



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต  
ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2561  
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร



การตรวจสอบปริมาณความชื้น และอะฟลาทอกซินปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่ว  
ลิสงด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต  
ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2561  
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

DETERMINATION OF MOISTURE CONTENT AND AFLATOXIN B1 IN CORN  
KERNEL, PEPPER AND PEANUT USING NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for Master of Science (FOOD TECHNOLOGY)  
Department of FOOD TECHNOLOGY  
Graduate School, Silpakorn University  
Academic Year 2018  
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การตรวจสอบปริมาณความชื้น และอะฟลาทอกซินปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้
โดย	รติพร เอกตาแสง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุศราภรณ์ มหาโยธี

---

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเชษฐ์ สมุทเสนีโต)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุศราภรณ์ มหาโยธี)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ คูวิจิตรจาร์)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รณฤทธิ์ ฤทธิธรรณ)

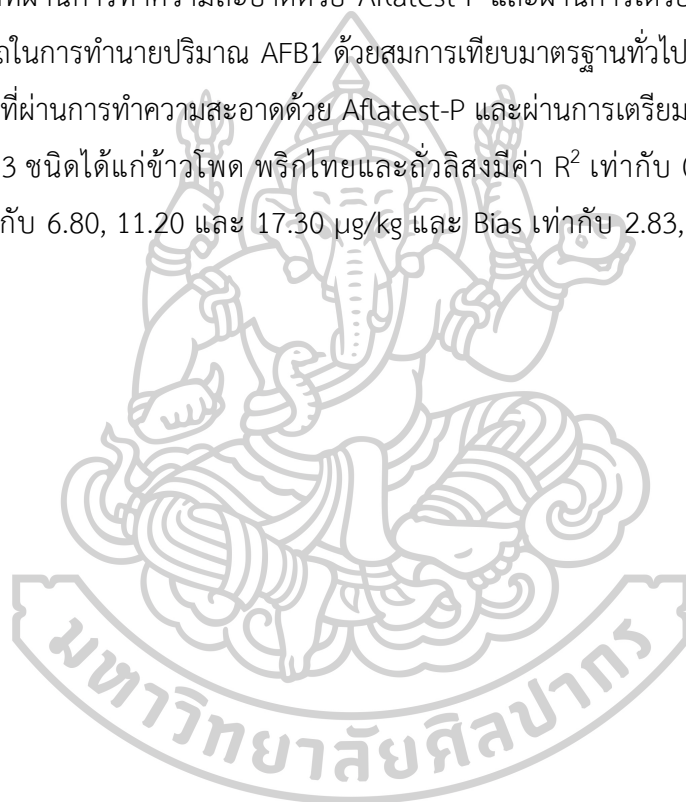
58403209 : เทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทบัณฑิต

คำสำคัญ : ไมโครทอกซิน, การปนเปื้อน, อาหารสัตว์, เชื้อรา, การควบคุมคุณภาพ

นางสาว รติพร เอกตาแสง: การตรวจสอบปริมาณความชื้น และอะฟลาทอกซินปี 1 ใน เมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุศราภรณ์ มหาโยธี

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (near infrared spectroscopy, NIRS) ในการทำนายค่าปริมาณความชื้นและอะฟลาทอกซิน ปี 1 ใน ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และศึกษาประสิทธิภาพของการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common calibration model) ที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่างพืชทั้ง 3 ชนิด โดยมีความสามารถในการทำนายค่าปริมาณความชื้นและอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในพืชแต่ละชนิด ใช้ตัวอย่างข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงจำนวน 90 ตัวอย่าง สำหรับการทำนายปริมาณความชื้น และจำนวนชนิดละ 70 ตัวอย่าง ต่อชนิดพืชสำหรับการทำนายปริมาณอะฟลาทอกซิน ปี 1 ทั้งนี้ในการวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้สำหรับสมการทำนายปริมาณความชื้นทำการวัดสเปกตรัมแบบสะท้อนกลับ ของตัวอย่างแบบเมล็ดและแบบที่ผ่านการบดในช่วงเลขคลื่น  $12500-4000\text{ cm}^{-1}$  ที่ความถี่  $16\text{ cm}^{-1}$  และจำนวนครั้งในการสแกนตัวอย่าง 32 ครั้ง หลังจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยวิธีการทำแห้ง ด้วยตู้อบลมร้อน ผลการศึกษาพบว่าสมการทำนายปริมาณความชื้นที่เหมาะสมในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficients of determination,  $R^2$ ) เท่ากับ 0.96, 0.97 และ 0.95 ตามลำดับ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการ ตรวจสอบสมการ (root mean square error of prediction, RMSEP) เท่ากับ 0.64, 0.45 และ 1.10 (%wet basis) และค่าความผิดพลาดในการทำนาย (bias) เท่ากับ 0.02, -1.11 และ 0.06 (%wet basis) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common calibration model) ที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดสามารถใช้ทำนายพืชแต่ละชนิดได้ โดยมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.92 RMSEP เท่ากับ 1.29 (%wet basis) RPD มีค่าเท่ากับ 5.62 และค่า bias เท่ากับ 0.20 (%wet basis) สำหรับการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ NIRS ในการทำนายค่าอะฟลาทอกซิน ปี 1 ทำการวัดสเปกตรัมตัวอย่างที่ผ่านการบด สารสกัดตัวอย่างโดยใช้เมทานอล สารสกัดตัวอย่างจากเมทานอลร่วมกับการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR สารสกัดที่ผ่านการทำความสะอาดด้วย Aflatest-P และสารสกัดตัวอย่างที่ผ่านการทำความสะอาดด้วย Aflatest-P และผ่านการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR โดยตัวอย่างรูปแบบบดทำการวัดสเปกตรัมด้วยระบบสะท้อนกลับ ตัวอย่างสารสกัดวัด สเปกตรัมด้วยระบบส่องผ่านและสะท้อนกลับ และแผ่นกระดาษกรองใยแก้วนำแสงที่ได้จากการ เตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR วัดสเปกตรัมด้วยระบบส่องผ่านและสะท้อนกลับในช่วงเลขคลื่น

12500-4000  $\text{cm}^{-1}$  ที่ความถี่ 16  $\text{cm}^{-1}$  และจำนวนครั้งในการสแกนตัวอย่าง 32 ครั้ง ผลการศึกษาพบว่า เทคนิค NIRS มีความเป็นไปได้ในการติดตามปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง ด้วยสมการที่สร้างจากตัวอย่างแต่ละชนิด โดยในข้าวโพดสามารถใช้ในการคัดเลือกหรือประมาณค่าเบื้องต้นได้ มีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.824 RMSEP เท่ากับ 31.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และ Bias เท่ากับ -5.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ทั้งนี้ในพริกไทยและถั่วลิสงสามารถใช้ตรวจคุณภาพได้มีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.964 และ 0.965 RMSEP เท่ากับ 10.30 และ 15.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และ Bias เท่ากับ -5.34 และ 3.72  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ตามลำดับ และการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี dry-extract system for infrared (DESIR) จากสารสกัดตัวอย่างที่ผ่านการทำความสะอาดด้วย Aflatest-P และผ่านการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR มีความสามารถในการทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของสารสกัดตัวอย่างที่ผ่านการทำความสะอาดด้วย Aflatest-P และผ่านการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดได้แก่ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.993, 0.977 และ 0.950 RMSEP เท่ากับ 6.80, 11.20 และ 17.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และ Bias เท่ากับ 2.83, -1.46 และ -2.24  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ตามลำดับ



58403209 : Major (FOOD TECHNOLOGY)

MISS RATIPORN EKTASAENG : DETERMINATION OF MOISTURE CONTENT AND AFLATOXIN B1 IN CORN KERNEL, PEPPER AND PEANUT USING NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR BUSARAKORN MAHAYOTHEE, Ph.D.

