



รายงานโครงการวิจัย

การประเมินคุณภาพในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้
เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

Quality Assessment in Field Crop Produces and Products by
Near Infrared Spectroscopy Technique Implementation

หัวหน้าโครงการวิจัย

นฤเทพ เวชภิบาล
Naruthep Wechpibal

ปี พ.ศ. 2564



รายงานโครงการวิจัย

การประเมินคุณภาพในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้
เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

Quality Assessment in Field Crop Produces and Products by
Near Infrared Spectroscopy Technique Implementation

หัวหน้าโครงการวิจัย

นฤเทพ เวชภิบาล
Naruthep Wechpibal

ปี พ.ศ. 2564

คำปรารภ (Preface)

โครงการวิจัยการประเมินคุณภาพในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีนี้เป็นส่วนหนึ่งของชุดโครงการการประเมินปริมาณและคุณภาพผลิตผลและผลิตภัณฑ์เกษตรอย่างรวดเร็วโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ซึ่งเป็นวิธีตรวจสอบคุณภาพสินค้าเกษตรที่ตรวจวิเคราะห์รวดเร็ว ประหยัดเวลา ปลอดภัย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยได้ดำเนินการวิจัยในปี 2564 ประกอบด้วย 3 การทดลอง ซึ่งเป็นการดำเนินงานวิจัยประเมินปริมาณสารวิตามิน บี 1 ในถั่วเหลือง และการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพด และถั่วเมล็ดแห้งโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการวิจัยดังกล่าวจะเป็นประโยชน์แก่นักวิจัย นักวิชาการเกษตร รวมถึงกลุ่มเกษตรกร ผู้ประกอบการ และผู้สนใจโดยทั่วไป นำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในภาคการเกษตรต่อไป

นฤเทพ เวชภิบาล

นฤเทพ เวชภิบาล
หัวหน้าโครงการวิจัย

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
ผู้วิจัย	3
บทนำ	5
บทคัดย่อ	9-10
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	17
บรรณานุกรม	27

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยการประเมินคุณภาพในผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้เทคนิคเนียร์ อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีได้รับความร่วมมือ การสนับสนุน และอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานจาก คณะนักวิชาการ พนักงานราชการ และจ้างเหมาบริการของกลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว พืชไร่ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิจัยสารพิษจากเชื้อรา กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว และแปรรูปผลิตภัณฑ์ ตลอดจนเกษตรกรและผู้ประกอบกิจการที่เกี่ยวข้องกับถั่วเหลือง ข้าวโพด และถั่ว เมล็ดแห้ง ที่ทำให้การวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จไปด้วยดี

ไพฑูริย์ นวรัตน์

นฤเทพ เวชภิบาล
หัวหน้าโครงการวิจัย

กรมวิชาการเกษตร

ผู้วิจัย

นฤเทพ เวชภิบาล
Naruthep Wechpibal

จารุรัตน์ พุ่มประเสริฐ
Jarurat Pumprasert

ภัทระ ลูกรักษ์
Phatthara Loogruk

ศุภรา อัคระสาระกุล
Suppara Aukkasarakul

กรมวิชาการเกษตร

คำสำคัญ (Keywords)

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี วิตามินบี 1 ถั่วเหลือง แอฟลาทอกซิน ข้าวโพด ถั่ว ถั่วลิสง

Near Infrared Spectroscopy (NIRS), Vitamin B₁, soybean Aflatoxin B₁, maize, Bean, Peanut

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

คุณภาพของผลิตผลมักถูกใช้เป็นข้ออ้างอิงของผลิตผลทางการเกษตรได้ เช่น คุณภาพด้านการตลาด คุณภาพในการบริโภค คุณภาพในการขนส่ง คุณภาพทางคุณค่าทางอาหาร คุณภาพภายใน และคุณภาพภายนอก เป็นต้น การประเมินคุณภาพทางเคมีสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการตามวิธีมาตรฐาน เช่น American Association of Cereal Chemists International (AACCI) , Official Methods of Analysis International (AOAC) , American Oil Chemist Society (AOCS) และ International Association for Cereal Science and Technology (ICC) เป็นต้น วิธีการวิเคราะห์เหล่านี้ มีขั้นตอนที่ซับซ้อน ยุ่งยาก ใช้ระยะเวลาวิเคราะห์นาน ตัวอย่างถูกทำลาย และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง หากมีการนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ทำลายตัวอย่าง สะดวก แม่นยำ และไม่ใช้สารเคมี มาใช้ตรวจสอบคุณภาพทางเคมีในผลิตผลเกษตรแทนการวิเคราะห์ทางเคมี จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง เพราะเทคนิค NIRS สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการผลิตได้ โดยเฉพาะการควบคุมคุณภาพของผลิตผล และยกระดับซื้อขายผลิตผลเกษตรให้มีมาตรฐานเพิ่มขึ้น เทคนิค NIRS เป็นการใช้ NIR ซึ่งเป็นคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่นในช่วง 800-2500 นาโนเมตร สามารถแบ่งออกเป็น 2 ช่วงคลื่น คือช่วงคลื่นสั้นที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 800-1100 นาโนเมตร และช่วงคลื่นยาวที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 1100-2500 นาโนเมตร พลังงานจากแสงคลื่น NIR อยู่ในช่วงที่สัมพันธ์กับการสั่นของพันธะในโมเลกุลของสารอินทรีย์ในผลิตผล เมื่อมีการสั่นของพันธะเกิดความถี่ที่ตรงกับความถี่ของคลื่นแสง NIR แสงนั้นจะถูกดูดกลืน การใช้ NIR วัดคุณภาพผลิตผล เป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ซึ่งช่วยลดการสูญเสียเพราะผลิตผลที่ถูกวัดแล้วยังมีลักษณะปกติเหมือนเดิม และนำไปใช้ในการบริโภคได้ การให้แสง NIR กับผลิตผลทางการเกษตรซึ่งมีส่วนประกอบทางเคมีภายในแตกต่างกัน เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดต่างๆ ซึ่งประกอบด้วยอะตอมของธาตุต่างๆ คือ คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ไนโตรเจน (N) และออกซิเจน (O) เกาะกันด้วยพันธะโควาเลนต์ เมื่อได้รับแสง NIR โมเลกุลเหล่านี้จะอยู่ในสภาพถูกกระตุ้นให้มีพลังงานเพิ่มขึ้นซึ่งไม่มีความเสถียร โมเลกุลเหล่านี้ต้องลดพลังงานลงสู่ระดับปกติเพื่อให้เกิดความเสถียร ส่งผลให้โมเลกุลเหล่านี้สั่น ซึ่งการสั่นของโมเลกุลมีลักษณะ 2 ลักษณะคือ การยืด (stretching) ของพันธะเป็นการสั่นที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความยาวระหว่างอะตอมภายในโมเลกุลซึ่งมีทั้งแบบสมมาตร (symmetric) และแบบอสมมาตร (asymmetric) ส่วนการสั่นแบบที่สองเป็นการงอ (bending) หรือการผิดรูป (deformation) เป็นการสั่นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมุมระหว่างพันธะ การสั่นดังกล่าวทำให้เกิดการดูดกลืนแสง และเนื่องจากแต่ละพันธะมีการสั่นในลักษณะที่ต่างกัน จึงได้ส่งผลให้โมเลกุลหนึ่งๆ สามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงคลื่นพร้อมกัน ลักษณะการดูดกลืนแสงจึงอาจเกิดเป็นแถบ (band) หรือ พีก (peak) ซึ่งเรียกว่าสเปกตรัม (spectrum) ในขณะที่คลื่นแสงผ่านเข้าไปในผลิตผล ลักษณะของเส้นสเปกตรัมจะเปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับ การดูดกลืนแสง (absorption) และมีการกระเจิงแสง (scattering) การเปลี่ยนแปลงนี้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมีภายในผลิตผล ดังนั้นจึงต้องมีวิธีการที่นำมาใช้เพื่อนำข้อมูลที่ต้องการออกมาจากสเปกตรัมที่ซับซ้อน เมื่อคลื่นแสง NIR ตกกระทบวัตถุ แสง NIR อาจจะสะท้อนกลับออกมาหรือถูกดูดกลืนไว้ หรือผ่านวัตถุออกมา การเกิดปรากฏการณ์เหล่านี้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ของฟิลิกส์ของวัตถุนั้นๆ ขั้นตอนการนำเทคนิค NIRS มาใช้ในการตรวจวัดคุณภาพผลิตผลเกษตรประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ 1) การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation) 2) การเก็บรวบรวมข้อมูลทั้งข้อมูลสเปกตรัม (spectral data) และข้อมูลสมบัติต่างๆ ของผลิตผล ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (chemical analysis data หรือ reference data) และ 3) การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration model development) เทคนิค NIRS เป็น

การตรวจวัดสมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพ และความผิดปกติทางสรีรวิทยาทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ ที่ส่งผลต่อคุณภาพผลิตผลโดยรวม สิ่งสำคัญที่ได้จากงานวิจัย คือองค์ความรู้ในการใช้เทคนิค NIRS กับ ผลิตผลเกษตรชนิดต่างๆ เพื่อไปศึกษาต่อยอด และให้ทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้องสามารถเข้าถึงเทคโนโลยีขั้นสูงนี้ และเกิดประโยชน์สูงสุดจากการวิจัย (दनัย และคณะ, 2563) เทคนิค NIRS มีการใช้กันมานานอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น จีน และเกาหลี โดยใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เทคนิค NIRS สามารถใช้ประเมินองค์ประกอบของผลิตผลเกษตร เช่น ค่าบรีกซ์ น้ำหนักแห้ง และสีของผลกีวีฟรุต (McGlone *et al.*, 2007) ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในกะหล่ำปลี (Suthiluk *et al.*, 2008) ความหวานในท้อ (Walsh *et al.*, 2007) ความแน่นเนื้อ ไลโคพีน สีผิว pH ค่าบรีกซ์ กรด และการนำไฟฟ้าในมะเขือเทศ (Clement *et al.*, 2008) ค่าบรีกซ์ ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตสในผลมะม่วง (Delwiche *et al.*, 2008) ประเมินปริมาณอมิโอสในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร (จรรุวรรณ และคณะ, 2552) Kawano (2002) รายงานว่ามีการใช้เครื่อง NIRS หองศ์ประกอบหลักของข้าว คือ ความชื้น โปรตีน อมิโอส และกรดไขมัน โดยมีบริษัทนำไปใช้ประเมินข้าว Fontaine (2001) ได้ประเมินปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในแป้งฟลาวัว เหลืองโดยใช้เทคนิค NIRS ที่ความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร ถั่วเหลืองเป็นพืชที่นำมาผลิตเป็นน้ำมัน มากถึง 56% ของโลกเมื่อเปรียบเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ และยังเป็นต้นนิยมบริโภคเป็นอันดับสองของโลก ซึ่งถั่วเหลืองเป็นพืชที่อุดมไปด้วยแหล่งโภชนาการที่สำคัญสำหรับมนุษย์และสัตว์ จากการศึกษาของ Birt *et al.* (2004) พบว่าการบริโภคถั่วเหลืองจะช่วยลดอัตราการเป็นมะเร็ง ไขมันในเลือด โรคกระดูกพรุน และโรคหัวใจ นอกจากนี้พบว่าถั่วเหลืองยังเป็นแหล่งของแร่ธาตุ วิตามิน กรดฟอริก และปริมาณสารไอโซฟลาโวน สูงช่วยป้องกันลดอัตราเสี่ยงการเป็นมะเร็งและมีประโยชน์สูงต่อสุขภาพร่างกาย รวมทั้งถั่วเหลืองอุดมไปด้วย โปรตีนที่มีคุณภาพ เหมาะสำหรับการผลิตเป็นอาหารเพื่อการบริโภคและอาหารสัตว์ กล่าวคือ คุณสมบัติด้าน กรดไขมันที่มีปริมาณมากเหมาะสำหรับนำไปประกอบอาหารและพืชพลังงานทดแทน วิตามินบีหนึ่ง (vitamin B₁) เป็นที่รู้จักกันดีในการป้องกันโรคเหน็บชา หรือโรคที่เกิดจากการขาดวิตามินบีหนึ่ง ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของระบบประสาทที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเจ็บป่วย และเสียชีวิตในแถบประเทศที่บริโภคข้าว เป็นอาหารหลัก เนื่องจากกินอาหารที่มีไทแอมินไม่เพียงพอ (อัจฉรา, 2550) วิตามินบีหนึ่ง จะทำหน้าที่ เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต ในการสลายกลูโคสเพื่อให้เกิดพลังงานในรูป ATP วิตามินบีหนึ่งจะทำงานในรูปโคเอนไซม์ ไทแอมินไพโรฟอสเฟต (thiamine pyrophosphate) ความต้องการ วิตามินบีหนึ่ง จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณแคลอรีที่ได้รับ คนที่ใช้แรงงานมาก ต้องกินข้าวและแป้ง จำนวนมาก ก็ต้องการใช้วิตามินบีหนึ่งเพิ่มมากขึ้นด้วย นอกจากนี้วิตามินบีหนึ่งยังมีส่วนช่วยในการสื่อสาร สัญญาณประสาท อาหารที่มีวิตามินบีหนึ่งมาก ได้แก่ ธัญพืชพวกข้าว ถั่ว เนื้อหมู ยีสต์และไข่แดง เนื่องจาก ไทแอมินเป็นวิตามินที่สำคัญต่อเมแทบอลิซึมของสารอาหารที่ให้พลังงานภายในเซลล์ ปริมาณที่ร่างกาย ต้องการผันแปรตามปริมาณพลังงานที่ร่างกายต้องการใช้ คือ ประมาณ 0.5 mg/1,000 kcal ส่วนเด็กทารก ต้องการ 0.4 mg/1,000 kcal ดังนั้นในแต่ละวันร่างกายควรได้รับไทแอมินประมาณ 1 mg ซึ่งร่างกาย ต้องการพลังงานไม่เกิน 2,000 kcal สำหรับหญิงมีครรภ์และให้นมบุตรควรได้รับ 2 mg/g (นิธิยา, 2556) Tetsuo *et al.* (2008) ใช้เทคนิค NIRS ประเมินปริมาณวิตามินบี 1 ได้ในช่วง 0.56-0.81 mg/100g DW โดยมีค่า R SEC SEP และ Bias เท่ากับ 0.57 0.08 0.08 และ 0.02 mg/100g DW ตามลำดับ

สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin) คือสารพิษธรรมชาติที่สร้างจากเชื้อราเมื่อคนหรือสัตว์ได้รับ สารพิษจากเชื้อราเข้าไปแม้ในปริมาณน้อยก็ทำให้เกิดอาการพิษ (mycotoxicosis) ซึ่งไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้โดยการใช้ยา สารพิษจากเชื้อราที่มีการศึกษากันแพร่หลาย คือ แอฟลาทอกซิน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่ดับและอวัยวะอื่น ๆ เช่น ไต ระบบหัวใจ ระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาท ระบบสืบพันธุ์ และ

ระบบภูมิคุ้มกัน สร้างจากเชื้อราตระกูล *Aspergillus* เช่น *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. tamari* และ *A. nomius* พบมากในเมล็ดธัญพืชและพืชน้ำมันชนิดต่างๆ เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง พริก มะพร้าว เครื่องเทศ และ สมุนไพร (อมรา, 2548) ปริมาณการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินในอาหาร และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรทำให้แต่ละประเทศกำหนดค่าการปนเปื้อนเพื่อปกป้องสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค เช่น ประเทศอิตาลีกำหนดค่าการปนเปื้อนที่ 50 ppb ประเทศออสเตรเลียที่ 15 ppb และประเทศไทยกำหนดให้มีการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินได้ไม่เกิน 20 ppb ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 (ดวงจันทร์, 2545) พริกปนมีการใช้ประโยชน์ทั้งในรูปผลิตภัณฑ์ และผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมหลายรูปแบบ ได้แก่ การทำยา การปรุงแต่งกลิ่นและรสของอาหาร ใช้เป็นสารป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชและสัตว์ เป็นต้น โดยการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมากเพราะจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพเมื่อถึงมือผู้บริโภคหรือเมื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อการแปรรูป ในการจำหน่ายในรูปผลิตภัณฑ์ทางการเก็บรักษาในระหว่างรอการขนส่งหรือจำหน่ายอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างสารพิษได้ (พิทยา, 2551) การตรวจสอบสารพิษจากเชื้อรานั้น สิทธิพร (2549) ได้ทำการตรวจสอบโอคราทอกซิน เอ ในกาแฟั่วที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานครจำนวน 17 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนจำนวน 1 ตัวอย่าง มีค่าปริมาณ 3.2 ppb Hall *et al.* (1988) ประยุกต์ใช้ NIRS เพื่อทำนายหาปริมาณสาร theaflavin และความชื้นในชาดำ รวมทั้งนำมาประเมินปริมาณสารอัลคาลอยด์ ปริมาณกรดอิสระ (free amino acid) คาเฟอีน (caffeine) และโพลีฟีนอล (polyphenol) ในชาเขียว (Schulz *et al.*, 1999) Phetkiao *et al.* (2012) ใช้เทคนิค VIS/NIR spectroscopy ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในเมล็ดข้าวโพด และข้าวโพดบดด้วยเครื่อง NIRSystem 6500 ช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร พบว่าเทคนิค NIRS สามารถตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* ได้ในเมล็ดข้าวโพด มีค่า R, SEC, SEP และ bias เท่ากับ 0.80, 4.18, 4.08 และ 0.54% ส่วนเมล็ดข้าวโพดบด เท่ากับ 0.98, 1.12, 1.34 และ 0.43% ตามลำดับ จารุวรรณ (2560) ใช้เทคนิค NIRS ประเมินปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในพริกปน พบว่า สมการที่พัฒนามีค่า R SEP SEC และ SD เท่ากับ 0.87 2.40 1.68 และ 3.41 ppb ตามลำดับ สามารถใช้ประเมินสารพิษอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในพริกปน ได้ในช่วง 15.20 – 28.00 ppb ที่ช่วงคลื่น 400 - 2500 นาโนเมตร อรรวรรณและจารุวรรณ (2561) สร้างสมการประเมินปริมาณสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งพลาข้าวโพด ด้วยเทคนิค NIRS ที่ช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยมีค่า R เท่ากับ 0.87 และ 0.93 ตามลำดับ และสามารถประเมินสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งพลาข้าวโพดได้ในช่วง 0-307 และ 0-164 ppb ตามลำดับ ซาครียา (2555) ตรวจสอบหาสารพิษแอฟลาทอกซินจากอาหารที่จำหน่ายในจังหวัดตรังจำนวน 10 ชนิด ตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด ได้แก่ เต้าหู้ยี้ เต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว ถั่วลิสงแห้ง ถั่วลิสงป่น พริกแห้ง พริกป่น หอมกระเทียมและเครื่องแกง รวม 100 ตัวอย่าง ผลการวิจัยพบว่า การตรวจสอบหาสารพิษแอฟลาทอกซิน ปี1 ด้วยวิธี ELISA จากตัวอย่างอาหารทั้งหมด พบว่ามีอาหาร 24 ตัวอย่าง จากถั่วลิสงป่น ถั่วลิสงแห้ง พริกป่นและพริกแห้ง ที่มีปริมาณแอฟลาทอกซิน ปี1 อยู่ในช่วง 26.08 – 289.52 ppb ซึ่งมีระดับสูงกว่าที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ (ไม่เกิน 20 ppb) ดวงจันทร์ (2545) ในระหว่างปี พ.ศ. 2537-2544 กองอาหารได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องเทศได้แก่พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า (ชนิดที่เป็นเมล็ดพริกแห้งและชนิดป่นละเอียด) พริกไทยป่น กระเทียม (ชนิดสด เจียวกับน้ำมันและชนิดผง) หอมแดง (ชนิดสดและชนิดผง) น้ำจิ้มสะเต๊ะ ซีอิ๊วและอื่น ๆ ได้แก่ เครื่องแกงสำเร็จรูป น้ำพริกเผา ซอสพริก ซุปสกัด จะพบว่าเครื่องเทศทั้งหมด 160 ตัวอย่าง ตรวจพบแอฟลาทอกซินปนเปื้อนเพียง 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 5% ปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง 6.59-61.28 ppb โดยจะพบในพริกทั้งเมล็ด 4 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง 12.26-61.28 ppb พริกป่น 3 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบคือ 7.84 12.94 และ 14.40 ppb และกระเทียมชนิดผง 1 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบคือ

6.59 ppb ในจำนวนนี้มีเพียงพริกแห้งเมล็ด 3 ตัวอย่างเท่านั้นที่พบเกินมาตรฐาน 20 ppb ที่ประกาศโดยกระทรวงสาธารณสุข ปริมาณที่พบคือ 23.73 30.70 และ 61.28 ppb ส่วนเครื่องเทศชนิดอื่นตรวจไม่พบการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน สูดาร์ตัน (2537) ศึกษาการปนเปื้อนของราโดยเฉพาะ *A. flavus* ในเครื่องเทศและสมุนไพร 30 ชนิด พบว่าเครื่องเทศและสมุนไพร 46.7% พบการปนเปื้อนของรา 5 - 9 ชนิด และ 40% พบการปนเปื้อนของราต่ำกว่า 5 ชนิด ส่วนอีก 13.3% ไม่พบการปนเปื้อนของราเลย เครื่องเทศและสมุนไพรดังกล่าวคือ กานพลู เก๋ากี้ ขมิ้นชัน และโป๊ยกั๊ก ราที่แยกได้จากเครื่องเทศและสมุนไพรได้บ่อยที่สุด ได้แก่ *Aspergillus*, *Penicilium* และ *Rhizopus* โดยพบ 56.70 11.70 และ 10.83% ตามลำดับ วิธีการวิเคราะห์ทางโครมาโทกราฟีเป็นวิธีการตรวจสอบสารพิษจากเชื้อราที่นิยมใช้เป็นเวลานาน วิธีการนี้ต้องมีขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ (pre-treatment method) ได้แก่ การสกัด และการทำความสะอาดเพื่อทำให้สารบริสุทธิ์ (clean-up purification) วิธีการเตรียมตัวอย่างสามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น liquid-liquid extraction (LLE), supercritical fluid extraction (SFE) และ solid-phase extraction (SPE) วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างดำเนินการได้ทั้งในแบบ liquid chromatography (LC) ร่วมกับวิธี mass spectrometry (MS), thin layer chromatography (TLC), gas chromatography (GC), high-performance liquid chromatography (HPLC), capillary electrophoresis, enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) และ biosensors (Sapsford *et al.*, 2006) วิธีการตรวจวัดเหล่านี้มาใช้อุตสาหกรรมเกษตร เกษตรกรรม และเคมี (Turner *et al.*, 2009; Koppen *et al.*, 2010) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าวิธีการตรวจวัดเหล่านี้มีข้อจำกัด ซึ่งการตรวจวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่างด้วยเทคนิค NIRS ได้พัฒนาเพื่อแก้ไขข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์แบบดั้งเดิม งานวิจัยและพัฒนาในการศึกษาเทคนิคการตรวจสอบสินค้าโดยไม่ทำลายตัวอย่างด้วยเทคนิค NIRS มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งด้านพื้นฐาน และการประยุกต์ใช้งานด้านการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ ดังนั้นการควบคุมและการประกันคุณภาพสินค้าจึงมีความจำเป็นยิ่ง การใช้เทคนิคการตรวจสอบคุณภาพสินค้าโดยวิธีไม่ทำลายเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ประหยัดเวลา และลดต้นทุนสินค้าในระยะยาว เนื่องจากใช้สารเคมีในการตรวจสอบเพียงเล็กน้อย ซึ่งตรงกับความต้องการของโลกในอนาคตที่ต้องการรักษา และอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม ทำให้โลกปลอดภัยมากขึ้น (วารุณี, 2555) โดยโครงการวิจัยการประเมินคุณภาพในผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้สมการเพื่อตรวจสอบปริมาณวิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง และสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพด และถั่วเมล็ดแห้งได้อย่างถูกต้องแม่นยำโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

บทคัดย่อ

ปัจจุบันการหาวิธีการประเมินองค์ประกอบทางโภชนาการในผลิตผลและผลิตภัณฑ์จากพืชไร่ที่ดำเนินการได้อย่างรวดเร็ว และไม่ทำความเสียหายแก่ตัวอย่างที่อาจจะต้องนำไปใช้ประโยชน์ต่อนั้นยังเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ โดยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) เป็นทางเลือกในการวิเคราะห์อีกวิธีที่ช่วยลดต้นทุนในระยะยาว คุ่มค่า รวดเร็ว และเชื่อถือได้ อาจเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในเมล็ดข้าวเหลือง สารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 ในเมล็ดข้าวโพดและถั่วลิสง โครงการนี้ประกอบด้วยการศึกษาทดลอง จำนวน 3 เรื่อง และดำเนินการวิจัย ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ในปี 2564 สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ดำเนินงานสุ่มเลือกตัวอย่างเมล็ดข้าวเหลือง ข้าวโพด และถั่วเมล็ดแห้งจากแหล่งต่างๆ มาวัดสเปกตรัมเพื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง ด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร และวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ในเมล็ดข้าวเหลืองด้วยวิธี HPLC และวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี 1 ในเมล็ดข้าวโพด และถั่วเมล็ดแห้งด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) โดยการใช้ชุดทดสอบสารแอฟลาทอกซินสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (wet chemistry) จากผลการศึกษาแสดงว่า เมล็ดข้าวเหลืองนำมาใช้สร้างสมการจะมีปริมาณสารวิตามินบี 1 โดยเฉลี่ยคือ 0.55 mg/100g DW นำค่าที่ได้มาสร้างสมการทำนาย ด้วยเทคนิค PLSR โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สารวิตามินบี 1 เท่ากับ 0.92 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารวิตามินบี 1 ในกลุ่ม calibration (SEC) ของเมล็ดข้าวเหลืองเท่ากับ 0.14 mg/100g DW และ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารวิตามินบี 1 ในกลุ่ม validation (SEP) ของเมล็ดข้าวเหลืองเท่ากับ 0.15 mg/100g DW จากผลการวิจัย พบว่าเทคนิค NIRS เป็นวิธีการที่สามารถประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในเมล็ดข้าวเหลืองได้ในช่วง 0.02 – 1.23 mg/100g DW ขณะที่เมล็ดข้าวโพด จำนวน 238 ตัวอย่าง ที่นำมาใช้สร้างสมการจะมีปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 โดยเฉลี่ยเท่ากับ 4.94 ppb. นำค่าที่ได้มาสร้างสมการทำนาย ด้วยเทคนิค PLSR โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 เท่ากับ 0.80 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 ในกลุ่ม calibration (SEC) ของเมล็ดข้าวโพดเท่ากับ 3.28 ppb และ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 ในกลุ่ม validation (SEP) ของเมล็ดข้าวโพดเท่ากับ 3.42 ppb และพบว่าสมการสามารถประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงได้ มีค่า R เท่ากับ 0.76 ค่า SEP เท่ากับ 11.49 ppb ซึ่งต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA คือ 14.50 ppb ค่า SEC เท่ากับ 9.35 ppb และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 7 ปัจจัยสมการที่ได้นี้สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงได้ในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบในช่วง 4.40-59.95 ppb

Abstract

Currently, the establishment of rapid and non-destructive methods for the evaluation of nutritional components in field crop produces and products is an important feature in relation to the final product quality. Near Infrared Spectroscopy (NIRS) is an excellent candidate for a long term low-cost, cost-effective, rapid, and reliable analytical monitoring methods for the determination of vitamin B₁ in soybean grain, Aflatoxin B₁ (AFB₁) content in maize and peanut that could possibly be applied as a routine analysis in laboratories. The project combining with 3 experiments, was conducted at Postharvest and Product Processing Research Development Division, Department of Agriculture in 2021. In this study, visible-near infrared spectroscopy over the spectral range of 400–2500 nm was utilized to detect vitamin B₁ content in soybean grains and AFB₁ content in maize and peanut. The soybean grains were analyzed for vitamin B₁ content by HPLC and AFB₁ content in maize and peanut was extracted and determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) using DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit referred to wet chemistry method. It showed that the average content of vitamin B₁ was 0.55 mg/100g DW. Partial least squares regression (PLSR) was used to develop the calibration equation for prediction. The correlation coefficient (R) of vitamin B₁ content in soybean grains was 0.92 mg/100g DW. The standard error of calibration (SEC) of vitamin B₁ content in soybean grains was 0.14 mg/100g DW. The standard error of prediction (SEP) of vitamin B₁ content in soybean grains was 0.15 mg/100g DW. The results showed that the average content of AFB₁ found in 238 maize kernel samples was 4.94 ppb. The correlation coefficient (R) of AFB₁ content in maize kernels was 0.80 ppb. The standard error of calibration (SEC) of AFB₁ content in maize grains was 3.28 ppb. The standard error of prediction (SEP) of AFB₁ content in maize grains was 3.42 ppb. Equation of aflatoxin determination in peanut had correlation coefficient (R) 0.76 which standard error of prediction (SEP) was 11.49 ppb., lower than standard deviation (SD) of ELISA; 14.50 ppb and also low standard error of calibration (SEC); 9.35 ppb. The model from NIRS method can predict the amount of aflatoxin in peanut in the range of 4.40-59.95 ppb.

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. การประเมินปริมาณสารวิตามิน บี 1 ในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

ดำเนินการสร้าง standard curve ของสารมาตรฐานวิตามินบี 1 และทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ (method validation) สำหรับวิเคราะห์สารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองโดยวิธีห้องปฏิบัติการ (wet chemistry) แล้วจึงรวบรวมตัวอย่างถั่วเหลืองไม่น้อยกว่า 100 ตัวอย่าง จากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และแหล่งจำหน่ายต่าง ๆ นำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร และนำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer โดยวัดสเปกตรัมแบบสะท้อนกลับ (reflectance) จากนั้นจึงนำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองที่บดละเอียดไปวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ด้วยเครื่อง HPLC ดัดแปลงตามวิธีของ Gi-Ppeum Kim *et al.* (2014) โดยมีขั้นตอนการสกัดดังนี้ ซึ่งถั่วเหลืองบดละเอียด 1 g ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 ml. เติม 0.05M NaOH ปริมาณ 2 ml. และเขย่าสาร (vortex) ให้เข้ากัน เติม 0.1% H₃PO₄ ปริมาณ 18 ml. และเขย่าสารให้เข้ากัน จากนั้นนำสารสกัดไป Sonicate ที่อุณหภูมิ 40°C นาน 20 นาที จากนั้นทำให้ตัวอย่างเย็นด้วยน้ำแข็งก่อนปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 20 นาที นำสารสกัดตัวอย่างไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.2 ถ่ายไปยังหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 ml. หลอดใหม่ ปรับน้ำหนักตัวอย่างให้เท่ากัน และสมดุลกันระหว่างหัวปั่นตรงข้ามก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบ 4 °C นาน 20 นาที ดูดส่วนใส (supernatant) ประมาณ 1 ml แล้วกรองผ่านกระดาษกรองชนิด Cellulose Acetate ขนาด 0.45 µm ถ่ายไปยังขวดสีชา vial ขนาด 2 ml และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น 4 °C ก่อนฉีดวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยมีสภาวะ (condition) การวิเคราะห์ ดังนี้ Mobile Phase A ประกอบด้วย 5 mM sodium 1-hexanesulfonate + 0.75% acetic acid (v/v) + 0.2% triethylamine (v/v) และ Mobile Phase B คือ Methanol (เกรด HPLC) ใช้คอลัมน์ชนิด ZORBAX Eclipse XDB-C18 (150 x 4.6 mm I.D., 150.0 mm, 3.5 µm) ใช้อุณหภูมิคอลัมน์ 40 °C ฉีด (injection volume) 20 µL และมีอัตราการไหล 0.6 mL/min. ตัวตรวจวัดชนิด Diode-array detector (DAD) ที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร นำข้อมูลเส้นสเปกตรัมต้นแบบที่ได้จากการสแกน และผลวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 หรืออาจทำการแปลงผลข้อมูลเพื่อลดผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ noise หรือ errors จากการวัดที่ปรากฏใน spectrum ไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ด้วยวิธี Partial Least Square Regression (PLSR) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler[®] version 9.7 ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์ ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า Standard Error of Calibration (SEC) ต่ำ ค่า Standard Error of Prediction (SEP) ต่ำ และค่า Correlation Coefficient (R) สูง แล้วนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อหาวิธีที่ดีที่สุด ตรวจสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้นโดยเปรียบเทียบค่า Standard Error of Prediction (SEP) และ Bias เพื่อประเมินโดยใช้ข้อมูลในส่วนที่ไม่ได้ใช้ในการทำสมการ และนำสมการที่ได้ไปใช้ในการประเมินค่าปริมาณวิตามินบี 1 เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน โดยดำเนินงานวิจัย ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2563 ถึงกันยายน 2564

2. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพดโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

รวบรวมตัวอย่างข้าวโพดจากแหล่งผลิตต่าง ๆ จำนวนไม่น้อยกว่า 50 ตัวอย่าง แล้วนำตัวอย่างข้าวโพดที่รวบรวมได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยนำตัวอย่างข้าวโพดใส่ในเซลล์บรรจุ และทำการสแกนเพื่อบันทึกเส้นสเปกตรัมของตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่างแล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินปี 1 ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบสารพิษในอาหารและวัตถุดิบที่สามารถบอกปริมาณของสารพิษได้โดยประมาณในแต่ละช่วงตามค่ามาตรฐานที่กำหนด และมีความน่าเชื่อถือ โดยการใช้ชุดทดสอบสารแอฟลาทอกซินสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) ที่มีความเฉพาะเจาะจง (specificity) ในการเกาะจับกับสารพิษแอฟลาทอกซินปี 1 เท่ากับ 100% และสามารถตรวจจับสารแอฟลาทอกซินได้ต่ำสุด 0.4 ppb โดยมีขั้นตอนการสกัดสารแอฟลาทอกซิน และขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนี้ ซึ่งตัวอย่างที่บดละเอียด 20 g ใส่ในภาชนะ (ขวดแก้ว หรือ เครื่องปั่น) เติมน้ำ 70% เมทานอล 100 ml. เขย่าที่ความเร็ว 300 รอบ/นาที หรือปั่น 2-3 นาที ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที เพื่อแยกส่วนที่ใสกรองเฉพาะส่วนใสผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บส่วนที่กรองได้ (มีความเข้มข้นเป็นสัดส่วน เท่ากับ 1:5) นำส่วนที่กรองได้มาเจือจางเป็น 1:20 เพื่อให้ได้สารสกัดพร้อมวิเคราะห์ โดยหดยอดสารพิษมาตรฐานปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบจำนวน 4-5 ความเข้มข้น หดยอดสารสกัดตัวอย่างปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบที่เหลือ หยอดเอ็นไซม์คอนจูเกต (AFB, HRP conjugate) ตามลงไปทุกหลุมทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20-30 นาที เทสารในหลุมทดสอบทิ้งแล้วล้างด้วย washing buffer 3 ครั้ง หดยอดสาร substrate ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ทุกหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 5-10 นาที ปฏิกริยาจะเกิดเป็นสีฟ้าสามารถอ่านผล (ผลเชิงคุณภาพ) ได้ด้วยสายตา เปรียบเทียบกับสีฟ้าของสารพิษมาตรฐาน หดยอดปฏิกริยาโดยเติม stopping solution ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ปฏิกริยาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง อ่านค่าความเข้มของสีด้วย MicroELISA Reader ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร (อ่านผลเชิงปริมาณ) แล้วคำนวณปริมาณสารพิษเป็น ppb. (อมรา และคณะ, 2547) จากนั้นจึงสร้างสมการและการคัดเลือกสมการในการหาปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ปี 1 โดยนำเส้นสเปกตรัมที่ได้จากวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer และผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินปี 1 ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ELISA ไปสร้างสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square Regression (PLSR) แบบ Full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler® version 9.7 ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์ ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณา R ค่า SEC ค่า SEP และค่า bias มาใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในข้าวโพด โดยดำเนินงานวิจัย ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2563 ถึงกันยายน 2564

3. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในถั่วเมล็ดแห้งโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

รวบรวมตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งจากแหล่งจำหน่ายทั่วไปจำนวนไม่ต่ำกว่า 100 ตัวอย่าง ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร โดยวัดสเปกตรัมแบบสะท้อนกลับ (reflectance) จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ELISA นำสเปกตรัมที่ได้จากการวัดตัวอย่างด้วยเครื่อง NIR Spectrometer และผลที่ได้จากประเมินด้วยวิธี ELISA ไปสร้างสมการด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square Regression (PLSR) แบบ Full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler[®] version 9.7 ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์ แล้วทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาความสัมพันธ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) ที่มีค่าสูงใกล้เคียง 1 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชัน (Standard Error of Calibration, SEC) ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (Standard Error of Prediction, SEP) และค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากเทคนิค NIRS และ วิธี ELISA (Averages of difference between NIRS values and actual, Bias) ที่มีค่าต่ำ มาใช้ในการประเมินปริมาณแอฟลาทอกซิน ประเมินความถูกต้องแม่นยำของสมการ โดยการทดสอบความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินของสมการที่ได้เปรียบเทียบกับ วิธี ELISA เพื่อยืนยันความถูกต้องแม่นยำของสมการที่คัดเลือกมา โดยนำไปประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ในถั่วลิสงเมล็ดแห้งจำนวน 20 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับค่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยดำเนินงานวิจัย ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2563 ถึงกันยายน 2564

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การประเมินปริมาณสารวิตามิน บี 1 ในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

เมล็ดถั่วเหลือง (soybean grain) จำนวน 190 ตัวอย่าง ที่นำมาใช้ในการสร้างสมการประเมินปริมาณวิตามินบี 1 จะมีปริมาณสารวิตามินบี 1 ในช่วง 0.02-1.23 mg/100g DW มีปริมาณวิตามินบี 1 เฉลี่ยเท่ากับ 0.55 mg/100g DW (Table 1) และเมื่อนำเมล็ดถั่วเหลืองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยใช้หลักการสะท้อนแสง ด้วยเครื่อง NIR spectrometer ของบริษัท FOSS รุ่น 6500 พบว่า เมล็ดถั่วเหลืองสามารถดูดกลืนแสงได้ดี โดยพิจารณาจากยอดพีคของเส้นสเปกตรัมที่ความยาวคลื่น 1215 1471 1725 1940 2110 2275 และ 2347 นาโนเมตร (Figure 1) ที่เกี่ยวข้องกับสูตรโครงสร้างโมเลกุลของ $\text{CH}_2\text{CONH}_2\text{H}_2\text{O}$ (ความชื้น) และโปรตีน (Table 2) อีกทั้งเมื่อพิจารณาจากสูตรโมเลกุลของวิตามินบี 1 (Figure 2) ที่เป็นสารอินทรีย์ที่มีสารประกอบไฮโดรคาร์บอน และสารอนุพันธ์อื่นๆ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและองค์ประกอบทางเคมีของวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลืองที่นำมาใช้ดำเนินการทดสอบ เมื่อนำเทคนิค NIRS มาสร้างสมการสำหรับประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองด้วยวิธี PLSR แบบ Full cross validation โดยใช้หลักสะท้อนแสงที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ด้วยวิธีอ้างอิง (reference method) ในห้องปฏิบัติการ และค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ด้วยเทคนิค NIRS โดยค่าทางสถิติที่แสดงให้เห็นถึงความถูกต้องของสมการที่พัฒนาขึ้น จะพิจารณาจากการได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สูงและเข้าใกล้ 1 นั้น จากการสร้างสมการเพื่อประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ใช้ความยาวคลื่นช่วง 400-2500 นาโนเมตร จะมีค่า R เท่ากับ 0.92 ความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) เท่ากับ 0.14 mg/100g DW ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 0.15 mg/100g DW ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIRS (Averages of difference between actual and NIR values, Bias) เท่ากับ -0.001 mg/100g DW และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง (F) จำนวน 7 ปัจจัย (Table 3) ค่า Regression coefficient ของสมการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง พบว่ามีค่า Regression coefficient สูงที่ความยาวคลื่น 1360 1395 1460 1990 1980 2252 และ 2294 นาโนเมตร (Figure 3) โดยพบว่าที่ความยาวคลื่น 1990 และ 2252 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับแป้ง ที่ความยาวคลื่น 1980 และ 2294 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน และโครงสร้างโมเลกุลของวิตามินบี 1 คือ C-H N-H ความยาวคลื่นที่เกี่ยวข้อง คือ 1360 1395 และ 1460 นาโนเมตร (Osborne, 1993) เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของข้อมูล 2 ชุดที่มีต่อกัน พบว่าสมการที่ได้ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง และให้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่ม calibration และกลุ่ม validation ต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างค่าอ้างอิง และค่าที่ทำนายได้มีความผิดพลาด (SEP) ต่ำกว่าค่าการวิเคราะห์ (SD) (Figure 4) ทำให้สามารถนำสมการไปใช้ในการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง โดยพบว่าสมการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 สามารถใช้ตรวจสอบตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองได้ถูกต้องแต่ควรใช้ด้วยความระมัดระวัง (usable with caution for most applications) (Table 4) (Williams and Norris, 2001) แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีความหลากหลายมากขึ้นเพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของเมล็ดให้ใกล้เคียง 1 เพื่อเป็นการพัฒนาสมการให้สามารถนำไปใช้ในการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลืองได้ถูกต้อง

2. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพดโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

ตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด (maize kernel) ที่นำมาใช้ในการสร้างและพัฒนาสมการเพื่อประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 (AFB₁) มีจำนวนทั้งสิ้น 238 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดมีปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในช่วง 0-14.70 µg/kg (ppb) (Table 5) และภายหลังจากการนำเมล็ดข้าวโพดไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorption) ด้วยเครื่อง NIR Spectrometer ใช้หลักการสะท้อนแสง ในช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยบรรจุในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างชนิด quarter cup sample cell พบว่าเมล็ดข้าวโพดสามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 990 1215 1440 1940 และ 2110 นาโนเมตร ซึ่งความยาวคลื่นดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำ แปะ และโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในเมล็ดข้าวโพด (Williams and Norris, 2001) (Figure 4) จากการนำเทคนิค NIRS มาใช้เพื่อสร้างสมการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation โดยใช้หลักสะท้อนแสงที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ด้วยวิธีทางเคมี (conventional method) ในห้องปฏิบัติการ และค่าการดูดกลืนแสง (400-2500 นาโนเมตร) ในเมล็ดข้าวโพด โดยมีค่าแสดงถึงความถูกต้องแม่นยำของสมการ ซึ่งพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สูงใกล้เคียง 1 นั้น จากการสร้างสมการเพื่อประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด พบว่าสมการประกอบด้วยค่า R เท่ากับ 0.80 ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) เท่ากับ 3.28 ppb. ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 3.42 ppb. ค่า Bias เท่ากับ -0.01 ppb. และมีปัจจัยเกี่ยวข้อง (F) จำนวน 4 ปัจจัย (Table 6) ค่า Regression coefficient ของสมการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด พบว่ามีค่า Regression coefficient สูงที่ความยาวคลื่น 970 1416 1904 2070 และ 2240 นาโนเมตร (Figure 5) สอดคล้องกับ อรวรรณและคณะ (2561) ที่ได้ทำการประเมินปริมาณสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยเทคนิค NIRS พบความยาวคลื่น 1900 2000 และ 2100 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับแป้ง ส่วนที่ความยาวคลื่น 2240 มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน ที่ความยาวคลื่น 970 นาโนเมตรมีความสัมพันธ์กับน้ำ และโครงสร้างโมเลกุลของแอฟลาทอกซิน คือ C-H และ C=O มีความยาวคลื่นที่เกี่ยวข้อง คือ 1416 และ 2070 นาโนเมตร (Osborne, 1993) เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของข้อมูล 2 ชุดที่มีต่อกัน พบว่าสมการที่ได้ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง และให้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่ม calibration และกลุ่ม validation ต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างค่าอ้างอิง และค่าที่ทำนายได้ มีความผิดพลาด (SEP) ต่ำกว่าค่าการวิเคราะห์ (SD) (Figure 6) ทำให้สามารถนำสมการไปใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพดได้ พบว่า สมการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด สามารถใช้ตรวจสอบตัวอย่างในเมล็ดข้าวโพดได้สำหรับการคัดเลือกแบ่งกลุ่มแบบคร่าว ๆ (rough screening) (Table 4) (Williams and Norris, 2001) แต่อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีความหลากหลายมากขึ้นเพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของเมล็ดข้าวโพดให้ใกล้เคียง 1 เพื่อเป็นการพัฒนาสมการให้สามารถนำไปใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพดได้ถูกต้อง

3. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในถั่วเมล็ดแห้งโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

เมื่อรวบรวมเก็บตัวอย่างถั่วเมล็ดแห้งชนิดต่างๆ (ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) จากตลาดค้าปลีกมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่นช่วง 400 – 2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง ได้เส้นสเปกตรัมของตัวอย่างถั่วชนิดต่างๆ มาเปรียบเทียบกับ (Figure 7) พบลักษณะของเส้นสเปกตรัมมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกศึกษาเฉพาะถั่วลิสงเมล็ดแห้งเนื่องจากการปนเปื้อนปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินได้ง่ายและมีปริมาณสูงกว่าถั่วเมล็ดแห้งชนิดอื่นๆ ภายหลังเก็บตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งจากตลาดค้าปลีกจำนวน 150 ตัวอย่าง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เส้นสเปกตรัมของตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้ง (Figure 8) และนำตัวอย่างเดียวกันนี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี ELISA (Table 7) นำสเปกตรัมต้นแบบและค่าวิเคราะห์ที่ได้ไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler® version 9.7 พบว่า สมการจาก 67 ตัวอย่างมีค่า R เท่ากับ 0.76 มีค่า SEP เท่ากับ 11.49 ppb (Figure 9) ค่า SEC เท่ากับ 9.35 ppb และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA คือ 14.50 ppb. และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง จำนวน 7 ปัจจัย (Table 8) มีค่า regression coefficient สูง ที่ความยาวคลื่น 928 1450 16805 1920 และ 2140 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ Oil, Starch, Aromatic, CONH และ HC-CH (Osborne, 1993) (Figure 10) ของสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้ง เมื่อทดสอบความถูกต้องแม่นยำของสมการที่นำไปใช้ เมื่อนำสมการที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งจำนวน 20 ตัวอย่าง และนำผลที่ได้จากเทคนิค NIRS ไปเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิง พบว่า ค่าความแตกต่างของปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินจากทั้ง 2 วิธี อยู่ระหว่าง -22 – 5 ppb (Table 9) ดังนั้นสมการที่ได้นี้จึงสามารถนำไปใช้ในการประมาณค่าเบื้องต้นของปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งได้ สอดคล้องกับชิวานันท์ (2558) พบว่าสามารถนำเทคนิค NIRS ประยุกต์ใช้เพื่อตรวจหาเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซินปี 1 ในข้าวกล้องได้ และรติพร (2561) ใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการตรวจสอบปริมาณความชื้น และแอฟลาทอกซินปี 1 ในตัวอย่างที่ทำการบด คือ ข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง พบว่าสามารถใช้ตรวจสอบคุณภาพได้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. การประเมินปริมาณสารวิตามิน บี 1 ในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีสามารถใช้ประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองในช่วง 0.02-1.23 mg/100g DW ได้อย่างถูกต้อง และให้ค่าการประเมินที่ถูกต้องในระยะเวลายาว คลื่นที่ใช้ในเทคนิค NIRS เพื่อการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองอยู่ในช่วง 400 - 2500 นาโนเมตร ใช้หลักการสะท้อนแสง (reflection) และใช้สเปกตรัมต้นแบบ (original spectrum)

2. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพดโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีสามารถใช้ประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน บี 1 ในเมล็ดข้าวโพดในช่วง 0-14.70 ppb ได้อย่างถูกต้องเหมาะสมสำหรับการคัดเลือกแบ่งกลุ่มแบบคร่าว ๆ และให้ค่าการประเมินที่ถูกต้องในระยะเวลายาว คลื่นที่ใช้ในเทคนิค NIRS เพื่อการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน บี 1 ในเมล็ดข้าวโพดอยู่ในช่วง 400 - 2500 นาโนเมตร ใช้หลักการสะท้อนแสง (reflection) และใช้สเปกตรัมดั้งเดิม (original spectrum)

3. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในถั่วเมล็ดแห้งโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

สมการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งในช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง โดยใช้เครื่อง Near Infrared spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS มีค่า R SEP และ SEC เท่ากับ 0.76 11.49 และ 9.35 ppb ตามลำดับ และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง จำนวน 7 ปัจจัย สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งได้ในระดับการทำนาย เพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบในช่วง 4.40-59.95 ppb

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การประเมินคุณภาพในผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี โดยการใช้สมการการประเมินที่พัฒนาจากเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่น 400 - 2500 นาโนเมตร สามารถนำมาใช้ประเมินปริมาณสารวิตามิน บี 1 ในถั่วเหลือง ปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน บี 1 ในข้าวโพดและถั่วเมล็ดแห้งได้ โดยใช้หลักการสะท้อนแสง (reflection) และใช้สเปกตรัมดั้งเดิม (original spectrum) ได้อย่างถูกต้อง และรวดเร็ว เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการประเมิน จึงควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีความหลากหลายขององค์ประกอบทางเคมี หรือสารสำคัญในตัวอย่างมากขึ้น เพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของตัวอย่างให้ใกล้เคียง 1 และทำให้สมการที่ใช้ประเมินมีประสิทธิภาพมากขึ้น

Table 1 The characteristics of samples used in model construction for Vitamin B₁ content in soybean grain.

Items	Soybean Grain
Min-Max	0.02-1.23
Mean	0.55
SD	0.35
Number	190
Unit	mg /100g DW

Table 2 Chemical assignments of some observed near infrared absorption bands.

