

วิจัยปริมาณสารพิษตกค้างของไพริดาเบน (pyridaben) ในส้มเขียวหวานเพื่อ
กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง
Pesticide residue trials of pyridaben in mandarin to establish maximum
residue limits (MRLs)

ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ พรนภัส วิชาชนะณานนท์ พชร เมินหา
ศิริพันธ์ สมุทรศรี มติมล แสงสว่าง
Prachathipat Pongpinyo Pornnaphat Wichannananon Pachara Meanha
Siripan Samutsri Matimon Sangsawang

กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชการเกษตร

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ABSTRACT

The study on the pyridaben residues in mandarin after the use of the pesticide according to good agricultural practice (GAP) was conducted through five supervised field trials in many crop production areas namely, Pathum Thani province, Prachinburi province and Sukhothai province during 2019 to 2021 for establish maximum residue limit (MRL). The supervised field trials were divided into two sub plots that consisted of the control plot and treated plot (pyridaben applied). A formulation of 20% pyridaben wettable powder (WP) was applied on mandarin trees for 3 times every 5 days at a recommended dosage of 15 gram per 20 liters of water. After last application, randomly 2 kg of mandarin samples were collected at 0, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days from each plot for residue analysis with QuEChERS method (EN15662, 2008) by using Liquid Chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The limit of quantification (LOQ) was 0.01 mg/kg. The results shown that residues were not detected or lower than LOQ in all untreated samples while treated samples were found the residue in range of 0.01 – 0.07, 0.06 - 0.43, 0.34 – 0.73, 0.30 – 0.53 and 0.35 – 0.56 mg/kg for field trial No. 1, 2, 3, 4 and 5, respectively. Moreover, the storage stability of pyridaben in mandarin was study and the result found that the fortified samples stable at least 180 days. According the results of this research, the proposed pre-harvest interval after the last application (PHI) value was 14 days. (The safe harvesting period after application of pyridaben in mandarin was 14 days).

Keywords: pyridaben, mandarin, residue, MRL, PHI

บทคัดย่อ

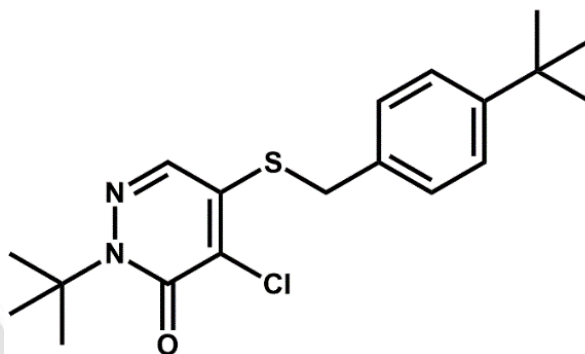
งานวิจัยนี้ศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน หลังการใช้วัตถุมีพิษอย่างถูกต้องตามหลักปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agricultural Practices: GAP) เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง โดยทำการทดลองแบบ Supervised trial จำนวน 5 แปลงทดลอง ในหลายพื้นที่ ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี จังหวัดปราจีนบุรี และจังหวัดสุโขทัย ระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 - 2564 โดยแต่ละแปลงทดลองแบ่งเป็น 2 แปลงทดลองย่อย ได้แก่ แปลงควบคุม ที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษ pyridaben และแปลงทดลอง ที่ใช้ pyridaben 20% WP ตามอัตราแนะนำ 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ในอัตราการใช้ น้ำ 5 ลิตรต่อต้น พันวัตถุมีพิษ pyridaben 3 ครั้ง เว้นระยะห่างกันครั้งละ 5 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ภายหลังจากพันวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย วิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานทั้งผล (whole fruit) โดยสกัดตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS (EN15662: 2008) และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Liquid Chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) ซึ่งวิธีวิเคราะห์มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงควบคุมทุกแปลง พบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับตัวอย่างจากแปลงทดลองที่ใช้ pyridaben ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben อยู่ในช่วง 0.01 - 0.07, 0.06 - 0.43, 0.34 - 0.73, 0.30 - 0.53 และ 0.35 - 0.56 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในตัวอย่างจากแปลงทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาความคงสภาพของสารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวานที่เก็บที่อุณหภูมิ $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ พบว่าสามารถเก็บตัวอย่างได้นานถึง 180 วัน โดยไม่มีการสลายตัวของสารพิษตกค้าง เมื่อนำข้อมูลจากการทดลองไปพิจารณาหาระยะเก็บเกี่ยวที่ปลอดภัย (PHI) พบว่าสามารถกำหนดค่า PHI ได้เท่ากับ 14 วัน