The objectives of this research were to study the potential of using a near infrared spectroscopy (NIRS) to estimate moisture content (MC) and aflatoxin B1 (AFB 1) in maize, black pepper and peanut as well as the feasibility of using common models built from all spectra and chemical data of the three samples to predict the moisture content and AFB 1 of each crop. Ninety and seventy samples of each crop were used for spectral measurements of the MC and AFB 1 studies, respectively. For estimating MC using NIRS, spectral acquisitions were done in a reflectance mode at the wavenumber of 12,500 – 4,000  $\text{cm}^{-1}$  with a resolution of 16  $\text{cm}^{-1}$  and the scan times of 32 from whole seeds and ground samples, while the MC was determined by a drying method using a hot air oven. It was found that the best models for predicting MC in maize, pepper and peanut gave high coefficients of determination ( $R^2$ ) of 0.96, 0.97, and 0.95, respectively with the root mean square error of prediction (RMSEP) of 0.64, 0.45, and 1.10 %, respectively and the bias of 0.02, -1.11 and 0.06 % respectively. In addition, it was observed that common model built from the combined spectral and chemical data of three crops could be used for prediction the MC of each crop with  $R^2$  of 0.92, RMSEP of 1.29 %, RPD of 5.62 and the bias of 0.20. For the study of using NIRS to monitor the AFB1 content, spectra were measured in five different modes of sample preparations including ground sample, MeOH extracted, MeOH extracted plus DESIR, Aflatest-P eluted and Aflatest-P eluted plus DESIR. Spectral acquisitions were done in a reflectance mode at the wavenumber of 12,500 – 4,000  $\text{cm}^{-1}$  with a resolution of 16  $\text{cm}^{-1}$  and the scan times of 32 from ground samples. While spectral acquisitions were done in a transflectance mode at the wavenumber of 12,500 – 4,000  $\text{cm}^{-1}$  with a resolution of 16  $\text{cm}^{-1}$  for MeOH extracted, MeOH extracted plus DESIR, Aflatest-P eluted and Aflatest-P eluted plus DESIR. The AFB1 was determined by using a HPLC method. It was found that the best models for predicting AFB1 in ground maize,



pepper and peanut gave high coefficients of determination ( $R^2$ ) of 0.824, 0.964, and 0.965, respectively with the root mean square error of prediction (RMSEP) of 31.30, 10.30 and 15.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  , respectively and the bias of -5.16 , -5.34 and 3.72  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively. In addition, it was observed that common model built from the combined spectral and chemical data of the Aflatest-P eluted plus DESIR of the three crops could be used for prediction the AFB1 of each crop with  $R^2$  of 0.945, RMSEP of 18.80  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , RPD of 4.27 and the bias of 0.70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุศราภรณ์ มหาโยธี ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และแนวคิดในการวางเค้าโครงเรื่อง วิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำปรึกษาที่ดี แนวความคิด ให้ข้อเสนอแนะ และให้ปรึกษาที่ดีในการทำงานวิจัย ตรวจสอบเล่มวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ และดูแลหลายๆด้านจนกระทั่งงานวิจัยลุล่วงไปได้ด้วยดี

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของชุดโครงการวิจัยเรื่อง “การตรวจสอบอันตรายในอาหารอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านไกล” ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ คุวิจิตรจากรู ที่ให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือ และคำปรึกษาในเรื่องการวิเคราะห์ข้อมูล การวิเคราะห์ค่าทางเคมี และวิธีการวิเคราะห์ HPLC ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รณฤทธิ์ ฤทธิธรม ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก รวมทั้งให้ความรู้ความเข้าใจเรื่องเทคนิค NIRS และขอขอบพระคุณ ดร. ศราวุธ ภูไพจิตรกุล ที่ได้ให้คำแนะนำด้านการวิเคราะห์ข้อมูล

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้ความรู้พื้นฐานและประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่างๆแก่ผู้วิจัย ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา และขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาเทคโนโลยีอาหารทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือวิทยาศาสตร์และด้านงานธุรการ

ขอขอบพระคุณบุคคลในครอบครัว เพื่อน พี่น้อง ที่ให้กำลังใจ ให้ความช่วยเหลือ และสนับสนุนในการทำงานของข้าพเจ้าเสมอมา

วิทยานิพนธ์นี้ขออุทิศแด่ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกพันธ์ แก้วมณีชัย ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ล่วงลับ สำหรับคำแนะนำและข้อคิดในการปรับปรุงแก้ไข และความกรุณาสละเวลาในการตรวจสอบ แก่ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น จนกระทั่งวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขออุทิศความดีและประโยชน์ทั้งหลายอันพึงบังเกิดจากการทำวิทยานิพนธ์นี้แด่ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกพันธ์ แก้วมณีชัย ผู้มีพระคุณ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ณ
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญภาพ.....	ด
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	5
1.3 สมมติฐานของการศึกษา.....	5
1.4 ขอบเขตของการศึกษา.....	6
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	7
2.1 สถานการณ์การเพาะปลูกข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงในประเทศไทย.....	7
2.2 องค์ประกอบทางเคมี.....	8
2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์.....	8
2.2.2 องค์ประกอบทางเคมีของพริกไทย.....	8
2.2.3 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วลิสง.....	9
2.3 กระบวนการเก็บเกี่ยวข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง.....	9
2.3.1 กระบวนการเก็บเกี่ยวข้าวโพด.....	9
2.3.2 กระบวนการเก็บเกี่ยวพริกไทย.....	10
2.3.2 กระบวนการเก็บเกี่ยวถั่วลิสง.....	10

2.4	อะฟลาทอกซินปี 1.....	11
2.5	ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างอะฟลาทอกซินในพืชไร่และเครื่องเทศ.....	12
2.6	สถานการณ์การปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน.....	15
2.7	มาตรฐานปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหาร.....	20
2.8	วิธีการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินปี 1.....	22
2.9	หลักการเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS).....	24
2.10	การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการทำนายปริมาณความชื้นธัญพืชและเครื่องเทศ.....	30
2.11	การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินอาหาร.....	33
2.12	การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับการเตรียมตัวอย่างแบบ dry extract spectroscopy for infrared (DESIR).....	36
บทที่ 3	วิธีดำเนินการวิจัย.....	40
3.1	ตัวอย่าง.....	40
3.2	สารเคมี.....	42
3.3	อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	43
3.4	การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง ทั้ง 3 ชนิดในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด.....	44
3.4.1.	การวัดขนาดและน้ำหนัก.....	44
3.4.2.	การเตรียมตัวอย่าง.....	45
3.4.3	การวัดค่าสเปกตรัมพริกไทย เมล็ดข้าวโพดและถั่วลิสงด้วยเครื่องสเปกโทรสโกปี อินฟราเรดย่านใกล้.....	48
3.4.4	การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง.....	49
3.4.5	การปรับแต่งสเปกตรัม.....	49
3.4.6	การสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพดพริกไทยและ ถั่วลิสง.....	50

3.4.7 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทยและถั่ว ลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด .....	51
3.5 ศึกษาความเป็นไปได้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในสารละลาย มาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS ร่วมกับวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR.....	53
3.5.1 การเตรียมตัวอย่างสารมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค DESIR .....	53
3.5.2 การวัดค่าสเปกตรัมสารมาตรฐาน AFB1 .....	54
3.5.3 การปรับแต่งสเปกตรัม.....	55
3.5.4 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณ AFB1.....	55
3.6 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่ว ลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common model) จากข้อมูลรวมของ ตัวอย่าง 3 ชนิด สำหรับการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด.....	56
3.6.1 การเตรียมตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงให้มีการปนเปื้อน AFB1 ด้วยวิธี artificial contamination.....	58
3.6.2 การวัดค่าสเปกตรัม.....	59
3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง.....	63
3.6.4 การปรับแต่งสเปกตรัม.....	66
3.6.5 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 .....	66
3.6.6 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการ ทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด .....	67
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ .....	69
4.1 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบปริมาณความชื้นในเมล็ด ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงและการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของ ตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด .....	69
4.1.1 คุณภาพทางกายภาพของตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง.....	69
4.1.2 สเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง .....	71

4.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง .....	83
4.1.4 ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของ ข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด ...	86
4.1.5 ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทย และ ถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด .....	91
4.2 การใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการติดตามปริมาณสารละลายมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR.....	100
4.2.1 ลักษณะสเปกตรัมของสารละลายมาตรฐาน AFB 1 ที่เตรียมตัวอย่างแบบ DESIR....	100
4.2.2 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่าง แบบ DESIR.....	102
4.3 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่ว ลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการ ทำนาย ปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด .....	107
4.3.1 สเปกตรัมในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบของ AFB1 ใน ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค NIRS .....	107
4.3.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค HPLC .	113
4.3.3 ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสง .....	115
4.3.4 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการ ทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด .....	123
ภาคผนวก.....	127
ภาคผนวก ก.....	127
ภาคผนวก ข.....	130
รายการอ้างอิง .....	134



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของข้าวโพด (เปอร์เซ็นต์) .....	8
ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของพริกไทย (ต่อ 100 กรัม) .....	9
ตารางที่ 3 มาตรฐานปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง .....	15
ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) และปริมาณสูงสุดที่พบอะฟลาทอกซิน (maximum) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสงจากแต่ละประเทศ.....	17
ตารางที่ 5 ตัวอย่างการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารและอาหารสัตว์ .....	19
ตารางที่ 6 มาตรฐานกำหนดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารระหว่างประเทศ .....	21
ตารางที่ 7 วิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน .....	23
ตารางที่ 8 ตำแหน่งการดูดกลืนแสงของข้าวกล้องปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ปี 1 .....	26
ตารางที่ 9 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า R และ R <sup>2</sup> .....	29
ตารางที่ 10 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า RPD .....	29
ตารางที่ 11 งานวิจัยที่แสดงถึงความสามารถของวิชาการใช้เทคนิค NIRS ในการทำนายปริมาณความชื้นในเมล็ดพืชและเครื่องเทศ .....	32
ตารางที่ 12 งานวิจัยที่แสดงถึงความสามารถของวิชาการใช้เทคนิค NIRS ในการทำนายปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหาร .....	35
ตารางที่ 13 สถานที่ซื้อและช่วงเวลาในการซื้อวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา .....	41
ตารางที่ 14 สถานที่ซื้อและช่วงเวลาในการซื้อวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา .....	41
ตารางที่ 15 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ พริกไทย ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และถั่วลิสง.....	47
ตารางที่ 16 ชุดการเตรียมตัวอย่างของการวิเคราะห์การปนเปื้อนของ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS .....	59
ตารางที่ 17 รูปแบบการวัด NIRS ในการตรวจสอบของ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทยและ ถั่วลิสงจำนวน 5 รูปแบบ .....	60



