

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2560

1. แผนงานวิจัย -
2. โครงการวิจัย การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลไม้และผัก
กิจกรรมที่ 3 : การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างในผักกาดใบตระกูลกะหล่ำ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของฟิโพรนิล (fipronil) ในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)

Residue Trials of Fipronil in Chinese kale to Establish Maximum Residue Limit

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	วิชุดา ควรหัตร์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน	วาเลนไทน์ เจือสกุล	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	ชนิตา ทองแซม	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

5. บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณของสารพิษตกค้างฟิโพรนิลในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทดลองในแปลงคะน้าของเกษตรกร 2 แห่ง ได้แก่ แปลงทดลองที่ 1 อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสระบุรี ทำการทดลองในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม 2560 แปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม ในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม 2560 ในแต่ละแปลงพ่นสารฟิโพรนิล 5% W/V SC ตามอัตราแนะนำในคะน้า คือ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ และมีแปลงย่อยที่ไม่มีการฉีดพ่นสารเป็นแปลงเปรียบเทียบ แต่ละแปลงพ่นสารรวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน หลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างฟิโพรนิล ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน โดยใช้เทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ผลการวิจัยพบว่า ในแปลงทดลองที่ 1 จ.สระบุรี พบปริมาณฟิโพรนิลตกค้างในคะน้ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.951, 0.913, 0.160, 0.066, 0.017, <LOQ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะ 0, 1, 3, 5, 7 และ 10 วัน ตามลำดับ และตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 14 วัน ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 จังหวัดนครปฐม พบปริมาณฟิโพรนิลตกค้างในคะน้ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.679, 0.863, 0.130, 0.038, 0.016, <LOQ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7 และ 10 วัน ตามลำดับ และตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 14 วัน นอกจากนี้ได้สุ่มสำรวจคะน้าจากแหล่งจำหน่าย ต่างๆ รวมทั้งสิ้น 37 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างจำนวน 34 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 92 สารที่พบเช่น cypermethrin, acetamiprid, dimethomorph เป็นต้น แต่ตรวจ

ไม่พบสารพิษตกค้างฟิโพรนิลในทุกตัวอย่าง การวิจัยในครั้งนี้ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Abstract

Studied on fipronil residue trials in Chinese kale had been conducted at 2 various fields in Thailand including Saraburi and Nakornpathom provinces, during February - July 2017. Application was done by 5% W/V SC of fipronil at recommended dose as 40 ml/20l of water, at consumption rate of water 120 l/rai. Applications were done 3 times of spraying at 7 days interval for each field. After the last application, Chinese kale samples were collected from the field to analyze the residues of fipronil at Pesticide Residue Research Laboratory, Department of Agriculture in Bangkok at 0, 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days. All samples were analyzed by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). The set of results showed that was found of fipronil residue 1.951, 0.913, 0.160, 0.066, 0.017, <LOQ mg/kg and undetected at 0, 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days at Saraburi and 1.679, 0.863, 0.130, 0.038, 0.016, <LOQ mg/kg and undetected at Nakornpathom field respectively. Furthermore, 37 samples of Chinese kale which randomized and collected from various markets were analyzed. Some of pesticide residues such as cypermethrin, acetamiprid and dimethomorph were detected in 34 samples (92 %). However, fipronil was not determined in all samples. For this study, the Limit of Quantification (LOQ) is 0.005 mg/kg by using LC-MS/MS.

6. คำนำ

การกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในผลผลิต และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเป็นการพิจารณา ร่วมกันของคณะกรรมการมาตรฐานอาหารสากล (Codex) FAO/WHO ซึ่งจะพิจารณาจากข้อมูลผลการทดลองที่ ประเทศสมาชิกได้ทำการศึกษาภายใต้การปฏิบัติการทางการเกษตรที่เหมาะสม (GAP) โดยมีการดูแลรักษาการ ป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสมถูกต้องกับชนิดของพืช การกำหนดค่าปริมาณ MRLs จะขึ้นอยู่กับชนิดของ วัตถุดิบพืชและชนิดของพืช เนื่องจากคณะกรรมการส่วนใหญ่จะพิจารณาพืชและวัตถุดิบพืชที่ใช้กันมากในยุโรป และ ประเทศในซีกโลกตะวันตก บางประเทศที่นำเข้าสินค้าเกษตรนำค่าที่กำหนดนี้มาเป็นข้ออ้างในการกีดกันทางด้านการค้าสำหรับพืชและวัตถุดิบพืชที่ไม่มีการกำหนดค่าไว้โดย Codex นอกจากนี้ประสิทธิภาพของวัตถุดิบพืช และ อัตราการสลายตัวในพืชแต่ละชนิดยังมีความแตกต่างกันในแต่ละสภาพพื้นที่การเกษตร การทดลองจะต้องทำซ้ำ อย่างน้อย 2 ครั้ง ต่างสถานที่หรือต่างฤดูกาล จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ต้องมีการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างใน พืชจากการทำแปลงทดลอง เพื่อนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากฉีดพ่นวัตถุดิบพืชที่อัตราแนะนำ ที่ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย มาประกอบการพิจารณาร่วมกับข้อมูลศึกษาความเป็นพิษของ วัตถุดิบพืชชนิดนั้น ๆ

