ศึกษาความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร chlorpyrifos ในแปลงปลูกพริก ต่อผู้ใช้และผู้บริโภค

Risk Assessment of Chlorpyrifos Used in Chili Plantation to Applicator and Consumer

วิภา ตั้งนิพนธ์ ประกิจ จันทร์ติ๊บ เอกราช สิทธิมงคล

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาในแปลงพริกมัน (*Capisicum annuum* Linn.) ของเกษตรกร ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี ปลูกพริก ระหว่างเดือนมกราคม 2553 – พฤษภาคม 2553 ฉีดพ่นสารพิษ chlorpyrifos 3 ครั้ง เมื่อต้นพริกมีอายุ 99,106 และ 113 วัน สูตร 40 % W/V EC ในอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยเครื่องยนต์สะพายหลัง ภายหลังการฉีดพ่น เก็บแผ่นผ้าที่ติดบนส่วนต่างๆ ของร่างกาย น้ำล้างมือและน้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่นสารพิษมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ chlorpyrifos ที่ปนเปื้อนบนร่างกาย เก็บตัวอย่างเลือดของผู้ฉีดพ่นก่อนการฉีดพ่นและภายหลังการฉีดพ่นที่ 1 วัน 3 วัน 5 วันและ 7 วัน ตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง (Acetylcholinesterase Activity, AChE Activity) เก็บเกี่ยวพริกภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้ายที่ระยะเวลา 0,1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 และ 30 วัน ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริก ผลการทดลองที่ได้จากการศึกษามาประมวลกับข้อมูลทางพิษวิทยาของ chlorpyrifos เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพอนามัยจากการฉีดพ่นของผู้ใช้พบว่าการฉีดพ่น chlorpyrifos ในแปลงปลูกพริก ผู้ฉีดพ่นมีโอกาสปนเปื้อนสารพิษ chlorpyrifos ปริมาณ 0.4197-0.8215 mg/kg Bw/day เป็นระดับที่มีความเสี่ยงสูง และพบว่าระดับการทำงานของ AChE Activity ของผู้ฉีดพ่นลดลงเหลือ 63 - 84 เปอร์เซนต์ ภายหลังการฉีดพ่นในระยะ 1 วัน ถึง 7 วัน ซึ่งแสดงว่าได้รับผลกระทบจาก chlorpyrifos ปนเปื้อนบนร่างกาย ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริกภายหลังการฉีดพ่นที่ระยะเวลาต่างๆ พบปริมาณตกค้างที่ 0 วัน 0.7691 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเริ่มลดปริมาณสารพิษตกค้างลงอย่างช้าๆแปรผันตามเวลา อัตราการสลายตัวของ chlorpyrifosในพริกมีค่า half life นาน 17.5 วัน ผลการประเมินความเสี่ยงของการบริโภคพริกภายหลังการฉีดพ่น chlorpyrifos ตั้งแต่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 0 วัน ถึง 19 วัน มีความเสี่ยงสูงเมื่อเปรียบเทียบกับค่า Chronic RfD(Reference Dose) = 0.0003 mg/kg/day ผลการประมวลข้อมูลจากการศึกษา chlorpyrifos ความเสี่ยงสูงต่อผู้ฉีดพ่นสมควรระมัดระวังสวมชุดป้องกันการปนเปื้อนร่างกายในระหว่างการฉีดพ่น ขอเสนอให้มีการเข้มงวดการใช้ ส่วนการบริโภคพริกในระยะเก็บเกี่ยวหลังการฉีดพ่น 0 ถึง 19 วัน ไม่มีความปลอดภัย เกษตรกรต้องงดใช้ chlorpyrifos ฉีดพ่นในแปลงปลูกพริกระยะเริ่มติดผล

คำนำ

Chlorpyrifos เป็นวัตถุมีพิษการเกษตรกลุ่ม non-systemic Organophosphorus insecticide ที่องค์การอนามัยโลก WHO จัดให้มีระดับความเป็นพิษ Moderately hazard class II ประเภทป้องกันกำจัดแมลงเป็นพิษโดยการกิน และการสัมผัสมีค่า LD_{50} 82-163 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนูขาวใหญ่ทางปาก (Hartley and Kidd,1991) มีความเป็นพิษรุนแรงต่อผึ้ง ตัวห้ำ ตัวเบียน และสัตว์ป่าทั่วไปเป็นสารพิษที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase Activity, AChE Activity) ที่มีบทบาทในขบวนการสื่อสัญญาณประสาทถ่ายทอดสัญญาณจากเซลล์ประสาทหนึ่งไปสู่อีกเซลล์หนึ่ง เมื่อสารพิษนี้เข้าสู่ร่างกายจะเกิดอาการกล้ามเนื้อเกร็ง ชักกระตุก ถ้ารุนแรงอาจเสียชีวิต

ประเทศไทยนำเข้า chlorpyrifos เพื่อจำหน่ายมากถึง 1,256 ตัน จากรายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรประเภทสารกำจัดแมลงที่มีการนำเข้ามากเป็นลำดับที่ 4 ในปี 2552 จากสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร จึงปรากฏการใช้อย่างกว้างขวางกับพืชทั่วไป แม้ว่าฉลากกลางของสารชนิด chlorpyrifos แนะนำการใช้กับพืชชนิด ถั่วลิสง ถั่วเหลือง มันเทศ ข้าว ฯลฯ ซึ่งเป็นพืชไร่เท่านั้น เนื่องจากผลิตผลของพืชไร่ที่ใช้บริโภคส่วนมากปลอดภัยจากสารพิษตกค้างชนิดนี้ เพราะมีเปลือกหุ้ม และใช้เวลาเก็บในโรงเก็บนานก่อนการบริโภค ซึ่งแตกต่างจากผักและผลไม้ที่ส่วนมากบริโภคได้ทันทีหลังการเก็บเกี่ยวจึงพบรายงานข้อมูลการตรวจพบสารพิษตกค้างในพืชผักผลไม้ ปีงบประมาณ 2546-2548 จากศูนย์บริการทางวิชาการแบบเบ็ดเสร็จกรมวิชาการเกษตร ชนิดสารที่ตรวจพบมาก ได้แก่ methamidophos, cypermethrin, chlorpyrifos และ triazophos และชนิดของผักที่พบสารพิษตกค้างเกินมาตรฐานจำนวนมากในปี 2549 ได้แก่ พริก กระเจี๊ยบเขียว ใบกะเพรา และผักอื่นๆ ซึ่งเป็นสินค้าเพื่อการส่งออกทั้งหมด ผลการสำรวจการผลิตส้มของผู้ประกอบการในเขต อำเภอฝาง แม่อาย และไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ปี 2552 พบสารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus โดยเฉพาะชนิด chlorpyrifos พบในตัวอย่างส้มมากที่สุด แม้ว่าจะมีปริมาณไม่เกินค่า Codex MRL1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ลาภิสรา และคณะ 2553)

chlorpyrifos เป็นสารที่มีวิธีการใช้โดยการฉีดพ่น เกษตรกรใช้สารพิษชนิดนี้เพื่อกำจัดเพลี้ย หนอน ขณะพ่นเกิดละอองฟุ้งในอากาศโอกาสรับสารพิษเข้าสู่ร่างกายได้มากทางลมหายใจแล้วเข้าสู่ปอด และละอองสารพิษยังสัมผัสทุกส่วนของร่างกายตั้งแต่หัวจรดเท้า เมื่อเกษตรกรขาดความระมัดระวังในการป้องกันตัวเองในขณะฉีดพ่น เช่น ไม่ใส่รองเท้า ถุงมือ ผ้าปิดจมูก หมวก โดยเฉพาะอย่างยิ่งไม่รีบชำระล้างร่างกายภายหลังการฉีดพ่นสารพิษติดต่อกันเป็นเวลานาน อีกทั้งอาจรับประทานอาหาร ดื่มน้ำ และสูบบุหรี่ระหว่างปฏิบัติงาน จึงมีรายงานของกระทรวงสาธารณสุขระบุถึงจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับพิษจากการฉีดพ่นวัตถุมีพิษทางการเกษตรอยู่เสมอ นอกจาก chlorpyrifos จะเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้แล้วยังเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคสูงเมื่อบริโภคผลผลิตที่มีสารพิษตกค้าง

กลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร จึงได้จัดทำชุดโครงการวิจัยเพื่อศึกษาประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสสารเคมี chlorpyrifos ที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็ง เป็นการเปรียบเทียบปริมาณสารเคมีที่ร่างกายได้รับ กับค่าความเป็นพิษของสารเคมีนั้น ๆ เพื่อบ่งชี้ว่าปริมาณสารเคมีที่ได้รับมีความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้ใช้ และผู้บริโภคหรือไม่ ประกอบด้วยการศึกษาปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกายผู้ฉีดพ่นในแหล่งปลูกพริก ปริมาณสารพิษปนเปื้อนมือผู้เก็บเกี่ยวพริก การสลายตัวและสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพริกภายหลังการฉีดพ่นเพื่อให้ได้ข้อมูลการประเมินความเสี่ยงของผู้ใช้สารพิษและของผู้บริโภคผลิตผลที่มีสารพิษตกค้าง เป็นข้อมูลสำหรับกรมวิชาการเกษตรในการพิจารณาบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษที่มีอันตราย เพื่อความเข้มงวดการใช้ การจำกัดการใช้ หรือการห้ามใช้เป็นความปลอดภัยของผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกพริกมัน (*Capisicum annuum Linn.*)
2. แผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 16 แผ่น
3. ผลิตภัณฑ์สารกำจัดแมลง chlorpyrifos ที่ใช้ฉีดพ่นในแปลงทดลอง คือ ลอร์สแบน 40% w/v EC
4. เครื่องแก้ว volumetric flask, volumetric pipette, separatory funnel, Erlenmeyer flask, cylinder, beaker, round bottom flask, chromatographic column, filtering funnel, pipette, petri-dish, glass vial, disposable pasteur pipette, test tube
5. เคมีภัณฑ์ชนิดต่างๆ
   5.1 สารเคมี analytical grade (AR) ได้แก่ acetone, ethyl acetate, dichloromethane ,anh. sodium sulphate, sodium chloride
   5.2 สารเคมี pesticide grade (PR) ได้แก่ ethyl acetate
   5.3 สาร substrate ชนิด acetylthiocholine iodide ความเข้มข้น 156 mM
   5.4 สาร reagent ชนิด Dithiobisnitrobenzoic acid (DTNB) 0.26 mM เตรียมโดยการละลาย 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid M.W. 396.3 ใน phosphate buffer pH 7.2
6. glass wool และ filter paper No.1
7. สารพิษมาตรฐาน chlorpyrifos ความบริสุทธิ์สูง บริษัท Dr. Ehrenstorfer
8. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เครื่องชั่งหยาบ และเครื่องชั่งละเอียด (analytical balance) เครื่องสกัดวัตถุมีพิษชนิด homogenizer และ Blender เครื่องเขย่า (reciprocal shaker) เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator ตู้อบสารเคมี (digital oven) เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace) เครื่องทำสุญญากาศ (Vacuum pump) เครื่องลดปริมาตร ชนิด Nitrogen Evaporator เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) ตู้ดูดความชื้น (Desiccator) ตู้เย็นแช่แข็ง (Deep freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 °C เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge)
9. การวิเคราะห์สารพิษ EPN ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC) พร้อม Auto injector และตัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (FPD) โดยปรับสภาวะการทำงานของเครื่อง ดังนี้

   Detector : Flame Photometric Detector

   Mode : Splitless

   Column : SPB-5 / DB 1701 fused siliga capillary column

   ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 mm ความยาว 30 m สารเคลือบหนา 0.25 µm

   Initial flow : 1.4 ml/นาที Temperature : Injector 230 °C, Detector 280 °C

   Oven : $80^{\circ}C$ (1 นาที) $\xrightarrow{20\ ^{\circ}c/นาที}$ $194^{\circ}C$ (1 นาที) $\xrightarrow{2\ ^{\circ}c/นาที}$ $197^{\circ}C$ (1 นาที) $\xrightarrow{5\ ^{\circ}c/นาที}$ $250\ ^{\circ}C$ (10 นาที)

   Volume injected : 1 ไมโครลิตร

วิธีการ

เลือกแปลงทดลองของเกษตรกรที่ปลูกเพื่อการค้า เหมาะสมสำหรับการทดลองที่ ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี และมีการใช้สารพิษ chlorpyrifos เป็นประจำ ลักษณะแปลงปลูกแบบยกร่องดินขึ้นและมีคูน้ำล้อมรอบ ทดน้ำจากแม่น้ำท่าจีนเข้าสู่สวนเกษตรกรปลูกผักชนิดถั่วฝักยาวและบวบ หมุนเวียนติดต่อกันตลอดทั้งปีเกษตรกรใช้สารพิษอย่างหลากหลาย ระยะการทดลองในแปลง เดือนมกราคม 2553 – พฤษภาคม 2553

การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1. แปลงทดลองพริกมัน มีพื้นที่ขนาด 2 ไร่ ยกร่องปลูก มีร่องน้ำระหว่างแปลงกว้าง 1.5 เมตร ขนาดแปลงปลูก 3.5 X 53.5 เมตร จำนวน 8 แปลง ปลูกพริกมัน จำนวน 4 แถว ในแต่ละแปลง เริ่มเก็บเกี่ยวผลพริก เมื่ออายุ 120 วัน และเก็บผลผลิตได้นานประมาณ 3 เดือน

2. เกษตรกรฉีดพ่นสารพิษเพื่อกำจัดศัตรูพืชเป็นระยะ สารพิษที่ใช้เป็นประจำได้แก่ abamectin, emametin benzoate, buprofezin+cypermethrin, phenthoate, diazinon, metalaxyl, carbendazim, difenoconazole, bacillus subtilis propiconazole+prochloraz และได้ใช้สารพิษ chlorpyrifos เพื่อป้องกันกำจัดหนอนเมื่อพบการระบาด ประมาณ 2 - 3 ครั้งต่อฤดูปลูก

3. กำหนดการฉีดพ่น chlorpyrifos จำนวน 3 ครั้ง การฉีดพ่น chlorpyrifos ครั้งแรก เมื่อพริกอายุ 99 วัน ครั้งที่ 2 เมื่อพริกอายุ 106 วัน และ ครั้งที่ 3 เมื่อพริกอายุ 113 วัน ซึ่งเป็นระยะเริ่มเก็บเกี่ยว อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นด้วยเครื่องยนต์สะพายหลัง และบันทึกเวลาการฉีดพ่นทุกครั้ง

4. การติดแผ่นผ้าบนร่างกายเกษตรกรผู้ฉีดพ่น ก่อนการฉีดพ่นสารพิษทุกครั้ง ติดแผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร บนเสื้อผ้าตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ หมวก แผ่นผ้าปิดจมูก อกเสื้อด้านในอกเสื้อ ไหล่ แขนเสื้อ หลังเสื้อ ด้านในของหลังเสื้อ ต้นขา หน้าแข้ง และด้านในหน้าแข้ง

5. ก่อนเริ่มการฉีดพ่น chlorpyrifos ครั้งสุดท้าย ต้องเก็บตัวอย่างผลพริก ในแปลงทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง รวมทั้งเลือดของเกษตรกรผู้ฉีดพ่น มาตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง เพื่อเป็นค่า Base-line level หรือค่าต่ำสุดก่อนที่ตัวอย่างจะปนเปื้อนสารพิษ

