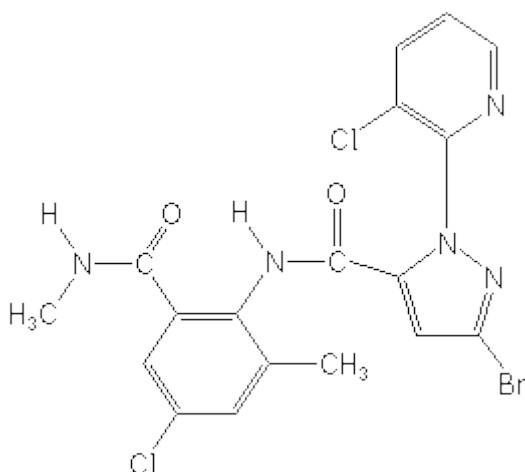


ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ chlorantraniliprole ในผักคะน้าและผักกาดหอม มีช่วงความเข้มข้นที่วิเคราะห์ 0.1 – 2 และ 0.05 – 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่าความแม่นยำในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในช่วงร้อยละ 76.6 – 116.9 และ 70.6 – 114.3 สำหรับพืชทั้งสองชนิด ตามลำดับ ค่า LOQ เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่า LOD เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับพืชทั้งสองชนิด ส่วนผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ pyraclostrobin ในผักคะน้า ผักกาดหอม และพริก มีช่วงความเข้มข้นที่วิเคราะห์ 0.05 – 2, 0.05 – 2 และ 0.2 – 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่าความแม่นยำในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในช่วงร้อยละ 70.1 – 110.8, 70.8 – 114.3 และ 70.2 – 87.6 สำหรับพืชทั้งสามชนิด ตามลำดับ ค่า LOQ เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับคะน้าและผักกาดหอม ส่วนพริกมีค่า LOQ อยู่ที่ระดับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่า LOD เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม คะน้าและผักกาดหอม ส่วนพริกมีค่า LOD อยู่ที่ระดับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

6. คำนำ

วัตถุที่มีพิษในกลุ่ม pyrazole ที่มีการขึ้นทะเบียนในประเทศไทยและใช้กันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ มีแนวโน้มที่จะเป็นสารทดแทนสารเคมีในปัจจุบัน เนื่องจากออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงกับศัตรูพืช สารในกลุ่มนี้ที่เป็นสารกำจัดแมลงมีความเป็นพิษสูงต่อแมลงและมีความเป็นพิษต่ำต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ได้แก่ สาร chlorantraniliprole และสารที่เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่เริ่มมีการใช้กันมากขึ้น ได้แก่ สาร pyraclostrobin

Chlorantraniliprole เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรประเภทสารฆ่าแมลง กลุ่ม anthranilic diamide ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงหลายชนิดในกลุ่ม lepidopteran, coleopteran, dipteran และ hemipteran (Kar et al, 2012) มีสูตรตาม IUPAC ชื่อ 3-bromo-4'-chloro-1-(3-chloro-2-pyridyl)-2'-methyl-6'-(methylcarbamoyl)pyrazole-5-carboxanilide มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{18}H_{14}BrCl_2N_5O_2$ มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 1 มีมวลโมเลกุล 483.15 กรัมต่อโมล ละลายได้ดีที่สุดในตัวทำละลาย acetone ในปริมาณ 3.446 กรัมต่อลิตร สามารถละลายน้ำได้ปานกลางที่ระดับ 0.88 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สภาวะที่เป็นกลาง pH เท่ากับ 7 และอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ถ้าน้ำเป็นกรด (pH4) หรือด่าง (pH9) จะละลายได้มากกว่าที่ระดับ 0.972 และ 0.971 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าคงที่การแตกตัว (dissociation constant : pK_a) มีค่าเท่ากับ 10.88 มีความดันไอต่ำที่ระดับ 6.3×10^{-12} ปาสกาล สำหรับสาร 95.9% มีจุดหลอมเหลว 200-201 องศาเซลเซียส ส่วนสารบริสุทธิ์ 99.2% มีจุดหลอมเหลว 208-210 องศาเซลเซียส สารละลายของวัตถุอันตรายนี้มีความเป็นกรดต่างที่ 5.77 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีความหนาแน่นสัมพัทธ์เท่ากับ 1.5189 และ 1.507 สำหรับสารบริสุทธิ์ 95.9 และ 99.2% ตามลำดับ ปกติที่นำมาใช้ฆ่าแมลงจะเป็นสูตร 20% SC (EPA, 2008) สารนี้ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงสูงโดยการลดระดับของแคลเซียมภายในเซลล์ ทำให้กล้ามเนื้อเป็นอัมพาตและถึงตาย โดยเฉพาะออกฤทธิ์กับแมลงมากกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมถึง 350 เท่า (JMPR, 2008)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของ chlorantraniliprole (Wood, 2012)

วัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิด chlorantraniliprole เป็นสารฆ่าแมลงที่นิยมใช้ในพืชหลายชนิดในสหรัฐอเมริกา เช่น ข้าวโพด ผักผลไม้หลายชนิด สวนกล้วยไม้ และสวนองุ่น เป็นต้น (ดังแสดงในภาพที่ 1) แต่เป็นสารค่อนข้างใหม่ในประเทศไทย สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (2557) ได้รายงานว่า เริ่มมีการนำเข้าเพื่อการค้าในปี พ.ศ. 2554 ในปริมาณ 31,827 กิโลกรัม มูลค่าประมาณ 35.5 ล้านบาท ในปี 2555 มีการนำเข้า chlorantraniliprole ปริมาณ 98,270 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 143.4 ล้านบาท เป็นสารออกฤทธิ์ 5,083 กิโลกรัม ส่วนในปี 2556 เพียงครึ่งปี (มกราคม-มิถุนายน) มีการนำเข้า 179,308 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 245.5 ล้านบาท เป็นสารออกฤทธิ์ 9,269 กิโลกรัม (ดังแสดงในตารางที่ 1) เพิ่มขึ้นเกือบเท่าตัว จึงเป็นสารที่เกษตรกรมีความนิยมสูงมาก เนื่องจากออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงกับศัตรูพืช สารในกลุ่มนี้ที่เป็นสารกำจัดแมลงมีความเป็นพิษสูงต่อแมลงและมีความเป็นพิษต่ำต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ค่าความเป็นพิษน้อยทางปาก ผิวหนัง และทางการหายใจ ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนังและตาของกระต่าย ไม่เป็นสารก่อการกลายพันธุ์ ผลในระยะยาวพบว่าทำให้น้ำหนักของตับเพิ่มขึ้นเนื่องจากกระตุ้นให้เอนไซม์ cytochrome P450 ทำงานมีผลให้เซลล์ตับถูกทำลายและมีการสร้างเซลล์ใหม่ ทำให้น้ำหนักของตับเพิ่มขึ้นและนำมาพิจารณาในการกำหนดค่า ADI สารนี้ไม่ก่อให้เกิดมะเร็งและไม่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์รวมทั้งระบบประสาทด้วย สำหรับพิษต่อสิ่งมีชีวิตอื่นนั้น เป็นพิษน้อยต่อนก LD₅₀ มากกว่า 2,250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เป็นพิษน้อยต่อผึ้ง (มากกว่า 104 ไมโครกรัมต่อผึ้ง 1 ตัว) เป็นพิษน้อยต่อไส้เดือนดิน และเป็นพิษต่ำจนถึงปานกลางต่อปลา LC₅₀-96 ชั่วโมง อยู่ในช่วง 12 – 15 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่มีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในแหล่งน้ำ เช่น *Daphnia magna* มีค่า EC₅₀-48 ชั่วโมง ที่ระดับ 11.6 – 26 ไมโครกรัมต่อลิตร พิษระยะยาวต่อแพลงค์ตอนชนิดนี้ที่ระยะ 21 วัน มีค่าความเป็นพิษสูงที่ระดับ 7.16 ไมโครกรัมต่อลิตร และยังเป็นพิษสูงมากกับตัวอ่อนสัตว์หน้าดินท้องน้ำ (The Norwegian Food Safety Authority, 2010)

ตารางที่ 1 ปริมาณการนำเข้า chlorantraniliprole และ pyraclostrobin ในปี พ.ศ.2550-2556

ปี	chlorantraniliprole	pyraclostrobin
----	---------------------	----------------

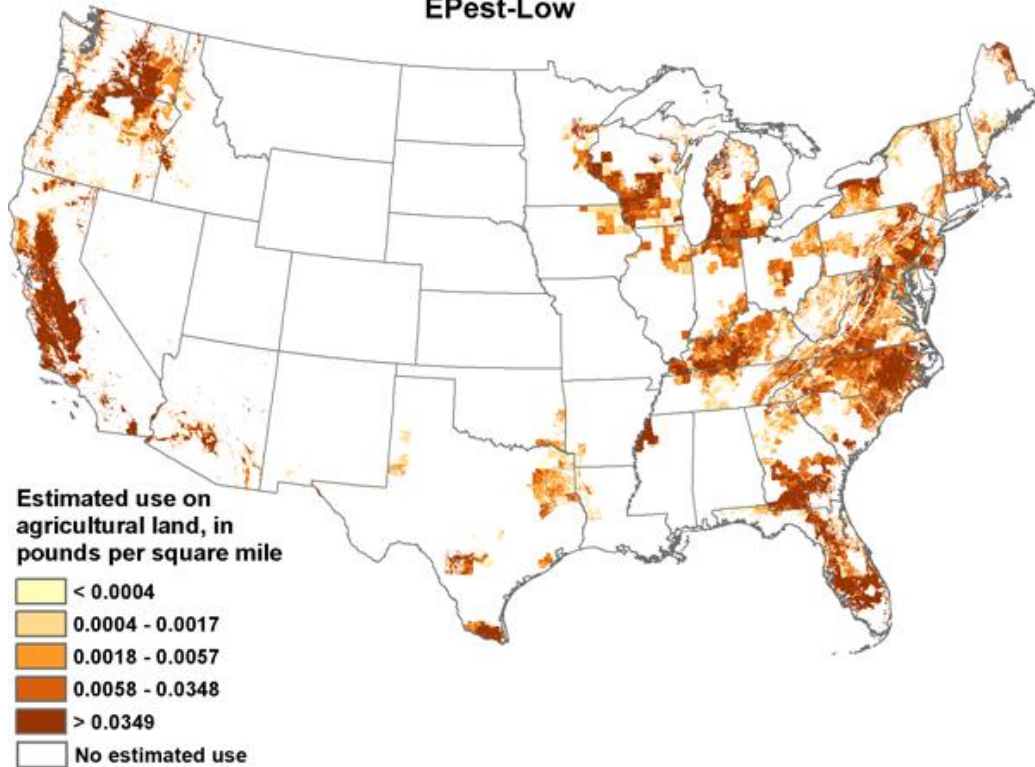
พ.ศ.	ปริมาณ (กก)	มูลค่า (บาท)	สารออก ฤทธิ์ (กก)	ปริมาณ (กก)	มูลค่า (บาท)	สารออก ฤทธิ์ (กก)
2550	0	0	0	2,120	2,969,240	530
2551	0	0	0	4,642	7,204,340	1,160
2552	33	45,000	4	13,145	10,119,440	1,686
2553	8	6,352	0	17,660	25,410,072	4,415
2554	31,827	35,479,863	1,654	29,608	45,607,800	7,402
2555	98,270	143,418,901	5,083	0	0	0
2556*	179,308	245,548,673	9,269	7,840	12,351,703	1,960

