

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในคะน้า
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1-3
*Residue Trials of Lufenuron in Chinese broccoli
to Establish Maximum Residue Limit (MRL) Trials 1-3*

ศศิณิภา คงเข้มดี สุพัตรี หนูสังข์ บุญทวีศักดิ์ บุญทวี
ประพันธ์ เคนท้าว จินตนา ภู่มงกุฏชัย
*Sasinida Khongchamdee Supattri Noosang Boonthaweesak Boonthawee
Praphan Kenthao Jintana Poomongkutchai*

กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The research studies on residue trials of lufenuron in Chinese broccoli to establish maximum residue limit. This study had three field trials were experimentally under the guideline and standard located in Nakhon Pathom Provinces (field trial 1 and 3) and Nonthaburi Provinces (field trial 2) from 2020 to 2021. The experimenters divided into 2 sub plots that consisted of the untreated plot and the treated plot which applied recommended dosage of lufenuron (trade name Match) 5% W/V EC performed with 30 mL/20 L of water (120 liters of water per rai). The lufenuron were applied on Chinese broccoli for 2 times every 7 days interval. After the last application, Chinese broccoli samples were collected at after application 2 hours (0 day), 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days. For residue analysis, lufenuron were determined via using LC-MS/MS. The limit of quantification (LOQ) was 0.005 mg/kg. The results showed that residues were not detected at all samples from the untreated plots. In contrast, the amounts of residues from the treated plots found 2.429, 2.354, 1.337, 1.141, 0.421, 0.391 and 0.147 mg/kg for the field trial 1. The residues for the field trial 2 were detected 2.880, 1.734, 0.848, 0.371, 0.393, 0.175 and 0.126 mg/kg. In the same way, the field trial 3 found 2.413, 1.219, 0.745, 0.446, 0.465, 0.211 and 0.141 mg/kg, respectively. From the results concluded that the Pre Harvest Interval (PHI) of lufenuron in Chinese broccoli at 5 days after application.

Keywords : Maximum Residue Limit (MRL), lufenuron, Chinese broccoli

บทคัดย่อ

การวิจัยการสลายตัวของสารพิษตกค้างลูเฟนนูรอน (lufenuron) ในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ดำเนินการปฏิบัติงานทดลองพ่นวัตถุอันตราย lufenuron ภายใต้คำแนะนำและมาตรฐานของวิธีใช้วัตถุเคมีพืชอย่างถูกต้องและปลอดภัย โดยทำการทดลองในแปลงคะน้าของเกษตรกรทั้งหมด 3 แปลงทดลอง ในพื้นที่จังหวัดนครปฐมและนนทบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2564 วางแผนการทดลอง supervised residue trials ตามข้อกำหนดของ FAO Plant Production and Protection Paper 225 (FAO, 2016) แปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุมที่ไม่พ่นวัตถุอันตราย lufenuron และแปลงที่ใช้วัตถุอันตราย lufenuron ชื่อการค้าแมทซ์ สูตร 5% W/V EC ตามอัตราแนะนำที่ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสาร lufenuron 2 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าตามระยะเวลาที่กำหนด ได้แก่ หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง (0 วัน) 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการวิเคราะห์ พบว่า แปลงควบคุมทั้ง 3 แปลงทดลอง ตรวจไม่พบสารตกค้าง lufenuron ในคะน้าทุกตัวอย่าง ส่วนแปลงทดลองที่พ่นสาร lufenuron ตามอัตราการใช้ที่แนะนำ ได้ปริมาณสารพิษตกค้าง ดังนี้ แปลงทดลองที่ 1 ตรวจพบสารตกค้างปริมาณ 2.429, 2.354, 1.337, 1.141, 0.421, 0.391 และ 0.147 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงทดลองที่ 2 พบสารตกค้างปริมาณ 2.880, 1.734, 0.848, 0.371, 0.393, 0.175 และ 0.126 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และแปลงทดลองที่ 3 พบสารตกค้างปริมาณ 2.413, 1.219, 0.745, 0.446, 0.465, 0.211 และ 0.141 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาต่างๆ ตามลำดับ จากข้อมูลปริมาณสารตกค้างดังกล่าวสามารถประเมินระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (PHI) ภายหลังจากใช้สาร lufenuron สูตร 5% W/V EC ตามอัตราแนะนำที่ 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ในคะน้าเท่ากับ 5 วัน

