=0.049$ , ANOVA

เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ Diazinon ที่ตรวจวัดได้ในปัสสาวะของเกษตรกร

ระดับความเข้มข้นของ diazinon ในปัสสาวะของเกษตรกรได้ทำการตรวจ 3 ครั้งเช่นเดียวกับ malathion พบว่าระดับความเข้มข้นของ diazinon สามารถตรวจพบได้เฉพาะในครั้งที่ 1 เท่านั้น



ภาพที่ 6 แสดง chromatograph ของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิด Diazinon

## วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate insecticides) มีสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบสำคัญ เป็นยากำจัดศัตรูพืชที่ใช้กันมากในขณะนี้ ซึ่งมีอยู่หลายชนิดด้วยกัน จากการสำรวจพบว่ามีการใช้ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กับผลิตผลทางการเกษตรอย่างแพร่หลายในเขตเกษตรกรรม ตำบลบึงพระ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก อย่างไรก็ตามเกษตรกรไม่ทราบว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ฉีดพ่นนั้นเป็นชนิดใด และมีการใช้แบบผสมหลายชนิดเข้าด้วยกัน ดังนั้นโครงการวิจัยได้เลือกวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม organophosphate 4 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ Malathion Fenthion Diazinon และ Chlorpyrifos ซึ่งจากผลการวิจัยพบว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบในปัสสาวะของเกษตรกรได้แก่ Malathion และ Diazinon และได้ทำการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช 3 ครั้งด้วยกัน เพื่อเปรียบเทียบผลของการได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างอยู่ในร่างกาย ซึ่งสารเคมีกำจัดศัตรูพืช Malathion ที่ตรวจพบในครั้งที่ 2 นั้นมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.049$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับครั้งที่ 1 และไม่สามารถตรวจพบได้ในครั้งที่ 3 อย่างไรก็ตามสารเคมีกำจัดศัตรูพืช Diazinon ไม่สามารถตรวจพบได้ในครั้งที่ 2 และ 3 นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่าสามารถตรวจพบ malathion ในเกษตรกรอาสาสมัครทุกราย และ diazinon ในอาสาสมัครบางราย ซึ่งเนื่องมาจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชมากกว่า 1 ชนิด อย่างไรก็ตามสำหรับการศึกษาได้ทำการศึกษาสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่ม organophosphate จำนวน 4 ชนิดเท่านั้น เนื่องมาจากข้อจำกัดในการเตรียมความพร้อมของเทคนิค ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเกษตรกรใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นๆ ร่วมด้วย และการตรวจพบ malathion ที่ลดลง และการไม่สามารถตรวจพบ diazinon ในครั้งที่ 2 และ 3 นั้นอาจเนื่องมาจากสารทั้งสองถูกเปลี่ยนแปลง และไปสะสมในร่างกาย ทำให้เกิดพิษต่อร่างกาย ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า Malathion และ Diazinon นั้นเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะไปยับยั้งเอนไซม์ cholinesterase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการสลายของ acetylcholine จึงทำให้เกิดการสะสมของ acetylcholine มากขึ้น และเกิดภาวะการกระตุ้นที่มากเกินไป (overstimulation) ซึ่งจะทำให้ร่างกายเกิดภาวะผิดปกติของสมองได้ (Liu and Pope, 1998) ในทารก ได้มีการศึกษาการตกค้างของสารกลุ่ม organophosphate ในอาหารและเครื่องดื่มสำหรับทารก พบว่ามี recovery rate อยู่ระหว่าง 50% (dimethoate) ถึง 133% (dialifos) ซึ่งสาร organophosphate ที่ตกค้างเหล่านี้ จะทำให้เกิดความผิดปกติในการทำงานของระบบประสาท เกิดอาการชัก ล้มเหลวในระบบหายใจ (Tarbah et al, 2001) นอกจากนั้น malathion ยังมีรายงานว่า มีผลทำให้เกิดความผิดปกติของกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในเพศชาย (Contreras and Bustos-Obregon, 1999) และผลทำให้จำนวนเซลล์ไขลดลงในเพศหญิง (Rao and Kaliwal, 2002) ดังนั้นข้อมูลจากการวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับเกษตรกรผู้ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่ม organophosphate ที่จะมีการสะสมของสารเคมีกลุ่มดังกล่าวในร่างกาย และอาจส่งผลต่อร่างกายในระยะยาวต่อไปได้ หากไม่มีการเฝ้าระวังและการปฏิบัติตนอย่างถูกต้องในการฉีดพ่นสารเคมี และการรักษาสุขอนามัยของร่างกาย ตลอดจนการบริโภคพืชผักดังกล่าว

