



รายงานแผนงานวิจัยย่อย

วิจัยและพัฒนามาตรฐานการตรวจวิเคราะห์พืช  
และปัจจัยการผลิตเพื่อการเกษตรมั่นคง

Research and Development of Standard Analysis Methods of  
Plant and Agricultural Inputs for Security Production

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย

นางสาวจรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

Ms. Charirat Kusonwiriyawong

ปี พ.ศ. 2564



รายงานแผนงานวิจัยย่อย

วิจัยและพัฒนามาตรฐานการตรวจวิเคราะห์พืช  
และปัจจัยการผลิตเพื่อการเกษตรมั่นคง

Research and Development of Standard Analysis Methods of  
Plant and Agricultural Inputs for Security Production

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย

นางสาวจรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

Ms. Charirat Kusonwiriyawong

ปี พ.ศ. 2564

## คำปรารภ (Foreword)

แผนงานย่อยการวิจัยและพัฒนามาตรฐานการตรวจวิเคราะห์พืช และปัจจัยการผลิตเพื่อการเกษตรมั่นคง มีวัตถุประสงค์หลัก คือ การนำมาตราฐานการวิเคราะห์ที่เป็นสากลมาใช้ในการควบคุมคุณภาพปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ส่งผลให้สินค้าเกษตรที่ได้มีคุณภาพและมาตรฐาน นอกจากนี้ผลการวิจัยที่ได้ สามารถที่จะนำไปเผยแพร่ให้กับห้องปฏิบัติการต่างๆ เพื่อพัฒนาห้องปฏิบัติการต่างๆ ให้มีมาตรฐานเดียวกัน ทั้งยังสามารถเผยแพร่สู่เกษตรกรในหลายรูปแบบ ที่จะทำให้มีการเลือกใช้สารเคมี หรือปัจจัยการผลิตอย่างถูกต้อง และมีประสิทธิภาพ โดยประกอบด้วย 3 โครงการวิจัย คือ 1) โครงการวิจัยและพัฒนามาตรฐานระบบการตรวจสอบคุณภาพดิน น้ำ ปุ๋ย พืช สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และสารปรับปรุงดิน เพื่อเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงสากล 2) โครงการวิจัยพัฒนามาตรฐานการทดสอบผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และศึกษาการเสื่อมสภาพเพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างเข้มแข็ง ซึ่งจะสามารถให้ความมั่นใจกับเกษตรกรได้ว่า ปัจจัยการผลิตต่าง ๆ ที่จะใช้ในการผลิตพืชนั้น มีคุณภาพและมาตรฐานในระดับเทียบเท่ากับนานาชาติ และ 3) โครงการพัฒนาเทคนิค Multiplex Real-time PCR สำหรับตรวจคัดกรองและจำแนกยีนพืชดัดแปลงพันธุกรรมเชิงคุณภาพในพืชนำเข้า (ข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด) ซึ่งการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้ผลถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็ว จะทำให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้าในการนำเข้าพืช เช่น ข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด และทำให้ผู้บริโภคมั่นใจในพืชผลเกษตรของไทย นอกจากนี้ ยังเป็นผลดีในระยะยาว ในเรื่องของความปลอดภัยด้านอาหาร สร้างมูลค่าเพิ่มให้สินค้าเกษตรที่ปลอดภัยต่อการบริโภค คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าแผนงานวิจัยย่อยนี้ ซึ่งเป็นการบูรณาการร่วมกันของทั้ง 3 โครงการ จะทำให้สามารถมุ่งสู่เป้าหมายอาหารปลอดภัยด้านพืช สินค้าเกษตรมีคุณภาพในระดับสากล ทำให้สามารถแข่งขันในตลาดโลก และส่งผลให้เกษตรกรมั่นคง มั่งคั่งและยั่งยืนได้

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ .....	5
คณะผู้วิจัย.....	7
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....	11
บทนำ.....	12
บทคัดย่อ.....	15
โครงการวิจัยที่ 1 วิจัยและสร้างมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ดิน น้ำ ปุ๋ย พืช สารควบคุม การเจริญเติบโตพืช และสารปรับปรุงดินเพื่อเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงสากล.....	17
โครงการวิจัยที่ 2 วิจัยพัฒนามาตรฐานการทดสอบและการเสื่อมสภาพเพื่อควบคุมคุณภาพ ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างเข้มแข็ง .....	26
โครงการวิจัยที่ 3 พัฒนาเทคนิคMultiplex Real-time PCR สำหรับตรวจคัดกรองและจำแนกยีน พืชตัดแปลงพันธุกรรมเชิงคุณภาพในพืชนำเข้า (ข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด) .....	32
บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	36
บรรณานุกรม.....	37

## กิตติกรรมประกาศ

แผนงานย่อยการวิจัยและพัฒนามาตรฐานการตรวจวิเคราะห์พืช และปัจจัยการผลิตเพื่อการเกษตรมั่นคง สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความสามารถอนุเคราะห์จากกรมวิชาการเกษตร และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินงาน และงบประมาณ เป็นอย่างดีเยี่ยมมาโดยตลอด นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้อำนวยการกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร นายยงยุทธ ไร่แก้ว อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านวัตถุอันตรายทางการเกษตร นางสาวพินดา ไชยยันต์บุรณ์ ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์และทดสอบ และนางสาววรรณรัตน์ ชุตินุตร ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี ที่ได้ให้ข้อคิดเห็น คำแนะนำ และแนวทางการจัดทำงานวิจัย ทำให้แผนงานย่อยดังกล่าวสมบูรณ์ด้วยดี ท้ายนี้ ขอขอบคุณนักวิจัยจากหน่วยงานต่างๆ ประกอบด้วย สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กลุ่มวิจัยวัตถุดิบพืชทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 2 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 3 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 4 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 5 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 6 สำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 7 และสำนักวิจัยพัฒนาและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 8 ที่ร่วมมือในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

นางสาวจรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

นางสาวจรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

หัวหน้าแผนงานวิจัยย่อยวิจัยและพัฒนามาตรฐานการ

ตรวจวิเคราะห์พืช และปัจจัยการผลิต

เพื่อการเกษตรมั่นคง

กรมวิชาการเกษตร

## คณะผู้วิจัย

### หัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย

จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์

### หัวหน้าการทดลองและผู้ร่วมการทดลอง

จิราพรรณ	ทองหยอด	ปิยรัตน์	ธรรมกิจวัฒน์	พินิตนันต์	สรวยเอี่ยม
วรรณรัตน์	ชุตินุตร	สาธิตา	โพธิ์น้อย	จรียา	วงศ์ตรี
พงศ์พิศ	แก้วสุข	สงกรานต์	มะลิสอน	ชฎาพร	คงนาม
สุพิศสา	ทองเขียว	ทองจันทร์	พิมพ์เพชร	ศุภักชญา	ทาหาร
ญาณธิดา	จิตต์สะอาด	นันทกานต์	ขุนโหร	ศุภากร	ดวงใหญ่
สุภา	โพธิ์จันทร์	จิตติรัตน์	ชูชาติ	เจนจิรา	เทเวศร์วรกุล
พจมาลย์	ภูสาร	สุวลักษณ์	ไชยทอง	อาธิยา	ปุ่นประโคน
เพชรรัตน์	ศิริวิ	กัญจณา	คล้ายแก้ว	กอริอะ	บิลลี่
ดวงพร	ธีระพิทยาพงศ์	สุภานันท์	จันทร์ประอบ	อำนาจ	เอี่ยมวิจารณ์
กัลยกร	โปร่งจันทิก	จิตรา	เกาะแก้ว	พิรุณ	ติระพัฒน์
เยาวลักษณ์	แสงแก้ว	สรัญญา	ช่วงพิมพ์	ดวงรัตน์	วิลาลินี
พิเชษฐ์	ทองละเอียด	อิสริยะ	สีปพันธุ์ดี	ภัทรฤทัย	คมนันธุ์
พนิดา	มงคลอุทัยกุล	สุกัญญา	คำคง	ศศิมา	มั่งนิมิตร
อนุชา	ผลไสว	ฉล่องรัตน์	หมื่นขวา	ทัศนีย์	อัญญาพรพงษ์
นงพงา	โอลเสน	เนาวรัตน์	ตั้งมั่นคงวารกุล	สุธินี	สาสีลัง
เบญจมาศ	ใจแก้ว	พรศิริ	สายะพันธ์	บังอร	แสนคาน
ปริยานุช	สายสุพรรณ	จารุพงศ์	ประสพสุข	นาตยา	จันทร์ส่อง
สุภาพร	บังพรม	อิทธิพล	บังพรม	มณฑาทิพย์	อรุณวารากรณ์
ประไพ	หงษา	เกษสิริ	ฉันทพิริยะพูน	นิกร	โคตรสมบัติ
อรพิน	หนูทอง	สาวิตรี	เขมวงศ์	วัชรภาพร	ศรีสว่างวงศ์
สาคร	นิยมสัจย์	วิชญ์	แจ้งใบ	ณตนันท์	แช่จำ
วีระศักดิ์	พิทักษ์ศฤงคาร	ฐิติรัตน์	อศวมงคลศิริ	ปิยนุช	ศรชัย

