

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

- 1. แผนงานวิจัย** วิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเพื่อการรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตและสินค้าพืช
- 2. โครงการวิจัย** การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลไม้และผัก
กิจกรรม การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างในผักบริโภคผล (fruiting vegetable) เพื่อ
กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (2560-2564)
- 3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของฟโลนิซามิด (flonicamid) ใน
มะเขือ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1-5
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Residue Trials Study of Flonicamid in Aubergine to
Establish the Maximum Residue Limit (MRLs) Trial 1-5
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวมัลลิกา ทองเขียว	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน	นายวิทยา บัวศรี	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นางสาวศศิมา มั่งนิมิตร	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นางสาวลักขมี เตชานุรักษ์นุกุล	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

5. บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างฟโลนิซามิด (flonicamid) ในมะเขือเปราะ (aubergine) เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limits, MRLs) ทำการทดลองทั้งหมด 5 ครั้ง จากแปลงมะเขือเปราะ 5 สถานที่ ในจังหวัดต่างๆ ได้แก่ กาญจนบุรี อ่างทอง สมุทรสาคร และ ราชบุรี (อ. โพธาราม และ อ. เมือง) ในช่วงเดือนมกราคม 2561-กุมภาพันธ์ 2563 แต่ละแปลงแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงที่ไม่พ่นสารใช้เป็นแปลงควบคุม (control) และแปลงที่พ่นสาร (treated) ทำการพ่นสารฟโลนิซามิด สูตร 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (7.5 g a.i./hL) อัตราการใช้น้ำ 100 ลิตรต่อไร่ โดยพ่นสารจำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ภายหลังจากพ่นครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่างมะเขือเปราะเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของฟโลนิซามิดที่ระยะเวลา 0 3 5 7 14 และ 21 วัน วิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS ผลการทดลองครั้งที่ 1-5 จากการใช้สารฟโลนิซามิดในอัตราที่กำหนด พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ยของฟโลนิซามิดในมะเขือเปราะหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ที่ระยะเวลา 0 3 5 7 14 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง 0.01-0.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 21 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง ไม่พบ-0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนตัวอย่างจากแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ทั้งนี้ยังไม่มีข้อกำหนดค่า Codex MRLs และ Thai MRLs ของสารฟโลนิซามิดในมะเขือ แต่ Codex มี

การกำหนดค่า MRL ในพืชกลุ่มผักบรีโคมผล นอกเหนือจากตระกูลแตง (fruiting vegetables, other than cucurbits) ที่ 0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าทุกระยะเวลาเก็บเกี่ยวมีค่าปริมาณสารพิษตกค้างต่ำกว่า Codex MRLs ที่กำหนดในพืชกลุ่มดังกล่าว ซึ่งชุดข้อมูลจากการทดลองนี้จะนำไปพิจารณา กำหนดค่า Thai MRLs, ASEAN MRLs และ Codex MRLs ในลำดับถัดไป

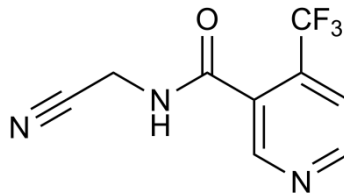
คำสำคัญ: โฟลนิซามิด มะเขือเปราะ ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

The objective of this research was to study of flonicamid in aubergine to establish the maximum residue limit. The five supervised trials were performed and five locations were conducted in Suphan Buri province, Kanchanaburi province, Ang Thong province, Samut Sakhon province and Ratchaburi province (Photharam and Mueang district) in the period of January 2018-February 2020. Each trial was divided into two plots which having non-spraying pesticide used as control and spraying pesticide used as a treated plot. The formulation of flonicamid used in 50% WG with recommended rate of 3 g/20 L (7.5 g a.i./hL) were used (recommended rate of water is 100 L/Rai) in this study. The pesticide was applied to the test plot for three times with 7 day intervals. After last application, the samples were collected for residue analysis at 0 3 5 7 14 and 21 days of after spraying. The residue of flonicamid was determined by using LC-MS/MS technique. Results showed the average residue found in the range 0.01-0.11 mg/kg for 0 3 5 7 14 days. The residue for 21 days was found in the range ND-0.01 mg/kg. Whereas, the Codex MRLs and Thai MRLs have not been set of flonicamid in aubergine, but Codex MRLs has been set for fruiting vegetables other than cucurbits at 0.4 mg/kg that the same crop group with aubergine. However, the flonicamid in all periods of applications in this study are lower than Codex MRLs setting in the fruiting vegetables other than cucurbits group. So, the data from this study will be used as Thai MRLs, ASEAN MRLs and Codex MRLs setting in the future.

Keyword: Flonicamid, Aubergine, Maximum Residue Limit

6. คำนำ

fonicamid มีชื่อทางเคมี N-cyanomethyl-4-(trifluoromethyl) nicotinamide มีสูตรโมเลกุล (molecular formula) $C_9H_6F_3N_3O$ มีมวลโมเลกุล (molecular weight) เท่ากับ 299.16 กรัมต่อโมล มีคุณสมบัติในการละลายน้ำ 5.2 กรัมต่อลิตร ที่ 20 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น acetone acetonitrile, ethyl acetate, methanol และ toluene เป็นต้น สารบริสุทธิ์เป็นของแข็งสีขาวนวล (off white) หรือสีเบจอ่อน (light beige) จุดหลอมเหลว 157.5 องศาเซลเซียส มีค่า ADI 0-0.07 มิลลิกรัมต่อ



กิโลกรัมของน้ำหนักตัวต่อวัน

ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ fonicamid

Fonicamid เป็นสารกำจัดแมลงชนิดดูดซึม (Systemic insecticide) จัดอยู่ในกลุ่มไพริดีนคาร์บอกซาไมด์ (pyridine carboxamide) ซึ่งจะเลือกออกฤทธิ์ได้อย่างรวดเร็วกับศัตรูพืชในกลุ่ม Hemipterous เช่น เพลี้ยอ่อน และหิ่งห้อย ศัตรูพืชกลุ่ม Thysanopterous เช่น เพลี้ยไฟ (JMPR, 2015)

