

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของสไปโรมีซิเฟน (spiromesifen) ในพริก
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Residue Trials of Spiromesifen in Chili to Establish
Maximum Residue Limit (MRL)

สุพัตริ หนูสังข์ จินตนา ภู่มงกุฎชัย ศศิณิภา คงแหม่ดี บุญทวีศักดิ์ บุญทวี ประพันธ์ เคนท้าว
Supattri Noosang Jintana Poomongkutchai
Sasinida khongchamdee Boonthaweesak Boonthawee Praphan Kenthao

กลุ่มวิจัยวัฏมีพิษการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on residue trials of spiromesifen in chili to establish maximum residue limit. The three field trials were consisted of the control plot (spiromesifen was not applied on control) and the treated plot which spiromesifen 24% W/V SC were applied with recommendation dosage at 30 mL/20 L of water. Spiromesifen were sprayed on chili for 2 times every 5 days. After the last application, chili sample were collected at 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days and all samples were analyzed by using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) technique. The results showed that the residues were not detect in all control samples. In contrast, the residues from treated plots were found at amount of 0.02-0.74, 0.02-0.60 and 0.06-1.45 milligrams per kilogram for trial 1, 2 and 3 respectively. The results of three experiments corresponded to each other which when the harvesting period pesticide residues are reduced is longer. The residue of spiromesifen is lower than Codex MRL at day 5 after the last application. The Codex MRL of spiromesifen in peppers are 0.5 milligrams per kilogram.

Keywords: Maximum Residue Limit (MRL), Spiromesifen, Chili

บทคัดย่อ

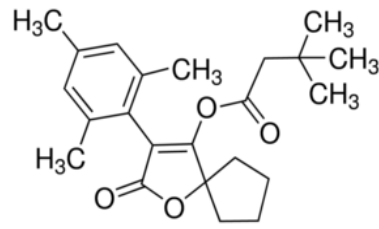
ศึกษาการสลายตัวของสารตกค้างสไปโรมีซิเฟนในพริก เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทำการทดลองในแปลงพริกทั้งหมด 3 แปลงทดลอง แต่ละแปลงแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือแปลงควบคุม (แปลงที่ไม่พ่นสไปโรมีซิเฟน) และแปลงที่มีการพ่นสารสไปโรมีซิเฟน 24% W/V SC ตามอัตราแนะนำในพริก คือ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยพ่นสไปโรมีซิเฟน รวม 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างพริกไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารตกค้างสไปโรมีซิเฟน ที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ภายหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้าย โดยวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) ผลการศึกษา พบว่า ตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างจากแปลงควบคุม สำหรับแปลงทดลองที่มีการพ่นสารสไปโรมีซิเฟน พบสารตกค้างเฉลี่ย 0.02-0.74 0.02-0.60 และ 0.06-1.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับแปลงที่ 1 แปลงที่ 2 และแปลงที่ 3 ตามลำดับ โดยผลการทดลองทั้ง 3 แปลงสอดคล้องกัน คือ เมื่อทิ้งระยะเวลาเก็บเกี่ยวยาวนานขึ้นสารตกค้างสไปโรมีซิเฟนจะลดลง และสารตกค้างสไปโรมีซิเฟน ที่ 5 วัน มีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตร (MRL) ของ Codex ที่กำหนดไว้ใน peppers คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำหลัก: ค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) สไปโรมีซิเฟน พริก

