บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารกำจัดศัตรูพืช

จากการให้นิยามโดย Food and Agriculture Organization (FAO) สารกำจัดศัตรูพืช (pesticides) หมายถึง สารเคมี หรือส่วนผสมของสารเคมีใดๆ ที่มีจุดมุ่งหมายในการป้องกัน ทำลาย หรือควบคุมศัตรูพืช รวมถึงพาหะที่นำโรคมาสู่คน สัตว์ และพืช รวมทั้งใช้กำจัดสัตว์ที่ไม่พึงประสงค์ซึ่งเป็นสาเหตุของความเสียหาย หรือการรบกวนในระหว่างขบวนการผลิต การแปรรูป การเก็บรักษา การขนส่ง และการจำหน่ายอาหารผลิตผลทางการเกษตร ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากไม้ อาหารสัตว์ หรือหมายถึง สารเคมีที่ใช้ในสัตว์เพื่อการกำจัดแมลง เห็บ หมัด ไร หรือศัตรูชนิดอื่นๆ ที่อยู่บนตัวสัตว์เหล่านั้น นอกจากนี้ สารกำจัดศัตรูพืชยังรวมถึง สารเคมีใดๆ ที่มีจุดมุ่งหมายในการใช้เพื่อเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารทำให้ใบร่วง สารทำให้ใบแห้ง สารทำให้ผลร่วง หรือสารที่ใช้เพื่อป้องกันผลร่วงก่อนการเจริญเติบโตเต็มที่ รวมถึงสารที่ใช้ในพืชผลก่อนหรือหลังเก็บเกี่ยวเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพขณะเก็บรักษาหรือขนส่ง (World Health Organization, 1990)

สารกำจัดศัตรูพืชมีหลายชนิด ขึ้นอยู่กับลักษณะการแบ่งดังนี้

1. แบ่งโดยสภาพการออกฤทธิ์ภายใน และภายนอกเซลล์พืช จะมีได้ 2 ชนิด คือ

1) สารกำจัดศัตรูพืชประเภทสัมผัสตาย (contact pesticides) หรือประเภทไม่ดูดซึม (non-systemic pesticides) สารประเภทนี้จะฉาบเคลือบอยู่ที่ผิวภายนอกเซลล์พืช ออกฤทธิ์โดยการสัมผัสกับกลุ่มเป้าหมาย

2) สารกำจัดศัตรูพืชประเภทดูดซึม (systemic pesticides) ออกฤทธิ์โดยการดูดซึมเข้าสู่เซลล์พืช สารจะถูกดูดซึมเข้าไปในเซลล์พืช และมีกลไกในการออกฤทธิ์ทำลายหลังจากนั้น

2. แบ่งโดยอาศัยกลุ่มเป้าหมาย ได้แก่

1) สารกำจัดแมลง (insecticides) เป็นกลุ่มสารพิษที่ใช้สำหรับป้องกัน และกำจัดแมลงศัตรูพืช รวมทั้งแมลงในบ้านเรือน

2) สารกำจัดเชื้อรา (fungicides) เป็นกลุ่มสารประกอบที่เป็นพิษต่อเชื้อราของเมล็ดพืช ผัก และผลไม้ ตลอดจนสารกำจัดราเพื่อถนอมเนื้อไม้

3) สารกำจัดวัชพืช (herbicides) เป็นกลุ่มสารพิษที่มีความสามารถในการกำจัด ทำลาย และก่อให้เกิดความเสียหายอย่างร้ายแรงต่อวัชพืช ตลอดจนยับยั้งการงอก และการเจริญเติบโตของวัชพืช

4) สารกำจัดสัตว์ฟันแทะ (rodenticides) เป็นกลุ่มสารพิษที่ใช้กำจัดสัตว์ฟันแทะ เช่น หนู กระรอก กระต่าย ค้างคาว เป็นต้น

5) สารกำจัดไส้เดือนฝอย (nematocides) เป็นกลุ่มสารพิษที่ใช้ในการกำจัดไส้เดือนฝอยหนอนทำลายรากพืช รวมทั้งสัตว์หน้าดินจำพวกเดียวกัน

3. แบ่งโดยโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของสาร การแบ่งในลักษณะนี้ กลุ่มที่สำคัญ และมีใช้กันมาก ได้แก่

1) กลุ่มคลอรีนอินทรีย์ (organochlorines)
2) กลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์ (organophosphates)
3) กลุ่มกรดคลอโรฟีนอกซี (chlorophenoxy acid)
4) กลุ่มคาร์บาเมต (carbamates)
5) กลุ่มไตรอะซีน (triazines)
6) กลุ่มแทนที่ยูเรีย (substituted urea) (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

2.2 สารกำจัดแมลงศัตรูพืช

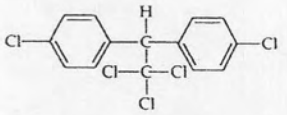
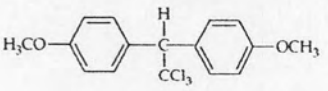
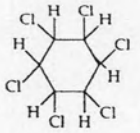
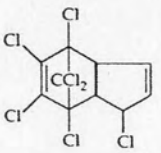
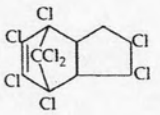
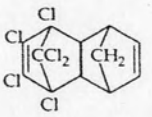
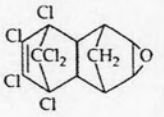
สารกำจัดแมลงศัตรูพืช (insecticides) มีคุณสมบัติในการป้องกัน และกำจัดแมลง โดยสารกำจัดแมลงทั้งหมดที่ใช้ในปัจจุบัน เป็นสารที่ก่อให้เกิดพิษกับระบบประสาท โดยจะทำลายระบบ ประสาทส่วนกลางของแมลงเป้าหมาย ทั้งนี้ สามารถจำแนกตามลักษณะทางเคมีที่สำคัญได้ 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มคลอรีนอินทรีย์ (organochlorines) สารเคมีกลุ่มนี้ ประกอบด้วยกลุ่มย่อย 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มดีดีที กลุ่มไอโซเมอร์ของเบนซินเฮกซาคลอไรด์ (BHC) และกลุ่มสารประกอบไซโคลไดอีน สารในกลุ่มนี้ใช้กำจัดแมลงได้ในวงกว้าง (broad-spectrum) มีความคงทน (persistence) ในดินและสภาพแวดล้อมได้นานมาก ทำให้เป็นพิษต่อนก และปลาที่กินแมลง โดยพิษจะสะสมในนกและปลามากขึ้นจนถึงจุดเป็นพิษต่อคนที่บริโภคสัตว์เหล่านี้ได้

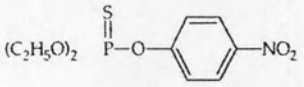
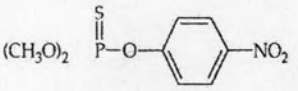
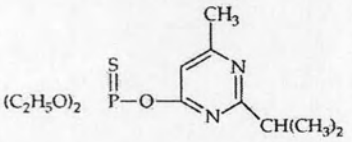
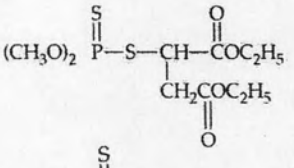
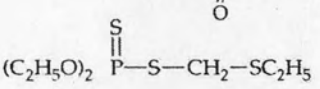
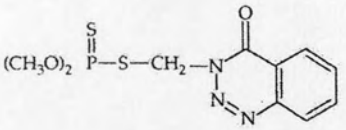
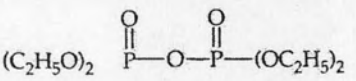
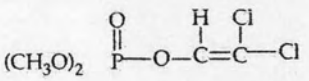
2. กลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์ (organophosphates) สารกลุ่มนี้จัดเป็นกลุ่มที่เป็นพิษที่สุดต่อทั้งแมลงและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่สลายตัวได้เร็วกว่ากลุ่มคลอรีนอินทรีย์ เริ่มได้รับความนิยมหลังจากที่แมลงเริ่มดื้อต่อสารดีดีที และสารอื่นในกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ โดยกลุ่มย่อยที่ได้รับความนิยมอย่างสูงได้แก่ กลุ่มย่อยฟอสฟอโรไทโอเอต (phosphorothioate)

3. กลุ่มคาร์บาเมต (carbamates) สารกลุ่มนี้ เป็นอนุพันธ์ของกรดคาร์บามิก เกิดขึ้นหลังกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ และกลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์ ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในปัจจุบัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากมีพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำกว่ากลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์มาก โดยที่ความเป็นพิษของสารในกลุ่มนี้ ไม่สะสมในสัตว์ และมีผลตกค้างในดินต่ำ

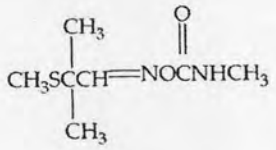
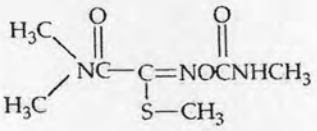
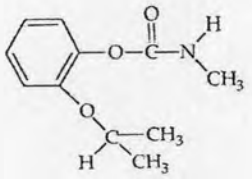
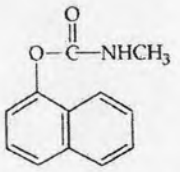
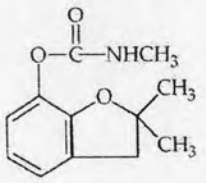
ตารางที่ 2.1 สารกำจัดแมลงบางชนิดในกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
1. DDT analogues	
1) DDT	
2) Methoxychlor	
2. Benzene hexachloride isomers	
1) Lindane or BHC	
3. Cyclodiene compounds	
1) Heptachlor	
2) Chlordane	
3) Aldrin	
4) Dieldrin	

ตารางที่ 2.2 สารกำจัดแมลงบางชนิดในกลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์ (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
Parathion	
Methyl parathion	
Diazinon	
Malathion	
Phorate	
Methyl azinophos	
TEPP	
DDVP	

ตารางที่ 2.3 สารกำจัดแมลงบางชนิดในกลุ่มคาร์บาเมต (ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

ชื่อการค้า	สูตรโครงสร้าง
1. Oxime carbamates	
1) Aldicarb (Temik)	
2) Oxamyl (Vydate)	
2. *N*-methylcarbamates	
1) Arprocarb (Baygon)	
2) Carbaryl (Sevin)	
3) Carbofuran (Furadan)	

นอกจากสารกำจัดแมลง 3 กลุ่มสำคัญดังกล่าว ยังมีสารกำจัดแมลงประเภทไพรีทรอยด์ (pyrethroid insecticides) ซึ่งสังเคราะห์เลียนแบบโครงสร้างของสาร Pyrethrin ที่สกัดจากพืช pyrethrum หรือ chrysanthemum flower สารนี้ถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นครั้งแรกในปี 1980 มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทของแมลง โดยไปรบกวนการส่งกระแสประสาท ตัวอย่างสารกำจัดแมลงในกลุ่มนี้คือ Permethrin และ Cypermethrin เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารกำจัดแมลงจากพืช (botanical insecticides) ซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากพืช โดยมีฤทธิ์ร้ายแรงต่อแมลง ตัวอย่างสารกำจัดแมลงในกลุ่มนี้ ได้แก่ Nicotine และ Rotenoids เป็นต้น (Klaassen, Amdur และ Doull, 1996)