กรมวิชาการเกษตร



## Research Team

### Research Leader

Charirat Kusonwiriya Wong

### Research Project Chief and Team

Jirapan	Thongyord	Piyarat	Thammakijjawat	Pinitnun	Sruay-iam
Wannarut	Chutibut	Sathida	Phonoy	Jariya	Wongtree
Pongpit	Kaewsuk	Songkrant	Malisorn	Chadaporn	Khongnam
Supissa	Thongkeaw	Tongchan	Pimpech	Supakchaya	Thaha
Yanthicha	Jittsa-aad	Nanthakan	Khunhon	Supakorn	Duanyai
Supha	Photichan	Jittirat	Choochat	Janejira	Teweswarakul
Pojjamarn	Poosarn	Suwalak	Chitong	Arthiya	Punprakhon
Phetcharat	Siriwi	Kanthana	Klaigaw	Koreeah	Binlee
Tuanporn	Teerapitthayapong	Supanun	Junpra-ob	Amnat	Eamvijarn
Kunlayakorn	Prongjunthuek	Jitra	Kokaew	Pirun	Tirapat
Yaowalak	Sangkeaw	Saranya	Choungpim	Duangrat	Wilasinee
Pichet	Tongla-eard	Issariya	Sueppandee	Phatruethai	Kumnat
Panida	Mongkhonwuttikun	Sukanya	Khomkong	Sasima	Mungnimitr
Anucha	Phonswai	Chalongrat	Muenkhwa	Tassanee	Attapornpong
Nongpanga	Olsen	Naowarat	Tangmunkongvorakul	Sutinee	Saseelung
Benjamard	Jaikaew	Phonsiri	Sayaphan	Bang-on	Saenkahn
Pariyanuch	Saisuphan	Jarupong	Prasopsuk	Nattaya	Jansong
Supapron	Bongprom	Ittipon	Bongprom	Montatip	Arunwarakorn
Prapai	Hongsa	Kedsiri	Chantapiriyapoon	Nikorn	Kotsombate
Orapin	Nuthong	Sawitri	Khemvong	Watcharaporn	Srisawangwong
Sakorn	Niyomsat	Witsanu	Jangbai	Nuttanun	Sae-cham
Weerasak	Pitaksaringkarn	Thitirut	Assawamongkholsiri	Piyanuch	Sornchai

กรมวิชาการเกษตร

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

°C	Degree Celsius
CIPAC	Collaborative International Pesticides Analytical Council
CRD	Completely Randomized Design
CRM	Certified Reference Materials
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GA <sub>3</sub>	Gibberellic Acid
IAA	Indole Acetic Acid
ICP	Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer
ICP-IDMS	inductively Coupled Plasma–Isotope Dilution Mass Spectrometer
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantitation
NIRS	Near Infrared Spectroscopy
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
r	Correlation coefficient
RSD	Relative Standard Deviation
SEC	Standard of Calibration
SEP	Standard of Error of Prediction:
SD	Standard Deviation

## บทนำ

### 1. ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย

คุณภาพและมาตรฐานการผลิตพืชและผลิตภัณฑ์สู่ระดับสากล เป็นยุทธศาสตร์ของกรมวิชาการเกษตร ในฐานะที่รับผิดชอบในการผลิตพืชที่ได้มาตรฐาน ทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศและส่งออก เป็นสินค้าออก รวมถึงการกำกับดูแลพืชนำเข้า ตามพระราชบัญญัติต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพืช เช่น ควบคุมกำกับดูแลปัจจัยการผลิตชนิดต่างๆ เช่น ปุ๋ย สารปรับปรุงดิน สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช พืชตัดแปรพันธุกรรม สารพืชตกค้างในพืช แต่ปัญหาที่สำคัญในระบบการผลิตพืชนั้น เริ่มตั้งแต่การผลิตของเกษตรกรที่ใช้ปัจจัยการผลิต เช่น ปุ๋ย สารปรับปรุงดิน สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ไม่มีคุณภาพ หรือนำไปใช้ไม่ถูกต้อง โดยเฉพาะการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ไม่เหมาะสม พืชผักผลไม้มีสารพืชตกค้างเกินค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ ส่งผลกระทบให้การค้าพืชผลเกษตรมีปัญหาทั้งภายในประเทศและการค้าระหว่างประเทศ กรมวิชาการเกษตรจึงได้จัดทำยุทธศาสตร์เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้ และยุทธศาสตร์ที่สำคัญคือ การเสริมสร้างศักยภาพและพัฒนาเศรษฐกิจด้านการผลิต การตลาด และการสร้างมูลค่าเพิ่ม โดยมีกลยุทธ์ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การวิจัยและพัฒนาระบบมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพพืชปัจจัยการผลิตและผลิตภัณฑ์ ตามมาตรฐาน ISO/IEC17025 โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์ต้องได้รับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี หรือทวนสอบวิธีการก่อน เพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้องน่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับในระดับสากล การศึกษาการคงสภาพของผลิตภัณฑ์ซึ่งใช้เป็นข้อมูลสนับสนุน พ.ร.บ. วัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 เพื่อให้เกษตรกรได้ใช้ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย การวิจัยและพัฒนาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช วิจัยการสลายตัวของสารพืชตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อม ค้นคว้าเทคนิคการตรวจวัดสารพืชตกค้าง วิจัยพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบพืชตัดแปรพันธุกรรม เพื่อให้ครอบคลุมชนิดของยีนดัดแปรพันธุกรรม และเป็นเตรียมความพร้อมเพื่อรองรับการตรวจวิเคราะห์และควบคุมกำกับดูแลในประเทศ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปรพันธุกรรม การวิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเพื่อการรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตและสินค้าพืช เพื่อสร้างคุณค่าให้กับผลผลิตพืชและอำนาจการต่อรองทางการค้า เพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน และการผลิตที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมตามยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปี ซึ่งทำให้สามารถแก้ไขปัญหาของเกษตรกรได้อย่างยั่งยืน และสร้างความเข้มแข็งในระบบการเกษตร มีข้อมูลสำหรับการเปิดตลาดการค้ากับต่างประเทศในอนาคต

### 2. วัตถุประสงค์

เพื่อวิจัยพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์พืช พืชตัดแปรพันธุกรรม ปัจจัยการผลิต ประกอบด้วย ดิน น้ำ ปุ๋ย สารปรับปรุงดิน ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ให้มีมาตรฐานการวิเคราะห์ที่สามารถอ้างอิงได้ในระดับสากลตามมาตรฐาน ISO/IEC17025: 2017

### 3. วิธีการวิจัย

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยการหาช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (Range) ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) และพิสูจน์ความถูกต้อง (Trueness) ความเที่ยง (Precision) ทหาความจำเพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity) ความแม่นยำ (Accuracy) และความคงทนของวิธี (Ruggedness/Robustness) โดยใช้วิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) หรือสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น สูง กลาง ต่ำ นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณทางสถิติตามมาตรฐานสากล Eurachem (2014) และ AOAC (2016) โดยตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์และกำหนดเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองได้แก่ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ กำมะถันทั้งหมด และคลอไรด์ในปุ๋ยเคมี อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ตามมาตรฐาน Eurachem (2019) และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ซึ่งใช้เทคนิค Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometry (ICP-OES) ตามมาตรฐานสากล ในการวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมี โบรอนในพืช โบรอนในดิน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน เหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดงที่เป็นประโยชน์ และซิลิคอนในดิน และพิสูจน์เอกลักษณ์ และวิเคราะห์องค์ประกอบของไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี สารปรับปรุงดิน ประเภทปูนขาว โดโลไมท์ ปูนมาร์ลด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) ศึกษาหาค่ากำหนดของเหล็กทั้งหมด และทองแดงทั้งหมดในตัวอย่างดิน และปุ๋ยอ้างอิง ด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma–Isotope Dilution Mass Spectrometry (ICP-IDMS) และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ วิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด และหาค่าคงที่เพื่อประเมินความเค็มของน้ำทางการเกษตร สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) ในผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร กรดอะมิโน และธาตุอาหารในพืช และพัฒนามาตรฐานการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ไตรไซโคลาโซล (tricyclazole), ไทอะมีทอกแซม (thiamethoxam), สารออกฤทธิ์ 2,4-ดี-ไดเมทิลแอมโมเนียม (2,4-D-dimethylammonium), เพนดิเมทาลิน (pendimethalin), สารออกฤทธิ์ครีซอกซิม-เมทิล (kresoxim-methyl), ฟลูซิลาโซล (flusilazole), อีไทออน (ethion), บิวทาคลอร์ (butachlor), พาราควอตไดคลอไรด์ (paraquat dichloride), โพรฟีโนฟอส (profenofos), โพรไทโอฟอส (prothiofos), ไดอะซินอน (diazinon), พิริมิฟอส-เมทิล (pirimiphos-methyl), คลอโรทาโรนิล (chlorothalonil) และ อะเมทรีน (ametryn) ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสารกำจัดแมลงเฟนโทเอต (phenthoate) และโพรฟีโนฟอส (profenofos) และมีวิธีทดสอบตามคอแลบบอเรทีฟ อินเตอร์เนชันแนล เพสตีไซด์ แอนาไลติคอล เคานซิล ลิมิเต็ด (Collaborative International Pesticides Analytical Council : CIPAC Method) เพื่อให้ผ่านเกณฑ์ตามมาตรฐานขององค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAO) รวมทั้งตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ยีนศัตรูและจำแนกยีนดัดแปลงพันธุกรรมเชิง

คุณภาพในพีชนำเข้า ประกอบด้วย ข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพดด้วยเทคนิค Multiplex Real-time PCR ซึ่งสกัดดีเอ็นเอตามวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ และวิธีมาตรฐาน ISO 21571

