

## การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริก

### Method Validation of Prochloraz Residue Analysis in Chilli

ประภัสสรฯ พิมพ์พันธุ์<sup>1</sup> ยงยุทธ ไม้แก้ว<sup>1</sup> วนิดา สุขประเสริฐ<sup>1</sup>

#### บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz ในพริก สกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายผสมของ acetone และ dichloromethane และมีเก็บรักษาในสภาวะเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิต่ำทำให้สารพิษตกค้างละลายอยู่ในน้ำได้น้อยมากและเคลื่อนย้ายมาอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ทำให้สามารถตรวจสอบได้ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีชนิด GC-ECD ได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการพบว่าวิธีการนี้สามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริกได้ดีในช่วงความเข้มข้นที่ตรวจสอบได้คือ 0.02–1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความแม่นยำในช่วง 74–110 โดยมีความเที่ยงที่พิจารณาจากค่า RSD อยู่ในช่วง 7–22% และเมื่อทดสอบ HORRAT พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างนี้จึงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ อย่างไรก็ตามต้องมีการบำรุงรักษาเครื่อง GC-ECD ในทุก Batch ที่วิเคราะห์ จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

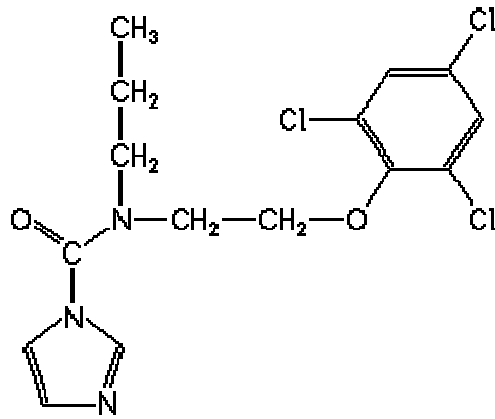
---

<sup>1</sup> กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## คำนำ

ในปัจจุบันการผลิตพืชอาหารมักพึ่งพาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นหลัก คณะกรรมการ Codex ได้กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ขึ้น รวมทั้งประเทศคู่ค้าก็ได้กำหนดค่า MRL ขึ้น บังคับใช้ควบคุมดูแลเพื่อความปลอดภัยของอาหาร ค่า MRL เหล่านี้นับวันจะมีค่าต่ำลงเรื่อยๆ จึงต้องมีวิธีทดสอบที่ตอบสนองความต้องการ และยังคงมีความเฉพาะและมีความไวต่อสารที่จะวิเคราะห์ อย่างไรก็ตามวิธีการอาจต้องปรับเปลี่ยนไปตามคุณสมบัติของสารพิษและตัวอย่างพืชที่วิเคราะห์ ให้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี ทั้งนี้ยังต้องให้ผลที่มีความถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้ (Anonymous, 1998) เทคนิคทางโครมาโตกราฟีโดยใช้เทคนิค Gas Liquid Chromatography ในปี 1959 เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมมากในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างพวกสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชและสามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้างได้มากชนิดในการวิเคราะห์ครั้งเดียว (Zweig, 1964) เทคนิคดังกล่าวมีการใช้กันมากขึ้นจนถึงปัจจุบันนี้ กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างกลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ได้ปรับปรุงและได้ขอรับรองวิธีการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 ไปแล้วนั้น ใช้ได้ผลดีกับสารที่เป็น non-polar ส่วนสารที่เป็น polar เล็กน้อย เช่น prochloraz จะเป็นปัญหากับประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สำหรับสารป้องกันกำจัดโรคพืชนี้ เพื่อสร้างมาตรฐานและขยายขอบข่ายการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชให้ครอบคลุมสารเคมีที่ใช้ให้มากที่สุด และเพื่อการยอมรับสินค้าเกษตรของไทยทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศและการค้าในประชาคมโลก