กลไกการออกฤทธิ์ในการกำจัดแมลงได้ทั้งแบบกินตายและถูกตัวตาย โดยจะเข้าทำลายระบบประสาทส่วนกลางของแมลง ทำให้แมลงเป็นอัมพาต หยุดกินอาหารทันทีและตายในที่สุด และยังออกฤทธิ์ดูดซึมเข้าทางระบบรากสามารถป้องกันกำจัดแมลงที่หลบซ่อนอยู่บนต้นพืชและใต้ดิน

คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา แนะนำให้ใช้ fonicamid สำหรับกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย (*Amrasca biguttula ishida*) ในมะเขือ สูตรความเข้มข้น 50% WG อัตราการใช้ 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

มะเขือเปราะ (aubergine) จัดอยู่ในวงศ์ *Solanaceae* (วงศ์มะเขือ) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Solanum virginianum* L. ผลมะเขือสดใช้รับประทานเป็นผักคู่กับอาหารต่างๆ และใช้ประกอบอาหารได้ เป็นหนึ่งในกลุ่มผักสดแช่เย็นแช่แข็งส่งออกไปยังตลาดญี่ปุ่นและสหภาพยุโรป โดยในปี 2553 มูลค่าการส่งออกของผักสดแช่เย็นแช่แข็งไปยังตลาดญี่ปุ่นอยู่ที่ 2,898.8 ล้านบาทและมูลค่าการส่งออกไปยังตลาดสหภาพยุโรปอยู่ที่ 1,086 ล้านบาท (สิรินาฏ, 2554) ทั้งนี้จากข้อมูลปัญหาสารพิษตกค้างและปนเปื้อนในสินค้าผักจากไทย ในปี 2552 สหภาพยุโรปมีการตรวจที่เข้มงวดขึ้นทำให้มีการตรวจพบสารตกค้างและปนเปื้อนในสินค้าผัก 716 ครั้ง ในสินค้าผัก ผลไม้ และไม้ดอก การตรวจเข้มงวดมากขึ้นสำหรับการนำเข้าจากไทยสำหรับผักสด 16 ชนิดโดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ 1) กะเพรา โหระพา แมงลัก ยี่ห่วย 2) พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู 3) มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือม่วง มะเขือ

เหลืออง มะเขือขาว มะเขือขึ้น 4) มะระจีน มะระขึ้นก และ 5) ผักชีฝรั่ง ปลายปี 2553 สหภาพยุโรปเตรียมออกกฎระเบียบระงับการนำเข้าผักสดจากไทยเนื่องจากผักมีปัญหาด้านแมลงศัตรูพืชและปัญหาสารตกค้างปนเปื้อน (สำนักงานส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ ณ กรุงลอนดอน, 2556) ดังนั้นการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRLs) จึงมีความจำเป็นและสำคัญในการใช้เป็นข้อมูลเพื่อผลิตสินค้าเกษตรที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ป้องกันการกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศ ต่อรองด้านการค้าและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายสินค้าเกษตรระหว่างประเทศได้

7. วิธีดำเนินการ

7.1 อุปกรณ์

7.1.1 เครื่องมืออุปกรณ์

1. อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ นาฬิกาจับเวลา เครื่องบันทึกอุณหภูมิ เครื่องวัดความเร็วลม ชุดป้องกันสารพิษ ถังน้ำขนาด 100-200 ลิตร ป้ายปักแปลง และหมุดหัวน็อต
2. เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรด้วยมอเตอร์แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer)
3. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ centrifuge tube, vial, cylinder, beaker, volumetric flask และ PTFE syringe filter
4. เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ, micro pipette ที่ผ่านการสอบเทียบ food processor, vortex mixer และ centrifuge
5. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS)

7.1.2 สารเคมี

1. วัตถุอันตรายทางการเกษตรใช้ในแปลงทดลอง คือ flonicamid (50% WG)
2. สารมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ flonicamid 99.23% จากบริษัทผู้ผลิต Dr. Ehrenstorfer
3. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile (PR grade), formic acid, sodium chloride (NaCl) และ Magnesium sulfate ($MgSO_4$)

7.2 วิธีกร

7.2.1 การทดสอบวิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง โดยตัดขั้วมะเขือเปราะ ใช้มีดหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วปั่นตัวอย่าง ให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง (food processor) ตักใส่ถุงพลาสติกแล้วมัดปากถุงให้แน่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส ก่อนการนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

2. วิธีการวิเคราะห์ flonicamid ในตัวอย่างมะเขือเปราะด้วยวิธี acidified QuEChERS (EURL-SRM, 2015) และวิเคราะห์ปริมาณด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งมีวิธีการสกัดดังนี้ ชั่งตัวอย่างมะเขือเปราะ 10 กรัม เติม acetonitrile+1% formic acid ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที เติมสาร MgSO₄ 4 กรัม และ NaCl 1 กรัม เขย่าด้วย vortex mixer อีกครั้งเป็นเวลา 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm (revolutions per minute) เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายผ่าน PTFE ขนาด 0.2 ไมครอน นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

3. สภาวะเครื่อง LC-MS/MS ที่ใช้:

Agilent 6460 Triple Quad LC/MS

Agilent 1290 HPLC

3.1 MS QQQ Mass spectrometer conditions:

Ion source:	AJS ESI
Stop time (min):	1
Time Filter Width (min):	0.07
Scan type:	Dynamic MRM
Ion mode:	ESI+Agilent Jet Stream
Delta EMV:	500

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

3.2 HPLC conditions:

1) Injection:

Draw Speed: 100 µl/min

Eject Speed: 100 $\mu\text{l}/\text{min}$
 Draw Position Offset: 0.0 mm
 Wait Time After Drawing: 2.0 s
 Sample Flush Out Factor: 5.0
 Injection Mode: Injection with needle wash
 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 $^{\circ}\text{C}$
 Mobil phase A: 0.1% formic acid in water
 Mobil phase A: 0.1% formic acid in acetonitrile
 Total run time: 16.00 min
 Post run: 1.00 min

3) Flow rate and elution gradient:

Time (min)	Flow rate (ml/min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)	Pressure (bar), max
0.00	0.30	100	0	1000
2.00	0.30	60	40	1000
12.00	0.30	2	90	1000
14.00	0.30	2	90	1000
14.10	0.30	100	0	1000
16.00	0.30	100	0	1000

พารามิเตอร์ของ MS/MS: Multi Reaction Monitoring (MRM)

Compound	m/z quant	Precursor Ion	Product Ion	Dwell	CE
flonicamid	203	230	203	30	15
		230	174	30	20
		230	148	30	30
		230	79	30	50

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation) โดยการศึกษา

4.1 Matrix effect ได้จากการเปรียบเทียบความชัน (slope) ของกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารมาตรฐานที่เตรียมในสารสกัดของมะเขือเปราะ (matrix standard) ที่ไม่มีสารตรงกับสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์กับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานในตัวทำละลาย acetonitrile (solvent standard) ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

4.2 ความแม่นยำ (accuracy) ได้จากการหาเปอร์เซ็นต์ที่ได้กลับคืนมา (%recovery) และความเที่ยง (precision) ที่ได้จากการทำซ้ำ (replicate) โดยการเติมสารมาตรฐาน (fortified standard) ลงในตัวอย่างมะเขือเปราะ ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 0.01 0.05 0.1 0.2 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 5 ซ้ำ ทำการสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างตามวิธีการ acidified QuEChERS

4.3 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) (ทิพวรรณ, 2549) โดยการเติมสารมาตรฐาน (fortified standard) ลงในตัวอย่างมะเขือเปราะที่ระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ คือ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 5 ซ้ำ ทำการสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างตามวิธีการ acidified QuEChERS แล้วนำไปคำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.4 ช่วงของการวัดและความเป็นเส้นตรง (working range and linearity) (ทิพวรรณ, 2549) โดยนำค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของผลการทดสอบ accuracy ที่ความเข้มข้น 0.005 0.01 0.05 0.1 0.2 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาพล็อตกราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นที่ต้องการวิเคราะห์กับความเข้มข้นจากการคำนวณและประเมินความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงจากค่า $R^2 \geq 0.990$ (Eurachem, 2014)

7.2.2 การทำแปลงทดลอง

การทดลองดำเนินการทดลองแบบ Supervised Residue Trials ตาม Codex Guidelines (FAO, 2016) ทำแปลงทดลอง 5 แปลง (ครั้ง) โดยทดลองในสถานที่ต่างกัน ศึกษาการสลายตัวของสารที่ระยะเวลาต่างๆ ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย

1. การสำรวจและปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

1.1 สำรวจและเลือกพื้นที่ทำแปลงทดลองมะเขือเปราะจำนวน 5 แปลงทดลอง โดยแต่ละแปลงทดลองอยู่ห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร มะเขือมีอายุมากกว่า 3 เดือน มีจำนวนต้นอย่างน้อย 20-25 ต้นต่อ 1 ซ้ำของการทดลอง ซึ่งต้องให้ผลผลิตเพียงพอสำหรับใช้เป็นตัวอย่างสำหรับ 6 กรรมวิธีที่กำหนดคือระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย

1.2 การเตรียมแปลงทดลอง แต่ละแปลงทดลองใช้วิธีการพ่นทางใบ (foliar applications) โดยแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงที่ไม่พ่นสารใช้เป็นแปลงควบคุม (control) และแปลงที่พ่นสาร (treated) ตามอัตราแนะนำการใช้ คือ flonicamid สูตร 50% WG อัตราที่ใช้ 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราการใช้น้ำ 100 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี ได้แก่ ระยะเวลาเก็บตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างที่ 0 3 5 7 14 และ 21 วัน ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย และระยะระหว่าง treated และ control มีระยะห่างประมาณ 30 เมตร เพื่อป้องกันการปนเปื้อนขณะพ่นสาร

1.3 ทำการเตรียมเครื่องพ่นสารก่อนการพ่น โดยหาอัตราการไหล (flow rate) ของเครื่องคำนวณเวลาที่ใช้ และทดสอบจังหวะการเดินจนได้ตามเวลาที่กำหนด เพื่อควบคุมให้การพ่นให้มีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง กระบวนการดังกล่าวจะควบคุมความถูกต้องแม่นยำของการพ่นสารลงในแปลงทดลอง

1.4 ทำการพ่นสารครั้งแรกก่อนการเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 1 เดือน โดยพ่นสาร 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ในการทดลองครั้งที่ 1 พ่นสารในวันที่ 15 22 และ 31 มกราคม 2561 การทดลองครั้งที่ 2 พ่นสารในวันที่ 26 กุมภาพันธ์ วันที่ 5 และ 13 มีนาคม 2561 การทดลองครั้งที่ 3 พ่นสารในวันที่ 19 26 ธันวาคม 2561 และวันที่ 3 มกราคม 2562 การทดลองครั้งที่ 4 พ่นสารในวันที่ 16 23 และ 31 มกราคม 2562 และการทดลองครั้งที่ 5 พ่นสารในวันที่ 6 13 และ 20 มกราคม 2563

2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงทดลอง ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย เก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 0 (หลังพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 3 5 7 14 และ 21 วัน ตามลำดับ รวมทั้งหมด 6 ครั้ง โดยทั้งแปลง control และ treated สุ่มเก็บตัวอย่างให้ได้อย่างน้อย 2 กิโลกรัม จำนวน 1 ตัวอย่างต่อ 1 ซ้ำ บรรจุตัวอย่างในถุงพลาสติกและใช้ยางรัดให้แน่น แช่ในถังน้ำแข็งที่อุณหภูมิต่ำ นำส่งห้องปฏิบัติการวิจัยสารพิษตกค้างเพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ในมะเขือเปราะต่อไป

7.2.3 การทดสอบความคงตัวของสาร (storage stability) โดยทำการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างมะเขือเปราะที่ความเข้มข้น 10 เท่าของขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ($10 \times \text{LOQ}$) นั่นคือความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเก็บตัวอย่างในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวิเคราะห์สาร flonicamid ในมะเขือเปราะ ที่ระยะการเก็บตัวอย่าง 0 30 60 และ 90 วัน

