

รายงานผลงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2555

-
1. **ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
 2. **โครงการวิจัย** : การศึกษาเพื่อกำหนดค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษตกค้าง(MRL)
กิจกรรม : ศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างในผลไม้เพื่อกำหนดค่า
ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL)
 3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : วิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในองุ่นเพื่อ
กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง(MRL) ครั้งที่1 และ 2
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Residue Trial of Fipronil in Grape to Establish Maximum
Residue Limit (MRL) Trial I and II
 4. **คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าโครงการวิจัย : นางสาวลมัย ชูเกียรติวัฒนา กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สปผ.
หัวหน้าการทดลอง : นางสมสมัย ปาลกุล กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สปผ.
ผู้ร่วมงาน : นายประชาติปัติย์ พงษ์ภิญโญ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สปผ.
: นายวิษณุ แจ้งใบ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สปผ.
: นางสาวปฎิมาภรณ์ สังข์น้อย กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สปผ.
 5. **บทคัดย่อ**

ศึกษาการสลายตัวของฟิโพรนิลในองุ่น เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง โดยกำหนดการทดลองตามวิธีการศึกษาการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย (Good Agricultural Practice) ทำการทดลองในแปลงเกษตรกร ณ อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร ครั้งที่1 ระหว่างเดือนมกราคม ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2555 และ ครั้งที่ 2 ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนมีนาคม 2555 โดยวางแผนการทดลองแบบ supervised trial แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลง คือ แปลงควบคุม (ไม่ฉีดพ่นวัตถุมีพิษ) และ แปลงอัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) มี 3 ซ้ำ(replication) และ 7 วิธีการ (วันเก็บเกี่ยว) ฉีดพ่นฟิโพรนิล (แอสเซนด) ในแปลงองุ่นทุกๆ 5 วันต่อ 1 ครั้ง จำนวน 3 ครั้ง ภายหลังฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ทิ้งให้วัตถุมีพิษแห้งสนิท จึงเก็บเกี่ยวผลองุ่นที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน นำมาสกัดสารพิษตกค้างโดยวิธีทางเคมี และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของฟิโพรนิล ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ปรากฏผลการวิเคราะห์ดังนี้ องุ่นแปลงฉีดพ่นฟิโพรนิลครั้งที่ 1 ใช้อัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิกรัมต่อน้ำ20ลิตร) พบสารพิษตกค้างในผลองุ่น ปริมาณสูงสุด 0.36, 0.31, 0.28,

0.14, 0.13, 0.09 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงชนิดพันธุ์ที่ 2 พบ ปริมาณสูงสุด 0.21, 0.19, 0.17, 0.16, 0.14, 0.12 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ สำหรับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย และแหล่งปลูกในจังหวัดต่าง ๆ เช่น เชียงใหม่ พิษณุโลก พิจิตร ราชบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม และ สมุทรสาคร จำนวน 30 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างของไฟโพรนิลในอุณหภูมิ 3 ตัวอย่าง และปริมาณเกินค่าปลอดภัยทุกตัวอย่าง

สำหรับสารพิษตกค้างของวัตถุที่มีพิษชนิดอื่นๆ จำนวนตรวจพบ 26 ชนิด ได้แก่ methomyl, carbendazim, dimethoate, omethoate, difenoconazole, cypermethrin, iprovalicarb, prothiofos, azoxystrobin, metalaxyl, dimethomorph, ethion, pirimiphos-methyl, acephate, deltamethrin, thiamethoxam, methamidophos, trifloxystrobin, L-cyhalothrin, carbaryl, flusilazole, chlorfluazuron, chlorpyrifos, tetradifon, pyridaben และ acetamiprid ปริมาณสารพิษตกค้างส่วนใหญ่ อยู่ในระดับปลอดภัย ยกเว้น methomyl และ carbendazim พบในตัวอย่างมากกว่าร้อยละ 50 ปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่าปลอดภัย (ประเทศสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่น กำหนดค่าปลอดภัยของไฟโพรนิลในอุณหภูมิเท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ Codex MRL กำหนดค่าปลอดภัยในกล้วย 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Asean MRL ยังไม่กำหนดค่าปลอดภัย ผลจากการทดลองนี้เมื่อเปรียบเทียบกับค่าปลอดภัย พบว่า อุณหภูมิที่ชนิดพันธุ์ไฟโพรนิลอัตราตามคำแนะนำและทิ้งช่วงเวลาเก็บเกี่ยว 14 วัน พบปริมาณสารพิษตกค้างสูงกว่าค่าปลอดภัยที่กำหนด)