Prochloraz เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืช (fungicides) กลุ่ม imidazole fungicides (Wood, 2010) (ดังแสดงในภาพที่ 1) สารนี้มีชื่อทางเคมี IUPAC ว่า *N*-propyl-*N*-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]imidazole-1-carboxamide รหัสที่ขึ้นทะเบียนสากล 67747-09-5 และสูตรโมเลกุล  $C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$  น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 376.67 ละลายในน้ำได้ 55 กรัมต่อลิตรที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิต่ำลงจะละลายในน้ำได้ลดลงมาก เหลือเพียง 0.039 กรัมต่อลิตรที่ 20 องศาเซลเซียส มีความเป็นพิษต่อหนูมีค่า  $LD_{50}$  เท่ากับ 1,600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Bayer Cropscience, 2011) และละลายได้ดีในตัวทำละลายหลายชนิด กองโรคพืชและจุลชีววิทยา (2544) ได้แนะนำให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดแอนแทรกโนส (Anthracnose) ในพืชหลายชนิด (ดังแสดงในตารางที่ 1) สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (2553) รายงานว่าในปี 2551 ขึ้นทะเบียนแล้ว 127 ทะเบียน มีการนำเข้าช่วงปี 2548 – 2552 ในปริมาณมากกว่า 560 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 212 ล้านบาท และยังมี การนำเข้าสารผสมของ prochloraz กับ propiconazole ระหว่างปี 2550-51 อีกในปริมาณ 90 ตัน คิดเป็นเงินกว่า 40 ล้านบาท



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz (Wood, 2010)

การวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟีนี้ สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องมือหลายชนิดขึ้นกับทรัพยากรที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ และความชำนาญของผู้ทดสอบ ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตรทั้งส่วนกลางและส่วนภูมิภาค ได้ติดตั้งเครื่อง GC-ECD/FPD/NPD และมีความชำนาญในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างมาเป็นเวลานานแล้ว การวิเคราะห์สารพิษตกค้างประเภทสารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิด prochloraz ในพริก เนื่องจากมีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ จึงสามารถวิเคราะห์ด้วย GC-ECD ได้ การเตรียมตัวอย่างพริกซึ่งเป็นพืชที่มีสีเข้มรบกวนการวิเคราะห์ ต้องมีพัฒนาวิธีการให้เหมาะสมโดยใช้สารเคมีที่เป็นพิษน้อย และสิ่งอำนวยความสะดวกที่มีอยู่จึงมีความสำคัญ เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องแม่นยำและง่ายต่อการปฏิบัติงาน และยังสามารถตรวจสอบรับรองสารพิษตกค้างได้มากขึ้น ช่วยลดงบประมาณและเวลาของเจ้าหน้าที่ได้อีกด้วย

ตารางที่ 1 คำแนะนำการใช้สาร prochloraz ของกรมวิชาการเกษตร

พืช	โรคพืช	อัตราการใช้	การใช้
กระเจี๊ยบเขียว	โรคแอนแทรคโนส	20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	พ่นทุก 7 วัน
กุยช่าย	โรคใบเน่าหรือแอนแทรคโนส	20-30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	พ่นทุก 7 วัน 4 ครั้ง
ข้าว	โรคยอดฝักดาบ หรือโรคหลาว หรือโรคข้าวตัวผู้ หรือโรคโคนเน่า	3 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	คลุกก่อนปลูก 7-15 วัน หรือแช่ในสารละลาย 1-2 วันก่อนปลูก
หอมใหญ่ หอมแดง หอมแบ่ง กระเทียม	โรคใบเน่าหรือแอนแทรคโนส โรคหอมเลื้อย (Onion twister disease)	20-30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร	พ่นทุก 3-5 วัน ไม่ควรเกิน 4 ครั้ง เพราะจะทำให้ตัวยาว

ที่มา : กองโรคพืชและจุลชีววิทยา (2544)