คำหลัก: ไพริดาเบน ส้มเขียวหวาน สารพิษตกค้าง

คำนำ

ส้มเป็นหนึ่งในผลไม้ยอดนิยมของคนไทย ซึ่งปัจจุบันเกษตรกรผู้ปลูกส้มในไทยมีการขยายสวนส้มอย่างต่อเนื่อง ทำให้ปริมาณผลผลิตในประเทศเพิ่มขึ้น จนส่งผลให้ราคาส้มมีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้เกษตรกรยังประสบปัญหาในเรื่องของโรคและศัตรูพืชที่ทำให้ผลผลิตต่อต้นลดน้อยลง ซึ่งปัญหาดังกล่าวไม่ได้เกิดจากแมลงศัตรูพืชเพียงอย่างเดียว แต่ในปัจจุบันพบว่า ไร (mite) ก็เป็นหนึ่งในศัตรูพืชที่สำคัญของพืชตระกูลส้ม จึงนำไปสู่การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดสารกำจัดไร (acaricide) อย่างแพร่หลาย เมื่อพิจารณาข้อมูลการขึ้นทะเบียนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร พบว่า ไพริดาเบน (pyridaben) เป็นสารป้องกันกำจัดไร ที่ได้รับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายในการป้องกันกำจัดไรแดงแอฟริกันในส้มเขียวหวาน

ไพริดาเบน (pyridaben) มีกลไกการออกฤทธิ์แบบยับยั้งขบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอน ในไมโตรคอนเดรียคอมเพล็กซ์ที่ 1 (Devine *et al.*, 2001) และมีลักษณะโครงสร้างทางเคมี ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ pyridaben

หากเกษตรกรมีการใช้สารป้องกันกำจัดไร (acaricide) ในปริมาณที่มากเกินไปที่ฉลากแนะนำ อาจทำให้มีสารพิษตกค้างอยู่บนผลผลิตและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยวิธีที่น่าเชื่อถือ รวมถึงการศึกษาการสลายตัวของสารดังกล่าว และนำข้อมูลการศึกษาที่ได้เสนอต่อ Codex และ ASEAN เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (maximum residue limit for pesticide; MRL) และกำหนดเป็น Codex MRLs และ ASEAN MRLs ต่อไป ซึ่งจะส่งผลให้ประเทศไทยมีเกณฑ์การค้าระหว่างประเทศ ทำให้ผลิตผลทางการเกษตรของไทยมีมาตรฐานความปลอดภัยเป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้า อีกทั้งยังสามารถให้ข้อมูลการใช้สารป้องกันกำจัดไรที่ถูกต้องแก่เกษตรกรด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. การทำแปลงทดลอง
 - 1.1 ผลิตภัณฑ์ pyridaben 20 % WP
 - 1.2 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น กระจบอกรตวง ปีกเกอร์ แท่งแก้วคนสาร เป็นต้น
 - 1.3 เครื่องพ่นวัตถุอันตรายทางการเกษตรแบบสะพายหลัง (Motorized knapsack sprayer)
 - 1.4 ชุดป้องกันสารพิษ
 - 1.5 นาฬิกาจับเวลา
 - 1.6 เครื่องวัดความเร็วลม
 - 1.7 เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Temperature Data Logger)
 - 1.8 ดิจิตอลเทอร์โมมิเตอร์
 - 1.9 ตลับเมตร
 - 1.10 เชือกฟางและหมุดหัวน็อต
2. ห้องปฏิบัติการ
 - 2.1 มาตรฐาน pyridaben ซึ่งมีความบริสุทธิ์ 99.8 %
 - 2.2 เครื่องแก้วชนิดต่างๆ เช่น autosampler vial กระจบอกรตวง ปีกเกอร์ ขวดแก้ว ขวดปรับปริมาตร และแท่งแก้วคนสาร เป็นต้น
 - 2.3 หลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
 - 2.4 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งและ 5 ตำแหน่ง
 - 2.5 ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร และ 100-1,000 ไมโครลิตร
 - 2.6 ตัวกรองชนิด PTFE (PTFE syringe filter) ขนาด 0.2 ไมครอน
 - 2.7 เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ Centrifuge และ Vortex mixer
 - 2.8 สารเคมีต่างๆ ได้แก่ Acetonitrile (HPLC grade), Magnesium sulphate anhydrous (MgSO₄), tri-Sodium citrate dihydrate (C₆H₅Na₃O₇•2H₂O), Sodium chloride (NaCl), Di-sodium hydrogen citrate sesquihydrate (C₆H₆Na₂O₇•1.5H₂O), Primary-secondary amine (PSA), graphitized carbon black (GCB), Ammonium formate และ formic acid
 - 2.9 เครื่องตรวจวิเคราะห์ Liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC-MS/MS)