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2560 – กันยายน 2563

สถานที่ดำเนินการ : การทดลองครั้งที่ 1 ในพื้นที่ ต. วังขนาย อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี

: การทดลองครั้งที่ 2 ในพื้นที่ ต. อบทม อ. สามโก้ จ. อ่างทอง

: การทดลองครั้งที่ 3 ในพื้นที่ ต. ท่าชุมพล อ. โพธาราม จ. ราชบุรี

: การทดลองครั้งที่ 4 ในพื้นที่ ต. หอนงนไช้ อ. กระจุกแบน จ. สมุทรสาคร

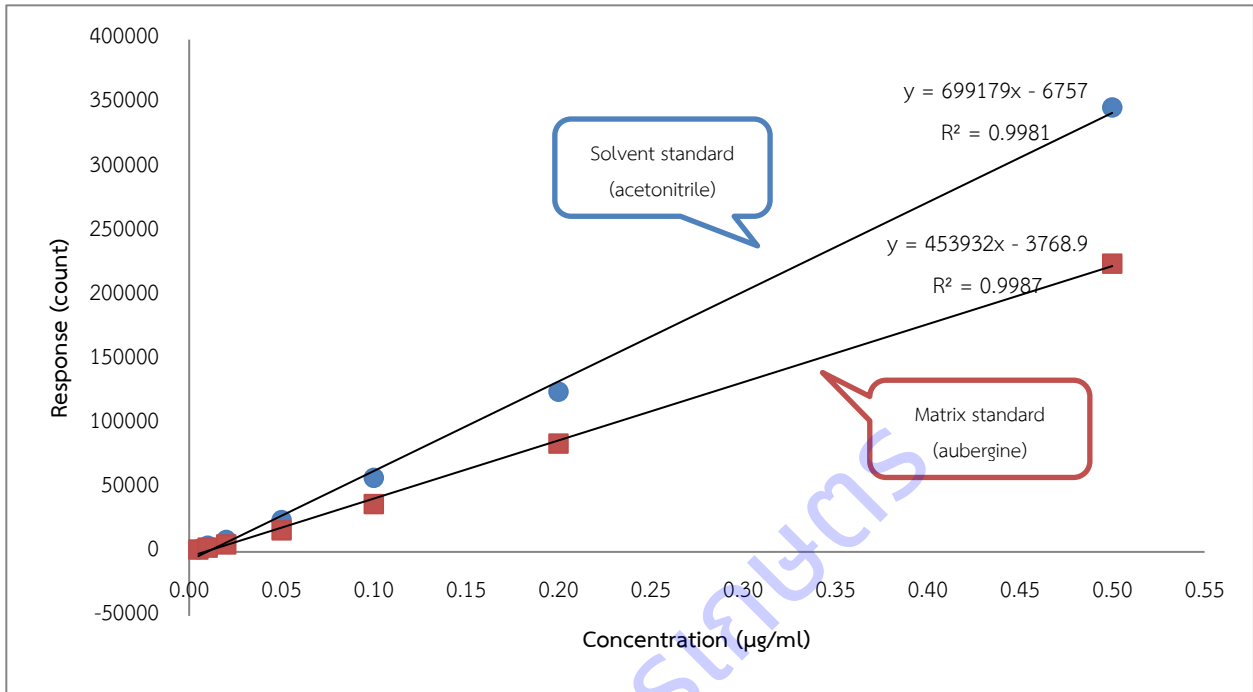
: การทดลองครั้งที่ 5 ในพื้นที่ ต. น้ำพุ อ. เมือง จ. ราชบุรี

: ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

8.1.1 ผลจากการศึกษา matrix effect พบว่า matrix effect เท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์โดยมีเกณฑ์กำหนด ME% มากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ (SANTE, 2017) แสดงว่าสารชนิดนั้นเกิด matrix effect ซึ่งไม่สามารถใช้กราฟมาตรฐานของ solvent standard แทน matrix standard ในการเทียบหาความเข้มข้นของสารได้ โดยค่าความชัน (slope) ของสารมาตรฐานในสารสกัดของมะเขือเปราะ (matrix standard) น้อยกว่าความชันของสารมาตรฐานใน acetonitrile (solvent standard) ดังนั้นในวิธีการวิเคราะห์จึงเตรียมสารมาตรฐานในสารสกัดของมะเขือเปราะ



ภาพที่ 2 ลักษณะ matrix effect curve ของ flonicamid ในมะเขือเปราะ

$$\text{Matrix effect (ME\%)} = (a_{\text{matrix}}/a_{\text{standard}}) - 1 \times 100$$

เมื่อ a_{matrix} = ค่า slope ของ matrix standard

a_{standard} = ค่า slope ของ solvent standard

8.1.2 ผลจากการหาความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ พบว่า มี %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 71-115 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่ 70-120 เปอร์เซ็นต์ และความเที่ยง (precision) คือ การหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ได้จากการทำซ้ำ พบว่า %RSD อยู่ในช่วง 3.90-14.51 เปอร์เซ็นต์ โดยมีช่วงการยอมรับที่ ≤ 20 เปอร์เซ็นต์ (SANTE, 2017) แสดงในตารางที่ 1