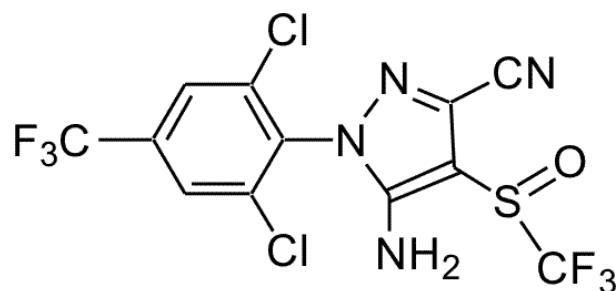
6. คำนำ

องุ่นเป็นไม้ผลที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตหนาว เขตกึ่งร้อนกึ่งหนาว และเขตร้อน ประเทศไทยเป็นประเภทหนึ่งที่มีการปลูกองุ่นกันมากในเขตอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม อำเภอดำเนินสะดวกและอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี พันธุ์องุ่นที่นิยมปลูกในประเทศไทย ได้แก่พันธุ์ไวท์มะละกา สีเหลืองอมเขียว รสหวานแหลม กรอบ ปลูกง่าย เจริญเติบโตได้ดี และพันธุ์คาร์ดินัล มีลักษณะผลกลมสีแดงหรือม่วงดำ รสหวานกรอบ การปลูกองุ่นในประเทศไทยซึ่งมีสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น ฝนตกชุก และจะต้องมีการตกแต่งกิ่ง เพื่อให้ออกดอกและตัดผลได้ตลอดทั้งปีนั้น ส่งผลให้เกิดปัญหาเรื่องโรคและแมลงเข้ามารบกวนและทำลายต้นองุ่นหลายชนิด เช่นหนอนกระพุ่มหอม หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยไฟ โรคราน้ำค้าง โรคแอนแทรคโนส โรคราแป้ง เป็นต้น ดังนั้นการปลูกองุ่นให้ได้คุณภาพดีและมีปริมาณผลผลิตตามความต้องการนั้น จำเป็นต้องใช้วัตถุพิษหลายชนิดในการป้องกันกำจัดโรคแมลงและศัตรูพืชไม่ให้เกิดการระบาดและทำความเสียหายต่อต้น ใบ และผลองุ่น สิ่งสำคัญอันหนึ่งในการใช้วัตถุพิษนั้น คือเกษตรกรจะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับวัตถุพิษนั้นๆเป็นอย่างดี เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในองุ่น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

ฟิโพรนิล เป็นวัตถุมีพิษชนิดหนึ่งที่เกษตรกรชาวสวนองุ่น นิยมใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟพริก ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลเบื้องต้นด้านสารพิษตกค้างในองุ่น จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในสภาพภูมิอากาศ พื้นที่ปลูกองุ่น ในประเทศไทย โดยต้องใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย และปฏิบัติตามมาตรฐานสากลที่องค์การ FAO กำหนด (FAO Guideline, 1990) จากการศึกษาทำให้ทราบค่าการสลายตัวของฟิโพรนิลในองุ่น เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างต่อไป

ฟิโพรนิล(Fipronil) มีชื่อทางเคมี และสูตรโครงสร้างดังนี้

5-amino-[2,6-dichloro-(trifluoromethyl)phenyl]-4- [(1R,S)-(trifluoromethyl)sulfinyl]-1H-pyrazole-3-carbonitrile



ภาพที่1 สูตรโครงสร้าง ฟิโพรนิล

ฟิโพรนิลเป็นสารกำจัดศัตรูพืช กลุ่มเพนิลไพราโซล (Phenylpyrazole) ออกฤทธิ์ในทางสัมผัสและการกิน มีความเป็นพิษจัดอยู่ในระดับ Class II มีค่าLD₅₀ ของพิษเฉียบพลันทางปากต่อหนูทดลอง 97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พิษเฉียบพลันทางผิวหนังและตาต่อหนูมากกว่า 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และกระต่าย 354 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (The pesticide Manual, 2006)และมีชื่อทางการค้าหลายชื่อ เช่น แอสเซนด์ มอลคีส เทมโป้ เป็นต้น ประโยชน์ใช้เป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ เช่น หนอนม้วนใบข้าว หนอนซอนใบ หนอนกอข้าว หนอนคืบกระหล่ำ หนอนใยผัก เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ เพลี้ยไฟพริก เพลี้ยจักจั่นฝ้าย เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตัวงหมัดผัก แมลงหวี่ขาว ตัวงวงมันเทศ และไรชาวพริก ซึ่งเข้าทำลายส้มเขียวหวาน ส้มโอ องุ่น มะเขือเทศ ข้าว ถั่วฝักยาว มันเทศ แตงโม มะเขือยาว หัวหอมพืชตระกูลกะหล่ำ ไม้ดอกและไม้ประดับทั่วไป สูตรผสมที่ใช้ในประเทศไทยคือ 5%SC ซึ่งมี

อัตราการใช้แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช, แมลงและศัตรูพืช ระยะเวลาหลังจากพ่นวัฏภูมิพิษครั้งสุดท้าย 7 วันจึงเก็บผลผลิตได้

7. วิธีดำเนินการ

7.1. อุปกรณ์

7.1.1. สารเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ acetone AR grade ,dichloromethane AR grade ,ethyl acetate PR grade, acetonitrile PR grade, hexane PR grade, sodium chloride (NaCl), sodium sulfate (Na_2SO_4) anhydrous, primary secondary amine (PSA), silicagel , magnesium sulfate anhydrous (MgSO_4), tri sodium citrate, disodium hydrogen citrate 1,5 hydrate, Graphitized carbon black(GCB), formic acid