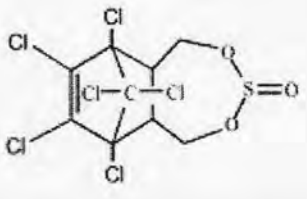
สารกำจัดแมลงศัตรูพืชเหล่านี้อาจใส่ลงไปในดินโดยตรง เพื่อฆ่าแมลงที่อาศัยในดิน หรือการฉีดพ่นให้แก่พืช แต่สุดท้ายก็ย่อมตกลงสู่ดิน ในการใส่ลงดินนั้นมีอยู่หลายวิธี เช่น หว่านแล้วไถกลบ วิธีนี้อาจมีการใส่ด้วยอัตราที่มากเกินความจำเป็น ทำให้มีผลต่อกลุ่มนอกเป้าหมายได้มาก ในบางกรณีใช้คลุกเมล็ดพืชหรือใส่เฉพาะบริเวณที่มีแมลงระบาด นอกจากนี้ อาจให้ในรูปผิวหน้าเม็ดที่ละลายช้า (inert granule) หรือจากแคบซูลขนาดเล็ก (microcapsule) เป็นต้น ทั้งนี้สารกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตรกลุ่มที่มีการตกค้างในสิ่งแวดล้อมยาวนานที่สุด (2 – 30 ปี) คือ คลอรีนอินทรีย์ ซึ่งเป็นกลุ่มของสารกำจัดแมลงที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์แบบเฉียบพลัน หมายถึง การได้รับสารพิษในระยะเวลาสั้นประมาณน้อยกว่า หรือในเวลา 24 ชั่วโมง โดยการได้รับเพียงครั้งเดียว หรือหลายครั้ง แล้วแสดงอาการเป็นพิษให้เห็นภายในเวลา 2 – 3 วันต่อมา (ยงยุทธ โอสถสภา และคณะ, 2541; ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, 2545)

2.3 เอ็นโดซัลแฟน

เอ็นโดซัลแฟน (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiopin-3-oxide) เป็นหนึ่งในสารกำจัดแมลงกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ ประเภทไม่ดูดซึม ในกลุ่มย่อยของสารประกอบของไซโคลไดอีน (cyclodiene compound) ที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชได้ในวงกว้าง ถูกผลิตขึ้นครั้งแรกในยุคปี ค.ศ.1950 (Maier-Bode, 1968) โดยบริษัท Hoechst AG ประเทศเยอรมนี ส่วนในสหรัฐอเมริกาถูกผลิตขึ้นในปี ค.ศ. 1974 โดยบริษัท FMC Corporation ซึ่งบริษัทผู้ผลิตที่มีความสำคัญมากที่สุดก่อนที่สารนี้จะถูกประกาศห้ามใช้คือ บริษัท AgeEvo โดยผลิตสารนี้ขึ้นเพื่อนำมาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืช แมลงในบ้านเรือน รวมทั้งเพื่อรักษาเนื้อไม้ไม่ให้มอดทำลาย (The British Crop Protection Council, 2001)

2.3.1 สมบัติทางกายภาพและเคมี

1) โครงสร้างทางเคมี:



ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของเอ็นโดซัลแฟน (International Programme on Chemical Safety, 1984)

2) สูตรโมเลกุล: $C_9H_6Cl_6O_3S$

3) น้ำหนักโมเลกุล: 406.96

4) องค์ประกอบทางเคมี: เอ็นโดซัลแฟนประกอบด้วยไอโซเมอร์ 2 ชนิด คือ อัลฟา และเบตาไอโซเมอร์ (α- & β-isomers) ผสมกันอยู่ในอัตราส่วน 7:3

5) ลักษณะทางกายภาพ: เอ็นโดซัลแฟนบริสุทธิ์จะมีลักษณะเป็นผงสีขาว ส่วนเทคนิคัลเกรดเอ็นโดซัลแฟน จะเป็นผงสีน้ำตาล

6) ความสามารถในการละลายน้ำ: 0.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

7) ความสามารถในการละลายในตัวทำละลาย: เอธิลอะซิเตต (Ethyl acetate) และไดคลอโรมีเธน (Dichloromethane) 200 กรัมต่อลิตร เอธานอล (Ethanol) 65 กรัมต่อลิตร และเฮกเซน (Hexane) 24 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

8) จุดหลอมเหลว: 70-100 องศาเซลเซียส

9) ความดันไอ: 0.83 มิลลิปาสคาล ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

10) ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ: 12,400 (Oregon State University, 1996; The British Crop Protection Council, 2001)

2.3.2 ชื่อทางการค้า

A.B. Fan, Afidan, Aggrodan, Agridan, Bensocarb, Bensodan, Beosit, Brook, Clement, Cyclodan, Devisulfan, Dew Dan, Dior-35, Dofan, Dori, Dumper-san, EC Sulfan, Egodan, Endan, Endew, Endocel, Endocide, Endo crop, Endodan, Endosol, Endyne, Etonic, Exxo-z, Famcodan, Fantom, FMC 5462, Fortune, Freedan, Gardner, Golden Leaf Tobacco Spray, Gycin, Hexasulfan, Hildan, Hoe 2671, Hor Mush, Hydrodan, Insectophene, Jack Dum, J-teedan, Kasidan, Lordjim, L.P.Dan, Malix, Manyoo, Master, Metrodan, Mortero, Newcodan, Nockdye, Ox Xa, Parrysulfan, Patodan, Pestdye, Phaser, Pro-d-dan, R Sulfa, Sandan, Shevanex, Simadan, Sonydan, Sulfanex, Summer, Tanadan, Teophos, Thanyacarp, Thimul, Thiodan, Thiofor, Thiomul, Thionate, Thionex, Torpidan, Trysulphone, Urofen, Wephos, Zumic (Oregon State University, 1996; Pesticide Action Network – Asia and the Pacific, 1999; The British Crop Protection Council, 2001)

2.3.3 ลักษณะที่นำมาใช้

ชนิดของเหลวสูตรผสม (EC.) 32 เปอร์เซ็นต์ ULV (ultra-low volume) 25 เปอร์เซ็นต์ ฝุ่น ผงละลายน้ำ (WP.) 4-5 เปอร์เซ็นต์ เม็ด และชนิดควัน (smoke tablets) โดยสามารถนำมาผสมกับสารเคมีได้หลายชนิด เช่น ไดเมทโธเอท (Dimethoate) เมทโธมิล (Methomyl) โมโนโครโตฟอส (Monocrotophos) ไพริไมคาร์บ (Pirimicarb) ไทราโซฟอส (Triazophos) ปิโตรเลียมออยล์ (Petroleum oils) ฟีโนพรอพ (Fenoprop) ออกซีน-คอปเปอร์ (Oxine-Copper) มาลาไธออน (Malathion) และพาราไธออน-เมธิล (Parathion-methyl) เป็นต้น (Oregon State University, 1996; German Federal Environment Agency, 2004)

2.3.4 การใช้ประโยชน์ทางการเกษตร

เนื่องจากเอ็นโดซัลแฟน เป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพืชที่มีฤทธิ์กำจัดแมลงได้ในวงกว้าง (broad-spectrum) จึงพบว่า มีการนำมาใช้ในพื้นที่ทำการเกษตร สวน ไร่ นา ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย อาทิ สวนคะน้า กวางตุ้ง กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คื่นฉ่าย มะเขือ มะเขือเทศ ฟักทอง หอม แตง ข้าว ข้าวโพด ฝ้าย มันฝรั่ง อ้อย ชา ยาสูบ โกโก้ ถั่วเหลือง ส้ม ทานตะวัน และไม้ดอกไม้ประดับทั่วไป (Food and Agriculture Organization, 1993) โดยถูกนำมาใช้เพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชต่างๆ ได้แก่ มอดเจาะผลกาแฟ ด้วงงวงเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยจั๊กจั่นฝ้าย เพลี้ยอ่อนฝ้าย เพลี้ยไฟ เพลี้ยกระโดด มวนโกโก้ มวนเขียว มวนแดง หนอนดอกส้ม หนอนแก้วส้ม หนอนกระทู้ผัก หนอนห่อใบงา หนอนใยผัก หนอนคืบ หนอนเจาะสมอ หนอนเจาะลำต้น หนอนทรายยางพารา แมลงดำหนาม แมลงหวี่ขาว แมลงปีกแข็งต่างๆ เป็นต้น (Meister และคณะ, 1984) ทั้งนี้ ปริมาณการใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่ปลูก ชนิดของแมลงศัตรูพืช รวมทั้งลักษณะของเอ็นโดซัลแฟนที่นำมาใช้ ตัวอย่างเช่น การนำมาใช้ในไร่ฝ้าย เพื่อกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย หรือเพลี้ยอ่อนฝ้าย จะใช้ในรูปของเหลวผสมน้ำในอัตรา 30 - 40 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร แล้วฉีดพ่นให้ทั่วต้นพืช หรือรูปเม็ดใช้ในอัตรา 2 – 6 กิโลกรัม ต่อไร่ หว่านหรือโรยระหว่างช่องให้ทั่วพื้นที่ปลูก การนำมาใช้เพื่อกำจัดมอดเจาะผลกาแฟ จะใช้ปริมาณ 40-50 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร ในไร่ข้าวโพด ไร่อ้อยจะใช้ในปริมาณ 250-400 ซีซี ต่อไร่ ส่วนในนาข้าวอาจใช้ในรูปเม็ดปริมาณ 250 กรัม ต่อไร่ หรือในรูปของเหลว 250-320 ซีซีต่อไร่ เป็นต้น ทั้งนี้ ระยะเวลาที่ใช้ก่อนการเก็บเกี่ยวจะอยู่ที่ 7 – 14 วัน (บริษัท พาซาน่า จำกัด, 2546)

2.3.5 ความเป็นพิษ

องค์การอนามัยโลก (World Health Organization) ได้จัดระดับความเป็นพิษของเอ็นโดซัลแฟนอยู่ใน Class II – Moderately hazardous หรือมีความเป็นพิษปานกลาง ขณะที่ The U.S. Environmental Protection Agency (USEPA) ได้จัดเอ็นโดซัลแฟนอยู่ในสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม Ib – Highly hazardous หรือมีความเป็นพิษสูง (International Programme on Chemical Safety, 1984) ซึ่งค่าความเป็นพิษที่ยอมรับได้ต่อวัน (Acceptable Daily Intakes: ADI) มีค่าเท่ากับ 0.006 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน โดยจากการทดสอบความเป็นพิษแบบต่างๆ กับสัตว์ทดลอง ได้ผลดังนี้