หมายเหตุ : * มกราคม-มิถุนายน 2556

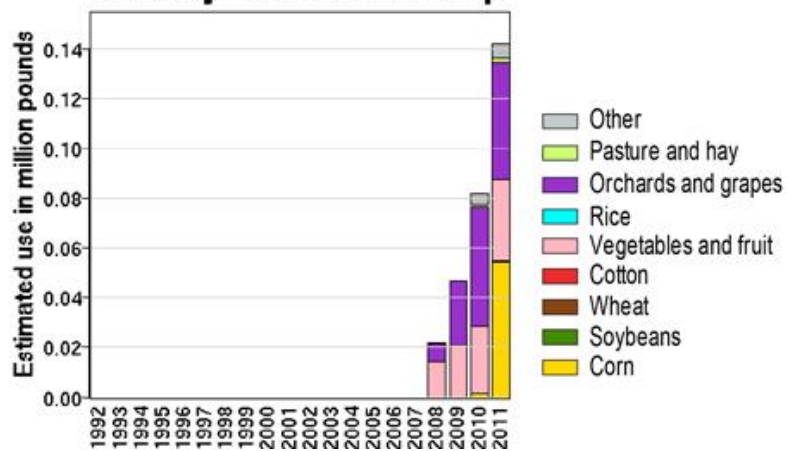
ที่มา : สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (2557)

Estimated Agricultural Use for Chlorantraniliprole , 2011

EPEst-Low



Use by Year and Crop



ภาพที่ 2 แผนที่ประมาณการใช้ chlorantraniliprole ในสหรัฐอเมริกา และชนิดของพืชที่ใช้
ที่มา : <http://water.usgs.gov>

พิจารณาจากค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole ที่กำหนดโดย Codex (ดังแสดงในตารางที่ 2) พบว่า เพิ่งมีการกำหนดค่าในปี 2009 และ 2011 ประมาณมากกว่า 20 ค่า ส่วนใหญ่กำหนดปริมาณไว้ค่อนข้างสูง แสดงให้เห็นถึงความปลอดภัยของสารฆ่าแมลงชนิดนี้ ยกเว้นที่เป็นตัวเลขทศนิยม 2 ตำแหน่ง ที่มีผลจากการทดลองตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง จึงกำหนดไว้ที่ค่าปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOQ)

ตารางที่ 2 ค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole ที่กำหนดโดย Codex

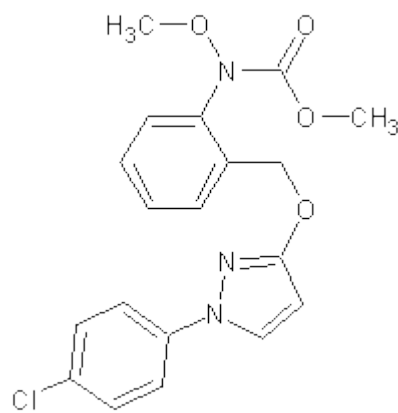
Commodity	MRL	Note	Year of Adoption
Alfalfa fodder	50 mg/Kg		2011
Berries and other small fruits	1 mg/Kg		2011
Brassica (Cole or Cabbage) Vegetables, Head Cabbage, Flowerhead Brassicas	2 mg/Kg		2011
Celery	7 mg/Kg		2009
Cereal grains	0.02 mg/Kg		2009
Citrus fruits	0.5 mg/Kg		2011
Cotton seed	0.3 mg/Kg		2009
Fruiting vegetables other than cucurbits	0.6 mg/Kg		2009
Fruiting vegetables, Cucurbits	0.3 mg/Kg		2009
Leafy vegetables	20 mg/Kg		2009
Maize fodder (dry)	25 mg/Kg		2011
Mints	15 mg/Kg		2011
Peppers Chili, dried	5 mg/Kg		2009
Pome fruits	0.4 mg/Kg		2009
Root and tuber vegetables	0.02 mg/Kg		2009
Stone fruits	1 mg/Kg		2009
Straw and fodder (dry) of cereal grains	0.3 mg/Kg		2009
Sugar cane	0.5 mg/Kg		2011
Sweet corn (corn-on-the-cob)	0.01 mg/Kg	LOQ	2011
Tree nuts	0.02 mg/Kg		2011

หมายเหตุ : LOQ = Limit of quantitation หรือปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้

ที่มา : CAC (2013)

Pyraclostrobin เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้ป้องกันและกำจัดเชื้อราโรคพืชที่รู้จักในชื่อกลุ่ม Pyrazole ชนิด strobilurins ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจที่ไม่โตคอนเดรียในระดับเซลล์ ทำให้ลดการผลิตพลังงานที่เป็นกระบวนการที่จำเป็นของเซลล์เชื้อราหรือออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรานั้นเอง (Declercq and Orge, 2003) Pyraclostrobin มีชื่อทางเคมีว่า carbamic acid, [2-[[[1-(4-chlorophenyl)-1H-pyrazol-3-yl]oxy]methyl]phenyl]methoxy-, methyl ester มีชื่อตาม IUPAC

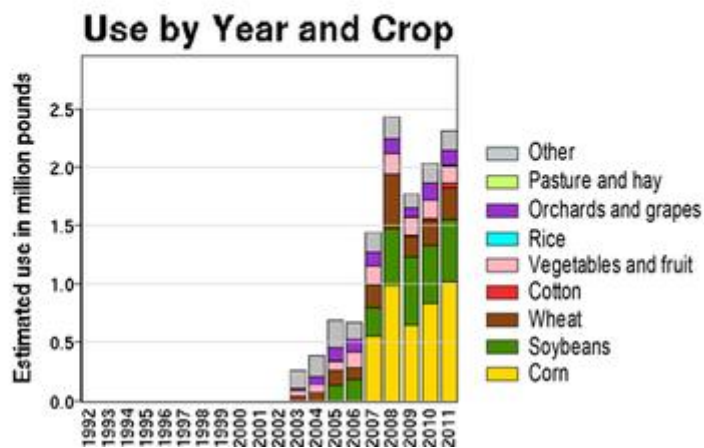
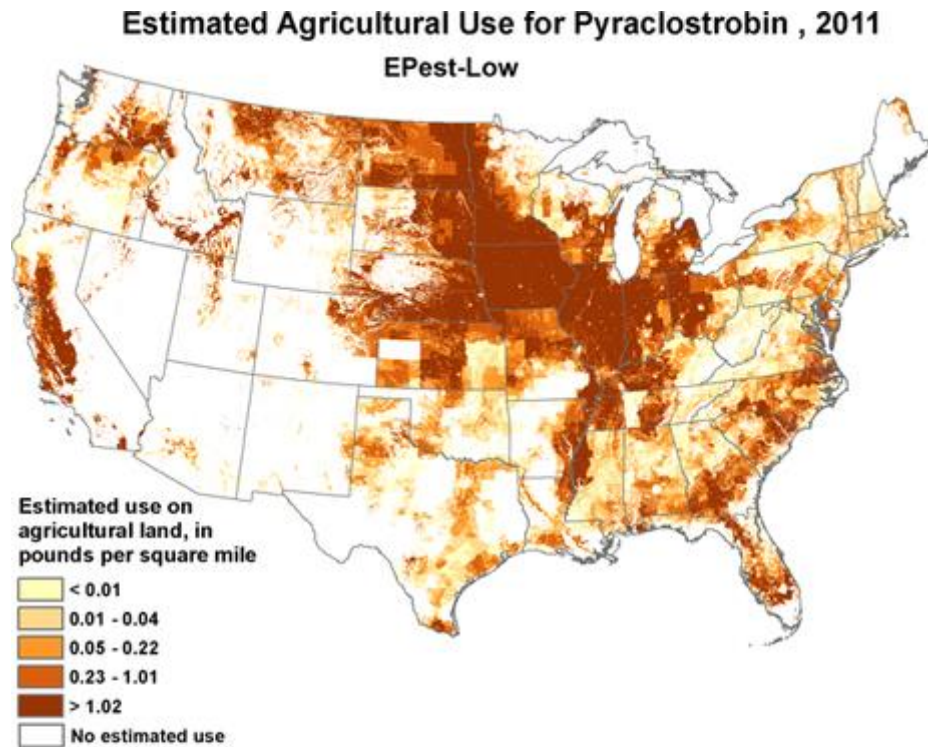
ว่า methyl N-(2-[[1-(4-chlorophenyl)-1H-pyrazol-3-yl] oxymethyl] phenyl) N-methoxy carbamate มีสูตรโมเลกุลคือ C₁₉H₁₈ClN₃O₄ มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 3 มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 387.82 มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 63.7 – 65.2 องศาเซลเซียส จุดเดือดประมาณ 200 องศาเซลเซียส สารบริสุทธิ์เป็นผลึกของแข็งสีขาวจนถึงน้ำตาลอ่อน มีความหนาแน่นสัมพัทธ์เท่ากับ 1.367 กรัมต่อลูกบาศก์ เซนติเมตร ที่ 20 องศาเซลเซียส มีความดันไอเท่ากับ 2.6 x 10⁻⁸ ปาสกาล ละลายได้ดีใน acetone, ethyl acetate, acetonitrile, dichloromethane และ toluene ได้มากกว่า 500 กรัมต่อลิตร ส่วน methanol ละลายได้ที่ระดับ 100.8 กรัมต่อลิตร ที่ 20 องศาเซลเซียส ค่อนข้างเสถียรที่ pH 5 – 9 ไม่แตกตัวหรือละลายในน้ำได้น้อยมาก มีความสามารถในการละลายในน้ำที่ระดับ 1.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH เท่ากับ 5.8 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (European Commission, 2004)



ภาพที่ 3 สูตรโครงสร้างของ pyraclostrobin (Wood, 2012)

วัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิดนี้เพิ่งมีการนำเข้ามาใช้ในประเทศไทยไม่นานถือเป็นสารชนิดใหม่และในปริมาณที่ไม่มากนัก ข้อมูลจากตารางที่ 1 ในเดือนมกราคม – มิถุนายน 2556 มีการนำเข้าผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป 7,840 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 12,351,703 บาท มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 1,960 กิโลกรัม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2557) แต่ในสหรัฐอเมริกามีการใช้สารนี้ในพื้นที่เกษตรทั่วประเทศและมากในระดับ 10 อันดับแรกของสารป้องกันกำจัดโรคพืช มีการใช้ในพืชหลายชนิด เช่น ข้าวโพด ถั่วเหลือง ข้าวสาลี ฝ้าย ผักผลไม้ สวนองุ่น และสวนกล้วยไม้ เป็นต้น (ดังแสดงในภาพที่ 4) สารนี้มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่ำมาก ค่า LD₅₀ ทางปากของหนู (rat) มีค่ามากกว่า 5,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวสัตว์ทดลอง 1 กิโลกรัม ถ้าเป็นหนูทดลองขนาดใหญ่ (mouse) มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม ค่า LD₅₀ ทางผิวหนังของหนู (rat) มีค่ามากกว่า 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่า LC₅₀ ทางการหายใจเท่ากับ 0.69 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการระคายเคืองผิวหนังบ้างแต่ไม่ระคายเคืองตา พิษระยะปานกลางกับหนูชนิด mouse มีค่า NOAEL ที่ระดับ 4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ไม่เป็นสารรบกวนทางพันธุกรรม ไม่เป็นสารที่รบกวนการทำงานของระบบประสาท มีผลทำให้น้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองลดลงแต่ไม่มีปัญหาต่อสุขภาพของคน มีค่า ADI และ ARfD เท่ากันที่ระดับ 0.03 มิลลิกรัม

ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และมีค่า Safety factor เท่ากับ 100 นอกจากนี้สารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมยังเป็นพิษต่อปลาและผึ้งในระดับปานกลางถึงค่อนข้างต่ำ (Bartholomaeus, 2003; European commission, 2004)



ภาพที่ 4 แผนที่ประมาณการใช้ pyraclostrobin ในสหรัฐอเมริกา และชนิดของพืชที่ใช้สารนี้
ที่มา : <http://water.usgs.gov>

JMPR ได้เริ่มพิจารณาความเป็นพิษของ pyraclostrobin ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2004 และพิจารณา กำหนดค่า MRL ในปี 2006 – 2007 (CAC, 2013) มากกว่า 50 ค่า (ดังแสดงในตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างของ pyraclostrobin ที่กำหนดโดย Codex

Commodity	MRL	Note	Year of Adoption
Almond hulls	2 mg/Kg		2006
Almonds	0.02 mg/Kg	LOQ*	2006
Apple	0.5 mg/Kg		2007
Banana	0.02 mg/Kg	LOQ	2006
Barley	0.5 mg/Kg		2006
Beans (dry)	0.2 mg/Kg		2006
Blueberries	1 mg/Kg		2006
Brussels sprouts	0.3 mg/Kg		2007
Cabbages, Head	0.2 mg/Kg		2007
Cantaloupe	0.2 mg/Kg		2007
Carrot	0.5 mg/Kg		2006
Citrus fruits	1 mg/Kg		2006
Coffee beans	0.3 mg/Kg		2007
Cucumber	0.5 mg/Kg		2007
Dried grapes (=currants, raisins and sultanas)	5 mg/Kg		2006
Edible offal (mammalian)	0.05 mg/Kg	LOQ	2006
Egg plant	0.3 mg/Kg		2007
Flowerhead brassicas (includes Broccoli: Broccoli, Chinese and Cauliflower)	0.1 mg/Kg		2007
Garlic	0.05 mg/Kg	LOQ	2006
Grapes	2 mg/Kg		2006
Hops, Dry	15 mg/Kg		2007

Kale	1 mg/Kg		2007
Leek	0.7 mg/Kg		2007
Lentil (dry)	0.5 mg/Kg		2006
Lettuce, Head	2 mg/Kg		2007
Maize	0.02 mg/Kg	LOQ	2006
Mango	0.05 mg/Kg	LOQ	2006

ตารางที่ 3 (ต่อ) ค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างของ pyraclostrobin ที่กำหนดโดย Codex

Commodity	MRL	Note	Year of Adoption
Oats	0.5 mg/Kg		2006
Onion, Bulb	0.2 mg/Kg		2006
Papaya	0.05 mg/Kg	LOQ	2006
Pea hay or pea fodder (dry)	30 mg/Kg		2006
Peanut fodder	50 mg/Kg		2006
Peanut, whole	0.02 mg/Kg	LOQ	2006
Peas (dry)	0.3 mg/Kg		2006
Peas (pods and succulent=immature seeds)	0.02 mg/Kg	LOQ	2007
Pecan	0.02 mg/Kg	LOQ	2006
Peppers	0.5 mg/Kg		2007
Pistachio nuts	1 mg/Kg		2006
Potato	0.02 mg/Kg	LOQ	2006
Radish	0.5 mg/Kg		2006
Radish leaves (including radish tops)	20 mg/Kg		2006
Raspberries, Red, Black	2 mg/Kg		2007
Soya bean (dry)	0.05 mg/Kg		2007
Spelt	0.2 mg/Kg		2007
Squash, summer	0.3 mg/Kg		2006
Stone fruits	1 mg/Kg		2007
Straw and fodder (dry) of cereal grains	30 mg/Kg		2006
Strawberry	0.5 mg/Kg		2006
Sugar beet	0.2 mg/Kg		2006
Sunflower seed	0.3 mg/Kg		2007

Tomato	0.3 mg/Kg	2006
Wheat	0.2 mg/Kg	2006

หมายเหตุ : LOQ = Limit of quantitation หรือปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้
ที่มา : CAC (2013)

วัตถุอันตรายทางการเกษตรทั้งสองชนิดที่กล่าวมานี้ มีความเป็นพิษน้อยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม มีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชอย่างได้ผลดี และมีค่า MRL ที่อยู่ในปริมาณที่เกษตรกรสามารถปฏิบัติได้โดยไม่ต้องกังวลกับการจำหน่ายพืชที่มีสารพิษตกค้างมากนัก มีแนวโน้มที่จะเป็นสารที่นิยมใช้ใน ปัจจุบันและอนาคต เพราะผลจากการออกฤทธิ์ได้กว้างและใช้ได้ในพื้นที่หลายชนิด การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole และ pyraclostrobin ในพืช จึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้อง ดำเนินการ แม้จะไม่ใช่สารที่อยู่ในบัญชีที่ต้องตรวจสอบในปัจจุบันเนื่องจากเป็นสารใหม่ วิธีการตรวจ วิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม pyrazoles ทั้งสองชนิดนี้ จากการตรวจเอกสารพบว่าวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีราคาแพงมาก (ราคาต่อเครื่องมากกว่า 10 ล้านบาท) ทั้งยังต้องใช้ เจ้าหน้าที่ที่มีความชำนาญสูงและมีการบำรุงรักษาที่มีค่าใช้จ่ายสูงด้วย งานวิจัยนี้จึงได้พยายามพัฒนา วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างเหล่านี้ด้วยเครื่องมือที่มีอยู่แล้วในห้องปฏิบัติการ เช่น GC และ HPLC โดยเน้นที่ใช้เครื่องลิควิดโครมาโตกราฟีธรรมดา (HPLC) โดยใช้ diode array detector (DAD) ที่ ติดตั้งตามห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างทั้งส่วนกลางและส่วนภูมิภาค เพื่อให้เจ้าหน้าที่ทุกภาคส่วน สามารถปฏิบัติการวิเคราะห์สารพิษตกค้างทั้งสองชนิดนี้ได้ ตามโครงการอาหารปลอดภัยต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

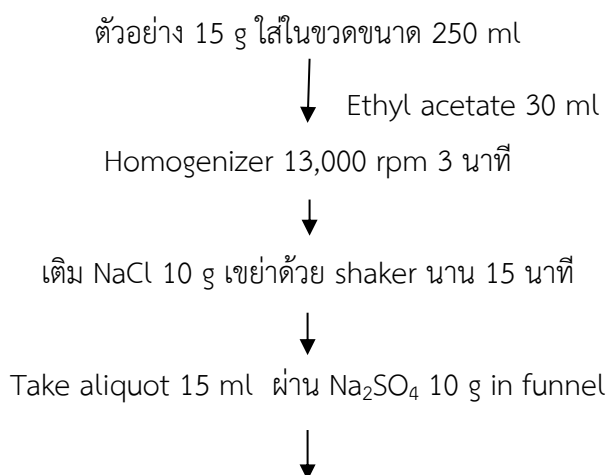
7.1 สารเคมีและอุปกรณ์ :

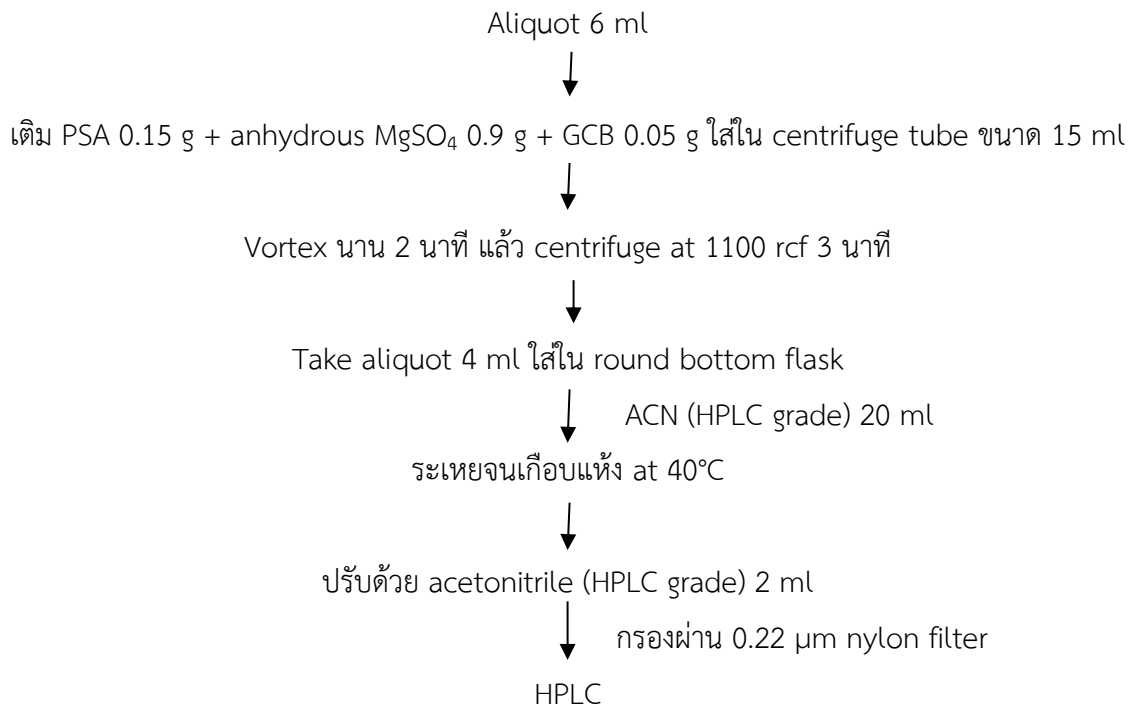
- 7.1.1 วัตถุอันตรายทางการเกษตร 2 ชนิด ได้แก่ chlorantraniliprole 98% และ pyraclostrobin 97.5%
- 7.1.2 เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดและการเตรียมสารมาตรฐาน
- 7.1.3 สารเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ acetone, dichloromethane, n-hexane, ethyl acetate, acetonitrile, methanol, sodium sulfate anhydrous, Poly-secondary amine (PSA), Graphite carbon black (GCB) ชนิด analytical และ pesticide residue grade
- 7.1.4 Solid phase extraction cartridges ชนิด Agilent Bond Elut Plexa PAX
- 7.1.5 เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, Homogenizer, rotary vacuum evaporator, nitrogen evaporator
- 7.1.6 เครื่องมือวิเคราะห์ชนิด HPLC- DAD, GC และ GC-MSD

7.2 วิธีการ :