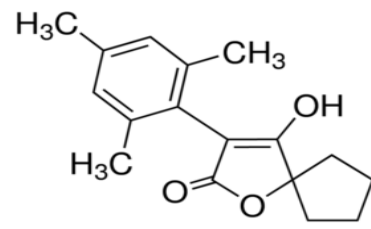
คำนำ

ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด หรือปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limit; MRL) หมายถึง ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในสินค้าเกษตร (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) เป็นค่ามาตรฐานเพื่อใช้บอกถึงปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ยอมให้มีได้ และใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงในการผลิต การค้า และใช้ในการควบคุมตรวจสอบสินค้าเกษตรที่ผลิต นำเข้า และส่งออก ค่า MRL นี้ จะถูกกำหนดขึ้นโดยหน่วยงานของแต่ละประเทศ ข้อมูลการสลายตัวของสารพิษตกค้าง เป็นข้อมูลสำคัญ ที่นำไปใช้ในการกำหนดค่า MRL สำหรับสารเคมีหรือวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ผ่านการขึ้นทะเบียนและมีการกำหนดแล้วว่าสามารถใช้กับพืชใดได้บ้างนั้น ต้องมีการจัดทำข้อมูลการสลายตัว จากการทดลองหาการตกค้างของสารในพืชแต่ละชนิด โดยเฉพาะในพืชเศรษฐกิจที่มีปริมาณการบริโภคและปริมาณการส่งออกสูง พริกเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย ทั้งพริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า พริกจินดา พริกกะเหรี่ยง หรือพริกพันธุ์อื่น ๆ ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในรูป ผลสด พริกแห้ง รวมถึงผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เป็นพืชที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ทั้งอาหารและยารักษาโรค นิยมนำมาบริโภคทั้งภายในประเทศและเป็นพืชส่งออกที่สำคัญ ที่สามารถสร้างรายได้ให้กับประเทศไทยปีละหลายล้านบาท ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น และเยอรมนี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562)

สไปโรมีซิเฟน (spiromesifen) เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช จัดในกลุ่มสารออกฤทธิ์กับขบวนการเมตาโบลิซึม ในการสังเคราะห์ไขมัน (lipid synthesis) และการยับยั้งการเจริญเติบโต (growth regulation) จุดทำลายแมลงคือการยับยั้งขบวนการทางชีวเคมีในการสังเคราะห์ เป็นสารที่มีการขึ้นทะเบียนแล้วในประเทศไทย มีชื่อทางการค้าคือ โอเบรอน 240 SC ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิด สำหรับสารอนุพันธ์ของ spiromesifen ได้แก่ spiromesifen-enol (M01), 4-hydroxymethylspiromesifen-enol (M02), จากการกำหนดชนิดสารพิษตกค้างที่ให้ตรวจ (definition of residues) เพื่อกำหนดค่า MRL ของ spiromesifen นั้น Codex กำหนดให้ใช้ผลรวมของ spiromesifen และสารอนุพันธ์ คือ spiromesifen-enol (คำนวณในรูปของ spiromesifen) (Codex, 2019) ดังนั้น เพื่อศึกษาการสลายตัวของสารพิษตกค้าง spiromesifen ในพริก และนำไปกำหนดค่า MRL การทดลองนี้จึงได้ทำการตรวจวิเคราะห์สารตกค้าง ได้แก่ spiromesifen และ spiromesifen-enol ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างของสาร แสดงดังภาพที่ 1



spiromesifen



spiromesifen-enol

ภาพที่ 1. โครงสร้างทางเคมีของ spiromesifen และสารอนุพันธ์

โดยวางแผนการทำแปลงทดลองแบบ supervised residue trials ตามหลักเกณฑ์หรือตามมาตรฐานของ Codex (FAO, 2016) และเก็บตัวอย่างพริกที่ได้จากแปลงทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง และจัดส่งข้อมูลการสลายตัวทั้งหมดให้ทาง มกอช. เพื่อเสนอคณะกรรมการพิจารณา กำหนดค่า Thai MRL และเสนอต่อคณะกรรมการ Codex เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณา กำหนดค่า Codex MRLs ต่อไป ส่งผลให้ประเทศไทยมีเกณฑ์การค่าของประเทศ ช่วยเพิ่มผลผลิตของไทยให้มีมาตรฐานความปลอดภัยเป็นไปตามมาตรฐานสากลและมาตรฐานของประเทศผู้นำเข้า ทำให้ต่างประเทศมีความต้องการสินค้าเกษตรของไทยมากขึ้นลดการกีดกันทางการค้า และเพิ่มมูลค่าในการส่งออกสินค้าพริกไปยังประเทศต่าง ๆ มากยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 ml ขวดบรรจุสาร (vial) ขนาด 1.5 และ 15 ml กระจกบอกลง (cylinder) บีกเกอร์ (beaker) ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) และตัวกรองชนิด PTFE (PTFE syringe filter) ขนาด 0.2 μm
2. เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่ง 2 และ 5 ตำแหน่ง ที่ผ่านการสอบเทียบ เครื่องปั่นตัวอย่าง (food processor) ไมโครปิเปต (micro pipette) ขนาด 100-5,000 μl เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
3. เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (Motorized Knapsack sprayer) ขนาดถังบรรจุ 25 ลิตร
4. อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ นาฬิกาจับเวลา เครื่องบันทึกอุณหภูมิ เครื่องวัดความเร็วลม ชุดป้องกันสารพิษ
5. เครื่องตรวจวิเคราะห์วัตถุที่มีพิษ Liquid Chromatograph Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) และคอลัมน์ Synergi fusion-RP 100A ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0 mm ความยาว 100 mm

