

## ความเป็นไปได้ในการพบสารพิษตกค้างในเนื้อและเปลือกของส้มสายน้ำผึ้ง

The Possibility of Pesticide Residue Detection in Pulp and Peel of Tangerine Fruit cv. Sai Num Phung

ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล<sup>1,2</sup> จุฬารัตน์ พัฒนาทร<sup>3</sup> ปัญญวัฒน์ เอกอิษowitzakul<sup>3</sup> พิสุทธิ์ เชียวนะ<sup>1,2</sup> สรรสเริญ รังสุวรรณ<sup>1,2</sup>  
และ รัตยา พงศ์พิสุทธา<sup>1,2</sup>

Chainarong Rattanakreetakul<sup>1,2</sup>, Jutarat Pattanatorn<sup>3</sup>, Panyawat Aekitsawatwikul<sup>3</sup>, Pisut Keawmanee<sup>1,2</sup>, Sansern Rangsawan<sup>1,2</sup>,  
and Ratiya Pongpisutta<sup>1,2</sup>

### Abstract

Pesticide residues are one of the major problems in the food supply system within the producing countries. Tangerine fruit cv. Sai Num Phung was highly found the maximum residue limits (MRL) exceed to Thai FDA No. 387 (B.E. 2560) pesticides residue in foods. Tangerine fruit cv. Sai Num Phung farm practice of pre-harvest interval (PHI) of 7–15 days was managed. The result of pesticides residue by GT-test kit of 355 tangerine fruit samples from the farm during August 2019 to July 2020 referred 56.6% (199 samples) was unsafe products. For further elucidation, 10 samples of the unsafe result from GT-test kit were separated into pulp and peel of tangerine fruit. The samples were extracted with QuEChERS, and the extracts were analyzed with GC/ MS comparing to 116 standard pesticides. Pesticide residue on fruit pulp was not found to exceed the Thai standard but the residue on the fruit peel was founded. They found pyridaben 8 samples (0.70, 0.76, 0.05, 0.04, 0.03, 0.09, 0.04 and 0.05 mg/kg) ethion 5 samples (19.40, 20.67, 4.63, 3.71 and 11.35 mg/kg), cypermethrin 4 samples (0.40, 1.45, 2.08 and 1.99 mg/kg), tebuconazole 4 samples (1.76, 1.21, 0.17 and 1.27 mg/kg) with the MRL limit at 0.01, 2.00, 0.3 and 0.01 mg/kg, respectively. These referred that the pesticide residues accumulated on tangerine fruit cv. Sai Num Phung peel than the pulp part.

**Keywords:** tangerine fruit, pesticide residue, food safety

### บทคัดย่อ

สารพิษตกค้างในผลผลิตเกษตรเป็นปัญหาที่มีความสำคัญต่อระบบการผลิตสินค้าเกษตรของไทยและทั่วโลก โดยส้มสายน้ำผึ้งจัดเป็นผลผลิตที่ตรวจพบสารพิษตกค้างเกินค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 เมื่อ อาหารที่มีสารพิษตกค้าง อยู่ปอยครั้ง จากการติดตามแปลงปลูกส้มที่เก็บเกี่ยวโดยใช้ระบบปลดภัยหลังการเก็บเกี่ยว 7-15 วัน ทำการสุมตรวจผลผลิตส้มสายน้ำผึ้งทั้งผลด้วยวิธี GT-test kit จำนวน 355 ตัวอย่าง ในช่วงเดือนสิงหาคม 2562 - กรกฎาคม 2563 พบผลส้มมีสารพิษตกค้างในระดับที่ไม่ปลอดภัยจำนวน 199 ตัวอย่าง คิดเป็น 56.06% จากนั้นสุมผลส้ม 10 ตัวอย่างที่ผลวิเคราะห์ GT-test kit พบไม่ปลอดภัย แยกส่วนเปลือกและเนื้อของส้มสายน้ำผึ้ง นำมาตรวจสารพิษตกค้างโดยสกัดด้วยวิธี QuEChERS และวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง Gas chromatography mass spectrometry โดยเบรี่ยบเทียบสารพิษมาตรฐาน 116 พารามิเตอร์ ผลการวิเคราะห์ส้มสายน้ำผึ้งแบบแยกเนื้อและเปลือก ในส่วนของเนื้อไม่พบสารพิษตกค้างที่เกินค่ามาตรฐาน ขณะที่เปลือกส้มพบสาร pyridaben จำนวน 8 ตัวอย่าง (0.70, 0.76, 0.05, 0.04, 0.03, 0.09, 0.04 และ 0.05 mg/kg) ethion จำนวน 5 ตัวอย่าง (19.40, 20.67, 4.63, 3.71 และ 11.35 mg/kg) cypermethrin จำนวน 4 ตัวอย่าง (0.40, 1.45, 2.08 และ 1.99 mg/kg) และ tebuconazole จำนวน 4 ตัวอย่าง (1.76, 1.21, 0.17 และ 1.27 mg/kg) จากผลที่ทำให้ทราบ 0.01, 2.00, 0.3 และ 0.01 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารพิษตกค้างมีการสะสมบริเวณเปลือกได้มากกว่าบริเวณเนื้อของผลส้มสายน้ำผึ้ง