7.2.1 ทดสอบวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างทั้งสองชนิด พบว่าสารพิษตกค้างชนิดสารกำจัดแมลง chlorantraniliprole สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ชนิด HPLC-DAD, GC-ECD และสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ดีด้วยเครื่อง GC/MS ส่วนสารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิด pyraclostrobin สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์สารทั้งสองชนิดนี้ต้องมีการปรับสถานะของเครื่องมือให้เหมาะสม สำหรับวิธีการสกัดสารพิษตกค้างในผักกาดหอม ค่ะน้า และพริก โดยใช้ตัวทำละลาย acetone และ dichloromethane ที่ใช้ในวิธีการ TM-T04-R03 และการสกัดด้วยวิธี QuEChERS ด้วย acetonitrile หาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ มีการกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย florisil cartridge หรือ polymer cartridge ที่เป็น strongly anion exchange หรือ SAX นอกจากนี้ยังได้ทำการทดสอบผลของ matrices ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ เมื่อได้วิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสมแล้วจะได้ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ ได้แก่ Linearity, Range, Accuracy, Precision, LOQ และ LOD ต่อไป

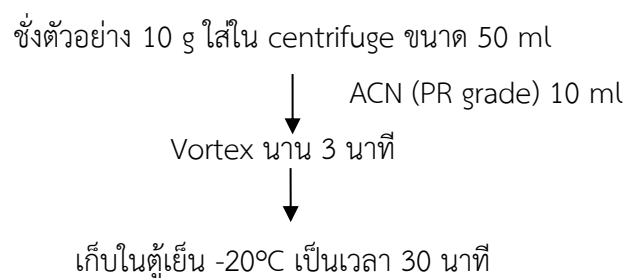
7.2.2 วิธีทดสอบการหาปริมาณ Chlorantraniliprole ใน ผักคะน้า ผักกาดหอม และพริก พัฒนามาจากวิธีของ Singh *et al* (2012) โดยการเตรียมตัวอย่างผักมาปั่นให้ละเอียดในเครื่องปั่นเตรียมตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างน้ำหนัก 15 กรัม ในขวดบรรจุตัวอย่างขนาด 250 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate 30 มิลลิลิตร ปั่นด้วย Homogenize ที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที เติม NaCl 10 กรัม เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 15 นาที เทสารละลายส่วนใส่ทั้งหมดโดยกรองผ่าน Na_2SO_4 น้ำหนัก 10 กรัม นำสารละลายที่ได้มา 6 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนต์ปีฟัวขนาด 15 มิลลิลิตร ภายในหลอดบรรจุด้วย PSA 0.15 กรัม MgSO_4 0.9 กรัม GCB 0.05 กรัม เขย่าด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที เข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,100 rcf เป็นเวลา 2 นาที ตูดสารละลายมา 4 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลม เติม acetonitrile 20 มิลลิลิตร ระเหยจนเกือบแห้ง เพื่อไล่ ethyl acetate ออกให้หมด ปรับปริมาตรให้ได้ 2 มิลลิลิตร ด้วย acetonitrile ชนิด HPLC grade กรองผ่าน 0.22 ไมครอน Nylon filter ใส่ขวด vial นำเข้าเครื่อง HPLC ขั้นตอนการวิเคราะห์แสดงไว้ในภาพที่ 5

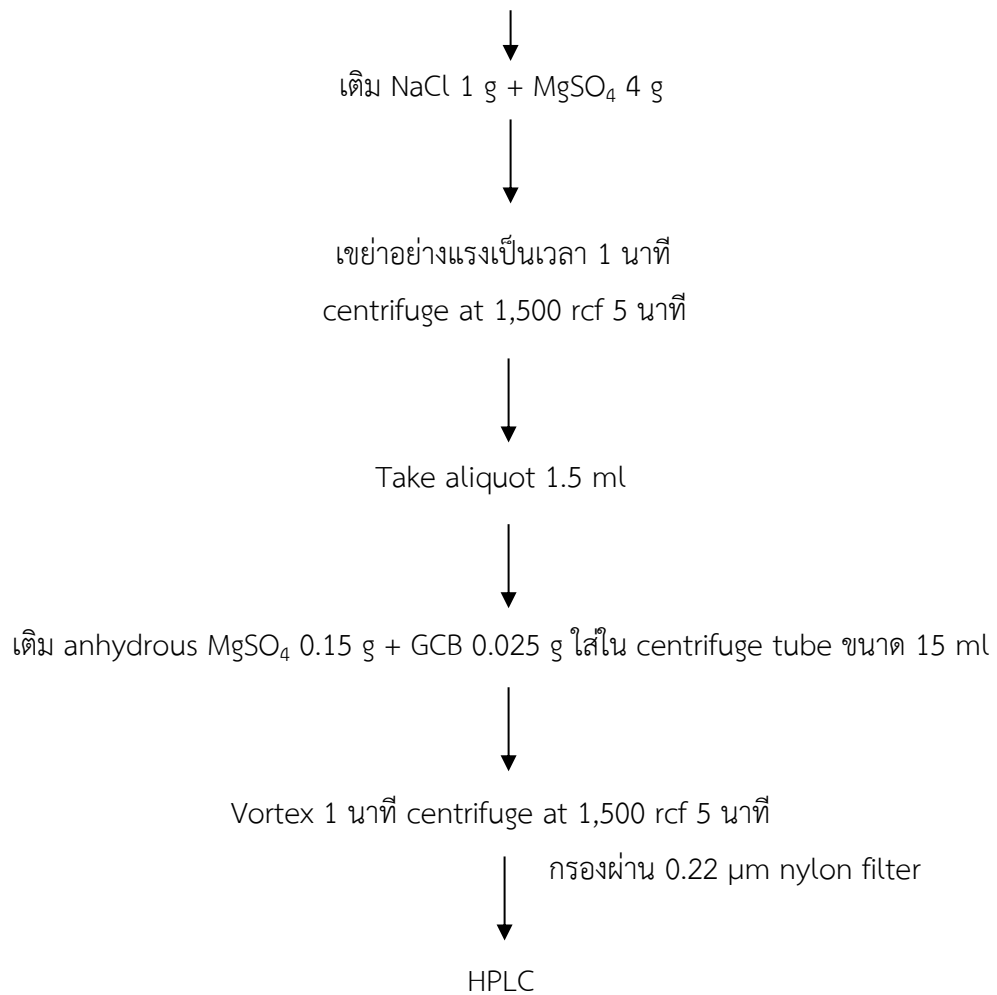




ภาพที่ 5 วิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในผัก
(ดัดแปลงจาก Singh *et al*, 2012)

7.2.3 การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในผักคะน้า ผักกาดหอม และพริก : ใช้วิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Dong *et al* (2012) เตรียมตัวอย่างผักโดยปั่นให้ละเอียดในเครื่องปั่นเตรียมตัวอย่าง ชั่งตัวอย่างหนัก 10 ± 0.2 กรัม ใส่หลอดเซนติฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าขวด และปั่นด้วย Vortex เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นนำไปเก็บในตู้เย็น ที่อุณหภูมิประมาณ -20°C เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาตามกำหนด เติม 4 กรัม MgSO₄ และ 1 กรัม NaCl ลงในขวดตัวอย่าง เขย่าอย่างแรงในทันทีที่เติมสารเป็นเวลา 1 นาที นำไปเซนติฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 1,500 rcf เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสมา 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนติฟิวจ์ขนาด 15 มิลลิลิตร ภายในหลอดบรรจุด้วย 25 มิลลิกรัมของ GCB และ 150 มิลลิกรัม anhydrous MgSO₄ เขย่าด้วย Vortex เป็นเวลา 1 นาที และนำไปเซนติฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 1,500 rcf อีกครั้งเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน 0.22 ไมครอน ด้วยกระดาษกรองชนิด Nylon filter ใส่ขวด vial นำเข้าเครื่อง HPLC (ดังแสดงในภาพที่ 6)





ภาพที่ 6 วิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในผัก

(ดัดแปลงจาก Dong *et al*, 2012)

ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ศึกษาทั้งสองชนิดด้วยเทคนิคที่ใช้ HPLC, GC-ECD และ GC/MS เพื่อหาค่า retention time ในสภาวะของเครื่องที่เหมาะสม จากนั้นทดสอบวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผัก ได้แก่ ผักกาดหอม คื่นช่าย และพริก ที่เป็นตัวแทนของพืชผักที่มีสารปนเปื้อนน้อยและมาก ตามลำดับด้วยวิธีการวิเคราะห์ 5 วิธีการ ได้แก่ วิธีการตรวจสอบสารพิษตกค้างที่ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษ การเกษตรได้รับการรับรองแล้ว (TM-T04-R03) วิธี QuEChERS วิธีที่ใช้ acetonitrile เป็นตัวทำละลาย ที่จัดสิ่งปนเปื้อนด้วย florisil วิธีที่ใช้ acetonitrile เป็นตัวทำละลาย ที่จัดสิ่งปนเปื้อนด้วย polymer cartridge ที่เป็น strongly anion exchange หรือ SAX และวิเคราะห์ด้วย HPLC วิธีการที่ดัดแปลงจาก Singh *et al* (2012) และ Dong *et al* (2012)

การคำนวณปริมาณสารพิษตกค้าง โดยวัดค่า retention time ของพีค เปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน และคำนวณความเข้มข้นของสารพิษตกค้างอีไรออนในสารละลายตัวอย่าง โดยโปรแกรมสำเร็จรูปจากสมการ Linear Regression และต้องมีค่า Correlation ไม่น้อยกว่า 0.99 หากความเข้มข้นของสารในตัวอย่างตามสูตร ดังต่อไปนี้

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

โดยที่ C_{sample} = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

$C_{\text{calib.}}$ = ความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายตัวอย่าง ที่ได้จากการเทียบ Calibration curve ใน LC Report (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังนี้

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

V_{sample} = ปริมาตรที่ปรับครั้งสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างก่อนการฉีด (มิลลิลิตร)

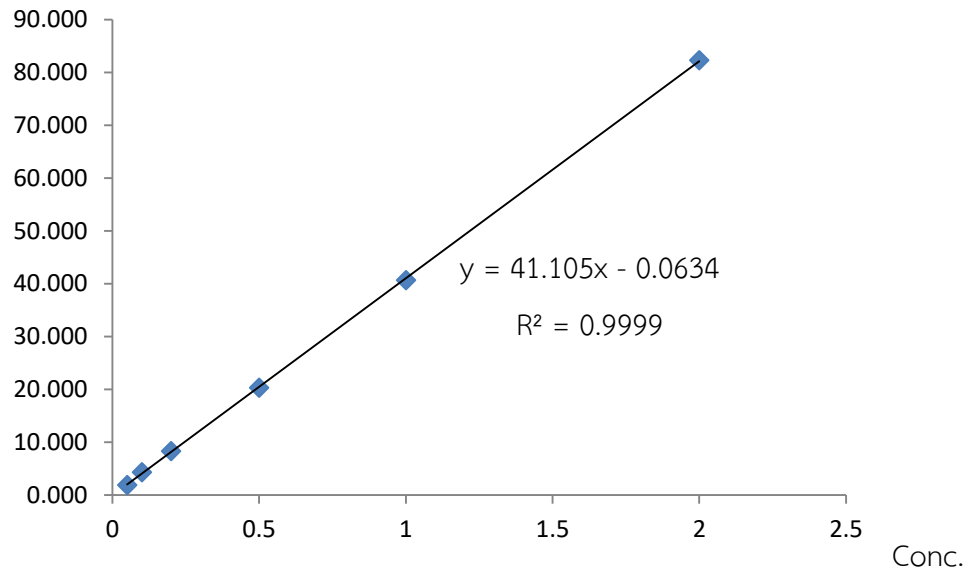
W_{sample} = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาสกัด (กรัม)