วิธีการ

1. การทำแปลงทดลอง

1.1 สำรองและเลือกแปลงทดลองที่เหมาะสมจำนวน 5 แปลง ที่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เพียงพอและเป็นตัวแทนที่ดีในการตรวจปริมาณสารพิษตกค้าง โดยแต่ละแปลงทดลองต้องห่างกันอย่างน้อย 30 กิโลเมตร หรือมีฤดูกาลเพาะปลูกแตกต่างกัน และไม่มีการใช้วัตถุอันตรายทางการเกษตรชนิดเดียวกับที่ทำการทดลอง

1.2 วางแผนการทดลองแบบ Supervised Trial โดยแบ่งแปลงทดลองเป็น 2 แปลงย่อย คือ

○ แปลงควบคุม (Control) คือแปลงที่ไม่มีการใช้วัตถุพิษ pyridaben

○ แปลงทดลอง (Treated) คือที่พ่นวัตถุพิษ pyridaben ตามอัตราแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

1.3 ทำแปลงทดลองส้มเขียวหวาน จำนวน 5 แปลง โดยเลือกแปลงทดลองในหลากหลายพื้นที่ และหลากหลายฤดูกาล โดยมีรายละเอียดดังนี้

แปลงที่ 1 : อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ทำการทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายน - เดือนธันวาคม 2561

แปลงที่ 2 : อำเภอนาดี จังหวัดปราจีนบุรี ทำการทดลองระหว่างเดือนเมษายน - เดือนพฤษภาคม 2562

แปลงที่ 3 : อำเภอนาดี จังหวัดปราจีนบุรี ทำการทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายน - เดือนธันวาคม 2562

แปลงที่ 4 : อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม - เดือนธันวาคม 2563

แปลงที่ 5 : อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม - เดือนธันวาคม 2563

โดยแปลงทดลองที่ 4 และ 5 ตั้งอยู่ห่างกันเกิน 30 กิโลเมตร

1.4 Calibrate เครื่องพ่น Motorized knapsack sprayer และปรับการเดินของผู้พ่น ก่อนการพ่นวัตถุพิษ pyridaben เพื่อให้การพ่นวัตถุพิษมีความแม่นยำและสม่ำเสมอ ทำการ Calibrate เครื่องพ่นโดยการพ่นน้ำเป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง หากค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำที่พ่นใน 1 นาที ส่วนการปรับการเดินของผู้พ่น จะจับเวลาการเดิน ทำซ้ำ 3 ครั้ง หากค่าเฉลี่ย ซึ่งในการทำ Calibrate เครื่องพ่นและปรับการเดินของผู้พ่นนั้น แต่ละครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกิน 5% จากการทำการทดลองติดต่อกัน 3 ครั้ง จึงจะอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

1.5 ดำเนินการพ่นวัตถุพิษ pyridaben 20 % WP ตามอัตราแนะนำ 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น ในแปลงทดลอง (Treated plot) 3 ครั้ง พ่นแต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน

1.6 เก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ที่ 0 (2 ชั่วโมง), 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย สุ่มเก็บตัวอย่าง อย่างน้อย 2 กิโลกรัม 2 ซ้ำต่อวัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงควบคุมก่อนแล้วจึงสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงที่ใช้วัตถุพิษ pyridaben

1.7 บรรจุตัวอย่างในถุงเก็บตัวอย่างที่มีป้ายชนิดตัวอย่างและชื่อวัตถุพิษระบุไว้อย่างชัดเจน บรรจุน้ำแข็งใส่ถุง และบรรจุถุงน้ำแข็งและถุงเก็บตัวอย่างลงในกล่องโฟมที่ใช้บรรจุตัวอย่าง เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างระหว่างการขนส่ง ขนส่งตัวอย่างจากแปลงทดลองไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง กลุ่มวิจัยวัตถุพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยใช้ Temperature data logger ติดตามอุณหภูมิตลอดการขนส่ง เมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการ หั่นตัวอย่าง เก็บในตู้แช่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C

2. การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเข้มข้นละ 6-10 ซ้ำ พิสูจน์ความแม่นยำ (Accuracy) จากร้อยละการกลับคืน (% Recovery) และพิสูจน์ความเที่ยง (Precision) จากร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

3. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน

3.1 เตรียมตัวอย่าง ส้มทั้งผล (whole fruit) โดยหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปบดกับไนโตรเจนเหลวด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C

3.2 ตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน ตามวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) ที่ได้ศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แล้ว โดยมีวิธีการดังนี้

ชั่งตัวอย่างส้ม 10 กรัม ใส่หลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 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 จากนั้นเปิดเฉพาะสารละลายส่วนใส 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตรที่มี $MgSO_4$ 750 มิลลิกรัม PSA 125 มิลลิกรัม และ GCB 50 มิลลิกรัม นำไป Vortex เป็นเวลา 1 นาที และ Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสผ่าน PTFE filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ลงใน autosampler vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS

การสกัดตัวอย่างแต่ละครั้ง ต้องทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง โดยหาร้อยละการกลับคืน (% recovery) ของ spiked sample เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง

3.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานของวัตถุมีพิษ pyridaben ด้วย matrix blank ส้มที่สกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) โดยเตรียม 7 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน pyridaben ซึ่งมีค่า correlation ของ linear regression (r) ไม่น้อยกว่า 0.995

3.4 การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

สภาวะการทำงานของเครื่อง มีอัตราส่วนของ mobile phase ดังตารางที่ 1 และรายละเอียดการตั้งค่า MS ดังตารางที่ 2

การเตรียมสภาวะ LC

HPLC Column	: Kinetex 2.6 μ M XB-C18 100 Å 100 x 2.1 mm.
Column temperature	: 40 °C
Flow rate	: 0.4 mL/min
Injection volume	: 2 μ L
Mobile phase A	: 5mM ammonium formate + 0.01% Formic acid
Mobile phase B	: Acetonitrile

ตารางที่ 1 อัตราส่วนของ mobile phase

Time (min)	Mobile phase A (%)	Mobile phase B (%)
0	50	50
1	50	50
5	5	95
6	5	95
7	50	50
8	50	50

การเตรียมสถานะ MS

Ion source	: ESI, Positive mode
Gas temperature	: 300 °C
Gas flow	: 11 L/min
Nebulizer	: 15 psi
Capillary	: 4000 V

ตารางที่ 2 รายละเอียดการตั้งค่า MS

Precursor ion	Product ion	Dwell time	Fragmentor (V)	Collision energy (V)
365.1449	309.0823	100	50	10
365.1449	146.9778	100	50	20

3.5 ศึกษาสถานะความคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน

ทดสอบความคงตัวของสารตกค้างระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) โดย fortified สารมาตรฐาน pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ความเข้มข้น 10 เท่าของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้หรือค่า LOQ (FAO, 2016) ที่ระยะเวลา 0, 15, 30, 60, 90 และ 180 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่างในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C เมื่อถึงระยะเวลาที่ศึกษา นำตัวอย่างที่ fortified มาสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

