

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2560

- 1. แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรตามมาตรฐานสากล
- 2. โครงการวิจัย** : วิจัยการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลไม้ และผัก  
**กิจกรรม** : การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างในผลไม้ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
- 3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอร์ไพริฟอส (Chlorpyrifos) ในทุเรียน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง  
**ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : Pesticide Residue Trial of Chlorpyrifos in Durian to Establish Maximum Residue Limits (MRLs)
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**  
**หัวหน้าการทดลอง** : นางสาวพรนภัส วิชานนธนานนท์ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
**ผู้ร่วมงาน** : นายประชาติปต์ย์ พงษ์ภิญโญ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร  
นางสาวเพชร เมินหา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

### 5. บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในทุเรียน ทำแปลงทดลองทุเรียน 2 แปลงทดลองในพื้นที่อำเภอมะขามและอำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี กำหนดให้เป็นแปลงทดลองที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ในแต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงทดลองที่ไม่ใช้คลอร์ไพริฟอสเป็นแปลงควบคุมและแปลงทดลองที่ใช้คลอร์ไพริฟอส 40% อี.ซี. อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในอัตราการใช้น้ำ 15 ลิตรต่อต้น พ่นสารทุกๆ 7 วัน รวม 3 ครั้ง สุ่มเก็บตัวอย่างทุเรียนมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายด้วยวิธี QuEChERS (EN15662: 2008) พบว่า แปลงทดลองที่ 1 พบสารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอส 0.91, 0.42, 0.26, 0.14 และ 0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงทดลองที่ 2 พบสารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอส 0.50, 0.20, 0.14, 0.09 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ระยะเวลา 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในทุเรียนจากแปลงทดลองมีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 74-91%

### Abstract

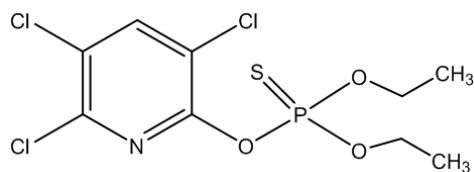
The study of chlorpyrifos residue in durian was conducted in 2 trial field locations; Makhm district (trial 1) and Laem Sing district (trial 2) in Chanthaburi province. Both of field trials each consisted of two plots which were treated and untreated with 30 milliliters of chlorpyrifos 40% EC

per 20 liters of water with spray volume 15 liters for each durian tree. The formulation was applied with 3 times to treated plots at 7 day intervals. Durian fruits were collected to determine chlorpyrifos residue using QuEChERS method (EN15662:2008). Untreated samples were analyzed for chlorpyrifos residue and in all cases not detected. Treated samples were collected and their chlorpyrifos residue was determined at day 0, 3, 7, 14 and 21. The samples were found to contain residues of 0.91, 0.42, 0.26, 0.14 and 0.11 mg/kg, and 0.50, 0.20, 0.14, 0.09 and 0.05 mg/kg, respectively. The recoveries of chlorpyrifos residue in durian determination were ranged in 74-91%.

## 6. คำนำ

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (Maximum Residue Limits หรือ MRLs) หมายถึง ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในสินค้าเกษตร มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัม สินค้าเกษตร (mg/kg) ในการกำหนดค่า MRLs ของ Codex Alimentarius (Codex MRLs) นั้น เป็นการพิจารณา ร่วมกันของคณะกรรมการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ ซึ่งถูกจัดตั้งขึ้นจากความร่วมมือขององค์การอาหาร และเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations หรือ FAO) และ องค์การอนามัยโลก (World Health Organization หรือ WHO) โดยจะพิจารณาจากข้อมูลผลการทดลองของ ประเทศสมาชิกที่ทำการศึกษายภายใต้แนวทางการปฏิบัติเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practices หรือ GAP) ในการพิจารณา MRLs นั้นจะพิจารณาตามชนิดของวัตถุดิบพืชและชนิดของพืช โดยคณะกรรมการส่วนใหญ่จะ พิจารณาพืชและวัตถุดิบพืชที่ใช้กันมากในยุโรปและประเทศในซีกโลกตะวันตก ดังนั้นประเทศไทยจึงต้องทำการทดลอง พืชเมืองร้อน เพื่อให้มีการกำหนดค่า MRLs ซึ่งเป็นประโยชน์ในการต่อรองทางการค้า และป้องกันการกีดกันทางด้านการค้าสำหรับพืชและวัตถุดิบพืชที่ Codex ไม่มีการกำหนดค่า MRLs ไว้ (มกอช., 2557)