F = Correction Factor ขึ้นกับปริมาณตัวทำละลายที่ใช้สกัดตัวอย่าง

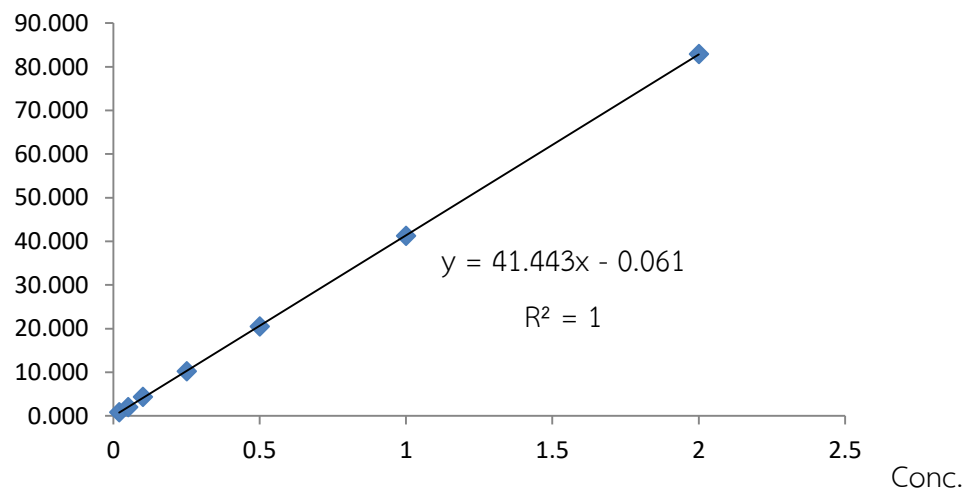
เวลาและสถานที่ : ระยะเวลาดำเนินการตั้งแต่ พฤศจิกายน 2554 – กันยายน 2556 วิเคราะห์สารพิษตกค้าง ณ ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรุงเทพฯ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 ทดสอบวิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือของสารพิษตกค้างทั้งสองชนิด พบว่าสารพิษตกค้างชนิดสารกำจัดแมลง chlorantraniliprole สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ชนิด HPLC-DAD, GC-ECD และ GC/MS ส่วนสารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิด pyraclostrobin สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์สารทั้งสองชนิดนี้ต้องมีการปรับสภาวะของเครื่องมือให้เหมาะสม จากการทดลองพบว่าการวิเคราะห์ด้วย GC-ECD และ GC/MS มีความไม่แน่นอนสูงโดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้นต่ำ จึงใช้ HPLC-DAD เป็นเครื่องมือหลักในการวิเคราะห์สารทั้งสองชนิดนี้ ทดสอบ Linearity ของ chlorantraniliprole ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ calibration curve ของ chlorantraniliprole (ดังแสดงในภาพที่ 7) เป็นไปดังสมการ $y = 41.105x - 0.0634$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9999 และทดสอบ Linearity ของ pyraclostrobin ที่ความเข้มข้น 7 ระดับ ได้แก่ 0.02, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ calibration curve ของ pyraclostrobin (ดังแสดงในภาพที่ 8) เป็นไปดังสมการ $y = 41.443x - 0.061$ มีค่า R^2 เท่ากับ 1



ภาพที่ 7 การทดสอบความเป็นเส้นตรงของ calibration curve ของ chlorantraniliprole



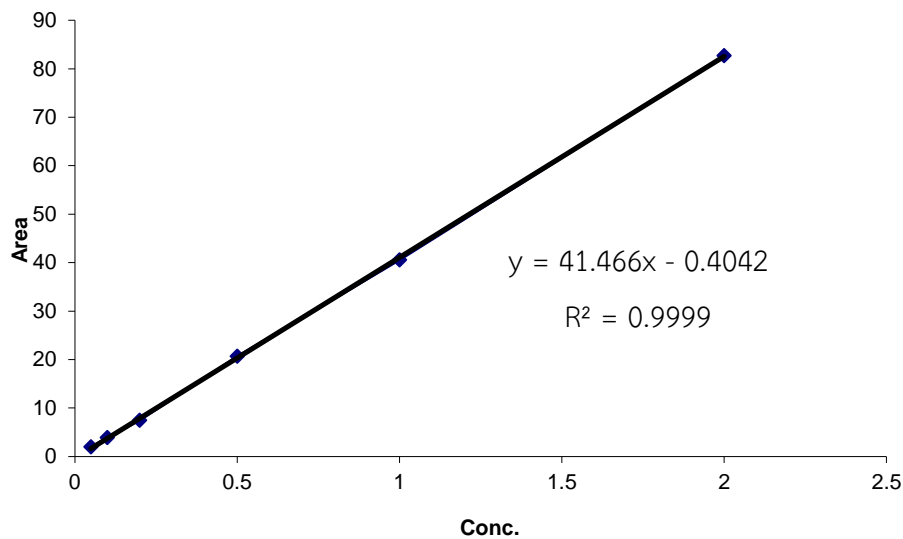
ภาพที่ 8 การทดสอบความเป็นเส้นตรงของ calibration curve ของ pyraclostrobin

8.2 ทดสอบวิธีการสกัดสารพิษตกค้างในผักกาดหอม คื่นช่าย และพริก ที่มีประสิทธิภาพนั้นพบว่าการใช้ตัวทำละลาย acetone และ dichloromethane ที่ใช้ในวิธีการ TM-T04-R03 และการสกัดด้วยวิธี QuEChERS ให้ประสิทธิภาพการวิเคราะห์ที่ต่ำกว่าเกณฑ์การยอมรับ (ที่ระดับ 70-120%) ส่วนการสกัดด้วย acetonitrile ให้ผลดีกว่าเมื่อมีการกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย florisil cartridge หรือ polymer cartridge ที่เป็น strongly anion exchange หรือ SAX ประสิทธิภาพการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ มีค่า RSD < 20% และมีความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานที่ระดับ 0.99 แต่ต้องมีงบประมาณในการจัดหา SPE cartridge ที่มีราคาแพง นอกจากนี้ยังได้ทำการทดสอบผลของ matrices

ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ พบว่าประสิทธิภาพการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดที่ทำกรวิเคราะห์ ยกเว้นตัวอย่างพริกที่ไม่สามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ได้ เนื่องจากมีสารในพริกที่รบกวนพีคของสารที่วิเคราะห์ ซึ่งไม่สามารถแยกได้ ต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ชนิด LC-MS/MS ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ดี แต่ไม่อยู่ในขอบข่ายของงานวิจัยนี้ ที่ต้องการใช้เครื่องมือพื้นฐาน ได้แก่ GC และ HPLC ที่ติดตั้งอยู่ในห้องปฏิบัติการส่วนภูมิภาค

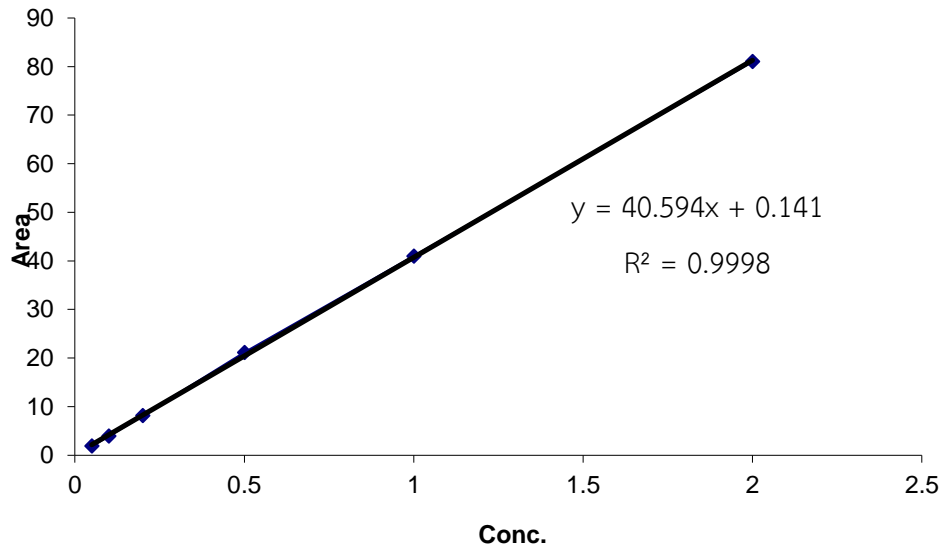
8.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole

8.3.1 ทดสอบ Linearity ของ chlorantraniliprole ในผักคะน้า ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ calibration curve ของ chlorantraniliprole ในคะน้า (ดังแสดงในภาพที่ 9) เป็นไปดังสมการ $y = 41.466x - 0.4042$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9999



ภาพที่ 9 Linearity ของ calibration curve ของ chlorantraniliprole ในคะน้า

8.3.2 ทดสอบ Linearity ของ chlorantraniliprole ในผักกาดหอม ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ calibration curve ของ chlorantraniliprole ในผักกาดหอม (ดังแสดงในภาพที่ 10) เป็นไปดังสมการ $y = 40.594x + 0.141$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9998



ภาพที่ 10 Linearity ของ calibration curve ของ chlorantraniliprole ในผักกาดหอม

8.3.3 ทดสอบ accuracy ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole จากการใช้วิธีการวิเคราะห์ที่ดัดแปลงจาก Singh *et al* (2012) ในผัก 3 ชนิด ได้แก่ คะน้า ผักกาดหอม และพริก พบว่าสามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในคะน้าและผักกาดหอมได้ ส่วนตัวอย่างพริกมีสารรบกวนการวิเคราะห์ที่มี retention time ตรงกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ ต้องปรับเปลี่ยนสัดส่วนของ mobile phase ที่ทำให้ระยะเวลาในการวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างนานขึ้น และประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ก็ต่ำลงมากจนไม่สามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่มีอยู่ได้ ต้องใช้เครื่องมือชนิด LC-MS/MS วิเคราะห์ ซึ่งก็สามารถวิเคราะห์จำแนกสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ได้ แต่ไม่อยู่ในวัตถุประสงค์ของงานวิจัยที่ใช้เครื่องมือพื้นฐานที่มีในห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างทั้งในส่วนกลางและส่วนภูมิภาค จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพในด้านความแม่นยำ (accuracy) ของการวิเคราะห์สารนี้พบว่า accuracy ที่ต้องการอยู่ในช่วง 70 – 120% การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในคะน้า ที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าได้ร้อยละของสารกลับคืนอยู่ในช่วง 54.4-95.8, 76.6-116.9, 94.8-113.9 และ 78.8-101.8% ในแต่ละความเข้มข้น ตามลำดับ มีตัวอย่าง 4 ซ้ำที่ระดับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ไม่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (ดังแสดงในตารางที่ 4) ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในผักกาดหอมที่ระดับความเข้มข้นเดียวกับการทดสอบในคะน้า พบว่าที่ระดับ 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.1, 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของการทดสอบ accuracy คือวิเคราะห์ได้ในช่วง 72.8-100.4, 70.6-89.8 และ 73.5-87.1% ในแต่ละความเข้มข้น ตามลำดับ ส่วนในความเข้มข้นที่ระดับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีเพียง 1 ซ้ำ ที่ได้ 122.1% เกินเกณฑ์ยอมรับ แต่เมื่อรวม 10 ซ้ำ ก็ยังอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (ดังแสดงในตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบ accuracy ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในคชน้ำ