1) พิษเฉียบพลัน (acutetoxicity): พิษจากการกินเข้าไปในหนูขนาดเล็ก มีค่า LD50 ประมาณ 18-160 มิลลิกรัม พิษจากการซึมผ่านทางผิวหนังมีค่า LD50 78-359 มิลลิกรัม และมีความเป็นพิษต่ำจากการหายใจเข้าไป เมื่อสารเอ็นโดซัลแฟนเข้าสู่ร่างกาย จะออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้หายใจลำบาก สูญเสียการทรงตัว ท้องร่วง และหมดสติในที่สุด มีรายงานว่า ในวัว แกะ และสุกร ที่กินหญ้าที่ฉีดพ่นเอ็นโดซัลแฟนเข้าไป มีอาการกล้ามเนื้อกระตุก และตาบอด

2) พิษเรื้อรัง (chronic toxicity): ในหนูทดลองที่ให้กินเอ็นโดซัลแฟนเข้าไป ในอัตรา 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ติดต่อกันถึง 15 วัน มีอัตราการตายสูง แต่ถ้ากินในอัตรา 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ในระยะเวลาที่เท่ากัน จะมีสาเหตุทำให้ตับโตผิดปกติ มีอาการเจ็บป่วย การเจริญเติบโต และการรอดชีวิตลดลง ไตผิดปกติ คุณสมบัติทางเคมีของเลือดเปลี่ยนแปลงไป

3) พิษต่อการสืบพันธุ์ (reproductive effects): ในหนูทดลองที่กินเอ็นโดซัลแฟนในอัตรา 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ไม่สามารถสังเกตเห็นความผิดปกติในการขยายพันธุ์ใน 3 ชั่วอายุ แต่ถ้ากินปริมาณ 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน จะส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของลูกหนู หนูเพศเมียที่กินเอ็นโดซัลแฟนปริมาณ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวันติดต่อกัน 78 สัปดาห์ และหนูเพศผู้ในอัตรา 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ติดต่อกัน 15 วัน จะมีผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับสืบพันธุ์

4) พิษที่เกิดขึ้นกับพัฒนาการของทารกในครรภ์ (teratogenic effects): ในหนูทดลองที่ให้สารเอ็นโดซัลแฟนในปริมาณ 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ไม่มีผลต่อลูกที่เกิดขึ้นในช่วง 3 ชั่วอายุ แต่ถ้ากินในปริมาณ 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน จะส่งผลให้ลูกที่เกิดมามีความพิการ การพัฒนาการเจริญเติบโตทางกระดูกผิดปกติ

5) พิษที่ก่อให้เกิดการผ่าเหล่า (mutagenic effects): เอ็นโดซัลแฟนก่อให้เกิดการผ่าเหล่าในเซลล์ของแบคทีเรียและยีสต์ ในขบวนการทำปฏิกิริยาของเอ็นโดซัลแฟนก่อให้เกิดความผิดปกติในผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการผ่าเหล่าของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิดด้วย ซึ่งเหตุการณ์เช่นนี้ จะเกิดกับมนุษย์ได้ หากได้รับเอ็นโดซัลแฟนในปริมาณที่มาก

6) พิษที่ก่อให้เกิดเซลล์มะเร็ง (carcinogenic effects): จากผลการศึกษาเป็นระยะเวลานานในหนูขนาดใหญ่ และเล็กเพศเมีย พบว่า แม้จะให้เอ็นโดซัลแฟนในอัตราสูงถึง 23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน เป็นระยะเวลานานถึง 78 สัปดาห์ หรือนานกว่านั้น ก็ไม่พบว่ามีผลต่อการเกิดเนื้องอก หรือเซลล์มะเร็งแต่ประการใด แต่มีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของเลือด เป็นสาเหตุของโรคมะเร็งในเม็ดเลือด (Leukemia)

7) พิษที่เกิดกับต่อมหรืออวัยวะต่างๆ (organ toxicity): ผลจากการศึกษาพบว่าเอ็นโดซัลแฟนมีพิษต่อต่อม หรืออวัยวะต่างๆ ของสัตว์ทดลอง เช่น ไต ตับ เลือด ต่อมพาราไทรอยด์ (Parathyroid) แต่สามารถถูกขจัด หรือลดปริมาณลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่า องค์ประกอบของสารเป็นชนิดเบตาหรืออัลฟาเอ็นโดซัลแฟน โดยเบตาเอ็นโดซัลแฟน จะลดปริมาณลงได้รวดเร็วกว่าอัลฟาเอ็นโดซัลแฟน (ศักดา ศรีนิเวศน์, 2547)

2.3.6 การตกค้างปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

1) ดิน

ดินสามารถดูดซับเอ็นโดซัลแฟนได้เป็นอย่างดี (Goerlitz และ Eyrich, 1987) ขึ้นอยู่กับสภาพความเป็นกรดด่างของดิน โดยจะตกค้างอยู่ในดินที่มีคุณสมบัติเป็นกรดได้นานกว่า ทั้งนี้ภายใต้สภาวะมีอากาศ (aerobic condition) ครึ่งชีวิตของเอ็นโดซัลแฟนในดินที่เป็นกรดถึงเป็นกลางจะอยู่ที่ 9 เดือน ถึง 6 ปี (United States Environmental Protection Agency, 2002) ส่วนในสภาพดินอับอากาศ (anaerobic condition) เช่น ดินที่มีน้ำท่วมขัง เอ็นโดซัลแฟนจะมีครึ่งชีวิตอยู่ที่ 430 วัน (Sethunathan และคณะ, 2002) นอกจากนี้การสลายตัวโดยแสงของเอ็นโดซัลแฟนบนผิวดินเกิดขึ้นอย่างไม่สม่ำเสมอ ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศ (Gildemeister และ Jordan, 1983) และจากการศึกษาของ Stewart และ Cairns (1974) พบว่า สภาวะปกติในดิน อัลฟาไอโซเมอร์ จะสลายตัวได้เร็วกว่าเบตาไอโซเมอร์ การย่อยสลายของเอ็นโดซัลแฟนในดิน เป็นผลให้เกิดเมทาโบไลท์ (metabolite) หลายชนิด ทั้งนี้ สารเมทาโบไลท์ที่พบบ่อยที่สุด คือ เอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต (Endosulfan sulfate) (Byers, Woodham และ Bowman, 1965)

2) ตะกอน

ในสภาวะมีออกซิเจน เอ็นโดซัลแฟนจะถูกชะจากบรรยากาศ น้ำฝน ดิน และแหล่งน้ำผิวดิน ลงสู่ตะกอนดินอย่างรวดเร็ว โดยตะกอนทรายที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และตะกอนดินเหนียวซึ่งมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ 3.2 เปอร์เซ็นต์ เอ็นโดซัลแฟนจะมีการสลายตัวออกจากส่วนที่เป็นน้ำของตะกอนโดยมีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 35.1 และ 3.6 วัน ตามลำดับ ทั้งนี้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำเหนือตะกอน จะเป็นตัวกำหนดชนิด และ

ปริมาณของสารเมทาโบไลท์ที่เกิดขึ้นในตะกอน โดยทั้งในตะกอนดินทราย และดินเหนียว นอกจากจะเกิดการย่อยเอ็นโดซัลแฟน เป็นเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต และเอ็นโดซัลแฟนไดออล (Endosulfan diol) แล้ว ยังอาจทำให้เกิดเมทาโบไลท์อีกชนิดหนึ่ง คือ เอ็นโดซัลแฟนไฮดรอกซีคาร์บอกซิลิกแอซิด (Endosulfan hydroxyl carboxylic acid) ได้อีกด้วย (Stumpf, 1990) ส่วนในสภาวะไร้ออกซิเจนของดินตะกอนที่อยู่ลึกลงไป อาจทำให้มีการตกค้างของเอ็นโดซัลแฟนซึ่งมีค่าครึ่งชีวิตได้มากกว่า 200 วัน แตกต่างจากส่วนบนของตะกอนซึ่งมีช่องว่างระบายอากาศ ทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นได้เร็วกว่า (Guerin, 2001)

3) น้ำ

เอ็นโดซัลแฟนสามารถคงอยู่ในสภาพที่น้ำเป็นกรดมากกว่าสภาพเป็นกลางถึง 5 เดือน โดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอ็นโดซัลแฟนในน้ำ จะมีประสิทธิภาพสูงเมื่อค่า pH มากกว่าหรือเท่ากับ 7 ในขณะเดียวกันถ้าค่า pH ในน้ำต่ำกว่า 7 จะทำให้เอ็นโดซัลแฟนมีความคงตัวสูงยิ่งขึ้น (German Federal Environment Agency, 2004) แต่ในสภาพที่น้ำเป็นด่างจะเสื่อมสลายได้เร็วที่สุด น้ำฝนในสภาพภูมิอากาศปัจจุบัน มักจะมีความเป็นกรดอยู่ระหว่าง pH 4.6-5.6 จึงทำให้การย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนเกิดขึ้นน้อยมาก ด้วยเหตุนี้จึงพบว่า ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอ็นโดซัลแฟนในน้ำทะเล ซึ่งมีค่า pH สูง จึงเป็นกระบวนการหลักในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนทางธรรมชาติ และจากกระบวนการนี้จะได้เอ็นโดซัลแฟนไดออลเป็นสารเมทาโบไลท์ที่สำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่า เอ็นโดซัลแฟนปนเปื้อนในน้ำที่อยู่ใกล้บริเวณที่ใช้สารเคมีในปริมาณความเข้มข้นที่สูง หรือพบว่ามีปริมาณน้อยแพร่กระจายอยู่ในแหล่งน้ำทุกแหล่งทั่วประเทศ แสดงให้เห็นว่า น้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญในการแพร่กระจายสารเอ็นโดซัลแฟนได้อย่างรวดเร็ว และกว้างขวาง (Greve และ Wit, 1971)

4) ผลผลิตทางการเกษตร

เอ็นโดซัลแฟนจะลดปริมาณการตกค้างในผลผลิตได้อย่างรวดเร็ว ส่วนใหญ่สารตกค้างจะลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 3-7 วัน และเมื่อปี ค.ศ. 1999 – 2000 สหรัฐอเมริกาได้ตรวจสอบพบว่า มีเอ็นโดซัลแฟนตกค้างอยู่ในยาสูบ 0.0005-0.013 ppm ในอาหารทะเลสด 0.2 ppt - 1.7 ppb และรวมทั้งพบการตกค้างในน้ำนมวัว (ศักดา ศรีนิเวศน์, 2547)

2.3.7 ผลกระทบที่มีต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ

การใช้เอ็นโดซัลแฟนเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชแต่ละครั้ง ไม่เพียงจะเป็นการทำลายแมลงกลุ่มเป้าหมายเท่านั้น แต่ยังมีผลต่อสิ่งมีชีวิตกลุ่มนอกเป้าหมายอีกด้วย ในกรณีที่สารกำจัดแมลงดังกล่าวมีการแพร่กระจายสู่ระบบนิเวศที่มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน และมีการส่งต่อพลังงาน