## วิธีดำเนินการ

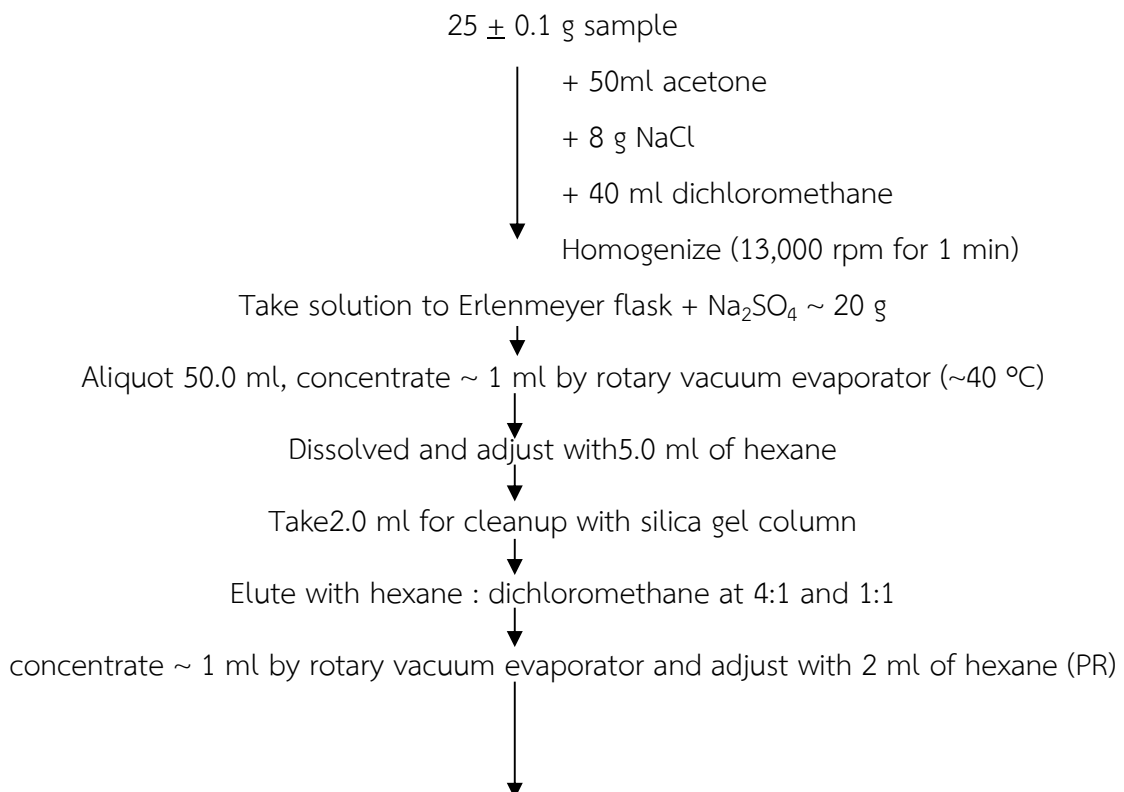
### จัดเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์

สารเคมี ได้แก่ cyproconazole, hexaconazole, propiconazole, tebuconazole และ tetraconazole จาก Dr.Ehrenstorfer GmbH ความบริสุทธิ์ 96.5 – 99.5% ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ acetone, A.R. grade; dichloromethane, A.R. grade; acetonitrile, A.R. grade; hexane, P.R. grade; sodium sulfate anhydrous, A.R. grade; sodium chloride, A.R. grade; magnesium sulfate, A.R. grade; PSA และ graphite carbon

เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆ ได้แก่ ขวดแก้วสำหรับบรรจุตัวอย่างพร้อมฝา ขนาด 250 มิลลิลิตร เครื่องชั่งชนิด 2 และ 4 ตำแหน่ง ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว กรวยกรองทำด้วยแก้ว Cylinder ขนาด 50 มิลลิลิตร ขวดก้นแบน (flat bottom flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ขวดปรับปริมาตร ขนาด 5 มิลลิลิตร ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว เครื่องสกัดความเร็วสูง (Homogenizer) Ultra Turrax รุ่น T 25 Basic หัวจ่ายสารละลาย (Dispenser) ขนาด 1 – 50 มิลลิลิตร Auto-pipette ขนาด 100 - 1000 ไมโครลิตร ปิเปต ขนาด 1-10 มิลลิลิตร ที่ได้รับการสอบเทียบแล้ว เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator) Vials สำหรับบรรจุตัวอย่างเข้าเครื่อง GC และเครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Gas Chromatograph (GC) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 มีหัวตรวจวัดชนิด Electron Captured Detector (ECD)