คะน้า (*Brassica oleracea* L.) วงศ์ :Cruciferae, Brassicaceae คะน้าเป็นพืชผักสมุนไพร ความสูง ประมาณ 30 เซนติเมตร ลำต้นมีลักษณะกลมๆ ลำต้นเดี่ยวต้นมีสีเขียวขม มีก้านใบยาว ใบกว้างใหญ่สีเขียวขม คะน้าที่นิยมปลูกในประเทศไทยมี 2 สายพันธุ์ คือคะน้าใบ ซึ่งมีส่วนใบใหญ่ก้านใบเล็ก ใบกลมหนา มีรสชาติกรอบ

ทนต่อดินฟ้าอากาศได้ดี และค่น้ำยอด หรือค่น้ำก้าน ต้นอวบใหญ่ ดอกสีขาว ใบแหลมสีเขียวฉวบล ก้านใหญ่ รสชาติกรอบอร่อย ต้านทานต่อโรค ความชื้นได้ดี เป็นพันธ์ที่ออกดอกช้าให้ผลผลิตสูง ค่น้ำดูแลรักษาง่าย สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพดินทุกชนิดที่มีการระบายน้ำและการถ่ายเทอากาศดี อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 20-25°C อายุการเก็บเกี่ยว 45-55 วัน สามารถขายได้ทั้งส่วนที่เป็นค่น้ำยอดซึ่งถอนแยก ในช่วงที่กล้าค่น้ำยังเป็นต้นเล็ก และค่น้ำต้นซึ่งเจริญเติบโตครบอายุเก็บเกี่ยว จะให้น้ำหนักและราคาที่ดีกว่า เนื่องจากค่น้ำเป็นพืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ เกษตรกรผู้ปลูกค่น้ำต้องมีการดูแลและป้องกันการเข้าทำลายของโรคและแมลง การใช้วัตถุมีพิษที่ถูกต้องตามคำแนะนำจึงเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดปริมาณสารพิษตกค้างมากเกินไปในผลผลิต ทำให้ปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

ฟิโพรนิล (fipronil) มีชื่อทางเคมีคือ 5-amino-[2,6-dichloro-(trifluoromethyl)phenyl]-4-[(1R,S)-(trifluoro=methyl)sulfinyl]-1H-pyrazole-3-carbonitrile จัดเป็นวัตถุมีพิษในกลุ่ม Phenyl pyrazole สูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_4F_{12}N_4OS$ มีน้ำหนักโมเลกุล 437.1 สารออกฤทธิ์เป็นผงสีขาว มีจุดหลอมเหลวที่ 203 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น acetone และ ethyl acetate ที่ระดับ 546.5 และ 26.55 กรัม/100 มิลลิลิตร มีสูตรผสม เช่น SC, FS, WG, GR, UL และ EC ฟิโพรนิลประกอบด้วยสารอนุพันธ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี ได้แก่ fipronil sulfone fipronil sulfide fipronil carboxamide และ fipronil desulfinyl ซึ่งกลไกการเกิดสารอนุพันธ์ของ ฟิโพรนิล แสดงดังภาพที่ 1

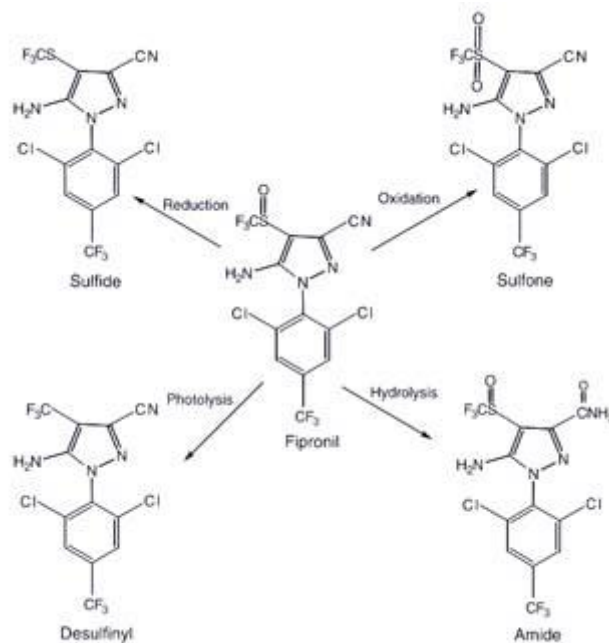


Fig. 4. Degradation pathways of fipronil.

ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Fipronil และการเกิดสารอนุพันธ์ชนิดต่างๆ

ฟิโพรนิลถูกนำมาใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกาเพื่อกำจัดแมลงในสัตว์เลี้ยง แมลงในที่พักอาศัย และสนามกอล์ฟ จากนั้นได้นำมาใช้แทนที่สารคลอไพริฟอส ในผลิตภัณฑ์สำหรับป้องกันกำจัดแมลงในสัตว์เลี้ยง แมลงในบ้าน

ปลวก มด แมลงสาป และแมลงศัตรูข้าวโพด ต่อมาในปลายปี ค.ศ. 1990 ประเทศสหรัฐอเมริกาได้ยกเลิกการใช้สาร carbofuran ในการป้องกันกำจัดด้วงงวงในนาข้าว (water rice weevil) จึงมีการขึ้นทะเบียน พิโพรนิล เพื่อใช้ทดแทนสารดังกล่าว (PAN, 2012) พิโพรนิลออกฤทธิ์ในการกำจัดหัดและเห็บโดยรบกวนการทำงานของระบบประสาท โดยผ่านทาง GABA-gated chloride channel ขัดขวางการไหลผ่านของคลอไรด์ไอออนในเซลล์ประสาท ทำให้การทำงานของระบบประสาทผิดปกติ มีผลให้แมลงตายในที่สุด ข้อดีของพิโพรนิลคือเป็นพิษต่อระบบประสาทเฉพาะของแมลง เนื่องจากพิโพรนิลจับได้ไม่ดีกับ GABA receptor ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง พิโพรนิลจัดเป็นสารฆ่าแมลงที่มีอันตรายระดับกลาง (กลุ่ม WHO class II moderately hazardous pesticide) มีค่า LD 50 (ขนาดยาที่ทำให้หนูทดลองตายจำนวนร้อยละ 50) เท่ากับ 97 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (WHO, 2009) มีพิษในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม น้อยกว่าในนก ปลา และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

7. วิธีดำเนินการ

1. อุปกรณ์

1.1 สารมาตรฐาน fipronil และอนุพันธ์ ซึ่งประกอบด้วย fipronil sulfone fipronil desulfinyl fipronil carboxamide และ fipronil sulfide เตรียมสารละลายมาตรฐานด้วยตัวทำละลาย ชนิด Pesticide Grade

1.2 ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิช (มอร์เกิน) 5% w/v (SC) สำหรับฉีดพ่นในแปลงทดลอง

1.3 เครื่องฉีดพ่นวัตถุมีพิชแบบเครื่องยนต์เล็กสะพายหลัง (Knapsack Sprayer)

1.4 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ และวัสดุวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

1.5 สารเคมี ได้แก่

1) Acetonitrile

2) Extract powder; 4 g Magnesium sulphate anhydrous, 1 g sodium chloride, 1 g trisodium citrate dehydrate และ 0.5 g disodium hydrogencitrate sesquihydrate

3) Clean-up powder; 125 mg Primary secondary amine (PSA) 750 mg Magnesium sulphate และ 45 mg Graphitized carbon (GCB)

1.6 เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

1) เครื่องชั่งชนิดหยาบและละเอียด

2) เครื่องสับตัวอย่าง (Food Processor)

3) เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง

4) เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิช เครื่องมือตรวจวัดวัตถุมีพิช ชนิด Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ต่อกับเครื่อง Tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

2. วิธีการ

2.1 สำรองแปลงปลูกค่น้ำของเกษตรกรเพื่อวางแผนการทดลอง การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง และ กำหนดระยะเวลาฉีดพ่นวัตถุมีพิช fipronil 5% w/v (SC) เตรียมอุปกรณ์และวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง fipronil ในค่น้ำ

2.1.1 วางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial มี 2 กรรมวิธี (treatment) ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า (แปลงควบคุม) และ กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ fipronil ที่ระดับความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มวิจัยกัญและสัตววิทยา.2553.)

2.1.2 การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง แปลงทดลองในพื้นที่เกษตรกรโดยแบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 ซ้ำ (replication) โดยแต่ละซ้ำจะมีพื้นที่ 40 ตารางเมตร

2.1.3 กำหนดระยะเวลาในการฉีดพ่นวัตถุมีพิชในแปลงทดลอง ใช้ผลิตภัณฑ์ fipronil ซึ่งเป็นอัตราส่วน ฉีดพ่นในแปลงครั้งแรกก่อนที่จะทำการเก็บผลผลิต 1 เดือนที่ระดับความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ (40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) โดยใช้เครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์ขนาดเล็กฉีดพ่นวัตถุมีพิชทุก 7 วันจนครบ 3 ครั้ง

2.2 เก็บตัวอย่างค่น้ำจากแปลงทดลองและแหล่งจำหน่าย เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

2.2.1 เก็บตัวอย่างคละน้ำจากแปลงทดลอง โดยทิ้งระยะเวลา 2 ชั่วโมงหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย เพื่อให้คละน้ำแห้งสนิท แล้วจึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างคละน้ำเป็นวันที่ 0 และเก็บตัวอย่างต่อไปตามระยะเวลาที่กำหนดไว้คือ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน นำกลับห้องปฏิบัติการเก็บในตู้แช่ตัวอย่างอุณหภูมิต่ำ -20°C

