

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2561

1. **แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามมาตรฐานสากล
2. **โครงการวิจัย** : วิจัยการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลไม้ และผัก
3. **กิจกรรม** : การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างในผลไม้ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
กิจกรรมย่อย : -
4. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอะบาเม็กติน (Abamectin) ในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ): Pesticide Residue Trial of Abamectin in Orange to Establish Maximum Residue Limits (MRLs)
5. **คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าการทดลอง : นายประชาติปัติย์ พงษ์ภิญโญ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน : นางสาวพรนภัส วิชานนธานนท์ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวพร เมินหา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

6. บทคัดย่อ

ทำแปลงทดลองศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ Abamectin ในส้มเขียวหวาน ทดลองรวม 2 ครั้ง ครั้งที่ 5 ที่อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ในช่วงเดือนพฤศจิกายน- ธันวาคม 2560 และครั้งที่ 6 ที่อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ในช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม 2561 โดยวางแผนการทดลองแบบ supervised Trial มี 2 ซ้ำ (replication) แบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย ได้แก่ แปลงทดลองที่พ่นวัตถุที่มีพิษ Abamectin (treated) ในอัตราคำแนะนำ คือ Abamectin 1.8% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และแปลงทดลองควบคุมที่ไม่ได้พ่นวัตถุที่มีพิษ Abamectin เป็นแปลงเปรียบเทียบ (untreated) ทำการพ่นวัตถุที่มีพิษ Abamectin ทุก 7 วัน รวม 3 ครั้งติดต่อกัน สุ่มเก็บตัวอย่างสม่ำเสมอตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ Abamectin ที่ระยะเวลาต่างกัน คือ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน หลังจากการพ่นครั้งสุดท้าย ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง Abamectin ในส้มเขียวหวาน ด้วยเทคนิค LC-MS/MS มีค่าปริมาณต่ำสุดของวิธีการวิเคราะห์ได้ (limit of quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการทดลองครั้งที่ 5 และ 6 ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง Abamectin ในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่นวัตถุที่มีพิษ ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้าง Abamectin ในการทดลองทั้งครั้งที่ 5 และ 6 พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ระยะเวลา 0 วัน และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างที่ระยะเวลา 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย

Abstract

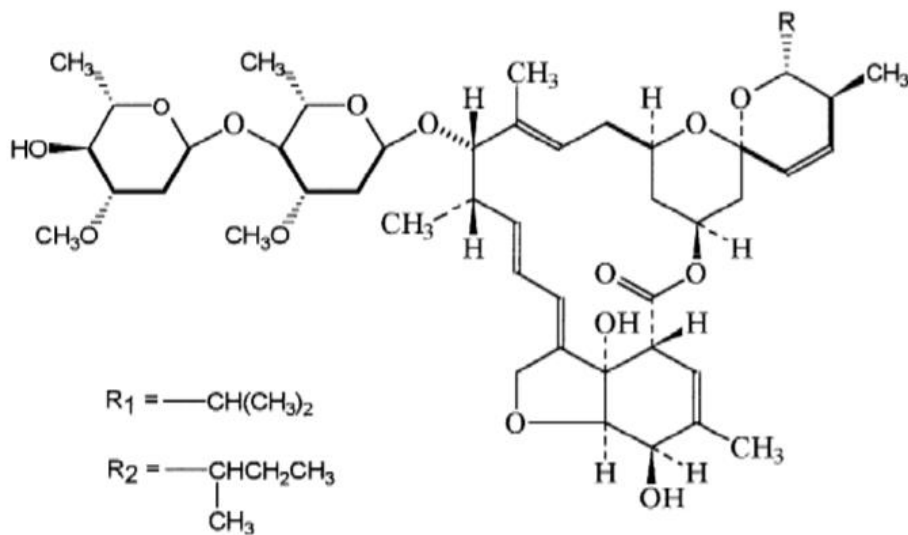
The determination of pesticide residue of Abamectin in orange to establish MRL was conducted during November 2017 – December 2017 and March – May 2018 for 5th and 6th trials, respectively. The 5th and 6th trial was located at Nong Sua District, Pathum Thani Province. The experiments consisted of 2 plots which were treated plot (Abamectin 1.8% EC, application rate: 10 mL/ 20 L of water spray 3 times every 7 day) and control plot (untreated). The experiment was 2 replication and 7 sampling interval period (sampling date for residue analysis after the last application at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days). The residue of Abamectin was determined by LC-MS/MS. For this study, the limit of quantitation was 0.01 mg/kg. The results were not detected at all in control plot samples. In contrast, the residue from treated plots were found 0.01 mg/kg at 0 day and not found at 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after application for both 5th trial and 6th trial.

