การศึกษาประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการลดการสะสมของแคดเมียมในนาข้าว

Efficiency of Bio-Product to Reduce Soil Contaminated with Cadmium in Paddy Fields

วิมลรัตน์ ศีติสาร* และ สุขทัย พงศ์พัฒนศิริ

Wimonrat Sitisara* and Sukthai Pongpattanasiri

คณะพลังงานและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา

School of Energy and Environmental, University of Phayao

Received : 23 April 2019

Revised : 28 June 2019

Accepted : 9 August 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ที่มีการควบคุมการผลิต กำหนดชนิดจุลินทรีย์และความเข้มข้นรวมเท่ากับ 1.0 x 10^7 เซลล์/กรัม ประกอบด้วยเชื้อผสมของ *Achormobacter* sp. *Azoto bacter* sp. *Bacillus subtilis* *Bacillus thuringiensis* และ *Nitrobactor* sp. และออกแบบการทดลองใน 4 สภาวะ คือ 1) ดินที่ใช้ปุ๋ยเคมี (P-CHEM) 2) ดินที่เติมสารชีวภัณฑ์ปริมาณ 300 มิลลิลิตร/น้ำ 200 ลิตร/ไร่ (P-A300) 3) ดินที่เติมสารชีวภัณฑ์ปริมาณ 500 มิลลิลิตร/น้ำ 200 ลิตร/ไร่ (P-A500) และ4) ดินธรรมชาติ (P-T) โดยแต่ละสภาวะประกอบด้วย 5 กระถาง ซึ่งในแต่ละกระถางบรรจุดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมจากพื้นที่ ต.แม่ตาว อ.แม่สอด จ.ตาก ประเทศไทย จำนวน 50 กิโลกรัมแห้ง เติมน้ำและรักษาระดับน้ำผิวดินไว้ที่ 5 เซนติเมตร เปรียบเทียบระหว่างการทดลองที่ไม่มีการปลูกข้าวกับการทดลองที่ปลูกข้าว (ขาวมะลิ 105) จำนวน 5 ต้น/กระถาง ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของแคดเมียมทุก 30 วัน ย่อยดินด้วย HNO_3 -H_2O_2 และวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมโดย Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) พบว่าระยะ ripening phase ปริมาณแคดเมียมใน P-A500 และ P-A300 ลดลง 45.54 % และ43.71 % ตามลำดับ ขณะเดียวกันปริมาณแคดเมียมใน P-T และ P-CHEM ลงลดเพียง 21.68 % และ 22.99 % ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดระยะการเพาะปลูก120 วัน ปริมาณแคดเมียมในดินของหน่วยการทดลอง P-A500 และ P-A300 มีค่าเท่ากับ 34.55 และ 34.75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในมาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม โดยกรมควบคุมมลพิษ (ต้องไม่เกิน 37 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) โดยปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวการทดลอง P-CHEM (0.54 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) มีปริมาณแคดเมียมมากกว่าการทดลอง P-A300 (0.29 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และ P-A500 (0.21มิลลิกรัม/กิโลกรัม) โดยมีค่า Bioaccumulation factor (BAF) ของ P-CHEM เท่ากับ 9.64 x 10^{-3} ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าสารชีวภัณฑ์สามารถลดการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวได้เมื่อเปรียบเทียบกับ P-CHEM และ P-T อย่างไรก็ตามยังคงมีค่ามากกว่ามาตรฐาน Codex Committee on Food Additives and Contaminant (CCFAC) ที่กำหนดไว้ที่ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

คำสำคัญ : สารชีวภัณฑ์, แคดเมียม, นาข้าว, จุลินทรีย์

***Corresponding author. E-mail** : aon.wimonrat@gmail.com

Abstract

This research was aimed to study effect of bio-product by defining microorganisms with concentration of 1.0 x 10^7 cell/gram. Bio-product was a mixture of the stains of *Achormobacter* sp., *Azoto bacter* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* and *Nitrobactor* sp. Experimental soil used with 4 conditions; Chemical fertilizer (P-CHEM), bio-product concentration was 300ml/water200L/Rai (P-A300), bio-product concentration was 500ml/water200L/Rai (P-A500) and Natural soil (P-T). Each condition consisted of 5 pots that each pot contained soil samples contaminated with cadmium (Cd) were collected from Mae tao sub district, Mae sot district, Tak province, Thailand in amount of 50 kg dry soil/pot, added water by maintaining a surface water level at 5 cm for investigating rice growth and Cd reduction. Experiments were conducted to compare between without and with rice (Khao Mali 105) with 5 plants/pot by detecting Cd changes, soil digestion and Cd content analysis. The results showed that in the ripening phase, amount of Cd in the soil with P-A500 and P-A300 were significantly decreased by 45.54% and 43.71%, respectively. On the other hand, that of P-T and P-CHEM were significantly decreased only by 21.68% and 22.99%, respectively. At the end of 120 days of cultivation, final concentration of Cd in the soil with P-A500 and P-A300 were 34.55 and 34.75 mg/kg, respectively, based on the soil quality standards by the Pollution Control Department (not higher than 37 mg/kg). Rice grains with P-CHEM (0.54 mg/kg) was accumulated Cd more than P-A300 (0.29 mg/kg) and P-A500 (0.21 mg/kg). Bio-product could reduce accumulation of Cd in the grains compared with P-CHEM and PT.