8.1.3 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงในตารางที่ 1

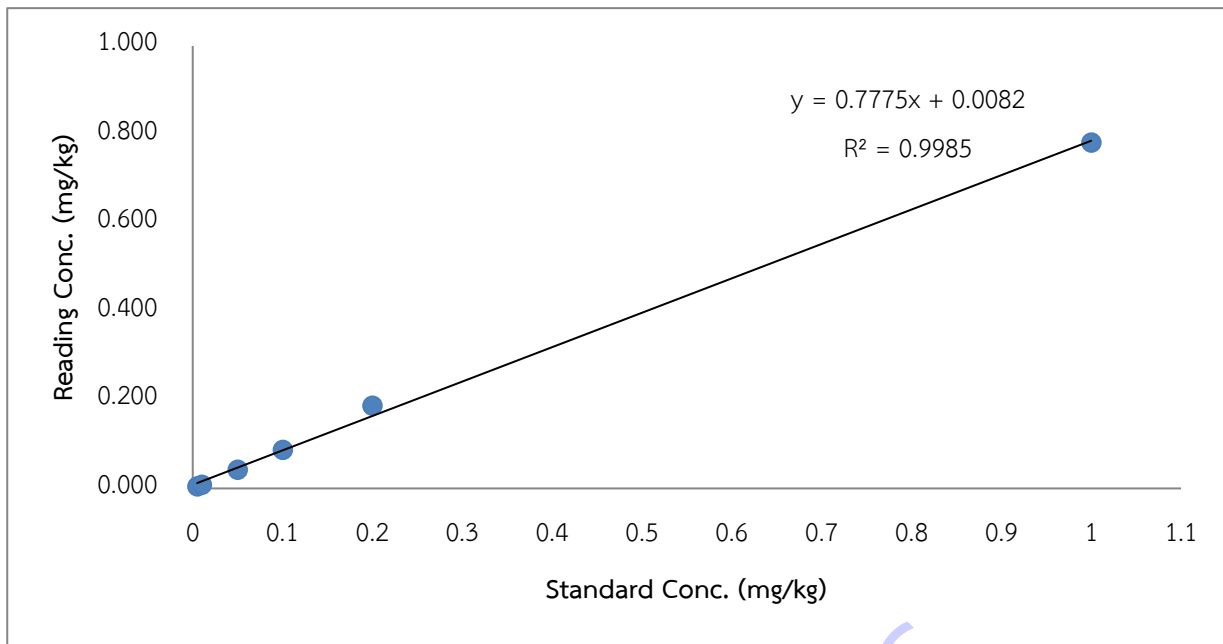
ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ flonicamid

No	Fortified Level (mg/kg)	Recovery (%)					Average Recovery (%)	RSD (%)
							(n=5)	(n=5)
1	0.005 ^{1/}	76	87	93	96	115	93	14.51
2	0.01 ^{2/}	74	82	73	74	89	78	6.84
3	0.05	96	91	90	71	73	84	11.29
4	0.1	93	96	92	81	72	87	9.93
5	0.2	104	96	109	112	99	104	6.47
6	1.0	81	75	79	72	81	77	3.90

^{1/} หมายถึง Limit of Detection (LOD)

^{2/} หมายถึง Limit of Quantitation (LOQ)

8.1.4 ช่วงของการวัดและความเป็นเส้นตรง (working range and linearity) จากการหาช่วงของการวัดและความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง flonicamid ในมะเขือเปราะ โดยการพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นที่ spike ลงใน sample blank (แกน X) และค่าความเข้มข้นจากการคำนวณ (แกน Y) พบว่า กราฟมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยประเมินจากค่า R^2 ที่มีค่า 0.9985 ดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ $R^2 \geq 0.990$



ภาพที่ 3 ลักษณะ linear curve ของ flonicamid ในมะเขือเปราะ

ในแต่ละครั้งที่ทำการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS มีการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ (quality assurance, QA) ด้วยการทำ concurrent recovery ของสารที่ระดับ LOQ (0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และระดับเดียวกันกับปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่างมะเขือเปราะ ตลอดจนการสกัดตัวอย่างซ้ำ (duplicate) เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าวิธีวิเคราะห์มีทั้งความแม่นยำและความเที่ยงในแต่ละครั้งที่ทำการทดสอบ ผลที่ได้ของการทำ concurrent recovery ในการทดลองแต่ละครั้งกล่าวในหัวข้อ 8.2

8.2 ปริมาณสารพิษตกค้างจากแปลงทดลอง

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ในอัตราแนะนำ 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สูตร 50% WG ในมะเขือเปราะ หลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้ายสู่เมล็ดตัวอย่างที่ระยะเวลา 0 3 5 7 14 และ 21 วัน มีปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ในตัวอย่างมะเขือเปราะ แสดงในตารางที่ 2-6

ตารางที่ 2 ปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ครั้งที่ 1 ที่ระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากการใช้วัตตุมี่พิษ

Day after last application	Residue concentration (mg/kg)					Average (mg/kg) n=3
	Control	flonicamid (50% WG) recommended rate (3 g/20 L)				
		R1	R2	R3		
0 ^{1/}	ND ^{2/}	0.12	0.08	0.12	0.11	
3	ND	0.09	0.11	0.09	0.10	
5	ND	0.08	0.09	0.07	0.08	
7	ND	0.07	0.06	0.06	0.06	
14	ND	0.03	0.03	0.02	0.03	
21	ND	ND	ND	ND	ND	

หมายเหตุ

^{1/} หมายถึง 2 ชั่วโมงหลังจากการพ่นวัตตุมี่พิษครั้งสุดท้าย

^{2/} หมายถึง Not Detected หรือ < Limit of Detection (LOD) = 0.005 mg/kg

การทดลองครั้งที่ 1 ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 0 3 5 7 และ 14 วัน พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ปริมาณ 0.11 0.10 0.08 0.06 และ 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 21 วัน โดยการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์มี concurrent recovery ของ flonicamid ที่ความเข้มข้นระดับ 0.01 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วง 70-93 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ครั้งที่ 2 ที่ระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากการใช้วัตตุมี่พิษ

Day after last application	Residue concentration (mg/kg)					Average (mg/kg) n=3
	Control	flonicamid (50% WG) recommended rate (3 g/20 L)				
		R1	R2	R3		
0 ^{1/}	ND ^{2/}	0.05	0.07	0.07	0.06	
3	ND	0.04	0.05	0.07	0.05	
5	ND	0.03	0.02	0.04	0.03	
7	ND	0.03	0.02	0.03	0.03	
14	ND	0.01	0.01	0.01	0.01	
21	ND	ND	ND	ND	ND	

หมายเหตุ

^{1/} หมายถึง 2 ชั่วโมงหลังจากการพ่นวัตตุมี่พิษครั้งสุดท้าย

^{2/} หมายถึง Not Detected หรือ < Limit of Detection (LOD) = 0.005 mg/kg

การทดลองครั้งที่ 2 ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 0 3 5 7 และ 14 วัน พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ปริมาณ 0.06 0.05 0.03 0.03 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 21 วัน เช่นเดียวกับการทดลองครั้งที่ 1 โดยการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์มี concurrent recovery ของ flonicamid ที่ความเข้มข้นระดับ 0.01 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วง 106-116 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 ปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ครั้งที่ 3 ที่ระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากการใช้วัตถุมีพิษ

