



รายงานแผนงานวิจัยย่อย

การประเมินปริมาณและคุณภาพผลิตผลและผลิตภัณฑ์เกษตร
อย่างรวดเร็วโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

Rapid Assessment on Quantity and Quality of Agricultural
Produces and Products by Using
Near Infrared Spectroscopy Technique

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย

นายนฤเทพ เวชภิบาล

Mr. Naruthep Wechpibal

ปี พ.ศ. 2564



รายงานแผนงานวิจัยย่อย

การประเมินปริมาณและคุณภาพผลิตผลและผลิตภัณฑ์เกษตร
อย่างรวดเร็วโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

Rapid Assessment on Quantity and Quality of Agricultural
Produces and Products by Using
Near Infrared Spectroscopy Technique

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย

นายนฤเทพ เวชภิบาล

Mr. Naruthep Wechpibal

ปี พ.ศ. 2564

คำปรารภ

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) เป็นเทคนิคที่เริ่มมีการนำมาใช้ในการตรวจสอบประเมินคุณภาพในผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์เกษตรเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถทราบผลการประเมินได้อย่างรวดเร็ว หลีกเลี่ยงการตรวจสอบโดยการสัมผัสโดยตรงได้ อีกทั้งเป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่าง และไม่ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย ช่วยทำให้การตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์เกษตรเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยลดปัญหาด้านขยะ และมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยแผนงานย่อยการประเมินปริมาณและคุณภาพผลิตภัณฑ์เกษตรอย่างรวดเร็วโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ประกอบด้วยโครงการที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรทางด้านพืชสวน พืชไร่ และพืชสมุนไพร จำนวน 3 โครงการ ได้แก่ 1) โครงการวิจัยการประเมินคุณภาพผักและผลไม้สดโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี 2) โครงการวิจัยการประเมินคุณภาพในผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี และ 3) โครงการวิจัยการประเมินคุณภาพในสมุนไพรโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ซึ่งแผนงานวิจัยย่อยนี้เป็น การประเมินหาปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศรับประทานสด ปริมาณสารแคปไซซินในผลพริกสด ปริมาณสารคาเฟอีนในกาแฟ วิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง เคอร์คูมินอยด์ในขมิ้น ไอโซฟลาโวนในกวางเครือ และสารพิษแอฟลาทอกซินในถั่วโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ซึ่งการนำเทคนิค NIRS มาใช้เพื่อทำนายค่าวิเคราะห์คุณภาพหรือการประเมินหาสารสำคัญ และสารพิษที่อาจปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เพื่อช่วยลดระยะเวลา ต้นทุน และการใช้สารเคมี เป็นการทดแทนการตรวจสอบวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และมีค่าใช้จ่ายสูง ได้

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	5
ผู้วิจัย.....	6
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	7
บทนำ.....	8
บทคัดย่อ.....	9
1. โครงการวิจัยการประเมินคุณภาพผักและผลไม้สดโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี..	11
2. โครงการวิจัยการประเมินคุณภาพในผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้ เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี.....	29
3. โครงการวิจัยการประเมินคุณภาพในสมุนไพรโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี.....	48
บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	62
บรรณานุกรม.....	63

กิตติกรรมประกาศ

แผนงานวิจัยย่อยการประเมินปริมาณและคุณภาพผลิตผลและผลิตภัณฑ์เกษตรอย่างรวดเร็ว โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยได้รับความร่วมมือ การสนับสนุน และอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานจากเกษตรกร และผู้ประกอบการผู้ให้ความเอื้อเฟื้อในการเข้าไปคัดเลือกตัวอย่างผลิตผลเกษตรมาปฏิบัติงานวิจัย รวมถึงคณะที่ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ นักวิชาการ พนักงานราชการ เจ้าหน้าที่ และจ้างเหมาบริการของกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ที่ช่วยสนับสนุนทั้งด้านการทำงานวิจัย งานเอกสาร การเงิน และอื่น ๆ นอกจากนี้ ยังมีผู้ที่ได้ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนในด้านต่าง ๆ แต่มิได้เอ่ยนามไว้ ซึ่งล้วนแต่มีส่วนส่งเสริมให้แผนงานวิจัยย่อยนี้ดำเนินงานจนเป็นผลสำเร็จไปด้วยดี ซึ่งคณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ไพศิเทพ นวรัตน์
(นายณฤเทพ เวชภิบาล)
หัวหน้าแผนงานวิจัยย่อย

ผู้วิจัย

นฤเทพ เวชภิบาล
Naruthep Wechpibal

ปรางค์ทอง กวานห้อง
Prangthong Kwanhong

จารุรัตน์ พุ่มประเสริฐ
Jarurat Pumprasert

ภัทระ ลูกรักษ์
Phatthara Loogruk

ภักวีไล ยอดทอง
Phakwilai Yodthong

ศิริกานต์ ศรีธัญรัตน์
Siragan Srithanyarat

โกเมศ สัตยาวุธ
Komate Satyawut

ศุภรา อัครสาระกุล
Suppara Aukkasarakul

อรวรรณ จิตต์ธรรม
Orawan Jittham

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AFB ₁	Aflatoxin B1
Bias	Average of difference between actual value and NIR value
Cset	Calibration set
DW	Dry weight
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
F	The number of factors used in the calibration equation
FQA	Fruit Quality Analyzer
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
N	Sample number
NIR	Near Infrared
NIRS	Near Infrared Spectroscopy
PLSR	Partial least square regression
R	Correlation of coefficient
R ²	Coefficient of determination
RMSEC	Root mean square error of calibration
RMSECV	Root mean squared error cross validation
RMSEP	Root mean square errors of prediction
RPD	Residual predictive deviation
SD	Standard deviation
SEC	Standard error of calibration
SEP	Standard error of prediction
Vset	Validation set

บทนำ

ผลิตผลและผลิตภัณฑ์ทางเกษตร เช่น มะเขือเทศ พริก กาแฟ ถั่วเหลือง ข้าวโพด ถั่ว ขมิ้น และถั่วเขียว เป็นพืชที่สามารถนำมาบริโภคทั้งในรูปแบบสด และผลิตภัณฑ์แปรรูป คุณค่าทางโภชนาการ สารสำคัญที่เป็นประโยชน์ รวมถึงสารพิษที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึง เพราะคุณสมบัติดังกล่าวส่งผลต่อมูลค่าของผลิตผล และผลิตภัณฑ์ทางเกษตรที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ โดยทั่วไปแล้วผลิตผลเกษตรมักเกิดการสูญเสีย และเปลี่ยนแปลงคุณภาพภายหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งระหว่างการเก็บรักษา หรือระหว่างการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจึงเป็นสิ่งสำคัญ ปัจจุบัน วิธีตรวจประเมินคุณภาพทางเคมีต้องวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการที่ใช้เวลานาน ค่าใช้จ่ายสูง ใช้สารเคมี ทำลายตัวอย่าง ผู้ปฏิบัติงานมีความเสี่ยง เป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้น หากสามารถใช้วิธีการประเมินโดยไม่ต้องทำลายตัวอย่าง ไม่ต้องใช้สารเคมี และสามารถตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการตกลงซื้อขายเกษตรกรผู้ผลิตมีรายได้เพิ่มขึ้น และผู้บริโภคมีสุขภาพที่ดีขึ้น เพราะสามารถผลิตผลเกษตรที่มีปริมาณสารสำคัญและคุณภาพตามความต้องการได้อย่างถูกต้อง ผู้บริโภคได้สินค้าตามที่ต้องการ และมีความปลอดภัยต่อการบริโภค เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) เป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายตัวอย่าง โดยใช้หลักการการสร้างสมการจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์หรือค่า R ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงย่านใกล้ที่ส่องไปยังวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์จำนวนหนึ่งแล้วนำมาเปรียบเทียบกับค่าที่วิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการที่ต้องการ เมื่อได้สมการที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงและค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินต่ำ ก็จะสามารถนำสมการที่ได้นี้มาใช้ในการทำนายค่าวิเคราะห์ของตัวอย่างดังกล่าวแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งข้อได้เปรียบของการใช้เทคนิค NIRS คือ ไม่ต้องใช้สารเคมีในการสกัด ตรวจวิเคราะห์ได้รวดเร็ว ประหยัดเวลา และปลอดภัย เพียงนำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาผ่านเข้าเครื่อง NIRS ซึ่งจะทำให้การสแกนตัวอย่างแล้วคำนวณออกมาเป็นค่าทำนายของปริมาณสารตามที่ต้องการโดยเปรียบเทียบจากสมการสหสัมพันธ์ที่ตั้งไว้ จึงสามารถใช้ทดแทนการวิเคราะห์ทางเคมีได้ ดังนั้น การใช้เทคนิค NIRS จึงเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการประเมินคุณภาพ และหาปริมาณสารในผลิตผลเกษตร เพื่อลดระยะเวลา ต้นทุน และการใช้สารเคมี เป็นการทดแทนการตรวจสอบวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และมีค่าใช้จ่ายสูง วัตถุประสงค์ของแผนงานย่อยเพื่อประเมินตรวจสอบและหาปริมาณสารไลโคพีนในผลมะเขือเทศสด สารแคปไซซินในพริก สารคาเฟอีนในกาแฟ วิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง เคอร์คูมินอยด์ในขมิ้น ไอโซฟลาโวนในถั่วเขียว และสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพด และถั่วเมล็ดแห้ง โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีเพื่อหลีกเลี่ยงการทำลายตัวอย่างปราศจากการใช้สารเคมี ตรวจสอบคุณภาพได้อย่างรวดเร็ว และทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

บทคัดย่อ

การศึกษาแนวทางการตรวจสอบประเมินคุณภาพในผลิตผลและผลิตภัณฑ์เกษตรภายหลังการเก็บเกี่ยว หรือผ่านการแปรรูป ที่สามารถทราบผลการประเมินได้อย่างรวดเร็ว และปราศจากการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายเป็นสิ่งที่น่าสนใจและควรให้ความสำคัญ เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) เป็นทางเลือกในการวิเคราะห์อีกวิธีที่ช่วยลดต้นทุนในระยะยาว คุ่มค่า รวดเร็ว และเชื่อถือได้ แผนงานวิจัยย่อยประกอบด้วย 3 โครงการวิจัย ซึ่งดำเนินการวิจัยระหว่างเดือนตุลาคม 2563 ถึงเดือนธันวาคม 2564 ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ โครงการวิจัยที่ 1 ศึกษาการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) เพื่อประเมินปริมาณสารสำคัญในผลิตผลเกษตร ได้แก่ สารไลโคพีนในผลมะเขือเทศสด สารแคปไซซินในพริกสด และสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่ว ผลการศึกษาพบว่าประเมินหาปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศสดโดยการทำนายค่าจากค่าวัดสี a^* (สีเขียว/แดง) และปริมาณไลโคพีน มีความแม่นยำในการทำนายค่าของสมการในระดับการทำนายค่าเพื่องานวิจัยและงานทั่วไป และระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น ตามลำดับ โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของสมการเทียบมาตรฐานของค่า a^* และสารไลโคพีน ที่มีค่าเท่ากับ 0.93 และ 0.90 ตามลำดับ ส่วนสมการที่ได้สำหรับการประเมินปริมาณสารแคปไซซินในผลพริกสดสีแดง มีค่า R เท่ากับ 0.74 แสดงว่า มีความแม่นยำอยู่ในระดับการทำนายค่าเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ ในช่วง 540-1,993 ไมโครกรัมต่อกรัม ขณะที่สมการสำหรับประเมินปริมาณสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่ว มีค่า R สูงถึง 0.98 จึงมีความแม่นยำของการทำนายค่าอยู่ในระดับที่สามารถนำไปทำนายเพื่อการประกันคุณภาพในช่วง 0.01-2.19 กรัมต่อร้อยกรัมของน้ำหนักแห้ง ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับในโครงการวิจัยที่ 2 เป็นการประเมินคุณภาพในผลิตผลและผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี โดยทำการศึกษาวิธีการตรวจสอบปริมาณสารวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลือง สารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 ในเมล็ดข้าวโพดและถั่วลิสง ผลจากการสร้างสมการและทดสอบความถูกต้องในการประเมินโดยใช้เทคนิค NIRS พบว่าสมการที่ใช้ประเมินปริมาณวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลือง สารพิษแอฟลาทอกซิน บี 1 ในเมล็ดข้าวโพด และถั่วลิสงมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.92 0.80 และ 0.76 ตามลำดับ และโครงการที่ 3 ดำเนินงานวิจัยเกี่ยวกับการประเมินคุณภาพในสมุนไพรโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี โดยดำเนินการตรวจสอบปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผง และสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดและผลิตภัณฑ์ โดยพบว่า สมการสามารถประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผงได้ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สูง เท่ากับ 0.93 สำหรับสมการสามารถประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดและผลิตภัณฑ์มีค่า R เท่ากับ 0.81 และ 0.85 ตามลำดับ

Abstract

Near Infrared Spectroscopy (NIRS) is an excellent candidate for a long-term low-cost, cost-effective, rapid and reliable analytical monitoring method. The research consisting of 3 projects, was conducted during October 2020 - December 2021 at Postharvest and Product Processing Research Development Division, Department of Agriculture. The first project studied the use of Near Infrared Spectroscopy (NIRS) technique to estimate contents of lycopene in fresh tomatoes, capsaicin in fresh chilies and caffeine in the roasted coffee beans. The results showed that the prediction accuracy of calibration equations for the a^* value and lycopene contents of large fresh tomatoes could be used to predict at the level of usable with caution for most applications including research and the level of screening and approximate calibration, respectively based on the correlation coefficient (R) of the calibration equation for the a^* value and the lycopene content of 0.93 and 0.90, respectively. The R-value for capsaicin determination in fresh chilies by NIRS was 0.74. It showed that the accuracy of the calibration equation of capsaicin content in fresh chilies was at the prediction level for rough screening in the range of 540-1,993 micrograms per gram ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Meanwhile, the R-value of caffeine content in roasted coffee beans was 0.98. The results indicated that the calibration equation of caffeine content in roasted coffee beans was at the level of predictive accuracy that can be used in the most application including quality assurance in the range of 0.01-2.19 grams per 100 grams dry weight ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ DW). The second project was conducted on quality assessment in field crop produces and products by NIRS technique implementation. The determination of vitamin B₁ in soybean grain and Aflatoxin B₁ (AFB₁) content in maize and peanut was performed. The results demonstrated that values of correlation coefficient (R) in vitamin B₁ content in soybean grains and AFB₁ content in maize and peanut were 0.92, 0.80 and 0.76, respectively. The final project investigated quality evaluation in herbal plants by NIRS. The evaluation of curcuminoids in turmeric powder and isoflavone contents in fresh and powder forms of Kwao Kruea was performed. The equation of curcuminoids determination in turmeric powder had high correlation coefficient (R) of 0.93. Besides, the R values in fresh and powdered Kwao Kruea were 0.81 and 0.85, respectively.

โครงการวิจัยที่ 1

การประเมินคุณภาพผักและผลไม้สดโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี Quality Evaluation of Fresh Vegetables and Fruits by Near Infrared Spectroscopy

ผู้วิจัย

ปรางค์ทอง	กวานห้อง
Prangthong	Kwanhong
จารุรัตน์	พุ่มประเสริฐ
Jarurat	Pumprasert
ภัทระ	ลูกรักษ์
Phatthara	Loogruk
อรวรรณ	จิตต์ธรรม
Orawan	Jittham
นฤเทพ	เวชภิบาล
Naruthep	Wechpibal
ศิรกานต์	ศรีธีธัญรัตน์
Siragan	Srithanyarat
โกเมศ	สัตยาวุธ
Komate	Satayawut

คำสำคัญ

เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี มะเขือเทศ พริก เมล็ดกาแฟคั่ว ไลโคพีน แคปไซซิน คาเฟอีน
Near Infrared Spectroscopy, tomato, chili, roasted coffee bean, lycopene, capsaicin, caffeine

บทคัดย่อ

งานวิจัยในครั้งนี้ ศึกษาการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) เพื่อประเมินปริมาณสารสำคัญในผลิตผลเกษตร ได้แก่ สารไลโคพีนในผลมะเขือเทศสด สารแคปไซซินในพริกสด และสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่ว สำหรับเป็นวิธีการทางเลือกในการประเมินค่าคุณภาพที่รวดเร็ว ปลอดภัย และไม่สร้างความเสียหายแก่ผลิตผล ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2563 ถึงเดือนธันวาคม 2564 ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยเป็นการสร้างสมการเทียบมาตรฐานเบื้องต้นที่ได้จากความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงที่วัดจากเทคนิค NIRS กับค่าวิเคราะห์อ้างอิงในห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่าการประเมินหาปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศสดโดยการทำนายค่าจากค่าวัดสี a^* (สีเขียว/แดง)

และปริมาณไลโคปีน มีค่าความแม่นยำในการทำนายค่าของสมการในระดับการทำนายค่าเพื่องานวิจัย และงานทั่วไป และระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น ตามลำดับ โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของสมการเทียบมาตรฐานของค่า a^* และสารไลโคปีน ที่มีค่าเท่ากับ 0.93 และ 0.90 ตามลำดับ ส่วนสมการที่ได้สำหรับการประเมินปริมาณสารแคปไซซินในผลพริกสดสีแดง มีค่า R เท่ากับ 0.74 แสดงว่า มีความแม่นยำอยู่ในระดับการทำนายค่าเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ ในช่วง 540-1,993 ไมโครกรัมต่อกรัม ขณะที่สมการสำหรับประเมินปริมาณสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่ว มีค่า R สูงถึง 0.98 จึงมีความแม่นยำของการทำนายค่าอยู่ในระดับที่สามารถนำไปทำนายเพื่อการประกันคุณภาพในช่วง 0.01-2.19 กรัมต่อร้อยกรัมของน้ำหนักแห้ง ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Abstract

This research was to study the use of near infrared spectroscopy (NIRS) techniques to estimate some essential substances in agricultural products. Evaluation of lycopene in fresh tomatoes, capsaicin in fresh chilies and caffeine in roasted coffee bean using NIRS were studied to provide an alternative method for fast, safe and non-destructive quality valuation. The study was conducted between October 2020 and December 2021 at Postharvest and Product Processing Research and Development Division, Department of Agriculture. Development of the NIR equation was derived from the relationship between the spectral data measured by the NIRS technique and the reference values from laboratory analysis. The results of the equation analysis were found that the prediction accuracy of calibration equations for the a^* value and lycopene content of large fresh tomatoes could be used to predict at the level of usable with caution for most applications including research and the level of screening and approximate calibration, respectively based on the correlation coefficient (R) of the calibration equation for the a^* value and the lycopene content of 0.93 and 0.90, respectively. And the equation of capsaicin determination in fresh chilies had an R-value of 0.74. It showed that the accuracy of calibration equation of capsaicin content in fresh chilies was at the prediction level for rough screening in the range of 540-1,993 micrograms per gram ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Meanwhile, The R-value of caffeine content in roasted coffee bean was 0.98. These results indicating that the calibration equation of caffeine content in roasted coffee beans was in a level of predictive accuracy that can be used in most application including quality assurance in the range of 0.01-2.19 grams per 100 grams dry weight ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ DW).

บทนำ

ผักและผลไม้จัดเป็นอาหารที่ช่วยในเรื่องการรักษาสุขภาพ เพราะไม่เพียงมีรสชาติที่ดี แต่ยังมีสารอาหารที่อุดมสมบูรณ์ การรับประทานผักและผลไม้ในสภาพที่มีคุณภาพดีและยังคงคุณค่าทางอาหารสูงเป็นหนึ่งในความต้องการที่สำคัญของผู้บริโภค การวัดคุณภาพผักและผลไม้ส่วนใหญ่จึงมุ่งเน้นไปที่คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส (ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส รูปร่าง และขนาด) คุณค่าทางโภชนาการ (โปรตีน วิตามิน น้ำตาล ความเป็นกรด สารอาหารสำคัญ) ตำหนิที่ส่งผลต่อคุณภาพ เป็นต้น มะเขือเทศ พริก และกาแฟ เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการบริโภคและการนำไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในรูปแบบผลิตภัณฑ์แปรรูป จึงนับว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ โดยในขั้นตอนการเก็บเกี่ยว การขนส่ง การเก็บรักษาในระหว่างรอการขนส่งหรือจำหน่าย หรือการแปรรูป อาจมีปริมาณสารสำคัญที่มีประโยชน์ในปริมาณน้อยหรือมีการสูญเสียออกจากผลิตภัณฑ์ เพื่อเป็นการคัดเลือกผลิตภัณฑ์ให้สารสำคัญในปริมาณสูง จึงควรทำการตรวจสอบหาปริมาณสารสำคัญ เช่น สารไลโคพีนในมะเขือเทศ สารแคปไซซินในพริก และสารคาเฟอีนในกาแฟ ซึ่งทำได้โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมีในห้องปฏิบัติการ เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณไลโคพีนตามวิธี Kimura method โดยการใช้เครื่อง UV-visible spectrophotometer การหาปริมาณสารแคปไซซินและสารคาเฟอีนโดยการวิเคราะห์ด้วย HPLC ซึ่งในขั้นตอนการวิเคราะห์มีความจำเป็นต้องหั่นหรือบดย่อยทำลายตัวอย่างรวมทั้งต้องใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์เป็นเวลานาน ต้องใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายและมีค่าใช้จ่ายสูง อีกทั้งต้องใช้ผู้ที่มีความรู้และความชำนาญสูงในการตรวจสอบ ในอุตสาหกรรมการผลิตผักและผลไม้ในปัจจุบัน จึงมีความต้องการวิธีการตรวจวัดคุณภาพที่ให้ผลรวดเร็วและไม่ทำลายผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้เทคโนโลยีรังสีเอกซ์ (X-ray) เทคโนโลยีเทระเฮิร์ตซ์ (terahertz; T-Hz) ถ่ายภาพด้วยคลื่นสนามแม่เหล็ก (magnetic resonance imaging; MRI) เทคโนโลยีจมูกอิเล็กทรอนิกส์ (electronic nose; E-nose) เทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (infrared (IR) spectroscopy) เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (near infrared (NIR) spectroscopy) เป็นต้น ดังนั้น หากสามารถใช้วิธีการประเมินโดยไม่ต้องทำลายตัวอย่าง ไม่ต้องใช้สารเคมี และสามารถตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการตกลงซื้อขาย เพราะสามารถคัดเลือกผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารสำคัญและคุณภาพตามความต้องการได้อย่างถูกต้อง ผู้บริโภคได้สินค้าตามที่ต้องการ และมีความปลอดภัยต่อการบริโภค

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (NIRS) เป็นวิธีการประเมินคุณภาพผลผลิตทางการเกษตรที่ได้รับความนิยมและใช้กับผลผลิตทางพืชสวนหลายชนิด ในปัจจุบันมีหลายประเทศนำระบบ NIRS มาใช้ในโรงคัดบรรจุ เพื่อประเมินคุณภาพและคัดแยกผลผลิตแบบไม่ทำลายตัวอย่าง เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น เนื่องจากเป็นเทคนิคการตรวจสอบที่ใช้ง่าย รวดเร็ว แม่นยำ เชื่อถือได้ สามารถตรวจสอบได้ในสายการผลิต ไม่ต้องการใช้สารเคมีหรือใช้น้อย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยที่เทคนิค NIRS อาศัยหลักการด้านการสั่นของพันธะเคมีที่อยู่ในอินทรีเรียสของผลผลิตในช่วงรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ มีความยาวคลื่นระหว่าง 800-2,500 นาโนเมตร มีพลังงานที่สอดคล้องกับพลังงานที่ก่อให้เกิดการสั่นของพันธะ O-H C-H และ N-H ในโมเลกุลของอินทรีเรียส (Osborne *et al.*, 1993; Nicolai *et al.*, 2007) ซึ่งค่าการดูดกลืนพลังงานแสงดังกล่าวสามารถนำไปพัฒนาสมการทาง

คณิตศาสตร์แล้วใช้เพื่อทำนายค่าคุณภาพของตัวอย่างทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพได้ (McGlone *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2010)