กรมวิชาการเกษตร

## บทคัดย่อ

แผนงานย่อยการวิจัยและพัฒนามาตรฐานการตรวจวิเคราะห์พืช และปัจจัยการผลิตเพื่อการเกษตรมั่นคง ประกอบด้วย 3 โครงการวิจัย คือ 1) โครงการวิจัยและพัฒนามาตรฐานระบบการตรวจสอบคุณภาพดิน น้ำ ปุ๋ย พืช สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และสารปรับปรุงดิน เพื่อเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงสากล 2) โครงการวิจัยพัฒนามาตรฐานการทดสอบผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และศึกษาการเสื่อมสภาพเพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างเข้มแข็ง และ 3) โครงการพัฒนาเทคนิค Multiplex Real-time PCR สำหรับตรวจคัดกรองและจำแนกยีนพืชตัดแปลงพันธุกรรมเชิงคุณภาพในพืชนำเข้า (ข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อวิจัยพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์พืชตัดแปลงพันธุกรรม ปัจจัยการผลิต ประกอบด้วย ดิน น้ำ ปุ๋ย สารปรับปรุงดิน ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ให้มีมาตรฐานการวิเคราะห์ที่สามารถอ้างอิงได้ในระดับสากลตามมาตรฐาน ISO/IEC17025: 2017 ดำเนินการตั้งแต่ ตุลาคม 2562 – ธันวาคม 2564 จากผลการศึกษา สรุปได้ดังนี้ 1) ได้เกณฑ์ตลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยเคมี และปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี จำนวน 8 เกณฑ์ 2) ได้วิธีการวิเคราะห์ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ ปุ๋ยชีวภาพ และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช จำนวน 20 วิธี 3) ได้สมการทำนายผลการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และสารปรับปรุงดิน ประเภทปูนด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ 5 รายการทดสอบ 4) ได้ตัวอย่างอ้างอิงรับรองดินและปุ๋ยที่มีค่ากำหนดของเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด จำนวน 2 ตัวอย่าง 5) ได้วิธีการวิเคราะห์ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร 20 วิธี 16 ชนิดสาร 6) ได้ผลการศึกษาร่วมกัน (Collaborative Study) ของสาร chlorothalonil และสาร ametryn จำนวน 2 สาร โดยมีจำนวนห้องปฏิบัติการเข้าร่วม จำนวน 8-16 ห้องปฏิบัติการ 7) ได้ข้อมูลการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate, benomyl และ profenofos ในระยะเวลา 18 เดือนตามข้อกำหนดของ FAO (FAO-Specification) 9) ได้เทคนิคการวิเคราะห์แบบ Multiplex real-time PCR สามารถใช้ตรวจคัดกรองและจำแนกยีนพืชตัดแปลงพันธุกรรมในตัวอย่างข้าว 3 สายพันธุ์ ข้าวสาลี 2 สายพันธุ์ ถั่วเหลือง 6 สายพันธุ์ และข้าวโพด 14 สายพันธุ์ จากผลการวิจัยที่ได้สามารถนำมาใช้ในการกำหนดวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย ดิน น้ำ สารปรับปรุงดิน สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายพืชตัดแปลงพันธุกรรมของประเทศไทย ให้มีมาตรฐานเดียวกันทั้งประเทศ เทียบเท่าสากล ยกเว้นการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ทดสอบ ส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์มีความน่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความธรรม ชำนาญ และยั่งยืนให้กับเกษตรกร และผู้ประกอบการ มีข้อมูลสำหรับการเปิดตลาดการค้ากับต่างประเทศในอนาคต เป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันในระบบการเกษตรของประเทศไทย

## Abstract

The sub-plan of research and development of standard analysis methods of plant and agriculture inputs for security production composed of 3 research projects 1) research and development of analysis standard for soil, water, fertilizer, plant, plant growth regulators and soil conditioner as the international reference laboratory 2) strongly research development standard on analytical and degradation for quality control of pesticide formulation products and 3) development qualitative, multiplex real-time PCR for screening and identification of GM specific events on imported crops (Rice, Wheat, Soybean and Corn). This sub-plan was conducted to research and develop the analysis methods and study of method validation on plant, genetically modified crops, agricultural inputs including soil, water, fertilizer, soil conditioners, pesticide formulation products and plant growth regulators to establish the standard method analysis according to ISO/IEC17025: 2017. These studies were proceeded from October 2019 – December 2021. From these studies, the results successfully found that 8 tolerances of nutrient content in organic, chemical and organic-chemical fertilizers 2) 20 validated methods analysis of fertilizer, plant, soil, water, bio-organic fertilizer and plant growth regulator 3) 5 equations of NIR approaches to predict the nutrient contents in chemical fertilizer, organic-chemical fertilizer and soil conditioners 4) 2 reference materials certified with total iron and total copper contents 5) 20 validated methods of agricultural hazardous substance products with 16 substances 6) collaborative study results of 2 agricultural hazardous substances (including chlorothalonil and ametryn) with 8 - 16 participated laboratories 7) information of the active ingredient of phenthoate, benomyl and profenofos deterioration in 18 months according to the standard criteria of FAO-Specification 9) Multiplex Real-time PCR technique which classifying 3 events of GM rice, 2 events of GM wheat, 6 events of GM soybean and 14 events of GM corn. From the research output, the analytical validated methods of fertilizer, soil, water, soil conditioner, plant growth regulator, pesticide formulation products and genetically modified crops were established as the reference standard method of Thailand. The quality assurance in laboratories were developed thus enhancing the potential capacity of laboratory to be the same standard throughout Thailand. Moreover, the reliable, inevitable and traceable results build fairness, strength and sustainability for farmers and entrepreneurs. Thailand has information for opening the foreign trade market thus increasing the competitiveness in the agricultural system of Thailand.



## โครงการวิจัยที่ 1

วิจัยและสร้างมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ดิน น้ำ ปุ๋ย พืช สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช  
และสารปรับปรุงดินเพื่อเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงสากล

Research and Development of Analysis Standard for Soil, Water, Fertilizer,  
Plant, Plant Growth Regulators and Soil Conditioner  
as the International Reference Laboratory

จรีรัตน์ กุศลวิริยะวงศ์<sup>1/</sup>วรรณรัตน์ ชุตินบุตร<sup>1/</sup>สาธิตา โพธิ์น้อย<sup>1/</sup>จริยา วงศ์ตรี<sup>1/</sup>พงศ์พิศ แก้วสุข<sup>1/</sup>  
สงกรานต์ มะลิสอน<sup>1/</sup>ชฎาพร คงนาม<sup>1/</sup>สุพิศสา ทองเขียว<sup>1/</sup>ทองจันทร์ พิมพ์เพชร<sup>1/</sup>ศุภักชญา ทาหาร<sup>1/</sup>  
ญาณธิดา จิตต์สะอาด<sup>1/</sup>นันทกานต์ ขุนโหร<sup>1/</sup>ศุภากร ดวนใหญ่<sup>1/</sup>สุภา โพธิ์จันทร์<sup>1/</sup>จิตติรัตน์ ชูชาติ<sup>1/</sup>  
เจนจิรา เทเวศร์วรกุล<sup>1/</sup>พจมาลย์ ภูสาร<sup>1/</sup>สุวลักษณ์ ไชยทอง<sup>1/</sup>อาธิยา ปุ่นประโคน<sup>1/</sup>เพชรรัตน์ ศิริวิ<sup>1/</sup>  
กัญธรรณา คล้ายแก้ว<sup>1/</sup>กอริอะ บิลลี่<sup>1/</sup>ดวงพร ธีระพิทยาพงศ์<sup>1/</sup>สุภาณันท์ จันทร์ประอบ<sup>1/</sup>  
อำนาจเอี่ยมวิจารณ์<sup>1/</sup>กัลยกร โปร่งจันทัก<sup>1/</sup>จิตรา เกาะแก้ว<sup>1/</sup>พิรุณ ติระพัฒน์<sup>2/</sup>  
เยาวลักษณ์ แสงแก้ว<sup>2/</sup>สรัญญา ช่างพิมพ์<sup>2/</sup>

<sup>1/</sup>กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร <sup>2/</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8

### คำสำคัญ (Key words)

ห้องปฏิบัติการอ้างอิงสากล, เกณฑ์คลาดเคลื่อน, ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์, สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้, สารปรับปรุงดิน, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต (PGPR), อินดักทีฟลิสต์คัพเปิลพลาสมาส-ไอโซโทปไดลูชันแมสสเปกโตรเมทรี

International reference laboratory, Uncertainty, Method validation, Near Infrared Spectroscopy (NIRS), Soil conditioner, Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), Inductively coupled plasma-isotope dilution mass spectrometry (ICP-IDMS)

### บทคัดย่อ (Abstracts)

โครงการวิจัยวิจัยและพัฒนาามาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ดิน น้ำ ปุ๋ย พืช สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และสารปรับปรุงดินเพื่อเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงสากล มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาเพื่อกำหนดเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และปุ๋ยอินทรีย์ 2) พัฒนารูวิธี และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพ ดิน น้ำ วัตถุเคมีทางการเกษตร และธาตุอาหารพืชในพืช 3) ศึกษาวิธีวิเคราะห์ห้องประกอบไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และสารปรับปรุงดิน ประเภทปุ๋ยโดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ 4) พัฒนาตัวอย่างอ้างอิงรับรองของดินและปุ๋ย ดำเนินการตั้งแต่ ตุลาคม 2562 – ธันวาคม 2564 จากผลการศึกษา สรุปได้ดังนี้ 1) ได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยเคมี และปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีจำนวน 8 เกณฑ์ 2) ได้วิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ ปุ๋ยชีวภาพ

และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช จำนวน 20 วิธี 3) ได้สมการทำนายผลการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และสารปรับปรุงดิน ประเภทปุ๋ยด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ 5 รายการทดสอบ 4) ได้ตัวอย่างอ้างอิงรับรองดินและปุ๋ยที่มีค่ากำหนดของเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด จำนวน 2 ตัวอย่าง จากผลการวิจัยที่ได้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการกำหนดวิธีวิเคราะห์มาตรฐานเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการ และสร้างระบบประกันคุณภาพภายในของห้องปฏิบัติการ เป็นการยกระดับและพัฒนาศักยภาพของห้องปฏิบัติการให้เป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงของประเทศไทย ทำให้ผลการทดสอบที่ได้เป็นที่ยอมรับ นำเชื่อถือ และลดข้อโต้แย้งที่เกิดจากการการบังคับใช้กฎหมายของกรมวิชาการเกษตร