**คำสำคัญ:** ส้มสายน้ำผึ้ง สารพิษตกค้าง อาหารปลอดภัย

<sup>1</sup> ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

<sup>1</sup> Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

<sup>2</sup> ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กทม. 10400

<sup>2</sup> Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400.

<sup>3</sup> บริษัท สยามแม็คโคร จำกัด (มหาชน) 1468 ถนนพัฒนาการ เขตดอนเมือง กทม. 10250

<sup>3</sup> Siam Makro Public Company Limited 1468 Phatthanakan Rd, Suan Luang, Bangkok 10250

## คำนำ

สัมจัดเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมในการบริโภคของประชาชนโดยทั่วไป ในการผลิตสัมภาระศัตtruสำหรับชาว夷นิดที่ รายงานการผลิต เช่น โรครากรเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica*, เพลี้ยไฟ, ไรแดง, หนอนชนิดในสัมภาระ เป็นต้น (oba ไพร่อน และคณะ, 2542; นิพนธ์ และoba ไพร่อน, 2546) สารเคมีป้องกันกำจัดศัตtruพืชถูกนำมาใช้เป็นทางเลือกในการควบคุมและป้องกันกำจัดศัตtruพืชเพื่อให้มีผลผลิตออกสูงท้องตลาดตามความต้องการของผู้บริโภค ปัจจุบันสารพิษตกค้างในผลผลิตเกษตรมีการควบคุมโดยกระทรวงสาธารณสุข ผ่านทางประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 เรื่อง อาหารที่มีสารพิษตกค้าง เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ควบคุมปริมาณสารพิษตกค้างที่ปนเปื้อนในผลผลิตเกษตร โดยปัญหาสารพิษตกค้างในสัมจัดเป็นผลผลิตที่ได้รับความสนใจจากผู้บริโภค ผู้จำหน่าย ภาครัฐ และองค์กรอิสระเสนอมา โดยในปี 2563 เครื่องข่ายเดือนภัยสารเคมีกำจัดศัตtruพืช ได้รายงานว่าสัมภาระน้ำผึ้งจากจำนวน 16 ตัวอย่าง คิดเป็น 81% พบรสารพิษเกินมาตรฐานที่กำหนด ดังนั้นจึงทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการพบสารพิษตกค้างในเนื้อและเปลือกของผลสัมภาระน้ำผึ้งเพื่อช่วยให้ผู้บริโภค มีความมั่นใจในการบริโภคสัมภาระที่ผลิตในประเทศไทยได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1 การเก็บตัวอย่างผลผลิต และตรวจสารพิษตกค้างด้วย GT test-kit

ประสานงานเกษตรกรพื้นที่การผลิตสัมภาระ จังหวัดเชียงใหม่ ทำการสูญเสียตัวอย่างผลสัมภาระที่มีการเว้นระยะ การใช้สารเคมีกำจัดศัตtruพืชก่อนการเก็บเกี่ยวเป็นระยะ 7-15 วัน ในช่วงเดือนสิงหาคม 2562 - กรกฎาคม 2563 นำผลสัมภาระที่เก็บไว้ในตู้เย็น ห้องตู้เย็นที่มีอุณหภูมิคงที่ 0-4°C นำมาระบุที่ห้องปฏิบัติการ ทำการแยกตัวอย่างผลสัมภาระที่มีสารพิษตกค้าง ด้วย GT-test kit (ห้างจีทีการค้า, ไทย) ตามวิธีการของผู้ผลิต ทำการแปลงและบันทึกผลตามคำแนะนำของผู้ผลิต แยกตัวอย่างผลสัมภาระที่มีผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่ปลอดภัยเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