ตารางที่ 18	สภาวะสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC .....	66
ตารางที่ 19	ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 100 เมล็ดของตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง จาก 3 แหล่ง.....	69
ตารางที่ 20	ค่าเฉลี่ยความกว้าง (W) ความยาว (L) ตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจาก 3 แหล่ง .....	70
ตารางที่ 21	ค่าเฉลี่ยปริมาณความชื้นเริ่มต้นและภาพประกอบลักษณะกายภาพของตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจากแหล่งจำหน่ายจำนวน 3 แห่งที่ใช้ในการศึกษา .....	71
ตารางที่ 22	ตำแหน่งการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง .....	73
ตารางที่ 23	ค่าสถิติของปริมาณความชื้นที่ใช้การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและสมการทวนสอบด้วยเทคนิค NIRS ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง).....	83
ตารางที่ 24	ค่าทางสถิติของปริมาณความชื้นในกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นโดยใช้ตัวอย่างกลุ่มใหม่ (external validation) .....	85
ตารางที่ 25	ค่าสถิติของสมการทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสงแบบเมล็ดและแบบบดด้วยเทคนิค NIRS .....	87
ตารางที่ 26	การตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง.....	90
ตารางที่ 27	ค่าสถิติของสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงนอกกลุ่มสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค NIRS .....	91
ตารางที่ 28	ค่าสถิติของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิดแบบเมล็ดและแบบบดด้วยเทคนิค NIRS.....	93
ตารางที่ 29	การตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง .....	97
ตารางที่ 30	ค่าสถิติการใช้สมการเทียบมาตรฐานทั่วไปสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสงนอกกลุ่มสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค NIRS .....	98
ตารางที่ 31	ค่าร้อยละความถูกต้องของการแบ่งข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงตามเกณฑ์มาตรฐานปริมาณความชื้นด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปจากข้อมูลตัวอย่าง 3 ชนิด .....	100
ตารางที่ 32	ค่าสถิติของสมการทำนายปริมาณอะฟลาทอกซิน บี 1 (AFB1) โดยการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ด้วยเทคนิค NIRS .....	102

ตารางที่ 33 การเลือกเลขคลื่นในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี MLR..... 106

ตารางที่ 34 ค่าสถิติของปริมาณ AFB1 สำหรับการสร้างสมการและสำหรับการทดสอบสมการด้วยเทคนิค NIRS ..... 113

ตารางที่ 35 ค่าสถิติของสมการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค NIRS..... 116

ตารางที่ 36 ค่าสถิติของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิคNIRS ..... 124



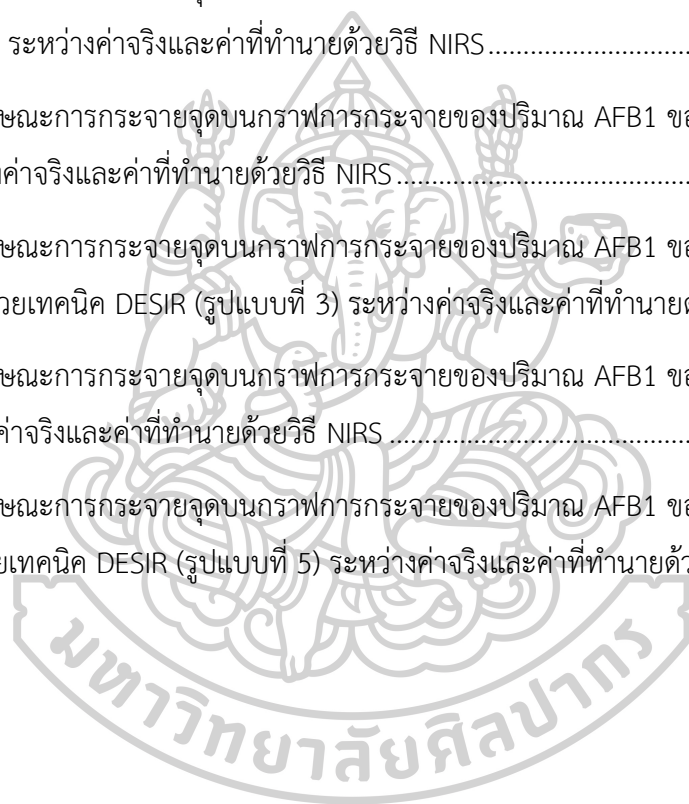
## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แผนผังเส้นทางการปนเปื้อน AFB1 และ AFM1.....	11
ภาพที่ 2 โครงสร้างโมเลกุลในอะพลาทอกซินปี 1.....	12
ภาพที่ 3 HPLC-FD โครมาโทแกรม.....	24
ภาพที่ 4 การดูดกลืนของพันธะในลำดับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้บนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า.....	25
ภาพที่ 5 องค์ประกอบของเครื่อง FT-NIR spectrometer (รุ่น MPA S/N2197, Bruker, Germany) .....	27
ภาพที่ 6 การประยุกต์ใช้เทคนิค DESIR เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการแยกกลุ่ม ระหว่างพลาสติกและปลาแช่แข็ง.....	37
ภาพที่ 7 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR เพื่อศึกษาอิทธิพลของความชื้นในการเตรียมตัวอย่าง ต่อผลการติดตามองค์ประกอบน้ำนมแกะด้วย NIRS.....	39
ภาพที่ 8 ลักษณะตัวอย่างข้าวโพด พริกไทย ถั่วลิสงเมล็ดเสีย และสิ่งปนเปื้อนที่ถูกคัดแยกออก.....	42
ภาพที่ 9 ตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงเมล็ดดีที่ใช้ในการศึกษา.....	42
ภาพที่ 10 การวัดค่าความกว้าง (W) และความยาว (L).....	44
ภาพที่ 11 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้มีปริมาณความชื้นแตกต่างกัน.....	46
ภาพที่ 12 การวัดสเปกตรัมตัวอย่างรูปแบบเมล็ดด้วยเทคนิค NIRS.....	48
ภาพที่ 13 การวัดสเปกตรัมตัวอย่างรูปแบบบดด้วยเทคนิค NIRS.....	49
ภาพที่ 14 ขั้นตอนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างด้วยเทคนิค NIRS.....	52
ภาพที่ 15 การเตรียมตัวอย่างสารมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค DESIR.....	54
ภาพที่ 16 การวัดสเปกตรัมสารมาตรฐาน AFB1 โดยวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ด้วยเทคนิค NIRS.....	55

ภาพที่ 17 แผนผังขั้นตอนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด .....	57
ภาพที่ 18 แผนภาพขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงให้มีการปนเปื้อน AFB1 .....	58
ภาพที่ 19 การวัดสเปกตรัมตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเครื่องเทคนิค NIRS.....	61
ภาพที่ 20 การวัดสเปกตรัมสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 1 และ 2 ตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเครื่องเทคนิค NIRS .....	62
ภาพที่ 21 การวัดสเปกตรัมสารสกัดขั้นตอนที่ 1 และขั้นตอนที่ 2 โดยวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ด้วยเทคนิค NIRS .....	63
ภาพที่ 22 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างจากสารสกัด AFB1 ที่ผ่านและไม่ผ่านการทำความสะอาดด้วย immunoaffinity column (Aflatest) ทั้งรูปแบบสารสกัดและแบบที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR.....	65
ภาพที่ 23 แผนผังขั้นตอนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด .....	68
ภาพที่ 24 เส้นสเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสงที่ระดับปริมาณความชื้นร้อยละ 10	74
ภาพที่ 25 เส้นสเปกตรัมของข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสงแบบบดที่ระดับปริมาณความชื้นร้อยละ 10 .....	75
ภาพที่ 26 เส้นสเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน .....	77
ภาพที่ 27 เส้นสเปกตรัมของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน.....	78
ภาพที่ 28 เส้นสเปกตรัมของพริกไทยที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน .....	79
ภาพที่ 29 เส้นสเปกตรัมของพริกไทยบดที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน .....	80
ภาพที่ 30 เส้นสเปกตรัมของถั่วลิสงที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน .....	81
ภาพที่ 31 เส้นสเปกตรัมของถั่วลิสงที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน .....	82
ภาพที่ 32 กราฟแสดงการกระจายตัวของค่าปริมาณความชื้น .....	84