3. การหาค่า Recovery และ Limit of Quantitation (LOQ)

เพื่อทดสอบวิธีการที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ว่าเป็นวิธีการที่เหมาะสม โดยการเติมสารมาตรฐาน วัตถุที่มีพิษ fipronil และอนุพันธ์ซึ่งประกอบด้วย fipronil sulfone, fipronil desulfiny, fipronil carboxamide และ fipronil sulfide ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนเติมลงในตัวอย่างแล้วสกัดตามวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม ทดสอบหาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ (Recovery) ที่ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 0.002 - 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และนำมาหาค่า Limit of Quantitation ได้ 0.005 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

4. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำคะน้าที่เก็บจากแปลงทดลองและแหล่งจำหน่ายออกจากตู้แช่ตัวอย่าง หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่เครื่องปั่นตัวอย่าง (Food Processor) โดยปั่นร่วมกับน้ำแข็งแห้ง (dry ice)

4.2 วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง ด้วยวิธี EN QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2003)

ชั่งตัวอย่างคะน้า 10 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 1 นาที เติมสารผสมของ $MgSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม เขย่าด้วยมือประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนที่ใส 5 มิลลิลิตร เติมสารผสมระหว่าง PSA 125 มิลลิกรัม $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม และ GCB จำนวน 45 มิลลิกรัม นำไป vortex ประมาณ 30 วินาที จากนั้น centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนที่ใสผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีสารละลาย 5% formic acid 10 ไมโครลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-MS/MS

4.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง HPLC-MS/MS

เตรียมสารละลายมาตรฐานของวัตถุที่มีพิษ fipronil และอนุพันธ์ซึ่งประกอบด้วย fipronil sulfone, fipronil desulfiny, fipronil-carboxamide และ fipronil sulfid ด้วย acetonitrile HPLC Grade โดยเตรียม 7 ความเข้มข้นที่ระดับ 0.002 0.005 0.01 0.02 0.05 0.1 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฉีดเข้าเครื่องเพื่อทำ calibration curve ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารในแกน X ซึ่ง calibration curve เป็นกราฟเส้นตรงที่มีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995 การตั้งสภาวะของเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟี มีรายละเอียดดังนี้

เครื่อง LC-MS/MS ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 หัวตรวจวัดชนิด QQQ Mass Spectrophotometer โดยใช้คอลัมน์ (HPLC Column) คือ Kinetex 2.6u XB-C18 100A 100 x 2.1 mm ตั้งสภาวะของเครื่องดังนี้

- 1) Drying gas 12 L/min 350°C
- 2) Nebulizer gas 60 psi
- 3) Mobile phase A: 5 mM AF + 0.01%FA
- 4) Mobile phase B: Acetonitrile
- 5) Flow rate 0.4 mL/min
- 6) Sample size 2.00 μ L

ระยะเวลา

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2559 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2560

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ และแปลงค่น้ำเกษตรกร จังหวัดสระบุรี และจังหวัดนครปฐม

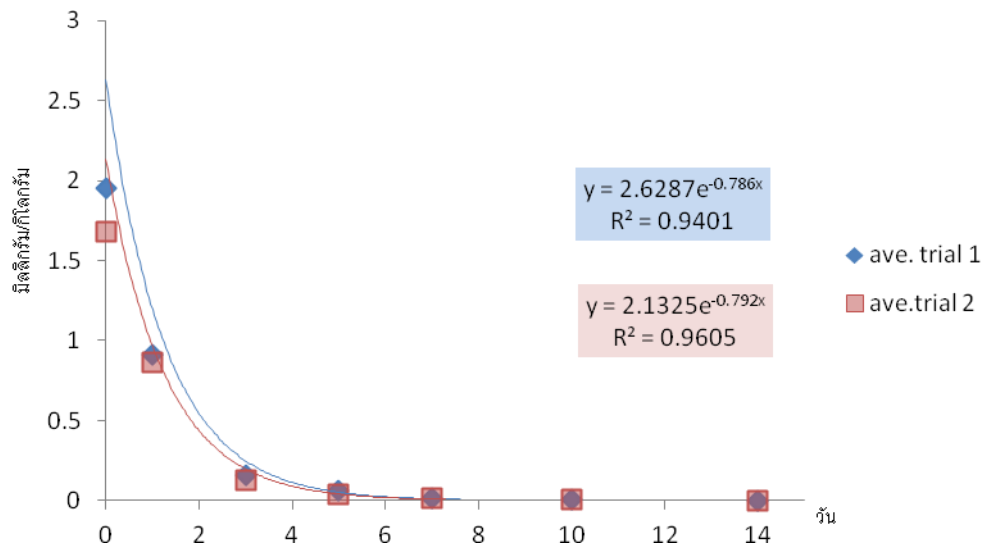
8. ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาการสลายตัวของ ฟิโพรนิล ในค่น้ำ แปลงควบคุมไม่พบสารตกค้าง ฟิโพรนิล ในทุกตัวอย่างทั้งแปลงทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสระบุรีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามกรรมวิธี พบสารพิษตกค้างฟิโพรนิลในค่น้ำ (ตารางที่ 1) เฉลี่ยเท่ากับ 1.951 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะ 0 วัน แล้วค่อยๆ ลดลงเป็น 0.913, 0.160, 0.066, 0.017, 0.004 < LOQ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและตรวจไม่พบ ในวันที่ 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย ในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐมตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามกรรมวิธี พบสารพิษตกค้างฟิโพรนิลในค่น้ำทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 1) เฉลี่ยเท่ากับ 1.679 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะ 0 วัน แล้วค่อยๆ ลดลงเป็น 0.863, 0.130, 0.038, 0.016, 0.003 < LOQ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและตรวจไม่พบ ในวันที่ 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ปริมาณสารพิษตกค้าง fipronil ในค่น้ำ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดสระบุรี และแปลงทดลองที่ 2 จังหวัดนครปฐม ในปี พ.ศ. 2560