The project of research and development of analysis standard for soil, water, fertilizer, plant, plant growth regulators and soil conditioner as the international reference laboratory was conducted to 1) study uncertainty of the content of nutrients in chemical fertilizer, organic-chemical fertilizer and organic fertilizer 2) develop and validate method analysis of chemical fertilizer, organic fertilizer, bio-organic fertilizer, soil, water, agrochemical product and plant nutrients 3) study method analysis of nitrogen components in chemical fertilizer, organic fertilizer and soil conditioner especially in lime using near infrared spectroscopy (NIR) 4) establish certified reference materials of fertilizer and soil. The project was proceeded from October 2019 – December 2021. This study accomplished that 1) 8 tolerances of nutrient content in organic, chemical and organic-chemical fertilizers 2) 20 validated methods analysis of fertilizer, plant, soil, water, bio-organic fertilizer and plant growth regulator 3) 5 equations of NIR approaches to predict the nutrient contents in chemical fertilizer, organic-chemical fertilizer and soil conditioners 4) 2 reference materials certified with total iron and total copper contents. The project outputs substantially defined the standard method and developed the internal quality assurance thus enhancing the potential of laboratory as the Thailand reference laboratory. Moreover, the reliable and inevitable results deduct the controversies causing by law enforcement of the Department of Agriculture.

### **บทนำ (Introduction)**

การพัฒนาความสามารถของห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงในการตรวจวิเคราะห์ดิน น้ำ ปุ๋ย พืช สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และสารปรับปรุงดิน โดยการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ หาสสมบัติต่างๆ ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพ ดิน พืช และวัตถุเคมีการเกษตร ตามมาตรฐาน Eurachem (2014) และ ISO/IEC 17025:2017 เพื่อกำหนดเป็นวิธีวิเคราะห์มาตรฐานของประเทศไทย และนำค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบมากำหนดเกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารตามมาตรฐาน Eurachem (2019) เพื่อให้ผู้ประกอบการนำไปใช้ควบคุมคุณภาพปุ๋ย ควบคุมการผลิต และจำหน่ายปุ๋ยให้มีคุณภาพ รวมทั้งพัฒนาเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy;

NIRS) ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงคุณภาพในการพิสูจน์หาเอกลักษณ์ขององค์ประกอบทางเคมี เพื่อเป็นการลดข้อจำกัดของการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ไม่สามารถแยกองค์ประกอบได้ และยังเป็นที่ยืนยันความถูกต้องของการวิเคราะห์ทางเคมี เพื่อให้สารวัตรเภสัชกรนำไปบังคับใช้ กำกับ ควบคุม และดูแลคุณภาพปุ๋ยที่จำหน่ายในท้องตลาด ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 และวิจัยเพื่อหาข้อมูลสารออกฤทธิ์ขั้นต่ำของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่ได้จากพืช เพื่อใช้ในการควบคุมตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย (ฉบับที่ 4) พ.ศ. 2562 นอกจากนี้ ยังเป็นการสร้างระบบประกันคุณภาพผลวิเคราะห์ด้วยการพัฒนาตัวอย่างอ้างอิงรับรองตามมาตรฐาน ISO Guide 35: เป็นการเตรียมความพร้อมห้องปฏิบัติการเข้าสู่มาตรฐาน ISO/IEC 17034: 2016 เพื่อยกระดับให้ห้องปฏิบัติการในประเทศไทยมีมาตรฐานเดียวกัน และยอมรับในระดับสากล

กรมวิชาการเกษตร

## ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

**กิจกรรมที่ 1** การกำหนดเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยเคมีอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์

ศึกษาเกณฑ์คลาดเคลื่อนจากค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์ การวิเคราะห์แคลเซียมออกไซด์ แมกนีเซียมออกไซด์ และกำมะถันทั้งหมด และคลอไรด์ในปุ๋ยเคมี การวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี โดยการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการเตรียมตัวอย่าง (%U<sub>Sampling</sub>) และค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ (%U<sub>Analytical</sub>) และนำมาคำนวณเป็นค่าความไม่แน่นอนรวม (%U<sub>Total</sub>) (Eurachem, 2019)

**กิจกรรมที่ 2** พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ดิน และพืช ด้วยเทคนิคอินดักทีฟลิคัฟเปลพลาสมาสเปกโตรเมทรี

พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โบรอนในปุ๋ยเคมี โบรอนในพืช โบรอนในดิน ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ โซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เหล็กที่เป็นประโยชน์ แมงกานีสที่เป็นประโยชน์ สังกะสีที่เป็นประโยชน์ ทองแดงที่เป็นประโยชน์ และซิลิคอนในดินด้วยเทคนิคอินดักทีฟลิคัฟเปลพลาสมาสเปกโตรเมทรี โดยหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ของเครื่อง Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (ICP-OES) และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยการหา Range/Linearity, Limit of Detection; LOD, Limit of Quantitation; LOQ, Trueness และ precision โดยใช้วิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) ค่าความผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ตามมาตรฐาน Eurachem (2014) และ AOAC (2016) และตรวจสอบความคงทนของวิธีทดสอบ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะเพียงเล็กน้อยจากสภาวะปกติ (Ruggedness) เช่น ความเป็นกรด-ด่าง ความเร็วรอบในการเขย่า อุณหภูมิ ระยะเวลาการกรอง เป็นต้น สรุปและรายงานผลการทดลอง

**กิจกรรมที่ 3** พัฒนารูปแบบสัญญาณเอกลักษณ์ และวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและสารปรับปรุงดินโดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy; NIRS)

พัฒนารูปแบบสัญญาณเอกลักษณ์ และวิเคราะห์องค์ประกอบไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี อินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ สารปรับปรุงดินชนิดปุ๋ยชีวภาพ และปุ๋ยอินทรีย์ โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ โดยเปรียบเทียบกับผลวิเคราะห์ที่ได้จากห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้น นำสเปกตรัม (Spectrum) ที่ได้มาปรับปรุง (pre-treatment) โดยวิธีทางคณิตศาสตร์ สร้างและปรับปรุงสมการทำนายเพื่อใช้ประเมินผล ประเมินประสิทธิภาพ และตรวจสอบความใช้ได้ของสมการ โดยพิจารณาจากค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard of Calibration : SEC) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard of Error of Prediction: SEP) ค่าอัตราส่วนระหว่าง SD กับ SEP (Ratio of Prediction to Deviation, RPD) ค่า accuracy และค่า precision

**กิจกรรมที่ 4** พัฒนาตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (Certified reference materials) ด้วยวิธีมาตรฐานปฐมภูมิ (primary standard method)

พัฒนาตัวอย่างปุ๋ยและดินอ้างอิงรับรอง โดยให้ค่ากำหนดของเหล็กทั้งหมด และทองแดง ทั้งหมดด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma–Isotope Dilution Mass Spectrometry (ICP–IDMS) ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกัน ทดสอบความเสถียรระยะสั้น และระยะยาว หาค่ากำหนด และประเมินค่าความไม่แน่นอนขอด้วยวิธีทางสถิติตามมาตรฐาน ISO Guide 35

**กิจกรรมที่ 5** พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพ วัสดุปรับปรุงดิน น้ำ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และธาตุอาหารในพืช และผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร

ประกอบด้วย 1) การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีด้วยวิธีโดยตรงและวิธีโดยอ้อม 2) ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ย วิธีวิเคราะห์ปริมาณและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วิธีการจัดจำแนกจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ วิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด วิธีวิเคราะห์กรดอะมิโน วิธีวิเคราะห์ Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) ในผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร 3) การศึกษาหาปริมาณฮอร์โมน Indole acetic acid (IAA), Gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) และ ธาตุอาหารในกล้วยน้ำว้า

ระยะเวลาดำเนินงาน เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด ธันวาคม 2564

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

**กิจกรรมที่ 1** การกำหนดเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยอินทรีย์

ค่าความไม่แน่นอนรวม (%U Total) ปุ๋ยอินทรีย์ ในรายการทดสอบไนโตรเจนทั้งหมด ช่วงความเข้มข้น 0.3 - 10.1% เท่ากับ 2.3 - 25.8%, ฟอสฟอรัสทั้งหมด ช่วงความเข้มข้น 0.3 - 7.3% เท่ากับ 4.3 - 9.6%, โพแทสเซียมทั้งหมดช่วงความเข้มข้น 0.59 - 5.96% เท่ากับ 1.6 - 10.2%, ตัวอย่างปุ๋ยเคมี ในรายการทดสอบแคลเซียมออกไซด์ช่วงความเข้มข้น 0.6 - 34.8% เท่ากับ 3.1 - 8.6%, แมกนีเซียมออกไซด์ ช่วงความเข้มข้น 0.7 - 28.3% เท่ากับ 1.8 - 8.0%, กำมะถันทั้งหมด ช่วงความเข้มข้น 0.6-22.0% เท่ากับ 3.2 - 11.9%, คลอไรด์ ช่วงความเข้มข้น 6.5 - 67.4% เท่ากับ 0.7 - 11.9% และการทดสอบอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี ช่วงความเข้มข้น 14.9-69.1% เท่ากับ 211.6 - 6.4% ตามลำดับ

**กิจกรรมที่ 2** พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ดิน และพืช ด้วยเทคนิคอินดักทีฟลิคัฟเปลปลาสมาสเปคโตรเมทรี