ภาพที่ 33 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยสมการเทียบมาตรฐานในตัวอย่างข้าวโพด .....	88
ภาพที่ 34 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยสมการเทียบมาตรฐานในตัวอย่างพริกไทย .....	88
ภาพที่ 35 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยสมการเทียบมาตรฐานในตัวอย่างถั่วลิสง .....	89
ภาพที่ 36 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากตัวอย่าง 3 ชนิด .....	94
ภาพที่ 37 สัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากตัวอย่าง 3 ชนิด .....	96
ภาพที่ 38 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ของกลุ่มตัวอย่างทวนสอบสมการภายนอกทั้ง 3 ชนิด .....	99
ภาพที่ 39 สเปกตรัมของสารละลายมาตรฐาน AFB1 ที่เตรียมตัวอย่างแบบ DESIR.....	101
ภาพที่ 40 อิทธิพลของจำนวนตัวแปร PLS ต่อค่า RMSEP ของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 เมื่อใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัมแตกต่างกัน .....	103
ภาพที่ 41 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR .....	103
ภาพที่ 42 กราฟค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย สำหรับสมการ PLS ที่ใช้ทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR.....	104
ภาพที่ 43 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR โดยการสร้างสมการด้วยวิธี MLR105	
ภาพที่ 44 สเปกตรัมตัวอย่างรูปแบบบดในการศึกษาความเป็นไปได้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 1).....	108
ภาพที่ 45 สเปกตรัมตัวอย่างสารสกัดที่ 1 ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 2)	109
ภาพที่ 46 สเปกตรัมตัวอย่างสารสกัดที่ 1 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 3).....	110

ภาพที่ 47 สเปกตรัมตัวอย่างสารสกัดที่ 2 ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 4).....	111
ภาพที่ 48 สเปกตรัมตัวอย่างสารสกัดที่ 2 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 5).....	112
ภาพที่ 49 กราฟแสดงการกระจายตัวของค่าปริมาณ AFB1 (ก) ข้าวโพด (ข) พริกไทย (ค) ถั่วลิสง (ง) เมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง.....	114
ภาพที่ 50 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างรูปแบบบด (รูปแบบที่ 1 ) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS.....	118
ภาพที่ 51 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของสารสกัดที่ 1 (รูปแบบที่ 2 ) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS.....	119
ภาพที่ 52 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของสารสกัดที่ 1 ที่ผ่านการเตรียมด้วยเทคนิค DESIR (รูปแบบที่ 3) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS.....	120
ภาพที่ 53 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของสารสกัดที่ 2 (รูปแบบที่ 4) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS .....	121
ภาพที่ 54 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของสารสกัดที่ 2 ที่ผ่านการเตรียมด้วยเทคนิค DESIR (รูปแบบที่ 5) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS .....	122



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยในปีพ.ศ. 2559 มีผลผลิตข้าวโพดและถั่วลิสงทั้งประเทศประมาณ 4.4 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) และ 23,886 ตัน (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2560) ตามลำดับ ในปีพ.ศ. 2558 ประเทศไทยส่งออกเมล็ดข้าวโพด 602,593 ตัน คิดเป็นมูลค่า 191.03 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (International Trade Center, 2016) ในปี พ.ศ. 2560 มีผลผลิตพริกไทยรวมทั้งประเทศ 2,536 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) อีกทั้งพริกไทยยังเป็นเครื่องเทศที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางโดยเฉพาะในประเทศศรีลังกา บราซิล มาเลเซีย ไทย อินโดนีเซีย และอินเดีย จึงได้รับการยกย่องให้เป็นราชาแห่งเครื่องเทศ (King of spices) (Damanhour, 2014) เมื่อพิจารณาองค์ประกอบหลักทางเคมีของพืชทั้งสามข้างต้นพบว่า เมล็ดข้าวโพดและพริกไทยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตคิดเป็นร้อยละ 71.4 และ 25.8–44.8 ตามลำดับ (Belyea และคณะ, 2004, Núñez-Sánchez และคณะ, 2008) นอกจากนี้ในพริกไทยยังมีองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซิน (Kok, 1994) ในขณะที่ถั่วลิสงจัดเป็นพืชน้ำมันที่มีองค์ประกอบหลักได้แก่ไขมันโดยมีปริมาณร้อยละ 47-50 (ภานุพันธ์, 2549)

จากการที่ประเทศไทยมีภูมิประเทศตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นที่มีภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราแอสเปอร์จิลลัส ฟลาวัส (*Aspergillus flavus*) และแอสเปอร์จิลลัส พาราซิติกัส (*Aspergillus parasiticus*) ที่สามารถสร้างสารอะฟลาทอกซิน บี 1 (aflatoxin B1, AFB1) เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 14-30 (สุธน วงษ์ศิริ, 2525) ความชื้นสัมพัทธ์ตั้งแต่ร้อยละ 75 ขึ้นไป เชื้อราที่สร้าง AFB1 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 24-32 องศาเซลเซียส (Asare และคณะ, 2019) จึงทำให้ผลผลิตทางการเกษตรจำพวกเมล็ดพืชและเครื่องเทศเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์สำหรับการเติบโตของเชื้อราและมักประสบปัญหาการปนเปื้อนของ AFB1 ในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว ระหว่างการเก็บเกี่ยว หลังการเก็บเกี่ยว และระหว่างการเก็บรักษาหรือการรอจำหน่าย (Stroka และ Gonçalves, 2019) ในปี พ.ศ.

2548-2558 ประเทศไทยมีรายงานการศึกษาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเมล็ดพืชและเครื่องเทศ ได้แก่ วัตถุดิบอาหารสัตว์ อาหารผสมสำเร็จรูป ผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภคจำนวน 96, 153 และ 266 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินร้อยละ 71.43, 100 และ 4.51 ตามลำดับ โดยพบมากใน ตัวอย่างข้าวโพดและผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสง (ศศิธร และคณะ, 2558, อภรณ์ และคณะ, 2548) นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในพริกป่นและพริกแห้ง (ชาคริยา และสุนันทา, 2555) โดยปัญหาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินยังพบในหลายประเทศเช่นผลการศึกษาในถั่วลิสงและ ผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสงที่นำเข้าจากประเทศจีน อินโดนีเซีย ไทย สหรัฐอเมริกา เวียดนาม ญี่ปุ่นและฟิลิปปินส์ มาในประเทศไทยได้วันจำนวน 1,089 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อน AFB1 คิดเป็นร้อยละ 24 (Lien และคณะ, 2019) และรายงานผลการศึกษาในพริกไทยจำนวน 54 ตัวอย่างจากตลาดในประเทศอียิปต์ อินเดีย ตุรกี และเม็กซิโกพบว่ามีการปนเปื้อน AFB1 คิดเป็นร้อยละ 80 (Garduño-García และคณะ, 2017) ประเทศศรีลังกาพบว่ามีการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช (Karunarathna และคณะ, 2019) และประเทศปากีสถานพบการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์จากพริกเช่น พริกแห้ง พริกป่น พริกบด และซอสพริก (Iqbal และคณะ, 2017) ดังนั้นการปนเปื้อน AFB1 จึงเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

สถาบันวิจัยมะเร็งนานาชาติ (International Association Research Cancer, IARC) ได้จัด AFB1 เป็นสารก่อมะเร็ง (potent carcinogen) AFB1 มีความเป็นพิษสูงสุดและเป็นอะฟลาทอกซินชนิดที่พบมากที่สุดเมื่อเทียบกับอะฟลาทอกซินชนิดอื่น ๆ (บดินทร์, 2555) อีกทั้งสารอะฟลาทอกซินมีความคงตัวต่อความร้อนและไม่สามารถทำลายในระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหารจึงเป็นเหตุผลให้มีกฎหมายกำหนดปริมาณอะฟลาทอกซินสำหรับการซื้อขายอาหาร โครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (codex alimentarius commission, CAC) กำหนดให้มีปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารได้ไม่เกิน 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$  สำหรับข้อกำหนดของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2559 กำหนดให้มีอะฟลาทอกซินได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อ 1 กิโลกรัมในอาหารทุกชนิด และสหภาพยุโรปกำหนดให้มีปริมาณอะฟลาทอกซิน ปี 1 ได้ไม่เกิน 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ในผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสง และ 5.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ในพริกไทยและข้าวโพดข้าวโพดที่ไม่ผ่านกระบวนการ (European commission, 2008) และองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration) กำหนดให้มีปริมาณอะฟลาทอกซินในพริกไทย ได้ไม่เกิน 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$



นอกจากนี้การซื้อขายเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงยังคำนึงมาตรฐานด้านปริมาณความชื้น เนื่องจากปริมาณความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญหากมีค่าเกินมาตรฐานของผลิตภัณฑ์จะทำให้เกิดความเสียหายต่อการปนเปื้อนของเชื้อรา (Abbas และคณะ, 2017) โดยมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกำหนดมาตรฐานปริมาณความชื้นของพริกไทยดำให้มีค่าไม่เกินร้อยละ 13.0 มาตรฐานสินค้าเกษตรกำหนดมาตรฐานปริมาณความชื้นข้าวโพดเมล็ดแห้ง และถั่วลิสงให้มีค่าไม่เกินร้อยละ 14.5 และ 9.0 ตามลำดับ