Keywords : bio-product, cadmium, paddy fields, microorganisms

บทนำ

การปรับเปลี่ยนพื้นที่เกษตรเคมีเป็นพื้นที่เกษตรอินทรีย์นั้น มาตรฐานเกษตรอินทรีย์ (มกท.) กำหนดให้เว้นจากการเพาะปลูกโดยใช้สารเคมีเป็นเวลา 3 ปี และต้องตรวจไม่พบการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืช และโลหะหนัก ซึ่งสาเหตุของการปนเปื้อนมาจากการใช้สารเคมีในพื้นที่การเกษตรทำให้เกิดการตกค้างของโลหะหนักโดยเฉพาะการปนเปื้อนของแคดเมียมในดิน และผลผลิตทางการเกษตร (Xiaoyan *et al*., 2016) แคดเมียมจะปนเปื้อนมากับการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต ยากำจัดวัชพืช ดังเช่นในโครงสร้างโมเลกุลของไกลโฟเซต ประกอบด้วย หมู่คาร์บอกซิล หมู่อะมิโน และหมู่ฟอสเฟตด้วยโครงสร้างโมเลกุลนี้ทำให้ไกลโฟเซตจับกับโลหะหนัก เกิดการสะสมของโลหะหนักในดินเมื่อมีการใช้เป็นเวลานาน หรือปริมาณมากจึงเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อนแคดเมียมในดินพื้นที่การเกษตร (Channa *et al*., 2014) นอกจากนี้การปนเปื้อนของแคดเมียมสู่สิ่งแวดล้อมยังมาจากอุตสาหกรรมเคมี เหมืองแร่ อุตสาหกรรมเครื่องใช้ไฟฟ้า ปิโตรเลียม เป็นต้น (Abdus-Salam and Bello,2015) ประกอบกับการย่อยสลายทางธรรมชาติของแคดเมียมมีครึ่งชีวิตที่ยาวนาน 15-30 ปี จึงตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน และมีความเป็นพิษสูงส่งผลกระทบต่อพืช สัตว์ มนุษย์ จากรายงานการวิจัยพบความเข้มข้นของแคดเมียม 0.001-0.1 mg/L สามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อจุลินทรีย์ได้ (Baba *et al*.,2013) เมื่อแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายจะจับกับเม็ดเลือดและalbumin ถ้ามีความเข้มข้นสูงถึง 200 µg จะส่งผลให้เซลล์ท่อไตไม่สามารถดูดซึมกลับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น

$\beta_2$microglobulin ได้ นอกจากแคดเมียมจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคอิไตอิไตแล้ว ยังถูกจัดให้เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์อีกด้วย (Office of Occupational and Environmental Diseases, 2014)

ในพื้นที่เพาะปลูกข้าวแคดเมียมในดินจะอยู่ในรูปของ Cd^{2+} โดยเคลื่อนที่ผ่านทางรากไปตามส่วนต่างๆ และสะสมในเมล็ดข้าว (Zhang *et al*.,2018) ข้อมูลการศึกษาในประเทศไทยพบมีการสะสมของแคดเมียมบริเวณลุ่มน้ำแม่ตาว อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก แบ่งเป็นปริมาณการสะสมของแคดเมียมในดินมีค่าระหว่าง 0.5-284 mg/kg และปริมาณการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวมีค่าระหว่าง 0.04-1.75 mg/kg (Anongnat *et al*., 2012) ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐานของ Codex Committee on Food Additives and Contaminant (CCFAC) ที่กำหนดไว้ไม่เกิน 0.2 mg/kg และในพื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี กำแพงเพชร พิษณุโลก และนครสวรรค์ พบการสะสมแคดเมียมในผลผลิตข้าวสูงกว่าค่ามาตรฐาน Codex (0.2 mg/kg) (Wanida *et al*., 2010) จากข้อมูลการส่งออกข้าวไทยในรายงานสรุปสถานการณ์ส่งออกข้าวไทย การส่งออกข้าวในช่วงเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2562 มีปริมาณรวม 1,639,260 ตัน มูลค่า 26,980.3 ล้านบาท (842.7 ล้านเหรียญสหรัฐฯ) และเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่ไทยส่งออกมากที่สุดเป็นอันดับ 1 ทั้งนี้การส่งออกสินค้าปัจจุบันให้ความสำคัญถึงคุณภาพและมาตรฐานการส่งออกเป็นสำคัญ หากสินค้ามีการปนเปื้อนจากโลหะหนัก ยาฆ่าแมลง และอื่นๆที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพอาจกระทบต่อปริมาณการส่งออกและความน่าเชื่อถือของสินค้าเกษตรไทย

จากรายงานการวิจัยพบว่าจุลินทรีย์มีความสามารถในการกำจัด,กักเก็บ แคดเมียมไว้ในเซลล์ประกอบกับมีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็ว ทำให้มีพื้นที่ผิวในการกำจัดโลหะหนักสูงและเป็นการบำบัดที่ใช้ต้นทุนต่ำ (Robert D. Perry and Simon Silver, 1990) การบำบัดดินด้วย Proteobacteria และ Geobacter สามารถลดการสะสมของแคดเมียมในดิน และเมล็ดข้าวได้ (Zhang *et al*., 2018) โดยที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียมีกลุ่มแอนไอออน ที่จำเพาะและสามารถจับกับแคดไอออนของโลหะหนักได้ (Cooper et *al*, 1981) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดดินสามารถลดการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวได้และการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ผสมสามารถลดการสะสมของแคดเมียมในดินได้ 20 – 40 % และลดการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวได้ 25 - 31 % (Xiaoyan, 2016)

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ออกแบบการศึกษาประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ (น้ำหมักชีวภาพ) ในการลดการสะสมของแคดเมียมในดินและเมล็ดข้าวเพื่อลดการปนเปื้อนในพื้นที่เกษตรเคมีสู่การปรับเปลี่ยนเป็นพื้นที่เกษตรอินทรีย์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. *<u>การออกแบบการทดลอง</u>*

การศึกษาประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ที่ส่งผลต่อการเจริญของข้าว การสะสมของแคดเมียมในดิน และการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าว ออกแบบการทดลองภายในกระถาง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ตัวอย่างดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินปนเปื้อนแคดเมียมจากพื้นที่นาข้าว ตำบลแม่ตาว อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก จากการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของดินพบว่าดินในพื้นที่ดังกล่าวมีลักษณะเนื้อดิน (soil texture) เป็นดินเหนียวปนทรายแป้ง (Silty clay) โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 5.41 ความหนาแน่นของดิน เท่ากับ 1.117 kg/cm^2 ความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคดไอออน (Cation-exchange capacity: CEC) เท่ากับ 63.90 me/100g soil และสมบัติทางเคมี พบว่ามีปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (Organic matter : OM) เท่ากับ 30.49 mg/kg ปริมาณธาตุอาหารพืช ได้แก่ ไนโตรเจน (Nitrogen:

N) เท่ากับ 2.53 g/kg ฟอสฟอรัส (Phosphorus: P)เท่ากับ 1.20 g/kg โปรแตสเซียม (Potassium : K) เท่ากับ 38.52 g/kg ปริมาณโลหะหนักแคดเมียม (Cadmium :Cd) มีค่าเท่ากับ 89.35 mg/kg