Rep.	0.05 mg/kg		0.1 mg/kg		0.5 mg/kg		2 mg/kg	
	Conc.	%	Conc.	%	Conc.	%	Conc.	%
1	0.04788	95.8	0.11686	116.9	0.54757	109.5	1.81430	90.7
2	0.03811	76.2	0.10344	103.4	0.49089	98.2	2.03508	101.8
3	0.02718	54.4	0.08475	84.8	0.48825	97.6	1.82486	91.2
4	0.03985	79.7	0.07986	79.9	0.51181	102.4	1.80964	90.5
5	0.03617	72.3	0.08954	89.5	0.54583	109.2	1.80276	90.1
6	0.03114	62.3	0.07656	76.6	0.56942	113.9	1.67958	84.0
7	0.03871	77.4	0.10867	108.7	0.54636	109.3	1.63507	81.8
8	0.03801	76.0	0.07872	78.7	0.47423	94.8	1.57582	78.8
9	0.02922	58.4	0.09544	95.4	0.54098	108.2	1.73297	86.6
10	0.03257	65.1	0.09751	97.5	0.53225	106.5	1.68773	84.4
Ave	0.03588	71.8	0.09314	93.1	0.52476	105.0	1.75978	88.0
SD	0.00606	12.13	0.01365	13.65	0.03153	6.31	0.12870	6.43
%rec-Min		54.4		76.6		94.8		78.8
%rec-Max		95.8		116.9		113.9		101.8

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความแม่นยำ (accuracy) ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในผักกาดหอม

Rep.	0.05 mg/kg		0.1 mg/kg		0.5 mg/kg		2 mg/kg	
	Conc.	%	Conc.	%	Conc.	%	Conc.	%
1	0.03566	71.3	0.07606	76.1	0.38183	76.4	1.62614	81.3
2	0.04721	94.4	0.10042	100.4	0.41825	83.6	1.67438	83.7
3	0.05542	110.8	0.08385	83.8	0.36431	72.9	1.59143	79.6
4	0.05129	102.6	0.07276	72.8	0.38236	76.5	1.64956	82.5
5	0.06104	122.1	0.07502	75.0	0.44888	89.8	1.74217	87.1
6	0.05431	108.6	0.08246	82.5	0.38194	76.4	1.52765	76.4
7	0.04258	85.2	0.08306	83.1	0.35311	70.6	1.55437	77.7
8	0.05612	112.2	0.07529	75.3	0.36455	72.9	1.66836	83.4
9	0.05714	114.3	0.07577	75.8	0.39614	79.2	1.46913	73.5
10	0.03945	78.9	0.08064	80.6	0.36790	73.6	1.65554	82.8
Ave	0.05002	100.0	0.08053	80.5	0.38593	77.2	1.61587	80.8
SD	0.00843	16.86	0.00801	8.01	0.02883	5.77	0.08072	4.04
%rec-Min		71.3		72.8		70.6		73.5
%rec-Max		122.1		100.4		89.8		87.1

8.3.5 ทดสอบ precision ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในผักคะน้าและผักกาดหอม ผลปรากฏว่า %RSD ของการทดสอบทุกระดับความเข้มข้นทั้งในคะน้าและผักกาดหอม อยู่ในเกณฑ์ไม่เกิน 20% และเมื่อนำไปทดสอบสถิติ HORRAT พบว่ามีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 โดยคำนวณค่า HORRAT ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในคะน้าอยู่ในช่วง 0.52 – 0.97 (ดังแสดงในตารางที่ 6) คำนวณค่า HORRAT ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักกาดหอม อยู่ในช่วง 0.61 – 1.02 (ดังแสดงในตารางที่ 7) การทดสอบวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

chlorantraniliprole ในค่าน้ำผ่านเกณฑ์ 3 ระดับความเข้มข้น ส่วนในผักกาดหอมผ่านเกณฑ์ทั้ง 4 ระดับความเข้มข้น

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในค่าน้ำ

Replication	0.05	0.1	0.5	2
1	0.04788	0.11686	0.54757	1.81430
2	0.03811	0.10344	0.49089	2.03508
3	0.02718	0.08475	0.48825	1.82486
4	0.03985	0.07986	0.51181	1.80964
5	0.03617	0.08954	0.54583	1.80276
6	0.03114	0.07656	0.56942	1.67958
7	0.03871	0.10867	0.54636	1.63507
8	0.03801	0.07872	0.47423	1.57582
9	0.02922	0.09544	0.54098	1.73297
10	0.03257	0.09751	0.53225	1.68773
Ave	0.03588	0.09314	0.52476	1.75978
SD	0.00606	0.01365	0.03153	0.12870
%RSD	16.90	14.66	6.01	7.31
%Rec	71.77	93.14	104.95	87.99
C	3.59E-08	9.31E-08	5.25E-07	1.76E-06
Predicted	17.4251	15.0948	11.6363	9.6988
HORRAT	0.97	0.97	0.52	0.75

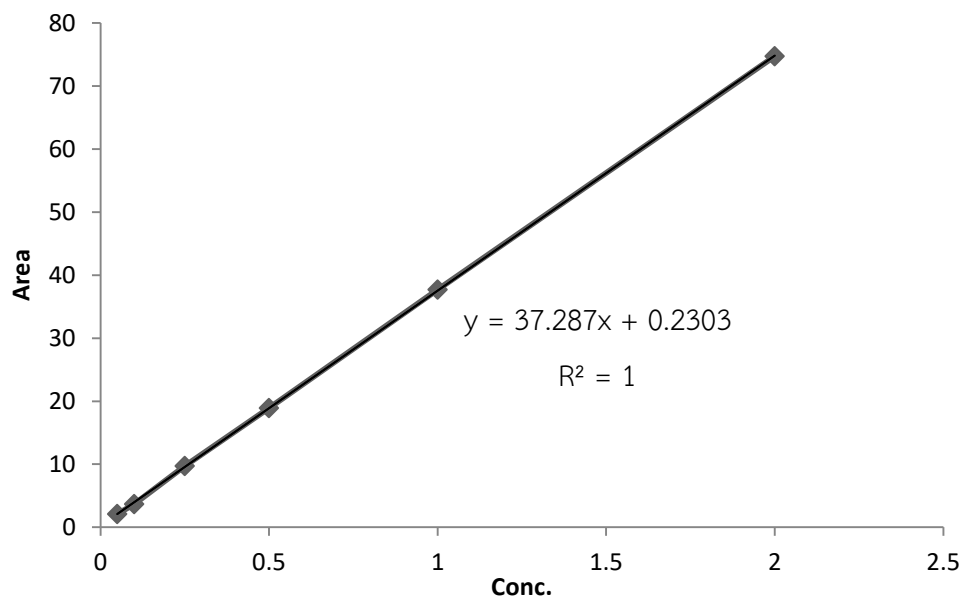
ตารางที่ 7 ผลการทดสอบความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในผักกาดหอม

Replication	0.05	0.1	0.5	2
1	0.03566	0.07606	0.38183	1.62614
2	0.04721	0.10042	0.41825	1.67438
3	0.05542	0.08385	0.36431	1.59143
4	0.05129	0.07276	0.38236	1.64956
5	0.06104	0.07502	0.44888	1.74217
6	0.05431	0.08246	0.38194	1.52765
7	0.04258	0.08306	0.35311	1.55437
8	0.05612	0.07529	0.36455	1.66836
9	0.05714	0.07577	0.39614	1.36913
10	0.03945	0.08064	0.36790	1.65554
Ave	0.05002	0.08053	0.38593	1.60587
SD	0.00843	0.00801	0.02883	0.10381
%RSD	16.85	9.95	7.47	6.46
%Rec	100.04	80.53	77.19	80.29
C	5.00E-08	8.05E-08	3.86E-07	1.61E-06
Predicted	16.5752	15.4288	12.1871	9.8333
HORRAT	1.02	0.64	0.61	0.66

8.3.6 ค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในคะน้าและผักกาดหอมที่ได้ผลถูกต้องแม่นยำ หรือ ค่า LOQ พบว่าอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนื่องจากเป็นตัวอย่างพืชที่มี matrices รบกวนการวิเคราะห์สูง จากการตรวจเอกสารพบว่า มีค่าอยู่ที่ระดับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ก็มีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS (JMPPR, 2008; Schwarz *et al*, 2011; Malhat, 2012) ส่วน Singh *et al* (2012) ยังได้ค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้อยู่ที่ระดับ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ในค่า DL หรือ detection limit ได้ค่าเท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า signal to noise เท่ากับ 3.6 เท่า (S/N >3)

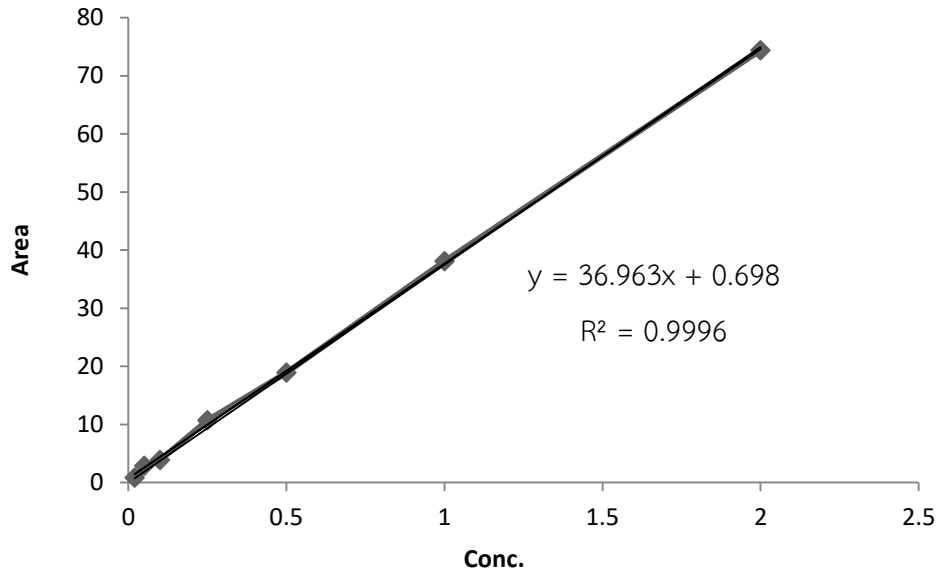
8.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin

8.4.1 ทดสอบ Linearity ของ pyraclostrobin ในคะน้า ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ calibration curve ของ pyraclostrobin ในผักกาดหอม (ดังแสดงในภาพที่ 11) เป็นไปดังสมการ $y = 37.287x + 0.2303$ มีค่า R^2 เท่ากับ 1