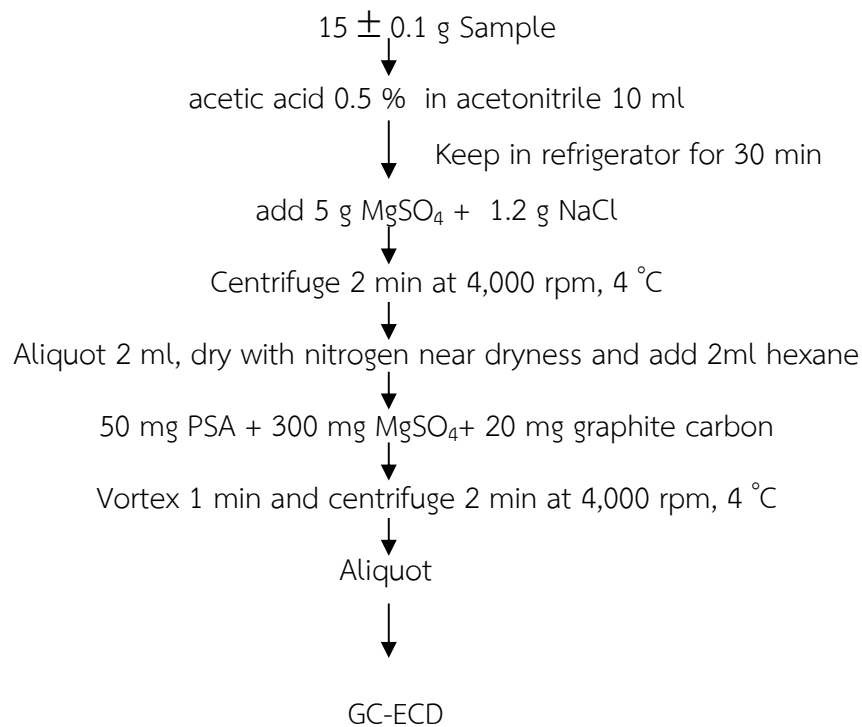
### วิธีการ

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิด prochloraz ในพริก โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟชนิด GC-ECD ด้วยวิธีการทดสอบหาปริมาณสารพิษตกค้าง ของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง ที่ใช้ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างแบบรวม (Multiresidue Analysis) (ดังแสดงในภาพที่ 2) จากนั้นจึงดำเนินการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชตามวิธีการของ Nguyen *et al* (2008) (ภาพที่ 3) และวิธีการของ Navarro *et al* (2000) (ภาพที่ 4) บันทึกผล %Recovery แล้วนำทุกวิธีการเปรียบเทียบกับ

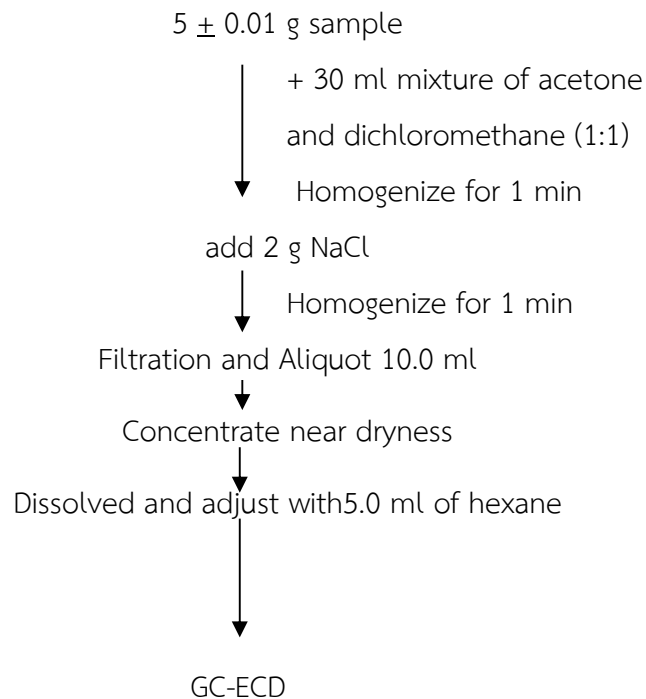


GC-ECD

ภาพที่ 2 วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ตาม TM-T04-R03 ที่ทำการทดสอบ



ภาพที่ 3 วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ของ Nguyen *et al* (2008)



ภาพที่ 4 วิธีการวิเคราะห์แบบ Multi-residues ของ Navarro *et al* (2002)