Day after last application	Residue concentration (mg/kg)				Average (mg/kg) n=3
	Control	flonicamid (50% WG) recommended rate (3 g/20 L)			
		R1	R2	R3	
0 ^{1/}	ND ^{2/}	0.05	0.04	0.06	0.05
3	ND	0.02	0.03	0.02	0.02
5	ND	0.02	0.03	0.02	0.02
7	ND	0.02	0.02	0.01	0.02
14	ND	0.01	0.01	0.01	0.01
21	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ

^{1/} หมายถึง 2 ชั่วโมงหลังจากการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย

^{2/} หมายถึง Not Detected หรือ < Limit of Detection (LOD) = 0.005 mg/kg

การทดลองครั้งที่ 3 ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 0 3 5 7 และ 14 วัน พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ปริมาณ 0.05 0.02 0.02 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 21 วัน เช่นเดียวกับการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 โดยการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์มี concurrent recovery ของ flonicamid ที่ความเข้มข้นระดับ 0.01 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วง 99-116 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ครั้งที่ 4 ที่ระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากการใช้วัตถุมีพิษ

Day after last application	Residue concentration (mg/kg)					Average (mg/kg) n=3
	Control	flonicamid (50% WG) recommended rate (3 g/20 L)				
		R1	R2	R3		
0 ^{1/}	ND ^{2/}	0.09	0.09	0.05	0.08	
3	ND	0.04	0.02	0.05	0.04	
5	ND	0.04	0.03	0.04	0.04	
7	ND	0.02	0.02	0.04	0.03	
14	ND	0.01	0.01	0.02	0.01	
21	ND	0.01	0.01	0.01	0.01	

หมายเหตุ

^{1/} หมายถึง 2 ชั่วโมงหลังจากการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย

^{2/} หมายถึง Not Detected หรือ < Limit of Detection (LOD) = 0.005 mg/kg

การทดลองครั้งที่ 4 พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวทั้งหมด 0 3 5 7 14 และ 21 วัน ในปริมาณ 0.08 0.04 0.04 0.03 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์มี concurrent recovery ของ flonicamid ที่ความเข้มข้นระดับ 0.01 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วง 79-101 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 ปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ครั้งที่ 5 ที่ระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากการใช้วัตถุมีพิษ

Day after last application	Residue concentration (mg/kg)					Average (mg/kg) n=3
	Control	flonicamid (50% WG) recommended rate (3 g/20 L)				
		R1	R2	R3		
0 ^{1/}	ND ^{2/}	0.04	0.03	0.05	0.04	
3	ND	0.02	0.02	0.02	0.02	
5	ND	0.02	0.02	0.02	0.02	
7	ND	0.01	0.01	0.01	0.01	
14	ND	0.01	0.01	0.01	0.01	
21	ND	ND	ND	ND	ND	

หมายเหตุ

^{1/} หมายถึง 2 ชั่วโมงหลังจากการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย

^{2/} หมายถึง Not Detected หรือ < Limit of Detection (LOD) = 0.005 mg/kg

การทดลองครั้งที่ 5 ผลการทดสอบเป็นเช่นเดียวกับการทดลองครั้งที่ 1 2 และ 3 คือที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 0 3 5 7 และ 14 วัน พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ปริมาณ 0.04 0.02 0.02 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้างของ flonicamid ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว 21 วัน โดยการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์มี concurrent recovery ของ flonicamid ที่ความเข้มข้นระดับ 0.01 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วง 80-98 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ในมะเขือเปราะจากการทดลองครั้งที่ 1-5

Day after last application	Supervised trials (average concentration, mg/kg), n=3					Range (mg/kg) n=5	
	Control	flonicamid (50% WG)					
		recommended rate (3 g/20 L)					
		Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5	
0 ^{1/}	ND ^{2/}	0.11	0.06	0.05	0.08	0.04	0.04-0.11
3	ND	0.10	0.05	0.02	0.04	0.02	0.02-0.10
5	ND	0.08	0.03	0.02	0.04	0.02	0.02-0.08
7	ND	0.06	0.03	0.02	0.03	0.01	0.01-0.06
14	ND	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01-0.03
21	ND	ND	ND	ND	0.01	ND	ND-0.01
Concurrent recovery (%)		70-93	106-116	99-116	79-110	80-98	

หมายเหตุ

^{1/} หมายถึง 2 ชั่วโมงหลังจากการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย

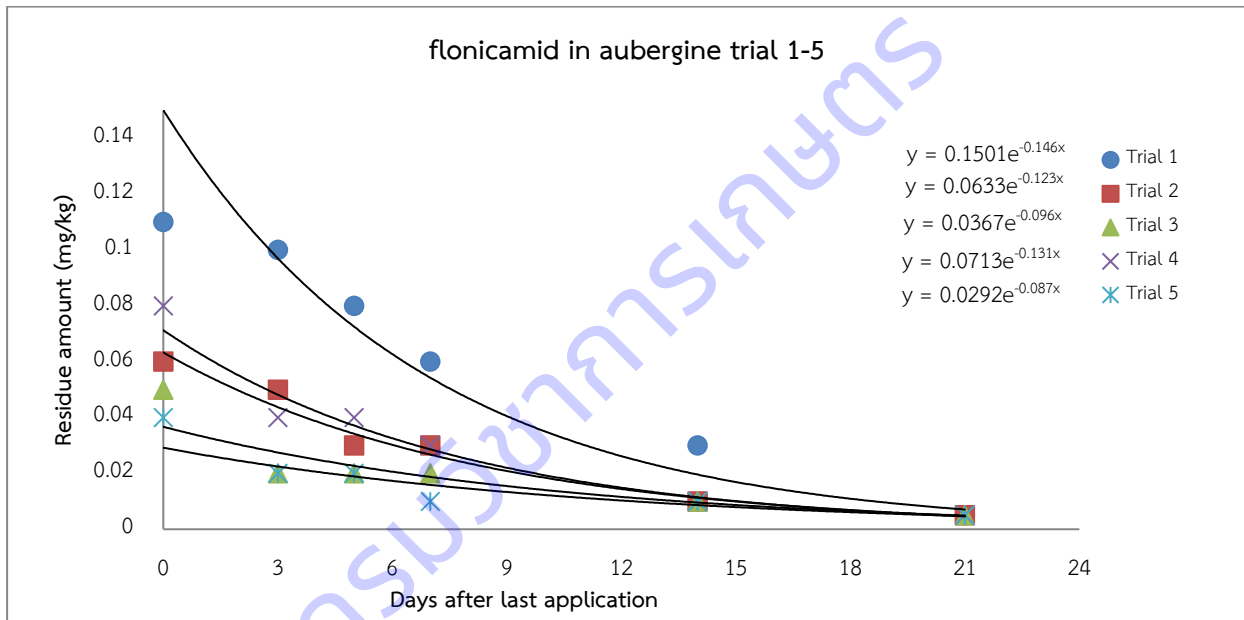
^{2/} หมายถึง Not Detected หรือ < Limit of Detection (LOD)