ระยะเวลาเก็บตัวอย่างหลังพ่นครั้งสุดท้าย(วัน)	Rep	Trial 1 สระบุรี	เฉลี่ย Tr1 (mg/kg)	Trial 2 นครปฐม	เฉลี่ย Tr2 (mg/kg)
0	1	2.125	1.951	1.510	1.679
	2	1.776		1.848	
1	1	1.009	0.913	0.838	0.863
	2	0.816		0.888	
3	1	0.166	0.160	0.117	0.130
	2	0.154		0.143	
5	1	0.058	0.066	0.046	0.038
	2	0.074		0.029	
7	1	0.014	0.018	0.013	0.016
	2	0.021		0.019	
10	1	0.006	0.006	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ		< LOQ	
14	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ		< LOQ	

LOQ = 0.005 mg/kg



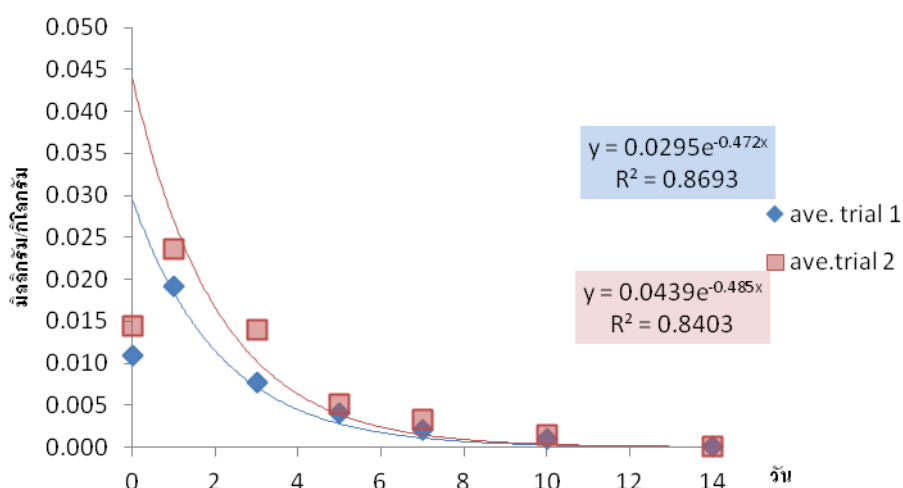
ภาพที่ 2 กราฟการสลายตัวของสารพิษตกค้าง fipronil ในค่น้ำที่ระยะเวลาต่างๆ ในแปลงทดลองที่ 1 และแปลงทดลองที่ 2

การศึกษาการสลายตัวของอนุพันธ์ fipronil desulfiny, fipronil carboxamide, fipronil sulfone และ fipronil sulfid ในค่น้ำ ที่ระยะเวลาต่างๆ แปลงควบคุมไม่พบสารตกค้างทั้ง 2 แปลง ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามกรรมวิธีในแปลงทดลองปนสาร สามารถตรวจพบอนุพันธ์ได้ แต่มีปริมาณเล็กน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณของฟิโพรนิลที่ระยะเวลาเท่ากัน อนุพันธ์มีปริมาณเพิ่มขึ้นที่ระยะเวลา 1 วัน และลดลงไปเรื่อยๆหลังจากนั้น แสดงในตารางที่ 2 – ตารางที่ 5, และภาพที่ 3 – ภาพที่ 6

ตารางที่ 2 ปริมาณสารพิษตกค้าง fipronil sulfone ในค่น้ำ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดสระบุรี และแปลงทดลองที่ 2 จังหวัดนครปฐม ในปี พ.ศ. 2560