ทุเรียนเป็นผลไม้เมืองร้อนที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในบริเวณเอเชียตอนใต้แถบหมู่เกาะบอร์เนียว อินโดนีเซีย ต่อมาได้ แพร่กระจายไปปลูกในที่ต่างๆ รวมทั้งประเทศไทย ทุเรียนเป็นผลไม้ที่มีรสชาติอร่อย กลิ่นหอม รสหวาน และมีราคา แพง ทุเรียนถือได้ว่าเป็นพืชที่ทำรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกค่อนข้างสูง เพราะมีความแปลกทั้งรูปร่าง กลิ่นและรสชาติ อีกทั้งทุเรียนจากประเทศไทยนับได้ว่ามีคุณภาพดี เป็นที่รู้จักและนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งชาวไทยและชาว ต่างประเทศ โดยตลาดแถบเอเชียที่สำคัญ ได้แก่ ฮองกง มาเลเซีย และบรูไน และมีแนวโน้มที่จะขยายตลาดออกไปยัง ประเทศในกลุ่มทวีปยุโรป และอื่นๆ เช่น สหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส เป็นต้น (สำนักพิมพ์แม็ค, 2561) อย่างไรก็ตาม เกษตรกรต้องประสบปัญหาการผลิตด้านต่างๆ เช่น สภาพดินฟ้าอากาศที่เปลี่ยนแปลง และศัตรูพืชทั้งโรคและแมลงที่ ระบาดทำความเสียหายต่อทุเรียน ทุเรียนมีแมลงศัตรูพืชหลายชนิดเข้าทำลายส่งผลให้ผลผลิตลดลง คุณภาพผลผลิต ต่ำลง ทำให้เกษตรกรต้องใช้สารป้องกันกำจัดแมลงต่างๆในการปลูกทุเรียน เช่น คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) คาร์ บาริล (carbaryl) คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) มาลาไทออน (malathion) และ แลมบ์ดา ไซฮาโลทริน (lambda cyhalothrin) เป็นต้น (เกรียงไกร, 2554)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของคลอร์ไพริฟอส

คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) เป็นสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate compound) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบสำคัญ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส คลอร์ไพริฟอสมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้หลากหลาย เช่น เพลี้ยอ่อนมด หนอนใยผัก หนอนผีเสื้อขาว หนอนกระทู้ต่างๆ หนอนเจาะสมอสีชมพู หนอนกอลาย เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด ไรแดง ไรสนิม เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง แมลงวันทอง และแมลงหวี่ขาว (พิมพ์เพ็ญ, 2561) สำหรับการปลูกทุเรียน มีคำแนะนำให้ใช้คลอร์ไพริฟอสในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง (mealy bugs) (เกรียงไกร, 2554)

## 7. วิธีดำเนินการ

### 7.1 อุปกรณ์

#### 7.1.1 การทำแปลงทดลอง

- 1) ผลิตภัณฑ์คลอร์ไพริฟอส ลอร์สแบน 40% EC ซึ่งตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ได้เท่ากับ 40.4% w/v
- 2) เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น กระบอกตวง ปีกเกอร์ ขวดแก้ว เป็นต้น
- 3) เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร 3 สูบ (Piston Power Sprayer)
- 4) ชุดป้องกันสารพิษ
- 5) นาฬิกาจับเวลา
- 6) Metronome
- 7) เครื่องวัดความเร็วลม
- 8) เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger)
- 9) เทอร์โมมิเตอร์
- 10) ตู้แช่ตัวอย่าง -20°C
- 11) เชือกฟางและหมุดหัวน็อต

