

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย -
2. โครงการวิจัยเดี่ยว การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลไม้และผัก
กิจกรรมที่ 2 : การศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างในผักบริโภคผล (fruiting vegetable) เพื่อ
กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ อินโดกซาคาร์บ (indoxacarb) ในมะเขือเพื่อกำหนดค่า
ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)

Residue Trials of Indoxacarb in Aubergines to Establish Maximum Residue
Limit

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	วีระสิงห์ แสงวรรณ	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน	ชนิตา ทองแฉม	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	วิชุดา ควรหัตร์	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
	วาเลนไทน์ เจือสกุล	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

5. บทคัดย่อ

ศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้างอินโดกซาคาร์บในมะเขือเปราะ เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทำการทดลองในแปลงเกษตรกร 5 แปลงทดลอง ระหว่างเดือนธันวาคม 2560 ถึงเดือนมีนาคม 2563 ในแต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงควบคุม (ไม่พ่นวัตถุมีพิษ) และแปลงทดลองที่พ่นอินโดกซาคาร์บสูตร 30% WG ตามอัตราแนะนำ 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 100 ลิตรต่อไร่ พ่นสารทุกๆ 7 วัน รวม 3 ครั้ง สุ่มเก็บตัวอย่างมะเขือเปราะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้าง ด้วยเครื่อง LC-MS/MS ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วันภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ในแปลงทดลองที่ 1 พบปริมาณอินโดกซาคาร์บ มีค่าเฉลี่ย 0.06, 0.04, 0.03, 0.03, 0.01, 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 14 และ 21 วัน แปลงทดลองที่ 2 พบปริมาณอินโดกซาคาร์บ มีค่าเฉลี่ย 0.03, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 14 และ 21 วัน แปลงทดลองที่ 3 พบปริมาณอินโดกซาคาร์บ มีค่าเฉลี่ย 0.03, 0.03, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 14 และ 21 วัน แปลงทดลองที่ 4 พบปริมาณอินโดกซาคาร์บ มีค่าเฉลี่ย 0.08, 0.09, 0.03, 0.02, 0.01, 0.01, 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 21 วัน แปลงทดลองที่ 5 พบปริมาณอินโดกซาคาร์บ มีค่าเฉลี่ย 0.11, 0.05, 0.03, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจไม่พบที่ระยะเวลา 21 วันตามลำดับ โดย Codex กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างอินโดกซาคาร์บในมะเขือเปราะ ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำหลัก : อินโดกซาคาร์บ มะเขือเปราะ ปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Abstract

The study on residue trials of indoxacarb in aubergines to establish maximum residue limit. The experimental in 5 trial field locations were conducted during December 2017 to March 2020. The field trials each consisted of two plots which were untreated (not sprayed) and treated plot was sprayed with 30% WG indoxacarb at recommended dose (5 g/20 L) and 100 L/rai of water. Each of field trial was done 3 times of spraying in every 7 days. Treated samples were collected and their indoxacarb residue was determined at day 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days after the last application by LC-MS/MS. The trial number 1 were found concentration of residues are 0.06, 0.04, 0.03, 0.03, 0.01, 0.01 mg/kg and not detected at day 14 and 21. The trial number 2 were found concentration of residues are 0.03, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01 mg/kg and not detected at day 14 and 21. The trial number 3 were found concentration of residues are 0.03, 0.03, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01 mg/kg and not detected at day 14 and 21. The trial number 4 were found concentration of residues are 0.08, 0.09, 0.03, 0.02, 0.01, 0.01, 0.01 mg/kg and not detected at day 21. The trial number 5 were found concentration of residues are 0.11, 0.05, 0.03, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01 mg/kg and not detected at day 21 respectively. Codex sets the maximum residue limit (MRL) of indoxacarb residue in aubergines at 0.5 mg/kg.