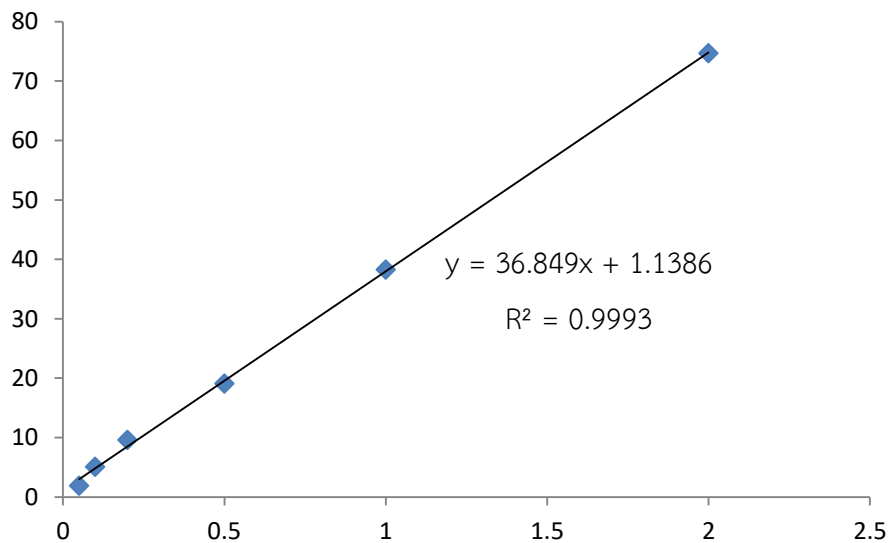
ภาพที่ 11 Linearity ของ calibration curve ของ pyraclostrobin ในคะน้า

8.4.2 ทดสอบ Linearity ของ pyraclostrobin ในผักกาดหอม ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ calibration curve ของ pyraclostrobin ในผักกาดหอม (ดังแสดงในภาพที่ 12) เป็นไปดังสมการ $y = 36.963x + 0.698$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9996



ภาพที่ 12 Linearity ของ calibration curve ของ pyraclostrobin ในผักกาดหอม

8.4.3 ทดสอบ Linearity ของ pyraclostrobin ในพริก ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ได้ calibration curve ของ pyraclostrobin ในพริก (ดังแสดงในภาพที่ 13) เป็นไปดังสมการ $y = 36.849x + 1.1386$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9993



ภาพที่ 13 Linearity ของ calibration curve ของ pyraclostrobin ในพริก

8.4.4 ทดสอบ accuracy ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin จากการใช้วิธีการวิเคราะห์ที่ดัดแปลงจาก Dong *et al* (2012) ในผัก 3 ชนิด ได้แก่ คื่นช่าย ผักกาดหอม และพริก พบว่าสามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ได้ จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพในด้านความแม่นยำ (accuracy) ของการวิเคราะห์สารนี้พบว่า accuracy ที่ต้องการอยู่ในช่วง 70 – 120% การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในคื่นช่ายที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อ

กิโลกรัม พบว่าได้ร้อยละของสารกลับคืนอยู่ในช่วง 66.0-103.3, 90.9-131.3, 86.7-105.2, 88.9-97.1 และ 65.4-94.0% ในแต่ละความเข้มข้น ตามลำดับ มีตัวอย่าง 5 ซ้ำที่ไม่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ แต่ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการวิเคราะห์ในแต่ละความเข้มข้นยังอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (ดังแสดงในตารางที่ 8) ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในผักกาดหอมที่ 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าที่ระดับ 2 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.05 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของการทดสอบ accuracy คือวิเคราะห์ได้ในช่วง 77.5-114.3 และ 82.1-89.3% ในแต่ละความเข้มข้น ตามลำดับ ส่วนในความเข้มข้นที่ระดับ 0.1, 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีเพียง 1-2 ซ้ำ ที่ได้ค่าต่ำกว่าเกณฑ์ยอมรับ แต่เมื่อรวม 10 ซ้ำ ก็ยังอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่ผ่านการประเมิน (ดังแสดงในตารางที่ 9) สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในพริกที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.2, 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าที่ระดับ 2 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของการทดสอบ accuracy คือวิเคราะห์ได้ในช่วง 78.2-86.9 และ 82.0-87.6% ในแต่ละความเข้มข้น ตามลำดับ ส่วนในความเข้มข้นที่ระดับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีเพียง 2 ซ้ำ ที่ได้ค่าต่ำกว่าเกณฑ์ยอมรับ แต่เมื่อรวม 10 ซ้ำ ก็ยังอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ส่วนในตัวอย่างพริกที่ระดับความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ (ดังแสดงในตารางที่ 10)

ตารางที่ 8 %RSD และ HORRAT ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในคะน้า ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ (0.05-5 mg/kg) ทดสอบ 10 ซ้ำ

conc.	0.05	0.1	0.2	0.5	2
solvent blank	0	0	0	0	0
sample blank	0	0	0	0	0
Rep1	103.32	110.08	91.74	91.58	89.41
Rep2	77.56	92.61	89.99	88.89	70.13
Rep3	72.52	98.99	105.20	92.70	93.98
Rep4	72.52	92.12	86.72	96.61	65.43
Rep5	78.89	131.29	99.40	91.30	76.82

Rep6	87.00	108.03	92.77	93.10	82.91
Rep7	76.34	101.26	102.78	94.24	88.41
Rep8	76.00	93.34	97.94	97.13	68.18
Rep9	79.04	90.85	91.28	90.64	88.49
Rep10	65.96	132.26	89.61	91.76	91.63
Ave	78.91	105.08	94.74	92.80	81.54
SD	10.15	16.38	7.53	2.82	12.25
%rec-Min	66.0	90.9	86.7	88.9	65.4
%rec-Max	103.3	131.3	105.2	97.1	94.0

ตารางที่ 9 %RSD และ HORRAT การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในผักกาดหอม ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ (0.02-2 mg/kg) ทดสอบ 10 ซ้ำ

conc.	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5	2
solvent blank	0	0	0	0	0	0
sample blank	0	0	0	0	0	0
Rep1	315.49	110.84	89.00	72.94	77.06	84.38
Rep2	263.35	95.24	109.44	76.22	68.37	87.57
Rep3	403.39	98.42	59.93	66.27	74.97	82.56

Rep4	237.53	85.36	84.56	74.38	74.19	86.10
Rep5	368.91	77.52	93.89	79.48	73.92	86.36
Rep6	229.39	114.28	89.82	69.77	70.83	89.26
Rep7	372.28	92.50	84.42	77.74	73.32	84.79
Rep8	154.42	87.14	75.20	80.56	74.91	83.77
Rep9	177.77	108.42	81.41	79.33	64.31	82.61
Rep10	172.94	82.21	81.41	74.37	77.09	82.06
Ave	269.55	95.19	84.91	75.11	72.90	84.95
SD	90.76	12.67	12.76	4.56	4.01	2.36
%rec-Min	154.4	77.5	59.9	66.3	64.3	82.1
%rec-Max	403.4	114.3	109.4	80.6	77.1	89.3

ตารางที่ 10 %RSD และ HORRAT ของการวิเคราะห์ pyraclostrobin ในพริก ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ (0.2-5 mg/kg) ทดสอบ 10 ซ้ำ

conc.	0.05	0.2	0.5	2
solvent blank	0	0	0	0
sample blank	0	0	0	0
Rep1	134.96	75.44	86.94	84.38
Rep2	150.42	70.23	78.24	87.57
Rep3	64.23	84.23	84.85	82.56

Rep4	126.28	67.65	84.07	86.10
Rep5	133.68	80.79	83.79	86.36
Rep6	205.08	71.07	84.23	86.63
Rep7	201.12	66.27	80.43	82.00
Rep8	104.91	77.71	80.45	84.27
Rep9	134.82	78.33	82.43	82.27
Rep10	91.74	81.07	86.51	84.63
Ave	134.72	75.28	83.19	84.68
SD	43.95	6.16	2.79	1.96
%rec-Min	64.2	66.3	78.2	82.0
%rec-Max	205.1	84.2	86.9	87.6

8.4.5 ทดสอบ precision ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในผักคะน้า ผลปรากฏว่า %RSD ของการทดสอบทุกระดับความเข้มข้นทั้งในคะน้า อยู่ในเกณฑ์ไม่เกิน 20% และเมื่อนำไปทดสอบสถิติ HORRAT พบว่ามีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 โดยคำนวณค่า HORRAT ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในคะน้าอยู่ในช่วง 0.26 – 1.53 (ดังแสดงในตารางที่ 11) คำนวณค่า HORRAT ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในผักกาดหอม อยู่ในช่วง 0.28 – 2.05 ไม่ผ่านเกณฑ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ดังแสดงในตารางที่ 12) คำนวณค่า HORRAT ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในพริก อยู่ในช่วง 0.24 – 2.06 ไม่ผ่านเกณฑ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ดังแสดงในตารางที่ 13) การทดสอบวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในคะน้าและผักกาดหอมผ่านเกณฑ์ 5 ระดับความเข้มข้น (0.05-2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ส่วนในพริกผ่านเกณฑ์ 3 ระดับความเข้มข้น (0.2-2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

ตารางที่ 11 %RSD และ HORRAT ของการวิเคราะห์ pyraclostrobin ในคะน้า ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ (0.05-5 mg/kg) ทดสอบ 10 ซ้ำ

conc.	0.05	0.1	0.2	0.5	2
solvent blank	0	0	0	0	0
sample blank	0	0	0	0	0

Rep1	0.05166	0.11008	0.18348	0.45789	1.78829
Rep2	0.03878	0.09261	0.17997	0.44447	1.40255
Rep3	0.03626	0.09899	0.21040	0.46350	1.87951
Rep4	0.03626	0.09212	0.17344	0.48306	1.30861
Rep5	0.03944	0.13129	0.19881	0.45648	1.53641
Rep6	0.04350	0.10803	0.18554	0.46552	1.65821
Rep7	0.03817	0.10126	0.20557	0.47122	1.76822
Rep8	0.03800	0.09334	0.19589	0.48565	1.36355
Rep9	0.03952	0.09085	0.18257	0.45322	1.76980
Rep10	0.03298	0.13226	0.17922	0.45879	1.83256
Ave	0.03946	0.10508	0.18949	0.46398	1.63077
SD	0.00508	0.01638	0.01507	0.01411	0.24499
%RSD	12.87	15.58	7.95	3.04	15.02
%Rec	78.91	105.08	94.74	92.80	81.54
C	3.95E-08	1.05E-07	1.89E-07	4.64E-07	1.63E-06
Predicted	17.1778	14.8230	13.5643	11.8539	9.8106
HORRAT	0.75	1.05	0.59	0.26	1.53