สารเคมี

1. สารมาตรฐาน spiromesifen และ spiromesifen-enol (M01) ซึ่งมีความบริสุทธิ์ 99.5% และ 99.8% ตามลำดับ
2. ผลิตภัณฑ์วัตถุที่มีพิษ spiromesifen 24% W/V SC (ชื่อทางการค้า โอเบรอน)
3. สารเคมี ได้แก่ hexane (PR grade), acetonitrile (HPLC grade), formic acid (PR grade), ammonium formate (PR grade), water (HPLC grade), sodium chloride (NaCl), magnesium sulphate (MgSO_4), trisodium citrate di-hydrate ($\text{Na}_3\text{citrate} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), disodium hydrogencitrate ($\text{Na}_2\text{Hcitrate} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$), primary secondary amine (PSA), graphitized carbon black (GCB)

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน และการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS ในการตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ สารอนุพันธ์ (spiromesifen-enol)

เป็นการนำสารมาตรฐาน primary มาละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ และ นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1.1 การเตรียม stock standard solution โดยชั่งสารมาตรฐาน spiromesifen และ spiromesifen-enol ให้ได้น้ำหนักประมาณ 10 mg ใน volumetric flask ขนาด 10 mL และนำค่า % purity มาคำนวณกลับเป็นน้ำหนักสารที่แท้จริง ให้มีความเข้มข้นของสารมาตรฐานประมาณ 1,000 µg/mL โดยใช้ acetonitrile (HPLC grade) เป็นตัวทำละลาย ในการเตรียม stock solution ของสารละลายมาตรฐานสามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (}\mu\text{g/mL)} = \frac{\text{น้ำหนักที่ชั่ง (mg)} \times \text{ความบริสุทธิ์ของสาร (\%)} \times 10^3}{\text{ปริมาตรที่เตรียม (mL)} \times 100}$$

1.2 การเตรียม intermediate standard solution เจือจางสารละลายจาก stock standard solution ในตัวทำละลายที่เหมาะสม ให้มีความเข้มข้น 100 µg/ml และ 10 µg/ml ใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดยที่ N_1 = ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (µg/mL)

N_2 = ความเข้มข้นของสารที่ต้องการเตรียม (µg/mL)

V_1 = ปริมาตรของสารตั้งต้นที่ต้องดูมา (mL)

V_2 = ปริมาตรของสารที่ต้องการเตรียม (mL)

1.3 การเตรียม working standard solution ที่ความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.50 µg/ml ในตัวทำละลาย matrix ของพริก โดยใช้สูตรการคำนวณเช่นเดียวกับข้อ 1.2

1.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง LC-MS/MS สำหรับตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งเป็นเทคนิคที่ให้ความไวในการวิเคราะห์สูง (high sensitivity) และให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ ทำได้โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม spiromesifen ให้มีความเข้มข้น 0.10 µg/ml และนำไปตรวจวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยมีสภาวะของเครื่อง ดังนี้

การเตรียมสภาวะเครื่อง LC สำหรับตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol

Column	: Synergi Fusion-RP 100A, 100 mm × 2.0 mm
Column Temperature	: 25 °C
Flow rate	: 0.4 mL/min
Injection Volume	: 5 µL
Mobile phase	: 5 mM ammonium formate in H ₂ O (A) and ACN (B)

อัตราส่วนการชะสารออกจากคอลัมน์แบบ Gradient

เวลา (นาที)	อัตราไหล	สารละลาย A (%)	สารละลาย B (%)
0.0	0.4	80	20
5.0	0.4	20	80
8.0	0.4	20	80
10.0	0.4	80	20

สภาวะเครื่อง Triple Quadrupole Mass Spectrometer ดังนี้

Ion mode	:	Positive ESI
Nebulizer	:	45 psi
Drying gas flow	:	11 L/min
Capillary	:	4000V
Drying gas temp	:	350 ° C

Parameter ต่างๆ ของ mass spectrometer ที่เหมาะสม

Compound	Precursor	Product ion	Dwell time	Fragmentor	Collision
spiromesifen	371	273	50	102	4
	273	255	50	140	10
	273	187	50	140	15
spiromesifen-enol	273	255	50	140	10
	273	187	50	140	15

2. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารตกค้าง spiromesifen และ spiromesifen-enol ในพริก

การหาประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol ในพริก สามารถพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) ประเมินค่าจาก %recovery โดยการเติมสารมาตรฐาน spiromesifen และ spiromesifen-enol ลงในตัวอย่างพริก ให้มีความเข้มข้น ในตัวอย่าง เท่ากับ 0.01 0.10 และ 0.50 mg/kg ทำการ ทดลองความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ โดยผลของ %recovery ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 70-120% และพิสูจน์ความ เทียง (precision) ประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ซึ่งต้องอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ $\leq 20\%$ (SANTE, 2017) พร้อมทั้งศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) โดย LOD เท่ากับ $3 \times SD$ และศึกษาขีดจำกัดการการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) โดย LOQ เท่ากับ $10 \times SD$ (Eurachem, 2014)

3. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง spiromesifen ในพริก

3.1 การทำแปลงทดลองพริก

3.1.1 ทำการสำรวจและเลือกพื้นที่แปลงทดลองพริก จำนวน 3 แปลง แต่ละแปลงห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร โดยทำการทดลองในพื้นที่ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดนครปฐม

3.1.2 แต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงควบคุม (untreated) เป็นแปลง ที่ไม่ได้พ่น spiromesifen และแปลงที่พ่น spiromesifen 24% W/V SC (treated) ในอัตราแนะนำ คือ 30 ml ต่อน้ำ 20 l อัตราการใช้น้ำ 80 l/rai (กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2563)

3.1.3 ทำการ calibrate เครื่องพ่นก่อนการพ่น spiromesifen เพื่อหาอัตราการไหลของเครื่อง (flow rate) คำนวณหาปริมาณน้ำ ปริมาณ spiromesifen ที่ใช้พ่น คำนวณเวลาที่ใช้ในการพ่น (target time) และปรับเวลาการเดินทางของผู้พ่น เพื่อควบคุมการพ่นให้มีความสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลง

3.1.4 การพ่นวัตถุอันตราย spiromesifen ในแต่ละแปลงทดลอง (treated) โดยพ่น 2 ครั้ง แต่ละครั้ง ห่างกัน 5 วัน ช่วงเวลาทำการทดลอง ดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 พ่นวันที่ 27 กุมภาพันธ์ และ 3 มีนาคม 2563

แปลงทดลองที่ 2 พ่นวันที่ 14 และ 19 กุมภาพันธ์ 2564

แปลงทดลองที่ 3 พ่นวันที่ 25 และ 30 เมษายน 2564

3.1.5 สุ่มเก็บตัวอย่างพริกจากแปลงควบคุม และแปลงทดลอง ตามมาตรฐานการทำแปลง แบบ supervised residue trials ให้ได้น้ำหนักอย่างน้อย 2 กิโลกรัม โดยสุ่มแปลงละ 2 ซ้ำ ที่ระยะเวลา 0 (หลังพ่นสาร 2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย นำตัวอย่างพริกแพ็คใส่ถุงพร้อมเขียนป้าย เก็บถุงตัวอย่างในกล่องโฟมที่มีการบรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพตัวอย่างตลอดการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์ โดยมีช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่าง ดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 วันที่ 3 4 6 8 10 13 17 และ 24 มีนาคม 2563

แปลงทดลองที่ 2 วันที่ 19 20 22 24 26 กุมภาพันธ์ และ วันที่ 1 5 12 มีนาคม 2564

แปลงทดลองที่ 3 วันที่ 30 มีนาคม และ 3 5 7 10 14 21 พฤษภาคม 2564

3.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างในตัวอย่างจากแปลงทดลอง

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างพริก โดยเด็ดขั้วพริกออก และนำไปปั่นกับไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดด้วย เครื่องปั่นตัวอย่าง เก็บตัวอย่างที่ปั่นเสร็จไว้ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C

3.2.2 วิเคราะห์ตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่างพริก ตัวอย่างละ 10 ± 0.1 กรัม ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร ก่อนนำไปสกัดและตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์

3.2.3 วิธีการสกัดตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์สารตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์ ในพริก สกัดตัวอย่างตามวิธี EN QuEChERS (EN 15662: 2008) โดยเติมตัวทำละลาย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ 1 นาที เติมสารสกัด $MgSO_4$ 4 กรัม $NaCl$ 1 กรัม $Na_2Hcitrate$ $1.5 \cdot H_2O$ 0.5 กรัม และ $Na_3citrate$ $2 \cdot H_2O$ 1.0 กรัม เขย่าด้วยมือ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใน 5 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge ขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มีสารผสมของ PSA 125 มิลลิกรัม $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม เขย่าด้วยมือ 1 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลาย ส่วนใสผ่าน filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย เทคนิค LC-MS/MS

