

รายงานผลงานเรื่องเติมผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2557

- 1. ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
- 2. โครงการวิจัย** : การศึกษาเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL)
กิจกรรม : ศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของวัตถุที่มีพิษในผลไม้ 2 ชนิดเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL)
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -
- 3. ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย)** : วิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในองุ่น เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง(MRL) ครั้งที่ 5 และ 6
ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) : Residue Trial of Fipronil in Grape to Establish Maximum Residue Limit (MRL) Trial V and VI
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าโครงการวิจัย : นางสาวลมัย ชูเกียรติวัฒนา กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษทางการเกษตร สปผ.
หัวหน้าการทดลอง : นางสาวสมสมัย ปาลกุล กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษทางการเกษตร สปผ.
ผู้ร่วมงาน : นายประชาติปัทย์ พงษ์ภิญโญ กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษทางการเกษตร สปผ.
นายวิษณุ แจ้งใบ กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษทางการเกษตร สปผ.

5. บทคัดย่อ

ศึกษาการสลายตัวของฟิโพรนิลในองุ่น เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง โดยกำหนดการทดลองตามวิธีการศึกษาการใช้วัตถุที่มีพิษอย่างถูกต้องและปลอดภัย (Good Agricultural Practice) ทำการทดลองในแปลงเกษตรกร ณ อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 5 ระหว่างวันที่ 11 ตุลาคม 2556 ถึง วันที่ 4 พฤศจิกายน 2556 และ ครั้งที่ 6 ระหว่างวันที่ 3 มีนาคม 2557 ถึงวันที่ 27 มีนาคม 2557 โดยวางแผนการทดลองแบบ supervised trial แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลง คือแปลงควบคุม (ไม่ฉีดพ่นวัตถุที่มีพิษ) และแปลงอัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) มี 3 ซ้ำ (replication) และ 7 วิธีการ (treatment คือ วันเก็บเกี่ยว) ฉีดพ่นฟิโพรนิลในแปลงองุ่น (แอสเซนด 5% W/V SC) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง จำนวน 3 ครั้ง ภายหลังจากฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ทิ้งให้วัตถุที่มีพิษแห้งสนิท จึงเก็บเกี่ยวองุ่นที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน นำมาสกัดสารพิษตกค้างโดยวิธีทางเคมี และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลด้วยเครื่อง LC-MS/MS ปรากฏผลการวิเคราะห์ดังนี้ องุ่นแปลงฉีดพ่นฟิโพรนิลครั้งที่ 5 พบสารพิษตกค้างในองุ่น ปริมาณสูงสุด 0.20, 0.12, 0.12, 0.10, 0.08, 0.08 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และองุ่นแปลงฉีดพ่นฟิโพรนิล ครั้งที่ 6 พบปริมาณสูงสุด 0.31, 0.23, 0.22, 0.19, 0.17, 0.14 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ สำหรับแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ประเทศสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่น กำหนดค่าปลอดภัยของฟิโพรนิลในองุ่น เท่ากับ 0.005 และ 0.01 มก./กก. สำหรับ Codex MRL ยังไม่มีค่าปลอดภัยฟิโพรนิลในองุ่น แต่กำหนดไว้ใน

กล้วยเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลจากการทดลองนี้เมื่อเปรียบเทียบกับค่าปลอดภัยดังกล่าว จะเห็นได้ว่าสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในผลองุ่นทั้งสองการทดลองมีปริมาณฟิโพรนิลสูงกว่าค่าปลอดภัยที่กำหนด

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่าย และแหล่งปลูกในจังหวัดต่างๆ ได้แก่ ราชบุรี นครปฐม ปทุมธานี กาญจนบุรี พิษณุโลก พิจิตร นนทบุรี สมุทรสงคราม และสมุทรสาคร จำนวน 30 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในองุ่น สำหรับสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษชนิดอื่นๆตรวจพบ จำนวน 20 ชนิด ได้แก่ methomyl, carbendazim, dimethoate, omethoate, difenoconazole, azoxystrobin, iprovalicarb, prothiophos, metalaxyl, pyridaben, dimethomorph, acephate, carbofuran, prochloraz, fipronil, methamidophos, fenazaquin, formetanate, profenofos, hexythiazox และ flusilazole พบปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในระดับปลอดภัยเป็นส่วนใหญ่ ยกเว้น methomyl, carbendazim, fipronil, acephate, difenoconazole, dimethoate+omethoate และ metalaxyl พบปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่าปลอดภัย ร้อยละ 70, 17, 23, 10, 3, 3 และ 3 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังตรวจพบ methamidophos ร้อยละ 30 ซึ่งจัดเป็นวัตถุอันตรายฉบับที่ 4 ทางราชการประกาศห้ามใช้ (ตารางที่ 2)