ตารางที่ 12 %RSD และ HORRAT ของการวิเคราะห์ pyraclostrobin ในผักกาดหอม ที่ความเข้มข้น 6 ระดับ (0.02-2 mg/kg) ทดสอบ 10 ซ้ำ

conc.	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5	2
solvent blank	0	0	0	0	0	0

sample blank	0	0	0	0	0	0
Rep1	0.06310	0.05542	0.08900	0.14587	0.38532	1.68769
Rep2	0.05267	0.04762	0.10944	0.15244	0.34185	1.75134
Rep3	0.08068	0.04921	0.05993	0.13255	0.37486	1.65124
Rep4	0.04751	0.04268	0.08456	0.14876	0.37097	1.72190
Rep5	0.07378	0.03876	0.09389	0.15896	0.36960	1.72728
Rep6	0.04588	0.05714	0.08982	0.13954	0.35413	1.78521
Rep7	0.07446	0.04625	0.08442	0.15547	0.36659	1.69584
Rep8	0.03088	0.04357	0.07520	0.16112	0.37454	1.67542
Rep9	0.03555	0.05421	0.08141	0.15867	0.32154	1.65221
Rep10	0.03459	0.04110	0.08141	0.14874	0.38546	1.64125
Ave	0.05391	0.04760	0.08491	0.15021	0.36448	1.69894
SD	0.01815	0.00633	0.01276	0.00912	0.02005	0.04713
%RSD	33.67	13.31	15.03	6.07	5.50	2.77
%Rec	269.55	95.19	84.91	75.11	72.90	84.95
C	5.39E-08	4.76E-08	8.49E-08	1.50E-07	3.64E-07	1.70E-06
Predicted	16.3896	16.6997	15.3064	14.0470	12.2924	9.7503
HORRAT	2.05	0.80	0.98	0.43	0.45	0.28

ตารางที่ 13 %RSD และ HORRAT ของการวิเคราะห์ pyraclostrobin ในพริก ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ (0.2-5 mg/kg) ทดสอบ 10 ซ้ำ

conc.	0.05	0.2	0.5	2
solvent blank	0	0	0	0
sample blank	0	0	0	0

Rep1	0.06748	0.15089	0.43469	1.68769
Rep2	0.07521	0.14046	0.39122	1.75134
Rep3	0.03211	0.16847	0.42423	1.65124
Rep4	0.06314	0.13530	0.42034	1.72190
Rep5	0.06684	0.16157	0.41897	1.72728
Rep6	0.10254	0.14214	0.42114	1.73254
Rep7	0.10056	0.13255	0.40213	1.63995
Rep8	0.05246	0.15541	0.40226	1.68547
Rep9	0.06741	0.15665	0.41214	1.64546
Rep10	0.04587	0.16215	0.43254	1.69254
Ave	0.06736	0.15056	0.41597	1.69354
SD	0.02197	0.01232	0.01396	0.03927
%RSD	32.62	8.19	3.36	2.32
%Rec	134.72	75.28	83.19	84.68
C	6.74E-08	1.51E-07	4.16E-07	1.69E-06
Predicted	15.8491	14.0421	12.0504	9.7550
HORRAT	2.06	0.58	0.28	0.24

8.4.6 ค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin ในคะน้ำและผักกาดหอม ที่ได้ผลถูกต้องแม่นยำ หรือ ค่า LOQ พบว่าอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนตัวอย่าง พริกมีค่า LOQ อยู่ที่ระดับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการตรวจเอกสารพบว่า การวิเคราะห์ผักผลไม้ โดยรวมมีค่าอยู่ที่ระดับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ก็มีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS (JMPR, 2008; Schwarz *et al*, 2011; Malhat, 2012) สำหรับค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ในค่า DL หรือ detection limit ได้ค่าเท่ากับ 0.02, 0.02 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในคะน้ำ ผักกาดหอม และ พริก ตามลำดับ

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม pyrazole 2 ชนิด ได้แก่ chlorantraniliprole และ pyraclostrobin ในผัก 3 ชนิด ได้แก่ ผักคะน้ำ ผักกาดหอม และพริก ซึ่งเป็นตัวแทนพืชผักที่มีสาร ที่รบกวนการวิเคราะห์สูง ด้วยวิธีการต่างๆ พบว่า วิธีการ TM-T04-R03 ของห้องปฏิบัติการสารพิษ

ตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร และการสกัดด้วยวิธี QuEChERS ให้ประสิทธิภาพการวิเคราะห์ที่ต่ำกว่าเกณฑ์การยอมรับ (ที่ระดับ 70-120%) ส่วนการสกัดด้วย acetonitrile ให้ผลดีกว่าเมื่อมีการกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย florisis cartridge หรือ polymer cartridge ที่เป็น strongly anion exchange หรือ SAX ประสิทธิภาพการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ มีค่า RSD <20% และมีความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานที่ระดับ 0.99 แต่ต้องมึงบประมาณในการจัดหา SPE cartridge ที่มีราคาแพง จึงพัฒนาวิธีการของ Singh *et al* (2012) สำหรับวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole และพัฒนาวิธีการของ Dong *et al* (2012) สำหรับวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyraclostrobin พบว่าประสิทธิภาพการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดที่ทำการวิเคราะห์ ยกเว้นตัวอย่างพริกที่ไม่สามารถวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ได้ เนื่องจากมีสารในพริกที่รบกวนพีคของสารที่วิเคราะห์ซึ่งไม่สามารถแยกได้ ต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ชนิด LC-MS/MS ที่สามารถวิเคราะห์ได้ผลดี แต่ไม่อยู่ในขอบข่ายของงานวิจัยนี้ที่ต้องการใช้เครื่องมือพื้นฐาน ได้แก่ GC และ HPLC ที่ติดตั้งอยู่ในห้องปฏิบัติการส่วนภูมิภาค

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ chlorantraniliprole ในผักคะน้าและผักกาดหอม มีช่วงความเข้มข้นที่วิเคราะห์ 0.1 – 2 และ 0.05 – 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่าความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในช่วงร้อยละ 76.6 – 116.9 และ 70.6 – 114.3 สำหรับพืชทั้งสองชนิด ตามลำดับ ค่า LOQ เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่า LOD เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับพืชทั้งสองชนิด ส่วนผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ pyraclostrobin ในผักคะน้า ผักกาดหอม และพริก มีช่วงความเข้มข้นที่วิเคราะห์ 0.05 – 2, 0.05 – 2 และ 0.2 – 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ค่าความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในช่วงร้อยละ 70.1 – 110.8, 70.8 – 114.3 และ 70.2 – 87.6 สำหรับพืชทั้งสามชนิด ตามลำดับ ค่า LOQ เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับคะน้าและผักกาดหอม ส่วนพริกมีค่า LOQ อยู่ที่ระดับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่า LOD เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม คะน้าและผักกาดหอม ส่วนพริกมีค่า LOD อยู่ที่ระดับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม pyrazole ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ เนื่องจากเป็นวัตถุอันตรายชนิดใหม่ที่มีการใช้กันมาไม่นานในประเทศไทย เนื่องจากเป็นสารที่ออกฤทธิ์เฉพาะกับศัตรูพืชเป็นพิษน้อยกับคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม จึงคาดว่าจะมีการใช้กันมากขึ้น เพื่อให้เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง ที่มีเครื่องวิเคราะห์ชนิด HPLC-DAD หรือ HPLC-UV โดยเฉพาะในส่วนภูมิภาคได้นำไปใช้ตรวจสอบสารพิษตกค้างในพืชผัก ทั้งพืชเพื่อบริโภคภายในประเทศและสินค้าผักส่งออก ทั้งนี้ อาจมีการทดสอบและพัฒนาการนำไปใช้กับพืชผักผลไม้ชนิดอื่นๆ เพื่อการดูแลความปลอดภัยของไทยต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา นำไปเป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Pyrazoles ในผัก ในงานประจำของกลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร สปผ.

2. เผยแพร่วิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม Pyrazoles ในผัก ให้แก่หน่วยงานราชการ ของกรมวิชาการเกษตร หน่วยงานอื่นและผู้สนใจ โดยเฉพาะห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้างที่ติดตั้งเฉพาะ เครื่องมือพื้นฐาน HPLC ในส่วนภูมิภาค

11. เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. (พิมพ์ครั้งที่ 17) เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2557. ฐานข้อมูลการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. <http://m.doa.go.th/ard/stat.php>

Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority 2003. Evaluation of the new active pyraclostrobin in the product CABRIO fungicide. Canberra, Australia. 57 p.

Bartholomaeus, A. 2003. Pyraclostrobin. Office of Chemical safety, Therapeutic Goods Administration, Canberra, Australia. 46 p.

CAC. 2013. Draft and Proposed Draft Maximum Residue Limits in Foods and Feeds at Steps 7 and 4. Codex Committee on Pesticide Residues, 45th Session, P.R. China.

Declercq, B. and E.S. Orge. 2003. Pyraclostrobin (210). Joint Meeting on Pesticide Residues, Rome, Italy. 112 p.

DG SANCO. 2014. EU Pesticide Database.

http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index

Dong, F.; X. Chen; X. Liu; J. Xu; Y. Li; W. Shan and Y. Zheng. 2012. Simultaneous determination of five pyrazole fungicides in cereals, vegetables and fruits using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1262 : 98–106.

EFSA. 2014. Scientific support for preparing an EU position in the 46th Session of the Codex Committee on Pesticide Residues (CCPR). European Food Safety Authority, Parma, Italy. 182 p.

- EPA. 2008. Pesticide Fact Sheet : Chlorantraniliprole. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. Environmental Protection Agency, USA. 77 p.
- European Commission. 2004. Pyraclostrobin : SANCO/1420/2001-Final. Health & Consumer Protection Directorate-General. 24 p.
- Grant, J.; C.A. Rodgers and C.D. Chickering. 2010. Determination of chlorantraniliprole residues in crops by liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry/mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 93 : 1293-1301.
- Japan MRL. 2014. Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods. The Japan Food Chemical Research Foundation.
<http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp>.
- JMPR. 2008. Chlorantraniliprole : Toxicology. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, Rome, Italy. 17 p.
- Kar, A.; K. Mandal and B. Singh. 2012. Environmental fate of chlorantraniliprole residues on cauliflower using QuEChERS technique. *Environ. Monit. Assess.* DOI 10.1007/s10661-012-2629-6. 9 p.
- Malhat, F.M. 2012. Determination of Chlorantraniliprole Residues in Grape by High-Performance Liquid Chromatography. *Food Anal. Methods* DOI 10.1007/s12161-012-9400-z. 5 p.
- Schwarz, T. and et al. 2011. QuEChERS multiresidue method validation and mass spectrometric assessment for the novel anthranilic diamide insecticides chlorantraniliprole and cyantraniliprole. *J. Agric. Food Chem.*, 59 : 814–821.
- Singh, B.; A. Kar; K. Mandal; R. Kumar and S.K. Sahoo. 2012. Development and validation of QuEChERS method for estimation of chlorantraniliprole residue in vegetables. *Journal of Food Science*, doi : 10.1111/j.1750-3841.2012.02801.
- Steinwandter, H. 1985. Universal 5 min on-line Method for Extraction and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. *Fresenius Z. Chem.* No. 1155.
- The Norwegian Food Safety Authority. 2010. Evaluation of the plant protection product : Coragen 20 SC–chlorantraniliprole, Regarding application for authorization. National Registration Section, Norway. 69 p.

Wood, A. 2012. Chlorantraniliprole data sheet.

<http://www.alanwood.net/pesticides/chlorantraniliprole.html>

Wood, A. 2012. Pyraclostrobin data sheet.

<http://www.alanwood.net/pesticides/pyraclostrobin.html>

Zhang, J.M.; W.G. Chai and Y.L. Wu. 2012. Residues of chlorantraniliprole in rice field ecosystem. *Chemosphere* 87 : 132–136.

.....