

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย: วิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเพื่อการรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตและสินค้าพืช
2. โครงการวิจัย: การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลไม้และผัก
กิจกรรม : การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างในผักบริโภคผล (fruiting vegetable) เพื่อ
กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (2560-2564)

กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพล (Chlorantranilipole)
ในมะเขือ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ครั้งที่ 1-5

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ): Residue Trial of Chlorantranilipole in Aubergine to Establish
Maximum Residue Limit (MRL) Trial 1-5

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง :	นางสาวพร เมินหา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน :	นายประชาติปต์ย์ พงษ์ภิญโญ	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นางสาวพรนภัส วิชานะถนันทน์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นางสาวศิริพันธ์ สมุทรศรี	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	นางสาวมติมล แสงสว่าง	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

5. บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole ในตัวอย่างมะเขือ ทำการทดลองแปลง 4 ครั้ง โดยแปลงที่ 1 ทดลองในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ช่วงเดือนธันวาคม 2560 ถึง กุมภาพันธ์ 2561 แปลงที่ 2 ทดลองในพื้นที่อำเภอนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี ช่วงเดือนพฤษภาคม 2561 ถึง กรกฎาคม 2561 แปลงที่ 3 ทดลองในพื้นที่อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ช่วงเดือนมกราคม 2562 ถึง เมษายน 2562 แปลงที่ 4 ทดลองในพื้นที่อำเภออำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ช่วงเดือนเมษายน 2562 ถึง มิถุนายน 2562 และแปลงที่ 5 ทดลองในพื้นที่อำเภออำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม แต่ละแปลงแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงทดลองที่ไม่พ่นวัตถุมีพิษ chlorantraniliprole เป็นแปลงควบคุม (untreated) และแปลงทดลอง (treated) ที่พ่นวัตถุมีพิษ chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ในอัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราการใช้น้ำ 100 ลิตร ต่อไร่ พ่น 3 ครั้ง ทุกๆ 7 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างมะเขือเปราะที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันหลังจากการพ่นครั้งสุดท้าย เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole โดยวิธี QuEChERS (EN

15662, 2008) ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) พบว่าการวิเคราะห์ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ มีค่าปริมาณต่ำสุดของวิธีการวิเคราะห์ได้ (Limit Of Quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากแปลงทดลองจากการใช้สาร chlorantraniliprole ในอัตราที่กำหนด พบว่าปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole สูงที่สุด ที่ 0 วัน ในตัวอย่างมะเขือเปราะหลังจากการพ่นสาร และปริมาณสารพิษตกค้างค่อยลดลงตามระยะ ส่วนแปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole สำหรับแปลงทดลองที่ 1 พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.03, 0.01, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3 และ 5 วันหลังการพ่น ตามลำดับ ที่ 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่นตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง แปลงทดลองที่ 2 พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.09, 0.09, 0.07, 0.05, 0.05, 0.02 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่น ตามลำดับ ที่ 21 วันหลังการพ่นตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง แปลงทดลองที่ 3 พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.05, 0.05, 0.03, 0.02, 0.01, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ที่ระยะเวลา 21 วันหลังการพ่น แปลงทดลองที่ 4 พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.23, 0.18, 0.10, 0.08, 0.05, 0.03 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ที่ระยะเวลา 21 วันหลังการพ่น และแปลงทดลองที่ 5 พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.06, 0.04, 0.03, 0.02, 0.02, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง ที่ระยะเวลา 21 วันหลังการพ่น

Abstract

Pesticide residue of chlorantraniliprole in aubergine was determined to establish MRL. The study was conducted during December 2018 – February 2019, May – July 2018, January-April 2019 and April-June 2019 for 1st, 2nd, 3rd and 4th trials, respectively. The trial was located at Kanchanaburi, Suphan Buri, Saraburi, Kanchanaburi and NaKhon Pathom Province for 1st, 2nd, 3rd, 4th and 5th trials, respectively. The supervised field trial were consisted of 2 plots which were treated plot (chlorantraniliprole 5.17% W/V SC, application with recommended rate: 15 mL/ 20 L of water, rate of water: 100 L/rai) and control plot (untreated). The formulation was applied with 3 times to treated plots at 7 day intervals. The experiment was assigned for 8 treatments in decline study type (sampling date for residue analysis after the last application at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days). After applied chlorantraniliprole aubergine sample were collected and determined residue of chlorantraniliprole in aubergine by QuEChERS (EN 15662, 2008) method then analyzed with Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) technique. For this study, the limit of quantitation was 0.01 mg/kg. The residue from chlorantraniliprole level were raised up at day 0 for all sample and declined down after. The results were not detected at all in control samples. In contrast, the result of the field trial no. 1 was found

chlorantraniliprole in aubergine at amount 0.03, 0.01, 0.01 and 0.01 mg/kg at 0, 1, 3 and 5 days after last application, respectively and not found chlorantraniliprole in aubergine at 7, 10, 14 and 21 days after last application. The field trial no. 2 was found chlorantraniliprole in aubergine at amount 0.09, 0.09, 0.07, 0.05, 0.05, 0.02 and 0.02 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after last application, respectively and not found chlorantraniliprole in aubergine at 21 days after last application. The field trial no. 3 was found chlorantraniliprole in aubergine at amount 0.05, 0.05, 0.03, 0.02, 0.01, 0.01 and 0.01 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after last application, respectively and not found chlorantraniliprole in aubergine at 21 days after last application. The field trial no. 4 was found chlorantraniliprole in aubergine at amount 0.23, 0.18, 0.10, 0.08, 0.05, 0.03 and 0.01 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after last application, respectively and not found chlorantraniliprole in aubergine at 21 days after last application. The field trial no. 5 was found chlorantraniliprole in aubergine at amount 0.06, 0.04, 0.03, 0.02, 0.02, 0.01 and 0.01 mg/kg at 0, 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days after last application, respectively and not found chlorantraniliprole in aubergine at 21 days after last application.