จากผลการตรวจสอบความใช้ของวิธีพบว่า วิธีที่ตรวจสอบมีความเหมาะสมกับตัวอย่างโดยครอบคลุมช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.004 - 17.48% โบรอนในปุ๋ยเคมี, 6.75 - 27.0 mg/kg โบรอนในพืช,

0.05 – 1.90 mg/kg โบรอนในดิน, 10.84 – 91.93 mg/kg ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน, 16.44 – 424.78 mg/kg โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน, 18.06 – 1,063.24 mg/kg โซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน, 15.28 – 3,601.38 mg/kg แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน, 18.15 – 1760.56 mg/kg แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน, 6.17 – 198.89 mg/kg เหล็กที่เป็นประโยชน์ในดิน, 1.63 – 202.15 mg/kg แมงกานีสที่เป็นประโยชน์ในดิน, 0.97 – 12.48 mg/kg สังกะสีที่เป็นประโยชน์ในดิน, 1.01 – 13.12 mg/kg ทองแดงที่เป็นประโยชน์ในดิน และ 8.00 – 370 mg/kg ซิลิคอนในดิน

กรมวิชาการเกษตร

**กิจกรรมที่ 3** พัฒนาวิธีพิสูจน์เอกลักษณ์ และวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและสารปรับปรุงดินโดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy; NIRS)

จากผลงานวิจัยพบว่าเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy-NIRS) สามารถการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน ไนเตรทไนโตรเจน และยูเรียไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี ความแม่นยำในช่วง 80 – 120% และสามารถนำมาใช้ประเมินค่าปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมีที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 15.0% มีความแม่นยำในช่วง 80 – 120% รวมทั้งใช้จัดจำแนกปุ๋ยขาว ปุ๋ยโดโลไมท์ และปุ๋ยมาร์ล โดยใช้รายการทดสอบทางเคมีประกอบด้วย CaO, MgO, CCE และ pH ความแม่นยำอยู่ในช่วง 90 – 115% ซึ่งสามารถพัฒนาและปรับปรุงสมการเพื่อนำมาใช้ประเมินผลการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง และแม่นยำมากขึ้น โดยเพิ่มความหลากหลาย และปริมาณตัวอย่าง เพื่อให้ได้สเปกตรัมเป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่าง และครอบคลุมการใช้งานจริง

**กิจกรรมที่ 4** พัฒนาตัวอย่างอ้างอิงรับรอง (Certified reference materials) ด้วยวิธีมาตรฐานปฐมภูมิ (primary standard method)

ตัวอย่างดินอ้างอิงมีค่ากำหนดและค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (k=2) ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ  $8,340 \pm 298$  mg/kg และทองแดงทั้งหมดเท่ากับ  $42.83 \pm 4.08$  mg/kg และตัวอย่างปุ๋ยอ้างอิงมีค่ากำหนดและค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (k=2) ของเหล็กทั้งหมดเท่ากับ  $12,478 \pm 1,075$  mg/kg และทองแดงทั้งหมดเท่ากับ  $1,028 \pm 68$  mg/kg

**กิจกรรมที่ 5** พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพ วัสดุปรับปรุงดิน น้ำ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และธาตุอาหารในพืช และผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร

การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ด้วยวิธีโดยตรงและวิธีโดยอ้อมพบว่า วิธี 1.10.01 ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559 ให้ผลการทดสอบฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และปุ๋ยหินฟอสเฟต ไม่แตกต่างกับ วิธีวิเคราะห์โดยอ้อม (AOAC 960.02) ในขณะที่วิธีวิเคราะห์โดยตรง (AOAC 993.31) ให้ผลการทดสอบฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ที่ไม่แตกต่างกับวิธี 1.10.01 และวิธีวิเคราะห์โดยอ้อม (AOAC 960.02) ในปุ๋ยหินฟอสเฟต

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ประกอบด้วย 1) ฟอสฟอรัสทั้งหมดในปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์ ครอบคลุมช่วง 0.97 – 61.49%, 0.48 – 10.07% ตามลำดับ, การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบของเชื้อ A. brasilense (DASF04003) มีค่า LOD และค่า LOQ เท่ากับ 4.68 และ 1.58 Log<sub>10</sub>CFU ตามลำดับ ขณะที่เชื้อ A. vinelandii (DASF04141) มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 6.36 และ 4.90

Log10CFU ตามลำดับ ค่าความถูกต้องของวิธีจำแนกชนิดด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล เท่ากับ 98-99% ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดในน้ำ ครอบคลุมช่วง 46 – 7195 mg/L, ฮอร์โมนพืช Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid (GA3) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุเคมีการเกษตร ครอบคลุมช่วง 0.013 - 5.00 mg/L และ 0.125-5.00 mg/L ตามลำดับ

กรมวิชาการเกษตร



ศึกษาหาปริมาณฮอร์โมน Indole acetic acid (IAA), Gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) และ ธาตุอาหารในกล้วยน้ำว้า พบว่า ปริมาณธาตุอาหารพืชในเปลือกผลอ่อน เปลือกผลแก่ เปลือกผลสุก เนื้อผลดิบ เนื้อผลอ่อน ลำต้นเทียม ปลี และใบกล้วยน้ำว้า 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์มะลิอ่อน พันธุ์ปากช่อง50 พันธุ์สุโขทัย 1 ในปลีและใบ มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน เท่ากับ 2.47% และ 2.62% และฟอสฟอรัส เท่ากับ 0.43% และ 0.33% สูงกว่าส่วนอื่น ส่วนปริมาณฮอร์โมนพืช IAA และ GA<sub>3</sub>พบในทุกส่วนของกล้วยน้ำว้า โดย IAA พบในใบสูงที่สุดมีปริมาณ 4.07 mg/kg ส่วน GA<sub>3</sub> พบมากที่สุดในส่วนของปลี มีปริมาณ 1.42 mg/kg รองลงมาคือ ส่วนของใบมีปริมาณ 1.32 mg/kg เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารและปริมาณฮอร์โมนพืชทั้งสองชนิด พบว่าปริมาณธาตุไนโตรเจน เหล็ก กำมะถัน และทองแดง จะให้ค่าความสัมพันธ์เชิงบวกสูงกว่าธาตุอื่น

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากผลการศึกษา สรุปได้ดังนี้ 1) ได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยเคมี และปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี จำนวน 8 เกณฑ์ 2) ได้วิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย พืช ดิน น้ำ ปุ๋ยชีวภาพ และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช จำนวน 20 วิธี 3) ได้สมการทำนายผลการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และสารปรับปรุงดิน ประเภทปูนด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ 5 รายการทดสอบ 4) ได้ตัวอย่างอ้างอิงรับรองดินและปุ๋ยที่มีค่ากำหนดของเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด จำนวน 2 ตัวอย่าง

## โครงการวิจัยที่ 2

### วิจัยพัฒนามาตรฐานการทดสอบและการเสื่อมสภาพเพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างเข้มแข็ง

#### Strongly Research Development Standard on Analytical and Degradation for Quality Control of Pesticide Formulation Products

จิราพรรณ ทองหยอด<sup>1</sup>/พินิตนันต์ สรวายเอี่ยม<sup>1</sup>/ดวงรัตน์ วิชาสินี<sup>1</sup>/พิเชษฐ ทองละเอียด<sup>1</sup>/อิสริยะ สืบพันธุ์ดี<sup>1</sup>/  
ภัทรฤทัย คมนันธุ์<sup>1</sup>/พินิตา มงคลวุฒิกุล<sup>1</sup>/สุกัญญา คำคง<sup>1</sup>/ศศิมา มิ่งนิมิตร<sup>1</sup>/อนุชา ผลไสว<sup>1</sup>/  
ฉลอรรัตน์ หมื่นขวา<sup>1</sup>/ทัศน์ อัญญาพรพงษ์<sup>1</sup>/นงพงา โอลเสน<sup>2</sup>/เนาวรัตน์ ตั้งมั่นคงวรกุล<sup>2</sup>/สุธินี สาสีลัง<sup>2</sup>/  
เบญจมาศ ใจแก้ว<sup>3</sup>/พรศิริ สายะพันธ์<sup>3</sup>/บังอร แสนคาน<sup>3</sup>/ปริยานุช สายสุพรรณ<sup>4</sup>/จารุพงศ์ ประสพสุข<sup>4</sup>/  
นารถยา จันทรส่อง<sup>5</sup>/สุภาพร บังพรม<sup>5</sup>/อิทธิพล บังพรม<sup>5</sup>/มณฑาทิพย์ อรุณวารกรณ์<sup>6</sup>/ประไพ หงษา<sup>7</sup>/  
เกษสิริ ฉันทพิริยะพูน<sup>7</sup>/นิกร โคตรสมบัติ<sup>8</sup>/อรพิน หนูทอง<sup>8</sup>/สาวิตรี เขมวงศ์<sup>9</sup>/วิชราพร ศรีสว่างวงศ์<sup>4</sup>/  
สาคร นิยมสัตย์<sup>2</sup>/วิชญ์ แจ้งใบ<sup>3</sup>/ณัฏฐนันท์ แซ่จำ<sup>8</sup>/สรัญญา ช่างพิมพ์<sup>9</sup>

<sup>1</sup>กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

<sup>2</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

<sup>3</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

<sup>4</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

<sup>5</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

<sup>6</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

<sup>7</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6

<sup>8</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7

<sup>9</sup>สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8

#### คำสำคัญ (Key words)

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์, ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช, การเสื่อมสภาพ, สาร  
กำจัดแมลง, สารกำจัดวัชพืช, สารป้องกันกำจัดโรคพืช, การศึกษาร่วมกัน