กันเป็นทอดๆ จึงเป็นที่แน่นอนว่า เมื่อใดก็ตามที่สิ่งมีชีวิตหนึ่งได้รับพิษจากสารเอ็นโดซัลแฟน ก็จะมีการส่งต่อพิษไปยังผู้บริโภคลำดับสุดท้าย ซึ่งในหลายกรณีก็คือ มนุษย์ จากการศึกษาทางด้านพิษวิทยาในระบบนิเวศ พบว่า เอ็นโดซัลแฟน เป็นพิษต่อนกต่างๆ ในระดับปานกลาง มีความเป็นพิษสูงต่อปลา และสัตว์น้ำต่างๆ ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (invertebrates) นอกจากนี้ พบว่า มีความเป็นพิษต่อผึ้งในระดับปานกลาง ทั้งนี้ ถ้ามีการใช้มากกว่า 260 ซีซีต่อไร่ ระดับความเป็นพิษจะเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม เอ็นโดซัลแฟนจะมีความเป็นพิษน้อยต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ (beneficial insects) เช่น แตนเบียน แมลงเต่าทอง และไรบางชนิด สำหรับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เอ็นโดซัลแฟนจะเกิดการสะสมในไตมากกว่าในไขมันโดยร่างกายจะมีกลไกการขับถ่ายสารนี้ออกจากไตหลังจากที่ได้รับพิษสะสมเป็นเวลานานแล้ว โดยจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็ว และมีการลดพิษลงเมื่ออยู่ในร่างกายไปเป็นสารเมทาโบไลท์ที่มีขั้ว และถูกขับถ่ายออกไปในที่สุด (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2000)

มีรายงานจากประเทศสาธารณรัฐเบนิน แอฟริกาตะวันตก เมื่อปี ค.ศ. 1999 ว่า มีผู้เสียชีวิตในพื้นที่ทางตอนเหนือของจังหวัดบอร์กู (Borgou) จากการใช้เอ็นโดซัลแฟนฉีดพ่นในไร่ฝ้ายเป็นจำนวน 37 คน และอีก 36 คน ป่วยหนักจนต้องได้รับการรักษาที่โรงพยาบาล สาเหตุเนื่องมาจากการใช้เอ็นโดซัลแฟนที่ไม่ถูกต้อง หรือใช้ในปริมาณที่มากเกินความจำเป็น เกษตรกรรายหนึ่งเล่าให้ฟังว่า ไส้เดือนที่เคยพบในดินได้ถูกพิษของเอ็นโดซัลแฟนตายลงเป็นจำนวนมาก นกที่กินไส้เดือนตายเข้าไปเป็นอาหารก็ตายตามไปเป็นจำนวนมากเช่นกัน นอกจากนี้ ยังสังเกตว่าหลังจากฉีดพ่นเอ็นโดซัลแฟน 2 – 3 วันเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืช ไร่นาแห่งนั้น ก็คละคลุ้งไปด้วยกลิ่นเหม็นเน่าของซากสัตว์ต่างๆ ที่ถูกพิษของเอ็นโดซัลแฟนตายตามไปด้วย เกษตรกรอีกรายหนึ่งที่อาศัยอยู่ในเมืองบานิโครา (Banikoara) ได้กล่าวถึงการทำลายห่วงโซ่อาหารในธรรมชาติโดยเอ็นโดซัลแฟนจากที่เขาเห็นว่า ปลวกในไร่ฝ้ายที่ได้รับพิษของเอ็นโดซัลแฟนตายลงไป กบที่กินปลวกก็มีอาการมึนงง หยุดนิ่งไม่สามารถเคลื่อนไหวได้ หลังจากนั้นไม่นาน นกเค้าแมวได้จับกบตัวนั้นไปกินบนคบไม้ สิบนาทีต่อมานกเค้าแมวก็ร่วงหล่นลงมา และตายในที่สุด และรายสุดท้ายได้ให้ความเห็นว่า เอ็นโดซัลแฟนเป็นสารเคมีที่มีประสิทธิภาพมาก สามารถทำลายล้างสิ่งมีชีวิตได้ทุกชนิดไม่เว้นแม้กระทั่งงู และไส้เดือนที่เคยมีเป็นจำนวนมาก ก็ตายหมดภายหลังจากการฉีดพ่นสารนี้ในเวลาไม่นาน รวมถึงปลาในหนองน้ำและลำธารก็ตาย เนื่องจากน้ำที่ไหลจากบริเวณไร่ฝ้ายที่มีการฉีดพ่นเอ็นโดซัลแฟนไหลลงไป (Pesticide Action Network UK, 2000)

2.3.8 เหตุการณ์สำคัญที่เกี่ยวข้อง

ช่วงกลางปี พ.ศ.2525 – 2526 ประเทศไทยได้มีการสนับสนุนการเพาะเลี้ยงหอยเชอรี่ (golden apple snail) เพื่อให้เป็นสัตว์เศรษฐกิจ เนื่องจากสามารถนำมาปรุงเป็นอาหารที่ให้โปรตีนสูง และมีรสชาติอร่อย แต่ในช่วงเวลาดังกล่าวการเพาะเลี้ยงหอยเชอรี่ไม่ได้รับความนิยมมากนัก จึงเงียบหายไป จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2531 เริ่มมีการพบเห็นหอยเชอรี่แถบชานเมืองด้านตะวันออกของกรุงเทพฯ แถวมีนบุรี หนองจอก แต่ยังไม่เป็นปัญหาแต่อย่างใด กลับได้รับความนิยมในการนำมาประกอบอาหารตามร้านอาหารต่างๆ จึงทำให้หอยเชอรี่มีการแพร่กระจายไปทั่วทุกภาคของประเทศ จากกรุงเทพฯ ไปยังแหล่งน้ำสำคัญต่างๆ ตั้งแต่ กว๊านพะเยา บึงสีไฟ บึงบอระเพ็ด หนองหาร ทะเลสาบสงขลา แม้กระทั่งอ่างเก็บน้ำที่อยู่บนยอดเขา จากอ่างเก็บน้ำ หอยชนิดนี้ได้แพร่พันธุ์ไปตามคูคลองสาธารณะ โดยเฉพาะคลองชลประทานในภาคกลาง ซึ่งเป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทย จากนั้นไม่นานชาวนาก็ได้พบว่า ข้าวกล้าที่หว่านถูกทำลายในเวลาชั่วคืน นับเป็นความเสียหายที่ร้ายแรงสำหรับชาวนาในช่วงเวลานั้น

ในปี พ.ศ. 2535 – 2536 การระบาดของหอยเชอรี่จากภาคกลาง เริ่มระบาดไปภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และสุดท้ายที่ภาคใต้ รวมทั้งสิ้น 43 จังหวัด (United Nations, 2006) ส่วนราชการต่างๆ ได้เริ่มศึกษา และค้นคว้าวิธีการกำจัดหอยเชอรี่อย่างเร่งด่วน มีการแนะนำการป้องกันกำจัดหอยเชอรี่ด้วยวิธีต่างๆ ทั้งวิธีกล และการใช้สารเคมีหลายชนิด อาทิ เหยื่อพิษชนิดต่างๆ สารไบลูไซด์ คอปเปอร์ซัลเฟต หรือแม้กระทั่งสารสมุนไพรต่างๆ แต่ความพยายามต่างๆ ของหน่วยราชการ ไม่ทันกับความตื่นตระหนก และความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ของชาวนาที่ได้รับคำแนะนำจากผู้ประกอบการค้าสารเคมีเกษตรที่ให้ใช้สารเคมีชนิดหนึ่งคือ เอ็นโดซัลแฟน ที่สามารถกำจัดหอยเชอรี่ได้เป็นอย่างดี ความนิยมในการใช้เอ็นโดซัลแฟนได้แพร่หลายไปทั่วจนเป็นที่รู้จักและเรียกกันว่า ยาหยอดหอย ด้วยเหตุผลว่า ใช้แล้วได้ผลดี ใส่ลงไปหอยลอยขึ้นมาตายทันที แต่สิ่งที่ลอยตามหอยขึ้นมาคือ ปลาต่างๆ ในนา รวมทั้งกบ เขียด และสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ นับเป็นความเสียหายอย่างใหญ่หลวงต่อระบบนิเวศในนา และเมื่อน้ำในนาถูกระบายลงลำธาร คู คลองต่างๆ สารเอ็นโดซัลแฟนยังออกฤทธิ์ต่อสัตว์น้ำนั้นอีกด้วย

ชาวนาหลายรายเห็นถึงพิษภัยของเอ็นโดซัลแฟนแล้ว แต่ยังจำเป็นต้องใช้ เพราะราคาถูกเมื่อเทียบกับสารตัวอื่นๆ และคิดว่าถ้าไม่หยอดยากำจัดหอย ก็จะไม่ได้ข้าว นอกจากปลาในแหล่งน้ำแล้ว ประชาชนสองฝั่งแม่น้ำที่ไหลผ่านแหล่งเพราะปลูก ไม่มีทางทราบเลยว่ามีสารพิษอะไรบ้างที่ไหลลงมาในสายน้ำ และเมื่อต้นปี พ.ศ. 2543 ที่ผ่านมา แม่น้ำท่าจีน ซึ่งถือเป็นเส้นเลือดหลักฝั่งตะวันตก เกิดเน่าเสียอย่างหนัก แม่น้ำสายรองทั้งหลายตั้งแต่พื้นที่ของอำเภอเดิมบางนางบวช จังหวัดสุพรรณบุรี ผ่านนครปฐม สมุทรสาคร เน่าเสียตลอดทั้งสาย สร้างความเสียหายอย่างใหญ่หลวง

ที่สำคัญเมื่อน้ำไปตรวจพบว่า มีสารเอ็นโดซัลแฟนปนเปื้อนอยู่ ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของแหล่งน้ำสายสำคัญดังกล่าว รวมทั้งการสูญเสียระบบนิเวศที่มีความเชื่อมโยงกับแหล่งน้ำนั้นด้วย (ศักดา ศรีนิเวศน์, 2547)

2.3.9 การสลายตัวในสิ่งแวดล้อม

เอ็นโดซัลแฟนที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม มักจะเกิดการเปลี่ยนรูปโดยกระบวนการทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ให้เป็นสารเมทาโบไลท์รูปต่างๆ โดยการฟอร์มตัวจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ทั้งนี้เอ็นโดซัลแฟนเบตาไอโซเมอร์ จะมีความคงตัวในสิ่งแวดล้อมมากกว่าอัลฟาไอโซเมอร์ ซึ่งระเหยได้ง่าย และสลายตัวเร็วกว่า (Goebel และคณะ, 1982)