### 2 การวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยวิธี QuEChERS

นำอย่างผลสัมภาระที่มีผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยชุด GT-test kit อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่ปลอดภัย แยกส่วนของเนื้อและเปลือกของผลสัมภาระออกจากกัน ทำการสักด้วยสารพิษตกค้างโดยประยุกต์ใช้วิธีสักด้วย QuEChERS ด้วย EN 15662 method (Anastassiades et al., 2003) ด้วยชุดสักด์ QuEChERS extract pouch, EN Method (Agilent Technology, USA) กำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วย dispersive 15 mL, High Pigment (Agilent Technology, USA) นำของเหลวส่วนบนไประบายน้ำให้หมดด้วย N<sub>2</sub>-evaporator และละลายกลับด้วย acetone:ethyl acetate:cyclohexane (2:1:1) และวิเคราะห์ปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง Gas chromatography mass spectrometry รุ่น Agilent 7000D Triple Quadrupole Mass Spectrometer (Agilent Technology, USA) เปรียบเทียบกับสารพิษมาตรฐานจำนวน 116 ชนิด บันทึกปริมาณสารพิษตกค้างที่พบ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัม เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit; MRL) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 เรื่อง อาหารที่มีสารพิษตกค้าง (ราชกิจจานุเบกษา, 2560)

## ผล

จากการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยชุด GT-test kit ของผลผลิตสัมภาระที่เว้นระยะการใช้สารเคมีกำจัดศัตtruพืชก่อนการเก็บเกี่ยวที่ระยะ 7-15 วัน ในช่วงเดือนสิงหาคม 2562 - กรกฎาคม 2563 จำนวน 355 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์พบว่ามีผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่พบสารพิษตกค้าง 12 ตัวอย่าง พบรสารพิษตกค้างอยู่ในระดับที่ไม่ปลอดภัย 144 ตัวอย่าง และพบสารพิษตกค้างอยู่ในระดับที่ไม่ปลอดภัย 199 ตัวอย่าง คิดเป็น 3.38, 40.56 และ 56.06% ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วยเครื่อง GC/MS เปรียบเทียบกับสารพิษมาตรฐาน 116 ชนิด ในส่วนของเนื้อและเปลือกของผลสัมภาระที่มีผลการวิเคราะห์ด้วย GT-test kit พบรสารพิษตกค้างอยู่ในระดับที่ไม่ปลอดภัย จำนวน 10 ตัวอย่าง ส่วนของเนื้อสัมภาระที่ไม่พบสารพิษตกค้างในทุกตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ คิดเป็น 100% ส่วนเปลือกสัมภาระที่พบสารพิษตกค้างในทุกตัวอย่างคิดเป็น 100% เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 เรื่อง อาหารที่มีสารพิษตกค้าง พบร่วมกับสารพิษตกค้าง cypermethrin จำนวน 4 ตัวอย่าง (0.40, 1.45, 2.08 และ 1.99 mg/kg) diazinon จำนวน 1 ตัวอย่าง (0.02) ethion จำนวน 5 ตัวอย่าง (19.40, 20.67, 4.63, 3.71 และ 11.35 mg/kg) fipronil จำนวน 1 ตัวอย่าง (0.01) prothiofos จำนวน 3 ตัวอย่าง (0.11, 0.06 และ 0.87) pyridaben จำนวน 8 ตัวอย่าง (0.70, 0.76, 0.05, 0.04, 0.03, 0.09, 0.04 และ 0.05 mg/kg) tebuconazole จำนวน 4 ตัวอย่าง (1.76,

1.21, 0.17 และ 1.27 mg/kg) และ tetradifon จำนวน 2 ตัวอย่าง (0.01 และ 0.02) จากเกณฑ์ที่กำหนด 0.3, 0.01, 2.00, 0.005, 0.01, 0.01, 0.01 และ 0.01 mg/kg ตามลำดับ (Table 1)