นำตัวอย่างดินที่เก็บได้ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม แยกเศษพืช กรวด หิน ออกจากดินจากนั้นร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm ก่อนบรรจุดิน 50 kg ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 21 cm และสูง 79 cm เติมน้ำ 30 L และรักษาระดับน้ำผิวดินไว้ที่ 5 cm ออกแบบการทดลองโดยเปรียบเทียบกระถางที่มีการปลูกข้าว (5 ต้น ต่อ 1 กระถาง) ใน 4 สภาวะ คือ 1) ดินที่ใช้ปุ๋ยเคมี (P-CHEM) สูตร 16-20-0 ในอัตรา 20 kg/rai 2) ดินที่เติมสารชีวภัณฑ์ปริมาณ 300 ml/น้ำ 200 L/rai (P-A300) 3) ดินที่เติมสารชีวภัณฑ์ปริมาณ 500 ml น้ำ 200 L/rai (P-A500) และ 4) ดินธรรมชาติ (P-T) และการทดลองในกระถางที่ไม่ปลูกข้าว ใน 4 สภาวะ คือ 1) ดินที่ใช้ปุ๋ยเคมี (N-CHEM) 2) ดินที่เติมสารชีวภัณฑ์ปริมาณ 300 ml /น้ำ 200 L/rai (N-A300) 3) ดินที่เติมสารชีวภัณฑ์ปริมาณ 500 ml /น้ำ 200 L/rai (N-A500) และ 4) ดินธรรมชาติ (N-T)

2. <u>*การใช้สารชีวภัณฑ์*</u>

สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตด้วยกระบวนการที่ควบคุมการผลิต และจำหน่ายโดย บริษัทใบธง จำกัด เป็นน้ำหมักชีวภาพที่เตรียมจากจุลินทรีย์ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Achormobacter* sp., *Azoto bacter* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*. และ *Nitrobactor* sp. โดยมีความเข้มข้นของจุลินทรีย์ เท่ากับ 1.0×10^7 cell/gram (Office of Land Development Science, 2013)

3. <u>*การศึกษาผลของสารชีวภัณฑ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของแคดเมียมในดิน*</u>

ติดตามการเปลี่ยนแปลงของแคดเมียมในดินทุก 30 วัน โดยเก็บตัวอย่างดินเป็นระยะเวลา 4 เดือน นำตัวอย่างดินผึ่งในที่ร่มจนแห้ง บดและร่อนผ่านตะแกรง 100 meshes ชั่งดิน 1 g ย่อยด้วย aqua regia (ส่วนผสมระหว่าง HCl: HNO_3 : HNO_3 – $HClO_4$ (1:3:1 v/v)) (Yongbing *et al*., 2019) วิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมในดินด้วย Atomic Absorption Spectrometer (AAS) ที่ความยาวคลื่น 228.8 นาโนเมตร slit width 0.5 นาโนเมตร และ Flame type Air-acetylene จากนั้นรายงานข้อมูลตามระยะการเจริญของข้าว ได้แก่ ระยะการเจริญ (Vegetative Phase) ระยะตั้งท้อง (Reproductive Phase) ระยะเก็บเกี่ยว (Ripening Phase)

4. <u>*การศึกษาผลของสารชีวภัณฑ์ต่อการเจริญของข้าว*</u>

จากการทดลองในกระถางปลูกข้าวขาวมะลิ 105 (*Oryza sativa* L.) จำนวน 5 ต้นต่อ 1 กระถาง ดังรายละเอียดการออกแบบการทดลองที่อธิบายไว้ในข้อ 1 ติดตามบันทึกการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวประกอบกับบันทึกความยาวของราก และยอดข้าว ตามระยะการเจริญที่ระบุไว้ในข้อ 3

5. <u>*การศึกษาผลของสารชีวภัณฑ์ต่อการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าว*</u>

นำเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวได้ อบที่ 65 C° เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นแยกเปลือกข้าว และเมล็ดข้าวออกจากกัน บดและย่อยด้วย HNO_3 และ H_2O_2 วิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวด้วย Atomic Absorption Spectrometer (AAS) ที่ความยาวคลื่น 228.8 นาโนเมตร slit width : 0.5 นาโนเมตร และ Flame type: Air-acetylene (Xiaoyan *et al*., 2016)

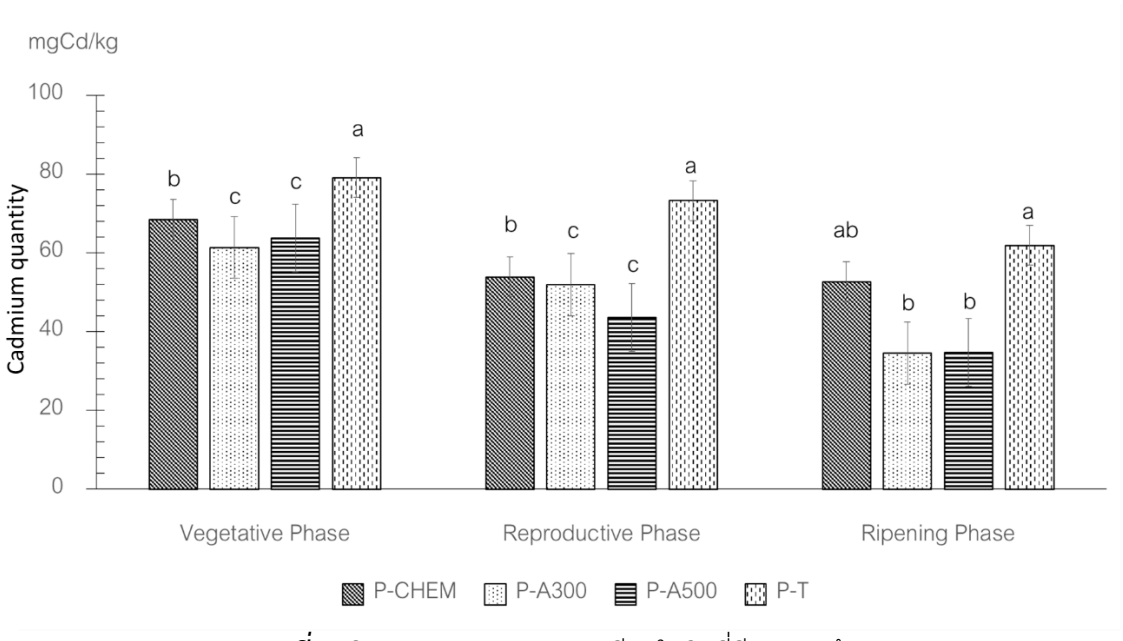
ผลการวิจัย

1. *ผลของสารชีวภัณฑ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของแคดเมียมในดิน*

ผลของสารชีวภัณฑ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของแคดเมียมในดิน พบว่าการทดลอง P-T มีปริมาณแคดเมียมในดินมากที่สุด ในระยะการเจริญ (Vegetative Phase) โดยมีค่าเท่ากับ 79.05 mg/kg ส่วนช่วงเวลาตั้งแต่ระยะข้าวตั้งท้อง (Reproductive Phase) จนถึงระยะเก็บเกี่ยว (Ripening Phase) เป็นระยะที่ดินมีการลดลงของแคดเมียมมากที่สุด โดยการทดลอง P-A500 และ P-A300 ลดลงจาก 63.81 mg/kg และ 61.37 mg/kg เป็น 43.53 และ 51.94 mg/kg คิดเป็นร้อยละ 33.49 และ 20.16 ตามลำดับ ในขณะที่ P-T และP-CHEM ลดลงจาก 79.05 mg/kg และ 68.44 mg/kg เป็น 73.24 และ 53.89 mg/kg คิดเป็นร้อยละ 15.47 และ 2.21 ดังภาพที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแคดเมียมในดินตั้งแต่เริ่มการเพาะปลูกจนถึงระยะการเก็บเกี่ยว (Ripening Phase) พบว่า P-A500 และP-A300 มีปริมาณแคดเมียมในดินลดลงร้อยละ 45.54 และ 43.71 ซึ่งลดลงมากกว่า P-T และP-CHEM ถึง 2 เท่า คิดเป็นร้อยละ 21.68 และ 22.99 ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดระยะการเพาะปลูก คือ 120 วัน พบปริมาณแคดเมียมใน P-A500 และP-A300 มีค่าเท่ากับ 34.55 และ34.75 mg/kg ซึ่งมีค่าอยู่ในมาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม โดยกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (ต้องไม่เกิน 37 mg/kg) ในขณะที่ P-T และP-CHEM มีค่าเท่ากับ 61.91 และ 52.70 mg/kg ที่มีค่าเกินมาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม

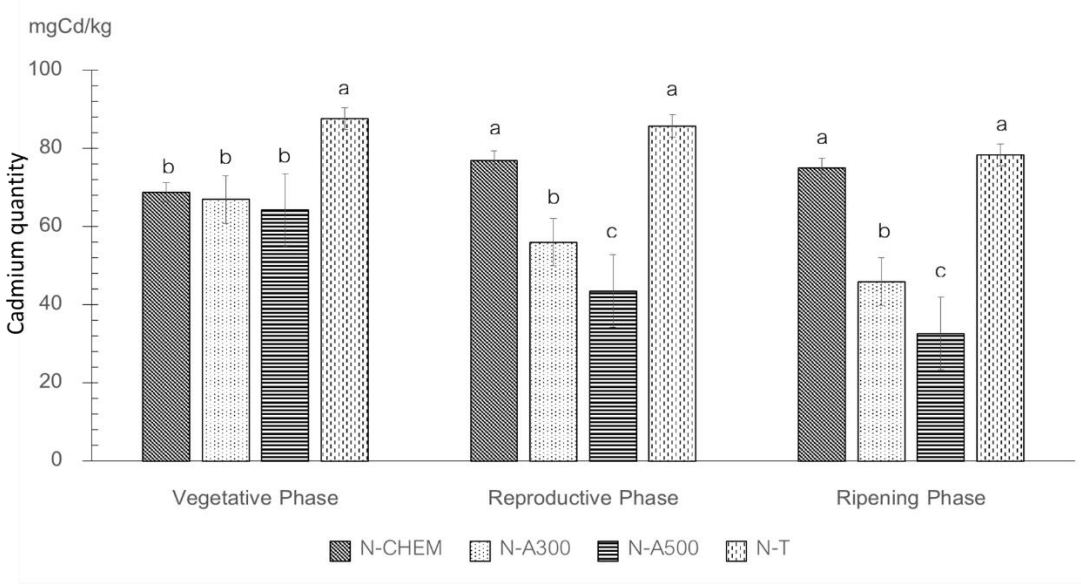
เมื่อพิจารณาถึงการสะสมของแคดเมียมในดินการทดลองที่ไม่มีการปลูกข้าวดังภาพที่ 2 พบว่าขณะเริ่มการเพาะปลูกหรือระยะ Vegetative Phase มีปริมาณแคดเมียมอยู่ในช่วง 64-88 mg/kg โดย N-A500, N-A300 และN-T มีแนวโน้มลดลง ซึ่ง N -T มีปริมาณแคดเมียมมากที่สุด คือ 87.62 mg/kg แต่ N-CHEM ในระยะ Reproductive Phase มีปริมาณแคดเมียมในดินเท่ากับ 76.89 mg/kg โดยมีปริมาณแคดเมียมเพิ่มขึ้นสวนทางกับหน่วยการทดลองทั้ง 3 สาเหตุเกิดจาก N-CHEM เป็นการใช้ปุ๋ยเคมีที่ไม่ได้ปลูกข้าวในการทดลองดังกล่าวจึงทำให้ไม่เกิดการใช้ปุ๋ยโดยต้นข้าวและเกิดการสะสมของปุ๋ยตั้งแต่ระยะ Vegetative Phase เป็นผลให้ปริมาณแคดเมียมเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Xiao-qing *et al*. (2018) กล่าวว่าการเติมปุ๋ยฟอสเฟตจะเพิ่มปริมาณแคดเมียมในดินมากถึง 80-87% และความเข้มข้นของแคดเมียมในการทดลองที่มีการเติมปุ๋ยมีค่าเพิ่มขึ้น 94.8 และ276 μg/L ในเวลา 60 และ90 วัน ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามระหว่าง Reproductive Phase และRipening Phase เป็นระยะที่ดินมีการลดลงของแคดเมียมมากที่สุดเช่นเดียวกับชุดทดลองที่มีการปลูกข้าว โดย N-A500 และN-A300 มีปริมาณแคดเมียมในดินเท่ากับ 56.01 mg/kg และ43.49 mg/kg คิดเป็นร้อยละ 33.36 และ 21.89 ในขณะที่ N-T ลดลงเพียงร้อยละ 9.47 ซึ่งมีปริมาณแคดเมียมในดินเท่ากับ 80.79 mg/kg เปรียบเทียบปริมาณแคดเมียมในดินขณะเริ่มการเพาะปลูกจนถึงระยะการเก็บเกี่ยว (Ripening Phase) นั้น พบว่า N-A500 และ N-A300 ลดลงร้อยละ 49.24 และ 31.40 ซึ่งหน่วยการทดลอง N -T ลดลงเพียงร้อยละ 21.68 เมื่อสิ้นสุดระยะการเพาะปลูก 120 วัน พบปริมาณแคดเมียมใน N-A500 มีค่าเท่ากับ 32.61 mg/kg ซึ่งมีค่าอยู่ในมาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม โดยกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (ต้องไม่เกิน 37 mg/kg) ในขณะที่ N-A300, N-T และ N-CHEM มีค่าเท่ากับ 45.95, 74.97 และ 78.36 mg/kg ตามลำดับ ที่มีค่าเกินมาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม



ภาพที่ 1 ปริมาณการสะสมของแคดเมียมในดินที่มีการปลูกข้าว

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Duncan' multiple range ที่ P<0.05

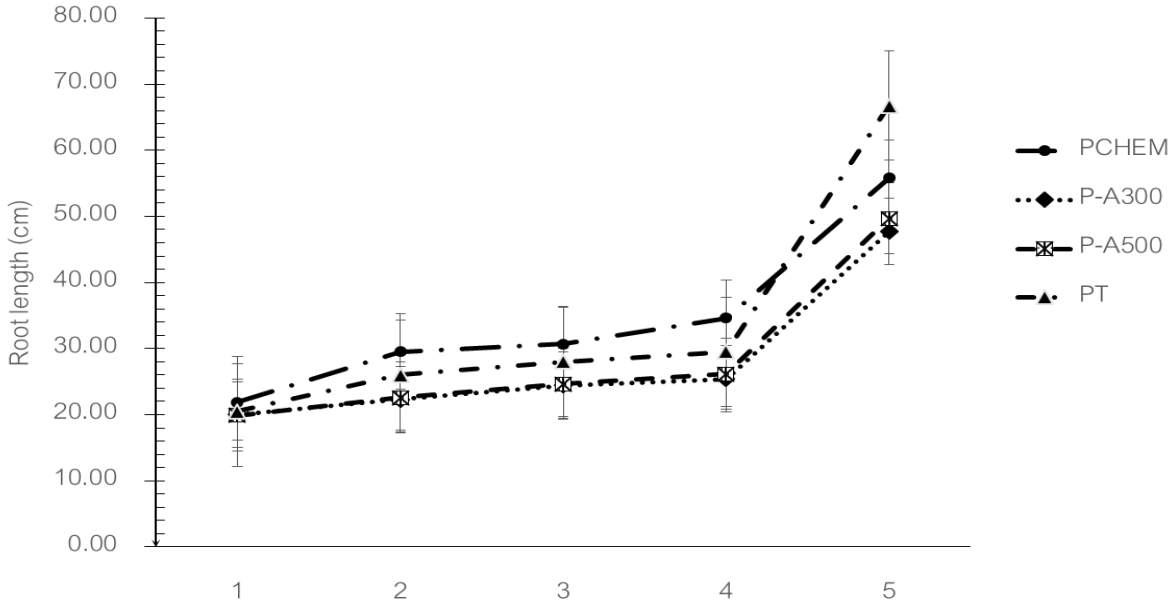


ภาพที่ 2 ปริมาณการสะสมของแคดเมียมในดินที่ไม่มีการปลูกข้าว

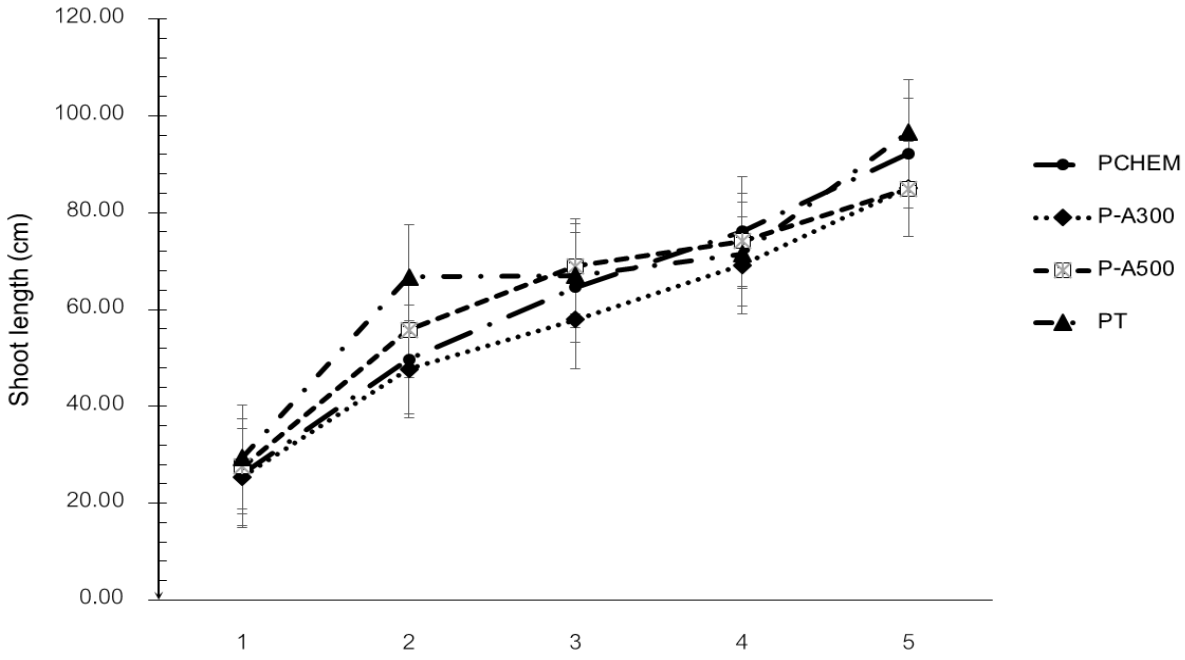
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Duncan' multiple range ที่ P<0.05