ระยะเวลา

เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน 2564

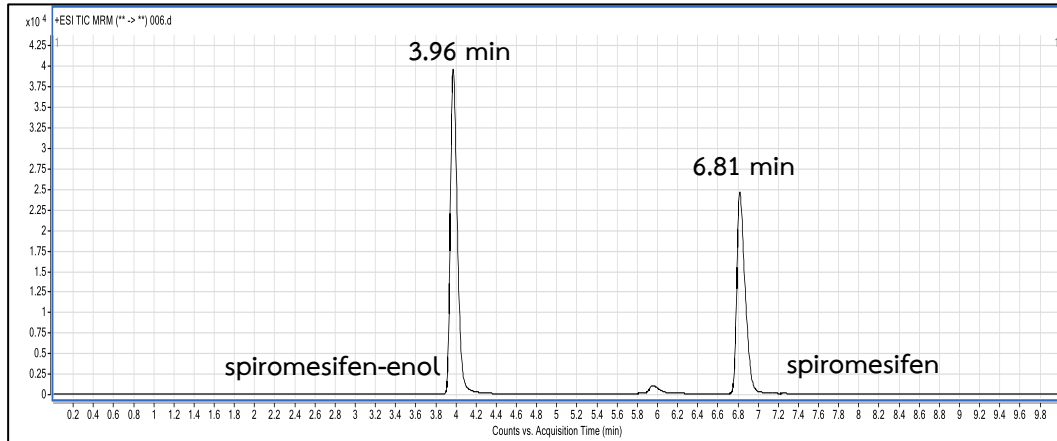
สถานที่ทำการทดลอง

สถานที่ทำแปลงทดลองของเกษตรกร ในพื้นที่จังหวัดนครปฐม และจังหวัดกาญจนบุรี ทั้งหมด 3 แปลง
สถานที่ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง spiromesifen ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

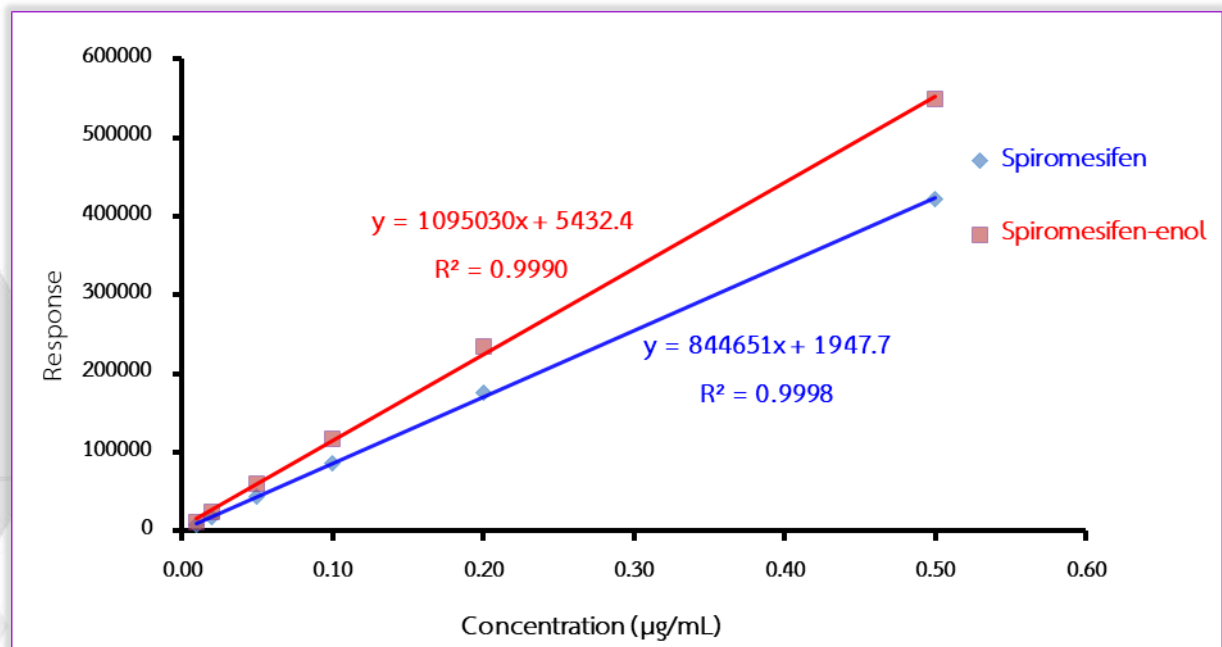
1. การตรวจวิเคราะห์ spiromesifen และ สารอนุพันธ์ (spiromesifen-enol) ด้วยเทคนิค LC-MS/MS

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ spiromesifen และ spiromesifen-enol ด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน mix spiromesifen ในตัวทำละลาย acetonitrile และฉีดสารดังกล่าวที่ความเข้มข้น 0.10 µg/mL พบว่า ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม spiromesifen มีค่า retention time ที่ 6.81 นาที ส่วนสาร spiromesifen-enol มีค่า retention time ที่ 3.96 นาที (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ลักษณะโครมาโทแกรมของสารผสม spiromesifen ตรวจวัดด้วยเทคนิค LC-MS/MS

จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า spiromesifen และ spiromesifen-enol ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 0.005-0.50 µg/mL มีค่า $R^2 = 0.9998$ และ 0.9993 ตามลำดับ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ความเป็นเส้นตรงของสาร spiromesifen และ spiromesifen-enol ในตัวอย่างสารสกัดพริก

2. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์สารตกค้าง spiromesifen และ spiromesifen-enol ในพริก

จากการพิสูจน์ความแม่นยำ (accuracy) ซึ่งประเมินค่าจาก %recovery สำหรับวิธีการสกัด สารตกค้าง spiromesifen ในพริก พบว่า ให้ %recovery เฉลี่ยอยู่ในช่วง 85-104 ซึ่งพบว่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (70-120) สำหรับการพิสูจน์ความเที่ยง (precision) ซึ่งประเมินจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) พบว่า อยู่ในช่วง 7-9 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ $\leq 20\%$ (ตารางที่ 1) ดังนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวสามารถนำมา สกัดตัวอย่างพริกจากแปลงทดลองได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำ มีประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์ โดยมี LOD เท่ากับ 0.005 และ LOQ เท่ากับ 0.01 mg/kg

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบ %recovery ของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง spiromesifen ในพริก

spiked level (mg/kg)	spiromesifen			spiromesifen-enol		
	%recovery (n=7)	SD	%RSD	%recovery (n=7)	SD	%RSD
0.01	85	7.93	9	92	4.85	5
0.10	92	6.59	7	83	2.35	3
0.50	104	7.35	7	85	2.89	3

LOD = 0.005 mg/kg, LOQ = 0.01 mg/kg

3. การศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง spiromesifen ในพริก

การศึกษาปริมาณสารตกค้าง spiromesifen ในพริก ทั้งหมด 3 แปลงทดลอง โดยพบว่า ภายหลังจาก พ่นสารครั้งสุดท้าย ผลการศึกษา พบว่า แปลงควบคุมตรวจไม่พบสารตกค้างในทุกตัวอย่างจาก สำหรับแปลงทดลองที่ มีการพ่นสาร spiromesifen พบ spiromesifen และสารอนุพันธ์ ดังตารางที่ 2 จากตารางจะเห็นได้ว่า ปริมาณ สารพิษตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์มีปริมาณลดลงทั้ง 3 แปลง เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวมากขึ้น

ตารางที่ 2 ปริมาณสารตกค้างเฉลี่ยของ spiromesifen และสารอนุพันธ์ในพริก จากการทดลองแปลงที่ 1, 2 และแปลงที่ 3

Days after last application	Average of pesticide residues (mg/kg)					
	spiromesifen			Spiromesifen-enol		
	1	2	3	1	2	3
0	0.72	0.59	1.40	0.02	0.01	0.05
1	0.41	0.56	-*	0.02	0.01	-*
3	0.16	0.23	0.57	0.02	0.01	0.02
5	0.08	0.11	0.32	0.01	0.01	0.01
7	0.07	0.08	0.22	<0.01	ND	0.01
10	0.05	0.05	0.15	<0.01	ND	0.01
14	0.03	0.04	0.10	ND	ND	ND
21	0.02	0.02	0.06	ND	ND	ND

-* For day 1 on trial 3 is not collected

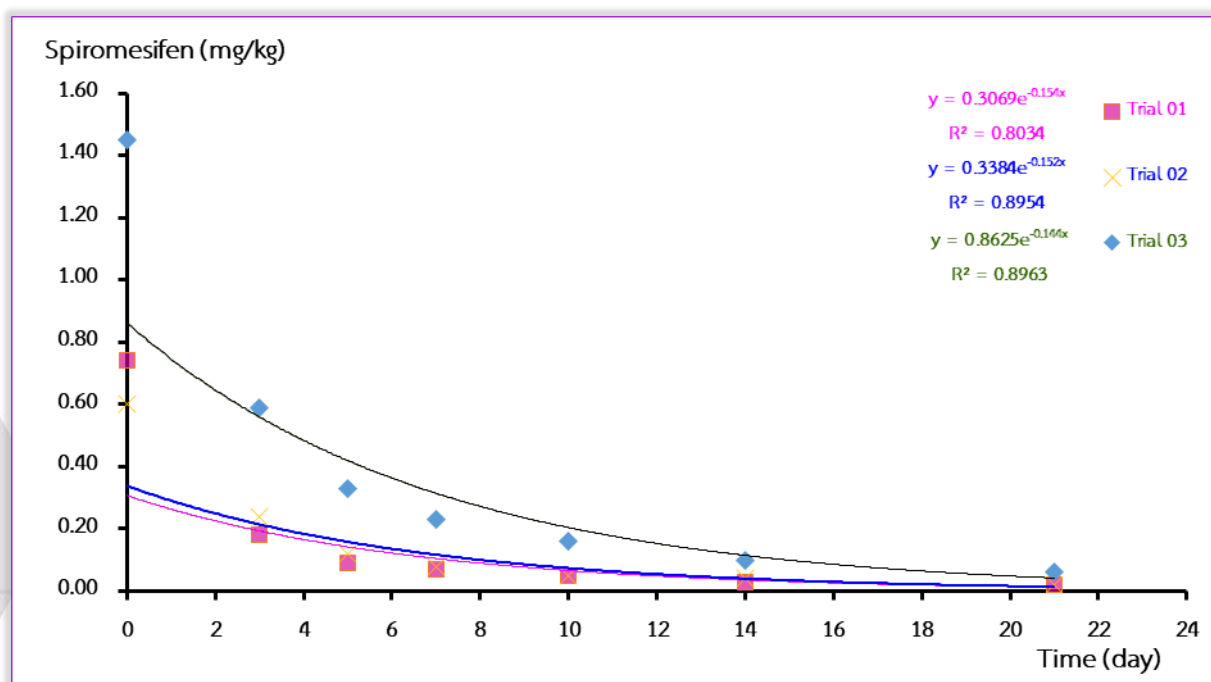
ND = Not Detectable (<LOD, LOD=0.005 mg/kg)

การศึกษาปริมาณสารตกค้าง spiromesifen ในพริก โดยคำนวณจากผลรวมของ spiromesifen และ spiromesifen-enol (คำนวณในรูปของ spiromesifen) ตามที่ Codex กำหนด พบสารตกค้างเฉลี่ย แปลงที่ 1 เท่ากับ 0.74, 0.43, 0.18, 0.09, 0.07, 0.05, 0.03 และ 0.02 mg/kg แปลงที่ 2 พบ 0.60, 0.57, 0.24, 0.12, 0.08, 0.05, 0.04 และ 0.02 mg/kg และแปลงที่ 3 พบ 1.45, 0.59, 0.33, 0.23, 0.16, 0.10 และ 0.06 mg/kg ที่ระยะเวลา 0 1 3 5 7 10 14 และ 21 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารตกค้างเฉลี่ยของ spiromesifen ในพริก จากการทดลองแปลงที่ 1, 2 และ แปลงที่ 3

Days after last application	Sum of spiromesifen and its metabolites* (mg/kg)		
	Trial 1	Trial 2	Trial 3
0	0.74	0.60	1.45
1	0.43	0.57	-
3	0.18	0.24	0.59
5	0.09	0.12	0.33
7	0.07	0.08	0.23
10	0.05	0.05	0.16
14	0.03	0.04	0.10
21	0.02	0.02	0.06

* Sum of spiromesifen and 4-hydroxy-3-(2,4,6-trimethylphenyl)-1-oxaspiro[4.4]non-3-en-2-one, expressed as spiromesifen