คำหลัก: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ลูเฟนนูรอน คะน้า

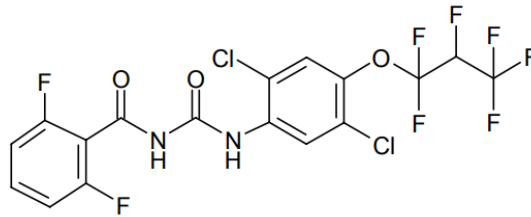
คำนำ

โดยทั่วไปการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่ยังมีความจำเป็นต่อภาคเกษตรกรรม ถึงแม้ว่าจะมีหลายวิธีที่สามารถใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ แต่เนื่องจากสารเคมีให้ประสิทธิภาพในระยะเวลาอันรวดเร็ว ประหยัดแรงงาน ช่วยลดความเสียหายจากการเข้าทำลายผลผลิตของศัตรูพืช ไม่ว่าจะเป็นแมลง โรคพืช วัชพืช หรือสัตว์ศัตรูพืช สามารถยับยั้งการระบาดของที่เกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่อง ทำให้ผลผลิตสม่ำเสมอ ไม่มีร่องรอยการถูกทำลายผลผลิตที่ได้ตรงต่อความต้องการของผู้บริโภคที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ตลอดทั้งปีประเทศไทยสามารถปลูกผักและผลไม้ได้หลากหลายชนิด จึงทำให้มีศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายให้แก่ผลผลิตทางการเกษตรได้เป็นจำนวนมาก คะน้าเป็นพืชอีกชนิดที่มักพบปัญหาการระบาดของทั้งจากโรคและแมลงศัตรูพืช จึงทำให้มีต้นทุนในการผลิตและจัดการค่อนข้างสูง

คะน้า (Chinese broccoli) เป็นพืชในตระกูลกะหล่ำที่นิยมนำมาบริโภค ไม่ว่าจะเป็นคะน้าต้นเล็กและต้นใหญ่ เนื่องจากหาซื้อง่าย ราคาไม่แพง สามารถบริโภคได้ทุกส่วน ทั้งลำต้น ยอด หรือใบ คะน้ามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ Brassica alboglabra จัดอยู่ในวงศ์ Cruciferae คะน้าปลูกได้ง่าย เจริญเติบโตได้ดีในทุกสภาพดิน ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการปลูกคะน้าจะอยู่ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนเมษายน มีระยะเวลาเก็บเกี่ยวสั้นประมาณ 45-55 วัน คะน้ามักจะพบปัญหาการระบาดของโรคแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรคราน้ำค้าง โรคโคนคะน้าเน่า โรคแผลน้ำตาไหล แมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนใยผัก หนอนคืบกะหล่ำ หนอนกระทู้ผัก หรือด้วงหมัดแถบลาย โดยสามารถพบการระบาดได้ทุกฤดู เกิดความเสียหายได้มากเนื่องจากเป็นหนอนที่มีขนาดใหญ่ เมื่อฟักออกจากไข่แล้ว หนอนจะกัดกินทุกส่วนของพืชทั้งใบ ก้าน ดอก และผล ทำให้คุณภาพของผลผลิตลดลง เกษตรกรผู้ปลูกจึงต้องมีความรู้เพื่อจัดการปัญหาได้อย่างถูกต้อง การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจึงเป็นอีกทางเลือกที่ปลอดภัย เพราะต้องการความสะดวกและประสิทธิภาพ จากคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำและรวบรวมวิธีการ

ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในค่น้ำ ทั้งการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสารชีวภัณฑ์ โดยให้ใช้เท่าที่จำเป็น เน้นการใช้สารที่มีฤทธิ์ตกค้างสั้น เพื่อเป็นหลักประกันความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค

ลูเฟนูรอน (lufenuron) เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่มเบนโซอิลยูเรีย (Benzoylureas) โดยมีโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 1 มีชื่อทางเคมีตามระบบ IUPAC คือ (RS)-1-[2,5-dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoro-propoxy)-phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)-urea สูตรโมเลกุล $C_{17}H_8Cl_2F_8N_2O_3$ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 511.2 องค์กรอนามัยโลกได้จัดให้ lufenuron อยู่ในกลุ่ม Class III (Slightly) ซึ่งมีระดับอันตรายน้อย โดยมีค่า LD_{50} (ขนาดที่ทำให้หนูทดลองตายจำนวนร้อยละ 50) มากกว่า 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีรายงานการกำหนดปริมาณของ lufenuron ที่มนุษย์สามารถบริโภคได้ต่อวัน (Acceptable Daily Intake, ADI) ได้ไม่เกิน 0-0.02 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว (WHO, 2019) lufenuron ออกฤทธิ์ควบคุมการเจริญเติบโต (Growth regulation) ยับยั้งการลอกคราบของหนอน โดยจะไปหยุดกระบวนการสร้างไคติน (chitin) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของผนังลำตัวแมลง ในระยะตัวอ่อนที่มีการสร้างไคตินใหม่ทดแทนของเดิม เมื่อถูกยับยั้งจะทำให้หนอนลอกคราบได้ไม่สมบูรณ์ ไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยและตายในที่สุด สารกลุ่มนี้นิยมใช้ป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อหลายชนิดเช่น หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม นอกจากนี้ยังมีผลต่อแมลงในกลุ่มอื่น เช่น ระยะหนอนของกลุ่มด้วง ตัวอ่อนของเพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แมลงหวี่ขาว ตัวอ่อนของกลุ่มแมลงวัน เป็นต้น (สุเทพ, 2552) จากคู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปแนะนำการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักโดยใช้ lufenuron 5% EC ในพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น ผักคะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดเขียวปลี ผักกาดขาวปลี ผักกาดหัว ในอัตราแนะนำ 20-30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง โดยเว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2560)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของ lufenuron (FAO, 2015)

สำหรับการกำหนดชนิดของสารพิษตกค้างที่กำหนดให้ตรวจวิเคราะห์ (definition of the residue) ของวัตถุอันตราย lufenuron ที่ประชุม JMPR (FAO, 2015) ได้กำหนดให้การวิเคราะห์ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) และการประเมินความเสี่ยงทางด้านอาหาร (dietary risk assessment) ในพืชและสินค้าเกษตรจากผลิตภัณฑ์สัตว์ โดยพิจารณาปริมาณของ lufenuron แม้ว่า lufenuron จะมีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ในกลุ่มพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ความเป็นพิษอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างต่ำ แต่พบว่าปัจจุบันยังไม่มีกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ lufenuron ในกลุ่มพืชของประเทศไทย (Thai-MRL) (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) เช่นเดียวกับมาตรฐานของโคเด็กซ์ (CODEX)

ดังนั้น การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของ lufenuron ในค่น้ำ จะทำให้ได้ข้อมูลสารพิษตกค้าง lufenuron ในค่น้ำ เพื่อประกอบการพิจารณากำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด สามารถใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิตและควบคุมตรวจสอบ ทั้งยังสามารถกำหนดระยะเวลาตั้งแต่พ่นสารครั้งสุดท้ายจนถึงวันเก็บเกี่ยวหรือระยะเวลาปลอดภัยของการพ่นสารก่อนเก็บเกี่ยว (pre harvest interval: PHI) เพื่อให้เกษตรกรและผู้ที่สนใจนำสารไปใช้ได้อย่างถูกต้องและมีความปลอดภัย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิดเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) ขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร ชุดป้องกันสารพิษขณะพ่นวัตถุอันตรายพร้อมหน้ากาก ถุงมือ แวนตา หมวกและรองเท้าบูท (Personal Protective Equipment; PPE) นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (thermometer/humidity) เครื่องวัดความเร็วลม กระบอกตวงพลาสติกขนาด 2 ลิตร ถังน้ำพลาสติกขนาดบรรจุ 80-100 ลิตร กระดาษวัดค่า pH (universal pH paper) เครื่องแก้ว เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) และอุปกรณ์อำนวยความสะดวกอื่นๆ

2. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าความละเอียดทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว ตู้แช่ตัวอย่าง (freezer) เครื่องปั่นตัวอย่าง (food processor) ไมโครปิเปต (auto pipette) ปริมาตร 10-100, 20-200, 100-1000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว เครื่องเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge) เครื่องผสมตัวอย่างสาร (vortex mixer)

3. เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ หลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด กระบอกตวง (cylinder) บีกเกอร์ (beaker) ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) หลอดหยดสาร (dropper) หลอดฉีดยา (syring) ขนาด 10 มิลลิลิตร และตัวกรองชนิด PTFE (PTFE syring filter) ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ขวดบรรจุสาร (vial) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และขวดบรรจุสาร (auto sampler) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร

4. เครื่องตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี 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 \times 100 mm) H15-21798 5603-0148

สารเคมี

- วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้ในแปลงทดลอง lufenuron 5% W/V EC
- สารมาตรฐาน lufenuron ความบริสุทธิ์ 98.56% (Dr. Ehrenstorfer)
- สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile (CH_3CN) ชนิด HPLC grade, formic acid (CH_2O_2), ammonium formate, anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4), disodium hydrogencitrate ($\text{Na}_2\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{CO}_2)_3 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), trisodium citrate 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), graphitized carbon black (GCB), water (H_2O) ชนิด HPLC grade

วิธีการ

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation)

ก่อนตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคั้นน้ำ ทำการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์และ parameter ต่างๆ ดังนี้ ประเมินค่าความแม่นยำ (accuracy) จากร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) ประเมินค่าความเที่ยง (precision) โดยหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (Limit of Quantitation, LOQ) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (limit of detection, LOD) โดยเติมสารมาตรฐาน lufenuron ลงในตัวอย่างคั้นน้ำที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (fortified sample) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ สกัดตัวอย่างคั้นน้ำตามวิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) ดังนี้

1.1 ปั่นตัวอย่างคั้นน้ำด้วยไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) ให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นชั่งตัวอย่างคั้นน้ำ 10 ± 0.1 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมตัวละลาย acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่านาน 1 นาที

1.2 เติมสารสกัดที่ผสม anhydrous $MgSO_4$ 4.00 กรัม $Na_3C_3H_5O(CO_2)_3 \cdot 2H_2O$ 1 กรัม NaCl 1.00 กรัม และ $Na_2C_3H_5O(CO_2)_3 \cdot 1.5H_2O$ 0.50 กรัม ลงในหลอด centrifuge ดังกล่าว เขย่านาน 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

1.3 ปิเปตสารละลายเฉพาะส่วนไซปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารผสมของ GCB 50 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ anhydrous $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน (dispersive-SPE clean up) จากนั้นนำไป vortex นาน 1 นาที centrifuge ตัวอย่างดังกล่าวที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

1.4 กรองสารละลายส่วนใสผ่าน syringe filter ชนิด PTFE ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติม 10% formic acid ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในคั้นน้ำ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งสภาวะเหมาะสมของเครื่องตรวจวิเคราะห์ แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 1

1.5 เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0.0005-0.20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (working standard solution) โดยใช้ตัวอย่างคั้นน้ำ (matrix solution) จากวิธีที่สกัดตัวอย่าง QuEChERS (EN 15662: 2008) ปรับปริมาตร สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานในแกน x และสัญญาณของเครื่องมือที่ตรวจวัด (response) ในแกน y ซึ่งคำนวณจากพื้นที่ใต้พีค (peak area) ของสาร ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of determination; R^2) ที่ได้จากการสมการกราฟเส้นตรงต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด $R^2 \geq 0.995$ (SANCO, 2013)

ตารางที่ 1 สภาวะการทำงานของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

Column:	Kinetex 2.6 μm XB-C18 100 A (2.1 \times 100 mm) H15-21798 5603-0148			
Temperature ($^{\circ}C$):	40 $^{\circ}C$			
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			
	Time (min)	Flow rate (mL/min)	Mobile phase A	Mobile phase B
Elution gradient	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 ($^{\circ}C$):	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. การทำแปลงทดลองคะน้ำ

2.1 วางแผนการทดลองแบบ supervised residue trials โดยแบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลงควบคุมที่ไม่พ่นวัตถุอันตราย (untreated plot) และแปลงที่ฉีดวัตถุอันตราย lufenuron 5% W/V EC ชื่อการค้า แมทซ์ ในอัตราแนะนำ 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร (treated plot) อัตราน้ำที่แนะนำให้ใช้กับคะน้ำปริมาณ 120 ลิตรต่อไร่ ทำการพ่นวัตถุอันตราย 2 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 วัน

2.2 ก่อนพ่นวัตถุอันตราย lufenuron 5% W/V EC จะต้องทำการ calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้ คำนวณหาอัตราไหลของเครื่อง (flow rate) อัตราการใช้น้ำ ปริมาณวัตถุอันตราย เวลาที่ใช้เดินพ่นวัตถุอันตราย (target time) ต่อพื้นที่แปลงทดลอง และทดสอบจังหวะการเดินของผู้พ่น (speed calibration) เพื่อให้การพ่นสารมีความสม่ำเสมอ บันทึกข้อมูลดังกล่าว โดยคำนวณค่าร้อยละความถูกต้องของการพ่นวัตถุอันตราย (percent of target rate) รวมไปถึงข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในการดำเนินการทดลอง

2.3 หลังการพ่นวัตถุอันตรายครั้งสุดท้ายแล้ว สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้ำให้ได้ปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม โดยเว้นระยะไม่สุ่มตัวอย่างที่หัวแปลงและท้ายแปลง สุ่มตัวอย่างจำนวน 2 ซ้ำ ตามระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่กำหนด ได้แก่ หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง (0 วัน) 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน บรรจุตัวอย่างคะน้ำลงในถุงพลาสติก ปิดให้สนิท ตีป้ายฉลากให้ชัดเจน และบันทึกข้อมูลของการเก็บตัวอย่าง

2.4 ตัวอย่างคะน้ำที่ถูกสุ่มเก็บมาจะต้องอยู่ในสภาพเย็น เพื่อรักษาสภาพตัวอย่าง ภายในบรรจุเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) เพื่อบันทึกอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการให้นำตัวอย่างเก็บในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส โดยจะต้องบันทึกรหัสตัวอย่าง ระยะเวลาที่ใช้ในการขนส่ง และอุณหภูมิของตัวอย่าง หลังจากนั้นจึงดำเนินการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะน้ำต่อไป

3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะน้ำ

สกัดตัวอย่างคะน้ำด้วยวิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) ดังแสดงรายละเอียดตามขั้นตอนการสกัดตัวอย่างคะน้ำตามวิธี EN QuEChERS ตามข้อ 1.1 ถึง 1.4 นอกจากนี้ในแต่ละแปลงทดลองจะต้องมีการประกันคุณภาพของผลการทดสอบด้วยการหา %recovery ของ fortified sample ที่ความเข้มข้นระดับต่ำสุดหรือความเข้มข้นระดับ LOQ ที่ระดับความเข้มข้นกลาง และระดับความเข้มข้นสูงสุด โดยจะต้องครอบคลุมปริมาณของสารตกค้างที่ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ ทำการสกัดตัวอย่างซ้ำ (duplicate) เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีความน่าเชื่อถือในแต่ละครั้งที่ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในคะน้ำด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ระยะเวลา

เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการทดลอง

สถานที่ทำแปลงทดลอง

แปลงที่ 1 อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม – เมษายน 2563

แปลงที่ 2 อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม – เมษายน 2564

แปลงที่ 3 อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม ระหว่างเดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2564

สถานที่ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง lufenuron

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation)

ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง lufenuron ด้วยเครื่อง LC-MS/MS พบว่า lufenuron มีค่า retention time ที่ 5.18 นาที จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ สารพิษตกค้าง lufenuron ในค่น้ำ ด้วย วิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) สามารถประเมินค่า accuracy จากร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) ที่ระดับความเข้มข้น 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 95-115 ซึ่งมีเกณฑ์การยอมรับที่ร้อยละ 70-120 สำหรับ precision สามารถหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ได้จากการทำซ้ำ พบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 2-4 โดยช่วง %RSD ที่ยอมรับได้ คือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 (SANCO, 2013) แสดงให้เห็นได้ว่าวิธีนี้มีความถูกต้องและแม่นยำสูง ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (Limit of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (limit of detection, LOD) เท่ากับ 0.002 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง lufenuron ในค่น้ำ

spiked level (mg/kg)	%recovery (n=10)	%recovery average	SD	% RSD
0.002	95, 95, 95, 95, 95, 96, 100, 100, 101, 105	98	3.93	4
0.005	100, 102, 104, 105, 106, 108, 110, 111, 112, 114	107	4.57	4
0.01	106, 111, 112, 115, 116, 116, 117, 118, 118, 119	115	4.02	4
0.02	106, 110, 111, 112, 113, 113, 114, 116, 117, 118	113	3.52	3
0.05	92, 94, 94, 94, 94, 95, 96, 96, 97	95	1.43	2
0.10	102, 108, 108, 109, 109, 109, 110, 111, 111, 115	109	3.34	3

LOD = 0.002 mg/kg, LOQ = 0.005 mg/kg

2. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างค่น้ำจากแปลงทดลอง

ผลการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของสารกำจัดแมลง lufenuron ในตัวอย่างค่น้ำจากแปลงของเกษตรกรทั้งหมด 3 แปลง โดยพ่น lufenuron 5% EC ตามอัตราแนะนำ 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นวัตถุอันตราย 2 ครั้ง เว้นระยะพ่นห่างกันครั้งละ 7 สัปดาห์เก็บตัวอย่างค่น้ำตามระยะเวลาที่กำหนดนั้น พบว่าแปลงควบคุม (untreated plot) ทั้ง 3 แปลงทดลอง ตรวจไม่พบปริมาณสารตกค้างของ lufenuron ในทุกตัวอย่าง สำหรับแปลงที่พ่นวัตถุอันตราย lufenuron ตามอัตราแนะนำ (treated plot) ตรวจพบปริมาณสารตกค้าง lufenuron ดังนี้

2.1 แปลงทดลองค่น้ำครั้งที่ 1 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.เมืองนครปฐม จ.นครปฐม พิกัดแปลงทดลอง 13°52'09.2"N 100°04'20.7"E ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 2.429, 2.354, 1.337, 1.141, 0.421, 0.391 และ 0.147 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

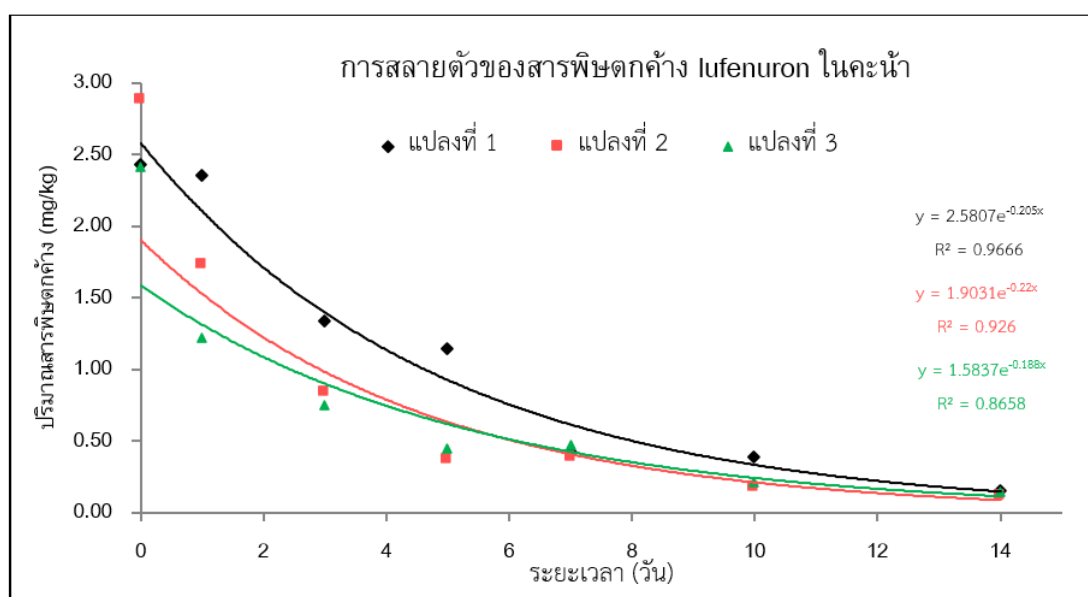
2.2 แปลงทดลองค่น้ำครั้งที่ 2 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี พิกัดแปลงทดลอง 13°54'42.7"N 100°25'04.8"E ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 2.880, 1.734, 0.848, 0.371, 0.393, 0.175 และ 0.126 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

2.3 แปลงทดลองคะแนครั้งที่ 3 ดำเนินการทดลองในพื้นที่ อ.เมืองนครปฐม จ. นครปฐม พิกัดแปลงทดลอง 13°51'37.7"N 99°56'57.8"E ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตพริก 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบสารตกค้าง lufenuron ปริมาณ 2.413, 1.219, 0.745, 0.446, 0.465, 0.211 และ 0.141 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ รายละเอียดปริมาณสารตกค้างและเส้นแนวโน้มการสลายตัวแสดงดังตารางที่ 3 และภาพที่ 2

ตารางที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะแนที่ระยะเวลาต่างๆ จากแปลงทดลองครั้งที่ 1-3

คะแน	ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จากระยะเวลาหลังการพ่นวัตถุพิษครั้งสุดท้าย (วัน)						
	0 วัน	1 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน	10 วัน	14 วัน
แปลงที่ 1	2.429	2.354	1.337	1.141	0.421	0.391	0.147
แปลงที่ 2	2.880	1.734	0.848	0.371	0.393	0.175	0.126
แปลงที่ 3	2.413	1.219	0.745	0.446	0.465	0.211	0.141
เฉลี่ย	2.574	1.769	0.977	0.653	0.426	0.259	0.138

LOD = 0.002 mg/kg, LOQ = 0.005 mg/kg



ภาพที่ 2 แนวโน้มการสลายตัวของสารพิษตกค้าง lufenuron ในตัวอย่างคะแนจากแปลงทดลองที่ 1-3

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง lufenuron ในคะแนทั้ง 3 แปลงทดลอง พบว่ามีการสลายตัวและปริมาณสารตกค้างลดลงเมื่อเว้นระยะวันในการเก็บเกี่ยวตัวอย่างให้นานขึ้น แต่อย่างไรก็ตามประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ (Maximum Residue Limit; MRL) ของ lufenuron ในคะแนหรือกลุ่มพืชใกล้เคียงเช่นเดียวกับมาตรฐานโคเด็กซ์ (CODEX) มาตรฐานของกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป (EU-MRL) และมาตรฐานของประเทศญี่ปุ่น (JAPAN MRL) มีเพียงมะเขือเทศและแตงกวาที่ระบุค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ lufenuron เท่ากับ 0.4 และ 0.09 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Codex, 2021) สำหรับสหภาพยุโรปกำหนดปริมาณสารตกค้างของ lufenuron ไวโนบร็อกโคลี คะแน (kale) เป็นค่า default limit ระบุให้ตรวจพบได้ไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (EU, 2021) เช่นเดียวกับประเทศญี่ปุ่น (Japan MRLs) กำหนดค่า lufenuron ในกะหล่ำปลีเท่ากับ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในคะแน (kale) เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผักกาดขาว 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม บร็อกโคลี 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มะเขือเทศ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นต้น (The Japan Food Chemical Research Foundation, 2017)

สำหรับการประเมินระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (Pre Harvest Interval; PHI) นั้น เนื่องจากยังไม่มี การกำหนดค่า MRL ของ lufenuron ในคะน้าตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น จึงพิจารณาจากค่า MRL ของกลุ่มพืชใกล้เคียงที่ ประเทศญี่ปุ่นกำหนดไว้ในคะน้า (kale) เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในคะน้าที่ได้จากงานวิจัยนี้ ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง) มีค่าปริมาณสารพิษ ตกค้างต่ำกว่าค่า Japan MRLs ที่กำหนด และเมื่อนำปริมาณสารตกค้างที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวดังกล่าว มาประเมิน ความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นต่อการได้รับสัมผัสจากการบริโภค โดยพิจารณาทั้งแบบเฉียบพลัน (acute dietary exposure) และแบบเรื้อรัง (chronic dietary exposure) ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 0 วัน (หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง) ถือว่า อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัย ซึ่งตรงกับค่าความปลอดภัยจากการได้รับสัมผัสแบบเฉียบพลัน (acute reference dose; ArfD) จากที่ประชุม JMPR (FAO, 2015) ซึ่งได้กำหนดให้ใช้เป็นค่าอ้างอิงได้ระบุไว้ว่า ArfD ของ lufenuron ไม่จำเป็นต้อง พิจารณา (unnecessary) เนื่องจากที่มติที่ประชุมเห็นควรว่าการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตร lufenuron ไม่ส่งผล กระทบที่น่ากังวลที่อาจจะทำให้ความเสี่ยงต่อสุขภาพ แต่อย่างไรก็ตามเพื่อความปลอดภัยต่อการบริโภคสูงสุดนั้น จึงควรเว้นระยะเก็บเกี่ยวภายหลังการใช้สาร lufenuron ในคะน้าตั้งแต่ 5 วันเป็นต้นไป

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ lufenuron ในคะน้า เพื่อกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด โดย ทำการทดลองการพ่นวัตถุอันตราย lufenuron ในคะน้า ตามอัตราแนะนำ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นวัตถุ อันตราย 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าหลังการพ่นวัตถุอันตราย นำ ตัวอย่างมาสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662: 2008) และวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากผล การวิเคราะห์ พบว่า lufenuron มีการสลายตัวและมีปริมาณลดลงเมื่อเว้นระยะในการเก็บตัวอย่างตามระยะเก็บเกี่ยว ที่กำหนด เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร lufenuron ที่ตกค้างในตัวอย่างคะน้า หลังการพ่นวัตถุอันตราย 2 ชั่วโมง (0 วัน) 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบว่า มีปริมาณสารตกค้างในตัวอย่างคะน้าเฉลี่ยจากทั้ง 3 แปลงทดลองเท่ากับ 2.574, 1.769, 0.977, 0.653, 0.426, 0.259 และ 0.138 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างคะน้าที่สุ่ม เก็บจากแปลงควบคุมทั้ง 3 แปลงทดลอง ตรวจไม่พบปริมาณสารพิษตกค้าง lufenuron ในทุกตัวอย่าง จากข้อมูล ปริมาณสารตกค้างดังกล่าว เมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นต่อการได้รับสัมผัสจากการบริโภค โดยพิจารณา ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง เพื่อความปลอดภัยต่อการบริโภคสูงสุดนั้น เห็นควรให้เว้นระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัย ภายหลังการใช้สาร lufenuron ในคะน้าเท่ากับ 5 วัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลปริมาณสารตกค้าง lufenuron ที่ได้จากการทดลอง และระยะปลอดภัยของการเก็บเกี่ยวภายหลังการ พ่นสารครั้งสุดท้าย สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเพื่อนำไปใช้สำหรับกำหนดเป็นค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ (Maximum Residue Limit; MRL) เผยแพร่แก่บุคคลหรือหน่วยงานที่สนใจได้ทราบ ทั้งยังใช้ในการตรวจสอบ ค่าแนะนำบนฉลากให้เหมาะสมตรงกับกลุ่มพืชที่ใช้

เอกสารอ้างอิง

- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2560. คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออก สหภาพยุโรป. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 53 หน้า
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร. มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุเทพ สหยา. 2552. สารป้องกันกำจัดแมลง และไรศัตรูพืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรแมลงและศัตรูศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14, 20 – 24 เมษายน 2552 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 45 หน้า
- CODEX – Pesticides database. 2021. [ระบบออนไลน์].
แหล่งที่มา http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codextexts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=286 (5 กรกฎาคม 2564)
- EN 15662: 2008. 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.
- EU – Pesticides database. 2021. [ระบบออนไลน์].
แหล่งที่มา https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticidesdatabase/mrls/?event=details&pest_res_ids=329&product_ids=135,143,142,144&v=1 (5 กรกฎาคม 2564)
- FAO. 2015. List of Pesticides evaluated by JMPR and JMPS [ระบบออนไลน์].
แหล่งที่มา http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation2015/LUFENURON__286_.pdf (30 เมษายน 2564)
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of Maximum Residue Levels in food and feed. Pesticide Residues. 3rd Edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO Plant Production and Protection Paper. 225, 298 pp.
- The Japan Food Chemical Research Foundation. 2017. “Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods.” [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=79300 (5 กรกฎาคม 2564)
- SANCO. 2013. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Union, Health and Consumer Protection Directorate General.
- WHO. 2019. The WHO Recommended Classification of Pesticide by Hazard and Guidelines to Classification [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332193/9789240005662-eng.pdf?ua=1> (30 เมษายน 2564)