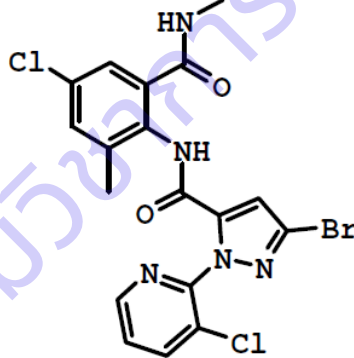
6. คำนำ

ภาคเกษตรกรรมของประเทศไทยปัจจุบันพบปัญหาโรคพืชและศัตรูพืชที่ส่งผลต่อผลผลิต เกษตรกรจึงมีการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรหลากหลายชนิดเพิ่มมากขึ้นเพื่อลดปัญหาเหล่านั้น และก่อให้เกิดผลกระทบที่ตามมาคือ การตกค้างของสารพิษในผลิตผลทางการเกษตร และส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ถ้าหากมีปริมาณที่สูงและเกินเกณฑ์มาตรฐานกำหนด อีกทั้งยังส่งผลต่อการส่งออกสินค้าทางการเกษตรไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ เมื่อประเทศผู้นำเข้าซึ่งมีระบบตรวจสอบสารพิษตกค้างที่เข้มงวด หากตรวจพบสารพิษตกค้างในปริมาณที่เกินค่ากำหนดสากล ผลิตผลทางการเกษตรต่างๆ ดังกล่าวจึงถูกปฏิเสธการนำเข้าบ่อยครั้ง ทำให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจของประเทศ

มะเขือเปราะ เป็นพืชในวงศ์ Solanaceae ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Solanum virginianum* L. เป็นพืชผักที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งที่นิยมรับประทานสด หรือใช้ประกอบอาหาร สามารถทำรายได้ดีไม่แพ้พืชผักตระกูลอื่นๆ ซึ่งเพาะปลูกและเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ตลอดทั้งปี ช่วยเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกอย่างสม่ำเสมอ แต่ต้องมีการปฏิบัติดูแลรักษาต้นมะเขือเปราะ ซึ่งถ้าหากศัตรูพืชระบาดอย่างรุนแรงก็ทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหาย คุณภาพต่ำ ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด เกษตรกรต้องลงทุนเสียค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับสารฆ่าแมลงที่นำไปใช้พ่นป้องกันกำจัดเป็นมูลค่าสูง ศัตรูพืชของมะเขือเปราะมีหลายชนิด เช่น เพลี้ยไฟฝ้าย เพลี้ยจักจั่นฝ้าย และหนอนเจาะผลมะเขือเปราะ เป็นต้น ซึ่งหนอนเจาะผลมะเขือเปราะ (Fruit boring caterpillar, *Leucinodes orbonalis* Guenee) เป็นศัตรูพืชหนึ่งที่สำคัญของมะเขือเปราะ โดยตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อเมื่อกางปีกมีขนาด 1.5-2 เซนติเมตร หนอนขนาดเล็ก ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ส่วนหัวมีสีน้ำตาล เข้าทำลายในระยะพืชกำลังเจริญเติบโต หนอนเจาะเข้าไปกินภายในลำต้นสูงจากยอดประมาณ 10 เซนติเมตร ทำให้ยอดเหี่ยวในเวลาแดดจัด ระยะติดผลหนอนเจาะผล

เข้าไปกินภายใน พืชอาหารเป็นพืช ตระกูลมะเขือ ยกเว้นมะเขือเทศ การป้องกันกำจัดโดยการใช้อย่างเหมาะสม หลากหลายชนิด เช่น การป้องกันกำจัดถ้าพบยอดเหี่ยว 3-5 เปอร์เซ็นต์ หรือผลอ่อนถูกทำลาย 5- 10 เปอร์เซ็นต์ ให้ใช้เบตาไซฟลูทริน (โพลีเทค 025 อีซี 2.5% EC) อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ ซีตาไซเพอร์ เมทริน (พีวเรีย 18% EC) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือโพโทโอฟอส (โตกูโรออน 50% EC) อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (สัญญาณี และคณะ, 2555) และยังมีการใช้คลอแรนทรานิลิโพรล ในการกำจัดหนอนเจาะผลมะเขือเปราะ

chlorantraniliprole ชื่อสามัญ คือ 3-bromo-N-[4-chloro-2-methyl-6-(methylcarbamoyl)phenyl]-1-(3-chloropyridin-2-yl)-1H-pyrazole-5-carboxamide เป็นยาฆ่าแมลงในกลุ่ม ryanoid ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลงชนิดใหม่ที่มีโหมดการดำเนินการแบบใหม่เพื่อควบคุมแมลงศัตรูที่อยู่ในใบผีเสื้อและชนิดอื่นๆ Coleoptera, Diptera และ Isoptera โดยการทำงานของยาฆ่าแมลงชนิดนี้จะจะไปยับยั้งการจับของ ryanodine receptor จึงทำให้ intracellular calcium ส่งผลให้เกิดภาวะเกิดภาวะอัมพาตและตาย สำหรับด้านความเป็นพิษจากการกิน ค่า LD50, > 5000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนัก และจากการสัมผัสมีค่า LC50, > 5.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สารนี้ไม่ก่อให้เกิดเกิดการระคายเคืองต่อเยื่อปอดและจมูกในหนู (mice) ลักษณะโครงสร้างของ chlorantraniliprole (FAO, 2016) ดังภาพที่ 1.



ภาพที่ 1. Structure of chlorantraniliprole.

การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ เป็นการศึกษาเพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการประกอบการพิจารณาการกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในพืช (MRLs) จากการใช้วัตถุดิบพืชอย่างถูกต้อง และปลอดภัย ตามมาตรฐานของ Codex ข้อมูลที่ได้จะนำไปใช้พิจารณากำหนดค่ามาตรฐานอ้างอิงด้านสารพิษตกค้างของประเทศ เพื่อใช้ในการต่อรองและรักษาผลประโยชน์ในการค้าขายสินค้าเกษตรระหว่างประเทศสำหรับการส่งออก เพื่อความเป็นธรรมของแต่ละประเทศ โดยที่กรมวิชาการเกษตรได้

ทำการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ เพื่อนำไปเสนอพิจารณาค่า Thai-MRL, Asian MRL และ Codex MRL ต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

7.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

7.1.1 เครื่องพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (spray equipment) แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (knapsack electrical sprayer, Mitsudaiwa รุ่น MS0735W)

7.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง เช่น เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger) และกระดาษวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ

7.1.3 หลอดทดลอง (screw-capped polypropylene centrifuge tubes) ขนาด 50 มิลลิลิตร

7.1.4 หลอดทดลองขนาดเล็ก (micro centrifuge tubes) ขนาด 15 มิลลิลิตร

7.1.5 ขวดบรรจุสาร (auto sampler vials) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

7.1.6 อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลาย (auto pipette) ขนาด 2-20, 10-100, 20-200, 100-1,000, 500-5,000 ไมโครลิตร และ 1-10 มิลลิลิตร

7.1.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า (electrical balances) ชนิดทศนิยม 5 ตำแหน่ง และ 2 ตำแหน่ง

7.1.8 เครื่องบดตัวอย่าง (Food processor)

7.1.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พร้อมด้วย adapter สำหรับหลอดทดลอง ขนาด 50 มิลลิลิตร

7.1.10 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น volumetric flask, beaker, cylinder

7.1.11 เข็มที่มีกระดาษกรอง (syringe with membrane filter) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร

7.1.12 เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) LC รุ่น 1290 infinity และ MS/MS รุ่น 6460 Triple Quad ยี่ห้อ Agilent Technologies

7.2 สารเคมี

7.2.1 สารมาตรฐานของ Chlorantranilipole 97.84% จากบริษัทผู้ผลิต Dr. Ehrenstorfer

7.2.2 วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้ในแปลงทดลอง คือ chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ของบริษัท DuPont

7.2.3 Acetonitrile (CH_3CN) ชนิด LC-MS grade

7.2.4 Formic acid (CH_2O_2) ชนิด analytical grade

7.2.5 Anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4) เผาที่ 500°C นาน 5 ชั่วโมง

7.2.6 Sodium citrate tribasic dyhydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ชนิด analytical grade

7.2.7 Disodium hydrogen citrate sesquihydrate ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1.5H_2O$) ชนิด analytical grade

7.2.8 Sodium chloride (NaCl) ชนิด analytical grade

7.2.9 Ammonium formate ชนิด analytical grade

7.2.10 PSA ชนิด analytical grade

7.2.11 น้ำกลั่น (distilled water)

7.3 วิธีการ

7.3.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง

1) การเตรียมตัวอย่างมะเขือเปราะ

ตัวอย่างมะเขือเปราะที่เก็บจากแปลงทดลอง หั่นและบดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว เป็นเนื้อเดียวกันโดย food processor และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^\circ C$ เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารพิษตกค้างในตัวอย่าง ก่อนการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง

2) การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง

สกัดตัวอย่างมะเขือเปราะด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) สุ่มซังตัวอย่างมะม่วง 10 กรัมใส่หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดด้วย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที เติม $MgSO_4$ 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 หลังจากนั้นดูดสารละลาย 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี $MgSO_4$ จำนวน 750 มิลลิกรัม PSA จำนวน 125 มิลลิกรัม และ C18 จำนวน 50 มิลลิกรัม เขย่าเป็นเวลา 1 นาที นำไป Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วกรองสารละลายที่ได้จากนั้นกรองตัวอย่างผ่าน PTFE ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

3) การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole โดยมีสภาวะของเครื่อง LC-MS/MS ดังแสดงใน ตารางที่ 1 ตารางที่ 2 และตารางที่ 3

ตารางที่ 1 สภาวะของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole

LC Parameter	Condition
Injection Volume (μL)	2
Column type	Kinetex 2.6 μm XB-C18, 100A, 100x2.1 mm
Column Temperature ($^\circ C$)	40

Mobile phase A (aqueous phase)	0.01% formic acid ใน 5 mM ammonium formate
Mobile phase B (organic phase)	Acetonitrile
Mobile phase flow (mL/min)	0.4
Total run time (min)	8.0

QQQ Source Parameter	Value (+)	Value (-)
Gas temp (°C)	350	350
Gas flow (l/min)	10	10
Nebulizer (psi)	45	45
Capillary (V)	3500	3500
Polarity	Positive	Positive

ตารางที่ 2 พารามิเตอร์ของ MS/MS: Multi Reaction Monitoring (MRM)

Compound	m/z quant	Precursor Ion	Product Ion	Dwell time	Frag (V)	CE (V)	CA (V)
chlorantraniliprole	483.15	484	286	50	135	20	7
		484	177	50	135	50	7

ตารางที่ 3 แสดงระยะเวลาและอัตราที่ใช้ของ mobile phase

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0.0	50	50
6.0	15	85
7.0	50	50
8.0	50	50

4) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

โดยใช้วิธี matrix match standard ของวัตถุที่มีพิษ chlorantraniliprole ด้วย matrix blank ที่ 7 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.007, 0.015, 0.03, 0.06, 0.125, 0.25 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน chlorantraniliprole (แกน x) กับ peak area (แกน y) ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995 และคำนวณหาปริมาณ

สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole จากกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ด้วยการนำพื้นที่ใต้ peak ของสารที่ตรวจวิเคราะห์ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟ

7.3.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ตรวจวิเคราะห์ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS การพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) ด้วยการเติมสารมาตรฐาน (fortified standard) ลงในตัวอย่างมะเขือเปราะ ให้มีความเข้มข้นในตัวอย่าง 0.01, 0.10 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการหำร้อยละที่ได้กลับคืนมา (%recovery) พิสูจน์ความเที่ยง (precision) โดยการประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และหาค่าต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

7.3.3 ทดสอบความคงตัว (storage stability)

ทดสอบความคงตัวของ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ โดยการ fortified ของ chlorantraniliprole ลงในตัวอย่างมะเขือเปราะ ที่ระดับ 10 เท่าของระดับ LOQ (FAO plant Production and Protection Paper 225, 2016) หลังจาก fortified ของ chlorantraniliprole ลงในตัวอย่างมะเขือเปราะ และเก็บตัวอย่างมะเขือเปราะข้างต้นในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บถึงระยะเวลาที่ศึกษาคือ 0, 15, 30 และ 60 วัน นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกันกับตัวอย่างจากแปลงทดลอง เพื่อตรวจสอบความคงตัวของสาร ซึ่งระยะเวลาการทดสอบความคงตัวของ chlorantraniliprole ในตัวอย่างมะเขือเปราะ ต้องครอบคลุมระยะเวลาดังแต่เก็บตัวอย่างมะเขือเปราะจากแปลงทดลองจนถึงวันที่วิเคราะห์สารพิษตกค้าง