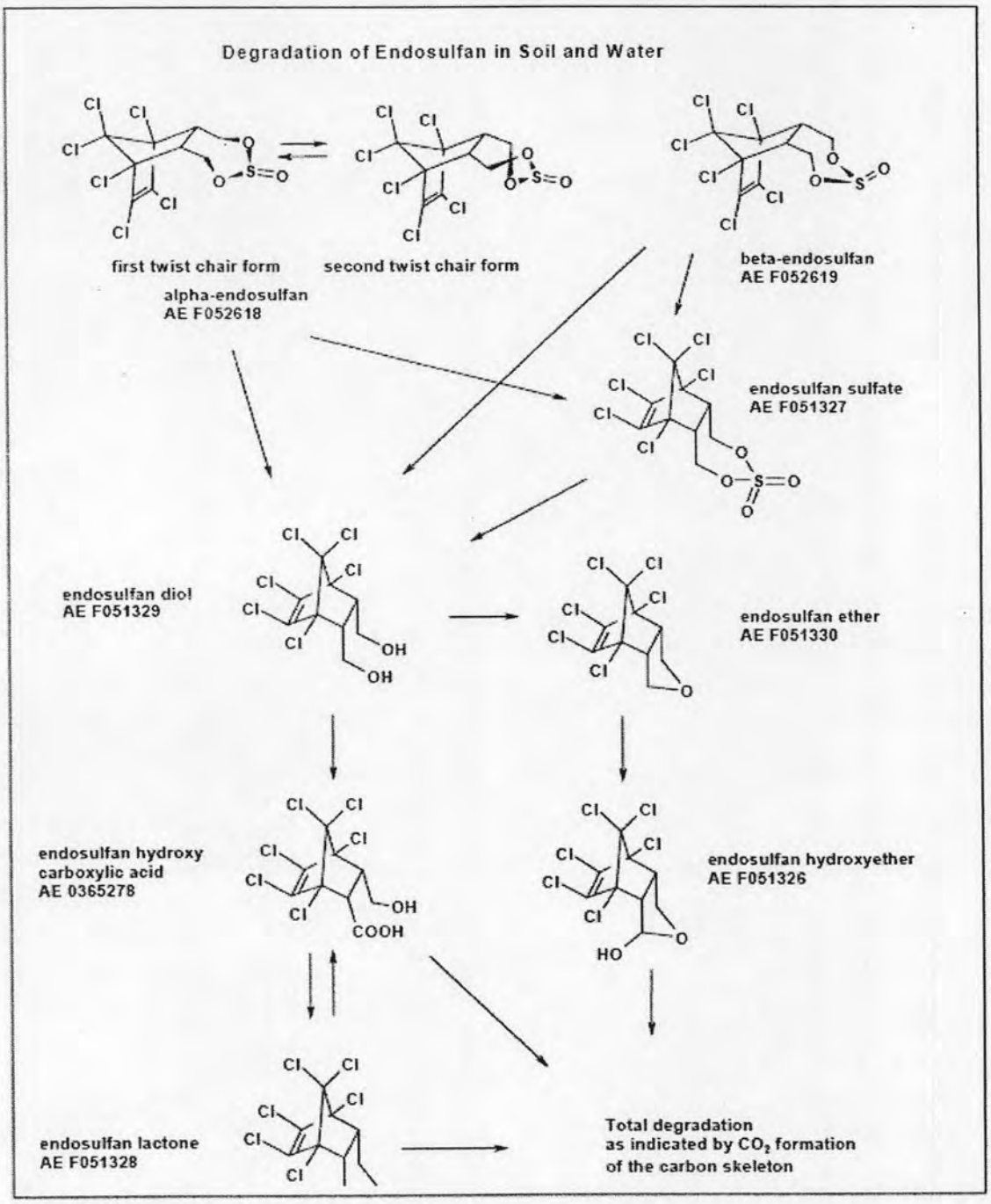
1) การย่อยสลายทางกายภาพ

การสลายตัวโดยแสง (photodecomposition) นับเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดรวมทั้งเอ็นโดซัลแฟน แต่ปริมาณที่สลายตัวอาจไม่มาก เนื่องจากเกิดขึ้นได้เฉพาะส่วนที่อยู่ผิวดินที่มิได้คลุกเคล้าเข้ากับดิน และส่วนที่เคลื่อนขึ้นสู่ผิวดินโดยแรงดึงดูดของน้ำ (capillary) ในฤดูแล้ง นอกจากนี้ เอ็นโดซัลแฟนเป็นสารเคมีที่ไม่ได้มีการดูดซับพลังงานแสงจากดวงอาทิตย์เพื่อย่อยสลายตัวมันเองมากนัก ทั้งนี้หากมีการสลายตัวของเอ็นโดซัลแฟนโดยแสงมักเกิดจากรังสีเหนือม่วง (ultraviolet) เป็นสำคัญ โดยจะถูกสลายภายในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ถ้าแหล่งน้ำมีสภาพเป็นกรด เอ็นโดซัลแฟนจะถูกย่อยสลายภายในระยะเวลา 5 เดือน ซึ่งช้ากว่าในสภาวะที่น้ำเป็นกลางที่ใช้เวลาเพียง 5 สัปดาห์ โดยกลไกการสลายตัวโดยแสงจะเริ่มจากพลังงานจากรังสีจะถูกดูดซับโดยโมเลกุลของสารทำให้อิเล็กตรอนอยู่ในสถานะกระตุ้น (excited state) จนเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลได้ ซึ่งทำให้เอ็นโดซัลแฟนมีโครงสร้างซับซ้อนน้อยลง ส่งผลให้มีการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ติดตามมา

2) การย่อยสลายทางเคมี

ปฏิกิริยาทางเคมีที่มีผลต่อการสลายตัวของเอ็นโดซัลแฟนเป็นสารเมทาโบไลท์รูปอื่นๆ ที่สำคัญมีอยู่ 2 ชนิด คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative reaction) และปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolytic reaction) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นการออกซิไดซ์เอ็นโดซัลแฟนซึ่งเป็นสารตั้งต้นให้เปลี่ยนรูปไปเป็นเมทาโบไลท์หลักคือ เอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต ซึ่งเป็นเมทาโบไลท์ที่มีความเป็นพิษ และความคงตัวในสิ่งแวดล้อมสูงกว่าเอ็นโดซัลแฟนมาก ในทางตรงกันข้ามปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำ จะเป็นการเปลี่ยนรูปของเอ็นโดซัลแฟนให้เป็นเมทาโบไลท์ที่มีพิษและมีความคงตัวในสิ่งแวดล้อมน้อยลง ซึ่งก็คือ เอ็นโดซัลแฟนไดออล ทั้งนี้ ปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำของเอ็นโดซัลแฟนจะมีแนวโน้มสูงขึ้น เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เพิ่มขึ้น โดยครึ่งชีวิต

ของเอ็นโดซัลแฟนจะอยู่ที่ 10-20 วัน เมื่อมีค่า pH เท่ากับ 7 ในขณะที่ครึ่งชีวิตจะมีค่าประมาณ 0.2 วัน เมื่อมี pH เท่ากับ 9 ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำจึงนับว่าเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในกระบวนการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน เมื่อนำมาพิจารณาร่วมกับค่า pH โดยจะได้เอ็นโดซัลแฟนไดออลเป็นสารเมทาโบไลท์หลักที่สำคัญของการย่อยสลายโดยปฏิกิริยาดังกล่าว



ภาพที่ 2.2 วิถีการย่อยสลายของเอ็นโดซัลแฟนในดินและน้ำ (German Federal Environment Agency, 2004)

3) การย่อยสลายทางชีวภาพ

การย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradation) คือ กระบวนการทางชีวเคมีในการทำให้เกิดการแตกสลายของสารอินทรีย์ต้นแบบที่มีโครงสร้างซับซ้อน ไปเป็นสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลเล็กลง โดยอาศัยสิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ ซึ่งอาจสารที่มีความเป็นพิษมากขึ้นหรือลดลง (Arienti และคณะ, 1988) ทั้งนี้ในการย่อยสลายทางชีวภาพของสารพิษต่างๆ ในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งเอ็นโดซัลแฟน มักเกิดขึ้นโดยปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์ ซึ่งมีดังต่อไปนี้ (กรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา, 2543)

ก. สภาพแวดล้อมของการเจริญของจุลินทรีย์

ปัจจัยเพื่อการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น สารอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นแหล่งพลังงาน แหล่งธาตุคาร์บอน แหล่งวิตามิน-เกลือแร่ อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน และค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญ เป็นต้น

ข. การเคยสัมผัสกับสารแปลกปลอม

การที่จุลินทรีย์เคยสัมผัสกับสารแปลกปลอมนั้นๆ มาก่อน จะเป็นการลดระยะเวลาในการปรับตัวที่เรียกว่า metabolic adaptation ในระยะ lag phase โดยทำให้การผลิตเอนไซม์ที่จะใช้เพื่อการย่อยสลายดำเนินไปได้ดี และเป็นการเร่งอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพให้เร็วขึ้น

ค. ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่จำเพาะต่อการย่อยสลาย

หากปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่จำเพาะการย่อยสลายมีมาก ก็จะทำให้มีการผลิตเอนไซม์ในปริมาณที่มาก และอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพก็จะเกิดขึ้นได้ดี

ง. ระดับความเข้มข้นของสารแปลกปลอม

จุลินทรีย์แต่ละชนิด จะมีระดับความเข้มข้นของสารแปลกปลอมที่ยอมรับได้ ระดับความเข้มข้นของสารแปลกปลอมที่สูงกว่าระดับที่ยอมรับได้จะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ แต่ในทางตรงกันข้ามหากระดับความเข้มข้นของสารแปลกปลอมต่ำเกินไป การปรับตัวของจุลินทรีย์ต่อสารแปลกปลอมนั้นๆ ก็จะไม่เกิดขึ้น

จ. ลักษณะสมบัติของสารแปลกปลอม

ลักษณะสำคัญของสารแปลกปลอมที่มีผลต่ออัตราการย่อยสลายทางเคมีและทางกายภาพ ได้แก่ โครงสร้างโมเลกุล และการละลายน้ำ โดยสารแปลกปลอมที่โครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับสารที่มีอยู่ในธรรมชาติ จะเกิดการย่อยสลายได้ง่ายกว่าสารที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน จะมีอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพที่ช้ากว่าอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน ด้านสมบัติการละลายน้ำ สารแปลกปลอมที่ละลายน้ำได้ดีกว่าจะมีอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพที่สูงกว่า เนื่องจากสามารถนำเข้าสู่เซลล์ได้ง่ายเช่นเดียวกับสารอาหารที่ละลายอยู่รอบๆ เซลล์

ตารางที่ 2.4 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญและการย่อยสลายของจุลินทรีย์ (Vidali, 2001)

Parameters	Condition required for microbial growth/activity
Soil moisture	25-28% of water holding capacity
Soil pH	5.5-8.8
Oxygen content	Aerobic, minimum air-filled pore space of 10%
Nutrient content	N and P for microbial growth
Temperature (°C)	15-45
Contaminants	Not too toxic
Heavy metals	Total content 2000 ppm
Type of soil	Low clay or silt content