Method Validation, Pesticide Formulation Products, Degradation, Insecticide, Herbicide,  
Fungicide, Collaborative Study

#### บทคัดย่อ (Abstracts)

วิจัยและพัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตรมุ่งเน้นการพัฒนา  
วิธีทดสอบให้เหมาะสมกับเครื่องมือที่ทันสมัย มีสมรรถนะการวิเคราะห์สูง อีกทั้งสร้างศักยภาพให้  
ห้องปฏิบัติการทั้งส่วนกลาง และส่วนภูมิภาค กรมวิชาการเกษตร ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC  
17025 : 2017 เป็นที่ยอมรับในระดับสากล โดยพัฒนาวิธีทดสอบและตรวจสอบความใช้ได้ของสารออก  
ฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร 20 วิธี 16 ชนิดสาร ทั้ง 20 วิธีได้ผ่านการตรวจสอบความ  
ใช้ได้ (Method Validation) ตามข้อกำหนดกำหนดของ AOAC อีกทั้งวิธีมาตรฐานสามารถนำไปตรวจสอบ  
คุณภาพผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์และได้ผลการศึกษา  
ร่วมกัน (Collaborative Study) ของสาร chlorothalonil และสาร ametryn จำนวน 2 พร้อมทั้ง

ทำการศึกษาการเสื่อมสภาพของสารออกฤทธิ์ของสาร phenthoate, benomyl และ profenofos ในระยะเวลา 18 เดือนตาม FAO-Specification พบว่า อุณหภูมิที่สูงมีผลต่อการคงตัวของสาร phenthoate และ profenofos และในอุณหภูมิปกติ 20-35 °c อยู่ได้ 1 ปีขึ้นอยู่กับสารคงสภาพที่ผสมเข้าไปการสลายตัวของสารสำหรับ benomyl ค่อยข้างคงตัวได้ที่อุณหภูมิปกติได้ถึง 18 เดือน

Research and Development on Analytical System of Agricultural Hazardous Substance Products focus on developing test methods suitable for modern tools with high analytical performance as well as creating potential for the entire central laboratory and the region of the Department of Agriculture which has been certified with ISO / IEC 17025: 2017 which is internationally recognized. By developing an active test method in hazardous agricultural products, 20 methods agricultural hazardous substance products with 16 substances have been validated (Method Validation) according to AOAC criteria and standard methods can be used to check the quality of products sold in the market In order to control the quality of the product. Collaborative study, 2 agricultural hazardous substances, chlorothalonil and ametryn were analysed from 8 - 16 laboratories for evaluate their performance. This research investigated the deterioration of the active ingredient phenthoate, benomyl and profenofos according to the standard criteria FAO-Specification in 18 months by collecting samples at room temperature and the temperature at 54 ° c showed that phenthoate and profenofos can stored at room temperature by only for 1 year while benomyl still be able to store for 18 months at room temperature. However all 3 agricultural hazardous substances in the storage were significantly reduced at high temperature storage.

### บทนำ (Introduction)

เกษตรกรมีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพิ่มขึ้นทุกปีตามความต้องการของประชากรที่มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งเห็นได้จากรายงานสรุปสถิติการนำเข้าวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตร ปี พ.ศ. 2548-2560 (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2560) และในปี พ.ศ. 2560 มีปริมาณการนำเข้าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 197,758,809.67 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 27,363,341,691.27 บาท เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรให้เพียงพอต่อความต้องการของประชากรที่เพิ่มขึ้น แต่เกษตรกรก็ยังประสบปัญหาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีราคาแพงและไม่ได้มาตรฐาน มีการปลอมเลขทะเบียนวัตถุอันตราย ปริมาณสารสำคัญไม่เป็นไปตามที่ระบุไว้บนฉลากเมื่อเกษตรกรนำผลิตภัณฑ์ไปใช้แล้วจึงไม่สามารถป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ ทำให้เกษตรกรต้องใช้สารในปริมาณที่มากขึ้น ส่งผลต่อสุขภาพผู้บริโภคที่อาจได้รับปริมาณสารพิษตกค้างมากเกินไป และปริมาณนำเข้าผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพิ่มขึ้นทุกปี กรมวิชาการเกษตรจึงให้ความสำคัญกับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตร และควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้ได้มาตรฐาน ซึ่งผลิตภัณฑ์

สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชมีการควบคุมคุณภาพตามมาตรฐานขององค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และมีวิธีทดสอบตาม Collaborative International Pesticides Analytical Council; CIPAC Method แต่เนื่องจากวิธีมาตรฐานดังกล่าวยังไม่ครอบคลุมสารสำคัญครบทุกชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ยื่นเพื่อการขึ้นทะเบียน ดังนั้นวิธีทดสอบที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจึงต้องสร้างมาตรฐานการทดสอบ โดยการทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method validation) สำหรับวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน หรือ ทวนสอบวิธี (Method Verification) สำหรับวิธีที่ปฏิบัติตามวิธีมาตรฐาน เพื่อให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือตามหลักสากล ISO/IEC 17025:2017

กรมวิชาการเกษตร

## ระเบียบวิธีการวิจัย(Research Methodology)

### กิจกรรมที่ 1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ 1) tricyclazole, thiamethoxam 2) 2,4-D-dimethyl ammonium, pendimethalin 3) kresoxim-methyl, flusilazole 4) ethion, butachlor 5) carbaryl, abamectin 6) alachlor, diazinon 7) 2,4-D-dimethyl ammonium, butachlor 8) profenofos, prothiofos 9) diazinon, pirimiphos-methyl 10) kresoxim-methyl, flusilazole จำนวน 20 วิธี 16 ชนิดสารโดยตรวจสอบ Specification/Selectivity, Working range /linearity, Accuracy, Robustness/Ruggedness และทำการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด

### กิจกรรมที่ 2 การศึกษาร่วมกัน (Collaborative Study) ในวิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ศึกษาร่วมกันในวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ chlorothalonil และ ametryn ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายทางการเกษตร โดยห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐและภาคเอกชนเข้าร่วมโครงการไม่น้อยกว่า 10 แห่ง ทำการเตรียมตัวอย่าง และทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity test) และความคงตัว (stability test) ของตัวอย่าง จัดส่งตัวอย่างและวิธีทดสอบตามวิธีของห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุพิษทางการเกษตรให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบ นำผลการทดสอบมาประเมินด้วยวิธีทางสถิติ (Statistic evaluation of results) ตาม CIPAC collaborative

### กิจกรรมที่ 3 การวิจัยคุณภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ศึกษาการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์ phenthoatebenomyl profenofos โดยทดสอบตัวอย่างผลิตภัณฑ์ จากบริษัทผู้ผลิตหรือนำเข้าเพื่อการขอขึ้นทะเบียน ซึ่งทราบวันที่ผลิตที่แน่นอน และตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่นำมาทำการศึกษาจะต้องเป็นตัวอย่างที่ผลิตขึ้นใหม่ๆ โดยเก็บตัวอย่างไม่น้อยกว่า 3 แห่งผลิตทำการทดสอบคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณสารออกฤทธิ์ คุณภาพทางกายภาพตามสูตรของผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลาเริ่มต้นและทดสอบการคงสภาพของผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ  $54^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  ตามข้อกำหนดของ FAO-Specifications และทำการตรวจวิเคราะห์ทุกๆ 3 เดือน เป็นเวลา 18เดือน โดยเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องและที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ  $54^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

ระยะเวลาดำเนินงาน เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด ธันวาคม 2564

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

### กิจกรรมที่ 1 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ได้ผลตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ Tricyclazole, Thiamethoxam, 2,4-D-dimethyl ammonium, pendimethalin, Kresoxim-methyl, Flusilazole, ethion, butachlor, carbaryl, abamectin, alachlor, diazinon, 2,4-D-dimethyl ammonium, butachlor, profenofos, prothiofos, diazinon, pirimiphos-methyl, ethion และ alachlor จำนวน 20 วิธี 16 ชนิดสารโดยดำเนินการศึกษา

พารามิเตอร์ Specificity, Working range/Linearity, Accuracy, Precision, Robustness/ Ruggedness ซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับทุกพารามิเตอร์โดยผ่านเกณฑ์ Working range/Linearity ค่า  $r > 0.995$ , Precision ค่า HorRat อยู่ในช่วง 0.3-1.3, Accuracy ได้ Recovery อยู่ในช่วง 98-102% และได้ทราบค่าความคงทนของวิธีในการปรับเปลี่ยน 2 ปัจจัยซึ่งผ่านเกณฑ์ยอมรับทุกพารามิเตอร์ พร้อมทั้งได้ค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบของทั้ง 20 วิธีเท่ากับ 1.18, 0.67, 0.85, 0.71, 1.47, 0.45, 0.73, 0.82, 0.30, 0.05, 0.54, 0.49, 0.95, 0.53, 1.19, 0.43, 0.73 และ 0.74 ตามลำดับ

### **กิจกรรมที่ 2** การศึกษาร่วมกัน (Collaborative Study) ในวิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ได้ผลการศึกษาร่วมกัน (Collaborative Study) โดยสาร chlorothalonil ได้รับการตอบรับจากห้องปฏิบัติการ 8 แห่ง และสาร ametryn ได้รับการตอบรับจากห้องปฏิบัติการ 16 แห่ง ได้ดำเนินการจัดส่งสารมาตรฐาน สารตัวอย่าง วิธีทดสอบ และแบบฟอร์มการกรอกข้อมูลให้กับห้องปฏิบัติการ ประเมินค่าทางสถิติ Outlier จาก Cochran's test และ Grubbs' test เพื่อนำข้อมูลดำเนินการค่า RSD แบบ Repeatability และ Reproducibility พบ Outlier ในบางห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบมีความแม่นยำให้ค่า HorRat พบว่าไม่เกินเกณฑ์ยอมรับ 0.5 – 2.0 ตาม CIPAC collaborative