มะเขือเทศ จัดเป็นพืชตระกูลพริก มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ พืชหนึ่งของประเทศไทยและของโลก มีผู้นิยมบริโภคกันแพร่หลายทั้งในรูปผลสดและผลิตภัณฑ์แปรรูปต่าง ๆ เช่น ซอสมะเขือเทศ น้ำมะเขือเทศ เป็นต้น มะเขือเทศจัดเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง เป็นแหล่งของธาตุอาหารที่สำคัญ ได้แก่ เหล็ก โพแทสเซียม วิตามินเอ บี และซี (Nonnecke, 1989) อย่างไรก็ตาม คุณค่าทางอาหารของมะเขือเทศที่สำคัญ คือ วิตามินเอ ในรูปของแคโรทีนอยด์ที่เป็นรงควัตถุในมะเขือเทศให้สีส้มแดง 2 ชนิด คือ บีตา-แคโรทีน และไลโคพีน ที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในน้ำมันและตัวทำละลายอินทรีย์ โดยพบไลโคพีนมากกว่าร้อยละ 85 ของรงควัตถุทั้งหมดในผลมะเขือเทศ (Emin, 2001; Riadh *et al.*, 2011) ซึ่งส่วนของผิวเปลือกของผลมะเขือเทศที่เป็นสีแดงพบว่าเป็นองค์ประกอบของไลโคพีนในช่วงร้อยละ 80-90 ของสารสีทั้งหมด และสารสีนี้จะเพิ่มขึ้น 10-14 เท่า เมื่อผลมะเขือเทศสุก (Binoy *et al.*, 2004) สำหรับผลมะเขือเทศผลสุก สามารถพบปริมาณไลโคพีนตั้งแต่ 0.9-9.3 กรัมในมะเขือเทศสด 100 กรัม (Tawfik, 2001) จึงเป็นหนึ่งในสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพมากที่สุดในหมู่แคโรทีนอยด์ในอาหาร การบริโภคมะเขือเทศสดและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศที่มีสารไลโคพีนสูงจึงมีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรัง (chronic disease) เช่น โรคกระเพาะ โรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease: CDV) (Agarwal and Rao, 2000) สารไลโคพีน (lycopene) เป็นสารสารพฤกษเคมี (phytochemical) ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นรงควัตถุที่พบมากในผักและผลไม้ที่มีสีแดงหรือสีชมพู เช่น มะเขือเทศ แตงโม เกรฟฟรุตสีชมพู (pink grapefruit) ฝรั่งสีแดง เป็นต้น มีบทบาทสำคัญต่อการสังเคราะห์แสงของพืช รวมทั้งสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ (สาหร่าย รา แบคทีเรีย) และเป็นสารตั้งต้นสำคัญทางชีวภาพเพื่อการสังเคราะห์สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น เช่น บีตา-แคโรทีน แชนโทฟิลล์ (ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร, 2562ข) ไลโคพีนเป็นสารแคโรทีนอยด์ชนิดเดียวที่พบว่ามีปริมาณมากที่สุดในกระแสเลือด และร่างกายมนุษย์คิดเป็นปริมาณมากกว่าร้อยละ 50 โดยมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะช่วยลดความผิดปกติและความเสื่อมของเซลล์อันเนื่องมาจากการทำลายของอนุมูลอิสระจึงสามารถป้องกันอวัยวะต่าง ๆ ที่มีสารไลโคพีนอยู่ ขณะที่เบต้าแคโรทีนและแคโรทีนอยด์อื่น ๆ มีบทบาทช่วยเสริมการทำงานของไลโคพีนให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นในการทำลายอนุมูลอิสระ (Riadh *et al.*, 2011; Binoy *et al.*, 2004) ซึ่งสารประกอบกลุ่มแคโรทีนอยด์นี้ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ ดังนั้น จึงต้องรับประทานเข้าสู่ร่างกายในรูปของผักและผลไม้ (ไพบูลย์, 2547) โดยปริมาณไลโคพีนที่พบในผักผลไม้จะมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาและสีของผลที่เปลี่ยนไป โดยแหล่งของไลโคพีนส่วนใหญ่จะพบในผลมะเขือเทศสดและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ เช่น มะเขือเทศต้ม ซอสมะเขือเทศ มะเขือเทศเข้มข้น มะเขือเทศผง น้ำมะเขือเทศ เป็นต้น (ชื่นหทัย, 2548) ทั้งนี้ มะเขือเทศพันธุ์เนื้อสีแดงมีปริมาณไลโคพีนมาก ในขณะที่พันธุ์เนื้อสีเหลืองมีปริมาณเบตาแคโรทีนมาก (D'Souza *et al.*, 1992)

พริก เป็นสินค้าเกษตรที่นิยมบริโภคอย่างแพร่หลาย มีการผลิตเพื่อการบริโภคโดยตรง และใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อาหารหลายรูปแบบ ได้แก่ การทำยา การปรุงแต่งกลิ่นและรสของอาหาร จึงมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ (รุ่งนภา, 2560) เนื่องจากคนไทยนิยมรับประทานอาหารที่มีรสค่อนข้างเผ็ด จึงมีการใช้พริกเป็นส่วนประกอบอาหารและเป็นเครื่องปรุงรสที่สำคัญ รวมทั้งแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เพื่อเพิ่มมูลค่า เช่น เครื่องแกงสำเร็จรูป ซอสพริก และน้ำพริก เป็นต้น เพราะนอกจากพริกจะช่วยให้เจริญอาหาร นำไปประกอบอาหารได้หลากหลายชนิด และทำให้

อาหารมีสีส้มสวยงามแล้ว พริกยังมีคุณค่าอาหารสูง เช่น โพรตีน วิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ อีกด้วย โดยสารประกอบที่ทำให้ความเผ็ดในพริกมีชื่อว่า แคปไซซิน (capsaicin) ซึ่งถูกสร้างจากส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ตรงบริเวณมุมระหว่างเยื่อแกนกลางผลและผนังผล ปริมาณของสารแคปไซซินจะมีความแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น พันธุ์ อายุการเก็บเกี่ยว แหล่งปลูก สภาพอากาศ และการดูแลรักษา และพบว่าระยะการสุกแก่ของผลพริกเกี่ยวข้องกับปริมาณสารที่ทำให้ความเผ็ด ผลอ่อนมีปริมาณสารที่ทำให้ความเผ็ดน้อย ปริมาณสารที่ทำให้ความเผ็ดเพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 50 ในระยะผลแก่ ทั้งนี้ ในทางการค้าจะใช้ปริมาณแคปไซซินเป็นดัชนีในการกำหนดราคาซื้อขายของพริก (Pandhair and Sharma, 2008) สารแคปไซซิน เป็นสารสำคัญที่ทำให้พริกเผ็ด สามารถละลายในน้ำได้เล็กน้อย แต่จะละลายได้ดีในไขมัน น้ำมัน และแอลกอฮอล์ เป็นสารไม่มีสี มีลักษณะเป็นน้ำมัน สีส้ม ส้มแดง หรือสีน้ำตาลปนเหลือง (Youngken, 1950; Suzuki and Iwai, 1984) สารแคปไซซินพบมากในบริเวณเยื่อแกนกลางสีขาวหรือที่เรียกว่า “รกพริก” (placenta) ในส่วนของเนื้อ เปลือก และเมล็ด พริกจะมีสารแคปไซซินอยู่น้อยมาก (Reyes-Escogido *et al.*, 2011) การกระจายตัวของสารแคปไซซินในผลพริกนั้นไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งผล แต่จะกระจายตัวอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของผลพริกในปริมาณที่แตกต่างกัน (Balbaa, *et al.*, 1968) อย่างไรก็ตาม สารแคปไซซินจะก่อให้เกิดการระคายเคืองที่ผิวหนังและอวัยวะที่รับรสบริเวณปาก จมูก และท้อง (Bosland, 2000) มีฤทธิ์ช่วยบรรเทาอาการเจ็บปวด และป้องกันการอักเสบ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย กระตุ้นการทำงานของกระเพาะอาหาร ให้หลังกรดเกลือเพิ่มมากขึ้น และทำให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดลดลงได้ (นิจศิริ, 2534)

กาแฟ เป็นเครื่องดื่มที่ทำมาจากเมล็ดซึ่งได้จากต้นกาแฟ หรือที่มักเรียกว่า เมล็ดกาแฟคั่ว ในปัจจุบันมีการปลูกกาแฟมากกว่า 70 ประเทศทั่วโลก ในประเทศไทย มีผลผลิตกาแฟในปี 2561/62 จำนวน 34,894 ตัน ซึ่งเพิ่มขึ้นจากปี 2560/61 ซึ่งมีจำนวน 24,742 ตัน หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 41.03 (กรมการค้าภายใน, 2561) กาแฟถือได้ว่าเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมแพร่หลายไปทั่วโลก ประชาชนนิยมบริโภคในชีวิตประจำวัน สาเหตุเพราะความรู้สึกหลังจากการดื่มกาแฟแล้ว จะทำให้เกิดความรู้สึกสดชื่นกระปรี้กระเปร่า และช่วยให้หายง่วงซึมในขณะที่เรียนหรือทำงาน อีกทั้งยังมีรูปแบบในการนำเสนอหรือวิธีการชงเพื่อให้ได้รสชาติที่หลากหลาย โดยสารสำคัญที่มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางและทำให้ร่างกายเกิดความตื่นตัวที่มีอยู่ในกาแฟ คือ สารคาเฟอีน (caffeine) เป็นสารเมทิลแซนทีน (methylxanthine) ซึ่งเป็นแซนทีนแอลคาลอยด์ เป็นสารที่มีรสขม ไม่มีกลิ่น คาเฟอีนที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับแอดโนซีน (adenosine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิดหนึ่งในสมอง มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง มีผลทางบวก คือ ทำให้ร่างกายเกิดความตื่นตัวและลดความง่วงได้ แต่การบริโภคคาเฟอีนในปริมาณมากเป็นเวลานานอาจนำไปสู่ภาวะเสพติดคาเฟอีน (caffeinism) ซึ่งจะปรากฏอาการต่าง ๆ ทั้งทางร่างกายและจิตใจ เช่น กระสับกระส่าย วิดกกังวล กล้ามเนื้อกระตุก นอนไม่หลับ หัวใจเต้นแรง ใจสั่น เป็นต้น นอกจากนี้การบริโภคคาเฟอีนเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็กอักเสบ และโรคน้ำย่อยไหลย้อนกลับ (gastroesophageal reflux disease) ปัสสาวะบ่อย (De Man, 1990; ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร, 2562ก) ทั้งนี้ เมล็ดกาแฟที่ผลิตจากแต่ละพื้นที่มีลักษณะสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น ความสูง รวมทั้งมีพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ทำให้สารอินทรีย์ที่ถูกสะสมไว้แตกต่างกัน ส่งผลให้รสชาติกาแฟของแต่ละพื้นที่แตกต่างกันด้วย (Hagos *et al.*, 2018) นอกจากนี้ การแปรรูปเมล็ดกาแฟยังส่งผลต่อปริมาณสารคาเฟอีนด้วย โดย Motora *et al.* (2017) ได้ศึกษาปริมาณคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่วแล้วพบว่า การคั่วกาแฟทำให้เมล็ดกาแฟมีปริมาณคาเฟอีนเพิ่มขึ้น

ในการตรวจวิเคราะห์หาสารสำคัญในผลิตภัณฑ์เกษตรและผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ เช่น โลโคพีน แคปไซซิน และคาเฟอีน ซึ่งเป็นคุณภาพภายในที่ไม่สามารถตรวจสอบได้ด้วยตาเปล่าจากลักษณะภายนอก จำเป็นต้องใช้วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณโลโคพีน สามารถทำได้หลายวิธีการ ได้แก่ การวิเคราะห์หาปริมาณสารโลโคพีนตามวิธี Kimura method โดยนำตัวอย่างมาเติมตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนและเฮกเซนในอัตราส่วน 4:6 (v/v) เพื่อสกัดสารโลโคพีน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 663 645 505 และ 453 นาโนเมตร (Nagata and Yamashita, 1992) การวิเคราะห์หาปริมาณโลโคพีนตามวิธีของ Taungbodhitham *et al.* (1998) โดยการนำตัวอย่างไปสกัดโดยใช้เอทานอลและเฮกเซนในอัตราส่วน 4:3 โดยปริมาตร แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณโลโคพีนด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 503 นาโนเมตร การหาปริมาณสารแคปไซซินด้วย HPLC ดัดแปลงวิธีของ Hisashi (1999) และ Neil (1977) การใช้เทคนิค HPLC ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารคาเฟอีนตามวิธีของ Hagos *et al.* (2018) เป็นต้น ซึ่งวิธีการวิเคราะห์เหล่านี้ต้องใช้สารเคมีและระยะเวลาในการสกัดนาน ใช้ผู้ที่มีความรู้และความชำนาญสูงในการตรวจสอบ และมีค่าใช้จ่ายสูง ซึ่งในอุตสาหกรรมการผลิตผักและผลไม้ในปัจจุบันมีความต้องการการตรวจวัดคุณภาพที่ให้ผลรวดเร็วและไม่ทำลายผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี โดยที่เทคนิค NIRS เป็นเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้ประเมินค่าเพื่อเป็นทางเลือกนอกเหนือไปจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เพราะสามารถทำงานได้อย่างรวดเร็ว สะดวก และปลอดภัย

ที่ผ่านมา มีการศึกษาการใช้เทคนิค NIRS สำหรับการประเมินและตรวจสอบเพื่อหาสารสำคัญชนิดต่าง ๆ เช่น การใช้เทคนิค VIS/NIRS (visible/near-infrared reflectance spectroscopy) ในการประเมินคุณภาพผลมะเขือเทศพันธุ์ DRK 453 และ Trust ได้แก่ ปริมาณโลโคพีน ค่าวัดสี a^*/b^* ratio ค่า tomato color index (TCI) และค่าความแน่นเนื้อ โดยพบว่า โมเดลที่มีผลการทำนายค่าดีที่สุดให้ค่า R^2 ของปริมาณโลโคพีน ค่าวัดสี a^*/b^* ratio ค่า TCI และค่าความแน่นเนื้อ เท่ากับ 0.93 0.99 0.99 และ 0.97 ตามลำดับ (Chen, 2008) การศึกษาเพื่อประเมินคุณภาพน้ำมะเขือเทศพันธุ์ลูกผสมสายพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศอิตาลี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (SSC) ปริมาณโลโคพีน และปริมาณ polyphenol โดยใช้เทคนิค VIS/NIR spectral reflectance ด้วยเครื่อง FieldSpec HandHeld 2™ Portable Spectroradiometer โดยผลของความถูกต้องในการทำนายค่าพิจารณาจากค่า R^2 ของ calibration (สมการทำนายค่ามาตรฐาน; C) และ cross-validation (สมการตรวจสอบการทำนายค่า; CV) และค่า RMSEC และค่า RMSECV พบว่า ค่าทำนายของปริมาณ SSC โลโคพีน และ polyphenol มีค่า R^2 ของ C เท่ากับ 0.88 0.91 และ 0.81 ตามลำดับ ค่า R^2 ของ CV เท่ากับ 0.77 0.75 และ 0.72 ตามลำดับ ค่า RMSEC เท่ากับ 0.39 องศาบริกซ์ 1.27 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และ 6.53 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ และค่า RMSECV เท่ากับ 0.51 องศาบริกซ์ 1.99 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และ 7.63 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ (Szuvandzsiev *et al.*, 2014) นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิค NIRS ในช่วงความยาวคลื่น 930-1,650 นาโนเมตร เพื่อทำนายค่าปริมาณโลโคพีนและวิตามินซีในผลมะเขือเทศพันธุ์ Newton พบว่า โมเดลที่ใช้ทำนายค่าที่ให้ความถูกต้องมากที่สุดในการศึกษารุ่นนี้ คือ ค่า RMSECV เท่ากับ 2.26 ไมโครกรัมต่อกรัม ค่า R_{CV} เท่ากับ 0.840 และค่า RPD เท่ากับ 1.835 สำหรับการทำนายค่าปริมาณโลโคพีน และค่า RMSECV เท่ากับ 1.087 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่า R_{CV} เท่ากับ 0.818 และค่า RPD เท่ากับ 1.701 สำหรับการทำนายค่าปริมาณวิตามินซี (Azadshahraki *et al.*, 2018) สำหรับการศึกษาเทคนิค NIRS ในกาแฟ พบว่า Downey and Boussion (1996) ได้ใช้

เทคนิค NIRS ในการระบุพันธุ์กาแฟระหว่าง Arabica และ Robusta โดยใช้ช่วงความยาวคลื่น 400-2,498 นาโนเมตร และยังมีการใช้เทคนิค FT-IR (fourier transform infrared) เพื่อหาปริมาณคาเฟอีนในช่วงความยาวคลื่น 2,500-12,500 นาโนเมตร (Garrigues *et al.*, 2000) ส่วน Huck *et al.* (2005) ใช้เทคนิค NIRS ศึกษาปริมาณ caffeine theobromine และ theophylline ในช่วงความยาวคลื่น 1,000-2,495 นาโนเมตร ขณะที่ Pizarro *et al.* (2007) ใช้ NIRS เพื่อทำนายค่าปริมาณคาเฟอีนและสีของเมล็ดกาแฟที่ได้จากการคั่ว (roasting color) ในช่วงความยาวคลื่น 1,000-2,495 นาโนเมตร นอกจากนี้ Alessandrini *et al.* (2008) ได้ใช้เทคโนโลยี NIRS เพื่อทำนายระดับความเข้มในการคั่ว (roasting degree) ในช่วงความยาวคลื่น 830-2,500 นาโนเมตร และ Zhang *et al.* (2013) ใช้เทคโนโลยี NIRS เพื่อศึกษาปริมาณคาเฟอีนในช่วงความยาวคลื่น 1,000-2,500 นาโนเมตร

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้ คือ เพื่อหาสมการในการประเมินหาปริมาณสารไลโคพีนในผลมะเขือเทศสด สารแคปไซซินในพริกสด และสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่ว อย่างรวดเร็วและปลอดภัยด้วยเทคนิค NIRS ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ระยะเวลาสั้น ปลอดภัย และไม่ต้องทำลายตัวอย่าง จึงเป็นวิธีการทางเลือกอีกวิธีการหนึ่งนอกเหนือไปจากการตรวจสอบวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และมีค่าใช้จ่ายสูง

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. การประเมินปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

นำตัวอย่างมะเขือเทศสดพันธุ์ที่มีขนาดผลใหญ่ 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เทเบิล (table) โทมัส (thomas) แดง (red) และท้อ (plum) ที่ระยะผลสีเขียวจนถึงสีแดงเข้ม จากแหล่งต่าง ๆ จำนวนไม่ต่ำกว่า 200 ตัวอย่าง แบ่งตัวอย่างมะเขือเทศออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เป็นตัวแทนสำหรับใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Cset) คิดเป็นจำนวนร้อยละ 70 ของตัวอย่างทั้งหมด และกลุ่มที่เป็นตัวแทนสำหรับทดสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้น (Vset) คิดเป็นจำนวนร้อยละ 30 ของตัวอย่างทั้งหมด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา ที่มีช่วงความยาวคลื่นสั้นระหว่าง 600-1,100 นาโนเมตร และมีอันตรกิริยา (interaction) แบบสะท้อนกลับจากด้านใน (interactance) สามารถวัดสะท้อนลงได้ลึก 0.5-1 เซนติเมตร โดยนำเครื่อง NIRS ทาบบนตัวอย่างบริเวณที่จะทำการวัดสเปกตรัม เลือจุดตรงกลางผล 2 ด้าน จากนั้น นำตัวอย่างที่ไปวิเคราะห์คุณภาพในห้องปฏิบัติการ โดยนำผลมะเขือเทศไปทำการวัดสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ด้วยเครื่องมือวัดสี (Chroma Meter รุ่น CR-400) แล้วจึงนำชิ้นมะเขือเทศบริเวณส่วนที่ทำการวัดหาเส้นสเปกตรัมและสีไปหาปริมาณไลโคพีนตามวิธี Kimura method (Nagata and Yamashita, 1992) โดยนำชิ้นเนื้อมะเขือเทศมาสับและปั่นให้ละเอียดในสารละลายผสมของ acetone:hexane (4:6, v/v) ในอัตราส่วน 1:4 โดยตั้งทิ้งไว้นาน 15 นาที ก่อนนำส่วนของสารละลายใส่ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 663 645 505 และ 453 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณไลโคพีน [ไลโคพีน ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) = $-0.0458 \times A_{663} + 0.2040 \times A_{645} + 0.3720 \times A_{505} - 0.0806 \times A_{453}$] เมื่อ A_{663} A_{645} A_{505} และ A_{453} คือ ค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 663 645 505 และ 453 นาโนเมตร ตามลำดับ หลังจากนั้น ทำการสร้างสมการเทียบมาตรฐานเบื้องต้นเพื่อทำนายค่าการวัดสีเขียว/แดง (ค่า a^*) และปริมาณไลโคพีน โดยการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนพลังงานที่ได้จากการสแกนผลมะเขือเทศด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา และค่าวิเคราะห์อ้างอิงในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี

PLS ด้วยโปรแกรม The Unscrambler วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อตรวจสอบความแม่นยำของสมการเบื้องต้นจากข้อมูลของกลุ่ม Cset และ Vset โดยพิจารณาจาก ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ที่มีค่าสูงใกล้เคียง 1 รวมทั้งค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการหรือกลุ่ม Cset (SEC) ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการหรือกลุ่ม Vset (SEP) และค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากเทคนิค NIRS และวิธีการในห้องปฏิบัติการ (bias) ซึ่งควรมีค่าต่ำ จากนั้น นำสมการที่ได้ไปทดสอบการประเมินค่า a^* และปริมาณสารไลโคพีนในผลมะเขือเทศสดที่ไม่ได้ใช้ในการสร้างสมการ แล้วเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันความถูกต้องแม่นยำของสมการที่ได้ทำการคัดเลือกมา

2. การประเมินปริมาณสารแคปไซซินในพริกโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

เก็บตัวอย่างพริกสดพันธุ์ต่าง ๆ เช่น จินดา ชูเปอรฮอท เป็นต้น ที่ระยะสีผลต่าง ๆ กัน คือ ผลสีเขียว สีส้ม และสีแดง จากแหล่งผลิตและร้านค้าในจังหวัดต่าง ๆ จำนวนไม่ต่ำกว่า 100 ตัวอย่าง นำตัวอย่างพริกมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR spectrometer รุ่น 6500 โดยนำตัวอย่างใส่ในอุปกรณ์สำหรับใส่ตัวอย่างของเครื่อง NIRS และทำการสแกนเพื่อเก็บเส้นสเปกตรัมของตัวอย่าง จากนั้น นำไปวิเคราะห์หาสารแคปไซซินในห้องปฏิบัติการด้วย HPLC ดัดแปลงวิธีของ Marla *et al.* (2014) โดยการเตรียมสารละลายที่จะใช้ในการวิเคราะห์ สกัดตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ นำตัวอย่างที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ แล้วจึงคั่งนำสเปกตรัมและค่าปริมาณสารแคปไซซินที่ได้ไปสร้างสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation จากโปรแกรม The Unscrambler® version 9.7 ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า R ที่มีค่าสูงใกล้เคียง 1 ค่า SEC ค่า SEP และค่า bias ที่มีค่าต่ำมาใช้ในการประเมินปริมาณสารแคปไซซิน จากนั้น นำสมการไปประเมินปริมาณสารแคปไซซินในผลิตภัณฑ์พริกสด จำนวน 20 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับค่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3. การประเมินปริมาณสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่วโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

รวบรวมตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วพันธุ์อะราบิกา และโรบัสตา จากแหล่งต่าง ๆ ทั้งแบบที่ผ่านกระบวนการสกัดคาเฟอีนออก (decaffeinated coffee) และเมล็ดกาแฟคั่วแบบที่ไม่ผ่านกระบวนการสกัดคาเฟอีนออก (regular coffee) จากนั้น นำตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วที่ผ่านการคัดแยกสิ่งเจือปนออก ตัวอย่างละ 60 กรัม มาบรรจุในเซลล์บรรจุตัวอย่างชนิด coarse sample cell และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR Spectroscopy ที่ความยาวคลื่นระหว่าง 400-2,500 นาโนเมตร โดยใช้ระบบการวัดแบบสะท้อนกลับ แล้วจึงนำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่ว ดัดแปลงตามวิธีของ Hagos *et al.* (2018) โดยนำตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วมาบดด้วยเครื่องบดเมล็ดกาแฟ ซั่งตัวอย่างจำนวน 0.2 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร นำไปสกัดคาเฟอีนออกด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ โดยรอบที่ 1 เติมน้ำกลั่น 5.0 มิลลิลิตร นำไปต้มในเครื่องล้างความถี่สูง (sonicator bath, 40 kHz, 120W) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยผ่านคลื่นเสียงความถี่สูง เป็นเวลา 10 นาที เขย่าและตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อให้ผงกาแฟตกตะกอน จากนั้น แยกสารละลายส่วนบน (1^{st} supernatant) ออกมาใส่หลอดปั่นเหวี่ยงที่เตรียมไว้ แล้วนำกากกาแฟที่เหลือจากการสกัดรอบที่ 1 ไปสกัดคาเฟอีนออกด้วยน้ำกลั่นรอบที่ 2 แยกสารละลายส่วนบน (2^{nd} supernatant) ออกมารวมกับ 1^{st} supernatant แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร (final supernatant) เขย่าสารละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่น 20% (w/v)

Lead Acetate จำนวน 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ให้สารทำปฏิกิริยา และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อให้ตกตะกอน กรองสารละลายส่วนบนผ่านกระดาษกรองชนิดเซลลูโลสอะซิเตท ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน ใส่ขวดสีชา ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์ค่าปริมาณสารคาเฟอีน ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ Agilent Zorbax Eclipse XDB C-18 column วัฏภาคเคลื่อนที่เป็นสารผสมของอะซิโตรไนโตรล 10% และน้ำ 90% (ปรับสภาพน้ำให้เป็นกรดที่ความเข้มข้น 0.1% ด้วยกรดฟอร์มิก) โดยใช้ DAD detector ที่ความยาวคลื่น 274 นาโนเมตร อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และคำนวณหาปริมาณคาเฟอีนตาม Equation (1) (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560)

$$\text{Caffeine content (g.100g}^{-1}\text{ DW)} = \frac{\text{concentration (}\mu\text{g.ml}^{-1}\text{)} \times \text{dilution volume (ml)} (1)}{\text{sample weight (g)} \times 10^4}$$

สร้างสมการเทียบมาตรฐานจากค่าการดูดกลืนแสงของเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) และค่าปริมาณสารคาเฟอีนจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation จากโปรแกรม The Unscrambler® version 9.7 แล้วคัดเลือกสมการที่มีประสิทธิภาพในการประเมิน โดยพิจารณาจากค่า R ให้มีค่าใกล้เคียง 1 ค่า SEC และค่า SEP ที่มีค่าต่ำ ทำการทดสอบสมการ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วที่ไม่ได้นำมาใช้ในการสร้างสมการจำนวน 25 ตัวอย่าง มาทำนายค่าปริมาณสารคาเฟอีน แล้วจึงประเมินประสิทธิภาพในการทำนาย