7.1.2. สารมาตรฐานวัฏภูมิพิษชนิดต่างๆ (Pesticide Standards) มีความบริสุทธิ์ 81- 99 %

7.1.3. ผลิตภัณฑ์วัฏภูมิพิษชนิดพ่นในแปลงทดลอง ได้แก่ แอสเซนด (Ascend)

7.1.4. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ ได้แก่ บีกเกอร์ (beaker) กระจกตวง (cylinder) กรวยแก้ว (funnel)

ขวดแก้วก้นกลม (round bottom flask) ปิเปต (pipette) ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขวดตัวอย่าง (vial) ขวดมีฝาปิด(erlenmeyer flask) ขวดแก้ว (duran) หลอดหมุนเหวี่ยง(centrifuge tube)

7.1.5. เครื่องมือชนิดต่างๆ เช่น เครื่องบดตัวอย่าง เครื่องสกัดตัวอย่าง (ultra turrax) เครื่องลดปริมาตร สารละลาย เครื่องชั่งชนิดละเอียด 2, 4 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของวัฏภูมิพิษชนิด GC-MS , LC-MS/MS, GC –FPD/ECD, HPLC- postcolumn

7.2. วิธีการ วางแผนการทดลอง Supervised Residue/Field Trial ปฏิบัติตามแนวของ FAO Guide lines (1990) ดังนี้

7.2.1. การเลือกสถานที่ สํารวจพื้นที่ปลูกองุ่นและสอบถามข้อมูลการใช้วัฏภูมิพิษจากเกษตรกรเจ้าของสวนนั้นๆซึ่งจะต้องเลือกแปลงองุ่นที่ไม่มีการใช้วัฏภูมิพิษชนิดไพโรนิล แปลงองุ่นต้องมีผลผลิตอย่างสม่ำเสมอเพื่อความเหมาะสมในการฉีดพ่นวัฏภูมิพิษได้อย่างทั่วถึงและวัดขนาดแปลงให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างจนเสร็จสิ้นการทดลอง นอกจากนี้เจ้าของสวนต้องยินยอมให้ความร่วมมือ และปฏิบัติตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัดในแปลงทดลอง

7.2.2. การทดลอง (experiment) วางแผนการทดลอง แบบ Special design มี 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 แปลง เปรียบเทียบ/ควบคุม (Control) เป็นแปลงองุ่นที่ ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า การทดลองที่ 2 แปลง ที่ฉีดพ่นสารไพโรนิลตามคำแนะนำ (Recommended dose) บนฉลาก

ผลิตภัณฑ์ แนะนำให้ใช้ 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

7.2.3. จำนวนซ้ำ (replicates) แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ

7.2.4. วิธีการ (treatment) คือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวรุ่นที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังฉีดพ่นสารครั้งสุดท้าย รวมเป็น 7 ช่วงเวลา

7.2.5. การสำรวจสุ่มตัวอย่างผลงุ่น

สุ่มเก็บตัวอย่างจากแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่ายที่มีพื้นที่ปลูกงุ่นค่อนข้างมาก จำนวน 30 ตัวอย่าง เก็บรักษาโดยบรรจุใส่ถุงพลาสติก ติดป้ายเขียนรายละเอียด ซ่อนถุงอีก 1 ชั้น ใส่น้ำแข็ง เพื่อรักษาตัวอย่างให้อยู่ในสภาพดี

7.2.6. การทำแปลงทดลอง

วางแผนทำแปลงทดลอง ครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ณ แปลงงุ่นของเกษตรกรอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร โดยเลือกแปลงที่มีผลงุ่นสม่ำเสมอ และวัดขนาดแปลงงุ่นให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวนำมาวิเคราะห์ โดยคำนวณอัตราการใช้น้ำ 400 ลิตรต่อไร่ เตรียมผสมพีโพรนิล อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นให้ทั่วแปลงงุ่นใน 1 ซ้ำ (replicates) ทำการฉีดพ่นพีโพรนิล ทุกๆ 5 วัน/ครั้ง ติดต่อกันรวมเป็น 3 ครั้ง ดังนี้

วันที่ฉีดพ่นพีโพรนิลในแปลงงุ่น

ครั้งที่	วันที่ฉีดพ่นพีโพรนิล	
	แปลงที่1 จังหวัดสมุทรสาคร	แปลงที่2 จังหวัดสมุทรสาคร
1	16 มกราคม 2555	22 กุมภาพันธ์ 2555
2	21 มกราคม 2555	27 กุมภาพันธ์ 2555
3	26 มกราคม 2555	3 มีนาคม 2555