ปัจจุบันการตรวจสอบปริมาณความชื้นของเมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงจะใช้วิธีการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (ISO665, 2000) ซึ่งวิธีดังกล่าวยังมีข้อจำกัดด้านการใช้คือใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์และมีการทำลายตัวอย่าง สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยวิธีมาตรฐานจะใช้วิธีโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (thin-layer chromatography, TLC) โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (high pressure liquid chromatography, HPLC) และ (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) (Orina และคณะ, 2017) ซึ่งวิธีดังกล่าวมีข้อจำกัดในด้านการเตรียมตัวอย่างก่อนการทดสอบ โดยต้องทำการสกัดและทำความสะอาดสารสกัดก่อนทำการทดสอบ (บดินทร์, 2555) เช่น การใช้อิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (immunoaffinity column, IAC) สำหรับใช้กำจัดสิ่งรบกวนก่อนการวิเคราะห์ที่ในปัจจุบันต้องนำเข้าจากต่างประเทศเท่านั้นและมีราคาแพง ทำให้มีค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์สูงต่อหนึ่งตัวอย่าง นอกจากนี้ยังใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และต้องใช้ผู้ปฏิบัติการที่มีความรู้และความชำนาญ (Fernández-Ibañez และคณะ, 2009)

เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (near infrared spectroscopy, NIRS) จึงมีความน่าสนใจในการนำมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น และ AFB1 โดยสามารถติดตามปริมาณการปนเปื้อนของ AFB1 และปริมาณความชื้นได้ในเวลาเดียวกัน ซึ่งได้มีการศึกษาการนำเทคนิค NIRS มาใช้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ในผลิตภัณฑ์อาหารได้แก่ Tripathi และ Mishra (2009) พบว่าเทคนิค NIRS มีความสามารถในการทำนายค่าปริมาณ AFB1 ได้มีประสิทธิภาพในพริกบดในช่วงการปนเปื้อนปริมาณ 15-500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ศึกษาในจำนวน 65 ตัวอย่าง เนื่องจากให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficients of determination,  $R^2$ ) เท่ากับ 0.96 และค่าความคลาดเคลื่อนในการทวนสอบ (root mean square error of cross validation, RMSECV) เท่ากับ 0.654  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Fernández-Ibañez และคณะ (2009) ใช้เทคนิค NIRS ในการแบ่งกลุ่มการปนเปื้อน AFB1 ในช่วง 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ในเมล็ดข้าวโพดจำนวน 66 ตัวอย่าง ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.82 และมีค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทวนสอบ

(standard error of cross validation, SECV) เท่ากับ 0.200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และในข้าวบาร์เลย์ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.85 และมีค่า SECV = 0.183  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Hernández-Hierro และคณะ (2008) ศึกษาการใช้เทคนิค NIRS ในการทำนายปริมาณ AFB1 ในจำนวนพริกบด 63 ตัวอย่างมีช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 0.0-3.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.962 และให้ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนาย (standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  อย่างไรก็ตามเทคนิค NIRS ยังมีข้อจำกัดในการตรวจสอบ AFB1 ในตัวอย่างที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ของการวิเคราะห์สารที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำระดับต่ำกว่า 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ด้วยเทคนิค NIRS ได้มีการนำเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ dry extract system for infrared (DESIR) คือการนำตัวอย่างในรูปแบบของเหลวมาหยดลงบนสสารของแข็งที่มีคุณสมบัติในการดูดกลืนรังสีในช่วง NIR ต่ำ จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของสสารของแข็งที่ทำการระเหยตัวทำละลายออกไปเป็นการเพิ่มความเข้มข้นให้กับสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Meurens และคณะ, 1987) โดยมีการประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารที่มีระดับความเข้มข้นต่ำด้วยเทคนิค NIRS ร่วมกับการเตรียมตัวอย่างวิธี DESIR ได้แก่ Saranwong และ Kawano (2007) ใช้เทคนิค DESIR เตรียมตัวอย่างจากยาฆ่าแมลง acephate, dichlofluanid และ TPN ที่ละลายในอะซีโตนจำนวน 2 มิลลิลิตร ในช่วงความเข้มข้น 0-50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หยดบนกระดาษเยก้นำแสงให้ผลที่ดีในการทำนายปริมาณยาฆ่าแมลงชนิด acephate โดยให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.96 ค่า SEP เท่ากับ 2.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้ผลดีในการทำนายปริมาณยาฆ่าแมลงชนิด dichlofluanid ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.92 ค่า SEP เท่ากับ 5.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ให้ผลดีน้อยที่สุดในยาฆ่าแมลงชนิด TPN ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.72 ค่า SEP เท่ากับ 9.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นผลมาจากลักษณะโครงสร้างทางเคมีของยาฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่มีผลต่อความสามารถของการดูดกลืนรังสี NIR ได้แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีการใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี DESIR เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในช่วงปริมาณความเข้มข้นต่ำด้วยเทคนิค NIRS

ดังนั้นจากมาตรฐานปริมาณความชื้นของธัญพืชถั่วและเครื่องเทศที่อยู่ในช่วงเดียวกันคือมีปริมาณร้อยละ 9.0-14.0 จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ตรวจสอบปริมาณความชื้นโดยการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปทำนายปริมาณความชื้นที่สร้างจากข้อมูลของเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงที่มีองค์ประกอบและขนาดของเมล็ดที่แตกต่างกันด้วยเทคนิค NIRS และมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ตรวจสอบ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง โดยใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และหาก

สร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปทำนายปริมาณ AFB1 โดยรวมข้อมูลของเมล็ดพืชและเครื่องเทศทั้ง 3 ชนิดที่มีองค์ประกอบทางเคมีหลักในพืชแตกต่างกันได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมันต่อการทำนายในแต่ละชนิดต่างก็กันน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 และปริมาณความชื้นด้วยเทคนิค NIRS ต่อการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและการเกษตรของประเทศ

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common calibration model) ที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด

1.2.2 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS ด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ dry-extract system for infrared (DESIR)

1.2.3 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงและการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

1.2.4 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี dry-extract system for infrared (DESIR) ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

## 1.3 สมมติฐานของการศึกษา

โครงสร้างทางเคมีของอะพลาทอกซินปี 1 และน้ำ ประกอบด้วยโมเลกุล C, H, N และ O ซึ่งมีความจำเพาะต่อการดูดกลืนของรังสี NIRS จึงมีความเป็นไปได้ในการติดตามปริมาณความชื้น และปริมาณอะพลาทอกซินปี 1 ในเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

## 1.4 ขอบเขตของการศึกษา

1.4.1 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ เมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

1.4.2 ดัชนีคุณภาพของเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงที่ศึกษาได้แก่ปริมาณความชื้น และปริมาณ AFB1

1.4.3 เตรียมตัวอย่างให้เมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงมีการปนเปื้อน AFB1 แบบ artificial contamination โดยการนำสารมาตรฐาน AFB1 เติมลงในตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงที่ผ่านการบดขนาดอนุภาค 2 มิลลิเมตร

1.4.4 ตัวอย่างจะมีการควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ก่อนทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างในช่วงคลื่น NIRS ที่ความยาวคลื่น 700-2500 นาโนเมตร หรือที่เลขคลื่น 12500-4000  $\text{cm}^{-1}$  ทำการวัดตัวอย่างในระบบสะท้อนกลับ (reflectance) และระบบส่องผ่านและสะท้อนกลับ (transflectance)

1.4.5 วิธีมาตรฐาน (reference method) ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและปริมาณ AFB1 ได้แก่วิธีการใช้ออบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส (AOAC, 2000) และวิธีโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (AOAC) 991.31 ตามลำดับ

1.4.6 พัฒนาสมการเทียบมาตรฐานที่ใช้ในการวัดปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงรูปแบบเมล็ด และแบบบดขนาดอนุภาค 2 มิลลิเมตร และพัฒนาสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common calibration model) ที่ใช้ในการวัดปริมาณความชื้นโดยใช้ข้อมูลของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด

1.4.7 พัฒนาสมการเทียบมาตรฐานที่ใช้ในการทำนายปริมาณ AFB1 ในสารละลายจากการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ด้วยการใช้สารมาตรฐาน AFB1 ในช่วงความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.4.8 พัฒนาสมการเทียบมาตรฐานที่ใช้ในการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงที่ปนเปื้อน AFB1 แบบ artificial contamination ในช่วงความเข้มข้น 0-300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และพัฒนาสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่ใช้ในการวัดปริมาณ AFB1 โดยใช้ข้อมูลของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด

1.4.9 พัฒนาสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่ใช้ในการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงที่ปนเปื้อน AFB1 แบบ artificial contamination ในช่วงความเข้มข้น 0-300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ร่วมกับการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR และพัฒนาสมการเทียบมาตรฐานที่ใช้ในการวัดปริมาณ AFB1 ร่วมกับการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR โดยใช้ข้อมูลของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรม

#### 2.1 สถานการณ์การเพาะปลูกข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงในประเทศไทย

ข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงเป็นพืชไร่เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีพื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่บริเวณภาคเหนือของประเทศไทยที่จังหวัดเชียงราย พะเยา ลำปางและลำพูน สถิติการเพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในปี พ.ศ. 2559 มีผลผลิตรวมทั้งประเทศ 4,390,185 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) ความต้องการใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของไทย ปี พ.ศ. 2559 มี 5.85 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจาก 5.72 ล้านตัน ในปี พ.ศ. 2558 หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.27 เนื่องจากภาคอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ยังคงขยายตัวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความต้องการใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์เพิ่มขึ้น การส่งออกของไทย ปี 2559 มีปริมาณ 0.58 ล้านตัน มูลค่า 4,855.34 ล้านบาทเพิ่มขึ้นจาก 0.08 ล้านตัน มูลค่า 716.74 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2558 โดยปริมาณเพิ่มขึ้น 7.25 เท่า และมูลค่าเพิ่มขึ้น 6.77 เท่าเนื่องจากการส่งออกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไปตลาดอาเซียน เช่นฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และเวียดนาม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) สำหรับพริกไทยมีพื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่ที่จังหวัดจันทบุรี ตราดและระยอง สถิติการเพาะปลูกพริกไทยในปี 2560 มีผลผลิตรวมทั้งประเทศ 2,536 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) อีกทั้งพริกไทยดำเป็นเครื่องเทศที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง (Damanhourj, 2014) และการปลูกถั่วลิสงในประเทศไทย มีเกษตรกรที่เกี่ยวข้องกว่า 76,662 ครัวเรือน ปี พ.ศ. 2559 ผลผลิตถั่วลิสงรวมทั้งประเทศ 23,886 ตัน พื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่ที่จังหวัดลำปาง ลพบุรี แม่ฮ่องสอน ขอนแก่น ยโสธร พะเยาและสิงห์บุรี (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2560) สำหรับความต้องการใช้ถั่วลิสงภายในประเทศพบว่าเนื่องจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เพิ่มขึ้นทำให้มีความต้องการใช้ถั่วลิสงสูงถึงปีละ 100,000 ตัน เป็นผลทำให้ผลผลิตไม่เพียงพอกับความต้องการใช้จึงมีการนำเข้าถั่วลิสงจากต่างประเทศ (กรมวิชาการเกษตร, 2558)

## 2.2 องค์ประกอบทางเคมี

### 2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

เมล็ดข้าวโพดเป็นผลไม้หรือผลธัญพืชแบบ caryopsis ผลขนาดเล็กมี 1 เมล็ด เยื่อหุ้มผลติดกับเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) มีลักษณะเป็นเยื่อบาง ๆ ใสไม่มีสี เยื่อหุ้มผลและเยื่อหุ้มเมล็ดรวมกันเรียกว่า hull ข้าวโพดเป็นธัญพืชที่สำคัญที่สุดในโลกที่ใช้เป็นอาหารสัตว์เนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานที่ดี โดยเมล็ดข้าวโพดมีส่วนประกอบทางกายวิภาคที่สำคัญคือเอนโดสเปิร์ม (endosperm) คัพพะ (germ) และ hull ในสัดส่วนร้อยละ 82.6, 11.1 และ 6.2 ตามลำดับ โดยข้าวโพดจะสะสมแป้งไว้ในส่วนของเอนโดสเปิร์ม (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่, 2547) ถึงแม้ว่าข้าวโพดจะมีโปรตีนต่ำกว่าอาหารสัตว์อื่น ๆ แต่ข้าวโพดก็เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญเพราะประกอบด้วยกรดอะมิโน 18 ชนิด เช่น โพรลีน กรดกลูตามิก อะลานีน และลิวซีน เป็นต้น อีกทั้งข้าวโพดยังมีรงควัตถุ (pigment) ที่สำคัญสำหรับสารอาหารสัตว์เช่น แคโรทีน (carotene) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโปรวิตามินเอ (provitamin a) และแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) (Loy และ Lundy, 2019) ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของข้าวโพดแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของข้าวโพด (เปอร์เซ็นต์)

ส่วนของเมล็ด	ทั้งเมล็ด	แป้ง	โปรตีน	น้ำมัน	น้ำตาล	เถ้าถ่าน
ทั้งหมด	100	73.5	9	4.3	1.9	1.5
เอนโดสเปิร์ม	82.6	87.6	7	0.83	0.62	0.33
คัพพะ	11.1	8.0	18.3	33.5	10.5	10.6
hull	6.2	7.0	4.3	1.4	-	0.9

ที่มา: สุพจน์ (2527)

### 2.2.2 องค์ประกอบทางเคมีของพริกไทย

พริกไทย (*Piper nigrum* L.) เป็นแหล่งของแมงกานีส ธาตุเหล็กและวิตามิน K และแหล่งใยอาหารที่ดี (Ismael และคณะ, 2017) และองค์ประกอบทางเคมีของพริกไทยแสดงดังตารางที่ 2 อีกทั้งพริกไทยมีองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซินได้ (Kok, 1994)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของพริกไทย (ต่อ 100 กรัม)

องค์ประกอบ	พริกไทยดำ (กรัม)	พริกไทยขาว (กรัม)
โปรตีน	10.9-12.7	10.7-12.4
ใยอาหาร	9.7-17.2	3.5-4.5
แป้ง	25.8-44.8	53.9-60.4
เถ้าถ่าน	3.4-6.0	1.0-2.8
ไพเพอรีน (piperine) (สารให้กลิ่นฉุน) C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> O <sub>3</sub> N	4.9-7.7	5.5-5.9
น้ำมันหอมระเหย	1.0-1.8	0.5-0.9
หมายเหตุ: ส่วนใหญ่จะเป็น โมโนเทอร์พีน (monoterpene) เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpene)		

ที่มา: Ismael และคณะ (2017)

### 2.2.3 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วลิสง

ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) เป็นพืชตระกูลถั่วที่ให้เมล็ดเป็นอาหารของมนุษย์เนื่องจากมีโภชนาการสูงคือเป็นแหล่งของโปรตีน และไขมัน ถั่วลิสงจัดเป็นพืชน้ำมันเพราะในเมล็ดแห้งประกอบด้วยน้ำมันร้อยละ 45-55 เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวรวมกันร้อยละ 80-88 เช่นกรดไขมันโอเลอิก (oleic) และ กรดไขมันไลโนลินิก (linoleic) ซึ่งมีปริมาณสูงมากกว่าพืชตระกูลถั่วชนิดอื่น ๆ และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 25-26 (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่, 2547)

## 2.3 กระบวนการเก็บเกี่ยวข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

### 2.3.1 กระบวนการเก็บเกี่ยวข้าวโพด

การเก็บเกี่ยวข้าวโพดโดยทั่วไปจะทำเมื่อประมาณ 45 วันหลังออกไหม หรือสังเกตได้จากส่วนโคนของเมล็ดจะมีเนื้อเยื่อสีดำที่เรียกว่า black layer เกิดขึ้น ทำให้การส่งผ่านธาตุอาหารจากต้นข้าวโพดสู่เมล็ดสิ้นสุดลงเมล็ดจะมีปริมาณความชื้นร้อยละ 35-40 หลังจากนั้นความชื้นภายในเมล็ดจะเริ่มลดลงเรื่อย ๆ จะช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของอากาศและความชื้นสัมพัทธ์ โดยจะเก็บเกี่ยวข้าวโพดที่มีปริมาณความชื้นเมล็ดต่ำกว่าร้อยละ 25 โดยทั่วไปเมื่อเก็บเกี่ยวปริมาณความชื้นในเมล็ด

จะยังสูงเกินไป ดังนั้นหลังการเก็บเกี่ยวจะนำฝักข้าวโพดมาตากแดด 2-3 แดด ก่อนนำไปกะเทาะเมล็ดภายหลังการกะเทาะแล้วควรตากเมล็ดให้มีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 16 โดยควรทำอย่างรวดเร็วภายใน 2 วัน เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่, 2547)

### 2.3.2 กระบวนการเก็บเกี่ยวพริกไทย

พริกไทยจะเพาะปลูกในภูมิอากาศแบบอบอุ่นที่มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60-93 เมล็ดพริกไทยดำ (black peppers) จะเก็บเกี่ยวเมื่อระยะครึ่งหนึ่งของระยะเวลาการสุกหรือเมื่อเมล็ดมีสีเขียวอมเหลืองและนำไปแช่น้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ความร้อนจากการแช่น้ำเดือดจะทำให้ผิวของพริกไทยเกิดการหมักและเปลี่ยนเป็นสีดำ อีกทั้งยังช่วยฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวของพริกไทย หลังจากนั้นจะนำมาตากแห้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์เพื่อให้ได้ปริมาณความชื้นร้อยละ 12 (Ismael และคณะ, 2017)