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การประเมินปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างผลมะเขือเทศทั้ง 4 พันธุ์ ที่วัดจากเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา ในช่วงความยาวคลื่น 600-1,100 นาโนเมตร มีค่าแสดงดัง Figure 1.1 โดยเห็นเป็นลักษณะสเปกตรัมที่คล้ายกัน คือ สังเกตเห็นพีคซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงของน้ำที่ความยาวคลื่น 970 นาโนเมตร อย่างชัดเจน (Osborne *et al.*, 1993) เนื่องจากมะเขือเทศมีองค์ประกอบของน้ำอยู่ถึงร้อยละ 84 (จรรยาพร, 2546) อย่างไรก็ตาม ยังสามารถสังเกตเห็นสเปกตรัมที่เกี่ยวข้องกับสารสีเขียวย/แดง (ค่า a^*) ของสารคลอโรฟิลล์เอและไลโคพีน ในช่วงความยาวคลื่น 640-670 นาโนเมตร (Kerry *et al.*, 2020) โดยมะเขือเทศที่มีผลสีเขียว (ค่าไลโคพีนต่ำ) จะมีค่าสเปกตรัมในช่วงคลื่นดังกล่าวสูงกว่าพวกที่มีผลสีแดง (ค่าไลโคพีนสูง) ทั้งนี้ ตัวอย่างมะเขือเทศที่วัดค่าการดูดกลืนแสงแล้ว เมื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ค่าวัดสีความเป็นสีเขียว/แดง (ค่า a^*) และปริมาณไลโคพีน พบว่า ค่า a^* จากตัวอย่างจำนวน 566 ตัวอย่าง มีค่าระหว่าง -15.56 ถึง 37.91 ส่วนปริมาณไลโคพีนจากตัวอย่างจำนวน 538 ตัวอย่าง มีค่าระหว่าง 0.05 ถึง 14.11 ไมโครกรัมต่อกรัม (Table 1.1) ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานเพื่อทำนายค่า a^* และปริมาณไลโคพีนในมะเขือเทศ พบว่า ค่าความสัมพันธ์ของสมการทำนายค่า a^* มีค่า R ของกลุ่ม Cset เท่ากับ 0.93 ค่า SEC และค่า bias เท่ากับ 3.34 และ -3.34×10^{-07} ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม Vset มีค่า R เท่ากับ 0.92 ขณะที่ค่า SEP และ Bias เท่ากับ 2.91 และ -0.16 ตามลำดับ สำหรับสมการทำนายค่าไลโคพีน มีค่า R ของกลุ่ม Cset เท่ากับ 0.90 ค่า SEC และค่า bias เท่ากับ 1.48 และ 12.72×10^{-07} ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม Vset มีค่า R เท่ากับ 0.89 ขณะที่ค่า SEP และ Bias เท่ากับ 1.46 และ -0.15 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (Table 2.2) โดย

กราฟการกระจายตัว (scatter plot) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า a^* และปริมาณไลโคพีน ของค่าอ้างอิงจากห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบกับค่าทำนายในกลุ่ม Cset และ Vset (Figure 1.2A and B) แสดงให้เห็นว่า ข้อมูลการกระจายตัวที่อยู่ใกล้เส้นเป้าหมาย บ่งบอกถึงความถูกต้องในการทำนายค่า ขณะที่ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficient) ของสมการทำนายค่า a^* และปริมาณไลโคพีนในผลมะเขือเทศสด (Figure 1.3A and B) พบว่า มีการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับการเกิดสารสีเขียว/แดง ในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 640-670 นาโนเมตร ซึ่งมีพีคของค่าแคโรทีนอยด์ (บีตา-แคโรทีน และไลโคพีน) รวมถึงคลอโรฟิลล์เอและบี นอกจากนี้ ยังพบตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 840 และ 960 นาโนเมตร ซึ่งมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างน้ำ (Osborne *et al.*, 1981) และเมื่อพิจารณาจากค่า R ของสมการเทียบมาตรฐานเบื้องต้นของค่า a^* และไลโคพีนที่พบว่า ค่า R ของกลุ่ม Cset มีค่า 0.93 และ 0.90 ตามลำดับ ขณะที่กลุ่ม Vset มีค่าเท่ากับ 0.92 และ 0.89 ตามลำดับ เทียบกับตารางแปลความหมายค่า R ของ Williams (2007) สามารถตีความได้ว่า สมการทำนายค่า a^* มีความแม่นยำเพียงพอสำหรับนำไปใช้ในระดับการทำนายค่าเพื่องานวิจัยและงานทั่วไป ส่วนสมการทำนายค่าไลโคพีนอยู่ในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น (Table 1.3) และเมื่อนำสมการทำนายค่า a^* และปริมาณไลโคพีนที่ได้ไปใช้ทดสอบความแม่นยำ โดยการสแกนเพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสง (สเปกตรัม) ของตัวอย่างผลมะเขือเทศที่ไม่ได้นำมาใช้ในการสร้างสมการด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา แล้วนำไปคำนวณกับค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการจนได้ออกมาเป็นค่าทำนาย จากนั้นนำค่าทำนายที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ค่าความแตกต่างของค่า a^* จากค่าอ้างอิงกับค่าทำนาย มีค่าระหว่าง -14.40 ถึง 12.12 ส่วนค่าความแตกต่างของปริมาณไลโคพีนจากค่าอ้างอิงกับค่าทำนาย มีค่าระหว่าง -3.11 ถึง 2.67 ไมโครกรัมต่อกรัม (Figure 1.4) และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 วิธี ด้วย paired t-test พบว่า ค่าอ้างอิงกับค่าทำนายของค่า a^* และปริมาณไลโคพีน มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนการพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าอ้างอิงกับค่าทำนายของค่า a^* และปริมาณไลโคพีน พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.71 และ 0.71 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สมการที่ทดสอบได้ให้ความแม่นยำในการประเมินค่า a^* และไลโคพีนอยู่ในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (Table 1.3) จากการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า เทคนิค NIRS มีความแม่นยำเพียงพอสำหรับใช้ทำนายค่า a^* (สีเขียว/แดง) และปริมาณไลโคพีนอย่างหยาบ แต่ยังไม่แม่นยำมากพอจะนำไปใช้เพื่อทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสาเหตุอาจเป็นเพราะความแตกต่างกันของสภาพทางกายภาพภายนอกของผลผลมะเขือเทศ เช่น สี ความหนาและลักษณะของผนังผล และองค์ประกอบภายในผล เช่น ปริมาณน้ำ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด ปริมาณสารต่าง ๆ เพราะผลผลิตผลสดแต่ละผลมีความหลากหลายและไม่สม่ำเสมอ ซึ่งมีอิทธิพลต่อการตอบสนองที่มีต่อแสง NIR (Williams and Norris, 2001) รวมทั้งข้อจำกัดของเครื่องมือ (เครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา) ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่นสั้น (600-1,100 นาโนเมตร) แต่ช่วงความยาวคลื่นหลักที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กับค่าไลโคพีนส่วนใหญ่อยู่ในช่วงคลื่นยาว (1,100-2,500 นาโนเมตร) ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลทำให้ค่าสเปกตรัมที่วัดได้ยังมีความคลาดเคลื่อน จึงส่งผลต่อความแม่นยำในการทำนายค่าของสมการเทียบมาตรฐานเมื่อนำไปทดสอบการใช้งานจริง สอดคล้องกับการศึกษาของ กฤตกร และคณะ (2552) ที่กล่าวว่า ความยาวคลื่นช่วงยาวให้ผลการสร้างสมการที่ดีกว่าช่วงความยาวคลื่นสั้น

2. การประเมินปริมาณสารแคปไซซินในพริกโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

เก็บตัวอย่างพริกสดที่มีสีต่าง ๆ กัน คือ ผลสีเขียว สีส้ม และสีแดง จากตลาดค้าปลีก มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตรใช้ระบบสะท้อนแสง พบว่า ได้ลักษณะของเส้นสเปกตรัมที่แตกต่างกัน ดังนั้น จึงเลือกศึกษาเฉพาะพริกสดสีแดงเนื่องจากพริกสีแดงมีการนำไปใช้ประโยชน์ที่หลากหลายกว่าสีอื่น ๆ โดยเมื่อนำตัวอย่างพริกสดสีแดงจากตลาดค้าปลีกจำนวน 150 ตัวอย่าง มาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เส้นสเปกตรัมของตัวอย่างพริกสด (Figure 1.5) และนำตัวอย่างเดียวกันนี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารแคปไซซินในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีวิเคราะห์ In-house's method (HPLC) ดัดแปลงจาก Marla et al. (2014) (Table 1.4) นำสเปกตรัมต้นแบบและค่าวิเคราะห์ที่ได้ไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler® version 9.7 พบว่า สมการจากตัวอย่างพริกสด จำนวน 125 ตัวอย่าง มีค่า R เท่ากับ 0.74 และค่า SEP เท่ากับ 226 ไมโครกรัมต่อกรัม (Figure 1.6) ขณะที่ค่า SEC เท่ากับ 204 ไมโครกรัมต่อกรัม และค่า SD ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี In-house's method คือ 302 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 6 ปัจจัย (Table 1.5) มีค่า regression coefficient สูง ที่ความยาวคลื่น 1,143 1,460 1,725 และ 1,820 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ aromatic CH₂ CONH₂ และ cellulose (Osborne, 1986) (Figure 1.7) ของสารแคปไซซินในตัวอย่างพริกสด และเมื่อนำสมการที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการประเมินปริมาณสารแคปไซซินในตัวอย่างพริกสดจำนวน 20 ตัวอย่าง และนำผลที่ได้จากเทคนิค NIRS ไปเปรียบเทียบกับที่ได้จากวิธีอ้างอิง พบว่า ค่าความแตกต่างของปริมาณสารแคปไซซินจากทั้ง 2 วิธี อยู่ระหว่าง -376 ถึง 722 ไมโครกรัมต่อกรัม (Table 1.6) สอดคล้องกับศุมาพร (2557) ซึ่งศึกษาการใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีในการวัดปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในยาสมุนไพรขมิ้นชันที่ขายในร้านขายยา พบว่า สามารถใช้ได้ในระดับการประกันคุณภาพในการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินในยาสมุนไพรขมิ้นชันได้อย่างรวดเร็วและไม่ทำลายตัวอย่าง

3. การประเมินปริมาณสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่วโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่ว โดยใช้ระบบการวัดแบบสะท้อนกลับด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร ได้เส้นสเปกตรัมของเมล็ดกาแฟคั่ว (Figure 1.8) โดยช่วงความยาวคลื่นที่ใช้เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานดังกล่าวไม่พบการรบกวนที่มีต่อคลื่นเนียร์อินฟราเรด (noise incidence) แต่พบว่าตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วมีการดูดกลืนแสงไม่เท่ากันตลอดทั้งสเปกตรัม ซึ่งมักเกิดจากความแตกต่างกันของปริมาณส่วนประกอบของอินทรีย์สารที่อยู่ในตัวอย่าง (Awotwe-Otoo et al., 2018) และเมล็ดกาแฟคั่วสามารถดูดกลืนแสงได้มากที่ความยาวคลื่น 1,128 1,672 2,250 และ 2,332 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของโมเลกุลคาเฟอีน (Downey et al., 1996) (Figure 1.9) เมื่อนำตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วมาสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารคาเฟอีนด้วยวิธี HPLC พบว่า ตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วที่นำมาใช้ในการสร้างสมการประเมินปริมาณสารคาเฟอีนมีระดับปริมาณสารคาเฟอีนในระดับ

ต่าง ๆ ในช่วง $0.01-2.19 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ DW}$ (Table 1.7) จากการสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี PLSR จากโปรแกรม The Unscrambler® version 9.7 โดยใช้ตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วจำนวน 152 ตัวอย่าง พบว่า ได้สมการประเมินปริมาณสารคาเฟอีนที่มีค่า R เท่ากับ 0.98 ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างสูง บ่งชี้ได้ว่า สามารถนำสมการไปใช้ทำนายเพื่อการประกันคุณภาพได้ (Williams, 2007) (Table 1.3) ส่วนค่า SEC SEP และ Bias เท่ากับ 0.08 0.09 และ $-0.002 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ DW}$ ตามลำดับ (Figure 1.10) โดยมี ปัจจัยเกี่ยวข้องจำนวน 12 ปัจจัย (Table 1.8) อย่างไรก็ตาม สามารถพัฒนาสมการได้โดยการเพิ่มเติม ตัวอย่างในการทำสมการให้มากขึ้น ซึ่งอาจทำให้สมการที่พัฒนาขึ้นมีค่าสมการที่ดีขึ้นและมีความ แม่นยำมากขึ้นได้ เมื่อทำการทดสอบสมการจากกลุ่มตัวอย่างภายนอก โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วซึ่งเป็นกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ได้นำมาใช้ในการสร้างสมการจำนวน 25 ตัวอย่าง มา ทำนายค่าปริมาณสารคาเฟอีน เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการประเมินโดยใช้เทคนิค NIRS กับค่าที่ได้ จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มีค่าความแตกต่าง -0.17 ถึง 0.19 (Table 1.9) และทำการ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทั้งสองวิธีด้วย paired t-test พบว่า ค่าที่ได้จากการประเมินโดยใช้เทคนิค NIRS กับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อพิจารณาจากค่า RPD ซึ่งเป็นสัดส่วนระหว่างค่า SD ของ ปริมาณคาเฟอีนในชุดทดสอบสมการต่อค่า SEP พบว่า มีค่า 5.0 ซึ่งงานวิจัยของ Nicolai *et al.* (2007) และ Dong *et al.* (2015) ได้อธิบายว่า สมการเทียบมาตรฐานที่มีค่า RPD สูงจัดว่าเป็นสมการ ที่มีประสิทธิภาพในการทำนาย (Table 1.10) ดังนั้น จึงสามารถนำเทคนิค NIRS มาใช้ประเมินปริมาณ สารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่วได้

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

1. การประเมินปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

การประเมินปริมาณสารไลโคพีนในผลมะเขือเทศขนาดผลใหญ่ 4 พันธุ์ คือ เทเบิล โทมัส เนื่อ และห่อ โดยใช้สมการเทียบมาตรฐานเบื้องต้นในการทำนายค่า a^* และปริมาณไลโคพีน ด้วยเครื่อง FOA-NIR Gun แบบพกพา ที่มีอินตรกิริยาแบบสะท้อนกลับจากด้านในของช่วงความยาวคลื่นสั้น ระหว่าง 600-1,100 นาโนเมตร พบว่า มีความแม่นยำเพียงพอสำหรับนำไปใช้ในระดับการทำนายค่า เพื่องานวิจัยและงานทั่วไป และระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น ตามลำดับ และเมื่อนำสมการที่ได้ไปทดสอบการทำนายค่าในผลมะเขือเทศที่ไม่ได้ใช้ในการสร้างสมการ พบว่า มีความแม่นยำในการทำนายค่าในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ ซึ่ง แสดงให้เห็นว่า สมการที่สร้างได้ยังมีประสิทธิภาพไม่มากพอจะนำไปใช้ทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากข้อจำกัดของเครื่องมือที่วัดได้เฉพาะช่วงความยาวคลื่นสั้น ในขณะที่สเปกตรัมหลักของสารไลโคพีนส่วนใหญ่อยู่ในช่วงคลื่นยาวระหว่าง 1,100-2,500 นาโนเมตร แต่หากต้องการ ประเมินปริมาณสารไลโคพีนแบบหยาบ ๆ อย่างรวดเร็วและไม่ทำลายตัวอย่าง การใช้เทคนิค NIRS นี้ มีความแม่นยำเพียงพอที่จะใช้ในการทำนายค่าได้

2. การประเมินปริมาณสารแคปไซซินในพริกโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

สมการประเมินปริมาณสารแคปไซซินในตัวอย่างพริกสดที่ช่วงคลื่น 400-2,500 นาโนเมตร ใช้ ระบบสะท้อนแสง โดยใช้เครื่อง NIR spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS มีค่า R เท่ากับ 0.74 ค่า SEC และ SEP เท่ากับ 204 และ 226 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 6 ปัจจัย

สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในตัวอย่างพริกสดได้ในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบได้ในช่วง 540-1,993 ไมโครกรัมต่อกรัม

3. การประเมินปริมาณสารคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่วด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

การประเมินปริมาณสารคาเฟอีนของเมล็ดกาแฟคั่วด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี โดยระบบการวัดแบบสะท้อนกลับ ในช่วงความยาวคลื่น 400-2,500 นาโนเมตร ความยาวคลื่นที่สำคัญ สำหรับการสร้างสมการเพื่อทำนายปริมาณสารคาเฟอีน คือ 1,128 1,672 2,250 และ 2,332 นาโนเมตร โดยสมการเทียบมาตรฐาน PLSR สามารถทำนายปริมาณสารคาเฟอีนในช่วง 0.01-2.19 กรัมต่อร้อย กรัมของน้ำหนักแห้ง ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้น งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ในการนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีไปใช้ประเมินปริมาณคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟคั่ว และเป็นแนวทางเพื่อนำไปสู่การสร้างเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภคและอุตสาหกรรมกาแฟต่อไป

Table 1.1 Green/red value (a*) and lycopene content in various tomatoes.

Items	a* value					Lycopene ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	Table	Thomas	Red	Plum	Total	Table	Thomas	Red	Plum
Number	78	132	194	162	566	57	125	194	162
Min	-1.66	6.33	6.43	-15.56	-15.56	0.66	0.59	0.53	0.05
Max	30.75	37.29	32.25	37.91	37.91	5.45	7.96	11.94	14.11
Mean	18.15	22.53	22.76	18.87	20.58	2.28	3.82	6.69	7.03
SD	6.48	4.89	4.26	13.46	7.27	1.15	2.05	2.90	3.74

Table 1.2 Statistics of the calibration and validation equations of a* value and lycopene content in tomatoes.

Items		N	R	SEC / SEP	Bias
a* value	Cset	797	0.93	3.34	-3.34e^{-07}
	Vset	337	0.92	2.91	-0.16
Lycopene	Cset	766	0.90	$1.48 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$-2.72\text{e}^{-07} \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
	Vset	310	0.89	$1.46 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$-0.15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Table 1.3 Interpretation of R and R² values of the regression equation. (Williams and Norris, 2001)

Value of R	Value of R ²	Interpretation
Up to ± 0.5	Up to ± 0.25	Not usable in NIRS calibration
± 0.51 to 0.70	0.26 to 0.49	Poor correlation, Research the reasons
± 0.71 to 0.80	0.50 to 0.64	Rough screening
± 0.81 to 0.90	0.66 to 0.81	Screening and approximate calibration
± 0.91 to 0.95	0.83 to 0.90	Usable with caution for most applications including rese
± 0.96 to 0.98	0.92 to 0.96	Usable in most application including quality assurance
± 0.99 >	0.98 >	Usable in any applications

Table 1.4 The characteristics of samples used in model construction for capsaicin content in chili samples.

Items	Capsaicin
Min-Max	540-1,993
Mean	1,015
SD	302
Number	125
Unit	ug.g ⁻¹

Table 1.5 The statistical analysis of NIRS models to predict capsaicin content in chilli samples by The Unscrambler® program.

Quality	Math methods	Wavelength (nm)	N	SD	R	SEC	SEP	Bias	F
Capsaicin	Original	400-2,500	125	302	0.74	204	226	0.42	6

Table 1.6 Method validation between reference measurement and NIRS prediction of capsaicin content in chilli samples.

Samples	Method to determine capsaicin contents		d	d ²
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	(x-y) ²
	X	Y		
1	839	1156	-317	100489
2	914	1188	-274	75076
3	1298	1016	282	79524
4	1923	1700	223	49729
5	1894	1383	511	261121
6	1431	1444	-13	169
7	1789	1067	722	521284
8	1139	1025	114	12996
9	999	962	37	1351
10	894	868	26	669
11	1397	1103	294	86436
12	700	838	-138	19171
13	1797	1524	273	74529
14	1565	1461	104	10816
15	1650	1014	636	404496
16	619	662	-43	1835
17	539	550	-11	122
18	1100	1026	74	5476
19	1563	1939	-376	141376
20	1696	1282	414	171396
Total	25746	23209	2537	2018061
Average	1287	1160	127	100903

Table 1.7 The characteristics of samples used in model for caffeine content of roasted coffee bean.

Items	Caffeine
Min-Max	0.013 – 2.191
Mean	1.18
SD	0.45
Number	152
Unit	g.100g ⁻¹ DW

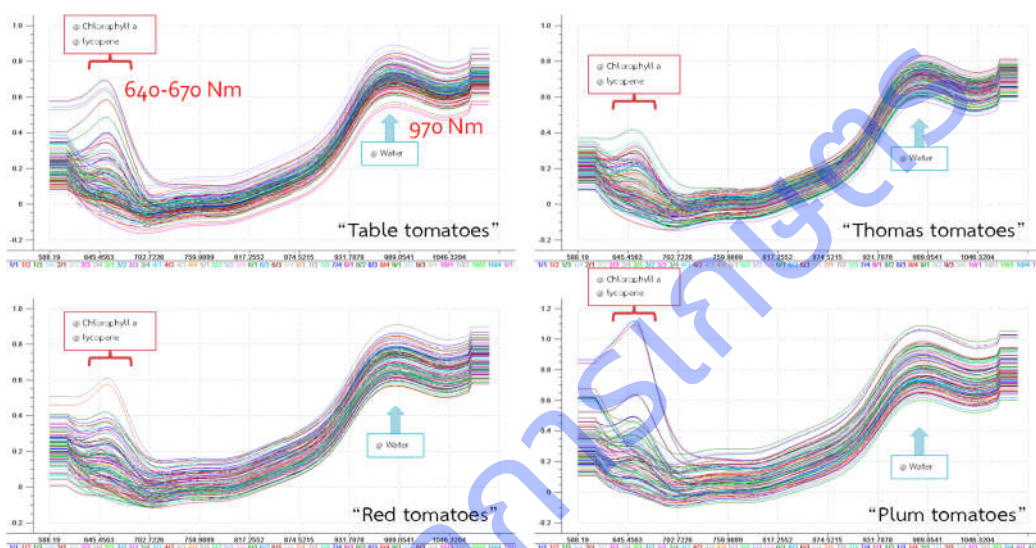


Figure 1.1 The original NIR spectra of various tomatoes at wavelength 600-1,100 nanometres.

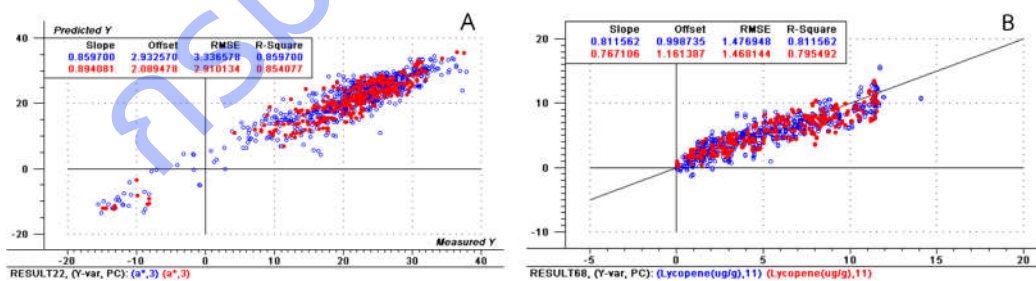


Figure 1.2 Scatter plot of equations of a* value (A) and lycopene content (B) determined by laboratory procedures and estimated by NIR spectroscopy in tomatoes.

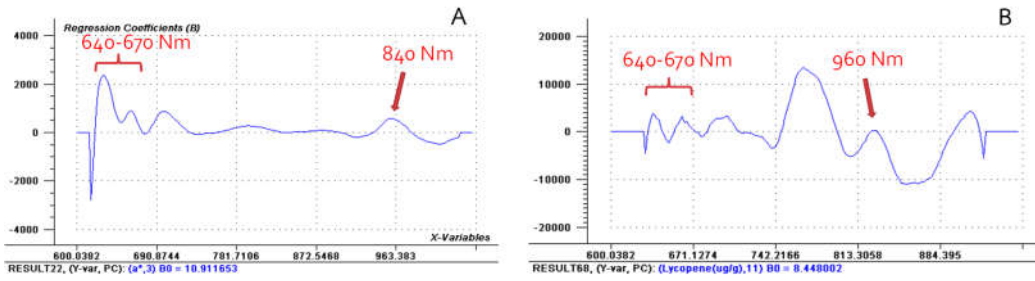


Figure 1.3 Regression coefficients to estimate a* value and lycopene content from the NIR spectra in tomatoes.

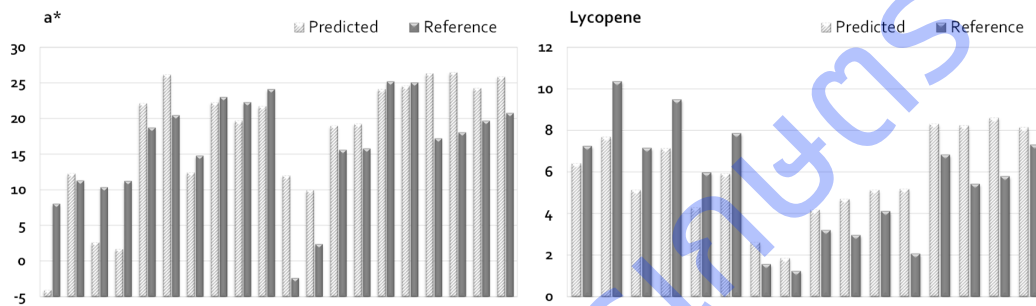


Figure 1.4 Comparison of laboratory reference values and predicted values using the NIR model to estimate a* value and lycopene content in tomatoes.

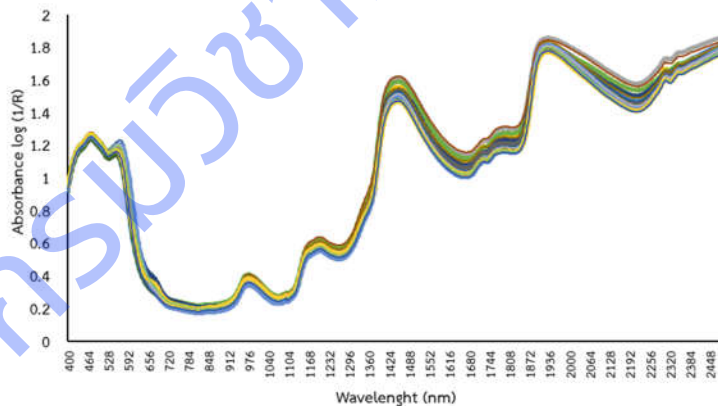


Figure 1.5 The original NIR spectra of capsaicin in chilli samples at wavelength 400-2,500 nanometres.

