

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) ในคะน้า
เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง

Research on the chlorantraniliprol in Chinese broccoli to determine
the maximum residue Limit.

ประพันธ์ เคนท้าว บุญทวีศักดิ์ บุญทวี สุพัตร์ หนูสังข์ ศศิณิภา คงเข้มดี จินตนา ภู่มงกุฏชัย
Praphan Kenthao Boonthaweesak Boonthawee Supatti Noosung Sasinida
Khongchamdee Jintana Poomongkutchai

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

This research aimed to determine the residues of chlorantraniliprole in Chinese broccoli, the experiment was performed on three farmers' plots at Bang Bua Thong District, Nonthaburi Province and Mueang Nakhon Pathom District, Nakhon Pathom Province in February 2020 - June 2021, one trial plot was split into 2 sub-experimental plots (control and treated plot). Treated plot was sprayed with 40 mL of 5.17% W/V SC Prevathon™ per 20 L of water and water consumption rate was 120 L/rai, sprayed every 7 days for 3 times. The samples were collected after the last application at 0 (2 hrs), 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 and 17 days and extracted by QuEChERS (EN 15662: 2008). The pesticide residue was analyzed by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) technique and validity of the test method was verified. It was found that the linearity of test method was in the range of 0.01 - 0.5 mg/kg, the qualitative and quantitative limits were 0.005 and 0.01 mg/kg, respectively and the residue content of chlorantraniliprole in three trial plots are in the range 0.01 - 6.16 mg/kg.

Keywords : chlorantraniliprole, Chinese broccoli, maximum residue limit

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองหาปริมาณสารพิษตกค้างของคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้า ณ แปลงทดลองของเกษตรกรจำนวนสามแปลงทดลองสองพื้นที่เพาะปลูกด้วยกันคือ อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี และ อ. เมืองนครปฐม จ. นครปฐม ในช่วงเดือน กุมภาพันธ์ 2563 - เดือนมิถุนายน 2564 แต่ละแปลงทดลองแบ่งออกเป็น 2 แปลงทดลองย่อยคือ แปลงควบคุม และแปลงทดสอบที่พ่นสารคลอแรนทรานิลิโพรล (5.17% W/V SC (Prevathon™) อัตราแนะนำ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง หลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายสุ่มเก็บตัวอย่างคะน้าที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 14 และ 17 วัน สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS, EN 15662 : 2008 ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS/MS) พร้อมทั้งตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ พบว่าความเป็นเส้นตรงของวิธีทดสอบอยู่ในช่วง 0.01 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณมีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในคะน้ามีค่าอยู่ในช่วง 0.01 - 6.16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำหลัก : คลอแรนทรานิลิโพรลคะน้า ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด

คำนำ

คะน้า (Chinese broccoli) นับเป็นพืชผักทางเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของไทย เนื่องจากเกษตรกรนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายเพราะเป็นพืชผักที่เจริญเติบโตไวมีช่วงอายุสั้น ปลูกได้ตลอดทั้งปี และตลาดผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศมีความต้องการสูง แต่ทั้งนี้คะน้าก็มีความอ่อนแอและถูกแมลงศัตรูเข้าทำลายก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตที่เกษตรกรพึงได้รับ โดยแมลงศัตรูที่สำคัญได้แก่ หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม และหนอนเจาะสมอฝ้าย เป็นต้น ดังนั้นสารคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) จึงถูกนำมาใช้ในการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้เพื่อป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชอาจก่อให้เกิดผลเสียร้ายแรงต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้หากมีการใช้งานไม่ถูกต้องเหมาะสม ดังนั้นประเทศต่างๆที่นำเข้าผลิตผลทางการเกษตรจึงตระหนักในปัญหานี้ และได้กำหนดมาตรการที่เข้มงวดในการอนุญาตให้นำเข้าเฉพาะสินค้าทางการเกษตรที่มีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limits; MRLs) (สิรินาฏ, 2554) อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดเท่านั้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการทดลองหาค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของ chlorantraniliprole ในคะน้าโดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS, EN 15662 : 2008 (British Standards Institution, 2008) และวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปแนะนำเกษตรกรผู้ปลูกคะน้าในการใช้สารให้ถูกต้องเหมาะสม มีการเว้นระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิต (PHI) ที่ปลอดภัย และนำไปประกอบการพิจารณากำหนดค่า MRLs สำหรับใช้ต่อร่วมกับประเทศคู่ค้าในการส่งออกคะน้าเพื่อประโยชน์สูงสุดทางการค้าของประเทศไทยในอนาคตต่อไป