การสกัดตัวอย่างแต่ละครั้ง ต้องทำการควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง (concurrent recovery) เปรียบเทียบตัวอย่าง storage stability กับ concurrent recovery ที่สกัดภายในวันเดียวกัน เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2561 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง

ปีงบประมาณ 2562 แปลงส้มเขียวหวาน จังหวัดปทุมธานีและ ปราจีนบุรี พฤศจิกายน 2561 - พฤษภาคม 2562
ปีงบประมาณ 2563 แปลงส้มเขียวหวาน จังหวัดปราจีนบุรี พฤศจิกายน - ธันวาคม 2562
ปีงบประมาณ 2564 แปลงส้มเขียวหวัดสุโขทัย ตุลาคม - ธันวาคม 2563

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองของการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของการทำแปลงทดลองและส่วนของการดำเนินการในห้องปฏิบัติการ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. การทำแปลงทดลอง

แปลงทดลอง (Treated plot) พ่นสาร pyridaben 20 % WP ตามอัตราแนะนำ 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยอัตราการใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น พ่น 3 ครั้ง แต่แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน มีการพิจารณาประสิทธิภาพการพ่นสาร ซึ่งแสดงถึงปริมาณวัตถุพิษ pyridaben ที่พ่นลงแปลงทดลองเทียบกับปริมาณที่กำหนดซึ่งคำนวณจากอัตราของสารที่ใช้และปริมาณน้ำที่พ่นต่อต้น พบว่าประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุพิษได้ 100 – 101 % ของปริมาณสารที่กำหนด ดังแสดงในตารางที่ 3

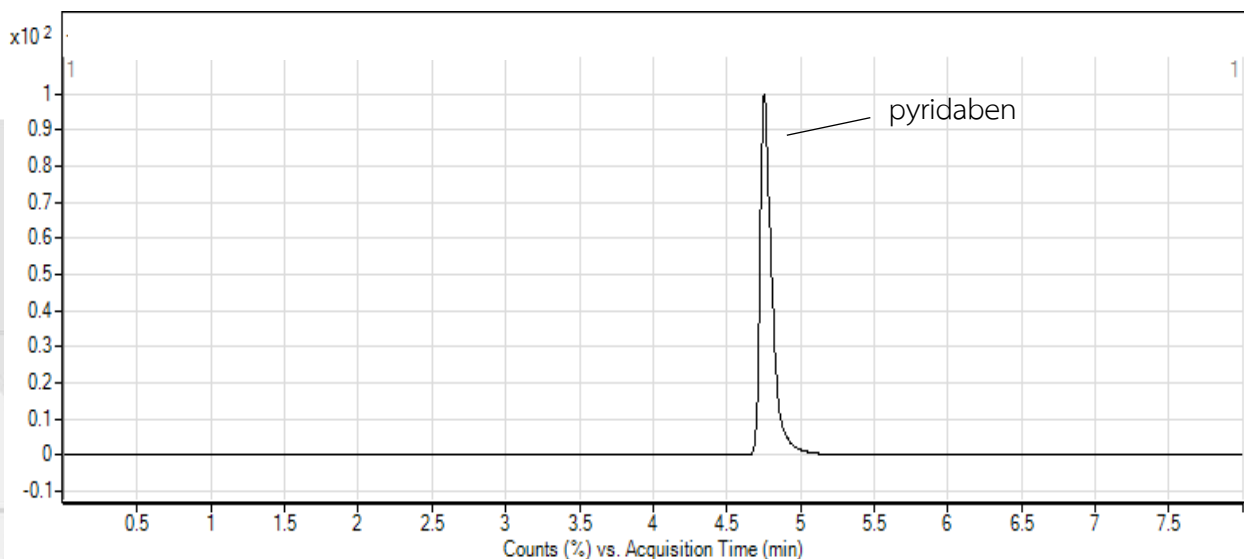
ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของการพ่นวัตถุพิษ pyridaben ในแปลงส้ม

Trial No.	Efficiency (%)		
	1 st spraying	2 nd spraying	3 rd spraying
1	101	101	101
2	100	100	100
3	100	100	100
4	100	101	101
5	100	100	101

2. การดำเนินงานในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

การวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS แสดงโทเทิลไอออนโครมาโตแกรม (Total ion chromatogram หรือ TIC) ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 Total Ion Chromatogram (TIC) ของ pyridaben

2.2 การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) สารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน (Whole fruit) ด้วยวิธี QuEChERS (EN 15662: 2008) ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย (% Recovery) ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน อยู่ระหว่างร้อยละ 78-106 และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) อยู่ระหว่างร้อยละ 5-6 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ คือ % Recovery อยู่ในช่วง 70-120% และ % RSD ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20% (SANTE, 2017) ดังแสดงในตารางที่ 4 และปริมาณต่ำสุดของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง (Limited of Quantification หรือ LOQ) pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน เท่ากับ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในตัวอย่างส้มเขียวหวาน (Whole fruit)

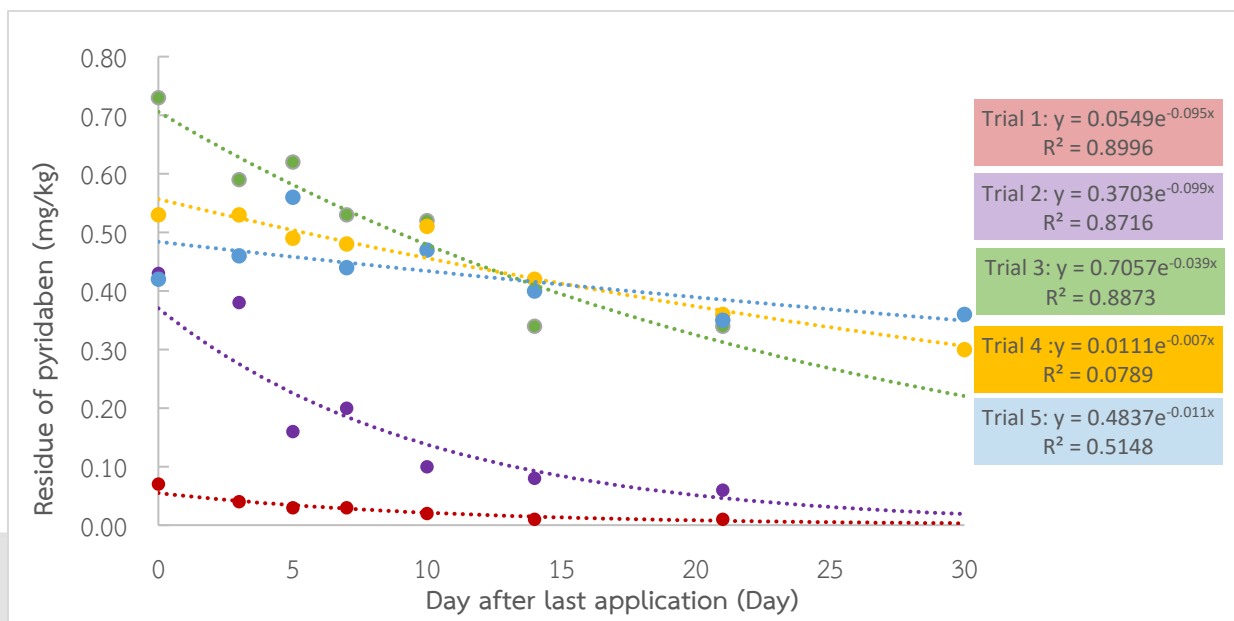
Concentration (mg/kg)	Recovery (%)	Average recovery (%)	%RSD
0.01	89, 84, 78, 80, 87, 91, 92, 92, 87, 91	87	6
0.10	103, 104, 106, 104, 103, 92	102	5
1.00	103, 103, 104, 98, 98, 92	100	5

2.3 ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben พบว่าส้มเขียวหวานจากแปลงควบคุมหรือแปลงที่ไม่ใช้วัตถุมีพิษ pyridaben ตรวจพบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของวิธีทดสอบที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง (Limit of quantification หรือ LOQ) และตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลองที่ใช้วัตถุมีพิษ pyridaben ตามอัตราแนะนำในส้ม พบปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben หลังการพ่นวัตถุมีพิษครั้งสุดท้าย 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน ดังแสดงในตารางที่ 5 จากผลการทดลองพบว่าแปลงทดลองที่ 1 และ 2 พบปริมาณสารพิษตกค้างในช่วงความเข้มข้นที่ต่ำกว่าแปลงอื่นๆ โดยสาเหตุที่พบค่าปริมาณสารพิษตกค้างในตัวอย่างจากแปลงทดลองในช่วงความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นผลมาจากหลากหลายปัจจัย เช่น ลักษณะแปลงปลูกที่แตกต่างกัน การให้น้ำ ฤดูกาลที่ทำการทดลอง แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสารพิษตกค้างของทุกแปลงทดลองมีแนวโน้มลดลง เมื่อจำนวนวันหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการสลายตัวของวัตถุมีพิษ pyridaben ดังแสดงในภาพที่ 3

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน (Whole fruit) จากแปลงทดลองที่ใช้วัตถุอันตราย pyridaben ตามอัตราแนะนำ

Day after last application	Residues of pyridaben (mg/kg)				
	Trial No.1	Trial No.2	Trial No.3	Trial No.4	Trial No.5
0	0.07	0.43	0.73	0.53	0.42
3	0.04	0.38	0.59	0.53	0.47
5	0.03	0.16	0.63	0.49	0.57
7	0.03	0.20	0.53	0.49	0.45
10	0.02	0.11	0.52	0.51	0.48
14	0.01	0.08	0.34	0.42	0.41
21	<0.01	0.06	0.34	0.36	0.36
30	-	-	-	0.30	0.36



ภาพที่ 3 กราฟแสดงการสลายตัวของสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน (Whole fruit) แปลงที่ 1 - 5

การควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ในชุดของการทดสอบตัวอย่าง พบว่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ในการสกัดตัวอย่างแปลงที่ 1-5 อยู่ในช่วง 75 - 110 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (SANTE, 2017) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การควบคุมคุณภาพของการตรวจวิเคราะห์ pyridaben ในชุดการทดสอบ ของตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง

Concentration (mg/kg)	Recovery (%)				
	Trial No.1	Trial No.2	Trial No.3	Trial No.4	Trial No.5
0.01	102, 110	75, 80	100, 94	99, 99	79, 82
0.10	101, 102	87, 86	95, 94	102, 102	92, 90
1.00	102, 100	85, 84	99, 102	112, 107	89, 91

2.4. ความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) ของ pyridaben ในส้มเขียวหวาน

การศึกษาความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา (storage stability) ของ pyridaben ในส้มเขียวหวาน ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/kg ที่ระยะเวลา 0, 15, 30, 60, 90 และ 180 วัน พบว่าค่าเฉลี่ย ร้อยละสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานที่เก็บไว้ตั้งแต่ระยะเวลา 0 ถึง 180 วัน มีค่าอยู่ระหว่าง 88-106 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (FAO, 2016) คือสารพิษตกค้างไม่สลายตัวไปเกินกว่าร้อยละ 30 ของความเข้มข้นที่ศึกษา หรือค่าเฉลี่ยสารพิษตกค้างที่เหลืออยู่ต้องมากกว่า 70% และ % Concurrent recovery อยู่ในช่วง 91-105 ดังแสดงในตารางที่ 7 จึงสรุปได้ว่าสามารถเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่มีสารพิษตกค้าง pyridaben ไว้ได้นาน 180 วัน ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C โดยการสลายตัวของสารพิษตกค้างอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ

ตารางที่ 7 ค่าการคงตัว (storage stability) ของสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานที่ระยะเวลาต่างๆ

Time (Day)	Concurrent Recovery (%)	Residues in stored fortified sample (mg/kg)	Average uncorrected residues remained (%)
0	98, 95	0.10, 0.09	95
15	101, 98	0.11, 0.10	103
30	97, 101	0.10, 0.10	98
60	104, 105	0.11, 0.11	106
90	100, 105	0.09, 0.08	88
180	94, 91	0.08, 0.10	90

*Homogenized mandarins stored at freezer temperature approximate -20 ± 5 °C.

