

โครงการวิจัย การประเมินคุณภาพผลผลิตและผลิตภัณฑ์โดยใช้เทคนิคการไม่ทำลายตัวอย่าง

หัวหน้าโครงการ นางสาวจรรุวรรณ บางแวก

การทดลองที่ 1.1 ประเมินคุณภาพน้ำมันพืชที่ใช้ปรุงอาหาร โดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นางสาวจรรุวรรณ บางแวก

การทดลองที่ 1.2 ประเมินปริมาณแอลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ไวน์หรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ โดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS)

หัวหน้าการทดลอง นางสาวจรรุวรรณ บางแวก

กิจกรรมที่ 2 การประเมินคุณภาพผลผลิตเกษตรโดยเทคนิค NIR spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นายอนุวัฒน์ รัตนชัย

การทดลองที่ 2.1 การประเมินปริมาณสารสำคัญในผลิตผลเกษตร โดยเทคนิค NIR Spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นายอนุวัฒน์ รัตนชัย

การทดลองที่ 2.2 การประเมินคุณภาพแป้งในพืชไร่ชนิดต่างๆ โดยใช้เทคนิค NIR Spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นายอนุวัฒน์ รัตนชัย

การทดลองที่ 2.3 การใช้เทคนิค NIR Spectroscopy ในการวิเคราะห์การติดเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยโดยไม่ทำลายตัวอย่าง

หัวหน้าการทดลอง นางกาญจนา กิระศักดิ์

การทดลองที่ 2.4 การตรวจสอบการปนเปื้อนแมลงวันผลไม้ (*Bactrocera dorsalis* Hendel) ในฝรั่งแป้นสีทองโดยใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

หัวหน้าการทดลอง นางกรรณิการ์ เพ็งคุ้ม

การทดลองที่ 2.5 การตรวจสอบการเข้าทำลายผลิตผลเกษตรของด้วงงวงข้าวโพดโดยใช้ NIR Spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นางใจทิพย์ อุไรชื่น

การทดลองที่ 2.6 การวัดปริมาณสารพิษโอคราทอกซินเอในเมล็ดกาแฟโดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นางสาวจรรุรัตน์ พุ่มประเสริฐ

การทดลองที่ 2.7 การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งธัญพืช โดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นางสาวจรรุวรรณ บางแวก

การทดลองที่ 2.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในใบชาเขียว โดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นายนฤเทพ เวชภิบาล

การทดลองที่ 2.9 การประเมินคุณภาพพืชตระกูลถั่วโดยใช้เทคนิคการไม่ทำลายตัวอย่างด้วย Near Infrared Spectroscopy

หัวหน้าการทดลอง นางภัควิไล ยอดทอง

บทคัดย่อ

คุณภาพผลผลิตและผลิตภัณฑ์ เช่น คุณภาพน้ำมันบริโภค องค์ประกอบทางเคมี เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ความชื้น ความหนืดแป้ง ปริมาณอมิโลส ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ปริมาณน้ำตาล ปริมาณแมลงที่ทำลายผลผลิต เป็นต้น คุณภาพและองค์ประกอบทางเคมีเหล่านี้เป็นข้อมูลที่สำคัญในการซื้อขายผลผลิต ปรับปรุงคุณภาพผลผลิต รักษามาตรฐานคุณภาพ เป็นต้น ซึ่งต้องใช้การวิเคราะห์คุณภาพในห้องปฏิบัติการ ซึ่งใช้เวลานาน ใช้สารเคมีที่อันตราย ใช้ผู้มีประสบการณ์ เครื่องมือมีราคาสูง และตัวอย่างจะถูกทำลาย ข้อจำกัดเหล่านี้ จึงนำเทคนิค Near Infrared Spectroscopy: NIRS จึงได้นำมาใช้ในการประเมินคุณภาพผลผลิตและผลิตภัณฑ์ เพราะสามารถประเมินคุณภาพได้สูง ได้ค่าที่ถูกต้อง แม่นยำ ได้ดีหรือใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ใช้เวลาน้อย ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่จำเป็นต้องใช้ผู้มีประสบการณ์ เทคนิค NIRS ใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงในย่าน NIR (800-2500 นาโนเมตร) และค่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยเลือกสมการที่มีความสัมพันธ์ที่มีค่าสหสัมพันธ์สูงใกล้เคียง 1 ค่าความคลาดเคลื่อนในการสร้างสมการ (SEC) และค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินผล (SEP) ต่ำที่สุดหรือต่ำกว่าค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ (sd) จากการศึกษาพบว่า เทคนิค NIRS สามารถใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำมันบริโภค องค์ประกอบทางเคมีในผลผลิต เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ความชื้น ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ความหนืดแป้ง ปริมาณอมิโลส ปริมาณน้ำตาล ปริมาณแมลงที่ทำลายผลผลิต เป็นต้น โดยใช้ตัวอย่างในรูปแบบเม็ด แป้ง ของเหลว ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำหลัก: เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี คุณภาพ องค์ประกอบทางเคมี

ABSTRACT

Qualities of produce and products such as cooking oil quality, chemical component were protein, oil, carbohydrate, moisture content, viscosity, amylose content, the amount of aflatoxin, sugar, insect damage etc. Qualities and chemical contents were the informations for purchase improve the qualities, control standard, etc. They were analyzed in laboratory that used long time, hazard chemicals, experience, high cost of equipments and sample damage. Near Infrared Spectroscopy: NIRS was interesting to instead laboratory analyses caused of it was effective to evaluated accuracy, percission, take short time, non destructive samples, not required experience. NIRS was statistical method to evaluate by PLS. High correlation between absorption at various wavelengths (800-2500 nm) and laboratory data, low SEC and SEP was effective equation. In this project was found that NIRS was the effective technique to evaluate chemical components were protein, oil, carbohydrate, moisture content, aflatoxin, viscosity, amylose content, sugar content, the amount of insect damage, etc. The samples could be used in forms of grain, flour or liquid.

Key words: Near Infrared Spectroscopy: NIRS, quality, chemical components,

คำนำ

ปัจจุบัน การส่งออก การซื้อขาย หรือราคาผลผลิตเกษตรและผลิตภัณฑ์ คำนึงถึงปริมาณของสารสำคัญและคุณภาพของผลผลิตและผลิตภัณฑ์ คุณภาพผลผลิตเช่น ปริมาณสตาร์ช โปรตีน น้ำมัน ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน ความชื้น ความหนืดแป็ง เป็นต้น

ผลผลิตเกษตร หลายชนิดที่ให้ปริมาณน้ำมันสูง สกัดน้ำมันพืชที่บริโภคหรือที่ใช้ออกมา เมื่อเก็บรักษานานคุณภาพจะเสื่อมทำให้เกิดกลิ่นหืนในโรงงานผลิตน้ำมันพืชหรือน้ำมันพืชต้องมีมาตรฐานคุณภาพน้ำมันในการผลิต โดยจะดูที่ ค่าความเป็นกรด (Acid Value: AV) ค่าไอโอดีน (Iodine Value: IV) ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value: PV)

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 205) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำมันและไขมัน

ข้อ 6 น้ำมันและไขมันต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) มีค่าของกรด (Acid Value) คิดเป็นมิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ต่อน้ำมันหรือไขมัน 1 กรัม

(1.1) ได้ไม่เกิน 4.0 สำหรับน้ำมันและไขมันซึ่งทำโดยวิธีธรรมชาติ

(1.2) ได้ไม่เกิน 0.6 สำหรับน้ำมันและไขมันซึ่งทำโดยวิธีผ่านกรรมวิธี

(1.3) ได้ไม่เกิน 4.0 สำหรับน้ำมันและไขมันผสมซึ่งทำโดยวิธีธรรมชาติ

(1.4) ได้ไม่เกิน 0.6 สำหรับน้ำมันและไขมันผสมซึ่งทำโดยวิธีผ่านกรรมวิธี

(1.5) ได้ไม่เกิน 1.0 สำหรับน้ำมันและไขมันซึ่งทำโดยวิธีผ่านกรรมวิธีผสมกับน้ำมันและไขมันซึ่งทำโดยวิธีธรรมชาติ

(2) มีค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value) คิดเป็นมิลลิกรัมสมมูลย์ ต่อน้ำมันและไขมัน 1 กิโลกรัม ได้ไม่เกิน 10

ค่าเหล่านี้จะบอกถึงคุณภาพน้ำมันพืชที่ใช้บริโภค ถ้าน้ำมันพืชเก็บรักษาไม่เหมาะสม น้ำมันก็จะเกิดกลิ่นหืน มีค่า AV IV PV สูงได้ ดังนั้นค่าเหล่านี้จะบอกถึงคุณภาพ ในการผลิตน้ำมันต้องคำนึงถึงมาตรฐานคุณภาพน้ำมันบริโภค ซึ่งกำหนดให้ค่า AV IV PV ไม่สูงกว่ามาตรฐานกำหนด

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำมัน

คุณภาพน้ำมันมีความสำคัญต่อการพิจารณาว่าน้ำมันใดบริโภคได้หรือไม่ สิ่งที่บอกว่าคุณภาพน้ำมันที่จะบริโภค ได้หรือไม่นั้นมีหลายอย่าง ในที่นี้พิจารณาค่าความเป็นกรด ค่าไอโอดีน ค่าสaponification และค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value)

1) ค่าความเป็นกรด คือ จำนวนมิลลิกรัมโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไขมันอิสระในน้ำมันหนักหนึ่งกรัม

2) ค่าไอโอดีน (iodine value: IV) (อภิญา, 2551) คือ จำนวนของไอโอดีนที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับน้ำมันหนัก 100 กรัม เป็นค่าที่บอกถึงความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน

ค่าไอโอดีนเป็นตัวชี้บ่งว่าไขมันหรือน้ำมันมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมากน้อยเพียงใด ถ้าค่าไอโอดีนสูง แสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมากและจะเกิดการหืนชนิด Oxidative rancidity ได้ง่ายด้วย

การหาค่าของไอโอดีนโดยวิธีของ Hanus โดยใช้สารละลายไอโอดีนมาตรฐานในกรดอะซิติกที่มีค่าไอโอดีนโบรมไนด์ช่วยเร่งปฏิกิริยา ทำปฏิกิริยากับไขมันตัวอย่างที่ทราบปริมาณที่แน่นอนซึ่งละลายในคลอโรฟอร์มหรือคาร์บอนเตตระคลอไรด์ทิ้งไว้ในที่มีระยะเวลาหนึ่ง ไตรเตรทปริมาณไอโอดีนที่เหลือจากปฏิกิริยาด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)

3) ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value: PV) (นิธิยา, 2529)

ค่าเปอร์ออกไซด์หมายถึง จำนวนมิลลิกรัมของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 โมลาร์ ที่ใช้ในการไตรเตรทไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม หรือหมายถึง จำนวนมิลลิกรัมสมมูลของเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อไขมันหรือน้ำมัน 1 กิโลกรัม หรือมิลลิโมลของออกซิเจนต่อกิโลกรัมของไขมัน (1 มิลลิโมลเท่ากับ 2 มิลลิกรัมสมมูล)

มาตรฐานน้ำมัน ข้อ (7) ไม่มีกลิ่นหืน

เครื่องตีเมล็ดแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ วิสกี้ เบียร์ ฯลฯ เป็นเครื่องตีที่ต้องมีการควบคุมปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต้องระบุไว้บนฉลากเพื่อบอกองค์ประกอบหรือคุณภาพไวน์ แต่สารแอลกอฮอล์เป็นสารระเหยได้ง่าย ในการผลิตจำเป็นต้องผลิตให้ได้มาตรฐานที่ระบุ ในเส้นทางการผลิตจำเป็นต้องตรวจวัดปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์เพื่อเป็นขบวนการควบคุมคุณภาพเช่นเดียวกัน ปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ หรือเมทานอล ต้องมีการควบคุมปริมาณในเส้นทางการผลิตเพราะเมทานอลเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ จึงต้องมีตรวจวัดปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ในขบวนการผลิต เพื่อควบคุมคุณภาพเครื่องตีเมล็ดแอลกอฮอล์ แต่วิธีการตรวจวัดทั้งปริมาณเอทานอล และเมทานอล เป็นวิธีการที่ใช้เวลา เครื่องมือที่มีราคาสูง ทั้งสารทั้ง 2 ชนิดเป็นสารระเหย ต้องใช้ผู้มีประสบการณ์ซึ่งวิธีการวัดปริมาณแอลกอฮอล์มีหลายวิธี คือ

Ebuliometer

วัดแอลกอฮอล์ด้วยอุณหภูมิที่จุดเดือดของน้ำหมักที่ลดลงเมื่อเทียบกับจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์และนำค่าอุณหภูมิจุดเดือดที่อ่านได้ ไปเทียบกับตารางที่ให้มากับเครื่องก็สามารถบอกปริมาณแอลกอฮอล์ได้แต่วิธีนี้อาจมีความคลาดเคลื่อนหากน้ำหมักของเรา มีสารละลายอยู่หลายอย่างเช่นมีน้ำตาลเหลืออยู่มากอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาแพงมาก

Vino-o-Meter

วิธีนี้ใช้ง่าย สะดวก อุปกรณ์เป็นหลอดแก้วเล็กๆ ราคาถูกแต่ค่าที่ได้ไม่น่าเชื่อถือเลยโดยเฉพาะในการวัดน้ำหนักที่ยังมีน้ำตาลอยู่เพราะเป็นอุปกรณ์ที่อาศัยความถ่วงจำเพาะและค่าจะไม่ถูกต้องขึ้นอยู่กับของแข็งที่ละลายอยู่ในสารละลาย

การกลั่น

เป็นวิธีที่กรมสรรพสามิตใช้ในการวิเคราะห์แอลกอฮอล์ของสุราแช่ โดยการกลั่นแอลกอฮอล์แยกออกจากสารละลายที่มีกรดและน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ที่ละลายในน้ำเท่านั้นจากนั้นก็สามารรถใช้หลักความถ่วงจำเพาะ วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ โดยหย่อน hydrometer ลงในกระบอกตวงที่มีน้ำสุราที่กลั่นได้ก็จะสามารถอ่านค่าแอลกอฮอล์ได้อย่างแม่นยำโดยไม่ต้องปรับอุณหภูมิของน้ำสุราให้เป็น 20 องศาเซลเซียสแต่วิธีนี้ต้องใช้น้ำหนักจำนวนมากเพื่อกลั่นให้ได้สุราพอที่จะนำไปใส่ในกระบอกตวงเพื่อหย่อน hydrometer จึงไม่เหมาะกับการวิเคราะห์น้ำหนักในระหว่างการหมักในการวิจัยที่ต้องเก็บตัวอย่างน้ำหนักหลายๆ ครั้ง

ชุดทดสอบทางเอนไซม์

อาศัยหลักการ เอธานอลจะถูกออกซิไดส์ด้วยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส เกิดเป็นอะเซตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) และปฏิกิริยานี้จะวัดการดูดกลืนแสงได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ 340 นาโนเมตร นำค่ามาคำนวณด้วยสมการก็จะได้ปริมาณเอธานอลเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรแต่วิธีนี้ใช้กับแอลกอฮอล์ปริมาณน้อยๆ ถ้าใช้ตัวอย่างเป็นน้ำหนักจึงต้องเจือจางร้อยละห้าชุดทดสอบนี้มีจำหน่ายโดย Boeringer Mannheim

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

เอธานอลที่ละลายอยู่ในสารละลาย สามารถแยกออกจากของผสมในระบบ HPLC ซึ่งสามารถวิเคราะห์ไปพร้อมกับน้ำตาลต่างๆในน้ำหนักได้ด้วย โดยใช้คอลัมน์ BIO-RAD Aminex® Fermentation Monitor column (150 x 7.8 mm, 5 µm) ใช้ Refractive Index detector

ก๊าซโครมาโตกราฟี (GC)

ก๊าซโครมาโตกราฟีเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูงที่ต้องมีผู้ชำนาญในการดูแลบำรุงรักษา และใช้งานอย่างถูกต้อง เครื่องมีราคาสูง นอกจากเครื่องมือเองซึ่งมีราคาหลายล้านยังต้องมีระบบสาธารณูปโภคได้แก่ถังก๊าซ ท่อก๊าซ ระบบระบายอากาศ สำหรับติดตั้งเครื่อง ฯลฯ

ผลผลิตพืช เช่น ข้าว ถั่วต่างๆ และพืชหลายชนิด กาแฟเป็นพืชหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และมีส่วนประกอบสำคัญที่เกิดจากสารประกอบหลายชนิด เช่น ฟุราน, ไพราซีน, คีโตน, แอลกอฮอล์, อัลดีไฮด์, แอสเทอร์, ไพโรล, ไทโอเพน, สารประกอบซัลเฟอร์, สารประกอบเบนซีนิก, ฟีนอล, ไพรีดีน, ไทอาโซล, อ็อกซาโซล, แลคโตน, อัลคาล, อัลคีน และกรด (Mondello,2004) สิ่งสำคัญที่ดึงดูดผู้บริโภคกาแฟก็คือกลิ่นหอมเฉพาะตัวของกาแฟขณะที่ชง กาแฟดิบจะไม่มีกลิ่นกาแฟในตัวเอง การพัฒนาของกลิ่นกาแฟเกิดขึ้นในระหว่างการคั่วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี ซึ่งมีผลในการพัฒนากลิ่นและรสชาติของกาแฟ และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและมีขนาดของเมล็ดกาแฟที่ใหญ่ขึ้น การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เป็นผลมาจากปฏิกิริยาขององค์ประกอบต่างๆ ในเมล็ดกาแฟ เช่น ปฏิกิริยา maillard reaction strecker degradation caramelization และ ปฏิกิริยา degradation ของไตรโกนีสลีน กรดคลอโรจีนิก โปรตีน และโพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น คุณภาพของกาแฟในด้านกลิ่นรสมีสารประกอบระเหยที่สำคัญได้แก่ ไพราซีน พี

นอล และสเตรกเกอร์อัลดีไฮด์ โดยจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบกลิ่นคั่วเป็นกลิ่นของไพราซีน กลิ่น
ยางเกิดจากสารประกอบไทออล และพบว่า อัตราส่วนของสารประกอบ 2-methylfuran กับ 2-butanone
ซึ่งเรียกว่า aroma index เป็นสิ่งที่บ่งชี้ถึงความสดใหม่ของกาแฟคั่ว ซึ่งสารทั้งสองชนิดไม่สามารถทดสอบ
ทางประสาทสัมผัสได้ (Teranishi, 1999) สารประกอบระเหยในกาแฟมีความซับซ้อน ดังนั้นในการวิเคราะห์
สารประกอบระเหยจากกาแฟจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนการสกัดซึ่งทำได้หลายวิธี ได้แก่ ใช้ตัวทำละลายโดยตรง
โดยวิธี purge and trap โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ และโดยใช้ตัวทำละลายในสภาวะสุญญากาศ อย่างไรก็ตาม
วิธีการสกัดเหล่านี้ยุ่งยาก ใช้เวลาและอุปกรณ์ราคาแพง รวมทั้งต้องใช้สารเคมีในการสกัด