7. คำนำ

การกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในผลผลิต และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเป็นการ พิจารณา ร่วมกันของคณะกรรมการมาตรฐานอาหารสากล (Codex) FAO/WHO ซึ่งจะพิจารณาจาก ข้อมูลผลการทดลองที่ ประเทศสมาชิกได้ทำการศึกษาภายใต้การปฏิบัติการทางการเกษตรที่เหมาะสม (GAP) โดยมีการดูแลรักษาการ ป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสมถูกต้องกับชนิดของพืช การกำหนดค่าปริมาณสูงสุด MRL จะขึ้นอยู่กับชนิดของ วัตถุมีพิษและชนิดของพืช เนื่องจากคณะกรรมการชุดนี้ส่วนใหญ่จะพิจารณาพืชและวัตถุมีพิษที่ใช้กันมากไปใน ยุโรป และประเทศในซีกโลกตะวันตก ดังนั้นพืชเมืองร้อนจึงต้องทำการทดลอง เพื่อให้มีการกำหนดค่าขึ้นเพื่อ ผลประโยชน์ในการต่อรองทางด้านการค้าเสรี เนื่องจากบางประเทศที่นำเข้า สินค้าเกษตรนำค่าที่กำหนดนี้มาเป็น ข้ออ้างในการกีดกันทางการค้าสำหรับพืชและวัตถุมีพิษที่ไม่มีการกำหนดไว้โดย Codex นอกจากนี้ ประสิทธิภาพของวัตถุมีพิษ และอัตราการสลายตัวในพืชแต่ละชนิดยังมีความ แตกต่างกันในแต่ละสภาพพื้นที่ การเกษตร โดยการทดลองจะต้องทำซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง ต่างสถานที่ หรือต่างฤดูกาล นำข้อมูลปริมาณสารพิษ ตกค้างที่ได้จากฉีดพ่นวัตถุมีพิษที่อัตราแนะนำและสองเท่าของอัตรา แนะนำ ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการ พ่นครั้งสุดท้าย มาประกอบการพิจารณาร่วมกับข้อมูลศึกษา ความเป็นพิษของวัตถุมีพิษชนิดนั้นๆ

ส้มเขียวหวานเป็นผลไม้ที่ปลูกมากเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญ และนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย จัดเป็น ผลไม้ตระกูล Citrus ให้รสชาติเปรี้ยวหวานและอุดมไปด้วยสารอาหารต่างๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น วิตามิน ซี วิตามินเอ (เบตาแคโรทีน) วิตามินบี วิตามินดี ธาตุแคลเซียม ธาตุโพแทสเซียม ธาตุฟอสฟอรัส ธาตุเหล็ก และ คอลลาเจน นอกจากนี้ยังมีใยอาหารที่ช่วยในระบบขับถ่ายอีกด้วย สำหรับสรรพคุณของส้มเขียวหวานในเรื่องอื่นๆ