อย่างไรก็ตามคณะผู้วิจัยได้รายงานผลการตรวจให้เกษตรกรผู้เข้าร่วมโครงการรับทราบผลของตนเองทุกคน และให้คำแนะนำถึงแนวทางการปฏิบัติตนให้ถูกต้องในการฉีดพ่นสารเคมีในคราวต่อไป ตลอดจนชี้แจงถึงผลกระทบต่อร่างกาย ให้เกษตรกรรับทราบหากมีการสะสมของสารเคมีดังกล่าวในปริมาณที่มากเกินไป

#### เอกสารอ้างอิง

- พาลาก สิงหนะณี (2535). พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ.
- Bloomquist JR, Barlow RL, Gillette JS, Li W, Kirby ML (2002) Selective effects of insecticides on nigrostriatal dopaminergic nerve pathways. *Neurotoxicology* 23:537-544.
- Bustos-Obregon E, Diaz O and Sobarzo C (2001) Parathion induces mouse germ cells apoptosis. *Ital J Anat Embryol*, 106(2 suppl 2): 199-204.
- Contreras HR and Bustos-Obregon E (1999) Morphological alterations in mouse testis by single dose of malathion. *J Exp Zool*, 284(3) : 355-9.
- El Nahas SM, de Hondt HA and Abdou HE (1989) Chromosome aberrations in spermatogonia and sperm abnormalities in Curacon-treated mice. *Mutat Res*, 222(4) : 409-14.
- Eskanazi B, Harley K, Bradman A, Weltzein E, Jewell NP, Barr DB, Furlong CE and Holland NT (2004). Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. *Environ Health Perspect*, 112: 1116-1124.
- Kwong TC (2002) Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. *Ther Drug Monit*, 24(1):144-149.
- Namera A, Utsumi Y, Yashiki M, Ohtani M, Imamura T and Kojima T (2000) Direct colorimetric method for determination of organophosphates in human urine. *Clinica Chimica Acta*, 291:9-18.
- Rao RP and Kaliwal BB (2002) Monocrotophos induced dysfunction on estrous cycle and follicular development in mice. *Ind Health*, 40 (3):237-244.
- Shabtai F, Bichacho S and Halbrecht I (1978) Cytogenetic observations in infertile men working with insecticidal compounds. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)*, 27: 51-6.
- Sinha N, Narayan R, Shanker R and Saxena DK (1995) Endosulfan-induced

- biochemical changes in the testis of rats. *Vet Hum Toxicol*, 37(6): 547-9.
- Sobarzo C and Bustos-Obregon E (2000) Sperm quality in mice acutely treated with parathion. *Asian J Androl*, 2(2): 147-50.
- Tarbah FA, Mahler H, Temme O and Daldrup T (2001) An analytical method for the rapid screening of organophosphate pesticides in human biology samples and foodstuffs. *Forensic Science International* 121:126-133.
- Wessels D, Barr DB and Mendola P (2003) Use of biomarkers to indicate exposure of children to organophosphate pesticides: Implications for a longitudinal study of children's environmental health. *Environ Health Perspect*, 111: 1939-1946.