2. *ผลของสารชีวภัณฑ์ต่อการเจริญของข้าว*

ผลของสารชีวภัณฑ์ต่อการเจริญของข้าว แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การเจริญของราก และการเจริญของยอด ผลจากการทดลอง พบว่าการเจริญของรากในการทดลอง P-A300 และP-A500 น้อยกว่าการเจริญของรากในการทดลอง P-CHEM และP-T โดยในเดือนที่ 2-4 อยู่ในระยะ Vegetative Phase ถึง Reproductive Phase นั้น P-A300 และP-A500 มีความยาวรากเท่ากับ 25.42 และ 26.17 cm ซึ่งมีความยาวรากสั้นกว่า P-T และP–CHEM ที่มีความยาวรากเท่ากับ 29.50 cm และ 34.58 cm เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยว (Ripening Phase) P-A300 และP-A500 มีความยาวราก เท่ากับ 47.67 และ 49.70 cm ดังภาพที่ 3 เช่นเดียวกับการเจริญของยอดที่ระหว่างการเจริญในระยะ Reproductive Phase จนถึงระยะ Ripening Phase สามารถเจริญได้เต็มที่แต่มีความยาวของยอดในการทดลอง P-A300 และP-A500 เท่ากับ 85.17 cm และ 84.92 cm ซึ่งมีความยาวของยอดต่ำกว่า P-T และP-CHEM ที่มีความยาวของยอดเท่ากับ 96.75 cm และ91.25 cm ดังภาพที่ 4 เพราะจุลินทรีย์ในสารชีวภัณฑ์ไปยับยั้งการเจริญของราก และสามารถดูดซับแคดเมียมเข้าสู่เซลล์โดย binding site ที่ผิวเซลล์ ดังนั้นขณะที่จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนจึงทำให้สามารถดูดซับแคดเมียมได้เพิ่มขึ้น ดังรายงานการวิจัยของ Xiaoyan Lin *et al*. (2016) ศึกษาผลของแบคทีเรียต่อการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวพบว่า การใช้เชื้อผสมของแบคทีเรียสามชนิดส่งผลต่อการเจริญของราก โดยแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ไปยับยั้งการเจริญและไปแย่งจับกับแคดไอออนของแคดเมียมที่บริเวณรากพืชเป็นผลให้รากสั้นกว่าการทดลองที่ไม่มีการใช้สารชีวภัณฑ์



ภาพที่ 3 การเจริญของราก



ภาพที่ 4 การเจริญของยอด

3. <u>ผลของสารชีวภัณฑ์ต่อการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าว</u>

ผลของสารชีวภัณฑ์ในการลดการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าว สามารถอธิบายได้ ใน 2 ส่วน คือ แคดเมียมในเปลือกข้าว และแคดเมียมในเมล็ดข้าว พบว่าการสะสมของแคดเมียมในเปลือกข้าวจะมีค่าน้อยกว่าการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าว โดยเฉพาะ P-A300 และP-A500 มีปริมาณแคดเมียมในเปลือกข้าวเท่ากับ 0.09 และ 0.07 mg/kg ปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวเท่ากับ 0.29 และ 0.21 mg/kg ซึ่ง P-CHEM มีการสะสมของแคดเมียมมากที่สุด โดยพบปริมาณแคดเมียมในเปลือกข้าวเท่ากับ 0.12 mg/kg และปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวเท่ากับ 0.54 mg/kg ดังตารางที่ 1

เมื่อพิจารณาการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าว bioaccumulation factor (BAF) แต่ละหน่วยการทดลองซึ่งค่า BAF จะบอกถึงความสามารถของข้าวในการเคลื่อนย้ายแคดเมียมเข้ามาสะสมในเมล็ดข้าวได้มากน้อย เพียงใดโดยข้าวที่มีการสะสมแคดเมียมได้มากจะต้องมีค่า BAF มากกว่า 1 สามารถคำนวณได้จาก (Prattana, *et al.,* 2019)

$$BAF = \frac{\text{Cd concentration in grain}}{\text{Cd concentration in soil}} \quad (1)$$

โดยการทดลองที่ใช้ปุ๋ยเคมี (P-CHEM) พบปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวมากที่สุด และมีค่า BAF เท่ากับ 9.64×10^{-3} รองลงมาได้แก่ P-T , P-A300 และP-A500 มีค่าเท่ากับ 6.19×10^{-3}, 6.07×10^{-3} และ 4.39×10^{-3} ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวค่า BAF มีค่าน้อยกว่า 1 หมายความว่า ผลผลิตข้าวที่ได้จากการทดลอง ข้าวที่ปลูกมีการเคลื่อนย้ายแคดเมียมที่ปนเปื้อนในดินมาสะสมในเมล็ดข้าวต่ำกว่า 1 ซึ่งสอดคล้องกับ Saichon and Thanawan (2013) ได้ศึกษาการสะสม

การกระจายของแคดเมียม และตะกั่วในข้าวสาลีที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนโลหะหนัก พบว่าข้าวสาลีที่ปลูกในดินปนเปื้อนแคดเมียมและตะกั่วมีค่า BAF น้อยกว่า 1

ตารางที่ 1 ปริมาณของแคดเมียมในผลผลิตข้าว

การทดลอง	**ปริมาณแคดเมียม** (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)		
	ข้าวเปลือก	**ข้าวสาร**	**BAF**
P-CHEM	0.12^{a}	0.54^{a}	9.64×10^{-3}
P-A300	0.09^{c}	0.29^{c}	6.07×10^{-3}
P-A500	0.07^{c}	0.21^{cd}	4.39×10^{-3}
PT	0.13^{b}	0.35^{b}	6.19×10^{-3}
F-test	**	**	**
C.V.%	0.31	0.30	0.51

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Duncan' multiple range ที่ $P<0.05$