เช่น ช่วยรักษาเลือดออกตามไรฟัน ช่วยล้างสารพิษในร่างกายด้วยสารต่อต้านอนุมูลอิสระ สำหรับแมลงศัตรูพืชที่สำคัญและมักพบระบาดเป็นประจำ สร้างความเสียหายให้กับส้มทุกแห่งปลูก ได้แก่ หนอนซอนใบส้ม เพลี้ยไฟพริก เพลี้ยไก่แจ้ส้ม และเพลี้ยหอยแดงแคลิฟอร์เนีย อย่างไรก็ตาม เกษตรกรต้องประสบปัญหาการผลิตด้านต่างๆ เช่น สภาพดินฟ้าอากาศที่เปลี่ยนแปลง และศัตรูพืชทั้งโรคพืชและแมลงที่ระบาดทำความเสียหายต่อส้มเขียวหวาน ส้มเขียวหวานมีแมลงศัตรูพืชหลายชนิดเข้าทำลายส่งผลให้ผลผลิตลดลง คุณภาพผลผลิตต่ำลง ทำให้เกษตรกรต้องใช้สารป้องกันกำจัดแมลงต่างๆ ในการปลูกส้ม เช่น อะบาเม็กติน (Abamectin) โคลไทอะนินดิน (Clothianidin) อิมิดาโคลพริด (Imidacloprid) ไดโนทีฟูแรน (Dinotefuran) เป็นต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2557)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของ Abamectin เมื่อ $R=R_1$ (abamectin B_{1b}); $R=R_2$ (abamectin B_{1a});
 ที่มา : O.J. Pozo, et. Al., 2003.

Abamectin มีชื่อทางการค้าคือ Apron จัดเป็นวัตถุมีพิษในกลุ่ม Phenylamide (acylalanine type) ที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดโรคพืชที่มีอาการคือ ใบมีลักษณะบิดงอลทางด้านที่มีหนอนทำลาย ถ้ามีการระบาดของหนอนมากจะเข้าทำลายกิ่งอ่อนและผลอ่อนด้วย การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ Abamectin ในส้มเขียวหวาน จึงเป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) จากการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex เพื่อความ

ปลอดภัยของผู้บริโภค และเป็นข้อมูลด้านสารพิษตกค้างในการแก้ปัญหาการปนเปื้อนของ วัตถุมีพิษการเกษตรใน ผลผลิต เพื่อประโยชน์ในการต่อรองทางด้านสินค้าเกษตรส่งออก

8. ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการ

ขั้นตอน

1. สํารวจแปลงปลูกส้มเขียวหวานของเกษตรกรเพื่อวางแผนการทดลอง เตรียมอุปกรณ์และทดสอบหา วิธีตรวจ วิเคราะห์สาร พิษตกค้าง Abamectin ในส้มเขียวหวาน อัตราส่วน 1.8% EC
2. ปฏิบัติงานในสวนส้มเขียวหวาน โดยการพ่นวัตถุมีพิษตามอัตราที่กำหนด และเก็บตัวอย่างส้มเขียว หวานจากสวน ตามวันที่กำหนดในแผนการทดลอง
3. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง Abamectin ในส้มเขียวหวาน โดยการสกัด (Extraction) และ ตรวจวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง LC-MS/MS
4. วิเคราะห์ สรุปผลการทดลองและนำเสนอผลงานวิจัย

วิธีดำเนินการ

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1.1 เครื่องพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (spray equipment) แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack electrical sprayer, Mitsudaiwa รุ่น TP-20)
- 1.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง เช่น เครื่องจับเวลา เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องวัดอุณหภูมิและ ความชื้น และเครื่องบันทึกอุณหภูมิ ที่สอบเทียบแล้ว
- 1.1.3 หลอดทดลอง (Teflon centrifuge tubes) ขนาด 50 มิลลิลิตร และ 15 มิลลิลิตร
- 1.1.4 ขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 1.1.5 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 2-20, 10-100, 20-200, 100-1,000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร ที่สอบเทียบแล้ว
- 1.1.6 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารเคมีจากขวด (dispenser) ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่สอบเทียบแล้ว
- 1.1.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง ที่สอบเทียบแล้ว
- 1.1.8 เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor)
- 1.1.9 ตู้อบ (hot air oven) และเตาเผา (muffle furnace)
- 1.1.11 เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (centrifuge)