6. หลังการฉีดพ่น chlorpyrifos เก็บตัวอย่างสิ่งต่างๆ ดังต่อไปนี้
   - 6.1 ทันทีที่ฉีดพ่นเสร็จในแต่ละครั้งเก็บแผ่นผ้าที่ติดบนร่างกาย น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่นนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกาย
   - 6.2 เก็บตัวอย่างเลือดของผู้ฉีดพ่น หลังการฉีดพ่น (ครั้งสุดท้าย) 24 ชั่วโมง 3, 5 และ 7 วัน มาตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง
   - 6.3 เก็บตัวอย่างพริกเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะเวลาต่างๆ ดังนี้ ภายหลังการฉีดพ่น 0 วัน เมื่อใบแห้ง (หลังการฉีดพ่น ครั้งสุดท้าย) 1 วัน 3 วัน 5 วัน 7 วัน 10 วัน 15 วัน 20 วัน และ 30 วัน
   - 6.4 ทันทีที่เกษตรกรเก็บตัวอย่าง พริกเสร็จในแต่ละวันที่กำหนดข้างต้น ต้องชำระล้างมือแล้วเก็บน้ำล้างมือนั้นของผู้เก็บพริกเพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos เปื้อนบนมือทุกครั้ง

วิธีการเก็บตัวอย่างแต่ละชนิด

1. การเก็บตัวอย่างแผ่นผ้าจากแต่ละส่วนของร่างกายแยกกันใส่ Erlenmeyer flask และปิดฝาขวด

2. การเก็บตัวอย่างน้ำล้างมือ น้ำล้างเท้าของเกษตรกรผู้ฉีดพ่น และน้ำล้างมือของผู้เก็บพริก โดยการล้างมือหรือเท้าด้วยน้ำประปา ครั้งละ 1 ลิตร แล้วแยกบรรจุใส่ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

3. การเก็บตัวอย่างเลือดของเกษตรกรก่อนและหลังการฉีดพ่น โดยพาเกษตรกรไปอนามัยตำบล เพื่อเจาะเลือดที่ท้องแขน จำนวน 2 มิลลิลิตร 2 หลอด และใส่ EDTA เพื่อเป็น anticoagulant ในสัดส่วน 0.5MEDTA 100 ไมโครลิตร ต่อปริมาณเลือด 1 มิลลิลิตร และนำหลอดตัวอย่างเลือดแช่ในถังน้ำแข็งทันที

4. การเก็บตัวอย่างพริก สุ่มเก็บจากทั้งแปลง โดยเก็บจากหลายๆจุดรวมกันเป็น 1 ตัวอย่าง ให้ได้น้ำหนักไม่ต่ำกว่า 1 กิโลกรัม ต่อตัวอย่าง เก็บใส่ถุงพลาสติก จำนวน 10 ตัวอย่างต่อวันที่กำหนด การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อนำส่งห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างทุกชนิดหลังจากเก็บจากแปลงทดลอง จะเก็บในถุงพลาสติกหรือใส่ภาชนะที่เหมาะสม แล้วปิดให้สนิท พร้อมทั้งเขียนรายละเอียดกำกับให้ชัดเจนในแต่ละตัวอย่าง ได้แก่ ชนิดตัวอย่าง วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง แล้วนำใส่ในถังน้ำแข็งโดยวางน้ำแข็งไว้ข้างล่างและข้างบนของตัวอย่างนำกลับมาตรวจวิเคราะห์หาข้อมูลต่างๆในห้องปฏิบัติการ

วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษ chlorpyrifos

1. วิธีการตรวจวิเคราะห์ chlorpyrifos บนแผ่นผ้า

สกัดตัวอย่างแผ่นผ้า โดยใช้ mixer และ shaker ใช้ ethyl acetate เป็นสารสกัด กรองสารละลายผ่าน anh. Na_2SO_4 นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator ปรับปริมาตรให้แน่นอน ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง GLC/FPD

ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Recovery) ที่ความเข้มข้น 0.5, 2 และ 5 นาโนกรัมต่อ ตารางเซนติเมตร ได้ผลระหว่าง 106 - 128 เปอร์เซนต์ มีค่า LOQ 0.5 นาโนกรัมต่อตารางเซนติเมตร

2. วิธีการตรวจวิเคราะห์ chlorpyrifos ในพืช ใช้วิธีการของ Steinwandter,1985 ดังนี้

นำตัวอย่าง พริกที่บดแล้วชั่ง 25 ± 0.1 กรัม เติม acetone 50 มิลลิลิตร 15 กรัม sodium chloride และ 40 มิลลิลิตร dichloromethane โดยใช้ dispenser แล้วปั่นด้วย homogenizer ที่ระดับความเร็วประมาณ 10,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที รินส่วนใสใส่ Erlenmeyer flask ที่เติม sodium sulfate ไว้ประมาณ 1 ช้อนโต๊ะ (~ 30 กรัม) ปิดฝาแล้วทิ้งไว้นานประมาณ 10 นาที กรองผ่าน sodium sulfate ให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใส่ใน cylinder แล้วเทลง flat bottom flask ล้าง cylinder ด้วย ethyl acetate ~ 10 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วย เครื่อง rotary evaporator ให้เหลือ ประมาณ 1 มิลลิลิตรถ่ายสารละลายใส่ใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร โดยใช้ ethyl acetate PR ปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งสารละลายตัวอย่างลงใน autosampler vial สำหรับฉีดเข้าเครื่อง GC

ความถูกต้องและแม่นยำของวิธีตรวจวิเคราะห์ โดยการหาค่าเปอร์เซนต์ recovery ที่ความเข้มข้น 0.0102, 0.1029, 1.0219, 1.05329 และ 2.0438 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ค่าระหว่าง 87 – 115 เปอร์เซนต์ มีค่า LOQ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

3. วิธีการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส

ใช้วิธีการของ Ellman et al.,1961 อาศัยหลักการทำงานของ photometric method โดยเอนไซม์ acetylcholinesterase เป็นตัวการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา hydrolysis ของสาร acetylthiocholine ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัว substrate แล้วเกิดสาร thiocholine และ acetate เมื่อ thiocholine ทำปฏิกิริยากับ 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoate ion (DTNB) จะเกิดเป็นสารสีเหลืองของ 5-thio-2-nitro-benzoic acid (TNB)

สมการการเกิดสารสีเหลืองมีดังนี้

acethylthiocholine $\xrightarrow{\text{acetylcholinesterase}}$ thiocholine + acetate

thiocholine + DTNB $\longrightarrow$ formation of TNB (yellow colour)

(5-thio-2- nitrobenzoic acid)

ในสภาวะที่สารพิษกลุ่ม organophosphorus ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะทำให้เกิดอัตราการเกิดปฏิกิริยาสีเหลืองน้อยลง โดยการวัดความเข้มของสีเหลือง (reaction rate of color) จากค่าดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ของเครื่อง Spectrophotometer วิธีการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง

วิธีการแยกเม็ดเลือดแดง

เติมน้ำเกลือ (physiological saline) 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใน test tube ที่บรรจุเลือด (whole blood) 1 มิลลิลิตรปิดฝา tube แล้วกลับไปมาเพื่อให้ของเหลวผสมกันอย่างเบาๆ แล้วนำไปปั่นแยกของเหลวออกจากเม็ดเลือดโดยเครื่อง ปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 1,200 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ของเหลวส่วนบนดูดทิ้งไป แล้วล้างเม็ดเลือดอีก 2 ครั้ง ด้วยน้ำเกลือ 2 มิลลิลิตร ดำเนินการเหมือนเดิม เมื่อล้างเม็ดเลือดแดงแล้วเติมน้ำเกลือปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร เท่าเดิม

วิธีการตรวจวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเม็ดเลือดแดง (Angerer, et.al, 1990)

นำเม็ดเลือดแดงที่ผ่านการล้างแล้วมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตร เป็น 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันดีแล้วดูดมา 20 ไมโครลิตร ใส่ลงใน test tube อีกหลอดที่มี DTNB จำนวน 3,000 มิลลิลิตร เติมสาร Acetylthiocholine iodide 100 ไมโครลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex แล้วเทใส่ cuvette ต่อจากนั้นนำไปวัดด้วย Spectrophotometer แบบ visible ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร วัดทุก 1/2 นาที นาน 2 นาที

การคำนวณอัตราการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส ดังสมการต่อไปนี้

$$R = \frac{A}{0.05\ \text{min} \cdot 1.33\ \text{L} \cdot \text{m mol}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot 10\ \text{mm}} \cdot \frac{3.12\ \text{ml}}{0.02\ \text{ml}}$$

$$= A \cdot 23460\ \frac{\mu\ \text{mol}}{\text{min . L}}$$

R = rate in moles substrate hydrolyzed per min per litre of red blood cell or plasma