7.2.7. การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลอง (Supervised Field Trial) เมื่อฉีดพ่นครั้งสุดท้ายและทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้วัชพืชแห้ง สุ่มเก็บผลงุ่น เริ่มจากแปลงควบคุม และแปลงฉีดพ่นพีโพรนิล เป็นตัวอย่างเก็บที่ 0 วัน และเก็บผลงุ่นในวันที่ 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันรวมทั้งสิ้น 7 ครั้ง การเก็บตัวอย่างงุ่นทุกครั้งเก็บใส่ถุงพลาสติกบันทึกการชั่งถ่วง และปิดปากถุงให้แน่นสนิท ซ่อนถุงอีก 1 ชั้น บรรจุแช่ในถังน้ำแข็ง เพื่อรักษาตัวอย่างไม่ให้เสื่อมสภาพเร็ว แล้วรีบนำเข้าสู่ห้องปฏิบัติการเพื่อทำการสกัดและวิเคราะห์

7.2.8. วิธีการวิเคราะห์ ใช้วิธีวิเคราะห์วิธี QuEChERS, Anastassiades (2003) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณพีโพรนิลและมีเปอร์เซ็นต์การหาค่ากลับคืน (% Recovery test) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 70-110%

7.2.9. วิธีการสกัด

การสกัดตัวอย่างจากแปลงทดลอง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ QuEChERS, Anastassiades(2003) ซึ่งตัวอย่าง 10 กรัมใส่ในcentrifuge tube เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ นาน 1 นาที และเติม trisodium citratedihydrate 1 กรัม, disodium hydrogen citrate 1,5 hydrate 0.5 กรัม, magnesium sulfate 4 กรัมและ sodium chloride 1 กรัม เขย่าด้วย Vortex mixture 1 นาที นำไปcentrifuge นาน 5 นาที แบ่งสารละลายส่วนใสมา 5 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตรกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย PSA 0.125 กรัม และ MgSO₄ 0.75 กรัม GCB 0.05 กรัม ปิดฝาและเขย่าทันทีด้วย Vortex mixture 1 นาที นำไป centrifuge นาน 5 นาที แบ่งสารละลายส่วนใสมา 1 มิลลิลิตรใส่ขวด vial และเติม 5%Formic acid 10 ไมโครลิตรกรองผ่านPTFE Syringe Filters ขนาด 0.2 ไมครอน นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

การสกัดตัวอย่างจากแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่าย วิเคราะห์วัตถุมีพิษจำนวน 4 กลุ่มได้แก่ ออร์กาโนฟอสฟอรัส ออร์กาโนคลอรีน ไพรีทรอยด์ และ คาร์บาเมท โดยใช้วิธีวิเคราะห์ Multi residue Method (MRM) ของ Steinwandter (1985) ซึ่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในขวดแก้ว สกัดด้วย acetone AR grade 50 มิลลิลิตร sodium chloride 8 กรัม และ dichloromethane AR grade 40 มิลลิลิตร ปั่นที่ความเร็วสูงนาน 1 นาที เทสารละลายลงในขวดที่มีฝาปิด และเติม sodium sulfate 1 ซ้อนโต๊ะ คนให้เข้ากัน ปิดฝา ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วกรองสารละลาย ผ่าน sodium sulfate 50 มิลลิลิตรลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปลด ปริมาตรสารละลายโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator อุณหภูมิ water bath 40 องศาเซลเซียส ลดปริมาตรจน เกือบแห้งและปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate PR grade 5 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายเพื่อวิเคราะห์ชนิดและ ปริมาณของวัตถุมีพิษด้วยเครื่อง GC-FPD และ GC-MS และแบ่งสารละลายผ่านขั้นตอนการกำจัดสารปนเปื้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD และ HPLC-postcolumn และใช้วิธีวิเคราะห์วิธี QuEChERS, Anastassiades (2003) เช่น เดียวกับการสกัดตัวอย่างในแปลงทดลอง นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

7.2.10. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

- การเตรียมสารละลายของสารมาตรฐานฟิโพรนิล ความบริสุทธิ์ 97.5% ใน Acetonitrile, PR grade ให้ได้ความเข้มข้นระดับ 1,000 ppm (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น stock solution และเจือจาง stock solution ลง 10 เท่าด้วย Acetonitrile, PR grade ได้สารละลายความเข้มข้นระดับ 100 ppm (100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร) เป็น intermediate standard solution และเจือจางเป็นสารละลายความเข้มข้นระดับ 10 ppm (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เตรียม working standard solution โดยการเจือจาง intermediate standard solution ด้วย Acetonitrile, PR grade ให้มีความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร สำหรับฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS เพื่อทำ calibration curve

- การเตรียมสารมาตรฐานของวัตถุมีพิษ สำหรับวิเคราะห์ที่ส่งจากแหล่งจำหน่าย เตรียมสารมาตรฐาน วัตถุมีพิษชนิดต่างๆมีความบริสุทธิ์ 81-99 %ละลายด้วย สารละลายที่เหมาะสม ระดับความเข้มข้น 1000 ppm

(1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น stock standard solution และเจือจาง stock solution ลง 10 เท่าด้วย สารละลายที่เหมาะสม ได้สารละลายความเข้มข้นระดับ 100 ppm (100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น intermediate standard solution และ เตรียมสารมาตรฐานวัตถุที่มีพิษผสมระดับความเข้มข้นที่ใช้งานตามความเหมาะสมของเครื่องวิเคราะห์ชนิดนั้นๆ