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

จากการศึกษาปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวาน เพื่อกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง ทำการทดลองแบบ Supervised residue trials โดยพ่นวัตถุมีพิษตามอัตราแนะนำคือ pyridaben 20% WP ปริมาณ 15 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราใช้น้ำ 5 ลิตรต่อต้น พ่นวัตถุมีพิษ 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน พบว่าการพ่นวัตถุมีพิษ pyridaben ในแปลงทดลองทั้ง 5 การทดลอง สามารถประเมินปริมาณวัตถุมีพิษ pyridaben ที่แปลงทดลองได้เท่ากับ ร้อยละ 100 - 101 ของปริมาณที่กำหนด

เก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย นำตัวอย่างมาสกัดด้วยวิธี QuEChERS (EN15662, 2008) และวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ด้วยเครื่อง LC-MS/MS จากผลการวิเคราะห์พบว่า pyridaben มีการสลายตัวเมื่อจำนวนวันหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างส้มเขียวหวานจากแปลงทดลองทั้ง 5 แปลง มีปริมาณสารพิษตกค้างอยู่ในช่วง < 0.01 - 0.73 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง pyridaben ในส้มเขียวหวานจากแปลงทดลอง มีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 75 - 110 แปลงควบคุมมีปริมาณสารพิษตกค้าง pyridaben < LOQ ในทุกตัวอย่าง และสามารถเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวานที่มีสารพิษตกค้าง pyridaben ไว้ได้นาน 180 วัน ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -20 ± 5 °C โดยความคงตัวของสารในตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ

นำข้อมูลจากแปลงทดลองทั้ง 5 แปลง มาประเมินความปลอดภัยจากแบบจำลองการได้รับการสัมผัสแบบเฉียบพลัน (%ADI) และแบบเรื้อรัง (%ARfD) ทำให้สามารถพิจารณากำหนดค่า PHI สำหรับสาร pyridaben ในส้มเขียวหวานได้เท่ากับ 14 วัน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ส้มจัดอยู่ในกลุ่มหลัก 001 ผลไม้ตระกูลส้ม (citrus fruit) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2559) ซึ่ง Codex ยังไม่มีการกำหนดค่า MRLs ของ pyridaben ในพืชตระกูลส้ม (FAO/WHO, 2019) จึงสามารถนำข้อมูลการศึกษาการสลายตัวของวัตถุมีพิษ pyridaben ในส้มทั้ง 5 การทดลองที่ได้ ไปเสนอเพื่อพิจารณากำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (MRLs) ของ Codex, ASEAN และประเทศไทย

จากการประชุม The Experts Working Group on the Harmonization of Maximum Residue Limits (EWG-MRLs) of Pesticides among ASEAN Countries ครั้งที่ 26 เมื่อวันที่ 17-18 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 เพื่อพิจารณากำหนดมาตรฐานค่า ASEAN Maximum Residue Limit (MRL) สำหรับวัตถุอันตรายทางการเกษตร ประเทศไทยได้ใช้ข้อมูลจากการศึกษาทดลองสารพิษตกค้าง เสนอค่า MRLs ของ pyridaben ในพืชตระกูลส้มเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และกำหนดค่า PHI เท่ากับ 14 วัน โดยที่ประชุมมีมติเห็นชอบร่างค่า ASEAN Harmonized MRLs ดังกล่าว ในขั้นต้น และจะนำไปพิจารณาให้ความเห็นชอบในการประชุมครั้งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE-QuEChERS-method.
- FAO/WHO. 2019. "Codex Alimentarius International Food Standards. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://shorturl.asia/zynNg> (26 มกราคม 2565)
- Devine, G.J., M. Barber and I. Denholm. 2001. Incidence and inheritance of resistance to METI-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). *Pest Management Science* 57:443-448.
- European commission directorate general for health and food safety. (2017) Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues and analysis in food and feed. *SANTE*, 11813, 1-42.
- FAO. 2016. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed 3rded. *FAO Plant Production and Protection Paper* 225. 286p.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. *การจัดกลุ่มสินค้าเกษตร: พืช CLASSIFICATION OF AGRICULTURAL COMMODITIES: CROP*. กรุงเทพฯ.