A = absorbance per 1/2 min

$1.33\ \text{L} \cdot \text{m mol}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1}$ = the extinction coefficient

การวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลอง

นำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์สารพิษปนเปื้อนบนส่วนต่างๆของร่างกายผู้ฉีดพ่นและผู้เก็บพริก ระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเลือดเกษตรกร และปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพริก ไปวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Regression เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ความแปรปรวน รวมถึงวิเคราะห์เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส และปริมาณสารพิษตกค้างในพริกที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการฉีดพ่น และค่า half life

ประมวลข้อมูลการปนเปื้อนสารพิษบนร่างกายและการสะสมสารพิษในพริกกับข้อมูลทางพิษวิทยาของ chlorpyrifos เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพอนามัยจากการฉีดพ่นและจากการบริโภคโดยใช้หลักเกณฑ์การประเมิน Pesticide Risk Assessment ของ US.EPA (US.EPA,1999)

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2552 ถึงเดือน กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ แปลงทดลองเกษตรกร นายเม้ง แก้วสวัสดิ์ ตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนร่างกายผู้ฉีดพ่น chlorpyrifos ในแปลงปลูกพริก

ทำการฉีดพ่น chlorpyrifos จำนวน 3 ครั้ง ครั้งแรก เมื่อพริก อายุ 99 วัน ครั้งที่ 2 พริกอายุ 106 วัน และ ครั้งที่ 3 พริกอายุ 113 วัน อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นด้วยเครื่องยนต์สะพายหลังและบันทึกเวลาการฉีดพ่น เพื่อนำไปประเมินความเสี่ยงจากการปนเปื้อนบนตัวเกษตรกรผู้ฉีดพ่น เมื่อเสร็จสิ้นการฉีดพ่นนำแผ่นผ้าฝ้ายที่ติดบนตำแหน่งต่าง ๆ ของร่างกายคือ ที่หัว จมูก ไหล่ ศอก หน้าอก หลัง ต้นขา หน้าแข้ง น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่นไปสกัดหาสารพิษ chlorpyrifos ที่ปนเปื้อน ผลการวิเคราะห์ตรวจพบสารพิษบนแผ่นผ้าบริเวณช่วงล่างของร่างกายที่ ต้นขา แข้งนอก และแข้ง มีสารพิษปนเปื้อนเฉลี่ยมากที่สุด 2,449.67 1,649.05 และ 615.82 ไมโครกรัมต่อ100 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แผ่นผ้าที่ปนเปื้อนน้อยที่สุดริเวณ อกใน และหลังใน ปริมาณเฉลี่ย 10.86 และ 6.11 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ

ส่วนน้ำล้างมือปนเปื้อนสารพิษเฉลี่ย 473.57 ไมโครกรัมต่อลิตร สำหรับน้ำล้างเท้ามีการปนเปื้อนเมื่อฉีดพ่นแล้วเฉลี่ย 9.23 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย เมื่อนำมาคำนวณเป็นปริมาณสารพิษต่อพื้นที่ทั้งหมดของร่างกาย (U.S.EPA. 1987, ตารางที่ 2,3 และ 4) ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ เพื่อประเมินเป็นปริมาณสาร chlorpyrifos สัมผัสบนร่างกาย (Potential Exposure) ของแต่ละครั้งภายหลังการฉีดพ่น คิดเป็นการปฏิบัติงานตามปกติในแต่ละครั้งที่มีการฉีดพ่น พบว่ามีปริมาณ chlorpyrifos ปนเปื้อนระหว่าง 0.4197-0.8215 mg/kg Bw/day ของน้ำหนัก

ร่างกาย 59 กิโลกรัม แล้วนำไปประเมินหาปริมาณสารพิษที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Absorption Dose) จากนั้นเปรียบเทียบกับค่า NOAEL ซึ่งเป็นค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยา แล้วคำนวณหาค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE: Margin of Exposure)

ค่า MOE = NOAEL ÷ Exposure

โดยทั่วไป U.S. EPA กำหนดค่า MOE = 100 หรือมากกว่าเป็นขอบเกณฑ์ความปลอดภัยที่ยอมรับได้จากการคำนวณพบว่า ค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) ของผู้ฉีดพ่นมีเท่ากับ 6.09 - 11.91 ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำมาก หรือกล่าวได้ผู้ฉีดพ่น chlorpyrifos มีความเสี่ยงสูง ตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 1. ปริมาณ chlorpyrifos บนแผ่นผ้าที่ปนเปื้อนบนร่างกาย น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้าของผู้ฉีดพ่น

บริเวณปนเปื้อน	ปริมาณปนเปื้อนครั้งที่ 1 เวลา 32 นาที	ปริมาณปนเปื้อนครั้งที่ 2 เวลา 31.46 นาที	ปริมาณปนเปื้อนครั้งที่ 3 เวลา 30.52 นาที	เฉลี่ย	หน่วย
หมวก	29.1606	64.5577	37.6994	43.81 ± 18.47	$\mu g/100cm^2$
จมูก	26.2104	93.4030	29.1550	49.59 ± 37.97	$\mu g/100cm^2$
บ่า	16.0081	29.7438	29.3715	25.04 ± 7.82	$\mu g/100cm^2$
อก-ใน	11.7054	8.5227	12.3517	10.86 ± 2.05	$\mu g/100cm^2$
อก-นอก	68.5993	143.0840	15.6596	75.78 ± 64.02	$\mu g/100cm^2$
ศอก	123.9403	370.9895	184.0844	226.34 ± 128.83	$\mu g/100cm^2$
หลัง-ใน	2.3704	3.1705	12.7839	6.11 ± 5.79	$\mu g/100cm^2$
หลัง-นอก	11.9878	24.3612	18.0793	18.14 ± 6.19	$\mu g/100cm^2$
ต้นขา	1,840.7500	3,657.4600	1,850.7875	2,449.67 ± 1,045.99	$\mu g/100cm^2$
แข้งใน	431.2950	405.3200	1,010.8400	615.82 ± 342.35	$\mu g/100cm^2$
แข้งนอก	1,609.8500	2,155.8875	1,181.4100	1,649.05 ± 488.42	$\mu g/100cm^2$
น้ำล้างมือ	706.8796	93.7178	620.1250	473.57 ± 331.81	µg/L
น้ำล้างเท้า	9.6994	0.1496	17.8321	9.23 ± 8.85	µg/L

ตารางที่ 2. ปริมาณการได้รับ chlorpyrifos เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่นแปลงพริกจากข้อมูลปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนแผ่นผ้า น้ำล้างมือและล้างเท้า ปี 2553 ครั้งที่ 1 เวลา 32.06 นาที

ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body)	พื้นที่ผิว (Surface area) cm^2	ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า $\mu g/100cm^2$	Penetration factor*	ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย* µg/region
Head and Face	1,300	29.1606 26.2104	-	359.91
Back inside outside	3,550	2.3704 11.9878	0.165090	70.26
Chest inside outside	3,550	11.7054 68.5993	0.145762	354.97
Upper arms (elbow to shoulder)	2,910	16.0081	0.155426	72.40
Fore arms (elbow to wrist)	1,210	123.9403	.155426	233.09
Upper legs (knee to groin)	3,820	1,840.7500	0.211301	14,857.94
Lower legs inside (knee to ankle) outside	2,380	431.2950 1,609.8500	0.211301	8,095.86
Hands				706.88 µg/ l
Feet				9.70 µg/ l
รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการฉีดพ่นต่อวัน				24,761.01µg = 24.76 mg
เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 59 kg จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย ต่อน้ำหนักตัว ต่อวัน				0.4197 mg/kg BW/day

*Penetration factor การคำนวณหาปริมาณสารพิษตกค้างบนเสื้อผ้าที่สวมแล้วมาสัมผัสร่างกาย

= residue on inner dosimeter ÷ (residue on outer + inner dosimeter)

*ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย= พื้นที่ผิว×ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า (outside)×Penetration factor

ตารางที่ 3. ปริมาณการได้รับ chlorpyrifos เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่นแปลงพริกจากข้อมูล
ปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนแผ่นผ้า น้ำล้างมือและล้างเท้า ปี 2553 ครั้งที่ 2 เวลา 31.46 นาที

ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body)	พื้นที่ผิว (Surface area) cm^2	ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า $\mu g/100cm^2$	Penetration factor*	ปริมาณปนเปื้อน* ที่สัมผัสร่างกาย µg/region
Head and Face	1,300	64.5577 93.4030	-	1,026.74
Back inside outside	3,550	3.1706 24.3612	0.115160	99.59
Chest inside outside	3,550	8.5227 143.0840	0.056216	285.55
Upper arms (elbow to shoulder)	2,910	29.7438	0.085688	74.17
Fore arms (elbow to wrist)	1,210	370.9895	0.085688	384.65
Upper legs (knee to groin)	3,820	3,657.4600	0.158253	22,110.38
Lower legs inside (knee to ankle) outside	2,380	405.3200 2,155.8875	0.158253	8,120.01
Hands				93.72 µg/ l
Feet				0.15 µg/ l
รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการฉีดพ่นต่อวัน				32,194.96 µg = 32.19 mg
เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 59 kg จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย ต่อน้ำหนักตัว ต่อวัน				0.5457 mg/kg BW/day

*Penetration factor การคำนวณหาปริมาณสารพิษตกค้างบนเสื้อผ้าที่สวมแล้วมาสัมผัสร่างกาย

= residue on inner dosimeter ÷ (residue on outer + inner dosimeter)

*ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย = พื้นที่ผิว × ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า (outside) × Penetration factor

ตารางที่ 4. ปริมาณการได้รับ chlorpyrifos เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่นแปลงพริกจากข้อมูลปริมาณสารพิษปนเปื้อนบนแผ่นผ้า น้ำล้างมือและล้างเท้า ปี 2553 ครั้งที่ 3 เวลา 32.30 นาที

ตำแหน่งติดแผ่นผ้า (Region of body)	พื้นที่ผิว (Surface area) cm^2	ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า $\mu g/100cm^2$	Penetration factor*	ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย* µg/region
Head and Face	1,300	37.6994 29.1550	-	434.55
Back inside outside	3,550	12.7839 18.0793	0.414211	265.85
Chest inside outside	3,550	12.3517 15.6596	0.440954	245.13
Upper arms (elbow to shoulder)	2,910	29.3715	0.427583	365.46
Fore arms (elbow to wrist)	1,210	184.0844	0.427583	952.41
Upper legs (knee to groin)	3,820	1,850.7875	0.461097	32,599.60
Lower legs inside (knee to ankle) outside	2,380	1,010.8400 1,181.4100	0.461097	12,964.92
Hands				620.13 µg/ l
Feet				17.83 µg/ l
รวมปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกายระหว่างการฉีดพ่นต่อวัน				48,465.88 µg = 48.47 mg
เกษตรกรมีน้ำหนักเฉลี่ย 59 kg จึงมีปริมาณสารพิษปนเปื้อนร่างกาย ต่อน้ำหนักตัว ต่อวัน				0.8215 mg/kg BW/day

*Penetration factor การคำนวณหาปริมาณสารพิษตกค้างบนเสื้อผ้าที่สวมแล้วมาสัมผัสร่างกาย

= residue on inner dosimeter ÷ (residue on outer + inner dosimeter)

*ปริมาณปนเปื้อนที่สัมผัสร่างกาย = พื้นที่ผิว × ปริมาณปนเปื้อนบนแผ่นผ้า (outside) × Penetration factor

ตารางที่ 5. ระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับ chlorpyrifos เข้าสู่ร่างกายของผู้ฉีดพ่นแปลงปลูกพริก

ฉีดพ่น	chlorpyrifos mg/kg BW/day	%Absorption	Absorbed Dose mg/kg BW/day (exposure)	NOAEL mg/kg/day	MOE	ระดับความเสี่ยง
ครั้งที่ 1	0.4197	100	0.4197	5	11.91	Risk
ครั้งที่ 2	0.5457	100	0.5457	5	9.16	Risk
ครั้งที่ 3	0.8215	100	0.8215	5	6.09	Risk

NOAEL = No Observed Adverse Effect Level คือค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ได้ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยา chlorpyrifos = 5 mg/kg BW/day Acute dermal Human (FAO,2006)

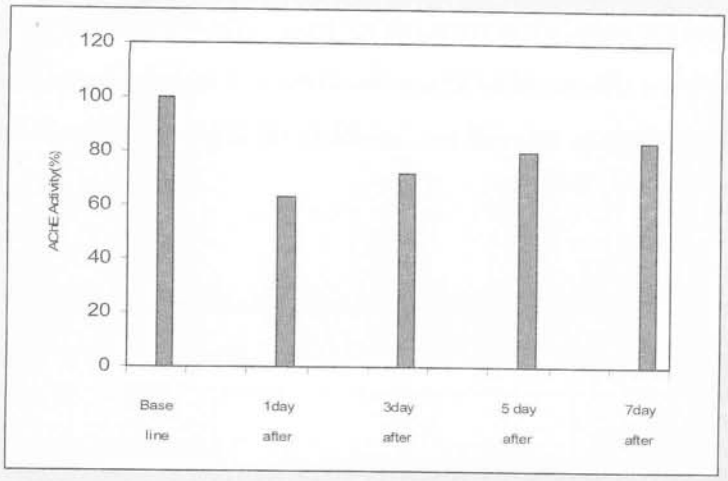
MOE = NOAEL÷ exposure

MOE = Margin of Exposure คือค่าของเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ ค่ายิ่งต่ำยิ่งมีความเสี่ยงสูง

ภายหลังการฉีดพ่น 1,3,5 และ 7 วัน เจาะเลือดเกษตรกรผู้ฉีดพ่นตามวันที่กำหนดไปวัดระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (AChE Activity) เพื่อเปรียบเทียบระดับการทำงาน AChE Activity กับ Base- line Level พบว่าภายหลังการฉีดพ่น 1 วัน และ 3 วัน ระดับการทำงานเอนไซม์ AChE Activity ลดลงจากสภาวะปกติ เหลือ 63-72 % (ตารางที่ 6 และภาพที่ 1) และพบว่าภายหลังการฉีดพ่น 5-7 วัน ระดับการทำงานของเอนไซม์ AChE Activity ฟื้นฟูสูงขึ้นเป็น 80-84 % ของสภาวะปกติ เพราะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสามารถขับสารพิษ chlorpyrifos ออกจากร่างกายได้โดยการทดลองในหนูขาวใหญ่ให้กินทางปาก สามารถขับออกทางปัสสาวะได้ 90 % ภายในเวลา 26 ชั่วโมง และออกทางอุจจาระ 10% ของปริมาณทั้งหมด และมนุษย์มี half life ในการกำจัด chlorpyrifos ใช้เวลา 27 ชั่วโมง (Toxicological Profile, 1997)

ตารางที่ 6. ระดับการทำงานของ AChE Activity ในเม็ดเลือดแดงของผู้ฉีดพ่น chlorpyrifosในแปลงปลูกพริก

ระยะเวลา	Red blood cell AChE Activity(U/L)	Red blood cell AChE Activity (%)
ก่อนการฉีดพ่น (Base line Level)	2,683.49	100.00
หลังการฉีดพ่น 1 วัน	1,683.98	63
หลังการฉีดพ่น 3 วัน	1,942.54	72
หลังการฉีดพ่น 5 วัน	2,140.42	80
หลังการฉีดพ่น 7 วัน	2,251.99	84



ภาพที่ 1. ระดับ AChE Activity ในเม็ดเลือดแดง ก่อนและหลังฉีดพ่นการฉีดพ่น chlorpyrifos