7.3.4 การทำแปลงทดลอง

1) การสำรวจแปลงปลูกและวางแผนการทดลอง

สำรวจและเลือกแปลงมะเขือเปราะของเกษตรกรเพื่อทำการทดลอง แต่ละแปลงทดลองต้องห่างกันอย่างน้อย 30 กิโลเมตร หรือแตกต่างกัน เพื่อวางแผนการทดลอง การปฏิบัติงาน และกำหนดระยะเวลาพันธุ์วัตถุดิบพืช chlorantraniliprole ซึ่งเลือกแปลงทดลองที่มีการปลูกตามหลักการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (Good Agriculture Practice; GAP) โดยแปลงที่ 1 ทดลอง ช่วงเดือนธันวาคม 2560 ถึง กุมภาพันธ์ 2561 แปลงที่ 2 ทดลองช่วงเดือนพฤษภาคม 2561 ถึง กรกฎาคม 2561 แปลงที่ 3 ทดลองช่วงเดือนมกราคม 2562 ถึง เมษายน 2562 แปลงที่ 4 ทดลองช่วงเดือนเมษายน 2562 ถึง มิถุนายน 2562 และแปลงที่ 5 ทดลองช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2563 ถึง เมษายน 2563

วางแผนการทดลอง แบบ Supervised Trial ตาม Codex Guidelines มี 2 การทดลองย่อย (experiments)

การทดลองย่อยที่ 1 แปลง Control ไม่พ่นวัตถุดิบพืช chlorantraniliprole 5.17% W/V SC สำหรับใช้เป็นแปลงเปรียบเทียบกับแปลงที่พ่นวัตถุดิบพืช

การทดลองย่อยที่ 2 แปลง treated ที่พ่นวัตถุดิบพืช chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ใช้ อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราตามคำแนะนำ 100 ลิตรต่อไร่ (มะเขือเปราะมีอายุมากกว่า 100 วัน)

(กลุ่มกัญและสัตววิทยา, 2553) ฟ่น chlorantraniliprole ห่างกันเป็นเวลา 7 วัน จำนวน 3 ครั้ง โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ (replicate)

แต่ละการทดลอง มี 8 กรรมวิธี (treatment) คือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตมะเขือเปราะไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างภายหลังการพ่นวัตถุมีพิษ chlorantraniliprole ครั้งสุดท้ายและสุ่มเก็บตัวอย่าง ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตจากแปลงทดลอง

ระยะเวลาหลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย	แปลงทดลองที่ 1 อ. เมือง จ.กาญจนบุรี	แปลงทดลองที่ 2 อ.หนองหญ้าไซ จ.สุพรรณบุรี	แปลงทดลองที่ 3 อ. พระพุทธบาท จ.สระบุรี	แปลงทดลองที่ 4 อ. เมือง จ.กาญจนบุรี	แปลงทดลองที่ 5 อ. เมือง จ.นครปฐม
0 วัน (2 ชั่วโมงหลังการพ่น)	18 มกราคม 2561	30 พฤษภาคม 2561	21 กุมภาพันธ์ 2562	21 พฤษภาคม 2562	12 มีนาคม 2563
1 วัน	19 มกราคม 2561	1 มิถุนายน 2561	22 กุมภาพันธ์ 2562	22 พฤษภาคม 2562	13 มีนาคม 2563
3 วัน	21 มกราคม 2561	3 มิถุนายน 2561	24 กุมภาพันธ์ 2562	24 พฤษภาคม 2562	15 มีนาคม 2563
5 วัน	23 มกราคม 2561	5 มิถุนายน 2561	26 กุมภาพันธ์ 2562	26 พฤษภาคม 2562	17 มีนาคม 2563
7 วัน	25 มกราคม 2561	7 มิถุนายน 2561	28 กุมภาพันธ์ 2562	28 พฤษภาคม 2562	19 มีนาคม 2563
10 วัน	28 มกราคม 2561	10 มิถุนายน 2561	3 มีนาคม 2562	31 พฤษภาคม 2562	22 มีนาคม 2563
14 วัน	1 กุมภาพันธ์ 2561	14 มิถุนายน 2561	7 มีนาคม 2562	4 มิถุนายน 2562	26 มีนาคม 2563
21 วัน	8 กุมภาพันธ์ 2561	21 มิถุนายน 2561	14 มีนาคม 2562	11 มิถุนายน 2562	2 เมษายน 2563

2) การปฏิบัติงานในแปลงทดลอง และการเก็บตัวอย่างมะเขือเปราะจากแปลงทดลอง

ปฏิบัติในแปลงทดลองมะเขือเปราะ ดำเนินการปฏิบัติงานในแปลงทดลองตามระบบ GLP (Good Laboratory Practice) ดังนี้ บันทึกสภาพพื้นที่ ความลาดเอียง ลักษณะของแปลง วิธีการเพาะปลูก ระยะปลูก รูปแบบการให้น้ำ การให้ปุ๋ย ทิศทางลม การใช้ปัจจัยการผลิตในพื้นที่

การสอบเทียบ (calibrate) เครื่องพ่น เพื่อให้การพ่นสารมีความแม่นยำและสม่ำเสมอ จะทำการตรวจสอบหัวฉีด (nozzles) ดูการกระจายละอองของสาร และวัดอัตราการไหลของเครื่องพ่นที่จะใช้งาน (discharge calibration) ซึ่ง calibrate เครื่องพ่น ทำโดยการพ่นน้ำเป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย และนำมาคำนวณเวลามาตรฐานที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยว (target time) สำหรับแปลงทดลองต่างๆ ที่มีขนาดพื้นที่แตกต่างกัน จะได้ target time ที่แตกต่างกัน และกำหนดรูปแบบและจำนวนเที่ยวเดิน (pass) ของการเดินพ่นในพื้นที่แปลงทดลอง ซึ่งเดินสไลด์จากซ้ายไปขวามือของผู้พ่น โดยนำ target time ที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยวเดินมาทำการทดลองเดิน เดินสะพายเครื่องพ่น และเดินสะพายเครื่องพ่นพร้อมพ่น ที่มี Metronome ช่วยควบคุมจังหวะการเดิน เพื่อให้การพ่นมีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง ทำการทดลองเดินซ้ำอย่างละ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย ก่อนการปฏิบัติงานพ่นในพื้นที่แปลงทดลองจริงในการทำ calibrate เครื่องพ่นวัตถุอันตรายและปรับการเดินของผู้พ่นนั้น แต่แต่ละครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกิน 5% ของ target time จากการทำการทดลองติดต่อกัน 3 ครั้ง จึงจะอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