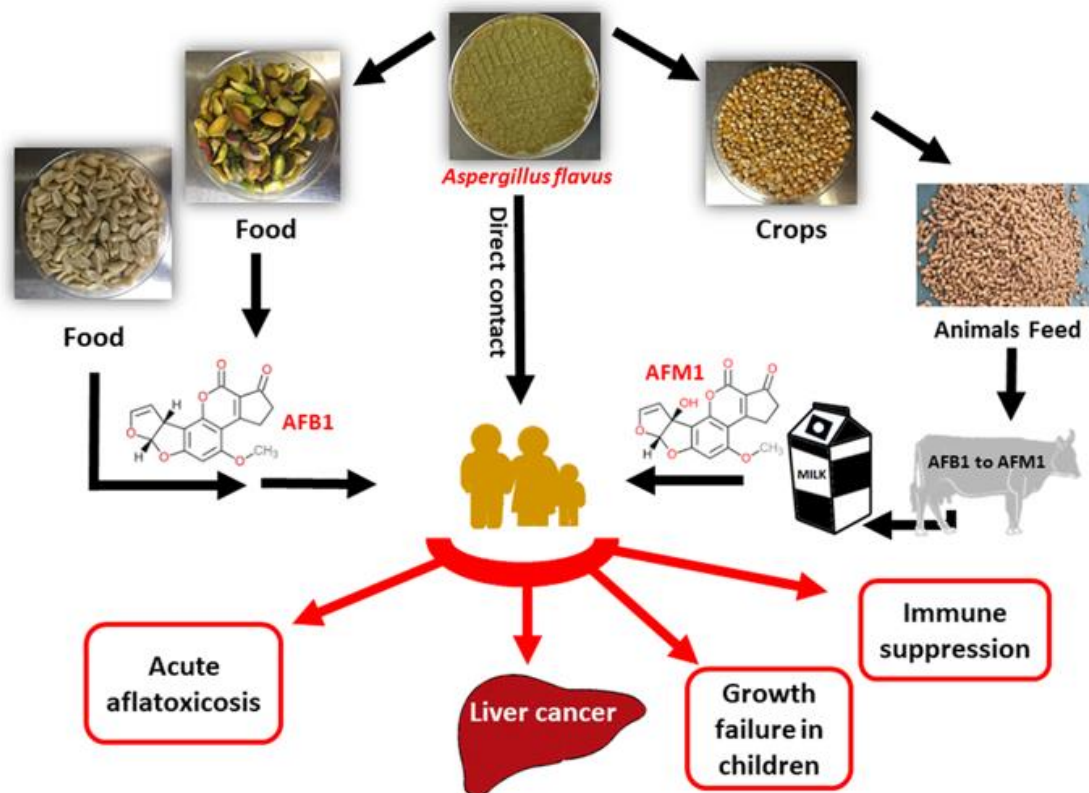
### 2.3.2 กระบวนการเก็บเกี่ยวถั่วลิสง

ผลหรือฝักถั่วลิสงเมื่อแก่เปลือกฝักจะแข็งและเปราะ มีลายเส้นที่เปลือก ฝักมีสีขาวนวลมี 1-4 เมล็ดต่อฝักขึ้นอยู่กับพันธุ์ เมล็ดถั่วลิสงมีเปลือกหุ้มเมล็ดบาง มีสีม่วงแดง แดง หรือขาวนวลขึ้นกับพันธุ์ การเก็บเกี่ยวถั่วลิสงพันธุ์ที่นิยมปลูกในไทยในปัจจุบันเป็นพันธุ์ที่มีอายุค่อนข้างสั้นเก็บเกี่ยวได้ภายในเวลา 100-120 วันหลังจากปลูก ถั่วลิสงที่เก็บเกี่ยวใหม่มีปริมาณความชื้นสูงกว่าร้อยละ 50 โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากเก็บเกี่ยวในฤดูฝน การตากฝักถั่วลิสงนิยมตากบนพื้นหรือลานตากที่แห้ง ตากแดดจัด 5-7 วัน ฝักที่แห้งควรเก็บในที่ระบายอากาศได้ดีเช่นกระสอบป่านและเก็บไว้ในที่แห้งสำหรับรอจำหน่าย กะเทาะ หรือเก็บเป็นเมล็ดพันธุ์ โดยการกะเทาะถั่วลิสงที่แห้งสนิทจะมีปริมาณความชื้นร้อยละ 9-10 ปัญหาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงจะเห็นว่าช่วงระยะก่อนการเก็บเกี่ยว ระยะเก็บเกี่ยวและขณะเก็บรักษาจะพบการติดเชื้อมากขึ้นตามลำดับทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน โดยหลังการเก็บเกี่ยวเกษตรกรควรรีบลดความชื้นของเมล็ดถั่วลิสงให้เร็วที่สุด โดยปกติหากปริมาณความชื้นของเมล็ดถั่วลิสงสูงกว่าร้อยละ 9 จะเกิดเชื้อราได้ใน 72 ชั่วโมงเมื่อเก็บรักษาที่ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศมากกว่าร้อยละ 90 และถ้าความชื้นสัมพัทธ์ลดลงเหลือประมาณร้อยละ 80 จะเกิดเชื้อราภายในวันที่ 6-7 (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่, 2547)



## 2.4 อะฟลาทอกซินบี 1

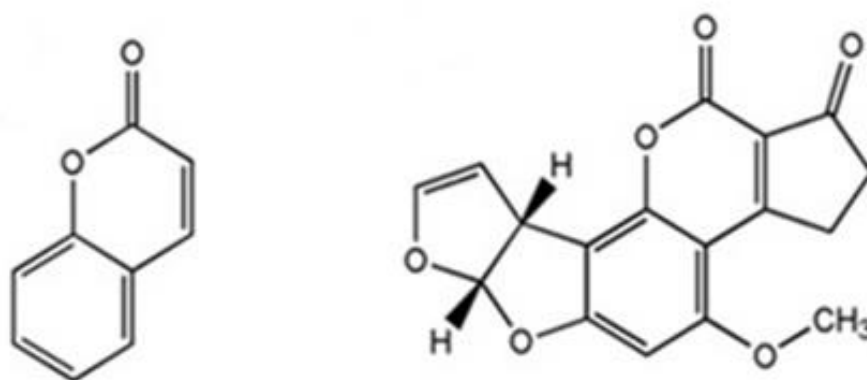
อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษจากเชื้อราสร้างจาก *Aspergillus ssp.* เช่น *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* และ *Aspergillus nominus* เป็นสารกลุ่มเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) (Lohmar และคณะ, 2019) ตามธรรมชาติอะฟลาทอกซินมีอยู่ 4 ชนิด ได้แก่ อะฟลาทอกซิน B1, B2, G1, และ G2 (Rocha และคณะ, 2014) นอกจากนี้ อะฟลาทอกซินบี 1 (AFB1) สามารถเปลี่ยนไปเป็นอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 (AFM1) โดยกลไกของร่างกายในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) (Ben และคณะ, 2019) และเมื่อเปลี่ยนเป็นอะฟลาทอกซินชนิดเอ็ม 1 จะเข้าไปสะสมอยู่ในน้ำนม ทำให้น้ำนมของคนและสัตว์ที่บริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเช่นเดียวกัน (Marimón Sibaja และคณะ, 2019) แผนผังเส้นทางการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินบี 1 และอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ดังในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แผนผังเส้นทางการปนเปื้อน AFB1 และ AFM1

ที่มา: Alshannaq และคณะ (2018)

อะฟลาทอกซินแต่ละชนิดมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันทำให้ความรุนแรงของการเกิดพิษแตกต่างกันออกไป โดย AFB1 มีความเป็นพิษสูงสุดและเป็นชนิดที่พบมากที่สุด สถาบันวิจัยมะเร็งนานาชาติ (International Association Research Cancer, IARC) จัดให้ AFB1 เป็นสารก่อมะเร็ง (potent carcinogen) เนื่องจากปริมาณของ AFB1 จำนวน 1 ไมโครกรัม สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียและทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองได้ AFB1 ทนความร้อนได้ถึงระดับอุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส ดังนั้นความร้อนในกระบวนการแปรรูปอาหารเช่น การหุง อบ นึ่ง จึงไม่สามารถทำลาย AFB1 ได้ (บดินทร์, 2555) และสารพิษชนิดนี้ยังก่อให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์ทางพันธุกรรมและทำให้เกิดความผิดปกติในทารกทางการแพทย์เรียกว่า ลูควิรูป (teratogenic) (Giray และคณะ, 2007) โครงสร้างทางเคมีที่สำคัญของอะฟลาทอกซินบี 1 ประกอบไปด้วย วงแหวนคูมารินและวงแหวนโอโรมาติก (Tripathi และ Mishra, 2009) แสดงดังภาพที่ 2