- 1.1.12 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder
- 1.1.13 เข็มที่มีกระดาษกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร
- 1.1.14 เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของ ultra-performance liquid chromatography (UPLC) ต่อกับ tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) Agilent technologies รุ่น 6460

1.2 สารเคมี

- 1.2.1 สารมาตรฐานของ Abamectin 96.5%
- 1.2.2 ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช Abamectin 1.8 % W/V EC ชื่อการค้า แจคเก็ต (Jacket) ผลการทดสอบเปอร์เซ็นต์สารออกฤทธิ์ โดย กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุพืชมการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุพืชมการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เท่ากับ 1.87 % W/V
- 1.2.3 acetonitrile (CH_3CN) ชนิด pesticide grade (PR)
- 1.2.4 Formic acid (CH_2O_2) ชนิด analytical grade (AR)
- 1.2.5 acetonitrile (ACN) ชนิด LC-MS grade
- 1.2.6 anhydrous magnesium sulfate (Mg_2SO_4) เเผาที่ 500°C นาน 5 ชั่วโมง
- 1.2.7 sodium citrate tribasic dyhydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 1.2.8 disodium hydrogen citrate sesquehydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$)
- 1.2.9 sodium chloride (NaCl)
- 1.2.10 Manesium sulphate (MgSO_4)
- 1.2.11 C18 sorbent (50 ไมโครเมตร)
- 1.2.12 PSA
- 1.2.13 น้ำกลั่น (distilled water)

2. วิธีการ

2.1 สํารวจสวนส้มเขียวหวานของเกษตรกรเพื่อวางแผนการทดลอง การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง และกำหนดระยะเวลาพ่นวัตถุพืชม Abamectin เตรียมอุปกรณ์และหาวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง Abamectin ในส้มเขียวหวาน

- 2.1.1 การสํารวจสวนส้มเขียวหวานของเกษตรกรเพื่อใช้เป็นแปลงทดลอง โดยการประสานงานกับเจ้าหน้าที่เกษตรอำเภอในท้องที่ที่ได้รับข้อมูลว่าเป็นแหล่งปลูกอุ่นจำนวนมาก แล้วจึงติดต่อขอ

ความร่วมมือ จากเกษตรกรเพื่อดำเนินการทดลอง ซึ่งเกษตรกรยินยอมที่จะปฏิบัติตามแผนดำเนินงานที่จะจัดทำต่อไป

2.1.2 การวางแผนการทดลอง การทดลองนี้เป็น Supervised Trial วางแผนการทดลอง แบบพิเศษ คือมี 2 กรรมวิธี (treatment) และทำการทดลอง 2 ซ้ำ (replication)

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยน้ำเปล่า (แปลงควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นผลิตภัณฑ์ Abamectin ที่ระดับความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) โดยใช้ น้ำ 3 ลิตรต่อต้น

2.1.3 การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง แปลงทดลองในพื้นที่เกษตรกร โดยแบ่งแปลงทดลอง ออกเป็น 2 ซ้ำ (replication) โดยแต่ละซ้ำ จะมีส้มเขียวหวาน 4 ต้นอยู่ติดกันและมีขนาดลำต้นใกล้เคียงกัน แต่ละซ้ำ จะมี Guard row คั่น ระยะห่างระหว่างต้นส้มเขียวหวาน 4x4 เมตร

2.1.4 กำหนดระยะเวลาในการพ่นวัฏมีพิษในแปลงทดลอง ใช้ผลิตภัณฑ์ Abamectin ซึ่งเป็นอัตราส่วน 1.8% EC พ่นในแปลงครั้งแรกก่อนที่จะทำการเก็บผลผลิต 1 เดือนที่ระดับความเข้มข้น ตามอัตราแนะนำ (10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) โดยใช้เครื่องพ่นแบบแบบเครื่องยนต์ สะพายหลังพ่นวัฏมีพิษทุก 7 วันจนครบ 3 ครั้ง