2.4 ราในธรรมชาติ

ราเป็นจุลินทรีย์ที่มีการดำรงชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมในสภาวะที่หลากหลาย เช่น สภาวะการเป็นปรสิต (parasitism) สภาวะการอยู่อาศัยร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ (mutualism หรือ symbiosis) หรือสภาวะการเป็นผู้ย่อยสลาย (saprophytic) (อนุเทพ ภาสุระ, 2541) ซึ่งทั้งหมดต้องการแหล่งพลังงาน และคาร์บอนจากสารอินทรีย์ จึงทำให้ในธรรมชาติพบการดำรงอยู่ของราหลากหลายรูปแบบ

ดินนับว่าเป็นแหล่งอาศัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ รวมทั้งราได้เป็นอย่างดี ราดินพบมากบริเวณผิวหน้าดิน ส่วนดินชั้นล่างปริมาณจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหลายๆ อย่าง เช่น ความชื้นของดิน การหมุนเวียนของอากาศในดิน ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ รวมไปถึงสารอินทรีย์ที่อยู่ในดิน โดยราที่อาศัยอยู่ในดินส่วนใหญ่มีการเจริญอยู่ในรูปของเส้นใย (hypha) อาจพบในสภาพที่มีการสร้างสปอร์ (spore) หรือสภาพที่มีการเจริญเป็นเซลล์เดียว เช่น ยีสต์ (yeast) เป็นต้น ดังนั้น ราที่พบในดินจึงมีสายพันธุ์ที่หลากหลาย ตั้งแต่ราชั้นต่ำพวกราเมือก (slime mold) ไปจนถึงราชั้นสูงกลุ่ม Eumycota (true fungi) ถึงแม้ว่าราในดินจะพบในจำนวนที่น้อยกว่า

แบคทีเรีย (bacteria) และแอกทิโนมัยซีท (actinomycetes) โดยปริมาณที่พบในดิน 1 กรัม มีประมาณ $10^5 - 10^6$ เซลล์ แต่ปริมาณชีวมวลของราปกติจะมีมากที่สุด (500 – 5,000 กิโลกรัม ต่อเฮกตาร์) เนื่องจากการมีเส้นใยขนาดใหญ่ที่เติบโต และแผ่ขยายออกไปสู่แหล่งอาหารใหม่ได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ รามีความสามารถในการเจริญในดินที่มีสภาพเป็นกรดได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ จึงนับว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการเป็นผู้ย่อยสลายสารในดิน และยังสามารถย่อยสลายสารที่มีโครงสร้างซับซ้อน เพื่อเปลี่ยนให้เป็นองค์ประกอบของเซลล์ได้ (ยงยุทธ โอสถสภา และคณะ, 2541) ทั้งนี้ ราในดินที่มีรายงานว่า สามารถย่อยสลายสารที่มีโครงสร้างซับซ้อนอย่างเอ็นโดซัลแฟนได้ ได้แก่ ราในสกุล *Trichoderma* (Katayama และ Matsumura, 1993), *Aspergillus* (Mukherjee และ Gopal, 1994), *Mucor* (Shetty และคณะ, 2000), *Fusarium* (Siddique และคณะ, 2003) และ *Cladosporium* (Mukherjee และ Mittal, 2005)

กลุ่มของราและเห็ดบนซากพืชในป่าธรรมชาติ ที่มีความสามารถในการย่อยมวลสารโมเลกุลสูงได้ ได้แก่ ราไวต์รอต (white rot fungi) เป็นราที่จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota และ Ascomycota (Akhtah, Kirk และ Blanchette, 1999) รากลุ่มนี้ในธรรมชาติต้องสลายลิกนิน เพื่อนำเอาเซลลูโลสที่อยู่ในเนื้อไม้มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน โดยสามารถสลายลิกนินได้สมบูรณ์ซึ่งแตกต่างจากราในกลุ่มบราวน์รอต (brown rot fungi) และแบคทีเรีย ที่ไม่สามารถสลายลิกนินได้สมบูรณ์ ด้วยเหตุนี้ จึงมีการนำราไวต์รอตมาใช้ในการเปลี่ยนสภาพสารประกอบบางชนิดที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับลิกนิน เพื่อไม่ให้เป็นอันตรายกับสิ่งแวดล้อม เช่น สารปรุงแต่งเชื้อเพลิง (fuel additives) กลุ่มสารเบนซิน (Benzene) PAH (Polycyclic aromatic hydrocarbon) สีย้อมสังเคราะห์ (synthetic dyes) รวมทั้งสารกำจัดแมลงในกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ และฟอสเฟตอินทรีย์ เป็นต้น (Pointing, 2001) โดยในส่วนของการใช้ราไวต์รอตเพื่อย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนนั้น มีรายงานว่า ราไวต์รอตในสกุล *Phanerochaete* (Kullman และ Matsumura, 1996) และ *Pleurotus* (Hernandez-Rodrigues และคณะ, 2006) มีความสามารถในการย่อยสลายสารดังกล่าวได้ ทั้งนี้ ในการคัดเลือกกลุ่มของราไวต์รอตที่มีความสามารถในการย่อยสลายลิกนินออกจากกลุ่มราอื่นๆ ในธรรมชาติ อาจใช้วิธีการใช้กรดแทนนิก (Tannic acid) ซึ่งถูกริเริ่มโดย Bavendamm (1928) ที่ค้นพบว่า ราจะสร้างโซนสีน้ำตาลในวุ้นอาหารที่เติมกรดแทนนิก 0.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ phenollic acid (Freitag และ Morrell, 1992) ต่อมาในช่วงปีค.ศ.1960 ได้พัฒนาการใช้สารคาร์บอนที่ทำการติดฉลากด้วยไอโซโทป ^{14}C label lignin (Crawford, Crawford และ Pometto, 1985) เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายลิกนินมาย่อยสลาย ^{14}C label lignin ไปเป็น $^{14}CO_2$ ซึ่งการวิเคราะห์โดยใช้สารคาร์บอนที่ทำการติดฉลากด้วยสารรังสีนี้ ถึงแม้ว่าจะติดตามผลได้ค่อนข้างรวดเร็ว แต่ขั้นตอนการเตรียมคาร์บอนที่ติดฉลากด้วยสารรังสีนั้นมีความยุ่งยากซับซ้อน และมีราคาแพง จึงได้มีการคิดค้น

วิธีใหม่โดยใช้สีย้อมสังเคราะห์ประเภทโพลีเมอริกเป็นสารตั้งต้น (Glenn และ Gold, 1983) ซึ่งโครงสร้างประกอบไปด้วยวงแหวนอะโรมาติกหลายๆ วงต่อกัน ซึ่งเตรียมให้อยู่ในรูปที่มีความบริสุทธิ์ได้ง่ายกว่า มีความคงตัวสูง ความเป็นพิษต่ำ ละลายน้ำได้ดี มีราคาไม่แพง และตรวจวัดติดตามผลได้ง่าย โดยวัดจากการดูดกลืนแสง (Gold, Glenn และ Alic, 1988) และตรวจวัดโซนของสีที่เปลี่ยนไปบนอาหารที่ผสมด้วยสีย้อมโพลีเมอริก ซึ่งแบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่ Poly B, Poly R และ Poly Y ซึ่งเป็นสีย้อมที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกัน แต่การเรียงตัวเลข และแขนงที่มาต่อกับวงแหวนอะโรมาติกแตกต่างกัน สีย้อมชนิด Poly B เมื่อถูกย่อยสลาย จะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเหลืองทอง สีย้อมชนิด Poly R เมื่อถูกย่อยสลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูม่วงเป็นสีเหลือง และสีย้อมชนิด Poly Y เมื่อถูกย่อยสลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเขียวอมเหลือง (Glenn และ Gold, 1983)

กลุ่มของราในธรรมชาติอีกกลุ่มหนึ่งที่ได้รับความสนใจ คือ ราเอนโดไฟต์ (endophytic fungi) เป็นกลุ่มของราในไฟลัม Ascomycota ที่มีการเจริญอยู่ในทุกส่วนของเนื้อเยื่อพืชผู้ให้อาศัย (host) ที่มีความสมบูรณ์ ปกติ และไม่เป็นโรค โดยในการเจริญนั้นไม่ได้เป็นสาเหตุของอาการเกิดโรค หรือความผิดปกติแต่อย่างใดในพืช ส่วนมากมักพบราเอนโดไฟต์เจริญอยู่บริเวณลำต้น และใบของพืช (Bills, 1996) โดยในปี ค.ศ.1887 DeBary เป็นนักวิทยาศาสตร์คนแรกที่ได้จำแนกราเอนโดไฟต์ออกจากราอิพิไฟต์ (epiphytic fungi) ต่อมาราเอนโดไฟต์ได้ถูกจำแนกความแตกต่างออกจากราโรคพืช (pathogenic fungi) ซึ่งได้ทำการทดลองจากสภาวะต่างๆ ในการเจริญเติบโตในพืช โดยที่พืชไม่แสดงอาการใดๆ (Verhoeff, 1974; Clay, 1991; Petrini, 1991) นอกจากนี้เอนโดไฟต์ยังได้รับการจำแนกออกจากราไมคอร์ไรซา (mycorrhiza forming fungi) จากลักษณะที่จำเพาะเจาะจงของเนื้อเยื่อ (Webster, 1980; Carlile และ Watkinson, 1989; Agrios, 1997) เช่น ราไมคอร์ไรซาจะมีโครงสร้างบางส่วนของเส้นใยเจริญปกคลุมอยู่รอบๆ รากของพืช ไม่ได้อยู่ในเซลล์ของพืชทั้งหมด ซึ่งแตกต่างจากราเอนโดไฟต์ ในการศึกษาคัดแยกราเอนโดไฟต์ ซึ่งเป็นราที่เจริญอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชนั้น จำเป็นที่จะต้องผ่านวิธีการที่สำคัญในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ รวมทั้งราอิพิไฟต์ที่เจริญอยู่บนผิวของพืช ซึ่งอาจปลอมปน (contaminate) เข้ามาในขั้นตอนการคัดแยกราเอนโดไฟต์จากส่วนต่างๆ ของพืช โดยวิธีการดังกล่าวคือ Surface sterilization (Schulz และคณะ, 1993) ซึ่งรายละเอียดได้นำเสนอไว้ในบทที่ 3 อย่างไรก็ตาม แม้ว่ายังไม่มีรายงานใดที่แสดงว่าราเอนโดไฟต์มีความสามารถในการย่อยสลายสารกำจัดศัตรูพืช อย่างเอ็นโดซัลแฟน แต่เนื่องจากเอนโดไฟต์เป็นกลุ่มราที่เจริญอยู่ในเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะพืชในพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการสัมผัสกับเอ็นโดซัลแฟนโดยตรง จึงอาจพบโอกาสที่ราดังกล่าวมีกิจกรรมในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการนำหลักการเรื่องการย่อยสลายทางชีวภาพมาประยุกต์ใช้กับการแก้ปัญหาสารพิษต่างๆ ที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งเอ็นโดซัลแฟน ได้ทำให้เกิดงานวิจัยต่างๆ ที่มีวัตถุประสงค์ร่วมกันในการที่จะทำให้เอ็นโดซัลแฟนเกิดการเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็นสารเมทาโบไลท์ที่มีความคงตัวในสิ่งแวดล้อมและมีพิษน้อยลง ซึ่งจากงานวิจัยต่างๆตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันพบว่า ราหลากหลายสายพันธุ์ในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งจุลินทรีย์บางชนิด มีความสามารถในการย่อยสลายสารดังกล่าว ดังปรากฏในงานวิจัยต่อไปนี้