Limit of Detection (LOD) ของ flonicamid เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Limit of Quantification (LOQ) ของ flonicamid เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณเฉลี่ยของสารพิษตกค้างของ flonicamid จากการทดลองครั้งที่ 1-5 ข้อมูลจากทั้ง 5 การทดลองนี้จะนำไปพิจารณาค่า MRL และ PHI ของสาร flonicamid ในมะเขือของประเทศไทย ซึ่ง Codex และสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและมาตรฐานแห่งชาติ (มกอช.) ประเทศไทย ยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ของ flonicamid ในมะเขือ แต่มีการกำหนดค่า MRL ของพืชในกลุ่มเดียวกันกับมะเขือคือกลุ่มหลัก 012 ผักบริโภคผล นอกเหนือจากตระกูลแตง (fruiting vegetables, other than cucurbits) ซึ่ง Codex กำหนดค่า MRL ของ flonicamid ไว้เท่ากับ 0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Codex, 2016) และมีบางประเทศที่กำหนดค่า MRL ของ flonicamid ในมะเขือ เช่น ประเทศญี่ปุ่นกำหนด Japan MRLs เท่ากับ 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือใน

กลุ่มสหภาพยุโรปที่กำหนดค่า EU MRLs ที่ระดับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Canada MRLs กำหนดที่ระดับ 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Hong Kong MRLs ที่ระดับ 0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในมะเขือ ตามลำดับ โดยจากผลการทดลองการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของ flonicamid ในมะเขือเปราะทั้ง 5 การทดลองนี้ ทุกระยะเวลาเก็บเกี่ยวมีค่าต่ำกว่าค่า Codex MRLs ของ flonicamid ในพืชกลุ่มผักบริโภคผลนอกเหนือจากตระกูลแตง และต่ำกว่าค่า Japan MRLs, EU MRLs, Canada MRLs, Hong Kong MRLs ในมะเขือ ซึ่งในเบื้องต้นจากการประชุมของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร กองวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรได้กำหนดค่าระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (Pre-Harvest Interval, PHI) ไว้ที่ 2 วัน และกำหนดค่า Rounded MRL เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการทดลองจะนำไปพิจารณาเพื่อกำหนดค่า MRL ของ flonicamid ในมะเขือ ของ Thai MRLs และ Codex MRLs เป็นลำดับถัดไป



ภาพที่ 3 แนวโน้มการสลายตัวของ flonicamid ในมะเขือเปราะ จากการทดลองครั้งที่ 1-5

ภาพที่ 3 แสดงผลการทดลองหาปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid เมื่อนำมาพล็อตกราฟการสลายตัวของสารพิษตกค้างในมะเขือที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่าง ๆ ของทั้ง 5 แปลงทดลอง โดยแนวโน้มการสลายตัวของสารพิษตกค้าง flonicamid ในตัวอย่างมะเขือเปราะ มีการสลายตัวเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ ลดลงตามระยะเวลาการเก็บจนถึง 14 วัน และวันที่เก็บตัวอย่าง 21 วัน ตรวจไม่พบสาร flonicamid ยกเว้นแปลงที่ 4 ตรวจพบที่ปริมาณ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

8.3 การทดสอบความคงตัวของสาร (storage stability)

ผลการทดสอบความคงตัวของสาร flonicamid ในมะเขือเปราะ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส ครอบคลุมช่วงของการวิเคราะห์ เวลา 90 วัน ดังแสดงในตารางที่ 8 พบว่า จากระยะเวลา 0 วัน (zero-time) มีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของ flonicamid ที่ 0.101 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระยะเวลา 30 วัน มีค่า 0.107 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระยะเวลา 60 วัน มีค่า 0.093 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ ที่ระยะเวลา 90 วัน มีค่า 0.93 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แนวโน้มการลดลงของสาร flonicamid จาก zero-time จนถึงระยะเวลา 90 วัน คิดเป็น 7.92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าที่ลดลงไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ (OECD, 2007) นั่นคือตลอดระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง 90 วัน สาร flonicamid ในตัวอย่างมะเขือเปราะยังมีความคงตัวครอบคลุมช่วงของการวิเคราะห์ ซึ่งในการวิเคราะห์แต่ละครั้งมีการควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์โดยการทำ Procedural Recovery คือการเติม (spike) สารมาตรฐานของ flonicamid ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างมะเขือเปราะในวันที่สกัดหรือวันที่วิเคราะห์นั้นๆ ซึ่งเป็นความเข้มข้นเดียวกันกับความเข้มข้นที่ใช้ศึกษาความคงตัวของ flonicamid ในมะเขือเปราะ พบว่ามี %recovery อยู่ในช่วง 76-105 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่ 70-120 เปอร์เซ็นต์ (SANTE, 2017) ผลการศึกษาแสดงถึง ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid ยังมีความคงสภาพของสารซึ่งเป็นส่วนสนับสนุนผลของการทดลองให้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบความคงตัว (storage stability) ของสาร flonicamid ในมะเขือเปราะ