### การเตรียมสารมาตรฐานและ GC-ECD

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Stock solution โดยผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชทั้ง 5 ชนิดให้ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ isooctane (PR) เป็นตัวทำละลาย เตรียม Intermediate solution ที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม Working stock solution ที่มีความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงเตรียม Working solution โดยดูด Working stock solution แล้วเจือจางด้วย hexane (PR) ให้ได้สารละลายมาตรฐานสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช ที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารละลายมาตรฐานสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชไปวิเคราะห์แล้วสร้าง calibration curve วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างพืชที่ความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชที่ระดับ 0.05, 0.2 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph (GC) : Agilent 6890 ชนิด Flame Photometric Detector (FPD) โดยมีสภาวะการใช้งานดังนี้

**Column :** HP-Ultra 1, 0.17 $\mu$ m thickness, 25m length, 0.32mm.id.

**Temperature:** injector 260 $^{\circ}$ C, detector 300 $^{\circ}$ C, oven temperature program ดังนี้  
 : 120 $^{\circ}$ C (1 min)  $\longrightarrow$  20 $^{\circ}$ C/min 220 $^{\circ}$ C (2 min)  $\longrightarrow$   
 1 $^{\circ}$ C/min 230 $^{\circ}$ C (3 min)  $\longrightarrow$  10 $^{\circ}$ C/min 250 $^{\circ}$ C (3 min)

**Inject mode :** splitless

**Carrier gas :** helium, flow rate 2 ml/min

**Make up gas :** nitrogen, flow rate 60 ml/min

**Injection volume :** 1  $\mu$ l

#### การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

คำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง โดยวัดค่า retention time ของพีค นำไปเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน พีคของสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชในสารละลายตัวอย่าง ต้องมี retention time เท่ากับสารละลายมาตรฐานหรือมีการเคลื่อนไปจากเดิมไม่เกินร้อยละ 5 ของ retention time คำนวณความเข้มข้นของสารพิษตกค้างสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชในสารละลายตัวอย่าง ด้วยฟังก์ชัน ESTD (External Standard) คำนวณโดยโปรแกรมสำเร็จรูปในเครื่อง GC ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับ Calibration curve ที่มีค่า Correlation ไม่น้อยกว่า 0.99 หากความเข้มข้นของสารในตัวอย่างตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$C_{\text{sample}} = C_{\text{calib.}} \times V_{\text{sample}} \times F / W_{\text{sample}}$$

โดยที่  $C_{\text{sample}}$  = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

$C_{\text{calib.}}$  = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง ที่ได้จากการเทียบ Calibration curve

ใน GC Report (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังนี้

$$C_{\text{calib.}} = \frac{\text{Area of sample} \times \text{Conc. of Standard}}{\text{Area of Standard}}$$

$V_{\text{sample}}$  = ปริมาตรที่ปรับครั้งสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างก่อนการฉีด

$W_{\text{sample}}$  = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาสกัด

F = Correction Factor ขึ้นกับวิธีการการสกัด

### การวิเคราะห์และประเมินผลข้อมูล

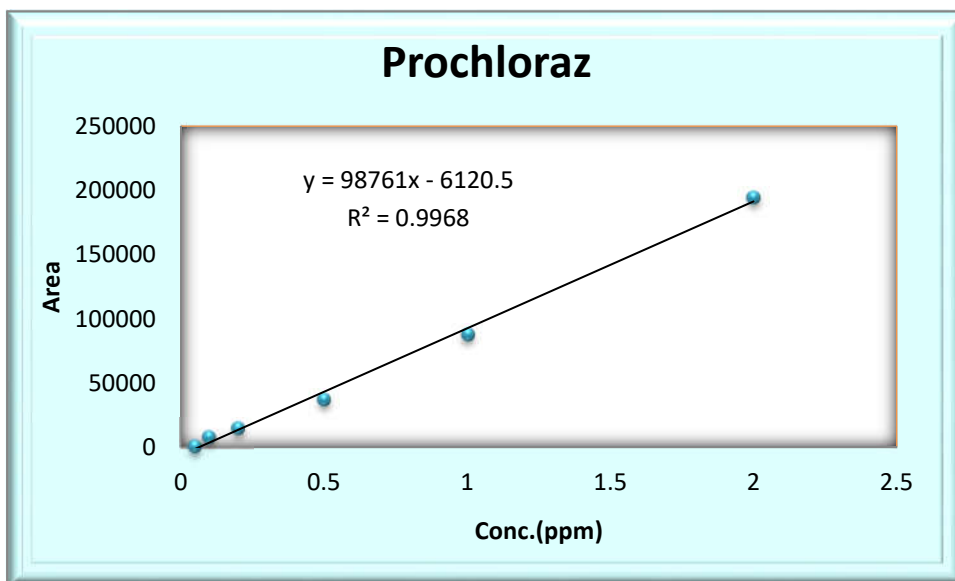
นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ หาค่าเฉลี่ยและค่าความแปรปรวนของข้อมูล นำผลการวิเคราะห์ทั้งหมดมาสรุปข้อมูลช่วงความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ตรวจวิเคราะห์ได้ และเปรียบเทียบวิธีการและชนิดของตัวอย่างพืช

### เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2552 – กันยายน 2554 ณ ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัย วัตถุประสงค์การเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ

### ผลการทดลองและวิจารณ์

วิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช ชนิด prochloraz ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกรัม พบว่ามี retention time เท่ากับ 13.971 นาที จากนั้นจึงนำพื้นที่ใต้พีคในแต่ละความเข้มข้น มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ ได้สมการเส้นตรง  $y = 98761x - 6120.5$  โดยมี Correlation ( $R^2$ ) มากกว่า 0.9968 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ดังแสดงในภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 สมการเส้นตรงของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ

ทดสอบประสิทธิภาพของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริก ด้วยวิธี TM-T04-R03 กวพ. พบว่ามีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ค่อนข้างต่ำมาก อยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 10 เท่านั้น เนื่องจากคุณสมบัติของสารนี้ละลายในน้ำได้มากถึง 55 กรัมต่อลิตรที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิต่ำลงจะละลายในน้ำได้ลดลงมาก เหลือเพียง 0.039 กรัมต่อลิตรที่ 20 องศาเซลเซียส (Bayer Cropscience, 2011) ดังนั้นถ้านำตัวอย่างมาเตรียมในสภาพที่เย็น ( $< 20^{\circ}\text{C}$ ) ก็จะสามารถสกัดสารพิษตกค้างได้ ดังจะได้กล่าวถึงในการทดสอบต่อไปตามวิธีการของ Navarro *et al* (2002) นอกจากนี้ ขั้นตอน Cleanup ด้วยคอลัมน์ silica gel ที่ deactivated ด้วย 10% water และชะด้วยสารละลายผสม hexane และ dichloromethane น่าจะทำให้สารพิษตกค้างเหล่านี้ตกค้างอยู่ใน

คอลัมน์ ทำให้ตรวจพบสารกลับคืนได้น้อยมาก จากนั้นจึงทำการทดลองสกัด ด้วยวิธีการ TM-T04-R02 กวพ. ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์คาร์บาเมต โดยการเติม magnesium sulfate, PSA และ graphite carbon เพื่อกำจัดสารอินทรีย์อื่นๆ (ไม่ใช่เทคนิค column chromatography) เขย่าด้วยเครื่อง Centrifuge แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วย GC-ECD ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

จากการทดลองพบว่า %recovery ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับพริกเป็นพืชที่มีสารอินทรีย์อื่นรบกวนมาก อยู่ในช่วงร้อยละ 19.9 – 61.9 ต่ำกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (70 – 110%) จากนั้นจึงทำการทดลองสกัดตัวอย่างพริก ตามวิธีการของ Nguyen *et al* (2008) พบว่าสามารถวิเคราะห์ % recovery ไม่แตกต่างจากวิธี Multi-residues method ของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง พบว่าได้สารกลับคืนอยู่ระหว่างร้อยละ 24.9 – 49.7 ต่ำกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ดังแสดงในตารางที่ 2) และเมื่อนำตัวอย่างที่สกัดไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทดลองลดขั้นตอนในการสกัด โดยเตรียมตัวอย่างที่ไม่ผ่านการ Cleanup เพียงแต่ผ่านกระดาษกรองตามวิธีการของ Navarro *et al* (2002) พบว่า สามารถสกัดสารพิษตกค้าง prochloraz ได้อย่างมีประสิทธิภาพในช่วงความเข้มข้นที่ระดับ 0.02 – 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้สารกลับคืนในช่วงร้อยละ 81.0 – 109.1 (ดังแสดงในตารางที่ 2) เมื่อมีการทำซ้ำในช่วงเวลาต่างๆ พบว่า repeatability อยู่ในเกณฑ์ดี ร้อยละของสาร prochloraz ที่ได้กลับคืน อยู่ในเกณฑ์