ข้าวกล้องงอกเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีปริมาณ GABA สูง ทั้งยังป้องกันโรคมะเร็งลำไส้
ใหญ่รักษาระดับน้ำตาลในเลือดป้องกันโรคหัวใจช่วยลดความดันโลหิตรวมทั้งป้องกันโรคความจำเสื่อม
Alzheimer's (Shoichi, 2004) สามารถทำได้โดยข้าวกล้องงอก โดยแช่ข้าวเปลือกหรือข้าวกล้องในน้ำ เพาะ
จนเกิดราก มีความยาวประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ถึง 1 มิลลิเมตร แล้วนำไปผ่านความร้อน (นึ่ง อบ หรือต้ม)
และ/หรือลดความชื้นเพื่อให้แห้ง (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555) ข้าวกล้อง
งอกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำข้าวกล้องมาแปรรูปโดยการงอก การเกิดสาร GABA เพราะสารอาหารที่
เมล็ดข้าวเก็บสะสมไว้ในส่วนเนื้อเยื่อสะสมอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยสลายโดย
เอนไซม์ไฮโดรเลส (hydrolase) เช่น อะไมเลส (amylase) และฟอสฟอริเลส (phosphorylase) จากรูป
น้ำตาลที่ละลายไม่ได้เป็นรูปน้ำตาลที่ละลายได้ ทำให้ข้าวกล้องงอกมีรสหวาน โปรตีนถูกย่อยโดยเอนไซม์
โปรตีเอส (protease) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นใหม่ในระหว่างการงอกของเมล็ด ได้กรดอะมิโนเกิดขึ้นหลาย
ชนิดที่สำคัญ ได้แก่ กรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (gamma aminobutyric acid) หรือ กาบา (GABA)
นอกจากนี้เมล็ดธัญพืชอื่นเช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียว เป็นต้น มีปริมาณ สาร GABA สูงเช่นกัน งานวิจัยของ
Komatsuzaki *et al.* (2007) พบว่าข้าวที่ผ่านกระบวนการงอก มีปริมาณ GABA เพิ่มขึ้น 2 เท่าของข้าวที่ไม่
ผ่านการงอก วัฒนา และคณะ (2550) พบว่าการควบคุมพีเอช และอุณหภูมิของน้ำ รวมทั้งระยะเวลาในการ
แช่ข้าว สามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารของข้าวกล้องงอกได้ การเพิ่มขึ้นของปริมาณ GABA ในสภาวะที่มีการ
ปรับ pH เนื่องจากสภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อย H^+ ไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ glutamate
decarboxylase ทำให้เกิดการเปลี่ยน glutamic acid ไปเป็น GABA ทำให้มีปริมาณ GABA มากขึ้น (Shelp
et al., 1999) การเพิ่มปริมาณสารอาหารของข้าวโดยใช้กระบวนการงอก พบว่าเมื่อนำข้าวกล้องไปแช่น้ำที่
อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พีเอช 5.5 นาน 48 ชั่วโมง ถั่วเหลือง และถั่วเขียว แช่นาน 6 ชั่วโมงทำให้มี
ปริมาณ GABA สูงกว่าเมล็ดที่ยังไม่ผ่านกระบวนการงอก (อิงฟ้า และคณะ, 2552) และ วรัมย์พร และคณะ
(2555) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของข้าวกล้อง 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวหอมนิล ข้าวขาวดอกมะลิ 105
และข้าวเหนียวดำที่ผ่านกระบวนการงอกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลางอก 48 ชั่วโมง พบว่า ข้าว
ทั้ง 3 พันธุ์ที่ผ่านกระบวนการงอกมีปริมาณ GABA เพิ่มขึ้น 1-4 เท่าเมื่อเทียบกับข้าวที่ยังไม่เพาะงอก

ถั่วเหลือง เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของไทย เพราะเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหาร
ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรตประมาณ 33.9% โปรตีน 34.2% ไขมัน 16.7% เส้นใย 21.9% และเถ้า 5.9%
(Puwastien *et al.*, 1999) ทั้งยังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมหลายประเภท การรับประทานโปรตีน

จากถั่วเหลืองสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในคนที่มียกระดับโคเลสเตอรอลสูงได้ โดยเฉลี่ยโปรตีนจากถั่วเหลืองสามารถลดโคเลสเตอรอลได้ประมาณร้อยละ 12-15 ผลอันนี้จะพบได้เมื่อรับประทานโปรตีนจากถั่วเหลืองเพียงวันละ 25 กรัม ดังนั้นการบริโภคโปรตีนจากถั่วเหลืองสามารถลดโอกาสเสี่ยงของโรคหัวใจได้ถึงร้อยละ 50 และถั่วเขียวมีคุณค่าทางอาหารสูงประกอบด้วย โปรตีน 21.7% ไขมัน 1.2% เสนใย 2.0% คาร์โบไฮเดรต 62.5% และเถ้า 4.2% (อรอนงค์, 2534)

ปริมาณน้ำตาลในผลผลิตเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในผลผลิต ถ้าต้องการนำผลผลิตพืชไปผลิตน้ำตาล แอลกอฮอล์ จำเป็นต้องทราบว่าจะแบ่งพืชนั้นมียังองค์ประกอบน้ำตาลชนิดใด ปริมาณเท่าใด เหมาะกับการบริโภคหรือไม่ จำเป็นต้องนำแบ่งไปวิเคราะห์ น้ำตาลส่วนใหญ่ในแป้ง คือ ฟรุคโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ของน้ำตาล ซูโครสและกลูโคส น้ำตาลซูโครส และกลูโคส เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว หรือสำหรับผู้บริโภคซึ่งมีปัญหาเกี่ยวกับน้ำตาลในเลือดสูง กลูโคสจะถูกดูดซึมเข้าเส้นเลือดได้ถ้าดูดซึมมากปริมาณกลูโคสมากก็จะเป็นอันตรายทำให้ให้น้ำตาลในเลือดสูง ชนิดและปริมาณของน้ำตาลในแป้งขึ้นกับชนิดของแป้งเช่น แป้งข้าวเจ้า เมื่อย่อยด้วยเอนไซม์อมิเลสจะให้น้ำตาลกลูโคสมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่น ส่วนแป้งบัวจะให้น้ำตาลกลูโคสต่ำ ดังนั้นการรู้ว่ามีผลผลิตพืชชนิดใดมีปริมาณน้ำตาลอะไร เพื่อพิจารณาว่าควรบริโภคแป้งชนิดใด ในการรักษาสุขภาพ ก็จะมีปริมาณกลูโคสมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่น การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลในแป้งนั้น โดยนำแป้งไปย่อยให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์ อมิเลส หรือกรด เพื่อย่อยโมเลกุลแป้งเป็นเวลาพอสมควร เพื่อดูองค์ประกอบของน้ำตาล ซึ่งปริมาณน้ำตาลที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณต่ำ วิธีการค่อนข้างยุ่งยาก ใช้เวลา ใช้เครื่องมือ

ด้านโรคพืช อ้อย พบอาการของโรคที่สำคัญ คือโรคใบขาวที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา (Wongkaew *et al.*, 1997) โดยมีเพลี้ยจักจั่น 2 ชนิดคือ *Matsumuratettix hiroglyhicus* และ *Yamatotettix flavovittatus* (Hanboonsong *et al.*, 2006) เป็นแมลงพาหะนำโรคอาการที่พบโดยทั่วไป เช่น สีใบอ้อยเป็นสีขาว สีขาวสลับเขียว สีเหลืองซีด และกอตะไคร้ เป็นต้น ลักษณะอาการดังกล่าวเป็นอาการที่อ้อยแสดงการตอบสนองต่อสภาวะที่พืชถูกโรคเข้าทำลาย เป็นกลไกการตอบสนองที่สำคัญ และเป็นกระบวนการที่มีการควบคุมภายในและนำไปสู่การตายของเซลล์เฉพาะอย่างในเวลาหรือสถานการณ์จำเพาะ ที่เรียกว่า Programmed Cell Death(PCD) (จริงแท้, 2549) การเกิด PCD มี 2 รูปแบบหลักคือ รูปแบบการเจริญเติบโตและการพัฒนาของสิ่งมีชีวิตโดยธรรมชาติ และ รูปแบบการตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมทั้งจากสิ่งมีชีวิต (biotic) และไม่มีชีวิต (abiotic) (Johnes, 2001) โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ สามารถตรวจสอบได้หลายทาง เช่น สัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา สรีรวิทยา เซลล์วิทยา และชีวเคมี เป็นต้น สำหรับกระบวนการเกิด PCD ในพืชที่เกิดจากการตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมที่มาจากสิ่งมีชีวิต ก็คือการถูกโรคพืชเข้าทำลาย ซึ่งบริเวณที่โรคพืชเข้าทำลายพืชนั้น เป็นบริเวณที่พืชมีกลไกการตอบสนองอย่างรวดเร็วต่อโรคพืชขึ้นนั้น เรียกว่า Hypersensitive response (HR) โดยทั่วไปเมื่อพืชได้รับเชื้อโรคเข้าไป พืชเกิดเปลี่ยนแปลงกลไกการทำงานต่าง ๆ ภายในต้น เช่น มีการเปลี่ยนแปลงของคลอโรพลาสต์ มีการสังเคราะห์เอนไซม์หลายชนิด และมีการปลดปล่อยน้ำออกจากเซลล์อย่างรวดเร็ว เป็นต้น จนกระทั่งส่งผลกระทบต่อแสดงอาการผิดปกติของลักษณะภายนอกพืชให้เห็น (Park, 2005) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของคลอโรพลาสต์ มีการสร้างแป้งและสะสมอยู่แทนที่ออร์แกเนลล์ต่าง ๆ ภายในคลอโรพลาสต์ ขึ้นมามากเกินความต้องการของพืช มีผลให้

ภายในคลอโรพลาสต์เสื่อมสภาพ ไม่สามารถสร้างคลอโรฟิลล์ได้ (Hatsuga *et al.*, 2004) จากการทดลองศึกษา PCD ในอ้อยที่เป็นโรคใบขาวที่ผ่านมาพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงออร์แกเนลภายในเซลล์ของใบอ้อย มีการสะสมปริมาณเม็ดแป้ง (amyloplast) ในใบอ้อยเพิ่มมากขึ้นตามระดับความรุนแรงของอาการใบขาวที่แสดงออกมาให้เห็นซึ่งการเปลี่ยนแปลงออร์แกเนลภายในเซลล์พืชที่ถูกโรคเข้าทำลายนั้น มีการยับยั้งผลในพืชบางชนิดไว้เช่นกัน ดังในใบยาสูบที่ได้รับเชื้อไวรัส มีการสะสมของเม็ดแป้งอยู่ภายในเซลล์มากกว่าปกติ (Hatsuga *et al.*, 2004) ซึ่งแป้งที่สะสมไว้ในใบมากกว่าปกติ เนื่องจากการได้รับผลกระทบของโรคที่เข้าทำลายพืชจึงเป็นออร์แกเนลชนิดหนึ่งที่สามารถใช้ชี้บ่งได้ว่าพืชนั้นถูกเชื้อเข้าทำลายต้นพันธุ์ได้

ฝรั่งเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงและเป็นที่ยอมรับในการบริโภคเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้ดีและมีศักยภาพในการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ การปลูกฝรั่งในประเทศไทยมีปัญหาจากการทำลายของแมลงวันผลไม้ทำให้ผลผลิตเสียหายและคุณภาพต่ำ ไม่สามารถส่งออกได้ แมลงชนิดนี้เป็นแมลงกักกันในหลายประเทศ ซึ่งมีข้อกำหนดในการส่งผลไม้เข้าประเทศต้องปราศจากแมลงชนิดแมลงวันผลไม้เป็นปัญหาในระดับประเทศที่ต้องให้ความสำคัญด้วยเป็นปัญหาด้านกักกันพืชและถูกใช้เป็นเครื่องมือกีดกันทางการค้าจากต่างประเทศ ปัญหาคือไม่สามารถมองเห็นการเข้าทำลายของแมลง

ผลผลิตรวมทั่วโลกในรูปของเมล็ดพืชและเมล็ดน้ำมันพืชในแต่ละปีมีปริมาณมาก นอกจากจะใช้เพื่อการบริโภคในแต่ละประเทศแล้ว ประเทศที่มีกำลังผลิตมากก็ส่งออกเมล็ดเหล่านี้ไปต่างประเทศ ระหว่างการเก็บรักษา และการขนส่งมักจะเกิดการสูญเสียหลังเก็บเกี่ยวเป็นจำนวนมากอันเนื่องมาจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรู และการเก็บรักษาที่ไม่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศในเขตร้อนขึ้นอย่างประเทศไทย ที่สภาพภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแมลง เชื้อจุลินทรีย์ และไร ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดความสูญเสียของเมล็ดทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ ปริมาณการสูญเสียของเมล็ดพืชทั่วโลกที่เกิดจากแมลงอยู่ระหว่าง 10-30% ทุกปี (White, 1995 อ้างอิงโดย Karunakaran, 2004) แมลงกินเมล็ดพืชเป็นอาหารซึ่งทำให้คุณภาพเมล็ดเสียไป ทำให้เมล็ดพันธุ์สูญเสียความงอก และทำให้น้ำหนักของผลผลิตลดลง นอกจากนี้แมลงยังทำให้ผลิตผลสกปรกด้วยการปล่อยมูล และทิ้งส่วนต่าง ๆ ของร่างกายรวมถึงคราบที่ระเหยหนีออกไว้ (พรทิพย์ และคณะ, 2551) การสูญเสียคุณภาพของเมล็ดจากการเข้าทำลายของแมลงขึ้นอยู่กับชนิดของแมลง อัตราการเจริญเติบโตของแมลงแต่ละชนิด และพฤติกรรมการเจริญเติบโต (Madrid and Sinha, 1982) แมลงบางชนิดวางไข่ที่ผิว เมื่อหอนอนฟักจะเจาะเมล็ดเข้าไปเจริญเติบโตและกักกินอยู่ภายในเมล็ด แมลงพวกนี้ได้แก่ ตัวงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*), ตัวงวงข้าว (*Sitophilus oryzae* L.) และมอดข้าวเปลือก (*Rhyzopertha dominica* F.) ระหว่างการเจริญเติบโตจากระยะไข่ถึงระยะหอน ตัวงวงข้าวสารกินเนื้อเมล็ดข้าวสาาลีได้ 5 เท่าของน้ำหนักตัว และประมาณ 68% ของน้ำหนักเมล็ดที่สูญเสียไป จะเกิดขึ้นระหว่าง 4 สัปดาห์แรกซึ่งไม่มีอะไรบ่งชี้จากภายนอกเมล็ดถึงการเข้าทำลายของแมลง (White, 1953) การเพิ่มของประชากรแมลงมีผลกระทบต่อคุณภาพการสีและการเปลี่ยนไปเป็นแป้ง และการกินเนื้อเมล็ดของแมลงมีผลอย่างมากต่อเมล็ดที่เก็บไว้ทำพันธุ์ โดยเมล็ดข้าวสาาลีที่เก็บไว้นาน 9 เดือนที่พบมอดแป้งเข้าทำลาย มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงจาก 89% (Edwards *et al.*, 1991) แมลงเข้าทำลาย 41 ตัวต่อข้าวสาาลี 100 กรัมมีผลทำให้การคืนตัวของแป้งต่ำกว่าข้าวสาาลีที่ไม่มีแมลงเข้าทำลายถึง 5% (Liscombe, 1962 อ้างอิงโดย Karunakaran *et al.*, 2004)

การเข้าทำลายเมล็ดของแมลงทำให้คาร์โบไฮเดรต วิตามิน โปรตีน และไขมันในเมล็ดลดลง (Jood *et al.*, 1992) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าวฟ่างที่เก็บรักษาไว้นาน 4 เดือน โดยไม่มีแมลงเข้าทำลาย แป้งที่ได้จากเมล็ดที่มีแมลงเข้าทำลายไม่เป็นที่ยอมรับของอุตสาหกรรมทำขนมด้วยเหตุผลในเรื่องของสุขภาพของผู้บริโภค ของเสียที่แมลงถ่ายออกมามีผลต่อการนำไปทำเบเกอรี่เช่นกัน สาร benzoquinone ที่มีออกซิเจนปฏิกิริยาทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแป้งนั้นมีรสขม (Smith *et al.*, 1971)

ในอุตสาหกรรมเมล็ด เมล็ดถูกเคลื่อนย้ายจากแหล่งผลิตจนถึงผู้บริโภคโดยผ่านขั้นตอนการเก็บรักษา การกระจายเมล็ดไปตามที่ต่าง ๆ การแปรรูป และการตลาด ระหว่างการเก็บรักษามักจะมีการสู่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบการเข้าทำลายของแมลง ระดับการเข้าทำลายของแมลงเป็นปัจจัยหนึ่งในการตัดสินคุณภาพของเมล็ด ในประเทศแคนาดาถ้าพบแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรที่มีชีวิตเพียง 1 ตัวในตัวอย่างที่สุ่ม ถือว่าเมล็ดนั้นถูกแมลงเข้าทำลายแล้ว และจะไม่ได้รับการยอมรับถ้ายังไม่มีมาตรการการจัดการ (Canada Grain Act, 1975 อ้างอิงโดย Karunakaran *et al.*, 2004) ประเทศสหรัฐอเมริกายอมให้มีแมลงที่มีชีวิตได้ไม่เกิน 2 ตัวต่อเมล็ดข้าวสาลี 1 กิโลกรัม ถ้าพบแมลงที่มีชีวิตมากกว่า 2 ตัวจะถือว่าเมล็ดข้าวสาลีนั้นถูกแมลงเข้าทำลายแล้ว และข้าวสาลีนั้นจะกลายเป็น sample grade ถ้าพบเมล็ดที่มีการเข้าทำลายของแมลง 32 เมล็ดต่อข้าวสาลี 100 กรัม (USDA, 1997) ความล้มเหลวของการตรวจสอบการเข้าทำลายของแมลงจากต้นทาง นำไปสู่การระบาดของแมลงที่รุนแรงในภายหลัง ดังตัวอย่างเช่น ตัวอย่างข้าวสาลีที่ผ่านการตรวจสอบด้วยตะแกรงร้อนจาก 70 แหล่งในสหรัฐอเมริกา พบการเข้าทำลายของแมลงเพียง 4% แต่ตัวอย่างเดียวกันนั้นเมื่อผ่านการทำความสะอาด และเก็บไว้ 4-6 สัปดาห์ เมื่อนำมาตรวจสอบอีกครั้ง พบการเข้าทำลายของแมลงถึง 16% (Storey *et al.*, 1982) เห็นได้ว่ามีเมล็ดจำนวนมากที่มีระยะหนอนของแมลงซ่อนอยู่ภายในถึงแม้ว่าจะไม่พบตัวเต็มวัยในขณะที่ทำการตรวจสอบ ซึ่งการหลบซ่อนนี้จะเป็นสาเหตุทำให้เกิดความสูญเสียอย่างรุนแรงตามมาในระหว่างการเก็บและการขนส่ง เป็นการยากที่จะตรวจพบการเจริญเติบโตของแมลงภายในเมล็ด และการเข้าทำลายของแมลงที่กินแต่เพียงภายนอกเมล็ดในระดับต่ำถ้าไม่พบตัวแมลงในตัวอย่างที่สุ่มมา ในประเทศแคนาดาตรวจสอบตัวแทนเมล็ดจำนวน 1 กิโลกรัมด้วยกรวยเบอเลส(Belese funnels) เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมงเพื่อแยกแมลงที่มีชีวิตออก แต่ในระหว่างนี้เมล็ดอาจจะถูกทำลายและบรรทุกไปในเรือเพื่อการส่งออกแล้ว (Karunakaran *et al.*, 2004)

การตรวจสอบการเข้าทำลายของแมลงศัตรูในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวเป็นสิ่งจำเป็น จากการสุ่มตัวอย่างอาจไม่พบแมลง แต่ก็มีได้หมายความว่ายังไม่เกิดความเสียหายขึ้น แมลงในระยะหนอนอาจหลบซ่อนอยู่ภายในซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ หรือแม้แต่ใช้วิธีการบางวิธีก็ยังไม่สามารถตรวจพบได้ การร่อนด้วยตะแกรงเป็นการตรวจสอบอย่างง่ายสำหรับแมลงระยะตัวเต็มวัยที่กีดกันเมล็ดอยู่ภายนอก แต่การตรวจสอบการทำลายของแมลงที่อยู่ภายในเมล็ดก็ทำได้ยาก ได้มีการพัฒนาวิธีการหลาย ๆ วิธีขึ้นเพื่อตรวจสอบเมล็ดที่เสียหายได้แก่ การย้อมสีเมล็ดเพื่อตรวจสอบการวางไข่ของตัว การลอยน้ำของเมล็ดที่ถูกทำลายแล้ว การตรวจสอบเสียง การวัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่แมลงสร้างขึ้น การวัดกรดยูริก หรือแม้แต่การใช้รังสีเอกซ์ (Karunakaran *et al.*, 2004) ซึ่งแต่ละวิธีก็มีข้อดีข้อจำกัดแตกต่างกันออกไป การตรวจพบการเข้าทำลายของ

แมลงยิ่งเร็วเท่าใด ยิ่งทำให้การเก็บรักษาเมล็ดมีคุณภาพยิ่งขึ้น และทำให้การป้องกันการเข้าทำลายของแมลง ช่วยเสริมการทำความสะอาดเมล็ดได้เพื่อการใช้สารเคมีให้น้อยที่สุด หรือการใช้สารรมเท่าที่จำเป็นเท่านั้น

ปัจจุบันกาแฟเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมอย่างมาก และในกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า เมล็ดกาแฟมีการปนเปื้อนของเชื้อราและมีการสร้างสารพิษโอคราทอกซิน เอ ขึ้น การนำเมล็ดกาแฟไปคั่วไม่สามารถทำลายสารพิษโอคราทอกซิน เอ ในเมล็ดกาแฟได้และสารพิษจะปนออกมาในน้ำกาแฟที่คั่ว สารพิษโอคราทอกซิน เอ ในเมล็ดกาแฟเป็นสารทุติยภูมิที่ถูกสร้างขึ้นมาจากเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* และ *Penicillium verucosum* ราชนิดนี้สามารถเจริญและสร้างสารพิษได้บนเมล็ดกาแฟ เมล็ดธัญพืช ผลไม้ อบแห้งและในผลิตภัณฑ์อาหาร สารพิษโอคราทอกซิน เอ เป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยง เมื่อคนและสัตว์ ได้รับอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีสารพิษนี้เข้าไปจะก่อให้เกิดความเป็นพิษและอันตรายอย่างมากต่อไต และระบบประสาท (Palma et al, 2007)

กาแฟจัดเป็นเมล็ดพืชชนิดหนึ่งที่มีการตรวจพบการปนเปื้อนของสารพิษสารโอคราทอกซิน เอ ซึ่งเป็นสารพิษที่สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus ochraceus* มีความเป็นพิษทำอันตรายต่อระบบประสาท ตับ และไต หน่วยงานต่างๆ เช่น FAO , WTO , CODEX ได้ให้ความสำคัญอย่างมาก ซึ่งองค์การการค้าโลก (WTO) ได้ กำหนดค่าปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ที่ยอมให้มีได้ในเมล็ดกาแฟและผลิตภัณฑ์ไว้ที่ 5 และ 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ สารโอคราทอกซิน เอ เกิดขึ้นได้ในระหว่างการผลิตโดยเฉพาะในสภาพอากาศที่มีความชื้น ตั้งแต่ระยะเก็บเกี่ยวผลกาแฟ ระยะการตากแห้งผลกาแฟ และระยะเก็บรักษาเมล็ดกาแฟ เมื่อนำเมล็ดกาแฟไปผ่านการแปรรูปแล้ว สารพิษเหล่านี้ก็อาจยังปนเปื้อนอยู่ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2553)

ปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ที่ยอมรับให้บริโภคได้ไม่ควรเกิน 0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ของน้ำหนักตัวต่อวัน (Zimmerli and Dick, 1995) เมื่อทำการตรวจสอบโอคราทอกซิน เอ ในกาแฟคั่วที่จำหน่ายใน กรุงเทพมหานครจำนวน 17 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนจำนวน 1 ตัวอย่าง มีค่าปริมาณ 3.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (สิทธิพร, 2549) และเมื่อทำการรวบรวมและเก็บตัวอย่างเมล็ดกาแฟอาราบิก้าจำนวน 32 ตัวอย่าง จากจังหวัดเชียงใหม่ และเมล็ดกาแฟโรบัสต้า จำนวน 32 ตัวอย่างจากจังหวัดชุมพร มาวัดปริมาณการปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอ พบว่าในกาแฟอาราบิก้าและกาแฟโรบัสต้ามีการปนเปื้อนของสารโอคราทอกซิน เอ ในระดับ 0.6 – 5.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ และ 1 – 27 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ตามลำดับ (Noonim, 2008) เนื่องจากสารพิษโอคราทอกซินเอ เป็นสารพิษที่มีความรุนแรงมากแม้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้เกิดอันตรายได้ การกำหนดค่าของปริมาณสารพิษโอคราทอกซิน เอ จึงกำหนดให้มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ($\mu\text{g}/\text{kg}$) และตามข้อกำหนดของมาตรฐานสินค้าเกษตรที่เกี่ยวข้องกับสารปนเปื้อน ให้ตรวจปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ในเมล็ดกาแฟ และพบได้ไม่เกิน 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2551)

การวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนของสารโอคราทอกซินเอในธัญพืชและผลิตภัณฑ์สามารถทำได้ด้วยวิธีการทางเคมีโดยใช้ High-performance liquid chromatography-fluorescence detection (HPLC-FLD) แม้ว่า HPLC ซึ่งจะให้ limit of detection (LOD) ต่ำแต่ต้นทุนการวิเคราะห์สูงและต้องใช้เวลาในการสกัดสารพิษค่อนข้างนานใช้เครื่องมือและอุปกรณ์มาก

ชา (*Camellia sinensis*) เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ปลูกกันมากในจังหวัดเชียงรายเชียงใหม่และแม่ฮ่องสอนชาที่ปลูกทางการค้าส่วนใหญ่เป็นชาใน 2 กลุ่มสายพันธุ์คือชาอัสสัมและชาจีนชาที่ปลูกในประเทศจะปลูกเพื่อนำใบชาไปผลิตเป็นชาใบแห้ง 3 ประเภทคือชาเขียวชาอู่หลงและชาดำ (ธีรพงษ์ และคณะ, 2555) ซึ่งชาทุกชนิดสามารถทำได้จากชาต้นเดียวกันแต่ผ่านกรรมวิธีแตกต่างกันออกไปชาถูกจัดประเภทตามกระบวนการแปรรูปหลังจากการเก็บเกี่ยวใบของชาจะถูกทิ้งให้สดและบ่มโดยทำให้เอนไซม์ในใบชาเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ ใบชาจะมีสีเข้มขึ้นคลอโรฟิลล์ในใบชาจะแตกตัว กลายเป็นสารแทนนินให้รสฝาด ต่อจากนั้นต้องหยุดการทำงานของเอนไซม์ โดยใช้ความร้อนเพื่อให้หยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากการศึกษาพบว่าใบชาอุดมไปด้วยสารคาเฟอีน (Caffeine; Caf) และสารพอลิฟีนอล (polyphenol) ซึ่งสารพอลิฟีนอลที่มักพบในชาได้แก่ คาเทชิน (Catechin; C) กรดแกลลิก (Gallic acid; GA), แกลโลคาเทชิน (Gallocatechin; GC) คาเทชินแกลเลต (Catechin gallate; CG) แกลโลคาเทชินแกลเลต (Gallocatechin gallate; GCG) อีพิกคาเทชิน (Epicatechin; EC) อีพิกคาเทชิน 3-แกลเลต (Epicatechin-3-gallate; ECG) อีพิกแกลโลคาเทชิน (Epigallocatechin; EGC) และ อีพิกแกลโลคาเทชิน 3-แกลเลต (Epigallocatechin-3-gallate; EGCG) สารพอลิฟีนอลในชาเขียวมีสมบัติเป็นโคเซนเนสส์สามารถออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งช่วยกำจัดอนุมูลอิสระที่เป็นพิษต่อร่างกายช่วยให้สุขภาพดีขึ้น ป้องกันการเกิดมะเร็งช่วยลดระดับไขมันในเลือด ลดการเกิดหลอดเลือดแข็งตัว (arthrosclerosis) ลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยในการเพิ่มการเผาผลาญพลังงาน และไขมันซึ่งมีผลต่อการลดน้ำหนัก รักษาสุขภาพช่องปาก เสริมสร้างกระดูกและฟันให้แข็งแรง ยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้ฟันผุ ลดอัตราการเสี่ยงจากการเป็นโรคหัวใจ ชะลอภาวะแก่ก่อนวัย(anti-aging)ช่วยกระตุ้นให้ระบบประสาท และร่างกายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มความยืดหยุ่นกล้ามเนื้อหัวใจและขยายผนังหลอดเลือดช่วยให้ร่างกายรู้สึกสดชื่น กระปรี้กระเปร่าและลดอาการตึงเครียดจากการทำงานหนักเนื่องจากคาเฟอีนยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) ป้องกันการเกิดกลิ่นหืนในอาหารได้ด้วย และมีฤทธิ์ในการช่วยล้างพิษออกจากร่างกาย (detoxicating potential) เป็นต้น (ศิริธร, 2557) ปัจจุบันนี้การวิเคราะห์สารสำคัญที่อยู่ในชาสามารถใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง (High Performance Liquid Chromatograph; HPLC) และเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (Capillary Electrophoresis; CE) แม้ว่าวิธีการนี้จะให้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำ และถูกต้อง แต่พบว่าเป็นวิธีที่ใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์นาน ใช้ผู้วิเคราะห์ที่มีประสบการณ์ ค่าใช้จ่ายสูง และเป็นทำลายตัวอย่าง (Kim *et al.*, 2007)

ถั่ว เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Fabaceae มีความสำคัญเพราะเป็นถั่วบางชนิด จะให้ปริมาณน้ำมันสูง บางชนิดให้ปริมาณโปรตีนสูง พืชที่จัดแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

1. ถั่วฝัก (Bean) เป็นถั่วที่มีในฝักเมล็ดไม่กลม กินได้ทั้งฝัก เช่นถั่วแขกถั่วพุ่มถั่วฝักยาวถั่วแปบหรือกินเฉพาะเมล็ด เช่นถั่วเหลืองถั่วปากอ้า
2. ถั่วฝักเมล็ดกลม (Pea) เป็นถั่วในฝักที่มีเมล็ดกลม กินฝักสดที่ยังไม่แก่เต็มที่ บางครั้งเรียกว่า Green Peaเช่นถั่วลันเตาถั่วชิกพี
3. ถั่วเมล็ดแบน (Lentil) ลักษณะเมล็ดแบนเล็กเหมือนนัยน์ตาคน มีหลายสี เช่น เขียว น้ำตาล นอกจากนี้เมล็ดของถั่วทั้ง 3 กลุ่มยังแบ่งได้เป็น 2 ชนิด

1. ถั่วน้ำมัน (Oilseed legume) คือ ชนิดที่มีโปรตีนและไขมันสูง ซึ่งจะสะสมพลังงานในรูปไขมัน ได้แก่ถั่วเหลืองถั่วลิสง

2. ถั่ว Pulse คือ ชนิดที่มีโปรตีนสูงและไขมันต่ำ ซึ่งสะสมพลังงานในรูปของคาร์โบไฮเดรต และเมล็ดมีแป้งสูง เช่นถั่วเขียวถั่วแดงถั่วดำถั่วแดงหลวงถั่วพุ่มถั่วลายถั่วปากอ้า ฯลฯ

การวิเคราะห์คุณภาพพืชตระกูลถั่วสามารถทำได้ด้วยวิธีการทางเคมีซึ่งมีต้นทุนการวิเคราะห์สูงและต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์ค่อนข้างนานใช้เครื่องมือ สารเคมี และอุปกรณ์

เห็นได้ว่า การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี หรือคุณภาพของผลผลิตและผลิตภัณฑ์สำหรับผู้บริโภค ผู้ส่งออก ผู้ประกอบการ ที่ปัจจุบันมีความจำเป็นต้องมีข้อมูลที่ใช้เวลาสั้นที่สุด ปลอดภัย แต่การวิเคราะห์ดังกล่าวจะค่อนข้างยุ่งยาก ซับซ้อน ใช้สารเคมีที่มีอันตราย ทำลายตัวอย่าง

เทคนิค NIR Spectroscopy (NIRS) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในสหรัฐอเมริกา ยุโรป ญี่ปุ่น เกาหลี จีน เป็นต้น เทคนิคนี้เป็นวิธีที่ให้ความถูกต้อง แม่นยำ ใช้เวลาสั้น ไม่ใช้สารเคมี ตัวอย่างไม่ถูกทำลาย แต่สามารถใช้ประเมินได้เฉพาะองค์ประกอบที่เป็นอินทรีย์สารเท่านั้น เช่น น้ำหนักแห้งในหัวหอม (Birth *et al.*, 1985) soluble solids ในแคนตาลูป (Dull *et al.*, 1989) ค่าความหวาน ($^{\circ}$ Brix) ในพีช (Kawano *et al.*, 1992) ปริมาณแป้ง ปริมาณโปรตีนในข้าวสาลี ความชื้นเมล็ด เป็นต้น โดยใช้หลักการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงในช่วง NIR คือ 800-2500 นาโนเมตรจะส่งผ่านวัตถุที่เป็นของแข็งของเหลวต่างกัน ถ้าเป็นของแข็งจะใช้หลักการสะท้อนแสง (reflection) ถ้าเป็นของเหลว จะใช้หลักการส่งผ่านแสงทะลุวัตถุ (transmission) แล้ววัดการดูดซับแสง (absorption) ของสาร นำมาหาความสัมพันธ์กับค่าวิเคราะห์สารที่ต้องการจากห้องปฏิบัติการ ปรับปรุงสมการเพื่อให้การประเมินได้อย่างถูกต้องแม่นยำในการประเมิน วิธีการนำสมการไปใช้ โดยนำค่าการดูดซับแสงของตัวอย่างที่ต้องการประเมินมาแทนที่ในสมการ ก็จะได้ค่าการประเมิน ภายใน 2-3 นาที

แสงในย่าน NIR (800-2500 นาโนเมตร) จะส่งผ่านวัตถุที่เป็นอินทรีย์สาร สารที่อยู่ภายในวัตถุ เช่น โปรตีน ความชื้น ก็จะดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะของสารแต่ละชนิด เช่น น้ำก็จะดูดซับสารที่ความยาวคลื่น 970 1450 และ 1940 นาโนเมตร เมื่อใช้เครื่อง NIR Spectrometer วัดค่าการดูดซับแสงของวัตถุที่มีความชื้นต่างกันก็จะเห็นความแตกต่างของค่าการดูดซับแสงที่ความยาวดังกล่าว

จากหลักการว่าวัตถุที่มีองค์ประกอบทางเคมีต่างกันจะสามารถเห็นความแตกต่างของค่าการดูดซับแสงได้ความยาวคลื่นเฉพาะ จึงนำหลักเกณฑ์นี้มาใช้โดยดูความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ต้องการประเมินกับค่าการดูดซับสาร โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป ดังนั้น ถ้าสมการที่ได้มีความสัมพันธ์สูงระหว่างค่าจากการวิเคราะห์และค่าจากการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ (R ใกล้เคียง 1) ปรับปรุงสมการจนได้ค่า R สูง SEC และ ค่า SEP ต่ำ แล้วนำสมการที่ได้ไปประเมินวัตถุอื่นเพื่อความสะดวก ได้ค่าที่ถูกต้องแม่นยำ ไม่ทำลายตัวอย่าง จึงควรนำเทคนิค NIR Spectroscopy มาทดลองใช้เพื่อแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

NIR (Near Infrared Spectroscopy) เป็นเครื่องมือที่สามารถวัดค่าสารอินทรีย์ต่าง ๆ ได้ ทั้งทางปริมาณและคุณภาพโดยใช้หลักการดูดกลืนแสงในช่วงความคลื่นประมาณ 800-2500 นาโนเมตร เช่น การวัดค่าโปรตีน ไขมัน แป้ง และน้ำตาล เป็นต้น ซึ่งมีการใช้เครื่อง NIR ในทางอุตสาหกรรมยา อาหาร และด้าน

การเกษตร เพื่อตรวจวัดปริมาณสารต่าง ๆ ว่าตรงตามมาตรฐานที่ต้องการหรือไม่ คุณภาพของผลผลิตหรือผลิตภัณฑ์เพื่อการบริโภค ก่อนที่จะนำไปบริโภค หรือเพื่อตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบ หรือผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะงานตรวจวิเคราะห์ที่เป็นงานประจำ (routine) หรือในอุตสาหกรรมที่ต้องมีการตรวจวิเคราะห์คุณภาพวัตถุดิบก่อนเข้าผลิต หรือคุณภาพผลิตภัณฑ์สุดท้ายซึ่งการตรวจสอบคุณภาพเป็นสิ่งที่ยุ่งยาก

โครงการทดลองนี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อหาวิธีการที่ใช้ประเมินคุณภาพผลผลิตและผลิตภัณฑ์จากผลผลิตได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ และไม่ทำลายตัวอย่าง ทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการและเพื่อขยายผลและเผยแพร่ความรู้แก่ผู้ประกอบการ นักวิชาการ และผู้สนใจทั่วไป ให้นำวิธีการนี้ไปใช้อย่างกว้างขวาง

วิธีดำเนินการ

การทดลองที่ 1.1 ประเมินคุณภาพน้ำมันพืชที่ใช้ปรุงอาหาร โดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy

ขั้นตอนที่ 1 การวัดการดูดซับแสง

-นำน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ที่มีคุณภาพต่างๆ ปริมาณ 5 มล. ใส่ใน cuvette วัดการดูดซับแสงโดยใช้หลักการส่งผ่านแสง (Transmission) ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง NIR Spectrometer

ขั้นตอนที่ 2 วิเคราะห์คุณภาพน้ำมัน

-นำน้ำมันพืชจากขั้นตอนที่ 1 ไปวิเคราะห์ค่า AV IV PV และค่าความหืน (rancid) ตามวิธีของ AOAC

ขั้นตอนที่ 3 สร้างและปรับปรุงสมการเพื่อใช้ประเมินคุณภาพน้ำมัน

หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงน้ำมันพืชที่มีคุณภาพต่างๆ ที่ความยาวคลื่นต่างๆ ตั้งแต่ 450-2500 นาโนเมตร โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler (Camo, สวีเดน) พร้อมทั้งปรับปรุงสมการโดยดูจากความสัมพันธ์ (R) สูง ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration: SEC) และค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction: SEP) ต่ำ ถ้าประสิทธิภาพต่ำ ให้ใช้การปรับปรุงสมการโดยใช้วิธีทางคณิตศาสตร์ ได้สมการทั้งหมด 4 สมการ เพื่อประเมินค่าความหืน (rancid) ความเป็นกรด (AV) ค่า Iodine value: IV ค่า Peroxide value: PV

เวลาและสถานที่ดำเนินงาน ตั้งแต่ ต.ค. 2556 – ก.ย. 2557

ดำเนินงานที่กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

การทดลองที่ 1.2 ประเมินปริมาณแอลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ไวน์ หรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ โดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS)

รวบรวมตัวอย่างไวน์จากแหล่งต่างๆ จำนวนไม่ต่ำกว่า 100 ตัวอย่าง นำตัวอย่างมาผสมด้วยน้ำหรือไวน์ต่างชนิดกัน เพื่อให้มีปริมาณแอลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์ต่างๆ กัน

แต่ละตัวอย่างแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer (FOSS6500) ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร อีกส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ และเมทิลแอลกอฮอล์ ด้วยเครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์แบบ Ebulliometer และปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ ด้วยเครื่อง GC

ทำสมการโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler (Camo, Oslo, Norway) โดยใช้ค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ และค่าการวิเคราะห์ค่าเอทานอล และ เมทานอลจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

เลือกสมการให้ได้สมการที่มีประสิทธิภาพในการประเมิน โดยดูจากค่าสหสัมพันธ์ Correlation coefficient (R) ให้ใกล้เคียง 1 ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration: SEC) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction: SEP) เปรียบเทียบกับค่า Standard deviation: (sd) จากการวิเคราะห์

นำสมการไปทดสอบกับตัวอย่างเครื่องต้มแอลกอฮอล์ว่ามีความถูกต้องหรือไม่

กิจกรรมที่ 2 การประเมินคุณภาพผลผลิตเกษตรโดยเทคนิค NIR spectroscopy

การทดลองที่ 2.1 การประเมินปริมาณสารสำคัญในผลิตผลเกษตร โดยเทคนิค NIR Spectroscopy การประเมินปริมาณสารสำคัญในผลิตผลเกษตร โดยเทคนิค NIR Spectroscopy

การทดลองที่ 2.1.1 ศึกษาวิธีการประเมินค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดโดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

1. รวบรวมตัวอย่างกาแฟคั่วบดจากแหล่งต่างๆ ไม่ต่ำกว่า 50 ตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์ปริมาณสารให้กลิ่นในห้องปฏิบัติการ

2. แบ่งตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 800 – 2500nm โดยใช้แสงสะท้อนกลับ (reflection)

3. นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler (Camo, Oslo, Norway) ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า Standard Error of Calibration (SEC) และค่า Correlation Coefficient (R) ตรวจสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้นโดยเปรียบเทียบค่า Standard Error of Prediction (SEP) และ Bias เพื่อประเมินโดยใช้ข้อมูลในส่วนที่ไม่ได้ใช้ในการทำสมการ

4. นำสมการที่ได้ไปใช้ในการประเมินค่าปริมาณสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดตามกรรมวิธีการคั่วกาแฟที่แตกต่างกัน

เวลาและสถานที่ดำเนินงาน ตั้งแต่ ต.ค. 2553 –กย. 2555

ดำเนินงานที่กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

การทดลองที่ 2.1.2 การประเมินปริมาณสาร GABA ในข้าวกล้องงอกและธัญพืชงอกโดยใช้เทคนิค NIR

นำตัวอย่างเมล็ดข้าวกล้องงอกพันธุ์ต่างๆจากกรมการข้าวและแหล่งจำหน่าย จำนวนรวม 124 ตัวอย่าง ถั่วเหลืองจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 310 ตัวอย่าง ถั่วเขียวจากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 260 ตัวอย่างทำปี้ละพืช โดยนำตัวอย่างบรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับเมล็ดธัญพืช นำไปสแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-2500 nm เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของข้าวกล้องงอกเมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเขียว

นำเมล็ดถั่วเหลือง ถั่วเขียว ไปเพาะงอก โดยแช่เมล็ดถั่วเหลือง ถั่วเขียว ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พีเอช (pH) 5.5 นาน 6 ชั่วโมง และอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ดัดแปลงวิธีการเพาะงอก (อิงฟ้า, 2552) นำไปสแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-2500 nm ได้ spectrum ของเมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก เมล็ดถั่วเขียวเพาะงอก

ตัวอย่างเมล็ดข้าวกล้องงอก เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเขียว เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก เมล็ดถั่วเขียวเพาะงอก บดเป็นแป้งฟลาวด้วยเครื่องบดตัวอย่างชนิด cyclotec นำแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียวเพาะงอก บรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับแป้ง สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-2500 nm เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของแป้งฟลาวข้าวกล้องงอกถั่วเหลือง ถั่วเขียวถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียวเพาะงอก

นำตัวอย่างแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียวเพาะงอก ไปสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสาร GABA ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค HPLC ดัดแปลงตามวิธีวิเคราะห์ปริมาณสาร GABA ตามมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่องข้าวกล้องงอก (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555) และหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง (absorption) กับปริมาณปริมาณสาร GABA และค่าความคลาดเคลื่อนของการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP)

สร้างสมการถดถอยเชิงสมการเส้นโดยใช้เทคนิค Partial Least Square Regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม the Unscrambler (CAMO, Oslo, Norway) ข้อมูลถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ calibration set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่างข้อมูลปริมาณสาร GABA ที่วัดโดยวิธีมาตรฐานกับข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500nm กลุ่มที่ 2 คือ validation set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบสมการถดถอยเชิงเส้นในการทำนายปริมาณสาร GABA ของตัวอย่างเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียวเพาะงอก

ระยะดำเนินการ ตุลาคม 2555-กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการ
เกษตร

การทดลองที่ 2.2 การประเมินคุณภาพแป้งในพืชไร่ชนิดต่างๆ โดยใช้เทคนิค NIR Spectroscopy

การทดลองที่ 2.2.1 การประเมินปริมาณโปรตีนในเมล็ดธัญพืช โดยเทคนิค Near Infrared

นำตัวอย่าง ถั่วเหลืองจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 144 ตัวอย่าง ถั่วเขียวจากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 80 ตัวอย่าง ทำปี้ละพืช โดยนำตัวอย่างบรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับเมล็ดธัญพืช นำไปสแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของเมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเขียว

นำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเขียว บดเป็นแป้งฟลาวด้วยเครื่องบดตัวอย่างนำแป้งฟลาวถั่วเหลือง ถั่วเขียว บรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับแป้ง สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-2500 nm เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ถั่วเขียว

นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในห้องปฏิบัติการตามวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeldahl method) และหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง (absorption) กับปริมาณโปรตีนและค่าความคลาดเคลื่อนของการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP)

สร้างสมการถดถอยเชิงเส้นด้วยเทคนิค Partial Least Square Regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม the Unscrambler (CAMO, Oslo, Norway) ข้อมูลถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ calibration set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่างข้อมูลปริมาณโปรตีนที่วัดโดยวิธีมาตรฐานกับข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร กลุ่มที่ 2 คือ validation set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบสมการถดถอยเชิงเส้นในการทำนายปริมาณโปรตีนของตัวอย่างเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ถั่วเขียว

ระยะดำเนินการ ตุลาคม 2553-กันยายน 2554

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.2.2 การประเมินปริมาณแป้งในพืชไร่ชนิดต่างๆ โดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy

นำตัวอย่าง ถั่วเหลืองจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 136 ตัวอย่าง ถั่วเขียวจากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 80 ตัวอย่างโดยนำตัวอย่างบรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับเมล็ดธัญพืช นำไปสแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของเมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเขียว

นำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเขียวบดเป็นแป้งฟลาวด้วยเครื่องบดตัวอย่าง นำแป้งฟลาวถั่วเหลือง ถั่วเขียว บรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับแป้ง สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่

ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของแป้งฟลาวัวเหลือง ถั่วเขียว

นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ความชื้น เถ้า เส้นใย นำมาในห้องปฏิบัติการและหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง (absorption) กับปริมาณปริมาณคาร์โบไฮเดรตและค่าความคลาดเคลื่อนของการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP)

สร้างสมการถดถอยเชิงสมการเส้นด้วยเทคนิค Partial Least Square Regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม the Unscrambler (CAMO, Oslo, Norway) ข้อมูลถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ calibration set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่างข้อมูลปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่วัดโดยวิธีมาตรฐานกับข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500nm กลุ่มที่ 2 คือ validation set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบสมการถดถอยเชิงเส้นในการทำนายปริมาณคาร์โบไฮเดรตของตัวอย่างเมล็ดและแป้งฟลาวัวเหลือง ถั่วเขียว

ระยะดำเนินการ ตุลาคม 2554-กันยายน 2555

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการ
เกษตร

การทดลองที่ 2.2.3 การประเมินความหนืดในพืชไร่ชนิดต่างๆ โดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

นำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง จำนวน 108 ตัวอย่าง และตัวอย่างเมล็ดถั่วเขียวจำนวนรวม 80 ตัวอย่าง ทำที่ละชนิดพืช บรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับเมล็ดธัญพืช นำไปสแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้สเปกตรัม (spectrum) ของเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วเขียว

ตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองและเมล็ดถั่วเขียวถูกบดเป็นแป้งฟลาวัวด้วยเครื่องบดตัวอย่างนำแป้งฟลาวัวของ ถั่วเหลืองและถั่วเขียวบรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับแป้ง สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้สเปกตรัม spectrum ของแป้งฟลาวัวเหลืองและถั่วเขียว

นำตัวอย่างแป้งฟลาวัวเหลืองและถั่วเขียว ไปหาค่าความหนืดด้วยเครื่อง Brabender Micro Visco-Amylo-Graph ในห้องปฏิบัติการกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร (กวป.) นำตัวอย่างแป้งฟลาวัวเขียวไปทำเป็นแป้งสตาร์ชถั่วเขียวโดยปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนและนำแป้ง สตาร์ชไปอบที่อุณหภูมิประมาณ 55 องศาเซลเซียส จนแป้ง และนำไปบดให้ละเอียด และนำแป้งสตาร์ชถั่วเขียวบรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับแป้ง สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ สเปกตรัม spectrum ของแป้งสตาร์ชถั่วเขียว

นำตัวอย่างแป้งสตาร์ชถั่วเขียวไปหาค่าความหนืดด้วยเครื่อง Brabender Micro Visco-Amylo-Graph ในห้องปฏิบัติการ กวป.

หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง (absorption) ของเมล็ดถั่วเหลือง ถั่วเขียว แป้งฟลาวั้วเหลืองและถั่วเขียว แป้งสตาร์ชถั่วเขียวกับค่าความหนืดและค่าความคลาดเคลื่อนของการประเมิน (Standard of prediction, SEP)

หาสมการถดถอยเชิงสมการเส้นโดยใช้เทคนิค Partial Least Square Regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม the Unscrambler (CAMO, Oslo, Norway) ข้อมูลถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ calibration set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่างข้อมูลค่าความหนืดกับสร้างข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร กลุ่มที่ 2 คือ validation set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบสมการถดถอยเชิงเส้นในการทำนายค่าความหนืด

ระยะดำเนินการ ตุลาคม 2555-กันยายน 2556

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.2.4 การประเมินปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ในแป้งโดยเทคนิค NIR Spectroscopy

1. วัดค่าการดูดซับแสงในย่าน NIR (800-2500 นาโนเมตร) โดยใช้ตัวอย่างที่อยู่ในรูปแบบและเมล็ดพืชชนิดต่างๆ ที่มีน้ำตาลประเภท ซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส และน้ำตาลทั้งหมด

2. จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดทันทีโดยการย่อยด้วยเอนไซม์อมิเลส แล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมากรองวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

3. นำค่าการดูดซับแสง NIR ตั้งแต่ 450-2500 นาโนเมตรและค่าปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ นำมาสร้างสมการที่จะนำไปประเมินปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ในตัวอย่างที่มี 2 ลักษณะ คือ เมล็ดและแป้งพืช โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย (Regression) แบบ Partial Least Square (PLS) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler (Camo, Oslo, Norway) จะใช้การวิเคราะห์แบบ Full Cross validation

4. ปรับปรุงสมการโดยดูจากความสัมพันธ์ (R) สูง ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration: SEC) และค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction: SEP) ต่ำ ถ้าประสิทธิภาพต่ำ ให้ใช้การปรับปรุงสมการโดยใช้วิธีทางคณิตศาสตร์ ได้สมการทั้งหมด 8 สมการเพื่อประเมินปริมาณซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส และน้ำตาลทั้งหมดสำหรับเมล็ดและแป้งพืช

ระยะดำเนินการ ตุลาคม 2556 - กันยายน 2557

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.2.5 การประเมินปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในข้าวโพดต่างๆ โดยใช้เทคนิคการไม่ทำลายตัวอย่างด้วย Near Infrared Spectroscopy

นำตัวอย่างข้าวโพดจากศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 236 ตัวอย่างนำเมล็ดข้าวโพดลดความชื้นเมล็ดประมาณ 14% บรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับเมล็ดธัญพืช นำไปสแกนด้วย

เครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของข้าวโพด

นำตัวอย่างข้าวโพดไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างนำแป้งฟลาวข้าวโพด บรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับแป้ง สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของแป้งฟลาวข้าวโพด

นำตัวอย่างแป้งฟลาวข้าวโพดไปสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค HPLC ดัดแปลงตามวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ของ Riso and Porrini (1997) และหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง (absorption) กับปริมาณปริมาณสารแคโรทีนอยด์และค่าความคลาดเคลื่อนของการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP)

สร้างสมการถดถอยเชิงสมการเส้นด้วยเทคนิค partial least square regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม the Unscrambler (CAMO, Oslo, Norway) ข้อมูลถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ calibration set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่างข้อมูลปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่วัดโดยวิธีมาตรฐานกับข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร กลุ่มที่ 2 คือ validation set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบสมการถดถอยเชิงเส้นในการทำนายปริมาณสารแคโรทีนอยด์ของตัวอย่างเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวโพด

ระยะดำเนินการ ตุลาคม 2557-กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.3 การใช้เทคนิค NIR Spectroscopy ในการวิเคราะห์การติดเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยโดยไม่ทำลายตัวอย่าง

1. ศึกษาวิธีการวิเคราะห์แป้งในใบอ้อย

เก็บตัวอย่างใบอ้อยที่ไม่แสดงอาการ (ใบเขียว) และแสดงอาการใบเหลือง ใบขาวปนเขียว และใบขาวจากแปลงปลูกอ้อยของเกษตรกรในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเก็บใบที่มีความสมบูรณ์ นับใบที่ 3 จากยอด ในช่วงเวลา 10.00-11.30 น. จำนวน 100 ตัวอย่าง แบ่งกลุ่มตัวอย่างตามเขตที่เก็บ ใส่ตัวอย่างใบลงในถุงพลาสติกนำมาที่ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยพืชไร่ ทุกตัวอย่างก่อนทำการทดลองได้สแกนค่าสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR และนำไปทำการศึกษากัดและวิเคราะห์ปริมาณแป้งเบื้องต้น เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาวิธีการสกัดแป้งจากใบอ้อยมาก่อน ซึ่งในการศึกษานี้แบ่งเป็นการทดลองย่อยดังนี้

1.1 ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดและวิเคราะห์แป้ง

วิธีการสกัดแป้งใช้ Absolute Ethanol ร้อน (ดัดแปลงจากวิธีการของ MacRae, 1971) และการวิเคราะห์ปริมาณแป้งเปรียบเทียบ 2 วิธีการคือ การใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส และสาร 5-dinitrosalicylic

acid (DNS) (ดัดแปลงจากวิธีการของ MacRae, 1971 และ Kepper and Decker, 1974) และการใช้สาร ไอโอดีน (ดัดแปลงจากวิธีการของ Hassid and Neufeld, 1964) วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ

วิธีการสกัดแป้ง ใช้ใบอ้อยบดละเอียดด้วยเครื่องปั่น ซึ่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาดบรรจุ 250 มิลลิลิตร ทำ 3 ซ้ำ เติม Absolute Ethanol 50 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที (ระหว่างต้มควบคุมปริมาณโดยการเติม Absolute Ethanol ให้อยู่ในระดับ 50 มิลลิลิตรตลอดเวลา) ทิ้งไว้ให้เย็น ดูดสารละลายใส่หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาดบรรจุ 1.5 มิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร 4 ซ้ำ นำไปแช่ในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน จากนั้นจึงนำตัวอย่างออกมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm ต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เทส่วนใสทิ้งและล้างตะกอนด้วย Absolute Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร 2-3 ครั้ง ก่อนนำตะกอนไปทำให้แห้งด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนกระทั่งตะกอนไม่มีกลิ่นของ Absolute Ethanol จึงนำตะกอนแป้งไปชั่งหาปริมาณแป้งที่ได้ และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแป้งเปรียบเทียบกับอีก 2 วิธีการคือ

1.1.1 การใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส และสารดีเอ็นเอส (5-dinitrosalicylic acid)

นำแป้งที่ได้จากการสกัด และแป้งสำหรับทำค่ามาตรฐาน มาเติมน้ำกลั่น เติมสารบัฟเฟอร์ซีเตรตความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ พีเอช 4.8 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสละลายด้วยบัฟเฟอร์ซีเตรต) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำไปบ่มไว้ในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 300 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือด 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 550 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงมาตรฐานเพื่อหาปริมาณแป้ง

1.1.2 การใช้สารไอโอดีน

นำแป้งที่ได้จากการสกัด และแป้งสำหรับทำค่ามาตรฐานมาเติมน้ำกลั่น 200 ไมโครลิตร ต้มในน้ำเดือด 5 นาที นำขึ้นมาเขย่า ต้มต่ออีก 5 นาที และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12 000 rpm ต่อนาทีเติมสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดูดสารละลายปริมาณ 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาดบรรจุ 1.5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 655 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงมาตรฐานเพื่อหาปริมาณแป้ง

คัดเลือกวิธีการวิเคราะห์แป้งที่ดีที่สุดไปใช้ในการทดลองที่ 2

1.2 เปรียบเทียบปริมาณแป้งจากใบสดและใบแห้งจากสถานที่เก็บตัวอย่างต่างกัน

ใช้ใบอ้อยที่แสดงอาการใบขาวและไม่แสดงอาการใบขาว จากสถานที่เก็บตัวอย่างต่างกัน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD 3x2x4 จำนวน 3 ซ้ำ โดยมีปัจจัยที่ 1 คือ ใบสีเขียว ใบสีเหลือง ใบสีขาวยาว และใบขาว ปัจจัยที่ 2 คือ ใบสด และใบแห้ง และปัจจัยที่ 3 คือ สถานที่เก็บตัวอย่างที่ 1 2 และ 3 แบ่งตัวอย่างใบอ้อยทุกสถานที่เก็บเป็น 2 ชุด ชุดหนึ่งบรรจุตัวอย่างใบลงในถุงพลาสติกแช่ไว้บนน้ำแข็ง และอีกชุดหนึ่งใส่ถุงพลาสติกโดยไม่แช่บนน้ำแข็ง นำกลับมาที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ตัวอย่างที่แช่บนน้ำแข็งใช้เป็น

ตัวอย่างใบสดนำไปสแกนสเปกตรัมในเครื่อง NIR และวิเคราะห์แบ่ง สำหรับตัวอย่างอีกชุดหนึ่งนำมาผึ่งในที่ร่ม ประมาณ 3-5 วัน ให้แห้ง นำไปสแกนสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR ก่อนนำไปวิเคราะห์แบ่งผลการทดลองนำไปใช้ใน งานทดลองที่ 2 และ 3

1.3 ศึกษาปริมาณตัวอย่างใบอ้อยเริ่มต้น

ใช้ใบอ้อยสีเขียวผึ่งในที่ร่มให้แห้ง และชั่งน้ำหนักใบอ้อยเริ่มต้นต่างกันคือ 1 2 และ 5 กรัม ก่อนนำไป วิเคราะห์แบ่ง วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำผลการทดลองนำไปใช้ใน งานทดลองที่ 2 และ 3

2. วิเคราะห์ปริมาณแบ่ง

เก็บตัวอย่างใบอ้อยที่แสดงอาการใบขาว ใบขาวปนเขียว ใบเหลืองและไม่แสดงอาการ (ใบเขียว) จาก แปลงปลูกอ้อยของเกษตรกรในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเก็บใบที่มีความสมบูรณ์ ใบที่ 3 จากยอด ในช่วงเวลา 10.00-11.30 น. จำนวน 300 ตัวอย่าง แบ่งกลุ่มตัวอย่างตามเขตที่เก็บ ใส่ตัวอย่างใบลงใน ถุงพลาสติกนำมาที่ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยพืชไร่ สุ่มตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม โดยตัดส่วนโคนใบขนาดประมาณ 1x2 เซนติเมตร ส่งตรวจดีเอ็นเอเชื้อไฟโตพลาสมาที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของศูนย์วิจัยพืชไร่ ขอนแก่น และตัวอย่างใบส่วนที่เหลือนำมาตากแห้งในที่ร่มประมาณ 3-5 วัน ก่อนนำไปวิเคราะห์แบ่ง

2.1 วิธีการวิเคราะห์แบ่ง

นำใบอ้อยแห้งที่ไม่แสดงอาการ (ใบเขียว) และแสดงอาการใบเหลือง ใบขาวปนเขียว และใบขาว มา สแกนสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR ก่อนนำไปวิเคราะห์แบ่ง ซึ่งแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ การสกัดแบ่งโดยใช้ Absolute Ethanol ร้อน (ดัดแปลงจากวิธีการของ MacRae, 1971) และวิเคราะห์ปริมาณแบ่งด้วยการใช้สาร ไอโอดีน (ดัดแปลงจากวิธีการของ Hassid and Neufeld, 1964)

ขั้นตอนที่ 1 วิธีการสกัดแบ่ง ดำเนินการเช่นเดียวกันกับข้อ 1.1

ขั้นตอนที่ 2 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณแบ่ง โดยวิธีการใช้สารไอโอดีน ดำเนินเช่นเดียวกันกับข้อ 1.1.2 บันทึกผลการวิเคราะห์เป็นปริมาณแบ่งในหน่วยไมโครกรัม

3. การประยุกต์ใช้เทคนิค NIR

3.1 การสร้างสมการมาตรฐาน โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลสเปกตรัม NIR ของตัวอย่างใบอ้อย และปริมาณแบ่ง ปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมา ที่มาจากตัวอย่างใบอ้อยชุดเดียวกัน จำนวน 200 ตัวอย่าง

3.2 ทดสอบสมการมาตรฐานที่สร้างขึ้นโดยสแกนตัวอย่างใบอ้อยกับเครื่อง NIR อย่างน้อย 20 ตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างเดียวกันไปวิเคราะห์ปริมาณแบ่งและตรวจดีเอ็นเอเชื้อไฟโตพลาสมา ดูผลการ วิเคราะห์จากค่าสมการที่แสดงเป็นค่าปริมาณแบ่งและปริมาณเชื้อ เปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ค่าปริมาณ แบ่งและปริมาณเชื้อจากการวิเคราะห์ทางเคมี ซึ่งการใช้เทคนิค NIR ในการตรวจการติดเชื้อของอ้อยจะยอมรับ ได้ต่อเมื่อค่าวิเคราะห์จากสมการและค่าวิเคราะห์ทางเคมีมีค่าไม่แตกต่างกันหรือแตกต่างกันน้อยมาก

ระยะดำเนินการ ตุลาคม 2554- กันยายน 2556

สถานที่ดำเนินการ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การทดลองที่ 2.4 การตรวจสอบการปนเปื้อนแมลงวันผลไม้ (*Bactrocera dorsalis* Hendel) ในฝรั่งแป้นสีทองโดยใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

1. การเลี้ยงขยายพันธุ์แมลง

เพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* Hendel ด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลองโดยนำฝรั่งใส่ในกรงเลี้ยงแมลงที่มีวัยแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยอายุ 2-6 สัปดาห์ที่พร้อมวางไข่จำนวน 1,000 คู่เพื่อให้วางไข่นาน 2 ชั่วโมงแบ่งฝรั่งที่แมลงวางไข่แล้วออกเป็น 4 ส่วน เพื่อให้หนอนแมลงวันผลไม้ได้พัฒนาเข้าสู่หนอนระยะต่างๆ คือ

- 1) ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง เพื่อใช้ทดสอบระยะไข่
- 2) ทิ้งไว้ 2 วัน เพื่อใช้ทดสอบหนอนวัย 1
- 3) ทิ้งไว้ 4 วัน เพื่อใช้ทดสอบหนอนวัย 2
- 4) ทิ้งไว้ 6 วัน เพื่อใช้ทดสอบหนอนวัย 3

และกรรมวิธีควบคุม (คือผลฝรั่งที่ไม่ผ่านการวางไข่)

2. นำกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มมาทำการกำหนดตำแหน่งการวัด จากการสังเกตลักษณะภายนอกคือกลุ่มมีแมลงและกลุ่มไม่มีแมลงจากนั้นทำการกำหนดตำแหน่งการวัดโดยการทำเครื่องหมายลงบนผลฝรั่ง โดยกำหนดให้แต่ละตำแหน่งเป็นตัวแทนของตัวอย่างและกำหนดให้แต่ละตัวอย่างบนผลฝรั่งมีพื้นที่ 3x3 เซนติเมตร เพื่อให้สอดคล้องกับขนาดของตัวตรวจวัดสัญญาณ (detector) โดยมีตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดดังนี้คือ

- ระยะไข่ จำนวนผล 66 ผล
- ระยะหนอนวัย 1 จำนวนผล 73 ผล
- ระยะหนอนวัย 2 จำนวนผล 64 ผล
- ระยะหนอนวัย 3 จำนวนผล 61 ผล
- โดยหนอนแต่ละวัยมีกรรมวิธีควบคุม (ผลฝรั่งที่ไม่ผ่านการวางไข่) จำนวนเท่าๆกัน

3. นำฝรั่งแต่ละส่วนมาตรวจวัดหาสเปกตรัมตามตำแหน่งที่กำหนดไว้ด้วยเครื่อง FQA-NIRGUN ช่วงคลื่นสั้น 700-1100 นาโนเมตร วัดแบบ interactance นำสเปกตรัมที่ตรวจวัดได้จากผลฝรั่งที่มีไข่และหนอนแมลงวันผลไม้เปรียบเทียบกับผลฝรั่งที่ไม่มีไข่และหนอนแมลงวันผลไม้และนำไปวิเคราะห์ผลเพื่อสร้างแบบจำลองการตรวจสอบแมลงในผลฝรั่งแบบจำลองการตรวจสอบการปนเปื้อนไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้ในผลฝรั่งสร้างขึ้นจากสเปกตรัมของผลฝรั่งสดกลุ่มที่มีไข่และหนอน เทียบกับกลุ่มที่ไม่มีไข่และหนอนโดยอาศัยโปรแกรม Ca_Maker บันทึกข้อมูล เส้นสเปกตรัมที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเครื่อง FQA-NIRGUN และจำนวนไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้ในผลฝรั่ง

ระยะเวลาดำเนินการตุลาคม 2556 - เดือนกันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร และ สวนฝรั่งแป้นสีทองจังหวัดนครนายก และปราจีนบุรี

การทดลองที่ 2.5 การตรวจสอบการเข้าทำลายผลิตผลเกษตรของด้วงวงข้าวโพดโดยใช้ NIR Spectroscopy การเตรียมตัวอย่างข้าวและเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงวงข้าวโพด

เตรียมข้าวสารสำหรับใช้เลี้ยงด้วงวงข้าวโพดและใช้ทดสอบ โดยนำข้าวมาทำความสะอาดให้ปลอดจากแมลงด้วยการแช่ในตู้แช่แข็ง ที่มีอุณหภูมิประมาณ -20°C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนนำมาใช้เก็บตัวอย่างแมลงจากโรงสีในจังหวัดต่าง ๆ นำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ $65\pm 5\%$ ให้ได้ปริมาณตัวเต็มวัยด้วงวงข้าวโพดที่เพียงพอ เมื่อด้วงวงข้าวโพดมีอายุ 2-3 สัปดาห์ นำมาแยกเพศภายใต้กล้องจุลทรรศน์

วิธีการเตรียมตัวอย่างข้าวที่มีการเข้าทำลายของแมลงและการวัดสเปกตรัม

เตรียมตัวอย่างเมล็ดข้าวสารที่มีด้วงวงข้าวโพดอายุแตกต่างกัน ทั้งระยะไข่ และระยะหนอน โดยชั่งข้าวสาร 25 กรัม และบรรจุในขวดแก้ว ใส่ด้วงวงข้าวโพด ชนิดละ 10 คู่ ปิดฝาขวดด้วยกระดาษซับ เพื่อปล่อยให้ตัวเต็มวัยวางไข่ เป็นเวลา 72 ชั่วโมงแล้วคัดแยกตัวเต็มวัยออกให้หมด จากนั้นข้าวสารจะถูกนำมาวัดสเปกตรัมทุกระยะตั้งแต่ระยะ 1 วันจนถึงระยะ 14 วันซึ่งจะเป็นตัวอย่างข้าวสารที่มีการเข้าทำลายของด้วงวงข้าวโพดทั้งระยะไข่และระยะหนอน จำนวน 199 ตัวอย่าง รวมถึงข้าวสารที่ไม่มีด้วงวงข้าวโพดเข้าทำลาย จำนวน 179 ตัวอย่างด้วย โดยใส่ข้าวสารลงใน close cup และวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง Visible-NIR spectrometer ครอบคลุมช่วง 400-2500 นาโนเมตร หลังจากการวัดสเปกตรัม ข้าวสารจะถูกนำไปเก็บรักษาเป็นต่อเป็นเวลา 45 วัน เพื่อนับจำนวนด้วงวงข้าวโพดที่เกิดขึ้นในแต่ละตัวอย่าง

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

แบบจำลองการคัดแยกกลุ่มของข้าวสารจะถูกสร้างขึ้นจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนพลังงาน (สเปกตรัม) ของข้าวที่มีการวางไข่แต่ยังไม่สามารถสังเกตเห็นตัวด้วงวงข้าวโพด และจำนวนด้วงวงข้าวโพดที่เกิดขึ้นหลังการเก็บรักษาไว้ 45 วัน ด้วยวิธี partial least square discriminant analysis (PLSDA) โดยในการสร้างแบบจำลองได้ทำการแบ่งข้อมูลของข้าวตามจำนวนด้วงวงข้าวโพดออกเป็นช่วงๆ คือ มากกว่า 41, 31-40, 21-30, 11-20 และ 1-10 ตัว และสร้างแบบจำลองของแต่ละช่วง ทั้งนี้เพื่อใช้ในการศึกษาศักยภาพของแสงย่าน visible และ Near Infrared ในการตรวจสอบปริมาณของด้วงวงข้าวโพดที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจสอบได้จากการแบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็นช่วงๆ ทำให้ในแต่ละช่วงมีจำนวนตัวอย่างแตกต่างกัน

กระบวนการวิเคราะห์แบบ PLSDA เป็นกระบวนการที่ต้องอาศัยตัวแปรหุ่น (Dummy variable) เป็นตัวแทนค่ากลุ่มของตัวอย่าง โดยได้กำหนดให้ข้าวที่ไม่มีด้วงวงเกิดขึ้นหลัง 45 วัน มีค่าตัวแปรหุ่นเป็น 0 และข้าวที่มีด้วงวงในช่วงจำนวนต่างๆ มีค่าเป็น 1 ผลของการวิเคราะห์ด้วยวิธี PLSDA แสดงอยู่ในรูปของเปอร์เซ็นต์ความถูกต้อง โดยข้าวมีค่าตัวแปรหุ่นอยู่ในกลุ่ม 0 ต้องมีค่าทำนายอยู่ในช่วง -0.5 ถึง 0.5 จึงถือว่าแบบจำลองการคัดแยกที่สร้างขึ้นนั้นถูกต้อง ในขณะที่ตัวอย่างข้าวที่มีด้วงวง (มีค่าตัวแปรหุ่นเป็น 1) จะต้องมีค่าทำนายอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 1.5 นอกเหนือจากนี้ถือว่าการทำนายนั้นมีความผิดพลาด กระบวนการสร้างแบบจำลองจะใช้วิธี cross validation เนื่องจากตัวอย่างในกลุ่ม 1 ของแต่ละช่วงมีปริมาณน้อย

การทดลองที่ 2.6 การวัดปริมาณสารพิษโอคราทอกซินเอในเมล็ดกาแฟโดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

ปีงบประมาณ 2556

เตรียมตัวอย่างเมล็ดกาแฟที่สะอาดไม่มีการปนเปื้อนสารโอคราทอกซิน เอ และตัวอย่างเมล็ดกาแฟทำให้มีการปนเปื้อนปริมาณสารโอคราทอกซิน เอ ในระดับความเข้มข้นที่ต่าง ๆ กัน (spiked sample) โดยการเติมสารพิษโอคราทอกซิน เอ มาตรฐาน

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500nm และนำตัวอย่างนั้นไปบดละเอียดและวัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้ง

นำตัวอย่างดังกล่าวไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษโอคราทอกซิน เอ ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีของ AOAC 2004.10 และ AOAC 976.38

4.1 ชั่งตัวอย่างเมล็ดกาแฟดิบน้ำหนัก 25 กรัม นำไปบดละเอียดด้วยเครื่องปั่น

4.2 เติมสารละลาย Acetonitrile-water (6:4) 100 ml เขย่าที่ 300 รอบต่อนาที ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำส่วนใสมากรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว

4.3 เปิดส่วนใสที่กรองได้ปริมาตร 4 ml ใส่ใน Volumetric flask เติมสารละลาย Phosphate buffer saline ปริมาตร 44 มล. เพื่อปรับ pH และเขย่าให้เข้ากัน

4.4 นำสารละลายที่ได้ไปผ่าน Immunoaffinity Column อัตราการไหล 1 – 2 หยดต่อวินาที ล้าง Column ด้วยน้ำปราศจากไอออน 10 ml อัตราการไหล 1 – 2 หยดต่อวินาที ปล่อยอากาศผ่าน 30 วินาที

4.5 ชะ Ochratoxin A ออกจาก Column ด้วย Methanol ปริมาตร 1 ml จำนวน 4 ครั้ง

4.6 ระเหยสารละลายที่ได้จนแห้งด้วยไนโตรเจน

4.7 ปรับปริมาตรด้วย Mobile phase 1 ml Methanol – Acetonitrile – Water – Acetic (35:35:29:1)

4.8 ฉีดสารละลายที่ได้ด้วยเครื่อง HPLC Agilent 1260 Infinity Series

- Column : Symmetry C 18

- Mobile phase : Methanol – Acetonitrile – Water – Acetic (35 : 35 : 29 : 1)

- Flow rate : 1 ml/min

- Run time : 8 min

- Detector : Fluorescence

- Injection : 20 µl

- Standard curve of Ochratoxin A : 2, 5, 10, 20, 30 และ 40 ng/ml

นำ spectra ต้นแบบ (original spectra) ที่ได้หรืออาจทำการแปลงผลข้อมูลเพื่อลดผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ noise หรือ errors จากการวัดที่ปรากฏใน spectrum ไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วย

วิธี Partial Least Square (PLS) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscramblerของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์

ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า Standard Error of Calibration (SEC) และค่า Correlation Coefficient (R) นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาสร้างสมการและวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อหาสมการที่ดีที่สุด ตรวจสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้นโดยเปรียบเทียบค่า Standard Error of Prediction (SEP) และ Bias

ปีงบประมาณ 2557

ทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสมการที่ได้จาก Near Infrared Spectroscopy กับวิธีวิเคราะห์ทางเคมี โดยสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดกาแฟจากแหล่งปลูกกาแฟที่สำคัญ ทั้งทางภาคเหนือและภาคใต้ที่มีการปนเปื้อนของสารพิษโอคราทอกซิน เอ ตามธรรมชาติ มาเป็นตัวอย่างในการทดสอบประสิทธิภาพของสมการ และทำการปรับปรุงสมการ

ทดสอบความแม่นยำของสมการโดยใช้สมการทำนายปริมาณสารพิษโอคราทอกซิน เอ เทียบกับผลวิเคราะห์ที่ได้โดยวิธีทางเคมี

นำสมการที่ได้ไปเผยแพร่เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการวัดปริมาณสารพิษโอคราทอกซิน เอ ในเมล็ดกาแฟต่อไป

การทดลองที่ 2.7 การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งธัญพืช โดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

ขั้นตอนที่ 1 การวัดการดูดซับแสง

นำเมล็ดพืชชนิดต่างๆ ที่มีปริมาณแอฟลาทอกซินระดับต่างๆประมาณ 200 กรัมในรูปเมล็ดและแป้งใส่ในเซลล์สำหรับวัดการดูดซับแสงของเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น 4500 โดยใช้หลักการสะท้อนแสง (Reflection) ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร

ขั้นตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณแอฟลาทอกซิน

นำเมล็ดและแป้งพืชจากขั้นตอนที่ 1 ไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินด้วย ELISA Test kit ขั้นตอนี่ 3 สร้างและปรับปรุงสมการเพื่อใช้ประเมินปริมาณแอฟลาทอกซิน

หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงเมล็ดและแป้งพืชที่มีปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ระดับต่างๆ ที่ความยาวคลื่นต่างๆตั้งแต่ 450-2500 นาโนเมตร โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler (Camo,สวีเดน)พร้อมทั้งปรับปรุงสมการโดยดูจากความสัมพันธ์ (R) สูง ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration: SEC) และค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction: SEP) ต่ำ ถ้าประสิทธิภาพต่ำ ให้ใช้การปรับปรุงสมการโดยใช้วิธีทางคณิตศาสตร์ ได้สมการทั้งหมด 2 สมการ เพื่อประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน

เวลาและสถานที่ดำเนินงาน ตั้งแต่ คค. 2556 –กย. 2557

ดำเนินงานที่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

การทดลองที่ 2.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในใบชาเขียว โดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

รวบรวมตัวอย่างชาเขียวที่จำหน่ายจากแหล่งต่างๆในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และกรุงเทพฯจำนวน 450 ตัวอย่าง สร้างเส้นมาตรฐานหรือกราฟมาตรฐาน (standard curve หรือ calibration curve) ของสารสำคัญ จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ สารคาเฟอีน (caffeine) และสารกลุ่มคาเทชินส์ (catechins) เช่น catechin (C), gallic acid (GA), galocatechin (GC), catechin gallate (CG), galocatechin gallate (GCG), epicatechin (EC), epicatechin-3-gallate (ECG), epigallocatechin (EGC) และ epigallocatechin-3-gallate (EGCG) โดยทำการเตรียมความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน อย่างน้อย 5 ความเข้มข้นๆ ละ 3 ซ้ำ โดยความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานจะครอบคลุมความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างชาที่จะนำมาวิเคราะห์

ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานเข้าไปในเครื่องโครมาโตกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์รีเวอร์สเฟส ซี-18 (Reverse phase column C18) และตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) เพื่อนำความสูงของพีคมาสร้างเป็นเส้นมาตรฐานระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

นำตัวอย่างชาเขียวที่เก็บรวบรวมมา บดให้ละเอียดนาน 10 วินาที ด้วยเครื่องบดกาแฟ

ชั่งตัวอย่างชาบดละเอียดหนัก 2.000 กรัม แล้วนำมาสกัดด้วยเมทานอล 70% ปริมาตร 80 มิลลิลิตร แล้วต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และสกัดจากตัวอย่างแรกอีกครั้ง (รวมเป็นจำนวน 2 ครั้ง)

หลังจากอุณหภูมิสารละลายตัวอย่างลดลง ให้นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 rpm นาน 10 นาที แล้วดูชั้นของเหลว (liquid phase) ใส่ในขวดปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร จากนั้นจึงปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล 70%

ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC ให้กรองสารละลายตัวอย่างผ่านตัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร โดยใช้สภาวะ (condition) การแยกสารเหมือนกันกับการฉีดสารละลายมาตรฐาน

แบ่งตัวอย่างชาเขียวบดละเอียดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร โดยวัดการสะท้อนกลับของแสง (reflectance)

นำ spectra ต้นแบบ (original spectra) ที่ได้ หรืออาจทำการแปลงผลข้อมูลเพื่อลดผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ เช่น noise หรือ errors จากการวัดที่ปรากฏใน spectrum นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อหาวิธีที่ดีที่สุด สร้างสมการถดถอยเชิงเส้นด้วยเทคนิค partial leastsquare regression (PLSR) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler (Camo, Oslo, Norway) ด้วยการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมดแบบ Full cross validation

ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า Standard Error of Calibration (SEC) และค่า Correlation Coefficient (R) ตรวจสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้นโดยเปรียบเทียบค่า Standard Error of Prediction (SEP) และ Bias เพื่อประเมินโดยใช้ข้อมูลในส่วนที่ไม่ได้ใช้ในการทำสมการ

นำสมการที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์จากชาและเผยแพร่ให้แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้เป็นทางเลือกในการวัดปริมาณสารสำคัญในใบชาต่อไป

ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2556 – กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

การทดลองที่ 2.9 การประเมินคุณภาพพืชตระกูลถั่วโดยใช้เทคนิคการไม่ทำลายตัวอย่างด้วย Near Infrared Spectroscopy

ปีงบประมาณ 2557

เตรียมตัวอย่างเมล็ดพืชตระกูลถั่ว

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500nm และนำตัวอย่างนั้นไปบดละเอียดและวัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้ง

นำตัวอย่างดังกล่าวไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน โปรตีน เถ้า ความชื้น และอะมิโนส ในห้องปฏิบัติการ

นำ spectra ต้นแบบ (original spectra) ที่ได้หรืออาจทำการแปลงผลข้อมูลเพื่อลดผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ noise หรือ errors จากการวัดที่ปรากฏใน spectrum ไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์

ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า Standard Error of Calibration (SEC) และค่า Correlation Coefficient (R)

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาสร้างสมการและวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อหาสมการที่ดีที่สุด ตรวจสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้นโดยเปรียบเทียบค่า Standard Error of Prediction (SEP) และ Bias

ปีงบประมาณ 2558

ทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสมการที่ได้จาก Near Infrared Spectroscopy กับวิธีวิเคราะห์ทางเคมี โดยสุ่มเก็บตัวอย่างพืชตระกูลถั่วจากแหล่งต่างๆ มาเป็นตัวอย่างในการทดสอบประสิทธิภาพของสมการ และทำการปรับปรุงสมการ

ทดสอบความแม่นยำของสมการโดยใช้สมการทำนายคุณภาพพืชตระกูลถั่ว เทียบกับผลวิเคราะห์ที่ได้โดยวิธีทางเคมี

นำสมการที่ได้ไปเผยแพร่เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการทำนายคุณภาพพืชตระกูลถั่ว ต่อไป

ระยะเวลาทำการทดลอง: ตุลาคม 2556– กันยายน 2558

สถานที่ทำการทดลอง: กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลักษณะการดูดซับแสงในย่าน NIR ของตัวอย่าง

จากการทดลองพบค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของตัวอย่างที่ต่างกันจะทำให้การดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นในย่าน NIR (400-2500 นาโนเมตร) ต่างกัน เช่น น้ำมันพืช (Figure 1) เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Figure 2) เมล็ดข้าวกล้องงอก (Figure 3) แป้งข้าวกล้องงอก (Figure 4) เมล็ดถั่วเหลือง (Figure 5) เมล็ดถั่วเหลืองงอก (Figure 6) แป้งถั่วเหลือง (Figure 7) แป้งถั่วเหลืองงอก (Figure 8) ใบอ้อย (Figure 9) ผลฝรั่ง (Figure 10) เมล็ดและแป้งพืช (Figure 11) ใบชา (Figure 12)

ในตัวอย่างชนิดต่างๆจะแสดงค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ซึ่งจะบอกได้ถึงค่าการดูดซับแสงสูงที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะสัมพันธ์กับองค์ประกอบทางเคมีภายในตัวอย่าง เช่น ตัวอย่างน้ำมันพืชที่ความยาวคลื่น 1410 1726 1765 2140 นาโนเมตร แสดงถึงองค์ประกอบทางเคมี คือ ROH, CH₂, CH₂ และ CH=CHดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าว ตามลำดับ (Osborne *et al.*, 1993) ตามลำดับ (Figure 1) พบว่า ในผลฝรั่งการดูดซับแสงสูงที่ความยาวคลื่น 949 นาโนเมตร ซึ่งที่ความยาวคลื่น 938 นาโนเมตร (Figure 10) แสดงถึงองค์ประกอบทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับ CH₂ และที่ความยาวคลื่น 970 นาโนเมตร เกี่ยวข้องกับ H₂O ในผลฝรั่ง Williams and Norris (2001) พบว่า peak ที่ค่าดูดซับแสงที่ 2294 นาโนเมตรเป็น peak ของกรดอะมิโน (Figure 5 และ 6) Figure 9 การดูดซับแสงสูงที่ความยาวคลื่น 4800 cm⁻¹ (2080 นาโนเมตร) เกี่ยวข้องกับแป้งในใบอ้อย ที่ Figure 11 การดูดซับแสงสูงที่ความยาวคลื่น 1200 1450 1700 1900 นาโนเมตร แสดงถึงองค์ประกอบทางเคมี ที่ความยาวคลื่น 1440 1900 นาโนเมตร คือ starch ในเมล็ด ตามลำดับ (Osborne *et al.*, 1993)

ค่าการดูดซับแสง (log1/R) ของแป้งในแป้งฟลาวถั่วเหลือง มีแสงที่ 1580 นาโนเมตร เป็น peak ของแป้ง Figure 12 ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดซับแสง1690 1725 2326 2350 และ 2000 นาโนเมตรซึ่งมีความสัมพันธ์กับพันธะ -CH₃, CH₂, CH₂, CH₂ และ CONH₂ ตามลำดับ ที่มีพบมากในสารคาเฟอีนในใบชา ในขณะที่ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดซับแสง 1920 และ 2140 นาโนเมตรซึ่งมีความสัมพันธ์กับพันธะ -OH และ HC=CH ตามลำดับ โดยมีความสัมพันธ์กับสารพอลิฟีนอล (polyphenol) ที่มีพบในใบชาเช่นกัน (Lee *et al.*, 2014)

สมการจากเทคนิค NIRS

เทคนิค Near Infrared Spectroscopy สามารถสร้างสมการเพื่อใช้ประเมินคุณภาพตัวอย่างชนิดต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในโครงการทดลองนี้สามารถสร้างสมการได้ สมการ Table 1-10 ซึ่งแสดงให้เห็นค่าทางสถิติของสมการที่แสดงถึงประสิทธิภาพที่จะนำไปใช้ในการประเมินคุณภาพต่างๆ ดังใน Figure 1-12

เทคนิค Near Infrared Spectroscopy สามารถสร้างสมการเพื่อใช้ประเมินคุณภาพน้ำมันบริโภค คือ ค่าความเป็นกรด (Acid value (AV) ค่า Iodine value (IV) ค่า Peroxide value (PV) ค่าความหืน (rancid) คุณภาพไวน์หรือเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยประเมิน ปริมาณเมทานอลและเอทิลแอลกอฮอล์ คุณภาพกาแฟ คั่ว คือ 2-Butanone 2-Methyfurane และอัตราของ 2 Methyfurane/ 2-Butanone (Table 1) ปริมาณ

GABA ของ เมล็ดและแป้ง ข้าวกล้องงอก ถั่วเขียวงอก ถั่วเหลืองงอก และในข้าวกล้อง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง (Table 2 และ 3) ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ค่าความหนืดแป้งสุก (ความหนืดสูงสุด ค่า break down และ ค่า set back) ของเมล็ด และสตาร์ชถั่วเหลืองและถั่วเขียว (Table 4 -6)

สมการที่ใช้ประเมินซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส น้ำตาลทั้งหมด ของเมล็ดและแป้งพืช (Table 7) สมการสามารถประเมินสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Table 8) เทคนิค NIRS สร้างสมการที่สามารถประเมินปริมาณ phytoplasma ในใบอ้อย และปริมาณแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งพืชต่างๆ (Table 9) และสมการที่ใช้ประเมินปริมาณสารสำคัญกลุ่มคาเทชินในชา (Table 10)

ความถูกต้องของสมการ

จากการใช้สมการไปประเมินคุณภาพพบว่าทุกสมการจะมีความถูกต้องแม่นยำ สามารถใช้ทดแทนค่าวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการได้ดี และค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) ต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย (sd) ทุกสมการ Figure 13 แสดงให้เห็นว่าค่าที่ได้จากการประเมินด้วยสมการจากเทคนิค NIRS จะใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ Figure 14 แสดงถึงการใช้สมการจากเทคนิค NIRS แยกลักษณะที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม

สรุปผลการทดลอง

เทคนิค NIRS สามารถใช้ประเมินคุณภาพผลผลิตในโครงการทดลองนี้ได้ ได้ค่าที่ถูกต้อง แม่นยำ ใช้เวลาสั้น ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่ใช้สารเคมี เทคนิคนี้สามารถใช้ทดแทนการวิเคราะห์ทางเคมีได้ คุณภาพผลผลิตและผลิตภัณฑ์ที่สามารถใช้เทคนิค NIRS ได้มีประสิทธิภาพ คือ

สามารถใช้ประเมินค่าความเป็นกรด (AV) ค่าไอโอดีน (IV) ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ของน้ำมันพืช ที่ความยาวคลื่นที่ 400-2500 นาโนเมตรใช้หลักการส่งผ่านแสง (Transmission)

สามารถใช้ประเมินปริมาณเอทานอลและเมทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร สมการที่ใช้ประเมินได้จากค่าการดูดซับแสงในช่วงคลื่นแสง 400-2500 นาโนเมตร จากเครื่อง NIR Spectrometer FOSS 6500 โดยใช้หลักการการผ่านของแสง (Transmission)

สามารถใช้ประเมินปริมาณสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบด คือปริมาณสาร 2- methylfuran 2-butanone และอัตราส่วนของสาร 2- methylfuran และ 2-butanone ที่ช่วงคลื่น 800-2500นาโนเมตร แต่สมการที่ได้ไม่แม่นยำมากพอที่จะนำไปใช้เป็นวิธีประเมินได้

สามารถใช้ประเมินปริมาณสาร GABA ในเมล็ดข้าวกล้องงอก แป้งฟลาวข้าวกล้องงอก เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียว ทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการได้

สามารถใช้ประเมินประเมินคุณภาพผลผลิตเกษตร เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ความหนืด น้ำตาล และแคโรทีนอยด์ ในพืชไร่ชนิดต่างๆได้ สามารถนำไปประเมินโปรตีน คาร์โบไฮเดรตในเมล็ดและแป้งฟลาว ถั่วเหลืองและถั่วเขียว ประเมินความหนืดของเมล็ดและแป้งฟลาว ถั่วเหลืองและถั่วเขียว แป้งสตาร์ชของถั่วเขียว น้ำตาลในแป้งพืช แคโรทีนอยด์ของเมล็ดและแป้งฟลาวของข้าวโพดพันธุ์ต่างๆ ได้

สามารถใช้ประเมินปริมาณแป้งในใบอ้อยและการตรวจดีเอ็นเอเชื้อไฟโตพลาสมา
สามารถสร้างแบบจำลองเพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของไข่และหนอนแมลงวันผลไม้ในผลฝรั่ง
ด้วยเครื่อง FQA-NIRGUN ช่วงคลื่นสั้น 700-1100 นาโนเมตร วัดแบบ interactance สร้างแบบจำลองด้วยวิธี
PLSDA นั้นให้ผลการคัดแยกผลฝรั่งที่มีการปนเปื้อนแมลงวันผลไม้และไม่มีการปนเปื้อนได้ดีที่สุด
สามารถคัดแยกกลุ่มข้าวสารที่มีด้วงงวงข้าวโพด และไม่มีด้วงงวงข้าวโพดได้อย่างถูกต้องมากกว่า
95% สามารถใช้ในการทำนายการเกิดด้วงงวงข้าวโพดในข้าวได้ในขณะที่อยู่ในระยะไข่ หรือระยะหนอนที่อายุ
ไม่เกิน 14 วัน ซึ่งจะยังไม่สามารถเห็นความเสียหายจากภายนอกได้ชัดเจน
สามารถนำไปใช้ในการประเมินสารพิษโอคราทอกซิน เอ ในเมล็ดกาแฟดิบได้โดยใช้ในการทำนาย
ปริมาณสารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในเมล็ดกาแฟดิบได้ไม่ต่างจากวิธี HPLC
สามารถใช้ประเมินปริมาณแอฟลาทอกซิน ในเมล็ดและแป้งพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่
ทำลายตัวอย่าง ให้ค่าการประเมินที่ถูกต้องในระยะเวลาสั้นใช้ความยาวคลื่นในช่วง 400 - 2500 นาโนเมตรใช้
หลักการส่งผ่านแสง (Transmission)
สามารถตรวจหาปริมาณสารสำคัญทั้ง 10 ชนิดในใบชาได้ โดยใช้ช่วงคลื่น 400 - 2500 นาโน
เมตร และใช้สเปกตรัมดั้งเดิม (original spectrum) ซึ่งสามารถนำมาใช้ทดแทนการวิเคราะห์ทางเคมีได้
จากการทดลองสมการที่ได้โดยวิธี NIR สามารถนำไปใช้ในการประเมินคุณภาพในพืชตระกูลถั่วได้
โดยใช้ในการทำนายคุณภาพของพืชตระกูลถั่วได้ไม่ต่างจากวิธีทางห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

- จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวการหายใจของพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
นิธิยา รัตนานนท์. 2529. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.
หน้า 83-87.
วรมพร วงศ์สินพัชราภรณ์ รัตธรรม ญัญญา เล่ากุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. 2555. การเปลี่ยนแปลง
ปริมาณสารสำคัญในข้าวกล้องงอก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 43 (2): 553-556.
วัฒนา วัชรอาภาไพบูลย์ ญัญญา เล่ากุลจิตต์ อรพิน เกิดชูชื่นและทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. 2550. ผลของพีเอช
อุณหภูมิ และเวลาการแช่ข้าวต่อคุณภาพของข้าวกล้องงอก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 38(6):
169-172.
รณฤทธิ ฤทธิธรม. 2552. การสร้างระบบ NIR สำหรับการวิเคราะห์ประจำวัน. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ใน
อุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร.
พรทิพย์ วิสารทานนท์ พรรณเพ็ญ ชโยภาส ใจทิพย์ อุไรชื่น รังสิมา เก่งการพานิช กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม จิราภรณ์
ทองพันธ์ ดวงสมร สุทธิสุทธิ ลักษณะ ร่มเย็น ภาวินี หนูชนะภัย และอัจฉรา เพชรโชติ. 2551.
แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บ
เกี่ยว. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการ
เกษตร. 170 หน้า

- สถาบันวิจัยพืชสวน. 2553. การจัดการความรู้เทคโนโลยีการผลิตกาแฟครบวงจร.สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.
- สิทธิพร ชมพูนุรัตน์. 2549. การตรวจสอบโอคราทอกซินเอในกาแฟคั่วที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2551. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร: เมล็ดกาแฟอาราบิก้า ตามพระราชบัญญัติสินค้าเกษตร. หน้า 6 เล่ม 126.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2555. มาตรฐานสินค้าเกษตร ข้าวกล้องงอก. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: กรุงเทพฯ.16 หน้า.
- ศิริธร ศิริอมพรรณ. 2557. สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร. โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 272 หน้า
- ธีรพงษ์ เทพภรณ์กาญจนา พลอยศรี และอนัญญา เอกพันธ์.2555. องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันเนื้อเมล็ดชาอัสสัมของไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ มช.40 (4): 1225-1235.
- อภิญา วัฒนา. 2551. การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันและการประเมินศักยภาพในการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันเมล็ดส้มโอ. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. หน้า 46.
- อิงฟ้า คำแพง อรพิน เกิดชูชื่นและณัฐฐา เลหากุลจิตต์.2552. การเปลี่ยนแปลงสารอาหารของข้าวและธัญพืช ในระหว่างการงอก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.40(3):341-344.
- Birth, G. S., G. G. Dull, W. T. Renfore and S. J. Kays. 1985. Nondestructive spectrophotometric determination of dry matter in onions. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110: 297-303.
- Canada Grain Act. 1975. Canada Grain Regulations. Canada Gazette, Part II, Vol. 109, No. 14.
- Dull, G. G., G. S. Birth, D. A. Smittle and R. G. Leffler. 1989. Near infrared analysis of soluble solids in intact cantaloupe. J. Food Sci. 54: 393-395.
- Edwards, J. P., J. E. Short and L. Abraham. 1991. Large-scale evaluation of the insect juvenile hormone analogue fenoxycarb as a long-term protectant of stored wheat. J. Stored Prod. Res. 27 (1): 31-39.
- Hanboonsong, Y., W. Ritthison, C. Choosai and P. Sirithorn. 2006. Transmission of sugarcane white leaf phytoplasma by *Yamatotettix flavovittatus*, a new leafhopper vector.- J. Econ. Entomol. 99(5): 1531-1537.
- Hassid, W. Z. and E. F. Neufeld. 1964. Quantitative determination of starch in plant tissue. In RL Whistler, ed, Methods Carbohydrate Chemistry, Vol. 4 , Academic Press, New York, pp. 33-36.

- Hatsuga, N., M. Kuroyanagi, K. Yamada, T. Meshi, S. Tsuda, M. Kondo, M. Nishimura, and I. H. Nishimura. 2004. A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. *Sci.* 305, 855–858.
- Johnes, A. M. 2001. Programmed cell death in development and defense. *Plant Physiol.* 125: 94-97.
- Jood, S., A. C. Kapoor and R. Singh. 1992. Mineral contents of cereal grains as affected by storage and insect infestation. *J. Stored Prod. Res.* 28(3): 147-151.
- Karunakaran, C., D. S. Jayas and N. D. G. White. 2004. Soft x-rays: a potential insect detection method in cereals in grain handling facilities. In 2004 International Quality Grains Conference Proceedings. Available at: <http://cobweb.ecn.purdue.edu/~grainlab/IQGC1/proc/pdf/karunakaran.pdf> Accessed on August 29, 2008.
- Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 61 (2): 445-451.
- Kepper, D. and K. Decker. 1974. Glycogen: determination with amyloglucosidase. In: Bergmeyer HU (ed) *Methods of enzymatic analysis*. Vol. 3 Academic, New York. Pp. 1127-1131.
- Kim, K. S., S. H. Park and M. G. Choung. 2007. Nondestructive determination of oil content and fatty acid composition in perilla seeds by near-infrared spectroscopy. *J. of Agric. and Food Chem.* 55: 1679–1685.
- Komatsuzaki, N., K. Tsukahara, H. Toyoshima, T. Suzuki, N. Shimizu and T. Kimura. 2007. Effect of Soaking and Gaseous Treatment on GABA Content in Germinated Brown Rice. *Food Engineering. J.* 78: 556-560.
- Lee, M. S., Y. S. Hwang, J. Lee and M. G. Choung. 2014. The characterization of caffeine and nine individual catechins in the leaves of green tea (*Camellia sinensis* L.) By near-infrared reflectance spectroscopy. *Food Chemistry* 158: 351–357.
- Liscombe, E. A. R. 1962. Milling losses caused by insect infestation of wheat. *Cereal Chem.* 39: 372-380.
- MacRae J. C. 1971. Quantitative measurement of starch in very small amounts of leaf tissue. *Planta (Berl.)* 96: 101-108.
- Madrid, F.J. and R.N. Sinha. 1982. Feeding damage of three stored-product moths (Lepidoptera: Pyralidae) on wheat. *J. Econ. Entomol.* 75 (6): 1017-1020.

- Noonim, P., W. Mahakarnchanakul, K. F. Nielsen, J. C. Frisvad and R. A. Samson. 2008. Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand. *Int J Food Microbiol.* 10; 128(2): 197-202.
- Osborne, B. G., T. Fearn and P. H. Hindle. 1993. *Practical NIR Spectroscopy: with Applications in Food and Beverage Analysis*, 2nd ed. Essex: Longman Scientific & Technical.
- Palma N., S. Cinelli, O. Saporá, S. H. Wilson and E. Dogliotti. 2007. Ochratoxin A-Induced Mutagenesis in Mammalian Cells Is Consistent with the Production of Oxidative Stress. *Chemical Research in Toxicology* 20(7): 1031-1037. doi: 10.1021/tx700027j
- Peiris K. H. S., G. G.Dull, R. G.Leffler and S. J. Kays. 1997. Nondestructive determination of soluble solids content of peach by near infrared spectroscopy. *Sensors for Nondestructive Testing. Measuring the Quality of Fresh Fruits and Vegetables. Proceedings from the Sensors for Nondestructive Testing International Conference and Tour Holiday Inn International Drive Resort. Orlando, Florida. February 18-21, 1997: 440 p.*
- Riso, P. and M. Porrini. 1997. Determination of carotenoids in vegetable foods and plasma. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 67(1): 47-54.
- Shelp, B. J., A. W. Bown, and M. D. McLean. 1999. Metabolism and functions of γ -amino butyric acid. *Trends in Plant Sci. J.* 4: 446-452.
- Shoichi, I. 2004. Marketing of value-added rice products in Japan: germinated brown rice and rice bread. *Italy, February 12-13: 1-10.*
- Smith, L. W., J. J. Pratt, I. Nii and A. P. Umina. 1971. Baking and taste properties of bread made from hard wheat flour infested with species of *Tribolium*, *Tenebrio*, *Trogoderma* and *Oryzaephilus*. *J. Stored Prod. Res.* 6 (4): 307-316.
- Storey, C. L., D. B. Sauer, L. Ecker and D.W. Fulk. 1982. Insect infestations in wheat and corn exported from the United States. *J. Econ. Entomol.* 75 (5): 827-832.
- Teranishi, R., E. L. Wick, and I. Hornstein. 1999. *Flavor Chemistry*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 258 p.
- USDA. 1997. Chapter 13: Wheat. In *Grain Inspection Handbook*. Washington, D.C.: USDA Grain Inspection, Packers, and Stockyards Administration, Federal Grain Inspection Service. Available at: www.usda.gov/gipsa/reference-library/handbooks/graininsp/grbook2/bk2ch13.pdf.

- White, G. D. 1953. Weight loss in stored wheat caused by insect feeding. *J. Econ. Entomol.* 46(4): 609-610.
- White, N. D. G. 1995. Insects, mites, and insecticides in stored-grain ecosystems. *In* Stored-Grain Ecosystems, ed. D.S. Jayas, N.D.G. White and W.E. Muir, 123-168. New York, NY: Marcel Dekker, Inc.
- Williams, P. and K. Norris. 2001. Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. Inc.: St Paul, Minesota, USA, 312 p.
- Wongkaew, P., Y. Hanboonsong, P. Sirithorn, C. Choosai, S. Boonkrong, T. Tinnangwattana, R. Kitchareonpanya, and S. Damak. 1997. Differentiation of phytoplasmas associated with sugarcane and gramineous weed white leaf disease and sugarcane grassy shoot disease by RFLP and sequencing. *Theoret. and Appl. Gen.* 95(4): 660-663.
- Zimmerli, B. and R. Dick. 1995. Determination of ochratoxin A at the ppb level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immune affinity column cleanup: methodology and Swiss data. *J. Chromatography B.* 666: 85-99.

Table 1 Statistics of equations for evaluation qualities of products

Product	components	Math methods	wavelength (nm)	R	SEC	SEP	Bias	F	sd
Cooking oil	Acid value (AV)	Original	400-2500	0.98	0.09	0.11	0.001	16	0.45
Cooking oil	Iodine value (IV)	Original	400-2500	0.99	5.33	6.73	0.030	16	34.28
Cooking oil	Peroxide value (PV)	Original	400-2500	0.98	0.41	0.63	-0.005	20	1.99
Cooking oil	rancid	Original	400-2500	0.98	2.37	2.99	-0.040	17	12.92
wines	Ethyl Alcohol	Original	400-2500	0.95	1.33	1.41	0.02	5	4.29
wines	Methanal	Original	400-2500	0.95	0.06	0.07	1.21×10^{-5}	8	0.17
roasted coffee	2-Butanone	Original	800-2500	0.83	14.98	16.97	-0.15	6	
roasted coffee	2-Methyfurane	Original	800-2000	0.85	26.65	32.23	-0.07	9	
roasted coffee	Ratio of 2 Methyfurane/ 2- Butanone	Second Derivative	800-2500	0.91	0.31	0.45	0.03	10	

Table 2 Statistics of equations for evaluation qualities of products

Product	components	Math methods	wavelength (nm)	R	SEC	SEP	Bias	F	sd
Germinated brown rice grains	GABA	Original	400-2500	0.93	1.56	2.42	- 0.031	10	7.05
Germinated brown rice flours	GABA	Original	400-2500	0.91	2.58	3.34	0.155	9	8.23
Soybean grains	GABA	Original	400-2500	0.90	2.53	2.80	0.000918	7	6.50
Germinated soybean grains	GABA	Original	400-2500	0.90	42.84	55.17	-1.859440	8	129.16
Soybean flours	GABA	Original	400-2500	0.92	1.61	1.91	0.014955	9	4.91
Germinated soybean flours	GABA	Original	400-2500	0.91	29.91	47.31	1.373426	10	114.22
Mungbean grains	GABA	Original	400-2500	0.90	1.95	2.02	4.83	3	4.83
Germinated mungbean grains	GABA	Original	400-2500	0.90	20.96	28.13	65.64	10	65.64
Mungbean flours	GABA	Original	400-2500	0.93	1.61	1.75	5.10	5	5.10
Germinated mungbean flours	GABA	Original	400-2500	0.90	17.36	22.15	51.72	10	51.72

Table 3 Partial Least Square calibration result for predicting carbohydrate value of mungbean grains and flours.

Type	quality	Math method	Wavelength (nm)	F	R	SEC	SEP	SD	Bias	RPD
Mungbean grains	carbohydrate	Original	400-2500	3	0.88	1.67	1.80	3.92	-0.005871	2.17
Mungbean flours	carbohydrate	Original	400-2500	7	0.89	1.54	1.84	4.16	-0.020570	2.26

Table 4 Partial Least Square calibration result for evaluating qualities of soybean

Type	qualities	Math method	Wavelength (nm)	F	R	SEC	SEP	SD	Bias	RPD
grains	protein	Original	400-2500	10	0.85	0.09	1.13	2.14	0.023174	1.89
flours	protein	Original	400-2500	10	0.95	0.58	0.71	2.47	-0.031290	3.47
grains	carbohydrate	Original	400-2500	8	0.86	1.56	2.14	4.29	-0.059685	2.00
flours	carbohydrate	Original	400-2500	9	0.86	1.39	1.97	3.89	-0.131212	1.92
grains	peak viscosity	Original	400-2500	10	0.85	1.93	2.64	5.10	-0.073622	1.93
flours	peak viscosity	Original	400-2500	10	0.90	2.95	3.90	9.31	-0.091704	2.38
grains	break down	Original	400-2500	9	0.91	2.62	3.69	8.90	0.040051	2.41
flours	break down	Original	400-2500	7	0.91	2.41	2.95	7.15	-0.032472	2.42
grains	set back	Original	400-2500	10	0.93	2.25	3.18	8.77	-0.103546	2.75
flours	set back	Original	400-2500	9	0.90	2.62	3.11	7.15	-0.010131	2.29

Table 5 Partial Least Square calibration result for evaluating qualities of mungbean

Types	components	Math methods	Wavelength region (nm)	F ^x	R	SEC	SECV ^y (SEP)	Bias	sd
Mungbean grains	protein	Original	400-2500	10	0.85	0.46	0.61	-0.000288	1.17
Mungbean flours	protein	Original	400-2500	10	0.85	0.46	0.65	0.002977	1.22
Mungbean grains	carbohydrate	Original	400-2500	3	0.88	1.67	1.80	-0.005871	3.92
Mungbean flours	carbohydrate	Original	400-2500	7	0.89	1.54	1.84	-0.020570	4.16
Mungbean flours	set back	Original	400-2500	7	0.95	2.09	2.68	-0.048466	8.82
Mungbean starch	set back	Original	400-2500	10	0.92	14.05	17.88	-0.067336	46.66

Table 6. Partial Least Square calibration result for predicting value of mungbean grains, flours and starches

Type	Qualities	Math method	Wavelength (nm)	F	R	SEC	SEP	SD	Bias	RPD
Mungbean grains correlate with flours	peak viscosity	Original	400-2500	7	0.92	3.50	4.44	12.04	0.47147	2.71
Mungbean grains correlate with starches	peak viscosity	Original	400-2500	9	0.92	17.65	23.42	62.18	-0.123835	2.65
Mungbean flours	peak viscosity	Original	400-2500	7	0.91	4.02	5.04	12.74	0.154811	2.52
Mungbean starch	peak viscosity	Original	400-2500	7	0.95	20.83	22.67	76.50	-0.037983	3.37
Mungbean grains correlate with flours	break down	Original	400-2500	7	0.86	2.90	3.52	7.09	0.093268	2.01
Mungbean grains correlate with starches	break down	Original	400-2500	10	0.91	4.96	7.96	19.64	0.157884	2.46
Mungbean flours	break down	Original	400-2500	7	0.96	1.41	1.74	6.61	0.061084	3.79
Mungbean starches	break down	Original	400-2500	9	0.88	7.38	9.65	20.38	-0.1054761	2.11
Mungbean grains correlate with flours	Set back	Original	400-2500	2	0.96	2.20	2.20	8.89	-0.001955	4.04
Mungbean grains correlate with starches	Set back	Original	400-2500	3	0.95	10.85	11.92	41.29	0.001952	3.46
Mungbean flours	Set back	Original	400-2500	7	0.95	2.09	2.68	8.82	-0.048466	3.29
Mungbean	Set back	Original	400-2500	10	0.92	14.05	17.88	46.66	-0.067336	2.60

starches										
----------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Table 7. Partial Least Square calibration result for predicting sucrose, glucose, fructose, and total sugar value of grains and flours

Items	Type	R	SEC	SEP	Bias	SD	N	F
Sucrose	grains	0.96	0.17	0.21	0.0050	0.53	88	10
	flours	0.90	0.24	0.26	-0.0006	0.64	211	17
Glucose	grains	0.96	0.14	0.16	-0.0034	0.20	88	13
	flours	0.94	0.15	0.16	-0.0010	0.50	211	10
Fructose	grains	0.86	0.28	0.31	0.0014	0.64	88	10
	flours	0.96	0.17	0.19	0.0006	0.59	211	9
Total sugar	grains	0.98	0.28	0.34	-0.0090	1.34	88	11
	flours	0.97	0.28	0.31	-0.0047	1.28	211	10

Table 8. Partial Least Square calibration result for predicting carotenoids of maize grains and flours.

Carotenoids	Type	Math method	Wavelength (nm)	F	R	SEC	SEP	SD	Bias	RPD
Lutein	maize grains	Original	400-2500	10	0.91	0.28	0.33	0.81	-0.002120	2.45
	maize flours	Original	400-2500	9	0.90	0.35	0.39	0.91	-0.391041	2.33
Zeaxanthin	maize grains	Original	400-2500	8	0.90	0.06	0.07	0.18	-0.0007447	2.57
	maize flours	Original	400-2500	6	0.92	0.06	0.07	0.19	-0.000309	2.71
Beta	maize grains	Original	400-2500	10	0.93	0.01	0.01	0.04	0.0008736	4.0
cryptoxanthin	maize flours	Original	400-2500	10	0.91	0.01	0.01	0.05	-0.0004395	5.0
	maize grains	Original	400-2500	9	0.90	0.23	0.32	0.77	0.002691	2.40
Beta carotene	maize flours	Original	400-2500	10	0.90	0.36	0.53	1.23	0.002541	2.32

Table 9. PLSR calibration for component for NIR Spectroscopy evaluation qualities in leaves grain and flour of crops

Substances	Types	Wavelength (nm)	F	R	SEC	SEP	Bias	sd	n
Phytoplasma	Sugarcane leaves	7500-4000 cm ⁻¹	-	0.97	0.413	0.543	-	6.05	60
Aflatoxin	Grain	400-2500	20	0.92	14.03	14,86	0.224	35.86	336
Aflatoxin	Flour	400-2500	17	0.99	0.62	0.85	0.0149	4.45	108

- No data

Table 10. PLSR calibration for component determinations in tea leaves

Compounds	Wavelength (nm)	No. of samples	R	SEC (ppm)	SEP (ppm)	Bias (ppm)	F	SD (ppm)
1.Gallic Acid (GA)	400-2500	270	0.888	1.417	1.518	0.001	9	3.081
2.Gallocatechin (GC)	400-2500	225	0.918	1.513	1.630	0.001	9	3.822
3.Epigallocatechin (EGC)	400-2500	262	0.938	7.606	8.099	-0.024	8	20.170
4.Catechin (C)	400-2500	180	0.939	1.429	1.570	-0.004	9	4.159
5.Caffein (Caf)	400-2500	297	0.938	2.762	2.907	0.001	8	7.981
6.Epicatechin (EC)	400-2500	179	0.952	2.236	2.477	-0.007	9	7.301
7.Epigallocatechin Gallate (EGCG)	400-2500	134	0.954	6.973	8.224	-0.039	9	23.316
8.Gallocatechin Gallate (GCG)	400-2500	291	0.863	1.330	1.375	0.006	8	2.633
9.Epicatechin Gallate (ECG)	400-2500	151	0.976	3.483	3.997	-0.002	9	15.956
10.Catechin Gallate (CG)	400-2500	307	0.866	1.399	1.490	0.009	10	2.797

X^F is the number of factors used in the calibration equation

R: Multiple correlation coefficients

SEC: Standard error of calibration

Y SECV: Standard error in cross validation

SEP: Standard error of prediction

Bias: The average of difference between actual value and NIR value

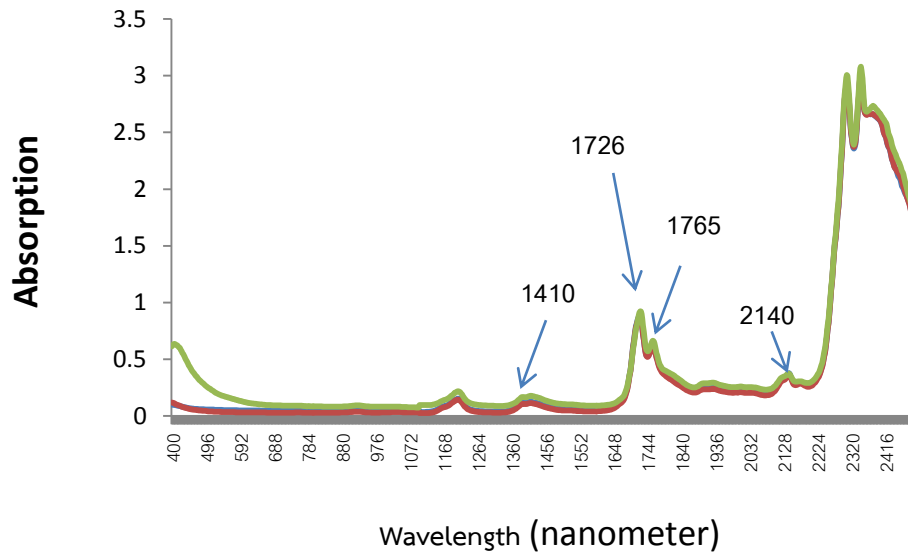


Figure 1. Absorption values of cooking oil at various wavelength (400-2500 nm)

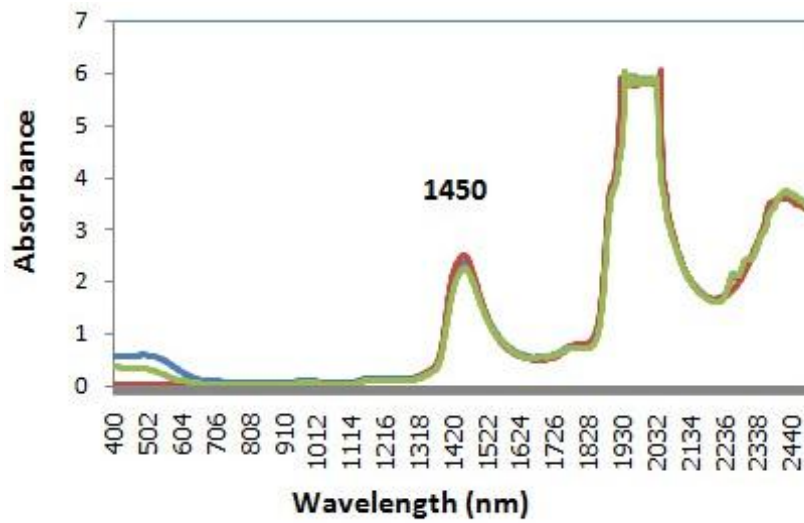


Figure 2. NIR Absorbance at different wavelengths (400 – 2500 nm) of various amount of alcohol in wine samples

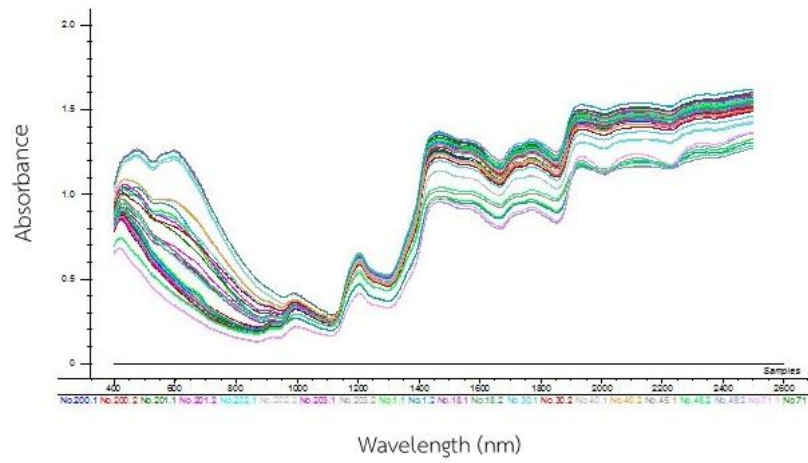


Figure 3. The original NIR spectra of germinated brown rice grains of 400-2500 nm

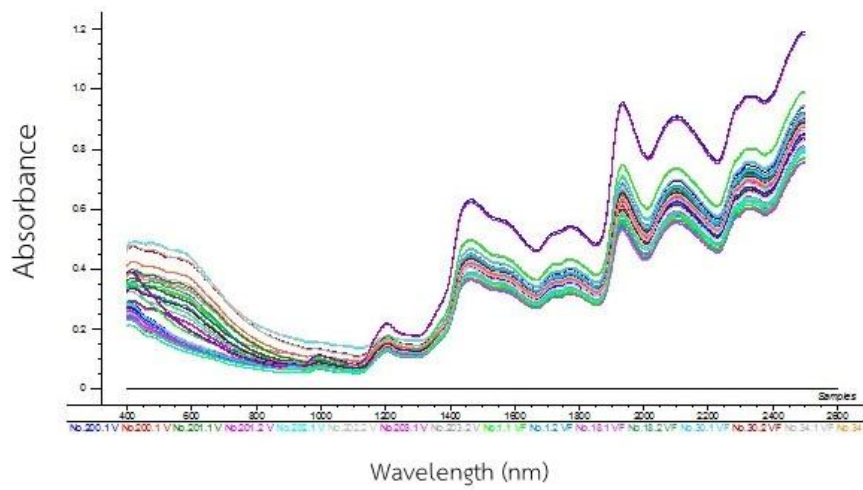


Figure 4. The original NIR spectra of germinated brown rice flours of 400-2500 nm

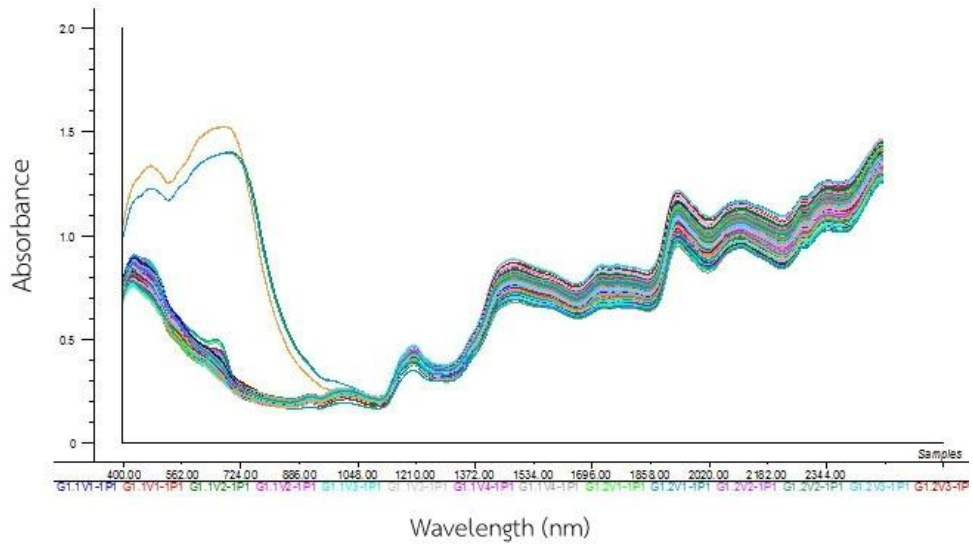


Figure 5. The original NIR spectra of soybean grains of 400-2500 nm

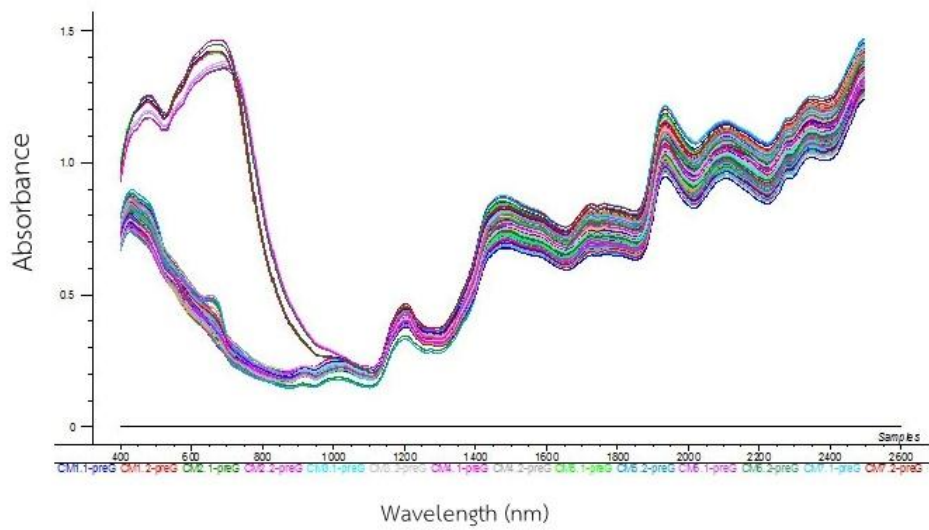


Figure 6. The original NIR spectra of germinated soybean grains of 400-2500 nm

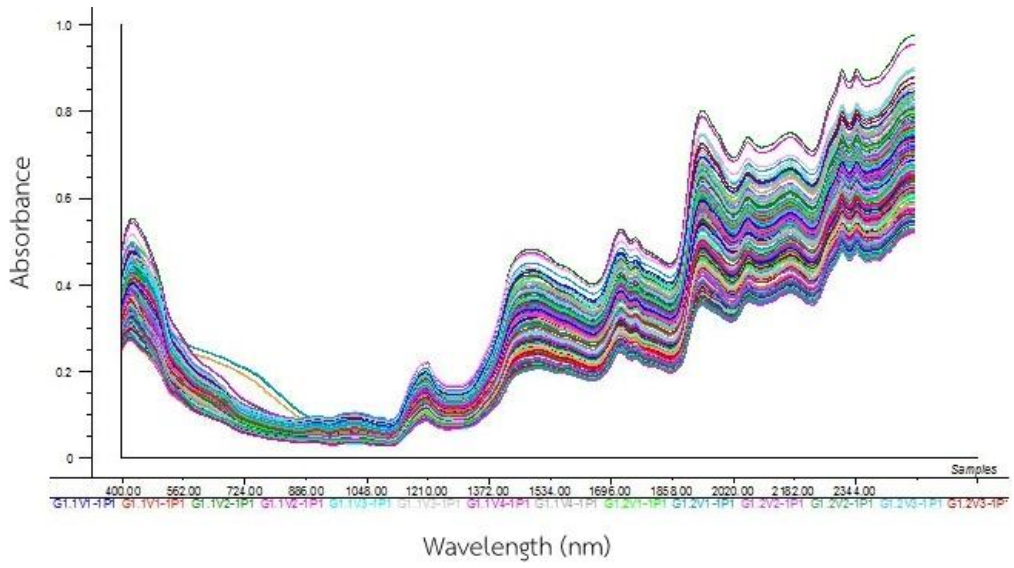


Figure 7. The original NIR spectra of soybean flours of 400-2500 nm

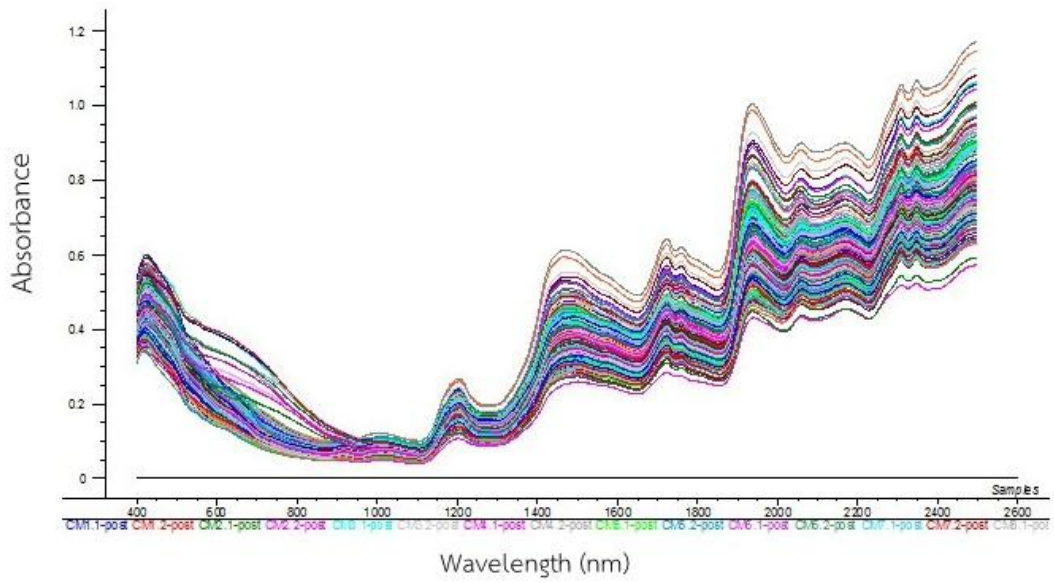


Figure 8. The original NIR spectra of germinated soybean flours of 400-2500 nm

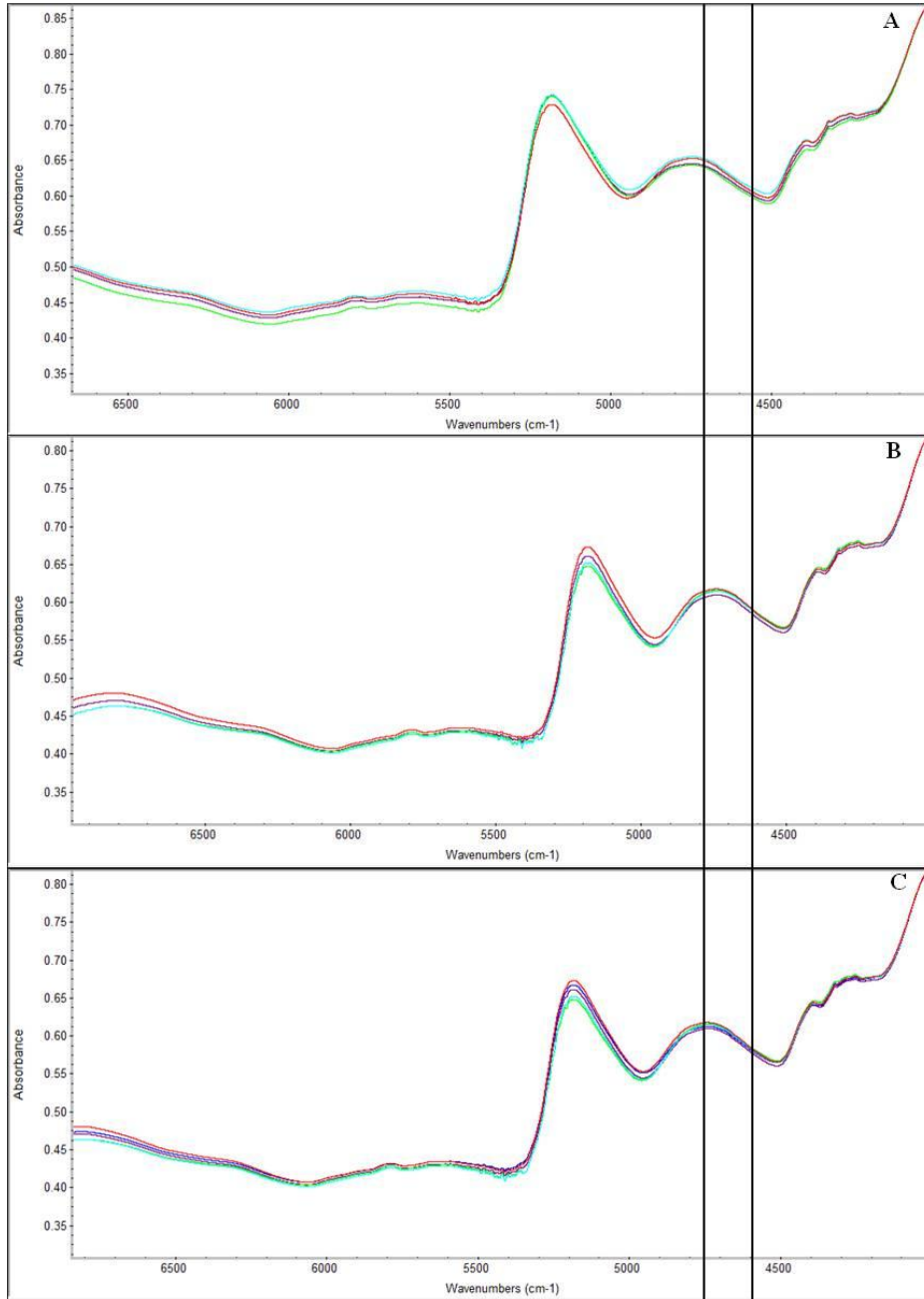


Figure 9. Spectrum from NIR scanning of sugarcane leaves with white leaves and none (Leaves samples from Banpai Khonkan) red line = green leaves, green lines = yellow leaves, brown lines = green in white leaves and blue = white leaves

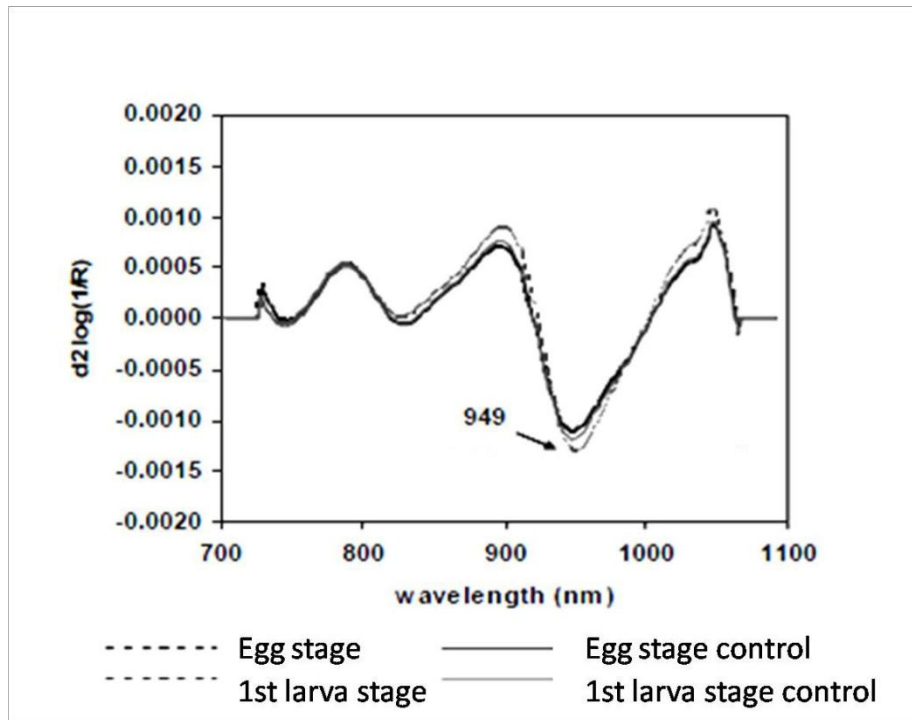


Figure 10. Means first derivative of absorbance NIR spectra of guava that infested by egg and 1st larva of fruit fly

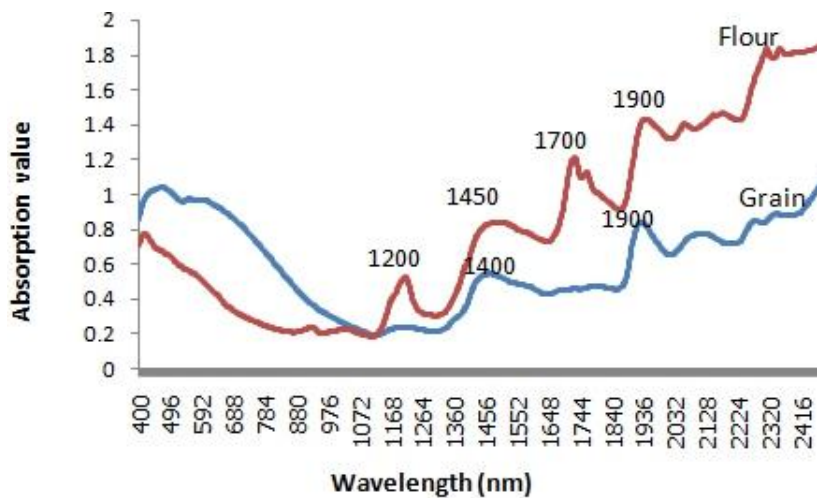


Figure 11. NIR absorption of grain and flour in the wavelength range 400-2500 nm

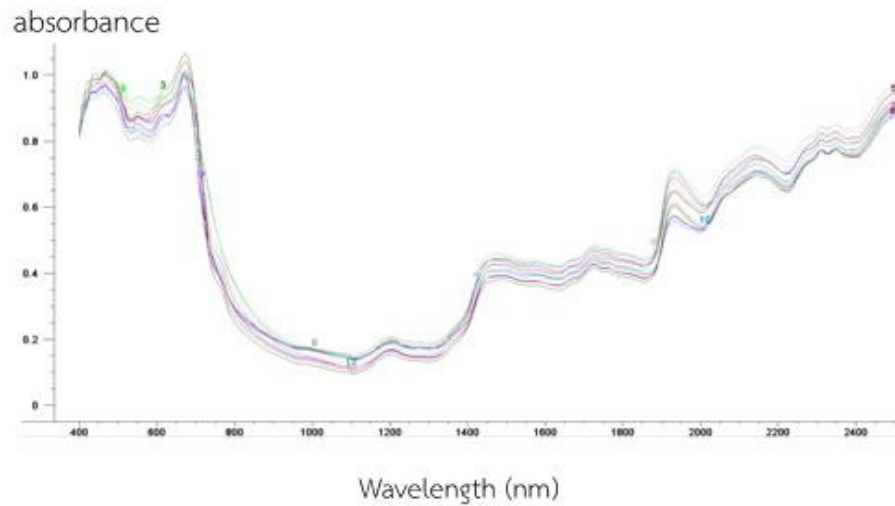


Figure 12. Original spectrum of tea samples in wavelength range 400 – 2500 nm

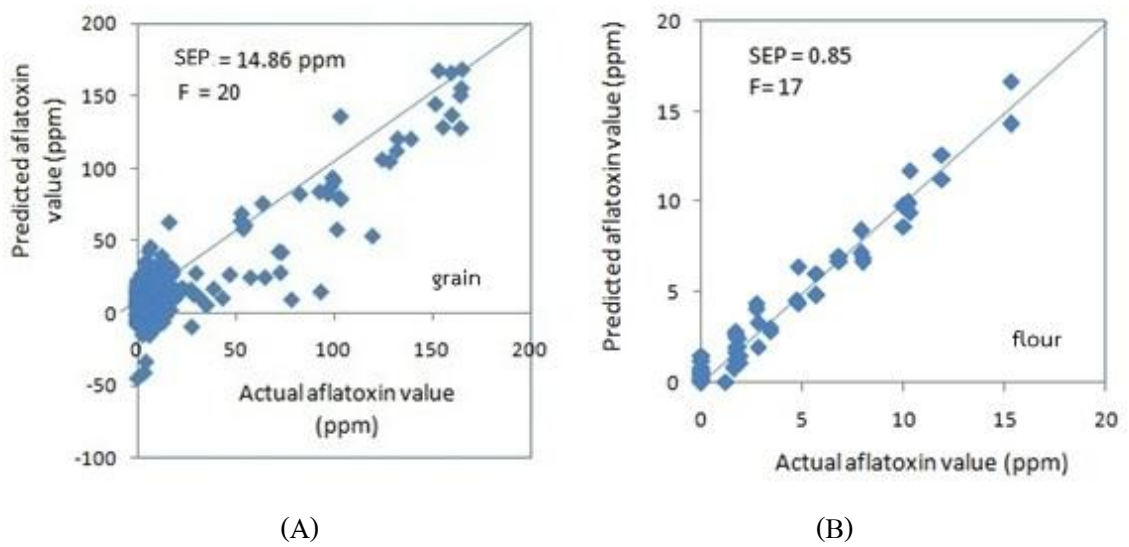


Figure 13. The samples of comparison of actual and predicted values from NIRS.

From the figure had shown that the model of (A) had lower accuracy than (B)

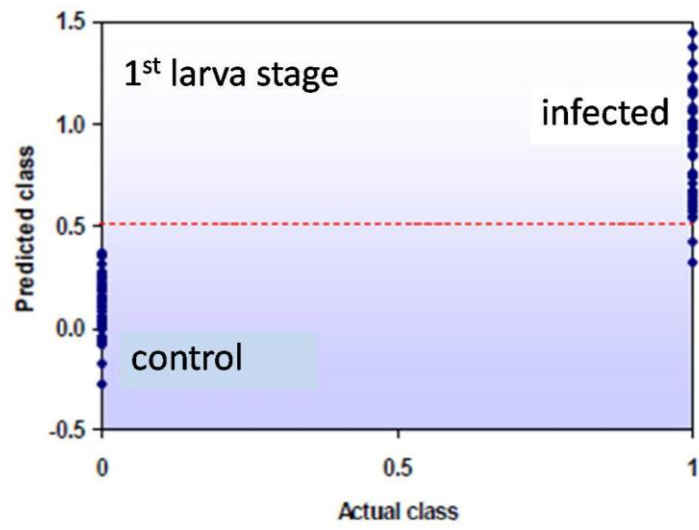


Figure 14. Scatter plot for classifying 1st larva stage of fruit fly infested guavas from no infested guavas

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชันด้วยค่า R

ค่า R	ความสามารถของสมการแคลิเบรชัน
± 0.5	ไม่ควรใช้ในการทำนาย
$\pm 0.51 - 0.70$	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ
$\pm 0.71 - 0.80$	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ
$\pm 0.81 - 0.90$	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น
$\pm 0.91 - 0.95$	การทำนายเพื่องานวิจัยและงานทั่วไป
$\pm 0.96 - 0.98$	การทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ
± 0.99 ขึ้นไป	ทุกงาน

ที่มา : รณฤทธิ (2552)