#### 7.1.2 ห้องปฏิบัติการ

- 1) สารมาตรฐานคลอร์ไพริฟอส ซึ่งมีความบริสุทธิ์ 99%

- 2) เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น autosampler vial กระบอกตวง ปีกเกอร์ ขวดแก้ว ขวดปรับปริมาตร และแท่งแก้วคนสาร เป็นต้น
  - 3) หลอดเซนติพีวักพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร
  - 4) เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งและ 5 ตำแหน่ง
  - 5) ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร และ 100-1,000 ไมโครลิตร
  - 6) ไชริงค์ ฟิลเตอร์ PTFE 0.2 ไมครอน
  - 7) เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ Homogenizer และ Centrifuge
  - 8) สารเคมีต่างๆ ได้แก่ Acetonitrile, C18, Ethyl acetate, Magnesium sulphate anhydrous ( $MgSO_4$ ), Primary-secondary amine (PSA), Sodium acetate ( $CH_3COONa$ ), Sodium chloride ( $NaCl$ ), Sodium citrate dihydrate ( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ ) และ Di-sodium hydrogen citrate esequihydrate ( $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$ )
  - 9) เครื่องตรวจวิเคราะห์ Gas chromatography tandem mass spectrometer (GC/MS-MS)

## 7.2 วิธีการ

### 7.2.1 การทำแปลงทดลอง

- 1) สำรองและเลือกแปลงทดลอง แต่ละแปลงทดลองต้องห่างกันอย่างน้อย 20 ไมล์ และพิจารณาเลือกแปลงทดลองที่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน เช่น อายุ ชนิดของดินที่ปลูก และการดูแลรักษา
- 2) วางแผนการทดลอง เป็นแบบ Supervised Trial แบ่งการทดลองเป็น 2 กรรมวิธี (treatment) คือ
 

กรรมวิธีที่ 1 แปลงทดลองที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษคลอร์ไพริฟอส เป็นแปลงควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 แปลงทดลองที่ใช้วัตถุมีพิษคลอร์ไพริฟอสที่ระดับความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ

  - 3) ทำแปลงทดลองทุเรียนพันธุ์หมอนทองจำนวน 2 แปลง โดยแปลงที่ 1 มีจำนวน 8 ต้น ทำในพื้นที่อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี และแปลงที่ 2 มีจำนวน 9 ต้น ทำในพื้นที่อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ในแต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงควบคุม ซึ่งเป็นแปลงที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษคลอร์ไพริฟอส และแปลงที่ใช้วัตถุมีพิษคลอร์ไพริฟอส 40% EC 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ในอัตราการใช้ น้ำ 15 ลิตรต่อต้น
  - 4) ก่อนการพ่นวัตถุมีพิษคลอร์ไพริฟอส จะทำการ Calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตรายและปรับการเดินของผู้พ่นวัตถุอันตราย เพื่อให้การพ่นสารมีความแม่นยำและสม่ำเสมอ ในการทำ Calibrate เครื่องพ่น

วัตถุอันตราย ทำโดยการพ่นน้ำเป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย ส่วนการปรับการเดินของผู้พ่นวัตถุอันตราย จะจับเวลาการเดิน ในทุกๆการเดินจะเดินสไลด์ไปทางด้านซ้ายมือและมี Metronome ช่วยควบคุมจังหวะการเดิน ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย ซึ่งในการทำ Calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตรายและปรับการเดินของผู้พ่นนั้น แต่ละครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกิน 5% จากการทำการทดลองติดต่อกัน 3 ครั้ง จึงจะอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