ผลการศึกษาปริมาณสารพิษปนเปื้อนมือของผู้เก็บเกี่ยวพริกภายหลังฉีดพ่น chlorpyrifos

การตรวจสารพิษในน้ำล้างมือของผู้เก็บเกี่ยวพริกหลังการฉีดพ่นที่ระยะเวลาต่างๆ กัน พบว่า น้ำล้างมือที่ 0 วัน (1ชั่วโมงหลังการฉีดพ่น) มีการปนเปื้อนสารพิษ 7.3299 ไมโครกรัม (ตารางที่ 7) แล้วปริมาณสารพิษ ค่อย ๆ ลดลง หลังการฉีดพ่น 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 และ 30 วัน ตามลำดับ โดยพบปริมาณต่ำสุด 0.0202 ไมโครกรัม ที่ 30 วัน

ตารางที่ 7. ปริมาณ chlorpyrifos ปนเปื้อนมือผู้เก็บเกี่ยวพริกภายหลังการฉีดพ่นที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

วันที่เก็บตัวอย่าง	ระยะเวลาหลังการฉีดพ่น (วัน)	ช่วงเวลาการเก็บเกี่ยว (ชั่วโมง)	µg
ก่อนฉีดพ่น	control	1.29	0.0503
16 เม.ย.53	0	1.12	7.3299
17 เม.ย.53	1	1.10	0.2016
19 เม.ย.53	3	1.06	0.1487
21 เม.ย.53	5	1.10	0.1720
23 เม.ย.53	7	1.20	0.0889
26 เม.ย.53	10	1.14	0.2707
1 พ.ค. 53	15	1.33	0.0266
7 พ.ค. 53	20	1.15	0.0352
16 พ.ค. 53	30	1.21	0.0202

ข้อมูลปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ที่ปนเปื้อนบนมือของผู้เก็บพริกในแต่ละวันหลังการฉีดพ่น มาประเมินเป็นค่าปริมาณสารพิษที่สัมผัสทั้งวัน เมื่อเข้าไปทำงานเก็บพริก คิดจากจำนวนเวลาที่มีการปฏิบัติงานตามปกติในแต่ละวันนาน 6 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักตัวผู้เก็บเกี่ยว 53.5 กิโลกรัม แล้วคำนวณหา

ค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) พบว่า การเก็บพริกภายหลังการฉีดพ่น 0 วัน ผู้เก็บพริกได้สัมผัส chlorpyrifos ปริมาณ 36.6495 µg เมื่อคำนวณปริมาณ chlorpyrifos ที่ได้รับต่อวันมีค่า 0.0006 mg/kg BW/day (6.8503E-4) (ตารางที่ 8) และได้ค่า MOE สูงถึง 7,298 อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ แสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8. การประเมินความเสี่ยงจากปริมาณ chlorpyrifos ปนเปื้อนมือผู้เก็บเกี่ยวพริกภายหลังการฉีดพ่นที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันต่อวัน

ระยะเวลาหลังฉีดพ่น (วัน)	ช่วงเวลาเก็บเกี่ยวจากการทดลอง (ชั่วโมง)	ปริมาณสารพิษบนมือ (µg)	ประมาณการปนเปื้อนใน 6 ชั่วโมงต่อวัน (µg)	mg /kgBW (53.5 kg)/day	NOAEL mg/kg/day	MOE	ระดับความเสี่ยง
control	1.29	0.0503	0.2035	3.8030E-6	5	1,314,751	Accept
0	1.12	7.3299	36.6495	6.8503E-4	5	7,298	Accept
1	1.10	0.2016	1.0368	1.9379E-5	5	258,011	Accept
3	1.06	0.1487	0.8111	1.5160E-5	5	329,815	Accept
5	1.10	0.1720	0.8846	1.6534E-5	5	302,407	Accept
7	1.20	0.0889	0.4001	7.4780E-6	5	668,627	Accept
10	1.14	0.2707	1.3169	2.4614E-5	5	203,136	Accept
15	1.33	0.0266	0.1030	1.9250E-6	5	2,597,402	Accept
20	1.15	0.0352	0.1690	3.1580E-6	5	1,583,280	Accept
30	1.21	0.0202	0.0898	1.6780E-6	5	2,979,737	Accept

ผลการศึกษาการสลายตัวและพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพริก

ภายหลังการฉีดพ่น chlorpyrifos ครั้งที่ 3 นาน 0 วัน (1 ชั่วโมง), 1 , 3 , 5 , 7 , 10, 15, 20 และ 30 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างพริก 10 ตัวอย่าง ตลอดทั้งแปลงทดลอง ในแต่ละวันที่กำหนด เพื่อนำไปสกัดหาสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ GC ชนิด FPD รวม ทั้งหมด 90 ตัวอย่าง รวบรวมข้อมูลผล การวิเคราะห์ ดังตารางที่ 9 พบว่าภายหลังการฉีดพ่น 0 วันและ 1 วัน ตรวจพบสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ปริมาณสูง 0.7691 และ 0.6539 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างทางสถิติ แล้วปริมาณสารพิษจะค่อยๆ ลดลงไป แปรผันตามระยะเวลา จนถึงช่วงของการเก็บเกี่ยวที่ 15 20 และ 30 วัน ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos เหลือ 0.2009 - 0.02784 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยไม่แตกต่างทางสถิติ แสดงว่าสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ที่มีปริมาณต่ำจะสลายตัวได้ช้า มีผลการทดลองฉีดพ่น chlorpyrifos

ลงบนต้น apple และ pear ในอัตรา 1,224 gm a.i. /ha (Dursban E.C 40.8% a.i.) เพียง 1 ครั้ง ตรวจพบสารพิษตกค้างภายหลังการฉีดพ่นนาน 15 - 29 วันในผล apple ปริมาณ 0.16 - 0.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในผล pear ตรวจพบปริมาณ 0.22 - 0.27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ภายหลังการฉีดพ่นนาน 15-29 วัน เช่นกัน(WHO,1972)

ตารางที่ 9. ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ตกค้างในพริก ภายหลังการฉีดพ่นครั้งที่ 3 ในแปลงทดลองที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ กัน

เวลาหลังการฉีดพ่น (วัน)	chlorpyrifos (mg/kg)
0	0.7691 ± 0.2961 d*
1	0.6539 ± 0.2617 d
3	0.4056 ± 0.1589 c
5	0.4887 ± 0.2173 c
7	0.3755 ± 0.1079 bc
10	0.3802 ± 0.1185 bc
15	0.2784 ± 0.0849 ab
20	0.2736 ± 0.1292 ab
30	0.2009 ±0.1059 a

CV = 30.3 %

* ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 5 % โดย DMRT

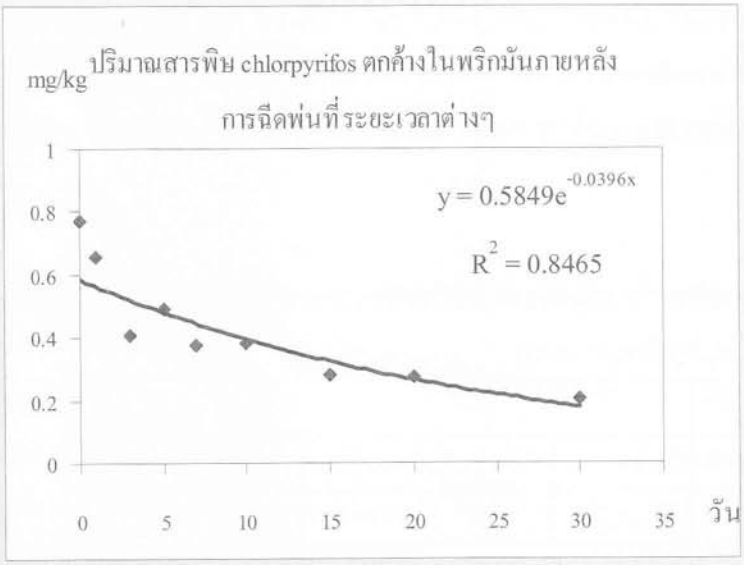
การวัดความสัมพันธ์ระหว่างการสลายตัวของสารพิษตกค้างกับระยะเวลาภายหลังการฉีดพ่น (ภาพที่ 2.) พบว่า ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของสารพิษ chlorpyrifos สลายในพริก = 0.8465 เมื่อคำนวณค่า half life จากสมการ Regression ได้ค่า half life ดังนี้

half life ($T_{½}$) = - 0.693/ b

b = -0.0396 (slope)