**ตารางที่ 2** ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ prochloraz ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก TM-T04-R02

ชื่อสารพิษ	Conc. (mg/kg)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (mg/kg)					ค่าเฉลี่ย	SD	%CV
		Rep	Rep	Rep	Rep	Rep			
		1	2	3	4	5			
TM-T04-R02	0.2	24.6	61.9	43.3	19.9	30.8	36.1	16.887	46.8
Nguyen <i>et al</i> (2008)	0.2	30.9	35.8	35.3	24.9	32.5	31.9	4.414	13.8
Nguyen <i>et al</i> (2008)	0.4	35.2	49.7	45.3	30.5	43.9	40.9	7.841	19.2
Navarro <i>et al</i> (2002)	0.02	86.0	96.0	84.2	99.8	88.5	90.9	6.693	7.4
Navarro <i>et al</i> (2002)	0.02	87.9	85.8	89.4	89.2	79.8	86.4	3.986	4.6
Navarro <i>et al</i> (2002)	0.05	83.3	89.1	81.0	89.7	82.2	85.1	4.054	4.8
Navarro <i>et al</i> (2002)	0.2	86.1	88.7	99.1	97.4	82.9	90.8	7.098	7.8
Navarro <i>et al</i> (2002)	0.2	78.8	96.5	88.6	81.5	88.7	86.8	6.964	8.0
Navarro <i>et al</i> (2002)	0.4	103.1	92.3	100.2	105.8	95.7	99.4	5.458	5.5
Navarro <i>et al</i> (2002)	1	83.4	94.4	85.9	98.2	87.5	89.9	6.176	6.9
Navarro <i>et al</i> (2002)	1	104.1	110.5	90.4	109.1	99.8	102.8	8.124	7.9



ที่ยอมรับได้ แต่วิธีการนี้สร้างปัญหาให้กับเครื่อง GC-ECD ประสิทธิภาพจะลดลงอย่างมากเนื่องจากสารอินทรีย์อื่นๆ ในพริกที่รบกวนประสิทธิภาพการวิเคราะห์ของหัววัด ECD จำเป็นต้องมีการบำรุงรักษาเครื่องในทุก Batch ที่ทดลอง จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz ในพริก ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.2 และ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พบว่าร้อยละของสารที่ได้กลับคืนอยู่ในช่วงร้อยละ 61–94, 74–96, 76–105 และ 81–110 ในแต่ละความเข้มข้นตามลำดับ ความเข้มข้นที่ระดับ 0.01 มีความแปรปรวนของข้อมูลมาก RSD มีค่าเท่ากับ 32 ดังนั้นจึงไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ระดับ 70% และ RSD<30 ส่วนความเข้มข้นอื่นๆ เมื่อทดสอบโดยใช้ Horrat's Ratio พบว่ามีค่า <2 จึงผ่านเกณฑ์การยอมรับ ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้และนำเชื่อถือ (LOQ : Limit of Quantitation) เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อพิจารณาจากความสูงของพีคที่ระดับความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมแล้ว สามารถกำหนดให้เป็นค่า LOD (Limit of Detection) ได้ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากวิธีการที่ใช้ทดสอบนี้ ถ้าผ่านการ Cleanup จะไม่สามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz อย่างได้ผล ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างพริกโดยตรงกับเครื่อง GC-ECD ก็สามารถวิเคราะห์ได้ แต่พบว่ามีสีในตัวอย่างพริกตกค้างอยู่มากซึ่งรบกวนการวิเคราะห์ ทำให้ต้องมีการบำรุงรักษาเครื่อง GC-ECD ในทุก Batch ที่วิเคราะห์ จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงค่อนข้างที่จะต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์มากกว่าตัวอย่างพืชทั่วไป ถ้ามีการวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างนี้บ่อยหรือเป็นงานประจำ อาจต้องมีการ cleanup ตัวอย่างหลังการสกัดด้วย cartridge column ชนิดพิเศษเช่น SAX เป็นต้น ซึ่งจะต้องมีค่าใช้จ่ายเพิ่มตามมาด้วย