Martens (1976) ได้คัดเลือกราในดิน และตะกอน 16 สายพันธุ์ ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ ^{14}C – labeled material เพื่อตรวจสอบการฟอร์มตัวของ $^{14}CO_2$ และปริมาณของสารเมทาโบไลท์ที่เกิดขึ้น โดยราดินทั้ง 16 ชนิด สามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยสารเมทาโบไลท์หลัก (major metabolite) ที่เกิดขึ้น ได้แก่ เอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของหมู่ซัลไฟท์ (sulfite group) และเอ็นโดซัลแฟนไดออล ที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในพันธะเอสเทอร์ (ester bond) นอกจากนี้ยังมีการฟอร์มตัวของเอ็นโดไฮดรอกซีอีเธอร์ (Endohydroxyether) เกิดขึ้นเล็กน้อย และ $^{14}CO_2$ ที่ตรวจพบ มีปริมาณน้อยมาก ซึ่งแสดงถึงสภาวะในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนที่ยังไม่สมบูรณ์

จากงานวิจัยต่อมา พบว่า ราสายพันธุ์ *Trichoderma harzianum* ซึ่งเป็นราในดิน สามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้ โดยเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไปเป็นเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต และเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสต่อไปเป็นเอ็นโดซัลแฟนไดออล ซึ่งเป็นรูปที่มีความเป็นพิษ และทนทานในสิ่งแวดล้อมน้อยลง (Katayama และ Matsumura, 1993) เช่นเดียวกับรา *Aspergillus niger* ที่สามารถย่อยเอ็นโดซัลแฟนเบตาไอโซเมอร์ได้ถึง 98.6 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 15 วัน โดยเบตาไอโซเมอร์นี้ มีความคงทนในสิ่งแวดล้อม และมีครึ่งชีวิตยาวนานกว่าอัลฟาไอโซเมอร์มาก (Mukherjee และ Gopal, 1994)

Kullman และ Matsumura (1996) ได้ศึกษาถึงการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยราไวต์รอต *Phanerochaete chysosporium* โดยพิจารณาจากสารเมทาโบไลท์ที่เกิดขึ้น และวิถีในการเปลี่ยนรูป (pathway) ซึ่งพบว่า ราดังกล่าวมีวิถีในการย่อยสลายที่แตกต่างกัน 2 ทาง คือ oxidative pathway ที่มีการเปลี่ยนเอ็นโดซัลแฟน เป็นเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต ซึ่งเป็นสารที่มีความคงทนในสิ่งแวดล้อม และเป็นพิษมากกว่าเอ็นโดซัลแฟน ทั้งนี้ จึงได้มีการเติม 100 ไมโครกรัมของ Piperonyl butoxide ซึ่งเป็น cytochrome P-450 inhibitor ชนิดหนึ่งลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไปเป็นเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต และทำให้เกิดวิถีการย่อยสลายทางที่ 2 คือ hydolytic pathway ที่มีการเปลี่ยนเอ็นโดซัลแฟนไปเป็นเอ็นโดซัลแฟนไดออล และสารเมทาโบไลท์รูปอื่นที่มีความเป็นพิษน้อยลง

Awasthi, Manickam และ Kumar (1997) ได้ศึกษาการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของแบคทีเรียเจริญร่วม (coculture) พบว่า เกือบ 50 เปอร์เซ็นต์ของเอ็นโดซัลแฟนถูกย่อยสลายลง ณ วันที่ 7 ของการบ่มเชื้อ และเมื่อถึงวันที่ 15 เอ็นโดซัลแฟนถูกย่อยเกือบทั้งหมด พร้อมๆ กับมวลที่เพิ่มขึ้นของแบคทีเรียเมื่อเวลาผ่านไป การย่อยสลายเบตาเอ็นโดซัลแฟนเกิดขึ้นช้ากว่าอัลฟาเอ็นโดซัลแฟน โดยการย่อยสลายนั้น เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาดีฮาโลจิเนชัน (dehalogination) ซึ่งตรวจสอบจากคลอไรด์ไอออนที่ถูกปลดปล่อยออกมา โดยเมทาโบไลท์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายซึ่งทดสอบโดยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) คือ เอ็นโดซัลแฟนไดออล และเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต ทั้งนี้ปริมาณของเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตมีน้อยมาก นอกจากนี้ยังพบว่า กลูโคส (glucose) ในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีผลต่อการย่อยเอ็นโดซัลแฟนแต่อย่างใด ในขณะที่ซัคซิเนต (succinate) จะเป็นตัวยับยั้งการย่อยได้เกือบ 50 เปอร์เซ็นต์

Guerin (1999) ได้ศึกษาการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนในสภาพอับอากาศโดยแบคทีเรียท้องถิ่นที่อาศัยในดิน และในตะกอนที่มีปริมาณออกซิเจนน้อย จากหลุมหมักของเสียเคมีทางการเกษตรในไร่ฝ้าย พบว่า การใช้แบคทีเรียร่วมกันหลายสายพันธุ์ (mixed culture) สามารถย่อยสลายอัลฟาเอ็นโดซัลแฟนให้เป็นเอ็นโดซัลแฟนไดออล ซึ่งเป็นเมทาโบไลท์ที่มีความเป็นพิษน้อยลงภายใต้สภาวะอับอากาศ และสภาวะก๊าซมีเธน (methanogenic condition) ภายในระยะเวลา 30 วัน เชื้อสามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้ 85 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้มีการควบคุมสภาวะของชุดทดลองให้เป็นแบบอับอากาศโดยใช้ Teflon-lined butyl rubber เป็นตัวผนึกกันอากาศ เนื่องจากวัสดุชนิดนี้จะไม่ดูดซับ และป้องกันการระเหยของสารที่สามารถระเหยได้จากการทดลอง นอกจากนี้การใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวแบบไร้ออกซิเจนจะช่วยลดการสูญเสียทางชีวภาพจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง ซึ่งทำให้การย่อยสลายทางชีวภาพเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ที่สุด

Awasthi, Ahuja และ Kumar (2000) ได้ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนที่ตกค้างในดิน โดยแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินที่มีการปนเปื้อนของเอ็นโดซัลแฟน พบว่า ปัจจัยต่างๆ ดังกล่าว ได้แก่ การเพิ่มปริมาณของแหล่งคาร์บอน ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ปริมาณความชื้นในดิน และปริมาณความเข้มข้นของเอ็นโดซัลแฟน โดยที่การย่อยสลายจะเกิดเร็วขึ้นในดินเปียกหรือดินที่มีความชื้นสูง และจะถูกยับยั้งจากการเพิ่มแหล่งคาร์บอนชนิดโซเดียมอะซิเตตและโซเดียมซัคซิเนต ไม่พบการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนในสภาวะที่เป็นกรดสูง และอัตราการย่อยสลายจะค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้น เมื่อ pH เพิ่มขึ้น โดยค่า pH ที่เหมาะสมที่สุดต่อการย่อยจากการทดลองนี้คือ 8.5 และจะทำให้เอ็นโดซัลแฟนจะเปลี่ยนรูปไปเป็นเอ็นโดซัลแฟนไดออล นอกจากนี้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอ็นซัลแฟนสูงถึง 5 มิลลิกรัมต่อกรัมของดิน พบว่า แบคทีเรียมีอัตราการย่อยสูงที่สุด ทั้งนี้เมื่อได้ทดลองเพิ่มการจำนวนเชื้อ ก็มิได้เพิ่มอัตราการย่อยสลายแต่อย่างใด

Shetty และคณะ (2000) ได้ศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพของเอ็นโดซัลแฟน โดยรา *Mucor thermohyalospora* MTCC 1384 ซึ่งทดลองเลี้ยงในอาหาร Czapek-Dox nutrient medium ที่ควบคุมปริมาณแหล่งคาร์บอน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วทำการวิเคราะห์เมทาโบไลท์โดยใช้ Thin Layer Chromatography (TLC) และ Gas Chromatography - Electron Capture Detector (GC - ECD) พบว่า ราดังกล่าวสามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้ 78 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 20 วัน โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของเอ็นโดซัลแฟนไปเป็นสารเมทาโบไลท์ 2 ชนิด คือ เอ็นโดซัลแฟนไดออล และเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต ที่ 80 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ ปริมาณของเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตที่เกิดขึ้นไม่มีนัยสำคัญแต่อย่างใด

Sutherland และคณะ (2000) ได้ศึกษาถึงการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนโดยแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่คัดแยกมาจากดินที่มีประวัติการใช้เอ็นโดซัลแฟน โดยใช้เอ็นโดซัลแฟนเป็นแหล่งซัลเฟอร์ จากผลการศึกษา ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการเติมเอ็นโดซัลแฟน โดยการย่อยเอ็นโดซัลแฟนมีความสัมพันธ์กับการเจริญของแบคทีเรีย สารประกอบที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายมีทั้งที่มาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและไฮโดรไลซิส ทั้งนี้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เกิดขึ้นกับการย่อยอัลฟาเอ็นโดซัลแฟน ทำให้ได้เอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตเป็นเมทาโบไลท์สุดท้าย ในขณะที่ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะได้เอ็นโดซัลแฟนโมโนอัลดีไฮด์ (Endosulfan monoaldehyde) ซึ่งตรวจสอบจาก Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) และเมื่อบ่มเชื้อในสภาวะเดิม โมโนอัลดีไฮด์จะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นเอ็นโดซัลแฟนไฮดรอกซีอีเธอร์ และเมทาโบไลท์อื่นที่มีขั้ว ซึ่งมีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมน้อยลง จากการศึกษาต่อมาพบว่า การใช้ cytochrome P-450 ไม่สามารถช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอ็นโดซัลแฟนไปเป็นเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตได้เลย

Kwon และคณะ (2002) ได้คัดแยกแบคทีเรียในดินจากแหล่งต่างๆ โดยใช้เอ็นโดซัลแฟนเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสามารถแยกได้ 40 สายพันธุ์ โดย *Klebsiella pneumoniae* KE-1 เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน โดยมีอัตราการย่อยอยู่ที่ 8.72 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อวัน และเมื่อบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเอ็นโดซัลแฟนเข้มข้น 93.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 10 วัน พบว่า แบคทีเรียดังกล่าวไม่มีการเปลี่ยนรูปเป็นเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตแต่อย่างใด ซึ่งหมายถึง เชื้อไม่ได้มีวิถีการย่อยแบบออกซิเดทิฟ (non-oxidative pathway)