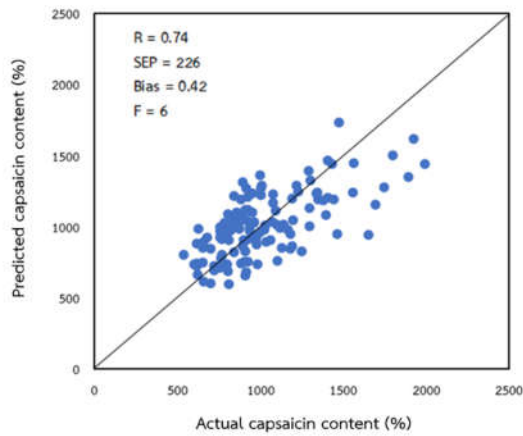


Figure 1.6 Scatter plots for calibration model of capsaicin content in chilli samples.

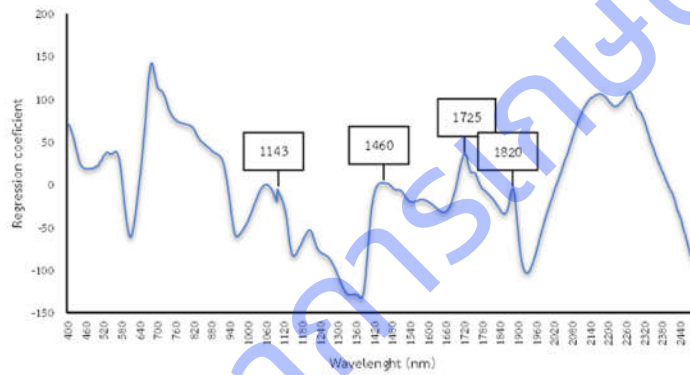


Figure 1.7 Regression coefficient for calibration model to predict capsaicin content in chilli samples.

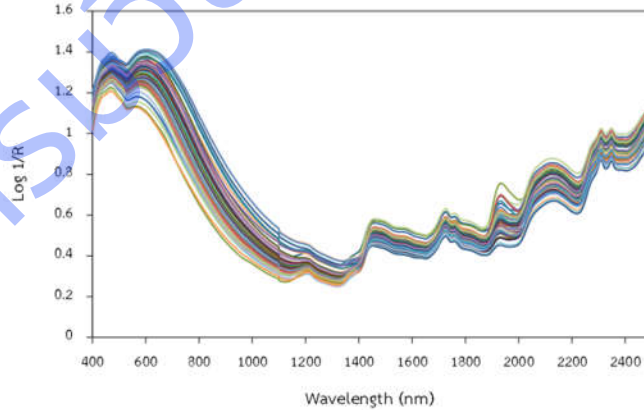


Figure 1.8 The original spectra of roasted coffee beans in wavelength region 400-2500 nanometres.

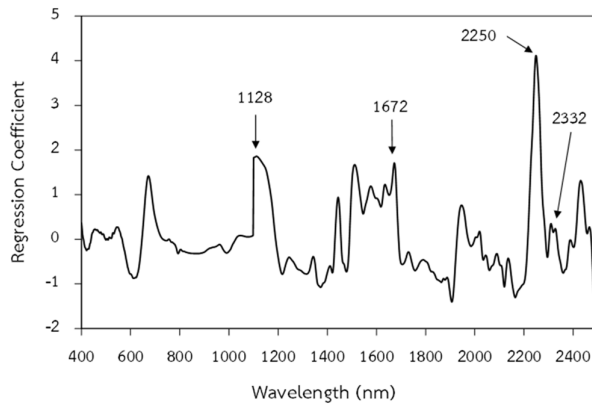


Figure 1.9 Regression coefficient plots to evaluate caffeine content of roasted coffee beans.

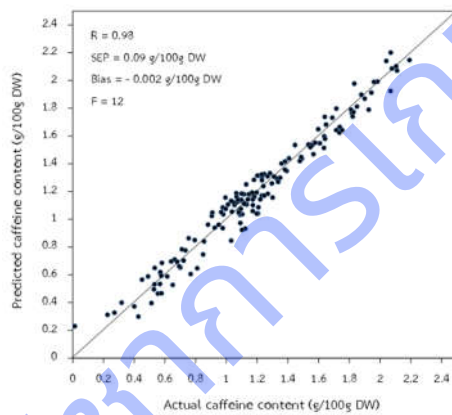


Figure 1.10 Scatter plots of NIRS calibration model between actual caffeine content and predicted caffeine content in roasted coffee bean samples.

โครงการวิจัยที่ 2

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

ผู้วิจัย

นฤเทพ	เวชภิบาล
Naruthep	Wechpibal
จารุรัตน์	พุ่มประเสริฐ
Jarurat	Pumprasert
ศุภรา	อัคคะสารกุล
Suppara	Aukkasarakul
ภัทธระ	ลูกรักษ์
Phatthara	Loogruk

คำสำคัญ (Keywords)

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี วิตามินบี 1 ถั่วเหลือง แอฟลาทอกซิน ข้าวโพด ถั่ว ถั่วลิสง
Near Infrared Spectroscopy, Vitamin B₁, soybean, Aflatoxin B₁, maize, Bean, Peanut

บทคัดย่อ

ปัจจุบันการหาวิธีการประเมินองค์ประกอบทางโภชนาการในผลิตผลและผลิตภัณฑ์จากพืชไร่ที่ดำเนินการได้อย่างรวดเร็ว และไม่ทำความเสียหายแก่ตัวอย่างที่อาจจะต้องนำไปใช้ประโยชน์นั้นยังเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ โดยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) เป็นทางเลือกในการวิเคราะห์อีกวิธีที่ช่วยลดต้นทุนในระยะยาว คุ่มค่า รวดเร็ว และเชื่อถือได้ อาจเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลือง สารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 ในเมล็ดข้าวโพดและถั่วลิสง โครงการนี้ประกอบด้วยการศึกษาทดลอง จำนวน 3 เรื่อง และดำเนินการวิจัย ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ในปี 2564 สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ดำเนินงานสุ่มเลือกตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง ข้าวโพด และถั่วเมล็ดแห้งจากแหล่งต่างๆ มาวัดสเปกตรัมเพื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง ด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร และวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลืองด้วยวิธี HPLC และวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี 1 ในเมล็ดข้าวโพด และถั่วเมล็ดแห้งด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) โดยการใช้ชุดทดสอบสารแอฟลาทอกซินสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (wet chemistry) จากผลการศึกษาแสดงว่า เมล็ดถั่วเหลืองนำมาใช้สร้างสมการจะมีปริมาณสารวิตามินบี 1 โดยเฉลี่ยคือ 0.55 mg/100g DW นำค่าที่ได้มาสร้างสมการทำนาย ด้วยเทคนิค PLSR โดยค่า

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สารวิตามินบี 1 เท่ากับ 0.92 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารวิตามินบี 1 ในกลุ่ม calibration (SEC) ของเมล็ดถั่วเหลืองเท่ากับ 0.14 mg/100g DW และ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารวิตามินบี 1 ในกลุ่ม validation (SEP) ของเมล็ดถั่วเหลืองเท่ากับ 0.15 mg/100g DW จากผลการวิจัย พบว่าเทคนิค NIRS เป็นวิธีการที่สามารถประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลืองได้ในช่วง 0.02 – 1.23 mg/100g DW ขณะที่ในเมล็ดข้าวโพด จำนวน 238 ตัวอย่าง ที่นำมาใช้สร้างสมการจะมีปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 โดยเฉลี่ยเท่ากับ 4.94 ppb นำค่าที่ได้มาสร้างสมการทำนาย ด้วยเทคนิค PLSR โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 เท่ากับ 0.80 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 ในกลุ่ม calibration (SEC) ของเมล็ดข้าวโพดเท่ากับ 3.28 ppb. และ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี1 ในกลุ่ม validation (SEP) ของเมล็ดข้าวโพดเท่ากับ 3.42 ppb และพบว่าสมการสามารถประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงได้ มีค่า R เท่ากับ 0.76 ค่า SEP เท่ากับ 11.49 ppb ซึ่งต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA คือ 14.50 ppb ค่า SEC เท่ากับ 9.35 ppb และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 7 ปัจจัย สมการที่ได้นี้สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดถั่วลิสงได้ในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบในช่วง 4.40-59.95 ppb.

Abstract

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

grains was 0.15 mg/100g DW. The results showed that the average content of AFB₁ found in 238 maize kernel samples was 4.94 ppb. The correlation coefficient (R) of AFB₁ content in maize kernels was 0.80 ppb. The standard error of calibration (SEC) of AFB₁ content in maize grains was 3.28 ppb. The standard error of prediction (SEP) of AFB₁ content in maize grains was 3.42 ppb. Equation of aflatoxin determination in peanut had correlation coefficient (R) 0.76 which standard error of prediction (SEP) was 11.49 ppb., which lower than standard deviation (SD) of ELISA; 14.50 ppb and also low standard error of calibration (SEC); 9.35 ppb. The model from NIRS method can predict the amount of aflatoxin in peanut in the range of 4.40-59.95 ppb.

บทนำ

คุณภาพของผลิตผลมักถูกใช้เป็นข้ออ้างอิงของผลิตผลทางการเกษตรได้ เช่น คุณภาพด้านการตลาด คุณภาพในการบริโภค คุณภาพในการขนส่ง คุณภาพทางคุณค่าทางอาหาร คุณภาพภายในและคุณภาพภายนอก เป็นต้น การประเมินคุณภาพทางเคมีสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการตามวิธีมาตรฐาน เช่น American Association of Cereal Chemists International (AACCI) , Official Methods of Analysis International (AOAC) , American Oil Chemist Society (AOCS) และ International Association for Cereal Science and Technology (ICC) เป็นต้น วิธีการวิเคราะห์เหล่านี้ มีขั้นตอนที่ซับซ้อน ยุ่งยาก ใช้ระยะเวลาวิเคราะห์นาน ตัวอย่างถูกทำลาย และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง หากมีการนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ทำลายตัวอย่าง สะดวก แม่นยำ และไม่ใช้สารเคมี มาใช้ตรวจสอบคุณภาพทางเคมีในผลิตผลเกษตรแทนการวิเคราะห์ทางเคมี จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง เพราะเทคนิค NIRS สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการผลิตได้ โดยเฉพาะการควบคุมคุณภาพของผลิตผลและยกระดับซื้อขายผลิตผลเกษตรให้มีมาตรฐานเพิ่มขึ้น เทคนิค NIRS เป็นการใช้ NIR ซึ่งเป็นคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่นในช่วง 800-2500 นาโนเมตร สามารถแบ่งออกเป็น 2 ช่วงคลื่น คือช่วงคลื่นสั้นที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 800-1100 นาโนเมตร และช่วงคลื่นยาวที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 1100-2500 นาโนเมตร พลังงานจากแสงคลื่น NIR อยู่ในช่วงที่สัมพันธ์กับการสั่นของพันธะในโมเลกุลของสารอินทรีย์ในผลิตผล เมื่อมีการสั่นของพันธะเกิดความถี่ที่ตรงกับความถี่ของคลื่นแสง NIR แสงนั้นจะถูกดูดกลืน การใช้ NIR วัดคุณภาพผลิตผล เป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ซึ่งช่วยลดการสูญเสียเพราะผลิตผลที่ถูกวัดแล้วยังมีลักษณะปกติเหมือนเดิม และนำไปใช้ในการบริโภคได้ การให้แสง NIR กับผลิตผลทางการเกษตรซึ่งมีส่วนประกอบทางเคมีภายในแตกต่างกัน เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดต่างๆ ซึ่งประกอบด้วยอะตอมของธาตุต่างๆ คือ คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ไนโตรเจน (N) และออกซิเจน (O) เกาะกันด้วยพันธะโควาเลนต์ เมื่อได้รับแสง NIR โมเลกุลเหล่านี้จะอยู่ในสภาพถูกกระตุ้นให้มีพลังงานเพิ่มขึ้นซึ่งไม่มีความเสถียร โมเลกุลเหล่านี้ต้องลดพลังงานลงสู่ระดับปกติเพื่อให้เกิดความเสถียร ส่งผลให้โมเลกุลเหล่านี้สั่น ซึ่งการสั่นของโมเลกุลมีลักษณะ 2 ลักษณะคือ การยืด (stretching) ของพันธะเป็นการสั่นที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความยาวระหว่างอะตอมภายในโมเลกุล ซึ่งมีทั้งแบบสมมาตร (symmetric) และแบบอสมมาตร (asymmetric) ส่วนการสั่นแบบที่สองเป็น

การงอ (bending) หรือการผิดรูป (deformation) เป็นการสั่นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมุมระหว่างพันธะ การสั่นดังกล่าวทำให้เกิดการดูดกลืนแสง และเนื่องจากแต่ละพันธะมีการสั่นในลักษณะที่แตกต่างกัน จึงได้ส่งผลให้โมเลกุลหนึ่งๆ สามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงคลื่นพร้อมกัน ลักษณะการดูดกลืนแสงจึงอาจเกิดเป็นแถบ (band) หรือ พีก (peak) ซึ่งเรียกว่าสเปกตรัม (spectrum) ในขณะที่คลื่นแสงผ่านเข้าไปในผลิตภัณฑ์ ลักษณะของเส้นสเปกตรัมจะเปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับ การดูดกลืนแสง (absorption) และมีการกระเจิงแสง (scattering) การเปลี่ยนแปลงนี้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมีภายในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงต้องมีวิธีการที่นำมาใช้เพื่อนำข้อมูลที่ต้องการออกมาจากสเปกตรัมที่ซับซ้อนเมื่อคลื่นแสง NIR ตกกระทบวัตถุ แสง NIR อาจสะท้อนกลับออกมาหรือถูกดูดกลืนไว้ หรือผ่านวัตถุออกมา การเกิดปรากฏการณ์เหล่านี้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ของฟิสิกส์ของวัตถุนั้นๆ ขั้นตอนการนำเทคนิค NIRS มาใช้ในการตรวจวัดคุณภาพผลิตภัณฑ์ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ 1) การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation) 2) การเก็บรวบรวมข้อมูลทั้งข้อมูลสเปกตรัม (spectral data) และข้อมูลสมบัติต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (chemical analysis data หรือ reference data) และ 3) การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration model development) เทคนิค NIRS เป็นการตรวจวัดสมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพ และความผิดปกติทางสรีรวิทยาทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพที่ส่งผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์โดยรวม สิ่งสำคัญที่ได้จากงานวิจัย คือองค์ความรู้ในการใช้เทคนิค NIRS กับผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ เพื่อไปศึกษาต่อยอด และให้ทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้องสามารถเข้าถึงเทคโนโลยีขั้นสูงนี้ และเกิดประโยชน์สูงสุดจากการวิจัย (दनัย และคณะ, 2563) เทคนิค NIRS มีการใช้กันมานานอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น จีน และเกาหลี โดยใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เทคนิค NIRS สามารถใช้ประเมินองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ เช่น ค่าบรีกซ์ น้ำหนักแห้ง และสีของผลกีวีฟรุต (McGlone *et al.*, 2007) ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในกะหล่ำปลี (Suthiluk *et al.*, 2008) ความหวานในหัว (Walsh *et al.*, 2007) ความแน่นเนื้อ โลโคพีน สีผิว pH ค่าบรีกซ์ กรด และการนำไฟฟ้าในมะเขือเทศ (Clement *et al.*, 2008) ค่าบรีกซ์ ซูโครส กลูโคส และฟรุคโตสในผลมะม่วง (Delwiche *et al.*, 2008) ประเมินปริมาณอมิโลสในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร (จรรววรรณ และคณะ, 2552) Kawano (2002) รายงานว่ามีการใช้เครื่อง NIRS หางค์ประกอบหลักของข้าว คือ ความชื้น โปรตีน อมิโลส และกรดไขมัน โดยมีบริษัทนำไปใช้ประเมินข้าว Fontaine (2001) ได้ประเมินปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในแป้งพลาว่าถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค NIRS ที่ความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร ถั่วเหลืองเป็นพืชที่นำมาผลิตเป็นน้ำมันมากถึง 56% ของโลกเมื่อเปรียบเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ และยังเป็นพืชนิยมบริโภคเป็นอันดับสองของโลก ซึ่งถั่วเหลืองเป็นพืชที่อุดมไปด้วยแหล่งโภชนาการที่สำคัญสำหรับมนุษย์และสัตว์ จากการศึกษาของ Birt *et al.* (2004) พบว่าการบริโภคถั่วเหลืองจะช่วยลดอัตราการเป็นมะเร็ง ไขมันในเลือด โรคกระดูกพรุน และโรคหัวใจ นอกจากนี้พบว่าถั่วเหลืองยังเป็นแหล่งของแร่ธาตุ วิตามิน กรดฟอริก และปริมาณสารไอโซฟลาโวนสูงช่วยป้องกันลดอัตราการเป็นมะเร็งและมีประโยชน์สูงต่อสุขภาพร่างกาย รวมทั้งถั่วเหลืองอุดมไปด้วยโปรตีนที่มีคุณภาพ เหมาะสำหรับการผลิตเป็นอาหารเพื่อการบริโภคและอาหารสัตว์ กล่าวคือคุณสมบัติด้านกรดไขมันที่มีปริมาณมากเหมาะสำหรับนำไปประกอบอาหารและพืชพลังงานทดแทนวิตามินบีหนึ่ง (vitamin B₁) เป็นที่รู้จักกันดีในการป้องกันโรคเหน็บชา หรือโรคที่เกิดจากการขาดวิตามินบีหนึ่ง ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของระบบประสาทที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเจ็บป่วย และเสียชีวิตในแถบประเทศที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก เนื่องจากกินอาหารที่มีไทอะมีนไม่เพียงพอ

(อัจฉรา, 2550) วิตามินบีหนึ่ง จะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต ในการสลายกลูโคสเพื่อให้เกิดพลังงานในรูป ATP วิตามินบีหนึ่งจะทำงานในรูปโคเอนไซม์ ไทอามีนไพโรฟอสเฟต (thiamine pyrophosphate) ความต้องการวิตามินบีหนึ่ง จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ ปริมาณแคลอรีที่ได้รับ คนที่ใช้แรงงานมาก ต้องกินข้าวและแป้งจำนวนมาก ก็ต้องการใช้วิตามินบีหนึ่ง เพิ่มมากขึ้นด้วย นอกจากนี้วิตามินบีหนึ่งยังมีส่วนช่วยในการสื่อสัญญาณประสาท อาหารที่มีวิตามินบี หนึ่งมาก ได้แก่ ธัญพืชพวกข้าว ถั่ว เนื้อหมู ยีสต์และไข่แดง เนื่องจากไทอามีนเป็นวิตามินที่สำคัญต่อ เมแทบอลิซึมของสารอาหารที่ให้พลังงานภายในเซลล์ ปริมาณที่ร่างกายต้องการผันแปรตามปริมาณ พลังงานที่ร่างกายต้องการใช้ คือ ประมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อ 1,000 กิโลแคลอรี ส่วนเด็กทารกต้องการ 0.4 มิลลิกรัมต่อ 1,000 กิโลแคลอรี ดังนั้นในแต่ละวันร่างกายควรได้รับไทอามีนประมาณ 1.0 มิลลิกรัม ซึ่งร่างกายต้องการพลังงานไม่เกิน 2,000 กิโลแคลอรี สำหรับหญิงมีครรภ์และให้นมบุตรควร ได้รับ 2.0 มิลลิกรัมต่อวัน (นิธิยา, 2556) Tetsuo *et al.* (2008) ใช้เทคนิค NIRS ประเมินปริมาณ วิตามินบี 1 ได้ในช่วง 0.56-0.81 mg/100g DW โดยมีค่า R SEC SEP และ Bias เท่ากับ 0.57 0.08 0.08 และ 0.02 ตามลำดับ

สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin) คือสารพิษธรรมชาติที่สร้างจากเชื้อราเมื่อคนหรือสัตว์ ได้รับสารพิษจากเชื้อราเข้าไปแม้ในปริมาณน้อยก็ทำให้เกิดอาการพิษ (mycotoxicosis) ซึ่งไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้โดยการใช้ยา สารพิษจากเชื้อราที่มีการศึกษากันแพร่หลาย คือ แอฟลา ทอกซิน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่ตับและอวัยวะอื่น ๆ เช่น ไต ระบบหายใจ ระบบทางเดินอาหาร ระบบ ประสาท ระบบสืบพันธุ์ และระบบภูมิคุ้มกัน สร้างจากเชื้อราตระกูล *Aspergillus* เช่น *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. tamari* และ *A. nomius* พบมากในเมล็ดธัญพืชและพืชน้ำมันชนิดต่างๆ เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง พริก มะพร้าว เครื่องเทศ และสมุนไพร (อมรา, 2548) ปริมาณการปนเปื้อนของแอฟ ลาทอกซินในอาหาร และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรทำให้แต่ละประเทศกำหนดค่าการปนเปื้อนเพื่อ ปกป้องสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค เช่น ประเทศอิตาลีกำหนดค่าการปนเปื้อนที่ 50 ppb ประเทศ ออสเตรเลียที่ 15 ppb และประเทศไทยกำหนดให้มีการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม หรือ 20 ppb ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 (ดวงจันทร์, 2545) พริกปนมีการใช้ประโยชน์ทั้งในรูปผลิตภัณฑ์ และผลิตภัณฑ์แห้งไปใช้ ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายรูปแบบ ได้แก่ การทำยา การปรุงแต่งกลิ่นและรสของอาหาร ใช้เป็น สารป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชและสัตว์ เป็นต้น โดยการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวเป็นขั้นตอน ที่มีความสำคัญมากเพราะจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพเมื่อถึงมือผู้บริโภคหรือเมื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อ การแปรรูป ในการจำหน่ายในรูปผลิตภัณฑ์แห้งการเก็บรักษาในระหว่างรอการขนส่งหรือจำหน่ายอาจมี การปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างสารพิษได้ (พิทยา, 2551) การตรวจสอบสารพิษจากเชื้อรานั้น สิทธิพร (2549) ได้ทำการตรวจสอบโอคราทอกซิน เอ ในกาแฟที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานครจำนวน 17 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนจำนวน 1 ตัวอย่าง มีค่าปริมาณ 3.2 ppb Hall *et al.* (1988) ประยุกต์ใช้ NIRS เพื่อทำนายหาปริมาณสาร theaflavin และความชื้นในชาดำ รวมทั้งนำมาประเมินปริมาณ สารอัลคาลอยด์ ปริมาณกรดอิสระ (free amino acid) คาเฟอีน (caffeine) และโพลีฟีนอล (polyphenol) ในชาเขียว (Schulz *et al.*, 1999) Phetkao *et al.* (2012) ใช้เทคนิค VIS/NIR spectroscopy ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในเมล็ดข้าวโพด และข้าวโพด บด ด้วยเครื่อง NIRSystem 6500 ช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร พบว่าเทคนิค NIRS สามารถตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. flavus* ได้ในเมล็ดข้าวโพด มีค่า R, SEC, SEP และ

bias เท่ากับ 0.80, 4.18, 4.08 และ 0.54% ส่วนเมล็ดข้าวโพดบด เท่ากับ 0.98, 1.12, 1.34 และ 0.43% ตามลำดับ จารูร์ตันและจารูร์รณ (2560) ใช้เทคนิค NIRS ประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในพริกป่น พบว่า สมการที่พัฒนามีค่า R SEP SEC และ SD เท่ากับ 0.87 2.40 1.68 และ 3.41 ตามลำดับ สามารถใช้ประเมินสารพิษแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในพริกป่น ได้ในช่วง 15.20 – 28.00 ppb ที่ช่วงคลื่น 400 - 2500 นาโนเมตร อรรุวรรณและจารูร์รณ (2561) สร้างสมการประเมินปริมาณสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งพลาข้าวโพด ด้วยเทคนิค NIRS ที่ช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยมีค่า R เท่ากับ 0.87 และ 0.93 ตามลำดับ และสามารถประเมินสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งพลาข้าวโพดได้ในช่วง 0-307 และ 0-164 ppb. ชาศรียา (2555) ตรวจสอบสารพิษแอฟลาทอกซินจากอาหารที่จำหน่ายในจังหวัดตรังจำนวน 10 ชนิด ตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด ได้แก่ เต้าหู้ยี้ เต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว ถั่วลิสงแห้ง ถั่วลิสงป่น พริกแห้ง พริกป่น หอม กระเทียมและเครื่องแกง รวม 100 ตัวอย่าง ผลการวิจัยพบว่า การตรวจสอบสารพิษแอฟลาทอกซิน ปี 1 ด้วยวิธี ELISA จากตัวอย่างอาหารทั้งหมด พบว่ามีอาหาร 24 ตัวอย่าง จากถั่วลิสงป่น ถั่วลิสงแห้ง พริกป่นและพริกแห้ง ที่มีปริมาณแอฟลาทอกซิน ปี 1 อยู่ในช่วง 26.08 – 289.52 ppb ซึ่งมีระดับสูงกว่าที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ (ไม่เกิน 20 ppb) ดวงจันทร์ (2545) ในระหว่างปี พ.ศ. 2537-2544 กองอาหารได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องเทศได้แก่พริกชี้หนู พริกชี้ฟ้า (ชนิดที่เป็นเมล็ดพริกแห้งและชนิดปนละเอียด) พริกไทยป่น กระเทียม (ชนิดสด เจียวกับน้ำมันและชนิดผง) หอมแดง (ชนิดสดและชนิดผง) น้ำจิ้มสะเต๊ะ ซีอิ๊วและอื่น ๆ ได้แก่ เครื่องแกงสำเร็จรูป น้ำพริกเผา ซอสพริก ซุปสกัด จะพบว่าเครื่องเทศทั้งหมด 160 ตัวอย่าง ตรวจสอบพบแอฟลาทอกซินปนเปื้อนเพียง 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 5% ปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง 6.59-61.28 ppb โดยจะพบในพริกทั้งเมล็ด 4 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง 12.26-61.28 ppb พริกป่น 3 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบคือ 7.84 12.94 และ 14.40 ppb และกระเทียมชนิดผง 1 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบคือ 6.59 ppb ในจำนวนนี้มีเพียงพริกทั้งเมล็ด 3 ตัวอย่าง เท่านั้นที่พบเกินมาตรฐาน 20 ppb ที่ประกาศโดยกระทรวงสาธารณสุข ปริมาณที่พบคือ 23.73, 30.70 และ 61.28 ppb ส่วนเครื่องเทศชนิดอื่นตรวจสอบไม่พบการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน สุดารัตน์ (2537) ศึกษาการปนเปื้อนของราโดยเฉพาะ *A. flavus* ในเครื่องเทศและสมุนไพร 30 ชนิด พบว่าเครื่องเทศและสมุนไพร 46.7% พบการปนเปื้อนของรา 5 - 9 ชนิด และ 40% พบการปนเปื้อนของราต่ำกว่า 5 ชนิด ส่วนอีก 13.3% ไม่พบการปนเปื้อนของราเลย เครื่องเทศและสมุนไพรดังกล่าวคือ กานพลู เกล็ด ขมิ้นชัน และโป๊ยกั๊ก ราที่แยกได้จากเครื่องเทศและสมุนไพรได้บ่อยที่สุด ได้แก่ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Rhizopus* โดยพบ 56.7, 11.7 และ 10.83% ตามลำดับ วิธีการวิเคราะห์ทางโครมาโทกราฟีเป็นวิธีการตรวจสอบสารพิษจากเชื้อราที่นิยมใช้เป็นเวลานาน วิธีการนี้ต้องมีขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ (pre-treatment method) ได้แก่ การสกัดและการทำความสะอาดเพื่อทำให้สารบริสุทธิ์ (clean-up purification) วิธีการเตรียมตัวอย่างสามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น liquid-liquid extraction (LLE), supercritical fluid extraction (SFE) และ solid-phase extraction (SPE) วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างดำเนินการได้ทั้งในแบบ liquid chromatography (LC) ร่วมกับวิธี mass spectrometry (MS), thin layer chromatography (TLC), gas chromatography (GC), high-performance liquid chromatography (HPLC), capillary electrophoresis, enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) และ biosensors (Sapsford *et al.*, 2006) วิธีการตรวจวัดเหล่านี้นำมาใช้อุตสาหกรรมเกษตร เกษษกรรม และเคมี (Turner *et al.*, 2009; Koppen *et al.*, 2010) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าวิธีการตรวจวัดเหล่านี้มี