วิจารณ์ผลการวิจัย

ผลจากการทดลองพบว่าหน่วยการทดลองที่ไม่มีการปลูกข้าวมีปริมาณแคดเมียมในดิน ระหว่าง 64-88 mg/kg โดย N -T มีปริมาณแคดเมียมมากที่สุด คือ 87.62 mg/kg ส่วน N-A500, N-A300 และN-T มีแนวโน้มลดลง แต่ N-CHEM ในระยะ Reproductive Phase ซึ่งมีปริมาณแคดเมียมเท่ากับ 76.89 mg/kg มีปริมาณแคดเมียมเพิ่มขึ้น สาเหตุเกิดจาก N-CHEM มีการเติมปุ๋ยเคมีที่ใช้สำหรับการเพาะปลูกแต่ไม่มีการปลูกข้าวจึงเกิดการสะสมของแคดเมียมในดินทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโลหะหนักกับสารอินทรีย์ในดิน โดยแอนไอออนของสารอินทรีย์ดูดซับแคดไอออนของโลหะหนักและแอนไอออนของสารอนินทรีย์สร้างสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนคู่กับโลหะ (B.Seshadri *et al*,2016) เกิดการสะสมของปุ๋ยตั้งแต่ระยะ Vegetative Phase ปริมาณแคดเมียมในดินจึงเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Xiao-qing *et al*. (2018) กล่าวว่าการเติมปุ๋ยฟอสเฟตจะเพิ่มปริมาณแคดเมียมในดินมากถึงร้อยละ 80-87 และความเข้มข้นของแคดเมียมในการทดลองที่มีการเติมปุ๋ยมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 94.8 μg/L และ 276 μg/L ในระยะเวลา 60 และ 90 วัน ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบระหว่างการทดลองที่มีการปลูกข้าวและการทดลองที่ไม่มีการปลูกข้าว พบว่าการใช้สารชีวภัณฑ์สามารถลดปริมาณแคดเมียมในดินได้ร้อยละ 20- 30 เช่นเดียวกันในการทดลองดินธรรมชาติ (N-T) มีปริมาณแคดเมียมลดลงเพียงเล็กน้อย แต่จะลดลงมากถึงร้อยละ 35 ในการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์ในปริมาณ 300 ml/น้ำ 200 L/rai (N-A300) และการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์ในปริมาณ 500 ml/น้ำ 200 L/rai (N-A500) เป็นผลมาจากการใช้เชื้อผสมของสารชีวภัณฑ์ซึ่งมีจุลินทรีย์หลายชนิดทำให้สามารถเพิ่ม binding sites บนพื้นผิวของเซลล์ได้มากขึ้นสามารถจับกับแคดไอออนของแคดเมียมได้ดีขึ้น (Pugazhendhi *et al*.,2014) เป็นผลให้เมื่อสิ้นสุดระยะการเพาะปลูก คือ 120 วัน ปริมาณแคดเมียมใน P-A500 และ

P-A300 มีค่าเท่ากับ 34.55 และ34.75 mg/kg ซึ่งมีค่าอยู่ในมาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม โดยกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (ต้องไม่เกิน 37 mg/kg) ทั้งนี้พบว่าปริมาณแคดเมียมในดินลดลงตามระยะการเจริญเติบโตของข้าว คือ ระยะ Reproductive Phase และRipening Phase เป็นระยะที่ข้าวมีความต้องการธาตุอาหารของข้าวเพื่อการเจริญเติบโต และการสร้างผลผลิตสูงกว่าระยะอื่น

เมื่อพิจารณาด้านการเจริญของข้าวพบว่าความยาวของราก และยอดมีความสัมพันธ์กับปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวโดยการทดลอง P-A300 และP-A500 มีความยาวของรากสั้นกว่าการทดลองอื่นส่งผลให้การสะสมของแคดเมียมในข้าวน้อยลงด้วยซึ่งมีค่าน้อยกว่า ถึง 2 เท่า เป็นผลมาจากสารชีวภัณฑ์ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถลด การดูดซึมแคดเมียมบริเวณรากข้าวแต่สะสมที่ผนังรากข้าวจึงทำให้รากข้าวเจริญไม่เต็มที่ ดังรายงานวิจัยจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติดังกล่าวคือ reducing bacteria (IRB) ได้แก่ Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes, Actinobactria และ Euryarchaeota สามารถลดการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวได้มากกว่าร้อยละ 1 เกิดจากจุลินทรีย์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของดินทำให้ความสามารถในการเคลื่อนที่ของแคดเมียมลดลง และสะสมที่ผนังเซลล์ของรากข้าว รากจึงเจริญไม่เต็มที่ทำให้แคดเมียมเคลื่อนที่ไปยังเมล็ดข้าวได้น้อยลง (Quan Zhang *et al*.,2018) เป็นผลให้ปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวของการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์มีปริมาณลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ คือ P-CHEM และ P-T ซึ่งค่าเฉลี่ยปริมาณแคดเมียมในเมล็ดข้าวที่ปลูกโดย P-CHEM มีค่าเท่ากับ 0.54 mg/kg (เทียบกับการปลูกแบบปกติ) โดยมีค่าใกล้เคียงกับรายงานการวิจัยผลจากการปลูกข้าวในดินแม่ตาว ที่แสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของแคดเมียมในเมล็ดข้าว 0.04 mg/kg ถึง 1.75 mg/kg โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.59 mg/kg (Anongnat *et al*.,2012) เช่นเดียวกับผลการศึกษาปริมาณแคดเมียมในข้าวพื้นที่ปลูกข้าวพันธุ์ขาวมะลิ 105 ของเกษตรกรที่ใช้น้ำจากลุ่มน้ำแม่ตาว บริเวณตำบลแม่ตาว ตำบลพระธาตุผาแดง อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก พบปริมาณแคดเมียมในข้าวสารอยู่ในช่วง 7.15 mg/kg ถึง 14.24 mg/kg (Thanapat *et al*., 2014) มีค่ามากกว่ามาตรฐาน Codex Committee on Food Additives and Contaminant (CCFAC) ที่กำหนดไว้ไม่เกิน 0.20 mg/kg ขณะที่การเติมสารชีวภัณฑ์ทำให้การสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวลดลงมีค่าใกล้เคียงมาตรฐาน Codex มากที่สุด คือ 0.21 mg/kg

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาสารชีวภัณฑ์ต่อการสะสมของแคดเมียมในดิน พบว่าปริมาณแคดเมียมในดินระยะการเจริญ (Vegetative Phase) การทดลอง P-T มีปริมาณมากที่สุด คือ 79.05 mg/kg เมื่อสิ้นสุดระยะการเพาะปลูก 120 วัน พบปริมาณแคดเมียมในดินของการทดลอง P-A500 และP-A300 มีค่าเท่ากับ 34.55 และ34.75 mg/kg ซึ่งมีค่าอยู่ในมาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม โดยกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (ต้องไม่เกิน 37 mg/kg) ในขณะที่ P-T และP-CHEM มีค่าเท่ากับ 61.91 และ52.70 mg/kg ที่มีค่าเกินมาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม

การใช้สารชีวภัณฑ์ต่อการเจริญของข้าวในการทดลอง P-A300 และP-A500 มีอัตราการเจริญของรากเท่ากับ 47.67 และ 49.70 cm ส่วนความยาวของยอดมีค่าเท่ากับ 85.17 และ84.92 cm ซึ่งมีความยาวของยอดต่ำกว่า P-T และP-CHEM ที่มีความยาวเท่ากับ 96.75 และ 92.25 cm

สารชีวภัณฑ์ต่อการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ เปลือกข้าวและเมล็ดข้าว ผลจากการทดลองพบว่า P-A300 และP-A500 มีปริมาณแคดเมียมในเปลือกข้าวอยู่ในช่วง 0.07-0.09 mg/kg และในเมล็ดข้าว 0.21-0.29 mg/kg ตามลำดับ โดย P-CHEM มีปริมาณแคดเมียมสะสมในเมล็ดข้าวมากที่สุดเท่ากับ 0.54 mg/kg และปริมาณแคดเมียมสะสมในเปลือกข้าว เท่ากับ 0.12 mg/kg ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าสารชีวภัณฑ์สามารถลดการสะสมของแคดเมียมในเมล็ดข้าวได้เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ใช้สารชีวภัณฑ์ คือ P-CHEM และP-T อย่างไรก็ตามยังคงมีค่ามากกว่ามาตรฐาน Codex Committee on Food Additives and Contaminant (CCFAC) ที่กำหนดไว้ที่ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาและประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่าและฟื้นฟูดินจากมลพิษอย่างมีแบบแผน เพื่อสร้างความมั่นคงเกษตรอินทรีย์แบบก้าวกระโดด ภายใน 1 ปี ; โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ภายใต้การดำเนินการของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และบริษัทใบธง จำกัด

เอกสารอ้างอิง

Abdus-Salam,N.,Bello, M. (2015).Kinetics, thermodynamics and competitive adsorption of lead and zinc ions onto termite mound. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *12*, 3417–3426.

Anongnat Sriprachote , Pornthiwa Kanyawongha , Kumiko Ochiai & Toru Matoh. (2012). Current situation of cadmium-polluted paddy soil, rice and soybean in the Mae Sot District, Tak Province, *Thailand. Soil Science and Plant Nutrition*, *58*, 349—359.

Baba H, Tsuneyama K, Yazaki M, Nagata K, Minamisaka T, Tsuda T, Nomoto K, Hayashi S, Miwa S, Nakajima T, Nakanishi Y, Aoshima K, Imura J. (2013).The liver in itai-itai disease (chronic cadmium poisoning): pathological features and metallothionein expression. *Modern Pathology*, *26*, 1228–1234.

B.Seshadri, N.S. Bolan, H. Wijesekara, A. Kunhikrishnan, R. Thangarajan, F.Qi, R.Matheyarasu,C.Rocco, K. Mbene, R.Naidu. (2016).Phosphorus-cadmium interactions in Paddy soils.*Geoderma*, *270*, 43-59.

Channa Jayasumana , Sarath Gunatilake , and Priyantha Senanayake. (2014) Glyphosate Hard Water and Nephrotoxic Metals: Are They the Culprits Behind the Epidemic of Chronic Kidney Disease of Unknown Etiology in Sri Lanka. *Int. J. Environ. Res. Public Health, 11*, 2125-2147.

D. G. Cooper, C. R. Macdonald, S. J. B. Duff, and N. Kosaric. (1981). Enhanced Production of Surfactin from Bacillus subtilis by Continuous Product Removal and Metal Cation Additions. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, *42,* 408-412.

Gaoxiang Huang, Changfeng Ding, Zhigao Zhou, Taolin Zhang, Xingxiang Wang. (2019).A tillering application of zinc fertilizer based on basal stabilization reduces Cd accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Ecotoxicology and Environmental safety, 167*, 338-344.

Prattana Phuekvilai, Yotsawate Sirichamorn and Nimnara Yookongkaew. (2018). Arsenic Accumulation of Dominant Herbaceous Plants Growing around Gold Mine Areas. *Journal of Science and Technology*, *16*, 953-967.

Pugazhendhi Arivalagan, Dhivya Singaraj, Valsala Haridass,Thamaraiselvi Kaliannan. (2014). Removal of cadmium from aqueous solution by batch studies using *Bacillus cereus*. Ecological Engineering. *71*, 728-735.

Quan Zhang, Li Zhang, Tongtong Liu, Bo Liu, Daoyou Huang, Qihong Zhu, Chao Xu. (2018). The influence of liming on cadmium accumulation in rice grains via iron-reducing bacteria. *Science of the Total Environment, 645,* 109-118.

Robert D. Perry and Simon Silver. (1990). Cadmium and manganese transport in Staphylococcus aureus membrane vesicles. *Journal of Bacteriology*, *150*, 973-976.

Saichon Sookyannakit and Thanawan Phanichpat. (2013). Comparison of Growth and Lead Accumulation of Sunflower and Sorghum in Lead Contaminated Soil. *KKU Science Journal*, *41*, 996-1007.

Thanapat Pluemphuak, Thongchai Mala and Arunsiri Kumlung. (2014). Cadmium Contents in Rice Grown in Cd Contaminated Paddy Fields in Mae Tao Floodplains Tak Province Thailand. *Journal of Science and Technology*, *3*, 26-38.

Xiaoyan Lin, Renxiang Mou, Zhaoyun Cao, Ping Xu, Xiaoliang Wu, Zhiwei Zhu, Mingxue Chen. (2016). Characterization of cadmium-resistant bacteria and their potential for reducing accumulation of cadmium in rice grains. *Science of the Total Environment, 569,* 97–104.

Xiao-qing Han, Xi-yuan Xiao, Zhao-hui Guo, Ye-hua Xie, Hui-wen Zhu, Chi Peng and Yu-qin Liang.(2018). Release of cadmium in contaminated paddy soil amended with NPK fertilizer and lime under water management. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *159*, 38-45.

Yongbing Jiang, Shimeng Jiang, Zhangbao Li,Xinpei Yan, Zhixiong Qin, Renzhi Huang.(2019). Field scale remediation of Cd and Pb contaminated paddy soil using three mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Ecological Engineering, 129,* 38-44.

Office of Land Development Science. (2013). Standard types of agricultural product to Certified by the Land Development Department. Retrieved April 3, 2019, from https://www.ldd.go.th/link_q/standard/4.htm.

Office of Occupational and Environmental Diseases. (2014). Knowledge of disease. Retrieved April, 3, 2019, from http://envocc.ddc.moph.go.th