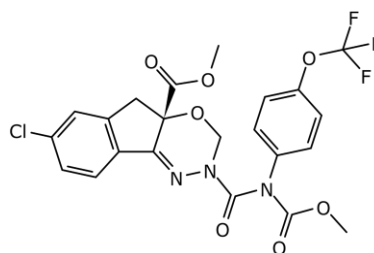
Key – words : indoxacarb, aubergines, maximum residue limit

6. คำนำ

การกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างในผลผลิต และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเป็นการพิจารณาร่วมกันของคณะกรรมการมาตรฐานอาหารสากล (Codex) FAO/WHO ซึ่งจะพิจารณาจากข้อมูลผลการทดลองที่ประเทศสมาชิกได้ทำการศึกษาภายใต้การปฏิบัติการทางการเกษตรที่เหมาะสม (GAP) โดยมีการดูแลรักษา การป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสมถูกต้องกับชนิดของพืช การกำหนดค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบพืชและชนิดของพืช เนื่องจากคณะกรรมการส่วนใหญ่จะพิจารณาพืชและวัตถุดิบพืชที่ใช้กันมากในยุโรป และประเทศในซีกโลกตะวันตก บางประเทศที่นำเข้าสินค้าเกษตรใช้ค่าที่กำหนดนี้มาเป็นข้ออ้างในการกีดกันการค้า สำหรับพืชและวัตถุดิบพืชที่ไม่มีการกำหนดค่า MRL จะถูกปรับให้มีค่าต่ำๆ หรือให้น้อยที่สุดเท่าที่เครื่องมือจะสามารถวิเคราะห์ได้อย่างน่าเชื่อถือ (default limit) นอกจากนี้ประสิทธิภาพของวัตถุดิบพืช และอัตราการสลายตัวในพืชแต่ละชนิดยังมีความแตกต่างกันตามแต่ละสภาพพื้นที่การเกษตร การทดลองจะต้องทำซ้ำ ต่างสถานที่ หรือต่างฤดูกาล จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ต้องมีการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในพืชจากการทำแปลงทดลอง เพื่อนำข้อมูลปริมาณสารพิษตกค้างที่ได้จากพ่นวัตถุดิบพืชที่อัตราแนะนำ ที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ หลังการฉีดพ่นครั้งสุดท้าย มาประกอบการพิจารณาร่วมกับข้อมูลศึกษาความเป็นพิษของวัตถุดิบพืชชนิดนั้น ๆ เพื่อเกษตรกรผู้ผลิตพืชยังสามารถใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรได้ตามความจำเป็นอย่างเหมาะสมและคงความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค

มะเขือเปราะเป็นพืชที่นิยมบริโภคในประเทศ เป็นพืชที่ปลูกง่าย เจริญเติบโตและให้ผลตอบแทนเร็ว และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้นาน เป็นพืชผักเศรษฐกิจและสามารถส่งออกได้ กรมส่งเสริมการเกษตร ได้รายงานสถิติการผลิตมะเขือเปราะของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2562 ไว้ว่า มีพื้นที่ปลูกทั่วประเทศรวมแล้วมากถึง 29,324 ไร่ ในพื้นที่ 67 จังหวัดทั่วประเทศ พื้นที่ปลูกที่เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ทั้งหมด 81,140 ไร่ เก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว 19,186 ไร่ เป็นน้ำหนักผลผลิตรวม 75,621 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2563) มะเขือเปราะ (aubergines) เป็นพืชผักที่ใช้ผลรับประทาน เป็นไม้พุ่มมีอายุได้หลายฤดูกาล แต่เกษตรกรมักปลูกเพื่อการค้าเพียง 1 – 2 ปี มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดีย มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Solanum virginianum* L. อยู่ในตระกูล SOLANACEAE มีลักษณะเป็นพุ่มสูง 2 – 4 ฟุต ใบมีขนาดใหญ่เรียงตัวแบบสลับ ดอกมีขนาดใหญ่สีม่วงหรือสีขาว หลังจากดอกบาน 7-10 วัน สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ โดยเก็บผลที่มีขนาดพอเหมาะ ไม่อ่อนหรือแก่เกินไป เก็บเกี่ยวให้มีขั้วมะเขือติดมากับผล ผลมีรูปร่างกลมแบนรูปไข่ ผลอาจมีสีขาว เขียว เหลือง ม่วง ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ (สุรชัย, 2535) มะเขือเป็นพืชที่มีศัตรูที่สำคัญคือ เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi*) หนอนเจาะผลมะเขือ (*Leucinodes orbonalis*) และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย (*Amrasca biguttula*) ตามคำแนะนำให้ใช้สารเคมีกำจัดแมลงหลายชนิด ได้แก่ อิมิดาโคลพริด พิโพรนิล คาร์โบซัลแฟน เบนฟูราคาร์บ เฟนโพรพาทริน โพรไทโอฟอส เบตาไซฟลูทริน ซีตาไซเพอร์เมทธริน ไทโอไดคาร์บ ฟลูไซโคลซุรอน และไซเพอร์เมทธรินผสมฟอสซาโลน โดยต้องทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยวแตกต่างกันไป ตั้งแต่ 7–28 วัน (กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา, 2553) สำหรับโรคพืชตระกูลมะเขือมีหลายชนิด เช่น โรคผลเน่าแห้ง สีดำหรือปลายผลดำ โรคใบแห้งหรือใบจุด โรคราแป้ง สามารถป้องกันกำจัดโดยใส่ปุ๋ยขารองกันหลุมก่อนปลูก ใช้กำมะถันผง เบนโนมิล หรือคาร์เบนดาซิมเพื่อป้องกันและกำจัดโรคดังกล่าวได้

อินดอกซาคาร์บ (indoxacarb) มีชื่อทางเคมีคือ methyl (4*a*S)-7-chloro-2-[methoxycarbonyl-[4-(trifluoromethoxy)phenyl]carbamoyl]-3,5-dihydroindeno[1,2-e][1,3,4]oxadiazine-4*a*-carboxylate



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ indoxacarb

สูตรโมเลกุล คือ $C_{22}H_{17}ClF_3N_3O_7$ มีน้ำหนักโมเลกุล 527.8 (Wood, 2021) จัดเป็นวัตถุมีพิษตามกลไกการออกฤทธิ์สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง ในกลุ่มที่ 22 โดยครอบคลุมความต่างศักย์บริเวณช่องทางผ่านของโซเดียมในระบบประสาท (Voltage-dependent sodium channel blockers) มี 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่ม 22A กลุ่มออกซาไดอะซีน (Oxadiazines) ได้แก่ อินดอกซาคาร์บ และกลุ่ม 22B กลุ่มเซมิคาร์บาโซน (Semicarbazones) ได้แก่ เมตาฟลูมิโซน มีสูตรผสมเช่น WG, EC, และ SC ใช้กำจัดหนอนผีเสื้อทุกชนิด เช่น หนอนท่อใบข้าว, หนอนม้วนใบมังกุด, หนอนม้วนใบเงาะ, หนอนม้วนใบมะเขือ, หนอนเจาะลำต้น, หนอนเจาะมะเขือ, หนอนเจาะผลทุเรียน, หนอนเจาะดอก, หนอนเจาะเมล็ดทุเรียน, หนอนคืบ, หนอนเจาะสมอฝ้าย, หนอนกระทู้ข้าวโพด, หนอนกระทู้ผัก, หนอนกระทู้หอม, หนอนใยผัก, หนอนบึ้ง, หนอนซอนใบมะเขือเทศ, หนอนผีเสื้อชนิดอื่นๆ

7. วิธีดำเนินการ

7.1 อุปกรณ์

- 7.1.1 เครื่องพ่นวัตถุมีพิษแบบเครื่องยนต์เล็กสะพายหลัง (Motorized Knapsack Sprayer)
- 7.1.2 ชุดสวมใส่เพื่อป้องกันการปนเปื้อนขณะพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตร
- 7.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ มีดหั่นตัวอย่างพร้อมเขียง เครื่องปั่นตัวอย่าง และภาชนะบรรจุตัวอย่าง
- 7.1.4 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ และวัสดุวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

7.2 สารเคมี ได้แก่

- 7.2.1 สารมาตรฐาน indoxacarb เตรียมสารละลายมาตรฐานด้วยตัวทำละลาย Acetonitrile
- 7.2.2 ผลิตภัณฑ์วัตถุมีพิษ indoxacarb 30% WG สำหรับพ่นในแปลงทดลอง
- 7.2.3 Acetonitrile
- 7.2.4 Extract powder; 4 g magnesium sulphate anhydrous, 1 g sodium chloride, 1 g trisodium citrate dehydrate และ 0.5 g disodium hydrogencitrate sesquihydrate
- 7.4.5 สารกำจัดสิ่งปนเปื้อน; 45 mg GCB (graphitize carbon black), 125 mg PSA (primary secondary amine), 750 mg $MgSO_4$ (magnesium sulphate)

7.3 เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

- 7.3.1 เครื่องชั่งชนิดหยาบและละเอียด
- 7.3.2 เครื่องสับตัวอย่าง (Food Processor)
- 7.3.3 เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง
- 7.3.4 เครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างของวัตถุมีพิษ เครื่องมือตรวจวัดวัตถุ มี พิษ ชนิด Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ต่อกับ เครื่อง Tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

7.4 วิธีการ

- 7.4.1 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง indoxacarb ในมะเขือเปราะโดยตรวจสอบ parameter ต่างๆ ดังนี้ matrix effect, accuracy, working range/linearity LOQ และ LOD
- 7.4.2 สำรองแปลงปลูกมะเขือเปราะของเกษตรกรเพื่อวางแผนการทดลองแผนการปฏิบัติงานในแปลงทดลอง และกำหนดระยะเวลาพ่นวัฏภูมิพิษ indoxacarb 30% WG
- 7.4.3 ทำแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial แต่ละแปลงมีพื้นที่ปลูกขนาดประมาณ 200 ตารางเมตร และต้องมีปริมาณผลผลิตเพียงพอต่อการเก็บตัวอย่างตามจำนวนครั้งที่กำหนด แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 แปลง คือ แปลงควบคุม (ไม่พ่นวัฏภูมิพิษ) และแปลงที่พ่นวัฏภูมิพิษ indoxacarb 30% WG ตามอัตราแนะนำ 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราการใช้น้ำ 100 ลิตรต่อไร่ (มะเขือเปราะมีอายุมากกว่า 60 วัน) พ่นสารรวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน เก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำ (duplication) โดยสุ่มตัวอย่างแต่ละซ้ำให้กระจายทั่วแปลง จำนวนไม่น้อยกว่า 12 ผล ปริมาณไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม วนระยะห่าง 1 เมตร ที่หัวแปลงและท้ายแปลง โดยทิ้งระยะเวลา 2 ชั่วโมงหลังการพ่นครั้งสุดท้าย และ 8 วิธีการ (วันเก็บเกี่ยว) ได้แก่ เก็บตัวอย่างเป็นวันที่ 0 และเก็บตัวอย่างต่อไปตามระยะเวลาที่กำหนดไว้คือ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน นำกลับห้องปฏิบัติการเก็บในตู้แช่ตัวอย่างอุณหภูมิต่ำ -20°C
- 7.4.4 วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง ด้วยวิธี EN QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2003) นำมะเขือเปราะที่เก็บจากแปลงทดลองออกจากตู้แช่ตัวอย่าง หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่เครื่องปั่นตัวอย่าง (Food Processor) โดยปั่นร่วมกับไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) ซ้ำตัวอย่างมะเขือเปราะ 10 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าด้วยมือประมาณ 1 นาที เติมสารผสมของ 4 กรัม MgSO₄, 1 กรัม NaCl, 1 กรัม trisodium citrate dehydrate และ 0.5 กรัม disodium hydrogencitrate sesquihydrate เขย่าด้วยมือประมาณ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm (revolution per minute) 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร เติมสารผสมระหว่าง PSA 125 มิลลิกรัม MgSO₄ 750 มิลลิกรัม และ GCB จำนวน 45 มิลลิกรัม นำไป vortex ประมาณ 30 วินาที จากนั้น centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน filter ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-MS/MS
- 7.4.5 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง HPLC-MS/MS เตรียมสารละลายมาตรฐานของวัฏภูมิพิษ indoxacarb ด้วย acetonitrile HPLC Grade โดยเตรียม 7 ความเข้มข้นที่ระดับ 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 และ 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ฉีดเข้าเครื่องเพื่อทำ calibration curve ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารในแกน X ซึ่ง calibration curve เป็นกราฟเส้นตรงที่มีค่า correlation ของ linear

Regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

การตั้งสภาวะของเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟี มีรายละเอียดดังนี้

เครื่อง LC-MS/MS ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290

หัวตรวจวัดชนิด QQQ Mass Spectrophotometer

คอลัมน์ (HPLC Column) คือ Kinetex 2.6u XB-C18 100A 100 x 2.1 mm

1) Drying gas 12 L/min 350°C

2) Nebulizer gas 60 psi

3) Mobile phase A: 5 mM AF + 0.01%FA

4) Mobile phase B: Acetonitrile

5) Flow rate 0.4 mL/min

6) Sample size 2.00 µL

7.4.6 ศึกษาความคงทน (storage stability) ของสารพิษตกค้างอินทรีย์คาร์บอน ในมะเขือเปราะที่ระยะเวลา 0, 1, 5, 8, 14, 30, 60, 120, และ 180 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาตัวอย่าง -20 °C จากร้อยละการกลับคืน (% recovery) ที่ความเข้มข้นสาร 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ระยะเวลา

ตุลาคม 2560 – กันยายน 2563

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุที่มีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ แปลงมะเขือเปราะเกษตรกร ในจังหวัดกาญจนบุรี สุพรรณบุรี สระบุรี และจังหวัดนครปฐม

แปลงทดลองที่ 1 ตำบลหนองหญ้า อำเภอมะเขือ จังหวัดกาญจนบุรี (13°58'44"N 99°25'50"E)

ระหว่างเดือนธันวาคม 2560 ถึง มกราคม 2561

แปลงทดลองที่ 2 ตำบลแจงงาม อำเภอนองหญ้าไช จังหวัดสุพรรณบุรี (14°48'40"N, 9°46'34"E)

ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2561 ถึง มิถุนายน 2561

แปลงทดลองที่ 3 ตำบลนายาว อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี (14°45'42"N 100°46'16"E)

ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2562 ถึง 14 มีนาคม 2562

แปลงทดลองที่ 4 ตำบลหนองยา อำเภอมะเขือ จังหวัดกาญจนบุรี (13°57'38"N, 99°26'38"E)

ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2562 ถึง 12 มิถุนายน 2562

แปลงทดลองที่ 5 ตำบลทุ่งขวาง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (13°56'56.6"N 99°57'23.4"E)

ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2563 ถึง มีนาคม 2563

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองวิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของ อินโดกซาคาร์บ (indoxacarb) ในมะเขือเปราะเพื่อ กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ในปีงบประมาณ 2561 ถึงปี 2563

8.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ อินโดกซาคาร์บในมะเขือเปราะ

8.1.1 matrix effect ในตัวอย่างมะเขือเปราะโดยเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัด standard in matrix และ standard in solvent จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการวัดหรือพื้นที่ใต้พีคบนแกน y กับความเข้มข้นของสารในตัวอย่างบนแกน x จากนั้นนำความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in matrix และความชันจากสมการเส้นตรงของ standard in solvent มาคำนวณหา % ME จากสูตรด้านล่าง

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

โดยที่ X1 = ความชันของ standard in matrix

X2 = ความชันของ standard in solvent

พบว่าค่า %ME ของสารทั้งสองมีค่าเท่ากับ 50 แสดงว่าความชันมีความแตกต่างกันมากกว่า 10 % (NATA, 2018) แสดงว่าเกิดสิ่งรบกวนจากตัวอย่าง จึงต้องเตรียมสารมาตรฐานในสารละลายที่สกัดจากตัวอย่างมะเขือเปราะ (ตารางผนวก 1)

8.1.2 accuracy โดยวิเคราะห์ค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) ของการวิเคราะห์อินโดกซาคาร์บ ในตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 8 ซ้ำ ประเมินความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) จาก % recovery ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 70 -120 % (SANCO,2013) และ ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) มีค่า ≤ 20 ผ่านเกณฑ์การยอมรับ สามารถใช้วิธีวิเคราะห์นี้ได้ (SANCO, 2013) (ตารางผนวก 2)

8.1.3 working range/linearity โดยนำความเข้มข้นเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้จากการตรวจวิเคราะห์ อินโดกซาคาร์บ ในตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มา plot กับความเข้มข้น plot กราฟ เส้นตรง เทียบกับความเข้มข้นของตัวอย่างมะเขือเปราะ ที่เติมสารมาตรฐาน (fortified standard) (EURACHEM ...2014....) โดยมีค่า coefficient of determination (r^2) ≥ 0.995 (ภาพผนวก 1)

8.1.4 Limit of Quantification (LOQ) มีค่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Limit of Detection (LOD) มีค่า 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางผนวก 2)

8.2 ศึกษาความคงทน (storage stability) ของสารพิษตกค้างอินโดกซาคาร์บ ในมะเขือเปราะที่ระยะเวลา 0, 1, 5, 8, 14, 30, 60, 120, และ 180 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาตัวอย่าง -20 °C จากร้อยละการกลับคืน (% recovery) ที่ความเข้มข้นสาร 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์ได้นาน 180 วัน (ตารางผนวก 3)

8.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างอินโดกซาคาร์บ ในมะเขือเปราะภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน (ตารางที่ 1-5)

ตารางที่ 1 ปริมาณสารพิษตกค้าง indoxacarb (อินโดกซาคาร์บ) ในมะเขือ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดกาญจนบุรี ในปี พ.ศ. 2561

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	0.07	0.05	0.06
1	0.05	0.03	0.04
3	0.03	0.03	0.03
5	0.02	0.03	0.03
7	0.01	0.01	0.01
10	0.01	0.01	0.01
14	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND

ND: not detected (ตรวจไม่พบสารในตัวอย่าง คือ มีค่าน้อยกว่า LOD)

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดกาญจนบุรี พบปริมาณอินโดกซาคาร์บตกค้างในมะเขือเปราะ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.06, 0.04, 0.03, 0.03, 0.01, 0.01, ND, และ ND มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ภายหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างอินโดกซาคาร์บในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 2 ปริมาณสารพิษตกค้าง indoxacarb (อินโดกซาคาร์บ) ในมะเขือ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 2 จังหวัดสุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2561

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	0.03	0.03	0.03
1	0.02	0.02	0.02
3	0.03	0.02	0.02
5	0.01	0.02	0.02
7	0.01	0.02	0.01

10	0.01	0.01	0.01
14	ND	<0.01	ND
21	ND	ND	ND

ND: not detected (ตรวจไม่พบสารในตัวอย่าง คือ มีค่าน้อยกว่า LOD)

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 2 จังหวัดสุพรรณบุรี พบปริมาณอินโดกซาคาร์บตกค้างในมะเขือเปราะ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.03, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01, ND, และ ND มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างอินโดกซาคาร์บในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้าง indoxacarb (อินโดกซาคาร์บ) ในมะเขือ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

แปลงทดลองที่ 3 จังหวัดสระบุรี ปี พ.ศ. 2562

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	0.04	0.03	0.03
1	0.04	0.02	0.03
3	0.02	0.03	0.02
5	0.02	0.02	0.02
7	0.02	0.02	0.02
10	0.01	0.01	0.01
14	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND

ND: not detected (ตรวจไม่พบสารในตัวอย่าง คือ มีค่าน้อยกว่า LOD)

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 3 จังหวัดสระบุรี พบปริมาณอินโดกซาคาร์บตกค้างในมะเขือเปราะ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.03, 0.03, 0.02, 0.02, 0.02, 0.01, ND, และ ND มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างอินโดกซาคาร์บในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 4 ปริมาณสารพิษตกค้างอินต็อกซาคาร์บในมะเขือ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 4 จังหวัด

กาญจนบุรีปี พ.ศ. 2562

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	0.08	0.08	0.08
1	0.08	0.1	0.09
3	0.02	0.03	0.03
5	0.02	0.02	0.02
7	0.01	0.01	0.01
10	0.01	0.01	0.01
14	0.01	0.01	0.01
21	ND	ND	ND

ND: not detected (ตรวจไม่พบสารในตัวอย่าง คือ มีค่าน้อยกว่า LOD)

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 4 จังหวัดกาญจนบุรี พบปริมาณอินต็อกซาคาร์บตกค้างในมะเขือเปราะ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.08, 0.09, 0.03, 0.02, 0.01, 0.01, 0.01, และ ND มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างอินต็อกซาคาร์บในทุกตัวอย่างของการทดลอง

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษตกค้างอินต็อกซาคาร์บในมะเขือ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แปลงทดลองที่ 5 จังหวัด

นครปฐมปี พ.ศ. 2563

ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง หลังพ่นสารครั้งสุดท้าย (วัน)	ปริมาณสารพิษตกค้าง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	เฉลี่ย
0	0.10	0.12	0.11
1	0.04	0.07	0.05
3	0.03	0.03	0.03
5	0.02	0.02	0.02
7	0.02	0.02	0.02
10	0.01	0.01	0.01
14	0.01	0.01	0.01
21	ND	<0.01	ND

ND: not detected (ตรวจไม่พบสารในตัวอย่าง คือ มีค่าน้อยกว่า LOD)

ผลการวิเคราะห์แปลงทดลองที่ 5 จังหวัดนครปฐม พบปริมาณอินดิออกซาคาร์บตกค้างในมะเขือเปราะ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.11, 0.05, 0.03, 0.02, 0.02, 0.01, 0.01, และ ND มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้ายตามลำดับ แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารพิษตกค้างอินดิออกซาคาร์บในทุกตัวอย่างของการทดลอง

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการวิเคราะห์อัตราการสลายตัวของปริมาณอินดิออกซาคาร์บตกค้างในมะเขือเปราะ ภายหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้ายมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่องจนตรวจไม่พบสารตกค้าง และมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันทั้ง 5 แปลงทดลอง ค่าปริมาณสารพิษตกค้างจากการทดลองเมื่อนำไปพิจารณาเทียบกับค่า Codex MRL กำหนดให้มีค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตร (MRL) ในกลุ่มมะเขือและสินค้าเกษตรที่คล้ายมะเขือ (VO 0246) เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Codex MRL. 2018) ซึ่งมีค่าสูงกว่าทุกระยะการเก็บเกี่ยวคือปริมาณที่ตรวจพบสารพิษตกค้างมีปริมาณไม่เกินค่าความปลอดภัยที่กำหนดไว้ในมะเขือเปราะ ซึ่งถือว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภค

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี สามารถพิสูจน์ให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือของวิธีการตรวจวิเคราะห์ และเป็นที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบสารพิษตกค้างอินดิออกซาคาร์บในมะเขือเปราะ และขยายขอบข่ายในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในผักผลไม้ต่อไป
2. ได้ข้อมูลสารพิษตกค้างในมะเขือเปราะเพื่อเสนอโคเด็กซ์พิจารณากำหนดค่า Codex MRL และเสนอที่ประชุมอาเซียนเพื่อกำหนดค่า Asean MRL
3. ได้ข้อมูลการศึกษาสารพิษตกค้างในมะเขือเปราะ เพื่อกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยภายหลังจากพ่นสารบนฉลากผลิตภัณฑ์วัตถุดิบอันตราย และเป็นคำแนะนำในคู่มือการป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร

11. คำขอบคุณ

-

12. เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2563. รายงานสถานการณ์การปลูก มะเขือเปราะปี 2562. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านการเกษตร (รต.) Online : http://production.doae.go.th/report/report_main2.php
- กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด กรุงเทพฯ. 303 หน้า.
- สุรชัย มัจฉาชีพ. 2535. พืชเศรษฐกิจในประเทศไทย. สำนักพิมพ์แพรวพิทยา กรุงเทพฯ. 276 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2561. “สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ” ศูนย์สารสนเทศการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

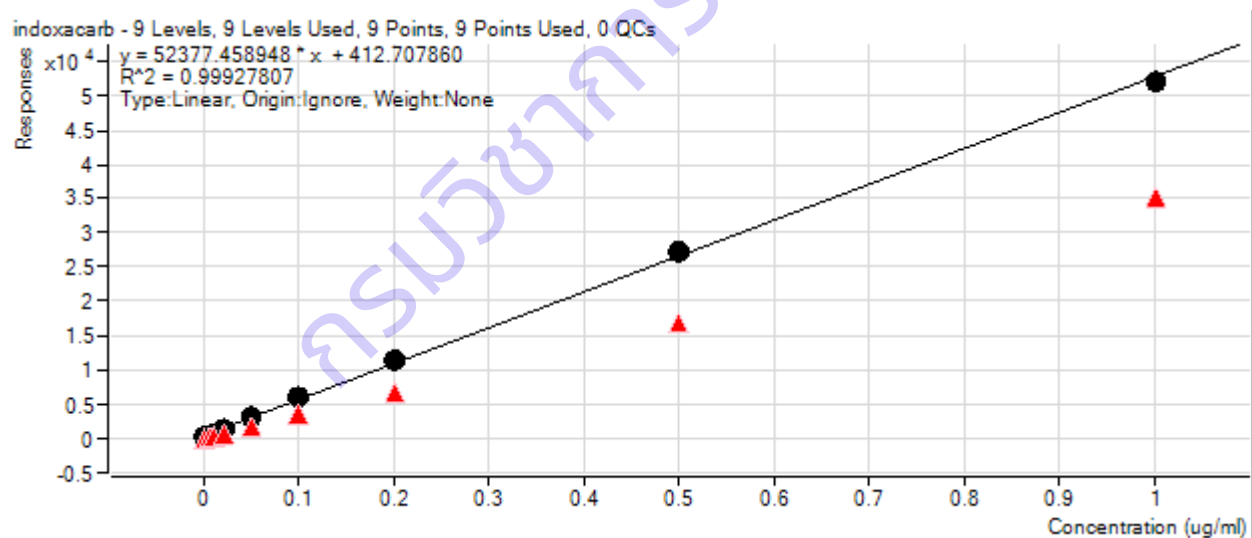
Anastassiades, M. S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, F.J. Schenck (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce, J. AOAC Int., 86, 412-431.

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.

Wood, A. 2021. indoxacarb Data Sheet. Available-online 24 Feb 2021.
<http://www.alanwood.net/pesticides/indoxacarb.html>

13. ภาคผนวก

ภาพที่ 1 กราฟความเข้มข้นเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้จากการตรวจวิเคราะห์ อินดอกซาคาร์บ ในตัวอย่าง ที่ระดับความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



ตารางที่ 1 ผลการศึกษา matrix effect ในตัวอย่างมะเขือเปราะ

Compound Name	slope		%ME	Matrix effect
	standard in matrix	standard in solvent		
indoxacarb	52377.45895	34889.21712	50.13	different

ตารางที่ 2 ค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) ของการวิเคราะห์อินดิคซาคาร์บ ในตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

Fortification level (mg/kg)	Commodity	Type of Recovery	Concentration (mg/kg)	Recovery (%)	Average Recovery (Standard Deviation) (%)	%RSD
0.005	aubergines	MV	0.0046	92	90.50±3.16	3.49
		MV	0.0043	86		
		MV	0.0044	88		
		MV	0.0046	92		
		MV	0.0048	96		
		MV	0.0044	88		
		MV	0.0046	92		
		MV	0.0045	90		
0.01	aubergines	MV	0.009	92	96.69±5.95	6.15
		MV	0.009	90.5		
		MV	0.009	87		
		MV	0.010	103		
		MV	0.010	99		
		MV	0.010	101		
		MV	0.010	101		
		MV	0.010	100		
0.1	aubergines	MV	0.09	92.15	94.64±3.89	4.11
		MV	0.09	90.1		
		MV	0.09	90.05		
		MV	0.09	93.7		

		MV	0.10	100.2		
		MV	0.09	94.6		
		MV	0.10	99		
		MV	0.10	97.3		
0.5	aubergines	MV	0.59	117.74	110.66±6.58	5.95
		MV	0.59	117.12		
		MV	0.54	107.94		
		MV	0.59	118.94		
		MV	0.56	111.2		
		MV	0.53	105.94		
		MV	0.52	103.84		
		MV	0.51	102.52		

ตารางที่ 3 การศึกษาความคงทน (storage stability) ของสารพิษตกค้างอินทรีย์คาร์บ ในมะเขือเปราะที่
ระยะเวลา 0, 1, 5, 8, 14, 30, 60, 120, และ 180 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาตัวอย่าง
-20 °C จากร้อยละการกลับคืน (% recovery) ที่ความเข้มข้นสาร 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Fortification Level (mg/kg)	Storage interval (day)	Procedural Recovery (%)	Residue in stored fortified samples (mg/kg)	Average uncorrected residues remained (%)
0.1	0	71,66	0.0682,0.0872	78
	1	104,106	0.0942,0.0894	92
	5	82,96	0.0788,0.0765	78
	8	90,91	0.0862,0.0852	86
	14	99,101	0.0836,0.0886	86
	30	102,107	0.0728,0.0819	77
	60	103,113	0.0878,0.0905	89
	120	112,102	0.0939,0.0833	89
	180	97,105	0.0714,0.0745	73