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง	Rep	Trial 1	เฉลี่ย Tr1	Trial 2	เฉลี่ย Tr2
0 (2 ชั่วโมง)	1	0.011	0.011	0.015	0.015
	2	0.010		0.014	
1	1	0.020	0.019	0.024	0.024
	2	0.018		0.024	
3	1	0.007	0.008	0.013	0.014
	2	0.008		0.015	
5	1	< LOQ	0.005	0.006	0.006
	2	0.005		< LOQ	
7	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ		< LOQ	
10	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ		< LOQ	
14	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.000
	2	< LOQ		0.000	

LOQ = 0.005 mg/kg

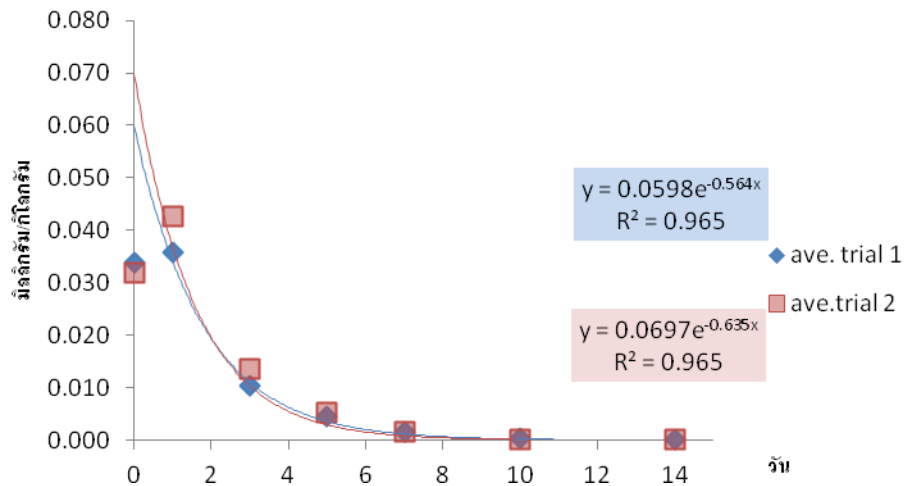


ภาพที่ 3 กราฟการสลายตัวของสารพิษตกค้าง fipronil sulfone ในค่น้ำที่ระยะเวลาต่างๆ ในแปลงทดลองที่ 1 และแปลงทดลองที่ 2

ตารางที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้าง fipronil sulfide ในค่น้ำ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดสระบุรี และแปลงทดลองที่ 2 จังหวัดนครปฐม ในปี พ.ศ. 2560

ระยะเวลาเก็บตัวอย่างหลังพ่นครั้งสุดท้าย (วัน)	Rep	Trial 1 สระบุรี	เฉลี่ย Tr1 (mg/kg)	Trial 2 นครปฐม	เฉลี่ย Tr2 (mg/kg)
0 (2 ชั่วโมง)	1	0.037	0.034	0.028	0.032
	2	0.031	0.034	0.036	0.032
1	1	0.040	0.036	0.043	0.043
	2	0.032	0.036	0.042	0.043
3	1	0.011	0.010	0.013	0.014
	2	0.010	0.010	0.014	0.014
5	1	0.005	0.005	0.006	0.006
	2	0.005	0.005	< LOQ	0.006
7	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
10	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
14	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

LOQ = 0.005 mg/kg

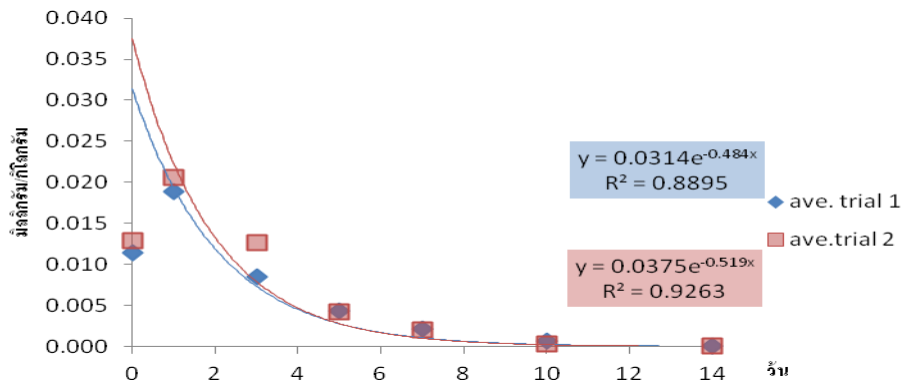


ภาพที่ 4 กราฟการสลายตัวของสารพิษตกค้าง fipronil sulfide ในค่น้ำที่ระยะเวลาต่างๆ ในแปลงทดลองที่ 1 และแปลงทดลองที่ 2

ตารางที่ 4 ปริมาณสารพิษตกค้าง fipronil carboxamide ในค่น้ำ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดสระบุรี และแปลงทดลองที่ 2 จังหวัดนครปฐม ในปี พ.ศ. 2560