### **กิจกรรมที่ 3** การวิจัยคุณภาพผลิตภัณฑ์สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

โดยศึกษาการสลายตัวของปริมาณสารออกฤทธิ์ phenthoate, benomyl และ profenofos ระยะเวลา 18 เดือนที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิตู้อบที่ 54 °C (สภาวะเร่ง) พบว่า อุณหภูมิที่สูงมีผลต่อการคงตัวของสาร phenthoate และ profenofos และในอุณหภูมิปกติ 20-35 °C อยู่ได้ 1 ปีขึ้นอยู่กับสารคงสภาพที่ผสมเข้าไปการสลายตัวของสารสำหรับ benomyl ค่อนข้างคงตัวได้ที่อุณหภูมิปกติได้ถึง 18 เดือน

### **สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)**

จากผลการศึกษา สรุปได้ดังนี้ 1) ได้วิธีวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร 20 วิธี 16 ชนิดสาร 2) ได้ผลการศึกษาร่วมกัน (Collaborative Study) ของสาร chlorothalonil และสาร ametryn จำนวน 2 สาร และ 3) ได้ข้อมูลระยะเวลาการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate, benomyl และ profenofos ในระยะเวลา 18 เดือนตาม FAO-Specification สาร phenthoate profenofos พบว่า อุณหภูมิที่สูงมีผลต่อการคงตัวของสารสำคัญ และในอุณหภูมิปกติ 20-35 °C อยู่ได้ 1 ปีขึ้นอยู่กับสารคงสภาพที่ผสมเข้าไปสำหรับ benomyl ค่อนข้างคงตัวได้ที่อุณหภูมิปกติได้ถึง 18 เดือน

กรมวิชาการเกษตร

### โครงการวิจัยที่ 3

พัฒนาเทคนิค Multiplex Real-time PCR สำหรับตรวจคัดกรองและจำแนกยีนพืชตัดแปลง

พันธุกรรมเชิงคุณภาพในพืชนำเข้า (ข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด)

Development Qualitative, Multiplex real-time PCR for Screening

and Identification of GM Specific Events on Imported Crops

(Rice, Wheat, Soybean and Corn)

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ วีระศักดิ์ พิทักษ์ศฤงคาร จูติรัตน์ อัครมงคลศิริ ปิยนุช ศรชัย

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

#### คำสำคัญ (Key words)

ข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง ข้าวโพด พืชนำเข้า พืชตัดแปลงพันธุกรรม การตรวจจำแนกสายพันธุ์ การตรวจคัดกรอง มัลติเพล็กซ์เรียลไทม์พีซีอาร์

Rice, Wheat, Soybean, Maize, Imported crops, GM plant, Event-specific detection, Screening detection, Multiplex real-time PCR

#### บทคัดย่อ (Abstracts)

ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์พืชและสินค้าพืชตัดแปลง ได้รับการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025 โดยในปัจจุบันมีการตรวจคัดกรองยีน *CaMV35S* Promoter, *Nos* terminator และ ยีนอ้างอิงพืช ซึ่งเป็นการตรวจคัดกรองเชิงคุณภาพ เพื่อป้องกันการปะปนพืชตัดแปลงพันธุกรรมในตัวอย่างทดสอบ การพัฒนาการตรวจวิเคราะห์พืชหรือสินค้าพืชตัดแปลงพันธุกรรมในข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด พบว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Genescan Lysis ได้ค่าปริมาณและบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอเพียงพอสำหรับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Multiplex Real-time PCR ซึ่งสามารถตรวจคัดกรองและจำแนกแยกข้าวตัดแปลงพันธุกรรมได้ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Bt63, LL601 และ LL62 โดยใช้ชุดไพรเมอร์ 2 ชุด ได้แก่ 1) *CaMV35S* Promoter, *Nos* terminator และ *PLD2*) *P35S::Bar*, *CryIAb/Ac*, *LL62* และ *LL601* ในข้าวสาลีสามารถจำแนกได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ MON71800 และ MON71200 และจำแนกการปะปนพืชตัดแปลงพันธุกรรมอื่น ได้แก่ ถั่วเหลือง ข้าวโพด และ คาโนลา โดยใช้ชุดไพรเมอร์ 2 ชุด ได้แก่ 1) *CaMV35S* Promoter, *Nos* terminator, *Acc-1* และ *MON71800* 2) *Lectin*, *HMG*, *CruA* และ *MON71200* ในถั่วเหลืองสามารถจำแนกได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ events A2704-12, MON87701, MON87705, MON87769, MON89788 และ GTS 40-3-2 โดยใช้ชุดไพรเมอร์ 2 ชุด ได้แก่ 1) *CaMV35S* Promoter, *Nos* terminator, *Cy1Ac* และ *Lectin* 2) *rbcS-E9*, *Mon 87705*, *Mon 89788* และ *Lectin* สำหรับข้าวโพดสามารถจำแนกได้ 14 สายพันธุ์ ได้แก่ Bt11, GA21, TC1507, DAS59122-7, T25, MIR604, Mon810, Mon88017, Mon89034, NK603, MIR162, Mon87460, Mon87427 และ DAS40278-9 โดยใช้ชุดไพรเมอร์เพียง 2 ชุด



ได้แก่ 1) *P35S,Nos* และ *Pat*, 2) *FMV* และ *Ubiquitin* พบว่าชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบและติดฉลากสีมีความจำเพาะกับยีนที่ใช้ตรวจคัดกรองในแต่ละชนิดพืช สามารถลดเวลาการตรวจคัดกรอง ค่าความถูกต้องของผลการทดสอบ 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าขีดจำกัดของตรวจพบ (LOD) ไม่แตกต่างกันกับการตรวจแบบยีนเดี่ยว นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวัสดุอ้างอิงพลาสติกของข้าวสาลีตัดแปลงพันธุกรรมสายพันธุ์ MON71800 ขึ้น เพื่อใช้ทดแทนการนำเข้าของวัสดุอ้างอิงทดสอบจากต่างประเทศ

Genetically modified plant and plant's product detection laboratory under genetically modified plant and microbe research and development group, Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture has been accredited for ISO/IEC 17025 laboratory. In present, CaMV35S Promoter, NOS terminator and plant's endogenous gene have been used for screening in qualitative detection for determination of GM plant in submitted sample. Development of detection of GM plant and its product in rice, wheat, soybean and corn found that Genescan Lysis method is appropriate method for DNA extraction by performing high quantity and quality of extracted DNA for using in Multiplex Real-time PCR which is be able to classify 3 events of GM rice, Bt63, LL601 and LL62 by employing 2 set of primers and probes 1) CaMV35S Promoter, Nos terminator and PLD 2) P35S::Bar, CryIAb/Ac, LL62 and LL601. In wheat is be able to classify 2 events, MON71800 and MON71200 and also separate from another GM species, soybean, corn and canola by employing 2 set of primers and probes 1) CaMV35S Promoter, Nos terminator, Acc-1 and MON71800 2) Lectin, HMG, CruA and MON71200. In soybean is be able to classify 6 events of soybean GM, A2704-12, MON87701, MON87705, MON87769, MON89788 and GTS 40-3-2 by employing 2 set of primers and probes 1) CaMV35S Promoter, Nos terminator, Cy1Ac and Lectin 2) rbcS-E9, Mon 87705, Mon 89788 and Lectin. In corn is be able to classify 14 events of GM corn, Bt11, GA21, TC1507, DAS59122-7, T25, MIR604, Mon810, Mon88017, Mon89034, NK603, MIR162, Mon87460, Mon87427 and DAS40278-9 by employing 2 set of primers and probes 1) P35S, Nos, and Pat 2) FMV and Ubiquitin. The designed primers and probe are specific and efficiency for detection target genes in each plant. Comparing to Simplex Real-time PCR, Multiplex Real-time PCR perform faster working time and lower chemical cost. The method validation of Multiplex Real-time PCR compares to Simplex Real-time PCR showed 100% accuracy and same LOD. Moreover, MON71800 in-house reference plasmid was developed for using as positive control instead of importation from foreign country.

## บทนำ (Introduction)

การตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพทั้งการตรวจคัดกรองและจำแนกยีน หลายชนิดในปฏิกิริยาเดียวกัน (Multiplex real-time PCR) มุ่งเน้นการตรวจวิเคราะห์ในพืชนำเข้าที่ยังไม่มีกฎหมายกำกับดูแล ได้แก่ ข้าว ข้าวสาลีการตรวจวิเคราะห์พืชนำเข้าที่มีความเสี่ยงที่จะหลุดลอดปะปนเข้ามาในประเทศไทย เนื่องจากการปลูกเชิงการค้าและมีจำนวนสายพันธุ์ดัดแปลงพันธุกรรมมาก ได้แก่ ข้าวโพด และถั่วเหลือง การวิจัยจะทำการตรวจวิเคราะห์อย่างเป็นระบบของแต่ละพืช ตรวจยีนจำเพาะและยีนคัดกรองเพิ่มเติมจากยีน 35S Promoter และ Nos terminator ทำให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ครอบคลุมชนิดของยีนดัดแปลงพันธุกรรม ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ ลดระยะเวลาการตรวจ ประหยัดต้นทุน เตรียมพร้อมรองรับการตรวจวิเคราะห์และควบคุมกำกับดูแลในประเทศตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ซึ่งอยู่ระหว่างดำเนินการปรับปรุงสำหรับการควบคุมการนำเข้าพืชดัดแปลงพันธุกรรมทุกชนิด โดยจะอนุญาตนำเข้าและใช้เฉพาะที่ผ่านการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพในประเทศแล้วเท่านั้น ได้ข้อมูลประกอบการจัดทำมาตรการหรือกฎหมายในการกำกับดูแลสินค้าพืชดัดแปลงพันธุกรรม และรวบรวมข้อมูลสำหรับการเปิดตลาดการค้ากับต่างประเทศในอนาคต

## ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

พัฒนาวิธี Multiplex Real-time PCR เพื่อตรวจคัดกรองและจำแนกยีนข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด ที่ดัดแปลงพันธุกรรม โดยหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยวิธี Multiplex Real-time PCR เพื่อ ความจำเพาะ (Specificity) ของปฏิกิริยาต่อชุดไพรเมอร์และโพรบ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) เพื่อวิเคราะห์ค่า ทดสอบความถูกต้อง (Trueness) ความแม่นยำ (Precision) และร้อยละความเบี่ยงเบน (% Bias) ในการตรวจวิเคราะห์ข้าวสาลีดัดแปรพันธุกรรม ทดสอบความทวนซ้ำได้ (Repeatability) และทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection: LOD) โดยทำการทดลอง 12 ซ้ำ ทดสอบ ทดสอบความถูกต้อง (Trueness) ความแม่นยำ (Precision) และร้อยละความเบี่ยงเบน (% Bias) ในการตรวจวิเคราะห์ข้าวสาลีดัดแปรพันธุกรรม ทดสอบความทวนซ้ำได้ (Repeatability) และทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection: LOD) โดยทำการทดลอง 12 ซ้ำ ทดสอบวิธีวิเคราะห์กับตัวอย่างข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด และทำการเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างปฏิกิริยาแบบ Simplex Real-time PCR และ Tetraplex Real-time PCR ซึ่งสกัดดีเอ็นเอตามวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ และวิธีมาตรฐาน ISO 21571: 2005(JRC-EURL GMFF-ENGL, 2011; Broeders *et al.*, 2014)

ระยะเวลาดำเนินงาน เริ่มต้น ตุลาคม 2562 สิ้นสุด ธันวาคม 2564

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

1. การพัฒนาการตรวจวิเคราะห์พืชหรือสินค้าพืชตัดแปลงพันธุกรรมในข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด พบว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Genescan Lysis ได้ค่าปริมาณและบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอเพียงพอ สำหรับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Multiplex Real-time PCR ซึ่งสามารถตรวจคัดกรองและจำแนก

- 1) ข้าวตัดแปลงพันธุกรรมได้ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Bt63, LL601 และ LL62 โดยใช้ชุดไพรเมอร์ 2 ชุด ได้แก่ 1) *CaMV35S Promoter, Nos terminator* และ *PLD2) P35S::Bar, CryIAb/Ac, LL62* และ *LL601*
- 2) ข้าวสาลีสามารถจำแนกได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ MON71800 และ MON71200 และ จำแนกการปะปนพืชตัดแปลงพันธุกรรมอื่น ได้แก่ ถั่วเหลือง ข้าวโพด และ คาโนลา โดยใช้ชุดไพรเมอร์ 2 ชุด ได้แก่ 1) *CaMV35S Promoter, Nos terminator, Acc-1* และ *MON71800* 2) *Lectin, HMG, CruA* และ *MON71200*
- 3) ถั่วเหลืองสามารถจำแนกได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ events A2704-12, MON87701, MON87705, MON87769, MON89788 และ GTS 40-3-2 โดยใช้ชุดไพรเมอร์ 2 ชุด ได้แก่ 1) *CaMV35S Promoter, Nos terminator, Cy1Ac* และ *Lectin2) rbcS-E9, Mon 87705, Mon 89788* และ *Lectin*
- 4) ข้าวโพดสามารถจำแนกได้ 14 สายพันธุ์ ได้แก่ Bt11, GA21, TC1507, DAS59122-7, T25, MIR604, Mon810, Mon88017, Mon89034, NK603, MIR162, Mon87460, Mon87427, และ DAS40278-9 โดยใช้ชุดไพรเมอร์เพียง 2 ชุด ได้แก่ 1) *P35S, Nos* และ *Pat*, 2) *FMV* และ *Ubiquitin*

2. ชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบและติดผลกล่างมีมีความจำเพาะกับยีนที่ใช้ตรวจคัดกรองในแต่ละชนิดพืช โดยเมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจคัดกรองแบบยีนเดี่ยว พบว่าสามารถลดเวลาการตรวจคัดกรอง ค่าความถูกต้องของผลการทดสอบ 100 เปอร์เซ็นต์

3. การพัฒนาวัสดุอ้างอิงพลาสมิดของข้าวสาลีตัดแปลงพันธุกรรมสายพันธุ์ MON71800 ขึ้น เพื่อใช้ทดแทนการนำเข้าของวัสดุอ้างอิงทดสอบจากต่างประเทศ

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

เทคนิค Multiplex real-time PCR สามารถใช้ตรวจคัดกรองและจำแนกยีนพืชตัดแปลงพันธุกรรมในตัวอย่างข้าว ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และข้าวโพด นำเข้าจากต่างประเทศ โดยสามารถตรวจคัดกรองและจำแนกยีนข้าวตัดแปลงพันธุกรรมได้ 3 สายพันธุ์ ข้าวสาลีสามารถจำแนกได้ 2 สายพันธุ์ ถั่วเหลืองสามารถจำแนกได้ 6 สายพันธุ์ และข้าวโพดสามารถจำแนกได้ 14 สายพันธุ์

## บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษา สรุปได้ดังนี้ 1) ได้เกณฑ์คลาดเคลื่อนของปริมาณธาตุอาหารรับรองที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยเคมี และปริมาณอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เคมี จำนวน 8 เกณฑ์ 2) ได้วิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปุ๋ย พีช ดิน น้ำ ปุ๋ยชีวภาพ และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช จำนวน 20 วิธี 3) ได้สมการทำนายผลการวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์เคมี และสารปรับปรุงดิน ประเภทปุ๋ยด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ 5 รายการทดสอบ 4) ได้ตัวอย่างอ้างอิงรับรองดินและปุ๋ยที่มีค่ากำหนดของเหล็กทั้งหมดและทองแดงทั้งหมด จำนวน 2 ตัวอย่าง 5) ได้วิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์วัตถุอันตรายทางการเกษตร 20 วิธี 16 ชนิดสาร 6) ได้ผลการศึกษาาร่วมกัน (Collaborative Study) ของสาร chlorothalonil และสาร ametryn จำนวน 2 สาร โดยมีจำนวนห้องปฏิบัติการเข้าร่วม จำนวน 8-16 ห้องปฏิบัติการ 7) ได้ข้อมูลการเสื่อมสภาพของสาร phenthoate, benomyl และ profenofos ในระยะเวลา 18 เดือนตามข้อกำหนดของ FAO (FAO-Specification) 9) ได้เทคนิคการวิเคราะห์แบบ Multiplex real-time PCR สามารถใช้ตรวจคัดกรองและจำแนกยีนพืชตัดแปลงพันธุกรรมในตัวอย่างข้าว 3 สายพันธุ์ ข้าวสาลี 2 สายพันธุ์ ถั่วเหลือง 6 สายพันธุ์ และข้าวโพด 14 สายพันธุ์ จากผลการวิจัยที่ได้สามารถนำมาใช้ในการกำหนดวิธีวิเคราะห์มาตรฐานของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ย ดิน น้ำ สารปรับปรุงดิน สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ผลิตภัณฑ์วัตถุอันตราย พืชตัดแปลงพันธุกรรมของประเทศไทย ให้มีมาตรฐานเดียวกันทั้งประเทศ เทียบเท่าสากล ยกระดับการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ทดสอบ ส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์มีความน่าเชื่อถือ สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ สร้างความเชื่อมั่น แข็งแรง และยั่งยืนให้กับเกษตรกร และผู้ประกอบการ มีข้อมูลสำหรับการเปิดตลาดการค้ากับต่างประเทศในอนาคต เป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันในระบบการเกษตรของประเทศไทย

## บรรณานุกรม

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2560. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดกรรมวิธีการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี พ.ศ. 2559. กรรมวิธีที่ 1.09.01ประกาศในราชกิจจานุเบกษา เมื่อวันที่ ๔ มกราคม 2560.
- AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International Gaithersburg, MD, USA, Official Method 20<sup>th</sup> Ed.
- APHA, AWWA and WEF. 1999. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. United book press, Inc.
- Broeders, S., Huber, I., Grohamann, L., Berben, G., Taverniers, I., Mazzara, M., Roosens N., and Morisset, D. 2014. Guidelines for validation of qualitative Real-time PCR methods. Trends in Food Science & Technology 37: 115-126.
- Eurachem. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.
- Eurachem. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling: A guide to methods and approaches, Geneva.
- ISO 21571. 2005. Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products-Nucleic acid extraction, Geneva.
- ISO 17034. 2016. ISO 17034:2016 - General requirements for the competence of reference material producers. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- ISO Guide 35. 2017. ISO Guide 35:2017 - Reference materials – guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- ISO Guide 35. 2017. ISO Guide 35:2017 - Reference materials – guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- ISO/IEC 17025. 2017. ISO/IEC 17025:2017 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- JRC-EURL GMFF-ENGL. 2011. JRC- Compendium of reference methods for GMO analysis. Luxembourg Publication office of the European Union 259 p. ([http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/111111111/22754/1/gmo-jrcreference%20report\\_2011\\_publ.pdf](http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/111111111/22754/1/gmo-jrcreference%20report_2011_publ.pdf)).

Official method of analysis of fertilizers. 1987. Published by The National Institute of Agro-Environmental Science, Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, Japan.

กรมวิชาการเกษตร