Awasthi และคณะ (2003) ได้ศึกษาการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนโดยแบคทีเรีย *Bacillus* สองสายพันธุ์ร่วมกัน โดยได้มีการทดสอบการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนอัลฟา และเบตาไอโซเมอร์ทั้งแบบแยกการย่อยสลายของแต่ละไอโซเมอร์ และแบบที่ได้ทดลองการย่อยร่วมกันทั้งสองไอโซเมอร์ พบว่า ได้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนทั้งสองไอโซเมอร์ จะเกิดการเปลี่ยนรูปเป็นเอ็นโดซัลแฟนไดออล และเอ็นโดซัลแฟนแลกโตน (Endosulfan lactone) นอกจากนี้ จากการทดลองไม่สามารถสังเกตเห็นการสะสมของเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต

Lee และคณะ (2003) ได้ศึกษาบทบาทของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 สายพันธุ์คือ *Anabaena* sp. PCC 7120 และ *Anabaena flos-aquae* ที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของเอ็นโดซัลแฟนที่มีการตกค้างในดิน โดย *Anabaena* sp. PCC 7120 สามารถเปลี่ยนรูปเอ็นโดซัลแฟน เป็นสารประกอบเมทาโบไลท์หลัก คือ เอ็นโดซัลแฟนไดออลได้มากที่สุด ตรวจพบการเปลี่ยนรูปเป็นเอ็นโดซัลแฟนไฮดรอกซีอีเธอร์ และเอ็นโดซัลแฟนแลกโตนในปริมาณเล็กน้อย และตรวจพบเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตปริมาณน้อยมาก ในขณะที่ *Anabaena flos-aquae* ก็สามารถเปลี่ยนรูปเอ็นโดซัลแฟนไปเป็นเอ็นโดซัลแฟนไดออล และเกิดสารเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตขึ้นเพียงเล็กน้อยเช่นเดียวกัน จากการศึกษาต่อไปพบว่า ถ้ามีการควบคุม pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อให้อยู่ที่ 7.2 จะทำให้สภาวะการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

Siddique และคณะ (2003) พบว่า รา *Fusarium ventricosum* ที่ได้คัดแยกได้จากดินสามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งอัลฟา และเบตาไอโซเมอร์ได้หมดภายในระยะเวลา 12 วันของการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยค่าคงที่ของอัตราการย่อยสลายที่ 14.22 และ 6.60 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ โดยราดังกล่าวสามารถใช้แหล่งคาร์บอนในองค์ประกอบของเอ็นโดซัลแฟนเป็นแหล่งพลังงาน จนสามารถเปลี่ยนเป็นรูปที่มีความเป็นพิษน้อยลงได้ ได้แก่ เอ็นโดซัลแฟนไดออล และเอ็นโดซัลแฟนอีเธอร์ (Endosulfan ether) ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อการบำบัดเอ็นโดซัลแฟนที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้

Al-Hassan, Bashour และ Kawar (2004) ได้ศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพของอัลฟาและเบตาเอ็นโดซัลแฟน ที่ตกค้างในดินที่มีการใช้สารอินทรีย์ในการปรับปรุงคุณภาพดินชนิดต่างๆ ได้แก่ สารอินทรีย์ส่วนเหลือจากการผลิตอาหารสัตว์ปีก ปุ๋ยคอกมูลสัตว์ปีก ปุ๋ยคอกมูลสัตว์ในฟาร์ม และของเสียเทศบาล โดยนำมาผสมกับดินในอัตรา 2 เปอร์เซ็นต์ และใส่เอ็นโดซัลแฟนความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมลงไป หลังจากนั้นจึงเก็บตัวอย่างดินเพื่อนำมาตรวจสอบหาเอ็นโดซัลแฟนที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ ณ วันที่ 1 8 15 22 29 43 และ 57 ของการทดลองพบว่า ครึ่งชีวิตของอัลฟาเอ็นโดซัลแฟนในดินที่มีการใส่สารอินทรีย์จากการผลิตอาหารสัตว์ปีกมีค่าเท่ากับ 10 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับดินที่ใส่สารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 22 วัน ส่วนครึ่งชีวิตของเบตาเอ็นโดซัลแฟนในดินที่ใส่สารอินทรีย์จากการผลิตอาหารสัตว์ปีก มีค่าเท่ากับ 22 วัน ในขณะที่ในดินที่ใส่ของเสียเทศบาล และปุ๋ยมูลสัตว์มีค่าเท่ากับ 57 และ 115 วันตามลำดับ

Sethunathan และคณะ (2004) ได้ศึกษาความสามารถของสาหร่ายในการย่อยสลายอัลฟาเอ็นโดซัลแฟน และเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวและในดิน ทั้งในสภาพมีแสงและไม่มีแสง พบว่า สาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum* sp. หรือ *Scenedesmus* sp. สามารถลดความคงทนของเอ็นโดซัลแฟนในดิน และเปลี่ยนโครงสร้างให้เป็นเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตในสภาพมีแสงได้ดีกว่าไม่มีแสง โดยสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโต นอกจากนี้ได้นำสาหร่าย

สายพันธุ์ดังกล่าวมาทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อซนิดเหลว พบว่า มีความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนให้เป็นเมทาโบไลท์รูปอื่นๆ ได้อีก คือ เอ็นโดซัลแฟนอีเธอร์ และเอ็นโดซัลแฟนอัลดีไฮด์ อย่างไรก็ตาม เมื่อสกัดเซลล์ของสาหร่ายออกมาวิเคราะห์ ทำให้พบการตกค้างของเอ็นโดซัลแฟนและเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต จึงสรุปได้ว่า ทั้งกระบวนการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ (biotransformation) และการดูดซับทางชีวภาพ (biosorption) ของสาหร่าย มีผลต่อการการบำบัดฟื้นฟูดินที่ได้รับมลพิษจากการปนเปื้อนของสารกำจัดแมลงเอ็นโดซัลแฟน

Kwon, Sohn และ Shin (2005) ได้คัดแยกแบคทีเรียในดินที่มีการปนเปื้อนของเอ็นโดซัลแฟนในอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt medium ที่มีเอ็นโดซัลแฟน และเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน พบว่า แบคทีเรีย *Klebsiella oxytoca* KE-8 สามารถย่อยสลายได้ทั้งเอ็นโดซัลแฟน และเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต โดยเมื่อนำมาทดสอบการย่อยเอ็นโดซัลแฟนที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร และเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตที่ความเข้มข้น 173 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามวลชีวภาพของเชื้อมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยตรวจสอบจากค่า optical density ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร มีค่าเท่ากับ 1.9 ภายในเวลา 4 วัน และค่าคงที่การย่อยสลายของอัลฟา-เบตา เอ็นโดซัลแฟน และเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟต มีค่าเท่ากับ 0.3084 0.2983 และ 0.2456 ต่อวัน ตามลำดับ

Mukherjee และ Mittal (2005) ได้ศึกษาถึงการบำบัดทางชีวภาพของเอ็นโดซัลแฟนโดยราดินสองสายพันธุ์ คือ *Aspergillus terreus* และ *Cladosporium oxysporum* พบว่า ราทั้งสองสายพันธุ์นี้ เริ่มมีการสร้างสารเมทาโบไลท์หลังจากบ่มเชื้อไปได้ 5 – 10 วัน ทั้งนี้ ณ วันที่ 15 ของการบ่มเชื้อ *A. terreus* และ *C. oxysporum* สามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้ 91 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่ *A. terreus* จะมีการอัตราการย่อยที่เร็วกว่า *C. oxysporum* โดยสังเกตจากระยะการทดสอบการย่อยสลาย ณ วันที่ 1 ถึงวันที่ 7

Hernandez-Rodriguez และคณะ (2006) ได้ศึกษาถึงการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนในระหว่างการเพาะเลี้ยง *Pleurotus pulmonarius* โดย 96.25 เปอร์เซ็นต์ของอัลฟาไอโซเมอร์ และ 97 เปอร์เซ็นต์ของเบตาไอโซเมอร์ถูกย่อยสลายภายในระยะเวลา 15 วัน และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการทดลองออกไปจนถึง 35 วัน พบว่า เชื้อได้ย่อยสลายอัลฟาและเบตาไอโซเมอร์ได้ 99.78 เปอร์เซ็นต์ และ 99.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Kumar และ Philip (2006) ได้ศึกษาถึงการบำบัดฟื้นฟูทางชีวภาพของดินและน้ำที่มีการปนเปื้อนของเอ็นโดซัลแฟน โดยการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ ซึ่งแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Staphylococcus* sp., *Bacillus circulans*-สายพันธุ์ 1 และ สายพันธุ์ 2 คัดแยกจากดินบริเวณใกล้เคียงกับโรงงานผลิตสารเอ็นโดซัลแฟน โดยหลังจากการบ่มแบคทีเรียผสมทั้งสามชนิดในถังบำบัดเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า เชื้อสามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนได้

71.58 และ 75.88 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะมีอากาศและอับอากาศ ตามลำดับ การเติมแหล่งคาร์บอนที่มาจากเดกซ์โทรส (dextrose) ช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายได้ทั้งสองสภาวะ โดยปริมาณเดกซ์โทรสที่เหมาะสมคือ 1 กรัมต่อลิตร การย่อยสลายอัลฟาเอ็นโดซัลแฟนเกิดขึ้นได้มากกว่าเบตาเอ็นโดซัลแฟนในทุกการทดลอง และจากการทดสอบประสิทธิภาพของการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนในดินนั้น พบว่า เกิดขึ้นในดินทรายมากที่สุด รองลงมาคือ ดินแดง ดินหมัก และดินเหนียว ตามลำดับ

Shivaramaiah และ Kennedy (2006) ได้ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดิน ซึ่งคัดแยกมาจากดินในไร่ฝ้าย พบว่าเชื้อสามารถย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนเป็นเอ็นโดซัลแฟนซัลเฟตโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 3 วันของการบ่มเชื้อ ทั้งนี้ได้ตรวจสอบปริมาณสารเมทาโบไลท์โดยเทคนิค Gas Chromatography

Verma และคณะ (2006) ได้ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟนของแบคทีเรีย *Rhodococcus* MTCC 6716 ที่คัดแยกมาจากลำไส้ของไส้เดือนดิน *Metaphire posthuma* โดยเอ็นโดซัลแฟนความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรได้ถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อ และถูกย่อยสลายถึง 92.58 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 15 วัน นอกจากนี้ยังพบว่า การย่อยสลายเอ็นโดซัลแฟน มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญของเชื้อ และการเพิ่มของคลอไรด์ไอออนในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อมีความทนทานต่ออุณหภูมิที่สูงถึง 45 องศาเซลเซียส ซึ่งยังคงรักษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้เหมือนเดิม