7.2.11. การวิเคราะห์

- การทำงานของเครื่อง LC-MS/MS ปรับสภาวะการทำงานดังนี้

Column: Kinetex XB-C18 100A (2.6 μ m)

ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.1 มิลลิเมตร ยาว 100 มิลลิเมตร Column flow : 0.3 ml/min

Run time: 15 min Detector: MS QQQ

Injection volume: 5 ไมโครลิตร

Solvent A : 5mM AF 0.01% Formic acid 80% Solvent B : ACN 20%

- การทำงานของเครื่อง GC ปรับสภาวะการทำงานดังนี้

GC-ECD Column : capillary column DB-1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร

Temperature: oven 80°C (1 min) ;15°C/min to 180°C(4 min) ;23°C/min to 250°C(20.3min) Run time : 35 min

Injector: splitless mode: 250°C Detector: 300°C

Carrier gas: He 1.7 ml/min makeup gas: N₂ combined flow = 60 ml/min

GC-FPD Column : capillary column DB-5.625 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร

Temperature: oven 80°C (1 min) ;15°C/min to 180°C(4min) ;23°C/min to 250°C(20.3min) Run time : 35 min

Injector: splitless mode: 250°C Detector: 250°C

Carrier gas: He 2 ml/min, H₂ =150 ml/min, Air=110ml/min,

makeup gas: N₂ = 60ml/min

- การทำงานของเครื่อง HPLC – postcolumn ปรับสภาวะการทำงานดังนี้

Column: Lichrosphere60 RP-Select B(5 μ m) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.0 มิลลิเมตร ยาว

250มิลลิเมตร Column flow : 0.8 ml/min Run time: 15min

Detector: Fluorescence Injection volume: 20 ไมโครลิตร

Solvent A : water 92% Solvent B : MeOH 3% Solvent C : ACN 5%

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด)

- ตุลาคม 2554 – กันยายน 2555

สถานที่ดำเนินการ

- อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร

- ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาการสลายตัวของไพโรนิลในองุ่น ครั้งที่ 1 ณ แปลงเกษตรกรอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร ระหว่างเดือนมกราคม ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2555 เมื่อฉีดพ่นสารไพโรนิลในแปลงองุ่น ใช้อัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) ทุกๆ 5 วันต่อครั้ง จำนวน 3 ครั้ง ติดต่อกัน พบสารพิษตกค้างในผลองุ่น ปริมาณสูงสุด 0.36, 0.31, 0.28, 0.14, 0.13, 0.09 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติหาค่า correlation ในสัมไอทั้งผลได้ค่า $R^2 = 0.9713$ และสมการ $Y = 0.3657e^{-0.15x}$ พบว่ามีอัตราการสลายตัว 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (ภาพที่ 1) แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง สำหรับการทดลองครั้งที่ 2 ณ แปลงเกษตรกรอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนมีนาคม 2555 พบสารพิษตกค้างในผลองุ่น ปริมาณสูงสุด 0.21, 0.19, 0.17, 0.16, 0.14, 0.12 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติหาค่า correlation ในสัมไอทั้งผลได้ค่า $R^2 = 0.9837$ และสมการ $Y = 0.2034e^{-0.05x}$ พบว่ามีอัตราการสลายตัว 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (ภาพที่ 2) แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง จะเห็นได้ว่าสารพิษตกค้างของไพโรนิลในผลองุ่นทั้งสองการทดลองมีปริมาณสูงกว่าค่าปลอดภัยที่กำหนด ซึ่งสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่น กำหนดค่าปลอดภัยของไพโรนิลในองุ่นเท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ Codex MRL ยังไม่มีค่าปลอดภัยไพโรนิลในองุ่น แต่กำหนดไว้ในกล้วยเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย และแหล่งปลูกในจังหวัดต่างๆ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย พิจิตร ราชนบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม และสมุทรสาคร จำนวน 30 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในองุ่น จำนวน 3 ตัวอย่าง และเกินค่าปลอดภัยทุกตัวอย่าง สำหรับสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษชนิดอื่นๆตรวจพบจำนวน 26 ชนิด ได้แก่ methomyl, carbendazim, dimethoate , omethoate, difenoconazole, cypermethrin, iprovalicarb, prothiophos, azoxystrobin, metalaxyl, dimethomorph, ethion, pirimiphos-methyl, acephate, deltamethrin, thiamethoxam, fipronil, methamidophos, trifloxystrobin, l-cyhalothrin, carbaryl, flusilazole, chlorfluazuron, chlorpyrifos, tetradifon, pyridaben และ acetamiprid, ปริมาณสารพิษตกค้างส่วนใหญ่อยู่ในระดับปลอดภัย ยกเว้น methomyl พบปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่าปลอดภัย ร้อยละ 87 และ carbendazim พบ ปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่าปลอดภัยร้อยละ 50 นอกจากนี้ยังตรวจพบวัตถุอันตรายฉบับที่4 ซึ่งทางราชการประกาศห้ามใช้(ตารางที่ 2)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ปัจจุบัน ประเทศสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่น กำหนดค่าปลอดภัยของฟิโพรนิลในองุ่นเท่ากับ 0.005 และ 0.01 มก./กก. สำหรับ Codex MRL กำหนดค่าปลอดภัยในกล้วย 0.005 มก./กก. และ Asean MRL ยังไม่กำหนดค่าปลอดภัย ค่าปลอดภัยนี้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า องุ่นชนิดพันธุ์ฟิโพรนิลอัตราตามคำแนะนำและทิ้งช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยว 7 วัน ตามที่ระบุบนฉลากข้างขวดปริมาณสารพิษตกค้างสูงกว่าค่าปลอดภัยที่กำหนด ถึงแม้ว่าทิ้งช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวออกไปอีกหนึ่งสัปดาห์ คือ 14 วัน ปริมาณสารพิษตกค้างยังคงสูงกว่าค่าปลอดภัยที่กำหนด ฉะนั้นการผลิตองุ่นเพื่อบริโภคภายในประเทศ ควรหลีกเลี่ยงการใช้ฟิโพรนิลฉีดพ่นองุ่นช่วงก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตหรือทิ้งช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวนานๆ เพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพผู้ใช้ ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะแนะนำให้เกษตรกรทราบและนำไปปฏิบัติในแปลงองุ่นได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม ช่วยลดและแก้ไขปัญหาสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในองุ่นได้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา Supervised residue trial ในองุ่นและข้อมูลการวิเคราะห์ตัวอย่างองุ่นจากแหล่งจำหน่ายและแหล่งปลูก สามารถนำเสนอต่อสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารซึ่งเป็นหน่วยงานประสานส่งข้อมูลเสนอการประชุม Asean MRL และ Codex MRL เพื่อพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของฟิโพรนิลในองุ่น สำหรับใช้เป็นค่ามาตรฐานสากลในการซื้อขายสินค้าส่งไปจำหน่ายต่างประเทศ และคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศ

2. การทดลอง Supervised residue trial ของฟิโพรนิล ใช้ฉีดพ่นในแปลงอุ่นตามสภาพพื้นที่ที่มี ภูมิอากาศของประเทศไทย ทำให้ทราบค่าการสลายตัวของฟิโพรนิลที่แท้จริง และสามารถนำไปตรวจสอบการ กำหนดค่า PHI ที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำไว้บนฉลากข้างขวด ซึ่งข้อมูลจากการศึกษานี้ สามารถนำไปพิจารณา เปลี่ยนแปลงแก้ไข คำแนะนำบนฉลากข้างขวดได้ตามความเหมาะสม

3. ข้อมูลนี้สามารถนำไปแนะนำเกษตรกรใช้วัตถุมีพิษฉีดพ่นแปลงอุ่นได้อย่างถูกต้องเหมาะสมและ ปลอดภัยต่อผู้ใช้ ทำให้ไม่มีปัญหาด้านสารพิษตกค้างและไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยผู้บริโภค

4. ข้อมูลจากการทดลองนี้นำไปเผยแพร่ในการประชุมวิชาการประจำปี ของกรมวิชาการเกษตร ข้าราชการ นิสิต นักศึกษา และประชาชนทั่วไป เพื่อให้รับทราบผลการใช้วัตถุมีพิษอย่างไม่ถูกต้องและไม่เหมาะสม นั้น ก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในอุ่นได้ และใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณามาตรการแก้ไขและป้องกันการ เกิดปัญหาสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษในผลิตผลการเกษตร

11. เอกสารอ้างอิง

นิรนาม, 2551. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มก. อช.9002-2547, สารพิษตกค้าง, ปริมาณ สารพิษตกค้างสูงสุด สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและ สหกรณ์

Anonymous, 2012. Codex Alimentarius Commission, List of Maximum Residue Limits for Pesticide Residue in Food and Animal Feeds.

Anonymous, 2006. Maximum Residue Limits Under Positive List System Food Sanitation Law:Japan

FAO, 1990. Guideline on Producing Pesticide Residue Data from Supervised Trial. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome

M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, F.J. Schenck., 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce, J. AOAC Int., 86, 412-431.

Steinwandter H, 1985. Universal 5 Min on – line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. Fresenius Z. Anal. Chem. (1985) 322 : 752-754

12. ภาคผนวก -

ลำดับ ที่	ชนิดวัตถุมีพิษ	ตัวอย่างที่พบ	ปริมาณ สารพิษตกค้าง	ตัวอย่างเกินค่า ปลอดภัย	ค่าปลอดภัย
--------------	----------------	---------------	------------------------	----------------------------	------------

ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษตกค้างของพีโพรนิลในองุ่น อัตราตามคำแนะนำ
(10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) การทดลองครั้งที่ 1 และ 2

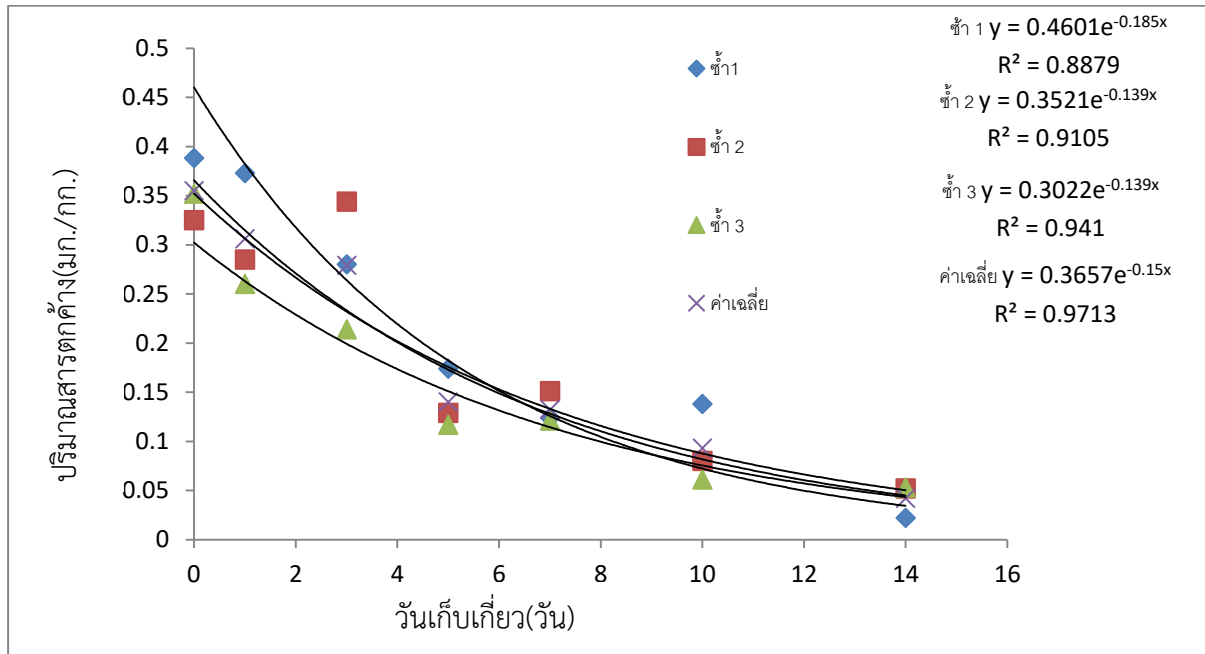
วันเก็บเกี่ยว	ปริมาณสารพิษตกค้าง อัตราตามคำแนะนำ (มก./กก.)							
	การทดลองครั้งที่ 1 จังหวัดสมุทรสาคร				การทดลองครั้งที่ 2 จังหวัดสมุทรสาคร			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.388	0.325	0.352	0.355	0.230	0.214	0.192	0.212
1	0.373	0.285	0.260	0.306	0.201	0.188	0.182	0.190
3	0.280	0.344	0.214	0.279	0.198	0.160	0.161	0.173
5	0.174	0.129	0.117	0.140	0.178	0.184	0.121	0.161
7	0.124	0.151	0.121	0.132	0.135	0.179	0.091	0.135
10	0.138	0.080	0.061	0.093	0.132	0.133	0.105	0.123
14	0.022	0.052	0.053	0.042	0.126	0.104	0.079	0.103

ตารางที่ 2. ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างองุ่นจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 30 ตัวอย่าง

		จำนวน	ร้อยละ		จำนวน	ร้อยละ	Codex	EU	Japan	Thai
1	methomyl	30	100	0.01-8.65	26	87	0.3	0.02	5.0	1
2	carbendazim	29	97	0.02-12.20	15	50	3	0.3	3.0	3
3	dimethoate +omethoate	19	63	0.02-5.02	1	3	2*	0.02	1.0	-
4	difenoconazole	16	53	0.01-0.35	5	17	0.1	0.5	0.5	-
5	cypermethrin	15	50	0.01-1.44	4	13	0.2	0.5	2.0	-
6	iprovalicarb	13	43	0.01-0.69	-	-	-	2.0	2.0	-
7	prothiophos	11	37	0.30-3.83	3	10	-	-	2.0	-
8	azoxystrobin	10	33	0.01-2.85	1	3	2.0	2.0	10.0	-
9	metalaxyl	7	23	0.02-0.29	-	-	1.0	2.0	1.0	1.0
10	dimethomorph	6	20	0.01-0.38	-	-	2.0	3.0	5.0	-
11	ethion	5	17	0.01-1.11	3	10	-	0.01	0.3	-
12	pirimiphos-methyl	5	17	0.01-0.04	-	-	-	0.05	1.0	-
13	acephate	4	13	0.12-0.64	1	3	0.5*	0.02	5.0	-
14	deltamethrin	4	13	0.02-0.03	-	-	0.2	0.2	0.5	-
15	thiamethoxam	4	13	0.01-0.09	-	-	0.5*	0.5	5.0	-
16	fipronil	3	10	0.08-0.15	3	10	0.005*	0.005	0.01	-
17	methamidophos**	3	10	0.02-0.03	3	10	-	0.01	3.0	-
18	trifloxystrobin	3	10	0.02-0.04	-	-	3.0	5.0	3.0	-
19	l-cyhalothrin	2	7	0.02-0.04	-	-	0.3*	0.2	1.0	-
20	carbaryl	2	7	0.02-0.04	-	-	5.0*	0.05	1.0	5
21	flusilazole	2	7	0.01-0.03	-	-	0.2	0.05	0.5	-
22	chlorfluazuron	2	7	0.01	-	-	-	-	2.0	-
23	chlorpyrifos	2	7	0.01-0.02	-	-	0.5	0.5	1.0	-
24	tetradifon	1	3	0.09	-	-	-	0.01	1	-
25	pyridaben	1	3	0.01	-	-	-	0.5	2.0	-