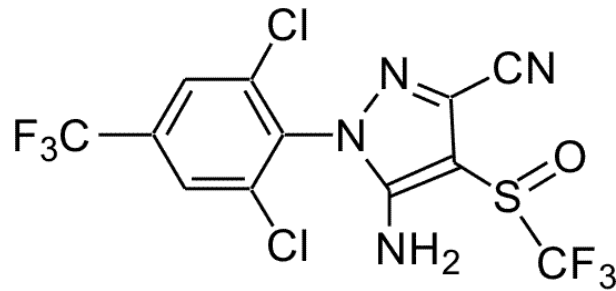
6. คำนำ

องุ่นเป็นไม้ผลที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตหนาว เขตกึ่งร้อนกึ่งหนาว และเขตร้อน ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่มีการปลูกองุ่นกันมากในเขตอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร อำเภอสสามพราน จังหวัดนครปฐม อำเภอดำเนินสะดวกและอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี พันธุ์องุ่นที่นิยมปลูก ได้แก่ พันธุ์ไวท์มะละกา สีเหลืองอมเขียว รสหวานแหลม กรอบ ปลูกง่าย เจริญเติบโตได้ดี และพันธุ์คาร์ดินัล มีลักษณะผลกลมสีแดงหรือม่วงดำ รสหวานกรอบ การปลูกองุ่นในประเทศไทยซึ่งมีสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น ฝนตกชุก และจะต้องมีการตัดแต่งกิ่ง เพื่อให้ออกดอกและติดผลได้ตลอดทั้งปีนั้นจะส่งผลให้เกิดปัญหาเรื่องโรคและแมลงเข้ามารบกวนทำลายต้นองุ่นหลายชนิด เช่น หนอนกระทุ้งหอม หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยไฟ โรคราน้ำค้าง โรคแอนแทรกโนส โรคราแป้ง เป็นต้น ดังนั้นการปลูกองุ่นให้ได้คุณภาพดีและมีปริมาณผลผลิตตามความต้องการนั้น จำเป็นต้องใช้วัตถุมีพิษหลายชนิดในการป้องกันกำจัดโรคแมลงและศัตรูพืชเพื่อไม่ให้เกิดการระบาดและทำความเสียหายต่อต้น ใบ และผลองุ่น สิ่งสำคัญอันหนึ่งในการใช้วัตถุมีพิษนั้น คือเกษตรกรจะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับวัตถุมีพิษนั้นๆเป็นอย่างดี เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในองุ่น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

ฟิโพรนิล เป็นวัตถุมีพิษชนิดหนึ่งที่เกษตรกรชาวสวนองุ่น นิยมใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟพริก ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลเบื้องต้นด้านสารพิษตกค้างในองุ่น จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในสภาพภูมิอากาศและพื้นที่ปลูกองุ่น ในประเทศไทย โดยศึกษาตามวิธีการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้อง และปลอดภัย ปฏิบัติตามมาตรฐานสากลที่องค์การ FAO กำหนด (FAO Guideline, 1990) จากการศึกษาทำให้ทราบค่าการสลายตัวของฟิโพรนิลในองุ่น เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างต่อไป

ฟิโพรนิล(Fipronil) มีชื่อทางเคมี และสูตรโครงสร้างดังนี้

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



ภาพที่ 1. สูตรโครงสร้าง พิโพรนิล

พิโพรนิลเป็นสารกำจัดศัตรูพืช กลุ่มเฟนิลไพราโซล (Phenylpyrazole) ออกฤทธิ์ในทางสัมผัสและการกิน มีความเป็นพิษจัดอยู่ในระดับ Class II มีค่าLD₅₀ ของพิษเฉียบพลันทางปากต่อหนูทดลอง 97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พิษเฉียบพลันทางผิวหนังและตาต่อหนูมากกว่า 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และกระต่าย 354 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (The pesticide Manual, 2006) และมีชื่อทางการค้าหลายชื่อ เช่น แอสเซนด มอลคีส เทมโป เป็นต้น