5) การพ่นวัตถุเคมีพิษคลอรีนไฟรฟอสในแปลงที่ 1 และ 2 ทำการพ่นในวันที่ 27 เมษายน, 3 และ 9 พฤษภาคม 2560

6) การเก็บตัวอย่างหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย เก็บหลังการพ่นสารที่ 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ในการสุ่มเก็บตัวอย่างทุเรียนสำหรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างคลอรีนไฟรฟอสแต่ละตัวอย่าง จะสุ่มเก็บอย่างน้อย 2 กิโลกรัมหรือ 6 ผล ตัวอย่างละ 2 ซ้ำต่อการเก็บแต่ละครั้ง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุม และแปลงที่ใช้วัตถุเคมีพิษคลอรีนไฟรฟอส ตามลำดับ

7) หลังการสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลอง ขนส่งตัวอย่างจากแปลงทดลองไปสำนักวิจัย และพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 (สวพ. 6) เมื่อถึง สวพ. 6 แกะเมล็ดตัวอย่างทิ้ง และหั่นตัวอย่าง แล้วเก็บในตู้แช่ตัวอย่าง -20°C เพื่อรอการขนส่งกลับห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุเคมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

#### 7.2.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอรีนไฟรฟอส

1) การเตรียมตัวอย่าง บดเนื้อและเปลือกตัวอย่างทุเรียนด้วยไนโตรเจนเหลวด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20±5°C

2) วิเคราะห์ (QuEChERS Method, EN 15662:2008) สุ่มซังตัวอย่างทุเรียน 10 กรัม ใส่หลอดเซนติฟิวก์พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดด้วย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที เติมน้ำ  $MgSO_4$  4 กรัม  $NaCl$  1 กรัม  $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$  1 กรัม และ  $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$  0.5 กรัม แล้วเขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นดูดสารละลาย 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดเซนติฟิวก์ขนาด 15 มิลลิลิตรที่มี  $MgSO_4$  225 มิลลิกรัม PSA 30 มิลลิกรัม และ C18 มิลลิกรัม เขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วยไซริงค์ฟิลเตอร์ใส่ขวดแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร ดูดสารละลายที่ได้ 0.5 มิลลิลิตรใส่ autosampler vial และเป่าให้แห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator แล้วเติมน้ำ ethyl acetate 0.5 มิลลิลิตรลงไป นำไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC/MS-MS

3) การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS/MS: Agilent 7890A Series และ Agilent 7000B Triple Quadrupole GC/MS-MS มีรายละเอียด ดังนี้

Gas Chromatograph

Column: Agilent 19091S-431UI: J&W HP-5ms UI 15 m × 0.25 mm × 0.25 μm  
Carrier gas: Helium  
Gas flow: 1 mL/min  
Injection volume: 2 μL  
Inlet: Set point temperature at 280°C  
Splitless mode  
Post run temperature at 280°C

Oven:	Rate (°C/min)	Temperature (°C)	Hold time (min)	Run time (min)
	Initial	60	1	1
	50	180	0	3.4
	15	310	3	15.067

Mass Spectrometer

Source temperature: 300°C  
Quadrupole temperature: 180°C  
Detection gain: 10  
MS/MS Scan Parameter: Multi Reaction Monitoring (MRM)

	Precursor ion	Product ion	Dwell (ms)	CE (V)
Chlorpyrifos	313.8	285.8	10	5
	313.8	257.8	10	15
	198.9	171	10	15
	196.9	169	10	15

4) การเตรียมสารละลายมาตรฐานของวัตถุที่มีพิษคลอไรด์ไพริฟอสด้วย matrix blank ที่ 8 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานคลอไรด์ไพริฟอส (แกน x) กับ peak area (แกน y) ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

5) การตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอไรด์ไพริฟอสในตัวอย่างจากแปลงทดลองที่ 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