Table 1 Analytical report of pesticide residues in peel of tangerine fruit

Pesticide (MRL in Citrus)	Sa1	Sa2	Sa3	Sa4	Sa5	Sa6	Sa7	Sa8	Sa9	Sa10
Bifenthrin (0.05 mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	0.02	ND	ND	ND	ND
Cyfluthrin (0.3 mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.09	0.08	ND	0.09
Cypermethrin (0.3 mg/kg)	0.03	0.03	0.16	0.12	0.40	0.02	1.45	2.08	0.04	1.99
Diazinon (0.01 mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	0.02	ND	ND	ND	ND
Ethion (2 mg/kg)	19.40	20.67	4.63	3.71	11.35	0.20	ND	ND	1.30	ND
Fipronil (0.005 mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.01
Lambda- cyhalothrin (0.2 mg/kg )	ND	ND	ND	ND	0.09	0.03	0.07	0.07	ND	0.11
Malathion (7 mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.42	3.27	0.58	1.96
Metalaxyl (5 mg/kg)	ND	ND	0.30	0.24	1.79	ND	0.03	0.03	ND	0.03
Pacllobutrazol (0.01 mg/kg)	0.03	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Prothiofos (0.01 mg/kg)	ND	ND	0.11	0.06	ND	ND	ND	ND	0.87	ND
Pyridaben (0.01 mg/kg)	0.70	0.76	ND	ND	0.05	0.04	0.03	0.09	0.04	0.05
Tebuconazole (0.01 mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.76	1.21	0.17	1.27
Tetradifon (0.01 mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.01	0.02	ND	ND

LOD = 0.01 mg/kg, ND : not detected

### วิจารณ์

การควบคุมความปลอดภัยทางอาหารในผลิตทางการเกษตร ก่อนนำส่งถึงผู้บริโภค มีการบังคับใช้มาตรฐานต่างๆ ตาม สภากองแขวงแห่งประจำยศินค้าหรือแหล่งจำหน่าย การกระจายสินค้าไปจุดจำหน่าย เช่น ตลาดสด หรือตลาดนัด ซึ่งเป็นตลาด เปิดมีโอกาสที่ความปลอดภัยทางอาหารอาจถูกละเลยได้ ในขณะที่การจำหน่ายผ่านแหล่งจำหน่ายที่แน่นอน เช่น ห้างค้าปลีก (super market) ต้องมีการควบคุมตลอดห่วงโซ่ผลผลิต ทั้งเบลนด์ผลิต และผู้ควบรวมผลผลิตส่งจำหน่าย สิ่งหนึ่งที่เป็นคุณสมบัติ ในการจัดการผลผลิตทางการเกษตรคือการpubสารตอกด้างในผลผลิตที่เกินค่าปริมาณสารพิษตอกด้างสูงสุด (MRL) ตามประกาศ กระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 สำหรับผลผลิตชนิดหนึ่งที่ผลการสูงตรวจพบไม่ปลอดภัยอยู่เสมอ (เครื่อขายเดือน กันยายนเดือนสุดท้ายของปี พ.ศ. 2564) การตรวจพบสารตอกด้างในสัมภาระที่มีความแตกต่างกันเนื่องจากสภาพการจัดการ

ศัตตรูพืช และสิ่งแวดล้อมในการผลิต Julianto (2019) ได้พิจารณาผลิตส้มในพื้นที่พบสารตกค้างชนิด profenofos ที่ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ ในขณะที่รายงานจากเครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตตรูพืช (2564) ตรวจพบสารพิษตกค้างที่สูงถึง 54% จากผักผลไม้ที่ผลิตในประเทศไทยและ 56% จากผักผลไม้ที่นำเข้า ทำให้เกิดความกังวลกับผู้บริโภคได้สูง อันเป็นอุปสรรคต่อการใช้อาหารเป็นยาปรุงรสด้วย อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบสารตกค้างที่เนื้อผลซึ่งใช้รับประทาน แต่สารตกค้างที่พบอยู่ในส่วนของเปลือกผลส้มทุกตัวอย่าง ทั้งนี้จากการตรวจสอบของ Han et al. (2015) ได้รายงานแนวทางการลดสารตกค้างของผลไม้จากสารกำจัดแมลงที่เปลือกของลูกแพร์ ซึ่งผู้บริโภคสามารถนำมาใช้เพื่อลดโอกาสการปนเปื้อนได้ เช่นเดียวกับ ชัยณรงค์ และคณะ (2564) ที่พบว่าสภาพการจัดการแปลงโดยเฉพาะการเร้นระบายน้ำชีดพื้นสร้างเป็นเวลา 28 วัน มีส่วนลดการพบสารตกค้างในทุเรียน และสารตกค้างที่พบบวบวนเปลือกมีมากกว่าส่วนของเนื้อผล