ระยะเวลาเก็บตัวอย่างหลังพ่นครั้งสุดท้าย (วัน)	Rep	Trial 1 สระบุรี	เฉลี่ย Tr1 (mg/kg)	Trial 2 นครปฐม	เฉลี่ย Tr2 (mg/kg)
0 (2 ชั่วโมง)	1	0.012	0.011	0.013	0.013
	2	0.010		0.013	
1	1	0.020	0.019	0.021	0.021
	2	0.018		0.020	
3	1	0.009	0.008	0.011	0.013
	2	0.008		0.014	
5	1	< LOQ	0.005	0.005	0.005
	2	0.005		< LOQ	
7	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ		< LOQ	
10	1	< LOQ	0.000	0.000	0.000
	2	0.000		< LOQ	
14	1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	< LOQ		< LOQ	

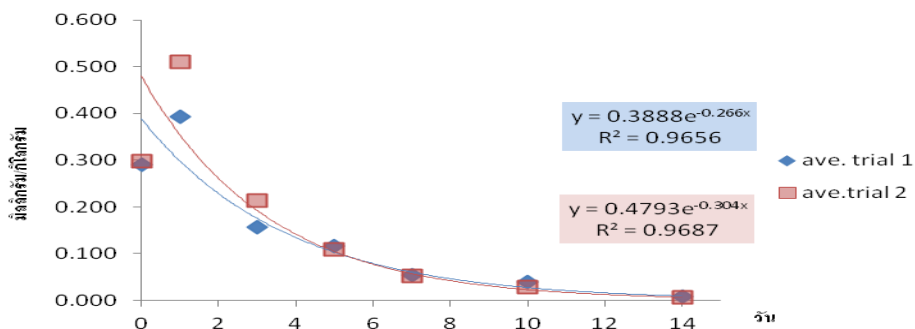
LOQ = 0.005 mg/kg



ภาพที่ 5 กราฟการสลายตัวของสารพิษตกค้าง fipronil carboxamide ในค่น้ำที่ระยะเวลาต่างๆ ในแปลงทดลองที่ 1 และแปลงทดลองที่ 2

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษตกค้าง fipronil desulfanyl ในค่น้ำ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดสระบุรี และแปลงทดลองที่ 2 จังหวัดนครปฐม ในปี พ.ศ. 2560

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นครั้งสุดท้าย (วัน)	Rep	Trial 1 สระบุรี	เฉลี่ย Tr1 (mg/kg)	Trial 2 นครปฐม	เฉลี่ย Tr2 (mg/kg)
0 (2 ชั่วโมง)	1	0.321	0.290	0.260	0.298
	2	0.259		0.337	
1	1	0.442	0.393	0.518	0.511
	2	0.345		0.504	
3	1	0.161	0.157	0.222	0.214
	2	0.153		0.205	
5	1	0.095	0.116	0.128	0.109
	2	0.137		0.090	
7	1	0.050	0.055	0.059	0.053
	2	0.059		0.047	
10	1	0.048	0.039	0.029	0.028
	2	0.029		0.027	
14	1	0.006	0.007	0.005	0.006
	2	0.009		0.006	



ภาพที่ 6 กราฟการสลายตัวของสารพิษตกค้าง fipronil desulfinyl ในคะน้าที่ระยะเวลาต่างๆ ในแปลงทดลองที่ 1 และแปลงทดลองที่ 2

ศึกษาความคงทน (stability) ของสารพิษตกค้างฟิโพรนิลและอนุพันธ์ในค่น้ำที่ระยะเวลา 0, 7, 15, 30, 60 และ 120 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาตัวอย่าง -20 °C จากร้อยละการกลับคืน (% recovery) ที่ความเข้มข้นสาร 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วงไม่เกิน 70 – 120 % (ตารางที่ 6)

ตาราง 6 การศึกษาความคงตัว (Stability) ของฟิโพรนิล และอนุพันธ์ ในการเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20°C

compound	Fortification level (mg/kg)	Storage interval (Day)	Procedural Recovery (%)	
fipronil	0.05	0	106	109
		7	106	107
		15	113	111
		30	102	106
		60	100	107
		120	110	108
		fipronil sulfone	0.05	0
7	103			105
15	94			94
30	103			106
60	95			92
120	102			99
fipronil sulfide	0.05			0
		7	110	107
		15	98	97
		30	101	97
		60	98	104
		120	107	110
		fipronil carboxamide	0.05	0
7	104			101
15	91			96
30	99			103
60	98			95
120	103			106
fipronil desulfinyl	0.05			0
		7	102	100
		15	98	94
		30	94	96
		60	100	100
		120	98	105