ข้อจำกัด ซึ่งการตรวจวัดแบบไม่ทำลายตัวอย่างด้วยเทคนิค NIRS ได้พัฒนาเพื่อแก้ไขปัญหาข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์แบบดั้งเดิม งานวิจัยและพัฒนาในการศึกษาเทคนิคการตรวจสินค้าโดยไม่ทำลายตัวอย่างด้วยเทคนิค NIRS มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งด้านพื้นฐาน และการประยุกต์ใช้งานด้านการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ ดังนั้นการควบคุมและการประกันคุณภาพสินค้าจึงมีความจำเป็นยิ่ง การใช้เทคนิคการตรวจสอบคุณภาพสินค้าโดยวิธีไม่ทำลายเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ประหยัดเวลา และลดต้นทุนสินค้าในระยะยาว เนื่องจากใช้สารเคมีในการตรวจสอบเพียงเล็กน้อย ซึ่งตรงกับความต้องการของโลกในอนาคตที่ต้องการรักษา และอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม ทำให้โลกปลอดภัยมากขึ้น (วารุณี, 2555) โดยโครงการวิจัยการประเมินคุณภาพในผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์ประเภทพืชไร่โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้สมการเพื่อตรวจสอบปริมาณวิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง และสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพด และถั่วเมล็ดแห้งได้อย่างถูกต้องแม่นยำโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

1. การประเมินปริมาณสารวิตามิน บี 1 ในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

ดำเนินการสร้าง standard curve ของสารมาตรฐานวิตามินบี 1 และทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ (method validation) สำหรับวิเคราะห์สารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองโดยวิธีห้องปฏิบัติการ (wet chemistry) แล้วจึงรวบรวมตัวอย่างถั่วเหลืองไม่น้อยกว่า 100 ตัวอย่าง จากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และแหล่งจำหน่ายต่าง ๆ นำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย 1. เครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร และนำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองไปวัดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer โดยวัดสเปกตรัมแบบสะท้อนกลับ (reflectance) จากนั้นจึงนำตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองที่บดละเอียดไปวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ด้วยเครื่อง HPLC ดัดแปลงตามวิธีของ Gi-Ppeum Kim *et al.* (2014) โดยมีขั้นตอนการสกัดดังนี้ ซึ่งถั่วเหลืองบดละเอียด 1.000 g ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 ml. เติม 0.05M NaOH ปริมาณ 2 ml. และเขย่าสาร (vortex) ให้เข้ากัน เติม 0.1% H₃PO₄ ปริมาณ 18 ml. และเขย่าสารให้เข้ากัน จากนั้นนำสารสกัดไป Sonicate ที่อุณหภูมิ 40°C นาน 20 นาที จากนั้นทำให้ตัวอย่างเย็นด้วยน้ำแข็งก่อนปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 20 นาที นำสารสกัดตัวอย่างไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.2 ถ้วยไปยังหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 ml. หลอดใหม่ ปรับน้ำหนักตัวอย่างให้เท่ากัน และสมดุกลกันระหว่างหัวปั่นตรงข้ามก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบ 4 °C นาน 20 นาที ดูดส่วนใส (supernatant) ประมาณ 1 ml แล้วกรองผ่านกระดาษกรองชนิด Cellulose Acetate ขนาด 0.45 µm ถ้วยไปยังขวดสีชา vial ขนาด 2 ml และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น 4 °C ก่อนฉีดวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยมีสภาวะ (condition) การวิเคราะห์ดังนี้ Mobile Phase A ประกอบด้วย 5 mM sodium 1-hexanesulfonate + 0.75% acetic acid (v/v) + 0.2% triethylamine (v/v) และ Mobile Phase B คือ Methanol (เกรด HPLC) ใช้คอลัมน์ชนิด ZORBAX Eclipse XDB-C18 (150 x 4.6 mm I.D., 150.0 mm, 3.5 µm) ใช้อุณหภูมิคอลัมน์ 40 °C ฉีด (injection volume) 20 µL และมีอัตราการไหล 0.6 ml/min. ตัวตรวจวัดชนิด Diode-array detector (DAD) ที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร นำข้อมูลเส้นสเปกตรัมต้นแบบที่ได้จากการสแกน

และผลวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 หรืออาจทำการแปลงผลข้อมูลเพื่อลดผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ noise หรือ errors จากการวัดที่ปรากฏใน spectrum ไปสร้างแบบจำลองทาง คณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square Regression (PLSR) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler® version 9.7 ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์ ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า Standard Error of Calibration (SEC) ต่ำ ค่า Standard Error of Prediction (SEP) ต่ำ และค่า Correlation Coefficient (R) สูง แล้วนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อหาวิธีที่ดีที่สุด ตรวจสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้นโดยเปรียบเทียบค่า Standard Error of Prediction (SEP) และ Bias เพื่อประเมินโดยใช้ข้อมูลในส่วนที่ไม่ได้ใช้ในการทำสมการ และนำสมการที่ได้ไปใช้ในการประเมินค่าปริมาณวิตามินบี 1 เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน โดยดำเนินงานวิจัย ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2563 ถึงกันยายน 2564

2. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพดโดยใช้เทคนิคเอนไซม์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

รวบรวมตัวอย่างข้าวโพดจากแหล่งผลิตต่าง ๆ จำนวนไม่น้อยกว่า 50 ตัวอย่าง แล้วนำตัวอย่างข้าวโพดที่รวบรวมได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยนำตัวอย่างข้าวโพดใส่ในเซลล์บรรจุ และทำการสแกนเพื่อบันทึกเส้นสเปกตรัมของตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่างแล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินบี 1 ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบสารพิษในอาหารและวัตถุุดิบที่สามารถบอกปริมาณของสารพิษได้โดยประมาณในแต่ละช่วงตามค่ามาตรฐานที่กำหนด และมีความน่าเชื่อถือ โดยการใช้ชุดทดสอบสารแอฟลาทอกซินสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit) ที่มีความเฉพาะเจาะจง (specificity) ในการเกาะจับกับสารพิษแอฟลาทอกซินบี 1 เท่ากับ 100% และสามารถตรวจจับสารแอฟลาทอกซินได้ต่ำสุด 0.4 พีพีบี โดยมีขั้นตอนการสกัดสารแอฟลาทอกซิน และขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนี้ ซึ่งตัวอย่างที่บดละเอียด 20 กรัม ใส่ในภาชนะ (ขวดแก้ว หรือเครื่องปั่น) เติม 70% เมทานอล 100 มล. เขย่าที่ความเร็ว 300 รอบ/นาที หรือปั่น 2-3 นาที ตั้งทิ้งไว้ 5 -10 นาที เพื่อแยกส่วนที่ใสกรองเฉพาะส่วนใสผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บส่วนที่กรองได้ (มีความเข้มข้นเป็นสัดส่วน เท่ากับ 1:5) นำส่วนที่กรองได้มาเจือจางเป็น 1:20 เพื่อให้ได้สารสกัดพร้อมวิเคราะห์ โดยหยดสารพิษมาตรฐานปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบจำนวน 4-5 ความเข้มข้น หยดสารสกัดตัวอย่างปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบที่เหลือ หยดเอ็นไซม์คอนจูเกต (AFB, HRP conjugate) ตามลงไปทุกหลุมทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20-30 นาที เทสารในหลุมทดสอบทิ้งแล้วล้างด้วย washing buffer 3 ครั้ง หยดสาร substrate ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ทุกหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 5-10 นาที ปฏิกิริยาจะเกิดเป็นสีฟ้าสามารถอ่านผล (ผลเชิงคุณภาพ) ได้ด้วยสายตา เปรียบเทียบกับสีฟ้าของสารพิษมาตรฐาน หยดปฏิกิริยาโดยเติม stopping solution ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ปฏิกิริยาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง อ่านค่าความเข้มของสีด้วย MicroELISA Reader ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร (อ่านผลเชิงปริมาณ) แล้วคำนวณปริมาณสารพิษเป็น ppb. (อมรา และคณะ, 2547) จากนั้นจึงสร้างสมการและการคัดเลือกสมการในการหาปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี 1 โดยนำเส้นสเปกตรัมที่ได้จากวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer และผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน บี 1 ใน

ห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ELISA ไปสร้างสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square Regression (PLSR) แบบ Full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler® version 9.7 ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์ ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณา R ค่า SEC ค่า SEP และค่า bias มาใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในข้าวโพด โดยดำเนินงานวิจัย ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2563 ถึงกันยายน 2564

3. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในถั่วเมล็ดแห้งโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

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

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การประเมินปริมาณสารวิตามิน บี 1 ในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

เมล็ดถั่วเหลือง (soybean grain) จำนวน 190 ตัวอย่าง ที่นำมาใช้ในการสร้างสมการประเมินปริมาณวิตามินบี 1 จะมีปริมาณสารวิตามินบี 1 ในช่วง 0.02-1.23 mg/100g DW มีปริมาณวิตามินบี 1 เฉลี่ยเท่ากับ 0.55 mg/100g DW (Table 2.1) และเมื่อนำเมล็ดถั่วเหลืองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยใช้หลักการสะท้อนแสง ด้วยเครื่อง NIR spectrometer ของบริษัท FOSS รุ่น 6500 พบว่า เมล็ดถั่วเหลืองสามารถดูดกลืนแสงได้ดี โดยพิจารณาจากยอดพีคของเส้นสเปกตรัมที่ความยาวคลื่น 1215 1471 1725 1940 2110 2275 และ 2347 นาโนเมตร (Figure 1) ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างโมเลกุลของ CH_2 CONH_2 H_2O (ความชื้น)

และโปรตีน (Table 2.2) อีกทั้งเมื่อพิจารณาจากสูตรโมเลกุลของวิตามินบี 1 (Figure 2.2) ที่เป็นสารอินทรีย์ที่มีสารประกอบไฮโดรคาร์บอน และสารอนุพันธ์อื่นๆ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและองค์ประกอบทางเคมีของวิตามินบี 1 ในเมล็ดธัญพืชที่นำมาใช้ดำเนินการทดสอบ เมื่อนำเทคนิค NIRS มาสร้างสมการสำหรับประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในธัญพืชด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation โดยใช้หลักสะท้อนแสงที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ด้วยวิธีอ้างอิง (reference method) ในห้องปฏิบัติการ และค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ด้วยเทคนิค NIRS โดยค่าทางสถิติที่แสดงให้เห็นถึงความถูกต้องของสมการที่พัฒนาขึ้น จะพิจารณาจากการได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สูงและเข้าใกล้ 1 นั้น จากการสร้างสมการเพื่อประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ใช้ความยาวคลื่นช่วง 400-2500 นาโนเมตร จะมีค่า R เท่ากับ 0.92 ความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) เท่ากับ 0.14 mg/100g DW ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 0.15 mg/100g DW ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIRS (Averages of difference between actual and NIR values, Bias) เท่ากับ -0.001 mg/100g DW และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง (F) จำนวน 7 ปัจจัย (Table 2.3) ค่า Regression coefficient ของสมการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในธัญพืช พบว่ามีค่า Regression coefficient สูงที่ความยาวคลื่น 1360 1395 1460 1990 1980 2252 และ 2294 นาโนเมตร (Figure 2.3) โดยพบว่าที่ความยาวคลื่น 1990 และ 2252 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับแป้งที่ความยาวคลื่น 1980 และ 2294 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน และโครงสร้างโมเลกุลของวิตามินบี 1 คือ C-H N-H ความยาวคลื่นที่เกี่ยวข้อง คือ 1360 1395 และ 1460 นาโนเมตร (Osborne, 1993) เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของข้อมูล 2 ชุดที่มีต่อกัน พบว่าสมการที่ได้ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง และให้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่ม calibration และกลุ่ม validation ต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างค่าอ้างอิง และค่าที่ทำนายได้มีความผิดพลาด (SEP) ต่ำกว่าค่าการวิเคราะห์ (SD) (Figure 2.4) ทำให้สามารถนำสมการไปใช้ในการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในธัญพืช โดยพบว่าสมการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 สามารถใช้ตรวจสอบตัวอย่างเมล็ดธัญพืชได้ถูกต้องแต่ควรใช้ด้วยความระมัดระวัง (usable with caution for most applications) (Table 2.4) (Williams and Norris, 2001) แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีความหลากหลายมากขึ้นเพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของเมล็ดให้ใกล้เคียง 1 เพื่อเป็นการพัฒนาสมการให้สามารถนำไปใช้ในการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในเมล็ดธัญพืชได้ถูกต้อง

2. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในข้าวโพดโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

ตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด (maize kernel) ที่นำมาใช้ในการสร้างและพัฒนาสมการเพื่อประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน บี 1 (AFB₁) มีจำนวนทั้งสิ้น 238 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดมีปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน บี 1 ในช่วง 0-14.70 ppb (Table 2.5) และภายหลังจากการนำเมล็ดข้าวโพดไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorption) ด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร ใช้หลักการสะท้อนแสง โดยบรรจุในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างชนิด quarter cup sample cell พบว่าเมล็ดข้าวโพดสามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 990 1215 1440 1940 และ 2110 นาโนเมตร ซึ่ง

ความยาวคลื่นดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำ แป้ง และโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในเมล็ดข้าวโพด (Williams and Norris, 2001) (Figure 2.4) จากการนำเทคนิค NIRS มาใช้เพื่อสร้างสมการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation โดยใช้หลักสะท้อนแสงที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ด้วยวิธีทางเคมี (conventional method) ในห้องปฏิบัติการ และค่าการดูดกลืนแสง (400-2500 นาโนเมตร) ในเมล็ดข้าวโพด โดยมีค่าแสดงถึงความถูกต้องแม่นยำของสมการ ซึ่งพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สูงใกล้เคียง 1 นั้น จากการสร้างสมการเพื่อประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด พบว่าสมการประกอบด้วยค่า R เท่ากับ 0.80 ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) เท่ากับ 3.28 ppb ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 3.42 ppb. ค่า Bias เท่ากับ -0.01 ppb และมีปัจจัยเกี่ยวข้อง (F) จำนวน 4 ปัจจัย (Table 2.6) ค่า Regression coefficient ของสมการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด พบว่ามีค่า Regression coefficient สูงที่ความยาวคลื่น 970 1416 1904 2070 และ 2240 นาโนเมตร (Figure 2.5) สอดคล้องกับ อรวรรณและคณะ (2561) ที่ได้ทำการประเมินปริมาณสารแอฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยเทคนิค NIRS พบความยาวคลื่น 1900 2000 และ 2100 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับแป้ง ส่วนที่ความยาวคลื่น 2240 มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน ที่ความยาวคลื่น 970 นาโนเมตรมีความสัมพันธ์กับน้ำ และโครงสร้างโมเลกุลของแอฟลาทอกซิน คือ C-H และ C=O มีความยาวคลื่นที่เกี่ยวข้อง คือ 1416 และ 2070 นาโนเมตร (Osborne, 1993) เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของข้อมูล 2 ชุดที่มีต่อกัน พบว่าสมการที่ได้ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง และให้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่ม calibration และกลุ่ม validation ต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ตรงระหว่างค่าอ้างอิง และค่าที่ทำนายได้ มีความผิดพลาด (SEP) ต่ำกว่าค่าการวิเคราะห์ (SD) (Figure 2.6) ทำให้สามารถนำมาสมการไปใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพดได้ พบว่า สมการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด สามารถใช้ตรวจสอบตัวอย่างในเมล็ดข้าวโพดได้สำหรับการคัดเลือกรูปร่างแบบคร่าว ๆ (rough screening) (Table 2.4) (Williams and Norris, 2001) แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีความหลากหลายมากขึ้นเพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของเมล็ดข้าวโพดให้ใกล้เคียง 1 เพื่อเป็นการพัฒนาสมการให้สามารถนำไปใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพดได้ถูกต้อง

3. การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในถั่วเมล็ดแห้งโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

เมื่อรวบรวมเก็บตัวอย่างถั่วเมล็ดแห้งชนิดต่างๆ (ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วลิสง) จากตลาดค้าปลีกมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตรใช้ระบบสะท้อนแสง ได้เส้นสเปกตรัมของตัวอย่างถั่วชนิดต่างๆ มาเปรียบเทียบกัน (Figure 2.7) พบลักษณะของเส้นสเปกตรัมมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกศึกษาเฉพาะถั่วลิสงเมล็ดแห้งเนื่องจากการปนเปื้อนปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินได้ง่ายและมีปริมาณสูงกว่าถั่วเมล็ดแห้งชนิดอื่นๆ ภายหลังเก็บตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งจากตลาดค้าปลีกจำนวน 150 ตัวอย่าง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เส้นสเปกตรัม

ของตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้ง (Figure 2.8) และนำตัวอย่างเดียวกันนี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี ELISA (Table 2.7) นำสเปกตรัมต้นแบบและค่าวิเคราะห์ที่ได้ไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler® version 9.7 พบว่า สมการจาก 67 ตัวอย่างมีค่า R เท่ากับ 0.76 มีค่า SEP เท่ากับ 11.49 ppb. (Figure 2.9) ค่า SEC เท่ากับ 9.35 ppb. และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA คือ 14.50 ppb. และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องจำนวน 7 ปัจจัย (Table 2.8) มีค่า regression coefficient สูง ที่ความยาวคลื่น 928 1450 16805 1920 และ 2140 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ Oil, Starch, Aromatic, CONH และ HC-CH (Osborne, 1993) (Figure 2.10) ของสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้ง เมื่อทดสอบความถูกต้องแม่นยำของสมการที่นำไปใช้ เมื่อนำสมการที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง และนำผลที่ได้จากเทคนิค NIRS ไปเปรียบเทียบกับที่ได้จากวิธีอ้างอิง พบว่า ค่าความแตกต่างของปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินจากทั้ง 2 วิธี อยู่ระหว่าง -22 – 5 ppb. (Table 2.9) ดังนั้นสมการที่ได้นี้จึงสามารถนำไปใช้ในการประมาณค่าเบื้องต้นของปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งได้ สอดคล้องกับชิวานันท์ (2558) พบว่าสามารถนำเทคนิค NIRS ประยุกต์ใช้เพื่อตรวจหาเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซินปี 1 ในข้าวกล้องได้ และรติพร (2561) ใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการตรวจสอบปริมาณความชื้น และแอฟลาทอกซินปี 1 ในตัวอย่างที่ทำการบด คือ ข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง พบว่าสามารถใช้ตรวจสอบคุณภาพได้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีสามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองในช่วง 0.02-1.23 mg/100g DW ได้อย่างถูกต้อง และให้ค่าการประเมินที่ถูกต้องในระยะเวลาสั้น โดยความยาวคลื่นที่ใช้ในเทคนิค NIRS เพื่อการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองอยู่ในช่วง 400 - 2500 นาโนเมตร ใช้หลักการสะท้อนแสง (reflection) และใช้สเปกตรัมต้นแบบ (original spectrum) นอกจากนี้ยังพบว่าเทคนิค NIRS ยังสามารถใช้ประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพดในช่วง 0-14.70 ppb ได้อย่างถูกต้องเหมาะสมสำหรับการคัดเลือกแบ่งกลุ่มแบบคร่าว ๆ และให้ค่าการประเมินที่ถูกต้องในระยะเวลาสั้น โดยความยาวคลื่นที่ใช้ในเทคนิค NIRS เพื่อการประเมินปริมาณสารพิษจากเชื้อราแอฟลาทอกซิน ปี 1 ในเมล็ดข้าวโพดอยู่ในช่วง 400 - 2500 นาโนเมตร ใช้หลักการสะท้อนแสง (reflection) และใช้สเปกตรัมดั้งเดิม (original spectrum) ส่วนสมการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งในช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง โดยใช้เครื่อง Near Infrared spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS มีค่า R SEP และ SCE เท่ากับ 0.76 11.49 และ SEC 9.35 ppb ตามลำดับ และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 7 ปัจจัย สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงเมล็ดแห้งได้ในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบในช่วง 4.40-59.95 ppb

Table 2.1 The characteristics of samples used in model construction for Vitamin B₁ content in soybean grain.

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

Table 2.2 Chemical assignments of some observed near infrared absorption bands.

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

Source : Osborne (1986)

Table 2.3 Results of PLSR calibration for Vitamin B₁ content in soybean grain.

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

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

Table 2.4 Interpretation of R และ R² (Williams and Norris, 2001)

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

Table 2.5 The characteristics of samples used in model construction for Aflatoxin B₁ content in maize kernel.

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

Table 2.6 Results of PLSR calibration for Aflatoxin B₁ content in maize kernels.

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

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

Table 2.7 The characteristics of samples used in model construction for Aflatoxin contents in peanut samples.

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

Table 2.8 The statistical analysis of NIRS models to predict Aflatoxin contents in peanut samples by The Unscrambler® program.

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

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

Table 2.9 Method validation between reference measurement and NIRS prediction of Aflatoxin contents in peanut samples.

Samples	Method to determine Aflatoxin contents		d (x-y)
	Reference Method	NIR Prediction	
	X	Y	
1	16.50	19.98	-3
2	8.40	27.60	-19
3	11.50	18.89	-7
4	18.90	18.90	0
5	12.30	7.71	5
6	10.90	7.85	3
7	16.20	24.70	-8
8	9.00	22.47	-13
9	15.80	17.91	-2
10	16.90	22.35	-5
11	7.80	19.98	-12
12	5.00	22.37	-17
13	15.80	37.87	-22
14	13.10	21.35	-8
15	11.40	17.15	-6
16	12.50	22.33	-10
17	7.65	27.36	-20
18	11.80	26.99	-15
19	6.95	21.14	-14
20	6.75	22.20	-15
Total	235	427	-192
Average	12	21	-10

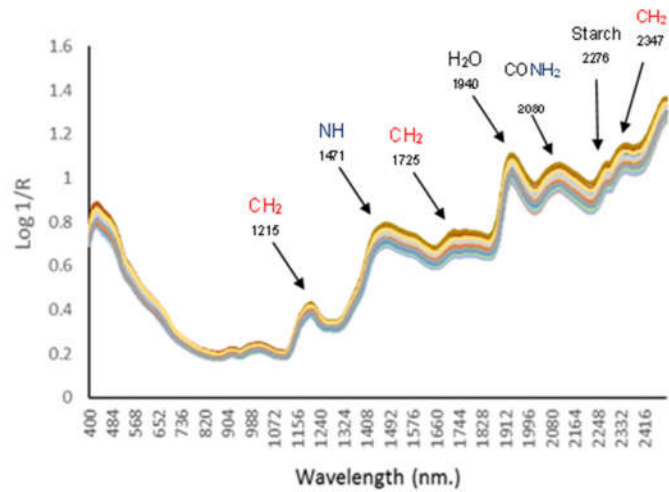


Figure 2.1 The original NIR spectra of soybean grain samples in wavelength region 400-2500 nm.

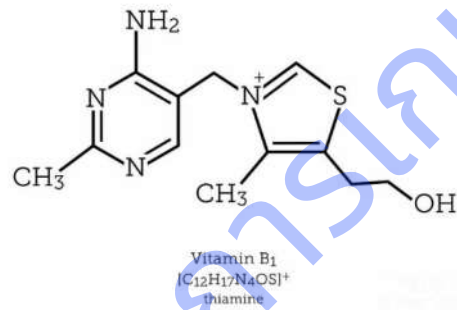


Figure 2.2 Molecular structure of Vitamin B₁

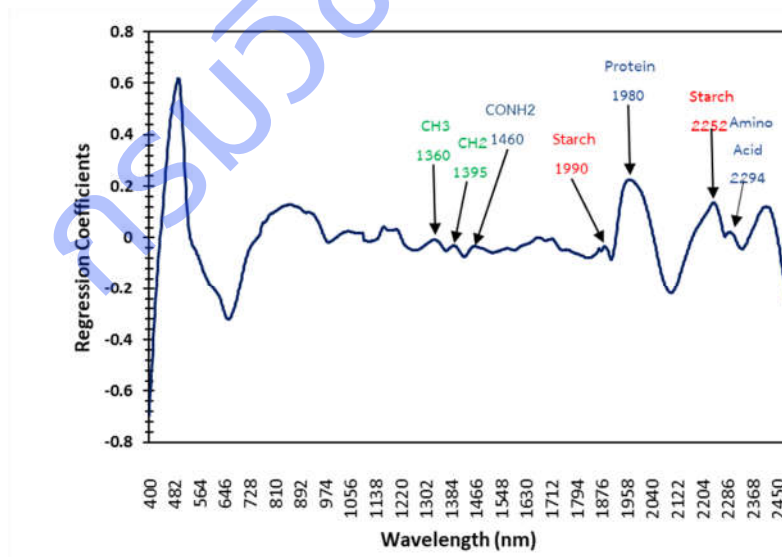


Figure 2.3 Regression coefficient plots to evaluate Vitamin B₁ content in soybean grains.