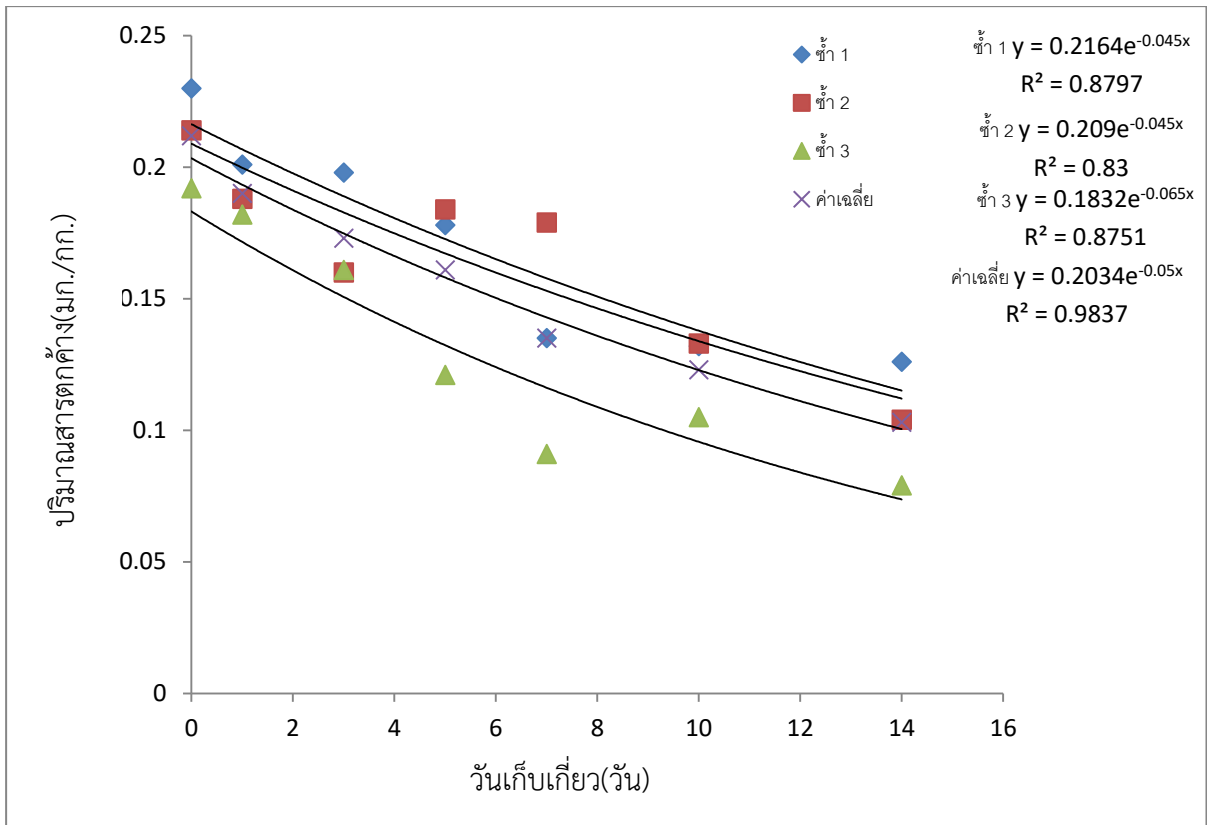
26	acetamiprid	1	3	0.13	-	-	-	0.2	5.0	-
----	-------------	---	---	------	---	---	---	-----	-----	---

* ค่าMRL ของไม้ผลชนิดอื่น ** วัตถุอันตรายฉบับที่4



ภาพที่ 1 แสดงแนวโน้มการสลายตัวของไพโรทรินในองุ่นโดยใช้อัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร)

การทดลองครั้งที่ 1 จังหวัดสมุทรสาคร



ภาพที่ 2 แสดงแนวโน้มการสลายตัวของไพโรนิลในองุ่นโดยใช้อัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิกรัมต่อน้ำ 20 ลิตร)

การทดลองครั้งที่ 2 จังหวัดสมุทรสาคร

ภาพที่ 3 แสดงแปลงองุ่นที่ทดลองฉีดพ่นไพโรนิล