Fortification level (mg/kg)	Storage period (day)	Residue Level in Freezer Storage Stability Sample, (mg/kg)	Residue Level in Freezer Storage Stability Sample (%)	Procedural Recovery for Freshly Spiked Control Sample (%)
0.1	0	0.100, 0.101 (0.101)*	100, 101 (101)*	101, 97
	30	0.108, 0.106 (0.107)*	108, 106 (107)*	105, 98
	60	0.094, 0.092 (0.093)*	94, 92 (93)*	78, 87
	90	0.091, 0.095 (0.093)*	91, 95 (93)*	76, 85

หมายเหตุ

* หมายถึง ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ (n=2)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษากการสลายตัวของสารพิษตกค้างของ flonicamid ในมะเขือเปราะ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ครั้งที่ 1- 5 ซึ่งได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ acidified QuEChERS และ

วิเคราะห์ปริมาณด้วยเทคนิค LC-MS/MS พบว่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของวิธีวิเคราะห์ที่ได้ดังนี้ 1.) วิธีวิเคราะห์สาร flonicamid ในมะเขือเปราะ มี matrix effect ที่ 35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกินเกณฑ์การยอมรับ 20 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ในวิธีการวิเคราะห์ต้องใช้กราฟมาตรฐานที่เตรียมจาก matrix มะเขือเปราะ 2.) ค่าความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์โดยมี %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 71-115 เปอร์เซ็นต์ และความเที่ยง (precision) ประเมินจากค่า %RSD อยู่ในช่วง 3.90-14.51 เปอร์เซ็นต์ 3.) ช่วงของการวัดและความเป็นเส้นตรง (working range and linearity) ของวิธีวิเคราะห์มีค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง $R^2 = 0.9985$ 4.) ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้จากการทดสอบความคงตัวของสาร flonicamid ในมะเขือเปราะตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างพบว่าจากระยะเวลา 0 วัน (zero-time) จนถึง 90 วันที่ครอบคลุมช่วงการวิเคราะห์ มีการลดลงของสาร flonicamid ในมะเขือเปราะที่ 7.92 เปอร์เซ็นต์ และการทำแปลงทดลองสารพิษตกค้างในมะเขือรวม 5 แปลงทดลองในพื้นที่จังหวัด กาญจนบุรี อ่างทอง สมุทรสาคร และราชบุรี (อ. โพธาราม และ อ. เมือง) จากการทดลองพ่นสาร flonicamid สูตร 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกๆ 7 วัน จำนวน 3 ครั้ง เก็บตัวอย่างมะเขือเปราะ ที่ 0 3 5 7 และ 14 วัน หลังการใช้สาร flonicamid ครั้งสุดท้าย เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างของ flonicamid พบว่า ปริมาณสารพิษตกค้างที่พบในทุกตัวอย่าง ทั้ง 5 การทดลอง มีค่าต่ำกว่าค่า Codex MRLs ในพืช กลุ่มผักบรีโคมผล นอกเหนือจากตระกูลแตง (fruiting vegetables, other than cucurbits) ที่กำหนดไว้ 0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งชุดข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างจากการทดลองนี้จะนำไปพิจารณาระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (PHI) การกำหนดค่า Thai MRLs โดยหน่วยงาน มกอช. และเสนอต่อ ASEAN และ Codex เพื่อกำหนดค่า MRL ของ flonicamid ในมะเขือเป็นลำดับถัดไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 ผลจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) ในการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ flonicamid ในมะเขือเปราะ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชอื่นๆ ในกลุ่มเดียวกันได้ ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ประหยัดเวลา มีความน่าเชื่อถือและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

10.2 ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างนำไปใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ของ Thai MRLs, ASEAN MRLs, และ Codex MRLs

10.3 ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำไปใช้ประกอบการพิจารณา ทบทวนฉลากวัตถุอันตราย ในการยกเลิกหรือปรับปรุงคำแนะนำการใช้สาร การกำหนดค่า PHI ให้มีความสอดคล้องและเหมาะสมกับการทดลองจริง เพื่อให้มีความชัดเจน และถูกต้องต่อการนำไปใช้ของเกษตรกร

11. คำขอบคุณ -

12. เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. 303 หน้า.
- ทิพวรรณ นิ่งน้อย. 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กระทรวงสาธารณสุข. 124 หน้า
- สิรินาฏ พรศิริประทาน. 2554. สถาบันระหว่างประเทศเพื่อการค้าและการพัฒนา (ITD). การส่งออกผักและผลไม้สดไทยไปสหภาพยุโรป. <http://thaifranchisedownload.com/dl/group12720130102143938.pdf>, วันที่สืบค้น 4 กุมภาพันธ์ 2564.
- สำนักงานส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ ณ กรุงลอนดอน. 2556. ปัญหาการนำเข้าสินค้าผักสดจากไทยมายังสหราชอาณาจักรและสหภาพยุโรป. https://www.ditp.go.th/contents_attach/74293/74293.pdf, วันที่สืบค้น 4 กุมภาพันธ์ 2564.
- Codex. 2016. Pesticides Database Search. Codex Alimentarius International Food Standard. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=282. Accessed February. 5, 2021.
- Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. Eurachem Guide (Second Edition). 62 p.
- EURL-SRM. 2015. Analysis of Flonicamid-Metabolites TFNA and TFNG using acidified QuEChERS method. Version 2. EU Reference Laboratory for Pesticides Requiring Single Residue Methods. Fellbach, Germany. 8 p.
- 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 225. 285 p..
- JMPR. 2015. Flonicamid. Food and Agriculture Organization of the United Nations: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation2015/FLONICAMID__282_.pdf. Accessed February. 5, 2021.
- OECD. 2007. OECD Guideline for the testing of chemical. Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities. 12 p.

SANTE. 2017. SANTE/11813/2017 Supersedes SANTE/11945/2015. Implemented by 01/01/2018.
Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for
pesticide residues and analysis in food and feed. 46 p.

กรมวิชาการเกษตร