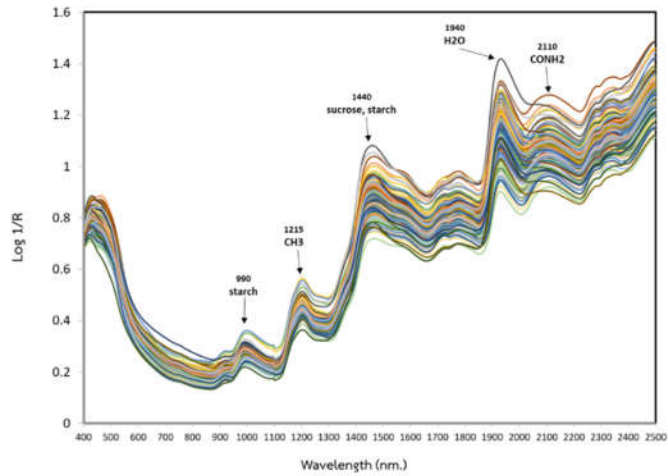


Figure 2.4 The original NIR spectra of maize kernel samples in wavelength region 400-2500 nm.

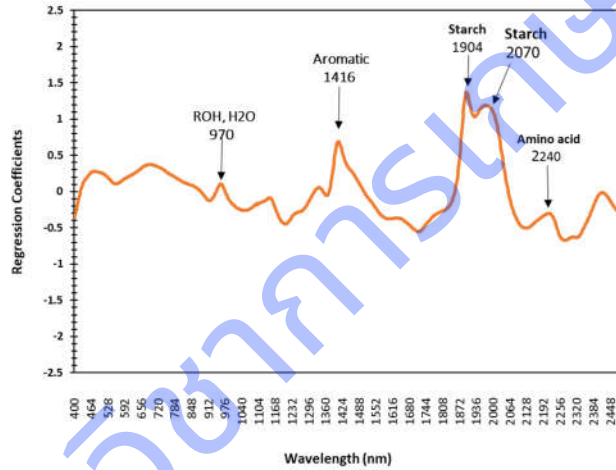


Figure 2.5 Regression coefficient plots to evaluate Aflatoxin B₁ content in maize kernels.

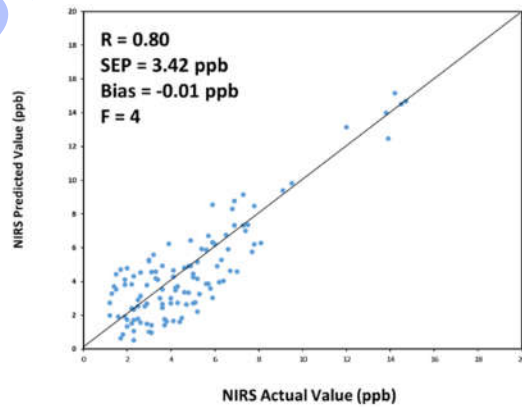


Figure 2.6 Scatter plots for calibration model of Aflatoxin B₁ content in maize kernel samples.

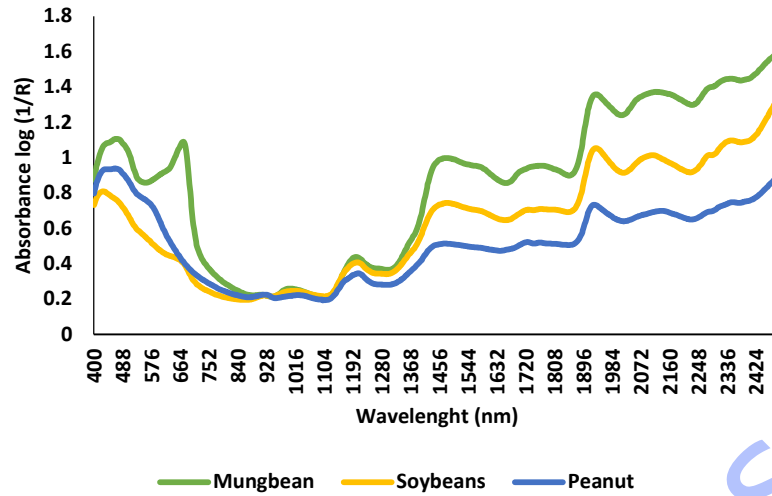


Figure 2.7 The original NIR spectra of Mung bean Soybean and Peanut samples at wavelength 400–2500 nm.

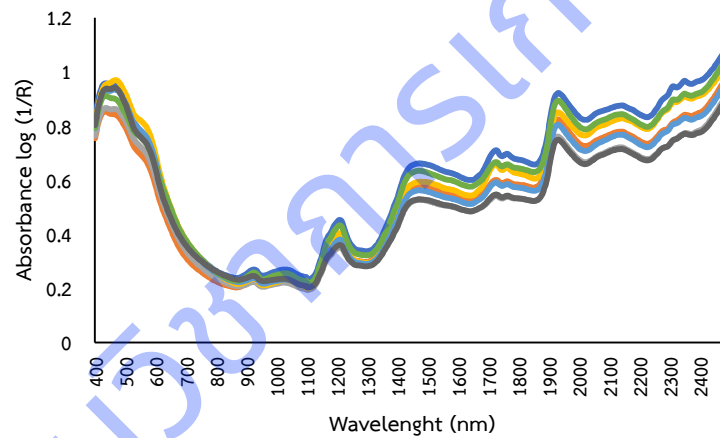


Figure 2.8 The original NIR spectra of Aflatoxin in Peanut samples at wavelength 400–2500 nm.

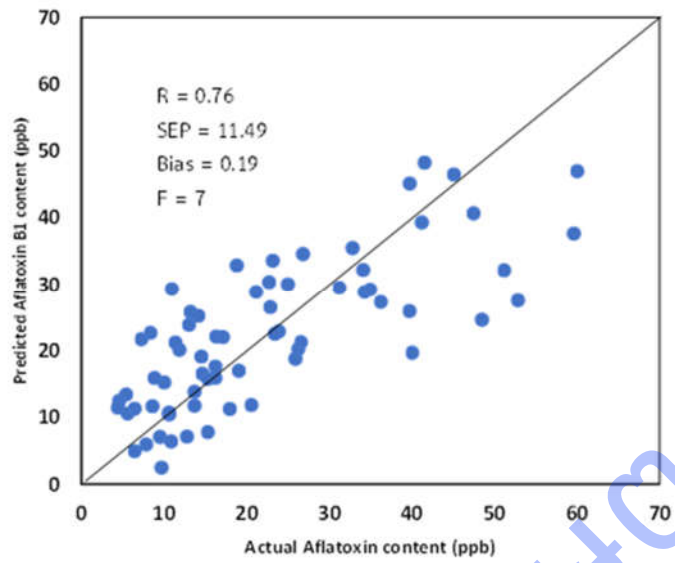


Figure 2.9 Scatter plots for calibration model of Aflatoxin contents in Peanut samples.

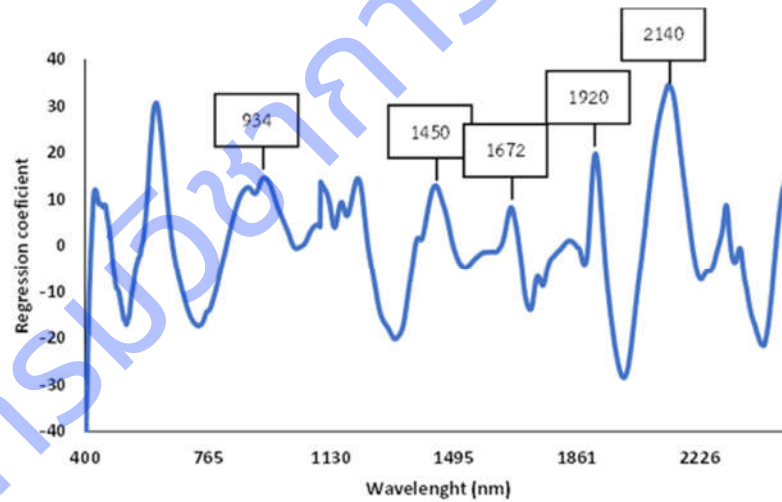


Figure 2.10 Regression coefficient for calibration model to predict Aflatoxin contents in peanut samples.

โครงการวิจัยที่ 3
การประเมินคุณภาพในสมุนไพรโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี
Quality Evaluation in Herbal Plants by Near Infrared Spectroscopy

ผู้วิจัย

จารุรัตน์	พุ่มประเสริฐ
Jarurat	Pumprasert
ภักวีไล	ยอดทอง
Phakwilai	Yodthong
ศุภรา	อัคคะสารากุล
Suppara	Aukkasarakul
อรวรรณ	จิตต์ธรรม
Orawan	Jittham

คำสำคัญ (Keywords)

กวาวเครือ ขมิ้นชันผง เคอร์คูมินอยด์ เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ไอโซฟลาโวน
Kwao Krua, turmeric powder, curcuminoids, Near Infrared Spectroscopy, Isoflavones

บทคัดย่อ

สมุนไพรเป็นพืชที่มีสารสำคัญที่มีสรรพคุณทางยาในส่วนต่างๆ โดยเคอร์คูมินอยด์ เป็นสารกลุ่มสีเหลืองส้มที่อยู่ในเหง้าขมิ้นชัน พบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการนำเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) มาใช้ในการตรวจสอบปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผงและสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดและผลิตภัณฑ์ โดยพบว่า สมการสามารถประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผงได้ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) สูง เท่ากับ 0.93 มีค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 2.82% ซึ่งต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอ้างอิง (6.77%) และค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) 2.44% สมการที่ได้นี้สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผงได้ในระดับเพื่องานวิจัยและงานทั่วไปได้ ในช่วง 0.76-43.18% สำหรับสมการสามารถประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดและผลิตภัณฑ์พบค่า R เท่ากับ 0.81 และ 0.85 ตามลำดับ มีค่า SEP เท่ากับ 4.40 และ 0.28 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอ้างอิง คือ 12.09 และ 5.84 ไมโครกรัมต่อกรัม และค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) คือ 11.41 และ 0.23 ไมโครกรัมต่อกรัม สมการที่ได้นี้สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสด และ

ผลิตภัณฑ์ได้ในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประเมินค่าเบื้องต้น ในช่วง 3.92-172.93 และ 11.81-318.86 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

Abstract

Herbs are plants that contain important substances with various medicinal properties. Curcuminoid is substance found in the rhizome of turmeric. It have good antioxidant properties and has anti-inflammatory effects. A good turmeric raw material should contain at least 5% curcuminoids. Isoflavone is substance found in the Pueraria. The Method to determine the curcuminoids evaluation in Turmeric Powder and isoflavone evaluation in fresh Kwao Kruea and products takes a long time and at a very high cost. The objective of this research was to determine the curcuminoids evaluation in Turmeric Powder and Isoflavone in fresh Kwao Kruea and products was modified by near infrared spectroscopy (NIRS) technique. Equation of curcuminoids determination in Turmeric powder had high correlation coefficient (R); 0.93 which standard error of prediction (SEP); 2.82% was lower than standard deviation (SD) of the In-house's method (HPLC); 6.77% and also low standard error of calibration (SEC); 2.44%. The model from NIRS method can predict the amount of curcuminoids in Turmeric Powder in the range of 0.76-43.18 %. Equation of isoflavone determination in fresh Kwao Kruea and products had correlation coefficient (R); 0.81 and 0.85 which standard error of prediction (SEP); 4.40 and 0.28 $\mu\text{g/g}$ was lower than standard deviation (SD) of the In-house's method (HPLC); 12.09 and 5.84 $\mu\text{g/g}$ and also low standard error of calibration (SEC); 11.41 and 0.23 $\mu\text{g/g}$. The model from NIRS method can predict the amount of isoflavone determination in fresh Kwao Kruea and products in the range of 3.92-172.93 and 11.81-318.86 $\mu\text{g/g}$.

บทนำ

Near Infrared Spectroscopy (NIRS) เป็นเทคนิคการประเมินที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ใช้ระยะเวลาตรวจวิเคราะห์สั้น ทราบผลเร็วในเวลาสั้น ไม่ต้องใช้สารเคมี โดยใช้หลักการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดของสารประกอบอินทรีย์ และน้ำ เมื่อคลื่นแสงมาจากแหล่งกำเนิดแสง (light source) ส่งมายังวัตถุหรือสารละลายบนตัวอย่าง จะทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดการสั่นสะเทือน และดูดกลืนแสง ส่วนแสงที่เหลือจะมีการสะท้อน และส่องผ่านจากตัวอย่างไปยังอุปกรณ์สำหรับตรวจวัด (detector) โดยจะบันทึกปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้เทียบกับความยาวคลื่นต่างๆ แล้วนำมาจับคู่กับค่าการวิเคราะห์เคมีจากห้องปฏิบัติการเพื่อสร้างสมการ เป็นการสร้างสมการจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) สมการที่มีประสิทธิภาพต้องสามารถนำไปประเมินลักษณะที่ต้องการได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ พิจารณาจากค่าต่างๆ เหล่านี้ คือ ค่าความสัมพันธ์ (R) ต้องมีค่าสูง หมายถึง ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ในย่าน NIR และค่าการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ ถ้าค่า R มีค่าสูงใกล้ 1 แสดงว่ามีความสัมพันธ์

กันสูงสามารถใช้ทดแทนกันได้ ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชัน (SEC) ถ้าสมการมีความแม่นยำควรมีค่า SEC ต่ำ ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) ควรมีค่าต่ำ โดยค่า SEP ต้องต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสมการ (F) เป็นปัจจัยจากภายในของตัวอย่างนั้นๆ จึงจะแสดงว่าสมการที่ได้มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ทำนายคุณลักษณะที่ต้องการหา สามารถนำสมการที่ได้ใช้ทำนายค่าของตัวอย่างแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

สมุนไพร เป็นพืชที่มีสารสำคัญที่มีสรรพคุณทางยาในส่วนต่างๆ เช่น ราก ใบ ลำต้น ดอก ผล เมล็ด การใช้ประโยชน์จากสมุนไพรของไทย ทั้งในด้านการผลิตเป็นยารักษาโรค และการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อเพิ่มมูลค่า มีเกษตรกรรวมกลุ่มผลิตสมุนไพรทั้งในรูปแบบแห้ง แคปซูล ผลิตภัณฑ์ชา และผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่างๆ มากมาย วางขายในนามกลุ่มแม่บ้าน กลุ่มเกษตรกร มีการเก็บรักษาและใช้บรรจุภัณฑ์ที่หลากหลายแตกต่างกันไปตามแหล่งผลิต แต่ปัญหาที่พบจากการผลิต คือ ระหว่างการเก็บรักษาเพื่อรอจำหน่ายหากมีการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสมอาจส่งผลให้สารสำคัญที่เป็นสรรพคุณทางยาลดน้อยลง การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในวัตถุดิบสมุนไพรหลังการเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษา จึงมีความสำคัญที่จะต้องมีการมีข้อมูลสำหรับแนะนำและส่งเสริมให้เกษตรกรได้ทราบ นำไปประยุกต์ใช้เพื่อรักษาสารสำคัญที่เป็นประโยชน์และปลอดภัยต่อผู้บริโภค

โดยโครงการนี้ทำการศึกษาในสมุนไพร 2 ชนิด ได้แก่ **ขมิ้นชัน** (*Curcuma longa* L.) เป็นพืชสมุนไพรทรงคุณค่าที่มีอยู่ตามธรรมชาติมาช้านานเพราะด้วยคุณสมบัติพิเศษที่สามารถนำมาใช้ทางยา โดยพบสารที่สำคัญ คือ เคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) ซึ่งประกอบด้วยสารที่สำคัญ 3 ตัว คือ เคอร์คูมิน (curcumin) ประมาณ 75 – 81% เดสเมธอกซีเคอร์คูมิน (desmethoxycurcumin) ประมาณ 15-19% และบิสเดสเมธอกซีเคอร์คูมิน (bisdesmethoxycurcumin) ประมาณ 2.2–6.6% สารนี้ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ และกรดแอสिटริก (บัญญัติ, 2543) จากการศึกษา พบว่าเคอร์คูมินมีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ลดไขมันในเลือด ขับน้ำดี สมานแผล ยับยั้งการเกิดพิษต่อตับ ต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ต้านมะเร็ง ไส้ และฆ่ายุง เป็นต้น (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2543) ในตลาดโลกซื้อขายขมิ้นแห้งมากกว่าขมิ้นป่น ในประเทศไทยขมิ้นเจริญเติบโตได้ดีมากเพาะปลูกได้ง่ายจึงอาจเป็นพืชที่มีศักยภาพสูงในการเพาะปลูกเชิงการค้าหรือผลิตเป็นสินค้าส่งออกได้ รัฐบาลเคยมีนโยบายส่งเสริมการเพาะปลูกเพื่อส่งออกในรูปขมิ้นแห้ง แต่ยังไม่ประสบความสำเร็จในวงกว้างเนื่องจากคุณภาพของขมิ้นจะแปรผันตามพันธุ์ปลูก สภาพแวดล้อม และอายุการเก็บเกี่ยว โดยมาตรฐานผลิตผลแห้งของขมิ้นต้องมีปริมาณสิ่งแปลกปลอม (%w/w) ไม่เกิน 2 ความชื้น (% v/w) ไม่เกิน 10 ปริมาณเถ้ารวม (% w/w) ไม่เกิน 8 ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (% w/w) ไม่เกิน 1 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล (% w/w) ไม่น้อยกว่า 10 ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (% w/w) ไม่น้อยกว่า 9 ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (% v/w) ไม่น้อยกว่า 6 ปริมาณเคอร์คูมินอยด์คำนวณไม่น้อยกว่า 5 (พิทยา, 2551)

กวาวเครือขาว มีฤทธิ์เป็นยาสมุนไพร หัว บำรุงเนื้อหนังให้เต่งตึง แก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย แก้อ่อนเพลีย ผอมแห้ง นอนไม่หลับ มีฮอร์โมนเพศหญิงสูง ทาหรือรับประทานทำให้เต้านมขยายตัว เส้นผมดกดำ เพิ่มเส้นผม เป็นยาปรับรอบเดือน บำรุงความกำหนัด บำรุงอวัยวะสืบพันธุ์ให้เจริญ แก้โรคตาฟาง ต้อกระจก ทำให้ความจำดี บำรุงโลหิต กินได้นอนหลับ ผิวหนังเต่งตึงมีน้ำมีนวล ถ้ารับประทานเกินขนาดจะเป็นอันตรายได้ ทำให้มีอาการมึนเมา คลื่นไส้อาเจียน อาจทำให้แท้งบุตรได้ เปลือกเถา แก้พิษงู ในพม่าใช้หัว เป็นยาอายุวัฒนะของทั้งหญิง และชาย แต่ไม่เหมาะกับคนหนุ่มสาว

โดยเฉพาะหญิงวัยเจริญพันธุ์ โดยพบสารกลุ่มโครเมิน (chromene) เป็นสารสำคัญอันดับหนึ่งใน กวาวเครือ ได้แก่ ไมโรเอสโตร (miroestrol) ซึ่งเป็นสารที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน พบ ปริมาณ 0.002-0.003% ของน้ำหนักแห้ง หรือประมาณ 15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของกวาวเครือ แห้ง (ยุทธนา และคณะ, 2555) ซึ่งมีโครงสร้างใกล้เคียงกับ เอสตราไดออล (estradiol) ทำให้มีฤทธิ์ คล้ายฮอร์โมนเพศหญิง เมื่อกวาวเครือมีอายุ 3-4 ปี จึงมีปริมาณผลผลิต และสารสำคัญสูง เกือบเกี่ยว เมื่อต้นทิ้งใบและเริ่มออกดอก (มกราคม-มีนาคม) หากพ้นช่วงเก็บเกี่ยวนี้จะได้ปริมาณสารสำคัญลดลง เพราะเมื่อเริ่มแทงช่อดอกจะมีการดึงธาตุอาหารไปใช้ สัจจะ (2012) กล่าวว่ากวาวเครือขาวที่ปลูกจาก เมล็ดสามารถเก็บเกี่ยวหัวใต้ดินได้ตั้งแต่อายุ 1 ปี แต่เมื่อทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ½ – 3 ปี กวาวเครือจะให้ สารสำคัญ เช่น puerarin, daidzein และ genistein สูงที่สุด ส่วนการสะสมปริมาณสารออกฤทธิ์ คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนจะมีมากขึ้นเรื่อยๆ และสูงที่สุดในขณะที่ต้นกวาวเครือขาวพักตัว (เดือน กุมภาพันธ์-มีนาคม) ฉะนั้นจึงควรเก็บเกี่ยวหัวกวาวเครือขาวในช่วงนี้ จึงจะได้ปริมาณสารสำคัญสูง ที่สุด

โดยสมุนไพรที่กล่าวมาทั้ง 2 ชนิด สามารถเก็บเกี่ยวได้ในฤดูกาลช่วงหนึ่งเท่านั้น ดังนั้นการ ผลิตจึงมีระยะเวลาที่จำกัดต้องนำผลผลิตมาเก็บรักษาไว้ในรูปของการทำแห้งหรืออบเป็นผง เพื่อให้ สามารถเก็บไว้ใช้ได้เป็นเวลานาน การจัดการหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่เหมาะสม เช่น อายุเก็บเกี่ยว การ ลดความชื้นไม่ถูกต้อง ลักษณะการเก็บรักษา และสภาพการเก็บรักษา อาจจะทำให้สมุนไพรเสื่อม คุณภาพ ดังนั้นจึงควรศึกษาถึงวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่สะดวก รวดเร็ว และมี ค่าใช้จ่ายน้อย เพื่อให้วัตถุดิบสมุนไพรยังคงมีปริมาณสารสำคัญที่สูง เพื่อนำไปให้เกิดประโยชน์ สูงสุด

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. การปรับปรุงและทดสอบสมการประเมินปริมาณเคอร์คูมินอยต์ในผลิตภัณฑ์ขมิ้นผงโดยใช้ เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

รวบรวมเก็บตัวอย่าง และเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ขมิ้นผงที่มีจำหน่ายในตลาดจำนวน 200 ตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ขมิ้นผงไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร และนำ ตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คูมินอยต์ในผลิตภัณฑ์ขมิ้นผงด้วยวิธีอ้างอิงในห้องปฏิบัติการ คือ วิธีวิเคราะห์ In-house's method (HPLC) ดัดแปลงจาก Pei-Yin Zhan (High-efficient column chromatographic extraction of curcumin from *Curcuma longa*) Food Chemistry 129 (2011) 700-703 จากนั้นนำ spectra ที่ได้ไปเพิ่มข้อมูลในสมการที่ได้จากการทดลองปี 2563 มา ปรับปรุงสมการให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น และทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (R) ที่มีค่าสูงใกล้เคียง 1 ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) และค่าความ ผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (SEP) ที่มีค่าต่ำ ตรวจสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้นโดยเปรียบเทียบค่า SEP และ Bias เพื่อประเมินโดยใช้ ข้อมูลในส่วนที่ไม่ได้ใช้ในการทำสมการ ตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้น โดยนำ สมการไปประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยต์ในผลิตภัณฑ์ขมิ้นผง จำนวน 20 ตัวอย่าง

2. การประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดและผลิตภัณฑ์โดยเทคนิคเนียร์ อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

รวบรวมกวาวเครือชนิดผงละเอียดที่ได้จากแหล่งต่างๆ (130 ตัวอย่าง) และหัวกวาวเครือสดที่ขนาดและอายุต่าง ๆ กัน (120 ตัวอย่าง) ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด ปอกเปลือก หั่นเป็นชิ้นวงกลม แล้วนำไปบรรจุในอุปกรณ์ และวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR Spectrometer รุ่น 6500 ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร เพื่อบันทึกข้อมูลเป็นเส้นสเปกตรัม จากนั้นนำตัวอย่างกวาวเครือที่ผ่านการนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค NIRS มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารไอโซฟลาโวน เพื่อใช้เป็นข้อมูลทางเคมีสร้างสมการต่อไป โดยขั้นตอนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มีขั้นตอนเริ่มจากชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ทำการสกัด 2 ครั้ง ที่อุณหภูมิห้อง โดยเติม Methanol (MeOH) 50 และ 25 มิลลิลิตร แล้วนำไป sonication นาน 15 นาที จากนั้นกรองสารละลายผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 สารละลายที่ได้ประเหยให้แห้งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นละลายตัวอย่างที่ระเหยแห้งด้วย MeOH (HPLC grade) จำนวน 10 มิลลิลิตร กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองชนิด nylon membrane ขนาด 0.45 มิลลิเมตร และนำสารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณสารไอโซฟลาโวน โดยวิธี HPLC-DAD ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ใช้สารละลายเคลื่อนที่ A (mobile phase A) เป็น 0.1% TFA ในน้ำกลั่น 1 ลิตร และสารละลายเคลื่อนที่ B (mobile phase B) เป็น acetonitrile ผ่านคอลัมน์ชนิด YMC-Pack ODS-AM-303 (250 mm. X 4.6 mm. I.D.) ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 20 ไมโครลิตร นาน 45 นาที ที่อัตราการเคลื่อนที่ของสารละลาย 0.4 มิลลิลิตร/นาที เมื่อได้ข้อมูลค่าการวิเคราะห์ปริมาณสารไอโซฟลาโวน และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตรจากเทคนิค NIRS แล้ว จึงนำข้อมูลดังกล่าวมาสร้างสมการโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปสร้างสมการโดยใช้หลักสถิติ PLSR แบบ full cross validation จากโปรแกรม The Unscrambler® version 9.7 พบว่า เลือกสมการที่มีประสิทธิภาพในการประเมินโดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ให้ใกล้เคียงกับ 1 ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) ค่าความผิดพลาดมาตรฐานของการประเมินต่ำ (SEP) และค่า Bias ต่ำ จากนั้นจึงทดสอบความแม่นยำของสมการโดยนำสมการที่ได้ไปใช้ประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในตัวอย่างกวาวเครือสดและกวาวเครือผงที่ไม่อยู่ในชุดที่ใช้สร้างสมการ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของวิธีการที่ประเมินด้วยเทคนิค NIRS และวิธีมาตรฐานที่วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การปรับปรุงและทดสอบสมการประเมินปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในผลิตภัณฑ์ไขมันผงโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