การพ่นวัตถุเมธิซ chlorantraniliprole ผู้พ่นสารและผู้จับเวลา ต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันให้ถูกต้อง และพ่นสารตาม target time ที่ได้ข้างต้น เมื่อพ่นสารในแต่ละเที่ยวเดินเสร็จ ผู้จับบันทึกต้องลงบันทึกเวลาที่ใช้ในการพ่นต่อเที่ยว ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ ± 5 เปอร์เซ็นต์ของ target time พร้อมทั้งบันทึกทิศทางการเดิน หลังจากนั้นต้องคำนวณเปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุเมธิซ chlorantraniliprole ที่พ่นลงในพื้นที่แปลงทดลอง ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์ -5 เปอร์เซ็นต์ ถึง +10 เปอร์เซ็นต์จึงจะยอมรับ

การสุ่มเก็บตัวอย่างมะเขือเปราะตามระยะเวลาต่างๆ ที่ 0 (หลังพ่น 2 ชั่วโมง) 1, 3, 5, 7, 10, 14, และ 21 วันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย วันที่สุ่มเก็บตัวอย่างแต่ละแปลงดังตารางที่ 2 โดยการสุ่มให้ทั่วทุกต้น ยกเว้นหัวท้ายของแปลงทดลอง โดยแปลง control และ treated สุ่มเก็บตัวอย่างให้ได้อย่างน้อย 2 กิโลกรัม แปลงละ 2 ซ้ำ ของทุกช่วงระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง และใส่ถุงพลาสติกที่มีป้ายบ่งชี้ตัวอย่าง ปิดถุงให้สนิทบรรจุลงในกล่องที่บรรจุน้ำแข็ง ภายในกล่องมีเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (data logger) และนำตัวอย่างมะม่วงมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole

ระยะเวลา ตุลาคม 2560 - กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยวัตถุเมธิซพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร
แปลงทดลองครั้งที่ 1 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี

แปลงทดลองครั้งที่ 2 ที่ อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี

แปลงทดลองครั้งที่ 3 ที่ อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี

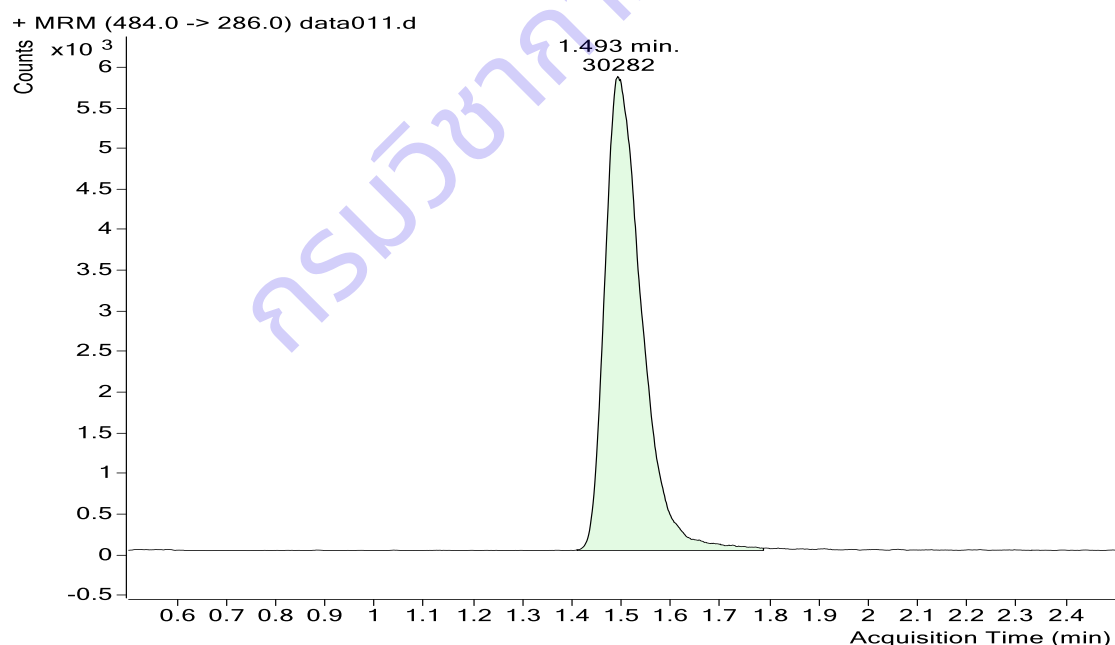
แปลงทดลองครั้งที่ 4 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี

แปลงทดลองครั้งที่ 5 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

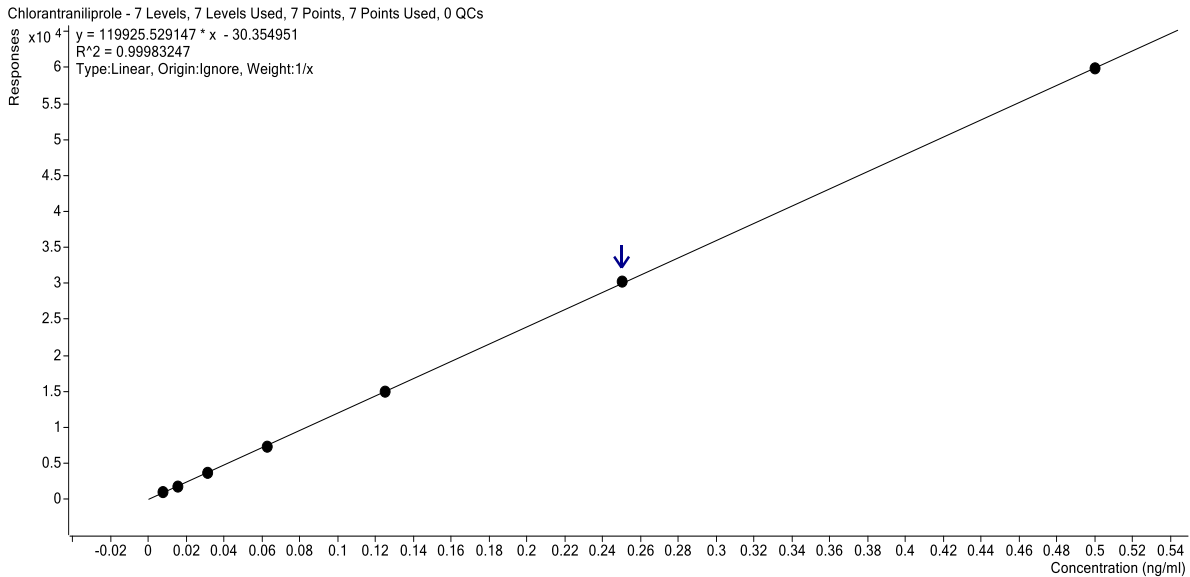
8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS

ตรวจวิเคราะห์สารมาตรฐาน chlorantraniliprole ใช้วิธี matrix match standard โดยเตรียมสารมาตรฐาน ในสารละลายตัวอย่างมะเขือเปราะ ที่สกัด โดยวิธี QuEChERS (EN 15662, 2008) ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ลักษณะพีคของแต่ละสารที่ระดับความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงในภาพที่ 2 ฉีดสารละลายมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.007, 0.015, 0.03, 0.06, 0.125, 0.25 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน chlorantraniliprole (แกน x) กับ peak area (แกน y) ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995 ($r^2=0.9998$) โดยลักษณะ calibration curve ภาพที่ 3



ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของ chlorantraniliprole ระดับความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3 calibration curve ของ chlorantraniliprole ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.007 ถึง 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

8.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

8.2.1 Accuracy

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์พบว่าร้อยละที่ได้กลับคืนมา ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 71-94 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับที่ 70-120 การหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่ได้จากการทำซ้ำ พบว่าอยู่ในช่วง 7.72-12.70 โดยมีเกณฑ์การยอมรับที่ $\leq 20\%$ (SANCO, 2013) และในแต่ละครั้งที่ทำการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS มีการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ (quality assurance, QA) ด้วยการทำ concurrent recovery ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกับปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบในตัวอย่าง พบว่าร้อยละการกลับคืน (%) อยู่ในช่วง 96-99 และ %RSD อยู่ในช่วง 3.08-11.02 ดังแสดงในตารางที่ 5

8.2.2 Limit of Quantitation, LOQ

กำหนดให้ LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่ง ร้อยละการกลับคืน (%) จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์เท่ากับ 84 และ %RSD เท่ากับ 7.72 และผล concurrent recovery อยู่ในเกณฑ์ยอมรับดังแสดงในตารางที่ 5 ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างมะเขือเปราะจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ

ตารางที่ 5 ผลการศึกษาร้อยละการกลับคืน ของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) และการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (concurrent recovery) ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในตัวอย่างมะเขือเปราะ

รายการ	ระดับความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	ร้อยละการกลับคืน (%)	ค่าเฉลี่ยร้อยละการกลับคืน (%)	%RSD
method validation	0.01	77, 84, 93, 88, 91, 88, 82, 75, 75, 84	84	7.72
	0.10	75, 77, 72, 71, 94, 91	80	12.70
	1.00	78, 71, 73, 93, 91, 92	83	12.31
concurrent recovery	0.01	96, 106, 82, 76, 107, 110, 100, 99, 104, 107, 106	99	11.02
	0.10	106, 102, 73, 73, 91, 92, 100, 103, 99	96	11.02
	1.00	96, 95, 102, 104, 96, 94, 101, 101, 95	98	3.08

8.3 การทดสอบความคงตัว (storage stability)

ผลการทดสอบความคงตัวของ chlorantraniliprole ในตัวอย่างมะเขือเปราะ โดยการ fortified สารมาตรฐานของ chlorantraniliprole ลงในตัวอย่างมะเขือเปราะ ที่ระดับ 10 เท่าของระดับ LOQ คือที่ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การพบสารพิษตกค้างคงอยู่ (Average uncorrected residues remained) ตลอดระยะเวลา 60 วัน อยู่ในช่วง 75-96% ซึ่งมีความมากกว่า 70% นั่นคือสารพิษตกค้างในตัวอย่างสลายตัวไปไม่เกิน 30% ของความเข้มข้นที่ศึกษา และอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (FAO plant Production and Protection Paper 225, 2016) แสดงถึงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างมะเขือเปราะนาน 60 วัน ก่อนวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprol ยังมีความคงสภาพของสารซึ่งเป็นส่วนสนับสนุนผลของการทดลองที่มีความน่าเชื่อถือ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความคงตัว (storage stability) ของสาร ของ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ

Fortification level (mg/kg)	Storage interval (Day)	Procedural Recovery (%)	Residues in stored fortified samples (mg/kg)			Average uncorrected residues remained (%)
0.10	0	75, 77, 72	0.0749	0.0768	0.0716	75
	15	95, 95	0.0953	0.0954	-	95
	30	94, 87	0.0941	0.0873	-	91
	60	98, 94	0.0982	0.0944	-	96

8.4 การทำแปลงทดลอง

8.4.1 ประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษในแปลงทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษ chlorantraniliprole ในแปลงทดลอง 5 สถานที่ (แปลงทดลอง) แต่ละแปลงทดลองประกอบด้วย 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงที่ไม่พ่นสารใช้เป็นแปลง control และแปลง treated ที่พ่นวัตถุมีพิษในอัตราคำแนะนำ chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราการใช้น้ำ 100 ลิตรต่อไร่ คิดเป็น 100% ทำการพ่นสาร 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน แล้วคำนวณหาประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุมีพิษ chlorantraniliprole ลงในแปลงทดลองแต่ละครั้ง พบว่าจากการทดลองประสิทธิภาพของการพ่นที่ได้อยู่ในช่วง 99.1-104.4% ซึ่งอยู่ในช่วงการยอมรับได้ที่ 95-110% (FAO, 1999) ดังแสดงใน ตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพการพ่นวัตถุมีพิษ chlorantraniliprole ลงในแปลงทดลองมะเขือเปราะ