ภาพที่ 4 กราฟแนวโน้มการสลายตัวของ spiromesifen ในพริก ทั้ง 3 แปลงทดลอง

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง spiromesifen ในพริก ทั้ง 3 แปลง พบเส้นแนวโน้มการสลายตัวที่สอดคล้องกัน คือ มีการสลายตัวและปริมาณมีแนวโน้มลดลง เมื่อถึงระยะเก็บตัวอย่างนานขึ้น (ภาพที่ 4) โดยสารตกค้าง spiromesifen ที่ 5 วัน มีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตร (MRL) ของ CODEX ที่กำหนดค่า MRL สำหรับ spiromesifen ใน peppers (VO 0051) คือ 0.5 mg/kg ทั้งนี้สำหรับประเทศไทยถ้าจะต้องมีการกำหนดค่า MRL สำหรับสารดังกล่าว จำเป็นต้องมีการศึกษา

การสลายตัวของ spiromesifen ในพริก โดยต้องมีการทำแปลงทดลองเพิ่มเติม เพื่อให้มีข้อมูลที่เพียงพอและสามารถนำข้อมูลที่ได้ออกมาเพื่อพิจารณากำหนดค่า MRL ต่อไป

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

1. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ spiromesifen ในพริก พบว่า %recovery อยู่ในช่วงตั้งแต่ 85-104 มี %RSD เท่ากับ 7-9 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้น วิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีความถูกต้อง และแม่นยำ โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรง (linear range) ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ ตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.50 mg/kg ค่า $R^2 > 0.999$

2. การวิจัยสารตกค้าง spiromesifen ในพริก พบว่ามีการสลายตัวเพิ่มขึ้น เมื่อทิ้งระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยวนานขึ้น โดยปริมาณสารพิษตกค้าง spiromesifen ที่ 5 วัน มีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตทางการเกษตร (MRL) ของ CODEX ที่กำหนดค่า MRL สำหรับ spiromesifen ใน peppers (VO 0051) คือ 0.5 mg/kg ดังนั้น จากกราฟแนวโน้มการสลายตัว พบว่า ระยะเก็บเกี่ยวปลอดภัยหลังการพ่นสาร (Pre Harvest Interval; PHI) สำหรับ spiromesifen ในพริก เท่ากับ 5 วัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างสามารถนำวิธีที่ได้ไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง spiromesifen และสารอนุพันธ์ ในพริก และในพืชอื่น ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและศักยภาพให้กับห้องปฏิบัติการสารพิษตกค้าง และสามารถถ่ายทอดวิธีการดังกล่าวให้แก่เจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8 และหน่วยงานอื่น ๆ ที่สนใจได้

2. หากมีการศึกษาการสลายตัวของสารตกค้าง spiromesifen ในแปลงทดลองพริกเพิ่มเติม สามารถนำข้อมูลที่ได้ออกมาใช้ประกอบการพิจารณาเพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRL) ในพริก สำหรับประเทศไทย (Thai MRL) และเสนอข้อมูลดังกล่าวให้ Codex, ASEAN และประเทศคู่ค้า เพื่อนำไปพิจารณาอัปเดตค่า MRL และค่า Import tolerance ของประเทศคู่ค้า และกำหนดเป็นเกณฑ์การค้าระหว่างประเทศ ลดการกีดกันทางการค้า

3. ข้อมูลการสลายตัวและปริมาณสารพิษตกค้างของ spiromesifen ในพริก สามารถนำไปใช้กำหนดค่า Pre Harvest Interval (PHI) สำหรับบริษัทผู้ผลิตและนำเข้า บนฉลากข้างภาชนะบรรจุได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และสามารถใช้ในการประกอบการพิจารณา เปลี่ยนแปลงแก้ไขคำแนะนำการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรของกรมวิชาการเกษตร เกษตรกรสามารถใช้วัตถุอันตราย spiromesifen ได้อย่างปลอดภัย

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2563. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-ศัตรูพืชอย่างปลอดภัยจากงานวิจัย. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช. กรมวิชาการเกษตร.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. สถานการณ์การผลิตพริก. แหล่งที่ข้อมูล. <http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2563/37-38.pdf>
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. มาตรฐานสินค้าเกษตร. มกษ. 9002-2559 สารพิษตกค้าง: ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด. PESTICIDE RESIDUES: MAXIMUM RESIDUE LIMITS. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Codex. 2019. Pesticides Database Search. Codex Alimentarius International Food Standard. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=294. (15 มกราคม 2563)
- EN 15662: 2008. Foods of plant origin- Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partition and clean-up by dispersive SPE- QuEChERS-method.
- Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed 3rd ed. FAO Plant Production and Protection Paper 225.
- SANTE. 2017. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. European Commission, Directorate General for Health and Food Safety. Safety of the Food Chain Pesticides and Biocides.