### 7.3 เวลาและสถานที่

เวลา: ตุลาคม พ.ศ. 2559-กันยายน พ.ศ. 2560

สถานที่: การทดลองในแปลงทดลองทำระหว่างเดือนเมษายน-มิถุนายน พ.ศ. 2560 ที่อำเภอมะขามและอำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี และการทดลองในห้องปฏิบัติการทำระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน พ.ศ. 2560 ที่ห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างคลอไรด์ไพริฟอสในทุเรียน แบ่งผลการทดลองเป็น 2 ส่วน คือ ผลการทดลองในแปลงทดลองและในห้องปฏิบัติการ มีรายละเอียด ดังนี้

### 8.1 แปลงทดลอง

การพ่นสารคลอไรด์ไพริฟอสในแปลงทดลองทุเรียนทั้ง 2 แปลง แปลงละ 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน โดยเดินพ่นสาร 2 ด้านตามแนวต้นทุเรียน มีการพิจารณาประสิทธิภาพการพ่นสาร ซึ่งแสดงถึงปริมาณวัตถุที่มีพิษคลอไรด์ไพริฟอสที่ลงแปลงทดลอง พบว่า การประเมินปริมาณวัตถุที่มีพิษคลอไรด์ไพริฟอสที่ลงแปลงทดลองอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ อยู่ระหว่าง 95-110% ของปริมาณวัตถุที่มีพิษ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุที่มีพิษคลอไรด์ไพริฟอสในแปลงทุเรียน

แปลงทดลอง	ประสิทธิภาพการพ่นสาร (%)		
	1	2	3
1	100	100	100

---

2	100	100	100
---	-----	-----	-----

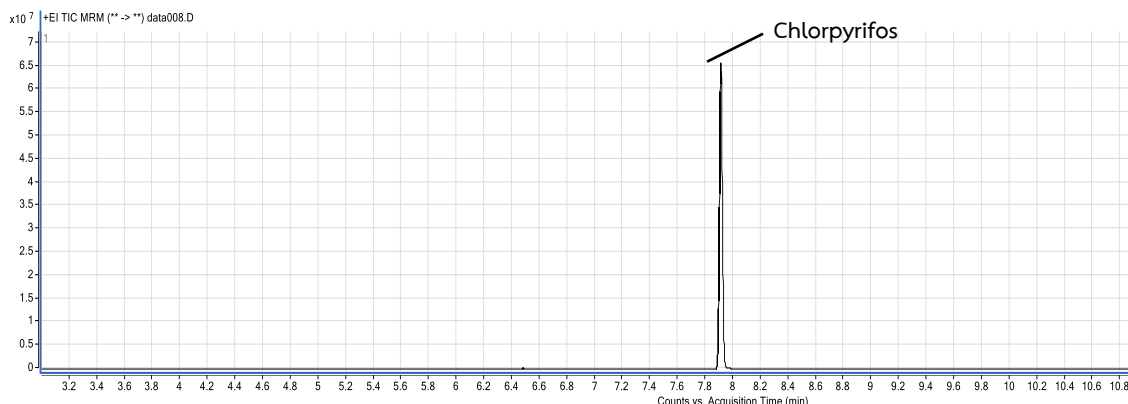
---



## 8.2 ห้องปฏิบัติการ

### 8.2.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสด้วยเครื่อง GC/MS-MS

การวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสด้วยเครื่อง GC/MS-MS แสดงโทเทิลไอออนโครมาโตแกรม (Total ion chromatogram หรือ TIC) ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 Total Ion Chromatogram (TIC) ของคลอร์ไพริฟอส

### 8.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในตัวอย่างทุเรียนด้วยวิธี QuEChERS (EN15662: 2008) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า ร้อยละการกลับคืน (% Recovery) อยู่ระหว่างร้อยละ 98-116 และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) อยู่ระหว่างร้อยละ 1-10 ดังแสดงในตารางที่ 2 และปริมาณต่ำสุดของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในทุเรียน (Limited of Quantification หรือ LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Pesticide Research Group, 2016)