2.2 เก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

2.2.1 เก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง หลังการพ่นวัฏมีพิษครั้งสุดท้ายที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมงเพื่อให้ต้นส้มเขียวหวานแห้งสนิท แล้วจึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานเป็นวันที่ 0 และเก็บตัวอย่างต่อไป ตามระยะเวลาที่กำหนดไว้คือ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นวัฏมีพิษครั้งสุดท้าย โดยแต่ละตัวอย่างสุ่มเก็บอย่างน้อยน้ำหนักไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม นำกลับห้องปฏิบัติการเพื่อสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง Abamectin

3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ส้มเขียวหวานที่เก็บจากแปลงทดลอง แต่ละตัวอย่างนำเนื้อและเปลือกไปใส่เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor) เพื่อให้ตัวอย่างเป็นชิ้นละเอียด จากนั้นนำไปสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

3.2 การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง ด้วยวิธี QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2003) ขั้นตอนมีดังนี้

3.2.1 นำตัวอย่างส้มเขียวหวานจากข้อ 4.1 ชั่ง 10 ± 0.05 กรัม ใส่ใน Teflon centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.2.2 เติม 10 มิลลิลิตร ACN แล้วเขย่าด้วยมือเป็นระยะเวลา 1 นาที

3.2.3 เติม 4 กรัม $MgSO_4$, 1 กรัม NaCl, 1 กรัม $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ และ 0.5 กรัม $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$ แล้วเขย่าทันทีด้วยมือ เป็นเวลา 1 นาที

3.2.4 นำสารละลายที่สกัดไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง ที่ความเร็วรอบ 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที

3.2.5 ปิเปตสารละลายส่วนใสปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ใน Teflon centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร และเติม 125 มิลลิกรัม PSA, 750 มิลลิกรัม $MgSO_4$ และ 50 มิลลิกรัม GCB แล้วเขย่าโดยใช้ vortex mixer เป็นระยะเวลา 1 นาที

3.2.6 นำสารละลายที่สกัดไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง ที่ความเร็วรอบ 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที

3.2.7 กรองสารละลายส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ด้วยเข็มที่มีกระดาษกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.2 ไมครอน (PTFE) ใส่ใน auto sampler vials ที่มีสารละลาย 5% formic acid 10 ไมโครลิตร (เพื่อกันสารละลายที่สกัดได้เกิดการสลายตัว)

3.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

เตรียมสารละลายมาตรฐานของวัตถุพิษ Abamectin ด้วย ACN, PR Grade โดยเตรียม 5 ความเข้มข้นที่ระดับ 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.25, และ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS เพื่อทำ calibration curve ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารในแกน X ซึ่ง calibration curve เป็นกราฟเส้นตรงที่มีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995 การตั้งสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี มีรายละเอียดดังนี้

เครื่อง LC-MS/MS รายละเอียดในส่วนของ HPLC และ MS มีดังนี้

คอลัมน์ (HPLC Column)	: Kinetex 2.6u XB-C18 100A 100 x 2.1 mm
Mobile phase A	: 5 mM ammonium format e + 0.01% formic acid
Mobile phase B	: ACN

ตารางที่ 1 แสดงระยะเวลาและอัตราที่ใช้ของ mobile phase

Time (min)	A (%)	B (%)
0.00	2	98
7.00	50	50
8.00	98	2
10.00	2	98
10.10	2	98

Flow rate : 0.4 mL/min

Sample size : 5 μ L

รายละเอียดในส่วนของ MS มีดังนี้

ESI, Positive mode

Gas temperature : 250 $^{\circ}$ C

Gas flow : 11 mL/min

Nebulizer : 35 psi

Capillary : 4,000 V

การตั้ง mass MRM (m/z) มีดังนี้

Abamectin B1a 1) 890.5 > 567.4

2) 890.5 > 305.1

4. การหาค่า Recovery และ Limit of Determination (LOQ)