วิธีดำเนินการ

เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี

1. เครื่องพ่นวัตถุที่มีพิษทางการเกษตรด้วยมอเตอร์แบบเครื่องยนต์สะพายหลัง (motorized knapsack sprayer) และอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment; PPE)
2. อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ บ้ายปักแปลง เชือกฟาง หมุดหัวน็อต นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นแบบดิจิตอล เครื่องวัดความเร็วลม เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (temperature data logger) กระดาษวัดค่า pH (universal test paper) กระจกบอกร่างพลาสติกขนาด 1-2 ลิตร
3. เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องชั่งตวงวัด 2 และ 5 ตำแหน่ง เครื่องบดตัวอย่าง (food processor) เครื่องผสมตัวอย่าง (vortex mixer) เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ตู้แช่แข็ง (deep freezer) และเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างชนิด Liquid Chromatography equipped with Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) ยี่ห้อ Agilent Technologies, LC รุ่น 1290 infinity, MS/MS รุ่น 6410 Triple Quad และคอลัมน์ Kinetex 2.6 μm XB-C18 100 \AA , size 100 x 2.1 mm
4. อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ บีกเกอร์ (beaker) ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร ตัวกรองสำหรับกระบอกฉีดยา (syringe filter) ชนิด PTFE ขนาด 0.20 ไมโครเมตร กระบอกฉีดยา (syringe) อุปกรณ์ดูด-จ่ายสารละลายระดับไมโครลิตร (micropipette)
5. วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ใช้พ่นในแปลงทดลอง คือ 5.17% W/V SC (Prevathon™)
6. สารมาตรฐาน chlorantraniliprole (Dr. Ehrenstorfer)
7. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ acetonitrile (ACN), LC-MS water, anhydrous magnesium sulfate (MgSO_4), sodium chloride (NaCl), tri-sodium citrate dihydrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) และ di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

สำรวจแปลงเกษตรกรและเลือกพื้นที่ทำแปลงทดลอง โดยแต่ละแปลงทดลองต้องมีระยะทางห่างกันไม่น้อยกว่า 30 กิโลเมตร ซึ่งวางแผนการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างในแปลงทดลองแบบ Supervised Residue Trial ตามหลักเกณฑ์ Food and Agriculture Organization of the United Nations (พืศาล, 2551 และ Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 2 แปลงทดลองย่อย คือ แปลงเปรียบเทียบ (control) เป็นแปลงที่ไม่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่เราต้องการศึกษา และแปลงที่พ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ต้องการทดลอง (treatment) โดยพ่น chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (กลุ่มบริหารศัตรูพืช, 2557) และอัตราการใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) แล้วสุ่มเก็บตัวอย่างหลังจากการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ระยะเวลา 0 (2 ชม.) 1 3 5 7 10 14 และ 17 วันโดยเก็บตัวอย่างแปลงละ 2 ซ้ำต่อวัน บรรจุตัวอย่างในถุงพลาสติกและใช้ยางรัดปากถุงให้แน่น แช่ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็ง และใส่ temperature data logger ลงไปในกล่องตัวอย่างเพื่อบันทึกอุณหภูมิของตัวอย่าง แล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้างเพื่อทำการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่าง