ปรับปรุงและทดสอบสมการประเมินปริมาณเคอร์คูมินอยด์จากการทดลองปี 2563 จากเดิมใช้ตัวอย่างไขมันชั้นผงจำนวน 60 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างไขมันชั้นผงเพิ่มจากตลาดค้าปลีกจำนวน 140 ตัวอย่าง นำตัวอย่างไขมันชั้นผงมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง ได้เส้นสเปกตรัมของตัวอย่างไขมันชั้นผง (Figure 3.1) และนำตัวอย่างเดียวกันนี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีวิเคราะห์ In-house's method (HPLC) ดัดแปลงจาก Pei-Yin Zhan (Table 3.1) นำสเปกตรัมต้นแบบและค่าวิเคราะห์ที่ได้ไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler[®] version 9.7 พบว่า สมการจาก 157 ตัวอย่างมีค่า R เท่ากับ 0.93 มีค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) 2.82 เปอร์เซ็นต์ (Figure 3.2) ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) 2.44 เปอร์เซ็นต์ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี In-house's method (HPLC) คือ 6.77 เปอร์เซ็นต์ และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 8 ปัจจัย (Table 3.2) มีค่า regression coefficient สูง ที่ความยาวคลื่น 1143 1460 1685 1900 และ 2242 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ Aromatic CONH₂ Aromatic Starch และ Amino acid (Osborne, 1986) (Figure 3.3) ของสารเคอร์คูมินอยด์ในตัวอย่างไขมันชั้นผง

นำสมการที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในตัวอย่างไขมันชั้นผงจำนวน 20 ตัวอย่าง และนำผลที่ได้จากเทคนิค NIRS ไปเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิง พบว่า ค่าความแตกต่างของปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์จากทั้ง 2 วิธี อยู่ระหว่าง - 0.23 – 5.02 เปอร์เซ็นต์ (Table 3.3) สมการที่ได้นี้จึงสามารถนำไปใช้ในการประมาณค่าเบื้องต้นของปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในตัวอย่างไขมันชั้นผงได้ สอดคล้องกับ ฌ็องญูซ์ (2556) พบว่าสามารถใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีในการวัดปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในไขมันชั้นเปรียบเทียบ กับวิธีอ้างอิงทางเคมีได้ค่าที่ถูกต้องแม่นยำ และคุมพาร์ (2557) ใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีในการวัดปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในยาสมุนไพรไขมันชั้นที่ขายในร้านขายยา พบว่าสามารถใช้ได้ในระดับการประกันคุณภาพในการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินในยาสมุนไพรไขมันชั้นได้อย่างรวดเร็วและไม่ทำลายตัวอย่าง

2. การประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกาวาเครือสดและผลิตภัณฑ์โดยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

นำตัวอย่างหัวกาวาเครือสดจำนวน 120 ตัวอย่าง ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในย่าน Near Infrared ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร พบว่ากาวาเครือสดสามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 1450 และ 1900 นาโนเมตร (Figure 3.4) ซึ่งที่ 1450 นาโนเมตร บ่งบอกการสั่นของพันธะ O-H แบบ first overtone stretching ภายในโมเลกุลของน้ำและแป้ง ที่ 1900 นาโนเมตร บ่งบอกการสั่นของพันธะ O-H +2xC-O stretching ภายในโมเลกุลของแป้งในตัวอย่าง (Osborne *et al.*, 1993) โดยปริมาณสารไอโซฟลาโวนมีความสัมพันธ์กับโปรตีน เพราะสารไอโซฟลาโวนและอนุ

พันธ์มีการต่ออยู่กับโปรตีน และการลดลงของสารไอโซฟลาโวนอาจเนื่องมาจากพืชหลังการเก็บเกี่ยว
มาใหม่ ๆ ยังคงมีความชื้นสูง มีกระบวนการทางเคมีต่าง ๆ เกิดขึ้นส่งผลให้มีปริมาณสารไอโซฟลาโวน
สูงขึ้น เมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารไอโซฟลาโวน พบว่าตัวอย่างกวาวเครือสดมีปริมาณสารไอโซฟ
ลาโวนอยู่ในช่วง 3.92-172.93 $\mu\text{g/g}$ และนำตัวอย่างกวาวเครือฝงจำนวน 130 ตัวอย่าง ไปวัดค่าการ
ดูดกลืนแสงในย่าน Near Infrared ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร พบว่ากวาวเครือฝง
สามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 1450 1900 2100 และ 2310 นาโนเมตร (Figure 3.5) ซึ่ง
ที่ 1450 นาโนเมตร บ่งบอกการสั่นของพันธะ O-H แบบ first overtone stretching ภายในโมเลกุล
ของน้ำและแป้ง ที่ 1900 นาโนเมตร บ่งบอกการสั่นของพันธะ O-H + 2xC-O stretching ภายใน
โมเลกุลของแป้งในตัวอย่าง (Osbone *et al.*, 1993) เมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารไอโซฟลาโวน
พบว่าตัวอย่างกวาวเครือฝงมีปริมาณสารไอโซฟลาโวนอยู่ในช่วง 11.81-318.86 $\mu\text{g/g}$ (Table 3.4)
เมื่อสร้างสมการประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดและกวาวเครือฝงจากตัวอย่าง
กวาวเครือสดและกวาวเครือฝง ด้วยวิธี PLSR แบบ full cross validation โดยใช้ความยาวคลื่น
400-2500 นาโนเมตร พบว่า สมการประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดมีค่า
สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.81 ค่า SEC เท่ากับ 11.41 $\mu\text{g/g}$ ค่า SEP เท่ากับ 4.40 $\mu\text{g/g}$ ค่า
Bias เท่ากับ 1.060 มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องในสมการ (F) จำนวน 9 ปัจจัย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจาก
ค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (SD) เท่ากับ 12.09 $\mu\text{g/g}$ มีค่า Regression coefficient ที่ความยาว
คลื่น 1152 1450 1620 1765 และ 1900 นาโนเมตร (Figure 3.6) สมการปริมาณสารไอโซฟลาโวน
ในกวาวเครือฝงมีค่าความสัมพันธ์ โดยมีค่า R เท่ากับ 0.85 ค่า SEC เท่ากับ 0.23 $\mu\text{g/g}$ ค่า SEP
เท่ากับ 0.28 $\mu\text{g/g}$ ค่า Bias เท่ากับ 1.015 มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องในสมการ (F) จำนวน 9 ปัจจัย และค่า
เบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (SD) เท่ากับ 5.84 $\mu\text{g/g}$ (Table 3.5) มีค่า
Regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1195 1450 1705 1750 1980 2100 และ 2310 นาโน
เมตร (Figure 3.7) สอดคล้องกับ Lau *et al.* (2009) ทำศึกษากวาวเครือ 2 ชนิดคือ *Pueraria*
lobata (YG) และ *Pueraria thomsonii* (FG) เพื่อตรวจสอบปริมาณของ puerarin, daidzin และ
isoflavonoid ทั้งหมดในตัวอย่าง ผลการวิจัยพบว่า NIRS สามารถทำหน้าที่ตรวจคัดกรองตามปกติใน
การควบคุมคุณภาพยาสมุนไพรจีนได้ และ Xue *et al.* (2005) ทำการตรวจหา Puerarin ของ
กวาวเครืออย่างรวดเร็วด้วยสเปกโทรสโกปีใกล้อินฟราเรดพบว่า ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองของ
ค่าเฉลี่ยรากของการทำนายสำหรับแบบจำลองของ PLS และ ANN เท่ากับ 0.0396 และ 0.0365
ตามลำดับ และจากค่าความคลาดเคลื่อนเมื่อนำสมการมาใช้ประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนใน
กวาวเครือสดในตัวอย่างอื่น พบว่ามีค่า SEP และ Bias ต่ำ เท่ากับ 4.40 $\mu\text{g/g}$ และ 1.060 ตามลำดับ
(Figure 3.8) เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการประเมินโดยใช้เทคนิค NIRS กับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ใน
ห้องปฏิบัติการ มีค่าความแตกต่างเท่ากับ -0.11 – 0.42 (Table 3.6) และกวาวเครือฝงในตัวอย่างอื่น
พบว่ามีค่า SEP และ Bias ต่ำ เท่ากับ 0.28 $\mu\text{g/g}$ และ 1.015 ตามลำดับ (Figure 3.9) เปรียบเทียบ
ค่าที่ได้จากการประเมินโดยใช้เทคนิค NIRS กับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มีค่าความ
แตกต่างเท่ากับ -0.61 – 1.58 (Table 3.7) ดังนั้นสามารถนำเทคนิค NIRS มาใช้ประเมินปริมาณสาร
ไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดและกวาวเครือฝงเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือการประมาณค่า
เบื้องต้นโดยใช้เวลารวดเร็วและไม่ทำลายตัวอย่าง

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สมการที่ได้จากเทคนิค NIRS โดยใช้เครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผง ที่ช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง มีค่า R SEP และ SEC เท่ากับ 0.93 2.82 และ 2.44% ตามลำดับ และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 8 ปัจจัย สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผงได้ในระดับเพื่องานวิจัยและงานทั่วไปได้ ในช่วง 0.76-43.18% และสามารถประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดที่ช่วงคลื่น 1000-2500 นาโนเมตร และผลิตภัณฑ์ช่วงคลื่น 800-2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง มีค่า R เท่ากับ 0.81 และ 0.85 ตามลำดับ มีค่า SEP เท่ากับ 4.40 และ 0.28 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอ้างอิง เท่ากับ 12.09 และ 5.84 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (SEC) ของสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสด แลผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 11.41 และ 0.23 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง จำนวน 9 และ 9 ปัจจัย สมการที่ได้นี้สามารถใช้ในการประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในกวาวเครือสดและผลิตภัณฑ์ได้ในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประเมินค่าเบื้องต้น ในช่วง 3.92-172.93 และ 11.81-318.86 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

Table 3.1 The characteristics of samples used in model construction for curcuminoid contents in Turmeric powder samples

Items	Curcuminoids
Min-Max	0.76-43.18
Mean	23.71
SD	6.77
Number	157
Unit	%

Table 3.2 The statistical analysis of NIRS models to predict curcuminoid contents in Turmeric powder samples by The Unscrambler® program

Quality	Sample	Math methods	Wavelength (nm)	R	SEC	SEP	Bias	F
Curcuminoids	powder	Original	400-2500	0.93	2.44	2.82	0.04	8

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

Table 3.3 Method validation between reference measurement and NIRS prediction of curcuminoid contents in Turmeric powder samples.

Samples	Method to determine curcuminoid contents		d	d ²
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	(x-y) ²
	X	Y		
1	19.58	21.53	-1.95	3.80
2	19.31	21.92	-2.62	6.85
3	24.34	24.58	-0.23	0.06
4	29.26	27.81	1.45	2.09
5	29.56	27.34	2.22	4.93
6	25.38	25.69	-0.31	0.10
7	21.70	21.05	0.65	0.42
8	16.64	19.35	-2.71	7.37
9	22.84	27.19	-4.36	18.97
10	25.61	24.76	0.84	0.71
11	15.65	16.63	-0.98	0.96
12	18.57	16.32	2.25	5.08
13	17.42	16.44	0.98	0.95
14	23.60	21.19	2.41	5.80
15	15.46	18.57	-3.11	9.70
16	31.53	27.49	4.04	16.33
17	24.14	23.98	0.16	0.03
18	11.99	10.99	1.01	1.01
19	25.47	20.45	5.02	25.24
20	24.95	20.57	4.39	19.23
Total	442.99	433.85	9.14	129.62
Average	22.15	21.69	0.46	6.48

Table 3.4 The characteristics of samples used in model construction for isoflavone content in fresh Kwao Kruea and Kwao Kruea powder.

Items	Fresh Kwao Kruea	Kwao Kruea powder
Min – Max	3.92-172.93	11.81-318.86
Mean	30.54	67.20
SD	12.09	5.84
Number	120	130
Unit	µg/g	µg/g

Table 3.5 The statistical analysis of NIRS models to predict isoflavone content in fresh Kwao Kruea and Kwao Kruea powder by The Unscrambler® program.

Product	Wavelength (nm)	R	SEC	SEP	Bias	F
Fresh Kwao Kruea	1000-2500	0.81	11.41	4.40	1.060	9
Kwao Kruea powder	800-2500	0.85	0.23	0.28	1.015	9

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

Table 3.6 The Validation of isoflavone content in fresh Kwao Kruea by using NIRS

Samples	Method to determine Isoflavone contents		d (x-y)	d ² (x-y) ²
	Reference Method	NIR Prediction		
	X	Y		
1	13.77	13.35	0.42	0.1764
2	12.03	11.99	0.04	0.0016
3	4.02	4.11	-0.09	0.0081
4	6.74	6.85	-0.11	0.1210
5	7.24	7.19	0.05	0.0025
6	3.36	3.42	-0.06	0.0036
7	6.65	6.72	-0.07	0.0049
8	25.35	25.22	0.13	0.0169
Total	79.16	78.85	0.31	0.335
Average	9.89	9.86	0.039	0.0418

Table 3.7 The Validation of isoflavone content in Kwao Kruea powder by using NIRS.

Samples	Method to determine Isoflavone contents		d (x-y)	d ² (x-y) ²
	Reference Method	NIR Prediction		
	X	Y		
1	71.10	70.05	1.05	1.1025
2	32.76	33.02	-0.26	0.0676
3	61.90	60.32	1.58	2.4964
4	99.92	99.98	-0.06	0.0036
5	13.45	13.22	0.23	0.0529
6	21.33	20.13	1.20	1.4400
7	41.42	42.03	-0.61	0.3721
8	34.22	33.96	0.26	0.6760
Total	376.1	372.71	3.39	6.2111
Average	47.01	46.59	0.42	0.7764

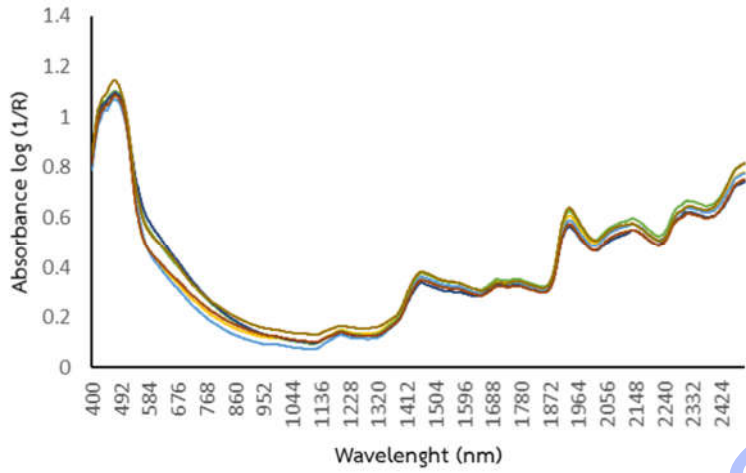


Figure 3.1 The original NIR spectra of Turmeric powder samples at wavelength 400–2500 nm.

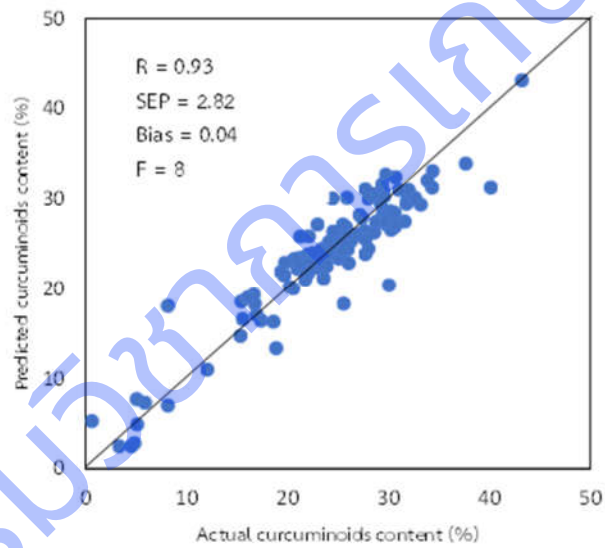


Figure 3.2 Scatter plots for calibration model of curcuminoid contents in Turmeric powder

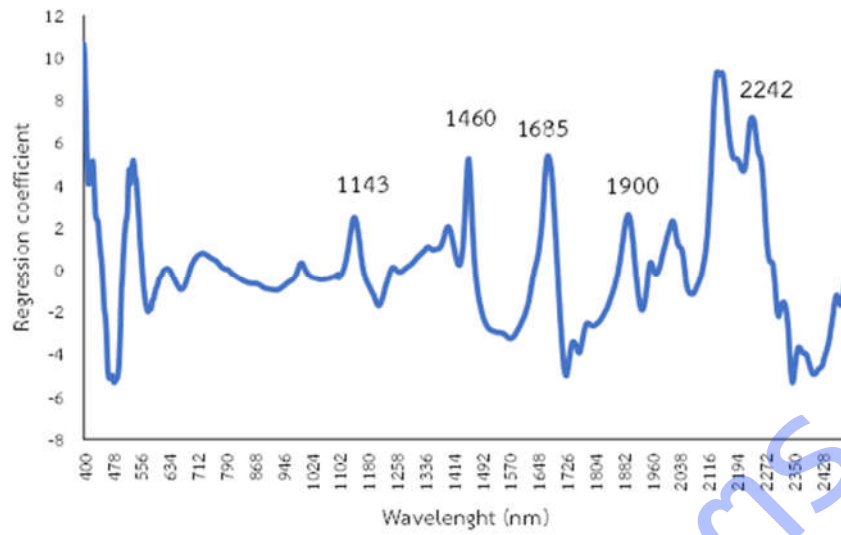


Figure 3.3 Regression coefficient for calibration model to predict curcuminoid contents in Turmeric

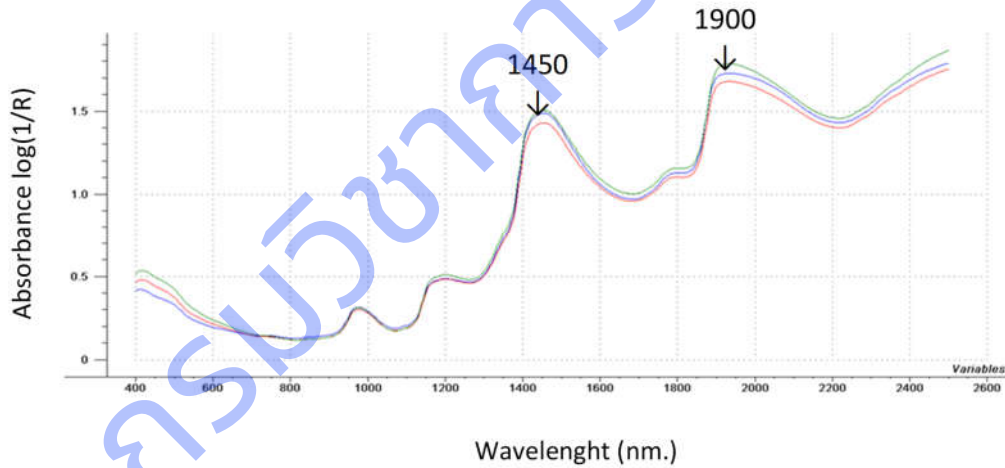


Figure 3.4 The Original NIR spectra of fresh Kwao Kruea at 400-2500 nm.

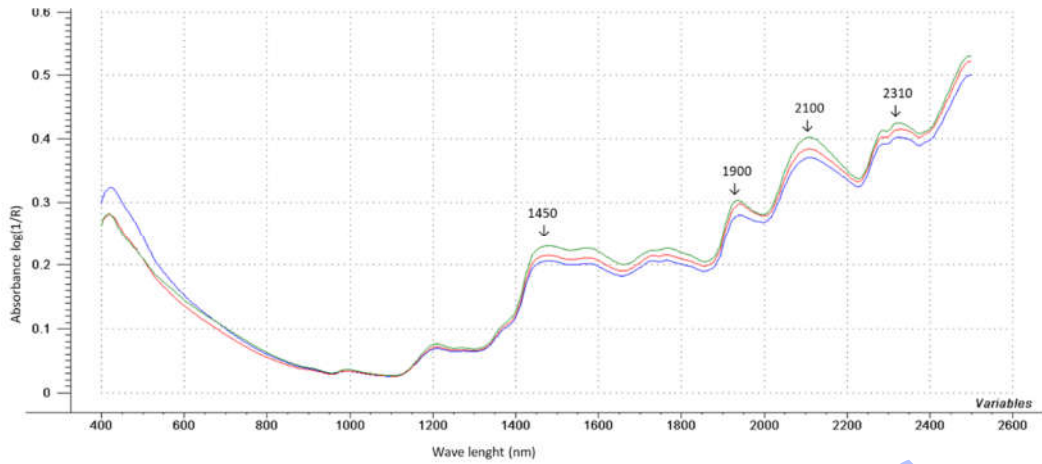


Figure 3.5 The Original NIR spectra of Kwao Kruea powder at 400–2500 nm.

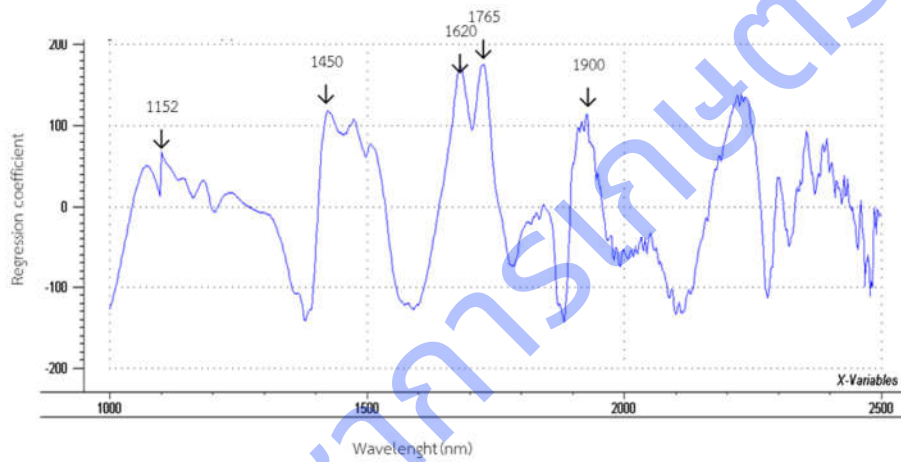


Figure 3.6 Regression coefficient for calibration model to predict isoflavone content in fresh Kwao Kruea samples.

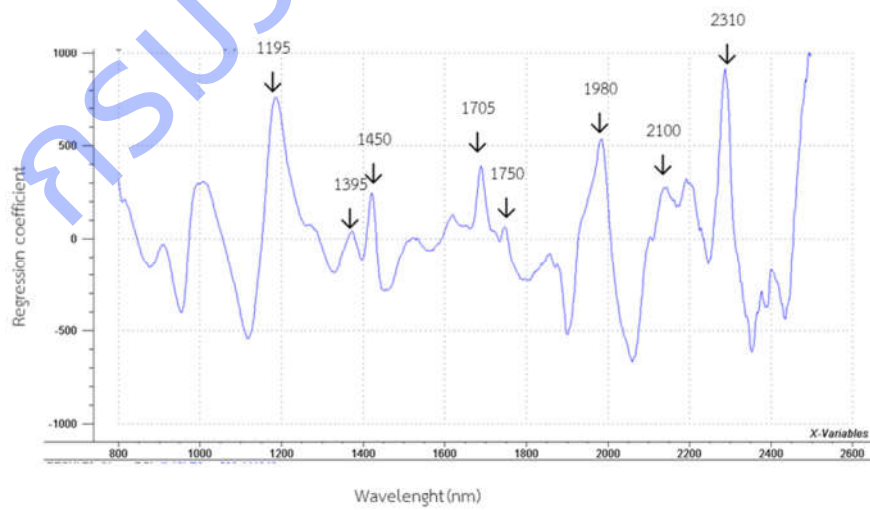


Figure 3.7 Regression coefficient for calibration model to predict isoflavone content in Kwao Kruea powder samples.

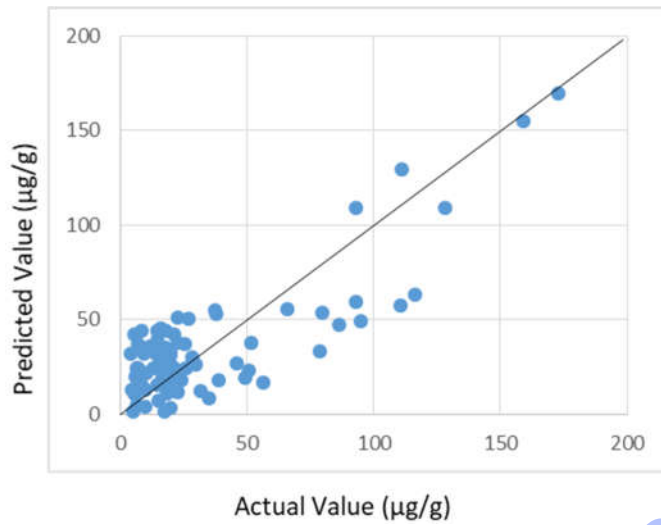


Figure 3.8 The relationship of actual isoflavone content in fresh Kwao Kruea and predicted isoflavone content from NIRS.