ค่า half life ($t_{½}$) = -0.693/ -0.0396

= 17.5 วัน



ภาพที่ 2. การสลายตัวของ chlorpyrifos ในพริก ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ภายหลังการฉีดพ่นในแปลง

เมื่อนำผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ chlorpyrifos ในพริก ภายหลังการฉีดพ่นมาคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริกของแต่ละวัน ที่เกิดการสลายตัว (ตารางที่ 10) แบบ Exponential ได้ function เป็น รูปสมการ

$$Y = ae^{bx}$$

หรือ $Y = \ln a + bx$

$$Y = 0.5849e^{-0.0396x}$$

$$Y = \ln 0.5849 + (-0.0396X)$$

$$Y = -0.536314 + (-0.0396X)$$

Y = ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริก หน่วย mg/kg

a = ค่า intercept = 0.5849 (ภาพที่ 2)

b = ค่า slope = -0.0396 (ภาพที่ 2)

X = ระยะเวลาการสลายตัวของ chlorpyrifos หน่วย/วัน

ตารางที่ 10. แสดงการคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริกแต่ละวัน ภายหลังการฉีดพ่น

Day	a- intercept	Lna	b-slope	b*x	Lna+bx	Y(EXP)
0	0.5849	-0.53631	-0.0396	0	-0.53631	0.5849
1	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.0396	-0.57591	0.562191
2	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.0792	-0.61551	0.540363
3	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.1188	-0.65511	0.519383
4	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.1584	-0.69471	0.499217

ตารางที่ 10. (ต่อ) แสดงการคำนวณ ปริมาณสารพิษตกค้างchlorpyrifos ในพริกแต่ละวัน ภายหลังการฉีดพ่น

5	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.198	-0.73431	0.479834
6	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.2376	-0.77391	0.461204
7	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.2772	-0.81351	0.443297
8	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.3168	-0.85311	0.426086
9	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.3564	-0.89271	0.409543
10	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.396	-0.93231	0.393642
11	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.4356	-0.97191	0.378358
12	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.4752	-1.01151	0.363668
13	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.5148	-1.05111	0.349548
14	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.5544	-1.09071	0.335976
15	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.594	-1.13031	0.322932
16	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.6336	-1.16991	0.310394
17	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.6732	-1.20951	0.298342
18	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.7128	-1.24911	0.286759
19	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.7524	-1.28871	0.275625
20	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.792	-1.32831	0.264923
21	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.8316	-1.36791	0.254637
22	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.8712	-1.40751	0.244751
23	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.9108	-1.44711	0.235248
24	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.9504	-1.48671	0.226114
25	0.5849	-0.53631	-0.0396	-0.99	-1.52631	0.217335
26	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.0296	-1.56591	0.208897
27	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.0692	-1.60551	0.200786
28	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.1088	-1.64511	0.19299
29	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.1484	-1.68471	0.185497
30	0.5849	-0.53631	-0.0396	-1.188	-1.72431	0.178295

เมื่อคำนวณได้ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ในพริกของแต่ละวันแล้ว นำไปประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคพริกในแต่ละวันดังนี้ ข้อมูลปริมาณของสารพิษที่ได้รับในแต่ละวันของกลุ่มบุคคลทั่วไปที่ทำการประเมินความเสี่ยงโดยการเปรียบเทียบกับค่า RfD (Referenc dose) หรือ ADI (Acceptable Daily Intake) ที่ได้จากการศึกษาในสัตว์ทดลองถ้าปริมาณสารพิษที่บริโภคน้อยกว่าค่า RfD ประเมินได้ว่ามีความปลอดภัย แต่ในทางตรงข้าม ถ้าปริมาณสารพิษที่บริโภคมากกว่าค่า RfD ก็ประเมินได้ว่ามีความเสี่ยงต่อการได้รับอันตรายจากการบริโภค (ธวัชชัย หงษ์ตระกูล 2550)

โดยตั้งค่ามาตรฐานสำหรับการคำนวณดังนี้ (ตารางที่ 11) คือคนไทยหรือผู้บริโภคน้ำหนักตัวเฉลี่ย 53.5 กิโลกรัม เมื่อกินพริกมากที่สุดหนัก 60 กรัมต่อวัน หรือประมาณ 7.6 ผล (น้ำหนักเฉลี่ย 7.86 กรัม/ผล)(ข้อมูลการบริโภคฯ 2549) พบว่า การกินพริกภายหลังการฉีดพ่นนาน 0-19 วัน จะมีปริมาณสารพิษตกค้าง ตั้งแต่ 0.5849 ถึง 0.2867 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีผลให้สารพิษเข้าสู่ร่างกายในปริมาณ (Dose) ตั้งแต่ 0.000656 ถึง 0.000309 mg/kg BW/day ซึ่งสูงกว่าค่า RfD เป็นค่าทางพิษวิทยาของปริมาณสารพิษชนิด chlorpyrifos โดยกำหนดให้ 0.0003 mg/kg BW/day (U.S. EPA, 2002) ที่ยอมให้เข้าสู่ร่างกายได้ในแต่ละวันโดยไม่ทำให้เกิดพิษต่อร่างกาย ดังนั้นผู้บริโภคพริกจะได้รับสารพิษสูงกว่าค่า RfD ถึง 218.65 - 103.04 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับความเสี่ยงสูงมาก ภายหลังการฉีดพ่นนาน 20 - 30 วัน ปริมาณสารพิษ chlorpyrifos ตกค้างบนพริกลดต่ำลงเหลือ 0.2649-0.1783 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำมาบริโภคและคำนวณปริมาณสารพิษที่เข้าสู่ร่างกายแล้ว จะมีค่าต่ำกว่า RfD เป็นระดับที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้

ตารางที่ 11. ความเสี่ยงของการบริโภคพริกที่ปนเปื้อน chlorpyrifos ภายหลังการฉีดพ่นในระยะเวลาต่างๆ

day	Residue mg/kg	Consumption kg (60 g)	Potential Exposure mg	Body weight kg	Dose mg/kg	ADI (RfD) mg/kg/day	% Consump /ADI	Risk
0	0.5849	0.06	0.035094	53.5	0.000656	0.0003	218.6542	high
1	0.562191	0.06	0.033731	53.5	0.00063	0.0003	210.1649	high
2	0.540363	0.06	0.032422	53.5	0.000606	0.0003	202.0049	high
3	0.519383	0.06	0.031163	53.5	0.000582	0.0003	194.1619	high
4	0.499217	0.06	0.029953	53.5	0.00056	0.0003	186.6232	high
5	0.479835	0.06	0.02879	53.5	0.000538	0.0003	179.3776	high
6	0.461204	0.06	0.027672	53.5	0.000517	0.0003	172.4127	high
7	0.443298	0.06	0.026598	53.5	0.000497	0.0003	165.7189	high
8	0.426086	0.06	0.025565	53.5	0.000478	0.0003	159.2845	high
9	0.409543	0.06	0.024573	53.5	0.000459	0.0003	153.1002	high
10	0.393642	0.06	0.023619	53.5	0.000441	0.0003	147.1559	high
11	0.378358	0.06	0.022701	53.5	0.000424	0.0003	141.4422	high
12	0.363668	0.06	0.02182	53.5	0.000408	0.0003	135.9507	high
13	0.349548	0.06	0.020973	53.5	0.000392	0.0003	130.6721	high
14	0.335977	0.06	0.020159	53.5	0.000377	0.0003	125.5989	high
15	0.322932	0.06	0.019376	53.5	0.000362	0.0003	120.7222	high
16	0.310394	0.06	0.018624	53.5	0.000348	0.0003	116.0351	high

ตารางที่ 11. (ต่อ) ความเสี่ยงของการบริโภคพริกที่ปนเปื้อน chlorpyrifos ภายหลังการฉีดพ่นในระยะเวลาต่างๆ