ประโยชน์ ใช้เป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ เช่น หนอนม้วนใบข้าว หนอนชอนใบ หนอนกอข้าว หนอนคืบกะหล่ำ หนอนใยผัก เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ เพลี้ยไฟพริก เพลี้ยจักจั่นฝ้าย เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ดั๋งหมัด ผัก แมลงหวี่ขาว ดั๋งงวงมันเทศ และไรขาวพริก ซึ่งเข้าทำลายสัมพันธ์เขียวหวาน ส้มโอ องุ่น มะเขือเทศ ข้าว ถั่วฝักยาว มันเทศ แตงโม มะเขือยาว หัวหอมพืชตระกูลกะหล่ำ ไม้ดอกและไม้ประดับทั่วไป สูตรผสมที่ใช้ในประเทศไทยคือ 5% SC ซึ่งมีอัตราการใช้แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช, แมลงและศัตรูพืช

7. วิธีดำเนินการ

7.1 อุปกรณ์

7.1.1. สารเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ acetone AR grade ,dichloromethane AR grade ,ethyl acetate PR grade, acetonitrile PR grade, hexane PR grade, sodium chloride (NaCl), sodium sulfate (Na₂SO₄) anhydrous, primary secondary amine (PSA), silicagel , magnesium sulfate anhydrous (MgSO₄), tri sodium citrate, disodium hydrogen citrate 1,5 hydrate, Graphitized carbon black(GCB), formic acid

7.1.2. สารมาตรฐานวัตถุที่มีพิษชนิดต่างๆ (Pesticide Standards) มีความบริสุทธิ์ 76 - 99 %

7.1.3. ผลิตภัณฑ์วัตถุที่มีพิษชนิดพ่นในแปลงทดลอง ได้แก่ แอสเซนด (Ascend)

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

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

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

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

7.2.1. การเลือกสถานที่ สํารวจพื้นที่ปลูกองุ่นและสอบถามข้อมูลการใช้วัตถุที่มีพิษจากเกษตรกร เจ้าของสวนนั้นๆซึ่งจะต้องเลือกแปลงองุ่นที่ไม่มีการใช้วัตถุที่มีพิษชนิดไพโรนินิล แปลงองุ่นต้องมีผลผลิตอย่างสม่ำเสมอเพื่อความเหมาะสมในการฉีดพ่นวัตถุที่มีพิษได้อย่างทั่วถึงและวัดขนาดแปลงให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างจนเสร็จสิ้นการทดลอง นอกจากนี้เจ้าของสวนต้องยินยอมให้ความร่วมมือ และปฏิบัติตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัดในแปลงทดลอง

7.2.2. การทดลอง (experiment) วางแผนการทดลอง แบบ Special design มี 2 การทดลอง
 การทดลองที่ 1 แปลงควบคุม (Control) เป็นแปลงองุ่นที่ฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า
 การทดลองที่ 2 แปลง ที่ฉีดพ่นสารไพโรนินิลตามคำแนะนำ (Recommended dose) บนฉลากผลิตภัณฑ์ ซึ่งแนะนำให้ใช้ 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

7.2.3. จำนวนซ้ำ (replicates) แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ

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

7.2.5. การทำแปลงทดลอง

วางแผนทำแปลงทดลอง ครั้งที่ 5 และ 6 ณ แปลงองุ่นของเกษตรกรตำบลสะพานดำ อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี และตำบลดอนสาธิต อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี โดยเลือกแปลงที่มีผลองุ่นสม่ำเสมอ และวัดขนาดแปลงองุ่นให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวนำมาวิเคราะห์ โดยคำนวณอัตราการใช้น้ำ 400 ลิตรต่อไร่ เตรียมผสมไพโรนินิล อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นให้ทั่วแปลงองุ่น และทำการฉีดพ่นไพโรนินิล 5 วันต่อครั้ง ติดต่อกันรวมเป็น 3 ครั้ง ดังนี้
 วันที่ฉีดพ่นไพโรนินิลในแปลงองุ่นจังหวัดราชบุรี