ตารางที่ 2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในตัวอย่างทุเรียน (Pesticide Research Group, 2016)

ระดับความเข้มข้น (มก./กก.)	ร้อยละการกลับคืน (%)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการกลับคืน (%)	%RSD
0.01	112, 111, 108, 112, 110, 116, 109, 112, 108 และ 107	110	3
0.02	94, 114, 121, 102 และ 110	108	10
0.05	100, 99, 101, 102, 101 และ 104	101	2
0.10	100, 105, 103, 103, 107 และ 107	104	3

0.20	101, 99, 98, 98, 102 และ 101	100	2
0.50	102, 102, 102, 102, 100 และ 103	102	1
2.00	103, 104, 99, 98, 105 และ 100	101	3

ตารางที่ 3 การทวนสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอโรไพริฟอสในตัวอย่างทุเรียน

ระดับความเข้มข้น (มก./กก.)	ร้อยละการกลับคืน (%)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการกลับคืน (%)	%RSD
0.01	98, 102, 105, 109 และ 101	103	4
0.1	82, 87, 80 และ 84	83	4
1.0	82, 80, 81 และ 77	80	3

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอโรไพริฟอสในตัวอย่างทุเรียนด้วยวิธี QuEChERS (EN15662: 2008) ที่กล่าวมาแล้วนั้น เมื่อนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาทดสอบตัวอย่าง มีการทำการทวนสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification) ก่อนการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างทุเรียนจากแปลงทดลอง โดยทำที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า ร้อยละการกลับคืนอยู่ระหว่างร้อยละ 77-109 และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ระหว่างร้อยละ 3-4 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (Eurachem, 2014) ดังแสดงในตารางที่ 3

### 8.2.3 การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างจากแปลงทดลอง

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างคลอโรไพริฟอส พบว่าแปลงควบคุมหรือแปลงทดลองที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษคลอโรไพริฟอส ทุกตัวอย่างตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างคลอโรไพริฟอสน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีทดสอบที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง (Limit of quantification หรือ LOQ) และจากแปลงทดลองที่ใช้วัตถุอันตรายคลอโรไพริฟอสตามอัตราแนะนำในทุเรียน พบปริมาณสารพิษตกค้างคลอโรไพริฟอสหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย 0, 3, 7, 14 และ 21 วัน ในแปลงที่ 1 และ แปลงที่ 2 อยู่ระหว่าง 0.11 ถึง 0.91 และ 0.05 ถึง 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงตารางที่ 4 และพบว่าปริมาณสารพิษตกค้างคลอโรไพริฟอสลดลง เมื่อจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการสลายตัวของวัตถุมีพิษคลอโรไพริฟอส เมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 3 เมื่อพิจารณาอัตราการสลายตัวของวัตถุมีพิษคลอโรไพริฟอสของแปลงที่ 1 และ 2 เท่ากับ 0.6427 และ 0.3444 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ

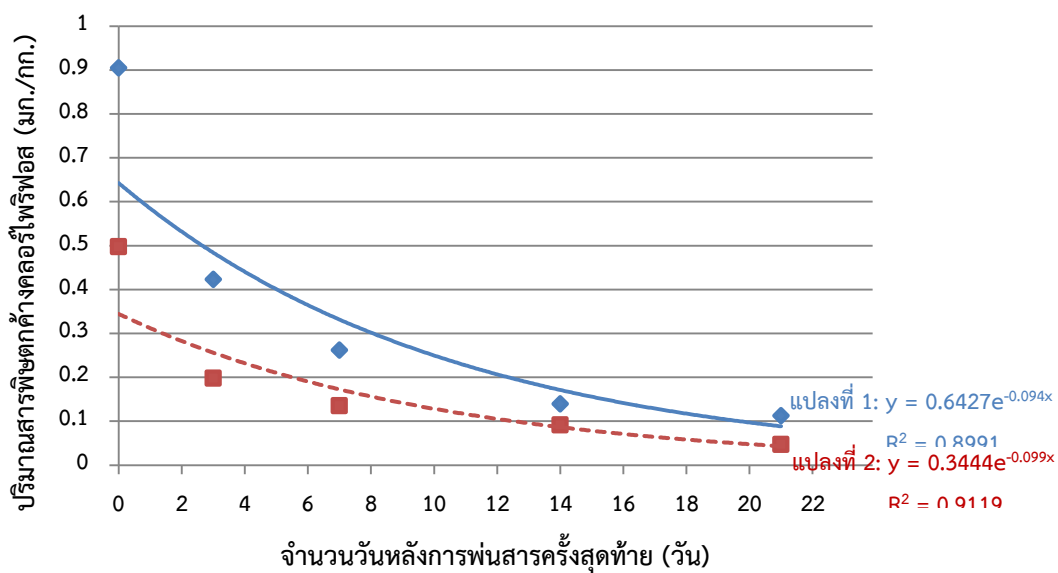
ตารางที่ 4 ปริมาณสารพิษตกค้างคลอโรไพริฟอสในทุเรียนจากแปลงทดลองที่ใช้วัตถุอันตรายคลอโรไพริฟอสตาม อัตราแนะนำ

จำนวนวันหลัง การปนสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้างคลอรีนไฟรฟอส (มก./กก.)	
	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2
0	0.91	0.50
3	0.42	0.20
7	0.26	0.14
14	0.14	0.09
21	0.11	0.05

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอรีนไฟรฟอสในตัวอย่างทุเรียนจากแปลงทดลอง

ระดับความเข้มข้น (มก./กก.)	ร้อยละการกลับคืน (%)	
	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2
0.01	91	75
0.1	83	77
1.0	86	79

นอกจากนี้ ในการสกัดตัวอย่างจากแต่ละแปลงทดลองได้มีการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง พบว่า ร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ในการสกัดตัวอย่างแปลงที่ 1 อยู่ในช่วง 74-91% และแปลงที่ 2 อยู่ในช่วง 75-79% ดังแสดงในตารางที่ 5



ภาพที่ 3 กราฟแสดงการสลายตัวของสารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในทุเรียนแปลงที่ 1 และ 2

**9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ**

การพ่นสารคลอร์ไพริฟอสในแปลงทดลองสามารถประเมินปริมาณวัตถุมีพิษคลอร์ไพริฟอสที่แปลงทดลองเท่ากับ 100% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ อยู่ระหว่าง 95-110% ของปริมาณวัตถุมีพิษ

การวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในทุเรียน โดยพ่นวัตถุมีพิษคลอร์ไพริฟอสตามอัตราแนะนำ พบว่าการสลายตัวเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น และสารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสมีปริมาณระหว่าง 0.05 ถึง 0.91 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างคลอร์ไพริฟอสในทุเรียนจากแปลงทดลอง มีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 74-91%

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ทุเรียนจัดอยู่ในกลุ่มหลัก 006 ผลไม้เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนที่เปลือกบริโภคไม่ได้ (assorted tropical and sub-tropical fruits-inedible peel) ซึ่ง Codex ไม่กำหนดค่า MRLs ของคลอรีไพริฟอส จึงข้อมูลที่ได้จากการศึกษาการสลายตัวของวัตถุอันตรายคลอรีไพริฟอสในทุเรียนไปเสนอ เพื่อพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRLs) ของ Codex, ASEAN และประเทศไทย (มกอช., 2559 และ FAO, 2013)

การศึกษาการสลายตัวของวัตถุอันตรายคลอรีไพริฟอสในสภาพภูมิอากาศของประเทศไทย ทำให้ทราบการสลายตัวของคลอรีไพริฟอสที่แท้จริง เมื่อนำค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ 14 วันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามฉลากกำหนดไปคำนวณค่าความปลอดภัยต่อการบริโภค พบว่า ไม่มีตัวอย่างทุเรียนจากแปลงทดลองก่อให้เกิดอาการเฉียบพลันจากการบริโภค