Wavelength (nm)	Bond vibration	Structure	Wavelength (nm)	Bond vibration	Structure
713	C—H str. fourth overtone	benzene	1492	N—H str. first overtone	ArNH ₂
738	O—H str. third overtone	ROH	1500	N—H str. first overtone	NH
740	C—H str. fourth overtone	CH ₃	1510	N—H str. first overtone	protein
746	C—H str. fourth overtone	CH ₂	1520	O—H str. first overtone	CONH ₂
747	O—H str. third overtone	ArOH	1520	N—H str. first overtone (intramol. H-bond)	ROH
760	O—H str. third overtone	H ₂ O	1528	O—H str. first overtone (intramol. H-bond)	starch
762	C—H str. fourth overtone	CH ₂	1530	N—H str. first overtone	RNH ₂
779	N—H str. third overtone	RNH ₂	1533	C—H str. first overtone	C=H
790	N—H str. third overtone	ArNH ₂	1540	O—H str. first overtone (intramol. H-bond)	starch
806	N—H str. third overtone	RNH ₂	1570	N—H str. first overtone	—CONH—
808	2xN—H str.+2xN—H def.+2xC—N str.	RNHR'	1580	O—H str. first overtone (intramol. H-bond)	starch, glucose
815	N—H str. third overtone	RNHR'	1620	C—H str. first overtone	=CH ₂
832	2xN—H str.+2xN—H def.+2xC—N str.	RNHR'	1645	C—H str. first overtone	R—CH—CH O
840	3xC—H str. +2xC—C str.	benzene	1660	C—H str. first overtone	cis-RCH=CHR ¹
874	C—H str. third overtone	benzene	1685	C—H str. first overtone	aromatic
880	C—H str. third overtone	CHCl ₃	1695	C—H str. first overtone	CH ₃
900	C—H str. third overtone	CH ₃	1705	C—H str. first overtone	CH ₃
910	C—H str. third overtone	protein	1725	C—H str. first overtone	CH ₂
913	C—H str. third overtone	CH ₂	1740	S—H str. first overtone	—SH
928	C—H str. third overtone	oil	1765	C—H str. first overtone	CH ₂
938	C—H str. third overtone	CH ₂	1780	C—H str. first overtone	cellulose
970	O—H str. second overtone	ROH, H ₂ O	1820	O—H str. +2xC—O str.	cellulose
990	O—H str. second overtone	starch	1900	O—H str. +2xC—O str.	starch
1000	O—H str. second overtone	ArOH	1900	C=O str. second overtone	—CO ₂ H
1015	2xC—H str.+3xC—H def.	CH ₃	1908	O—H str. first overtone	POH
1020	2xN—H str.+2xamide I	protein	1920	C=O str. second overtone	CONH
1020	N—H str. second overtone	ArNH ₂	1940	O—H str. + O—H def.	H ₂ O
1030	N—H str. second overtone	RNH ₂	1950	C=O str. second overtone	—CO ₂ R
1037	2xC—H str.+2xC—H def. +(CH ₂) _n	oil	1960	N—H asym. str. + amide II	CONH ₂
1053	2xC—H str.+2xC—H def. +(CH ₂) _n	CH ₂	1980	N—H asym. str. + amide II	protein
1060	N—H str. second overtone	RNH ₂	2000	2xO—H def. + C—O def.	starch
1080	2xC—H str.+2xC—C str.	benzene	2000	N—H asym. str. + amide II	CONH ₂ , CONHR
1097	2xC—H str.+2xC—C str.	cyclopropane	2030	C=O str. second overtone	CONH ₂
1143	C—H str. second overtone	aromatic	2050	N—H sym. str. + amide II	protein
1152	C—H str. second overtone	CH ₃	2050	N—H asym. str. + amide II	CONH ₂
1170	C—H str. second overtone	HC=CH	2080	O—H str. + O—H def.	ROH, sucrose, starch
1195	C—H str. second overtone	CH ₃	2100	2xO—H def. + C—O def.	starch
1215	C—H str. second overtone	CH ₂	2110	N—H sym. str. + amide III	CONH ₂ , CONHR
1225	C—H str. second overtone	CH	2132	N—H str. + C=O str.	amino acid
1360	2xC—H str.+C—H def.	CH ₃	2140	=C—H str. + C=C str.	HC=CH
1395	2xC—H str.+C—H def.	CH ₂	2150	2x amide I + amide III	CONH ₂
1410	O—H str. first overtone	ROH	2160	2x amide I + amide III	CONHR
1415	2xC—H str.+C—H def.	CH ₂	2180	2x amide I + amide III	protein
1417	2xC—H str.+C—H def.	aromatic	2190	CH ₂ asym. str. + C=Str.	HC=CH
1420	O—H str. first overtone	ArOH	2200	C—H str. + C=O str.	—CHO
1430	N—H str. first overtone	CONH ₂	2242	N—H str. + NH ₃ +def.	amino acid
1440	O—H str. first overtone	sucrose, starch	2252	O—H str. + O—H def.	starch
1440	2xC—H str.+C—H def.	CH	2276	O—H str. + C—C str.	starch
1446	2xC—H str.+C—H def.	aromatic	2280	C—H str. + C—H def.	CH ₃
1450	O—H str. first overtone	starch, H ₂ O	2294	N—H str. + C=O str.	amino acid
1460	N—H str. first overtone	CONH ₂	2310	C—H str. + C—H def.	CH ₂
1471	N—H str. first overtone	CONHR	2323	C—H str. + C—H def.	CH ₂
1480	O—H str. first overtone (intramol. H-bond)	glucose	2336	C—H str. + C—H def.	cellulose
1483	N—H str. first overtone	CONH ₂	2347	CH ₂ sym. str. + =CH ₂ def.	HC=CHCH ₂
1490	N—H str. first overtone	CONHR	2352	C—H def. second overtone	cellulose
1490	N—H str. first overtone (intramol. H-bond)	CONH ₂	2380	C—H def. second overtone	ROH
1490	O—H str. first overtone (intramol. H-bond)	cellulose	2461	C—H str. + C—C str.	starch

Source : Osborne (1986)

Table 3 Results of PLSR calibration for Vitamin B₁ content in soybean grain.

Qualities	Wavelength (nm)	R	SEC	SEP	Bias	F	F
Vitamin B ₁	400-2500	0.92	0.14	0.15	-0.001	7	7

R: Coefficient of correlation, SEC: Standard error of calibration, SEP: Standard error of prediction; Bias: The average difference between actual value and NIRS value, F: The number of factors used in the calibration equation

Table 4 Interpretation of R และ R² (Williams and Norris, 2001)

R	R ²	Interpretation
ถึง +/- 0.5	ถึง 0.25	Not usable in NIRS calibration
+/- 0.51 – 0.70	0.26 – 0.49	Poor correlation: research the reasons
+/- 0.71 – 0.80	0.50 – 0.64	Rough screening
+/- 0.81 – 0.90	0.66 – 0.81	OK for screening and “approximate” work
+/- 0.91 – 0.95	0.83 – 0.90	Usable with caution for most applications
+/- 0.96 – 0.98	0.92 – 0.96	Usable in most applications
+/- 0.99+	0.98+	Excellent, usable in any application

Table 5 The characteristics of samples used in model construction for Aflatoxin B₁ content in maize kernel.

Items	Maize kernel
Min-Max	0-14.70
Mean	4.94
SD	13.58
Number	238
Unit	ppb.

Table 6 Results of PLSR calibration for Aflatoxin B₁ content in maize kernels.

Qualities	Wavelength (nm)	R	SEC	SEP	Bias	F
Maize grain	400-2500	0.80	3.28	3.42	-0.01	4

R: Coefficient of correlation, SEC: Standard error of calibration, SEP: Standard error of prediction; Bias: The average difference between actual value and NIRS value, F: The number of factors used in the calibration equation

Table 7 The characteristics of samples used in model construction for Aflatoxin contents in peanut samples

Items	Aflatoxin
Min-Max	4.40-59.95
Mean	22.25
SD	14.50
Number	67
Unit	ppb

Table 8 The statistical analysis of NIRS models to predict Aflatoxin contents in peanut samples by The Unscrambler® program

Quality	Sample	Math methods	Wavelength (nm)	N	SD	R	SEC	SEP	Bias	F
Aflatoxin	Grain	Original	400 - 2500	67	14.50	0.76	9.35	11.49	0.19	7

R: Coefficient of correlation, SEC: Standard error of calibration, SEP: Standard error of prediction; Bias: The average difference between actual value and NIRS value, F: The number of factors used in the calibration equation, SD: Standard Deviation

Table 9 Method validation between reference measurement and NIRS prediction of Aflatoxin contents in peanut samples.

Samples	Method to determine Aflatoxin contents		d	d ²
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	(x-y) ²
	X	Y		
1	16.50	19.98	-3	12
2	8.40	27.60	-19	368
3	11.50	18.89	-7	55
4	18.90	18.90	0	0
5	12.30	7.71	5	21
6	10.90	7.85	3	9
7	16.20	24.70	-8	72
8	9.00	22.47	-13	181
9	15.80	17.91	-2	4

Samples	Method to determine Aflatoxin contents		d	d ²
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	(x-y) ²
	X	Y		
10	16.90	22.35	-5	30
11	7.80	19.98	-12	148
12	5.00	22.37	-17	302
13	15.80	37.87	-22	487
14	13.10	21.35	-8	68
15	11.40	17.15	-6	33
16	12.50	22.33	-10	97
17	7.65	27.36	-20	388
18	11.80	26.99	-15	231
19	6.95	21.14	-14	201
20	6.75	22.20	-15	239
Total	235	427	-192	2947
Average	12	21	-10	147

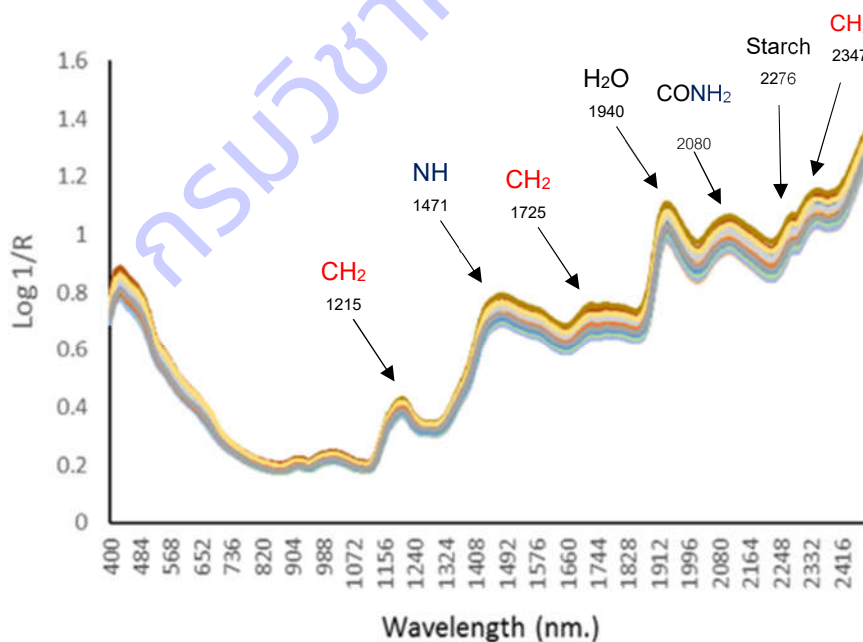


Figure 1 The original NIR spectra of soybean grain samples in wavelength region 400-2500 nm.