### สรุป

เกษตรกรที่ประสบปัญหานำส่งผลผลิตส้มสู่ตลาดคุณภาพจะมีการตรวจสอบสารตกค้างในผลผลิตส้ม โดยใช้ชุดตรวจสอบที่สามารถตรวจสารอิหร่านฟอสเฟตและคาร์บามेटเป็นเกณฑ์สำหรับการตัดสินเพื่อเก็บเกี่ยวผลส้ม โดยการใช้วิธีระยะเวลาปลดสาร 7 -15 วัน ทำให้ผู้ผลิตมีโอกาสเก็บผลผลิตส้มผิดพลาดถึง 56% ที่เป็นผลส้มไม่ปลดภัย และจากการสุมตรวจสอบแยกเปลือกและเนื้อด้วยใช้ GC/MS เปรียบเทียบกับสารกำจัดศัตตรูพืช 116 ชนิด ผลการตรวจไม่พบสารกำจัดศัตตรูพืชตกค้างที่เนื้อส้ม แต่สำหรับเปลือกส้มพบสารที่มีโอกาสตกค้างมากได้แก่ pyridaben, ethion, cypermethrin รองลงมาได้แก่ tebuconazole, prothiofos สำหรับ diazinon, fipronil และ tetradifon พบได้น้อย

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการศิริวิทยาด้านโรคพืช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับการเชื้อเพลิงสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัย และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ระหว่างการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพมหานคร

### เอกสารอ้างอิง

- เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตตรูพืช. 2564. เปรียบเทียบสารพิษตกค้างในผักผลไม้ นำเข้า และผลิตในประเทศไทย ย่างไรไม่แพ้กัน. [ออนไลน์].  
แหล่งที่มา: <https://www.thaipan.org/data/2333>. (28 มีนาคม 2564).
- ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, พิสุทธิ์ เรียมณี, รัตตยา พงศ์พิสุทธิ, สรราสิริกุล วงศ์พิสุทธิ, ลักษณ์ บินคาเดอร์, วีระวรรณ์ จิระวังค์ และวีระพันธ์ จิตวงศ์ ชาลิต. 2564. ออกัสการพิษตกค้างในเปลือกและเนื้อของทุเรียนในจังหวัดชุมพร. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 59 วันที่ 10-12 มีนาคม 2564, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 354-361.
- นิพนธ์ ทวีชัย และคำไพรัตน์ ภาครัตน์สุขัณณ์. 2546. โรคของส้มสาย养成 (ส้มไขกุ้ง) และการป้องกันกำจัด: โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการจัดการโรคส้มเพื่อเพิ่มผลผลิต. ภาควิชาโรคพืช, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ราชกิจจานุเบกษา. 2560. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 387 พ.ศ. 2560 เรื่อง อาหารที่มีสารพิษตกค้าง.  
คำไพรัตน์ ภาครัตน์สุขัณณ์, โภคสุล เจริญสม และ ชลิตา คุณหมุณิ. 2542. แมลงและโรคศัตตรูสัมเขียวหวาน. ใน นานาสาระ สำนักข่าวหน้า 181 หน้า, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Anastassiades, M., S.J. Lehotay, D. Stajnbaher and 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. Journal of AOAC INTERNATIONAL 86: 412-431.
- Han, J.L., P. Fang, X.M. Xu, X.J., Li-Zheng., H.T. Shen and Y.P. Ren. 2015. Study of the pesticides distribution in peel, pulp and paper bag and the safety of pear bagging. Food Control 54: 338-346.
- Julianto, R. P. D. 2019. Analysis of organofosfat residual pesticidates on orange fruit in Poncokusumo District, Malang District.
- IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science 12: 48-59.