การใช้วัตถุอันตรายคลอรีไพริฟอสตามอัตราแนะนำที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวตาม PHI กำหนด จะไม่พบผลผลิตที่มีปริมาณสารพิษตกค้างคลอรีไพริฟอสในทุเรียนเกินค่า MRLs ทำให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้า

## 11. คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับความเอื้อเพื่อให้ใช้สถานที่ของห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 จังหวัดจันทบุรี

## 12. เอกสารอ้างอิง

ดำริห์ รุ่งสุข. 2543. *สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและสัตว์*. เชียงใหม่: ภาควิชาอารักขาพืช มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์. *Chlorpyrifos/คลอรีไพริฟอส*. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2169/chlorpyrifos-คลอรีไพริฟอส> (8 กุมภาพันธ์ 2561).

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2557. *สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS*. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. *การจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช CLASSIFICATION OF AGRICULTURAL COMMODITIES: CROP*. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักพิมพ์แม็ค. กรุงเทพฯ. *ผลไม้ไทย*. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.maceducation.com/e-knowledge/2341109100/10.htm> (8 กุมภาพันธ์ 2561).

เกรียงไกร จำเริญมา และคณะ. 2554. *แมลงศัตรูไม้ผล*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

Eurachem. 2014. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2<sup>nd</sup> ed.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. *Discussion Paper on the Review of the Commodity Groups in the Database for Maximum Residue Limits for Pesticide to Determine the Need for Revision of Relevant Group MRLs (revised fruit commodity groups of the Classification of Foods and Animal Feeds)*. [ระ บ บ อ อ น ไ ล ่ น์ ]. แ ห ล ่ ง ที่ ม า [http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCPR/CCPR45/pr45\\_07e.pdf](http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCPR/CCPR45/pr45_07e.pdf) (8 กุ ม ภา พ ัน ธ์ 2561).

Pesticide Residue Group. 2016. *Summary of residue data for Chlorpyrifos in Durian*. Bangkok: Department of Agriculture.

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*.

### 13. ภาคผนวก

การเตรียมสารมาตรฐานคลอร์ไพริฟอส

เตรียม Stock standard solution 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานที่เป็น primary standard ให้ได้เนื้อสารประมาณ 10 มิลลิกรัมใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 ขวด ละลายสารมาตรฐานและปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลาย Ethyl acetate และ Acetonitrile อย่างละ 1 ขวด เขย่าให้ เข้ากัน และถ่ายสารละลายมาตรฐานที่ได้ใส่ขวดแก้ว พร้อมติดฉลากระบุชื่อสาร batch number ความเข้มข้น วันที่ เตรียม ชื่อผู้เตรียม ตัวทำละลายที่ใช้ และวันหมดอายุ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$  โดยสารมาตรฐานมีอายุการใช้งาน 1 ปี (นับจากวันที่เตรียม) โดยความเข้มข้นของสารมาตรฐาน สามารถคำนวณได้ ดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน } (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{น้ำหนักที่ชั่ง (mg)} \times \text{ความบริสุทธิ์ของสาร(\%)} \times 1000}{\text{ปริมาตรที่เตรียม (mL)} \times 100}$$

เตรียม Intermediate standard solution 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในตัวทำละลาย Ethyl acetate และ Working standard solution ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในตัวทำละลาย Matrix blank โดยใช้สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดย	$N_1$	เป็นความเข้มข้นของสารตั้งต้น ( $\mu\text{g/mL}$ )
	$N_2$	เป็นความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม ( $\mu\text{g/mL}$ )
	$V_1$	ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องดูด ( $\text{mL}$ )
	$V_2$	ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องการเตรียม ( $\text{mL}$ )