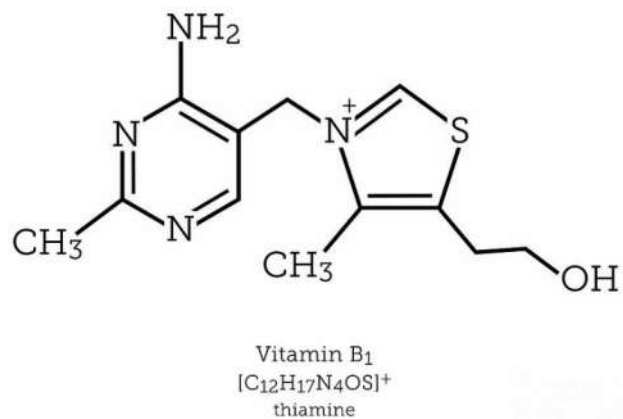


Figure 2 Molecular structure of Vitamin B₁

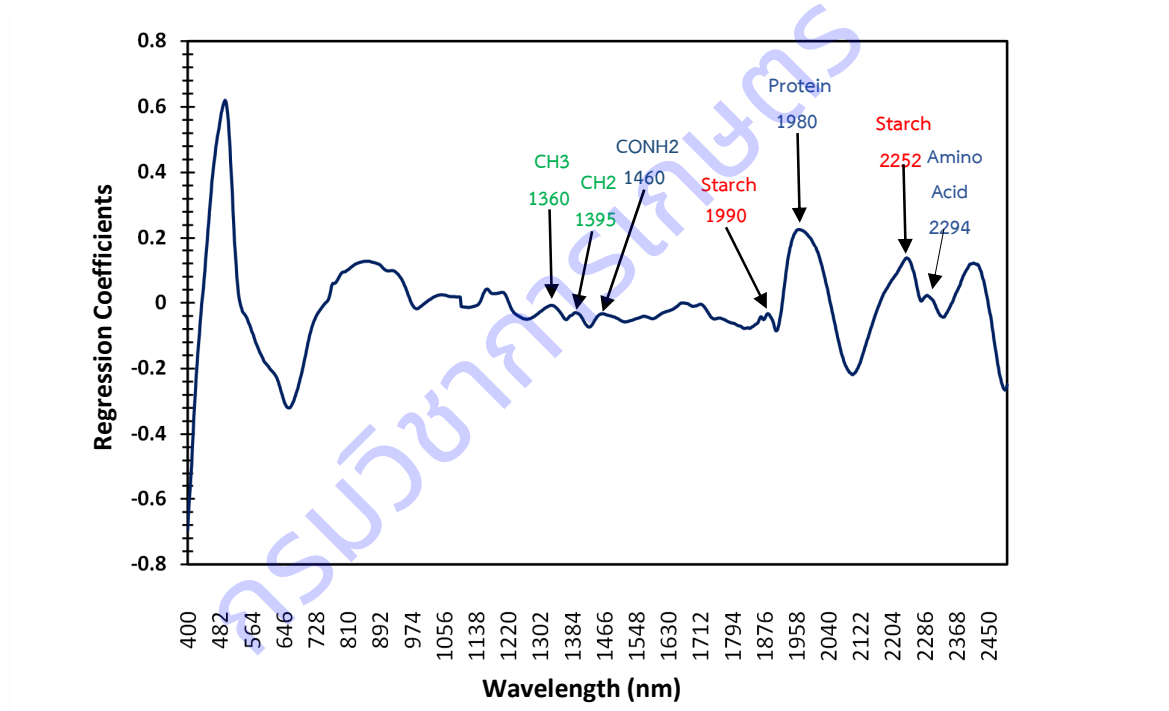


Figure 3 Regression coefficient plots to evaluate Vitamin B₁ content in soybean grains.

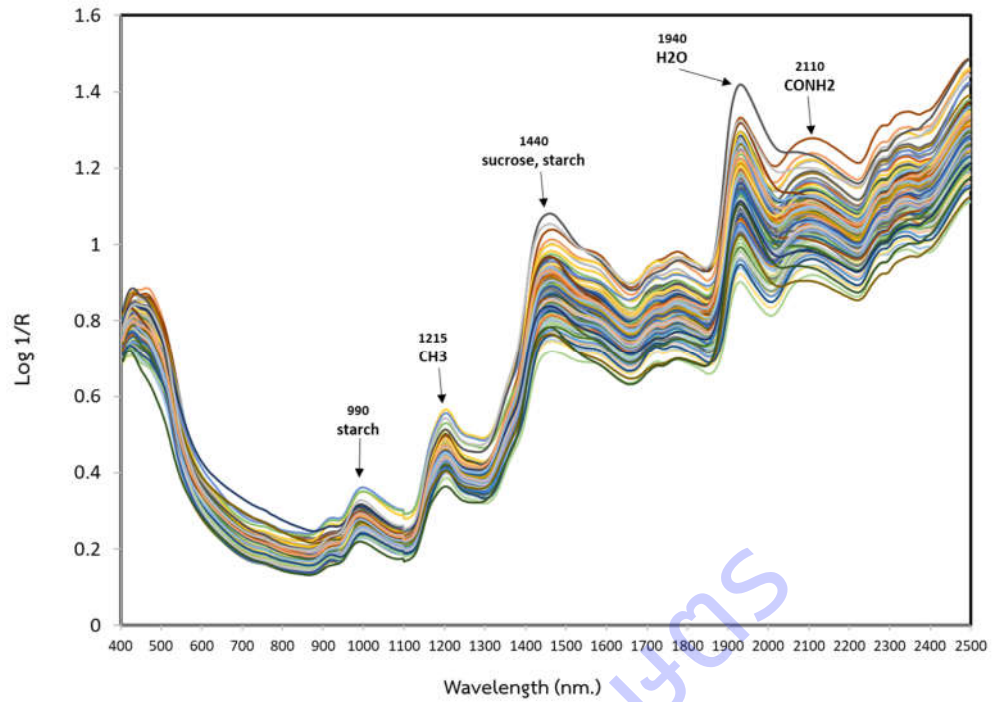


Figure 4 The original NIR spectra of maize kernel samples in wavelength region 400-2500 nm.

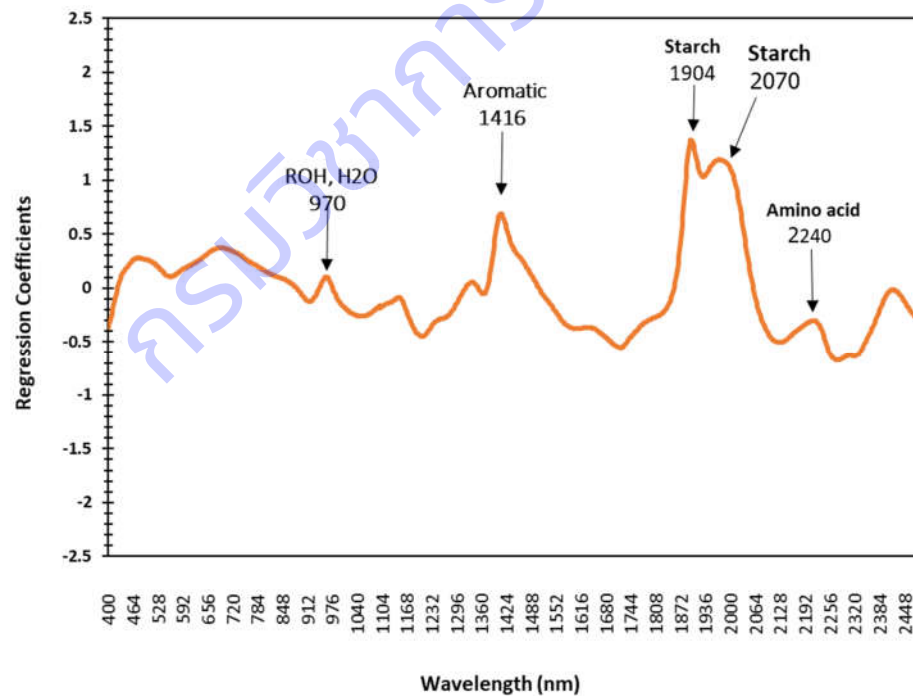


Figure 5 Regression coefficient plots to evaluate Aflatoxin B₁ content in maize kernels.

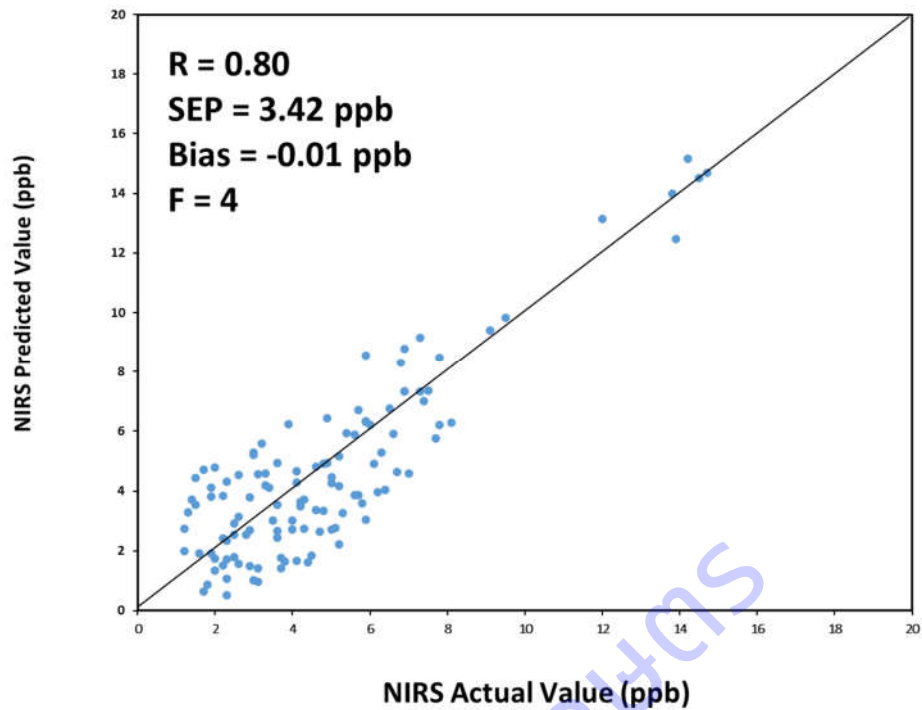


Figure 6 Scatter plots for calibration model of Aflatoxin B₁ content in maize kernel samples.

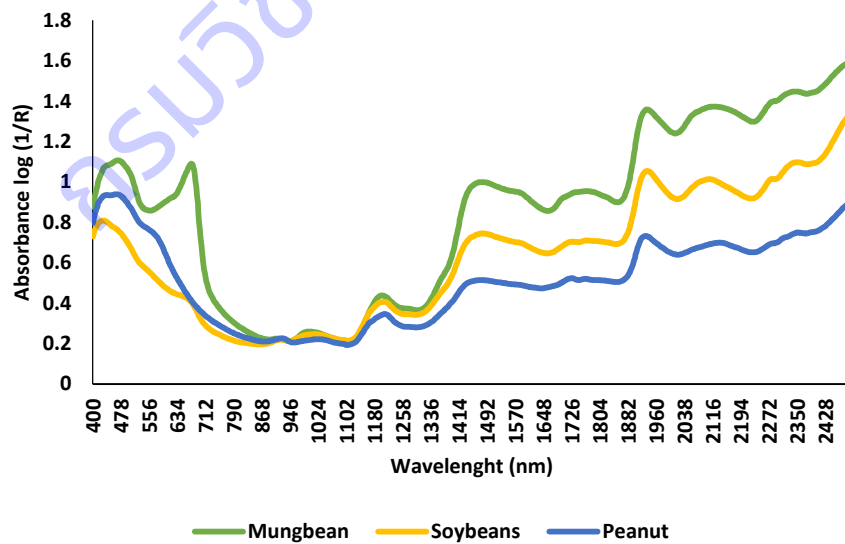


Figure 7 The original NIR spectra of Mung bean Soybean and Peanut samples at wavelength 400–2500 nm.

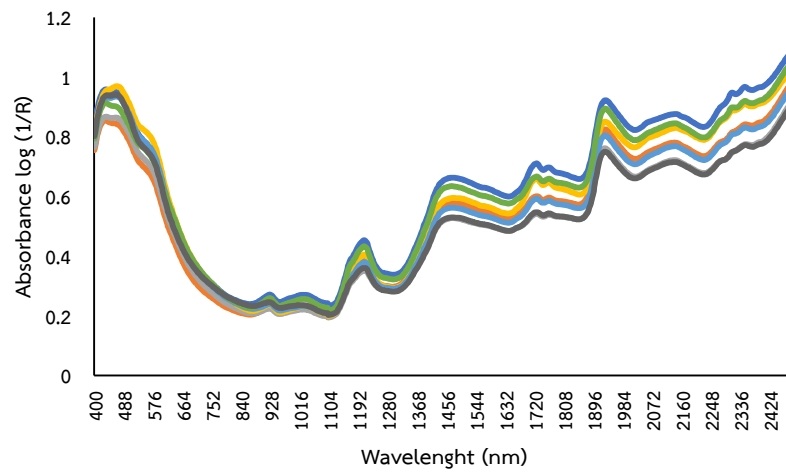


Figure 8 The original NIR spectra of Aflatoxin in Peanut samples at wavelength 400–2500 nm.

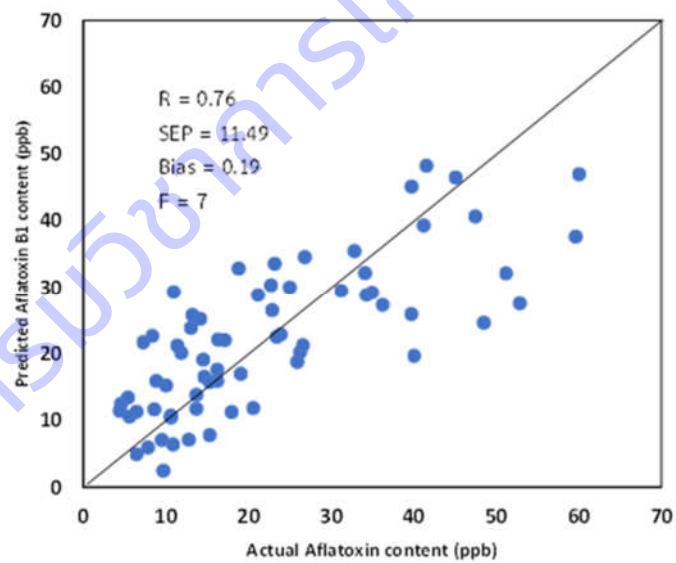


Figure 9 Scatter plots for calibration model of Aflatoxin contents in Peanut samples

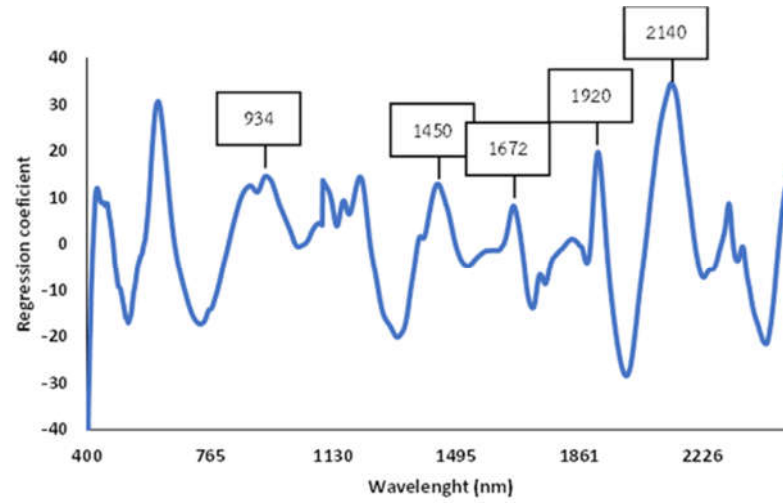


Figure 10 Regression coefficient for calibration model to predict Aflatoxin contents in peanut samples

กรมวิชาการเกษตร

บรรณานุกรม

- จารุรัตน์ พุ่มประเสริฐ และจารุวรรณ บางแวก. 2560. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2560. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 57-63
- จารุวรรณ บางแวก อรวรรณ จิตต์ธรรม อรณิชา สุวรรณโณม และจารุรัตน์ พุ่มประเสริฐ. 2552. การประเมินคุณภาพผลิตผลเกษตรโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม ประจำปี 2552 สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. หน้า 256-272.
- ชาคริยา ฉลาด. 2555. จุลินทรีย์และสารพิษแอฟลาทอกซินในอาหารที่จำหน่ายในจังหวัดตรัง. *วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย*. 4 (2): 56-69.
- ชิวานันท์ เดชอุปการ ศิริสมบุรณ์. 2558. การประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีเพื่อตรวจหาราที่ผลิตอะฟลาทอกซินและอะฟลาทอกซินบี 1 ในข้าวกล้อง. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- दनัย บุญเกียรติ ปาริชาติ เทียนจุมพล ศิลา กิตติวัชชะ ญัฐวัฒน์ หมั่นมาณี และพลกฤษณ์ มณีวระ. 2563. การใช้ NIR สเปกโทรสโกปีในการประเมินคุณภาพผลิตผลเกษตร. ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว (Postharvest Technology Innovation Center) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 159 หน้า
- ดวงจันทร์ สุขประเสริฐ และวนิดา ยุธยาติ. 2545. สารพิษแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศ. *วารสารสุขภาพอาหาร ปีที่ 4 ฉบับที่ 2 ก.พ.-พ.ค. 45*. หน้า 33-37.
- นิธยา รัตนาปนนท์ และ วิบูลย์ รัตนาปนนท์. 2556. หลักโภชนศาสตร์. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 512 หน้า.
- รติพร เอกตาแสง. 2561. การตรวจสอบปริมาณความชื้น และอะฟลาทอกซินบี 1 ในเมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- วารุณี ธนะแพสย์. 2555. สถานการณ์การใช้ประโยชน์เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในประเทศไทย. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร. หน้า 1-7.
- สิทธิพร ชมพูนรัตน์. 2549. การตรวจสอบโอคราทอกซินเอในกาแฟั่วที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุดารัตน์ บุญจันทร์ และอุษณีย์ เพชรสุนีย์. 2537. การศึกษาการปนเปื้อนของรา และความสามารถในการสร้างสารอะฟลาทอกซิน โดย *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากเครื่องเทศและสมุนไพร. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- อมรา ชินภูติ. 2548. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ การตรวจวิเคราะห์สารอะฟลาทอกซินในผลิตผลทางการเกษตรอย่างรวดเร็วโดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป “DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit”.
- อรวรรณ จิตต์ธรรม และจารุวรรณ บางแวก. 2561. การประเมินความชื้น ปริมาณโปรตีน ความหนืด อมิโลส น้ำตาล คุณภาพน้ำมัน ปริมาณสารอะฟลาทอกซิน ในเมล็ดและแป้งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy. หน้า 18-30. ใน: *รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2561*. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

- อรรวรรณ จิตต์ธรรม และจรรวรรณ บางแวก. 2561. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเติมประจำปี 2561. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 18-30
- อัจฉรา ตลวิทยาคุณ. 2550. พื้นฐานโภชนาการ. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 200 หน้า.
- Birt, D.F.; S. Hendrick and D.L. Alekel. 2004. Soybean and the prevention of chronic human disease, *In: Soybeans: Improvement, Production, and Uses*, Boerma, H.R. and J.E. Specht. (Ed.), pp. 1047-1117, ASA-CSSA-SSSA, ISBN 0-89118-154-7, Madison, WI, USA.
- Clement, A.; M. Dorais and M. Vernon. 2008. Multivariate approach to the measurement of tomato maturity and Gustatory attributes and their rapid assessment by Vis-NIR spectroscopy. *J. Food Agric. Environ* 6 (2): 327-332.
- Delwiche, S.R.; W. Mekwatanakarn and C.Y. Wang. 2008. Soluble solids and simple sugars measurement in intact mango using near infrared spectroscopy. *Hort Technology* 18 (3): 410-416.
- Fontaine, J.; J. Horr and B. Schirmer. 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy enables the fast and accurate prediction of the essential amino acid contents in soy, rapeseed meal, sunflower meal, peas, fishmeal, meat meal products, and poultry meal. *J. Agric. Food Chem.*, Vol.49, No.(1).57-66.
- Hall, M.N.; A. Robertson and C.N.G. Scotter. 1988. Near-infrared reflectance prediction of quality, theaflavin content and moisture content of black tea. *Food Chemistry*, 27, 61-75.
- Kawano, S. 2002. Application to agricultural products and foodstuffs. In H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H.M. Heise (eds.). *Near-Infrared: spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*, 269-288.
- Koppen, R.; M. Koch; D. Siegel; S. Merkel; R. Maul and I. Nehls. 2010. Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 86:1595-1612
- McGlone, V.A.; C.J. Clark and R.B. Jordan. 2007. Comparing density and VNIR methods for predicting quality parameters of yellow-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Postharvest Biol Technol* 46: 1-9.
- Phetkao, T.; R. Klaithin; P. Theanjumpol; K. Kunasakdakul; S. Thanapornpoonpong and S. Vearasilp. 2012. Comparison of sample preparation methods on the infected corn seed detection by NIR spectroscopy. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences Issue on Agricultural & Natural Resources* 11(1): 243-249
- Sapsford, K.E.; C.R. Taitt; S. Fertig; M.H. Mooreb; M.E. Lassman; C.M. Maragos and L.C.S. Lake. 2006. Indirect competitive immunoassay for detection of aflatoxin B1 in corn and nut products using the array biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* 21:2298-2305
- Schulz, H.; U.H. Engelhardt; A. Wengent; H.H. Drews and S. Lapczynski. 1999. Application of NIRS to the simultaneous prediction alkaloids and phenolic substance in green tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 475: 5064-5067.

- Suthiluk, P., S. Saranwong; S. Kawano; S. Numthuam and T. Satake. 2008. Possibility of using near infrared spectroscopy for evaluation of bacterial contamination in shredded cabbage. *Int. J. Food Sci. Technol* 43: 160-165.
- Tetsuo, S; K. Equch; T. Hatano and Y.i Nishiba. 2008. Use of Near-infrared Reflectance Spectroscopy for the Estimation of the Isoflavone Contents of Soybean Seeds, *Plant Production Science*, 11:4, 481-486, DOI: [10.1626/pp.s.11.481](https://doi.org/10.1626/pp.s.11.481)
- Turner, N.W.; S. Subrahmanyam and S.A. Piletsky. 2009. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta* 632:168-180
- Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hondle. 1993. *Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis*. Longman Singapore Publisher (Pte) Ltd, Singapore. 227 pp.
- Williams, P. and K. Norris. 2001. *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. Inc.: St Paul, Minesota. 312 p

กรมวิชาการเกษตร