17	0.298342	0.06	0.017901	53.5	0.000335	0.0003	111.5297	high
18	0.286759	0.06	0.017206	53.5	0.000322	0.0003	107.1996	high
19	0.275625	0.06	0.016538	53.5	0.000309	0.0003	103.0374	high
20	0.264924	0.06	0.015895	53.5	0.000297	0.0003	99.03701	Accept
21	0.254638	0.06	0.015278	53.5	0.000286	0.0003	95.19178	Accept
22	0.244751	0.06	0.014685	53.5	0.000274	0.0003	91.4957	Accept
23	0.235248	0.06	0.014115	53.5	0.000264	0.0003	87.94318	Accept
24	0.226114	0.06	0.013567	53.5	0.000254	0.0003	84.5286	Accept
25	0.217335	0.06	0.01304	53.5	0.000244	0.0003	81.24673	Accept
26	0.208897	0.06	0.012534	53.5	0.000234	0.0003	78.09234	Accept
27	0.200786	0.06	0.012047	53.5	0.000225	0.0003	75.06019	Accept
28	0.192991	0.06	0.011579	53.5	0.000216	0.0003	72.14617	Accept
29	0.185497	0.06	0.01113	53.5	0.000208	0.0003	69.34467	Accept
30	0.178295	0.06	0.010698	53.5	0.0002	0.0003	66.65234	Accept

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

การประเมินความเสี่ยงจากการใช้ chlorpyrifos ในแปลงพริกด้วยอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ตลอดฤดูปลูก ภายหลังการฉีดพ่น พบการปนเปื้อนบนร่างกายเกษตรกรปริมาณสูงสุด0.8215 mg/kg BW/day ได้ค่าขอบเกณฑ์ความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) ต่ำสุด เท่ากับ 6.09แสดงถึงความเสี่ยงสูงของเกษตรกรที่ผิวหนังมีโอกาสจะได้สัมผัสสารพิษในขณะฉีดพ่น ถ้าไม่สวมใส่เสื้อผ้าเครื่องป้องกันร่างกายที่ถูกต้องตั้งแต่ศีรษะถึงเท้า ระดับการทำงานของเอนไซม์ AChE Activity ของผู้ฉีดพ่น chlorpyrifos ลดลงเหลือ 63 - 72 เปอร์เซนต์ ของระดับปกติ ภายหลังการฉีดพ่น 1 วัน และ 3 วัน ซึ่งแสดงว่าได้รับผลกระทบจาก chlorpyrifos ปนเปื้อนบนร่างกาย ส่วนความเสี่ยงผู้เข้าไปเก็บพริกภายหลังการฉีดพ่น 0 วัน พบการสัมผัสสารพิษที่ติดอยู่บนผิวพริก ทำให้มือปนเปื้อนสารพิษปริมาณสูงถึง 36.6495 ไมโครกรัมต่อวันเมื่อคำนวณค่า MOE แล้วสูงกว่า 100 ดังนั้น ผู้เก็บเกี่ยวพริกมีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอบรับได้ แต่ U.S.EPA ให้คำแนะนำว่าภายหลังการฉีดพ่น chlorpyrifos นาน 24 ชั่วโมงแล้วจึงกลับเข้าทำงานในแปลงได้ต่อไป (Toxicological Profile, 1997)

สำหรับผู้บริโภคพริกมีความเสี่ยงสูงจากสารพิษตกค้าง chlorpyrifos ภายหลังการฉีดพ่นในระยะ 0 – 19 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างระหว่าง 0.2756-0.5849 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การบริโภคพริกในระยะนี้ไม่มีความปลอดภัย โดยการเปรียบเทียบกับค่า RfD ส่วนค่า half life ของสารพิษ chlorpyrifos ในพริกนานถึง 17.5 วัน การบริโภคพริกให้ปลอดภัยต้องภายหลังการฉีดพ่นนาน 20 วันไปแล้ว การศึกษาครั้งนี้แสดงให้ทราบว่าการใช้ chlorpyrifos ในแปลงพริกมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของเกษตรกร

ผู้ฉีดพ่น เกษตรกรสมควรระมัดระวัง สวมชุดป้องกันการปนเปื้อนร่างกายในระหว่างการฉีดพ่น จึงขอเสนอให้มีการเข้มงวดการใช้ (Restricted) ผู้ที่จะนำไปใช้ฉีดพ่นควรผ่านการฝึกอบรมการใช้อย่างถูกต้อง ส่วนการเก็บเกี่ยวผลิตผลตกค้างสลายตัวช้ามากทำให้การบริโภคมีความเสี่ยง ถ้าค้นพบวัตถุมีพิษชนิดอื่นที่มีพิษต่ำกว่า และมีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชใกล้เคียงกันมาทดแทน chlorpyrifos ได้จะเป็นการดีต่อสภาพแวดล้อมเกษตรกรรม เพราะช่วยลดอันตรายต่อสัตว์น้ำ และลดการสะสมสารพิษในนิเวศเกษตร ซึ่งเป็นโอกาสในการบริหารจัดการควบคุมวัตถุมีพิษการเกษตรที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงภัยสูงตามภารกิจและจุดประสงค์ของกรมวิชาการเกษตร

การนำไปใช้ประโยชน์

1. เป็นข้อมูลหลักในการประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
2. เป็นข้อมูลในการให้ความรู้แก่เกษตรกรผู้ฉีดพ่นวัตถุมีพิษการเกษตร
3. เป็นข้อมูลในการหาชุดป้องกันการสัมผัสรับสารพิษจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
4. เป็นข้อมูลในการบริหารความเสี่ยงจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
5. เป็นรูปแบบ หลักเกณฑ์ในการศึกษา การคำนวณ และการประมวลข้อมูล สำหรับนำไปใช้ในการประเมินความเสี่ยงภัยจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตรในพืชชนิดนั้นๆ
6. ถ่ายทอดความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำแต่ละปี และรายงานประชุมวิชาการกรมวิชาการเกษตร
7. ผลิตเป็นสื่อการสอนการเรียนแก่นิสิตนักศึกษาสถาบันวิชาการที่เกี่ยวข้อง

เอกสารอ้างอิง

ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย Food Consumption Data for Thailand ปี 2549 สำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (ISBN 974-403-42308)

ธวัชชัย หงษ์ตระกูล (2550) การประเมินความเสี่ยงภัย จากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร (Pesticide Risk Assessment) กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร P.55

รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี 2552 สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ลาภิสรา วงศ์แก้ว สมศักดิ์ ศรีสมบุญ สิริ สุวรรณเขตนิคม ภิญญา จุลินทร และ มัณฑนา มิลน์ 2553 ผลงานวิจัยดีเด่นและผลงานวิจัยที่เสนอเพื่อเข้าร่วมพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2552 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ น.159-174

Angerer,J.and Schaller,K.H.1990 Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials. DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft Volume 3 p 45-60

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V.Jr. and Featherstone, R.M. 1961. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. Biochemical Pharmacology Vol. 7, pp. 88-95.

FAO/WHO. 2000. Codex Alimentarius Commission. Status of Codex Maximum Residue Limits for Residues of Pesticides in Food and Animal Feeds. pp. part 1-72.

FAO. 2006 FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides : Chlorpyrifos http://www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/

Hartly, D.and Kidd, H.1991 The Agrochemicals Handbook. Second Edition - Unwin Brothers Limited, Nottingham, England.

Steinwandter, H. 1985 Universal 5 – min online Method for Extracting and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. Fresenius Z Anal. Chem. 322:752-754

Toxicological Profile for Chlorpyrifos (1997) U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry

US. EPA. 1987.Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision K. Exposure: Re-entry Protection, US. EPA. Washington D.C

US. EPA. 1992.Dermal exposure assessment : principles and application, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C

US. EPA. 1999. The Role of Use - Related Information in Pesticide Risk Assessment And Risk Management. Office of Pesticide Program, Item:6039 (June 29, 1999)

US. EPA.2002 Interim Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos p.11

WHO.1972 232 Chlorpyrifos (WHO Pesticide Residue Series 2) p.

http://www.inchem.org(documents/jmpr/jmpmono/v07pr10.htm (22พ.ย. 53)