นอกจากนี้ยังได้สำรวจชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างในค่น้ำซึ่งสำรวจจากแหล่งจำหน่ายต่างๆในปี พ.ศ. 2560 ได้แก่ จังหวัดลพบุรี สระบุรี ราชบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม ปทุมธานี นนทบุรีและจังหวัดฉะเชิงเทรา รวม 37 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้าง 34 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 92 พบสารพิษตกค้าง acetamiprid, azoxystrobin, bifenthrin, buprofezin, carbofuran, chlorpyrifos, cyhalothrin (lambda), cypermethrin (sum), deltamethrin, difenoconazole, diflubenzuron, dimethoate, dimethomorph,

dinotefuran, fenoxycarb, flusilazole, imidacloprid, indoxacarb, iprovalicarb, metalaxyl, methamidophos, omethoate, pencycuron, pirimicarb, profenofos, propiconazole (E,Z), propoxun, pyraclostrobin, tebuconazole, thiamethoxam, triadimeno, trifloxystrobin, และ triflumuron (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 สรุปผลการสำรวจสารพิษตกค้างในคะน้าจำนวน 37 ตัวอย่าง ปี พ.ศ. 2560

สารพิษที่พบ	จำนวนตัวอย่าง ที่ตรวจพบ	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	
		ต่ำสุด	สูงสุด
acetamiprid	11	0.01	1.41
azoxystrobin	2	0.01	0.03
bifenthrin	4	0.02	0.36
buprofezin	1	0.08	-
carbofuran	1	0.02	-
chlorpyrifos	3	0.25	0.41
cyhalothrin(lambda)	1	0.03	-
cypermethrin (sum)	12	0.02	2.51
deltamethrin	7	0.03	0.24
difenoconazole	4	0.01	0.12
diflubenzuron	3	0.02	0.28
dimethoate	2	0.04	0.05
dimethomorph	10	0.02	0.64
dinotefuran	4	0.03	0.36
fenoxycarb	5	0.02	0.13
flusilazole	2	0.02	0.26
imidacloprid	2	0.01	0.02
indoxacarb	2	0.05	0.73
iprovalicarb	2	0.02	0.21
metalaxyl	8	0.02	0.22
methamidophos	1	0.03	-
omethoate	3	0.05	0.24
pencycuron	1	0.1	-
pirimicarb	1	0.01	-
profenofos	2	0.18	0.2
propiconazole (E,Z)	2	0.02	0.1
propoxun	1	0.02	-
pyraclostrobin	2	0.07	0.09
tebuconazole	1	0.02	-
thiamethoxam	5	0.01	0.08
triadimenol	1	0.02	-
trifloxystrobin	1	0.04	-
triflumuron	1	0.01	-

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสลายตัวของ Fipronil ในคะน้าทั้ง 2 แปลงทดลองได้ค่าเฉลี่ย 1.815, 0.888, 0.145, 0.052, 0.017, < LOQ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, และ 14 วันตามลำดับ เมื่อนำไปพิจารณากับค่า Japan MRL ซึ่งกำหนดให้มีค่านี้เท่ากับ 0.002 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Japan MRL. 2014.) และ EU MRL เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นั้น ทำให้ระยะเก็บเกี่ยวที่มีความมั่นใจว่าปลอดภัยจากการตรวจพบฟิโพรนิลอยู่ที่ 14 วัน อาจจำเป็นต้องเลือกใช้สารอื่นที่สลายตัวในคะน้าได้เร็วกว่านี้มาทดแทนการใช้ฟิโพรนิลในแปลงคะน้าของเกษตรกร นอกจากนี้จากการสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้ามาวิเคราะห์ พบสารพิษตกค้างหลายชนิดเกินค่า MRL และพบสารพิษตกค้างที่ยังไม่ได้กำหนดค่า MRL โดยเฉพาะสารพิษตกค้าง acetamiprid, cypermethrin, และ dimethomorph ที่พบในคะน้าหลายตัวอย่าง ดังนั้นการดำเนินการจัดตั้งค่า MRL ให้ครอบคลุมชนิดของวัตถุอันตรายทางการเกษตรและชนิดของพืช ที่มีการขึ้นทะเบียนใช้หรือผลิตในประเทศ เพื่อความปลอดภัยต่อผู้ใช้ผู้บริโภค เพื่อการส่งออกและการนำเข้าพืชผักผลไม้ที่ปลอดภัย จึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องดำเนินการ และจะสามารถกำหนดค่า MRL ให้ครอบคลุมทั้งชนิดวัตถุอันตรายทางการเกษตรและชนิดพืชที่เป็นการค้าได้อย่างดี

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- 1 ได้ข้อมูลสารพิษตกค้างในคะน้าเพื่อเสนอโคเด็กซ์พิจารณา กำหนดค่า Codex MRL และเสนอที่ประชุมอาเซียนเพื่อกำหนดค่า Asean MRL
- 2 ได้ข้อมูลการศึกษาสารพิษตกค้างในคะน้า เพื่อกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยภายหลังการพ่นสารบนฉลากผลิตภัณฑ์วัตถุอันตราย และเป็นคำแนะนำในคู่มือการป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร

11. คำขอบคุณ -

12. เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

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/fou<LOQation/search.html>

M. Anastasiades, 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.

PAN. 2012. Fipronil - Identification, toxicity, use, water pollution potential, ecological toxicity

and regulatory information. Pesticide Database, Pesticide Action Network.

http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC35768

World Health Organization (2009). The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification.