

ANNUAL REPORT

2024

AGRICULTURE PRODUCTIONS SCIENCE
RESEARCH AND DEVELOPMENT DIVISION

ผลการปฏิบัติงาน
ประจำปีงบประมาณ 2567

ISBN : 978-616-358-713-8



<https://qr.cd.org/9H3E>

เล่ม 1

ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2567 (ANNUAL REPORT 2024)

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ISBN : 978-616-358-713-8



คณะที่ปรึกษา :

นายเทวรัตน์	บุรณ์สวัสดิ์พงษ์	ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวศุภกาญจน์	ล้วนมณี	ผู้เชี่ยวชาญด้านดินและปุ๋ย
นางมลิสา	เวชยานนท์	ผู้เชี่ยวชาญด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตร
นางสาวจรีรัตน์	กุศลวิริยะวงศ์	ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ
นายประชาติปัติย์	พงษ์ภิญโญ	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร
นางสาวรุ่งนภา	พิทักษ์ตันสกุล	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี
นายอนุสรณ์	เทียนศิริฤกษ์	ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา
นางสาววนิดา	โนบรรเทา	ผู้อำนวยการกลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางอุษฎา	สุขจันทร์	ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
		ขอนแก่น

คณะผู้จัดทำและประสานงาน :

นางสาวณัฐธิดา	ทองนาค	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นายเนติธร	กรุณา	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวสุนารี	แก้วดี	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวนัฐบล	จันทชุม	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
นางสาวฤทัยรัตน์	น้อยจาด	กลุ่มบริหารโครงการวิจัย

จำนวนพิมพ์: 50 เล่ม

พิมพ์เมื่อ: สิงหาคม 2568

สถานที่ติดต่อ: กลุ่มบริหารโครงการวิจัย กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900
โทรศัพท์ 0 2940 5754 ต่อ 2115 และ 2117
โทรสาร 0 2579 157

คำนำ

เอกสาร “ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร” ได้จัดทำขึ้นเพื่อรวบรวม และเผยแพร่ผลงานวิจัยที่ได้ดำเนินการศึกษาวิจัยตามแผนงาน/โครงการวิจัยของกรมวิชาการเกษตร ที่ได้รับงบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund : FF) จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุนส่งเสริม ววน.) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทว.) ตามขั้นตอนการพิจารณางานวิจัยของกรมวิชาการเกษตร ประกอบด้วย ผลการดำเนินงานของกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี และศูนย์วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรขอนแก่น โดยมีกลุ่มบริหารโครงการวิจัยเป็นผู้ประสานงาน รวบรวมและดำเนินการตีพิมพ์ผลการดำเนินงานรวม 76 เรื่อง

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร หวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารผลการปฏิบัติงานประจำปีฉบับนี้ จะเกิดประโยชน์ต่อภาครัฐ ภาคเอกชน เกษตรกร ตลอดจนนักวิชาการและผู้สนใจทั่วไป ขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญด้านดินและปุ๋ย ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ ผู้เชี่ยวชาญด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตร กลุ่มบริหารโครงการวิจัย นักวิชาการเจ้าของผลงาน และผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี



(นายเทวรัตน์ บุณยสวัสดิ์พงษ์)

ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

สิงหาคม 2568

สารบัญ

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี	หน้า
1 พัฒนาระบบการตรวจสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในรูปที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี พงศ์พิศ แก้วสุข และคณะ	2
2 พัฒนาระบบการตรวจสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ในรูปที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี พงศ์พิศ แก้วสุข และคณะ	19
3 การทดสอบความเสถียรของธาตุอาหารแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในปุ๋ยเคมี ทองจันทร์ พิมพ์เพชร และคณะ	38
4 พัฒนาวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง และเหลว ศุภากร ดวนใหญ่ และคณะ	61
5 การตรวจสอบ และประเมินคุณภาพสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ที่จำหน่ายตามท้องตลาด กัญญาณดา คล้ายแก้ว และคณะ	76
6 การศึกษาและประเมินคุณภาพสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ในระบบการผลิตพืชตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ จิตติรัตน์ ชูชาติ และคณะ	92
7 การศึกษาและประเมินคุณภาพสารปรับปรุงดินซีโอไลต์ และเบนทอนไนต์ในระบบการผลิต พืชตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ กัญญาณดา คล้ายแก้ว และคณะ	104
8 การศึกษาและประเมินคุณภาพวัสดุปลูกเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ในระบบการปลูกกล้วยา กอร์ธะ บิลลี่ และคณะ	118
9 การศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน ในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช สุวิลักษณ์ ไชยทอง และคณะ	133
10 การศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน ในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช เพชรรัตน์ ศิริวิ และคณะ	146
11 การศึกษาและประเมินคุณภาพกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช จากแหล่งจำหน่าย สุพิศสา ทองเขียว และคณะ	159

สารบัญ

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

หน้า

12	การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชด้วยเทคนิค HPLC ทัศนีย์ อัฐพรพงษ์ และคณะ	176
13	การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไอซอกซาฟลูโทลในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช สุกัญญา คำคง และคณะ	188
14	การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ในข้าวโพดฝักสดต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ปภัสรา คุณเลิศ และคณะ	202
15	การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำเจ้าพระยานพดล มะโนเย็น และคณะ	218
16	การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำป่าสักสิริพร เหลืองสุขนกุล และคณะ	232
17	การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำปิงจันทิมา ผลทอง และคณะ	247
18	การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำน่านอำนาจ กะฐินเทศ และคณะ	261
19	การสำรวจสารพิษตกค้างในหน่อไม้ฝรั่ง และคื่นฉ่าย จากแหล่งผลิตพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี ณัฐฐาพัสร์ เทสสิริ และคณะ	274
20	การสำรวจสารพิษตกค้างในพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา จากแหล่งผลิตพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี และเพชรบุรี ปกป้อง ทะนันชัย และคณะ	287
21	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของโปรไซมิโดน (procymidone) ในมะม่วง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ปกป้อง ทะนันชัย และคณะ	301
22	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไมโคลบิวทานิล (myclobutanil) ในมะม่วง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง พชร เมินหา และคณะ	315
23	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไพริดาเบน (pyridaben) ในมะม่วง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง พรนภัส วิชานะฉนวนนท์ และคณะ	330
24	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างอีโทเฟนพ록ซ์ (etofenprox) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง สุพัตริ หนูสังข์ และคณะ	344
25	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ศศิณิภา คงเข้มดี และคณะ	357

สารบัญ

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร (ต่อ)

หน้า

26	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างไอโพรไดโอน (iprodione) ในค่น้ำ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง วีระสิงห์ แสงวรรณ และคณะ	372
27	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างสไปนีโทแรม (spinetoram) ในค่น้ำ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ชนิตา ทองแถม และคณะ	386
28	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรด (tolfenpyrad) ในค่น้ำ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง วาเลนไทน์ เจือสกุล และคณะ	407
29	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างฟิโพรนิล (fipronil) ในมะเขือเทศ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ประพันธ์ เคนท้าว และคณะ	422
30	วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรด (tolfenpyrad) ในมะเขือเทศ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง วิชุดา ควรหัตร์ และคณะ	436
31	วิจัยพัฒนา ประสิทธิภาพ สูตรผลิตภัณฑ์ผสมสำเร็จรูปสารกำจัดศัตรูพืชจากสะเดา+วานน้ำ ด้วยนาโนเทคโนโลยี เพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก สุทิตา เงินเรืองโรจน์ และคณะ	450
32	วิจัยพัฒนา ประสิทธิภาพ สูตรผลิตภัณฑ์ผสมสำเร็จรูปสารกำจัดศัตรูพืชจากสะเดา+น้อยหน่า ด้วยนาโนเทคโนโลยี เพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ธิตยาภรณ์ อุดมศิลป์ และคณะ	459
33	วิจัยสูตรและทดสอบฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาสำเร็จรูปเพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ด้วยเทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน ณัฐพร ฉันทศักดิ์ดา และคณะ	473
34	วิจัยสูตรและทดสอบฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์สารสกัดวานน้ำสำเร็จรูปเพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ด้วยเทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน พจนีย์ หน่อผืน และคณะ	487
35	การสำรวจสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมจากแหล่งปลูกอ้อย ในจังหวัดสุพรรณบุรี ปภัสรา คุณเลิศ และคณะ	497
36	การสำรวจสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมจากแหล่งปลูกสับปะรด ในจังหวัดชลบุรี และระยอง ปภัสรา คุณเลิศ และคณะ	515
37	การร่วมศึกษาทดสอบ วิธีตรวจวิเคราะห์ Tebuconazole ในสูตรผสมผลิตภัณฑ์ ฉลองรัตน์ หมั่นขวา และคณะ	534
38	การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อราในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช สุกัญญา คำคง และคณะ	548

สารบัญ

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร (ต่อ)

หน้า

- | | | |
|----|---|-----|
| 39 | โครงการศึกษาข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างจากการทดลองใช้ Emamectin benzoate ในส้มโอ เพื่อกำหนดมาตรฐานปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ประพันธ์ เคนท้าว และคณะ | 562 |
| 40 | วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอะซีตามิพริด (acetamiprid) ในมะม่วง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง วิทยา บัวศรี และคณะ | 580 |



กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

พัฒนาระบบการตรวจสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในรูปที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี
Method Validation and Development of Water Soluble Calcium
Magnesium and Sulfur in Chemical Fertilizer

พงศ์พิศ แก้วสุข ทองจันทร์ พิมพ์เพชร สุวรรณีย์ ศรีทองอินทร์
Pongpit Kaewsuk Tongchan pimpet Suwannee Sritongin

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Development system for the determination Calcium Magnesium and Sulfur of water-soluble in chemical fertilizers by ICP technique. The wavelength for Calcium 317.933 nm, radial view Magnesium 285.213 nm, radial view and Sulfur 181.975 nm, axial view. Working range Calcium 0 - 200 mg/L, Magnesium 0 - 100 mg/L and Sulfur 0 - 200 mg/L. The coefficient of determination (R^2) greater than 0.999. The matrix effect had significantly different of slope 0.85 0.11 1.62. The LOD base on the standard deviation of blank is 0.0977%Ca, 0.0300%Mg and 0.0336%S. 5 concentration levels of Calcium 0.6570 0.94 9.85 21.90 36.11%Ca, %Recovery 99.89 101.91 98.65 101.87 101.84, HorRat 0.33 0.20 0.39 0.42 0.52, %RSU 16.70 11.48 9.28 4.38 2.50. 5 concentration levels of Magnesium 0.6499 5.362 5.67 20.30 25.53%Mg, %Recovery 98.85 101.55 101.73 99.75 99.59, HorRat 0.26 0.08 0.22 0.21 0.62, %RSU 6.46 1.47 1.40 2.57 2.39. And 6 concentration levels of Sulfur 0.6509 0.9779 11.15 24.23 26.64 36.79%S, %Recovery 101.99 102.74 101.39 98.62 100.27 98.54, HorRat 0.20 0.20 0.22 0.45 0.21 0.76, %RSU 8.16 5.70 1.78 2.75 2.49 3.13. %Recovery acceptance criteria and HorRat acceptance criteria of ≤ 1.3 . Therefore, Calcium Magnesium and Sulfur method by inductively coupled plasma spectrometry technique is accurate. Calcium Magnesium and Sulfur methods in the concentration range of 0.66 - 36.11%Ca, 0.65 - 25.53%Mg and 0.65 - 36.79%S are suitable for testing chemical fertilizer samples in water-soluble. Measurement uncertainty evaluation use of repeatability, reproducibility 3 concentration levels of Calcium 3.26 10.11 25.23%Ca, %RSU 6.75 6.13 8.01. 4 concentration levels of Magnesium 1.51 3.44 5.48 19.66%Mg, %RSU 6.62 6.39 6.93 8.74. And 3 concentration levels of Sulfur 4.43 17.03 25.27%S, %RSU 10.74 11.78 7.58. The evaluation uncertainty from repeatability standard deviation (S_r) and the reproducibility standard deviation (S_R) of each laboratory compared to the true value specified in the 95% confidence interval to acceptance criteria.

Keywords: Method validation; Water soluble calcium, magnesium, and sulfur

บทคัดย่อ

การพัฒนากระบวนการตรวจสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในรูปที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุด้วยเครื่อง ICP-OES โดยสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน ที่ความยาวคลื่น (Wavelength) 317.933, 285.213, 181.975 นาโนเมตร ตามลำดับ ใช้มุมมอง (Plasma view) Radial สำหรับวิเคราะห์ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม ส่วนมุมมอง Axial สำหรับวิเคราะห์ธาตุกำมะถัน ทั้งนี้ต้องพิสูจน์ว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งาน จึงทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีในช่วงการใช้งานของเครื่องมือวัดของการทดสอบแคลเซียมในช่วงความเข้มข้น 0 - 200 มิลลิกรัมต่อลิตร แมกนีเซียมในช่วงความเข้มข้น 0 - 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และกำมะถันในช่วงความเข้มข้น 0 - 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) มากกว่า 0.999 ผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effect) มีค่าความแตกต่างของความชัน (Slope) เท่ากับ 0.85, 0.11, 1.62 ตามลำดับ มีค่า LOD เท่ากับ 0.0977, 0.0300, 0.0336 กรัมต่อหนึ่งร้อยกรัม ตามลำดับ การทดสอบแคลเซียมจากสารที่ทราบค่า 5 ระดับความเข้มข้น 0.6570, 0.94, 9.85, 21.90, 36.11%Ca คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 99.89, 101.91, 98.65, 101.87, 101.84 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.33, 0.20, 0.39, 0.42, 0.52 มีค่า %RSU เท่ากับ 16.70, 11.48, 9.28, 4.38, 2.50 ตามลำดับ การทดสอบแมกนีเซียมจากสารที่ทราบค่า 5 ระดับความเข้มข้น 0.6499, 5.362, 5.67, 20.30, 25.53%Mg คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 98.85, 101.55, 101.73, 99.75, 99.59 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.26, 0.08, 0.22, 0.21, 0.62 มีค่า %RSU เท่ากับ 6.46, 1.47, 1.40, 2.57, 2.39 ตามลำดับ การทดสอบกำมะถันจากสารที่ทราบค่า 6 ระดับความเข้มข้น 0.6509, 0.9779, 11.15, 24.23, 26.64, 36.79%S คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 101.99, 102.74, 101.39, 98.62, 100.27, 98.54 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.20, 0.20, 22, 0.45, 0.21, 0.76 มีค่า %RSU เท่ากับ 8.16, 5.70, 1.78, 2.75, 2.49, 3.13 ตามลำดับ จากการพิสูจน์ความถูกต้อง และความเที่ยง พบว่า วิธีทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี มีความถูกต้อง ผ่านเกณฑ์ยอมรับ %Recovery และมีความเที่ยง ผ่านเกณฑ์ยอมรับ $\text{HorRat} \leq 1.3$ ดังนั้นวิธีทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันช่วงระดับความเข้มข้น 0.66 – 36.11%Ca, 0.65 – 25.53%Mg และ 0.65 – 36.79%S มีความเหมาะสมสามารถทดสอบตัวอย่างปุ๋ยเคมีในรูปที่ละลายน้ำได้ ส่วนประเมินค่าความไม่แน่นอนจาก Repeatability, Reproducibility การทดสอบแคลเซียมที่ 3 ระดับความเข้มข้น 3.26, 10.11, 25.23%Ca มีค่า %RSU เท่ากับ 7.19, 6.24, 8.34 ตามระดับความเข้มข้น การทดสอบแมกนีเซียมที่ 4 ระดับความเข้มข้น 1.52, 3.46, 5.49, 19.81%Mg มีค่า %RSU เท่ากับ 6.86, 5.45, 7.38, 7.88 ตามระดับความเข้มข้น และการทดสอบกำมะถันที่ 3 ระดับความเข้มข้น 4.43, 17.03, 25.27%S มีค่า %RSU เท่ากับ 10.72, 11.78, 7.58 ตามระดับความเข้มข้น ค่าความไม่แน่นอนที่ประเมินจาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ (Repeatability standard deviation; S_r) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ (Reproducibility standard deviation; S_R) ของแต่ละห้องปฏิบัติการเทียบกับค่าจริงที่กำหนดตามตาราง 95% ความเชื่อมั่น ผ่านเกณฑ์ยอมรับ

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ; แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันที่ละลายน้ำ

บทนำ

ข้อกำหนดด้านคุณภาพ ตาม ISO/IEC 17025 : 2017 กำหนดให้วิธีการวิเคราะห์ที่นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการต้องได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ซึ่งเป็นการพิสูจน์ว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์การใช้งาน โดยจัดทำหลักฐานยืนยันเพื่อแสดงถึงประสิทธิภาพของวิธีทดสอบ (นันทนากันยานุวัฒน์ และนุชนาท นาคำ, 2555) ซึ่งสามารถพิจารณาได้จาก 1. ความเป็นเส้นตรง (Linearity) คือ ความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลการวิเคราะห์เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนดประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) 2. การหาขีดจำกัดในการตรวจพบ ที่วิธีวิเคราะห์สามารถตรวจพบได้ (Limit of detection; LOD) และหาขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ LOQ (Limit of quantitation) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีลักษณะเนื้อสารเหมือนตัวอย่าง แต่ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Sample blank) ค่า LOD ได้จาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) หรือรวมกับค่าเฉลี่ยเมื่อตัวอย่างแบบลบล้างมีสัญญาณ ส่วนการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถรายงานปริมาณได้โดยที่มีความแม่นยำ และความเที่ยง โดยทั่วไป LOQ คือ 10 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน หรือรวมกับค่าเฉลี่ยเมื่อตัวอย่างแบบลบล้างมีสัญญาณ ยืนยันค่า LOQ ของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีปริมาณสารเท่ากับค่า LOQ ต้องได้ผลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ความแม่นยำ (Accuracy) ประกอบด้วย ความถูกต้อง (Trueness) ที่เกิดจากความคลาดเคลื่อนของระบบ กับความเที่ยง (Precision) ที่เกิดจากความคลาดเคลื่อนแบบสุ่ม ความถูกต้องจะพิจารณาในรูปแบบของ ความเอนเอียง (Barwick, 2016) โดยการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้กับค่ารับรองของ วัสดุอ้างอิงรับรอง หรือค่าที่ยอมรับ ความเที่ยง เป็นการแสดงความใกล้เคียงของผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันซ้ำ ภายใต้สภาวะทดสอบที่กำหนด สภาวะการหาข้อมูลแบบแรกเป็นการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดิมทั้งหมด ได้แก่ ตัวอย่าง เครื่องมือ สารเคมี วิธีทดสอบ (Repeatability condition) แบบที่สองเป็นการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดิม ในห้องปฏิบัติการเดิม ในช่วงเวลาหนึ่ง ซึ่งสามารถครอบคลุมการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดขึ้น เช่น ผู้ทดสอบ เครื่องมือ สารเคมี (Intermediate precision condition) แบบที่สามเป็นสภาวะการวิเคราะห์ตัวอย่างเดิม ต่างห้องปฏิบัติการ การประเมินผลความเที่ยง โดยใช้ HorRat (Horwitz'Ratio) และกำหนดเกณฑ์ยอมรับ โดยเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation; RSD) ที่ได้จากการวิเคราะห์ กับเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ที่ได้จากการคำนวณความเข้มข้นของสาร โดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่ทราบค่าแน่นอน หรือวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material; CRM) ที่มีใบรับรอง และสามารถสอบกลับไปยังใบรับรอง หรือเอกสารอื่นใดที่ออกโดยหน่วยงานที่ให้การรับรอง ให้ครอบคลุมระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ของตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีการพิสูจน์ความแม่นยำ และความเที่ยงในตัวอย่างปฏิกิริยามีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) เดียวกับตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ลงในตัวอย่าง (Cantwell, 2025) การนำวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น หรือวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่มีอยู่แล้ว มาใช้ในห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในรูปที่ละลายน้ำ (EN 16962, 2018) มีความเหมาะสมหรือไม่ก่อนนำมาใช้งาน เพื่อรองรับการทดสอบธาตุอาหารรองตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ย ที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 (ราชกิจจานุเบกษา, 2564)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Inductively coupled plasma– optical emission spectrometer (ICP-OES)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องแก้วปริมาตร class A ได้แก่ volumetric flask, pipette
4. เครื่องเขย่าสารละลาย
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง
6. กระดาษกรองเบอร์ 5
7. หลอดพลาสติกปั่นเหวี่ยง
8. อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย
9. sample blank (64I-1129 สูตรปุ๋ย 6-32-32)
10. วัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference material) วัสดุอ้างอิง (reference material) และสารที่ทราบค่า

วิธีการ

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี (แม้น และคณะ, 2552) โดยปรับสภาวะของเครื่อง ได้แก่ Plasma flow, Auxiliary flow, Nebulizer flow, RF-power, Flow rate และ Flush time

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

2.1 หาช่งใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Instrument working range and linearity range)

2.1.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ย Sample blank เติมสารแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ธาตุละ 7 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ชั่ว

2.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู (กรมวิชาการเกษตร, 2565) โดยวัดด้วยเครื่อง ICP-OES สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กับสัญญาณของเครื่องมือ

2.1.1 ประเมินค่า Correlation determination; R^2)

2.2 การศึกษาผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effect) โดยเปรียบเทียบความชัน (Slope) ของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟของสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุ๋ย เกณฑ์การคำนวณ %RPD < 10 (NATA, 2018)

2.3 การศึกษาความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีทดสอบภายในห้องปฏิบัติการเดียว (Single-laboratory approach) ด้วยเทคนิค Inductively couple plasma spectrometry

2.3.1 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ)

2.3.1.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ย Sample blank จากนั้นดำเนินการตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู (กรมวิชาการเกษตร, 2565) โดยวัดด้วยเครื่อง ICP-OES จำนวนธาตุละ 10 ชั่ว

2.3.1.2 คำนวณค่า Standard deviation (SD) ของการวิเคราะห์ตัวอย่างแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน

2.3.1.3 คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$\text{LOD} = \text{ค่าเฉลี่ยตัวอย่างที่ไม่มีธาตุที่สนใจ} (\bar{x}) + 3\text{SD} \quad \dots(1)$$

$$\text{LOQ} = \text{ค่าเฉลี่ยตัวอย่างที่ไม่มีธาตุที่สนใจ} (\bar{x}) + 10\text{SD} \quad \dots(2)$$

2.3.1 ศึกษาลักษณะตัวอย่างปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ

เตรียมตัวอย่างปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณของวิธีวิเคราะห์ปฏิกิริยาอาหารรองในรูปที่ละลายน้ำได้ อย่างน้อย 4 ตัวอย่าง

2.3.2 หาค่าความถูกต้อง และความเที่ยง ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

จัดเตรียม วัสดุ อุปกรณ์ สารมาตรฐาน ที่ต้องใช้ในการทดสอบ และจัดหาสารที่ทราบค่า ในรายการวิเคราะห์แคลเซียม ได้แก่ $0.94 \pm 0.02\% \text{Ca}$, $9.85\% \text{Ca}$, $21.9\% \text{Ca}$ และ $36.11\% \text{Ca}$ รายการวิเคราะห์แมกนีเซียม ได้แก่ $5.362 \pm 0.027\% \text{Mg}$, $5.67\% \text{Mg}$, $20.19\% \text{Mg}$, $25.53\% \text{Mg}$ รายการวิเคราะห์กำมะถัน ได้แก่ $0.9779 \pm 0.0080\% \text{S}$, $11.15\% \text{S}$, $26.64\% \text{S}$, $36.79\% \text{S}$

2.3.3.1 ชั่งตัวอย่างปฏิกิริยา Sample blank เติมสารที่ทราบค่าระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ความเข้มข้นกลาง สูง จำนวนธาตุละ 10 ซ้ำ (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาต่างวัน วันละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 10 วัน)

2.3.3.2 ดำเนินการตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปฏิกิริยาเคมีอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู โดยวัดด้วยเครื่อง ICP-OES

2.3.3.3 ประเมินผลการทดสอบ และคำนวณทางสถิติ % Recovery และ HorRat < 1.3 (AOAC, 2023)

การคำนวณ % Recovery จากสูตร

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์} \times 100}{\text{ค่าจริง}} \quad \dots(3)$$

การคำนวณ Precision

$$\text{HorRat (r)} = \frac{\text{RSD (r)}}{\text{PRSD (R)}} \quad \dots(4)$$

$$\text{RSD (r)} = \frac{\text{SD}}{\text{mean}} \times 100 \quad \dots(5)$$

$$\text{PRSD (R)} = 2C^{-0.15} \quad \dots(6)$$

เมื่อ C (mass fraction) คือ ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ $\times 10^{-6}$ เมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

2.4 ประเมินค่าความไม่แน่นอนในการวัด แบบ Bottom-up approach โดยคำนึงถึงความไม่แน่นอนทุกแหล่งย่อย (EURACHEM /CITAC Guide, 2012)

2.4.1 สร้างแผนภูมิขั้นตอนการทดสอบอย่างย่อ (Flowchart diagram analysis)

2.4.2 กำหนดสูตรในการคำนวณสิ่งที่วัด

2.4.3 หาที่มาของแหล่งความไม่แน่นอนของการวัด โดยพิจารณาจากแหล่งความไม่แน่นอนจากสูตรการคำนวณ แล้วจัดทำแผนภูมิแก๊งปลา

2.4.3 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันที่ละลายน้ำ

โดยหาค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแก๊งปลาย่อยในแก๊งปลาหลัก และรวมค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแก๊งปลาหลัก จากนั้นแปลงค่าความไม่แน่นอนแต่ละแหล่งเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน โดยนำค่าความไม่แน่นอนที่ได้หารด้วยตัวหาร (Divisor; d) ตัวหาร รวมค่าความไม่แน่นอนแต่ละแหล่ง (Combined uncertainty) และขยายค่าความไม่แน่นอนรวม (Expanded uncertainty) โดยคูณด้วยค่า Coverage factor (k) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ให้ค่า k = 2

- 2.5 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) จาก Repeatability, Reproducibility
- 2.5.1 สรรหาห้องปฏิบัติการ (Recruitment of the laboratories) เพื่อเข้าร่วมการทดสอบ
- 2.5.2 เตรียมตัวอย่างปุ๋ย (Preparation of the materials) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 เพื่อการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน แต่ละรายการ ที่ระดับความเข้มข้น (Level) ต่ำ กลาง และ สูง จำนวน 6 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 20 กรัม
- 2.5.2 กำหนดรายละเอียดที่ใช้ในการทดสอบและรายงานผลการทดสอบ
- 2.5.3 ดำเนินการวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ ละลายน้ำได้ และสารหนู
- 2.5.4 วิเคราะห์ผลทางสถิติ (Statistical analysis) ตาม ISO 5725-2 (2019)
- 2.5.5 สรุปผลการทดสอบ และประเมินค่าความไม่แน่นอน ตาม (ISO 21748, 2017)
3. ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) (Miller et al., 2018)
- 3.1 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ด้วยการทดสอบ Ruggedness วางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ โดยใช้สถิติ Youden-Steiner testing ดังตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง

ตัวแปรที่	สัญลักษณ์ตัวแปร	สภาวะ	ปกติ (A-G)	เปลี่ยนแปลง (a-g)
1	A/a	ปริมาตรน้ำกลั่นก่อนเขย่า	100 mL	150 mL
2	B/b	ความเร็วรอบการเขย่า	200 rpm	180 rpm
3	C/c	ระยะเวลาการเขย่า	30 นาที	25 นาที
4	D/d	ส่วนใสของสารละลายตัวอย่าง	กรองผ่านกระดาษกรอง No. 5	Centrifuge
5	E/e	ความเข้มข้นกรดในปริมาตรสุดท้าย	0.50 M HNO ₃	0.45 M HNO ₃
6	F/f	Pipette	Volumetric pipette 20 mL	Auto pipette 20 mL
7	G/g	ระยะเวลาการเตรียมสารละลายตัวอย่าง	3 ชั่วโมง	4 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 แสดงการวางแผนการทดลอง

Experiment	Design								%Recovery
1	A	B	C	D	E	F	G		R ₁
2	A	B	c	D	e	f	g		R ₂
3	A	b	C	d	E	f	g		R ₃
4	A	b	c	d	e	F	G		R ₄
5	a	B	C	d	e	F	g		R ₅
6	a	B	c	d	E	f	G		R ₆
7	a	b	C	D	e	f	G		R ₇
8	a	b	c	D	E	F	g		R ₈

- 3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามแผนการทดลองแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน โดยใช้ CaCl₂·4H₂O, MgCl₂ และ (NH₄)₂SO₄ ตามลำดับ
- 3.3 คำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร จาก 8 การทดลอง
- 3.4 พิจารณาค่า |E| ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร โดยถ้า |E| > S แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ (David Harvey, 2008)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

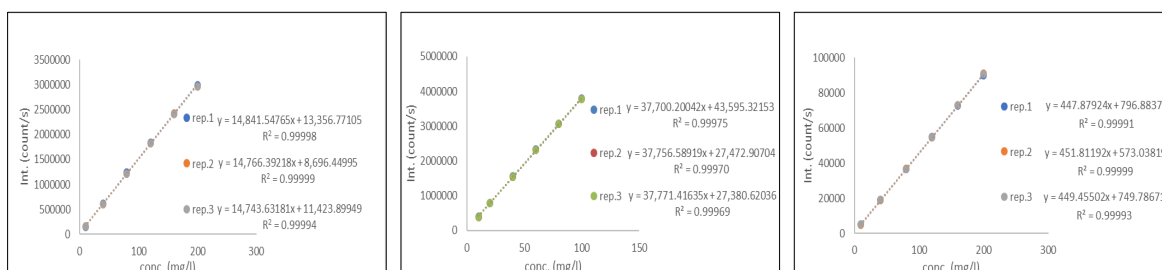
สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี โดยปรับสภาวะของเครื่อง ได้แก่ Plasma flow, Auxiliary flow, Nebulizer flow, RF-power, Flow rate และ Flush time สภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ที่ความยาวคลื่น (Wavelength) 317.933, 285.213, 181.975 นาโนเมตร ตามลำดับ ใช้มุมมอง (Plasma view) Radial สำหรับวิเคราะห์ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม ส่วนมุมมอง Axial สำหรับวิเคราะห์ธาตุกำมะถัน ค่า Plasma flow, Auxiliary flow, Nebulizer flow, RF-power, Flow rate และ Flush time ที่ 15 ลิตรต่อนาที, 0.2 ลิตรต่อนาที, 0.8 ลิตรต่อนาที, 1300 วัตต์, 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และ 15 วินาที ตามลำดับ สำหรับทุกรายการวิเคราะห์

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

2.1 หาช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Instrument working range and linearity range) ช่วงความเป็นเส้นตรง และช่วงใช้งาน (Linearity range and Instrument working range) (Eurachem, 2025) ผลการวิเคราะห์สารแคลเซียมที่เตรียมจาก 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของสาร $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ช่วงความเข้มข้น 0, 10, 40, 80, 120, 160 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมที่เตรียมจาก 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของสาร MgCl_2 ช่วงความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานกำมะถันที่ช่วงความเข้มข้น 0, 10, 40, 80, 120, 160, 200 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES โดยพล็อตค่า Intensity (แกน y) ต่อ ความเข้มข้น (แกน x) ทำนายความเป็นเส้นตรงจากสมการถดถอย (Regression) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) เท่ากับ 0.999 ในรายการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ดังภาพที่ 1



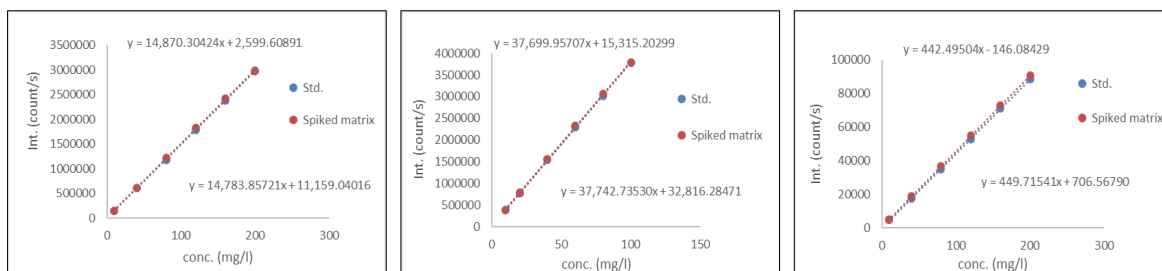
(a) แคลเซียม

(b) แมกนีเซียม

(c) กำมะถัน

ภาพที่ 1 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของกราฟสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุ๋ย Sample blank

2.2 การศึกษาผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effect) การวิเคราะห์ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน พบว่า กราฟสารละลายมาตรฐาน และสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุ๋ย Sample blank มีค่าความแตกต่างของความชัน (Slope) เท่ากับ 0.85, 0.11, 1.62 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนดความแตกต่างของ Slope < 10% (NATA, 2018) ดังภาพที่ 2

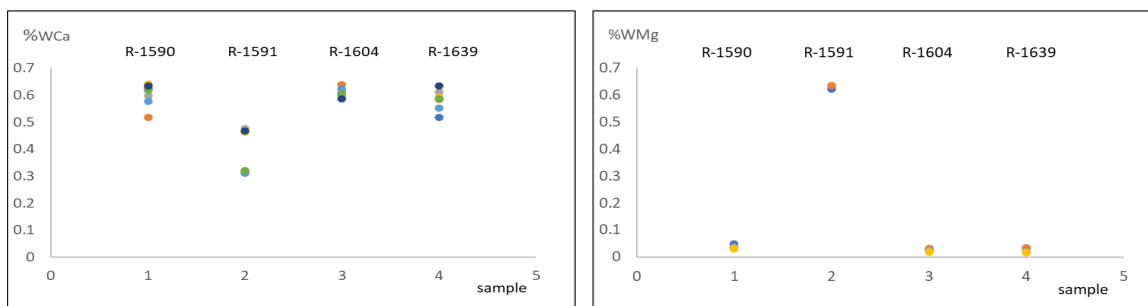


ภาพที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบความชันของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟของสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุ๋ย Sample blank a) แคลเซียม b) แมกนีเซียม c) กำมะถัน

2.3 การศึกษาความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีทดสอบภายในห้องปฏิบัติการเดียว (Single-laboratory approach) ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี

2.3.1 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ) โดยทำนายค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ) (Eurachem, 2025) การทำนาย LOD จากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างปุ๋ย Sample blank (LOD base on the standard deviation of the blank) พบว่ามีค่า LOD ($\bar{X} + 3SD$) เท่ากับ 0.0977, 0.0300, 0.0336 เปอร์เซ็นต์ และ LOQ ($\bar{X} + 10SD$) ที่ได้จากการทำนาย (Predicted) เท่ากับ 0.2616, 0.0736, 0.0448 เปอร์เซ็นต์ ในรายการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และ กำมะถัน ตามลำดับ

2.3.2 ศึกษาลักษณะตัวอย่างปุ๋ย ที่ส่งผลต่อขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ ไม่สามารถรายงานผลได้อย่างแม่นยำครอบคลุมทุกเมทริกซ์ตามขีดจำกัดเชิงปริมาณที่ได้ทำนายเนื่องจากลักษณะตัวอย่างปุ๋ยที่มีอนุภาคขนาดเล็กแต่ไม่ละลายน้ำนั้น ส่งผลต่อขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารรอง ในรูปที่ละลายน้ำได้ ซึ่งจากการทดสอบตัวอย่างปุ๋ยที่มีอนุภาคขนาดเล็กกว่ารูพรุนของกระดาษกรองเบอร์ 5 (2.5 ไมครอน) และสารละลายที่ผ่านกระดาษกรอง หรือจากการปั่นเหวี่ยงนั้น จะได้สารละลายขุ่นเพียงเล็กน้อย พบว่า ผลการทดสอบในรายการทดสอบแคลเซียมจำนวน 4 ตัวอย่าง แมกนีเซียมจำนวน 4 ตัวอย่าง มีค่าอยู่ในช่วง 0.31 - 0.64 %Ca, 0.02 - 0.63 %Mg ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 จึงจำเป็นต้องเพิ่มขีดจำกัดเชิงปริมาณธาตุอาหารรองที่ระดับความเข้มข้น 0.65 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3 แสดงผลการทดสอบของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะอนุภาคขนาดเล็ก a) แคลเซียม b) แมกนีเซียม

2.3.3 หาค่าความถูกต้อง และความเที่ยง ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

2.3.3.1 การทดสอบแคลเซียมจากสารที่ทราบค่า 5 ระดับความเข้มข้น 0.6570, 0.94, 9.85, 21.90 และ 36.11%Ca คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 99.89, 101.91, 98.65, 101.87 และ 101.84 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.33, 0.20, 0.39, 0.42 และ 0.52 ตามลำดับ

2.3.3.2 การทดสอบแมกนีเซียมจากสารที่ทราบค่า 5 ระดับความเข้มข้น 0.6499, 5.362, 5.67, 20.30 และ 25.53%Mg คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 98.85, 101.55, 101.73, 99.75 และ 99.59 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.26, 0.08, 0.22, 0.21 และ 0.62 ตามลำดับ

2.3.3.3 การทดสอบกำมะถันจากสารที่ทราบค่า 6 ระดับความเข้มข้น 0.6509, 0.9779, 11.15, 24.23, 26.64 และ 36.79%S คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 101.99, 102.74, 101.39, 98.62, 100.27 และ 98.54 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.20, 0.20, 22, 0.45, 0.21 และ 0.76 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ผลการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง

Parameter	Material	Concentration level (g/100g)	Trueness			Precision		
			Mean (g/100g)	SD	%Recovery	% RSD _r	PRSD _R	HorRat
Ca	EDTA-Ca (dilution)	0.6570	0.6563	0.0093	99.89	1.14	4.26	0.33
	BCR 114	0.94	0.96	0.01	101.91	0.82	4.02	0.20
	EDTA-Ca	9.85	9.72	0.11	98.65	1.12	2.84	0.39
	CaCl ₂ ·4H ₂ O	21.90	22.31	0.23	101.87	1.05	2.51	0.42
	CaCl ₂	36.11	36.77	0.44	101.84	1.20	2.33	0.52
Mg	EDTA-Mg (dilution)	0.6499	0.6424	0.0073	98.85	1.13	4.28	0.26
	SRM 929a	5.362	5.445	0.01	101.55	0.25	3.10	0.08
	EDTA-Mg	5.67	5.77	0.04	101.73	0.68	3.07	0.22
	MgSO ₄	20.19	20.14	0.11	99.75	0.53	2.55	0.21
	MgCl ₂	25.53	25.43	0.39	99.59	1.52	2.46	0.62
S	(NH ₄) ₂ SO ₄ (dilution)	0.6517	0.6639	0.0057	101.87	0.86	4.25	0.20
	Std. S	0.9779	1.0047	0.0079	102.74	0.78	4.00	0.20
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	11.15	11.31	0.07	101.39	0.62	2.78	0.22
	(NH ₄) ₂ SO ₄	24.26	23.87	0.27	98.62	1.12	2.48	0.45
	MgSO ₄	26.64	26.71	0.14	100.27	0.51	2.44	0.21
	Na ₂ S ₂ O ₃	38.54	37.98	0.67	98.54	1.76	2.31	0.76

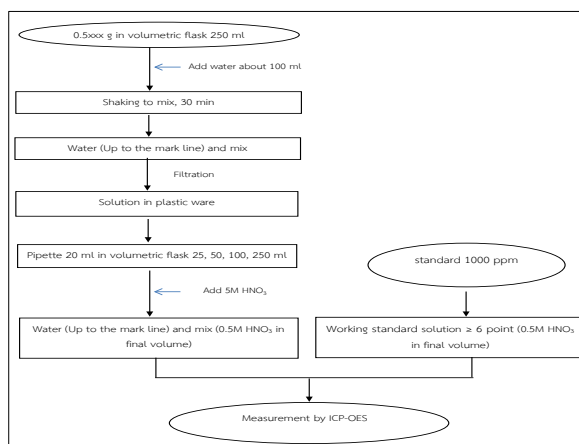
2.4 ประเมินค่าความไม่แน่นอนในการวัด แบบ Bottom-up approach โดยคำนึงถึงความไม่แน่นอนทุกแหล่งย่อย (EURACHEM /CITAC Guide, 2012)

2.4.1 สร้างแผนภูมิขั้นตอนการทดสอบอย่างย่อ (Flowchart diagram analysis)

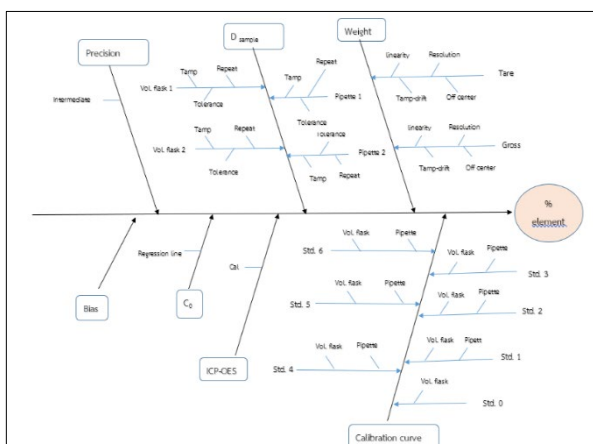
2.4.2 กำหนดสูตรในการคำนวณสิ่งที่วัด

$$\% \text{ WCa, WMg, WS} = \frac{(\text{mg/l from standard curve}) \times \text{dilution factor} \times 100}{\text{wt. of sample (g)} \times 10^6}$$

2.4.3 หาที่มาของแหล่งความไม่แน่นอนของการวัด โดยพิจารณาจากแหล่งความไม่แน่นอนจากสูตรการคำนวณ แล้วจัดทำแผนภูมิแกงปลา ดังภาพที่ 4



(a) แผนภูมิขั้นตอนการทดสอบ



(b) แผนภูมิแกงปลา

ภาพที่ 4 แสดงแผนภูมิขั้นตอนการทดสอบ และแผนภูมิแกงปลา

2.4.4 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันที่ละลายน้ำ

2.4.4.1 การทดสอบแคลเซียมความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ 0.66, 0.96, 9.72, 22.31 และ 36.77%Ca คำนวณค่าความไม่แน่นอน ได้เท่ากับ 0.11, 0.11, 0.90, 0.97 และ 0.92 มีค่าร้อยละความไม่แน่นอนแบบสัมพัทธ์ (%Relative standard uncertainty; %RSU) เท่ากับ 16.70, 11.48, 9.28, 4.38 และ 2.50 ตามลำดับ

2.4.4.2 การทดสอบแมกนีเซียมความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ 0.64, 5.45, 5.77, 20.14 และ 25.43%Mg คำนวณค่าความไม่แน่นอน ได้เท่ากับ 0.04, 0.08, 0.08, 0.52 และ 0.61 มีค่า %RSU เท่ากับ 6.46, 1.47, 1.40, 2.57 และ 2.39 ตามลำดับ

2.4.4.3 การทดสอบกำมะถันความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ 0.66, 1.00, 11.31, 23.87, 26.71 และ 37.98%S คำนวณค่าความไม่แน่นอน ได้เท่ากับ 0.05, 0.06, 0.20, 0.66, 0.66 และ 1.19 มีค่า %RSU เท่ากับ 8.16, 5.70, 1.78, 2.75, 2.49 และ 3.13 ตามลำดับ

2.5 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) จาก Repeatability, Reproducibility

2.5.1 สรรหาห้องปฏิบัติการ (Recruitment of the laboratories) เพื่อเข้าร่วมการทดสอบ

ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการฝึกอบรมตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู โดยห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมการทดสอบ ได้แก่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 ห้องปฏิบัติการบริษัท ไอ ซี พี อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ห้องปฏิบัติการบริษัทไทยเซ็นทรัล จำกัด (มหาชน) สาขาพระนครศรีอยุธยา ห้องปฏิบัติการบริษัทไทยเซ็นทรัล จำกัด (มหาชน) สาขาสมุทรปราการ ห้องปฏิบัติการบริษัทเอสจีเอส จำกัด ห้องปฏิบัติการบริษัทแนสโกโร จำกัด และห้องปฏิบัติการบริษัทเทอร์โมโร เฟอร์ติไลเซอร์ จำกัด

2.5.2 เตรียมตัวอย่างปุ๋ย (Preparation of the materials) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 เพื่อการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน แต่ละรายการที่ระดับความเข้มข้น (Level) ต่ำ กลาง และ สูง จำนวน 6 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 20 กรัม ดังนี้

- 2.5.2.1 ตัวอย่างที่ 1 วิเคราะห์แคลเซียม ความเข้มข้นโดยประมาณ 3%Ca
- 2.5.2.2 ตัวอย่างที่ 2 วิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ความเข้มข้นโดยประมาณ 10%Ca, 3%Mg, 4%S
- 2.5.2.3 ตัวอย่างที่ 3 วิเคราะห์แคลเซียม 25%Ca
- 2.5.2.4 ตัวอย่างที่ 4 วิเคราะห์แมกนีเซียม กำมะถัน 1%Mg, 17%S
- 2.5.2.5 ตัวอย่างที่ 5 วิเคราะห์แมกนีเซียม กำมะถัน 5%Mg, 10%S
- 2.5.2.6 ตัวอย่างที่ 6 วิเคราะห์แมกนีเซียม กำมะถัน 19%Mg, 25%S
- 2.5.3 กำหนดรายละเอียดที่ใช้ในการทดสอบ
- 2.5.3.1 เทคนิคการทดสอบ Inductively coupled plasma spectrometry
- 2.5.3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Working standard) อย่างน้อย 6 จุด
- 2.5.3.3 จำนวนซ้ำของการทดสอบ 3 ซ้ำ
- 2.5.3.4 การชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.5xxx กรัม

$$2.5.3.5 \text{ การเจือจางสารละลาย เท่ากับ } \frac{\text{ปริมาตรของขวดวัดปริมาตร}}{\text{ปริมาตรของสารละลายที่ปิเปต}}$$

- 2.5.3.6 การรายงานผลการทดสอบด้วยตัวเลขทศนิยม 2 ตำแหน่งในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (%)
- 2.5.4 ดำเนินการตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู
- 2.5.5 วิเคราะห์ผลทางสถิติ (Statistical analysis) ตาม ISO 5725-2, 2019

การทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม มีจำนวน 8 ห้องปฏิบัติการ เข้าร่วมทุกระดับความเข้มข้น การทดสอบกำมะถันที่ 3 ระดับความเข้มข้น มีจำนวน 6, 6 และ 5 ห้องปฏิบัติการ ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของแต่ละห้องปฏิบัติการ และแต่ละระดับความเข้มข้น ดังตารางที่ 8 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ดังตารางที่ 9 ซึ่งการทดสอบแคลเซียมที่ 3 ระดับความเข้มข้น 3.26, 10.11 และ 25.23%Ca แมกนีเซียมที่ 4 ระดับความเข้มข้น 1.52, 3.46, 5.49 และ 19.81%Mg กำมะถันที่ 3 ระดับความเข้มข้น 4.43, 17.03 และ 25.27%S แสดงผลการทดสอบของแต่ละห้องปฏิบัติการแตกต่างจากค่ากลาง (m) ดังภาพที่ 6

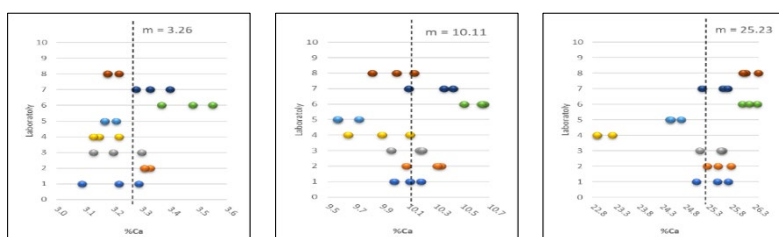
การตรวจสอบ Outliers ของข้อมูลค่าเฉลี่ย โดยใช้สถิติ Grubbs' test ที่ 1 จุดต่ำสุด และ 1 จุดสูงสุด พบว่า G_{exp} น้อยกว่า G_{crit} การทดสอบไม่มีนัยสำคัญ ปฏิเสธ H_0 ไม่เป็น outliers และที่ 2 จุดต่ำสุด และ 2 จุดสูงสุด พบว่า G_{exp} มากกว่า G_{crit} การทดสอบไม่มีนัยสำคัญ ปฏิเสธ H_0 ไม่เป็น outliers ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยผลการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ในปุ๋ยเคมี

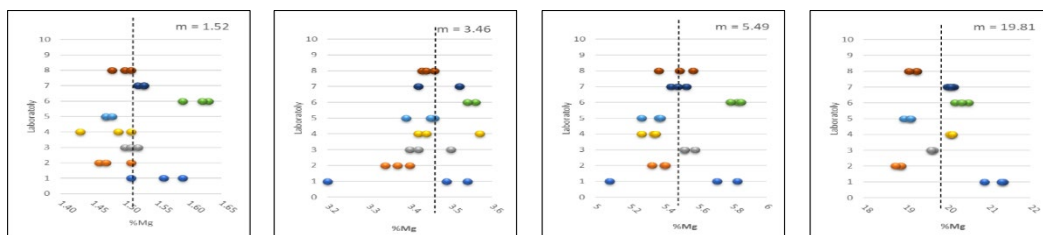
Laboratory	Cell means ($\bar{y}_{ij}$)									
	Ca			Mg				S		
	Level			Level				Level		
	1	2	3	1	2	3	4	1	2	3
1	3.20	10.10	25.42	1.55	3.41	5.54	21.18	-	-	-
2	3.32	10.24	25.53	1.48	3.37	5.38	18.85	4.54	17.48	25.41
3	3.21	10.12	25.44	1.51	3.44	5.54	19.65	4.61	18.24	26.43
4	3.17	9.89	23.01	1.48	3.48	5.32	20.11	4.03	15.47	20.91
5	3.18	9.62	24.56	1.47	3.43	5.34	19.07	4.30	16.24	23.81
6	3.47	10.60	26.20	1.61	3.57	5.82	20.35	-	-	-
7	3.34	10.30	25.50	1.53	3.52	5.48	20.09	4.52	17.45	25.45
8	3.19	9.99	26.18	1.50	3.44	5.48	19.21	4.60	17.33	25.25

ตารางที่ 9 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานผลการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ในปุ๋ยเคมี

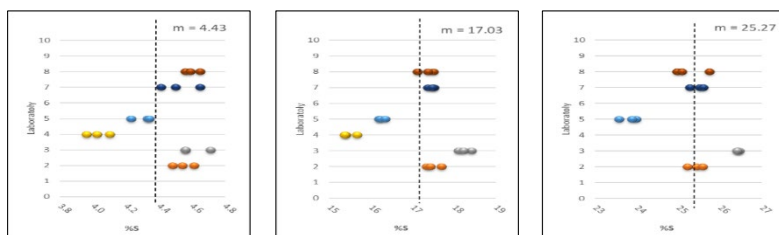
Laboratory	Standard deviations (S_p)									
	Ca			Mg				S		
	Level			Level				Level		
	1	2	3	1	2	3	4	1	2	3
1	0.101	0.101	0.351	0.040	0.184	0.403	0.252	-	-	-
2	0.012	0.142	0.255	0.026	0.030	0.044	0.075	0.065	0.182	0.186
3	0.085	0.127	0.275	0.010	0.053	0.035	0.025	0.087	0.152	0.031
4	0.047	0.230	0.193	0.042	0.081	0.044	0.032	0.070	0.163	0.291
5	0.023	0.092	0.133	0.006	0.038	0.061	0.090	0.061	0.076	0.214
6	0.091	0.081	0.160	0.021	0.042	0.031	0.160	-	-	-
7	0.060	0.174	0.293	0.006	0.100	0.045	0.075	0.121	0.071	0.165
8	0.023	0.156	0.181	0.015	0.015	0.101	0.110	0.046	0.199	0.416



(a) แคลเซียม



(b) แมกนีเซียม



(c) กำมะถัน

ภาพที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยผลการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ที่ละลายน้ำได้ในปุ๋ยเคมี

ตารางที่ 10 แสดงผลการตรวจสอบ Outliers โดยใช้ Grubbs' test รายการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน

Level	Ca					Mg					S				
	p	Single		Double		p	Single		Double		p	Single		Double	
		Low	High	Low	High		Low	High	Low	High		Low	High		
1	8	0.882	1.979	0.912	0.865	8	0.896	2.027	0.834	0.968	6	1.777	0.772	0.757	0.803
2	8	1.659	1.699	0.965	0.917	8	1.380	1.796	0.733	0.847	6	1.567	1.208	0.576	0.923
3	8	2.150	0.936	0.990	0.835	8	1.048	2.093	0.919	0.999	5	1.556	1.233	0.576	0.987
4						8	1.247	1.767	0.742	0.756					

Note :

- ตรวจสอบ Outliers ที่ 1 จุดต่ำสุดและ 1 จุดสูงสุด พบว่า $G_{exp} < G_{crit}$ การทดสอบไม่มีนัยสำคัญ ปฏิเสธ H_0 ไม่เป็น outliers
- ตรวจสอบ Outliers ที่ 2 จุดต่ำสุดและ 2 จุดสูงสุด พบว่า $G_{exp} > G_{crit}$ การทดสอบไม่มีนัยสำคัญ ปฏิเสธ H_0 ไม่เป็น outliers

2.5.6 ประเมินค่าความไม่แน่นอน ตาม (ISO 21748, 2017)

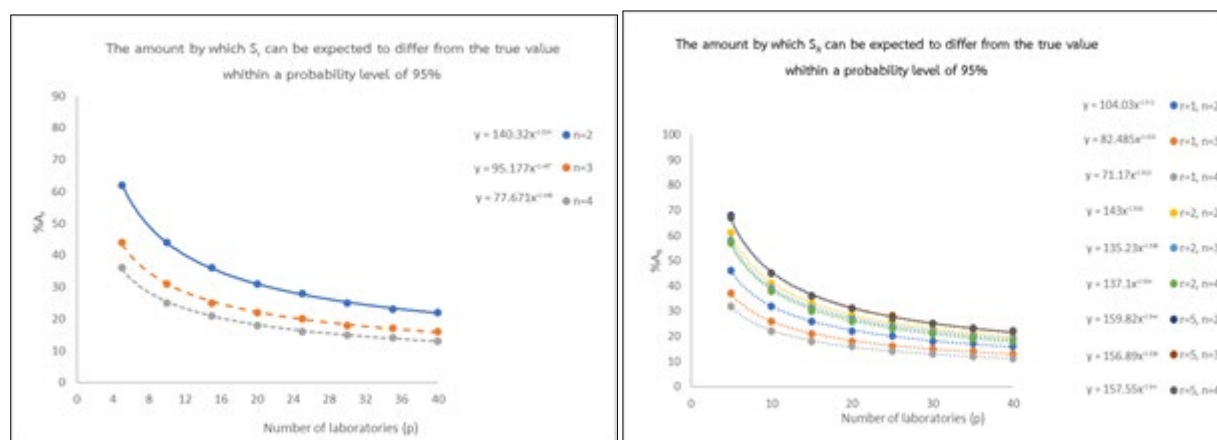
ผลการประเมินความเที่ยงตามจำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ เทียบผลกับค่าความไม่แน่นอนที่ 95%ความเชื่อมั่น (ISO 5725-2, 2019) การทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันที่ 3, 4 และ 3 ระดับความเข้มข้น ตามลำดับ การทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียมมีห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบตามระดับความเข้มข้นจำนวน 8 ห้องปฏิบัติการ ทุกระดับความเข้มข้น ส่วนการทดสอบกำมะถันมีห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบตามระดับความเข้มข้นจำนวน 6, 6 และ 5 ห้องปฏิบัติการ ตามระดับความเข้มข้นของตัวอย่าง พบว่า ร้อยละความไม่แน่นอนของการทดสอบซ้ำ ร้อยละความไม่แน่นอนของการทดสอบจากต่างห้องปฏิบัติการ และค่าความไม่แน่นอนขยาย ดังตารางที่ 11 การเปรียบเทียบผลค่าความไม่แน่นอนที่คำนวณได้กับค่าความไม่แน่นอนจริงที่ 95% ความเชื่อมั่น (ISO 5725-2, 2019) ดังตาราง 12 และ ภาพที่ 7 โดยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ (Repeatability standard deviation ; S_r) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ (Reproducibility standard deviation ; S_R) ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่าค่าจริงที่ 95% ความเชื่อมั่น

ตารางที่ 11 แสดงค่าความไม่แน่นอนที่ประเมินจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ

Elements	Level	p	m	S_r	S_R	RSD_r	RSD_R	% A_r	% A_R	% A_R (ISO5725-2)	%RSU
Ca	1	8	3.26	0.064	0.117	0.020	0.036	35	33	44	7.19
	2	8	10.11	0.145	0.315	0.014	0.031	35	35	44	6.24
	3	8	25.23	0.241	1.052	0.010	0.042	35	39	44	8.34
Mg	1	8	1.52	0.025	0.052	0.016	0.034	35	34	44	6.86
	2	8	3.46	0.085	0.094	0.025	0.027	35	23	29	5.45
	3	8	5.49	0.152	0.203	0.028	0.037	35	27	29	7.67
	4	8	19.81	0.124	0.781	0.006	0.039	35	39	51	7.38
S	1	6	4.43	0.079	0.238	0.018	0.054	40	44	52	10.72
	2	6	17.03	0.149	1.003	0.009	0.059	40	47	60	11.78
	3	5	25.27	0.237	0.958	0.009	0.038	44	56	57	7.58

หมายเหตุ :

1. P = Number of laboratory
2. m = mean of concentration
3. S_r = Standard deviations of repeatability
4. S_R = Standard deviations of reproducibility
5. A_r = The uncertainty of an estimate for repeatability
6. A_R = The uncertainty of an estimate for reproducibility
7. U = Expanded uncertainty using a coverage factor 2 ($u(y) = S_R$) which gives a level of confidence of approximately 95% (ISO 21748, 2017)



ภาพที่ 7 กราฟจากข้อมูลจริงตาม ISO 5725-2, 2019 สำหรับเปรียบเทียบผลที่ประมาณจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 12 แสดงข้อมูลจริงตาม ISO 5725-2, 2019 สำหรับเปรียบเทียบผลที่ประมาณจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ

No. of laboratories (p)	A _r			A _R								
				γ=1			γ=2			γ=5		
	n=2	n=3	n=4	n=2	n=3	n=4	n=2	n=3	n=4	n=2	n=3	n=4
5	0.62	0.44	0.36	0.46	0.37	0.32	0.61	0.58	0.57	0.68	0.67	0.67
10	0.44	0.31	0.25	0.32	0.26	0.22	0.41	0.39	0.38	0.45	0.45	0.45
15	0.36	0.25	0.21	0.26	0.21	0.18	0.33	0.31	0.3	0.36	0.36	0.36
20	0.31	0.22	0.18	0.22	0.18	0.16	0.28	0.27	0.26	0.31	0.31	0.31
25	0.28	0.20	0.16	0.2	0.16	0.14	0.25	0.24	0.23	0.28	0.28	0.27
30	0.25	0.18	0.15	0.18	0.15	0.13	0.23	0.22	0.21	0.25	0.25	0.25
35	0.23	0.17	0.14	0.17	0.14	0.12	0.21	0.2	0.19	0.23	0.23	0.23
40	0.22	0.16	0.13	0.16	0.13	0.11	0.2	0.19	0.18	0.22	0.22	0.22

Note :

- The estimated standard deviation (S) can be expected to be within A either side of the true standard deviation (σ)
- For a single level of the test, the uncertainty in the repeatability standard deviation depends on the number of laboratories (p) and the number of test results within each laboratory (n) for the reproducibility standard deviation, an extra factor γ is needed, representing the ratio of the reproducibility standard deviation to the repeatability standard deviation $\gamma = \sigma_R / \sigma_r$
- The estimated uncertainty 95%

For repeatability 95%

$$A_r = 1.96 \sqrt{\frac{1}{2p(n-1)}}$$

For reproducibility 95%

$$A_R = 1.96 \sqrt{\frac{p[1+n(\gamma^2-1)]^2 + (n-1)(p-1)}{2\gamma^4 n^2 (p-1)p}}$$

3. ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสถานะเล็กน้อยจากสถานะปกติ (Ruggedness)

จากการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะแวดล้อม ด้วยการทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness) โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ และประเมินโดยใช้สถิติ Youden-Steiner testing พบว่า ผลการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน โดยใช้ $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, MgCl_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, EDTA-Fe ตามลำดับ ดังตารางที่ 13 และผลกระทบของตัวแปร (E) ทั้ง 7 ตัวแปร พบว่า การเติมน้ำกลั่นก่อนเขย่าที่ 100-200 มิลลิลิตร ความเร็วรอบของการเขย่า ที่ 180-200 รอบ/นาที ระยะเวลาเขย่า 25-30 นาที การกรองด้วยกระดาษกรอง No.42 และการปั่นเหวี่ยง ความเข้มข้นของกรดในปริมาตรสุดท้าย 0.45-0.5 โมลาร์ การใช้ Volumetric pipette กับ Auto pipette 20 มิลลิลิตร และการใช้เวลาตั้งแต่เริ่มเติมน้ำเขย่าจนกระทั่งถึงเติมกรด 0.5 โมลาร์ ในการทดสอบ แคลเซียม มีค่า |E| เท่ากับ 0.24, 0.44, 0.06, 0.31, 0.30, 1.12, 0.24 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่า S ที่ 1.31 การทดสอบ แมกนีเซียม มีค่า |E| เท่ากับ 0.75, 0.43, 0.23, 0.82, 0.29, 0.05, 0.16 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่า S ที่ 1.09 การทดสอบ กำมะถัน มีค่า |E| เท่ากับ 1.05, 0.55, 0.34, 0.51, 0.79, 0.34, 0.84 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่า S ที่ 1.56 ดังตารางที่ 14 ดังนั้นจากการเปลี่ยนแปลงสถานะดังกล่าว จึงไม่มีผลกระทบต่อการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะข้างต้น

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน 8 การทดลอง

Experiment	%Recovery		
	CaCl ₂ ·4H ₂ O	MgCl ₂	(NH ₄) ₂ SO ₄
	Ca	Mg	S
1	100.51	98.94	97.33
2	101.37	99.49	98.70
3	102.15	99.22	97.88
4	101.23	99.99	98.24
5	100.64	99.14	97.41
6	101.37	99.43	95.51
7	102.13	98.11	97.28
8	100.15	97.96	97.75

ตารางที่ 14 ผลกระทบของตัวแปร (E)

ตัวแปร (E)	ผลกระทบของตัวแปร (E)		
	CaCl ₂ ·4H ₂ O	MgCl ₂	(NH ₄) ₂ SO ₄
	Ca	Mg	S
$E_A = [R_1 + R_2 + R_3 + R_4]/4 - [R_5 + R_6 + R_7 + R_8]/4$	0.24	0.75	1.05
$E_B = [R_1 + R_2 + R_5 + R_6]/4 - [R_3 + R_4 + R_7 + R_8]/4$	-0.44	0.43	-0.55
$E_C = [R_1 + R_3 + R_5 + R_7]/4 - [R_2 + R_4 + R_6 + R_8]/4$	-0.06	-0.23	0.34
$E_D = [R_1 + R_2 + R_7 + R_8]/4 - [R_3 + R_4 + R_5 + R_6]/4$	-0.31	-0.82	0.51
$E_E = [R_1 + R_3 + R_6 + R_8]/4 - [R_2 + R_4 + R_5 + R_7]/4$	-0.30	-0.29	-0.79
$E_F = [R_1 + R_4 + R_5 + R_8]/4 - [R_2 + R_3 + R_6 + R_7]/4$	-1.12	-0.05	0.34
$E_G = [R_1 + R_4 + R_6 + R_7]/4 - [R_2 + R_3 + R_5 + R_6]/4$	0.24	0.16	-0.84
$S = \sqrt{2/7 \times \sum(E^2)}$	1.31	1.09	1.56

Note :
| E | > S แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ

สรุปผลการทดลอง

การทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในรูปที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิค Inductively coupled plasma spectrometry ช่วงการใช้งานของเครื่องมือวัดของการทดสอบแคลเซียมในช่วงความเข้มข้น 10 - 200 มิลลิกรัมต่อลิตร แมกนีเซียมในช่วงความเข้มข้น 10 - 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และกำมะถันในช่วงความเข้มข้น 10 - 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) มากกว่า 0.999 ผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effect) ผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ความเข้มข้นแตกต่างกันไม่เกิน 10% ได้ค่า LOD เท่ากับ 0.0977, 0.0300 และ 0.0336 กรัมต่อหนึ่งร้อยกรัม ตามลำดับ การตรวจสอบความถูกต้อง (Trueness) โดยประเมินค่า %Recovery และความเที่ยง (Precision) โดยประเมินค่า HorRat ของวิธีทดสอบภายในห้องปฏิบัติการเดียว พบว่า วิธีทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี มีความถูกต้อง ผ่านเกณฑ์ยอมรับ %Recovery และมีความเที่ยง ผ่านเกณฑ์ยอมรับ HorRat ≤ 1.3 ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับทดสอบธาตุอาหารรองรูปที่ละลายน้ำได้ ในปุ๋ยเคมี ที่ช่วงระดับความเข้มข้น 0.66 - 36.11 %Ca, 0.65 - 25.53 %Mg และ 0.65 - 36.79 %S ประเมินค่าความไม่แน่นอนในการวัด แบบ Bottom-up approach ตามข้อมูลของความถูกต้อง ส่วนการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) จาก Repeatability, Reproducibility มีค่าความไม่แน่นอนสัมพัทธ์ (Relative uncertainty) มากสุดที่ 11.78 ในรายการทดสอบกำมะถัน ค่าความไม่แน่นอนที่ประเมินจาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ (Repeatability standard deviation ; S_r) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ (Reproducibility standard deviation; S_R) ของแต่ละห้องปฏิบัติการ เทียบกับค่าจริงที่กำหนดตามตาราง 95% ความเชื่อมั่น ผ่านเกณฑ์ยอมรับ ส่วนการตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบ 7 ตัวแปร ไม่มีผลกระทบต่อการทดสอบ แสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นวิธีทดสอบเป็นวิธีที่เหมาะสม (appropriate methods) สำหรับห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน ในรูปที่ละลายน้ำ ในปุ๋ยเคมี

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการขอรับการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017
2. เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์
3. เผยแพร่ และถ่ายทอดเทคโนโลยีการตรวจรับรองปุ๋ยให้แก่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐ และภาคเอกชน เพื่อเพิ่มศักยภาพของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยในประเทศไทยให้มีมาตรฐานเดียวกันเป็นไปตามมาตรฐานสากล ทำให้การกำกับควบคุมดูแลคุณภาพปัจจัยการผลิตตามกฎหมายที่บังคับใช้ สร้างความเป็นธรรมให้กับเกษตรกร และผู้ประกอบการ การพัฒนาระบบการตรวจรับรองคุณภาพปุ๋ย

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร, 2565. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี : ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู. พิมพ์ครั้งที่ 1. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 33 หน้า. ISBN 978-974-436-960-4
- นันทนา กันยานุวัฒน์ และนุชนาท นาคำ. 2555. แนวทางการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักอุตสาหกรรมพื้นฐาน กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่. กรุงเทพฯ. 107 หน้า.
- แม่น อมรสิทธิ์ อมร เพชรสม ยุวดี เชี่ยววัฒนา อติยา ศิริภิญญานนท์ ศรีวิไล โอมภิญญาณ และ อุมพร สุขม่วง. 2552. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. บริษัท ชวนพิมพ์ 50 จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 676 หน้า.
- ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 (2564, 4 ตุลาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 138 ตอนพิเศษที่ 243 ง.
- Association of analytical communities (AOAC). 2023. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Cantwell H. (Ed). 2025. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. 3rded. UK. Available from www.eurachem.org.
- David Harvey. 2008. Modern Analytical Chemistry. San Francisco, California, USA. ISBN 0-07-237547-7
- Ellison SLR, and Williams A, 2012. Eurachem/CITAC Guide CG4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3rd ed. UK.
- European Committee for Standardization. 2018. Fertilizers Extraction of Water Soluble Micro-nutrients in Fertilizers and Removal of Organic Compounds from Fertilizer Extracts (EN 16962). CEN-CENELEC Management Centre, Brussels, Belgium.
- International Organization for Standardization. 2019. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results (ISO 5725). 2nded. Switzerland.
- International Organization for Standardization. 2017. Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty evaluation (ISO 21748). 2nded. Switzerland.
- Miller J.N., Miller J.C., Miller R.D., 2018. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 7th ed., Pearson Education Ltd., ISBN 978-1-29218-671-9
- National Association of Testing Authorities (NATA). 2018. General Accreditation Guidance - validation and verification of quantitative and qualitative test methods. Australia

พัฒนาระบบการตรวจสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม
ในรูปที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี

Method Validation and Development of Water-Soluble Iron Zinc
Manganese Copper and Molybdenum in Chemical Fertilizer

พงศ์พิศ แก้วสุข ทองจันทร์ พิมพ์เพชร อาธิยา ปุ่นประโคน
Pongpit Kaewsuk Tongchan pimpet Arthiya Punprakhon

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Development system for the determination Iron Zinc Manganese Copper and Molybdenum of water-soluble in chemical fertilizers by ICP technique. The wavelength 238.204 213.857 257.610 327.393 202.031 nm. Radial view for Fe Zn Mn Cu, axial view for Mo. Working range Fe Zn Mn Cu 0 - 100 mg/L and Mo 0 - 15 mg/L. The coefficient of determination (R^2) greater than 0.999. The matrix effect had significantly different of slope -2.74 0.58 -3.99 -0.32 -5.89. The LOD base on the standard deviation of blank is 0.0115%Fe 0.0051%Zn 0.0012%Mn 0.1200%Cu 0.0055%Mo. 3 concentration levels of Iron 0.65 14.58 44.06%Fe, %Recovery 100.19 101.32 101.23, HorRat 0.23 0.38 0.28, %RSU 13.94 2.54 2.20. 3 concentration levels of Zinc 0.65 14.37 47.97%Zn, %Recovery 96.47 101.94 101.95, HorRat to 0.72 0.28 0.28, %RSU 5.28 1.72 2.19. 4 concentration levels of Manganese 0.65 14.05 27.76 31.40%Mn, %Recovery 96.23 98.99 101.76 99.06, HorRat 0.27 0.43 0.45 1.28, %RSU 3.62 5.11 2.08 3.08. 3 concentration levels of Copper 0.65 15.98 47.40%Cu, %Recovery 97.87 101.70 99.47, HorRat 0.25 0.19 0.25, %RSU 12.14 3.44 2.89. And 4 concentration levels of Molybdenum 0.0639 1.0018 39.65 54.33%Mo, %Recovery 96.96 100.66 98.07 98.08, HorRat 0.22 0.36 0.38 0.17, %RSU 9.92 2.36 3.33 2.21. %Recovery acceptance criteria and HorRat acceptance criteria of ≤ 1.3 . Therefore, Iron Zinc Manganese Copper and Molybdenum method by inductively coupled plasma spectrometry technique is accurate. Iron Zinc Manganese Copper and Molybdenum methods in the concentration range of 0.65 – 44.06%Fe, 0.65 – 47.97%Zn, 0.65 – 31.40%Mn, 0.65 – 47.4%Cu, 0.064 – 54.33%Mo are suitable for testing chemical fertilizer samples in water-soluble. Measurement uncertainty evaluation use of repeatability, reproducibility. 3 concentration levels of Iron 1.07, 7.34 15.14%Fe, %RSU 7.09 4.64 7.54. 3 concentration levels of Zinc 2.92, 5.05 31.30%Zn, %RSU 19.45, 15.20 11.04. 4 concentration levels of Manganese 1.52 5.44 8.83 32.30%Mn, %RSU 7.13 5.56 8.24 2.46. 3 concentration levels of Copper 1.06 2.57 13.80%Cu, %RSU 7.89 8.26 7.80. And 3 concentration levels of Molybdenum 0.15 7.95 55.00%Mo, %RSU 27.00 7.19 4.18. The evaluation uncertainty from repeatability standard deviation (S_r) and the reproducibility standard deviation (S_R) of each laboratory compared to the true value specified in the 95% confidence interval to acceptance criteria.

Keywords: Method validate; Water-Soluble Iron Zinc Manganese Copper and Molybdenum

บทคัดย่อ

การพัฒนากระบวนการตรวจสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัมในรูปแบบที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุด้วยเครื่อง ICP-OES โดยสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ที่ความยาวคลื่น (Wavelength) 238.204, 213.857, 257.610, 327.393, 202.031 นาโนเมตร ตามลำดับ ใช้มุมมอง (Plasma view) Radial สำหรับวิเคราะห์ธาตุเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง ส่วนมุมมอง Axial สำหรับวิเคราะห์ธาตุโมลิบดีนัม ทั้งนี้ต้องพิสูจน์ว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งาน จึงทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีในช่วงการใช้งานของเครื่องมือวัดของการทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง ที่ช่วงความเข้มข้น 0 - 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และโมลิบดีนัม ที่ช่วงความเข้มข้น 0 - 15 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) มากกว่า 0.999 ผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effect) มีค่าความแตกต่างของความชัน (Slope) เท่ากับ -2.74, 0.58, -3.99, -0.32, -5.89 ตามลำดับ มีค่า LOD เท่ากับ 0.0115, 0.0051, 0.0012, 0.1200, 0.0055 กรัมต่อหนึ่งร้อยกรัม ตามลำดับ การทดสอบเหล็กจากสารที่ทราบค่า 3 ระดับความเข้มข้น 0.65, 14.58, 44.06%Fe คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 100.19, 101.32, 101.23 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.23, 0.38, 0.28 มีค่า %RSU เท่ากับ 13.94, 2.54, 2.20 ตามลำดับ การทดสอบสังกะสีจากสารที่ทราบค่า 3 ระดับความเข้มข้น 0.65, 14.37, 47.97%Zn คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 96.47, 101.94, 101.95 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.72, 0.28, 0.28 มีค่า %RSU เท่ากับ 5.28, 1.72, 2.19 ตามลำดับ การทดสอบแมงกานีสจากสารที่ทราบค่า 4 ระดับความเข้มข้น 0.65, 14.05, 27.76, 31.40%Mn คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 96.23, 98.99, 101.76, 99.06 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.27, 0.43, 0.45, 1.28 มีค่า %RSU เท่ากับ 3.62, 5.11, 2.08, 3.08 ตามลำดับ การทดสอบทองแดงจากสารที่ทราบค่า 3 ระดับความเข้มข้น 0.65, 15.98, 47.40%Cu คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 97.87, 101.70, 99.47 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.25, 0.19, 0.25 มีค่า %RSU เท่ากับ 12.14, 3.44, 2.89 ตามลำดับ การทดสอบโมลิบดีนัมจากสารที่ทราบค่า 4 ระดับความเข้มข้น 0.0639, 1.0018, 39.65, 54.33%Mo คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 96.96, 100.66, 98.07, 98.08 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.22, 0.36, 0.38, 0.17 มีค่า %RSU เท่ากับ 9.92, 2.36, 3.33, 2.21 ตามลำดับ จากการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยง พบว่า วิธีทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ด้วยเทคนิคอินดักทีฟลิคิฟเปิลพลาสมาสเปกโตรเมทรี มีความถูกต้อง ผ่านเกณฑ์ยอมรับ %Recovery และมีความเที่ยง ผ่านเกณฑ์ยอมรับ $\text{HorRat} \leq 1.3$ ดังนั้นวิธีทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัมช่วงระดับความเข้มข้น 0.65 - 44.06%Fe, 0.65 - 47.97%Zn, 0.65 - 31.40%Mn, 0.65 - 47.4%Cu และ 0.064 - 54.33%Mo มีความเหมาะสมสามารถทดสอบตัวอย่างปุ๋ยเคมีในรูปแบบที่ละลายน้ำได้ ส่วนประเมินค่าความไม่แน่นอนจาก Repeatability, Reproducibility การทดสอบเหล็กที่ 3 ระดับความเข้มข้น 1.07, 7.34, 15.14%Fe มีค่า %RSU เท่ากับ 7.09, 4.64, 7.54 ตามระดับความเข้มข้น การทดสอบสังกะสีที่ 3 ระดับความเข้มข้น 2.92, 5.05, 31.30%Zn มีค่า %RSU เท่ากับ 19.45, 15.20, 11.04 ตามระดับความเข้มข้น การทดสอบแมงกานีสที่ 4 ระดับความเข้มข้น 1.52, 5.44, 8.83, 32.30%Mn มีค่า %RSU เท่ากับ 7.13, 5.56, 8.24, 2.46 ตามระดับความเข้มข้น การทดสอบทองแดงที่ 3 ระดับความเข้มข้น 1.06, 2.57, 13.80%Cu มีค่า %RSU เท่ากับ 7.89, 8.26, 7.80 ตามระดับความเข้มข้น การทดสอบโมลิบดีนัมที่ 3 ระดับความเข้มข้น 0.15, 7.95, 55.00%Mo มีค่า %RSU เท่ากับ 27.00, 7.19, 4.18 ตามระดับความเข้มข้น ค่าความไม่แน่นอนที่ประเมินจาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ (Repeatability standard deviation; S_r) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ (Reproducibility standard deviation; S_p) ของแต่ละห้องปฏิบัติการเทียบกับค่าจริงที่กำหนดตามตาราง 95%ความเชื่อมั่นผ่านเกณฑ์ยอมรับ

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ; เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัมที่ละลายน้ำ

บทนำ

การนำวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น หรือวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่มีอยู่แล้ว มาใช้ใน ห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หลัก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัมในรูป ที่ละลายน้ำ (EN 16962, 2018) มีความเหมาะสมหรือไม่ก่อนนำมาใช้งาน เพื่อบรรณาการทดสอบธาตุอาหารรองตาม ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียน ตาม พระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 (ราชกิจจานุเบกษา, 2564) ทางด้านข้อกำหนดด้านคุณภาพ ตาม ISO/IEC 17025 : 2017 กำหนดให้วิธีการวิเคราะห์ที่ นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการต้องได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ซึ่งเป็นการพิสูจน์ว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสม สามารถนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์การใช้งาน โดยจัดทำหลักฐานยืนยันเพื่อแสดงถึงประสิทธิภาพของวิธีทดสอบ (นันทนา กันยานุวัฒน์ และนุชนาท นาคำ, 2555) ซึ่งสามารถพิจารณาได้จาก 1. ความเป็นเส้นตรง (Linearity) คือ ความสามารถ ของวิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลการวิเคราะห์เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนดประเมิน จากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) 2. การหาขีดจำกัดในการตรวจพบ ที่วิธีวิเคราะห์ สามารถตรวจพบได้ (Limit of detection; LOD) และหาขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ LOQ (Limit of quantitation) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีลักษณะเนื้อสารเหมือนตัวอย่าง แต่ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Sample blank) ค่า LOD ได้จาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) หรือรวมกับค่าเฉลี่ยเมื่อตัวอย่างแบบลงค์มีสัญญาณ ส่วนการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถรายงานปริมาณได้โดยที่มีความแม่นยำ และความ เทียง โดยทั่วไป LOQ คือ 10 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน หรือรวมกับค่าเฉลี่ยเมื่อตัวอย่างแบบลงค์มีสัญญาณ ยืนยันค่า LOQ ของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีปริมาณสารเท่ากับค่า LOQ ต้องได้ผลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ ความแม่นยำ (Accuracy) ประกอบด้วย ความถูกต้อง (Trueness) ที่เกิดจากความคลาดเคลื่อนของระบบ กับความเที่ยง (Precision) ที่เกิดจาก ความคลาดเคลื่อนแบบสุ่ม ความถูกต้องจะพิจารณาในรูปแบบของ ความเอนเอียง (Barwick, 2016) โดยการเปรียบเทียบ ผลวิเคราะห์ที่ได้กับค่ารับรองของ วัสดุอ้างอิงรับรอง หรือค่าที่ยอมรับ ความเที่ยง เป็นการแสดงความใกล้เคียงของผล การวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันซ้ำ ภายใต้สภาวะทดสอบที่กำหนด สภาวะการหาข้อมูลแบบแรก เป็นการวิเคราะห์ภายใต้ สภาวะเดิมทั้งหมด ได้แก่ ตัวอย่าง เครื่องมือ สารเคมี วิธีทดสอบ (Repeatability condition) แบบที่สองเป็นการ วิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดิม ในห้องปฏิบัติการเดิม ในช่วงเวลาหนึ่ง ซึ่งสามารถครอบคลุมการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดขึ้น เช่น ผู้ทดสอบ เครื่องมือ สารเคมี (Intermediate precision condition) แบบที่สามเป็นสภาวะการวิเคราะห์ตัวอย่างเดิม ต่างห้องปฏิบัติการ การประเมินผลความเที่ยง โดยใช้ HorRat (Horwitz' Ratio) และกำหนดเกณฑ์ยอมรับ โดย เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation; RSD) ที่ได้จากการวิเคราะห์ กับ เปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ที่ได้จากการคำนวณความเข้มข้นของสาร โดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่ทราบค่า แน่นนอน หรือวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material; CRM) ที่มีใบรับรอง และสามารถสอบกลับไปยัง ใบรับรอง หรือเอกสารอื่นใดที่ออกโดยหน่วยงานที่ให้การรับรอง ให้ครอบคลุมระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ของ ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีการพิสูจน์ความแม่นยำ และความเที่ยงในตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะของเนื้อสาร (Matrix) เดียวกับ ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ลงในตัวอย่าง (Cantwell, 2025)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Inductively coupled plasma– optical emission spectrometer (ICP-OES)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องแก้วปริมาตร class A ได้แก่ volumetric flask, pipette
4. เครื่องเขย่าสารละลาย
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง
6. กระดาษกรองเบอร์ 5
7. หลอดพลาสติกปั่นเหวี่ยง
8. อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย
9. sample blank (64I-1129 สูตรปฏิกิริยา 6-32-32)
10. วัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference material) วัสดุอ้างอิง (reference material) และสารที่ทราบค่า

วิธีการ

1. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี (แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ, 2552) โดยปรับสถานะของเครื่อง ได้แก่ Plasma flow, Auxiliary flow, Nebulizer flow, RF-power, Flow rate และ Flush time
2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ
 - 2.1 หาช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Instrument working range and linearity range)
 - 2.1.1 ชั่งตัวอย่างปฏิกิริยา Sample blank เติมสารแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน 7 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
 - 2.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปฏิกิริยาเคมีธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปแบบที่ละลายน้ำได้ และสารหนู (กรมวิชาการเกษตร, 2565) โดยวัดด้วยเครื่อง ICP-OES สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กับสัญญาณของเครื่องมือ
 - 2.1.3 ประเมินค่า Correlation determination ; R^2)
 - 2.2 การศึกษาผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effect) โดยเปรียบเทียบความชัน (Slope) ของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟของสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปฏิกิริยา เกณฑ์การคำนวณ %RPD < 10 (NATA, 2018)
 - 2.3 การศึกษาความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีทดสอบภายในห้องปฏิบัติการเดียว (Single-laboratory approach) ด้วยเทคนิค Inductively couple plasma spectrometry
 - 2.3.1 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection ; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation ; LOQ)
 - 2.3.1.1 ชั่งตัวอย่างปฏิกิริยา Sample blank จากนั้นดำเนินการตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปฏิกิริยาเคมีธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปแบบที่ละลายน้ำได้ และสารหนู (กรมวิชาการเกษตร, 2565) โดยวัดด้วยเครื่อง ICP-OES จำนวน 10 ซ้ำ
 - 2.3.1.2 คำนวณค่า Standard deviation (SD) ของการวิเคราะห์ตัวอย่างเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม

2.3.1.3 คำนวณค่า LOD และ LOQ จากสูตร

$$\text{LOD} = \text{ค่าเฉลี่ยตัวอย่างปฏิกิริยาที่ไม่มีธาตุที่สนใจ} (\bar{X}) + 3\text{SD} \quad \dots(1)$$

$$\text{LOQ} = \text{ค่าเฉลี่ยตัวอย่างปฏิกิริยาที่ไม่มีธาตุที่สนใจ} (\bar{X}) + 10\text{SD} \quad \dots(2)$$

2.3.2 ศึกษาลักษณะตัวอย่างปฏิกิริยา ที่ส่งผลกระทบต่อขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ

เตรียมตัวอย่างปฏิกิริยาที่ส่งผลกระทบต่อขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารรอง ในรูปที่ละลายน้ำได้ อย่างน้อย 4 ตัวอย่าง

2.3.3 หาค่าความถูกต้อง และความเที่ยง ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

จัดเตรียม วัสดุ อุปกรณ์ สารมาตรฐาน ที่ต้องใช้ในการทดสอบ และจัดหาสารที่ทราบค่า ในรายการวิเคราะห์หลัก ได้แก่ $14.58 \pm 0.05\% \text{Fe}$, $44.06\% \text{Fe}$ รายการวิเคราะห์สังกะสี ได้แก่ $15.66\% \text{Zn}$, $47.49\% \text{Zn}$ รายการวิเคราะห์แมงกานีส ได้แก่ $11.85\% \text{Mn}$, $31.4\% \text{Mn}$ รายการวิเคราะห์ทองแดง ได้แก่ $15.98\% \text{Cu}$, $47.4\% \text{Cu}$ รายการวิเคราะห์โมลิบดีนัม ได้แก่ $1.0018 \pm 0.0005\% \text{Mo}$, $39.65\% \text{Mo}$, $54.33\% \text{Mo}$

2.3.3.1 ชั่งตัวอย่างปฏิกิริยา Sample blank เติมสารที่ทราบค่าระดับความเข้มข้น LOQ (ต่ำ) ความเข้มข้นกลาง สูง จำนวนธาตุละ 10 ชั่ง (โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาต่างวัน วันละ 1 ชั่ง เป็นเวลา 10 วัน)

2.3.3.2 ดำเนินการตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปฏิกิริยาเคมีธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู โดยวัดด้วยเครื่อง ICP-OES

2.3.3.3 ประเมินผลการทดสอบ และคำนวณทางสถิติ % Recovery และ HorRat < 1.3 (AOAC, 2023)

การคำนวณ % Recovery จากสูตร

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์} \times 100}{\text{ค่าจริง}} \quad \dots(3)$$

การคำนวณ Precision

$$\text{HorRat (r)} = \frac{\text{RSD (r)}}{\text{PRSD (R)}} \quad \dots(4)$$

$$\text{RSD (r)} = \frac{\text{SD}}{\text{mean}} \times 100 \quad \dots(5)$$

$$\text{PRSD (R)} = 2C^{-0.15} \quad \dots(6)$$

เมื่อ C (mass fraction) คือ ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ $\times 10^{-6}$ เมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

2.4 ประเมินค่าความไม่แน่นอนในการวัด แบบ Bottom-up approach โดยคำนึงถึงความไม่แน่นอนทุกแหล่งย่อย (EURACHEM /CITAC Guide, 2012)

2.4.1 สร้างแผนภูมิขั้นตอนการทดสอบอย่างย่อ (Flowchart diagram analysis)

2.4.2 กำหนดสูตรในการคำนวณสิ่งที่วัด

2.4.3 หาที่มาของแหล่งความไม่แน่นอนของการวัด โดยพิจารณาจากแหล่งความไม่แน่นอนจากสูตรการคำนวณ แล้วจัดทำแผนภูมิแก่งปลา

2.4.4 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบหลัก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัมที่ละลายน้ำ

โดยหาค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแก่งปลาย่อยในแก่งปลาหลัก และรวมค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแก่งปลาหลัก จากนั้นแปลงค่าความไม่แน่นอนแต่ละแหล่งเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน

โดยนำค่าความไม่แน่นอนที่ได้หารด้วยตัวหาร (Divisor ; d) ตัวหาร รวมค่าความไม่แน่นอนแต่ละแหล่ง (Combined uncertainty) และขยายค่าความไม่แน่นอนรวม (Expanded uncertainty) โดยคูณด้วยค่า Coverage factor (k) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ให้ค่า k = 2

- 2.5 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) จาก Repeatability, Reproducibility
 - 2.5.1 สรรหาห้องปฏิบัติการ (Recruitment of the laboratories) เพื่อเข้าร่วมการทดสอบ
 - 2.5.1 เตรียมตัวอย่างปฏิกิริยา (Preparation of the materials) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 เพื่อการทดสอบหลัก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และ โมลิบดีนัม แต่ละรายการที่ระดับความเข้มข้น (Level) ต่ำ กลาง และ สูง จำนวน 6 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 20 กรัม
 - 2.5.3 กำหนดรายละเอียดที่ใช้ในการทดสอบและรายงานผลการทดสอบ
 - 2.5.4 ดำเนินการวิเคราะห์ตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ ละลายน้ำได้ และสารหนู
 - 2.5.5 วิเคราะห์ผลทางสถิติ (Statistical analysis) ตาม ISO 5725-2 (2019)
 - 2.5.6 สรุปผลการทดสอบ และประเมินค่าความไม่แน่นอน ตาม (ISO 21748, 2017)
3. ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) (Miller et al., 2018)
 - 3.1 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ด้วยการทดสอบ Ruggedness วางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ โดยใช้สถิติ Youden-Steiner testing ดังตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง

ตัวแปรที่	สัญลักษณ์ตัวแปร	สภาวะ	ปกติ (A-G)	เปลี่ยนแปลง (a-g)
1	A/a	ปริมาตรน้ำกลั่นก่อนเขย่า	100 mL	150 mL
2	B/b	ความเร็วรอบการเขย่า	200 rpm	180 rpm
3	C/c	ระยะเวลาการเขย่า	30 นาที	25 นาที
4	D/d	ส่วนใสของสารละลายตัวอย่าง	กรองผ่านกระดาษกรอง No. 5	Centrifuge
5	E/e	ความเข้มข้นกรดในปริมาตรสุดท้าย	0.50 M HNO ₃	0.45 M HNO ₃
6	F/f	Pipette	Volumetric pipette 20 mL	Auto pipette 20 mL
7	G/g	ระยะเวลาการเตรียมสารละลายตัวอย่าง	3 ชั่วโมง	4 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 แสดงการวางแผนการทดลอง

Experiment	Design								%Recovery
1	A	B	C	D	E	F	G	R ₁	
2	A	B	c	D	e	f	g	R ₂	
3	A	b	C	d	E	f	g	R ₃	
4	A	b	c	d	e	F	G	R ₄	
5	a	B	C	d	e	F	g	R ₅	
6	a	B	c	d	E	f	G	R ₆	
7	a	b	C	D	e	f	G	R ₇	
8	a	b	c	D	E	F	g	R ₈	

- 3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตามแผนการทดลองแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน โดยใช้ $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, MgCl_2 และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ตามลำดับ
- 3.3 คำนวณผลกระทบของตัวแปร (E) ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร จาก 8 การทดลอง
- 3.4 พิจารณาค่า |E| ของแต่ละตัวแปร 7 ตัวแปร โดยถ้า
|E| > S แสดงว่า มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมของการทดสอบ (David Harvey, 2008)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

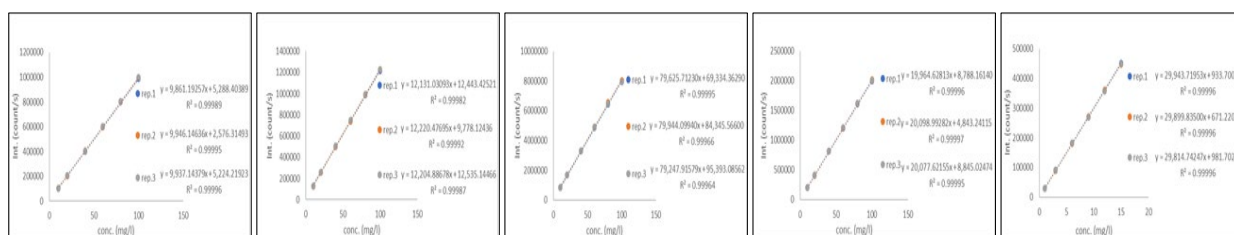
1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี

สภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ที่ความยาวคลื่น (Wavelength) 238.204, 213.857, 257.610, 327.393 และ 202.031 นาโนเมตร ตามลำดับ ใช้มุมมอง (Plasma view) Radial สำหรับวิเคราะห์ธาตุเหล็ก สังกะสี แมงกานีส และทองแดง ส่วนมุมมอง Axial สำหรับวิเคราะห์ธาตุโมลิบดีนัม ค่า Plasma flow, Auxiliary flow, Nebulizer flow, RF-power, Flow rate และ Flush time ที่ 15 ลิตรต่อนาที, 0.2 ลิตรต่อนาที, 0.8 ลิตรต่อนาที, 1300 วัตต์, 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และ 15 วินาที ตามลำดับ

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

2.1 หาช่วงใช้งานที่เป็นเส้นตรง (Instrument working range and linearity range)

ช่วงความเป็นเส้นตรง และช่วงใช้งาน (Linearity range and Instrument working range) (Eurachem, 2025) ผลการวิเคราะห์สารเหล็ก สังกะสี แมงกานีส และทองแดง ที่เตรียมจาก 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของสาร EDTA-Fe, EDTA-Zn, EDTA-Mn, EDTA-Cu, ช่วงความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายมาตรฐานโมลิบดีนัม ที่เตรียมจาก 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของสาร $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ช่วงความเข้มข้น 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง ICP-OES โดยพล็อตค่า Intensity (แกน y) ต่อ ความเข้มข้น (แกน x) ทำนายความเป็นเส้นตรงจากสมการถดถอย (Regression) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) เท่ากับ 0.999 ดังภาพที่ 1



(a) เหล็ก

(b) สังกะสี

(c) แมงกานีส

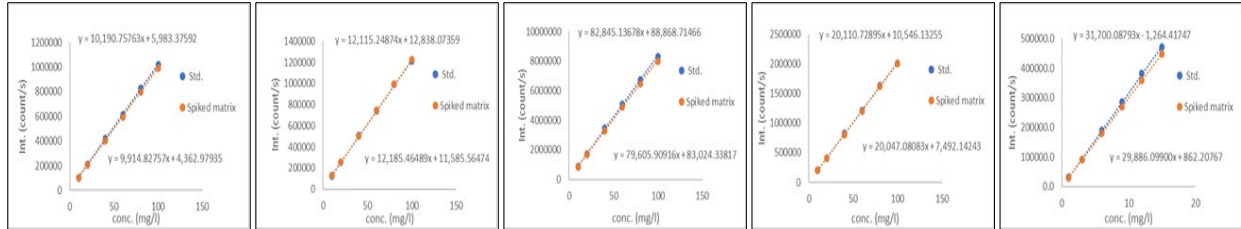
(d) ทองแดง

(e) โมลิบดีนัม

ภาพที่ 1 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของกราฟสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุ๋ย Sample blank

2.2 การศึกษาผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effect)

การวิเคราะห์ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน พบว่า กราฟสารละลายมาตรฐาน และสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุย Sample blank มีค่าความแตกต่างของความชัน (Slope) เท่ากับ 0.85, 0.11, 1.62 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์กำหนด % RPD ของ Slope < 10% (NATA, 2018) ดังภาพที่ 2



(a) เหล็ก (b) สังกะสี (c) แมงกานีส (d) ทองแดง (e) โมลิบดีนัม

ภาพที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบความชันของกราฟสารละลายมาตรฐาน และกราฟของสารละลายมาตรฐานที่เติมตัวอย่างปุย Sample blank a) เหล็ก b) สังกะสี c) แมงกานีส d) ทองแดง e) โมลิบดีนัม

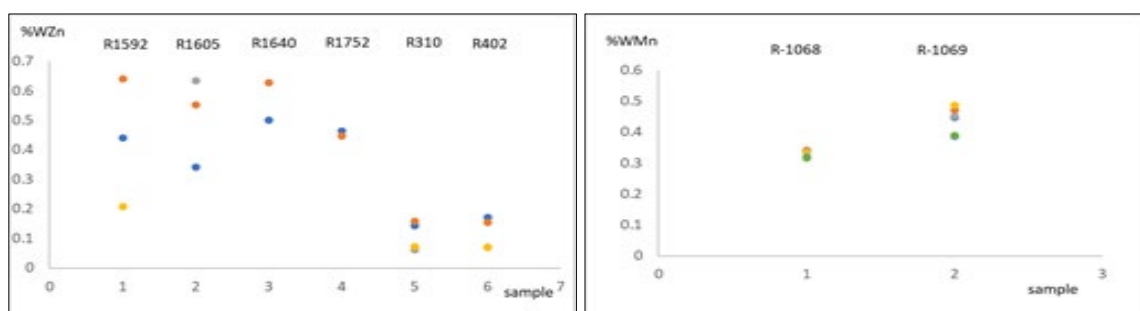
2.3 การศึกษาความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของวิธีทดสอบภายในห้องปฏิบัติการเดียว (Single-laboratory approach) ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี

2.3.1 หาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ)

โดยทำนายค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation; LOQ) (Eurachem, 2025) การทำนาย LOD จากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างปุย Sample blank (LOD base on the standard deviation of the blank) พบว่ามีค่า LOD ($\bar{X} + 3SD$) เท่ากับ 0.0115, 0.0051, 0.0012, 0.0120, 0.0055 เปอร์เซ็นต์ และ LOQ ($\bar{X} + 10SD$) ที่ได้จากการทำนาย (Predicted) เท่ากับ 0.0239, 0.0187, 0.0029, 0.0270, 0.0121 เปอร์เซ็นต์ ในรายการวิเคราะห์เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ตามลำดับ

2.3.2 ศึกษาลักษณะตัวอย่างปุย ที่ส่งผลต่อขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ

อย่างไรก็ตามไม่สามารถรายงานผลได้อย่างแม่นยำครอบคลุมทุกเมทริกซ์ตามขีดจำกัดเชิงปริมาณที่ได้ทำนายเนื่องจากลักษณะตัวอย่างปุยที่มีอนุภาคขนาดเล็กแต่ไม่ละลายน้ำนั้น ส่งผลต่อขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยธาตุอาหารรอง ในรูปที่ละลายน้ำได้ ซึ่งจากการทดสอบตัวอย่างปุยที่มีอนุภาคขนาดเล็กกว่ารูพรุนของกระดาษกรองเบอร์ 5 (2.5 ไมครอน) และสารละลายที่ผ่านกระดาษกรอง หรือจากการปั่นเหวี่ยงนั้น จะได้สารละลายขุ่นเพียงเล็กน้อย พบว่า ผลการทดสอบในรายการทดสอบสังกะสีจำนวน 6 ตัวอย่าง แมงกานีสจำนวน 2 ตัวอย่าง มีค่าอยู่ในช่วง 0.07 – 0.64%Zn, 0.32 – 0.49%Mn ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 จึงจำเป็นต้องเพิ่มขีดจำกัดเชิงปริมาณเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง ที่ระดับความเข้มข้น 0.65 และโมลิบดีนัมที่ระดับความเข้มข้น 0.065 เปอร์เซ็นต์



(a) สังกะสี

(b) แมงกานีส

ภาพที่ 3 แสดงผลการทดสอบของตัวอย่างปุ๋ยที่มีลักษณะอนุภาคขนาดเล็ก a) สังกะสี b) แมงกานีส

2.3.3 หาค่าความถูกต้อง และความเที่ยง ที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง

2.3.3.1 การทดสอบเหล็กจากสารที่ทราบค่า 3 ระดับความเข้มข้น 0.65, 14.58 และ 44.06%Fe คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 100.19, 101.32 และ 101.23 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.23, 0.38 และ 0.28 ตามลำดับ

2.3.3.2 การทดสอบสังกะสีจากสารที่ทราบค่า 3 ระดับความเข้มข้น 0.65, 14.37 และ 47.97%Zn คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 96.47, 101.94 และ 101.18 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.72, 0.28 และ 0.13 ตามลำดับ

2.3.3.3 การทดสอบแมงกานีสจากสารที่ทราบค่า 4 ระดับความเข้มข้น 0.65, 11.87, 27.76 และ 31.40%Mn คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 96.23, 98.91, 101.76 และ 99.06 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.27, 0.42, 0.45 และ 1.28 ตามลำดับ

2.3.3.4 การทดสอบทองแดงจากสารที่ทราบค่า 3 ระดับความเข้มข้น 0.65, 14.54 และ 47.40%Cu คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 97.87, 101.70 และ 99.49 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.25, 0.19 และ 0.25 ตามลำดับ

2.3.3.5 การทดสอบโมลิบดีนัมจากสารที่ทราบค่า 4 ระดับความเข้มข้น 0.0639, 1.0018, 39.65 และ 54.33%Mo คำนวณค่า %Recovery ได้เท่ากับ 96.96, 100.66, 98.07 และ 98.08 ค่า HorRat ได้เท่ากับ 0.22, 0.36, 0.38 และ 0.17 ตามลำดับ

2.4 ประเมินค่าความไม่แน่นอนในการวัด แบบ Bottom-up approach โดยคำนึงถึงความไม่แน่นอนทุกแหล่งย่อย (EURACHEM /CITAC Guide, 2012)

2.4.1 สร้างแผนภูมิขั้นตอนการทดสอบอย่างย่อ (Flowchart diagram analysis)

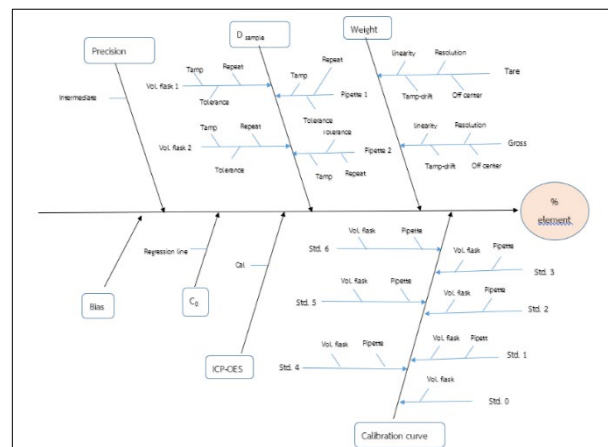
2.4.2 กำหนดสูตรในการคำนวณสิ่งที่วัด

$$\% \text{ WCa, WMg, WS} = \frac{(\text{mg/l from standard curve}) \times \text{dilution factor} \times 100}{\text{wt. of sample (g)} \times 10^6}$$

```

graph TD
    A([0.50xx g in volumetric flask 250 ml]) --> B[Shaking to mix, 30 min]
    C[Water Up to the mark line and mix] --> D[Filtration]
    D --> E[Solution in plastic ware]
    E --> F[Pipette 20 ml in volumetric flask 25, 50, 100, 250 ml]
    F --> G[Water Up to the mark line and mix 0.5M HNO3 in final volume]
    H[standard 1000 ppm] --> I[Working standard solution ≥ 6 point 0.5M HNO3 in final volume]
    G --> J[Measurement by ICP-OES]
    I --> J

```



ภาพที่ 4 แสดงแผนภูมิขั้นตอนการทดสอบ และแผนภูมิแก่งปลา

2.5 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) จาก Repeatability, Reproducibility

ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการฝึกอบรมตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู โดยห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมการทดสอบ ได้แก่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย ห้องปฏิบัติการบริษัท ไอ ซี พี อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ห้องปฏิบัติการบริษัทไทยเซ็นทรัล จำกัด (มหาชน) สาขาพระนครศรีอยุธยา ห้องปฏิบัติการบริษัทไทยเซ็นทรัล จำกัด (มหาชน) สาขาสุมทปรการ ห้องปฏิบัติการบริษัทเอสจีเอส จำกัด ห้องปฏิบัติการบริษัทแนสโกร จำกัด และห้องปฏิบัติการบริษัทเทอรากอร์เฟอร์ติไลเซอร์ จำกัด

ตารางที่ 3 ผลการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) และความไม่แน่นอนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง

Parameter	Material	Concentration level (g/100g)	Trueness			Precision			Result ± uncertainty (g/100g)	%Relative standard uncertainty (%RSU)
			Mean (g/100g)	SD	%Recovery	% RSD _i	PRSD _R	HorRat		
Fe	EDTA-Fe (dilution)	0.6500	0.6512	0.0064	100.19	0.99	4.27	0.23	0.65±0.09	13.94
	EDTA-Fe	14.58	14.77	0.15	101.32	1.01	2.67	0.38	14.77±0.38	2.54
	FeCl ₂	44.06	44.60	0.28	101.23	0.63	2.26	0.28	44.60±0.98	2.20
Zn	EDTA-Zn (dilution)	0.6500	0.6271	0.0192	96.47	3.07	4.29	0.72	0.63±0.03	5.28
	EDTA-Zn	14.37	14.65	0.11	101.94	0.75	2.67	0.28	14.65±0.27	1.72
	ZnCl ₂	47.97	48.54	0.31	101.18	0.64	4.77	0.13	48.54±1.06	2.19
Mn	EDTA-Mn (dilution)	0.6500	0.6255	0.0073	96.23	1.17	4.29	0.27	0.63±0.02	3.62
	EDTA-Mn	11.87	11.74	0.14	98.91	1.16	2.76	0.42	11.74±0.60	5.11
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	27.76	28.25	0.31	101.76	1.08	2.42	0.45	28.25±0.59	2.08
	MnSO ₄ ·xH ₂ O	31.40	31.11	0.95	99.06	3.06	2.38	1.28	31.11±0.96	3.08
Cu	EDTA-Cu (dilution)	0.6500	0.6361	0.0120	97.87	1.88	7.58	0.25	0.64±0.08	12.14
	EDTA-Cu	14.54	14.79	0.07	101.70	0.50	2.67	0.19	14.79±0.51	3.44
	CuCl ₂	47.40	47.16	0.26	99.49	0.55	2.24	0.25	47.16±1.36	2.89
Mo	Std. Mo (dilution)	0.0639	0.0620	0.0008	96.96	1.34	6.08	0.22	0.062±0.006	9.90
	Std. Mo	1.0018	1.0084	0.0143	100.66	1.42	3.99	0.36	1.01±0.02	2.36
	(Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	39.65	38.89	0.34	98.07	0.87	2.31	0.38	38.89±1.29	3.33
	(NH ₄) ₂ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	54.33	53.29	0.20	98.08	0.38	2.20	0.17	53.29±1.18	2.21

2.5.2 เตรียมตัวอย่างปุย (Preparation of the materials) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 เพื่อการทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม แต่ละรายการที่ระดับความเข้มข้น (Level) ต่ำ กลาง และ สูง จำนวน 9 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 20 กรัม ดังนี้

- 2.5.2.1 ตัวอย่างที่ 1 วิเคราะห์สังกะสี แมงกานีส ความเข้มข้นโดยประมาณ 3%Zn, 5%Mn
- 2.5.2.2 ตัวอย่างที่ 2 วิเคราะห์สังกะสี 32%Zn
- 2.5.2.3 ตัวอย่างที่ 3 วิเคราะห์เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม 1%Fe, 1%Mn, 1%Cu, 0.1%Mo
- 2.5.2.4 ตัวอย่างที่ 4 วิเคราะห์เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง 7%Fe, 5%Zn, 9%Mn, 2%Cu
- 2.5.2.5 ตัวอย่างที่ 5 วิเคราะห์เหล็ก 15%Fe
- 2.5.2.6 ตัวอย่างที่ 6 วิเคราะห์แมงกานีส 32%Mn
- 2.5.2.7 ตัวอย่างที่ 7 วิเคราะห์ทองแดง 14%Cu
- 2.5.2.8 ตัวอย่างที่ 8 วิเคราะห์โมลิบดีนัม 8%Mo
- 2.5.2.9 ตัวอย่างที่ 9 วิเคราะห์โมลิบดีนัม 54%Mo

2.5.3 กำหนดรายละเอียดที่ใช้ในการทดสอบ

- 2.5.3.1 เทคนิคการทดสอบ Inductively coupled plasma spectrometry
- 2.5.3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Working standard) อย่างน้อย 6 จุด
- 2.5.3.3 จำนวนซ้ำของการทดสอบ 3 ซ้ำ
- 2.5.3.4 การชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.5xxx กรัม
- 2.5.3.5 การเจือจางสารละลาย เท่ากับ ปริมาตรเริ่มต้น $\times \frac{\text{ปริมาตรของขวดวัดปริมาตร}}{\text{ปริมาตรของสารละลายที่ปิเปต}}$

2.5.3.6 การรายงานผลการทดสอบด้วยตัวเลขทศนิยม 2 ตำแหน่งในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (%)

2.5.4 ดำเนินการตามคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู

2.5.5 วิเคราะห์ผลทางสถิติ (Statistical analysis) ตาม ISO 5725-2 (2019)

การทดสอบเหล็ก แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลางและสูง จำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมตามระดับความเข้มข้นอยู่ในช่วง 5 - 7 ห้องปฏิบัติการ ค่าเฉลี่ยของแต่ละห้องปฏิบัติการ ของแต่ละระดับความเข้มข้น ดังตารางที่ 8 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ดังตารางที่ 9 และผลการทดสอบของแต่ละห้องปฏิบัติการแตกต่างจากค่ากลาง (m) ดังภาพที่ 6

การตรวจสอบ Outliers ของข้อมูลค่าเฉลี่ย โดยใช้สถิติ Grubbs' test ที่ 1 จุดต่ำสุด และ 1 จุดสูงสุด พบว่า G_{exp} น้อยกว่า G_{crit} การทดสอบไม่มีนัยสำคัญ ปฏิเสธ H_0 ไม่เป็น outliers และที่ 2 จุด ต่ำสุดและ 2 จุดสูงสุด พบว่า G_{exp} มากกว่า G_{crit} การทดสอบไม่มีนัยสำคัญ ปฏิเสธ H_0 ไม่เป็น Outliers ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยผลการทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ในปุ๋ยเคมี

Laboratory	Cell means (ȳ _j)											
	Fe			Zn			Mn			Cu		
	Level	1	2	Level	1	2	Level	1	2	Level	1	2
1	1.11	7.19	14.73	2.80	5.01	29.96	1.53	5.43	8.42	31.77	1.07	7.87
2	1.03	7.59	14.35	2.87	5.35	32.41	1.48	5.66	8.84	32.31	1.05	8.22
3	1.05	7.46	14.78	2.70	4.53	29.74	1.59	5.42	-	2.52	0.13	7.75
4	1.09	7.27	15.25	2.65	4.56	28.91	1.49	5.22	8.58	-	0.15	8.16
5	1.03	7.43	15.43	3.49	5.44	32.85	1.51	5.41	9.28	32.63	1.10	8.23
6	1.07	7.24	15.65	3.02	5.14	32.30	1.52	5.45	-	32.52	1.01	7.66
7	1.10	7.20	15.76	2.92	5.34	32.92	1.54	5.48	9.04	32.30	1.07	7.73

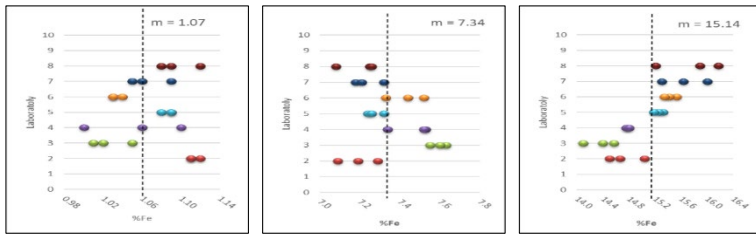
ตารางที่ 9 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานผลการทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ในปุ๋ยเคมี

Laboratory	Standard deviations (S _j)											
	Fe			Zn			Mn			Cu		
	Level	1	2	Level	1	2	Level	1	2	Level	1	2
1	0.006	0.100	0.277	0.025	0.052	0.762	0.040	0.200	0.373	0.012	0.006	0.244
2	0.021	0.040	0.243	0.032	0.150	0.410	0.006	0.055	0.226	0.035	0.000	0.253
3	0.050	0.107	0.020	0.015	0.046	0.501	0.017	0.055	-	0.015	0.006	0.068
4	0.006	0.042	0.070	0.025	0.021	0.241	0.006	0.056	0.051	0.006	0.006	0.092
5	0.006	0.095	0.095	0.059	0.071	0.185	0.095	0.223	0.221	0.378	0.080	0.195
6	0.021	0.074	0.350	0.020	0.046	0.196	0.036	0.061	-	0.174	0.021	0.087
7	0.021	0.101	0.498	0.015	0.192	0.164	0.052	0.081	0.095	0.025	0.012	0.097

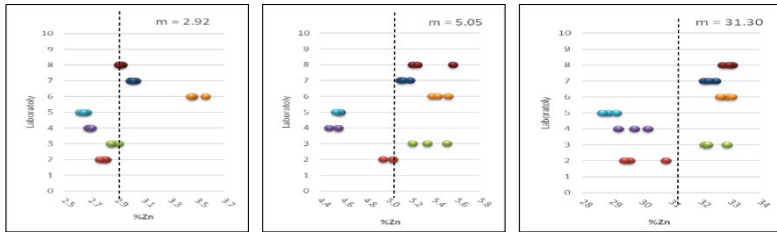
ตารางที่ 10 แสดงผลการตรวจสอบ Outliers โดยใช้ Grubbs' test รายการทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม

Level	Fe						Zn						Mn						Cu						Type of test					
	Single			Double			Single			Double			Single			Double			Single			Double								
	Low	High		Low	High		Low	High		Low	High		Low	High		Low	High		Low	High		Low	High							
1	1.394	1.440		0.5922	0.5803		1.101	2.050		0.9721	0.9508		1.208	1.529		0.9345	0.7052		1.117	2.116		1.1224	0.2515		1.253	1.845		0.9492	0.8860	Grubbs' test statistics
2	1.070	1.328		0.5980	0.5940		1.508	1.059		0.9706	0.7249		1.843	1.843		0.4844	0.9806		1.361	1.850		0.9354	0.9673		1.284	1.139		0.8256	0.8348	
3	1.623	1.045		0.8418	0.6203		1.425	1.503		1.0294	0.5184		1.311	1.213		0.9902	0.5761		1.411	1.660		0.5151	1.0724		1.778	0.835		0.9773	0.1836	
4													1.680	1.252		0.6850	0.6696													

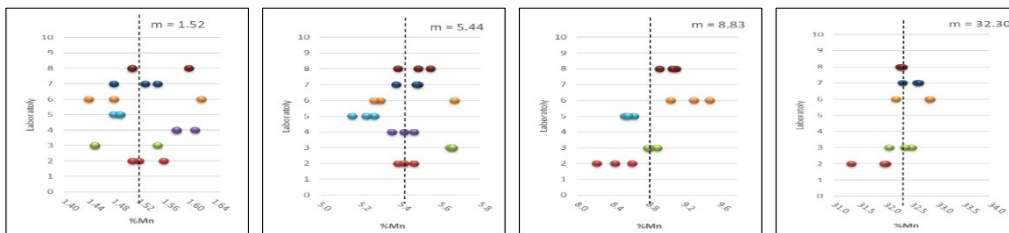
- Note :
- 1. ตรวจสอบ Outliers ที่ 1จุดต่ำสุดและ 1จุดสูงสุด พบว่า $G_{exp} < G_{crit}$ การทดสอบไม่มีนัยสำคัญ ปฏิเสธ H_0 ไม่เป็น outliers
 - 2. ตรวจสอบ Outliers ที่ 2จุดต่ำสุดและ 2จุดสูงสุด พบว่า $G_{exp} > G_{crit}$ การทดสอบมีนัยสำคัญ ปฏิเสธ H_0 ไม่เป็น outliers



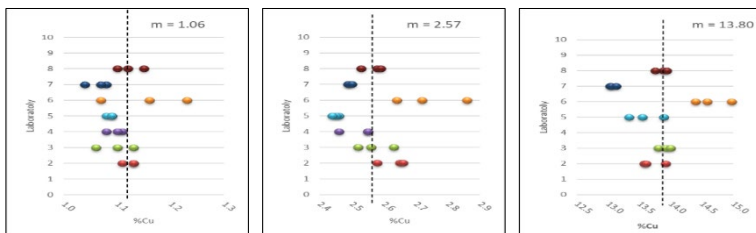
(a) เกล็ด



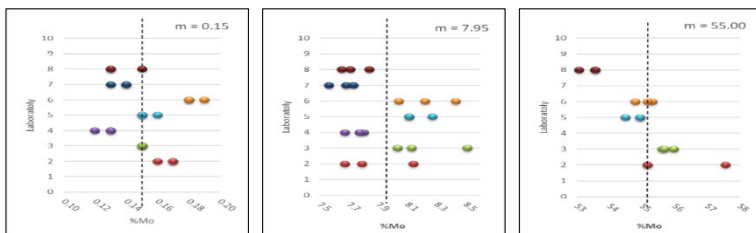
(b) สังกะสี



(c) แมงกานีส



(a) ทองแดง



(b) โมลิบดีนัม

ภาพที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยผลการทดสอบเกล็ด สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัมที่ละลายน้ำได้ในปุ๋ยเคมี

2.5.6 สรุปผลการทดสอบ และประเมินค่าความไม่แน่นอน ตาม (ISO 21748, 2017)

การทดสอบเกล็ด สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัมที่ 3, 3, 4, 3 และ 3 ระดับความเข้มข้นตามลำดับ มีห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบตามระดับความเข้มข้น พบว่าร้อยละความไม่แน่นอนของการทดสอบซ้ำ ร้อยละความไม่แน่นอนของการทดสอบจากต่างห้องปฏิบัติการ และค่าความไม่แน่นอนสัมพัทธ์ ดังตารางที่ 11 การเปรียบเทียบผลค่าความไม่แน่นอนที่คำนวณได้กับค่าความไม่แน่นอนจริงที่ 95%ความเชื่อมั่น (ISO 5725-2, 2019) ดังตาราง 12 และ ภาพที่ 7 โดยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ (Repeatability standard deviation; S_r) และ

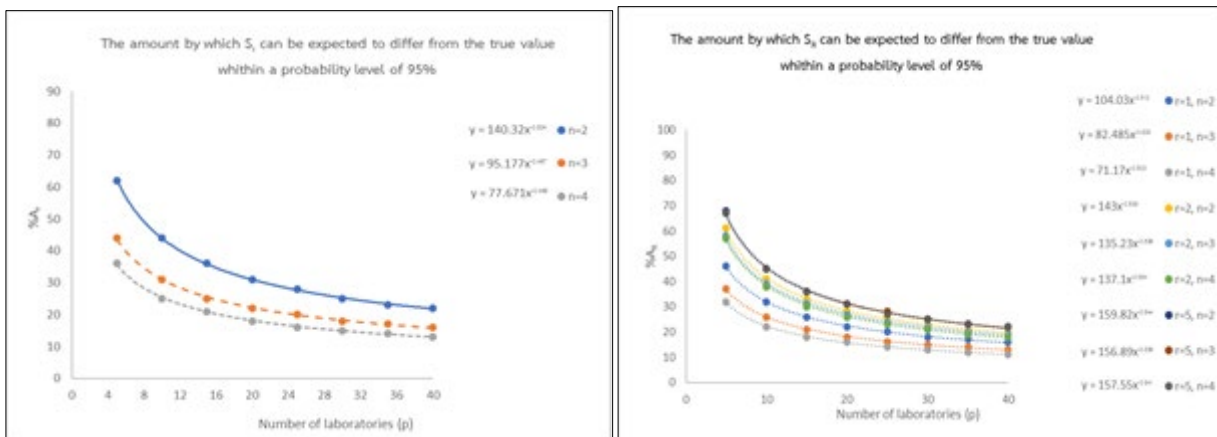
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ (Reproducibility standard deviation; S_R) ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่าค่าจริงที่ 95% ความเชื่อมั่น

ตารางที่ 11 แสดงค่าความไม่แน่นอนที่ประเมินจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ

Elements	Level	p	m	S_r	S_R	RSD_r	RSD_R	% A_r	% A_R	% A_R (ISO5725-2)	%RSU
Fe	1	7	1.07	0.024	0.038	0.022	0.035	37	44	47	7.09
	2	7	7.34	0.084	0.170	0.011	0.023	37	44	47	4.64
	3	7	15.14	0.273	0.571	0.018	0.038	37	44	47	7.54
Zn	1	7	2.92	0.032	0.284	0.011	0.097	37	43	55	19.45
	2	7	5.05	0.101	0.384	0.020	0.076	37	43	55	15.20
	3	7	31.30	0.406	1.727	0.013	0.055	37	43	55	11.04
Mn	1	7	1.52	0.050	0.054	0.033	0.036	37	46	47	7.13
	2	7	5.44	0.098	0.151	0.018	0.028	37	44	47	5.56
	3	5	8.83	0.144	0.364	0.016	0.041	44	53	57	8.24
	4	5	32.30	0.270	0.397	0.008	0.012	44	54	57	2.46
Cu	1	7	1.06	0.036	0.042	0.034	0.039	37	45	47	7.89
	2	7	2.57	0.055	0.106	0.021	0.041	37	44	47	8.26
	3	6	13.80	0.192	0.538	0.014	0.039	40	48	51	7.80
Mo	1	7	0.15	0.007	0.020	0.044	0.135	37	43	47	27.00
	2	7	7.95	0.166	0.286	0.021	0.036	37	44	47	7.19
	3	5	55.00	0.662	1.150	0.012	0.021	44	54	57	4.18

หมายเหตุ :

1. P = Number of laboratory
2. m = mean of concentration
3. S_r = Standard deviations of repeatability
4. S_R = Standard deviations of reproducibility
5. A_r = The uncertainty of an estimate for repeatability
6. A_R = The uncertainty of an estimate for reproducibility
7. U = Expanded uncertainty using a coverage factor 2, ($u(y) = S_R$) which gives a level of confidence of approximately 95% (ISO 21748, 2017)



ภาพที่ 7 กราฟจากข้อมูลจริงตาม ISO 5725-2, 2019 เปรียบเทียบผลที่ประมาณจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 12 แสดงข้อมูลจริงตาม ISO 5725-2 (2019) สำหรับเปรียบเทียบผลที่ประมาณจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ

No. of laboratories (p)	A _r			A _R								
				γ=1			γ=2			γ=5		
	n=2	n=3	n=4	n=2	n=3	n=4	n=2	n=3	n=4	n=2	n=3	n=4
5	0.62	0.44	0.36	0.46	0.37	0.32	0.61	0.58	0.57	0.68	0.67	0.67
10	0.44	0.31	0.25	0.32	0.26	0.22	0.41	0.39	0.38	0.45	0.45	0.45
15	0.36	0.25	0.21	0.26	0.21	0.18	0.33	0.31	0.3	0.36	0.36	0.36
20	0.31	0.22	0.18	0.22	0.18	0.16	0.28	0.27	0.26	0.31	0.31	0.31
25	0.28	0.20	0.16	0.2	0.16	0.14	0.25	0.24	0.23	0.28	0.28	0.27
30	0.25	0.18	0.15	0.18	0.15	0.13	0.23	0.22	0.21	0.25	0.25	0.25
35	0.23	0.17	0.14	0.17	0.14	0.12	0.21	0.2	0.19	0.23	0.23	0.23
40	0.22	0.16	0.13	0.16	0.13	0.11	0.2	0.19	0.18	0.22	0.22	0.22

Note :

1. The estimated standard deviation (S) can be expected to be within A either side of the true standard deviation (σ)
2. For a single level of the test, the uncertainty in the repeatability standard deviation depends on the number of laboratories (p) and the number of test results within each laboratory (n) for the reproducibility standard deviation, an extra factor γ is needed, representing the ratio of the reproducibility standard deviation to the repeatability standard deviation $\gamma = \sigma_R/\sigma_r$
3. The estimated uncertainty 95%

For repeatability 95%

$$A_r = 1.96 \sqrt{\frac{1}{2p(n-1)}}$$

For reproducibility 95%

$$A_R = 1.96 \sqrt{\frac{p[1+n(\gamma^2-1)]^2+(n-1)(p-1)}{2\gamma^4 n^2 (p-1)p}}$$

3. ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสถานะเล็กน้อยจากสถานะปกติ (Ruggedness)

จากการศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะแวดล้อม ด้วยการทดสอบความคงทนของวิธี (Ruggedness) โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ และประเมินโดยใช้สถิติ Youden-Steiner testing พบว่า ผลการทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม โดยใช้ EDTA-Fe, EDTA-Zn, EDTA-Mn, EDTA-Cu, (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O ตามลำดับ ดังตารางที่ 13 และผลกระทบของตัวแปร (E) ทั้ง 7 ตัวแปร พบว่า การเติมน้ำกลั่นก่อนเขย่าที่ 100-200 มิลลิลิตร ความเร็วรอบของการเขย่า ที่ 180-200 รอบ/นาที ระยะเวลาเขย่า 25-30 นาที การกรองด้วยกระดาษกรอง No.42 และการปั่นเหวี่ยง ความเข้มข้นของกรดในปริมาตรสุดท้าย 0.45-0.5 โมลาร์ การใช้ Volumetric pipette กับ Auto pipette 20 มิลลิลิตร และการใช้เวลาตั้งแต่เริ่มเติมน้ำเขย่าจนกระทั่งถึงเติมกรด 0.5 โมลาร์ ในการทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม มีค่า |E| น้อยกว่าค่า S ที่ 1.72, 2.22, 1.85, 0.78, 2.85 ตามลำดับ ดังตารางที่ 14 ดังนั้นจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะดังกล่าว จึงไม่มีผลกระทบต่อการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะข้างต้น

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบแคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน 8 การทดลอง

Experiment	%Recovery					
	EDTA-Fe	EDTA-Zn	EDTA-Mn	EDTA-Cu	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	
	Fe	Zn	Mn	Cu	Mo	Mo
1	100.00	100.07	98.13	102.20	99.75	99.75
2	100.63	102.44	99.66	102.84	96.42	96.42
3	99.86	101.06	99.53	102.88	97.54	97.54
4	99.64	100.90	100.12	103.25	100.97	100.97
5	99.18	101.34	99.88	102.91	100.81	100.81
6	97.29	98.80	98.54	101.89	100.99	100.99
7	98.95	100.26	96.94	102.56	100.04	100.04
8	97.86	99.08	98.56	102.23	99.67	99.67

ตารางที่ 14 ผลกระทบของตัวแปร (E)

ตัวแปร (E)	ผลกระทบของตัวแปร (E)					
	EDTA-Fe	EDTA-Zn	EDTA-Mn	EDTA-Cu	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	
	Fe	Zn	Mn	Cu	Mo	Mo
E _A = [R1 + R2 + R3 + R4]/4 - [R5 + R6 + R7 + R8]/4	1.71	1.25	0.88	0.40	-1.71	-1.71
E _B = [R1 + R2 + R5 + R6]/4 - [R3 + R4 + R7 + R8]/4	0.20	0.33	0.27	-0.27	-0.06	-0.06
E _C = [R1 + R3 + R5 + R7]/4 - [R2 + R4 + R6 + R8]/4	1.03	1.07	-0.54	0.07	-0.54	-0.54
E _D = [R1 + R2 + R7 + R8]/4 - [R3 + R4 + R5 + R6]/4	0.37	-0.07	-1.20	-0.27	-1.11	-1.11
E _E = [R1 + R3 + R6 + R8]/4 - [R2 + R4 + R5 + R7]/4	-0.85	-1.48	-0.46	-0.59	-0.07	-0.07
E _F = [R1 + R4 + R5 + R8]/4 - [R2 + R3 + R6 + R7]/4	-0.02	-0.29	0.51	0.11	1.55	1.55
E _G = [R1 + R4 + R6 + R7]/4 - [R2 + R3 + R5 + R6]/4	-0.41	-0.97	-0.97	-0.24	1.83	1.83
$S = \sqrt{2/7 \times \sum(E^2)}$	1.72	2.22	1.85	0.78	2.85	2.85

สรุปผลการทดลอง

การทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัมในรูปที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิค Inductively coupled plasma spectrometry ช่วงการใช้งานของเครื่องมือวัดของการทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง ที่ช่วงความเข้มข้น 10 - 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และโมลิบดีนัมที่ช่วงความเข้มข้น 1 - 15 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; R^2) มากกว่า 0.999 ผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effect) ผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ความชันแตกต่างกันไม่เกิน 10% (NATA, 2018) ได้ค่า LOD เท่ากับ 0.0115, 0.0051, 0.0012, 0.1200, 0.0055 กรัมต่อหนึ่งร้อยกรัม ตามลำดับ การตรวจสอบความถูกต้อง (Trueness) โดยประเมินค่า %Recovery และความเที่ยง (Precision) โดยประเมินค่า HorRat ของวิธีทดสอบภายในห้องปฏิบัติการเดียว พบว่า วิธีทดสอบเหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ด้วยเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาสเปกโตรเมทรี มีความถูกต้อง ผ่านเกณฑ์ยอมรับ %Recovery และมีความเที่ยง ผ่านเกณฑ์ยอมรับ HorRat ≤ 1.3 (AOAC, 2023) ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับทดสอบธาตุอาหารเสริมรูปที่ละลายน้ำได้ ในปุ๋ยเคมี ที่ช่วงระดับความเข้มข้น 0.65 - 44.06%Fe, 0.65 - 47.97%Zn, 0.65 - 31.40%Mn, 0.65 - 47.4%Cu และ 0.064 - 54.33%Mo ประเมินค่าความไม่แน่นอนในการวัด แบบ Bottom-up approach ตามข้อมูลของความถูกต้อง ส่วนการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) จาก Repeatability, Reproducibility มีค่าความไม่แน่นอนสัมพัทธ์ (Relative uncertainty) มากสุดที่ 27.00 ในรายการทดสอบโมลิบดีนัม ค่าความไม่แน่นอนที่ประเมินจาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทำซ้ำ (Repeatability standard deviation; S_r) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากต่างห้องปฏิบัติการ (Reproducibility standard deviation; S_R) ของแต่ละห้องปฏิบัติการเทียบกับค่าจริงที่กำหนดตามตาราง 95% ความเชื่อมั่น (ISO 5725-2, 2019) ผ่านเกณฑ์ยอมรับ ส่วนการตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบ 7 ตัวแปร ไม่มีผลกระทบต่อการศึกษา แสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นวิธีทดสอบ เป็นวิธีที่เหมาะสม (appropriate methods) สำหรับห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโมลิบดีนัม ในรูปที่ละลายน้ำ ในปุ๋ยเคมี

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- 1 เป็นข้อมูลเพื่อประกอบการขอรับการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2017
- 2 เป็นการยกระดับห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานสากล ผลวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่นและลดข้อโต้แย้งของผลการวิเคราะห์
- 3 เผยแพร่ และถ่ายทอดเทคโนโลยีการตรวจรับรองปุ๋ยให้แก่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐ และภาคเอกชน เพื่อเพิ่มศักยภาพของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยในประเทศไทยให้มีมาตรฐานเดียวกันเป็นไปตามมาตรฐานสากล ทำให้การกำกับควบคุมดูแลคุณภาพปัจจัยการผลิตตามกฎหมายที่บังคับใช้ สร้างความเป็นธรรมให้กับเกษตรกร และผู้ประกอบการ การพัฒนาระบบการตรวจรับรองคุณภาพปุ๋ย

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2565. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี : ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู. พิมพ์ครั้งที่ 1. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 33 หน้า. ISBN 978-974-436-960-4
- นันทนา กันยานุวัฒน์ และนุชนาท นาคำ. 2555. แนวทางการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักอุตสาหกรรมพื้นฐาน กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่. กรุงเทพฯ. 107 หน้า.
- แม่น อมรสิทธิ์ อมร เพชรสม ยุวดี เชี่ยววัฒนา อติยา ศิริภิญญานนท์ ศรีวิไล โอมภิญญาณ และ อุมพร สุขม่วง. 2552. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. บริษัท ชวนพิมพ์ 50 จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 676 หน้า.
- ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 (2564, 4 ตุลาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 138 ตอนพิเศษที่ 243 ง. หน้า 9-14.
- Association of analytical communities (AOAC). 2023. Official Methods of Analysis of AOAC International. 20th ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Cantwell H. (Ed). 2025. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. 3rded. UK. Available from www.eurachem.org.
- David Harvey. 2008. Modern Analytical Chemistry. San Francisco, California, USA. ISBN 0-07-237547-7
- Ellison SLR, and Williams A, 2012. Eurachem/CITAC Guide CG4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 3rd ed. UK.
- European Committee for Standardization. 2018. Fertilizers Extraction of Water Soluble Micro-nutrients in Fertilizers and Removal of Organic Compounds from Fertilizer Extracts (EN 16962). CEN-CENELEC Management Centre, Brussels, Belgium.
- International Organization for Standardization. 2019. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results (ISO 5725). 2nded. Switzerland.
- International Organization for Standardization. 2017. Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty evaluation (ISO 21748). 2nded. Switzerland.
- Miller J.N., Miller J.C., Miller R.D., 2018. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 7th ed., Pearson Education Ltd., ISBN 978-1-29218-671-9
- National Association of Testing Authorities (NATA). 2018. General Accreditation Guidance - validation and verification of quantitative and qualitative test methods. Australia

การทดสอบความเสถียรของธาตุอาหารแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในปุ๋ยเคมี

Stability Testing of Calcium Magnesium and Sulfur in Chemical Fertilizer

ทองจันทร์ พิมพ์เพชร พงศ์พิศ แก้วสุข ศุภากร ดวนใหญ่ ศุภักชญา ทาหาร
Thongchan Pimpet Pongpit Keawsuk Supakhon Duanyai Supakchaya Thaharn

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The stability studies of calcium, magnesium and sulfur of single fertilizer, secondary nutrient fertilizer, granulated fertilizer and bulk blending fertilizer for 30 samples. The effect of temperature on the stability of nutrient content under controlled conditions in the short term and the duration of sample storage under controlled conditions in the long term were studied using regression analysis. A simple regression model was used to find the relationship between time and nutrient content of each fertilizer sample. The result of t-test show that the $|t| < t_{\alpha/2, n-2}$ and F-test show that the p-value $> \alpha$ at confidence level 95%. The estimation is non significance for chemical fertilizer 30 samples and stable in storage under temperature conditions of 40, 55, 70 and 85 °C for 8 weeks and storage conditions at desiccator and room temperature in 36 months. Physical properties were observed with agglomeration at 40°C for 2 weeks and dissolution at 55°C for 4 weeks in the secondary nutrient fertilizer magnesium sulfate heptahydrate, agglomeration at 70°C for 2 weeks in the mixed fertilizers formula 15-7-18 and 21-4-21 and at 85°C for 8 weeks in the single fertilizer's formula 10-0-0 and 15-0-0. The fertilizer granules cracked and turned to dust after storage at room temperature for 12 months in the secondary nutrient fertilizer sulmag. And moisture analysis of fertilizer samples under controlled conditions in short term, some samples could not be analyzed for moisture. Due to changes in the conditions during storage in the hot air oven, namely, single fertilizers, formula 10-0-0 and 15-0-0, secondary nutrients, calcium chloride (CaCl_2), magnesium chloride (MgCl_2) and magnesium sulfate heptahydrate, but from the evaluation of moisture content in fertilizer samples under long-term controlled conditions, it was found that $t_{\text{cal}} < t_{\text{crit}}$ therefore, the moisture content in samples stored for 36 months was not significantly different.

Keywords: Stability; Calcium; Magnesium; Sulfur; Chemical fertilizer

บทคัดย่อ

การทดสอบความเสถียรของธาตุอาหารแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในปุ๋ยเคมีของปุ๋ยเชิงเดี่ยว ปุ๋ยธาตุอาหารรอง ปุ๋ยเชิงผสมแบบปั้นเม็ดและแบบคลุกเคล้า รวม 30 ตัวอย่าง โดยศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารภายใต้สภาวะควบคุมในระยะสั้น และระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาว ด้วยสถิติ Regression analysis โดยใช้ตัวแบบวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่ายเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ และระยะเวลากับปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างปุ๋ย ประเมินจากค่าสถิติ t พบว่า $|t| < t_{\alpha/2, n-2}$ และประเมินความแปรปรวนโดยใช้สถิติ F พบว่า $p\text{-value} > \alpha$ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่าอุณหภูมิ และระยะเวลากับปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างปุ๋ย ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ จึงมีความเสถียรภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 40, 55, 70 และ 85 °C ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์ และมีความเสถียรภายใต้สภาวะการเก็บรักษาทั้งในตู้ควบคุมความชื้นและที่อุณหภูมิห้องตลอดอายุ 36 เดือน แม้พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพโดยตัวอย่างจับตัวเป็นก้อนที่สภาวะอุณหภูมิ 40°C เวลา 2 สัปดาห์ และละลายที่สภาวะอุณหภูมิ 55°C เวลา 4 สัปดาห์ ในปุ๋ยธาตุอาหารรองแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) และจับตัวเป็นก้อนที่สภาวะอุณหภูมิ 70°C เวลา 2 สัปดาห์ ในปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้าสูตร 15-7-18 และ 21-4-21 และที่สภาวะอุณหภูมิ 85°C เวลา 8 สัปดาห์ ในปุ๋ยเชิงเดี่ยวสูตร 10-0-0 (Magnesium nitrate) และ 15-0-0 (Calcium nitrate) เม็ดปุ๋ยแตกร้าวและกลายเป็นฝุ่นผงหลังเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 12 เดือน ในปุ๋ยธาตุอาหารรองซัลแม็ก และการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะสั้นไม่สามารถวิเคราะห์ได้ในบางตัวอย่าง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะระหว่างการเก็บในตู้อบอากาศร้อน ได้แก่ ปุ๋ยเชิงเดี่ยวสูตร 10-0-0 และ 15-0-0 ปุ๋ยธาตุอาหารรองแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl_2) และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) แต่จากการประเมินปริมาณความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาว พบว่าค่า $t_{\text{cal}} < t_{\text{crit}}$ ดังนั้น ปริมาณความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยที่เก็บรักษาตลอดอายุ 36 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ: ความเสถียร แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ปุ๋ยเคมี

บทนำ

ธาตุอาหารรอง (Secondary essential elements) เป็นธาตุอาหารในกลุ่มมหธาตุ มี 3 ธาตุ คือ แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน (ยงยุทธ และคณะ, 2556) การจัดธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันเป็นธาตุอาหารรอง เนื่องจากดินส่วนใหญ่มีจะไม่ค่อยขาดธาตุเหล่านี้ และปุ๋ยที่ใส่ให้แก่ดินเพื่อเพิ่มธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม มักจะมีธาตุทั้ง 3 นี้ปะปนลงไปด้วยเสมอ และพืชต้องการในปริมาณน้อยกว่าธาตุอาหารหลัก ซึ่งแคลเซียมมีความจำเป็นต่อการแบ่งเซลล์และเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างที่สำคัญของผนังเซลล์ ในขณะที่แมกนีเซียมมีบทบาทสำคัญ คือ เป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ และกำมะถันก็จำเป็นต่อการสร้างโปรตีนและกรดอะมิโนบางชนิดมีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ และมีผลต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของพืช ทั้งนี้เพราะส่วนที่สร้างคลอโรฟิลล์ ซึ่งอยู่ในคลอโรพลาสต์ต้องมี Chloroplast protein โปรตีนชนิดนี้ต้องมีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) จะเห็นได้ว่าธาตุทั้ง 3 นี้ต่างก็มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยการทำหน้าที่ร่วมกัน ซึ่งพืชไม่อาจขาดธาตุใดธาตุหนึ่งได้ ไม่เช่นนั้นจะทำให้พืชเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่ และส่งผลต่อกระบวนการผลิตพืช

ปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรองที่ใช้สารเคมีเพียงชนิดเดียวหรือปุ๋ยผสมสูตรต่างๆ โดยการนำสารเคมีมาผสมซึ่งสารเคมีที่นำมาผสมนั้นส่วนใหญ่มักมีน้ำ (Hydrate) เป็นองค์ประกอบ เมื่อผ่านกระบวนการขนส่งและการเก็บรักษาภายใต้สภาวะแวดล้อมและระยะเวลาอาจมีผลต่อคุณภาพปุ๋ย ปุ๋ยเคมีที่เก็บไว้ระยะเวลาหนึ่งหรือถูก

กระทบกระเทือนด้วยปัจจัยใดๆ อันทำให้เสื่อมคุณภาพโดยธาตุอาหารลดน้อยลงหรือเปลี่ยนสภาพไป ลักษณะการเสื่อมคุณภาพของปุ๋ยเคมีโดยทั่วไปมีแนวโน้มจะเกิดการจับตัวเป็นก้อน (Caking) กลไกการจับตัวเป็นก้อนเกิดจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น แรงกดทับ และระยะเวลาการเก็บรักษา โดยเฉพาะความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตของปุ๋ย กรณีปุ๋ยมีความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตต่ำจะทำให้ขึ้นง่าย เมื่อความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงกว่าความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตของปุ๋ย ความชื้นในอากาศจะแทรกซึมเข้าไปในเนื้อปุ๋ยทำให้ขึ้น ประกอบกับมีแรงกดทับจากด้านบนและด้านล่าง จึงทำให้ผิวของอนุภาคหรือเม็ดปุ๋ยข้างเคียงซึ่งขึ้นมีเนื้อเชื่อมกัน เมื่ออากาศแห้งปุ๋ยจึงจับเป็นปึกหรือเป็นก้อน (ยงยุทธ และคณะ, 2556)

กรมวิชาการเกษตร มีอำนาจหน้าที่ในการควบคุม กำกับดูแล ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 (ราชกิจจานุเบกษา, 2551) และประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 (ราชกิจจานุเบกษา, 2564) เพื่อควบคุม กำกับดูแล คุณภาพปุ๋ยที่นำเข้า ผลิต และจำหน่ายในประเทศ เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้ปุ๋ยที่มีคุณภาพ ซึ่งคุณภาพของปุ๋ยสามารถตรวจพิสูจน์และยืนยันด้วยผลวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ คุณภาพของปุ๋ยดังกล่าว นอกจากวัตถุดิบและกระบวนการผลิตที่มีคุณภาพแล้ว การเก็บรักษาลอดช่วงการรอจำหน่ายหรือการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการก็มีความสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากปุ๋ยเคมีที่จำหน่ายตามท้องตลาดมีหลากหลายชนิด ได้แก่ ปุ๋ยเคมีธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริม จากการศึกษาของรัตนารักษ์และคณะ (2562) พบว่าตัวอย่างปุ๋ยมีเสถียรภาพของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำ แม้จะเก็บเป็นระยะเวลานานถึง 36 เดือน และเก็บในที่อุณหภูมิสูงถึง 85°C ก็ตาม แต่ยังไม่ครอบคลุมปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรองเนื่องจากชนิดและคุณสมบัติของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต และปริมาณธาตุอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องศึกษาความเสถียรภายใต้สภาวะการเก็บรักษาหรือความเสถียรระยะยาว เพื่อประเมินผลของระยะเวลาที่มีต่อปริมาณธาตุอาหาร และศึกษาความเสถียรภายใต้สภาวะการขนส่งหรือทดสอบที่อุณหภูมิต่างๆ ในระยะเวลาสั้นๆ เพื่อประเมินผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณธาตุอาหาร (จันทร์รัตน์, 2557) สำหรับการประเมินความเสถียรของปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในปุ๋ยเคมี

การทดสอบความเสถียรของธาตุอาหารแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในปุ๋ยเคมี เป็นการวิเคราะห์ ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันทั้งในรูปทั้งหมดและรูปที่ละลายน้ำ ซึ่งการวิเคราะห์ในรูปทั้งหมดนั้น ตัวอย่างจะถูกเตรียมโดยการย่อยด้วยกรดผสมระหว่างกรดไฮโดรคลอริกและกรดไนตริก (Aqua regia) เพื่อให้ได้ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน ส่วนรูปที่ละลายน้ำเตรียมโดยการสกัดด้วยน้ำ และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยการเติมกรด แล้วนำสารละลายที่ได้วัดด้วย Inductively coupled plasma-optical emission spectrometer (ICP-OES) สารละลายตัวอย่างจะถูกทำให้ร้อนขึ้นโดยพลาสมาที่มีพลังงานสูง ซึ่งเกิดจากแหล่งพลังงานกระตุ้นด้วยก๊าซอาร์กอนให้แตกตัว เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านพลาสมาจะแตกตัวเป็นอะตอม (Atomization) แล้วถูกกระตุ้นเป็นไอออน (Ionization) อะตอมหรือไอออนที่ถูกกระตุ้นจะเปล่งแสงออกมา แสงที่เกิดขึ้นถูกแยกด้วย Spectrometer สำหรับความยาวคลื่นที่เลือกไว้ แสงที่ความยาวคลื่นนั้นจะถูกตรวจวัดด้วย Detector โดยปริมาณความเข้มของแสงที่วัดได้จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณของธาตุในสารละลาย (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2565)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (Thermo hygrometer)
2. อุปกรณ์แบ่งตัวอย่างปุ๋ย (Riffle) และเครื่องบดตัวอย่างปุ๋ย
3. เครื่องอินดักทีฟพลาสมา-ออปติคอลลิมิชั่นสเปกโตรมิเตอร์ (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer; ICP-OES)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง
5. ตู้ควบคุมความชื้น (Desiccator)
6. ตู้อบอากาศร้อน (Hot air oven)
7. ขวดพลาสติกและขวดแก้วฟาอะลูมิเนียมสำหรับบรรจุตัวอย่าง
8. วัสดุอุปกรณ์ เครื่องแก้ว และเครื่องมืออื่นๆ สำหรับวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันทั้งในรูปทั้งหมดและรูปที่ละลายน้ำ
9. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันทั้งในรูปทั้งหมดและรูปที่ละลายน้ำ
10. ตัวอย่างปุ๋ยเคมีสำหรับการทดสอบ

วิธีการ

1. เตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมีสำหรับการทดสอบ ได้แก่ ปุ๋ยเชิงเดี่ยว (Single fertilizer) 10 ตัวอย่าง ปุ๋ยธาตุอาหารรอง (Secondary element fertilizer) 5 ตัวอย่าง และปุ๋ยเชิงผสม (Mixed fertilizer) 15 ตัวอย่าง
2. ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างปุ๋ยในระยะสั้น (The short-term stability)
 - 2.1 แบ่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีสูตรต่างๆ ใส่ขวดแก้วฟาอะลูมิเนียม ขวดละประมาณ 40-50 กรัม โดยแยกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่อบในตู้อบอากาศร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 70 และ 85 °C โดยสุ่มตัวอย่างปุ๋ยตามเวลาที่กำหนดคือ 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ตัวอย่างละ 4 ขวดต่อครั้ง บันทึกลักษณะทางกายภาพที่มีการเปลี่ยนแปลงไป แล้วนำ 2 ขวด ส่งวิเคราะห์ความชื้น และอีก 2 ขวด นำไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างปุ๋ยโดยผ่านตะแกรงขนาดรูเปิด 0.5 มิลลิเมตร
 - 2.2 วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม (%Ca) แมกนีเซียม (%Mg) กำมะถัน (%S) และความชื้น (%MC) โดยใช้วิธีตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 (ราชกิจจานุเบกษา, 2560) และคู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี : ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู (2565) โดยแต่ละครั้งทำการวิเคราะห์ทั้ง 4 ขวด (วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน จำนวน 2 ขวด และความชื้นอีก 2 ขวด) ขวดละ 2 ซ้ำ
 - 2.3 วิเคราะห์ทางสถิติ Regression analysis ตาม ISO Guide 35 (2017)
 - 2.3.1 สร้างสมการความถดถอยเชิงเส้น (Simple linear regression) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (X) คือ ระยะเวลา และตัวแปรตาม (Y) คือ ปริมาณธาตุอาหาร

ตัวแบบการวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย (Simple linear regression analysis)

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \epsilon_i \quad i = 1, 2, 3, \dots, n$$

เมื่อ Y_i คือ ค่าสังเกตของตัวแปรตามจากหน่วยที่ i

X_i คือ ค่าสังเกตของตัวแปรอิสระจากหน่วยที่ i

β_0 คือ จุดตัดแกน Y

β_1 คือ สัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) หรือ ความชันของเส้นถดถอย

ϵ_i คือ ความคลาดเคลื่อน

2.3.2 ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาและปริมาณธาตุอาหาร โดยทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับความชันของเส้นถดถอย (β_1) สำหรับการทดสอบความเสถียร

1) การวิเคราะห์การถดถอยด้วยค่าสถิติ t

สมมติฐานที่ต้องการทดสอบ $H_0 : \beta_1 = 0$

$H_1 : \beta_1 \neq 0$

สถิติทดสอบ $t = \frac{|b_1|}{S(b_1)}$

เมื่อ b_1 หมายถึง Slope

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

$S(b_1)$ หมายถึง SD of slope

$$S(b_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

ขอบเขตปฏิเสธ H_0 : จะปฏิเสธ H_0 เมื่อ $|t| > t_{\alpha/2, n-2}$

สรุปผล : เมื่อปฏิเสธ H_0 คือ ยอมรับ $H_1: \beta_1 \neq 0$ แสดงว่า ความชันของเส้นถดถอยไม่เป็นศูนย์ตัวอย่างปุ๋ยไม่มีความเสถียร เมื่อยอมรับ H_0 คือ $H_0 : \beta_1 = 0$ แสดงว่า ความชันของเส้นถดถอยเป็นศูนย์ตัวอย่างปุ๋ยมีความเสถียร

2) การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบ F จากตาราง Regression

คำนวณค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบแบบ F ที่องศาความเป็นอิสระ (df) 1 และ $n-2$ ระดับนัยสำคัญ $\alpha = 0.05$

สถิติทดสอบ $F = \frac{MSR}{MSE}$

สรุปผล : เมื่อ $F > F_{1-\alpha(1, n-2)}$ หรือ $p\text{-value} < \alpha$ แสดงว่า ตัวอย่างปุ๋ยไม่มีความเสถียร

$F < F_{1-\alpha(1, n-2)}$ หรือ $p\text{-value} > \alpha$ แสดงว่า ตัวอย่างปุ๋ยมีความเสถียร

3. ศึกษาความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาว (The long-term stability)

3.1 แบ่งตัวอย่างปุ๋ยเคมีสูตรต่างๆ ใส่ขวดพลาสติกมีฝาปิดขวดละประมาณ 20-30 กรัม โดยแยกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เก็บในตู้ควบคุมความชื้นและกลุ่มที่เก็บในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 เดือน โดยสุ่มตัวอย่างปุ๋ยจากทั้ง 2 กลุ่ม ตามเวลาที่กำหนดตัวอย่างละ 4 ขวดต่อครั้ง บันทึกลักษณะทางกายภาพ ที่มีการเปลี่ยนแปลงไป แล้วนำ 2 ขวด ส่งวิเคราะห์ความชื้น และอีก 2 ขวด นำไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างปุ๋ยโดยผ่านตะแกรงขนาดรูเปิด 0.5 มิลลิเมตร

3.2 วิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร ตามข้อ 2.2 และความชื้น ตามข้อ 2.2

3.3 วิเคราะห์ทางสถิติ ตามข้อ 2.3

3.4 การประมาณค่าความไม่แน่นอนที่เกิดจากการทดสอบความเสถียรของตัวอย่าง (Long term stability) เมื่อพบว่าตัวอย่างปุ๋ยมีความเสถียรหรือไม่มีความเสถียรเกิดขึ้นเมื่อเวลาเปลี่ยนไป

$$\text{จากสูตร } U_{lts} = S_b \times t$$

U_{lts} คือ ค่าความไม่แน่นอนของปริมาณธาตุอาหาร

S_b คือ ค่าความไม่แน่นอนที่เกิดจากความชื้น

t คือ ระยะเวลาที่ทดสอบ (เดือน)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่ใช้สำหรับการทดสอบ

ปุ๋ยเคมีที่นำมาทดสอบคัดเลือกจากตัวอย่างที่ส่งมาวิเคราะห์ยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี และที่จำหน่ายตามท้องตลาด ทั้งปุ๋ยเชิงเดี่ยว (Single fertilizer) ปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรอง (Secondary nutrient fertilizer) ปุ๋ยเชิงผสมแบบป่นเม็ด (Granulated fertilizer) และปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า (Bulk blending fertilizer) รวมทั้งสิ้น 30 ตัวอย่าง ดังแสดงใน Table 1

2. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยเคมี (The moisture content) ภายใต้สภาวะควบคุมในระยะสั้น (The short-term stability) และสภาวะควบคุมในระยะยาว (The long-term stability)

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะสั้น ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ในบางตัวอย่าง เนื่องจากมีการเปลี่ยนสภาพระหว่างการเก็บในตู้อบอากาศร้อน ได้แก่ สูตร 10-0-0 (Magnesium nitrate) และ 15-0-0 (Calcium nitrate) ซึ่งเป็นปุ๋ยเชิงเดี่ยวที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตต่ำ โดยเฉพาะ Calcium nitrate มีค่าความชื้นสัมพัทธ์วิกฤตต่ำที่อุณหภูมิ 30 °C เท่ากับ 46.70% จึงขึ้นหรือเปลี่ยนสภาพได้ง่าย (ยงยุทธ และคณะ, 2556) ปุ๋ยธาตุอาหารรอง แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl_2) เนื่องจากมีคุณสมบัติดูดความชื้น สามารถดึงดูดและกักเก็บความชื้นได้ดี (Ilhan, 2023) และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) เนื่องจากมีน้ำเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล และเป็นสารประกอบแมกนีเซียมที่ละลายน้ำได้ง่าย จึงหลอมละลายเมื่อเก็บที่อุณหภูมิสูง แต่จากการประเมินปริมาณความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาว พบว่า ค่า $t_{\text{cal}} < t_{\text{crit}}$ ดังนั้น ปริมาณความชื้นในตัวอย่างที่เก็บรักษาตลอดอายุ 36 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงใน Table 2

3. การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะสั้น (The short-term stability)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในตัวอย่างปุ๋ยเคมี จำนวน 30 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บในตู้อบอากาศร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 75 และ 85 °C ระยะเวลา 0-8 สัปดาห์ (Figure 1-4) พบว่า ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ Regression Analysis มีความชันของเส้นถดถอยเป็นศูนย์ ($|t| < t_{\alpha/2, n-2}$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบ F จากตาราง Regression

มีค่า p-value > α ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่าปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ทั้ง 30 ตัวอย่างมีความเสถียร

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ พบว่า ปุ๋ยเชิงเดี่ยว ตัวอย่างลำดับที่ 1 สูตร 10-0-0 และลำดับที่ 2 สูตร 15-0-0 จับตัวเป็นก้อนที่สภาวะอุณหภูมิ 85°C เวลา 8 สัปดาห์ (Figure 5 a)-b)) ปุ๋ยธาตุอาหารรอง ลำดับที่ 14 แมกนีเซียมซัลเฟตไฮดรเอต จับตัวเป็นก้อนที่สภาวะอุณหภูมิ 40°C เวลา 2 สัปดาห์ และละลายที่สภาวะอุณหภูมิ 55°C เวลา 4 สัปดาห์ (Figure 5 c)-d)) ปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้า ลำดับที่ 22 สูตร 15-7-18 และลำดับที่ 29 สูตร 21-4-21 จับตัวเป็นก้อนที่สภาวะอุณหภูมิ 70°C เวลา 2 สัปดาห์ (Figure 5 e)-f))

Table 1 Types and characteristics of chemical fertilizer samples

Sample no.	Type	Formula	Fertilizer Material	Color of granule
1	Single fertilizer	10-0-0 (9%Mg)	Magnesium nitrate	White
2	Single fertilizer	15-0-0 (19%Ca)	Calcium nitrate	White
3	Single fertilizer	21-0-0 (24%S) (1)	Ammonium sulfate	White Granule and Crystal)
4	Single fertilizer	21-0-0 (23%S) (2)	Ammonium sulfate	Brown (Granule and Crystal)
5	Single fertilizer	21-0-0 (24%S) (3)	Ammonium sulfate	White (Granule)
6	Single fertilizer	26-0-0 (13%S)	Ammonium sulphate nitrate	Brown
7	Single fertilizer	27-0-0 (11%CaO)	Calcium ammonium nitrate	White
8	Single fertilizer	30-0-0 (1%S)	Urea, Ammonium sulfate, Filler	White, Brown and Gray
9	Single fertilizer	40-0-0 (4%S)	Urea coat sulfur	Yellow
10	Single fertilizer	0-0-50 (18%S)	Potassium sulfate	White
11	Secondary element fertilizer	CaCl ₂ (20%WCa)	Calcium chloride	Colorless
12	Secondary element fertilizer	MgCl ₂ (10%WMg)	Magnesium chloride	Colorless
13	Secondary element fertilizer	MgSO ₄ .H ₂ O (10%WMg, 14%WS)	Magnesium sulfate monohydrate	Brown

Table 1 (cont.)

Sample no.	Type	Formula	Fertilizer Material	Color of granule
14	Secondary element fertilizer	MgSO ₄ ·7H ₂ O (8%WMg, 10%WS)	Magnesium sulfate heptahydrate	Colorless
15	Secondary element fertilizer	Sulmag (10%MgO, 15%CaO, 7%S)	Magnesium sulfate, Calcium sulfate	Green and Gray
16	Granulated fertilizer	6-18-24 (4.1%MgO, 6.4%S)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate	Brown
17	Granulated fertilizer	10-16-24 (4%MgO, 5%S)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate	Brown
18	Granulated fertilizer	12-11-18 (2%MgO, 7.6%S)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate	Brown
19	Granulated fertilizer	12-12-17 (2%MgO, 12%S)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate	Brown
20	Granulated fertilizer	13-10-21 (2%MgO)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate	Brown
21	Granulated fertilizer	15-5-20 (2%MgO, 8%S)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate	Red
22	Bulk blending fertilizer	15-7-18 (1.3%MgO, 6.7%S)	Urea, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Filler, Magnesium sulfate	White, Brown, Red and Gray

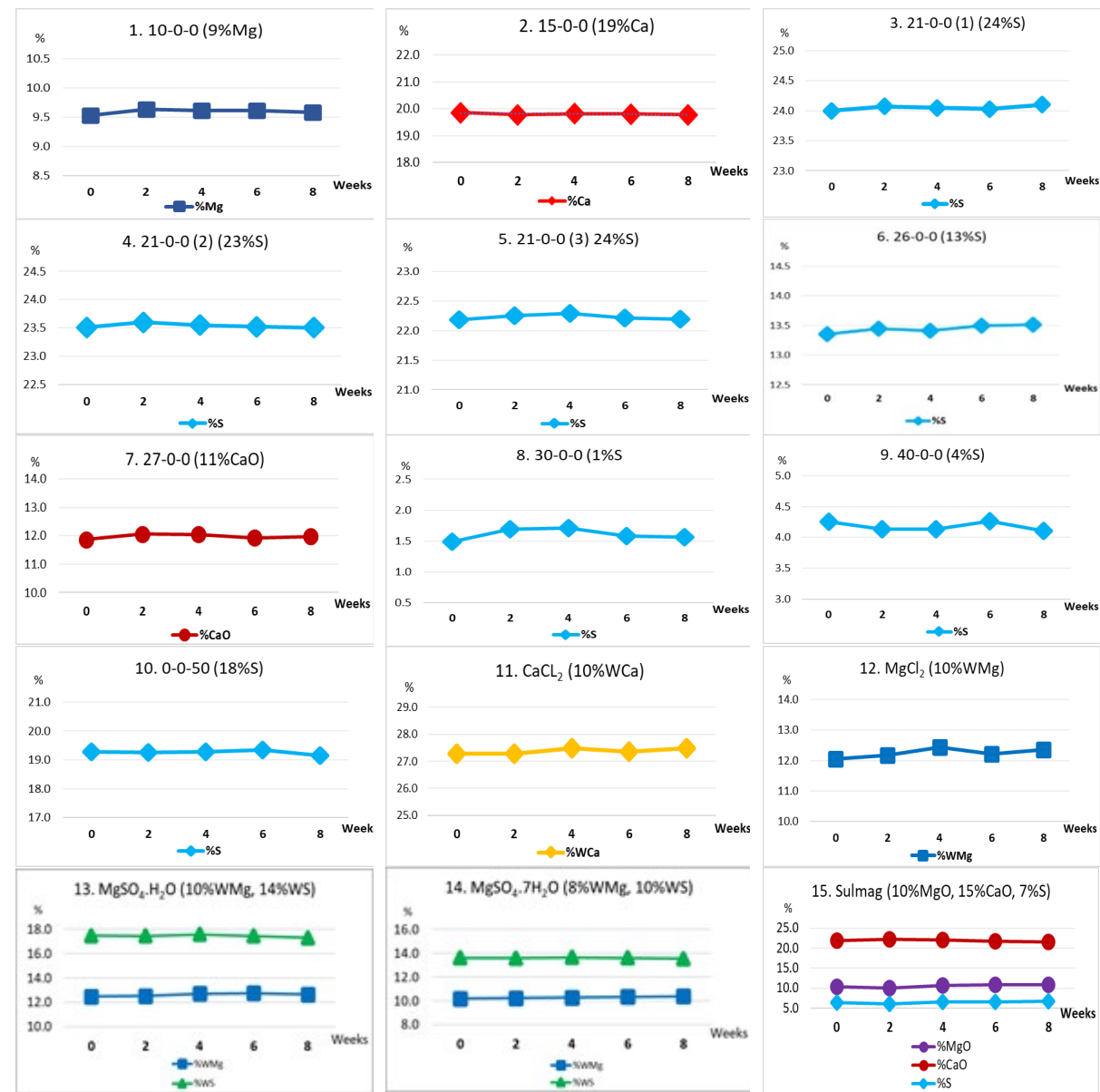
Table 1 (cont.)

Sample no.	Type	Formula	Fertilizer Material	Color of granule
23	Bulk blending fertilizer	15-15-15 (0.35%MgO, 1.54%CaO, 6.82%S)	Urea, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Filler, Magnesium sulfate	White, Brown, Red and Gray
24	Bulk blending fertilizer	16-8-8 (1%MgO, 14%S)	Urea, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Filler, Magnesium sulfate	White, Brown, Red and Gray
25	Granulated fertilizer	16-16-16 (0.6%MgO, 3.5%CaO, 2.8%S)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate, Calcium sulfate	Green
26	Bulk blending fertilizer	16-20-0 (2%CaO, 14%S)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate	White, Brown and Gray
27	Granulated fertilizer	17-17-17 (0.5%MgO, 1.2%CaO, 3.1%S)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Magnesium sulfate, Calcium sulfate	Blue
28	Bulk blending fertilizer	20-10-12 (0.2%MgO, 5%CaO, 2.4%S)	Urea, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Filler, Magnesium sulfate, Calcium sulfate	White, Brown, Red, Green and Gray
29	Bulk blending fertilizer	21-4-21 (1%MgO)	Urea, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Filler, Magnesium sulfate	White, Brown, Red and Gray
30	Granulated fertilizer	25-7-7 (2%CaO)	Phosphoric acid, Ammonium sulfate, Diammonium phosphate, Potassium chloride, Calcium sulfate	Blue

Table 2 The moisture content in chemical fertilizer under the long-term stability

No.	Conditions/Time (months)	t-test (t_{cal})						t_{crit}
		6	12	18	24	30	36	
1	Stored room temperature	0.12	0.13	0.11	0.11	0.23	0.23	2.00
2	Stored control temperature	0.06	0.16	0.13	0.19	0.11	0.24	2.00
Result		ns	ns	ns	ns	ns	ns	

Remark : ns = not significant



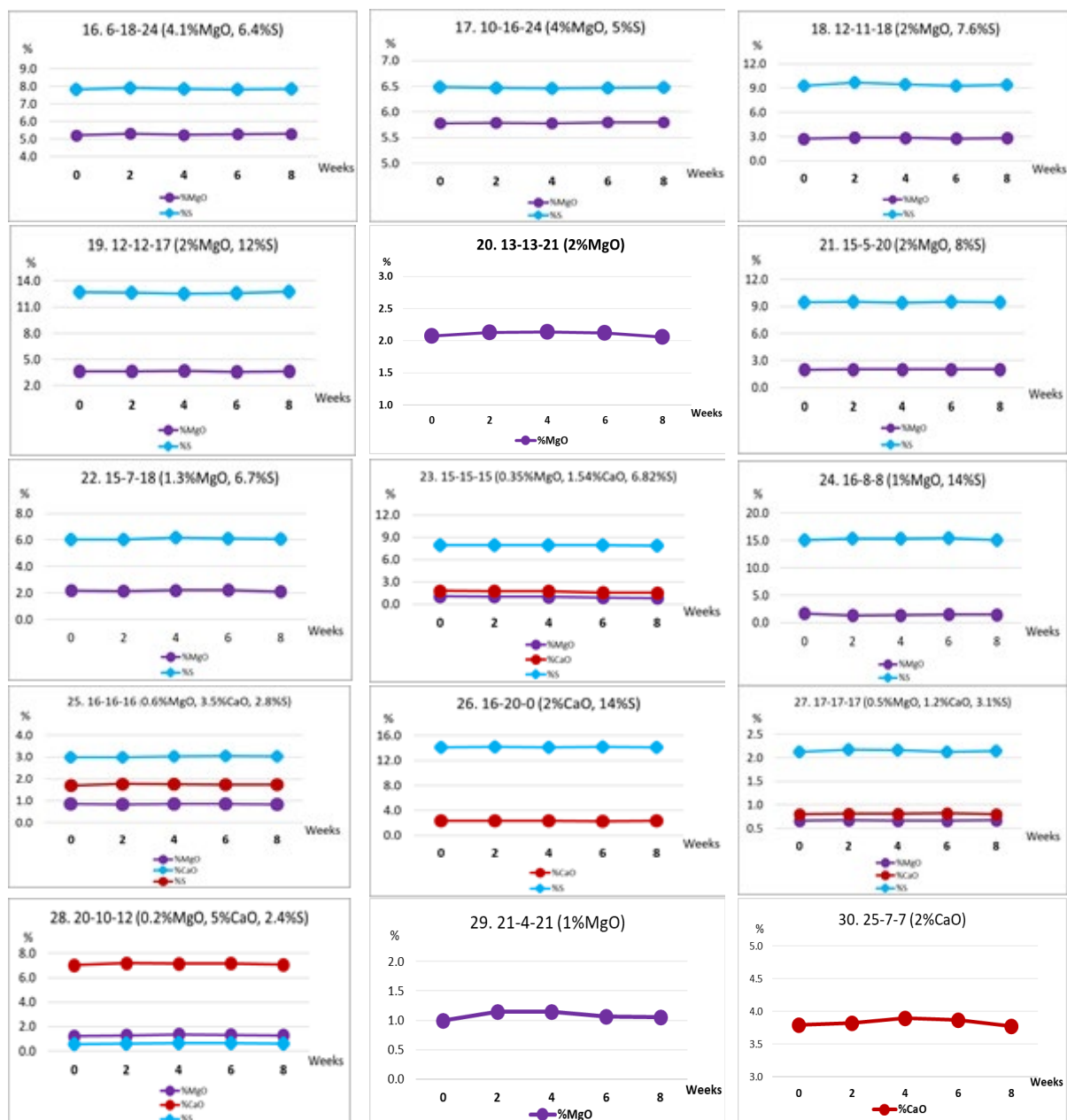
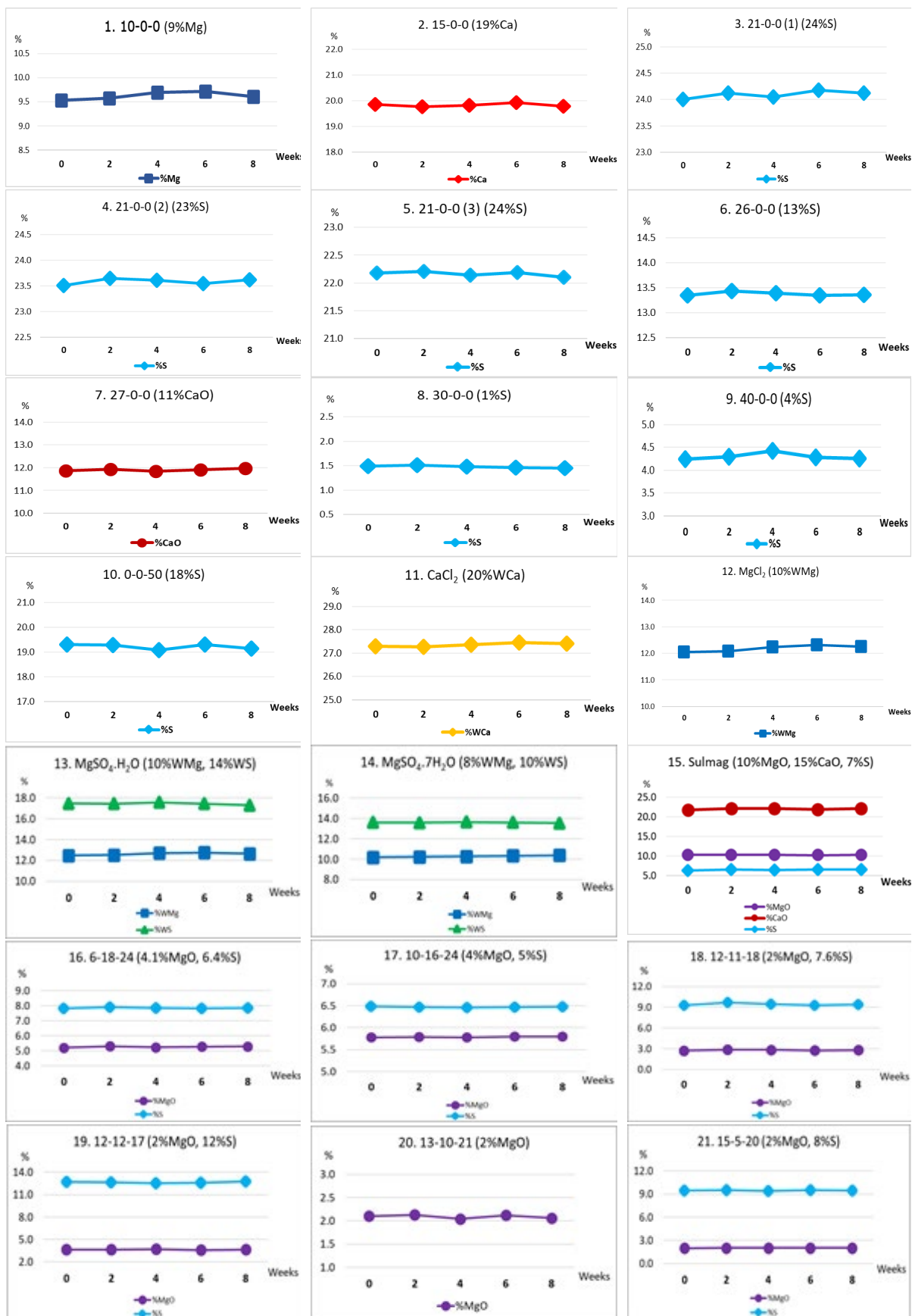


Figure 1 The stability studies of calcium magnesium and sulfur of chemical fertilizers in stored 40 °C for 0-8 weeks



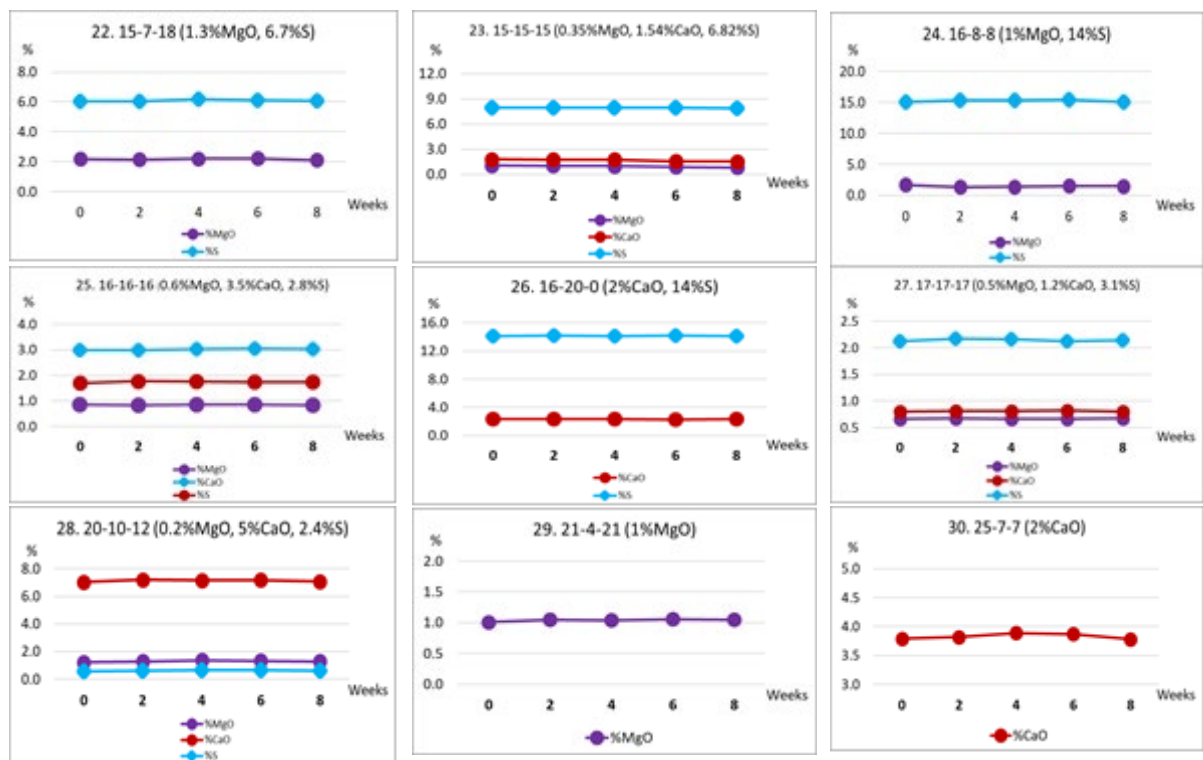
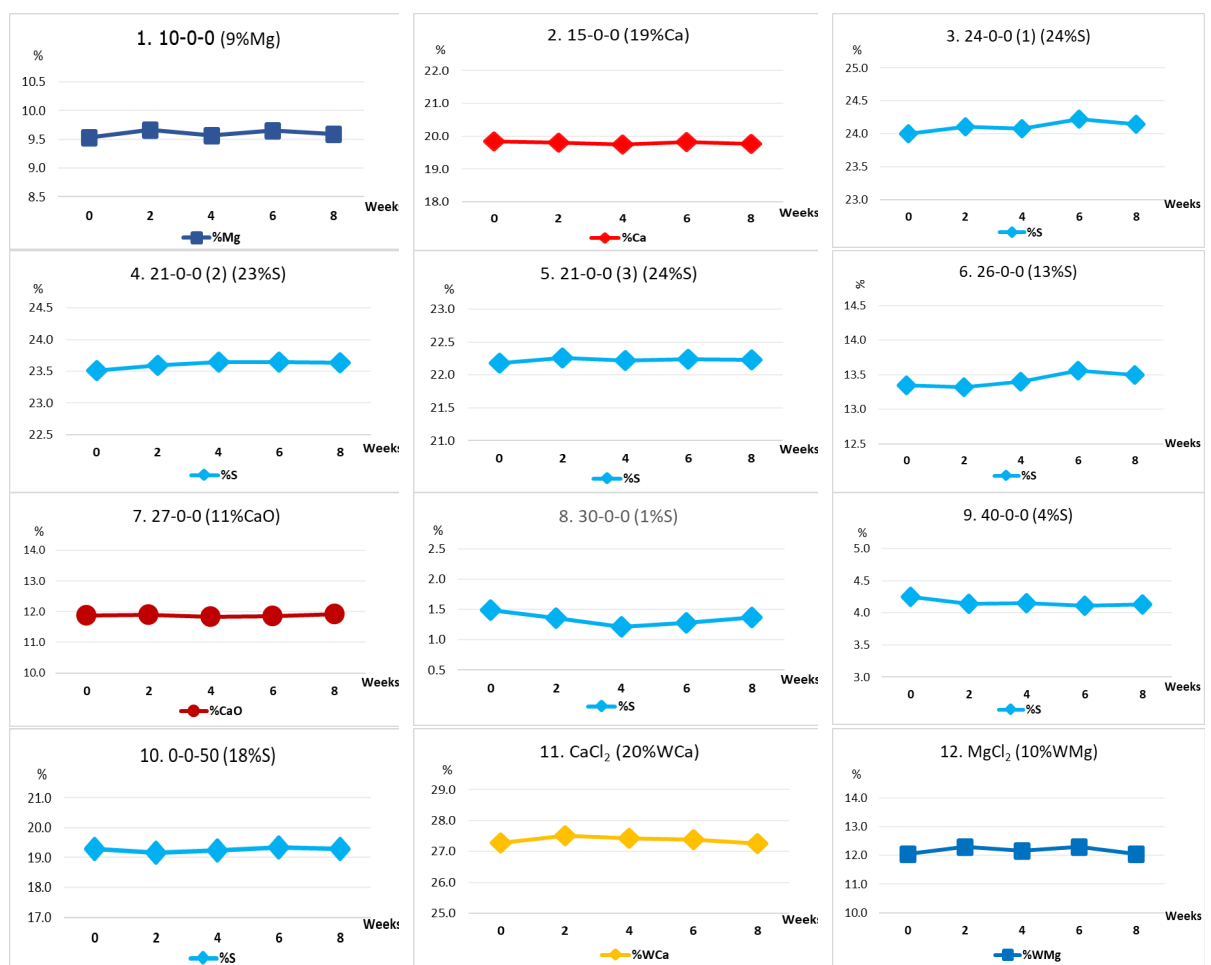


Figure 2 The stability studies of calcium magnesium and sulfur of chemical fertilizers in stored 55 °C for 0-8 weeks



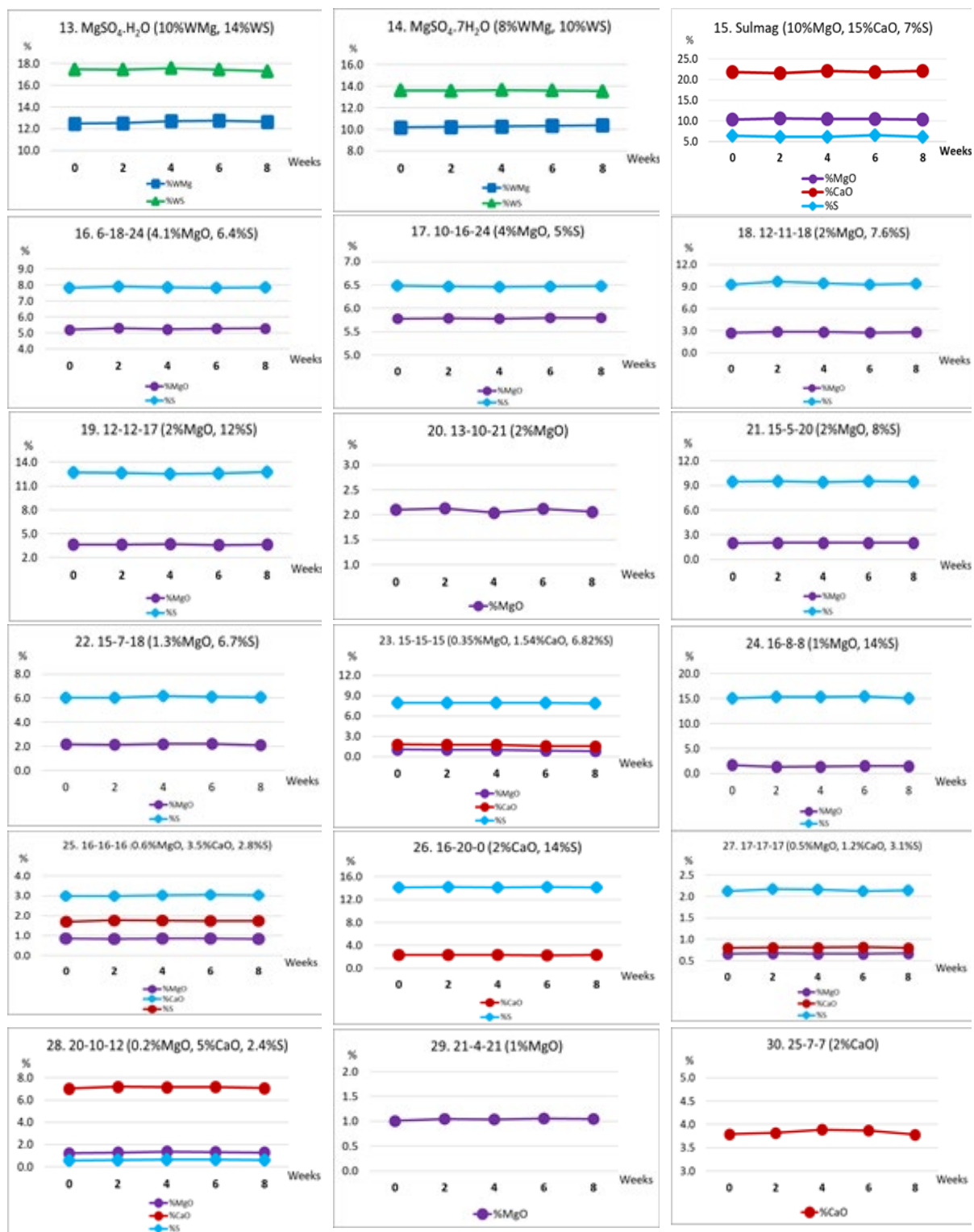
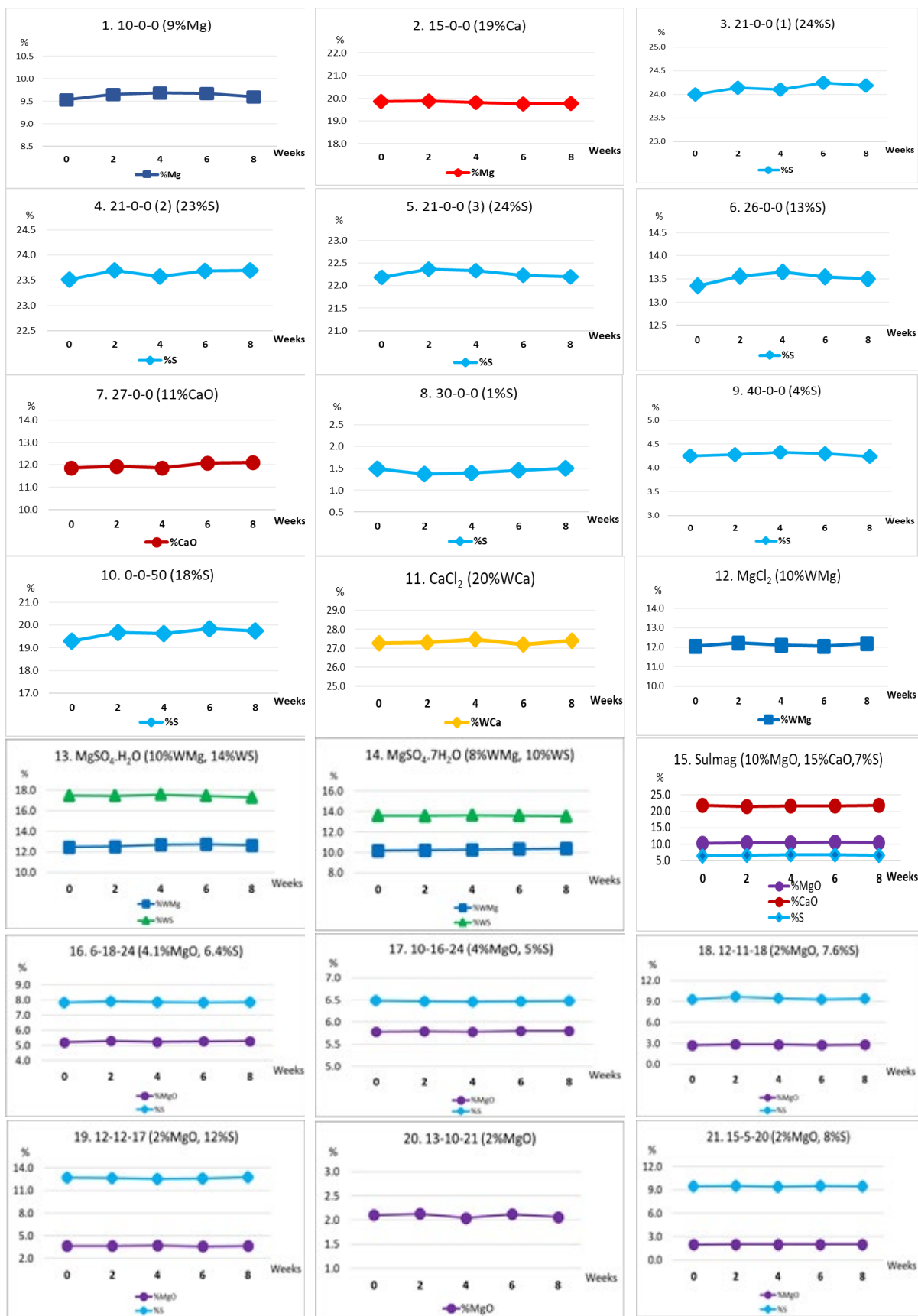


Figure 3 The stability studies of calcium magnesium and sulfur of chemical fertilizers in stored 70 °C for 0-8 weeks



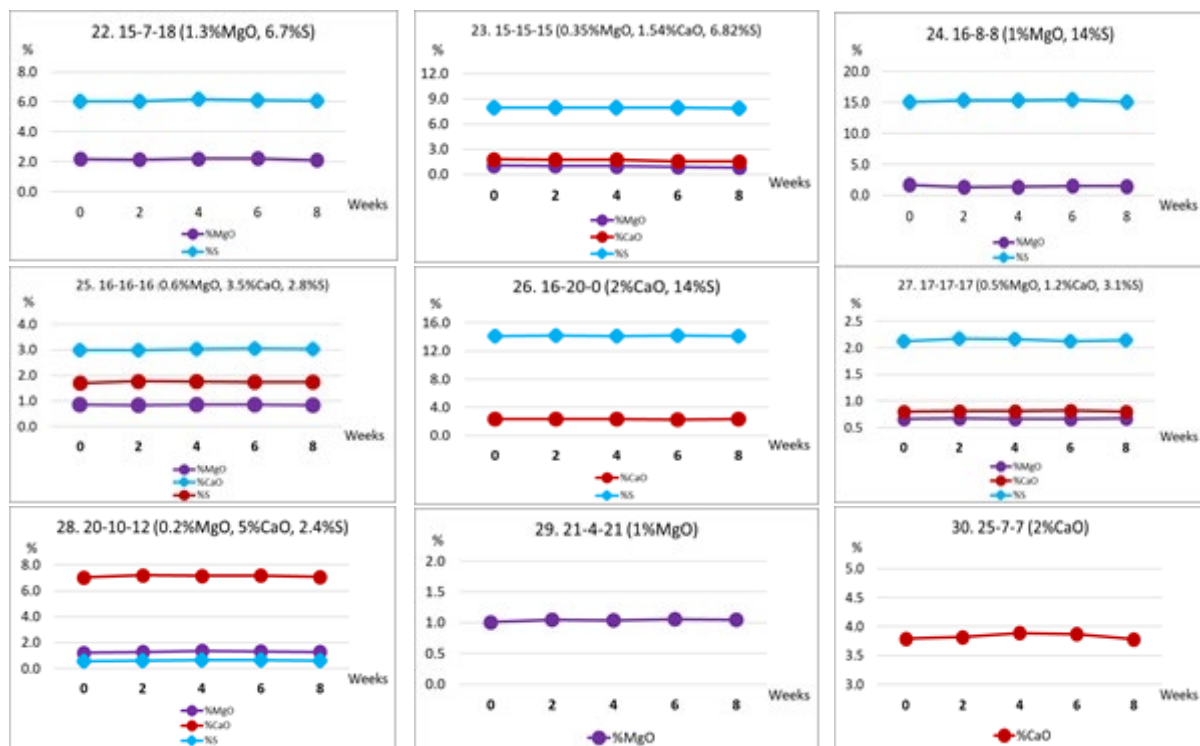


Figure 4 The stability studies of calcium magnesium and sulfur of chemical fertilizers in stored 85 °C for 0-8 weeks

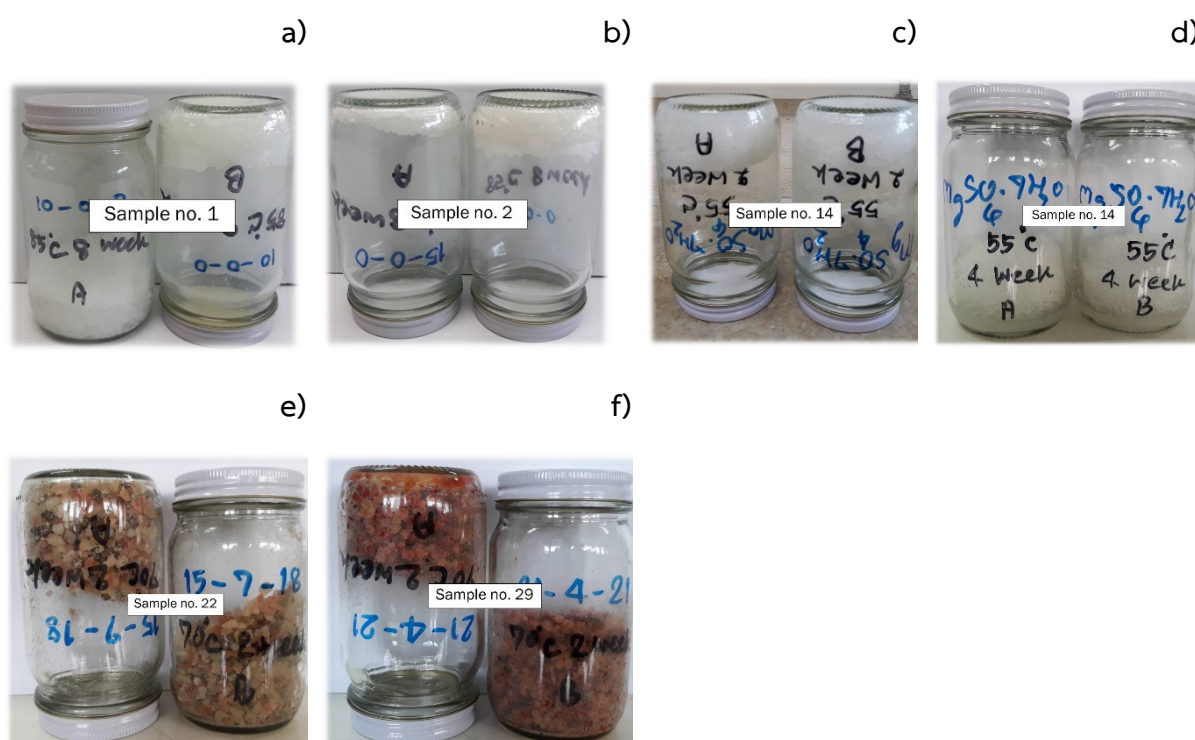
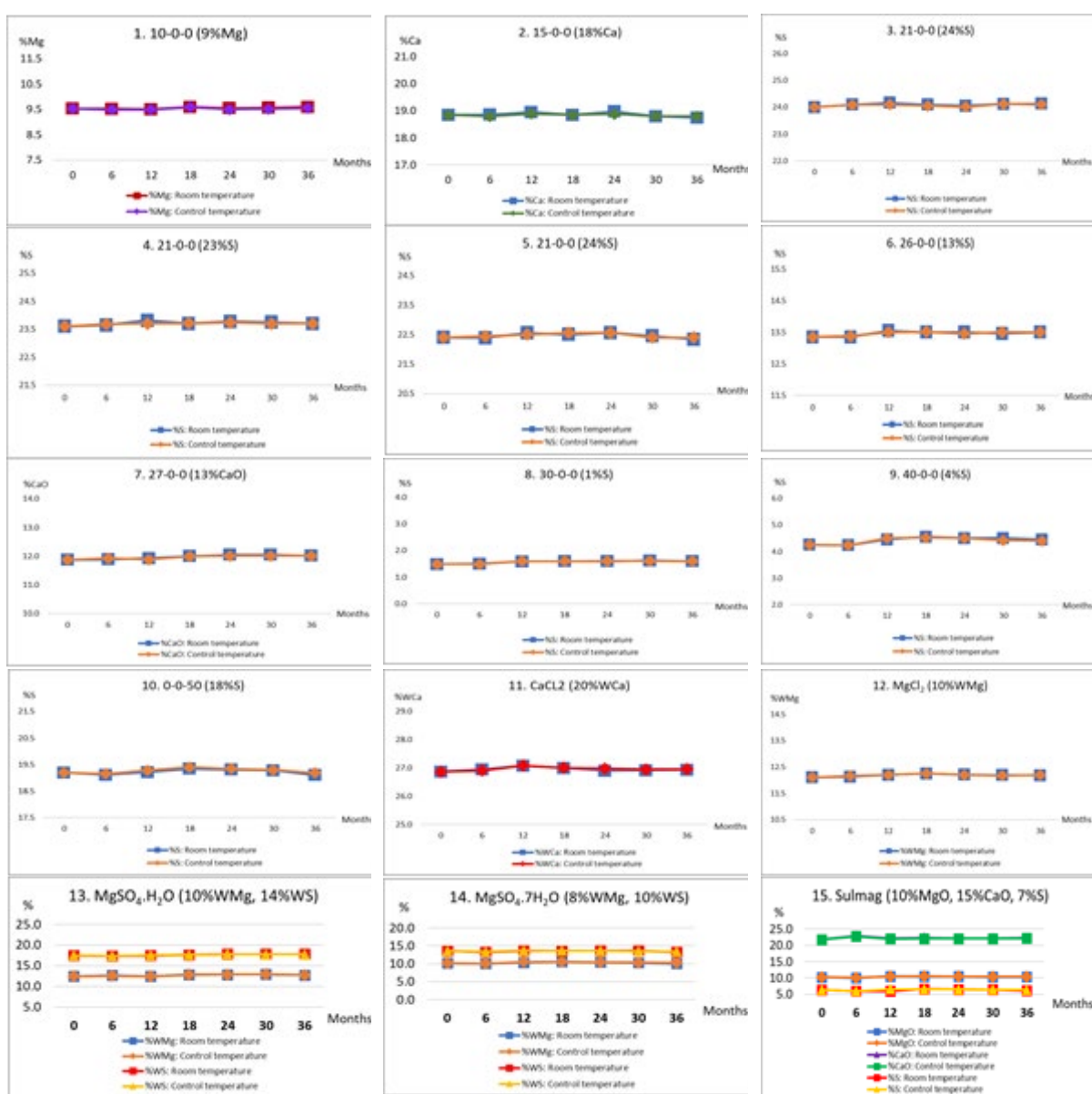


Figure 5 a) and b) the caking formed of fertilizer granules during storage in condition 85°C 8 weeks. c) and d) the caking formed and melt of during storage in condition 40°C 2 weeks and 55°C 4 weeks. e) and f) cake formation of bridge from the particles film coating in condition 70°C 2 weeks.

4. การศึกษาความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างปุ๋ยเคมีภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาว (The long-term stability)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในตัวอย่างปุ๋ยเคมี จำนวน 30 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บรักษาทั้งในตู้ควบคุมความชื้นที่มีอุณหภูมิ 21-30 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 35-60 %RH และที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีอุณหภูมิ 24-35 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 37-89 %RH ตลอดอายุ 36 เดือน พบว่า ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ Regression Analysis มีความชันของเส้นถดถอยเป็นศูนย์ ($|t| < t_{\alpha/2, n-2}$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบ F จากตาราง Regression มีค่า p-value $> \alpha$ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่าปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในตัวอย่างปุ๋ยเคมีทั้ง 30 ตัวอย่าง มีความเสถียร (Figure 6) ถึงแม้ตัวอย่างจะมีลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนแปลงไปคือ เม็ดปุ๋ยแตกร้าวและกลายเป็นฝุ่นผงหลังเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 12 เดือน ของปุ๋ยธาตุอาหารรอง ลำดับที่ 15 ซัลแม็ก (Figure 7 a)-b))



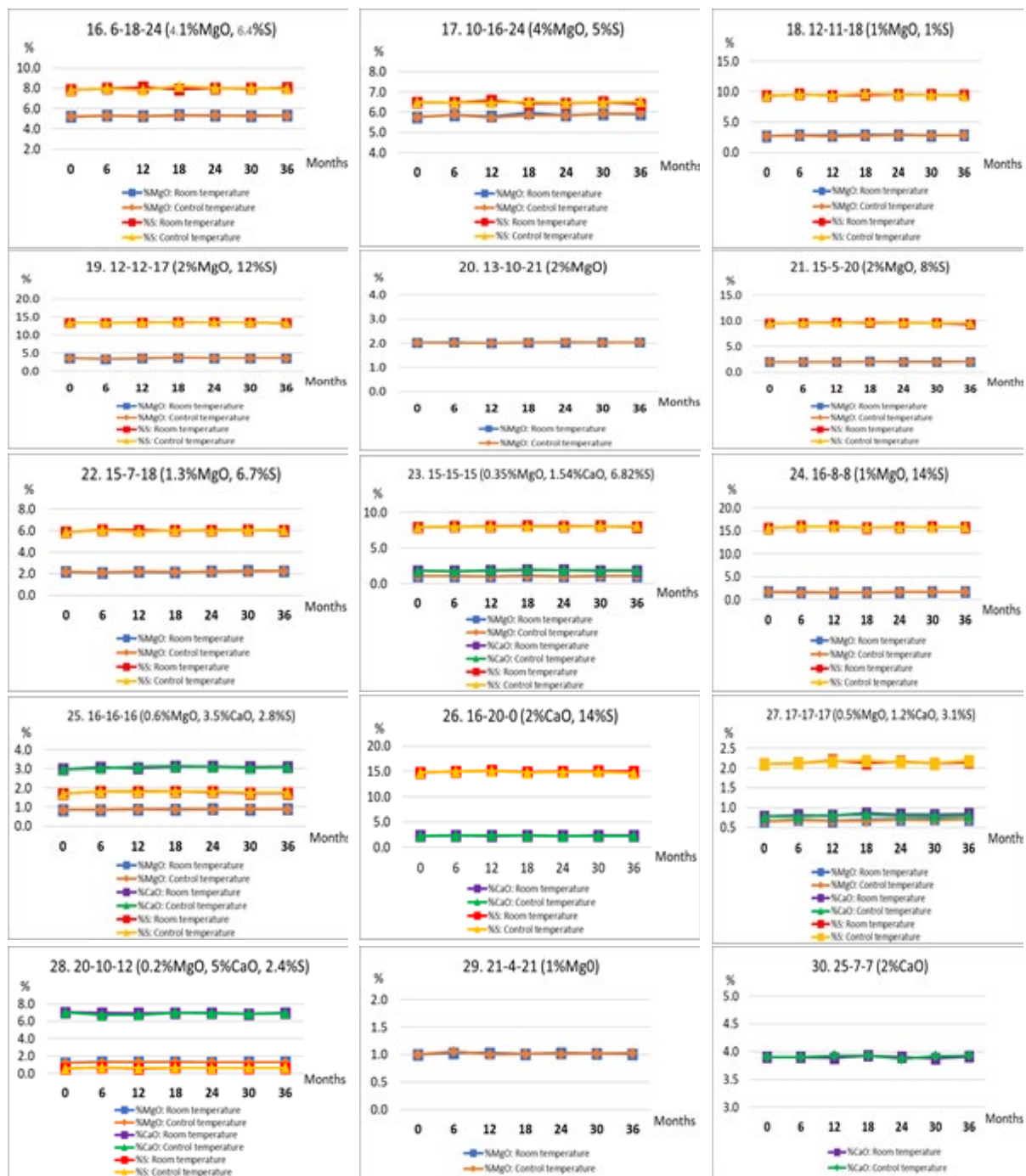


Figure 6 The stability studies of calcium magnesium and sulfur in chemical fertilizer under the long-term stability for 0-36 months.

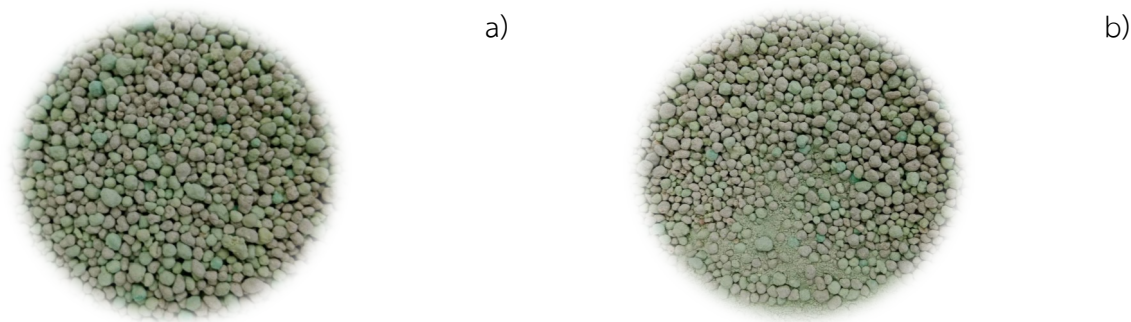


Figure 7 Sample no. 17 a) sulmag during storage in room temperature at 0-month and b) caking formed of fertilizer granules during storage in room temperature at 12-36 months.

สรุปผลการทดลอง

การทดสอบความเสถียรของปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในปุ๋ยเคมี จำนวน 30 ตัวอย่าง ภายใต้สภาวะอุณหภูมิต่างๆ ในระยะสั้น และภายใต้สภาวะการเก็บรักษาในระยะยาว ด้วยสถิติ Regression analysis พบว่า อุณหภูมิ และระยะเวลาเก็บรักษาปริมาณธาตุอาหาร ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ และผลการประเมินความแปรปรวนของการทดสอบ F จากตาราง Regression มีค่า $p\text{-value} > \alpha$ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่า ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ทั้ง 30 ตัวอย่าง มีความเสถียรภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 40, 55, 75 และ 85 °C ในช่วงเวลา 8 สัปดาห์ และการเก็บรักษาทั้งในตู้ควบคุมความชื้นและที่อุณหภูมิห้องตลอดอายุ 36 เดือน

ปุ๋ยบางชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพระหว่างการทดสอบ คือ ตัวอย่างหลอมจับตัวเป็นก้อนที่สภาวะอุณหภูมิ 40°C เวลา 2 สัปดาห์ และละลายที่สภาวะอุณหภูมิ 55°C เวลา 4 สัปดาห์ ในปุ๋ยธาตุอาหารรอง แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) และจับตัวเป็นก้อนที่สภาวะอุณหภูมิ 70°C เวลา 2 สัปดาห์ ในปุ๋ยเชิงผสมแบบคลุกเคล้าสูตร 15-7-18 และ 21-4-21 และที่สภาวะอุณหภูมิ 85°C เวลา 8 สัปดาห์ ในปุ๋ยเชิงเดี่ยวสูตร 10-0-0 และ 15-0-0 เม็ดปุ๋ยแตกกร้าวและกลายเป็นฝุ่นผงหลังเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 12 เดือน ในปุ๋ยธาตุอาหารรองซัลแม็ก และการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะสั้นไม่สามารถวิเคราะห์ได้ในบางตัวอย่าง เนื่องจากมีการเปลี่ยนสภาวะระหว่างการเก็บในตู้อบอากาศร้อน ได้แก่ ปุ๋ยเชิงเดี่ยวสูตร 10-0-0 และ 15-0-0 ปุ๋ยธาตุอาหารรอง แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl_2) และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) แต่จากการประเมินปริมาณความชื้นในตัวอย่างปุ๋ยภายใต้สภาวะควบคุมในระยะยาว พบว่า ค่า $t_{\text{cal}} < t_{\text{crit}}$ ดังนั้น ปริมาณความชื้นในตัวอย่างที่เก็บรักษาตลอดอายุ 36 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คำขอบคุณ

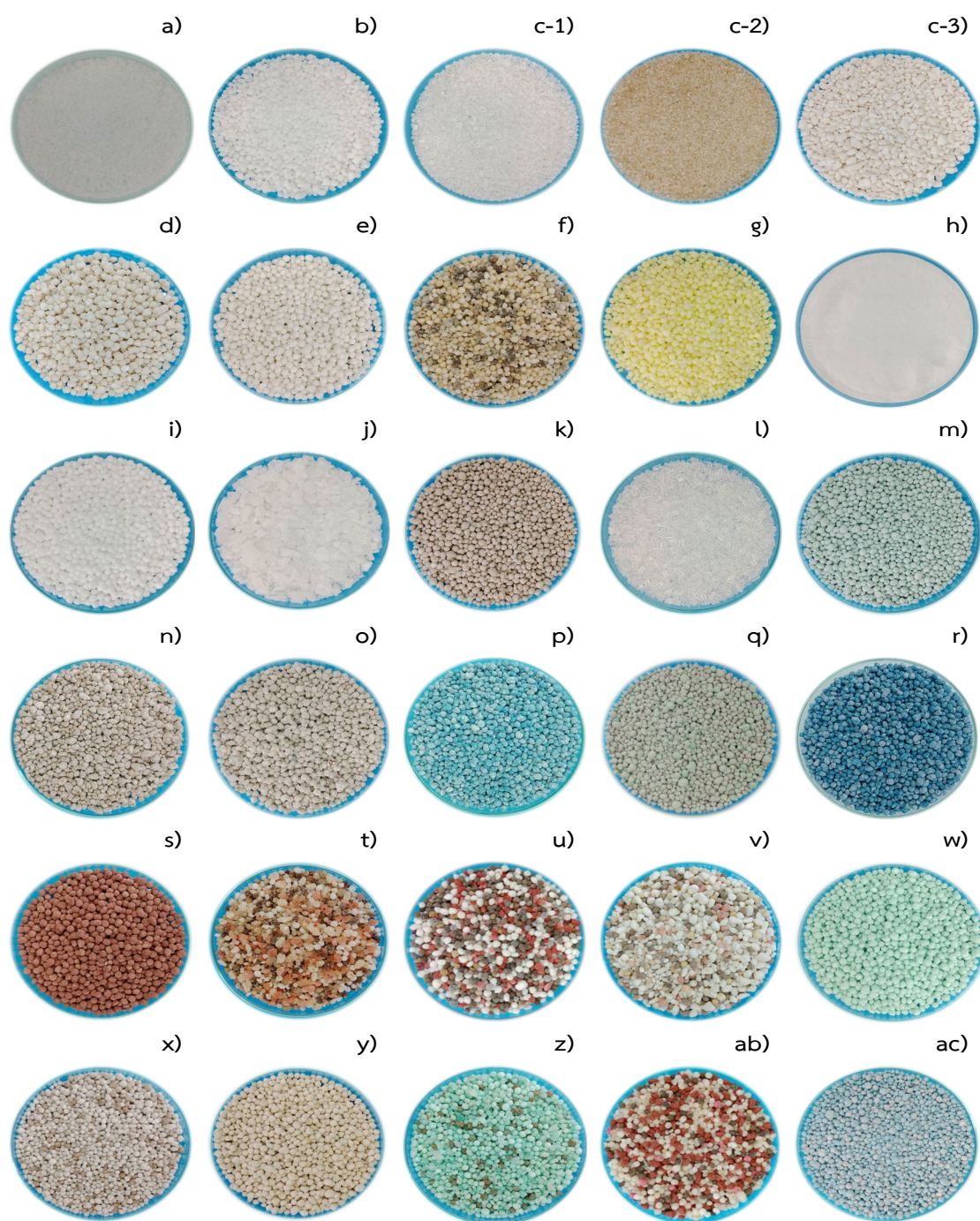
ขอขอบพระคุณ ท่านผู้อำนวยการวรรณรัตน์ ชูติบุตร ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ซึ่งช่วยชี้แนะให้เกิดการต่อยอดงานวิจัยนี้จากผลงานวิจัยเรื่อง การทดสอบความเสถียรของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี ซึ่งเป็นการทดสอบความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารหลักในปุ๋ยเคมีของรัตนารักษ์ และคณะ (2562) ขอขอบคุณความร่วมมือของเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านทั้งในส่วนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร และสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณท่านผู้บริหารที่ได้ให้คำแนะนำและการสนับสนุนมาโดยตลอด

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

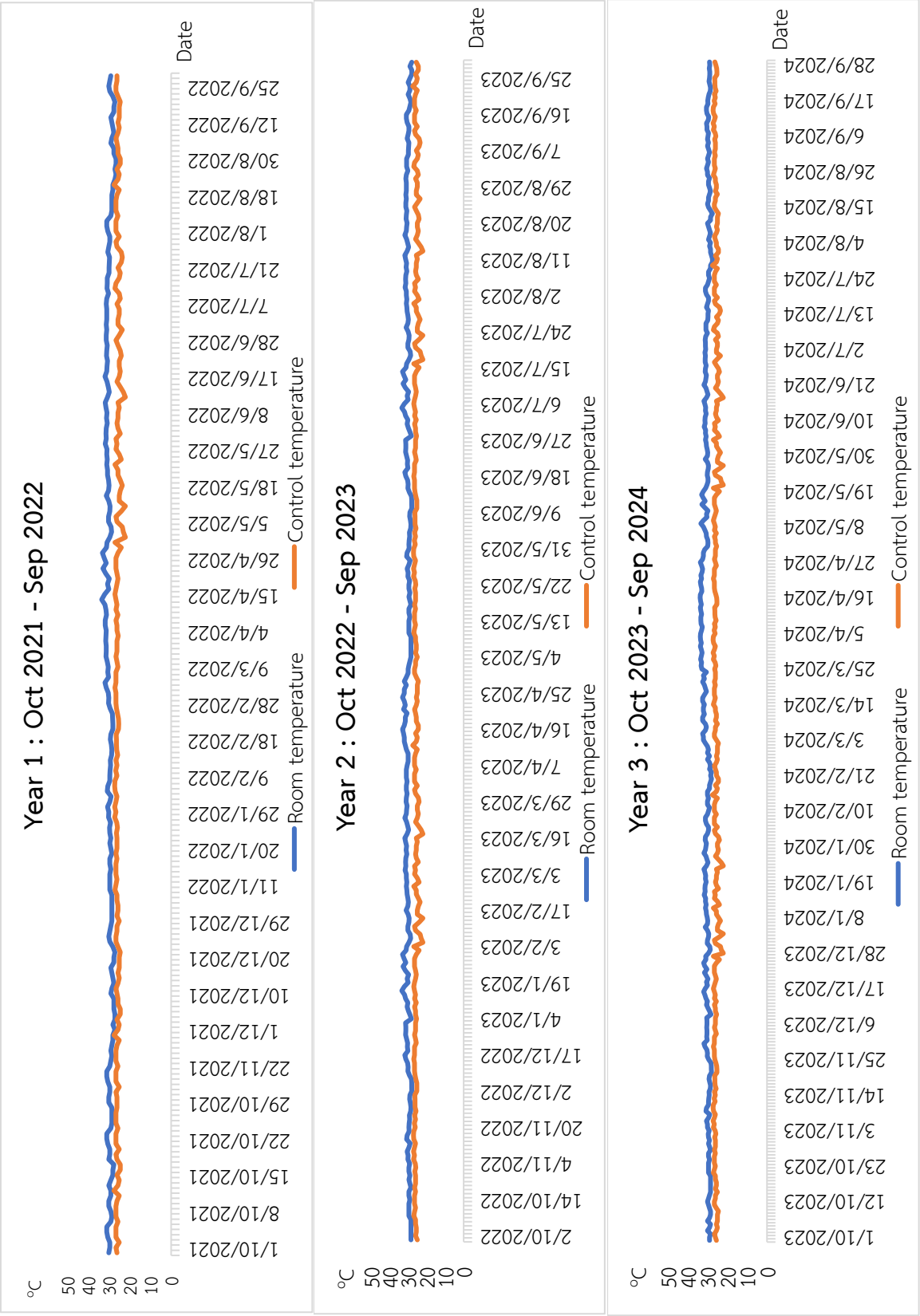
1. สามารถเชื่อมั่นถึงควมมีเสถียรภาพของปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันในปุ๋ยเคมีในสภาวะอุณหภูมิสูงถึง 85°C แม้ตัวอย่างจะมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น จับตัวเป็นก้อนแข็ง หรือมีการหลอมละลาย และตลอดอายุการเก็บรักษา 36 เดือน แม้อยู่ในสภาวะที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น หรือเม็ดปุ๋ยบางส่วนแตกร้าวเป็นฝุ่นผง
2. เป็นแนวทางในการศึกษาต่อยอด เรื่อง การทดสอบความเสถียรของปริมาณธาตุอาหารเสริมในปุ๋ยเคมีเพื่อให้ครอบคลุมทั้งปุ๋ยเคมีธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริม

เอกสารอ้างอิง

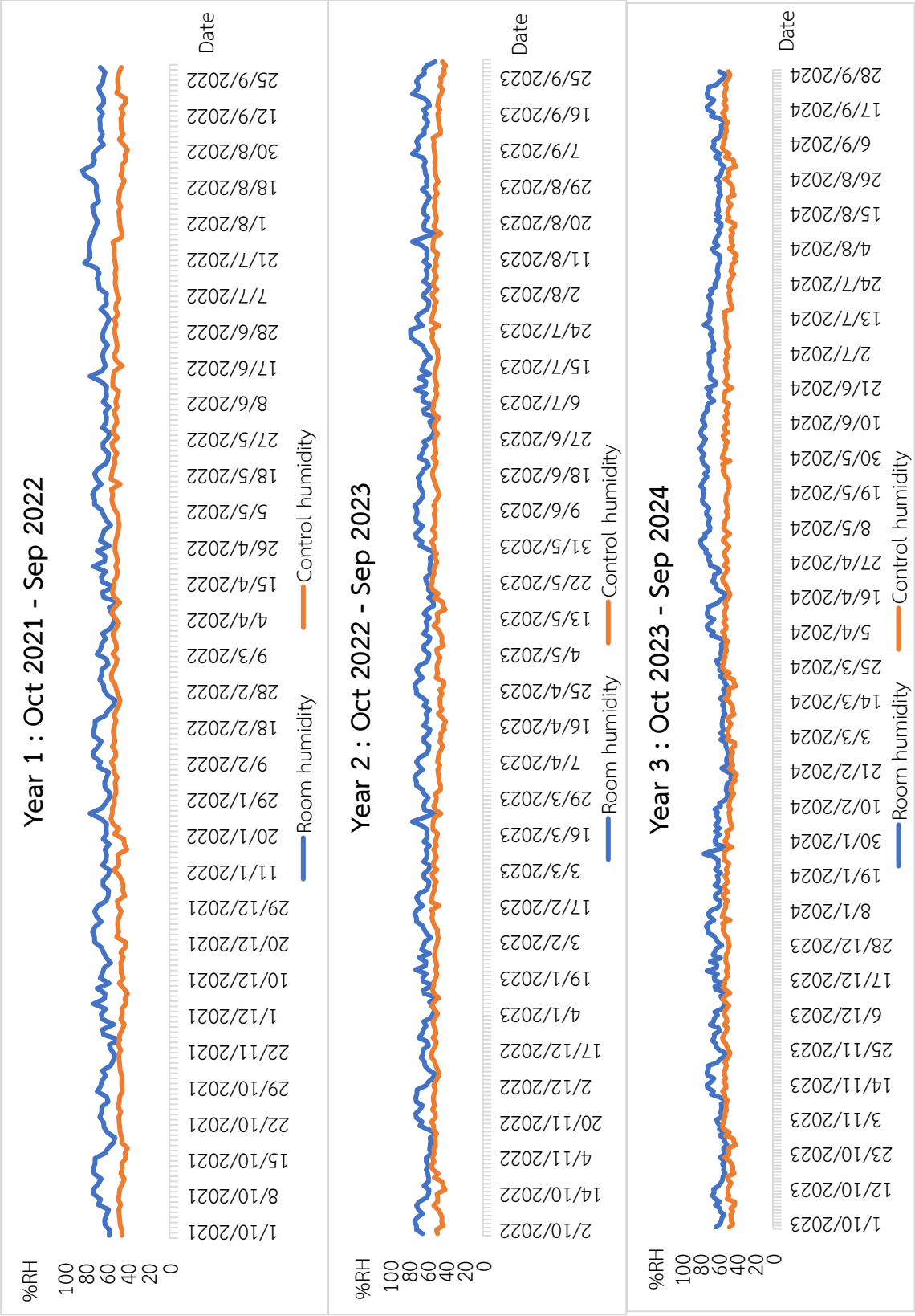
- กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี. 2565. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี : ธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริมในรูปที่ละลายน้ำได้ และสารหนู. กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร. 33 หน้า
- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 547 หน้า
- จันทร์รัตน์ วรสรรพวิทย. 2557. การศึกษาความเสถียรของวัสดุอ้างอิง/วัสดุอ้างอิงรับรอง โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ ปีที่ 62 ฉบับที่ 194; 26-29.
- รัตนารณ คชวงศ์ และคณะ. 2562. การทดสอบความเสถียรของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมที่ละลายน้ำในปุ๋ยเคมี. การประชุมประจำปี 2562 กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 12-13.
- ราชกิจจานุเบกษา. 2551. พระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550. ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 125 ตอนที่ 7ก, หน้า 1-28.
- ราชกิจจานุเบกษา. 2560. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2ง, หน้า 24.
- ราชกิจจานุเบกษา. 2564. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขเกี่ยวกับปุ๋ยที่ได้รับการยกเว้นไม่ต้องขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 พ.ศ. 2564 ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 138 ตอนพิเศษ 243ง, หน้า 9-14.
- ยงยุทธ โอสดสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และชวลิต ฮงประยูร. 2556. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 519 หน้า
- Ilhan Vahit, 2023. Calcium Chloride vs Magnesium Chloride. Available at: <https://www.petronaftco.com/calcium-chloride-vs-magnesium-chloride/>. Assessment: March 7, 2025.
- International Organization for Standardization. 2017. Reference Materials-Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability. ISO Guide 35 4th Edition 2017.



Appendix Figure 1 Images of chemical fertilizer samples a) - h) Single fertilizer i) - m) Secondary element fertilizer n) - s) w) y) z) and ac) Granulated fertilizer t) u) v) x) and ab) Bulk blending fertilizer



Appendix Figure 2 Long-term temperature trend of control temperature condition and room temperature condition



Appendix Figure 3 Long-term relative humidity trend of control humidity condition and room humidity condition

พัฒนาวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด
และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว

Method validation of total phosphorus in crystal, powder and crystal, granular
and crystal chemical fertilizers, and solid and liquid organic fertilizers

ศุภากร ดวนใหญ่ ชฎาพร คงนาม ทองจันทร์ พิมพ์เพชร
Supakorn Duanyai Chadaporn Khongnam Thongchan Pimpet

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Validation of total phosphorus in crystal, powder, and crystal, granular and crystal chemical fertilizers, and solid and liquid organic fertilizers. Revealed a usable linearity from 0.5 to 15.0 mg/L and Instrument working range from 0.5 to 12.0 mg/L, unaffected by substance characteristics. The Limit of Detection (LOD) and the Limit of Quantitation (LOQ) stand at 0.03% and 0.10% respectively. The method's accuracy and precision were evaluated through recovery studies and HorRat value assessment. At low (0.70%TP₂O₅), medium (30.2%TP₂O₅), and high (61.71%TP₂O₅), concentration levels crystal, powder and crystal, granular and crystal chemical fertilizers, and solid organic fertilizers at low (0.30%TP₂O₅), medium (3.0%TP₂O₅), and high (8.0%TP₂O₅) and liquid organic fertilizers at low (0.30%TP₂O₅), medium (1.0%TP₂O₅), and high (2.0%TP₂O₅), recovery percentages were from 98.57 – 100.98%, with HorRat values meeting acceptance criteria from 0.14 - 0.70. All values complied with international standards (recovery within 95-105%, precision HorRat < 1.3). With uncertainties at low, medium, and high in chemistry fertilizer concentrations from ±0.03 - ±1.30%, and inorganic fertilizer from ±0.01 - ±0.17%. There are no factors effect influencing the test method total phosphorus in chemical fertilizers, the Spectrophotometric Molybdovanadophosphate method emerges as a suitable analytical approach in laboratory settings. Based on the results, the laboratory can adjust the analytical conditions to be more suitable for the operation. These adjustments including the concentration of nitric acid, the addition of acid during digestion, the amount of sample solution after digestion, the equipment used for pipetting, the time of color formation, and the wavelength used. This allows for reduced costs and shorter analysis times, while ensuring that the results are accurate, precise, and reliable.

Keywords: Total phosphorus; Chemical fertilizer; Organic fertilizer

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ชนิดผงและเกล็ด และชนิดเม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงการใช้งานอยู่ในช่วง 0.5-15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.5-12.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีผลกระทบจากลักษณะเนื้อสาร ปริมาณที่ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.03%TP₂O₅ และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.10%TP₂O₅ ดำเนินการตรวจสอบความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) โดยการเติมวัสดุอ้างอิงรับรองหรือสารเคมีที่ทราบค่า ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.7%TP₂O₅) กลาง (30.2%TP₂O₅) และสูง (61.71%TP₂O₅) ในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ชนิดผงและเกล็ด และชนิดเม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.3%TP₂O₅) กลาง (3.0%TP₂O₅) และสูง (8.0%TP₂O₅) และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดเหลวที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.3% TP₂O₅) กลาง (1.0%TP₂O₅) และสูง (2.0%TP₂O₅) มีความถูกต้อง (%Recovery) อยู่ในช่วง 98.57 – 100.98% และมีความเที่ยง (HorRat) อยู่ในช่วง 0.14–0.70 ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐานสากล มีค่าความไม่แน่นอนของการวัดในปุ๋ยเคมีที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง อยู่ในช่วง ±0.03 - ±1.30% ค่าความไม่แน่นอนในปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลวที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง อยู่ในช่วง ±0.01 - ±0.17% และไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมในการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี จึงมีความเหมาะสม ที่นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จากผลการทดสอบข้างต้น ห้องปฏิบัติการสามารถปรับเปลี่ยนสภาวะในการวิเคราะห์ให้เหมาะสมกับการปฏิบัติงาน ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดในตริก การเติมกรดในการย่อย ปริมาณสารละลายตัวอย่างหลังย่อย อุปกรณ์ที่ใช้ในการปิเปต ระยะเวลาการเกิดสี และความยาวคลื่นที่ใช้วิเคราะห์ ทำให้สามารถลดต้นทุนและลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ และน่าเชื่อถือ

คำสำคัญ: ฟอสฟอรัสทั้งหมด; ปุ๋ยเคมี; ปุ๋ยอินทรีย์

บทนำ

ฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างเสริมการเจริญเติบโต ความแข็งแรงของพืช ทั้งส่วนที่อยู่เหนือดินและราก การออกดอก ออกผล หากพืชขาดฟอสฟอรัสระบบรากจะไม่เจริญเติบโต ลำต้นเล็กแกร็น ออกดอกช้า ดอกเล็ก และผลผลิตต่ำกว่าปกติ ฟอสฟอรัสในดินมีปริมาณต่ำมาก และบางส่วนอยู่ในรูปสารประกอบที่พืชใช้ประโยชน์ได้ยาก ต้องสลายตัวหรือเปลี่ยนรูปก่อน จึงจะเป็นประโยชน์ต่อพืช และฟอสฟอรัสในดินไม่เพียงพอต่อความต้องการของพืช (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) ดังนั้นพืชจึงจำเป็นต้องได้รับจากปุ๋ยฟอสฟอรัส ซึ่งปริมาณฟอสฟอรัสจะแตกต่างกันตามแหล่งที่มาหรือวัตถุดิบที่ใช้ผลิต รูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ได้แก่ ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ (Water soluble P₂O₅) พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที และส่วนที่ไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้ยาก พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยหรือน้อยมาก (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ให้บริการวิเคราะห์ทดสอบปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ ในปัจจุบันปุ๋ยเคมีที่ถูกค่านำส่งวิเคราะห์แบ่งได้เป็น 2 ลักษณะ คือของแข็ง มีหลากหลายลักษณะ เช่น เม็ด ผง เกล็ด หรือหลายลักษณะผสมกัน และของเหลว ซึ่งห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัส หรือทวนสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เป็นประจำทุก 2 ปี และจากงานวิจัยของอมรา และคณะ (2553) ได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบฟอสฟอรัส โดยใช้เทคนิคอินดักทีฟลิคอปเปิลพลาสมาออปติคอลมิสชันสเปกโตรเมทรี ในธาตุฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองแดง และโบรอน โดยใช้วัสดุอ้างอิงรับรอง พบว่า มีความถูกต้อง เที่ยงตรง สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้

ทุกความเข้มข้น โดยไม่ต้องเจือจางตัวอย่าง และเทคนิคนี้ให้ผลวิเคราะห์สูงกว่าวิธีของห้องปฏิบัติการ ซึ่งสอดคล้องกับศุภากร และคณะ (2559) ได้ศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคอินดักทีฟพลาสมาอะตอมิซชันสเปกโตรเมทรี (ICP-OES) กับเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบฟอสฟอรัส โดยใช้เทคนิค ICP-OES ในปุ๋ยเคมีเชิงประกอบและปุ๋ยเคมีเชิงผสม พบว่า เทคนิค ICP-OES ให้ผลวิเคราะห์สูงกว่าเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี และผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในปุ๋ยเคมีที่มีลักษณะเนื้อสาร (Matrix) โดยใช้วัสดุอ้างอิงรับรองที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ได้ค่าคืนกลับ (%Recovery) ที่ความเข้มข้นต่ำและสูงผ่านเกณฑ์การยอมรับ ส่วนความเข้มข้นกลางไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และความเที่ยงผ่านเกณฑ์การยอมรับทุกความเข้มข้น ส่วนในปุ๋ยอินทรีย์นั้น ศุภากร (2564) ได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในปุ๋ยอินทรีย์ชนิดของแห้ง พบว่า ที่ความเข้มข้นต่ำและสูง ได้ค่าคืนกลับ (%Recovery) และความเที่ยง ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด อย่างไรก็ตามการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งในปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์ยังไม่ครอบคลุมลักษณะตัวอย่างทั้งหมด ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจจะพัฒนาวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว และประหยัดเวลา

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer) เครื่องซึ่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง เตาระเหยไฟฟ้า เครื่องแก้วและวัสดุอื่น ที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์ เป็นต้น
2. สารเคมีเกรดวิเคราะห์ ได้แก่ Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), Ammonium molybdate [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$], Ammonium metavanadate (NH_4VO_3), Nitric acid 65% (HNO_3), Nitric acid 69-70% (HNO_3), Perchloric acid 69-72% (HClO_4)
3. วัสดุอ้างอิงรับรอง ได้แก่ Ammonium dihydrogen phosphate (SRM 194a) และ Phosphate rock (SRM 694)
4. ปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด ชนิดผงและเกล็ด ชนิดเม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว

วิธีการ

1. จัดเตรียม วัสดุ อุปกรณ์ ที่ต้องใช้ในการทดสอบ และจัดหาวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ที่มีค่า Certified Value และ Uncertainty ปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลวที่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank)
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว

2.1 การศึกษาหาค่า Linearity and Range และผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effects)

2.1.1 Linearity

2.1.1.1 เตรียม Standard P solution แล้วนำไปย่อยด้วยกรดผสม 1:1 v/v (HNO_3 : HClO_4) จำนวน 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นล้างตะกอนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร แล้วปิเปต Standard P solution แล้วลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 12 และ 15 mg/L

2.1.1.2 Spiked standard P solution ลงใน Sample blank แล้วนำไปย่อยด้วยกรดผสม 1:1 v/v (HNO_3 : HClO_4) จำนวน 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นล้างตะกอนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร

จากนั้นปิเปต Sample blank ที่ Spiked standard P แล้วลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 12 และ 15 mg/L

2.1.1.3 นำสารละลายข้อ 2.1.1.1 และ 2.1.1.2 ไปทำให้เกิดสีด้วยน้ำยา

Molybdovanadate reagent จำนวน 1:10 ของปริมาตรสุดท้าย ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นแล้วเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

2.1.1.4 นำไปวัดด้วย UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

2.1.1.5 บันทึกผล และสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ Sample blank ที่ Spiked standard (แกน x) กับ Absorbance (แกน y)

2.1.1.6 พิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r)

เกณฑ์ยอมรับ : $r \geq 0.995$

2.1.2 Instrument working range

2.1.2.1 เตรียม Standard P solution แล้วนำไปย่อยด้วยกรดผสม 1:1 v/v (HNO_3 : HClO_4) จำนวน 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นล้างตะกอนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร แล้วปิเปต Standard P solution แล้วลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 mg/L ทดสอบอย่างน้อยความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

2.1.2.2 Spiked standard P solution ลงใน Sample blank แล้วนำไปย่อยด้วยกรดผสม 1:1 v/v (HNO_3 : HClO_4) จำนวน 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นล้างตะกอนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปต Sample blank ที่ Spiked standard P แล้วลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 mg/L ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

2.1.2.3 นำสารละลายข้อ 2.1.2.1 และ 2.1.2.2 ไปทำให้เกิดสีด้วยน้ำยา Molybdovanadate reagent จำนวน 1:10 ของปริมาตรสุดท้าย ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วเขย่าให้เข้ากัน

2.1.2.4 นำไปวัดด้วย UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

2.1.2.5 บันทึกผล และสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ Sample blank ที่ Spiked standard (แกน x) กับ Absorbance (แกน y)

2.1.2.6 พิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient : r)

เกณฑ์ยอมรับ : $r \geq 0.995$

2.1.3 ผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effects)

โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่างสารมาตรฐานฟอสฟอรัส และสารมาตรฐานฟอสฟอรัสที่เติมลงในตัวอย่างที่มีเนื้อสารชนิดเดียวกับปุ๋ย แต่ไม่มีสารที่สนใจ (Sample blank) ตามข้อ 2.1.2 เกณฑ์การยอมรับความชันแตกต่างกันไม่เกิน 10 % (NATA Technical Note 17, 2018)

2.2 การประมาณขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

2.2.1 ชั่ง Sample blank ลง Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร

2.2.2 เติมกรดผสม 1:1 v/v (HNO_3 : HClO_4) จำนวน 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยบนเตาระเหยไฟฟ้า จนเหลือสารละลายประมาณ 4 มิลลิลิตร ยกลงจากเตาระเหยไฟฟ้า ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นลงใน Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากัน

2.2.3 กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 บีบสารละลายลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม Molybdovanadate reagent จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวิเคราะห์ด้วย UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

2.2.4 บันทึกข้อมูล และคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2.2.5 คำนวณค่า LOD จากสูตร $LOD = 3S_0$ และ $LOQ = 10S_0$

2.3 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน

2.3.1 ชั่งวัสดุอ้างอิงรับรองวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 10 ช้ำ ทดสอบตามข้อ 2.2.2 – 2.2.5

2.3.2 บันทึกข้อมูล พิจารณาความถูกต้อง โดยคำนวณหาร้อยละค่าคืนกลับ (%Recovery) และ ประเมินความเที่ยง โดยใช้สมการ Horwitz's Ratio

2.4 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ ต่ำ กลาง สูง ในเนื้อสารชนิดเดียวกับปฏึก (Matrix)

2.4.1 ชั่งวัสดุอ้างอิงรับรองลงใน Sample blank วิเคราะห์ความเข้มข้นละ 10 ช้ำ ทดสอบตามข้อ 2.2.2 – 2.2.5 โดยทำการวิเคราะห์ที่เวลาแตกต่างกัน

2.4.2 บันทึกข้อมูล พิจารณาความถูกต้องโดยคำนวณหาร้อยละค่าคืนกลับ (%Recovery) และ ประเมินความเที่ยง โดยใช้สมการ Horwitz's Ratio

3. ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) และตรวจสอบความคงทนของ วิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness)

3.1 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty)

3.1.1 รวบรวมข้อมูล Repeatability ของอุปกรณ์และเครื่องมือ เพื่อใช้ในการหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) ทำแผนผังก้างปลา และรวมแหล่ง Uncertainty จากทุกแหล่งที่ช่วงความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง

3.1.2 คำนวณค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่ง

3.1.3 รวมความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง (Combined) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง

3.2 ศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมในปฏึกเคมี ด้วยการทดสอบ Ruggedness โดยการวางแผนการทดลอง 7 ตัวแปร 8 การทดลอง ได้แก่

3.2.1 สภาวะทดสอบปกติที่ใช้ความเข้มข้นของกรดไนตริก 69-70% กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลง ใช้ความเข้มข้นของกรดไนตริก 65%

3.2.2 สภาวะทดสอบปกติในการเติมกรดผสมในการย่อย กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลงโดยการเติม กรดทีละชนิด

3.2.3 สภาวะทดสอบปกติที่ปริมาณสารละลายตัวอย่างหลังย่อยเหลือ 4 มิลลิลิตร กับ สภาวะที่ เปลี่ยนแปลงปริมาณสารละลายตัวอย่างหลังย่อยเหลือ 6 มิลลิลิตร

3.2.4 สภาวะทดสอบปกติที่ใช้ Volumetric pipette บีบสารละลายตัวอย่าง กับ สภาวะที่ เปลี่ยนแปลงใช้ Auto pipette บีบสารละลายตัวอย่าง

3.2.5 สภาวะทดสอบปกติที่เติมปริมาณสารที่ทำให้เกิดสี จำนวน 10 มิลลิลิตร กับ สภาวะที่ เปลี่ยนแปลงที่เติมปริมาณสารที่ทำให้เกิดสี จำนวน 12 มิลลิลิตร

3.2.6 สภาวะทดสอบปกติที่ระยะเวลาเกิดสี 30 นาที กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลงที่ระยะเวลาเกิดสี 10 นาที

3.2.7 สภาวะทดสอบปกติที่ความยาวคลื่นที่ใช้วัด 420 นาโนเมตร กับ สภาวะที่เปลี่ยนแปลงที่ความยาวคลื่นที่ใช้วัด 400 นาโนเมตร

3.2.8 ซั่งวัสดุอ้างอิงรับรองปุ๋ยเคมี นำไปวิเคราะห์ฟอสฟอรัสตามสภาวะของแต่ละการทดลองทำการทดลองละ 4 ซ้ำ

3.2.9 คำนวณผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ (E)

3.2.10 พิจารณาค่า E มากกว่า S : significant sensitive for changes

ถ้ามค่า E น้อยกว่า S : no significant sensitive for changes

$$\text{โดย } S = \sqrt{2/7x \sum(E^2)}$$

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM)

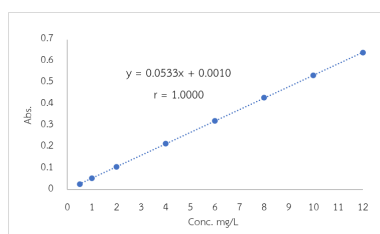
วัสดุอ้างอิงที่มีค่า Certified Value และ Uncertainty ได้ดังนี้

- Ammonium Dihydrogen Phosphate (SRM 194a) $26.93 \pm 0.14\%P$ ($61.71 \pm 0.32\%P_2O_5$)
- Rock phosphate (SRM 694) $30.2 \pm 0.1\%P_2O_5$

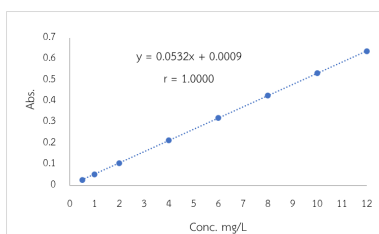
2. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

2.1 การศึกษาหาค่า Linearity and Instrument working range และผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effects)

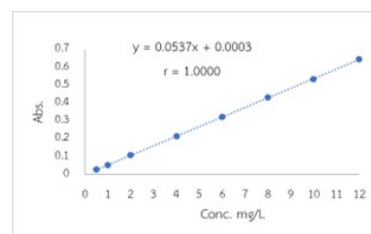
หาค่า Linearity and Instrument working range โดยสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) (แกน y) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (mg/L) (แกน X) หาช่วงความเป็นเส้นตรง พบว่าอยู่ในช่วง 0.5-15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99999 (ภาพที่ 1) เลือกเอาช่วง 0.5-12.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาหาค่า Linearity ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 1.0000 (ภาพที่ 1a-1d) และเท่ากับ 0.9999 (ภาพที่ 1e) ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ



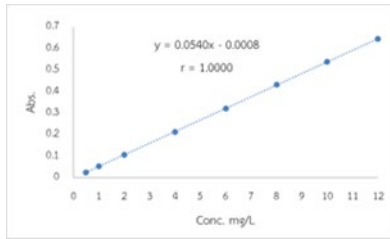
ภาพที่ 1a ปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด



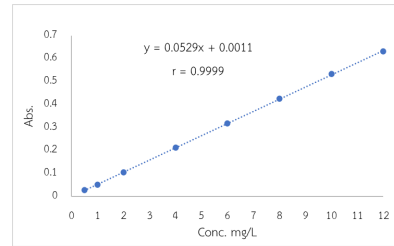
ภาพที่ 1b ปุ๋ยเคมีชนิดผงและเกล็ด



ภาพที่ 1c ปุ๋ยเคมีชนิดเม็ดและเกล็ด

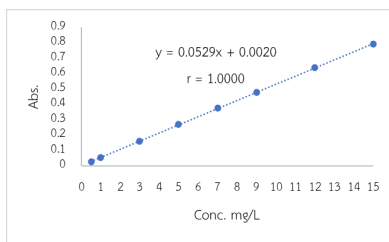


ภาพที่ 1d ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง

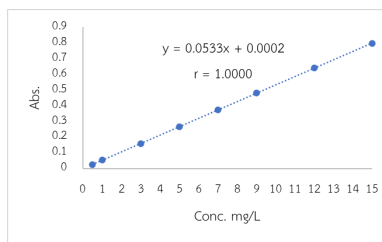


ภาพที่ 1e ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดเหลว

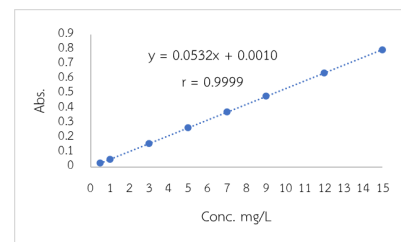
ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) โดยสร้างกราฟความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (แกน x) กับค่าเฉลี่ย Absorbance (Abs.) 8 ความเข้มข้น (แกน y) ได้แก่ 0.5, 1, 3, 5, 7, 9, 12 และ 15 mg/L ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 1.0000 (ภาพที่ 2a, 2b, 2d และ 2e) และเท่ากับ 0.9999 (ภาพที่ 2c)



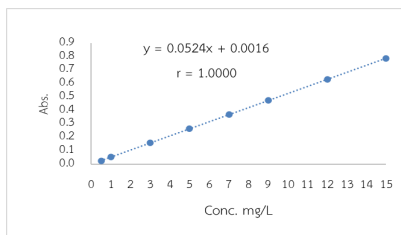
ภาพที่ 2a ปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด



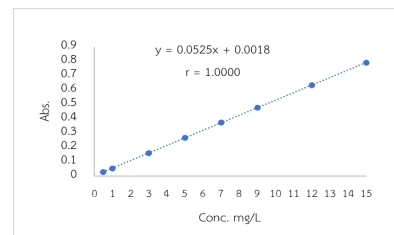
ภาพที่ 2b ปุ๋ยเคมีชนิดผงและเกล็ด



ภาพที่ 2c ปุ๋ยเคมีชนิดเม็ดและเกล็ด



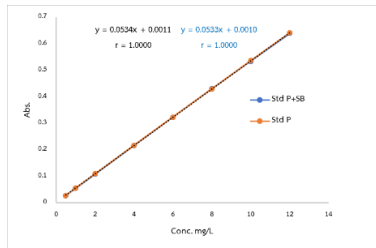
ภาพที่ 2d ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง



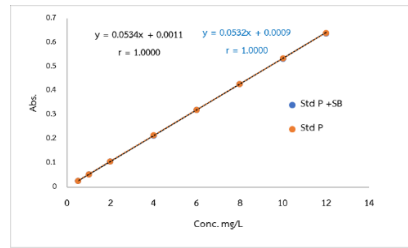
ภาพที่ 2e ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดเหลว

ผลกระทบของเมทริกซ์ (Matrix effects)

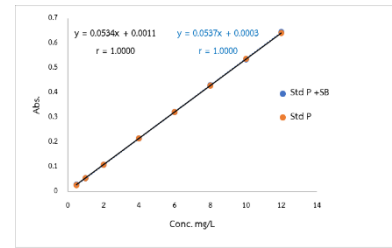
โดยเปรียบเทียบความชันของกราฟมาตรฐานระหว่าง Standard P solution ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 mg/L กับ Spiked standard P solution ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 mg/L ลงใน Sample blank ตามภาพที่ 3a-3e



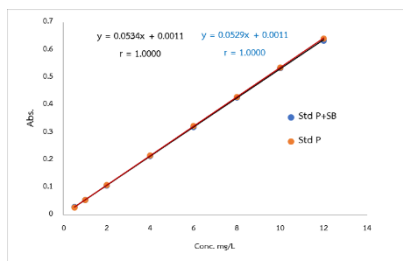
ภาพที่ 3a ปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด



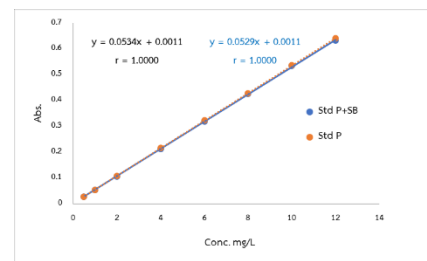
ภาพที่ 3b ปุ๋ยเคมีชนิดผงและเกล็ด



ภาพที่ 3c ปุ๋ยเคมีชนิดเม็ดและเกล็ด



ภาพที่ 3d ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง



ภาพที่ 3e ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดเหลว

จากกราฟความชันของ Standard P solution และความชันของ Spiked standard P solution ลงใน Sample blank ในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง และเหลว เมื่อคำนวณความชันของกราฟทั้งสองมีค่าแตกต่างกัน 0.19%, 0.30%, 0.56%, 0.94% และ 0.94% ตามลำดับ ตามเกณฑ์ของ NATA Note 17 (2018) กำหนดไว้ว่าความชันของทั้งสองกราฟมีค่าแตกต่างกันไม่เกิน 10% ดังนั้น จึงไม่มี Matrix effect ต่อ Standard curve

2.2 การประมาณขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

โดยการวิเคราะห์ Sample blank จำนวน 10 ข้าง ในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว ได้ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ) มีค่าเท่ากับ 0.03%TP₂O₅ และ 0.10%TP₂O₅ ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)

ลำดับที่	ปุ๋ย/ชนิด	ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOD)	ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานผลได้ (LOQ)
1	ปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด	0.03% TP ₂ O ₅	0.10% TP ₂ O ₅
2	ปุ๋ยเคมี ชนิดผงและเกล็ด	0.03% TP ₂ O ₅	0.10% TP ₂ O ₅
3	ปุ๋ยเคมี ชนิดเม็ดและเกล็ด	0.03% TP ₂ O ₅	0.10% TP ₂ O ₅
4	ปุ๋ยอินทรีย์ ชนิดแห้ง	0.03% TP ₂ O ₅	0.10% TP ₂ O ₅
5	ปุ๋ยอินทรีย์ ชนิดเหลว	0.03% TP ₂ O ₅	0.10% TP ₂ O ₅

2.3 การพิสูจน์ค่าความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ในปุ๋ยเคมีที่ระดับความเข้มข้น LOQ (0.7%TP₂O₅) และในปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว ที่ระดับความเข้มข้น LOQ (0.3%TP₂O₅)

โดยการเติมวัสดุอ้างอิงรับรองหรือสารเคมีมาตรฐานลงใน Sample blank พบว่า %Recovery ที่ระดับความเข้มข้น LOQ อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ และการตรวจสอบความเที่ยง โดยประเมินค่า Precision จาก HorRat (Horwitz's Ratio) ค่าความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของ LOQ ของปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดเหลว อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ของ LOQ

ลำดับที่	ปุ๋ย/ชนิด	ระดับความเข้มข้น (%TP ₂ O ₅)	ค่าเฉลี่ยที่ทดสอบได้ (%TP ₂ O ₅)	ความถูกต้อง (%Recovery)	ความเที่ยง (HorRat) (เกณฑ์ยอมรับ <1.3)	เกณฑ์ยอมรับ (%Recovery)
1	ปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด	0.70	0.695	99.37	0.39	95-105
2	ปุ๋ยเคมี ชนิดผงและเกล็ด	0.70	0.691	98.71	0.40	95-105
3	ปุ๋ยเคมี ชนิดเม็ดและเกล็ด	0.70	0.697	99.52	0.70	95-105
4	ปุ๋ยอินทรีย์ ชนิดแห้ง	0.30	0.296	98.67	0.70	95-105
5	ปุ๋ยอินทรีย์ ชนิดเหลว	0.30	0.295	98.57	0.42	95-105

2.4 พิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ซึ่ง Sample blank และเติมวัสดุอ้างอิงรับรองหรือสารเคมีมาตรฐาน ตามความเข้มข้นที่กำหนดในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ผงและเกล็ด เม็ดและเกล็ด ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว จำนวน 10 ซ้ำ โดยทดสอบต่างวัน ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบฟอสฟอรัสทั้งหมด โดยวิธี Spectrophotometric Molybdovanadophosphate Method 1.09.01 (ราชกิจจานุเบกษา, 2560) ตามตารางที่ 3

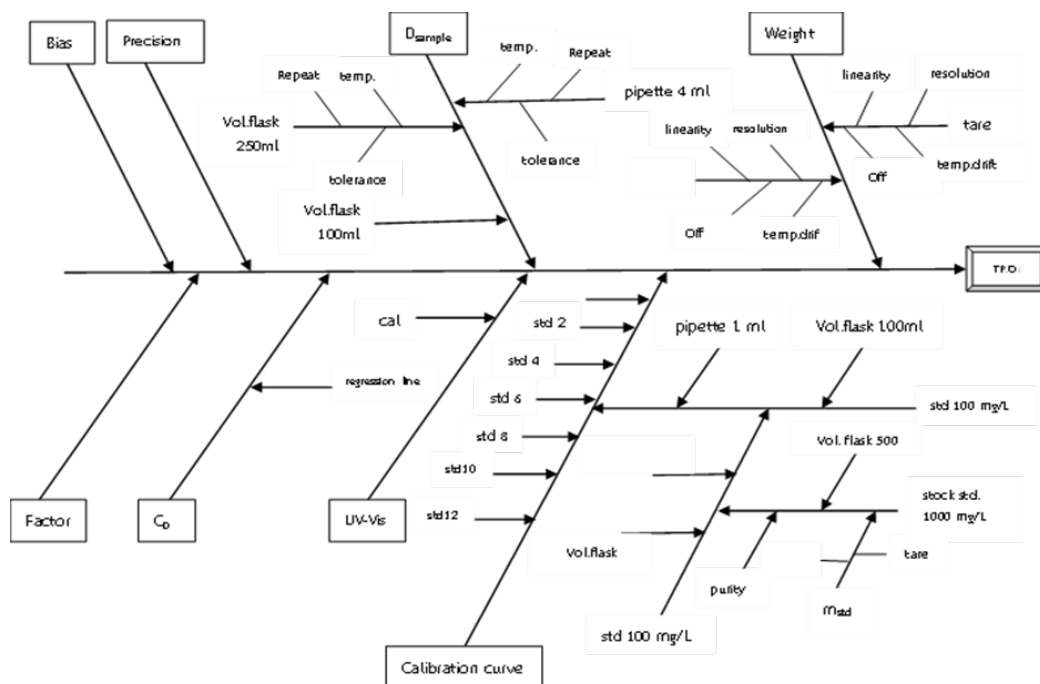
ตารางที่ 3 ค่าความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ในปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด ชนิดผงและเกล็ด และชนิดเม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว

ปุ๋ย/ชนิด	ค่าเฉลี่ยที่ทดสอบได้ (%TP ₂ O ₅)			Trueness (%Recovery)			Precision (HorRat) (เกณฑ์ยอมรับ < 1.3)		
	ต่ำ	กลาง	สูง	ต่ำ	กลาง	สูง	ต่ำ	กลาง	สูง
ปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด	0.700	30.04	61.81	100.00	99.47	100.16	0.39	0.24	0.14
ปุ๋ยเคมี ชนิดผงและเกล็ด	0.691	30.09	61.78	98.71	99.64	100.11	0.40	0.48	0.18
ปุ๋ยเคมี ชนิดเม็ดและเกล็ด	0.702	30.09	61.61	100.27	99.60	99.85	0.61	0.32	0.18
ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง	0.295	3.09	7.98	98.67	100.98	99.70	0.70	0.26	0.27

3. ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) และตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness)

3.1 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty)

รวบรวมข้อมูล Repeatability ของอุปกรณ์และเครื่องมือ เพื่อใช้ในการหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) นำมาจัดทำแผนผังก้างปลาได้ตามภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แหล่งของความคลาดเคลื่อนตามผังก้างปลาของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ย

นำค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่งมาประเมินค่าความไม่แน่นอนในปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด ผงและเกล็ดเม็ดและเกล็ด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ดังนี้ ความเข้มข้นต่ำ $\pm 0.03\%$, $\pm 0.03\%$, $\pm 0.03\%$, ความเข้มข้นกลาง $\pm 0.62\%$, $\pm 0.67\%$, $\pm 0.66\%$ และความเข้มข้นสูง $\pm 1.25\%$, $\pm 1.26\%$, $\pm 1.30\%$ ตามลำดับ ค่าความไม่แน่นอนในปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง ดังนี้ ความเข้มข้นต่ำ $\pm 0.01\%$, $\pm 0.02\%$ ความเข้มข้นกลาง $\pm 0.07\%$, $\pm 0.02\%$ และ ความเข้มข้นสูง $\pm 0.17\%$ และ $\pm 0.05\%$ ตามลำดับ ตามตารางที่ 4

3.2 ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) โดยมี 7 ตัวแปร จำนวน 8 การทดลอง (ตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบเฉพาะในปุ๋ยเคมีเนื่องจากปุ๋ยอินทรีย์ไม่มีวัสดุอ้างอิง)

การเปลี่ยนแปลงภาวะและสิ่งแวดล้อม โดยมี 7 ตัวแปร คือ ความเข้มข้นของกรดไนตริก การเติมกรดในการย่อย ปริมาณสารละลายตัวอย่างหลังย่อย อุปกรณ์ที่ใช้การปิเปต ปริมาณสารที่ทำให้เกิดสี ระยะเวลาการเกิดสี และความยาวคลื่นที่ใช้วิเคราะห์ โดยใช้ Youden-Stainer testing ในการประเมินพบว่า ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในทุกระดับความเข้มข้นในปุ๋ยเคมี มีค่าน้อยกว่า 5 แสดงว่า ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะและสิ่งแวดล้อมดังกล่าว ตามตารางที่ 5-8

จากผลการตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) พบว่า การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี สามารถเปลี่ยนแปลงสภาวะได้ ดังนี้ ความเข้มข้นของกรดไนตริกที่ความเข้มข้น 65-70%, การเติมกรดผสมหรือการแยกเติมแต่ละสารในขั้นตอนการย่อย, ปริมาณสารละลายตัวอย่างหลังการย่อย 4 หรือ 6 มิลลิลิตร, การใช้ Auto pipette หรือ Volumetric pipette ในการปิเปตตัวอย่าง, ระยะเวลาการเกิดสี 10 หรือ 30 นาที และความยาวคลื่นที่ใช้วิเคราะห์ 400 หรือ 420 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับวิธีมาตรฐานสากล (AOAC, 2023 และ OMAF, 1987)

ตารางที่ 4 ค่าความไม่แน่นอนของการวัด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ชนิดผง และเกล็ด และชนิดเม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว

ปุ๋ย/ชนิด	ระดับความเข้มข้น (%TP ₂ O ₅)					
	ต่ำ	Uncertainty	กลาง	Uncertainty	สูง	Uncertainty
ปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด	0.70	±0.03	30.04	±0.62	61.81	±1.25
ปุ๋ยเคมี ชนิดผงและเกล็ด	0.69	±0.03	30.09	±0.67	61.78	±1.26
ปุ๋ยเคมี ชนิดเม็ดและเกล็ด	0.71	±0.03	30.09	±0.66	61.61	±1.30
ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้ง	0.30	±0.01	3.09	±0.07	7.98	±0.17
ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดเหลว	0.30	±0.02	1.01	±0.02	2.00	±0.05

ตารางที่ 5 ตัวแปรที่ใช้ในการทดสอบ Ruggedness

ตัวแปร	สภาวะ	ปกติ (A-G)	เปลี่ยนแปลง (a-g)
A	ความเข้มข้นของกรดไนตริก	69-70%	65%
B	การเติมกรดในการย่อย	เติมกรดผสม	เติมกรดทีละสาร
C	ปริมาณสารละลายตัวอย่างหลังย่อย	4 มิลลิลิตร	6 มิลลิลิตร
D	อุปกรณ์ที่ใช้ในการปิเปต	Volumetric pipette	Auto pipette
E	ปริมาณสารที่ทำให้เกิดสี	10 มิลลิลิตร	12 มิลลิลิตร
F	ระยะเวลาการเกิดสี	ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที	ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
G	ความยาวคลื่นที่ใช้วิเคราะห์	420 นาโนเมตร	400 นาโนเมตร

ตารางที่ 6 การทดสอบ Ruggedness ภายใต้ 7 ตัวแปร และ 8 การทดลอง

การทดลองที่	แผนการทดลอง							การออกแบบ
1	A	B	C	D	E	F	G	69-70%/เติมกรดผสม/4 มิลลิลิตร/Volumetric pipette/ 10 มิลลิลิตร/ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที/420 นาโนเมตร
2	A	B	c	D	e	f	g	69-70%/เติมกรดผสม/6 มิลลิลิตร/Volumetric pipette/ 12 มิลลิลิตร/ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที/400 นาโนเมตร
3	A	b	C	d	E	f	g	69-70%/เติมกรดที่ละลาย/4 มิลลิลิตร/Auto pipette/ 10 มิลลิลิตร/ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที/400 นาโนเมตร
4	A	b	c	d	e	F	G	69-70%/เติมกรดที่ละลาย/6 มิลลิลิตร/Auto pipette/ 12 มิลลิลิตร/ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที/420 นาโนเมตร
5	a	B	C	d	e	F	g	65%/เติมกรดผสม/4 มิลลิลิตร/Auto pipette/ 10 มิลลิลิตร/ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที/400 นาโนเมตร
6	a	B	c	d	E	f	G	65%/เติมกรดผสม/6 มิลลิลิตร/Auto pipette/ 10 มิลลิลิตร/ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที/420 นาโนเมตร
7	a	b	C	D	e	f	G	65%/เติมกรดที่ละลาย/4 มิลลิลิตร/Volumetric pipette/12 มิลลิลิตร/ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที/420 นาโนเมตร
8	a	b	c	D	E	F	g	65%/เติมกรดที่ละลาย/6 มิลลิลิตร/Volumetric pipette/10 มิลลิลิตร/ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที/400 นาโนเมตร

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ย และ %Recovery ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในวัสดุอ้างอิงรับรอง

การทดลองที่	ค่าเฉลี่ยผลการวิเคราะห์ในวัสดุอ้างอิงรับรอง		
	ความเข้มข้นต่ำ (0.70%TP ₂ O ₅)	ความเข้มข้นกลาง (30.2% TP ₂ O ₅)	ความเข้มข้นสูง (61.71% TP ₂ O ₅)
1	0.68	30.28	61.32
%Recovery	97.14	100.26	99.37
2	0.69	30.35	62.00
%Recovery	98.57	100.50	100.47
3	0.65	30.17	61.68
%Recovery	92.86	99.90	99.95
4	0.67	30.09	61.63
%Recovery	95.36	99.64	99.87
5	0.67	29.96	60.73
%Recovery	95.71	99.20	98.41
6	0.68	30.27	61.56
%Recovery	96.79	100.24	99.76
7	0.68	30.22	61.77
%Recovery	97.50	100.07	100.10
8	0.69	30.18	61.73
%Recovery	97.86	99.94	100.03

นำผลการทดสอบมาคำนวณผลต่างค่าสัมบูรณ์ (E) และค่า S ของการเปลี่ยนแปลงสถานะต่างๆ ตามตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลต่างตามค่าสัมบูรณ์ (E) และค่า S

การทดลอง	Rep	Value (%TP ₂ O ₅)		
		0.70%	30.2%	61.71%
E _A	$\left(\frac{R1 + R2 + R3 + R4}{4}\right) - \left(\frac{R5 + R6 + R7 + R8}{4}\right)$	-0.98	0.34	0.21
E _B	$\left(\frac{R1 + R2 + R5 + R6}{4}\right) - \left(\frac{R3 + R4 + R7 + R8}{4}\right)$	1.16	-0.48	0.16
E _C	$\left(\frac{R1 + R2 + R5 + R7}{4}\right) - \left(\frac{R3 + R4 + R6 + R6}{4}\right)$	1.52	-0.31	0.07
E _D	$\left(\frac{R1 + R2 + R7 + R8}{4}\right) - \left(\frac{R3 + R4 + R5 + R6}{4}\right)$	2.59	0.50	0.44
E _E	$\left(\frac{R1 + R3 + R6 + R8}{4}\right) - \left(\frac{R2 + R4 + R5 + R7}{4}\right)$	-0.62	0.06	0.23
E _F	$\left(\frac{R1 + R4 + R5 + R8}{4}\right) - \left(\frac{R2 + R3 + R6 + R7}{4}\right)$	0.09	-0.65	-0.42
E _G	$\left(\frac{R1 + R4 + R6 + R7}{4}\right) - \left(\frac{R2 + R3 + R5 + R6}{4}\right)$	0.45	0.06	0.17
S		3.35	0.71	1.02

สรุปผลการทดลอง

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ชนิดผงและเกล็ด และชนิดเม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว ปริมาณที่ต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.03%TP₂O₅ และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้ (LOQ) เท่ากับ 0.10%TP₂O₅ ดำเนินการพิสูจน์ Trueness และ Precision ของ LOQ ในปุ๋ยเคมีชนิดเกล็ด ชนิดผงและเกล็ด และชนิดเม็ดและเกล็ด ที่ความเข้มข้น 0.7%TP₂O₅ ในปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและชนิดเหลว ที่ความเข้มข้น 0.3%TP₂O₅ มีค่าความถูกต้องซึ่งหาได้จากร้อยละของค่าคืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 99.37%, 98.71%, 99.52%, 98.67% และ 98.57% ตามลำดับ และมีความเที่ยง โดยประเมินจาก HorRat อยู่ในช่วง 0.39-0.70 ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล และการทดสอบความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ในปุ๋ยเคมี ชนิดเกล็ด ชนิดผงและเกล็ด และชนิดเม็ดและเกล็ด และปุ๋ยอินทรีย์ชนิดแห้งและเหลว มีความแม่นยำ (%Recovery) อยู่ในช่วง 98.57 - 100.98% และมีความเที่ยง (HorRat) อยู่ในช่วง 0.14 - 0.70 ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากล มีค่าความไม่แน่นอนของการวัดของปุ๋ยเคมีอยู่ในช่วง ± 0.03 - $\pm 1.30\%$ และปุ๋ยอินทรีย์มีค่าความไม่แน่นอนของการวัดอยู่ในช่วง ± 0.01 - $\pm 0.17\%$ และจากผลการตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบ โดยการเปลี่ยนแปลงสถานะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) พบว่า ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสถานะและสิ่งแวดล้อมในการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี

คำขอบคุณ

รายงานวิจัยฉบับนี้อยู่ภายใต้โครงการพัฒนาระบบการรับรองมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพปุ๋ยตามมาตรฐานสากล แผนงานวิจัยเรื่อง พัฒนาระบบการตรวจรับรองคุณภาพปัจจัยการผลิตเพื่อสร้างมาตรฐานและยกระดับคุณภาพห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) สามารถดำเนินงานได้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลากรและเจ้าหน้าที่ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยในการดำเนินการทั้งในด้านเอกสาร การเตรียมตัวอย่าง และดำเนินการวิจัย คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดใช้ในงานบริการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยของกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพปุ๋ย กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
2. สามารถนำไปถ่ายทอดให้ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยทั้งภาครัฐและภาคเอกชน

เอกสารอ้างอิง

- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. *ปฐพีวิทยาเบื้องต้น*. พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ราชกิจจานุเบกษา. 2560. *ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ.2559*. เล่ม 134 ตอนพิเศษ 2 ง 4 มกราคม 2560.
- ศุภากร ดวนใหญ่, พงศ์พิศ แก้วสุข, ณัฐฐา ขุยขำ และ ชุตินา วงษ์ไพศาล. 2559. พัฒนาวิธีวิเคราะห์ และ ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี โดยเทคนิคอินดิคทีฟฟลูออโรเมตริก ออปติคอลมิสชันสเปกโตรเมทรี. หน้า 29-45. *ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2559 : กองวิจัย พัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร*.
- ศุภากร ดวนใหญ่. 2564. ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดใน ปุ๋ยอินทรีย์ หน้า 140-146. *ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2564 เล่มที่ 2 : กองวิจัยพัฒนาปัจจัย การผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร*.
- อมรา หาญจวนิช, สงกรานต์ มะลิสอน, พงศ์พิศ แก้วสุข และ วรณรัตน์ ชุตินุตร. 2553. พัฒนาวิธีวิเคราะห์และ ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริม และสารพิษ ในปุ๋ย โดยใช้เครื่อง Inductively Coupled Plasma (ICP) หน้า 224-232. *รายงานผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2553 เล่มที่ 2 : กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร*.
- Association of analytical communities (AOAC). 2023. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 22nd ed. AOAC International Inc., Maryland, USA.
- NATA Technical Note 17. 2018. General Accreditation Guidance - validation and verification of quantitative and qualitative test methods.

การตรวจสอบ และประเมินคุณภาพสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว
และยิปซัม ที่จำหน่ายตามท้องตลาด

Inspection and Quality Assessment of Marl, Dolomite, Hydrated lime,
and Gypsum Sold in the Market

กัญฐณา คล้ายแก้ว จิตติรัตน์ ชูชาติ สุภา โพธิจันทร์ สงกรานต์ มะลิสรน
พจมาลย์ ภูสาร กอริอะ บิลลี่ จริรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

Kanthana Klaigaew Jittirat Choochat Supha Photichan Songkrant Malisorn
Pojjamarn Poosarn Koreeah Binlee Charirat Kusonwiriya Wong

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Currently, agricultural limes available on the market often lack clear identification of their type or composition, which can cause confusion for farmers in their application. This research aims to analyze marl, dolomite, hydrated lime, and gypsum available in the market. The analysis was conducted using X-Ray Diffraction (XRD), a rapid technique that minimizes sample preparation steps. The study focused on determining the content of calcium carbonate (CaCO_3), calcium magnesium carbonate ($\text{Ca Mg}(\text{CO}_3)_2$), calcium hydroxide ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), and calcium sulfate (CaSO_4), which are the main components of marl, dolomite, hydrated lime, and gypsum, respectively. A total of 200 samples were collected from fertilizer or agricultural chemical stores, including 50 samples each of marl, dolomite, hydrated lime, and gypsum. Of these, 113 samples were from the central region, and the rest were from the western, eastern, and northeastern regions, with 54, 18, and 15 samples, respectively. The analysis revealed that all marl samples contained more than 80% calcium carbonate. For dolomite, 31 samples (62.0%) contained more than 70% calcium magnesium carbonate. Six samples (12.0%) of quicklime had over 74% calcium hydroxide, and 41 gypsum samples (82.0%) contained more than 70% calcium sulfate. Most quicklime samples primarily consisted of calcium carbonate rather than calcium hydroxide. However, they still retained the ability to increase soil pH and availability of essential plant nutrients.

Keywords: Marl; Dolomite; Hydrated Lime; Gypsum; XRD

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีวัสดุปูนเพื่อการเกษตรที่วางจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดไม่พบการระบุชนิดหรือองค์ประกอบของปูนที่ชัดเจน ซึ่งอาจทำให้เกษตรกรเกิดความสับสนในการนำไปใช้งานได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์ปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดในประเทศไทย โดยนำตัวอย่างปูนมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค X-Ray Diffraction (XRD) ซึ่งเป็นเทคนิคที่วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว และลดขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่าง โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) แคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต ($\text{Ca Mg}(\text{CO}_3)_2$) แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) และแคลเซียมซัลเฟต (CaSO_4) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ตามลำดับ จำนวนตัวอย่างที่รวบรวมได้จากร้านขายปุ๋ยหรือเคมีภัณฑ์ทางการเกษตรมีจำนวนทั้งหมด 200 ตัวอย่าง เป็นปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัมอย่างละ 50 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างส่วนใหญ่มาจากภาคกลาง จำนวน 113 ตัวอย่าง และมาจากภาคตะวันตก ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 54, 18 และ 15 ตัวอย่าง ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างปูนมาร์ลทุกตัวอย่างประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 80 ตัวอย่างปูนโดโลไมท์ที่มีองค์ประกอบเป็นแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 70.0 จำนวน 31 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 62.0 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด ตัวอย่างปูนขาวที่มีองค์ประกอบเป็นแคลเซียมไฮดรอกไซด์มากกว่าร้อยละ 74.0 มีจำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12.0 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด และตัวอย่างยิปซัมมีองค์ประกอบเป็นแคลเซียมซัลเฟตมากกว่าร้อยละ 70.0 มีจำนวน 41 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 82.0 ของตัวอย่างยิปซัมทั้งหมด ตัวอย่างปูนขาวส่วนใหญ่มีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนตแทนที่จะเป็นแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แต่ก็ยังคงมีคุณสมบัติในการลดความเป็นกรดของดิน และเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารบางชนิดในดินได้

คำสำคัญ: ปูนมาร์ล; โดโลไมท์; ปูนขาว; ยิปซัม; XRD

บทนำ

ความเป็นกรดของดินเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งของดินที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ดินกรดคือดินที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดินต่ำกว่า 7.0 ดินที่มีค่าความเป็นกรดสูง โดยเฉพาะดินที่มีค่า pH ของดินต่ำกว่า 5.5 จะมีผลต่อการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชในดิน เมื่อความเป็นกรดของดินเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นไอออนบวกของอะลูมิเนียม (Al^{3+}) และไฮโดรเจน (H^+) ในดินจะเพิ่มขึ้น (Bolan et al., 2003) ในขณะที่ไอออนบวกของแคลเซียม (Ca^{2+}) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) โพแทสเซียม (K^+) และโซเดียม (Na^+) จะถูกชะล้างออกจากดิน (Agegnehu et al., 2021) ทำให้การใช้สารอาหารของพืชลดลง ค่า pH ของดินที่เหมาะสมสำหรับพืชหลายชนิดจะอยู่ระหว่าง 6.0 ถึง 7.0 เนื่องจากสารอาหารที่จำเป็นทั้งหมดอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ปูนทางการเกษตรนิยมนำมาใช้ในการปรับปรุงบำรุงดิน เนื่องจากปูนสามารถช่วยเพิ่มคุณสมบัติทางเคมีของดิน โดยการปรับปรุงความเป็นกรดของดินให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งมีผลต่อการตรึงโลหะหนักที่เป็นพิษ การเคลื่อนตัวของธาตุอาหารพืช และสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน และเป็นหนึ่งในแนวทางที่ประหยัดค่าใช้จ่ายในการจัดการความเป็นกรดของดิน การใส่ปูนขาวจะเพิ่มค่า pH ของดิน โดยการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของดินจะเพิ่มขึ้นตามอัตราการใส่ปูนขาวที่เพิ่มขึ้น และผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจะแปรผันตามค่า pH ของดินที่เพิ่มขึ้น (Enesi et al., 2023) วัสดุปูนทางการเกษตรส่วนใหญ่เป็นสารประกอบไฮดรอกไซด์ ออกไซด์ คาร์บอเนต และซัลเฟตของแคลเซียมและแมกนีเซียม ปูนทางการเกษตรมีหลายชนิด ดังนี้ 1) ปูนมาร์ล (Marl) เป็นสารปรับปรุงดินประเภทคาร์บอเนตที่ได้จากธรรมชาติมีองค์ประกอบหลัก คือ แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และดินเหนียว การใช้ปูนมาร์ลร่วมกับปุ๋ยคอกสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ

กระเจียวเขียวได้ (บรรเจิดลักษณ์ และคณะ, 2541) 2) ปูนโดโลไมท์ (Dolomite) เป็นแร่แคลเซียมและแมกนีเซียมที่มีสูตรเคมี คือ $\text{Ca Mg} (\text{CO}_3)_2$ จัดเป็นสารปรับปรุงดินประเภทคาร์บอเนตประกอบด้วย แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และ แมกนีเซียมคาร์บอเนต (MgCO_3) จึงสามารถช่วยเพิ่มทั้งธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียมในดินได้ 3) ปูนขาว (Hydrated lime) เป็นสารประกอบแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($\text{Ca} (\text{OH})_2$) ได้จากการนำแคลเซียมออกไซด์ที่ผ่านกระบวนการเผาไปทำปฏิกิริยากับน้ำจนได้เป็นแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในรูปผง และ 4) ยิปซัม (Gypsum) เป็นสารประกอบแคลเซียมซัลเฟต (CaSO_4) มีความสามารถในการละลายน้ำได้ค่อนข้างสูง 2.3–2.8 กรัมต่อลิตร (Dubrovina et al., 2021) จึงสามารถซึมลงในชั้นดินได้มากกว่าปูนชนิดอื่น

การตรวจวิเคราะห์วัสดุปูนทางการเกษตรเพื่อประเมินคุณภาพของปูนนั้นมีการตรวจวิเคราะห์ 3 ด้าน คือ 1) ความบริสุทธิ์ (Chemical purity) หรือค่าความสามารถในการทำให้เป็นกลาง (Calcium Carbonate Equivalent, CCE) 2) ขนาดอนุภาค (Fineness) และ 3) ความชื้น (Moisture content) การวิเคราะห์ CCE ประกอบด้วยการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม/แมกนีเซียมคาร์บอเนตและออกไซด์รวมทั้งหมดที่มีอยู่ในปูน โดย CCE แสดงเป็นร้อยละของแคลเซียมคาร์บอเนต การวิเคราะห์ CCE จะใช้วิธีไทเทรต โดยตัวอย่างปูนจะถูกทำให้เป็นกรดเพื่อปลดปล่อยคาร์บอเนตในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) จากนั้นสารละลายตัวอย่างจะถูกทำให้เป็นกลางโดยการไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณกรดและเบสที่ใช้จะนำมาคำนวณเพื่อหาปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งวิธีดังกล่าวค่อนข้างยุ่งยากและมีการใช้สารเคมีที่อันตราย การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-Ray Diffraction, XRD) เป็นการวิเคราะห์แบบไม่ทำลายตัวอย่าง (Non-destructive analysis) มีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ง่ายและรวดเร็ว โดยเทคนิคนี้จะนำรังสีเอกซ์ (X-ray) มาใช้วิเคราะห์และศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างผลึกของสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพ (Qualitative) และเชิงปริมาณ (Quantitative) ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD จะได้เป็น XRD diffractograms ของค่าความเข้มของรังสีที่สะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะตัวของสารประกอบนั้นๆ ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามโครงสร้างผลึกและระยะห่างระหว่างระนาบของอะตอมของสารประกอบ

ปัจจุบันมีการจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินรวมถึงปูนทางการเกษตรหลายชนิดในท้องตลาด แต่ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวยังไม่สามารถทดสอบพิสูจน์ได้ว่ามีคุณสมบัติตามที่ผู้ผลิตกล่าวอ้างสรรพคุณหรือไม่ คณะกรรมการว่าด้วยฉลากจึงได้ออกประกาศให้ผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน เป็นสินค้าที่ควบคุมฉลาก ตามที่ประกาศคณะกรรมการว่าด้วยฉลาก เรื่อง ให้ผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชและผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน เป็นสินค้าที่ควบคุมฉลากกำหนด (สำนักงานคณะกรรมการคุ้มครองผู้บริโภค, 2566) แต่อย่างไรก็ตามสารปรับปรุงดินที่จำหน่ายในท้องตลาดส่วนใหญ่ยังไม่มีการระบุส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ที่ชัดเจน ซึ่งก่อให้เกิดความเข้าใจผิดในการนำไปใช้งานได้ งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการตรวจวิเคราะห์สารปรับปรุงดินปูนขาว ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และยิปซัม ที่จำหน่ายในร้านขายปุ๋ยและเคมีภัณฑ์ทางการเกษตรในประเทศไทย ด้วยเทคนิค XRD โดยทำการวิเคราะห์ CaCO_3 , $\text{Ca Mg} (\text{CO}_3)_2$, $\text{Ca} (\text{OH})_2$ และ CaSO_4 ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ตามลำดับ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำเกณฑ์สำหรับกำหนดมาตรฐานของวัสดุปูนทางการเกษตร และเป็นข้อแนะนำในการเลือกซื้อปูนทางการเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและวัสดุทางวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-Ray Diffractometer; XRD) เครื่องบด XRD mill ที่ใส่ตัวอย่าง (Sample holder) เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทดสอบ เป็นต้น
2. สารเคมี ได้แก่ Isopropyl alcohol ตัวอย่างปูนมาร์ล ตัวอย่างปูนโพลีเมอร์ ตัวอย่างปูนขาว ตัวอย่างยิปซัม เป็นต้น

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโพลีเมอร์ ปูนขาว และยิปซัม ที่จำหน่ายตามท้องตลาดในภาคต่างๆ ดังนี้ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยรวบรวมจากร้านจำหน่ายปุ๋ย และเคมีภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีที่ตั้งชัดเจนและน่าเชื่อถือ
2. วิเคราะห์ตัวอย่างปูนด้วยเครื่อง X-ray Diffractometer (XRD)
 - 2.1 การเตรียมตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโพลีเมอร์ ปูนขาว และยิปซัม
 - 2.1.1 นำตัวอย่างปูนใส่ในกระบอกบดตัวอย่าง เติม 2-propanol จำนวน 7 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด XRD mill และนำไปประเหยแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง จะได้ตัวอย่างมีลักษณะเป็นผงละเอียดขนาดน้อยกว่า 45 ไมครอน (325 เมช)
 - 2.1.2 นำตัวอย่างที่เตรียมในข้อ 2.1.1 ปริมาณ 1-2 กรัม อัดลงในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างชนิดผงแบบวงกลม โดยอัดด้วยแรงกระทำสม่ำเสมอเท่ากันทุกทิศทางให้ผิวหน้าของตัวอย่างต้องเรียบเสมอ
 - 2.2 วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ โดยใช้สภาวะของเครื่องดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

Operator	ชนิดตัวอย่าง			
	ปูนมาร์ล	โพลีเมอร์	ยิปซัม	ปูนขาว
2-Theta (deg.)	7-115	5-115	5-70	10-115
Step size (deg.)	0.02	0.01	0.02	0.01
Time per step (s)	30	40	20	60
Divergence slit (deg.)	1/2	1/2	1/4	1/2
Beam mask (mm)	23	23	23	23

- 2.3 เปรียบเทียบ Diffractogram และตำแหน่งพีค 2 Theta ที่องศาต่างๆ ของตัวอย่าง และหาองค์ประกอบเชิงปริมาณ โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล เพื่อตรวจสอบและประเมินคุณภาพของสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโพลีเมอร์ ปูนขาว และยิปซัม

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2566 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. รวบรวมตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ที่จำหน่ายตามท้องตลาด

รวบรวมตัวอย่างปูนที่จำหน่ายในร้านขายปุ๋ยและปัจจัยการผลิตทางการเกษตรในพื้นที่ภาคต่างๆ โดยได้ตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม จำนวนอย่างละ 50 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 2 ตัวอย่างส่วนใหญ่มาจากภาคกลาง จำนวน 113 ตัวอย่าง และมาจากภาคตะวันตก ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 54, 18 และ 15 ตัวอย่าง ตามลำดับ

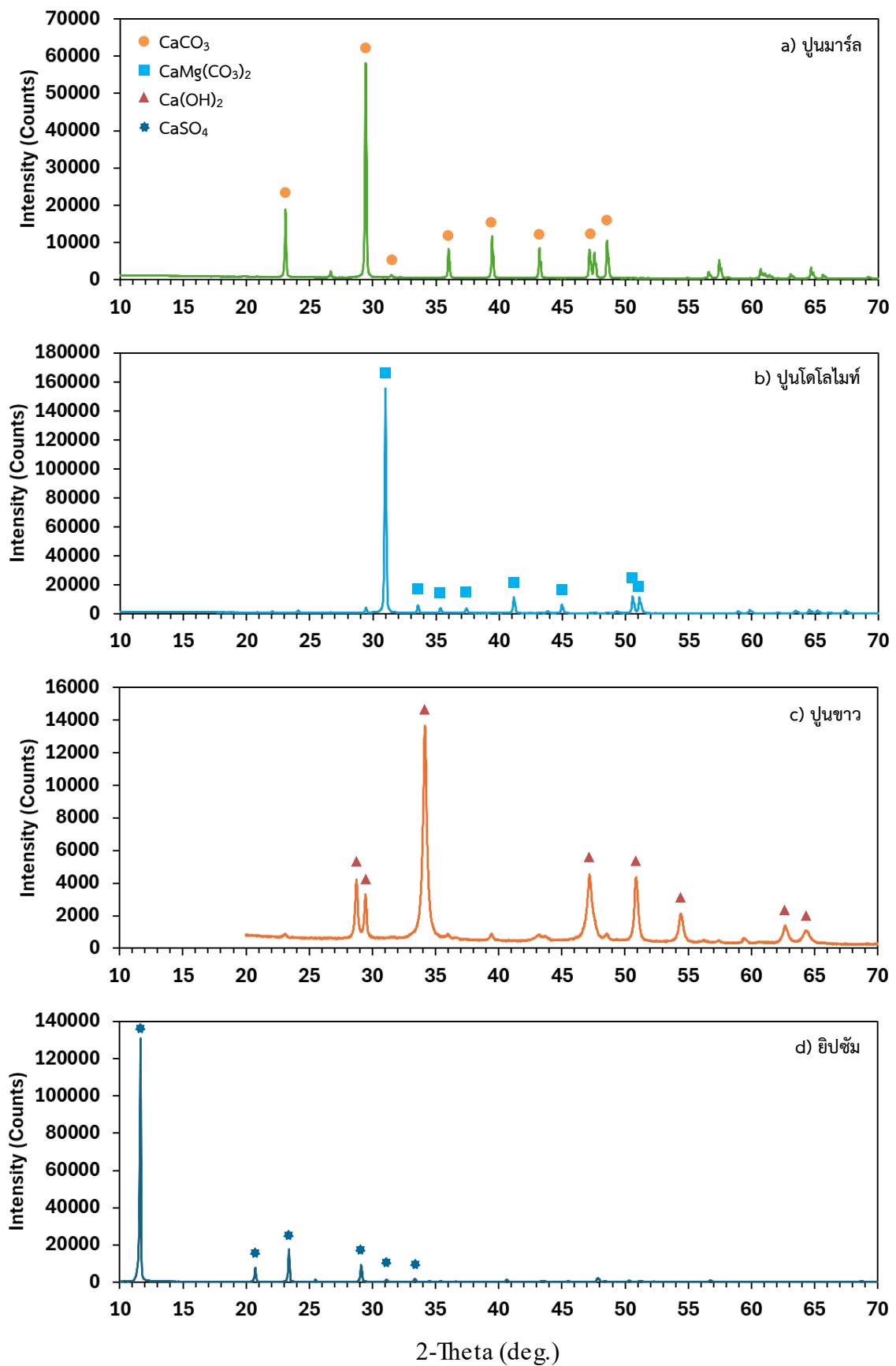
ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัมที่รวบรวมได้จากพื้นที่ต่างๆ

พื้นที่	จำนวนตัวอย่าง				รวม
	ปูนมาร์ล	ปูนโดโลไมท์	ปูนขาว	ยิปซัม	
ภาคกลาง	33	29	26	25	113
ภาคตะวันออก	3	5	6	4	18
ภาคตะวันตก	11	12	12	19	54
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	3	4	6	2	15
รวม	50	50	50	50	200

2. วิเคราะห์ตัวอย่างปูนด้วยเทคนิค XRD

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างปูนด้วยเทคนิค XRD ซึ่งในตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม มีองค์ประกอบหลักเป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมซิลเฟตตามลำดับ จะได้ผลการวิเคราะห์เป็น XRD diffractograms ซึ่งเป็นกราฟระหว่าง Intensity และ 2-Theta (degree) โดยเมื่อนำผล XRD diffractograms ของตัวอย่างปูนทั้ง 4 ชนิด มาเปรียบเทียบกับจะปรากฏรูปแบบของพีคหลักขึ้นที่ตำแหน่ง 2-Theta (degree) แตกต่างกัน แสดงดังภาพที่ 1

จากภาพ 1 พบว่า XRD diffractograms ของตัวอย่างปูนมาร์ลมีพีคหลักของแคลเซียมคาร์บอเนตปรากฏขึ้นที่ตำแหน่ง 23.1° , 29.4° , 31.4° , 36.0° , 39.4° , 43.2° , 47.1° , 47.5° และ 48.5° ตัวอย่างปูนโดโลไมท์มีพีคหลักของแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตปรากฏขึ้นที่ตำแหน่ง 30.9° , 33.5° , 35.3° , 37.3° , 41.2° , 45.0° , 50.5° และ 51.1° ตัวอย่างปูนขาวมีพีคหลักของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ปรากฏขึ้นที่ตำแหน่ง 28.8° , 29.5° , 34.2° , 47.3° , 50.9° , 54.5° , 62.7° และ 64.5° และตัวอย่างยิปซัมมีพีคหลักของแคลเซียมซิลเฟตปรากฏขึ้นที่ตำแหน่ง 11.7° , 20.8° , 23.4° , 29.1° , 31.1° และ 33.4° ข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ถูกนำมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลมาตรฐาน International Center for Diffraction Data (ICDD) และพบว่ามีตำแหน่งและความสูงของพีคที่คล้ายกัน นอกจากนี้รูปแบบของ XRD diffractograms ยังเหมือนกันกับที่ตีพิมพ์ในบทความต่างๆ (Kontoyannis et al., 2000, Hossain et al., 2023, Arifin et al., 2016 และ Kuo et al., 2013) จากนั้นผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ถูกนำมาคำนวณเพื่อหาปริมาณขององค์ประกอบในตัวอย่างด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบริตเวล (Rietveld refinement)



ภาพที่ 1 XRD diffractograms ของตัวอย่าง a) ปูนมาร์ล b) ปูนโดโลไมท์ c) ปูนขาว และ d) ยิปซัม

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างปูนมาร์ลที่รวบรวมจากท้องตลาดด้วยเทคนิค XRD แสดงอยู่ในตารางที่ 3 พบว่าตัวอย่างมีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต มีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 88.4 – 100.0 และมีองค์ประกอบอื่นๆ ในตัวอย่าง ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซิลิกา (Silica) และแกรไฟต์ (Graphite) มีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 11.6 ตัวอย่างที่ระบุปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตบนฉลากมีจำนวน 39 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 88 ของตัวอย่างปูนมาร์ลทั้งหมด โดยระบุความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 86 – 98.5 ซึ่งปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตที่วิเคราะห์ได้เป็นไปตามที่ระบุบนฉลากทุกตัวอย่าง เนื่องจากปูนมาร์ลเป็นสารปรับปรุงดินที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคลเซียมคาร์บอเนตและดินเหนียว ตาม Standard Specification for Agricultural Liming Materials ได้กำหนดให้ปูนมาร์ลมีค่า CCE ต่ำกว่าร้อยละ 80 ได้ (ASTM, 2023) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 80 ในขณะที่มาตรฐานของรัฐเวอร์จิเนีย ได้กำหนดให้ปูนมาร์ลมีค่า CCE ร้อยละ 70 – 90 (Mullins et al., 2011) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 70 – 90 และระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนดให้ปูนมาร์ลมีค่า CCE ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 80 ตัวอย่างปูนมาร์ลที่รวบรวมได้ในงานวิจัยนี้มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 80 ทุกตัวอย่าง จึงเห็นได้ว่าตัวอย่างปูนมาร์ลที่จำหน่ายในท้องตลาดมีคุณภาพดี เหมาะสมต่อการนำไปปรับปรุงดินได้

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ที่รวบรวมจากท้องตลาดด้วยเทคนิค XRD แสดงอยู่ในตารางที่ 4 พบว่าตัวอย่างมีองค์ประกอบของแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตมีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 98.2 มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตอยู่ในช่วงร้อยละ 1.6 – 99.9 และมีองค์ประกอบอื่นๆ ในตัวอย่าง ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซิลิกา และแกรไฟต์ มีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 2.8 ตัวอย่างปูนโดโลไมท์ที่ไม่พบองค์ประกอบของแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต มีจำนวน 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 30 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด

ตัวอย่างที่ระบุปริมาณของแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตบนฉลากมีจำนวน 33 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 66 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด โดยระบุความเข้มข้นอยู่ในรูปของ แมกนีเซียม (Mg) แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) แมกนีเซียมคาร์บอเนต ($MgCO_3$) แคลเซียม (Ca) แคลเซียมออกไซด์ (CaO) และแคลเซียมคาร์บอเนต มีตัวอย่างที่ไม่ระบุปริมาณขององค์ประกอบบนฉลาก และตรวจวิเคราะห์ไม่พบแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต จำนวน 5 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 10 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด ตัวอย่างปูนโดโลไมท์ที่ตรวจพบแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบมีจำนวน 35 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 70 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด โดยใน 35 ตัวอย่างนี้ ตรวจพบแคลเซียมออกไซด์ร้อยละ 30.8 – 55.4 และแมกนีเซียมออกไซด์ร้อยละ 0.5 – 21.5 ซึ่งตามมาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดิน ระบุให้ปูนโดโลไมท์ควรมีแคลเซียมออกไซด์และแมกนีเซียมออกไซด์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 25 และ 15 ตามลำดับ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) ข้อกำหนดของรัฐเดลาแวร์ ได้กำหนดให้ปูนโดโลไมท์ต้องประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตและแมกนีเซียมคาร์บอเนตไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 และ 10 ตามลำดับ (Regulatory Provisions, 2024) และข้อกำหนดของรัฐควีนส์แลนด์ ได้กำหนดให้ปูนโดโลไมท์ต้องประกอบด้วยแมกนีเซียมในรูปของแมกนีเซียมคาร์บอเนต ไม่น้อยกว่าร้อยละ 8 (Agricultural Standards Regulation, 1997) จากผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างปูนโดโลไมท์ที่มีปริมาณสารประกอบแคลเซียมและแมกนีเซียมในรูปสารประกอบออกไซด์หรือคาร์บอเนตเป็นไปตามมาตรฐาน มีจำนวน 31 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 62.0 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด ดังนั้นในการเลือกซื้อปูนโดโลไมท์ควรเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ที่มีการระบุปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมอย่างชัดเจนจึงจะได้ปูนโดโลไมท์ที่มีคุณภาพที่เหมาะสม

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของตัวอย่างปูนมาร์ลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ที่	ชื่อที่ระบุบนฉลาก	ปริมาณของ CaCO ₃ ที่ระบุบนฉลาก	องค์ประกอบ (%)	
			CaCO ₃	อื่นๆ*
1	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	95.9	4.1
2	ปูนมาร์ล	-	99.5	0.5
3	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	98.5	1.5
4	แคลเซียมคาร์บอเนต 500 เมช	>90%	98.3	1.7
5	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	100.0	-
6	ปูนมาร์ล	-	99.2	0.8
7	ปูนมาร์ล	87-90%	100.0	-
8	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	97.1	2.9
9	ปูนมาร์ล	87-90%	99.4	0.6
10	ปูนแคลเซียมเกรด A	98.2%	99.7	0.3
11	ปูนมาร์ลเกรด A	-	99.6	0.4
12	ปูนมาร์ล	87-90%	90.3	9.7
13	แคลเซียมคาร์บอเนต 500 เมช	>90%	98.8	1.2
14	แคลเซียมปรับสภาพดิน	-	98.2	1.8
15	แคลเซียมเกรด A	98.5%	100	-
16	ปูนมาร์ล	87-90%	99.5	0.5
17	ปูนมาร์ล	-	99.7	0.3
18	ปูนมาร์ล	87-90%	100	-
19	ปูนมาร์ลเกรด A	-	99.1	0.9
20	ปูนมาร์ล	87%	94.2	5.8
21	ปูนมาร์ล	90%	99.5	0.5
22	ปูนมาร์ล	-	99.3	0.7
23	ปูนมาร์ล	87-90%	98.3	1.7
24	ปูนมาร์ล	87-90%	97.5	2.5
25	ปูนมาร์ล	87-90%	100.0	-
26	แคลเซียมปรับสภาพดิน	-	99.2	0.8
27	ปูนมาร์ล	87-90%	99.3	0.7
28	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	98.2	1.8
29	แคลเซียมเกรด A	98.5%	98.6	1.4
30	ปูนแคลเซียมเกรด A	98.2%	100.0	-
31	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	96.4	5.6
32	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	97.2	2.8
33	ปูนมาร์ล	87%	91.2	8.8
34	ปูนมาร์ล	87-90%	89.7	10.3
35	ปูนมาร์ล	87-90%	96.4	3.6
36	ปูนมาร์ล	-	99.4	0.6
37	ปูนมาร์ล	90%	99.2	0.8
38	ปูนมาร์ล	90%	99.1	0.9
39	ปูนมาร์ล	87%	90.4	9.6

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ที่	ชื่อที่ระบุบนฉลาก	ปริมาณของ CaCO ₃ ที่ระบุบนฉลาก	องค์ประกอบ (%)	
			CaCO ₃	อื่นๆ*
40	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	100.0	-
41	ปูนมาร์ล	87%	88.4	11.6
42	แคลเซียมคาร์บอเนต 500 เมช	>90%	98.6	1.4
43	ปูนมาร์ล	87-90%	99.4	0.6
44	ปูนมาร์ล	87-90%	100.0	-
45	ปูนมาร์ล	-	99.7	0.3
46	ปูนแคลเซียมเกรด A	98.2%	99.4	0.6
47	ปูนมาร์ล	87-90%	98.4	1.6
48	ปูนมาร์ลเกรด A	-	100.0	-
49	ปูนมาร์ล	87-90%	91.5	8.5
50	ปูนมาร์ลเกรด A	86-90%	100.0	-

*องค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ Ca(OH)₂, Silica และ Graphite เป็นต้น

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของตัวอย่างปูนโดโลไมท์จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ที่	ชื่อที่ระบุบนฉลาก	ปริมาณที่ระบุบนฉลาก	องค์ประกอบ (%)		
			CaMg(CO ₃) ₂	CaCO ₃	อื่นๆ*
1	โดโลไมท์ชนิดพิเศษ	-	77.7	22.3	-
2	โดโลไมท์	MgO >26%, CaO >44%	-	99.0	1.0
3	โดโลไมท์ 500	Mg >21%, Ca >43%	77.8	22.2	-
4	โดโลไมท์ 500 เกรด A	Mg >20%, Ca >30%	-	99.3	0.7
5	Dolomite	-	-	99.6	0.4
6	โดโลไมท์	-	-	97.2	2.8
7	โดโลไมท์ (ชนิดพิเศษ)	MgO 30%, CaO 40%	-	99.8	0.2
8	โดโลไมท์ ชนิดพิเศษ	Mg >20%, Ca >30%	73.6	26.4	-
9	โดโลไมท์ 500 เมช	-	81.7	18.3	-
10	โดโลไมท์ 500 เมช	Mg >20%, Ca >30%	75.4	23.3	1.3
11	โดโลไมท์	MgO 30%, CaO 40%	-	99.5	0.5
12	โดโลไมท์ 500 เมช	Mg >20%, Ca >30%	-	99.6	0.4
13	โดโลไมท์ 500 เมช	-	78.9	21.1	-
14	ปูนโดโลไมท์	Mg >20%, Ca >30%	89.4	13.6	-
15	Dolomite	-	-	99.7	0.3
16	D-150	Mg >20%, Ca >30%	72.4	27.6	-
17	โดโลไมท์ 500	Mg >21%, Ca >43%	78.4	21.6	-
18	โดโลไมท์ 500 เมช	-	80.7	19.3	-
19	โดโลไมท์ 500 เมช	-	80.2	19.8	-
20	โดโลไมท์ 500 เมช	Mg >20%, Ca >30%	74.3	24.5	1.3
21	โดโลไมท์ ชนิดพิเศษ	CaCO ₃ 42%, MgCO ₃ 56%	79.8	20.2	-
22	ปูนโดโลไมท์	CaO >31%, MgO >21%	78.1	21.9	-
23	เอ็กซ์ตร้า โดโลไมท์	-	82.7	17.3	-

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ที่	ชื่อที่ระบุบนฉลาก	ปริมาณที่ระบุบนฉลาก	องค์ประกอบ (%)		
			CaMg(CO ₃) ₂	CaCO ₃	อื่นๆ*
24	โดโลไมท์ 500 เมช	Mg >20%, Ca >30%	-	99.8	0.2
25	โดโลไมท์ ชนิดพิเศษ	CaCO ₃ 42%, MgCO ₃ 56%	80.1	19.9	-
26	ซูเปอร์โดโลไมท์	MgO 21.3%, CaO 29.7%	88.4	11.6	-
27	โดโลไมท์	Mg >21%, Ca >43%	97.4	2.4	0.2
28	โดโลไมท์	Mg >21%, Ca >40%	92.2	7.8	-
29	Dolomite	-	-	99.4	0.6
30	D-150	Mg >20%, Ca >30%	70.5	29.5	-
31	โดโลไมท์ 500 เมช	Mg >40%, Ca >30%	-	99.1	0.9
32	ปูนโดโลไมท์	CaO >31%, MgO >21%	77.3	22.7	-
33	โดโลไมท์ D-100	Mg >20%, Ca >30%	98.2	1.6	0.2
34	โดโลไมท์ 500 เมช	Mg >40%, Ca >30%	-	98.5	1.5
35	โดโลไมท์	Mg >21%, Ca >43%	-	99.7	0.3
36	โดโลไมท์	MgO 20%, CaO 30%	-	99.8	0.2
37	โดโลไมท์	-	78.2	21.6	0.2
38	โดโลไมท์เกรดพิเศษ	Mg >20%, Ca >30%	3.8	96.2	-
39	ปูนโดโลไมท์	CaO >31%, MgO >21%	85.8	14.0	0.2
40	โดโลไมท์ชนิดพิเศษ	-	78.5	21.5	-
41	โดโลไมท์	-	14.0	86.0	-
42	โดโลไมท์	Mg >21%, Ca >43%	96.8	3.0	0.2
43	โดโลไมท์	-	79.5	20.2	0.3
44	โดโลไมท์ 100	-	74.5	25.5	-
45	ปูนโดโลไมท์	CaO >31%, MgO >21%	86.9	12.9	0.2
46	โดโลไมท์	-	-	99.9	0.1
47	โดโลไมท์เกรดพิเศษ	Mg >20%, Ca >30%	2.3	97.7	-
48	ดี-500	-	11.4	88.6	-
49	โดโลไมท์ D-100	Mg >20%, Ca >30%	97.0	2.8	0.2
50	MgO - 1000	MgO 32%, CaO 50%	96.5	3.5	-

*องค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ Ca(OH)₂, Silica และ Graphite เป็นต้น

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างปูนขาวที่รวบรวมจากท้องตลาดด้วยเทคนิค XRD แสดงอยู่ในตารางที่ 5 พบว่าตัวอย่างมีองค์ประกอบของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 91.8 และมีปริมาณ CaCO₃ อยู่ในช่วงร้อยละ 8.2 – 100.0 ตัวอย่างปูนขาวที่ไม่มีการระบุปริมาณและชนิดของส่วนประกอบมีจำนวน 39 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 78.0 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด ในขณะที่ตัวอย่างปูนขาวที่เหลือมีการระบุปริมาณเท่ากับร้อยละ 100 แต่ไม่ได้ระบุชนิดของสารประกอบ ตัวอย่างปูนขาวที่ไม่พบองค์ประกอบของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ มีจำนวน 17 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 34 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด ตัวอย่างปูนขาวที่มีการตรวจพบแคลเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก มีแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในปริมาณต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0.3 – 8.1 จำนวน 20 ตัวอย่าง ร้อยละ 26.9 – 31.6 มีจำนวน 7 ตัวอย่าง และมากกว่าร้อยละ 90 มีจำนวน 6 ตัวอย่าง มาตรฐานของรัฐเวอร์จิเนีย ได้กำหนดให้ปูนขาว มีค่า CCE อยู่ในช่วงร้อยละ 120 – 135 (Mullins et al., 2011) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 88.8 – 99.9 Standard Specification for

Agricultural Liming Materials ได้กำหนดให้ปูนขาวมีค่า CCE ไม่น้อยกว่าร้อยละ 110 (ASTM, 2023) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 81.4 และระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนดให้ปูนขาวมีค่า CCE ไม่น้อยกว่าร้อยละ 100 (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 74.0 เมื่อพิจารณาตามเกณฑ์มาตรฐานต่างๆ แล้ว พบว่ามีตัวอย่างปูนขาวที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12.0 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของตัวอย่างปูนขาวจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ที่	ชื่อที่ระบุบนฉลาก	ปริมาณที่ระบุบนฉลาก	องค์ประกอบ (%)		
			Ca(OH) ₂	CaCO ₃	อื่นๆ*
1	ปูนเปลือกหอย	-	0.4	99.6	-
2	ไม้ระบู่	-	1.7	98.3	-
3	ปูนขาวแท้	-	-	100	-
4	ปูนขาว	-	-	100	-
5	ปูนขาว	-	-	100	-
6	ปูนขาว	-	90.4	9.6	-
7	ไม้ระบู่	-	-	100	-
8	ปูนขาว	-	91.8	8.2	-
9	ปูนขาว	-	-	100	-
10	ปูนขาว	100%	-	100	-
11	ปูนขาว	-	90.9	9.1	-
12	ปูนขาว	-	8.1	91.9	-
13	ปูนขาว	-	-	100	-
14	ปูนขาว	-	31.4	69.6	-
15	ปูนขาว	-	26.9	73.1	-
16	ปูนขาว	-	31.6	68.4	-
17	ปูนขาว	-	1.0	99.0	-
18	ปูนขาว	100%	-	100	-
19	ปูนขาว	-	91.2	8.8	-
20	ปูนขาวแท้	-	27.5	72.5	-
21	ปูนขาว	-	28.7	71.3	-
22	ปูนขาว	-	0.4	99.6	-
23	ปูนขาว	100%	-	100	-
24	ปูนขาว	100%	-	100	-
25	ปูนขาว	100%	-	100	-
26	ปูนขาว	-	2.5	97.5	-
27	ปูนขาว	-	27.2	72.8	-
28	ปูนขาว	100%	1.8	98.2	-
29	ปูนขาว	-	0.3	99.7	-
30	ปูนขาว	100%	0.4	99.6	-
31	ปูนขาว	-	-	100	-
32	ปูนขาว	-	90.1	9.9	-

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ที่	ชื่อที่ระบุบนฉลาก	ปริมาณที่ระบุบนฉลาก	องค์ประกอบ (%)		
			Ca(OH) ₂	CaCO ₃	อื่นๆ*
33	ไม่ระบุ	-	-	100	-
34	ไม่ระบุ	-	0.5	99.5	-
35	ปูนขาว	-	0.8	99.2	-
36	ปูนขาว	-	90.3	9.7	-
37	ปูนขาว	-	27.3	72.7	-
38	ปูนขาว	-	-	95.7	4.3
39	ปูนขาวชนิดพิเศษ	-	1.1	98.9	-
40	ปูนขาว	100%	-	100	-
41	ปูนเปลือกหอย	-	0.5	99.5	-
42	ปูนขาว	100%	0.5	99.5	-
43	ปูนขาวเกรด A	-	8.0	92.00	-
44	ไม่ระบุ	-	0.9	99.1	-
45	ปูนขาว	-	-	100	-
46	ปูนขาว	100%	1.8	98.2	-
47	ไม่ระบุ	-	-	100	-
48	ปูนขาวแท้	-	1.9	98.1	-
49	ปูนขาว	-	0.6	99.4	-
50	ปูนขาว	100%	0.9	99.1	-

*องค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ Ca(OH)₂, Silica และ Graphite เป็นต้น

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างยิปซัมที่รวบรวมจากท้องตลาดด้วยเทคนิค XRD แสดงอยู่ในตารางที่ 6 พบว่าตัวอย่างมีองค์ประกอบของแคลเซียมซัลเฟตร้อยละ 0 – 99.6 และมีองค์ประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1.4 – 100.0 และมีองค์ประกอบอื่นๆ ในตัวอย่าง ได้แก่ ซิลิกา และแกรไฟต์ ร้อยละ 0.4 – 1.2 ตัวอย่างยิปซัมที่ไม่พบองค์ประกอบของแคลเซียมซัลเฟต มีจำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.0 ของตัวอย่างยิปซัมทั้งหมด โดย 2 ตัวอย่างนั้นมีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนตในปริมาณร้อยละ 100.0 และ 99.3

ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนดให้มีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไม่น้อยกว่าร้อยละ 90 โดยน้ำหนัก (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) ข้อกำหนดของรัฐควีนส์แลนด์ ได้กำหนดให้ยิปซัม (Grade 3) ต้องมีปริมาณซัลเฟอร์ร้อยละ 15 (Agricultural Standards Regulation, 1997) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมซัลเฟตร้อยละ 80.5 มาตรฐานของประเทศอินเดีย ได้กำหนดให้ให้ยิปซัม (Grade 3) มีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไม่น้อยกว่าร้อยละ 70 โดยน้ำหนัก (IS 6046, 2023) มาตรฐานของประเทศออสเตรเลีย ได้กำหนดให้ให้ยิปซัม (Grade 1) มีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไม่น้อยกว่าร้อยละ 80.5 โดยน้ำหนัก (Keeling et al., 2001) จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างยิปซัมที่ตรวจพบแคลเซียมซัลเฟตแบ่งออกตามปริมาณของแคลเซียมซัลเฟตได้ดังนี้ ร้อยละ >50.0 – 70.0 มีจำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14.0 ของตัวอย่างยิปซัมทั้งหมด และมากกว่าร้อยละ 70.0 มีจำนวน 41 คิดเป็นตัวอย่าง 82.0 ของตัวอย่างยิปซัมทั้งหมด ดังนั้นตัวอย่างยิปซัมส่วนใหญ่จำนวนร้อยละ 82.0 ของตัวอย่างยิปซัมทั้งหมด ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของตัวอย่างยิปซัมจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ที่	ชื่อที่ระบุบนฉลาก	ปริมาณของ CaSO ₄ ที่ระบุบนฉลาก	องค์ประกอบ (%)		
			CaSO ₄	CaCO ₃	อื่นๆ*
1	ปูนฉาบรอยต่อแผ่นยิปซัม	-	70.2	29.8	-
2	ยิปซัม	-	68.5	31.5	-
3	CORN STARCH	-	93.7	6.3	-
4	ยิปซอเยต์	95%	95.1	4.9	-
5	ยิปซัม	-	60.6	39.4	-
6	ยิปซัมธรรมชาติ	95%	97.9	2.1	-
7	ยิปซัม เกรด A	-	-	100.0	-
8	ยิปซัม	-	95.0	5.0	-
9	ยิปซัม	-	58.7	41.3	-
10	ยิปซัมธรรมชาติ	95%	97.9	2.1	-
11	ยิปซัม	-	70.5	29.5	-
12	ปูนฉาบรอยต่อแผ่นยิปซัม	-	71.3	28.7	-
13	ยิปซัม	-	68.5	31.5	-
14	ยิปซัม เกรด A	-	76.3	22.5	1.2
15	ยิปซัม	-	70.8	29.2	-
16	ยิปซัม	>95%	96.4	3.6	-
17	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	97.5	2.5	-
18	ยิปซัม	-	96.5	3.5	-
19	ยิปซัม	-	68.8	31.2	-
20	ยิปซัม	-	96.5	3.5	-
21	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	98.8	2.2	-
22	ยิปซัม	-	70.8	39.2	-
23	ยิปซัม	-	-	99.3	0.7
24	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	97.9	2.1	-
25	ยิปซัม	-	72.4	27.6	-
26	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	97.9	2.1	-
27	ยิปซัม	-	71.4	28.6	-
28	ยิปซัม	-	68.3	31.7	-
29	ไม้ระบู่	-	97.3	2.7	-
30	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	98.8	2.2	-
31	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	97.8	2.2	-
32	ยิปซัม	95%	96.4	3.6	-
33	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	97.8	2.2	-
34	ยิปซัม	-	95.1	4.9	-
35	ยิปซัม	-	95.6	4.4	-
36	ยิปซัม	-	96.5	3.5	-
37	ปูนฉาบรอยต่อแผ่นยิปซัม	-	69.7	30.3	-
38	ยิปซัม	-	95.0	5.0	-
39	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	98.6	1.4	-

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ที่	ชื่อที่ระบุบนฉลาก	ปริมาณของ CaSO ₄ ที่ระบุบนฉลาก	องค์ประกอบ (%)		
			CaSO ₄	CaCO ₃	อื่นๆ*
40	ยิปซัม	-	71.7	28.3	-
41	ยิปซัม	-	95.2	4.8	-
42	ยิปซัม	>98%	85.4	14.6	-
43	ยิปซัม	95%	97.4	2.6	-
44	ยิปซัม	>95%	97.2	2.8	-
45	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	97.4	2.6	-
46	ยิปซัมธรรมชาติ	95%	97.7	2.3	-
47	ยิปซัม	-	99.6	-	0.4
48	ยิปซัม	>95%	97.2	2.8	-
49	ยิปซัมธรรมชาติ	96-98%	97.6	2.4	-
50	ยิปซัม	-	80.9	19.1	-

*องค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ Silica และ Graphite เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง

ปูนทางการเกษตรที่จำหน่ายในท้องตลาดส่วนใหญ่ไม่มีการระบุองค์ประกอบและปริมาณของปูน มีตัวอย่างปูนที่ระบุชนิดและปริมาณขององค์ประกอบจำนวน 103 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51.5 ของตัวอย่างทั้งหมด จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างปูนที่รวบรวมมา พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ของปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ และยิปซัม มีชนิดและปริมาณขององค์ประกอบหลักเป็นไปตามมาตรฐาน มีจำนวนดังนี้ ตัวอย่างปูนมาร์ล 50 ตัวอย่าง (ร้อยละ 100 ของตัวอย่างปูนมาร์ลทั้งหมด) ตัวอย่างปูนโดโลไมท์ จำนวน 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 62.0 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด) และตัวอย่างยิปซัม 41 ตัวอย่าง (ร้อยละ 82.0 ของตัวอย่างยิปซัมทั้งหมด) ในขณะที่ตัวอย่างปูนขาวที่เป็นไปตามมาตรฐานมีเพียง 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.0 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด) แต่อย่างไรก็ตามองค์ประกอบหลักส่วนใหญ่ของตัวอย่างปูนขาวคือแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งมีคุณสมบัติในการลดความเป็นกรดของดินได้ โดยในการซื้อปูนทางการเกษตรควรเลือกซื้อปูนที่มีระบุชนิดและปริมาณขององค์ประกอบอย่างชัดเจน โดยเลือกปูนมาร์ลที่มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 80.0 ปูนโดโลไมท์ที่มีปริมาณแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 70.0 ปูนขาวที่มีปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์มากกว่าร้อยละ 74.0 และยิปซัมที่มีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตมากกว่าร้อยละ 70.0

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ของกรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการ และเจ้าหน้าที่ทุก ๆ ท่านในกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ที่มีส่วนช่วยในการสนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ของกรมวิชาการเกษตร สามารถให้บริการการตรวจวิเคราะห์ชนิดของตัวอย่างปฐนทางการเกษตรเบื้องต้นได้อย่างรวดเร็ว
2. ข้อมูลผลการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินสามารถนำไปใช้ในการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดินที่ผลิตและจำหน่าย รวมทั้งการนำเข้าและส่งออก
3. สารปรับปรุงดินที่จำหน่ายในท้องตลาดมีมาตรฐานและคุณภาพตามที่ระบุบนฉลาก เกษตรกรได้ใช้สินค้าที่มีคุณภาพ และลดต้นทุนการผลิต
4. ผู้ประกอบการสามารถนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน ตามมาตรฐานการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. 2556. *ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- บรรเจิดลักษณ์ จินตฤทธิ์, กำชัย กาญจนธนเศรษฐ, นคราญ มณีวรรณ, เตือนใจ อุบลทิพย์, วีระ ธาระเขต และ เจริญ เจริญจำรัสชีพ. 2541. การศึกษาอัตราปุ๋ยมาร์ลและปุ๋ยเคมีในการปรับปรุงดินเปรี้ยวจัด ชุดดินรังสิต กรดจัดเพื่อปลูกกระเจี๊ยบเขียว. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36: วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2541*. น.42
- สำนักงานคณะกรรมการคุ้มครองผู้บริโภค. 2566. *เรื่อง สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช สารปรับปรุงดิน*. แหล่งข้อมูล <https://www.ocpb.go.th/images/plant%20performance%20enhancer%20soil%20amendment.pdf>. สืบค้น: 8 พฤษภาคม 2567
- Agegneh, G., T. Amede, T. Erkossa, C. Yirga, C. Henry C., R. Tyler, M.G. Nosworthy, S. Beyene, and G.W. Sileshi. 2021. Extent and management of acid soils for sustainable crop production system in the tropical agroecosystems: a review. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science* 71(9):852–869.
- Agricultural Standards Regulation. 1997. *Agricultural Standards Act 1994*. Reprinted as in force on 24 August 2001. State of Queensland.
- Arifin, Z., N. F. Apriliani, M. Zainuri, and d. Darminto. 2016. Characterization of Precipitated CaCO₃ Synthesized from Dolomite. *3rd International Conference on Functional Materials Science IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 196:012020.
- ASTM. 2023. ASTM C602-20: Standard Specification for Agricultural Liming Materials. *ASTM International*. United States.
- Bolan, N., D. Curtin, and D. Adriano. 2003. Soil acidification and liming interactions with nutrient and heavy metal transformation and bio-availability. *Advances in agronomy* 78:215–272.
- Dubrovina, T. A., A. A. Losev, M. M. Karpukhin, E. L. Vorobeichik, E. A. Dovletyarova, V. A. Brykov, R. A. Brykova, R. Ginocchio, C. Yáñez, and A. Neaman. 2021. Gypsum soil amendment in metal-polluted soils—an added environmental hazard, *Chemosphere* 281:130889.

- Enesi, R.O., M. Dyck, S. Chang, M.S. Thilakarathna, X. Fan, S. Strelkov, and L.Y. Gorim. 2023. Liming remediates soil acidity and improves crop yield and profitability - a meta-analysis. *Frontiers in Agronomy* 5:1194896.
- Hossain, Md. S., S. A. Jahan, and S. Ahmed. 2023. Crystallographic characterization of bio-waste material originated CaCO_3 , green-synthesized CaO and Ca(OH)_2 . *Results in Chemistry* 5:100822.
- IS 6046. 2023. Gypsum for Agricultural Use — Specification (Second Revision). *BUREAU OF INDIAN STANDARDS*. MANAK BHAVAN, 9 BAHADUR SHAH ZAFAR MARG NEW DELHI – 110002.
- Keeling, J., A. Pain, and A. Beech. 2001. Gypsum in agriculture - quality standards in place as demand grows. *MESA Journal* 20:17-21.
- Kuo, S.T., H.W. Wu, and W.H. Tuan. 2013. Resorbable calcium sulfates with unable degradation rate. *Journal of Asian Ceramic Societies* 1:102–107.
- Mullins, G., M.M. Alley, W.G. Wysor, and S.B. Phillips. 2011. Sources of Lime for Acid Soils in Virginia. *Virginia Cooperative Extension*.
- Regulatory Provisions. 2024. CHAPTER 19. Liming Materials. *Legislative Council, General Assembly State of Delaware*. Available at: <https://delcode.delaware.gov/title3/c019/index.html>. Assessed: May 8, 2024

การศึกษาและประเมินคุณภาพสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และ
ยิปซัมในระบบการผลิตพืชตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์

Study and Quality Assessment of Marl, Dolomite, Hydrated lime and
Gypsum Soil Amendments in Organic Agricultural Production Systems

จิตติรัตน์ ชูชาติ พจมาลย์ ภู่อสาร สงกรานต์ มะลิสอน สุภา โพธิจันทร์ ญาณธิชา จิตต์สะอาด

กัญฐณา คล้ายแก้ว กอริอะ บิลหลี จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรรณรัตน์ ชุตินุต

Jittirat Choochat Potjaman Poosarn Songkrant Malisorn Supha Photichan

Yanthicha Jetta-add Kanthana Klaigaew Korean Binlee

Charirat Kusonwiriawong Wannarut Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This research aims to analyze marl, dolomite, hydrated lime, and gypsum by using X-Ray Diffraction (XRD) technique, which allows for rapid analysis and reduces sample preparation steps. The study analyzes the mineral properties and main components of each type of soil amendment and planting material and collects samples from farmers' fields and distribution areas nationwide. A total of 124 samples were collected, including 18 marl, 36 dolomite, 39 hydrated lime, and 31 gypsum samples. The analysis found that the main components of marl, dolomite, hydrated lime, and gypsum are in accordance with the standards, consisting of calcium carbonate (CaCO_3), calcium magnesium carbonate ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), calcium hydroxide ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), and calcium sulfate dihydrate ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) in 16, 16, 6, and 14 samples, respectively (accounting for 89%, 44%, 15%, and 45% of each type of sample). Based on the analysis results, it is recommended to choose marl with more than 80.0% calcium carbonate, dolomite with more than 70.0% calcium magnesium carbonate, hydrated lime with more than 74.0% calcium hydroxide, and gypsum with more than 90% calcium sulfate dihydrate. Clear criteria or standards should be established to determine the quality of soil amendments for agricultural use in a consistent direction. The research found that the components of soil amendments and planting materials can be identified using XRD technique. However, for agricultural use, the type and quantity of main components that can improve soil and agricultural benefits should be clearly specified to ensure appropriate use in agriculture.

Keywords: Quality assessment; Marl; Dolomite; Hydrated lime; Gypsum

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์ปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม โดยนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ X-Ray Diffraction (XRD) ซึ่งเป็นเทคนิคที่วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว และลดขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่าง โดยทำการวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงแร่และองค์ประกอบหลักของสารปรับปรุงดิน และวัสดุปลูกแต่ละชนิด และหาจำนวนตัวอย่างที่รวบรวมจากแปลงเกษตรกร และพื้นที่จำหน่ายทั่วประเทศ พบว่า มีจำนวนทั้งสิ้น 124 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม จำนวน 18 36 39 และ 31 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่า สารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม มีองค์ประกอบหลักเป็นไปตามมาตรฐานที่ต้องประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) แคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) และแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 16 16 6 และ 14 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 89 44 15 และ 45 ของตัวอย่างแต่ละชนิดทั้งหมด) เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ควรเลือกปูนมาร์ลที่มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 80.0 ปูนโดโลไมท์ที่มีแร่โดโลไมท์หรือแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 70.0 ปูนขาวที่มีปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์มากกว่าร้อยละ 74.0 และยิปซัมที่มีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรตมากกว่าร้อยละ 90.0 ทั้งนี้ควรมีเกณฑ์หรือมาตรฐานที่ชัดเจนเพื่อกำหนดคุณภาพของสารปรับปรุงดินเพื่อนำมาใช้ในการเกษตรในทิศทางเดียวกัน ทั้งนี้จากงานวิจัย พบว่า สามารถจำแนกองค์ประกอบของสารปรับปรุงดินและวัสดุปลูกได้ด้วยเทคนิค XRD แต่การใช้งานทางการเกษตรนั้น ควรมีการระบุชนิดและปริมาณขององค์ประกอบหลักที่มีความสามารถในการปรับปรุงดิน และการใช้ประโยชน์ทางการเกษตรอย่างชัดเจน เพื่อให้มีการใช้อย่างเหมาะสมทางการเกษตร

คำสำคัญ: การตรวจสอบและประเมินคุณภาพ; ปูนมาร์ล; โดโลไมท์; ปูนขาว; ยิปซัม

บทนำ

คุณภาพของผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน เป็นสิ่งที่ช่วยบ่งบอกคุณสมบัติ มาตรฐาน และการใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ตามมาตรฐานสินค้าเกษตร : เกษตรอินทรีย์ หรือ มกษ. 9000-2564 ผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินถูกนำมาใช้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มธาตุอาหารให้แก่พืช และปรับปรุงสภาพดิน โดยเฉพาะ ปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ซึ่งตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ระบุว่าวัสดุหรือสารปรับปรุงดินที่นำมาใช้เพื่อให้ได้การรับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ ต้องเป็นวัสดุตามข้อกำหนดในมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ ที่อนุญาตให้ใช้ได้ หรือให้ใช้ตามข้อกำหนดอย่างเคร่งครัด เพื่อป้องกันผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน และเป็นการช่วยรักษาสมดุลของระบบนิเวศภายในแปลงเพาะปลูกพืชเกษตรอินทรีย์ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2564)

ทั้งนี้ประเทศไทยได้ส่งเสริมการขับเคลื่อนภาคการเกษตรด้วยเกษตรอินทรีย์ โดยมีเป้าหมายให้มีพื้นที่เกษตรอินทรีย์ไม่น้อยกว่า 1.3 ล้านไร่ จำนวนเกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์ไม่น้อยกว่า 80,000 ราย ภายใน พ.ศ. 2565 และมีอัตราการขยายตัวของมูลค่าสินค้าเกษตรอินทรีย์เฉลี่ยร้อยละ 3 ต่อปี ซึ่งผลการตรวจรับรองเกษตรอินทรีย์ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 พบว่า มีพื้นที่เกษตรอินทรีย์จำนวน 1.5 ล้านไร่ มีเกษตรกร 95,752 ราย เพิ่มขึ้นจาก พ.ศ. 2563 (สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2565) ซึ่งพบว่าการทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้มีการใช้สารปรับปรุงดิน และผลิตภัณฑ์เพื่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชสูงขึ้น

ปูนมาร์ล หรือดินมาร์ล (Marl) เป็นสารปรับปรุงดินที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และดินเหนียว มีสีขาวหรือขาวขุ่นปนน้ำตาล ใช้ปรับปรุงดินเพื่อแก้ความเป็นกรดของดิน

(กรมพัฒนาที่ดิน, 2566) รวมถึงตะกอนผสมระหว่างแคลเซียมคาร์บอเนตและดิน หรือดินเหนียวที่มีสัดส่วนไม่แน่นอน (กรมทรัพยากรธรณี, 2545) และจากการที่ปูนมาร์ลมีส่วนผสมของดินเหนียวนั้นจึงทำให้ปูนมาร์ลมีความสามารถในการทำให้เป็นกลาง หรือค่าสมมูลแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium Carbonate Equivalent, CCE) ประมาณ 70-90% (McCart et al., 2009) ซึ่งระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนดมาตรฐานให้ปูนมาร์ลมี CCE ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) ซึ่งคิดเป็นปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 80 ในขณะที่ Standard Specification for Agricultural Liming Materials ได้กำหนดให้ปูนมาร์ลมีค่า CCE ต่ำกว่าร้อยละ 80 ได้ (ASTM, 2023) นอกจากนี้มาตรฐานของรัฐเวอร์จิเนีย ได้กำหนดให้ปูนมาร์ลมีค่า CCE ร้อยละ 70 – 90 (Mullins et al., 2011) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 70 – 90 ในขณะที่กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่ (2550) ได้กำหนดคุณลักษณะของปูนมาร์ลที่เป็นมาตรฐานที่สามารถซื้อ-ขาย ได้ ต้องมีแคลเซียมคาร์บอเนตต่ำสุด 90% และมีแมกนีเซียมคาร์บอเนตสูงสุดไม่เกิน 3% โดยมีรายงานตัวอย่างปูนมาร์ลที่ผลิตได้ในประเทศไทยจากอำเภอบ้านหมอ จังหวัดสระบุรี มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่า 91%

โดโลไมท์ เป็นสารปรับปรุงดิน ที่ได้จากแร่ที่เกิดจากตะกอนของแคลเซียมและแมกนีเซียม ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) หักถมกัน มีสีต่างๆ กัน เช่น เทา ชมพู ขาว มีส่วนประกอบทางเคมีเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และแมกนีเซียมคาร์บอเนต (MgCO_3) ใช้ปรับปรุงดินเพื่อแก้ความเป็นกรดของดิน และยังให้ธาตุอาหารแคลเซียมและแมกนีเซียมแก่พืชอีกด้วย (กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่, 2550; กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) ในทางธรณีวิทยา พบว่า มีการแบ่งคุณภาพของโดโลไมท์ ออกเป็น 4 เกรด เกรดที่ 1 มีองค์ประกอบที่เป็นโดโลไมท์ ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) มากกว่าร้อยละ 90 โดยมีปริมาณแมกนีเซียมคาร์บอเนต (MgCO_3) มากกว่าร้อยละ 40 และมีแมกนีเซียมออกไซด์มากกว่าร้อยละ 19.5 โดโลไมท์เกรดที่ 2 มีองค์ประกอบของโดโลไมท์ร้อยละ 50 - 90 และมีปริมาณแมกนีเซียมออกไซด์อยู่ในช่วงร้อยละ 10.8-19.5 เกรดที่ 3 มีองค์ประกอบของโดโลไมท์ร้อยละ 10 - 50 และมีปริมาณแมกนีเซียมออกไซด์อยู่ในช่วงร้อยละ 2.1 – 10.8 จะเห็นได้ว่าปริมาณของโดโลไมท์มีความสัมพันธ์กับปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) แคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg) (Kottowski, 1957) ซึ่งกรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่ (2550) ได้มีรายงานตัวอย่างปูนโดโลไมท์ผลิตได้ในประเทศไทย พบว่า มีแคลเซียมคาร์บอเนต และแมกนีเซียมคาร์บอเนต ร้อยละ 54 และ 46 ตามลำดับ ในขณะที่มาตรฐานที่กำหนดโดยกรมพัฒนาที่ดิน คือ โดโลไมท์ต้องมีค่าความสามารถในการทำให้เป็นกลาง (CCE) ไม่น้อยกว่า 90 มีค่าแคลเซียมออกไซด์ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 25 และมีค่าแมกนีเซียมออกไซด์ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 15 ข้อกำหนดของรัฐเดลาแวร์ได้กำหนดให้ปูนโดโลไมท์ต้องประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต และแมกนีเซียมคาร์บอเนตไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 และ 10 ตามลำดับ (Regulatory Provisions, 2024) และข้อกำหนดของรัฐควีนส์แลนด์ได้กำหนดให้ปูนโดโลไมท์ต้องประกอบด้วยแมกนีเซียมในรูปของแมกนีเซียมคาร์บอเนต ไม่น้อยกว่าร้อยละ 8 (Agricultural Standards Regulation, 1997)

ปูนขาว เป็นสารปรับปรุงดินเพื่อลดความเป็นกรดของดิน ที่มีองค์ประกอบของ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ หรือ Hydrated lime เกิดจากการใช้ปูนที่เกิดขึ้นในรูปของออกไซด์ ซึ่งเป็นปูนเผามาให้ได้รับความชื้น โดยกองไว้ให้ดูดความชื้นในอากาศ หรือพรมน้ำให้ชุ่ม ทำให้ก้อนแข็งนั้นยุ่ยแตกออกเป็นผงโดยไม่ต้องบด (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556; McCart et al., 2009) โดยมีมาตรฐานที่กำหนด คือ มีความสามารถในการทำให้เป็นกลาง (CCE) ไม่น้อยกว่า 100 (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 74.0 นอกจากนี้มาตรฐานของรัฐเวอร์จิเนีย ได้กำหนดให้ปูนขาว มีค่า CCE อยู่ในช่วงร้อยละ 120 – 135 (Mullins et al., 2011) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 88.8 – 99.9 Standard Specification for Agricultural Liming Materials ได้กำหนดให้ปูนขาวมีค่า CCE ไม่น้อยกว่าร้อยละ 110 (ASTM, 2023) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 81.4

ยิปซัมเป็นสารปรับปรุงบำรุงดินที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคลเซียมซัลเฟตทางการเกษตรใช้ในการปรับปรุงดินเค็ม เพื่อแก้ปัญหาคความเค็มของดิน และปรับปรุงดินกรด เพื่อลดความเป็นพิษของอะลูมิเนียมในดินกรด มาตรฐานระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่กำหนด คือ ต้องมีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 90 โดยน้ำหนัก (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) ข้อกำหนดของรัฐควีนส์แลนด์ได้กำหนดให้ยิปซัม (Grade 3) ต้องมีปริมาณซัลเฟอร์ (S) ร้อยละ 15 (Agricultural Standards Regulation, 1997) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ร้อยละ 80.7 และมาตรฐานของประเทศออสเตรเลีย ได้กำหนดให้ยิปซัม (Grade 1) มีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80.5 โดยน้ำหนัก (Keeling et al., 2001)

แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน ไม่จัดเป็นปุ๋ยตามกฎหมายว่าด้วยปุ๋ยและวัตถุอันตรายตามกฎหมายว่าด้วยวัตถุอันตราย ทำให้การตรวจสอบ ควบคุม ดูแล ทำได้ยาก จึงมีโอกาที่เกษตรกรหรือผู้บริโภค จะได้รับสินค้าที่ไม่ตรงกับความต้องการ หรือข้อมูลที่ระบุไว้ที่ผลิตภัณฑ์สูง รวมทั้งการใช้วัสดุปลอมปน หรือ สารประกอบที่แอบอ้างเป็นสารปรับปรุงดิน ซึ่งคณะกรรมการว่าด้วยฉลากได้ออกประกาศให้ผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดิน เป็นสินค้าที่ควบคุมฉลาก ตามที่ประกาศคณะกรรมการว่าด้วยฉลาก ซึ่งต้องมีการระบุสารสำคัญที่เป็น ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ คุณสมบัติ สรรพคุณ คุณประโยชน์ของสารหรือผลิตภัณฑ์ (สำนักงานคณะกรรมการ คุ้มครองผู้บริโภค, 2566) ซึ่งปัจจุบัน ยังพบว่าสารปรับปรุงดินที่นำมาใช้ในการทำการเกษตรอินทรีย์ ส่วนใหญ่ยังไม่มีการระบุสารประกอบหรือของผลิตภัณฑ์ที่ชัดเจน ซึ่งก่อให้เกิดความเข้าใจผิดในการนำมาใช้งานได้ งานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะตรวจสอบองค์ประกอบเชิงแร่ และโครงสร้างทางเคมี เพื่อพิสูจน์เชิงอัตลักษณ์ของปูนขาว ปูนมาร์ล โดโลไมท์ และยิปซัม เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำเกณฑ์สำหรับกำหนดมาตรฐานของวัสดุปูนทางการเกษตร และเป็นข้อเสนอแนะในการเลือกซื้อปูนทางการเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD) เครื่องบดตัวอย่าง XRD mill เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ เป็นต้น
2. สารเคมี ได้แก่ Isopropyl alcohol สารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม เป็นต้น

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม เพื่อวิเคราะห์คุณภาพจากพื้นที่เกษตรกร และวิสาหกิจชุมชนแปลงเกษตรอินทรีย์และพืชกัญชา และแหล่งจำหน่าย ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม ในเขตพื้นที่ภาคกลาง จังหวัดปทุมธานี นครปฐม และพระนครศรีอยุธยา ภาคตะวันตก จังหวัดกาญจนบุรี ภาคตะวันออก จังหวัดชลบุรี และจันทบุรี และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดเพชรบูรณ์ และนครราชสีมา วิเคราะห์ตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

1.2 เตรียมตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ในรูปของแข็งที่เป็นผงขนาดน้อยกว่า 45 ไมครอน โดยนำตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ใส่ในกระบอกบดตัวอย่าง เติม 2-propanol จำนวน 7 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด XRD mill และนำไประเหยแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง ได้ผงตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม คลุกเคล้าให้ผงตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกันตลอด (homogenized)

1.3 ตรวจสอบและประเมินคุณภาพของสารปรับปรุงดินปุ๋ยมาร์ล ปุ๋นโดโลไมท์ ปุ๋นขาว และยิปซัม ด้วยสภาวะของเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ ดังตารางที่ 1 และหาค่าประกอบเชิงคุณภาพของสารปรับปรุงดิน โดยเปรียบเทียบ Diffractogram และตำแหน่งพีค 2 Theta ที่องศาต่างๆ ของตัวอย่าง และหาค่าประกอบเชิงปริมาณ โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล เพื่อตรวจสอบและประเมินคุณภาพของสารปรับปรุงดิน ปุ๋นมาร์ล ปุ๋นโดโลไมท์ ปุ๋นขาว และยิปซัม

ตารางที่ 1 สภาวะเครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

Parameter	ชนิดตัวอย่าง			
	ปุ๋นมาร์ล	โดโลไมท์	ปุ๋นขาว	ยิปซัม
2-Theta (deg.)	7-115	20-110	10-115	5-70
Step size (deg.)	0.02	0.01	0.01	0.02
Time per step (s)	30	40	60	20
Divergence slit (deg.)	1/2	1/4	1/2	1/4
Beam mask (mm)	23	23	23	23

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2566 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างสารปรับปรุงดินปุ๋ยมาร์ล ปุ๋นโดโลไมท์ ปุ๋นขาว และยิปซัม ในพื้นที่เกษตรอินทรีย์ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างสารปรับปรุงดินปุ๋ยมาร์ล จำนวน 18 ตัวอย่าง ปุ๋นโดโลไมท์ จำนวน 36 ตัวอย่าง ปุ๋นขาว จำนวน 39 ตัวอย่าง และยิปซัม จำนวน 31 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้น 124 ตัวอย่าง ที่ใช้ในการปลูกพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ พบว่า พื้นที่ภาคกลางมีตัวอย่างสารปรับปรุงดินจากแปลงผักอินทรีย์ อำเภอสามโคก จังหวัดปทุมธานี อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม อำเภอนครหลวง อำเภอบางปะอิน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา แปลงมะยงชิดอินทรีย์ อำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก และแปลงข้าวอินทรีย์ อำเภอวิหารแดง จังหวัดสระบุรี จำนวน 75 ตัวอย่าง ภาคตะวันออก แปลงผักอินทรีย์ อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี และแปลงกล้วยไข่และทุเรียนอินทรีย์ อำเภอนายายอาม และอำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี จำนวน 24 ตัวอย่าง พื้นที่ภาคตะวันตก มีตัวอย่างสารปรับปรุงดินจากแปลงผักอินทรีย์ อำเภอท่ามะกา อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี จำนวน 9 ตัวอย่าง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แปลงผักอินทรีย์ อำเภอหนองไผ่ จังหวัดเพชรบูรณ์ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 16 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างสารปรับปรุงดิน ที่รวบรวมได้จากพื้นที่เกษตรอินทรีย์ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ที่	จังหวัด	จำนวนตัวอย่าง				รวม
		ปูนมาร์ล	ปูนโดโลไมท์	ปูนขาว	ยิปซัม	
ภาคกลาง						75
1	ปทุมธานี	2	6	1	2	11
2	นครปฐม	4	8	4	5	21
3	พระนครศรีอยุธยา	4	4	3	9	20
4	นครนายก	2	2	5	4	13
5	สระบุรี	1	2	5	2	10
ภาคตะวันออก						24
1	ชลบุรี	2	3	3	-	8
2	จันทบุรี	3	3	5	5	16
ภาคตะวันตก						9
1	กาญจนบุรี	-	2	4	-	6
2	เพชรบุรี	-	-	3	-	3
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ						16
1	นครราชสีมา	-	3	3	4	10
2	เพชรบูรณ์	-	3	3	-	6
รวม		18	36	39	31	124

2. ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม ปูนมาร์ล

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างปูนมาร์ลด้วยเทคนิค XRD จำนวน 18 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างมีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต หรือแร่แคลไซต์ (CaCO_3) จำนวน 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 89 ของตัวอย่างทั้งหมด โดยมีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 80 ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดิน และมีองค์ประกอบอื่นๆ ในตัวอย่าง ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ซิลิกา (Silica) และยิปซัม มีปริมาณร้อยละ 0.1 – 11.6 และตัวอย่างปูนมาร์ลจำนวน 2 ตัวอย่าง มีองค์ประกอบหลักเป็นแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) หรือโดโลไมท์มากกว่าร้อยละ 80 คิดเป็นร้อยละ 11 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด ตัวอย่างปูนมาร์ลส่วนใหญ่บรรจุในกระสอบจำนวน 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 83 ตัวอย่างที่ระบุปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตบนฉลากมีจำนวน 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 78 ของตัวอย่างปูนมาร์ลทั้งหมด ในขณะที่ตัวอย่างซึ่งไม่ระบุปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตบนฉลาก จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22 ของตัวอย่างทั้งหมด อย่างไรก็ตามพบว่า ตัวอย่างปูนมาร์ลส่วนใหญ่มีองค์ประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 80 มีความเหมาะสมต่อการนำไปปรับปรุงดินได้ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของตัวอย่างปูนมาร์ลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ภาชนะบรรจุ	การระบุผล	องค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD		
ปูนมาร์ล	18	1. กระสอบ	1. ระบุ 14 ตัวอย่าง	CaCO ₃	> 90 %	14 ตัวอย่าง (78%)
		15 ตัวอย่าง (83 %)	(78%)	(Calcite)		
		2. ถุงพลาสติก	2. ไม่ระบุ 4		80 - 90%	2 ตัวอย่าง (11%)
		3 ตัวอย่าง (17%)	ตัวอย่าง (22%)			
				CaMg(CO ₃) ₂	80 - 90%	2 ตัวอย่าง (11%)
				(Dolomite)		
				Other minerals	0.1 - 11.6%	
		- Hydrated lime (Ca(OH) ₂)				
		- Silica (SiO ₂)				
		- Graphite (C)				
		- Gypsum (CaSO ₄ •2H ₂ O)				

โดโลไมท์

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ด้วยเทคนิค XRD แสดงอยู่ในตารางที่ 4 พบว่าตัวอย่างปูนโดโลไมท์ที่รวบรวมได้มีทั้งหมด 36 ตัวอย่าง บรรจุอยู่ในกระสอบ จำนวน 28 ตัวอย่าง และบรรจุในถุงพลาสติกจำนวน 8 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่มีองค์ประกอบของแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตหรือโดโลไมท์มีจำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 78 และมีตัวอย่างที่มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตหรือแคลไซต์เป็นองค์ประกอบหลักจำนวน 8 ตัวอย่าง และมีองค์ประกอบอื่นๆ ในตัวอย่าง ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ซิลิกา แกรไฟต์ และยิปซัม มีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 0.2 – 13.1 ตัวอย่างปูนโดโลไมท์ที่ไม่พบองค์ประกอบของแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต มีจำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด ซึ่งจากมาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดิน ระบุให้ปูนโดโลไมท์ควรมีแคลเซียมออกไซด์และแมกนีเซียมออกไซด์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 25 และ 15 ตามลำดับ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) ซึ่งทำให้ตัวอย่างปูนโดโลไมท์จะต้องมีปริมาณแร่โดโลไมท์ (CaMg(CO₃)₂) เป็นองค์ประกอบอย่างน้อยร้อยละ 70 จึงจะมีปริมาณแคลเซียมออกไซด์และแมกนีเซียมออกไซด์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 25 และ 15 ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างปูนโดโลไมท์ที่มีแร่โดโลไมท์ตั้งแต่ร้อยละ 70 ขึ้นไป มีจำนวน 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 44 ของตัวอย่างปูนโดโลไมท์ทั้งหมด ดังนั้นในการเลือกซื้อปูนโดโลไมท์ควรเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ที่มีการระบุปริมาณของแร่โดโลไมท์แคลเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ แคลเซียม และแมกนีเซียม อย่างชัดเจนจึงจะได้ปูนโดโลไมท์ที่มีคุณภาพที่เหมาะสม

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของตัวอย่างปูนโดโลไมท์จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ภาชนะบรรจุ	การระบุผล	องค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD		
โดโลไมท์	36	1. กระสอบ 28 ตัวอย่าง (78 %)	1. ระบุ 13 ตัวอย่าง (78%)	CaMg(CO ₃) ₂	> 90 %	4 ตัวอย่าง (5%)
		2. ถุงพลาสติก 8 ตัวอย่าง (22%)	2. ไม่ระบุ 23 ตัวอย่าง (22%)	(Dolomite)	> 80 - 90%	5 ตัวอย่าง (13%)
					70 - 80%	7 ตัวอย่าง (19%)
					<70%	12 ตัวอย่าง (33%)
					ไม่พบ	8 ตัวอย่าง (22%)
				CaCO ₃ (Calcite)	> 90 %	6 ตัวอย่าง (17%)
					> 80 - 90%	2 ตัวอย่าง (5%)
				Other minerals	0.2 -13.1%	
				- Hydrated lime ((Ca(OH) ₂)		
				- Silica (SiO ₂)		
				- Graphite (C)		
				- Gypsum (CaSO ₄ •2H ₂ O)		

ปูนขาว

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างปูนขาว จำนวน 39 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค XRD แสดงอยู่ในตารางที่ 5 พบว่า ตัวอย่างที่มีองค์ประกอบของแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีจำนวน 18 ตัวอย่าง ตัวอย่างปูนขาวที่วางจำหน่ายส่วนใหญ่บรรจุในถุงพลาสติก จำนวน 34 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 87 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด ตัวอย่างที่เหลือบรรจุในกระสอบ จำนวน 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 13 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด เมื่อพิจารณาการระบุผลพบว่ามีตัวอย่างปูนขาวที่ไม่ระบุปริมาณและชนิดของส่วนประกอบ มีจำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 72 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด ตัวอย่างปูนขาวที่ไม่พบองค์ประกอบของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ มีจำนวน 21 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด เมื่ออ้างอิงมาตรฐานระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนดให้ปูนขาวมีค่า CCE ไม่น้อยกว่าร้อยละ 100 (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556) คิดเป็นปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 74.0 ซึ่งจากการพิจารณาตามเกณฑ์มาตรฐาน แล้ว พบว่ามีตัวอย่างปูนขาวที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.4 ของตัวอย่างปูนขาวทั้งหมด

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของตัวอย่างปูนขาวจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ภาชนะบรรจุ	การระบุผลึก	องค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD		
ปูนขาว	39	1. กระสอบ 5	1. ระบุ 11	Hydrated lime ((Ca(OH) ₂)	> 90 %	2 ตัวอย่าง (5%)
		ตัวอย่าง (13 %)	ตัวอย่าง (28%)			
		2. ถุงพลาสติก 34	2. ไม่ระบุ 28		> 80 – 90%	4 ตัวอย่าง (10%)
		ตัวอย่าง (87%)	ตัวอย่าง (72%)			
					74 - 80%	- ตัวอย่าง (0%)
				0.2 – 73.9%	12 ตัวอย่าง (31%)	
				ไม่พบ	21 ตัวอย่าง (54%)	
				CaCO ₃ (Calcite)	> 90 %	26 ตัวอย่าง (67%)
					> 80 – 90%	- ตัวอย่าง (0%)
					70 – 80%	3 ตัวอย่าง (8%)
			< 70%	10 ตัวอย่าง (25%)		
			Other minerals	0.1 - 20.1%		
			- Silica (SiO ₂)			
			- Graphite (C)			
			- Gypsum (CaSO ₄ •2H ₂ O)			

ยิปซัม

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างยิปซัมด้วยเทคนิค XRD จำนวน 31 ตัวอย่าง แสดงอยู่ในตารางที่ 6 พบว่าตัวอย่างมีองค์ประกอบของแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 18 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 57 ของตัวอย่างยิปซัมทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบตัวอย่างยิปซัมที่มีองค์ประกอบของแคลเซียมซัลเฟตที่ไม่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหรือแอนไฮไดรต์ (CaSO_4) และตัวอย่างที่มีแคลเซียมซัลเฟตเฮมิไฮเดรต หรือแบสซอไนต์ ที่มีน้ำ 0.5 โมเลกุล ($\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 11 ตัวอย่าง นอกจากนี้ในตัวอย่างยิปซัวยังพบองค์ประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนต และองค์ประกอบอื่นๆ ในตัวอย่าง ได้แก่ โดโลไมท์ ซิลิกา และแกรไฟต์ ร้อยละ 0.7 – 100 เมื่อพิจารณาตามมาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดินที่ยิปซัมต้องมีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 90 พบว่ามีจำนวนตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์ทั้งหมด 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 45 ดังนั้นควรมีการพิจารณาเลือกใช้เกณฑ์หรือมาตรฐานของสารปรับปรุงดินยิปซัมทางการเกษตรโดยให้มีปริมาณของแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงดินและมีต้นทุนที่เหมาะสมสำหรับเกษตรกร

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของตัวอย่างยิปซัมจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ภาชนะบรรจุ	การระบุผลึก	องค์ประกอบที่วิเคราะห์ได้ด้วย XRD		
ยิปซัม	31	1. กระสอบ 5 ตัวอย่าง (13 %) 2. ถุงพลาสติก 34 ตัวอย่าง (87%)	1. ระบุนุ 11 ตัวอย่าง (28%) 2. ไม่ระบุนุ 28 ตัวอย่าง (72%)	Gypsum ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	> 90 %	14 ตัวอย่าง (45%)
					>80 – 90%	3 ตัวอย่าง (9%)
					70 – 80%	1 ตัวอย่าง (3%)
					ไม่พบ	8 ตัวอย่าง (26%)
				Bassanite ($\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$)	5.4 - 61.7 %	7 ตัวอย่าง (22%)
				Anhydrite (CaSO_4)	12.5 - 47.8%	4 ตัวอย่าง (13%)
				Calcite (CaCO_3)	> 90 %	1 ตัวอย่าง (3%)
					> 80 - 90%	- ตัวอย่าง (0%)
					70 – 80%	3 ตัวอย่าง (9%)
					< 70%	10 ตัวอย่าง (32%)
				Other minerals	0.7-100%	1 ตัวอย่าง (3%)
				- Dolomite ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$)		
				- Silica (SiO_2)		
				- Graphite (C)		

สรุปผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ตรวจสอบและประเมินคุณภาพสารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม จำนวน 18 36 39 และ 31 ตัวอย่าง ตามลำดับ จำนวนทั้งสิ้น 124 ตัวอย่าง พบว่า สารปรับปรุงดินปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัม มีองค์ประกอบหลักเป็นไปตามมาตรฐานที่ต้องประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) แคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนต ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) และแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 16 16 6 และ 14 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 89 44 15 และ 45 ของตัวอย่างแต่ละชนิดทั้งหมด) เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์และเลือกใช้เกณฑ์หรือมาตรฐานปูนมาร์ลที่มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 80.0 ปูนโดโลไมท์ที่มีแร่โดโลไมท์หรือแคลเซียมแมกนีเซียมคาร์บอเนตมากกว่าร้อยละ 70.0 ปูนขาวที่มีปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์มากกว่าร้อยละ 74.0 และยิปซัมที่มีปริมาณแคลเซียมซัลเฟตไดไฮเดรตมากกว่าร้อยละ 90.0 ซึ่งการกำหนดปริมาณขึ้นอยู่กับเกณฑ์หรือมาตรฐานที่เลือกใช้ ทั้งนี้ประเทศไทยควรมีการกำหนดเกณฑ์ที่ชัดเจนเพื่อกำหนดคุณภาพของสารปรับปรุงดินที่สามารถนำมาใช้ในการเกษตรในทิศทางเดียวกัน ทั้งนี้จากงานวิจัย พบว่า สามารถจำแนกองค์ประกอบของสารปรับปรุงดินและวัสดุปลูกได้ด้วยเทคนิค XRD แต่การใช้งานทางการเกษตรนั้น ควรมีการระบุชนิดและปริมาณขององค์ประกอบหลักที่มีความสามารถในการปรับปรุงดิน และการใช้ประโยชน์ทางการเกษตรอย่างชัดเจน เพื่อให้มีการใช้อย่างเหมาะสมทางการเกษตร

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ของกรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการ และเจ้าหน้าที่ทุก ๆ ท่านในกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ที่มีส่วนช่วยในการสนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. หน่วยงานภาครัฐ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช ของกรมวิชาการเกษตร สำนักงานคณะกรรมการคุ้มครองผู้บริโภค กรมพัฒนาที่ดิน สามารถใช้ข้อมูลผลการวิเคราะห์สารปรับปรุงดิน ในการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน การกำหนดมาตรฐาน เพื่อการผลิตและจำหน่าย รวมทั้งการนำเข้าและส่งออก
2. เกษตรกรมีการเฝ้าระวังการใช้สารปรับปรุงดินมากขึ้น ลดการสูญเสีย หรือลดการทำลายคุณภาพของดินที่อาจเกิดจากการใช้สารปรับปรุงดินผิดประเภทไม่ได้มาตรฐานในพื้นที่ และมีการคำนึงถึงมาตรฐานการพิจารณาผลและคุณภาพมากขึ้น
3. ผู้ประกอบการนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน ตามการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดิน ที่ผลิตและจำหน่าย และการบังคับใช้กฎหมายให้เป็นไปตามมาตรฐานมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กรมทรัพยากรธรณี. 2545. แร่ ฝ้ายเผยแพร่และประชาสัมพันธ์, สำนักงานเลขานุการกรม, กรมทรัพยากรธรณี. กรุงเทพฯ.
- กรมพัฒนาที่ดิน. 2556. ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่. 2550. แร่เพื่อการเกษตร. กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่ กรุงเทพฯ.
- สำนักงานคณะกรรมการคุ้มครองผู้บริโภค. 2566. เรื่อง สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช สารปรับปรุงดิน. แหล่งข้อมูล <https://www.ocpb.go.th/images/plant%20performance%20enhancer%20soil%20amendment.pdf>. สืบค้น: 16 เมษายน 2567.
- สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2565. รายงานตัวชี้วัด "จำนวนเกษตรกรและพื้นที่เพาะปลูกเกษตรอินทรีย์ (2560-2564). แหล่งข้อมูล http://env_data.onep.go.th/reports/subject/view/91 สืบค้น : 6 กรกฎาคม 2566.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2564. มาตรฐานสินค้าเกษตร (มกษ. 9000-2564) เกษตรอินทรีย์: การผลิต การแปรรูป การแสดงฉลาก และการจำหน่ายผลิตผลและผลิตภัณฑ์อินทรีย์. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร.
- Agricultural Standards Regulation. 1997. *Agricultural Standards Act 1994*. Reprinted as in force on 24 August 2001. State of Queensland.

- ASTM. 2023. ASTM C602-20: Standard Specification for Agricultural Liming Materials. *ASTM International*. United States.
- Keeling, J., A. Pain, and A. Beech. 2001. Gypsum in agriculture - quality standards in place as demand grows. *MESA Journal* 20:17-21.
- Kottlowski, F. E.. 1957. *Geology and coal deposits of the Coal City quadrangle*, Greene, Clay, and Owen Counties, Ind.: U. S. Geol. Survey Coal Inv. Map C 28.
- McCart, G.D., G.W. Hawkins, and G.R. Epperson. 2009. *Sources of Lime for Acid Soils in Virginia*. Extension Division, Virginia Polytechnic Institute and State University Publication 405.
- Mullins, G., M.M. Alley, W.G. Wysor, and S.B. Phillips. 2011. Sources of Lime for Acid Soils in Virginia. *Virginia Cooperative Extension*.
- Regulatory Provisions. 2024. CHAPTER 19. Liming Materials. *Legislative Council, General Assembly State of Delaware*. Available at:
<https://delcode.delaware.gov/title3/c019/index.html>.

การศึกษาและประเมินคุณภาพสารปรับปรุงดินซีโอไลต์ และเบนทอไนต์
ในระบบการผลิตพืชตามมาตรฐานเกษตรอินทรีย์
Study and Quality Assessment of Zeolite and Bentonite Soil
Amendments in Organic Agricultural Production Systems

กัญธนา คล้ายแก้ว จิตติรัตน์ ชูชาติ สุภา โพธิจันทร์ สกรานต์ มะลิสอน
ญาณธิชา จิตต์สะอาด พจมาลย์ ภู่อสาร กอริอะ บิลลี่ จีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรรณรัตน์ ชุตินุตร
Kanthana Klaigaw Jittirat Choochat Supha Photichan Songkrant Malisorn
Yarnthicha Jittsa-add Pojjamarn Poosarn Koreeah Binlee Charirat Kusonwiriya Wong
Wannarut Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Zeolite and bentonite are natural soil amendments that are environmentally friendly and free from harmful chemicals. They can reduce the risk of water and soil contamination, which has led to their widespread use in agriculture. However, commercially available products often lack clear identification of types or compositions, potentially resulting in farmers receiving substandard products. This research aims to examine and evaluate the quality of zeolite and bentonite soil amendments using X-Ray Diffraction (XRD) techniques, which offer rapid analysis and reduced sample preparation steps. A total of 100 samples were collected from various regions, comprising 50 zeolite samples and 50 bentonite samples, with most samples originating from the central region. Analysis results revealed that 30 zeolite samples, or 60.0% of all zeolite samples, contained natural mineral components. Only one sample contained zeolite component. For bentonite, 24 samples, or 48.0% of all bentonite samples, consisted of bentonite, while 47 samples, or 94.0% of all bentonite samples, contained natural mineral components. These findings indicate that most samples are composed of a mixture of various natural minerals, which can affect the properties of the soil amendments.

Keywords: Zeolite; Bentonite; Soil Amendments; XRD

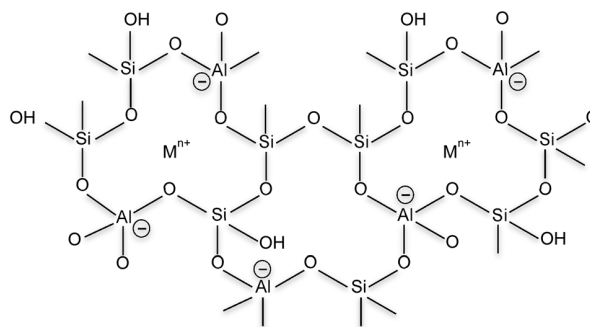
บทคัดย่อ

ซีโอไลต์และเบนทอไนต์เป็นสารปรับปรุงดินที่ได้จากธรรมชาติซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและไม่มีสารเคมีที่เป็นอันตราย สามารถลดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของน้ำและดิน เกษตรกรจึงได้นำไปใช้ในการเกษตรอย่างแพร่หลาย แต่ผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายทั่วไปไม่พบการระบุชนิดหรือองค์ประกอบที่ชัดเจน ซึ่งอาจทำให้เกษตรกรได้สินค้าที่ไม่มีคุณภาพ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพื่อตรวจสอบและประเมินคุณภาพของสารปรับปรุงดินซีโอไลต์และเบนทอไนต์ ด้วยเทคนิค X-Ray Diffraction (XRD) ซึ่งเป็นเทคนิคที่วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว และลดขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างซีโอไลต์และเบนทอไนต์ที่รวบรวมได้จากภาคต่างๆ มีจำนวนทั้งหมด 100 ตัวอย่าง แบ่งเป็นซีโอไลต์และเบนทอไนต์ อย่างละ 50 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างส่วนใหญ่มาจากภาคกลาง จากผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างซีโอไลต์มีองค์ประกอบเป็นแร่จากธรรมชาติ จำนวน 30 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 60.0 ของตัวอย่างซีโอไลต์ทั้งหมด และมีตัวอย่างที่พบองค์ประกอบของซีโอไลต์จำนวน 1 ตัวอย่าง ในขณะที่ตัวอย่างเบนทอไนต์ที่มีองค์ประกอบเป็นเบนทอไนต์ จำนวน 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 48.0 ของตัวอย่างเบนทอไนต์ทั้งหมด และตัวอย่างเบนทอไนต์มีองค์ประกอบเป็นแร่จากธรรมชาติจำนวน 47 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 94.0 ของตัวอย่างเบนทอไนต์ทั้งหมด จึงจะเห็นได้ว่าตัวอย่างส่วนใหญ่มีองค์ประกอบของแร่จากธรรมชาติหลายชนิดปะปนกัน ซึ่งจะส่งผลต่อคุณสมบัติของสารปรับปรุงดินนั้นๆ

คำสำคัญ: ซีโอไลต์; เบนทอไนต์; สารปรับปรุงดิน; XRD

บทนำ

ซีโอไลต์ เป็นสารประกอบอะลูมิเนียมซิลิเกต (Aluminosilicate) ซึ่งมีโครงสร้างแบบ 3 มิติ (Three-dimensional network) ของซิลิเกต ($[\text{SiO}_4]^{4-}$) และอะลูมินต ($[\text{AlO}_4]^{5-}$) สร้างพันธะแบบ Tetrahedral โดยการเชื่อมโยงผ่านอะตอมออกซิเจน (Reháková et al., 2004) ร่างผลึกของซีโอไลต์ (Zeolite framework) แสดงอยู่ในภาพที่ 1 ในโครงสร้างของซีโอไลต์จะมีอะลูมิเนียมรวมเข้าไปในโครงสร้างของซิลิกา ทำให้เกิดประจุลบขึ้นในซีโอไลต์ จึงจำเป็นต้องมีไอออนบวกภายในโครงสร้างเพื่อมาทำหน้าที่เป็นไอออนสำหรับดุลประจุ (Charge balancing cation) (ภาพที่ 1) ไอออนบวกนี้มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนกับไอออนบวกอื่นๆ ได้ด้วย (Boettinger and Ming, 2002) ซีโอไลต์มีโครงสร้างซึ่งเป็นรูพรุนขนาดนาโนเมตรและมีพื้นที่ผิวที่สูง ทำให้มีคุณสมบัติในการดูดซับไอออนบวกได้ดี (Ramesh and Reddy, 2011) และมีความเฉพาะเจาะจงสูงมากกับสารแต่ละชนิด



ภาพที่ 1 โครงร่างผลึกแบบ 2 มิติของซีโอไลต์ (Baile et al., 2019)

ซีโอไลต์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติมีมากกว่า 50 ชนิด โดย Clinoptilolite เป็นซีโอไลต์ธรรมชาติในกลุ่ม Heulandite ซึ่งเป็นซีโอไลต์ชนิดที่มีมากที่สุดในดินและตะกอน พบมากในภาคตะวันตกของสหรัฐ บัลแกเรีย ฮังการี ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย และอิหร่าน (Mumpton, 1999) Clinoptilolite มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวกสูง ด้วยคุณสมบัติความเป็นรูพรุนสูงของซีโอไลต์ทำให้สามารถกักเก็บน้ำไว้ได้ และความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนบวกทำให้สามารถกักเก็บธาตุอาหารพืชได้ ดังนั้นการเติมซีโอไลต์ลงในดินจึงเป็นการช่วยเพิ่มสารอาหารให้แก่พืช จึงนิยมใช้ในการเกษตรสำหรับการปรับปรุงดินและช่วยเพิ่มการกักเก็บไนโตรเจนในดิน นอกจากนี้ซีโอไลต์สามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำได้โดยการกำจัดก๊าซที่เป็นอันตรายเป็นวัสดุเฉื่อยที่ค่อนข้างปลอดภัย มีอายุการใช้งานต่อสิ่งแวดลอมสั้น และไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ (Hasan et al., 2023)

เบนทอไนต์เป็นแร่ดินเหนียวซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของความร้อนใต้พิภพในหินภูเขาไฟ เบนทอไนต์ประกอบด้วยแร่ดินเหนียวจากตระกูลสเมกไทต์ (Smectite family) เป็นส่วนใหญ่ Smectite เป็นกลุ่มแร่ดินเหนียวที่มีโครงสร้าง Phyllosilicate แบบ 2:1 มีช่องว่างระหว่างชั้นทำให้ไอออนบวกที่มีความชื้นสามารถเข้ามาเพื่อทำให้ประจุลบของโครงสร้างเป็นกลางได้ และด้วยเหตุนี้สเมกไทต์จึงทำหน้าที่เป็นตัวแลกเปลี่ยนไอออนบวก โดย Montmorillonite เป็น Smectite ที่พบมากที่สุด (Cuevas et al., 2022) การผสมเบนทอไนต์ในดินสามารถปรับปรุงคุณภาพทางการเกษตรโดยรวมของดินทรายได้ โดยเพิ่มความสามารถในการกักเก็บน้ำในดิน และ Cation exchange capacity (CEC) นอกจากนี้ยังมีการส่งเสริมการใช้เบนทอไนต์เป็นสารปรับปรุงดินอย่างแพร่หลายในพื้นที่แห้งแล้งหลายแห่งของโลก ดังนั้นการใช้เบนทอไนต์เป็นสารปรับปรุงดินจึงเป็นทางเลือกที่มีความน่าสนใจอย่างมาก เนื่องจากมีต้นทุนต่ำและมีปริมาณสำรองมากมายทั่วโลก

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-Ray Diffraction, XRD) เป็นการวิเคราะห์แบบไม่ทำลายตัวอย่าง (Non-destructive analysis) มีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย รวดเร็ว และไม่มีการใช้สารเคมีที่อันตราย การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD สามารถแยกความแตกต่างของซีโอไลต์แต่ละชนิดและเบนทอไนต์ได้ และยังสามารถแยกออกจากแร่ธาตุอื่นๆ อีกมากมายที่มีอยู่ในหิน ตะกอน และดินได้ (Hernández et al., 2000) ซีโอไลต์และเบนทอไนต์มีรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (XRD pattern) เฉพาะตัว โดยซีโอไลต์ธรรมชาติอาจมี XRD pattern ที่แตกต่างจากฐานข้อมูลเล็กน้อย เนื่องจากขนาดผลึกที่เล็กกว่า การวางตัวของผลึก อัตราส่วนของ Si/Al ที่แตกต่างกัน และประเภทของไอออนบวกที่แลกเปลี่ยนได้ นอกจากนี้ความสูงของพีคจะลดลง และมีฐานของพีคที่กว้างกว่า ซึ่งเป็นผลมาจากผลึกที่มีขนาดเล็กกว่า ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการนำเทคนิค XRD มาใช้ในการศึกษาซีโอไลต์และเบนทอไนต์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ

ในปัจจุบันสารปรับปรุงดินที่จำหน่ายในท้องตลาดมีให้เลือกซื้อมากมายหลากหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่ไม่ได้การระบุส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ที่ชัดเจน ทำให้เกษตรกรไม่มีความมั่นใจในการนำมาใช้งาน และอาจไม่ตรงความต้องการของเกษตรกร รวมทั้งส่งผลให้ต้นทุนทางผลิตเพิ่มขึ้นได้ งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการตรวจวิเคราะห์สารปรับปรุง ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาวิธีการเพื่อตรวจสอบและประเมินคุณภาพของสารปรับปรุงดินซีโอไลต์และเบนทอไนต์ ด้วยเทคนิค XRD และทำการรวบรวมตัวอย่างซีโอไลต์และเบนทอไนต์จากภาคต่างๆ ได้แก่ ภาคภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาประเมินคุณภาพด้วยเทคนิค XRD

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและวัสดุทางวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-Ray Diffractometer; XRD) เครื่องบด XRD mill ที่ใส่ตัวอย่าง (Sample holder) เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทดสอบ เป็นต้น
2. สารเคมี ได้แก่ Isopropyl alcohol สารมาตรฐานซีโอไลต์ สารมาตรฐานเบนทอไนต์ ตัวอย่างซีโอไลต์ ตัวอย่างเบนทอไนต์ เป็นต้น

วิธีการ

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์สารปรับปรุงดินซีโอไลต์และเบนทอไนต์ด้วยเทคนิค XRD
 - 1.1 นำสารมาตรฐานซีโอไลต์และเบนทอไนต์ บรรจุลงใน Sample holder ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 27 มิลลิเมตร ความหนา 2 มิลลิเมตร และอัดด้วยแรงสม่ำเสมอเท่ากันทุกทิศทางจนมีผิวหน้าเรียบ
 - 1.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ซีโอไลต์และเบนทอไนต์ ด้วยเครื่อง XRD ยี่ห้อ PANalytical รุ่น Aeris ตัวอย่างถูกวิเคราะห์ด้วยรังสีจาก Cu K α ที่ความยาวคลื่น 1.5418 Å โดยปรับกระแส 15 mA ความต่างศักย์ 40 kV ให้กับหลอดกำเนิดรังสี เปรียบเทียบรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction pattern) ของสารมาตรฐานที่ได้กับกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD
 - ปรับสภาวะของเครื่อง XRD ได้แก่ ช่วงค่ามุมที่วัด, Step size, Time per step, Divergence slit และ Beam mask
 - เลือกสภาวะที่เหมาะสมโดยการพิจารณา ช่วงค่ามุมที่วัดของ XRD Patterns ครอบคลุมทุกพีค มีลำแสงของรังสีที่ตกกระทบและความคมชัดของพีคที่เหมาะสม
 - 1.3 ศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบซีโอไลต์และเบนทอไนต์กับควอตซ์ (Quartz)
 - ผสมซีโอไลต์และเบนทอไนต์กับควอตซ์ ที่ความเข้มข้นของซีโอไลต์และเบนทอไนต์ 95, 90, 80, 60, 40, 20 และ 10 %W/W นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD ในเวลาเดียวกัน โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ
 - คำนวณ และประเมิน % Recovery ของซีโอไลต์และเบนทอไนต์ ตามเกณฑ์กำหนด (Latimer, 2023) ดังแสดงตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงเกณฑ์การยอมรับ % Recovery

Unit	Mean recovery, %
100%	98 – 102%
10%	98 – 102%
1%	97 – 103%

2. รวบรวมตัวอย่างสารปรับปรุงดินซีโอไลต์และเบนทอไนต์ในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
3. วิเคราะห์ตัวอย่างสารปรับปรุงดินซีโอไลต์ และเบนทอไนต์ ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์
 - 3.1 นำตัวอย่างซีโอไลต์ และเบนทอไนต์ ใส่ในกระบอกบดตัวอย่าง เติมน้ำ 2-propanol จำนวน 7 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด XRD mill และนำไปประเหยแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง คลุกเคล้าให้ผงตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุตัวอย่างลงใน Sample holder โดยอัดตัวอย่างด้วยแรงสม่ำเสมอเท่ากันทุกทิศทางจนมีผิวหน้าเรียบ

3.2 วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ และหาค่าองค์ประกอบเชิงคุณภาพของสารปรับปรุงดิน

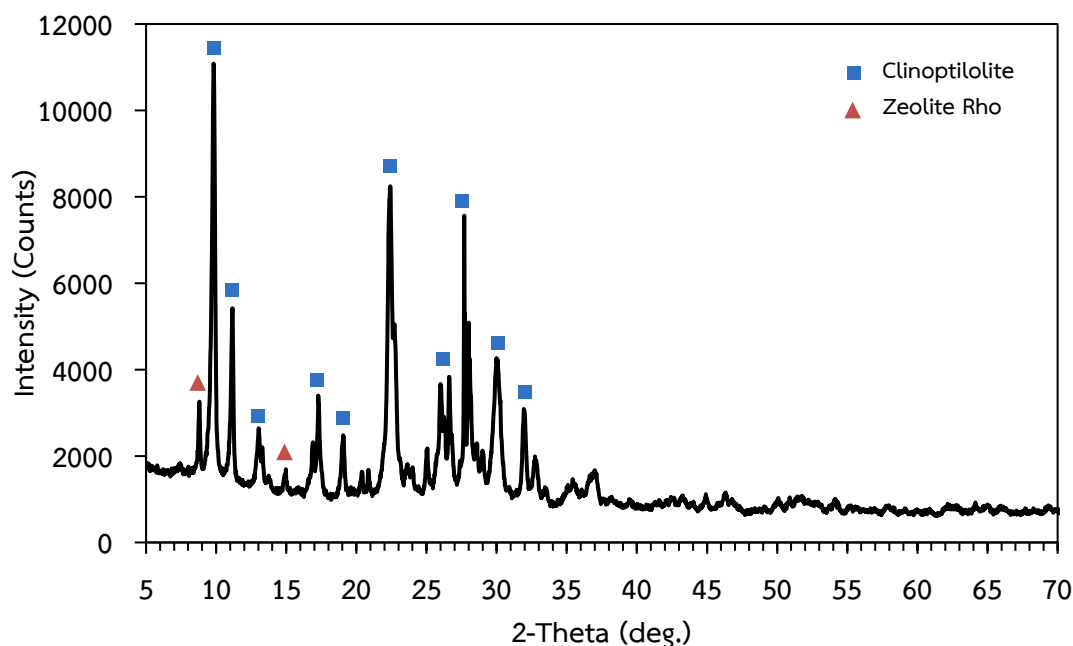
ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2566 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์สารปรับปรุงดินซีโอไลต์และเบนทอไนต์ด้วยเทคนิค XRD

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง XRD ที่ใช้ในการวิเคราะห์ซีโอไลต์ โดยใช้รังสีจาก Cu K α ที่ความยาวคลื่น 1.5418 Å กระแส 15 mA ความต่างศักย์ 40 kV ค่ามุมเริ่มต้นของการวัด (Start angle) ถึงมุมสุดท้ายของการวัด (End angle) ที่ 4 – 80° และตัวควบคุมความกว้างลำแสงเพื่อให้ตกกระทบบที่ตัวอย่าง (Beam mask) เท่ากับ 23 mm ได้ทำการศึกษาสภาวะต่างๆ ของเครื่อง XRD ดังนี้ ขนาดของการวัดแต่ละ Step (Step size) เท่ากับ 0.005, 0.01, 0.02 และ 0.1 ช่วงเวลาที่ใช้วัดในแต่ละ Step (Time per step) เท่ากับ 20, 40 และ 80 วินาที ตัวควบคุมความยาวลำแสงเพื่อให้ตกกระทบบที่ตัวอย่าง (Divergence slit) เท่ากับ 1/4, 1/6 และ 1/8 จากผลการทดลองพบว่า ที่ Step size = 0.02°, Time per step = 40 s และ Divergence slit = 1/4° ให้รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่ดีที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 2 สารมาตรฐานซีโอไลต์ที่นำมาศึกษามีองค์ประกอบหลักเป็น Clinoptilolite ร้อยละ 98.8 ปรากฏพีคหลักที่ตำแหน่ง 2 θ ต่างๆ ดังนี้ 9.8, 11.2, 13.0, 17.3, 19.1, 22.4, 25.9, 26.6, 27.7, 30.0 และ 32.0° เมื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลมาตรฐาน International Center for Diffraction Data (ICDD) พบว่ามีตำแหน่งและความสูงของพีคที่สอดคล้องกัน



ภาพที่ 2 X-ray diffraction pattern ของสารมาตรฐานซีโอไลต์

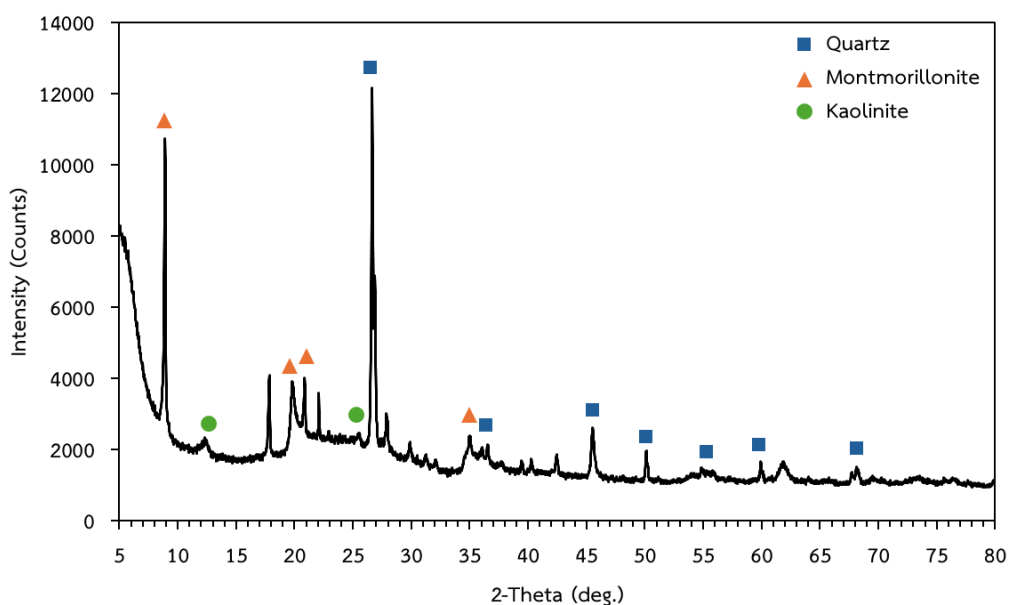
ในการศึกษาการรบกวนกันของซีโอไลต์จะทำการผสมซีโอไลต์และควอตซ์ เนื่องจากควอตซ์เป็นสารประกอบที่พบมากในดิน หิน และเป็นธาตุที่มีมากเป็นอันดับ 2 บนเปลือกโลกรองจากออกซิเจน จึงพบว่าการปะปนมากับตัวอย่างซีโอไลต์ธรรมชาติ จากการศึกษาพบว่าในการผสมซีโอไลต์และควอตซ์ที่มีปริมาณซีโอไลต์เท่ากับร้อยละ 10, 20, 40, 60, 80, 90 และ 95 พบว่า %recovery ไม่มีที่ความเข้มข้นในอยู่ในช่วงร้อยละ 98 – 102 (ตารางที่ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในการวิเคราะห์หาปริมาณซีโอไลต์ด้วยเทคนิค XRD นี้ไม่สามารถให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องได้ แต่สามารถให้ผลการวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพที่ถูกต้อง โดยในตัวอย่างผสมของซีโอไลต์และควอตซ์ที่มีปริมาณซีโอไลต์ในช่วงร้อยละ 10 – 95 สามารถตรวจพบซีโอไลต์ทุกตัวอย่าง

ตารางที่ 2 ศึกษาการรบกวนกันของซีโอไลต์และควอตซ์

Zeolite (%)	XRD results (Zeolite, %)	%recovery
95	99.00	104.21
90	80.70	89.67
80	68.40	85.50
60	46.70	77.83
40	27.60	69.00
20	15.80	79.00
10	4.30	43.00

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง XRD ที่ใช้ในการวิเคราะห์เบนทอไนต์ โดยใช้รังสีจาก Cu K α ที่ความยาวคลื่น 1.5418 Å กระแส 15 mA ความต่างศักย์ 40 kV ค่ามุมเริ่มต้นของการวัด (Start angle) ถึงมุมสุดท้ายของการวัด (End angle) ที่ 5 – 70° และตัวควบคุมความกว้างลำแสงเพื่อให้เกิดกระทบที่ตัวอย่าง (Beam mask) เท่ากับ 23 mm ได้ทำการศึกษาสภาวะต่างๆ ของเครื่อง XRD จากผลการทดลองพบว่าที่ Step size = 0.005°, Time per step = 40 s และ Divergence slit = 1/2° ให้รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่ดีที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 3 สารมาตรฐานเบนทอไนต์ที่นำมาศึกษามีองค์ประกอบหลักเป็น Montmorillonite มากกว่าร้อยละ 99.0 ปรากฏพีคหลักที่ตำแหน่ง 2 θ ต่างๆ ดังนี้ 8.9, 19.9, 20.9 และ 35.1° เมื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลมาตรฐาน ICDD พบว่ามีตำแหน่งและความสูงของพีคที่คล้ายกันและเหมือนกันกับที่ตีพิมพ์ในบทความต่างๆ (Wu, 2022 และ Fil, 2014) และเนื่องจากเบนทอไนต์เป็นแร่ดินเหนียวที่ได้จากธรรมชาติ จึงมีองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ ควอตซ์ และ Kaolinite เป็นต้น

ในการศึกษาการรบกวนกันของเบนทอไนต์จะทำการผสมเบนทอไนต์และควอตซ์ จากการศึกษาพบว่าในการผสมเบนทอไนต์และควอตซ์ที่มีปริมาณเบนทอไนต์เท่ากับร้อยละ 10, 20, 40, 60, 80, 90 และ 95 ไม่มี %recovery ที่ความเข้มข้นโดยอยู่ในช่วงร้อยละ 98 – 102 (ตารางที่ 3) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในการวิเคราะห์หาปริมาณเบนทอไนต์ด้วยเทคนิค XRD นี้ไม่สามารถให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องได้ แต่สามารถให้ผลการวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพที่ถูกต้อง โดยในตัวอย่างผสมของเบนทอไนต์และควอตซ์ที่มีปริมาณเบนทอไนต์ในช่วงร้อยละ 10 – 95 สามารถตรวจพบ Bentonite ที่เป็นองค์ประกอบในทุกตัวอย่าง



ภาพที่ 3 X-ray diffraction pattern ของสารมาตรฐานเบนทอไนต์

ตารางที่ 3 ศึกษาการรบกวนกันของของเบนทอไนต์และควอตซ์

Bentonite (%)	XRD results (%)	%recovery
95	74.7	78.63
90	72.2	80.22
80	36.7	45.88
60	26.9	44.83
40	3.8	9.50
20	1.2	6.00
10	0.7	7.00

2. รวบรวมตัวอย่างสารปรับปรุงดินซีโอไลต์และเบนทอไนต์ในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ได้ทำการรวบรวมตัวอย่างซีโอไลต์ที่จำหน่ายในร้านขายปุ๋ย และปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ของพื้นที่จังหวัดต่างๆ ดังนี้ กรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา สระบุรี นครราชสีมา และขอนแก่น โดยได้ตัวอย่างซีโอไลต์และเบนทอไนต์ จำนวน 50 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4 ตัวอย่างซีโอไลต์ส่วนใหญ่มาจากภาคกลางและภาคตะวันตก จำนวนภาคละ 16 ตัวอย่าง รองลงมาคือภาคตะวันออก จำนวน 15 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) เนื่องจากในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตกมีจำนวนฟาร์มกึ่งทะเลมากเป็นอันดับหนึ่ง และรองลงมาคือภาคตะวันออก (กรมประมง, 2567) ซึ่งซีโอไลต์สามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงได้ ส่วนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีจำนวน 3 ตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างเบนทอไนต์ที่รวบรวมได้จะมาจากภาคกลางและภาคเหนือ จำนวน 40 และ 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ เนื่องจากเบนทอไนต์ยังไม่ได้มีการนำมาใช้ในการเกษตรอย่างแพร่หลายเท่าใดนักจึงมีจำหน่ายในบางพื้นที่เท่านั้น

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอย่างปูนมาร์ล ปูนโดโลไมท์ ปูนขาว และยิปซัมที่รวบรวมได้จากจังหวัดต่างๆ

พื้นที่	จำนวนตัวอย่าง	
	ซีโอไลต์	เบนทอนต์
ภาคกลาง	16	40
ภาคตะวันตก	16	-
ภาคตะวันออก	15	-
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	3	-
ภาคเหนือ	-	10

3. วิเคราะห์ตัวอย่างสารปรับปรุงดินซีโอไลต์ และเบนทอนต์ ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างซีโอไลต์ที่รวบรวมได้แสดงอยู่ในตารางที่ 5 พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ตรวจไม่พบองค์ประกอบของซีโอไลต์ มีเพียง 1 ตัวอย่างที่พบซีโอไลต์ชนิด Phillipsite-k เป็นองค์ประกอบ ตัวอย่างซีโอไลต์มีองค์ประกอบเป็นแร่ (Mineral) แคลไซต์ (CaCO_3) ควอตซ์หรือซิลิกา และโดโลไมท์ ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) จำนวน 30, 22, 32 และ 9 ตัวอย่างตามลำดับ โดยแร่ที่เป็นองค์ประกอบของตัวอย่างจะเป็นแร่หิน ได้แก่ Albite, Anorthite, Anorthoclase, Clinochrysotile, Cordierite, Indialite, Kolskyite, Labradorite, Lepidolite, Lizardite, Magadiite, Muscovite, Muscovite, Pyramonite, Sanidine, Sanidine และ Sodium aluminum silicate แร่ดินเหนียว ได้แก่ Dickite, Illite, Kaolinite และ Vermiculite และสารประกอบซิลิเกต ได้แก่ tridymite, Aluminium tetrahydroxodistillicite formamind และ Sodium zinc silicate จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างซีโอไลต์จำนวน 30 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 60.0 ของตัวอย่างซีโอไลต์ทั้งหมด มีองค์ประกอบของแร่จากธรรมชาติอย่างน้อย 1 ชนิด ซึ่งคุณสมบัติหลายประการของแร่ดินเหนียวและซีโอไลต์แตกต่างกัน เนื่องจากโครงสร้างที่ต่างกัน แร่ดินเหนียวมีโครงสร้างชั้นสองมิติ ซึ่งมักจะไม่เป็นระเบียบในทิศทางการเรียงซ้อน ขณะที่ซีโอไลต์มีโครงสร้างที่เชื่อมต่อกันแบบสามมิติ จึงมีคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนโมเลกุลต่างๆได้ต่างกัน แร่ดินเหนียวและซีโอไลต์จัดเป็นแร่ธาตุที่สามารถพบได้ในสภาพแวดล้อมมากมาย เช่น ดิน แหล่งตะกอนใต้ท้องทะเล แหล่งตะกอนภูเขาไฟที่เปลี่ยนแปลง เป็นต้น แร่เหล่านี้มักเกิดขึ้นพร้อมกัน (Bish, 2013) ดังนั้นซีโอไลต์ที่เกิดตามธรรมชาติและแร่ดินเหนียวจะพบปะปนในแหล่งเดียวกัน ในการผลิตซีโอไลต์ที่บริสุทธิ์จึงต้องมีกระบวนการแยกแร่ดินเหนียวออก (Fellers, 2003)

ตารางที่ 5 ผลวิเคราะห์ตัวอย่างเบนทอไนต์ด้วยเทคนิค XRD

Sample no.	Compositions					
	Zeolite	Minerals	Calcite	Quartz/ Silica	Dolomite	Others
1	-	Kaolinite	CaCO ₃	SiO ₂	CaMg(CO ₃) ₂	-
2	-	Kaolinite	-	SiO ₂	-	-
3	-	Dickite	-	SiO ₂	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	Albite, Kaolinite, Muscovite	-	SiO ₂	-	-
6	-	Muscovite, Vermiculite, Sodium aluminum silicate	-	SiO ₂	-	-
7	-	Kaolinite	CaCO ₃	SiO ₂	CaMg(CO ₃) ₂	-
8	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	-	-
9	-	Anorthite, Anorthoclase	-	SiO ₂	-	-
10	-	Anorthite, Kaolinite	-	SiO ₂	-	-
11	-	Kaolinite, Illite	-	SiO ₂	-	-
12	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	CaMg(CO ₃) ₂	-
13	-	Anorthite, Anorthoclase, Kolskyite, Muscovite	-	-	-	-
14	-	-	CaCO ₃	-	-	-
15	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	-	-
16	-	-	CaCO ₃	-	-	-
17	-	-	CaCO ₃	-	-	-
18	-	Lizardite, Sanidine, Tridymite	-	SiO ₂	-	-
19	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	CaMg(CO ₃) ₂	-
20	-	Kaolinite, Magadiite, Muscovite	-	SiO ₂	-	-
21	-	Albite, Indialite	-	-	-	-
22	-	Anorthite, Cordierite	-	-	-	-
23	-	-	CaCO ₃	-	CaMg(CO ₃) ₂	-
24	-	Kaolinite	CaCO ₃	SiO ₂	CaMg(CO ₃) ₂	-
25	-	Anorthite, Indialite	-	-	-	Magnesium iron oxide
26	-	Albite, Cordierite	-	-	-	-
27	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	-	-
28	-	-	CaCO ₃	-	-	-
29	-	Kaolinite, Lepidolite	-	SiO ₂	-	-
30	-	Kaolinite	-	SiO ₂	-	-
31	Phillipsite-k	Kaolinite	-	SiO ₂	-	-

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Sample no.	Compositions					
	Zeolite	Minerals	Calcite	Quartz/ Silica	Dolomite	Others
32	-	Sanidine, Tridymite	-	SiO ₂	-	-
33	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	-	-
34	-	-	CaCO ₃	-	CaMg(CO ₃) ₂	Graphite
35	-	Kaolinite, Magadiite, Muscovite	-	SiO ₂	-	-
36	-	Dickite, Illite, Kolskyite	-	SiO ₂	-	-
37	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	CaMg(CO ₃) ₂	-
38	-	Anorthite, Anorthoclase	-	-	-	-
39	-	-	CaCO ₃	-	-	Carbon
40	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	-	-
41	-	-	CaCO ₃	-	-	-
42	-	-	CaCO ₃	-	-	-
43	-	Lizardite, Sanidine, Tridymite	-	SiO ₂	-	-
44	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	CaMg(CO ₃) ₂	-
45	-	Clinochrysotile, Kaolinite, Sodium zinc silicate	-	-	-	-
46	-	Kaolinite, Illite	-	SiO ₂	-	-
47	-	Clinochrysotile, Kaolinite, Muscovite	-	SiO ₂	-	-
48	-	Sanidine, Tridymite	-	SiO ₂	-	-
49	-	-	CaCO ₃	SiO ₂	-	-
50	-	Anorthite, Anorthoclase	-	-	-	-

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างเบนทอไนต์ที่รวบรวมได้แสดงอยู่ในตารางที่ 6 พบว่ามีตัวอย่างที่มีองค์ประกอบของแร่ Montmorillonite, Beidellite และ Nontronite ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเบนทอไนต์ (Ross and Hendricks, 1943) จำนวน 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 48.0 ของตัวอย่างเบนทอไนต์ทั้งหมด นอกจากนั้นตัวอย่างเบนทอไนต์มีองค์ประกอบเป็นแร่อื่นๆ ควอตซ์หรือซิลิกา และแคลไซต์ จำนวน 47, 42 และ 15 ตัวอย่างตามลำดับ โดยแร่ที่เป็นองค์ประกอบของตัวอย่างจะเป็นแร่หิน ได้แก่ Ajoite, Albite, Andesine, Anorthite, Anorthoclase, Ferraiolite, Ganophyllite, Kolskyite, Maghemite, Microcline, Sanidine, Tokkoite, Triphylite และ Witzkeite แร่ดินเหนียว ได้แก่ Dickite, Hectorite, Muscovite, Sepiolite, Kaolinite, Nontronite, Saponite, Tosudite, Vermiculite, Volkonskoite และสารประกอบซิลิเกต ได้แก่ Cristobalite, Calcium Aluminum Silicate, Potassium sodium calcium aluminum silicate และ Sodium Aluminum Silicate ตัวอย่างเบนทอไนต์ส่วนใหญ่จำนวน 47 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 94.0 ของตัวอย่างเบนทอไนต์ทั้งหมด มีองค์ประกอบของแร่จากธรรมชาติอย่างน้อย 1 ชนิด เช่นเดียวกับตัวอย่างซีโอไลต์ที่ตัวอย่างเบนทอไนต์จะสามารถปะปนกับแร่อื่นๆ ในแหล่งเดียวกันได้

ตารางที่ 6 ผลวิเคราะห์ตัวอย่างเบนทอนิตต์ด้วยเทคนิค XRD

Sample no.	Compositions				
	Bentonite mineral	Other minerals	Quartz/ Silica	Calcite	Other compounds
1	-	Albite	SiO ₂	CaCO ₃	Lithium sodium magnesium silicon oxide fluoride hydrate
2	-	Dickite, Muscovite, Tosudite	SiO ₂	-	-
3	-	Albite, Hectorite	SiO ₂	CaCO ₃	-
4	-	Albite	SiO ₂	CaCO ₃	-
5	-	Albite, Vermiculite	SiO ₂	CaCO ₃	-
6	Montmorillonite	Sanidine, Triphylite, Vermiculite	SiO ₂	-	-
7	-	Anorthite, Cristobalite, Sanidine	-	CaCO ₃	-
8	-	Anorthite	SiO ₂	CaCO ₃	-
9	-	Ganophyllite, Sodium Aluminum Silicate	-	-	-
10	Montmorillonite	Sanidine, Triphylite, Vermiculite	SiO ₂	-	-
11	-	Ajoite, Anorthite, Vermiculite	SiO ₂	-	-
12	Montmorillonite	Anorthite, Ganophyllite, Stellerite	-	-	-
13	-	Anorthoclase, Ganophyllite	SiO ₂	-	-
14	Montmorillonite	Aitigorite, Ferraioloite	SiO ₂	-	-
15	-	Sepiolite, Tokkoite	-	-	-
16	-	Anorthite, Potassium sodium calcium aluminum silicate	SiO ₂	-	-
17	Montmorillonite	Aitigorite, Ferraioloite	SiO ₂	-	-
18	-	Kaolinite	SiO ₂	-	-
19	-	Kaolinite	SiO ₂	-	-
20	-	Dickite, Muscovite	SiO ₂	-	-
21	Montmorillonite	-	SiO ₂	-	-
22	Montmorillonite	-	SiO ₂	-	-
23	-	Albite, Triphylite, Vermiculite	SiO ₂	CaCO ₃	-

ตารางที่ 6 (ต่อ)

Sample no.	Compositions				
	Bentonite mineral	Other minerals	Quartz/ Silica	Calcite	Other compounds
24	Nontronite	Albite, Cristobalite	SiO ₂	CaCO ₃	-
25	-	Albite	SiO ₂	CaCO ₃	-
26	Montmorillonite	Dickite	SiO ₂	-	Potassium aluminum iron phosphate
27	Montmorillonite	Dickite	SiO ₂	-	-
28	-	Ferraioloite, Vermiculite	SiO ₂	-	-
29	Montmorillonite	Ganophyllite	-	-	-
30	Beidellite	Anorthite, Volkonskoite	SiO ₂	-	-
31	-	Albite, Anorthoclase, Ganophyllite	SiO ₂	-	-
32	-	Kolskyite, Witzkeite	SiO ₂	-	-
33	Beidellite	Cristobalite, Calcium Aluminum Silicate, Witzkeite	SiO ₂	-	-
34	Montmorillonite	Anorthite, Ganophyllite, Stellerite	-	-	-
35	Nontronite	Albite	SiO ₂	CaCO ₃	-
36	Montmorillonite	Ganophyllite	-	-	-
37	-	Anorthite, Cristobalite, Sanidine	-	CaCO ₃	-
38	Beidellite	Cristobalite	SiO ₂	-	-
39	-	Kaolinite	SiO ₂	-	-
40	Montmorillonite	Aitigorite, Ferraioloite	SiO ₂	-	-
41	Montmorillonite	-	SiO ₂	-	-
42	Montmorillonite	Dickite	SiO ₂	-	Potassium aluminum iron phosphate
43	-	Albite	SiO ₂	CaCO ₃	-
44	Nontronite	Albite	SiO ₂	CaCO ₃	-
45	Montmorillonite	Witzkeite	SiO ₂	-	-
46	-	Ferraioloite, Maghemite	SiO ₂	-	-
47	-	Albite	SiO ₂	CaCO ₃	-
48	-	Albite	SiO ₂	CaCO ₃	Calcium aluminum silicon oxide hydroxide
49	Montmorillonite	Sanidine, Triphylite, Vermiculite	SiO ₂	-	-
50	Montmorillonite	Andesine, Witzkeite	SiO ₂	-	-

สรุปผลการทดลอง

ซีโอไลต์และเบนทอไนต์สามารถประเมินคุณภาพได้ด้วยเทคนิค XRD โดยสามารถระบุชนิดของแร่ต่างๆ ได้ แต่เนื่องจากซีโอไลต์ธรรมชาติและเบนทอไนต์เป็นสารปรับปรุงดินที่ได้จากธรรมชาติ องค์ประกอบจึงค่อนข้างซับซ้อนและมีแร่หลายชนิดปะปนกันอยู่ ทำให้การวิเคราะห์เชิงปริมาณที่ถูกต้องด้วยเทคนิค XRD จึงเป็นไปได้ยากจากการรวบรวมตัวอย่างตัวอย่างซีโอไลต์และเบนทอไนต์จากภาคภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ซึ่งเป็นซีโอไลต์และเบนทอไนต์ จำนวนอย่างละ 50 ตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างซีโอไลต์มีองค์ประกอบเป็นแร่จากธรรมชาติ จำนวน 30 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 60.0 ของตัวอย่างซีโอไลต์ทั้งหมด และมีตัวอย่างที่พบองค์ประกอบของซีโอไลต์จำนวน 1 ตัวอย่าง ในขณะที่ตัวอย่างเบนทอไนต์ที่มีองค์ประกอบเป็นเบนทอไนต์จำนวน 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 48.0 ของตัวอย่างเบนทอไนต์ทั้งหมด และตัวอย่างเบนทอไนต์มีองค์ประกอบเป็นแร่จากธรรมชาติจำนวน 47 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 94.0 ของตัวอย่างเบนทอไนต์ทั้งหมด

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ของกรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการ และเจ้าหน้าที่ทุก ๆ ท่านในกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ที่มีส่วนช่วยในการสนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ของกรมวิชาการเกษตร สามารถให้บริการการตรวจวิเคราะห์เพื่อประเมินคุณภาพตัวอย่างซีโอไลต์และเบนทอไนต์ได้อย่างรวดเร็ว
2. ข้อมูลผลการวิเคราะห์สารปรับปรุงดินสามารถนำไปใช้ในการควบคุม ดูแลคุณภาพสารปรับปรุงดินที่ผลิตและจำหน่าย รวมทั้งการนำเข้าและส่งออก
3. สารปรับปรุงดินที่จำหน่ายในท้องตลาดมีมาตรฐานและคุณภาพตามที่ระบุบนฉลาก เกษตรกรได้ใช้สินค้าที่มีคุณภาพ และลดต้นทุนการผลิต
4. ผู้ประกอบการสามารถนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน ตามมาตรฐานการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2567. สถิติผลผลิตการเลี้ยงกุ้งทะเลประจำปี 2566. กลุ่มสถิติการประมง กองนโยบายและแผนพัฒนาการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เอกสารฉบับที่ 10/2567.
- Baile, P., E. Fernández, L. Vidal and A. Canals. 2019. Zeolices and zeolite-based materials in extraction and microextraction techniques. *Analyst* 144:366-387.
- Bish, D.L. 2013. Chapter 14.2 - Parallels and Distinctions Between Clay Minerals and Zeolites. Editor(s): F. Bergaya, and G. Lagaly. *Developments in Clay Science. Elsevier* 5:783-800.
- Boettinger, J. L. and D. W. Ming. 2002. Chapter 19 Zeolites. *Soil Mineralogy with Environmental Applications* 7:585-610.
- Cuevas, J., M. Á. Cabrera, C. Fernández, C. Mota-Heredia, R. Fernández, E. Torres, M. J. Turrero, and A. I. Ruiz. 2022. Bentonite Powder XRD Quantitative Analysis Using Rietveld Refinement: Revisiting and Updating Bulk Semiquantitative Mineralogical Compositions. *Minerals* 12(6):772.
- Fellers, B. 2003. Process for extracting and purifying naturally occurring zeolite. *U.S. Patent* US20040045902A1.
- Fil, B., C. Özmetin, M. Korkmaz. 2014. Characterization and Electrokinetic Properties of Montmorillonite. *Bulgarian Chemical Communications* 46:258-263.
- Hasan, Md. M., M. M. Haque, N. A. Hasan, A. Bashar, A.K. S. Ahammad, and M. T. Hossain. 2023. Assessing the impacts of zeolite on water quality, growth performance, heavy metal content and health condition of farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Reports* 31:101678.
- Hernández M.A., L. Corona and F. Rojas. 2000. Adsorption Characteristics of Natural Erionite, Clinoptilolite and Mordenite Zeolites from Mexico. *Adsorption* 6:33-45.
- Latimer, J. W. 2023. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 22nd Edition (New York, 2023; online edn, *AOAC Publications*, 4 Jan. 2023)
- Mumpton, F.A. 1999. La roca majica: Uses of natural zeolites in agriculture and industry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States* 96:3463-3470.
- Ramesh, K. and D.D. Reddy. 2011. Chapter Four - Zeolites and Their Potential Uses in Agriculture. *Advances in Agronomy* 113:219-241
- Reháková, M., S. Čúvanová, M. Dzivák, J. Rimár and Z. Gaval'ová. 2004. Agricultural and agrochemical uses of natural zeolite of the clinoptilolite type. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 8:397-404.
- Ross C. S., and S. B. Hendricks. 1943. Minerals of The Montmorillonite Group Their Origin and Relation to Soils and Clays. United States Department of The Interior. *Professional Paper* 205-B.
- Wu, Z., H. Zhao, X. Zhou, Y. Wang, K. Zuo, and H. Cheng. 2022. Thermal Migration Behavior of Na^+ , Cu^{2+} and Li^+ in Montmorillonite. *Minerals* 12(477):1-10.

การศึกษาและประเมินคุณภาพวัสดุปลูกเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์
ในระบบการปลูกกัญชา

Study and Evaluation of The Quality of Perlite and Vermiculite
Growing Media in Cannabis Cultivation Systems

กอรี่อะ บิลลี่ จิตติรัตน์ ชูชาติ สงกรานต์ มะลิสอน ญาณธิชา จิตต์สะอาด
พจมาลย์ ภู่อสาร กัญฐณา คล้ายแก้ว สุภา โพธิจันทร์ จรรย์รัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรรณรัตน์ ชุตินุตร
Koreeah Binlee Jittirat Choochat Songkrant Malisorn Yarnthicha Jittsa-add
Pojjamarn Poosarn Kanthana Klaigaw Supha Photichan
Charirat Kusonwiriya Wong Wannarut Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The objective of this research was to characterize perlite and vermiculite using X-ray diffraction techniques across an angle range of 5 to $70^\circ 2\theta$, with a step size of 0.002° and a time per step of 30.6 seconds. The perlite analysis identified three mineral components: Silicon Oxide, Albite, and Anorthite, with respective peak positions at 20.6504° (1 1 0), 26.1386° (0 0 2), and 26.6799° (0 2 2). A broad peak in the diffractogram from $2\theta^\circ 15 - 30^\circ$ confirmed the amorphous nature of silica. For vermiculite, four minerals were found: Vermiculite, Silicon Oxide, Muscovite, and Fluor-phlogopite, with Miller indices at 5.9231° (0 0 1), 7.7990° (2 0 0), 8.4008° (0 0 2), and 8.5210° (0 0 1). Among 50 perlite samples, 39 contained Silicon Oxide (17.45% - 25.4%), while Anorthite was present in 41 samples (25.6% - 36.3%). Albite was found in 49 samples, averaging 35.5% - 57.4%. In the 50 vermiculite samples, six minerals were identified, including Vermiculite, Silicon Oxide, Biotite, Fluor-phlogopite, Muscovite, and Anorthite. Silicon Oxide appeared in 41 samples (8.80% - 22.00%), while Biotite showed concentrations of 38.93% - 58.13%. Muscovite and Anorthite were present in ranges of 15.80% - 51.50% and 25.40% - 41.30%, respectively. The average analysis result for these samples was 7.25%.

Keywords: Perlite; Vermiculite; XRD

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของเพอร์ไลต์และเวอร์มิคิวไลต์ ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ โดยตั้งค่ามุมวิเคราะห์เท่ากับ $5 - 70^\circ$ 2θ Step size ที่ขนาด 0.002° และ Time per step ที่ 30.6 วินาที จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานเพอร์ไลต์พบองค์ประกอบเชิงแร่ 3 ชนิด ได้แก่ Silicon Oxide, Albite และ Anorthite แสดงตำแหน่ง $2\theta^\circ$ ของตำแหน่งพิก และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก เท่ากับ $20.6504^\circ (1\ 1\ 0)$, $26.1386^\circ (0\ 0\ 2)$ และ $26.6799^\circ (0\ 2\ 2)$ ตามลำดับ ดิฟแฟรกโตแกรมเป็นแบบพีกกว้าง (Broad peak) ตั้งแต่ $2\theta^\circ$ ที่ $15 - 30^\circ$ ยืนยันลักษณะของซิลิกาที่ไม่มีรูปร่าง (Amorphous nature of silica) และสารมาตรฐานเวอร์มิคิวไลต์พบองค์ประกอบเชิงแร่ 4 ชนิด ได้แก่ Vermiculite, Silicon Oxide, Muscovite และ Fluor-phlogopite แสดงตำแหน่ง $2\theta^\circ$ ของตำแหน่งพิก และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก เท่ากับ $5.9231^\circ (0\ 0\ 1)$, $7.7990^\circ (2\ 0\ 0)$, $8.4008^\circ (0\ 0\ 2)$ และ $8.5210^\circ (0\ 0\ 1)$ ตามลำดับ วิเคราะห์ตัวอย่างในรูปที่ผ่านการเผาและขยายตัว จากแหล่งจำหน่าย ในเขตพื้นที่ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เป็นตัวแทนของวัสดุปลูกในระบบการปลูกพืชกัญชา เพอร์ไลต์จำนวน 50 ตัวอย่าง พบมีองค์ประกอบ Silicon Oxide จำนวน 39 ตัวอย่าง มีปริมาณอยู่ในช่วง 17.45% - 25.4% Anorthite จำนวน 41 ตัวอย่าง พบมากที่สุดอยู่ในช่วง 25.6% - 36.3% Albite จำนวน 49 ตัวอย่าง มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเทียบกับแร่ธาตุอื่นมีค่าอยู่ในช่วง 35.5% - 57.4% และแร่ธาตุอื่น ๆ จำนวน 15 ตัวอย่าง กระจายตัวอยู่ในช่วง 30.7% - 38.35% และวิเคราะห์เวอร์มิคิวไลต์จำนวน 50 ตัวอย่าง พบองค์ประกอบเชิงแร่หลัก 6 ชนิด ได้แก่ Vermiculite, Silicon Oxide, Biotite, Fluor-phlogopite, Muscovite, Anorthite และแร่ธาตุอื่น ๆ โดย Vermiculite จำนวน 9 ตัวอย่าง มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.60% - 2.30% Silicon Oxide จำนวน 41 ตัวอย่าง มีค่าการกระจายตัวกว้างอยู่ในช่วง 8.80% - 22.00% Biotite จำนวน 20 ตัวอย่าง มีค่าส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 38.93% - 58.13% Fluor-phlogopite จำนวน 29 ตัวอย่าง มีค่าอยู่ระหว่าง 19.20% - 52.80% Muscovite จำนวน 37 ตัวอย่าง มีปริมาณอยู่ในช่วง 15.80% - 51.50% Anorthite จำนวน 21 ตัวอย่าง มีปริมาณอยู่ในช่วง 25.40% - 41.30% และพบแร่ธาตุอื่น จำนวน 2 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 7.25%

คำสำคัญ: เพอร์ไลต์; เวอร์มิคิวไลต์; การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

บทนำ

เพอร์ไลต์ (Perlite) เป็นหินภูเขาไฟเนื้อแก้วชนิดหนึ่ง มีองค์ประกอบทางเคมีเป็นออกไซด์ของธาตุต่างๆ ได้แก่ ซิลิการ้อยละ 70 อะลูมินาร้อยละ 12 - 14 และธาตุอื่นๆ เช่น เหล็ก โพแทสเซียม และมีน้ำเป็นองค์ประกอบอีกประมาณร้อยละ 3 (Aksoy *et al.*, 2022) ซึ่งซิลิกาเป็นส่วนประกอบหลักที่มีสมบัติช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปลูกพืช ช่วยเพิ่มความแข็งแรง ทนทาน และเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย โดยทั่วไปเพอร์ไลต์มีสีเทาอ่อน แต่อาจพบสีดำ ในเนื้อของเพอร์ไลต์จะมีผลึกของแร่ควอตซ์ เฟลด์สปาร์



ไบโอไทต์ และแร่ฮอร์นเบลนด์ (เสาวนีย์, 2551) ส่วนใหญ่จะใช้ในรูปแบบขยายตัว ซึ่งมีน้ำหนักเบา รูพรุนมาก ทำให้ระบายน้ำได้ดี จึงมีการนำไปใช้ด้านการเกษตรเป็นสารรักษาและปรับสภาพของดิน ช่วยเพิ่มการระบายอากาศรอบรากพืช จึงลดโอกาสเกิดโรครากเน่า มี pH เป็นกลาง ช่วยรักษาสมดุลระหว่างปริมาณน้ำและอากาศในดิน มีการนำไปใช้เป็นวัสดุทดแทนดินในการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน เรียกว่า “ไฮโดรโพนิกส์ (Hydroponics)”

เวอร์มิคิวไลต์ (Vermiculite) เป็นแร่ดินเหนียวที่มีค่า pH 7.0-7.5 และ EC ต่ำ ค่า CEC อยู่ระหว่าง 15-21 cmol/kg มีแหล่งกำเนิดแบบทุติยภูมิจากการเปลี่ยนแปลงของไมกา (Mica) ไพรอกซีน (Pyroxene) คลอไรต์ (Chlorite) หรือแร่ธาตุที่คล้ายกัน จัดอยู่ในแร่กลุ่มแอลูมิโน-ซิลิเกต (Aluminosilicate) มีลักษณะแผ่นเกล็ดบางเป็นชั้นๆ ซ้อนกันอยู่ เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงจะเกิดการขยายตัวอย่างรวดเร็วอันเนื่องมาจากการไล่น้ำในผลึกออกไป โดยจะขยายตัวมีปริมาตรเพิ่มขึ้น มีความหนาแน่นลดลง ทำให้อุ้มน้ำได้ดี ช่วยเก็บกัก



ความชื้นและปุ๋ยไว้ในดินปลูก (Marcos, 2022) และให้อากาศแทรกได้ดี เวอร์มิคิวไลต์ มีธาตุอาหารโพแทสเซียม, แมกนีเซียม และแคลเซียม ที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ในการออกเจริญได้ดี จึงมีการนำมาใช้เป็นวัสดุเพาะเมล็ดหรือการขยายพันธุ์ด้วยการปักชำ หรือผสมกับดิน เพื่อให้ดินหรือวัสดุปลูก และเป็นวัสดุดูดซับ

เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์เป็นการวิเคราะห์หาองค์ประกอบเชิงแร่ และเตรียมตัวอย่างแบบไม่ทำลายตัวอย่าง โดยนำมาบดให้ละเอียดประมาณ 325 เมช (0.044 มิลลิเมตร) การที่ตัวอย่างเป็นผงละเอียดทำให้ชิ้นส่วนของตัวอย่างมีลักษณะการวางตัวแบบการสุ่มแบบสมบูรณ์ (Completely random orientation) ทำให้รังสีเอกซ์สะท้อนได้ทุกระนาบอะตอมของผลึก และจะแสดงองค์ประกอบของแร่ทุกชนิดที่เป็นองค์ประกอบในตัวอย่าง ผลที่ได้จะแสดงในรูป Diffraction pattern ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ามุม 2θ ในแกน X กับค่าความเข้ม (Intensity) หรือความสูง (Count) ของพีกในแกน Y และ Diffraction pattern มักแสดงในรูปของค่า d-spacing (Å) โดยแทนค่าตามสมการของ Bragg ส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้สามารถนำ Diffraction pattern ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลมาตรฐานที่ทำการตรวจวัดโดยองค์กร The International Centre for Diffraction Data ; ICDD เพื่อหาองค์ประกอบเชิงแร่ (เสาวนีย์, 2551)

ปัจจุบันเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์เป็นวัสดุปลูกที่นิยมใช้ในการปลูกพืช แต่ยังไม่มีการตรวจสอบคุณภาพว่าเป็นไปตามที่ระบุบนฉลากหรือไม่ ห้องปฏิบัติการกรมวิชาการเกษตรจึงจำเป็นต้องประยุกต์ใช้เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ในการศึกษาสมบัติเชิงโครงสร้าง โดยมุ่งเน้นการตรวจสอบและประเมินคุณภาพ นอกจากนี้เทคนิคดังกล่าวยังเป็นการลดมลภาวะที่เกิดจากห้องปฏิบัติการจากการลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายในการวิเคราะห์ รวมทั้งลดต้นทุน และระยะเวลาในการวิเคราะห์เพื่อรองรับการบังคับใช้ กำกับควบคุม และดูแลคุณภาพของเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ ที่จำหน่ายในท้องตลาด และรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกรและผู้บริโภค ได้ใช้วัสดุปลูกที่มีคุณภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและวัสดุทางวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-Ray Diffractometer; XRD) ยี่ห้อ PANalytical รุ่น Aeris เครื่องบดตัวอย่าง XRD mill ที่ใส่ตัวอย่าง (Sample holder) ตู้อบ เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ เป็นต้น
2. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐานเพอร์ไลต์ ความบริสุทธิ์ >99% (Expanded Perlite Powder, Nanoshel) สารมาตรฐานเวอร์มิคิวไลต์ (Raw Vermiculite, Sri Ramamaruthi Vermiculite Mines, India) สารมาตรฐานซิลิกอนออกไซด์ 325 Mesh (SiO_2 , Cernic International) สารมาตรฐานอะลูมินา ความบริสุทธิ์ 99.8% (Al_2O_3 , Prostar Chemicals) Isopropyl alcohol เป็นต้น

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ ที่จำหน่ายตามท้องตลาดในเขตพื้นที่ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยรวบรวมจากร้านจำหน่ายวัสดุปลูกต้นไม้ จำหน่ายปุ๋ย และเคมีภัณฑ์ทางการเกษตร ที่มีที่ตั้งชัดเจนและน่าเชื่อถือ

2. เตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray Diffractometer (XRD)

นำตัวอย่างใส่ในกระบอกบดตัวอย่าง เติม Isopropyl alcohol จำนวน 10 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่อง XRD mill และนำไปประเหยแห้งในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง จะได้ตัวอย่างมีลักษณะเป็นผงละเอียดขนาดน้อยกว่า 45 ไมครอน (325 เมช) บรรจุตัวอย่างที่ได้ลงใน Sample holder ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 27 มิลลิเมตร ความหนา 2 มิลลิเมตร และอัดด้วยแรงสม่ำเสมอเท่ากันทุกทิศทางจนมีผิวหน้าเรียบ และมีการจัดเรียงตัวของผลึกอย่างอิสระ (Random orientation)

3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

3.1 เตรียมตัวอย่างเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ ตามข้อ 2 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD ใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้าเป็น ($\text{Cu K}\alpha$) ความยาวคลื่น 1.5406 Å ที่ 25 องศาเซลเซียส ($\text{Cu anode, K}\alpha$ at wavelength 1.5906 Å at 25 °C) รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (XRD Patterns) ประมวลผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Rietveld Refinement โดยใช้โปรแกรม PANalytical X'Pert High Score plus (Ver. 4.9a (4.9.1.29739) 2021; Malvern PANalytical B.V. Almelo, The 'Netherlands) ตรวจสอบชนิดของสารประกอบ ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ (Crystalline phase) ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอ้างอิงจากค่า 2θ ของตำแหน่งพิก (Position) ค่าระยะห่างระหว่างผลึก (d-spacing) และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก (Miller indices (hkl) values) เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4/ Minerals 2024)

3.2 ปรับสภาวะของเครื่อง ได้แก่ ช่วงค่ามุมที่วัด, Step size, Time per step, Divergence slit และ Beam mask

3.3 เลือกสภาวะที่เหมาะสมโดยการพิจารณา ช่วงค่ามุมที่วัดของ XRD Patterns ครอบคลุมทุกพิก มีค่าแสงของรังสีที่ตกกระทบและความคมชัดของพิกที่เหมาะสม และมี %Recovery ของสารมาตรฐานผ่านเกณฑ์กำหนด 98 - 102 %

4. ศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบซิลิกอน ออกไซด์กับสารชนิดอื่น (Matrix effect)

4.1 ผสม SiO_2 กับ Al_2O_3 ที่ความเข้มข้นของ SiO_2 ต่ำ กลาง และสูง เตรียมตัวอย่าง ตามข้อ 2 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD ในเวลาเดียวกัน โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

4.2 คำนวณ และประเมิน % Recovery ของสารมาตรฐาน SiO_2 ตามเกณฑ์กำหนด (AOAC, 2016)

5. ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ขององค์ประกอบซิลิกอน ออกไซด์กับสารชนิดอื่น

การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) โดยการใช้ SiO_2 ผสม Al_2O_3 ให้ได้ SiO_2 ที่ความเข้มข้นจำนวน 8 ความเข้มข้น ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ SiO_2 ที่ได้ กับผลการวัด SiO_2 ด้วยเครื่อง XRD

6. วิเคราะห์องค์ประกอบเชิงปริมาณ โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล เพื่อตรวจสอบและประเมินคุณภาพของตัวอย่างเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ในท้องตลาด จำนวนตัวอย่างละ 50 ตัวอย่าง

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2566 – สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยระบบตรวจสอบคุณภาพดินและน้ำ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. รวบรวมตัวอย่างเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ ที่จำหน่ายตามท้องตลาด

รวบรวมตัวอย่างเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ที่จำหน่ายตามร้านจำหน่ายวัสดุปลูกต้นไม้ จำหน่ายปุ๋ย และเคมีภัณฑ์ทางการเกษตร ของพื้นที่จังหวัดต่างๆ ดังนี้ กรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา สระบุรี นครราชสีมา และขอนแก่น โดยได้ตัวอย่างละ 50 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 1 ตัวอย่างส่วนใหญ่ได้จากภาคกลาง จำนวน 60 ตัวอย่าง ภาคตะวันตก จำนวน 20 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ

ตารางที่ 1 จำนวนตัวอย่างเพอร์ไลต์และเวอร์มิคิวไลต์ที่รวบรวมได้จากพื้นที่ต่างๆ

พื้นที่	จำนวนตัวอย่าง		รวม
	เพอร์ไลต์	เวอร์มิคิวไลต์	
ภาคกลาง	30	30	60
ภาคตะวันออก	5	5	10
ภาคตะวันตก	10	10	20
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	5	5	10
รวม	50	50	100

2. เตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray Diffractometer (XRD)



บรรจุตัวอย่างลงใน Sample holder



อัดด้วยแรงสม่ำเสมอ
จนผิวหน้าเรียบ

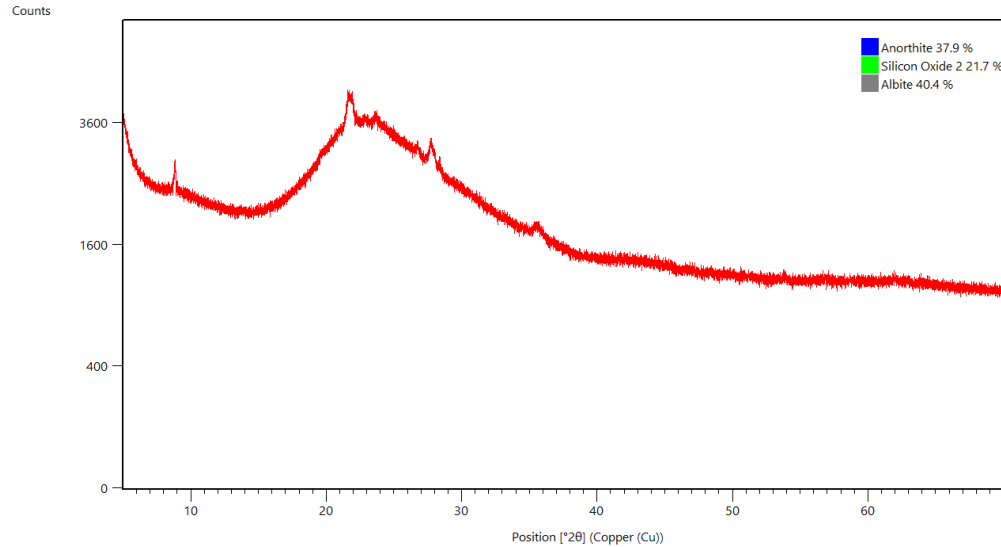


ตัวอย่างพร้อมนำไปวิเคราะห์

3. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

สถานะของเครื่อง XRD ที่ใช้ในการวิเคราะห์เพอร์ไลต์และเวอร์มิกิวไลต์ โดยใช้รังสีเอกซ์ที่มีเป้า เป็น โลหะทองแดง (Cu K α) ความยาวคลื่น 1.5406 Å วิเคราะห์ด้วยค่ามุมที่ 5 – 70 °2 θ ขนาด Step size 0.002° ใช้เวลาวิเคราะห์แต่ละ Step 30.6 วินาที ขนาด Divergence slit ½° และขนาด Beam mask 23 มิลลิเมตร วิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ด้วยเทคนิค Rietveld refinement และตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4 /Minerals 2024)

3.1 การวิเคราะห์เพอร์ไลต์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์
จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานเพอร์ไลต์ด้วยเทคนิค XRD และได้ตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4/ Minerals 2024) ปรากฏดิฟแฟรกโตแกรมดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 XRD Diffractogram ของเพอร์ไลต์

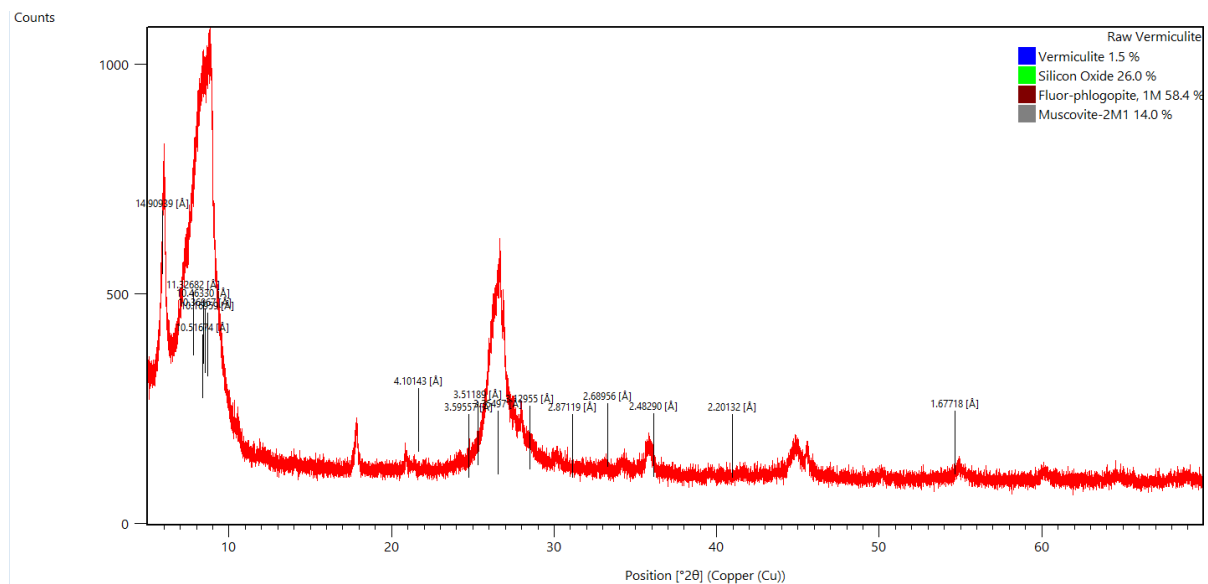
จากภาพที่ 1 พบว่าดิฟแฟรกโตแกรมของเพอร์ไลต์ เมื่อตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4/ Minerals 2024) แสดงองค์ประกอบเชิงแร่ได้ 3 ชนิด (ตารางที่ 2) คือ Silicon Oxide, Albite และ Anorthite แสดงตำแหน่ง 2 θ° และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก เท่ากับ 20.6504° (1 1 0), 26.1386° (0 0 2) และ 26.6799° (0 2 2) ซึ่งลักษณะดิฟแฟรกโตแกรมของสารมาตรฐานเพอร์ไลต์เป็นแบบฟีกกว้าง (Broad peak) โดยฟีกจะเริ่มกว้างตั้งแต่ 20° 15-30° เป็นเอกลักษณ์ทางโครงสร้างเฉพาะของซิลิกา สอดคล้องกับงานวิจัยของแจฟและคณะ พบว่า diffraction pattern ของเพอร์ไลต์มีลักษณะเป็นแบบอสัณฐาน (Amorphous) โดยกราฟจะเพิ่มขึ้นจาก 15° - 30° มีจุดฟีกสูงสุดในช่วง 22° -24° ซึ่งผลที่ได้ยืนยัน Amorphous ของซิลิกาในตัวอย่างเพอร์ไลต์ (Darmawan *et al.*, 2021)

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบเชิงแร่ของตัวอย่างสารมาตรฐานเพอร์ไลต์

Minerals	Compound Name	ICDD Code	Pos. [2 θ°]	Height [cts]	d-spacing [Å]	I (%)
Quartz	Silicon Oxide	01-073-6613	20.6504	936.15	4.29771	100.00
Albite	Sodium Calcium Silicon Oxide	04-017-1022	26.1386	877.56	3.40645	93.74
Anorthite	Calcium Aluminum Silicate	00-041-1486	26.6799	855.59	3.33855	91.39

3.2 การวิเคราะห์เวอร์มิคิวไลต์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานเวอร์มิคิวไลต์ด้วยเทคนิค XRD และได้ตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4/ Minerals 2024) ปรากฏดิฟแฟรกโตแกรมดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 XRD Diffraction ของตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์

จากภาพที่ 2 พบว่าดิฟแฟรกโตแกรมของเวอร์มิคิวไลต์ เมื่อตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4/ Minerals 2024) แสดงองค์ประกอบเชิงแร่ 4 ชนิด (ตารางที่ 3) ได้แก่ Vermiculite, Silicon Oxide, Muscovite และ Fluor-phlogopite แสดงตำแหน่ง $2\theta^\circ$ และค่าดัชนีมิลเลอร์ (hkl) ของผลึก เท่ากับ 5.9231° (0 0 1), 7.7990° (2 0 0), 8.4008° (0 0 2) และ 8.5210° (0 0 1) ตามลำดับ โดยระยะห่างระหว่างระนาบผลึก (d-spacing) ของ Vermiculite เท่ากับ 14.91 Å ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Marcos (2022) ซึ่งรายงานระยะห่างระหว่างระนาบผลึก ที่ 14.50 Å

ตารางที่ 3 แสดงตำแหน่งพิกสำคัญของดิฟแฟรกโตแกรมของเวอร์มิคิวไลต์

Minerals	Compound Name	ICDD Code	Pos. [$2\theta^\circ$]	Height [cts]	d-spacing [Å]	I (%)
Vermiculite	Sodium Magnesium Aluminum Iron Silicon Oxide Hydroxide	04-017-7291	5.9231	139.33	14.90939	100.00
Quartz	Silicon Oxide	04-014-2178	7.7990	95.36	11.32682	68.44
Muscovite	Potassium Aluminum Silicate Hydroxide	00-058-2035	8.4008	30.24	10.51674	21.70
Fluor-phlogopite	Potassium Magnesium Aluminum Fluoride Silicate	00-010-0494	8.5210	89.92	10.36867	64.54

4. ศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบซิลิกอน ออกไซด์กับสารชนิดอื่น (Matrix effect)

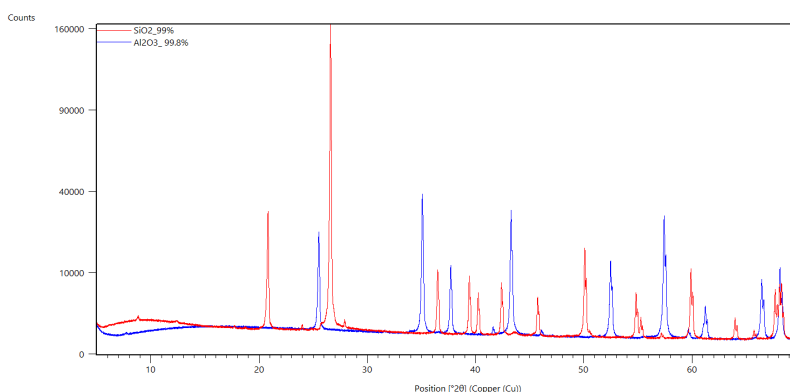
โดยการผสม SiO_2 และ Al_2O_3 ที่ระดับความเข้มข้น 1.06%, 10.02%, 20.04%, 40.05%, 60.06%, 80.03% และ 99.80% แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง XRD จำนวน 3 ซ้ำ พบว่า ได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณ SiO_2 เท่ากับ 1.09, 11.20, 22.30, 43.20, 61.70, 81.40 และ 99.50 มี % Recovery 103.15, 111.78, 111.26, 107.87, 106.07, 102.96 และ 99.70 ซึ่งไม่เกิดการรบกวนกันของ Silicon oxide กับสารชนิดอื่น (Matrix effect) ดังแสดงตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบซิลิกอน ออกไซด์กับสารชนิดอื่น (Matrix effect)

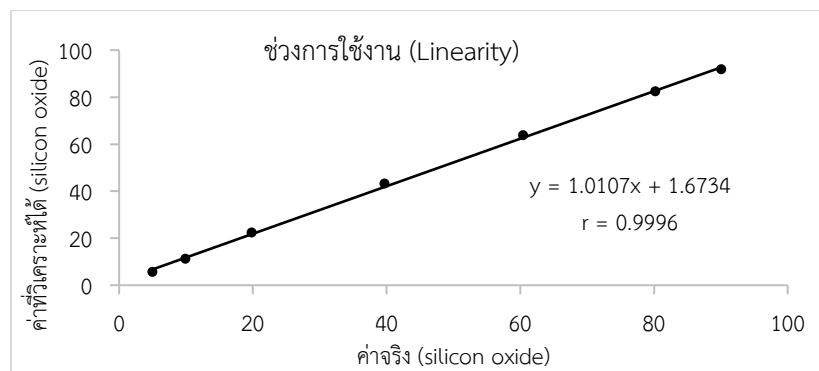
% SiO_2	XRD result (% SiO_2)	% Recovery
1.06	1.09	103.15
10.02	11.20	111.78
20.04	22.30	111.26
40.05	43.20	107.87
60.06	61.70	106.07
80.03	81.40	102.96
99.80	99.50	99.70

5. ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ขององค์ประกอบซิลิกอน ออกไซด์กับสารชนิดอื่น

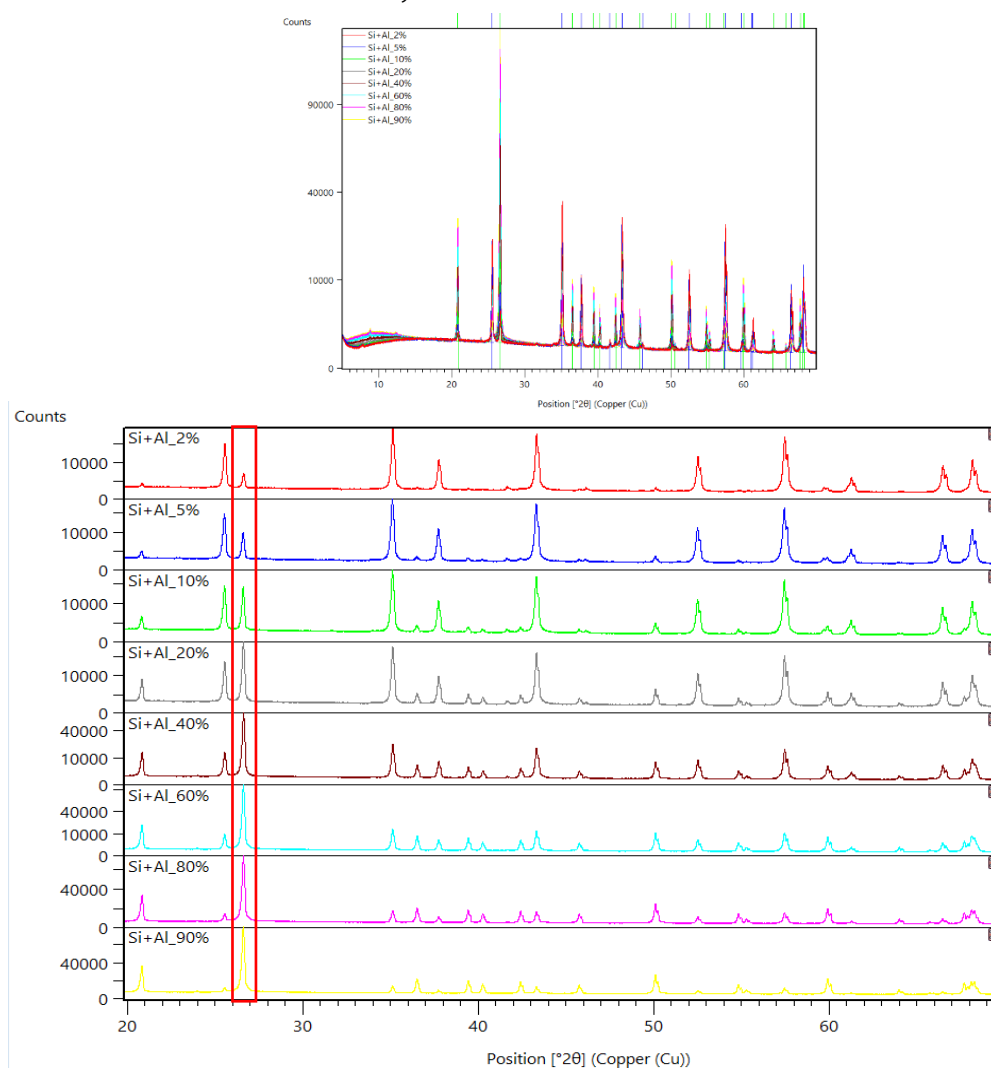
ผลการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) โดยการใช้ SiO_2 ผสม Al_2O_3 ซึ่งมีรูปแบบ (XRD Diffractogram) เฉพาะตัว ตำแหน่งพีคหลักไม่ซ้อนทับกัน (ภาพที่ 3) โดยเตรียมความเข้มข้นของ SiO_2 ช่วงประมาณ 2 - 90% ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของ % SiO_2 ที่ได้ กับผลการวัด % SiO_2 จากเครื่อง XRD ได้ค่า Correlation coefficient, $r = 0.9996$ (ภาพที่ 4) และแสดงการดูดกลืนแสงความเข้มของรังสีเอกซ์ (Intensity) ของ SiO_2 ที่ตำแหน่ง peak สูงสุด ($2\theta = 29.37^\circ$) (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แสดงรูปแบบ (Diffractogram) ของ SiO_2 (กราฟสีแดง) และ Al_2O_3 (กราฟสีน้ำเงิน) ที่มีรูปแบบเฉพาะตัว



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ของ Silicon oxide ช่วงความเข้มข้นประมาณ 1 - 99%



ภาพที่ 5 แสดงการดูดกลืนแสงความเข้มของรังสีเอกซ์ (Intensity) ของ %SiO₂ ที่ตำแหน่ง peak สูงสุด (2θ = 29.37°) ช่วงความเข้มข้นประมาณ 2 - 90%

6. วิเคราะห์หาองค์ประกอบเชิงปริมาณ โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล เพื่อตรวจสอบและประเมินคุณภาพของตัวอย่างเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ในท้องตลาด จำนวนตัวอย่างละ 50 ตัวอย่าง

6.1 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเพอร์ไลต์จำนวน 50 ตัวอย่าง ขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 2 - 8 มิลลิเมตร ตามที่ระบุบนฉลากบรรจุภัณฑ์ จากแหล่งจำหน่ายในเขตพื้นที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา สระบุรี นครราชสีมา และขอนแก่น พบว่าตัวอย่างเพอร์ไลต์มีองค์ประกอบเชิงแร่ ได้แก่ Silicon oxide, Anorthite, Albite และ Mineral ได้แก่ Muscovite, Calcite โดย Diffractogram เป็นแบบอสัณฐาน (Amorphous) และปรากฏพีกกว้าง (Broad peak) โดยพีกจะเริ่มกว้างตั้งแต่ 2θ 15 - 30° ซึ่งจะมีค่าสูงสุดอยู่ในช่วง 22-24°

ตารางที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลองค์ประกอบเชิงแร่ของตัวอย่างวัสดุปลูกเพอร์ไลต์จำนวน 50 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD (%)			
	Silicon Oxide	Anorthite	Albite	Other minerals
P1	22.5	30.4	47.1	-
P2	-	32.8	32.3	34.9
P3	9.4	-	77.8	12.8
P4	61.3	-	-	38.7
P5	6.5	6.2	87.3	-
P6	-	-	67.2	32.8
P7	-	48.1	17.5	34.1
P8	-	33.1	30.3	36.6
P9	-	31.0	30.6	38.4
P10	19.6	24.6	55.8	-
P11	-	25.6	37.6	36.8
P12	15.9	-	73.2	10.9
P13	5.2	89.5	5.2	-
P14	20.6	24.4	55	-
P15	18.5	45.0	36.5	-
P16	-	30.5	29.5	40
P17	19.8	36.8	43.4	-
P18	24.3	24.3	51.4	-
P19	21.4	-	57.4	21.2
P20	43.5	53.4	3.1	-
P21	27.5	30.4	42.1	-
P22	21	-	79	-
P23	-	29.8	35.5	34.7
P24	24.6	29.0	46.5	-
P25	25.4	32.1	42.4	-
P26	26.1	34.7	39.2	-
P27	73.7	24.4	2	-
P28	25.8	29.7	44.5	-
P29	27	25.7	47.2	-
P30	13.9	81.3	4.8	-
P31	24.8	33.3	41.9	-
P32	24.8	33.8	41.3	-
P33	-	40.2	31.2	28.6
P34	24.8	36.1	39.1	-
P35	25.7	36.3	38	-

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD (%)			
	Silicon Oxide	Anorthite	Albite	Other minerals
P36	25	35.4	39.6	-
P37	42.5	-	57.5	-
P38	24.9	37.3	37.8	-
P39	-	48.7	2.9	48.5
P40	25.2	34.7	40	-
P41	25.4	38.5	36.1	-
P42	-	27.8	33.8	38.3
P43	23.2	-	76.8	-
P44	16.4	-	83.6	-
P45	23.4	25.6	51	-
P46	25.1	34.1	40.7	-
P47	11.2	5.8	83.1	-
P48	10.6	4.1	85.3	-
P49	7.9	4.3	87.8	-
P50	8.7	5.1	86.5	-

จากตารางพบว่าตัวอย่างเพอร์ไลต์ที่พบ Silicon Oxide มีจำนวน 39 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 23.67% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 5.2% และค่าสูงสุดเท่ากับ 73.7% โดยช่วงผลการวิเคราะห์มีการกระจายของข้อมูล (ค่ามาก-ค่าน้อย) ค่อนข้างกว้าง แสดงว่าปริมาณ Silicon Oxide แตกต่างกันไปมากในแต่ละตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างส่วนใหญ่มีปริมาณอยู่ในช่วง 17.45% - 25.4% ตัวอย่างที่พบ Anorthite มีจำนวน 41 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 32.53% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 4.1% และค่าสูงสุดเท่ากับ 89.5% ซึ่งมีตัวอย่างที่มี Anorthite มีค่าต่ำมากในบางตัวอย่าง และสูงอย่างโดดเด่นในบางตัวอย่าง โดยมีช่วงค่าที่พบมากที่สุดอยู่ในช่วง 25.6% - 36.3% ตัวอย่างที่พบ Albite มีจำนวน 49 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ย 46.03% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 2% และค่าสูงสุดเท่ากับ 87.8% ซึ่งตัวอย่างที่มี Albite มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเทียบกับแร่ธาตุอื่น แสดงว่า Albite อาจเป็นแร่หลักในตัวอย่างส่วนใหญ่ โดยตัวอย่างส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในช่วง 35.5% - 57.4% และตัวอย่างที่พบแร่ธาตุอื่น ๆ (Other Minerals) มีจำนวน 15 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ย 32.49% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 10.9% และค่าสูงสุดเท่ากับ 48.5% แร่ธาตุในกลุ่มนี้กระจายตัวอยู่ในช่วง 30.7% - 38.35%

6.2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์จำนวน 50 ตัวอย่าง จากแหล่งจำหน่ายในเขตพื้นที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา สระบุรี นครราชสีมา และขอนแก่น พบว่าตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์พบองค์ประกอบเชิงแร่หลัก 6 ชนิดได้แก่ Vermiculite, Silicon Oxide, Biotite, Fluor-phogopite, Muscovite, Anorthite และแร่ธาตุอื่น ๆ (Other Minerals) ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลองค์ประกอบเชิงแร่ของตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์จำนวน 50 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD (%)						
	Vermiculite	Silicon Oxide	Biotite	Fluor-phogopite	Muscovite	Anorthite	Other Minerals
V1	1.6	22.0	57.6	18.7	-	-	-
V2	2.3	-	-	24.7	31.3	36.1	5.6
V3	2.4	-	-	21.0	33.9	33.8	8.9
V4	0.2	17.2	-	-	37.8	34.8	-
V5	-	30.5	-	-	46.8	22.6	-
V6	-	12.2	58.8	23.7	5.3	-	-

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD (%)						Other Minerals
	Vermiculite	Silicon Oxide	Biotite	Fluor-phogopite	Muscovite	Anorthite	
V7	-	8.5	77.4	11.6	2.5	-	-
V8	-	14.5	67.8	11.1	6.7	-	-
V9	-	4.8	52.4	-	0.2	42.6	-
V10	-	4.2	62.4	8.0	-	25.4	-
V11	1.3	7.3	39.1	-	-	52.3	-
V12	3.3	14.7	-	-	34.0	47.9	-
V13	-	8.3	46.8	-	44.9	-	-
V14	-	14.2	38.4	-	47.3	-	-
V15	-	11.8	44.0	19.2	24.9	-	-
V16	-	16.0	84.0	-	-	-	-
V17	-	19.3	-	54.3	-	26.4	-
V18	-	-	32.2	19.4	48.1	-	-
V19	-	-	30.2	10.0	59.8	-	-
V20	-	-	48.6	49.9	1.5	-	-
P21	-	-	-	52.8	47.2	-	-
V22	-	-	39.6	8.2	52.2	-	-
V23	-	14.2	-	85.8	-	-	-
V24	-	9.8	-	82.4	7.8	-	-
V25	-	10.1	50.5	31.9	7.5	-	-
V26	-	8.8	21.5	34.9	34.9	-	-
V27	-	10.5	-	42.3	5.9	41.3	-
V28	-	9.1	-	52.7	-	38.3	-
V29	-	6.6	-	67.6	-	25.8	-
V30	-	7.4	18.8	48.4	-	25.4	-
V31	-	4.6	57.9	3.2	-	34.3	-
V32	-	41.1	-	-	58.9	-	-
V33	0.1	10.9	-	55.9	15.8	17.2	-
V34	-	17.1	-	-	82.9	-	-
V35	-	6.3	53.8	-	39.9	-	-
V36	-	3.3	-	48.2	18.7	29.8	-
V37	-	9.9	-	-	44.1	46.0	-
V38	0.6	28.9	-	67.1	-	-	-
V39	1.6	31.4	-	-	-	-	-
V40	-	-	-	-	59.9	-	-
V41	-	19.3	-	44.4	8.6	27.4	-
V42	-	-	-	41.2	38.6	20.2	-
P43	-	9.6	-	54.4	15.9	20.1	-
V44	-	45.8	-	-	54.2	-	-
V45	-	48.5	-	-	51.5	-	-
V46	-	82.6	-	-	17.4	-	-
V47	-	31.6	-	-	68.4	-	-
V48	-	35.1	-	-	64.9	-	-
V49	-	19.3	-	-	-	80.7	-
V50	-	25.4	-	-	74.6	-	-

จากตารางพบว่าตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์ที่พบ Vermiculite มีจำนวน 9 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 1.49% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.10% และค่าสูงสุดเท่ากับ 3.30% โดยผลการวิเคราะห์ส่วนใหญ่มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.60% - 2.30% ตัวอย่างที่พบ Silicon Oxide มีจำนวน 41 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 18.36% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 3.30% และค่าสูงสุดเท่ากับ 82.60% โดยผลการวิเคราะห์มีค่าการกระจายตัวกว้าง โดยส่วนใหญ่มีปริมาณอยู่ในช่วง 8.80% - 22.00% ตัวอย่างที่พบ Biotite มีจำนวน 20 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 49.09% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 18.80% และค่าสูงสุดเท่ากับ 84.00% โดยผลการวิเคราะห์มีค่าส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 38.93% - 58.13% ตัวอย่างที่พบ Fluor-phlogopite มีจำนวน 29 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 37.69% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 3.20% และค่าสูงสุดเท่ากับ 85.80% โดยผลการวิเคราะห์มีค่าการกระจายตัวกว้าง ส่วนใหญ่มีค่าอยู่ระหว่าง 19.20% - 52.80% ตัวอย่างที่พบ Muscovite มีจำนวน 37 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 34.99% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.20% และค่าสูงสุดเท่ากับ 82.90% โดยผลการวิเคราะห์มีค่าการกระจายตัวกว้าง แต่ตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 15.80% - 51.50% ตัวอย่างที่พบ Anorthite มีจำนวน 21 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 34.69% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 17.20 % และค่าสูงสุดเท่ากับ 80.70% โดยผลการวิเคราะห์ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 25.40% - 41.30% ตัวอย่างที่พบ แร่ธาตุอื่น (Other Minerals) มีจำนวน 2 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยเท่ากับ 7.25% ซึ่งมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 5.60 % และค่าสูงสุดเท่ากับ 8.90%

ตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์ส่วนใหญ่มีองค์ประกอบเชิงแร่ในรูป Biotite และ Fluor-phlogopite เป็นแร่ธาตุที่พบในปริมาณสูงสุดในตัวอย่าง โดยเฉลี่ยมากกว่า 30% ส่วน Silicon Oxide มีการกระจายตัวของค่ากว้างที่สุดในกลุ่มแร่ธาตุ อาจสะท้อนความหลากหลายของตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์ที่นำมาวิเคราะห์ และ Vermiculite มีปริมาณต่ำกว่าแร่ธาตุอื่น ๆ โดยเฉลี่ยไม่เกิน 2% ในแต่ละตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์ทั้งหมด ซึ่งจากการประยุกต์ใช้เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ โดยใช้ Rietveld สำหรับการคำนวณปริมาณของเฟสแร่จะถูกจำกัดหากตรวจพบวัสดุที่ไม่มีรูปผลึก (Amorphous material) ในตัวอย่าง ถึงแม้ว่าจะสามารถคำนวณได้ง่ายโดยการเติมตัวอย่างด้วยมาตรฐานที่ทราบปริมาณ แต่ผลลัพธ์จะมีความแม่นยำน้อยลงหากข้อมูลผลึกศาสตร์ที่ใช้ในการปรับค่ามีคุณภาพต่ำ หรือไม่ตรงกับตัวอย่าง ซึ่งมักจะเป็นกรณีของแร่ดินเหนียวส่วนใหญ่ ที่มีความผิดปกติในโครงสร้างและการสลับซับซ้อนของแร่ต่างๆ ในตัวอย่างที่วิเคราะห์ (Neumann *et al.*, 2011)

สรุปผลการทดลอง

วิธีวิเคราะห์วัสดุปลูกเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์โดยสถานะของเครื่อง XRD ที่ใช้ในการวิเคราะห์ใช้รังสีเอกซ์ที่มีความยาวคลื่น 1.5406 Å วิเคราะห์ด้วยค่ามุมที่ 5 – 70 °2 θ ขนาด Step size 0.002° ใช้เวลาวิเคราะห์แต่ละ step 30.6 วินาที ขนาด Divergence slit 1/2° และขนาด Beam mask 23 มิลลิเมตร วิเคราะห์ข้อมูลโครงสร้างผลึกและส่วนประกอบเชิงแร่ด้วยเทคนิค Rietveld refinement และตรวจสอบกับฐานข้อมูลอ้างอิง ICDD (PDF-4 /Minerals 2024) สารมาตรฐานเพอร์ไลต์พบองค์ประกอบเชิงแร่ 3 ชนิด ได้แก่ Silicon Oxide, Albite และ Anorthite แสดงตำแหน่ง 2 θ° และค่าดัชนีมิลเลอร์ (*hkl*) ของผลึก เท่ากับ 20.6504° (1 1 0), 26.1386 ° (0 0 2) และ 26.6799° (0 2 2) ซึ่งลักษณะดิฟแฟรกโตแกรมเป็นแบบฟีกกว้าง โดยฟีกจะเริ่มกว้างตั้งแต่ 20° 15-30° ส่วนสารมาตรฐานเวอร์มิคิวไลต์พบองค์ประกอบเชิงแร่ 4 ชนิด ได้แก่ Vermiculite, Silicon Oxide, Muscovite และ Fluor-phlogopite แสดงตำแหน่ง 2 θ° และค่าดัชนีมิลเลอร์ (*hkl*) ของผลึก เท่ากับ 5.9231° (0 0 1), 7.7990° (2 0 0), 8.4008° (0 0 2) และ 8.5210° (0 0 1) ตามลำดับ และจากศึกษาการรบกวนกันขององค์ประกอบซิลิกอน ออกไซด์กับสารชนิดอื่น (Matrix effect) โดยใช้ SiO₂ และ Al₂O₃ มี % Recovery อยู่ระหว่าง 99.70% - 111.26% ซึ่งไม่เกิดการ

รบกวนกันของ Silicon oxide กับสารชนิดอื่น (Matrix effect) และ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ขององค์ประกอบซิลิกอน ออกไซด์กับสารชนิดอื่น ได้ค่า Correlation coefficient, $r = 0.9996$ ตัวอย่างเพอร์ไลต์ส่วนใหญ่มีองค์ประกอบเชิงแร่ในรูป Albite เป็นองค์ประกอบเด่นที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าแร่ธาตุอื่น ๆ Anorthite มีตัวอย่างบางส่วนที่แสดงค่า สูงถึง 89.5% ซึ่งอาจสะท้อนความแตกต่างของตัวอย่างในแง่แหล่งกำเนิดหรือสภาพแวดล้อมการสะสมตัว และ Silicon Oxide มีการกระจายตัวของค่าอย่างกว้าง แสดงถึงความหลากหลายของแหล่งของเพอร์ไลต์ ตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์ส่วนใหญ่มีองค์ประกอบเชิงแร่ในรูป Biotite และ Fluor-phlogopite เป็นแร่ธาตุที่พบในปริมาณสูงสุด โดยเฉลี่ยมากกว่า 30% ส่วน Silicon Oxide มีการกระจายตัวของค่ากว้างที่สุดในกลุ่มแร่ธาตุ สะท้อนความหลากหลายของตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์ที่นำมาวิเคราะห์ และ Vermiculite มีปริมาณต่ำกว่าแร่ธาตุอื่น ๆ โดยเฉลี่ยไม่เกิน 2% ในแต่ละตัวอย่างเวอร์มิคิวไลต์ทั้งหมด ดังนั้นการศึกษาและประเมินคุณภาพวัสดุปลูกเพอร์ไลต์ และเวอร์มิคิวไลต์จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ สามารถใช้วิเคราะห์หาองค์ประกอบเชิงแร่ของตัวอย่างเพอร์ไลต์และเวอร์มิคิวไลต์ได้ ซึ่งมีความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือ สอบกลับได้ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ เป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริม วิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการ ที่ให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะ ตลอดจนการทำงานวิจัยที่ทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ของกรมวิชาการเกษตร ใช้ในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ ห้องปฏิบัติการหน่วยงานรัฐ ห้องปฏิบัติการเอกชน และมหาวิทยาลัย สามารถนำวิธีมาตรฐาน การวิเคราะห์เชิงปริมาณของเพอร์ไลต์และเวอร์มิคิวไลต์ ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ
2. เกษตรกรได้ใช้เพอร์ไลต์และเวอร์มิคิวไลต์ที่ได้มาตรฐาน ตามฉลากระบุ มีคุณภาพตรงตามฉลาก ระบุ ลดการสูญเสีย หรือลดการทำลายคุณภาพของดินที่เกิดจากการใช้วัสดุปลูกไม่ได้มาตรฐานในพื้นที่
3. ผู้ประกอบการสามารถนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพเพอร์ไลต์และเวอร์มิคิวไลต์ตามมาตรฐานการควบคุมคุณภาพสารปรับปรุงดิน

เอกสารอ้างอิง

- เสาวนีย์ เสียมไหม. 2551. การศึกษาสมบัติหินเพอร์ไลต์ด้วยเครื่องมือระดับสูง. กองวิเคราะห์และตรวจสอบ
ทรัพยากรธรณี กรมทรัพยากรธรณี.
- Aksoy, O., Alyamac, E., Mocan, M., Sutcu, M., Nihan Ozveren-Ucar and Seydibeyoglu, M. O. 2022.
Characterization of perlite powders from Izmir, Türkiye region. *Physicochemical
Problems of Minerals Processing*. 58(6): 1-12.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2016. Official Method of Analysis of AOAC
International. 20th Ed. *AOAC International*. Gaithersburg, Maryland. USA.
- Darmawan D., A. Wahyudi A. Mamby H., E. and Suherman I. 2021. Characterization of perlite
and expanded perlite from West Sumatera, Indonesia. Characterization of perlite and
expanded perlite from West Sumatera, Indonesia. *Earth and Environmental Science*.
882: 1-9. <https://doi:10.1088/17551315/882/1/012010>.
- Marcos, C. 2022. Effect of Water Immersion on Raw and Expanded Ugandan Vermiculite.
Minerals. 12 : 1-14. <https://doi.org/10.3390/min12010023>.
- Neumann, R., Costa, G. E. L., Gaspar, J. C., Matheus Palmieri, M. and Silva, S. E. 2011. The mineral
phase quantification of vermiculite and interstratified clay minerals-containing ores by
X-ray diffraction and Rietveld method after K cation exchange. *Minerals Engineering*. 24
: 1323–1334.

การศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช
กลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน ในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช
Study on the Quantification of Plant Growth Regulators :
Auxin and Gibberellins in Plant Enhancement Products

สุวลักษณ์ ไชยทอง ตวงพร อีระพิทยาพงศ์ เพชรรัตน์ ศิริวิ สุพิศสา ทองเขียว สาทิดา โพธิ์น้อย
จรัสรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรรณรัตน์ ชุตินุตร

Suwaluck Chaitong Phetcharat Siriwi Supissa Thongkheaw Sathida Phonoi
Charirat Kusonwiriya Wong Wannarut Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

A study on the quantification of plant growth regulators in the auxin group, including indole-3-acetic acid (IAA) and indole-3-butyric acid (IBA). Also, three types of gibberellins, namely gibberellin A3 (GA₃) gibberellin A4 (GA₄) and gibberellin A7 (GA₇), in azolla and blue-green algae samples using LC-MS/MS technique. The results suggested that a suitable sample preparation technique was QuEChERS. The samples were extracted by 4:1 (v/v) 1% formic acid in acetonitrile and methanol, and a salt mixture (8:2:2:1, (w/w/w/w) of MgSO₄, NaCl, trisodium citrate dehydrate, and disodium hydrogen citrate sesquihydrate). The extracts were cleaned up by primary secondary amine (PSA) and MgSO₄. A preferable condition for extraction was a gradient elution between 0.1% formic acid and acetonitrile in 10 minutes time. IAA, IBA, GA₃, GA₄ and GA₇ contents were determined at a concentration between 0.01-0.30 mg/L. The Limit of quantification (LOQ) was 0.04 mg/L for auxins and 0.01 mg/L for gibberellins. The precision of the predict LOQ values ranged from 0.17 to 0.21, and the accuracy ranged from 95.5% to 101.6%, which were within the standards set by AOAC. In the study of plant growth regulator concentrations in azolla and blue-green algae samples, the IAA concentrations were found to be 0.058 mg/kg and 0.016 mg/kg, respectively. Additionally, the study did not detect IBA, GA₃, GA₄ and GA₇ in either azolla and blue-green algae samples. The accuracy of the concentration measurements ranged from 98.0% to 110%, which complies with the AOAC standard range of 80-110%. Therefore, this method is suitable for detecting the concentrations of auxin and gibberellin in azolla and blue-green algae samples, and the data from this analysis can be used for the production of plant growth-enhancing products.

Keywords: Auxins; Gibberellins; Plant enhancement products

บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในสารกลุ่มออกซิน ได้แก่ กรดอินโดล-3-แอซิติค (Indole-3-acetic acid: IAA) กรดอินโดล-3-บิวทีริก (Indole-3-butyric acid: IBA) และกลุ่มจิบเบอเรลลิน 3 ชนิด ได้แก่ จิบเบอเรลลิน เอ3 (Gibberellin A3: GA₃) จิบเบอเรลลิน เอ4 (Gibberellin A4: GA₄) และ จิบเบอเรลลิน เอ7 (Gibberellin A7: GA₇) ในตัวอย่างแห้งและสำหรับยีสี่ขาวแถมน้ำเงิน ด้วยเทคนิค LC-MS/MS จากการศึกษพบว่า วิธีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสม คือการใช้วิธี QuEChERS โดยใช้สารสกัด 1% Formic acid in acetonitrile ต่อ Methanol (4:1, v/v) และ Salt mixture (MgSO₄, NaCl, Trisodium citrate dehydrate และ Disodium hydrogen citrate sesquihydrate (8:2:2:1, w/w/w/w)) และใช้ Primary secondary amine (PSA) และ MgSO₄ เป็นสารที่ช่วยทำให้สารตัวอย่างมีความบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้น ก่อนนำไปวิเคราะห์ ทั้งนี้สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร คือ Gradient elution ระหว่าง 0.1% Formic acid กับ Acetonitrile ในระยะเวลา 10 นาที โดยทำการศึกษาปริมาณสาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า LOQ ของสารกลุ่มออกซินเท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า LOQ ของสารกลุ่มจิบเบอเรลลิน เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยค่าความเที่ยงของค่า Predict LOQ อยู่ในช่วง 0.17 – 0.21 และความแม่นยำอยู่ในช่วง 95.5 – 101.6 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดตาม AOAC จากการศึกษปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในตัวอย่างแห้งและสำหรับยีสี่ขาวแถมน้ำเงิน พบว่า มีปริมาณสาร IAA เท่ากับ 0.058 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 0.016 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้จากการศึกษาไม่พบปริมาณสาร IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ทั้งในตัวอย่างแห้งและสำหรับยีสี่ขาวแถมน้ำเงิน โดยพบความแม่นยำจากการศึกษาปริมาณสารอยู่ในช่วง 98.0 – 110 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดตาม AOAC ที่มีเกณฑ์กำหนดอยู่ในช่วง 80-110% ดังนั้นวิธีนี้มีความเหมาะสมในการตรวจหาปริมาณสารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลินในแห้งและสำหรับยีสี่ขาวแถมน้ำเงิน อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลจากการตรวจหาปริมาณสารในตัวอย่างดังกล่าวไปใช้ประกอบการใช้งานในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

คำสำคัญ: ออกซิน; จิบเบอเรลลิน; สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

คำนำ

การปลูกพืชแบบเกษตรอินทรีย์มีกระแสนิยมเพิ่มมากขึ้น เกษตรกรจึงให้ความสนใจและกลับมาปลูกพืชในระบบเกษตรอินทรีย์กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากการให้ความสำคัญกับคุณภาพและความปลอดภัย ด้านอาหารของทั้งผู้ผลิต ผู้บริโภค รวมถึงการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน เกษตรกรจึงต้องเลือกใช้ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่เป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เช่น สารชีวภัณฑ์ สารสกัดสารอินทรีย์หรือที่ได้จากสิ่งมีชีวิตจะมีสารจำพวกวิตามิน ฮอโมน แร่ธาตุและกรดอะมิโนต่างๆ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีการผลิตและวางจำหน่ายตามร้านค้าเคมีเกษตร จำหน่ายด้วยระบบขายตรง และระบบออนไลน์ทั่วไป และเนื่องจากปัจจุบันเกษตรกรประสบปัญหาปุ๋ยเคมีมีราคาแพง จึงทำให้เกษตรกรนิยมใช้ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่เป็นอินทรีย์ทดแทนเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ผู้ประกอบการที่มองเห็นช่องทางกำไรที่ตอบรับกับเกษตรอินทรีย์ได้ผลิตและจำหน่ายปัจจัยการผลิตทางการเกษตรเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ได้เล็งเห็นความสำคัญจากปัญหาที่เกิดขึ้น จึงได้มีการศึกษากระบวนการผลิตและใช้สารสกัดเพิ่มประสิทธิภาพพืชและลดการใช้ปุ๋ยเคมีลง เช่น การใช้สารยีสี่ขาวแถมน้ำเงินร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยน้ำว้า ซึ่งในสารสกัดสารยีสี่ขาวแถมน้ำเงินมีธาตุอาหารที่จำเป็น

ต่อการเจริญเติบโตของพืช มีกรดอะมิโน 16 ชนิด และสารคล้ายฮอร์โมนพืช Indoleacetic acid (IAA) และ Cytokinin (ประไพ และคณะ, 2560) และยังมีการศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต่อการเจริญเติบโตของข้าว พบว่า การใช้สารสกัดสาหร่ายระยะกล้าร่วมกับการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ข้าวมีการแตกกอมากกว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างเดียว (ประไพ และคณะ, 2553) และจากนวัตกรรมของสำนักวิจัยและพัฒนาการอาชีวศึกษา (2564) ได้มีการสกัดสารเข้มข้นจากแหนแดง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่ในการใช้สารธรรมชาติ ที่ประกอบด้วยธาตุอาหารไนโตรเจนสูง ใช้ทดแทนปุ๋ยเคมี เพื่อการเร่งการเจริญเติบโตของพืชผักเหมาะกับการเพาะปลูกพืชผักแบบอินทรีย์ หรือปลูกพืชผักไว้รับประทานเองในครัวเรือน ซึ่งสารสกัดแหนแดงเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีความปลอดภัยต่อการบริโภค ทั้งนี้กรมวิชาการเกษตรได้จัดทำผลิตภัณฑ์แหนแดงร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ด ซึ่งมีคุณสมบัติตามเกณฑ์กำหนดของปุ๋ยอินทรีย์ สามารถนำไปใช้ประโยชน์แก่พืชผักทั้งการผลิตแบบเกษตรอินทรีย์และใช้ตามแนวทางในการทำเกษตรเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดีตรงตามมาตรฐานที่กำหนด ได้ผลผลิตสูงคุ้มค่าการลงทุนและขบวนการผลิตที่ปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค มีการใช้ทรัพยากรที่เกิดประโยชน์สูงสุด เกิดความยั่งยืนทางการเกษตรและไม่ทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยแหนแดงเปรียบเสมือนโรงงานผลิตปุ๋ยไนโตรเจนทางชีวภาพ โดยผ่านกระบวนการตรึงไนโตรเจนจากอากาศของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อาศัยอยู่ในโพรงใบของแหนแดง ทั้งนี้ แหนแดงเป็นพืชที่สามารถเพิ่มชีวมวลได้อย่างรวดเร็ว โดยมีระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าเพียง 2-5 วัน หากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะสามารถเพิ่มปริมาณได้ถึง 40 เท่า ในระยะเวลาเพียง 2 สัปดาห์ (Jumadi *et al.*, 2014), (Zimmerman, 1985) ในขณะที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีองค์ประกอบของกรดอะมิโน และสารคล้ายฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน ไซโตไคนิน และจิบเบอเรลลิน ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (ประไพ และคณะ, 2560), (Kollmen and Strieth, 2022) อีกทั้งแหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินยังเป็นแหล่งชีวมวลที่มีศักยภาพที่เกษตรกรสามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่องไม่เว้นวันหยุด โดยมีต้นทุนการผลิตต่ำหากเปรียบเทียบกับการผลิตชีวมวลชนิดอื่น การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนแดงร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ด เป็นการวิจัยพัฒนาเพื่อให้เกิดการใช้แหนแดงแห้งในแปลงปลูกพืชมีความสะดวกมากขึ้น สามารถใส่ลงดินได้ในปริมาณมากทำให้พืชได้รับธาตุอาหารเพียงพอต่อความต้องการ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใส่ในกระถางปลูกพืชชนิดต่างๆ ได้ง่ายขึ้น โดยในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบปริมาณสารกลุ่มออกซิน ได้แก่ IAA ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากพบว่าความเข้มข้นของ IAA ที่ตอบสนองต่อส่วนของลำต้นและตาข้างในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 10^{-5} และ 10^{-8} โมลาร์ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของรากอยู่ในระดับต่ำมากในช่วง 10^{-11} และ 10^{-10} โมลาร์ (Moore, 1989) ซึ่งความเข้มข้นของ IAA ในสารสกัดสาหร่ายที่แนะนำให้ใช้ฉีดพ่นทางใบแก่พืชผักเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเป็นความเข้มข้นที่อยู่ในช่วง 10^{-8} - 10^{-7} โมลาร์ ส่วนจิบเบอเรลลินช่วยเพิ่มการขยายขนาดของเซลล์และการยืดยาวของลำต้น และพบในสารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 36.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนไซโตไคนินสามารถช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ เร่งการขยายตัวของเซลล์ ส่งเสริมการสร้างและการเจริญของตา และช่วยในการงอกของเมล็ด และพบในสารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 0.013 มิลลิกรัมต่อลิตร (ประไพ และคณะ, 2567) สำหรับเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS/MS) เป็นเทคนิคที่สามารถตรวจวัดได้ในระดับมวลต่อประจุ อีกทั้งยังมีความสะดวก รวดเร็ว ทันท่วงที มีความถูกต้อง แม่นยำสูงและสามารถตรวจวัดสารที่มีปริมาณต่ำๆ ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้หลายชนิดในเวลาเดียวกัน ดังนั้นจึงได้นำเทคนิคนี้มาใช้ในการศึกษาปริมาณของสารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลินในตัวอย่างแหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงจากกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร การตรวจวิเคราะห์ด้วย LC-MS/MS ทำให้ทราบได้

ว่าแหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีปริมาณสารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลินอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้หรือไม่ อีกทั้งจะได้นำความรู้เกี่ยวกับประโยชน์ของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในแหนแดง สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชไปถ่ายทอดให้เกษตรกร และจะได้แนะนำและส่งเสริมให้เกษตรกรนำผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชที่ผลิตจากแหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไปใช้ประโยชน์ในด้านการเพาะปลูกพืชเกษตรอินทรีย์ อีกทั้งเป็นการลดต้นทุนการผลิตและพัฒนาการเกษตรปลอดภัยได้อย่างยั่งยืน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง เครื่องอัลตราโซนิก เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) เครื่องวัด pH-Meter เครื่อง Ultrasonic bath
2. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ เครื่องลิกวิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (LC-MS/MS: ExionLCTM และ Sciex 4500 Triple Quadrupole)
3. อุปกรณ์การกรอง ได้แก่ ปัมแรงดัน ชุดกรองสารละลาย Mobile phase กระดาษกรอง 0.22 ไมโครเมตร ผ้ากรองแพลงตอน ขนาด 30 ไมครอน Nylon syringe filter ขนาด 0.22 ไมโครเมตร Nylon membrane filter ขนาด 0.22 ไมโครเมตร
4. เครื่องแก้ว ได้แก่ ขวดวัดปริมาตร ปีกเกอร์ โซริงค์แก้ว ปิเปต กระบอกตวง
5. วัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ คอลัมน์ Phenomenex synergi fision RP 80 A° ขนาด 50 x 2 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 4 ไมโครเมตร ปิเปตอัตโนมัติ ขนาด 10-100, 20-200 และ 1000 ไมโครลิตร หลอดปั่นเหวี่ยง
6. สารมาตรฐานและสารเคมี ได้แก่ Indole-3-acetic acid (IAA) 99.6% Indole-3-butyric acid (IBA) 99.2%, Gibberellin A3 (GA₃) 98.8% Gibberellin A4 (GA₄) 99.7%, Gibberellin A7 (GA₇) 99.9% Acetonitrile (ACN) LC-MS grade > 99%, Formic acid (FA) >98%, Ammonium acetate >99%, Methanol, MgSO₄, NaCl, Trisodium citrate dehydrate, Disodium hydrogen citrate sesquihydrate, Primary secondary amine (PSA), ชุดสกัดสารชนิด QuEChERS ประกอบด้วยสาร MgSO₄ anhydrous 4 g, NaCl 1 g, Na₂H- citrate : 1.5H₂O 0.5 g และ Na₃- citrate : 2H₂O 1 g (8:2:2:1, w/w/w/w)
7. ผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช ได้แก่ แหนแดง (*Azolla microphylla* Kaulf.) และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (*Hapalosiphon* sp. DASH05101)

วิธีการ

1. การศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างแหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
 - 1.1 นำตัวอย่างแหนแดงจากบ่อบำบัดน้ำเสียสำหรับเพาะขยายแม่พันธุ์แหนแดง และตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหารเหลว จากแหล่งรวบรวมและเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จากกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยทำการเตรียมตัวอย่าง ดังนี้ นำตัวอย่างแหนแดงไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้ไนโตรเจนเหลว เพื่อรักษาสภาพของตัวอย่าง ไม่ให้เปลี่ยนแปลงหรือเสื่อมสภาพก่อนการวิเคราะห์ อีกทั้งการเตรียมตัวอย่างโดยใช้ไนโตรเจนเหลว จะทำให้ตัวอย่างแข็งเปราะ และสามารถบดละเอียดได้ง่ายขึ้น (Figure 1) จากนั้นเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปสกัดเพื่อวิเคราะห์ สำหรับตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* นำตัวอย่างมากรองด้วยผ้ากรองแพลงตอนที่มีขนาด 30 ไมครอน

ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น ทั้งไว้ให้แห้ง แล้วนำส่วนที่เป็นเนื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไปสกัดเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลิน (Figure 2)



Figure 1 a) Azolla sample before homogenization
b) Azolla sample after homogenization



Figure 2 The blue-green algae sample was filtered using a 30-micron plankton mesh filter.

1.2 การสกัดตัวอย่างแห้งและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินด้วยเทคนิค QuEChERS (Chieh-Han, 2018)

1) ชั่งตัวอย่างปริมาณ 10 กรัม เติม 1% Formic acid in acetonitrile ต่อ Methanol (4:1, v/v) เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที

2) เติม Salt mixture (MgSO_4 , NaCl, Trisodium citrate dehydrate และ Disodium hydrogen citrate sesquihydrate (8:2:2:1, w/w/w/w)) ปริมาณ 6.5 กรัม เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที

3) นำตัวอย่างที่ผสมแล้วไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที ที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งจะได้สารละลายส่วนด้านบน (Supernatant) ออกมา

4) นำส่วนที่เป็น Supernatant ปริมาตร 6 มิลลิลิตร ไปทำให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้นด้วย Primary secondary amine (PSA) 150 มิลลิกรัม และ MgSO_4 900 มิลลิกรัม เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที ที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

5) นำสารละลายส่วนด้านบนไปกรองด้วย PVDF filter ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS

6) ประเมินความแม่นยำของการสกัดจากค่า Recovery จากการเติมสารมาตรฐาน IAA, IBA, GA_3 , GA_4 และ GA_7 ความเข้มข้น 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในตัวอย่างแห้งและตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

2. หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ในการตรวจวัดสารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลิน

ปรับตั้งสภาวะในการวิเคราะห์สารทั้งในส่วนที่ใช้ในการแยกสารด้วยของเหลว (LC) ได้แก่ การใช้คอลัมน์ในการแยกสาร อุณหภูมิในตู้ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ ปริมาณสารที่ใช้ในการฉีด อัตราการไหล อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ และปรับตั้งสภาวะในส่วนของ MS และ ได้แก่ Precursor ion: Q1, Product ion: Q3, Declustering potential (DP), Entrance potential (EP), Collision energy (CE), Collision cell exit potential (Cxp) แสดงใน Table 1

3. การตรวจสอบความใช้ได้เชิงคุณภาพของการวิเคราะห์สารกลุ่มออกซิน ได้แก่ IAA, IBA และสารกลุ่มจิบเบอเรลลิน ได้แก่ GA₃, GA₄ และ GA₇

3.1 การศึกษาผลของ Matrix effect ของวิธีทดสอบ

3.1.1 ทำการทดสอบ Standard calibration curve เปรียบเทียบกับ Matrix calibration curve ของสาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ โดยทดสอบใน Matrix ของตัวอย่างเหินแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ตัวอย่างละ 1 ชุด

3.1.2 ทำการเปรียบเทียบค่าความชัน Calibration curve ของ สารมาตรฐาน IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.01-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร กับความชันของ Matrix calibration curve จากการเติมสารมาตรฐาน IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ลงในตัวอย่างเหินแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Sample blank) โดยพิจารณาจากค่า %RPD เกณฑ์การยอมรับ < 10% ตาม NATA, 2018

3.2 การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Working range)

3.2.1 ทำการทดสอบสารมาตรฐาน IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.01-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

3.2.2 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไปในตัวอย่างเป็น (แกน x) กับค่าพื้นที่ใต้พีค (แกน y)

3.2.3 คำนวณค่า Correlation coefficient (r) เกณฑ์ยอมรับที่ $r \geq 0.995$ ตาม APHA, AWWA, and WEF (2023)

3.3 การหาค่า Limit of detection (LOD) และค่า Limit of quantitation (LOQ)

3.3.1 ทำการทดสอบตัวอย่างเหินแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 10 ซ้ำ

3.3.2 คำนวณค่า LOD และ LOQ โดยใช้สูตรคำนวณจาก EURACHEM (2014)

$$LOD = \bar{X}_b + 3S'_0$$

$$LOQ = \bar{X}_b + 10S'_0$$

$\bar{X}$ หมายถึง ค่าเฉลี่ย

S'_0 หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.4 ทำการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ

3.4.1 ทำการทดสอบสารมาตรฐาน IAA, IBA ที่ความเข้มข้น 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA₃, GA₄ และ GA₇ ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

3.4.2 ประเมินค่าความถูกต้อง จากค่า Recovery ต้องอยู่ในช่วง 80-110% และประเมินความเที่ยง โดยพิจารณาจากค่า HorRat ≤ 1.3 ตามมาตรฐาน AOAC (2023)

3.5 วิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มออกซิน ได้แก่ IAA, IBA และสารกลุ่มจิบเบอเรลลิน ได้แก่ GA₃, GA₄ และ GA₇ ในตัวอย่างเหินแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2566 - สิ้นสุด เดือนกันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์พืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร
กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของการศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างແໜແຈງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

การสกัดตัวอย่างโดยใช้เทคนิค QuEChERS อาศัยวิธีการสกัดสารด้วย Liquid-liquid extraction (LLE) และกำจัดสิ่งรบกวนออกจากสารสกัดตัวอย่างด้วยวิธี Dispersive solid phase extraction (d-SPE) ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ 1% Formic acid in acetonitrile และเติมเกลือลงไปในขั้นตอนสกัดซึ่งประกอบด้วยสาร $MgSO_4$ anhydrous จำนวน 4 กรัม, NaCl จำนวน 1 กรัม, Trisodium citrate dehydrate จำนวน 1 กรัมและ Disodium hydrogen citrate sesquihydrate จำนวน 0.5 กรัม เพื่อให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ละลายในเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ได้มากขึ้น โดยสารที่มีขั้วจะเกิดการแยกชั้น เนื่องจากเกลือจะไปเพิ่มความแรงของไอออน ทำให้ความมีขั้วของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น เป็นผลให้สารที่มีขั้วในตัวอย่างละลายในตัวทำละลายได้มากขึ้น สำหรับ NaCl จะลดปริมาณของสิ่งปนเปื้อนที่มีขั้วในสารสกัดตัวอย่าง ส่วน $MgSO_4$ จะทำให้การแยกชั้นของสารเกิดได้ดี อีกทั้งเทคนิค QuEChERS มีข้อดี คือ ทำได้รวดเร็ว สะดวก และปลอดภัย (ธนภูมิ, 2567) จากการศึกษาได้ค่า %Recovery ในการสกัดสารทั้ง 5 ชนิด ในตัวอย่างແໜແຈງและตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน อยู่ในช่วง 98.0-110.0 ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023)

2. ผลของสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ในการวิเคราะห์สารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลิน

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ในการแยกสาร IAA, IBA, GA_3 , GA_4 และ GA_7 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช กลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลินเป็นดังนี้

สภาวะของเครื่องส่วนที่ใช้ในการแยกสารด้วยของเหลว (LC) ใช้คอลัมน์ในการแยกสารเป็น Phenomenex Synergi fision RP 80 A° มีขนาดความยาวคูณเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 50×2 mm มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 4 ไมโครเมตร และใช้อุณหภูมิควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส สำหรับปริมาณสารที่ใช้ในการฉีดแต่ละครั้งเท่ากับ 5 ไมโครลิตร ใช้อัตราการไหลเท่ากับ 300 ไมโครลิตรต่อนาที ทำการฉีดสารในระยะเวลา 10 นาที โดยใช้อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ในโปรแกรมเกรเดียนต์ (Gradient program) ดังนี้ (A คือ 0.1% Formic acid และ B คือ Acetonitrile) ที่ระยะเวลา 0-1 นาที ใช้อัตราส่วน A:B เท่ากับ 95:5 ที่ระยะเวลา 1-4 นาที ใช้อัตราส่วน A:B เท่ากับ 5:95 ที่ระยะเวลา 4-6 นาที ใช้อัตราส่วน A:B เท่ากับ 5:95 ที่ระยะเวลา 6-8 นาที ใช้อัตราส่วน A:B เท่ากับ 95:5 และที่ระยะเวลา 8-10 นาที ใช้อัตราส่วน A:B เท่ากับ 95:5

สภาวะของเครื่องส่วนวิเคราะห์มวลอย่างละเอียด (MS/MS) เลือกแหล่งกำเนิดไอออน (Ion source) แบบ Electrospray ionization (ESI) ที่ประกอบด้วย Positive - Negative mode ใช้ Curtain gas แรงดันเท่ากับ 25 psig และ Collision gas แรงดัน เท่ากับ 9 psig สำหรับการสเปย์ไอออนใช้ความต่างศักย์ เท่ากับ 5500 V ใน Positive mode และ -4500 V ใน Negative mode ใช้อุณหภูมิในการแตกตัวของไอออนเท่ากับ 500 องศาเซลเซียส ใช้แรงดันของแก๊สในแหล่งกำเนิดไอออน เท่ากับ 50 psig และ 60 psig และใช้ฟารามิเตอร์การสแกน MS/MS เป็นโหมดมัลติรีแอกชันมอนิเตอร์ (Multi Reaction Monitoring: MRM) ดังแสดงใน Table 1

จากสภาวะดังกล่าวใช้เวลาในการแยกสาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ มีค่า Retention time ในการแยกสารที่เวลา 2.86, 3.27, 2.73, 3.40 และ 3.39 นาที ตามลำดับ โดยโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารทั้ง 5 ชนิดภายใต้สภาวะดังกล่าวข้างต้น แสดงดัง Figure 3-7

Table 1 MRM precursor/product ion transitions for 5 plant growth regulators via electrospray ionization

Analytes	Precursor ion (Q1)	Scan mode	Product ion (Q3)	Declustering potential (DP)	Entrance potential (EP)	Collision energy (CE)	Collision cell exit potential (Cxp)
IAA	176	Positive	130	18	11	23	10
			103	18	11	42	7
IBA	204	Positive	186.1	25	10	19	13
			130	25	10	37	10
GA ₃	345.1	Negative	143	-70	-7	-35	-10
			239	-70	-7	-21	-7
GA ₄	331.1	Negative	243.1	-31	-5	-27	-14
			257	-31	-5	-34	-20
GA ₇	329	Negative	223	-41	-5	-27	-15
			211	-41	-5	-38	-7

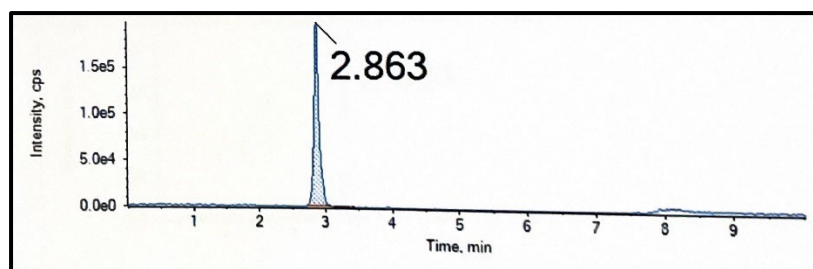


Figure 3 Chromatogram of IAA

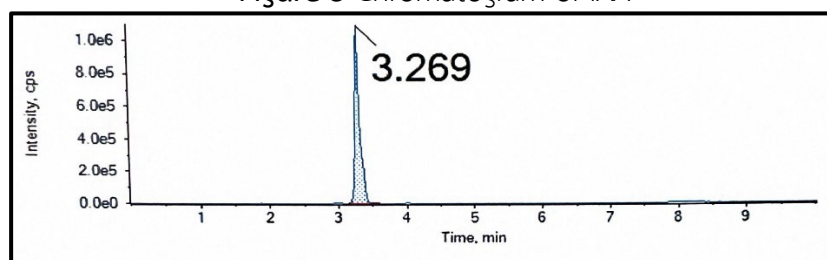


Figure 4 Chromatogram of IBA

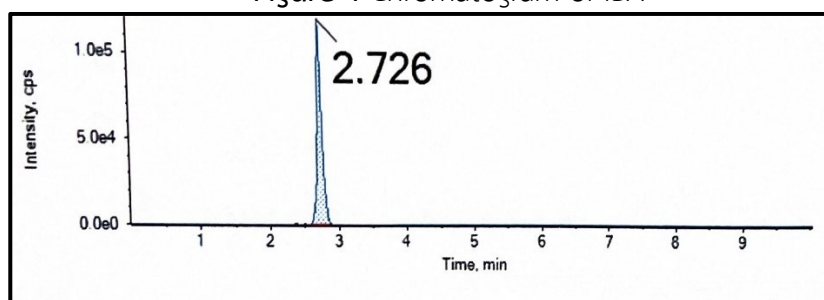


Figure 5 Chromatogram of GA₃

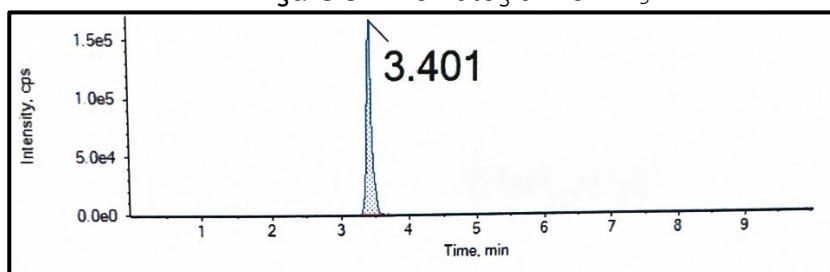


Figure 6 Chromatogram of GA₄

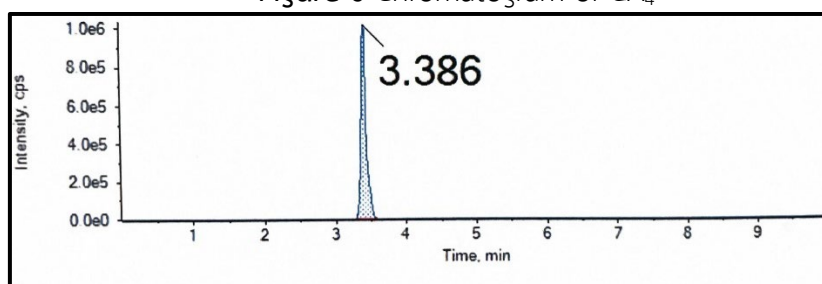


Figure 7 Chromatogram of GA₇

3. ผลของการตรวจสอบความใช้ได้เชิงคุณภาพของการวิเคราะห์สารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลิน

3.1 ผลการศึกษา Matrix effect ของวิธีวิเคราะห์สาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ในตัวอย่าง แหนแดงและตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

3.1.1 ผลการศึกษา Matrix effect ของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างแหนแดง

จากผลการทดสอบ Matrix effect ในตัวอย่างแหนแดงที่มีผลต่อการวิเคราะห์สาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ พบว่ามีค่า %RPD มากกว่าเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) (%RPD<10%) โดยมีค่าเท่ากับ 97.5, 124.0, 102.3, 122.1 และ 112.3 ตามลำดับ ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณสาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ในตัวอย่างแหนแดงต้องเตรียม Calibration curve ใน Matrix ของตัวอย่างแหนแดง

3.1.2 ผลการศึกษา Matrix effect ของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จากผลการทดสอบ Matrix effect ในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีผลต่อการวิเคราะห์สาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ พบค่า %RPD เท่ากับ 28.39, 15.05, 8.01, 9.91 และ 12.77 ตามลำดับ โดยพบว่าผลการทดสอบ Matrix effect ในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินของสาร GA₃ และ GA₄ มีค่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) (%RPD<10%) ส่วนสาร IAA, IBA และ GA₇ พบว่า %RPD มากกว่าเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) ดังนั้นในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสาร IAA, IBA และ GA₇ ในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ต้องเตรียม Calibration curve ใน Matrix ของตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

3.2 ผลการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Working range)

ผลการทดสอบหาค่า Linearity และ Working range ของวิธีวิเคราะห์สาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ พบว่าได้ค่าอยู่ในช่วง 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสารทั้ง 3 ชนิด มีค่า Correlation coefficient (r) มากกว่า 0.995 ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน APHA, AWWA, and WEF (2023) ($r \geq 0.995$) (Table 2-3)

Table 2 Correlation coefficient (r) of IAA, IBA, GA₃, GA₄ and GA₇ in Azolla samples

Type of PGR	Equation	Correlation coefficient (r)
IAA	$y = 21,645,850.3699x - 14,074.5035$	0.9987
IBA	$y = 12,650,201.0811x - 15,136.4247$	0.9988
GA ₃	$y = 1,425,849.5887x + 19,805.9456$	0.9990
GA ₄	$y = 1,232,349.4299x + 36,614.1449$	0.9987
GA ₇	$y = 16,858,983.3851x + 171,788.3464$	0.9978

Table 3 Correlation coefficient (r) of IAA, IBA, GA₃, GA₄ and GA₇ in blue-green algae samples

Type of PGR	Equation	Correlation coefficient (r)
IAA	$y = 17,164,089.2895x + 70,362.0937$	0.9981
IBA	$y = 31,348,193.6789x - 347,267.4262$	0.9986
GA ₃	$y = 2,796,190.1443x - 22,144.9144$	0.9991
GA ₄	$y = 4,014,679.7905x - 10,773.0343$	0.9993
GA ₇	$y = 21,730,702.4004x - 135,980.4014$	0.9993

3.3 ผลการหาค่า Limit of detection (LOD) และค่า Limit of quantitation (LOQ)

จากการหาค่า LOD และ LOQ ของสาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ได้ค่า LOD ของสาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ เท่ากับ 0.03, 0.003, 0.001, 0.001 และ 0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบค่า LOQ ของสาร IAA และ IBA มีค่าเท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า LOQ ของสาร GA₃, GA₄ และ GA₇ มีค่าเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการพิสูจน์ความถูกต้องและความแม่นยำที่ระดับ LOQ พบว่าผลการทดสอบมีความถูกต้องและความแม่นยำ ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023) โดยความถูกต้องประเมินจาก %Recovery อยู่ในช่วง 95.5-101.6 และความแม่นยำประเมินจากค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.17-0.21

3.4 หาปริมาณสารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

จากการหาปริมาณสารกลุ่มออกซิน ได้แก่ IAA และ IBA ในตัวอย่างเหินแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า มีปริมาณสาร IAA ในตัวอย่างเหินแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เท่ากับ 0.058 และ 0.016 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ พบปริมาณสาร IAA อยู่ในระดับความเข้มข้นที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช คือมากกว่า 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ตาม Moore (1989) และไม่พบสาร IBA ทั้งสองตัวอย่าง ส่วนการหาปริมาณสารจิบเบอเรลลิน ได้แก่ GA₃, GA₄ และ GA₇ พบว่าตรวจไม่พบในตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด ทั้งนี้จากการทดสอบหาค่าความถูกต้องในการวิเคราะห์สารทั้ง 5 ชนิด โดยการพิจารณาค่า %Recovery ที่ได้จากการ Spike สารมาตรฐานทั้ง 5 ชนิด ลงไปในตัวอย่างเหินแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบค่า %Recovery ของสารทั้ง 5 ชนิด (IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇) ที่เติมลงไปในตัวอย่างเหินแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีค่าอยู่ในช่วง 98.0-110.0 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023) (80-110%)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซิน ได้แก่ กรดอินโดล-3-แอซิดิก (Indole-3-acetic acid: IAA) และ กรดอินโดล-3-บิวทีริก (Indole-3-butyric acid: IBA) กลุ่มจิบเบอเรลลิน 3 ชนิด ได้แก่ จิบเบอเรลลิน เอ3 (Gibberellin A3: GA₃) จิบเบอเรลลิน เอ4 (Gibberellin A4: GA₄) และ จิบเบอเรลลิน เอ7 (Gibberellin A7: GA₇) ในตัวอย่างเหินแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่นำไปใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช จากการสกัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS โดยใช้ สารสกัด 1% Formic acid in acetonitrile ต่อ Methanol (4:1, v/v) และ Salt mixture (MgSO₄, NaCl, Trisodium citrate dehydrate และ Disodium hydrogen citrate sesquihydrate (8:2:2:1, w/w/w/w)) และใช้ Primary secondary amine (PSA) และ MgSO₄ เป็นสารที่ช่วยทำให้สารตัวอย่างมีความบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้น ก่อนนำไปวิเคราะห์ ใช้สภาวะในการแยกสารเป็น Gradient elution ระหว่าง 0.1% Formic acid กับ Acetonitrile ในระยะเวลา 10 นาที พบค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Working range) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า Correlation coefficient (r) ≥ 0.995 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน ตาม APHA, AWWA, and WEF (2023) พบค่า LOQ ของสาร IAA และ IBA เท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร พบค่า LOQ ของสาร GA₃, GA₄ และ GA₇ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบผลการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2023) จากผลการทดสอบ Matrix effect ของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างเหินแดง พบว่า มีค่า %RPD ที่ได้จากการทดสอบมากกว่า 10% ซึ่งมีค่ามากกว่าเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) (%RPD<10%) ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณสาร IAA, IBA, GA₃, GA₄ และ GA₇ ในตัวอย่างเหินแดงต้องเตรียม Calibration curve ใน Matrix ของตัวอย่าง

แผนแดง จากผลการทดสอบ Matrix effect ของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างสารรายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่า ผลการทดสอบ Matrix effect ในตัวอย่างสารรายสีเขียวแกมน้ำเงินของสาร GA_3 และ GA_4 มีค่าอยู่ในเกณฑ์ การยอมรับของ NATA (2018) (%RPD<10%) ส่วนสาร IAA, IBA และ GA_7 พบว่า %RPD ที่ได้จากการทดสอบ มากกว่า 10% ซึ่งมีความมากกว่าเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) ดังนั้นในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสาร IAA, IBA และ GA_7 ในตัวอย่างสารรายสีเขียวแกมน้ำเงิน ต้องเตรียม Calibration curve ใน Matrix ของตัวอย่าง สารรายสีเขียวแกมน้ำเงิน จากการหาปริมาณสาร IAA ในตัวอย่างแผนแดงและสารรายสีเขียวแกมน้ำเงินพบว่า มีค่าเท่ากับ 0.058 และ 0.016 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนสารอีก 4 ชนิด ไม่พบทั้งในตัวอย่างแผนแดง และสารรายสีเขียวแกมน้ำเงิน จะเห็นได้ว่าปริมาณสาร IAA ในตัวอย่างแผนแดงและตัวอย่างสารรายสีเขียว แกมน้ำเงินอยู่ในระดับความเข้มข้นที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของตาข้าง และการเจริญเติบโตของราก จึงเหมาะที่จะนำตัวอย่างเหล่านี้ไปผลิตเป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพพืช เพื่อเป็น การนำไปใช้ในการผลิตพืชผักแบบเกษตรอินทรีย์ อีกทั้งยังเป็นการใช้ทรัพยากรที่มีต้นทุนการผลิตต่ำและเป็นการใช้ ทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุด อีกทั้งจากการศึกษาวิธีวิเคราะห์สารของงานวิจัยนี้สามารถนำไปเป็นวิธี วิเคราะห์สารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชได้

คำขอบคุณ

รายงานวิจัยฉบับนี้ อยู่ภายใต้โครงการวิจัยการตรวจสอบคุณภาพของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชที่จำหน่ายในท้องตลาด แผนงานวิจัยเรื่อง พัฒนาระบบ การตรวจรับรองคุณภาพปัจจัยการผลิต เพื่อสร้างมาตรฐาน และยกระดับคุณภาพห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริม วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทว.) สามารถดำเนินงานได้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ ด้วยความช่วยเหลือ จากบุคลากรและเจ้าหน้าที่กลุ่มวิจัยเกษตรเคมีและกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนา ปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยในการดำเนินการทั้งในด้านเอกสาร การเตรียมตัวอย่าง และดำเนินการวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ขอขอบคุณนางประไพ ทองระอา นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ ตัวอย่างแผนแดงและสารรายสีเขียวแกมน้ำเงินมาใช้ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- 1.สามารถนำวิธีวิเคราะห์สารจากงานวิจัยนี้ ไปวิเคราะห์สารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลินในตัวอย่าง แผนแดงและสารรายสีเขียวแกมน้ำเงินได้
2. ทราบปริมาณสารกลุ่มออกซินและจิบเบอเรลลินในตัวอย่างแผนแดงและสารรายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่จะนำไปใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

เอกสารอ้างอิง

ธนภูมิ มณีบุญ. การเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS. แหล่งที่มา

<https://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2566/dec/QuEChERS> สืบค้น: 25 กรกฎาคม 2567

ประไพ ทองระอา สมปอง หมิ่นแจ้ง ศิริลักษณ์ แก้วสุริยิต และกัลยากร โปรงจันทร์. 2553. การศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว. *ผลการปฏิบัติงาน ประจำปี 2553 เล่มที่ 2*. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ประไพ ทองระอา ศิริลักษณ์ แก้วสุริยิต กานดา ฉัตรไชยศิริ กัลป์ยานี สุวิทวัส พิมพ์นิภา เพ็ญช่าง นิศารัตน์ ทวีนุต และภาสกร ศารทูลทัตติ. 2560. การใช้สารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยน้ำว้า ‘ปากช่อง 50’ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์* ปีที่ 4 ฉบับที่ 4 (ตุลาคม-ธันวาคม)

ประไพ ทองระอา ศิริลักษณ์ แก้วสุริยิต ณัฐนันท์ ไกรเลิศรัตนชัย และแววตา พลกุล. 2567. การพัฒนาผลิตภัณฑ์สารชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและเห็ดแดง. *เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการจัดการธาตุอาหารพืชในการผลิตพืชปลอดภัย*. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

สำนักวิจัยและพัฒนาอาชีวศึกษา. 2564. สารสกัดเห็ดแดง *Azolla ex*. แหล่งที่มา

<https://www.thailandinnovationportal.com/info/innovation/item/25581> สืบค้น: 25 มิถุนายน 2567

APHA, AWWA, and WEF. 2023. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 24th ed. Washington, DC: American Public Health Association. Method 1020: Quality Control.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2023. *Official Method of Analysis of AOAC International*. 22nd ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland, USA.

Chieh-Han Pu, Shao-Kai Lin, Wei-Chen Chuang and Tsyr-Horng Shyu. 2018. Modified QuEChERS method for 24 plant growth regulators in grapes using LC-MS/MS. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26:637-648.

EURACHEM. 2014. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2nd ISBN 978-91-87461-59-0.

Jumadi, O., F. Hiola, Y. Hala, J. Norton and K. Inubushi. 2014. Influence of *Azolla* (*Azolla microphylla* Kaulf.) compost on biogenic gas production, inorganic nitrogen and growth of upland Kangkong (*Ipomoea aquatica* Forsk.) in a silt loam soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 60: 722-730.

Kollmen, J. and D. Strieth. 2022. The beneficial effects of cyanobacterial co-culture on plant growth. *Life* 12(2): 223.

Moore, T.C. 1989. *Biochemistry and physiology of plant hormones*. Springer-Verlag. N.Y. 330 p.

NATA. 2018. *Nation Association Testing Authorities. General Accreditation Guidance-Validation and verification of Quantitative and Qualitative Test Methods*. Australia.

Zimmerman, WJ. 1985. Biomass and pigment production in three isolates of *Azolla* ll. Response to light and temperature stress. *Annals of Botany* 56: 701-709.

การศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน
ในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช
Study on the Amount of Plant Growth Regulators Cytokinins in Plant
Enhancement Products

เพชรรัตน์ ศิริวิ สุพิศสา ทองเขียว สุวลักษณ์ ไชยทอง ตวงพร อีระพิทยาพงศ์ สาทิดา โพน้อย
จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์ วรณรัตน์ ชุตินบุตร

Phetcharat Siriwi Supissa Thongkheaw Suwaluck Chaitong Tuangporn Teerapitthayapong
Sathida Phonoy Charirat Kusonwiriyawon Wannarut Chutibut

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This research is a study to determine the amount of plant growth regulators, the cytokinin group, such as zeatin, kinetin and 6-benzylaminopurine in plant enhancement products. The plant enhancement products this research were azolla and blue-green algae samples, which is used as a raw material for plant enhancement products. The samples were prepared by QuEChERS technique before analyzed by LC-MS/MS. The separation was carried out on gradient elution system, using 0.1% formic acid with acetonitrile as the mobile phase. All three plant growth regulators were eluted within 10 min. The results of method validation demonstrated that the linearity and working range of method in the range of 0.01-0.30 mg/L and a limit of quantitation was 0.01 mg/L. The validation results for accuracy and precision at limit of quantitation level concentrations passed the acceptance criteria according to the AOAC. From the determination of cytokinins in azolla and blue-green algae samples found that the amount of zeatin in azolla and blue-green algae samples were 0.993 and 0.48 $\mu\text{g/g-wet}$, while kinetin and 6-benzylaminopurine not detected in these samples. Therefore, the proposed method is applicable to analysis three plant growth regulators in plant enhancement product.

Keywords: Cytokinin; Azolla; Blue-green algae; Plant enhancement product; QuEChERS

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน ซีเอติน ไคเนติน และ 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน ในตัวอย่างແໜແຈງ และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งนำไปใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช โดยทำการสกัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยเทคนิค LC-MS/MS ที่มีสภาวะการแยกสารด้วยระบบ Gradient elution ที่ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น 0.1% Formic acid กับ Acetonitrile และใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์สารเพียง 10 นาที จากนั้นดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารกลุ่มไซโตไคนิน พบว่ามีค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณของทั้ง 3 สาร เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC จากการหาปริมาณสารกลุ่มไซโตไคนินในตัวอย่างແໜແຈງและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่ามีปริมาณสารซีเอตินเท่ากับ 0.993 และ 0.48 µg/g-สด ส่วนสารไคเนติน และ 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีนตรวจไม่พบในตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด วิธีนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนินทั้ง 3 สาร ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชได้

คำสำคัญ: ไซโตไคนิน; แห่นแดง; สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน; สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช; แคชเซอร์

บทนำ

เกษตรกรไทยในยุคปัจจุบันได้มีการนำผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชมาใช้ในการผลิตพืชปลอดภัยกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติ สรรพคุณ คุณประโยชน์ และมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของพืช รวมถึงสารไคโตซาน สารสกัดจากสาหร่าย กรดอะมิโนสำหรับพืช และสารอื่นที่มีลักษณะเดียวกันกับสารดังกล่าวข้างต้น ที่ไม่จัดเป็นปุ๋ยและวัตถุอันตรายตามกฎหมาย เนื่องจากการใช้ผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชมีประโยชน์หลายอย่างได้แก่ ลดค่าใช้จ่ายในการใช้ปุ๋ยเคมี สร้างความสมดุลให้ธาตุอาหารพืชในดินทำให้รากดูดซึมได้มากขึ้น ช่วยเพิ่มผลผลิต อีกทั้งไม่มีสารเคมีตกค้าง มีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ทำให้พืชผลทางการเกษตรมีความปลอดภัย ซึ่งพบว่าวัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช ได้แก่ แห่นแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เนื่องจากแห่นแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดี จัดเป็นปุ๋ยชีวภาพที่ถูกนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนและธาตุอาหารชนิดอื่นให้แก่พืช แห่นแดงเป็นหนึ่งในพืชที่สามารถเพิ่มชีวมวลได้รวดเร็ว โดยมีระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าเพียง 2-5 วัน หากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะสามารถเพิ่มปริมาณได้ถึง 40 เท่า จากน้ำหนักสดเริ่มต้น 80 กิโลกรัม เป็น 3,200 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ในระยะเวลาเพียง 2 สัปดาห์ (ศิริลักษณ์ และคณะ, 2565) ในขณะที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีองค์ประกอบของกรดอะมิโน และสารคลอโรฟิลล์ในพืชในกลุ่มออกซิน ไซโตไคนิน และจิบเบอเรลลิน ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (ประไพ และคณะ, 2560) โดยไซโตไคนินจัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มหนึ่ง ซึ่งใช้ประโยชน์ในทางการเกษตร และพืชสามารถสร้างสารไซโตไคนินขึ้นมาเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้คือสารซีเอติน (Zeatin) ส่วนสารสังเคราะห์ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ ไคเนติน (Kinetin) และ 6-benzylaminopurine (6-BAP) สารในกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการเจริญทางด้านลำต้นของพืช กระตุ้นการเจริญเติบโตของตาข้าง และยังมีผลเล็กน้อยต่อการพัฒนาของผล และมีการนำมาใช้กันมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของก้อนแคลลัส (Callus) ให้เติบโตขึ้นมาเป็นลำต้น (ฟิรเดซ, 2537) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้มีการศึกษาหาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ สาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่าง

แผนแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักที่นำไปใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชแบบอัดเม็ด เพื่อให้ทราบถึงข้อมูลของปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนินที่มีอยู่ในตัวอย่างแผนแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องลิกวิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (LC-MS/MS: ExionLC™ และ Sciex 4500 Triple Quadrupole) เครื่องซังไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง เครื่องปั่นเหวี่ยง และเครื่อง Ultrasonic bath
2. เครื่องแก้วและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ขวดแก้วปริมาตร, ปีกเกอร์, กระบอกตวง, ชุดกรองสารละลาย Mobile phase, Syringe, Vial, Column Phenomenex Synergi fusion RP (80 Å 50 x 2 mm., 4 µm), Nylon Syringe filter 0.22 µm, Nylon membrane filter 0.22 µm และ Centrifuge tube, Auto pipette 200, 1000 และ 5000 µL
3. สารมาตรฐานและสารเคมี ได้แก่ Zeatin 96.0%, Kinetin 99.5%, 6-Benzylaminopurine (6-BAP) 99.0%, Formic acid (FA) >98%, Acetic acid >99%, Methanol >99%, Acetonitrile >99%, Magnesium sulfate anhydrous (MgSO₄) >98%, Primary secondary amine (PSA), ชุดสกัดสารชนิด QuEChERS Mix I ประกอบด้วย สาร MgSO₄ anhydrous 4 g, NaCl 1 g, Na₂H-citrate:1.5 H₂O 0.5 g และ Na₃-citrate:2 H₂O 1 g (8:2:1:2, w/w/w/w)
4. ผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช ได้แก่ แผนแดง (*Azolla microphylla* Kaulf.) และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (*Hapalosiphon* sp. DASH05101)

วิธีการ

1. ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ในการตรวจวัดสารกลุ่มไซโตไคนิน
ปรับตั้งสภาวะการทำงานของเครื่อง LC ในการวิเคราะห์สาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ภายใต้สภาวะที่ได้ตามวิธีของ สุพิศสา และคณะ (2565) จากนั้นทำการปรับสภาวะของเครื่อง MS ให้มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์สารทั้ง 3 ชนิด ก่อนการวิเคราะห์ เช่น พลังงานที่ใช้ในการกำจัดสิ่งที่ไม่ต้องการ (DP) พลังงานที่ใช้ในการผลักไอออนของสารที่สนใจ (ตัวแม่) ให้เข้าสู่ Q1 (EP) และพลังงานที่ใช้ในการชนไอออนตัวแม่ให้แตกตัวเป็นไอออนที่เล็กลง (ตัวลูก) (CE) เป็นต้น
2. ศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างแผนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
 - 2.1 การเตรียมตัวอย่างแผนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินก่อนการนำไปสกัดด้วยเทคนิค QuEChERS
 - 2.1.1 ตัวอย่างแผนแดงสด นำตัวอย่างมาปั่นด้วยเครื่องปั่นพืชเพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยการใช้ไนโตรเจนเหลว (Liquid N₂)
 - 2.1.2 ตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน นำตัวอย่างมากรองด้วยผ้ากรองแพลงก์ตอนที่มีขนาด 50 ไมครอน ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำมาบดด้วยโกร่งบดตัวอย่างให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน
 - 2.2 วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS (Chieh-Han et al., 2018)
 - 2.2.1 ซังตัวอย่างที่ปั่นเป็นเนื้อเดียวกันจำนวน 10 กรัม เติมด้วย 1% Formic acid ใน Methanol ต่อ Acetonitrile (4:1, v/v) เขย่าแรงๆให้เข้ากัน เป็นเวลา 1 นาที

2.2.2 จากนั้นเติม Salt mixture (QuEChERS Mix I) จำนวน 6.5 กรัม ที่ประกอบด้วยสาร (MgSO_4 , NaCl , Trisodium citrate dehydrate และ Disodium hydrogen citrate sesquihydrate (8:2:2:1, w/w/w/w) ลงไป จากนั้นเขย่าแรงๆ ให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที

2.2.3 นำตัวอย่างที่ผสมแล้วไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 15 °C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นจะได้ส่วนที่เป็น Supernatant ออกมา

2.2.4 นำสารละลายตัวอย่างส่วนที่เป็น Supernatant ปริมาตร 6 มิลลิลิตร เติมสาร PSA จำนวน 150 มิลลิกรัม และสาร MgSO_4 จำนวน 900 มิลลิกรัม จากนั้นเขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที

2.2.5 นำสารละลายที่ได้ไปทำการ Clean up ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 15 °C เป็นเวลา 5 นาที

2.2.6 ทำการละลายตัวอย่างที่ได้ด้วย 0.1% FA (หากต้องการ Dilute ตัวอย่าง)

2.2.7 นำตัวอย่างที่ได้กรองด้วย 0.22 μm PVDF filter ก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS

3. ตรวจสอบความใช้ได้เชิงคุณภาพของการวิเคราะห์สารกลุ่มไซโตไคนิน

3.1 ศึกษาผลของ Matrix effect ของวิธีทดสอบ

3.1.1 ทำการทดสอบ Matrix calibration curve เปรียบเทียบกับ Standard calibration curve ของสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 7 ระดับความเข้มข้น ที่ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

3.1.2 แบ่งชุดทดสอบออกเป็น 3 ชุด ชุดแรกเตรียมในสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) และชุดที่ 2 เตรียมใน Matrix ของตัวอย่างแทนแดง และชุดที่ 3 เตรียมใน Matrix ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

3.1.3 ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป (แกน x) กับค่าพื้นที่ใต้พีคที่อ่านได้จากเครื่อง LC-MS/MS (แกน y)

3.1.4 หาค่าความชัน (Slope) ที่ได้จากสมการเส้นตรงของชุดการทดสอบที่ 2 และ 3 มาเปรียบเทียบกับชุดการทดสอบที่ 1 โดยพิจารณาค่า %ความแตกต่างของ slope ในการเปรียบเทียบ ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับ < 10% ตามมาตรฐาน NATA (2018)

3.2 หาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

3.2.1 ทำการทดสอบสารมาตรฐาน Zeatin Kinetin และ 6-BAP ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

3.2.2 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานกับค่าพื้นที่ใต้พีคที่อ่านได้จากเครื่อง LC-MS/MS

3.2.3 พิจารณาค่าที่เป็นเส้นตรงคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$ ตาม AWWA (2023)

3.3 หาค่า Limit of Detection (LOD) และค่า Limit of Quantitation (LOQ)

3.3.1 ทำการทดสอบตัวอย่างแทนแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบ 10 ซ้ำต่างเวลากัน

3.3.2 บันทึกข้อมูลคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตรวิธีของ EURACHEM (2025)

$$\text{LOD} = \bar{X}_b + 3S'_0$$

$$\text{LOQ} = \bar{X}_b + 10S'_0$$

3.4 ทำการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ

3.4.1 ทำการทดสอบสารมาตรฐาน Zeatin Kinetin และ 6-BAP ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ดำเนินการทดสอบตามวิธีทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ต่างเวลา

3.4.2 นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติ ประเมินค่าความถูกต้อง โดยพิจารณาค่า Recovery ต้องอยู่ในช่วง 60-115% และประเมินความเที่ยง โดยพิจารณาจากค่า HorRat ≤ 1.3 ตามมาตรฐาน AOAC (2023) โดยสามารถคำนวณหาค่า %Recovery และค่า HorRat ได้ดังนี้

1) หาค่า %Recovery จากสูตร

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้} \times 100}{\text{ค่าความเข้มข้นที่แน่นอนได้จากการทดสอบ}}$$

2) หาค่า HorRat จากสูตร

$$\text{HorRat} = \frac{(\text{found})\text{RSD}}{(\text{Predicted})\text{RSD}}$$

โดยที่

$$(\text{found}) \text{RSD} = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

$$(\text{Predicted}) \text{RSD} = 2 \times C^{(-0.1505)}$$

$$C = \text{Concentration ratio } (C = \frac{\bar{x}}{10^6})$$

เมื่อ

(found) RSD หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

(Predicted) RSD หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่คำนวณจาก Horwitz equation

C หมายถึง ความเข้มข้นของสาร

SD หมายถึง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\bar{x}$ หมายถึง ค่าเฉลี่ยจากการทำซ้ำ

3.5 วิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มไซโตไคนิน (Zeatin Kinetin และ 6-BAP) ในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช ได้แก่ ตัวอย่างเหินแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

3.6 คำนวณผลการทดสอบ ประเมินผล และรวบรวมผลการทดสอบ

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2566 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยพืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิเวศวิทยาเทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ในการการวิเคราะห์สารกลุ่มไซโตไคนิน

จากการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ตามวิธีของ สุพิศสา และคณะ (2565) ในการแยกสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน (Table 1) และมีสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง MS ดัง Table 2-3 จากสภาวะดังกล่าว สามารถแยกสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ได้ โดยมีค่า Retention time (R_t) ของสารทั้ง 3 ชนิด ที่เวลา 1.04 1.74 และ 2.56 นาที ตามลำดับ และมีโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารภายใต้สภาวะดังกล่าว ดัง Figure 1-3

Table 1 Optimum conditions of LC instrument for cytokinin analysis (zeatin kinetin and 6-BAP)

Parameters	Conditions
Column:	Phenomenex Synergi fision RP 80 A° 50 x 2 mm., 4 μ m
Column temperature:	40 °C
Mobile phase:	Gradient Program: (A=0.1%Formic acid : B=Acetonitrile) 0-1 min (A:B ratio = 95:5), 1-4 min (A:B ratio = 5:95), 4-6 min (A:B ratio = 5:95), 6-8 min (A:B ratio = 95:5), 8-10 min (A:B ratio = 95:5)
Flow rate:	300 μ L /min.
Injection volume:	5 μ l
Run Time:	10 min.

Table 2 Optimum conditions of MS instrument for cytokinin analysis (zeatin kinetin and 6-BAP)

Parameters	Conditions
Ionization mode	Electrospray ionization (ESI) Positive-Negative mode
Curtain gas	25 psig
Collision gas	9 psig
Ion Spray Voltage	Positive (5500 V) Negative (-4500 V)
Temperature	500 °C
Ion Source (Gas1)	50 psig
Ion Source (Gas2)	60 psig
MS/MS Scan Parameter	Multi Reaction Monitoring (MRM)

Table 3 MRM precursor/product ion transitions for 3 plant growth regulators via electrospray ionization

Analytes	Precursor ion (Q1)	Scan mode	Product ion (Q3)	DP	EP	CE	Cxp
Zeatin	220.1	Positive	136.1	56	7	26	10
			148	56	7	23	11
Kinetin	216	Positive	81	38	8	34	8
			148	38	8	18	11
6-BAP	224	Negative	133	-92	-9	-28	-8
			106	-92	-9	-45	-10

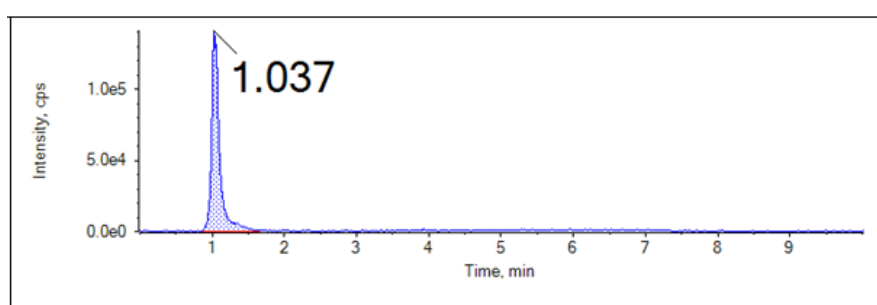


Figure 1 Chromatograms of zeatin standard solution containing 0.01 mg/L under the optimized conditions

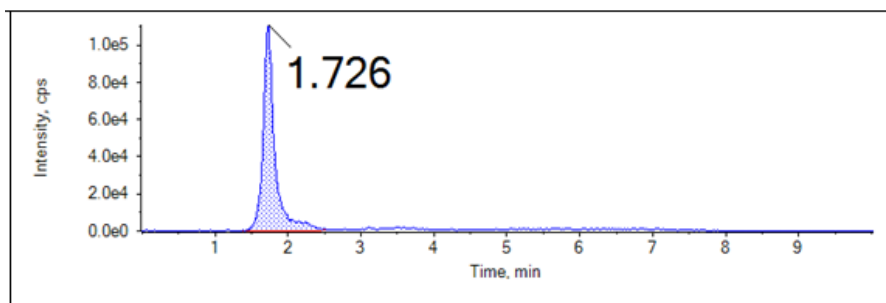


Figure 2 Chromatograms of kinetin standard solution containing 0.01 mg/L under the optimized conditions

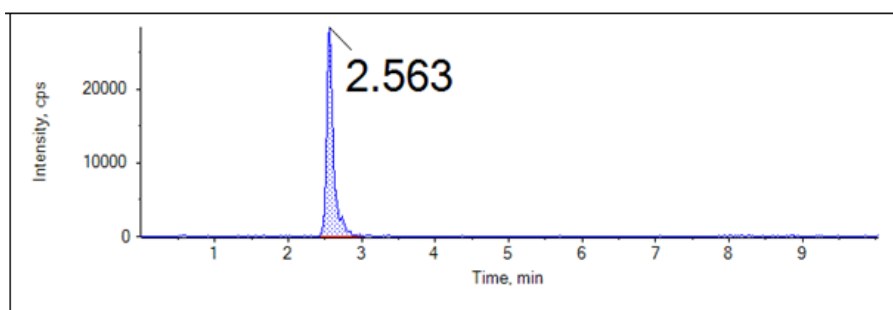


Figure 3 Chromatograms of 6-BAP standard solution containing 0.01 mg/L under the optimized conditions

2. ผลการศึกษาวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS

จากการศึกษาวิธีการสกัดตัวอย่างแห้งและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินด้วยเทคนิคการสกัดแบบ QuEChERS ในการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มไซโตไคนิน Zeatin Kinetin และ 6-BAP พบว่าวิธีการสกัดสารด้วยชุดสกัดสารชนิด QuEChERS Mix I ซึ่งประกอบด้วยสาร MgSO_4 anhydrous จำนวน 4 กรัม, NaCl จำนวน 1 กรัม, $\text{Na}_2\text{H-citrate}:1.5 \text{ H}_2\text{O}$ จำนวน 0.5 กรัม และ $\text{Na}_3\text{-citrate}:2 \text{ H}_2\text{O}$ จำนวน 1 กรัม (8:2:1:2, w/w/w/w) และทำการ Clean up ด้วย สาร PSA จำนวน 150 มิลลิกรัม และสาร MgSO_4 จำนวน 900 มิลลิกรัม ได้ค่า %Recovery ในการสกัดสารทั้ง 3 ชนิด ในตัวอย่างแห้ง อยู่ในช่วง 88.10-100.48 และตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน อยู่ในช่วง 92.37-105.91 ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023)

3. ผลการตรวจสอบความใช้ได้เชิงคุณภาพของการวิเคราะห์สารกลุ่มไซโตไคนิน

3.1 ผลการศึกษา Matrix effect ของวิธีทดสอบ

3.1.1 ผลการศึกษา Matrix effect ของวิธีทดสอบตัวอย่างแห้ง

จากผลการทดสอบ Matrix Effect ในตัวอย่างแห้งที่มีผลต่อการวิเคราะห์สาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP พบว่าในตัวอย่างแห้งมีค่า %ความแตกต่างของ slope เท่ากับ 81.18, 23.29 และ 69.74 ตามลำดับ (Table 4) โดยพบว่าผลการทดสอบ Matrix Effect ของสารทั้ง 3 ชนิด ในตัวอย่างแห้งมีค่า %ความแตกต่างของ slope มากกว่าเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) (<10%) ดังนั้นในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างแห้งจำเป็นต้องมีการเตรียม Calibration curve ใน Matrix ของตัวอย่างแห้ง เพื่อให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้ไม่แตกต่างกัน

Table 4 Slope of the linear equation from standard solution of zeatin kinetin and 6-BAP compared with spike standard solution in azolla samples

Type of PGRs	Equation		Slope		% Difference of slopes
	Solvent	Matrix	Solvent	Matrix	
Zeatin	$y = 91,037,714.9x + 1,270,485.5$ $r=0.995$	$y = 17,136,633.3x - 157,746.6$ $r=0.998$	91,037,714.9	17,136,633.3	81.18
	$y = 115,419,353.0x + 1,165,692.9$ $r= 0.996$	$y = 88,537,610.75x - 424,329.8$ $r= 0.999$	115,419,353.0	88,537,610.8	23.29
6-BAP	$y = 21,136,330.2x + 20,313.2$ $r=0.998$	$y = 6,396,904.52x + 21,737.4$ $r=0.995$	21,136,330.2	6,396,904.5	69.74

3.1.2 ผลการศึกษา Matrix effect ของวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

จากผลการทดสอบ Matrix Effect ในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีผลต่อการวิเคราะห์สาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP พบว่าในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีค่า %ความแตกต่างของ slope เท่ากับ 34.65, 22.44 และ 1.27 ตามลำดับ (Table 5) ซึ่งผลการทดสอบ Matrix Effect ของสารทั้ง 3 ชนิดในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพบว่าสาร Zeatin และ Kinetin ในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีค่า %ความแตกต่างของ slope มากกว่าเกณฑ์การยอมรับ ส่วนผลการทดสอบสาร 6-BAP มีค่า %ความแตกต่างของ slope อยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) (<10%) ดังนั้นในการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสาร Zeatin

Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำเป็นต้องมีการเตรียม Calibration curve ใน Matrix ของตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพื่อให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้ไม่แตกต่างกัน

Table 5 Slope of the linear equation from standard solution of zeatin kinetin and 6-BAP compared with spike standard solution in blue-green algae samples

Type of PGRs	Equation		Slope		% Difference of slopes
	Solvent	Matrix	Solvent	Matrix	
Zeatin	$y = 44,922,816.5x - 67,872.4$	$y = 29,356,325.8x - 376,153.4$	44,922,816.5	29,356,325.8	34.65
	$r=0.998$	$r=0.996$			
Kinetin	$y = 57,080,869.2x + 88,950.8$	$y = 43,132,665.8x - 310,161.1$	57,080,869.2	43,132,665.8	22.44
	$r= 0.998$	$r= 0.998$			
6-BAP	$y = 10,097,310.0x - 57,428.6$	$y = 9,968,894.9x - 55,260.9$	10,097,310.0	9,968,894.9	1.27
	$r=0.998$	$r=0.996$			

3.2 ผลการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

ผลการทดสอบหาค่า Linearity และ Working range ของวิธีทดสอบสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างแห้งและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้ค่า Linearity และ Working range อยู่ในช่วง 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบว่าสารทั้ง 3 ชนิด มีค่า Correlation Coefficient (r) ที่ได้จากการทดสอบมากกว่า 0.995 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AWWA (2023) ($r \geq 0.995$) (Table 6-7)

Table 6 Correlation coefficient (r) equation of zeatin kinetin and 6-BAP in azolla samples

Type of PGRs	Equation	Correlation coefficient (r)
Zeatin	$y = 17,136,633.294x - 157,746.643$	0.99793
Kinetin	$y = 88,537,610.752x - 424,329.819$	0.99948
6-BAP	$y = 6,396,904.519x + 21,737.254$	0.99513

Table 7 Correlation coefficient (r) equation of zeatin kinetin and 6-BAP in blue-green algae samples

Type of PGRs	Equation	Correlation coefficient (r)
Zeatin	$y = 29,356,325.794x - 376,153.393$	0.99610
Kinetin	$y = 43,132,665.773x - 310,161.059$	0.99801
6-BAP	$y = 9,968,894.858x - 55,260.860$	0.99619

3.3 ผลการหาค่า Limit of Detection (LOD) และค่า Limit of Quantitation (LOQ)

จากการหาค่า LOD และ LOQ ของสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ได้ค่า LOD ของสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP เท่ากับ 0.002, 0.002 และ 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Table 8) และทั้ง 3 สาร มีค่า LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร จากผลการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ โดยการหาค่า Recovery และการประเมินค่า HorRat ของสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP พบว่าทั้ง 3 สารได้ค่า %Recovery เท่ากับ 91.45, 97.05 และ 98.20 ตามลำดับ และมีค่า HorRat เท่ากับ 0.26, 0.20 และ 0.18 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบที่ได้ทุกค่าผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023) ดังนั้นวิธีทดสอบดังกล่าวมีทั้งความถูกต้อง และความเที่ยงที่ระดับ LOQ (Table 9)

3.4 หาปริมาณสารสารกลุ่มไซโตไคนิน (Zeatin Kinetin และ 6-BAP) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

จากการหาปริมาณสารกลุ่มไซโตไคนิน Zeatin Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างแห้งและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่าในตัวอย่างแห้งมีปริมาณสาร Zeatin เท่ากับ 0.993 µg/g-สด ส่วนสาร Kinetin และ 6-BAP ตรวจไม่พบในตัวอย่าง และในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพบปริมาณสาร Zeatin เท่ากับ 0.48 µg/g-สด ส่วนสาร Kinetin และ 6-BAP ตรวจไม่พบในตัวอย่าง จากการทดสอบหาค่าความถูกต้องในการวิเคราะห์หาสารทั้ง 3 ชนิด โดยการพิจารณาค่า %Recovery ที่ได้จากการ Spike สารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด ลงไปในตัวอย่างแห้งและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่าค่า %Recovery ของทั้ง 3 สาร ที่เติมลงไปในตัวอย่างไม่ถึง 2 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 89.46-107.79 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023) (80-110%)

Table 8 Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of zeatin kinetin and 6-BAP

Number of repetitions	Zeatin	Kinetin	6-BAP
	Conc. of Sample blank (mg/L)	Conc. of Sample blank (mg/L)	Conc. of Sample blank (mg/L)
1	0.0028	0.0024	0.0008
2	0.0053	0.0025	0.0034
3	0.0053	0.0027	0.0034
4	0.0052	0.0047	0.0034
5	0.0056	0.0046	0.0034
6	0.0061	0.0046	0.0034
7	0.0056	0.0046	0.0034
8	0.0062	0.0046	0.0034
9	0.0059	0.0046	0.0034
10	0.0059	0.0046	0.0034
Mean	0.00539	0.00399	0.00314
SD	0.00097	0.00101	0.00082
S ₀	0.001	0.001	0.00047
LOD	0.007	0.006	0.005
LOQ	0.01	0.01	0.01

หมายเหตุ S₀ = SD/√n

Table 9 Trueness and precision at the limit of quantitation (LOQ) concentration level of zeatin kinetin and 6-BAP

Number of repetitions	Zeatin		Kinetin		6-BAP	
	Conc. (mg/L)	%Recovery	Conc. (mg/L)	%Recovery	Conc. (mg/L)	%Recovery
1	0.0092	90.27	0.0091	89.21	0.0099	97.81
2	0.0090	88.31	0.0093	91.17	0.0097	95.83
3	0.0090	88.31	0.0098	96.07	0.0099	97.81
4	0.0084	82.42	0.0094	92.15	0.0096	94.85
5	0.0092	90.27	0.0098	96.07	0.0102	100.77
6	0.0086	84.39	0.0094	92.15	0.0107	105.71
7	0.0108	105.97	0.0101	99.01	0.0104	102.75
8	0.0105	103.03	0.0109	106.85	0.0090	88.92
9	0.0097	95.18	0.0105	102.93	0.0093	91.88
10	0.0088	86.35	0.0107	104.89	0.0107	105.71
MEAN	0.0093	91.45	0.0099	97.05	0.0099	98.20
SD	0.0008		0.0006		0.0006	
%RSD	8.46		6.35		5.71	
HorRat	0.26		0.20		0.18	

สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ สาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างเห็ดแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่นำไปใช้วัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช โดยทำการสกัดสารตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด ด้วยเทคนิค QuEChERS และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยเทคนิค LC-MS/MS ที่มีสภาวะการแยกสารด้วยระบบ Gradient elution ที่ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น 0.1% Formic acid กับ Acetonitrile ซึ่งใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์สารทั้ง 3 ชนิด เพียงเวลา 10 นาที และได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารกลุ่มไซโตไคนิน จากผลการทดสอบ พบว่ามีค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณของทั้ง 3 สาร เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีผลการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC จากผลการทดสอบ Matrix effect ของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างเห็ดแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่ามีค่า %ความแตกต่างของ slope ที่ได้จากการทดสอบมากกว่า 10% ซึ่งมีค่ามากกว่าเกณฑ์การยอมรับของ NATA (2018) (<10%) ยกเว้นสาร 6-BAP ที่ทำการทดสอบในตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีค่า %ความแตกต่างของ slope เท่ากับ 1.27% ดังนั้นในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Zeatin Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างเห็ดแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำเป็นต้องมีการเตรียม Calibration curve ใน Matrix ของตัวอย่าง เพื่อให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้ไม่แตกต่างกัน จากการหาปริมาณสารกลุ่มไซโตไคนินในตัวอย่างเห็ดแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่ามีปริมาณสาร Zeatin ในตัวอย่างเห็ดแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเท่ากับ 0.993 และ 0.48 µg/g-สด ตามลำดับ ส่วนสาร Kinetin และ 6-BAP ตรวจไม่พบในตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด ดังนั้นวิธีทดสอบดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย และขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ที่ให้คำปรึกษา และข้อเสนอแนะ ตลอดการทำงานวิจัยที่ทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณนางสาวศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ และนางประไพ ทองระอา นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างแห้งและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมาใช้ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลคุณภาพและปริมาณฮอร์โมนพืชกลุ่มไซโตไคนิน Zeatin Kinetin และ 6-BAP ในตัวอย่างแห้งและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่นำไปใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช
2. เป็นข้อมูลที่น่าไปใช้ในการสนับสนุนการผลิตผลิตภัณฑ์แห้งร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ด ของกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานอื่นๆ ที่สนใจได้

เอกสารอ้างอิง

- ประไพ ทองระอา ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต กานดา ฉัตรไชยศิริ กัลป์ยานี สุวิทวัส พิมพนิภา เพ็ญช่าง นิสารัตน์ ทวีนุต และภาสกร ศารทูลทัตติ. 2560. การใช้สารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยน้ำว้า “ปากช่อง 50” จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 4 ฉบับที่ 4 (ตุลาคม-ธันวาคม)
- พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอร์โมนและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศ. วิจัยการพิมพ์ กรุงเทพฯ.
- ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต ญัฐนันท์ ไกลเลิศรัตนชัย แววดา พลกุล ประไพ ทองระอา นิสารัตน์ ทวีนุต พชรินทร์ นามวงศ์ วนิดา โนบรเทศา และ ศุภกาญจน์ ล้วนมณี . 2565 การผลิตผลิตภัณฑ์แห้งร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ด. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร พิมพ์ครั้งที่ 1 ISBN 978-974-436-979-6.
- สุพิศสา ทองเขียว เพชรรัตน์ ศิริวิ สุวลักษณ์ ไซยทอง และ สาธิตา โพธิ์น้อย. 2565. ศึกษาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีคัดกรองสารกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนิน ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรโดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS/MS) งานประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 19 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2023. Official Method of Analysis of AOAC International. 22nd Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland, USA.
- AWWA, APHA, WEF. 2023. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 24th edition 2023.

- Chieh-Han Pu, Shao-Kai Lin, Wei-Chen Chuang and Tsyr-Horng Shyu. 2018. Modified QuEChERS method for 24 plant growth regulators in grapes using LC-MS/MS. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26:637-648.
- EURACHEM. 2025. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Third edition 2025.
- NATA.2018. *Nation Association Testing Authorities. General Accreditation Guidance-Validation and verification of Quantitative and Qualitative Test Methods*. Australia.

การศึกษาและประเมินคุณภาพกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช
จากแหล่งจำหน่าย

Study and Quality Assessment of Amino acid in Enhancing Plant Growth
Product from Selling in Market

สุพิศสา ทองเขียว เพชรรัตน์ ศิริวิ สุวลักษณ์ ไชยทอง ตวงพร อีระพิทยาพงศ์ สาทิดา โพน้อย
วรรณรัตน์ ชุตินบุตร จรรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

Supissa Thongkheaw Phetcharat Siriwi Suwaluck Chaitong Tuangporn Teerapittayapong
Sathida Phonoi Wannarat Chutibut Charirat Kusonwiriya Wong

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Study and evaluation of amino acid quality in plant enhancer products analytical method of amino acids was developed for 18 amino acids using high performance liquid chromatography technique. The 18 amino acids were derivatized and separating with AccQ-Tag C18 column (5 μ m, 4.6 mm x 150 mm) in reverse phase system. The appropriate conditions for gradient elution separation and validation of the method include finding the specificity of the method, LOD, LOQ, linearity working range and analyzing the amount of amino acids from samples of amino acid products, seaweed extracts and natural extracts containing amino acids. From the validation of the method, it was found that this analytical method is specific to both liquid and powder samples. The 18 amino acids have LOD values in the range of 0.001-0.009 mg/L and LOQ values in the range of 0.1-1.0 mg/L. The results of the validation and precision at the LOQ level passed the acceptance criteria according to the AOAC from the analysis of free amino acids in enhancing plant growth products randomly collected from agricultural chemical stores, totaling 55 samples, which can be separated into 8 groups based on the type, characteristics, composition as labeling of the samples. The amino acid analysis results showed that different amino acid contents in each sample groups. The quality assessment of the amino acid enhancing plant growth products revealed high deviations in the amount of amino acids detected compared to the concentration or amount specified on the label. The amount of sample from all samples was 11.76%, with an tolerance criteria range of 5-10% of the amount specified on the label. In addition, there were products made from algae extracts, fish amino acids, or amino acids from other sources, accounting for 69% of all samples, that could not be determined. The results of this research can be used as preliminary data to support the determination of tolerance criteria for products, which is a guideline to be used in controlling the quality of amino acid enhancing plant growth products to supporting product label control.

Keywords: Quality assessment; Amino acid; Enhancing plant growth product

บทคัดย่อ

การศึกษาและประเมินคุณภาพกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช โดยวิเคราะห์กรดอะมิโนด้วยเทคนิคลิโครมาโทกราฟี จากการเตรียมอนุพันธ์กรดอะมิโนจำนวน 18 ชนิด และแยกสารด้วยคอลัมน์ AccQ-Tag C18 (5 µm, 4.6 mm x 150 mm) ในระบบ Reverse phase สภาพที่เหมาะสมในการแยกแบบ Gradient elution และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ได้แก่ ความจำเพาะเจาะจงของวิธี LOD LOQ และพิสูจน์ความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับ LOQ จากนั้นดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์กรดอะมิโน สารสกัดสาหร่าย และสารสกัดธรรมชาติที่มีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบ ที่ได้จากการสุ่มเก็บตัวอย่างจากแหล่งจำหน่ายในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความจำเพาะเจาะจงกับตัวอย่างทั้งชนิดของเหลวและชนิดผง วิธีวิเคราะห์กรดอะมิโน มีค่า LOD อยู่ในช่วง 0.001-0.009 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ ผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC และการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชที่สุ่มเก็บจากร้านค้าเคมีเกษตร จำนวน 55 ตัวอย่าง สามารถแยกออกได้เป็น 8 กลุ่ม ตามชนิด ลักษณะ องค์ประกอบที่ระบุบลากของตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีปริมาณกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน และจากการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชประเภทกรดอะมิโน พบว่าปริมาณของกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์ที่ตรวจพบมีความคลาดเคลื่อนสูงเมื่อเทียบกับความเข้มข้นหรือปริมาณที่ระบุบนฉลาก จำนวนตัวอย่างจากทั้งหมดที่ระบุความเข้มข้นบนฉลากคิดเป็น 11.76 เปอร์เซ็นต์ มีเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 5-10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณที่ระบุ นอกจากนี้ยังพบว่ากรดอะมิโนจากผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารสกัดสาหร่าย กรดอะมิโนจากปลา หรือกรดอะมิโนที่ได้แหล่งอื่นๆ คิดเป็น 69 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด ยังไม่สามารถที่จะระบุค่าคลาดเคลื่อนได้ จากผลของงานวิจัยนี้จึงเป็นเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อนำไปใช้เพื่อสนับสนุนการกำหนดเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนให้กับผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นแนวทางที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชประเภทกรดอะมิโนเพื่อรองรับการควบคุมฉลากสินค้าได้

คำสำคัญ: ประเมินคุณภาพ; กรดอะมิโน; ผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

คำนำ

การปลูกพืชแบบเกษตรอินทรีย์มีกระแสนิยมเพิ่มมากขึ้น เกษตรกรจึงให้ความสนใจและกลับมาปลูกพืชในระบบเกษตรอินทรีย์กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากการให้ความสำคัญกับคุณภาพและความปลอดภัยด้านอาหารของทั้งผู้ผลิต ผู้บริโภค รวมถึงการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน เกษตรกรจึงต้องเลือกใช้ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่เป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เช่น สารชีวภัณฑ์ สารสกัดสารอินทรีย์หรือที่ได้จากสิ่งมีชีวิต จะมีสารจำพวกวิตามิน ฮอโมน แร่ธาตุ กรดอะมิโนต่างๆ เป็นองค์ประกอบ โดยมีการผลิตและวางจำหน่ายตามร้านค้าเคมีเกษตร จำหน่ายด้วยระบบขายตรง และระบบออนไลน์ทั่วไป เนื่องจากปัจจุบันเกษตรกรประสบปัญหาปุ๋ยเคมีมีราคาแพง จึงทำให้เกษตรกรนิยมใช้ปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่เป็นอินทรีย์ทดแทนเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ผู้ประกอบการที่มองเห็นช่องทางกำไรที่ตอบรับกับเกษตรอินทรีย์ได้ผลิตและจำหน่ายปัจจัยการผลิตทางการเกษตรเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้เล็งเห็นความสำคัญจากปัญหาที่เกิดขึ้น จึงได้มีการศึกษากระบวนการผลิตและใช้สารสกัดเพิ่มประสิทธิภาพพืชและลดการใช้ปุ๋ยเคมีลง เช่น การใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยน้ำว้า ซึ่งในสารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช มีกรดอะมิโน 16 ชนิด และสารคลอโรฟิลล์

Indoleacetic acid (IAA) และ Cytokinin เป็นต้น (ประไพ และคณะ, 2560) และยังมีการศึกษาผลของสารสกัดสำหรับสี่เหลี่ยมเงินต่อการเจริญเติบโตข้าว พบว่า การใช้สารสกัดสำหรับระยะกล้าร่วมกับการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ข้าวมีการแตกกอมากกว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างเดียว (ประไพ และคณะ, 2553)

จากการสำรวจและตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ของวัตถุดิบการเกษตรที่ผ่านมา พบร้านค้าเคมีเกษตรมีการวางจำหน่ายปัจจัยการผลิตประเภทสารอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยส่วนใหญ่จะเป็นผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชประกอบด้วย สารสกัดสำหรับ ไคโตซาน และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อพืช ซึ่งผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชนั้นมีจำนวนมากถึงร้อยละ 80 ของผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่าย ที่ยังพบว่าการอ้างสรรพคุณและคุณสมบัติบนฉลากเกินจริง และยังไม่ได้มีการทดสอบคุณสมบัติและหาปริมาณสาร ออกฤทธิ์ที่ระบุบนฉลากว่ามีหรือเป็นตามที่ระบุไว้บนฉลากหรือไม่ ปัจจุบันได้มีประกาศของคณะกรรมการว่าด้วยฉลาก เรื่องให้ผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชเป็นสินค้าที่ควบคุมฉลาก (ราชกิจจานุเบกษา, 2565) ดังนั้นจะต้องมีข้อกำหนดกฎหมายเข้ามารองรับเพื่อป้องกันการเอาเปรียบเกษตรกรผู้บริโภคได้ การวิเคราะห์กรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด จะทำให้ได้ซึ่งข้อมูลที่สามารถนำมาจัดกลุ่มประเภท ลักษณะและปริมาณสารในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากวัสดุหลักต่างๆ จากธรรมชาติ และผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชแต่ละชนิด เพื่อจัดทำเป็นข้อมูลคุณภาพผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช ซึ่งนำไปใช้เพื่อลดข้อโต้แย้งทางกฎหมายของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่สารวัตรเกษตร สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร เป็นข้อพิจารณาในเรื่องของการดำเนินคดีตามกฎหมายที่เกี่ยวข้อง และจัดทำเป็นเกณฑ์กำหนดคุณภาพผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชเพื่อรองรับการควบคุมฉลากสินค้า อีกทั้งข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยดังกล่าวสามารถนำไปเผยแพร่และให้คำแนะนำเกษตรกรให้ได้เลือกใช้ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีคุณภาพและใช้ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องลิควิดโครมาโทกราฟี (High performance liquid chromatograph (HPLC)) ยี่ห้อ Waters รุ่น Alliance 2695 ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Fluorescence
2. เครื่องมืออื่นๆ ได้แก่ เครื่องซังไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง เครื่องอัลตราโซนิก ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) และเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) เครื่องบดตัวอย่าง (Grinder)
3. อุปกรณ์การกรอง ได้แก่ Pump เครื่องแก้วกรองสาร ขวดปริมาตร และกระดาษกรอง 0.22 ไมครอนเมตร
4. ปิเปตอัตโนมัติ ขนาด 10-100 20-200 และ 1000 ไมโครลิตร
5. เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น Desiccator Volumetric Flask Class A Beaker Syringe และ Recovery vial ขนาด 1 มิลลิลิตร เป็นต้น
6. วัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น Column C18 Syringe filter ชนิด Polyvinylidene fluoride (PVDF) ตะแกรงร่อนมาตรฐาน (Sieve) และ Centrifuge tube เป็นต้น
7. สารมาตรฐานกรดอะมิโน ความเข้มข้น >99.0%
8. ชุดเตรียมอนุพันธ์กรดอะมิโน ประกอบด้วย 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) Acetonitrile และ Borate buffer
9. สารเคมี ได้แก่ Acetonitrile ชนิด HPLC grade สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับเตรียม Mobile phase (Sodium acetate trihydrate+Triethylamine) และ 0.1 N Hydrochloric
10. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

วิธีการ

1. การเตรียมสาร

1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 18 ชนิด ได้แก่ Alanine, Arginine, Aspartic acid, Cysteine, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tyrosine, Tryptophan และ Valine ในสารละลาย 0.1 N HCl โดยเตรียม Stock standard ที่ความเข้มข้นประมาณ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.1.2 เตรียมสารมาตรฐานกรดอะมิโนผสม ของ Working standard กรดอะมิโน Alanine, Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tyrosine และ Valine ที่ความเข้มข้น 0.05-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนกรดอะมิโน Cysteine เตรียมความเข้มข้นในช่วง 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan เตรียมความเข้มข้น 0.5-10 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับทำเป็น Standard calibration curve และ Spike ลงในตัวอย่าง

1.2 การเตรียมสารอนุพันธ์ (Derivatization)

1.2.1 ปิเปต Acetonitrile 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารอนุพันธ์ 6-aminoquinolyl-N-hydroxy succinimidyl carbamate (AQC) 3.0 มิลลิกรัม เขย่าให้เข้ากัน ด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 1 นาที

1.2.2 นำสารในข้อ 1.2.1 บ่มในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

1.3 การเตรียมตัวอย่าง

1.3.1 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดชนิดผง

1.3.1.1 นำตัวอย่างสารสกัดชนิดผง ได้แก่ สารสกัดสาหร่าย สารสกัดจากพืช ปริมาณ 100 กรัม บดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง

1.3.1.2 นำตัวอย่างที่บดได้ร่อนผ่านตะแกรงร่อนมาตรฐาน (Sieve) ขนาด 425 ไมโครเมตร และคลุกเคล้าให้เข้ากัน และตัดตัวอย่างใส่ในขวดแก้วสีชา ปิดฝาให้สนิทนำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้น

1.3.1.3 ชั่งตัวอย่าง ปริมาณ 1 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ 0.1 N HCl 5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 30 นาที

1.3.1.4 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย 0.1 N HCl เขย่าให้เข้ากัน

1.3.1.5 เจือจางให้อยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน ขึ้นอยู่กับปริมาณของกรดอะมิโนที่ระบุ

1.3.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่างชนิดเหลว

1.3.2.1 เขย่าตัวอย่างเพื่อให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเทใส่หลอด Micro centrifuge tube นำไป Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที

1.3.2.2 ปิเปตสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ 0.1 N HCl 10 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย 0.1 N HCl เขย่าให้เข้ากัน

1.3.2.3 เจือจางให้อยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน ขึ้นอยู่กับปริมาณของกรดอะมิโนที่ระบุ

1.4 การเตรียมสารอนุพันธ์กรดอะมิโน

1.4.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่างที่กรองผ่าน Syringe filter ชนิด PVDF ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ใน Vial ขนาด 1 มิลลิลิตร

1.4.2 เติมสารละลาย Borate buffer 70 ไมโครลิตร และสารจากข้อ 1.2.1 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

2. การเตรียมสถานะของเครื่อง HPLC สำหรับวิเคราะห์กรดอะมิโน (ดัดแปลงจาก Water, 1996) ดังนี้

Column	:	AccQ-Tag C18 (5 μ m, 4.6 mm x 150 mm)
Column temp.	:	37 °C
Detector	:	Wavelength λ_{ex} = 250 นาโนเมตร λ_{em} = 395 นาโนเมตร
Mobile phase	:	A = Eluent A (Sodium acetate trihydrate+triethylamine) B = Acetonitrile
Elution	:	Gradient
Flow rate	:	1.0 mL/min.
Injection vol.	:	5 μ L
Run Time	:	39 minute

3. การปรับ Gradient elution สำหรับการแยกกรดอะมิโนอิสระ

ปรับอัตราส่วนการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (Gradient profile) สำหรับการแยกกรดอะมิโน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 18 ชนิด โดยกรดอะมิโน Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tyrosine, Tryptophan และ Valine ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Cysteine ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์ตามข้อ 1.4 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยทดสอบการปรับอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ โดยอัตราส่วนสาร A : สาร B ผลการทดสอบที่ได้นำมาพิจารณาค่าการแยก (Resolution) ของสารต้องมากกว่า 1.5 ตามเกณฑ์กำหนดของ USP (2024)

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีเชิงคุณภาพ

4.1 การหาความจำเพาะเจาะจง (Specificity) ของวิธีทดสอบ

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 18 ชนิด โดยกรดอะมิโน Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tyrosine, Tryptophan และ Valine ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Cysteine ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายเบสและสารละลายตัวอย่างกรดอะมิโน 2 ลักษณะ ได้แก่ ตัวอย่างกรดอะมิโนที่มีลักษณะเป็นผง และลักษณะเป็นของเหลว ที่ Spike สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนทั้ง 18 ชนิด นำสารละลายที่ได้ไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.4 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC พิจารณาโครมาโทแกรม โดยดูว่าโครมาโทแกรมมีสารอื่นมาบดบังหรือรบกวนโครมาโทแกรมของกรดอะมิโนทั้ง 18 ชนิดหรือไม่

4.2 การหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 18 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ใส่ลงใน Sample blank จำนวน 10 ข้ว นำไปเตรียมอนุพันธ์ตามสภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 1.4 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยวิเคราะห์แบบ Intermediate 7-10 ข้ว ที่ทำต่างเวลากัน ผลทดสอบที่ได้นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณค่า LOD และ LOQ ตามสูตรคำนวณ

$$LOD = 3 S'_0$$

$$LOQ = 10 S'_0, \text{ EURACHEM (2025)}$$

4.3 การพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 18 ชนิด ที่เติมใน Sample blank ที่มีความเข้มข้นระดับ LOQ จำนวน 10 ซ้ำ นำสารละลายไปเตรียมอนุพันธ์ตามข้อ 1.4 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยวิเคราะห์แบบ Intermediate ที่ทำต่างเวลากัน คำนวณหาความเข้มข้นของกรดอะมิโนและประเมินความถูกต้อง โดยพิจารณาค่า %Recovery อยู่ในช่วง 80-110 และประเมินความเที่ยง โดยพิจารณาจากค่า HorRat ≤ 1.3 ตามมาตรฐาน AOAC (2023)

4.4 การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range)

4.4.1 ทำการทดสอบสารมาตรฐานกรดอะมิโนอิสระผสม โดยกรดอะมิโน Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tyrosine, Tryptophan และ Valine เตรียมในช่วงความเข้มข้น ที่ช่วงความเข้มข้น 0.05-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดอะมิโน Cystein เตรียมในช่วงความเข้มข้น 0.1- 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดอะมิโน Tryptophan เตรียมในช่วงความเข้มข้น 0.5-10 มิลลิกรัมต่อลิตรจำนวน 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

4.4.2 นำสารละลายไปเตรียมอนุพันธ์ตามข้อ 1.4 แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC

4.4.3 นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับค่าพื้นที่ใต้พีคที่อ่านได้จากเครื่อง HPLC

4.4.4 พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรงคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient: r) ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ค่า $r \geq 0.995$ ตาม APHA, AWWA, WEF (2023)

5. การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

5.1 ออกสุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชจากแหล่งจำหน่ายในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือ

5.2 คัดเลือกตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชที่มีองค์ประกอบเดียวกันหรือใกล้เคียง ได้แก่ ประเภทของกรดอะมิโนจากธรรมชาติ กรดอะมิโนสังเคราะห์ สารสกัดจากสาหร่าย สารสกัดจากพืช น้ำหมักชีวภาพที่หมักจากพืชหรือสัตว์ ทั้งตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นผง มีลักษณะเป็นของเหลวใสจนถึงตัวอย่างที่เป็นของเหลวข้นหนืด

5.3 จัดแบ่งกลุ่มตัวอย่างตามประเภทและลักษณะของตัวอย่าง และนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนตามขั้นตอนการวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2566 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง

1. สถานที่สำรวจและเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช ได้แก่ ร้านจำหน่ายเคมีเกษตร จังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม อุทัยธานี ชัยนาท นครสวรรค์ กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ ลำปาง เชียงราย น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ พะเยา จันทบุรี ระยอง ฉะเชิงเทรา และปราจีนบุรี

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิเคราะห์พืชวัตถุเคมีการเกษตรและนิเวศวิทยาเทคนิคการเกษตร กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การปรับ Gradient elution สำหรับการแยกกรดอะมิโนอิสระ

จากผลการศึกษา Gradient profile ที่เหมาะสมในการแยกฟีกของกรดอะมิโนผสม 18 ชนิด ได้มีการปรับสภาวะเริ่มต้นโดยใช้ Solvent A เป็น Eluent A (Sodium acetate trihydrate+Triethylamine) และ Solvent B เป็น Acetonitrile ตามเวลาและอัตราส่วน ดังนี้ 0-0.5 นาที 100-99% A (curve 11), 0.5-18 นาที 99-95% A (curve 6), 18-19 นาที 95-91% A (curve 6), 19-29.5 นาที 91-83% A (curve 6), 29.5-33-นาที 83-40% A (curve 6), 33-36 นาที 40-40% A (curve 11), 36-37 นาที 40-100% A (curve 11) และ 37-39 นาที 100-100% A (curve 6) และเมื่อฉีดสารมาตรฐานของกรดอะมิโนผสม 18 ชนิดตามสภาวะการปรับ Gradient ข้างต้น (สภาวะที่ 1) พบว่า สภาวะดังกล่าวสามารถทำให้ฟีกของกรดอะมิโนออกมาที่เวลาต่างกันตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รีเทนชันไทม์และค่าการแยกของกรดอะมิโน 18 ชนิด

Analyte	Retention time (min)	Resolution
Alanine*	8.24	1.8
Aspartic acid	12.45	>6.0
Serine	13.91	4.7
Glutamic acid	14.83	2.7
Glycine	15.98	3.7
Histidine	16.64	2.5
Arginine	20.61	>6.0
Threonine	20.92	1.8
Lysine*	21.53	>6.0
Proline	22.87	>6.0
Cysteine	25.88	1.6
Tyrosine	26.14	>6.0
Valine	27.32	2.8
Methionine	27.85	3.0
Isoleucine	31.32	2.6
Leucine	31.89	5.2
Phenylalanine	33.18	4.2
Tryptophan	34.40	2.6

* วิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์กรดอะมิโนของ สุพิศสาและคณะ (2564)

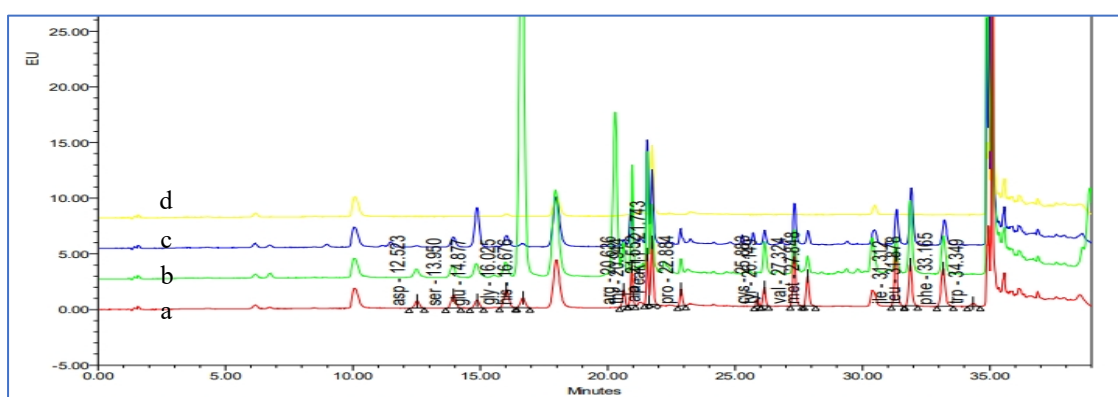
จากการวิเคราะห์กรดอะมิโนทั้ง 18 ชนิดพร้อมกัน ตามสภาวะที่ 1 พบว่ามีกรดอะมิโนเพียง 16 ชนิด ที่สามารถแยกออกจากฟีกอื่นได้ดี ส่วนฟีกของ Alanine ซ้อนทับฟีกของสารอื่น มีค่าการแยกน้อยกว่า 1.5 และไม่พบฟีกของกรดอะมิโน Lysine จึงได้ทำการปรับ Gradient elution ตามสภาวะการวิเคราะห์กรดอะมิโนอีกครั้ง แต่ยังไม่สามารถทำให้ฟีกของ Alanine และ Lysine แยกออกจากฟีกอื่นได้ ซึ่งการปรับตามสภาวะไม่สามารถปรับในสภาวะ gradient เดิมได้ เนื่องจากการปรับอัตราส่วนต่างๆ จะมีผลกระทบกับฟีกอะมิโน 16 ชนิดที่แยกออก

จากกันได้แล้ว จึงทำการปรับตั้งสภาวะการแยกกรดอะมิโนอิสระทั้ง 18 ชนิดตามวิธีของ สุพิศสาและคณะ (2564) (สภาวะที่ 2) ทำให้ฟีกกรดอะมิโน Alanine และ Lysine แยกออกจากฟีกอื่นได้ ในเวลาที่ 8.24 และ 21.53 ตามลำดับ และใช้เวลาในการฉีดสารลดลงจากสภาวะเดิมจาก 39 นาที เป็น 35 นาที ซึ่งการปรับตั้งสภาวะ 2 สภาวะ มีความแตกต่างของ Gradient elution เพียงเล็กน้อย ให้ค่าการแยกกรดอะมิโนแต่ละชนิด (Resolution, Rs) แสดงดังตารางที่ 1 ทั้งนี้จึงสรุปได้ว่าหากต้องการวิเคราะห์กรดอะมิโนทั้ง 18 ชนิด สามารถตั้งสภาวะการทดสอบทั้ง 2 สภาวะนี้ ในการวิเคราะห์ครั้งเดียวกันได้

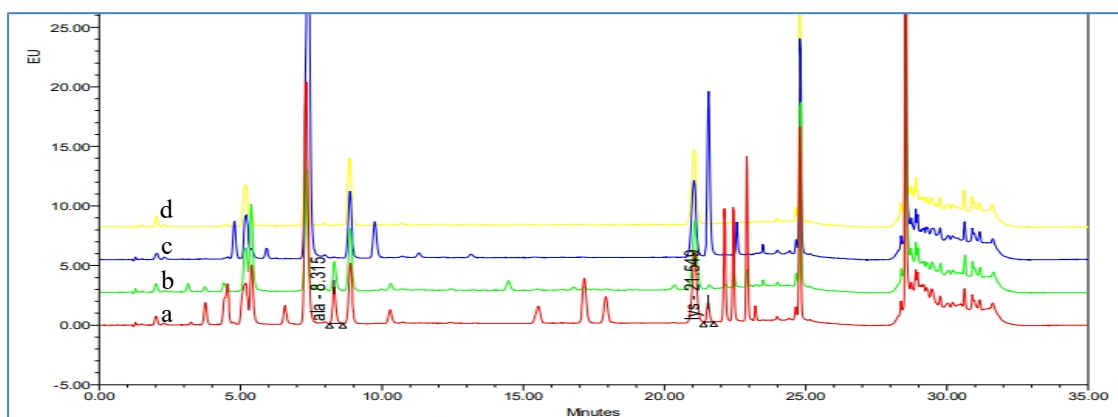
2. ผลการตรวจสอบความใช้ได้เชิงคุณภาพของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโน

2.1 ผลของการทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

ผลการทดสอบ Specificity ของกรดอะมิโนผสม 18 ชนิด โดยพิจารณาจากโครมาโทแกรมของ สารละลายแบบบลันด์ สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน ตัวอย่างสารสกัดชนิดผงและชนิดเหลว ที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 18 ชนิด ซึ่งมีผลการทดสอบดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครมาโทแกรมของ a) สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนรวม 18 ชนิด b) สารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์ สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชชนิดเหลว c) สารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชชนิดผง d) สารละลายแบบบลันด์ ที่ได้จากการทดสอบการแยกกรดอะมิโนในสภาวะที่ 1



ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของ a) สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนรวม 18 ชนิด b) สารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์ สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชชนิดเหลว c) สารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชชนิดผง d) สารละลายแบบบลันด์ ที่ได้จากการทดสอบการแยกกรดอะมิโนในสภาวะที่ 2

พิจารณาโครมาโทแกรมของสารละลายแบล็งค์ สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน และตัวอย่างสารสกัดชนิดผงและชนิดเหลว ที่มีการ Spike สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 18 ชนิด ผลการทดสอบจากภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าโครมาโทแกรมของตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนผสมที่สามารถแยกฟีกออกจากกันได้ 16 ชนิดจากการแยกในสถานะที่ 1 พบว่า ตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายชนิดเหลวและชนิดผง ไม่มีสารแปลกปลอมอื่นมารบกวนหรือซ้อนทับโครมาโทแกรมของกรดอะมิโนทั้ง 16 ชนิด และเมื่อเปรียบเทียบโครมาโทแกรมจากการแยกกรดอะมิโนในสถานะที่ 2 (ภาพที่ 2) พบว่า ไม่มีฟีกของสารอื่นรบกวนหรือซ้อนทับ ฟีกของกรดอะมิโน Alanine และ Lysine นั้นแสดงว่าวิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงสำหรับการวิเคราะห์กรดอะมิโน Alanine และ Lysine ในตัวอย่างที่มีลักษณะทั้งที่เป็นชนิดผงและชนิดเหลว

2.2 ผลการหาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

จากการหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) โดยการเติมสารมาตรฐานกรดอะมิโน 18 ชนิด ที่มีความเข้มข้นต่ำๆ ลงในตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ต้องการทดสอบ (Sample blank) แล้วนำมาดำเนินการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ผลที่ได้นำมาคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่า LOD และ LOQ พบว่า กรดอะมิโน 18 ชนิดมีค่า LOD อยู่ในช่วง 0.001-0.009 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่า Predict LOQ จากการคำนวณมีค่าเท่ากับ 0.004-0.032 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแสดงดังตารางผนวก 1

2.3 ผลการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ

จากค่า Predict LOQ ที่คำนวณได้มาทำการพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ โดยทำการ Spike สารมาตรฐานกรดอะมิโนความเข้มข้นที่ระดับ Predict LOQ ของกรดอะมิโนแต่ละตัวลงในสารละลายตัวอย่าง จากนั้นดำเนินการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า ผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิดมีค่า %recovery ต่ำกว่าหรือสูงกว่าเกณฑ์การยอมรับ ที่ 80-110% ตามมาตรฐาน AOAC (2023) ของสารที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้อาจเกิดขึ้นได้จากการเติมสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่ำเกินไป ส่งผลทำให้ผลการวิเคราะห์คลาดเคลื่อนได้สูง ดังนั้นจึงทำการทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานกรดอะมิโนที่มีความเข้มข้นที่สูงขึ้น เพื่อพิสูจน์ความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ โดยกรดอะมิโน Aspartic acid, Serine, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Arginine, Threonine, Alanine, Proline, Tyrosine, Valine, Methionine, Lysine, Isoleucine, Leucine, Phenylalanine ทดสอบที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร Cysteine ทดสอบที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan ทดสอบที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า มี %Recovery เท่ากับ อยู่ในช่วง 80.36-109.89 ค่าที่ได้อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับที่ 80-110 % มีค่า HorRat เท่ากับ 0.18-0.44 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับค่า $\text{HorRat} \leq 1.3$ ตามมาตรฐาน AOAC (2023) ผลการทดสอบที่ได้แสดงดังตารางผนวกที่ 2 และ ตารางผนวกที่ 3

2.4 ผลการทดสอบหาค่า Linearity และ Working range ของวิธีของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนอิสระ 18 ชนิด พบว่า กรดอะมิโน Aspartic acid, Serine, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Arginine, Threonine, Alanine, Proline, Tyrosine, Valine, Methionine, Lysine, Isoleucine, Leucine, Phenylalanine มี ค่า Linearity และ Working range ในช่วง 0.005-0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดอะมิโน Cysteine มีค่าในช่วง 0.01-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan มีค่าในช่วง 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า Correlation Coefficient (r) มากกว่า 0.995 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับของ APHA, AWWA, WEF (2023) ($r \geq 0.995$) ผลการทดสอบที่ได้แสดงดังตารางผนวกที่ 1

3. ผลการเก็บตัวอย่างและจัดกลุ่มตัวอย่าง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชจากแหล่งจำหน่ายในเขตพื้นที่จังหวัดต่างๆ ของภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออก เก็บตัวอย่างได้ทั้งหมดจำนวน 55 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นผง และของเหลว มีองค์ประกอบที่หลากหลาย ส่วนใหญ่เป็นสารสกัดสาหร่าย สารสกัดธรรมชาติ กรดอะมิโนสังเคราะห์ และอื่นๆ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 8 กลุ่ม ตามลักษณะและองค์ประกอบ และมีจำนวนตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 กลุ่มตัวอย่างกรดอะมิโนที่แบ่งตามลักษณะและองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

กลุ่มที่	รายละเอียดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง
1	สารสกัดสาหร่ายและกรดอะมิโนชนิดผง	8
2	สารสกัดจากสาหร่ายทะเล <i>Ascophyllum nodosum</i>	6
3	สารสกัดกรดอะมิโนจากปลาทะเล	3
4	สารสกัดสาหร่าย 12-25%	3
5	สารสกัดสาหร่ายและกรดอะมิโนจากพืช ที่ไม่ระบุความเข้มข้น	13
6	กรดอะมิโนสังเคราะห์ ที่ไม่ระบุความเข้มข้น	7
7	สารสกัดสาหร่าย ผสมกับกรดอะมิโนสังเคราะห์ ที่ระบุความเข้มข้น	6
8	กรดอะมิโนสังเคราะห์และกรดอะมิโนสกัด ที่ระบุความเข้มข้น	9

4. ผลการหาปริมาณกรดอะมิโนและประเมินคุณภาพในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

4.1 ผลการหาปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

กลุ่มที่ 1 ระบุตัวอย่างเป็นสารสกัดตัวอย่างและกรดอะมิโนชนิดผง ทั้งหมดจำนวน 8 ระบุความเข้มข้นของกรดอะมิโน จำนวน 2 ตัวอย่าง และไม่ระบุความเข้มข้น จำนวน 6 ตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์ พบว่าตัวอย่างที่ระบุความเข้มข้นของกรดอะมิโน 80% W/W วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม 18 ชนิดได้เท่ากับ 66.5 และ 75.9% W/W ตามลำดับ ตัวอย่างกรดอะมิโนสังเคราะห์ 1 ตัวอย่าง ผลวิเคราะห์ที่ได้เท่ากับ 14.5% W/W ส่วนตัวอย่างที่ไม่ระบุความเข้มข้นเป็นตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายทะเล มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวมอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.015-0.088% W/W

กลุ่มที่ 2 ระบุตัวอย่างเป็นสารสกัดจากสาหร่ายทะเล *Ascophyllum nodosum* จำนวน 6 ตัวอย่าง มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม 18 ชนิด อยู่ในช่วงระหว่าง 0.0004-4.31% W/V

กลุ่มที่ 3 ระบุตัวอย่างเป็นสารสกัดกรดอะมิโนจากปลาทะเล จำนวน 3 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนรวม 18 ชนิด พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนรวม เท่ากับ 2.79 4.12 และ 5.60% W/V ตามลำดับ

กลุ่มที่ 4 ระบุตัวอย่างเป็นสารสกัดสาหร่ายที่ระบุความเข้มข้น จำนวน 3 ตัวอย่าง แบ่งเป็น สารสกัดสาหร่ายเข้มข้น 12% จำนวน 2 ตัวอย่าง และ 25% จำนวน 1 ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์กรดอะมิโนทั้ง 3 ตัวอย่าง พบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม 18 ชนิด เท่ากับ 0.029 0.049 และ 0.089% W/V ตามลำดับ

กลุ่มที่ 5 ระบุตัวอย่างเป็นสารสกัดสาหร่ายและกรดอะมิโนจากพืช ที่ไม่ระบุความเข้มข้น จำนวน 13 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างในกลุ่มนี้จะมีหลากหลายรูปแบบ เช่น อะมิโนโปรตีนจากพืช อะมิโนที่สกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติ สารผสมระหว่างสาหร่ายสกัดและกรดอะมิโน สารสกัดสาหร่ายจากสาหร่ายชนิดต่างๆ รวมถึงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นต้น จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน พบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม 18 ชนิด อยู่ในช่วง 0.001-5.73% W/V

กลุ่มที่ 6 ระบุตัวอย่างเป็นกรดอะมิโนสังเคราะห์ ที่ไม่ระบุความเข้มข้น จำนวน 7 ตัวอย่างซึ่งเป็นกลุ่มที่มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนหลายรูปแบบ เช่น กรดอะมิโนจำเป็น 18-19 ชนิด อะมิโน+วิตามินเข้มข้น โปรตีนจากสัตว์ โพลีฟีนอล อะมิโน+กรดฮิวมิก เป็นต้น จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างทั้ง 7 ตัวอย่างพบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม 18 ชนิด อยู่ในช่วง 0.028-20.35% W/V

กลุ่มที่ 7 ระบุตัวอย่างเป็นสารสกัดสาหร่าย ผสมกับกรดอะมิโนสังเคราะห์ที่ระบุความเข้มข้น จำนวน 6 ตัวอย่าง ซึ่งมีส่วนประกอบที่เป็นสารสกัดสาหร่ายอยู่ในช่วง 8-17% และกรดอะมิโนสังเคราะห์ อยู่ในช่วง 1.5-30% จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม 18 ชนิด อยู่ในช่วง 0.002-17.59% W/V

กลุ่มที่ 8 ระบุตัวอย่างเป็นกรดอะมิโนสังเคราะห์และกรดอะมิโนสกัดที่ระบุความเข้มข้น จำนวน 9 ตัวอย่างจากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนทั้ง 3 ตัวอย่างที่ระบุว่าเป็นกรดอะมิโนอิสระ 1.0 7.2 และ 12.0% W/V พบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระ 18 ชนิด เท่ากับ 0.02 6.17 และ 5.56% W/V ตามลำดับ ส่วนอีก 6 ตัวอย่างระบุความเข้มข้นเป็นกรดอะมิโนรวม 15 20 20 20.3 24 และ 62.5% พบว่า มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม 18 ชนิด เท่ากับ 0.04 1.20 2.46 23.73 18.10 และ 16.50% W/V ตามลำดับ โดยผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนทั้ง 8 กลุ่ม สรุปได้ดังตารางผนวกที่ 4

4.2 การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช ที่ได้สุ่มเก็บจากร้านค้าเคมีเกษตร ทั้งหมดจำนวน 55 ตัวอย่าง ซึ่งแบ่งกลุ่มตามประเภทขององค์ประกอบได้เป็น 8 กลุ่ม สามารถนำมาประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ได้ ดังนี้

การประเมินคุณภาพของกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชจากความเข้มข้นที่สามารถวิเคราะห์ได้เทียบกับความเข้มข้นที่ระบุบนฉลาก ซึ่งมีตัวอย่างที่ระบุความเข้มข้นของกรดอะมิโน ทั้งหมดจำนวน 17 ตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์พบว่า มีจำนวน 2 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็น 11.76% มีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 5-10% ของปริมาณกรดอะมิโนที่ระบุ และมีจำนวน 3 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็น 17.65% มีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 11-20% ของปริมาณกรดอะมิโนที่ระบุ นอกจากนี้ มีจำนวน 12 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็น 70.59% มีค่าคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 24.5-99.7% ของปริมาณกรดอะมิโนที่ระบุ จากผลการประเมินคุณภาพข้างต้นจะเห็นได้ว่า มีตัวอย่างจำนวนมากที่มีปริมาณกรดอะมิโนคลาดเคลื่อนไปจากที่ระบุบนฉลาก ซึ่งอาจบ่งชี้ได้ว่าผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชที่วางขายตามท้องตลาดยังไม่มีการควบคุมคุณภาพก่อนวางจำหน่าย ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมและตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ก่อนผลิตและวางจำหน่าย ซึ่งผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำมาใช้ในการจัดทำเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนของปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชได้ สำหรับผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารสกัดสาหร่าย กรดอะมิโนจากปลา หรือกรดอะมิโนที่ได้แหล่งอื่นๆ จำนวน 38 ตัวอย่าง คิดเป็น 69% ของตัวอย่างทั้งหมด ตรวจพบกรดอะมิโนอิสระในปริมาณต่างกัน แต่ยังไม่สามารถที่จะระบุเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากไม่ได้ระบุความเข้มข้นของกรดอะมิโน จึงต้องมีศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมและมีการร่วมกันพิจารณาในหลายภาคส่วนในการให้เกณฑ์ค่ากำหนดหรือค่าความคลาดเคลื่อนของผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นแนวทางที่จะนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชประเภทกรดอะมิโนต่อไป

สรุปผลการทดลอง

1. ศึกษาปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช จากการวิเคราะห์กรดอะมิโนอิสระ 18 ชนิดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ที่ติดตั้งตัวตรวจวัดชนิด Fluorescence โดยใช้ความยาวคลื่น (Wavelength) λ_{ex} เท่ากับ 250 นาโนเมตร, λ_{em} เท่ากับ 395 นาโนเมตร ใช้คอลัมน์ AccQ-Tag™ ความยาว 150 มิลลิเมตร ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร อนุภาค 5 ไมครอน วิเคราะห์กรดอะมิโนที่ได้จากการเตรียมอนุพันธ์ด้วยสารอนุพันธ์ AQC โดยแยกกรดอะมิโนอิสระแต่ละชนิดด้วยเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ผสมระหว่าง Sodium acetate trihydrate+Triethylamine และ Acetonitrile และชะสารออกจากคอลัมน์แบบ Gradient อุณหภูมิของคอลัมน์ 35 องศาเซลเซียส โดยสภาวะที่เหมาะสมการแยกของกรดอะมิโนให้ออกจากกัน ซึ่งมีการปรับเฟสเคลื่อนที่แบบ Gradient program 2 สภาวะ โดยสภาวะที่ 1 สามารถแยกกรดอะมิโนอิสระได้ 16 ชนิด ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 39 นาที และสภาวะที่ 2 สามารถแยกกรดอะมิโน Alanine และ Lysine ได้ ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 35 นาที

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนเชิงคุณภาพ พบว่า วิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนมีความจำเพาะเจาะจงสำหรับตัวอย่างสารเพิ่มประสิทธิภาพพืชทั้งชนิดของเหลวและชนิดผง จากการหาค่า LOD มีค่าอยู่ในช่วง 0.001-0.009 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งการพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) และความเที่ยง (Precision) ที่ระดับ LOQ มีค่าที่อยู่ในช่วง %recovery เท่ากับ 80-110 แกนซ์ยอมรับ ตามเกณฑ์กำหนด AOAC (2023) การศึกษาค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Working range) กรดอะมิโนโดยพิจารณาความสัมพันธ์สัมพัทธ์ (Correlation coefficient, r) พบว่าทุกค่าผ่านเกณฑ์ยอมรับ มีค่า Correlation coefficient (r) ≥ 0.995

3. จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชที่สุ่มเก็บจากร้านค้าเคมีเกษตร จำนวน 55 ตัวอย่าง ซึ่งสามารถแยกออกได้เป็น 8 กลุ่ม ผลการวิเคราะห์กรดอะมิโน พบว่า แต่ละกลุ่มตัวอย่างมีปริมาณกรดอะมิโนที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับตามชนิด ลักษณะและองค์ประกอบของตัวอย่าง

4. จากการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์สามารถประเมินคุณภาพได้จากความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้เทียบกับความเข้มข้นหรือปริมาณที่ระบุบนฉลาก โดยจากตัวอย่างที่ระบุความเข้มข้น 17 ตัวอย่าง มีจำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 11.76% มีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 5-10% ของปริมาณกรดอะมิโนที่ระบุ และมีจำนวน 3 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็น 17.65% มีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 11-20% ของปริมาณกรดอะมิโนที่ระบุ นอกจากนี้ มีจำนวน 12 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็น 70.59% มีค่าคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 24.5-99.7% ของปริมาณกรดอะมิโนที่ระบุ และนอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารสกัดสาหร่าย กรดอะมิโนจากปลา หรือกรดอะมิโนที่ได้แหล่งอื่นๆ จำนวน 38 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็น 69% ของตัวอย่างทั้งหมด ยังไม่สามารถที่จะระบุเกณฑ์ได้

จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นว่าวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนที่ได้ศึกษาสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชได้ และสามารถประเมินคุณภาพจากตัวอย่างที่ระบุค่างานวิจัยนี้จึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะสามารถนำไปสนับสนุนการกำหนดเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนให้ของผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นแนวทางที่จะนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชประเภทกรดอะมิโนอีกด้วย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย และขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ที่ให้คำปรึกษา และขอแนะนำ ตลอดการทำงานวิจัยที่ทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้วิธีการวิเคราะห์กรดอะมิโน ข้อมูลคุณภาพและปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาวิเคราะห์กรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์อื่นๆ
2. เป็นข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ในการสนับสนุนการกำหนดเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนของปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืช เพื่อรองรับการควบคุมฉลากสินค้า
3. เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการให้ความรู้ แนะนำผู้ประกอบการผู้ผลิต และเกษตรกรผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ให้ได้รับประโยชน์จากการใช้ผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- ประไพ ทองระอา ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต กานดา ฉัตรไชยศิริ กัลป์ยานี สุวิทวัส พิมพนิภา เพ็ญช่าง นิศารัตน์ ทวีนุต และภาสกร ศารทูลทัตติ. 2560. การใช้สารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยน้ำว้า ‘ปากช่อง 50’ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์* ปีที่ 4 ฉบับที่ 4 (ตุลาคม-ธันวาคม)
- ประไพ ทองระอา สมปอง หมั่นแจ้ง ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต และกัลยากร โปรงจันทร์. 2553. *การศึกษาผลของสารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว*. ผลการปฏิบัติงาน ประจำปี 2553 เล่มที่ 2. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
- ราชกิจจานุเบกษา. 2565. ประกาศคณะกรรมการว่าด้วยฉลาก เรื่อง ให้ผลิตภัณฑ์สารเพิ่มประสิทธิภาพพืชและผลิตภัณฑ์สารปรับปรุงดินเป็นสินค้าที่ควบคุมฉลาก. เล่มที่ 139 ตอนพิเศษ 181 ง ประกาศเมื่อ วันที่ 4 สิงหาคม 2565.
- สุพิศสา ทองเขียว เพชรรัตน์ ศิริวิ และสาธิตา โพธิ์น้อย 2564. *พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช*. ผลการปฏิบัติงาน ประจำปี 2564 เล่มที่ 2. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
- APHA, AWWA, WEF. 2023. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 24th edition. part. 1020 B.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2023. Official Method of Analysis of AOAC International. 22nd Ed. AOAC International Gaithersburg, Maryland, USA.
- EURACHEM. 2025. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, The Fitness for Purpose of Analytical Methods.
- The United States Pharmacopeial Convention. 2024. United States Pharmacopeia 43 <621> Chromatography (System suitability), Bethesda, MD: The United States Pharmacopeial Convention Inc.
- Waters . 1996. Analyzing feed hydrolysate samples using the AccQ Tag method. Waters corporation U.S.A.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงค่า Retention time Calibration range Regression equation LOD Predicted LOQ และ LOQ ของการวิเคราะห์กรดอะมิโน 18 ชนิด

Analyte	Retention time (min)	Resolution	Calibration range (mg/L)	Regression equation	r	LOD (mg/L)	Predicted LOQ (mg/L)	LOQ with Accuracy and Precision (mg/L)
Ala*	8.24	1.8	0.005-0.1	$y=4,250,000x - 10,700$	0.99991	0.003	0.009	0.1
Asp	12.45	>6.0	0.005-0.1	$y=1,430,000x + 1,640$	0.99988	0.002	0.007	0.1
Ser	13.91	4.7	0.005-0.1	$y=2,560,000x + 6,890$	0.99900	0.004	0.012	0.1
Glu	14.83	2.7	0.005-0.1	$y=1,560,000x + 4,110$	0.99936	0.004	0.015	0.1
Gly	15.98	3.7	0.005-0.1	$y=3,210,000x + 24,800$	0.99917	0.005	0.018	0.1
His	16.64	2.5	0.005-0.1	$y=1,880,000x - 795$	0.99970	0.002	0.006	0.1
Arg	20.61	>6.0	0.005-0.1	$y=1,910,000x - 211$	0.99929	0.002	0.008	0.1
Thr	20.92	1.8	0.005-0.1	$y=3,460,000x + 5,100$	0.99927	0.004	0.013	0.1
Lys*	21.53	>6.0	0.005-0.1	$y=1,730,000x + 3,440$	0.99933	0.003	0.011	0.1
Pro	22.87	>6.0	0.005-0.1	$y=1,490,000x + 680$	0.99963	0.002	0.007	0.1
Cys	25.88	1.6	0.01-0.2	$y=345,000x + 781$	0.99909	0.004	0.015	0.2
Tyr	26.14	>6.0	0.005-0.1	$y=2,030,000x + 4,770$	0.99948	0.004	0.012	0.1
Val	27.32	2.8	0.005-0.1	$y=5,510,000x + 6,130$	0.99971	0.004	0.013	0.1
Met	27.85	3.0	0.005-0.1	$y=3,890,000x + 451$	0.99948	0.002	0.008	0.1
Ile	31.32	2.6	0.005-0.1	$y=6,450,000x + 1,950$	0.99967	0.008	0.007	0.1
Leu	31.89	5.2	0.005-0.1	$y=6,220,000x + 2,400$	0.99972	0.003	0.011	0.1
Phe	33.18	4.2	0.005-0.1	$y=6,480,000x + 6,580$	0.99935	0.001	0.004	0.1
Trp	34.40	2.6	0.05-1.0	$y=82,100x + 4,570$	0.99943	0.009	0.032	1.0

* วิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์กรดอะมิโนของ สุกิตสและคณะ (2564)

ตารางผนวกที่ 2 ความเข้มข้นที่ระดับ LOQ ที่ได้จากการวิเคราะห์กรดอะมิโน 18 ชนิด ตามสภาวะที่เหมาะสม

parameter	Concentrations of amino acids (mg/L)																	
	Ala	Asp	Ser	Glu	Gly	His	Arg	Thr	Lys	Pro	Cys	Tyr	Val	Met	Ile	Leu	Phe	Trp
1	0.1027	0.1173	0.1143	0.1229	0.1240	0.1209	0.1093	0.1119	0.1041	0.1183	0.2310	0.1084	0.1295	0.1122	0.1166	0.1061	0.1069	1.0362
2	0.1002	0.1050	0.0924	0.1044	0.1010	0.1185	0.0999	0.0961	0.0919	0.1009	0.2278	0.0990	0.1175	0.1003	0.1052	0.0957	0.0961	1.0997
3	0.1065	0.1203	0.1066	0.1182	0.1256	0.1267	0.1024	0.1120	0.1018	0.1129	0.2402	0.1135	0.1329	0.1098	0.1190	0.1068	0.1063	1.0502
4	0.1092	0.1185	0.1224	0.1179	0.1248	0.1289	0.1011	0.1142	0.1085	0.1203	0.2218	0.1125	0.1267	0.1127	0.1246	0.1103	0.1092	1.0980
5	0.1041	0.1210	0.1131	0.1170	0.1292	0.1234	0.1078	0.1078	0.1060	0.1177	0.2230	0.1071	0.1343	0.1100	0.1213	0.1084	0.1082	1.1312
6	0.1165	0.1136	0.1171	0.0970	0.1295	0.1193	0.1104	0.1027	0.1156	0.1259	0.2170	0.1012	0.1319	0.1088	0.1298	0.1186	0.1120	0.9972
7	0.0911	0.1124	0.1187	0.0975	0.1301	0.1158	0.1118	0.1054	0.0987	0.1293	0.2052	0.1076	0.1321	0.1014	0.1314	0.1196	0.1189	1.0722
mean	0.1043	0.1154	0.1121	0.1107	0.1235	0.1219	0.1061	0.1072	0.1038	0.1179	0.2237	0.1070	0.1293	0.1079	0.1211	0.1094	0.1082	1.0692
SD	0.0079	0.0056	0.0100	0.0108	0.0102	0.0047	0.0049	0.0063	0.0075	0.0093	0.0111	0.0054	0.0058	0.0050	0.0089	0.0081	0.0069	0.0452
%RSD	7.5406	4.8614	8.9130	9.7449	8.2646	3.8295	4.5729	5.9166	7.2295	7.8498	4.9426	5.0085	4.4505	4.6402	7.3187	7.4272	6.3303	4.2251
HorRat	0.34	0.22	0.40	0.44	0.38	0.18	0.21	0.27	0.32	0.36	0.25	0.23	0.21	0.21	0.34	0.34	0.29	0.27

ตารางผนวกที่ 3 ค่าความถูกต้องและความเที่ยงที่ระดับ LOQ ที่คำนวณได้จากการวิเคราะห์กรดอะมิโน 18 ชนิด ตามสภาวะที่เหมาะสม

parameter	% recovery																	
	Ala	Asp	Ser	Glu	Gly	His	Arg	Thr	Lys	Pro	Cys	Tyr	Val	Met	Ile	Leu	Phe	Trp
1	90.60	101.27	102.62	108.90	99.80	94.67	103.18	98.71	92.64	94.46	105.58	103.78	103.40	104.94	94.60	96.98	94.30	98.74
2	88.39	90.65	82.96	92.50	81.29	92.79	94.31	84.77	81.78	80.57	104.11	94.78	93.82	93.81	85.35	87.48	84.77	104.79
3	93.95	103.86	95.71	104.73	101.09	99.21	96.67	98.80	90.59	90.15	109.78	108.66	106.12	102.69	96.54	97.62	93.77	100.08
4	96.33	102.31	109.89	104.47	100.44	100.93	95.44	100.74	96.56	96.06	101.37	107.71	101.17	105.41	101.09	100.82	96.33	104.63
5	91.83	104.46	101.54	103.67	103.98	96.63	101.77	95.10	94.33	93.98	101.92	102.54	107.23	102.88	98.41	99.09	95.45	107.79
6	102.77	98.07	105.14	85.95	104.23	93.41	104.22	90.60	102.87	100.53	99.18	96.89	105.32	101.76	105.31	108.41	98.80	95.03
7	80.36	97.04	106.57	86.39	104.71	90.67	105.54	92.98	87.83	103.24	93.78	103.02	105.48	94.84	106.60	109.32	104.89	102.17
mean	92.03	99.67	100.63	98.09	99.36	95.47	100.16	94.53	92.37	94.14	102.25	102.48	103.22	100.90	98.27	99.96	95.47	101.89
SD	6.94	4.85	8.97	9.56	8.21	3.66	4.58	5.59	6.68	7.39	5.05	5.13	4.59	4.68	7.19	7.42	6.04	4.30
%RSD	7.54	4.86	8.91	9.74	8.26	3.83	4.57	5.92	7.23	7.85	4.94	5.01	4.45	4.64	7.32	7.43	6.33	4.23

ตารางผนวกที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน 18 ชนิดจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารเพิ่ม
ประสิทธิภาพพืช จำนวน 55 ตัวอย่าง

กลุ่มที่	ชนิด/ลักษณะตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	%กรดอะมิโน ที่ระบุบนฉลาก	%กรดอะมิโน ในตัวอย่าง
1	สารสกัดสาหร่ายและกรดอะมิโนชนิดผง	1	80% W/W*	66.5% W/W
		1	80% W/ W*	75.9% W/W
		1	ไม่ระบุ*	14.5% W/W
		5	ไม่ระบุ**	0.015-0.088% W/W
2	สารสกัดจากสาหร่ายทะเล <i>Ascophyllum nodosum</i>	6	ไม่ระบุ	0.0004-4.31% W/V
3	สารสกัดกรดอะมิโนจากปลาทะเล	3	ไม่ระบุ	2.79-5.60% W/V
4	สารสกัดสาหร่าย 12-25%	3	ไม่ระบุ	0.029-0.089% W/V
5	สารสกัดสาหร่ายและกรดอะมิโนจากพืช	13	ไม่ระบุ	0.001-5.73% W/V
6	กรดอะมิโนสังเคราะห์	7	ไม่ระบุ	0.028-20.35% W/V
7	สารสกัดสาหร่าย ผสมกับกรดอะมิโน สังเคราะห์ ที่ระบุความเข้มข้น	6	1.5%	0.006% W/V
			4%	4.37% W/V
			4%	4.74% W/V
			5%	1.15% W/V
			5%	0.002% W/V
			30%	17.59% W/V
8	กรดอะมิโนสังเคราะห์และกรดอะมิโน สกัด ที่ระบุความเข้มข้น	9	1.0% W/V	0.02% W/V
			7.2% W/V	6.17% W/V
			12.0% W/V	5.56% W/V
			15%	0.04% W/V
			20%	1.20% W/V
			20%	2.46% W/V
			20.3%	23.73% W/V
			21%	18.10% W/V
			62.5%	16.50% W/V

*กรดอะมิโนสังเคราะห์

**สารสกัดสาหร่าย

กลุ่มวิจัย
วัตถุดิบพืชการเกษตร

การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช ด้วยเทคนิค HPLC

Identification of pesticides in biological products and plant extracts by HPLC

ทัศนีย์ อัฐพรพงษ์ ภัทรฤทัย คมณัฐ อนุชา ผลไสว ฉลองรัตน์ หมื่นขวา

Tassanee Atthapornpong Phatruethai Kumnat Anucha Phonswai Chalongrat Muenkhwa

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Identification of 15 pesticides in biological product and plant extracts has been developed by high-performance liquid chromatography (HPLC) conditions was studied for separation 15 compounds. They should be similar. In this study, year 2022 five pesticides were chosen (acetamiprid , fenobucarb, fipronil, abamectin and carbosulfan) because they were very popular. Moreover, HPLC-DAD was a simple and robust method for determination of pesticides. Therefore, the objective of this research was to develop and validate a method for simultaneous determination of five pesticides (acetamiprid, fenobucarb, fipronil , abamectin and carbosulfan). Reversed-phase method with C18 column (5 μ m, 250mm $\times$ 46 mm inner diameter) using a mobile phase consisting of water/ acetonitrile(v:v = 35:65) at a flow rate of 1.2 mL/min and detection at 245 nm was used. This method was validated according to new methods which included accuracy and precision. Limit of Detection (LOD) of the five pesticides using this method was quite low (0.003 - 0.03 mg/ml). and limit of quantitation (LOQ) were 0.01-0.1 mg/ml, the matrix effect was in the range of -0.51 to 4.11 %, the results from matrix effect < 10%, indicated that this new method exhibited good specificity or selectivity.

year 2023, five pesticides were chosen (hexazinone, cyhalofop-buthyl, lufenuron, benfuracarb and pendimethalin) because they were very popular. Moreover, HPLC-DAD was a simple and robust method for determination of pesticides. Therefore, the objective of this research was to develop and validate a method for simultaneous determination of five pesticides (hexazinone, cyhalofop-buthyl, lufenuron, benfuracarb and pendimethalin). Reversed-phase method with C18 column (5 μ m, 250mm $\times$ 46 mm inner diameter) using a mobile phase consisting of acetonitrile/ phosphoric acid (v:v = 65:35) at a flow rate of 1.5 mL/min and detection at 230 nm was used. This method was validated according to new methods which included accuracy and precision. Limit of Detection (LOD) of the five pesticides using this method was quite low (0.003 - 0.03 mg/ml). and limit of quantitation (LOQ) were 0.01-0.1 mg/ml, the matrix effect was

in the range of -1.35 to 5.95 %, the results from matrix effect < 10%, indicated that this new method exhibited good specificity or selectivity.

year 2024 five pesticides were chosen (cymoxanil, thiophanate methyl, benomyl, dimethomorph and tricyclazole) because they were very popular. Moreover, HPLC-DAD was a simple and robust method for determination of pesticides. Therefore, the objective of this research was to develop and validate a method for simultaneous determination of five pesticides (cymoxanil, thiophanate methyl, benomyl, dimethomorph and tricyclazole). Reversed-phase method with C18 column (5 μ m, 250mm $\times$ 46 mm inner diameter) using a mobile phase consisting of water/ acetonitrile (v:v = 55:45) at a flow rate of 1.0 mL/min and detection at 230 nm was used. This method was validated according to new methods which included accuracy and precision. Limit of Detection (LOD) of the five pesticides using this method was quite low (0.005 - 0.01 mg/ml). and limit of quantitation (LOQ) were 0.05 - 0.1 mg/ml, the matrix effect was in the range of 0.76 to 5.34 %, the results from matrix effect < 10%, indicated that this new method exhibited good specificity or selectivity. It appears that this developed method could be used for these five pesticides that might analyze the pesticide sample in a short time. Moreover, it may reduce chemical substance usage and government budget.

Keywords: Pesticides; Biological products and plant extracts; HPLC

บทคัดย่อ

การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช ศึกษาสภาวะเหมาะสมที่ทำให้สารทั้ง 15 ชนิด สามารถแยกออกจากกันได้ ในการทดสอบนี้จึงได้เลือกชนิดสารที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกัน โดยปี พ.ศ.2565 จะทำการวิเคราะห์ 5 สาร คือ acetamiprid , fenobucarb , fipronil abamectin, carbosulfan โดยจะใช้เครื่องตรวจ ด้วยเทคนิค high-performance liquid chromatography (HPLC) ที่มีตัวตรวจวัดชนิด ไดโอดอาร์เรย์(DAD) จากการศึกษาได้สภาวะที่เหมาะสม คือใช้ คอลัมน์ C-18 ความยาว 250 $\times$ 46 mm,ขนาด 5 μ m เฟสเคลื่อนที่ใช้ น้ำ : อะซีโตนไนไตรล์ ในอัตราส่วน 35:65 ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร อุณหภูมิคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณการฉีดสารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร เวลาในการวิเคราะห์ 35 นาที โดยทดสอบ matrix effect มีค่า -0.51,- 4.11 % เกณฑ์การยอมรับ < 10% และวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (specificity/ selectivity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น ทั้งนี้ได้ทดสอบหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด LOD (limit of detection) ได้ค่าเท่ากับ 0.003 และ 0.03 mg/ml และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ LOQ (limit of quantitation) อยู่ในช่วง 0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ปี พ.ศ.2566 ทำการวิเคราะห์ 5 สาร คือ hexazinone , cyhalofop-buthyl , lufenuron, benfuracarb , pendimethalin ใช้ คอลัมน์ C-18 ความยาว 250 $\times$ 46 mm,ขนาด 5 μ m เฟสเคลื่อนที่ใช้ อะซีโตนไนไตรล์ : ฟอสฟอริก แอซิด ในอัตราส่วน 65:35 ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร อุณหภูมิคอลัมน์ 35 องศาเซลเซียส อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณการฉีดสารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร

เวลาในการวิเคราะห์ 20 นาที โดยทดสอบ matrix effect มีค่า -1.35,- 5.95 % เกณฑ์การยอมรับ < 10% และวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (specificity/ selectivity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น ทั้งนี้ ได้ทดสอบหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด LOD (limit of detection) ได้ค่าเท่ากับ 0.003 และ 0.03 mg/ml และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ LOQ (limit of quantitation) อยู่ในช่วง 0.01 - 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ปี พ.ศ.2567 ทำการวิเคราะห์ 5 สาร คือ ที่สุด คือ cymoxanil , thiophanate methyl , benomyl , dimethomorph , tricyclazole ใช้ คอลัมน์ C-18 ความยาว 250 x 46 mm, ขนาด 5 µm เฟสเคลื่อนที่ใช้น้ำ : อะซีโตนไนโตรเจน ในอัตราส่วน 55:45 ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร อุณหภูมิคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณการฉีดสารตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร เวลาในการวิเคราะห์ 20 นาที โดยทดสอบ matrix effect มีค่า 0.76- 5.34 % เกณฑ์การยอมรับ < 10% และวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง (specificity/ selectivity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น ทั้งนี้ ได้ทดสอบหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด LOD (limit of detection) ได้ค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.01 mg/ml และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ LOQ (limit of quantitation) อยู่ในช่วง 0.05-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นประโยชน์ต่อการให้บริการวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ในระดับหนึ่ง รวมทั้งทำให้ ประหยัดเวลา สารเคมี และงบประมาณแผ่นดินได้ และสามารถพัฒนาผลงานวิจัยนี้ในการตรวจสอบสารชนิดอื่นๆในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชต่อไป

คำสำคัญ: สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช; ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช; HPLC

บทนำ

ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ส่วนใหญ่มักประสบปัญหาการตรวจวิเคราะห์ชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ที่มีจำนวนมาก และมีความหลากหลายของชนิดตัวอย่างที่นำส่งมาวิเคราะห์ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช ที่ไม่ทราบชนิด (unknown sample) จึงจำเป็นต้องหาวิธีการแก้ไขโดยศึกษาเทคนิควิธีทดสอบแบบสารรวม (multi-pesticides) ของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช สามารถใช้เป็น screening method ได้ ทั้งนี้จึงได้เลือกชนิดสารตัวอย่าง โดยศึกษาจากสถิติการนำส่งมาวิเคราะห์มากที่สุด คือ อะซีตามิพริด (acetamiprid) , ฟิโนบูคาร์บ (fenobucarb) , ฟิโพลนิล (fipronil) อะบาเมกติน (abamectin), คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) , เฮกซะซีโนน (hexazinone), ไซฮาโลฟอป-บิวทิล (cyhalofop-buthyl), ลูเฟนนูรอน (lufenuron), เบนฟูราคาร์บ (benfuracarb), เพนดิเมทาลิน (pendimethalin) ,ไซม็อกซานิล (cymoxanil) , ไทโอฟานเนต เมทิล (thiophanate methyl), เบนโนมิล (benomyl), ไดเมตโทมอร์ฟ (dimethomorph), ไตรไซคลาโซล (tricyclazole) ซึ่งสารทั้ง 15 ชนิดนี้ จะนำมาทดสอบเพื่อปรับสภาวะให้เหมาะสม สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารได้หลายชนิดในการตรวจวิเคราะห์เพียงครั้งเดียว แต่สารอีกหลายชนิดไม่สามารถใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์แบบรวมได้ เนื่องจากคุณสมบัติทางเคมีของสารแตกต่างกันออกไป ต้องใช้วิธีที่เฉพาะเจาะจงในการตรวจวิเคราะห์ จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับวัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ โดยจะใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ (high performance liquid chromatography : HPLC) ทั้งนี้เพื่อให้วิธีวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำและน่าเชื่อถือขึ้น จึงจำเป็นต้องมีความจำเพาะเจาะจง (Specificity) (EURACHEM, 2004)

ซึ่งจะต้องไม่มีการรบกวนของสารอื่น การทดสอบ matrix effect ต้องไม่มีผลต่อการทดสอบคือ % ME < (น้อยกว่า) 10 % (NATA, 2018) และการหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด LOD (Limit of detection) ซึ่งเป็นการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ LOQ (limit of quantitation) งานวิจัยนี้จึงสอดคล้องกับห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตรเพื่อที่จะรองรับการให้บริการวิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคใหม่ ๆ มุ่งเน้นให้ได้วิธีที่มีประสิทธิภาพ ประหยัดเวลา และ ประหยัดงบประมาณมากขึ้น และยังเป็นประโยชน์สามารถถ่ายทอดวิธีการดังกล่าวในการพัฒนาศักยภาพของห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. High performance liquid chromatograph ที่ติดตั้งตัวตรวจจับชนิดไดโอดอาร์เรย์ (DAD)
2. คอลัมน์ (AQS C-18) ความยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร สารเคลือบหนา 5 ไมโครเมตร
3. คอลัมน์ ชนิด Eclipse XDB C18, ความยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร สารเคลือบหนา 5 ไมโครเมตร
4. เครื่องชั่งละเอียด 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
5. ขวดปริมาตรชนิด type A ขนาด 10, 25 และ 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
6. ปิเปตดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติชนิดปรับปริมาตรได้ (Automatic pipette) ขนาด 10-100 ไมโครลิตร, 100-1000 ไมโครลิตรและ 1-10 มิลลิลิตรที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
7. ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 500 mL
8. เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic bath)
9. syringe filter ขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร
10. vial ขนาด 2 มิลลิลิตร และ ฝาปิด
11. สารมาตรฐาน จากบริษัทผู้ผลิต Dr. Ehrenstorfer ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 95% จำนวน 15 ชนิด ได้แก่ abamectin, acetamiprid, carbosulfan, fenobucarb, fipronil hexazinone, cyhalofop-buthyl, lufenuron, benfuracarb, pendimethalin, cymoxanil, thiophanate methyl, benomyl dimethomorph และ tricyclazole สารเคมี เช่น Methanol ชนิด HPLC grade, Acetonitrile ชนิด HPLC grade, phosphoric acid
12. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช ไตรโคเดอร์มา (Trichoderma)

วิธีการ

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์ให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิด
 - 1.1 ปรับภาวะเครื่อง High performance liquid chromatograph (HPLC) สำหรับการวิเคราะห์ abamectin, acetamiprid, carbosulfan, fenobucarb และ fipronil (ปี 2565)

Column	:	AQS C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm)
Mobile phase	:	Water : Acetonitrile (35 : 65)
Flow rate	:	1.5 mL/min

Detector	:	UV 245 nm
Injection volume	:	10 µL
Total run time	:	35 min

1.2 ปรับภาวะเครื่อง High performance liquid chromatograph (HPLC) สำหรับการวิเคราะห์ hexazinone, cyhalofop-buthyl, lufenuron, benfuracarb และ pendimethalin (ปี 2566)

Column	:	Eclipse XDB C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm)
Mobile phase	:	Acetonitrile: 0.1 % phosphoric acid (65 : 35)
Flow rate	:	1.5 ml/min
Detector	:	UV 230 nm
Injection volume	:	10 µL
Total run time	:	20 min

1.3 ปรับภาวะเครื่อง High performance liquid chromatograph (HPLC) สำหรับการวิเคราะห์ cymoxanil, thiophanate- methyl, benomyl, dimethomorph และ tricyclazole (ปี 2567)

Column	:	AQS C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm)
Mobile phase	:	Water : Acetonitrile (55 : 45)
Flow rate	:	1.0 ml/min
Detector	:	UV 230 nm
Injection volume	:	10 µL
Total run time	:	20 min

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1 เตรียม stock standard solution ของสารมาตรฐาน 5 ชนิด

2.1.1 ปี 2565 abamectin, acetamiprid, carbosulfan, fenobucarb และ fipronil

2.1.2 ปี 2566 hexazinone, cyhalofop-buthyl, lufenuron, benfuracarb และ pendimethalin

2.1.3 ปี 2567 cymoxanil, thiophanate methyl, benomyl dimethomorph และ tricyclazole

2.2 เตรียม stock standard solution ของสารมาตรฐาน 5 ชนิด ในข้อ 2.1.1

ชั่งสารมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติ้methanol ประมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 15 นาที นำออกมาตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol จนถึงขีดปริมาตร

2.3 เตรียม mix standard solution โดยผสมสารมาตรฐานทั้ง 5 ชนิด ปีเปิดจาก stock standard solution ของสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด (ข้อ 2.1) ใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร เติ้ methanol ประมาณ 25 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 15 นาที นำออกมาตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

3. การทดสอบ matrix effect

เตรียม mix standard solution ของสารมาตรฐานทั้ง 5 ชนิด จำนวน 2 ชุด ชุดที่ 1 เตรียมในตัวทำละลาย methanol (standard in solvent) และชุดที่ 2 เตรียมในสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์

กำจัดศัตรูพืช ไตรโคเดอร์มา (standard in matrix) ใน volumetric flask 10 มิลลิลิตร เติมน methanol ประมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath 15 นาที นำออกมาตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน กรองตัวอย่างด้วย nylon syringe filter 0.2 ไมครอน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัด standard in matrix และ standard in solvent นำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดหรือพื้นที่ใต้พีคบนแกน y กับความเข้มข้นของสารในตัวอย่างบนแกน x พิจารณาค่าความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in matrix และความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in solvent คำนวณหา %matrix effect (%ME) การคำนวณแสดงดังสมการ

$$\%ME = \frac{X1-X2}{X2} \times 100$$

โดยที่ X1 = ความชันของ standard in matrix

X2 = ความชันของ standard in solvent

ถ้า %ME น้อยกว่า 10% แสดงว่า matrix ไม่มีผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ (NATA, 2018)

4. การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) ของวิธีวิเคราะห์

ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยการฉีด solvent blank สารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะของวิธีทดสอบ พิจารณาโครมาโตแกรมดูว่ามีสารอื่นแปลกปลอมรบกวนสารออกฤทธิ์หรือไม่

5. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ของวิธีวิเคราะห์ (limit of detection, LOD)

ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้ทดสอบโดยการเติมสารละลายสารมาตรฐานรวมลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ หาค่า SD ประเมินค่า LOD เท่ากับ $3 \times SD$ (Eurachem, 2014) ความเข้มข้นดังกล่าวที่ทดสอบทั้ง 10 ครั้ง ต้องมีสัญญาณการวัด signal to noise ratio (S/N) ≥ 3 จึงจะถือว่าเป็นค่า LOD ของวิธี

6. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ)

ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจวิเคราะห์หาปริมาณได้ โดยมี accuracy และ precision ที่อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ทดสอบโดยการเติมสารละลายสารมาตรฐานลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ประเมินค่า LOQ เท่ากับ $10 \times SD$ (Eurachem, 2014)

7.เตรียมสารละลายของสาร ตามข้อ 2.1.2 - ข้อ 6 ตามลำดับ

8.เตรียมสารละลายของสาร ตามข้อ 2.1.3 - ข้อ 6 ตามลำดับ

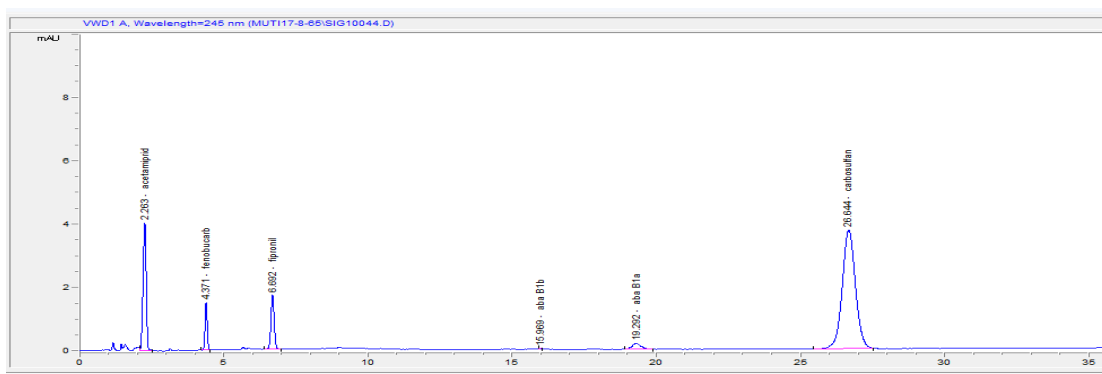
ระยะเวลา ตุลาคม 2565 ถึง กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพ กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

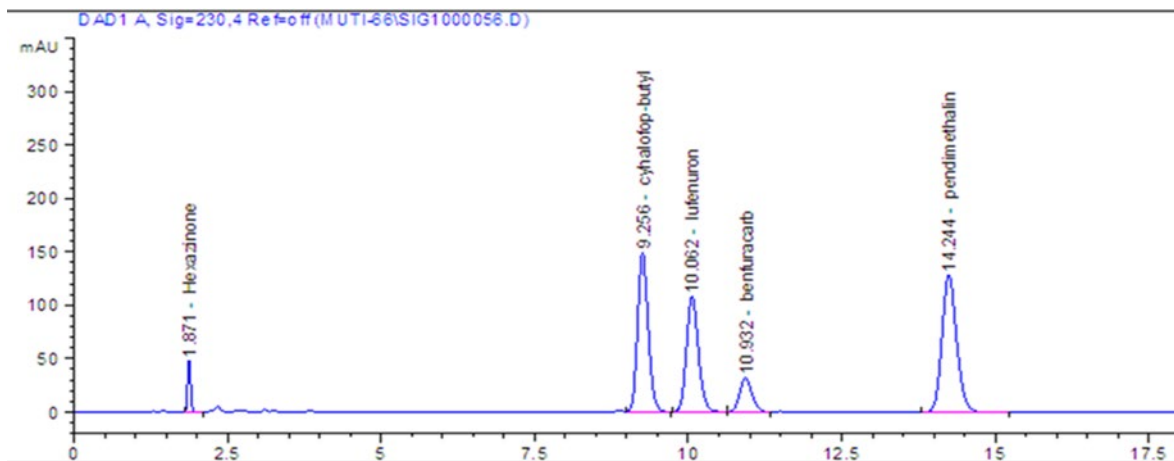
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิด

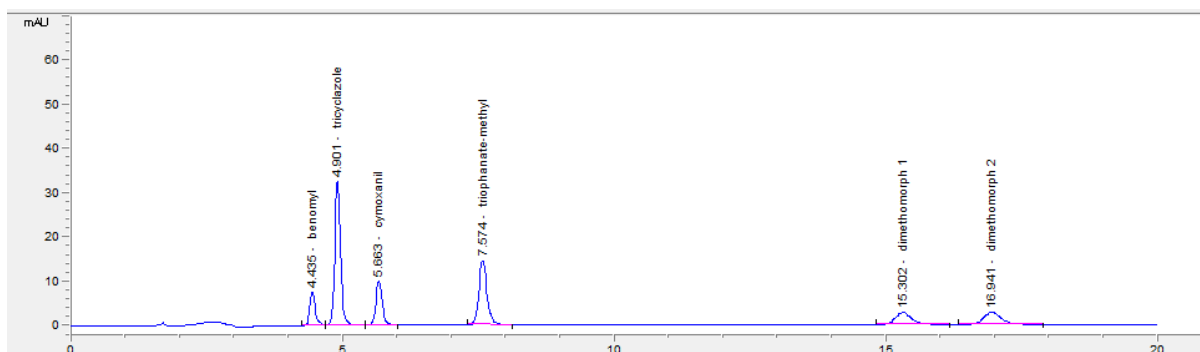
จากการวิเคราะห์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช ด้วยเครื่อง HPLC ทำการปรับตั้งค่าอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่และความยาวคลื่น เพื่อให้สามารถแยกสารทั้ง 15 ชนิดได้ในระยะเวลาที่เร็วที่สุด พบว่าตามวิธีวิเคราะห์ดังกล่าว เป็นสภาวะที่มีความเหมาะสม เนื่องจากเมื่อพิจารณาโครมาโตแกรมของสารละลายสารมาตรฐานรวม (mixed standard solution) พิกของสารมาตรฐานทั้ง 15 ชนิดสามารถแยกออกจากกันได้และพบค่าสัญญาณการตรวจวัดที่เห็นได้ชัดเจน แสดงดังภาพที่ 1-3 และปรากฏค่า retention time ของสารละลายสารมาตรฐานแต่ละชนิด รายละเอียดดังตารางที่ 4 ดังนั้น วิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบรวม (multi-pesticides method) นี้จึงเป็นวิธีที่เหมาะสม เป็นการพัฒนาการวิเคราะห์ในเทคนิค HPLC ที่จะทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความหลากหลายชนิดได้อย่างรวดเร็ว



ภาพที่ 1 โครมาโตแกรมสารละลายสารมาตรฐานรวมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิด



ภาพที่ 2 โครมาโตแกรมสารละลายสารมาตรฐานรวมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิด



ภาพที่ 3 โครมาโตแกรมสารละลายสารมาตรฐานรวมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิด

ตารางที่ 4 retention time ของสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิด

ปี 2565			ปี 2566		ปี 2567	
No.	Pesticide	RT	Pesticide	RT	Pesticide	RT
1	acetamiprid	2.26	hexazinone	1.87	benomyl	4.43
2	fenobucarb	4.37	cyhalofop-buthyl	9.25	tricyclazole	4.90
3	fipronil	6.69	lufenuron	10.06	cymoxanil	5.66
4	abamectin B1b,B1a	15.96,19.29	benfuracarb	10.93	thiophanate methyl	7.57
5	carbosulfan	26.64	pendimethalin	14.24	dimethomorph	15.30,16.94

2. การทดสอบ matrix effect

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ standard in matrix และ standard in solvent นำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดบนแกน y กับความเข้มข้นของสารในตัวอย่างเป็นแกน x นำค่าความชันจากสมการเส้นตรง ทำการคำนวณหา %matrix effect (%ME) พบว่า %ME ของสารละลายสารมาตรฐานจำนวน 15 ชนิด อยู่ในช่วง -0.51 ถึง 5.59 % มีค่าน้อยกว่า 10% อยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ %ME<10% (NATA, 2018) แสดงว่าผลกระทบขององค์ประกอบอื่นในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชไม่รบกวนการวิเคราะห์ สารละลายสารมาตรฐานที่เตรียมในตัวทำละลายทั้งสองชนิดให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช matrix effect ไม่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์ทดสอบ จึงสามารถเตรียม standard curve ได้ทั้งใน solvent และ matrix solvent รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 5

3. การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) ของวิธีวิเคราะห์

เมื่อพิจารณาโครมาโตแกรมของ solvent blank สารละลายสารมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง พบว่าพีคของสารมาตรฐานทั้ง 15 ชนิดสามารถแยกออกจากกันได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณการตรวจวัดในสารละลายตัวอย่างกับสารละลายสารมาตรฐานไม่มีสัญญาณการตรวจวัดที่รบกวนสารมาตรฐาน แสดงให้เห็นถึงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ในการแยกสารที่สนใจวิเคราะห์ออกจากสารอื่นๆ รวมทั้งสารปนเปื้อน สารที่เกิดจากการสลายตัวและเมทริกซ์ (Belouafa et al., 2017) ดังนั้นวิธีวิเคราะห์นี้มีความจำเพาะเจาะจงและมีความสามารถในการแยกสารที่ติดต่อกันทั้ง 15 ชนิดที่ทำการตรวจวิเคราะห์

ตารางที่ 5 ผลการศึกษา matrix effect ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช

	No.	Pesticide	slope of standard curve		%ME	Matrix effect (%ME<10%)
			standard in matrix	standard in solvent		
ปี 2565	1	acetamiprid	1183	1136	4.11	Not different
	2	fenobucarb	295	296	-0.51	Not different
	3	fipronil	1164	1183	-1.64	Not different
	4	abamectin	302	317	-4.52	Not different
	5	carbosulfan	612	621	-1.48	Not different
ปี 2566	1	hexazinone	1332	1329	0.19	Not different
	2	cyhalofop-buthyl	1795	1786	0.49	Not different
	3	lufenuron	1358	1320	2.87	Not different
	4	benfuracarb	364	344	5.95	Not different
	5	pendimethalin	2314	2346	-1.35	Not different
ปี 2567	1	benomyl	782	769	1.69	Not different
	2	tricyclazole	1280	1215	5.34	Not different
	3	cymoxanil	255	246	3.65	Not different
	4	thiophanate methyl	920	913	0.76	Not different
	5	dimethomorph	624	612	1.96	Not different

4. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ของวิธีวิเคราะห์ (limit of detection, LOD)

ทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานรวม (fortified mix standard) ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่ระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ จำนวน 10 ซ้ำ ทำการตรวจวิเคราะห์ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ประเมินค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้จาก LOD เท่ากับ 3SD (Eurachem, 2014) พบว่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 15 ชนิด มีค่า LOD อยู่ในช่วง 0.003-0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงดังตารางที่ 6 จะเห็นว่าค่าจากการประเมินด้วยวิธีการคำนวณมีค่าต่ำ เมื่อตรวจสอบค่า LOD พบว่ามีสารบางชนิดตรวจวัดสัญญาณได้ต่ำ มีค่า signal to noise (S/N) น้อยกว่า 3 ในช่วง และทำการตรวจวิเคราะห์ พบว่ามีสัญญาณการตรวจวัดทั้งหมดและมีค่า signal to noise (S/N) > 3 จึงสรุปได้ว่าค่า LOD ของวิธีวิเคราะห์ สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช อยู่ในช่วง 0.003 - 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (limit of quantitation, LOQ)

ทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานรวม (fortified mix standard) ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่ระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ จำนวน 10 ซ้ำ ทำการตรวจวิเคราะห์ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ประเมินค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ จาก LOQ เท่ากับ 10SD พบว่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 15 ชนิด ให้มีความความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.01 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงดังตารางที่ 6 แต่ผลการทดสอบสารบางชนิดไม่มีความแม่นยำ เมื่อคำนวณค่า %recovery ไม่อยู่ในช่วงเกณฑ์ที่กำหนด จึงปรับค่า LOQ ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.01 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยืนยันค่า LOQ โดยการคำนวณ %recovery และ %RSD พบว่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้ง 15 ชนิด อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ มีค่า %recovery อยู่ในช่วง 70-120% และ %RSD≤20% (SANTE/11312, 2021) เป็นการยืนยันได้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่ระดับ LOQ มีความถูกต้อง แม่นยำ ดังนั้นค่า LOQ ของวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช อยู่ในช่วง 0.01 - 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 6 การประเมิน LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิดในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช

	Pesticides	LOD (n=10)			LOQ (n=10)		
		Conc.(mg/ml)	peak area	S/N>3	Conc.(mg/ml)	peak area	S/N>10
ปี 2565	acetamiprid	0.003	27.8495	153.5	0.01	332.3928	307.7
	fenobucarb	0.003	7.7612	64.8	0.01	5.5995	80.5
	fipronil	0.003	13.0813	70.7	0.01	43.06	119.8
	abamectin	0.03	4.0062	7.9	0.1	43.5121	17.9
	carbosulfan	0.03	116.176	159.2	0.1	1223.7	364.3
ปี 2566	hexazinone	0.03	127.84	133.5	0.1	1332.49	20.75
	cyhalofop-buthyl	0.003	27.76	44.8	0.01	1795.66	90.82
	lufenuron	0.003	113.08	80.7	0.01	1358.63	66.63
	benfuracarb	0.03	54	17.9	0.1	364.61	23.36
	pendimethalin	0.003	146.17	119.2	0.01	2314.91	103.91
ปี 2567	benomyl	0.01	121.34	113.5	0.1	335.34	107.7
	tricyclazole	0.005	1051	44.8	0.05	1251	50.5
	cymoxanil	0.01	139.0813	30.7	0.1	426.83	109.8
	thiophanate methyl	0.005	297.0062	8.9	0.05	806.67	14.9
	dimethomorph	0.01	116.116	79.2	0.1	283.61	94.3

สรุปผลการทดลอง

การตรวจสอบชนิดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 15 ชนิด ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืช ด้วยเทคนิค HPLC ได้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารทั้ง 15 ชนิดให้สามารถแยกออกจากกันได้และพบค่าสัญญาณการตรวจวัดที่ชัดเจน ทดสอบ matrix effect (%ME) พบว่าอยู่ในช่วง -0.51 ถึง 5.95 % ผ่านเกณฑ์การยอมรับ <10% แสดงว่า matrix ไม่มีผลกระทบต่อวิเคราะห์ ทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) โดยพิจารณาโครมาโตแกรมของ solvent blank สารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง ไม่พบสารอื่นรบกวนสารออกฤทธิ์ ทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่วิธีทดสอบสามารถตรวจวัดได้ (LOD) อยู่ในช่วง 0.003-0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (LOQ) อยู่ในช่วง 0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นวิธีวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบรวม ด้วยเทคนิค HPLC จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชที่ไม่ทราบชนิด (unknown sample) ที่จะทำให้การตรวจวิเคราะห์เป็นไปอย่างรวดเร็ว

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนทุนวิจัย ในปีงบประมาณ พ.ศ.2565 – 2567

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. เพิ่มประสิทธิภาพและศักยภาพในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษ การเกษตร สามารถนำวิธีทดสอบนี้ไป ใช้ในการวิเคราะห์ตรวจสอบสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 15 ชนิด abamectin, acetamiprid, carbosulfan fenobucarb, fipronil, hexazinone, cyhalofop-buthyl, lufenuron, benfuracarb, pendimethalin, cymoxanil, thiophanate methyl, benomyl dimethomorph และ tricyclazole ในผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชได้
2. วิธีนี้สามารถนำไปถ่ายทอดให้กับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขต ที่ 1 - 8 ในส่วนภูมิภาคและหน่วยงานอื่นที่สนใจได้

เอกสารอ้างอิง

- ทิพวรรณ นิงน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
- สำนักวิจัยพัฒนาอรรถกาศพืช กรมวิชาการเกษตร. 2563. ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช. บริษัทนวัตกรรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด. กรุงเทพฯ: 240 หน้า.
- Belouafa, S., F. Habti, S. Benhar, B. Belafkih, S. Tayane, S. Hamdouch, A. Bennamara, and A. Abourriche. 2017. Statistical tools and approaches to validate analytical methods: methodology and practical examples. International Journal of Metrology and Quality Engineering. 8: 1-10.
- Dobrat W. and Martijn A. 1984. CIPAC Handbook Vol. D: Analysis of Technical and Formulated Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, The Black Bear Press, England.
- Dobrat W. and Martijn A. 1998. CIPAC Handbook Vol. H: Analysis of Technical and Formulated Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, The Black Bear Press, England.
- Dobrat W. and Martijn A. 2000. CIPAC Handbook Vol. J: Analysis of Technical and Formulated Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, The Black Bear Press, England.
- Dobrat W. and Martijn A. 2006. CIPAC Handbook Vol. L: Analysis of Technical and Formulated Pesticides. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited, The Black Bear Press, England.
- Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd ed. 62 p.
- NATA. 2018. General Accreditation Guidance-Validation and verification of quantitative and qualitative test methods. January, Australia.
- SANTE/11312. 2021. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed.

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไอโซกซาฟลูโทล
ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
Method Validation for determination of the Active Ingredient of
isoxaflutole in Pesticide Products

สุกัญญา คำคง พินิตนันต์ สรวายเอี่ยม ศศิมา มั่งนิมิตร
Sukanya Khomkong Pinitnun Sruay-iam Sasima Mungnimit

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Method validation study of active ingredients in pesticide formulation products, such as isoxaflutole. The objectives of this study were validated of method to appropriate with the instrument in laboratory which was developed and adapted from standard method by Gas Chromatography technique within the appropriate condition. The results were found that the working concentration range of isoxaflutole were 0.1–1.5 mg/ml and linearity range of isoxaflutole were 0.4 – 1.4 mg/ml with the correlation coefficient (r) were 0.99623 and 0.99705, respectively which had accepted with limit of the correlation coefficient (r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003). The precision of HORRAT values for repeatability and intermediate precision of the analytical substances by the three levels of concentration were 0.8, 1.0 and 1.2 mg/ml thus the HORRAT values were 1.08, 1.26, 1.24 and 1.26, 1.23, 1.22, respectively. The HORRAT values tested with robustness and ruggedness of isoxaflutole which two factors analysis for change that the flow rate of mobile phase and column oven temperature by the three levels of concentration were 0.8, 1.0 and 1.2 mg/ml that the HORRAT values were in the range of 0.83 – 1.02 which were followed by the AOAC that between 0.3 – 1.3. The accuracy of this method was assessed by recovery studied. The percent recoveries of the analytical substances by the three levels of concentration were 0.8, 1.0 and 1.2 mg/ml showed percent recoveries were 100.6, 99.8 and 98.4, respectively considered an acceptance by the AOAC that as 98-102% for analytical concentrations more than 10%. This specificity method did not have interference from other substances. The measured uncertainty of isoxaflutole was 24.5 ± 0.43 %W/V at 95% confidence level. As a result, it was the performance characteristics of this method according to the criteria. Therefore, the method development could be used to determine the active ingredients in pesticide formulation products with accuracy and precision.

Keywords: Method validation; Cymoxanil; Repeatability; Intermediate precision; Uncertainty

บทคัดย่อ

จากการศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไอโซซอกซาฟลูโทล (isoxaflutole) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาวิธีขึ้นมาใหม่หรือดัดแปลง มาจากวิธีมาตรฐานให้เหมาะสมกับเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ เพื่อสร้างมาตรฐานการทดสอบให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องและแม่นยำ ยอมรับได้ตามเกณฑ์การยอมรับสากล ด้วยเทคนิค Gas Chromatography (GC) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่า ช่วงของการวัด (working range) ที่ความเข้มข้น 0.1 – 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.4 – 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.99623 และ 0.99705 ตามลำดับ ซึ่งเกณฑ์ยอมรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003) ตรวจสอบความแม่นยำ (precision) แบบ repeatability และ intermediate precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า HORRAT เท่ากับ 1.08, 1.26, 1.24 และ 1.26, 1.23, 1.22 ตามลำดับ ตรวจสอบความคงทน (robustness / ruggedness) โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบแบบ 2 ปัจจัยคือ อัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่และอุณหภูมิคอลัมน์ ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.83 – 1.02 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์พิจารณาของ AOAC คือ 0.3 – 1.3 ตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ % recovery เท่ากับ 100.6, 99.8 และ 98.4 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วง 98 – 102 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่น และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของ isoxaflutole เท่ากับ 24.5 ± 0.43 %W/V ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากผลการทดสอบดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า คุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีที่พัฒนานี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี; สารออกฤทธิ์ไอโซซอกซานิล; ความสามารถในการทำซ้ำ; ความสามารถในการทำซ้ำภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน; การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด

บทนำ

ไอโซซอกซาฟลูโทล (isoxaflutole) เป็นสารประกอบสังเคราะห์ของกลุ่มสารเคมี isoxazole ที่ใช้เป็นสารกำจัดวัชพืช มีสูตรทางเคมี $C_{15}H_{12}F_3NO_4S$ น้ำหนักโมเลกุล 359.3 มีความสามารถในการละลายได้ในอะซิโตน อะซิโตนไนไตรท์ โทลูอีน ไดคลอโรมีเทน เฮกเซน และเมทานอล ที่อุณหภูมิ 20 °C กลไกการออกฤทธิ์ของ isoxaflutole คือ การยับยั้งเอนไซม์ 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) ซึ่งยับยั้งการสร้างเมดสี และทำให้เกิดการฟอกสีเนื้อเยื่อที่กำลังพัฒนาของพืชเป้าหมาย มีประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้าและวัชพืชใบกว้างในวงกว้าง โดยการฟอกวัชพืชที่โผล่ออกมาหรือที่โผล่ออกมาภายหลังการดูดซึมของสารกำจัดวัชพืชผ่านทางระบบราก (Kidd and James, 1993) สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ isoxaflutole ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีวิธีมาตรฐาน อ้างอิงตาม CIPAC (Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC (Gas Chromatography) ที่ใช้เฟสคงที่หรือคอลัมน์เป็นวัสดุที่ทำมาจากแก้ว (Dobrat and Martijn, 1989) จึงมีความจำเป็นที่ต้องพัฒนาวิธีปรับปรุง หรือดัดแปลงวิธีให้เหมาะสมกับอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) เป็นส่วนสำคัญอย่างยิ่งของการพัฒนา หรือปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ขึ้นมาใหม่ ซึ่งมีแนวทางในการประเมินเพื่อยืนยันหรือพิสูจน์วิธีวิเคราะห์นั้น ๆ จากการศึกษา

แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว ได้กำหนดคุณลักษณะเฉพาะวิธีในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี คือ ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ช่วงของการวัด (working Range) ความแม่นยำ (precision) ความคงทนของวิธี (robustness/ruggedness) ความถูกต้อง (accuracy) และความจำเพาะเจาะจง (specificity) รวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด (measurement uncertainty) (ทิพวรรณ, 2549)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นส่วนหนึ่งในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร เพื่อให้เป็นไปตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 โดยมีห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ภายใต้การกำกับดูแลของกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เป็นหน่วยงานรับผิดชอบในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ทั้งการขึ้นทะเบียนนำเข้าและส่งออก เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีคุณภาพและเกษตรกรนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) ที่พัฒนาวิธีขึ้นมาใหม่หรือดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานให้เหมาะสมกับอุปกรณ์หรือเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ เพื่อสร้างมาตรฐานการทดสอบ ให้ผลการทดสอบมีความถูกต้อง แม่นยำ ยอมรับได้ตามเกณฑ์การยอมรับที่เป็นมาตรฐาน รวมทั้งสามารถขอการรับรองมาตรฐานคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 เพื่อเพิ่มสมรรถนะของห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร งานวิจัยนี้จึงสอดคล้องกับกลยุทธ์ของกรมวิชาการเกษตรด้านการวิจัยและพัฒนาระบบมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพพืช ปัจจัยการผลิต และผลิตภัณฑ์ที่มุ่งให้มีมาตรฐานการทดสอบเป็นที่น่าเชื่อถือยอมรับได้ในระดับประเทศและระดับสากล

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Gas Chromatography, GC มีตัวตรวจวัดชนิด FID (Flame Ionization Detector)
2. คอลัมน์ชนิด DB-5 ขนาด 0.25 ไมโครเมตร ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง (id) 0.32 มิลลิเมตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (± 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
4. Ultrasonic bath
5. ขวดวัดปริมาตรชนิด type A ขนาด 25, 100 และ 200 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
6. Auto pipette ขนาด 1 - 10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว
7. ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
8. ปีกเกอร์
9. สารเคมี เช่น สารมาตรฐาน isoxaflutole 99.84 % สารอะซีโตน (AR grade)
10. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดวัชพืช cyprosulfamide + isoxaflutole 24 % + 24 % W/V SC

วิธีการ

1. การปรับตั้งสภาวะเครื่อง GC (FID) สำหรับการตรวจวิเคราะห์ isoxaflutole

คอลัมน์	: DB-560 ขนาด 0.25 ไมโครเมตร ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร
อัตราการไหล	: 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที
อุณหภูมิส่วนหัวฉีด	: 260 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิคอลัมน์	: 230 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิตัวตรวจวัด	: 20 องศาเซลเซียส

แก๊สพา : ฮีเลียม
ปริมาตรการฉีด : 1 ไมโครลิตร

2. ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

โดยฉีดสารมาตรฐาน สารละลายตัวอย่างของ isoxaflutole และสารละลายแบลงค์ (blank) ของ acetone เข้าเครื่อง GC ที่ทำการกำหนดสถานะเครื่องดังข้อ 1 พิจารณาโครมาโทแกรมดูว่ามีสารอื่นแปลกปลอมมารบกวนสารออกฤทธิ์ isoxaflutole หรือไม่

3. ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวัด (linearity/working range)

3.1 เตรียม stock standard solution isoxaflutole ให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน isoxaflutole 99.84 % ให้มีสารออกฤทธิ์ isoxaflutole ปริมาณ 500 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตน ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 10 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตน เขย่าให้เข้ากัน

3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole ที่ความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยทำการปิเปตจาก ข้อ 3.1 ปริมาตร 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตน ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 10 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตน เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่อง GC สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณาค่าความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง และคำนวณค่า Correlation coefficient ($r \geq 0.990$) (CIPAC, 2003)

3.3 เตรียมสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.8, 1.0, 1.25, 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการตรวจสอบช่วงของการวัด (working range) โดยทำการปิเปตจาก ข้อ 3.1 ปริมาตร 0.5, 1.25, 4, 5, 6.25 และ 7.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตน ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 10 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตน เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่อง GC สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณาค่าความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง และคำนวณค่า Correlation coefficient ($r \geq 0.990$) (CIPAC, 2003)

4. ตรวจสอบความแม่นยำ (Precision)

4.1 Repeatability ตรวจสอบ precision แบบ repeatability ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบ คนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกัน ดังนี้

4.1.1 การเตรียมสารมาตรฐานแบบ 2 ซ้ำ (duplicate) ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน isoxaflutole 99.84 % ให้มีสาร isoxaflutole ปริมาณ 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตน ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 10 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมน้ำอะซิโตนถึงขีดปริมาตร แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC

4.1.2 การเตรียมตัวอย่างสาร isoxaflutole 24 % W/V SC ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยชั่งสารตัวอย่างให้มีสาร cymoxanil ปริมาณ 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตน ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตน

เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายเข้าเครื่อง GC โดยเทียบกับสารมาตรฐานของแต่ละช่วงความเข้มข้นจากข้อ 4.1.1 คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

ประเมิน precision โดยใช้ HORRAT

$$\text{HORRAT} = \% \text{RSD}_{\text{exp.}} / \% \text{RSD}_{\text{Horwitz}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\% \text{RSD}_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

$$C = \text{Concentration ratio}$$

เกณฑ์ยอมรับค่า precision ยอมรับ HORRAT = 0.3 – 1.3

4.2 Repeatability ตรวจสอบ precision แบบ intermediate precision ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในช่วงเวลาต่างกัน วิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 4.1 แต่จะวิเคราะห์ต่างวัน โดยเทียบกับสารมาตรฐานของแต่ละช่วงความเข้มข้น คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

5. ตรวจสอบความคงทน (Robustness/Ruggedness)

วิเคราะห์ตัวอย่างสาร isoxaflutole 24 % W/V SC เช่นเดียวกับข้อ 4.1 โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบ 2 ปัจจัย คือ อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่กับอนุภาคน้ำมัน คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

6. ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

6.1 เตรียม Stock standard: เตรียมสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole 99.84 % ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำสะอาดปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตนจนถึงขีดปริมาตร

6.2 เตรียม Stock sample: เตรียมสารละลายตัวอย่าง isoxaflutole 24 % W/V SC ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำสะอาดปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 10 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตนจนถึงขีดปริมาตร

6.3 เตรียมสารละลายมาตรฐาน: เตรียมสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole 99.84 % ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 2 ข้ว โดยปิเปตสารละลาย stock standard ข้อ 6.1 ปริมาตร 1.6, 2 และ 2.4 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำสะอาดปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 10 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมน้ำสะอาดจนถึงขีดปริมาตร แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC

6.4 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Origin: ปิเปตสารละลาย stock sample ข้อ 6.2 ปริมาตร 6, 7.5 และ 9 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร อย่างละ 10 ข้ว ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตนจนถึงขีด

ปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายเข้าเครื่อง GC โดยเทียบกับสารมาตรฐานในแต่ละช่วงที่เตรียมไว้ ข้อ 6.3

6.5 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Spike: ปิเปตสารละลาย stock sample ข้อ 6.2 ปริมาตร 6, 7.5 และ 9 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร อย่างละ 10 ข้ว จากนั้นเติมสารละลาย stock standard ข้อ 6.1 ปริมาตร 2.8, 3.5 และ 4.2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตนจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายเข้าเครื่อง GC โดยเทียบกับสารมาตรฐานในแต่ละช่วงที่เตรียมไว้ ข้อ 6.3

ประเมินค่า accuracy จากค่า % recovery

$$\% \text{ recovery} = (C_{\text{spike}} - C_{\text{origin}}) \times 100 / C_{\text{add}}$$

C_{spike} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย Spike

C_{origin} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย Origin

C_{add} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่เติมลงในสารละลาย Spike

7. ประเมินค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty): ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ isoxaflutole ในผลิตภัณฑ์ สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

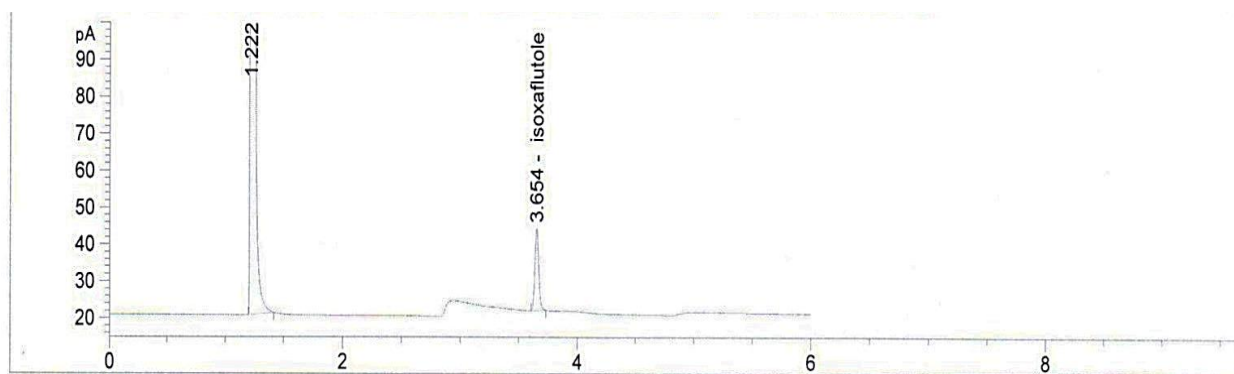
ระยะเวลา ตุลาคม 2565 ถึง กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตร
กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

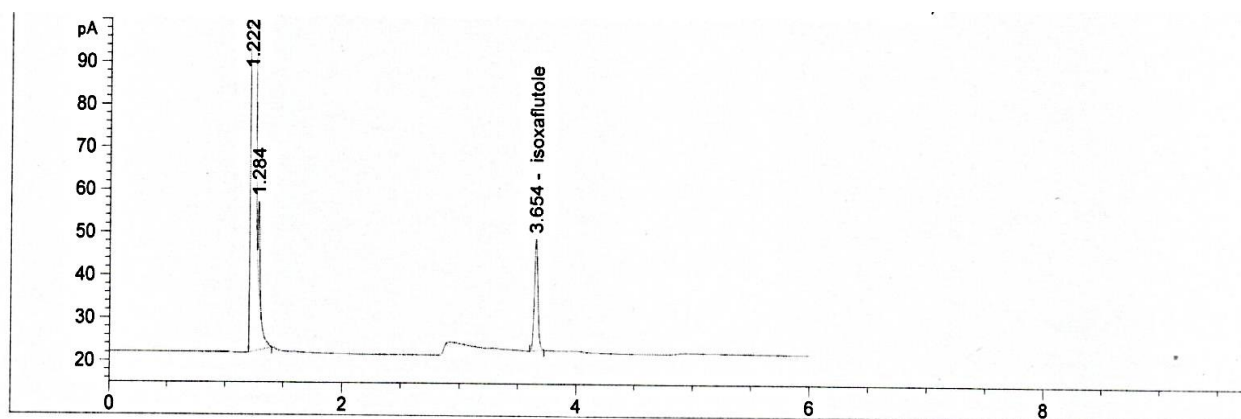
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

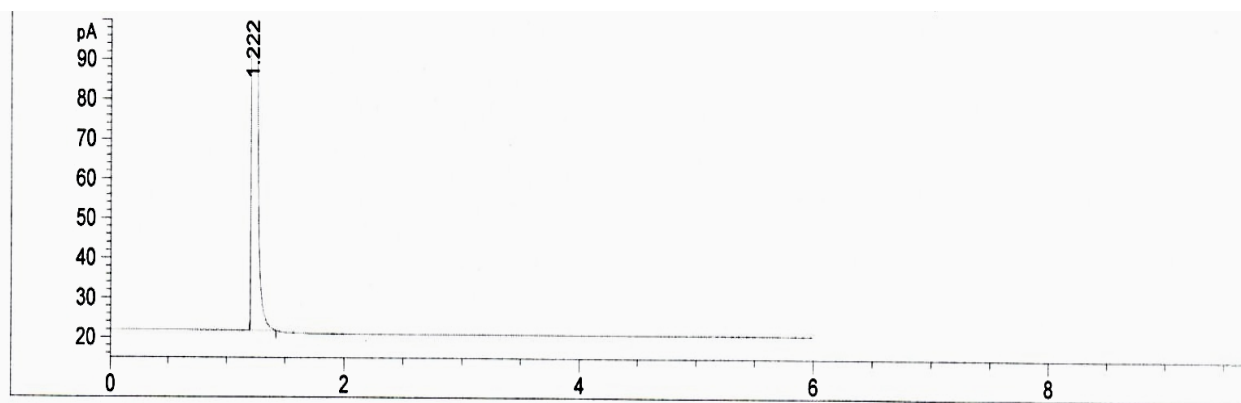
การตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (specificity) ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ isoxaflutole พบว่าโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน สารละลายตัวอย่างของ isoxaflutole และสารละลายแบลนด์ (blank) ของ acetone ไม่มีพีคอื่นใดมารบกวน (ภาพที่ 1 – 3) แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ isoxaflutole ไม่ตอบสนองต่อสารอื่น แต่จะตอบสนองเฉพาะเจาะจงต่อสารตัวอย่าง



ภาพที่ 1 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole 99.84 % ที่ไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์



ภาพที่ 2 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง isoxaflutole 24 % W/V SC ที่ไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์



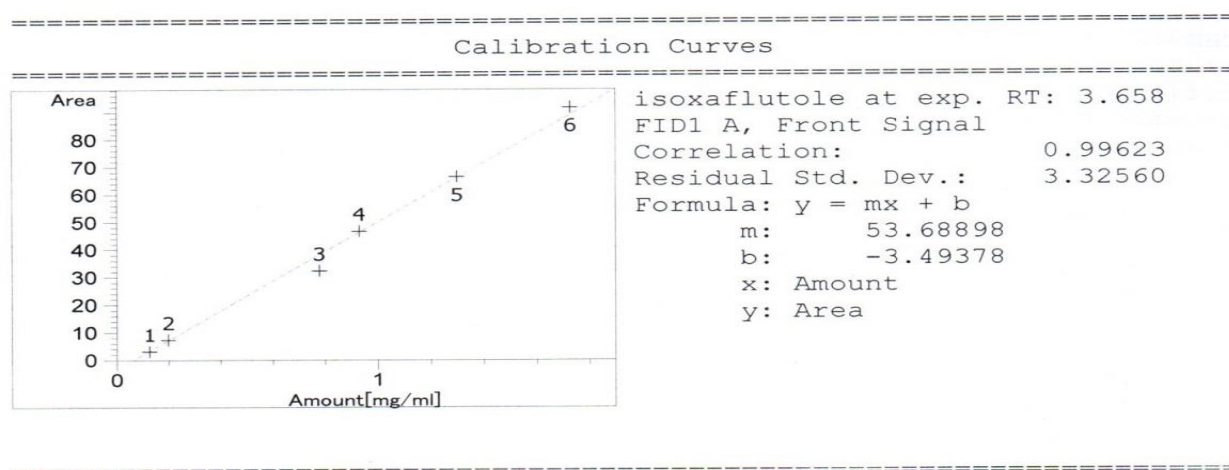
ภาพที่ 3 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายแบลงค์ (acetone) ที่ไม่มีพีค (peak) ขึ้นตรงกับสารละลายมาตรฐาน

2. การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) และช่วงของการวัด (working Range)

ตรวจสอบช่วงของการวัด (working range) พบว่า ช่วงของการวัดของสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole 99.84% ในช่วงความเข้มข้น 0.1 – 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 1) ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99623 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐานต้องมีค่า $r \geq 0.990$ (CIPAC, 2003) แสดงในภาพที่ 4

ตารางที่ 1 การตรวจสอบช่วงการวัด (working range) ของสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole

Conc. (mg/ml)	Area	Level
0.10	3.04251	1
0.25	7.20906	2
0.80	32.26556	3
1.00	46.67751	4
1.25	66.37258	5
1.50	91.62858	6

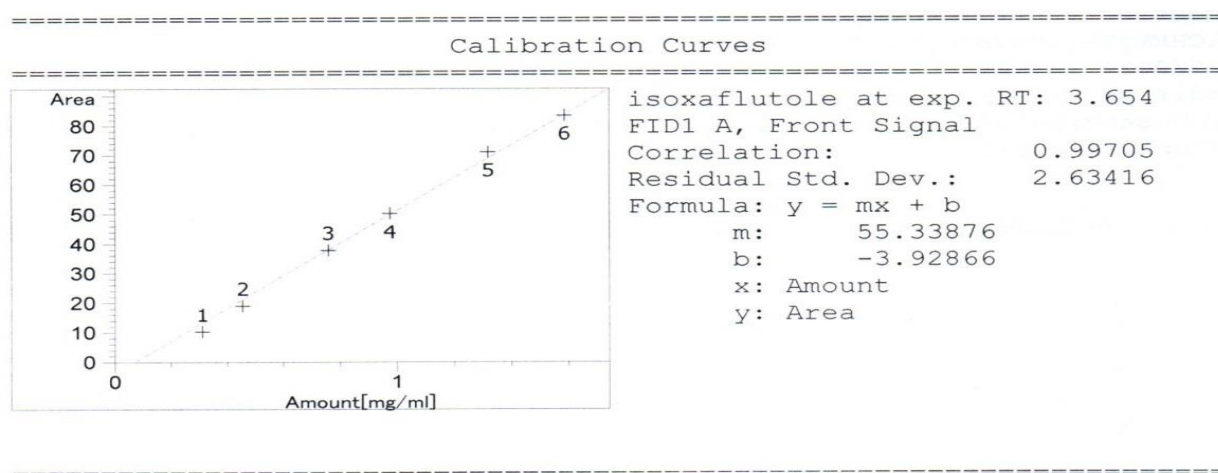


ภาพที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole กับพื้นที่ใต้กราฟ (area) ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99623

ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole 99.84 % ในช่วงความเข้มข้น 0.4 – 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2) ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99705 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐานต้องมีค่า $r \geq 0.990$ (CIPAC, 2003) แสดงในภาพที่ 5

ตารางที่ 2 การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole

Conc. (mg/ml)	Area	Level
0.4	10.21971	1
0.6	18.91626	2
0.8	37.72429	3
1.0	50.17516	4
1.2	70.99465	5
1.4	83.46407	6



ภาพที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน isoxaflutole กับพื้นที่ใต้กราฟ (area) ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99705

3. การตรวจสอบความเที่ยง (Precision)

ตรวจสอบความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ isoxaflutole 24 % W/V SC ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0, 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ประเมินแบบ repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.08, 1.26, 1.24 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 Precision results of repeatability of isoxaflutole

n	Conc. 0.8 mg/ml		Conc. 1.0 mg/ml		Conc. 1.2 mg/ml	
	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai
1	87.3	20.86	105.3	20.32	125.9	21.50
2	80.4	20.99	102.1	20.67	137.2	20.68
3	86.4	20.79	104.0	21.05	120.7	20.99
4	88.0	20.57	108.9	20.86	123.8	20.43
5	82.1	20.80	103.6	20.96	130.1	21.03
6	83.5	20.72	104.1	20.14	124.2	21.11
7	85.4	20.62	107.3	19.89	124.9	20.12
8	83.8	21.54	110.5	20.44	122.7	21.20
9	84.9	21.23	101.8	19.90	120.3	21.17
10	82.1	20.19	104.9	20.25	139.8	21.35
Mean (%W/W)		20.83		20.45		20.96
C		0.24		0.24		0.24
SD		0.37		0.42		0.43
%RSD		1.77		2.07		2.04
Predicted Horwitz RSD		1.63		1.63		1.63
HORRAT		1.08		1.26		1.24

ประเมินแบบ intermediate precision ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.26, 1.23, 1.22 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3

ตารางที่ 4 Precision results of intermediate precision of isoxaflutole

n	Conc. 0.8 mg/ml		Conc. 1.0 mg/ml		Conc. 1.2 mg/ml	
	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai
1	82.1	20.21	108.9	21.05	120.0	20.88
2	85.0	20.92	104.5	20.66	131.4	20.43
3	85.2	20.79	108.8	20.31	139.5	20.5
4	86.4	20.57	100.6	20.86	128.0	20.68
5	82.2	20.11	104.3	20.96	126.5	20.03
6	88.1	20.72	106.6	19.90	121.0	20.00
7	82.1	21.00	101.5	20.00	141.4	20.12
8	82.8	21.22	104.4	20.14	124.3	20.71
9	86.5	20.00	105.8	20.45	144.6	21.17
10	85.2	20.20	106.7	20.78	132.8	20.99
Mean (%W/W)		20.57		20.51		20.55
C		0.24		0.24		0.24
SD		0.42		0.41		0.41
%RSD		2.06		2.01		1.99
Predicted Horwitz RSD		1.63		1.63		1.63
HORRAT		1.26		1.23		1.22

4. การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์ (Robustness/Ruggedness)

การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ isoxaflutole 24 % W/V SC โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบแบบ 2 ปัจจัย คือ อัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ และอุณหภูมิคอลัมน์ ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0, 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า การเปลี่ยนอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ของวิธีวิเคราะห์ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.95, 0.83, 1.02 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) การเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์ของวิธีวิเคราะห์ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.91, 0.87, 1.01 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016)

ตารางที่ 5 Results of robustness/ruggedness (change flow rate) of isoxaflutole

n	Conc. 0.8 mg/ml		Conc. 1.0 mg/ml		Conc. 1.2 mg/ml	
	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai
1	85.0	20.99	104.8	20.32	138.0	21.17
2	85.2	20.10	109.0	20.67	124.2	20.68
3	82.3	20.79	106.7	21.05	139.7	20.51
4	86.4	20.72	105.7	20.86	124.3	20.43
5	82.3	20.21	101.5	20.96	134.3	21.03
6	87.9	20.58	106.3	20.14	122.3	20.00
7	80.4	20.62	104.3	19.89	120.0	20.12
8	82.1	21.54	100.6	20.44	131.3	21.20
9	87.3	20.19	104.5	19.91	132.7	21.50
10	88.0	19.92	108.9	20.25	126.5	21.35
Mean (%W/W)		20.57		20.45		20.80
C		0.24		0.24		0.24
SD		0.48		0.42		0.52
%RSD		2.35		2.07		2.52
Predicted Horwitz RSD		1.63		1.63		1.63
HORRAT		0.95		0.83		1.02

ตารางที่ 6 Results of robustness/ruggedness (change column oven temperature) of isoxaflutole

n	Conc. 0.8 mg/ml		Conc. 1.0 mg/ml		Conc. 1.2 mg/ml	
	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai
1	80.3	20.21	101.5	20.26	139.7	21.20
2	81.5	20.62	104.6	19.90	120.9	20.44
3	87.9	20.79	108.1	20.15	141.3	19.99
4	82.3	20.57	106.3	20.96	124.2	20.69
5	86.7	20.11	104.4	20.32	135.3	20.11
6	82.2	20.72	106.7	21.06	139.6	21.11
7	85.6	20.98	100.0	20.00	132.7	21.34
8	81.5	21.53	104.3	21.01	120.0	21.50
9	80.4	21.23	105.7	20.66	122.0	21.17
10	86.7	20.19	102.6	20.86	134.4	21.04
Mean (%W/W)		20.70		20.52		20.86
C		0.24		0.24		0.24
SD		0.47		0.44		0.52
%RSD		2.25		2.15		2.51
Predicted Horwitz RSD		1.63		1.63		1.63
HORRAT		0.91		0.87		1.01

5. การตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

ตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) โดยหาค่า % recovery ของสารออกฤทธิ์ isoxaflutole 24 % W/V SC ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ จำนวน 10 ซ้ำ คือ 0.8, 1.0, 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่า ได้ % recovery เท่ากับ 100.6, 99.8 และ 98.4 ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 98 - 102 % ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (2016)

ตารางที่ 7 % Recovery of isoxaflutole

n	cymoxanil ai. content (mg/ml)											
	0.08 mg/ml				0.10 mg/ml				0.12 mg/ml			
	origin	add	result	% recovery	origin	add	result	% recovery	origin	add	result	% recovery
1	0.28	0.56	0.85	100.9	0.33	0.70	1.03	99.3	0.36	0.84	1.17	98.1
2	0.28	0.56	0.84	100.6	0.33	0.70	1.04	100.1	0.35	0.84	1.18	98.7
3	0.28	0.56	0.84	100.5	0.34	0.70	1.03	99.6	0.35	0.84	1.17	98.6
4	0.28	0.56	0.85	101.2	0.34	0.70	1.03	99.8	0.36	0.84	1.17	97.8
5	0.28	0.56	0.85	101.3	0.33	0.70	1.03	99.4	0.35	0.84	1.17	98.7
6	0.28	0.56	0.85	100.0	0.33	0.70	1.04	100.0	0.35	0.84	1.18	99.5
7	0.28	0.56	0.84	100.7	0.33	0.70	1.03	99.4	0.35	0.84	1.17	98.0
8	0.27	0.56	0.84	99.9	0.34	0.70	1.04	99.9	0.35	0.84	1.17	97.4
9	0.28	0.56	0.85	101.1	0.34	0.70	1.03	100.1	0.35	0.84	1.17	98.4
10	0.28	0.56	0.84	100.0	0.33	0.70	1.04	99.9	0.36	0.84	1.18	99.1
mean	0.28	0.56	0.84	100.6	0.33	0.70	1.03	99.8	0.35	0.84	1.17	98.4

6. การประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty)

ประมาณค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ isoxaflutole พบว่า แหล่งของความไม่แน่นอนการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ isoxaflutole 24 % W/V SC ตามที่แสดงอยู่ในตารางที่ 8 รายงานผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ isoxaflutole เท่ากับ 24.5 ± 0.43 %W/V

ตารางที่ 8 Possible sources of uncertainty in analysis of isoxaflutole

Source	Unit	Value (x)	u_x	$Ru (u_x/x)$	Ru^2
$U_{m.std}$	g	0.01	6.7882×10^{-5}	6.7882×10^{-4}	4.608×10^{-7}
$U_{m.s}$	g	0.1	6.7882×10^{-5}	6.7882×10^{-3}	4.608×10^{-5}
$U_{vol.std}$	ml	100	2.0914×10^{-2}	2.0914×10^{-4}	4.374×10^{-8}
$U_{vol.samp}$	ml	250	5.2143×10^{-1}	1.1553×10^{-5}	1.335×10^{-10}
$U_{vol.std,samp}$	ml	25	5.2220×10^{-3}	2.0888×10^{-4}	4.363×10^{-8}
U_{std}	-	0.9984	1.5000×10^{-3}	1.5060×10^{-3}	2.268×10^{-6}
U_{Repeat}	g	24.5	1.3281×10^{-1}	5.4210×10^{-3}	2.939×10^{-5}

สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจสอบวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไอโซซอกซาฟลูโทล (isoxaflutole) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธี โดยเทคนิค GC (Gas Chromatography) ด้วยการทดสอบคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ของสารออกฤทธิ์ isoxaflutole 24 % W/V SC พบว่า วิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ isoxaflutole มีความสามารถในการแยกและความจำเพาะเจาะจง (specificity) ให้พีคของสารทดสอบชัดเจน ไม่มีพีคอื่นมารบกวนพีคของสาร แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สามารถแยกและมีความเฉพาะเจาะจงที่ดีต่อสารที่ทำการทดสอบ ทั้งนี้การตรวจสอบช่วงของการวัด (working range) ช่วงความเข้มข้น 0.1 – 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) ช่วงความเข้มข้น 0.8 – 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99623 และ 0.99705 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ ค่า $r \geq 0.990$ (CIPAC, 2003) ตรวจสอบความแม่นยำ (precision) แบบ repeatability ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ .08, 1.26 และ 1.24 ตามลำดับ ตรวจสอบความแม่นยำ แบบ intermediate precision ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.26, 1.23 และ 1.22 เมื่อตรวจสอบความคงทน (robustness/ruggedness) โดยการเปลี่ยนแปลงตัวแปรหรือปัจจัยบางอย่างในวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ อัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่และเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า การเปลี่ยนอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.95, 0.83 และ 1.02 ตามลำดับ และการเปลี่ยนอุณหภูมิคอลัมน์ของวิธีวิเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.91, 0.87 และ 1.01 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC การตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ได้ค่า % recovery เท่ากับ 100.6, 99.8 และ 98.4 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วง 98 – 102 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 10 ของ AOAC นอกจากนี้การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (uncertainty) พบว่า ประมาณค่าความไม่แน่นอนสารออกฤทธิ์ isoxaflutole เท่ากับ 24.5 ± 0.43 %W/V ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนามาจากวิธีมาตรฐานจึงมีความเหมาะสม ที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ isoxaflutole ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สร้างความน่าเชื่อถือแก่ผลการทดสอบ และสามารถนำไปขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 ได้ เพื่อแสดงถึงความสามารถของห้องปฏิบัติการในระดับสากล

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรในห้องปฏิบัติการ เพื่อการขึ้นทะเบียนนำเข้าและส่งออก รวมทั้งควบคุมคุณภาพวัตถุอันตรายทางการเกษตร ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535 และรวบรวมเป็นวิธีมาตรฐาน สามารถตีพิมพ์เผยแพร่ให้แก่ห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาค ส่วนภาครัฐหรือภาคเอกชน และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้อย่างเป็นที่น่าเชื่อถือ
2. ใช้ยื่นขอขยายขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เพื่อเพิ่มศักยภาพให้กับหน่วยงานและองค์กรให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล

เอกสารอ้างอิง

- ทิพวรรณ นิงน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรุงเทพฯ. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
- AOAC. 2016. Guidelines for Standard Method Performance Requirements. Available at: <http://www.eoma.aoac.org>. Assessment: November 28, 2023
- Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited. 2003. Guidelines on method validation to be performed in support of analytical methods for agrochemical formulations. CIPAC No. 3807. Available at: <https://www.cipac.org/images/pdf/validat.pdf>. Assessment: November 28, 2023
- Kidd H. and James D.R. 1993. *The Agrochemicals Handbook*. 3rd Ed update 4. England. Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- W Dobrat and A Martijn. 1989. CIPAC Handbook volume 1C Analysis of Technical and Formulated Pesticides. England. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited.

การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ในข้าวโพดฝักสด ต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

Risk Assessment of Alachlor Herbicide in Specialty Corn to Farmer, Consumer and Environment

ปภัสรา คุณเลิศ¹ สิริโชค วงศ์ศรีไพศาล¹ นพดล มะโนเย็น¹ ประกิจ จันทร์ดีป²
Paphatsara Khunlert¹ Sirichok Wongsripaisan¹ Noppadon Manoyen¹ Prakrit Chuntib²

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Alachlor is a widely used and persistent herbicide that poses health and environmental risks. Therefore, in 2024, an assessment of the risks of using the herbicide alachlor on specialty corn to farmers, consumers and the environment was conducted. In this study, the effects of alachlor on specialty corn were investigated and assessed by employing a backpack sprayer with an alachlor formula of 48% W/V EC at a rate of 300 g a.i./rai. After spraying, hand washing, and foot washing, the pads that were attached to a different position on the body were collected. Moreover, the soil, water, sediment, and specialty corn from the harvest stage were also collected. Gas chromatography with a micro-electron capture detector (GC- μ ECD) was employed to analyze all samples. The sprayer was found to be contaminated with alachlor at a rate of 0.30 mg/kg body weight per day. The results were combined with toxicological data (margin of exposure, MOE) to evaluate the exposure and risks associated with alachlor. The use of alachlor was determined to be risky (MOE <100) with a MOE range of 16.67-500. In the soil samples, alachlor was detected at a concentration of 2.49 to 0.01 mg/kg dry weight, while water samples were detected between 6.42 and 0.06 μ g/L, respectively. After two hours of spraying, the highest amount of alachlor was detected. Alachlor residues were not present in all samples of specialty corn or sediment. The half-life of alachlor in the soil was 7.8 days, while in the water it was 4.6 days. Hazard Quotient (HQ) values were employed to calculate the health risk assessment. The average HQ in soil was 1.49×10^{-3} for the age group of 6 - 12 years and 3.83×10^{-4} for the age group of 70 years. For individuals aged 6-12 years and 70 years, the average HQ in water was 1.43×10^{-2} and 9.31×10^{-3} , respectively. The acceptable HQ values were achieved with values less than 1. Furthermore, the risk quotient (RQ) values in soil and water were less than 1, which was a permissible level.

Keywords: Alachlor; Margin of exposure (MOE); Hazard quotient (HQ); Risk quotient (RQ)

¹ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Toxic Substance Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

² Agricultural Research and Development Region 1

บทคัดย่อ

อะลาคลอร์ (alachlor) เป็นสารกำจัดวัชพืช ที่มีการใช้แบบแพร่หลายและอย่างต่อเนื่อง อาจทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม ดังนั้น ในปี 2567 จึงได้ทำการประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ในข้าวโพดฝักสด ต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม โดยใช้สารalachlor สูตร 48% W/V EC อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่นสารด้วยเครื่องพ่นแบบสะพายหลัง ภายหลังการพ่นเก็บตัวอย่างแผ่นผ้าที่ติดบนส่วนต่างๆ ของร่างกาย น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า รวมทั้งสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพดฝักสดที่ระยะเก็บเกี่ยว ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas Chromatography ชนิดตัวตรวจวัด Micro-Electron Capture Detector (GC- μ ECD) พบปริมาณalachlor ที่ปนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่นสาร 0.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน ประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสจากค่าขอบเขตความปลอดภัย (Margin of exposure, MOE) มีค่าอยู่ในช่วง 16.67-500 ถือว่ามีความเสี่ยง (MOE <100) ในตัวอย่างดินพบalachlor 2.49-0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักดินแห้ง และในตัวอย่างน้ำ 6.42-0.06 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหลังพ่น 0 วัน (2 ชั่วโมง) ส่วนในตะกอนดินและข้าวโพดฝักสดไม่พบการตกค้าง ค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของalachlor ในดินและในน้ำเท่ากับ 7.8 วัน และ 4.6 วัน ตามลำดับ ความเสี่ยงต่อสุขภาพ (Hazard quotient; HQ) จากการสัมผัสดินและน้ำ ในวัยเด็ก 6-12 ปี และผู้ใหญ่ 70 ปี พบว่าในดินมีค่าเฉลี่ย 1.49×10^{-3} และ 3.83×10^{-4} ตามลำดับ ในน้ำมีค่าเฉลี่ย 1.43×10^{-2} และ 9.31×10^{-3} ตามลำดับ ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (ค่า HQ < 1) และความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (Risk quotient; RQ) ในดินและน้ำมีค่า RQ เฉลี่ย 2.49×10^{-1} และ 6.42×10^{-1} ตามลำดับ ถือว่าไม่มีความเสี่ยง (RQ < 1)

คำสำคัญ: สารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์; ค่าขอบเขตความปลอดภัย; ค่าดัชนีบ่งชี้อันตราย; ค่าดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

บทนำ

alachlor ($C_{14}H_{20}ClNO_2$) มีชื่อ IUPAC คือ 2-chloro-2',6'-diethyl-N-methoxymethylacetanilide เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Acetanilide ใช้ควบคุมวัชพืชประเภทก่อนงอกจากเมล็ดทั้งประเภทใบแคบและใบกว้าง ในการปลูกหอมแดง กระเทียม ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อ้อย ทานตะวัน และถั่วเหลือง พ่นคลุมดินก่อนปลูกข้าวโพด ขณะดินมีความชื้น โดยสารalachlor จะไปยับยั้งการสร้างโปรตีนและขัดขวางการเจริญเติบโตของรากวัชพืช (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) ในปี 2566 มีปริมาณการนำเข้าสารalachlor 223,260.40 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 154,746,577.10 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2567) ลักษณะกายภาพของสารalachlor เป็นของแข็งสีขาว ไม่มีกลิ่น มีจุดหลอมเหลว 41.5 องศาเซลเซียส สภาพการละลายน้ำ 240 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 5-9 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ ถูกจัดเป็นสารก่อมะเร็ง B 2 อาจเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ โดย United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (U.S. EPA, 1998 ; Emine, 2018) มีความเป็นพิษจัดอยู่ในระดับอันตรายปานกลาง Class III (WHO, 2003) พิษเฉียบพลันทางปาก (oral) ในหนูทดลองค่า LD₅₀ เท่ากับ 930 - 1,350 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พิษเฉียบพลันทางผิวหนัง (dermal) LD₅₀ ในหนูทดลอง เท่ากับ 4,982 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว ค่าความเป็นพิษต่อปลา rainbow trout LC₅₀ ที่ 96 ชั่วโมง 5.3 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการศึกษาในสัตว์ทดลองในระยะเฉียบพลัน พบว่ามีอาการกล้ามเนื้อสั่น หายใจลำบาก และเกิดการชัก และในระยะเรื้อรัง มีความเป็นพิษต่อเม็ดเลือด เกิดพิษในตับ ม้าม ไต ปอด และก่อให้เกิดเนื้องอกในปอด สำหรับในมนุษย์มีรายงานว่า การสัมผัสสารทำให้เกิดอาการปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน เกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนังและดวงตา เป็นสารถูกห้ามใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา (U.S.EPA, 1998; Environmental and

Occupational Health, 2003; Bloomfield, 2017) แต่การวิจัยเกี่ยวกับผลกระทบด้านสุขภาพของมนุษย์ยังมีข้อจำกัด สำหรับการเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของสาร alachlor หลังพ่นในแหล่งเกษตรกรรม ละอองสารฟุ้งกระจายไปในอากาศ บางส่วนถูกชะล้างด้วยน้ำฝน ไหลบ่าลงสู่แหล่งน้ำ ตกค้างในดิน บางส่วนสามารถเคลื่อนย้าย (mobility) จากดินสู่แหล่งน้ำใต้ดิน เกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ alachlor ในน้ำดื่มของ U.S.EPA (2018) (ไม่เกิน 2 ไมโครกรัมต่อลิตร) การสลายตัวในดิน DT₅₀ ภายใต้สภาวะออกซิเจนค่อนข้างเร็วประมาณ 30 วัน ในแปลงทดลองใช้เวลา 4-24 วัน ค่าครึ่งชีวิต (half-life, t_{1/2}) ในดินของสาร alachlor อยู่ระหว่าง 2- 4 สัปดาห์ (Camazano *et al.*, 2003) นอกจากนี้ Kumar *et al.* (2014) ได้ประเมินความเสี่ยงสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน กลุ่มออร์กาโนคลอรีนสองชนิด คือ DDT และ HCH ต่อผู้ใหญ่ และเด็กที่สัมผัสกับดิน พบว่า ค่า HQ ผู้ใหญ่ อยู่ระหว่าง 1.8×10^{-6} - 1.4×10^{-4} และ HQ เด็ก อยู่ระหว่าง 9.5×10^{-6} - 7.2×10^{-4} ผลการประเมินความเสี่ยงอยู่ในระดับยอมรับได้ (HQ ≤1) และ Farina *et al.* (2016) ได้ประเมินความเสี่ยงสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินแปลงปลูกผัก ในเด็กและผู้ใหญ่ พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (HQ ≤ 1)

ข้าวโพดข้าวเหนียว (*Zea mays* sceratina) ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูก 18,379 ไร่ ผลผลิต 19,819 ตัน ผลผลิตส่วนใหญ่จะใช้ บริโภคภายในประเทศ และมีแนวโน้มความต้องการเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง (สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน, 2567) แหล่งปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดชัยนาท นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี และสงขลา เกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว มักพบปัญหาวัชพืช โรคและแมลงศัตรูพืชบ่อยครั้ง เกษตรกรส่วนใหญ่ได้เลือกใช้สารกำจัดศัตรูพืช การใช้อย่างต่อเนื่อง นอกจากจะส่งผลทำให้สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลผลิต ยังอาจพบการตกค้างในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน และแหล่งน้ำได้ โดยเฉพาะดินบริเวณแปลงปลูกที่เกษตรกรสัมผัสโดยตรงขณะทำงานในแปลง

การใช้สาร alachlor ทำให้ละอองสารฟุ้งกระจายไปในอากาศ อาจตกค้างในผลผลิต สะสมในดิน ชะละลายลงสู่แหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง เกิดการเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อม สะสมในสิ่งมีชีวิต และปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร และส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค จึงได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงจากการใช้สาร alachlor ในสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพเกษตรกร การสลายตัว และสะสมใน ดิน น้ำ ตะกอนดิน การตกค้างในผลผลิต รวมทั้งประเมินผลกระทบของสาร alachlor ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในแปลงปลูกข้าวโพดฝักสด

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอนดิน ได้แก่ แครงตักน้ำและตะกอนดิน ขวดพลาสติกชนิด PTFE ใส่ตัวอย่างน้ำ เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และ ถังพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ เครื่องวัดความเร็วลม นาฬิกาจับเวลา และเครื่องพ่นแบบ สะพายหลัง
2. เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, cylinder, beaker, glass vial, Erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube และ separatory funnel
3. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐานอะลาคลอร์ (alachlor; C₁₄H₂₀ClNO₂ 99.34%), acetonitrile (CH₃CN), acetone (C₃H₆O), anhydrous sodium sulfate (Na₂SO₄), ethyl acetate (C₄H₈O₂), hexane (C₆H₁₄), anhydrous magnesium sulfate (MgSO₄), sodium chloride (NaCl), sodium hydroxide (NaOH), trisodium citrate dehydrate (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O), disodium hydrogen citrate sesquihydrate (C₆H₆Na₂O₇·1.5H₂O), primary secondary amines (PSA) และ C18

4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งที่สอบเทียบแล้ว, ตู้แช่แข็ง (deep freezer), เครื่องบดตัวอย่าง (food processor), เตาเผา (muffle furnace), ตู้อบ (hot air oven), เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer), เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), เครื่องลดปริมาตร (rotary evaporator), เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator), เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างน้ำ (separatory funnel shaker), เครื่องเขย่า (reciprocal shaker), เครื่อง ultrasonic bath, เครื่อง gas chromatograph (GC) รุ่น 6890N หัวตรวจวัดชนิด micro-electron capture detector (GC-μECD)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

1.1 สำรวจแปลงและวางแผนการทดลอง

สำรวจและคัดเลือกแปลงปลูกข้าวโพดฝักสดของเกษตรกร ที่ตำบลห้วยพระ อำเภอดอนตูม จังหวัดนครปฐม พิกัดภูมิศาสตร์ ($13^{\circ}05'31.7''$ N, $100^{\circ}03'48.1''$) พื้นที่ปลูกประมาณ 1 ไร่ ลักษณะแปลงปลูกยกเป็นร่องดินขึ้น ระยะระหว่างแถวปลูก 1 เมตร ระหว่างต้น 0.5 เมตร ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,800-2,000 กิโลกรัมต่อไร่ พันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกได้แก่ ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม ข้าวโพดข้าวเหนียวหวาน สวิท ไวท์ 25F1 และข้าวโพดข้าวเหนียวหวาน 2 สี โดยเกษตรกรจะปลูก 2 ช่วง คือ ช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ และช่วงเดือนพฤษภาคมถึงสิงหาคม โดยใช้น้ำจากคลองชลประทานในการเพาะปลูก อายุการเก็บเกี่ยวข้าวโพดข้าวเหนียวประมาณ 62-68 วัน ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศ ก่อนปลูก ใช้สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ อะลาคลอร์ (alachlor) อัตรา 300-320 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พันคลุมดินก่อนปลูก วัชพืชที่ควบคุม คือวัชพืชที่งอกจากเมล็ดทั้งประเภทใบแคบ เช่น หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาวหญ้าปากควาย หญ้าตีนนก และหญ้าตีนกา ประเภทใบกว้าง เช่น ผักโขม ผักเบี้ยหิน และผักโขมหิน หลังปลูกเมื่อพบการระบาดของโรคราน้ำค้างข้าวโพด โรคราสนิมข้าวโพด โรคราเขม่าดำข้าวโพด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557) หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (*Spodoptera frugiperda*) ทำการพ่น chlorfenapyr อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นครั้งแรกเมื่อข้าวโพดอายุ 6-7 วัน หลังออก เพลี้ยอ่อนข้าวโพด (*Rhopalosiphum maidis*) ทำการพ่น emamectin benzoate อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อพบการระบาดของหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua*) ทำการพ่น beta-cyfluthrin อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อพบหนอนเฉลี่ย 2-3 ตัวต่อต้น พ่นซ้ำตามความจำเป็น หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Ostrinia furnacalis*) ทำการพ่น deltamethrin อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อพบยอดข้าวโพดถูกทำลาย (ศรีจันทร์ และ พงษ์ธิชาติ, 2566)

1.2 การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1.2.1 ติดตั้งป้ายแสดงขอบเขตการเก็บตัวอย่าง เพื่อกำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง แปลงทดลองขนาด 30.50×52.45 เมตร แบ่งออกเป็น 14 แถว โดยกำหนด 2 แถวสำหรับสุ่มเก็บ 1 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 7 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างดินและตัวอย่างข้าวโพดฝักสด ส่วนตัวอย่างน้ำและตะกอนดิน กำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างในคลองชลประทาน บ่อกักน้ำ และคลองส่งน้ำ รวมทั้งหมด 7 ตัวอย่าง จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างก่อนพ่น alachlor เพื่อใช้เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ก่อนและหลังพ่นเป็นตัวอย่างดิน น้ำ และตะกอนดิน จำนวนตัวอย่างละ 7 ตัวอย่าง

1.2.2 ศึกษาปริมาณการปนเปื้อนสารพิษบนร่างกายผู้พ่นสาร ตามวิธี Methods for measuring dermal exposure; Patch method (U.S. EPA, 2009) ก่อนพ่นสารจะติดแผ่นผ้าฝ้ายขนาด 10×10 เซนติเมตรบนเสื้อผ้าที่เกษตรกรจะสวมใส่ โดยการติดแผ่นผ้าในบริเวณส่วนต่าง ๆ ได้แก่ หมวก (1), แผ่นผ้าปิดจมูก

(1), ออกเลื้อ (1) ด้านในออกเลื้อ (1) บ่า (2) คอก (2) หลังเลื้อ (1) ด้านในของหลังเลื้อ (1) ต้นขา (2) หน้าแข้ง (2) และด้านในหน้าแข้ง (2) พ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor 48% W/V EC อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ด้วยเครื่องพ่นแบบสเปรย์หลัง ใช้ระยะเวลาการพ่น 35 นาที ความเร็วลม 1.5 เมตรต่อวินาที

1.2.3 หลังพ่นสาร alachlor เก็บตัวอย่างแผ่นผ้าที่ติดบนเสื้อผ้าที่เกษตรกรพ่นสารสวมใส่ในชุดแก้วที่มีฝาปิด น้ำล้างมือ น้ำล้างเท้าของผู้พ่น และสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ และตะกอนดินที่ระยะเวลาหลังพ่น คือ 0 วัน (2 ชั่วโมงหลังพ่น), 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30 และ 65 วัน นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

1.2.4 เก็บตัวอย่างข้าวโพดฝักสดที่ระยะเก็บเกี่ยวหลังพ่นสาร 65 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวโพดกระจายให้ทั่วทั้งแปลงทดลอง ให้ได้น้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร, 2567) จำนวน 10 ตัวอย่าง

1.2.5 ตัวอย่างทุกชนิด หลังจากเก็บจากแปลงทดลอง เก็บในถุงพลาสติกหรือภาชนะที่เหมาะสม ระบุป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง รหัสการทดลอง ชื่อตัวอย่าง ชื่อสารกำจัดวัชพืช วันที่เก็บตัวอย่าง พร้อมเวลาที่สุ่มเก็บตัวอย่าง ปิดถุงให้แน่น เก็บรักษาสภาพเพื่อป้องกันการสลายตัวของสารในระหว่างนำส่งห้องปฏิบัติการในกล่องที่บรรจุน้ำแข็ง

2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ โดยเติมสารมาตรฐาน alachlor ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนในตัวอย่างแผ่นผ้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพดฝักสดที่ไม่มีสาร alachlor ตกค้าง แล้วนำมาสกัด และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD) เพื่อทดสอบหาประสิทธิภาพการเอาสารกลับคืน (recovery) เหนือการยอมรับ recovery อยู่ระหว่าง 70-120% (SANTE/11312, 2021; AOAC, 2016) ทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD) และค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantitation; LOQ)

2.2 การเตรียมตัวอย่างดินและตะกอนดิน นำตัวอย่างดินและตะกอนดินใส่ภาชนะในที่ร่ม ให้มีความชื้นประมาณ 10-20% กรณีที่มีการปนเปื้อนของหินหรือเศษซากพืช ให้แยกออก บดตัวอย่างให้ละเอียด เพื่อนำไปหาความชื้นตามวิธีของ Back (1965) และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง (Babic, S. *et al.*, 1998)

2.3 การเตรียมตัวอย่างข้าวโพดฝักสด นำมาหั่นให้มีขนาดเล็ก จากนั้นใช้เครื่องบดสับตัวอย่าง (food processor) เพื่อให้ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน ทำการชั่งตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ช้า น้ำหนัก 5 ± 0.05 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ชั่ง ไปสกัด และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง (Zeying *et al.* 2015)

2.4 การสกัดตัวอย่างแผ่นผ้า (U.S. EPA, 2009) นำขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีแผ่นผ้า เติม ethyl acetate (AR grade) 75 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง shaker ความเร็วรอบ 210 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 1 ที่บรรจุ sodium sulfate ลงใน cylinder บันทึกรายการ เติใส่ round bottom flask ทำการสกัดซ้ำด้วย ethyl acetate (AR grade) 25 มิลลิลิตร นำไปใส่เครื่อง shaker เป็นเวลา 30 นาที กรองสารละลายและบันทึกปริมาตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR grade) ปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.5 การสกัดตัวอย่างดินและตะกอนดิน ประยุกต์ใช้วิธี Ultrasonic (Babic, S. *et al.*, 1998) ชั่งตัวอย่าง 20 ± 0.05 กรัม เติม hexane : acetone (AR grade) (อัตราส่วน 50 : 50 โดยปริมาตร) 75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปใส่ในเครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 25 นาที กรองผ่านกระดาษกรองที่บรรจุ sodium sulfate ไว้ด้านบน ล้างด้วย hexane : acetone (AR grade) 2 ครั้ง ๆ ละ 20 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

2.6 การสกัดตัวอย่างน้ำ น้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า โดยใช้วิธี In-house method based on EPA method 8141A, rev.1, 1994. (U.S. EPA, 1994) ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตรใส่ใน separatory funnel เติม hexane (AR grade) 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไซเก็บบน hexane ผ่านกระดาษกรองที่บรรจุ sodium sulfate สกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วย hexane (AR grade) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระเหยจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR grade) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-μECD

2.7 การสกัดตัวอย่างข้าวโพด ประยุกต์ใช้วิธี EN Extraction: EN Method 15662 (Zeying *et al.* 2015) นำตัวอย่างข้าวโพดที่ซังไว้หน้าหนัก 5 ± 0.05 กรัม ในหลอดทดลอง เติมน้ำ (purified water) 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติม ceramic ตังทิ้งไว้ 30 นาที เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมสารสกัด anhydrous magnesium sulfate (anh. $MgSO_4$) 4 กรัม และ 1 กรัม sodium citrate, 0.5 กรัม sodium hydrogen citrate sesquihydrate และ 1 กรัม sodium chloride (NaCl) เขย่า และ voter mixer นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 6 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุ 150 มิลลิกรัม PSA, 150 มิลลิกรัม C18 และ 900 มิลลิกรัม anhydrous magnesium sulfate (anh. $MgSO_4$) เขย่าด้วย voter mixer นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 3 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง นำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย hexane (PR grade) เป็น 1.5 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-μECD

2.8 การประเมินความเสี่ยง

2.8.1 การประเมินความเสี่ยงจากการรับสัมผัส (Exposure and Risk Assessment) ต่อเกษตรกรผู้พ่นสาร คำนวณจากค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (Margin of Exposure, MOE) โดยใช้เกณฑ์การประเมินความเสี่ยง อ้างอิงจาก Pesticide Risk Assessment (U.S. EPA, 2005) ดังสมการ

$$MOE = NOAEL/Exposure \dots\dots\dots(\text{สมการ 1})$$

เมื่อ NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) คือ ค่าสูงสุดของปริมาณสารพิษที่ใช้ในการทดลองที่ไม่ทำให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ทางพิษวิทยาของ alachlor และ Exposure คือปริมาณ alachlor ที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (mg/kg bw/day) การแปลผลจากค่า MOE ที่คำนวณได้เปรียบเทียบกับค่า Pesticide uncertainty factor หากค่า MOE มีค่าต่ำกว่าค่า Pesticide uncertainty factor จะถือว่ามีความเสี่ยง (Risk) และค่า $MOE \geq 100$ ถือว่าอยู่ในระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (Acceptable risk)

2.8.2 การศึกษาผลกระทบจากการแพร่กระจาย (Environmental Fate and Transport) โดยคำนวณหาระยะเวลาที่สาร alachlor สลายตัวลดลงจนมีปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life, $t_{1/2}$) ในตัวอย่างดิน น้ำ และตะกอนดิน จากสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ โดย b ได้มาจากสมการ $y = ae^{bx}$ ซึ่งหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร alachlor ตกค้าง และระยะเวลาหลังพ่นสาร alachlor (วัน)

2.8.3 การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสทางผิวหนังกับดินและน้ำที่ปนเปื้อน (Exposure and Risk Assessment) โดยใช้ดัชนีบ่งชี้ความอันตราย (HQ) ซึ่งค่า HQ คำนวณจากค่า ADI (ปริมาณค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสาร alachlor ต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือ ปริมาณสารพิษที่น้อยที่สุดที่ร่างกายรับได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ ดังนี้

$$ADD = (C_{soil/water} * CF * IR_{soil/water} * EF * ED) / (BW * AT) \quad \dots\dots\dots(\text{สมการ 2})$$

เมื่อ: ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสาร alachlor ตกค้างในดินและข้าวโพดฝักสด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)

- C คือ ความเข้มข้นของสาร alachlor ตกค้างในดิน และข้าวโพดฝักสด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)
- CF คือ unit conversion factor = 10^{-6} กิโลกรัมต่อมิลลิกรัมในดิน
- IR คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างในดิน 200 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับเด็ก, 100 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่
ในน้ำ 0.745 ลิตรต่อวัน สำหรับเด็ก, 0.943 ลิตรต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ (มกช., 2559)
- EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วัน/ปี)
- ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่
- BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม); สำหรับเด็กอายุ 6-12 ปี (33.38 กิโลกรัม) (มกช., 2559), ผู้ใหญ่ (65 กิโลกรัม)
จากการทดลอง
- AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย (365 วัน) ($EF * ED$)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจากค่า ADD และค่า RfD ดังสมการ

$$HQ = ADD / RfD \quad \dots\dots\dots(\text{สมการ 3})$$

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสาร alachlor เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (IUPAC, 2019)

เกณฑ์การตัดสิน กำหนดให้ $HQ > 1$ หมายถึง สาร alachlor ตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk)

$HQ \leq 1$ หมายถึง สาร alachlor ตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (Acceptable risk)

2.8.4 การประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) โดยใช้ ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดในสิ่งแวดล้อม และ PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต

$$RQ = MEC / PNEC \quad \dots\dots\dots(\text{สมการ 4})$$

เกณฑ์การตัดสิน กำหนดให้ $RQ < 1$ แสดงว่าไม่มีความเสี่ยง (No immediate concern), $RQ 1-10$ แสดงว่ามีความเสี่ยงเล็กน้อย (Of concern if supply volumes increase), $RQ 10-100$ แสดงว่ามีความเสี่ยง การลดความเสี่ยงจะต้องนำข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องมาพิจารณาด้วย (Further data require) และ $RQ > 100$ แสดงว่ามีความเสี่ยงสูงต้องดำเนินการลดความเสี่ยงทันที (Reduce risk immediate) (ECB, 2003; ECHA, 2008)

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2566 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง 1) แปลงทดลอง ในตำบลห้วยพระ อำเภอดอนตูม จังหวัดนครปฐม
2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

ทดสอบประสิทธิภาพของวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างalachlor สามารถพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีการสกัดแผ่นผ้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพด ประเมินค่าจากค่าร้อยละการได้คืนกลับ (%recovery) โดยผลของ %recovery อยู่ในช่วง 88.58-96.48% พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือ 70-120% (SANTE/11312, 2021; AOAC, 2016) ดังนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าว สามารถนำมาสกัดตัวอย่าง แผ่นผ้า ดิน น้ำ ตะกอนดิน และข้าวโพดจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง (Table 1) ประเมินค่า LOD เท่ากับ $\text{signal/noise} \geq 3$ และ ประเมินค่า LOQ เท่ากับ $10 \times \text{SD}$

Table 1 Gas chromatographic conditions and recovery ofalachlor herbicides from sample.

Sample	Linearity/ Range	Concentration fortified	Average of recovery (%) n = 7	(LOD)	(LOQ)
patch	0.04 -2.05	0.50 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$	88.58	0.01 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$	0.04 $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$
soil	0.01 -2.05	0.10 mg/kg	93.09	0.005 mg/kg	0.01 mg/kg
water	0.01 -2.05	0.50 $\mu\text{g}/\text{L}$	96.48	0.009 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$
sediment	0.01 -2.05	0.05 mg/kg	93.32	0.005 mg/kg	0.01 mg/kg
corn	0.05 -2.05	1.06 mg/kg	89.48	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg

Remark: LOD (limit of detection)

LOQ (limit of quantitation)

2. ปริมาณสารalachlor บนแผ่นบนร่างกายผู้พ่น และความเสี่ยงต่อเกษตรกรผู้ใช้ในแปลงข้าวโพดฝักสด

ผลการวิเคราะห์ปริมาณalachlor บนแผ่นผ้าที่ติดตามส่วนต่างๆ ของร่างกายผู้พ่น พบการปนเปื้อนบริเวณหมวก จมูก บ่า ออกใน นอกอก สอก หลังใน หลังนอก ต้นขา ข้างใน และข้างนอก เท่ากับ 0.40, 4.82, 0.09, 0.09, 0.57, 0.28, 0.23, 1.18, 0.71, 1.56 และ 20.37 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร ซึ่งพบปริมาณปนเปื้อนสูงที่สุดบริเวณข้างนอก 20.37 ไมโครกรัมต่อ 100 ตารางเซนติเมตร เนื่องจากในขณะพ่นสารalachlor ในแปลงปลูกข้าวโพดฝักสด เกษตรกรใช้หัวพ่นแบบพัดตรง (even spray) สารละลายที่พ่นออกมาจะมีลักษณะเป็นละออง และมีความสม่ำเสมอเท่ากัน พ่นก่อนวัชพืชงอก ความเร็วลมในระหว่างพ่นสาร 1.5 เมตรต่อวินาที ส่วนน้ำล้างมือ และน้ำล้างเท้า พบปนเปื้อน 39.52 และ 1,039.52 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณalachlor ที่ปนเปื้อนบนแผ่นผ้าจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย รวมทั้งปนเปื้อนที่มือและเท้า เมื่อนำมาคำนวณเป็นปริมาณสารพิษต่อพื้นที่ทั้งหมดของร่างกาย (U.S.EPA, 2009) ภายหลังการพ่น คิดเป็นการปฏิบัติงานตามปกติในแต่ละวัน พบว่ามีปริมาณalachlor ปนเปื้อน 0.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน (Table 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wayne *et al* (2010) พบปริมาณสารalachlor ตกค้างในแผ่นผ้าที่ติดบริเวณเสื้อเกษตรกรผู้พ่นสาร มีปริมาณตั้งแต่ <0.01-32.0 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งพบการตกค้างบริเวณหน้าแข้งมากกว่าบริเวณอื่น และในน้ำล้างมือผู้พ่นสารพบสารalachlor 3-324 ไมโครกรัมต่อตัวอย่าง เช่นเดียวกับ Redeerat *et al* (2018) พบปริมาณสารalachlor ตกค้างในแผ่นผ้าที่ติดบริเวณขาของเกษตรกรผู้พ่นสารในแปลงผักจำนวน 9.29 ไมโครกรัมต่อชั่วโมง

เมื่อประเมินปริมาณสาร alachlor บนร่างกาย (Potential Exposure) ที่สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Absorption Dose) ซึ่งจากวิจัยของ Ronald *et al* (2009) สามารถดูดซึมที่ผิวหนังได้ 10% ผลการประเมินระดับความเสี่ยงจากปริมาณการได้รับสัมผัสสาร alachlor เข้าสู่ร่างกายผู้พ่นสารในแปลงปลูกข้าวโพดฝักสด โดยใช้เกณฑ์การประเมินอ้างอิงของ Pesticide Risk Assessment (U.S. EPA, 2005 ; U.S. EPA, 1998) กำหนดค่า NOEL มีค่าเท่ากับ 0.5-15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน คำนวณหาค่าขอบเขตความปลอดภัยจากการได้รับสารพิษ (MOE) เท่ากับ 16.67-500 ซึ่งค่า MOE มีค่าน้อยกว่า 100 ถือว่าเกษตรกรมีความเสี่ยงจากการใช้สาร alachlor ในแปลงปลูกข้าวโพดฝักสด (Table 3) โดยเกณฑ์ค่า MOE มากกว่าหรือเท่ากับ 100 ถือว่าเป็นระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (U.S. EPA, 2005)

Table 2 The amount of alachlor on the contaminated cloth on the body, hand washing water and foot washing water of the sprayer.

Region of body	Surface area (cm ²)	alachlor in patch (µg/100 cm ²)	Penetration factor	Exposure of body (µg/region)
Head - Hat	1300	0.40	1.00	33.94
-Nose		4.82		
Upper (2)	2910	0.09	0.15	0.41
Chest - in	3550	0.09	0.14	2.76
- out		0.57		
Forearms (2)	1210	0.28	0.15	0.51
Back - in	3550	0.23	0.16	6.87
- out		1.18		
Upper legs (2)	3820	0.71	0.97	26.40
Lower legs - in	2380	1.56	0.07	34.56
- out		20.37		
Hand-wash	820	39.52	1.00	32.41
Feet-wash	1310	1,039.52	1.00	1,361.71
Total amount of alachlor contaminating the body during 35 minutes of spraying				1,499.62
Total amount of alachlor contaminating the body during 35 minutes per day				19,379.69
Farmers weigh an average of 65 Kg, so they have a high level of alachlor				0.30 mg/kg bw/day

Remark: Patch; Limit of Detection; LOD = 0.01 µg/100 cm² ; Limit of Quantification; LOQ =0.04 µg/100 cm²

Table 3 Risk level from the amount of alachlor contaminated in the body.

Operator	Toxicity	alachlor (mg/kg bw/day)	% Absorption	Absorbed dose (mg/kg bw/day)	NOAEL ¹⁾ (mg/kg/day)	MOE ²⁾	Risk level
	Sub chronic Toxicity	0.30	10	0.03	15	500.00	Accept
	chronic Toxicity	0.30	10	0.03	14	466.67	Accept
	chronic Toxicity	0.30	10	0.03	2.5	83.33	Risk
	carcinogenicity	0.30	10	0.03	0.5	16.67	Risk

Remark: 1) NOAEL = No Observed Adverse Effect Level

2) MOE = Margin of Exposure

3. ปริมาณสารพิษตกค้างของ alachlor ในดิน น้ำ และตะกอนดิน

ผลการตรวจวิเคราะห์ดินหลังการพ่น พบการตกค้างของสาร alachlor ในดินทุกตัวอย่าง ตั้งแต่หลังพ่น จนถึงระยะเก็บเกี่ยวที่ 65 วัน ปริมาณเฉลี่ย 2.49-0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักดินแห้ง มีปริมาณสารพิษ ตกค้างสูงสุดหลังพ่น 0 วัน เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียว มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างต่ำ (1.45%) ดินมีค่า pH เท่ากับ 8.1 มีลักษณะเป็นต่าง ปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช alachlor ในดิน คือ จุลินทรีย์ อินทรีย์วัตถุ และชนิดของเนื้อดิน (Janaki *et al.*, 2015; Weber and Peter, 1982) ดินเหนียวที่มีอินทรีย์วัตถุ 5.1 % ที่ pH 7.5 ใช้เวลา 17.1 วัน การย่อยสลายของสาร alachlor ยังขึ้นอยู่กับระยะเวลา และค่า pH ที่เพิ่มขึ้น (Patakioutas and Albanis, 2002) นอกจากนี้ในประเทศไทยมีรายงานการวิจัยของ มลิสสา และคณะ (2564) ตรวจพบสาร alachlor ในดินแหล่งปลูกพืช ปริมาณ <0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เช่นเดียวกับ จารุพงศ์ และคณะ (2562) ตรวจพบ alachlor ในดินแปลงปลูกคะน้า จังหวัดขอนแก่น 0.01-0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วน Hunt *et al.* (1980) พบ alachlor ในดินแปลงปลูกกะหล่ำปลี ตั้งแต่วันพ่น จนถึง 74 วัน 0.72-0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบ alachlor ในตัวอย่างดินแปลง ปลูกทานตะวัน ตั้งแต่วันพ่นจนถึง 45 วัน 0.88-0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Janaki, *et al.*, 2015)

น้ำพบปริมาณสาร alachlor ตั้งแต่หลังพ่นจนถึง 30 วัน 6.42-0.06 ไมโครกรัมต่อลิตร พบการตกค้าง สูงสุดหลังพ่น 0 วัน ซึ่งปริมาณ alachlor ที่ตรวจพบมีค่าสูงกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ alachlor ในน้ำดื่มของ U.S.EPA (2018) ที่กำหนดไม่เกิน 2 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นน้ำจากคลองระบายน้ำ ภายในแปลงข้าวโพด น้ำเกิดการหมุนเวียนตลอดเวลา มีของแข็งละลายน้ำ (Total Dissolved Solid; TDS) ระหว่าง 85-305 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 6.5-8.8 อุณหภูมิเฉลี่ย 28.9-39.5 องศาเซลเซียส ซึ่ง alachlor มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ปานกลาง 170 - 179 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 7-9 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และสามารถสลายตัวได้อย่างรวดเร็วด้วยแสงแดด เกิดปฏิกิริยา hydrolysis ที่ pH 7 (Camazano *et al.*, 2003) และในตัวอย่างตะกอนดิน ตรวจไม่พบการตกค้างในทุกตัวอย่าง เนื่องจากปริมาณสารที่ตรวจพบในน้ำค่อนข้างต่ำ จึงทำให้ไม่เกิดการสะสมและดูดซับในตะกอนดิน ในปี 1979-1987 alachlor ตรวจพบในน้ำผิวดินและน้ำบาดาล ใน 10 รัฐ ของอเมริกา <0.1-16.6 ไมโครกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับประเทศอิตาลีในปี 1987 - 1988 ตรวจพบ alachlor ในน้ำดื่ม 1.6 ไมโครกรัมต่อลิตร น้อยกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนในน้ำดื่ม ที่กำหนดไว้

ไม่เกิน 2 ไมโครกรัมต่อลิตร (U.S.EPA, 2018) นอกจากนี้ปี 1981-1984 ในประเทศแคนาดา พบสาร alachlor ในน้ำผิวดิน 9.1 ไมโครกรัมต่อลิตร

นำข้อมูลที่ได้จาก (Table 4) ไปศึกษาผลกระทบจากการแพร่กระจาย (Environmental Fate and Transport) ของสาร alachlor โดยคำนวณหาการสลายตัวของ alachlor และหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้างกับระยะเวลาหลังพ่นสาร alachlor ในช่วงเวลาต่างๆ ได้สมการการสลายตัวของสาร alachlor ในแบบ Exponential ดัง Fig. 1 คือ $y = ae^{bx}$ จากสมการนำไปคำนวณระยะเวลาที่สารพิษสลายตัวจนลดลงถึงปริมาณครึ่งหนึ่ง (half-life; $t_{1/2}$) ด้วยสมการ $t_{1/2} = -0.693/b$ ซึ่งค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของ alachlor ในดิน มีค่า 7.8 วัน (Fig. 1) เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบ alachlor ในดินแปลงปลูกทานตะวันมีค่าครึ่งชีวิต (half-life, $t_{1/2}$) 9.8 วัน (Janaki *et al.*, 2015) ซึ่งค่าครึ่งชีวิต (half-life; $t_{1/2}$) ของ alachlor ในน้ำ มีค่าเท่ากับ 4.6 วัน (Fig. 2)

Table 4 Persistence of alachlor herbicides in soil, water and sediment under specialty corn

Day after alachlor application	Average alachlor in soil (mg/kg) (N= 7)	Average alachlor in water (µg/L) (N = 7)	Average alachlor in sediment (mg/kg) (N = 7)
0	2.49	6.42	ND
1	2.03	5.48	ND
3	1.74	4.62	ND
5	1.42	3.37	ND
7	1.27	2.44	ND
10	0.86	1.40	ND
15	0.41	1.29	ND
30	0.33	0.06	ND
At harvest (65)	0.01	ND	ND

Remark: soil and sediment ; Limit of Detection; LOD = 0.005 mg/kg dry weight ; Limit of Quantification; LOQ = 0.01 mg/kg, dry weight water; Limit of Detection; LOD = 0.009 µg/L ; Limit of Quantification; LOQ = 0.01 µg/L , ND = Not detected

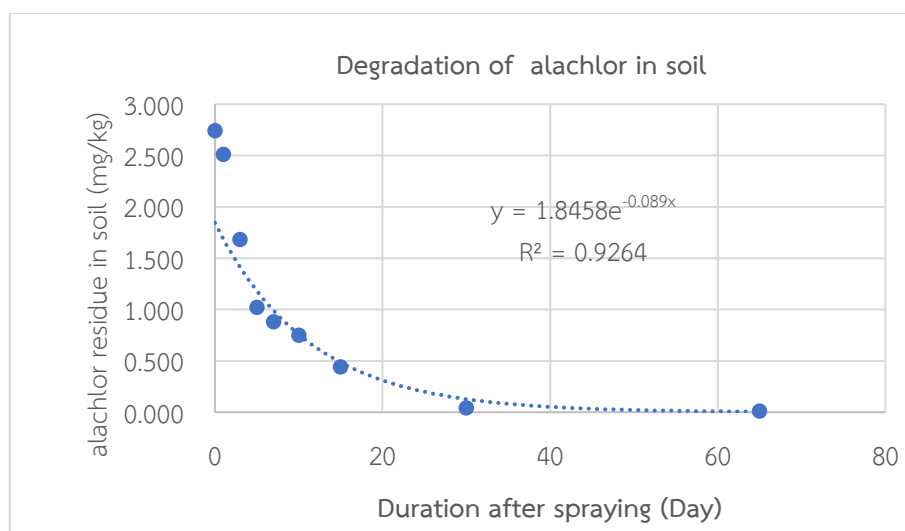


Fig. 1. The decomposition rate of alachlor in soil.

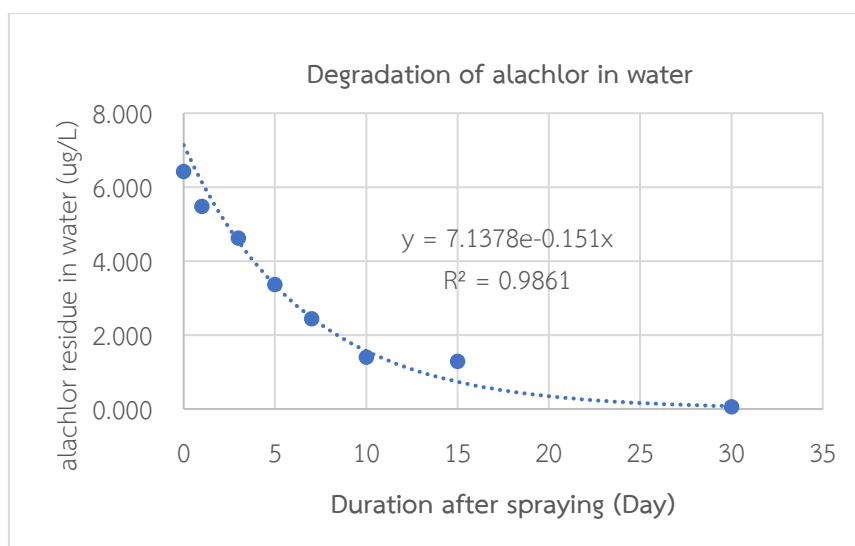


Fig. 2. The decomposition rate of alachlor in water.

4. ปริมาณการตกค้างของ alachlor ในข้าวโพดฝักสดที่ระยะเก็บเกี่ยว

ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในข้าวโพดฝักสดทุกตัวอย่างที่ระดับ LOQ 0.05 และ LOD 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ alachlor ในข้าวโพดฝักสด ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติยังไม่มีค่ากำหนด แต่จากรายงานของ Arshveer (2020) ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ alachlor ในอ้อย 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

5. ความเสี่ยงของสาร alachlor ในดินและน้ำที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

ความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัสทางผิวหนังกับดินและน้ำที่ปนเปื้อน (Exposure and Risk Assessment) ของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดฝักสด ช่วงอายุ 6-12 ปี และผู้ใหญ่ 70 ปี ในดินมีค่าเฉลี่ย 1.49×10^{-3} และ 3.83×10^{-4} และในน้ำมีค่าเฉลี่ย 1.43×10^{-2} และ 9.31×10^{-3} ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณใน Table 5 พบว่าความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ < 1$) แสดงว่าการใช้สารกำจัดวัชพืช alachlor ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และเมื่อนำไปประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) ด้วยค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) ในดินและน้ำมีค่าเฉลี่ย 2.49×10^{-1} และ 6.42×10^{-1} ถือว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ < 1$)

Table 5 The health risk assessment using Hazard quotient (HQ) and environmental risk assessment using risk quotient (RQ)

Samples	Concentration		Hazard quotient (HQ)		Risk quotient (RQ)	Risk Levels
	Min	Max	Child	Adult		
Soil (mg/kg)	0.01	2.49	1.49×10^{-3}	3.83×10^{-4}	2.49×10^{-1}	¹⁾ acceptable risk
Water ($\mu\text{g/L}$)	0.06	6.42	1.43×10^{-2}	9.31×10^{-3}	6.42×10^{-1}	²⁾ no immediate concern

Remark: 1. $HQ < 1$ (acceptable risk) and $HQ \geq 1$ (Risk)

2. $RQ < 1$ (No immediate concern), $RQ 1-10$ (Of concern if supply volumes increase), $RQ 10-100$ (Further data require) and $RQ > 100$ (Reduce risk immediate) (ECB, 2003; ECHA, 2008)

สรุปผลการทดลอง

1. ความเสี่ยงต่อผู้ใช้ พบปริมาณสารกำจัดวัชพืช alachlor ปนเปื้อนบนร่างกายผู้พ่นสาร 0.30 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน ประเมินความเสี่ยงจากการสัมผัสจากค่าขอบเขตความปลอดภัย (Margin of exposure, MOE) มีค่าอยู่ในช่วง 16.67-500 ถือว่ามีความเสี่ยง (MOE <100)
2. หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor 48% W/V EC ในแปลงข้าวโพดฝักสด พบตกค้างในดินและน้ำ สูงสุด หลังการพ่น 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะพบในปริมาณน้อยลง โดยในดินพบตั้งแต่ 2.49-0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักดินแห้ง ในน้ำ 6.42 - 0.06 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่วนในตะกอนดินและข้าวโพดฝักสดไม่พบการตกค้างของ alachlor โดย alachlor มีค่าครึ่งชีวิตในดิน 7.8 วัน และในน้ำ 4.6 วัน
3. ความเสี่ยงต่อสุขภาพในวัยเด็กช่วงอายุ 6-12 ปี และ 70 ปี ในดิน และน้ำ มีค่า HQ <1 ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมที่ตกค้างในดินและน้ำ ถือว่าไม่มีความเสี่ยง (RQ <1) แสดงว่าการใช้สาร alachlor ไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพผู้รับสัมผัสดิน น้ำ และผู้บริโภคข้าวโพดฝักสด และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเพื่อความปลอดภัย เกษตรกรผู้ใช้ควรสวมอุปกรณ์ป้องกันในการปฏิบัติงาน เพื่อลดความเสี่ยงอันตรายจากการใช้สารกำจัดวัชพืช

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทว.) นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณเกษตรกรในห้วยพระ อำเภอดอนตูม จังหวัดนครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงสำหรับการทดลอง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้แนะนำเกษตรกรในการใช้ alachlor ในแหล่งปลูกข้าวโพดฝักสดได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาสารพิษตกค้างที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภคข้าวโพดฝักสด และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม
2. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการ ใช้ประกอบในการทำวิจัยด้านการประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดวัชพืช
3. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำปี และการประชุมวิชาการในระดับชาติ รวมทั้งเผยแพร่ในวารสารวิชาการภายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557. โรค-แมลงศัตรูพืชไร่ และการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 56 น.
- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554. สำนักวิจัยการพัฒนารักษาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 133 น.
- กลุ่มวิจัยวัชพืชการเกษตร. 2567. คำแนะนำการทำแปลงทดลองการสลายตัวของสารพิษตกค้างจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในผัก ผลไม้ และธัญพืช. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 57 น.
- จารุพงศ์ ประสพสุข, สุวิทย์ เลหาศิริวงศ์, อรุณี พรหมคำบุตร และชุลีมาศ บุญไทย อิวาย. 2562. การประเมินความเสี่ยงสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ปลูกกะน้าในจังหวัดขอนแก่น. วารสารวิชาการเกษตร: ปีที่ 37 ฉบับที่ 3 กันยายน - ธันวาคม. น. 272-285.
- มลิสา เวชยานนท์, อำนาจ กะฐินเทศ, จันทิมา ผลกอง และ สิริพร เหลืองสุชนกุล. 2564. การประเมินผลกระทบของสารตกค้างไกลโฟเซต อะทราซีน และอะลาคลอร์ในดิน. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2564 เล่ม 2. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. น. 51-57.
- มกอช. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. แหล่งข้อมูล <https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf> สืบค้น: 11 กุมภาพันธ์ 2567.
- ศรีจันทร์ ศรีจันทร์ และพฤติชาติ ปุณวัฒโท. 2566. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย...จากงานวิจัยปี 2566. กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกัญและสัตว์วิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. น. 268.
- สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. 2567. สถานการณ์พืช. สัมมนาวิชาการพืชไร่พันธุ์ใหม่ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน ประจำปี 2567 วันที่ 27-29 สิงหาคม 2567 ณ โรงแรมริเวอร์แคววิลเลจ ตำบลท่าเสา อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี. น. 27-43
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2567. “รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ. 2566”. แหล่งข้อมูล <https://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2024/04/2.pdf>. สืบค้น: 2 มีนาคม 2567.
- AOAC. 2016. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 970.52.
- Arshveer Singh Brar. 2020. Herbicide in soil, crop produce and in underground water: A review. *Chemical Studies*. 8(6): 1173-1175.
- Back, C.A. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, USA.
- Babic, S., M. Petrovic and K. Kastelan-Macan. 1998. Ultrasonic solvent extraction of Pesticides from soil. *Chromatography Analysis*. 823: 3-9.
- Bloomfield F. 2017. Alachlor-toxicity, side effects, diseases and environmental impacts. Available at: <https://www.naturalpedia.com/alachlor-toxicity-side-effects-diseases-and-environmental-impacts.html>. Assessed: March 18, 2022.
- Camazano M., LF. Lorenzo and MJ. Martin. 2003. Atrazine and alachlor inputs to surface and

- ground waters in irrigated corn cultivation areas of castilla-leon region, Spain. *Environment monitoring and assessment*. 105: 11-24.
- ECB. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances. [Online]. European Chemicals Bureau. Available at: echa.europa.eu/documents/10162/987906/tgdpart2_2ed_en.pdf/138b7b71-a069-428e-9036-62f4300b752f. Assessed: March 18, 2022.
- ECHA. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, chapter R.10: characterization of dose [concentration]-response for environment. [Online]. European Chemicals Agency. Available at: https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/%20information_%20requirements_%20r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69. Assessed: March 18, 2022.
- Emine G. Bakirdere. 2018. Simultaneous determination of alachlor, bifenox and nitrofen as herbicides in lake, municipal wastewater and soil sample by gas chromatography mass spectrometry. *Science and Technology*. 13: 108-111.
- Environmental and Occupational Health. 2003. Harmful Effect of Alachlor. Available at: <http://enhs.umn.edu/current/5103/pesticide/harmful.html>. Assessed: March 18, 2018.
- Farina, Y., Abdullah, M. P., Bibi N. and W. M. A. W. M. Khalik. 2016. Pesticide Residues in Agricultural Soil and Health Assessment for Humans in Cameron Highland Malaysia. *Analytical Sciences*, 20(6): 1346-1358.
- Hunt T.W., T.J. Monaco and T.J. Sheets. 1980. Residue and Efficacy Studies of Alachlor on Cabbage and soil. *Amer. Soc. Hort. Sci.* 105(6): 929-932.
- IUPAC. 2019. Global availability of information on agrochemicals. Pesticide Properties DataBase. Available at: <https://www.sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>. Assessed: March 18, 2018.
- Janaki P., C. Chinnusamy, N. Sakthivel and C. Nithya. 2015. Field dissipation of pendimethalin and alachlor in sandy clay loam soil and its terminal residues in sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Applied and Natural Science* 7 (2): 709-713.
- Kumar, B., Verma, V.K., Mishra, M., Gaur, R., Kumar, S. and C.S. Sharma. 2014. DDT and HCH (Organochlorine Pesticides) in residential soils and health assessment for human populations in Korba, India. *Human and Ecological Risk Assessment*. 20: 1538-1549.
- Patakioutas, G. and T.A. Albanis. 2002. Adsorption-desorption studies of alachlor, metolachlor, EPTC, chlorothalonil and pirimiphos-methyl in contrasting soils. *Pest Management Science*. 58: 352-362.
- Redeerat, M., P. Kongtip, N. Nankongnab, M. Tipayamongkhogul, A. Bunngamchairat, W. Yoosook and S. Woskie. 2018. Evaluation of Dermal Exposure to the Herbicide Alachlor Among Vegetable Farmers in Thailand. *Annals of Work Exposures and Health*. 9: 1147-1158.
- Ronald C. W., J. Melendres and H. I. Maibach. 2009. In vivo percutaneous absorption and skin

- decontamination of alachlor in rhesus monkey. *Journal of Toxicology and Environmental*.
- SANTE/11312.2021. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. [Online]. Available at: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf. Assessed: February 3, 2024.
- U.S. EPA, 1994. Organophosphorus compound by Gas Chromatography capillary column technique. In-house method. 2005. EPA method 8141A, Revision 1.
- U U.S.EPA, 1998. Reregistration Eligibility Decision (RED) Alachlor. Available at: <http://www.epa.gov/opp00001/reregistration/REDs/0063.pdf>. Assessed: March 30, 2022.
- US.EPA. 2005. Characterizing Risk and Hazard. Human Health Risk Assessment Protocol, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C.
- U.S. EPA. 2009. Occupational and Residential Exposure Test Guidelines: OPPTS 875.2400 Dermal Exposure. Available from: <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQOPPT-2009-0157-0012> . Assessed: March 30, 2022.
- US. EPA. 2018. National Primary Drinking Water Regulations. United States Environmental Protection Agency. Available at: <http://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>. Assessed: Feb 10, 2022.
- Wayne, T.S., V. Ringgenberg, and R. Biagini. 2010. Exposure of commercial pesticide applicators to the herbicide alachlor. *American Industrial Hygiene Association*. 56(9): 890 - 897.
- Weber, J.B. and J. Peter. 1982. Adsorption, bio-activity, and evaluation of soil tests for alachlor, acetochlor, and metolachlor. *Weed Science*.30: 14 - 20.
- WHO. 2003. Alachlor in Drinking-water. Available at: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/alachlor.pdf?sfvrsn=4965c100_6. Assessed: March 18, 2022.
- Zeying He, Lu Wang, Yi Peng, Ming Luo, Wenwen Wang and Xiaowei Liu. 2015. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography–tandem mass spectrometry-based method. *Food Chemistry*. 169:372-380.

การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อม
บริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำเจ้าพระยา

Determination of Pesticides in the Environment in Agricultural Areas
of the Chao Phraya River Basin

นพดล มะโนเย็น

มลิสา เวชยานนท์

จันทิมา ผลทอง

อำนาจ กระฐินเทศ

Noppadon Manoyen

Malisa Wetchayanon

Jantima Phonkong

Amnaj Katintet

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The major agricultural zones of Thailand are predominantly located in river basins, with the Chao Phraya River basin recognized as the most important and intensively cultivated area in the central region. The extensive use of various pesticides in this area has resulted in environmental contamination and the potential accumulation of residues in the food chain, which may pose long-term risks to both ecosystems and human health. This study aimed to investigate pesticide contamination in the Chao Phraya River basin by collecting samples of water, sediment, aquatic plants, and fish between 2022 and 2024. Pesticide residues were analyzed using chromatographic techniques, and health and environmental risks were assessed based on Hazard Quotient (HQ) and Risk Quotient (RQ) values, respectively. The results revealed the presence of 2,4-D, ametryn, atrazine, and glyphosate in water samples at concentrations ranging from 0.02 to 6.93 µg/L, while glyphosate was detected in sediment samples at concentrations of <0.05 to 0.35 mg/kg. No pesticide residues were found in aquatic plants or edible fish samples. The human health risk was within acceptable limits ($HQ \leq 1$), and no significant environmental risk was observed ($RQ < 1$).

Keywords: Chao Phraya River basin; Pesticides; Determination; Risk assessment

บทคัดย่อ

แหล่งเกษตรกรรมที่สำคัญของประเทศส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณลุ่มน้ำ โดยลุ่มน้ำเจ้าพระยาเป็นลุ่มน้ำสำคัญในภาคกลางที่มีการทำการเกษตรอย่างหนาแน่น มีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่หลากหลายทำให้เกิดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมและห่วงโซ่อาหาร และอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ในระยะยาว การศึกษานี้ ได้ที่สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และปลาจากบริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยาระหว่างปี พ.ศ. 2565-2567 ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี พร้อมทั้งประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมโดยใช้ค่า Hazard Quotient (HQ) และ Risk quotient (RQ) ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์พบสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 2,4-D, ametryn, atrazine และ glyphosate ในตัวอย่างน้ำ ปริมาณ 0.02-6.93 ไมโครกรัมต่อลิตร และพบ glyphosate ในตัวอย่างตะกอน ปริมาณ <0.05-0.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่พบสารพิษตกค้างในพืชน้ำและปลาที่นำมาบริโภค ความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์พบว่าอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ($HQ \leq 1$) และไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม ($RQ < 1$)

คำสำคัญ: ลุ่มน้ำเจ้าพระยา; สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช; การตรวจวิเคราะห์; การประเมินความเสี่ยง

บทนำ

การปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลิตภัณฑ์การเกษตรและสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาที่หลายประเทศทั่วโลกให้ความสนใจ ประเทศไทยเป็นแหล่งเกษตรกรรมที่มีการปลูกพืชเศรษฐกิจมากมายและหลากหลาย ทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก ดังนั้น เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคและมีปริมาณมากเพียงพอ จึงมีความจำเป็นในการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในพื้นที่เกษตรกรรมดังกล่าว ทำให้เกิดการแพร่กระจายและสะสมในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะสารพิษที่มีฤทธิ์ตกค้างยาวนาน (Persistent organic pollutants; POPs) หรือมีระดับความเป็นพิษรุนแรงและเฉียบพลัน มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ระบบนิเวศ และแพร่กระจายเข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร ได้แก่ แหล่งน้ำธรรมชาติ แม่น้ำสายหลัก พืชน้ำ รวมทั้งสัตว์น้ำที่อาศัยในแหล่งนั้น และในที่สุดจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ผู้บริโภค

แหล่งเกษตรกรรมลุ่มน้ำเจ้าพระยา เป็นแหล่งน้ำผิวดินที่ครอบคลุม 19 จังหวัดในภาคกลาง มีพื้นที่เกษตรกรรมประมาณ 10.597 ล้านไร่ (สำนักงานทรัพยากรน้ำแห่งชาติ, 2563) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ประชาชนในชุมชนใช้เพื่อการเกษตร อุปโภค และบริโภค (สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร (องค์การมหาชน, 2555) ในปีพ.ศ. 2540 ตรวจพบสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ชนิด aldrin ปริมาณ 2.0-7.7 นาโนกรัมต่อลิตร dieldrin 1.1-7.7 นาโนกรัมต่อลิตร และสารกลุ่ม DDTs ปริมาณ 1.0-7.6 นาโนกรัมต่อลิตร (Boonyatumanond, et al., 1997) ในปี พ.ศ. 2551 - 2552 ตรวจพบสารพิษในตัวอย่างน้ำและตัวอย่างตะกอน โดยตัวอย่างน้ำตรวจพบสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ชนิด chlordane, DDT & metabolites, dicofol, dieldrin, endosulfan และ endrin ปริมาณระหว่าง <0.01-0.21 ไมโครกรัมต่อลิตร กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ชนิด chlorpyrifos, diazinon, ethion, malathion, monocrotophos และ pirimiphos methyl ปริมาณระหว่าง <0.01-0.11 ไมโครกรัมต่อลิตร กลุ่มคาร์บาเมต ชนิด carbofuran ปริมาณ 0.03-0.07 ไมโครกรัมต่อลิตร สารกำจัดวัชพืชกลุ่มไตรอาซีน ชนิด ametryn, atrazine และ metribuzine ปริมาณ 0.07-0.12 ไมโครกรัมต่อลิตร และสารกำจัดโรคพืชกลุ่มฟิโนลเอไมด์ เอคิลอาลานิน ชนิด metalaxyl ปริมาณ 0.06-0.14 ไมโครกรัมต่อลิตร และตัวอย่างตะกอนตรวจพบสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ชนิด dieldrin และ endosulfan ปริมาณ <0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ชนิด chlorpyrifos, EPN, ethion และ profenofos ปริมาณระหว่าง <0.01-0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กลุ่มคาร์บาเมต ชนิด carbofuran

ปริมาณ <0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสารกำจัดโรคพืชกลุ่มฟิโนลเอไมด์ เอคิลอาลานิน ชนิด metalaxyl ปริมาณ <0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มลิสา และคณะ, 2555) ในปี พ.ศ. 2565 ตรวจพบสารกำจัดวัชพืช atrazine ในตัวอย่างน้ำ ปริมาณ 0.07-0.60 ไมโครกรัมต่อลิตร (จันทิมา และคณะ, 2565) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูในแหล่งเกษตรกรรมนี้ ได้ปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อม และอาจส่งผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหารได้

งานวิจัยนี้ ได้ทำการตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างทางการเกษตร ประเภทสารกำจัดแมลงกลุ่ม Carbamate, Organochlorine, Organophosphorus และกลุ่ม Pyrethroid สารกำจัดโรคพืชกลุ่ม Triazole Chloroacetamide และกลุ่ม Phenylamide akylalanine สารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine และสารกำจัดวัชพืชชนิด 2,4-D, glyphosate และ paraquat เพื่อให้ทราบถึงการตกค้าง การสะสมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแหล่งน้ำและสิ่งแวดล้อม และความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม รวมถึงเฝ้าระวังและคาดการณ์อันตรายที่อาจเกิดขึ้นทั้งต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมในระยะยาว

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว ได้แก่ กรวยกรอง (funnel) กรวยแยก (separatory funnel) กระบอกตวง (cylinder) ขวดปริมาตรก้นกลม (round bottom flask) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) บีกเกอร์ (beaker) หลอดแก้วสำหรับดูดสาร (pasture pipette) หลอดปริมาตร (graduated tube) และขวดสำหรับการฉีดแบบอัตโนมัติ (vial for auto sampler)

2. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องกรองระบบสุญญากาศ (vacuum filtration apparatus) เครื่องเขย่า (shaker) เครื่องเขย่ากรวยแยก (separatory funnel shaker) เครื่องเขย่าผสมสาร (vortex mixer) เครื่องชั่งละเอียด (analytical balance) ความละเอียด 0.01 กรัม และความละเอียด 0.00001 กรัม เครื่องสับปั่นละเอียด (food processor) เครื่องปั่นผสม (homogenizer) เครื่องระเหยสารแบบแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator) เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) เตาเผา (furnace) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เครื่อง gas chromatograph (GC) ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 6890 พร้อมตัวตรวจวัดชนิด electron capture detector (GC-ECD) เครื่อง gas chromatograph ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 6890 พร้อมตัวตรวจวัดชนิด flame photometric detector (GC-FPD) เครื่อง gas chromatograph ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 7890 พร้อมตัวตรวจวัดชนิด nitrogen phosphorus detector (GC-NPD) และเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ยี่ห้อ Agilent Technology รุ่น 1290

3. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ Grab sampling แบบ Vertical type water sampler อุปกรณ์เก็บตัวอย่างตะกอนแบบ Ekman grap แคร่งทำด้วย stainless steel ขวดพลาสติกชนิด polypropylene พร้อมฝาปิด ซ้อนทำด้วย stainless steel ขวดแก้วพร้อมฝาปิด ถุงพลาสติก และถังแช่บรรจุน้ำแข็งพร้อมฝาปิดสำหรับเก็บรักษาสภาพตัวอย่างในระหว่างขนส่ง

4. สารเคมี ได้แก่ กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (sodium hydrogen carbonate) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) ไดเอทิล อีเทอร์ (diethyl ether) น้ำกลั่น (distilled water) เรซินแลกเปลี่ยนไอออนบวก (cation exchange resin) วัสดุสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ชนิด ซี18 (SPE C18) วัสดุสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ชนิด ฟลอริซิล (SPE florisil) ออกทานอล (octanol) เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) แอนไฮไดรตัส โซเดียมซัลเฟต (anhydrous sodium sulfate) แอมโมเนียมคลอไรด์

(ammonium chloride) ไอโซออกเทน (iso-octane) เฮกเซน (hexane) เมทานอล (methanol) และอะซิโตนไทรล์ (acetonitrile)

5. สารพิษมาตรฐาน (pesticide grade) ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 95% ได้แก่ กลุ่ม Organochlorine 16 ชนิด ประกอบด้วย aldrin, alpha-BHC, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, dieldrin, endosulfan sulfate, endrin, gamma-BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, *o,p'*-DDE, *o,p'*-DDT, *o,p'*-TDE, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT และ *p,p'*-TDE กลุ่ม Organophosphorus 22 ชนิด ประกอบด้วย azinphos-ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos-ethyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, mevinphos, monocrotophos, parathion-methyl, pirimiphos-methyl, profenophos, triazophos, methamidophos, omethoate และ phosalone กลุ่ม Pyrethroid 7 ชนิด ประกอบด้วย bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin, lambda-cyhalothrin, fenvalerate และ permethrin กลุ่ม Carbamate 5 ชนิด ประกอบด้วย carbaryl, carbofuran, isoprocarb, promecarb และ metocarb กลุ่ม Triazine 3 ชนิด ประกอบด้วย ametryn, metribuzine และ atrazine กลุ่ม Phenoxy compound ชนิด 2,4-D กลุ่ม Bipyridinium ชนิด paraquat กลุ่ม Phenylamide akylalanine ชนิด metalaxyl กลุ่ม Triazole 4 ชนิด ประกอบด้วย difenoconazole, tetraconazole, hexaconazole และ propiconazole กลุ่ม Chloroacetamide 3 ชนิด ประกอบด้วย alachlor, acetochlor และ S-metolachlor สารกำจัดวัชพืชชนิด oxyfluorfen oxadiazon และ pendimethalin กลุ่ม Organophosphate; Phosphonoglycine ชนิด glyphosate

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Working standard solutions)

เตรียม stock standard solution ของสารพิษแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียม Intermediate standard solution ให้ได้สารละลายมีความเข้มข้นในช่วง 20 - 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution ให้ได้สารละลายมีความเข้มข้น 0.01 - 2.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง (Sampling sites) และการสุ่มเก็บตัวอย่าง (Sample collection)

สำรวจพื้นที่และกำหนดจุดเก็บตัวอย่างบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำเจ้าพระยาและคลองแยก ประกอบด้วย คลองมะขามเฒ่า คลองอนุศาสน์ คลองบางหวาย คลองบางบาล และคลองพระยาบันลือ โดยใช้ระบบกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)

การสุ่มเก็บตัวอย่างใน 2 ช่วงฤดูกาล ได้แก่ ฤดูแล้ง (พฤศจิกายน-เมษายน) และฤดูฝน (พฤษภาคม-ตุลาคม) โดยตัวอย่างน้ำใช้ Grab sampling ในการเก็บ บรรจุลงขวดพลาสติก ปริมาตร 4 ลิตร (United States Environmental Protection Agency, 1982) ตัวอย่างตะกอนใช้ Ekman grap บรรจุลงขวดแก้วปริมาณ 500 กรัม (กลุ่มวิจัยวัชพืชการเกษตร, 2564) ตัวอย่างพืชน้ำและสัตว์น้ำเก็บบรรจุในถุงพลาสติก (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, 1999) เก็บรักษาสภาพตัวอย่างทั้งหมดไว้ในถังน้ำแข็ง เพื่อป้องกันสารพิษสลายตัวในระหว่างการขนส่ง

3. การสกัดตัวอย่าง (Sample preparation) และการตรวจวิเคราะห์ (Determination)

3.1 ตัวอย่างน้ำ

3.1.1 กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon ตวงตัวอย่างน้ำ 800 มิลลิลิตร สกัดด้วย hexane (AR grade) ปริมาตร 100, 50 และ 50 มิลลิลิตร หลังการสกัดกรองผ่าน anhydrous sodium sulfate ใส่ round bottom

flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตรด้วย hexane (PR grade) ดูดใส่ vial แบบแก้วสีใส แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD (Association of Official Analysis Chemists [AOAC], 2016a)

3.1.2 กลุ่ม Organophosphorus กลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และ กลุ่ม Phenylamide akylalanine ตวงตัวอย่างน้ำ 800 มิลลิลิตร สกัดด้วย ethyl acetate (AR grade) ปริมาตร 100, 50 และ 50 มิลลิลิตร หลังการสกัดกรองผ่าน anhydrous sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตรด้วย ethyl acetate (PR grade) ดูดใส่ vial แบบแก้วสีชา นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD สารพิษกลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และ กลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD (Environmental Protection Agency [EPA], 1994)

3.1.3 กลุ่ม Chlorophenoxy ชนิด 2,4-D ตวงตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปรับ pH 1.0 ด้วย 6 M hydrochloric acid นำไปกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย SPE cartridge tube ชนิด C18 (ผ่านการเตรียมโดยชะด้วย acetonitrile, methanol และ acidified water pH 1.0 ปริมาตร 5, 5 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ) นำ SPE cartridge tube เป่าด้วยเครื่อง nitrogen evaporator นาน 30 นาที ชะสารด้วย 5% w/v ammonium formate ใน methanol ปริมาตร 5 มิลลิลิตร อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปรับ pH 4.0 ด้วย 6 M hydrochloric acid ดูดสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน syringe filter เนื้อ PTFE ใส่ vials แบบแก้วสีชา นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Thorstensen et al., 2000; Hammami et al., 2017)

3.1.4 กลุ่ม Bipyridylum ชนิด paraquat ตวงตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย SPE cartridge tube ชนิด silica (ผ่านการเตรียม โดยชะด้วย methanol และ water ปริมาตร 5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ชะสารด้วยสารละลายผสมระหว่าง acetonitrile: 250 mM ammonium formate: phosphoric acid (อัตราส่วน 30: 70: 1.25) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ดูดสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน syringe filter เนื้อ PTFE ใส่ vial แบบพลาสติก นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Robinson, 2006)

3.1.5 กลุ่ม Phosphonoglycine ชนิด glyphosate ตวงตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 0.1M potassium dihydrogen phosphate ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง เจือจางสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) ดูดสารสกัดกรองผ่าน filter paper No.1 ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร ด้วย water นำสารสกัดไปทำให้เกิดสารอนุพันธ์ (derivatization) โดยดูดสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 0.02 M FMOC-Cl และ 0.05M disodium tetraborate (borate buffer) ปริมาตร 1 และ 2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นาน 30 วินาที นำไปเขย่าด้วยเครื่อง shaker ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที (revolutions per minute; rpm) นาน 60 นาที เติม diethyl ether ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง shaker ที่ความเร็ว 180 rpm นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ดูดสารละลายชั้นบนทิ้ง และเก็บชั้นล่างไว้ ปรับ pH 2.0 ด้วย 10% w/v hydrochloric acid ดูดสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน syringe filter เนื้อ PTFE ใส่ vials แบบแก้วสีชา นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-FLD (Miles et al., 1986)

3.2 ตัวอย่างตะกอน

3.2.1 กลุ่ม Organophosphorus กลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine กลุ่ม Phenylamide akylalanine กลุ่ม Organochlorine กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole กลุ่ม Chloroacetamide pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม สกัดด้วย ethyl acetate (AR grade) 75 มิลลิลิตร เขย่า 4 ชั่วโมง ที่ความเร็ว 210 รอบต่อนาที กรองผ่าน anhydrous sodium sulfate ใส่ round

bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR grade) คูดสารสกัด 1 มิลลิลิตรใส่ vial แบบแก้วสีชา นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และหาสารพิษกลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD สารสกัดที่เหลือ 1 มิลลิลิตร นำไปเปลี่ยนและปรับปริมาตรเป็น 2.5 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) แล้วคูดสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ vial แบบแก้วสีใส นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD เพื่อหาสารพิษกลุ่ม Organochlorine กลุ่ม Pyrethroid กลุ่ม Triazole กลุ่ม Chloroacetamide pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon (AOAC, 2016 b)

3.2.2 กลุ่ม Chlorophenoxy ชนิด 2,4-D ชั่งตัวอย่างตะกอนปริมาณ 10 ± 0.02 กรัม ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมระหว่าง methanol: water: acetic acid (อัตราส่วน 80: 20: 2.5) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic cleaner (sonicator) นาน 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที กรองผ่าน filter paper No.1 ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายผสมระหว่าง methanol: water: acetic acid (อัตราส่วน 80: 20: 2.5) คูดสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน syringe filter เนื้อ PTFE ใส่ vials แบบแก้วสีชา นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Amarante et al., 2003; Sutherland et al., 2003)

3.2.3 กลุ่ม Bipyridylum ชนิด paraquat ชั่งตัวอย่างตะกอนปริมาณ 25 ± 0.02 กรัม ใส่ใน round bottom flask ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำ DI ปริมาตร 75 มิลลิลิตร และ conc. sulfuric acid ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติม octanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเม็ดแก้วประมาณ 10 เม็ด นำไปสกัดด้วยเครื่อง Soxhlet extractor นาน 2 ชั่วโมง กรองผ่าน filter paper No.42 ที่บรรจุผงกรอง ยี่ห้อ Celite® วางบน Buchner funnel ใส่ใน suction flask ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่อง vacuum pump ล้าง round bottom flask ที่ใส่สารละลายตัวอย่างและปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ DI นำไปกำจัดสิ่งปนเปื้อน ด้วย cation exchange resin (DOWEX 50W resin) ปริมาณ 5 กรัม (ผ่านการเตรียม โดยชะ saturated sodium chloride ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และน้ำ DI ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ด้วยอัตราการไหล 10-15 มิลลิลิตรต่อนาที ล้างด้วยน้ำ DI ปริมาตร 25 มิลลิลิตร 2N hydrochloric acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร น้ำ DI ปริมาตร 25 มิลลิลิตร 2.5% w/v ammonium chloride ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และน้ำ DI ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ตามลำดับ ด้วยอัตราการไหล 3-4 มิลลิลิตรต่อนาที ชะสารด้วย saturated ammonium chloride ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที คูดสารสกัด ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไป clean up ด้วย SPE cartridge tube ยี่ห้อ Supelco® Supelclean™ ENVI-Carb™ (ผ่านการเตรียมโดยชะด้วย methanol และ water ปริมาตร 5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ล้างด้วย water ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และชะสารด้วย สารละลายผสมระหว่าง acetonitrile: 250mM ammonium formate: phosphoric acid (อัตราส่วน 30:70: 1.25) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที คูดสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน syringe filter เนื้อ PTFE ใส่ vial แบบพลาสติก นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD (Robinson, 2006)

3.2.4 กลุ่ม Phosphonoglycine ชนิด glyphosate ชั่งตัวอย่างตะกอนปริมาณ 10 ± 0.02 กรัม ใส่ใน Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมระหว่าง 0.03M disodium hydrogen phosphate และ 0.01M trisodium citrate (Mixed solution) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นาน 1 นาที นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic cleaner (sonicator) นาน 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 60 นาที (ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส) กรองผ่าน

filter paper No.1 ลงใน volumetric flask แบบพลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วย mixed solution ดูดสารสกัดใส่ใน micro-centrifuge tube ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำสารสกัดไปทำ derivatization โดยดูดสารสกัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 0.02M FMOC-Cl และ 0.05M borate buffer ปริมาตร 1 และ 2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นาน 30 วินาที นำไปเขย่าด้วยเครื่อง shaker ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที นาน 60 นาที เติม diethyl ether ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง shaker ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ดูดสารละลายชั้นบนทิ้ง และเก็บชั้นล่างไว้ ปรับ pH 2.0 ด้วย 10% w/v hydrochloric acid ดูดสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน syringe filter เนื้อ PTFE ใส่ vials แบบแก้วสีชา นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-FLD (Sun et al., 2017)

3.3 ตัวอย่างพืชน้ำ

ชั่งตัวอย่างพืช ปริมาณ 10 ± 0.02 กรัม ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที เติม magnesium sulfate ปริมาณ 4 กรัม และ sodium chloride ปริมาตร 1 กรัม ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นาน 1 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที (ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส) (Anastassiades et al., 2003) จากนั้นทดสอบหาสารพิษแต่ละชนิด ดังนี้

3.3.1 ดูดสารละลายส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน micro-centrifuge tube ขนาด 2 มิลลิลิตร ที่บรรจุ PSA ปริมาณ 25 มิลลิกรัม และ magnesium sulfate ปริมาณ 150 มิลลิกรัม ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นาน 30 วินาที นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที (ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส) ดูดสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ใน micro-centrifuge tube ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR grade) ดูดใส่ vials แบบแก้วใส นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และสารพิษกลุ่ม Carbamate, Triazine และ Phenylamide : Acylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD

3.3.2 ดูดสารละลายส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน micro-centrifuge tube ขนาด 2 มิลลิลิตร ที่บรรจุ PSA ปริมาณ 25 มิลลิกรัม และ magnesium sulfate ปริมาณ 150 มิลลิกรัม ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นาน 30 วินาที นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที (ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส) ดูดสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ใน micro-centrifuge tube ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) ดูดใส่ vials แบบแก้วใส นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid ด้วยเครื่อง GC- μ ECD

3.4 ตัวอย่างสัตว์น้ำ (ปลาชนิดต่าง ๆ)

ชั่งตัวอย่างปลาปริมาณ 10 ± 0.02 กรัม ใส่ใน laboratory bottle ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม acetonitrile ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่อง homogenizer นาน 1 นาที กรองผ่าน filter paper No.42 ที่ วางบน Buchner funnel ใส่ใน suction flask ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่อง vacuum pump ล้าง laboratory bottle ด้วย acetonitrile ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) ตวงสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ใน round bottom flask ขนาด 125 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตร ด้วยเครื่อง evaporator จนเกือบแห้ง เติม acetonitrile ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย SPE Cartridge tube ชนิด C18 และ florisil ล้าง

round bottom flask ด้วย acetonitrile จำนวน 2 ครั้ง ๆ ละ 5 มิลลิลิตร ชะผ่าน SPE cartridge tube ใส่ใน graduated test tube ขนาด 15 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) ดูดสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่ม Organochlorine และ Pyrethroid ด้วยเครื่อง GC-μECD สารสกัดที่เหลือปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR grade) นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และสารพิษกลุ่ม Carbamate, Triazine และ Phenylamide : Acylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD (Feei et al., 2000)

4. การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)

4.1 การประเมินผลกระทบต่อสุขภาพ

ใช้สมการทางคณิตศาสตร์ในการคาดการณ์หรือทำนายแนวโน้มของผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นเพื่อบ่งชี้ระดับความเป็นอันตรายของสารพิษ โดยสมการคณิตศาสตร์ที่ใช้ในการคำนวณผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์จะใช้สูตรคำนวณค่า Hazard quotient (HQ) (US. EPA, 2011) ดังนี้

$$HQ = ADD/RfD$$

เมื่อ ADD (average daily dose) คือ ปริมาณสารพิษเข้าสู่ร่างกายอย่างต่อเนื่องต่อน้ำหนักตัวกิโลกรัม

RfD (reference dose of the contaminant) คือ ปริมาณสารที่รับเข้าสู่ร่างกายได้ทุกวันโดยไม่ทำให้เกิดความผิดปกติใด ๆ ต่อสุขภาพอนามัย

โดย ADD คำนวณจาก

$$ADD = (C \times IR \times EF \times ED)/(BW \times AT)$$

เมื่อ C (concentration) คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยสารพิษในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

IR (ingestion rate) คือ ปริมาณการรับสัมผัส (มิลลิกรัมต่อวัน)

EF (exposure frequency) คือ ความถี่ของการรับสัมผัส (วันต่อปี) (350 วันต่อปี)

ED (exposure duration) คือ ระยะเวลาที่รับสัมผัส (ปี) (เด็ก 6 ปี ผู้ใหญ่ 30 ปี)

BW (body weight) คือ น้ำหนักของร่างกาย (กิโลกรัม) (เด็ก (child) อายุ 6 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 33.38 กิโลกรัม และผู้ใหญ่ (adult) อายุ 70 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 55.77 กิโลกรัม) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

AT (average time) คือ ระยะเวลาเฉลี่ยที่รับสัมผัสตลอดช่วงอายุ (วัน) (เด็ก 2190 วัน ผู้ใหญ่ 10950 วัน)

การแปรผลจากค่าที่คำนวณได้ $HQ \leq 1$ คือ ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพหรือมีความเสี่ยงแต่อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable risk) $HQ > 1$ คือ มีผลกระทบหรือมีความเสี่ยงต่อสุขภาพ (risk)

4.2 การประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ประเมินผลกระทบในระยะยาวต่อสิ่งมีชีวิตในดินชนิด earthworm (ECB, 2003; ECHA, 2008) โดยใช้ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) จากสมการ

$$RQ = MEC/PNEC$$

เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (assessment factor เท่ากับ 10)

การแปรผลจากค่าที่คำนวณได้ ค่า $RQ < 1$ คือ ไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (no immediate concern), $RQ = 1-10$ คือ มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมเล็กน้อย แต่หากมีการเพิ่มปริมาณสารพิษที่ใช้ ต้องคำนึงถึงความเสี่ยงมากขึ้น (of concern if supply volumes increase), $RQ = 10-100$ คือ มีความเสี่ยง ต้องทำการลดความเสี่ยง (further data require) และ $RQ > 100$ คือ มีความเสี่ยงมากและจำเป็นต้องลดความเสี่ยงนั้นทันที (reduce risk immediate)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร
กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างรวมทั้งหมด 369 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และปลา จำนวน 192, 125, 20 และ 32 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ ได้แก่ 2,4-D, ametryn, atrazine และ glyphosate โดยปริมาณสูงสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 3.30, 0.75, 0.43 และ 6.93 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ตรวจพบทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง ในขณะที่ตัวอย่างตะกอนตรวจพบสารพิษเพียงชนิดเดียว ได้แก่ glyphosate ปริมาณสูงสุดที่ตรวจพบอยู่ในช่วงฤดูฝนเท่ากับ 0.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1) สารที่ตรวจพบทั้งหมดนี้เป็นกลุ่มสารกำจัดวัชพืช และตรวจพบปริมาณสูงในช่วงฤดูฝน (wet season) ซึ่งเป็นช่วงของการเริ่มเพาะปลูก มีความสอดคล้องกับการใช้สารกำจัดวัชพืชของเกษตรกรเพื่อควบคุมวัชพืชสำหรับเตรียมแปลงก่อนปลูกพืชไร่ ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด และอ้อย (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2555) สารที่มีการตรวจพบบ่อยทั้ง 2 ตัว ได้แก่ ametryn และ glyphosate อาจเป็นผลมาจากค่า DT50 ในน้ำและตะกอน (water/sediment system) ของสารทั้งสองมีค่าค่อนข้างสูง (35-80 วัน และ 27-146 วัน ตามลำดับ) (MacBean, 2012) เมื่อเกิดการชะล้าง (leaching) จากแปลงปลูกไหลลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ ทำให้เกิดการปนเปื้อนและตกค้าง ส่งผลให้มีการตรวจพบสารดังกล่าว สอดคล้องกับการศึกษาการสะสมสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณเกษตรกรรมลุ่มน้ำท่าจีน บางปะกง แม่กลอง และลุ่มน้ำป่าสัก (มลิสา และคณะ, 2555) และการประเมินผลกระทบของสารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน (จันทิมา และคณะ, 2565) อย่างไรก็ตาม ปริมาณที่ตรวจพบนี้มีความปลอดภัยต่อการอุปโภคและบริโภค โดยอ้างอิงจากค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่มตามมาตรฐานของประเทศออสเตรเลียสำหรับสารพิษชนิด 2,4-D, ametryn, atrazine และ glyphosate ระบุค่าที่ 30, 70, 20 และ 1000 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (National Health and Medical Research Council and National Resource Management Ministerial Council, 2022) ส่วนตัวอย่างพืชน้ำและตัวอย่างปลาชนิดต่าง ๆ สำหรับนำมาเพื่อบริโภคตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

2. ผลการประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้าง

2.1 ความเสี่ยงต่อสุขภาพ

เมื่อนำค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ตรวจวัดได้ของสารพิษแต่ละชนิดไปประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ในระยะยาว จาก Table 2 พบว่าค่า ADD ที่ได้จากการแทนค่าด้วยปริมาณสารพิษที่ตรวจวัดได้ มีค่าน้อยกว่าค่า RfD ทำให้ผลรวมของค่า HQ ในตัวอย่างน้ำและตัวอย่างตะกอนตั้งแต่ปี พ.ศ. 2565-2567 มีค่าน้อยกว่าเท่ากับ 1 ($HQ \leq 1$) แสดงว่าสารพิษที่ตรวจพบในแต่ละปีนั้น ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ เป็นความเสี่ยงที่อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable risk)

2.2 ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

จาก Table 2 ค่า RQ ของสารพิษแต่ละชนิดตลอดระยะเวลา 3 ปี (2565-2567) พบว่าค่าที่คำนวณได้น้อยกว่า 1 ($RQ < 1$) เนื่องจากสารพิษมีการสลายตัวได้ค่อนข้างเร็วทั้งในน้ำและตะกอน รวมทั้งค่า NOEC ของสารแต่ละชนิดมีค่าสูง (Pesticide Properties DataBase [PPDB], 2024) ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าสารพิษที่ตรวจพบในลุ่มน้ำเจ้าพระยาในช่วงปี 2565-2567 ไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (no immediate concern)

ผลการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์และความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมในระยะยาว พบว่าไม่มีความเสี่ยงนั้น สอดคล้องกับการประเมินผลกระทบของสารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน (จันทิมา และคณะ, 2565)

Table 1 The results of pesticides residue analysis in sample in the Chao Phraya River basin

Year	Sample	Pesticide	Concentration of residues	
			Dry season	Wet season
2022	Water	ametryn	ND	0.06 - 0.75
		atrazine	0.10 - 0.20	0.03 - 0.43
2023	Water	2,4-D	1.29 - 3.30	ND
		ametryn	ND	0.48 - 0.57
		atrazine	0.02 - 0.13	0.03 - 0.07
		glyphosate	1.52 - 6.93	ND
	Sediment	glyphosate	0.12 - 0.34	ND
2024	Water	ametryn	ND	0.05 - 0.13
		atrazine	ND	0.07 - 0.13
		glyphosate	2.97 - 4.70	3.30 - 4.64
	Sediment	glyphosate	<0.05 - 0.28	<0.05 - 0.35

Unit of concentration of pesticide residue in sample: water ($\mu\text{g/L}$) and sediment (mg/kg), ND: Not detected

Table 2 The evaluation of Hazard quotient (HQ) and Risk quotient (RQ) in the Chao Phraya River basin

Year.	Sample	Pesticide	Hazard quotient (HQ)		Risk Quotient (RQ)
			child	Adult	
2022	Water	ametryn	1.79E-03	1.41E-03	1.50E-03
		atrazine	2.63E-04	2.08E-04	2.15E-03
		sum	2.05E-03	1.62E-03	
2023	Water	2,4-D	1.46E-02	1.17E-02	2.55E-03
		ametryn	1.34E-03	1.07E-03	8.15E-03
		atrazine	8.11E-05	6.51E-05	6.73E-04
		glyphosate	1.46E-02	1.17E-03	6.93E-02
		sum	1.75E-02	1.40E-02	
2024	Sediment	glyphosate	1.95E-05	6.10E-06	2.72E-01
	Water	ametryn	3.11E-04	2.46E-04	2.61E-04
		atrazine	7.71E-05	6.08E-05	6.30E-04
		glyphosate	1.01E-03	7.95E-04	1.47E-03
		sum	1.40E-03	1.10E-03	
	Sediment	glyphosate	2.00E-05	6.24E-06	2.78E-01

สรุปผลการทดลอง

1. สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำเจ้าพระยา ในปี พ.ศ. 2565-2567 ที่ตรวจพบทั้งหมดเป็นสารกำจัดวัชพืช พบการตกค้างสูงและพบบ่อยในช่วงฤดูฝน ปริมาณที่ตรวจพบไม่เกินค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่ม

2. ความเสี่ยงจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อมในระยะยาว อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้และไม่มีความเสี่ยง อย่างไรก็ตาม พื้นที่ลุ่มน้ำเจ้าพระยาเป็นพื้นที่เกษตรกรรมที่สำคัญของประเทศไทย การทำการเกษตรร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชยังคงดำเนินต่อไป การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจึงควรมีการเฝ้าระวัง ติดตาม ตรวจสอบ และประเมินความเสี่ยงควบคู่กันไปอย่างต่อเนื่อง เพื่อเฝ้าระวังและคาดการณ์อันตรายที่อาจเกิดขึ้นทั้งต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งแวดล้อมในระยะยาว รวมถึงการบริหารและจัดการความเสี่ยงอันเกิดจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในลุ่มน้ำเจ้าพระยาต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. หน่วยงานภาครัฐ ภาคเอกชน เกษตรกร หรือผู้ที่สนใจหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องสามารถเข้าถึงข้อมูลการตกค้างของสารพิษทางการเกษตรบริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยา และสามารถนำไปใช้ประโยชน์หรือต่อยอดจากข้อมูลข้างต้นได้

2. ข้อมูลสารพิษตกค้างทางการเกษตรรายงานต่อกรมควบคุมมลพิษ เพื่อนำเสนอต่อคณะกรรมการอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนานของประเทศ เพื่อคุ้มครองสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจากสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน ภายใต้อนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน

เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษ. 2547. *Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) อนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน*. 99 หน้า.
- จันทิมา ผลทอง มลิสสา เวชยานนท์ อำนาจ กะฐินเทศ และประกิจ จันทรดีบ. 2565. การประเมินผลกระทบของสารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน. หน้า 63-75. ใน: ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2564 เล่ม 2. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.
- มลิสสา เวชยานนท์ สิริพร เหลืองสุชนกุล ประกิจ จันทรดีบ เอกกราช สิทธิมงคล และปภัสรา คุณเลิศ. 2555. การแพร่กระจายของสารพิษการเกษตรจากแหล่งเกษตรกรรมลงสู่แม่น้ำสายหลักในประเทศไทย. หน้า 231-255. ใน: ผลงานวิจัยดีเด่นกรมวิชาการเกษตรประจำปี 2555. กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร.
- สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร. 2555. การดำเนินการด้านการรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลโครงการพัฒนาระบบคลังข้อมูล 25 ลุ่มน้ำ และแบบจำลองน้ำท่วมน้ำแล้ง ลุ่มน้ำเจ้าพระยา. แหล่งข้อมูล <https://tiwm.hi.or.th/web/attachments/25basins/10-chaopraya.pdf> สืบค้น: 20 กันยายน 2567.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย. แหล่งข้อมูล https://www.acfs.go.th/files/files/attach-files/867_20190606145951_625162.pdf สืบค้น: 20 กันยายน 2567.
- สำนักงานทรัพยากรน้ำแห่งชาติ. 2563. โครงการจัดทำฐานข้อมูลพื้นฐานลุ่มน้ำ 22 ลุ่มน้ำ รายงานสรุปข้อมูลพื้นฐานของลุ่มน้ำ ลุ่มน้ำเจ้าพระยา. แหล่งข้อมูล <https://ebook.onwr.go.th/read/145/pdf> สืบค้น: 20 กันยายน 2567
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2555. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2554. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- Amarante, D. O. P., N.M. Brito, T. C. R. D. Santos, G. S. Nunes, and M.L. Ribeiro. 2003. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis. *Talanta* 60:115-121.
- Anastassiades, M., S. J. Lehotay, D. Staibaher, and F. J. Schenck. 2003. Fast and Easy Multiresidues employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and Dispersive Solid-Phase Extraction for Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International* 86 (2):412-431.
- Association of Official Analysis Chemists. 2016a. Organochlorine Pesticides in Water, Gas Chromatographic Method. AOAC Method 990.06. AOAC International, Washington DC.
- Association of Official Analysis Chemists. 2016b. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. AOAC Method 970.52. AOAC International, Washington DC.
- Boonyatumanond, R., Tabucanon, M. S., Siri Wong, C., & Prinyatanakun, P. (1997). Distribution of organochlorine pesticides in the Chao Phraya River, Thailand. *Environmental Monitoring and Assessment*, 44, 315-325.
- Environmental Protection Agency. 1994. Organophosphorus Compound by Gas Chromatography Capillary Column Technique. U.S. EPA. Office of Research and Development, Washington DC.

- European Chemicals Bureau. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for notified substances. Available at: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/212940b8-3e55-43f8-8448-ba258d0374bb> Assessment: September 20, 2024.
- Feei, S., L. Feng-Yi., W. Sue-Sun, and L. Gwo-Chen. 2000. Determination of Organochlorine and Nitrogen-Containing Pesticide Residues in Fish with Different Fat Content. *Journal of Food and Drug Analysis* 8 (2): 103-111.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. 1999. Recommended Methods of Sampling for the Determination of Pesticide Residues for Compliance with MRLs (CAC/GL 33-1999). Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome, Italy.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization [FAO/WHO]. 1999. Recommended Methods of Sampling for the Determination of Pesticide Residues for Compliance with MRLs (CAC/GL 33-1999). Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome.
- Hammami, B., M. Bahri, S. B. Hassine, and M. R. Driss. 2017. Development of Liquid Chromatography Separation and a Solid-Phase Extraction method for Phenoxy Alkanoic Acid Herbicides in Water. *Modern Chemistry & Applications* 5: 1-8.
- MacBean, C. 2012. *The Pesticide Manual 16th ed.* British Crop Production Council. United Kingdom.
- Miles, C. J., L. R. Wallace, and H. A. Moyer. 1986. Determination of Glyphosate Herbicide and (Aminomethyl)phosphonic acid in Natural Waters by Liquid Chromatography Using Pre-Column Fluorogenic Labeling with 9-Fluorenylmethyl Chloroformate. *Journal of the Association of the Official Analytical Chemists* 69: 458-461.
- National Health and Medical Research Council and National Resource Management Ministerial Council. 2022. Australian Drinking Water Guidelines 6 version 3.8. National Water Quality Management Strategy. Available at: https://www.nhmrc.gov.au/sites/default/files/documents/attachments/publications/Australian_Drinking_Water_Guidelines_ADWG_V3_-_8_Sep2022.pdf. Assessment: September 20, 2024.
- Robinson, N. J. 2006. Paraquat: Residue Method for the Determination of Paraquat Dichloride as Paraquat cation in Soil (GRM012.04A). Jealott's Hill International Research Centre, UK.
- Sun, L., D. Kong, D. Gu, X. Guo, W. Tao, Z. Shan, Y. Wang, and N. Wang. 2017. Determination of glyphosate in soil/sludge by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1502: 8-13.
- Sutherland, D. J., G. K. Stearman, and M. J. M. Wells. 2003. Development of an Analytical Scheme for Simazine and 2,4-D in soil and Water Runoff from Ornamental Plant Nursery Plots. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51: 14-20.
- Thorstensen, W. C., O. Lode, and A. L. Christiansen. 2000. Development of a Solid-Phase Extraction Method for Phenoxy Acids and Bentazone in water and Comparison to Liquid-Liquid Extraction Method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48: 5829-5833.

United States Environmental Protection Agency. 1982. Handbook for Sampling and Sample Preservation of Water and Wastewater. Available at: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/30000QSA.PDF?Dockey=30000QSA.PDF>. Assessment: September 20, 2024.

United States Environmental Protection Agency. 2011. Exposure Factors Handbook 2011 Edition (Final Report). U.S. EPA. Office of Research and Development, Washington DC.

University of Hertfordshire. 2024. PPDB: Pesticide Properties DataBase. Available at: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>. Assessment: September 20, 2024.

การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อม
บริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำป่าสัก

Determination of Pesticides in Agricultural area along Pasak Basin

สิริพร เหลืองสุขนกุล สิริโชค วงศ์ศรีไพศาล นพดล มะโนเย็น

Siriporn Luengsuchonkul Sirichok Wongsripisarn Noppadon Ma-noyen

กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This study is to determine the pesticides residues in the Pasak River basin and to assess its impact to human health and the environment. The samples (water, sediment and aquatic biota) were collected in the dry and wet season from year 2022 – 2024 for 300 samples and measured the six pesticides groups as Organophosphorus, Organochlorines, Pyrethroids, Carbamates, Triazines and Chloroacetamides by Gas Chromatography technique. The measured pesticides residue was used for calculated and characterized the human health risk and the environmental risk that represent in Hazard Quotient (HQ) value and Risk Quotient (RQ) value repetitively. The results found that all pesticides groups were detected. Triazines was the most frequently detected and the next below were organophosphorus and pyrethroids repetitively. The risk of pesticide residues to human health and the environment were acceptable level ($HQ \leq 1$ and $RQ < 1$) except permethrin has high risk ($RQ = 10-100$) which need to require further data for concern to reduce the risk and no carcinogenic risk

Keywords: Pesticides; Monitoring; Residues; Human health risk; Environmental risk

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นตรววจวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างทางการเกษตรในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำป่าสักและคลองแยก และนำผลตรววจวิเคราะห์มาประเมินผลกระทบของสารพิษตกค้างต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างที่สุ่มเก็บ (ตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และสัตว์น้ำ) ในช่วงฤดูแล้งและฝน ระหว่างปี 2565-67 มีจำนวนทั้งหมด 300 ตัวอย่าง ตรววจวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างทางการเกษตร 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสฟอรัส ไพรีทรอยด์ คาร์บาเมท ไตรอาซีน และคลอโรอะเซตาไมด์ ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี จากนั้นนำปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรววจพบมาคำนวณเพื่อระบุความเสี่ยงต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมในรูปของค่าสัดส่วนความเสี่ยง (Hazard quotient (HQ)) และค่าสัดส่วนความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (Risk Quotient (RQ)) ผลการศึกษาตรววจพบสารพิษตกค้างทุกกลุ่ม โดยสารพิษกลุ่มไตรอาซีน มีความถี่ที่ถูกตรววจพบมากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัสและกลุ่มไพรีทรอยด์ ตามลำดับ สารพิษตกค้างที่ตรววจพบมีความเสี่ยงต่อสุขภาพและความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($HQ \leq 1$ และ $RQ < 1$) ยกเว้น permethrin ที่มีความเสี่ยงสูงต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งต้องมีการพิจารณาข้อมูลอื่นๆประกอบเพื่อตัดสินใจลดความเสี่ยง ($RQ = 10-100$) และไม่พบสารพิษตกค้างที่ก่อความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง

คำสำคัญ: สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช; การแผ่กระจาย; การปนเปื้อน; ความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์; ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

บทนำ

แม่น้ำป่าสักจัดว่าเป็นหนึ่งในแม่น้ำสายสำคัญของประเทศไทย มีความยาวลำน้ำประมาณ 700 กิโลเมตร ไหลผ่านพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างจาก จ.เลย และจ.เพชรบูรณ์ สู่พื้นที่ภาคกลางผ่าน จังหวัดลพบุรี จังหวัดสระบุรี และไปสิ้นสุดลงที่จุดบรรจบกับแม่น้ำเจ้าพระยาที่ จ.พระนครศรีอยุธยา แม่น้ำป่าสักมีพื้นที่รับน้ำและกักเก็บน้ำได้แก่ เขื่อนป่าสักชลสิทธิ์และเขื่อนทดน้ำพระราม 6 และมีลำน้ำสาขาเป็นคลองแยกไปทางตะวันตกและตะวันออกของลำน้ำ เกษตรกรที่อยู่ใกล้แม่น้ำและคลองแยกจึงสามารถทำการเพาะปลูกได้อย่างต่อเนื่องตลอดทั้งปี (สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร (องค์การมหาชน, 2555) การเกษตรส่วนใหญ่คือพืชไร่ ได้แก่ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ซึ่งมีพื้นที่การเพาะปลูกมากที่สุดที่ จ.เพชรบูรณ์ รองลงมาคือ อ้อย พืชผัก ไม้ดอก และไม้ผล (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) ดังนั้นจึงมีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืชซึ่งใช้ในควบคุมกำจัดวัชพืชรากงอกและก่อนวัชพืชผลพันธุ์ในแหล่งปลูกข้าวโพดและอ้อย (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2566) รวมทั้งการใช้สารกำจัดแมลงในการปลูกพืชผัก ซึ่งอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการเกษตรลงสู่แหล่งน้ำ เกิดการสะสมในสิ่งแวดล้อมและส่งผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม รวมทั้งผลกระทบจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่เป็นสารมลพิษที่ตกค้างยาวนานในสิ่งแวดล้อม (Persistent organic pollutant; POP) สอดคล้องกับรายงานการตรววจพบสารพิษตกค้างทางการเกษตรในแม่น้ำสายหลักโดยมลิสาและคณะ (2555; 2554;2553;2552)

ดังนั้นเพื่อเป็นการเฝ้าระวังการปนเปื้อนและผลกระทบของสารพิษตกค้างทางการเกษตร จึงดำเนินการตรววจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณลุ่มน้ำที่มีแหล่งเกษตรกรรมอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ทราบถึงสถานการณ์การปนเปื้อน การแพร่กระจาย การสะสมของสารพิษตกค้างทางการเกษตรและได้ประเมินความเสี่ยงต่อการสัมผัสของมนุษย์ (Hazard Quotient, HQ) และความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (Risk Quotient, RQ) และระบุความเสี่ยง (Risk Characterization) เพื่อสรุปผลกระทบที่เกิดขึ้น เพื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการบริหารจัดการการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม สอดคล้องตามวัตถุประสงค์ของพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 และอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs))

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง ได้แก่ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ (Water sampler) อุปกรณ์เก็บตัวอย่างตะกอน Grab sampler) แครง ขวดพลาสติกชนิด polypropylene พร้อมฝาปิด ข้อนตักตะกอน ขวดแก้วพร้อมฝาปิดถุงพลาสติก ถังแช่บรรจุน้ำแข็งพร้อมฝาปิดสำหรับเก็บรักษาสภาพตัวอย่างในระหว่างขนส่ง
2. วัสดุอุปกรณ์สำหรับการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ separatory funnel, beaker, cylinder, Erlenmeyer flask, petri dish, round bottom flask, pipette, volumetric flask, centrifuge tube, graduate tube, filter paper No.1, filter paper no.42
3. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์สารพิษตกค้างชนิด analytical grade, pesticide grade และ HPLC grade ได้แก่ acetone, ammonium chloride, anhydrous sodium sulfate, sodium hydrogen carbonate, ethyl acetate และ acetonitrile เป็นต้น
4. สารพิษมาตรฐาน pesticide grade ได้แก่ กลุ่ม Organophosphorus จำนวน 22 ชนิด ได้แก่ azinphos ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos ethyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, monocrotophos, parathion methyl, pirimiphos methyl, profenophos, triazophos, methamidophos, omethoate, phosalone กลุ่ม Organochlorines 16 ชนิด ได้แก่ aldrin, alpha-BHC, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, dieldrin, endosulfan sulfate, endrin, gamma-BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, o,p'-DDE, o,p'-DDT, o,p'-TDE, p,p'-DDE, p,p'-DDT และ p,p'-TDE กลุ่ม Pyrethroids 4 ชนิด ได้แก่ bifenthrin, cypermethrin, fenvalerate และ permethrin กลุ่ม Carbamates 6 ชนิด ได้แก่ carbaryl, carbofuran, isoprocarb, promecarb, metocarb และ methomyl กลุ่ม Triazines 3 ชนิด ได้แก่ ametryn, metribuzine และ atrazine กลุ่ม Chloroacetamides 3 ชนิด ได้แก่ alachlor, acetochlor, s-metolachlor
5. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งความละเอียด 2 ตำแหน่งและ 5 ตำแหน่ง เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electroconductivity meter) ตู้อบ (Oven) เตาเผา (Furnace) เครื่องเขย่าเพื่อสกัดน้ำ (Separatory funnel shaker) เครื่องเขย่า (Shaker) เครื่องบด (Homogenizer) เครื่องลดปริมาตร (Rotary evaporator) เครื่องลดปริมาตรด้วยไนโตรเจน (Nitrogen evaporator) เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (Centrifuge) เครื่อง Gas Chromatograph พร้อมหัวตรวจวัดชนิด Flame Photometric Detector (GC-FPD) หัวตรวจจับชนิด Electron Capture Detector (GC-ECD) และ หัวตรวจวัดชนิด Nitrogen Phosphorus Detector (GC-NPD)

วิธีการ

1. การสำรวจพื้นที่เกษตรกรรมบริเวณลุ่มน้ำป่าสัก และคลองแยก และการกำหนดจุดเก็บตัวอย่างโดยใช้ระบบกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global positioning system, GPS)
โดยเริ่มต้นสำรวจพื้นที่เกษตรกรรมจากต้นน้ำแม่น้ำป่าสักที่ จ.เลย ไปจนถึงบริเวณจุดบรรจบแม่น้ำป่าสักและแม่น้ำเจ้าพระยาที่ จ.พระนครศรีอยุธยา จากนั้นกำหนดจุดเก็บตัวอย่างบริเวณลำน้ำและคลองแยกที่มีพื้นที่ทำการเกษตร ให้ห่างกันระหว่างจุดประมาณ 10-15 กิโลเมตร ไม่น้อยกว่า 20 จุด และคลองแยกประมาณ 2 จุด ที่ระยะ 3-10 กิโลเมตร เก็บตัวอย่างในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน ทำการเก็บตัวอย่างตามวิธีเก็บตัวอย่างตามคู่มือการใช้บริการวิเคราะห์วัตถุพิษ (กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร, 2564) โดยตัวอย่างน้ำจะใช้อุปกรณ์เก็บน้ำ เก็บที่ระดับใต้ผิวน้ำ (sub surface) ประมาณ 6 นิ้ว ประมาณ 5 - 10 จุด รวมเป็นตัวอย่าง

เดียว ใส่ในขวดพลาสติกชนิด polypropylene ตัวอย่างตะกอนจะใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างตะกอน เลือกตักเก็บ เฉพาะส่วนผิวหน้าของตะกอน บรรจุตัวอย่างลงขวดแก้วให้เต็มขวด น้ำหนักประมาณ 1 กก. สำหรับตัวอย่างสัตว์ น้ำและพืชน้ำให้เลือกเก็บชนิดที่สามารถบรีโศคได้ น้ำหนักประมาณ 0.5 กก. ต่อตัวอย่าง และเลือกส่วนที่บรีโศค ได้มาสกัดสารพิษตกค้าง

2. การสกัดและตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และสัตว์น้ำ

2.1 สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus กลุ่ม Carbamates และกลุ่ม Triazines ในตัวอย่างน้ำ

(Environmental Protection Agency, 1994): ตวงตัวอย่างน้ำ 800 มล. สกัดด้วย ethyl acetate (AR) ปริมาตร 100, 50 และ 50 มล. กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจน เกือบแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator ถ่ายสารละลายที่สกัดได้ลงใน graduate tube ลดปริมาตรด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตรด้วย ethyl acetate (PR) นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษ กลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD ตรวจวิเคราะห์หาสารพิษ กลุ่ม Carbamates และกลุ่ม Triazines ด้วยเครื่อง GC-NPD

2.2 สารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorines กลุ่ม Pyrethroids และกลุ่ม Chloroacetamides ในตัวอย่าง น้ำ(Association of Official Analysis Chemists, 2016a): ตวงตัวอย่างน้ำ 800 มล. สกัดด้วย hexane (AR) ปริมาตร 100 50 และ 50 มล. กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจน เกือบแห้ง ด้วยเครื่อง Rotary evaporator ถ่ายสารละลายที่สกัดได้ลงใน graduate tube ลดปริมาตรด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตรด้วย hexane (PR) นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษด้วย เครื่อง GC-μECD

2.3 สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus กลุ่ม Carbamates กลุ่ม Triazines กลุ่ม Organochlorines กลุ่ม Pyrethroids และกลุ่ม Chloroacetamides ในตัวอย่างตะกอน (Association of Official Analysis Chemists, 2016b): แบ่งการดำเนินการออกเป็นสองขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนที่หนึ่งคือหาความชื้นในตัวอย่างดิน (C. K. Back, 1965) เพื่อหาน้ำหนักแห้งสุทธิ โดยชั่งตัวอย่างดิน 50 ก. บันทึกน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ และหลังอบ 24 ชม. นำไปคำนวณความชื้นและน้ำหนักดินแห้ง และขั้นตอนที่สองการสกัดสารพิษ โดยชั่งตัวอย่าง 20 ก. สกัดด้วย ethyl acetate (AR) 75 มล. เขย่า 5 ชม. ที่ความเร็วรอบ 210 รอบต่อนาที กรองผ่าน anh. sodium sulfate ใส่ round bottom flask นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 2 มล. ด้วย ethyl acetate (PR) ดูดสาร สกัด 1 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD ส่วนอีก 1 มิลลิลิตร ให้นำมาลดปริมาตรต่อจนเกือบแห้งแล้วเติม hexane (PR grade) 2 มล. ทำซ้ำสองครั้ง แล้วลดปริมาตร ให้เหลือ 2.5 มล. นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organochlorines กลุ่ม Pyrethroids และกลุ่ม Chloroacetamides ด้วยเครื่อง GC-ECD

2.4 .สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus กลุ่ม Carbamates กลุ่ม Triazines กลุ่ม Organochlorines กลุ่ม Pyrethroids และกลุ่ม Chloroacetamides ในตัวอย่างพืชน้ำ (Anastassiades et al., 2003): โดยชั่งตัวอย่าง 10 ก. ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 มล. เติม acetonitrile 10 มล. เขย่า 1 นาที เติม magnesium sulfate ($MgSO_4$) 4 ก. และ sodium chloride (NaCl) 1 ก. ผสมกัน 1 นาที ด้วยเครื่อง Vortex mixer สกัดด้วยเครื่อง ปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 1 มล. ใส่ microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มล. ที่บรรจุ primary secondary amine (PSA) 25 มก. และ magnesium sulfate ($MgSO_4$) 150 มก. สกัดด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบ ต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 0.5 มล. ใส่ graduate tube ลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 1 มล. ด้วย ethyl acetate (PR) ดูดสารสกัด 0.5 มล. นำไปตรวจ

วิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD กลุ่ม Carbamates และกลุ่ม Triazines ด้วยเครื่อง GC-NPD ส่วนอีก 0.5 มิลลิลิตร ให้นำมาลดปริมาตรจนเกือบแห้งแล้วเติม hexane (PR grade) 2 มล. ทำซ้ำสองครั้ง แล้วลดปริมาตรให้เหลือ 0.5 มล. นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organochlorines กลุ่ม Pyrethroids และกลุ่ม Chloroacetamides ด้วยเครื่อง GC-ECD

2.5 สารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus กลุ่ม Carbamates กลุ่ม Triazines กลุ่ม Organochlorines กลุ่ม Pyrethroids และกลุ่ม Chloroacetamides ในตัวอย่างปลา (Feei et al., 2000): โดยชั่งตัวอย่างปลา 10 ก. เติม acetonitrile 50 มล. โดยใช้ Homogenizer 1 นาที กรองตัวอย่าง และล้างขวดใส่ตัวอย่าง ด้วย acetonitrile 50 มล. 2 ครั้ง นำสารละลายที่สกัดได้ลดปริมาตร ด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนเกือบแห้ง เติม acetonitrile 5 มล. cleanup ด้วย SPE ชนิด C18 และ florisil นำสารละลายจากการ cleanup ไปลด ปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 1 มล. ด้วย hexane (PR) ดูดสารสกัด 0.5 มล. นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD เพื่อหาสารพิษกลุ่ม Organochlorines, กลุ่ม Pyrethroids, กลุ่ม Chloroacetamides สารสกัดที่เหลือ 0.5 มล. นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้งด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มล. ด้วย ethyl acetate (PR) นำไปตรวจวิเคราะห์หาสารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และหาสารพิษกลุ่ม Carbamates กลุ่ม Triazines และกลุ่มด้วย เครื่อง GC-NPD

3. การประเมินความเสี่ยงของสารพิษต่อสุขภาพ (Human Health Risk Assessment) ผ่านทางการบริโภค (United State Environmental Protection Agency, 2011)

โดยนำปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจวิเคราะห์ได้มาคำนวณตามสมการ

$$\text{Hazard quotient (HQ)} = \frac{\text{Average daily intake dose (ADD)}}{\text{Reference dose (RfD)}}$$

โดย ADD (average daily dose) คือ ปริมาณการได้รับสารแต่ละชนิดเข้าสู่ร่างกายต่อน้ำหนักตัวหนึ่ง กิโลกรัมในหนึ่งวัน (มก./กก./วัน) ค่า ADD คำนวณจาก

$$\text{ADD} = \frac{C \times IR \times EF \times ED}{BW \times AT_{ADD}}$$

เมื่อ C (concentration) คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยสารพิษที่ตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่าง (มก./กก.)

IR (ingestion rate) คือ อัตราการบริโภค (น้ำ = ล./วัน, ตะกอน ผัก เนื้อปลา = กก./วัน)

EF (exposure frequency) คือ ความถี่ของการสัมผัส (วัน/ปี)

ED (exposure duration) คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (ปี)

BW (body weight) คือ น้ำหนักของร่างกาย (กก.)

AT_{ADD} (average time) คือ เวลาเฉลี่ย (วัน)

RfD (reference dose of the contaminant) คือ ค่าความเข้มข้นอ้างอิงของสารแต่ละชนิด ซึ่งเป็นค่า ปริมาณความเข้มข้นสูงสุดของสารเคมี (มก./กก.น้ำหนักตัว /วัน) ที่สามารถรับสัมผัสและดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย มนุษย์ ทุกวันโดยไม่ก่อให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ใดๆ ต่อร่างกายตลอดช่วงอายุขัย

เกณฑ์ระบุความเสี่ยง

ค่า HQ ≤ 1 แสดงว่าไม่มีผลกระทบหรือมีความเสี่ยงต่อสุขภาพอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable risk)

ค่า HQ > 1 แสดงว่ามีผลกระทบหรือมีความเสี่ยงต่อสุขภาพ

ทั้งนี้ หากตรวจพบสารพิษตกค้างที่เป็นชนิดที่สามารถก่อมะเร็ง ให้คำนวณค่าความเสี่ยงการเกิดมะเร็ง (Cancer risk) ตามสมการ

Carcinogenic risk = Life time Average daily intake dose (LADD) x Cancer Slope factor

โดย LADD (Life time average daily dose) คือ ปริมาณการได้รับสารแต่ละชนิดเข้าสู่ร่างกายต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม ตลอดช่วงชีวิต (มก./กก./วัน) คำนวณจาก

$$LAAD = \frac{C \times IR \times EF \times ED}{BW \times AT_{LAD}}$$

เมื่อ C (concentration) คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยสารพิษที่ตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่าง (มก. /กก.)

IR (ingestion rate) คือ อัตราการบริโภค (น้ำ = ล./วัน, ตะกอน ผัก ผลไม้ = กก. /วัน)

EF (exposure frequency) คือ ความถี่ของการสัมผัส (วัน/ปี)

ED (exposure duration) คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (ปี)

BW (body weight) คือ น้ำหนักของร่างกาย (กก.)

AT_{LADD} (average time) คือ ระยะเวลาเฉลี่ยตลอดช่วงอายุ (วัน)

Carcinogenic Potency Slope (CPS) คือ ค่าศักยภาพของสารเคมีที่ทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์

เกณฑ์ระบุความเสี่ยงสำหรับสารพิษที่ก่อมะเร็ง

Carcinogenic risk = 10^{-4} ถือว่ามีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับไม่ได้

Carcinogenic risk = 10^{-5} ถือว่ามีระดับความเสี่ยงปานกลาง

Carcinogenic risk = 10^{-6} ถือว่ามีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้

4. การประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อม (Ecotoxicological Risk Assessment)

(European Chemicals Bureau, 2003)

คำนวณจากสมการ

$$RQ = \frac{MEC \text{ (measured environment concentration)(ppm)}}{PNEC \text{ (predicted no effect concentration)(ppm)}}$$

โดยค่า PNEC จะใช้ค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ก่อให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ (No observed effect concentration; NOEC)

เกณฑ์ระบุความเสี่ยง

หากค่า $RQ < 1$ ไม่มีความเสี่ยง

$RQ = 1-10$ ความเสี่ยงปานกลาง ต้องเฝ้าระวังหากมีการปนเปื้อนของสารพิษชนิดนั้นเพิ่ม

$RQ = 10-100$ มีความเสี่ยงสูงต้องพิจารณาปัจจัยอื่นร่วมเพื่อตัดสินลดความเสี่ยง

$RQ > 100$ มีความเสี่ยงสูงมากจะต้องลดความเสี่ยงทันที

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างจากแม่น้ำป่าสักและคลองแยก บริเวณพื้นที่การเกษตร ระหว่าง พ.ศ. 2565 – 2567 ลักษณะทางกายภาพพบว่าแม่น้ำป่าสักมีลักษณะลาดชัน คดเคี้ยว ลำน้ำบางตอนกว้างและบางตอนแคบมาก พื้นที่ทำการเกษตรพบอย่างหนาแน่นในช่วงลำน้ำกว้าง หรือคลองแยกที่เป็นคลองชลประทาน ชนิดพืชที่เกษตรกรเพาะปลูกส่วนมากเป็นพืชไร่ ได้แก่ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ยาสูบ อ้อย รองลงมาคือ นาข้าว และน้อยที่สุดคือ พืชผัก (ตระกูลกระหล่ำ ตระกูลมะเขือ ถั่วฝักยาว แตงกวา คื่นช่าย และกวางตุ้ง) และไม้ดอก (ดาวเรือง เบญจมาศ และกล้วยไม้) เนื่องจากเกษตรกรจะปลูกแค่ช่วงเวลาสั้นๆ ตามฤดูกาลเพาะปลูก หรือเว้นแปลงจากการปลูกพืชไร่

ตัวอย่างที่สุ่มเก็บทั้งหมดมีจำนวน 300 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และปลา จำนวน 153, 99, 18 และ 30 ตัวอย่าง ตามลำดับ ทั้งนี้ตัวอย่างพืชน้ำและสัตว์น้ำมีจำนวนตัวอย่างน้อย เนื่องจากจุดที่เก็บตัวอย่าง บางจุดมีความลาดชัน เกษตรกรจะใช้น้ำในการเพาะปลูกเพียงอย่างเดียวและไม่มีการใช้ประโยชน์อย่างอื่น เช่น หาดปลา หรือหาพืชน้ำเพื่อบริโภค อีกทั้งในช่วงฤดูแล้งปริมาณน้ำในแม่น้ำบางช่วงลำน้ำมีน้อย เกษตรกรจึงไม่นิยมหาปลา และบางจุดเก็บตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดวัชพืชต่อเนื่อง จะไม่พบพืชน้ำบริโภคได้ ทำให้มีตัวอย่างพืชน้ำจำนวนน้อย

Table 1 Aquatic plant and aquatic fauna that were collected and analyzed pesticides residues

Aquatic plant	Aquatic fauna
Morning glory (<i>Ipomoea aquatica</i>)	Silver Barb (<i>Barbonymus gonionotus</i>)
	Grey Featherback (<i>Notopterus notopterus</i>)
	Schwanenfeld's Tinfoil Barb (<i>Barbodes schwanenfeldii</i>)
	Smith's Barb (<i>Puntius protosistrum</i>)
	Soldier River Barb (<i>Cyclocheilichthys enoplos</i>)
	Red tail Mystus (<i>Hemibagrus wyckii</i>)

สารพิษตกค้างที่ตรวจพบน้อยที่สุดในตัวอย่างน้ำ ได้แก่ สารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazines ได้แก่ atrazine (0.02-3.41 มก./ล.) รองลงมาคือ ametryn (0.05-0.81 มก./ล.) ซึ่ง atrazine และ ametryn เป็นสารกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรมักใช้ในการควบคุมกำจัดวัชพืชในพืชไร่ (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2555) ซึ่งพบว่าเป็นพืชมีการเพาะปลูกตลอดลำน้ำ (ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อ้อย และยาสูบ) ส่วนสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างตะกอนมากที่สุดคือ กลุ่ม pyrethroids ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลง ได้แก่ cypermethrin (0.53-0.60 มก./กก.) และ permethrin (0.02-0.08 มก./กก.) ส่วนตัวอย่างพืชน้ำตรวจพบสารพิษตกค้างเพียงชนิดเดียวคือสารกำจัดวัชพืชชนิด acetochlor (0.20-0.42 มก./กก.) สารพิษตกค้างที่พบในตัวอย่างสัตว์น้ำ เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่ม Organochlorines ได้แก่ p,p'-DDT (0.20 มก./กก.) และ endosulfan sulfate (0.01-0.02 มก./กก.) กลุ่ม Organophosphorus ได้แก่ pirimiphos methyl (0.018 มก./กก.) และ profenofos (0.018 มก./กก.) กลุ่ม Pyrethroids ได้แก่ cypermethrin (0.53 มก./กก.)

แม้จะมีการตรวจพบสารพิษตกค้าง กลุ่ม Organochlorines ซึ่งถือว่าเป็นสารพิษที่มีอันตรายและตกค้างยาวนาน แต่ปริมาณที่ตรวจพบไม่เกินค่ามาตรฐานตามเกณฑ์มาตรฐานดัชนีคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ประเภทที่ 1 และ 2 ที่กำหนดว่าสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ชนิดที่มีคลอรีนทั้งหมด (Total Organochlorine Pesticides) มีค่าไม่เกิน 0.05 มก./ล. (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2538) ส่วนสารกำจัดแมลงชนิด p,p'- DDT ที่ถูกตรวจพบในเนื้อปลา ทั้งที่สารพิษ p,p'- DDT เป็นวัตถุอันตรายที่ถูกประกาศห้ามใช้ทางการเกษตรแล้วตั้งแต่ปี 2538 (สำนักควบคุม

พืชและวัสดุการเกษตร, 2565) การตรวจพบสารพิษดังกล่าวอาจเป็นเพราะคุณสมบัติของสาร p,p'- DDT ที่เป็นสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Persistent Organic Pollutants, POPs) จึงทำให้ยังตรวจพบเจอในสิ่งแวดล้อม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของมลิสา เวชยานนท์และคณะ (2553) ที่ตรวจพบสารพิษ p,p'- DDT ในตัวอย่างจากแม่น้ำป่าสัก

สารพิษชนิด permethrin ที่ตรวจพบในปริมาณสูง (1.90 มก./ล.) ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานที่กำหนดโดยองค์การอนามัยโลก ให้มีค่าไม่เกิน 0.02 มก./ล. (World Health Organization, 2004) และองค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมอเมริกากำหนดให้มีค่าไม่เกิน 0.03 มก./ล.ตามลำดับ (National Pesticides Information Center, 2024) แต่เมื่อทำการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์พบว่ามีความเสี่ยงที่ยังยอมรับได้ แต่ก็ยังคงมีความเสี่ยงสูงต่อสิ่งแวดล้อม ($RQ = 10-100$) ซึ่งจะต้องพิจารณาปัจจัยอื่นเพื่อตัดสินใจลดความเสี่ยง เช่น ความถี่ของการตรวจพบและปริมาณที่ปนเปื้อน เป็นต้น ทั้งนี้สารพิษชนิด permethrin ตามคำแนะนำการใช้ของกรมวิชาการเกษตร เป็นสารกำจัดแมลงที่เกษตรกรมักใช้ในการผลิตพืชหลากหลาย อาทิ พืชผัก พืชดอก และไม้ผล เพื่อกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2566) ซึ่งจากข้อมูลการทำการเกษตรบริเวณจุดเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบสารพิษตกค้างชนิดนี้เป็นคลองแยกที่มีแปลงใหญ่คะน้าดอก แปลงพริกจินดา และแปลงผักสวนครัว (ถั่วฝักยาว แตงกวา ผักใบ เช่น คะน้า กวางตุ้ง) จึงเป็นไปได้ที่จะตรวจพบสารพิษในปริมาณที่สูง ซึ่งอาจเกิดมาจากเกษตรกรทำการฉีดพ่นสารในเวลาใกล้เคียงกับเวลาเก็บตัวอย่างหรือใช้สารพิษในปริมาณมาก

เมื่อนำปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจวิเคราะห์ได้มาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ โดยคำนวณหาค่า HQ พบว่าสารพิษตกค้างที่ตรวจพบไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพ (ค่า $HQ \leq 1$ ถือว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้) โดยกลุ่มเด็กจะมีค่า HQ สูงกว่ากลุ่มผู้ใหญ่ และไม่พบสารพิษตกค้างที่เสี่ยงต่อการก่อมะเร็ง (Carcinogenic risk) ผลการประเมินความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อม โดยคำนวณหาค่า RQ พบว่ามีเพียงสารพิษตกค้างในน้ำชนิด permethrin มีค่า RQ เท่ากับ 11.192 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มีความเสี่ยงสูง ($RQ = 10-100$) ต้องนำปัจจัยอื่นมาพิจารณาร่วมในการตัดสินใจเพื่อลดความเสี่ยง และควรจะต้องมีการตรวจติดตามปนเปื้อนสารพิษตกค้างชนิดนี้อย่างต่อเนื่อง เพื่อประเมินความเสี่ยงและเฝ้าระวังผลกระทบต่อไป ส่วนสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazines ได้แก่ atrazines และ ametryn แม้จะมีปริมาณและความถี่ในการตรวจพบบ้อยที่สุด จากจุดเก็บตัวอย่างที่มีการเพาะปลูกข้าวโพด (พื้นที่จังหวัดเลยและเพชรบูรณ์) และอ้อย (พื้นที่ จ.สระบุรี และ จ.ลพบุรี) แต่เมื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ (HQ) และ ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (RQ) พบว่า มีความเสี่ยงต่อสุขภาพในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($HQ \leq 1$) และไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม ($RQ < 1$) ทั้งนี้อาจมาจากปัจจัยคุณสมบัติของสารที่มีความเป็นพิษต่ำ

Table 2 Amount of pesticides residues in the samples from Pasak River and its tributary between 2022-2024

Sample (no. of detected sample / no.of total sample)	Pesticides type	Pesticides group	Pesticides name (no. of detected sample)	Detected concentration*
Water (31/153)	Insecticides	Organochlorines	endosulfan sulfate (2)	0.02
			alpha endosulfan (1)	0.10
		Organophosphorus	methidation (1)	0.29
		Pyrethroids	permethrin (1)	1.90
	Herbicides	Carbarmates	carbaryl (2)	0.09-0.11
		Triazines	atrazine (12)	0.02-3.41
			ametryn (10)	0.05-0.81
		Chloroacetmides	acetochlor (1)	0.20
	Fungicides	Triazoles	tetraconazole (1)	0.33
Sediment (9/99)	Insecticides	Organochlorines	endosulfan sulfate (1)	0.01
		Organophosphorus	parathion methyl (1)	0.01
		Pyrethroids	cypermethrin (4)	0.53-0.60
			permethrin (3)	0.02-0.08
Aquatic plant (2/18)	Herbicides	Chloroacetmides	acetochlor (2)	0.20-0.42
Aquatic fauna (6/30)		Organochlorines	p,p'-DDT (1)	0.20
			endosulfan sulfate (2)	0.01-0.02
		Organophosphorus	pirimiphos methyl (1)	0.012
			profenofos (1)	0.018
		Pyrethroids	cypermethrin (1)	0.53

*unit of concentration : water (µg /L) and sediment (mg /kg)

Table 3 Risk Assessment of pesticides residues represent in Hazard quotient (HQ) value for child 6 years old and adult 70 years old and Risk quotient (RQ) value

Samples	Pesticides	Hazard quotient; HQ*		Risk Quotient ; RQ**
		Child	Adult	
Water	endosulfan sulfate	7.33E-05	5.64E-05	0.001
	alpha endosulfan	3.66E-04	2.82E-04	0.003
	methidation	6.38E-04	4.90E-04	0.290
	permethrin	1.06E-03	5.36E-03	11.192
	carbaryl	2.69E-04	1.86E-03	0.004
	atrazine	2.14 E-03	1.65E-03	0.136
	ametryn	1.98E-03	1.52E-03	1.2E-04
	acetochlor	7.33E-04	2.11E-04	0.009
	tetraconazole	2.42E-02	1.86E-02	0.001
Sediment	endosulfan sulfate	1.57E-05	2.82E-05	0.010
	parathion methyl	1.23E-04	6.15E-06	0.003
	cypermethrin	3.54E-05	1.08E-05	0.047
	permethrin	1.51E-08	1.34E-06	0.276
Aquatic plant (Moring glory)	acetochlor	5.53E-04	1.08E-04	-
Aquatic fauna (Fish)	p,p'-DDT	1.91E-04	3.15E-04	-
	endosulfan sulfate	6.30E-04	1.91E-05	-
	pirimiphos methyl	1.12E-05	6.80E-06	-
	profenofos	3.42E-05	2.08E-05	-
	cypermethrin	5.01E-04	3.04E-04	-

*Hazard quotient (HQ) ; HQ ≤ 1 = acceptable risk, HQ > 1 = Risk

** Risk Quotient (RQ) ; RQ = 1-10 means of concern if supply volumes increase, RQ = 10-100 means further data require, RQ > 100 means reduce risk immediate

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเพื่อเฝ้าระวังการตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำป่าสัก และผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ระหว่างปี 2565-2567 ผลการศึกษาพบว่าสารพิษตกค้างส่วนใหญ่ที่ตรวจพบเป็นสารกำจัดวัชพืช รองลงมาคือสารกำจัดแมลง โดยมีปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบทั้งหมดในตัวอย่งน้ำมีค่าไม่เกินมาตรฐานเกณฑ์มาตรฐานดัชนีคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน (แหล่งน้ำประเภทที่ 1 และ 2) สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งน้ำเพื่อการเกษตร การอุปโภค และนำไปผลิตน้ำเพื่อการบริโภคได้ ผลการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม พบว่าสารพิษตกค้างที่ตรวจพบมีความเสี่ยงต่อสุขภาพอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และไม่พบสารพิษตกค้างที่ก่อความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมพบว่าสารพิษตกค้างบางชนิดอยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยงซึ่งจะต้องนำข้อมูลอื่นๆ มาประกอบการพิจารณาเพื่อตัดสินใจลดความเสี่ยง หรือทำการเฝ้าระวังการปนเปื้อน อย่างไรก็ตามแม้ว่าผลกระทบต่อสุขภาพและผลกระทบสิ่งแวดล้อมโดยส่วนใหญ่ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ แต่ควรมีการตรวจติดตามการตกค้างของสารพิษอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นการเฝ้าระวังการปนเปื้อนและผลกระทบจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำป่าสัก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัย ขอขอบคุณผู้บริหาร นักวิจัยร่วม และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตรทุกท่าน ที่มีส่วนในการช่วยเหลือให้ปฏิบัติงานวิจัยชิ้นนี้ได้สำเร็จลุล่วง ด้วยดี

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลรายงานสถานการณ์การปนเปื้อนสารพิษตกค้างทางการเกษตร ในการกิจตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 และอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน และสนับสนุนภารกิจของกรมวิชาการเกษตรในการพิจารณาเพื่อการบริหารจัดการการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2564. คู่มือการใช้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืช ดิน น้ำ คุณภาพผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษการเกษตร และสารสกัดธรรมชาติ. แหล่งข้อมูล: <https://www.doa.go.th/aprsdo/wp-content/uploads/2021/05/คู่มือการใช้บริการวิเคราะห์วัตถุมีพิษ-64.pdf>. สืบค้น: 14 ธันวาคม 2567.
- คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2538. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2537) เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน. แหล่งข้อมูล: https://www.pcd.go.th/wp-content/uploads/2020/05/pcdnew-2020-05-19_03-08-23_817765.pdf. สืบค้น: 14 ธันวาคม 2567.
- มลิสา เวชยานนท์ สิริพร เหลืองสุขนกุล และปัทมรา คุณเลิศ. 2555. ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2555 เล่ม 1. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ, หน้า 128-140
- มลิสา เวชยานนท์ สิริพร เหลืองสุขนกุล และประกิจ จันทรดี. 2554. ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2554 เล่ม 2. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ, หน้า 51-63
- มลิสา เวชยานนท์ สิริพร เหลืองสุขนกุล และประกิจ จันทรดี. 2553. ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2553 เล่ม 1. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ, หน้า 34-46

มลิสา เวชยานนท์ และสิริพร เหลืองสุขนกุล 2552. ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2552 เล่ม 1. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ, หน้า 263-272

สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร (องค์การมหาชน).2555. ลุ่มน้ำป่าสัก. แหล่งข้อมูล: <https://tiwrm.hii.or.th/web/attachments/25basins/12-pasak.pdf>. สืบค้น: 14 ธันวาคม 2567

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร.256.วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ได้ประกาศห้ามใช้แล้ว. แหล่งข้อมูล: <https://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2022/11/วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ได้ประกาศเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่-4-1.pdf>. สืบค้น: 14 ธันวาคม 2567

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2565. แหล่งข้อมูล: <https://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/journal/2566/yearbook2565.pdf>. สืบค้น: 14 ธันวาคม 2567

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2566. คำแนะนำการใช้สารฆ่าแมลงสัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัยปี 2566. แหล่งข้อมูล: <https://www.doa.go.th/plprotect/wp-content/uploads/2023/12/คำแนะนำการใช้สารฆ่าแมลงสัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย.pdf>. สืบค้น: 14 ธันวาคม 2567

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2555. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2544. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 165 หน้า.

Anastassiades, M., S. J. Lehotay, D. Staibaher, and F. J. Schenck. 2003. Fast and Easy Multiresidues employing Acetonitrile Extraction/ Partitioning and Dispersive Solid- Phase Extraction for Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International* 86 (2): 412-431.

Association of Official Analysis Chemists. 2016a. Organochlorine Pesticides in Water, Gas Chromatographic Method. AOAC Method 990.06. AOAC International, Washington DC.

Association of Official Analysis Chemists. 2016b. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. AOAC Method 970.52. AOAC International, Washington DC. Canadian Council of Ministers of the Environment. 2012.

European Chemicals Bureau. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/ 67/ EEC on Risk Assessment for notified substances. Available Available at : <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/ef333513-33a4-4c1e-a9b6c17fa054b586/ language-en>. Accessed: March 24, 2024

Feei, S., L. Feng-Yi., W. Sue-Sun, and L. Gwo-Chen. 2000. Determination of Organochlorine and Nitrogen-Containing Pesticide Residues in Fish with Different Fat Content. *Journal of Food and Drug Analysis* 8 (2): 103-111.

National Pesitcides Information Center.2024. Permethrin Technical Fact Sheet. Available at: <https://npic.orst.edu/factsheets/archive/Permtech.html>. Accessed: December 14, 2024

United State Environmental Protection Agency. 2011. Exposure Factors Handbook 2011 Edition (Final Report). U.S. EPA. Office of Research and Development, Washington DC.

World Health Organization, 2004. Permethrin in Drinking-water. Available at: <https://www.who.int/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/2004-permethrin-background.pdf>. Accessed: December 14, 2024

ภาคผนวก 1 ข้อมูลจุดเก็บตัวอย่าง

Table 4 Data about the sampling sites where were collected sample from Pasak River and its tributary and plantation around the sampling site

Sampling site	source	province	Geographic Coordinate System		Plantation type	
			x	y	Dry season	Rainny season
1	river	Loei	17.210896	101.327615	corn	corn
2	river	Petchabun	17.053349	101.372794	corn, rice	corn, rice
3	river	Petchabun	17.054175	101.372906	corn	corn
4	river	Petchabun	16.890738	101.331399	vegetable	corn
5	tributary	Petchabun	16.812759	101.264159	vegetable, rice, tobacco, flowering	vegetable, rice, tobacco
6	tributary	Petchabun	16.772337	101.254018	corn	corn
7	river	Petchabun	16.731648	101.243379	corn	corn
8	tributary	Petchabun	16.743241	101.233479	chilli, cauliflower	eggplant, cabbage
8.1	tributary	Petchabun	16.748400	101.233780	corn	corn
9	tributary	Petchabun	16.755857	101.233849	orchard	orchard
10	river	Petchabun	16.185624	101.134554	corn, tobacco	corn, tobacco
11	river	Petchabun	16.135463	101.104970	corn, rice	corn, rice
12	river	Petchabun	15.655988	101.100691	rice	rice
13	river	Petchabun	15.645467	101.074431	corn	corn
14	tributary	Petchabun	15.596887	101.074211	rice	corn, rice
15	tributary	Petchabun	15.327315	101.213090	rice	corn, rice
16	river	Petchabun	15.216758	101.146444	sugarcane	sugarcane
17	river	Lopburi	15.067831	101.090212	sugarcane	sugarcane
18	river	Lopburi	14.687052	101.041619	corn, sugarcane	corn, sugarcane
19	river	Saraburi	14.581803	100.965769	sugarcane,banana	sugarcane, casava
20	river	Saraburi	14.592207	100.756769	sugarcane	sugarcane
21	tributary	Saraburi	14.623047	100.733345	rice	rice
22	tributary	Saraburi	14.434798	100.569459	rice	rice
23	tributary	Phra Nakhon Sri Ayutthaya	14.433418	100.589293	rice	rice
24	tributary	Phra Nakhon Sri Ayutthaya	14.374889	100.580808	rice	rice
25	river	Phra Nakhon Sri Ayutthaya	14.344681	100.577548	-	-
26	river	Phra Nakhon Sri Ayutthaya	16.362893	101.155397	-	-

ภาคผนวก 2 ภาพจุดเก็บตัวอย่าง การเก็บตัวอย่าง และการสกัดและตรวจวิเคราะห์

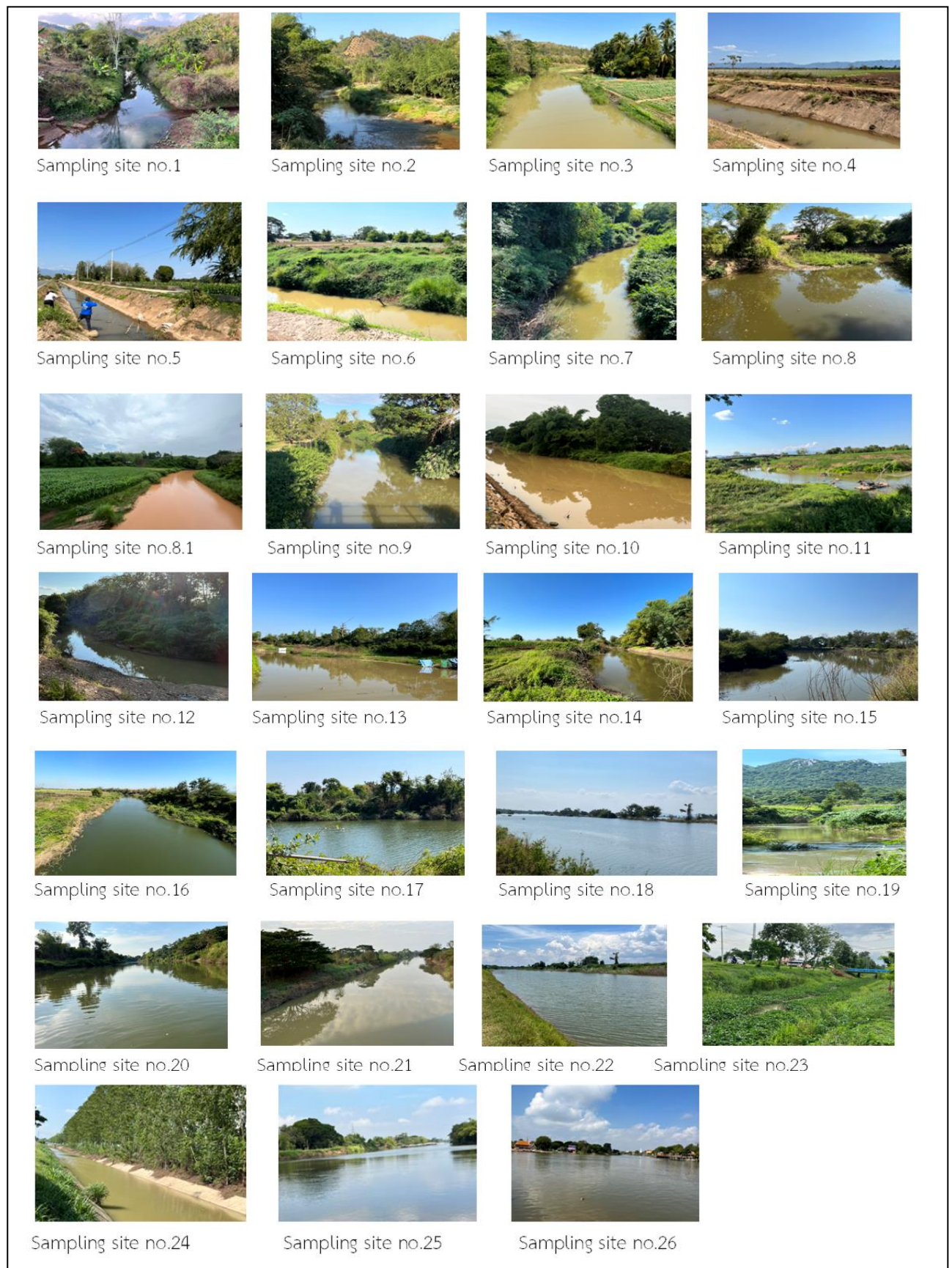


Figure 1 Sampling sites on Pasak River and its tributaries.



Figure 2 Water and sediment sampling : (A) by water sampler (B) by grab sampler and (C) by water ladle



Figure 3 Steps of pesticide residues extraction and analysis : (A) water extraction by Liquid – liquid extraction (B) sediment extraction by solid – liquid extraction (C) concentrated by rotary evaporator (D) rinse the concentrated sample with solvent (PR grade) (E) concentrated by Nitrogen evaporator and (D) analyzed the pesticide residues by Gas Chromatograph (GC)

การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำปิง

Pesticide analysis in agricultural areas of the Ping River Basin

จันทิมา ผลทอง มลิสสา เวชยานนท์ อำนาจ กะฐินเทศ
Jantima Phonkong Malisa Wetchayanon Amnaj Katintet

กลุ่มวิจัยวัตุภูมิพิชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The contamination and spread of pesticide residues into the environment in major water sources used for consumption result from farmers' extensive and continuous use of pesticides to produce high-quality crops in sufficient quantities to meet consumer demand, including for agricultural exports, and to reduce production costs. This has significant impacts on both human health and the environment. This study monitored pesticide contamination in the Ping River and the Separating Canal by analyzing pesticide residues to assess the associated risks to human health and the environment. A total of 318 samples were randomly collected during both the dry and rainy seasons between 2022 and 2024. These samples were analyzed using gas chromatography and liquid chromatography techniques. The most frequently detected pesticide residue in water samples was atrazine, with the highest concentration found to be 1.32 micrograms per liter, which is below the allowable limits for drinking water. In sediment samples, the most frequently detected pesticide was glyphosate, with the highest concentration detected at 0.96 milligrams per kilogram. No pesticide residues were found in plant and fish samples. The risk assessment revealed a Hazard Quotient (HQ) of less than 1, indicating an acceptable level of risk. The Cancer Risk value was found to be between 1×10^{-4} and 1×10^{-6} , suggesting an acceptable level of cancer risk. The Risk Quotient (RQ) for most pesticide residues was less than 1, indicating no significant environmental risk. However, some pesticides such as cypermethrin, ethion, malathion, pirimiphos-methyl, and profenofos exhibited Risk Quotient (RQ) values ranging from 10 to 100, indicating a moderate risk level and the need for continuous monitoring.

Keywords: Pesticides; Water; Sediment; Analysis; Environmental contamination

บทคัดย่อ

การปนเปื้อนและแพร่กระจายของสารพิษตกค้างสู่สิ่งแวดล้อมในบริเวณแหล่งน้ำสำคัญที่ใช้ในการอุปโภคบริโภค เกิดจากเกษตรกรใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชปริมาณมากและใช้อย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ผลผลิตพืชที่มีคุณภาพและปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค รวมถึงการส่งออกสินค้าเกษตรและลดต้นทุนการผลิตส่งผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้ได้ตรวจติดตามการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างบริเวณแม่น้ำปิงและคลองแยก โดยการตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และปลาในช่วงฤดูแล้งและฝน ระหว่างปี พ.ศ. 2565 - 2567 รวมทั้งหมด 318 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและลิควิดโครมาโทกราฟี สารพิษตกค้างที่ตรวจพบบ่อยที่สุดในตัวอย่างน้ำ คือ atrazine ปริมาณสูงสุดที่ตรวจพบเท่ากับ 1.32 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาณการปนเปื้อนไม่เกินค่ามาตรฐานที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่ม ในตัวอย่างตะกอนส่วนใหญ่พบสารพิษตกค้างชนิด glyphosate ปริมาณสูงสุดที่ตรวจพบเท่ากับ 0.96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างพืชและปลา ผลของการประเมินความเสี่ยง ได้ค่า Hazard Quotient (HQ) น้อยกว่า 1 ถือว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ ค่า Cancer risk ที่ได้มีค่าน้อยกว่า 1×10^{-4} – 1×10^{-6} แสดงว่าความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และค่า Risk Quotient (RQ) ที่ได้สำหรับสารพิษตกค้างส่วนใหญ่มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม แต่มีบางสารพิษ ได้แก่ cypermethrin, ethion, malathion, pirimiphos-methyl และ profenofos มีค่า RQ อยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยง (RQ เท่ากับ 10 - 100) ต้องมีการเฝ้าระวังมากขึ้นและทำอย่างต่อเนื่อง

คำสำคัญ: สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช; น้ำ; ตะกอน; การตรวจวิเคราะห์; การปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

บทนำ

แม่น้ำปิง เป็นแม่น้ำสายสำคัญของภาคเหนือ ที่ใช้สำหรับอุปโภคบริโภค และในการทำการเกษตรมาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งลุ่มน้ำปิงเป็นลุ่มน้ำสาขาใน 8 ลุ่มน้ำสาขาหลักของลุ่มน้ำเจ้าพระยา จากข้อมูลสถิติผลผลิตสินค้าทางการเกษตรรวมในปี พ.ศ. 2561 - 2564 พบว่าข้อมูลผลผลิต 10 อันดับแรก ปริมาณผลผลิตสินค้าทางการเกษตรสูงสุด คือ มันสำปะหลังโรงงาน รองลงมาคือ ข้าวนาปี ข้าวนาปรัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ รัน 1 ลำไย มะพร้าว ส้มเขียวหวาน ยางพารา ปาล์มน้ำมัน และลิ้นจี่ ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) แสดงให้เห็นว่าเกษตรกรในพื้นที่มีการทำการเกษตรแบบหลากหลาย ซึ่งส่วนใหญ่เพาะปลูกพืชไร่และพืชสวน ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลผลิตพืชที่มีคุณภาพและปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค รวมถึงการส่งออกสินค้าเกษตร เกษตรกรจึงจำเป็นต้องใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชปริมาณมากในการควบคุมศัตรูพืช จากข้อมูลสถิติการนำเข้าวัตถุดิบทางการเกษตรของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2562 - 2564 พบว่ามีการนำเข้าปริมาณสารสำคัญมากกว่า 183,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ามากกว่า 75,000 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2564) ในสถานการณ์ปัจจุบันอาจมีเกษตรกรบางรายที่ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเกินปริมาณอัตราที่แนะนำและใช้เป็นเวลานาน ทำให้มีโอกาสสูงที่จะก่อให้เกิดการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมและส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศรวมทั้งส่งผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ กลายเป็นปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นมานานในประเทศไทยให้ความสำคัญต่อปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในแหล่งน้ำ เห็นได้จากงานวิจัยที่ผ่านมา อย่างเช่น ในปี พ.ศ. 2557 มีการตรวจวิเคราะห์น้ำอุปโภคบริโภคในจังหวัดน่าน โดยห้องปฏิบัติการของคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ร่วมกับสาธารณสุขจังหวัด ได้สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดิน น้ำดิบที่จะนำมาผลิตเป็นน้ำประปา ไปจนถึงน้ำดื่มบรรจุขวดที่ผลิตในพื้นที่ ตรวจหาการปนเปื้อนของสารกำจัดวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่

paraquat, glyphosate และ atrazine รวมทั้งสารกำจัดแมลงชนิด chlorpyrifos ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำเกือบทุกตัวอย่าง (หมอขาวบ้าน, 2559) ปี พ.ศ. 2563 - 2564 มีงานวิจัยเกี่ยวกับการประเมินผลกระทบของสารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน สุ่มเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูแล้งและฝน รวมทั้งหมด 144 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างชนิด atrazine และ ametryn ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ปริมาณการปนเปื้อนของ atrazine และ ametryn ที่ตรวจพบไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดให้มีได้ในน้ำดื่ม จากผลของการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมที่ได้ พบว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (จันทิมา และคณะ, 2565) ในปี พ.ศ. 2564 มีการศึกษาการปนเปื้อนของ atrazine และ metabolites ในพื้นที่เก็บกักน้ำแม่สาและแม่น้ำสาขาอื่นของกลุ่มน้ำปิงทางภาคเหนือ ตรวจพบ atrazine ในปริมาณที่สูงในช่วงฤดูฝน เกิดจากการไหลบ่าของน้ำปริมาณที่ตรวจพบนี้ต่ำกว่าเกณฑ์ที่จะเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม แต่อาจมีความเสี่ยงมากขึ้นในแม่น้ำสาขาอื่นของกลุ่มน้ำปิง เนื่องจากพบปริมาณมากกว่า 2 ไมโครกรัมต่อลิตร (Theodora et al., 2024)

จากข้อมูลงานวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่ามีการสะสมและแพร่กระจายของสารพิษตกค้างจากแหล่งเกษตรกรรมสู่สิ่งแวดล้อมอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศ ทำลายห่วงโซ่อาหาร และส่งผลกระทบต่อมนุษย์ผู้บริโภค โดยกรมวิชาการเกษตรเป็นหนึ่งในหน่วยงานในคณะอนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Stockholm convention on Persistent Organic Pollutants, POPs) มีส่วนสำคัญในการควบคุมสาร POPs ซึ่งกำหนดให้เป็นวัตถุอันตรายภายใต้ พ.ร.บ. วัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมกลุ่มน้ำปิง ซึ่งแม่น้ำปิงเป็นกลุ่มน้ำสาขาหลักของกลุ่มน้ำเจ้าพระยา จากงานวิจัยเกี่ยวกับการเฝ้าระวังสารพิษตกค้างในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมกลุ่มน้ำเจ้าพระยาที่ผ่านมา มีการตรวจพบสารพิษตกค้าง โดยสารพิษชนิดที่พบบ่อยที่สุดคือ atrazine ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในรายการที่ต้องเฝ้าระวังของกรมวิชาการเกษตร คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษางานวิจัยนี้เพื่อตรวจติดตามการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมกลุ่มน้ำปิงและคลองแยก โดยการตรวจวิเคราะห์หาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และวัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น separatory funnel, beaker, cylinder, Erlenmeyer flask, Petri dish, round bottom flask, pipette, volumetric flask, centrifuge tube, solid-phase extraction (SPE) cartridge tube เป็นต้น

2. สารเคมี analytical grade, pesticide grade และ HPLC grade เช่น hexane, methanol, ethyl acetate, ammonium formate, formic acid, methanol, acetonitrile, water เป็นต้น

3. สารพิษมาตรฐาน pesticide grade ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 95% ได้แก่ กลุ่ม Organochlorine 16 ชนิด ประกอบด้วย aldrin, alpha-BHC, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, dieldrin, endosulfan sulfate, endrin, gamma-BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, *o,p'*-DDE, *o,p'*-DDT, *o,p'*-TDE, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT และ *p,p'*-TDE กลุ่ม Organophosphorus 22 ชนิด ประกอบด้วย azinphos-ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, monocrotophos, parathion-methyl, pirimiphos-methyl, profenophos, triazophos, methamidophos, omethoate, phosalone กลุ่ม Pyrethroid 7 ชนิด ประกอบด้วย bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, lambda-cyhalothrin, deltamethrin, fenvalerate, permethrin กลุ่ม Carbamate 6 ชนิด ประกอบด้วย carbaryl, carbofuran, isoprocarb, promecarb

metocarb กลุ่ม Triazine 3 ชนิด ประกอบด้วย ametryn, metribuzine atrazine กลุ่ม Chlorophenoxy ชนิด 2,4-D กลุ่ม Bipiridirimium ชนิด paraquat กลุ่ม Phenylamide: akylalanine ชนิด metalaxyl กลุ่ม Phosphonoglycine ชนิด glyphosate กลุ่ม Triazole 4 ชนิด ประกอบด้วย difenoconazole, tetraconazole, hexaconazole และ propiconazole กลุ่ม Chloroacetamide 3 ชนิด ประกอบด้วย alachlor, acetochlor s-metolachlor สารกำจัดวัชพืช ชนิด oxyfluorfen, oxadiazon, pendimethalin

4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องชั่ง, เครื่องสกัดชนิด separatory funnel shaker, เครื่อง shaker, เครื่อง rotary evaporator, เครื่อง centrifuge และ เครื่อง gas chromatograph เป็นต้น

5. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง เช่น อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ grab sampling แบบ vertical type water sampler อุปกรณ์เก็บตัวอย่างตะกอน แบบ Ekman grap และเครื่องทำด้วย stainless steel เป็นต้น

วิธีการ

1. สำรวจพื้นที่เกษตรกรรมบริเวณลุ่มน้ำปิง ตั้งแต่ต้นแม่น้ำจนถึงปลายทางของแม่น้ำ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง ตาก กำแพงเพชร และนครสวรรค์ รวมทั้งคลองแยกเชื่อมต่อกับแม่น้ำปิง ได้แก่ คลองวังเจ้า คลองแม่ระกา คลองสวนหมาก คลองวังยาง คลองดง และคลองขวัญ กำหนดจุดเก็บตัวอย่างโดยใช้ระบบกำหนดตำแหน่งพื้นโลกด้วยดาวเทียม (global positioning system, GPS) ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง 2 ช่วงฤดู (ฝนและแล้ง) สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำสำหรับการบริโภค ได้แก่ ผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) และผักกระเฉด (*Neptunia oleracea*) ปลาเลือกเป็นตัวแทนสัตว์น้ำสำหรับการบริโภค เช่น ปลาตะเพียน (*Barbodes gonionotus*) ปลาสวาย (*Henicorhynchus siamensis*) ปลาหมอ (*Anabas testudineus*) เป็นต้น

2. สุ่มเก็บและเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างน้ำ เก็บตัวอย่างแบบวิธีรวม (integrated sampling) สุ่มเก็บแบบจ้วง (grab sampling) ที่ระดับใต้ผิวน้ำ (sub surface) ประมาณ 6 นิ้วลงไป ประมาณ 5 - 10 จุด รวมเป็นตัวอย่างเดียว (กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิชการเกษตร, 2564) เก็บให้เต็มขวดพลาสติก ชนิด polypropylene ปริมาตรตัวอย่างละ 4 ลิตร ตัวอย่างตะกอน เก็บตัวอย่างเหนือผิวน้ำตะกอนที่ระดับ 4 - 6 เซนติเมตร ให้น้ำหนักประมาณ 500 กรัม ใส่ในขวดแก้วปิดสนิท (กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิชการเกษตร, 2564) ก่อนสกัดนำไปผึ่งในสภาพทำด้วย stainless steel ที่อุณหภูมิห้อง ทบให้ละเอียด ผ่านตะแกรงร่อนดิน (sieve) คลุกเคล้าให้เข้ากัน นำไปสกัดและหาความชื้น (Black, 1965) ในเวลาเดียวกัน ตัวอย่างพืช สุ่มเก็บให้น้ำหนักประมาณ 1 กิโลกรัม (FAO/WHO, 1999) บดตัวอย่างให้ละเอียดก่อนนำไปสกัด ปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น (mixer) ตัวอย่างสัตว์น้ำ สุ่มเก็บให้น้ำหนักตัวอย่างชนิดละประมาณ 500 กรัม (FAO/WHO, 1999) เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติก เลือกเฉพาะส่วนเนื้อนำไปบดให้ละเอียดก่อนนำไปสกัด ตัวอย่างทั้งหมดที่สุ่มเก็บได้นั้น ระหว่างนำส่งห้องปฏิบัติการจะรักษาสภาพตัวอย่างโดยแช่ในถังน้ำแข็ง เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษในตัวอย่าง

3. การเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน เตรียม stock standard solution ให้มีความเข้มข้นประมาณ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารพิษแต่ละชนิดด้วยเครื่องชั่งความละเอียดทศนิยม 5 ตำแหน่ง ละลายด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารพิษแต่ละชนิด เตรียม intermediate standard solution ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงประมาณ 20 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียม working standard solution ที่ 5 ระดับความเข้มข้น

4. การสกัดตัวอย่าง

4.1 ตัวอย่างน้ำ: กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon สกัดด้วยเทคนิค Liquid-Liquid Extraction (LLE) นำไปตรวจวัดด้วย GC-ECD (AOAC, 2016a) กลุ่ม Organophosphorus, กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide: akylalanine สกัดด้วยเทคนิค LLE หาสารพิษกลุ่ม Organophosphorus ตรวจวัดด้วย GC-FPD และกลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide: akylalanine ตรวจวัดด้วย GC-NPD (EPA, 1994) กลุ่ม Chlorophenoxy ชนิด 2,4-D ตรวจตัวอย่างน้ำ สกัดด้วยเทคนิค Solid Phase Extraction (SPE) นำไปตรวจวัดด้วย UHPLC-DAD (Thorstensen et al., 2000; Hammami et al., 2017) กลุ่ม Bipyridirium ชนิด paraquat สกัดด้วยเทคนิค SPE ตรวจวัดด้วย UHPLC-DAD (Robinson, 2006) กลุ่ม Phosphonoglycine ชนิด glyphosate ลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator จนเกือบแห้ง นำสารสกัดไปทำให้เกิดสารอนุพันธ์ (derivatization) และตรวจวัดด้วย UHPLC-FLD (Miles et al., 1986)

4.2 ตัวอย่างตะกอน

กลุ่ม Organophosphorus, กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine, กลุ่ม Phenylamide: akylalanine, กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon สกัดด้วยเทคนิค Solid-Liquid Extraction (SLE) นำไปตรวจวัดด้วย GC-FPD, GC-ECD และ GC-NPD (AOAC, 2016b)

กลุ่ม Chlorophenoxy compound ชนิด 2,4-D แยกสารโดยใช้เทคนิค sonication นำไปตรวจวัดด้วย UHPLC-DAD (Amarante et al., 2003; Sutherland et al., 2003)

กลุ่ม Bipyridirium ชนิด paraquat สกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction และ SPE นำไปตรวจวัดด้วย UHPLC-DAD (Robinson, 2006)

กลุ่ม Phosphonoglycine ชนิด glyphosate แยกสารโดยใช้เทคนิค sonication ปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge นำสารสกัดไปทำ derivatization และตรวจวัดด้วย UHPLC-FLD (Sun et al., 2017)

4.3 ตัวอย่างพืช สกัดด้วยวิธี QuEChERS หาสารพิษกลุ่ม Organophosphorus นำไปตรวจวัดด้วย GC-FPD กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide: akylalanine ด้วย GC-NPD และกลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon ด้วย GC-ECD (Anastassiades et al., 2003)

4.4 ตัวอย่างปลา สกัดด้วยวิธี SPE นำไปตรวจวัดหาสารพิษกลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon ด้วย GC-ECD กลุ่ม Organophosphorus ด้วย GC-FPD และกลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide: akylalanine เครื่อง GC-NPD (Feei et al., 2000)

5. การประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างต่อสุขภาพ (human health risk assessment)

5.1 ประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างต่อสุขภาพจากการบริโภคตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็ง สำหรับเด็กอายุ 6 ปี และผู้ใหญ่อายุ 70 ปี ตาม exposure assessment จะใช้ค่า hazard quotient (HQ) (U.S. EPA, 2011; 2017) โดยการแปรผลหาค่า $HQ \leq 1$ คือ มีความเสี่ยงต่อสุขภาพอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ $HQ > 1$ คือ มีความเสี่ยงต่อสุขภาพ

5.2 สำหรับสารพิษตกค้างที่เป็นสารก่อมะเร็ง จะประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนของสารก่อมะเร็งด้วย ตาม exposure assessment ใช้ค่า cancer risk (U.S. EPA, 2011) การแปรผลหาค่าได้ค่าความเสี่ยงมีค่าอยู่ระหว่าง $1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-6}$ แสดงว่ามีความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งตลอดช่วงชีวิต 1 คน

จากประชากรทั้งหมด 10,000 – 1,000,000 คน ซึ่งเป็นความเสี่ยงอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ หากได้ค่าความเสี่ยงที่สูงกว่า 1×10^{-4} มีโอกาสเกิดมะเร็งในประชากรที่สูงกว่าระดับที่ยอมรับได้ ต้องดำเนินการบริหารจัดการความเสี่ยง

6. การประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อม (ecotoxicological risk assessment) ประเมินความเสี่ยงต่อสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อม (ECB, 2003; ECHA, 2008) โดยใช้ค่า risk quotient (RQ) การแปลผลหาค่า $RQ < 1$ คือ ไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม, $RQ = 1 - 10$ คือ มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมเล็กน้อย แต่หากมีการเพิ่มปริมาณสารพิษที่ใช้ต้องคำนึงถึงความเสี่ยงมากขึ้น, $RQ = 10 - 100$ คือ มีความเสี่ยงต้องทำการลดความเสี่ยง และ $RQ > 100$ คือ มีความเสี่ยงมากและจำเป็นต้องลดความเสี่ยงนั้นทันที

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการสุ่มเก็บตัวอย่างและการตรวจสอบสารพิษตกค้าง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืช (ผักบุ้งและผักกระเฉด) และปลา ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน ระหว่างปี พ.ศ. 2565 – 2567 บริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำปิงและคลองแยก รวมได้ตัวอย่างทั้งหมด 318 ตัวอย่าง แบ่งเป็น ตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และปลา จำนวน 174, 103, 29 และ 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่า สารพิษตกค้างที่ตรวจพบบ่อยที่สุดในตัวอย่างน้ำ คือ atrazine รองลงมาคือ glyphosate, acetochlor และ alachlor โดยตรวจพบ glyphosate ตกค้างสูงสุดในช่วงฤดูฝน เท่ากับ 15.6 ไมโครกรัมต่อลิตร ดัง Table 1 ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการใช้สารตามคำแนะนำในการควบคุมวัชพืช สารเหล่านี้เป็นสารที่แนะนำให้ใช้ในการกำจัดวัชพืช โดย atrazine เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ต้องพ่นก่อนเมล็ดวัชพืชงอกหรือก่อนวัชพืชโผล่พ้นผิวดิน ใช้ในแหล่งปลูกพืช เช่น อ้อย ข้าวโพด ลำไย เป็นต้น acetochlor และ alachlor เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ใช้พ่นคลุมไปบนผิวดิน ใช้ในแหล่งปลูกพืช เช่น อ้อย ข้าวโพด ลำไย เป็นต้น เช่นกัน ส่วน glyphosate เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ใช้พ่นไปบนต้นวัชพืช เป็นสารชนิดไม่เลือกทำลาย ใช้ในแหล่งปลูกพืช เช่น ข้าวโพด ลำไย ปาล์มน้ำมัน เป็นต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2555) ซึ่งปัจจุบัน glyphosate เป็นสารที่จำกัดการใช้ แต่เนื่องจากกลุ่มน้ำปิงเป็นแม่น้ำสายยาวที่ไหลผ่านหลายจังหวัด ประกอบด้วยลุ่มน้ำหลายสาขา มีพื้นที่ที่ใช้ในการทำเกษตรกรรม 3 อันดับแรก คือ กลุ่มพืชไร่ ได้แก่ พื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อ้อยโรงงาน ฯลฯ กลุ่มข้าว ได้แก่ พื้นที่ปลูกทั้งข้าวเจ้าและข้าวเหนียว และกลุ่มไม้ผล ได้แก่ พื้นที่ปลูกลำไย มะม่วง ลิ้นจี่ ส้ม กล้วย ฯลฯ (สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร, 2561) จึงทำให้มีโอกาสสูงที่จะเกิดการตกค้างในแหล่งน้ำและเกิดการแพร่กระจายสู่แม่น้ำได้ ในตัวอย่างน้ำ พบสารพิษตกค้างในช่วงฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง เนื่องจากในช่วงฤดูฝนมีโอกาสสูงที่จะเกิดการไหลบ่า (runoff) และการชะล้าง (leaching) ลงสู่แม่น้ำจากกรณีฝนตก ตัวอย่างเช่น atrazine ซึ่งเป็นสารพิษตกค้างที่ตรวจพบบ่อยที่สุดในตัวอย่างน้ำ มีค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนระหว่างคาร์บอนอินทรีย์ในอนุภาคดินกับน้ำ (soil organic carbon – water partition coefficient, K_{oc}) ระหว่าง 39 – 173 มิลลิลิตรต่อกรัม (Turner, 2018) ค่านี้นับว่าสารประกอบอินทรีย์จะแบ่งส่วนอยู่ในเฟสดินกับน้ำได้ดีเพียงใด ซึ่ง atrazine ถือว่ามีค่า K_{oc} ต่ำ (จัดเป็น moderately mobile) อาจถูกดูดซับไว้ในคาร์บอนอินทรีย์ในดินได้น้อย แสดงว่าสามารถถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำได้ ทำให้ปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบสูงกว่าในฤดูแล้ง อีกทั้งช่วงฤดูฝนเป็นระยะที่เกษตรกรเริ่มทำการเพาะปลูก และใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อควบคุมวัชพืชก่อนและหลังออก สอดคล้องกับการศึกษาการแพร่กระจายของสารพิษทางการเกษตรจากแหล่งเกษตรกรรมสู่แม่น้ำสายหลักของประเทศ แม่น้ำเจ้าพระยาเกิดจากการรวมกันของแม่น้ำสองสาย คือ แม่น้ำปิงและน่าน ซึ่งผลการตรวจพบสารพิษตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยา พบว่า

ตรวจพบ atrazine และ ametryn ตกค้างในช่วงฤดูฝนสูงกว่าฤดูแล้ง (Wetchayanon et al., 2021) และสอดคล้องกับงานวิจัยการประเมินผลกระทบของสารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน ซึ่งตรวจพบ atrazine ตกค้างในช่วงฤดูฝนสูงกว่าฤดูแล้งเช่นกัน (จันทิมา และคณะ, 2565) ในตัวอย่างตะกอนส่วนใหญ่พบสารพิษตกค้างชนิด paraquat และ glyphosate โดยตรวจพบ paraquat ตกค้างสูงสุดในช่วงฤดูแล้ง เท่ากับ 1.76 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดัง Table 1 เนื่องจากสารเหล่านี้มีคุณสมบัติมีขั้วสูง จึงถูกดูดซับกับอินทรีย์วัตถุ (Organic matter) ได้ดี ซึ่ง paraquat มีค่า K_{oc} ระหว่าง 8,000 ถึง 40,000,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Turner, 2018) และ glyphosate มีค่า K_{oc} เท่ากับ 28,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Canadian Council of Ministers of the Environment, 2012) ถือว่ามีค่า K_{oc} สูง บ่งชี้ว่า paraquat และ glyphosate อาจถูกดูดซับไว้ในคาร์บอนอินทรีย์ในดินได้ดีมาก นอกจากนี้ paraquat ที่จับกับดินจะเกิดการสลายตัวอย่างช้าๆ มีค่าการสลายตัวในดิน DT_{50} อยู่ระหว่าง 7 ถึง 12 ปี และ glyphosate มีค่า DT_{50} ในดิน อยู่ระหว่าง 1 ถึง 130 วัน (Turner, 2018) ซึ่งจุดเก็บตัวอย่างส่วนใหญ่ที่ตรวจพบ paraquat อยู่บริเวณต้นแม่น้ำปิงในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ พื้นที่เกษตรกรรมส่วนใหญ่มีการเพาะปลูกพืชที่หลากหลาย เช่น ลำไย ข้าวโพด ปลายสูบ มะเขือ พริก เป็นต้น ส่วนในตัวอย่างพืชและปลาที่นำมาบริโภค ไม่พบสารพิษตกค้าง แม้ว่าสารพิษตกค้างที่ตรวจพบอยู่ในตัวอย่างน้ำมีโอกาสสูงที่จะปนเปื้อนในพืชและสัตว์น้ำ แต่ปริมาณที่ตรวจพบนั้นมีค่าน้อยและเมื่อพิจารณาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของสาร อย่างเช่น atrazine เมื่ออยู่ในน้ำสามารถเกิดการสลายตัวได้ด้วยแสง โดยค่า DT_{50} ที่ pH 7 เท่ากับ 2.6 วัน (จัดเป็น moderately fast) (PPDB, 2024) หากอยู่ในพืชหรือสัตว์จะถูกเผาผลาญ (metabolism) อย่างรวดเร็ว ถ้าอยู่ในพืชที่ไวต่อ atrazine จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง แต่จะถูกสะสมนำไปสู่การเกิดคลอรีนและทำให้พืชตาย (Turner, 2018) จึงทำให้ไม่พบการตกค้างในตัวอย่างพืชและปลา

2. ความเสี่ยงของสารพิษตกค้างต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

จากการตรวจพบสารพิษตกค้างของตัวอย่างน้ำในระหว่างปี พ.ศ. 2565 - 2567 เมื่อนำปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบสูงสุดมาเปรียบเทียบกับค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่มตามมาตรฐานของหน่วยงานต่าง ๆ เช่น WHO, U.S. EPA, Health Canada ประเทศแคนาดา, The New Zealand Ministry of Health ประเทศนิวซีแลนด์, Minnesota Department of Health ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นต้น พบว่าปริมาณที่ตรวจพบนี้ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด และอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งน้ำเพื่อการเกษตร รวมทั้งนำไปผลิตน้ำเพื่อการบริโภคได้

ความเสี่ยงต่อสุขภาพจากค่า HQ สำหรับกลุ่มเด็กและผู้ใหญ่ที่ได้ พบว่าไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพ เนื่องจากค่า HQ ที่ได้มีค่าน้อยกว่า 1 จึงถือได้ว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ ซึ่งในกลุ่มเด็กมีค่า HQ สูงกว่าในกลุ่มผู้ใหญ่ แสดงว่ามีโอกาสที่จะเกิดความเสี่ยงสูง เนื่องจากน้ำหนักและช่วงวัยของผู้รับสัมผัสในวัยเด็กมีโอกาสที่รับสัมผัสและเกิดความเสี่ยงมากกว่าผู้ใหญ่ สอดคล้องกับผลการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของสารพิษตกค้างในบริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยาและท่าจีน (จันทิมา และคณะ, 2565) นอกจากนี้ผลการประเมินความเสี่ยงของสารก่อมะเร็ง alachlor พบว่าค่า cancer risk ในกลุ่มเด็กและผู้ใหญ่ เท่ากับ 8.26×10^{-8} และ 3.12×10^{-7} ตามลำดับ ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพ เนื่องจากค่าที่ได้มีค่าน้อยกว่า $1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-6}$

ความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างต่อสิ่งแวดล้อม พบว่าสารพิษตกค้างบางชนิดที่ตรวจพบในบริเวณลุ่มน้ำปิงมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยง โดย cypermethrin ที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำ มีค่า RQ สูงสุด เท่ากับ 52 ถึงแม้จะตรวจพบเพียงหนึ่งตัวอย่างและมีปริมาณต่ำ หากพิจารณาความเป็นพิษของ cypermethrin พบว่ามีความเป็นพิษต่อปลาสูง โดยค่า NOEC (chronic 21 day) สำหรับปลา เท่ากับ 0.00003 ไมโครกรัมต่อลิตร จึงทำให้มีความเสี่ยง และ cypermethrin เมื่ออยู่ในน้ำ สามารถเกิดการสลายตัวได้ด้วยแสงโดยค่า DT_{50} ที่ pH 7 เท่ากับ 7.8 วัน (จัดเป็น moderately fast) (PPDB, 2024) ดังนั้นจำเป็นต้องมีการสุ่มเก็บตัวอย่างมากขึ้นและตรวจติดตามอย่างต่อเนื่อง เพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ดัง Table 2

Table 1 Maximum concentration of pesticide residues in samples during the two seasons in 2022-2024

Sampling time	Sample type	Total sample/ Positive sample	Pesticide residues	Concentration
Dry season	Water	87/69	acetochlor	0.17
			alachlor	0.54
			atrazine	0.60
			glyphosate	4.89
	Sediment	54/29	diazinon	0.06
			ethion	0.04
			glyphosate	0.96
			malathion	0.14
			paraquat	1.76
			pirimiphos-methyl	0.07
Rainy season	Water	87/74	acetochlor	0.50
			alachlor	0.10
			ametryn	1.00
			atrazine	1.32
			diazinon	0.09
			chlorpyrifos	0.06
			cypermethrin	0.16
			ethion	0.06
			glyphosate	15.6
			malathion	0.11
			pirimiphos-methyl	0.06
			profenofos	0.08
	Sediment	49/24	ethion	<0.01
			glyphosate	0.71
			paraquat	0.54
			profenofos	0.01

Unit of concentration of pesticide residues: water (µg/L) and sediment (mg/kg)

3. แนวโน้มของสารพิษตกค้างในพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำปิงและคลองแยก

จากข้อมูลการตรวจพบสารพิษตกค้าง ในระหว่างปี พ.ศ. 2565 – 2567 พบว่า atrazine เป็นสารพิษตกค้างที่ตรวจพบบ่อยในตัวอย่างน้ำ รองลงมาคือ glyphosate, acetochlor และ alachlor พิจารณาแนวโน้มของสารพิษตกค้างในแหล่งน้ำ พบว่ามีแนวโน้มลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินตามประกาศของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2537) ซึ่งกำหนดให้สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ที่มีคลอรีนทั้งหมด มีค่าไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างที่พบไม่เกินค่ามาตรฐานฯ ที่กำหนดไว้ ส่วนสารพิษตกค้างที่ตรวจพบบ่อยในตัวอย่างตะกอนคือ glyphosate เมื่อพิจารณาแนวโน้มของสารพิษตกค้างในแหล่งน้ำ พบว่าในตัวอย่างตะกอนมีแนวโน้มลดลงเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานคุณภาพตะกอนดินในแหล่งน้ำผิวดินเพื่อปกป้องสัตว์น้ำดินที่กำหนดไว้ตามประกาศของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2566) สำหรับสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ (pesticides) ที่มีการกำหนดไว้และตรวจพบในตัวอย่างตะกอน คือ malathion

ต้องไม่เกิน 0.67 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม หรือ 0.00067 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าปริมาณสารพิษตกค้าง malathion ที่ตรวจพบเท่ากับ 0.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเกินค่ามาตรฐานฯ ที่กำหนดไว้ มีโอกาสเกิดผลกระทบต่อประชากรสัตว์หน้าดินสูง ส่วนสารพิษตกค้างชนิดอื่นที่ตรวจพบไม่มีค่ามาตรฐานฯ กำหนดไว้

จากการตรวจพบสารพิษตกค้างชนิด paraquat และ chlorpyrifos ซึ่งเป็นสารที่มีการประกาศยกเลิกการใช้แล้วนั้น พบว่า chlorpyrifos พบตกค้างในตัวอย่างน้ำ ช่วงฤดูฝนในปี พ.ศ. 2566 จำนวน 1 ตัวอย่าง ซึ่งจากการสุ่มเก็บตัวอย่างในครั้งต่อๆ มา ไม่พบการตกค้างของสารพิษชนิดนี้ ส่วน paraquat พบตกค้างในตัวอย่างตะกอนจากการสุ่มเก็บตั้งแต่ช่วงฤดูแล้งในปี พ.ศ. 2565 ถึงช่วงฤดูแล้งในปี พ.ศ. 2567 ซึ่งแนวโน้มของการตกค้าง paraquat ในตะกอนมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ และจากการสุ่มเก็บครั้งสุดท้ายในช่วงฤดูฝน ปี พ.ศ. 2567 ไม่พบการตกค้างของสารพิษชนิดนี้

จากผลการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมในระยะยาว พบว่าสารกำจัดแมลงที่มีความเสี่ยงสูง มีค่าปริมาณสารเคมีที่มนุษย์สามารถรับเข้าสู่ร่างกายได้ทุกวัน โดยไม่ทำให้เกิดความผิดปกติใดๆ ต่อสุขภาพอนามัย (reference dose, RfD) ต่ำ จะทำให้มีความเสี่ยงต่อสุขภาพสูง รวมทั้งน้ำหนักและช่วงวัยของผู้รับสัมผัส ในวัยเด็กมีโอกาสที่รับสัมผัส และความเสี่ยงมากกว่าผู้ใหญ่ ฉะนั้น ในเรื่องของการปนเปื้อนของสารจะต้องให้ความสำคัญกับเด็กในเรื่องการบริโภคน้ำ พืชผักที่สะอาดและปลอดภัยเป็นอย่างยิ่ง ทั้งนี้ในส่วนของการปนเปื้อนของสารในตัวอย่างน้ำนั้น หากนำมาเพื่อใช้สำหรับการบริโภคจะต้องผ่านกระบวนการผลิตตามมาตรฐานการผลิตน้ำดื่ม ซึ่งจะทำให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคอย่างแน่นอน ความเสี่ยงของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อสิ่งแวดล้อม พบว่าในช่วงแรกของการติดตามและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ต้องยอมรับว่าสิ่งแวดล้อมของบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำปิงมีความเสี่ยงที่จะได้รับผลกระทบ ด้วยสารบางชนิดที่ตรวจพบเป็นสารกำจัดแมลงที่มีความเป็นอันตรายต่อปลาสูง และยังมีความจำเป็นต้องใช้สารเหล่านี้ ซึ่งจากผลการประเมินความเสี่ยง พบว่าแนวโน้มของความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมลดลง และในช่วงปี พ.ศ. 2567 ซึ่งเป็นปีล่าสุดที่เฝ้าติดตามการปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ผลการประเมินความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม พบว่าไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม และสารพิษตกค้างบางชนิด พบว่าอยู่ในเกณฑ์มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมเล็กน้อย หากมีการเพิ่มปริมาณสารพิษที่ใช้ ต้องคำนึงถึงความเสี่ยงมากขึ้น แสดงว่ายังคงมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศ สอดคล้องกับภาพรวมของปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในลุ่มน้ำ มีแนวโน้มที่ตรวจพบสารพิษตกค้างลดลง และอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อสุขภาพ สะท้อนให้เห็นว่ามาตรการต่างๆ ของหน่วยงานภาครัฐ ได้แก่ การยกเลิกการใช้สารที่มีความเสี่ยงสูง การส่งเสริมการปลูกพืชอินทรีย์ การส่งเสริมการใช้สารชีวภัณฑ์เพื่อควบคุมศัตรูพืช รวมถึงกระแสสังคมโลกที่ปกป้องสิ่งแวดล้อม ส่งผลให้ปริมาณการตรวจพบสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมลดลงด้วยเช่นกัน ก่อให้เกิดผลดีทั้งต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

Table 2 Hazard quotient (HQ) of non-carcinogenic toxic residues and cancer risk of carcinogenic toxic residues for child 6 years old and adult 70 years old and risk quotient (RQ) in 2022-2024

Sample type	Pesticide	HQi & Cancer risk		RQ
		Child	Adult	
Water	acetochlor	5.38E-04 ^a	4.25E-04	0.039
	alachlor	1.15E-03	9.11E-04	0.028
		8.26E-08 ^b	3.12E-07	-
	ametryn	2.38E-03	1.88E-03	0.014
	atrazine	8.09E-04	6.39E-04	0.007
	chlorpyrifos	1.19E-05	9.38E-06	3.963
	cypermethrin	3.36E-04	2.65E-04	52.239
	diazinon	6.22E-05	4.91E-05	0.001
	ethion	2.52E-03	1.98E-03	0.045
	glyphosate	3.34E-03	2.64E-03	0.005
	malathion	1.23E-04	9.67E-05	0.013
	pirimiphos-methyl	1.26E-05	9.98E-06	0.026
	profenofos	1.81E-06	1.43E-06	0.422
	SUM	1.13E-02	8.91E-03	-
Sediment	diazinon	1.39E-05	4.34E-06	0.864
	ethion	4.71E-04	1.47E-04	31.500
	glyphosate	5.52E-05	1.72E-05	0.300
	malathion	4.10E-05	1.28E-05	15.679
	paraquat	2.25E-03	7.01E-04	2.199
	pirimiphos-methyl	3.96E-05	1.24E-05	29.999
	profenofos	4.46E-08	1.39E-08	38.785
	SUM	2.87E-03	8.95E-04	-

^a hazard quotient (Child, maximum concentration), ^b Cancer risk (Child, maximum concentration); RQ <1 means no immediate concern, RQ = 1-10 means of concern if supply volumes increase, RQ = 10-100 means further data require, RQ >100 means reduce risk immediate

สรุปผลการทดลอง

1. จากการสุ่มเก็บตัวอย่างบริเวณลุ่มน้ำปิงและคลองแยกในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝนระหว่างปี พ.ศ. 2565 – 2567 สารพิษตกค้างส่วนใหญ่ที่ตรวจพบเป็นประเภทสารกำจัดวัชพืช โดยพบการปนเปื้อนในช่วงฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง ปริมาณของสารพิษตกค้างที่ตรวจพบทั้งหมดในตัวอย่างน้ำอยู่ในระดับต่ำและไม่เกินค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่มที่กำหนดไว้ตามมาตรฐานของต่างประเทศ เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ตามประกาศของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาตินั้น พบว่าปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างนั้นไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัย สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งน้ำเพื่อการเกษตร การอุปโภค และนำไปผลิตน้ำเพื่อการบริโภคได้

2. ผลการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ ค่า HQ ที่ได้มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าเป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ ค่า cancer risk ที่ได้มีค่าน้อยกว่า $1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-6}$ แสดงว่าความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม ค่า RQ ที่ได้สำหรับสารพิษตกค้างบางชนิดอยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยง ทำการลดความเสี่ยงโดยต้องมีการเฝ้าระวังและใช้ข้อมูลอื่นๆ มาพิจารณาร่วมด้วย

3. ข้อมูลของปริมาณสารพิษตกค้าง รวมทั้งผลการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสำคัญต่อการประเมินสถานการณ์มลพิษของสารพิษตกค้างที่เกิดจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์และระบบนิเวศ รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาเพื่อกำหนดค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน และใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการยกเลิกหรือการจำกัดการใช้สารพิษทางการเกษตรต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เกษตรกร ภาคเอกชน ผู้ที่สนใจ และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ได้ทราบข้อมูลการปนเปื้อน การแพร่กระจาย การสะสมและความเสี่ยงของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มแม่น้ำปิง จากการเผยแพร่ข้อมูลในเอกสารวิชาการและเว็บไซต์ ทำให้เกิดความมั่นใจและมีความปลอดภัยจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำนั้น ตลอดจนสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในแหล่งน้ำมีความปลอดภัย สิ่งแวดล้อมสะอาด สมดุล ผู้บริโภคได้บริโภคอาหารที่ดีมีคุณภาพและปลอดภัย

2. เป็นข้อมูลในการติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนของสารมลพิษตกค้างยาวนาน (POPs) ตามอนุสัญญาสตอกโฮล์มฯ รายงานสถานการณ์มลพิษและคุณภาพสิ่งแวดล้อมของประเทศไทยเป็นประจำทุกปี

3. เป็นข้อมูลเพื่อการเฝ้าระวังความเป็นอันตรายจากสารพิษตกค้างในแม่น้ำปิง ซึ่งหน่วยงานที่เกี่ยวข้องนำข้อมูลไปใช้ประกอบการพิจารณาคุณภาพน้ำเพื่อการผลิตน้ำบริโภค ได้แก่ การประปาส่วนภูมิภาค กรมอนามัย เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร. 2564. คู่มือการใช้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพืช ดิน น้ำ คุณภาพผลิตภัณฑ์ วัฏมีพิษการเกษตร และสารสกัดธรรมชาติ. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2537. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 เรื่อง กำหนดมาตรฐาน คุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 111 ตอนที่ 16 ง. (ลงวันที่ 10 มกราคม 2537)
- คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2566. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ เรื่อง กำหนดมาตรฐาน คุณภาพตะกอนดินในแหล่งน้ำผิวดิน พ.ศ. 2565. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 140 ตอนพิเศษ 3 ง. (ลงวันที่ 5 มกราคม 2566)
- จันทิมา ผลกอง มลิสรา เวชยานนท์ อำนาง กะฐินเทศ และประกิจ จันทรดี. 2565. การประเมินผลกระทบของ สารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน. ผลการปฏิบัติงาน ประจำปี 2564 เล่ม 2. กองวิจัยพัฒนาปัจจัย การผลิตทางการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร. 2561. รายงานข้อมูลพื้นฐาน 25 กลุ่มน้ำ: กลุ่มน้ำปิง. แหล่งข้อมูล: <https://www.senate.go.th/assets/portals/143/fileups/148/files/06-กลุ่มน้ำปิง.pdf>. สืบค้น: 24 มิถุนายน 2567.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2564. วัตถุอันตราย. แหล่งข้อมูล: <https://www.doa.go.th/ard>. สืบค้น: 24 มิถุนายน 2567.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. พื้นที่แม่น้ำปิง ผลผลิตสินค้าทางการเกษตรรวมสูงสุด 5 อันดับแรก ปี พ.ศ. 2561 - 2564. แหล่งข้อมูล: <https://mis-app.oae.go.th/area/กลุ่มแม่น้ำ/แม่น้ำปิง>. สืบค้น: 24 มิถุนายน 2567.
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2555. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2554. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.
- หมอชาวบ้าน. 2559. บทความน่ารู้: ในน้ำมีแต่ยา ในนามีสารพิษ. แหล่งข้อมูล: <https://www.doctor.or.th/article/detail/400457> สืบค้น: 24 มิถุนายน 2567.
- Amarante, D.O.P., N.M. Brito, T.C.R.D. Santos, G.S. Nunes, and M.L. Ribeiro. 2003. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis. *Talanta* 60: 115-121.
- Anastassiades, M., S.J. Lehotay, D. Staibaher, and F.J. Schenck. 2003. Fast and Easy Multiresidues employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and Dispersive Solid-Phase Extraction for Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International* 86(2): 412-431.
- AOAC. 2016a. Organochlorine Pesticides in Water, Gas Chromatographic Method. Association of Official Analytical Chemists Method 990.06. AOAC International, Washington DC.
- AOAC. 2016b. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 970.52. AOAC International, Washington DC.
- Black, C. K. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. American Society of Agronomy, USA.
- Canadian Council of Ministers of the Environment. 2012. Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life: GLYPHOSATE. Available at: <https://ccme.ca/en/res/glyphosate-en-canadian-water-quality-guidelines-for-the-protection-of-aquatic-life.pdf>. Assessed: March 24, 2024.

- ECB. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for notified substances. Available at: https://www.echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart2_2ed_en.pdf. Assessed: March 24, 2024.
- ECHA. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, chapter R.10: characterization of dose [concentration]-response for environment. [Online]. European Chemicals Agency. Available at: https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69. Assessed: March 24, 2024.
- EPA. 1994. Organophosphorus Compound by Gas Chromatography Capillary Column Technique. EPA method 8141A, Revision 1. U.S. EPA. Office of Research and Development, Washington DC.
- FAO/WHO. 1999. Recommended Methods of Sampling for the Determination of Pesticide Residues for Compliance with MRLs (CAC/GL 33-1999). Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome, Italy.
- Feei, S., L. Feng-Yi., W. Sue-Sun, and L. Gwo-Chen. 2000. Determination of Organochlorine and Nitrogen-Containing Pesticide Residues in Fish with Different Fat Content. *Food and Drug Analysis* 8(2): 103-111.
- Hammami, B., M. Bahri, S.B. Hassine, and M.R. Driss. 2017. Development of Liquid Chromatography Separation and a Solid-Phase Extraction method for Phenoxy Alkanoic Acid Herbicides in Water. *Modern Chemistry & Applications* 5:1-8.
- Miles, C.J., L.R. Wallace, and H.A. Moye. 1986. Determination of Glyphosate Herbicide and Aminomethylphosphonic acid in Natural Waters by Liquid Chromatography Using Pre-Column Fluorogenic Labeling with 9-Fluorenylmethyl Chloroformate. *The Association of the Official Analytical Chemists* 69: 458-461.
- PPDB. 2024. Pesticide Properties DataBase. Available at: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>. Assessed: April 27, 2024.
- Robinson, N. J. 2006. Paraquat: Residue Method for the Determination of Paraquat Dichloride as Paraquat cation in Soil (GRM012.04A). Jealott's Hill International Research Centre, UK.
- Sun, L., D. Kong, D. Gu, X. Guo, W. Tao, Z. Shan, Y. Wang, and N Wang. 2017. Determination of glyphosate in soil/sludge by high performance liquid chromatography. *Chromatography A* 1502: 8-13.
- Sutherland, D.J., G.K. Stearman, and M.J.M. Wells. 2003. Development of an Analytical Scheme for Simazine and 2,4-D in soil and Water Runoff from Ornamental Plant Nursery Plots. *Agriculture and Food Chemistry* 51: 14-20.
- Theodora, H.Y.L., A.D. Ziegler, C. Li, K. Srinuansom and S.A. Snyder. 2024. Riverine Pesticides in an Agricultural Catchment in Northern Thailand: With Focus on Atrazine and Metabolites. *ACS EST Water* 4(9): 3758–3772.
- Thorstensen, W.C., O. Lode, and A.L. Christiansen. 2000. Development of a Solid-Phase Extraction Method for Phenoxy Acids and Bentazone in water and Comparison to Liquid-Liquid Extraction Method. *Agriculture and Food Chemistry* 48: 5829-5833.

- Turner, J.A. 2018. The Pesticide Manual: A World Compendium, edition 18th. British Crop Protection Council, UK.
- U.S. EPA. 2011. Exposure Factors Handbook 2011 Edition (Final Report). U.S. EPA. Office of Research and Development, Washington DC.
- U.S. EPA. 2017. Exposure Factors Handbook Chapter 5: Soil and Dust Ingestion. U.S. EPA. Office of Research and Development, Washington DC.
- Wetchayanon, M. N. Kungskulniti, N. Charoenca, and C. Thangbanluekal. 2021. Assessment of Agricultural Pesticide Contamination and Health Risk in Main Rivers of Thailand. *Thai Journal of Science and Technology* 10(1):109-123.

การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อม
บริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำน่าน

Determination of Pesticides in the Environment
in Agricultural Areas of the Nan River Basin

อำนาจ กะฐินเทศ¹ ประกิจ จันทร์ดีป² จันทิมา ผลทอง¹ มลิสสา เวชยานนท์¹
Amnaj Katintet¹ Prakit Chuntib² Jantima Phonkong¹ Malisa Wetchayanon¹

กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The monitoring of the spread, contamination, and residue levels of pesticides in agricultural areas of the Nan River Basin that will affect human health and the environment. In 2022-2024, water, sediment, aquatic plants, and aquatic animals were randomly collected from the provinces of Nan, Uttaradit, Phitsanulok, Phichit, and Nakhon Sawan. A total of 289 samples were obtained. Analysis of pesticides by gas chromatography and liquid chromatography techniques. Assessment of human health and environmental risks with Hazard Quotient (HQ) and Risk Quotient (RQ), respectively. The results pesticides in water samples detected as ametryn, acetochlor, atrazine, glyphosate, and oxadiazon were at 0.07-18.80 µg/L, and sediment samples as 2,4-D, ametryn, and glyphosate were detected at 0.02-2.55 mg/kg. The aquatic plant and aquatic animal were not detected. Risk assessments for human health and the environment are acceptable (HQ and RQ <1). Based on the residue data, the Department of Agriculture should continuously monitor and follow up to manage and reduce the toxic pesticides in the environment.

Keywords: Water sample; Human health risk assessment; Liquid chromatography technique

¹ กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

¹ Agricultural Toxic Substances Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division, Department of Agriculture. Bangkok.

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 กรมวิชาการเกษตร

² Office of Agricultural Research and Development Region 1, Department of Agriculture.

บทคัดย่อ

การตรวจติดตามการแพร่กระจาย การปนเปื้อน และปริมาณการตกค้างจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำน่าน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ในปี พ.ศ. 2565-2567 ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และสัตว์น้ำ ในบริเวณพื้นที่จังหวัดน่าน อุตรดิตถ์ พิจิตร พิษณุโลก และนครสวรรค์ รวมทั้งหมด 289 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีและลิควิดโครมาโทกราฟี ประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อมด้วยค่า Hazard Quotient (HQ) และ Risk quotient (RQ) ตามลำดับ ผลการตรวจติดตาม ในตัวอย่างน้ำ พบสาร ametryn, acetochlor, atrazine, glyphosate และ oxadiazon ปริมาณ 0.07-18.80 ไมโครกรัมต่อลิตร และในตัวอย่างตะกอน พบสาร 2,4-D, ametryn และ glyphosate ปริมาณ 0.02-2.55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับตัวอย่างพืชน้ำและสัตว์น้ำ ไม่พบการตกค้าง ผลการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อม เป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (HQ และ RQ <1) จากข้อมูลการตกค้าง กรมวิชาการเกษตรควรมีการเฝ้าระวัง และตรวจติดตามอย่างต่อเนื่อง เพื่อการบริหารงานและการจัดการลดปริมาณสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: ตัวอย่างน้ำ; ประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์; เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี

บทนำ

ปัจจุบันเกษตรกรรมของไทยมีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในพืชเศรษฐกิจสำคัญสำหรับบริโภคภายในประเทศและส่งออกขายต่างประเทศในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2567) จากการใช้สารดังกล่าว ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของสารในพื้นที่เกษตรกรรม เกิดการแพร่กระจาย ตกค้างสะสมในระบบนิเวศและห่วงโซ่อาหาร ได้แก่ แหล่งน้ำธรรมชาติ แม่น้ำ พืช และสัตว์น้ำ (Centre for Chemical Pesticides, 2012) รวมถึงอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ทั้งในระยะสั้นและระยะยาว ทำให้ทั่วโลกมีความกังวลและตระหนักถึงปัญหาที่จะเกิดขึ้น

ภายใต้อนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน (Persistent Organic Pollutants; POPs) ประเทศไทยเป็นรัฐภาคีได้ให้สัตยาบันในการเฝ้าระวังและติดตามการปนเปื้อนของสาร POPs เพื่อคุ้มครองสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจากสารมลพิษที่ตกค้างยาวนานนี้ โดยมีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 17 พฤษภาคม 2547 เป็นต้นมา (กรมควบคุมมลพิษ, 2558) ประเทศไทยได้ตระหนักถึงปัญหาและผลกระทบที่จะเกิดจากสารพิษเหล่านี้ รวมทั้งปฏิบัติตามข้อตกลงตามอนุสัญญาระหว่างประเทศ จึงได้ตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำน่าน ซึ่งเป็นลุ่มน้ำสำคัญในเขตภาคเหนือที่มีพื้นที่เกษตรกรรมประมาณ 10.65 ล้านไร่ ปริมาณน้ำธรรมชาติเฉลี่ยต่อปี 12,014.8 ล้านลูกบาศก์เมตร เกษตรกรมีการใช้น้ำปลูกพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ได้แก่ พืชไร่ พืชผักและผลไม้ยืนต้น (กรมชลประทาน, 2546) เพื่อให้ผลผลิตทางการเกษตรมีปริมาณเพิ่มสูงมากขึ้น จึงมีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในปริมาณที่สูง เกิดปัญหาการตกค้างสารพิษในลุ่มน้ำน่าน

งานวิจัยนี้ ได้ทำการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส (Organophosphorus) ออร์กาโนคลอรีน (Organochlorines) ไพเรทรอยด์ (Pyrethroids) ไทอะซีน (Triazines) ไทอะโซล (Triazoles) สารประกอบฟีนอกซีซี (Phenoxy compound) คลอโรอะซีตาไมด์ (Chloroacetamides) ไดฟีนิล อีเทอร์ (Diphenyl ether) ออกซาไดอะโซล (Oxadiazole) ไดไนโตรอะนิลีน (Dinitroaniline) ฟอสโฟโนไกลซีน (Phosphonoglycine) และคาร์บาเมต (Carbamates) เพื่อให้ทราบถึงการแพร่กระจาย การปนเปื้อน การตกค้าง

และการสะสมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ รวมถึงเฝ้าระวังและคาดการณ์อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้สารที่มีผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อมในระยะยาว

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ กรวยแยก หลอดทดลอง ขวดรูปชมพู่พร้อมฝาเกลียว และขวดวัดปริมาตร ขวดพลาสติกชนิด HDPE ขวดแก้วใส ขวดพลาสติกชนิด PE โซลิ่งค์ฟิวเตอร์ PTFE เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ภาศสนาม (pH meter) และเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าภาศสนาม (Conductivity meter)
2. อุปกรณ์สู่มเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอน ได้แก่ Teflon Vertical water sampler และ Ekman dredge
3. สารเคมี Analytical grade Pesticide grade และ HPLC grade ได้แก่ hydrochloric acid, ethyl acetate, hexane, sodium sulfate anhydrous, magnesium sulfate, primary secondary amine (PSA), celite®545, acetonitrile, methanol, ammonium formate, 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOC), water HPLC, DOWEX 50WX8 และ solid phase extraction (SPE; C₁₈, florisil, Si-OH, Envi-Carb™)
4. สารพิษมาตรฐาน Pesticide grade ความบริสุทธิ์ (95%) ได้แก่ กลุ่ม Organophosphorus 10 ชนิด ประกอบด้วย chlorpyrifos, diazinon, EPN, ethion, malathion, methidathion, parathion methyl, pirimiphos-methyl, profenofos และ triazophos กลุ่ม Organochlorines 16 ชนิด ประกอบด้วย aldrin, alpha-BHC, gamma-BHC, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan sulfate, dieldrin, endrin, heptachlor, heptachlor epoxide, *o,p'*-DDE, *o,p'*-DDT, *o,p'*-TDE, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT และ *p,p'*-TDE กลุ่ม Pyrethroids 7 ชนิด ประกอบด้วย bifenthrin, cyfluthrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate และ permethrin กลุ่ม Triazines 3 ชนิด ประกอบด้วย ametryn, atrazine และ metribuzin กลุ่ม Carbamates 5 ชนิด ประกอบด้วย carbaryl, carbofuran, isoprocarb, metolcarb และ promecarb กลุ่ม Triazoles 4 ชนิด ประกอบด้วย difenoconazole, hexaconazole, propiconazole และ tetraconazole กลุ่ม Phenoxy compound ชนิด 2,4-D กลุ่ม Bipyridinium ชนิด paraquat กลุ่ม Chloroacetamides 3 ชนิด ประกอบด้วย acetachlor, alachlor และ s-metolachlor กลุ่ม Diphenyl ether ชนิด oxyfluorfen กลุ่ม Oxadiazole ชนิด oxadiazon กลุ่ม Dinitroaniline ชนิด pendimethalin กลุ่ม Phosphonoglycine ชนิด glyphosate รวมทั้งหมด 54 ชนิดสาร
5. เครื่องมือเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ separatory funnel shaker, shaker homogenizer, ultrasonic bath, centrifuge, rotary evaporator, vacuum pump, food processor และ analytical balance
6. คอลัมน์สำหรับแยกสาร คือ GC capillary column ชนิด DB-1701 (30 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร i.d., 0.25 ไมครอนเมตร film thickness) และ DB-5, DB-35 และ DB-5MS (30 เมตร x 0.25 มิลลิเมตร i.d., 0.25 ไมครอนเมตร film thickness) และ HPLC column ชนิด reverse-phase C₁₈ BDS Hypersil™ (250 x 4.6 มิลลิเมตร i.d., 5 ไมครอนเมตร) และ Primesep AB (150 x 4.6 มิลลิเมตร i.d., 5 ไมครอนเมตร)
7. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ตัวตรวจวัด (Detector) ชนิด Electron Capture Detector (ECD), Flame Photometric Detector (FPD), Nitrogen Phosphorus Detector (NPD) และ Mass Spectrometry (MS) เครื่อง Ultra-High Performance Liquid Chromatograph (UHPLC) ตัวตรวจวัดชนิด Diode Array Detector (DAD) และ Fluorescence Detector (FLD)

วิธีการ

1. การกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง (Sampling sites)

สำรวจพื้นที่และกำหนดจุดเก็บตัวอย่างบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำน่านและคลองแยก ได้แก่ คลองอ้อ คลองแก่น คลองจระเข้ คลองตรอน คลองคูณ และคลองสะอาด โดยใช้ Global Position System (GPS) ระยะห่างจุดเก็บแต่ละจุดประมาณ 20 กิโลเมตร สุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดน่าน (8 จุด) อุตรดิตถ์ (6 จุด) พิษณุโลก (4 จุด) พิจิตร (5 จุด) และนครสวรรค์ (4 จุด) รวมทั้งหมด 27 จุด แสดงใน Figure 1 (ภาคผนวก) สุ่มเก็บตัวอย่างปีละ 2 ฤดู คือฤดูแล้ง (กุมภาพันธ์ถึงพฤษภาคม) และฤดูฝน (มิถุนายนถึงตุลาคม)

2. การสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน พืชน้ำ และสัตว์น้ำ (Sample collection)

2.1 ตัวอย่างน้ำ (Water sampling) สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำด้วยอุปกรณ์ Teflon Vertical water sampler ให้ได้ปริมาตรตัวอย่างละ 4 ลิตร (U.S. EPA, 2023a)

2.2 ตัวอย่างตะกอน (Sediment sampling) สุ่มเก็บตะกอนบริเวณใกล้เคียงจุดที่เก็บตัวอย่างน้ำด้วยอุปกรณ์ Grab samplers ที่ผิวของตะกอนความลึกประมาณ 10 เซนติเมตร ใช้ช้อนสแตนเลสตักตัวอย่างบรรจุใส่ขวดแก้วโสมมีฝาปิดให้น้ำหนักประมาณ 500 กรัม (U.S. EPA, 2023b)

2.3 ตัวอย่างพืชน้ำ (Aquatic plant sampling) ชนิดผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) และผักกระเฉด (*Neptunia oleracea*) สุ่มเก็บในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) (FAO, 2016)

2.4 ตัวอย่างสัตว์น้ำ (Aquatic animal sampling) ชนิดปลา ได้แก่ ปลายี่สก (*Probarbus jullieni*) ปลาตะไกร (*Cyclocheilichthys enoplos*) ปลานวลจันทร์ (*Cirrhinus micropis*) ปลาตะเพียน (*Ctenopharyngodon idella*) ปลาสร้อย (*Henicorhynchus*) และปลาแกง (*Cirrhinus molitorella*) ซึ่งจากประชาชนที่ตกปลาบริเวณจุดเก็บตัวอย่างตามจุดเก็บที่กำหนดไว้ โดยเก็บในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) (FAO, 2016)

ตัวอย่างทั้งหมดที่สุ่มเก็บ รักษาสภาพโดยเก็บในถังบรรจุน้ำแข็ง (cooler with ice packs) เพื่อป้องกันสารพิษสลายตัวในระหว่างการขนส่งตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์

3. การสกัดตัวอย่าง (Sample preparation)

3.1 ตัวอย่างน้ำ

3.1.1 กลุ่ม Organochlorines, Pyrethroids, Triazoles, Chloroacetamides, Diphenyl ether, Oxadiazole และ Dinitroaniline สกัดด้วยวิธี Association of Official Analysis Chemists [AOAC] official method 990.06 (2016a) ตวงน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel สกัดด้วย 100 มิลลิลิตร hexane เขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker 3 นาที วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD

3.1.2 กลุ่ม Organophosphorus, Triazines และ Carbamates สกัดด้วยวิธี Environmental Protection Agency [EPA] method 8141A (1994) ตวงน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel สกัดด้วย 100 มิลลิลิตร ethyl acetate เขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker 3 นาที วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FPD

3.1.3 กลุ่ม Bipyridirium ดัดแปลงจากวิธี Robinson (2006) ตวงน้ำที่กรองปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปรับสภาวะ (condition) SPE-Si-OH ด้วย 5 มิลลิลิตร methanol และ 5 มิลลิลิตร water ตามลำดับ จากนั้น load ตัวอย่างด้วย pump และ elute ตัวอย่างด้วย 5 มิลลิลิตร $\text{CH}_3\text{CN}:250 \text{ mM } \text{NH}_3\text{HCOOH}:\text{H}_3\text{PO}_4$ (30:70:1.25 v/v) กรองตัวอย่างด้วย PTFE (0.45 ไมครอนเมตร) ใส่ในขวด vial วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD

3.1.4 กลุ่ม Phenoxy compound ดัดแปลงจากวิธี Thorstensen (2000); Hammami et al. (2017) ตวงน้ำที่กรองปริมาตร 500 มิลลิลิตร (pH 1) ปรับสภาวะ SPE-C18 ด้วย 5 มิลลิลิตร acetonitrile

5 มิลลิลิตร methanol และ 10 มิลลิลิตร acidified water (pH 1) ตามลำดับ จากนั้น load ตัวอย่างด้วย pump เป่า SPE-C18 ให้แห้ง elute ตัวอย่างด้วย 5 มิลลิลิตร 5% w/v NH_3HCOOH และเติม 250 ไมโครลิตร 6M HCl ผสมให้เข้ากัน กรองตัวอย่างด้วย PTFE (0.45 ไมครอนเมตร) ใส่ในขวด vial วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD

3.1.5 กลุ่ม Phosphonoglycine ดัดแปลงจากวิธี Miles (1986) ตวงน้ำที่กรองปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติม 1 มิลลิลิตร 0.1M KH_2PO_4 ผสมให้เข้ากัน นำไปลดปริมาตรให้เกือบแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator (50 องศาเซลเซียส) จากนั้นละลายด้วยน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร ทำอนุพันธ์ (derivatization) ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติม 1 มิลลิลิตร 0.02M FMOC และ 2 มิลลิลิตร 0.05M borate buffer ผสมให้เข้ากัน เขย่า 60 นาที (180 rpm) เติม 2 มิลลิลิตร ether เขย่า 3 นาที ทั้งชั้น ether เติม 100 ไมโครลิตร 10% v/v HCl ผสมให้เข้ากัน กรองตัวอย่างด้วย PTFE (0.45 ไมครอนเมตร) ใส่ในขวด vial วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-FLD

3.2 ตัวอย่างตะกอน

3.2.1 กลุ่ม Organochlorines, Pyrethroids, Triazoles, Chloroacetamides, Diphenyl ether, Oxadiazole, Dinitroaniline, Organophosphorus, Triazines และ Carbamates สกัดด้วยวิธี AOAC official method 970.52 (2016b) ชั่งตะกอน 20 กรัม ใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 75 มิลลิลิตร ethyl acetate เขย่าด้วยเครื่อง shaker 4 ชั่วโมง (210 rpm) กรอง ล้าง 2 ครั้งด้วย 20 มิลลิลิตร ethyl acetate ลดปริมาตรตัวอย่างให้เกือบแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator (40 องศาเซลเซียส) จากนั้น adjust ตัวอย่าง และลดปริมาตร ปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR grade) เป็น 2 มิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FPD ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป่าเปลี่ยนสารละลายเป็น hexane (PR grade) ปรับปริมาตร เป็น 2.5 มิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-ECD

3.2.2 กลุ่ม Bipyridirium ดัดแปลงจากวิธี Robinson (2006) ชั่งตะกอน 25 กรัม ใส่ round bottom flask เติม 75 มิลลิลิตร water 25 มิลลิลิตร conc. H_2SO_4 1 มิลลิลิตร octanol และเม็ดแก้ว นำไป reflux นาน 2 ชั่วโมง ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD

3.2.3 กลุ่ม Phenoxy compound ดัดแปลงจากวิธี Sutherland (2003) ชั่งตะกอน 10 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมปริมาตร 20 มิลลิลิตร $\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{COOH}$ (80:20:2.5 v/v) เขย่าผสมให้เข้ากัน นำไป sonicate 30 นาที ด้วยเครื่อง ultrasonic bath วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-DAD

3.2.4 กลุ่ม Phosphonoglycine ดัดแปลงจากวิธี Sun (2017) ชั่งตะกอน 10 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมปริมาตร 35 และ 15 มิลลิลิตร (0.03M Na_2HPO_4 และ 0.01M $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$) นำไป sonicate ด้วยเครื่อง ultrasonic bath 30 นาที centrifuge 30 นาที (10,000 rpm) กรอง ทำอนุพันธ์ (derivatization) ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตามข้อ 2.3.1.5 วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UHPLC-FLD

3.3 ตัวอย่างพืชน้ำ สกัดด้วยวิธี Anastassiades (2003) ชั่งผักบุ้งและผักกระเฉด 10 กรัม ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 10 มิลลิลิตร acetonitrile เขย่า 1 นาที เติม 4 กรัม MgSO_4 และ 1 กรัม NaCl ผสมให้เข้ากัน นำไปตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge นาน 10 นาที ที่ 4,000 rpm (5 องศาเซลเซียส) จากนั้นทดสอบหาสารพิษแต่ละชนิด ดังนี้

3.3.1 ปิเปตสารละลายใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Eppendorf ขนาด 2 มิลลิลิตร (25 มิลลิกกรัม PSA และ 150 มิลลิกกรัม MgSO_4) ผสมให้เข้ากัน ตกตะกอน 5 นาที (6,000 rpm, 5 องศาเซลเซียส) ปิเปตปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลดปริมาตรเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate

(PR grade) ดูดใส่ vial ตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และกลุ่ม Carbamates และ Triazines เครื่อง GC-NPD

3.3.2 ปิเปตสารละลายไอโซปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำตามข้อ 2.3.3.1 ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) ดูดใส่ vial ตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Organochlorines, Pyrethroids, Triazoles, Chloroacetamides, Diphenyl ether, Oxadiazole และ Dinitroaniline ด้วยเครื่อง GC-ECD

3.4 ตัวอย่างสัตว์น้ำ (ปลายี่สก ปลาตะโกก ปลานวลจันทร์ ปลาตะเพียน ปลาสวาย และปลาแกง) สกัดด้วยวิธี Feei (2000) ชั่งปลา 10 กรัม ใส่ใน duran bottle ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 50 มิลลิลิตร acetonitrile homogenizer 1 นาที กรอง (no. 42) ใส่ suction flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ด้วย pump ปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย hexane ปิเปตสารสกัดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Organochlorines, Pyrethroids, Triazoles, Chloroacetamides, Diphenyl ether, Oxadiazole และ Dinitroaniline ด้วยเครื่อง GC-ECD ตัวอย่างที่เหลือปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลดปริมาตรเกือบแห้ง ปรับปริมาตรเป็น 0.5 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate ตรวจวิเคราะห์กลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และกลุ่ม Carbamates และ Triazines ด้วยเครื่อง GC-NPD

4. การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)

4.1 การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ (Human health risk assessment)

การประเมินความเสี่ยงสารประเภทสารไม่ก่อมะเร็ง (non-carcinogen) จากการรับสัมผัสน้ำตะกอน และบริโภคน้ำด้วยค่า Hazard quotient (HQ) เพื่อบ่งชี้ระดับความเป็นอันตรายของสารพิษ โดยคำนวณค่าจากสูตร Hazard quotient (HQ) (U.S. EPA, 2011) คือ $HQ = ADD/RfD$ เมื่อ ADD (average daily dose) คือ ปริมาณสารพิษเข้าสู่ร่างกายอย่างต่อเนื่อง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน), RfD (reference dose of the contaminant) คือ ปริมาณสารที่มนุษย์สามารถรับเข้าสู่ร่างกายได้ทุกวันโดยไม่ทำให้เกิดความผิดปกติใดๆ ต่อสุขภาพอนามัย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) โดย ADD คำนวณจาก

$$ADD (mg/kg \cdot day) = C_{medium} \times IR \times ED \times EF / BW \times AT$$

เมื่อ C (concentration) คือ ความเข้มข้นค่ากลางและสูงสุดสารพิษในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), IR (ingestion rate) คือ ปริมาณการรับสัมผัส (น้ำ ลิตรต่อวัน และตะกอน มิลลิกรัมต่อวัน) (มกอช., 2559), ED (exposure duration) คือ ระยะเวลาที่รับสัมผัส (ปี) (เด็ก 6 ปี ผู้ใหญ่ 30 ปี), EF (exposure frequency) คือ ความถี่ของการรับสัมผัส (วันต่อปี; 350/ปี), BW (body weight) คือ น้ำหนักของร่างกาย (กิโลกรัม) (เด็ก (child) อายุ 6 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 33.38 กิโลกรัม และผู้ใหญ่ (adult) อายุ 70 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 55.77 กิโลกรัม) (มกอช., 2559), CF (conversion factor) คือ ค่าคงที่คำนวณกลับในตะกอน (10^{-6} กิโลกรัมต่อมิลลิกรัม), AT (average time) คือ ระยะเวลาเฉลี่ยที่รับสัมผัสตลอดช่วงอายุ (วัน) (เด็ก 2,190 วัน ผู้ใหญ่ 10,950 วัน) การแปลผลจากค่าที่คำนวณได้ $HQ \leq 1$ คือ เป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (acceptable risk) $HQ > 1$ คือ มีความเสี่ยงต่อสุขภาพ (risk) สุดท้ายประเมินค่า HQ ที่คำนวณได้แต่ละสารรวมกันด้วยสูตร ดังนี้

$$HQ_s = \sum_{i=1}^n HQ_i$$

4.2 การประเมินความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (Ecotoxicological risk assessment)

ประเมินความเสี่ยงระยะยาวต่อสิ่งมีชีวิต three trophic levels ได้แก่ ปลา (fish) สาหร่าย (algae) และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (invertebrate) โดยค่าที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมอ้างอิงจากทฤษฎีและโมเดลการทดลองที่ทดสอบความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตจากกลุ่มประเทศยุโรป (European Chemicals Bureau [ECB], 2003; European Chemicals Agency [ECHA], 2008) โดยใช้ค่า Risk quotient (RQ) จากสูตร $RQ = MEC/PNEC$ เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (assessment factor เท่ากับ 10) ค่า $RQ < 1$ คือ ไม่มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (no immediate concern), $RQ = 1-10$ คือ มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมเล็กน้อย แต่หากมีการเพิ่มปริมาณสารพิษที่ใช้ ต้องคำนึงถึงความเสี่ยงมากขึ้น (of concern if supply volumes increase), $RQ = 10-100$ คือ มีความเสี่ยงต้องทำการลดความเสี่ยง (Further data require)

ระยะเวลา	เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567
สถานที่ทำการทดลอง	ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

ปี พ.ศ. 2565-2567 สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน ผักบุ้งและผักกระเฉด และปลา บริเวณลุ่มน้ำน่านและคลองแยกในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน จำนวน 27 จุด รวมทั้งหมด 289 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำ 155 ตัวอย่าง ตะกอน 110 ตัวอย่าง ผักบุ้งและผักกระเฉด 13 ตัวอย่าง และปลา 11 ตัวอย่าง น้ำ ตรวจพบสารพิษตกค้างจำนวน 135 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 87 สารพิษที่พบตกค้างสูงสุดเป็นสารกลุ่ม Phosphonoglycine ชนิด glyphosate ปริมาณ 18.80 ไมโครกรัมต่อลิตร ในช่วงฤดูฝน สารที่มีการตรวจพบจำนวนตัวอย่างที่สูงและบ่อยคือสารกลุ่ม Triazines ชนิด atrazine ปริมาณในช่วง 0.07-7.61 ไมโครกรัมต่อลิตร ตะกอน ตรวจพบสารพิษตกค้างจำนวน 19 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 17 สารพิษที่พบตกค้างสูงสุดเป็นสารชนิด glyphosate ปริมาณ 2.55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในช่วงฤดูแล้ง สำหรับผักบุ้งผักกระเฉด และปลา ไม่พบการตกค้าง ข้อมูลแสดงใน Table 1 สารที่ตรวจพบการตกค้างส่วนมากเป็นสารกำจัดวัชพืช เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการใช้สารในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน น้ำพบการตกค้างชนิดสารและปริมาณความเข้มข้นสูงในช่วงฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง คือ atrazine, acetochlor, glyphosate, oxadiazon และ ametryn ปริมาณ 4.70, 0.16, 18.80, 0.14 และ 0.10 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และตะกอน พบชนิดสารที่ตกค้าง คือ glyphosate, 2,4-D และ ametryn ปริมาณ 2.55, 0.43 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในช่วงฤดูแล้ง จากรายงานการประเมินผลกระทบของสารตกค้างในแม่น้ำเจ้าพระยาและท่าจีน น้ำ พบสารพิษตกค้างสูงสุดในช่วงฤดูฝนชนิดสาร atrazine และ ametryn ปริมาณ 0.60 และ 0.43 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเห็นว่าผลการตกค้างในช่วงฤดูฝนมีความสอดคล้องกัน (จันทิมา และคณะ, 2565) จากสถานการณ์ดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า เกษตรกรมีการใช้สารกำจัดวัชพืชปริมาณที่สูงในช่วงฤดูฝนที่เป็นช่วงฤดูการเพาะปลูก เพื่อควบคุมวัชพืชราก่อนงอก (pre-emergence) ในการปลูกพืชด้านเศรษฐกิจ ได้แก่ ข้าวโพดและอ้อย (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2555) เมื่อมีการพ่นสารลงไปแปลง ประกอบกับสภาพอากาศประเทศไทยมีฝนตกเป็นระยะทำให้สาร glyphosate, 2,4-D และ ametryn มีโอกาสถูกชะล้าง (leaching) ลงไปปนเปื้อนในแม่น้ำและตกค้างในตะกอนได้ ค่ามาตรฐานในน้ำดื่มที่ยอมให้มีได้ (Maximum Acceptable

Concentration, MAC) อ่างอิงประเทศออสเตรเลีย สาร atrazine, ametryn, glyphosate และ 2,4-D คือ 20, 70, 1,000 และ 30 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (NHMRC and NRMCC, 2022) ประเทศสหรัฐอเมริกา สาร acetochlor 20 ไมโครกรัมต่อลิตร (MDH, 2016) ประเทศนิวซีแลนด์ สาร oxadiazon 200 ไมโครกรัมต่อลิตร (Hamilton et al., 2003) และค่ามาตรฐานในดินที่ยอมให้มีได้สาร glyphosate และ 2,4-D คือ <65,590 และ <7,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2564)

Table 1 The pesticide residues detected in water and sediment samples of the Nan River in 2022-2024

Years	Samples	Total Sample each	Total Sample detected	Pesticides	Pesticide residues	
					Dry season	Rainy season
2022	Water	54	36	atrazine	0.07-0.21	0.07-4.70
			1	acetochlor	ND	0.16
			6	glyphosate	12.86	1.07-7.43
			1	oxadiazon	ND	0.14
	Sediment	39	8	glyphosate	ND	0.02-1.08
2023	Water	49	46	atrazine	0.07-0.22	0.07-3.87
			18	glyphosate	0.43-5.68	1.32-18.80
	Sediment	34	4	glyphosate	0.16-2.55	0.34
2024	Water	52	46	atrazine	0.07-0.22	0.12-7.61
			2	acetochlor	0.10-2.62	ND
			6	ametryn	ND	0.07-0.10
			4	oxadiazon	ND	0.05-0.25
	Sediment	37	6	2,4-D	0.38-0.43	ND
			1	ametryn	0.02	ND

Unit of concentration of pesticide residue in sample: water (µg/L) and sediment (mg/kg), ND: Not detected

2. ผลการประเมินความเสี่ยงของสารพิษตกค้าง

2.1 ความเสี่ยงต่อสุขภาพ (HQ) จากการประเมินความเสี่ยงในเด็กและผู้ใหญ่ได้ค่า HQ ของสาร glyphosate สูงสุด 5.24E-03 และ 4.14E-03 อย่างไรก็ตามเมื่อรวมทุกชนิดสารในแต่ละปีทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ พบว่าค่า HQ ต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด (เกณฑ์ $HQ \leq 1$) จึงสรุปได้ว่า การรับสัมผัสสารในน้ำและตะกอนในเด็กและผู้ใหญ่ เป็นความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (Acceptable Risk) ค่าปริมาณสารเคมีที่มนุษย์สามารถรับเข้าสู่ร่างกายได้ทุกวัน โดยไม่ทำให้เกิดความผิดปกติใดๆ ต่อสุขภาพ (RfD) 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (IRIS, 1987)

2.2 ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม (RQ) สารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำและตะกอนชนิด 2,4-D, acetochlor, ametryn, atrazine และ glyphosate ที่ความเข้มข้นสูงสุดมีค่า RQ_{max} อยู่ในช่วง 0.0014-0.90 มีระดับความเสี่ยงต่ำ ($RQ < 1$) แสดงว่า การใช้สารมีความเสี่ยงในระดับต่ำต่อสิ่งแวดล้อม และสาร oxadiazon ในน้ำ มีค่า RQ_{max} ในช่วง 1.59-2.84 อยู่ในช่วงระดับความเสี่ยงเล็กน้อย ($RQ = 1-10$) แสดงว่า การใช้สารชนิด oxadiazon มีความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมเล็กน้อย แต่หากมีการเพิ่มปริมาณที่ใช้ ต้องคำนึงถึงความเสี่ยงให้มากขึ้น ข้อมูลแสดงใน

Table 2 ค่าความเข้มข้นสูงสุดของสารเคมี ซึ่งให้ผลกระทบทางลบต่อสิ่งแวดล้อมต่อสิ่งมีชีวิตในระดับประชากร (No-observed effect concentration, NOEC) สาร 2,4-D, acetochlor, ametryn, atrazine และ glyphosate มีค่า 27.2, 0.13, 0.7, 2.0 และ 32 มิลลิกรัมต่อลิตร (PPDB, 2024)

Table 2 The evaluated hazard quotient and risk quotient in water and sediment sample
Nan River 2022-2024

Years	Samples	Pesticides	Hazard Quotient (HQ _i)		Risk Quotient (RQ _{max.})
			Child _{max.}	Adult _{max.}	
2022	Water	atrazine	3.00E-03	2.37E-03	0.02
		acetochlor	1.71E-04	1.35E-04	0.01
		glyphosate	4.34E-03	3.43E-03	0.01
		oxadiazon	6.00E-04	4.70E-04	1.59
	Sediment	glyphosate	6.21E-05	1.94E-05	0.34
	SUM		8.17E-03	6.43E-03	-
2023	Water	atrazine	2.51E-03	1.98E-03	0.02
		glyphosate	5.24E-03	4.14E-03	0.01
	Sediment	glyphosate	1.67E-04	5.18E-05	0.90
	SUM		7.91E-03	6.17E-03	-

Table 2 The evaluated hazard quotient and risk quotient in water and sediment sample
Nan River 2022-2024 (cont.)

Years	Samples	Pesticides	Hazard Quotient (HQ _i)		Risk Quotient (RQ _{max.})
			Child _{max.}	Adult _{max.}	
2024	Water	atrazine	4.79E-03	3.79E-03	0.04
		ametryn	2.38E-04	1.88E-04	0.0014
		oxadiazon	1.07E-03	8.45E-04	2.84
		acetochlor	2.80E-03	2.22E-03	0.20
	Sediment	ametryn	1.28E-05	3.98E-06	0.29
		2,4-D	8.24E-04	2.57E-04	0.16
	SUM		9.73E-03	7.30E-03	-

สรุปผลการทดลอง

1. การตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมลุ่มน้ำนานในปี พ.ศ.2565-2567 พบว่าสารที่ตรวจพบทั้งหมดเป็นสารกำจัดวัชพืช ตรวจพบการตกค้างบ่งชี้ในช่วงฤดูฝน ปริมาณที่ตรวจพบนั้นไม่เกินค่าสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่ม และเมื่อนำไปประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์ในระยะยาว พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้
2. ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมอยู่ในระดับเสี่ยงเล็กน้อย ซึ่งหากมีการเพิ่มปริมาณการใช้จะต้องคำนึงถึงความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้น
3. จากข้อมูลการตรวจวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมบริเวณเกษตรกรรมลุ่มน้ำนานของประเทศไทย แสดงให้เห็นถึงสถานการณ์การใช้สารกำจัดวัชพืชของเกษตรกรที่มีการใช้อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นควรมีการเฝ้าระวัง ติดตาม ตรวจสอบ และประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารควบคุมกันไปอย่างต่อเนื่องเช่นกัน เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและคาดการณ์อันตรายที่อาจเกิดขึ้นทั้งต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อม รวมถึงการบริหาร และจัดการความเสี่ยงอันเกิดจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชบริเวณลุ่มน้ำนานต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เป็นข้อมูลเพื่อให้ทราบถึงการแพร่กระจาย การปนเปื้อน การตกค้าง และการสะสมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ รวมถึงเฝ้าระวังและคาดการณ์อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้สารที่มีผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมในระยะยาว
2. เผยแพร่ข้อมูลที่ได้สู่สาธารณชน และหน่วยงานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนผู้ที่สนใจทั่วไป

เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษ. 2558. อนุสัญญาสตอกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษที่ตกค้างยาวนาน Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs). 127 หน้า.
- กรมชลประทาน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2546. รายงานสถานภาพลุ่มน้ำ 25 ลุ่มน้ำ ลุ่มน้ำนาน. 100 หน้า
- จันทิมา ผลกอง มลิสสา เวชยานนท์ อำนาจ กะจันเทศ และประกิจ จันทรดี. 2565. ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2564 เล่ม 2. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2564. กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. แหล่งข้อมูล: <http://www.pcd.go.th/laws/25162/> สืบค้น: 3 ตุลาคม 2567
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2567. วัตถุอันตราย. แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/ard/?page_id=386. สืบค้น: 2 ตุลาคม 2567
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย. แหล่งข้อมูล: http://www.acfs.go.th/files/files/attach-files/867_20190606145951_625162.pdf. สืบค้น: 18 ตุลาคม 2567
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2555. คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2554. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.
- Anastassiades, M., S. J. Lehotay, D. Staibaher, and F. J. Schenck. 2003. Fast and Easy Multiresidues employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and Dispersive Solid-Phase

- Extraction for Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International* 86 (2): 412-431.
- Association of Official Analysis Chemists. 2016a. Organochlorine Pesticides in Water, Gas Chromatographic Method. AOAC Method 990.06. AOAC International, Washington DC.
- Association of Official Analysis Chemists. 2016b. Organophosphorus Pesticide. General Multiresidue Method. AOAC Method 970.52. AOAC International, Washington DC.
- Centre for Chemical Pesticides. 2012. Pesticide Run-off to Swedish Surface Waters and Appropriate Mitigation Strategies. Available at: <http://www.slu.se/en/Collaborative-Centres-and-Projects/SLU-centre-for-pesticides-in-the-environment/information-about-pesticides-in-the-environment-/pesticide-spread-in-the-environment/>. Assessed: October 2, 2024.
- Environmental Protection Agency. 1994. Organophosphorus Compound by Gas Chromatography Capillary Column Technique. U.S. EPA. Office of Research and Development, Washington DC.
- European Chemicals Agency. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment chapter R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment. Available at: http://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69. Assessed: October 18, 2024.
- European Chemicals Bureau. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for notified substances. Available at: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/212940b8-3e55-43f8-8448-ba258d0374bb>. Assessed: September 26, 2024.
- Feei, S., L. Feng-Yi., W. Sue-Sun, and L. Gwo-Chen. 2000. Determination of Organochlorine and Nitrogen-Containing Pesticide Residues in Fish with Different Fat Content. *Food and Drug Analysis* 8 (2): 103-111.
- Food and Agriculture Organization. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. Available at: http://www.fao.org/agriculture/crops/publications/detail/en/item/430110/icode/?no_cache=1. Assessed: October 2, 2024.
- Hamilton, D.J., Á. Ambrus, R. M. Dieterle, A. S. Felsot, C. A. Harris, P. T. Holland, A. Katayama, N. Kurihara, J. Linders, J. Unsworth and S.-S. Wong. 2003. Regulatory Limits for Pesticide Residues in Water (IUPAC Technical report). *Pure and Applied Chemistry* 75: 1123-1155.
- Hammami, B., M. Bahri, S. B. Hassine, and M. R. Driss. 2017. Development of Liquid Chromatography Separation and a Solid-Phase Extraction method for Phenoxy Alkanoic Acid Herbicides in Water. *Modern Chemistry & Applications* 5: 1-8.
- Integrated Risk Information System. 1987. Glyphosate. Available at: http://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nmbr=57. Assessed: October 2, 2024.
- Miles, C. J., L. R. Wallace, and H. A. Moye. 1986. Determination of Glyphosate Herbicide and Aminomethyl phosphonic acid in Natural Waters by Liquid Chromatography Using Pre-

- Column Fluorogenic Labeling with 9-Fluorenylmethyl *Chloroformate*. *The Association of the Official Analytical Chemists* 69: 458-461.
- Minnesota Department of Health. 2016. Acetochlor and Drinking Water. Available at: <http://www.health.state.mn.us/communities/environment/risk/docs/guidance/gw/aceto chlorinfo.pdf>. Assessed: October 2, 2024.
- National Health and Medical Research Council and National Resource Management Ministerial Council. 2022. Australian Drinking Water Guidelines 6 version 3.8. National Water Quality Management Strategy. Available at: <https://www.nhmrc.gov.au/about-us/publications/australian-drinking-water-guidelines#block-views-block-file-attachments-content-block-1>. Assessed: March 24, 2024.
- Pesticide Properties Data Base. 2024. 2,4-D. Available at: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>. Assessed: October 2, 2024.
- Robinson, N. J. 2006. Paraquat: Residue Method for the Determination of Paraquat Dichloride as Paraquat cation in Soil (GRM012.04A). Jealott's Hill International Research Centre, UK.
- Sun, L., D. Kong, D. Gu, X. Guo, W. Tao, Z. Shan, Y. Wang, and N. Wang. 2017. Determination of glyphosate in soil/sludge by high performance liquid chromatography. *Chromatography A* 1502: 8-13.
- Sutherland, D. J., G. K. Stearman, and M. J. M. Wells. 2003. Development of an Analytical Scheme for Simazine and 2,4-D in soil and Water Runoff from Ornamental Plant Nursery Plots. *Agriculture and Food Chemistry* 51: 14-20.
- Thorstensen, W. C., O. Lode, and A. L. Christiansen. 2000. Development of a Solid-Phase Extraction Method for Phenoxy Acids and Bentazone in water and Comparison to Liquid-Liquid Extraction Method. *Agriculture and Food Chemistry* 48: 5829-5833.
- United State Environmental Protection Agency. 2011. Exposure Factors Handbook 2011 Edition (Final Report). U.S. EPA. Office of Research and Development, Washington DC.
- United State Environmental Protection Agency. 2023a. Surface Water Sampling. Available at: http://www.epa.gov/sites/default/files/201707/documents/surface_water_sampling201_af.r4.pdf. Assessed: October 2, 2024.
- United State Environmental Protection Agency. 2023b. Sediment Sampling. Available at: <http://www.epa.gov/sites/default/files/2015-06/documents/Sediment-Sampling.pdf>. Assessed: October 2, 2024.

ภาคผนวก



Figure 1 Sampling sites of Nan River Basin

การสำรวจสารพิษตกค้างในหน่อไม้ฝรั่ง และคื่นฉ่าย จากแหล่งผลิต
พื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี

Monitoring Pesticide Residues in Asparagus and Celery from Plantations
Areas in Kanchanaburi, Nakhon Pathom and Suphanburi Provinces

ณัฐภาพัสย์ เทสลิริ
Nattapat Tessiri

วิชุดา ควรหัตร์
Wichuta Kuanhut

วีระสิงห์ แสงวรรณ
Weerasing Saengwan

กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Monitoring pesticide residues in asparagus and celery, from plantations areas in Kanchanaburi, Nakhon Pathom, and Suphanburi provinces. To assess the risk of consumption, the food safety and to monitor and follow up after the use of pesticides by farmers. Asparagus and celery samples were randomly collected from farmer plots and distribution sources in provinces during the winter, summer, and rainy seasons between October 2023 and July 2024, Total of 240 samples, were divided into 120 asparagus samples and 120 celery samples. The randomly collected samples. Tested for pesticide residues. Analyzed by using the liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) technique. The results of the method verification found that the relationship between the concentrations of the analytical (Linearity) in the concentration range of 0.01-0.50 mg/kg had a correlation coefficient of $R^2 > 0.995$. The percentage recovery was in the standard range of 70-120 percent. The analysis results found that when comparing the number of substances detected with the MRL values from all 4 groups of countries (Thailand, Codex, EU and Japan), asparagus had 12 types of residues in 28 samples, accounting for 23 percent, and the highest residue type was diuron, with a concentration range of 0.01-0.44 mg/kg. When considering the season, the highest residues were found in the summer and none in the rainy season. Celery had 9 types of residues found in 68 samples, accounting for 57 percent, with Thiamethoxam being the highest residue type, with a concentration range of 0.01-1.30 mg/kg, with the highest residues in the summer. When considering the risk of consumption in children and adults in the short-term consumption case (International Estimated of Short-Term Intake: IESTI) and daily consumption, (International Estimated Daily Intake: IEDI) found that the Acute Reference Dose (ARfD) of asparagus was 0-50 percent and celery was 0-40 percent, which is < 100 . Therefore, it means that the detected pesticide residues do not pose a risk to consumers.

Keywords: Monitoring; Pesticide residues; Asparagus; Celery

บทคัดย่อ

การสำรวจสารพิษตกค้างในหน่อไม้ฝรั่ง (Asparagus) และ คื่นฉ่ายหรือขึ้นฉ่าย (Celery) จากแหล่งผลิตพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี เพื่อประเมินความเสี่ยงภัยต่อการบริโภค ความปลอดภัยทางด้านอาหาร และเฝ้าระวัง ติดตามหลังจากการใช้ของเกษตรกร โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่ายจากแปลงเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายจากเกษตรกรผู้ผลิตในจังหวัดดังกล่าว ช่วงฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน ระหว่างเดือนตุลาคม 2566 ถึง เดือนกันยายน 2567 รวมทั้งสิ้น 240 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นหน่อไม้ฝรั่ง 120 ตัวอย่างและขึ้นฉ่าย 120 ตัวอย่าง และนำไปตรวจสอบสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค Liquid chromatograph tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) โดยผลการทวนสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method verification) พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของผลการตรวจวิเคราะห์ (Linearity) ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.50 มก./กก. ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R^2 \geq 0.995$ ค่าเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (%recovery) อยู่ในช่วงเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 70-120 ดังนั้น ผลการวิเคราะห์ พบว่า เมื่อนำปริมาณสารที่ตรวจพบเทียบกับค่า MRL จากทั้ง 4 กลุ่มประเทศ (Thai, Codex, EU และ Japan) หน่อไม้ฝรั่งตรวจพบสารพิษตกค้างทั้งหมดมี 12 ชนิด จำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23 และพบชนิดสารตกค้างจำนวนมากที่สุดคือ diuron ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.44 มก./กก. โดยถ้าพิจารณาตามฤดูกาลพบสารพิษตกค้างมากในช่วงฤดูร้อนและไม่พบเลยในช่วงฤดูฝน ส่วนขึ้นฉ่ายตรวจพบสารพิษตกค้างจำนวน 9 ชนิด 68 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 57 พบ Thiamethoxam เป็นชนิดสารตกค้างจำนวนมากที่สุดช่วงความเข้มข้น 0.01-1.30 มก./กก. ซึ่งสารพิษตกค้างมากในช่วงฤดูร้อน ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาถึงความเสี่ยงต่อการบริโภคในเด็กและผู้ใหญ่ กรณีบริโภคระยะสั้นและการบริโภคต่อวัน พบว่า ค่าความเสี่ยงอันตรายแบบเฉียบพลัน (Acute Reference Dose : ARfD) ของหน่อไม้ฝรั่งได้ร้อยละ 0-50 และขึ้นฉ่ายได้ร้อยละ 0-40 ซึ่งค่า <100% ดังนั้น หมายความว่า สารพิษตกค้างที่ตรวจพบอยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่ำต่อผู้บริโภค

คำสำคัญ: การสำรวจ; สารพิษตกค้าง; หน่อไม้ฝรั่ง; ขึ้นฉ่าย

บทนำ

หน่อไม้ฝรั่ง และขึ้นฉ่าย เป็นผักกลุ่มที่บริโภคลำต้นและก้าน (stalk and stem vegetable) (มกษ.9045-2016) ซึ่งหน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชที่มีการส่งออกเป็นหลักปี 2567 ส่งออก 335.66 ล้านบาท (กระทรวงพาณิชย์, 2567) ส่วนขึ้นฉ่ายใช้บริโภคในประเทศและส่งออกในรูปผักแช่แข็ง และเมล็ดพันธุ์ การตรวจสอบปริมาณสารพิษตกค้างโดยการสำรวจสารพิษตกค้างในหน่อไม้ฝรั่ง และขึ้นฉ่าย จากแหล่งผลิตในพื้นที่ที่มีปริมาณการปลูกมากของประเทศ ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี (Agriinfo.DOAE, 2562) จึงเป็นการเลือกตัวแทนมาตรวจวิเคราะห์ครอบคลุมตัวแทนพืชนั้นในเขตภาคกลาง ประกอบกับวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ทันสมัยตามวิธี Modified QuEChERS และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) ซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ได้มีความแม่นยำและน่าเชื่อถือ จึงสามารถนำผลการวิเคราะห์ที่ได้ไปใช้ประโยชน์โดยนำข้อมูล การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกร ไปเป็นแนวทางการแก้ไขปัญหา สารพิษตกค้างในผลผลิตพืช รวมทั้งมีรายงานข้อมูลชนิดและปริมาณสารพิษตกค้าง สำหรับเป็นข้อมูลความเสี่ยงภัยต่อการบริโภค ความปลอดภัยทางด้านอาหารในหน่อไม้ฝรั่ง และขึ้นฉ่าย ที่มาจากแหล่งผลิตและตัวแทนจำหน่าย ไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRL ของประเทศต่อไปได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ขวดปรับปริมาตร , ปีกเกอร์ , กระบอกตวง , แ่งแก้ว ขวดใส่สารตัวอย่าง (Vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร Auto pipette ที่ผ่านการสอบเทียบ ขนาด 20, 100, 200, 1000 ไมโครลิตร เครื่องชั่งละเอียด 4 และ 2 ตำแหน่ง, ไซริงค์ฟิลเตอร์ PTFE ขนาด 0.2 ไมครอน เครื่อง Centrifuge, vortex mixture, เครื่อง Liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC-MS/MS)

2. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐาน 32 สาร, 52 สาร, 129 สาร, Acetonitrile (CH_3CN) ชนิด HPLC grade, Magnesium sulfate (MgSO_4), Sodium chloride (NaCl), tri-Sodium citrate dihydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Sodium hydrogen citrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), Graphitized carbon black (GCB), Primary-secondary- amine (PSA)

3. น้ำปราศจากไอออน ตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่ง และ ขึ้นฉ่าย

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล แหล่งเพาะปลูกหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่าย ในเขตพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และ สุพรรณบุรี

การสืบค้นหาแหล่งแปลงปลูกทำด้วยกันหลายวิธี โดยหาจากการสอบถาม จากในพื้นที่ และจากสื่อทางเว็บไซต์ รวมทั้งประสานโดยตรงกับแหล่งรวบรวมจำหน่าย ผู้ส่งออก เป็นต้น ปรากฏดังภาพที่ 1 และ 2



Figure 1 The sampling of asparagus samples from different areas.

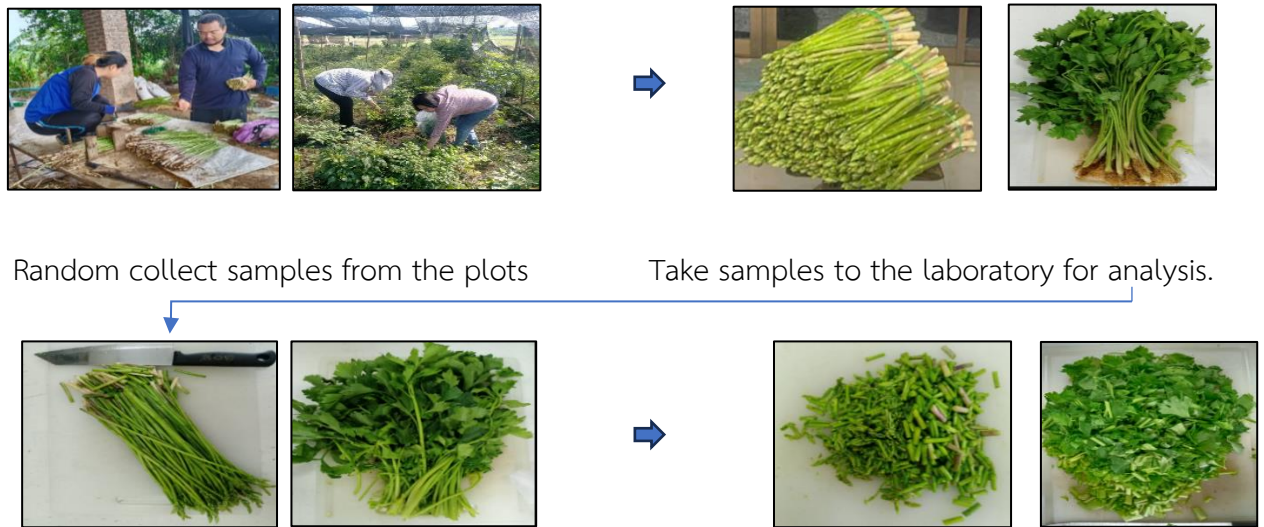


Figure 2 The sampling of celery samples from different areas.

2. วางแผนการเก็บตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่าย ในเขตพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี จากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่าย

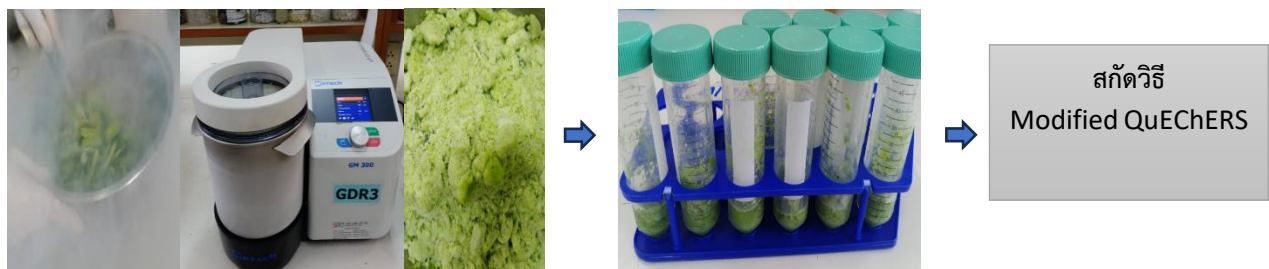
โดยทำการเก็บตัวอย่างดังกล่าวใน 3 ฤดูกาล ได้แก่ ฤดูหนาว (14 พฤศจิกายน 2566- 20 กุมภาพันธ์ 2567), ฤดูร้อน (21 กุมภาพันธ์ – 19 พฤษภาคม 2567) และฤดูฝน (20 พฤษภาคม 2567) เฉลี่ยฤดูกาลพืชละ 40 ตัวอย่าง รวม 240 ตัวอย่าง

3. Sample preparation and extraction of pesticide residues in asparagus and celery samples



Cut off the part of the root that has soil attached.
(TACFS.9025-2008)

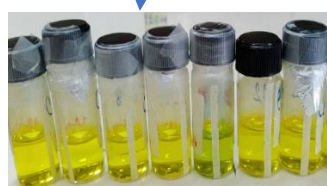
Cut the sample into small pieces.



(2008.QuEChERS EN 15662)

The sample is mixed with liquid nitrogen and blended until homogeneous.

The sample is 10 g in a Centrifuge tube.



Asparagus and celery extract



Analysis by machine Liquid Chromatography
Mass Spectrometer (LC-MS/MS)

ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2566 - กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง สถานที่สุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัด กาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี
ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการสำรวจสารพิษตกค้างในหน่อไม้ฝรั่ง และขึ้นฉ่าย จากแหล่งผลิตพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่ายจากแปลงเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายจากเกษตรกร ผู้ผลิต บริเวณจังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2566 ถึง เดือนกันยายน 2567 รวมทั้งสิ้น 240 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นหน่อไม้ฝรั่ง 120 ตัวอย่างและขึ้นฉ่าย 120 ตัวอย่าง ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ ปรากฏตามตารางที่ 1 และ 2

โดยผลจากตารางที่ 1 เมื่อนำปริมาณสารที่ตรวจพบเทียบกับค่า MRL จากทั้ง 4 กลุ่มประเทศ (Thai, Codex, EU และJapan) พบว่า ชนิดสารที่ตรวจพบในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งมี 12 ชนิด จำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23 ซึ่งสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างบางชนิดไม่ได้มีการกำหนดค่า MRL ทั้ง Thai (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559; Codex, 2024; EU, 2024; Japan, 2024) และตาม มาตรฐานสินค้าเกษตรปริมาณสารพิษตกค้างที่มีได้ในสินค้าเกษตรสำหรับวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ไม่ได้กำหนดค่า ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดไว้ ปริมาณสารพิษตกค้างจะมีค่าไม่เกินค่า default limit คือ 0.01 mg/kg และเมื่อ พิจารณาพบว่า ชนิดสารพิษตกค้างที่พบมากที่สุดที่หน่อไม้ฝรั่งคือ Diuron ปรากฏตามภาพที่ 3 และพิจารณาจาก คุณสมบัติของกลไกการออกฤทธิ์ พบว่า เกษตรกรมีการใช้สารฆ่าแมลง และสารป้องกันเชื้อรา ดังนี้

- สารฆ่าแมลง(Insecticides) ได้แก่ acetamiprid, buprofezin, chlorantraniliprole, clothianidin, imidacloprid, omethoate, thiamethoxam
- สารกำจัดวัชพืช (Herbicides) เช่น diuron
- สารป้องกันเชื้อรา (Fungicides) ได้แก่ difenoconazole, metalaxyl, prochloraz, propiconazole

Table 1 The results of the analysis of pesticide residues in asparagus compared to the MRL

ชนิดสาร ที่ตรวจพบ	จังหวัด	ผลการ วิเคราะห์ (mg/kg)	R ²	%Recovery			ค่า MRL ของหน่วยงานต่างๆ (mg/kg)				
				ความเข้มข้น (mg/kg)							
				0.01	0.10	0.20	Thai	Codex	Eu	Japan	
Acetamidipid [2]	นครปฐม [1] กาญจนบุรี [1]	0.06	0.01	0.99562	101	80	83	-	0.80	0.80	0.50
Buprofezin	กาญจนบุรี [1]	0.03	0.99619	95	80	83	83	-	-	0.01	-
Chlorantraniliprole	นครปฐม [1]	0.02	0.99982	119	102	111	111	-	-	0.01	0.10
Clothianidin	กาญจนบุรี [2]	0.01	0.99970	83	89	90	90	-	-	0.01	0.70
Difenoconazole	นครปฐม [1]	0.03	0.99945	76	115	105	105	-	0.03	0.05	0.50
Diuron [17]	กาญจนบุรี [6] นครปฐม [4] สุพรรณบุรี [7]	0.44	0.01	0.99715	73	88	92	-	-	0.01	0.05
Imidacloprid [9]	สุพรรณบุรี [4] นครปฐม [2] กาญจนบุรี [3]	0.74	0.01	0.99864	90	85	85	-	-	0.01	0.70
Metalaxyl	นครปฐม [3]	0.22	0.01	0.99760	96	80	83	-	-	0.02	0.20
Omethoale	นครปฐม [1]	0.01	0.99563	92	76	77	77	-	-	0.01	1.00
Prochloraz	นครปฐม [4]	0.13	0.01	0.99928	85	105	103	-	-	0.03	-
Propiconazole	นครปฐม [2]	0.07	0.06	0.99851	101	93	91	-	-	0.01	0.05
Thiamethoxam	กาญจนบุรี [2]	0.01	0.99667	97	76	87	87	-	-	0.01	0.10

AMOUNT OF ASPARAGUS PLANTS FOUND TO HAVE PESTICIDE RESIDUES

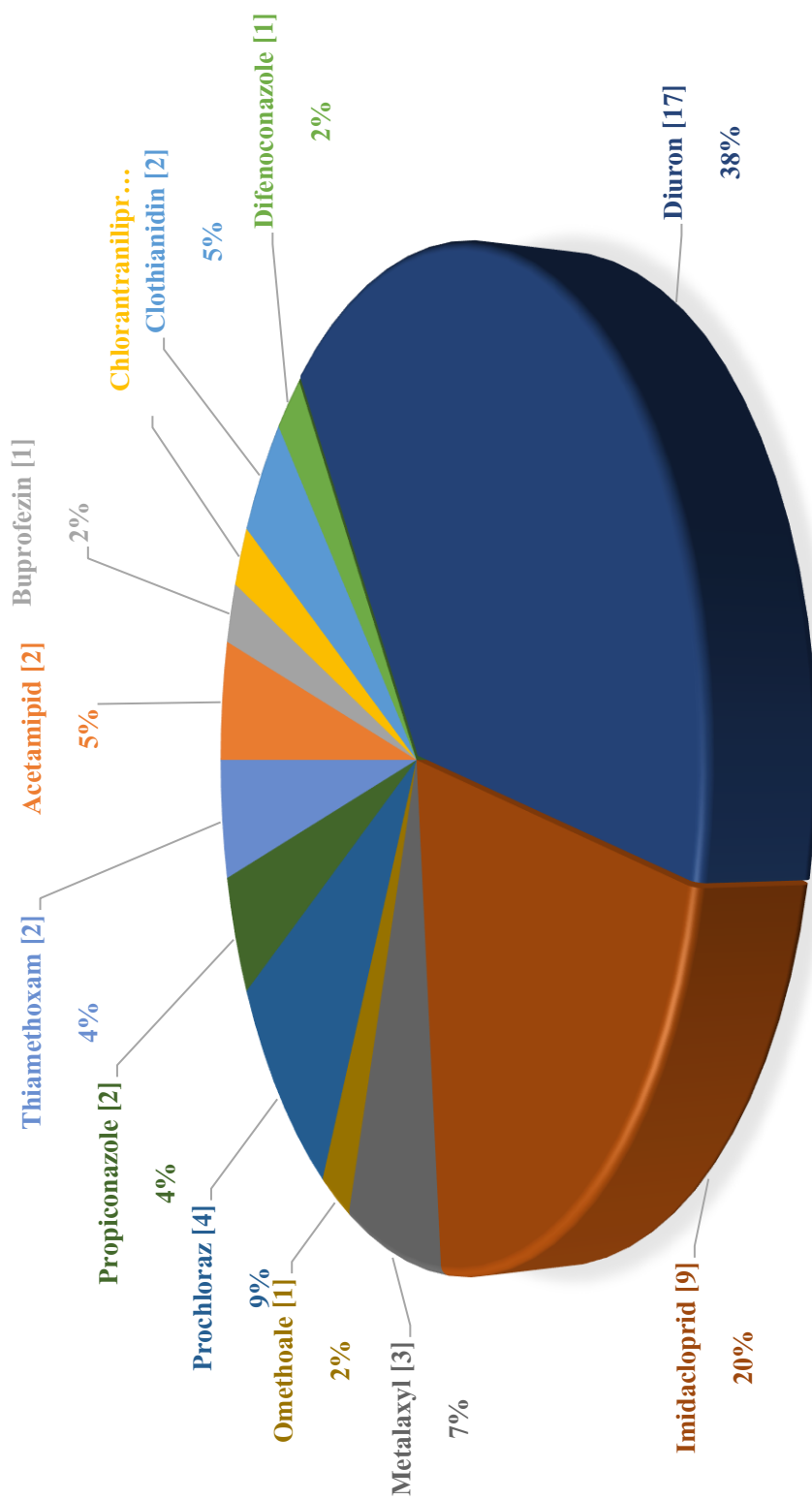


Figure 3 The comparison of pesticide residues from sampling of asparagus

Table 2 The results of the analysis of pesticide residues in celery compared to the MRL

ชนิดสาร	จังหวัด	ผลการ วิเคราะห์	R ²	%Recovery ความเข้มข้น (mg/kg)				ค่า MRL ของหน่วยงานต่างๆ				
				0.01	0.20	Thai	Codex	Eu	Japan			
ที่ตรวจพบ												
Alachlor [13]	นครปฐม	[8]	0.09	-	0.01	0.99798	72	74	-	-	0.05	-
	สุพรรณบุรี	[5]										
Acetochlor	สุพรรณบุรี	[5]	0.03	-	0.01	0.99960	105	95	-	-	0.05	-
Ametryn	นครปฐม	[1]	0.01			0.99887	105	95	-	-	-	-
	สุพรรณบุรี	[6]	0.20	-	0.01	0.99593	98	91	-	5.00	0.3	30.00
Azoxystrobin [14]	กาญจนบุรี	[6]										
	นครปฐม	[1]										
Carbaryl	กาญจนบุรี	[4]	4.24	-	3.36	0.99900	99	98	-	-	0.02	-
Clothianidin [25]	สุพรรณบุรี	[14]	0.09	-	0.01	0.99822	82	89	-	0.04	0.05	10.00
	กาญจนบุรี	[11]										
Omethoate	นครปฐม	[3]	0.03	-	0.01	0.99608	91	80	-	-	0.05	1.00
Propanil	กาญจนบุรี	[11]	0.03	-	0.01	0.99862	92	88	-	-	0.05	-
Thiamethoxam												
[36]	สุพรรณบุรี	[18]	1.30	-	0.01	0.99767	91	98	-	1.00	0.05	1.00
	กาญจนบุรี	[18]										

จากตารางที่ 2 เมื่อนำปริมาณสารที่ตรวจพบเทียบกับค่า MRL จากทั้ง 4 กลุ่มประเทศ (Thai, Codex, EU และ Japan) พบว่า ชนิดสารที่ตรวจพบในตัวอย่างขึ้นฉ่าย ทั้งหมดมี 9 ชนิด จำนวน 68 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 57 ซึ่งสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างบางชนิดไม่ได้มีการกำหนดค่า MRL ทั้ง Thai, Codex, EU, Japan และตามมาตรฐานสินค้าเกษตรปริมาณสารพิษตกค้างที่มีได้ในสินค้าเกษตรสำหรับวัตถุดิบทางการเกษตรที่ไม่ได้กำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดไว้ ปริมาณสารพิษตกค้างจะมีค่าไม่เกินค่า default limit คือ 0.01 mg/kg และเมื่อพิจารณาชนิดสารพิษตกค้างที่พบมากที่สุดในขึ้นฉ่าย คือ thiamethoxam ปรากฏตามภาพที่ 4 และพบว่า เกษตรกรมีการใช้สารฆ่าแมลง และสารกำจัดวัชพืช ดังนี้

- สารฆ่าแมลง(Insecticides) ได้แก่ carbaryl, clothianidin, omethoate, thiamethoxam
- สารกำจัดวัชพืช (Herbicides) ได้แก่ alachlor, acetochlor, ametryn, propanil
- สารป้องกันเชื้อรา (Fungicides) เช่น azoxystrobin

AMOUNT OF CELERY PLANTS FOUND TO HAVE PESTICIDE RESIDUES

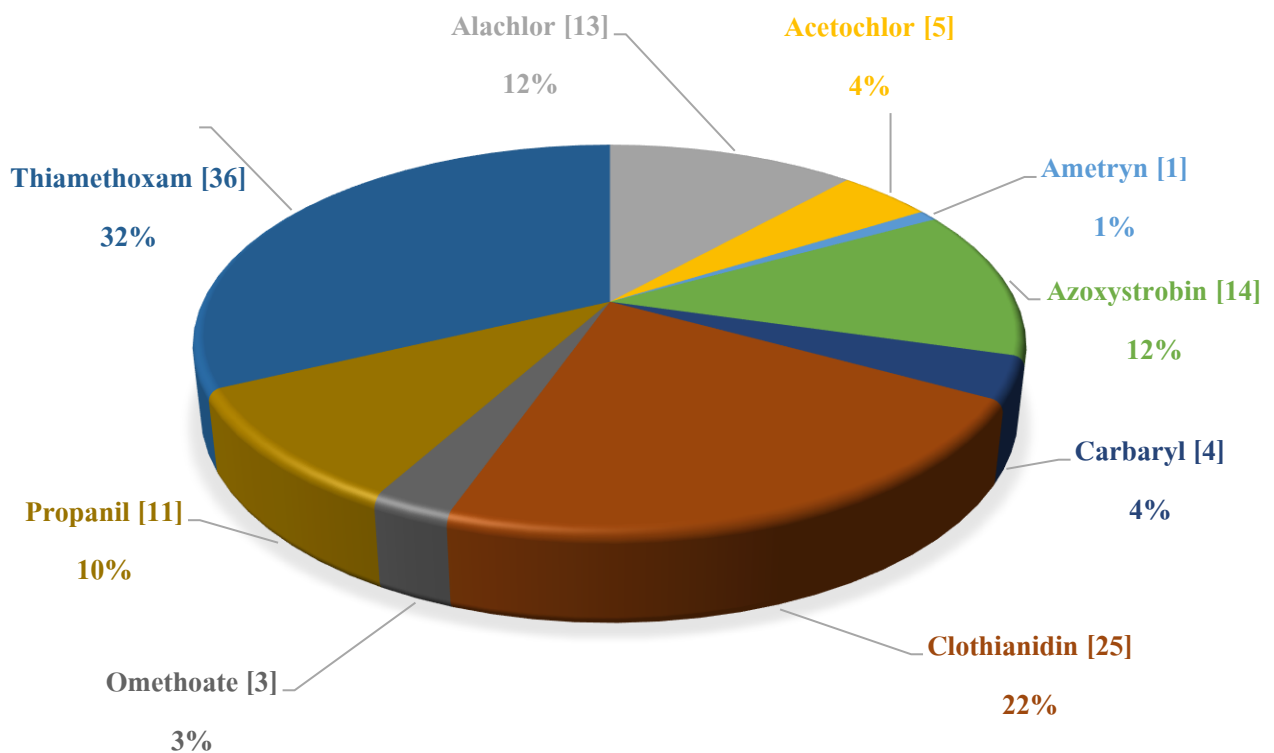


Figure 4 The comparison of pesticide residues from sampling of celery

จากภาพที่ 3 และ 4 เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของสารพิษตกค้างในแต่ละตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่ง และ ขึ้นฉ่าย เฉลี่ยเก็บ 40 ตัวอย่างต่อฤดูกาลต่อพืช ในจังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี พบว่าฤดูกาลมีผลต่อการใช้สารพิษ โดยฤดูร้อนหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่าย มีการใช้สารพิษตกค้างมากที่สุดที่ 22 ตัวอย่าง 36 สารพิษตกค้าง และ 25 ตัวอย่าง 53 สารพิษตกค้าง ตามลำดับ และพบว่าช่วงฤดูฝนไม่พบสารพิษตกค้างในหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนขึ้นฉ่ายพบปริมาณสารพิษตกค้างน้อยสุดในช่วงฤดูหนาว 9 ตัวอย่าง 9 ชนิดสาร ปรากฏตามภาพที่ 5

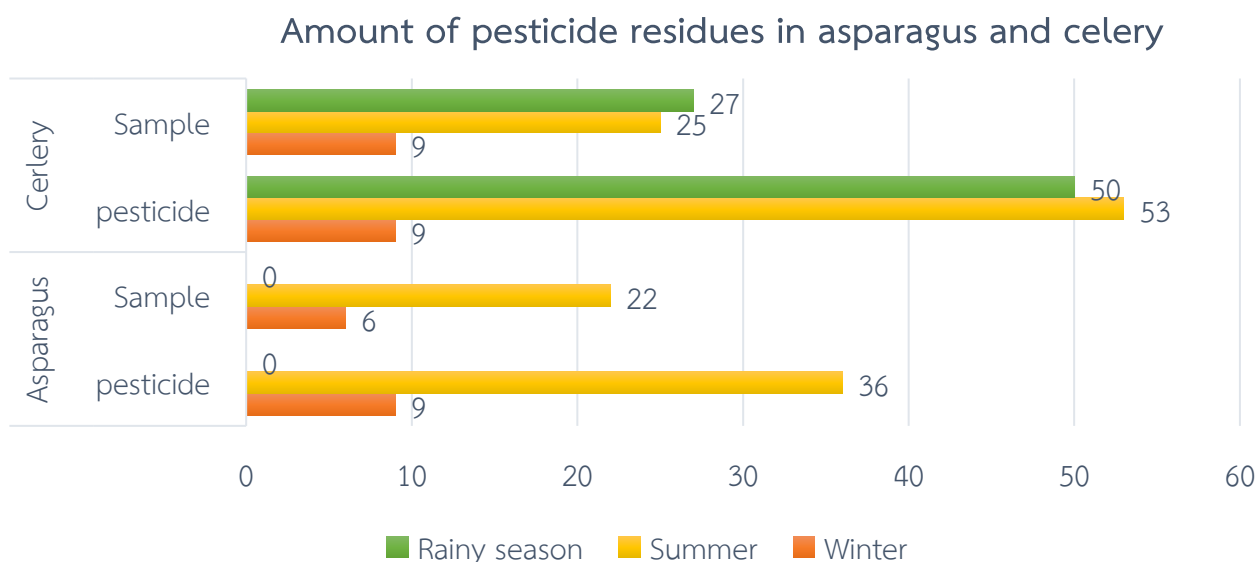


Figure 5 The comparison of pesticide residues from sampling of asparagus and celery in different seasons

ผลจากการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในหน่อไม้ฝรั่ง และขึ้นฉ่าย เมื่อนำมาพิจารณาความเสี่ยงต่อการบริโภคในเด็กและผู้ใหญ่ พบว่า ในหน่อไม้ฝรั่ง buprofezin, clothianidin, difenoconazole, propiconazole, thiamethoxam ปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง 0.03-0.07 ค่าเกิน EU-MRL และ default limit แต่ไม่พบความเสี่ยงต่อการบริโภค ส่วน acetamiprid, chlorantraniliprole, diuron, imidacloprid, metalaxyl, omethoale, prochloraz ปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง 0.01-0.74 กรณีนี้พิจารณาการบริโภคระยะสั้น (International Estimated of Short-Term Intake: IESTI) และการบริโภคต่อวัน(International Estimated Daily Intake: IEDI) พบว่า ค่าความเสี่ยงอันตรายแบบเฉียบพลัน (Acute Reference Dose : ARfD) ของหน่อไม้ฝรั่งได้ร้อยละ 0-50 และขึ้นฉ่ายได้ร้อยละ 0-40 ซึ่งค่า <100 แสดงว่าไม่มีความเสี่ยงต่อการบริโภค ส่วนการเสี่ยงอันตรายระยะยาว (Acceptable Daily Intake : ADI) ของหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่ายไม่พบความเสี่ยง ดังนั้น หมายความว่า สารพิษตกค้างที่ตรวจพบไม่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อผู้บริโภค ผลตามตารางที่ 3 และตารางที่ 4 ดังนี้

Table 3 The results of the risk analysis on asparagus consumption.

Pesticides	Risk assessment of Asparagus						
	International Estimated Daily Intake			International Estimated of Short Term Intake			
	STMR	ADI	%ADI	HR	ARfD	% ARfD rounded [mg kg ⁻¹ bw day ⁻¹]	
	[mg/kg]	[mg kg ⁻¹ bw day ⁻¹]		[mg/kg]	[mg kg ⁻¹ bw day ⁻¹]	Adults	Children
Acetamiprid	0.04	0.070	0	0.06	0.100	0	1
Chlorantraniliprole	0.02	2.000	0	0.02	Unnecessary	Unnecessary	Unnecessary
Diuron	0.02	0.007	0	0.44	0.016	10 - 20	30 - 50
Imidacloprid	0.18	0.060	0	0.74	0.400	1	2 - 4
Metaxyl	0.20	0.080	0	0.22	0.500	0	1
Omethoale	0.01	0.0004	0	0.01	0.002	2 - 3	4 - 8
Prochloraz	0.08	0.020	0	0.13	0.200	0	1
						0	0

Table 4 The results of the risk analysis on celery consumption.

Pesticides	Risk assessment of Celery							
	International Estimated Daily Intake			International Estimated of Short Term Intake				
	STMR	ADI	%ADI	HR	ARfD	% ARfD rounded [mg kg ⁻¹ bw day ⁻¹]		
	[mg/kg]	[mg kg ⁻¹ bw day ⁻¹]		[mg/kg]	[mg kg ⁻¹ bw day ⁻¹]	Adults	Children	Women
Ametryn	0.01	N/A	0	0.01	N/A	N/A	N/A	N/A
Azoxystrobin	0.13	0.0200	0	0.20	Unnecessary	Unnecessary	Unnecessary	Unnecessary
Carbaryl	3.82	0.0080	6	4.24	0.2000	9 - 10	20 - 40	9 - 10
Omethoate	0.02	0.0004	1	0.03	0.0020	6 - 10	10 - 30	6 - 10
Propanil	0.02	0.0200	0	0.03	0.0700	0	1	0
Thiamethoxam	0.12	0.0800	0	1.30	1.0000	1	1 - 3	1

สรุปผลการทดลอง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่าย จากแหล่งผลิตพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และ สุพรรณบุรี พบว่า การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Liquid chromatograph tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของผลการตรวจวิเคราะห์ (Linearity) ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.50 มก./กก. ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R^2 \geq 0.995$ ค่าเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (%recovery) อยู่ในช่วงเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 70-120 ผลการวิเคราะห์ พบว่า หน่อไม้ฝรั่งตรวจพบสารพิษตกค้างเกินค่า MRL จำนวน 12 ชนิด 28 ตัวอย่าง และชนิดสารตกค้างจำนวนมากที่สุดคือ diuron ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.44 มก./กก. และถ้าพิจารณาตามฤดูกาลพบสารพิษตกค้างมากในช่วงฤดูร้อน และไม่พบเลยในช่วงฤดูฝน ส่วนขึ้นฉ่ายตรวจพบสารพิษตกค้างจำนวน 9 ชนิด 68 ตัวอย่าง โดยพบ Thiamethoxam เป็นชนิดสารตกค้างจำนวนมากที่สุดช่วงความเข้มข้น 0.01-1.30 มก./กก. และพบสารพิษตกค้างมากในช่วงฤดูร้อน ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาถึงความเสี่ยงต่อการบริโภคในเด็กและผู้ใหญ่ กรณีบริโภคระยะสั้นและการบริโภคต่อวัน พบว่า ค่าความเสี่ยงอันตรายแบบเฉียบพลัน (Acute Reference Dose : ARfD) ของหน่อไม้ฝรั่งได้ร้อยละ 0-50 และขึ้นฉ่ายได้ร้อยละ 0-40 ซึ่งค่า <100% ดังนั้นหมายความว่า สารพิษตกค้างที่ตรวจพบอยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่ำต่อผู้บริโภค

การนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยทำให้ทราบแนวทางการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ของเกษตรกรในหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่าย และสามารถนำไปแก้ไขปัญหาระบาดพิษตกค้างในผลผลิตหน่อไม้ฝรั่งและขึ้นฉ่าย
2. สามารถจัดทำรายงานข้อมูลชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างรวมทั้งข้อมูลความเสี่ยงภัยต่อการบริโภคความปลอดภัยทางด้านอาหารในหน่อไม้ฝรั่ง และขึ้นฉ่าย
3. สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการประกอบการพิจารณาเพื่อทำการวิจัยกำหนดค่า MRL ของประเทศต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. แหล่งข้อมูล <http://www.agriinfo.doae.go.th>

กระทรวงพาณิชย์ ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2567 แหล่งข้อมูล <https://tradereport.moc.go.th>.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2551. วิธีชักตัวอย่างเพื่อตรวจหาสารพิษตกค้าง (TACFS. 9025-2008). สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 14

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (มกษ. 9002-2559). สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. การจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช (มกษ. 9045-2559).

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 75-76

Codex Pesticides Database. 2024. แหล่งข้อมูล <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius>.

EU Pesticides Database.2024. แหล่งข้อมูล <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides>.

Pesticides database for MRLs set in Japan.2024. แหล่งข้อมูล <https://jpn-pesticides-database.go.jp>

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.

การสำรวจสารพิษตกค้างในพริก มะเขือ มะเขือเทศ
และแตงกวาในแหล่งผลิตพื้นที่จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี
Monitoring of Pesticide Residues in Chilies, Eggplants, Tomatoes, and
Cucumbers in the Production Areas: Nakhon Pathom, Kanchanaburi,
Ratchaburi, and Petchaburi Provinces

ปกป้อง ทะนันชัย¹ วิทยา บัวศรี¹ มัลลิกา ทองเขียว² ภาลินี ไชยชนะ³

Pokpong Thananchai¹ Wittaya Buasri¹ Malliga Thongkheaw² Pasinee chaichana³

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Chili, eggplant, tomato, and cucumber are widely grown vegetables in Thailand, commonly consumed fresh. However, agriculturists necessarily use pesticide to protect their crops. If they misuse or violate the recommendations, consumers may get a significant risk of pesticide residue consumption. Therefore, researchers monitored these four vegetables, collecting 160 samples from Nakhon Pathom, Kanchanaburi, Ratchaburi, and Phetchaburi provinces, to analyze types and concentrations of pesticide residues, including assessing dietary risks. Using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) as an analytical technique, neonicotinoid pesticide group was most frequently found (ranging from 0.01 to 1.00 mg/kg), while organophosphate pesticide group was detected in the highest amounts, with triazophos in chili reaching 3.04 mg/kg. In addition, ten pesticides in chilies, three in eggplants, three in tomatoes, and one in cucumbers exceeded maximum residue limits (MRL). Nevertheless, the dietary risk assessment indicated that most residues posed no health risks, except for triazophos in chili samples.

Keywords: Pesticide residues; Maximum residue limit (MRL); risk assessment

¹ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 50 ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹ Agricultural Toxic Substance Subdivision, Agricultural Production Sciences Research and Development Division, Department of Agriculture 50 Phahon Yothin Rd. Lad Yao, Chatuchak, Bangkok, 10900

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 268 ต.ท่าช้าง อ.สว่างวีระวงศ์ จ.อุบลราชธานี 34190

² Office of Agricultural Research and Development Region 4, Department of Agriculture, 268 Tha Chang, Sawangweerawong, Ubon Ratchathani, Thailand, 34190

³ ด่านตรวจพืชเชียงใหม่ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 814 หมู่ 2 ต.เวียง อ.เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 57153

³ Chiangsaen Plant Quarantine Station, the Office of Agricultural Regulation, Department of Agriculture 814 Moo 2, Wiang, Chiangsaen, Chiang Rai 57153

บทคัดย่อ

พริกมะเขือมะเขือเทศและแตงกวาเป็นผักที่ได้รับการปลูกอย่างแพร่หลายในประเทศและผู้บริโภคนิยมรับประทานสดแต่เนื่องจากเกษตรกรมีความจำเป็นต้องใช้สารกำจัดศัตรูพืชในผักเหล่านี้เพื่อป้องกันความเสียหายของผลผลิตหากมีการใช้ที่ไม่ถูกต้องตามฉลากหรือคำแนะนำอาจจะส่งผลให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงที่ได้รับสารพิษตกค้างเข้าสู่ร่างกายด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยได้สำรวจสารพิษตกค้างในผักทั้ง 4 ชนิดโดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งผลิตในจังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรีรวมทั้งสิ้น 160 ตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารตกค้างรวมทั้งประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างด้วยเทคนิค LC-MS/MS ได้ข้อมูลว่าสารกลุ่ม neonicotinoid ตกค้างในตัวอย่างจำนวนมากที่สุด (อยู่ในช่วง 0.01 – 1.00 mg/kg) และสารกลุ่ม organophosphate ตกค้างในตัวอย่างปริมาณสูงที่สุด ซึ่งตรวจพบ triazophos ในพริกสูงสุดที่ 3.04 mg/kg นอกจากนี้ตรวจพบสารเกินค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ในพริก 10 ชนิดสาร มะเขือ 3 ชนิดสาร มะเขือเทศ 3 ชนิดสารและแตงกวา 1 ชนิดสารอย่างไรก็ตามการประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคบ่งชี้ว่าสารส่วนใหญ่ไม่ก่ออันตรายต่อสุขภาพ ยกเว้น triazophos ในตัวอย่างพริก

คำสำคัญ: สารพิษตกค้าง; ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL); การประเมินความเสี่ยง

บทนำ

พริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา เป็นพืชผักที่มีการเพาะปลูกภายในประเทศอย่างแพร่หลาย เพื่อจัดจำหน่ายแก่ผู้บริโภคชาวไทยและส่งออกไปยังต่างประเทศ ในปี พ.ศ. 2566 เฉพาะเขตจังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี มีผลผลิตของพืชทั้ง 4 ชนิด ที่เก็บเกี่ยวประมาณ 11,600 24,400 1,900 และ 11,300 ตันตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นมูลค่ารวมประมาณ 17,000 ล้านบาท (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2567) ดังนั้นเกษตรกรผู้เพาะปลูกพืชทั้ง 4 ชนิดต้องดูแลรักษาความสมบูรณ์ของผลผลิตอย่างเข้มงวดและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชรวมถึงสารกำจัดเชื้อราในพืชเหล่านี้ก็เป็นหนึ่งในวิธีการที่สำคัญอย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีหลากหลายชนิดย่อมมีโอกาสเกิดการตกค้างในผลผลิต อีกทั้งผู้บริโภคนิยมรับประทานพืชทั้ง 4 ชนิดนี้แบบสด จึงมีความเป็นไปได้ที่จะได้รับความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการบริโภคมีรายงานแจ้งเตือนเกี่ยวกับการตรวจพบสารพิษตกค้างในพืชทั้ง 4 ชนิด จากทั้งในและต่างประเทศมาโดยตลอด เช่น ในปี พ.ศ. 2565 ประเทศญี่ปุ่นได้ประกาศยกระดับการตรวจสอบ triazophos ในพริกและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากพริกที่นำเข้าจากไทยจากเดิมร้อยละ 30 เป็นร้อยละ 100 เนื่องจากมีการสุ่มตรวจพบการตกค้างไม่เป็นไปตามมาตรฐานบ่อยครั้ง เช่นกันกับมาตรการของสหภาพยุโรปที่ประกาศเพิ่มอัตราการสุ่มตรวจสอบสารกำจัดศัตรูพืชในพริกจากร้อยละ 20 เป็นร้อยละ 30

จากผลการทบทวนงานวิจัยและข่าวสาร คณะผู้วิจัยยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับการตรวจสอบสารพิษตกค้างในพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวาที่สุ่มตัวอย่างจากแหล่งผลิตโดยตรง จึงมีความสนใจที่จะริเริ่มดำเนินการศึกษานี้ โดยเลือกพื้นที่จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี เนื่องจากเป็นแหล่งผลิตที่สำคัญดังรายละเอียดที่ได้กล่าวไว้ในย่อหน้าแรก ตัวอย่างทั้งหมดจะถูกนำมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการ สกัดและตรวจวัดสารด้วยวิธีการที่ห้องปฏิบัติการได้พัฒนาขึ้น ซึ่งสามารถตรวจสอบสารพิษตกค้างได้พร้อมกันมากกว่า 100 ชนิดสาร ผลการวิเคราะห์ที่ได้จะช่วยให้ทราบถึงกลุ่มสารและปริมาณสารที่ตรวจพบในตัวอย่างพืช พร้อมทั้งบ่งชี้ชนิดสารที่มีปริมาณการตกค้างสูงเกินค่ามาตรฐานและนำไปประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สารมาตรฐาน ได้แก่ สารมาตรฐานวัตถุพิษกลุ่ม 129 ชนิด สารมาตรฐานวัตถุพิษกลุ่มคาร์บาเมท 16 ชนิด และสารมาตรฐานกลุ่มอื่น ๆ 16 ชนิด
2. สารเคมีสำหรับสกัดตัวอย่าง ได้แก่ Acetonitrile, Ethyl acetate, Magnesium sulphate (MgSO_4), Sodium Chloride (NaCl), Sodium citrate dibasic sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), tri - Sodium citrate dehydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Sodium bicarbonate (NaHCO_3), Sodium sulfate (Na_2SO_4), Primary Secondary amine (PSA) และ Graphitized Carbon Blank
3. อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ขวดวัดปริมาตร เครื่องชั่ง เครื่องปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน และเครื่องมือวิเคราะห์ Liquid chromatograph tandem mass spectrometer (LC-MS/MS)

วิธีการ

1. การวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่าง

ตัวอย่างพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา ถูกสุ่มเก็บจากพื้นที่จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2566 - สิงหาคม 2567 จำนวน 40 ตัวอย่างต่อพืช (รวม 160 ตัวอย่าง) แต่ละตัวอย่างมีน้ำหนักไม่น้อยกว่า 1 kg (ตามคำแนะนำของเอกสาร FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. FAO Plant Production and Protection Paper, 225) ตัวอย่างถูกหั่นออกเป็นชิ้นเล็กๆที่ห้องปฏิบัติการแล้วปั่นละเอียดผสมกับไนโตรเจนเหลวด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง

ตัวอย่างน้ำหนัก 10 ± 0.01 g ถูกสกัดด้วย acetonitrile 10 mL แล้วเติม MgSO_4 4 g NaCl 1 g tri-sodium citrate dihydrate 1 g และ di-sodium citrate sesquihydrate 0.5 g ลงไป ปั่นแยกเอาเฉพาะสารที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นกำจัดสิ่งสกปรกด้วย PSA 125 mg MgSO_4 750 mg และ GCB 50 mg หมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม กรองสารด้วยตัวกรอง $0.2 \mu\text{m}$ PTFE แล้ววิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้าง 138 ชนิดด้วยเทคนิค LC-MS/MS

การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS เลือกใช้ Auto Sample ของ Agilent รุ่น G4226A ลำเลียงสารปริมาตร $5.00 \mu\text{L}$ เข้าสู่คอลัมน์ Kinetex® $2.6 \mu\text{m}$ XB-C18 $100\text{\AA}$, $100 \times 2.1 \text{ mm}$ เพื่อแยกสาร แล้วตรวจวัดด้วย Mass spectrometer (Agilent รุ่น 6460 Triple Quad) โดยเลือกโหมดการตรวจวัดชนิด Dynamic multiple reaction monitoring (DMRM) สำหรับการตรวจวัดสารพิษตกค้างหลายชนิดพร้อมกัน (Multi-residue detection)

2. การเปรียบเทียบปริมาณสารพิษตกค้างกับค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs)

ข้อมูลชนิดและปริมาณสารที่ตรวจพบในตัวอย่างจะถูกรวบรวมและนำมาเปรียบเทียบกับค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (maximum residue limits, MRLs) จาก 4 หน่วยงาน ได้แก่ ไทย คณะกรรมาธิการโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex) สหภาพยุโรป (European Union, EU) และญี่ปุ่น

3. การประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภค

สารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างในปริมาณที่สูงเกินค่า Thai-MRL หรือยังไม่มีกำหนดค่า Thai-MRL จะถูกประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภค แบ่งเป็นความเสี่ยงระยะสั้นและความเสี่ยงระยะยาว ซึ่งรายงานด้วยค่า %ARfD และ %ADI ตามลำดับ

การคำนวณค่า %ARFD ดำเนินการผ่านไฟล์สเปรดชีตสำเร็จรูป IESTI calculation จัดทำโดย Codex ซึ่งต้องป้อนค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของแต่ละชนิดสารที่ตรวจพบในตัวอย่าง (Highest residue, HR) และค่าปริมาณอ้างอิงเฉียบพลัน (acute reference dose, ARFD) ที่กำหนดโดย Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) หากผลการคำนวณได้ค่า %ARFD น้อยกว่า 100% แสดงว่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ตรวจพบในการสำรวจตัวอย่างไม่มีความเสี่ยงต่อสุขภาพในระยะสั้น (ภายใน 24 ชั่วโมง)

สำหรับค่า %ADI ดำเนินการผ่านไฟล์สเปรดชีตสำเร็จรูป IEDI calculation จัดทำโดย Codex ซึ่งต้องป้อนค่ามัธยฐานของปริมาณสารพิษตกค้างของแต่ละชนิดสารที่ตรวจพบในตัวอย่าง (Supervised trial median residue, STMR) และค่าปริมาณการบริโภคต่อวันที่ยอมรับได้ (acceptable daily intake) ที่กำหนดโดย Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) หากผลการคำนวณได้ค่า %ADI น้อยกว่า 100% แสดงว่าปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในการสำรวจตัวอย่างความเสี่ยงต่ำต่อสุขภาพในระยะยาว

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2566 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง แปลงเพาะปลูกพืชของเกษตรกร และแหล่งจำหน่ายพืชผลทางการเกษตรท้องถิ่น จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่าง

ตัวอย่างพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา จำนวน 40 ตัวอย่างต่อชนิดพืช รวมทั้งหมด 160 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษตกค้างอย่างน้อย 1 ชนิดสารด้วยปริมาณสูงกว่าค่า LOQ (0.01 mg/kg) จำนวน 72 ตัวอย่าง แบ่งเป็น พริก 30 ตัวอย่าง คิดเป็น 75% มะเขือ 16 ตัวอย่าง คิดเป็น 40% มะเขือเทศ 18 ตัวอย่าง คิดเป็น 45% และแตงกวา 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 20% วัตถุอันตรายตกค้างที่ตรวจพบมีจำนวน 31 ชนิดสาร ซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารกำจัดศัตรูพืช 17 กลุ่ม (Table 1) ได้แก่ anthranilic diamide, carbamate, carboxylic acid amide, chloroacetanilide, cinnamic acid amide, imidazole, neonicotinoid, organophosphate, phenylamide, phenylpyrazole, pyrazole, pyridazinone, strobilurin, triazole, thiazidiazine และ thiophanate

กลุ่มของสารกำจัดศัตรูพืชที่พบในตัวอย่างจำนวนมากที่สุด (mostly detected) คือ neonicotinoid สารในกลุ่มนี้ที่ตรวจพบได้แก่ acetamiprid จำนวน 28 ตัวอย่าง clothianidin จำนวน 4 ตัวอย่าง dinotefuran จำนวน 6 ตัวอย่าง imidacloprid จำนวน 15 ตัวอย่าง และ thiamethoxam จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยมีปริมาณการตกค้างอยู่ในช่วง 0.01 - 1.00 mg/kg สารกลุ่ม neonicotinoid ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในการใช้ควบคุมศัตรูพืชสำคัญของพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา ได้แก่ เพลี้ย เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว และด้วงหมัด อีกทั้งมีกลไกการทำงานแบบดูดซึม (systemic activity) ซึ่งสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชได้ จึงเป็น 2 เหตุผลหลักที่ทำให้ตรวจพบสารกลุ่มนี้ในตัวอย่างจำนวนมากที่สุด

กลุ่มสารที่ตรวจพบในตัวอย่างด้วยปริมาณสูงสุด (highly detected) คือ กลุ่ม organophosphate โดยตรวจพบ ethion profenofos และ triazophos ในพริกด้วยค่าสูงสุดที่ 1.15 2.88 และ 3.04 mg/kg ตามลำดับ สารกลุ่มนี้มีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมสูง ใช้เวลาย่อยสลายนาน ละลายได้ดีในไขมัน และมีฤทธิ์ดูดซึม [11] ด้วยเหตุนี้การใช้ organophosphate กับพืชที่มีน้ำมันสูงเช่น พริก จึงมีโอกาสดักค้างมากกว่าพืชที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก

เช่นมะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา นอกจากนี้วัตถุอันตรายกำจัดศัตรูพืชส่วนมากเป็นสารที่ละลายได้ดีในไขมัน จึงเป็นสาเหตุให้พบสารพิษตกค้างในตัวอย่างพริกจำนวนมากกว่าตัวอย่างพืชอื่น

นอกจากกลุ่ม neonicotinoid และ organophosphate แล้ว สารที่พบได้ทั่วไป (commonly detected) ในตัวอย่างพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา ได้แก่ dimethomorph metalaxyl และ azoxystrobin สาร 3 ชนิดนี้มีคุณสมบัติในการกำจัดเชื้อรา (fungicide) ซึ่งเป็นปัญหาที่พบมากในผักทั้ง 4 ชนิด และมีกลไกการทำงานแบบดูดซึมส่งผลให้สารสามารถตกค้างในพืชได้นาน

Table 1 Types and concentration rages of pesticide residues detected in samples

Pesticide	Number of detected samples				concentration range / median (mg/kg)
	chili	eggplant	tomato	cucumber	
Anthranilic diamide group					
chlorantraniliprole	-	-	4	-	0.01 – 0.02 / 0.01
Carbamate group					
carbaryl	3	-	-	2	0.04 – 0.41 / 0.23
fenobucarb	1	-	-	-	0.01
methomyl	3	-	-	-	0.05 – 1.59 / 1.43
Carboxylic acid amide group					
iprovalicarb	-	-	1	-	0.01

Table 1 (cont.)

Pesticide	Number of detected samples				concentration range / median (mg/kg)
	chili	eggplant	tomato	cucumber	
Chloroacetanilide group					
acetochlor	-	-	-	1	0.08
Cinnamic acid amide group					
dimethomorph	1	1	3	-	0.01 - 0.34 / 0.26
Imidazole group					
prochloraz	2	-	-	-	0.01 – 0.11 / 0.04
Neonicotinoid group					
acetamiprid	14	7	5	2	0.01 - 1.00 / 0.04
clothianidin	1	1	2	-	0.02 - 0.04 / 0.03
dinotefuran	4	2	-	-	0.01 - 0.49 / 0.05
imidacloprid	6	2	7	-	0.01 - 0.67 / 0.33
thiamethoxam	5	1	1	3	0.01 - 0.08 / 0.04

Table 1 (cont.)

Pesticide	Number of detected samples				concentration range / median (mg/kg)
	chili	eggplant	tomato	cucumber	
Organophosphate group					
acephate	-	1	-	-	0.04
diazinon	1	-	-	-	0.08
ethion	2	2	-	-	0.01 - 1.15 / 0.18
profenofos	3	-	-	-	0.31 - 2.88 / 0.96
triazophos	5	-	-	-	0.01 - 3.04 / 1.15
Phenylamide group					
metalaxyl	5	-	3	4	0.01 - 0.57 / 0.15
Phenylpyrazole group					
fipronil	-	-	1	-	0.14
Pyrazole group					
tebufenpyrad	1	-	-	-	0.02
tolfenpyrad	-	1			0.03
Pyridazinone group					
pyridaben	1	1	1	-	0.01 – 0.02 / 0.01
Strobilurin group					
azoxystrobin	6	1	3	1	0.01 - 0.20 / 0.03
pyraclostrobin	6	-	-	-	0.01 - 0.28 / 0.09

Table 1 (cont.)

Pesticide	Number of detected samples				concentration range / median (mg/kg)
	chili	eggplant	tomato	cucumber	
Triazole group					
difenoconazole	1	-	4	-	0.01 - 0.45 / 0.06
propiconazole	1	-	2	-	0.01 - 0.34 / 0.04
tebuconazole	1	-	1	-	0.01 - 0.03 / 0.02
Thiadiazine group					
buprofezin	-	1	-	-	0.05
Thiophanate group					
thiophanate-methyl	-	-	1	-	0.01

2. ผลการเปรียบเทียบปริมาณสารพิษตกค้างกับค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRLs)

ผลการเปรียบเทียบกับค่า MRL ของประเทศไทยพบ 1 ชนิดสารที่ตกค้างเกินเกณฑ์ในพริก ได้แก่ methomyl ในขณะที่เกณฑ์ Codex-MRL สำหรับสารพิษตกค้างในพืชทั้งสี่ชนิดมีการกำหนดไว้น้อยและไม่พบค่าที่เกินเกณฑ์

เมื่อพิจารณาเกณฑ์ของสหภาพยุโรป ค่า MRL ของสารหลายชนิดถูกกำหนดด้วยค่าเริ่มต้น (Default limit) ซึ่งในตารางได้ระบุด้วยเครื่องหมาย ดอกจัน (*) ส่งผลให้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างที่สำรวจแล้วได้ผลว่ามีหลายชนิดสารที่เกินค่า EU-MRL โดยในตัวอย่างพริกมี 10 ชนิดสาร ได้แก่ acetamiprid carbaryl diazinon ethion metalaxyl methomyl profenofos propiconazole tebufenpyrad และ triazophos ตัวอย่างมะเขือมี 3 ชนิดสาร ได้แก่ acephate buprofezin และ ethion ตัวอย่างมะเขือเทศมี 3 ชนิดสาร ได้แก่ fipronil imidacloprid และ propiconazole และตัวอย่างแตงกวามี 1 ชนิดสาร ได้แก่ carbaryl

สำหรับการเปรียบเทียบกับค่า Japan-MRL พบว่ามีสารพิษตกค้างในพริก 4 ชนิดสารที่เกินเกณฑ์ ได้แก่ acetamiprid diazinon ethion และ methomyl ในขณะที่ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในมะเขือเทศ และแตงกวา ไม่พบการตกค้างเกินค่า Japan-MRL

การเปรียบเทียบปริมาณสารพิษตกค้างกับค่า MRL ได้ข้อสังเกตว่าสารพิษตกค้างที่มีค่าเกินเกณฑ์ส่วนใหญ่ตรวจพบในตัวอย่างพริกมากกว่าพืชชนิดอื่น โดยข้อมูลของชนิดสาร ช่วงปริมาณการตรวจพบ และผลการเปรียบเทียบกับค่า MRL ของทั้ง 4 หน่วยงาน สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา แสดงรายละเอียดใน Table 2 3 4 และ Table 5 ตามลำดับ

Table 2 Pesticide residues detected in chili samples and compared to MRLs.

Pesticide	Number of detected samples	concentration range / median (mg/kg)	MRL (mg/kg) (number of samples exceeding the MRL)			
			Thailand	Codex	EU	Japan
acetamiprid	14	0.04 – 1.00 / 0.08	-	-	0.3 (1)	1 (1)
carbaryl	3	0.04 – 0.41 / 0.23	0.5	0.5	0.01* (2)	-
diazinon	1	0.28	-	-	0.05 (1)	0.05 (1)
ethion	2	0.08 – 1.15 / 0.62	3	-	0.01* (2)	0.3 (1)
metalaxyl	5	0.01 – 0.57 / 0.07	-	-	0.05 (1)	0.1
methomyl	3	0.05 – 1.59 / 1.43	1 (2)	-	0.01* (3)	0.7 (2)
profenofos	3	0.31 – 2.88 / 0.96	3	3	0.01* (3)	-
propiconazole	1	0.34	-	-	0.01* (1)	-
tebufenpyrad	1	0.02	-	-	0.01* (1)	-
triazophos	5	0.01 – 3.04 / 1.15	-	-	0.01* (5)	-

Table 3 Pesticide residues detected in eggplant samples and compared to MRLs.

Pesticide	Number of detected samples	concentration range / median (mg/kg)	MRL (mg/kg) (number of samples exceeding the MRL)			
			Thai	Codex	EU	Japan
acephate	1	0.04	-	-	0.01* (1)	0.05
buprofezin	1	0.05	-	-	0.01* (1)	1
ethion	2	0.01 - 0.18 / 0.10	-	-	0.01* (1)	0.3

Table 4 Pesticide residues detected in tomato samples and compared to MRLs.

Pesticide	Number of detected samples	concentration range / median (mg/kg)	MRL (mg/kg) (number of samples exceeding the MRL)			
			Thai	Codex	EU	Japan
fipronil	1	0.14	-	-	0.005 (1)	-
imidacloprid	7	0.02 – 0.33 / 0.05	-	0.5	0.3 (1)	2
propiconazole	2	0.01 – 0.04 / 0.01	-	3	0.01* (2)	0.05

Table 5 Pesticide residues detected in cucumber samples and compared to MRLs.

Pesticide	Number of detected samples	concentration range / median (mg/kg)	MRL (mg/kg) (number of samples exceeding the MRL)			
			Thai	Codex	EU	Japan
carbaryl	1	0.04	-	-	0.01* (1)	-

3. การประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภค

ผลการประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคพบว่า ปริมาณสารเกือบทั้งหมดที่ตรวจพบอยู่ในเกณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่ำต่อสุขภาพ ดังแสดงใน Table 6 7 8 และ 9 ตามลำดับ ยกเว้น triazophos ในพริก เนื่องจากค่า %ARfD มากกว่า 100% บ่งชี้ถึงความปลอดภัยต่อผู้บริโภคกลุ่มทั่วไปและกลุ่มสตรี

Table 6 Dietary risk assessment of pesticide residues in chili samples

Pesticides	Short-term risk assessment					Long-term risk assessment			Result
	HR (mg/kg)	ARfD (mg/kg bw day ⁻¹)	%ARfD			STMR (mg/kg)	ADI (mg/kg bw day ⁻¹)	%ADI	
			Adults	Women	Children				
acetamiprid	1.00	0.10	7	7	1	0.08	0.07	0	safe
carbaryl	0.41	0.20	1	0	1	0.23	0.008	0	safe
diazinon	0.28	0.03	7	7	1	0.28	0.003	1	safe
metalaxyl	0.57	0.5	1	1	0	0.07	0.08	0	safe
profenofos	2.88	1.00	1	0	1	0.96	0.03	0	safe
propiconazole	0.34	0.30	1	1	0	0.34	0.07	0	safe
triazophos	3.04	0.001	2180	2180	0	1.15	0.001	20	unsafe

Table 7 Dietary risk assessment of pesticide residues in eggplant samples

Pesticides	Short-term risk assessment					Long-term risk assessment			Result
	HR (mg/kg)	ARfD (mg/kg bw day ⁻¹)	%ARfD			STMR (mg/kg)	ADI		
							(mg/kg bw day ⁻¹)	%ADI	
Adults Women Children									
acephate	0.04	0.10	1	1	2	0.04	0.03	0	safe
buprofezin	0.05	0.50	0	0	0	0.05	0.009	0	safe

Table 8 Dietary risk assessment of pesticide residues in tomato samples

Pesticides	Short-term risk assessment					Long-term risk assessment			Result	
	HR (mg/kg)	ARfD	%ARfD			STMR	ADI			
		(mg/kg bw day ⁻¹)				(mg/kg)	(mg/kg	%ADI		
							bw day ⁻¹)			
Adults Women Children										
fipronil	0.14	0.03	6	5	20	0.14	0.0002	40	safe	
imidacloprid	0.33	0.40	1	1	3	0.09	0.06	0	safe	
propiconazole	0.04	0.30	0	0	1	0.02	0.07	0	safe	

Table 9 Dietary risk assessment of pesticide residues in cucumber samples

Pesticides	Short-term risk assessment					Long-term risk assessment			Result
	HR (mg/kg)	ARfD	%ARfD			STMR	ADI	%ADI	
		(mg/kg bw day ⁻¹)	Adults	Women	Children	(mg/kg)	(mg/kg bw day ⁻¹)		
carbaryl	0.04	0.20	0	0	1	0.04	0.008	0	safe

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การสำรวจสารพิษตกค้างในตัวอย่างพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา จากแหล่งผลิตพื้นที่ จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี จำนวน 160 ตัวอย่าง ตรวจพบสารกลุ่ม neonicotinoid ได้แก่ acetamiprid clothianidin dinotefuran imidacloprid และ thimethoxam ในตัวอย่างจำนวนมากที่สุด ขณะที่สารกลุ่ม organophosphate โดยเฉพาะ ethion profenofos และ triazophos มีการตกค้างในตัวอย่าง สูงที่สุด นอกจากนี้สารกำจัดเชื้อรา ได้แก่ dimethomorph metalaxyl และ azoxystrobin ถูกตรวจพบจำนวนมากเช่นกัน ผลการเปรียบเทียบปริมาณสารพิษตกค้างกับค่า MRLs พบสารตกค้างในพริก มะเขือ มะเขือเทศ และ แตงกวาเกินกว่าค่า MRL อย่างน้อย 1 ตัวอย่าง จำนวน 10 3 3 และ 1 ชนิดสารตามลำดับ อย่างไรก็ตามมีสารอีก หลายชนิดยังไม่มีข้อมูลค่า MRL โดยเฉพาะ MRL ของประเทศไทยและ Codex ผลการประเมินความเสี่ยงต่อการ บริโภคพบว่าสารพิษตกค้างส่วนใหญ่มีความปลอดภัย ยกเว้น triazophos ในพริก ซึ่งผลการประเมินความเสี่ยง ระยะสั้นบ่งชี้ว่าเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเกษตรกรและหน่วยงานราชการในพื้นที่จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ส่งมอบตัวอย่างพริก มะเขือ มะเขือเทศ และแตงกวา เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ และรวบรวมข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่าง นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณกองวิจัยพัฒนาปัจจัย การผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์และนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ ทรัพยากร และเงินทุนสำหรับการทำวิจัย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลการศึกษาการสำรวจสารพิษตกค้างในตัวอย่างนี้สามารถใช้เป็นแนวทางสำหรับการเฝ้าระวังการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร รวมถึงเป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการทำแปลงทดลองสารพิษตกค้าง (Supervised Residue Trial) และส่งชุดข้อมูลของผลการทดลองมาพิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit, MRL) เพื่อเป็นประโยชน์ต่อภาคเกษตรกรรมและความปลอดภัยของผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2567 ระบบให้บริการข้อมูลสารสนเทศการผลิตทางด้านการเกษตร. แหล่งข้อมูล <https://production.doae.go.th/service/site/login>. สืบค้น: 28 สิงหาคม 2567.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559 สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. แหล่งข้อมูล <https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf>. สืบค้น: 26 สิงหาคม 2567.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2565 ญี่ปุ่นยกระดับการคุ้มครองสาร Triazophos ในพริกนำเข้าจากไทย. แหล่งข้อมูล <https://warning.acfs.go.th/th/early-warning/view/?page=7854>. สืบค้น: 26 สิงหาคม 2567.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2565 EU เครื่อง! เพิ่มการคุ้มครองหาสารพิษตกค้างในพริก. แหล่งข้อมูล <https://warning.acfs.go.th/th/early-warning/view/?page=7939>. สืบค้น: 26 สิงหาคม 2567.
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 2563. *เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-ศัตรูศัตรูพืชอย่างปลอดภัย*. กรมวิชาการเกษตร.
- EU pesticide data base. Available at: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/products>. Assessment: August 26, 2024.
- FAO. Pesticides | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO. Available at: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>. Assessment: August 26, 2024.
- Giorio, C., Safer, A., Sánchez-Bayo, F., Tapparo, A., Lentola, A., Girolami, V., Biileveld van Lexmond, M., Bonmatin, J. 2021. An Update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on Systemic Insecticides. Part 1: New molecules, Metabolism, Fate, and Transport. *Environmental Science and Pollution Research International* 28: 11716-11748.
- The Japan food chemical research foundation. Residue Limits of Agricultural Chemicals. Available at: <https://www.ffcr.or.jp/en/zanryu/>. Assessment: August 26, 2024.
- Veen, I., Boer, J. 2012. Phosphorus flame retardants: properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. *Chemosphere* 88(10): 1119–1153.
- WHO. 2023. Inventory of evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR). Available at: <https://apps.who.int/pesticide-residues-jmpr-database/Home/Range/All>. Assessment: September 14, 2024.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของโปรไซมิโดน (procymidone) ในมะม่วง
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด

Residue Trials of Procymidone in Mango to Establish
the Maximum Residue Limits (MRLs)

ปกป้อง ทะนันชัย¹ วิทยา บัวศรี¹ วนิดา สุขประเสริฐ¹ มัลลิกา ทองเขียว² ภาสินี ไชยชนะ³
Pokpong Thananchai¹ Wittaya Buasri¹ Wanida Sukprasert¹
Malliga Thongkheaw² Pasinee chaichana³

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Mango is one of the highest-market-value-fruits and is favored by consumers. It often faces the challenge of blossom blight, a disease caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*, which can damage yield. To address this issue, farmers commonly use the fungicide procymidone. However, this practice can result in pesticide residues that may impact consumer safety. Therefore, this research on procymidone residues in mango aimed to understand residue change patterns and provide data for establishing a Maximum Residue Limit (MRL). Foliar applications of procymidone were conducted according to OECD-GLP guidelines in six mango field trials across different locations and times. Samples were collected at intervals of 0, 3, 7, 14, 21, 28, and 35 days after the last application. The mango samples were extracted using the method developed based on the QuEChERS standard method. Procymidone residue levels were then analyzed using gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). The results indicated a decreasing trend in procymidone residue over time, with an initial concentration of 5.87 mg/kg at day 0, reducing to 0.80 mg/kg at day 35. Additionally, short-term and long-term dietary risk assessments revealed that the residue level at day 35 posed a low health risk to every consumer group. The MRL, estimated based on residue data using the OECD calculator, was determined to be 3 mg/kg.

Keywords: procymidone; pesticide residues; maximum residue limit (MRL); risk assessment

¹ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 50 ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹ Agricultural Toxic Substance Subdivision, Agricultural Production Sciences Research and Development Division, Department of Agriculture 50 Phahon Yothin Rd. Lad Yao, Chatuchak, Bangkok, 10900

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 268 ต.ท่าช้าง อ.สว่างวีระวงศ์ จ.อุบลราชธานี 34190

² Office of Agricultural Research and Development Region 4, Department of Agriculture, 268 Tha Chang, Sawangweerawong, Ubon Ratchathani, Thailand, 34190

³ ด่านตรวจพืชเชียงใหม่ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 814 หมู่ 2 ต.เวียง อ.เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 57153

³ Chiangsaen Plant Quarantine Station, the Office of Agricultural Regulation, Department of Agriculture 814 Moo 2, Wiang, Chiangsaen, Chiang Rai 57153

บทคัดย่อ

มะม่วงเป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีมูลค่าทางการตลาดสูงและได้รับความนิยมจากผู้บริโภค มะม่วงมักประสบปัญหาโรคช่อดอกดำซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สร้างความเสียหายให้กับผลผลิต เกษตรกรจึงต้องใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา procymidone เพื่อแก้ไขปัญหา อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดศัตรูพืชยังทำให้เกิดสารพิษตกค้างที่ส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ด้วยเหตุนี้งานวิจัยปริมาณสารพิษตกค้าง procymidone ในมะม่วงมีเป้าหมายเพื่อทำความเข้าใจรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของสารตกค้าง และจัดเตรียมข้อมูลสำหรับการกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit, MRL) ในการทดลองมีการฉีดพ่น procymidone ตามแนวทาง OECD-GLP ในแปลงมะม่วง 6 แปลงทดลองที่สถานที่และเวลาแตกต่างกัน เก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 0 3 7 14 21 28 และ 35 วันหลังจากการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย ตัวอย่างมะม่วงถูกสกัดโดยใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นซึ่งอ้างอิงวิธีมาตรฐาน QuEChERS จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง procymidone ด้วยเทคนิค gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) ผลการวิเคราะห์บ่งชี้ว่า procymidone มีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาผ่านไป จากความเข้มข้นเฉลี่ยเริ่มต้น 5.78 มก./กก. ในวันที่ 0 ลดเหลือ 0.80 มก./กก. ในวันที่ 35 นอกจากนี้การประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งระยะสั้นและระยะยาวได้ผลว่าระดับสารพิษตกค้างในวันที่ 35 ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพต่ำสำหรับกลุ่มผู้บริโภคทุกกลุ่ม โดยค่า MRL ที่ประมาณจากข้อมูลสารพิษตกค้างโดยใช้การคำนวณของ OECD มีค่าเท่ากับ 3 มก./กก.

คำสำคัญ: โพรไซมิโดน; สารพิษตกค้าง; ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL); การประเมินความเสี่ยง

บทนำ

มะม่วง (Mango) เป็นหนึ่งในผลไม้ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศอย่างมาก มูลค่าการส่งออกโดยเฉลี่ยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2560-2564 อยู่ที่ประมาณ 4,400 ล้านบาทต่อปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) และเป็นอันดับที่ 3 ของผลไม้ที่มีมูลค่าการส่งออกมากที่สุดของไทยรองจากลำไยและสับปะรด (Online news time, 2565) ด้วยความนิยมเชิงเศรษฐกิจที่สูงของมะม่วง ทำให้ผลไม้ชนิดนี้ได้รับการเพาะปลูกอย่างแพร่หลายทั่วประเทศ ซึ่งพื้นที่การเกษตรสำหรับเพาะปลูกมะม่วงในปี พ.ศ. 2564 มีประมาณ 9 แสนไร่ ให้ผลผลิตรวมประมาณ 9 แสนตัน และมีปริมาณการบริโภคภายในประเทศประมาณ 7 แสนตัน (กลุ่มส่งเสริมไม้ผลกรรมส่งเสริมการเกษตร, 2565)

มะม่วงหลายสายพันธุ์มีระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตอยู่ที่ 90-100 วันนับจากวันที่ดอกบาน ซึ่งเกษตรกรจะเริ่มตัดแต่งและห่อผลด้วยถุงคาร์บอนตั้งแต่วันที่ 45-60 หลังดอกบาน เพื่อป้องกันความเสียหายจากศัตรูพืชและช่วยให้ผลมะม่วงมีสีเหลืองสวย (กรรมส่งเสริมการเกษตร, 2565) อย่างไรก็ตามช่วงการออกดอกในระยะแรกไม่สามารถห่มดอกเพื่อป้องกันความเสียหายได้ ทำให้ระยะนี้ช่อดอกเสี่ยงติดโรคได้ โดยเฉพาะโรคช่อดอกดำ (blossom blight) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ส่งผลให้ดอกดำทั้งช่อและหลุดร่วง โดยทั่วไปเกษตรกรจะแก้ปัญหาโรคช่อดอกดำด้วยการตัดส่วนที่เป็นโรคออก แต่ถ้าหากการระบาดของโรคมัธยราสูงจะต้องใช้วัตถุอันตรายร่วม เช่น azoxystrobin prochloraz รวมถึง procymidone (กรรมส่งเสริมการเกษตร, 2551) ซึ่งเป็นสารที่คณะวิจัยให้ความสนใจในการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างในมะม่วง

สารโพรไซมิโดน (procymidone) เป็นวัตถุอันตรายกลุ่มไดคาร์บอกซิไมด์ (dicarboximide) ที่ใช้กำจัดเชื้อรา ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคแอนแทรคโนส (anthracnose) และโรคช่อดอกดำ (blossom blight) ในมะม่วง มีลักษณะทางกายภาพเป็นของแข็งสีขาว สามารถรวมตัวกับน้ำได้แต่ละลายได้ดีกว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยหมู่ไดคาร์บอกซิไมด์ (dicarboximide group) ยึดเกาะกับวงแหวนไซ

โคลเพนเทน (cyclopentane ring) และมีหมู่ไดคลอโรฟีนิล (dichlorophenyl group) เกาะที่ตำแหน่ง N ของ หมู่ไดคาร์บอกซิไมด์ (Figure 1) กลไกการทำงานคือ หมู่ไดคาร์บอกซิไมด์จะไปรบกวนการส่งสัญญาณในเซลล์ของ เชื้อรา ส่งผลให้การงอกของสปอร์ (spore) และการเจริญเติบโตของเส้นใยไมซีเลียม (mycelium) ถูกยับยั้ง และ เชื้อราถูกกำจัดในท้ายที่สุด (Correia, M. et al, 2016) สารโพไซมิโดนที่ผลิตโดยบริษัท เจียงซี เหวออี เคมีคัล จำกัด ได้ระบุในฉลากว่าให้ผสมในอัตรา 40 g ต่อ น้ำ 20 L พ่นซ้ำทุก 5 วัน และมีข้อกำหนดให้เว้นการใช้สาร 21 วันก่อนเก็บเกี่ยวมะม่วง (Pre-harvest interval, PHI = 21 วัน)

งานวิจัยการศึกษาการสลายตัวของ procymidone ในมะม่วงนี้ ดำเนินการตามแนวทางการทำแปลงทดลอง สารพิษตกค้างโดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (The FAO's guideline for supervised residue trials) และหลักปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practice, GAP) สำหรับกระบวนการตรวจวิเคราะห์ ปริมาณสารพิษตกค้าง เพื่อให้ได้ผลการศึกษาที่มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือต่อการนำไปใช้พิจารณากำหนดค่าปริมาณ สารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit, MRL) ของประเทศไทย รวมถึงค่า MRL ของอาเซียนและ Codex ซึ่ง มีความสำคัญต่อการกำหนดมาตรฐานของสารพิษตกค้างในอาหารและผลผลิตทางการเกษตร

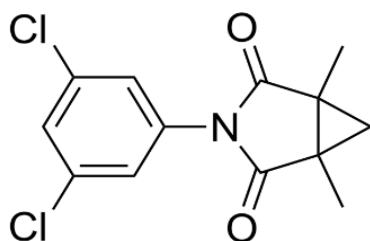


Figure 1 Chemical structure of procymidone

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นวัตถุอันตรายแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) ยี่ห้อ Honda รุ่น WJR4025T GCT ขนาด 25 ลิตร และ สารป้องกันกำจัดโรคพืช โพไซมิโดน (procymidone) 50% WP
2. อุปกรณ์ชั่ง ตวง วัด ได้แก่ เครื่องชั่งสาร กระบอกตวงขนาด 1,000 และ 2,000 mL ปีกเกอร์ขนาด 5,000 mL กระดาษวัด pH เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (data logger) เครื่องวัดความเร็วลม และนาฬิกาจับเวลา
3. อุปกรณ์ป้องกันสารเคมี (Personal Protection Equipment, PPE) ได้แก่ ชุดป้องกันสารพิษ ถุงมือ แว่นตา หมวก และรองเท้าบูต
4. สารเคมีในห้องปฏิบัติการ เช่น สารมาตรฐานโพไซมิโดน (procymidone) สารเคมีสำหรับสกัดตัวอย่าง (acetonitrile, ethyl acetate, magnesium sulfate (MgSO₄), sodium chloride (NaCl), tri-sodium citrate dihydrate, di-sodium citrate sesquihydrate, N-propylethylenediamine (PSA) และ graphitized carbon black (GCB))

4. อุปกรณ์อื่น ได้แก่ หลอดบรรจุสาร (centrifuge tube) ขวดบรรจุสาร (vial) ไมโครปิเปต หลอดฉีดยา ตัวกรอง PTFE ขนาด 0.2 µm เครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอน (centrifugate) และเครื่องเขย่าสาร (vortex)

5. เครื่องมือวิเคราะห์

วิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างด้วยเครื่องโครมาโทกราฟชนิดแก๊สต่อกับเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS/MS) สภาวะเครื่องมือที่ใช้ เป็นดังนี้

GC: Agilent 7890A Series

MS: Agilent 7000B Series

Auto sampler: Agilent 7693 Series

GC conditions:

Column: Agilent 19091S-431UI: J&W HP-5ms UI 15 m × 0.25 mm × 0.25

Gas flow: 1 mL/min (constant flow mode)

Carrier gas: Helium

GC auto sampler:

Syringe volume: 10.0 µl

Injection volume: 2.00 µl

GC inlets:

Set point temperature: 280 °C

Mode: Splitless

Post run temperature: 280 °C

GC oven:

Initial temperature: 60 °C

Post run temperature: 310 °C

Post run time: 2 min

concentrations of the analytical (Linearity) in the concentration range of

Rate (°C/min)	Final temp (°C)	Hold time (min)	Total time (min)
-	60	1	1
40	170	0	3.75
20	310	3	13.75

Mass conditions: 0.01-0.50 mg/kg

Collision gas: Nitrogen

Solvent Delay: 3 min

Mode: Electron impact (EI)

Transfer line 280 °C
temperature:

Source temperature: 300 °C

Quadrupole Q1 and Q2 = 180 °C
temperature:

Scan Type: Multiple reaction monitoring (MRM)

วิธีการ

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างโพรมิโดนในมะม่วง เลือกใช้การสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS และตรวจวัดด้วยเทคนิค GC-MS/MS วิธีการนี้ถูกตรวจสอบความใช้ได้ด้วยการวิเคราะห์ตัวอย่างมะม่วงที่ถูกเติมสารละลายมาตรฐาน procymidone ให้มีความเข้มข้นระดับต่างกัน ได้แก่ 0.005 0.01 0.1 1.0 และ 5.0 mg/kg ตามลำดับ ความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณค่าร้อยละการได้คืนกลับ (%Recovery) ด้วยสมการ $\%Recovery = (ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ \times 100\%) \div ความเข้มข้นที่นำมาวิเคราะห์$ ในขณะเดียวกัน นำผลข้างต้นมาคำนวณค่า HORRAT เพื่อประเมินความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์ ด้วยสมการ $HORRAT = \%RSD \div Horwitz \%RSD$ เมื่อ $\%RSD$ คือร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของผลการวิเคราะห์ทั้ง 6 ซ้ำ และ Horwitz $\%RSD$ คือร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ทำนายด้วยวิธีการคำนวณของ Horwitz ซึ่งเท่ากับ $2 \times (average \%Recovery / 106) - 0.1505$ [7]

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างโปรไซมิโดนในมะม่วง

2.1 การทำแปลงทดลอง

การฉีดพ่นวัตถุอันตรายโปรไซมิโดน (procymidone) ดำเนินการในแปลงมะม่วงที่มีการเพาะปลูกเชิงพาณิชย์ในช่วงเวลาและพื้นที่ต่างกันจำนวน 6 แปลง ได้แก่ แปลงที่ 1 วันที่ 21 มกราคม – 16 มีนาคม 2565 ที่ ต.ตลิ่งชัน อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี (14°33'57"N 99°57'38"E) แปลงที่ 2 วันที่ 2 มีนาคม – 26 เมษายน 2565 ต.แก้มอ้น อ.จอมบึง จ.ราชบุรี (13°46'59"N 99°27'45"E) แปลงที่ 3 วันที่ 4 มกราคม – 27 กุมภาพันธ์ 2566 ที่ ต.ปากน้ำ อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี (14°57'15"N 100°3'25"E) แปลงที่ 4 วันที่ 6 มกราคม – 1 มีนาคม 2566 ที่ ต.หมอนนาง อ.พนสนิคม จ.ชลบุรี (13°21'0"N 101°16'24"E) แปลงที่ 5 วันที่ 2 พฤศจิกายน – 19 ธันวาคม 2566 ที่ ต.หนองแห่น อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา (13°38'51.9"N 101°20'29.2"E) และแปลงที่ 6 วันที่ 10 มกราคม – 4 มีนาคม 2567 ที่ ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี (13°46'56.8"N 99°31'13.1"E)

แปลงทดลองแต่ละแปลง ประกอบด้วย 2 แปลงย่อย ได้แก่ แปลงควบคุม (untreated plot) ซึ่งไม่มีการฉีดพ่นโปรไซมิโดนในแปลงนี้ และแปลงย่อยที่มีการฉีดพ่นโปรไซมิโดนเรียกว่าแปลงทดสอบ (treated plot) ทั้งสองแปลงย่อยมีขนาดใกล้เคียงกัน (ประมาณ 150 m²) และห่างกันไม่น้อยกว่า 30 m เพื่อป้องกันละอองโปรไซมิโดน สัมผัสมะม่วงในแปลงควบคุม สารที่ใช้ทดสอบคือ procymidone 50% WP ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 40 g ต่อน้ำ 20 L ตามที่ฉลากแนะนำ พ่นสารด้วยเครื่องพ่นมอเตอร์แบบสเปกตรัมหลังลงในแปลงทดสอบที่อัตราการพ่นยา (Dosage Rate) โดยเฉลี่ย 2,381.93 g a.i./ha จำนวน 5 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5±1 วัน

ตัวอย่างมะม่วงจากทั้ง 2 แปลงย่อยถูกสุ่มเก็บที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมง), 3, 7, 14, 21, 28 และ 35 วันนับจากการพ่นครั้งสุดท้าย น้ำหนักรวมของมะม่วงที่ถูกเก็บต้องไม่น้อยกว่า 2 kg ต่อตัวอย่าง ตามข้อกำหนดเรื่องการสุ่มตัวอย่างของ FAO guideline ตัวอย่างถูกเก็บลงในถุงพลาสติก 2 ชั้น ปิดปากถุงให้สนิทด้วยยางรัดพร้อมติดป้ายบ่งชี้ เก็บรักษาสภาพตัวอย่างไว้ในกล่องโฟมบรรจุน้ำแข็ง ก่อนขนส่งตัวอย่างเข้าสู่ห้องปฏิบัติการเพื่อดำเนินการวิเคราะห์สารพิษตกค้างต่อไป

2.2 การสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตัวอย่างมะม่วงที่เก็บจากแปลงถูกหั่นทั้งลูกโดยไม่ปอกเปลือกให้มีขนาดเล็ก เพื่อนำไปปั่นละเอียดผสมกับไนโตรเจนเหลวด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง โดยตลอดกระบวนการนี้ มีการแยกอุปกรณ์เฉพาะสำหรับจัดการตัวอย่างมะม่วงจากแปลงควบคุมและแปลงทดสอบ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนระหว่างตัวอย่าง

สารโปรไซมิโดนถูกสกัดออกจากตัวอย่างมะม่วงด้วยวิธี QuEChERS โดยเริ่มจากเติม acetonitrile 10 mL ลงในหลอดพลาสติกขนาด 50 mL ที่บรรจุตัวอย่างมะม่วงปั่นละเอียดน้ำหนัก 10±0.01 g เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที ก่อนเติม MgSO₄ 4 g NaCl 1 g tri-sodium citrate dihydrate 1 g และ di-sodium citrate sesquihydrate 0.5 g ลงไปและเขย่าอีกครั้ง แล้วนำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ของผสมจะแยกเป็นชั้นตะกอนอยู่ที่ก้นหลอดและชั้นของเหลวที่ส่วนบนของหลอด ปิเปตเฉพาะชั้นของเหลวปริมาตร 5 mL ใส่ลงในหลอดบรรจุ PSA 125 mg MgSO₄ 750 mg และ GCB 50 mg เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม จากนั้นกรองสารด้วยตัวกรอง 0.2 µm PTFE ปิเปตสารที่กรองแล้ว 1 mL ใส่ขวดเพื่อนำไประเหยตัวทำละลาย acetonitrile ด้วย Nitrogen Evaporator แล้วเปลี่ยนเป็น ethyl acetate ปริมาตร 1 mL สำหรับฉีดวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS)

วิเคราะห์ปริมาณโปรไซมิโดนในตัวอย่างมะม่วงที่สกัดแล้วด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (Agilent รุ่น 7890A) ซึ่งกำหนด Retention time = 13.75 นาที ใช้ Auto sampler (Agilent รุ่น 7693)

ลำเลียงสารปริมาตร 2.00 μL เข้าคอลัมน์ Agilent 19091S-431UI (J&W HP-5ms UI 15 m x 0.25 mm x 0.25 mm) เพื่อแยกสาร ก่อนเข้าสู่ตัวตรวจวัด Mass spectrometer (Agilent รุ่น 7000B) โดยเลือกโหมดการตรวจวัดชนิด Multiple reaction monitoring (MRM) ซึ่งกำหนด precursor ion ที่ $m/z = 284.8$ และ 282.8 และ product ion ที่ $m/z = 96$ และ 68 ได้โครมาโทแกรมดังแสดงใน Figure 2

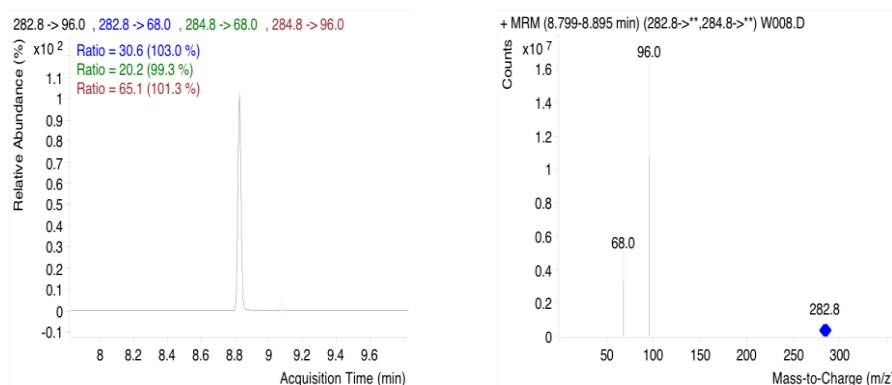


Figure 2 Analytical graphic results of 0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ procymidone in mango matrix: a) total ion chromatogram and b) mass spectrogram.

3. การประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภค

การประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภค แบ่งเป็น การประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคระยะสั้น (short-term risk assessment) รายงานผลด้วยค่าร้อยละปริมาณอ้างอิงเฉียบพลัน (%acute reference dose, %ARfD) และการประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคระยะยาว (long-term risk assessment) รายงานผลด้วยค่าร้อยละปริมาณการบริโภคต่อวันที่ยอมรับได้ (%acceptable daily intake, %ADI)

การประเมินความเสี่ยงระยะสั้นดำเนินการด้วยไฟล์สเปรดชีตสำเร็จรูป IESTI calculation ซึ่งจัดทำโดย Codex ผลการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างโพโรไซมิโดนในมะม่วงจากทั้ง 6 แปลงทดลองจะถูกนำมาเรียงลำดับ และเลือกค่าปริมาณสารพิษตกค้างที่สูงที่สุด (Highest residue, HR) มากรอกลงในโปรแกรม ในการประเมินนี้จะเลือกค่า HR ของตัวอย่างที่เก็บเมื่อวันที่ 21 หลังการพ่นครั้งสุดท้าย เนื่องจากเป็นระยะ PHI มาประเมินร่วมกับค่าปริมาณอ้างอิงเฉียบพลัน (acute reference dose, ARfD) ที่กำหนดโดย Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) หลังการคำนวณเสร็จสิ้น โปรแกรมจะรายงานผลการคำนวณเป็นค่า %ARfD หากค่าที่ได้น้อยกว่า 100% บ่งชี้ว่าการบริโภคมะม่วงที่มีสารพิษตกค้างโพโรไซมิโดนตามปริมาณที่ตรวจพบ ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพในระยะเฉียบพลัน (ภายใน 24 ชั่วโมง)

การประเมินความเสี่ยงระยะยาวดำเนินการด้วยไฟล์สเปรดชีตสำเร็จรูป IEDI calculation ซึ่งจัดทำโดย Codex ผลการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างโพโรไซมิโดนในมะม่วงจากทั้ง 6 แปลงทดลองจะถูกนำมาเรียงลำดับ และเลือกค่ามัธยฐานของปริมาณสารพิษตกค้าง (Supervised trial median residue, STMR) มากรอกลงในโปรแกรม ในการประเมินนี้จะเลือกค่า STMR ของตัวอย่างที่เก็บเมื่อวันที่ 21 หลังการพ่นครั้งสุดท้าย เนื่องจากเป็นระยะ PHI มาประเมินร่วมกับค่าปริมาณการบริโภคต่อวันที่ยอมรับได้ (acceptable daily intake) ที่กำหนดโดย Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) หลังการคำนวณเสร็จสิ้น โปรแกรมจะรายงานผลการคำนวณเป็นค่า %ADI หากค่าที่ได้น้อยกว่า 100% บ่งชี้ว่าการบริโภคมะม่วงที่มีสารพิษตกค้างโพโรไซมิโดนตามปริมาณที่ตรวจพบ ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพในระยะเรื้อรัง หากผลการประเมินยืนยันได้ว่าปริมาณ

สารพิษตกค้างในตัวอย่างมีความปลอดภัย จะนำค่าของทั้ง 6 แปลงมาคำนวณค่า MRL ที่เหมาะสมด้วยไฟล์สเปรดชีตสำเร็จรูป OECD calculator

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2565 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง แปลงเพาะปลูกมะม่วงของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี ชลบุรี ฉะเชิงเทรา และกาญจนบุรี

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างมะม่วงที่ถูกเติมสารละลายมาตรฐาน procymidone ที่ความเข้มข้นระดับต่างกัน ได้แก่ 0.005 0.01 0.1 1.0 และ 5.0 mg/kg ตามลำดับ ความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ ผลการคำนวณค่า %Recovery โดยเรียงลำดับความเข้มข้นที่ถูกเติมลงไปจากน้อยไปมาก ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 108 96 97 99 และ 89 (Table 1) เนื่องจาก European Commission Regulation [9] ได้กำหนดว่าวิธีการวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำ (accuracy) ต้องได้ %Recovery ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบอยู่ในช่วง 70-120% ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ที่ถูกเลือกมาใช้มีความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ในขณะเดียวกันผลการคำนวณค่า HORRAT ได้ค่าเท่ากับ 0.48 0.60 1.34 1.06 และ 0.71 ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งค่า HORRAT ของวิธีการวิเคราะห์ที่มีความเที่ยง (precision) ต้องน้อยกว่า 2 ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ที่นำมาใช้มีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ผลประเมินความแม่นยำและความเที่ยงยืนยันว่าวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง procymidone ในมะม่วงสามารถใช้ได้ โดยมีการกำหนดช่วงการใช้งาน (Working Range) อยู่ที่ 0.005 – 5.0 mg/kg ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) ไว้ที่ 0.005 mg/kg และขีดจำกัดต่ำสุดของการรายงานผล (Limit of Quantification, LOQ) ที่ 0.01 mg/kg

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างโพไซมิโดนในมะม่วง

ตัวอย่างมะม่วงทั้งหมดถูกวิเคราะห์แบบเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) พร้อมกันหลังเสร็จสิ้นการทำแปลงแต่ละครั้งด้วยเทคนิค GC-MS/MS โดยกำหนดมวลต่อประจุ (mass to charge, m/z) สำหรับไอออนตั้งต้น (precursor ion) ไว้ที่ 282.8 และ m/z ของไอออนผลิตภัณฑ์ (product ion) ที่ 96.0 และ 68.0 ได้โครมาโทแกรมรวมของการวิเคราะห์ (total ion chromatogram) ที่มีค่าเวลาของการคงสารไว้ในคอลัมน์หรือ retention time ประมาณ 8.8 ± 0.1 นาที ตัวอย่างของโครมาโทแกรมแสดงใน Figure 3

Table 3 รายงานปริมาณโพไซมิโดนเฉลี่ยของตัวอย่างที่ถูกเก็บ 0 3 7 14 21 28 และ 35 วันหลังการพ่นจากแปลงทดลองสารพิษตกค้างทั้ง 6 แปลง และ Figure 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโพไซมิโดนในตัวอย่างทดสอบของแต่ละแปลง โดยภาพรวม ตัวอย่างควบคุม (untreated sample) มีความเข้มข้นของโพไซมิโดนต่ำกว่าค่า LOQ (0.01 mg/kg) ช่วยยืนยันได้ว่าทุกแปลงที่เลือกไม่ได้ผ่านการใช้ procymidone ภายในแปลง อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างทดสอบ (treated sample) ตรวจพบโพไซมิโดนมากกว่าค่า LOQ ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบในตัวอย่างจะค่อย ๆ ลดลงตามเวลา แนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงมีลักษณะสอดคล้องกับกราฟเอ็กซ์โพเนนเชียลแบบลด (exponential decay) และได้แสดงสมการของแต่ละแปลงใน Table 4

ปริมาณสารพิษตกค้างของทั้ง 6 แปลง มีค่าเฉลี่ยสำหรับ treated sample ที่ถูกเก็บ 0 3 7 14 21 28 และ 35 วันหลังการพ่นเท่ากับ 5.87 4.68 3.84 3.12 2.75 2.04 และ 0.80 mg/kg ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม

%RSD ของข้อมูลมีค่าสูง (53.3 – 73.1) เนื่องจากสภาพภูมิประเทศ สภาพภูมิอากาศ และรูปแบบของแปลงมะม่วงในแต่ละพื้นที่ทดลองมีความแตกต่างกันมากส่งผลต่อการกระจายตัวที่สูงของผลการวิเคราะห์

ปริมาณโปรไซมิโดนเริ่มต้น (0 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย) มีค่าอยู่ในช่วง 2.40-9.96 mg/kg ซึ่งค่าที่ต่ำที่สุดเป็นผลการวิเคราะห์จากแปลงที่ 6 ส่วนค่าที่สูงที่สุดเป็นผลการวิเคราะห์จากแปลงที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้างเมื่อเวลาผ่านไป 21 วัน (ระยะ PHI ตามคำแนะนำบนฉลาก) เทียบกับปริมาณเริ่มต้นมีการลดลง 40.2-76.2% (คิดเป็นค่าเฉลี่ย 57.1%) และเมื่อผ่านไป 35 วัน มีการลดลง 84.0-93.6% (คิดเป็นค่าเฉลี่ย 84.6%) ตัวอย่างที่เก็บครั้งสุดท้ายตรวจพบโปรไซมิโดนอยู่ในช่วง 0.41-1.59 mg/kg ซึ่งค่าที่ต่ำที่สุดเป็นผลการวิเคราะห์จากแปลงที่ 5 ส่วนค่าที่สูงที่สุดเป็นผลการวิเคราะห์จากแปลงที่ 3

เนื่องจากประเทศไทยยังไม่ได้กำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (maximum residue limit, MRL) ของ procymidone ในมะม่วง จึงนำข้อมูลจากการศึกษามาเปรียบเทียบกับค่า MRL ที่กำหนดโดยหน่วยงานอื่น ได้แก่ EU MRL ของสหภาพยุโรป (default limit = 0.01 mg/kg) และ Japan MRL ของประเทศญี่ปุ่น (0.5 mg/kg) ผลการเปรียบเทียบพบว่าปริมาณโปรไซมิโดนในมะม่วงที่เก็บเกี่ยวเมื่อระยะ PHI (21 วัน) ของทุกแปลงทดลอง มีค่าเกินกว่า MRL ของทั้ง 2 หน่วยงาน ดังนั้นการใช้สารชนิดนี้เพื่อการดูแลรักษาแปลงมะม่วงตามฉลากที่กำหนดในปัจจุบัน มีความเสี่ยงที่จะทำให้ผลผลิตมีสารพิษตกค้างสูงจนไม่สามารถส่งออกไปยังกลุ่มประเทศเหล่านี้ได้ และข้อมูลนี้จะต้องถูกนำไปประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภค

Table 1 The %recovery results from the method validation

Fortification level (mg/kg)	% Recovery	Average (n=6)	SD (n=6)	%RSD (n=6)
0.005	102,109,106,114,111,108	108	4.13	3.81
0.01	97,99,93,100,99,88	96	4.65	4.84
0.1	88,87,105,114,93,96	97	10.50	10.80
1.0	97,94,116,97,99,93	99	8.45	8.51
5.0	84,84,85,94,94,93	89	5.14	5.77

Table 2 The HORRAT results from the method validation

Fortification level (mg/kg)	%Recovery (average) (n=6)	%RSD (n=6)	Horwitz %RSD _R	HORRAT
0.005	108	3.81	7.90	0.48
0.01	96	4.84	8.05	0.60
0.1	97	10.80	8.03	1.34
1.0	99	8.51	8.01	1.06
5.0	89	5.77	8.14	0.71

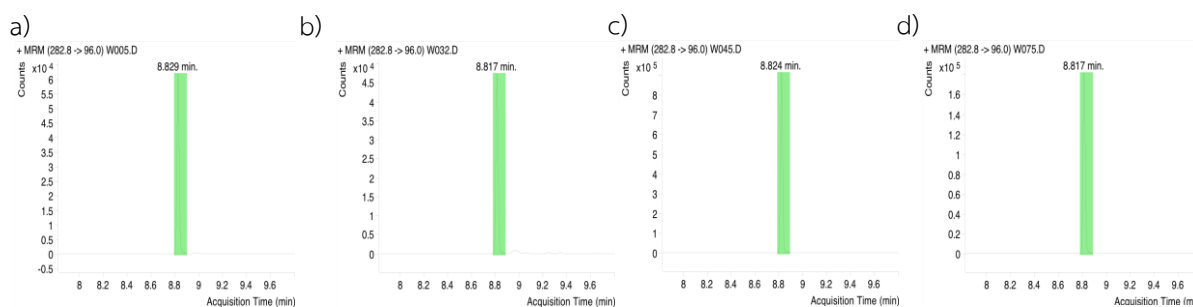


Figure 3 Example total ion chromatograms from the supervised residue trial number 3: a) 0.01 mg kg⁻¹ procymidone standard solution in mango matrix, b) 0.01 mg kg⁻¹ fortified recovery of procymidone in mango matrix, c) treated mango sample collected at 0 day after the last application with 20x dilution, and d) treated mango sample collected at 35 days after the last application with 10x dilution.

Table 3 Procymidone residues detected in samples from six supervised residue trials.

Day of sampling (after the last application)	Procymidone concentration (mg kg ⁻¹)						
	Untreated plot (Trial 1 – Trial 6)	Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5	Trial 6
0	<0.01	4.24	6.57	9.96	8.91	3.11	2.40
3	<0.01	2.48	5.00	8.60	6.91	3.24	1.83
7	<0.01	2.21	3.54	8.36	5.21	2.18	1.56
14	<0.01	2.06	3.43	6.47	4.88	0.92	0.93
21	<0.01	1.65	3.27	5.96	3.89	0.74	0.99
28	<0.01	1.34	2.37	3.92	3.21	0.63	0.76
35	<0.01	0.48	1.03	1.59	0.57	0.41	0.72

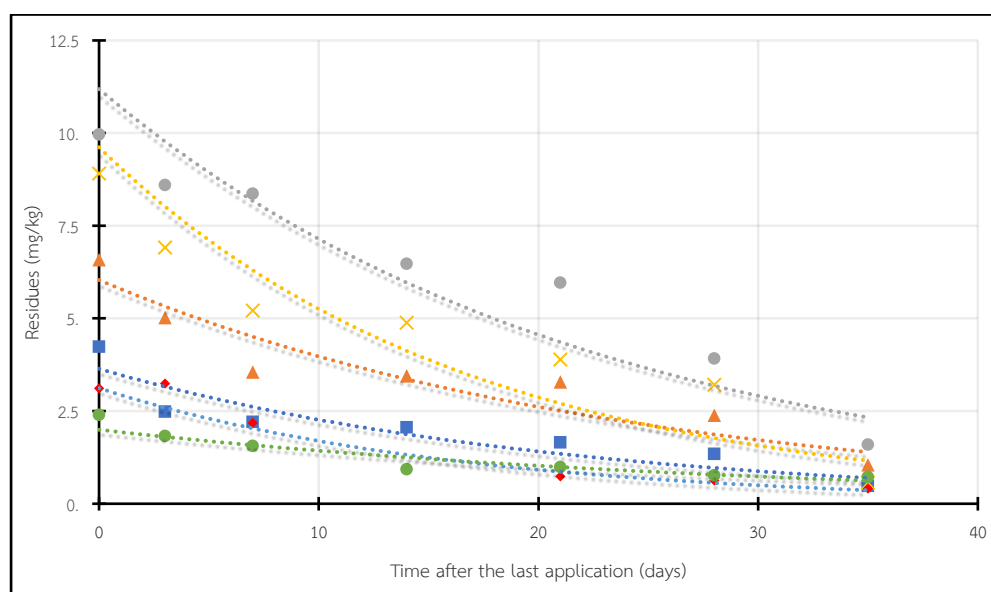


Figure 4 The exponential fits for residue degradations of procymidone in mango samples from six supervised residue trials:

■ trial 1 ▲ trial 2 ● trial 3 ✕ trial 4 ◆ trial 5 ● trial 6

Table 4 Regression equations and correlation coefficients of procymidone in mango.

Trial	Model	Regression equation	R ²
1	Exponential	$y = 3.6417e^{-0.047x}$	0.8439
2	Exponential	$y = 6.038e^{-0.042x}$	0.8831
3	Exponential	$y = 11.187e^{-0.045x}$	0.9095
4	Exponential	$y = 9.6183e^{-0.06x}$	0.8998
5	Exponential	$y = 3.118e^{-0.061x}$	0.9425
6	Exponential	$y = 1.9965e^{-0.033x}$	0.9024

3. ผลการประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคมะม่วงที่มีสารพิษตกค้างโปรไซมิโดน

การประเมินความเสี่ยงระยะยาวด้วยไฟล์สเปรดชีตสำเร็จรูป IEDI calculation เลือกค่า STMR ของตัวอย่างที่เก็บเมื่อวันที่ 21 หลังการพ่นครั้งสุดท้าย เท่ากับ 2.46 mg/kg มาประเมินร่วมกับค่า ADI (JMPR 2007) เท่ากับ 0.1 mg/kg bw/day ผลการคำนวณได้ค่า %ADI = 0.4% สำหรับผู้บริโภคชาวไทยและผู้บริโภคในกลุ่มประเทศ G9 [12] ในขณะที่ %ADI สำหรับผู้บริโภคในกลุ่มประเทศอื่น ๆ อยู่ในช่วง 0 – 0.8% บ่งชี้ว่าการบริโภคมะม่วงจากแปลงที่มีการพ่นสารโปรไซมิโดนและเก็บเกี่ยว 21 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย (ระยะ PHI) ไม่มีความเสี่ยงที่จะเป็นอันตรายต่อสุขภาพเรื้อรัง

เนื่องจากตัวอย่างที่เก็บระยะ PHI มีผลการประเมินความเสี่ยงที่ไม่ปลอดภัยต่อกลุ่มผู้บริโภคอายุน้อย (2-6 ปี) จึงต้องนำข้อมูลของตัวอย่างที่เก็บเมื่อ 28 และ 35 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้ายมาประเมินด้วย IESTI calculation เพิ่มเติม ได้ผลว่าค่า HR ของตัวอย่างที่เก็บวันที่ 35 (1.59 mg/kg) มี %ARfD สำหรับเด็กเท่ากับ 80% (20-30% สำหรับผู้ใหญ่ และ 20% สำหรับผู้หญิง) แสดงว่ามะม่วงที่ถูกเก็บเกี่ยวหลังการพ่นไซมิโดน 35 วันมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคทุกกลุ่ม

ผลการพิจารณาได้ข้อสรุปว่าการใช้โปรไซมิโดนพ่นลงในแปลงมะม่วงจำนวน 5 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน แล้วเว้นระยะการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายอย่างน้อย 35 วัน ปริมาณสารพิษตกค้างจะอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคทุกกลุ่ม จึงใช้ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างของตัวอย่างวันที่ 35 ของทุกแปลง (Table 1) มากำหนดค่า MRL ด้วยไฟล์สเปรดชีตสำเร็จรูป OECD calculator ได้ค่า unrounded MRL (MRL ที่ยังไม่ถูกปัดค่า) เท่ากับ 2.581 mg/kg เทียบเท่ากับค่า rounded MRL (MRL ที่ถูกปัดค่าแล้ว) 3 mg/kg

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างโปรไซมิโดน (procymidone) ในมะม่วง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ดำเนินการทั้งหมด 6 แปลงทดลอง ได้ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะ 0 3 5 7 14 21 28 และ 35 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย เท่ากับ 5.87 4.68 3.84 3.12 2.75 2.04 และ 0.80 mg/kg ตามลำดับ ปริมาณที่ตรวจพบสูงกว่าเกณฑ์ MRL ของสหภาพยุโรปและญี่ปุ่น ผลการประเมินความเสี่ยงต่อการบริโภคบ่งชี้ว่าตัวอย่างมะม่วงที่เก็บเมื่อวันที่ 21 หลังการพ่นครั้งสุดท้าย (ระยะ PHI) มีความเสี่ยงที่จะเป็นอันตรายระยะเฉียบพลันต่อผู้บริโภคที่เป็นเด็ก ซึ่งระยะเก็บเกี่ยวที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคทุกกลุ่มคือ 35 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย จึงกำหนดค่า MRL ด้วยข้อมูลของตัวอย่างที่ถูกเก็บเกี่ยวในวันที่นี้ ได้ค่า rounded MRL เท่ากับ 3 mg/kg

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี ชลบุรี ฉะเชิงเทรา และกาญจนบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่เพาะปลูกมะม่วงสำหรับการทำแปลงทดลอง นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์และนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ ทรัพยากร และเงินทุนสำหรับการทำวิจัย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นข้อมูลสำหรับกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (ค่า MRL) ของประเทศ รวมถึงภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ASEAN) ตลอดจนใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับทบทวนการปรับเปลี่ยนอัตราคำแนะนำบนฉลากของ procymidone เพื่อให้วัตถุอันตรายนี้ยังคงประสิทธิภาพแต่มีอันตรายต่อผู้บริโภคต่ำ
2. เผยแพร่งานวิจัยนี้แก่บุคคลหรือหน่วยงานที่สนใจได้นำไปปรับใช้หรือต่อยอดในการศึกษาด้านอื่น

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2565. การผลิตมะม่วงคุณภาพเพื่อการส่งออก เอกสารคำแนะนำที่3/2565. 10-15.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2551. คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร มะม่วง. 15-18.
- กลุ่มส่งเสริมไม้ผล กรมส่งเสริมการเกษตร. 2565. แหล่งข้อมูล <https://www.agriman.doae.go.th/home/news/2565/13mango.pdf>. สืบค้น: 15 ตุลาคม 2566.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย. แหล่งข้อมูล https://www.acfs.go.th/files/files/attach-files/867_20190606145951_625162.pdf. สืบค้น: 16 พฤษภาคม 2567.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สินค้าเกษตรมะม่วง. แหล่งข้อมูล <https://mis-app.oae.go.th/product/มะม่วง>. สืบค้น: 15 ตุลาคม 2566.
- Online news time. 2565. 10 อันดับ “ผลไม้ไทย” ในตลาดส่งออก ปี 2560 – 2564. แหล่งข้อมูล <https://www.onlinenewstime.com/10-อันดับ-ผลไม้ไทย-ในตลาด/online-newstime-data/>. สืบค้น: 15 ตุลาคม 2566.
- Sotus home and garden. 2559. มะม่วง. แหล่งข้อมูล <http://garden.sotus.co.th/site/garden-content.php?kw=13>. สืบค้น: 15 ตุลาคม 2566.
- EU pesticide data base. Available at: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/products>. Assessment: May 16, 2024.
- European Commission SANCO/2009/10684. 2009. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analyses in food and feed. Available at: <http://www.crlpesticides.eu/library/docs/fv/guidedefinalversion>. Assessment: September 14, 2020.
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. Available at: <http://www.fao.org/3/I5452e/I5452e.pdf>. Assessment: September 14, 2020.

Horwitz, W. and Albert, R. 1995. Precision in analytical measurements: Expected values and consequences in geochemical analysis. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 351: 507-513.

The Japan food chemical research foundation. Residue Limits of Agricultural Chemicals. Available at: <https://www.ffcr.or.jp/en/zanryu/>. Assessment: May 16, 2024.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไมโคลบูทานิล (Myclobutanil) ในมะม่วง
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Residue Trial of Myclobutanil in Mango to Establish
Maximum Residue Limit (MRL)

พชร เมินหา ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ พรณภัส วิชานะนันทน์ ศิริพันธ์ สมุทรศรี มติมล แสงสว่าง
Pachara Meanha Prachathipat Pongpinyo Pornnaphat Wichannananon
Siripan Samutsri Matimon Seangsawang

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This study investigates the residual levels of myclobutanil in mango samples collected from six field trials conducted between October 2022 and September 2024 in Si Prachan District, Suphan Buri Province; Chom Bueng District, Ratchaburi Province; Phanom Sarakham District, Chachoengsao Province; Si Maha Phot District, Prachin Buri Province; Wiset Chai Chan District, Ang Thong Province; and Chom Bueng District, Ratchaburi Province. Each field trial was divided into two subplots: a control plot (non-treated) and a treated plot, where myclobutanil 12.5% W/V EC was applied at the recommended rate of 8 mL per 20 liters of water, three times at seven-day intervals. Mango samples were collected at 0, 3, 5, 7, 10, 14, 21, and 30 days after the last application to analyze residual myclobutanil levels using the QuEChERS method, followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), with a limit of quantitation (LOQ) of 0.01 mg/kg. The results showed that in all six field trials, no detectable residues were found in mangoes from control plots, or the levels were below the LOQ, while in the residue results from the field trials at 0, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days after the last application showed that myclobutanil residues in mango ranged from 0.01-0.07, 0.01-0.12, 0.01-0.09, 0.01-0.04, 0.01-0.88 and 0.01-1.07 mg/kg in trial number 1, 2, 3, 4, 5 and 6, respectively. Based on the residue data, the pre-harvest interval (PHI) for mangoes was determined to be seven days when compared to the maximum residue limit (MRL) set by Japan. Additionally, the data were evaluated in relation to the acceptable daily intake (ADI) and the acute reference dose (ARfD) to establish the Thai MRL for myclobutanil in mangoes at 0.7 mg/kg. This information contributes to the harmonization of residue standards within ASEAN (ASEAN Harmonized MRLs) and supports the establishment of Codex MRLs for myclobutanil in mangoes.

Keywords: Myclobutanil; Mango

บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของไมโคลบิวทานิล (myclobutanil) ในตัวอย่างมะม่วง แปลงทดลอง ครั้งที่ 1-6 โดยทำแปลงทดลองช่วงเดือนตุลาคม 2565 ถึง กันยายน 2567 สถานที่ทำแปลงทดลอง คือ อำเภอสรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี อำเภोजอมบึง จังหวัดราชบุรี อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา อำเภอสรีมหาโพธิ จังหวัดปราจีนบุรี อำเภอวิเศษชัยชาญ จังหวัดอ่างทอง และอำเภोजอมบึง จังหวัดราชบุรี ตามลำดับ แต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงทดลองที่ไม่พ่น myclobutanil เป็นแปลงควบคุม (control) และแปลงที่พ่น (treated) myclobutanil 12.5% W/V EC ในอัตราแนะนำ 8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และพ่น 3 ครั้ง ทุก ๆ 7 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างมะม่วง ที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14 21 และ 30 วัน หลังจากการพ่นครั้งสุดท้าย เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil โดยวิธี QuEChERS ตรวจวิเคราะห์ด้วย Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) มีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการวิจัยพบว่า แปลงทดลองครั้งที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ในแปลง control ไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil ในมะม่วง หรือมีค่าต่ำกว่า LOQ และแปลง treated ปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันหลังจากการพ่นครั้งสุดท้าย อยู่ในช่วง 0.01-0.07, 0.01-0.12, 0.01-0.09, 0.01-0.04, 0.01-0.88 และ 0.01-1.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของแปลงทดลองที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ตามลำดับ จากการนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil ในมะม่วง พิจารณากำหนดระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัย (Pre Harvest Interval, PHI) เมื่อเทียบกับค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit, MRL) ของ Japan MRL จึงมีค่าเท่ากับ 7 วัน และนำข้อมูลร่วมพิจารณาค่าปริมาณที่สามารถบริโภคได้ต่อวัน (Acceptable Daily Intake, ADI) และค่าความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเฉียบพลัน (Acute Reference Dose, ARfD) เพื่อกำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง myclobutanil ในมะม่วง ของ Thai MRL เท่ากับ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเสนอข้อมูลพิจารณา กำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างระหว่างประเทศ ASEAN Harmonized MRLs และนำข้อมูลร่วมพิจารณา กำหนดค่า Codex MRLs ของ myclobutanil ในมะม่วง

คำสำคัญ : ไมโคลบิวทานิล; มะม่วง

คำนำ

มะม่วงเป็นไม้ยืนต้นในสกุล *Mangifera* ซึ่งเป็นไม้ผลเมืองร้อนในวงศ์ *Anacardiaceae* (กลุ่มเดียวกับ ถั่วพิสตาชิโอและมะม่วงหิมพานต์) ชื่อวิทยาศาสตร์: *Mangifera indica* Linn. เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในอินเดีย เพราะการที่ภูมิภาคนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรม มะม่วงมีความแตกต่างประมาณ 49 สายพันธุ์กระจายอยู่ตามประเทศในเขตร้อนตั้งแต่อินเดียไปจนถึงฟิลิปปินส์ ซึ่งมะม่วงเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ปลูกเป็นพืชสวน ประเทศไทยน่าจะมีความได้เปรียบ โดยเฉพาะด้านสภาพภูมิอากาศที่เอื้ออำนวยต่อการผลิตมะม่วงได้เกือบตลอดปี ทั้งในฤดูและนอกฤดู และรสชาติของมะม่วงมีความหวาน อร่อย และหอม จึงเป็นที่นิยมของต่างชาติ มะม่วงจากประเทศไทยเป็นผลผลิตมีคุณภาพดี เป็นที่ยอมรับของตลาดภายในและนอกกลุ่มประเทศอาเซียน สายพันธุ์ที่ได้รับการยอมรับประทานผลดี ได้แก่ เชี่ยวสวาย หนั่งกลางวัน โชคอนันต์ และแรด เป็นต้น ส่วนผลสุก ได้แก่ น้ำดอกไม้และอกร่อง พบว่า ประเทศไทยส่งออกมะม่วงสดหรือแช่เย็นจนแข็งจำนวนมาก ในปี พ.ศ. 2566 ส่งออกถึง 114,306,267 กิโลกรัม มูลค่าการส่งออกมากถึง 3,599,663,975 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2568) เนื่องจากมะม่วงเป็นพืชที่มีมูลค่าเศรษฐกิจ เกษตรกรผู้ปลูกจึงมีการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรหลากหลายชนิดเพื่อลดปัญหาโรคพืชและศัตรูพืชของมะม่วง ซึ่งอาจจะมีการตกค้างของ

สารพิษในมะม่วงได้ และส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ถ้าหากมีปริมาณที่สูงและเกินเกณฑ์มาตรฐานกำหนด ดังนั้นการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ถูกต้องตามคำแนะนำจึงเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดปริมาณสารพิษตกค้างมากเกินไปในผลผลิต ซึ่งจะปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

Myclobutanil มีสูตรโมเลกุล C₁₅H₁₇Cl N₄ ชื่อสามัญ คือ (R,S)-2-(4-chlorophenyl)-2-(1H-1,2,4-triazole-1-ylmethyl)hexanenitrile มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 288.8 กรัมต่อโมล และ CAS No. คือ 88671-89-0 สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายน้ำ เป็นสารป้องกันเชื้อราแบบ broad-spectrum ชนิดดูดซึม (systemic) ของสารเคมีกลุ่มไตรอะโซลที่ใช้ทดแทน โดยออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสังเคราะห์สเตอรอลในเชื้อรา myclobutanil เป็นสารป้องกันเชื้อราแบบระบบที่ใช้ควบคุมโรคราสน้ำตาล โรคราแป้ง และโรคจุดใบในพืชผลที่มีเมล็ดแข็ง และจัดอยู่ในกลุ่มสารป้องกันเชื้อราในกลุ่มสารยับยั้งการไคเมทิลเอซีสเตอรอล (DMI) ค่า LD₅₀ ทางปากสำหรับ myclobutanil มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 1,600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวในหนู ค่า LD₅₀ ทางผิวหนัง มีค่ามากกว่า 5,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวในหนูและกระต่ายค่า LC₅₀ ทางหายใจมีค่ามากกว่า 5.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในหนู myclobutanil ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนังแต่ระคายเคืองปานกลางต่อดวงตาของกระต่าย myclobutanil ไม่ก่อให้เกิดการแพ้ในการทดสอบการขยายขนาดในหนูตะเภาหรือการทดสอบต่อม่านน้ำเหลืองในหนู และก่อให้เกิดการแพ้เล็กน้อยโดยใช้วิธี Buehler ซึ่ง myclobutanil ถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วและกว้างขวางในหนู (> 89%) ความเข้มข้นสูงสุดของ myclobutanil ที่ติดฉลากกัมมันตรังสีในพลาสมาและเนื้อเยื่อเกิดขึ้นภายใน 1 ชั่วโมงหลังการให้ยาทางปาก การขับถ่ายออกจากพลาสมาเป็นแบบสองขั้นตอน โดย myclobutanil มีครึ่งชีวิตคือ 5 ชั่วโมงสำหรับระยะรวดเร็ว และ 26 ชั่วโมงสำหรับระยะช้าในหนูที่ได้รับยาขนาดเดียว myclobutanil กระจายตัวอย่างกว้างขวาง และไม่พบการสะสมในเนื้อเยื่ออย่างมีนัยสำคัญ 96 ชั่วโมงหลังการให้ยา การเผาผลาญเกิดขึ้นอย่างกว้างขวาง และดูเหมือนจะเกิดขึ้นส่วนใหญ่ผ่านปฏิกิริยาออกซิเจนเนชันต่างๆ ของกลุ่ม butyl เมตาบอไลต์ที่ประกอบด้วยฟีนิลไตรอะโซลที่ไม่จับคู่หลักคือ RH-9090 ((2R,S)-2-(4-คลอโรฟีนิล)-5-ไฮดรอกซี-2-(1H-1,2,4-ไตรอะโซล-1-อิลเมทิล) เฮกซานไนไตรล์) และ RH-9089 ((2R,S)-2-(4-คลอโรฟีนิล)-5-ออกซิ-2-(1H-1,2,4-ไตรอะโซล-1-อิลเมทิล) เฮกซานไนไตรล์) myclobutanil ถูกขับออกทางปัสสาวะและอุจจาระอย่างรวดเร็วและหมดภายใน 24-48 ชั่วโมงในหนู (Rat) ลักษณะโครงสร้างของ myclobutanil (FAO, 2014) ดัง Fig. 1

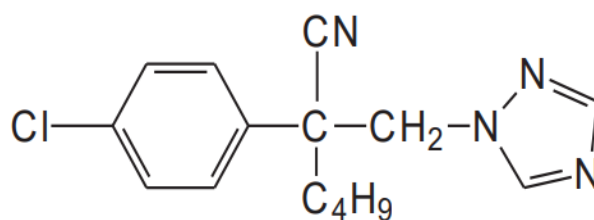


Fig. 1 Structure of Myclobutanil

ที่มา: FAO, 2014

การกำหนดชนิดสารพิษตกค้างที่ให้ตรวจ (residues definition) เพื่อใช้กำหนดค่า MRLs และการประเมินความเป็นพิษ (estimation of daily intake) ของสาร myclobutanil โดย Codex กำหนดไว้ คือ ผลรวมของ myclobutanil และ α -(4-chlorophenyl)- α -(3-hydroxybutyl)-1H-1,2,4-triazole-1-propanenitrile (RH-9090) ในรูปของ myclobutanil ซึ่งสารนี้ไม่ละลายในไขมัน วิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างนั้น ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์สารตกค้างมีหลายวิธี ซึ่งวิธี QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe method) (EN 15662, 2018) เป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารพิษตกค้างทั่วโลกสนใจ และได้รับการยอมรับอย่างเป็นทางการจากสมาคมนักวิเคราะห์ทางเคมี (Association of Official Analytical Chemists; AOAC) โดยวิธีนี้ใช้สารละลายอินทรีย์กับบัฟเฟอร์ปริมาณน้อยสำหรับการวิเคราะห์ในเฟสอินทรีย์ และใช้ dispersive solid-phase extraction (d-SPE) สำหรับกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ (clean up) ซึ่งวิธีนี้สามารถเตรียมตัวอย่างได้อย่างง่ายดาย รวดเร็ว มีค่าใช้จ่ายน้อยและเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ

งานวิจัยของ Abdallah *et al.* (2021) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ myclobutanil, penconazole, tebuconazole และ triadimenol ในตัวอย่างลูกน้ำเต้า โดยใช้วิธี QuEChERS ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ใช้คอลัมน์ RP-MS C18 (100 × 2.1 mm, 2.6 μ m ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific) ที่มี mobile phase A คือ 5 mM ammonium acetate และ 0.1% formic acid ใน methanol:water (10:90, v/v) และ mobile phase B คือ 5 mM ammonium acetate และ 0.1% formic acid ใน methanol:water (90:10, v/v) อัตราการไหลที่ 0.30 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่า มีค่า LOQ เท่ากับ 0.01-0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และศึกษาความถูกต้องแม่นยำของวิธีโดยทำการ spike สารมาตรฐานเหล่านี้ พบว่า ได้ร้อยละการกลับคืน (% recovery) อยู่ในช่วง 81.7-96.3 และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviations; RSD) อยู่ในช่วง 4 - 11%

การดำเนินงานวิจัยสารพิษตกค้างจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ตามหลักเกณฑ์จาก FAO Plant Production and Protection Paper 225 (FAO, 2016) ซึ่งประเทศไทยมีมาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดเป็นมาตรฐานการกำหนดค่า MRLs ในสินค้าเกษตรที่ใช้เป็นอาหารและอาหารสัตว์ เพื่อใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิต การค้า และการตรวจสอบสินค้าเกษตรที่ผลิต นำเข้า และส่งออก โดยหน่วยงานภายในกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้แก่ กรมวิชาการเกษตร ในฐานะหน่วยงานศึกษาวิจัยสารพิษตกค้างจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ได้จัดทำข้อมูลเสนอคณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตรเรื่องสารพิษตกค้าง พิจารณากำหนดค่า PHI และ Thai MRLs เพื่อยืนยันค่าความปลอดภัยดังกล่าว นำปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil ที่ 0 วัน หลังพ่นครั้งสุดท้าย มาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเฉียบพลัน (Acute Reference Dose; ARfD) คำนวณโดยใช้โปรแกรม International Estimate of Short Term Intake (IESTI calculation) (WHO, 2014) และใช้ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่มีค่าสูงสุด (Highest Residues; HR) ของทั้ง 6 การทดลอง และประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเรื้อรัง โดยใช้โปรแกรม International Estimated Daily Intake (IEDI calculation) ใช้ค่าปริมาณสารพิษตกค้างของ ค่ามัธยฐาน (Supervised Trial Median Residue; STMR) ของทั้ง 6 การทดลอง เช่นเดียวกัน จะพิจารณา data set ที่จะจัดส่งให้ Expert Working Group on Harmonisation of Maximum Residue Limits (EWG-MRLs) เพื่อกำหนดค่า ASEAN Harmonized MRLs เสนอกำหนดค่า MRL และจัด data set ส่งให้ Codex เพื่อประกอบการกำหนดค่า Codex MRLs

งานวิจัยนี้จึงศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ myclobutanil ในมะม่วง จากการปนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil ในมะม่วง ตามอัตราคำแนะนำ และตรวจติดตามปริมาณของ myclobutanil ในมะม่วง โดยวิธี QuEChERS วิเคราะห์ด้วย LC-MS/MS เพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณา กำหนดค่า PHI และการกำหนดค่า MRL จากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกต้อง และปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex ซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำไปใช้พิจารณากำหนดค่ามาตรฐานอ้างอิงด้านสารพิษตกค้างของประเทศ (Thai-MRL), ASEAN Harmonized MRLs และ Codex MRLs

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ นาฬิกาจับเวลา เครื่องบันทึกอุณหภูมิ เครื่องวัดความเร็วลม ชุดป้องกันสารพิษ ถังน้ำขนาด 100-200 ลิตร ป้ายปักแปลง หมุดหัวน็อต และ เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรด้วยมอเตอร์แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) เป็นต้น
2. อุปกรณ์ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ centrifuge tube vial cylinder beaker volumetric flask และ PTFE syringe filter
3. เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ micro pipette ที่ผ่านการสอบเทียบ food processor vortex mixer centrifuge shaker และ nitrogen evaporator
4. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) LC รุ่น 1290 infinity และ MS/MS รุ่น 6460 Triple Quad ยี่ห้อ Agilent Technologies
6. วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้ในแปลงทดลอง คือ myclobutanil 24% W/V EC
7. สารมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ myclobutanil 99.9% และ myclobutanil -3-hydroxybutyl 96.8%
8. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ชนิด LC-MS grade คือ Acetonitrile (CH_3CN) ชนิด analytical grade คือ Formic acid (CH_2O_2), Anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4), Sodium citrate tribasic dihydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Sodium chloride (NaCl), Disodium hydrogen citrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), Ammonium formate (NH_4HCO_2), Primary secondary amine (PSA), Graphitized carbon black (GCB) และน้ำกลั่น (distilled water)

วิธีการ

1. การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับ mylobutanil ในมะม่วง
 - 1.1 การเตรียมตัวอย่างมะม่วง
ตัวอย่างมะม่วงที่เก็บจากแปลงทดลอง เอาเมล็ดออกใช้เฉพาะส่วนเนื้อผลและเปลือก (FAO, 2016) หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ และบดตัวอย่างให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยไนโตรเจนเหลว โดยเครื่อง food processor และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้างในตัวอย่าง ก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง
 - 1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน
การเตรียม working standard solution โดยใช้วิธี matrix match standard (เตรียมในสารละลายตัวอย่าง blank ของมะม่วงที่สกัดด้วยวิธีการที่เหมาะสม) ที่ 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.005, 0.01,

0.05, 0.10, 0.2 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน myclobutanil หรือ myclobutanil -3-hydroxybutyl ที่เตรียมขึ้น (แกน x) กับ peak area ที่วัดได้ (แกน y) และคำนวณหาปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil หรือ myclobutanil -3-hydroxybutyl จากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่ได้ โดยการนำ peak area ของสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟ

1.3 การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

สกัดตัวอย่างมะม่วงด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2018) ซั่งตัวอย่างมะม่วง จากข้อ 1.1 จำนวน 10 ± 0.1 กรัม ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดด้วยเติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที แล้วเติม $MgSO_4$ 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 หลังจากนั้น ปิเปตสารละลายส่วนบน 5 มิลลิลิตร ใส่ใน centrifuge tube 15 มิลลิลิตร ที่มี $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม เขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วสารละลายส่วนใสผ่าน PTFE syringe filter ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

1.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องมือ สำหรับการตรวจวิเคราะห์สาร myclobutanil

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ myclobutanil ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งเป็นเทคนิคที่ให้ความไวในการวิเคราะห์สูง (high sensitivity) และให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ โดยหาสภาวะของเครื่องมือที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ตามคุณลักษณะเฉพาะของวิธี (method performance characteristic) ดังนี้ ช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวิเคราะห์ (linearity) ช่วงการใช้งาน/ความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ (working range) ความถูกต้อง (accuracy) หาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS เพื่อนำมาใช้หาปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil ในตัวอย่างมะม่วง

2. การทำแปลงทดลอง

2.1 การสำรวจแปลงปลูกและวางแผนการทดลอง

สำรวจและเลือกแปลงมะม่วงของเกษตรกรเพื่อทำการทดลอง แต่ละแปลงทดลองห่างกันอย่างน้อย 30 กิโลเมตร หรือแตกต่างกันฤดูกาล ผลผลิตที่ได้ต้องเพียงพอ เพื่อวางแผนการทดลอง และการปฏิบัติงาน วางแผนการศึกษาข้อมูลสารพิษตกค้างตามคำแนะนำ (supervised trials) คือ การศึกษาปริมาณของสารพิษตกค้างหลังการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกต้องตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice; GAP) ที่มีโอกาสทำให้เกิดสารพิษตกค้างสูงสุด (critical GAP) เช่น อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (dose rate) แนะนำสูงสุด จำนวนครั้งที่พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (number of applications) มากที่สุด และระยะเวลาเว้นช่วงการพ่นแต่ละครั้ง (interval) สั้นสุด เป็นต้น และรายงานปริมาณสารพิษตกค้างที่วิเคราะห์ได้ในผลผลิตจากแปลงทดลอง (พิศาล, 2551) ตาม Codex Guidelines มี 2 การทดลองย่อย (experiments)

การทดลองย่อยที่ 1 แปลงควบคุม (control) ไม่พ่น myclobutanil สำหรับใช้เป็นแปลงเปรียบเทียบกับแปลงที่พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil

การทดลองย่อยที่ 2 แปลงที่พ่น (treated) มีการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil 12.5% W/V EC ในอัตราแนะนำ 8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราการใช้ 5 ลิตรต่อต้น (5.0 g a.i./hL)

(กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) ซึ่งทำการพ่น myclobutanil ห่างกันเป็นเวลา 7 วัน จำนวน 3 ครั้งติดต่อกัน โดยการพ่นทางใบ (foliar sprays) แต่ละการทดลองย่อย มี 8 กรรมวิธี (treatment) คือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยว ผลผลิตมะม่วง ไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างภายหลังการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil ครั้งสุดท้าย และสุ่มเก็บตัวอย่าง โดยทำการสุ่ม 2 ซ้ำ (replicate) ของแต่ละกรรมวิธี หลังการพ่นครั้งสุดท้ายทิ้งระยะเวลา 2 ชั่วโมง จึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมะม่วงจากแปลงทดลองย่อย 0 วัน และเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาคือ 3, 5, 7, 10, 14, 21 และ 30 วันหลังจากการพ่น ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil และอนุพันธ์ คือ myclobutanil -3-hydroxybutyl

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด) ตุลาคม 2564 - กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร
แปลงทดลองครั้งที่ 1 ที่ ตำบลบ้านกร่าง อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี
แปลงทดลองครั้งที่ 2 ที่ ตำบลแก้มอัน อำเภोजอมบึง จังหวัดราชบุรี
แปลงทดลองครั้งที่ 3 ที่ ตำบลหนองแขน อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา
แปลงทดลองครั้งที่ 4 ที่ ตำบลหนองโพรง อำเภอศรีมหาโพธิ จังหวัดปราจีนบุรี
แปลงทดลองครั้งที่ 5 ที่ ตำบลยี่ล้น อำเภอวิเศษชัยชาญ จังหวัดอ่างทอง
แปลงทดลองครั้งที่ 6 ที่ ตำบลแก้มอัน อำเภोजอมบึง จังหวัดราชบุรี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับ mylobutanil ในมะม่วง

จากการศึกษาสถานะของเครื่อง LC-MS/MS ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร myclobutanil และ myclobutanil -3-hydroxybutyl ที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องและแม่นยำ แสดงดัง Table 1 และ Table 2

Table 1 LC-MS/MS parameters for determination of myclobutanil

LC Parameter		Condition
Injection volume (µL)	2.0	
Column type	Kinetex 2.6 µm XB-C18, 100A, 100x2.1 mm	
Column temperature (°C)	40.0	
Mobile phase A (aqueous phase)	0.01% formic acid in 5 mM ammonium formate	
Mobile phase B (organic phase)	Acetonitrile	
Mobile phase flow (mL/min)	0.4	
Total run time (min)	11.0	
QQQ Source Parameter	Value (+)	Value (-)
Gas temp (°C)	325	325
Gas flow (L/min)	10	10
Nebulizer (psi)	45	45
SheathGasHeater	300	300
SheathGasFlow	10	10
Capillary (V)	3500	3500
VCharging	500	500

Table 2 Parameters of MS/MS: Multi Reaction Monitoring (MRM)

Compound	Precursor Ion	Product Ion	Dwell time	Frag (V)	CE (V)	CA (V)	Polarity
myclobutanil	305	125	200	120	15	7	Positive
	305	70	200	120	15	7	Positive
myclobutanil-3-hydroxybutyl	289	125	200	120	20	7	Positive
	289	70	200	120	15	7	Positive

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil โดยเตรียมสารมาตรฐานแบบ matrix match standard ของตัวอย่างมะม่วงที่สกัดโดยวิธี QuEChERS วิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากสถานะของเครื่องข้างต้น ซึ่งการวิเคราะห์ myclobutanil โดย protonated molecular ion (M+H)⁺ ของแมส 305.0 เลือกเป็น precursor ion หลังจากนั้นเกิดการ fragmentation ของ precursor ion แตกตัวเป็น product ion หรือ daughter ion หา product ion ที่มีค่า abundant สูง เลือกใช้เป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitation)

คือ product ion ที่ m/z 70.0 ขณะที่ daughter ion ที่ m/z 125.0 ใช้เป็นแมสยืนยัน (confirmation mass) สำหรับชนิดสาร myclobutanil-3-hydroxybutyl โดยลักษณะพีคของสารแสดง ดัง Fig. 2. และ Fig.3. จากการตรวจวัด พบว่า เวลาที่สารเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ (Retention time; RT) ของสาร myclobutanil อยู่ที่ 3.76 นาที เมื่อ (A) total ion chromatograms (TIC) (B) MRM (multiple reaction monitoring) ของ m/z ที่ 305.0 $\rightarrow$ 70.0 (C) MRM ของ m/z ที่ 305.0 $\rightarrow$ 125.0 และสาร myclobutanil-3-hydroxybutyl อยู่ที่ 3.08 นาที เมื่อ (D) total ion chromatograms (TIC) (E) MRM (multiple reaction monitoring) ของ m/z ที่ 289.0 $\rightarrow$ 70.0 (F) MRM ของ m/z ที่ 289.0 $\rightarrow$ 125.0

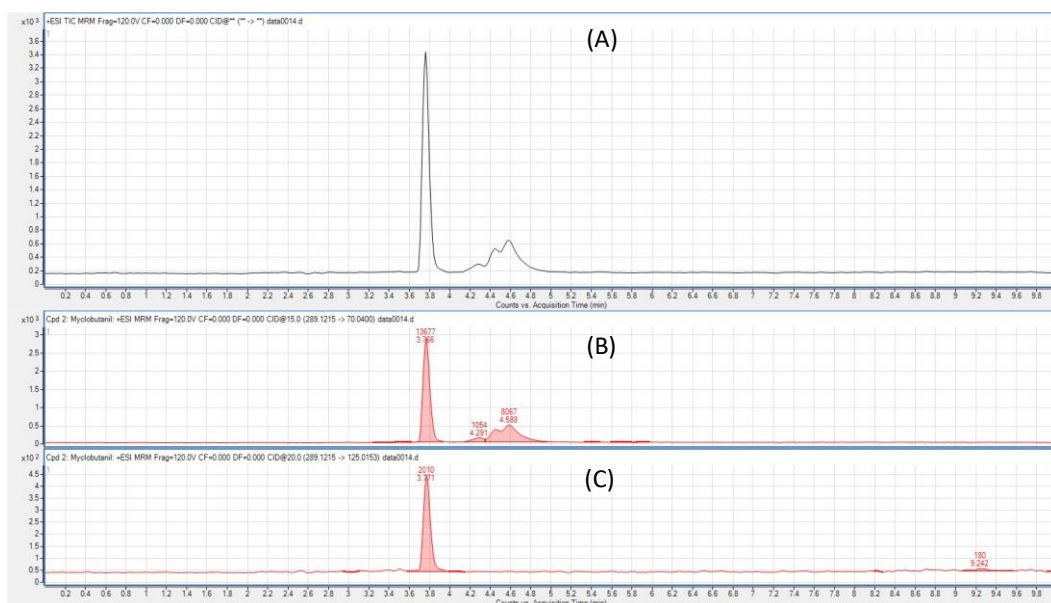


Fig. 2 Chromatograms of myclobutanil at 0.20 mg/mL (A) TIC of myclobutanil (B) MRM at m/z 305.0 $\rightarrow$ 70.0 and (C) MRM at m/z 305.0 $\rightarrow$ 125.0

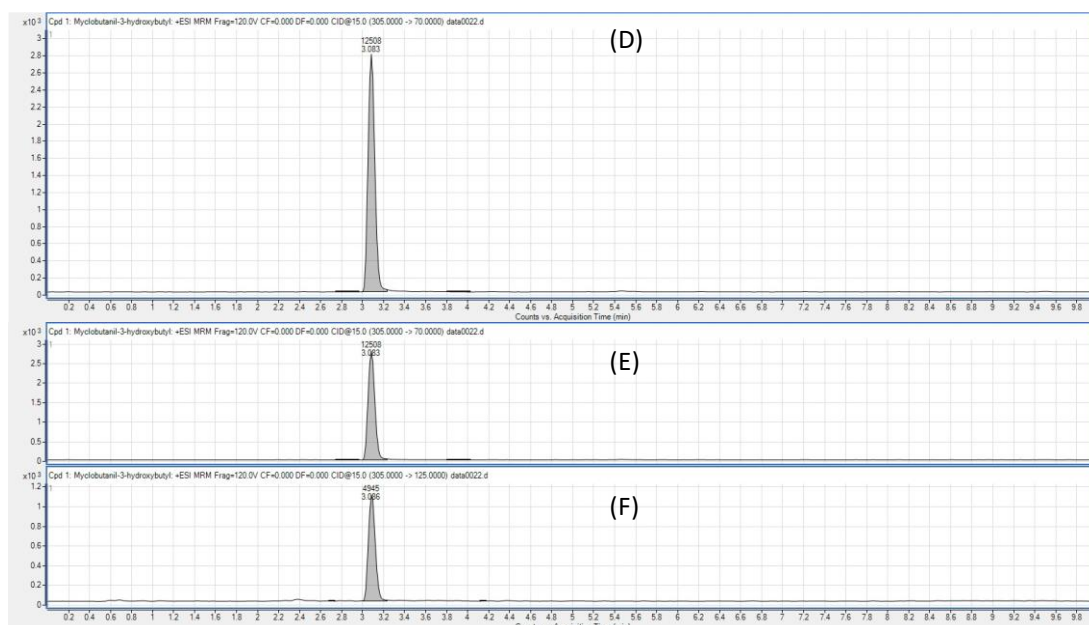


Fig. 3 Chromatograms of myclobutanil-3-hydroxybutyl at 0.20 mg/mL (A) TIC of myclobutanil-3-hydroxybutyl (B) MRM at m/z 289.0 $\rightarrow$ 70.0 and (C) MRM at m/z 289.0 $\rightarrow$ 125.0

จากการตรวจสอบความความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method validation) พบว่า % recovery ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ ระดับกลาง และระดับสูง คือ 0.01, 0.10 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นที่เลือกมาทดสอบนี้ครอบคลุมปริมาณของสาร ที่ตรวจพบในตัวอย่างมะม่วงจากแปลงทดลอง พบว่า % recovery มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 90-99 ของ myclobutanil และ % recovery ค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 89-96 ของ myclobutanil-3-hydroxybutyl ดัง Table 3 จากการวัดความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งประเมิน precision ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ ระดับกลาง และระดับสูง คือ 0.01, 0.10 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า %RSD ที่ได้จากการทำซ้ำ ($n \geq 6$) เท่ากับ 13, 4 และ 2 ตามลำดับ สำหรับ myclobutanil และที่ 0.01, 0.10 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับ 12, 6 และ 9 ตามลำดับ สำหรับ myclobutanil-3-hydroxybutyl ซึ่งผลที่ได้ผ่านเกณฑ์การยอมรับ %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 (SANTE, 2021) และจากการตรวจสอบความเที่ยงโดยประเมินจากค่า HorRat ที่ความเข้มข้นระดับต่ำ ระดับกลาง และระดับสูง คือ 0.01, 0.10 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า HorRat ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับคือ $\text{HorRat} \leq 1.3$ (AOAC, 2016)

กำหนดให้ LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่ง % recovery จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เท่ากับ 99 และ % RSD เท่ากับ 13 สำหรับ myclobutanil และเท่ากับ 89 และ %RSD เท่ากับ 12 สำหรับ myclobutanil-3-hydroxybutyl จากการทำซ้ำ 10 ครั้ง ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างมะม่วงจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

Table 3 Recovery of myclobutanil and myclobutanil-3-hydroxybutyl in mango

Crop Fraction	No.	Concentration (mg/kg)											
		myclobutanil						myclobutanil-3-hydroxybutyl					
		Level 0.01		Level 0.10		Level 1.0		Level 0.01		Level 0.10		Level 1.0	
		Conc.	%Rec	Conc.	%Rec	Conc.	%Rec	Conc.	%Rec	Conc.	%Rec	Conc.	%Rec
Mango	1	0.0118	118	0.0954	95	0.8783	88	0.0085	85	0.1040	104	0.8286	83
	2	0.0086	86	0.1030	103	0.9171	92	0.0098	98	0.1022	102	0.8833	88
	3	0.0111	111	0.1012	101	0.9195	92	0.0083	83	0.0958	96	0.9428	94
	4	0.0117	117	0.0956	96	0.8924	89	0.0095	95	0.0925	93	0.8617	86
	5	0.0098	98	0.0954	95	0.8786	88	0.0093	93	0.0926	93	0.9576	96
	6	0.0092	92	0.0929	93	0.9261	93	0.0076	76	0.0891	89	1.0476	105
	7	0.0085	85	-	-	-	-	0.0100	100	-	-	-	-
	8	0.0105	105	-	-	-	-	0.0103	103	-	-	-	-
	9	0.0091	91	-	-	-	-	0.0071	71	-	-	-	-
	10	0.0083	83	-	-	-	-	0.0090	90	-	-	-	-
Average		0.0099	99	0.0973	97	0.9020	90	0.0089	89	0.0960	96	0.9203	92
SD		0.0013		0.0039		0.0215		0.0011		0.0059		0.0791	
%RSD		13		4		2		12		6		9	
HORRAT		0.4224		0.1785		0.1491		0.3674		0.2714		0.5375	

2. ผลการทำการทดลอง

จากการสำรวจแปลงมะม่วงของเกษตรกรเพื่อทำการทดลอง พบว่า ได้แปลงทดลองทั้ง 6 สถานที่ เป็นมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ซึ่งทำการทดลองในช่วง เดือนกันยายน 2565 ถึงเดือนตุลาคม 2567 โดยแปลง ที่เลือกทำการทดลองทั้งหมด แต่ละแปลงทดลองห่างกันอย่างน้อย 30 กิโลเมตร หรือแตกต่างกันฤดูกาล ผลผลิต ที่ได้เพียงพอและเหมาะที่จะใช้ทำการทดลอง โดยอัตราแนะนำอยู่ที่ 5.0 g a.i./hL (คำนวณมาจากอัตราการใช้สาร myclobutanil 12.5% W/V EC ในอัตราแนะนำ 8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราการใช้ น้ำ 5 ลิตรต่อต้น) จากแปลงทดลองที่พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เก็บตัวอย่างมะม่วงที่ระยะเวลา 0 (หลังพ่น 2 ชั่วโมง), 3, 5, 7, 10, 14, 21 และ 30 วันหลังการพ่น ผลการทดลองมีดังนี้

แปลงทดลองครั้งที่ 1 ที่ตำบลบ้านกร่าง อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า แปลง control ตรวจสารพิษตกค้างพบในระดับต่ำกว่า LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับแปลง treated พบปริมาณ สารพิษตกค้าง myclobutanil เฉลี่ย 0.07, 0.06, 0.03 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 3, 5 และ 7 วันหลังการพ่น ตามลำดับ และที่ระยะเวลาอื่น ๆ ตรวจพบในระดับต่ำกว่า LOQ

แปลงทดลองครั้งที่ 2 ที่ตำบลแก้มอัน อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี พบว่า แปลง control ตรวจสารพิษ ตกค้างพบในระดับต่ำกว่า LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับแปลง treated พบปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil เฉลี่ย 0.12, 0.10, 0.07, 0.06, 0.05, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่น ตามลำดับ และที่ระยะเวลา 30 วันหลังการพ่น ตรวจพบในระดับต่ำกว่า LOQ

แปลงทดลองครั้งที่ 3 ที่ตำบลหนองแห่น อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่า แปลง control ตรวจสารพิษตกค้างพบในระดับต่ำกว่า LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับแปลง treated พบ ปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil เฉลี่ย 0.09, 0.06, 0.03, 0.02, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่น ตามลำดับ และที่ระยะเวลา 21 และ 30 วันหลังการพ่น ตรวจพบในระดับต่ำกว่า LOQ

แปลงทดลองครั้งที่ 4 ที่ตำบลหนองโพรง อำเภอศรีมหาโพธิ์ จังหวัดปราจีนบุรี พบว่า แปลง control ตรวจสารพิษตกค้างพบในระดับต่ำกว่า LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับแปลง treated พบปริมาณ สารพิษตกค้าง myclobutanil เฉลี่ย 0.04, 0.03, 0.03, 0.02 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7 และ 10 วันหลังการพ่น ตามลำดับ และที่ระยะเวลา 14, 21 และ 30 วันหลังการพ่น ตรวจพบใน ระดับต่ำกว่า LOQ

แปลงทดลองครั้งที่ 5 ที่ตำบลยี่ล้น อำเภอวิเศษชัยชาญ จังหวัดอ่างทอง พบว่า แปลง control ตรวจ สารพิษตกค้างพบในระดับต่ำกว่า LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับแปลง treated พบปริมาณสารพิษ ตกค้าง myclobutanil เฉลี่ย 0.88, 0.42, 0.38, 0.22 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7 และ 10 วันหลังการพ่น ตามลำดับ และที่ระยะเวลา 14, 21 และ 30 วันหลังการพ่น ตรวจพบในระดับต่ำกว่า LOQ

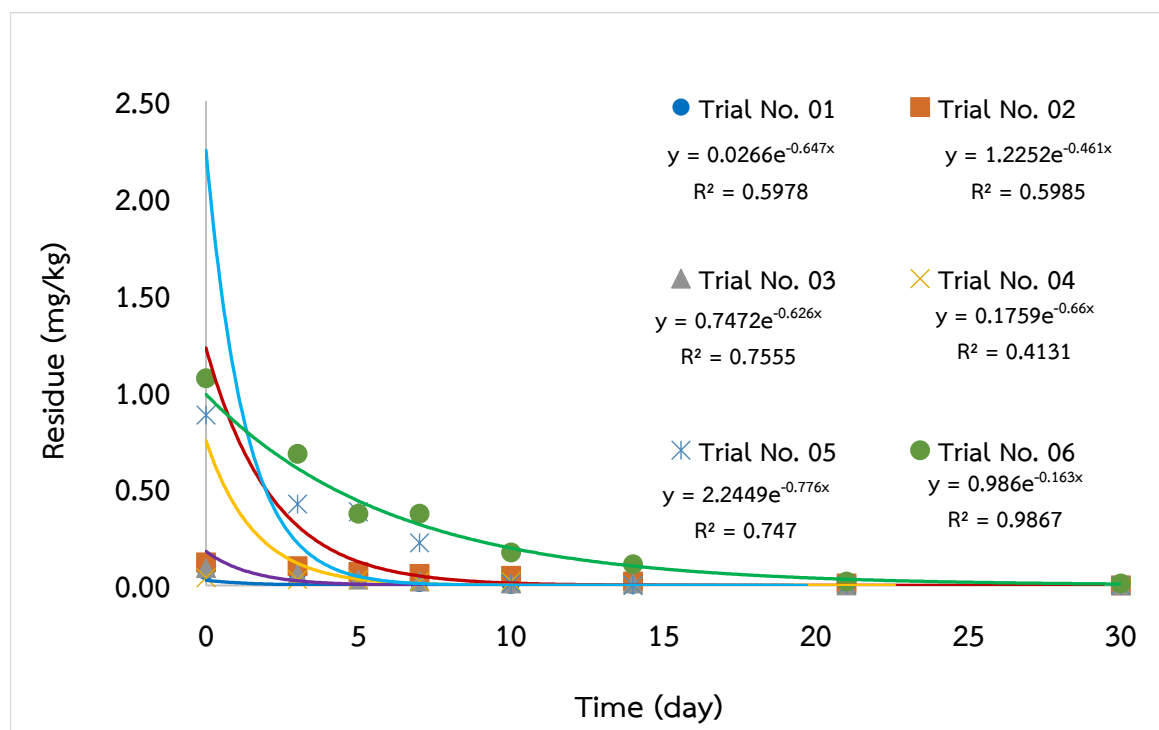
แปลงทดลองครั้งที่ 6 ที่ตำบลแก้มอัน อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี พบว่า แปลง control ตรวจ สารพิษตกค้างพบในระดับต่ำกว่า LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สำหรับแปลง treated พบปริมาณสารพิษ ตกค้าง myclobutanil เฉลี่ย 1.07, 0.68, 0.37, 0.38, 0.17, 0.11, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14, 21 และ 30 วันหลังการพ่น ตามลำดับ ดัง Table 4 แสดงค่าปริมาณสารตกค้าง ของทั้งหกแปลงทดลอง

จากการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง myclobutanil ในมะม่วง ทั้ง 6 แปลงทดลอง เมื่อนำ ปริมาณสารพิษตกค้างไป plot กราฟกับระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตมะม่วง จะได้สมการความสัมพันธ์การลดลง ของสารพิษตกค้าง myclobutanil ในมะม่วง กับระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่น เส้นแนวโน้มการสลายตัวแบบ

exponential คือ มีการลดลงอย่างรวดเร็วในระยะแรกและจะช้าลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ มีการสลายตัวและมีปริมาณลดลง เมื่อทั้งระยะเก็บตัวอย่างนานขึ้น ดัง Fig. 4. หลังการพ่นระยะวันแรกที่เกี่ยวข้องมีค่าที่สูงกว่าวันอื่น ๆ และมีการลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 30 หลังการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil

Table 4 The amount residue of myclobutanil from the trial No. 1-6.

Day	Residue of myclobutanil (mg/kg)					
	Trial No. 1	Trial No. 2	Trial No. 3	Trial No. 4	Trial No. 5	Trial No. 6
0	0.07	0.12	0.09	0.04	0.88	1.07
3	0.06	0.10	0.06	0.03	0.42	0.68
5	0.03	0.07	0.03	0.03	0.38	0.37
7	0.01	0.06	0.02	0.02	0.22	0.38
10	<0.01	0.05	0.01	0.02	0.01	0.17
14	<0.01	0.02	0.01	<0.01	<0.01	0.11
21	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.02
30	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01



เพื่อยืนยันค่าความปลอดภัยดังกล่าว นำปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil ในมะม่วง ที่ 0 วัน หลังพ่นครั้งสุดท้าย มาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเฉียบพลัน (Acute Reference Dose; ARfD) คำนวณโดยใช้โปรแกรม International Estimate of Short Term Intake (IESTI calculation) (WHO, 2014) และใช้ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่มีค่าสูงสุด (Highest Residues; HR) ของทั้ง 6 การทดลอง (0.07, 0.12, 0.09, 0.04, 0.88, 1.07 และ 0.38) และประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเรื้อรัง โดยใช้โปรแกรม International Estimated Daily Intake (IEDI calculation) ซึ่งใช้ค่าปริมาณสารพิษตกค้างของ ค่ามัธยฐาน (Supervised Trial Median Residue; STMR) ของทั้ง 6 การทดลองเช่นเดียวกัน มีผลการประเมินความปลอดภัยทั้งการได้รับสัมผัสแบบเรื้อรังสำหรับเด็กและวัยเจริญพันธุ์ คิดเป็น 2% (total 0.03% ADI) และ 7% ADI (total 0.03% ADI) ของ cluster 5 และ 9 ตามลำดับ และไม่ต้องประเมินความปลอดภัยจากการได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลัน เนื่องจากค่า ARfD กำหนดเป็น unnecessary สำหรับประชากรทั่วไป และเมื่อเทียบกับค่า Japan MRL ของ myclobutanil ในมะม่วง (เท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดังนั้นสำหรับการทดลองนี้จึงกำหนดค่า MRL สำหรับ myclobutanil ในมะม่วง ที่ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสามารถกำหนดค่า PHI ที่ 7 วัน ได้โดยไม่เกิดความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง

สรุปผลการทดลอง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ myclobutanil ในตัวอย่างมะม่วง โดย QuEChERS ด้วย LC-MS/MS มี accuracy อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดย % recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 90-99 สำหรับ precision ประเมินจากค่า % RSD พบว่า อยู่ในช่วง 2-14 และมีค่า LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ myclobutanil ในตัวอย่างมะม่วง และ % recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 89-96 สำหรับ precision ประเมินจากค่า % RSD พบว่า อยู่ในช่วง 6-12 และมีค่า LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ myclobutanil-3-hydroxybutyl ดังนั้น วิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างมะม่วง จากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือ

การทำการทดลองตามอัตราคำแนะนำ พบว่า ปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil ในตัวอย่างมะม่วง จากแปลงทดลองที่ไม่พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง และแปลงทดลองพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil ตามคำแนะนำทั้งหกแปลงทดลอง พบว่า ปริมาณสารพิษตกค้าง myclobutanil จะลดลงตามการทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยวมากขึ้น ดังนั้นการสลายตัวของ myclobutanil มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาเก็บเกี่ยว ซึ่งได้เสนอกำหนดค่า MRL ของสาร myclobutanil ในมะม่วง ตามค่า recommended MRL ที่ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดย PHI ที่ 7 วัน เพื่อพิจารณา data set ที่จะจัดส่งให้ Thai MRL เพื่อกำหนดค่า Thai MRL และ ASEAN Harmonized MRLs หรือ Codex MRL ต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างสามารถนำวิธีวิเคราะห์ที่ได้นี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง myclobutanil ในมะม่วง และสามารถถ่ายทอดให้แก่เจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8 และหน่วยงานอื่น ๆ ที่สนใจได้

นำข้อมูลการศึกษาการสลายตัวของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil ในมะม่วง เสนอผลการศึกษาต่อสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ซึ่งได้เสนอกำหนด ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดสำหรับประเทศไทย (Thai MRLs) และเสนอข้อมูลดังกล่าวให้ ASEAN, Codex และประเทศคู่ค้า เพื่อนำไปพิจารณา

กำหนดหรืออัปเดตค่า ASEAN MRLs, Codex MRLs และ Import tolerance ของประเทศคู่ค้า เช่น ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น และสหภาพยุโรป และกำหนดเป็นเกณฑ์การค้าระหว่างประเทศลดการกีดกันทางการค้า

ข้อมูลการสลายตัวและปริมาณสารพิษตกค้างของ myclobutanil ในมะม่วง สามารถนำไปใช้กำหนดค่า Pre Harvest Interval (PHI) สำหรับบริษัทผู้ผลิตและนำเข้า บนฉลากข้างภาชนะบรรจุ ได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และสามารถใช้ในการประกอบการพิจารณา เปลี่ยนแปลงแก้ไขคำแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร เกษตรกรสามารถใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช myclobutanil ได้อย่างปลอดภัย

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- พิศาล พงศาพิชน์. 2551. *คู่มือการจัดทำข้อมูล และเสนอข้อมูลการกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศ ด้านสารพิษตกค้าง สำหรับสินค้าเกษตรของไทย*. สำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. *มาตรฐานสินค้าเกษตร. มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง. ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2568. *ปริมาณและมูลค่าส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์ ปี 2566-2568*. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. แหล่งข้อมูล <https://oae.go.th/uploads/files/2025/06/13/af30ed7f5e45b1ca.pdf> สืบค้น: 4 มิถุนายน 2568
- Abdallah, O. I., Alrasheed, A. M., Al-Mundarij, A. A., Omar, A. F., Alhewairini, S.S. and Al-Jamhan, K. A. 2021. Levels of residues and dietary risk assessment of the fungicides myclobutanil, penconazole, tebuconazole, and triadimenol in squash. *Biomedical Chromatography*. Volume 35, Issue 8, 2021; e5126
- AOAC. 2016. Appendix F. Guidelines for standard method performance requirements. Available at: https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf. Assessment: March 10, 2025.
- EN 15662. 2018. Foods of plant origin-Multimethod for the termination of pesticide residues using GC and LC based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE- Modular QuEChERS-method. 80, British Standards, UK.
- FAO. 2014. MYCLOBUTANIL (181). Available at: https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation14/Myclobutanil.pdf. Assessment: October 13, 2022
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed (3rd ed). FAO Plant Production and Protection Paper. 225, Rome.

- SANTE. 2021. Guidance document on Pesticide Analytical Methods for Risk Assessment and Post-approval Control and Monitoring Purposes. Available at:
https://food.ec.europa.eu/system/files/2021-03/pesticides_ppp_app-proc_guide_res_mrl-guidelines-2020-12830.pdf. Assessment: March 10, 2025
- WHO. 2014. International estimated short-term intake (IESTI). Available at:
https://cdn.who.int/media/docs/default-source/food-safety/gems-food/guidance-iesti-2014.pdf?sfvrsn=9b24629a_2. Assessment: March 13, 2022

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไพริดาเบน (pyridaben) ในมะม่วง
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด

Residue Trials of Pyridaben on Mangoes to Establish
the Maximum Residue Limits (MRLs)

พรนภัส วิชานะณานนท์ ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ พชร เมินหา มติมล แสงสว่าง ศิริพันธ์ สมุทรศรี
Pornaphat Wichannananon Prachathipat Pongpinyo Pachara Meanha
Matimon Sangsawang SiripanSiripan samutsri

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Pyridaben is a low-toxic contact pesticide widely used to treat mite infestations in fruit orchards. Mango is one of important agricultural export and most popular fruits in Thailand. Herein, we aim to study degradation behavior of pyridaben under physiological conditions by monitoring the amount of pyridaben residue using QuEChERS extraction method and high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) techniques. Supervised residue trials of pyridaben degradation on mango were conducted in 6 locations coverage major production in Thailand. Mango samples in each field were divided into two groups; untreated and treated samples with recommended dose rate of pyridaben 20% WP. Treated samples collected after the last application at 0, 3, 5, 7, 10, 14, 21 and 30 days were found the amount of pyridaben residues in whole fruits with ranges 0.03–0.15, 0.02–0.34, 0.03–0.26, <0.01–0.09, <0.01–0.43 and <0.01–0.15 mg/kg from trial 1 to 6, respectively. Target analytes could not be observed in untreated samples and commerce samples.

Keywords: Pyridaben; Pesticide; Residues; Maximum residue limit (MRL)

บทคัดย่อ

ไพริดาเบน (pyridaben) เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่มีความเป็นพิษต่ำและมีการใช้อย่างแพร่หลายในสวนผลไม้ มะม่วงเป็นผลไม้ส่งออกที่สำคัญและได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในประเทศไทย งานวิจัยนี้จึงศึกษาการสลายตัวของวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ในมะม่วงจำนวน 6 แปลงทดลองในพื้นที่เพาะปลูกของประเทศไทย โดยติดตามการสลายตัวด้วยวิธี QuEChERS และเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีแทนเดมแมสสเปกโทรเมทรี แต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงที่ไม่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben และแปลงที่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร จากการสุ่มเก็บตัวอย่างมะม่วงหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 0, 3, 5, 7, 10, 14, 21 และ 30 วัน พบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben จากแปลงที่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในตัวอย่างนี้รวมเปลือกอยู่ในช่วง 0.03–0.15 0.02–0.34 0.03–0.26 <0.01–0.09 <0.01–0.43 และ <0.01–0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในแปลงทดลองที่ 1 ถึง 6 ตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างจากแปลงที่ไม่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร เช่นเดียวกับมะม่วงจากแหล่งจำหน่าย

คำสำคัญ: ไพริดาเบน; วัตถุอันตรายทางการเกษตร; ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL)

บทนำ

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limits หรือ MRLs) หมายถึง ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในสินค้าเกษตร กำหนดโดยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสินค้าเกษตร (mg/kg) ในการกำหนดค่า MRLs จะพิจารณาตามชนิดของวัตถุอันตรายทางการเกษตรและชนิดของพืช ประเทศไทยจึงทำการศึกษาในพืชเมืองร้อน เพื่อเสนอต่อคณะกรรมการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศในการพิจารณากำหนดค่า MRLs ของ Codex Alimentarius (Codex MRLs) ซึ่งจะเป็ประโยชน์ต่อการค้า เนื่องจากบางประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตร จะนำค่า MRLs มาเป็นข้อกีดกันทางการค้าสำหรับพืชและวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ไม่การกำหนดค่า Codex MRLs ทำให้ประเทศไทยเสียโอกาสทางการค้าระหว่างประเทศในการส่งออกสินค้าเกษตร

มะม่วง (Mango) เป็นพืชเมืองร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2567 มีมูลค่าการส่งออกกว่า 5,000 ล้านบาท ซึ่งมีมูลค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องมากกว่า 5 ปี ทั้งยังเป็นผลไม้ที่มีปริมาณการบริโภคภายในประเทศค่อนข้างสูง เนื่องจากสามารถหาได้ง่ายและมีการปลูกในทั่วทุกภาคของประเทศ นิยมนำมารับประทานเป็นผลไม้สดทั้งสุกและดิบ ตลอดจนผลไม้แปรรูป นอกจากนี้ มีผลการวิจัยและค้นพบประโยชน์ของมะม่วงในทางสุขภาพมากมาย เช่น มีสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันให้ร่างกาย บำรุงหัวใจ ช่วยในการทำงานของระบบการย่อยอาหาร บำรุงสายตา ลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็งบางชนิด และป้องกันรักษาโรคเลือดออกตามไรฟัน (สุวดี, 2565)

ศัตรูพืชที่เข้าทำลายมะม่วงมีมากมายหลายชนิด ไรแดงมะม่วง ดัง Figure 1 ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oligonychus mangiferus* Rahman and Supra เป็นศัตรูพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งของมะม่วง เนื่องจากมีขนาดเล็กสังเกตเห็นได้ยาก และเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว โดยไรแดงมะม่วง ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย จะเข้าทำลายใบมะม่วง ทำให้ใบขาวซีด เมื่อมีการทำลายอย่างรุนแรง จะทำให้มะม่วงหยุดชะงักการเจริญเติบโตและทิ้งใบได้ จึงสร้างปัญหาให้แก่เกษตรกรเป็นอย่างมาก



Figure 1 Mango red mite

ไพริดาเบน (pyridaben) เป็นสารในกลุ่มไพริดาซีนอน (pyridazinones) เป็นสารประเภทไม่ดูดซึม ออกฤทธิ์ทางสัมผัส และกินตาย ออกฤทธิ์เร็วและฤทธิ์คงตัวบนต้นพืชได้นาน มีกลไกการออกฤทธิ์โดยยับยั้งกระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย คอมเพล็กซ์ที่ 1 (Devine *et al.*, 2001) ทำให้ไรหุดยุติหายใจและตาย สามารถกำจัดไรศัตรูพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ทั้งระยะไข่และตัว pyridaben มีโครงสร้างทางเคมีดัง Figure 2 สูตรโมเลกุลเป็น $C_{19}H_{25}ClN_2OS$ และมวลโมเลกุลเท่ากับ 364.9 กรัมต่อโมล

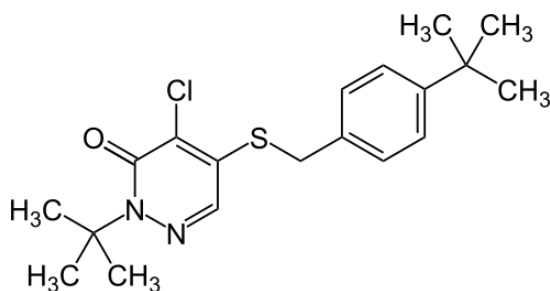


Figure 2 Chemical structure of pyridaben

งานวิจัยนี้ ศึกษาการสลายตัวของวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ในมะม่วง จำนวน 6 แปลง ตามแหล่งเพาะปลูกมะม่วงของประเทศไทย โดยดำเนินงานตามหลักเกณฑ์การทำการแปลงทดลองสารพิษตกค้าง (supervised residue trials) และตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามหลักปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ (Good Agricultural Practice หรือ GLP) เพื่อให้ได้ชุดข้อมูลสารพิษตกค้าง pyridaben ในมะม่วงที่มีประสิทธิภาพ น่าเชื่อถือ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล เมื่อสิ้นสุดการดำเนินงาน ชุดข้อมูลสารพิษตกค้าง pyridaben จำนวน 6 ชุดข้อมูล จะมีการนำเสนอต่อสำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรแห่งชาติ หรือ มกอช. เพื่อเสนอขอกำหนดค่า MRL ของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการทำแปลงทดลองมะม่วง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ pyridaben 20% WP (เอราไมท์ 20) ที่ผ่านการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ เครื่องพ่นวัดอัตราการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack sprayer) ชุดป้องกันสารพิษ ถุงมือ แว่นตา หมวก และรองเท้า เครื่องวัดและบันทึกอุณหภูมิ (thermometer data logger) ปีกเกอร์ ขวดแก้วสีชา แท่งแก้วคนสาร ถังพลาสติกและป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง กล้องบรรจุตัวอย่างและน้ำแข็ง ป้ายฟิวเจอร์บอร์ดและปากกา เชือกฟางและหมุดหัวน็อต เครื่องชั่งสารและที่ตักสาร เครื่องวัดความเร็วลมนาฬิกาจับเวลา กระดาษลิทมัส เทอร์โมมิเตอร์

2. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile (AR และ HPLC grade), ammonium formate (HCOONH_4), di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), formic acid (HCOOH), graphitized carbon black (GCB), magnesium sulfate anhydrous (MgSO_4), primary-secondary amine (PSA), sodium chloride (NaCl), sodium citrate dihydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) และ สารมาตรฐาน pyridaben ซึ่งมีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.86

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ขวดแก้วสำหรับใส่ตัวอย่างงานวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ กระบอกตวง ปีกเกอร์ ขวดแก้วสีชา ขวดปรับปริมาตร แท่งแก้วคนสาร หลอดบรรจุสารพลาสติก (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง ไมโครปิเปตขนาด 10-100 μL , 1-5 mL และ 1-10 mL หลอดฉีดยาและตัวกรองสารละลายชนิด PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร เครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอนและเครื่องเขย่าสาร และ ตู้แช่แข็ง -20 ± 5 องศาเซลเซียส

4. เครื่องตรวจวิเคราะห์ liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) และ คอลัมน์ชนิด C18 (Kinetex 2.6 μm 100 อังสตรอม ($\text{\AA}$) ขนาด 100×2.1 มิลลิเมตร)

วิธีการ

การดำเนินงานในการศึกษาการสลายตัวของวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ในมะม่วง ประกอบด้วย การทำแปลงทดลองมะม่วง การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแปลงทดลอง และการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแหล่งจำหน่าย มีรายละเอียด ดังนี้

1. การทำแปลงทดลองมะม่วง

1.1 สำรวจและเลือกแปลงมะม่วงเพื่อทำแปลงทดลอง โดยแต่ละแปลงควรมีระยะทางห่างกันอย่างน้อย 30 กิโลเมตร (km) และพิจารณาเลือกแปลงที่มีความแตกต่างกัน เช่น อายุของต้นมะม่วง ชนิดดินที่ปลูก และการดูแลรักษา

1.2 วางแผนการทดลองแบบ supervised trial โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 แปลงทดลองที่ไม่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben เป็นแปลงควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 แปลงทดลองที่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ตามอัตราแนะนำ คือ ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben 20%WP อัตรา 15 กรัม (g) ต่อน้ำ 20 ลิตร (L) ในอัตราการใช้ น้ำ 4-6 L/ต้น ตามความสูงของต้นมะม่วง (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2562)

1.3 ทำแปลงทดลองจำนวน 6 แปลงในพื้นที่เพาะปลูกมะม่วงของประเทศไทย ประกอบด้วย

แปลงที่ 1 ทำในพื้นที่อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

แปลงที่ 2 ทำในอำเภอดำม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

- แปลงที่ 3 ทำในอำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา
- แปลงที่ 4 ทำในพื้นที่อำเภอศรีมหาโพธิ จังหวัดปราจีนบุรี
- แปลงที่ 5 ทำในอำเภอวิเศษชัยชาญ จังหวัดอ่างทอง
- แปลงที่ 6 ทำในอำเภोजอมบึง จังหวัดราชบุรี

1.4 ตรวจสอบความพร้อมของเครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรทุกครั้งก่อนใช้งาน โดยพิจารณาหัวฉีด (nozzle) และการกระจายละอองสาร ก่อนการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ครั้งแรกของแต่ละแปลง ต้องสอบเทียบ (calibrate) เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร เพื่อให้การพ่นวัตถุอันตรายมีความแม่นยำและสม่ำเสมอ ในการทำ calibrate เครื่องพ่น จะพ่นน้ำเป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกินร้อยละ 5 จากการทำติดต่อกัน 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย จะได้อัตราไหลของเครื่องพ่น จากนั้นคำนวณปริมาณการใช้น้ำต่อต้นมะม่วงที่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรต่างคำแนะนำ (กรรมวิธีที่ 2) และคำนวณเวลาที่ใช้ในการพ่นวัตถุอันตราย (target time) พร้อมกำหนดรูปแบบการเดินพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร ทั้งนี้เพื่อให้วัตถุอันตรายลงในแปลงทดลองอย่างสม่ำเสมอ จึงจำเป็นต้องปรับการเดินของผู้พ่น โดยจับเวลาการเดินซ้ำ 3 ครั้ง และหาค่าเฉลี่ย ซึ่งแต่ละครั้งต้องแตกต่างจาก target time ไม่เกินร้อยละ 5 จากนั้น ก่อนพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ครั้งที่ 2 และ 3 ของแต่ละแปลง ต้องตรวจสอบอัตราการไหลของเครื่องพ่น และเวลาที่ใช้ในการพ่นวัตถุอันตรายไม่ให้แตกต่างจากครั้งที่ 1 เกินร้อยละ 5

1.) พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ในแต่ละแปลง พ่นจำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน ดังนี้

- แปลงที่ 1 พ่นในวันที่ 25 30 มกราคม และ 4 กุมภาพันธ์ 2565
- แปลงที่ 2 พ่นในวันที่ 27 มีนาคม 1 และ 6 เมษายน 2565
- แปลงที่ 3 พ่นในวันที่ 19 24 และ 29 พฤศจิกายน 2565
- แปลงที่ 4 พ่นในวันที่ 19 24 และ 29 มีนาคม 2566
- แปลงที่ 5 พ่นในวันที่ 27 มกราคม 1 และ 6 กุมภาพันธ์ 2567
- แปลงที่ 6 พ่นในวันที่ 9 14 และ 19 มีนาคม 2567

2.) สุ่มตัวอย่างหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 0, 3, 5, 7, 10, 14, 21 และ 30 วัน จากแปลงควบคุม (กรรมวิธีที่ 1) และแปลงทดลองที่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ตามอัตราแนะนำ (กรรมวิธีที่ 2) เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บจากกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ตามลำดับกรรมวิธีละ 2 ซ้ำ ซ้ำละอย่างน้อย 12 ผล หรือ 2 กิโลกรัม ตามหลักเกณฑ์การทำแปลงทดลองสารพิษตกค้าง (Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2016) โดยบรรจุตัวอย่างลงถุงพลาสติกพร้อมระบุรายละเอียดต่างๆ ได้แก่ รหัสแปลงทดลอง ส่วนที่เก็บ วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ทดลอง รหัสตัวอย่าง วันที่เก็บผลผลิต และผู้รับผิดชอบแปลงทดลอง

3.) บรรจุถุงตัวอย่างใส่กล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้างระหว่างการขนส่งจากแปลงทดลองกลับห้องปฏิบัติการ พร้อมติดตามอุณหภูมิด้วย temperature data logger

2. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแปลงทดลอง

2.1 แยกเมล็ดมะม่วงออกจากเนื้อและเปลือกของทุกแปลง และแยกเนื้อมะม่วงออกจากเปลือกในแปลงที่ 1 โดยระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อน จากนั้นหั่นตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกของแต่ละแปลง และหั่นตัวอย่างเนื้อของแปลงที่ 1 จากนั้นเก็บตัวอย่างในตู้แช่แข็ง $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างระหว่างรอกระบวนการบดตัวอย่าง

2.2 บดตัวอย่างมะม่วงด้วยเครื่องบดตัวอย่าง พร้อมใส่ไนโตรเจนเหลวขณะบดตัวอย่าง เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้าง และเก็บตัวอย่างในตู้แช่แข็ง $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ เพื่อรอการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben

2.3 สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2018) โดยสุมตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิตร สกัดด้วย acetonitrile 10 มิลลิตร เขย่า 1 นาที เติม MgSO_4 4 g NaCl 1 g $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 g และ $\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g เขย่า 1 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นดูดสารละลาย 5 mL ใส่ centrifuge tube ขนาด 15 mL ที่มี MgSO_4 750 mg PSA 125 mg และ GCB 50 mg นำไปเขย่า 15 นาที และหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วกรองสารละลายด้วยตัวกรองสารละลายชนิด PTFE ขนาด $0.2\ \mu\text{m}$ ใส่ขวดแก้ว จากนั้นดูดสารละลายที่ได้ใส่ขวดแก้วสำหรับใส่ตัวอย่างงานวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ ไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

2.4 ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง HPLC-MS/MS: Agilent 1200 HPLC และ Agilent 6410 Triple Quadrupole LC/MS-MS ตามรายละเอียด Table 1

2.5 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในมะม่วง โดยศึกษาตัวแปรสำคัญสำหรับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากการทำแปลงทดลองสารพิษตกค้าง (Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2016)

2.6 วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแปลงทดลองด้วยวิธีที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ มีการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ทุกชุดตัวอย่าง (batch) ที่ทดสอบ โดยหาค่าร้อยละการกลับคืนทุกครั้งทีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ถ้าเก็บตัวอย่างในตู้แช่แข็ง $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ นานกว่า 14 วัน ต้องศึกษา storage stability

3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแหล่งจำหน่าย

สุมตัวอย่างมะม่วงพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งจำหน่ายและแหล่งเพาะปลูกในจังหวัดนครปฐม นครราชสีมา นครศรีธรรมราช นนทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ปทุมธานี ลพบุรี สมุทรสาคร สระแก้ว สุพรรณบุรี อ่างทอง และ อุทัยธานี จำนวน 40 ตัวอย่าง เพื่อเฝ้าระวัง (monitor) การตกค้างของ pyridaben ในมะม่วง โดยนำมาเตรียมตัวอย่างและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือก

Table 1 Acquisition Parameters for High performance liquid chromatography and Mass spectrometer

<u>High performance liquid chromatography</u>				
Injection volume:	2 µL			
Mobile phase:	A: สารละลาย 5 mM HCOONH ₄ และ 0.1% HCOOH ในน้ำ			
	B: acetonitrile			
Flow rate:	0.4 mL/min			
Column:	C18 (Kinetex 2.6 µm 100 Å ขนาด 100 × 2.1 mm)			
Column oven control temperature:	40°C			
Gradient program:	Time	A(%)	B(%)	
	0.00	95	5	
	1.00	95	5	
	2.00	30	70	
	10.00	30	70	
	11.00	95	5	
	12.00	95	5	
<u>Mass spectrometer</u>				
Ionization mode:	electrospray ionization in positive mode			
Gas temperature:	325°C			
Gas flow:	10 L/min			
Nebulizer:	45 psi			
Sheath gas heater:	300			
Sheath gas flow:	10			
Capillary:	3,500 V			
MS/MS scan parameter:	multi reaction monitoring (MRM)			
	Precursor ion	Product ion	Frag (V)	CE (V)
Pyridaben	365.1	309.1	80	4
	365.1	147.2	80	20
	365.1	117.1	80	60

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง พื้นที่เพาะปลูกมะม่วงของเกษตรกรในจังหวัดสุพรรณบุรี กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี
อ่างทอง และราชบุรี
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงาน วิจัยสารพืชตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การทำแปลงทดลองมะม่วง

แต่ละแปลงทดลองมีการระบุพิกัดของแปลงโดยใช้ระบบระบุตำแหน่งบนพื้นโลก (global positioning system หรือ GPS) ดังแสดงตัวอย่างใน Figure 3 มีการบันทึกรายละเอียดต่างๆของแปลงทดลอง ได้แก่ สภาพพื้นที่ ชนิดดิน ลักษณะแปลง วิธีเพาะปลูก ระยะปลูก รูปแบบการให้น้ำ การใช้ปัจจัยการผลิต และข้อมูลของพืชที่ทำการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย อายุพืช ความสูงของพืช ความแข็งแรงของพืช และขนาดทรงพุ่ม ในการปฏิบัติงานแต่ละครั้ง มีการบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ อุณหภูมิดิน และปริมาณเมฆในท้องฟ้า

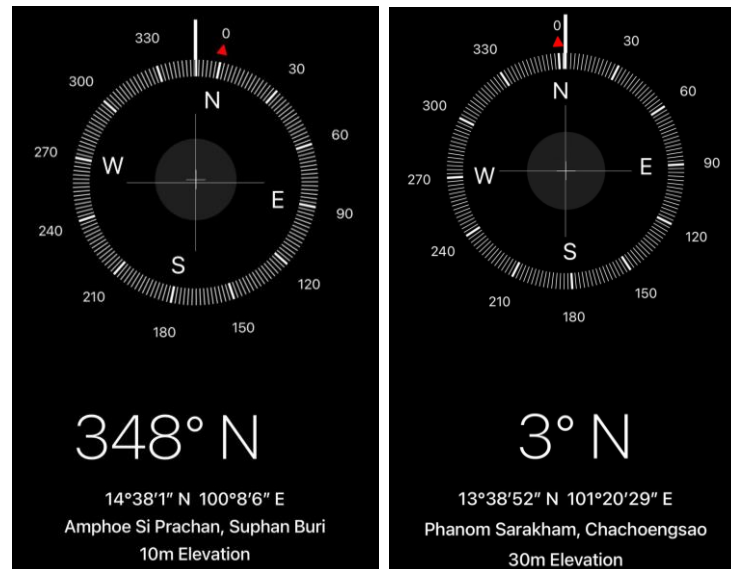


Figure 3 Global positioning system or GPS of (a) field trial 1 and (b) field trial 3



Figure 4 Treatment application of pyridaben pesticide on mango in (a) field trial 5 and (b) field trial 6

ขณะพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร ผู้พ่นและผู้จับเวลาต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันสารเคมี โดยรูปแบบการเดินพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรต้องเดินพ่นให้พ่นกระจายตามทิศทางลม ห้ามเดินทวนลม ดัง Figure 4 เพื่อป้องกันไม่ให้ละอองสารเคมีโดนผู้ปฏิบัติงาน และมีการติดตาม พร้อมบันทึกทิศทางและความเร็วลม ในการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรทุกครั้ง มีการจับเวลา พร้อมบันทึกเวลาที่ใช้ในการพ่นวัตถุอันตราย เพื่อประเมินประสิทธิภาพการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร ซึ่งเป็นการประเมินปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ลงแปลงทดลองในอัตราการใช้ pyridaben 20% WP อัตรา 15 g ต่อน้ำ 20 L ด้วยอัตราการใช้ น้ำ 4-6 L/ต้น คิดเป็นร้อยละ 100 ซึ่งในการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ทั้ง 6 แปลง พบว่าประสิทธิภาพการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรอยู่ในช่วงร้อยละ 100-101 ของปริมาณวัตถุอันตรายทางการเกษตรตามอัตราแนะนำ ดังแสดงรายละเอียดใน Table 1

Table 1 Efficiency of pyridaben treatment applications on mango in field trials

Field trial number	Efficiency of treatment applications (%)		
	1 st treatment	2 nd treatment	3 rd treatment
1	101	101	100
2	101	100	100
3	101	100	100
4	100	101	101
5	101	101	101
6	100	101	101

2. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแปลงทดลอง

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ได้ total ion chromatogram หรือ TIC ของ pyridaben ดัง Figure 5(a) จากการเลือก product ion จำนวน 3 ions จึงเกิดการ fragmentation ของ precursor ion เป็น product ion ทั้งหมด 3 คู่ ได้ extracted ion chromatogram หรือ EIC ดัง Figure 5(b) 5(c) และ 5(d) โดยคู่ที่ 1 365.1 -> 309.1 ดัง Figure 5(b) เป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis) ซึ่งตรวจวัดเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ส่วนคู่ที่ 2 และ 3 365.1 ->147.2 และ 365.1 ->117.1 ดัง Figure 5(c) และ 5(d) ตามลำดับ เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) ใช้ในการพิจารณาร่วมกับคู่ 1 เพื่อยืนยันความถูกต้องของชนิดสารที่วิเคราะห์

การเตรียมสารมาตรฐาน pyridaben ด้วยตัวทำละลาย acetonitrile ที่ 8 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 µg/mL เมื่อสร้างกราฟมาตรฐานและพิจารณาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงระหว่างสัญญาณจากเครื่องมือวัด (response) ในแกน y และความเข้มข้นของสาร (concentration) ในแกน x ดัง Figure 6 พบว่า $r^2 = 0.99978$ แสดงว่า ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของเครื่องมือ (system linearity) และช่วงการใช้งานของเครื่องมือ (instrument working range) อยู่ในช่วง 0.005 - 1.0 µg/mL โดยขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection หรือ LOD) เท่ากับ 0.005 µg/mL

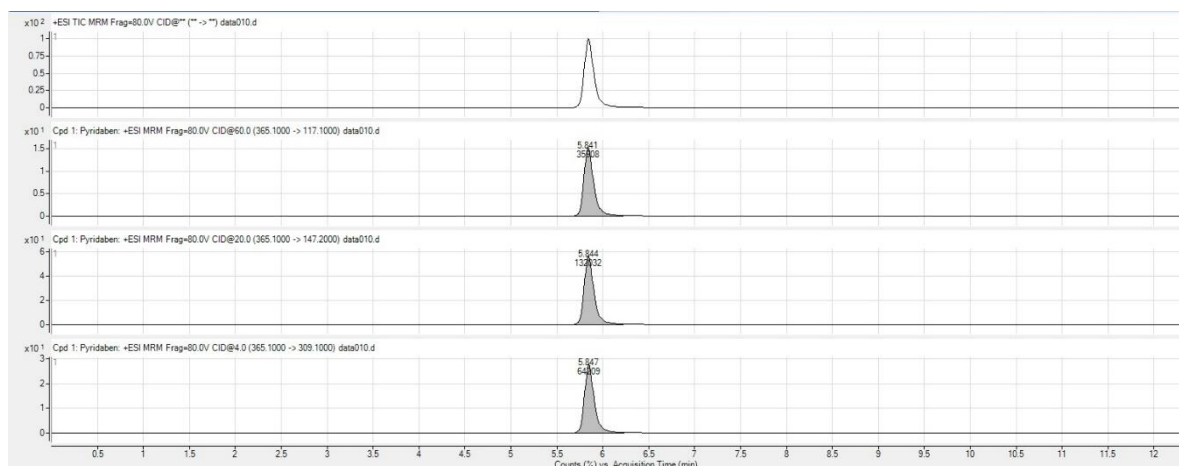


Figure 5 Chromatogram of pyridaben residue at 0.5 µg/mL from LC/MS-MS; (a) total ion chromatogram or TIC (b) extracted ion chromatogram or EIC of 365.1 → 309.1 (c) EIC of 365.1 → 147.2 and (d) EIC of 365.1 → 117.1

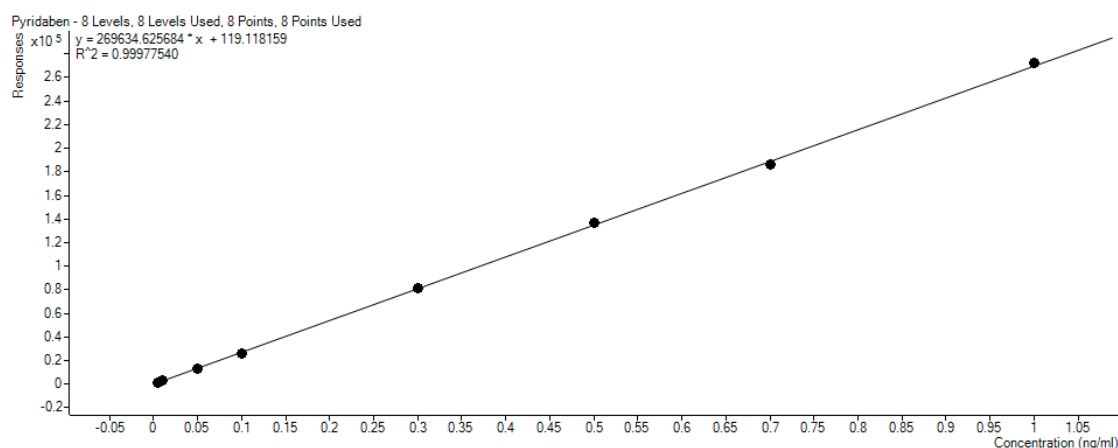


Figure 6 Calibration curve of pyridaben solution

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในมะม่วง โดย spiked สารมาตรฐาน pyridaben ในตัวอย่าง whole fruit ที่ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.01 0.1 1.0 และ 5.0 mg/kg จากนั้นสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2018) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่เป็นที่ยอมรับระดับระหว่างประเทศ เพื่อให้เป็นไปตามประกาศในราชกิจจานุเบกษาเกี่ยวกับมาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002-2556 (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2557) และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ซึ่งเป็นเครื่องมือตรวจวัดที่มีความเฉพาะเจาะจงสูง ในการประเมินค่าความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) ทำการทดสอบไม่น้อยกว่า 7 ซ้ำต่อระดับความเข้มข้น ($n \geq 7$) ดังแสดงรายละเอียดใน Table 2 พบว่า การประเมินค่า accuracy จากค่าเฉลี่ยของร้อยละการกลับคืน (%recovery) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.1 1.0 และ 5.0 mg/kg เท่ากับร้อยละ 100 101 94 และ 97 ตามลำดับ และการประเมินค่า precision จากค่า RSD ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.1 1.0 และ 5.0 mg/kg เท่ากับร้อยละ 4 7 4 และ 7 ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามหลักเกณฑ์การทำการแปลงทดลองสารพิษตกค้าง (Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2016) ดัง Table 3 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องและแม่นยำ สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างในมะม่วงได้อย่างน่าเชื่อถือ โดยมีช่วงของการทดสอบ (working range of

method) อยู่ในช่วง 0.01 - 5.0 mg/kg และมีขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification หรือ LOQ) เท่ากับ 0.01 mg/kg

Table 2 Method validation result of pyridaben residues in mango, whole fruit

Concentration level (mg/kg)	Recovery or Rec. (%)	Mean of Rec. (%)	RSD (%)
0.01	90, 97, 100, 101, 101, 102, 102, 103, 103, 105	100	4
0.1	92, 92, 100, 102, 105, 107, 110	101	7
1.0	90, 92, 90, 94, 95, 97, 99	94	4
5.0	89, 90, 94, 96, 96, 106, 107	97	7

Table 3 Method performance criteria for analysis of pesticides (Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2016)

Fortification concentration levels	Fortification concentration Range of mean recovery (%)	Repeatability relative standard deviation (%)
≤0.01 µg/kg	50-120	35
>1 µg/kg≤0.01 mg/kg	60-120	30
>0.01 mg/kg≤0.1 mg/kg	70-120	20
>0.1 mg/kg≤1.0 mg/kg	70-110	15
>1.0 mg/kg	70-110	10

Table 4 Pyridaben residues in treated mango samples from field trials

Day after the last application (days)	Concentration of pyridaben residues (mg/kg)					
	Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5	Trial 6
0	0.15	0.34	0.26	0.09	0.43	0.15
3	0.11	0.26	0.20	0.03	0.31	0.09
5	0.10	0.19	0.15	0.03	0.21	0.06
7	0.06	0.21	0.20	0.02	0.23	0.08
10	0.07	0.16	0.07	0.02	0.17	0.06
14	0.05	0.09	0.07	0.02	0.09	0.03
21	0.05	0.06	0.04	0.01	0.03	0.02
30	0.03	0.02	0.03	<0.01	<0.01	<0.01

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแปลงทดลองทั้ง 6 แปลง มีการควบคุมประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1.0 mg/kg พบว่ามีค่า recovery อยู่ในช่วงร้อยละ 83-118 80-109 และ 83-110 ตามลำดับ โดยตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง pyridaben ในทุกตัวอย่างจากแปลงควบคุมหรือแปลงที่ไม่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben และตรวจปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben เฉลี่ยจากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เก็บจากแปลงทดลองที่ใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ตามอัตราแนะนำ 2 ซ้ำต่อวัน อยู่ในช่วง <0.01 – 0.43 mg/kg ดังแสดงใน Figure 4 โดยสารพิษตกค้างเฉลี่ยหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 0 วันของทั้ง 6 แปลงอยู่ในช่วง 0.09-0.43 mg/kg และมีแนวโน้มลดลง และสารพิษตกค้างเฉลี่ยหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 30 วัน อยู่ในช่วง <0.01 – 0.03 mg/kg เมื่อพิจารณาค่าปริมาณสารพิษตกค้างใน Figure 4 จะสังเกตได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในมะม่วงกับจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายเป็นความสัมพันธ์ที่ลดลงแบบไม่เป็นเส้นตรง (non-linear) ทั้งนี้ อาจเกิดจากสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของวัตถุอันตรายทางการเกษตรในพืชชนิดนี้ นอกจากนี้ พบว่าความเข้มข้นเริ่มต้นและอัตราการสลายตัวของ pyridaben ในแต่ละแปลงมีความแตกต่างกัน อาจเป็นผลจากสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น การได้รับแสง ความร้อน ลม และความชื้น เป็นต้น (Min, et al., 2016) เช่น แปลงทดลองที่ 1 และแปลงทดลองที่ 6 มีสภาพแวดล้อมเป็นร่องน้ำและทำการทดลองในช่วงต้นปีเหมือนกัน ความเข้มข้นเริ่มต้นและอัตราการสลายตัวจึงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแหล่งจำหน่าย

จากการสุ่มตัวอย่างมะม่วงพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ แก้ว แก้วขมมัน เขียวสามรส เขียวเสวย เขียวใหญ่ น้ำดอกไม้ พาลัน มหาชนก มั่นขุนศรี มั่นเดือนแก้ว โชคอนันต์ และอกร่อง รวม 40 ตัวอย่างจากแหล่งจำหน่ายในจังหวัด นครปฐม นครราชสีมา นครศรีธรรมราช นนทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ปทุมธานี ลพบุรี สมุทรสาคร สระแก้ว สุพรรณบุรี อ่างทอง และอุทัยธานี เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในมะม่วงทั้งผล (whole fruit) ซึ่งเป็นการติดตามและเฝ้าระวังการตกค้างของ pyridaben ในประเทศไทย พบว่า ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง pyridaben ในทุกตัวอย่าง แสดงว่าการบริโภคมะม่วงจากแหล่งจำหน่ายในประเทศไทยปลอดภัยจากสารพิษตกค้าง pyridaben

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การประเมินประสิทธิภาพการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร เป็นการประเมินปริมาณสารออกฤทธิ์ที่แปลงทดลอง พบว่า การพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ในแปลงทดลองมะม่วงมีประสิทธิภาพการพ่นวัตถุอันตรายอยู่ในช่วงร้อยละ 100 – 101 แสดงว่าปริมาณสารออกฤทธิ์ที่แปลงทดลองมีความสม่ำเสมอและใกล้เคียงกับอัตราแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษ pyridaben ในมะม่วงด้วยวิธี QuEChERS และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS พบว่า ค่าเฉลี่ยการกลับคืน (recovery) ของเนื้อมะม่วงเปลือกมะม่วงอยู่ในช่วงร้อยละ 94 – 100 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation หรือ RSD) อยู่ในช่วงร้อยละ 4 – 7 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องและแม่นยำ โดยช่วงการใช้งานสำหรับการวิเคราะห์มะม่วงเนื้อมะม่วงเปลือกอยู่ในช่วง 0.01 – 2.0 mg/kg ซึ่งมีขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) และขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.01 mg/kg และ 0.005 µg/mL ตามลำดับ

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในมะม่วงจากการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ตามอัตราแนะนำ (ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben 20%WP อัตรา 15 กรัม (g) ต่อน้ำ 20 ลิตร (L) ในอัตราการใช้น้ำ 4-6 L/ต้น ตามความสูงของต้นมะม่วง) พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่าง

ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในมะม่วงกับจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายลดลงแบบไม่เป็นเส้นตรง โดยเริ่มสลายตัวอย่างรวดเร็วและค่อยๆ ช้าลง เมื่อระยะเวลาผ่านไป โดยมีปริมาณสารพิษตกค้างในแปลงทดลอง ที่ 1 2 3 4 5 และ 6 อยู่ในช่วง 0.03–0.15 0.02–0.34 0.03–0.26 <0.01–0.09 <0.01–0.43 และ <0.01–0.15 mg/kg ซึ่งมีประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในเนื้อรวมเปลือก มะม่วงของทุกแปลงทดลองที่ recovery อยู่ในช่วงร้อยละ 80–118

การตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแหล่งจำหน่ายในประเทศไทย จำนวน 40 ตัวอย่าง แสดงว่า การบริโภคในประเทศมีความปลอดภัยจากการตกค้างของ pyridaben

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์และนวัตกรรม (สกสว.) และขอขอบคุณความอนุเคราะห์จากเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี อ่างทอง และราชบุรี สำหรับพื้นที่เพาะปลูกมะม่วงในการทำแปลงทดลอง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ชุดข้อมูลสารพิษตกค้างจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร pyridaben ในมะม่วง จะถูกนำเสนอผ่านสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ หรือ มกอช. เพื่อเข้าที่ประชุมคณะกรรมการวิชาการ พิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่องสารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด เพื่อพิจารณากำหนดค่า ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit หรือ MRL) ของประเทศไทย

นอกจากนี้ การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างมะม่วงจากแหล่งจำหน่ายในประเทศไทย สามารถใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวัง (monitoring) การตกค้างของ pyridaben ในมะม่วง และพิจารณาความเป็นไปได้ถึงความสามารถของเกษตรกรในการปฏิบัติตามหลักการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agricultural Practices หรือ GAPs) เนื่องจากเป็นข้อมูลที่สะท้อนสถานการณ์จริงจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรของเกษตรกร

เอกสารอ้างอิง

- สุวดี เหมือนอัน. 2565. มหัศจรรย์ผลไม้ไทย...มะม่วง. กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม. แหล่งข้อมูล <https://shorturl.at/vBVI2> สืบค้น: 5 เมษายน 2568
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2562. เทคนิคการเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการศัตรูพืชในไม้ผล. การอบรมหลักสูตรเทคนิคการเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการศัตรูพืชในไม้ผล, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 15-18 มกราคม 2562. ณ
- Devine, G.J., M. Barber and I. Denholm. 2001. Incidence and inheritance of resistance to METI-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). *Pest Management Science* 57:443-448.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. 2016. FAO plant production and protection paper 225. *Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed*. 3rd ed. 286 pages.
- Min, H., Chunhong, J., Ercheng, Z., Li, C., Pingzhong, Y., Junjie, J., Yongquan, Z. 2016. Concentration and dissipation of difenoconazole and fluxapyroxad residues in apples and soil, determined by ultrahigh-performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental science and pollution research*. 23. 5618-5626.
- EN15662. 2018. Food of plant origin - Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – Modular QuEChERS- method. *BSI standard publication*. 80 pages.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอีโทเฟนพรอกซ์ (etofenprox) ในพริก
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Residue Trials of Etofenprox in Chili to Establish
Maximum Residue Limit (MRL)

สุพัตริ หนูสังข์ ศศิณิภา คงเข้มดี บุญทวีศักดิ์ บุญทวี ประพันธ์ เคนท้าว

Supattri Noosang Sasinida khongchamdee Boonthaweesak Boonthawee Praphan Kenthao

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on residue trials of etofenprox in chili to establish maximum residue limit. The six field trials were consisted of the control plot (etofenprox was not applied on control) and the treated plot which etofenprox 20% W/V EC were applied with recommendation dosage at 30 mL/20 L of water. Etofenprox were sprayed on chili for 3 times every 7 days. After the last application, chili sample were collected at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days and all samples were analyzed by using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) technique. The results showed that no etofenprox residues were detected in any samples from the control plot. In contrast, the residues from treated plots were found at amount of 0.68-1.91, 0.65-1.47, 0.72-1.18, 0.88-1.47, 0.81-2.07 and 0.45-2.68 mg/kg for trial 1 to trial 6 respectively. The results of six experiments corresponded to each other which when the harvesting period pesticide residues are reduced is longer. At 10 days after the last application the residues of etofenprox is lower than Japan MRL for sweet pepper. The residue data was estimated the maximum residue level (MRL). It found that the estimated MRL at 10 days after the last application was 4 mg/kg.

Keywords: Chili; Etofenprox; Maximum Residue Limit (MRL)

บทคัดย่อ

ศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างอีโทเฟนพรอกซ์ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทำการทดลองในแปลงพริกทั้งหมด 6 แปลงทดลอง ในช่วงปี พ.ศ. 2565-2567 แต่ละแปลงแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงควบคุม (แปลงที่ไม่พ่นอีโทเฟนพรอกซ์) และแปลงที่มีการพ่นอีโทเฟนพรอกซ์ 20% W/V EC ตามอัตราแนะนำในพริก คือ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยพ่นอีโทเฟนพรอกซ์ รวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างพริกไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารตกค้างอีโทเฟนพรอกซ์ ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย โดยวิเคราะห์ด้วยเทคนิควิเคราะห์ด้วยเทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) ผลการศึกษา พบว่าตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างจากแปลงควบคุม สำหรับแปลงทดลองที่มีการพ่นสารอีโทเฟนพรอกซ์ พบสารตกค้างเฉลี่ย 0.68-1.91, 0.65-1.47, 0.72-1.18, 0.88-1.47, 0.81-2.07 และ 0.45-2.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับแปลงที่ 1 ถึงแปลงที่ 6 ตามลำดับ โดยผลการทดลองทั้ง 6 แปลงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ เมื่อถึงระยะเวลาเก็บเกี่ยวมากขึ้นสารตกค้างอีโทเฟนพรอกซ์จะลดลง และสารตกค้างอีโทเฟนพรอกซ์ที่ 10 วัน มีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตรของญี่ปุ่น (Japan MRL) ที่กำหนดไว้ใน sweet pepper เมื่อนำข้อมูลสารพิษตกค้างทั้งหมดมาประเมินค่า MRL พบว่า หลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 10 วัน ได้ค่า MRL เท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำสำคัญ: พริก; อีโทเฟนพรอกซ์; ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL)

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการผลิตสินค้าทางการเกษตรเป็นอันดับต้น ๆ ของโลก พริกถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย ทั้งพริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู พริกจินดา พริกกะเหรี่ยง หรือพริกพันธุ์อื่น ๆ ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในรูปผลสดหรือพริกสด พริกแห้ง รวมถึงผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ทั้งธุรกิจประกอบอาหาร รวมถึงอุตสาหกรรมแปรรูปด้านอาหาร เวชสำอาง และยารักษาโรค นิยมนำมาบริโภคตลอดทั้งปี ทั้งภายในประเทศและเป็นพืชส่งออกที่สำคัญ มีปริมาณการส่งออกปีละหลายล้านตัน สามารถสร้างรายได้ให้กับประเทศไทยปีละหลายล้านบาท โดยประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ ญี่ปุ่น สิงคโปร์ ออสเตรเลีย มาเลเซีย ไต้หวัน เนเธอร์แลนด์ และเยอรมนี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2563) ในการผลิตพริกให้ได้ปริมาณมากเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคและสอดคล้องกับความต้องการของตลาด และเพื่อให้ได้พริกที่มีคุณภาพนั้น เกษตรกรผู้ผลิตต้องมีการบำรุงรักษาและดูแลเป็นอย่างดี เนื่องจากในปัจจุบันเกษตรกรที่ปลูกพริกมักประสบปัญหาแมลงศัตรูพืช โดยศัตรูพืชที่ทำลายพริกมีมากมายหลายชนิด ทั้งแมลง ไร โรคพืช และวัชพืช บางชนิดมีการระบาดที่รุนแรง และบางชนิดเป็นศัตรูชนิดใหม่ (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2557)

เพลี้ยอ่อน (aphids) ถือเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของพริก มี 2 ชนิดตามชื่อวิทยาศาสตร์ ได้แก่ *Myzus persicae* Sulzer (เพลี้ยอ่อนลูกท้อ, peach aphid) และ *Aphis gossypii* Glover (เพลี้ยอ่อนฝ้าย, cotton aphid) ทั้งสองชนิด ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะคอยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและยอดของพริก การทำลายของเพลี้ยอ่อนในพริกจะทำให้เกิดใบบิดเป็นคลื่น ทำให้ต้นพืชชะงักการเจริญเติบโต และยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสทำให้เกิดโรคใบด่างในพริก มักเกิดการระบาดในช่วงอากาศแห้งแล้ง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร หรือสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในพริกเพื่อให้สามารถป้องกันกำจัดศัตรูเหล่านี้ได้

โดยวัตถุดิบพิษทางการเกษตรที่แนะนำให้ใช้เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อน คือ อีโทเฟนพ록ซ์ (etofenprox) 20% EC ในอัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2557)

อีโทเฟนพ록ซ์ (etofenprox) เมื่อแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ จัดเป็นสารกลุ่มย่อย 3A สารไพเรทริน (Pyrethrins) และไพเรทรอยด์ (Pyrethroids) เป็นสารกลุ่มที่ปรับการทำงานของช่องโซเดียม กลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้คือออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทโดยจะไปปรับ (modulator) ของ voltage gated sodium channel ที่บริเวณผิว axon ของเซลล์ประสาททำให้การปิดของ voltage-gated sodium channel ช้ากว่าปกติ ทำให้ช่วงการถ่ายทอดกระแสประสาทเกิดยาวนาน (hyperexcitation) สารกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ได้รวดเร็วมาก ทำให้แมลงตายทันทีเมื่อแมลงได้รับสาร โดยเรียกอาการตายทันทีนี้ว่า “knockdown” (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2566) มีลักษณะโครงสร้างทางเคมี ดังภาพที่ 1 (FAO, 2016)

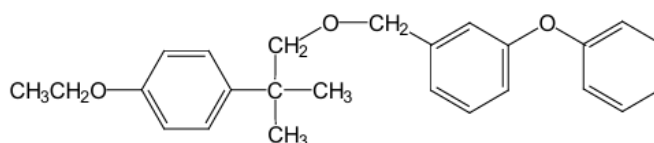


Figure 1 Structure of etofenprox

แม้จะมีคำแนะนำสำหรับการใช้สาร etofenprox ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในพริก แต่เกษตรกรผู้ผลิตก็จำเป็นต้องมีความรู้ความเข้าใจในการใช้สารด้วย เช่น การศึกษาวิธีการใช้ วิธีการพ่น หรือระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่น ซึ่งถ้าเกษตรกรใช้ผิดวิธีก็จะส่งผลให้เกิดการตกค้างของสารดังกล่าวในพริก เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และเมื่อใช้เป็นระยะเวลานานสามารถส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมได้ โดยเฉพาะในปัจจุบันนี้ ผู้บริโภคหันมาให้ความสำคัญเกี่ยวกับความปลอดภัยของผลิตผลเกษตร ดังนั้นเกษตรกรผู้ผลิตต้องสามารถผลิตสินค้าที่ปลอดภัยพริก ปลอดภัยตกค้าง สามารถประกันความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคได้

ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างมากที่ต้องมีการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง etofenprox ในพริก โดยการทำการทดลองพริก และวางแผนการทำการทดลองแบบ supervised residue trials ตามหลักเกณฑ์หรือตามมาตรฐานของ Codex (FAO, 2016) นำตัวอย่างพริกที่ได้จากแปลงทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะเวลาต่าง ๆ จัดส่งข้อมูลการสลายตัวที่ได้ให้สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) เพื่อเสนอคณะกรรมการพิจารณา กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limit; MRL) ทั้งค่ามาตรฐาน Thai MRL และเสนอต่อคณะกรรมการ ASEAN และ Codex เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณากำหนดค่า ASEAN และ Codex MRLs ต่อไป ส่งผลให้ประเทศไทยมีเกณฑ์การค้าของประเทศ ช่วยเพิ่มผลผลิตของไทยให้มีมาตรฐานความปลอดภัยเป็นไปตามมาตรฐานสากล และมาตรฐานของประเทศผู้นำเข้า ทำให้ต่างประเทศมีความต้องการสินค้าเกษตรของไทยมากขึ้นลดการกีดกันทางการค้า และเพิ่มมูลค่าในการส่งออกสินค้าพริกไปยังประเทศต่าง ๆ มากยิ่งขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร ขวดบรรจุสาร (vial) ขนาด 1.5 และ 15 มิลลิลิตร กระบอกตวง ปีกเกอร์ ขวดวัดปริมาตร และตัวกรองชนิด PTFE (PTFE syring filter) ขนาด 0.2 ไมโครเมตร
2. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่ง 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ เครื่องปั่นตัวอย่าง ไมโครปิเปต ขนาด 100-5,000 ไมโครลิตร เครื่องเขย่าสาร เครื่องปั่นเหวี่ยง
3. เครื่องตรวจวิเคราะห์วัตถุที่มีพิษ Liquid Chromatograph Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) และคอลัมน์ Synergi fusion-RP 100A ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0 mm ความยาว 100 mm
4. เครื่องฟ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง
5. อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ นาฬิกาจับเวลา เครื่องบันทึกอุณหภูมิ เครื่องวัดความเร็วลม ชุดป้องกันสารพิษ
6. สารมาตรฐาน etofenprox ซึ่งมีความบริสุทธิ์ 98.73%
7. ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร etofenprox 20% W/V EC
8. สารเคมี ได้แก่ acetonitrile (HPLC grade), formic acid, ammonium formate, water (HPLC grade), sodium chloride (NaCl), magnesium sulphate (MgSO₄), trisodiumcitrate di-hydrate (Na₃citrate 2.H₂O), disodium hydrogencitrate (Na₂Hcitrate 1.5.H₂O), primary secondary amine (PSA), graphitized carbon black (GCB)

วิธีการ

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง etofenprox ในพริก
 - 1.1 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับตรวจวิเคราะห์ etofenproxการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ etofenprox ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งเป็นเทคนิคที่ให้ความไวในการวิเคราะห์สูง (high sensitivity) และให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ ทำได้โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม etofenprox ให้มีความเข้มข้น 0.10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปตรวจวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยมีสถานะของเครื่อง ดังนี้

การเตรียมสถานะเครื่อง LC สำหรับตรวจวิเคราะห์ etofenprox

Column : Synergi Fusion-RP 100A, 100 mm x 2.0 mm

Column Temperature : 35 °C

Flow rate : 0.4 mL/minute

Injection Volume : 2 µL

Mobile phase : 5 mM ammonium formate in H₂O (A) and ACN (B)

อัตราส่วนการชะสารถออกจากคอลัมน์แบบ Gradient

เวลา (นาทึ)	อัตราไหล	สารละลาย A (%)	สารละลาย B(%)
0.0	0.4	90	10
5.0	0.4	15	85
8.0	0.4	15	85
10.0	0.4	90	10

สภาวะเครื่อง Triple Quadrupole Mass Spectrometer ดังนี้

Ion mode	:	Positive ESI
Nebulizer	:	45 psi
Drying gas flow	:	10 L/minute
Capillary	:	3500 V
Drying gas temp	:	325 ° C

Parameter ต่างๆ ของ mass spectrometer ที่เหมาะสม

Compound	Precursor	Product ion	Dwell time	Fragmentor	Collision
etofenprox	394.2	359	200	100	5
	394.2	177	200	100	5

1.2 การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง etofenprox ในพริกและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ etofenprox ในพริก สามารถพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) ประเมินค่าจาก %recovery โดยการเติมสารมาตรฐาน etofenprox ลงในตัวอย่างพริก ให้มีความเข้มข้นในตัวอย่าง เท่ากับ 0.01, 0.10, 0.50 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำการทดลองความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยผลของ %recovery ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 70-120 และพิสูจน์ความเที่ยง (precision) ประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ ≤ 20 (SANTE, 2021) พร้อมทั้งศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้ โดย LOD เท่ากับ $3 \times SD$ และศึกษาขีดจำกัดการการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) โดย LOQ เท่ากับ $10 \times SD$ (Eurachem, 2014)

ศึกษาช่วงการใช้งาน/ความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ (working range/linearity) โดยการ spike สารละลายมาตรฐาน etofenprox ลงในตัวอย่างพริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 0.50, 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบ 3 ซ้ำ สกัดตัวอย่างตามวิธีทดสอบที่เหมาะสม และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสาร etofenprox ที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่าง (แกน y) และความเข้มข้นของสารที่ spike (แกน x) โดยค่า coefficient of determination (R^2) ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ($r \geq 0.990$)

2. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง etofenprox ในพริก

2.1 การทำแปลงทดลองพริก

1) ทำการสำรวจและเลือกพื้นที่แปลงทดลองพริกปีละ 2 แปลง รวมระยะเวลา 3 ปี ทำการทดลองในแปลงพริก จำนวน 6 แปลง (6 พื้นที่) โดยแต่ละแปลงที่เลือกต้องไม่มีการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร etofenprox และต้องมีปริมาณผลผลิตที่เพียงพอต่อการวิเคราะห์ทดสอบ

2) แต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงควบคุม (untreated) เป็นแปลงที่ไม่ได้พ่น etofenprox และแปลงที่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร etofenprox 20% W/V EC (treated) ในอัตราแนะนำ คือ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่

3) หาอัตราการไหลของเครื่องพ่น (flow rate) ก่อนการพ่น โดยการจับเวลา 60 วินาที วัดปริมาณน้ำที่ใช้ไปใน 1 นาที คำนวณหาปริมาณน้ำที่ใช้ ปริมาณสารที่ใช้ เวลาที่ใช้ในการเดินพ่น (target time) และปรับเวลาการเดินของผู้พ่น เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง

4) ดำเนินการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร etofenprox ในแต่ละแปลงทดลอง (แปลง treated) โดยพ่น etofenprox จำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ช่วงเวลาช่วงเวลาในการพ่น ได้แก่

แปลงทดลองที่ 1 ระหว่างวันที่ 22 กุมภาพันธ์ ถึง 8 มีนาคม 2565

แปลงทดลองที่ 2 ระหว่างวันที่ 25 กุมภาพันธ์ ถึง 11 มีนาคม 2565

แปลงทดลองที่ 3 ระหว่างวันที่ 17 มกราคม ถึง 31 มกราคม 2566

แปลงทดลองที่ 4 ระหว่างวันที่ 20 กุมภาพันธ์ ถึง 7 มีนาคม 2566

แปลงทดลองที่ 5 ระหว่างวันที่ 19 กุมภาพันธ์ ถึง 5 มีนาคม 2567

แปลงทดลองที่ 6 ระหว่างวันที่ 29 กุมภาพันธ์ ถึง 14 มีนาคม 2567

5) สุ่มเก็บตัวอย่างพริกจากแปลงควบคุม และแปลงทดลอง ให้ได้น้ำหนักตัวอย่างละ 2 กิโลกรัม โดยสุ่มแปลงละ 2 ซ้ำ ที่ระยะเวลา 0 (หลังพ่น 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง etofenprox โดยเก็บตัวอย่างใส่ถุงพร้อมเขียนป้าย และเก็บถุงตัวอย่างในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพตัวอย่างขณะขนส่งมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

2.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างจากแปลงทดลอง

1) การเตรียมตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างพริกจากแปลงทดลองมาเด็ดขั้วออก นำไปปั่นกับไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง เก็บตัวอย่างที่ปั่นเสร็จไว้ในอุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่างพริก ตัวอย่างละ 10 กรัม ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร ก่อนนำไปสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง etofenprox

2) วิธีการสกัดตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง etofenprox ในพริก สกัดตัวอย่างตามวิธี EN QuEChERS (EN 15662, 2018) โดยเติมตัวทำละลาย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ 1 นาที เติมสารสกัด $MgSO_4$ 4 กรัม $NaCl$ 1 กรัม $Na_2Hcitrate$ $1.5 \cdot H_2O$ 0.5 กรัม และ $Na_3citrate$ $2 \cdot H_2O$ 1.0 กรัม เขย่าด้วยมือ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มีสารผสมของ PSA 125 มิลลิกรัม $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม เขย่าด้วยมือ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที

เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง etofenprox ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567 รวมระยะเวลา 3 ปี

สถานที่ทำการทดลอง แปลงทดลองของเกษตรกรจังหวัดนครปฐม และกาญจนบุรี

ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง etofenprox ในพริก

1.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับตรวจวิเคราะห์ etofenprox

สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ etofenprox ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน etofenprox ในตัวทำละลาย acetonitrile และฉีดสารดังกล่าวที่ความเข้มข้น 0.10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสาร etofenprox มีค่า retention time ที่ 6.47 นาที

ช่วงความเป็นเส้นตรงโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า etofenprox ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 0.005-0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า $R^2 = 0.9987$ แสดงดัง Figure 2

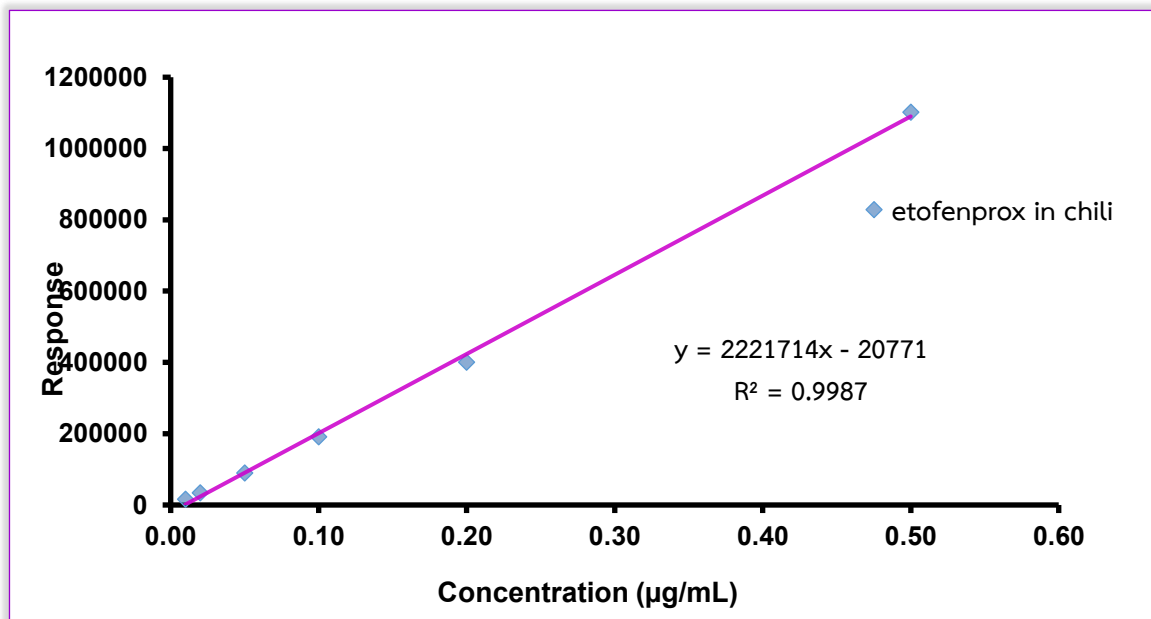


Figure 2 Linearity of etofenprox in matrix (Chili extracted)

1.2 การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง etofenprox ในพริกและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

จากการพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) ซึ่งประเมินค่าจาก %recovery สำหรับวิธีการสกัดสารพิษตกค้าง etofenprox ในพริก ด้วยวิธี EN QuEChERS (EN 15662, 2018) พบว่า ให้ %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 78-99 ซึ่งพบว่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (70-120%) สำหรับการพิสูจน์ความเที่ยง (precision) ซึ่งประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) พบว่า อยู่ในช่วง 3-10 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ $\leq 20\%$ (Table 1) ดังนั้น วิธีการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างพริกจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ มีประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์ โดยมี LOD เท่ากับ 0.005 และ LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Table 1 Recovery for method validation of etofenprox in chili

Spiked level (mg/kg)	%Recovery (n=10)	Average (%)	SD	%RSD
0.01	79, 80, 78, 93, 78, 95, 78, 74, 76, 93	82	7.96	10
0.10	100, 101, 97, 97, 104, 97, 98, 105, 96, 99	99	3.10	3
0.50	85, 74, 77, 76, 81, 80, 79, 74, 76, 80	78	3.46	4
5.00	83, 83, 81, 76, 77, 80, 78, 89, 92, 70	81	6.37	8

LOD = 0.005 mg/kg, LOQ = 0.01 mg/kg

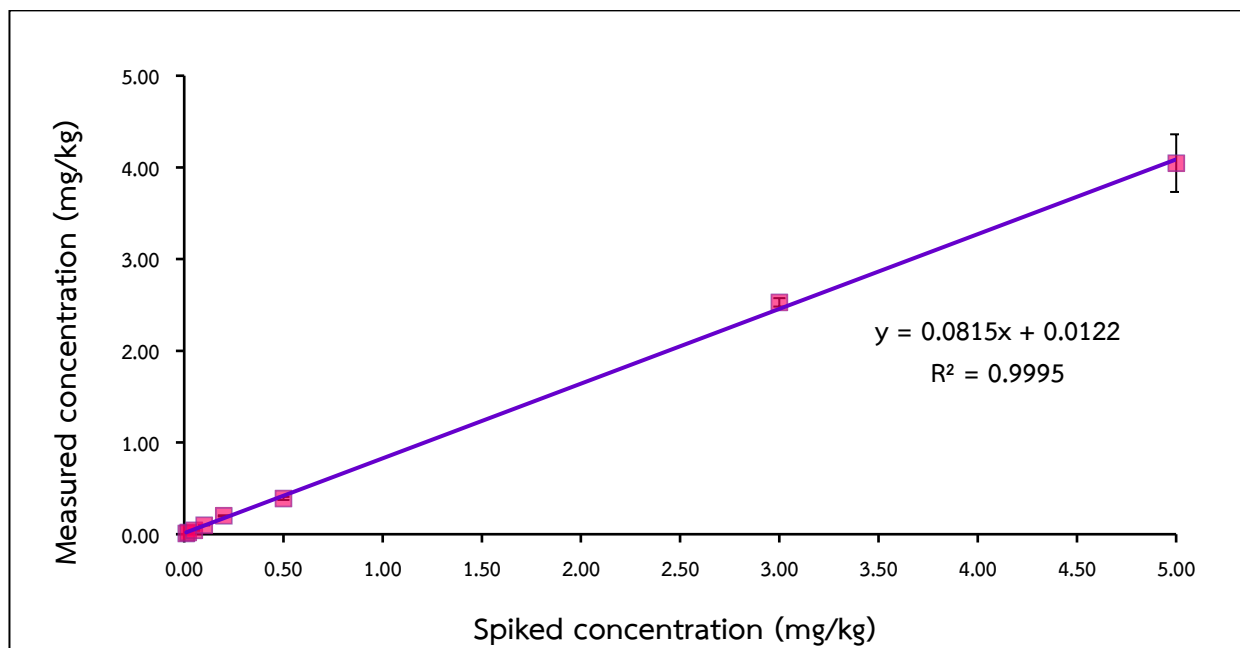


Figure 3 Working range of etofenprox in chili

จากการศึกษาช่วงการใช้งานของ etofenprox ในตัวอย่างพริก โดยการ spike สารละลายมาตรฐาน etofenprox ลงในตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662: 2018) พบว่าวิธีการสกัดดังกล่าวให้ช่วงความเป็นเส้นตรงหรือช่วงการใช้งานของวิธีวิเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0.01-5.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9995 (Figure 3) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($R^2 \geq 0.990$) และทุกความเข้มข้นที่ศึกษามีความแม่นยำ (accuracy) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

2. ผลการศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง etofenprox ในพริก

2.1 การทำแปลงทดลองพริก

การศึกษการสลายตัวของสารพิษตกค้าง etofenprox ในพริก ทั้งหมด 6 แปลงทดลอง โดยแต่ละแปลงทดลองประกอบด้วย 2 แปลงย่อย ได้แก่ แปลงที่ไม่พ่นสารใช้เป็นแปลงควบคุม (control plot) และแปลงที่พ่นสาร (treated plot) ทำการพ่นสาร 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของการพ่นสาร (percent of target rate) ที่ลงในแปลงทดลองแต่ละแปลง โดยคำนวณจากสูตรดังนี้

$$\text{Percent of Target Rate} = \frac{\text{Actual Total Pass Time}}{\text{Target time}} \times 100$$

Actual Total Pass Time คือ เวลาจริงที่ใช้ในการพ่นสาร

Target time คือ เวลาที่ได้จากการคำนวณ

จากการคำนวณ พบเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของการพ่นสารเฉลี่ยแต่ละแปลง เท่ากับ 100, 100, 105, 99, 100 และ 101 สำหรับแปลงที่ 1 ถึงแปลงที่ 6 ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ ระหว่าง 95% ถึง 110% จากนั้นคำนวณหาอัตราสารที่ลงจริงในพื้นที่การทดลองแต่ละแปลง (trial dose rate) โดยคำนวณจากเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องของการพ่น พบว่าอยู่ในช่วง 0.1491-0.1574 กิโลกรัมสารออกฤทธิ์ต่อเฮกตาร์ ซึ่งอยู่ในช่วงการยอมรับ คือ อยู่ในช่วง $\pm 25\%$ ของอัตราแนะนำ (GAP dose rate) โดยอัตราแนะนำอยู่ที่ 0.1500 กิโลกรัมสารออกฤทธิ์ต่อเฮกตาร์ (Table 2) (คำนวณมาจากอัตราการใช้สาร etofenprox 20% W/V EC 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่)

Table 2 Percent of target rate and trial dose rate apply per treated plot

Trial No	Percent of target rate	Trial dose rate (kg a.i./ha)	GAP dose rate (kg a.i./ha)
1	100	0.1500	0.03
2	100	0.1494	0.03
3	105	0.1574	0.03
4	99	0.1491	0.03
5	100	0.1506	0.03
6	101	0.1514	0.03

2.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างจากแปลงทดลอง

การศึกษาปริมาณสารตกค้าง etofenprox ในพริก ทั้งหมด 6 แปลงทดลอง พบว่า ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย ผลการศึกษาตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างจากแปลงควบคุม สำหรับแปลงทดลองที่มีการพ่นสาร etofenprox พบสารตกค้างเฉลี่ย แปลงที่ 1 เท่ากับ 1.88, 1.82, 1.71, 1.91, 1.61, 1.53, 1.17 และ 0.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 2 พบ เท่ากับ 1.47, 1.30, 1.09, 1.29, 1.35, 1.31, 0.88 และ 0.65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 3 พบ เท่ากับ 1.18, 1.07, 0.87, 0.72, 0.87, 0.76, 0.91 และ 0.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับผลการวิเคราะห์ในแปลงที่ 4 พบสารตกค้าง etofenprox เท่ากับ 1.47, 1.40, 1.08, 1.33, 1.06, 0.88, 1.09 และ 1.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 5 พบ เท่ากับ 2.06, 2.07, 1.88, 1.77, 1.56, 1.25, 1.21 และ 0.81 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงที่ 6 พบ เท่ากับ 2.61, 2.40, 2.68, 2.12, 2.11, 1.20, 0.93 และ 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5 7, 10, 14 และ 21 วัน ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 Residues of etofenprox in chili from supervised trials at the days after last application

Day after last application (DALA)	Residues (mg/kg)					
	Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5	Trial 6
0	1.88	1.47	1.18	1.47	2.06	2.61
1	1.82	1.30	1.07	1.40	2.07	2.40
3	1.71	1.09	0.87	1.08	1.88	2.68
5	1.91	1.29	0.72	1.33	1.77	2.12
7	1.61	1.35	0.87	1.06	1.56	2.11
10	1.53	1.31	0.76	0.88	1.25	1.20
14	1.17	0.88	0.91	1.09	1.21	0.93
21	0.68	0.65	0.72	1.10	0.81	0.45

LOD = 0.005 mg/kg, LOQ = 0.01 mg/kg

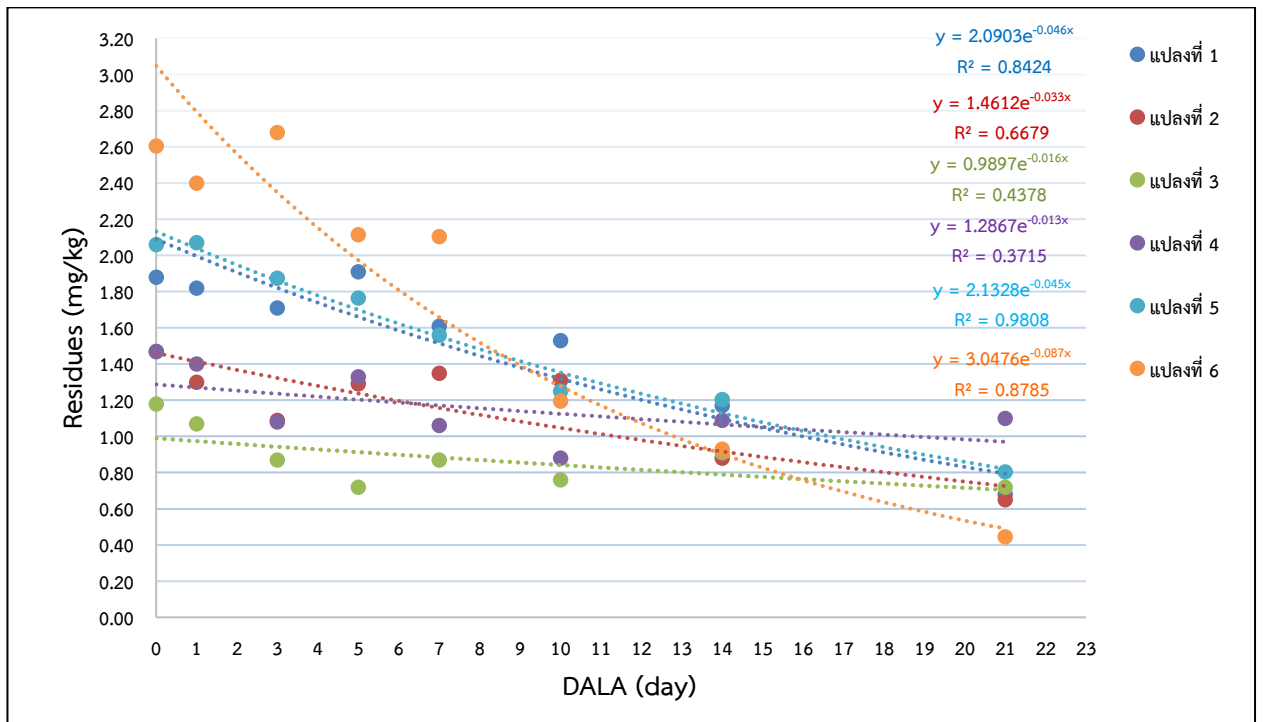


Figure 4 Degradation of etofenprox in chili from supervised trials (Trial No. 1-6)

จากการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง etofenprox ในพริก ทั้ง 6 แปลง พบว่าสารตกค้าง etofenprox มีการสลายตัวและมีปริมาณลดลง เมื่อทิ้งระยะเก็บตัวอย่างนานขึ้น (Figure 4) สำหรับประเทศไทยและ Codex ยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ของ etofenprox ในพริกและสินค้าเกษตรที่คล้ายพริก หรือในกลุ่มผักบรีโภคผล นอกเหนือจากตระกูลแตง (fruiting vegetables, other than cucurbits) มีเพียงประเทศญี่ปุ่น และเกาหลีที่ได้กำหนดค่า MRL ของ etofenprox ใน sweet pepper โดย Japan MRL กำหนดไว้ที่ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Korea MRL กำหนดไว้ที่ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ประเทศญี่ปุ่นยังได้กำหนดค่า MRL ของ etofenprox ในกระเจียบเขียว (okra) ซึ่งเป็นพืชในกลุ่มย่อยเดียวกับพริกไว้ที่ 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในมะเขือเทศ (tomato) กับมะเขือ (egg plant) ซึ่งเป็นพืชในกลุ่ม fruiting vegetables เช่นเดียวกับพริก โดยกำหนดไว้ที่ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเมื่อใช้ค่า MRL ต่าง ๆ ที่กำหนดมานี้ เป็นเกณฑ์ในการพิจารณากำหนดค่าระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัย (Pre Harvest Interval: PHI) หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสำหรับ etofenprox ในพริก สามารถกำหนด PHI ได้ที่ 10 วัน

นำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้าง etofenprox ที่ 10 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย มาประเมินค่า Rounded MRL เพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดค่า MRL เบื้องต้น โดยที่ 10 วัน พบมีค่า residues สำหรับแปลงที่ 1 ถึง แปลงที่ 6 เท่ากับ 1.53, 1.31, 0.76, 0.88, 1.25 และ 1.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จากการประเมิน พบว่า สามารถคำนวณค่า rounded MRL ได้เท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเพื่อยืนยันค่าความปลอดภัยดังกล่าว นำปริมาณสารพิษตกค้าง etofenprox ที่ 10 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย มาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเฉียบพลัน (Acute Reference Dose; ARfD) และประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคแบบเรื้อรัง จากผลการประเมินทั้ง %ARfD ในผู้บริโภคช่วง gen pop และ child มีค่าน้อยกว่า 100% เช่นเดียวกับ %ADI สะสมไม่เกิน 100% แสดงว่าในเบื้องต้นสามารถกำหนดค่า MRL สำหรับ etofenprox ในพริก ที่ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสามารถกำหนดค่า PHI ที่ 10 วัน ได้ โดยไม่เกิดความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง

สรุปผลการทดลอง

1. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ etofenprox ในตัวอย่างพริก สกัดตัวอย่างโดยใช้วิธี EN QuEChERS (EN 15662, 2018) พบว่าวิธีดังกล่าวให้ %recovery อยู่ในช่วง 78-99 มีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 3-10 โดยมีช่วงการวิเคราะห์ของวิธีทดสอบที่ 0.01-5.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9995 มีขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงคุณภาพ (LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น วิธีการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างพริกจากแปลงทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง etofenprox ในพริก พบว่า มีการสลายตัวมากขึ้นเมื่อถึงระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยวมากขึ้น ซึ่งเมื่อพิจารณา MRL สำหรับ etofenprox ในพริกกลุ่มใกล้เคียงกับพริก ได้แก่ sweet pepper กระเจี๊ยบเขียว (okra) มะเขือเทศ (tomato) และมะเขือ (egg plant) พบว่าสามารถกำหนดค่าระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัย (Pre Harvest Interval: PHI) หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสำหรับ etofenprox ในพริก ได้ที่ 10 วัน เมื่อประเมินความเสี่ยงสารพิษตกค้างที่ 10 วัน ผลการประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งแบบแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง โดยพิจารณาจาก %ARfD และ %ADI พบว่ามีค่าไม่เกิน 100% แสดงว่าเมื่อเก็บพริกที่ 10 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ไม่เกิดความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง และสามารถประมาณค่า MRL สำหรับ etofenprox ในพริก โดยใช้หลักเกณฑ์ของ Organization for Economic Co-operation and Development หรือ OECD ได้เท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาการสลายตัวของวัตถุอันตราย etofenprox ในพริก ไปใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ของไทย ASEAN และ CODEX เพื่อใช้เป็นค่ามาตรฐานสากล และกำหนดเป็นเกณฑ์การค้าระหว่างประเทศ ลดการกีดกันทางการค้า และสามารถนำข้อมูลที่ได้ เสนอต่อหน่วยงานในต่างประเทศเพื่อพิจารณากำหนดค่า Import Tolerance MRL ของประเทศผู้นำเข้า สำหรับการพริกจากประเทศไทย

2. ข้อมูลการสลายตัวและปริมาณสารพิษตกค้างของ etofenprox ในพริก สามารถนำไปใช้กำหนดค่า PHI สำหรับบริษัทผู้ผลิตและนำเข้า บนฉลากข้างภาชนะบรรจุได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และสามารถใช้ในการประกอบการพิจารณาเปลี่ยนแปลง แก้ไขคำแนะนำการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรของกรมวิชาการเกษตร เกษตรกรสามารถใช้วัตถุอันตราย etofenprox ได้อย่างปลอดภัย

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2563. สถานการณ์การผลิตพริก. แหล่งที่ข้อมูล: <http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2563/37-38.pdf>. สืบค้น: 15 มกราคม 2564
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2557. คู่มือ ศัตรูพริก. กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร. 102 หน้า
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2566. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัยจากงานวิจัย ปี 2566. กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 278 หน้า
- EN 15662: 2018. Foods of Plant Origin- Determination of Pesticide Residues using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partition and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS-Method.
- Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed 3rd ed. FAO Plant Production and Protection Paper 225.
- SANTE. 2021. Analytical Quality Control and Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในพริก
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
Residue Trials of Lufenuron in Chili
to Establish Maximum Residue Limit (MRL)

ศศิณิภา คงเข้มดี สุพัตริ หนูสังข์ บุญทวีศักดิ์ บุญทวี ประพันธ์ เคนท้าว

Sasinida Khongchamdee Supattri Noosang Boonthaweesak Boonthawee Praphan Kenthao

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

To determine the maximum residue limit, research is being done on lufenuron residue trials in chili. Six experimental field trials were conducted for this study between 2022 and 2024 in the provinces of Nakhon Pathom (field trials no. 1, 3, and 6) and Kanchanaburi (field trials no. 2, 4, and 5). The trials were conducted in accordance with the guidelines and standards. Two subplots were created by the experimenters, the untreated plot and the treated plot which used recommend dosage of lufenuron 5% W/V EC at 40 mL/20 L of water (for chili used 80 liters of water per rai). The lufenuron was administered three times at intervals of seven days. Following the last treatment, samples of chili were taken two hours (0 day), 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days. Using LC-MS/MS, lufenuron was identified for residue analysis. The limit of quantitation (LOQ) was 0.01 mg/kg. The findings demonstrated that no residues were found in any of the samples taken from the untreated plots. On the other hand, during field trial number one, the residual levels from the treated plots were 1.86, 1.45, 1.38, 1.31, 1.25, 1.01, 0.70 and 0.41 mg/kg. Field trial number two residues were found to be 0.92, 0.86, 0.70, 0.76, 0.65, 0.59, 0.49, and 0.45 mg/kg. Likewise, the results of field experiment number three showed 0.28, 0.25, 0.22, and 0.19 mg/kg. At 7, 10, 14, and 21 days following the last application of this trial, residues were 0.16 mg/kg. Field trial number four residues were 0.79, 0.65, 0.63, 0.59, 0.59, 0.57, 0.54, and 0.48 mg/kg. Additionally, for the fifth field trial, the residues were 0.37, 0.34, 0.30, 0.19, 0.25, 0.16, 0.13, and 0.07 mg/kg. Lastly, 1.03, 0.98, 0.93, 0.84, 0.70, 0.74, and 0.39 mg/kg were found in field trial number six. Based on the findings, the Pre Harvest Interval (PHI) of lufenuron in chili was determined to be 7 days following the last application.

Keywords : Maximum Residue Limit (MRL); lufenuron; Chili

บทคัดย่อ

การวิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้างลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ดำเนินการปฏิบัติงานทดลองพ่นวัตถุอันตรายภายใต้คำแนะนำและมาตรฐานของวิธีใช้อย่างถูกต้องและปลอดภัย โดยทำการทดลองในแปลงพริกของเกษตรกรทั้งหมด 6 แปลงทดลอง ในพื้นที่จังหวัดนครปฐมและกาญจนบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2565-2567 ในแต่ละครั้งจะวางแผนการทดลองแบบ supervised residue trials แปลงทดลองดังกล่าวถูกแบ่งออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุมที่ไม่พ่นวัตถุอันตรายและแปลงที่ใช้วัตถุอันตราย lufenuron 5% W/V EC ตามอัตราแนะนำที่ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับพริก กำหนดใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ดำเนินการพ่นสาร 3 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างพริกตามระยะเวลาที่กำหนด ได้แก่ หลังการพ่นวัตถุอันตราย 0 วัน (2 ชั่วโมงพ่นสาร) 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ตรวจสอบปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการวิเคราะห์ พบว่าแปลงควบคุมทั้ง 6 แปลงทดลองตรวจไม่พบสารตกค้าง lufenuron ในทุกตัวอย่าง ส่วนแปลงทดลองที่ดำเนินการพ่นสาร lufenuron ตามอัตราที่แนะนำมีปริมาณสารพิษตกค้าง ดังนี้ แปลงทดลองที่ 1 พบปริมาณสารตกค้างเท่ากับ 1.86, 1.45, 1.38, 1.31, 1.25, 1.01, 0.70 และ 0.41 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 2 พบปริมาณสารตกค้างที่ 0.92, 0.86, 0.72, 0.76, 0.65, 0.59, 0.49 และ 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 3 มีปริมาณเท่ากับ 0.28, 0.25, 0.22, 0.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และที่ระยะเก็บเกี่ยว 7, 10, 14 และ 21 วัน พบปริมาณสารตกค้างเท่ากับ 0.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 4 พบปริมาณสารตกค้างเท่ากับ 0.79, 0.65, 0.63, 0.59, 0.59, 0.57, 0.54 และ 0.48 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 5 มีปริมาณสารตกค้างเท่ากับ 0.37, 0.34, 0.30, 0.19, 0.25, 0.16, 0.13 และ 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงทดลองที่ 6 พบปริมาณสารตกค้างเท่ากับ 1.03, 0.98, 0.93, 0.84, 0.70, 0.70, 0.74 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากข้อมูลดังกล่าวสามารถประเมินระยะปลอดภัยก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังพ่น lufenuron 5% W/V EC ครั้งสุดท้ายในพริกที่ระยะเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 7 วันเป็นต้นไป

คำสำคัญ: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL); ลูเฟนนูรอน; พริก

บทนำ

จากยุทธศาสตร์ชาติและนโยบายของภาครัฐที่มุ่งเน้นให้ประเทศไทยเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน สนับสนุนกระบวนการผลิตสินค้าเกษตรและส่งเสริมการส่งออกสินค้าอาหาร ทำให้ภาคการเกษตรต้องเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตให้มากขึ้นและต่อเนื่อง พัฒนารูปแบบการทำเกษตรให้เป็นแบบทำน้อยได้มาก ใช้ทรัพยากรในการผลิตให้เกิดประโยชน์สูงสุด การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ยังมีความจำเป็นในปัจจุบันและต่อเนื่องในอนาคต เนื่องจากให้ประสิทธิภาพรวดเร็ว ช่วยลดความเสียหายจากการเข้าทำลายผลผลิตของศัตรูพืช สามารถยับยั้งการระบาดของโรคและแมลงที่เกิดขึ้นไม่ให้เกิดเป็นวงกว้าง ทำให้ผลผลิตตรงต่อความต้องการของผู้บริโภค จากการที่ประเทศไทยสามารถปลูกผักและผลไม้ได้หลากหลาย จึงทำให้มีศัตรูพืชหลายชนิดที่สร้างความเสียหายแก่ผลผลิตทางการเกษตร

พริกเป็นพืชอีกชนิดที่มักพบปัญหาการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืชตลอดช่วงการปลูกไปจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ทำให้มีต้นทุนในการผลิตและจัดการค่อนข้างสูง โดยทั่วไปพริกสามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนชื้น ทนต่อสภาพอากาศร้อนได้จึงสามารถปลูกได้ทุกพื้นที่ แมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพริกที่พบการระบาด

เป็นประจำ ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก เป็นแมลงประเภทปากดูดจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนของพืช ทำให้ยอดอ่อนและใบหงิกงอ จนดอกร่วงไม่ติดผล หากกระบาดรุนแรงต้นพริกจะหยุดการเติบโตและแห้งตาย หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม พบการระบาดได้ทุกฤดู เกิดความเสียหายได้มากเนื่องจากเป็นหนอนที่มีขนาดใหญ่ หนอนจะกัดกินทุกส่วนของพืช ทั้งใบ ก้าน ดอก และผล แมลงหริ้วขาวยาสูบและแมลงหริ้วขาวใยเกลียวจะดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบ เป็นพาหะนำโรคที่เกิดจากไวรัส ทำให้ใบพริกหงิก ชีตต่าง ต้นพริกแคระแกร็น ไม่สมบูรณ์ การแพร่ระบาดของโรคมักพบโรคแอนแทรคโนสหรือโรคกุ้งแห้ง พบได้ทุกระยะการเติบโต มีแผลวงกลมชื้น้ำตาลพริกเน่าและร่วงก่อนเก็บเกี่ยว โรคนี้สามารถปนเปื้อนไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถพบโรคใบเหี่ยวเหี่ยวของพริก โรคใบหงิกเหลืองพริก เป็นต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2557) จากคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำและรวบรวมวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในพริก ทั้งการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสารชีวภัณฑ์ โดยให้ใช้เท่าที่จำเป็น เน้นการใช้สารที่มีฤทธิ์ตกค้างสั้น สลายได้ง่าย เพื่อให้เห็นถึงความสำคัญของการผลิตและบริโภคพืชอาหารที่ปลอดภัย

ลูเฟนูรอน (Lufenuron) เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มเบนโซอิลยูเรีย (Benzoylureas) มีชื่อทางเคมีตามระบบ IUPAC คือ (RS)-1-[2,5-dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoro-propoxy)-phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)-urea มีสูตรโมเลกุล $C_{17}H_8Cl_2F_8N_2O_3$ มวลโมเลกุลเท่ากับ 511.2 โดยองค์การอนามัยโลกได้จัดให้ lufenuron อยู่ในกลุ่ม Class III (Slightly) ซึ่งมีระดับอันตรายน้อย โดยมีค่า LD_{50} (ขนาดที่ทำให้หนูทดลองตายจำนวนร้อยละ 50) มากกว่า 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีรายงานกำหนดปริมาณ lufenuron ที่มนุษย์สามารถบริโภคได้ต่อวัน (Acceptable Daily Intake, ADI) ไม่เกิน 0-0.02 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว (WHO, 2019) lufenuron ออกฤทธิ์ควบคุมการเจริญเติบโต (Growth regulation) ยับยั้งการลอกคราบของหนอน โดยจะไปหยุดกระบวนการสร้างไคติน (Chitin) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของผนังลำตัวแมลง ในระยะตัวอ่อนจะมีการสร้างไคตินใหม่ทดแทนเมื่อถูกยับยั้งจึงทำให้หนอนลอกคราบไม่สมบูรณ์ ไม่สามารถเติบโตเป็นตัวเต็มวัยและตายไป สารกลุ่มนี้นิยมใช้ป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม และมีผลต่อแมลงในกลุ่มอื่น เช่น ตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แมลงหริ้วขาว เป็นต้น (สุเทพ, 2552) จากเอกสารวิชาการคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย... จากงานวิจัยปี 2566 ได้แนะนำการป้องกันกำจัดหนอนหนอนกระทู้หอมในพริก โดยให้ใช้ lufenuron 5% W/V EC ที่อัตราแนะนำ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นซ้ำเมื่อพบการระบาด (ศรีจันทร์, 2566)

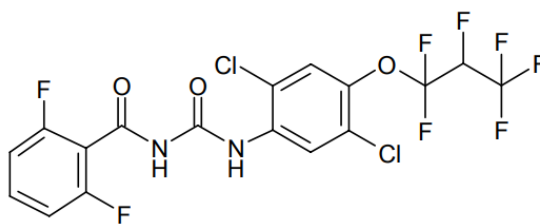


Figure 1 The chemical structure of lufenuron (FAO, 2015)

สำหรับการกำหนดชนิดของสารพิษตกค้างที่กำหนดให้ตรวจวิเคราะห์ (definition of the residue) ของวัตถุอันตราย lufenuron ที่ประชุม JMPR (FAO, 2015) ได้กำหนดให้การวิเคราะห์ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) และการประเมินความเสี่ยงทางด้านอาหาร (dietary risk assessment) ในพืชและสินค้าเกษตรจากผลิตภัณฑ์สัตว์ ให้พิจารณาจากปริมาณของ lufenuron แม้ว่า lufenuron จะมีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในกลุ่มพืชเศรษฐกิจได้หลายชนิด มีความเป็นพิษอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างต่ำ แต่พบว่ายังไม่มีกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ lufenuron ในพริกของมาตรฐานของโคเด็กซ์ (CODEX) มาตรฐานของกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป (EU-MRL) และมาตรฐานของประเทศญี่ปุ่น (JAPAN MRL) ดังนั้น การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของ lufenuron ในพริกจากพื้นที่ที่แตกต่างกัน โดยทำแปลงทดลองแบบ supervised residue ตามหลักเกณฑ์ของ Codex Guideline และหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agricultural Practice; GAP) จะทำให้ได้ข้อมูลสารพิษตกค้าง lufenuron เพื่อประกอบการพิจารณากำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด สามารถใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิตและควบคุมตรวจสอบ ทั้งยังสามารถกำหนดระยะปลอดภัยก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (pre harvest interval; PHI) เพื่อให้เกษตรกรใช้สารได้อย่างถูกต้อง เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ผลผลิตทางการเกษตรที่ได้มีคุณภาพและความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิดเครื่องยนต์สะพายหลัง (Motorized knapsack sprayer) ขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร ชุดและอุปกรณ์ป้องกันขณะพ่นวัตถุอันตราย (Personal Protective Equipment; PPE) นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (Digital thermo-hygrometer) กระบอกตวงพลาสติกขนาด 2 ลิตร ถังน้ำพลาสติกขนาดบรรจุ 35-50 ลิตร ปีกเกอร์พลาสติก 3 และ 5 ลิตร กระดาษวัดค่า pH (universal pH paper) เครื่องแก้ว เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) และอุปกรณ์อำนวยความสะดวกอื่นๆ
2. อุปกรณ์การเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงมือ ถุงหิ้วขนาด 12×20 นิ้ว ถุงพลาสติกขนาด 10×15 นิ้ว และ 16×24 นิ้ว หนัวยง เครื่องชั่งขนาด 15 กิโลกรัม ถังโถงโฟม กรรไกร เทปกาวปิดผนึก เป็นต้น
3. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบตู้แช่ตัวอย่าง (freezer) เครื่องปั่นตัวอย่าง (food processor) ไมโครปิเปต (auto pipettes) ขนาด 10-100, 20-200, 100-1,000, 1,000-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว เครื่องเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge) เครื่องผสมตัวอย่างสาร (vortex mixer)
4. เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ หลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด กระบอกตวง (cylinder) ปีกเกอร์ (beaker) ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) หลอดหยดสาร (dropper) หลอดฉีดยา (syringe) ขนาด 10 มิลลิลิตร และตัวกรองสารชนิด PTFE (PTFE syringe filter) ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ขวดบรรจุสาร (vial) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และขวดบรรจุสารสำหรับวิเคราะห์ (autosampler vial) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร
5. เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) ยี่ห้อ Agilent Technologies, LC รุ่น 1290 infinity, MS/MS รุ่น 6410 Triple Quad และคอลัมน์ชนิด Kinetex 2.6 µm XB-C18 100 A (2.1×100 mm) H15-21798 5603-0148

6. วัตถุดิบทรายทางการเกษตรที่ใช้ในแปลงทดลอง lufenuron 5% W/V EC และ สารมาตรฐาน lufenuron ความบริสุทธิ์ 98.56% (Dr. Ehrenstorfer)

7. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile (CH_3CN) ชนิด HPLC grade, formic acid (CH_2O_2), ammonium formate, anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4), disodium hydrogencitrate ($\text{Na}_2\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{CO}_2)_3 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), trisodiumcitrate di-hydrate ($\text{Na}_3\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{CO}_2)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sodium chloride (NaCl), primary secondary amine (PSA), graphitise carbon black (GCB), water (H_2O) ชนิด HPLC grade และไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen)

วิธีการ

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation)

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง lufenuron ในพริก ชนิดสารพิษตกค้างที่วิเคราะห์อ้างอิงตามคำนิยามสารพิษตกค้าง (residue definition) ของ CODEX ทดสอบช่วงการใช้งานและช่วงความเป็นเส้นตรง (working range/linearity) ประเมินค่าความถูกต้อง (accuracy) จากร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) และความแม่นยำของการทดสอบ (precision) จากการนำ %recovery หาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ซึ่งจะต้องอยู่ในเกณฑ์การยอมรับโดย %recovery ต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 70-120 และมีค่าของ %RSD น้อยกว่าร้อยละ 20 (SANTE, 2021) พร้อมทั้งหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (Limit of Quantitation, LOQ) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of detection, LOD) โดยเติมสารมาตรฐาน lufenuron ลงในตัวอย่างพริกที่ทดสอบแล้วว่าไม่มีสาร lufenuron ในตัวอย่างดังกล่าว ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.10, 0.20, 0.50 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (fortified sample) ความเข้มข้นละ 8-10 ซ้ำ สกัดตัวอย่างตามวิธี QuEChERS (EN 15662: 2018) ดังนี้

1.1 ปั่นตัวอย่างพริกที่แช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) ให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ซั่งตัวอย่างพริก 10 ± 0.05 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลาย acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่านาน 1 นาที

1.2 เติมสารสกัดที่ผสม anhydrous MgSO_4 4 กรัม $\text{Na}_3\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{CO}_2)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 กรัม NaCl 1 กรัม และ $\text{Na}_2\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{CO}_2)_3 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 0.50 กรัม ลงในหลอด centrifuge ดังกล่าว เขย่านาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

1.3 ปิเปตสารละลายเฉพาะส่วนใสปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารผสมของ GCB 50 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ anhydrous MgSO_4 750 มิลลิกรัม เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนอื่น ๆ และเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer นาน 1 นาที centrifuge ตัวอย่างดังกล่าวที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

1.4 กรองสารละลายส่วนใสผ่าน syringe filter ชนิด PTFE ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายดังกล่าวปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน autosampler vial และเติม 10% formic acid ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในพริก ด้วยเครื่อง LC-MS/MS สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องตรวจวิเคราะห์ แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 1

1.5 เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (working standard solution) โดยใช้ตัวอย่างพริก (matrix solution) จากวิธีที่สกัดตัวอย่าง QuEChERS (EN 15662: 2018) ปรับปริมาตร สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ

สารละลายมาตรฐาน lufenuron ในแกน x และสัญญาณของเครื่องมือที่ตรวจวัด (response) ในแกน y ซึ่งคำนวณจากพื้นที่ ของสาร (peak area) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of determination; R^2) ที่ได้จากสมการกราฟเส้นตรงต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด R^2 ไม่น้อยกว่า 0.995

Table 1 Acquisition Parameters for the LC-MS-MS system

Column:	Kinetex 2.6 μm XB-C18 100 A (2.1×100 mm) H15-21798 5603-0148				
Temperature (°C):	40 °C				
Mobil phase A:	5 mM ammonium formate in water + 0.1% formic acid				
Mobil phase B:	acetonitrile				
Inject volume:	5 μL				
Total run time:	10.00 min				
Elution gradient	Time (min)	Flow rate (mL/min)	Mobile phase A	Mobile phase B	
	4	0.30	95	5	
	7	0.30	5	95	
	9	0.30	5	95	
	10	0.30	95	5	
Ion source:	AJS ESI				
Source parameter:	Gas temp (°C):	300			
	Gas flow (l/min):	5			
	Nebulizer (psi):	45			
	Capillary (V):	3500			
Mass parameter	Compound	Precursor ion	Product ion	Dwell	CE (V)
	lufenuron	511	158	200	20
		511	141	200	45

2. การทำแปลงทดลองพ่นวัตถุอันตรายในพริก

2.1 เลือกแปลงทดลองพริกของเกษตรกรและวางแผนการทดลองแบบ supervised residue trials แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุมที่ไม่พ่นวัตถุอันตรายที่ทดลอง (untreated plot) เป็นแปลงเปรียบเทียบ และแปลงที่พ่นวัตถุอันตราย lufenuron 5% W/V EC (treated plot) จากคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม ให้ใช้ lufenuron ที่อัตรา 40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร โดยทำการพ่นวัตถุอันตรายจำนวน 3 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน เมื่อพริกอายุมากกว่า 65 วันหลังปลูก ใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ พ่นโดยใช้เครื่องพ่นสาร Motorized knapsack sprayer บันทึกข้อมูลแปลงทดลอง แผนที่และเส้นทางคมนาคม รายละเอียดแสดงใน Table 2

Table 2 Application period for lufenuron 5% W/V EC in chili field trials 1-6

Field Trials	Application no. 1			Application no. 2			Application no. 3		
1	22	February	2022	1	March	2022	8	March	2022
2	25	February	2022	3	March	2022	11	March	2022
3	17	January	2023	24	January	2023	31	January	2023
4	20	February	2023	28	February	2023	7	March	2023
5	19	February	2024	27	February	2024	5	March	2024
6	29	February	2024	7	March	2024	14	March	2024

2.2 หาอัตราการไหลของเครื่องพ่น (flow rate) ที่เหมาะสม การกระจายของของละอองขณะพ่นต้องมีความสม่ำเสมอ ก่อนพ่นวัตถุอันตราย lufenuron 5% W/V EC ต้องทดสอบเครื่องพ่นที่ใช้ (calibrate) อัตราการใช้น้ำ ปริมาณวัตถุอันตราย เวลาที่ผู้พ่นสารใช้เดินพ่นวัตถุอันตราย (target time) ต่อพื้นที่แปลงทดลอง และทดสอบจังหวะการเดินของผู้พ่น (speed calibration) เพื่อให้มั่นใจได้ว่าข้อมูลที่ได้จากการปฏิบัติงานพ่นเป็นไปอย่างถูกต้อง หาค่าร้อยละความถูกต้องของการพ่นวัตถุอันตราย (percent of target rate) บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้องในการทดลอง

2.3 เก็บตัวอย่างจากแปลงทดลองเมื่อพ่นวัตถุอันตรายครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างพริกให้ได้ปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม โดยเว้นระยะไม่สุ่มตัวอย่างที่หัวแปลงและท้ายแปลง สุ่มตัวอย่างจำนวน 2 ซ้ำ ตามระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่กำหนด ได้แก่ หลังการพ่นวัตถุอันตรายที่ 0 วัน (2 ชั่วโมงหลังพ่นสาร) 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน บรรจุตัวอย่างลงในถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างที่ติดป้ายฉลากชัดเจน ปิดปากถุงให้สนิท บันทึกข้อมูลของการเก็บตัวอย่าง เช่น น้ำหนัก อุณหภูมิ เวลาที่เก็บตัวอย่าง บรรจุตัวอย่างลงในกล่องโฟมที่มีถุงน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพของตัวอย่าง

2.4 ตัวอย่างพริกที่ถูกเก็บมาจะต้องอยู่ในสภาพเย็น เพื่อรักษาสภาพตัวอย่าง ภายในบรรจุเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) เพื่อบันทึกอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการให้นำตัวอย่างเก็บในตู้แช่ที่อุณหภูมิ $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ โดยบันทึกรหัสตัวอย่าง ระยะเวลาที่ใช้ในการขนส่ง อุณหภูมิของตัวอย่าง หลังจากนั้นดำเนินการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างพริกต่อไป

3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างพริก

สกัดตัวอย่างพริกด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662: 2018) นอกจากนี้ในแต่ละแปลงทดลองจะต้องมีการประกันคุณภาพของผลการทดสอบด้วยการหา %recovery ที่ความเข้มข้นระดับต่ำสุดหรือความเข้มข้นระดับความเข้มข้นกลางและระดับความเข้มข้นสูงสุด ต้องครอบคลุมปริมาณของสารตกค้างที่ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ ทำการสกัดตัวอย่างซ้ำ (duplicate) เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีความน่าเชื่อถือในแต่ละครั้งที่ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในพริกด้วยเครื่อง LC-MS/MS

4. การทดสอบความคงตัว (Storage stability) ของสารตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างพริก

ศึกษาความคงตัวระหว่างการเก็บรักษาสารพิษตกค้าง lufenuron ในพริกที่ระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน โดยเติมสารละลายมาตรฐาน lufenuron ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (10 เท่าของ LOQ) ลงในหลอด centrifuge ที่ซั้งตัวอย่างพริกไว้ 10 ± 0.05 กรัม จากนั้นนำไปเก็บที่ตู้แช่อุณหภูมิ $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ เมื่อถึงระยะเวลาที่กำหนดให้นำตัวอย่างดังกล่าวมาสกัดและวิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกันกับตัวอย่างพริกจากแปลงทดลอง

ระยะเวลา	เริ่มเดือนตุลาคม 2565 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2567	
สถานที่ทดลอง	สถานที่ทำแปลงทดลอง	
แปลงที่ 1	อำเภอท่ามะกา	จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - เมษายน 2565
แปลงที่ 2	อำเภอมืองนครปฐม	จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - เมษายน 2565
แปลงที่ 3	อำเภอมืองนครปฐม	จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2566
แปลงที่ 4	อำเภอท่ามะกา	จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2566
แปลงที่ 5	อำเภอท่ามะกา	จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม 2567
แปลงที่ 6	อำเภอหนองหญ้าหลวง	จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม - เมษายน 2567
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร		
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร		

ผลการทดลองและวิจารณ์

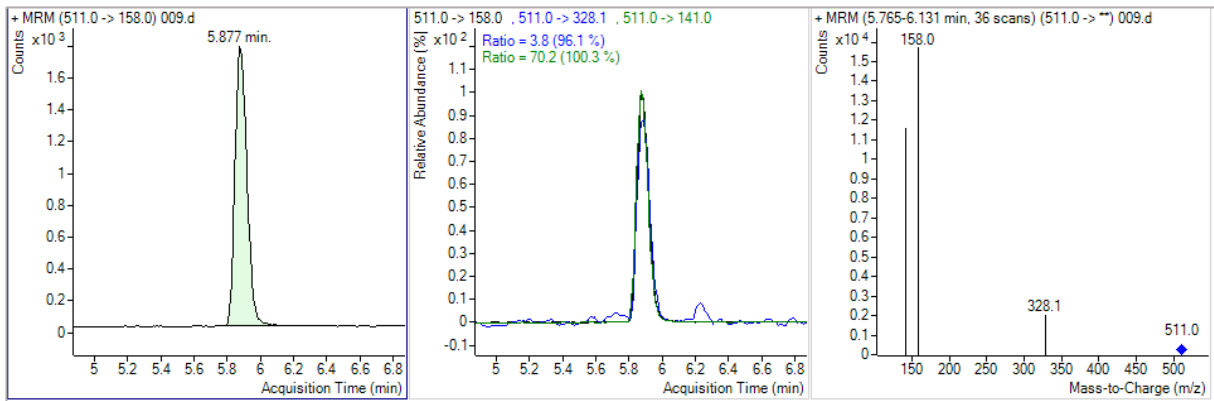
1. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง lufenuron ด้วยเครื่อง LC-MS/MS พบว่า มีค่า retention time ที่ 5.877 นาที จากการตรวจสอบวิธีวิเคราะห์สำหรับการหาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในพริก โดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662: 2018) ที่ความระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.10, 0.20, 0.50 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 8-10 ซ้ำ พบว่า %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 85-112 ผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ร้อยละ 70-120 สำหรับค่า precision สามารถหาจาก %RSD ที่ได้จากการทำซ้ำ พบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 3-8 โดยช่วง %RSD ที่ยอมรับได้ คือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 (SANTE, 2021) การสกัดด้วยวิธีดังกล่าวเมื่อนำค่าเฉลี่ย response ของสารมาสร้างกราฟ พบว่าให้ช่วงความเป็นตรงที่ดีในช่วงความเข้มข้น 0.01 ถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9997 ผ่านเกณฑ์การยอมรับที่กำหนดให้มากกว่า 0.995 วิธีนี้มีค่า LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่า LOD เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รายละเอียดแสดงดัง Table 3 และ Figure 2

Table 3 Result of method validation and concurrent recovery of lufenuron residue in chili

spiked level (mg/kg)	%recovery	%recovery average	SD	% RSD
0.005	112, 120, 106, 114, 112, 108, 120, 118, 104, 112	112	5.50	5
0.01	101, 115, 92, 114, 102, 103, 94, 99, 101, 98	102	7.11	7
0.10	92, 89, 82, 87, 91, 84, 87, 95, 94, 96	90	4.47	5
0.20	96, 114, 94, 92, 97, 99, 97, 98	98	7.89	8
0.50	87, 79, 83, 81, 86, 91, 85, 93	86	4.48	5
2.00	86, 86, 85, 83, 88, 81, 82, 82, 87, 88	85	2.31	3

LOQ = 0.01 mg/kg LOD = 0.005 mg/kg



2. การทำแปลงทดลองพันธุ์ต้นทรายในพริก

สำหรับการดำเนินการเพื่อพันธุ์ lufenuron 5% W/V EC ตามอัตราแนะนำ 40 มิลลิกรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร กำหนดใช้น้ำปริมาณ 80 ลิตรต่อไร่ พันธุ์ต้นทราย 3 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน มีปริมาณสารออกฤทธิ์ (active ingredient; a.i.) เท่ากับ 8 กรัม a.i. ต่อไร่ คิดเป็น 50 กรัม a.i. ต่อเฮกตาร์ มีประสิทธิภาพของการพ่นสาร lufenuron ที่ลงแปลงทดลอง (percent of target rate) อยู่ในช่วงร้อยละ 100-103 แสดงให้เห็นว่าการพ่นสารทั้ง 6 แปลงทดลองมีความแม่นยำ มีปริมาณสารออกฤทธิ์อยู่ในช่วง $\pm 25\%$ ของอัตราแนะนำ (GAP dose rate) ที่ 0.0375-0.0625 กิโลกรัมสารออกฤทธิ์ต่อเฮกตาร์ รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 5

Table 5 The efficiency of using lufenuron 5% EC in chili field trials

Field Trial Number	Area (m ²)	Treatment efficiency % (percent of target rate)				Field Trial dose rate (kg a.i./ha)	GAP dose rate (kg a.i./ha)
		1	2	3	Average		
1	145	101	100	101	101	0.0505	0.0500
2	154	100	100	100	100	0.0500	
3	133	103	103	102	103	0.0515	
4	132	101	103	102	102	0.0510	
5	130	100	101	101	101	0.0505	
6	128	101	102	102	102	0.0510	

3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างพริก

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในพริก ที่ใช้ตามอัตราแนะนำ 40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร พบว่าหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายและที่ระยะเก็บตัวอย่างตามที่กำหนด พบว่าการสลายตัวและปริมาณของ lufenuron ลดลงเป็นแนวโน้มเดียวกัน ปริมาณสารตกค้างจะค่อยๆ สลายตัวลงเมื่อเว้นระยะวันในการเก็บเกี่ยว ตัวอย่างให้นานขึ้น เมื่อพิจารณาการตกค้างของ lufenuron ในพริกของทั้ง 6 แปลงทดลอง พบว่าที่ระยะเก็บเกี่ยวที่ 21 วัน ยังมีปริมาณสารตกค้างของ lufenuron ในพริกมากกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับแปลงควบคุม (untreated plot) ทั้ง 6 แปลงทดลองนั้น ตรวจไม่พบปริมาณสารตกค้างของ lufenuron ในทุกตัวอย่าง แปลงทดลองที่พ่นวัตถุอันตราย lufenuron ตามอัตราแนะนำตรวจพบปริมาณสารตกค้าง ดังนี้

แปลงทดลองพริกครั้งที่ 1 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี พิกัดแปลงทดลอง 14°00'39.1"N 99°46'48.6"E เกษตรกรปลูกพริกพันธุ์อัมพวา ทรงพุ่มของต้นพริกค่อนข้างโปร่ง ใบเล็ก มีผลยาวประมาณ 5-7 เซนติเมตร เก็บเกี่ยวผลผลิตพริกที่ระยะเวลา 0 วัน (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 1.86, 1.45, 1.38, 1.31, 1.25, 1.01, 0.70 และ 0.41 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

แปลงทดลองพริกครั้งที่ 2 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม พิกัดแปลงทดลอง 13°51'36.8"N 99°56'58.3"E เกษตรกรปลูกพริกพันธุ์ซูเปอร์ฮอท มีลักษณะลำต้นใหญ่ ขั้วพริกไม่เหนียว ขนาดของผลประมาณ 8-10 เซนติเมตร ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 0.92, 0.86, 0.72, 0.76, 0.65, 0.59, 0.49 และ 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

แปลงทดลองพริกครั้งที่ 3 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม พิกัดแปลงทดลอง 13°51'38.4"N 99°57'00.5"E เกษตรกรปลูกพริกพันธุ์อัมพวาโกลด์ มีลักษณะลำต้นแข็งแรง ทรงพุ่มใหญ่ สามารถแตกแขนงได้ดี เนื้อหนาผิวเรียบ มีความยาวของผลประมาณ 8-9 เซนติเมตร ขั้วผลยาว 4-5.5 เซนติเมตร มีพื้นที่แปลงทดลองขนาด 132 ตารางเมตร ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 0.28, 0.25, 0.22, 0.19, 0.16, 0.16, 0.16 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

แปลงทดลองพริกครั้งที่ 4 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี พิกัดแปลงทดลอง 14°00'33.4"N 99°46'30.7"E เกษตรกรปลูกพริกพันธุ์กะเหรี่ยง ต้นพริกกะเหรี่ยงจะมีลักษณะคล้ายต้นพริกชี้หู ทนทานต่อสภาวะอากาศและแมลง ลำต้นใหญ่ เม็ดมีลักษณะปลายแหลม ฐานกว้าง มีความยาวของผลประมาณ 4-6 เซนติเมตรที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 0.79, 0.65, 0.63, 0.59, 0.59, 0.57, 0.54 และ 0.48 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

แปลงทดลองพริกครั้งที่ 5 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี พิกัดแปลงทดลอง 14°00'48.6"N 99°46'53.8"E เกษตรกรปลูกพริกพันธุ์อัมพวา มีความยาวของผลประมาณ 5-7 เซนติเมตร มีพื้นที่แปลงทดลองขนาด 130 ตารางเมตร ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 0.37, 0.34, 0.30, 0.19, 0.25, 0.16, 0.13 และ 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

แปลงทดลองพริกครั้งที่ 6 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.หนองงูเหลือม จ.นครปฐม พิกัดแปลงทดลอง 13°54'03.0"N 99°56'49.1"E เกษตรกรปลูกพริกพันธุ์ซูเปอร์ฮอท ทรงพุ่มค่อนข้างโปร่ง ใบเล็ก มีความยาวของผลประมาณ 5-7 เซนติเมตร ขนาดแปลงทดลองมีพื้นที่ 128 ตารางเมตร ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก

0 วัน (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 1.03, 0.98, 0.93, 0.84, 0.70, 0.70, 0.74 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ รายละเอียดปริมาณสารตกค้าง และเส้นแนวโน้มการสลายตัวแสดงดัง Table 6 และ Figure 3

Table 6 Amount of lufenuron residue found in chili from the field trials 1-6

Field Trial Number	Amount of lufenuron residue in Chili (mg/kg) from the Days after last application (days)							
	0	1	3	5	7	10	14	21
1	1.86	1.45	1.38	1.31	1.25	1.01	0.70	0.41
2	0.92	0.86	0.72	0.76	0.65	0.59	0.49	0.45
3	0.28	0.25	0.22	0.19	0.16	0.16	0.16	0.16
4	0.79	0.65	0.63	0.59	0.59	0.57	0.54	0.48
5	0.37	0.34	0.30	0.19	0.25	0.16	0.13	0.07
6	1.03	0.98	0.93	0.84	0.70	0.70	0.74	0.39

LOQ = 0.01 mg/kg LOD = 0.005 mg/kg

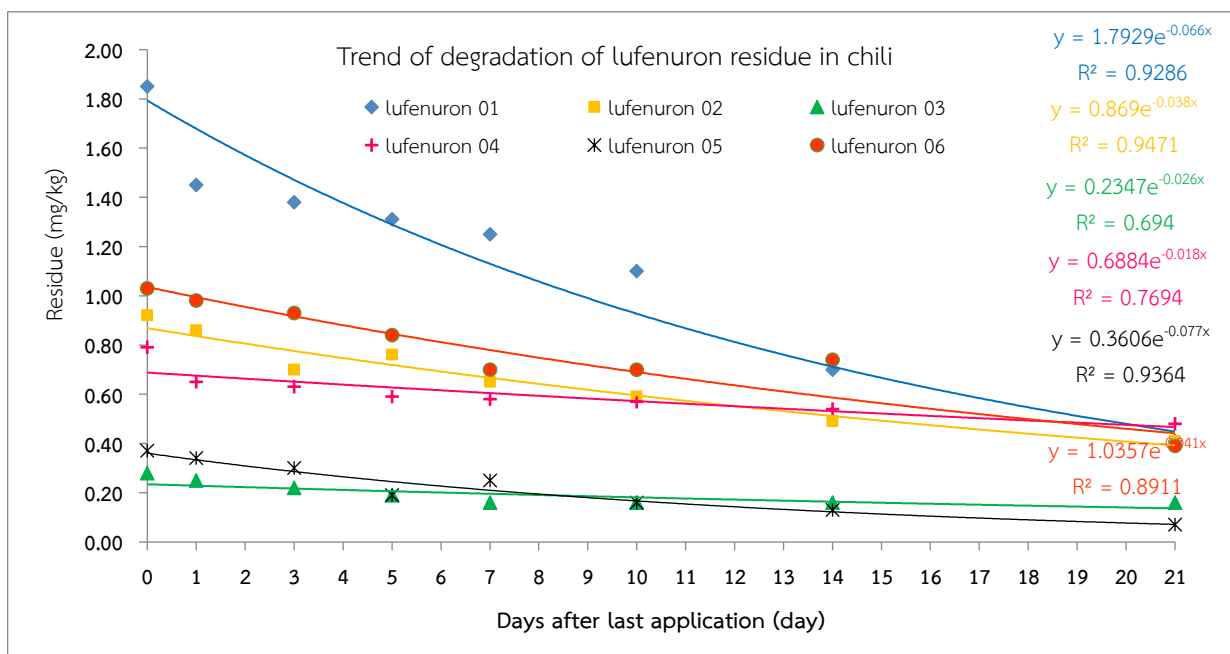


Figure 3 The decline of lufenuron residue in chili from field trials 1-6

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในพริกทั้ง 6 แปลงทดลอง พบว่ามีแนวโน้มการสลายตัวและปริมาณสารตกค้างลดลง เมื่อเว้นระยะวันในการเก็บเกี่ยวตัวอย่างให้นานขึ้น จนมีค่าใกล้เคียงกันตั้งแต่ระยะเก็บเกี่ยวที่ 7 วัน เป็นต้นไป สำหรับประเทศไทยมีการกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ (Maximum Residue Limit; MRL) ของ lufenuron ในพริกไว้ที่ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2568) มาตรฐานโคเด็กซ์ (CODEX) มาตรฐานของกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป (EU-MRL) และมาตรฐานของประเทศญี่ปุ่น (JAPAN MRL) ไม่มีการกำหนดค่า MRL ในพริกโดยตรง แต่มีกำหนดไว้ในกลุ่มสินค้าเกษตรที่คล้ายพริก CODEX ระบุไว้ในพริกหวาน 0.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Peppers, sweet (including pimento or pimienta), 2012) เท่ากับ EU MRL ที่ 0.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Sweet peppers/bell peppers, Reg. (EU) 2020/856) และ Japan MRL 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Pimento (sweet pepper), Ab2010)

สำหรับการประเมินระยะปลอดภัยก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (Pre Harvest Interval; PHI) นั้น พบว่าที่ระยะเก็บเกี่ยว 21 วัน ยังมีปริมาณสารตกค้างของ lufenuron มากกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จึงได้พิจารณาพร้อมกับผลการประเมินความเสี่ยงของการบริโภคทั้งแบบเฉียบพลัน (acute dietary exposure) และแบบเรื้อรัง (chronic dietary exposure) จากที่ประชุม JMPR (FAO, 2015) ระบุไว้ว่าค่า Acute Reference Dose (ARfD) ของ lufenuron ไม่มีความจำเป็นต้องพิจารณา (unnecessary) เนื่องจากมติที่ประชุมเห็นควรว่าการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร lufenuron ไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานทำให้เกิดผลความเสี่ยงต่อสุขภาพ lufenuron มีค่า Acceptable Daily Intake (ADI) ที่ร่างกายสามารถได้รับต่อวันตลอดชีวิตโดยไม่เกิดผลกระทบใด ๆ เท่ากับ 0-0.02 mg/kg bw เมื่อพิจารณาร่วมกับผลการประเมินความเสี่ยงของ lufenuron ในพริก พบว่าที่ระยะเวลา 0 วัน (หลังพ่นสาร 2 ชั่วโมง) พบว่า ร้อยละของ ARfD มีค่าเท่ากับ 0 ในกลุ่มประชากรทุกช่วงวัย ค่าของ ARfD ต่ำกว่าหนึ่งร้อยถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย ผลจากการประเมินความเสี่ยงแบบเรื้อรัง พบว่ามีค่าร้อยละของ ADI (Rounded %ADI) ในกลุ่มประชากร G09 (cluster 9) อยู่ที่ร้อยละ 2 เป็นต้นไป อย่างไรก็ตามพริกเป็นพืชที่นิยมบริโภคสด มีผลผลิตหลายรุ่นในต้นเดียวกัน เกษตรกรจะเว้นระยะการเก็บพริกทุก 5-7 วัน ดังนั้น เพื่อให้เกิดความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้บริโภคภายหลังการใช้สาร lufenuron ในพริก จึงควรเว้นระยะปลอดภัยก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายตั้งแต่ 7 วัน เป็นต้นไป

4. ความคงตัว (Storage Stability) ของสารพิษตกค้าง lufenuron ในพริก

จากผลการทดสอบสารพิษตกค้าง lufenuron ในพริกที่ระยะเวลาตั้งแต่ 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน นับจากวันที่มีการเติมสารมาตรฐาน lufenuron ที่ความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมลงในตัวอย่างพริก มีค่าร้อยละของสารพิษตกค้างที่เหลือ (%residue remained) เท่ากับ 104, 102, 103, 103, 95 และ 90 ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่สารพิษตกค้างที่ไม่สลายตัวเกินร้อยละ 30 ของความเข้มข้นที่ทำการศึกษา และมีค่าร้อยละของสารพิษตกค้างที่เหลือมากกว่าร้อยละ 70 จึงสรุปได้ว่าตัวอย่างพริกที่มีสารตกค้าง lufenuron สามารถเก็บได้นานถึง 90 วัน โดยไม่เกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิ $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด โดยทำการทดลองการพ่นวัตถุอันตราย lufenuron 5% W/V EC ตามอัตราแนะนำ 40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นวัตถุอันตราย 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน สามารถประเมินปริมาณสารตกค้าง lufenuron ที่แปลงทดลองอยู่ระหว่างร้อยละ 100-103 หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสู่แม่เก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนด พบว่า lufenuron มีการสลายตัวและมีปริมาณลดลงเมื่อเว้นระยะในการเก็บตัวอย่าง ที่ระยะเก็บเกี่ยวหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน พบปริมาณ lufenuron เฉลี่ยจากทั้ง 6 แปลงทดลอง เท่ากับ 0.87, 0.76, 0.69, 0.60, 0.55, 0.46 และ 0.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยแปลงควบคุม ตรวจไม่พบสาร lufenuron ในทุกตัวอย่าง จากข้อมูลปริมาณสารตกค้างดังกล่าว เพื่อให้เกิดความปลอดภัยสูงสุดต่อเกษตรกรและผู้บริโภคภายหลังการใช้สาร lufenuron ในพริก จึงควรเว้นระยะปลอดภัยก่อนเก็บเกี่ยว ผลผลิตหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายตั้งแต่ 7 วันเป็นต้นไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลปริมาณสารตกค้าง lufenuron ที่ได้จากการทดลอง และระยะปลอดภัยของการเก็บเกี่ยว ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเพื่อเผยแพร่แก่บุคคลหรือหน่วยงานที่สนใจได้ทราบ ทั้งยังใช้ในการตรวจสอบคำแนะนำบนฉลากให้เหมาะสมตรงกับกลุ่มพืชที่ใช้ และเสนอข้อมูลปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในพริกไปพิจารณาเพื่อกำหนดค่า Thai MRL ASEAN MRL และ Codex MRL ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- สุเทพ สหายา. 2552. สารป้องกันกำจัดแมลง และไรศัตรูพืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรแมลงและศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14 วันที่ 20-24 เมษายน 2552 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. น.1-45
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2557. *คู่มือศัตรูพริก*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. *มาตรฐานสินค้าเกษตร. มกษ. 9002-2568 สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ศรีจันทร์ ศรีจันทร์ และพฤติชาติ ปุณวัฒโน. 2566. เอกสารวิชาการคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-ศัตรูศัตรูพืชอย่างปลอดภัย...จากงานวิจัยปี 2566. กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. น.1-268
- CODEX - Pesticides database. 2024. Available at: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codextexts/dbs/pestres/pesticidedetail/en/?p_id=286. Assessment: November 29, 2024
- EN 15662. 2018. *Foods of plant original. Multimethod for the determination of pesticide residues using GC and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE. Modular QuEChERS-method*.
- FAO. 2015. List of Pesticides evaluated by JMPR and JMPS Available at: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation2015/LUFENURON__286_.pdf. Assessment: November 29, 2024

- SANTE/11312/2021. 2021. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues and Analysis in Food and Feed Available at: https://www.accredia.it/wp-content/uploads/2021/02/SANTE_11312_2021.pdf. Assessment: November 29, 2024
- The Japan Food Chemical Research Foundation. 2017. Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods. Available at: http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=79300. Assessment: November 29, 2024
- WHO. 2019. The WHO Recommended Classification of Pesticide by Hazard and Guidelines to Classification. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332193/9789240005662-eng.pdf?ua=1>. Assessment: November 29, 2024



วิจัยปริมาณสารพิษตกค้าง ไอโพรไดโอน (iprodione) ในคะน้า
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Residue Trials of Iprodione in broccoli, Chinese
to Establish Maximum Residue Limit

วีระสิงห์ แสงวรรณ ชนิกันดา เทสลิริ ชนิตา ทองแซม วาเลนไทน์ เจือสกุล

Weerasing Saengwan Chanikanda Tessiri Chanita Thongsam Valentine Juasakul

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on residue trials of iprodione in broccoli, Chinese to establish maximum residue limit. The experimental in 6 trial field locations were conducted during October 2021 to September 2024. The field trials each consisted of two plots which were untreated (not sprayed) and treated plot was sprayed with 50 % WP iprodione at recommended dose (30 g/20 L of water) and 120 L/rai of water. Each of field trial was done 3 times of spraying in every 5 days. Treated samples were collected and their iprodione residue was determined at day 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after the last application by LC-MS/MS. The trial number 1 were found concentration of residues are 10.50, 18.08, 12.54, 5.66, 7.22, 4.97 and 2.35 mg/kg. The trial number 2 were found concentration of residues are 13.64, 10.80, 5.81, 2.91, 2.15, 1.69, and 1.87 mg/kg. The trial number 3 were found concentration of residues are 23.99, 15.88, 10.91, 9.00, 5.93, 2.02 and 1.35 mg/kg. The trial number 4 were found concentration of residues are 29.07, 27.86, 7.12, 2.98, 1.88, 0.30 and 0.15 mg/kg. The trial number 5 were found concentration of residues are 14.84, 7.63, 3.01, 2.21, 1.54, 0.33 and 0.12 mg/kg. The trial number 6 were found concentration of residues are 31.62, 31.64, 7.49, 4.80, 3.16, 0.81 and 0.17 mg/kg respectively.

Keywords: iprodione; Broccoli Chinese; maximum residue limit

บทคัดย่อ

ศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างไอพอร์ไดโอนในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง สถานที่ปฏิบัติงานวิจัยทั้งในห้องปฏิบัติการ และในแปลงเกษตรกรจำนวน 6 แปลงทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2567 แต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงควบคุม (ไม่พ่นวัตถุมีพิษ) และแปลงทดลองที่พ่นไอพอร์ไดโอน สูตร 50 % WP ใช้ตามอัตราแนะนำ 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารทุกๆ 5 วัน รวม 3 ครั้ง สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้ามาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างไอพอร์ไดโอน ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ในแปลงทดลองที่ 1 พบปริมาณไอพอร์ไดโอนมีค่าเฉลี่ย 10.50, 18.08, 12.54, 5.66, 7.22, 4.97 และ 2.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แปลงทดลองที่ 2 พบปริมาณไอพอร์ไดโอนมีค่าเฉลี่ย 13.64, 10.80, 5.81, 2.91, 2.15, 1.69, และ 1.87 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ แปลงทดลองที่ 3 พบปริมาณไอพอร์ไดโอนมีค่าเฉลี่ย 23.99, 15.88, 10.91, 9.00, 5.93, 2.02 และ 1.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แปลงทดลองที่ 4 พบปริมาณไอพอร์ไดโอนมีค่าเฉลี่ย 29.07, 27.86, 7.12, 2.98, 1.88, 0.30 และ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ แปลงทดลองที่ 5 พบปริมาณไอพอร์ไดโอนมีค่าเฉลี่ย 14.84, 7.63, 3.01, 2.21, 1.54, 0.33 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และแปลงทดลองที่ 6 พบปริมาณไอพอร์ไดโอนมีค่าเฉลี่ย 31.62, 31.64, 7.49, 4.80, 3.16, 0.81 และ 0.17 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบปริมาณสารไอพอร์ไดโอน

คำสำคัญ: ไอพอร์ไดโอน; คะน้า; ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

บทนำ

คะน้ามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* var. *Alboglabra* เป็นพืชผักในวงศ์ Brassicaceae เป็นพืชผักในวงศ์ Brassicaceae (เรียกอีกอย่างว่า Cruciferae) เช่นเดียวกับกะหล่ำปลี บร็อกโคลี่ และกะหล่ำดอก ในการจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช คะน้า (broccoli, Chinese) จัดอยู่ในกลุ่มหลัก 013 ผักใบ (leafy vegetables) แบ่งออกเป็น 9 กลุ่มย่อย ซึ่งคะน้าเป็นพืชตัวแทนของกลุ่มย่อย 013B ผักใบตระกูลกะหล่ำ (brassica leafy vegetables) กลุ่มย่อยนี้ใช้รหัส VL 0054 ครอบคลุมใบของผักตระกูลกะหล่ำ รวมทั้งสินค้าเกษตรทุกชนิดที่อยู่ในกลุ่มย่อยนี้ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) คะน้าเป็นพืชผักใบเขียว ลำต้นตั้งตรง ความสูงประมาณ 20-30 เซนติเมตร ลักษณะแข็งแรง อวบใหญ่ มีสีเขียวฉ่ำวาว นิยมนำมาบริโภคมาก รองลงมาจากยอดอ่อน ลักษณะใบของคะน้ามีหลายลักษณะตามสายพันธุ์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2563) คะน้าที่นิยมปลูกในประเทศไทยมีอยู่ 3 พันธุ์ด้วยกัน พันธุ์ใบกลม มีลักษณะใบกว้างใหญ่ ค่อนข้างกลม ใบกว้าง ปลายใบมน ก้านใบสั้นปล้องสั้น ปลายใบมนและผิวใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ได้แก่ พันธุ์ฝางเบอร์ 1 พันธุ์ใบแหลม เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะใบแคบกว่าพันธุ์ใบกลม ปลายใบแหลม ขอบหยาบ ผิวใบเรียบ ได้แก่ พันธุ์ P.L.20 และพันธุ์ยอด ใบมีลักษณะเหมือนพันธุ์ใบแหลม จำนวนใบน้อย แต่มีช่วงก้านยาวกว่า เช่น พันธุ์แม่ใจ 1 สำหรับพันธุ์แม่ใจ 1 เป็นพันธุ์ ที่ได้รับความนิยมในการรับประทาน มีลักษณะลำต้นใหญ่สูง ยอดยาว ใบไม่มาก ซึ่งตรงตามความนิยมที่คนส่วนมากชอบรับประทานยอด และลำต้นคะน้าที่อ่อนอวบ คะน้าสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพดินทุกชนิดที่มีการระบายน้ำและการถ่ายเทอากาศได้ดี อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 20-25°C

อายุการเก็บเกี่ยว 45-55 วัน สามารถขายได้ทั้งส่วนที่เป็นค่น้ำยอดซึ่งถอนแยกในช่วงที่กล้าค่น้ำยังเป็นต้นเล็ก และค่น้ำต้นซึ่งเจริญเติบโตครบอายุเก็บเกี่ยว จะให้น้ำหนักและราคาที่ดีกว่า เนื่องจากค่น้ำเป็นพืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ เกษตรกรผู้ปลูกค่น้ำต้องมีการดูแลและป้องกันการเข้าทำลายของโรคและแมลง การใช้วัตถุที่มีพิษที่ถูกต้องตามคำแนะนำจึงเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดปริมาณสารพิษตกค้างมากเกินไปในผลผลิต ทำให้ปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

แมลงศัตรูพืชที่ชอบกัดกินใบค่น้ำ ได้แก่ หนอนกระทู้ หนอนใยผัก ตัวงหมัดผัก และโรคพืชที่สำคัญของค่น้ำ พบว่ามีหลายโรคด้วยกัน ได้แก่ โรคโคนค่น้ำเน่า เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* sp. หรือ *Phytophthora* sp. โรคราน้ำค้างค่น้ำ เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Peronospora parasitica* โรคแผลน้ำตาลไหม้ เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp. เป็นต้น (กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553) งานวิจัยนี้เป็นการใช้ไอโพรไดโอนเพื่อป้องกันกำจัดโรคใบจุดในค่น้ำ โรคใบจุด (*Alternaria* Leaf Spot) เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicae* หรือ *Alternaria brassicicola* ทำให้เกิดโรคกับผักใบตระกูลกะหล่ำ เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปลม กะหล่ำดาว บร็อคโคลี่ คื่นหิ้ว ผักกาดขาว ผักกาดเขียว ผักกวางตุ้ง และผักกาดหัว อาการของโรค เกิดทุกส่วนและทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่ต้นอ่อนที่เริ่มงอกจนถึงต้นแก่ อาการแรกบนต้นกล้า จะเกิดเป็นแผลเล็กๆ สีน้ำตาลดำ ลักษณะคล้ายโรคเน่าคอดินที่ขึ้นกับลำต้น เมื่อเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นกล้า จะทำให้ต้นกล้าหยุดการเจริญเติบโตหรือชะงักงัน เมื่อย้ายไปปลูกในแปลงจะทำให้ต้นไม่สมบูรณ์ อาการในต้นแก่มักพบบนใบและก้าน เกิดเป็นแผลจุดเล็กๆ สีเหลือง ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้น สีน้ำตาลเข้มถึงดำ แผลมีลักษณะเป็นวงค่อนข้างกลม เรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ สปอร์เชื้อราสามารถแพร่กระจายไปตามลม น้ำ แมลง สัตว์มนุษย์ และติดไปกับเครื่องมือ โรคนี้ระบาดมากในฤดูฝนหรือในระยะที่มีความชื้นสูง สภาพอากาศร้อนชื้น เชื้อราสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ใน ลักษณะ seed-borne

ไอโพรไดโอนเป็นยาฆ่าเชื้อราชนิดกว้างที่ใช้ในการป้องกันการงอกของสปอร์เชื้อราในพืชผักหลากหลายชนิด การขึ้นทะเบียนไม่อนุญาตให้ใช้กับสนามหญ้า ไม้ประดับ สวนผักและผลไม้ขนาดเล็ก เป็นสารสังเคราะห์จาก dicarboximide และได้รับการผลิตเป็นครั้งแรกในทศวรรษที่ 1990 ได้รับการเผยแพร่ภายใต้ชื่อแบรนด์ "Rovral" และ "Chipco green" (ทั้งสองแบรนด์ของ Bayer CropScience) พัฒนาขึ้นโดย Rhône-Poulenc Agrochimie (ต่อมาคือ Aventis CropScience) ไอโพรไดโอนได้รับการอนุมัติใช้ในประเทศตุรกี ภายใต้ชื่อ Devguard สำหรับใช้กับมะเขือเทศและแตงกวาในปีพ. ศ. 2552 ได้รับการอนุมัติในยุโรปในปีพ. ศ. 2553 และได้รับการอนุมัติในสหรัฐอเมริกา เพื่อใช้ในการปลูกถั่วลิสงในเชิงพาณิชย์เดือนพฤษภาคม 2553

ข้อมูลความเป็นพิษ

LD50 เฉียบพลัน - มีความเข้มข้น 4,400 mg / kg > 10,000 มก. / กก

LD50-Qrabbitt เฉียบพลัน > 5,000 มก. / กก. > 5,000 มก. / กก

การสูดดมแบบเฉียบพลัน LC50 -Qrat> 3.29 g / m³> 1.96 g / m³

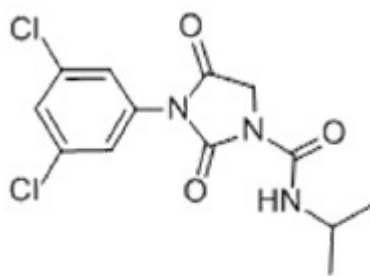
ระคายเคืองต่อผิวหนัง - ไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคืองปานกลางไม่ระคายเคือง Qrabbitt

ระคายเคืองต่อดวงตาระคายเคืองต่อดวงตาไม่รุนแรง

ระคายเคืองต่อดวงตา อ่อนระงับชั่วคราวอ่อนชั่วคราว

ความไวต่อผิวหนัง - ใช้ไม่ทำให้เกิดอาการแพ้ไขสันหลังอักเสบ

เมื่อวันที่ 11 มกราคม 2562 คณะกรรมาธิการยุโรปได้ประกาศ Commission Implementing Regulation 2019/38 มีสาระสำคัญว่าด้วยการไม่ต่ออายุการอนุญาตใช้สารไอโพรโดโตนเป็นสารออกฤทธิ์และผลิตภัณฑ์อารักขาพืช ซึ่งจะมีผลให้สารดังกล่าวจะถูกปรับค่าปริมาณสารตกค้างมาอยู่ที่ระดับค่า Default Limit (MRL) ที่ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of Quantification) ทั้งนี้ กฎระเบียบดังกล่าวจะมีผลบังคับใช้ 20 วันหลังจากประกาศ (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/%20EN/TXT/?qid=1549860308163&uri=CELEX:32019R0038>)



ภาพที่ 1 Chemical structure of iprodione (Wood, A. 2021)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นวัตถุมีพิษแบบเครื่องยนต์เล็กสะพายหลัง (Motorized Knapsack Sprayer) และชุดสวมใส่เพื่อป้องกันการปนเปื้อนขณะพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ มีดหั่นตัวอย่างพร้อมเขียง และภาชนะบรรจุตัวอย่าง
3. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ และวัสดุวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องสับตัวอย่าง (Food Processor) เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge)
4. เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษ Liquid chromatography-Mass Spectrometer/Mass Spectrometer(LC- MS/MS)Triple Quadrupole,Agilent: 7890, MSD:3N
5. สารเคมี เช่น สารมาตรฐาน iprodione ความบริสุทธิ์ 99.25 %, ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษ iprodione 50% WP Acetonitrile, Extract powder; magnesium sulfate anhydrous (MgSO₄), sodium chloride (NaCl), tri-sodium citrate dihydrate (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O) และ di-sodium hydrogen citrate 1,5-hydrate (C₆H₆Na₂O₇·1.5 H₂O), สารกำจัดสิ่งปนเปื้อน ; graphitize carbon black (GCB) , primary-secondary amine (PSA), magnesium sulphate (MgSO₄)

วิธีการ

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างไอพอร์ไดโอนในคะน้า โดยตรวจสอบพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้ matrix effect, accuracy, precision, working range/linearity LOQ และ LOD
 2. สํารวจแปลงปลูกคะน้าของเกษตรกรเพื่อวางแผนการทดลอง แผนการปฏิบัติงานในแปลงทดลอง และกำหนดระยะเวลาพ่นวัตถุมีพิษ ไอพอร์ไดโอน 50% WP
 3. ทำแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial แต่ละแปลงมีพื้นที่ปลูกไม่น้อยกว่า 160 ตารางเมตร และต้องมีปริมาณผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บตัวอย่างตามจำนวนครั้งที่กำหนด แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุม (ไม่พ่นวัตถุมีพิษ) และแปลงที่พ่นวัตถุมีพิษไอพอร์ไดโอน ตามอัตราแนะนำ 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารรวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน เก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำ (duplication) โดยสุ่มตัวอย่างแต่ละซ้ำให้กระจายทั่วแปลง ปริมาณไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม ไม่สุ่มตัวอย่างชิดขอบแปลง เว้นระยะห่าง 1 เมตร ที่หัวแปลงและท้ายแปลง เก็บตัวอย่างเป็นวันที่ 0 โดยทิ้งระยะเวลา 2 ชั่วโมงหลังการพ่นครั้งสุดท้าย และเก็บตัวอย่างต่อไปตามระยะเวลาที่กำหนดไว้คือ 1, 3, 5, 7, 10, และ 14 วัน รวมทั้งหมด 7 วิธีการ (วันเก็บเกี่ยว) นำกลับห้องปฏิบัติการเก็บในตู้แช่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20°C
 4. วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง ด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2018))
นำคะน้าที่เก็บจากแปลงทดลองออกจากตู้แช่ตัวอย่าง หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่เครื่องปั่นตัวอย่าง (Food Processor) โดยปั่นร่วมกับไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) ซึ่งตัวอย่างคะน้า 10 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 1 นาที เติมสารผสมของ 4 กรัม MgSO_4 , 1 กรัม NaCl , 1 กรัม trisodium citrate dehydrate และ 0.5 กรัม disodium hydrogencitrate sesquihydrate เขย่าด้วยมือประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที (revolution per minute) 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร เติมสาร ผสมระหว่าง PSA 125 มิลลิกรัม MgSO_4 750 มิลลิกรัม และ GCB จำนวน 45 มิลลิกรัม นำไป vortex ประมาณ 30 วินาที จากนั้น centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน filter ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS
 5. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS เตรียมสารละลายมาตรฐานของวัตถุมีพิษไอพอร์ไดโอน ด้วย acetonitrile HPLC Grade โดยเตรียม 7 ความเข้มข้น ที่ระดับ 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 และ 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฉีดเข้าเครื่องเพื่อทำ calibration curve ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารในแกน X ซึ่ง calibration curve เป็นกราฟเส้นตรงที่มีค่า correlation ของ linear Regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995
- การตั้งสภาวะของเครื่องลิกวิดโครมาโทกราฟี มีรายละเอียดดังนี้
- เครื่อง LC-MS/MS ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290
- หัวตรวจวัดชนิด QQQ Mass Spectrophotometer
- column: Kinetex™ 2.6 μm XB-C18 100 Å, LC Column 100 x 2.1 mm
- โดยใช้ ESI, Positive mode
- 1) Drying gas 12 L/min 350°C
 - 2) Nebulizer gas 60 psi
 - 3) Mobile phase A: 5 mM AF + 0.01% formic acid
 - 4) Mobile phase B: Acetonitrile
 - 5) Flow rate 0.4 mL/min

6) Sample size 2.00 μL

6. ศึกษาความคงทน (storage stability) ของสารพิษตกค้างไอพอร์ไดโอนในคะน้าที่ระยะเวลา 0, 17, 30, 60, 91, 180 และ 360 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาตัวอย่าง -20°C จากร้อยละการกลับคืน (% recovery) ที่ความเข้มข้นสาร 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ระยะเวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2564 สิ้นสุดเดือนกันยายน ปี พ.ศ. 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

แปลงคะน้าเกษตรกร ในจังหวัดกาญจนบุรี สุพรรณบุรี สระบุรี และจังหวัดนครปฐม

แปลงทดลองที่ 1 ตำบลตะครี้นา อำเภอดำรงวิทยะ จังหวัดกาญจนบุรี ($13^{\circ}57'41''\text{N}$ $99^{\circ}46'46''\text{E}$)

ระหว่างเดือนธันวาคม 2564 ถึง เดือนมกราคม 2565

แปลงทดลองที่ 2 ตำบลธรรมศาลา อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม ($13^{\circ}48'10''\text{N}$, $100^{\circ}6'55''\text{E}$)

ระหว่างเดือนมกราคม 2565 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ 2565

แปลงทดลองที่ 3 ตำบลบางงาม อำเภอสรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ($14^{\circ}36'11.8''\text{N}$, $100^{\circ}5'48.6''\text{E}$)

ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2565 ถึง เดือนธันวาคม 2565

แปลงทดลองที่ 4 ตำบลรางหวาย อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี ($14^{\circ}14'50.0''\text{N}$, $99^{\circ}44'13.3''\text{E}$)

ระหว่างเดือนมกราคม 2566 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ 2566

แปลงทดลองที่ 5 ตำบลดอนข่อย อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ($14^{\circ}01'35''\text{N}$ $100^{\circ}00'31''\text{E}$)

ระหว่างเดือนธันวาคม 2566 ถึง มกราคม 2567

แปลงทดลองที่ 6 ตำบลพระแท่น อำเภอดำรงวิทยะ จังหวัดกาญจนบุรี ($14^{\circ}0'50''\text{N}$ $99^{\circ}45'41''\text{E}$)

เดือนมกราคม 2567 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ 2567

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไอโพรไดโอนในค่น้ำ

1.1 ผลการศึกษา matrix effect (%ME) ในค่น้ำ จากการนำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัด standard in matrix และ standard in solvent มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดหรือพื้นที่ใต้พีคบนแกน y กับความเข้มข้นของสารในตัวอย่างบนแกน x จากนั้นนำความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in matrix และความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in solvent มาคำนวณหา %ME

$$\% ME = (X_1 - X_2 / X_2) \times 100$$

โดยที่ X_1 = ความชันของ standard in matrix

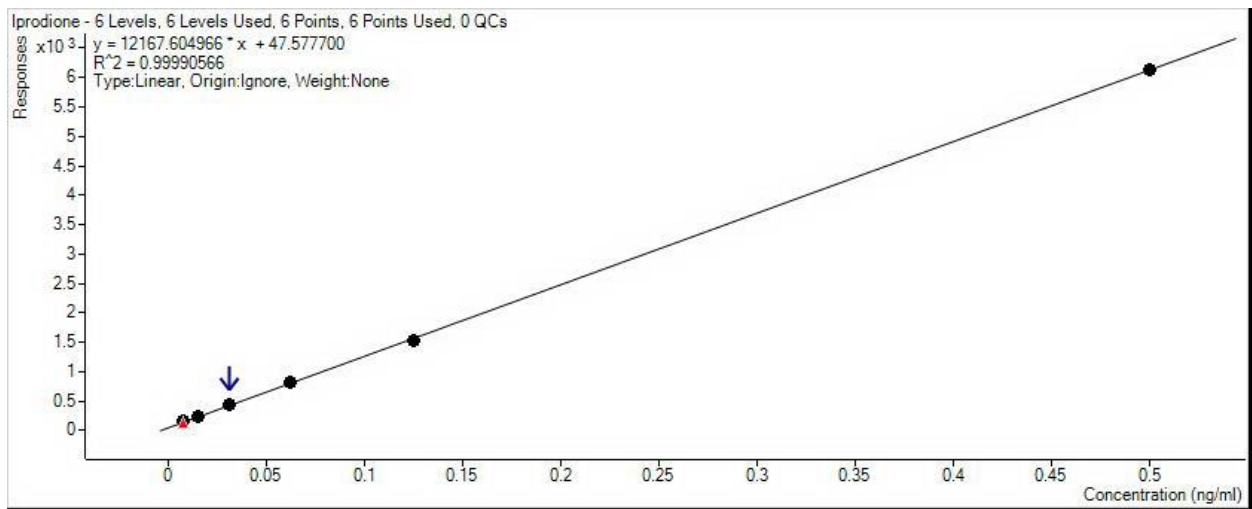
X_2 = ความชันของ standard in solvent

พบว่าค่า %ME จากการทดสอบ 2 ครั้งมีค่าเท่ากับ 24.0 และ 10.3 แสดงว่าความชันมีความแตกต่างกันมากกว่า 10 % (NATA, 2018) เกิดผลรบกวนการวัดสัญญาณไอโพรไดโอนจากองค์ประกอบต่างๆในตัวอย่างค่น้ำ จึงต้องเตรียมสารมาตรฐานในสารละลายที่สกัดจากตัวอย่างค่น้ำตามกรรมวิธีที่ใช้วิเคราะห์

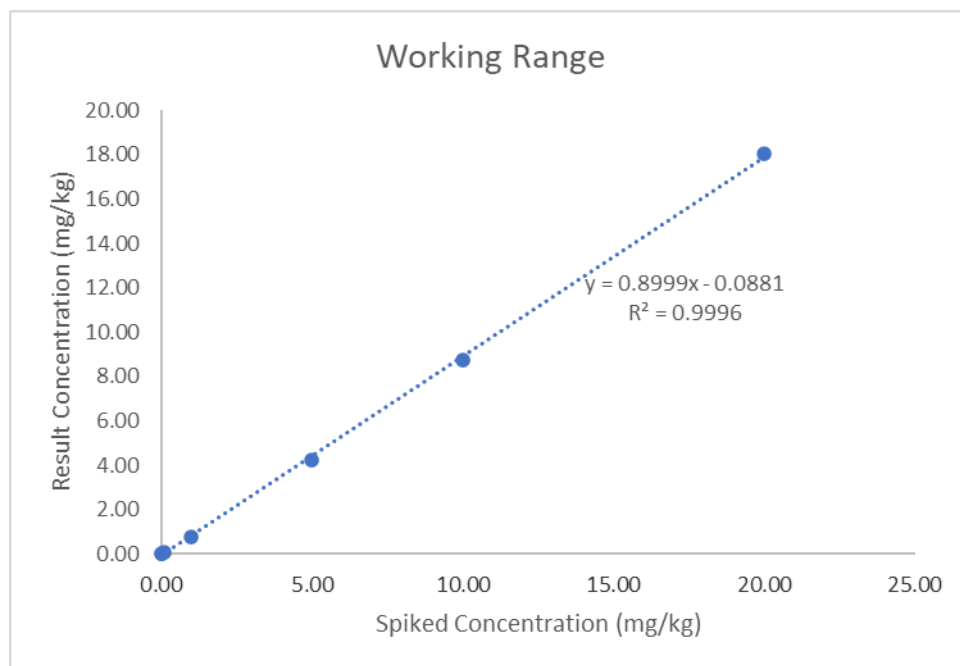
ตารางที่ 1 ผลการศึกษา matrix effect สารพิษตกค้างไอโพรไดโอนในตัวอย่างค่น้ำ

Compound Name	slope		%ME	Matrix effect
	standard in matrix	standard in solvent		
Iprodione	74908.8482	98580.7405	-24.0	different
Iprodione	76604.41079	85370.71817	-10.3	different

1.2 working range/linearity โดยนำความเข้มข้นเฉลี่ยที่วิเคราะห์ปริมาณไอโพรไดโอนในค่น้ำที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0, และ 20.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาพลอตกราฟเชิงเส้น เทียบกับความเข้มข้นที่เตรียมสารมาตรฐานไอโพรไดโอน (fortified standard) (Eurachem Guide, 2025) โดยมีค่า coefficient of determination (R^2) ≥ 0.990 (ภาพ 2 และภาพ3)



ภาพที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น iprodione ($R^2 \geq 0.995$) ที่ความเข้มข้น 0.5, 0.125, 0.062, 0.031, 0.016, และ 0.008 $\mu\text{g/ml}$



ภาพที่ 3 Working Range ของวิธีวิเคราะห์ไอพ्रोไดโอนในค่น้ำที่ช่วงระดับความเข้มข้น 0.01-20.0 mg/kg

1.3 ประเมินความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) จาก % recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณไอพอร์ไดโอนในคะน้าที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 8-10 ซ้ำ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 70 -120 % (SANCO,2021) และ ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) มีค่า ≤ 20 ผ่านเกณฑ์การยอมรับสามารถใช้วิธีวิเคราะห์นี้ได้ (SANCO, 2021) (ตาราง 2)

ตารางที่ 2 ค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) ของการวิเคราะห์สารพิษตกค้างไอพอร์ไดโอนในตัวอย่างคะน้าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Fortification level (mg/kg)	Commodity	% Recovery	%RSD
0.01	broccoli, Chinese	97, 105, 97, 80, 80, 86, 78, 89, 94, 96	10
0.1	broccoli, Chinese	103, 103, 104, 78, 90, 87, 99, 92	10
1	broccoli, Chinese	70, 71, 92, 92, 92, 95, 95, 96	12
5	broccoli, Chinese	89, 84, 81, 87, 86, 74, 77, 89	7
10	broccoli, Chinese	86, 88, 88, 84, 85 83, 89, 92	4

1.4 Limit of Quantification (LOQ) มีค่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Limit of Detection (LOD) มีค่า 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

1.5 ศึกษาความคงทน (storage stability) ของสารพิษตกค้างไอพอร์ไดโอนในคะน้าที่ระยะเวลา 0, 17, 30, 60, 91, 180 และ 361 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาตัวอย่าง -20 °C จากร้อยละการกลับคืน (% recovery) ที่ความเข้มข้นสาร 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์ได้นาน 361 วัน

ตารางที่ 3 การศึกษาความคงทน (storage stability) ของสารพิษตกค้างไอโพรไดโอนในตัวอย่างคะน้า ที่ระยะเวลา 0, 17, 30, 60, 91, 180 และ 361 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาตัวอย่าง -20 °C จาก ร้อยละการกลับคืน (% recovery) ที่ความเข้มข้นสาร 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Fortification Level (mg/kg)	Storage interval (day)	Procedural Recovery (%)	Residue in stored fortified samples (mg/kg)	Average uncorrected residues remained (%)
0.1	0	103, 103	0.1079, 0.1040	106
	17	78, 90, 87	0.0962, 0.0969, 0.0909	95
	30	99, 92, 89	0.0902, 0.0959, 0.0943	94
	60	112, 110, 117	0.1153, 0.1126, 0.1150	114
	91	110, 99, 109	0.0917, 0.0930, 0.0866	90
	180	98, 98, 91	0.0900, 0.0903, 0.0893	89
	361	88.7, 90, 82	0.0828, 0.0805, 0.0709	78

1.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างไอโพรไดโอนในคะน้าภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน (ตารางที่ 4-9)

ตารางที่ 4 ปริมาณสารพิษตกค้างไอโพรไดโอนในคะน้า (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 1 อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	10.13	10.87	10.50
1	15.26	20.90	18.08
3	14.26	10.81	12.54
5	6.73	4.59	5.66
7	7.58	6.85	7.22
10	5.69	4.25	4.97
14	1.05	3.66	2.35

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 1 พบปริมาณไฮโดรไดโอนในคะน้ำ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.50, 18.08, 12.54, 5.66, 7.22, 4.97 และ 2.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตาราง 5 ปริมาณสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในคะน้ำ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	15.99	11.28	13.64
1	9.13	12.48	10.80
3	6.50	5.11	5.81
5	3.21	2.61	2.91
7	2.05	2.25	2.15
10	1.70	1.68	1.69
14	2.42	1.33	1.87

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 2 พบปริมาณไฮโดรไดโอนในคะน้ำ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.64, 10.80, 5.81, 2.91, 2.15, 1.69 และ 1.87 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 6 ปริมาณสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในคะน้ำ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 3 อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	26.08	21.90	23.99
1	15.77	15.98	15.88
3	10.70	11.12	10.91
5	10.18	7.82	9.00
7	5.86	6.01	5.93
10	1.92	2.11	2.02
14	1.37	1.33	1.35

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 3 พบปริมาณไฮโดรไดโอนในคะน้า มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 23.99, 15.88, 10.91, 9.00, 5.93, 2.02 และ 1.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 7 ปริมาณสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในคะน้า (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 4 อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	29.57	28.56	29.07
1	25.68	30.04	27.86
3	6.50	7.75	7.12
5	2.86	3.10	2.98
7	1.93	1.83	1.88
10	0.28	0.31	0.30
14	0.14	0.16	0.15

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 4 พบปริมาณไฮโดรไดโอนในคะน้า มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.07, 27.86, 7.12, 2.98, 1.88, 0.30 และ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 8 ปริมาณสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในคะน้า (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 5 อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	15.29	14.39	14.84
1	7.73	7.53	7.63
3	2.58	3.44	3.01
5	2.21	2.22	2.21
7	1.78	1.31	1.54
10	0.29	0.36	0.33
15	0.12	0.12	0.12

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 5 พบปริมาณไฮพอร์ไดโอนในคะน้า มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 14.84, 7.63, 3.01, 2.21, 1.54, 0.33 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 15 วัน ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างไฮพอร์ไดโอนในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 9 ปริมาณสารพิษตกค้างไฮพอร์ไดโอนในคะน้า (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 6 อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	29.80	33.44	31.62
1	33.51	29.77	31.64
3	7.75	7.24	7.49
5	5.18	4.43	4.80
7	3.13	3.18	3.16
10	0.62	1.00	0.81
14	0.18	0.15	0.17

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 6 พบปริมาณไฮพอร์ไดโอนในคะน้า มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 31.62, 31.64, 7.49, 4.80, 3.16, 0.81 และ 0.17 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างไฮพอร์ไดโอนในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 10 RESIDUES DATA SUMMARY FROM SUPERVISED TRIALS

Trial No./ Year	Trial dose rate (g. a.i./ha)	GAP dose rate (g.a.i./ha)	Commodity, Portion analysed (a)	Residues (mg/kg)	PHI (days)
074.22-01	561.9	562.5	Whole commodity	10.50, 18.08, 12.54, 5.66, 7.22, 4.97, 2.35	3
074.22-02	575.7	562.5	Whole commodity	13.64, 10.80, 5.81, 2.91, 2.15, 1.69, 1.87	3
074.22-03	563.6	562.5	Whole commodity	23.99, 15.88, 10.91, 9.00, 5.93, 2.02, 1.35	3
074.22-04	561.5	562.5	Whole commodity	29.07, 27.86, 7.12, 2.98, 1.88, 0.30, 0.15	3
074.22-05	562.0	562.5	Whole commodity	14.84, 7.63, 3.01, 2.21, 1.54, 0.33, 0.12	3
074.22-06	570.6	562.5	Whole commodity	31.62, 31.64, 7.49, 4.80, 3.16, 0.81, 0.17	3
Recommended MRL				30 (OECD calculator)	

สรุปผลการทดลอง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในคะน้า ควรเตรียมกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ในสารละลายที่สกัดจากตัวอย่างคะน้า(matrix) ตามกรรมวิธีที่ใช้วิเคราะห์ ,วิธีมีช่วงการตรวจวิเคราะห์ที่แม่นยำ และยอมรับได้ในช่วง 0.01-20.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยกำหนดค่า LOD และ LOQ ที่ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ สหรัฐอเมริกาได้กำหนดค่า MRLปริมาณไฮโดรไดโอนในคะน้าเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งผลการวิเคราะห์อัตราการสลายตัวปริมาณไฮโดรไดโอนในคะน้า ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง และมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันทั้ง 6 แปลงทดลอง เสนอข้อมูลเพื่อกำหนดค่า MRLให้เป็นค่ามาตรฐาน จากการใช้สารไฮโดรไดโอนในคะน้าตามปริมาณการใช้สารที่แนะนำ (GAP dose rate) 0.075 kg a.i./hL อัตราการใช้ 30 g/20L ระยะการใช้สารครั้งสุดท้ายก่อนเก็บเกี่ยว (Pre Harvest Interval: PHI) ที่ 3 วัน จากการใช้โปรแกรม OECD calculator ทำการประเมินเบื้องต้นให้ค่า Recommended MRL เท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี สามารถพิสูจน์ให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือของวิธีการตรวจวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบสารพิษตกค้างไฮโดรไดโอนในคะน้า และขยายขอบข่ายในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักผลไม้ต่อไป
2. ได้ข้อมูลสารพิษตกค้างในคะน้าเพื่อเสนอโคเด็กซ์พิจารณา กำหนดค่า Codex MRL และเสนอที่ประชุมอาเซียนเพื่อกำหนดค่า Asean MRL
3. ได้ข้อมูลการศึกษาสารพิษตกค้างในคะน้า เพื่อกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยภายหลังการพ่นสารบนฉลากผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตราย และเป็นคำแนะนำในคู่มือการป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2563.รายงานสถานการณ์การปลูก คะน้าปี 2562. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านการเกษตร (รต.) Online : http://production.doae.go.th/report/report_main2.php
- กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ. 303 หน้า.
- NATA. 2018. General Accreditation Guidance-Validation and verification of quantitative and qualitative test methods. January, Australia.
- SANTE. 2021. SANTE/11312/2021 Supersedes SANTE/12682/2019. Implemented by 01/01/2022. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. 55 p.
- Wood, A. 2021. iprodione Data Sheet. Available-online 24 Feb 2021. <http://www.alanwood.net/pesticides/iprodione.html>

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างสไปนีโทแรม (spinetoram) ในคะน้า
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Pesticide Residue Trial of spinetoram in Chinese kale
to Establish Maximum Residue Limit [MRL]

ชนิตา ทองแซม วีระสิงห์ แสงวรรณ วาเลนไทน์ เจือสกุล ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร

Chanita Thongsam Weerasing Saengwan Valentine Juasakul Piyasak Akcaboot
กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This study evaluated spinetoram residue levels in Chinese kale to establish a Maximum Residue Limit (MRL) under Good Agricultural Practice (GAP) conditions. Field trials were conducted in Kanchanaburi, Nakhon Pathom, and Suphanburi provinces, consisting of untreated plots and plots treated with spinetoram at 1.2% W/V SC, applied at 60 mL per 20 liters of water every 5 days for two applications. Samples were collected at intervals of 0, 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days after the last application (DALA). The residue levels of spinetoram were analyzed using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) with a Limit of Quantitation (LOQ) of 0.05 mg/kg and a Limit of Detection (LOD) of 0.01 mg/kg. Results indicated that spinetoram residues in treated plots ranged from 6.0 to 15, 3.3 to 12, 0.75 to 7.4, 0.08 to 2.6, 0.24 to 1.1, 0.060 to 1.5, and 0.090 to 0.19 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 DALA, respectively, with no detectable residues in the untreated plots. Based on these findings, a Pre-Harvest Interval (PHI) of 3 days was established for safe spinetoram application in Chinese kale, and an MRL of 10 mg/kg is recommended for Thailand, with proposals for adoption under ASEAN and Codex standards.

Keywords: Maximum Residue Limit (MRL); inetoram; Chinese kale

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างสไปนีโทแรม (spinetoram) ในคะน้า หลังการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรอย่างถูกต้องตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) จำนวน 6 การทดลอง ในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี โดยแต่ละการทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงที่ไม่พ่นวัตถุอันตราย spinetoram (แปลงเปรียบเทียบ) และแปลงที่พ่นวัตถุอันตราย spinetoram (แปลงทดลอง) 1.2% W/V SC ปริมาณ 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน รวม 2 ครั้ง อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าจากทั้ง 2 แปลงย่อย ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน หลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ด้วยเครื่อง Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) มีค่า Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการวิจัยพบว่า แปลงเปรียบเทียบไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram และอนุพันธ์ในคะน้า ทั้ง 6 การทดลอง และในแปลงทดลอง 6 การทดลอง พบว่าปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram และอนุพันธ์ ในคะน้า อยู่ในช่วง 6.0-15, 3.3-12, 0.75-7.4, 0.08-2.6, 0.24-1.1, 0.060-1.5 และ 0.090-0.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน หลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ นำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram จากการทดลองพิจารณากำหนดระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัย (Pre Harvest Interval: PHI) สำหรับการใช้สาร spinetoram ในคะน้ามีค่าเท่ากับ 3 วัน และกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง spinetoram ในคะน้า (Maximum Residue Limit: MRL) ของประเทศไทย เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และนำเสนอข้อมูลเพื่อพิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดระหว่างประเทศ ASEAN MRL และ Codex MRL

คำสำคัญ: ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง; สไปนีโทแรม; คะน้า

บทนำ

คะน้า หรือ ผักคะน้า ภาษาอังกฤษ Kai-Lan (Gai-Lan) หรือ Chinese Broccoli หรือ Chinese Kale มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica oleracea* L. Cv. Alboglabra Group เป็นผักที่มีต้นกำเนิดในทวีปเอเชีย เพาะปลูกมากในประเทศจีน ไต้หวัน ฮองกง มาเลเซีย รวมถึงประเทศไทย ซึ่งถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ จากข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ปี 2559 พบว่า ปริมาณการบริโภคคะน้า (สุก/ดิบ) เฉลี่ยในประชากรอายุ 3 ปีขึ้นไป คิดเป็นร้อยละ 65.8 ของผู้ที่บริโภคอาหารแต่ละชนิด (สูงเป็นลำดับที่ 4 ของการบริโภคผักใบ) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) และข้อมูลจากศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร รายงานการเพาะปลูกคะน้าทั้งประเทศปี 2559 มีเนื้อที่ปลูก 55,723 ไร่ ผลผลิตรวม 70,152 ตัน คิดเป็น 1,474 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นมูลค่า 1,182 ล้านบาท ในปัจจุบันเกษตรกรผู้ปลูกคะน้าเผชิญปัญหาและอุปสรรคหลายด้าน ทั้งสภาพการเปลี่ยนแปลงทางภูมิอากาศ หรือ ภาวะโลกรวน (Climate change) โรคและแมลงศัตรูรบกวนคะน้า โดยเฉพาะหนอนใยผัก ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น คะน้า กะหล่ำ และผักกาด เป็นต้น โดยเป็นปัญหาที่พบได้ทั่วโลก โดยเฉพาะในพื้นที่ปลูกผักเขตร้อน เนื่องจากมีการแพร่ระบาดอย่างรวดเร็ว ก่อให้เกิดความเสียหายทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิต สร้างความเสียหายมูลค่าสูงแก่เกษตรกรผู้ปลูกคะน้า สารกำจัดศัตรูพืชที่สามารถกำจัดศัตรูพืช ชนิดนี้ ได้แก่ สไปนีโทแรม (Spinetoram) หรือ อินดอกซาคาร์บ (Indoxacarb) (กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2563.)

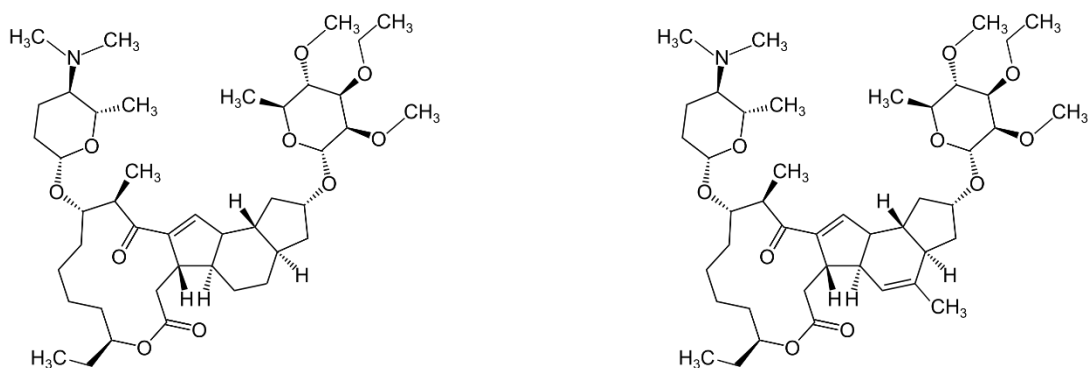
หนอนใยผัก (diamond-back moth) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Plutella xylostella* Linnaeus มีชื่อสามัญอื่นเช่น หนอนใย ตัวจรวด เป็นต้น รูปร่างลักษณะและชีวประวัติของหนอนใยผัก (ภาพที่ 1) วงจรชีวิตของหนอนใยผักเฉลี่ย 14-18 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่เป็นฟองเดี่ยวหรือกลุ่ม ทั้งบนใบและใต้ใบพืช ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถวางไข่ได้ประมาณ 50-400 ฟอง ไข่ขนาด 0.8 มิลลิเมตร สีเหลืองอ่อน รูปร่างกลมแบน ระยะไข่ 2-4 วัน หนอนเมื่อฟักจากไข่ใหม่ ๆ มีขนาดเล็กประมาณ 1.5 มิลลิเมตร ลักษณะเรียวยาว หัวแหลมท้ายแหลม ส่วนท้ายมีปุ่มยื่นออกมาเป็น 2 แฉก และมีสีเขียวอ่อน หรือ เทาอ่อน หรือ เขียวปนเหลือง เมื่อถูกตัวหนอนจะดิ้นอย่างแรงและสร้างใยพาตัวขึ้นลงระหว่างพื้นดินกับใบพืช ตัวหนอนจะกัดกินผิวใบทำให้ใบผักเป็นรูพรุนคล้ายร่างแห หนอนมี 4 ระยะ เฉลี่ย 7-10 วัน หนอนโตเต็มที่ขนาดประมาณ 0.8-1.0 เซนติเมตร จะเข้าดักแด้บริเวณใบพืชโดยสร้างใยบางๆ ปกคลุมติดใบพืช มีระยะดักแด้ 3-4 วัน ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ระยะแรกมีสีเขียว แล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลืองปนน้ำตาลเมื่อใกล้ฟักเป็นตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็กสีเทาส่วนหลังมีแถบเหลืองส้มลักษณะหลายเหลี่ยมเหมือนเพชรที่เจียรนัยแล้ว หนวดเป็นแบบเส้นด้ายแต่ละปล้องมีสีดำสลับขาว ยาวประมาณ 6-7 มิลลิเมตร ไม่ชอบบินไปไกลจากพืชอาหาร ตัวเต็มวัยมีอายุเฉลี่ย 5-7 วัน และมักพบตัวเต็มวัยบินมาเล่นแสงไฟมากที่สุดช่วง 18.00-20.00 น. วงจรชีวิตของหนอนใยผักเฉลี่ย 14 วัน การทำลายของหนอนใยผักสามารถกินใบ กาบใบ ยอด ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชผักอย่างรวดเร็ว เนื่องจากหนอนใยผักมีวงจรชีวิตที่สั้น และมีการแพร่ขยายพันธุ์รวดเร็ว ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถผสมพันธุ์ภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากออกดักแด้ และวางไข่ได้ตลอดชีวิต



ภาพที่ 1 Morphology and Life Cycle of the Diamondback Moth
(*Plutella xylostella*) (www.allkaset.com)

สไปนีโทแรม (spinetoram) หรือเรียกว่า XDE-175 หรือ XR-175 เป็นผลิตภัณฑ์หมักที่ได้จาก actinomycete bacterium *Saccharopolyspora spinosa* และมีการดัดแปลงทางปฏิกิริยาทางเคมีเล็กน้อย โดย spinetoram มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท ทำหน้าที่ไปจับที่ตัวรับสารอะเซทิลโคลีนชนิดนิโคตินิก (nicotinic acetylcholine receptors, nAChRs) ที่ตำแหน่งแอลโลสเตอริกที่ตำแหน่งที่ 1 ที่ผิวของปลายเซลล์ประสาทบริเวณ synapse ในตำแหน่ง macrocyclic lactone site ซึ่งจะกระตุ้นให้ nAChRs ทำงานในการส่งกระแสประสาทมากเกินไป (hyperexcitation) (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2564)

Spinetoram ประกอบด้วย 2 องค์ประกอบที่เกี่ยวข้อง คือ XDE-175-J (factor J) และ XDE-175-L (factor L) มีโครงสร้างตามภาพที่ 2 โดยอัตราส่วน factor J ต่อ factor L อยู่ในช่วง 70 ต่อ 30 ถึง 90 ต่อ 10 ซึ่งเรียกส่วนของ factor J ว่าเป็น major มี metabolite คือ N-demethyl-175-J และ N-formyl-175-J และส่วนของ factor L มี metabolite คือ N-demethyl-175-L และ N-formyl-175-L เป็นส่วนของ minor (JMPR, 2008)



ภาพที่ 2 Chemical Structures of XDE-175-J and XDE-175-L
(<https://en.wikipedia.org/wiki/Spinetoram>)

ปัจจุบันผู้บริโภคทั่วโลกให้ความสำคัญเรื่องความปลอดภัยด้านอาหาร ทำให้เกิดข้อจำกัดทางการค้าระหว่างประเทศเกี่ยวกับการส่งออกสินค้าเกษตร มีข้อบังคับว่าด้วยความปลอดภัยด้านอาหารที่จะนำเข้าสู่ประเทศทวีความเข้มงวดมากยิ่งขึ้น โดยมาตรฐานความปลอดภัยด้านอาหารที่ใช้ในการตรวจสอบสินค้าเกษตร คือ การตรวจสอบสารพิษตกค้างที่เกิดจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรของสินค้าเกษตร ดังนั้น วิธีการหนึ่งที่สามารถสร้างความมั่นใจเรื่องความปลอดภัยด้านอาหารให้กับผู้บริโภคภายในประเทศ คือ การศึกษาวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างหลังจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร เพื่อกำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างปริมาณสารพิษ

ตกค้างสูงสุดของประเทศไทย หรือ Thai MRL และผลักดันให้มีค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างระหว่างประเทศ หรือ Codex MRL สำหรับสินค้าเกษตรไทย โดยจัดทำข้อมูลเสนอคณะกรรมการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ ของโครงการมาตรฐานอาหาร เอฟเอโอ/ดับเบิลยูเอชโอ (Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme; Codex) ซึ่งเป็นหน่วยงานกำหนดมาตรฐานที่ใช้อ้างอิงด้านความปลอดภัยอาหารในการค้าระหว่างประเทศ หรือเรียกว่า Codex MRL เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการส่งออกสินค้าเกษตรไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

เครื่องพ่นวัตถุอันตรายแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) เครื่องวัดลม (wind meter) เครื่องผสมอาหาร (food processor) เครื่องชั่งตวงวัด 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง Vortex mixer เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) และเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ cylinder beaker volumetric auto pipette volumetric flask และ centrifuge tubes ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

วางแผนการศึกษาข้อมูลสารพิษตกค้างตามคำแนะนำ (supervised trials or supervised residue trials) คือ การศึกษาปริมาณของสารพิษตกค้างหลังการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรอย่างถูกต้องตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) ที่มีโอกาสทำให้เกิดสารพิษตกค้างสูงสุด (critical GAP: cGAP) เช่น อัตราการใช้วัตถุอันตราย (dose rate) แนะนำสูงสุด จำนวนครั้งที่พ่นวัตถุอันตราย (number of applications) มากที่สุด และระยะเวลาเว้นช่วงในการพ่นแต่ละครั้ง (interval) สั้นสุด เป็นต้น โดยมีขั้นตอนการดำเนินการ แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน

1.1. ทำแปลงทดลอง โดยแบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลง ได้แก่ แปลงเปรียบเทียบ (untreated) คือ แปลงที่ไม่พ่น spinetoram และแปลงทดลอง (treated) คือแปลงที่พ่นสาร spinetoram 12% W/V SC ตามอัตราการใช้สารแนะนำ (Recommended dose)

1.1.1. ก่อนพ่นสารต้องตรวจสอบอัตราการไหลของเครื่องพ่น (flow rate) สอบเทียบเครื่องพ่นก่อนการพ่นวัตถุอันตราย (sprayer output checking and discharge calibration) เพื่อหา flow rate (L/min) ที่ถูกต้องและแม่นยำ เพื่อกำหนดเวลาที่ใช้ในการพ่น (target time) วัตถุอันตรายในแปลงทดลอง

1.1.2. สอบเทียบการเดินพ่นวัตถุอันตรายของผู้พ่น (ground speed calibration) โดยตรวจสอบเวลาการเดินพ่นวัตถุอันตรายตาม target time ที่คำนวณได้ ต้องอยู่ในช่วง $\pm 5\%$ ของ target time ติดต่อกัน 3 ครั้ง เพื่อควบคุมการพ่นวัตถุอันตรายให้ได้ปริมาณที่ถูกต้องและมีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลงทดลอง

1.1.3. การพ่นวัตถุอันตรายในแปลงทดลอง แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ได้แก่ การผสมวัตถุอันตราย ต้องมีการบันทึก ปริมาตรที่ใช้ เวลาเริ่มต้นและเสร็จสิ้นการผสมวัตถุอันตราย แหล่งที่มาของน้ำที่ใช้ในการผสมวัตถุอันตราย รวมถึงสภาพน้ำที่ใช้ในการทดลอง เช่น pH อุณหภูมิ เป็นต้น และการพ่นวัตถุอันตรายในแปลงทดลอง ก่อนการพ่นต้องตรวจสอบทิศทางลม ความเร็วลม สภาพอากาศ และบันทึก ขณะพ่นต้องบันทึกเวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการพ่นวัตถุอันตราย ความเร็วลม และทิศทางลม ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสิ้นการพ่นวัตถุอันตราย

1.2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง ต้องสุ่มเก็บทั่วแปลง โดยเว้นระยะห่าง 0.5 เมตรจากขอบแปลงทั้งสี่ด้าน ใส่ถุงพลาสติกที่มีป้ายติดระบุรายละเอียดของตัวอย่างที่ชัดเจน เช่น ชนิดพืช ชนิดสาร วันเดือนปีที่เก็บ เป็นต้น ชั่งน้ำหนัก (ตัวอย่างละไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม) และบันทึกน้ำหนักและเวลาที่เก็บตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างแปลงละ

2 ชั่วโมงที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 และ 14 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ซึ่งสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงเปรียบเทียบและแปลงทดลอง ตามลำดับ บรรจุลงกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพตัวอย่าง และติดป้ายระบุรายละเอียดบนกล่องชัดเจน โดยแยกบรรจุระหว่างตัวอย่างจากแปลงเปรียบเทียบกับตัวอย่างแปลงทดลอง เพื่อป้องกันการปนเปื้อน นำส่งห้องปฏิบัติการเก็บในตู้แช่ตัวอย่างอุณหภูมิต่ำกว่า -18°C

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

2.1 การวิเคราะห์สารพิษตกค้างต้องวิเคราะห์ตามชนิดของสารพิษตกค้าง (residue definition) สำหรับ spinetoram ในสินค้าเกษตร CODEX กำหนดไว้ว่าในการประเมินความปลอดภัยของการบริโภค ต้องวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ spinetoram ที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ สาร XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J และ N-formyl-175-J ในส่วนของตัวอย่างพืชที่ใช้วิเคราะห์ต้องสอดคล้องตาม Portion of Commodities to Which Codex Maximum Residue Limits Apply and Which Is Analysed ที่ FAO กำหนด ซึ่งในตัวอย่างพืชคื่นหีบน้ำ (กลุ่มผักใบ) ให้วิเคราะห์ทุกส่วนของพืช หลังจากเอาก้านหรือใบที่เหี่ยวหรือเน่าเสียออก (FAO, 2016)

2.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างต้องอ้างอิงจากวิธีมาตรฐาน หรือวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย หรือ หากมีการดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน หรือ พัฒนาวิธีการขึ้นเอง จะต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง (method validation) ตามคุณลักษณะเฉพาะของวิธี (method performance characteristic) ตามมาตรฐานสากล ()

วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ในคื่นหีบน้ำ ปรับจาก Method GRM 05.03 (Dow AgroSciences Protocol No. 050051) มีขั้นตอนดังนี้ ชั่งตัวอย่างคื่นหีบน้ำ 5 กรัมใส่ ขวด HDPE ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน acetonitrile: water (80:20) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างผสมกันด้วย vortex mixer นาน 1 นาที เขย่าด้วย flat-bed shaker ที่ 240 excursion/minute นาน 30 วินาที นำไป centrifuge ที่ ความเร็วรอบ 2,000 rpm นาน 5 นาที คัดสารละลายใส่กรองผ่านตัวกรองขนาด 0.2 ไมครอน คัดสารละลาย 1000 ไมโครลิตร ใส่ vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมน mixed internal standard ความเข้มข้น 0.1 ไมโครลิตรต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/ MS

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง spinetoram ในคื่นหีบน้ำตามคุณลักษณะเฉพาะของวิธี (method performance characteristic) ตามมาตรฐานสากล (EURACHEM, 2014) ดังนี้ Working range, Linearity, Accuracy, Precision, Limit of Quantitation (LOQ) และ Limit of Detection (LOD)

3. การประเมินความเสี่ยงจากการได้รับสัมผัสอาหารจากการบริโภคอาหาร

ประเมินความเสี่ยงจากการได้รับสัมผัสอาหารจากการบริโภคอาหารเป็นการประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษตกค้าง (Estimating Dietary Intake of Pesticide Residue) ซึ่งแบ่งออกเป็น การบริโภคอาหารในระยะยาว (Long-term dietary intake) และ การบริโภคอาหารในระยะสั้น (Short-term dietary intake) ตามหลักการและแนวทางปฏิบัติของ FAO manual on the Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed

4. การพิจารณากำหนดระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัย หรือ PHI (Pre Harvest Interval)

พิจารณากำหนดค่า PHI ทำได้โดยนำข้อมูลวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างในสินค้าเกษตร สร้างกราฟ แนวโน้มการสลายตัวของระหว่างปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในแกน y กับระยะเวลาหลังการใช้วัตถุอันตรายครั้งสุดท้าย (วัน) ในแกน x เปรียบเทียบกับค่า MRL ของสินค้าเกษตรชนิดนั้น ๆ หรือ MLR ของกลุ่มพืชเดียวกัน โดยลากเส้นจากค่า MRL แกน y ขนานแกน x ไปตัดเส้นกราฟการสลายตัว และลากเส้นตรงจากจุดตัดบนเส้นกราฟแนวโน้มการสลายตัวขนานแกน y ตัดแกน x จะได้ค่า PHI

5. พิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง (MRL)

ในการพิจารณากำหนดค่า MRL ทุกค่าที่เสนอกำหนดค่า MRL จะต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยต้องผ่านการประเมินความปลอดภัยจากการได้รับสัมผัสจากการบริโภคอาหารทั้งแบบระยะยาว(เรื้อรัง) และแบบระยะสั้น(เฉียบพลัน) ซึ่งจะใช้ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะ PHI ในการประเมิน และนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะ PHI ไปประมาณค่า MRL ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Calculator - Single Set (v2) เพื่อกำหนด MRL ตามลำดับ

ระยะเวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 และสิ้นสุดเดือนกันยายน 2567

สถานที่ดำเนินการ แปลงค่น้ำของเกษตรกรที่อยู่ในพื้นที่ภาคกลาง จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดนครปฐม และ จังหวัดกาญจนบุรี
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. แปลงทดลอง

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ในค่น้ำ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง จำนวน 6 การทดลอง โดยแบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงย่อย ได้แก่ แปลงเปรียบเทียบ (untreated) คือ แปลงที่ไม่พ่นสาร spinetoram และแปลงทดลอง (treated) คือแปลงที่พ่นสาร spinetoram 12% W/V SC ปริมาณ 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน รวม 2 ครั้ง ที่อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ ตามอัตราการใช้สารแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา, 2553) มีรายละเอียดแปลงทดลองตาม ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Field Trial Plot Information

Trial No.	Location	Trial dose rate	
		g a.i./rai	kg. a.i./ha
1	อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี	42.9	0.268
2	อำเภอธรรมศาลา จังหวัดนครปฐม	42.9	0.268
3	อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี	43.2	0.270
4	อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี	44.0	0.275
5	อำเภอเมืองนครปฐม จังหวัดนครปฐม	42.4	0.265
6	อำเภอเมืองกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี	43.7	0.267

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

สรุปได้ว่าวิเคราะห์สารพิษตกค้าง spinetoram (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J และ N-formyl-175-J) ในคะน้า ปรับจาก Method GRM 05.03 (Dow AgroSciences Protocol No. 050051) (Richter, 2005) และตรวจวิเคราะห์ด้วย LC-MS/MS มีประสิทธิภาพ มีความถูกต้อง และแม่นยำสูง ในช่วงความเป็นเส้นตรงหรือช่วงการใช้งาน 0.05 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า LOD เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่า LOQ เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รายละเอียดดัง ตารางที่ 2

ตารางที่ 2 Method Validation Results for Spinetoram Residues (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J) in Chinese Kale

method performance characteristic		XDE-175-J	XDE-175-L	N-demethyl-175-J	N-formyl-175-J
Working range		0.05-10 mg/kg	0.05-10 mg/kg	0.05-10 mg/kg	0.05-10 mg/kg
Linearity		0.05-10 mg/kg	0.05-10 mg/kg	0.05-10 mg/kg	0.05-10 mg/kg
Accuracy %Recovery	0.05 mg/kg	75-94	77-114	73-102	77-96
	0.1 mg/kg	71-89	111-117	72-107	72-76
	1.0 mg/kg	95-113	71-86	79-101	99-113
	10 mg/kg	101-117	102-116	92-101	84-119
Precision %RSD	0.05 mg/kg	7.6	12.0	10.7	7.7
	0.1 mg/kg	8.3	1.8	16.3	1.9
	1.0 mg/kg	11.0	6.7	7.5	4.8
	10 mg/kg	4.8	4.9	2.8	10.8
Limit of Quantitation; LOQ		0.05 mg/kg	0.05 mg/kg	0.05 mg/kg	0.05 mg/kg
Limit of Detection; LOD		0.01 mg/kg	0.01 mg/kg	0.01 mg/kg	0.01 mg/kg

ปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram (ผลรวมของ XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J และ N-formyl-175-J) ในคะน้าหลังการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) ที่มีโอกาสทำให้เกิดสารพิษตกค้างสูงสุด (critical GAP: cGAP) และสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้า ที่ 0 1 3 5 7 และ 14 วัน หลังการพ่นครั้งสุดท้าย พบว่า ในแปลงเปรียบเทียบ ไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ในทุกตัวอย่างจากทั้ง 6 การทดลอง และพบปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram จากแปลงทดลองทั้ง 6 การทดลอง ดังตารางที่ 3 และรายละเอียดปริมาณสารพิษตกค้างแยกตามองค์ประกอบแต่ละชนิด ได้แก่ XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J และ N-formyl-175-J และผลการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ของแต่ละแปลงทดลองทั้ง 6 การทดลอง ตามภาคผนวก ก

ตารางที่ 3 Spinetoram Residue Levels in Chinese Kale from Six Field Trials

DALA ¹ (days)	Spinetoram mg/kg					
	Trial No.1	Trial No.2	Trial No.3	Trial No.4	Trial No.5	Trial No.6
0	15	9.0	6.0	8.2	9.6	14
1	12	6.1	3.3	5.1	5.0	10
3	7.4	2.0	2.8	2.8	0.75	2.3
5	2.6	0.47	0.59	0.08	0.58	1.0
7	1.1	0.45	0.32	<0.05	0.024	0.33
10	1.5	0.21	0.06	<0.05	<0.05	0.14
14	0.19	0.09	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

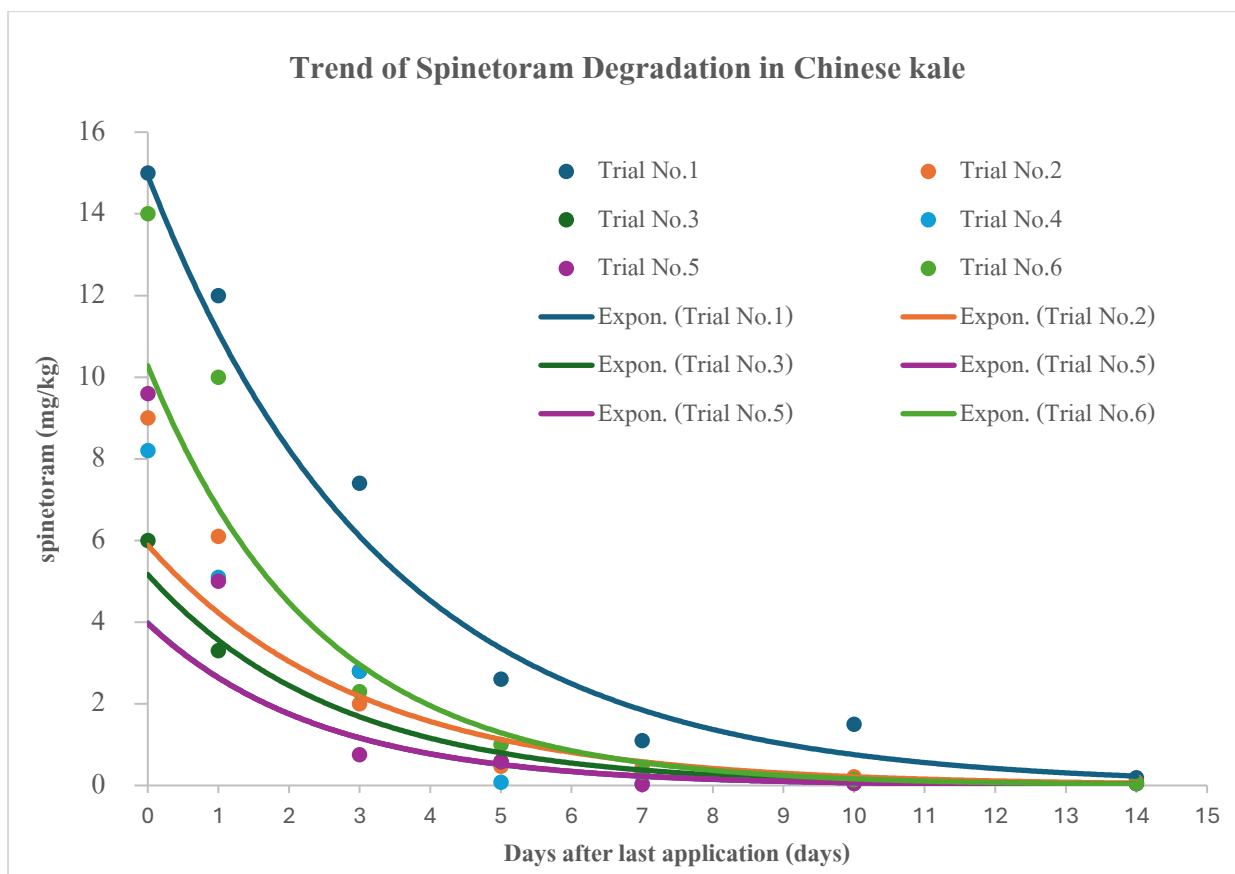
¹/DALA; Days After the Last Application, LOQ; 0.05 mg/kg, LOD; 0.01 mg/kg

3. ผลประเมินความเสี่ยงจากการได้รับสัมผัสอาหารจากการบริโภคอาหาร

ข้อมูลจาก JMPR สาร spinetoram ไม่จำเป็นต้องประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารเฉียบพลัน ซึ่งการศึกษานี้ประเมินความเสี่ยงเฉพาะการบริโภคอาหารระยะยาว ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IEDI calculations for the account of JMPR, FAO panel. (XIV.5 IEDI calculation vs04 17clusters) ของการวิจัยปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ในคะน้า (supervised residue trials) พบว่า ไม่เกิดผลกระทบต่อสุขภาพจากการบริโภคอาหารระยะยาวในคะน้า ตั้งแต่ 0 วัน หลังจากการใช้ spinetoram ครั้งสุดท้าย

4. ผลการพิจารณากำหนดระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัย หรือ PHI (Pre Harvest Interval)

จากพิจารณากำหนดค่า PHI ทำได้โดยนำข้อมูลวิจัยปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ในคะน้า สร้างกราฟแนวโน้มการสลายตัวของปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในแกน x กับระยะเวลาหลังการใช้วัตถุอันตรายครั้งสุดท้าย (วัน) ในแกน y ของทั้ง 6 การทดลอง แสดงตามภาพที่ 3 เปรียบเทียบกับค่า CODEX MRL ของ spinetoram ในผักกาดหอม (lettuce, leafy) มีค่าเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะได้ค่า PHI ที่ 2 วัน แต่เนื่องจากไม่ได้ทำศึกษาที่ระยะเวลา 2 วัน จึงกำหนดให้ค่า PHI ที่ระยะ 3 วัน และยืนยันค่า PHI ด้วยการประเมินความเสี่ยงจากการได้รับสัมผัสอาหารจากการบริโภคอาหารที่ 3 วันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย พบว่า ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคทั้งแบบเรื้อรังและแบบเฉียบพลันตามข้อกำหนดของ FAO



ภาพที่ 3 Dissipation Trend of Spinetoram in Chinese Kale

5. การพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง (MRL)

พิจารณากำหนดค่า MRL โดยนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ที่ระยะ PHI เท่ากับ 3 วัน ไปประมาณค่า MRL ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป XIV.7 OECD Calculator Single Set (v2) พบว่า ค่า MRL ของ spinetoram ในคะน้า เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ CODEX MRL ของ spinetoram ในผักกาดหอม (lettuce, leafy)

ในการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างสปีนีโทแรม (spinetoram) ในคะน้าเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง คะน้าเป็นพืชที่มีศัตรูพืชสำคัญมากมายหลายชนิด และความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ดังนั้นในการทำการทดลองต้องมีการดูแลรักษาคะน้าให้มีผลผลิตครบกำหนดระยะเวลาที่ทดลองค่อยข้างยาก รวมถึงความแปรปรวนทางสภาพอากาศโลกทำให้พืชเจริญเติบโตช้าหรือชะงักเจริญเติบโต และเกิดการระบาดของโรคและศัตรูในคะน้าอย่างคาดเดาได้ยาก ในบางการทดลองศัตรูพืชเข้าทำลายจนพืชเกิดการชะงักการเจริญเติบโตไม่สามารถทำการทดลองได้ตามกำหนดระยะเวลาที่กำหนด ดังนั้นผู้วิจัยต้องศึกษาแมลงศัตรูพืชในคะน้าในแต่ละพื้นที่ที่ทำการทดลองให้ละเอียดรอบคอบ พร้อมทั้งวิธีกำจัดศัตรูพืชคะน้าที่มีประสิทธิภาพ รวมถึงวางแผนการป้องกันกำจัดโรคและศัตรูพืชในคะน้า วางแผนทำการทดลองในฤดูหรือช่วงระยะเวลาที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศน้อยที่สุด หรือช่วงที่คะน้าเจริญเติบโตได้ดี และมีความสม่ำเสมอของคะน้า และในการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในคะน้า ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีรังควันสูง จำเป็นต้องขจัดสิ่งรบกวนจากตัวอย่างให้ได้มากที่สุด เพื่อลดการเกิดสิ่งสกปรก และลดการเสื่อมประสิทธิภาพและยืดอายุการใช้งานของเครื่องมือวิเคราะห์ (LC-MS/MS) และอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ประกอบในการวิเคราะห์ เช่น คอลัมน์ เป็นต้น

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในคะน้าตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีรังควาณสูง จำเป็นต้องขจัดสิ่งรบกวนจากตัวอย่างให้ได้มากที่สุด เพื่อลดการเกิดสิ่งสกปรก และลดการเสื่อมประสิทธิภาพของเครื่องมือวิเคราะห์ (LC-MS/MS) และอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ประกอบในการวิเคราะห์ เช่น คอลัมน์ เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง

ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างสไปนีโทแรม (spinetoram) ในคะน้า หลังการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรอย่างถูกต้องตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) จำนวน 6 การทดลอง ในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี ตามลำดับ โดยแต่ละการทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงที่ไม่พ่นวัตถุอันตราย spinetoram (แปลงเปรียบเทียบ) และแปลงที่พ่นวัตถุอันตราย spinetoram (แปลงทดลอง) 12% W/V SC ปริมาณ 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน รวม 2 ครั้ง และอัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร และสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าจากทั้ง 2 แปลงย่อย ที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 และ 14 วัน หลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J และ N-formyl-175-J) ในคะน้า โดยวิธีสกัดปรับจาก Method GRM 05.03 (Dow AgroSciences Protocol No. 050051) และตรวจวัดด้วยเครื่อง Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) มีค่า Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่า Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการวิจัยพบว่า แปลงเปรียบเทียบไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ในคะน้า ทั้ง 6 การทดลอง และในแปลงทดลองของทั้ง 6 การทดลอง พบปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram ในคะน้า ลดลงอย่างรวดเร็ว ที่ระยะเวลา 0 1 และ 3 วัน หลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย และค่อย ๆ ลดลง อย่างช้า ๆ ตามลำดับ จากการนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้าง spinetoram พิจารณากำหนดระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัยหรือ PHI (Pre Harvest Interval) สำหรับการใช้สาร spinetoram ในคะน้า มีค่าเท่ากับ 3 วัน และพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้าง spinetoram ในคะน้า (Thai MRL) เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเสนอข้อมูลเพื่อพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างระหว่างประเทศ ASEAN MRL และ Codex MRL ของ spinetoram ในคะน้า เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. กำหนดระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัยหรือ PHI สำหรับการใช้สารสไปนีโทแรม (spinetoram) 12% W/V SC ปริมาณ 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน รวม 2 ครั้ง ที่อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ มีค่าเท่ากับ 3 วัน
2. กำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างสไปนีโทแรม (spinetoram) ในคะน้า (Thai MRL) เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
3. เสนอข้อมูลเพื่อพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างระหว่างประเทศ ASEAN MRL ของสไปนีโทแรม (spinetoram) ในคะน้า เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
4. เสนอข้อมูลเพื่อพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานสารพิษตกค้างระหว่างประเทศ Codex MRL ของสไปนีโทแรม (spinetoram) ในคะน้า เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มบริหารศัตรูพืช. 2563. คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม). สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ.
- กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. เอกสารวิชาการ เกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ. 303 หน้า.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 355 หน้า
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2564. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช อย่างปลอดภัย จากงานวิจัย ปี 2564. เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 280 หน้า.
- ออลส์เกษตร. (น.ศ.). หนอนใยผัก (Diamondback moth). สืบค้นเมื่อ 23 มิถุนายน 2568, จาก AllKaset: <https://www.allkaset.com/diseases/หนอนใยผัก.php>
- Codex. Codex Alimentarius International Food Standard. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/> (1 พฤศจิกายน 2567)
- Eurachem. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Second Edition.
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed 3rded. FAO Plant Production and Protection Paper 225.
- Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR). (2008). Spinetoram. In Pesticide Residues in Food 2008. Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Health Organization.
- Richter, M. 2005. Independent Laboratory Validation of Dow AgroSciences LLC Method GRM 05.03–Determination of Residues of XDE-175 and its Metabolites in Agricultural Commodities by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry. PTRL Europe GmbH. Report No. P 863 G. DAS
- Wikipedia contributors. 2025. “Spinetoram.” Wikipedia, The Free Encyclopedia. Last modified May 2025. <https://en.wikipedia.org/wiki/Spinetoram>.
- Allkaset.com. n.d. “Allkaset.” Allkaset. Accessed August 25, 2024. <https://www.allkaset.com/>.

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 Residue Levels of Individual Spinetoram Components (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J) – Trial 1

DALA1 (days)	Samp.2	Residues (mg/kg)					Average
		XDE-175-J	XDE-175-L	N-demethyl- 175-J	N-formyl- 175-J	sum	
0	1	8.50	3.00	0.61	3.53	16	15
	2	8.19	2.96	0.81	2.34	14	
1	1	4.65	1.83	0.86	4.23	12	12
	2	6.44	2.04	0.84	3.76	13	
3	1	4.02	1.16	0.59	1.21	7.0	7.4
	2	4.48	1.33	0.71	1.25	7.8	
5	1	1.25	0.38	0.31	0.81	2.7	2.6
	2	1.06	0.28	0.15	0.90	2.4	
7	1	0.49	0.15	0.10	0.32	1.1	1.1
	2	0.44	0.13	0.05	0.47	1.1	
10	1	0.82	0.23	0.15	0.44	1.6	1.5
	2	0.62	0.17	0.08	0.49	1.4	
14	1	0.08	<0.05	<0.05	0.12	0.20	0.19
	2	0.06	<0.05	<0.05	0.12	0.18	

¹/DALA; Days After the Last Application

²/Samp.; Sampling

LOQ; 0.05 mg/kg

LOD; 0.01 mg/kg

ตารางที่ 2 Residue Levels of Individual Spinetoram Components (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J) – Trial 2

DALA ¹ (days)	Samp. ²	Residues (mg/kg)					Average
		XDE-175-J	XDE-175-L	N-demethyl-175-J	N-formyl-175-J	sum	
0	1	5.87	3.33	0.74	0.30	10	9.0
	2	4.65	2.25	0.61	0.32	7.8	
1	1	3.14	1.67	0.63	0.48	5.9	6.1
	2	3.45	1.65	0.76	0.37	6.2	
3	1	1.10	0.49	0.29	0.30	2.2	2.0
	2	0.82	0.34	0.20	0.37	1.7	
5	1	0.21	0.11	0.10	0.12	0.53	0.47
	2	0.14	0.08	0.09	0.10	0.41	
7	1	0.12	0.06	0.09	0.10	0.37	0.45
	2	0.15	0.08	0.13	0.17	0.53	
10	1	0.13	<0.05	ND	0.05	0.18	0.21
	2	0.11	0.07	ND	0.06	0.24	
14	1	0.07	<0.05	ND	0.06	0.13	0.09
	2	<0.05	<0.05	ND	0.05	0.05	

¹/DALA; Days After the Last Application
LOQ; 0.05 mg/kg

²/Samp.; Sampling

LOD; 0.01 mg/kg

ตารางที่ 3 Concurrent Recovery Results for XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J in Chinese Kale – Trials 1 and 2

Fortified	XDE-175-J		XDE-175-L		N-demethyl-175-J		N-formyl-175-J	
(mg/kg)	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴
0.05	0.084	84	0.082	82	0.070	70	0.073	73
	0.084	84	0.083	83	0.079	79	0.079	79
	0.090	90	0.091	91	0.073	73	0.082	82
0.10	0.084	84	0.082	82	0.070	70	0.073	73
	0.084	84	0.083	83	0.079	79	0.079	79
	0.090	90	0.091	91	0.073	73	0.082	82
1.0	0.87	87	0.87	87	1.0	99	0.98	98
	0.87	87	0.86	86	0.94	94	1.14	114
	0.91	91	0.88	88	0.96	96	0.83	83
10	9.7	97	9.6	96	11.4	114	9.3	93
	9.6	96	9.2	92	10.5	105	10.1	101
	9.2	92	9.4	94	9.3	93	9.4	94

³/conc.; concentration (mg/kg) ⁴%rec.; %recovery NT; Not Test

ตารางที่ 4 Residue Levels of Individual Spinetoram Components (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J) – Trial 3

DALA ¹ (days)	Samp. ²	Residues (mg/kg)					Average
		XDE-175-J	XDE-175-L	N-demethyl-175-J	N-formyl-175-J	sum	
0	1	4.10	1.30	0.15	0.06	5.6	6.0
	2	5.0	1.30	0.14	0.05	6.5	
1	1	2.1	1.00	0.19	<0.05	3.3	3.3
	2	2.2	0.90	0.18	<0.05	3.3	
3	1	2.2	0.38	0.13	<0.05	2.7	2.8
	2	2.4	0.35	0.17	<0.05	2.9	
5	1	0.36	0.14	0.07	<0.05	0.57	0.59
	2	0.40	0.13	0.07	<0.05	0.60	
7	1	0.21	0.08	0.05	<0.05	0.34	0.32
	2	0.18	0.07	0.06	<0.05	0.31	
10	1	0.06	<0.05	<0.05	<0.05	0.06	0.06
	2	0.06	<0.05	<0.05	<0.05	0.06	
14	1	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
	2	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	

¹/DALA; Days After the Last Application
LOQ; 0.05 mg/kg

²/Samp.; Sampling

LOD; 0.01 mg/kg

ตารางที่ 5 Residue Levels of Individual Spinetoram Components (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J) – Trial 4

DALA ¹ (days)	Samp. ²	Residues (mg/kg)					Average
		XDE-175-J	XDE-175-L	N-demethyl-175-J	N-formyl-175-J	sum	
0	1	5.8	1.1	1.3	<0.05	8.2	8.3
	2	5.8	1.2	1.3	<0.05	8.3	
1	1	3.5	0.62	1.1	<0.05	5.2	5.1
	2	3.3	0.56	1.1	<0.05	5.0	
3	1	0.54	0.18	2.2	<0.05	2.9	2.8
	2	0.38	0.21	2.0	<0.05	2.6	
5	1	0.07	<0.05	<0.05	ND	0.07	0.08
	2	0.08	<0.05	<0.05	ND	0.08	
7	1	<0.05	<0.05	ND	ND	<0.05	<0.05
	2	<0.05	<0.05	ND	ND	<0.05	
10	1	<0.05	<0.05	ND	ND	<0.05	<0.05
	2	<0.05	<0.05	ND	ND	<0.05	
14	1	<0.05	<0.05	ND	ND	<0.05	<0.05
	2	<0.05	<0.05	ND	ND	<0.05	

¹/DALA; Days After the Last Application
LOQ; 0.05 mg/kg

²/Samp.; Sampling

LOD; 0.01 mg/kg

ตารางที่ 6 Concurrent Recovery Results for XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J in Chinese Kale – Trials 3 and 4

Fortified (mg/kg)	XDE-175-J		XDE-175-L		N-demethyl-175-J		N-formyl-175-J	
	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴
1.0	0.84	84	0.88	88	0.79	79	0.83	83
	0.81	81	0.83	83	0.72	72	0.78	78
	0.77	77	0.84	84	0.74	74	0.92	92
4.0	3.7	93	3.6	89	NT	NT	NT	NT
	3.0	75	3.6	90	NT	NT	NT	NT
	3.1	77	3.4	85	NT	NT	NT	NT
8.0	5.9	74	6.5	81	NT	NT	NT	NT
	5.7	71	6.4	81	NT	NT	NT	NT
	6.5	81	6.7	84	NT	NT	NT	NT
10	8.4	84	8.2	82	NT	NT	NT	NT
	8.1	81	8.3	83	NT	NT	NT	NT
	8.1	81	8.7	87	NT	NT	NT	NT
³ /conc.; concentration (mg/kg)			⁴ %rec.; %recovery		NT; Not Test			

ตารางที่ 7 Residue Levels of Individual Spinetoram Components (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J) – Trial 5

DALA ¹ (days)	Samp. ²	Residues (mg/kg)					Average
		XDE-175-J	XDE-175-L	N-demethyl-175-J	N-formyl-175-J	sum	
0	6.48	2.56	0.38	0.3	9.72	6.48	9.6
	6.22	2.54	0.39	0.3	9.45	6.22	
1	2.48	1.13	0.44	0.4	4.45	2.48	5.0
	3.15	1.35	0.5	0.46	5.46	3.15	
3	0.33	0.20	0.12	0.14	0.79	0.33	0.75
	0.28	0.17	0.1	0.15	0.7	0.28	
5	0.26	0.15	0.08	0.1	0.59	0.26	0.58
	0.23	0.17	0.07	0.09	0.56	0.23	
7	0.09	0.05	0.07	0.07	0.28	0.09	0.24
	0.08	<0.05	0.05	0.07	0.2	0.08	
10	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	
14	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	

¹/DALA; Days After the Last Application
LOQ; 0.05 mg/kg

²/Samp.; Sampling

LOD; 0.01 mg/kg

ตารางที่ 8 Residue Levels of Individual Spinetoram Components (XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J) – Trial 6

DALA ¹ (days)	Samp. ²	Residues (mg/kg)					Average
		XDE-175-J	XDE-175-L	N-demethyl-175-J	N-formyl-175-J	sum	
0	1	9.81	3.43	0.52	0.40	14.16	14
	2	9.24	3.67	0.50	0.36	13.77	
1	1	6.97	2.55	0.65	0.59	10.76	10
	2	6.56	2.50	0.61	0.56	10.23	
3	1	1.18	0.46	0.25	0.32	2.21	2.3
	2	1.22	0.48	0.26	0.35	2.31	
5	1	0.47	0.26	0.10	0.16	0.99	1.0
	2	0.51	0.21	0.11	0.18	1.01	
7	1	0.10	0.05	0.06	0.11	0.32	0.33
	2	0.11	0.06	0.05	0.11	0.33	
10	1	0.06	<0.05	<0.05	0.07	0.13	0.14
	2	0.08	<0.05	<0.05	0.07	0.15	
14	1	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
	2	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	

¹/DALA; Days After the Last Application
LOQ; 0.05 mg/kg

²/Samp.; Sampling

LOD; 0.01 mg/kg

ตารางที่ 9 Concurrent Recovery Results for XDE-175-J, XDE-175-L, N-demethyl-175-J, and N-formyl-175-J in Chinese Kale – Trials 5 and 6

Fortified	XDE-175-J		XDE-175-L		N-demethyl-175-J		N-formyl-175-J	
(mg/kg)	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴	conc. ³	%rec ⁴
0.05	0.053	106	0.053	107	0.057	113	0.058	116
	0.059	119	0.057	114	0.060	120	0.054	109
	0.057	114	0.050	100	0.054	107	0.047	94
0.80	0.76	95	0.74	92	0.69	86	0.68	86
	0.78	97	0.76	95	0.70	88	0.73	91
	0.82	102	0.83	104	0.73	91	0.74	92
5.0	5.0	100	4.8	97	4.6	92	4.5	90
	5.1	101	5.0	101	4.6	91	4.6	92
	5.1	101	5.1	102	4.5	91	4.3	86
10	11.1	111	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	10.8	108	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	10.9	109	NT	NT	NT	NT	NT	NT

³/conc.; concentration (mg/kg)

⁴%rec.; %recovery

NT; Not Test

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรต (tolfenpyrad) ในคะน้า เพื่อกำหนดค่า
ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Pesticide Residue Trials of Tolfenpyrad in Broccoli, Chinese to Establish
Maximum Residue Limit (MRL)

วาเลนไทน์ เจือสกุล วีระสิงห์ แสงวรรณ วิชุดา ควรหัตร์ ชนิตา ทองแถม
Valentine Juasakul Weerasing Saengwan Wichuta Kuanhut Chanita Thongsam

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study of supervised residue trials of tolfe n pyrad in broccoli, Chinese for establish maximum residue limit (MRL) were conducted at Kanchanaburi, Nakhon Pathom and Suphan Buri province, central of Thailand between 2022 and 2024. The field trials consist of untreated (control) and treated (application) plot following Codex guideline and Good Agricultural Practice (GAP). The application dose rate was performed with 60 milliliters of tolfe n pyrad 16% W/V EC (Hachi Hachi) per 20 liters of water under 120 liters of water per rai (750 liters per hectare) and applied to treated plot 2 times at 5 days interval. Method validation for analysis tolfe n pyrad in broccoli, Chinese was study and results found that the average recoveries were 91-97% with the relative standard deviation (RSD) between 2.0-5.9% while limit of quantification (LOQ) was 0.01 mg/kg. After the last application, samples including untreated and treated were collected at 0 (2 hours), 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days for residue analysis with QuEChERS method (EN15662, 2018) by using LC-MS/MS. The analysis results of 6 trials found that residue was not detected or lower than LOQ in all untreated samples while treated samples at 0-14 days were found the residue contained between 2.03-11.75, 1.81-8.19, 0.97-14.36, 0.13-24.58, 0.04-16.61 and 0.18-13.30 mg/kg, respectively. The residue data all 6 trials were evaluated by OECD calculator program and the proposed MRL of tolfe n pyrad in broccoli, Chinese was 5 mg/kg at 14 days PHI.

Keywords: tolfe n pyrad; broccoli Chinese; pesticide residue; MRL

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองและวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรต (tolfenpyrad) ในคะน้า เพื่อนำมากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง โดยทำการทดลองในแปลงคะน้าของเกษตรกรทั้งหมด 6 แปลงในบริเวณพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี ระหว่างปลายปี พ.ศ. 2564-2567 แต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงที่ไม่พ่นโทลเฟนไพเรตเป็นแปลงควบคุม และแปลงที่พ่นโทลเฟนไพเรต 16% W/V EC (ชื่อการค้า ฮาซี ฮาซี) อัตรา 60 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ โดยพ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้ง ทุก 5 วัน ก่อนทำการทดลองได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่ามีความแม่นยำ (accuracy) ซึ่งได้จากร้อยละการกลับคืน (%recovery) อยู่ในช่วง 91-97% มีความเที่ยง (precision) ซึ่งประเมินจากร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 2.0-5.9% และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (limit of quantification; LOQ) เท่ากับ 0.01 มก./กก. หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าทั้งจากแปลงควบคุมและแปลงทดลองที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมงหลังพ่นสาร), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน มาสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2018) และตรวจหาปริมาณสารพิษตกค้างโดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมทรี (LC-MS/MS) พบว่าตัวอย่างจากแปลงควบคุมทั้ง 6 แปลงทดลองพบสารพิษตกค้างน้อยกว่า 0.01 มก./กก. ขณะที่ตัวอย่างจากแปลงทดลอง 1-6 ที่ระยะเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 0-14 วัน พบสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง 2.03-11.75, 1.81-8.19, 0.97-14.36, 0.13-24.58, 0.04-16.61 และ 0.18-13.30 มก./กก. ตามลำดับ จากนั้นนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้มาประเมินผลด้วยโปรแกรม OECD calculator และพิจารณาเสนอค่า MRL ของ tolfenpyrad ในคะน้าเท่ากับ 5 มก./กก. ที่ระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัย 14 วัน

คำสำคัญ: โทลเฟนไพเรต; คะน้า; สารพิษตกค้าง; ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

บทนำ

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (Maximum Residue Limit; MRL) หมายถึงปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่สามารถพบได้ในสินค้าเกษตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมสารพิษตกค้างต่อกิโลกรัมสินค้าเกษตร ซึ่งกำหนดค่าโดยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรของประเทศไทย (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เป็นหน่วยงานหลักที่วิจัยและวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างจากการใช้วัตถุอันตรายหรือวัตถุมีพิษทางการเกษตร ร่วมกับสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) เป็นฝ่ายจัดทำข้อมูลเสนอคณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตรด้านสารพิษตกค้างเพื่อกำหนดเป็นค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดหรือ Thai MRLs จากนั้นเสนอไปยังสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เพื่อออกเป็นประกาศกระทรวง และประกาศเป็นราชกิจจานุเบกษาต่อไป ส่วนระดับนานาชาติจะอ้างอิงจากค่า Codex MRL ซึ่งมาจากการพิจารณาร่วมกันระหว่างองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations; FAO) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) ร่วมมือกันจัดตั้งเป็นคณะผู้เชี่ยวชาญร่วม FAO/WHO ทางด้านสารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues; JMPR) และพิจารณากำหนดโดยคณะกรรมการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ ซึ่งจะพิจารณาจากข้อมูลผลการทดลองของประเทศสมาชิกภายใต้แนวทางการดำเนินงานตามหลักเกณฑ์การทำการทดลองสารพิษตกค้างของ Codex Guideline และหลักการปฏิบัติ

ทางการเกษตรที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice; GAP) ร่วมกับการพิจารณาข้อมูลทางด้านพิษวิทยา (Toxicological data) ของวัตถุพิษชนิดนั้นๆ คือการประเมินความปลอดภัยแบบเรื้อรัง (Chronic exposure assessment) และการประเมินความปลอดภัยแบบเฉียบพลัน (Acute exposure assessment) จากนั้นจึงเสนอเป็นค่า Proposed MRL โดยในปัจจุบันมีการจัดประชุมประจำปีระหว่างประเทศของคณะกรรมการ Codex สาขาสารพิษตกค้าง (Codex Committee on Pesticide Residues; CCPR) และมีคณะกรรมการโครงการมาตรฐานอาหาร FAO/WHO (Codex Alimentarius Commission; CAC) เป็นผู้พิจารณาข้อมูลร่วมกัน ซึ่งการกำหนดค่า MRL จะพิจารณาตามชนิดของวัตถุพิษและชนิดของพืช โดยส่วนใหญ่คณะกรรมการจะพิจารณาพืชและวัตถุพิษที่ใช้กันมากในสหภาพยุโรปและประเทศในซีกโลกตะวันตก สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่มีการส่งออกผักและผลไม้เมืองร้อนเป็นหลัก จึงมีความจำเป็นต้องทำการทดลองในพืชเมืองร้อนเพื่อให้มีการกำหนดค่า MRL สำหรับพืชชนิดนี้ โดยจะเป็นประโยชน์ในด้านการต่อรองทางการค้า และป้องกันการกีดกันทางการค้าสำหรับพืชและวัตถุพิษที่ Codex ไม่มีการกำหนดค่า MRL ไว้ ทั้งนี้หลักเกณฑ์การพิจารณาค่า MRL ตามหลักสากลของ Codex ได้กำหนดจำนวนการทดลองขั้นต่ำในการศึกษาการใช้วัตถุพิษทางการเกษตรตามคำแนะนำสำหรับพืชรอง (Minor crop) ไว้ที่ 6 การทดลอง จากนั้นจะนำชุดข้อมูลที่ได้ไปประเมินความเสี่ยงและการได้รับสัมผัสของผู้บริโภค (Risk assessment) ก่อนที่จะนำไปพิจารณากำหนดเป็นค่า MRL ต่อไป

คะน้า (Broccoli, Chinese; Gai-lan หรือ Chinese kale) เป็นหนึ่งในพืชที่มีการนำเข้าและส่งออกเป็นอันดับต้นๆ ของประเทศไทย จากสถิติในปี พ.ศ. 2562 พบว่ามีเนื้อที่ปลูกทั้งหมด 47,832 ไร่ ในพื้นที่ 69 จังหวัด มีผลผลิตรวม 45,162 ตัน และผลผลิตต่อไร่ 1,208 กิโลกรัม โดยพื้นที่เพาะปลูกมากที่สุดอยู่บริเวณภาคกลางของประเทศไทย (ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร (รต.), 2562) คะน้าจัดอยู่ในผักใบตระกูลกะหล่ำ (Cruciferae family) ตามการจัดหมวดหมู่ของสินค้าเกษตรและพืช มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* var. *alboglabra* (L.H. Bailey) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) มีต้นกำเนิดในทวีปเอเชีย ปลูกมากในประเทศจีน ไต้หวัน ฮองกง มาเลเซีย รวมถึงประเทศไทย คะน้าเป็นผักฤดูเดียว สามารถปลูกได้ตลอดปี แต่ช่วงเวลาเพาะปลูกที่ให้ผลผลิตที่ดีที่สุดอยู่ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเมษายน อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 45-60 วัน แม้ว่าคะน้าจะเป็นพืชอายุสั้นที่สามารถปลูกง่ายและให้ผลผลิตไว แต่ยังคงพบปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น หนอนใยผัก หนอนกะหล่ำ ผัก หนอนกะหล่ำหอม หนอนคืบกะหล่ำ และด้วงหมัดผัก เป็นต้น โดยแมลงศัตรูพืชเหล่านี้จะเข้าทำลายกัดกินที่ใบ กาบใบ ยอด ดอก หรือหัว (Table 1) เมื่อมีการระบาดที่รุนแรงจะทำให้เกิดการเสียหายเป็นวงกว้าง โดยจะกัดกินใบจนเป็นรูพรุนเหลือแต่ก้านใบ แต่ถ้าเป็นผักในระยะต้นอ่อนจะกัดกินและทำลายส่วนยอดจนการเจริญเติบโตหยุดชะงัก (Figure 1) อีกทั้งแหล่งปลูกพืชส่วนใหญ่ของประเทศไทยมีการปลูกผักตระกูลกะหล่ำสม่ำเสมอทุกปี จึงทำให้มีพืชอาหารตลอดเวลา ซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้พบการระบาดของแมลงศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง (กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2554)

Table 1 Insect pest of broccoli, Chinese and plant damage parts.

Insect pest		Plant damage parts
Common name	Scientific name	
หนอนใยผัก (Diamondback moth)	<i>Putella xylostella</i> (Linnaeus)	กินใบ กาบใบ ยอด ดอก หัว
หนอนกะทู้ผัก (Common cutworm)	<i>Spodoptera litura</i> (Linnaeus)	กัดกินใบ ดอก หัว
หนอนกะทู้หอม (Beet armyworm)	<i>Spodoptera exigua</i> (Hubner)	กัดกินใบ ดอก หัว
หนอนคืบกะหล่ำ (Cabbage looper)	<i>Trichoplusia ni</i> Hubner	กัดกินใบ
ด้วงหมัดผัก (Leaf eating beetle)	<i>Phyllotreta chontanica</i> Duvivier, <i>Phyllotreta sinuate</i> Steph.	กัดกินใบ ตัวอ่อนกัดกินราก



Figure 1 Each of broccoli, Chinese were destroyed by diamondback moth

ที่มา <https://www.allkaset.com/diseases/หนอนใยผัก.php>

โทลเฟนไพเรต (tolfenpyrad) เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรกลุ่ม pyrazole เป็นสารกำจัดแมลง (insecticide) ที่ยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนที่คอมเพล็กซ์ 1 ในไมโทคอนเดรีย มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อระบบการผลิตพลังงาน โดยสารจะไปยับยั้งขบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่โปรตีนคอมเพล็กซ์ 1 ที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย (mitochondrial complex I electron transport inhibitors, MET I) จึงไม่สามารถผลิตพลังงานในรูป ATP ได้ ทำให้แมลงหายใจน้อยลง หัวใจเต้นช้าลงจนขาดออกซิเจน เกิดเป็นอัมพาต (paralysis) และตายในที่สุด (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2564) tolfenpyrad สามารถใช้ป้องกันและกำจัดหนอนใยผัก ด้วงหมัดผัก แถบลาย เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และเพลี้ยไก่แจ้ส้ม อัตราแนะนำที่ใช้ในพืชตระกูลกะหล่ำ (กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คะน้า ผักกาดขาวปลี และผักกาดเขียวปลี) สำหรับป้องกันกำจัดหนอนใยผักคือ tolfenpyrad 16% W/V EC ปริมาณ 40-60 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นเมื่อพบการระบาดของหนอนใยผักทุก 5 วัน ติดต่อกัน 2 ครั้ง (กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2563) ซึ่งประเทศไทยได้มีการขึ้นทะเบียนสาร tolfenpyrad 16% W/V EC (ชื่อการค้า ฮาซี-ฮาซี) ในคะน้า โดยคำแนะนำบนฉลากคือใช้ป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก แถบลายและหนอนใยผัก พ่นเมื่อพบการระบาดและให้เว้นระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าอย่างน้อย 7 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย แม้ว่า tolfenpyrad จะสามารถป้องกันและกำจัดหนอนใยผักในคะน้าได้ แต่ประเทศไทยและ Codex ยังไม่มีการ

กำหนดค่า MRL ของ tolfeprpyrad ในพืชตระกูลกะหล่ำรวมถึงคะน้า ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการทดลองและศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ tolfeprpyrad ในคะน้า แบบ Supervised residue trials จำนวน 6 แปลงทดลอง ตามหลักเกณฑ์การทำการทดลองสารพิษตกค้างของ Codex Guideline และหลัก GAP โดยใช้ อัตราวัตุมีพืชสูงสุดของคำแนะนำ (dose rate) นั่นคือ tolfeprpyrad 16% W/V EC ปริมาณ 60 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารทุก 5 วัน ติดต่อกัน 2 ครั้ง จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง เสนอคณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตรเพื่อกำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของประเทศ ไทยหรือ Thai MRL สำหรับ tolfeprpyrad ในคะน้า เพื่อนำมาใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงและควบคุมตรวจสอบคะน้าที่ ผลิตและส่งออกของประเทศไทย นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลไปกำหนดระยะเวลาตั้งแต่พ่นสารครั้งสุดท้ายจนถึง วันเก็บเกี่ยวหรือระยะหยุดพ่นสารก่อนเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (Pre harvest interval; PHI) เพื่อให้เกษตรกร นำวัตุมีพืชไปใช้อย่างถูกต้องและมีความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้บริโภค อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลไปประกอบการ พิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ tolfeprpyrad ในคะน้าระดับนานาชาติ ได้แก่ ASEAN MRLs และ Codex MRLs ต่อไป (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นแบบติดเครื่องยนต์สะพายหลังขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร (motorized knapsack sprayer) อุปกรณ์ ป้องกันสารเคมี ได้แก่ ชุดสวมใส่ (PPE) แว่นตา หมวก หน้ากากอนามัย และถุงมือ
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (temperature hygrometer) เครื่องวัดความเร็วลม ไม้ปักแปลง หมุดหัวน็อต ตลับเมตร เชือกฟาง แผ่นป้ายชื่อวัตุมีพืช มีดตัดคะน้า ถังเก็บตัวอย่าง หนั่งยาง กล้องโฟม และเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger)
3. วัตุมีพืชทางการเกษตร tolfeprpyrad 16% W/V EC และสารมาตรฐาน tolfeprpyrad ความบริสุทธิ์ 99.39%
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ กระบอกตวง ปีกเกอร์ ขวดปริมาตร (volumetric flask) ขวดใส่ สารละลาย (lab bottle) ขวดใส่สารตัวอย่าง (autosampler vial) แท่งแก้วคนสาร ออโตปิเปต (autopipettes) ขนาด 10-20, 10-100, 100-1,000 และ 1,000-5,000 ไมโครลิตร หลอดทดลองพลาสติก (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร และตัวกรองสารละลายขนาดเล็ก (syringe filter) PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร
5. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เครื่องปั่นตัวอย่าง (ยี่ห้อ Retsch รุ่น GM300) ตู้แช่แข็ง (freezer) และเครื่องตรวจ วิเคราะห์ Liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC/MS-MS)
7. สารเคมี ได้แก่ acetonitrile (ACN), magnesium sulfate anhydrous (MgSO₄), primary-secondary amine (PSA), graphitized carbon black (GCB), sodium chloride (NaCl), sodium hydrogen carbonate (NaHCO₃), trisodium citrate dehydrate (C₆H₅Na₃O₇•2H₂O), di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate (C₆H₆Na₂O₇•1.5H₂O), ammonium formate, formic acid และไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen)

วิธีการ

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้าง tolfeprad ในคะน้า เพื่อกำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด แบ่งการดำเนินงานออกเป็น 2 ส่วน คือการปฏิบัติงานในแปลงทดลองและห้องปฏิบัติการ โดยวางแผนการทำแปลงทดลองสารพิษตกค้างตามคำแนะนำแบบ Supervised residue trials ตามหลักเกณฑ์ของ Codex Guideline และหลัก GAP โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. แปลงทดลอง

1.1 สำรวจและเลือกแปลงปลูกคะน้าของเกษตรกร โดยแต่ละแปลงทดลองต้องห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร หรือปลูกต่างฤดูกาลภายใต้การทำแปลงทดลองในปีเดียวกัน และต้องไม่มีการใช้วัฏภูมิพิษ tolfeprad ในพื้นที่แปลงทดลองหรือบริเวณใกล้เคียงเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารพิษตกค้าง

1.2 บันทึกข้อมูลแปลงทดลอง ได้แก่ สภาพพื้นที่ ลักษณะแปลงทดลอง วิธีการเพาะปลูก พันธุ์พืช ระยะปลูก อายุพืช รูปแบบการรดน้ำ การใช้ปุ๋ยหรือสารกำจัดโรคและแมลงชนิดอื่นๆ (ถ้ามี) และการปฏิบัติงานในแปลงทดลอง แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงควบคุม (untreated plot) เป็นแปลงทดลองที่ไม่พ่นวัฏภูมิพิษ tolfeprad และแปลงทดลองที่พ่นวัฏภูมิพิษ tolfeprad 16% W/V EC (treated plot)

1.3 บันทึกข้อมูลระหว่างการปฏิบัติงาน ได้แก่ อายุพืช (crop growth stage) ความสูงต้นพืช (crop height) พื้นที่ของพืชที่ปกคลุมผิวดินโดยประมาณ (estimated % of soil area covered by crop canopy) อุณหภูมิอากาศ (measured air temperature) วัดความเร็วและทิศทางลม (measured wind speed and wind direction) ปริมาณของเมฆในท้องฟ้าโดยประมาณ (estimated % of clouds in the sky) ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (measured relative humidity, %) ลักษณะและชนิดของดิน (description of soil tilth) ความชื้นของผิวดินโดยประมาณ (estimated of soil surface moisture) อุณหภูมิผิวดิน (soil temperature) และความลึกของดินที่วัดอุณหภูมิ (depth of measurement of soil temperature) เป็นต้น

1.4 ตรวจสอบเครื่องพ่นสาร (motorized knapsack sprayer) ก่อนทำการทดลอง โดยตรวจสอบหัวฉีด (nozzles) การกระจายละอองของสาร และกำหนดอัตราการไหลของเครื่องพ่นที่จะใช้งาน (discharge calibration) โดยก่อนการพ่นวัฏภูมิพิษทุกครั้งต้องตรวจสอบอัตราการไหลของเครื่องให้อยู่ในช่วง $\pm 5\%$ ของอัตราการไหลที่ใช้งาน

1.5 สอบเทียบ (calibrate) เครื่องพ่น เพื่อหาอัตราการใช้น้ำ (flow rate) และเวลาในการพ่นสารต่อพื้นที่แปลงทดลอง (target time) กำหนดรูปแบบและจำนวนเที่ยว (pass) ของการเดินพ่น และทดสอบผู้พ่นวัฏภูมิพิษให้เดินตรงกับเวลาที่ได้จากการ calibrate เพื่อควบคุมการพ่นวัฏภูมิพิษให้มีความสม่ำเสมอและถูกต้องแม่นยำ โดยทดสอบการเดินสะพายเครื่องและเดินสะพายเครื่องพร้อมพ่นน้ำเปล่าทุกครั้งก่อนทำการทดลอง จากนั้นคำนวณอัตราการพ่นสารต่อพื้นที่ (spray volume) ปริมาตรของสาร (volume of test substance) และปริมาตรของน้ำที่ใช้ในการผสมวัฏภูมิพิษ บันทึกเวลาที่ใช้ผสมสาร อุณหภูมิ และ pH ของน้ำ

1.6 พ่นวัฏภูมิพิษ tolfeprad 16% W/V EC ในแปลงทดลองย่อย treated plot โดยพ่นสารตามอัตราแนะนำสูงสุด คือ 60 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตร ต่อไร่ พ่นสารทุก 5 วัน ติดต่อกัน 2 ครั้ง โดยผู้พ่นสารและผู้จับเวลาต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันวัฏภูมิพิษเพื่อป้องกันละอองที่อาจถูกผู้ปฏิบัติงานในแปลงทดลอง ทำการบันทึกเวลาที่ใช้ในการพ่น ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ $\pm 5\%$ ของเวลาที่กำหนด (target time) บันทึกทิศทางและความเร็วลม และอุณหภูมิของอากาศขณะพ่นสาร จากนั้นคำนวณหาประสิทธิภาพการพ่นสาร (percent of target rate) ซึ่งเป็นการประเมินปริมาณวัฏภูมิพิษที่ลงในพื้นที่แปลงทดลอง โดยคำนวณได้จาก

$$\text{percent of target rate} = \frac{\text{actual total pass time}}{\text{target time actual}} \times 100$$

โดย actual total pass time คือ เวลาจริงที่ใช้ในการพ่นสาร
target time actual คือ เวลาที่ได้จากการคำนวณ

จากนั้นนำประสิทธิภาพการพ่นสารมาคำนวณหาสารออกฤทธิ์ (active ingredient; a.i.) ของแต่ละแปลงทดลอง (Trial dose rate) โดยเปรียบเทียบกับปริมาณที่แนะนำให้ใช้ (GAP dose rate) ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ -5 ถึง +10% ของปริมาณที่กำหนดให้ใช้ตามคำแนะนำสามารถคำนวณได้จาก

$$\text{Trial dose rate} = \frac{\text{GAP dose rate} \times \text{percent of target rate}}{100}$$

1.7 หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างค่น้ำที่ 0 (2 ชั่วโมงหลังพ่นสาร), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfepryad วิธีการคือใช้มีดเล็กตัดค่น้ำทั้งต้นยกเว้นส่วนราก สุ่มเก็บตัวอย่างให้ทั่วแปลงทดลอง เว้นระยะหัวแปลงและท้ายแปลง เก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุมก่อน จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างจากแปลงที่พ่นวัฏมีพิษ โดยแต่ละแปลงทดลองย่อยจะสุ่มเก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำ (duplicate) จำนวนตัวอย่างต้องไม่น้อยกว่า 12 ต้นต่อซ้ำ และ/หรือน้ำหนักตัวอย่างที่สุ่มเก็บต้องไม่น้อยกว่า 1 กิโลกรัมต่อซ้ำ บรรจุตัวอย่างใส่ถุงเก็บตัวอย่างรัดหนังยางปิดปากถุงให้สนิท แต่ละถุงมีป้ายบ่งชี้รายละเอียดต่างๆ ได้แก่ รหัสแปลงทดลอง (field ID number) ส่วนที่เก็บ (crop fraction) วัฏมีพิษที่ทดลอง (test substance) วันที่เก็บ (sampling date) รหัสตัวอย่าง (sample ID number) น้ำหนักตัวอย่าง (weight) และผู้รับผิดชอบแปลงทดลอง (field research director)

1.8 บรรจุตัวอย่างใส่ในกล่องโฟมที่มีถุงใส่น้ำแข็งอยู่เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างและป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้างระหว่างการขนส่ง วางเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) ไว้ในกล่องโฟมกับถุงบรรจุตัวอย่างเพื่อตรวจสอบอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง จากนั้นขนส่งตัวอย่างจากแปลงทดลองมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร เมื่อถึงห้องปฏิบัติการให้เก็บตัวอย่างใส่ในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfepryad ต่อไป

2. ห้องปฏิบัติการ

2.1 ทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์

2.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน stock standard solution ของ tolfepryad ที่ความเข้มข้น $1,000 \mu\text{g/ml}$ โดยชั่งสารมาตรฐานที่เป็น primary standard ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 5 ตำแหน่ง ให้ได้น้ำหนักเนื้อสาร 10 มิลลิกรัม โดยประมาณ ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำทำละลาย acetonitrile ลงใน volumetric flask ที่ละน้อย เขย่าจน primary standard ละลายหมด จากนั้นจึงเติม acetonitrile จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน เทสารละลายมาตรฐานใส่ lab bottle ติดฉลาก ระบุชื่อสาร ความเข้มข้น ชื่อผู้เตรียม สารละลายที่ใช้ และวันที่เตรียมให้ชัดเจน เก็บสารมาตรฐานที่เตรียมในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ โดยความเข้มข้นของสารมาตรฐานสามารถคำนวณได้ดังนี้

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

2.1.2 เตรียม intermediate standard solution ของ tolfe napyrad ที่ความเข้มข้น 100, 10 และ 1 $\mu\text{g/ml}$ โดยใช้สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดยที่ N_1 = ความเข้มข้นของสารตั้งต้น ($\mu\text{g/ml}$)

N_2 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม ($\mu\text{g/ml}$)

V_1 = ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องดูตมา (ml)

V_2 = ปริมาตรของสารที่ต้องการเตรียม (ml)

ใช้ autopipette ดูต stock standard solution ตามปริมาตรที่คำนวณไว้ ลงใน volumetric flask เติม acetonitrile ลงใน volumetric flask จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเทสารละลายมาตรฐานใส่ lab bottle ติดฉลาก ระบุชื่อสาร ความเข้มข้น ชื่อผู้เตรียม สารละลายที่ใช้ และวันที่เตรียมให้ชัดเจน เก็บสารมาตรฐานที่เตรียมในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^\circ\text{C}$

2.1.3 ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง tolfe napyrad ในคะน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.10, 1.00 และ 10.00 mg/kg ความเข้มข้นละ 8-10 ซ้ำ โดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2018) จากนั้นพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) จากระยะการกลับคืน (%recovery) และพิสูจน์ความเที่ยง (precision) จากระยะส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

2.2 วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfe napyrad ในคะน้ำที่ได้จากแปลงทดลอง

2.2.1 เตรียมตัวอย่าง โดยนำคะน้ำที่แช่แข็งทั้งต้นมาบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ผสมกับ liquid nitrogen นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง จากนั้นคลุกตัวอย่างที่ปั่นแล้วให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenized) เก็บตัวอย่างที่ปั่นแล้วในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^\circ\text{C}$

2.2.2 ชั่งตัวอย่างคะน้ำ 10 ± 0.05 g ใส่ centrifuge tube ขนาด 50 ml สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) โดยเติม acetonitrile 10 ml เขย่า 1 นาที เติม magnesium sulfate anhydrous 4 g, sodium chloride 1 g, trisodium citrate dihydrate 1 g และ di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 g เขย่าอีก 1 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที อีก 5 นาที จากนั้นดูตสารละลายส่วนบนปริมาตร 5 ml ใส่ centrifuge tube ขนาด 15 ml ที่มี magnesium sulfate anhydrous 750 mg, PSA 125 mg และ GCB 45 mg เขย่าโดยใช้เครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที อีก 5 นาที กรองสารละลายที่ได้ด้วย syringe filter ขนาด $0.2 \mu\text{m}$ ใส่ขวดแก้ว (lab bottle) ขนาด 10 ml จากนั้นดูตสารละลายที่กรองแล้วด้วย micropipette ปริมาตร 1 ml ใส่ autosampler vial และเติม 10% formic acid 10 μl เขย่าให้เข้ากัน นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

2.2.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานของ tolfe napyrad ในสารละลายที่สกัดจาก sample blank ตามวิธีสกัดตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ (working standard solution) เพื่อสร้าง calibration curve ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน tolfe napyrad (แกน x) กับ peak area (แกน y) โดยต้องมีค่า correlation coefficient (R^2) ไม่น้อยกว่า 0.995 (Eurachem, 2014)

2.3 สภาพะการทำงานของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับวิเคราะห์สารพิษตกค้าง tolfeⁿpyrad ในคะน้ำ

Column: Phenomenex 2.6 µm XB C18 100A, 100 mm × 2.1 mm

Temperature: 40 °C

Ion mode: ESI (positive)

Source parameters: Gas Temp (°C) 325
Gas Flow (L/min) 10
Nebulizer (psi) 40
Capiilary (V) 3500

Injection volume: 5 µL

Mass parameters:

	Precursor ion	Product ion	Dwell	CE (V)
tolfe ⁿ pyrad	384.1473	197.1	80	30
	384.1473	171.1	80	20

Mobile phase : 5 mM ammonium formate in water (A), acetonitrile (B)

Run time : 8 min

Time (min)	Flow rate (mL/min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)
0	0.4	80	20
0.5	0.4	80	20
2.0	0.4	20	80
5.0	0.4	20	80
6.0	0.4	80	20
8.0	0.4	80	20

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2567
สถานที่ทำการทดลอง แปลงทดลองจังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

ทำแปลงทดลองสารพิษตกค้างตามคำแนะนำ (Supervised residue trials) ที่ดำเนินการตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (GAP) และหลักการที่จะทำให้เกิดสารพิษตกค้างสูงสุด (critical GAP) โดยใช้วัตถุมีพิษอัตราสูงสุดของคำแนะนำ (dose rate) คือพ่นวัตถุมีพิษ tolfeprad 16% W/V EC ในแปลงทดลองย่อย treated plot ปริมาณ 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้ง ทุก 5 วัน โดยมีสารออกฤทธิ์ (active ingredient; a.i.) เท่ากับ 48 กรัม a.i. ต่อเฮกโตลิตร (hl) และ/หรือ 360 กรัม a.i. ต่อเฮกตาร์ (ha) แต่ละแปลงทดลองมีรายละเอียดดังนี้

Table 2 Details of supervised residue trial, location, GPS and duration

Trial	Location	GPS	Duration
1	ตำบลตะคร้ำเอน อำเภอนาทม จังหวัดกาญจนบุรี	13°57'41"N 99°46'46"E	ธันวาคม 2564 - มกราคม 2565
2	ตำบลธรรมศาลา อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม	13°48'10"N 100°6'55"E	มกราคม - กุมภาพันธ์ 2565
3	ตำบลบางงาม อำเภอสรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี	14°36'11"N 100°5'49"E	พฤศจิกายน - ธันวาคม 2565
4	ตำบลรางหวาย อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี	14°14'51"N 99°49'13"E	มกราคม - กุมภาพันธ์ 2566
5	ตำบลดอนข่อย อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม	14°1'35"N 100°0'31"E	ธันวาคม 2566 - มกราคม 2567
6	ตำบลพระแท่น อำเภอนาทม จังหวัดกาญจนบุรี	14°0'50"N 99°45'41"E	มกราคม - กุมภาพันธ์ 2567

ในการทำแปลงทดลองได้คำนวณประสิทธิภาพการพ่นสาร (percent of target rate) ของการพ่นครั้งที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นการประเมินความถูกต้องของการปฏิบัติงานในแปลงทดลอง ได้แก่ การใช้น้ำต่อพื้นที่ การคำนวณปริมาณการใช้วัตถุมีพิษ อัตราการไหลของเครื่องพ่น เวลาที่ใช้ในการพ่นสาร ความสามารถของผู้พ่นสาร และเวลาที่ใช้ในการเดินพ่นสาร เป็นต้น จากการทดลองพบว่าทั้ง 6 แปลง มีประสิทธิภาพเฉลี่ยของการพ่นครั้งที่ 1 และ 2 อยู่ในช่วงร้อยละ 99.7-101.4 (Table 3) ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ -5 ถึง +10% ของปริมาณน้ำที่กำหนดให้ใช้ต่อพื้นที่ตามคำแนะนำ จากนั้นนำประสิทธิภาพการพ่นสารมาคำนวณหาสารออกฤทธิ์ (active ingredient; a.i.) ของแต่ละแปลงทดลอง (Trial dose rate) โดยเปรียบเทียบกับปริมาณที่แนะนำให้ใช้ (GAP dose rate) และจากการคำนวณสารออกฤทธิ์ของ tolfeprad 16% W/V EC ของแต่ละแปลงทดลอง พบว่าอยู่ในช่วง 358.92-365.04 g a.i./ha (Table 3) ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ -5 ถึง +10% ของปริมาณที่กำหนดให้ใช้ตามคำแนะนำเช่นเดียวกัน ดังนั้นการทดลองพ่นวัตถุมีพิษ tolfeprad ในค่น้ำของทั้ง 6 แปลงทดลองตามอัตราแนะนำ จึงถือว่าปริมาณวัตถุมีพิษที่ลงในพื้นที่แปลงทดลองอย่างถูกต้อง มีปริมาณสม่ำเสมอ และตรงตามหลักสากลของระบบ GAP

Table 3 Percent of target rate and active ingredient of tolfenpyrad in broccoli, Chinese from supervised residue trials

Trial	Percent of target rate			Active ingredient g a.i./ha
	application 1	application 2	Average	
1	98.9	100.4	99.7	358.92
2	100.4	98.9	99.7	358.92
3	100.6	100.0	100.3	361.08
4	101.1	101.6	101.4	365.04
5	100.6	101.6	101.1	363.96
6	99.8	100.2	100.0	360.00

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง tolfe n pyrad ในคะน้า

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง tolfe n pyrad ในคะน้า พบว่าให้ผลการทดสอบที่มีประสิทธิภาพ มีความถูกต้องและแม่นยำสูง โดยมีผลการทดสอบความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ที่ได้จากการ spike สารมาตรฐาน tolfe n pyrad ลงในตัวอย่างคะน้าที่ความเข้มข้น 0.01, 0.10, 1.00 และ 10.00 mg/kg ความเข้มข้นละ 8-10 ซ้ำ (replicate) นำตัวอย่างไปสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2018) ทำการเจือจาง (dilution) ให้ความเข้มข้นที่ 1.00 และ 10.00 mg/kg อยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรง (working range) และวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเครื่อง LC-MS/MS พบว่ามี %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 91-97 และ %RSD อยู่ในช่วงร้อยละ 2.0-5.9 (Table 4) ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่ 70-120% และ ≤ 20% ตามลำดับ (SANTE, 2021) และวิธีวิเคราะห์นี้มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (limited of quantification; LOQ) เท่ากับ 0.01 mg/kg

Table 4 Results of method validation of tolfe n pyrad in broccoli, Chinese.

Concentration (mg/kg)	%Recovery	Average %recovery	%RSD
0.01*	96, 92, 88, 88, 92, 90, 83, 87, 97, 94	91	4.3
0.10	97, 96, 98, 97, 95, 95, 101, 96	97	2.0
1.00	99, 100, 98, 97, 85, 86, 97, 96	95	5.9
10.00	91, 98, 97, 99, 89, 83, 96, 95	94	5.5

* Limit of quantification; LOQ

3. ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้า จากแปลงทดลองที่พ่นสารตามอัตราแนะนำ

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในตัวอย่างคะน้าจำนวน 6 แปลงทดลอง ที่พ่นสารตามอัตราแนะนำ พบว่ามีปริมาณสารพิษตกค้างที่ระยะเก็บเกี่ยว 0-14 วัน อยู่ในช่วง 0.04-24.58 mg/kg ส่วนตัวอย่างจากแปลงควบคุม (untreated plot) ไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad หรือมีปริมาณน้อยกว่า LOQ ในทุกตัวอย่าง (Table 5) ปริมาณสารพิษตกค้างของแต่ละแปลงทดลองลดลงตามระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เพิ่มขึ้นซึ่งเป็นแนวโน้มเดียวกัน โดยเป็นการสลายตัวแบบ exponential (Figure 2) และจากชุดข้อมูลทั้งหมดพบว่าปริมาณสารพิษตกค้างของแปลงทดลอง 1 และ 2 การสลายตัวเกิดขึ้นค่อนข้างช้าเมื่อเทียบกับแปลงทดลองอื่นๆ โดยเฉพาะระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 5, 7 และ 10 วัน ของแปลงทดลอง 1 จะมีปริมาณสารพิษตกค้างค่อนข้างใกล้เคียงกัน เมื่อประเมินจากอายุพืชและน้ำหนักตัวอย่างของแปลงทดลอง 1 และ 2 พบว่าขนาดของพืชที่ระยะเก็บเกี่ยวดังกล่าวค่อนข้างใกล้เคียงกันและเป็นอายุพืชที่แก่กว่าแปลงทดลองอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลอง 4, 5 และ 6 ที่ขนาดของต้นคะน้าจะโตขึ้นตามระยะเก็บเกี่ยวที่เพิ่มขึ้นและปริมาณสารพิษตกค้างของแต่ละแปลงลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ทั้งนี้ปริมาณสารพิษตกค้างที่มีความแตกต่างกันของบางแปลงทดลอง สาเหตุอาจเกิดจากปัจจัยภายนอก ได้แก่ ความแปรปรวนของสภาพอากาศในแต่ละปี การรดน้ำ อายุพืช ขนาดต้นพืช หรือการบำรุงดูแลแปลงทดลองของเกษตรกร เป็นต้น ดังนั้นการวางแผนและเลือกแปลงทดลองจึงมีความสำคัญมากเพราะขนาดของต้นคะน้าเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณสารพิษตกค้าง แต่เนื่องจากปัจจุบันสภาพอากาศของประเทศไทยมีความแปรปรวนมาก เช่น อากาศร้อนจัดหรือเกิดฝนตกในฤดูหนาว อีกทั้งปัญหาการบงกชจากแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นส่งผลให้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ดีเท่าที่ควร ทำให้พืชในแปลงทดลองที่วางแผนไว้หยุดการเจริญเติบโตหรือไม่สามารถเจริญเติบโตได้เต็มที่ ส่งผลให้ขนาดและน้ำหนักคะน้าที่ได้แตกต่างกันในแต่ละแปลงทดลองแม้ว่าจะเป็นอายุพืชที่ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการทำแปลงทดลองศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้าตามอัตราแนะนำ มีการสลายตัวของ tolfenpyrad ในคะน้าเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น

Table 5 Results of residue of tolfenpyrad in broccoli, Chinese from supervised residue trials.

Days after last application	Residue (mg/kg)						
	Untreated	Tr 1	Tr 2	Tr 3	Tr 4	Tr 5	Tr 6
0	<LOQ	11.75	8.19	14.36	24.58	16.61	13.30
1	<LOQ	6.32	7.81	11.07	17.21	9.54	9.40
3	<LOQ	4.77	6.40	9.25	9.32	5.93	5.76
5	<LOQ	3.88	3.19	8.23	5.15	5.05	4.36
7	<LOQ	3.15	3.26	7.68	2.31	1.35	1.84
10	<LOQ	3.63	2.18	3.62	0.50	0.24	0.67
14	<LOQ	2.03	1.81	0.97	0.13	0.04	0.18

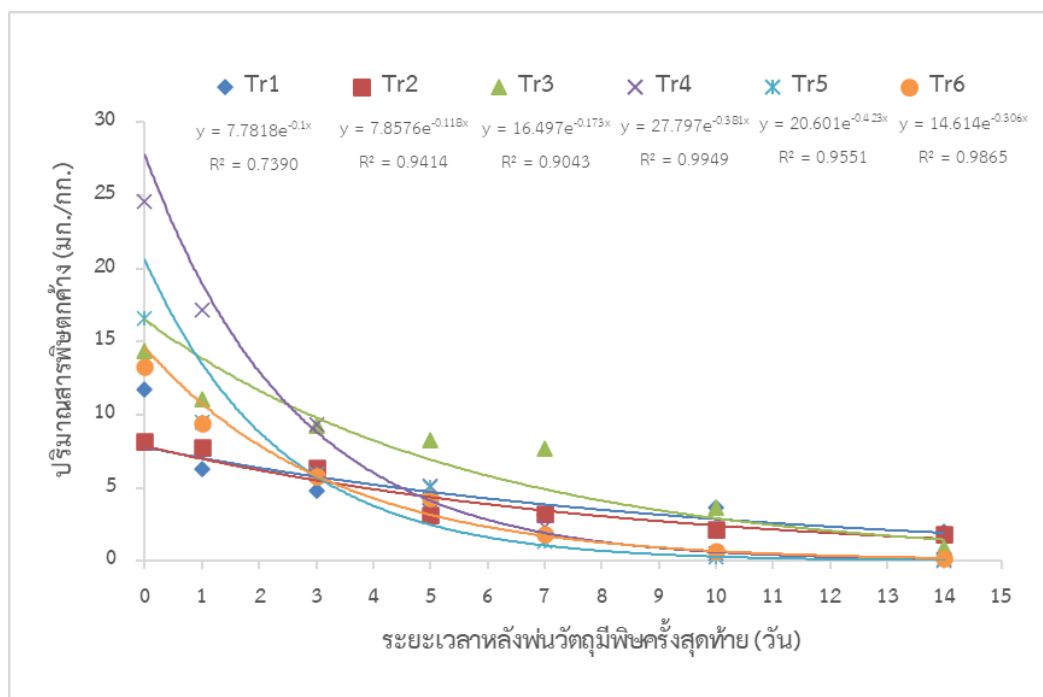


Figure 2 Trendline of decline study of tolfenpyrad in broccoli, Chinese

4. เสนอค่า MRL ของ tolfenpyrad ในคะน้า เพื่อนำไปกำหนดเป็นค่ามาตรฐาน

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้าจากแปลงทดลอง ทำให้ได้ข้อมูลการสลายตัวของ tolfenpyrad ในคะน้าทั้งหมด 6 ชุดการทดลอง จากนั้นจึงนำมาพิจารณากำหนดค่า MRL ด้วยโปรแกรม OECD calculator ซึ่งเป็นโปรแกรมมาตรฐานระดับสากลที่ Codex นำมาใช้ในการประเมิน ซึ่งประเทศไทยและ Codex ยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ของ tolfenpyrad ในคะน้าหรือกลุ่มผักใบตระกูลกะหล่ำที่เป็นพืชใกล้เคียง มีเพียงประเทศญี่ปุ่นที่กำหนดค่า Japan MRL ของ tolfenpyrad ในบร็อกโคลี (broccoli) ซึ่งเป็นพืชในกลุ่มเดียวกับคะน้า อยู่ที่ 0.7 mg/kg (JFCRF, 2024) ดังนั้นจึงใช้ค่านี้เป็นเกณฑ์อ้างอิงชั่วคราวเพื่อประกอบการพิจารณา โดยจะเห็นว่าที่ระยะเก็บเกี่ยว 14 วัน ซึ่งถือว่าเป็นระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยที่สุด ปริมาณสารพิษตกค้างของ tolfenpyrad ในคะน้าจากแปลงทดลอง 1, 2 และ 3 ยังคงมีค่ามากกว่า 0.7 mg/kg ดังนั้นจึงประเมินผลเบื้องต้นด้วยโปรแกรม OECD calculator พบว่ามีค่า Recommended MRL เท่ากับ 5 mg/kg (Table 6) อย่างไรก็ตามขั้นตอนการพิจารณากำหนดค่า MRL นั้น จำเป็นต้องนำปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้มาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภค (risk assessment for dietary intake) ทั้งแบบเฉียบพลัน (Acute) และแบบเรื้อรัง (Chronic) ตามเกณฑ์ของประเทศไทยและสากลเพื่อคำนึงถึงความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้บริโภค ก่อนที่จะนำมากำหนดเป็นค่า MRL ดังนั้นในเบื้องต้นจากข้อมูลผลการทดลองจึงขอเสนอกำหนดค่า MRL ของ tolfenpyrad ในคะน้าเท่ากับ 5 mg/kg ที่ PHI 14 วัน

Table 6 Residues data summary from supervised trials.

Trial No/ Year	Trial dose rate (g a.i./ha)	GAP dose rate (g a.i./ha)	Commodity, Portion analyzed	Residue (mg/kg)	PHI (days)
01/ 2022	358.92	360	Whole commodity	2.03	14
02/ 2022	358.92	360	Whole commodity	1.81	14
03/ 2023	361.08	360	Whole commodity	0.97	14
04/ 2023	365.04	360	Whole commodity	0.13	14
05/ 2024	363.96	360	Whole commodity	0.04	14
06/ 2024	360.00	360	Whole commodity	0.18	14
Recommended MRL				5 (OECD calculator)	

สรุปผลการทดลอง

ทำแปลงทดลองวิจัยและวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfeprad ในคะน้า 6 แปลงทดลอง ระหว่างปี พ.ศ. 2564-2567 เพื่อนำข้อมูลที่ได้มากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ก่อนทำแปลงทดลองได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method validation) โดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2018) และตรวจหาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS จากผลการศึกษาพบว่าวิธีทดสอบนี้มีความแม่นยำ (accuracy) อยู่ในช่วงร้อยละ 91-97 มีความเที่ยง (precision) อยู่ในช่วงร้อยละ 2.0-5.9 และมีปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (LOQ) เท่ากับ 0.01 mg/kg และจากการทำแปลงทดลองสารพิษตกค้างในคะน้าตามคำแนะนำ โดยพ่นสาร tolfeprad 16% W/V EC ปริมาณ 60 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พบว่าทั้ง 6 แปลงทดลอง มีประสิทธิภาพการพ่นสาร (percent of target rate) อยู่ในช่วงร้อยละ 99.7-101.4 และมีสารออกฤทธิ์ (active ingredient) อยู่ในช่วง 358.92-365.04 g a.i./ha ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ -5 ถึง +10% ของปริมาณที่กำหนดให้ใช้ตามคำแนะนำ (GAP dose rate) จึงถือว่าการทดลองมีความถูกต้องและใกล้เคียงกับปริมาณที่กำหนดให้ใช้ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง tolfeprad ในตัวอย่างคะน้าที่ได้จากแปลงทดลอง 1-6 พบว่าที่ระยะเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 0-14 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง 2.03-11.75, 1.81-8.19, 0.97-14.36, 0.13-24.58, 0.04-16.61 และ 0.18-13.30 mg/kg ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากปริมาณสารพิษตกค้างที่ลดลงตามระยะเก็บเกี่ยวที่เพิ่มขึ้นซึ่งเป็นแนวโน้มเดียวกันทั้ง 6 แปลงทดลอง จึงสรุปได้ว่าการสลายตัวของ tolfeprad ในคะน้าเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น จากนั้นนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างจำนวน 6 ชุดการทดลองมาพิจารณากำหนดค่า MRL เบื้องต้นด้วยโปรแกรม OECD calculator ที่ระยะเก็บเกี่ยวหรือ PHI 14 วัน มีค่า Recommended MRL เท่ากับ 5 mg/kg จึงเสนอค่านี้ในการพิจารณากำหนดเป็นค่า MRL ของ tolfeprad ในคะน้า

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างของ tolfenpyrad ในคะน้าทั้ง 6 ชุดการทดลองสามารถนำไปประกอบการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของประเทศไทย อีกทั้งยังสามารถนำไปพิจารณากำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดในระดับสากล ได้แก่ ASEAN และ Codex เนื่องจากชุดข้อมูลที่ได้นั้นอยู่ในเกณฑ์ของการพิจารณาที่ 4 และ 6 การทดลอง ตามลำดับ เพื่อนำมาใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานอ้างอิงในการผลิตการค้า และการควบคุมตรวจสอบคะน้าที่ผลิตและส่งออกของประเทศไทย

2. ข้อมูลการสลายตัวของสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในคะน้า สามารถนำไปกำหนดระยะเวลาปลอดภัยในการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (PHI) ให้แก่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (สอพ.) และสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (สคว.) เพื่อทบทวนผลากของวัตถุอันตรายที่ขึ้นทะเบียนภายใต้กรมวิชาการเกษตรให้มีความสอดคล้องและเหมาะสมกับการใช้งานจริงของเกษตรกรในประเทศไทยในปัจจุบัน เพื่อให้เกษตรกรใช้วัตถุอันตรายได้อย่างถูกต้องตามคำแนะนำและมีความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2554. *แมลงศัตรูผัก เห็บ และไม้ดอก*. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2563. *เอกสารวิชาการ การป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัยจากงานวิจัย*. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร (รต.). 2562. กรมส่งเสริมการเกษตร. แหล่งข้อมูล <http://www.agriinfo.doae.go.th/year63/plant/rortor/veget/%E0%B8%84%E0%B8%B0%E0%B8%99%E0%B9%89%E0%B8%B2.pdf> สืบค้น: 20 กุมภาพันธ์ 2567
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. *การจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช CLASSIFICATION OF AGRICULTURAL COMMODITIES: CROP*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. *สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2564. *เอกสารวิชาการ การใช้สารกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช เพื่อแก้ไขปัญหาความต้านทานศัตรูพืช*. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- EN15662. 2018. *Food of plant origin - Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – Modular QuEChERS- method*.
- Eurachem.2014. *The fitness for Purpose of Analytical Methods a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2nd ed.
- SANTE. 2021. *Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed*.
- The Japan Food Chemical Research Foundation (JFCRF). 2024. Table of MRLs for Agricultural Chemicals. Available at: https://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=46800. Assessment: January 25, 2024

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างฟิโพรนิล (fipronil) ในมะเขือเทศ
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
Residue Trials of Fipronil in Tomatoes
to Establish Maximum Residue Limit (MRL)

ประพันธ์ เคนท้าว สุพัตริ หนูสังข์ บุญทวีศักดิ์ บุญทวี ศศิณิภา คงเข้มดี

Praphan Kenthao Supattri Noosang Boonthaweesak Boonthawee Sasinida Kongchamdee

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This study modified a method to determine fipronil for establish Thai's Maximum Residue Limit (Thai—MRLs). The experiments were conducted by method of pesticide using according to Good Agricultural Practices (GAP) and supervised trial under FAO guideline. The six field trials were performed in Saraburi, Supan Buri, Nakhon Pathom, Phetchaburi and Kanchanaburi Provinces during 2022 — 2024. The treated plot was sprayed with fipronil 5% W/V SC at recommended dose (test substance 40 mL/water 20 L) and 120 L/Rai of water to compare with an untreated plot (not-sprayed test substance). Each of trials was done 2 applications of spraying in every 5 days. Two samples were collected from each of plots at 0 (2 hr), 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days after the last application. The analysis of fipronil residues was performed by using QuEChERS modified method followed by LC—MS/MS. The fipronil residues were not detected in the untreated samples (Control plot) but it was found above the LOQ of 0.01 mg/kg in the treated samples. In the 1st field trial, fipronil levels were 0.19, 0.17, 0.10, 0.10, 0.09, 0.09, 0.04 and 0.02 mg/kg at 0 (2 hr), 1, 3, 5, 7, 14 and 21 days after the last application but they were found down to 0.05, 0.02, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01 และ 0.00 mg/kg in the 2nd field trial. Residue concentrations of fipronil for the 3rd field trials were present up to 0.07, 0.05, 0.03, 0.02, 0.01, 0.01, 0.00 and 0.00 mg/kg and they were also present up to 0.06, 0.05, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01 and 0.00 mg/kg in the 4th field trials. Otherwise, the 5th field trial, fipronil residues were 0.01, 0.00, 0.00, 0.00, 0.00, 0.00, 0.00 และ 0.00 mg/kg, in the same way as residues in samples of the 6th field trial were 0.02, 0.01, 0.01, 0.00, 0.00, 0.00, 0.00 and 0.00 mg/kg, respectively.

Keywords: Fipronil; Maximum Residue Limit; Pesticide Residue; Tomatoes

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตกค้างของฟิโพรนิล (fipronil) ในมะเขือเทศ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดสารพิษตกค้างสำหรับประเทศไทย โดยยึดหลักการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรอย่างถูกต้องและปลอดภัย (GAP) และใช้แบบแผนศึกษาสารพิษตกค้างตามคำแนะนำของ FAO โดยทำแปลงทดลอง 6 แปลงในพื้นที่เพาะปลูกของจังหวัดสระบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม เพชรบุรี และกาญจนบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2565 – 2567 แต่ละแปลงทดลองหลักประกอบด้วย 2 แปลงทดลองย่อยคือ แปลงที่ไม่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรกำหนดให้เป็นแปลงควบคุม และแปลงที่พ่นสารตามอัตราแนะนำ โดยพ่นฟิโพรนิล (fipronil 5% W/V SC) ในอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 5 ครั้ง ทุกๆ 7 วัน อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ สุ่มเก็บตัวอย่างหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ที่เวลา 0 (2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน จำนวน 2 ตัวอย่างในแต่ละแปลงทดลองย่อย ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างโดยใช้เทคนิค LC–MS/MS พบว่า ตัวอย่างแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง แต่สำหรับแปลงที่พ่นฟิโพรนิลพบปริมาณสารพิษตกค้างในแปลงทดลองที่ 1 อยู่ที่ 0.19, 0.17, 0.10, 0.10, 0.09, 0.09, 0.04 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 2 พบ 0.05, 0.02, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01 และ 0.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 3 พบ 0.07, 0.05, 0.03, 0.02, 0.01, 0.01, 0.00 และ 0.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 4 พบ 0.06, 0.05, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01 และ 0.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 5 พบ 0.01, 0.00, 0.00, 0.00, 0.00, 0.00, 0.00 และ 0.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงทดลองที่ 6 พบ 0.02, 0.01, 0.01, 0.00, 0.00, 0.00, 0.00 และ 0.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

คำสำคัญ: ฟิโพรนิล; ค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง; สารพิษตกค้าง; มะเขือเทศ

บทนำ

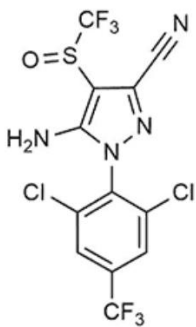
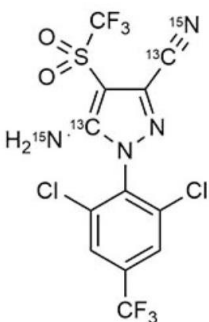
มะเขือเทศนับเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของไทย เนื่องจากได้รับความนิยมในการบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เพราะคุณประโยชน์ต่อสุขภาพเนื่องจากมีสารสำคัญคือไลโคปีน (Lycopene) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ทำให้มะเขือเทศมีสีแดงสด โดยสารดังกล่าวนี้มีบทบาทสำคัญต่อการป้องกันโรคหลายชนิดทั้งโรคหัวใจไปจนถึงโรคมะเร็ง นอกจากนี้มะเขือเทศยังเป็นหนึ่งในวัตถุดิบที่ใช้ในการประกอบอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติ ความกลมกล่อม และสีสันให้กับอาหารชนิดนั้นๆ ซึ่งสีอันเกิดจากมะเขือเทศนี้ยังช่วยกระตุ้นความอยากอาหารอีกด้วย ดังนั้นมะเขือเทศจึงเข้ามามีบทบาทในวิถีการกินอยู่ของผู้บริโภคในหลายรูปแบบ เช่น การบริโภคผลสด การนำไปประกอบอาหาร และแปรรูปในระดับอุตสาหกรรม เช่น น้ำมะเขือเทศ ซอสมะเขือเทศ มะเขือเทศแช่อิ่ม และมะเขือเทศอบแห้ง เป็นต้น

มะเขือเทศ (tomato) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae เป็นพืชผักตระกูลเดียวกับพริกและมะเขือ ปลูกได้ดีในดินร่วนเหนียวและดินร่วนทราย เริ่มออกดอกหลังปลูก 30 – 45 วัน เก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 70 – 90 วัน (วรรณรีย์, 2551) การปลูกมะเขือเทศของประเทศไทยแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ การปลูกมะเขือเทศโรงงาน การปลูกมะเขือเทศบริโภคสด และการปลูกมะเขือเทศเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ โดยมะเขือเทศที่นิยมปลูกมีอยู่ด้วยกันหลายสายพันธุ์ ได้แก่ มะเขือเทศเชอร์รี่ (Cherry tomatoes), มะเขือเทศสีดา (Srida pink egg tomatoes), มะเขือเทศโรม่า (Roma tomatoes), มะเขือเทศเถาวัลย์ (Tomatoes on the vine) และมะเขือเทศสีเขียว (Green tomatoes) (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, 2566) จากการเก็บรวบรวมข้อมูลของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรพบว่ามะเขือเทศมีแนวโน้ม

การเพาะปลูกเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อพิจารณาข้อมูลการนำเข้า – ส่งออกของมะเขือเทศในรูปแบบต่างๆ ในปี พ.ศ. 2563 – 2564 พบว่า ปี พ.ศ. 2563 มีปริมาณนำเข้าทั้งหมด 27,538 ตัน คิดเป็นมูลค่า 800.18 ล้านบาท ส่วนปริมาณการส่งออกทั้งหมด 8,385 ตัน คิดเป็นมูลค่า 347.44 ล้านบาท ขณะที่ในปี พ.ศ. 2564 มีปริมาณนำเข้าทั้งหมด 25,384 ตัน คิดเป็นมูลค่า 766.52 ล้านบาท มีปริมาณการส่งออก 9,880 ตัน คิดเป็นมูลค่า 380.49 ล้านบาท แสดงให้เห็นว่าปริมาณและมูลค่าการส่งออกมะเขือเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าลดต่ำลง โดยมีการส่งออกไปขายต่างประเทศในรูปแบบมะเขือเทศปรุงแต่งมากที่สุด รองลงมาคือ มะเขือเทศสดหรือแช่เย็น และน้ำมะเขือเทศ ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณการนำเข้าก็ยังสูงกว่าปริมาณการส่งออก เนื่องจากประสบปัญหาด้านด้านการตลาดและราคาผลผลิตมีความผันผวน โดยเฉพาะมะเขือเทศบริโภคสดตลาดจำหน่ายยังมีน้อย และขาดการกระจายผลผลิตสู่ตลาดอื่นๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ รวมทั้งยังมีข้อจำกัดทางด้านการค้าของแต่ละประเทศ ตลาดการส่งออกที่สำคัญจึงอยู่เฉพาะในประเทศใกล้เคียง เช่น กัมพูชา เวียดนาม ญี่ปุ่น ลาว สิงคโปร์ และเมียนมา (กลุ่มพัฒนาเศรษฐกิจฐานราก , 2564) นอกจากนี้การปลูกมะเขือเทศยังมีข้อจำกัดในเรื่องของสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศ ทำให้ปลูกได้ดีในบางฤดูและบางพื้นที่เท่านั้น หากสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศไม่เหมาะสมจะเกิดการระบาดของโรคและแมลง ดังนั้น การผลิตมะเขือเทศจึงต้องมีกระบวนการผลิตอย่างถูกต้องและเหมาะสม

ฟิโพรนิล (fipronil) เป็นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ถูกใช้อย่างแพร่หลายในมะเขือเทศเพื่อป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยแป้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตัวงเจาะ หนอนเจาะ และหนอนใยผัก โดยเมื่อแมลงศัตรูพืชดังกล่าวได้รับสารนี้เข้าไปแล้วระบบประสาทส่วนกลางจะถูกรบกวน ส่งผลให้แมลงไม่สามารถกินอาหารและตายลงในที่สุด โดยโคเด็กซ์ (CODEX) ได้นิยามสารพิษตกค้าง (Residue definition) ของสารฟิโพรนิลสำหรับเฉพาะที่นำไปประเมินค่า MRLs เกิดจากผลรวมของสารฟิโพรนิลกับสารอนุพันธ์อื่นอีก 1 ชนิด คือฟิโพรนิลซัลโฟน (FAO/WHO, 2021) โดยสูตรโครงสร้างและชื่อทางเคมีของสารดังกล่าวแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Fipronil and metabolite structure

Formula structure	Common name	IUPAC name
	fipronil	(±)-5-amino-1-(2,6-dichloro- α,α,α -trifluoro-p-tolyl)-4- trifluoromethylsulfinylpyrazole- 3-carbonitrile
	fipronil-sulfone	5-amino-3-cyano-1-(2,6- dichloro-4- trifluoromethylphenyl)-4- trifluoromethylsulfonylpyrazole

เนื่องจากประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limit; MRL) ของฟิโพรนิลในมะเขือเทศ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาการสลายตัวของสารดังกล่าวในมะเขือเทศ โดยวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง ตามคำจำกัดความสารพิษตกค้างของโคเด็กซ์เพื่อนำข้อมูลสารพิษตกค้างที่ได้เสนอพิจารณากำหนดค่าระยะปลอดภัยก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย (Pre Harvest Interval; PHI) ละค่าปริมาณสูงสุดสารพิษตกค้างของสารฟิโพรนิลในมะเขือเทศสำหรับประเทศไทย และ Codex MRLs ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นวัตถุมีพิษทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer)
2. เครื่องมือต่างๆในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องบดตัวอย่าง (food processor) เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) และตู้แช่แข็ง (deep freezer)
3. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography Tandem with Mass Spectrometer (LC-MS/MS) ยี่ห้อ Agilent Technologies, LC รุ่น 1290 infinity, MS/MS รุ่น 6460 Triple Quad และคอลัมน์ Kinetex 2.60 μm XB-C18 100 Å, size 100 x 2.10 mm
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นแบบดิจิตอล (temperature and humidity meter) เครื่องวัดความเร็วลม (anemometer) เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิดิน (soil thermometer) ที่วัดระดับน้ำ (torpedo level) เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (data logger)
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ปีกเกอร์ (beaker) ขวดปริมาตร (volumetric flask) กระบอกตวง (cylinder) หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50
6. วัตถุอันตรายทางการเกษตรในชื่อการค้ามอร์เก็น (fipronil 5% W/V SC) สารอ้างอิงมาตรฐานทั้ง 5 ชนิด คือ fipronil, fipronil-carboxamide, fipronil-sulfone, fipronil-sulfide และ fipronil-desulfinil ของ Dr. EhrenstorferTM และสารเคมีต่างๆ ได้แก่ acetonitrile, milli-Q water, anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4), sodium chloride (NaCl), tri-sodium citrate dihydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), primary secondary amine (PSA), carbon SPE bulk sorbent (GCB), ammonium formate (NH_4HCO_2) และ formic acid (HCO_2H)

วิธีการ

1. ศึกษาสถานะเครื่องมือ

เตรียมสารละลายมาตรฐาน fipronil ที่ความเข้มข้น 0.01 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS ที่สภาวะต่างๆเพื่อทดสอบความจำเพาะเจาะจงของสาร (Specification) โดยเปรียบเทียบค่าความไวในการตรวจวัด (sensitivity) เวลาอยู่ในคอลัมน์ (Retention time, RT) สภาวะที่เหมาะสมของสารละลายตัวพา (mobile phase) ชนิดและความเข้มข้นของ buffer อุณหภูมิของคอลัมน์ ปริมาณสารที่ฉีด (injection volume) อัตราการไหล (Flow rate) และในส่วน mass spectrometer (MS) ทำการศึกษา precursor, product ion 1, product ion 2, Dwell time, Fragmentor, CE และ Cell accelerator voltage ทั้งนี้เพื่อให้เกิดการแยกที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์สารในครั้งนี้

2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ตามหลักเกณฑ์ของ SANTE (SANTE, 2021) เพื่อให้ทราบถึงปัจจัยต่างๆที่อาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ และรับประกันถึงความน่าเชื่อถือของวิธีด้วยการดำเนินการดังต่อไปนี้ คือ

2.1 ช่วงการใช้งาน (Range)

ตรวจวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานฟิพรอนิลที่เตรียมด้วยตัวทำละลาย acetonitrile ที่จุดความเข้มข้นต่างๆคือ 0.005 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 0.5 1.0 และ 1.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 1 ซ้ำ ด้วยเครื่อง LC-MS/MS สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานที่ตรวจวัดได้กับความเข้มข้นที่เตรียม แล้วเลือกช่วงความเข้มข้นที่ตอบสนองเชิงเส้นตรง (linearity) โดยต้องมีค่า R^2 มากกว่า 0.990 จากนั้น

เตรียมสารมาตรฐานในช่วงดังกล่าวด้วยสารละลายเมทริกซ์ (matrix) ที่สกัดได้จากมะเขือเทศในช่วงความเข้มข้น 3 ซ้ำ แล้วนำไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS เพื่อยืนยันถึงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์จาก calibration curve ในช่วงการใช้งานนี้

2.2 ความถูกต้อง (trueness) และความเที่ยง (precision)

เตรียมสารมาตรฐานฟิโพรนิลด้วยตัวทำละลายเมทริกซ์มะเขือเทศในช่วงความเข้มข้น 0.01 – 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 3 ซ้ำ ฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยความถูกต้องพิจารณาได้จากร้อยละการได้กลับคืนมาของการสกัด (recovery) ต้องอยู่ในช่วง 70 – 120 ขณะที่ความเที่ยงต้องมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) น้อยกว่า 20 %

2.3 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เชิงคุณภาพ (LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เชิงปริมาณ (LOQ)

เตรียมสารมาตรฐานฟิโพรนิลด้วยตัวทำละลายเมทริกซ์มะเขือเทศที่ความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ นำไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยค่า LOD ได้จากสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($3 \times SD$) ขณะที่ค่า LOQ ได้จากสิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($10 \times SD$) ของสัญญาณที่ตรวจวัดได้จากความเข้มข้นนี้เช่นกัน จากนั้นเตรียมสารมาตรฐานข้างต้นที่เป็นจุด LOQ จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อยืนยันค่าความถูกต้องและแม่นยำของจุด LOQ นี้

3. การสกัดตัวอย่าง

ทำการสกัดสารพิษตกค้างในตัวอย่างมะเขือเทศจากทั้ง 6 แปลงทดลอง ด้วยวิธีที่พัฒนามาจากวิธีมาตรฐาน QuEChERS EN 15662: 2018 โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้คือ

3.1 ชั่งตัวอย่างมะเขือเทศปั่นละเอียด ตัวอย่างละ 10 + 0.10 กรัม ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติม acetonitrile จำนวน 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer 1 นาที

3.2 เติม anhydrous magnesium sulfate 4.00 กรัม sodium chloride 1.00 กรัม tri-sodium citrate dihydrate 1.00 กรัม และ di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate 0.50 กรัม ลงในตัวอย่าง ปิดฝาแล้วเขย่าทันทีด้วย vortex mixer 1 นาที

3.3 นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm นาน 5 นาที

3.4 กำจัดสิ่งปนเปื้อน (dispersive-SPE clean up) โดยใช้ micropipette ดูดสารละลายส่วนใส (ส่วนบน) ของตัวอย่างจำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร เติม primary secondary amine 0.125 กรัม anhydrous magnesium sulfate 0.750 กรัม และ carbon SPE bulk sorbent 0.050 กรัม ปิดฝาแล้วเขย่าทันทีด้วย vortex mixer นาน 1 นาที

3.5 นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm นาน 5 นาที

3.6 กรองสารละลายส่วนใสผ่าน syringe ที่ต่อกับ PTFE syringe filter ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ใส่ลงในขวด autosampler vial แล้วจึงนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง fipronil ในตัวอย่างมะเขือเทศด้วยเครื่อง LC-MS/MS

4. การทำแปลงทดลอง

ดำเนินการศึกษาสารพิษตกค้างตามคำแนะนำ (supervised trials) ของ FAO และใช้วัตถุดิบทรายทางการเกษตรอย่างถูกต้องและปลอดภัยตามหลักการของ Good Agricultural Practices : GAP (FAO, 2016)

4.1 สักรวบรวมมะเขือเทศของเกษตรกรที่จะทำการทดลอง โดยให้แต่ละแปลงมีระยะทางห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร หรือมีฤดูกาลผลิตแตกต่างกัน มะเขือเทศอายุประมาณ 60 วันขึ้นไป มีผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย ในแต่ละแปลงทดลองหลักทั้ง 6 แปลงทดลองถูกแบ่งเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงที่ไม่มีการ

พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร (untreated plot) ถูกใช้เป็นแปลงควบคุม และแปลงที่พ่นสารฟิโพรนิล 5% W/V SC ในอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 5 ครั้ง แต่ละครั้ง ห่างกัน 7 วัน (treated plot)

4.2 การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1) ศึกษาอัตราการไหลของเครื่องพ่น (flow rate) โดยทดลองพ่นน้ำเปล่าแล้วจับเวลา 1 นาที จำนวน 3 ซ้ำ คำนวณอัตราการไหลของเครื่องพ่น ในหน่วยมิลลิลิตรต่อนาที เวลาที่ต้องใช้ในการพ่น (target time) และทดสอบจังหวะการเดินของผู้พ่น (speed calibration) เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอ

2) บันทึกสภาพภูมิอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิและค่า pH ของน้ำ อุณหภูมิและความชื้นของอากาศ อุณหภูมิดิน ความเร็วลม และเก็บดินเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ค่า pH, texture และ organic matter

3) พ่นสาร fipronil 5% W/V SC ในอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 5 ครั้ง แต่ละครั้ง ห่างกัน 7 วัน และอัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ สำหรับมะเขือเทศอายุมากกว่า 30 วันขึ้น โดยใช้เครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์ สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) ซึ่งใช้วิธีพ่นทางใบ (foliar application) (สุรารดาและคณะ, 2564)

4) สุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 2 ซ้ำ จากทั้งแปลงทดลอง untreated plot และ treated plot ที่ระยะเวลา 0 วัน (2 ชั่วโมง) 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างสุ่มเก็บอย่างน้อย 24 ผล และน้ำหนักต้องไม่ต่ำกว่า 2 กิโลกรัม บรรจุตัวอย่างในถุงพลาสติก ใ้ยางรัดให้แน่น แช่ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็ง เพื่อรักษาสภาพของตัวอย่าง และใส่เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) ลงไปในกล่องโฟม สำหรับบันทึกอุณหภูมิตัวอย่าง แล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง เพื่อเตรียมตัวอย่าง ทำการสกัดตัวอย่าง และวิเคราะห์หาปริมาณ fipronil ที่ตกค้างในมะเขือเทศต่อไป

5. ทดสอบความคงตัวของสาร (storage stability)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน fipronil ที่ความเข้มข้นระดับความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของค่า LOQ ในตัวอย่างมะเขือเทศที่ไม่มีสารพิษตกค้าง แล้วตรวจวิเคราะห์ที่ระยะเวลา 0 (2 ชม.), 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 วัน โดยทำการสกัดตัวอย่างครั้งละ 2 ซ้ำ เพื่อหาร้อยละของปริมาณสารพิษตกค้างที่ยังคงเหลืออยู่ในมะเขือเทศ (% residue remained)

ระยะเวลา

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 และสิ้นสุดเดือนกันยายน 2567 รวมระยะเวลา 3 ปี

สถานที่ทำการทดลอง

1) แปลงทดลองของเกษตรกรจังหวัดสระบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม เพชรบุรี และกาญจนบุรี

2) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาสถานะเครื่องมือ

จากการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของทั้งระบบ LC และ MS พบว่าสถานะที่สามารถทำให้ผลการวิเคราะห์มีประสิทธิภาพสูงสุดแสดงดังตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 LC-MS/MS Conditions

Solvent composition		A : 5 mM Ammonium formate and B : Acetonitrile			
Order	Time (min)	A (%)	B (%)	Flow (mL/min)	Pressure (bar)
1	2.0	95	5	0.4	600.0
2	3.0	40	60	0.4	600.0
3	7.0	20	80	0.4	600.0
4	7.5	5	95	0.4	600.0
5	8.0	5	95	0.4	600.0
6	8.5	95	5	0.4	600.0
7	9.0	95	5	0.4	600.0

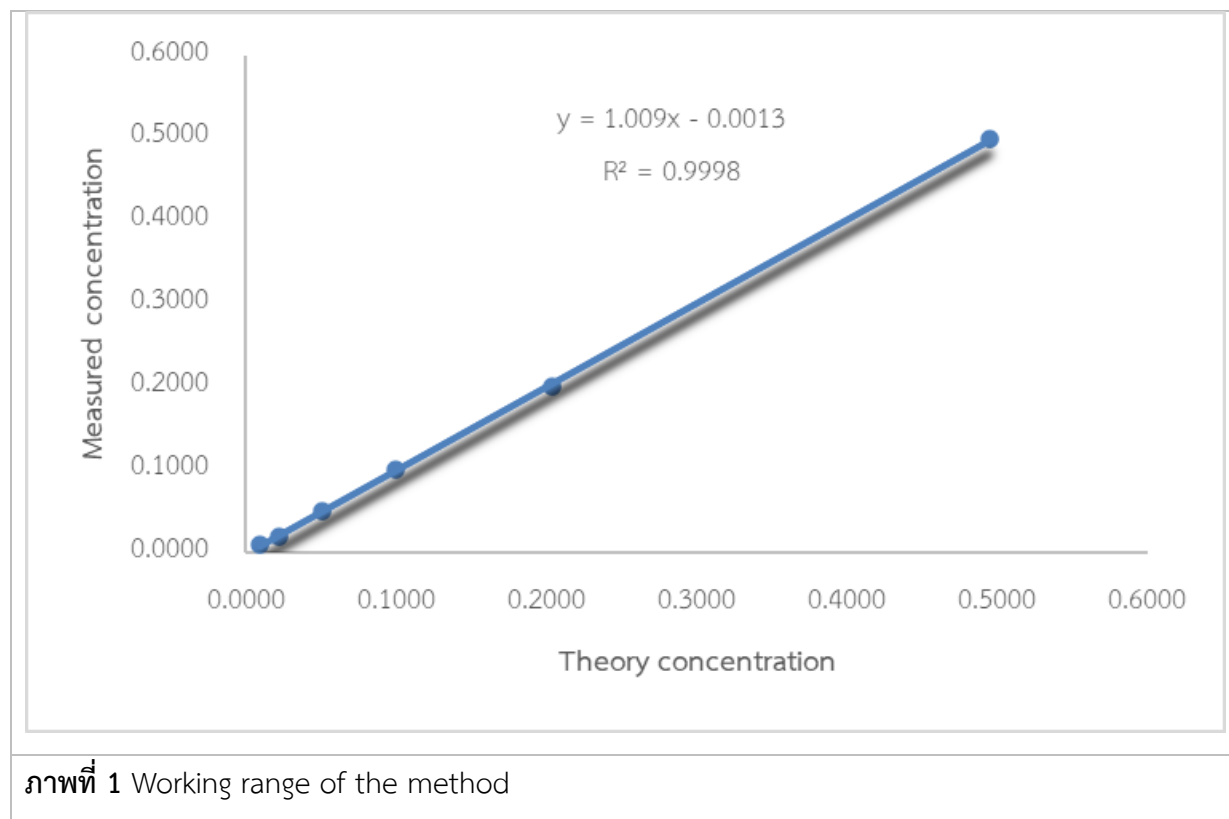
Flow; 0.4 mL, Stop time; 9.0 min and Post time; 1.0 min

ตารางที่ 3 MS/MS Conditions (Polarity; Negative)

Compound name	Precursor Name	Product ion	Dwell time	Frag. (V)	CE (V)	Cell Acc (V)
fipronil	435	330	20	1	8	7
		250	20	90	24	7
fipronil sulfone	450.9	414.9	20	1	8	7
		282	20	1	24	7

2. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟิพโรนิลในตัวทำละลายเมทริกซ์มะเขือเทศในช่วงความเข้มข้น 0.01 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 3 ซ้ำ พบว่ากราฟความสัมพันธ์ดังกล่าวมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9998 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (ดังภาพที่ 1) ดังนั้นจึงเลือกช่วงความเข้มข้นดังกล่าวในการเตรียม calibration curve สำหรับวิธีวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 1 Working range of the method

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารละลายมาตรฐานใน matrix (ตารางที่ 4) พบว่า recovery ทั้งหมด ได้ 70 - 120% อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับและ RSD อยู่ในช่วงเกณฑ์การการยอมรับที่ $\leq 20\%$ ตามคำแนะนำใน SANTE/11312/2021 v2 (EU, 2024) โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection : LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และความเข้มข้นต่ำสุดของสารวิเคราะห์ที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ ซึ่งมีความถูกต้องและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ (Limit of Quantitation : LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำผลการวิเคราะห์มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample บนแกน x กับความเข้มข้นที่ตรวจวัดปริมาณได้จากเครื่องมือบนแกน y จึงได้ช่วงความเข้มข้น 0.01 - 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นช่วงของวิธีทดสอบ (working range) และมีความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยมีค่า coefficient of determination (R^2) เท่ากับ 0.999 (Bertil and Ulf, 2014) จึงสามารถยืนยันผลการทดสอบได้ว่า วิธีวิเคราะห์นี้ มีความถูกต้อง มีความเที่ยงตรง และมีความน่าเชื่อถือในแต่ละครั้งที่ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง fipronil ในตัวอย่างมะเขือเทศ

ตารางที่ 4 Method validation of fipronil in tomatoes samples

Conc. (mg/kg)	Recovery (%)										AVG.	SD	RSD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
0.005 (LOD)	111	109	123	96	101	78	114	98	77	105	101	15	15
0.01 (LOQ)	108	101	118	101	111	95	113	106	118	117	109	8	7
0.02	112	81	108								100	17	17
0.05	99	97	82								93	9	10
0.1	102	100	102	99	96	98	103				100	3	3
0.2	104	111	97								104	7	7
0.5	94	97	96	93	93	97	93				95	2	2

3. ปริมาณสารพิษตกค้างจากแปลงทดลอง

ตามนิยามสารพิษตกค้าง (Residue definition) ของ CODEX-MRL ที่นิยามว่าปริมาณสารพิษตกค้างของฟิโพรนิลได้จากผลรวมของ fipronil กับสารอนุพันธ์อีกหนึ่งชนิดคือ 5-amino-3-cyano-1-(2,6-dichloro-4-trifluoromethylphenyl)-4- trifluoromethylsulfonylpyrazole (MB46136) หรือ fipronil sulfone จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารฟิโพรนิลที่ตกค้างในมะเขือเทศภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสำหรับแปลงทดลองที่ 1 - 6 มีค่า ดังแสดงในตารางที่ 5

เมื่อนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้างฟิโพรนิลกับระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่างๆหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ดังแสดงในรูปที่ 2 จะเห็นว่า ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างมะเขือเทศทั้ง 6 แปลงทดลอง มีแนวโน้มค่อยๆ ลดลงหรือเกิดการสลายตัวของสารพิษตกค้างเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาค่า Thai MRL ยังไม่ได้มีการกำหนด แต่พบว่าสำหรับ EU ได้กำหนดค่า MRL ของสารฟิโพรนิลในมะเขือเทศใหม่ล่าสุดในปี 2024 และปรับลดค่าดังกล่าวลดต่ำถึง 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (EU, 2024) และเมื่อนำผลวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างแต่ละวัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย มาคำนวณหาค่าสารพิษตกค้างสูงสุด (Highest Residue : HR) ค่ามัธยฐานสารพิษตกค้าง (Supervised Trial Median Residue : STMR) และค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในสินค้าเกษตร (Maximum Residue Limit : MRL) โดยใช้โปรแกรม OECD MRL calculator แล้วนำค่า HR กับค่า STMR มาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งการได้รับสารระยะสั้นหรือความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute Reference Dose : ARfD) และระยะยาวหรือความเป็นพิษเรื้อรัง (Acceptable Daily Intake : ADI) โดยใช้โปรแกรม IESTI และ IEDI เทียบกับค่าอ้างอิงในรายงานของ JMPR ซึ่งระบุค่า ARfD เท่ากับ 0.009 mg/kg bw และ ADI เท่ากับ 0 – 0.002 mg/kg bw เมื่อทำการประเมินแล้วจะอยู่ในรูปของเปอร์เซ็นต์ หากมีค่าน้อยกว่า 100% หมายถึง ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่าง

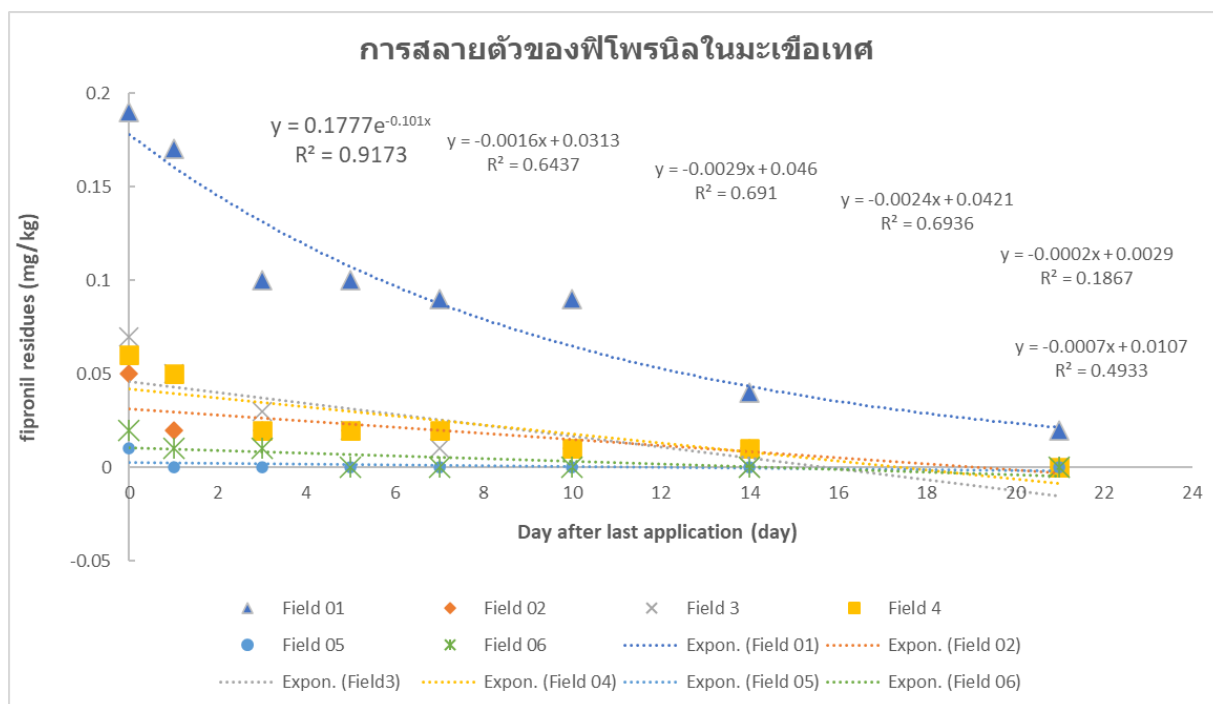
ปลอดภัยต่อผู้บริโภค (JMPR, 2013 และ FAO, 2016) จากผลการประเมินพบว่า ที่ระยะเวลา 3 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ค่าความ MRL ได้เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งให้ค่า ADI และค่า ARfD ทั้งกับประชากรทั่วไปเด็กน้อยกว่า 90% ดังนั้นจึงกำหนด PHI ของการทดลองที่ได้นี้อยู่ที่ระยะเวลา 3 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย และจะนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้ไปเสนอต่อคณะกรรมการวิชาการพิจารณาสินค้าเกษตร สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เพื่อพิจารณากำหนดค่า PHI Thai MRL ASEAN MRL และ Codex MRL ต่อไป

4. ผลการทดสอบความคงตัวของสาร (Storage stability)

จากผลการทดสอบความคงตัวของสารฟิโพรนิลในมะเขือเทศ (ตารางที่ 6) พบว่า % residue remained เท่ากับ 100 102 95 96 86 97 และ 81 ที่ระยะเวลา 0 30 60 90 120 150 และ 180 วัน นับจากวันที่เดิมสารลงในมะเขือเทศ ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงยอมรับ 70 – 120% ดังนั้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษค้าง fipronil ยังมีความคงสภาพอยู่ เป็นส่วนสนับสนุนผลการทดลองให้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

ตารางที่ 5 The results of fipronil residues in tomatoes obtained from all 6 experimental fields.

Sampling (Day)	Average of Pesticide Residue (mg/kg), n = 2						
	Field 01	Field 02	Field 3	Field 4	Field 05	Field 06	Control
0 (2 hr)	0.19	0.05	0.07	0.06	0.01	0.02	ND
1	0.17	0.02	0.05	0.05	0.00	0.01	ND
3	0.10	0.02	0.03	0.02	0.00	0.01	ND
5	0.10	0.02	0.02	0.02	0.00	0.00	ND
7	0.09	0.02	0.01	0.02	0.00	0.00	ND
10	0.09	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	ND
14	0.04	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	ND
21	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	ND
Concurrent recovery (%)							
Conc. (mg/kg)	Trial field						
	Field 01 – 02		Field 03 – 04		Field 05 – 06		
0.01	105, 93		92, 81		94, 86		
0.1	98, 94		81, 83		85, 101		
0.5	89, 90		85, 80		94, 95		



ภาพที่ 2 การสลายตัวของฟิโพรนิลในมะเขือเทศ

ตาราง 6 The storage stability testing of fipronil in tomatoes samples

Fortification level (mg/kg)	Storage interval (days)	Procedural recovery (%)	Residue in stored fortified sample (mg/kg)	Average residue remained (%)
0.10	0	101, 105	0.095, 0.104	100
0.10	30	111, 107	0.103, 0.100	102
0.10	60	93, 97	0.098, 0.091	95
0.10	90	94, 89	0.090, 0.102	96
0.10	120	99, 102	0.084, 0.088	86
0.10	150	101, 89	0.105, 0.088	97
0.10	180	90, 99	0.079, 0.082	81

สรุปผลการทดลอง

จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์พบว่าช่วงการใช้งานอยู่ที่ 0.01 – 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจสอบในเชิงคุณภาพ และปริมาณ มีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของสารฟิโพรนิลในมะเขือเทศ ตัวอย่างแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างแต่แปลงที่พ่น fipronil พบปริมาณสารพิษตกค้างในแต่ละแปลงทดลองที่ระยะเวลา 0, 2 ชม., 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้ายมีปริมาณสารพิษตกค้างลดต่ำลงเมื่อระยะเวลาการพ่นสารครั้งสุดท้ายยาวนานขึ้น และได้ประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งความเป็นพิษเฉียบพลันและความเป็นพิษเรื้อรังของแต่ละวันที่เก็บตัวอย่าง พบว่าระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายอยู่ที่ 3 วัน โดยจะนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากการทดลองนี้ไปเสนอเพื่อพิจารณากำหนดค่า PHI, Thai MRL, ASEAN MRL และ Codex MRL ต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลไปกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (Pre Harvest Interval; PHI) ตามอัตราการใช้ที่แนะนำ ซึ่งสามารถใช้เป็นคำแนะนำในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตรและเป็นคำแนะนำในฉลากวัตถุอันตรายทางการเกษตร
2. เสนอข้อมูลไปพิจารณากำหนดค่า Thai MRL, ASEAN MRL และ Codex MRL

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มพัฒนาเศรษฐกิจฐานราก. 2564. วิเคราะห์สถานการณ์เศรษฐกิจการค้าไทยรายภูมิภาค ประจำเดือน มิถุนายน 2564. กองนโยบายการสร้างความเข้มแข็งทางการค้า สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า. นนทบุรี. 7 หน้า.
- วรรณรีย์ คนขยัน. 2551. มะเขือเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ. 30 หน้า.
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2566. รายงานสถิติทางการเกษตร พืชอายุสั้น (รต.01). ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. สืบค้นจาก: <https://production.doae.go.th/site/login> [29 พฤษภาคม 2566].
- สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง พุทธิชาติ ปุณณวัฒน์ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และศรีจันทร์ ศรีจันทร์. 2564. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย...จากงานวิจัย ปี 2564. กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 280 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สถิติการค้าสินค้าการเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2564. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 162 หน้า.
- Bertil, M. and Ulf, O. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods -A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd Ed. Eurachem. 62 pp.
- EN 15662. 2018. Foods of Plant Origin-Multimethod for the determination of Pesticide Residues

Using GC and LC-based Analysis following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-Modular QuEChERS-Method. British Standards Institution: UK. 80 pp.

EU. 2024. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed, SANTE 11312/2021 v2. EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides. 51 pp.

FAO. 2016. Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed. Plant Production and Protection Paper 225. 3rd ed. FAO: Rome. 286 pp.

FAO/WHO. 2021. Codex Alimentarius: Pesticides Database Search. Retrieved October 25, 2024, from https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=269.

JMPR. 2013. Pesticide Residues in Food 2013. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Report 2013. FAO Plant Production and Protection Paper 219.

The SANTE 2021 guidelines, specifically document SANTE/11312/2021, outline the analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues in food and feed within the EU.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรด (tolfenpyrad) ในมะเขือเทศ
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
Pesticide Residue Trials of Tolfenpyrad in Tomatoes
to Establish Maximum Residue Limit (MRL)

วิชุดา ควรรหัตร์ ณัฐฐาพัสญ์ เทสสิริ ปิยะศักดิ์ อรรคบุตร
Wichuta Kuanhut Nattatapat Tessiri Piyasak Akcaboot

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

The aim of this research was to study on the fate of tolfenpyrad residues on tomatoes to establish Thai MRL. These experiments were conducted by method of pesticides using according to Good Agricultural Practices (GAP) and supervised trials under FAO guidelines. The six field trials were performed in Saraburi, Supan Buri, Nakhon Pathom, Phetchabuttri and Kanchanaburi Provinces during 2022-2024. The treated plot was sprayed with tolfenpyrad 16% W/V EC at recommended dose (test substance 20 mL/water 20 L) and 120 L/Rai of water to compare with an untreated plot (not sprayed). Each of trials was done 2 applications of spraying in every 5 days. Two samples were collected from each of plots at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days after the last application. The analysis of tolfenpyrad residues was performed by using QuEChERS method followed by LC-MS/MS. The tolfenpyrad residues were not detected in the untreated samples but it was found above the LOQ of 0.01 mg/kg in the treated samples. The 1st and 2nd field trials, tolfenpyrad levels were 0.23, 0.26, 0.25, 0.15, 0.16, 0.17, 0.08 and 0.12 mg/kg and 0.04, 0.05, 0.03, 0.03, 0.05, 0.03, 0.02 and 0.02 mg/kg, respectively, at 0, 1, 3, 5, 7, 14 and 21 days after the last application. Residue concentrations of tolfenpyrad for the 3rd and 4th field trials were present up to 0.25, 0.15, 0.14, 0.14, 0.15, 0.11, 0.06 and 0.05 mg/kg and 0.29, 0.26, 0.19, 0.22, 0.16, 0.18, 0.13 and 0.07 mg/kg, respectively. The 5th field trial, tolfenpyrad residues were 0.11, 0.09, 0.08, 0.03, 0.02, 0.02, 0.03 and 0.03 mg/kg, in the same way as residues in samples of the 6th field trial were 0.12, 0.13, 0.13, 0.11, 0.10, 0.06, 0.06 and 0.03 mg/kg. The residue data was estimated the short-term and long-term dietary intakes. It found that the 7 days after the last application was the Pre-Harvest Interval (PHI) for sufficient consumer safety.

Keywords: Tolfenpyrad; Tomato; Residue

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตกค้างของโทลเฟนไพเรต (tolfenpyrad) ในมะเขือเทศ เพื่อส่งข้อมูลไปกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างของประเทศไทย ได้ดำเนินการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรอย่างถูกต้องและปลอดภัย (Good Agricultural Practices: GAP) และวางแผนศึกษาสารพิษตกค้างตามคำแนะนำ (supervised trials) ของ FAO โดยทำแปลงทดลอง 6 แปลง ในจังหวัดสระบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม เพชรบุรี และกาญจนบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2565-2567 แต่ละแปลง ประกอบด้วย 2 แปลงย่อย คือ แปลงที่ไม่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร เป็นแปลงควบคุม และแปลงที่พ่นตามอัตราแนะนำ โดยพ่น tolfenpyrad 16% W/V EC ในอัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 2 ครั้ง ห่างกัน 5 วัน อัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ แล้วสุ่มเก็บ 2 ตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างโดยใช้เครื่อง LC-MS/MS พบว่า ตัวอย่างแปลงควบคุม ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง แต่แปลงที่พ่น tolfenpyrad พบปริมาณสารพิษตกค้างมากกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (LOQ) แปลงที่ 1 พบปริมาณสารพิษตกค้าง 0.23, 0.26, 0.25, 0.15, 0.16, 0.17, 0.08 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 2 พบ 0.04, 0.05, 0.03, 0.03, 0.05, 0.03, 0.02 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 3 พบ 0.25, 0.15, 0.14, 0.14, 0.15, 0.11, 0.06 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 4 พบ 0.29, 0.26, 0.19, 0.22, 0.16, 0.18, 0.13 และ 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงที่ 5 พบ 0.11, 0.09, 0.08, 0.03, 0.02, 0.02, 0.03 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงที่ 6 พบ 0.12, 0.13, 0.13, 0.11, 0.10, 0.06, 0.06 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ นำข้อมูลสารพิษตกค้างมาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งความเป็นพิษเฉียบพลันและความเป็นพิษเรื้อรัง พบว่า ที่ระยะเวลา 7 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย เป็นระยะที่ช่วงก่อนเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค

คำสำคัญ: โทลเฟนไพเรต; มะเขือเทศ; สารพิษตกค้าง

บทนำ

มะเขือเทศ (tomato) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Lycopersicon esculentum* Mill. จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae เป็นพืชผักตระกูลเดียวกับพริกและมะเขือ ปลูกได้ดีในดินร่วนเหนียวและดินร่วนทราย นิยมเพาะกล้าก่อนแล้วค่อยย้ายไปปลูกลงแปลง เริ่มออกดอกหลังปลูก 30-45 วัน เก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 70-90 วัน และเก็บเกี่ยวหมดใช้เวลา 4-5 เดือนนับจากเริ่มปลูก ปัจจุบันพันธุ์มะเขือเทศมีหลากหลายสายพันธุ์ พันธุ์ที่ขายในตลาดสด มีทั้งผลโต ผลเล็ก และเชอร์รี่ ส่วนพันธุ์ส่งโรงงานอุตสาหกรรม มีลักษณะทรงกลมและรี สุกพร้อมกันเป็นส่วนใหญ่ ผลสุกมีสีแดงจัดตลอดทั้งผล เนื้อมาก น้ำน้อย เปลือกหนาและเหนียว ผลแน่นและแข็ง สามารถขนส่งได้ระยะทางไกลๆ และเก็บไว้ได้นานโดยไม่เน่าเสีย (วรรณรีย์, 2551) การผลิตมะเขือเทศของประเทศไทย แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ การปลูกมะเขือเทศโรงงาน บริโภคสด และเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, 2566) มะเขือเทศจัดเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง นิยมปลูกและบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น บริโภคสด นำไปประกอบอาหาร และส่งโรงงานเพื่อนำไปแปรรูปได้อย่างกว้างขวาง เช่น น้ำมะเขือเทศ ซอสมะเขือเทศ มะเขือเทศแช่อิ่ม และมะเขือเทศอบแห้ง เป็นต้น ดังนั้นความต้องการของมะเขือเทศจึงมีตลอดทั้งปี การผลิตมะเขือเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยในปี 2565 มีเนื้อที่เก็บเกี่ยวทั้งหมด 37,192 ไร่ ผลผลิตรวม 133,954 ตัน คิดเป็นมูลค่าของผลผลิตเท่ากับ 3,001 ล้านบาท ซึ่งมูลค่าของผลผลิตมีค่าสูงขึ้นเกือบ 2 เท่า ขณะที่ขนาดพื้นที่เก็บเกี่ยวไม่ต่างจากเดิมมากนัก เมื่อเทียบกับปี 2566 มีเนื้อที่เก็บเกี่ยวทั้งหมด 29,412 ไร่ ผลผลิตรวม 105,967 ตัน คิดเป็นมูลค่าของผลผลิตเท่ากับ 1,730 ล้านบาท (สำนักงาน

เศรษฐกิจการเกษตร, 2566) เมื่อพิจารณาข้อมูลการนำเข้า-ส่งออกของมะเขือเทศในรูปแบบต่างๆ ปี 2563 - 2564 พบว่า ปี 2563 มีปริมาณนำเข้าทั้งหมด 27,538 ตัน คิดเป็นมูลค่า 800.18 ล้านบาท ส่วนปริมาณการส่งออกทั้งหมด 8,385 ตัน คิดเป็นมูลค่า 347.44 ล้านบาท ส่วนในปี 2564 มีปริมาณนำเข้าทั้งหมด 25,384 ตัน คิดเป็นมูลค่า 766.52 ล้านบาท มีปริมาณการส่งออก 9,880 ตัน คิดเป็นมูลค่า 380.49 ล้านบาท แสดงให้เห็นว่า ปริมาณและมูลค่าการส่งออกมะเขือเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าลดลง โดยส่งออกไปขายต่างประเทศในรูปแบบมะเขือเทศปรุงแต่งมากที่สุด รองลงมาคือ มะเขือเทศสดหรือแช่เย็น และน้ำมะเขือเทศ ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณนำเข้าก็ยังสูงกว่าปริมาณส่งออก เนื่องจากประสบปัญหาด้านราคาผลผลิตไม่แน่นอนและด้านการตลาด โดยเฉพาะมะเขือเทศบริโภคสด ตลาดจำหน่ายมะเขือเทศบริโภคสดยังมีน้อย และขาดการกระจายผลผลิตสู่ตลาดอื่นๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ รวมทั้งยังมีข้อจำกัดทางด้านการค้าของแต่ละประเทศ ตลาดการส่งออกค่อนข้างแคบ ตลาดส่งออกอยู่เฉพาะในภูมิภาคใกล้เคียง เช่น กัมพูชา เวียดนาม ญี่ปุ่น ลาว สิงคโปร์ และพม่า (กลุ่มพัฒนาเศรษฐกิจฐานราก, 2564) นอกจากนี้ การปลูกมะเขือเทศยังมีข้อจำกัดในเรื่องของสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศ ทำให้ปลูกได้ดีในบางฤดูและบางที่เท่านั้น หากสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศไม่เหมาะสม ทำให้เกิดการระบาดของโรคและแมลง ดังนั้น การผลิตมะเขือเทศจึงต้องมีกระบวนการผลิตอย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อลดความเสี่ยงต่อการสูญเสียผลผลิต ทำให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพตามมาตรฐาน สามารถแข่งขันกับตลาดโลกได้ โดยเฉพาะเรื่องการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชและศัตรูพืช ควรใช้ตามคำแนะนำให้เหมาะสมกับศัตรูพืช และไม่มีผลกระทบต่อศัตรูธรรมชาติ

โทลเฟนไพเรต (tolfenpyrad) จัดอยู่ในกลุ่ม pyrazole มีโครงสร้างดังแสดงใน Figure 1 เป็นสารป้องกันกำจัดแมลง (insecticide) และไร (miticide) ประเภทสัมผัส (contact activity) ที่ออกฤทธิ์กำจัดศัตรูพืชได้อย่างกว้างขวาง ใช้ได้ทั้งในผัก ผลไม้ ตระกูลถั่ว ไม้เลื้อย และพืชที่ปลูกเป็นแถว มีผลต่อวงจรชีวิตของแมลง โดยยับยั้งขบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย คอมเพล็กซ์ที่ 1 (Mitochondrial complex 1 electron transport inhibitors) ขัดขวางต่อการสร้างอาหาร (anti-feeding) ในระยะตัวหนอนของตระกูลผีเสื้อ ซึ่งสามารถช่วยป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ (*Liriomyza trifolii*) ในมะเขือเทศได้ (JMPR, 2014)

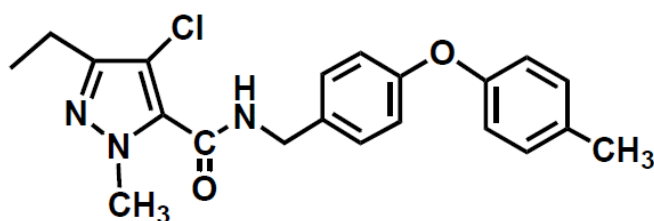


Figure 1 Chemical structure of tolfenpyrad (JMPR, 2014)

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในมะเขือเทศ วิเคราะห์ตามคำจำกัดความสารพิษตกค้างของโคเดกซ์ (Codex residue definition) คือ For compliance with the MRL and estimation of dietary intake for plant commodities: *Tolfenpyrad* (JMPR, 2014) เพื่อนำข้อมูลสารพิษตกค้างไปเสนอสำหรับพิจารณากำหนดค่า ASEAN MRL และ Codex MRL ซึ่งใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในส่งออกสินค้าระหว่างประเทศ ส่วนระยะทิ้งช่วงก่อนเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค (Pre Harvest Interval: PHI) ใช้เป็น

คำแนะนำในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร และระบุในฉลากวัตถุอันตรายทางการเกษตร ที่ขึ้นทะเบียน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นวัตถุพิษทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer)
2. เครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องบดตัวอย่าง เครื่องผสมตัวอย่าง เครื่องหมุนเหวี่ยง และตู้แช่แข็ง
3. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography equipped with Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) ยี่ห้อ Agilent Technologies, LC รุ่น 1290 infinity, MS/MS รุ่น 6460 Triple Quad และคอลัมน์ Kinetex 2.60 μm XB-C18 100 Å, size 100 x 2.10 mm
4. อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment; PPE) ได้แก่ ชุดป้องกันสารเคมี หมวกนิรภัย แว่นตานิรภัย หน้ากากกรองอากาศ หมวกคลุมผม ถุงมือยาง และรองเท้าบูท
5. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นแบบดิจิตอล เครื่องวัดความเร็วลม เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิดิน ที่วัดระดับน้ำ เครื่องบันทึกอุณหภูมิ กระดาษวัดค่า pH นาฬิกาจับเวลา และกระบอกตวงพลาสติกขนาด 1-2 ลิตร
6. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ปีกเกอร์ ขวดปริมาตร กระบอกตวง หลอดปั่น ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร ตัวกรอง ชนิด PTFE ขนาด 0.22 ไมครอนเมตร กระบอกฉีดยา ขวดสำหรับใส่สารละลายสกัดจากตัวอย่าง พร้อมฝาปิด (cap) อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลายระดับไมโครลิตร ชุดกรองสารละลายโมบายเฟส (filtration assembly) และแผ่นกรองสารละลายโมบายเฟส (membrane filter) ชนิด Nylon ขนาด 0.20 ไมครอนเมตร
7. วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้ คือ tolfeprad 16% W/V EC
8. สารมาตรฐานที่ใช้ คือ tolfeprad ความบริสุทธิ์ 100.00% และ 96.40%
9. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile, milli-Q water, anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4), sodium chloride (NaCl), tri-sodium citrate dihydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), primary secondary amine (PSA), carbon SPE bulk sorbent (GCB), ammonium formate (NH_4HCO_2), formic acid (HCO_2H) และไนโตรเจนเหลว

วิธีการ

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfeprad ในตัวอย่างมะเขือเทศจากแปลงทดลอง โดยวิธี QuEChERS method ตามมาตรฐาน EN 15662:2018 (CEN/TC 275, 2018) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง โดยการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (accuracy) ด้วยการหาร้อยละการกลับคืนของปริมาณสารพิษตกค้าง (%recovery) ให้อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับ และหาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ ด้วยการหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation: %RSD) โดยการเติมสารมาตรฐาน tolfeprad ลงในตัวอย่างมะเขือเทศที่ไม่มีสารพิษตกค้างที่ระดับความเข้มข้น 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ และที่ความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ และนำผลการวิเคราะห์มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample บนแกน x กับความเข้มข้นของค่าเฉลี่ยที่ตรวจวัดปริมาณได้จาก

เครื่องมือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บนแกน y โดยมีค่า coefficient of determination (R^2) ไม่น้อยกว่า 0.990 เพื่อหาช่วงของวิธีทดสอบ (working range) (Helen, 2025 และ EU, 2024)

2. การทดสอบความคงตัวของสาร (storage stability)

ทดสอบความคงตัวของสารพิษตกค้าง tolfe­npyrad ในมะเขือเทศ โดยการเติมสารมาตรฐาน tolfe­npyrad ลงในตัวอย่างมะเขือเทศที่ไม่มีสารพิษตกค้าง ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตรวจวิเคราะห์ที่ระยะเวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 วัน มีระยะเวลาการเก็บรักษาครอบคลุมช่วงการวิเคราะห์ตัวอย่าง โดยทำการสกัดตัวอย่าง ครั้งละ 2 ซ้ำ เพื่อหาร้อยละของปริมาณสารพิษตกค้างที่ยังคงเหลืออยู่ในมะเขือเทศ (%residue remained)

3. การทำแปลงทดลอง

ดำเนินการศึกษาสารพิษตกค้างตามคำแนะนำ (supervised trials) ของ FAO และใช้วัตถุดิบรายการทางการเกษตรอย่างถูกต้องและปลอดภัย (Good Agricultural Practices: GAP) (FAO, 2016)

3.1 สำรวจแปลงมะเขือเทศของเกษตรกร ได้แก่ พันธุ์สีดา และพันธุ์ท้อ เป็นต้น แต่ละแปลงมีระยะทางห่างกันไม่น้อยกว่า 32 กิโลเมตร หรือมีฤดูกาลผลิตแตกต่างกัน มะเขือเทศอายุประมาณ 60 วันขึ้นไป และจำนวนต้นมากกว่า 200 ต้น ต่อพื้นที่ของการทดลอง ให้ผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย เลือกพื้นที่ทำแปลงทดลองทั้งหมด จำนวน 6 แปลง รายละเอียดดังแสดงใน Table 1 แต่ละแปลงทดลองประกอบด้วย 2 แปลงย่อย คือ แปลงที่ไม่มีการพ่นวัตถุดิบรายการทางการเกษตร (untreated plot) ใช้เป็นแปลงควบคุม และแปลงที่พ่นวัตถุดิบรายการทางการเกษตรที่ทดลอง (treated plot) ตามอัตราแนะนำ

Table 1 Details of the trial plots

หมายเลขแปลง	สถานที่ทำแปลงทดลอง	ระยะเวลา	GPS
1	อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	มกราคมถึงกุมภาพันธ์ 2565	14°01'02.0"N 99°45'27.0"E
2	อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	มกราคมถึงกุมภาพันธ์ 2565	14°48'29.3"N 101°17'25.7"E
3	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	กุมภาพันธ์ถึงเมษายน 2566	14°33'52.1"N 100°06'39.5"E
4	อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	มีนาคมถึงพฤษภาคม 2566	12°47'15.8"N 99°55'05.6"E
5	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	มกราคมถึงมีนาคม 2567	13°47'45.6"N 99°29'57.2"E
6	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	กุมภาพันธ์ถึงเมษายน 2567	14°01'30.5"N 99°52'25.1"E

3.2 ปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

3.2.1 คำนวณอัตราการไหลของเครื่องพ่น (calibrated discharge rate) โดยทดลองพ่นและจับเวลา 1 นาที จำนวน 3 ครั้ง เพื่อคำนวณอัตราการไหลของเครื่องพ่น เวลาที่ใช้ในการพ่น (target time) และทดสอบจังหวะการเดินของผู้พ่น (speed calibration) เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอ

3.2.2 ตรวจสอบสภาพภูมิอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิและค่า pH ของน้ำ อุณหภูมิและความชื้นของอากาศ อุณหภูมิดิน เก็บดินเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ และวัดความเร็วลม

3.2.3 พ่น tolfe­npyrad 16% W/V EC ในอัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง แต่ละครั้ง ห่างกัน 5 วัน และอัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ สำหรับมะเขือเทศอายุมากกว่า 30 วันขึ้นไป (คิดเป็น 19.20 กรัมของสารออกฤทธิ์ต่อไร่) โดยใช้เครื่องพ่นวัตถุ­มี­พิษทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) ซึ่งแต่ละแปลงทดลองใช้วิธีการพ่นทางใบ (foliar application) (สุรราดาและคณะ, 2564) โดยในปี 2565 แปลงที่ 1 พ่นวันที่ 13 และ 18 มกราคม แปลงที่ 2 พ่นวันที่ 2 และ 7 กุมภาพันธ์ ใน

ปี 2566 แปลงที่ 3 พ่นวันที่ 11 และ 16 มีนาคม แปลงที่ 4 พ่นวันที่ 20 และ 25 เมษายน และในปี 2567 แปลงที่ 5 พ่นวันที่ 27 มกราคม และ 1 กุมภาพันธ์ แปลงที่ 6 พ่นในวันที่ 8 และ 13 มีนาคม

3.2.4 สุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 2 ตัวอย่าง จากแปลงทดลองทั้ง untreated plot และ treated plot ที่ระยะเวลา 0 วัน (หลังพ่นอย่างน้อย 2 ชั่วโมง) และที่ระยะเวลา 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างสุ่มเก็บอย่างน้อย 24 ผล และน้ำหนักต้องไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม บรรจุตัวอย่างในถุงพลาสติก ใช้ยางรัดให้แน่น แช่ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็ง เพื่อรักษาสภาพของตัวอย่าง และใส่เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) ลงไปในกล่องโฟม สำหรับบันทึกอุณหภูมิตัวอย่าง แล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง

3.2.5 สกัดสารพิษตกค้างในตัวอย่าง โดยวิธี QuEChERS method ตามมาตรฐาน EN 15662:2018 (CEN/TC 275, 2018) ดังนี้

1) ชั่งตัวอย่างมะเขือเทศปั่นละเอียด ตัวอย่างละ 10 ± 0.10 กรัม ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร (ถ้ามีการศึกษา %recovery ให้เติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างในขั้นตอนนี้) แล้วเติม acetonitrile จำนวน 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer 1 นาที

2) เติม anhydrous magnesium sulfate 4.00 กรัม sodium chloride 1.00 กรัม tri-sodium citrate dihydrate 1.00 กรัม และ di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate 0.50 กรัม ลงในตัวอย่าง ปิดฝาแล้วเขย่าทันทีด้วย vortex mixer 1 นาที

3) นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm นาน 5 นาที

4) กำจัดสิ่งปนเปื้อน (dispersive-SPE clean up) โดยใช้ micropipette ดูดสารละลายส่วนใส (ส่วนบน) ของตัวอย่างจำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร เติม primary secondary amine 0.125 กรัม anhydrous magnesium sulfate 0.750 กรัม และ carbon SPE bulk sorbent 0.038 กรัม ปิดฝาแล้วเขย่าทันทีด้วย vortex mixer 30 วินาที

5) นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm นาน 5 นาที

6) กรองสารละลายส่วนใส (ส่วนบน) ผ่าน syringe ที่ต่อกับ PTFE syringe filter ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ใส่ลงในขวด autosampler vial แล้วจึงนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfeprad ในตัวอย่างมะเขือเทศด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยตั้งสภาวะเครื่อง LC-MS/MS ดังแสดงใน Table 2-3

3.2.6 เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายที่สกัดจากตัวอย่างมะเขือเทศที่ไม่มีสารพิษตกค้าง tolfeprad (matrix) แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานใน matrix บนแกน x หน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กับสัญญาณจากเครื่องมือ (responses) คำนวณจากพื้นที่ใต้พีค (peak area) ของสารบนแกน y โดยค่า coefficient of determination (R^2) ไม่น้อยกว่า 0.990 สำหรับใช้ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐาน ซึ่งพีคของ tolfeprad ขึ้นที่ระยะเวลาประมาณ 3.18 นาที (Retention Time: RT) ดังแสดงใน Figure 2

Table 2 LC conditions

LC Parameter	Condition
Injection volume (µL)	2
Column type	Kinetex 2.60 µm XB-C18 100 Å, size 100 x 2.10 mm
Column temperature (°C)	40
Mobile phase flow rate (mL/min)	0.40
Total run time (min)	14.00
Post time (min)	1

A: 5 mM ammonium formate in water + 0.01% formic acid (%)			B: acetonitrile (%)
Time (min)			
0	95		5
2.50	5		95
9.00	5		95
10.00	50		50
12.00	50		50
13.00	95		5
14.00	95		5

Table 3 MS conditions

MS QQQ Parameter	Condition
Ion source	ESI, positive mode
Gas temperature (°C)	350
Gas flow rate (L/min)	10
Nebulizer (psi)	45
Sheath gas heater (°C)	300
Sheath gas flow (L/min)	10
Capillary (V)	3,500
VCharging	500
Delta EMV	400

Compound name	Precursor ion	Product ion	Dwell time	Fragment or (V)	Collision energy (V)	Cell accelerator voltage (V)
tolfenpyrad	384.2	197	70	120	26	4
	384.2	171	70	120	22	4
	384.2	154.1	70	120	46	4

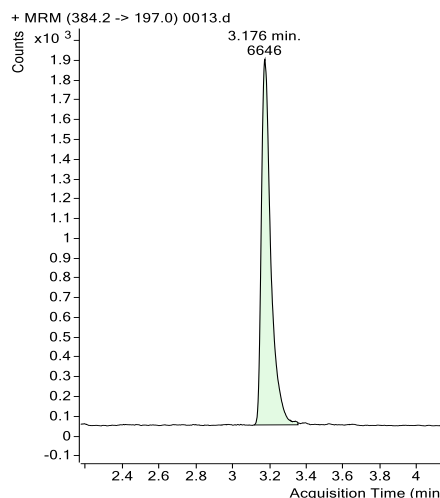


Figure 2 Tolfenpyrad chromatographic peak analyzed by LC-MS/MS at 0.01 µg/mL in matrix

ระยะเวลา

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 และสิ้นสุดเดือนกันยายน 2567 รวมระยะเวลา 3 ปี

สถานที่ทำการทดลอง

- 1) แปลงทดลองของเกษตรกรจังหวัดสระบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม เพชรบุรี และกาญจนบุรี
- 2) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารละลายมาตรฐานใน matrix (Table 4) พบว่า recovery ทั้งหมด ได้ 71-110% อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 70-120% และ RSD ได้ 2-15% อยู่ในช่วงเกณฑ์การการยอมรับที่ $\leq 20\%$ ตามคำแนะนำใน SANTE/11312/2021 v2 (EU, 2024) โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection: LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และความเข้มข้นต่ำสุดของสารวิเคราะห์ที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ ซึ่งมีความถูกต้องและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ (Limit of Quantitation: LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำผลการวิเคราะห์มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample บนแกน x กับความเข้มข้นที่ตรวจวัดปริมาณได้จากเครื่องมือบนแกน y จึงได้ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นช่วงของวิธีทดสอบ (working range) และมีความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยมีค่า coefficient of determination (R^2) เท่ากับ 0.999 ดังแสดงใน Figure 3 (Helen, 2025) จึงสามารถยืนยันผลการทดสอบได้ว่า วิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้อง มีความเที่ยงตรง และมีความน่าเชื่อถือในแต่ละครั้งที่ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfenpyrad ในตัวอย่างมะเขือเทศ

Table 4 Recoveries (%) and RSD (%) of tolfe­n­py­rad in tomatoes at various fortification levels

Fortification level (mg/kg)	Recovery (%) (N=7 or 10)	%Average recovery±SD	%RSD ¹
0.005 (LOD)	78, 80, 81, 84, 86, 87, 88, 89, 89, 94	86±4.8	6
0.01 (LOQ)	72, 77, 77, 78, 79, 80, 83, 83, 85, 87	80±4.5	6
0.02	71, 74, 75, 76, 78, 83, 84	77±4.8	6
0.05	71, 71, 72, 76, 77, 77, 101	78±10.6	14
0.10	73, 75, 76, 80, 82, 83, 110	83±12.8	15
0.20	78, 78, 80, 81, 82, 82, 83	81±1.9	2
0.50	79, 80, 80, 82, 85, 86, 87	83±3.2	4

^{1/} Relative Standard Deviation

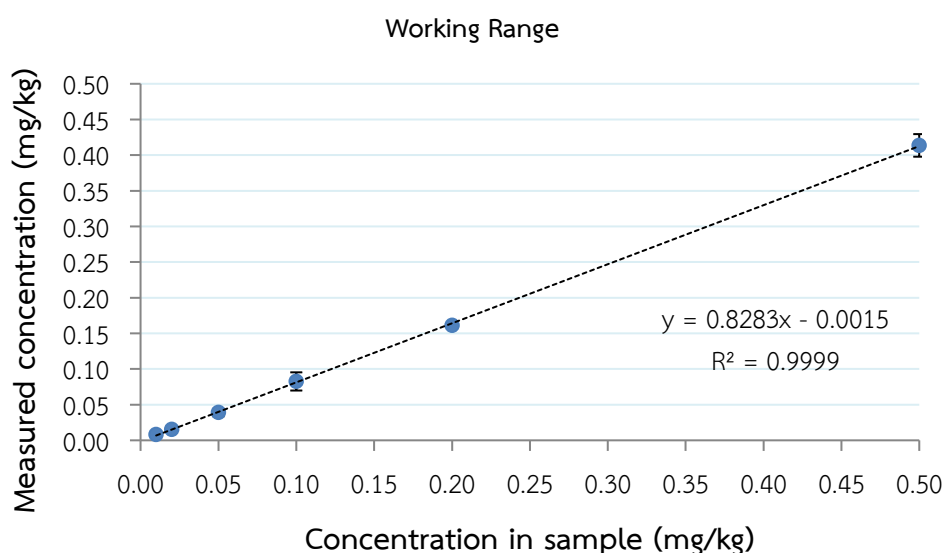


Figure 3 The curve obtained with a measurement procedure where the fortified concentrations are plotted versus measured concentrations

2. ผลการทดสอบความคงตัวของสาร

จากผลการทดสอบความคงตัวของ tolfe­n­py­rad ในมะเขือเทศ (Table 5) พบว่า %residue remained เท่ากับ 85, 84, 82, 86, 96, 96 และ 92 ที่ระยะเวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 วัน นับจากวันที่เติมสารลงในมะเขือเทศ ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงยอมรับ 70-120% ดังนั้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษค้าง tolfe­n­py­rad ยังมีความคงสภาพอยู่ เป็นส่วนสนับสนุนผลการทดลองให้มีความน่าเชื่อถือ

Table 5 Storage stability resulting

Fortification level (mg/kg)	Storage interval (days)	Procedural recovery (%)	Residue in stored fortified sample (mg/kg)	Average residue remained (%)
0.10	0	79, 84	0.085, 0.084	85
0.10	30	92, 96	0.088, 0.080	84
0.10	60	87, 91	0.084, 0.081	82
0.10	90	79, 103	0.090, 0.082	86
0.10	120	94, 95	0.084, 0.108	96
0.10	150	96, 101	0.095, 0.098	96
0.10	180	99, 99	0.091, 0.093	92

3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างจากแปลงทดลอง

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง tolfeprad ในมะเขือเทศ (Table 6) พบว่า ตัวอย่างจากแปลงที่ไม่มีการพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร (untreated plot) หรือแปลงควบคุม ทั้ง 6 แปลงทดลอง ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง และตัวอย่างจากแปลงที่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ทดลอง (treated plot) ตามอัตราแนะนำ แปลงทดลองที่ 1 พบปริมาณสารพิษตกค้าง tolfeprad ในมะเขือเทศเท่ากับ 0.23, 0.26, 0.25, 0.15, 0.16, 0.17, 0.08 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 2 พบ 0.04, 0.05, 0.03, 0.03, 0.05, 0.03, 0.02 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 3 พบ 0.25, 0.15, 0.14, 0.14, 0.15, 0.11, 0.06 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 4 พบ 0.29, 0.26, 0.19, 0.22, 0.16, 0.18, 0.13 และ 0.07 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับแปลงทดลองที่ 5 พบ 0.11, 0.09, 0.08, 0.03, 0.02, 0.02, 0.03 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงทดลองที่ 6 พบ 0.12, 0.13, 0.13, 0.11, 0.10, 0.06, 0.06 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ตามลำดับ แต่ละแปลงที่วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างมะเขือเทศ มีการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ (Quality Assurance : QA) ด้วยการเติมสารมาตรฐาน tolfeprad ลงในตัวอย่างมะเขือเทศที่ไม่มีสารพิษตกค้างที่ความเข้มข้นระดับ 0.01 (LOQ), 0.05 และ 0.50 ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ แล้วหาค่าร้อยละการกลับคืนของปริมาณสารพิษตกค้าง (%concurrent recovery) ผลการวิเคราะห์ ดังแสดงใน Table 7 พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มี %concurrent recovery เท่ากับ 74, 76, 77, 79, 81, 83, 84, 87, 91, 94, 99 และ 113 ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มี %concurrent recovery เท่ากับ 75, 78, 81, 83, 97, 98, 100, 102, 105, 108, 114 และ 117 และที่ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มี %concurrent recovery เท่ากับ 75, 80, 81, 83, 84, 84, 84, 87, 93, 94, 102 และ 103 ซึ่งทั้งหมดอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ 70-120%

Table 6 Residues resulting from supervised trials on tomatoes at the days after last application

Days after last application	Untreated Plot ²	Average residue of tolfenpyrad (mg/kg)					
		Treated plot					
		Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5	Trial 6
0 ¹	ND ³	0.23	0.04	0.25	0.29	0.11	0.12
1	ND	0.26	0.05	0.15	0.26	0.09	0.13
3	ND	0.25	0.03	0.14	0.19	0.08	0.13
5	ND	0.15	0.03	0.14	0.22	0.03	0.11
7	ND	0.16	0.05	0.15	0.16	0.02	0.10
10	ND	0.17	0.03	0.11	0.18	0.02	0.06
14	ND	0.08	0.02	0.06	0.13	0.03	0.06
21	ND	0.12	0.02	0.05	0.07	0.03	0.03

^{1/} approximately two hours after last application on the day

^{2/} trials 1-6

^{3/} ND = Not detected

Table 7 %Concurrent recoveries

Field trial no.	Concurrent recovery (%)		
	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.50 mg/kg
1	76, 77	75, 78	75, 81
2	81, 84	81, 83	80, 87
3	87, 91	97, 98	84, 84
4	94, 99	100, 108	93, 94
5	83, 113	114, 117	102, 103
6	74, 79	102, 105	83, 84

เมื่อนำผลการวิเคราะห์ที่ได้นี้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้าง tolfe npyrad กับระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ดังแสดงใน Figure 4 จะเห็นว่า ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างมะเขือเทศทั้ง 6 แปลงทดลอง มีแนวโน้มค่อยๆ ลดลงหรือเกิดการสลายตัวของสารพิษตกค้างเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น

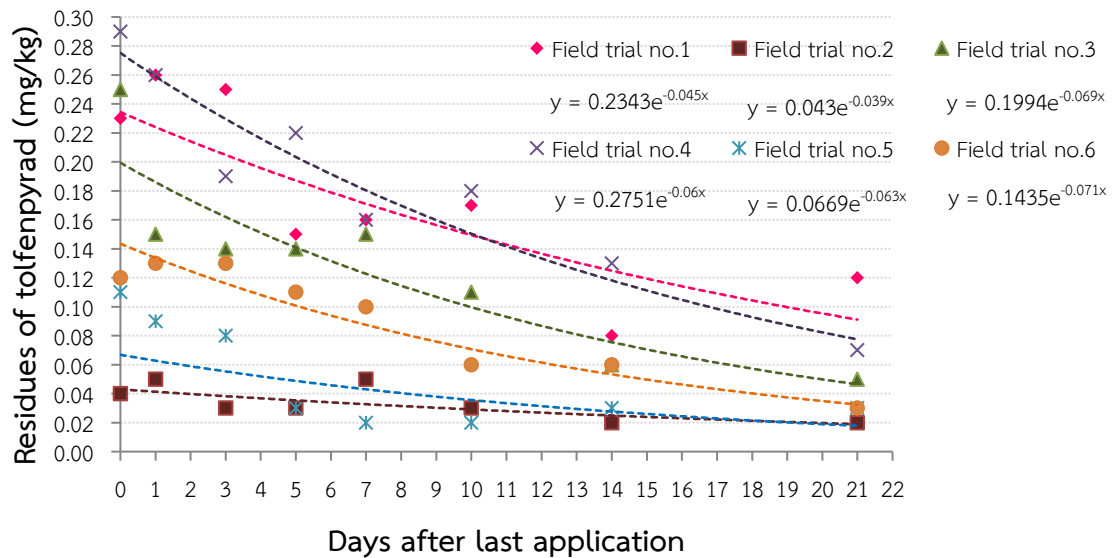


Figure 4 Residue decline curve of tolfenpyrad in tomatoes at the days after last application

เมื่อพิจารณาค่า Thai MRL ของ tolfenpyrad ในมะเขือเทศ กำหนดไว้ในกลุ่มมะเขือเทศ (รวมทั้งมะเขือเทศเชอร์รี่) เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2568) ส่วนค่า Codex MRL กำหนดไว้ในกลุ่มย่อยพริกและสินค้าเกษตรที่คล้ายพริก (peppers; subgroup) เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (FAO/WHO, 2021) และประเทศญี่ปุ่น กำหนดค่า MRL ของ tolfenpyrad ในผักบรีโศก ผลนอกเหนือจากตระกูลแตง ได้แก่ มะเขือเทศ พริก และมะเขือ (Other cucurbitaceous vegetables) เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (The Japan Food Chemical Research Foundation, 2017) ถ้าใช้ค่า Thai MRL ในการอ้างอิง เพื่อหาระยะทิ้งช่วงก่อนเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค พบว่า ที่ระยะเวลา 7 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย มีปริมาณสารพิษตกค้างน้อยกว่า 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทุกแปลงทดลอง และได้นำปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ระยะเวลา 7 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย มาคำนวณหาค่าสารพิษตกค้างสูงสุด (Highest Residue: HR) และค่ามัธยฐานสารพิษตกค้าง (Supervised Trial Median Residue: STMR) โดยใช้โปรแกรม OECD MRL calculator แล้วนำค่า HR กับค่า STMR มาประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งการได้รับสารระยะสั้นหรือความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute Reference Dose: ARfD) และระยะยาวหรือความเป็นพิษเรื้อรัง (Acceptable Daily Intake: ADI) โดยใช้โปรแกรม IESTI และ IEDI เทียบกับค่าอ้างอิงในรายงานของ JMPR ซึ่งระบุค่า ARfD เท่ากับ 0.01 mg/kg bw และ ADI เท่ากับ 0-0.006 mg/kg bw เมื่อทำการประเมินแล้วจะอยู่ในรูปของเปอร์เซ็นต์ หากมีค่าน้อยกว่า 100% หมายถึง ปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่าง ปลอดภัยต่อผู้บริโภค (JMPR, 2014 และ FAO, 2016) จากผลการประเมินพบว่า ค่า ADI เท่ากับ 3% ส่วนค่า ARfD เท่ากับ 20% สำหรับประชากรทั่วไปและผู้หญิง และ 60% สำหรับเด็ก ซึ่งน้อยกว่า 100% ดังนั้น ที่ระยะเวลา 7 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย เป็นระยะทิ้งช่วงก่อนเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค (Pre Harvest Interval: PHI) ซึ่งข้อมูลนี้ จะนำไปเสนอต่อคณะกรรมการวิชาการพิจารณาสินค้าเกษตร สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เพื่อนำไปพิจารณากำหนดค่า ASEAN MRL และ Codex MRL ต่อไป ส่วนค่า PHI ใช้เป็นคำแนะนำในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร และเป็นคำแนะนำในฉลากวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ขึ้นทะเบียน

สรุปผลการทดลอง

วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรต (tolfenpyrad) ในมะเขือเทศ มีค่า LOD เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ช่วงของวิธีทดสอบ 0.01-0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และความคงตัวของสารพิษตกค้าง tolfe pyrad ในมะเขือเทศ สารยังมีความคงสภาพอยู่ในตัวอย่างครอบคลุมระยะเวลาเก็บตัวอย่าง 6 เดือน สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างโทลเฟนไพเรต (tolfenpyrad) ในมะเขือเทศ ได้ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างทั้งหมด 6 ชุดการทดลอง ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ตัวอย่างจากแปลงควบคุม ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ส่วนตัวอย่างจากแปลงที่พ่น tolfe pyrad มีปริมาณสารพิษตกค้างค่อยๆ ลดลง เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น และที่ระยะเวลา 7 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย ทุกแปลงทดลอง มีปริมาณสารพิษตกค้างน้อยกว่าค่า Thai MRL (0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และผลการประเมินความเสี่ยงจากการบริโภคทั้งความเป็นพิษเฉียบพลันและความเป็นพิษเรื้อรังน้อยกว่า 100% ดังนั้น ที่ระยะเวลา 7 วัน หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย จึงเป็นระยะที่ช่วงก่อนเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค อย่างไรก็ตามข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากการทดลองนี้ จะนำเสนอเพื่อพิจารณากำหนดค่า ASEAN MRL และ Codex MRL ต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลไปกำหนดระยะทิ้งช่วงก่อนเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค (Pre Harvest Interval: PHI) ตามอัตราการใช้ที่แนะนำ ซึ่งสามารถใช้เป็นคำแนะนำในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร และเป็นคำแนะนำในฉลากวัตถุอันตรายทางการเกษตร
2. เสนอข้อมูลไปพิจารณากำหนดค่า ASEAN MRL และ Codex MRL

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มพัฒนาเศรษฐกิจฐานราก. 2564. *วิเคราะห์สถานการณ์เศรษฐกิจการค้าไทยรายภูมิภาค ประจำเดือน มิถุนายน 2564*. นนทบุรี : กองนโยบายการสร้างเสริมความเข้มแข็งทางการค้า สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า.
- วรรณรีย์ คนขยัน. 2551. *มะเขือเทศ*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร.
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2566. *รายงานสถิติทางการเกษตร พืชอายุสั้น (รต.01)*. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. แหล่งข้อมูล <https://production.doae.go.th/site/login>. สืบค้น: 29 พฤษภาคม 2566.
- สุรราดา สุนธาริรมย์ ณ พัทลุง, พฤทธิชาติ ปุณวัฒโท, เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, และศรีจันทร์ ศรีจันทร์. 2564. *เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย... จากงานวิจัย ปี 2564*. กรุงเทพฯ : กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2568. *มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002 – 2568 สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด*. กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สถิติการค้าสินค้าการเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2564. กรุงเทพฯ : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2565. กรุงเทพฯ : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- CEN/TC 275, 2018. *EN 15662:2018 - Foods of Plant Origin-Multimethod for the Determination of Pesticide Residues using GC- and LC-based Analysis following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-Modular QuEChERS-Method*. UK : BSI Standards Limited.
- EU. 2024. *Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed, SANTE 11312/2021 v2*. EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides.
- FAO. 2016. Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed. *Plant Production and Protection Paper 225*. 3rd ed. Rome : FAO.
- FAO/WHO. 2021. Codex Alimentarius: Pesticides Database Search. Available at: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=269. Assessment: October 25, 2024.
- Helen, C. 2025. *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 3rd Ed. Eurachem.
- JMPR. 2014. Pesticide Residues in Food 2013. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Report 2013. *FAO Plant Production and Protection Paper 219*. Rome : FAO.
- The Japan Food Chemical Research Foundation. 2017. Maximum Residue Limits (MRLs) List of Agricultural Chemicals in Foods. Available at: https://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=46800. Assessment: October 25, 2024.

วิจัยพัฒนาประสิทธิภาพสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสำเร็จรูปสารกำจัดศัตรูพืช
จากสะเดา+ว่านน้ำด้วยนาโนเทคโนโลยี เพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก

The development and efficacy of mixed neem
(*Azadirachta indica* A. Juss) and sweet flag (*Acorus Calamus* L.) extract
nanoemulsion formulation for controlling diamondback moth
(*Plutella xylostella* L.)

สุทธิดา เงินเรืองโรจน์ ลักษมี เดชานุรักษ์นุกุล ธิตติยาภรณ์ อุดมศิลป์ พจนีย์ หน่อฝั้น

Suthisa Ngoenrueangrot Laksamee Dachanuraknukul

Thitiyaporn Udomsilp Poachanee Norfun

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Nanotechnology is used to develop plant extracts into product formulas to increase efficiency in pest control. This study investigated the impact on nanoemulsion preparation, including ratios of surfactant, co-surfactant, and the physical and chemical stability of the formulated product. The study found that the optimized formula consisted of 60% (v/v) mixed extract, 20% (v/v) surfactant, and 20% (v/v) water, which provided the mean particle size of 89.5 nm, more physically stable, maintained homogeneous emulsion, indicated for stability under accelerated conditions at 25°C and 54°C. The efficiency of the formulated product against the diamondback moth larvae was determined with a leaf-dipping method at the rate of 10-80 ml in 20 L of water, it was found that the mixed extract formula and the nanoemulsion formula were effective for controlling diamondback moth larvae under the laboratory conditions. This study demonstrated to provide alternative options for farmers to reduce agrochemicals and their impact on the environment. In addition, it uses resources to achieve maximum performance.

Keywords: Neem; *Acorus Calamus*; Nanoemulsion; *Plutella xylostella* L.; Chinese kale

บทคัดย่อ

การนำสารสกัดพืชมาพัฒนาเป็นสูตรผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยใช้นวัตกรรมนาโนเทคโนโลยีในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ผสมสารสกัดสะเดาและว่านน้ำนาโนอิมัลชันเพื่อป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมสูตรผลิตภัณฑ์ในรูปแบบนาโนอิมัลชัน ได้แก่ อัตราส่วนที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิว การลดขนาดอนุภาคของสารให้อยู่ในระดับนาโน และความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสูตรผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาพบว่าสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาว่านน้ำนาโนอิมัลชันประกอบด้วยสารสกัดผสมสะเดาว่านน้ำร้อยละ 60 โดยปริมาตร สารลดแรงตึงผิวร้อยละ 20 โดยปริมาตร และน้ำร้อยละ 20 โดยปริมาตร มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 89.5 นาโนเมตร มีความคงตัวดี ไม่เกิดการแยกชั้นในสภาวะเร่งที่ 54 องศาเซลเซียส สามารถกระจายตัวในน้ำได้ดี เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาว่านน้ำนาโนอิมัลชันต่อหนอนใยผักวัย 2 ด้วยวิธีจุ่มใบในอัตราส่วน 10-80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบว่าสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาว่านน้ำนาโนอิมัลชันมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้ดีในสภาพห้องปฏิบัติการ การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาว่านน้ำนาโนอิมัลชันเป็นการเพิ่มทางเลือกให้แก่เกษตรกรเพื่อลดการใช้สารเคมี ลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเป็นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

คำสำคัญ: สะเดา; ว่านน้ำ; นาโนอิมัลชัน; หนอนใยผัก; คენ้ำ

บทนำ

การใช้สารสกัดพืชเพื่อเป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช เป็นการช่วยลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ และลดสารพิษตกค้างในผลผลิตทางการเกษตร ทำให้ปลอดภัยกับผู้บริโภคและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังสนับสนุนการผลิตสินค้าเกษตรปลอดภัย ซึ่งการใช้สารสกัดจากพืชเพียงชนิดเดียวในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้นอาจจะได้ผลดีเท่าที่ควร เนื่องจากสารสกัดพืชแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน บางชนิดออกฤทธิ์ไล่แมลง บางชนิดยับยั้งการกินอาหารของแมลง บางชนิดยับยั้งการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ของแมลง เป็นต้น พืชที่นิยมนำมาสกัดเป็นพืชที่สามารถหาได้ง่าย และมีประสิทธิภาพ ได้แก่ สารสกัดจากสะเดา (*Azadirachta indica*) มีสารอาซาดีเรชติน (azadirachtin) เป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการเป็นสารฆ่าแมลง ยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง โดยทำให้หนอนไม่ลอกคราบและตายในระยะลอกคราบ สารออกฤทธิ์ยังมีผลต่อการสร้างฮอร์โมน ทำให้แมลงมีการผลิตไข่และการฟักไข่ลดน้อยลง (ขวัญชัย, 2542, อัญชลี และคณะ, 2543) สารสกัดจากเหง้าว่านน้ำ (*Acorus calamus*) มีสารสำคัญคือ เบต้า-อาซาโรน (β -asarone) มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น มีฤทธิ์เป็นสารขับไล่ (Yao et al., 2008, Bjornstad et al., 2009) มีฤทธิ์เป็นสารฆ่าสารยับยั้งการเจริญเติบโต (Tewary et al., 2005) และสารยับยั้งการวางไข่ (Shukla et al., 2009) การนำสารสกัดจากพืชหลายชนิดร่วมกันอาจจะช่วยให้ประสิทธิภาพในการป้องกันศัตรูพืชเพิ่มขึ้นหรือเป็นการช่วยลดข้อด้อยของการใช้สารสกัดจากพืชเพียงชนิดเดียว ซึ่งมีงานวิจัยที่นำสารสกัดพืชผสมมาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ผสมสารสกัดทางไหลและน้ำมันสะเดาในการควบคุมตัวอ่อนเพลี้ยไฟ และให้ผลประสิทธิภาพดีกว่าการใช้สารสกัดพืชเพียงชนิดเดียว (มันทนา และคณะ, 2548) ศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สูตรผสมสารสกัดว่านน้ำ สะเดา และทางไหล ในอัตราส่วนต่างๆ มีแนวโน้มที่ดีในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก (พรรณีภา และคณะ, 2558) แต่ในการใช้สารสกัดจากพืชในการควบคุมศัตรูพืชยังมีปัญหาเรื่องของการคงตัวของสารสำคัญ สารสามารถสลายตัวได้ง่าย ซึ่งส่งผลทำให้ประสิทธิภาพสารสกัดลดลง ในปัจจุบันมีเทคโนโลยีนาโนมาช่วยกักเก็บสารสำคัญในสารสกัดพืชในรูปนาโนอิมัลชัน เพื่อให้มีความคงตัวสูง นาโนอิมัลชัน (nanoemulsion)

ประกอบด้วยอนุภาคน้ำมันขนาดเล็กระหว่างส่วนผสมที่ประกอบด้วยน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และน้ำ มีข้อดีคือมีความกระจายแขวนลอยในวัฏภาคน้ำดีกว่าอิมัลชันที่ประกอบด้วยอนุภาคน้ำมันขนาดใหญ่ สารมีความคงตัวสูงและดูดซึมได้ดี งานวิจัยที่มีการพัฒนาสูตรสารสกัดพืชในรูปนาโนอิมัลชัน โดยพัฒนาผลิตภัณฑ์อิมัลชันเข้มข้นจากสารสกัดยาสูบและทดสอบประสิทธิภาพต่อเพลี้ยอ่อน (หทัยกาญจน์ และคณะ, 2558) การเตรียมผลิตภัณฑ์สารสกัดน้ำมันโจโจบา กระเทียมและฟักทองในรูปแบบของนาโนอิมัลชัน โดยทดสอบประสิทธิภาพของอิมัลชันต่อหนอนกระทู้ดำ (Elbadawy et al., 2019) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์นาโนอิมัลชันจากสารสกัดพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารให้ได้ผลที่ดียิ่งขึ้น สารสำคัญมีความเสถียร เพิ่มการดูดซึม และนอกจากนี้ยังได้ผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีความหลากหลายมากขึ้น สะดวกต่อการใช้งาน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดในสะเดาและเหง้าवानน้ำ
2. สารเคมี ได้แก่ สารมาตรฐาน azadirachtin, สารมาตรฐาน β -asarone, Ethoxylated sorbitan monostearate, Ethoxylated sorbitan monolaurate, Sorbitan Stearate, methanol, hexane, acetone
3. เครื่องแก้ว ได้แก่ ปีกเกอร์, ขวดกั่นกลม, ขวดแก้วใส, กระบอกตวง, กรวยกรอง, ขวดวัดปริมาตร, ปิเปตต์
4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง, เครื่องบดตัวอย่าง, ตู้อบตัวอย่าง, เครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator), เครื่องวัดอนุภาค (particle analyzer), เครื่องปั่นผสมสารความเร็วสูง (homogenizer), เครื่องวัด pH, เครื่อง (HPLC) และเครื่อง (GC-MS)
5. อุปกรณ์ทดสอบประสิทธิภาพ ได้แก่ ถาดสแตนเลส, พู่กัน, คีมคีบ, กระดาษกรอง และกล่องพลาสติก

วิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดหยาบสะเดาและवानน้ำ
นำเมล็ดในสะเดาผึ่งให้แห้งและนำไปบดให้ละเอียด สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและตามด้วยตัวทำละลายเมทานอลตามลำดับ ในอัตราส่วน 1:8 กรองแยกกาก และนำสารสกัดที่ได้ไปลดปริมาตรด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันจนได้สารสกัดหยาบสะเดา นำสารสกัดหยาบสะเดาเก็บไว้ในขวดแก้วที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำเหง้าवानน้ำล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง นำไปสับให้ละเอียดและสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (hydrodistillation) หลังจากนั้นนำน้ำมันที่ได้ เก็บในขวดแก้วที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
2. วิเคราะห์หาปริมาณ azadirachtin ในสารสกัดหยาบสะเดา และปริมาณ β -asarone ในสารสกัดवानน้ำ
ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ azadirachtin ในสารสกัดหยาบสะเดา ด้วยเทคนิค HPLC วิเคราะห์หาปริมาณ β -asarone ในสารสกัดवानน้ำด้วยเทคนิค GC-MS
3. เตรียมสูตรผลิตภัณฑ์สะเดาवानน้ำนาโนอิมัลชัน
3.1 ศึกษาอัตราส่วนผสมของวัฏภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิวและวัฏภาคน้ำ
ศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัฏภาคน้ำมันซึ่งประกอบด้วยสารสกัดสะเดา สารสกัดवानน้ำ และสารลดแรงตึงผิว และวัฏภาคน้ำ โดยเทวัฏภาคน้ำลงในวัฏภาคน้ำมัน พร้อมปั่นผสมด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ สังเกตการคงตัวและการละลายของส่วนผสม เช่น การแยกชั้น การตกตะกอนของส่วนผสม และทดสอบการกระจายตัวในน้ำของแต่ละอัตราส่วน เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาवानน้ำนาโนอิมัลชัน

3.2 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (mean particle size) และค่าศักย์ซีต้า (zeta-potential) วิเคราะห์ขนาดอนุภาคเฉลี่ยและค่าศักย์ซีต้า โดยใช้เทคนิค dynamic light scattering (DLS) ด้วยเครื่อง Zetasizer Ultra ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.3 ทดสอบความคงตัวของสูตรผลิตภัณฑ์สะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน

3.3.1 ทดสอบความคงตัวทางกายภาพ โดยนำสูตรผลิตภัณฑ์ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที, 2 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน สังเกตลักษณะทางกายภาพ การแยกชั้น การตกตะกอน และการกระจายตัวของสูตรผลิตภัณฑ์ในน้ำ ถ้าไม่เกิดการแยกชั้นหรือการตกตะกอนแสดงว่าอิมัลชันมีความคงตัว วัดความหนาแน่น และวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัด pH ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.3.2 ทดสอบความคงตัวทางเคมีของสูตรผลิตภัณฑ์ โดยนำสูตรผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการเตรียมตามอัตราส่วนที่เหมาะสม และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน นำมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ azadirachtin ด้วยเทคนิค HPLC และ β -asarone ด้วยเทคนิค GC-MS

4. ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันต่อหนอนใยผัก

ทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันต่อหนอนใยผัก วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี โดยมีผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 6 กรรมวิธี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน อัตรา 25 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน อัตรา 35 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน อัตรา 70 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 น้ำ (กรรมวิธีควบคุม)

นำผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันมาทดสอบฤทธิ์กับหนอนใยผักวัยที่ 2-3 โดยวิธีการจุ่มใบพืช (Leaf dipping method) ดำเนินการโดยตัดใบผักคะน้าเป็นวงกลม จุ่มลงในสารตามกรรมวิธีต่าง ๆ จากนั้นนำไปใส่ในกล่องพลาสติกสำหรับทดสอบ ทำการปล่อยหนอนใยผักกล่องละ 10 ตัว ในแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลการทดลอง โดยตรวจนับจำนวนการตายของหนอนใยผักที่ 24, 48 72 และ 96 ชั่วโมง หลังการทดลองตามลำดับหาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ
กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมสารสกัดหยาบสะเดาและว่านน้ำ

เมื่อนำเมล็ดในสะเดาสกัดด้วยตัวทำละลาย จะได้สารสกัดหยาบสะเดามีลักษณะสารละลายสีดำ มีความข้นหนืด โดยปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้คิดเป็นร้อยละ 25 % v/w เมื่อนำเหง้าว่านน้ำสกัดด้วยวิธี hydrodistillation ได้น้ำมันสีเหลืองใส โดยปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้คิดเป็นร้อยละ 1.2 % v/w

2. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ azadirachtin ในสารสกัดหยาบสะเดา และปริมาณ β -asarone ในสารสกัดว่านน้ำ

นำตัวอย่างสารสกัดหยาบสะเดาและน้ำมันว่านน้ำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ azadirachtin ในสารสกัดสะเดา โดยเทคนิค HPLC และวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ β -asarone ในสารสกัดว่านน้ำ โดยเทคนิค GC-MS พบว่ามีปริมาณสารสำคัญ azadirachtin ในสะเดา 0.44-0.78 % w/v และ β -asarone ในน้ำมันว่านน้ำ 71.4 % w/v

3. เตรียมสูตรผลิตภัณฑ์สะเดาว่านน้ำนาโนอิมัลชัน

3.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์สูตรผสมของสารสกัดสะเดาและว่านน้ำให้อยู่ในรูปแบบนาโนอิมัลชัน ประกอบด้วยส่วนผสมของวัฏภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิวและวัฏภาคน้ำ โดยผสมสารสกัดสะเดาและน้ำมันว่านน้ำในอัตราส่วน 5 ต่อ 1 (วัฏภาคน้ำมัน) โดยให้มีความเข้มข้นของ azadirachtin และ β -asarone ในสูตรผลิตภัณฑ์คงที่ที่ 0.1 % w/v สารลดแรงตึงผิว ได้แก่ Ethoxylated sorbitan monostearate (S1), Ethoxylated sorbitan monolaurate (S2), Sorbitan Stearate (S5) และวัฏภาคน้ำ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน (Table 1) สังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และศึกษาการกระจายตัวในน้ำของสูตรผลิตภัณฑ์ พบว่าลักษณะทางกายภาพของสูตรผลิตภัณฑ์ NC1 และ NC7 มีสีน้ำตาล ใส ไม่แยกชั้น และมีการกระจายตัวได้ดีในน้ำ (Figure 1)

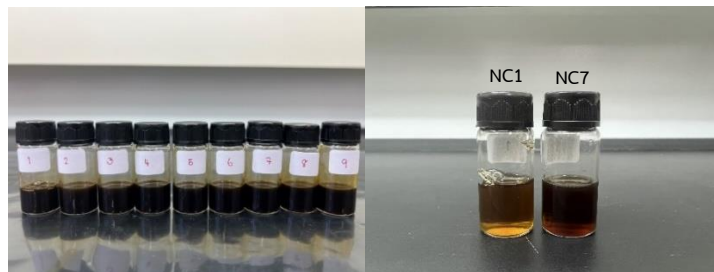


Figure 1 The mix neem and sweet flag nanoemulsion formulation samples

3.2 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (mean particle size) และค่าศักย์ซีต้า (zeta-potential)

วิเคราะห์ขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีต้าของสูตรผลิตภัณฑ์ NC1 และ NC7 พบว่ามีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 96.95 และ 89.50 นาโนเมตร และมีค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าเฉลี่ย -13.88 และ -40.10 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ สูตรผลิตภัณฑ์ทั้งสองมีขนาดอนุภาคอยู่ในระดับนาโน เมื่อพิจารณา Zeta-potential เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงคงตัวของอิมัลชัน โดยประจุที่ล้อมรอบแต่ละอนุภาคควรมีประจุลบ เพื่อให้เกิดแรงผลักกันอ่อนๆ ระหว่างอนุภาค ลดโอกาสการเกิดการรวมตัวกันของอนุภาคในอิมัลชัน (coalescence) ที่ทำให้เกิดการแยกชั้นหรือการตกตะกอนของอนุภาคได้ ค่า Zeta-potential ที่เหมาะสมควรมากกว่า +30 มิลลิโวลต์ หรือ น้อยกว่า -30 มิลลิโวลต์ ถ้าค่ามากกว่านี้จะมีโอกาสเกิดปรากฏการณ์ coalescence ได้ จากผลการวิเคราะห์ค่า Zeta-potential พบว่าสูตรผลิตภัณฑ์ NC7 มีค่า Zeta-potential น้อยกว่า -30 มิลลิโวลต์ ซึ่งแสดงว่าสูตรผลิตภัณฑ์มีความคงตัวสูง (Figure 2)

Table 1 Composition of Neem and Sweet flag nanoemulsion formulations and the characteristics/
Evaluation of nanoemulsion formulations

Formulations	Ratio (%w/v)					Appearance		Dispersion
	Neem+Sweet flag extract	Water	Surfactant			Freshly	after 24 hours	
			S1	S2	S5			
NC1	60	35	0	5	0	No phase separation	No phase separation	Good
NC2	60	35	2.5	0	2.5	phase separation	phase separation	Good
NC3	60	35	0	2.5	2.5	No phase separation	phase separation	Good
NC4	60	30	0	10	0	No phase separation	phase separation	Good
NC5	60	30	5	0	5	No phase separation	phase separation	Good
NC6	60	30	0	5	5	No phase separation	phase separation	Good
NC7	60	20	0	20	0	No phase separation	No phase separation	Good
NC8	60	20	10	0	10	No phase separation	phase separation	Good
NC9	60	20	0	10	10	No phase separation	phase separation	Good

3.3 ทดสอบความคงตัวของสูตรผลิตภัณฑ์สะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน

3.3.1 ทดสอบความคงตัวทางกายภาพ โดยนำสูตรผลิตภัณฑ์ NC7 เก็บที่อุณหภูมิห้องเวลา 30 นาที, 2 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน สังเกตลักษณะทางกายภาพ และการกระจายตัวของสูตรผลิตภัณฑ์ในน้ำ พบว่าสูตรผลิตภัณฑ์มีความคงตัว และกระจายตัวในน้ำได้ดี ค่าความหนาแน่นของสูตรผลิตภัณฑ์เฉลี่ย 0.9344 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย (pH) 4.53

3.3.2 ทดสอบความคงตัวทางเคมีของสูตรผลิตภัณฑ์ โดยนำผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันเก็บไว้ในสภาวะเร่งที่ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชัน พบว่าปริมาณ azadirachtin ในสูตรผลิตภัณฑ์ NC7 ลดลง 57 % และปริมาณ β -asarone ลดลง 41 % (Table 2)

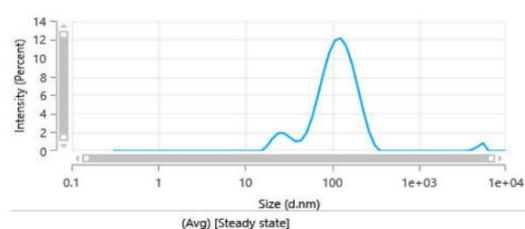
Table 2 The percent of active ingredients of sample NC7 freshly prepared and stored at 54 °C 14 days

Formulation	store	Active ingredients (%)			
		azadirachtin	remain	β -asarone	remain
NC7	Freshly	0.1	100	0.11	100
	54 °C 14 days	0.043	43	0.065	59

4. ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันต่อหนอนใยผัก

ในระดับห้องปฏิบัติการ

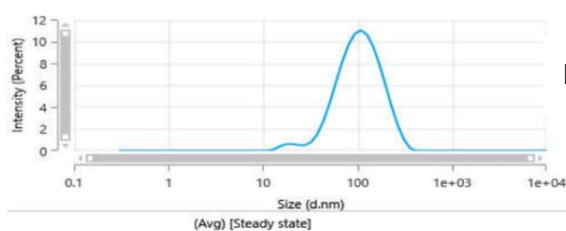
ทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันต่อหนอนใยผักวัย 2 ที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 10, 25, 35, 50, 70 และ 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยมีน้ำเป็นกรรมวิธีควบคุม วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ด้วยวิธีจุ่มใบ (leaf dipping methode) ทำการวิเคราะห์ข้อมูล อัตราการตายโดยใช้วิธีตาม Abbott's formula ผลการทดสอบพบว่า มีหนอนใยผักตาย 52.78-86.11% (Table 3)



NC1

Name	Mean	Standard Deviation	RSD	Minimum	Maximum
Z-Average (nm)	96.98	-	-	96.98	96.98
Polydispersity Index (PI)	0.2808	-	-	0.2808	0.2808
Peak One Mean by Intensity (nm)	126.8	-	-	126.8	126.8
Peak One Area by Intensity (%)	90.38	-	-	90.38	90.38
Peak Two Mean by Intensity (nm)	27.13	-	-	27.13	27.13
Peak Two Area by Intensity (%)	8.179	-	-	8.179	8.179

Name	Mean	Standard Deviation	RSD	Minimum	Maximum
Zeta Potential (mV)	-13.88	3.774	27.18	-16.55	-11.21
Conductivity (mS/cm)	0.02764	0.000117	0.4231	0.02756	0.02773
Wall Zeta Potential (mV)	-36.56	14.7	40.22	-46.95	-26.16
Quality Factor	1.148	0.2051	17.86	1.003	1.293
Zeta Peak One Mean	-30.16	19.15	63.5	-43.7	-16.62
Zeta Peak Two Mean	-10.79	-	-	-10.79	-10.79



NC7

Name	Mean	Standard Deviation	RSD	Minimum	Maximum
Z-Average (nm)	89.5	-	-	89.5	89.5
Polydispersity Index (PI)	0.2393	-	-	0.2393	0.2393
Peak One Mean by Intensity (nm)	118.4	-	-	118.4	118.4
Peak One Area by Intensity (%)	97.11	-	-	97.11	97.11
Peak Two Mean by Intensity (nm)	20.64	-	-	20.64	20.64
Peak Two Area by Intensity (%)	2.89	-	-	2.89	2.89

Name	Mean	Standard Deviation	RSD	Minimum	Maximum
Zeta Potential (mV)	-40.14	0.3167	0.7888	-40.37	-39.92
Conductivity (mS/cm)	0.02966	0.0001496	0.5044	0.02956	0.02977
Wall Zeta Potential (mV)	-22.18	1.072	4.833	-22.94	-21.42
Quality Factor	3.246	0.3753	11.56	2.981	3.512
Zeta Peak One Mean	-43.74	5.025	11.49	-47.29	-40.19
Zeta Peak Two Mean	-34.56	-	-	-34.56	-34.56

Figure 2 Particle size and Zeta Potential of sample NC1 and NC7

Table 3 Mortality of diamondback moth after feeding on Chinese kale leaf treated with Neem and sweet flag nanoemulsion under laboratory conditions

Treatments	Rate of application (ml/20 L of water)	% corrected mortality
1. Neem+Sweet flag nanoemulsion	10	52.78b
2. Neem+Sweet flag nanoemulsion	25	53.06b
3. Neem+Sweet flag nanoemulsion	35	70.00ab
4. Neem+Sweet flag nanoemulsion	50	78.89ab
5. Neem+Sweet flag nanoemulsion	70	79.17ab
6. Neem+Sweet flag nanoemulsion	80	86.11a
7. control (water)		-
%CV		24.9

Remark: Means followed by the same letters within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis.

สรุปผลการทดลอง

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำในรูปนาโนอิมัลชันเพื่อป้องกันกำจัดหนอนใยผัก พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมสูตรผลิตภัณฑ์ประกอบด้วยสารสกัดผสมสะเดาและวานน้ำร้อยละ 60 โดยปริมาตร สารลดแรงตึงผิวร้อยละ 20 โดยปริมาตร ซึ่งเป็นวัฏภาคน้ำมัน และวัฏภาคน้ำร้อยละ 20 โดยปริมาตร ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำในรูปนาโนอิมัลชันมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 89.50 นาโนเมตร มีศักย์ไฟฟ้าซีต้าเฉลี่ย -40.14 มิลลิโวลต์ มีความหนาแน่นเฉลี่ย 0.9344 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และมีความเป็นกรดต่ำเฉลี่ย (pH) 4.53 หลังจากเก็บสูตรผลิตภัณฑ์ในสภาวะ 54 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันมีความคงตัว ไม่เกิดการแยกชั้น และมีกระจายตัวในน้ำได้ดี ประสิทธิภาพสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันนาโนอิมัลชันต่อหนอนใยผักที่อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพที่ทำให้หนอนใยผักตาย 86.11 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ ในงานวิจัยต่อไปควรทำการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ผสมสะเดาวาน้ำนาโนอิมัลชันในระดับแปลงทดสอบเพื่อนำไปสู่การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สูตรผลิตภัณฑ์ให้แก่เกษตรกร

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำไปขยายผลต่อยอดงานวิจัยเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพต่อแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆ และเพิ่มทางเลือกในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีความปลอดภัยต่อสุขภาพเกษตรกร ได้ผลผลิตมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

- ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2542. หลักการและวิธีการใช้สะเดาป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการโครงการเกษตรสู่ชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ฉบับที่ 1 หน้า 32.
- พรณิศา อัดตนนท์ ธนิตา คำอำนวย และธิตยาภรณ์ อุดมศิลป์. 2558. วิจัยคุณภาพและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ สูตรผสมรวมพืชวาน้ำ สะเดา และหางไหลในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช : กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.
- มณฑนา มิลน์ สุรพล วิเศษสรรค์ สมรวัย อภิธรรมรวมกุล และเสริม สีมา. 2548. การใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหางไหลในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในกล้วย. รายงานผลปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2548. เล่ม 1 : สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.
- หทัยกาญจน์ กนกแก้ว อารีรัตน์ เชียงขวาง และนิสากร ศรีธีรัตน์. 2558. คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสารสกัดจากเศษเหลือทิ้งยาสูบและผลิตภัณฑ์อิมัลชันเข้มข้น. วารสารแก่นเกษตร, 43:615-622.
- อัญชลี สงวนพงษ์ งามผ่อง คงคาทิพย์ และขวัญชัย สมบัติศิริ. 2543. การเพิ่มประสิทธิภาพน้ำมันสะเดาอัดเม็ดในการออกฤทธิ์ป้องกันและกำจัดด้วงงวงข้าวสาร. สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย.
- Abbott, W.S. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Econ Entomol*, 18, 265-267.
- Bjornstad, K., A. Helander, P. Hulten, and O. Beck. 2009. Bioanalytical Investigation of Asarone in Connection with Acorus calamus Oil Intoxications, *Analytical Toxicology*, 33: 604-609.

- Elbadawy, M.A.E., M.M.A. Azab, A.M. Shams El Din and E.M.M. Radwan, 2019. Toxicity of Some Plant Oil Nanoemulsions to BlackCutworm, *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae), *Nanotechnology in Agriculture, Food & Environment*, 2019(1), 1–10.
- Shukla, R., A. Kumar, C. S. Prasad, B. Srivastava, and N.K. Dubey. 2009, Efficacy of *Acorus Calamus* L. leaves and rhizome on mortality and reproduction of *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae), *Appl. Entomol. Zool.*, 44: 241-247.
- Tewary, D.K., A. Bhardwaj, and A. Shanker. 2005. Pesticidal activities in five medicinal plants collected from mid hills of western Himalayas, *Ind. Crops. Prod.*, 22: 241-247.
- Yao, Y., W. Cai, C. Yang, D. Xue, and Y. Huang. 2008. Isolation and characterization of Insecticidal activity of (Z)-asarone from *Acorus calamus* L., *Insect Sci.*, 15: 229-236.

วิจัยพัฒนาประสิทธิภาพ สูตรผลิตภัณฑ์ผสมสำเร็จรูปสารกำจัดศัตรูพืชจากสะเดา+น้อยหน่า
ด้วยนาโนเทคโนโลยีเพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก

Research and Development of Pesticide Formulation Using a Mixture of Neem
(*Azadirachta indica*) and Custard Apple (*Annona squamosa* Linn.) Based on
Nanotechnology for Control *Plutella Xylostella* L.

ธิตยาภรณ์ อุดมศิลป์ สุทธิศา เงินเรืองโรจน์ ลักษมี เดชานุรักษ์นุกุล พจนีย์ หน่อพั่น
Thitiyaporn Udomsilp Suthisa Ngeonrueangrot Poachanee Norfun

กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Research on developing a ready-to-use formula of neem and custard apple for agricultural pest control using nanotechnology found that the nanoemulsion product has good stability. The appropriate ratio for preparing the nanoemulsion consists of 60% neem and custard apple extracts, 10% surfactant and 30% water. The average nanoparticle size is 34.44 nanometers, the average zeta potential is -33.48 mV, it is soluble in water, and the pH is 5.8. When tested for stability using heat as an accelerator at 54 °C for 14 days, the study found that it is stable, does not separate, It was also found that the active ingredients degrade with increasing storage time and temperature. The efficacy of the neem + custard apple nanoemulsion product in controlling the second-instar diamondback moth in the laboratory scale was studied using the leaf dipping method. It was found that the neem + custard apple nanoemulsion product at the rate of 70 ml per 20 liters of water had the highest mortality effect of 85.0 percent, which has the potential to control the vegetable webworm, an economic pest.

Keywords: *Annona squamosa* L. extract; Neem; formulation; *Plutella xylostella* L.; Nanoemulsion

บทคัดย่อ

การวิจัยพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสำเร็จรูปสะเดา น้อยหน่าที่ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตรด้วยนาโนเทคโนโลยี พบว่า ผลิตภัณฑ์นาโนอิมัลชันมีความคงตัวที่ดี อัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมนาโนอิมัลชันประกอบด้วยสารสกัดสะเดาผสมน้อยหน่าร้อยละ 60 โดยปริมาตร สารลดแรงตึงผิวผสมร้อยละ 10 โดยปริมาตร และน้ำร้อยละ 30 โดยปริมาตร มีขนาดอนุภาคระดับนาโนเฉลี่ย 34.44 นาโนเมตร ค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าเฉลี่ย -33.48 mV สามารถละลายน้ำได้ดี ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.8 เมื่อทดสอบการคงสภาพโดยใช้ความร้อนเป็นตัวเร่งที่ 54 °C เป็นเวลา 14 วัน ผลการศึกษาพบว่ามีความคงสภาพ ไม่เกิดการแยกชั้น และพบว่าสารสำคัญสลายตัวตามระยะเวลาเก็บรักษาและอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชันในการควบคุมหนอนใยผักวัยที่ 2 ในระดับห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการจุ่มใบ พบว่า ผลิตภัณฑ์สะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชันที่อัตรา 70 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร มีฤทธิ์ทำให้หนอนใยผักตายมากที่สุด 85.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีแนวโน้มสามารถควบคุมหนอนใยผักที่เป็นแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจได้ดี

คำสำคัญ: น้อยหน่า; สะเดา; หนอนใยผัก; สารสกัดน้อยหน่า; นาโนอิมัลชัน

บทนำ

น้อยหน่า ชื่อวิทยาศาสตร์ *Annona squamosa* Linn. มีชื่อสามัญ Sugar Apple, Sweetsop, Custard Apple องค์ประกอบทางเคมีมีเมล็ดมีสาร anonnaine alkaloid, isocorydine สารกลุ่ม acetogenin ชื่อ annonacin A จากรายงานสารเคมีในผลน้อยหน่าประกอบด้วย diterpenoid compound kaur-16-en-18-oic acid, α -pinene, sabinene และ limonene (Andrade *et al.*, 2001) และมีรายงานว่าสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยเอทานอลและเมทานอลมีฤทธิ์กำจัดด้วง pulse (*Callosobruchus chinensis*) ได้ถึง 100% (Al-Lawati *et al.*, 2002) และสามารถกำจัดด้วง khapra (*Trogoderma granarium*) ได้ (Rao *et al.*, 2005) สารสกัดใบและเมล็ดน้อยหน่ายังสามารถควบคุมเพลี้ยหนอนฝ้ายตักแตนมดแมลงหวี่ สารสกัดเมทานอลจากใบน้อยหน่ามีความเป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว โดยมีค่า LC₅₀ เท่ากับ 2,089.30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (สุตารัตน์ หอมหวล และคณะ, 2554)

สะเดา เป็นไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย เจริญได้ดีในที่แล้ง ใช้ประโยชน์ได้มากมายทั้งเป็นอาหารและสร้างที่อยู่อาศัย ใบและเมล็ดสะเดามีสารอาซาดีเรชติน (Azadirachtin) ซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารฆ่าแมลง (กมลพรรณ และคณะ, 2535) ในต้นสะเดามีสาร azadirachtin แต่จะมีมากที่สุดที่ผลสะเดา เนื่องจากสาร azadirachtin นี้ จะออกฤทธิ์โดยตรงต่อระบบต่อมไร้ท่อและระบบฮอร์โมนของแมลง เมื่อแมลงได้รับสารด้วยการซึมผ่านลำตัวหรือจากการกินพืชที่ฉีดสารนี้ป้องกันไว้ แมลงจะไม่ตายในทันทีแต่จะไม่สามารถลอกคราบได้ จึงทำให้ตาย สารสกัดสะเดาเหมาะสำหรับใช้กำจัดแมลงในระยะตัวอ่อนหรือหนอนหรือในกรณีที่หนอนได้รับสารจำนวนน้อย อาจทำให้ตายในระยะดักแด้หรือเป็นตัวแก่ที่ไม่สมบูรณ์ ทำให้ไม่สามารถสืบพันธุ์ต่อไปได้ นอกจากนี้สารยังมีผลทำให้จำนวนไข่ของแมมีปริมาณลดลงและเปอร์เซ็นต์การฟักที่ลดลง ทำให้การขยายพันธุ์ของแมลงลดลง รวมถึงสารอื่นๆ ที่ช่วยยับยั้งการกินอาหารของแมลงอีกด้วย (Moacir *et al.*, 2013)

วราภรณ์ (2560) กล่าวว่า อิมัลชัน (emulsion) หมายถึง ระบบคอลลอยด์ (colloid) ที่ประกอบด้วยของเหลวตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ซึ่งปกติไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เช่น น้ำกับน้ำมัน โดยของเหลวส่วนหนึ่งแตกตัวเป็นหยดเล็กๆ เรียกว่า วัฏภาคภายใน หรือส่วนที่กระจายตัว (internal or dispersed phase) ซึ่งจะกระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง เรียกว่า วัฏภาคภายนอก (external or continuous phase) หรือส่วนที่ต่อเนื่อง การแบ่งประเภทของอิมัลชันโดยใช้วัฏภาคภายในและภายนอกเป็นเกณฑ์ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทหลัก คือ

1. อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil-in-water emulsion: O/W) มีน้ำมันเป็นวัฏภาคภายใน และน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก เช่น นม (milk) น้ำสลัด (salad dressing) มายองเนส (mayonnaise) เป็นต้น ข้อสังเกตหรือวิธีทดสอบอิมัลชันประเภทนี้คือ สามารถทำให้เจือจางได้ด้วยการเติมน้ำ มีค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity) สูงกว่า ผสมได้กับสีย้อมที่ละลายน้ำ (water soluble dye)
2. อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil emulsion: W/O) มีน้ำเป็นวัฏภาคภายใน และน้ำมันเป็นวัฏภาคภายนอก เช่น เนย (butter) มาร์การีน (margarine) ไส้กรอก (sausage) เป็นต้น ข้อสังเกตหรือวิธีทดสอบอิมัลชันประเภทนี้คือ สามารถทำให้เจือจางได้ด้วยการเติมน้ำมัน มีค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity) ต่ำกว่า ผสมได้กับสีย้อมที่ละลายในน้ำมัน (oil soluble dye)

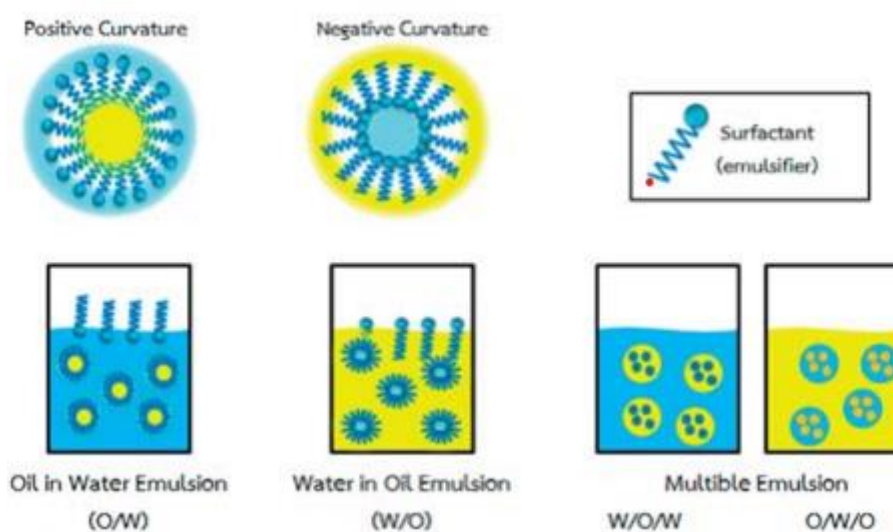


Figure 1 Types of emulsion (Waraporn, 2017)

นอกจากนี้ วราภรณ์ (2560) ยังกล่าวอีกว่า การแบ่งอิมัลชันโดยใช้ขนาดอนุภาคและคุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์เป็นเกณฑ์ จะสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ อิมัลชัน นาโนอิมัลชัน และไมโครอิมัลชัน แสดงดังตารางที่ 1 ทั้งนี้ นาโนอิมัลชันและไมโครอิมัลชันอาจจะเป็นนาโนอิมัลชันและไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O) หรือ น้ำมันในน้ำ (O/W) ก็ได้

Table 1 Emulsions classification based on particle size and thermodynamic properties.

Type	Particle size (nm)	Thermodynamics stability	Appearance
Emulsions	> 200-500	Metastable	milky
Nanoemulsions	< 200-500	Metastable	clear/milky
Microemulsions	< 100	stable	clear

งานวิจัยที่มีการพัฒนาสูตรสารสกัดพืชในรูปนาโนอิมัลชัน เช่น หทัยกาญจน์และคณะ (2558) พัฒนาผลิตภัณฑ์อิมัลชันเข้มข้นจากสารสกัดยาสูบที่มีส่วนประกอบของสารนิโคตินที่สกัดจาก McClements ใบยาสูบแห้งและเศษเหลือทิ้งร่วมกับน้ำมันปาล์มและสารอิมัลซิฟายเออร์ (Tween 80 และ Span 80) พบว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัวสูงสุดเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน และสารละลายเจือจางผลิตภัณฑ์อิมัลชันเข้มข้นด้วยน้ำ 100 เท่าของสารสกัดสามารถกำจัดเพลี้ยอ่อนได้ทั้งหมด Anjali *et al.* (2012) ศึกษาผลของตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารสกัดสะเดาและ tween 20 เป็นสารลดแรงตึงผิว เพื่อใช้ในการควบคุมยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) โดยใช้ส่วนผสมของสารสกัดและสารลดแรงตึงผิวในอัตราส่วนโดยปริมาตรที่แตกต่างกันคือ 1 : 0.30, 1 : 1.5 และ 1 : 3 ผลการวิจัยได้สูตรนาโนอิมัลชันอัตราส่วน 1 : 3 มีขนาดอนุภาคเล็กที่สุด 31.03 นาโนเมตรและเป็นสูตรที่มีความคงตัวมากที่สุด ผลการศึกษาความเป็นพิษ (LC₅₀) ของผลิตภัณฑ์ต่อยุงรำคาญพบว่าค่า LC₅₀ ลดลงตามขนาดอนุภาค โดยนาโนอิมัลชันอัตราส่วน 1:3 มีค่า LC₅₀ เท่ากับ 11.75 มิลลิกรัมต่อลิตร Dhivya *et al.* (2019) ได้พัฒนาสูตรสารสกัดว่านน้ำนาโนอิมัลชัน โดยการผสมน้ำมันว่านน้ำ 6 % โดยมี tween 80 อิมัลชันเตรียมด้วยสัดส่วนของน้ำมันและสารลดแรงตึงผิวที่แตกต่างกันคือ 1: 0.5, 1: 1, 1: 1.5 และ 1: 2 v/v พบว่าที่อัตราส่วนของน้ำมันและสารลดแรงตึงผิว 1: 2 v/v อิมัลชันมีขนาดอนุภาคต่ำที่สุด 17.9 นาโนเมตร นำผลิตภัณฑ์ว่านน้ำนาโนอิมัลชันไปทดสอบฤทธิ์ต่อตัวงัวเขียว พบว่าค่าอิมัลชันอัตราส่วน 1:2 มีค่า LC₅₀ เท่ากับ 0.51% ในขณะที่อัตราส่วน 1:0.5 มีค่า LC₅₀ เท่ากับ 2.35% จะเห็นว่าค่า LC₅₀ ลดลงตามขนาดอนุภาค Elbadawy *et al.* (2019) เตรียมผลิตภัณฑ์สารสกัดน้ำมันโจโจบา กระเทียมและฟักทองในรูปแบบของนาโนอิมัลชัน และขนาดเฉลี่ยของอนุภาคนาโนของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพคือ 185.43 62.9 และ 281.5 นาโนเมตร สำหรับโจโจบา กระเทียม และฟักทอง ตามลำดับ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของอิมัลชันต่อหนอนกระทู้ดำ (*Agrotis ipsilon* Hufnagel) ในห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคนิคการจุ่มใบ ผลการวิจัยพบว่าน้ำมันโจโจบาในรูปแบบนาโนอิมัลชันเข้มข้น 5% มีประสิทธิภาพสูงสุดโดยมีผลทำให้หนอนตาย 100% หลังการทดสอบ 2 วัน

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาต่อยอดผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปน้อยหน้า ให้มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในแปลงคะน้าได้ดียิ่งขึ้น ด้วยการนำสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน้า และสารสกัดสะเดา มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สูตรผสม โดยการนำนาโนเทคโนโลยีเข้ามาประยุกต์ใช้ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดจากธรรมชาติให้อยู่ในรูปแบบนาโนอิมัลชัน รวมถึงการวิเคราะห์คุณภาพและการทนสภาพหรือการคงตัวของผลิตภัณฑ์ การทดสอบประสิทธิภาพระดับห้องปฏิบัติการของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่อัตราความเข้มข้นต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในคะน้าเพื่อนำไปกำหนดอัตราในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในสภาพแปลงทดลองต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Rotary Evaporator) และ เครื่องบดตัวอย่าง ตู้อบ (Hot air oven)
2. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เครื่องไฮโมจิโนเซอร์แบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Soniprep 150) เครื่อง Zetasizer Ultra และ pH meter
3. วัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ปีกเกอร์ ขวดวัดปริมาตร กระจกทรงกรวย กระจกบดวง ขวดก้นกลม ปิเปตแท่งแก้ว กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงหนอน
4. สารเคมี ได้แก่ เมทานอล สารมาตรฐาน azadiractin และ squamocin สารลดแรงตึงผิว
5. สิ่งทดลอง ได้แก่ เมล็ดน้อยหน้า เนื้อในเมล็ดสะเดา และหนอนใยผักวัย 2

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 เตรียมตัวอย่างสารสกัดพืช

1.1 เตรียมตัวอย่างพืช

1.1.1 เตรียมตัวอย่างสะเดา และเมล็ดน้อยหน่า ผึ่งแห้ง บดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วเก็บในภาชนะที่บดแสง ใส่ ตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.1.2 เตรียมสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดา โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล กรองด้วยกระดาษกรองผ่านระบบปั๊มสุญญากาศ และระเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator เตรียมสารสกัดหยาบเมล็ดน้อยหน่าด้วยวิธีเดียวกันกับสารสกัดเมล็ดสะเดา เก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ในขวดสีชาเพื่อทำการทดสอบต่อไป

1.1.3 วิเคราะห์หา ปริมาณสารออกฤทธิ์ azadiractin ในสารสกัดสะเดาและ squamocin ในสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยเทคนิค HPLC

ขั้นตอนที่ 2 พัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

2.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชัน

2.1.1 เตรียมส่วนผสมของวัตถุดิบนำมาสกัดแรงดึงผิว E1 E2 E3 E4 และ E5 มาทดสอบการละลายในสารสกัดเมล็ดสะเดา และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า เพื่อหาสารลดแรงดึงผิวที่ละลายได้ดีในวัตถุดิบนำมาสกัด หลังจากนั้นศึกษาอัตราส่วนระหว่าง สารลดแรงดึงผิวที่ละลายได้ดีในน้ำมันกับสารสกัดเมล็ดสะเดา และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า เพื่อให้ได้อัตราส่วนผสมที่เหมาะสมในการเตรียมผลิตภัณฑ์ให้ได้ลักษณะที่ดีและมีความคงตัว

2.1.2 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบนำมาสกัดซึ่งประกอบด้วย สารสกัดสะเดา และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าและวัตถุดิบนำมาสกัดเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่ทำให้ได้อิมัลชันที่ดีที่สุด พร้อมผสมด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ สังเกตการละลายของส่วนผสมทั้งสอง เช่นการแยกชั้น การตกตะกอนของส่วนผสม และทดสอบการกระจายตัวในน้ำของแต่ละอัตราส่วน และหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 14 วัน เลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อเตรียมผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชัน 1 ผลิตภัณฑ์ จากนั้นนำสูตรที่ได้ไปทำให้อิมัลชันมีอนุภาคเล็กลงเครื่องโฮโมจีไนเซอร์แบบใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Soniprep 150) วัดขนาดอนุภาคและความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ผิวอนุภาค (Zeta potential) และวัดค่า pH

2.2 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าในรูปนาโนอิมัลชัน โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตการแยกชั้นถ้าไม่เกิดการแยกชั้นแสดงว่าอิมัลชันมีความคงตัว

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพและความเป็นพิษ (LC₅₀) ของผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่า นาโนอิมัลชัน ต่อหนอนใยผัก

3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าในรูปนาโนอิมัลชันต่อหนอนใยผัก

3.1.1 เก็บหนอนใยผักจากแปลงคะน้าของเกษตรกรใน จ.นครราชสีมา และกาญจนบุรีมาเลี้ยงบนใบคะน้าปลอดสารในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยวัตถุพิษจากสารธรรมชาติ

3.1.2 ทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารสกัดผสมสะเดา+น้อยหน่าต่อหนอนใยผัก

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี โดยมีสูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้น 1 2 3 4 และ 5 เป็นกรรมวิธี และเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่า อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 สูตรผสมผสมสะเดา+น้อยหน่า อัตรา 25 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 สูตรผสมผสมสะเดา+น้อยหน่า อัตรา 35 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 สูตรผสมผสมสะเดา+น้อยหน่า อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่า อัตรา 70 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 น้ำ (กรรมวิธีควบคุม)

นำสูตรผสมสะเดา+น้อยหน่า มาทดสอบฤทธิ์กับหนอนไผ่ก โดยใช้นอนไผ่กวัย 2 โดยวิธีการจุ่มใบพืช (Leaf dipping method) ดำเนินการโดยตัดใบผักคะน้าเป็นวงกลม จุ่มลงในสารตามกรรมวิธีต่างๆ 10 วินาที จากนั้นนำไปใส่ในกล่องพลาสติกสำหรับทดสอบ ทำการปล่อยหนอนไผ่กกล่องละ 10 ตัว ในแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลการทดลอง โดยตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนไผ่ก ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.1.2 ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าโนอิมัลชันต่อหนอนไผ่ก

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี โดยมีผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าโนอิมัลชัน ที่อัตราต่าง ๆ 5 กรรมวิธี และเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าโนอิมัลชันอัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าโนอิมัลชันอัตรา 25 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าโนอิมัลชันอัตรา 35 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าโนอิมัลชันอัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าโนอิมัลชันอัตรา 70 มล./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 น้ำ (กรรมวิธีควบคุม)

นำผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่าโนอิมัลชันมาทดสอบฤทธิ์กับหนอนไผ่ก โดยใช้นอนไผ่กวัยที่ 2-3 โดยวิธีการจุ่มใบพืช (Leaf dipping method) ดำเนินการโดยตัดใบผักคะน้าเป็นวงกลม จุ่มลงในสารตามกรรมวิธีต่าง ๆ จากนั้นนำไปใส่ในกล่องพลาสติกสำหรับทดสอบ ทำการปล่อยหนอนไผ่กกล่องละ 10 ตัว ในแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลการทดลอง โดยตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนไผ่ก ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หลังการทดลอง ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2) นำข้อมูลการตายของหนอนไผ่กที่ได้จากการทดสอบประสิทธิภาพมาวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ด้วยวิธี Probit analysis (Finney, 1971)

ระยะเวลา ตุลาคม 2565 - กันยายน 2567

สถานที่ทดลอง กลุ่มงานวิจัยวัฏมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดสะเดา และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า

สกัดเมล็ดสะเดา และเมล็ดน้อยหน่าบดด้วยตัวทำละลายเมทานอลพบว่าสารสกัดสะเดา และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่า มีลักษณะสีน้ำตาลเข้ม เมื่อหาปริมาณสารสำคัญ azadirachtin ในสารสกัดสะเดาและ squamocin ในสารสกัดเมล็ดน้อยหน่าด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามีปริมาณ azadirachtin 0.41% w/v และ squamocin 0.22 % w/v ตามลำดับ

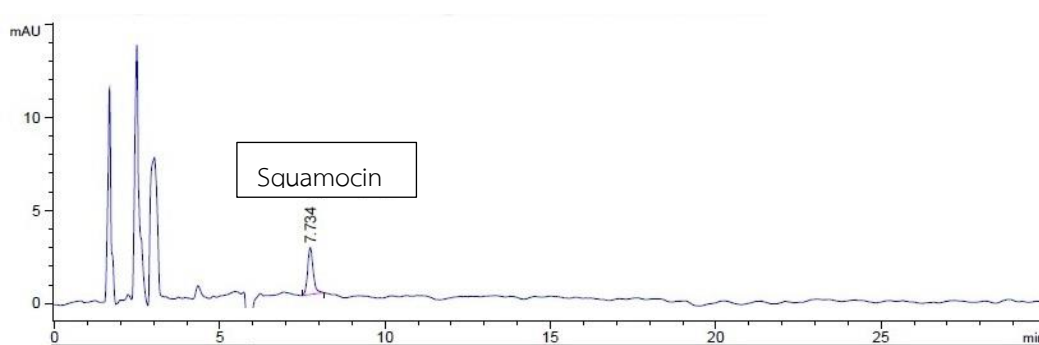


Figure 2 Chromatogram of squamocin standard in custard apple seed extract.

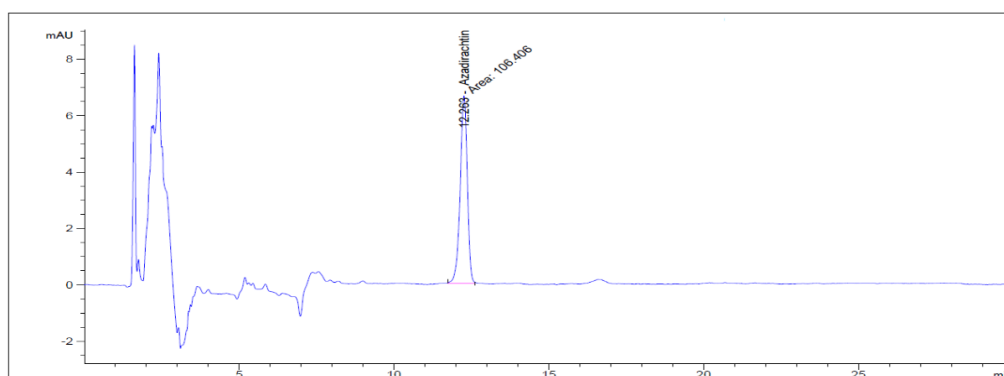


Figure 3 Chromatogram of Azadirachtin standard in neem extract.

2. พัฒนাসูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

ศึกษาตัวทำละลายและอัตราส่วนที่เหมาะสม และชนิดสารลดแรงตึงผิวในการผลิตสูตรผสมสะเดา + น้อยหน่า ในรูปอิมัลชัน โดยให้ความเข้มข้นของ azadirachtin และ squamocin ในสูตรผลิตภัณฑ์คงที่ที่ 0.1 % w/v และ 0.05 % w/v ตามลำดับ การวิจัยนี้ได้เลือกใช้สารลดแรงตึงผิวหลัก (surfactant) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactant) ด้วยอัตราส่วนผสมต่างๆ ตามที่ Gupta และคณะ (2017) ได้รายงานไว้ว่าการใช้สารผสมอิมัลชัน ควรใช้สารลดแรงตึงผิวมากกว่า 1 ชนิด เพราะจะทำให้อิมัลชันมีความเสถียรภาพมากกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวเพียงชนิดเดียว โดยทดสอบการละลายและความเป็นเนื้อเดียวกันของสารสกัดหยาบสะเดาและเมล็ดน้อยหน่า ด้วยน้ำมันชนิดต่างๆ ในหลอดทดลอง เติมสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดลงไป ได้แก่ Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate (E1), ethoxylated sorbitan monolaurate (E2), ethoxylated sorbitan monostearate

(E3), Sorbitan Stearate (E4) และ Sorbitan Laurate (E5) เขย่าให้เข้ากัน สังเกตการแยกชั้น และการกระจายตัวในน้ำ พบว่า สารลดแรงตึงผิวชนิด E1 และ E2 เมื่อผสมกับสารสกัดและตัวทำละลายแล้ว สูตรผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะใส เป็นเนื้อเดียวกัน และกระจายตัวได้ดีในน้ำ

Table 2 Study of suitable surfactant types to produce nanoemulsion formulations from neem-custard apple

Product formula	Product formula ratio (%v/v)			surfactants	Physical Appearance
	Neem+seed of custard apple extracts	Water	Surfactants		
F1	60	30	10	E1	Cloudy, slightly phase separated
F2	60	30	10	E2	Clear, slightly phase separated
F3	60	30	10	E3	Cloudy, phase separated
F4	60	30	10	E4	Cloudy, phase separated
F5	60	30	10	E5	Cloudy, phase separated
F6	60	30	10	E1+E2	Clear, slightly phase separated
F7	60	30	10	E1+E3	Cloudy, phase separated
F8	60	30	10	E1+E4	Cloudy, slightly phase separated
F9	60	30	10	E1+E5	Cloudy, phase separated
F10	60	30	10	E2+E4	Cloudy, phase separated
F11	60	30	10	E2+E5	Cloudy, slightly phase separated

จาก Table 2 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวหลักและสารลดแรงตึงผิวร่วม E1 และ E2 พบว่า อัตราส่วนที่ทำให้เกิดอิมัลชันที่ใส เป็นเนื้อเดียวกัน มีทั้งหมด 7 สูตร และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและการกระจายตัวในน้ำของสูตรผลิตภัณฑ์ พบว่า ลักษณะทางกายภาพของสูตรผลิตภัณฑ์ NA3 มีลักษณะใส ไม่แยกชั้น มีการกระจายตัวได้ดีในน้ำ (figure 3)

นำสูตร NA3 มาศึกษาวิธีการลดขนาดอนุภาค โดยใช้เครื่อง Soniprep 150 สามารถลดขนาดอนุภาคของผลิตภัณฑ์ให้เป็นนาโนอิมัลชันได้ ผลการวิเคราะห์ขนาดของอนุภาคด้วยเทคนิค Dynamic light scattering (DLS) ของสูตรอิมัลชัน พบว่ามีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงที่ให้ผลเป็นนาโนอิมัลชันโดยมีขนาดอนุภาคนาโนอยู่ที่ 34.44 นาโนเมตร ซึ่งขนาดอนุภาคนาโนเมตรจะมีค่าอยู่ในช่วง 0.1-100 นาโนเมตร (Adnano, 2550) ค่าศักย์ซีต้าของสูตรนาโนอิมัลชันของสารสกัดสะเดา+น้อยหน่า พบว่ามีค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ -33.48 mV และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.8

Table 3 Physical appearance of the neem + custard apple nanoemulsion product formula

Product formulas	Physical Appearance		Dispersion
	Freshy	After 14 days	
NA1	Clear, phase separated	Clear, phase separated	good
NA2	Clear, no phase separated	Clear, phase separated	good
NA3	Clear, no phase separated	Clear, no phase separated	good
NA4	Clear, no phase separated	Cloudy, slightly phase separated	good
NA5	Clear, phase separated	Cloudy, phase separated	good
NA6	Clear, phase separated	Cloudy, phase separated	good
NA7	Clear, phase separated	Cloudy, phase separated	good

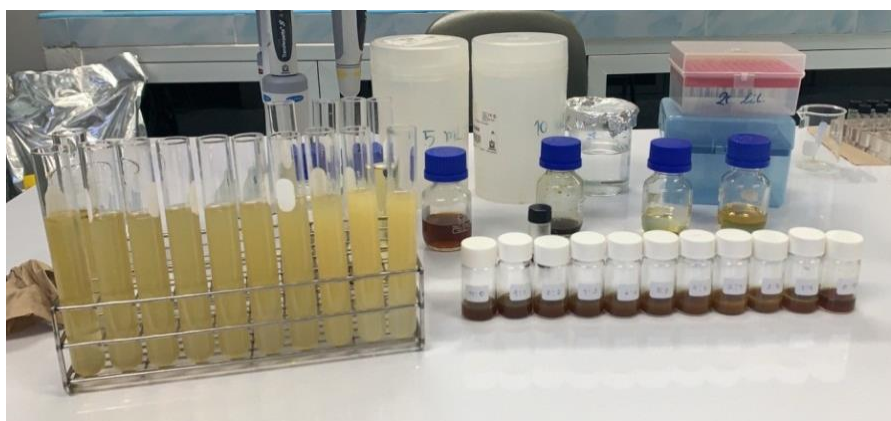


Figure 4 Study of solvents and surfactants ratio.

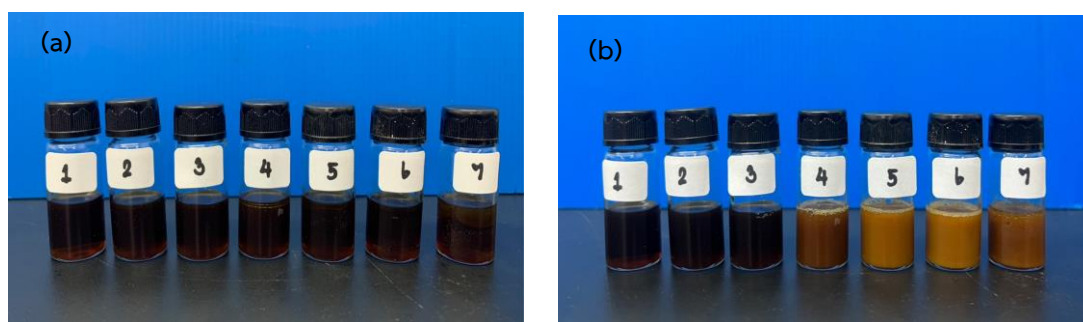


Figure 5 Appearance of the formula mixture between neem extract and custard apple seed extract
(a) after preparation (b) after leaving at room temperature for 14 days.

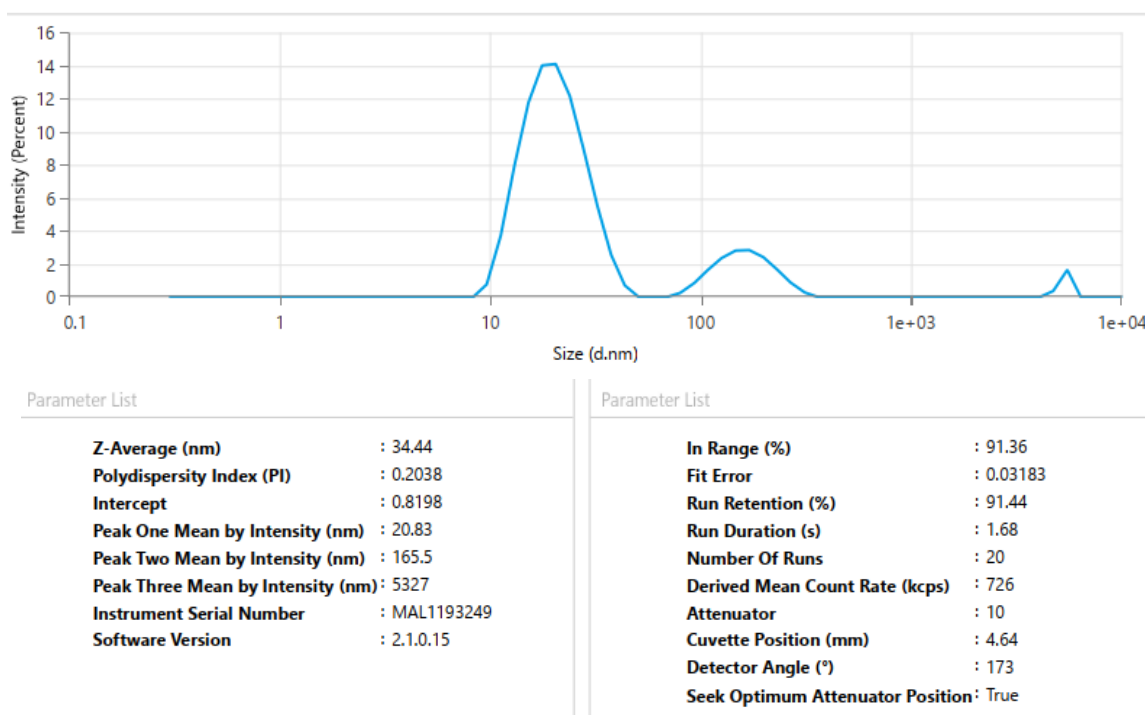


Figure 6 Particle size analysis using dynamic light scattering (DLS) technique of emulsion formulations

Name	Mean	Standard Deviation	RSD	Minimum	Maximum
Zeta Potential (mV)	-41.12	0.8643	2.102	-41.73	-40.51
Zeta Peak One Mean	-47.21	8.253	17.48	-53.04	-41.37
Zeta Peak Two Mean	-25.12	18.69	74.38	-38.34	-11.91
Conductivity (mS/cm)	0.03863	0.0005908	1.529	0.03822	0.03905
Wall Zeta Potential (mV)	-18.24	0.07948	0.4357	-18.3	-18.19
Zeta Deviation (mV)	9.363	2.712	28.96	7.445	11.28
Derived Mean Count Rate (kcps)	4954	662.2	13.37	4486	5423
Reference Beam Count Rate (kcps)	2538	108	4.255	2461	2614
Quality Factor	5.707	0.2145	3.758	5.555	5.858

Figure 7 Zeta potential of nanoemulsion formula of neem + custard apple seeds extract

การทดสอบความคงสภาพของสูตร เก็บตัวอย่างสูตรที่ได้รับการคัดเลือกจากขั้นตอนการพัฒนาสูตรนาโนอิมัลชันไว้ในขวดแก้ว โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สูตรผลิตภัณฑ์ ไม่เกิดการแยกชั้น ไม่เกิดการตกตะกอน แสดงว่าสูตรผลิตภัณฑ์นาโนอิมัลชันมีความคงตัว และเมื่อทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส (เก็บในตู้อบ) เป็นเวลา 14 วัน หลังจากครบกำหนดแล้ว นำสูตรที่ได้ไปศึกษาลักษณะภายนอก โดยสังเกตลักษณะของสาร ได้แก่ สี การแยกชั้น ความใส การเกิดตะกอน พบว่าไม่เกิดการแยกชั้น ตกตะกอน และเปลี่ยนสี ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสูตรผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ปริมาณ azadirachtin ในสะเดา และปริมาณ squamocin ในน้อยหน่า พบว่ามีปริมาณสารสำคัญคงเหลือ 46 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (figure 4)



Figure 8 Stability testing of the formula

Table 4 Percent remaining azadirachtin and squamocin in the product at different temperatures and times

Times	Amount of active ingredient			
	% azadirachtin	% remain	% squamocin	% remain
0	0.10	100	0.05	100
Heating at 54 °C 14 days	0.05	50	0.04	80

3. ประสิทธิภาพและค่าความเป็นพิษ (LC₅₀) ของผลิตภัณฑ์สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชันต่อ หนอนใยผัก

ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรผสมสะเดา+น้อยหน่า และสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดา + น้อยหน่า นาโนอิมัลชัน ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีจุ่มใบ (leaf dipping method) โดยใช้ อัตราของผลิตภัณฑ์ที่ 10, 25, 35, 50 และ 70 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และมีน้ำเป็นกรรมวิธีควบคุม วางแผนการ ทดลองแบบ CRD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ พบว่า สูตรผสมสะเดา+น้อยหน่า สามารถทำให้หนอนใยผักตายที่ 38.25, 39.65, 61.20, 68.45 และ 79.60% ตามลำดับ (figure 5) และ สูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชัน สามารถทำให้หนอนใยผักตายที่ 42.5, 51.5, 65.3, 69.7 และ 85.0% ตามลำดับ (figure 6)

Figure 5 Mortality of 2-instar larvae of *P. xylostella* after feeding on Chinese kale leaf treated with Mixed formula of neem+custard apple seed extract under laboratory conditions

Treatment	Rate of application (ml/20 L of water)	%Mortality of <i>P. xylostella</i>
neem+custard apple seed formula	10	48.30c
neem+custard apple seed formula	25	47.25c
neem+custard apple seed formula	35	60.20bc
neem+custard apple seed formula	50	68.45b
neem+custard apple seed formula	70	82.55a
Control		-
CV		21.2

Table 6 Mortality of 2-instar larvae of *P. xylostella* after feeding on Chinese kale leaf treated with nanoemulsion formula of neem + custard apple seeds extract under laboratory conditions

Treatment	Rate of application (mL/20 L of water)	% การตายของหนอนใยผัก (% corrected mortality)
neem + custard apple seeds nanoemulsion	10	42.5d
neem + custard apple seeds nanoemulsion	25	51.5c
neem + custard apple seeds nanoemulsion	35	65.3b
neem + custard apple seeds nanoemulsion	50	69.7b
neem + custard apple seeds nanoemulsion	70	85.0a
Control		-
CV		13.5

เมื่อนำผลการทดสอบประสิทธิภาพของสูตรผลิตภัณฑ์ผสมสะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชัน มาคำนวณค่า LC₅₀ ที่ 96 ชั่วโมง ด้วยการวิเคราะห์โพรบิท พบว่าค่า LC₅₀ ของผลิตภัณฑ์ผสมสะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชัน มีค่าเท่ากับ 1.78 มิลลิกรัม/ลิตร

สรุปผลการทดลอง

1. การวิจัยพัฒนาประสิทธิภาพ สูตรผลิตภัณฑ์ผสมสำเร็จรูปสารกำจัดศัตรูพืชจากสะเดา+น้อยหน่าด้วยนาโนเทคโนโลยีเพื่อป้องกันกำจัดหนอนใยผักในครั้งนี้ ได้นำสารสกัดสะเดา และสารสกัดเมล็ดน้อยหน่ามาทำการผสมและพัฒนาให้เป็นสูตรสำเร็จรูปแบบนาโนอิมัลชัน จำนวน 1 สูตร คือ สูตรผลิตภัณฑ์ผสมสำเร็จรูปสารกำจัดศัตรูพืชจากสะเดา+น้อยหน่า นาโนอิมัลชัน ขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงที่ให้ผลเป็นนาโนอิมัลชันโดยมีขนาดอนุภาคนาโนอยู่ที่ 34.44 นาโนเมตร ค่าศักย์ซีต้าของสูตรนาโนอิมัลชันของสารสกัดสะเดา+น้อยหน่า มีค่าศักย์ซีต้าเท่ากับ -33.48 mV จากผลการประเมินคุณลักษณะทางกายภาพของสูตร พบว่า สูตรผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะใส เป็นเนื้อเดียวกัน และกระจายตัวได้ดีในน้ำ และเมื่อทดสอบความคงสภาพของสูตร โดยการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่า ผลิตภัณฑ์ไม่เกิดการแยกชั้น ตกตะกอน และไม่มีการเปลี่ยนสี

2. ปริมาณสารสำคัญในสูตรผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ปริมาณ azadirachtin ในสะเดา และปริมาณ squamocin ในน้อยหน่า พบว่ามีปริมาณสารสำคัญคงเหลือ 46 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผสมสะเดา+น้อยหน่า นาโนอิมัลชัน ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลิตภัณฑ์สะเดา+น้อยหน่านาโนอิมัลชันที่อัตรา 70 มิลลิกรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีฤทธิ์ทำให้หนอนใยผักตายมากที่สุด 85.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีแนวโน้มสามารถควบคุมหนอนใยผักที่เป็นแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจได้ดี

3. ผลิตภัณฑ์ผสมสะเดา + น้อยหน่านาโนอิมัลชัน สามารถนำไปใช้เป็นสารทดแทนหรือผสมผสานกับการใช้สารเคมีทางการเกษตร เป็นองค์ความรู้ต่อยอดงานวิจัยพืชท้องถิ่นไทยชนิดอื่นๆ ที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากสารธรรมชาติและนำไปทดสอบขยายผล เพื่อเป็นปัจจัยการผลิตทางเลือกในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ภาคอุตสาหกรรม ส่งเสริมระบบการปลูกพืชเกษตรปลอดภัยต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยนี้ สามารถนำองค์ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับวิธีการผลิต นวัตกรรมผลิตภัณฑ์สารสกัดพืช (Plant extract) ด้วยนาโนเทคโนโลยี ควบคุมศัตรูพืชชนิดใหม่ ที่สะดวกต่อการใช้งานในสภาพห้องปฏิบัติการไปปรับใช้เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการ ลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร และแลกเปลี่ยนและถ่ายทอดความรู้ร่วมกับ นักวิชาการ ภาครัฐ ภาคเอกชน เกษตรกรและผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป โดยการนำเสนอผลงานรูปแบบต่างๆ และการจัด นิทรรศการ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- กมลพรรณ นามวงศ์พรหม และสุรรัตน์ คิ้วอก. 2535. การขยายพันธุ์สะเดาในหลอดทดลองโดยการกระตุ้นให้เอมบริโอและขึ้นส่วนต้นอ่อนแตกยอดจำนวนมาก. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*. 10, 1-12.
- วรารณ ประเสริฐ. 2560. นาโนอิมัลชันและการผลิตนาโนอิมัลชันโดยกระบวนการพลังงานต่ำ. *วารสารอาหาร* ปีที่ 47 ฉบับที่ 2 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 37-45.
- หทัยกาญจน์ กกแก้ว, อาริรัตน์ เขียวขวางและ นิสากร ศรีธัญรัตน์. 2558. คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสารสกัดจากเศษเหลือทิ้งยาสูบและผลิตภัณฑ์อิมัลชันเข้มข้น. *วารสารแก่นเกษตร*, 43 ฉบับพิเศษ 1, 615-622.
- สุดารัตน์ หอมหวล, ยุวดี ชูประภาวรรณ และวิรัตน์ จันทร์ตรี. 2554.ฤทธิ์ฆ่าแมลงของพืชต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี* ปี22 ที่ 13 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2554.
- Al-Lawati, H.T., Azam, K.M., and Deadman, M.L. (2002). Insecticidal and repellent properties of subtropical plant extracts against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis*. *Agri Sci*. 7(1):37-45.
- Anjali,C.H., Y. Sharma, A. Mukherjee and N. Chandrasekaran, 2012. Neem oil (*Azadirachta indica*) nanoemulsion- a potent larvicidal agent against *Culex quinquefasciatus*, *Pest Management Science*, 68: 158–163.
- Andrade, E.H.A., Zoghbi, M.das G.B., Maia, J.G.S., Fabricius, H., and Marx, F. (2001). Chemical characterization of the fruit of *Annona squamosa* L. occurring in the Amazon. *J. Food Compos. Anal.* 14:227-232.
- Dhivya V., S.J. Nelson, K.S. Subramanian, Y.S.J.T. Edward, K. Rajamani, V.P., Santhanakrishnan and S. Sithanantham, 2019. Development of *Acorus calamus* L. Nano emulsion and Their Insecticidal Activity against Pulse Beetle (*Callosobruchus maculatus* F.), *International Journal of Agriculture Sciences*, 11: 8387-8390.
- Elbadawy, M.A.E., M.M.A.Azab, A.M. Shams El Dinand E.M.M. Radwan, 2019. Toxicity of Some Plant Oil Nanoemulsions to BlackCutworm, *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae), *Nanotechnology in Agriculture, Food & Environment*, 2019(1), 1–10.
- Gohtani S and Prasert W. 2014. Nano-emulsions; Emulsification using low energy methods. *Japan J Food Eng.* 15(3): 119-130.
- Gupta, A., A.Z. Md Badruddoza, and P. S. Doyle. 2017, A General Route for Nanoemulsion Synthesis using Low Energy Methods at Constant Temperature, *Langmuir*, 33: 7118-7123.

- Moacir R. F., S. C. Eveline, F. Maria, B. F. Joao, M. M. Janaina and L. B. J. Arlindo, 2013. Development of a New Method To Prepare Nano-/microparticles Loaded with Extracts of *Azadirachta indica*, Their Characterization and Use in Controlling *Plutella xylostella*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 9131–9139.
- Rao, N. S., Sharma, K., and Sharma, R. K. (2005). Anti-feedant and growth inhibitory effects of seed extracts of custard apple, *Annona squamosa* against Khapra beetle, *Trogoderma granarium*. *J. Agri. Technol.* 1(1):43-54.

วิจัยสูตรและทดสอบฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาสู่สำเร็จรูป
เพื่อป้องกันกำจัดหนอนใยผักด้วยเทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน

Research on formulation and Efficacy of Neem Extract Product for
Controlling *Plutella xylostella* (L.) by Encapsulation Technology

ณัฐพร ฉันทศักดิ์ดา ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล พจนีย์ หน่อผั่น ธิตติยาภรณ์ อุดมศิลป์ สุทิสรา เงินเรืองโรจน์
Nattaporn Chanthasakda Laksamee Dechanuraknukul Poachanee Norfun
Thitiyaporn Udomsilp Suthisa Ngoenrueangrot

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Neem is a well-known plant which has insecticidal activities. However, the active neem compounds degrade easily in actual conditions because of its high photosensitivity. Therefore, encapsulation of neem extract was studied using the solvent evaporation technique with oil in water (O/W) emulsion. The biodegradable poly-L-lactic acid (PLLA) was used as wall material. Different ratios of PLLA to neem extract as well as different types and concentration of surfactants were examined. Physical and chemical properties were investigated. Encapsulated neem extract was studied to control diamondback moth (*Plutella xylostella* (L.)) under laboratory conditions by leaf dipping method. The results show that PLLA to neem extract ratio 3:1 gave the highest encapsulation efficiency (65.27%), while 2% w/v polyvinyl alcohol (PVA) is found to be the most suitable surfactant. The encapsulated neem extract presented good encapsulation efficiency, %EE (73.05%). Capsule morphology showed smooth sphere with 336.80 nm particle size and -53.08 mV zeta potential. For stability of product, physical properties were good for product that has given for 3 months under 4 Degree Celsius and the active ingredient was remained more than 85%. The efficacy on diamondback moth showed 85% larval mortality by 200 mL/water 20L concentration. Moreover, the product gave continuous slow release. The encapsulated neem extract by solvent evaporation technique provides good efficacy on diamondback moth under laboratory conditions. These promising results can be further developed to use in field conditions.

Keywords: Neem; Neem extract; Encapsulation; *Plutella xylostella* (L.)

บทคัดย่อ

สะเดาเป็นพืชที่มีฤทธิ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช และนิยมใช้กันมานาน แต่มักพบปัญหาการสลายตัวเร็วในสภาวะการใช้งานจริง เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงวิจัยผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาสำเร็จรูปด้วยเทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน โดยสารสกัดสะเดาถูกกักเก็บด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในรูปแบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ที่ใช้พอลิแอลแลคติก แอซิด (พีแอลแอลเอ) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางธรรมชาติเป็นสารห่อหุ้ม โดยหาอัตราส่วนระหว่างสารห่อหุ้ม และสารสกัดสะเดาที่ดีที่สุด ชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว และความเข้มข้นของสารห่อหุ้มที่เหมาะสม ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผัก รวมถึงการปลดปล่อยสารสำคัญ ผลการศึกษาพบว่า อัตราส่วนระหว่างสารห่อหุ้มต่อสารสกัดสะเดา 3:1 ทำให้มีการกักเก็บสารสำคัญได้สูงสุดคือ 65.27 เปอร์เซ็นต์ โดยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร เป็นสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมที่สุด และสารห่อหุ้มที่มีความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์เมื่อผสมสารเติมแต่งทำให้ได้สูตรผลิตภัณฑ์รูปแบบสารผสมแคปซูลแขวนลอย (CS) ที่มีประสิทธิภาพการกักเก็บ 73.05 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของพอลิเมอร์แคปซูล พบว่า มีรูปร่างกลม ผิวเรียบ ขนาดอนุภาคเฉลี่ย 336.80 นาโนเมตร ค่าศักย์ไฟฟ้าเฉลี่ย -53.08 mV เมื่อประเมินความคงสภาพพบว่า คุณสมบัติทางกายภาพคงสภาพดีเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน สำหรับคุณสมบัติทางเคมี พบปริมาณสาร azadirachtin คงเหลือมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ ผลทดสอบประสิทธิภาพต่อหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการโดยวิธีจุ่มใบ (leaf dipping method) พบว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันที่อัตราความเข้มข้น 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีผลทำให้หนอนใยผักตาย 85 เปอร์เซ็นต์ และผลการศึกษการปลดปล่อยสารสำคัญ พบว่าสูตรผลิตภัณฑ์ปลดปล่อยสารสำคัญช้าๆ อย่างต่อเนื่อง จากผลการวิจัยเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันมีประสิทธิภาพต่อหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ และสามารถนำไปขยายผลวิธีทดสอบสู่ระดับแปลงทดสอบต่อไป

คำสำคัญ: สะเดา; สารสกัดสะเดา; เอนแคปซูเลชัน; หนอนใยผัก

บทนำ

การตกค้างของสารเคมีสังเคราะห์ในผลผลิตทางการเกษตรเป็นปัญหาที่สำคัญสำหรับประเทศผู้ส่งออกสินค้าเกษตรอย่างประเทศไทย การใช้สารสกัดพืชสมุนไพรจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการทดแทนการใช้สารเคมีในการควบคุมศัตรูพืช เนื่องจากพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช สารสกัดจากพืชยังประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิด ดังนั้นโอกาสที่แมลงจะสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากพืชจึงเป็นไปได้ยาก แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดจากพืชมีคุณสมบัติสลายตัวง่ายในธรรมชาติ ทำให้ต้องใช้สารสกัดในปริมาณมากและฉีดพ่นบ่อยครั้ง จึงต้องใช้วัตถุดิบพืชจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีขั้นตอนที่ยุ่งยากสำหรับเกษตรกร

สะเดาเป็นพืชที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช แต่สารออกฤทธิ์ในสารสกัดสะเดาสลายตัวง่ายด้วยแสงแดด การวิจัยพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากสารสกัดสะเดาเพื่อให้สารออกฤทธิ์มีความคงตัว และใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ จึงเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยในการแก้ปัญหาข้างต้น โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีทางวิทยาศาสตร์ เพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรให้ปลอดภัย และมีมาตรฐาน โดยเทคโนโลยีแคปซูเลชัน (encapsulation) เป็นกระบวนการที่สารแกนกลาง (core active) ซึ่งเป็นสาร หรือส่วนผสมของสารถูกเคลือบด้วยสารห่อหุ้ม (shell) ซึ่งเป็นสารจำพวกพอลิเมอร์ ให้อยู่ในรูปแคปซูลชั้นบางๆ ขนาดเล็ก เพื่อรักษาคุณสมบัติของสารแกนกลางให้มีความเสถียร มีความคงตัวของสารตลอดการใช้งาน สามารถป้องกันสารแกนกลางจากสภาวะต่างๆ เช่น ความร้อน ความชื้น และออกซิเจน เป็นต้น รวมทั้งช่วยยืดอายุการเก็บรักษา และสะดวกต่อ

การใช้งาน นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารแกนกลางในปริมาณ และเวลาที่เหมาะสมได้ จึงทำให้ใช้ประโยชน์จากสารแกนกลางได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ และช่วยลดการใช้ปริมาณสารแกนกลาง ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่หายาก และมีราคาสูง จึงเป็นเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้กับสารสกัดสะเดา เนื่องจากสารสกัดสะเดามีความไวต่อแสงแดด สภาพแวดล้อม และสามารถสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว

งานวิจัยของ Riyajan (2009) ได้วิจัยสารสกัดสะเดาที่ถูกเอนแคปซูเลชันด้วย 87 เปอร์เซ็นต์ hydrolyzed poly(vinyl acetate) ซึ่งถูกเชื่อมด้วย 5 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร glutaraldehyde และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ hydrochloric acid เพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ และการสลายตัวเมื่อถูกแสง ได้ผลิตภัณฑ์ไมโครแคปซูล โดยเทคนิค spray drying ซึ่งง่ายต่อการใช้งาน ขณะที่ Bagle (2013) ได้ศึกษาการปลดปล่อยสารของไมโครแคปซูลน้ำมันสะเดาซึ่งห่อหุ้มด้วย phenol formaldehyde ด้วยการวัดในช่วงแสง UV พบว่า ไมโครแคปซูลที่ได้จากการสังเคราะห์มีความเสถียรต่อความร้อน ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการเก็บรักษาสารสำคัญภายในไมโครแคปซูล และ Fahmi (2017) ได้ศึกษาเทคนิคการทำเอนแคปซูเลชันสารสกัดเมล็ดสะเดาในระดับนาโน ซึ่งใช้โคโตซานเป็นสารห่อหุ้มด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (20 Hz, 80 เปอร์เซ็นต์) และได้มีการเติมสาร succinate anhydride ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมโคโตซานเพื่อเก็บสาร azadirachtin และเป็นตัวพาเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ พบว่า กระบวนการเอนแคปซูเลชันช่วยเพิ่มความเสถียรของสารสำคัญเมื่อถูกแสง UV และค่า pH ที่เปลี่ยนไป

การวิจัยพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากสารสกัดพืชสมุนไพรเพื่อให้สารออกฤทธิ์มีความคงตัว และใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพจึงเป็นวิธีหนึ่งในการแก้ปัญหาการสลายตัวของสารสกัดจากพืช งานวิจัยนี้จึงพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์จากสารสกัดสะเดาสำเร็จรูปด้วยเทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน โดยศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการกักเก็บสารสกัดสะเดาด้วยเทคนิคการระเหิดตัวทำละลาย เพื่อเตรียมสูตรผลิตภัณฑ์ในรูปสารผสมแคปซูลแขวนลอย (Capsule suspension) ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผัก

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งตวงวัดชนิดตําแหน่ง เครื่องลดปริมาตรสารแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) เครื่องปั่นผสมสารความเร็วสูง (homogenizer) เครื่องกวนสารแม่เหล็ก (magnetic stirrer)
2. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
3. เครื่องแก้ว ได้แก่ กรวยแยก ขวดกำหนดปริมาตร หลอดทดลอง กระจกบอกร่าง ปีกเกอร์ ปิเปต ขวดกันกลม
4. สารเคมี ได้แก่ azadirachtin, poly(L-lactic acid) (PLLA), polyvinyl alcohol (PVA), tween 80, eumulgin-O5, dichloromethane, chloroform, hexane, methanol
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงหนอนใยผัก กล่องพลาสติกสำหรับทดสอบ พู่กัน
6. ตัวอย่างเมล็ดสะเดา

วิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดสะเดา
- 1.1 เตรียมสารสกัดสะเดา

เตรียมเมล็ดสะเดา อบแห้งและบดให้ละเอียด นำผงเมล็ดสะเดามาสกัดด้วยการกวน (agitation) โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน และเมทานอล ตามลำดับ กรองสารละลาย และระเหยแห้งด้วยเครื่องลดปริมาตรสุญญากาศ (rotary evaporator) นำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดต่อเนื่องด้วยเทคนิค liquid-liquid extraction โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และน้ำ ตามลำดับ ระเหยแห้งด้วยเครื่องลดปริมาตรสุญญากาศ จนได้ผงแห้งของสารสกัดสะเดา (ภควรินทร์ และคณะ, 2560)

1.2 วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ

วิเคราะห์ปริมาณ azadirachtin ของสารสกัดหยาบ และสารสกัดสะเดาโดยใช้เทคนิค (HPLC)

2. การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน

2.1 ศึกษาการเตรียมเอนแคปซูเลชันด้วยวิธีระเหยตัวทำละลาย (solvent evaporation)

ผสมสารสกัดสะเดากับสารละลายพอลิแอลแลคติก แอซิด (PLLA) ในไดคลอโรมีเทน (ตัวทำละลาย) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนผสมนี้เป็นชั้นน้ำมัน จากนั้นนำส่วนผสมที่ได้เติมลงในสารละลายของสารลดแรงตึงผิว (ชั้นน้ำ) แล้วผสมกันด้วยเครื่องกวนผสมความเร็วสูง (homogenizer) อัตราเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้ได้อิมัลชันของหยดย่น้ำมันในน้ำ (o/w) จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยการกวนช้าๆ จะได้สารผสมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดา (ดัดแปลงวิธีจากจิณาภา, 2562) ดัง Figure 1 โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมเอนแคปซูเลชัน ดังนี้

2.1.1 ศึกษาอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม PLLA ต่อสารสกัดสะเดา ที่อัตราส่วน 1:1, 2:1 และ 3:1

2.1.2 ศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิว ได้แก่ polyvinyl alcohol (PVA), tween80 และ EUMULGIN-O5

2.1.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร

2.1.4 ศึกษาความเข้มข้นของสารห่อหุ้ม PLLA ที่ 0.5 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้ปัจจัยที่เหมาะสมจากการศึกษาข้อ 2.1.1 - 2.1.3

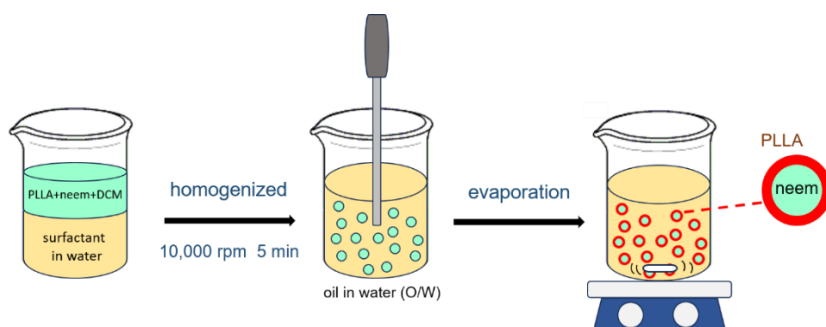


Figure 1 Schematic diagram of o/w emulsion solvent evaporation method

2.2 การผสมสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน

นำสารผสมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดาที่ได้จาก 2.1.4 มาผสมปรุงแต่งด้วยสารเติมแต่ง ได้แก่ สารช่วยกระจายตัว และสารกันเสีย ได้ผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน จำนวน 2 สูตร ได้แก่ NC1 และ NC2

3. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมี

3.1 ปริมาณ azadirachtin ในสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน

วิเคราะห์หาปริมาณ azadirachtin ทั้งหมด โดยนำสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน 100 ไมโครลิตร มาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน 900 ไมโครลิตร แล้วนำไปเหวี่ยงแยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จากนั้นดูดสารละลายส่วนไดคลอโรมีเทน 500 ไมโครลิตร ทำให้แห้ง แล้วเติมเมทานอล 500 ไมโครลิตร นำไปวิเคราะห์สาร azadirachtin ด้วยเทคนิค HPLC (ดัดแปลงวิธีจาก Forim *et al.*, 2013)

3.2 ประสิทธิภาพการกักเก็บ (Encapsulation efficiency, EE)

วิเคราะห์หาปริมาณ azadirachtin อิสระ โดยนำสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันไปเหวี่ยง แยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ผ่าน cellulose acetate membrane ขนาดรูพรุน 0.22 µm ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นำส่วนของเหลวที่ได้ 200 ไมโครลิตร ไปทำให้แห้ง และละลายด้วยเมทานอล 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์สาร azadirachtin ด้วยเทคนิค HPLC (ดัดแปลงวิธีจาก Forim *et al.*, 2013) นำค่าที่ได้มาคำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บดังสูตร

สูตรคำนวณประสิทธิภาพในการกักเก็บ

$$\text{ประสิทธิภาพการกักเก็บ} = \frac{\text{ปริมาณสารสำคัญทั้งหมด} - \text{ปริมาณสารสำคัญอิสระ}}{\text{ปริมาณสารสำคัญทั้งหมด}} \times 100$$

3.3 ลักษณะทางสัณฐานของพอลิเมอร์แคปซูล

นำสารผสมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดา ที่เตรียมจาก PLLA 0.5 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ในข้อ 2.1 ไปแยกพอลิเมอร์แคปซูลด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ทำให้แห้งเป็นผง แล้วส่งตรวจสอบลักษณะรูปร่างและพื้นผิวของพอลิเมอร์แคปซูลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) ที่กำลังขยาย 5,000 และ 10,000 เท่า

3.4 ขนาดอนุภาค (Particle size) และค่าศักย์ไฟฟ้า (Zeta potential)

ส่งผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันตรวจวิเคราะห์ขนาดอนุภาค และค่าศักย์ไฟฟ้าด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)

4. การศึกษาความคงตัวของสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน

ศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน โดยเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน เมื่อครบกำหนด นำมาตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ และนำไปตรวจหาปริมาณ azadirachtin ด้วย HPLC

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสะเดา และผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ

5.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสะเดาต่อหนอนใยผัก

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสะเดาต่อหนอนใยผัก ด้วยวิธีจุ่มใบพืช (leaf dipping method) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ จำนวน 7 กรรมวิธี โดยสารสกัดหยาบสะเดาที่มีความเข้มข้นต่างๆ เป็นกรรมวิธี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตัวทำละลาย และน้ำ) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัดหยาบสะเดาความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 2 สารสกัดหยาบสะเดาความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 สารสกัดหยาบสะเดาความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 สารสกัดหยาบสะเดาความเข้มข้น 2.4 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 5 สารสกัดหยาบสะเดาความเข้มข้น 3.2 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 6 เมทานอล

กรรมวิธีที่ 7 น้ำ

นำสารสกัดหยาบสะเดามาทดสอบกับหนอนใยผักวัย 2 ดำเนินการโดยตัดใบผักคะน้าเป็นวงกลม จุ่มลงในสารตามกรรมวิธีต่างๆ จากนั้นนำไปใส่กล่องพลาสติกสำหรับทดสอบ ปลอ่ยหนอนใยผักกล่องละ 10 ตัว ในแต่ละ

กรรมวิธี บันทึกผลการทดลอง โดยตรวจนับจำนวนการตายของหนอนใยผักที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หลังการทดสอบ ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันต่อหนอนใยผัก

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันสูตร NC2 ด้วยวิธีจุ่มใบพืช (leaf dipping method) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ จำนวน 7 กรรมวิธี โดยผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นกรรมวิธี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตัวทำละลาย และน้ำ) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลิตภัณฑ์ความเข้มข้นอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ผลิตภัณฑ์ความเข้มข้นอัตรา 25 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ผลิตภัณฑ์ความเข้มข้นอัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ผลิตภัณฑ์ความเข้มข้นอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ผลิตภัณฑ์ความเข้มข้นอัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีสารสกัดสะเดา

กรรมวิธีที่ 7 น้ำ (กรรมวิธีควบคุม)

นำผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันสูตร NC2 มาทดสอบกับหนอนใยผักวัย 2 ดำเนินการโดยตัดใบผักคะน้าเป็นวงกลม จุ่มลงในสารตามกรรมวิธีต่างๆ จากนั้นนำไปใส่กล่องพลาสติกสำหรับทดสอบ ปลอ่ยหนอนใยผักกล่องละ 10 ตัว ในแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลการทดลอง โดยตรวจนับจำนวนการตายของหนอนใยผักที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หลังการทดสอบ ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

6. การศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน

6.1 ปิเปตผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน สูตร NC2 1 มิลลิลิตร ใส่ในถุงเยื่อเมมเบรน (dialysis bag) ใส่ในปิเกอร์ที่บรรจุน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

6.2 กวนสารที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องคนสารแม่เหล็ก (magnetic stirrer) จากนั้นดูดสารละลายออกมา 3 มิลลิลิตร ณ นาทีที่ 60 เพื่อนำสารละลายไปวิเคราะห์ปริมาณ azadirachtin ด้วยเครื่อง HPLC เติมน้ำกลั่นลงไป ในปิเกอร์ 3 มิลลิลิตร เพื่อให้สารละลายในปิเกอร์มีปริมาตรคงที่คือ 100 มิลลิลิตร คนสารละลายที่มีถุงเยื่อเมมเบรนบรรจุสูตรผลิตภัณฑ์อย่างต่อเนื่อง

6.3 ทำการทดลองเช่นเดิมดัง 6.2 จนครบเวลาที่กำหนด (ที่ระยะเวลา 1, 2, 3 ชั่วโมง และ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 และ 22 วัน

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2564 - สิ้นสุด เดือนกันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมสารสกัดเมล็ดสะเดา

ในการเตรียมสารสกัดหยาบสะเดาที่สกัดด้วยเฮกเซน และเมทานอล ตามลำดับ ได้ปริมาณสารสกัดหยาบเท่ากับ 236 กรัม/เมล็ดสะเดา 1 กิโลกรัม ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบสะเดา มีลักษณะเป็นของเหลวข้นหนืด สีน้ำตาลเข้ม ผลวิเคราะห์สารสำคัญ azadirachtin ด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามีปริมาณสาร azadirachtin 0.40 - 0.61 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสารสกัดสะเดาที่ได้จากการนำสารสกัดหยาบมาสกัดต่อเนื่อง พบว่าได้ปริมาณสารสกัดสะเดา 17 กรัม/เมล็ดสะเดา 1 กิโลกรัม มีลักษณะเป็นผงสีเขียวเข้ม ผลวิเคราะห์สารสำคัญ azadirachtin ด้วยเทคนิค HPLC พบมีปริมาณสาร azadirachtin 1.31 - 2.23 เปอร์เซ็นต์

2. การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน

ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมเอนแคปซูเลชัน ได้ผลดังนี้

2.1 ศึกษาอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม PLLA ต่อสารสกัดสะเดา

จากการศึกษาอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม PLLA ต่อสารสกัดสะเดาที่อัตรา 1:1, 2:1 และ 3:1 พบว่าทั้ง 3 อัตราส่วน ได้สารละลายขุ่นสีน้ำตาลเหมือนกัน แต่ความเข้มข้นของสีต่างกัน โดยที่อัตราส่วน 1:1 มีสีเข้มที่สุด อาจเนื่องจากเกิดแคปซูลน้อยกว่าอัตราอื่นๆ และที่อัตราส่วน 3:1 มีสีอ่อนที่สุด เพราะเกิดแคปซูลมากกว่า ดัง Figure 2 และเมื่อนำสารผสมไปแยกส่วนแคปซูลด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง และทำให้แห้ง จะได้ลักษณะพอลิเมอร์แคปซูลเป็นผงสีน้ำตาล โดยที่อัตราส่วน 3:1 มีปริมาณตะกอนพอลิเมอร์แคปซูลมากที่สุด รองลงมาคือ 2:1 และ 1:1 ตามลำดับ (Table 1) นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาจากค่าประสิทธิภาพการกักเก็บ (encapsulation efficiency, EE) ของในแต่ละอัตราส่วนซึ่งมีค่าเท่ากับ 62.47, 64.37 และ 65.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่อัตราส่วน 3:1 มีประสิทธิภาพการกักเก็บดีที่สุด ดังนั้น อัตราส่วน 3:1 จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด

Table 1 Physical characteristics and weight of neem extract polymer capsule

Ratio PLLA : NEEM	Physical characteristics	Weight of polymer capsule (g)	Encapsulation efficiency (%)
1:1	Brown powder	0.0455	62.47
2:1	Brown powder	0.0502	64.37
3:1	Brown powder	0.0558	65.27

2.2 ศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิว

ในการเตรียมสารผสมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดา โดยใช้สารลดแรงตึงผิว 3 ชนิด ได้แก่ Polyvinyl alcohol (PVA), TWEEN80 และ EUMULGIN-O5 พบว่า สารผสมที่ใช้ PVA เป็นสารลดแรงตึงผิว มีลักษณะเป็นสารละลายขุ่นสีน้ำตาลอ่อนเป็นเนื้อเดียวกัน และฟุ้งกระจายในน้ำได้ดี ส่วนสารผสมที่ใช้ TWEEN80 และ EUMULGIN-O5 เป็นสารลดแรงตึงผิว จะได้สารละลายสีเหลือง และแคปซูลเกิดการจับตัวกันเป็นก้อนตกตะกอน ดัง Figure 2 และ Table 2 จากผลดังกล่าว จึงเลือก PVA เป็นสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการเตรียมสารผสมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดา

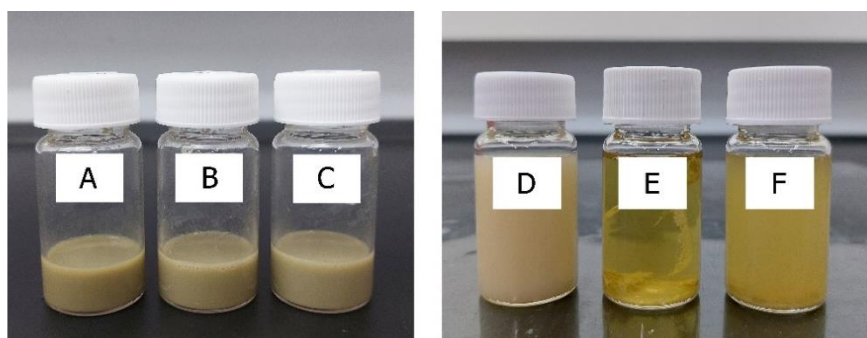


Figure 2 Neem capsule suspension at various ratios of PLLA:NEEM - A) 1:1; B) 2:1 and C) 3:1 and various types of surfactants - D) PVA; E) TWEEN80 and F) EUMULGIN-O5

Table 2 Physical characteristics and dispersion in water of neem capsule suspension with different types of surfactants

Surfactant	Physical characteristics	Dispersion in water
PVA	Light brown color, turbidity	Good
TWEEN80	Yellow color, clear, Flocculation	Flocculation
EUMULGIN-O5	Yellow color, rather turbidity, Flocculation	Flocculation

2.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว

จากผลการศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิว 2.2 พบว่า PVA เป็นสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมที่สุด จึงศึกษาความเข้มข้นของ PVA 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร พบว่าทั้ง 3 ความเข้มข้น ได้สารละลายขุ่นสีน้ำตาลอ่อนเหมือนกันทุกสูตร และฟุ้งกระจายในน้ำได้ดีเช่นเดียวกัน ดัง Table 3 จึงเลือกใช้ PVA เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ในการเตรียมสารผสม

Table 3 Physical characteristics and dispersion in water of neem capsule suspension with different concentration of surfactants (PVA)

PVA	Physical characteristics	Dispersion in water
1%	Light brown color, turbidity	Very good
2%	Light brown color, turbidity	Very good
3%	Light brown color, turbidity	Very good

2.4 ศึกษาความเข้มข้นของสารหล่อหุ้ม PLLA

จากการเตรียมสารผสมพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดา โดยใช้อัตราส่วนของสารหล่อหุ้มต่อสารสกัดสะเดาที่อัตราส่วน 3:1 และใช้ 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร PVA เป็นสารลดแรงตึงผิว นำมาศึกษาความเข้มข้นของสารหล่อหุ้ม PLLA ที่ 0.5 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ลักษณะทางสัณฐานของพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดา ที่เตรียมจาก PLLA ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีรูปร่างไม่แน่นอน และมีค่าประสิทธิภาพการกักเก็บ เท่ากับ 67.93 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ลักษณะทางสัณฐานของพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดาที่เตรียมจาก PLLA ที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ มีรูปร่างทรงกลม ผิวเรียบ และมีค่าประสิทธิภาพการกักเก็บ เท่ากับ 73.05 เปอร์เซ็นต์ (Table 4) ซึ่งสอดคล้องกับ สุภิญญา และคณะ (2563) ที่กล่าวว่า “คุณสมบัติที่เหมาะสมของ

ลักษณะภายนอกของไมโครแคปซูลควรมีพื้นผิวที่เรียบไม่ยุบ มีทรงกลม สามารถห่อหุ้มสารสำคัญได้ดี ไม่ควรมีรอยแตกเพราะจะทำให้เกิดการกักเก็บสารสกัดได้ไม่ดี” สารห่อหุ้ม PLLA ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์จึงเหมาะสมที่สุด

เมื่อผสมสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูลขึ้นโดยการเติมสารเติมแต่ง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์รูปแบบแคปซูลแขวนลอย (capsule suspension : CS) จำนวน 2 สูตร ได้แก่ NC1 และ NC2 ซึ่งเตรียมจากสารห่อหุ้ม PLLA ที่ 0.5 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดัง Figure 3



Figure 3 Encapsulated neem extract product in capsule suspension form (CS); NC1 by 0.5% PLLA and NC2 by 4% PLLA

3. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมี

1.1 ปริมาณ azadirachtin ในสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูล

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร azadirachtin ทั้งหมด ด้วยเทคนิค HPLC ในสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูลขึ้นที่เตรียมจากสารห่อหุ้ม PLLA 0.5 เปอร์เซ็นต์ (สูตร NC1) และ PLLA 4 เปอร์เซ็นต์ (สูตร NC2) มีปริมาณสาร azadirachtin เท่ากับ 980.39 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 992.23 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Table 4)

1.2 ประสิทธิภาพการกักเก็บ (Encapsulation efficiency, EE)

สำหรับประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดสะเดาในพอลิเมอร์แคปซูล พบว่า สูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูลขึ้นที่เตรียมจากสารห่อหุ้ม PLLA 0.5 เปอร์เซ็นต์ (สูตร NC1) มีปริมาณสาร azadirachtin ทั้งหมด เท่ากับ 980.39 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณสาร azadirachtin อิสระเท่ากับ 314.39 มิลลิกรัมต่อลิตร คำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บได้ 67.93 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสูตรผลิตภัณฑ์ที่เตรียมจากสารห่อหุ้ม PLLA 4 เปอร์เซ็นต์ (สูตร NC2) มีปริมาณสาร azadirachtin ทั้งหมด เท่ากับ 992.23 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณสาร azadirachtin อิสระเท่ากับ 267.60 มิลลิกรัมต่อลิตร คำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บได้ 73.05 เปอร์เซ็นต์ ดัง Table 4 โดยสูตร NC2 สามารถกักเก็บสารสกัดสะเดาได้มากกว่าสูตร NC1

Table 4 Encapsulation efficiency of neem extract in polymer capsule

Formula	PLLA (%)	Total azadirachtin (mg/L)	Free azadirachtin (mg/L)	Encapsulation efficiency (%)
NC1	0.5	980.39	314.39	67.93
NC2	4	992.23	267.60	73.05

1.3 ลักษณะทางสัณฐานของพอลิเมอร์แคปซูล

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มสารสกัดสะเดาที่เตรียมจากสารห่อหุ้ม PLLA ความเข้มข้น 0.5 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะรูปร่างและพื้นผิวพอลิเมอร์แคปซูล พบว่า พอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมจากสารห่อหุ้ม PLLA ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ มีรูปร่างทรงกลม ผิวเรียบ แตกต่างจากลักษณะภายนอกที่เตรียมจาก PLLA ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่มีรูปร่างไม่แน่นอน ดัง Figure 4

1.4 ขนาดอนุภาค (Particle size) และค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้า (Zeta potential)

จากการตรวจวัดสูตร NC1 และ NC2 พบว่า สูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันที่เตรียมจาก PLLA 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้พอลิเมอร์แคปซูลมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 383.56 นาโนเมตร และดัชนีการกระจายตัวเท่ากับ 0.36 สำหรับสูตรผลิตภัณฑ์ NC2 ที่เตรียมจาก PLLA 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้พอลิเมอร์แคปซูลมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 336.80 นาโนเมตร และดัชนีการกระจายตัวเท่ากับ 0.41 ตามลำดับ ดัง Table 5 สำหรับค่าศักย์ไฟฟ้า พบว่า สูตร NC1 และ NC2 มีค่าเท่ากับ -55.60 และ -53.08 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความเสถียรของสารแขวนลอย คือ มากกว่าหรือเท่ากับ ± 30 mV ถือว่ามีความเสถียร (ศรีณย์ และธวัชชัย, 2556)

Table 5 Particle size, particle disperse index and zeta potential of Encapsulated neem extract product

Product	Particle size (nm)	Polydispersity index (PDI)	Zeta potential (mV)
NC1	383.56	0.36	-55.60
NC2	336.80	0.41	-53.08

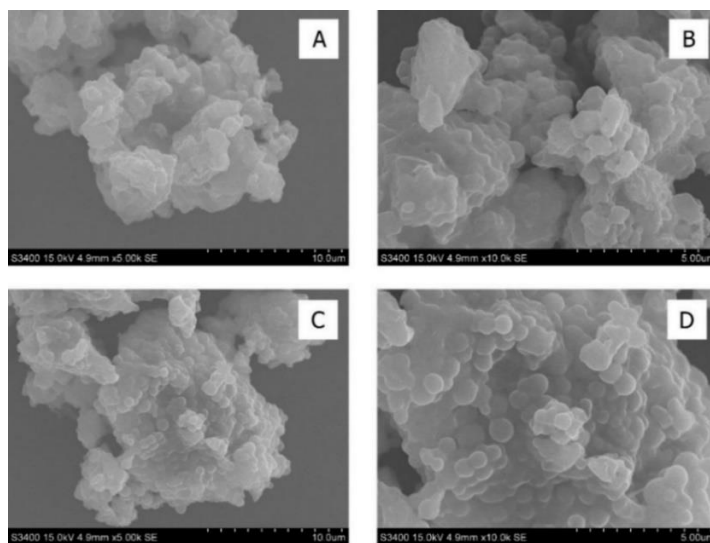


Figure 4 SEM micrographs of PLLA/NEEM capsules with PLLA:NEEM ratio (3:1) and A), B) 0.5% PLLA and C), D) 4% PLLA

4. การศึกษาความคงตัวของสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน

ผลการศึกษาความคงตัวของสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน 2 สูตร ได้แก่ NC1 และ NC2 โดยตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ และความคงตัวของปริมาณสารสำคัญ ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ทั้งสองสูตรมีลักษณะเป็นสารละลายขุ่นสีน้ำตาลอ่อน แคปซูลตกตะกอน ไม่แตกต่างจากวันแรกที่เตรียม ซึ่งเป็นลักษณะของสูตรรูปแบบสารผสมแคปซูลแขวนลอย (CS) ที่แคปซูลจะตกตะกอน และเมื่อเขย่าแล้วจะกระจายตัวได้ง่ายพร้อมใช้งาน ดัง Table 6 สำหรับปริมาณสารสำคัญ azadirachtin พบว่า การเก็บสูตร NC1 และ NC2 ที่ 4 องศาเซลเซียส ทำให้สารสำคัญมีปริมาณคงเหลือเท่ากับ 88.59 เปอร์เซ็นต์ และ 99.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดัง Table 7

Table 6 Physical characteristics of Encapsulated neem extract product

Time	Physical characteristics		Dispersion in water	
	NC1	NC2	NC1	NC2
0	Light brown color, turbidity, capsule disperse well when shaking	Light brown color, turbidity, capsule disperse well when shaking	Very good	Very good
at 4 °C 3 months	Light brown color, turbidity, capsule disperse well when shaking	Light brown color, turbidity, capsule disperse well when shaking	Very good	Very good

Table 7 Percent remaining azadirachtin in the product at different temperatures and times

Time	Amount of active ingredient in NC1		Amount of active ingredient in NC2	
	% Azadirachtin	% Remain	% Azadirachtin	% Remain
0	0.09	100.00	0.10	100.00
at 4 °C 3 months	0.08	88.59	0.10	99.79

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสะเดา และผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันต่อ หนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบสะเดาที่ความเข้มข้น 0.4, 0.8, 1.6, 2.4 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หนอนใยผักตาย 35, 62.5, 85, 82.5 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 8) โดยสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1.6, 2.4 และ 3.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หนอนใยผักตายสูงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันสูตร NC2 ที่ความเข้มข้นอัตรา 10, 25, 50, 100 และ 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนใยผักตาย 52.50, 65, 70, 75 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 9) โดยผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันที่ความเข้มข้นอัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนใยผักตายดีที่สุด

6. การศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยสารสำคัญ azadirachtin จากผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน สูตร NC2 พบว่า ปลดปล่อยสารสำคัญสูงสุดในวันที่ 1 และลดลงช้าๆ อย่างต่อเนื่องนานมากกว่า 20 วัน ดัง Figure 5

Table 8 Mortality of 2-instar larvae of *P. xylostella* after feeding on Chinese kale leaf treated with neem crude extract under laboratory conditions

Treatment	% Mortality of <i>P. xylostella</i>
1. Neem crude extract 0.4%	35.00 c
2. Neem crude extract 0.8%	62.50 b
3. Neem crude extract 1.6%	85.00 a
4. Neem crude extract 2.4%	82.50 a
5. Neem crude extract 3.2%	75.00 ab
6. Methanol	5.00 d
7. Water	2.50 d
CV(%)	21.6

Remark: Means followed by the same letter within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis

Table 9 Mortality of 2-instar larvae of *P. xylostella* after feeding on Chinese kale leaf treated with encapsulated neem extract product under laboratory conditions

Treatment	% Mortality of <i>P. xylostella</i>
1. Encapsulated neem extract product (10 mL/20 L of water)	52.50 c
2. Encapsulated neem extract product (25 mL/20 L of water)	65.00 bc
3. Encapsulated neem extract product (50 mL/20 L of water)	70.00 abc
4. Encapsulated neem extract product (100 mL/20 L of water)	75.00 ab
5. Encapsulated neem extract product (200 mL/20 L of water)	85.00 a
6. Blank product	10.00 d
7. Water	5.00 d
CV(%)	24.1

Remark: Means followed by the same letter within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis

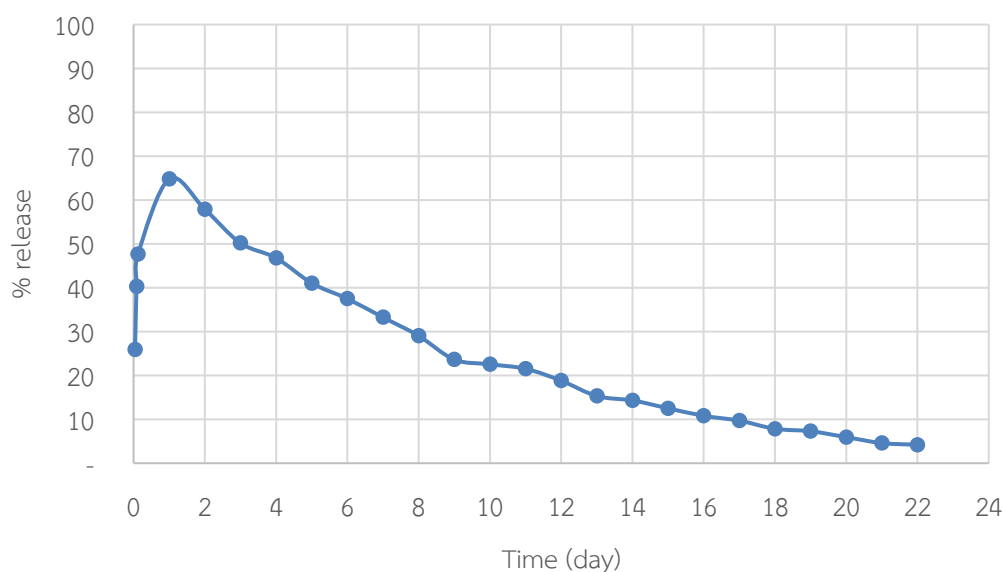


Figure 5 Release profile of encapsulated neem extract product (NC2)

สรุปผลการทดลอง

การวิจัยสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชัน ได้นำสารสกัดสะเดามาห่อหุ้มด้วยพอลิเมอร์ชนิด PLLA ด้วยวิธีระเหยตัวทำละลาย (solvent evaporation) ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเตรียมสารผสมพอลิเมอร์แคปซูลห่อหุ้มสารสกัดสะเดา พบว่า อัตราส่วนสารห่อหุ้ม PLLA ต่อสารสกัดสะเดา 3:1 และ polyvinyl alcohol (PVA) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร เป็นสารลดแรงตึงผิว และสารห่อหุ้ม PLLA ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันรูปแบบสารผสมแคปซูลแขวนลอย (capsule suspension : CS) สูตร NC2 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีพบว่า มีปริมาณ azadirachtin เท่ากับ 992.23 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพการกักเก็บ (%EE) เท่ากับ 73.05 เปอร์เซ็นต์ สำหรับคุณสมบัติทางกายภาพ พบว่า ลักษณะทางสัณฐานของพอลิเมอร์แคปซูล มีรูปร่างทรงกลม ผิวเรียบ อนุภาคมีขนาด 336.80 นาโนเมตร และค่าศักย์ไฟฟ้า -53.08 มิลลิโวลต์ นอกจากนี้ผลการศึกษาคงตัวของสูตรผลิตภัณฑ์พบว่า คุณสมบัติทางกายภาพคงสภาพดีเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน และคุณสมบัติทางเคมี พบปริมาณ azadirachtin คงเหลือมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันสูตร NC2 ต่อหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลิตภัณฑ์มีผลให้หนอนใยผักตาย 52.50 – 85.00 เปอร์เซ็นต์ และผลการศึกษการปลดปล่อยสารสำคัญ พบว่า สูตรผลิตภัณฑ์ปลดปล่อยสารสำคัญช้าๆ อย่างต่อเนื่องมากกว่า 20 วัน โดยสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคปซูเลชันที่ได้สามารถนำไปทดสอบในระดับโรงเรือนและแปลงทดสอบต่อไป เพื่อกำหนดอัตราการใช้ที่เหมาะสม และแนะนำให้เก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่ำเพื่อยืดระยะเวลาในการเก็บรักษา

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยนี้ทำให้ได้สูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคพซูเลชัน และข้อมูลประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ ที่สามารถนำไปทดสอบในแปลงทดสอบ และแปลงเกษตรกร เพื่อเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรในการใช้สูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคพซูเลชันในการควบคุมหนอนใยผักซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในแปลงผัก หรือใช้แบบสลับกันกับสารเคมีได้ ซึ่งสะดวกต่อการใช้งาน ทำให้ลดการใช้สารเคมีในภาคการเกษตร และมีความปลอดภัยมากขึ้น นำไปสู่ผลผลิตที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และช่วยลดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตทางการเกษตร นำข้อมูลการผลิตสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาเอนแคพซูเลชันที่ได้ไปพัฒนาต่อ และขยายผลเชิงอุตสาหกรรม ถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ผู้ที่สนใจต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- จิณาภา แสงสี. 2562. การกักเก็บสารสกัดสมุนไพรด้วยพอลิแอลแลคติก แอซิด โดยใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- ภัควรินทร์ ศานติธีรโรจน์, พรณิกา อัดตนนท์ และณัฐพร ฉันทศักดิ์ดา. 2560. วิจัยการใช้เทคนิคทีแอลซีสมรรถนะสูง (HPTLC) ในการทำเอกลักษณ์โครมาโทกราฟีของสารสำคัญในสะเดา. *ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2559* กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. หน้า 144-163.
- สุกัญญา สุขะเหล็ก สมเกียรติ จตุรงค์กล้าเลิศ ดวงพร อมรเลิศพิศาล นักรบ นาคประสม และกาญจนา นาคประสม. 2563. การเอนแคพซูเลชันสารสกัดจากปลีกล้วยด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*. 25 (2) : 448 - 463.
- ศรัณย์ ต้นตะนาวศา และรัชชัย แพชะมัต. 2013. กลไกและทฤษฎีความคงตัวของยาแขวนตะกอนขนาดนาโนเมตร. *วารสารไทยเภสัชศาสตร์ และวิทยาการสุขภาพ*. 8 (1) : 36-41.
- Bagle, A.V., R.S. Jadhav, V.V. Gite, D.G. Hundiwale and P.P. Mahulikar. 2013. Controlled release study of phenol formaldehyde microcapsules containing neem oil as an insecticide. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 62: 421-425.
- Fahmi, M.Z., H. Suwito, A. Susilo, E. Joeniarti, A.M.R. Jaswidi and N. Indrasari. 2017. Chitosan-based neem seed extract nanocapsules: a new approach on enhanceing its effectiveness as an insecticide delivery agent. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*. 52, 6, 1129-1134.
- Forim, M.R., E.S. Costa, M.F. da Silva, J.B. Fernandes, J.M. Mondego and A.L. Boica Junior. 2013. Development of a New Method to Prepare Nano-/microparticles Loaded with Extracts of *Azadirachta indica*, Their Characterization and Use in Controlling *Plutella xylostella*. *J. Agric. Food Chem*. 61: 9131-9139.
- Riyajan, S. and J.T. Sakdapipanich. 2009. Encapsulated neem extract containing Azadiractin-A within hydrolyzed poly(vinyl acetate) for controlling its release and photodegradation stability. *Chemical Engineering Journal*. 152: 591-597.

วิจัยสูตรและทดสอบฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำสำเร็จรูปเพื่อการป้องกัน
กำจัดหนอนใยผักด้วยเทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน

Development of *Acorus Calamus* Linn. Extract Product for The Control
of *Plutella Xylostella* L. Base on Encapsulation Technology

พจนีย์ หน่อผืน ลักษมี เดชานุรักษ์นุกูล ธิตยาภรณ์ อุดมศิลป์
สุทิสรา เงินเรืองโรจน์ ณัฐพร ฉันทศักดิ์ดา

Poachanee Norfun Laksamee Dachanuraknukul Thitiyaporn Udomsilp
Suthisa Ngoenrueangrot Nattaporn Chantasakda

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The present communication aims to develop an encapsulated, sustained-release bioinsecticidal product containing *Acorus calamus* L. essential oil extract. This product seeks to address the limitations associated with essential oils, which are sensitive to degradation from light, heat, air, and humidity leading to a loss of effectiveness. To enhance the stability of bioactive compound. The essential oil encapsulation component with *Acorus calamus* L. extract as the core is encapsulated using the biodegradable polymer polylactic acid (PLLA) as a polymer shell to form small capsules. The polymer capsule was prepared using the solvent evaporation technique in oil in water (O/W) emulsion. The effects of surfactant type and concentration were investigated, with optimal conditions predicted at a polyvinyl alcohol (PVA) concentration of 3 %wt. In addition, various ratios of PLLA:*Acorus calamus* L. extract were studied. It was found that at 2:1 PLLA/*Acorus calamus* L. extract provided an optimal condition with high colloidal stability. The average capsule size was 279.10 nm with a narrow particle size distribution (PDI: 0.21) and the percent encapsulation efficiency (%EE) was 74.42%. The efficacy of the developed formulation was tested against second-instar larvae of *Plutella xylostella* L. by leaf dipping method. The experiment, conducted a completely randomized design (CRD) found that the formulation at 50 mL per 20 liters of water caused the highest 73.75 % mortality.

Keywords: *Acorus calamus* L.; *Plutella xylostella* L.; Encapsulation

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำด้วยเทคนิคเอนแคปซูเลชัน เพื่อลดข้อจำกัดของสารสกัดที่มีความไวในการเสื่อมสลายตัวจากแสง ความร้อน อากาศ ความชื้น และเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ โดยมีสารสกัดว่านน้ำเป็นสารแกนกลางจะถูกห่อหุ้มด้วยพอลิแลคติก แอซิด (พีแอลแอลเอ) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพให้อยู่ในรูปของแคปซูลขนาดเล็กด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ ศึกษาผลของการใช้สารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลพบว่าพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (พีวีเอ) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ทำให้อิมัลชันมีความเสถียร นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาอัตราส่วนระหว่างพอลิแลคติก แอซิดต่อสารสกัดว่านน้ำ พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 2:1 ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรทางคอลลอยด์ ขนาดของแคปซูลที่ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 279.10 นาโนเมตร ซึ่งมีการกระจายตัวของขนาดที่แคบ (พีดไอ: 0.21) โดยมีประสิทธิภาพการกักเก็บ 74.42 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ต่อหนอนใยผักวัย 2 ในระดับห้องปฏิบัติการโดยวิธีจุ่มใบ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ผลการทดสอบพบว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชันที่อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีผลทำให้หนอนใยผักตายสูงสุด 73.75 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: ว่านน้ำ; หนอนใยผัก; เอนแคปซูเลชัน

บทนำ

ว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.) เป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อน อยู่ในวงศ์ Araceae มีลำต้นเป็นเหง้าอยู่ใต้ดิน ลักษณะเป็นแท่งค่อนข้างแบน มีใบแข็งตั้งตรง รูปร่างแบนเรียวยาว ปลายใบแหลม แตกใบเรียงสลับซ้ายขวาเป็นแผง ใบค่อนข้างฉ่ำน้ำ ดอกมีสีเขียว มีขนาดเล็ก ออกเป็นช่อ มีจำนวนมากอัดกันแน่นเป็นแท่งรูปทรงกระบอก มีก้านช่อดอกลักษณะคล้ายใบ ทั้งใบ เหง้า และรากมีกลิ่นหอมฉุน ชอบขึ้นตามที่น้ำขังหรือที่ชื้นแฉะ เหง้าของว่านน้ำให้น้ำมันหอมระเหยได้ดีและมีปริมาณมาก เป็นพืชที่มีการนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร (มงคล, 2547) สารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยของว่านน้ำคือ β -asarone (Bjornstad *et al.*, 2009) มีความเป็นพิษต่อแมลงหลายชนิดหลายชนิด โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง มีผลต่อระบบสืบพันธุ์ การวางไข่ และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลง และยับยั้งการกินอาหารของแมลง (Tewary *et al.* 2005) อย่างไรก็ตามการใช้สารสกัดจากสมุนไพรโดยทั่วไปยังคงมีข้อจำกัดในเรื่องของความคงตัวของสารสำคัญที่ส่งผลการออกฤทธิ์ และประสิทธิภาพต่อแมลงศัตรูพืช จึงมีการพัฒนาไมโครแคปซูลน้ำมันหอมระเหยเพื่อเพิ่มความคงทนของน้ำมันหอมระเหยโดยเทคนิคเอนแคปซูเลชันซึ่งเป็นกระบวนการช่วยกักเก็บสารออกฤทธิ์สำคัญให้มีคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีขึ้น มีส่วนประกอบที่สำคัญอยู่ 2 ส่วน คือ เปลือก (เช่น พอลิเมอร์) และแกนกลาง (สารที่ต้องการห่อหุ้ม) โดยสารแกนกลางจะถูกห่อหุ้มด้วยสารพอลิเมอร์ให้อยู่ในรูปของแคปซูลขนาดเล็กหรือที่เรียกกันว่าพอลิเมอร์แคปซูล มีประโยชน์คือ ทำให้สารที่ไวต่อแสงและถูกออกซิไดส์ได้ง่ายมีความคงตัวดีขึ้นและเก็บรักษาได้ยาวนาน สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญไปยังบริเวณที่ต้องการได้ในเวลาและปริมาณที่เหมาะสม (deOliveira *et al.*, 2014) สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้โดยตรง นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เพราะสะดวกต่อการนำไปผสมกับสารอื่น สารแกนกลางมีคุณสมบัติเหมือนเดิมทั้งก่อนและหลังการเตรียมเป็นพอลิเมอร์แคปซูล เช่น พอลิเมอร์แคปซูลหุ้มปุ๋ย พอลิเมอร์แคปซูลหุ้มวิตามินอีและพอลิเมอร์แคปซูลหุ้มน้ำมันหอมระเหย (Hammoud *et al.*, 2022) เทคนิคในการเอนแคปซูเลชันสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือการเอนแคปซูเลชันโดยวิธีทางเคมี (chemical method) และวิธีทางกายภาพ (physical method) ซึ่งการเลือกเทคนิคในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูล ขึ้นอยู่กับสารแกนกลางพอลิเมอร์และการนำไปประยุกต์ใช้งาน เทคนิคที่นิยมใช้

คือการตกตะกอนด้วยสารเคมี การระเหยตัวทำละลาย การพอลิเมอร์ไรเซชันที่รอยต่อระหว่างผิว และการสังเคราะห์มอนอเมอร์โดยใช้กลไกการแยกตัวภายใน (Armendáriz-Barragana *et al.*, 2016)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชันโดยเทคนิคระเหยตัวทำละลาย เพื่อเป็นทางเลือกในการควบคุมหนอยักษ์ซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญในคะน้า และลดการใช้สารเคมี

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง เครื่องลดปริมาตรสารแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) เครื่องปั่นผสมสารความเร็วสูง (homogenizer) เครื่องคนสารแม่เหล็ก (magnetic stirrer)
2. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ เครื่อง Gas Chromatograph - Mass Spectrometer (GC-MS), High Performance Chromatography (HPLC)
3. เครื่องแก้ว ได้แก่ ขวดกำหนดปริมาตร หลอดทดลอง กระบอกตวง ปีกเกอร์ ปิเปต
4. สารเคมี ได้แก่ β -asarone, Poly(L-lactic acid) (PLLA), Polyvinyl alcohol (PVA), Tween 80, Span80, dichloromethane, methanol
5. สิ่งทดลอง ได้แก่ เหง้าว่านน้ำ, และ หนอยักษ์

วิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดว่านน้ำ

นำเหง้าว่านน้ำมาล้างน้ำให้สะอาดและผึ่งให้แห้งจากนั้นนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด และสกัดว่านน้ำด้วยวิธี hydrodistillation โดยใช้เหง้าว่านน้ำสด 500 กรัมต่อน้ำ 350 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 ชั่วโมง (รัตนกรณ และคณะ, 2553) หลังจากนั้นนำน้ำมันที่ได้ เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดว่านน้ำ

วิเคราะห์ หาปริมาณ β -asarone ในสารสกัดว่านน้ำด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) โดยใช้เครื่อง GC-MS ต่อเข้ากับเครื่องตรวจวัดชนิด Mass Selective Detector ใช้คอลัมน์ชนิด capillary ขนาด 30 เมตร x 250 ไมโครเมตร x 0.25 ไมโครเมตร ใช้การฉีดที่ปริมาตร 1.0 ไมโครลิตร (split ratio เท่ากับ 50:1) โดยตั้งอุณหภูมิส่วนที่ฉีดสาร 200 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของก๊าซฮีเลียมเข้าคอลัมน์เป็น 1.0 มิลลิลิตร/นาที คำนวณหาความเข้มข้นของสาร β -asarone จากกราฟมาตรฐานเทียบกับสารมาตรฐาน β -asarone

3. เตรียมพอลิแลคติกแอซิดแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดว่านน้ำด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบน้ำมันในน้ำ

การเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในงานวิจัยนี้จะเตรียมในระบบอิมัลชันด้วยวิธีการระเหยตัวทำละลาย โดยมี พอลิแลคติก แอซิด (PLLA) เป็นสารห่อหุ้ม มีวิธีการเตรียมดังนี้ คือ เตรียมชั้นน้ำมันโดยการละลายพอลิแลคติกแอซิดด้วยไดคลอโรมีเทนจากนั้นนำไปผสมกับสารสกัดว่านน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสม (PLLA : สารสกัดว่านน้ำ; 1:1, 2:1 และ 3:1) จากนั้นนำไปเติมลงในสารละลายของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม (PVA, Tween80 และ Span80 ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) แล้วปั่นผสมโดยใช้เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ อัตราเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จะได้อิมัลชันของหยดน้ำมันในน้ำ ซึ่งมีหยดของน้ำมันกระจายตัวอยู่ในชั้นน้ำ จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกจะได้พอลิแลคติกแอซิดแคปซูลหุ้มสารสกัดว่านน้ำ

Table 1 Parameters investigated to evaluate the formulation of *Acorus calamus* L. capsules

Phase	Composition	Ratio (v/v)		
Oil	PLLA	1	2	3
	<i>Acorus calamus</i> L. extract	1	1	1
	Dichloromethane	20	20	20
Water	Surfactant ^(a)	18	18	18
Remark ^(a) PVA, Tween80 and Span80 aqueous solution at the concentration of 3 %wt				

4. ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์

4.1 ประสิทธิภาพของการกักเก็บ

นำตัวอย่างพอลิเมอร์แคปซูล 0.5 มิลลิลิตร นำมาเหวี่ยงแยกผ่าน cellulose acetate membrane ด้วยเครื่องเหวี่ยงที่ 15 องศาเซลเซียส ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณ β -asarone ด้วยเครื่อง GC-MS นำค่าที่ได้มาคำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บดังสูตร

สูตรคำนวณประสิทธิภาพในการกักเก็บ

$$\text{ประสิทธิภาพการกักเก็บ} = \frac{\text{ปริมาณสารสำคัญทั้งหมด} - \text{ปริมาณสารสำคัญอิสระ}}{\text{ปริมาณสารสำคัญทั้งหมด}} \times 100$$

4.2 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคเฉลี่ยและค่าศักย์ซีต้า (zeta-potential)

วิเคราะห์ขนาดอนุภาคเฉลี่ยและค่าศักย์ซีต้า โดยใช้เทคนิค dynamic light scattering (DLS) ด้วยเครื่อง Zetasizer Ultra (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

4.3 การศึกษาสัณฐานวิทยาของพอลิเมอร์แคปซูล

ศึกษาลักษณะของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้โดยศึกษารูปร่างและลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) ตรวจวิเคราะห์ด้วยกำลังขยายที่เหมาะสม

4.4 การศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากพอลิเมอร์แคปซูล

พอลิเมอร์แคปซูลทำหน้าที่กักเก็บและควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ (β -asarone) ในสารสกัดว่านน้ำ งานวิจัยนี้ทำการศึกษาเวลาที่พอลิเมอร์แคปซูลนั้นปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ออกมาโดยการวัดปริมาณ β -asarone ด้วยเครื่อง HPLC โดยมีขั้นตอนคือชั่งพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บสารสกัดว่านน้ำมา 1.0 กรัม ใส่ในถุงเยื่อเบรอน (dialysis bag) ใส่ในบีกเกอร์แล้วเติมน้ำปราศจากไอออนลงไป 100 มิลลิลิตร ทำการกวนสารที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ด้วยเครื่องกวนสารแม่เหล็ก (magnetic stirrer) จากนั้นดูดสารละลายออกมา 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนลงไปในบีกเกอร์อีก 3 มิลลิลิตร เพื่อให้สารละลายในบีกเกอร์มีปริมาตรคงที่ คนสารละลายที่มีถุงเยื่อเบรอนบรรจุพอลิเมอร์แคปซูลอย่างต่อเนื่อง ทำซ้ำแบบเดิมและดูดสารละลายออกมาทุก 30 นาที และนำสารละลายที่ดูดออกมาไปตรวจวัดปริมาณ β -asarone ที่ปลดปล่อยออกมาด้วยเครื่อง HPLC

5. ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชันต่อหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ

ทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชันต่อหนอนใยผักวัย 2 ที่ 5 ระดับความเข้มข้น เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ (10 ตัว/ซ้ำ) 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลิตรากสารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชัน อัตรา 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร
 กรรมวิธีที่ 2 ผลิตรากสารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชัน อัตรา 25 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร
 กรรมวิธีที่ 3 ผลิตรากสารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชัน อัตรา 35 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร
 กรรมวิธีที่ 4 ผลิตรากสารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชัน อัตรา 50 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร
 กรรมวิธีที่ 5 ผลิตรากสารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชัน อัตรา 70 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร
 กรรมวิธีที่ 6 ผลิตรากสารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชัน อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร
 กรรมวิธีที่ 7 น้ำ (กรรมวิธีควบคุม)

นำผลิตรากสารสกัดว่านน้ำมาทดสอบฤทธิ์กับหนอนใยผักวัย 2 โดยวิธีการจุ่มใบพืช (Leaf dipping method) ดำเนินการโดยตัดใบผักคะน้าเป็นวงกลม จุ่มลงในสารตามกรรมวิธีต่างๆ จากนั้นนำไปใส่ในกล่องพลาสติกสำหรับทดสอบ ทำการปล่อยหนอนใยผัก กล่องละ 10 ตัว ในแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลการทดลอง โดยตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผัก ที่ 24, 48 72 และ 96 ชั่วโมง หาค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

6. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปและรายงานผล

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมสารสกัดว่านน้ำ

ได้น้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ โดยวิธีการสกัดด้วยวิธี hydrodistillation ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีลักษณะเป็นสีเหลืองใส (Figure 1)



Figure 1 Extraction of *Acorus calamus* Linn.

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดว่านน้ำ

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ β -asarone ในสารสกัดว่านน้ำด้วยวิธี GC-MS เทียบกับสารมาตรฐาน พบสารสำคัญ β -asarone ในสารสกัดว่านน้ำ 72.1 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร (% w/v)

3. เตรียมสูตรผลิตภัณฑ์ว่านน้ำด้วยเทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน

ในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลในระบบอิมัลชันสารลดแรงตึงผิวเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญเนื่องจากจะมีผลต่อความเสถียรทางคอลลอยด์ (colloidal stability) และขนาดของอนุภาคที่เตรียมได้ ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม เมื่อพิจารณาจากสถานะอิมัลชันที่เตรียมได้จากการใช้สารลดแรงตึงผิวทั้งสามชนิดได้แก่ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA), Tween80 และ Span80 พบว่าสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการเตรียมพอลิเมอร์แคปซูลคือ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เนื่องจากได้อิมัลชันที่ได้มีความเสถียรมากที่สุดและมีลักษณะคล้ายน้ำมัน เมื่อตั้งทิ้งไว้ไม่เกิดการรวมตัวของหยดพอลิเมอร์ ในขณะที่เมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวอีกสองชนิด หยดพอลิเมอร์จะรวมตัวกันและเกิดการแยกชั้น (Figure 2)

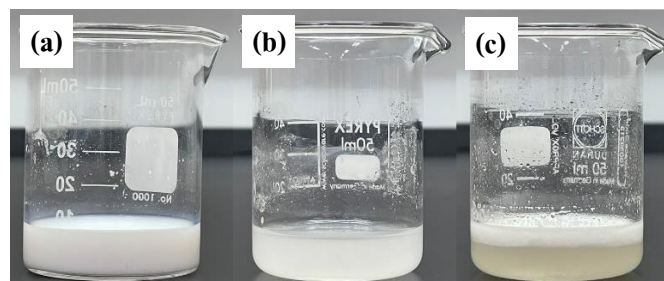


Figure 2 Oil in water emulsion of polymer capsules loaded *Acorus calamus* L. extract using difference surfactants (a) PVA (b) Tween80 (c) Span80

ปริมาณของพอลิเมอร์ที่เหมาะสมจะทำให้เกิดฟอร์มของแคปซูลที่แข็งแรง และอัตราส่วนของวัสดุที่กักเก็บต่อสารแกนกลางก็มีผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บเช่นกันโดยอัตราส่วนของวัสดุที่กักเก็บต้องมากกว่าสารแกนกลางเสมอ (Dong *et al.*, 2011) ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมแคปซูลแบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำโดยมีสารละลาย PVA เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เป็นสารลดแรงตึงผิว คือ อัตราส่วนระหว่างพอลิแลคติก แอซิดต่อสารสกัดว่านน้ำที่อัตราส่วน 2:1 โดยพบว่าหลังจากกระเหยตัวทำละลายแคปซูลที่ได้มีความเสถียรทางคอลลอยด์สูง อนุภาคไม่มีการเกาะตัวกันเป็นก้อน (Figure 3)

Table 2 Physical appearance of PLLA capsule containing *Acorus calamus* L. extract at the various ratio of PLLA: *Acorus calamus* L. extract

PLLA : <i>Acorus calamus</i> L. extract	Physical appearance
1:1	Milky white colloidal
2:1	Milky white colloidal
3:1	Milky white colloidal, flocculation and phase separation

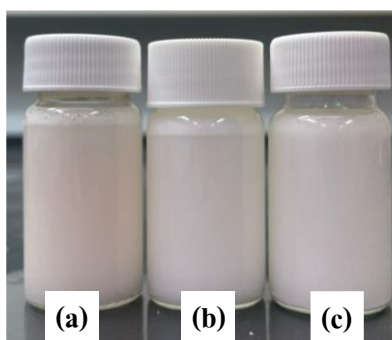


Figure 3 Physical appearance of emulsions of PLLA capsule containing *Acorus calamus* L. extract at the various ratio of PLLA: *Acorus calamus* L. extract (a) 1:1, (b) 2:1, (c) 3 :1

4. ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์

4.1 ประสิทธิภาพของการกักเก็บ

ศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดว่านน้ำในพอลิเมอร์แคปซูล โดยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร β -asarone ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์เอนแคปซูเลชัน และปริมาณสาร β -asarone อิสระ แล้วนำมาคำนวณหาประสิทธิภาพการกักเก็บ พบว่า ผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชันที่เตรียมได้ มีปริมาณ β -asarone ทั้งหมด เท่ากับ 0.43 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณสาร β -asarone อิสระเท่ากับ 0.11 เปอร์เซ็นต์ คำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บได้ 74.42 เปอร์เซ็นต์

4.2 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคเฉลี่ยและค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้า (zeta-potential)

การหาขนาดอนุภาคเฉลี่ยและการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของพอลิเมอร์แคปซูลที่กักเก็บสารสกัดว่านน้ำ จะเห็นว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของแคปซูลเท่ากับ 279.10 นาโนเมตร มีการกระจายตัวของขนาด (PDI) เท่ากับ 0.21 (Figure 4) แสดงว่าพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้มีขนาดใกล้เคียงกัน

ค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้า (zeta-potential) คือค่าประจุบริเวณพื้นผิวอนุภาค ซึ่งขนาดของค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าแสดงให้เห็นถึงเสถียรภาพของระบบคอลลอยด์ โดยทั่วไปหากค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้ามากกว่า +30 และต่ำกว่า -30 มิลลิโวลต์ จะทำให้ระบบคอลลอยด์มีความเสถียรภาพ (Tadros *et al.*, 2004) จากการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชันที่เตรียมได้มีค่าค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าเท่ากับ -35.9 มิลลิโวลต์ แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ค่อนข้างมีเสถียรภาพดี

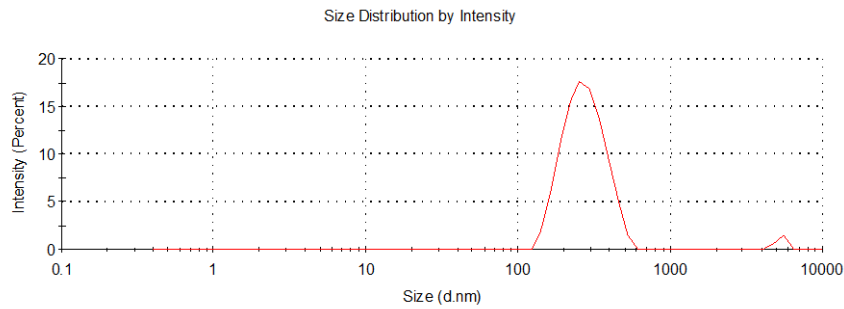


Figure 4 Size distribution curve of PLLA capsules containing *Acorus calamus* L. extract

4.3 การศึกษาสัณฐานวิทยาของพอลิเมอร์แคปซูล

เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้ด้วยกล้องอิเล็กตรอนจุลทรรศน์แบบส่องกราด ส่องวิเคราะห์ที่ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (Nanotec) พบว่า พอลิเมอร์แคปซูลที่เตรียมได้มีลักษณะเป็นทรงกลม พื้นผิวเรียบ และไม่มีการแตกของเปลือกสารห่อหุ้ม (Figure 5) สันนิษฐานว่าน่าจะเกิดการแยกวัฏภาคของพอลิแลคติกหุ้มสารสกัดว่านน้ำได้ดีและเกิดการหุ้มที่สมบูรณ์

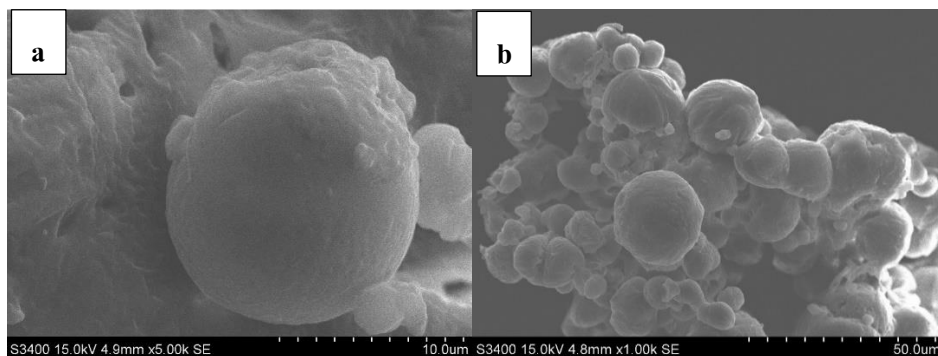


Figure 5 SEM images of PLLA capsules containing *Acorus calamus* L. extract
a. at 5000x magnification, b. at 1000x magnification

4.4 การศึกษาการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากพอลิเมอร์แคปซูล

การศึกษาการปลดปล่อยสารสกัดว่านน้ำจากพอลิเมอร์แคปซูลโดยมีน้ำปราศจากไอออนเป็นตัวกลางพบว่า พอลิแลคติกแอซิดแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดว่านน้ำมีแนวโน้มการปลดปล่อยสารเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น เมื่อผ่านไป 2 วัน พบว่ามีการปลดปล่อยสารประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจะปลดปล่อยออกมาเพิ่มถึงวันที่ 5 พบว่ามีการปลดปล่อยสารสูงสุด 82 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นปริมาณการปลดปล่อยจะค่อย ๆ ลดลง (Figure 6)

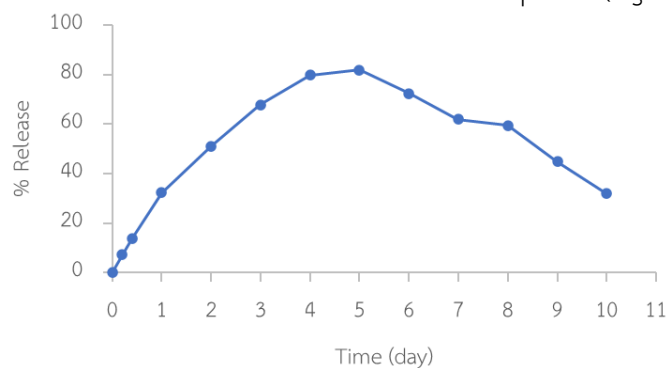


Figure 6 Release profile of PLLA capsules containing *Acorus calamus* L. extract

5. ทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชันต่อหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Leaf dipping method วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ ที่อัตราการใช้สูตรผลิตภัณฑ์ 6 ระดับ ได้แก่ 10, 25, 35, 50, 75 และ 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยมีน้ำเป็นกรรมวิธีควบคุม วิเคราะห์ข้อมูลอัตราการตายโดยใช้วิธีตาม Abbott's formula (Abbott, 1925) ผลทดสอบพบว่าหนอนใยผักตาย 20.00, 31.25, 46.88, 73.75, 65.00 และ 70.63 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 Mortality of 2-instar larvae of *P. xylostella* after feeding on Chinese kale leaf treated with *Acorus calamus* L. encapsulation formulation under laboratory conditions

Treatments	Rate of application (mL/20 L of water)	Corrected mortality (%)
1. <i>Acorus calamus</i> L. encapsulation formulation	10	20.00c
2. <i>Acorus calamus</i> L. encapsulation formulation	25	31.25c
3. <i>Acorus calamus</i> L. encapsulation formulation	35	46.88b
4. <i>Acorus calamus</i> L. encapsulation formulation	50	73.75a
5. <i>Acorus calamus</i> L. encapsulation formulation	75	65.00a
6. <i>Acorus calamus</i> L. encapsulation formulation	100	70.63a
7. control (water)	-	-
%CV		14.7

Remark: Means followed by the same letters within the column are not significantly different at 95% confidence limits based on DMRT analysis.

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้วิธีการเตรียมผลิตภัณฑ์แคปซูลพอลิแลคติก แอซิด (PLLA) ที่กักเก็บสารสกัดว่านน้ำ โดยใช้เทคนิคการระเหยตัวทำละลายในระบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ โดยมีสารละลายพอลิโนลแอลกอฮอล์ (PVA) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เป็นสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม ทำให้เกิดอิมัลชันที่มีความเสถียร ศึกษาอัตราส่วนระหว่างพอลิแลคติก แอซิดต่อสารสกัดว่านน้ำ พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 2:1 ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรทางคอลลอยด์ พอลิเมอร์แคปซูลที่ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 279.10 นาโนเมตร โดยมีการกระจายตัวของขนาดที่แคบ (PDI: 0.21) และมีประสิทธิภาพการกักเก็บ 74.42 เปอร์เซ็นต์ ศึกษารูปร่างของพอลิเมอร์แคปซูลที่ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดพบว่า พอลิเมอร์แคปซูลมีลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลม พื้นผิวเรียบ ผลการทดสอบประสิทธิภาพต่อหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการโดยวิธีจุ่มใบ (leaf dipping method) พบว่า ผลิตภัณฑ์สารสกัดว่านน้ำเอนแคปซูเลชันสามารถควบคุมหนอนใยผักได้ดี โดยความเข้มข้นที่อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ประสิทธิภาพทำให้หนอนใยผักตายสูงสุด 73.75 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะนำไปทดสอบเพื่อกำหนดอัตราการใช้ในระดับแปลงทดสอบต่อไป เพื่อเป็นปัจจัยการผลิตทางเลือกในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ลดการใช้สารเคมีที่เป็นสารตกค้างในผลผลิตการเกษตรและพื้นที่การเพาะปลูก ซึ่งเสี่ยงต่อการเกิดปัญหาสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภค

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

งานวิจัยนี้ได้ข้อมูลและองค์ความรู้ในการผลิตผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชในรูปแบบเอนแคปซูเลชันสามารถถ่ายทอดวิธีการเตรียมแคปซูลที่กักเก็บสารสกัดพืชโดยเทคนิคในห้องปฏิบัติการ เพื่อนำไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ และพัฒนาสารสกัดจากพืชชนิดอื่นที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ รวมทั้งขยายผลในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในแมลงศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- มงคล แก้วเทพ. 2547. ว่านน้ำ สมุนไพรฆ่าแมลง, *จุลสารข้อมูลสมุนไพร*, 21(4), น. 8-14.
- รัตนารักษ์ พรหมศรธา, เสริม สีมา, สมบัติ แผนดี, อิสริยะ สืบพันธุ์ดี และอุดมลักษณ์ อุ้นจิตต์วรระ. 2553, วิจัยสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดหนอนตายหยาและว่านน้ำเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืช. ผลการปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2553. กรมวิชาการเกษตร
- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide, *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Armendáriz-Barragán B., N. Zafar, W. Badri, S.A. Galindo-Rodríguez, D. Kabbaj, H. Fessi, and A. Elaissari. 2016. Plant extracts: from encapsulation to application. *Expert Opinion on Drug Delivery* 13: 1165–1175.
- Bjornstad K., A. Helander, P. Hulten, and O. Beck. 2009. Bioanalytical Investigation of Asarone in Connection with Acorus calamus Oil Intoxications, *Journal of Analytical Toxicology* 33: 604-609.
- deOliveira J.L., E.V.R. Camposa, M. Bakshic, P.C. Abhilash, and L.F. Fraceto. 2014. Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: Prospects and promises. *Biotechnology Advances* 32:1550-1561.
- Dong, Z., Y. Ma, K. Hayat, C. Jia, S. Xia, and X. Zhang. 2011. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering* 104:455-460.
- Hammoud Z., M.B. Abadab, H. Greige-Gergesa, A. Elaissaric, and J.M.B. Jemâa. 2022. Insecticidal effects of natural products in free and encapsulated forms: an overview. *Journal of Natural Pesticide Research* 1: 1-21.
- Tadros T., P. Izquierdo, J. Esquena, and C. Solans. 2004. Formation and stability of nanoemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* 108-109:303-318.
- Tewary D.K., A. Bhardwaj, and A. Shanker. 2005. Pesticidal activities in five medicinal plants collected from mid hills of western Himalayas. *Industrial Crops and Products* 22:241-247.

การสำรวจสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมจากแหล่งปลูกอ้อย ในจังหวัดสุพรรณบุรี

Monitoring of Pesticide in vegetation and the Environment from sugar cane Crops at Suphan Buri Province

ปภัสรา คุณเลิศ¹ กาญจนภา ด่วนนคร¹ ประกิจ จันทร์ดีบ²

Paphatsara Khunlert¹

Kanjanapa Duangnakorn¹

Prakit Chuntib²

กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The objective of this study was to survey residues of pesticide in sugar cane crops and to evaluate the risk of those residues for humans and environment in Amphor U Thong Suphan Buri Province. The soil, water, sediment and sugar cane were collected (n=87) in dry and wet seasons and analyzed using chromatography. The results showed that the pesticides were found in 45 samples (52%). In soil, the total levels of 4 pesticides, including atrazine, ametryn, acetochlor and pendimethalin, were 0.02-0.09 mg/kg. The total levels of those 4 pesticides in water were 0.04–9.65 µg/L. Whereas, only one type of pesticide, ametryn, were found in sediment (0.02-0.27mg/kg). However, pesticide residues in the sugar cane were not found in all samples. The health risk assessment using Hazard quotient (HQ) were less than 1 in soil, water and sediment. It is in acceptable level (HQ<1). Environmental risk assessment using Risk quotient (RQ) were less than 1 in soil, water and sediment which was no risk (RQ<1). However, farmer should consider the residues of these insecticides used in cultivation. Therefore, the results of this research should be distributed to farmers to reduce the risk form pesticide uses.

Keywords: Hazard quotient (HQ); Pesticide residues; Sugar cane Crops; Risk Quotient (RQ)

¹ กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Toxic Substance Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

² Agricultural Research and Development Region 1

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในแหล่งปลูกอ้อยต่อความเสี่ยงที่มีต่อสุขภาพเกษตรกร และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในพื้นที่อำเภอร่องทอง จังหวัดสุพรรณบุรี โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน ในปี 2565-2566 และอ้อยที่ระยะเก็บเกี่ยว รวมทั้งหมด 87 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชจำนวน 65 ชนิด ด้วยเทคนิค Chromatography ผลการตรวจวิเคราะห์พบสารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง 45 ตัวอย่าง (52%) ในตัวอย่างดินพบสารกำจัดศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ atrazine, ametryn, acetochlor และ pendimethalin ปริมาณ 0.02-0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างน้ำพบสาร 4 ชนิด ได้แก่ atrazine, ametryn, acetochlor และ pendimethalin ปริมาณ 0.04 - 9.65 ไมโครกรัมต่อลิตร ในตัวอย่างตะกอนดินพบสาร 1 ชนิด คือ ametryn ปริมาณ 0.02-0.27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่พบสารตกค้างในตัวอย่างอ้อยทุกตัวอย่าง เมื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการสัมผัสด้วยค่า Hazard quotient (HQ) ในดิน น้ำ และตะกอนดิน มีค่าน้อยกว่า 1 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ < 1$) และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า Risk quotient (RQ) ในดิน น้ำ และตะกอนดิน มีค่าน้อยกว่า 1 ถือว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ < 1$) อย่างไรก็ตามเกษตรกรควรคำนึงถึงการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการเพาะปลูกอ้อย ลดความเสี่ยงอันตรายจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืช

คำสำคัญ: ค่าดัชนีบ่งชี้อันตรายต่อสุขภาพ; ค่าดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม; แปลงอ้อย; สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

บทนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลเพื่อบริโภคภายในประเทศ และส่งออกสถานการณ์พื้นที่ปลูกอ้อยปีการผลิตปี 2564/65 มีพื้นที่เพาะปลูกรวมทั้งสิ้นจำนวน 11,022,348 ไร่ เพิ่มขึ้นจำนวน 159,738 ไร่ (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, 2565) ปัจจุบันสารกำจัดศัตรูพืชมีบทบาทสำคัญในภาคเกษตรกรรม เนื่องจากเกษตรกรต้องการผลผลิตที่มีคุณภาพ และปริมาณสูง จึงเป็นสาเหตุทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารกำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น เพื่อควบคุมโรคและศัตรูพืชในผลผลิต (เป้พามา และคณะ, 2563) ประชากรในจังหวัดสุพรรณบุรีมีอาชีพทำการเกษตรกรรมเป็นหลัก มีแหล่งน้ำธรรมชาติ การชลประทานเหมาะสมแก่การเกษตร มีพื้นที่ 3.3 ล้านไร่ ตั้งอยู่ในภาคกลางด้านทิศตะวันตกของประเทศไทย มีประชากรจำนวน 848,567 คน สภาพภูมิประเทศเป็นที่ราบลุ่มเป็นส่วนใหญ่ มีพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบสูง มีพื้นที่ปลูกอ้อย 605,896 ไร่ มีพื้นที่เก็บเกี่ยวอ้อยส่งโรงงาน 497,138 ไร่ ผลผลิต 8.89 ตันต่อไร่ (คณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, 2565) อำเภอร่องทอง มีพื้นที่ 630.29 ตารางกิโลเมตร 15 ตำบล 151 หมู่บ้าน เกษตรกรส่วนใหญ่มีอาชีพปลูกอ้อย ซึ่งปัญหาสำคัญคือ ปัญหาวัชพืชที่เกิดขึ้นจากการปลูกอ้อยในพื้นที่มีการเตรียมดินก่อนปลูก อย่างไรก็ตามหากขาดการจัดการวัชพืชที่เหมาะสม และมีการแข่งขันของวัชพืชมาก อาจทำให้ผลผลิตอ้อยลดลงได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงอ้อยมีอายุประมาณ 3-4 เดือน หลังปลูก จึงจะทำให้อ้อยมีการเจริญเติบโต แตกกอและข้อปล้องได้ดี (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) ในปี พ.ศ. 2565 มีปริมาณการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร 113,640,459.70 กิโลกรัม มูลค่า 24,010,434,152.44 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2566) ปัจจุบันผู้บริโภคมีความตระหนักในการรักษาสุขภาพมากขึ้น การตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในผลผลิตทางการเกษตร ได้กลายเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้ผู้บริโภค (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2565; ภาณุพันธ์ และสยาม, 2558) นอกจากสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลผลิตแล้ว ยังสามารถตกค้างในดิน น้ำ ตะกอนดิน ในพื้นที่บริเวณใกล้เคียงที่เกษตรกรพ่นสารกำจัดศัตรูพืช จากรายงานวิจัยของ รัชมี และคณะ (2558) ตรวจพบสารกำจัดศัตรูพืชภายในวิทยาลัยพยาบาลพิจิตร

จังหวัดลพบุรี พบสารกำจัดวัชพืชในตัวอย่างน้ำ 2 ชนิด คือ ametryn ตรวจพบในฤดูฝน จำนวน 3 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.03 ไมโครกรัมต่อลิตร และ atrazine ตรวจพบทั้งสามฤดูในตัวอย่างน้ำ 10 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.14-0.82 ไมโครกรัมต่อลิตร

อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อมบริเวณโดยรอบแหล่งเพาะปลูก เนื่องจากขณะพ่นสารกำจัดศัตรูพืช ละอองสารเกิดการฟุ้งกระจายไปในอากาศ ตกค้างในผลผลิต สะสมในดิน ชะละลายลงสู่แหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง เกิดการเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อมสะสมในสิ่งมีชีวิต และปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร ส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค เพื่อให้สอดคล้องกับนโยบาย Thailand 4.0 ยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปี แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 12 และก้าวเข้าสู่เป้าหมายการพัฒนาอย่างยั่งยืนขององค์การสหประชาชาติ (sustainable development Goals) เพื่อยกระดับมาตรฐานสินค้าเกษตร ให้สามารถตรวจสอบข้อมูลได้ตลอดกระบวนการผลิต เป็นการสร้างความเชื่อมั่นด้านความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2565) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในแหล่งปลูกอ้อย ในดิน น้ำ ตะกอนดิน และผลผลิต เพื่อประเมินความเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในพื้นที่อำเภออุทุมพร จังหวัดสุพรรณบุรี

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอน ได้แก่ แครงตักน้ำ ขวดเก็บตะกอน ขวดพลาสติกชนิด PTFE ใส่ตัวอย่างน้ำ เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และถุงพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ และ เครื่องมือที่มีระบบระบุตำแหน่งบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)
2. เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, cylinder, beaker, erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, vial, separatory funnel, erlenmeyer flask และ glass funnel
3. สารเคมี ได้แก่ acetonitrile (CH_3CN), hexane (C_6H_{14}), acetone ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), ethyl acetate ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), anhydrous magnesium sulfate (Mg_2SO_4), sodium chloride (NaCl), sodium hydroxide (NaOH), trisodium citrate dehydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), disodium hydrogencitrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), primary secondary amines (PSA), และ น้ำกลั่น (distilled water)
4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งที่สอบเทียบแล้ว, ตู้แช่แข็ง (deep freezer), เครื่องบดตัวอย่าง (food processor), เตาเผา (muffle furnace), ตู้อบ (hot air oven), เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer), เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), เครื่องลดปริมาตร (rotary evaporator), เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator), เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างน้ำ (separatory funnel shaker) และเครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างดิน (shaker)

วิธีการ

1. การสำรวจและกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง เลือกตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจงในหมู่บ้านที่มีอาชีพปลูกอ้อยเชิงพาณิชย์ คือ อำเภออุ้มทอง จังหวัดสุพรรณบุรี เป็นหมู่บ้านที่ปลูกอ้อยเป็นอาชีพมากกว่า 30 ปี เกษตรกรมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง ทำการสำรวจแปลงปลูกอ้อย และสัมภาษณ์เกษตรกร ได้ข้อมูลเกษตรกรที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืช จำนวน 16 ราย ทำการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในช่วงฤดูแล้ง (ธันวาคม 2565) และฤดูฝน (มิถุนายน 2566) สุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และอ้อย เพื่อนำไปวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง และวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของดิน และน้ำ แสดงดัง Table 5

2. การจัดการศัตรูพืชในแปลงอ้อยของเกษตรกร จากการสัมภาษณ์เกษตรกรจำนวน 16 ราย พบว่าพืชสำคัญที่ขึ้นในแปลงอ้อยมีทั้งวัชพืชประเภทใบแคบ และใบกว้าง ซึ่งหลังปลูกอ้อย เกษตรกรจะใช้สารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด ได้แก่ atrazine, acetochlor, diuron และ pendimethalin พ่นคลุมดินก่อนวัชพืชงอกหลังปลูกอ้อย หรือหลังการแต่งตอ เพื่อกำจัดหญ้าตีนติด หญ้าดอกขาว หญ้ารงนก หญ้าปากควาย หญ้านกสีชมพู หญ้าขจรจบ หญ้าตีนนก และหญ้าตีนกา หลังวัชพืชงอกมีจำนวนใบ 4-5 ใบ เกษตรกรจะพ่นสารกำจัดวัชพืช 2 ชนิดคือ ametryn และ 2,4-D หลังจากปลูกอ้อย ได้ 2 เดือน เกษตรกรทำการพรวนดิน ใส่ปุ๋ย และพ่นสารกำจัดวัชพืช diuron เพื่อกำจัดหญ้าตีนกา หญ้าตีนนก หญ้าขี้เหล็ก หญ้าหาวย แมงลักป่า และผักปลาบ พ่นภายในแปลง อัตราการพ่น เกษตรกรจะพ่นตามคำแนะนำในฉลาก ซึ่งความถี่ในการพ่นแต่ละรอบฤดูการปลูก ขึ้นอยู่กับการระบาดของศัตรูพืช อย่างไรก็ตามชนิดสารกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรใช้ในแปลงปลูกอ้อย เป็นข้อมูลการสัมภาษณ์ และสังเกตภายในแปลง ซึ่งอาจมีบางส่วนที่เกษตรกรไม่ได้ให้ข้อมูล แต่ตรวจพบเมื่อนำไปวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างในห้องปฏิบัติการ

3. วิธีการเก็บตัวอย่าง

3.1 ตัวอย่างดิน เก็บจากแปลงตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิชการเกษตร, 2548) ทำการสุ่มเก็บให้ทั่วแปลง (random sampling) แปลงละ 10 จุด ใช้ชั้นตักดินลงไปเป็นหลุมรูปตัววี (V) ลึกประมาณ 6-7 นิ้วจากผิวดิน ทั้งดินส่วนแรกแล้วใช้เสียมขุดดินข้างหลุม ข้างใดข้างหนึ่งหนาประมาณ 1-2 นิ้ว รวมดินทั้งหมดจากทุกจุดเข้าเป็นตัวอย่างเดียวกัน แล้วเก็บในถุงพลาสติกบรรจุให้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ชื่อนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง หรือถ้าตัวอย่างมีความชื้นสูง นำไปผึ่งในภาชนะที่แห้งให้มีความชื้นประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ แล้วทุบให้ละเอียดหรือผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนนำไปทดสอบ และหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของตัวอย่างดิน (Back, 1965)

3.2 ตัวอย่างน้ำ ใช้เครื่องสุ่มตักตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อหรือจุดรวบรวมน้ำสำหรับใช้ในแปลงอ้อย ให้เต็มขวดพลาสติก ขนาด 1 ลิตร จำนวน 3 ขวด (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) ชื่อนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น ถ้ามีลักษณะใสสะอาด สามารถนำไปสกัดได้ทันที แต่ถ้ามีความขุ่นหรือสกปรก ให้กรองผ่านกระดาษกรองเพื่อแยกสิ่งปนเปื้อนออกก่อนการตรวจวิเคราะห์ รวมทั้งตรวจวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพน้ำจากค่าพารามิเตอร์ในน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH) การนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity; EC, $\mu\text{S}/\text{cm}$) และค่าของแข็งทั้งหมด (Total Dissolve Solid: TDs, mg/L)

3.3 ตัวอย่างตะกอนดิน ใช้เครื่องสุ่มตักตัวอย่างตะกอนจากท้องน้ำบริเวณเดียวกับจุดเก็บน้ำให้ได้ประมาณ 0.5-1 กิโลกรัม (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) นำใส่ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท หุ้มด้วยกระดาษหรือวัสดุกันกระแทก ใส่ลงในถุงพลาสติกชื่อนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น

3.4 ตัวอย่างอ้อย สุ่มเก็บตัวอย่างอ้อยระยะเก็บเกี่ยวจำนวน 4 ลำต่อแปลงอ้อย หั่นเป็นท่อนขนาดเล็ก ปริมาณไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิชการเกษตร, 2567) นำใส่ในถุงพลาสติก ชื่อนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง เมื่อจะทำการ

เตรียมตัวอย่างให้นำออกจากตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง ตั้งไว้ให้ได้อุณหภูมิห้อง จากนั้นเตรียมตัวอย่างโดยหั่นตัวอย่าง
 อ้อยเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นย่อย (Food processor) ก่อนนำไปทดสอบ แสดงดังภาคผนวก

4. วิธีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ ทดสอบหาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัด
 ศัตรูพืชในตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และอ้อย จำนวน 65 ชนิด แสดงใน Table 1

Table 1 Types of pesticides analyzed

Groups of pesticides	Type of pesticide	Instrument
16 Organochlorine (OCs) *	aldrin, alpha-BHC, alpha-endosulfan, beta- endosulfan, dieldrin, endosulfan sulfate, endrin, gamma-BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, <i>o,p'</i> -DDE, <i>o,p'</i> -DDT, <i>o,p'</i> -TDE, <i>p,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDT, <i>p,p'</i> -TDE	Gas Chromatograph (Agilent Technology HP6890) with Electron Capture Detector (GC- μ ECD)
7 Pyrethroid (PYs) *	bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, lambda- cyhalothrin, deltamethrin, permethrin,fenvalerate	
4 Triazole *	difenoconazole, tetraconazole, hexaconazole, propiconazole	
3 Chloroacetamide *	alachlor, acetochlor, s-metolachlor	
5 Herbicides *	oxyfluorfen, oxadiazon, pendimethalin, diuron 2,4-D	Ultra-High Performance Liquid Chromatography with Diode Array (UHPLC- DAD)
21 Organophosphorus* (OPs)	azinphos ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos ethyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion, methidathion, monocrotophos, parathion methyl, pirimiphos methyl, profenophos, triazophos, methamidophos, omethoate, phosalone	Gas Chromatograph (Agilent Technology HP6890) with Flame Photometric Detector (FPD)
6 Carbamate *	carbaryl, carbofuran, isoprocarb, promecarb, metocarb, methomy	Gas Chromatograph (Agilent Technology 7890) with Nitrogen
3 Triazine *	ametryn, metribuzine, atrazine	Phosphorus Detector (NPD)

Remark: *confirm the results of the analyzed with Gas Chromatograph-Mass Spectrometry (Agilent
 Technology 7890B)

4.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ

(1) กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon (In house method TM-T04-I01 (2560) based on AOAC 990.06 (2016) ตวงน้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel เติม hexane (AR grade) 100 มิลลิลิตร ใส่ลงใน separatory funnel นำไปเขย่าโดยใช้เครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น นำชั้นของ hexane กรองผ่าน anhydrous sodium sulfate ลงใน round bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร สกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วย hexane (AR grade) 50 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนสารเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR grade) ใส่ vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง กลุ่ม Organochlorines, กลุ่ม Pyrethroids, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon ด้วยเครื่อง GC-μECD

(2) กลุ่ม Organophosphorus, กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine (In house method TM-T04-I03 based on EPA method 8141 A, Revision 1 (1994) ตวงตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 800 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR grade) 100 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขเก็บชั้น ethyl acetate กรองผ่าน anhydrous sodium sulfate สกัดซ้ำ อีก 2 ครั้งด้วย ethyl acetate ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตร ด้วย ethyl acetate (PR grade) ใส่ vial นำไปตรวจวิเคราะห์หา ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD กลุ่ม Carbamate กลุ่ม Triazine และ กลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD

4.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างดินและตะกอนดิน

(1) กลุ่ม Organophosphorus, กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine, กลุ่ม Phenylamide akylalanine กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon (In house method TM-T04-I02 based on AOAC Official method 970.52 (2016) ชั่งตัวอย่าง ดิน (ตะกอนดิน) ปริมาณ 20.0 กรัม สกัดด้วย ethyl acetate (AR grade) โดยใช้เครื่องเขย่า reciprocal shaker กรอง สารสกัดผ่าน anhydrous sodium sulfate นำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศา เซลเซียส จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 2 มิลลิลิตร ด้วย ethyl acetate (PR grade) ดูดสารสกัด 1 มิลลิลิตร ใส่ vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษกลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD และหาสารพิษ กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD สารสกัดที่เหลือ 1 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรด้วย เครื่อง nitrogen evaporator ปรับปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ด้วย hexane (PR grade) แบ่งสารสกัด 1 มิลลิลิตร ใส่ vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin oxyfluorfen และ oxadiazon ด้วย เครื่อง GC-μECD

4.3 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างอ้อย ประยุกต์ใช้วิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง จำนวน 65 ชนิด ชั่งตัวอย่างอ้อย 10 กรัม ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer 1 นาที เติม $MgSO_4$ 4 กรัม $NaCl$ 1 กรัม $Na_3Citrate$ dehydrate 1 กรัม และ $Na_2HCitrate$ sesquihydrate 0.5 กรัม เขย่า นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 6 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุ PSA 125 มิลลิกรัม และ $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม เขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนบน 3 มิลลิลิตรใส่ใน

หลอดทดลอง นำไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง nitrogen evaporator และปรับปริมาตรด้วย ethyl acetate (PR grade) 3 มิลลิลิตร ดูดสารละลาย 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง กลุ่ม Organophosphorus ด้วยเครื่อง GC-FPD หาสารพิษตกค้างกลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine และกลุ่ม Phenylamide akylalanine ด้วยเครื่อง GC-NPD สารสกัดที่เหลือ 1.5 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาตรจนเกือบแห้ง ด้วยเครื่อง Nitrogen evaporator ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) 1.5 มิลลิลิตรใส่ในขวด vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen และ oxadiazon ด้วยเครื่อง GC-μECD

5. การประเมินความเสี่ยง

5.1 การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพ (Exposure and risk assessment) โดยใช้ดัชนีบ่งชี้ความอันตราย (HQ) ซึ่งค่า HQ คำนวณจากค่า ADD (ปริมาณค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสารกำจัดศัตรูพืชต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือ ปริมาณสารพิษที่น้อยสุดที่ร่างกายรับได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ (Equation 1) ดังนี้

$$ADD = (C \cdot CF \cdot IR \cdot EF \cdot ED) / (BW \cdot AT) \quad \dots\dots\dots (1)$$

เมื่อ: ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน ตะกอนดิน และอ้อย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)

C คือ ความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน ตะกอนดิน และอ้อย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)

CF คือ unit conversion factor = 10^{-6} กิโลกรัมต่อมิลลิกรัม ในดิน และตะกอนดิน

IR คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างสำหรับเด็กในดิน 100 มิลลิกรัมต่อวัน และผู้ใหญ่ 200 มิลลิกรัมต่อวัน, ในน้ำสำหรับเด็ก 0.745 ลิตรต่อวัน และผู้ใหญ่ 0.943 ลิตรต่อวัน (มกอช., 2559)

EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วันต่อปี)

ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) 6 -12 ปี สำหรับเด็ก และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่

BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) เด็กค่าเฉลี่ย (33.38 กิโลกรัม) (มกอช., 2559) ผู้ใหญ่ค่าเฉลี่ย (68 กิโลกรัม) (ค่าเฉลี่ยจากแบบสอบถามเกษตรกรในแปลงทดลองอ้อย)

AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย เด็ก (2,190 วัน) และผู้ใหญ่ (25,550 วัน) (EF*ED)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจาก ค่า ADD และค่า RfD ดังสมการต่อไปนี้ (Equation 2)

$$HQ = ADD/RfD \quad \dots\dots\dots(2)$$

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดศัตรูพืช (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) ใช้ค่า RfD ตามข้อมูล Pesticide Properties Database (PPDB) (IUPAC, 2019) เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ HQ > 1 หมายถึง สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk), HQ < 1 หมายถึง สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (Acceptable risk)

5.2 การประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) โดยใช้ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดได้ในสิ่งแวดล้อม และ PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต (Equation 3)

$$RQ = MEC/PNEC \quad \dots\dots\dots(3)$$

เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ RQ <1 แสดงว่าไม่มีความเสี่ยง (No immediate concern), RQ 1-10 แสดงว่ามีความเสี่ยงเล็กน้อย (Of concern if supply volumes increase) , RQ 10-100 แสดงว่ามีความเสี่ยง การลดความเสี่ยงจะต้องนำข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องมาพิจารณาร่วมด้วย (Further data require) และ RQ >100 แสดงว่ามีความเสี่ยงสูงต้องดำเนินการลดความเสี่ยงทันที (Reduce risk immediate) (ECB, 2003 ; ECHA, 2008)

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2565 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2566

สถานที่ทำการทดลอง 1) แปลงทดลองอ้อย ในอำเภออุ้มทอง จังหวัดสุพรรณบุรี

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุดิบพืชการเกษตร กลุ่มวิจัย

วัดถัมมิพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างดินครั้งที่ 1 ช่วงเดือนธันวาคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 16 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ช่วงเดือน มิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 16 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 32 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ในฤดูแล้ง พบสารพิษ ตกค้างจำนวน 7 ตัวอย่าง (44%) คือ สาร ametryn จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02-0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในฤดูฝน ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างจำนวน 15 ตัวอย่าง (94%) ได้แก่ ametryn จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02-0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม atrazine จำนวน 4 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02-0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม acetochlor จำนวน 13 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02-0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ pendimethalin จำนวน 13 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างดินทั้งหมด 32 ตัวอย่าง พบ ปริมาณสารพิษตกค้าง 22 ตัวอย่าง (69%) ในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง (Table 2 และ 3) ลักษณะของดินในแปลง ส่วนใหญ่เป็นดินร่วนเหนียว สามารถดูดซับสารพิษได้ดีกว่าดินร่วนทราย ซึ่งชนิดสารที่ตรวจพบปริมาณสูงที่สุดคือ acetochlor ปริมาณ 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รองลงมาคือ ametryn 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณ atrazine ที่ตรวจพบต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในดินเพื่อเกษตรกรรมของกรม ควบคุมมลพิษ (2564) (ไม่เกิน 22,955 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดัง Figure 1 สอดคล้องกับปริมาณดินที่ตรวจพบใน แปลงอ้อย ซึ่งสารกำจัดวัชพืชที่ตรวจพบเป็นสารที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ใช้ในแปลงปลูกอ้อย (กลุ่มวิจัย วัชพืช, 2554) ametryn และ atrazine ที่ตรวจพบ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Oliveira *et al.* (2001) พบว่าสาร atrazine จะถูกดูดซับในดินเหนียวมากกว่าดินร่วนเหนียวปนทรายและดินร่วนปนทราย และสามารถเคลื่อนย้าย ได้ดีในดินร่วนปนทราย เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างดินปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในช่วง ฤดูน้ำหลากพบ atrazine ตกค้างในดิน เฉลี่ย 133.59-183.23 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (อรอนงค์ และคณะ, 2554)

นอกจากนี้ยังตรวจพบสาร acetochlor ปริมาณ 0.02-0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงปลูกอ้อย ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกร เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบสาร acetochlor ปริมาณ 0.01 , cypermethrin ปริมาณ 0.03-0.12 และ profenofos ปริมาณ 0.01-0.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงปลูกกะน้าในจังหวัดขอนแก่น (จารุพงศ์ และคณะ, 2562) นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน ประกอบด้วยความถี่ในการพ่น ทำให้เกิดการสะสมของสารพิษ ลักษณะของเนื้อดินในแปลงส่วนใหญ่เป็นดินร่วนเหนียว มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ (1.08-4.57%) ปานกลางถึงสูง ค่า pH ของดินอยู่ในช่วง 6.2-8.4 เมื่อพิจารณาค่าอัตราการสลายตัวครึ่งหนึ่งในดิน (DT_{50}) พบว่ามีค่า DT_{50} ค่อนข้างสั้นกว่าอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิต โดย acetochlor มีค่า DT_{50} 12.1 วัน, pendimethalin DT_{50} 100.6 วัน, atrazine DT_{50} 75 วัน และ ametryn DT_{50} 37 วัน

2. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำ และตะกอนดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำครั้งที่ 1 ช่วงเดือนธันวาคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 11 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 12 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 23 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ในฤดูแล้ง พบสารพิษตกค้าง จำนวน 4 ตัวอย่าง (37%) คือสาร atrazine จำนวน 3 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.08-0.16 ไมโครกรัมต่อลิตร และสาร ametryn จำนวน 3 ตัวอย่าง 0.19-2.25 ไมโครกรัมต่อลิตร ในฤดูฝน ตรวจพบสารพิษตกค้างจำนวน 12 ตัวอย่าง (100%) ได้แก่สาร atrazine จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.20, ametryn จำนวน 6 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.15-9.65, acetochlor จำนวน 3 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.06-0.71 ไมโครกรัมต่อลิตร และ pendimethalin จำนวน 12 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.04-0.90 ไมโครกรัมต่อลิตร สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำทั้งหมด 22 ตัวอย่าง พบปริมาณสารพิษตกค้างจำนวน 16 ตัวอย่าง (72%) ในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง (Table 2 และ 3) ซึ่งเป็นตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่เกษตรกรใช้ในแปลงปลูกอ้อย เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำพบสารกำจัดวัชพืช ametryn ตกค้างในปริมาณสูง เนื่องจากสาร ametryn สามารถละลายน้ำได้ดี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณ 185 มิลลิกรัมต่อลิตร (Sabir *et al.*, 2018) สอดคล้องกับข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกร รองลงมาคือสาร pendimethalin, acetochlor และ atrazine ดัง Figure 2 ซึ่งปริมาณสาร atrazine ที่ตรวจพบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในน้ำดื่มตามค่า maximum contamination level (MCL) ของ U.S.EPA (2003) (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำ จากวิทยาลัยชัยบาดาลพิพัฒน์ จ. ลพบุรี ปริมาณ 0.14-0.82 ไมโครกรัมต่อลิตร (รัศมีและคณะ, 2558) เช่นเดียวกับ อรอนงค์ และคณะ (2554) ตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำท่า 38 ตัวอย่าง (63%) มีค่าเฉลี่ย 4.70 ไมโครกรัมต่อลิตร บริเวณพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

สุ่มเก็บตัวอย่างตะกอนดินครั้งที่ 1 ช่วงเดือนธันวาคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 9 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 7 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 16 ตัวอย่าง จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในฤดูฝน พบว่าคลองหรือบ่อที่ใช้ในแปลงอ้อย มีบางจุดที่มีความลึกจนอุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างไม่สามารถเก็บได้ จึงทำให้ได้ปริมาณตัวอย่างน้อยกว่าฤดูแล้ง ผลการตรวจวิเคราะห์ในฤดูแล้ง พบสารพิษตกค้าง จำนวน 6 ตัวอย่าง (67%) คือสาร ametryn ปริมาณ 0.02-0.27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในฤดูฝน ตรวจพบสารพิษตกค้างจำนวน 1 ตัวอย่าง (14%) คือสาร ametryn ปริมาณ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 2 และ 3; Figure 3) ปริมาณสารที่ตรวจพบน่าจะเกิดจากการเคลื่อนย้ายของสาร ametryn ในแปลงปลูกอ้อย เนื่องจาก ametryn มีความสามารถเคลื่อนย้ายได้ปานกลางถึงสูงในดินเหนียวหรือดินที่มีอินทรีย์วัตถุต่ำๆ เกิดการเคลื่อนย้ายได้สูงด้วยกระบวนการชะล้าง (run-off) จากฝนสู่พื้นดินและน้ำใต้ดิน มีค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K_{oc}) เท่ากับ 3.45 (Sabir *et al.*, 2018; Rafal *et al.*, 2018) ทำให้เกิดการสะสมในตะกอนดิน ลักษณะเนื้อดิน (soil texture) เป็นดินร่วนเหนียว มีอินทรีย์วัตถุต่ำ

3. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างอ้อย

สุ่มเก็บตัวอย่างอ้อยที่ระยะเก็บเกี่ยว 240 วัน ช่วงเดือนธันวาคม จำนวน 16 ตัวอย่าง (Table 2) ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในอ้อยทุกตัวอย่าง ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ atrazine และ ametryn ในอ้อย เท่ากับ 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มกอช., 2559) สอดคล้องกับงานวิจัยของ วิภา และคณะ (2555) ตรวจไม่พบสาร atrazine ในอ้อยทุกตัวอย่าง

Table 2 Concentration levels of pesticides in the soil, water, sediment and sugar cane sample from sugar cane crops at Suphan Buri Province during dry season.

Types of samples	Number of samples				Mean concentration levels	Standard quality
	Sample analyzed	Positive sample, (%)	Groups of pesticides	Types of pesticides		
soil	16	7 (44%)	Triazines (1)	ametryn (7)	0.02-0.06 mg/kg	
water	11	4 (37%)	Triazines (2)	atrazine (3)	0.08-0.16 µg/L	3 µg/L ¹⁾
				ametryn (3)	0.19-2.25 µg/L	
sediment	9	6 (67%)	Triazines (1)	ametryn (6)	0.02-0.27 mg/kg	
sugarcane	16	0 (0%)	ND	ND	ND	
Total	52	17 (33%)	samples			

Remark: water samples; (µg/L), soil, sediment and sugar cane samples; (mg/kg), ND: not detected

- 1) Standard quality of drinking water (Environmental Protection Agency; maximum contamination level (MCL) atrazine 3 µg/L) (U.S. EPA., 2003)

Table 3 Concentration levels of pesticides in the soil, water, sediment sample and sugar cane sample from sugar cane crops at Suphan Buri Province during wet season.

Types of samples	Number of samples				Mean concentration levels	Standard quality
	Sample analyzed	Positive sample, (%)	Groups of pesticides	Types of pesticides		
soil	16	15 (94%)	Triazines (2)	atrazine (4)	0.02-0.04 mg/kg	22,955mg/kg ¹⁾
				ametryn (7)	0.02-0.06 mg/kg	
			Chloroacetamide (1)	acetochlor (13)	0.02-0.09 mg/kg	
			Herbicide (1)	pendimethalin (13)	0.04 mg/kg	
water	12	12 (100%)	Triazines (2)	atrazine (1)	0.20 µg/L	3 µg/L ²⁾
				ametryn (6)	0.15-9.65 µg/L	
			Chloroacetamide (1)	acetochlor (13)	0.06-0.71 µg/L	
			Herbicide (1)	pendimethalin (13)	0.04-0.09 µg/L	
sediment	7	1 (0%)	Triazines (1)	ametryn (1)	0.02 mg/kg	
Total	35	28 (80%)	samples			

Remark: water samples; (µg/L), soil, sediment and sugar cane; (mg/kg), ND: not detected

- 1) Standard quality of soil in agricultural soils (atrazine 22,955 mg/kg) (กรมควบคุมมลพิษ, 2564)
 2) Standard quality of drinking water (Environmental Protection Agency, EPA; maximum contamination level (MCL) atrazine 3 µg/L) (U.S. EPA., 2003)

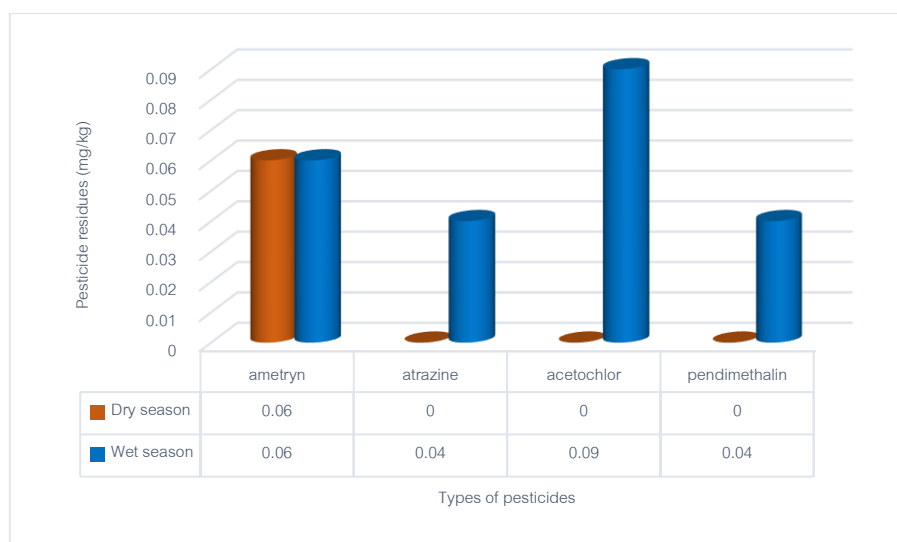


Figure 1 Mean concentration levels of pesticides residues in soil.

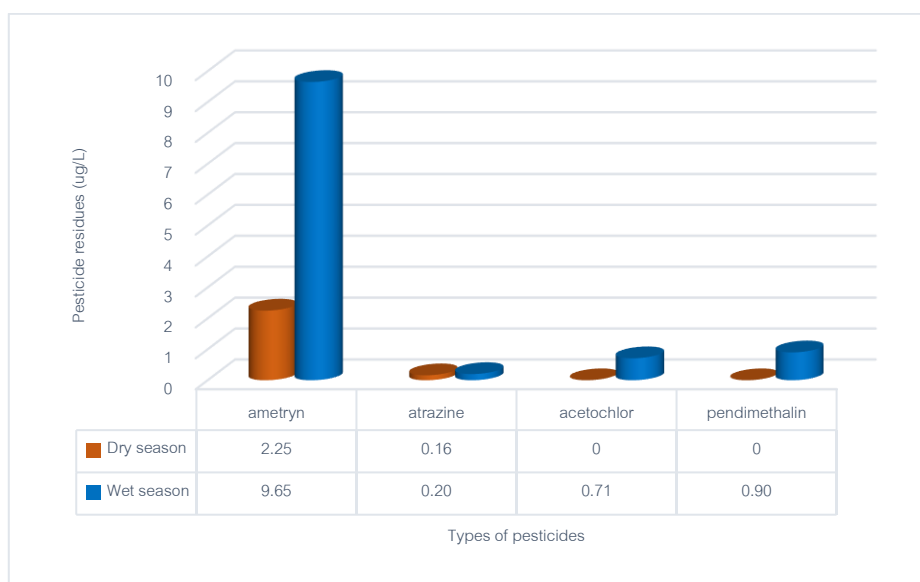


Figure 2 Mean concentration levels of pesticides residues in water.

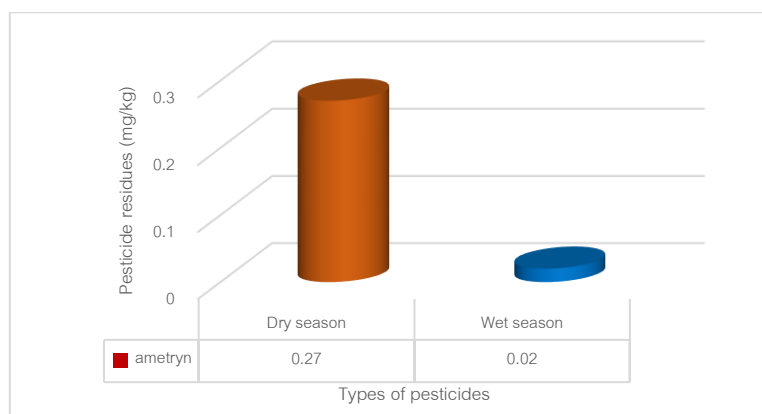


Figure 3 Mean concentration levels of pesticides residues in sediment.

4. การประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน น้ำ และตะกอนดิน ที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน น้ำ และตะกอนดิน มาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัส (Exposure and risk assessment) สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างที่ไม่ใช่สารก่อมะเร็ง โดยคำนวณจากค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร ในดิน น้ำ และตะกอนดิน ในเด็กช่วงอายุ 6-12 ปี และผู้ใหญ่อายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ยน้อยกว่า 1 เมื่อคำนวณการบริโภคและปริมาณการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในร่างกาย พบว่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่ยอมรับให้เข้าสู่ร่างกายได้ในแต่ละวัน (Acceptable Daily Intake; ADD) ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณใน Table 4 พบว่าในดิน น้ำ และตะกอนดิน มีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ < 1$) และเมื่อนำไปประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) ด้วยค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) ในดิน น้ำ และตะกอนดิน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $4.00 \times 10^{-3} - 9.60 \times 10^{-1}$ ถือว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ < 1$)

Table 4 The health risk assessment using Hazard quotient (HQ) and environmental risk assessment using risk quotient (RQ)

Types of samples	Pesticides	Concentration		Hazard quotient (HQ)		Risk quotient (RQ)	Risk Levels
		Min	Max	Child	Adult		
soil *	ametryn	0.02	0.06	3.59×10^{-5}	8.82×10^{-6}	6.00×10^{-3}	^{1,2} acceptable
	atrazine	0.02	0.04	6.84×10^{-6}	1.68×10^{-6}	4.00×10^{-3}	^{1,2} acceptable
	acetochlor	0.02	0.09	5.39×10^{-5}	1.32×10^{-5}	9.00×10^{-3}	^{1,2} acceptable
	pendimethalin	-	0.04	7.99×10^{-7}	1.96×10^{-7}	4.00×10^{-3}	^{1,2} acceptable
water **	atrazine	0.08	0.20	1.30×10^{-4}	8.00×10^{-5}	2.00×10^{-2}	^{1,2} acceptable
	ametryn	0.15	9.65	2.00×10^{-2}	1.00×10^{-2}	9.60×10^{-1}	^{1,2} acceptable
	acetochlor	0.06	0.71	1.10×10^{-2}	5.00×10^{-3}	7.10×10^{-2}	^{1,2} acceptable
	pendimethalin	0.04	0.90	1.00×10^{-3}	4.00×10^{-4}	9.00×10^{-2}	^{1,2} acceptable
sediment*	ametryn	0.02	0.27	1.62×10^{-4}	3.97×10^{-5}	2.70×10^{-2}	^{1,2} acceptable

Remark: water** samples; ($\mu\text{g/L}$), soil* and sediment*samples; (mg/kg)

1. $HQ \leq 1$ (acceptable risk) and $HQ > 1$ (Risk)
2. $RQ < 1$ (No immediate concern), $RQ 1-10$ (Of concern if supply volumes increase), $RQ 10-100$ (Further data require) and $RQ > 100$ (Reduce risk immediate) (ECB, 2003 and ECHA, 2008)

สรุปผลการทดลอง

1. ผลการตรวจวิเคราะห์ ดิน น้ำ ตะกอนดิน และอ้อยระยะเก็บเกี่ยว ในฤดูแล้งและฤดูฝน รวมทั้งหมด 87 ตัวอย่าง พบการตกค้างของดินและน้ำในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง และในตะกอนดินพบการตกค้างในฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน

2. ความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างในดิน น้ำ ตะกอนดินจากการสัมผัสและอ้อยต่อสุขภาพจากการบริโภค พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในดิน น้ำ และตะกอนดิน พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในแหล่งปลูกอ้อยในจังหวัดสุพรรณบุรี

3. จากข้อมูล ทำให้ทราบว่าเกษตรกรยังมีการใช้สารกำจัดวัชพืชอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง จึงควรมีแนวทางในการแก้ไขปัญหาในการลดการใช้สารกำจัดศัตรูพืช รวมถึงมีการให้ความรู้แก่เกษตรกรให้เข้าใจถึงผลกระทบจากสารกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อสุขภาพ สิ่งแวดล้อม และด้านเศรษฐกิจ ส่งเสริมการปลูกพืชอินทรีย์ ตลอดจนการให้ความรู้ในเรื่องการเก็บเกี่ยวผลผลิต และในส่วนของผู้บริโภคนั้น ควรตระหนักถึงอันตรายจากสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อน จึงควรล้างให้สะอาดก่อนการบริโภค เพื่อเป็นการเฝ้าระวัง ควรมีการเก็บข้อมูลการใช้สารของเกษตรกร รวมถึงสำรวจเก็บตัวอย่างที่ต่อเนื่อง เพื่อลดความเสี่ยงต่อการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกว.) นอกจากนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณเกษตรกรในอำเภอดูหมัด จังหวัดสุพรรณบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงอ้อยสำหรับสุ่มเก็บตัวอย่าง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้ติดตาม ตรวจสอบสถานการณ์การตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในแหล่งปลูกอ้อย พื้นที่ภาคกลาง
2. ใช้ประกอบการพิจารณาให้คำแนะนำในการใช้สารกำจัดศัตรูพืช พิจารณากำหนดและอนุญาตให้ขึ้นทะเบียนหรือยกเลิกการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช รณรงค์ให้เกษตรกรลดการใช้สารกำจัดศัตรูพืช
3. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการใช้ประกอบในการทำวิจัยด้านสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมในแหล่งปลูกพืชเศรษฐกิจ
4. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำปี และการประชุมวิชาการในระดับชาติ รวมทั้งเผยแพร่ในวารสารวิชาการภายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2565. แผนปฏิบัติการด้านการเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2566-2570. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 120 น.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2553. วิธีปฏิบัติสำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำ. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กรุงเทพฯ. 58 น.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2564. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. ราชกิจจานุเบกษา หน้า 20 เล่ม 138 ตอนพิเศษ 54 ง, ลงวันที่ 11 มีนาคม 2564.
- กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร. 2548. คู่มือการใช้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง คุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตร และสารธรรมชาติ. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 55 น.
- กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร. 2567. คำแนะนำการทำแปลงทดลองการสลายตัวของสารพิษตกค้างจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในผัก ผลไม้ และธัญพืช. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 57 น.
- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554. สำนักวิจัยการพัฒนารักษาวัชพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 133 น.
- จารุพงศ์ ประสพสุข, สุวิทย์ เลหาศิริวงศ์, อรุณี พรหมคำบุตร, ชุติมาศ บุญไทย อีวาย. 2562. การประเมินความเสี่ยงสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดินต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้ปลูกคะน้าในจังหวัดขอนแก่น. วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 37 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม. น. 278-285.
- ปัทมา เสนทอง, กชพรรณ หนูชนะ, จันทิมา เอกรัษฎฤทธิ์, ธนวัฒน์ สายเมธา, จิรจิตต์ ดวงมุสิก, ภคินี ปิยะพันธ์, กฤตภพ ไทรทองคำ. 2563. การตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน น้ำที่ใช้ในการบริโภค และผักสวนครัวในครัวเรือนที่อยู่ในสวนเงาะและสวนทุเรียน. วารสารวิจัย มช. (ฉบับบัณฑิตศึกษา) 20(3): 86-94
- รัศมี แสงศิริมงคลยิ่ง, มลิสรา เวชยานนท์, ปัทสรา คุณเลิศ และพรชนก ขโลปกรณ์. 2558. การศึกษาการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชสู่สิ่งแวดล้อมในวิทยาลัยชัยบาดาลพัฒนา. วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร ปีที่ 10 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2558. น. 22-37.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2566. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ. 2565. แหล่งข้อมูล https://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2023/03/รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี พ.ศ.2564_ประเภทการใช้.pdf สืบค้น: 22 มกราคม 2566.
- มกอช. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. แหล่งข้อมูล <https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE-LIMITS.pdf>. สืบค้น: 11 มกราคม 2566
- สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล. 2565. รายงานสถานการณ์การปลูกอ้อยปีการผลิต 2564/65. แหล่งข้อมูล <https://www.ocsb.go.th/wp-content/uploads/2023/03/13813-1585.pdf>. สืบค้น: 11 ธันวาคม 2566.
- อรอนงค์ ผิวนิล, ศุภมาส พนิชศักดิ์ พัฒนา, นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์, บงกชรัตน์ ปิตินันต์ และ น้ำเย็น ศิริพัฒน์. 2554. การศึกษาการตกค้างและเคลื่อนย้ายสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนในดินพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ตะกอนดิน และน้ำท่าบริเวณลุ่มน้ำห้วยกะโปะ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49: สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น. 1-11.

- AOAC. 2016. *Organophosphorus pesticide*. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 970.52. In house method TM-T04-I02
- AOAC. 2016. *Organochlorine pesticides in water gas chromatographic method*. 2005. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 990.06. In house method TM- T04-I01.
- Back, C.A. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, USA.
- ECB. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances. European Chemicals Bureau. Available at: https://echa.europa.eu/documents/10162/987906/tgdpart2_2ed_en.pdf/138b7b71-a069-428e-9036-62f4300b752f. Assessed: March 18, 2022.
- ECHA. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, chapter R.10: characterization of dose [concentration]-response for environment. European Chemicals Agency. Available at: https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/%20information_%20requirements_%20r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69 Assessed: March 18, 2022.
- EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LCMS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – QuEChERS method.
- IUPAC. 2019. Global availability of information on agrochemicals. Pesticide Properties DataBase. Available at: <https://www.sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm> Assessment: March 25, 2019.
- Oliveira, R.S., Koskinen, W.C., Ferreira, F.A. 2001. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Research*. 41: 97–100.
- Rafal S., A. Ksmierska and P. Bernat. 2018. Ametryn removal by *Metarhizium brunneum*: Biodegradation pathway proposal and metabolic background revealed. *Chemosphere* 190:174-183.
- Sabir K., S. Hussain, A. Wonga, M. V. Foguel, L. M. Gonçalves, M. I. P. Gurgoe and M. P. Sotomayor. 2018. Synthesis and characterization of magnetic-molecularly imprinted polymers for the HPLC-UV analysis of ametryn. *Reactive and Functional Polymers* 122: 175-182.

U.S. EPA, 1994. *Organophosphorus compound by Gas Chromatography capillary column technique*. In-house method. 2005. EPA method 8141A, Revision 1.

U.S.EPA. 2005. Reregistration Eligibility Decision (RED) for Ametryn. Available at:

https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/ametryn_red.pdf. Assessed: Jan 22. 2024)

U.S. EPA. 2003. 2002 Edition of the drinking water standards and health advisories: EPA 822-R-02-038. Available at: <http://www.epa.gov>, Water science Assessment: June 20, 2015.

ภาคผนวก

Table 5 Locations of the samples collected in the sugar cane crops at Suphan Buri Province during dry season and wet season.

Location	Location by GPS		samples collected in dry season				samples collected in wet season			
	UTM X	UTM Y	soil	water	sediment	sugar cane	soil	water	sediment	sugar cane
P 1	14.33285	99.85781	S 1	W 1	Sd 1	Sc 1	S 1	W 1	-	-
P 2	14.31983	99.85121	S 2	W 2	Sd 2	Sc 2	S 2	W 2	Sd 2	-
P 3	14.31463	99.84932	S 3	W 3	-	Sc 3	S 3	W 3	-	-
P 4	14.30862	99.87198	S 4	W 4	Sd 4	Sc 4	S 4	W 4	Sd 4	-
P 5	14.330396	99.87086	S 5	-	-	Sc 5	S 5	-	-	-
P 6	14.30995	99.87525	S 6	-	-	Sc 6	S 6	-	-	-
P 7	14.30396	99.88270	S 7	-	-	Sc 7	S 7	W 7	-	-
P 8	14.30396	99.87429	S 8	-	-	Sc 8	S 8	-	-	-
P 9	14.30396	99.87150	S 9	W 9	-	Sc 9	S 9	W 9	-	-
P 10	14.30130	99.87646	S 10	W 10	Sd 10	Sc 10	S 10	W 10	Sd 10	-
P 11	14.30729	99.87585	S 11	W 11	Sd 11	Sc 11	S 11	W 11	Sd 11	-
P 12	14.30729	99.87585	S 12	W 12	Sd 12	Sc 12	S 12	W 12	Sd 12	-
P 13	14.29577	99.85660	S 13	W 13	Sd 13	Sc 13	S 13	W 13	Sd 13	-
P 14	14.29634	99.86824	S 14	W 14	Sd 14	Sc 14	S 14	W 14	-	-
P 15	14.29825	99.86824	S 15	-	-	Sc 15	S 15	-	-	-
P 16	14.29825	99.86740	S 16	W 16	Sd 16	Sc 16	S 16	W 16	Sd 16	-



Figure 4 Unsafe disposal of pesticide packets and containers at fields.



Figure 5 Interview farmers and soil, water sediment, and sugar cane sample collection from sugar cane crops at Suphan Buri Province.



Figure 6 sample analyzed

การสำรวจสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมจากแหล่งปลูกสับปะรดใน
จังหวัดชลบุรี และระยอง

Monitoring of Pesticide in vegetation and the Environment from
Pineapple Crops at Chon Buri and Rayong Province

ปภัสรา คุณเลิศ¹ สิริโชค วงศ์ศรีไพศาล¹ ประกิจ จันทร์ดีบ²
Paphatsara Khunlert¹ Sirichok Wongsripaisan¹ Prakrit Chuntib²

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The objectives of this study were to survey the residues of pesticides in pineapple crops and to evaluate the risk of those residues for humans and the environment in Chon Buri and Rayong Provinces. Soil, water, sediment, and pineapple were collected (n=90) in dry and wet seasons and analyzed using chromatography. The results showed that the pesticides were found in 50 samples (55%). In soil, the total levels of 4 pesticides, including atrazine, ametryn, bromacil, and diuron, were 0.01-0.30 mg/kg. The total levels of 5 pesticides, including atrazine, ametryn, acetochlor, bromacil, and pendimethalin, in water were 0.01-2.09 µg/L. Only one type of pesticide, ametryn, was detected in sediment (0.01-0.02 mg/kg). However, all pineapple samples were not found to have any pesticide residues. The health risk assessment using Hazard Quotient (HQ) and environmental risk assessment using Risk Quotient (RQ) were less than 1 in soil, water, and sediment. It is at an acceptable level (HQ < 1), which was no immediate concern (RQ < 1). However, farmers should consider the residues of these insecticides used in pineapple crop cultivation. Therefore, the results of this research should be distributed to farmers to reduce the risk from pesticide use.

Keywords: Hazard quotient (HQ); Pesticide residues; Pineapple Crops; Risk Quotient (RQ)

¹ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

¹ Agricultural Toxic Substance Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

² Agricultural Research and Development Region 1

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในแหล่งปลูกสับปะรดต่อความเสี่ยงที่มีต่อสุขภาพเกษตรกร และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในพื้นที่จังหวัดชลบุรี และระยอง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน ในฤดูแล้งและฤดูฝน ปี 2566-2567 และสับปะรดที่ระยะเก็บเกี่ยว รวมทั้งหมด 90 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชจำนวน 66 ชนิด ด้วยเทคนิค Chromatography ผลการตรวจวิเคราะห์พบสารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง 50 ตัวอย่าง (55%) ในดินพบสารกำจัดศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ atrazine, ametryn, bromacil และ diuron ปริมาณ 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในน้ำพบสาร 5 ชนิด ได้แก่ atrazine, ametryn, acetochlor, bromacil และ pendimethalin ปริมาณ 0.01-2.09 ไมโครกรัมต่อลิตร ในตะกอนดินพบสาร 1 ชนิด คือ ametryn ปริมาณ 0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไม่พบสารตกค้างในสับปะรดทุกตัวอย่าง เมื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการสัมผัสด้วยค่า Hazard quotient (HQ) และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยค่า Risk quotient (RQ) ในดิน น้ำ และตะกอนดิน มีค่าน้อยกว่า 1 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ \leq 1$) และไม่มีความเสี่ยง ($RQ < 1$) อย่างไรก็ตาม เกษตรกรควรคำนึงถึงการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการเพาะปลูกสับปะรด ลดความเสี่ยงอันตรายจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืช

คำสำคัญ: ค่าดัชนีบ่งชี้อันตรายต่อสุขภาพ; ค่าดัชนีบ่งชี้ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม; แปลงสับปะรด; สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

บทนำ

สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย นิยมปลูกกันมากในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี เพชรบุรี พิจิตร ระยอง และชลบุรี ในปี 2566 มีจำนวนผู้ปลูกสับปะรดทั้งหมด 31,000 ครัวเรือน มีเนื้อที่เก็บเกี่ยวทั้งประเทศรวมทั้งสิ้นจำนวน 430,958 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 3,831 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2567) ผลผลิตสับปะรดร้อยละ 20 ใช้สำหรับการบริโภคภายในประเทศ ผลผลิตร้อยละ 80 ส่งออกในรูปของสับปะรดบรรจุกระป๋อง และน้ำสับปะรด (กรมวิชาการเกษตร, 2566; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566ก) ภาคตะวันออกมีเนื้อที่เพาะปลูกสับปะรดทั้งหมด 52,933 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยว 52,300 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ยต่อเนื้อที่เก็บเกี่ยว 5,609 กิโลกรัมต่อไร่ ในจังหวัดระยองมีเนื้อที่เพาะปลูก 22,462 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยว 22,180 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ยต่อเนื้อที่เก็บเกี่ยว 5,848 กิโลกรัมต่อไร่ และจังหวัดชลบุรีมีเนื้อที่เพาะปลูก 19,403 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยว 19,337 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ยต่อเนื้อที่เก็บเกี่ยว 5,891 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566ข) ปัจจุบันสารกำจัดศัตรูพืชมีบทบาทสำคัญในภาคเกษตรกรรม จากรายงานการนำเข้าวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร ในปี 2566 มีปริมาณการนำเข้า 140,861,417.70 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 23,906,179,822.13 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2567) เนื่องจากเกษตรกรต้องการผลผลิตที่มีคุณภาพ และปริมาณสูง จึงเป็นสาเหตุทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารกำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น เป็นวิธีที่ปฏิบัติได้ง่าย สะดวกและรวดเร็วกว่าวิธีอื่น เพื่อควบคุมโรคและศัตรูพืชในผลผลิต (ปัทมา และคณะ, 2563; พงศกร และดาวจรัส, 2560) สับปะรดมีอายุการเก็บเกี่ยวที่ยาวนาน (18-20 เดือน) จึงทำให้มีช่วงเวลาที่วัชพืชจะเข้ามาทำความเสียหายได้เป็นระยะเวลานาน ระยะเวลาดังกล่าวที่สับปะรดไม่ต้องการให้วัชพืชเข้าแข่งขันอยู่ในช่วง 1-6 เดือน (ณัฐญา และคณะ, 2562) หากขาดการจัดการวัชพืชที่เหมาะสม อาจทำให้ผลผลิตสับปะรดลดลงได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ชนิดวัชพืชที่สำคัญในแปลงสับปะรดมีทั้งประเภทใบแคบและประเภทใบกว้าง เช่น หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colane* (L.) Link., หญ้าจรวงดอกใหญ่ (*Pennisetum pedicellatum* Trin.) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gardet & Hubb., หญ้ารังนก *Chloris barbata* Sw. หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. ทำการพ่นสาร atrazine, ametryn, acetochlor, pendimethalin, bromacil และ diuron โดยตรงที่วัชพืช ทั้งแบบก่อนและหลังวัชพืชงอก ซึ่งอาจทำ

ให้เกิดการตกค้างในดินและสิ่งแวดล้อม เนื่องจากขณะพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ละอองสารเกิดการฟุ้งกระจายไปในอากาศ ตกค้างในผลผลิต สะสมในดิน ชะละลายลงสู่แหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง เกิดการเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อม สะสมในสิ่งมีชีวิต และปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร ส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค(กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554; พงศกร และดาวจรัส, 2560; ทศพล, 2554) ปัจจุบันผู้บริโภคมีความตระหนักในการรักษาสุขภาพมากขึ้น การตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในผลผลิตทางการเกษตร ได้กลายเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้ ผู้บริโภค (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2565; ภาณุพันธ์ และสยาม, 2558) นอกจากสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลผลิตแล้ว ยังสามารถตกค้างในดิน น้ำ ตะกอนดิน ในพื้นที่บริเวณใกล้เคียงที่เกษตรกรพ่นสารกำจัดศัตรูพืช มีรายงานการตกค้างของ diuron ในดินของพื้นที่เกษตรจากประเทศเคนยา มีปริมาณ 0.26-2.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Muendo *et al.* 2012) ในประเทศสหรัฐอเมริกาตรวจพบสาร bromacil ในดินแปลงสับปะรดปริมาณ 105-1,338 นาโนกรัมต่อกรัม (Alavi *et al.*, 2008) และตรวจพบสาร bromacil และ diuron ในลุ่มน้ำ Rio Jimenez ปริมาณสูงสุด 2,000 นาโนกรัมต่อลิตร ในแหล่งปลูกสับปะรดของประเทศคอสตาริกา (Echeverria-Sáenz *et al.*, 2012)

อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง และผสมสารหลายชนิดรวมกัน อาจทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร และสิ่งแวดล้อมบริเวณโดยรอบแหล่งเพาะปลูกสับปะรด เนื่องจากขณะพ่นสารกำจัดศัตรูพืช ละอองสารเกิดการฟุ้งกระจายไปในอากาศ ตกค้างในผลผลิต สะสมในดิน ชะละลายลงสู่แหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง เกิดการเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อม สะสมในสิ่งมีชีวิต และปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหาร ส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค เพื่อให้สอดคล้องกับนโยบาย Thailand 4.0 ยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปี แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 12 และก้าวเข้าสู่เป้าหมายการพัฒนาอย่างยั่งยืนขององค์การสหประชาชาติ (sustainable development Goals) เพื่อยกระดับมาตรฐานสินค้าเกษตร ให้สามารถตรวจสอบข้อมูลได้ตลอดกระบวนการผลิต เป็นการสร้างความเชื่อมั่นด้านความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2565) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในแหล่งปลูกสับปะรด ในดิน น้ำ ตะกอนดิน และผลผลิต เพื่อประเมินความเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในพื้นที่ จังหวัดชลบุรี และระยอง เพื่อเป็นองค์ความรู้และเป็นข้อมูลเพื่อหาแนวทางในการจัดการต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ และตะกอน ได้แก่ แครงดักน้ำ และขวดตะกอน ขวดพลาสติกชนิด PTFE ใส่ตัวอย่างน้ำ เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) และถุงพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ และ เครื่องมือที่มีระบบระบุตำแหน่งบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS)
2. เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ volumetric flask, volumetric pipette, cylinder, beaker, erlenmeyer flask, round bottom flask, graduated tube, vial, separatory funnel, erlenmeyer flask และ glass funnel
3. สารเคมี ได้แก่ acetonitrile (CH_3CN), hexane (C_6H_{14}), acetone ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), ethyl acetate ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), anhydrous magnesium sulfate (Mg_2SO_4), sodium chloride (NaCl), sodium hydroxide (NaOH), trisodium citrate dehydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), disodium hydrogencitrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), primary secondary amines (PSA), และ น้ำกลั่น (distilled water)

4. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่งที่สอบเทียบแล้ว, ตู้แช่แข็ง (Deep Freezer) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ -20 องศาเซลเซียส, เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor), เตาเผา (muffle furnace), ตู้อบ (hot air oven), เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer), เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), เครื่องลดปริมาตร (Rotary Evaporator), เครื่องลดปริมาตรโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator), เครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างน้ำ (separatory funnel shaker) และเครื่องเขย่าสำหรับสกัดตัวอย่างดิน (shaker homogenizer)

วิธีการ

1. การสำรวจและกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง เลือกตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจงในหมู่บ้านที่มีอาชีพปลูกสับปะรดเชิงพาณิชย์ คือ จังหวัดชลบุรีและระยอง เป็นหมู่บ้านที่ปลูกสับปะรดเป็นอาชีพมากกว่า 30 ปี เกษตรกรมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่อง ทำการสำรวจแปลงปลูกสับปะรด และสัมภาษณ์เกษตรกร ได้ข้อมูลเกษตรกรที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืช จำนวน 16 ราย ทำการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในช่วงฤดูแล้ง (ธันวาคม 2566) และฤดูฝน (มิถุนายน 2567) สุ่มเก็บตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และสับปะรด เพื่อนำไปวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง และวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของดิน และน้ำ แสดงดังภาคผนวก (Table 5)

2. การจัดการศัตรูพืชในแปลงสับปะรดของเกษตรกร จากการสัมภาษณ์เกษตรกรจำนวน 16 ราย พบว่าพืชสำคัญที่ขึ้นในแปลงสับปะรดมีทั้งวัชพืชประเภทใบแคบ และใบกว้าง ซึ่งหลังปลูกสับปะรด เกษตรกรจะใช้สารกำจัดวัชพืช 5 ชนิด ได้แก่ atrazine, ametryn, pendimethalin, acetochlor, diuron และ bromacil พ่นคลุมดินก่อนวัชพืชงอกหลังปลูกสับปะรด เพื่อกำจัดวัชพืชที่งอกจากเมล็ดใบแคบ เช่น หญ้าตีนติด หญ้าตีนกา หญ้าตีนนก หญ้าขี้เหล็ก หญ้าปากควาย หญ้านกสีชมพู และหญ้าจรจบ ประเภทใบกว้าง เช่น ผักเบี้ยหิน ผักโขม และหญ้ายาง อัตราการพ่น เกษตรกรจะพ่นตามคำแนะนำในฉลาก ซึ่งความถี่ในการพ่นแต่ละรอบฤดูการปลูก ขึ้นอยู่กับการระบาดของศัตรูพืช อย่างไรก็ตามชนิดสารกำจัดศัตรูพืชที่เกษตรกรใช้ในแปลงปลูกสับปะรด เป็นข้อมูลการสัมภาษณ์ และสังเกตภายในแปลง ซึ่งอาจมีบางส่วนที่เกษตรกรไม่ได้ให้ข้อมูล แต่ตรวจพบเมื่อนำไปวิเคราะห์หาสารพิษตกค้างในห้องปฏิบัติการ

3. วิธีการเก็บตัวอย่าง

3.1 ตัวอย่างดิน เก็บจากแปลงตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (กลุ่มวิจัยวัชพืชการเกษตร, 2548) ทำการสุ่มเก็บให้ทั่วแปลง (random sampling) แปลงละ 10 จุด ใช้ช้อนตักดินลงไปเป็นหลุมรูปตัววี (V) ลึกประมาณ 6-7 นิ้วจากผิวดิน ทั้งดินส่วนแรกแล้วใช้เสียมขุดดินข้างหลุม ข้างใดข้างหนึ่งหนาประมาณ 1-2 นิ้ว รวมดินทั้งหมดจากทุกจุดเข้าเป็นตัวอย่างเดียวกัน แล้วเก็บในถุงพลาสติกบรรจุให้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง หรือถ้าตัวอย่างมีความชื้นสูง นำไปผึ่งในภาชนะอุณหภูมิห้อง ให้มีความชื้นประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ แล้วทุบให้ละเอียด หรือผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนนำไปทดสอบ และหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของตัวอย่างดิน (Back, 1965)

3.2 ตัวอย่างน้ำ ใช้เครื่องสุ่มตักตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อหรือจุดรวบรวมน้ำสำหรับใช้ในแปลงสับปะรด ให้เต็มขวดพลาสติก ขนาด 1 ลิตร จำนวน 3 ขวด (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น ถ้ามีลักษณะใสสะอาด สามารถนำไปสกัดได้ทันที แต่ถ้ามีความขุ่นหรือสกปรก ให้กรองผ่านกระดาษกรองเพื่อแยกสิ่งปนเปื้อนออกก่อนการตรวจวิเคราะห์ รวมทั้งตรวจวิเคราะห์ดัชนีคุณภาพน้ำจากค่าพารามิเตอร์ในน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH) การนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity; EC, $\mu\text{S}/\text{cm}$) และค่าของแข็งทั้งหมด (Total Dissolve Solid: TDs, mg/L)

3.3 ตัวอย่างตะกอนดิน ใช้เครื่องสุ่มตักตัวอย่างตะกอนจากท้องน้ำบริเวณเดียวกับจุดเก็บน้ำให้ได้ประมาณ 0.5-1 กิโลกรัม นำใส่ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท หุ้มด้วยกระดาษหรือวัสดุกันกระแทกใส่ลงในถุงพลาสติกขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น (กรมควบคุมมลพิษ, 2553)

3.4 ตัวอย่างสับปะรด สุ่มเก็บตัวอย่างสับปะรดระยะเก็บเกี่ยวจำนวน 4 ลูกต่อแปลงสับปะรด ปริมาณไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร, 2567) นำใส่ในถุงพลาสติก ขณะนำส่งห้องปฏิบัติการให้แช่ตัวอย่างไว้ในถังน้ำแข็ง หากยังไม่สกัดตัวอย่างให้นำแช่ไว้ในตู้เย็น เมื่อจะทำการเตรียมตัวอย่างให้นำออกจากตู้เย็นตั้งไว้ให้ได้อุณหภูมิห้อง จากนั้นเตรียมตัวอย่างโดยหั่นตัวอย่างสับปะรดเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นย่อย (Food processor) ก่อนนำไปทดสอบ แสดงดังภาคผนวก

4. วิธีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบหาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างดิน น้ำ ตะกอนดิน และสับปะรด จำนวน 66 ชนิด แสดงใน Table 1

Table 1 Types of pesticides analyzed

Groups of pesticides	Type of pesticide	Instrument
16 Organochlorine (OCs) *	aldrin, alpha-BHC, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, dieldrin, endosulfan sulfate, endrin, gamma-BHC, heptachlor, heptachlor epoxide,	Gas Chromatograph (Agilent Technology HP6890) with Electron
7 Pyrethroid (PYs) *	bifenthrin, cyfluthrin, cypermethrin, lambda-cyhalothrin, deltamethrin, permethrin, fenvalerate	Capture Detector (GC- μ ECD)
4 Triazole *	difenoconazole, tetraconazole, hexaconazole, propiconazole	
3 Chloroacetamide *	alachlor, acetochlor, s-metolachlor	
6 Herbicides *	oxyfluorfen, oxadiazon, pendimethalin, diuron, bromacil	
	2,4-D	Ultra-High Performance Liquid Chromatography with Diode Array (UHPLC-
21 Organophosphorus* (OPs)	azinphos ethyl, chlorpyrifos, chlorpyrifos ethyl, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, ethoprophos, fenthion, fenitrothion, malathion,	Gas Chromatograph (Agilent Technology HP6890) with Flame
6 Carbamate *	carbaryl, carbofuran, isoprocarb, promecarb, metocarb, methomy	Gas Chromatograph (Agilent Technology 7890) with Nitrogen
3 Triazine *	ametryn, metribuzine, atrazine	Phosphorus Detector (NPD)

Remark: *confirm the results of the analyzed with Gas Chromatograph-Mass Spectrometry (Agilent Technology 7890B)

4.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างน้ำ

(1) กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin oxyfluorfen, oxadiazon, bromacil และ diuron (In house method TM-T04-I01 (2560) based on AOAC 990.06 (2016)

(2) สารกำจัดศัตรูพืช 2,4 – D กลุ่ม Organophosphorus, กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine, และกลุ่ม Phenylamide akylalanine (In house method TM-T04-I03 based on EPA method 8141 A, Revision 1 (1994)

(3) (Thorstensen *et al.*, 2000, Hammani *et al.*, 2017)

4.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างดินและตะกอนดิน กลุ่ม Organophosphorus, กลุ่ม Carbamate, กลุ่ม Triazine, กลุ่ม Phenylamide akylalanine, กลุ่ม Organochlorine, กลุ่ม Pyrethroid, กลุ่ม Triazole, กลุ่ม Chloroacetamide, pendimethalin, oxyfluorfen, oxadiazon, bromacil และ diuron (In house method TM-T04-I02 based on AOAC Official method 970.52 (2016) และสารกำจัดศัตรูพืช 2-4-D (Sutherland *et al.*, 2003)

4.3 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างสับปะรด โดยดัดแปลงจากวิธี QuEChERS (EURL-FV., 2014)

5. การประเมินความเสี่ยง

5.1 การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัส (Exposure and Risk Assessment) โดยใช้ดัชนี บ่งชี้ความอันตราย (HQ) ซึ่งค่า HQ คำนวณจากค่า ADD (ปริมาณค่าเฉลี่ยที่เกษตรกรได้รับสารกำจัดศัตรูพืชต่อวัน) เทียบกับค่า RfD (ค่าอ้างอิง คือ ปริมาณสารพิษที่น้อยสุดที่ร่างกายรับได้โดยไม่ทำให้เกิดอันตรายหรือเป็นพิษต่อร่างกาย) มีสมการคำนวณ (Equation 1) ดังนี้

$$ADD = (C*CF*IR*EF*ED)/(BW*AT) \quad \dots\dots\dots (1)$$

เมื่อ: ADD คือ ปริมาณสารพิษเฉลี่ยต่อวันจากสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน ตะกอนดิน และสับปะรด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)

C คือ ความเข้มข้นของสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน ตะกอนดิน และสับปะรด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม), น้ำ (ไมโครกรัมต่อลิตร)

CF คือ unit conversion factor = 10^{-6} กิโลกรัมต่อมิลลิกรัม ในดิน และตะกอนดิน

IR คือ อัตราการได้รับสารพิษที่ตกค้างสำหรับเด็กในดิน 100 มิลลิกรัมต่อวัน และผู้ใหญ่ 200 มิลลิกรัมต่อวัน, ในน้ำ สำหรับเด็ก 0.745 ลิตรต่อวัน และผู้ใหญ่ 0.943 ลิตรต่อวัน (มกอช., 2559)

EF คือ ความถี่ของการสัมผัส (365 วันต่อปี)

ED คือ ระยะเวลาที่สัมผัส (years) 6 -12 ปี สำหรับเด็ก และ 70 ปี สำหรับผู้ใหญ่

BW คือ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) เด็กค่าเฉลี่ย (33.38 กิโลกรัม) ผู้ใหญ่ค่าเฉลี่ยจากแบบสอบถามในแปลงทดลองสับปะรด (55.77 กิโลกรัม) (มกอช., 2559)

AT คือ ระยะเวลาที่ใช้เฉลี่ย เด็ก (2,190 วัน) และผู้ใหญ่ (25,550 วัน) (EF*ED)

การคำนวณค่าความเสี่ยงจากสารพิษตกค้างได้จากค่า hazard quotient (HQ) ซึ่งคำนวณจาก ค่า ADD และ ค่า RfD ดังสมการต่อไปนี้ (Equation 2)

$$HQ = ADD/RfD \quad \text{.....(2)}$$

เมื่อ: RfD คือ reference dose เฉพาะของสารกำจัดศัตรูพืช (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) ใช้ค่า RfD ตาม ข้อมูล Pesticide Properties Database (PPDB) (IUPAC, 2019) เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ $HQ > 1$ หมายถึง สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างอยู่ในระดับเสี่ยงต่อเกษตรกร (Risk), $HQ < 1$ หมายถึง สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างตกค้างอยู่ในระดับยอมรับได้ (Acceptable risk)

5.2 การประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) โดยใช้ค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) เมื่อ MEC (measured environment concentration) คือ ความเข้มข้นของสารที่วัดได้ในสิ่งแวดล้อม และ PNEC (predicted no effect concentration) คือ ความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต (Equation 3)

$$RQ = MEC/PNEC \quad \text{.....(3)}$$

เกณฑ์การตัดสินใจ กำหนดให้ $RQ < 1$ แสดงว่าไม่มีความเสี่ยง (No immediate concern), $RQ 1-10$ แสดงว่ามีความเสี่ยงเล็กน้อย (Of concern if supply volumes increase) , $RQ 10-100$ แสดงว่ามีความเสี่ยง การลดความเสี่ยง จะต้องนำข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องมาพิจารณาร่วมด้วย (Further data require) และ $RQ > 100$ แสดงว่ามีความเสี่ยง สูงต้องดำเนินการลดความเสี่ยงทันที (Reduce risk immediate) (ECB, 2003 ; ECHA, 2008)

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2566 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง 1) แปลงทดลองสับปะรด ใน จังหวัดชลบุรี และระยอง
2) กลุ่มวิจัยวัดภูมิพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในตัวอย่างดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างดินครั้งที่ 1 ช่วงเดือนธันวาคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 16 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 16 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 32 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ในฤดูแล้ง ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้างจำนวน 15 ตัวอย่าง (94%) ได้แก่ ametryn จำนวน 3 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม atrazine จำนวน 5 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม bromacil จำนวน 15 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม diuron จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02-0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในฤดูฝน พบสารพิษตกค้างจำนวน 16 ตัวอย่าง (100%) คือ สาร atrazine จำนวน 6 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม bromacil จำนวน 16 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ diuron จำนวน 10 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.02-0.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างดินทั้งหมด 32 ตัวอย่าง พบปริมาณสารพิษตกค้าง 31 ตัวอย่าง (97%) ในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง (Table 2 และ 3) ลักษณะของดินในแปลงส่วนใหญ่เป็นดินร่วนทราย ซึ่งชนิดสารที่ตรวจพบปริมาณสูงที่สุดคือ bromacil ปริมาณ 0.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhu and Li (2002) พบการตกค้างของสาร bromacil ในดินแปลงปลูกสับปะรด ปริมาณ 0.105-1.338 และ 0.026-0.473 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความลึก 0-60 และมากกว่า 400 เซนติเมตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Alavi *et al.* (2008) พบว่าการใช้สาร bromacil อัตรา 1,800 และ 2,250 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อเฮกตาร์ ในดินที่ 102 วัน ตรวจพบสารตกค้างในดิน 1.341 และ 1.374 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และที่ 290 วัน หลังจากพ่นสาร พบสารตกค้าง 0.640 และ 0.995 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เช่นเดียวกับการศึกษาของมงคล (2557) รายงานว่าการใช้สาร diuron ร่วมกับสาร bromacil อัตรา 5,000 + 2,500 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อเฮกตาร์ ที่ 120 วัน หลังพ่นสาร พบว่า มีปริมาณสาร diuron และ bromacil ตกค้างในดินปลูกสับปะรด 0.021 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ มีรายงานการใช้สาร bromacil อัตรา 288-544 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ในพื้นที่ปลูกสับปะรดของประเทศสหรัฐอเมริกา พบสารตกค้าง 105-1,338 นาโนกรัมต่อกรัม (Alavi *et al.*, 2008; Zhu and Li, 2002) สาร bromacil มีความคงทนในดิน มีค่าครึ่งชีวิตในดินประมาณ 150 วัน แต่ถ้าใช้ในอัตราสูงจะสามารถคงอยู่ในดินได้ยาวนานมากกว่าหนึ่งปี (EPA,1996,2001) รองลงมาคือ diuron 0.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สอดคล้องกับการศึกษาของ พงศกร และดาวจรรัส (2560) พบการตกค้างของสาร diuron ในดินแปลงปลูกสับปะรด ปริมาณ 0.03-0.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เช่นเดียวกับ Muendo *et al.* (2012) พบการตกค้างของสาร diuron ในดินของพื้นที่การเกษตรจากประเทศเคนย่า ปริมาณ 0.26-2.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ยังพบสาร ametryn 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณ atrazine ที่ตรวจพบต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในดินเพื่อเกษตรกรรมของกรมควบคุมมลพิษ (2564) (ไม่เกิน 22,955 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ดัง Figure 1 สอดคล้องกับปริมาณดินที่ตรวจพบในแปลงสับปะรด ซึ่งสารกำจัดวัชพืชที่ตรวจพบเป็นสารที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ใช้ในแปลงปลูกสับปะรด (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) Oliveira *et al.* (2001) พบว่าสาร atrazine สามารถเคลื่อนย้ายได้ดีในดินร่วนปนทราย เช่นเดียวกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างดินปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในช่วงฤดูน้ำหลากพบ atrazine ตกค้างในดิน เฉลี่ย 133.59-183.23 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (อรอนงค์ และคณะ, 2554) นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการตกค้างของสารกำจัดวัชพืชในดิน ประกอบด้วยความถี่ในการพ่น ทำให้เกิดการสะสมของสารพิษ ลักษณะของเนื้อดินในแปลงส่วนใหญ่เป็นดินร่วนทราย มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ (0.41-2.18%) ต่ำถึงปานกลาง ค่า pH ของดินอยู่ในช่วง 3.6-6.2 เป็นกรดจัดมากถึงกรดปานกลาง เมื่อพิจารณาค่าอัตราการสลายตัวครึ่งหนึ่งในดิน (DT_{50}) พบว่ามีค่า DT_{50} ค่อนข้างสั้นกว่าอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิต โดย atrazine มีค่า DT_{50} 75 วัน, ametryn DT_{50} 37 วัน, diuron DT_{50} 229 วัน และ bromacil DT_{50} 60 วัน

2. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในตัวอย่างน้ำ และตะกอนดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำครั้งที่ 1 ช่วงเดือนธันวาคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 8 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 8 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 16 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ในฤดูแล้ง พบสารพิษตกค้าง จำนวน 8 ตัวอย่าง (100%) คือสาร atrazine จำนวน 8 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.37-2.09, ametryn จำนวน 3 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.01-0.06, pendimethalin จำนวน 3 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.05-0.06 และ acetochlor จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.03 ไมโครกรัมต่อลิตร ในฤดูฝน ตรวจพบสารพิษตกค้างจำนวน 8 ตัวอย่าง (100%) ได้แก่สาร atrazine จำนวน 8 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.48-1.51, ametryn จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.06-1.05 และ bromacil จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณ 0.99 ไมโครกรัมต่อลิตร สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำทั้งหมด 16 ตัวอย่าง พบปริมาณสารพิษตกค้างจำนวน 16 ตัวอย่าง (100%) ในฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน (Table 1 และ 2) ซึ่งเป็นตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่เกษตรกรใช้ในแปลงปลูกสับปะรด เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำ พบสารกำจัดวัชพืช atrazine ตกค้างในปริมาณสูง เนื่องจากสาร atrazine สามารถละลายน้ำได้ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ปริมาณ 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (PPDB., 2024) สอดคล้องกับข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกร รองลงมาคือสาร ametryn, bromacil, pendimethalin และ acetochlor ดัง Figure 2 ซึ่งปริมาณสาร atrazine ที่ตรวจพบมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ค่าสูงสุดที่ยอมให้มีการปนเปื้อนของ atrazine ในน้ำดื่มตามค่า maximum contamination level (MCL) ของ U.S.EPA (2003) (ไม่เกิน 3 ไมโครกรัมต่อลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำ จากวิทยาลัยพยาบาลพิจิตร จ. ลพบุรี ปริมาณ 0.14-0.82 ไมโครกรัมต่อลิตร (รัศมีและคณะ, 2558) เช่นเดียวกับ อรอนงค์ และคณะ (2554) ตรวจพบ atrazine ในตัวอย่างน้ำท่า 38 ตัวอย่าง (63%) มีค่าเฉลี่ย 4.70 ไมโครกรัมต่อลิตร บริเวณพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในช่วงฤดูน้ำหลาก

สุ่มเก็บตัวอย่างตะกอนดินครั้งที่ 1 ช่วงเดือนธันวาคม (ฤดูแล้ง) จำนวน 7 ตัวอย่าง และครั้งที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน (ฤดูฝน) จำนวน 7 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 14 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ในฤดูแล้ง พบสารพิษตกค้าง จำนวน 3 ตัวอย่าง (43%) คือสาร ametryn ปริมาณ 0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในฤดูฝน ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง (Table 2 และ 3; Figure 3) ปริมาณสารที่ตรวจพบน่าจะเกิดจากการเคลื่อนย้ายของสาร ametryn ในแปลงปลูกสับปะรด เนื่องจาก ametryn มีความสามารถเคลื่อนย้ายได้ปานกลางถึงสูงในดินที่มีอินทรีย์วัตถุต่ำๆ เกิดการเคลื่อนย้ายได้สูงด้วยกระบวนการชะล้าง (run-off) จากฝนสู่พื้นผิวดินและน้ำใต้ดิน มีค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (K_{oc}) เท่ากับ 3.45 (Sabir *et al.*, 2018; Rafal *et al.*, 2018) ทำให้เกิดการสะสมในตะกอนดิน ลักษณะเนื้อดิน (soil texture) เป็นดินร่วนเหนียวปนทราย มีอินทรีย์วัตถุต่ำ ในสิ่งแวดล้อม ametryn เกิดการสลายตัวอยู่ในรูปของสารอนุพันธ์ 2-amino-4-12 isopropylamino-6-methylthio-s-triazine (GS-11354) และ 2-ethylamino-4-amino-6-methylthio-s-triazine (GS-11355) โดยจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียมีค่าครึ่งชีวิต (half-life) 9.6-38 วัน นอกจากนี้ ametryn มีความคงทนต่อกระบวนการ hydrolysis มีค่าครึ่งชีวิต (half-life) 368 วัน (U.S. EPA., 2005)

3. ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในตัวอย่างสับปะรด

สุ่มเก็บตัวอย่างสับปะรดที่ระยะเก็บเกี่ยว 15-18 เดือน ช่วงเดือนธันวาคม จำนวน 14 ตัวอย่าง และเดือนมิถุนายน จำนวน 14 ตัวอย่าง (Table 2 และ 3) ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบสารพิษตกค้างในสับปะรดทุกตัวอย่าง ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ในสับปะรด ของสาร atrazine 0.1, ametryn 0.05, 2,4-D 0.05, metalaxyl 0.1 และ ethephon 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มกช., 2559) สอดคล้องกับงานวิจัยของ วิภา และคณะ (2555) ตรวจไม่พบสาร atrazine ในสับปะรดทุกตัวอย่าง

Table 2 Concentration levels of pesticides in the soil, water, sediment and pineapple sample from pineapple crops at Chon Buri and Rayong Province during dry season.

Types of samples	Number of samples				Mean concentration levels	Standard quality
	Sample analyzed	Positive sample, (%)	Groups of pesticides	Types of pesticides		
soil	16	15 (94%)	Triazines (2)	ametryn (3)	0.01-0.02 mg/kg	22,955 mg/kg
				atrazine (5)	0.01-0.02 mg/kg	
			Herbicide (2)	bromacil (15)	0.01-0.30 mg/kg	
				diuron (7)	0.02-0.08 mg/kg	
water	8	8 (100%)	Triazines (2)	atrazine (8)	0.37-2.09 µg/L	3 µg/L ¹⁾
				ametryn (3)	0.01-0.06 µg/L	
			Herbicide(2)	pendimethaline (3)	0.05-0.06 µg/L	
				acetochlor (1)	0.03 µg/L	
sediment	7	3 (43%)	Triazines (1)	ametryn (3)	0.01-0.02 mg/kg	
pineapple	14	0 (0%)	ND	ND	ND	
Total	45	26 (58%)	samples			

Remark: water samples; (µg/L), soil, sediment and pineapple samples; (mg/kg), ND: not detected

1) Standard quality of soil in agricultural soils (atrazine 22,955 mg/kg) (กรมควบคุมมลพิษ, 2564)

2) Standard quality of drinking water (Environmental Protection Agency; maximum contamination level (MCL) atrazine 3 µg/L) (U.S. EPA., 2003)

Table 3 Concentration levels of pesticides in the soil, water, sediment and pineapple sample from pineapple crops at Chon Buri and Rayong Province during wet season.

Types of samples	Number of samples				Mean concentration levels	Standard quality
	Sample analyzed	Positive sample, (%)	Groups of pesticides	Types of pesticides		
soil	16	16 (100%)	Triazines (2)	atrazine (6)	0.01-0.02 mg/kg	22,955 mg/kg
			Herbicide (2)	bromacil (15)	0.01-0.30 mg/kg	
				diuron (10)	0.02-0.16 mg/kg	
water	8	8 (100%)	Triazines (2)	atrazine (8)	0.48-1.51 µg/L	3 µg/L ¹⁾
				ametryn (3)	0.06-1.05 µg/L	
			Herbicide(2)	bromacil (1)	0.05-0.06 µg/L	
sediment	7	0 (0%)	ND	ND	ND	
pineapple	14	0 (0%)	ND	ND	ND	
Total	45	24 (53%)	samples			

Remark: water samples; (µg/L), soil, sediment and pineapple; (mg/kg), ND: not detected

1) Standard quality of soil in agricultural soils (atrazine 22,955 mg/kg) (กรมควบคุมมลพิษ, 2564)

2) Standard quality of drinking water (Environmental Protection Agency, EPA; maximum contamination level (MCL) atrazine 3 µg/L) (U.S. EPA., 2003)

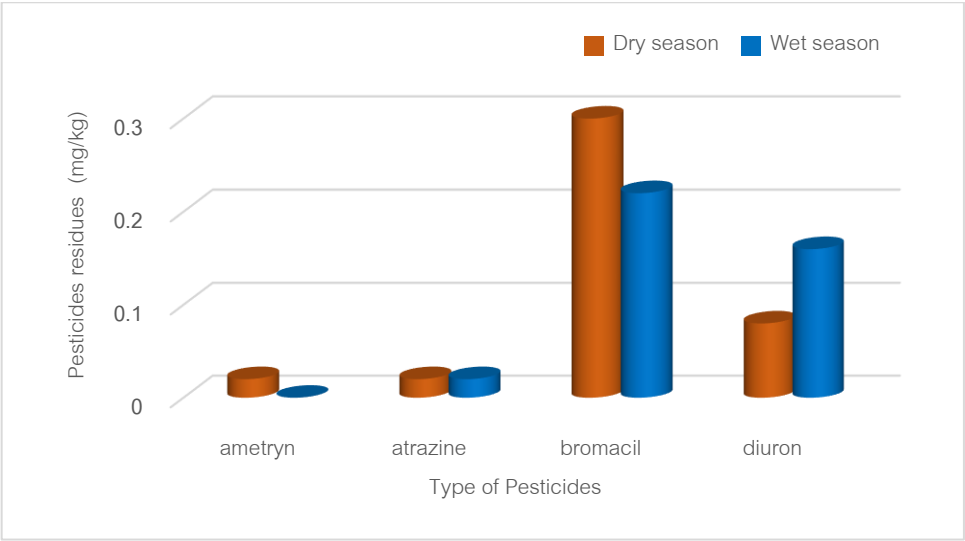


Figure 1 Mean concentration levels of pesticides residues in soil.

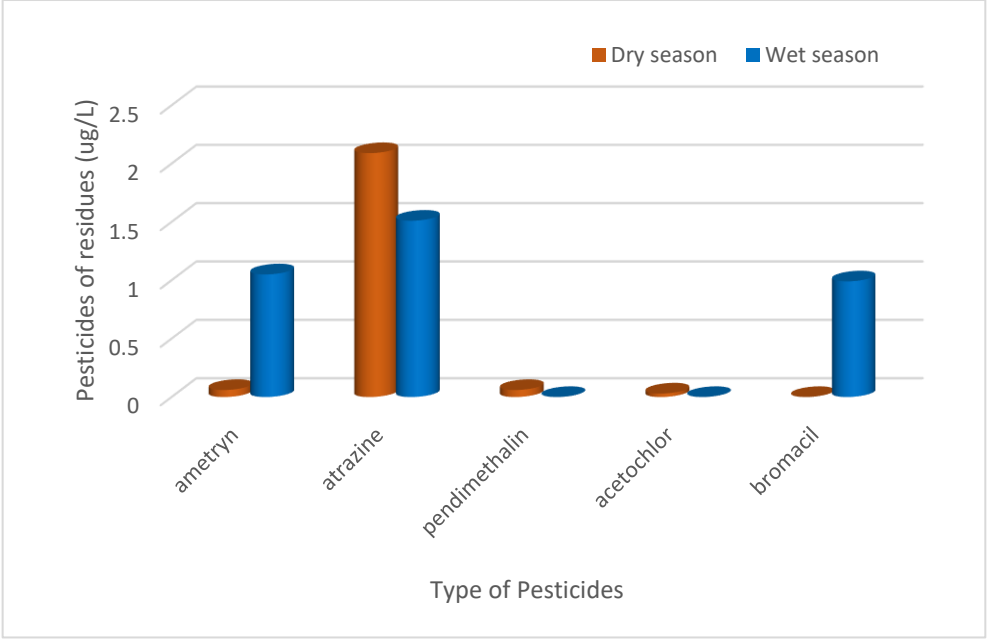


Figure 2 Mean concentration levels of pesticides residues in water.

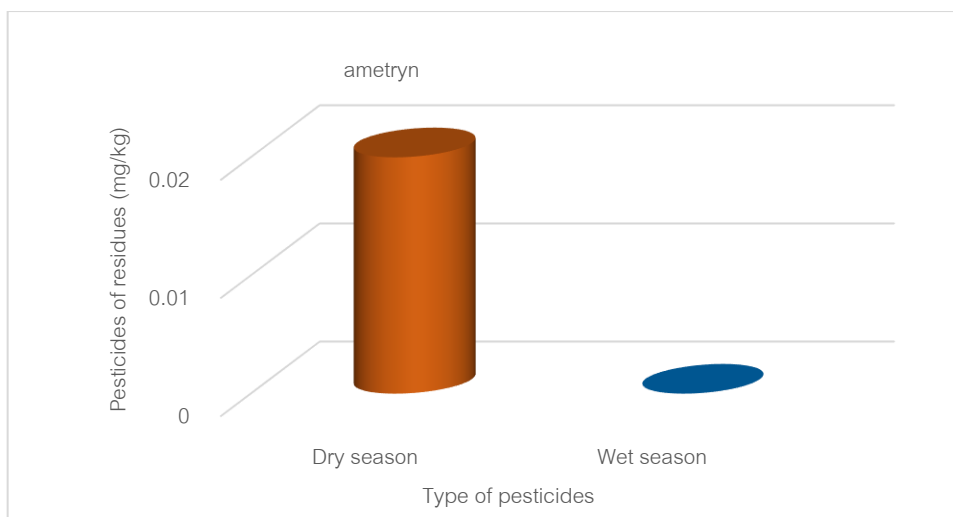


Figure 3 Mean concentration levels of pesticides residues in sediment.

4. การประเมินความเสี่ยงของสารกำจัดศัตรูพืชในดิน น้ำ และตะกอนดิน ที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน น้ำ และตะกอนดิน มาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการรับสัมผัส (Exposure and risk assessment) สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง โดยคำนวณจากค่า HQ เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของเกษตรกร ในดิน น้ำ และตะกอนดิน ในเด็กช่วงอายุ 6-12 ปี และผู้ใหญ่ อายุ 70 ปี ได้ค่าเฉลี่ยน้อยกว่า 1 เมื่อคำนวณการบริโภคและปริมาณการตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในร่างกาย พบว่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่ยอมรับให้เข้าสู่ร่างกายได้ในแต่ละวัน (Acceptable Daily Intake; ADD) ซึ่งค่า HQ จากการคำนวณใน Table 4 พบว่าในดิน น้ำ และตะกอนดิน มีความเสี่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ($HQ < 1$) และเมื่อนำไปประเมินความเสี่ยงที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental Effects; Ecological risk assessment) ด้วยค่าความเสี่ยง (Risk quotient; RQ) ในดิน น้ำ และตะกอนดิน มีค่าเฉลี่ย 6.00×10^{-6} - 3.00×10^{-2} ถือว่าไม่มีความเสี่ยง ($RQ < 1$)

Table 4 The health risk assessment using Hazard quotient (HQ) and environmental risk assessment using risk quotient (RQ)

Types of samples	Pesticides	Concentration		Hazard quotient (HQ)		Risk quotient (RQ)	Risk Levels
		Min	Max	Child	Adult		
soil *	ametryn	0.01	0.02	1.39×10^{-5}	4.17×10^{-6}	2.00×10^{-3}	^{1,2} acceptable
	atrazine	0.01	0.02	3.42×10^{-6}	1.02×10^{-6}	2.00×10^{-3}	^{1,2} acceptable
	bromacil	0.01	0.30	1.38×10^{-5}	4.14×10^{-6}	3.00×10^{-2}	^{1,2} acceptable
	diuron	0.02	0.16	4.79×10^{-4}	1.44×10^{-4}	1.60×10^{-2}	^{1,2} acceptable
water *	atrazine	0.37	2.09	1.33×10^{-3}	1.00×10^{-3}	2.09×10^{-3}	^{1,2} acceptable
	ametryn	0.01	1.05	2.72×10^{-3}	2.06×10^{-3}	1.05×10^{-4}	^{1,2} acceptable
	pendimethalin	0.05	0.06	3.30×10^{-5}	2.50×10^{-5}	6.00×10^{-6}	^{1,2} acceptable
	acetochlor	-	0.03	3.30×10^{-5}	2.50×10^{-5}	3.00×10^{-6}	^{1,2} acceptable
	bromacil	-	0.99	1.70×10^{-4}	1.29×10^{-4}	2.25×10^{-4}	^{1,2} acceptable
sediment*	ametryn	0.01	0.02	1.39×10^{-5}	4.17×10^{-6}	2.00×10^{-3}	^{1,2} acceptable

Remark: water* samples; ($\mu\text{g/L}$), soil* and sediment*samples; (mg/kg)

1. HQ <1 (acceptable risk) and HQ $\geq$ 1 (Risk)
2. RQ<1 (No immediate concern), RQ 1-10 (Of concern if supply volumes increase), RQ 10-100 (Further data require) and RQ >100 (Reduce risk immediate) (ECB, 2003 ; ECHA, 2008)

สรุปผลการทดลอง

การสำรวจสารพิษตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อมจากแหล่งปลูกสับปะรดในจังหวัดชลบุรี และระยอง ผลการตรวจวิเคราะห์ ดิน น้ำ ตะกอนดิน และสับปะรดระยะเก็บเกี่ยว ในฤดูแล้งและฤดูฝน รวมทั้งหมด 90 ตัวอย่าง พบการตกค้างของดิน น้ำ และตะกอนดิน ในฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน เมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการสัมผัสในดิน น้ำ ตะกอนดิน และการบริโภคสับปะรด พบว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ จากการประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในดิน น้ำ และตะกอนดิน พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในแหล่งปลูกสับปะรดในจังหวัดชลบุรี และระยอง จากข้อมูลทำให้ทราบว่าเกษตรกรยังมีการใช้สารกำจัดวัชพืชอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีแผนการเฝ้าระวังการใช้สารกำจัดศัตรูพืช เพื่อวิเคราะห์สถานการณ์ ความเสี่ยงและความรุนแรงของปัญหาการใช้สารกำจัดศัตรูพืช รวมถึงสำรวจเก็บตัวอย่างที่ต่อเนื่องทุกปี เพื่อนำข้อมูลไปใช้ประกอบการพิจารณาให้คำแนะนำในการใช้สารกำจัดศัตรูพืช พิจารณากำหนดและอนุญาตให้ขึ้นทะเบียนหรือยกเลิกการใช้สารกำจัดศัตรูพืช รณรงค์ให้เกษตรกรลดการใช้สารกำจัดศัตรูพืช และส่งเสริมให้เกษตรกรเพิ่มการทำเกษตรอินทรีย์มากขึ้น โดยประยุกต์ใช้ภูมิปัญญาท้องถิ่น เพิ่มการสนับสนุนทางสังคม โดยการอบรมให้ความรู้แก่เกษตรกรในเรื่องการเลือกซื้อสารกำจัดศัตรูพืช วิธีการผสมสารกำจัดศัตรูพืช การปฏิบัติตนขณะทำการพ่นสาร และหลังการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช รวมทั้งการทำลายภาชนะบรรจุสารกำจัดศัตรูพืช เพื่อเพิ่มความตระหนัก ในการดูแลสุขภาพ และในส่วนของผู้บริโภคนั้น ควรตระหนักถึงอันตรายจากสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อน จึงควรล้างให้สะอาดก่อนการบริโภค

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกว.) นอกจากนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณเกษตรกรในจังหวัดชลบุรี และระยอง ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงสับปะรดสำหรับสุ่มเก็บตัวอย่าง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อติดตามตรวจสอบสถานการณ์การตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืช จากการใช้ในแหล่งปลูกสับปะรดในจังหวัดชลบุรี และระยอง
2. เพื่อนำข้อมูลไปใช้ประกอบการพิจารณาให้คำแนะนำในการใช้สารกำจัดศัตรูพืช พิจารณากำหนดและอนุญาตให้ขึ้นทะเบียนหรือยกเลิกการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช รณรงค์ให้เกษตรกรลดการใช้สารกำจัดศัตรูพืช
3. เพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการแก่นักศึกษา นักวิชาการใช้ประกอบในการทำวิจัยด้านสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม
4. ถ่ายทอดองค์ความรู้จากการวิจัยโดยการเผยแพร่ในรายงานผลการวิจัยประจำปี และการประชุมวิชาการในระดับชาติ รวมทั้งเผยแพร่ในวารสารวิชาการภายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2565. แผนปฏิบัติการด้านการเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2566-2570. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 120 น.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2553. วิธีปฏิบัติสำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำ. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กรุงเทพฯ. 58 น.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2564. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. ราชกิจจานุเบกษา หน้า 20 เล่ม 138 ตอนพิเศษ 54 ง, ลงวันที่ 11 มีนาคม 2564.
- กรมวิชาการเกษตร. 2566. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยสำหรับไม้ผล. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 71 น.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2567. สถิติการผลิตสับปะรด. แหล่งข้อมูล <http://www.agriman.doe.go.th/home/news/2567/04pineapple.pdf> สืบค้น: 25 มิถุนายน 2567.
- กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร. 2548. คู่มือการใช้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง คุณภาพวัฏมีพิษการเกษตรและสารธรรมชาติ. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 55 น.
- กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร. 2567. คำแนะนำการทำการทดลองการสลายตัวของสารพิษตกค้างจากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรในผัก ผลไม้ และธัญพืช. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 57 น.
- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554. สำนักวิจัยการพัฒนารักษาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 133 น.
- ณัฐยา เรือนแป้น, กรรณิการ์ สัจจาพันธ์ และ ทศพล พรพรหม. 2562. ประสิทธิภาพและการตกค้างของสารโบรมาซิลและไดยูรอนสำหรับการควบคุมวัชพืชในแปลงปลูกสับปะรด. วารสารเกษตร 35(1): 37-48.

ทศพล พรพรม. 2554. *สารกำจัดวัชพืช: หลักการและกลไกการทำลาย*. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แห่ง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ปัทมา เสนทอง, กชพรรณ หนูชนะ, จันทิมา เอกรัชฤทธิ์, ธนวัฒน์ สายเมธา, จิรกิตต์ ดวงมุสิก, ภาคินี ปิยะพันธ์ และ
กฤตภพ ไทรทองคำ. 2563. การตกค้างของสารกำจัดวัชพืชในดิน น้ำที่ใช้ในการบริโภค และผักสวนครัว
ในครัวเรือนที่อยู่ในสวนเงาะและสวนทุเรียน. *วารสารวิจัย มช.* (ฉบับบัณฑิตศึกษา) ปีที่ 20 ฉบับที่ 3 :
กรกฎาคม-กันยายน 2563. 86-94.

ภาณุพันธ์ อินแก้ว และ สยาม อรุณศรีมรกต. 2558. การศึกษาเปรียบเทียบสารกำจัดแมลงตกค้างในผักใบเขียว
ของการปลูกพืชแบบทั่วไป แบบปลอดสารพิษ และแบบอินทรีย์ในจังหวัดนครปฐม. *วารสารร่มพญักษ์* 33:
55-75.

พงศกร ตันตะราวศา และ ดาวจรัส เกตุโรจน์. 2560. การตกค้างของสารไดยูรอนในดินที่ใช้ปลูกสับปะรด. การ
ประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55: สาขาพืช วันที่ 31 มกราคม - 3 กุมภาพันธ์
2560 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น.17-24.

มงคล ศรีเพียงจันทร์. 2557. ทางเลือกของการใช้สารแบบหลังออกสำหรับการควบคุมวัชพืชในสับปะรด.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มกอช. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. แหล่งข้อมูล
<https://www.acfs.go.th/standard/download/MAXIMUM-RESIDUE> สืบค้น: 11 กุมภาพันธ์ 2567.

วิภา ตั้งนิพนธ์, ผกาสินี คล้ายมาลา, ประกิจ จันทร์ดี, ปภัสรา คุณเลิศ, สิริพร เหลืองสุขนกุล และปรีชา ฉัตรสันติ
ประภา. 2555. การประเมินความเสี่ยงจากการใช้สารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Triazine ชนิด Atrazine ในพืช
เศรษฐกิจ ต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และ สิ่งแวดล้อม. *เอกสารประกอบการประชุมวิชาการประจำปีงบประมาณ*
2555. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. น. 61-67.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566ก. *สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2565*. สำนักเศรษฐกิจการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 194 น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566ข. *สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2565*. เอกสารสถิติ
การเกษตร เลขที่401. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 94 น.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2567. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ. 2566.
แหล่งข้อมูล <https://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2024/04/5A8.-2566.97.pdf>
สืบค้น: 22 มกราคม 2567.

อรอนงค์ ผิวนิล, ศุภมาศ พนิชศักดิ์ พัฒนา, นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์, บงกชรัตน์ ปิตินนต์ และ น้ำเย็น ศิริพัฒน์. 2554.
การศึกษาการตกค้างและเคลื่อนย้ายสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนในดินพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ตะกอน
ดิน และน้ำท่าบริเวณลุ่มน้ำห้วยกะโปะ อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์. การประชุมทางวิชาการของ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49: สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ณ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น. 1-11.

Alavi, G., M. Sanda, B. Loo, R.E. Green and C. Ray. 2008. Movement of bromacil in a Hawaii soil
under pineapple cultivation a field study. *Chemosphere* 72: 45-52.

AOAC. 2016. *Organophosphorus pesticide*. General Multiresidue Method. Association of Official

- Analytical Chemists Method 970.52. In house method TM-T04-I02
- AOAC. 2016. Organochlorine pesticides in water gas chromatographic method. 2005. General Multiresidue Method. Association of Official Analytical Chemists Method 990.06. In house method TM-T04-I01.
- Back, C.A. 1965. Method of soil analysis: part I physical and mineralogical properties. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, USA.
- ECB. 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances. European Chemicals Bureau. Available at: https://echa.europa.eu/documents/10162/987906/tgdpart2_2ed_en.pdf/138b7b71-a069-428e-9036-62f4300b752f. Assessed: March 18, 2022.
- ECHA. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, chapter R.10: characterization of dose [concentration]-response for environment. European Chemicals Agency. Available at: https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/%20information_%20requirements_%20r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69 Assessed: March 18, 2022.
- Echeverria-Sáenz, S., F.Mena, M. Pinnock, C. Ruepert, K. Solano, E. de la Cruz, B. Campos, J. Sánchez-Avila, S. Lacorte and C. Barata. 2012. Environmental hazards of pesticides from pineapple crop production in the Río Jiménez watershed (Caribbean Coast, Costa Rica). *Science of the total Environment* 440: 106-114.
- EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LCMS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – QuEChERS method.
- EPA. 1996. Reregistration eligibility decision (RED): Bromacil. Available at: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/fs_PC-012301_1-Aug-96.pdf Assessed: July 5, 2024.
- EPA. 2001. Environmental risk assessment for the reregistration of diuron. Available at: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-035505_27-Aug-01_043.pdf Assessed: July 5, 2024.
- EURL-FV. 2014. Determination of pesticide residues in avocado and almond by liquid and gas chromatography tandem mass spectrometry. Available at: https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?LabID=500&CntID=929&Theme_ID=1&Pdf=False&Lang=EN. Assessed: October 20, 2024.

- Hammani, B., M. Bahri, S.B. Hassine and M.R. Driss. 2017. Development of Liquid Chromatography Separation and a Solid-Phase Extraction Method for Phenoxy Alkanoic Acid Herbicides in Water. *Mod. Chem. Appl.* 4:1-8.
- IUPAC. 2019. Global availability of information on agrochemicals. Pesticide Properties DataBase. Available at: <https://www.sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm> Assessed: March 25, 2019.
- Muendo, B.M., J.O. Lalah and Z.M. Getenga. 2012. Behavior of pesticide residues in agricultural soil and adjacent River Kuywa sediment and water samples from Nzoia sugarcane belt in Kenya. *Environmentalist*. 32:433-444.
- Oliveira, R.S., Koskinen, W.C., Ferreira, F.A. 2001. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Research*. 41: 97-100.
- PPDB., 2024. Pesticide Properties DataBase (atrazine) Available at: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/43.htm> Assessed: Jan 24, 2024.
- Rafal S., A. Ksmierska and P. Bernat. 2018. Ametryn removal by *Metarhizium brunneum*: Biodegradation pathway proposal and metabolic background revealed. *Chemosphere* 190: 174 -183.
- Sabir K., S. Hussain, A. Wonga, M. V. Foguel, L. M. Gonçalves, M. I. P. Gurgoe and M. P. Sotomayor. 2018. Synthesis and characterization of magnetic-molecularly imprinted polymers for the HPLC-UV analysis of ametryn. *Reactive and Functional Polymers* 122: 175-182.
- Sutherland J.D., Steaman K.G. and Wells M.J.M. 2003. Development of an Analytical Scheme for Simazine and 2,4-D in Soil and Water Runoff from Ornamental Plant Nursery Plots *J. Agric Food Chem*. 51: 14-20.
- U.S. EPA, 1994. Organophosphorus compound by Gas Chromatography capillary column technique. In-house method. 2005. EPA method 8141A, Revision 1.
- U.S.EPA. 2005. Reregistration Eligibility Decision (RED) for Ametryn. Available at: https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/ameetryn_red.pdf Assessed: Jan 22, 2024.
- U.S. EPA. 2003. 2002 Edition of the drinking water standards and health advisories: EPA 822-R-02-038. Available at: <http://www.epa.gov>, Water science Assessed: June 20, 2015.
- Zhu Y. and Q.X. Li. 2002. Movement of bromacil and hexazinone in soils of Hawaiian pineapple fields. *Chemosphere* 49: 669-674.

ภาคผนวก

Table 5 Locations of the samples collected in the pineapple crops at Chon Buri and Rayong Province during dry season and wet season.

Location	Location by GPS		samples collected in dry season				samples collected in wet season			
	UTM X	UTM Y	soil	water	sediment	pineapple	soil	water	sediment	pineapple
P 1	13.0921281	101.247771	S 1	W 1	Sd 1	Pa 1	S 1	W 1	Sd 1	Pa 1
P 2	13.249306	101.278861	S 2	W 2	Sd 2	Pa 2	S 2	W 2	Sd 2	Pa 2
P 3	13.247333	101.281028	S 3	-	-	Pa 3	S 3	-	-	Pa 3
P 4	13.247167	101.280972	S 4	-	-	Pa 4	S 4	-	-	Pa 4
P 5	13.247167	101.021245	S 5	W 5	-	Pa 5	S 5	W 5	-	Pa 5
P 6	13.210639	101.021750	S 6	W 6	Sd 6	Pa 6	S 6	W 6	Sd 6	Pa 6
P 7	13.211389	101.020417	S 7	-	-	Pa 7	S 7	-	-	Pa 7
P 8	12.950500	101.224861	S 8	W 8	Sd 8	Pa 8	S 8	W 8	Sd 8	Pa 8
P 9	12.951000	101.225278	S 9	W 9	Sd 9	Pa 9	S 9	W 9	Sd 9	Pa 9
P 10	12.949083	101.227694	S 10	W 10	Sd 10	Pa 10	S 10	W 10	Sd 10	Pa 10
P 11	12.94525	101.223306	S 11	W 11	Sd 11	Pa 11	S 11	W 11	Sd 11	Pa 11
P 12	12.945139	101.223750	S 12	-	-	Pa 12	S 12	-	-	Pa 12
P 13	12.944833	101.223306	S 13	-	-	Pa 13	S 13	-	-	Pa 13
P 14	12.931722	101.218440	S 14	-	-	Pa 14	S 14	-	-	Pa 14
P 15	12.394772	101.218917	S 15	-	-	-	S 15	-	-	-
P 16	12.56518	101.130810	S 16	-	-	-	S 16	-	-	-



Figure 4 Unsafe disposal of pesticide packets and containers at fields.



Figure 5 Interview farmers and soil, water sediment, and pineapple sample collection from pineapple crops at Chon Buri and Rayong Province



Figure 6 sample analyzed.

การร่วมศึกษาทดสอบ วิธีตรวจวิเคราะห์ Tebuconazole ในสูตรผสมผลิตภัณฑ์สาร
ป้องกันกำจัดโรคพืชโดยเทคนิค GC

Participation in Collaborative Study of Tebuconazole Analysis Method
in Fungicide Formulation by GC Technique

ฉลองรัตน์ หมั่นขวา ภัทรฤทัย คมนันธุ์ อนุชา ผลไสว พินิตนันต์ สรวัยเอี่ยม ประชาธิปัตย์ พงษ์พิญโญ
Chalongrat Muenkhwa Phatrithai Khomnat Anucha Phonswa Pinitnun Sruiy-iam
Prachatipat Pongpinyo

กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Collaborative study of the Tebuconazole test method in 10 samples of pesticide formulation (TC EC EW SC and WP) was examined by the Laboratory of the Pesticide Quality System Development Subgroup, Agricultural Toxic Substances Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division. There were 14 international laboratories in this collaborative study for collation. The results of all laboratories were collection and comparison. Furthermore, the statistical evaluation of the test results was calculated for assessment of the acceptance of the Tebuconazole test method. The standard method of tebuconazole was in the CIPAC handbook. The method used the gas chromatography (GC) technique and flame ionization detector (FID). The capillary column used a HP-5 series with 0.25 μm film thickness, 0.32 mm internal diameter and 30 m length. The injection port had a temperature of 280 degrees Celsius and injection volume of 0.2 μL , the temperature programming started at 240 degrees Celsius (240 – 260 degrees Celsius, 15 $^{\circ}\text{C}/\text{minute}$, hold 4 min), carrier gas flow rate was 2.0 ml/min and detector temperature was 300 degrees Celsius. Sample testing results from our laboratory found that they passed 90% of the acceptance criteria. The statistical evaluation of the test results showed that one sample had outlier in all the test samples, and thus the results demonstrate the capability and potential of the laboratory therefore the laboratory was a reliable and internationally acceptable.

Keywords: Tebuconazole, Collaborative study, Fungicide formulations

บทคัดย่อ

การร่วมศึกษาทดสอบวิธีตรวจวิเคราะห์สารทีบูโคนาโซล (tebuconazole) ในสูตรผสมของผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิด TC EC EW SC และ WP จำนวน 10 ตัวอย่าง เป็นการทดสอบที่เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการและการประมวลผลทางสถิติ เพื่อประเมินการยอมรับในวิธีทดสอบสาร tebuconazole เข้าเป็นวิธีมาตรฐานใน CIPAC Handbook โดยกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เข้าร่วมศึกษาวิธีการทดสอบกับห้องปฏิบัติการอีก 14 ห้องปฏิบัติการ วิธีที่ทำการร่วมศึกษาใช้เทคนิค gas chromatography (GC) ตัวตรวจวัดชนิด flam ionization detector (FID) คอลัมน์ชนิด capillary รุ่น HB-5 ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร ส่วนฉีดสารแบบ split injection อุณหภูมิ 280 องศาเซลเซียส ปริมาตร ฉีดสาร 0.2 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์ 2400-260 องศาเซลเซียส ที่อัตรา 15 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที อัตราการไหลของแก๊สตัวพา 2.0 มิลลิตรต่อนาที ตัวตรวจวัดอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบตัวอย่างทั้งหมดของกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุพิษการเกษตร ผ่านเกณฑ์ยอมรับของ Collaborative International Pesticides Analytical Council (CIPAC) ร้อยละ 90 แสดงให้เห็นถึงความสามารถและศักยภาพห้องปฏิบัติการ เป็นที่หน้าเชื่อถือและยอมรับได้ในระดับสากล

คำสำคัญ : ทีบูโคนาโซล, การร่วมศึกษาพัฒนา, สูตรผสมสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

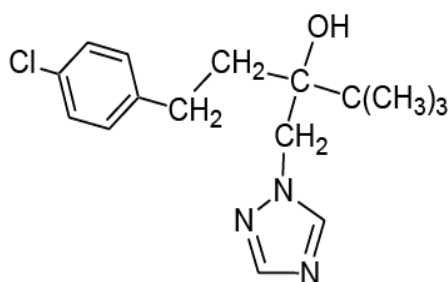
บทนำ

CIPAC เป็นชื่อย่อของ Collaborative International Pesticides Analytical Council ก่อตั้งเมื่อปี ค.ศ. 1957 เป็นองค์กรระหว่างประเทศที่ไม่แสวงหาผลกำไรและไม่ใช่งานของภาครัฐ จัดตั้งขึ้นเพื่อทำข้อตกลงระหว่างประเทศเกี่ยวกับวิธีการทดสอบ จัดโปรแกรมการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ เผยแพร่วิธีการวิเคราะห์ที่ได้มาตรฐาน และเพื่อร่วมมือกับองค์กรอื่นๆ ส่งเสริมให้เกิดการยอมรับร่วมกันระหว่างประเทศเกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (analysis of pesticides test method) และวิธีการทดสอบทางเคมีกายภาพสำหรับสูตรผสมของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (physico-chemical test method) และส่งเสริมให้มีการจัดโปรแกรมการทดสอบของห้องปฏิบัติการในระดับสากล (interlaboratory program) เพื่อประเมินวิธีการทดสอบ โดยวิธีการทดสอบทั้งหมดถูกเสนอโดยผู้เกี่ยวข้องและได้ผ่านการทดสอบจากห้องปฏิบัติการหลายๆแห่ง เมื่อการประเมินผลการทดสอบผ่านการนำเสนอต่อการประชุมของ CIPAC รวมทั้งได้มีการยอมรับวิธีทดสอบนั้น แล้ววิธีการทดสอบจะได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ใน CIPAC handbook และดำเนินการเผยแพร่โดย CIPAC

การดำเนินการศึกษา CIPAC collaborative trial ด้านสารกำจัดศัตรูพืช ทั้งประเภทสารเทคนิคคอลและผลิตภัณฑ์ มีการดำเนินการโดยแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนที่ 1 หน้าที่ของผู้ประสานงานในการทำ collaborative trial ทำการติดต่อประสานฝ่ายเลขานุการของ CIPAC เพื่อชี้แจงประเด็นในการเปิดดำเนินการ collaborative trial และจัดทำร่างเอกสารข้อมูลต่าง ๆ ของวิธีทดสอบ รวมถึงอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการทดสอบ ชนิดและประเภทของสูตร ที่จะใช้ดำเนินการทดสอบ กรอบเวลาของการดำเนินการ รวมทั้งข้อมูลของการติดต่อบุคคล ส่วนที่ 2 หน้าที่ของ CIPAC จะทำการตรวจสอบข้อมูลทั้งหมดที่ผู้ประสานงานและควบคุมการทดลองได้ดำเนินการว่ามีข้อมูลที่จำเป็นทั้งหมดครบถ้วนหรือไม่อีกครั้ง และดำเนินการเผยแพร่ข้อมูลต่อสาธารณะ (โดยผ่านเว็บไซต์ของ CIPAC และ รายชื่อผู้เกี่ยวข้องทางอีเมล) และส่วนที่ 3 เป็นส่วนสุดท้ายคือ หน้าที่ของผู้เข้าร่วม

collaborative trial จะต้องสามารถทำการทดสอบวิธีวิเคราะห์ตามข้อกำหนดได้ ได้แก่ มีความพร้อมของอุปกรณ์เครื่องมือ รวมไปถึงรายละเอียดของ คอลัมน์ที่ใช้ และทดสอบในช่วงเวลาที่กำหนด ผู้เข้าร่วม collaborative trial ต้องปฏิบัติตาม รายละเอียดของวิธีทดสอบที่ระบุไว้ เนื่องจากเป้าหมายคือ การตรวจสอบวิธีทดสอบ การดำเนินการใดที่แตกต่าง ออกไปจากวิธีการที่ระบุไว้ จะต้องชี้แจงเป็นเอกสารและให้เหตุผลประกอบ (CIPAC, 2018)

สารป้องกันกำจัดโรคพืชทีบูโคนาโซล (tebuconazole) เป็นสารกลุ่ม triazole หรือ conazole มีชื่อทางเคมีตาม IUPAC เป็น (R,S)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-3-(1*H*-1,2,4-triazole-ylmethyl)pentan-1-ol (IUPAC); α -[2-(4-chlorophenyl)ethyl]- α -(1,1-dimethylethyl)-1*H*-1,2,4-triazole-1-ethanol (CA) มีสูตรโมเลกุล $C_{16}H_{22}ClN_3O$ น้ำหนักโมเลกุล 307.8 กรัมต่อโมล มีสูตรโครงสร้างดังนี้



ที่มา The Agrochemicals Handbook (1993)

tebuconazole เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช ใช้ในการป้องกันกำจัดโรค ในพืชหลายชนิด เช่น โรคใบจุดสีดํา โรคราสนิมขาว โรคราแป้งในไม้ดอกไม้ประดับ โรคกาบใบเน่าและเมล็ดต่างในข้าว โรคเน่าดําในถั่วลิสง โรคแสดดํา และโรคกลืนสับประรดในอ้อย เป็นต้น (กองโรคพืชและจุลินทรีย์วิทยา, 2544) การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ tebuconazole วิเคราะห์ตามวิธี CIPAC Collaborative Tril ด้วยเทคนิค GC-FID ใช้สารมาตรฐาน และวิธีการวิเคราะห์ ตาม Jiangsu Seven continent Green Chemical Co., Ltd ที่เสนอไว้ในงาน CIPAC meeting in Wageningen ในปี 2024 โดยใช้ปริมาณสารมาตรฐาน internal standard และ ผลิตภัณฑ์สูตรผสม 10 ตัวอย่าง ได้แก่ tebuconazole สูตรผสม TC EC EW SC และ SC อย่างละ 2 ตัวอย่าง

วัตถุประสงค์ของการเข้าร่วมศึกษาทดสอบวิธีวิเคราะห์ ของ CIPAC collaborative trial เพื่อสร้างความเข้มแข็งของวิธีทดสอบ เพิ่มความสามารถ และน่าเชื่อถือ ในระดับสากล ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพ ผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรของกรมวิชาการเกษตรจะได้เป็นมาตรฐานเดียวกับระดับสากล โดยห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชทางการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร ได้ทำการทดสอบ และส่งผลไปยัง ผู้จัดและประเมิน โดยที่ Jiangsu Sevencontinent Green Chemical Co., Ltd ได้ทำการรวบรวมผล จากทั้ง 14 ประเทศ เพื่อนำไปประเมินค่าทางสถิติ และเสนอวิธีการตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ tebuconazole เป็นวิธีมาตรฐาน ใน CIPAC Handbook Vol. สำหรับนำไปใช้เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Gas Chromatograph (GC) มีตัวตรวจจับชนิด Flame Ionization Detector (FID) คอลัมน์ชนิด Capillary ภายในเคลือบด้วย 5 % phenyl methyl siloxane (HP-5) ความยาว 30 เมตรขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์ม 0.32 มิลลิเมตร
2. เครื่องชั่งละเอียด 4-5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ, ขวดปริมาตร ขนาด 10 และ 50 มิลลิลิตร (class A) ที่ผ่านการสอบเทียบ, Ultrasonic bath, Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร และชุดกรองสารพร้อม Syringe filter ขนาดรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร
3. สารมาตรฐาน tebuconazole มีความบริสุทธิ์ 99.0 % และ สาร Internal standard Dicyclohexyl phthalate 99.0%
4. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ของ tebuconazole สูตร 98 %min TC (TC1, TC2), 25% W/V EC (EC1, EC2), 25% W/V EW (EW1, EW2), 43% W/V SC (SC1, SC2) และ 25%WP (WP1, WP2)
5. Acetone (AR grade)

วิธีการ

1. การรับสมัครการเข้าร่วม

ทำหนังสือตอบรับเข้าร่วม พร้อมส่งแบบตอบรับการเข้าร่วม ไปยังผู้จัด Jiangsu Sevencontinent Green Chemical Co., Ltd รอการตอบรับกลับ พร้อมรับสามมาตรฐานและตัวอย่างทดสอบ Tebuconazole ทดสอบและส่งผลการทดสอบกลับไปยังผู้จัดตามเวลาที่กำหนด

2. การทดสอบ

ทำการทดสอบ 2 วันโดย แบ่งการทดสอบเป็น Day1 และ Day2 และทำการฉีดสารตัวอย่างละ 2 ซ้ำ รวมทั้งหมด 4 ซ้ำ

โดยซึ่งตัวอย่างใส่ขวดแอมเบอร์ ขนาด 10 มิลลิลิตร ขวดละ 2 ซ้ำ โดยทดสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ตามวิธีที่ CIPAC collaborative Trial ของ tebuconazole ด้วยเทคนิค GC-FID ดำเนินการทดสอบตามข้อ 3 โดยวิเคราะห์ตัวอย่าง ละ 2 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลประเมินค่าทางสถิติ

3. วิธีการทดสอบ

3.1 การปรับตั้งสถานะเครื่อง GC-FID

Injector type	split injection
Split Ratio	20:1
Injection volume	0.2 μ L
Injector temperature	280 $^{\circ}$ C
Detector type	flame ionization
Detector temperature	300 $^{\circ}$ C
Oven temperature	240 $^{\circ}$ C, hold 8minutes, ramp rate15 $^{\circ}$ C/minute, to 260 $^{\circ}$ C, hold 4 minutes

Flow rates

Helium (carrier)	2mL/minutes
Helium (make-up)	25 mL/minutes
Air	400 mL/minutes
Hydrogen	40 mL/minutes
Running time	14 minutes
Retention time	Tebuconazole: approx. 4.6 minutes dicyclohexyl phthalate: approx. 6.0minutes

3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน tebuconazole

ชั่งสารมาตรฐาน tebuconazole ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 50 ± 0.1 มิลลิกรัม จำนวน 2 ซ้ำ (C1, C2) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้เป็น 10 ml ด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

3.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งสารตัวอย่างแต่ละชนิด ให้มีปริมาณสารออกฤทธิ์ 50 ± 0.1 mg จำนวนละ 2 ซ้ำ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายด้วย acetone ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย ultrasonic bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วย acetone เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-FID

3.4 การตรวจสอบความพร้อมของเครื่องมือ

ตรวจสอบโดยการฉีดสารละลายมาตรฐาน (C1) เข้าเครื่องไม่น้อยกว่า 8 ซ้ำ peak area มีค่า % RSD แตกต่างไม่เกิน 1%

3.5 การฉีดสารละลายเข้าเครื่อง ดำเนินการฉีดสารละลายตามลำดับ ดังนี้

C1, C2, C1, S1_A, S1_B, C1, S2_A, S2_B, C1, S3_A, S3_B, C1, S3_A, S3_B, C1 C1,ตามลำดับ จนกระทั่งปิดด้วย C2 C2, C1 C1

3.6 กระบวนการทดสอบ ดำเนินการทดสอบตัวอย่าง ทำ 2 วัน เพื่อศึกษา reproducibility โดยชั่งสารมาตรฐานและตัวอย่างใหม่ ดำเนินการทดสอบตามข้อ 3.1 - 3.5

4. การประเมินผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วม

การประเมินผลด้วยวิธีทางสถิติ (Statistic evaluation of results) ตาม CIPAC Collaborative Trial(Makiko, 2011) ดำเนินการโดย Jiangsu Sevencontinent Green Chemical Co., Ltd

ระยะเวลา เดือน ตุลาคม ถึงพฤษภาคม 2566

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตร
กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ห้องปฏิบัติการได้รับการตอบรับและตัวอย่างตามกำหนดเมื่อ 12 กันยายน 2566 และแจ้งกลับผู้จัดตัวอย่างมีสภาพปกติและส่งผลวิเคราะห์ภายในเวลาที่กำหนดเมื่อ 15 พฤษภาคม 2566 การศึกษาร่วมกันการทดสอบสารป้องกันกำจัดโรคพืชทีบูโคนาโซล (tebuconazole) สูตร 98 % min TC (TC1 , TC2) , 25 % W/V EC (EC1 , EC2), 25 % W/V EW (EW1 , EW2), 43% W/V SC (SC1 , SC2) และ 25 % WP (WP1 , WP2) มีห้องปฏิบัติการเข้าร่วม จำนวน 14 ห้องปฏิบัติการ จาก 14 ประเทศ ผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบฯ ดังนี้

การตรวจสอบความพร้อมของระบบตรวจสอบจาก equilibration ของการนิตสารมาตรฐาน C1 ต่อเนื่องจำนวน 5 ครั้ง เกณฑ์กำหนดของ collaborative study ระบุให้มีการเบี่ยงเบนของค่า response factor (f) ไม่เกิน 1% พิจารณาค่าความแตกต่างในแบบ %RPD ของสารละลายสารมาตรฐาน C1 และ C2 แตกต่างกันไม่เกินเกณฑ์กำหนด 1% ค่าของการวิเคราะห์ tebuconazole Day1 และ Day2 ได้ค่า %RPD เท่ากับ 0.060 และ 0.810 แสดงดัง Table 1 และ Table 3 และทำการทดสอบครั้งที่ 1 (day 1) และครั้งที่ 2 (day 2)

Table 1 Response factor (f) of GC analysis conditioning on Day1

Solution type	Mass of tebuconazole reference substance s (mg)	Peak Area of tebuconazole H (s)	Peak Area of internal standard (IS) I (r)	Volume of IS (ml)	Response factor (f)
C1	49.9	1727.07690	2455.10376	10.00	1.423987
		1760.73755	2503.32153	10.00	1.423778
		1650.79944	2345.40942	10.00	1.424754
		1675.44889	2381.65308	10.00	1.424023
		1665.77588	2369.35596	10.00	1.423149

นิตสารจนกว่าสภาวะของเครื่องพร้อมใช้งาน โดยจะต้องมี ค่า response factor (f) : แตกต่างกันไม่เกิน 1.0% จากตารางจะพบว่า ค่า f ของการนิตสาร ซ้ำที่ 4 และ 5 มีความแตกต่างกันเท่ากับ 0.060%

เปรียบเทียบผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ Tebuconazole ใน day 1 ได้ค่า %RSD ไม่เกิน 1% ซึ่งผลที่ได้ผ่านเกณฑ์กำหนด มีปริมาณสาร tebuconazole ของ sample A, B, C, D และ E เท่ากับ 100.39, 100.96, 26.42, 26.85, 25.96, 26.06, 39.68, 40.30, 25.48 และ 25.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงดัง Table 2

Table 2 Results of 10 tebuconazole sample on Day 1

Sample	Weight of sample (mg/ml)	Volume of sample (mL)	tebuconazole content (%)	tebuconazole mean content (%)
tebuconazole TC1 (a)	50.7	10	100.99	100.39
tebuconazole TC1(b)	50.1	10	100.93	
tebuconazole TC2(a)	50.6	10	99.84	100.69
tebuconazole TC2(b)	50.4	10	99.81	
tebuconazole EC1(a)	201.7	10	100.61	26.42
tebuconazole EC1(b)	201.6	10	100.61	
tebuconazole EC2(a)	202.3	10	101.30	26.85
tebuconazole EC2(b)	201.9	10	101.32	
tebuconazole EW1(a)	204.6	10	26.75	25.96
tebuconazole EW1(b)	210.8	10	26.76	
tebuconazole EW2(a)	204.3	10	26.09	26.06
tebuconazole EW2(b)	201.8	10	26.09	
tebuconazole SC1(a)	116.2	10	27.25	39.68
tebuconazole SC1(b)	115.4	10	27.26	
tebuconazole SC2(a)	116.6	10	26.45	40.30
tebuconazole SC2(b)	116.0	10	26.45	

Table 2 (Cont.)

Sample	Weight of sample (mg/ml)	Volume of sample (mL)	tebuconazole content (%)	tebuconazole mean content (%)
tebuconazole WP1 (a)	201.8	10	25.60	25.48
tebuconazole WP1(b)	201.4	10	25.37	
tebuconazole WP2(a)	201.3	10	25.27	25.49
tebuconazole WP2(b)	201.0	10	25.35	
			25.36	

Table 3 Response factor (f) of GC analysis conditioning on Day2

Solution Type	Mass of tebuconazole reference substances [mg]	Peak Area of tebuconazole H(s)	Peak Area of Internal standard (IS) I(r)	Volume of IS [mL]	Response Factor f
C1	50.7	1688.80859	2302.37402	10.00	1.461374
		1664.63647	2269.49146	10.00	1.461328
		1655.00208	2255.10205	10.00	1.462141
		1702.75171	2302.91382	10.00	1.473094
		1673.72815	2282.06299	10.00	1.461215

นิตสารจนกว่าสภาวะเครื่องพร้อมใช้งานโดยที่ ค่า response factor (f) : จะต้องแตกต่างกันไม่เกิน 1.0% จากตารางจะพบว่า ค่า f ของการนิตสาร ซ้ำที่ 4 และ 5 แตกต่างกันเท่ากับ 0.810%

Table 4 Results of 10 tebuconazole sample on Day 2

Sample	weight of sample (mg/mL)	Volume of sample (mL)	tebuconazole content (%)	tebuconazole mean content (%)
tebuconazole TC1 (a)	50.5	10	98.34	98.05
tebuconazole TC1(b)	50.1	10	98.35	
tebuconazole TC2(a)	50.4	10	97.75	95.61
tebuconazole TC2(b)	50.1	10	97.76	
tebuconazole EC1(a)	200.0	10	95.46	25.46
tebuconazole EC1(b)	200.1	10	95.51	
tebuconazole EC2(a)	200.3	10	95.69	25.83
tebuconazole EC2(b)	200.4	10	101.32	
tebuconazole EW1(a)	200.0	10	25.77	25.70
tebuconazole EW1(b)	200.9	10	25.75	
tebuconazole EW2(a)	200.9	10	25.16	25.49
tebuconazole EW2(b)	200.4	10	25.17	
tebuconazole SC1(a)	116.0	10	25.59	38.90
tebuconazole SC1(b)	116.8	10	25.58	
tebuconazole SC2(a)	116.9	10	26.06	38.37
tebuconazole SC2(b)	116.2	10	26.09	

Table 4 Results of 10 tebuconazole sample on Day 2 (Cont.)

Sample	weight of sample (mg/mL)	Volume of sample (mL)	tebuconazole content (%)	tebuconazole mean content (%)
tebuconazole WP1(a)	200.5	10	25.02	25.48
			25.03	
tebuconazole WP1(b)	200.7	10	25.09	24.64
			25.08	
tebuconazole WP2(a)	200.3	10	24.83	24.64
			24.83	
tebuconazole WP2(b)	200.0	10	24.48	24.43
			24.43	

เปรียบเทียบผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ tebuconazole day 2 ได้ค่า %RSD ไม่เกิน 1% ซึ่งผลที่ได้ผ่านเกณฑ์กำหนด มีปริมาณสาร tebuconazole ของ sample A, B, C, D และ E เท่ากับ 98.05, 95.61 , 25.46, 25.83, 25.70, 25.49, 38.90, 38.37, 25.05 และ 24.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงดัง Table 4

ส่งผลการทดสอบปริมาณ tebuconazole ให้ผู้จัด collaborative study เพื่อประเมินผลการเข้าร่วมทดสอบกับห้องปฏิบัติการทั้งหมด 14 แห่ง ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร เป็นห้องปฏิบัติการ 3 (Lab 3) พบว่าการผลทางสถิติของผลการทดสอบในตัวอย่าง A และ B (98% min Tech) ตัวอย่าง C และ D (25% EC.) และตัวอย่าง E และ F (25% W/V EW) ตัวอย่าง G และ H (43% W/V EW) ตัวอย่าง I และ J (25% WP) ไม่เป็น outlier 9 รายการทดสอบ ยกเว้นรายการทดสอบ TC2 Day 2 มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าค่าเฉลี่ยห้องปฏิบัติการอื่นที่เข้าร่วม แสดงผลการทดสอบ Figure 1-10

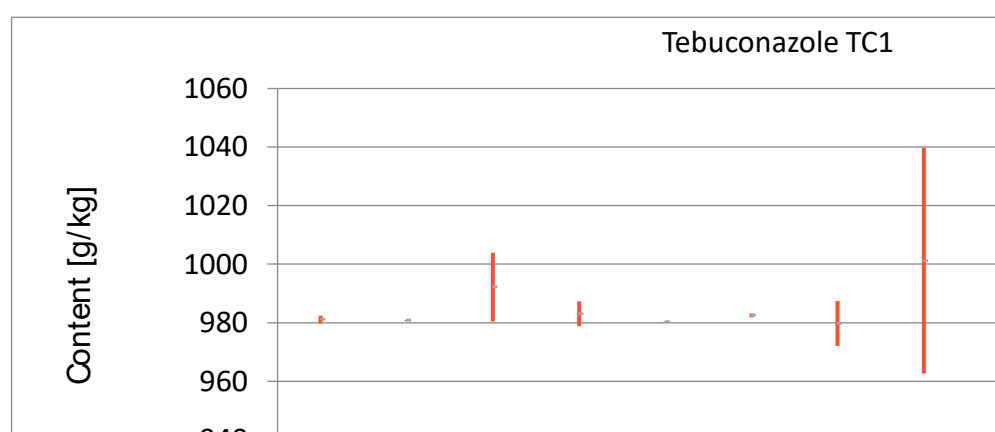


Figure 1 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole TC1 on Day 1 and Day 2

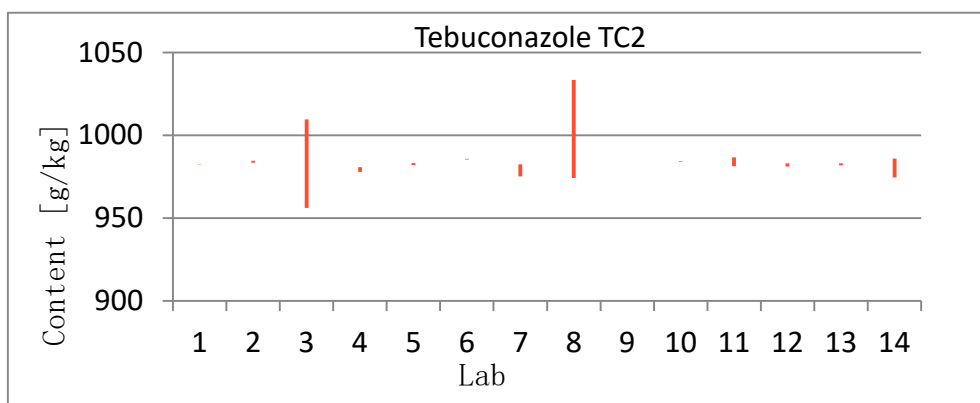


Figure 2 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole TC2 on Day 1 and Day 2

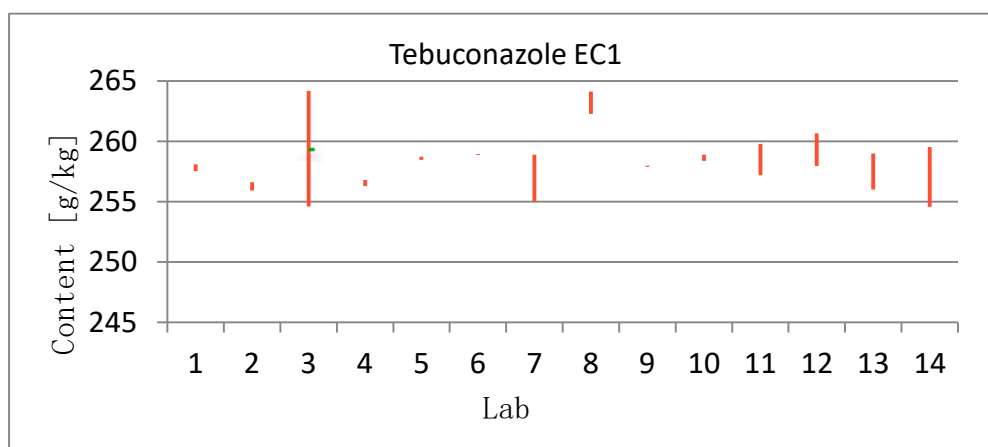


Figure 3 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole EC1 on Day 1 and Day 2

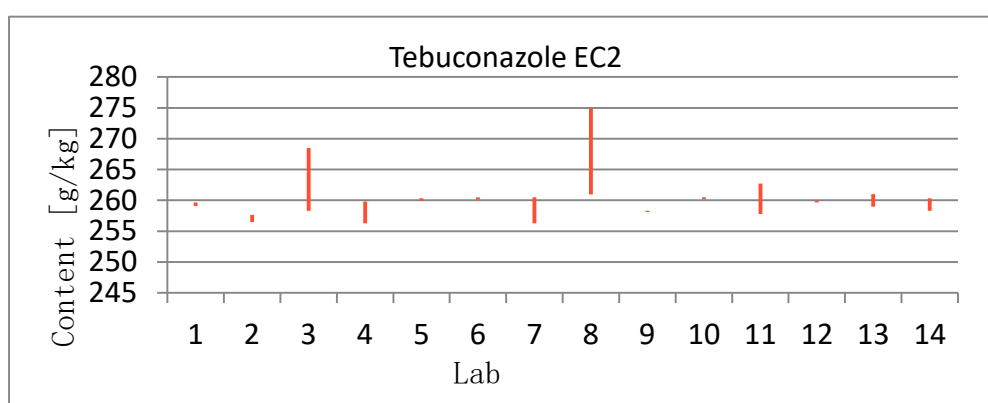


Figure 4 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole EC2 on Day 1 and Day 2

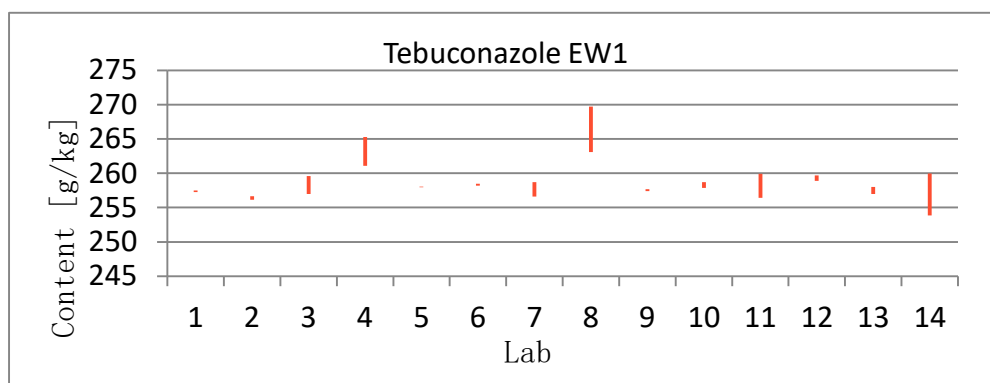


Figure 5 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole EW1 on Day 1 and Day 2

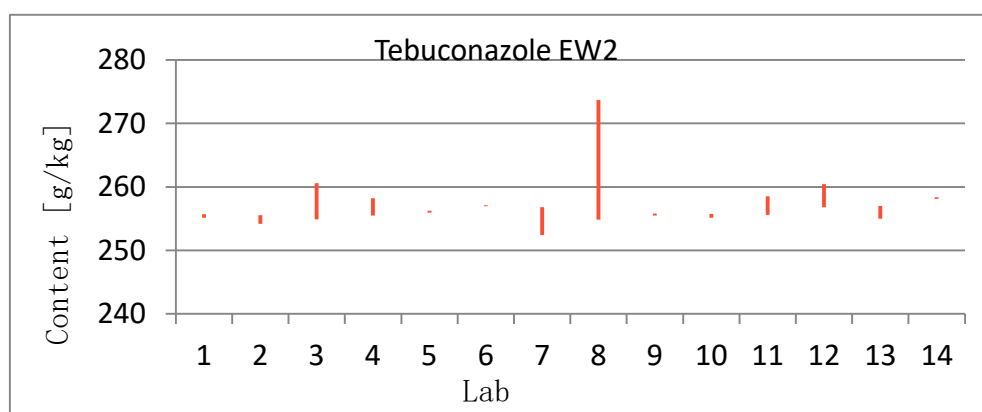


Figure 6 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole EW2 on Day 1 and Day 2

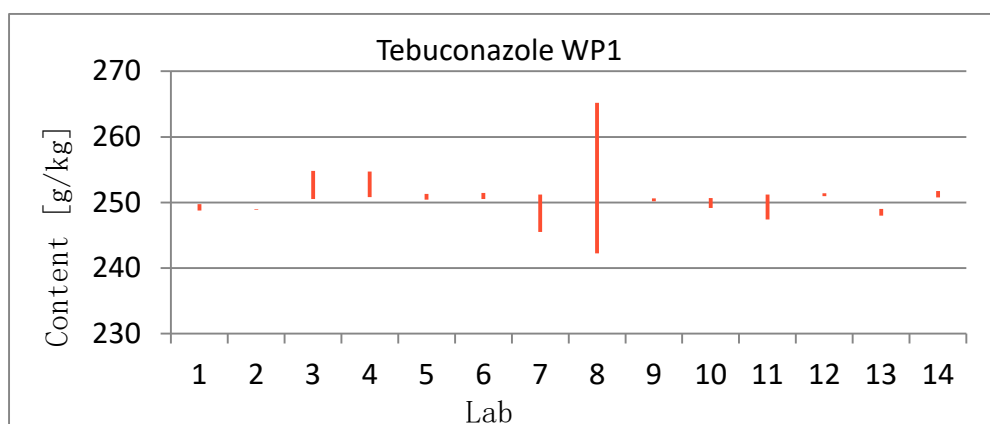


Figure 7 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole WP1 on Day 1 and Day 2

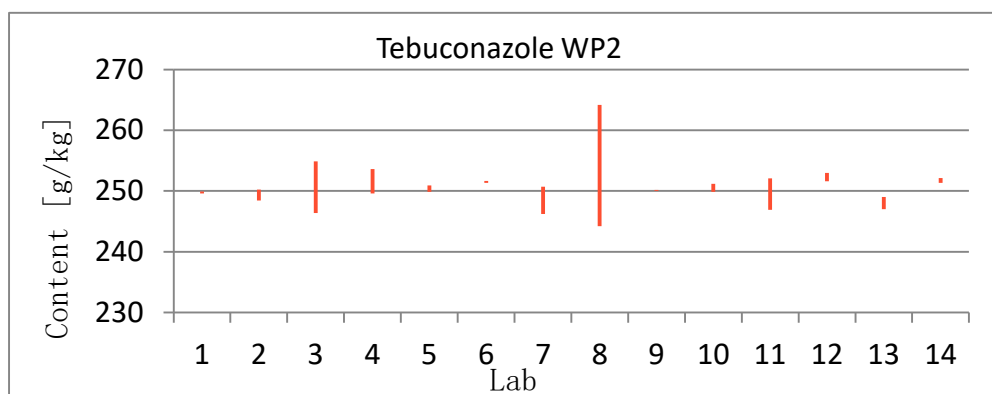


Figure 8 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole WP2 on Day 1 and Day 2

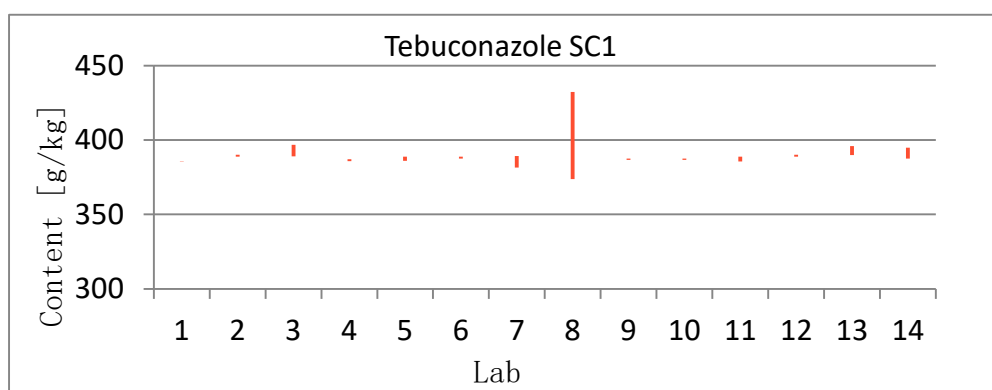


Figure 9 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole SC1 on Day 1 and Day 2

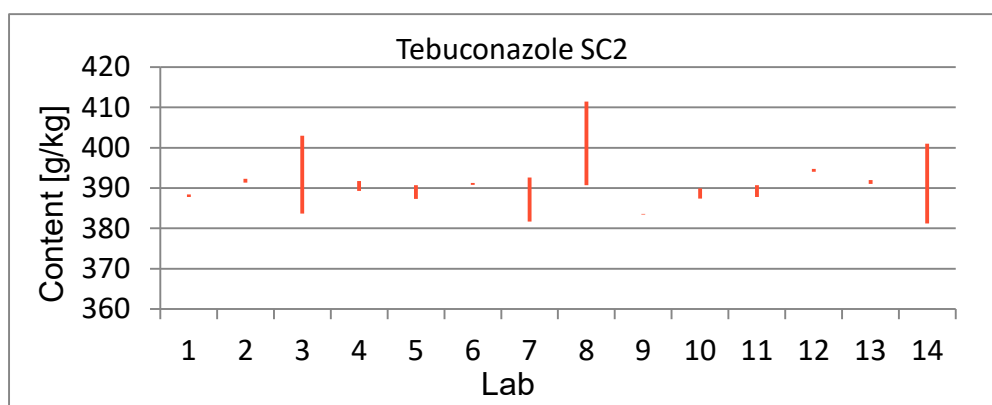


Figure 10 Mean and range of difference of data analysis tebuconazole SC2 on Day 1 and Day 2

สรุปผลการทดลอง

การเข้าร่วมศึกษาวิธีวิเคราะห์ tebuconazole ตามวิธีทดสอบที่กำหนด เพื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ และประมวลผลทางสถิติของผลการทดสอบเพื่อนำไปใช้ในการกำหนดให้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ tebuconazole ของ CIPAC โดย Jiangsu Sevencontinent Green Chemical Co., Ltd. เป็นผู้ดำเนินการ ทำหน้าที่ประสานงาน จัดส่งเอกสาร สารมาตรฐาน สารมาตรฐานภายใน และตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตรวิเคราะห์ใช้เทคนิค GC ตัวตรวจวัดชนิด FID ใช้คอลัมน์ชนิด capillary รุ่น HP-5 ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร ส่วนฉีดสารแบบ split injection อุณหภูมิ 280 องศาเซลเซียส ปริมาณฉีดสาร 0.2 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์ 240-260 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของแก๊สพา 2.0 มิลลิตรต่อนาที ตัวตรวจวัดอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบของตัวอย่าง A, B, C, D, E, F, G, H, และ J ได้ค่าสารออกฤทธิ์ tebuconazole เท่ากับ 99.22%, 98.28%, 25.94%, 26.34%, 25.83%, 25.78%, 25.27%, 25.06%, 39.29% และ 39.34% ตามลำดับ จากผลการทดสอบตัวอย่างทั้งหมดของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบพืชการเกษตรพบว่า ผ่านเกณฑ์ การยอมรับ โดยผลการประเมินทางสถิติของผลการทดสอบพบว่าไม่เป็น outlier 9 รายการทดสอบ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการร่วมเป็นส่วนหนึ่งในการยืนยันวิธีวิเคราะห์ของ tebuconazole ในวิธีมาตรฐานในระดับสากล
2. สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการทดสอบสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ Tebuconazole ทั้งภาครัฐและเอกชน

เอกสารอ้างอิง

กองโรคพืชและจุลินทรีย์วิทยา. 2544. คำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชด้วยสารเคมี. เอกสารวิชาการกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 171 หน้า

CIPAC. 2018. Guideline on how to conduct a CIPAC collaborative trial. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited. Available at: <http://www.cipac.org>. Assessed: June 25, 2022

Kidd, H. and D.R. James (Eds). 1993. The Agrochemicals Handbook. 3rd Ed. Royal Society of Chemistry. England.

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไซม็อกซานิล
ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
Method Validation for determination of the Active Ingredient of
cymoxanil in Pesticide Products

สุกัญญา คำคง

Sukanya Khomkong

พินิตนันท์ สรวายเอี่ยม

Pinitnun Sruay-iam

ศศิมา มั่งนิมิตร

Sasima Mungnimit

กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

Method validation study of active ingredients in pesticide formulation products, such as cymoxanil. The objectives of this study were validated of method to appropriate with the instrument in laboratory and minimize steps in buffer preparation which was developed and adapted from standard method by High Performance Liquid Chromatography technique within the appropriate condition. The results were found that the working concentration range and linearity range of cymoxanil were 0.04 – 0.14 mg/ml with the correlation coefficient (r) were 0.99980 and 0.99977, respectively which had accepted with limit of the correlation coefficient (r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003). The precision of HORRAT values for repeatability and intermediate precision of the analytical substances by the three levels of concentration were 0.08, 0.10 and 0.12 mg/ml thus the HORRAT values were 0.75, 0.47, 0.51 and 1.03, 0.57, 0.52, respectively. The HORRAT values tested with robustness and ruggedness of cymoxanil which two factors analysis for change that the ratio of the volume of fluid in the mobile phase and flow rate of mobile phase by the three levels of concentration were 0.08, 0.10 and 0.12 mg/ml that the HORRAT values were in the range of 0.31 – 0.56 which were followed by the AOAC (2016) that between 0.3 – 1.3. The accuracy of this method was assessed by recovery studied. The percent recoveries of the analytical substances by the three levels of concentration were 0.08, 0.10 and 0.12 mg/ml showed percent recoveries were 99.2, 99.2 and 98.4, respectively considered an acceptance by the AOAC (2016) that as 98-102% for analytical concentrations more than 10%. This specificity method did not have interference from other substances. The measured uncertainty of cymoxanil was 7.28 ± 0.15 %W/W at 95% confidence level. As a result, it was the performance characteristics of this method according to the criteria. Therefore, the method development could be used to determine the active ingredients in pesticide formulation products with accuracy and precision.

Keywords: Method validation; Cymoxanil; Repeatability; Intermediate precision; Uncertainty

บทคัดย่อ

จากการศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไซม็อกซานิล (cymoxanil) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาวิธีขึ้นมาใหม่หรือดัดแปลง มาจากวิธีมาตรฐานให้เหมาะสมกับเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ และลดขั้นตอนการเตรียมสารบัพเฟอร์ เพื่อสร้างมาตรฐานการทดสอบให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องและแม่นยำ ยอมรับได้ตามเกณฑ์การยอมรับสากล ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่า ช่วงของการวัด (working range) และช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0.04 – 0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.99980 และ 0.99977 ตามลำดับ ซึ่งเกณฑ์ยอมรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003) ตรวจสอบความแม่นยำ (precision) แบบ repeatability และ intermediate precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า HORRAT เท่ากับ 0.75, 0.47, 0.51 และ 0.80, 0.44, 0.41 ตามลำดับ ตรวจสอบความคงทน (robustness / ruggedness) โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบแบบ 2 ปัจจัยคือ อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่กับอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.31 – 0.56 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016) คือ 0.3 – 1.3 ตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ % recovery เท่ากับ 99.2, 99.2 และ 98.4 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วง 98 – 102 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (2016) วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ไม่มีการรบกวนของสารอื่นและการประมาณค่าความไม่แน่นอนของ cymoxanil เท่ากับ 7.28 ± 0.15 %W/W ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากผลการทดสอบดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า คุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้นวิธีที่พัฒนานี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

คำสำคัญ: การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี; สารออกฤทธิ์ไซม็อกซานิล; ความสามารถในการทำซ้ำ; ความสามารถในการทำซ้ำภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน; การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด

บทนำ

ไซม็อกซานิล (cymoxanil) เป็นของแข็งผลึก ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น จัดอยู่ในกลุ่ม cyano acetamide oximes มีสูตรทางเคมี $C_7H_{10}N_4O_3$ น้ำหนักโมเลกุล 198.18 จุดหลอมเหลว 160 - 161°C มีความสามารถในการละลายได้ในอะซิโตน คลอโรฟอร์ม เฮกเซน เมทานอล และน้ำ ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืชแบบดูดซึมและสัมผัส กลไกออกฤทธิ์เข้าทำลายเชื้อรา มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเส้นใย การสร้างสปอร์และการงอกของสปอร์เชื้อรา โดยเฉพาะการต้านเชื้อราโรคราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง องุ่น โรคนิ่วในพืชผัก เช่น ผักกาด มะเขือเทศ มันฝรั่ง โรครากเน่าโคนเน่า (phytophthora) ในไม้ผล เช่น ทุเรียน ส้มโอ (Kidd H. and James D.R, 1993) สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ cymoxanil ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีวิธีมาตรฐานอ้างอิงตาม CIPAC (Collaborative International Pesticides Analytical council Limited) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatograph) ที่ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายอะซิโตนไตริลที่มีสภาพเป็นกรดอ่อน ด้วยการเติมกรดฟอสฟอริก และใช้คอลัมน์ที่มีความทนต่อ

สภาพความเป็นกรดได้ดี (W Dobrat and A Martijn, 2000) ดังนั้นเพื่อลดขั้นตอนการเตรียมสารเคมีที่มีความซับซ้อน และใช้อุปกรณ์และเครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ จึงมีความจำเป็นที่ต้องพัฒนาวิธี ปรับปรุงหรือดัดแปลงวิธีให้เหมาะสมกับอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่มี การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) เป็นส่วนสำคัญอย่างยิ่งของการพัฒนาหรือปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ขึ้นมาใหม่ ซึ่งมีแนวทางในการประเมินเพื่อยืนยันหรือพิสูจน์วิธีวิเคราะห์นั้น ๆ จากการศึกษานวปฏิบัติทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว ได้กำหนดคุณลักษณะเฉพาะวิธีในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี คือ ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ช่วงของการวัด (working Range) ความแม่นยำ (precision) ความคงทนของวิธี (robustness/ruggedness) ความถูกต้อง (accuracy) และความจำเพาะเจาะจง (specificity) รวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด (measurement uncertainty) (ทิพวรรณ, 2549)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นส่วนหนึ่งในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร เพื่อให้เป็นไปตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 โดยมีห้องปฏิบัติการกลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ภายใต้การกำกับดูแลของกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เป็นหน่วยงานรับผิดชอบในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร ทั้งการขึ้นทะเบียนนำเข้าและส่งออก เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีคุณภาพและเกษตรกรนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) ที่พัฒนาวิธีขึ้นมาใหม่หรือดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานให้เหมาะสมกับอุปกรณ์หรือเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ เพื่อสร้างมาตรฐานการทดสอบ ให้ผลการทดสอบมีความถูกต้อง แม่นยำ ยอมรับได้ตามเกณฑ์การยอมรับที่เป็นมาตรฐาน รวมทั้งสามารถขอการรับรองมาตรฐานคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 เพื่อเพิ่มสมรรถนะของห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร งานวิจัยนี้จึงสอดคล้องกับกลยุทธ์ของกรมวิชาการเกษตรด้านการวิจัยและพัฒนาระบบมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพพืช ปัจจัยการผลิต และผลิตภัณฑ์ที่มุ่งให้มีมาตรฐานการทดสอบเป็นที่น่าเชื่อถือยอมรับได้ในระดับประเทศและระดับสากล

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง high performance liquid chromatograph มีตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ (DAD), คอลัมน์ชนิด LiChrospher[®] 60 (RP-18) ขนาด 5.0 ไมโครเมตร ความยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.0 มิลลิเมตร
2. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (± 0.1 มิลลิกรัม) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว, Ultrasonic bath, ขวดวัดปริมาตรชนิด type A ขนาด 50, 100 และ 200 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว, Auto pipette ขนาด 1 - 10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว, ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร, syringe ขนาด 10 มิลลิลิตร, syringe filters ขนาด 0.22 ไมโครเมตร และปีกเกอร์
3. สารมาตรฐาน cymoxanil 99.6 % สารอะซีโตนไตรล์ (HPLC grade)
4. ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคพืช cymoxanil + mancozeb 8 % + 64 % W/W WP

วิธีการ

1. การปรับตั้งสภาวะเครื่อง HPLC (DAD) สำหรับการตรวจวิเคราะห์ cymoxanil

คอลัมน์	: LiChrospher® 60 (RP-18) ขนาด 4.0 x 250 มิลลิเมตร ภายในบรรจุซิลิกา ขนาด 5 ไมโครเมตร
อัตราการไหล	: 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
เฟสเคลื่อนที่	: อัตราส่วนของน้ำกลั่นปราศจากไอออนต่ออะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile) 30:70
อุณหภูมิคอลัมน์	: 40 องศาเซลเซียส
ความยาวคลื่น	: 254 นาโนเมตร
ปริมาตรการฉีด	: 2 ไมโครลิตร

2. ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

โดยฉีดสารมาตรฐาน สารละลายตัวอย่างของ cymoxanil และสารละลายแบลนด์ (blank) ของ acetonitrile เข้าเครื่อง HPLC ที่ทำการกำหนดสภาวะเครื่องดังข้อ 1 พิจารณาโครมาโทแกรมดูว่ามีสารอื่นแปลกปลอมมารบกวนสารออกฤทธิ์ cymoxanil หรือไม่

3. ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวัด (linearity/working range)

3.1 เตรียม stock standard solution cymoxanil ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน cymoxanil 99.6 % ให้มีสารออกฤทธิ์ cymoxanil ปริมาณ 100 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตไนไตรล์ ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตไนไตรล์ เขย่าให้เข้ากัน

3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน cymoxanil ที่ความเข้มข้น 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการปิเปตจาก stock standard solution cymoxanil ข้อ 3.1 ปริมาตร 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตไนไตรล์ ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วย ultrasonic bath 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตไนไตรล์ เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่อง HPLC สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) กับค่า response (แกน Y) พิจารณาคurve ความเป็นเส้นตรง และคำนวณค่า Correlation coefficient (r) ≥ 0.990 (CIPAC, 2003)

4. ตรวจสอบความแม่นยำ (Precision)

4.1 Repeatability ตรวจสอบ precision แบบ repeatability ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในเวลาเดียวกัน ดังนี้

4.1.1 การเตรียมสารมาตรฐานแบบ 2 ซ้ำ (duplicate) ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน cymoxanil 99.6 % ให้มีสาร cymoxanil ปริมาณ 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตไนไตรล์ ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมน้ำอะซิโตไนไตรล์ถึงขีดปริมาตร แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC

4.1.2 การเตรียมตัวอย่างสาร cymoxanil 8 % W/W WP ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยชั่งสารตัวอย่างให้มีสาร cymoxanil ปริมาณ 1, 1.25 และ 1.5 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำอะซิโตไนไตรล์ปริมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วย

สารอะซิโตนไตรล์ และกรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด 0.22 ไมโครเมตร นำสารละลายเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานของแต่ละช่วงความเข้มข้นจากข้อ 4.1.1 คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

ประเมิน precision โดยใช้ HORRAT

$$\text{HORRAT} = \%RSD_{\text{exp.}} / \%RSD_{\text{Horwitz}}$$

คำนวณ Predicted Horwitz RSD ตามสูตร

$$\%RSD_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$$

$$C = \text{Concentration ratio}$$

$$\text{เกณฑ์ยอมรับค่า precision ยอมรับ HORRAT} = 0.3 - 1.3$$

4.2 Repeatability ตรวจสอบ precision แบบ intermediate precision ซึ่งเป็นการทดสอบจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน ในช่วงเวลาต่างกัน วิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 4.1 แต่จะวิเคราะห์ต่างวัน โดยเทียบกับสารมาตรฐานของแต่ละช่วงความเข้มข้น คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3-1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

5. ตรวจสอบความคงทน (Robustness/Ruggedness)

วิเคราะห์ตัวอย่างสาร cymoxanil 8 % W/W WP เช่นเดียวกับข้อ 4.1 โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบ 2 ปัจจัย คือ อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่กับอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) และประเมินด้วย HORRAT โดย HORRAT ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ตามเกณฑ์พิจารณาของ AOAC (2016)

6. ตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

6.1 เตรียม Stock standard

เตรียมสารละลายมาตรฐาน cymoxanil 99.6 % ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมสารอะซิโตนไตรล์ ประมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตนไตรล์จนถึงขีดปริมาตร

6.2 เตรียม Stock sample

เตรียมสารละลายตัวอย่าง cymoxanil 8 % W/W WP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารอะซิโตนไตรล์ ประมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วยเครื่อง ultrasonic bath ประมาณ 15 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตนไตรล์จนถึงขีดปริมาตร

6.3 เตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน cymoxanil 99.6 % ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 2 ข้าง โดยปิเปตสารละลาย stock standard ข้อ 6.1 ปริมาตร 4, 5 และ 6 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารอะซิโตนไตรล์ ประมาณครึ่งขวด นำไปเขย่าให้ละลายด้วย

ultrasonic bath 15 นาที ปล่อยให้สารละลายปรับตัวเข้าสู่อุณหภูมิห้องแล้วเติมสารอะซิโตนไตรลจนถึงขีดปริมาตร แบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC

6.4 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Origin

ปิเปตสารละลาย stock sample ข้อ 6.2 ปริมาตร 1.2, 1.5 และ 1.8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร อย่างละ 10 ข้ว ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตนไตรลจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด 0.22 ไมโครเมตร และแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานในแต่ละช่วงที่เตรียมไว้ ข้อ 6.3

6.5 เตรียมสารละลายเพื่อหาค่า Spike

ปิเปตสารละลาย stock sample ข้อ 6.2 ปริมาตร 1.2, 1.5 และ 1.8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร อย่างละ 10 ข้ว จากนั้นเติมสารละลาย stock standard ข้อ 6.1 ปริมาตร 2.8, 3.5 และ 4.2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารอะซิโตนไตรลจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด 0.22 ไมโครเมตร และแบ่งใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำสารละลายเข้าเครื่อง HPLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานในแต่ละช่วงที่เตรียมไว้ ข้อ 6.3

ประเมินค่า accuracy จากค่า % recovery

$$\% \text{ recovery} = (C_{\text{spike}} - C_{\text{origin}}) \times 100 / C_{\text{add}}$$

C_{spike} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย Spike

C_{origin} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ในสารละลาย Origin

C_{add} = ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่เติมลงในสารละลาย Spike

7. ประเมินค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty)

ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ cymoxanil ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ระยะเวลา ตุลาคม 2565 ถึง กันยายน 2567

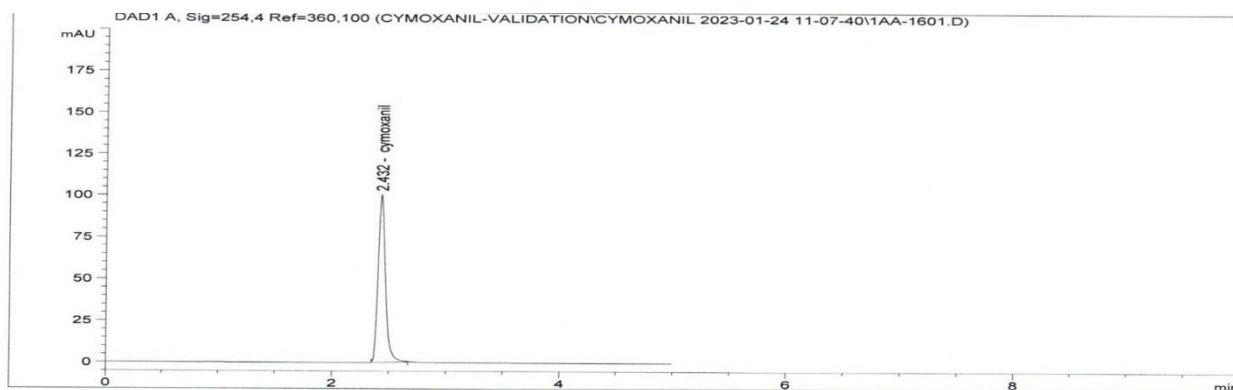
สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานพัฒนาระบบตรวจสอบคุณภาพวัตถุที่มีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

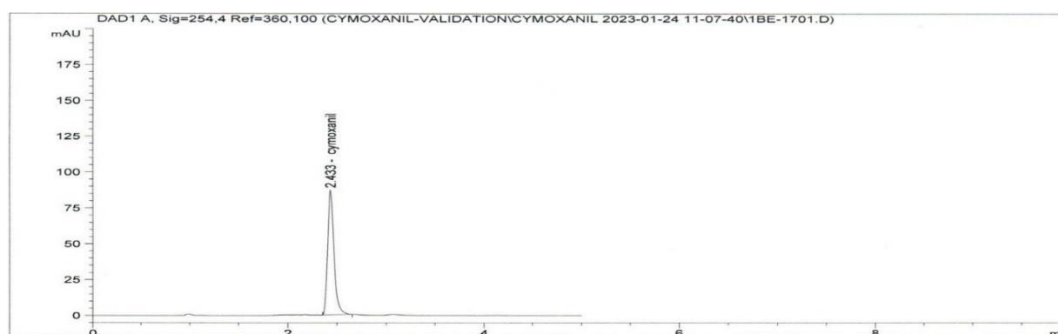
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

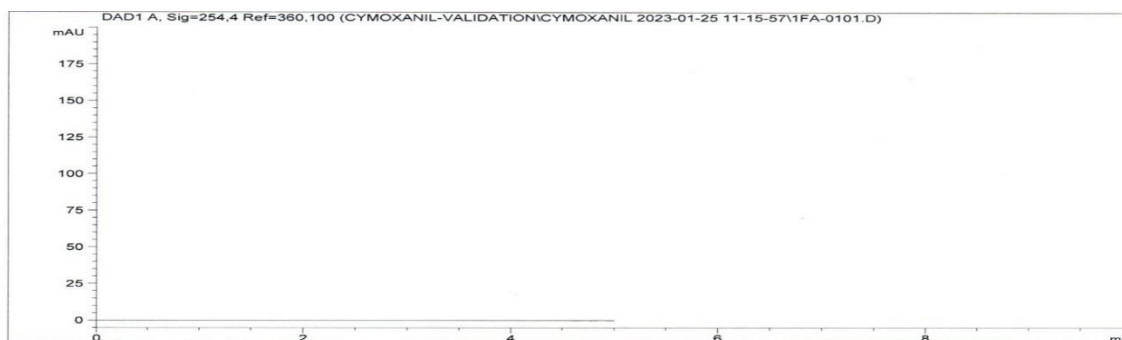
ตรวจสอบความเฉพาะเจาะจง (specificity) ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ cymoxanil พบว่าโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน สารละลายตัวอย่างของ cymoxanil และสารละลายแบลงค์ (blank) ของ acetonitrile ไม่มีพีคอื่นใดมารบกวน (ภาพที่ 1 – 3) แสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ cymoxanil ไม่ตอบสนองต่อสารอื่น แต่จะตอบสนองเฉพาะเจาะจงต่อสารตัวอย่าง



ภาพที่ 1 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน cymoxanil 99.6 % ที่ไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์



ภาพที่ 2 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่าง cymoxanil 8 % W/W WP ที่ไม่มีสารอื่นรบกวนการวิเคราะห์



ภาพที่ 3 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายแบลงค์ (acetonitrile) ที่ไม่มีพีค ขึ้นตรงกับสารละลายมาตรฐาน

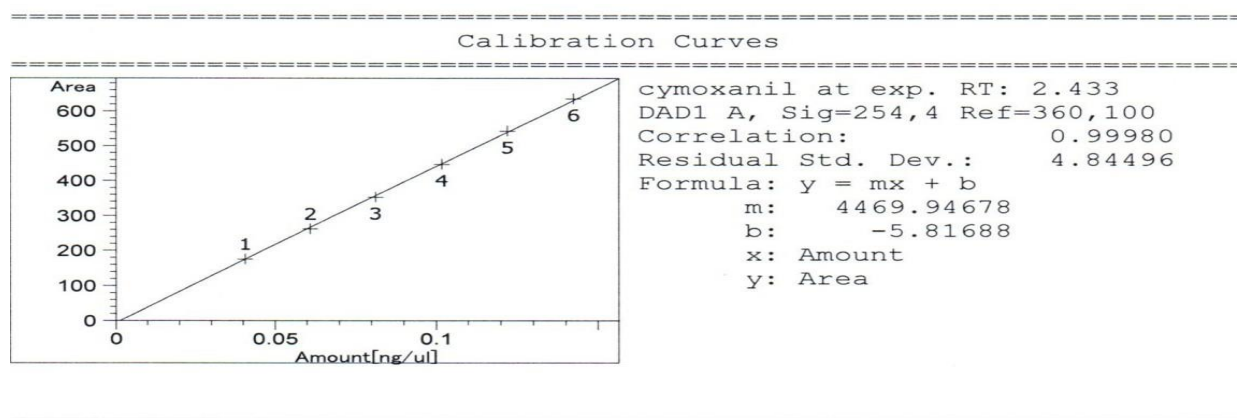
2. การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด (Working Range)

ตรวจสอบช่วงของการวัด (working range) พบว่า ช่วงของการวัดของสารละลายมาตรฐาน cymoxanil 99.6 % ในช่วงความเข้มข้น 0.04 – 0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 1) ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99980 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน ต้องมีค่า $r \geq 0.990$ (CIPAC, 2003) แสดงในภาพที่ 4

ตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน cymoxanil 99.6 % ในช่วงความเข้มข้น 0.04 – 0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2) ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99977 ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน ต้องมีค่า $r \geq 0.990$ (CIPAC, 2003) แสดงในภาพที่ 5

ตารางที่ 1 การตรวจสอบช่วงการวัด (working range) ของสารละลายมาตรฐาน cymoxanil

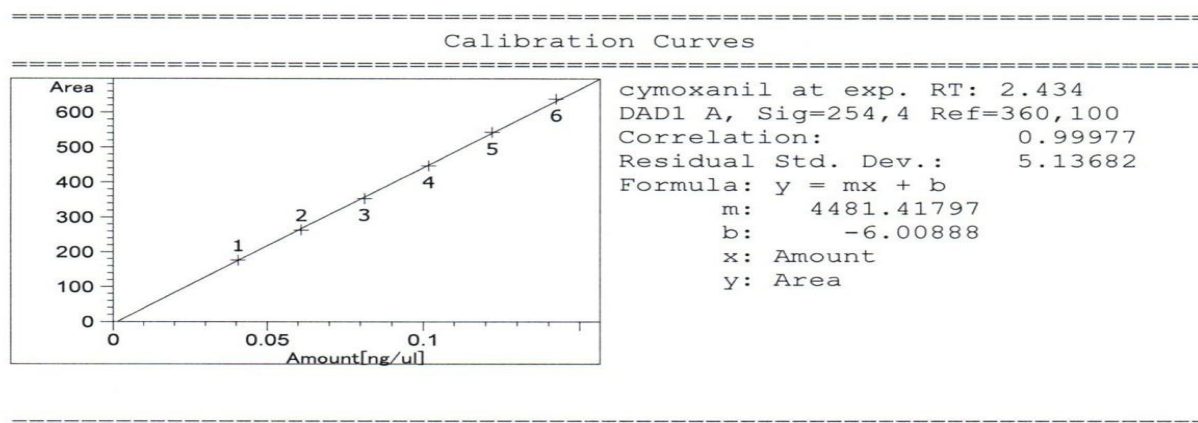
Conc. (mg/ml)	Area	Level
0.04	175.27470	1
0.06	261.82513	2
0.08	352.75449	3
0.10	446.68726	4
0.12	542.26868	5
0.14	635.07581	6



ภาพที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน cymoxanil กับพื้นที่ใต้กราฟ (Area) ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99980

ตารางที่ 2 การตรวจสอบช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสารละลายมาตรฐาน cymoxanil

Conc. (mg/ml)	Area	Level
0.04	175.70255	1
0.06	262.52791	2
0.08	353.30006	3
0.10	446.91087	4
0.12	542.67578	5
0.14	637.72412	6



ภาพที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน cymoxanil กับพื้นที่ใต้กราฟ (Area) ได้ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99977

3. การตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ตรวจสอบความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ cymoxanil 8 % W/W WP ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10, 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ประเมินแบบ repeatability ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.75, 0.47, 0.51 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ประเมินแบบ intermediate precision ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.03, 0.57, 0.52 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3

ตารางที่ 3 Precision results of repeatability of cymoxanil

n	Conc. 0.08 mg/ml		Conc. 0.10 mg/ml		Conc. 0.12 mg/ml	
	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai
1	50.9	7.46	62.7	7.12	76.2	7.27
2	50.8	7.41	61.4	7.26	75.6	7.14
3	52.8	7.15	61.2	7.28	74.2	7.17
4	49.7	7.35	63.9	7.31	74.9	7.27
5	51.8	7.46	61.5	7.33	75.1	7.39
6	50.8	7.37	63.4	7.32	76.5	7.28
7	51.1	7.45	62.4	7.21	76.5	7.30
8	51.0	7.52	62.2	7.29	74.9	7.24
9	50.6	7.43	62.6	7.33	74.6	7.27
10	50.8	7.28	63.9	7.30	76.6	7.33
Mean (%W/W)		7.39		7.28		7.27
C		0.08		0.08		0.08
SD		0.10		0.06		0.07
%RSD		1.45		0.90		0.99
Predicted Horwitz RSD		1.93		1.93		1.93
HORRAT		0.75		0.47		0.51

ตารางที่ 4 Precision results of intermediate precision of cymoxanil

n	Conc. 0.08 mg/ml		Conc. 0.10 mg/ml		Conc. 0.12 mg/ml	
	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai
1	50.9	7.57	62.9	7.20	74.7	7.32
2	51.0	7.46	63.3	7.24	76.6	7.27
3	50.1	7.37	63.1	7.22	74.9	7.30
4	49.0	7.51	61.5	7.34	76.3	7.32
5	51.8	7.34	63.9	7.19	76.5	7.17
6	51.5	7.59	61.5	7.25	74.8	7.26
7	49.7	7.76	62.3	7.23	75.4	7.15
8	49.1	7.38	63.6	7.38	75.9	7.31
9	50.7	7.64	63.9	7.41	75.2	7.40
10	50.8	7.30	63.9	7.34	76.5	7.29
Mean (%W/W)		7.49		7.28		7.28
C		0.08		0.08		0.08
SD		0.14		0.07		0.07
%RSD		1.98		1.09		1.00
Predicted Horwitz RSD		1.93		1.93		1.93
HORRAT		1.03		0.57		0.52

4. การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์ (Robustness/Ruggedness)

การตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ cymoxanil 8 % W/W WP โดยเปลี่ยนปัจจัยการทดสอบแบบ 2 ปัจจัย คือ อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่กับอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10, 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า การเปลี่ยนอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ของวิธีวิเคราะห์ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.39, 0.44, 0.56 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) การเปลี่ยนอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ของวิธีวิเคราะห์ ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.31, 0.47, 0.36 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3

5. การตรวจสอบความถูกต้อง (Accuracy)

ตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) โดยหาค่า % recovery ของสารออกฤทธิ์ cymoxanil 8 % W/W WP ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ จำนวน 10 ซ้ำ คือ 0.08, 0.10, 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่า ได้ % recovery เท่ากับ 99.2, 99.2 และ 98.4 ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับที่ 98 - 102 % ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่า 10% ของ AOAC (2016)

ตารางที่ 5 Results of robustness/ruggedness (change ratio of the volume of fluid in the mobile phase) of cymoxanil

n	Conc. 0.08 mg/ml		Conc. 0.10 mg/ml		Conc. 0.12 mg/ml	
	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai
1	51.2	7.65	62.5	7.22	76.1	7.19
2	51.6	7.52	61.3	7.47	74.0	7.24
3	50.9	7.51	63.8	7.27	76.5	7.26
4	50.7	7.51	62.8	7.19	74.7	7.44
5	49.6	7.47	63.3	7.20	75.2	7.50
6	50.9	7.63	62.9	7.25	75.0	7.28
7	52.9	7.39	63.5	7.29	75.8	7.22
8	50.7	7.46	63.9	7.23	76.2	7.24
9	50.9	7.43	62.1	7.27	75.0	7.21
10	51.9	7.43	63.5	7.42	76.1	7.48
Mean (%W/W)		7.50		7.28		7.31
C		0.08		0.08		0.08
SD		0.08		0.09		0.11
%RSD		1.12		1.27		1.62
Predicted Horwitz RSD		2.92		2.92		2.92
HORRAT		0.39		0.44		0.56

ตารางที่ 6 Results of robustness/ruggedness (change flow rate) of cymoxanil

n	Conc. 0.08 mg/ml		Conc. 0.10 mg/ml		Conc. 0.12 mg/ml	
	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai	weight (mg)	%ai
1	49.1	7.35	61.3	7.23	74.9	7.25
2	50.2	7.43	61.4	7.19	74.1	7.38
3	50.7	7.35	63.4	7.23	76.2	7.30
4	50.8	7.55	62.3	7.23	76.6	7.34
5	49.8	7.42	63.7	7.20	74.8	7.28
6	50.9	7.45	62.2	7.27	75.3	7.38
7	51.4	7.37	62.7	7.21	75.7	7.27
8	52.7	7.31	63.8	7.25	74.8	7.18
9	51.2	7.39	62.5	6.95	76.4	7.31
10	50.8	7.44	62.6	7.32	75.7	7.15
Mean (%W/W)		7.41		7.21		7.28
C		0.08		0.08		0.08
SD		0.06		0.09		0.07
%RSD		0.91		1.36		1.04
Predicted Horwitz RSD		2.92		2.92		2.92
HORRAT		0.31		0.47		0.36

ตารางที่ 7 % Recovery of cymoxanil

n	cymoxanil ai. content (mg/ml)											
	0.08 mg/ml				0.10 mg/ml				0.12 mg/ml			
	% recovery				% recovery				% recovery			
	origin	add	result	% recovery	origin	add	result	% recovery	origin	add	result	% recovery
1	0.024	0.056	0.079	98.6	0.029	0.070	0.098	98.7	0.035	0.084	0.117	97.8
2	0.023	0.056	0.078	98.4	0.029	0.070	0.098	98.5	0.035	0.084	0.117	98.4
3	0.023	0.056	0.078	98.4	0.028	0.070	0.098	99.6	0.035	0.084	0.117	98.6
4	0.023	0.056	0.078	99.0	0.028	0.070	0.098	99.8	0.036	0.084	0.117	97.4
5	0.022	0.056	0.078	99.1	0.029	0.070	0.098	98.3	0.035	0.084	0.117	98.7
6	0.022	0.056	0.078	100.0	0.029	0.070	0.098	99.0	0.035	0.084	0.118	99.5
7	0.023	0.056	0.079	99.9	0.029	0.070	0.098	98.7	0.035	0.084	0.117	98.0
8	0.022	0.056	0.078	99.9	0.028	0.070	0.098	99.9	0.035	0.084	0.117	98.1
9	0.022	0.056	0.079	100.1	0.028	0.070	0.098	100.1	0.036	0.084	0.118	98.7
10	0.023	0.056	0.079	99.1	0.028	0.070	0.098	99.9	0.035	0.084	0.118	99.1
mean	0.023	0.056	0.078	99.2	0.028	0.070	0.098	99.2	0.035	0.084	0.118	98.4

6. การประมาณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty)

ประมาณค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ cymoxanil พบว่า แหล่งของความไม่แน่นอนการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ cymoxanil 8 % W/W WPตามที่แสดงอยู่ในตารางที่ 8 รายงานผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ cymoxanil เท่ากับ 7.28 ± 0.15 %W/W

ตารางที่ 8 Possible sources of uncertainty in analysis of cymoxanil

Source	Unit	Value (x)	u_x	$Ru (u_x/x)$	Ru^2
$u_{m.std}$	g	0.010	6.7175×10^{-5}	6.7175×10^{-4}	4.513×10^{-7}
$u_{m.s}$	g	0.100	6.7882×10^{-5}	6.7882×10^{-4}	4.608×10^{-7}
$U_{vol.std}$	ml	200	5.7735×10^{-1}	2.8868×10^{-3}	8.333×10^{-6}
$U_{vol.std,samp}$	ml	100	2.8882×10^{-1}	2.8882×10^{-3}	8.341×10^{-6}
$u_{vol.std,samp}$	ml	50	1.4444×10^{-1}	2.8888×10^{-3}	8.345×10^{-6}
u_{std}	-	0.996	1.5000×10^{-3}	1.5060×10^{-3}	2.268×10^{-6}
u_{Repeat}	g	7.28	1.8973×10^{-1}	2.6063×10^{-3}	6.793×10^{-6}

สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจสอบวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไซม็อกซานิล (cymoxanil) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธี โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ด้วยการทดสอบคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ของสารออกฤทธิ์ cymoxanil 8 % W/W WP พบว่า วิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ cymoxanil มีความสามารถในการแยกและความจำเพาะเจาะจง (specificity) ให้พีคของสารทดสอบชัดเจน ไม่มีพีคอื่นมารบกวนพีคของสาร แสดงว่าวิธีวิเคราะห์สามารถแยกและมีความเฉพาะเจาะจงที่ดีต่อสารที่ทำการทดสอบ ทั้งนี้การตรวจสอบช่วงของการวัด (working Range) และค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) ในช่วงความเข้มข้น 0.08 – 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า Correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.99980 และ 0.99977 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ ค่า $r \geq 0.990$ (CIPAC, 2003) ตรวจสอบความแม่นยำ (precision) แบบ repeatability ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.75, 0.47 และ 0.51 ตามลำดับ ตรวจสอบความแม่นยำ แบบ intermediate precision ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 1.03, 0.57 และ 0.52 เมื่อตรวจสอบความคงทน (robustness/ ruggedness) โดยการเปลี่ยนแปลงตัวแปรหรือปัจจัยบางอย่างในวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ และอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ พบว่า การเปลี่ยนอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.39, 0.44 และ 0.56 ตามลำดับ การเปลี่ยนอัตราการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.31, 0.47 และ 0.36 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.3 – 1.3 ผ่านเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC (2016) การตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) ที่ความเข้มข้น 0.08, 0.10 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ได้ค่า % recovery เท่ากับ 99.2, 99.2 และ 98.4 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วง

98 – 102 ตามเกณฑ์พิจารณาสำหรับสารที่มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 10 ของ AOAC (2016) นอกจากนี้การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (uncertainty) พบว่า ประเมินค่าความไม่แน่นอนสารออกฤทธิ์ cymoxanil เท่ากับ 7.28 ± 0.15 %W/W ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนามาจากวิธีมาตรฐาน จึงมีความเหมาะสม ที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ cymoxanil ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สร้างความน่าเชื่อถือแก่ผลการทดสอบ และสามารถนำไปขอการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 ได้ เพื่อแสดงถึงความสามารถของห้องปฏิบัติการในระดับสากล

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรในห้องปฏิบัติการ เพื่อการขึ้นทะเบียนนำเข้าและส่งออก รวมทั้งควบคุมคุณภาพวัตถุอันตรายทางการเกษตร ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535 และรวบรวมเป็นวิธีมาตรฐาน สามารถตีพิมพ์เผยแพร่ให้แก่ห้องปฏิบัติการของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาค ส่วนภาครัฐหรือภาคเอกชน และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้อย่างเป็นที่น่าสนใจ
2. ใช้ยื่นขอขยายขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 เพื่อเพิ่มศักยภาพให้กับหน่วยงานและองค์กรให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล

เอกสารอ้างอิง

- ทิพวรรณ นิงน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรุงเทพฯ. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
- AOAC. 2016. Guidelines for Standard Method Performance Requirements. Available at: <http://www.eoma.aoac.org>. Assessment: November 28, 2023
- Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited. 2003. Guidelines on method validation to be performed in support of analytical methods for agrochemical formulations. CIPAC No. 3807. Available at: <https://www.cipac.org/images/pdf/validat.pdf>. Assessment: November 28, 2023
- Kidd H. and James D.R. 1993. *The Agrochemicals Handbook*. 3rd Ed update 4. England. Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- W Dobrat and A Martijn. (2000). CIPAC Handbook volume J Analysis of Technical and Formulated Pesticides. England. Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited.

โครงการศึกษาข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างจากการทดลองใช้
Emamectin benzoate ในส้มโอ เพื่อกำหนดมาตรฐาน
ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL)
The study on supervised residue trials for setting MRLs
of emamectin benzoate in pomelo

ประพันธ์ เคนท้าว ปกป้อง ทะนันชัย พูนสวัสดิ์ แพโซติรัตน์ทะกุล ศศิมา มั่งนิมิตร

Praphan Kenthao Pokpong Thananchai Poonsawat paechotratanakul Sasima Mungnimitr

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The studies on the fate of emamectin benzoate on pomelo were conducted. The studies were based on Thai efficiency data recommendation and consisted of two supervised field trials in various crop production areas, including Si-mahosot and Si-mahaphot district, Prachinburi province. The supervised field trials were separated into two sub-plots: the control plot and the treated plot (where PROCLAIM 019EC was applied). The dosage for a 1.92% emamectin benzoate (EC) formulation was 10 mL per 20 L of water and applied to pomelo trees 4 times every 7 days intervals. Two samples were collected at 0, 3, 5, 7, 10, 14, and 21 days after the last application. Whole fruit and flesh samples were examined using the QuEChERS EN 15662:2008 extraction (in-house modification), followed by LC-MS/MS (liquid chromatography-tandem mass spectrometry). The analysis's limit of quantitation (LOQ) was set at 0.005 mg/kg. The limit of detection (LOD) was 0.001 mg/kg. The outcomes demonstrated that not all untreated samples contained emamectin benzoate residues. Emamectin benzoate residues were not found in any of the treated samples' pomelo flesh, but they were found in the treated samples' whole fruit in amounts ranging from 0.005 - 0.006 mg/kg for field Trials No. 1 - 2. In addition, emamectin benzoate residues were not found in all 48 samples of pomelo taken from a market in Thailand. The studied data will be used for submission on the setting of the Codex MRL.

Keywords: Emamectin benzoate; Maximum Residue Limit; Pesticide Residue; Pomelo

บทคัดย่อ

ศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างอีมาเมกตินเบนโซเอตในส้มโอ โดยอิงจากข้อมูลการศึกษาประสิทธิภาพ จำนวน 2 แปลงทดลอง ในพื้นที่อำเภอศรีมโหสถ และอำเภอศรีมหาโพธิ จังหวัดปราจีนบุรี แต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงที่ไม่พ่นวัตถุอันตราย (แปลงควบคุม) และแปลงที่พ่นวัตถุอันตราย emamectin benzoate 1.92 % EC ยี่ห้อ PROCLAIM 019EC (แปลงทดลอง) ตามอัตราแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ที่ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยอัตราการใช้น้ำ 10 ลิตรต่อต้น โดยพ่นทั้งหมด 4 ครั้ง ทุก ๆ 7 วัน และสุ่มเก็บตัวอย่างส้มโอจากทั้ง 2 แปลงทดลองย่อย ที่ระยะเวลาการพ่นสารครั้งสุดท้าย 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ทั้งส่วนของเนื้อรวมเปลือก (Whole fruit) และเฉพาะเนื้อส้มโอ (Flesh) โดยสกัดด้วยวิธี QuEChERS EN 15662: 2018 (Inhouse-modification) และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้เชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.001 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายด้วยส้มโอทั้งเนื้อรวมเปลือกและเฉพาะเนื้อส้มโอ (Whole fruit และ flesh) จากแปลงที่ไม่ฉีดพ่นวัตถุมีพิษ ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของสาร emamectin benzoate ในทุกตัวอย่าง และตัวอย่างเนื้อส้มโอ (Flesh) ในแปลงทดลองที่มีการพ่นสาร emamectin benzoate ตามอัตราแนะนำ ซึ่งตรวจไม่พบสารตกค้างของ emamectin benzoate เช่นเดียวกัน แต่ในทางกลับกันมีการตรวจพบสาร emamectin benzoate ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกส้มโอ (Whole fruit) ที่ความเข้มข้น 0.005 และ 0.006 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับแปลงที่ 1-2 นอกจากนี้ยังศึกษาการแผ่รังสีการตกค้างของ emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอจากแหล่งจำหน่ายในประเทศไทยจำนวนทั้งหมด 48 ตัวอย่าง พบว่าตรวจไม่พบการตกค้างของ emamectin benzoate ในทุกตัวอย่าง

คำสำคัญ: อีมาเมกติน เบนโซเอต; ค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง; ส้มโอ

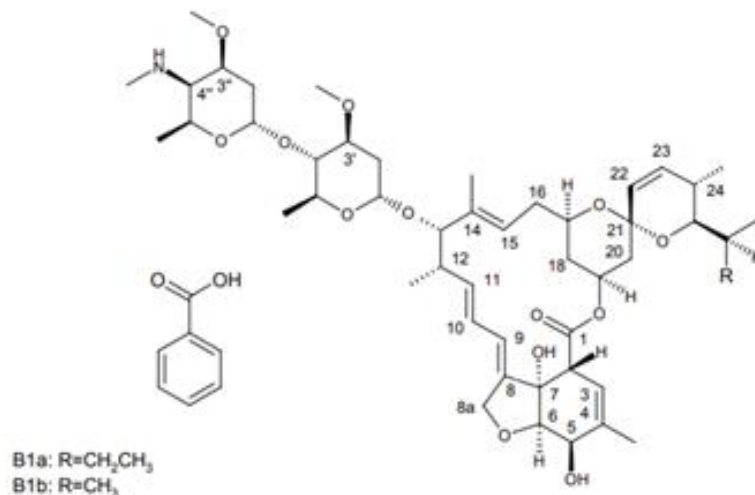
บทนำ

ส้มโอจัดเป็นพืชผลทางการเกษตรอีกชนิดหนึ่งที่เกษตรกรไทยนิยมปลูกเพื่อสร้างรายได้ ซึ่งนอกเหนือจากการบริโภคภายในประเทศแล้ว ส้มโอยังถูกส่งออกไปยังประเทศต่างๆ โดยเฉพาะประเทศในแถบเอเชีย เช่น จีน เวียดนาม และตะวันออกกลาง โดยจากสถิติการส่งออกส้มโอของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร พบว่าประเทศไทยส่งออกส้มโอเพิ่มขึ้น 9.6 เปอร์เซ็นต์จาก 30,598 ตัน ในปี 2564 เป็น 33,531 ตัน ในปี 2565 มูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นมากถึง 38.9 เปอร์เซ็นต์จาก 1,061.84 ล้านบาท เป็น 1,474.71 ล้านบาท จากข้อมูลข้างต้นนั้นจึงปฏิเสธไม่ได้ว่าส้มโอก็เป็นหนึ่งในไม้ผลที่สร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศไทยเป็นมูลค่ามหาศาล โดยส้มโอมีการปลูกกระจายอยู่ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย แหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัด พิจิตร ชัยนาท นครปฐม อุทัยธานี เชียงราย นครศรีธรรมราช ปราจีนบุรี ชัยภูมิ และสุราษฎร์ธานี เป็นต้น พันธุ์ส้มโอที่เกษตรกรนิยมปลูก ได้แก่ พันธุ์ทองดี พันธุ์ขาวใหญ่ พันธุ์ขาวแตงกวา พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ท่าข่อย และพันธุ์ทับทิมสยาม โดยทั่วไปส้มโอให้ผลผลิตได้ตลอดทั้งปี ผลผลิตออกสู่ตลาดมากที่สุดในช่วงเดือน กรกฎาคม-กันยายน ส้มโอจะเริ่มให้ผลเมื่ออายุประมาณ 4 ปี การดูแลต้นส้มโอ นอกจากการให้น้ำ การใส่ปุ๋ย การตัดแต่งกิ่ง การกำจัดวัชพืชแล้วนั้น ยังมีในส่วนของการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชของส้มโออีกด้วย เนื่องจากส้มโอเป็นพืชที่มีโรคและแมลงศัตรูพืชรบกวนมาก เกษตรกรจึงต้องให้ความสำคัญในเรื่องการป้องกันกำจัดโรคและแมลงให้ดีที่สุด แมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ได้แก่ หนอนเจาะผลส้มโอ (*Citripestis sagittiferella*) เพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis*) ไพรามพริก (*Polyphagotarsonemus*

latus) และเพลี้ยไก่แจ้ส้ม (*Diaphorina citri*) โดยการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเหล่านี้มีหลายวิธี ซึ่งการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบหมุนเวียนในแหล่งที่มีการระบาดเป็นประจำก็เป็นอีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้

หนอนเจาะผลส้มโอ *Citripestis sagittiferella* Moore (Lepidoptera : Pyralidae) พบการระบาดครั้งแรกบริเวณพื้นที่การเพาะปลูกส้มโอในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในปี พ.ศ. 2434 โดยพบการเข้าทำลายผลผลิตในพืชตระกูลส้ม ถั่วดาบ และมะขาม (CABI, 2003) สำหรับในประเทศไทยนั้น หนอนเจาะผลส้มโอระบาดในแหล่งปลูกส้มโอบางแหล่ง เช่น เชียงราย นครนายก ตราด และนครศรีธรรมราช เป็นต้น โดยหนอนเจาะกินเข้าไปในผลส้มโอ ซึ่งสังเกตเห็นรอยเจาะและรอยเข้าทำลายเห็นได้อย่างชัดเจน และบริเวณรอยแผลที่หนอนเจาะผลส้มโอเข้าทำลายส้มโอนั้นจะปรากฏรอยยางไหลเอี่ยมตามแนวที่หนอนเจาะเข้าไปทำลาย ทำให้ผลส้มโอเน่าและร่วงหล่นในที่สุด โดยหนอนเจาะผลส้มโอเริ่มเข้าทำลายผลตั้งแต่ผลส้มโอมีอายุได้ 45 วัน เรื่อยไปจนถึงระยะเก็บเกี่ยว (บุษบง, 2542)

ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่เกษตรกรต้องหาทางป้องกันและกำจัดตัวการที่จะก่อให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตส้มโอ โดยพบว่าสาร emamectin benzoate สามารถกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอได้ ซึ่งสาร emamectin benzoate มีชื่อสามัญคือ 4"-deoxy-4"-epi-methylamino-avermectin B1(MAB1) โดยเป็นสารผสมของ 4"-deoxy-4"-epi-methylamino-avermectin B1a benzoate (MAB1a หรือ emamectin B1a benzoate) และ 4"-deoxy-4"-epi-methylamino-avermectin B1b benzoate (MAB1b หรือ emamectin B1b benzoate) โดย avermectins ใน emamectin benzoate มีสัดส่วนของสาร MAB1a:MAB1b = 90:10 (w/w) ซึ่งต่างกันตรงที่หมู่ methylene ที่ C26 alkyl substituent: $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ สำหรับ MAB1a และ $-\text{CH}_3$ สำหรับ MAB1b. (ดังภาพที่ 1 ในส่วนข้อมูลด้านพิษวิทยาของ emamectin benzoate ที่ละลายใน carboxymethylcellulose มีค่า LD_{50} คือ 53–237 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัว ในหนู (rat) 2 ตัว มีค่า LD_{50} สำหรับ emamectin benzoate hydrate ที่ละลายใน carboxymethylcellulose คือ 58 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัว ค่า LD_{50} สำหรับ emamectin hydrochloride ในตัวพาน้ำ คือ 67–88 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัว ในหนู (rat) 2 ตัว ค่า LD_{50} สำหรับการสัมผัส 500–2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัว ในหนู (rats) และที่ 4 ชั่วโมงการสูดดมค่า LC_{50} คือ 0.663 mg/L ในหนูตัวเมีย (female rats) และ 1.049 mg/L ในหนูตัวผู้ (male rats) และพบว่ามีผลกระทบเฉื่อยต่อ ตาและผิวหนังของกระต่าย (rabbits) และไม่พบว่ามีพิษในการทดสอบในต่อมน้ำเหลืองของหนู (mice)



R = CH₂CH₃ for emamectin B1a benzoate; R = CH₃ for emamectin B1b benzoate

Metabolites referred to in the appraisal by codes:

ภาพที่ 1 Emamectin benzoate structure

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 ml ขวดบรรจุสาร (vial) ขนาด 1.5 และ 15 ml กระบอกตวง (cylinder) ปีกเกอร์ (beaker) ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ตัวกรอง PTFE (PTFE Syringe filter) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 mm ความละเอียด 0.22 µm
2. เครื่องมือต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้แช่แข็ง -20±5 °C เครื่องชั่ง 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ เครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน (centrifuge) เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) เครื่องปั่นตัวอย่าง (food processor) ไมโครปิเปต (micro pipette) ขนาด 10-100 µl, 100-1,000 µl, 500-5,000 µl และ 1-10 ml ที่ผ่านการสอบเทียบ
3. เครื่องตรวจวิเคราะห์ High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer (HPLC/MS-MS) : ยี่ห้อ Agilent Technologies, HPLC รุ่น 1200 infinity, MS/MS รุ่น 6410 Triple Quadrupole และ คอลัมน์ Phenomenex Kinetex™ 2.6 µm XB-C18 100 Å ขนาด 100 x 2.1 mm.
4. อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ ตลับเมตร นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดและบันทึกอุณหภูมิ เครื่องวัดความเร็วลม ชุดป้องกันสารพิษ เชือกฟางและหมุดหัวน็อต
5. เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบแรงดันน้ำสูง (high pressure pump sprayer)
6. สารเคมีต่างๆ ได้แก่ water (HPLC grade), acetonitrile (HPLC grade), formic acid (PR grade), Magnesium sulfate (MgSO₄, anhydrous), Sodium chloride (NaCl, AR grade), di-sodium hydrogen citrate

sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$), tri-sodium citrate dihydrates ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), Primary Secondary Amine (PSA), Bondesil-C18 40 μm , graphitized carbon black (GCB), ammonium formate (NH_4HCOO)

7. สารมาตรฐานปฐภูมิ emamectin benzoate (Dr. Ehrenstorfer, purity 96.42%) และ ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร emamectin benzoate 1.92 % W/V EC

วิธีการ

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate

1.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องมือ

เตรียมสารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ที่ความเข้มข้น 0.005 $\mu g/mL$ ฉีดเข้าเครื่อง Liquid Chromatograph – Mass spectrometry (LC-MS/MS) ที่สภาวะต่างๆ เพื่อทดสอบความจำเพาะเจาะจงของสาร (Specification) โดยเปรียบเทียบค่าความไวในการตรวจวัด (sensitivity) เวลาคงอยู่ในคอลัมน์ (Retention time, RT) สภาวะที่เหมาะสมของสารละลายตัวพา (mobile phase) ชนิดและความเข้มข้นของ buffer อุณหภูมิของคอลัมน์ ปริมาณสารที่ฉีด (injection volume) อัตราการไหล (Flow rate) และในส่วน mass spectrometer (MS) ทำการศึกษา precursor, product ion 1, product ion 2, Dwell time, Fragmentor, CE และ Cell accelerator voltage ทั้งนี้เพื่อให้เกิดการแยกที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์สาร emamectin benzoate ในครั้งนี้

2. การหาวิธีสกัด และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate ในส้มโอ

2.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการสกัดตัวอย่าง (Sample preparation for extraction)

เตรียมตัวอย่างโดยแยกตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่เป็นเนื้อส้มโอ (flesh) และเนื้อรวมเปลือก (Whole fruit) โดยแยกส่วนของผลและเมล็ดออกจากชั้นตอนนี้ แยกตัวอย่างทั้งสองส่วนให้ละเอียดด้วยเครื่องบดอาหาร (food processor) โดยมีการผสมไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) ลงไปในตัวอย่างเพื่อให้ตัวอย่างบดเป็นผงละเอียด มีความเป็นเนื้อเดียวกันทุกส่วน และไม่เกิดความร้อนกับตัวอย่างอันจะก่อให้เกิดการสลายตัวของสารตกค้าง emamectin benzoate ที่อยู่ในตัวอย่างได้ จากนั้นนำตัวอย่างที่บดละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันทุกส่วนแล้วบรรจุลงในถุงพลาสติกใส พร้อมทั้งติดป้ายระบุรายละเอียดต่างๆ ที่จำเป็นอย่างชัดเจน แล้วเก็บถุงตัวอย่างดังกล่าวไว้ในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^\circ C$ เพื่อบริการสกัดต่อไป

2.2 การสกัดสารพิษตกค้าง emamectin benzoate จากตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธีมาตรฐานในการสกัดสาร emamectin benzoate ที่ตกค้างออกจากตัวอย่างทั้งในตัวอย่างเฉพาะเนื้อส้มโอ (flesh) และเนื้อรวมเปลือกส้มโอ (whole fruit) คือ วิธี QuEChERS EN 15662:2008 (In-house modification) แต่มีการปรับเปลี่ยนปริมาณ Graphitized carbon black (GCB) ที่ใช้ในขั้นตอนของการทำความสะอาด (clean-up) เพื่อให้ได้ร้อยละการกลับคืนมาของสาร (% recovery) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ทั้งนี้เนื่องจากสาร emamectin benzoate มีโครงสร้างเป็นแบบแบนราบ (planar structure) จึงอาจเกิดอันตรกิริยากับ GCB ได้ ดังนั้นจึงได้ศึกษาปริมาณ GCB ที่ 5 ระดับ คือ GCB 5, 10, 20, 30 และ 50 mg เพื่อให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมในการ clean-up มากที่สุด (optimum condition) โดยวิธีการสกัดสารดังกล่าวประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลักๆ คือ ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างและขั้นตอนการทำความสะอาดสารสกัดที่ได้ รายละเอียดต่างๆ แสดงดังต่อไปนี้

2.1.1 ขั้นตอนการสกัด (extraction step)

1) ชั่งตัวอย่างส้มโอปั่นละเอียด 10 ± 0.05 g ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 ml เขย่าด้วยเครื่อง votex mixer นาน 1 นาที

2) เติม acetonitrile 10 ml เขย่าด้วยมือนาน 1 นาที

3) เติม anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4) 4 g, sodium chloride (NaCl) 1 g, tri-sodium citrate dihydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1 g และ di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$) 0.5 g แล้วเขย่าด้วยมือ เป็นเวลา 1 นาที

4) นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 4,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที

2.1.2 ขั้นตอนการทำความสะอาดสารละลายที่สกัดได้ (clean-up of supernatant)

1) ดูดสารละลายส่วนใส (Supernatant) ซึ่งอยู่ส่วนบนของหลอดมา 5 ml ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 15 ml ที่มี anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4) 450 mg, primary secondary amine (PSA) 75 mg, GCB 10 mg (ศึกษาที่ 5 ระดับ คือ 5, 10, 20, 30 และ 50 mg) และ C_{18} 75 mg

2) เขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที และนำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที

3) กรองสารละลายที่ได้ด้วย PTFE syringe filter ใส่ขวดแก้วขนาด 5 mL และตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ด้วย LC-MS/MS

2.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

ศึกษา parameters ต่าง ๆ ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ดังนี้

2.3.1 ช่วงการใช้งาน (Working range)

ทดสอบโดยทำการ spiked สารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ลงในตัวอย่างส้มโอทั้งสองชนิดคือตัวอย่างเฉพาะเนื้อส้มโอ (flesh) และตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกส้มโอ (whole fruit) ที่ระดับความเข้มข้น 8 จุดความเข้มข้น ได้แก่ 0.001, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.50 mg/kg จุดความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 1 ซ้ำ ($n \geq 1$) สกัดตัวอย่างแล้วตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ spiked (แกน x) กับ ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ (แกน y) โดยช่วงการใช้งานต้องให้ค่า $R^2 \geq 0.990$ จึงจะสามารถยอมรับได้

2.3.2 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ทดสอบโดยการ spiked สารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ลงในตัวอย่างส้มโอทั้งสองชนิดคือ whole fruit และ flesh ที่ระดับความเข้มข้นในช่วงการใช้งานที่ได้จากข้อ 2.3.1 ซึ่งจุดระดับความเข้มข้นดังกล่าวได้แก่ 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.50 mg/kg แต่ละจุดความเข้มข้นทำการทดสอบ 3 ซ้ำ สกัดตัวอย่างด้วยวิธี Modified-QuEChERS ตามขั้นตอนในข้อ 2.2 และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ (แกน y) และความเข้มข้นของสาร emamectin benzoate ที่ spiked (แกน x) โดยค่า correlation coefficient (R^2) ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ($R^2 \geq 0.990$) ซึ่งทุกความเข้มข้นที่ศึกษาต้องให้ความแม่นยำ (accuracy) อยู่ในเกณฑ์ยอมรับคือ % Recovery อยู่ในช่วง 70-120% (SANTE, 2021)

2.3.3 ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (Precision)

ทดสอบโดยเตรียม solvent blank, sample blank และ spiked sample ที่ 4 ระดับความเข้มข้นคือ 0.005, 0.01, 0.05 และ 0.5 mg/kg จำนวน 10 ซ้ำต่อระดับความเข้มข้น ($n=10$) สกัดตัวอย่าง แล้วตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

(1) พิสูจน์ความแม่นยำโดยการคำนวณ % Recovery ของสารพิษตกค้าง ตามสมการที่ (1)

$$\% \text{ Recovery} = (C_f)/(C_a) \times 100 \dots\dots\dots \text{สมการที่ (1)}$$

เมื่อ C_f = ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ (มีการ spike)

C_a = ความเข้มข้นที่แท้จริงของสารที่เติมลงในตัวอย่าง

เกณฑ์การยอมรับของ % Recovery ใช้เกณฑ์กำหนดของห้องปฏิบัติการในสหภาพยุโรป (SANTE, 2017) คือ 70-120% โดยค่าที่วิเคราะห์ได้ที่ทุก ๆ ความเข้มข้นจะต้องผ่านเกณฑ์ดังกล่าว

(2) ประเมิน precision จากการคำนวณค่าร้อยละความเบี่ยงเบนของค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง (%RSD) ตามสมการที่ (2) โดยเกณฑ์การยอมรับของ precision คือมี %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 (SANTE, 2021)

$$\% \text{RSD} = \frac{SD \times 100}{C_{\text{mean}}} \dots\dots\dots \text{สมการที่ (2)}$$

เมื่อ C_{mean} = ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้

SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้

%RSD = ร้อยละความเบี่ยงเบนของค่าเฉลี่ย

2.3.4 ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) หมายถึง ปริมาณต่ำที่สุดของสารที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้โดยมี accuracy และ precision ที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ ศึกษาโดยการ spike สารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ลงในตัวอย่างส้มโอ ที่ความเข้มข้น 0.005 mg/kg (เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถพิสูจน์ accuracy และ precision ได้) ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ คำนวณ % Recovery และ % RSD ค่าที่ได้ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ (SANTE, 2017)

2.3.5 ขีดจำกัดการตรวจวัดของวิธี (Limit of Detection; LOD) หมายถึง ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (ไม่จำเป็นต้องพิสูจน์ accuracy และ precision) ทดสอบโดยหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ โดยทำการทดสอบ 10 ซ้ำ ประเมินค่า LOD เท่ากับ $3 \times SD$ (Eurachem, 2014) การตรวจยืนยันค่า LOD โดยการทดสอบ sample blank ที่ spiked สารที่ต้องการทดสอบในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด LOD โดยทดสอบ 10 ซ้ำ และต้องตรวจพบสารที่ความเข้มข้นดังกล่าวที่ทดสอบทั้ง 10 ครั้ง โดยมี signal to noise ratio ≥ 3 จึงจะถือว่าเป็นค่า LOD ของวิธีวิเคราะห์

3. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง emamectin benzoate จากแปลงทดลองส้มโอ

3.1 การทำแปลงทดลอง

3.1.1 ทำการสำรวจและเลือกพื้นที่แปลงทดลองส้มโอ จำนวน 2 แปลง แต่ละแปลงห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร โดยทำการทดลองในพื้นที่อำเภอศรีมโหสถ และอำเภอศรีมหาโพธิ จังหวัดปราจีนบุรี ดำเนินการทำแปลงทดลองตามหลักเกณฑ์การทำแปลงทดลองสารพิษตกค้าง (supervised residue trials) โดยแต่ละแปลง

ทดลอง แบ่งออกเป็น 2 แปลงย่อย (plot) ได้แก่ แปลงที่ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ emamectin benzoate เป็นแปลงควบคุม (control) และแปลงทดลองที่ใช้ผลิตภัณฑ์ emamectin benzoate 1.92 % EC (treated) ตามอัตราแนะนำ 10 mL ต่อน้ำ 20 L พ่นทั้งหมด 4 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน อัตราการใช้น้ำ 10 ลิตรต่อต้น ตามคำแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ศัตรูพืช (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2565)

3.1.2 ทดสอบอัตราการไหล (flow rate) ของเครื่องพ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง (high pressure pump sprayer) ก่อนการพ่นสารทุกครั้ง ให้มีความแตกต่างจากค่าเฉลี่ยไม่เกิน $\pm 5\%$ และทดสอบจังหวะการเดินของผู้พ่น (speed calibration) ได้แก่ เดินขณะไม่มีอุปกรณ์พ่นสาร เดินขณะถืออุปกรณ์พ่นสาร และเดินขณะถืออุปกรณ์พ่นสารพร้อมจำลองพ่นสารด้วยการพ่นน้ำ จนได้เวลาตามที่กำหนด เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง

3.1.3 ผสมวัตถุอันตราย emamectin benzoate (1.92% EC) กับน้ำ ตามอัตราแนะนำ 10 ml ต่อน้ำ 20 L โดยใช้น้ำ 10 ลิตรต่อต้น (ตามคำแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช)

3.1.4 พ่นสารในพื้นที่แปลงทดลองให้อยู่ในเกณฑ์ -5 ถึง +10% ของปริมาณน้ำที่กำหนดให้ใช้ต่อต้น ทำให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ลงไปในพื้นที่แปลงทดลองมีความสม่ำเสมอ โดยพ่นสารในแปลงทดลองจำนวน 4 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน

3.1.5 สุ่มเก็บตัวอย่างส้มโอเพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ที่ 0 (หลังการพ่น 2 ชั่วโมง), 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุมและแปลงทดลอง โดยแต่ละแปลง สุ่มเก็บอย่างน้อย 12 ผล ต่อ 1 ไร่ วันละ 2 ไร่ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุมก่อนแปลงที่ใช้วัตถุพิษ

3.1.6 บันทึกน้ำหนักตัวอย่างส้มโอ บรรจุตัวอย่างส้มโอในตะกร้าเก็บตัวอย่างที่มีป้ายบอกชื่อตัวอย่าง และชื่อวัตถุพิษระบุไว้อย่างชัดเจน ขนส่งตัวอย่างจากแปลงทดลองไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรกรมวิชาการเกษตร

3.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในห้องปฏิบัติการ

3.2.1 นำตัวอย่างส้มโอที่เก็บจากแปลงทดลอง มาแยกเอาเมล็ดและขั้วออก ชั่งน้ำหนักสุ่มตัวอย่างโดยแยกเป็นสองส่วน ได้แก่ ตัวอย่างเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) และเฉพาะตัวอย่างเนื้อส้มโอ (flesh) จากนั้นหั่นตัวอย่างแต่ละส่วนที่ได้จากการสุ่ม และบดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง โดยใช้ไนโตรเจนเหลว และเก็บที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้างในตัวอย่าง ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

3.2.2 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) และตัวอย่างเนื้อส้มโอ (flesh) โดยนำตัวอย่างที่บดแล้วมาสกัดด้วยวิธีที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และมีการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกชุดที่ทดสอบจากการหาค่าร้อยละที่สามารถวิเคราะห์กลับคืนได้ (% Recovery) ในทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ หากเก็บตัวอย่างในตู้ deep freezer ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ นานกว่า 30 วัน โดยที่ยังไม่วิเคราะห์ ต้องทำการศึกษาความคงสภาพของสารพิษตกค้างในตัวอย่างที่เก็บรักษา (Storage stability)

4. การเฝ้าระวังการตกค้างของ emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอจากแหล่งจำหน่าย

สุ่มตัวอย่างส้มโอจากแหล่งจำหน่ายในจังหวัดต่างๆ จำนวน 48 ตัวอย่าง เพื่อเฝ้าระวัง (monitoring) การตกค้างของ emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอ โดยเตรียมตัวอย่าง สกัดตัวอย่าง และตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตามวิธีที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในส้มโอ พร้อมทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (procedural recovery)

5. การทดสอบความคงสภาพของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอที่เก็บรักษา (Storage stability)

ศึกษาความคงสภาพของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกส้มโอ (whole fruit) ที่ระยะเวลา 0, 30, 60 และ 90 วัน โดย spiked สารมาตรฐาน emamectin benzoate ในตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 10 เท่าของค่า LOQ ซึ่งในการวิเคราะห์นี้มีค่าเท่ากับ 0.05 mg/kg (เมื่อ LOQ = 0.005 mg/kg) จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ spiked แล้วในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C เมื่อถึงระยะเวลาที่ศึกษา นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ตามวิธีสกัดที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีแล้ว และทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (procedural recovery)

ระยะเวลา เริ่มต้นเดือนพฤศจิกายน 2566 และสิ้นสุดเดือนตุลาคม 2567 รวมระยะเวลา 1 ปี

สถานที่ทำการทดลอง 1) แปลงทดลองของเกษตรกรจังหวัดปราจีนบุรี
2) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate

1.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ด้วยเครื่อง LC-MS/MS มีสถานะการทำงานของเครื่องดังนี้

สถานะการทำงานของเครื่อง LC; Agilent รุ่น 1200 infinity

Column	: Kinetex 2.6 μ m XB C18 100A, 100 mm $\times$ 2.1 mm
Temperature column	: 40 °C
Flow rate	: 0.4 mL/min
Injection volume	: 5 μ L
Run time	: 16 min
Mobile phase A	: 5 mM ammonium formate + 0.01% formic acid in water
Mobile phase B	: acetonitrile

โดยมีอัตราส่วนของ mobile phase ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Mobile phase ratio (LC; Agilent 1200 infinity)

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0	95	5
1	95	5
5	40	60
12	40	60
15	95	5
16	95	5

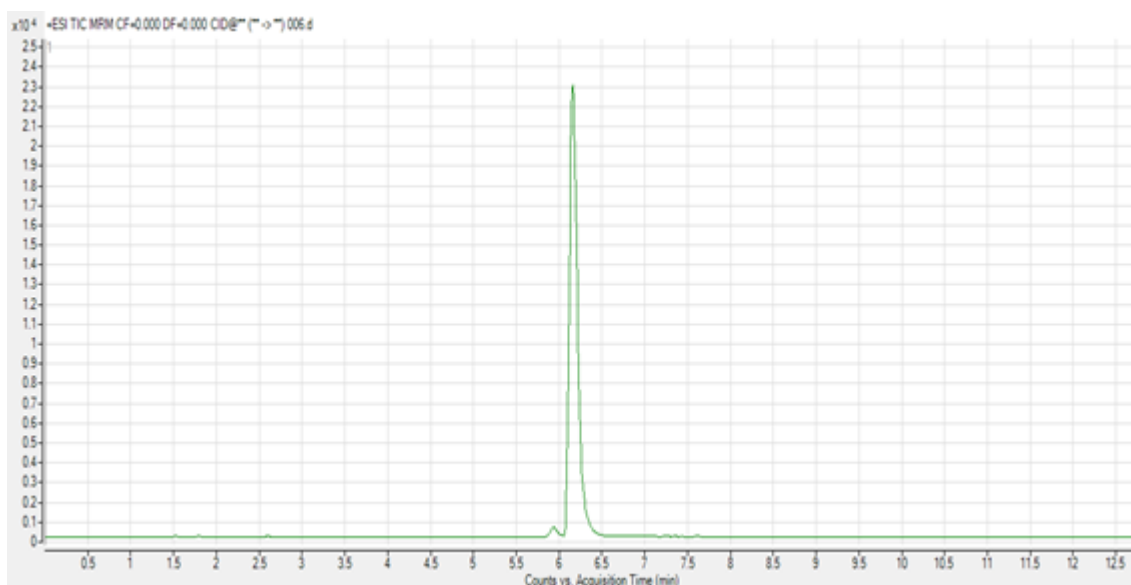
สภาวะการทำงานของเครื่อง MS/MS ; Agilent รุ่น 6410 triple quadrupole

Ion source	: ESI positive mode
Gas temperature	: 350 °C
Gas flow	: 10 L/min
Nebulizer	: 45 psi
Capillary	: 3,500 V

ตารางที่ 2 Mass parameters

Compound name	Precursor ion	Product ion	Dwell time	Fragmentor (V)	CE (V)	Cell accelerator voltage (V)
Emamectin benzoate (b 1a)	886.53	302.20	80	190	40	7
	886.53	158.00	80	190	40	7

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ที่ความเข้มข้น 0.005 µg/mL (จุดที่คาดว่าจะพบจุด LOQ) พบว่า emamectin benzoate สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยมีค่า retention time เท่ากับ 6.14 นาที โดยให้ความจำเพาะเจาะจงของสารสูง (specification) ดังพิจารณาได้จากลักษณะ Total Ion Chromatogram ในภาพที่ 2 ที่ปรากฏเฉพาะการแยกของสาร emamectin benzoate เท่านั้น



ภาพที่ 2 Total Ion Chromatogram of emamectin benzoate (B1a) 0.05 µg/ml

1.2 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของ GCB ในขั้นตอนการ Clean-up

ทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมของ Graphite carbon black (GCB) ที่อยู่ในขั้นตอนการ clean up ตัวอย่างของวิธี QuEChERS EN 15662: 2018 เดิมใช้ปริมาณ 50 mg ทำการทดสอบการใช้ GCB ที่ปริมาณ 5, 10, 20, 30 และ 50 mg เปรียบเทียบ % recovery ที่ความเข้มข้น spiked sample 0.005 mg/kg จำนวน 2 ซ้ำ พบว่า GCB ปริมาณสูงสุดที่ให้ค่า % recovery อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้คือ 10 mg (% recovery = 70 - 120%) ทั้งนี้เนื่องจาก GCB จะไปสร้างแรงดึงดูดระหว่างขั้วกับสารที่มีโครงสร้างแบนราบ (Planar structure) ดังนั้นจึงเลือกใช้ GCB 10 mg สำหรับใช้ในขั้นตอนการ clean-up ของวิธีวิเคราะห์นี้ ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 Recovery percentage of emamectin benzoate from the use of different amounts GCB in 2 replicates)

GCB (mg)	Recovery (%) at 0.005 mg/kg	
	flesh	Whole fruit
5	105, 107	110, 103
10	103, 110	100, 97
20	75, 72	63, 65
30	60, 63	50, 55
50	57, 55	45, 47

2. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate ในส้มโอ

2.1 ช่วงการใช้งาน (Working range)

จากการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ซึ่ง spiked ลงในตัวอย่างเนื้อส้มโอและในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือก จำนวน 1 ซ้ำ พบว่าค่าร้อยละการกลับคืน (% recovery) ของสาร emamectin benzoate ในตัวอย่างทั้งสองชนิดอยู่ในเกณฑ์ยอมรับคือ % recovery อยู่ในช่วง 70-120% และเมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ spike ลงในตัวอย่างเป็นแกน x กับความเข้มข้นของสารพิษตกค้างที่ตรวจวัดได้ในแกน y (Magnusson B. and Ornemark U., 2014) พบว่าวิธีการสกัดดังกล่าวมีช่วงการใช้งานของวิธีทดสอบทั้งในตัวอย่างเนื้อส้มโอและเนื้อรวมเปลือก เท่ากับ 0.005 - 0.50 mg/kg ดังนั้นช่วงความเข้มข้นดังกล่าวจึงได้ถูกนำไปศึกษาถึงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ต่อไป

2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีการสกัด emamectin benzoate ในเนื้อและเนื้อรวมเปลือกส้มโอ โดยการ spike สารละลายมาตรฐาน emamectin benzoate ลงในตัวอย่างที่ความเข้มข้น 7 ระดับความเข้มข้นความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ สกัดด้วยวิธี QuEChERS สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารที่ตรวจวัดได้ (แกน y) และความเข้มข้นของสารที่ spiked (แกน x) พบว่าค่า R^2 ของกราฟความสัมพันธ์ของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างเนื้อส้มโอ (flesh) และเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) มีค่าเท่ากับ 0.9998 และ 0.9988 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คือ $R^2 > 0.995$

2.2 ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (Precision)

จากการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่าง โดย spiked samples ที่ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.005, 0.01, 0.05 และ 0.50 mg/kg จำนวนความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ (n=10) เมื่อคำนวณ % recovery เพื่อประเมิน accuracy ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างเนื้อส้มโอ (flesh) และเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) พบ % recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 83-109 % ดังรายละเอียดในตารางที่ 4 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คือ % recovery อยู่ในช่วง 70-120% (SANTE, 2017) แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องแม่นยำสูง

เมื่อคำนวณ % RSD เพื่อประเมิน Precision ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด พบ % RSD เฉลี่ยอยู่ในช่วง 4 - 12 % ดังรายละเอียดในตารางที่ 4 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คือ %RSD $\leq$ 20 (SANTE, 2021) แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความเที่ยง

ตารางที่ 4 Method validation in pomelo

Commodity	Spike level (mg/kg)	Recovery (%)	Average (%)	SD	RSD (%)
Whole fruit	0.005	100, 93, 95, 82, 112, 117, 95, 120, 97, 113	102	12	12
	0.01	93, 99 80, 116, 105, 105, 87, 80, 92, 117	97	13	14
	0.05	103, 95, 99, 115, 98, 107, 107, 102, 94, 113	103	7	7
	0.50	105, 107, 103, 104, 112, 107, 101, 107, 111, 110	107	4	3
Flesh	0.005	115, 116, 114, 110, 109, 105, 110, 106, 104, 105	109	4	4
	0.01	98, 96, 90, 92, 86, 88, 91, 89, 90, 85	91	4	4
	0.05	87, 87, 85, 84, 79, 79, 80, 79, 85, 85	83	3	4
	0.50	93, 89, 91, 86, 88, 70, 88, 85, 84, 89	86	6	7

2.3 ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ)

ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ ที่ความเข้มข้น 0.005 mg/kg ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของความเข้มข้นที่อ่านได้ ประเมินค่า LOQ เท่ากับ $10 \times SD$ จากการพิสูจน์ LOQ พบว่า emamectin benzoate ในตัวอย่างเนื้อส้มโอ (flesh) และเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) มีค่า LOQ เท่ากับ 0.005 mg/kg

2.4 ขีดจำกัดการตรวจวัดของวิธี (limit of detection, LOD)

ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ โดยการทดสอบที่ความเข้มข้น 0.001 mg/kg ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ประเมินค่า LOD เท่ากับ $3 \times SD$ พบว่าวิธีการตรวจวิเคราะห์ emamectin benzoate ในเนื้อส้มโอ (flesh) และเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) มีค่า LOD เท่ากับ 0.001 mg/kg

3. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง emamectin benzoate ในส้มโอจากแปลงทดลอง

3.1 การทำแปลงทดลอง

ดำเนินการในแปลงทดลอง โดยพ่น emamectin benzoate (1.92 % EC) ตามอัตราแนะนำคือ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 10 ลิตรต่อต้น ทั้งหมด 2 แปลงทดลอง ซึ่งอยู่ในพื้นที่เพาะปลูกที่แตกต่างกัน ดังรายละเอียดในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 Field location

Field	Location	Area (ha)	Period
1	อ. ศรีมโหสถ จ. ปราจีนบุรี	0.020	มิถุนายน – กรกฎาคม 2567
2	อ. ศรีมโหสถ จ. ปราจีนบุรี	0.022	มิถุนายน – สิงหาคม 2567

โดยในแต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงย่อย ได้แก่ แปลงควบคุม (control) และแปลงทดลอง (treated) แต่ละแปลงทดลองดำเนินการปฏิบัติงานตามหลักเกณฑ์การทำแปลงทดลองสารพิษตกค้าง (supervised residue trials)

สุ่มเก็บตัวอย่างส้มโอเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ที่ 0 (2 ชั่วโมง), 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย อย่างน้อย 2 กิโลกรัม 12 ผลต่อซ้ำ สุ่มแปลงละ 2 ซ้ำต่อวัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุมก่อน แล้วจึงสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงที่ใช้วัฏมีพิษ บรรจุตัวอย่างในตะกร้า เก็บตัวอย่างที่มีป้ายชนิดตัวอย่างและ ชื่อวัฏมีพิษระบุไว้อย่างชัดเจน ขนส่งตัวอย่างจากแปลงทดลองไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอจากแปลงทดลอง พบว่าตัวอย่างจากแปลงควบคุมทุกแปลงตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในทุกตัวอย่าง แต่สำหรับแปลงทดลองที่มีการพ่นสาร emamectin benzoate ตามอัตราแนะนำ พบว่าตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างเนื้อส้มโอแสดงดังตารางที่ 6 และในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือก ที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14, และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย พบปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในปริมาณ 0.005 mg/kg และ 0.006 mg/kg สำหรับแปลงทดลองที่หนึ่งและสองตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ที่ระยะเวลา 3 วันเป็นต้นไปแสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 6 Residues of emamectin benzoate in pomelo (flesh)

ระยะเวลาหลังการพ่นครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (mg/kg)	
	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2
0	< 0.005	< 0.005
3	< 0.005	< 0.005
5	< 0.005	< 0.005
7	< 0.005	< 0.005
10	< 0.005	< 0.005
14	< 0.005	< 0.005
21	< 0.005	< 0.005

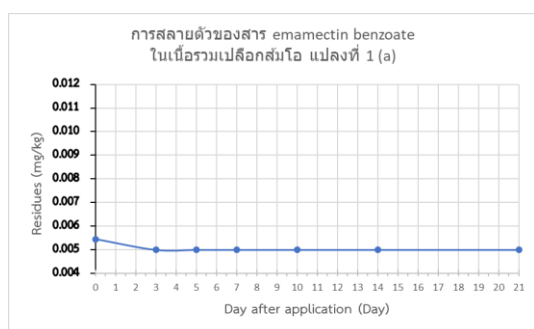
LOD = 0.001 mg/kg, LOQ = 0.005 mg/kg

ตารางที่ 7 Residues of emamectin benzoate in pomelo (whole fruit)

ระยะเวลาหลังการพ่นครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (mg/kg)	
	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2
0	0.005	0.006
3	< 0.005	< 0.005
5	< 0.005	< 0.005
7	< 0.005	< 0.005
10	< 0.005	< 0.005
14	< 0.005	< 0.005
21	< 0.005	< 0.005

LOD = 0.001 mg/kg, LOQ = 0.005 mg/kg

โดยจากข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้าง แสดงให้เห็นว่า emamectin benzoate มีการตกค้างแค่เพียงในส่วนเปลือกส้มโอ ไม่มีการตกค้างในเนื้อส้มโอ หรือส่วนที่บริโภค และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) กับจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายเป็นความสัมพันธ์แบบ non-linear ดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งเกิดจากสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดนี้ และนอกจากนี้ พบว่าความเข้มข้นเริ่มต้นและอัตราการสลายของ emamectin benzoate ในแต่ละแปลงทดลองแตกต่างกันเล็กน้อย ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น ลักษณะและความหนาของทรงพุ่ม ความสูงของต้น การได้รับแสง ความร้อน การให้น้ำ ปริมาณน้ำฝน ลม และความชื้น เป็นต้น



ภาพที่ 3 The decomposition of emamectin benzoate in whole pomelo fruit after the last application of the substance in the experimental plots 1-2 (a) Plot 1 (b) Plot 2.

4. การเฝ้าระวังการตกค้างของ emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอจากแหล่งจำหน่าย

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างส้มโอจำนวน 48 ตัวอย่างจากแหล่งจำหน่ายในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัด กรุงเทพมหานคร ฉะเชิงเทรา ระยอง จันทบุรี และปราจีนบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ใกล้เคียงกับพื้นที่ทำแปลงทดลอง เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ผลการทดลองพบว่า ตรวจไม่พบการตกค้างของ emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอทั้ง 48 ตัวอย่าง

5. การทดสอบความคงสภาพของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอที่เก็บรักษา

ศึกษาสภาวะการสลายตัวของ emamectin benzoate ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกส้มโอ (whole fruit) ในระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) ที่ระยะเวลา 0, 30, 60 และ 90 วัน โดย spike สารมาตรฐาน emamectin benzoate ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือก ที่ความเข้มข้น 0.05 mg/kg จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ spike แล้วในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C เมื่อถึงระยะเวลาที่ศึกษานำตัวอย่างส้มโอมาวิเคราะห์จำนวน 2 ซ้ำ ตามวิธีสกัดที่ศึกษา และทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (procedural recovery) จากผลการวิเคราะห์พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละสารพิษตกค้างที่เหลืออยู่ของ emamectin benzoate ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกส้มโอ ที่เก็บไว้ตั้งแต่ 0-90 วัน อยู่ในช่วง 70-104 % และ procedural recovery อยู่ในช่วง 65-110% (ตารางที่ 11) จึงสรุปได้ว่าสามารถเก็บตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกส้มโอ (Whole fruit) ที่มีสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ได้นาน 90 วัน ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C โดยที่ไม่มีการสลายตัวของสารพิษตกค้าง

ตารางที่ 11 Storage stability of emamectin benzoate in pomelo (whole fruit)

Pomelo incurred residues level (mg/kg)	Storage interval (day)	Procedural Recovery (%)	Residue in stored incurred samples (mg/kg)	Average uncorrected residues remained (%)
0.05	0	101, 92	0.045, 0.047	92
	30	90, 95	0.052, 0.044	96
	60	111, 105	0.055, 0.051	106
	90	98, 102	0.052, 0.054	106

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในเนื้อส้มโอ (Flesh) และเนื้อรวมเปลือก (Whole fruit) ได้วิธีการสกัดตัวอย่างทั้งสองชนิดคือวิธี EN QuEChERS (Inhouse modification) โดยปรับเปลี่ยนปริมาณ GCB ในขั้นตอนการ clean up จากปริมาณ 50 mg ลดลงเป็น 10 mg หลังจากสกัดตัวอย่างแล้ว นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS และเมื่อทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอ พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบ (linearity) อยู่ในช่วง 0.005 - 0.50 $\mu\text{g/mL}$ โดยมีค่า $r^2 > 0.990$ โดยศึกษาช่วงการใช้งานของวิธีทดสอบ (working range) ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือก (Whole fruit) และเฉพาะเนื้อส้มโอ (Flesh) อยู่ในช่วง 0.001 - 0.50 mg/kg ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) ทำการศึกษาที่ระดับความเข้มข้น 0.005 - 0.50 mg/kg จำนวน 10 ซ้ำ ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกและเนื้อส้มโอ มีค่า % recovery ในช่วง 70 - 120 % เมื่อคำนวณ % RSD เพื่อประเมิน Precision ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ในตัวอย่างทั้งสองชนิด พบ % RSD เฉลี่ยอยู่ในช่วง 4 - 12 % จึงสรุปได้ว่าการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีดังกล่าวให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และความเที่ยงสูง ซึ่งจากผลการทดลองยังพบอีกว่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification หรือ LOQ) และ ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection หรือ LOD) ของสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างทั้งเนื้อรวมเปลือกและตัวอย่างเนื้อส้มโอ มีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.001 mg/kg ตามลำดับ จากการวิจัยปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในส้มโอจากแปลงทดลองที่พันธุ์ตฤมิพิช emamectin benzoate ตามอัตราแนะนำ พบว่าไม่มีการตกค้างของสารดังกล่าวในเนื้อส้มโอ (flesh) ส่วนของเนื้อรวมเปลือก (whole fruit) พบการตกค้างของสารพิษ emamectin benzoate สำหรับแปลงทดลองที่ หนึ่งและสองอยู่ที่ 0.005 และ 0.006 mg/kg ตามลำดับ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง emamectin benzoate ในตัวอย่างส้มโอที่สุ่มเก็บจากพื้นที่ทำการทดลอง จำนวน 48 ตัวอย่าง พบว่า ไม่พบการตกค้างของสารพิษ emamectin benzoate ในทุกตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- บุษบง มนัสมั่นคง. 2542. แมลงศัตรูส้มโอ. หน้า 79-89. ใน แมลงศัตรูไม้ผล. กลุ่มงานวิจัยแมลง ศัตรูไม้ผล สมนไพร และเครื่องเทศ, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2565. “คำแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช” กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 208 หน้า.
- CABI. 2003. Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK.
- EN 15662. 2018. Foods of Plant Origin-Multimethod for the determination of Pesticide Residues Using GC and LC-based Analysis following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-Modular QuEChERS-Method. British Standards Institution: UK. 80 pp.
- Eurachem. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Second Edition.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. Codex Alimentarius International Food Standards. Retrieved July 26, 2023
- Magnusson, B. and Ornemark, U. (eds.). (2014). Eurachem Guide: The fitness for purpose of analytical methods – a laboratory guide to method validation and related topic. 2nd ed.
- SANTE. 2021. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed.

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของอะซีตามิพริด (acetamiprid) ในมะม่วง
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
Residue Trial of Acetamiprid in Mango
to Establish Maximum Residue Limit (MRL)

วิทยา บัวศรี¹ ปกป้อง ทะนันชัย² วนิดา สุขประเสริฐ² มัลลิกา ทองเขียว³ ภาลินี ไชยชนะ⁴
Wittaya Buasri¹ Pokpong Thanachai² Wanida Sukprasert²
Malliga Thongkheaw³ Pasinee chaichana⁴

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The objective of this research was to study the degradation of acetamiprid pesticide residues in mangoes in order to determine the Maximum Residue Limits (MRLs). The experiment was conducted in six different plots located in various areas, including Suphan Buri (Mueang and Doem Bang Nang Buat District), Ratchaburi, Chon Buri, Chachoengsao, and Kanchanaburi Province. The study was carried out in accordance with OECD-GLP principles. Each experimental site was divided into two sub-plots: an untreated plot (control plot) where no pesticide was applied, and a treated plot where the pesticide was sprayed. Acetamiprid (20% W/W SP formulation) was applied at a rate of 3 grams per 20 liters of water, with a water usage rate of 5–10 liters per tree. The pesticide was sprayed three times at 7-day intervals. After the last application, mango samples were randomly collected to analyze the acetamiprid residue levels at 0, 1, 3, 7, 14, 21, and 28 days after application. The QuEChERS extraction method was used for sample preparation, and residue levels were analyzed using LC-MS/MS. The results showed that acetamiprid residue levels gradually decreased over time. The average residue levels (mg/kg) across the six treated plots at 0, 1, 3, 7, 14, 21, and 28 days after application were 0.11, 0.09, 0.07, 0.06, 0.03, 0.02, and 0.01 mg/kg, respectively. No residues were detected in the untreated plots. This study provides useful data for establishing the MRL and PHI (Pre-Harvest Interval) of acetamiprid in mangoes for Codex MRL and ASEAN MRL purposes.

Keywords: Acetamiprid; Mango; Maximum Residue Limits

¹ กลุ่มควบคุมวัตถุอันตราย สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

¹ Office of Agricultural Regulation

² กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

² Pesticide Residue Research Group, Agricultural Toxic Substance Subdivision, APSRDD

³ กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 อุบลราชธานี

³ Office of Agricultural Research and Development Region 4, Ubon Ratchathani

⁴ ด่านตรวจพืชเชียงใหม่ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

⁴ Chiangsaen Plant Quarantine Station, Office of Agricultural Regulation

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของอะซีทามิพริด (acetamiprid) ในมะม่วง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limits; MRLs) ทำการทดลองจำนวน 6 แปลงในสถานที่ต่างกัน ได้แก่ พื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี (อำเภอเมืองและอำเภอเดิมบางนางบวช) ราชบุรี ชลบุรี ฉะเชิงเทรา และกาญจนบุรี โดยดำเนินการภายใต้หลักการ OECD-GLP ในแต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุม (untreated plot) เป็นแปลงที่ไม่มีการพ่นสาร และแปลงทดลองที่มีการพ่นสาร (treated plot) แต่ละแปลงทำการพ่นสาร acetamiprid สูตร 20% W/W SP ในอัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 5-10 ลิตรต่อต้น พ่นสารจำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ภายหลังการพ่นครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างมะม่วงเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 0 1 3 7 14 21 และ 28 วัน ด้วยวิธีการสกัด QuEChERS และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS ผลการทดลองจากการใช้สาร acetamiprid ตามอัตราที่กำหนด ในระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่ 0 1 3 7 14 21 และ 28 วัน พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid มีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาการเก็บเกี่ยว ซึ่งมีปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ยของแปลงทดลองที่ 1-6 เท่ากับ 0.11 0.09 0.07 0.06 0.03 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของ acetamiprid จากแปลงควบคุม จากการศึกษาจะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในการพิจารณากำหนดค่า MRL และ PHI ของ acetamiprid ในมะม่วง สำหรับ Codex MRL และ ASEAN MRL ต่อไป

คำสำคัญ: อะซีทามิพริด; มะม่วง; ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด

คำนำ

คณะกรรมการมาตรฐานอาหารสากล โดยองค์การอาหารและเกษตรและองค์การอนามัยโลก (Codex) FAO/WHO เป็นคณะกรรมการที่จัดตั้งขึ้นเพื่อพิจารณากำหนดมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศเพื่อปกป้องคุ้มครองผู้บริโภค และให้เกิดความเป็นธรรมในการค้าระหว่างประเทศ โดยมีประเทศต่างๆ ทั่วโลกเป็นสมาชิกในปัจจุบันทั้งที่เป็นประเทศและองค์กรประเทศทั้งสิ้น 189 ประเทศ ซึ่งประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกตั้งแต่ปี 1963 (Codex Alimentarius, 2022) คณะกรรมการดังกล่าวจะพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limits: MRLs) ในผลผลิต และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ซึ่งจะมีการจัดประชุมทุกปีเพื่อพิจารณากำหนดข้อมูลและการยอมรับค่า MRLs ที่ประเทศสมาชิกเสนอ โดยข้อมูลผลการทดลองปริมาณสารพิษตกค้างของประเทศสมาชิกจะต้องทำการศึกษาภายใต้การปฏิบัติการทางการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (GAP) การกำหนดค่าปริมาณสูงสุด MRLs จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร และชนิดของพืช โดยการทดลองจะต้องทำซ้ำอย่างน้อย 5-6 ครั้ง ต่างสถานที่หรือต่างฤดูกาล นำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากฟันทดลองอันตรายทางการเกษตรตามอัตราแนะนำ ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการพ่นครั้งสุดท้าย มาประกอบการพิจารณาร่วมกับข้อมูลศึกษาความเป็นพิษของวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรชนิดนั้นๆ

อะซีทาไมพริด (acetamiprid) เป็นสารกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoids) โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทคล้ายกับสารนิโคตินที่พบในใบยาสูบโดยสารจะเลียนแบบ (agonist) การทำงานของสารสื่อประสาท acetylcholine สารกลุ่มนี้จะไปแข่งขัน (แย่งกัน) กับสารอะเซทิลโคลีนในการจับที่ตัวรับสารอะเซทิลโคลีนชนิดนิโคตินิก (nicotinic acetylcholine receptor, nAChR) ที่ผิวของปลายเซลล์ประสาทบริเวณ synapse แล้วกระตุ้นให้ nAChRs ทำงานในการส่งกระแสประสาทที่มากเกินไป (overstimulation) ในระยะแรก ส่วนระยะต่อมาเมื่อสารกำจัดแมลงกลุ่มนี้จับที่ตัวรับสารอะเซทิลโคลีนชนิดนิโคตินิกนานๆ จะทำให้ตัวรับเปลี่ยนรูปทรงไปเป็นรูปทรงที่ไม่สามารถทำงานได้ (desensitized) สารกำจัดแมลงกลุ่มนี้มีพิษสูงมากต่อผึ้ง จึงไม่ควรใช้ในพืชช่วงที่พืชกำลังออกดอกและมีผึ้งมาช่วยผสมเกสร ซึ่งจากคำแนะนำการใช้สาร acetamiprid ในการกำจัดศัตรูพืช จะใช้ในการกำจัดเพลี้ยจักจั่นมะม่วง (*Idioscopus clypealis*, *I. niveosparus* *I. nagpurensis*) ซึ่งเป็นศัตรูพืชในมะม่วง ในอัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (ศรีจันทร์ และคณะ, 2566)

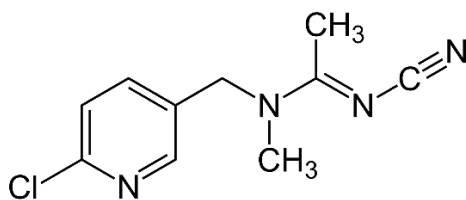


Figure 1 Chemical structure of acetamiprid

การกำหนดชนิดสารพิษตกค้างที่ให้ตรวจ (definition of residues) เพื่อกำหนดค่า MRLs ในพืชและการประเมินความเป็นพิษ (estimation of daily intake) ของ acetamiprid ซึ่ง Codex กำหนดให้ใช้เฉพาะค่าของ acetamiprid เท่านั้น (for compliance with MRLs and estimation for estimation of dietary exposure for plant commodities: acetamiprid) การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid ในมะม่วง จึงเป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในพืช (MRLs) จากการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรอย่างถูกต้อง และปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และเพื่อประโยชน์ในการต่อรองทางด้านสินค้าเกษตรส่งออก โดยที่กรมวิชาการเกษตรได้ทำการศึกษาศักยภาพของ acetamiprid ในมะม่วง เพื่อนำไปเสนอพิจารณา กำหนดค่า PHI พิจารณาการปรับค่า Thai-MRL เพื่อเสนอต่อการกำหนดค่า ASEAN MRL และ Codex MRL

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นวัตถุอันตรายแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) ยี่ห้อ Honda รุ่น WJR4025T GCT ขนาด 25 ลิตร
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง เช่น เครื่องจับเวลา เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น และเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) ที่สอบเทียบแล้ว
3. หลอดทดลอง (screw-capped polypropylene centrifuge tubes) ขนาด 50 มิลลิลิตร หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge tubes) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
4. อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 2-20, 10-100, 20-200, 100-1,000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร ที่สอบเทียบแล้ว และอุปกรณ์ดูด-จ่ายสารเคมีจากขวด (dispenser) ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่สอบเทียบแล้ว
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า (electronic balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่งและ 2 ตำแหน่ง ที่สอบเทียบแล้ว
6. เครื่องบดตัวอย่าง (food processor) และเครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer) ตู้อบ (hot air oven) และเตาเผา (muffle furnace)
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 50 และ 15 มิลลิลิตร
8. เครื่องลดปริมาตรสารโดยการเป่าด้วยแก๊สไนโตรเจน (nitrogen evaporator)
9. เข็มพร้อมเยื่อกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร
10. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6460
11. สารมาตรฐาน acetamiprid ความบริสุทธิ์ 97.7% และผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช acetamiprid 20% SP
12. สารเคมี ได้แก่ acetonitrile (CH_3CN) ชนิด pesticide grade (PR), acetonitrile และ water (H_2O) ชนิด LC-MS grade, anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4) เเผาที่ 450°C นาน 4 ชั่วโมง, sodium citrate tribasic dihydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), disodium hydrogen citrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), ammonium formate (NH_4HCO_2), formic acid (CH_2O_2), sodium chloride (NaCl), primary secondary amine (PSA) และ graphitized carbon black (GCB)

วิธีการ

1. การทดสอบวิธีวิเคราะห์

1.1 การเตรียมตัวอย่าง โดยตัดข้าวมะม่วง แยกเมล็ดออก ใช้มีดหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วผสมกับไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) และทำการปั่นตัวอย่างให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง (food processor) ตักใส่ถุงพลาสติก มัดปากถุงให้แน่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส ก่อนการนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

1.2 วิธีการวิเคราะห์ acetamiprid ในตัวอย่างมะม่วงด้วยวิธี QuEChERS (BS EN 15662, 2018) และวิเคราะห์ปริมาณด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งมีวิธีการสกัดดังนี้

ชั่งตัวอย่าง 10 ± 0.1 กรัม ใส่ centrifuge tubes ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile ชนิด pesticide grade (PR) ปริมาตร 10 ± 0.1 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที เติม sodium chloride 1.0 กรัม magnesium sulfate 4 กรัม sodium citrate tribasic dihydrate 1 กรัม และ disodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัม ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 5 นาที ใช้ auto pipette ดูดสารละลายส่วนบน 5 มิลลิลิตร ใส่ centrifuge tubes ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุ PSA 125 มิลลิกรัม magnesium sulfate 750 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม ปิดฝาแล้วเขย่าด้วย vortex mixer นาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนบนของตัวอย่าง กรองผ่านเข็มปริมาตร 3 มิลลิลิตร พร้อมเยื่อกรอง PTFE ขนาด 0.20 ไมโครเมตร ลงในขวดบรรจุ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ acetamiprid ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

1.3 สภาวะเครื่อง LC-MS/MS:

Agilent 6460 Triple Quad LC/MS

Agilent 1290 HPLC

a.) MS QQQ Mass spectrometer conditions:

Ion source:	AJS ESI
Scan type:	Dynamic MRM
Ion mode:	ESI+Agilent Jet Stream

Table 1 Settings for mass spectrometer

Parameter	Value (+)	Value (-)
Gas temp (°C)	350	350
Gas flow (l/min)	10	10
Nebulizer (psi)	40	40
Sheath gas heater	250	250
Sheath gas flow	11	11
Capillary (V)	4500	3500

b.) HPLC conditions:

1) Injection:

Injection Volume: 2.00 µl
 Needle wash location: Flush port
 Wash Time: 5.0 s

2) Column:

Column type: Kinetex 2.6u XB-C18 100A, 100x2.1 mm
 Column Temperature: 40 °C
 Mobil phase A: 5 mM ammonium formate+0.01% formic acid in water
 Mobil phase B: acetonitrile
 Total run time: 7.00 min/Post run: 1.00 min

Table 2 Parameter of MS/MS: Multi Reaction Monitoring (MRM)

Compound	Molecular Formula	Precursor Ion	Product Ion	Dwell Time	Fragmentor (V)	Collision Energy (V)	Cell Accelerator Voltage
acetamiprid	222.677 g/mol	223.1	126	50	80	27	2
		223.1	90	50	80	45	2
		223.1	73	50	80	60	2

Table 3 Flow rate and elution gradient

Time (min)	Flow rate (ml/min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)	Pressure (bar), max
0.00	0.45	98	2	1000
0.15	0.45	98	2	1000
5.50	0.45	2	98	1000
6.50	0.45	2	98	1000
6.80	0.45	98	2	1000
7.00	0.45	98	2	1000

1.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation) โดยการศึกษา parameter ต่างๆ ดังนี้ (SANTE, 2021)

1.4.1 Matrix effect ได้จากการเปรียบเทียบความชัน (slope) ของกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารมาตรฐานที่เตรียมในสารสกัดของมะม่วง (matrix standard) กับความชันของกราฟมาตรฐานของ

สารมาตรฐานในตัวทำละลาย acetonitrile (solvent standard) ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

1.4.2 ความแม่นยำ (trueness) ได้จากการหาร้อยละที่ได้กลับคืนมา (%recovery) และความเที่ยง (precision) ที่ได้จากการทำซ้ำ (replicate) โดยการเติมสารมาตรฐาน (fortified standard) ลงในตัวอย่างมะม่วง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 0.01 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสำหรับตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกและเนื้อมะม่วง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 0.01 0.1 1.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับตัวอย่างเปลือกมะม่วง จำนวน อย่างน้อย 5 ซ้ำ ทำการสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างตามวิธีการ QuEChERS

1.4.3 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยการเติมสารมาตรฐาน (fortified standard) ลงในตัวอย่างมะม่วงที่ระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ คือ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวนอย่างน้อย 5 ซ้ำ ทำการสกัดและตรวจ วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างตามวิธีการ QuEChERS แล้วนำไปคำนวณค่าร้อยละที่ได้กลับคืนมา (%recovery) และร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (%RSD)

1.4.4 ช่วงของการวัดและความเป็นเส้นตรง (working range and linearity) โดยนำค่าความเข้มข้นเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ ที่ความเข้มข้น 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาพล็อตกราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นที่ต้องการวิเคราะห์กับค่าความเข้มข้นที่ตรวจเจอสำหรับประเมิน working range และพล็อต กราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นที่ต้องการวิเคราะห์กับสัญญาณ (response) ที่ได้จากเครื่องสำหรับประเมิน linearity ที่ความเข้มข้น 0.005 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งประเมินความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงจากค่า $R^2 \geq 0.995$

1.5 การทดสอบความคงตัวของสาร (storage stability)

การทดสอบความคงตัวของสาร โดยทำการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างมะเขือเปราะที่ความเข้มข้น 10 เท่าของขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ($10 \times \text{LOQ}$) คือความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเก็บ ตัวอย่างในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวิเคราะห์สาร acetamiprid มะม่วงที่ระยะการเก็บ ตัวอย่าง 0 30 60 90 และ 120 วัน

2. การทำแปลงทดลอง

การปฏิบัติงานในแปลงทดลองปลูกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ทำแปลงทดลอง 6 แปลง โดยทดลองใน สถานที่ต่างกัน ดำเนินการทดลองตามระบบ OECD-GLP (Good Laboratory Practice) และวางแผนการทดลอง แบบ supervised residue trial ตาม Codex Guidelines (FAO, 2016) การศึกษาการสลายตัวของสารที่ ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ซึ่งมีกระบวนการดังนี้

2.1 การสำรวจและปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

2.1.1 สำรวจและเลือกพื้นที่ทำแปลงทดลองมะม่วงจำนวน 6 แปลงทดลอง ต่างสถานที่กันโดย โดยแต่ละแปลงทดลองมีระยะกระจัดห่างกันไม่น้อยกว่า 32 กิโลเมตร มะม่วงมีอายุมากกว่า 5 ปีขึ้นไป และต้องให้ผลผลิตเพียงพอสำหรับใช้เป็นตัวอย่างครอบคลุมระยะเวลาการเก็บเกี่ยวทั้งหมดของการทดลอง โดยการกำหนดขนาด พื้นที่ของแปลงทดลอง กว้าง x ยาว มีการบันทึกสภาพพื้นที่ ความลาดเอียง ลักษณะของแปลง วิธีการเพาะปลูก ระยะปลูก รูปแบบการให้น้ำ การใช้ปัจจัยการผลิตในพื้นที่ การบันทึกข้อมูลในการปฏิบัติงานระหว่างการปฏิบัติงาน ได้แก่ อายุของพืช (crop growth stage) ความสูงของต้นพืช (crop height) พื้นที่ทรงพุ่มของพืชที่ปกคลุมผิวดิน โดยประมาณ (estimated % of soil area covered by crop canopy) วัดอุณหภูมิของอากาศ (measured air temperature) วัดความเร็วลมและทิศทางลม (measured wind speed and wind direction) ปริมาณของเมฆ ในท้องฟ้าโดยประมาณ (estimated % of clouds in the sky) วัดปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (measured

relative humidity, %) ลักษณะของดิน (description of soil tilth) ความชื้นของผิวดินโดยประมาณ (estimated of soil surface moisture) อุณหภูมิของดิน (soil temperature) และความลึกของดินที่วัดอุณหภูมิ (depth of measurement of soil temperature)

2.1.2 การเตรียมแปลงทดลอง แต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงที่ไม่พ่นสารใช้เป็นแปลงควบคุม (untreated plot) และแปลงที่พ่นสาร (treated plot) ซึ่งแปลงทดลองย่อยต้องมีขนาดพื้นที่และจำนวนต้นมะม่วงเท่ากัน หรือใกล้เคียงกัน การพ่นสารใช้วิธีการพ่นทางใบ (foliar applications) โดยอัตราแนะนำการใช้ คือ acetamiprid สูตร 20% SP ในอัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราการใช้ น้ำ 10 ลิตรต่อต้น (สุกราดา และคณะ, 2564) โดยระยะระหว่าง treated plot และ untreated plot ประมาณ 25-100 เมตร เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามในขณะพ่นสาร

2.1.3 การเตรียมเครื่องพ่นสารก่อนการพ่น โดยหาอัตราการไหล (flow rate) ของเครื่องพ่น (คือ ปริมาณน้ำที่ใช้ในเวลา 1 นาที มีหน่วยเป็นลิตรต่อนาที) คำนวณเวลาที่ใช้ทั้งหมด (target time) ในแปลงทดลอง (คำนวณจากปริมาณน้ำที่ใช้ต่อพื้นที่มีหน่วยเป็นลิตรกับอัตราการไหลของเครื่องพ่นมีหน่วยเป็นลิตรต่อนาที) และทดสอบจังหวะการเดินจนได้ตามเวลาที่กำหนด เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง กระบวนการดังกล่าวจะควบคุมความถูกต้องแม่นยำของการพ่นสารลงในแปลงทดลอง

ตรวจสอบหัวฉีด (nozzle) การกระจายละอองของสารและกำหนดอัตราการไหลของเครื่องพ่นที่จะ

$$\frac{\text{ปริมาณน้ำที่ใช้ต่อพื้นที่ (ลิตร)}}{\text{อัตราการไหล (ลิตรต่อนาที)}} \\ \downarrow \\ \text{เวลาที่ใช้พ่นสารต่อพื้นที่ทดลอง (นาที)} \\ \text{(target time)}$$

ใช้งาน (discharge calibration) ก่อนการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทุกครั้งต้องตรวจสอบอัตราการไหลของเครื่องให้อยู่ในช่วง ± 5 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราการไหลที่จะใช้งาน คำนวณเวลามาตรฐานที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยว (target time) ทำการทดลองเดินไม่สะพายเครื่องพ่น เดินสะพายเครื่อง และเดินสะพายเครื่องพร้อมพ่น ทุกครั้งก่อนการปฏิบัติงานพ่นในพื้นที่เขตกรรม คำนวณอัตราการพ่นสารต่อพื้นที่ (spray volume) ปริมาตรของสารและปริมาตรของน้ำในการผสม จดบันทึกข้อมูลผลิตภัณฑ์ของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่จะใช้รวมถึงวิธีการขนส่งผลิตภัณฑ์ไปยังแปลงทดลอง ขั้นตอนและเวลาในการผสม อุณหภูมิและ pH ของน้ำ กำหนดรูปแบบและจำนวนเที่ยว (pass) ของการเดินพ่นในพื้นที่เขตกรรม โดยผู้พ่นต้องเดินจากทางขวาไปซ้าย

ในการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ผู้พ่นสารและผู้จับเวลา ต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกัน ทำการพ่นตามรายละเอียดในตารางที่ 1 โดยใช้เครื่องพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (spray equipment) แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack) เมื่อพ่นสารในแต่ละเที่ยวเสร็จ ผู้จดบันทึกต้องลงบันทึกเวลาที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยว ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ ± 5 เปอร์เซ็นต์ของเวลามาตรฐาน บันทึกทิศทางการเดิน (direction of that pass) หลังจากนั้นต้องคำนวณร้อยละของปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ที่พ่นลงในพื้นที่แปลงทดลอง (amount of test substance applied per hectare) ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ -5% ถึง +10% จึงจะยอมรับผลการปฏิบัติงานในครั้งนั้นได้ โดยผู้ตรวจสอบ จะต้องสังเกตและบันทึกผลการปฏิบัติงานให้เป็นไปตามที่กำหนดและให้คำแนะนำในระหว่างการปฏิบัติงาน ร้อยละของปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่พ่นลงในพื้นที่

Table 4 Date of pesticide application (acetamiprid 20% W/W SP) in the mango plot

สารป้องกัน กำจัดศัตรูพืช	ครั้งที่	วันที่พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช					
		แปลงที่ 1	แปลงที่ 2	แปลงที่ 3	แปลงที่ 4	แปลงที่ 5	แปลงที่ 6
		อ. เมือง จ. สุพรรณบุรี	อ. จอมบึง จ. ราชบุรี	อ. เดิมบางนางบวช จ. สุพรรณบุรี	อ. พนสนิมคม จ. ชลบุรี	อ. พนมสารคาม จ. ฉะเชิงเทรา	อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
		14°33'57"N 99°57'38"E	13°46'59"N 99°27'45"E	14°57'15"N 100°3'25"E	13°21'0"N 101°16'24"E	13°38'51.9"N 101°20'29.2"E	13°46'56.8"N 99°31'13.1"E
acetamiprid 20% W/W SP ชื่อการค้า โมแลน 20 เอสพี	1	26-ม.ค.-65	8-มี.ค.-65	9-ม.ค.-66	11-ม.ค.-66	8-พ.ย.-66	15-ม.ค.-67
	2	2-ก.พ.-65	16-มี.ค.-65	15-ม.ค.-66	17-ม.ค.-66	13-พ.ย.-66	24-ม.ค.-67
	3	9-ก.พ.-65	22-มี.ค.-65	23-ม.ค.-66	25-ม.ค.-66	21-พ.ย.-66	29-ม.ค.-67

2.2 การสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลองและการตรวจวิเคราะห์

สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลอง ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย เก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 0 (หลังพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 1 3 7 14 21 และ 28 วัน ตามลำดับ รวมทั้งหมด 7 ครั้ง โดยทั้งแปลง untreated plot และ treated plot สุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ซ้ำ ให้ได้อย่างน้อย 12 ผล หรือไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม แต่ละแปลงทดลองย่อยเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ซ้ำ เก็บใส่ถุงพลาสติกที่มีป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้อมูล รหัสสารทดลอง (field ID) ชื่อตัวอย่างพืช (crop fraction) ชื่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (test substance) วันที่เก็บตัวอย่าง (sample date) และผู้รับผิดชอบแปลงทดลอง (filed research director name) พร้อมทั้งหมายเลขโทรศัพท์ที่ใช้การติดต่อ ทั้งนี้ในการเก็บตัวอย่างต้องบันทึกชื่อผู้สุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละแปลง พร้อมทั้งเวลาที่ใช้ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง ปิดถุงให้แน่นบรรจุลงในกล่องที่บรรจุน้ำแข็งซึ่งระบุประเภทของตัวอย่างไว้บนกล่อง ภายในกล่องมีเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) เพื่อขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการต่อไป โดยต้องบันทึกระยะเวลาอุณหภูมิและวิธีการในการนำส่งตัวอย่าง นำส่งห้องปฏิบัติการวิจัยสารพิษตกค้างเพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid ด้วยวิธี QuEChERS ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ดังที่ได้กล่าวในหัวข้อ 1.2 และวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS

การทดลอง มี 7 กรรมวิธี (treatment) คือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตมะม่วงไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างภายหลังจากการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช acetamiprid ครั้งสุดท้าย และสุ่มเก็บตัวอย่างรายละเอียดดังแสดงใน Table 5

Table 5 Harvesting period of mango from the experimental plot

ระยะเวลาหลัง การฉีดพ่นครั้ง สุดท้าย	วันที่เก็บเกี่ยวผลผลิตจากแปลงทดลอง					
	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2	แปลงที่ 3	แปลงที่ 4	แปลงที่ 5	แปลงที่ 6
	อ. เมือง จ. สุพรรณบุรี	อ. จอมบึง จ. ราชบุรี	อ. เดิมบางนางบวช จ. สุพรรณบุรี	อ. พนัสนิคม จ. ชลบุรี	อ. พนมสารคาม จ. ฉะเชิงเทรา	อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
0 วัน (2 ชั่วโมง หลังการพ่น)	9-ก.พ.-65	22-มี.ค.-65	23-ม.ค.-66	25-ม.ค.-66	21-พ.ย.-66	29-ม.ค.-67
1 วัน	10-ก.พ.-65	23-มี.ค.-65	24-ม.ค.-66	26-ม.ค.-66	22-พ.ย.-66	30-ม.ค.-67
3 วัน	12-ก.พ.-65	25-มี.ค.-65	26-ม.ค.-66	28-ม.ค.-66	24-พ.ย.-66	1-ก.พ.-67
7 วัน	16-ก.พ.-65	29-มี.ค.-65	30-ม.ค.-66	1-ก.พ.-66	28-พ.ย.-66	5-ก.พ.-67
14 วัน	23-ก.พ.-65	5-เม.ย.-65	6-ก.พ.-66	8-ก.พ.-66	6-ธ.ค.-66	11-ก.พ.-67
21 วัน	3-มี.ค.-65	11-เม.ย.-65	13-ก.พ.-66	15-ก.พ.-66	12-ธ.ค.-66	19-ก.พ.-67
28 วัน	9-มี.ค.-65	19-เม.ย.-65	20-ก.พ.-66	22-ก.พ.-66	19-ธ.ค.-66	26-ก.พ.-67

ระยะเวลา เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 สิ้นสุด 30 กันยายน 2567

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิต
ทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

แปลงมะม่วงของเกษตรกร

1. แปลงที่ 1 ทำการทดลองที่ ต.ตลิ่งชัน อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน มกราคม – มีนาคม 2565 (14°33'57"N 99°57'38"E)
2. แปลงที่ 2 ทำการทดลองที่ ต.แก้มอ้น อ.จอมบึง จ.ราชบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน มีนาคม – เมษายน 2565 (13°46'59"N 99°27'45"E)
3. แปลงที่ 3 ทำการทดลองที่ ต.ปากน้ำ อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน มกราคม – กุมภาพันธ์ 2566 (14°57'15"N 100°3'25"E)
4. แปลงที่ 4 ทำการทดลองที่ ต.หมอนนาง อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน มกราคม – กุมภาพันธ์ 2566 (13°21'0"N 101°16'24"E)
5. แปลงที่ 5 ทำการทดลองที่ ต.หนองแห่น อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา ทำการทดลองในระหว่างเดือน พฤศจิกายน – ธันวาคม 2566 (13°38'51.9"N 101°20'29.2"E)
6. แปลงที่ 6 ทำการทดลองที่ ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ทำการทดลองในระหว่างเดือน มกราคม – กุมภาพันธ์ 2567 (13°46'56.8"N 99°31'13.1"E)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

1.1 ผลจากการศึกษา matrix effect (Figure 2) ที่ได้จากการเปรียบเทียบความชัน (slope) ของกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารมาตรฐานที่เตรียมในสารสกัดของมะม่วง (matrix standard) กับความชันของกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานในตัวทำละลาย acetonitrile (solvent standard) ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า matrix effect ของ acetamiprid เท่ากับ 56.39% โดยมีเกณฑ์กำหนด ME% มากกว่า 20% แสดงว่าสารชนิดนั้นเกิด matrix effect ซึ่งไม่สามารถใช้กราฟมาตรฐานของ solvent standard แทน matrix standard ในการเปรียบเทียบหาปริมาณสาร acetamiprid ในมะม่วงได้ ดังนั้นในวิธีการวิเคราะห์จึงเตรียมสารมาตรฐานในสารสกัดของมะม่วง โดยสูตรการคำนวณ matrix effect มีดังนี้

$$\text{Matrix Effect (ME \%)} = [(a_{\text{matrix}}/a_{\text{standard}}) - 1] \times 100$$

เมื่อ a_{matrix} = ค่า slope ของ matrix standard

a_{standard} = ค่า slope ของ solvent standard

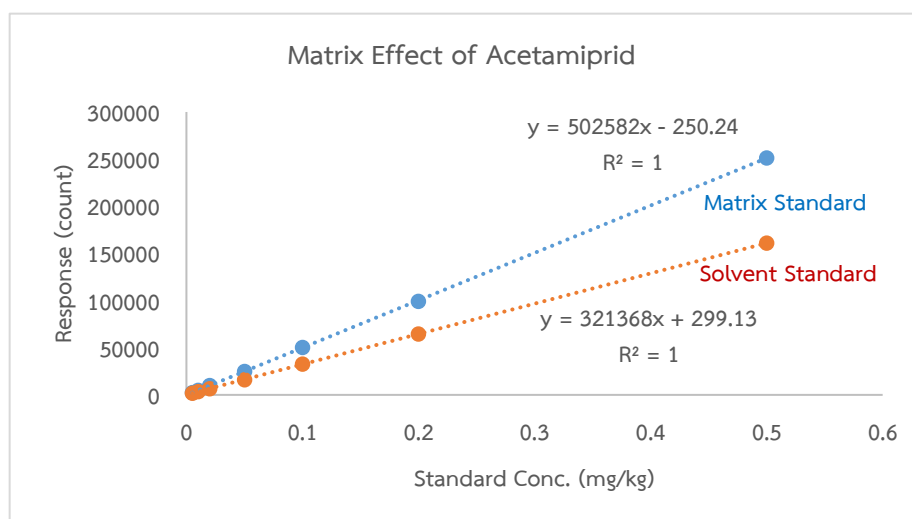


Figure 2 Characteristics of the matrix effect graph of acetamiprid in mango

1.2 ผลจากการหาความแม่นยำ (trueness) ของวิธีวิเคราะห์ ได้จากการหาเปอร์เซ็นต์ที่ได้กลับคืนมา (%recovery) และความเที่ยง (precision) ที่ได้จากการทำซ้ำ (replicate) พบว่า มี %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 70-114% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่ 70-120% และความเที่ยง คือ การหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ได้จากการทำซ้ำ พบว่า %RSD อยู่ในช่วง 1.40-8.73% โดยมีช่วงการยอมรับที่ $\leq 20\%$ แสดงใน Table 6

1.3 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) พบว่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเพื่อให้มั่นใจว่าที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีความสามารถในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างได้จริง โดยยืนยันผลการทดสอบจากค่า trueness และ precision ในการทดลองนี้เลือกใช้ความเข้มข้น เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็น LOQ สำหรับ acetamiprid

Table 6 Method validation results of acetamiprid residues in mango

Fortification level (mg/kg)	Commodity	% Recovery (n=6)	Average Recovery (% , n=6)	%RSD (n=6)
0.005 ^{1/}	flesh with peel	67, 71, 75, 68, 70, 67	70	3.99
0.01 ^{2/}	flesh with peel	79, 84, 85, 79, 82, 83	82	3.12
0.1	flesh with peel	94, 88, 88, 92, 93, 86	90	3.60
1.0	flesh with peel	94, 94, 93, 91, 92, 90	92	1.93
0.005 ^{1/}	flesh	112, 104, 105, 99, 105,103	105	3.92
0.01 ^{2/}	flesh	95, 102, 105, 99, 102, 97	100	3.42
0.1	flesh	105,108,111,111,115,112	110	3.19
1.0	flesh	112,113,116,114,116,114	114	1.40
0.005 ^{1/}	peel	112, 102, 95, 111, 96, 91	101	8.73
0.01 ^{2/}	peel	107, 97, 100, 90, 109, 108	102	7.59
0.1	peel	90, 89, 91, 97, 95, 85	91	4.46
1.0	peel	88, 93, 94, 98, 94, 96	94	3.43

^{1/} หมายถึง Limit of Detection (LOD)

^{2/} หมายถึง Limit of Quantitation (LOQ)

1.4 ช่วงของการวัดและความเป็นเส้นตรง (working range and linearity) โดยการพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ fortified ลงใน sample blank (แกน X) ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นที่ LOQ ได้แก่ 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กับค่าความเข้มข้นที่ตรวจเจอ (แกน Y) สำหรับ working range และกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน X) กับสัญญาณ (response) ที่อ่านได้จากเครื่อง (แกน Y) สำหรับประเมินค่า linearity ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งพบว่ากราฟมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยประเมินจากค่า R^2 ที่มีค่า 0.9999 และ 0.9998 ตามลำดับ ดังแสดงใน **Figure 3 (a-b)** ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ $R^2 \geq 0.995$ ซึ่งช่วงการใช้งานของกราฟมาตรฐานอยู่ที่ 0.01-0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 0.005-0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

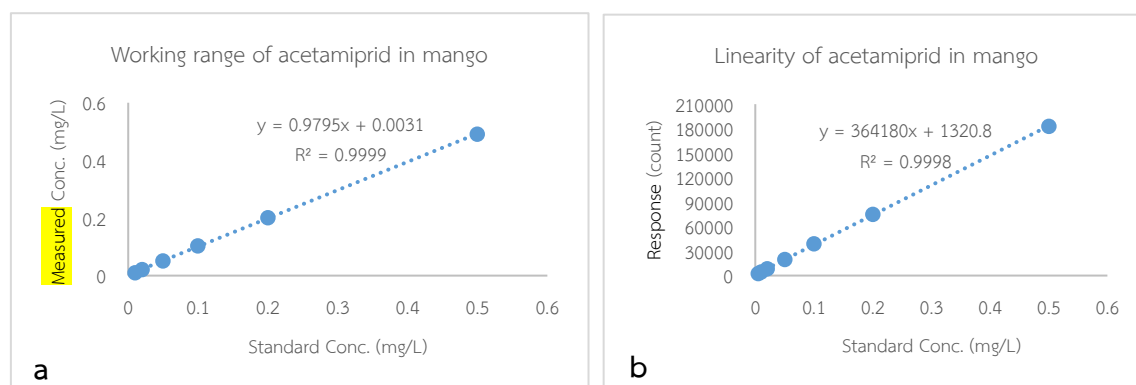


Figure 3 (a-b) Working range and linearity standard curve of the acetamiprid in mango

2. ผลการทดสอบความคงตัวของสาร (storage stability)

ผลการทดสอบความคงตัวของสาร acetamiprid ในมะม่วง ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส ครอบคลุมช่วงของการวิเคราะห์ เวลา 120 วัน ดังแสดงใน Table 7 พบว่าจากระยะเวลา 0 วัน (zero-time) มีค่าความเข้มข้นของ acetamiprid ที่ 0.1099 0.1102 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระยะเวลา 30 วัน มีค่า 0.1156 0.1033 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระยะเวลา 60 วัน มีค่า 0.0968 0.0973 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระยะเวลา 90 วัน มีค่า 0.0929 0.0910 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และที่ระยะเวลา 120 วัน มีค่า 0.0922 0.0866 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แนวโน้มการลดลงของสาร acetamiprid จาก zero-time จนถึงระยะเวลา 120 วัน คิดเป็น 18.64 % ซึ่งค่าที่ลดลงไม่เกิน 30 % (OECD, 2007) นั่นคือตลอดระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง 120 วัน สาร acetamiprid ในตัวอย่างมะม่วงยังมีความคงตัวครอบคลุมช่วงของการวิเคราะห์ ซึ่งในการวิเคราะห์แต่ละครั้งมีการควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์โดยการทำ Procedural Recovery คือการเติม (fortified) สารมาตรฐานของ acetamiprid ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างมะม่วงในวันที่สกัดหรือวันที่วิเคราะห์นั้นๆ ซึ่งเป็นความเข้มข้นเดียวกันกับความเข้มข้นที่ใช้ศึกษาความคงตัวของ flonicamid ในมะเขือเปราะ พบว่ามี % recovery อยู่ในช่วง 95-118 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่ 70-120 % (SANTE, 2021) ผลการศึกษาแสดงถึง ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid ยังมีความคงสภาพของสารซึ่งเป็นส่วนสนับสนุนผลของการทดลองให้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

Table 7 Stability test results of acetamiprid residue in mango

Fortification level (mg/kg)	Storage interval (day)	Procedural Recovery (%)	Residue in stored samples (mg/kg)	Uncorrected residues remained (%)
0.1	0	102, 107	0.1099, 0.1102	110, 110
	30	116, 118	0.1156, 0.1033	116, 103
	60	98, 102	0.0968, 0.0973	97, 97
	90	97, 100	0.0929, 0.0910	93, 91
	120	95, 98	0.0922, 0.0866	92, 87

3. ผลการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง acetamiprid ในมะม่วง

3.1 ร้อยละความถูกต้องของการพ่นสาร acetamiprid ลงในพื้นที่แปลงทดลอง

การศึกษการสลายตัวของสารพิษตกค้าง acetamiprid ทั้งหมด 6 แปลงทดลอง ทำการทดลองต่างสถานที่ ต่างฤดูกาล โดยแต่ละแปลงทดลองประกอบด้วย 2 แปลงย่อย ได้แก่ แปลงทดลองที่ไม่พ่นสารเป็นแปลงควบคุม (untreated plot) และแปลงทดลองที่พ่นสาร (treated plot) ทำการพ่น 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน คำนวณหาร้อยละความถูกต้องของการพ่นสาร (percent of target rate) ที่ลงในแปลงทดลอง โดยมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{Percent of Target Rate} = \frac{\text{Actual Total Pass Time}}{\text{Target time}} \times 100$$

Actual Total Pass Time คือ เวลาจริงที่ใช้ในการพ่นสาร
Target time คือ เวลาที่ได้จากการคำนวณ

Table 8 แสดงร้อยละความถูกต้องของการพ่นสารจะแสดงถึงประสิทธิภาพของกระบวนการทำงานในแปลงทดลองเช่น การคำนวณการใช้สาร การใช้น้ำต่อพื้นที่ อัตราการไหลของเครื่องพ่น การตวงสาร การเดินของผู้พ่น และการจับเวลา เป็นต้น ผลจากการคำนวณ พบว่าความถูกต้องของการพ่นสารเฉลี่ยของแปลงทดลองที่ 1-6 เท่ากับ 99.91 100.65 100.05 100.83 100.34 และ 104.22% ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับที่ 95-110%

Table 8 Percentage of acetamiprid pesticide applied to the experimental plot

แปลงทดลอง	พื้นที่ (m ²)	ร้อยละของปริมาณ acetamiprid ที่พ่นลงในพื้นที่แปลงทดลอง สูตร 20% W/W SP อัตราการใช้ 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
1	134.2	99.82	100.23	99.68	99.91
2	179.5	100.50	100.57	100.89	100.65
3	168.0	100.02	100.09	100.05	100.05
4	187.5	100.73	100.60	101.15	100.83
5	256.0	100.57	100.40	100.05	100.34
6	177.6	104.31	104.25	104.11	104.22

3.2 ปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid จากแปลงทดลอง

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid ในอัตราแนะนำ 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สูตร 20% SP ในมะม่วงหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 0 1 3 7 14 21 และ 28 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid ในมะม่วง แปลงทดลองที่ 1-6 แสดงใน **Table 9** ซึ่งในแต่ละครั้งที่ทำการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS มีการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ (Quality Assurance; QA) ด้วยการทำ concurrent recovery ของสารที่ระดับ LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และระดับเดียวกันกับปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างมะม่วง ตลอดจนการสกัดตัวอย่างซ้ำ (duplicate) เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าวิธีวิเคราะห์มีความแม่นยำและความเที่ยงในแต่ละครั้งที่ทำการทดสอบ

Table 9 Acetamidrid residue levels in mango over various time intervals from experimental plots 1 to 6

ระยะเวลา หลังการพ่น ครั้งสุดท้าย (วัน)	แปลง ควบคุม	ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, mg/kg) อัตราแนะนำ acetamidrid 20% W/W SP (3g/20L)									
		แปลงที่ 1			แปลงที่ 2			แปลงที่ 3	แปลงที่ 4	แปลงที่ 5	แปลงที่ 6
		เนื้อรวม เปลือก	เนื้อ	เปลือก	เนื้อรวม เปลือก	เนื้อ	เปลือก	เนื้อรวม เปลือก	เนื้อรวม เปลือก	เนื้อรวม เปลือก	เนื้อรวม เปลือก
0 ^{1/}	ND ^{2/}	0.06	0.01	0.43	0.09	0.01	0.58	0.16	0.15	0.05	0.15
1	ND	0.05	0.01	0.29	0.06	0.01	0.39	0.15	0.12	0.05	0.13
3	ND	0.03	0.01	0.25	0.04	0.01	0.22	0.13	0.07	0.04	0.07
7	ND	0.02	0.01	0.11	0.03	0.01	0.14	0.11	0.07	0.03	0.07
14	ND	0.02	<0.01	0.05	0.02	0.01	0.08	0.05	0.05	0.02	0.05
21	ND	0.01	<0.01	0.04	0.01	<0.01	0.03	0.03	0.02	0.01	0.02
28	ND	<0.01	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.02	0.01	0.01	<0.01	0.01

^{1/} ระยะเวลา 2 ชั่วโมงหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย

^{2/} ND คือ not detected; LOD = 0.005 mg/kg และ LOQ = 0.01 mg/kg

Table 9 แสดงผลปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamidrid ในมะม่วงจากแปลงทดลองที่ 1-6 ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสาร acetamidrid ในส่วนของเนื้อรวมเปลือกทั้ง 6 แปลงทดลอง และวิเคราะห์แยกส่วน เนื้อรวมเปลือก (flesh with peel) เนื้อ (flesh) และเปลือก (peel) ในแปลงทดลองที่ 1 และ 2 ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 0 (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 1 3 7 14 21 และ 28 วัน

แปลงทดลองที่ 1 ทำการทดลองที่ ต.ตลิ่งชัน อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี ในระหว่างเดือน มกราคม – มีนาคม 2565 และแปลงทดลองที่ 2 ทำการทดลองที่ ต.แก้มอัน อ.จอมบึง จ.ราชบุรี ระหว่างเดือน มีนาคม – เมษายน 2565 จากผลการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณสาร acetamidrid ตรวจพบปริมาณสูงในตัวอย่างเปลือกมะม่วง ที่ตรวจพบมีค่า 0.43 0.29 0.25 0.11 0.05 0.04 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงทดลองที่ 1 ตรวจพบในปริมาณ 0.58 0.39 0.22 0.14 0.08 0.03 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงทดลองที่ 2 ตามลำดับ ส่วนที่ตรวจพบรองลงมาคือในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือก มีค่า 0.06 0.05 0.03 0.02 0.01 และ <0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงทดลองที่ 1 ตรวจพบในปริมาณ 0.09 0.06 0.04 0.03 0.02 0.01 และ <0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแปลงทดลองที่ 2 และพบในปริมาณต่ำที่ระดับ LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในตัวอย่างเนื้อมะม่วง ซึ่งปริมาณสาร acetamidrid ที่ตรวจพบมีปริมาณใกล้เคียงกันทั้ง 2 แปลงทดลอง

สำหรับแปลงทดลองที่ 3 ทำการทดลองที่ ต.ปากน้ำ อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี ระหว่างเดือน มกราคม – กุมภาพันธ์ 2566 และแปลงทดลองที่ 4 ทำการทดลองที่ ต.หมอนนาง อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี ระหว่างเดือน มกราคม – กุมภาพันธ์ 2566 จากผลการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณสาร acetamidrid ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกมะม่วง ที่ตรวจพบมีค่า 0.16 0.15 0.13 0.11 0.05 0.03 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของแปลงทดลองที่ 3 ในขณะที่แปลงทดลองที่ 4 ตรวจพบปริมาณสารที่ 0.15 0.12 0.07 0.07 0.05 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 0 (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 1 3 7 14 21 และ 28 วัน ซึ่งปริมาณที่พบใกล้เคียงกันทั้ง 2 แปลงทดลอง

ในส่วนของแปลงทดลองที่ 5 ทำการทดลองที่ ต.หนองแห่น อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา ระหว่างเดือน พฤศจิกายน – ธันวาคม 2566 แปลงทดลองที่ 6 ทำการทดลองที่ ต.หนองตากยา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือนมกราคม – กุมภาพันธ์ 2567 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร acetamidrid ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกมะม่วงพบว่า แปลงทดลองที่ 5 มีปริมาณ 0.05 0.05 0.04 0.03 0.02 0.01 และ <0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่แปลงทดลองที่ 6 พบสาร acetamidrid ในปริมาณ 0.15 0.13 0.07 0.07 0.05 0.02 และ

0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 0 (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 1 3 7 14 21 และ 28 วัน ซึ่งปริมาณที่พบต่างกันเล็กน้อยสำหรับแปลงทดลองที่ 5 และ 6

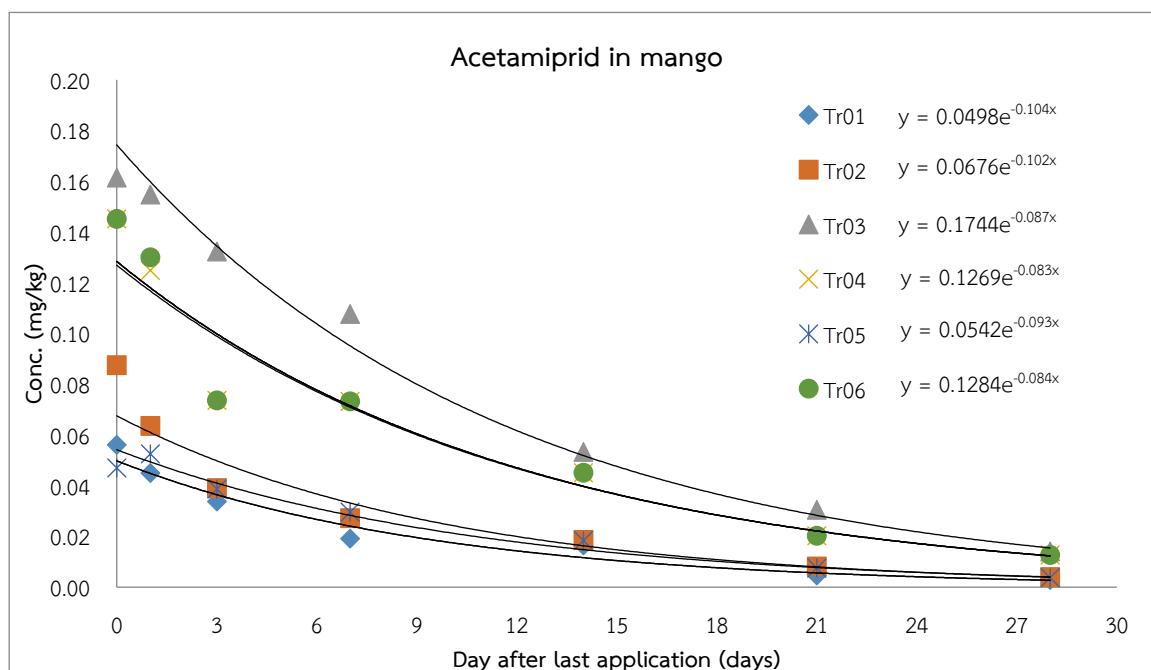


Figure 4 Degradation trend of acetamiprid in mango from experimental plots 1–6

Figure 4 แสดงแนวโน้มการสลายตัวของปริมาณสารพิษตกค้าง acetamiprid ในตัวอย่างเนื้อรวมเปลือกมะม่วง ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 0 (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 1 3 7 14 21 และ 28 วัน พบว่าแปลงทดลองที่ 3 มีค่าปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid สูงสุด อยู่ในช่วง 0.01-0.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รองลงมาคือแปลงทดลองที่ 4 และ 6 มีปริมาณสารอยู่ในช่วง 0.01-0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงทดลองที่ 1 2 และ 5 มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.01-0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งการสลายตัวของสารพิษตกค้างของ acetamiprid ในมะม่วงจากการทดลองทั้ง 6 แปลงทดลอง มีแนวโน้มค่อยๆ ลดลงตามระยะเวลาการเก็บเกี่ยวจนถึงระยะการเก็บเกี่ยวที่ 14 วัน ปริมาณสารพิษตกค้างมีความใกล้เคียงกัน ที่มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.02-0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และลดลงจนถึงที่ระดับ LOQ หรือต่ำกว่า LOQ ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่ 28 วัน

จากการศึกษานี้ สามารถประเมินค่า Maximum Residue Limit (MRL) ของ acetamiprid ในมะม่วงได้ โดยใช้ข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่เหลืออยู่หลังการพ่นสารในระยะเวลาต่างๆ ซึ่งจะช่วยในการกำหนดระยะเวลาที่ปลอดภัยสำหรับการเก็บเกี่ยว (Pre-Harvest Interval; PHI) และการประเมินความเสี่ยงจากการบริโภค สำหรับข้อมูล MRL ของ acetamiprid ในมะม่วงในประเทศไทย มีการกำหนดค่าในมาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002-2568 ซึ่งครอบคลุมถึงสารกำจัดศัตรูพืชในสินค้าเกษตรที่ใช้เป็นอาหารและอาหารสัตว์ กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของ acetamiprid ในมะม่วงที่ค่า 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มกษ, 2568) ซึ่งข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid ในมะม่วงที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ของทั้ง 6 แปลงทดลอง มีปริมาณสารพิษตกค้างไม่เกินค่า Thai MRL ซึ่งกล่าวได้ว่ามีความปลอดภัยในเบื้องต้น รวมไปถึงกระบวนการทดลองในห้องปฏิบัติการและแปลงทดลองมีความถูกต้องน่าเชื่อถือในข้อมูลที่ได้และเป็นประโยชน์ต่อการนำข้อมูลไปใช้ในอนาคต ทั้งนี้ ยังไม่มีการกำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ acetamiprid ในมะม่วงสำหรับ Codex และใน

ภูมิภาค ASEAN การศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในการพิจารณากำหนดค่า MRL และ PHI ของ acetamiprid ในมะม่วงในการกำหนด Codex MRL และ ASEAN MRL เป็นลำดับถัดไป

สรุปผลการทดลอง

การวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ acetamiprid ในมะม่วงเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ซึ่งได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ QuEChERS และหาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS พบว่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของวิธีวิเคราะห์ได้ดังนี้ 1.) วิธีวิเคราะห์สาร acetamiprid ในมะม่วงมี matrix effect ที่ 56.86% ซึ่งเกินเกณฑ์การยอมรับ 20% ดังนั้นในวิธีการวิเคราะห์ต้องใช้กราฟมาตรฐานที่เตรียมจาก matrix standard ในมะม่วง 2.) ค่าความแม่นยำ (trueness) ของวิธีวิเคราะห์โดยมี %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 70-114% และความเที่ยง (precision) ประเมินจากค่า %RSD อยู่ในช่วง 1.40-8.73% 3.) ช่วงของการวัดและความเป็นเส้นตรง (working range and linearity) ของวิธีวิเคราะห์มีค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง R^2 เท่ากับ 0.9999 และ 0.9998 โดยมีช่วงของการวัดที่ 0.01-0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 0.005-0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ 4.) ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้จากการทดสอบความคงตัวของสาร acetamiprid ในมะม่วงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างพบว่าจากระยะเวลา 0 วัน (zero-time) จนถึง 120 วันที่ครอบคลุมช่วงการวิเคราะห์ มีการลดลงของสาร acetamiprid ในมะม่วงที่ 18.64% ซึ่งไม่เกินเกณฑ์กำหนด

การศึกษการสลายตัวของสารพิษตกค้างของ acetamiprid ในมะม่วง เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง วางแผนการทดลองแบบ supervised residue trial ตาม Codex Guidelines ทำการทดลองจำนวน 6 แปลงต่างพื้นที่กัน พบว่าเมื่อใช้สาร acetamiprid 20% W/W SP อัตราแนะนำ 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 5-10 ลิตรต่อต้น พ่นสาร acetamiprid ในแปลงมะม่วงทุก 7 วัน จำนวน 3 ครั้ง โดยศึกษาในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พบว่าการสลายตัวของสาร acetamiprid มีแนวโน้มค่อยๆ ลดลงตามระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่ 0 (หลังการพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 1 3 7 14 21 และ 28 วัน ซึ่งพบการตกค้างของ acetamiprid ในปริมาณสูงสุดของตัวอย่างมะม่วง อยู่ในระยะเวลาก่อนเกี่ยว 0 วัน พบที่ปริมาณ 0.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในส่วนของเนื้อรวมเปลือก พบในปริมาณ 0.53 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในส่วนของเปลือก และส่วนเนื้อพบในปริมาณ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในทุกตัวอย่างของการทดลองทั้ง 6 แปลง จากการศึกษาจะนำไปใช้เป็นข้อมูลเพื่อเสนอพิจารณากำหนดค่า PHI การปรับค่า Thai-MRL และเพื่อเสนอต่อการกำหนดค่า ASEAN MRL และ Codex MRL ต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลการสลายตัวของ acetamiprid ในมะม่วง เพื่อนำไปใช้ในการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างของ ASEAN MRL และ Codex MRL ต่อไป
2. ข้อมูลระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม (PHI) และค่า MRL ที่ได้เป็นผลดีในด้านเศรษฐกิจ โดยใช้ในการต่อรองและรักษาสภาพประโยชน์ในการค้าขายผลผลิตทางการเกษตรระหว่างประเทศ
3. ข้อมูลจากการทดลองนี้นำไปเผยแพร่แก่นักวิชาการในกรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง นิสิต นักศึกษา ประชาชน เกษตรกร ได้ทราบถึงสารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช acetamiprid ในมะม่วงและข้อควรระมัดระวังการบริโภคให้ปลอดภัย

เอกสารอ้างอิง

- มกษ. 2568. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9002-2568. สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 385 หน้า
- ศรีจันทร์ ศรีจันทร์ และพฤติชาติ ปุณวัฒโท. 2566. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย...จากงานวิจัย ปี 2566. กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. 268 หน้า
- สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง พฤติชาติ ปุณวัฒโท เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และศรีจันทร์ ศรีจันทร์. 2564. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย...จากงานวิจัย ปี 2564. กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 280 หน้า.
- BS EN 15662. 2018. Food of plant origin–Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-Modular QuEChERS-method. 81 p.
- Codex Alimentarius. 2022. “Members” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/members/en/> (18 เมษายน 2565)
- FAO. 2016. FAO plant production and protection paper 225. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. FAO, Rome. 286 p.
- OECD. 2007. OECD Guideline for the testing of chemical. Test No 506: Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities. 12 p.
- SANTE. 2021. SANTE/11312/2021 Supersedes SANTE 12682/2019 Version 2. Implemented by 01/01/2022. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. 55 p.

[illegible]

บันทึกข้อความ

This image shows a full page of white paper with horizontal dotted lines, typical of primary school writing paper. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

บันทึกข้อความ

[illegible]

บันทึกข้อความ

[illegible]

Pesticide Research Group

**Soil Science
Research Group**



**Agricultural
Chemistry Group**



**Khon kaen Agricultural
Production Sciences Research
And Development Center**



กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

เลขที่ 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร
กรุงเทพฯ 10900

E-mail : apsrdo.kbv@doa.in.th

โทร : 0 2940 5754 ต่อ 2115 , 2117