เพื่อทดสอบวิธีที่เหมาะสมสำหรับการที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ โดยการเติมสารมาตรฐาน Abamectin ใน สัมเขียวหวาน ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนเติมลงในตัวอย่างแล้วสกัดตามวิธีวิเคราะห์โดยใช้วิธีการเดียวกันเพื่อ ทำ การทดลองหาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ โดยการศึกษาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนมา (% recovery) ที่ระดับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 0.01, 0.1, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รวม 4 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ และนำมาหาค่า LOQ

5. ระยะเวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2560 - กันยายน 2561

สถานที่ การทดลองในแปลงทดลองที่ อำเภอนองเสือ จังหวัดปทุมธานี และการทดลองในห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของอิมิดาโคลพริด (imidacloprid) ในมะเขือเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง วางแผนการทดลองแบบ supervise residue trial ตาม Codex Guidelines ทำการทดลอง จำนวน 2 แปลง ซึ่งครั้งที่ 5 ที่อำเภอนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ในช่วงเดือน พฤศจิกายน- ธันวาคม 2560 และครั้งที่ 6 ที่อำเภอนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ในช่วงเดือน มีนาคม-พฤษภาคม 2561 โดยวางแผนการทดลองแบบ supervised Trial มี 2 ซ้ำ (replication) แบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย แต่ละแปลงทดลองมี 2 การทดลองย่อย คือ การทดลองย่อยที่ 1 แปลงควบคุม ไม่พ่นสารสำหรับใช้เป็นแปลงเปรียบเทียบกับแปลงที่พ่นสาร และการทดลองย่อยที่ 2 พ่นสาร Abamectin 1.8 % W/V EC อัตราแนะนำ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (สมศักดิ์ สิริพลตั้งมั่น และคณะ, 2554) อัตราการใช้ น้ำ 3 ลิตรต่อต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช, 2553) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแปลงส้มเขียวหวาน ระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 21 วัน โดยพ่นสาร Abamectin 7 วันต่อครั้ง รวม 3 ครั้ง ก่อนการพ่นสารทุกครั้งต้องตรวจสอบอัตราการไหลของเครื่องพ่นให้สม่ำเสมอตามระบบ GLP มีการพิจารณาประสิทธิภาพการพ่นสาร พบว่าประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษ Abamectin ที่แปลงทดลองอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ อยู่ระหว่าง 95-110% ของปริมาณวัตถุมีพิษ สุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตจากแปลงทดลองที่ระยะเวลาต่างๆ กันคือ 0 (2 ชั่วโมงหลังการพ่น), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ Abamectin ในส้มเขียวหวาน ด้วยวิธีการ QuEChERS ซึ่งทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ตรวจวัดโดยใช้เทคนิค LC-MS/MS พบว่าค่า % recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 80-117 และ %RSD อยู่ในช่วง 9-12 และนำมาหาค่า LOQ ได้ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ Abamectin ในส้มเขียวหวาน ที่ระยะเวลาต่างๆ มีรายละเอียดดังแสดงใน ตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณสารพิษตกค้างของ Abamectin ในส้มเขียวหวาน ของแปลงทดลองที่ 5 และ 6

ระยะเวลา หลังการพ่น ครั้งสุดท้าย (วัน)	Replication	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)			
		แปลงทดลองที่ 5		แปลงทดลองที่ 6	
		ตัวอย่าง แปลงควบคุม	ตัวอย่างแปลง ทดลอง	ตัวอย่าง แปลงควบคุม	ตัวอย่างแปลง ทดลอง
0 ^{1/}	1	ND ^{2/}	0.01	ND	0.01
	2	ND	0.01	ND	0.01
	เฉลี่ย	ND	0.01	ND	0.01
1	1	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND
	เฉลี่ย	ND	ND	ND	ND
3	1	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND
	เฉลี่ย	ND	ND	ND	ND
5	1	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND
	เฉลี่ย	ND	ND	ND	ND
7	1	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND

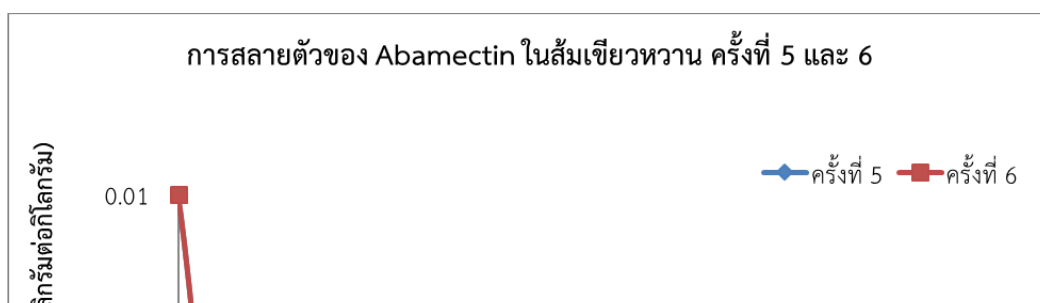
	เฉลี่ย	ND	ND	ND	ND
10	1	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND
	เฉลี่ย	ND	ND	ND	ND
14	1	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND
	เฉลี่ย	ND	ND	ND	ND

1/ ระยะเวลา 2 ชั่วโมงหลังการพ่นครั้งสุดท้าย

2/ ND คือ not detectable เมื่อ LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จากผลการทดลองตามตารางที่ 2 พบว่าเมื่อใช้สารกำจัดศัตรูพืชตามอัตราแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง Abamectin ในส้มเขียวหวาน การทดลองครั้งที่ 5 ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุมทุกตัวอย่างของการทดลอง (LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับแปลงที่พ่นวัฏภูมิพืช Abamectin พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ระยะเวลา 0 วัน และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างที่ระยะเวลา 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย สำหรับการทดลองครั้งที่ 6 ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุมทุกตัวอย่างของการทดลอง สำหรับแปลงที่พ่นวัฏภูมิพืช Abamectin พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ระยะเวลา 0 วัน และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างที่ระยะเวลา 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย

สารพิษตกค้าง Abamectin ในส้มเขียวหวาน หลังการพ่นระยะวันแรกที่เกี่ยวข้องมีค่าที่สูงกว่าวันอื่นๆ และไม่พบการตกค้างของ Abamectin ในส้มเขียวหวานตั้งแต่วันที่ 1 หลังการพ่นของการทดลองครั้งที่ 5 และ 6 ซึ่งพิจารณาปริมาณสารพิษตกค้างของ Abamectin ที่พบในส้มเขียวหวาน เมื่อนำปริมาณสารพิษตกค้างไป plot กราฟกับระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตส้มเขียวหวาน จะได้สมการความสัมพันธ์การลดลงของสารพิษตกค้าง Abamectin ในส้มเขียวหวานกับระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่น คือสารตกค้างลดลงตามระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่นที่เพิ่มมากขึ้น ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2. การสลายตัวของ Abamectin ในส้มเขียวหวาน ครั้งที่ 5 และ 6
(อัตราการพ่น 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร)

10. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ส้มเขียวหวานตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง Abamectin ในตัวอย่างแปลงควบคุม ส่วนในแปลงที่พ่นวัตถุอันตราย ทางการเกษตรตามอัตราแนะนำ การทดลองในทั้งครั้งที่ 5 และ 6 ตรวจพบสารพิษตกค้างปริมาณ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ระยะเวลา 0 วัน และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างที่ระยะเวลา 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย ส้มเขียวหวานที่พ่น Abamectin ในอัตราแนะนำ พบว่าการสลายตัวของ Abamectin มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาเก็บเกี่ยว ซึ่งไม่พบการตกค้างของ Abamectin ในส้มเขียวหวาน ตั้งแต่วันที่ 1 หลังการพ่นของทั้งการทดลองทั้งครั้งที่ 5 และ 6 เนื่องจากต้นส้มเขียวหวานมีลักษณะเป็นทรงพุ่ม และผลส้มเขียวหวานมีลักษณะผิวมันวาว การพ่นวัตถุมีพิษอาจไม่สามารถเกาะบนพื้นที่ผิวของผลส้มเขียวหวาน เมื่อนำปริมาณสารพิษตกค้างไป plot กราฟกับระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตส้มเขียวหวาน จะได้สมการความสัมพันธ์การลดลงของสารพิษตกค้าง Abamectin ในส้มเขียวหวานกับระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่น คือสารตกค้างลดลงตามระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่นที่เพิ่มมากขึ้น สำหรับทั้งการทดลองในทั้งครั้งที่ 5 และ 6 เมื่อพิจารณาปริมาณสารพิษตกค้างที่พบ

ในส้มเขียวหวานของการทดลองทั้งสองครั้งนี้มีความปลอดภัยในการบริโภค เมื่อประเมินค่าตาม Codex MRL ซึ่งกำหนดค่าใน Citrus fruits เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ทราบถึงอัตราการสลายตัวของ Abamectin ในส้มเขียวหวาน เพื่อนำไปใช้ในการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างของประเทศไทย ตลอดจนนำไปเสนอ เพื่อกำหนดค่า MRL ของอาเซียน และของ Codex ต่อไป
2. สามารถใช้ข้อมูลที่ได้แนะนำเกษตรกรให้ใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย เพื่อลดปัญหา สารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตรและสิ่งแวดล้อม ทราบระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมและปลอดภัย ซึ่งจะช่วยให้เกิดความปลอดภัยต่อ ผู้บริโภคและการส่งออก
3. เป็นข้อมูลสำหรับประกอบการพิจารณาในการยกเลิกการใช้วัตถุมีพิษหรือแก้ไขฉลากคำแนะนำการใช้สาร เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษที่มีคุณภาพเหมาะสมและปลอดภัย
4. สามารถนำข้อมูลที่ได้มาร่วมพิจารณา กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง Abamectin ในผลผลิตส้มเขียวหวานและการเกษตรใกล้เคียงในประเทศ เพื่อใช้เป็นค่าสำรองและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายผลผลิตทางการเกษตรระหว่างประเทศ (ซึ่งจะเป็นผลดีในด้านเศรษฐกิจ) การสุ่มตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย ทำให้ทราบถึงสถานการณ์สารพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตรและ คุณภาพของผลิตผล เพื่อเป็นข้อมูลในการคุ้มครองผู้บริโภค

12. เอกสารอ้างอิง

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กลุ่มบริหารศัตรูพืช. 2557. *แมลงศัตรูไม้ผล*. กรมวิชาการเกษตร.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช*. กรมวิชาการเกษตร.

สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555. *การกำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs)*. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเพื่อเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. 15-16 พฤศจิกายน 2555. 56-69.

- Chemical Information Systems, Inc. Oil and Hazardous Materials/Technical Assistance Data System, Baltimore, MD, 1988.10-16
- Codex Alimentarius. 2015. *Codex Alimentarius Commission Procedure Manual*, 23rd ed.
- Eurachem. 2014. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, 2nd ed.
- FAO/WHO. 2008. Codex alimentarius commission. Status of Codex maximum residue limits for pesticides in food and animal food.
- O.J. Pozo, J.M. Marin, J.V. Sancho and F. Hernandez. 2003. *Determination of abamectin and azadirachtin residues in orange samples by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 992: 133–140.
- QuEChERS EN 15662. 2008. Food of Plant Origin-Determination of Pesticide Residue Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method.