ครั้งที่	วันที่ฉีดพ่นไพโรนินิล	
	ครั้งที่ 5 อ.ดำเนินสะดวก	ครั้งที่ 6 อ.บางแพ
1	11 ตุลาคม 2556	3 มีนาคม 2557
2	16 ตุลาคม 2556	8 มีนาคม 2557
3	21 ตุลาคม 2556	13 มีนาคม 2557

7.2.6. สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลอง (Supervised Field Trial) เมื่อฉีดพ่นครั้งสุดท้ายและทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้วัฏภูมิพีชแห้ง สุ่มเก็บผลองุ่น เริ่มจากแปลงควบคุม และแปลงฉีดพ่นไพโรนิล เป็นตัวอย่างเก็บที่ 0 วัน และเก็บผลองุ่นในวันที่ 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันรวมทั้งสิ้น 7 ครั้ง การเก็บตัวอย่างองุ่นทุกครั้งที่เก็บใส่ถุงพลาสติกบันทึกการชั่งถ่วง และปิดปากถุงให้แน่นสนิท ซ้อนถุงอีก 1 ชั้น บรรจุแช่ในถังน้ำแข็ง เพื่อรักษาตัวอย่างไม่ให้เสื่อมสภาพเร็ว แล้วรีบนำเข้าสู่ห้องปฏิบัติการเพื่อทำการสกัดและวิเคราะห์

7.2.7. จากแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่าย

สุ่มเก็บตัวอย่างจากแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่ายที่มีพื้นที่ปลูกองุ่นค่อนข้างมาก จำนวน 30 ตัวอย่าง เก็บรักษาโดยบรรจุใส่ถุงพลาสติก ตัดป้ายเขียนรายละเอียด ซ้อนถุงอีก 1 ชั้น ใส่น้ำแข็ง เพื่อรักษาตัวอย่างให้อยู่ในสภาพดี

7.2.8. วิธีการวิเคราะห์

ใช้วิธีวิเคราะห์วิธี QuEChERS, Anastassiades (2003) วิเคราะห์หาปริมาณไพโรนิล ซึ่งทำการทดสอบวิธีโดยการหาเปอร์เซ็นต์ค่ากลับคืน (% Recovery test) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 70-110%

7.2.9. การสกัด สกัดตัวอย่างจากแปลงทดลอง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ QuEChERS, Anastassiades (2003) ชั่งตัวอย่างองุ่น 10 กรัม ใส่ใน centrifuge tube เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ นาน 1 นาที และเติม trisodium citratedihydrate 1 กรัม, disodium hydrogen citrate 1.5 hydrate 0.5 กรัม, magnesium sulfate 4 กรัม และ sodium chloride 1 กรัม เขย่าด้วย Vortex mixture 1 นาที นำไป centrifuge นาน 5 นาที แบ่งสารละลายส่วนในไซมา 5 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร กำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย PSA 0.125 กรัม และ MgSO₄ 0.75 กรัม GCB 0.05 กรัม ปิดฝาและเขย่าทันทีด้วย Vortex mixture 1 นาที นำไป centrifuge นาน 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน PTFE Syringe Filters ขนาด 0.2 ไมครอน ใส่ลงในขวด vial ให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติม 5% Formic acid 10 ไมโครลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

7.2.10. การสกัดตัวอย่างจากแหล่งปลูกและแหล่งจำหน่าย วิเคราะห์วัฏภูมิพีชจำนวน 4 กลุ่ม ได้แก่ ออร์กาโนฟอสฟอรัส ออร์กาโนคลอรีน ไพรีทรอยด์ และ คาร์บาเมท โดยใช้วิธีวิเคราะห์ Multi residue Method (MRM) ของ Steinwandter (1985) ชั่งตัวอย่างองุ่น 25 กรัม ใส่ในขวดแก้ว สกัดด้วย acetone AR grade 50 มิลลิลิตร sodium chloride 8 กรัม และ dichloromethane AR grade 40 มิลลิลิตร ปั่นที่ความเร็วสูง นาน 1 นาที เทสารละลายลงในขวดที่มีฝาปิด และเติม sodium sulfate 1 ซ้อนโต๊ะ คนให้เข้ากัน ปิดฝา ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วกรองสารละลาย ผ่าน sodium sulfate 50 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรสารละลายโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator อุณหภูมิ water bath 40 องศาเซลเซียส ลดปริมาตรจนแห้งพอดีและปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate PR grade 5 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายเพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของวัฏภูมิพีชด้วยเครื่อง GC-FPD และ GC-MS และแบ่งสารละลายผ่านขั้นตอนการกำจัดสารปนเปื้อนเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD และ HPLC-postcolumn และสกัดโดยใช้วิธีวิเคราะห์วิธี QuEChERS, Anastassiades (2003) เช่นเดียวกับการสกัดตัวอย่างในแปลงทดลองเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

7.2.11. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

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

การเตรียมสารมาตรฐานของวัตถุมีพิษ สำหรับวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการแห่งจำหน่าย เตรียมสารมาตรฐานวัตถุมีพิษชนิดต่างๆ มีความบริสุทธิ์ 76-99 % ละลายด้วย สารละลายที่เหมาะสม ระดับความเข้มข้น 1000 ppm (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น stock standard solution และเจือจาง stock solution ลง 10 เท่าด้วย สารละลายที่เหมาะสม ได้สารละลายความเข้มข้นระดับ 100 ppm (100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น intermediate standard solution และ เตรียมสารมาตรฐานวัตถุมีพิษผสมระดับความเข้มข้นที่ใช้งานตามความเหมาะสมของเครื่องวิเคราะห์ชนิดนั้นๆ

7.2.12. การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

- การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ปรับสภาวะการทำงานดังนี้

Column: Kinetex XB-C18 100A (2.6 μ m) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.1 มิลลิเมตร

ยาว 100 มิลลิเมตร Column flow : 0.3 ml/min Run time: 15 min

Detector: MS QQQ

Injection volume: 5 ไมโครลิตร

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

- การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ปรับสภาวะการทำงานดังนี้

GC-ECD Column : capillary column DB-1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร

ยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร

Temperature: oven 80°C (1 min) ;15°C/min to 180°C(4 min) ;23°C/min to

250°C(20.3min) Run time : 35 min

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

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

GC-FPD Column : capillary column DB-5.625 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร

ยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร

Temperature: oven 80°C (1 min) ;15°C/min to 180°C(4min) ;23°C/min to

250°C(20.3min) Run time : 35 min

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

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

Makeup gas: N₂ = 60ml/min

- การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC – postcolumn ปรับสภาวะการทำงานดังนี้

Column: Lichrosphere60 RP-Select B(5µm) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.0 มิลลิเมตร

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

Detector: Fluorescence Injection volume: 20 ไมโครลิตร

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

7.3. เวลาและสถานที่ดำเนินการ

- ตุลาคม 2556 – กันยายน 2557
- อำเภอดำเนินสะดวก และ อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี
- ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาการสลายตัวของจากการทดลองครั้งที่ 5 ณ แปลงเกษตรกร ตำบลสะพานดำ อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ระหว่างวันที่ 11 ตุลาคม 2556 ถึง วันที่ 4 พฤศจิกายน 2556 เมื่อฉีดพ่นสารไพโรนิลในแปลงอู่ ใช้อัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) ทุกๆ 5 วันต่อครั้ง จำนวน 3 ครั้ง ติดต่อกัน พบสารพิษตกค้างในอู่ปริมาณสูงสุด 0.20, 0.12, 0.12, 0.10, 0.08, 0.08 และ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ค่า correlation ในอู่ได้ค่า $R^2 = 0.8978$ และสมการ $Y = 0.1633e^{-0.093x}$ พบว่ามีอัตราการสลายตัว 0.093 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (ภาพที่ 1) แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

จากการทดลองครั้งที่ 6 ณ แปลงเกษตรกร ตำบลดอนสาฮี อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี ระหว่างวันที่ 3 มีนาคม ถึงวันที่ 27 มีนาคม 2557 ใช้อัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) ทุกๆ 5 วันต่อครั้ง จำนวน 3 ครั้ง ติดต่อกัน พบสารพิษตกค้างในอู่ปริมาณสูงสุด 0.31, 0.23, 0.22, 0.19, 0.17, 0.14 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ภายหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ค่า correlation ในอู่ได้ค่า $R^2 = 0.9534$ และสมการ $Y = 0.2695e^{-0.066x}$ พบว่ามีอัตราการสลายตัว 0.066 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (ภาพที่ 2) แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

จะเห็นได้ว่าสารพิษตกค้างของไพโรนิลในอู่ภายหลังจากการฉีดพ่นแล้ว 7 วันของทั้งสองการทดลองมีปริมาณไพโรนิลสูงกว่าค่าปลอดภัยที่สหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่นกำหนดในอู่เท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ Codex MRL ยังไม่มีค่าปลอดภัยไพโรนิลในอู่ แต่มีกำหนดไว้ในกล้วยเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างอู่จากแหล่งจำหน่าย และแหล่งปลูกในจังหวัดต่างๆ ได้แก่ ราชบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม และสมุทรสาคร จำนวน 30 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของไพโรนิลในอู่

สำหรับสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษชนิดอื่นๆตรวจพบ จำนวน 20 ชนิด ได้แก่ methomyl, carbendazim, dimethoate, omethoate, difenoconazole, azoxystrobin, iprovalicarb, prothiophos, metalaxyl, pyridaben, dimethomorph, acephate, carbofuran, prochloraz, fipronil, methamidophos, fenazaquin, formetanate, profenofos, hexythiazox และ flusilazole พบปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในระดับปลอดภัยเป็นส่วนใหญ่ ยกเว้น methomyl, carbendazim, fipronil, acephate, difenoconazole, dimethoate+omethoate และ metalaxyl พบปริมาณสารพิษตกค้างเกินค่าปลอดภัย ร้อยละ 70, 17, 23, 10, 3, 3 และ 3 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังตรวจพบ methamidophos ร้อยละ 30 ซึ่งจัดเป็นวัตถุอันตรายฉบับที่ 4 ทางราชการประกาศห้ามใช้ (ตารางที่ 2)

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันประเทศสหภาพยุโรปและประเทศญี่ปุ่นกำหนดค่าปลอดภัยของฟิโพรนิลในองุ่นเท่ากับ 0.005 และ 0.01 มก./กก. สำหรับ Codex MRL กำหนดค่าปลอดภัยในกล้วย 0.005 มก./กก. และ Asean MRL ยังไม่กำหนดค่าปลอดภัย ค่าปลอดภัยนี้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า องุ่นชนิดพันธุ์ฟิโพรนิลอัตราตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้างสูงกว่าค่าปลอดภัยที่กำหนด ถึงแม้ว่าการทดลองครั้งที่ 5 เป็นช่วงที่มีฝนตกชุกและทิ้งช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวมากกว่าที่กำหนดบนผลากข้างขวดออกไปอีกหนึ่งสัปดาห์ คือเก็บเกี่ยวองุ่น 14 วัน ปริมาณสารพิษตกค้างยังคงสูงกว่าค่าปลอดภัยที่กำหนด ฉะนั้นการผลิตองุ่นเพื่อบริโภคภายในประเทศ ควรใช้ฟิโพรนิลชนิดพันธุ์องุ่นช่วงต้นฤดูปลูก เพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพผู้ใช้ ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะแนะนำให้เกษตรกรทราบและนำไปปฏิบัติในแปลงองุ่นได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม จะช่วยลดและแก้ไขปัญหาสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลในองุ่นได้

10.การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

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

2. การทดลอง Supervised residue trial ของฟิโพรนิล ใช้ชนิดพันธุ์องุ่นตามสภาพพื้นที่ที่มีภูมิอากาศของประเทศไทย ทำให้ทราบค่าการสลายตัวของฟิโพรนิลที่แท้จริง และสามารถนำไปตรวจสอบการกำหนดค่า PHI ที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำไว้บนผลากข้างขวด ซึ่งข้อมูลจากการศึกษานี้ สามารถนำไปพิจารณาเปลี่ยนแปลงแก้ไข ค่าแนะนำบนผลากข้างขวดได้ตามความเหมาะสม

3. ข้อมูลนี้สามารถนำไปแนะนำเกษตรกรใช้วัตถุมีพิษชนิดพันธุ์องุ่นได้อย่างถูกต้องเหมาะสมและปลอดภัยต่อผู้ใช้ ทำให้ไม่มีปัญหาด้านสารพิษตกค้างและไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยผู้บริโภค

4. ข้อมูลจากการทดลองนี้นำไปเผยแพร่ในการประชุมวิชาการประจำปี ของกรมวิชาการเกษตร ข้าราชการ นิสิต นักศึกษา และประชาชนทั่วไป เพื่อให้รับทราบผลการใช้วัตถุมีพิษอย่างไม่ถูกต้องและไม่เหมาะสม นั้น ก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในองุ่นได้ และใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณามาตรการแก้ไขและป้องกันการเกิดปัญหาสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษในผลิตผลการเกษตร

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

12. เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

ตารางที่ 1. ปริมาณสารพิษตกค้างของไพโรนิลในองุ่น อัตราตามคำแนะนำ (10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร) การทดลองครั้งที่ 5 และ 6

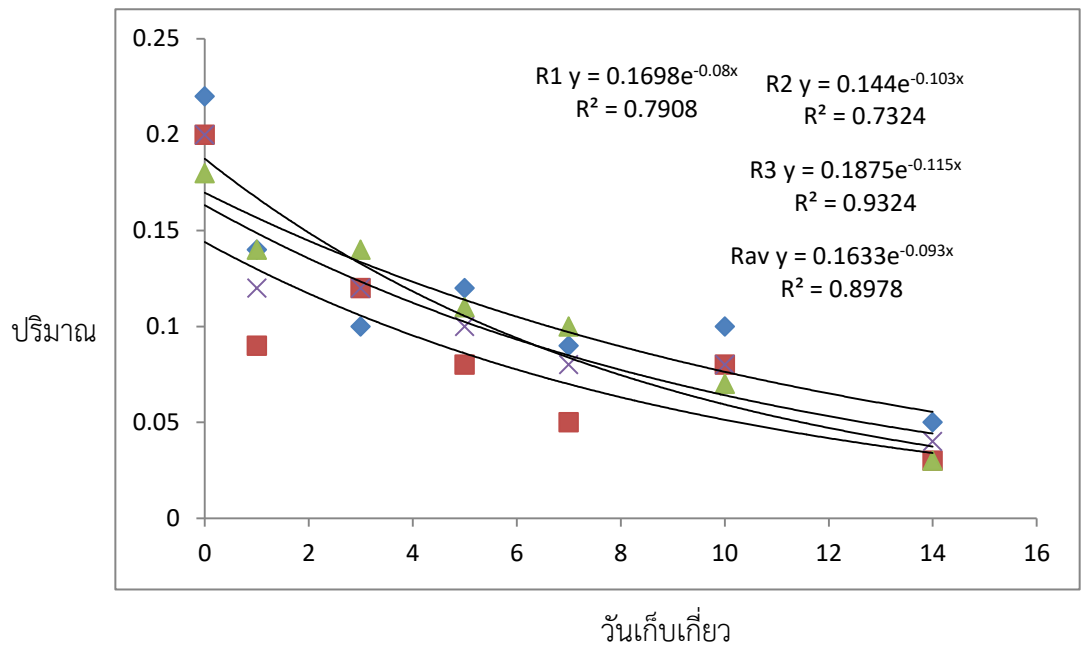
วันที่เก็บ เกี่ยว	ปริมาณสารพิษตกค้าง อัตราตามคำแนะนำ (มก./กก.)							
	การทดลองครั้งที่ 5				การทดลองครั้งที่ 6			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.22	0.20	0.18	0.20	0.34	0.23	0.36	0.31
1	0.14	0.09	0.14	0.12	0.23	0.21	0.25	0.23
3	0.11	0.12	0.14	0.12	0.25	0.17	0.23	0.22
5	0.12	0.08	0.11	0.10	0.20	0.12	0.24	0.19

7	0.09	0.05	0.10	0.08	0.19	0.14	0.19	0.17
10	0.10	0.08	0.07	0.08	0.10	0.11	0.21	0.14
14	0.05	0.03	0.03	0.04	0.14	0.09	0.12	0.12