2. การเตรียมตัวอย่าง
นำตัวอย่างค่น้ำที่ได้จากแปลงทดลองมาปั่นกับไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง (food processor) เก็บตัวอย่างที่ปั่นเสร็จแล้วในถุงพลาสติกชนิดเย็น และเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง (deep freezer) ที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$
3. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method validation) ศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์ ตามระเบียบวิธีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ
4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยวิธีวิเคราะห์ QuEChERS Method (EN 15662 : 2008)
 - 1) ชั่งตัวอย่างค่น้ำปั่นละเอียดจำนวน 10 ± 0.10 กรัม ใส่ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ นาน 1 นาที
 - 2) เติมน anhydrous magnesium sulfate 4.00 กรัม sodium chloride 1.00 กรัม tri-sodium citrate dihydrate 1.00 กรัม และ di-sodium hydrogencitrate sesquihydrate 0.50 กรัม เขย่าด้วยมือ นาน 1 นาที
 - 3) นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที
 - 4) กรองสารละลายส่วนใสผ่าน syringe ที่ต่อกับ PTFE syringe filter ขนาด 0.20 ไมโครเมตร ใส่ลงใน auto sampler vial แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยใช้คอลัมน์ C-18 (2.1x100 mm, 5 μm) อุณหภูมิ 25 $^{\circ}\text{C}$ ใช้ Mobile phase A และ B เป็นสารละลายละลาย 5mM Ammonium formate ผสมกับ 0.1% formic acid และ Acetonitrile ตามลำดับ
5. วิเคราะห์ข้อมูลและรายงานปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบ

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด กันยายน พ.ศ. 2564

เวลาและสถานที่ดำเนินการทดลอง

ลำดับแปลงทดลอง	สถานที่	ระยะเวลา
แปลงทดลองที่ 1	อ. เมืองนครปฐม จ. นครปฐม	กุมภาพันธ์ - เมษายน พ.ศ. 2563
แปลงทดลองที่ 2	อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี	มีนาคม - พฤษภาคม พ.ศ. 2564
แปลงทดลองที่ 3	อ. เมืองนครปฐม จ. นครปฐม	พฤษภาคม - มิถุนายน พ.ศ. 2564
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กองวิจัยพัฒนาปัจจัย-การผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กทม.		ตุลาคม 2562 - กันยายน พ.ศ. 2564

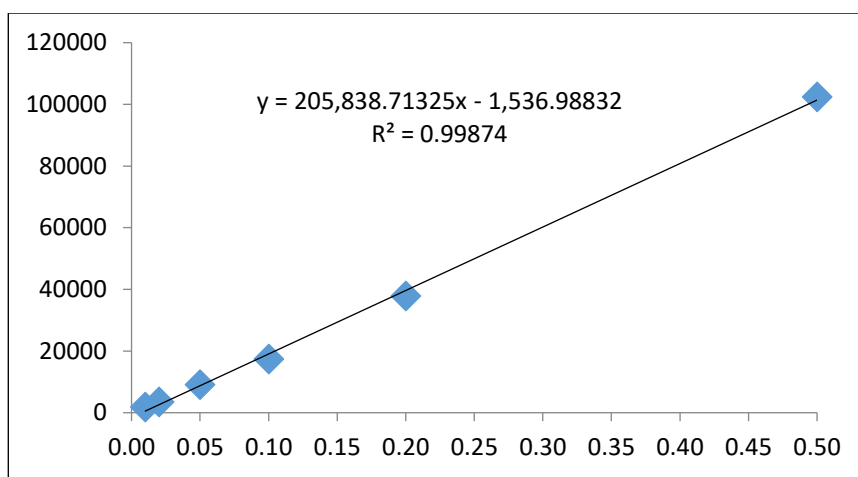
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาถึงขั้นตอนที่เหมาะสมในการสกัดสารคลอแรนทรานิลิโพรลในคั้นน้ำ พบว่าสามารถใช้วิธี QuEChERS: EN : 15662 : 2008 ที่ประกอบไปด้วยสารสกัด 4.0 g MgSO₄, 1.0 g NaCl, 1.0 g Na₃-citrate.2H₂O และ 0.5 g Na₂-Hcitate.1.5H₂O โดยปราศจากการ Clean up ในการสกัดตัวอย่างได้เป็นอย่างดี จากนั้นทำการตรวจสอบปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์ ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงดังต่อไปนี้

1. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method validation)

1.1) ช่วงการใช้งาน (Range)

ตรวจวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลที่เตรียมในตัวทำละลาย acetonitrile ที่ความเข้มข้น 0.005 0.01 0.02 0.05 0.1 0.2 0.5 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากนั้นทำการ fortified สารละลายมาตรฐานดังกล่าวในช่วงความเข้มข้นเดียวกันนี้ลงในตัวอย่างคั้นน้ำ จุดความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS อีกครั้ง สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกับค่าสัญญาณที่ตรวจวัดได้ พบว่าช่วงความเข้มข้นที่ตอบสนองเชิงเส้นตรงของวิธีทดสอบอยู่ในช่วง 0.01 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยให้ค่า R² มากกว่า 0.990 ดังภาพที่ 1 และ % recovery อยู่ในช่วง 70 - 120%



ภาพที่ 1 สัญญาณที่ตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานในช่วง 0.01 – 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

1.2) ขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงคุณภาพ (Limit of detection: LOD)

จากการตรวจสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลที่ fortified ในตัวอย่างคั้นน้ำที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เพื่อประเมินหาค่า LOD จากสามเท่าของค่า SD พบว่าค่า LOD ที่ได้มีค่าเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจากการยืนยันผลการวิเคราะห์โดยทดสอบในตัวอย่างคั้นน้ำจำนวน 10 ซ้ำ ที่ความเข้มข้นจุดดังกล่าวพบสัญญาณการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรลในทุกตัวอย่างคั้นน้ำที่ทดสอบทุกตัว จึงได้กำหนดให้วิธีทดสอบนี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

1.3) ขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation: LOQ)

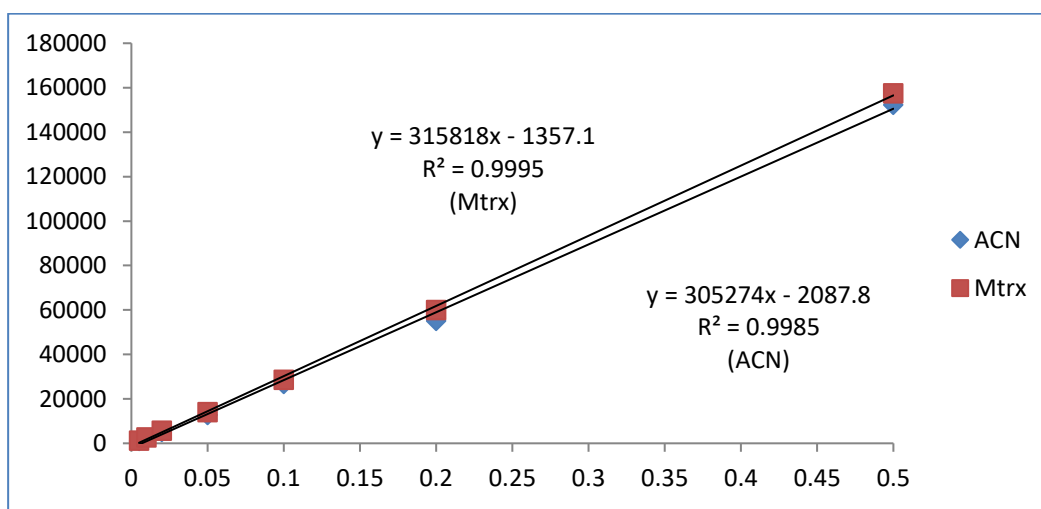
ประเมินค่า LOQ จากสิบเท่าของค่า SD ที่ระดับความเข้มข้นการ fortified สารละลายมาตรฐานคลอแรนทรานิลิโพรล 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในตัวอย่างคั้นน้ำจำนวน 10 ซ้ำ พบว่า LOQ มีค่าเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ดังตารางที่ 1) โดยพิจารณาจาก % Recovery ที่ทุกตัวอย่างให้ค่าอยู่ในช่วง 70 - 120 % ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณของสารคลอแรนทรานิลีโพรลในตัวอย่างคะน้ำ ที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ

List	LOD testing at 0.01mg/kg											Avg.	SD	%RSD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
% Recovery	88	91	90	89	89	92	89	83	90	89	89	2.40	2.70	
Respond	3,850	4,003	3,941	3,921	3,888	4,024	3,922	3,646	3,927	3,884	3,901	103.67	2.66	

1.4) Matrix effect

คำนวณหาอิทธิพลสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่าง (Matrix effect) จากค่าความชัน (slope) ของการ fortified สารมาตรฐานคลอแรนทรานิลีโพรลในตัวอย่างคะน้ำ (Mtrx) กับ slope ของสารละลายมาตรฐาน คลอแรนทรานิลีโพรลที่เตรียมในตัวทำละลาย acetonitrile (ACN) ตามสมการ % Matrix effect = (slope Mtrx/slope ACN) x 100 ดังภาพที่ 2 พบว่ามีค่าเท่ากับ 103.5 ซึ่งแตกต่างกันไม่เกิน 10 % ดังนั้นจึงไม่มีผลของ Matrix ทำให้สามารถเตรียมสารละลายมาตรฐานในตัวทำละลาย acetonitrile เพื่อตรวจวิเคราะห์หาสารคลอแรนทรานิลีโพรลในคะน้ำได้



ภาพที่ 2 การตรวจสอบ Matrix effect ของสารคลอแรนทรานิลีโพรลที่ fortified ในตัวอย่างคะน้ำ (Mtrx) กับสารมาตรฐานที่เตรียมในตัวทำละลาย ACN

1.5) ความเสถียรของสารคลอแรนทรานิลีโพรลในตัวอย่างคะน้ำ

ทำการ fortified สารละลายมาตรฐานของสารคลอแรนทรานิลีโพรลที่ความเข้มข้นสิบเท่า ของค่า LOQ (จากการทดลองเบื้องต้นพบค่า LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) หรือที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างคะน้ำแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ Freezer เพื่อรอการสกัดในช่วงเวลาต่างๆ จากนั้นสกัดตัวอย่างโดยอ้างอิงจากวิธี QuEChERS (EN 15662 : 2008) ที่ประกอบด้วยสารสกัด 4.0 g MgSO₄, 1.0 g NaCl, 1.0 g Na₃-citrate·2H₂O และ 0.5 g Na₂-Hcitate·1.5H₂O โดยปราศจากการ Clean up สารละลายส่วนใส แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากศึกษาความเสถียรของสารฯในตัวอย่างที่เวลา 0 1 2 และ 3 เดือน พบว่ามีค่า % recovery เท่ากับ 88% 87% 87% และ 81% ตามลำดับ ซึ่งยืนยันถึงความเสถียรของสารฯที่ตกค้างในตัวอย่างคะน้ำได้เป็นอย่างดี

1.6) ปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในค่น้ำ

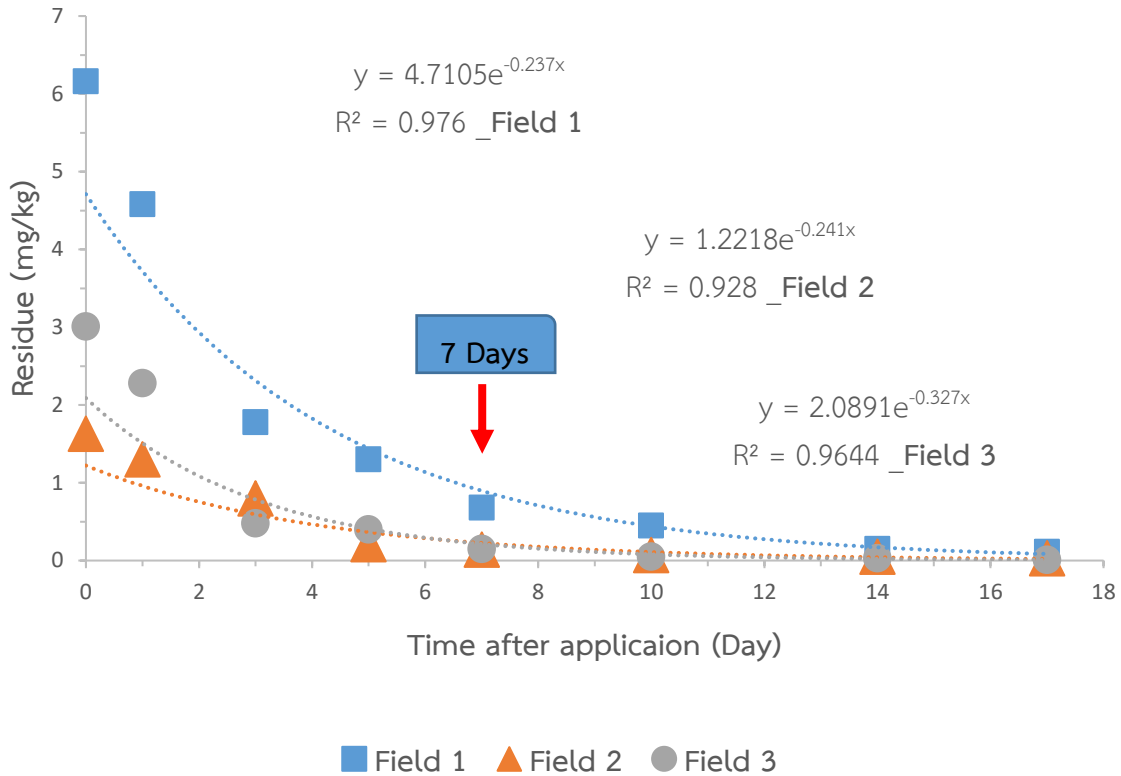
จากการทำแปลงทดลองค่น้ำทั้ง 3 แปลงทดลองในพื้นที่จังหวัดนครปฐม และจังหวัดนนทบุรี ในช่วงปี พ.ศ. 2562 — 2564 ซึ่งแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อยคือแปลงที่พ่นสารคลอแรนทรานิลิโพรล (treated plot) 5.17% W/V SC (Prevathon™) ที่อัตราแนะนำ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และใช้น้ำ 120 ลิตรต่อไร่ พ่นสารทุก 7 วัน รวม 3 ครั้ง และแปลงควบคุม (control plot) คือแปลงที่ไม่มีการใช้สารคลอแรนทรานิลิโพรลสุ่มเก็บตัวอย่างค่น้ำที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 14 และ 17 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย จากนั้นสกัดตัวอย่างโดยวิธี QuEChERS (EN 15662 : 2008) โดยไม่มีการ Clean up-นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยใช้เฟสเคลื่อนที่คือ เฟส A: 5mM-ammonium formate + 0.01% formic acid และ เฟส B: acetonitrile จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในค่น้ำที่ระยะเวลา 0 - 17 วัน สำหรับแปลงทดลองที่ 1 - 3 ให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของสารคลอแรนทรานิลิโพรลในตัวอย่างค่น้ำ สำหรับแปลงทดลองที่ 1 - 3 ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวต่างๆ

Day after application (Day)	Pesticide residue (mg/kg)			
	Field 01	Field 02	Field 03	Control
0 (2 hr)	6.16	1.63	3.01	ND
1	4.58	1.30	2.28	ND
3	1.78	0.80	0.48	ND
5	1.30	0.21	0.40	ND
7	0.68	0.14	0.15	ND
10	0.45	0.07	0.05	ND
14	0.15	0.05	0.03	ND
17	0.11	0.03	0.01	ND

ND = 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

นำผลการทดลองที่ได้ไปประเมินค่า PHI ของค่น้ำ พบว่าปริมาณสารพิษตกค้างมีค่าลดต่ำลงเมื่อระยะเวลาการเก็บตัวอย่างหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งชี้บ่งได้ว่าสารดังกล่าวที่ตกค้างในพืชผักมีการสลายตัวอย่างต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาผ่านไป ทำให้สามารถกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัยได้โดยพบว่าค่า PHI ของการทดลองนี้มีค่าอยู่ที่ 7 วัน โดยพิจารณาจากภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ปริมาณสารพิษตกค้างของสารคลอแรนทรานิลิโพรลในค่น้ำทั้งสามแปลงทดลอง

สรุปผลการทดลอง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างค่น้ำที่พ่นสารคลอแรนทรานิลิโพรลจำนวน 3 ซ้ำ ทุกๆ 7 วัน ที่ระยะเวลา 0 (2 ชั่วโมง) 1 3 5 7 10 14 และ 17 วัน สกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS, EN 15662 : 2008 เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS พร้อมทั้งตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ พบว่าวิธีทดสอบมีช่วงใช้งานอยู่ในช่วง 0.01 - 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงคุณภาพ 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณมีค่าเท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณสารพิษตกค้างคลอแรนทรานิลิโพรลในค่น้ำในแปลงทดลองที่ 1 2 และ 3 ค่าเท่ากับ 6.164.581.781.300.680.450.150.11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 1.63 1.30 0.80 0.21 0.14 0.07 0.05 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 3.01 2.28 0.48 0.40 0.15 0.05 0.03 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระยะเวลาต่างๆตามลำดับ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ส่งข้อมูลสารพิษตกค้างให้คณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตรเรื่องสารพิษตกค้างเพื่อกำหนดค่า MRL ของประเทศไทย
2. ค่า PHI ส่งให้คณะกรรมการและผู้ทรงคุณวุฒิเพื่อประเมินเอกสารข้อมูลพิษวิทยาและพิษตกค้างเพื่อการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตรเพื่อใช้ประกอบการพิจารณากำหนดค่า PHI สำหรับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย
3. นำองค์ความรู้การสลายตัวของสารพิษตกค้างส่งให้กลุ่มวิจัยวัตถุเคมีพิษทางการเกษตรใช้เป็นแนวทางการทำวิจัยเรื่องสารพิษตกค้างในผักและผลไม้

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช ปี 2553*. พิมพ์ครั้งที่ 17. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- กลุ่มบริหารศัตรูพืช. 2557. *คู่มือป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุง)*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- พิศาล พงศาพิชณ์. 2551. *คู่มือการจัดทำข้อมูลและข้อเสนอการกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศด้านสารพิษตกค้างสำหรับสินค้าเกษตรไทย*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- สิรินาฏ พรศิริประทาน. 2554. “การส่งออกผักและผลไม้สดไทยไปสหภาพยุโรป” [ออนไลน์]. แหล่งที่มา : <http://thaifranchisedownload.com/dl/group12720130102143938.pdf> (14 พฤษภาคม 2564).
- British Standards Institution, EN 15662. 2008. *Foods of plant origin-determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method*.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. *Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed*. FAO Plant Production and Protection Paper 225. 3rd ed. Rome : FAO.
- Organtini K., G. Cleland, E. McCall and S. Hird. 2017. *LC-MS/MS and GC-MS/MS Multi Residue Pesticide Analysis in Fruit and Vegetable Extracts on a Single Tandem Quadrupole Mass Spectrometer*. Chromatography today.