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดลองเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz ในพริก สามารถใช้วิธีการของ Navarro *et al* (2002) ที่สกัดตัวอย่างและเก็บรักษาในสภาวะเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารพิษตกค้างจะละลายอยู่ในน้ำได้น้อยมาก และเคลื่อนย้ายมาอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ ได้สารกลับคืนร้อยละ 81.0 – 109.1 ที่ระดับ 0.02 – 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนวิธีการของ Nguyen *et al* (2008) หรือดัดแปลงวิธีการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร ที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 TM-T04-R02 แต่ใช้เครื่องวิเคราะห์ GC-ECD ได้สารกลับคืนในช่วงร้อยละ 24.9 – 49.7 และ 19.9 – 61.9 ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการพบว่า วิธีการนี้สามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริกได้ดีในช่วงความเข้มข้นที่ตรวจสอบได้คือ 0.02–1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความแม่นยำในช่วง 74–110 โดยมีความเที่ยงที่พิจารณาจากค่า RSD อยู่ในช่วง 7–22% และเมื่อทดสอบ HORRAT พบว่ามีค่าน้อยกว่า 2 วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างนี้จึงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้อย่างไรก็ตาม ต้องมีการบำรุงรักษาเครื่องในทุก Batch ที่ทดลอง จึงจะตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. จัดพิมพ์เอกสารการพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริกเพื่อเผยแพร่แก่นักวิชาการทั้งภาครัฐ เอกชน และผู้สนใจ
2. ใช้เป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืชเพื่อการส่งออกและนำเข้า ที่เป็นงานประจำวันของห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของกรมวิชาการเกษตรทั้งในส่วนกลาง ส่วนภูมิภาค และห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างของเอกชน
3. นำวิธีการที่ได้พัฒนาแล้วอย่างเหมาะสม ไปตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีทดสอบ ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025:2005 เพื่อยื่นรายงานขอขยายขอบข่ายสารพิษตกค้างที่ตรวจวิเคราะห์ ของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

### เอกสารอ้างอิง

- กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2544. คำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชด้วยสารเคมี. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 171 หน้า.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2553. ปริมาณนำเข้าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชปี 2548 – 2552. กรมวิชาการเกษตร. <http://m.doa.go.th/ard/stat2>
- Anonymous. 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Method; A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. EURCHEM Guide, First English edition. ( [www.eurachem. bam.de/guide/vald.pdf](http://www.eurachem.bam.de/guide/vald.pdf) )
- Bayer Cropscience. 2011. Crop Compendium : Prochloraz. [http://compendium.bayercropscience .com /BAYER/CropScience/CropCompendium/BCSCropComp.nsf/id/prochloraz.htm](http://compendium.bayercropscience.com/BAYER/CropScience/CropCompendium/BCSCropComp.nsf/id/prochloraz.htm)
- Fodor-Csorba, K. 1992. Chromatographic methods for the determination of pesticides in foods. *Journal of Chromatography*, 624 : 353-367.
- Navarro, M., Y. Pico, R.Marin and J. Manes. 2002. Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of a new generation of fungicides in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 968 : 201–209.
- Nguyen, T.D., M.H. Lee and G.H. Lee. 2008. Multiresidue determination of 156 pesticides in watermelon by dispersive solid phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Bull. Korean Chem. Soc.*, Vol. 29 (12) : 2482-2486.
- Wood, A. 2010. Fungicides Data Sheet. [http://www.alanwood.net/pesticides/class\\_fungicides.html](http://www.alanwood.net/pesticides/class_fungicides.html) Available on-line 27 Jan 2010.
- ZWEIG, G. 1964. Chromatographic Techniques for Pesticide Residue Analysis. Agricultural Toxicology and Residue Research Laboratory, University of California, U.S.A. 19 p.



ภาพการทดลอง การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ  
วิเคราะห์สารพิษตกค้าง prochloraz ในพริก