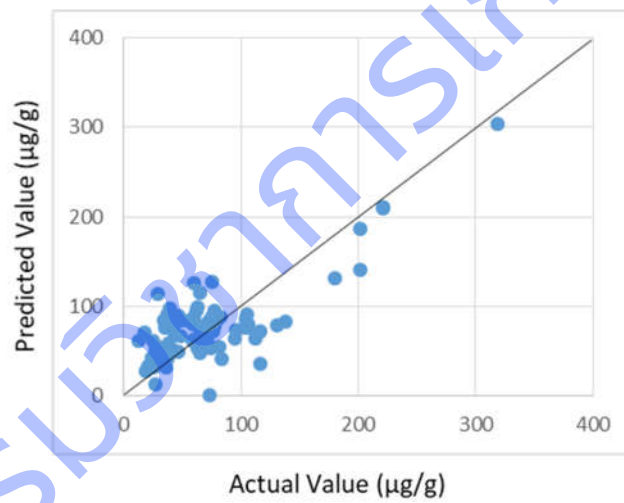


Figure 3.9 The relationship of actual Isoflavone content in Kwao Kruea powder and predicted isoflavone content from NIRS.

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) เพื่อประเมินหาปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศรับประทานสด ผล ปริมาณสารแคปไซซินในผลพริกสด ปริมาณสารคาเฟอีนในกาแฟ ปริมาณวิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง สารเคอร์คูมินอยต์ในขมิ้น สารไอโซฟลาโวนในกวางเครือ และสารฟิแซนโทลในข้าวโพดและถั่วลิสงนั้น พบว่าเทคนิค NIRS สามารถนำไปใช้ในการประเมินคุณภาพ และหาปริมาณสารในผลิตผลเกษตร เพื่อลดระยะเวลา ต้นทุน และการใช้สารเคมีได้ แต่อย่างไรก็ตาม เพื่อเพิ่มความถูกต้องแม่นยำในการประเมินปริมาณและคุณภาพผลิตผลและผลิตภัณฑ์นั้น ตัวอย่างที่นำมาใช้ประเมินจะต้องมีปริมาณค่าของสารที่ต้องการตรวจสอบอยู่ในช่วง (range) ที่สมการประเมินได้ รวมถึงการใช้เครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น NIRSystems 6500 (FOSS) สำหรับการประเมินสารในตัวอย่างถั่วเหลือง พริก กาแฟ กวางเครือ ข้าวโพด และถั่วลิสง และการใช้เครื่อง FOA-NIR GUN แบบพกพา เพื่อประเมินปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศ เพราะเครื่องดังกล่าวนำมาใช้ในการสร้างสมการด้วยเทคนิค NIRS นอกจากนี้ก็ควรพัฒนา และปรับปรุงสมการให้มีความแม่นยำเพิ่มมากขึ้น โดยเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญ และมีคุณสมบัติที่ต้องการตรวจสอบให้มีความหลากหลายมากขึ้น เพื่อที่จะเพิ่มความแม่นยำในการประเมินตัวอย่างให้มีความน่าเชื่อถือ และนำไปประยุกต์ใช้ในพืชหลากหลายสายพันธุ์ต่อไปได้ ข้อเสนอแนะที่ควรพัฒนางานสำหรับเทคนิค NIRS นี้ คือการเพิ่มโอกาสและศักยภาพในการนำสมการการประเมินต่างๆ จากแผนงานวิจัยย่อยนี้ ไปปรับใช้กับเครื่อง NIR Spectrometer ในรุ่น และยี่ห้ออื่นๆ ได้ เนื่องจากพบว่าเทคนิค NIRS อาจมีข้อจำกัดในเรื่องความถูกต้องของการประเมินจะคลาดเคลื่อนได้ หากนำสมการไปใช้กับเครื่อง NIR Spectrometer รวมทั้งช่วงคลื่น และช่วงปริมาณสารนั้นๆ ไม่เหมือนกับสมการต้นแบบที่พัฒนาขึ้นมา ดังนั้นแนวทางการแก้ไข คือการพัฒนาความเป็นไปได้ในการถ่ายโอนสมการจากเครื่องต้นแบบยังเครื่องรุ่นอื่นๆ เพื่อเพิ่มแนวโน้มในการนำเทคนิค NIRS ไปใช้ได้อย่างแพร่หลาย และก่อให้เกิดประโยชน์ทุกภาคส่วนตลอดห่วงโซ่อุปทานทางการเกษตรต่อไป

บรรณานุกรม

โครงการที่ 1

- กรมการค้าภายใน. 2561. สืบค้นจาก: <https://agri.dit.go.th> [พ.ศ. 2562].
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2560. วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 5. สืบค้นจาก: <http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/wp-content/uploads/2017/Publish/e-book/StandardMethodsVolumeV.pdf> [ธ.ค. 2564].
- กระทรวงสาธารณสุข. 2543. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 197) พ.ศ. 2543 (กาแพ).
ราชกิจจานุเบกษา. (118). 26-32.
- กฤตกร ทรัพย์เจริญ วัฒนวิจิตร ฤทธิธรรณ สุมาพร เกษมสำราญ และภาณี ทองพำนัก. 2552. การประเมินคุณภาพของมะเขือเทศเกษตรอินทรีย์ด้วยเทคนิค Near infrared spectroscopy. เรื่องเต็ม การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 5. 8-9 ธันวาคม 2551: 557-564.
- โกเมศ สัตยากร วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร อธิชาต วิชิตชัชชัย ปิยนุช นาคะ มานพ หาญเทวี สรัญญา อุปรักขิตานนท์ และรุจิกัญญา นาสนิท. 2559. การผลิตกาแพคั่วที่มีสาร polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) ต่ำ. ผลงานวิจัยดีเด่น. กรมวิชาการเกษตร. 48-64.
- จรรยาพร นันทพันธุ์. 2546. การวิเคราะห์ความต้องการมะเขือเทศและผลิตภัณฑ์ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- จรรูรัตน์ พุ่มประเสริฐ และ จารุวรรณ บางแวก. 2558. การประเมินปริมาณสารพิษโอคราทอกซิน เอ ในเมล็ดกาแพโดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 46 (3): 49-52.
- ชื่นหทัย เสริมทรัพย์ทวี. 2548. การสูญเสียไลโคปีนระหว่างกระบวนการผลิตน้ำมะเขือเทศกระป๋องและน้ำมะเขือเทศเข้มข้น. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 56 หน้า.
- ณัฐวัฒน์ หมั่นมาณี ศุภลักษณ์ ชิตารกุล สุรัสวดี กิจบุญชู และ ปาริชาติ เทียนจุมพล. 2562. การตรวจสอบคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของเมล็ดกาแพโดยใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 50 (3): 207-210.
- นฤเทพ เวชภิบาล และจรรุวรรณ บางแวก. 2559. การประเมินองค์ประกอบไนโบซาโดยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 47: 3 (พิเศษ): 281-284.
- นิจศิริ เรื่องรังสี. 2534. เครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. หน้า 103-107.
- พัชนี สุวรรณวิมลกิจ. 2542. กาแพสกัดคาเฟอีน. วารสารเกษตร 15 (1): 1-10.
- ไพบุลย์ จันทวีจิตร. 2547. การปลูกมะละกอ. อักษรสยามการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 87 หน้า.
- มนวิช เรื่องดิษฐ์ และจันทรรัตน์ จินดารัสมิ. 2547. พริกใครว่าดีแต่เผ็ด. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. 52 (164): 1-3.
- รุ่งนภา โบวิเชียร. 2560. พริก. สืบค้นจาก: www.agriman.doae.go.th/home/news/year%202017/022_chilli.pdf [พ.ย. 2560].
- ศุมาพร เกษมสำราญ วราภรณ์ อภิวัดนาภีวิฒ พิลาณี ไวถนอมสัจย์ และ นางวารุณี ธนะแพสย์. 2557. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการการตรวจสอบปริมาณเคอร์คูมินในยาสมุนไพรขมิ้นชันแบบรวดเร็วด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

- ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร. 2562ก. Caffeine/กาแฟอื่น. สืบค้นจาก:
<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/4088/caffeine-กาแฟอื่น>. [พ.ย. 2562].
- ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร. 2562ข. Lycopene/ไลโคปีน. สืบค้นจาก:
<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2755/lycopene>. [ต.ค. 2562].
- Adnan, A., D. von, E. Pawelzik and D. Mörlein. 2017. Rapid prediction of moisture content in intact green coffee beans using near infrared spectroscopy. *Foods*. 6: 38. doi: 10.3390/foods6050038.
- Agarwal, S. and A.V. Rao, 2000. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ*. 163 (6): 739-744.
- Alessandrini, L., S. Romani, G. Pinnavaia and M.D. Rosa. 2008. Near infrared spectroscopy: an analytical tool to predict coffee roasting degree. *Anal. Chim.* 625: 95-102.
- Awotwe-Otoo, D., A.S. Zidan, Z. Rahman and M.J. Habib. 2012. Evaluation of anticancer drug-loaded nanoparticle characteristics by nondestructive methodologies, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 13: 611-622.
- Azadshahraki, F., B. Jamshidi and V.R. Sharabian. 2018. Non-destructive determination of vitamin C and lycopene contents of intact cv. Newton tomatoes using NIR spectroscopy. *YYU J. Agr. Sci.* 28 (4): 389-397.
- Balbaa, S.I., M.S. Karawya and A.N. Girgis. 1968. The capsaicin content of capsicum fruits at different stages of maturity. *Loloydia*. 31 (3): 272-274.
- Binoy, G., C. Kaur, D.S. Khurdiya and H.C. Kapoor. 2004. Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. *Food Chem.* 84: 45-51.
- Bosland, P.W. and E.J. Votava. 2000. Peppers: Vegetable and spice Capsicums. CABI Publishing, UK.
- Chen, L. 2008. Non-destructive measurement of tomato quality using visible and near-infrared reflectance spectroscopy. Department of Bioresource Engineering, Macdonald Campus, McGill University Sainte Anne-de-Bellevue, Quebec, Canada. 82 p.
- De Man, J.M. 1990. Principles of food chemistry. 441 p.
- Dong, J. and W. Gou. 2015. Nondestructive determination of apple internal qualities using near-infrared hyperspectral reflectance imaging. *Food Anal. Methods*. 8: 2635-2646.
- Downey, G. and J. Boussion. 1996. Authentication of coffee bean variety by near-infrared reflectance spectroscopy of dried extract. *J. Sci. Food Agric.* 71: 41-49.
- D'Souza, M.C., S. Singha and M. Ingle. 1992. Lycopene concentration of tomato fruit can be estimated from chromaticity values. *HortScience*. 27: 465-466.
- Emin, Y. 2001. Oxylin pathway in the biosynthesis of fresh tomato volatiles. *Turk. J. Biol.* 25: 351-360.

- Garrigues, J.M., Z. Bouhsain, S. Garrigues and M. de la Guardia. 2000. Fourier transform infrared determination of caffeine in roasted coffee samples. *J. Anal. Chem.* 366 (3): 319-322.
- Hagos, M., M.R. Abshiro, B.S. Chandravanshi, E. Ele, A.M. Mohammed and H. Mamo, 2018. Correlation between caffeine contents of green coffee beans and altitudes of the coffee plants grown in southwest Ethiopia. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 32 (1): 13-25.
- Hisashi, S. 1999. Method for industrial purification of capsaicin. U.S. Patent 5,955,631.
- Huffman, V. L., E.R. Schadle, B. Villalon, and E.E. Burns, 1978. Volatile components and pungency in fresh and processed Jalapeno peppers. *J. Food Sci.* 43: 1809-1811.
- Huck, C.W., W. Guggenbichler and G.K. Bonn. 2005. Analysis of caffeine, theobromine and theophylline in coffee by near infrared spectroscopy (NIRS) compared to high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to mass spectrometry. *Anal. Chim.* 538: 195-203.
- Marla S., J.P. Coutinho, A.M. Tavares de Melo and H.T. Godoy. 2014. Fast method for capsaicinoids analysis from *Capsicum chinense* fruits. *Food Research International.* 64: 718-725.
- McGlone, V.A., R.B. Jordan and P.J. Martinsen. 2002. Vis/NIR estimation at harvest of pre- and post-storage quality indices for 'Royal Gala' apple. *Postharvest Biol. Technol.* 25: 135-144.
- Motora, K.G. and T.T. Beyene, 2017. Determination of caffeine in raw and roasted coffee beans of Iluabba Bora zone, south west Ethiopia. *Indo Am. J. Pharm. Sci.* 7(9): 463-470.
- Nagata, M. and I. Yamashita. 1992. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J. Jap. Soc. Food Sci. Technol.* 39: 925-926.
- Neil, L. 1977. A High - Yield method for extraction and purification of capsaicin. *J. Agric FoodChem.* 25 (6): 1419-1420.
- Nicolaï, B.M., K. Beullens, E. Bobelyn, A. Peirs, W. Saeys, K.I. Theron and J. Lammertyna. 2007. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biol. Technol.* 46 (2): 99-118.
- Nonnecke, I.N. 1989. Vegetable Production. Van Nostrand Reinhold, NewYork, U.S.A. 657 p.
- Osborne, B.G. 1981. Principles and practice of near infra-red (NIR) reflectance analysis. *Int. J. Food Sci. Technol.* 16: 13-19.
- Osborne, B. G., P.H. Hindle, and T. Fearn. 1986. Near infrared spectroscopy in food analysis. Longman Scientific and Technical, Essex, England.
- Osborne, B.G., T. Fearn, and P.H. Hindle. 1993. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. 2nd ed. Longman Group UK limited. 227 p.
- Pandhair, V. and S. Sharma. 2008. Accumulation of capsaicin in seed, pericarp and placenta of *Capsicum annum* L. fruit. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 17: 23-27.

- Pizarro, C., I. Esteban-Diez, J.M. Gonzalez-Saiz and M. Forina. 2007. Use of near infrared spectroscopy and feature selection techniques for predicting the caffeine content and roasting color in roasted coffees. *J. Agric. Food Chem.* 55: 7477-7488.
- Riadh, I, H. Chafik, S.L. Marcello, T. Imen and D. Giuseppe. 2011. Phytochemical composition and antioxidant activity of high-lycopene tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars grown in Southern Italy. *Sci. Hort.* 127: 255-261.
- Reyes- Escogido M. L., E.G. Gonzalez-Mondragon and E. Vazquez-Tzompantzi. 2011. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. *Molecules.* 16: 1253-1270.
- Sun, T., K. Huang, H. Xu and Y. Ying. 2010. Research advances in nondestructive determination of internal quality in watermelon/melon: A review. *J. Food Eng.* 100: 569-577.
- Szuvandzsiev, P., L. Helyes, A. Lugasi, C. Szanto, P. Baranowski and Z. Pek. 2014. Estimation of antioxidant components of tomato using VIS-NIR reflectance data by handheld portable spectrometer. *Int Agrophys.* 28: 521-527.
- Taungbodhitham, A.K., G.P. Jones, M.L. Wahlquist and D.R. Briggs. 1998. Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoid in fruits and vegetables. *Food Chem.* 63: 577-584.
- Tawfik, E.M. 2001. Determination of lycopene content in raw tomato varieties and tomato products. Masters Abstracts International. 140 p.
- Walsha, K.B., J. Blasco, M. Zude-Sasse and X. Sun. 2020. Visible-NIR 'point' spectroscopy in postharvest fruit and vegetable assessment: The science behind three decades of commercial use. *Postharvest Biol. Technol.* 168: 111246. Retrieved December 10, 2020, from <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111246>.
- Williams, P. 2007. Application to agricultural and marine products. In: Ozaki Y., W.F. McClure and A.A. Christy (Eds.). Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology. John Wiley and Sons Inc. Publication, New Jersey, USA. pp. 165-218.
- Williams, P. and K. Norris. 2001. Near-Infrared technology in the agricultural and food industries. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. 296 p.
- Youngken, W. 1950. Pharmacognosy. Lipin Cott Co., Philadelphia.
- Zhang X., W. Li, B. Yin, W. Chen, D.P. Kelly, X. Wang, K. Zheng and Y. Du. 2013. Improvement of near infrared spectroscopic (NIRS) analysis of caffeine in roasted Arabica coffee by variable selection method of stability competitive adaptive reweighted sampling (SCARS). *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 114: 350-356.

โครงการที่ 2

- จาร์รัตน์ พุ่มประเสริฐ และจาร์วรรณ บางแวก. 2560. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2560. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 57-63
- จาร์วรรณ บางแวก อรวรรณ จิตต์ธรรม อรณิชา สุวรรณโณม และจาร์รัตน์ พุ่มประเสริฐ. 2552. การประเมินคุณภาพผลิตผลเกษตรโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม ประจำปี 2552 สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. หน้า 256-272.
- ชาคริยา ฉลาด. 2555. จุลินทรีย์และสารพิษแอฟลาทอกซินในอาหารที่จำหน่ายในจังหวัดตรัง. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย*. 4 (2): 56-69.
- ชิวานันท์ เดชอุปกาล ศิริสมบุรณ์. 2558. การประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีเพื่อตรวจหาสารที่ผลิตอะฟลาทอกซินและอะฟลาทอกซินปี 1 ในข้าวกล้อง. *จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. รายงานวิจัยฉบับสมบุรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย*.
- दनัย บุญเกียรติ ปาริชาติ เทียนจุมพล ศิลา กิตติวัชระ ณัฐวัฒน์ หมั่นมาณี และพลกฤษณ์ มณีวระ. 2563. การใช้ NIR สเปกโทรสโกปีในการประเมินคุณภาพผลิตผลเกษตร. ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว (Postharvest Technology Innovation Center) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 159 หน้า
- ดวงจันทร์ สุขประเสริฐ และวนิดา ยุธยาดี. 2545. สารพิษแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศ. *วารสารสุขาภิบาลอาหาร ปีที่ 4 ฉบับที่ 2 ก.พ.-พ.ค. 45*. หน้า 33-37.
- นิธิยา รัตนานนท์ และ วิบูลย์ รัตนานนท์. 2556. *หลักโภชนศาสตร์*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 512 หน้า.
- รติพร เอกตาแสง. 2561. การตรวจสอบปริมาณความชื้น และอะฟลาทอกซินปี 1 ในเมล็ดข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสง ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. *วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปากร*.
- วารุณี ธนะแพสย์. 2555. สถานการณ์การใช้ประโยชน์เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในประเทศไทย. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร. หน้า 1-7.
- สิทธิพร ชมพูรัตน์. 2549. การตรวจสอบไอคราโทอกซินเอนในกาแฟคั่วที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร. *ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*.
- สุภารัตน์ บุญจันทร์ และอุษณีย์ เพชรสุนีย์. 2537. การศึกษาการปนเปื้อนของรา และความสามารถในการสร้างสารอะฟลาทอกซิน โดย *Aspergillus flavus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากเครื่องเทศและสมุนไพร. *มหาวิทยาลัยบูรพา*.
- อมรา ชินภูติ. 2548. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ การตรวจวิเคราะห์สารอะฟลาทอกซินในผลิตผลทางการเกษตรอย่างรวดเร็วโดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป “DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit”.

- อรรวรรณ จิตต์ธรรม และจรรวรรณ บางแวก. 2561. การประเมินความชื้น ปริมาณโปรตีน ความหนืด อมิโลส น้ำตาล คุณภาพน้ำมัน ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน ในเมล็ดและแป้งข้าวโพดเลี้ยง สัตว์ด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy. หน้า 18-30. ใน: *รายงานผลงานวิจัยเรื่อง เต็มประจำปี 2561*. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผล เกษตร กรมวิชาการเกษตร.
- อรรวรรณ จิตต์ธรรม และจรรวรรณ บางแวก. 2561. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2561. กอง วิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 18-30
- อัจฉรา ดลวิทยาคุณ. 2550. พื้นฐานโภชนาการ. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 200 หน้า.
- Birt, D.F.; S. Hendrick and D.L. Alekel. 2004. Soybean and the prevention of chronic human disease, *In: Soybeans: Improvement, Production, and Uses*, Boerma, H.R. and J.E. Specht. (Ed.), pp. 1047-1117, ASA-CSSA-SSSA, ISBN 0-89118-154-7, Madison, WI, USA.
- Clement, A.; M. Dorais and M. Vernon. 2008. Multivariate approach to the measurement of tomato maturity and Gustatory attributes and their rapid assessment by Vis-NIR spectroscopy. *J. Food Agric. Environ* 6 (2): 327-332.
- Delwiche, S.R.; W. Mekwatanakarn and C.Y. Wang. 2008. Soluble solids and simple sugars measurement in intact mango using near infrared spectroscopy. *Hort Technology* 18 (3): 410-416.
- Fontaine, J.; J. Horr and B. Schirmer. 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy enables the fast and accurate prediction of the essential amino acid contents in soy, rapeseed meal, sunflower meal, peas, fishmeal, meat meal products, and poultry meal. *J. Agric. Food Chem.*, Vol.49, No.(1).57-66.
- Hall, M.N.; A. Robertson and C.N.G. Scotter. 1988. Near-infrared reflectance prediction of quality, theaflavin content and moisture content of black tea. *Food Chemistry*, 27, 61-75.
- Kawano, S. 2002. Application to agricultural products and foodstuffs. In H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H.M. Heise (eds.). *Near-Infrared spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*, 269-288.
- Koppen, R.; M. Koch; D. Siegel; S. Merkel; R. Maul and I. Nehls. 2010. Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 86:1595-1612
- McGlone, V.A.; C.J. Clark and R.B. Jordan. 2007. Comparing density and VNIR methods for predicting quality parameters of yellow-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Postharvest Biol Technol* 46: 1-9.
- Phetkao, T.; R. Klaitin; P. Theanjumpol; K. Kunasakdakul; S. Thanapornpoonpong and S. Vearasilp. 2012. Comparison of sample preparation methods on the infected corn seed detection by NIR spectroscopy. Chiang Mai University

Journal of Natural Sciences Issue on Agricultural & Natural Resources 11(1):
243-249

- Sapsford, K.E.; C.R. Taitt; S. Fertig; M.H. Mooreb; M.E. Lassman; C.M. Maragos and L.C.S. Lake. 2006. Indirect competitive immunoassay for detection of aflatoxin B1 in corn and nut products using the array biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* 21:2298-2305
- Schulz, H.; U.H. Engelhardt; A. Wengent; H.H. Drews and S. Lapczynski. 1999. Application of NIRS to the simultaneous prediction alkaloids and phenolic substance in green tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5): 5064–5067.
- Suthiluk, P., S. Saranwong; S. Kawano; S. Numthuam and T. Satake. 2008. Possibility of using near infrared spectroscopy for evaluation of bacterial contamination in shredded cabbage. *Int. J. Food Sci. Technol* 43: 160-165.
- Tetsuo, S; K. Equch; T. Hatano and Y.i Nishiba. 2008. Use of Near-infrared Reflectance Spectroscopy for the Estimation of the Isoflavone Contents of Soybean Seeds, *Plant Production Science*, 11:4, 481-486, DOI: [10.1626/pp.11.481](https://doi.org/10.1626/pp.11.481)
- Turner, N.W.; S. Subrahmanyam and S.A. Piletsky. 2009. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta* 632:168-180
- Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hondle. 1993. *Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis*. Longman Singapore Publisher (Pte) Ltd, Singapore. 227 pp.
- Williams, P. and K. Norris. 2001. *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. Inc.: St Paul, Minnesota. 312 p

โครงการที่ 3

- ฉัตรณัญช์ สุนทรานุสร. 2556. กราฟเทียบมาตรฐานในการหาปริมาณเคอร์คูมินอยต์โดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2543. ขมิ้น. [ออนไลน์] [อ้างถึงเมื่อ 4 มกราคม 2548] เข้าถึงได้จาก: http://www.elib-online.com/docyors/herb_curcuma01.html สืบค้นข้อมูลเมื่อวันที่ 26 กรกฎาคม 2557
- พิทยา สรวมศิริ. 2551. อุตสาหกรรมพืชเครื่องเทศ. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยุทธนา สว่างอารมณ์ กมลวรรณ ศุภวิญญู ศิลป์ชัย มณีชาติย์. 2555. การเพิ่มศักยภาพการเลี้ยงปลาหมอไทยด้วยการเสริมกวางเครือขาวในสูตรอาหารเพื่อผลิตอาหารปลอดภัยสำหรับการบริโภค. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 59 น.
- ศุมาพร เกษมสำราญ วราภรณ์ อภิวัฒน์ภาวิวัฒน์ พิลาณี ไวกนอมสัตย์ และ นางวารุณี ธนะแพสย์. 2557. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการการตรวจสอบปริมาณเคอร์คูมินในยาสมุนไพรขมิ้นชันแบบรู้ผลเร็วด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- สัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2555. กวางเครือขาว. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. เข้าถึงได้จาก : <http://th.apoc12.com> [อ้างถึงเมื่อ วันที่ 25 สิงหาคม 2557]
- สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. สมุนไพรไทยที่ใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน : ขมิ้น. [ออนไลน์] [อ้างถึงเมื่อ 15 ธันวาคม 2547] เข้าถึงได้จาก : <http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/curcuma.html> พิทยา, 2551
- Osborne, B. G., Hindle, P.H. and Fearn, T. 1986. "Near Infrared Spectroscopy in food analysis, Longman Scientific and Technical, Essex, England.
- Lau, C. C., Chan, C. O., Chau, F. T., and Daniel, K. W. M. 2009. Rapid analysis of Radix puerariae by near-infrared spectroscopy. J Chromatogr A. 13;1216(11):2130-5.
- Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hindle. 1993. Practical NIR Spectroscopy with applications in food and beverage analysis, 2nd Edition. Longman Scientific and Technical, Singapore. 227.
- Pei-Yin Zhan, Xue-Hua Zeng, He-Ming Zhang, Hai-Hang Li. 2011. High-efficient column chromatographic extraction of curcumin from *Curcuma longa*. Food Chemistry 129(2011) 700-703. <https://123docz.net//document/1591351-high-efficient-column-chromatographic-extraction-of-curcuma-longa.htm>, 19 May 2011.
- Xu, M.E., Xiao S.Z., Sun Y.H., Zheng X.X., Ou-Yang Y. and Guan C. 2005. The study of anti-metabolic syndrome effect of puerarin in vitro. Life Sci. 77: 3183-3196