แปลงทดลองที่	สถานที่	ครั้งที่พ่น	ประสิทธิภาพการพ่นสาร (%)
1	อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี	1	99.1
		2	101.2
		3	102.2
2	อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี	1	99.4
		2	104.4
		3	104.3

3	อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี	1	102.3
		2	99.8
		3	100.5
4	อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี	1	102.3
		2	102.2
		3	101.2
5	อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม	1	99.5
		2	99.3
		3	99.3

8.4.2 ปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole ในตัวอย่างมะเขือเปราะ

จากแปลงทดลองที่พ่น chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ใช้อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราตามคำแนะนำ 100 ลิตรต่อไร่ เก็บมะเขือเปราะที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่น ผลการทดลองมีดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่น chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.03, 0.01, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3 และ 5 วันหลังการพ่น ตามลำดับ สำหรับที่ 7, 10, 14 และ 21 วันหลังการพ่นตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

แปลงทดลองที่ 2 ที่ อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่น chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.09, 0.09, 0.07, 0.05, 0.05, 0.02 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่น ตามลำดับ สำหรับที่ 21 วันหลังการพ่นตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง

แปลงทดลองที่ 3 ที่ อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่น chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.05, 0.05, 0.03, 0.02, 0.01, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ที่ระยะเวลา 21 วันหลังการพ่น

แปลงทดลองที่ 4 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่น chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.23, 0.18, 0.10, 0.08, 0.05, 0.03 และ 0.01 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ที่ระยะเวลา 21 วันหลังการพ่น

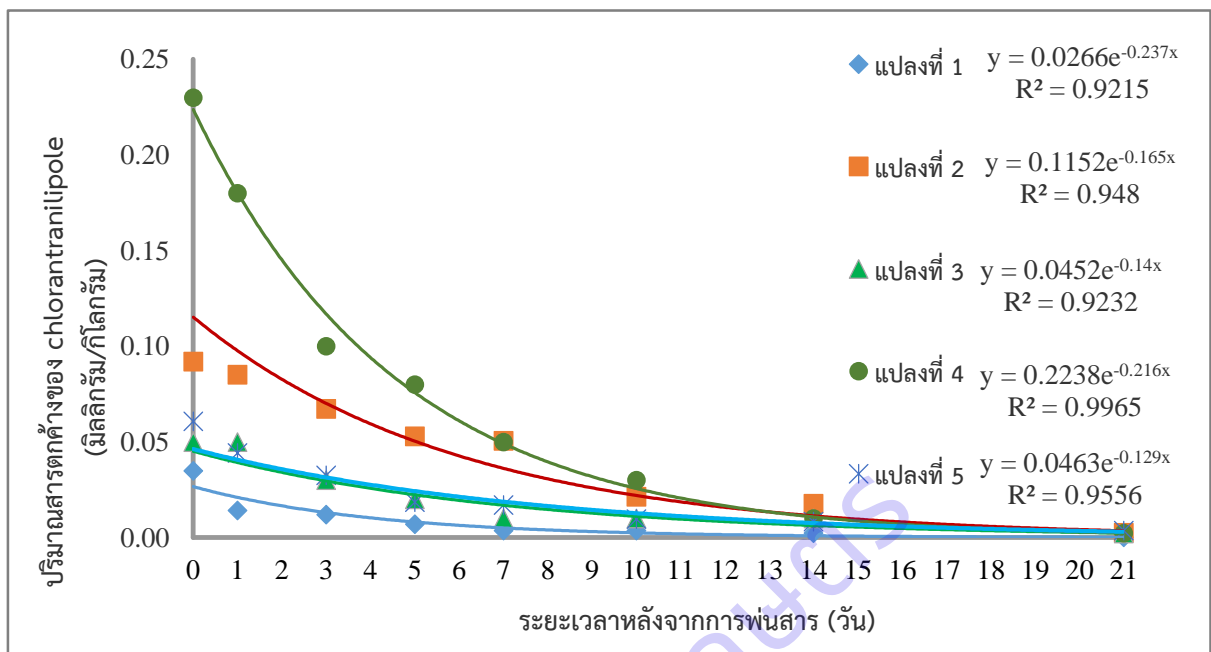
แปลงทดลองที่ 5 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในแปลงควบคุม สำหรับแปลงที่พ่น chlorantraniliprole 5.17% W/V SC ตามคำแนะนำ พบปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole พบปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย 0.06, 0.04, 0.03, 0.02, 0.02, 0.01 และ 0.01 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังการพ่นตามลำดับ และตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ที่ระยะเวลา 21 วันหลังการพ่น ดังตารางที่ 8. แสดงค่าเฉลี่ยของทั้งห้าแปลงทดลอง

ตารางที่ 8. ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ ที่ระยะเวลาด่างๆ

ระยะเวลาหลังการพ่นครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)				
	แปลงทดลองที่ 1	แปลงทดลองที่ 2	แปลงทดลองที่ 3	แปลงทดลองที่ 4	แปลงทดลองที่ 5
0	0.03	0.09	0.05	0.23	0.06
1	0.01	0.09	0.05	0.18	0.04
3	0.01	0.07	0.03	0.10	0.03
5	0.01	0.05	0.02	0.08	0.02
7	<0.01	0.05	0.01	0.05	0.02
10	<0.01	0.02	0.01	0.03	0.01
14	<0.01	0.02	0.01	0.01	0.01
21	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

หมายเหตุ: แปลงควบคุม ของทั้งห้าแปลงทดลองไม่พบสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole

LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



ภาพที่ 4. กราฟแสดงการสลายตัวของปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantranilipole ในมะเขือเปราะที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่างๆ ในแปลงทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5

ภาพที่ 4 แสดงผลการทดลองหาปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantranilipole ในมะเขือเปราะ หลังการพ่นระยะวันแรกที่เก็บเกี่ยวมีค่าที่สูงกว่าวันอื่นๆ และมีการลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 14 หลังการพ่น ซึ่งพิจารณาปริมาณสารพิษตกค้างที่พบในมะเขือเปราะ เมื่อนำปริมาณสารพิษตกค้างไป plot กราฟกับระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตมะเขือเปราะ จะได้สมการความสัมพันธ์การลดลงของสารพิษตกค้าง chlorantranilipole ในมะเขือเปราะ กับระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการพ่น ซึ่งมีลักษณะเป็น Exponential โดยค่า Codex MRLs ซึ่งกำหนดค่า chlorantranilipole ในผัก (Fruiting vegetables other than cucurbits) เท่ากับ 0.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (FAO/WHO, 2008) และ EU MRL กำหนดค่า chlorantranilipole ในมะเขือเปราะ (Aubergines) เท่ากับ 0.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Anastassiadou, *et al.*, 2020) ดังตารางที่ 9 แสดงปริมาณเฉลี่ยของสารพิษตกค้าง chlorantranilipole ทั้ง 5 แปลงทดลองข้อมูลจากการทดลองนี้จะนำไปประเมินค่า MRL ของประเทศไทย และค่า PHI ซึ่ง สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและมาตรฐานแห่งชาติ (มกอช.) ประเทศไทย ยังไม่มีการกำหนดค่า MRL ของ chlorantranilipole ในมะเขือเปราะ ทั้งนี้จากการประชุมของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัฏภูมิพืชการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้นำเสนอผลจากการทำแปลงทดลอง

และรายงานการตรวจปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ ได้มีการกำหนดค่า PHI จากการทดลองเปรียบเทียบกับค่า MRL ตามชนิดพืชและสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ที่ได้ทำการทดลอง residue trials แล้ว โดยใช้ข้อมูลสารพิษตกค้างที่ตรวจพบเปรียบเทียบกับค่า MRL จากแหล่งอ้างอิงต่างๆ กำหนดการใช้ chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และอัตราการใช้น้ำ 100 ลิตรต่อไร่ ในมะเขือเปราะ

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษตกค้างของ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ และค่า MRLs ของ Codex และ EU

ระยะเวลาหลังการพ่นครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้างเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	MRLs (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	
		EU	Codex
0	0.09	0.6	0.6
1	0.07		
3	0.05		
5	0.04		
7	0.03		
10	0.01		
14	0.01		
21	<0.01		

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

9.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ของวิธีวิเคราะห์ chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ โดย QuEChERS (EN 15662, 2008) ด้วย LC-MS/MS มี accuracy เฉลี่ยอยู่ในช่วง 71-94% อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับ precision ประเมินจากค่า %RSD พบว่าอยู่ในช่วง 7.72-12.70% และมีค่า LOQ เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมาสกัดตัวอย่างมะเขือเปราะจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

9.2 การทดสอบความคงตัว (storage stability) ของ chlorantraniliprole ในตัวอย่างมะเขือเปราะ สารพิษตกค้างในตัวอย่างสลายตัวไปไม่เกิน 30% ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม ดังนั้นสามารถเก็บมะเขือเปราะที่มีสารพาทกค้าง chlorantraniliprole ไว้ได้นาน 60 ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 องศาเซลเซียส โดยสารพิษตกค้างไม่สลายตัว

9.3 การทำแปลงทดลองพบว่า การพ่นวัตถุอันตราย chlorantraniliprole ในแปลงทดลองมีความถูกต้องแม่นยำของการพ่นสารต่อพื้นที่อยู่เกณฑ์ยอมรับได้ คือ 99.1-104.4% ของการพ่นสารต่อพื้นที่ในอัตราคำแนะนำ

9.4 ปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ จากแปลงทดลองที่ไม่พ่นวัตถุอันตราย chlorantraniliprole ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง และแปลงทดลองพ่นวัตถุอันตราย chlorantraniliprole ตามคำแนะนำ ทั้งทำการทดลองพบว่าการสลายตัวของ chlorantraniliprole มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาเก็บเกี่ยว การทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยวนานขึ้นปริมาณสารพิษตกค้าง chlorantraniliprole จะลดลงตาม

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างสามารถนำวิธีวิเคราะห์ที่ได้นี้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ

10.2. ข้อมูลการศึกษาการสลายตัวของวัตถุอันตราย chlorantraniliprole ในมะเขือเปราะ เสนอผลการศึกษาต่อสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) ซึ่งได้เสนอกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ของประเทศไทย

10.3. ผลที่ได้จากการทดลองสามารถนำไปตรวจสอบกับค่า Pre Harvest Interval, PHI ที่บริษัทผลิตแนะนำไว้บนฉลากของบรรจุภัณฑ์ว่าถูกต้องหรือไม่ ซึ่งข้อมูลจากการศึกษานี้บริษัทผู้ผลิตสามารถนำไปพิจารณาแก้ไขคำแนะนำบนฉลากข้างบรรจุภัณฑ์ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม

11. คำขอบคุณ -

12. เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. **คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช.** สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร.

สัญญาณี ศรีคชา, อัจฉรา หวังอาษา และอุราพร หนูนารถ. 2555. **การคัดเลือกสารเคมีและสารสกัดจากพืชในการป้องกันแมลงศัตรูพืชในมะเขือเปราะ.** สำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Anastassiadou, M., Bernasconi, G., Brancato, A., Cabrera, L.C., Ferreira, L., Greco, L., Jarrah, S., Kazocina, A., Leuschner, R., Magrans, J.O., Miron, I., Nave, S., Pedersen, R., Reich, H., Rojas, A., Sacchi, A., Santos, M., Theobald, A., Vagenende, B. and Verani, A. 2020. Review of the existing maximum residue levels for chlorantraniliprole according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. *European Food Safety Authority Journal*, 18(9): 6235.

FAO. 1999. *Guidelines on Producing Pesticide Residues Data from Supervised Trials Part 3 Supervised Residue Trials in Crops and Plant Products.* FAO, Rome.

- FAO. 2016. *CHLORANTRANILIPROLE (230)*. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation2016/CHLORANTRANILIPROLE.pdf. (30 เมษายน 2563)
- FAO PLANT PRODUCTION AND PROTECTION PAPER 225. 2016. *Submission and evaluation of pesticide residue data for the estimation of maximum residue levels in food and feed*. 3rd ed.
- FAO/WHO. 2008. *Maximum residue limits for pesticides in food and animal food*. Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on pesticide residues.
- 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*.
- 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.