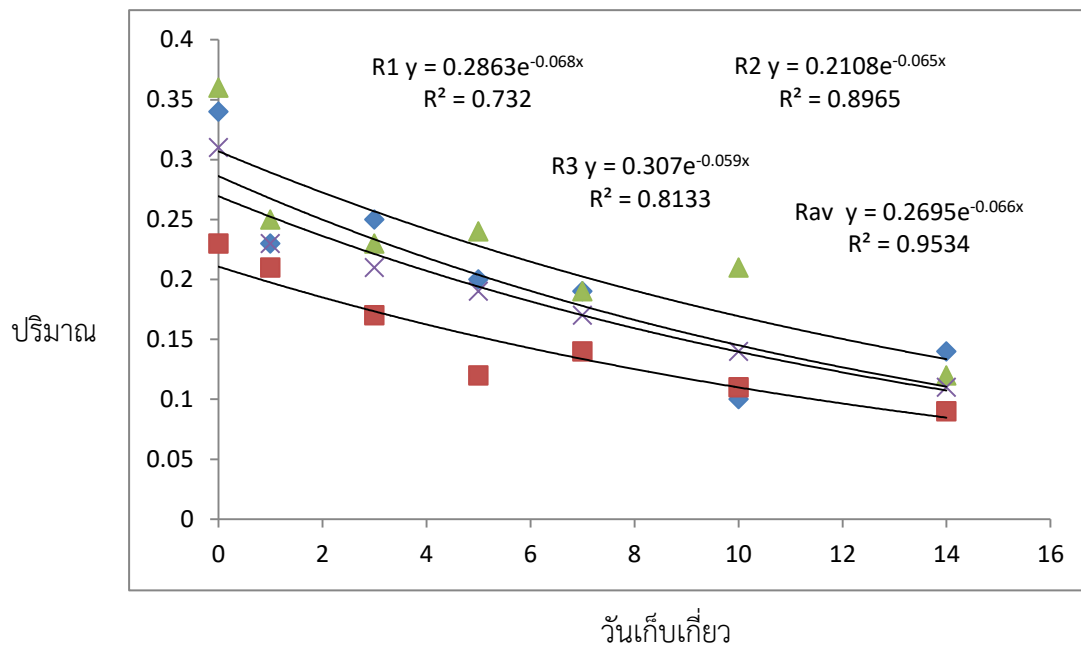
ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างอุณหภูมิจากแหล่งจำหน่าย จำนวน 30 ตัวอย่าง

* ค่าMRL ของไม้ผลชนิดอื่น ** วัตถุอันตรายฉบับที่4

ลำดับ ที่	ชนิดวัตถุมีพิษ	ตัวอย่างที่พบ		ปริมาณ สารพิษ ตกค้าง (มก./กก.)	ตัวอย่างเกินค่า ปลอดภัย		ค่าปลอดภัย			
		จำนวน	ร้อยละ		จำนวน	ร้อยละ	Codex	EU	Japan	Thai
1	carbendazim	30	100	0.05 - 12.31	5	17	3	0.3	3.0	3
2	methomyl	27	90	0.02 - 2.54	21	70	0.3	0.02	5.0	0.3
3	difenoconazole	26	87	0.01 - 1.98	1	3	0.1	0.5	0.5	-
4	dimethoate +omethoate	13	43	0.04 - 1.75	1	3	2*	0.02	1.0	5*
5	azoxystrobin	12	40	0.02 - 0.10	-	-	2.0	2.0	10.0	-
6	iprovalicarb	12	40	0.02 - 0.11	-	-	-	2.0	2.0	-
7	metalaxyl	10	33	0.01 - 1.98	1	3	1.0	2.0	1.0	1.0
8	fipronil	9	30	0.002 - 0.053	7	23	0.005*	0.005	0.01	-
9	dimethomorph	7	23	0.03 - 1.55	-	-	2.0	3.0	5.0	-
10	pyridaben	7	23	0.01 - 0.09	-	-	-	0.5	2.0	-
11	prothiophos	5	17	0.08 - 0.42	-	-	-	-	2.0	-
12	acephate	5	17	0.36 - 6.98	3	10	0.5	0.02	5	-
13	Fenazaquin	4	13	0.05 - 0.22	-	-	-	0.2	1.0	-
14	prochloraz	3	10	0.01 - 0.20	-	-	7*	-	-	-
15	carbofuran	2	7	0.11 - 0.21	-	-	0.5*	0.05	1.0	0.01*
16	formetanate	1	3	0.11	-	-	-	0.05	0.5	-
17	profenofos	1	3	0.03	-	-	0.2*	0.05	0.05	0.05
18	hexythiazox	1	3	0.03	-	-	1	1	2	-
19	flusilazole	1	3	0.1	-	-	0.2	0.05	0.5	-
20	methamidophos**	9	30	0.02 - 0.94	9	30	-	0.01	3.0	-



ภาพที่ 1 แสดงแนวโน้มการสลายตัวของไพโรนินในอุณหภูมิ 5 ครั้ง



ภาพที่ 2 แสดงแนวโน้มการสลายตัวของไพโรนินในอุณหภูมิ 6 ครั้ง