(ก) วงแหวนคูมาริน

(ข) AFB1

ภาพที่ 2 โครงสร้างโมเลกุลในอะฟลาทอกซินบี 1

(ก) coumarin ring ใน AFB1 (ข) AFB1

ที่มา: Guan และคณะ (2008)

## 2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราและการสร้างอะฟลาทอกซินในพืชไร่และเครื่องเทศ

การเจริญของเชื้อราและการสร้างอะฟลาทอกซินเกิดจากหลายปัจจัย โดยมีปัจจัยที่สำคัญได้แก่ แหล่งอาหาร ความชื้น อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน และปริมาณเชื้อราเริ่มต้น โดยกระบวนการ

ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินสามารถเกิดในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว (pre-harvest) ระหว่างการเก็บเกี่ยว (harvest) และหลังการเก็บเกี่ยว (post-Harvest) และในระหว่างการเก็บรักษา (storage) (Asare และคณะ, 2019) โดยสามารถแบ่งออกเป็นสองขั้นตอน ได้แก่ 1) ขั้นตอนการติดเชื้อราและ 2) ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน (Kirkpatrick และ Rockroth, 2001) ในช่วงแรกของการปนเปื้อนหรือขั้นตอนการติดเชื้อราเกิดจากปัจจัยได้แก่ การรบกวนรัฐพืชและเครื่องเทศที่กำลังเติบโตโดยนก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหรือแมลงในระหว่างการเก็บเกี่ยว (Cotty และ Lee, 1990, Guo และคณะ, 2004, Horn และ Dörner, 1998, Odvody และคณะ, 1997, Sommer และคณะ, 1986) หรือการที่เมล็ดถั่วลิสงโดนทำลายจากแรงทางกลเช่น การขูด การนวด การปลิดฝักทำให้เมล็ดถั่วลิสงเกิดความเสียหายมีความเสี่ยงต่อการเข้าทำลายจากเชื้อรา (Waliyar และคณะ, 2008) หรือสาเหตุจากสภาพภูมิอากาศที่มีอิทธิพลโดยตรงต่อความอ่อนแอของต้นถั่วลิสงเนื่องจากความร้อนหรือความเครียดจากภัยแล้งทำให้การผลิตสารไฟโตเลซอินสารต้านเชื้อราของถั่วลิสงตามธรรมชาติลดลง (Wotton และ Strange, 1987) การปนเปื้อนระยะที่สองหรือการเพิ่มปริมาณอะฟลาทอกซินมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินได้แก่ อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม เชื้อราที่ผลิตอะฟลาทอกซินจะเจริญเติบโตออกเป็นเส้นใยและผลิตอะฟลาทอกซินได้ดีในอาหารที่มีปริมาณความชื้น 14-30 เปอร์เซ็นต์ (สุรน, 2525) และสามารถผลิตสารพิษได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 24-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ตั้งแต่ร้อยละ 75 ขึ้นไป โดยมีรายงานการศึกษาสภาวะที่มีการสร้างอะฟลาทอกซินได้แก่ Muga และคณะ (2019) ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่อปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในตัวอย่างข้าวโพดในระหว่างการเก็บรักษาโดยนำข้าวโพดที่มีระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกันที่ร้อยละ 14, 15, 16, 18 และ 20 มาทำการเพาะเชื้อ (inoculate) ด้วยสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* หลังจากนั้นบ่มในห้องทดสอบภูมิอากาศเป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 2 ระดับได้แก่ 20 และ 30 องศาเซลเซียส ที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 และ 90 ผลการศึกษาพบว่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์มีผลต่อปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีระดับการปนเปื้อนมากกว่าอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.3 µg/kg - 1179.7 µg/kg และ 0.8 µg/kg - 733.7 µg/kg ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินที่เก็บระดับรักษาที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 มีระดับการปนเปื้อนมากกว่าความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 3.9 µg/kg - 11179.7 µg/kg และ 0.3

$\mu\text{g}/\text{kg}$  -  $2.4 \mu\text{g}/\text{kg}$  ตามลำดับ Seenappa และ Kempton (1980) มีการศึกษาการสร้าง อะฟลาทอกซินในพริกไทยโดยการนำพริกไทยมาเพาะเชื้อ (inoculate) ด้วยสปอร์ของ *Aspergillus parasiticus* หลังจากนั้นบ่มเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และระดับความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 หลังจากนั้นบ่มเพาะเชื้อราส่งผลให้เกิดสปอร์ (conidial) จำนวนมาก พริกไทยถูกนำไปเก็บไว้ในที่มืดที่ความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน หลังจากนั้นนำมาตรวจวัดปริมาณอะฟลาทอกซินพบ AFB1 ที่ระดับ  $60 \mu\text{g}/\text{kg}$  Liu และคณะ (2017) ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและปริมาณน้ำอิสระ (water activity,  $a_w$ ) ต่ออัตราการเจริญเติบโตของ *Aspergillus flavus* และการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินในถั่วลิสงโดยศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในช่วง 15-42 องศาเซลเซียส และค่าปริมาณน้ำอิสระในช่วง 0.85-0.99 พบว่าอุณหภูมิและปริมาณน้ำอิสระที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Aspergillus flavus* ได้แก่ 37 องศาเซลเซียส และ  $a_w$  เท่ากับ 0.98 ตามลำดับ และอุณหภูมิและปริมาณน้ำอิสระที่เหมาะสมต่อการสร้างอะฟลาทอกซินได้แก่ 28 องศาเซลเซียส และ  $a_w$  เท่ากับ 0.92 ตามลำดับ โดยในระยะหลังการเก็บเกี่ยวการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินได้รับอิทธิพลอย่างมากจากสภาวะการขนส่งและการเก็บรักษา (Torres และคณะ, 2014) การทำแห้งที่ไม่เหมาะสมก่อนการเก็บรักษาเช่น การทำแห้งที่ล่าช้าทำให้มีปริมาณความชื้นในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา เมล็ดพืชมีปริมาณความชื้นสูงอาจทำให้เกิดการควบแน่นของไอน้ำหากบริเวณที่เก็บรักษามีลักษณะการระบายอากาศและการถ่ายเทอากาศไม่ดี อีกทั้งในการขนส่งไม่ควรขนส่งในที่มีปริมาณมากเกินไปอาจทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินได้

งานวิจัยส่วนใหญ่พบว่าปริมาณความชื้นในธัญพืชเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Munkvold และคณะ, 2019) โดยนอกจากนี้ปริมาณความชื้นยังมีผลต่อราคาการซื้อขายผลิตภัณฑ์ และส่งผลกระทบต่อระยะเวลาที่สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ อีกทั้งในระหว่างกระบวนการลดปริมาณความชื้นต้องทำการชั่งตัวอย่างเพื่อทำการวัดปริมาณความชื้น เช่นในกรณีของถั่วลิสงหากมีปริมาณความชื้นเกินร้อยละ 9 จะทำการสุ่มตรวจปริมาณอะฟลาทอกซิน จึงมีการกำหนดมาตรฐานปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดโดยมาตรฐานความชื้นของเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 มาตรฐานปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

ผลิตภัณฑ์	ข้อกำหนดร้อยละ ปริมาณความชื้น มาตรฐาน (%)	หมายเหตุ	เลขเอกสาร
พริกไทยดำ	13	-	มอก.297-2556
พริกไทยดำปน	12	-	มอก.297-2556
พริกไทยขาว	14	-	มอก.297-2556
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	18	ค่ามาตรฐานการลด ความชื้นภายใน 48 ชั่วโมง สำหรับเก็บรักษา 3 วัน	มกษ. 4405-2555
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	14	เก็บรักษา 3 เดือน	มกษ. 4405-2555
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	13	เก็บรักษา 12 เดือน	มกษ. 4405-2555
เมล็ดถั่วลิสง	9	โดยพื้นที่หลังกะเทาะ	มกษ. 4901-2555
พริกไทยดำ	12	-	CXS 326-2017
เมล็ดถั่วลิสง	9	-	CXS 200-1995
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	15.5	-	CXS 153-1985

ที่มา: Codex Alimentarius Commission (1985, 1995, 2017), สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2555, 2555), สำนักงานมาตรฐานสินค้าอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม (2556)

## 2.6 สถานการณ์การปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน

ฐนิตา และคณะ (2551) ศึกษาการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์คือข้าวโพด โดยสุ่มเก็บตัวอย่างวัตถุดิบจากร้านขายอาหารสัตว์จำนวน 1 ร้าน ฟาร์มขนาดกลางจำนวน 1 ฟาร์ม และบริษัทผู้ผลิตอาหารสัตว์จำนวน 2 บริษัท แบ่งช่วงการเก็บตัวอย่างเป็น 3 ช่วง ได้แก่ช่วงฝนเบาบาง (พ.ค.-ส.ค.) ช่วงฝนหนัก (ก.ย.-ม.ค.) และช่วงฝนแล้ง (ก.พ.-เม.ย.) รวมตัวอย่างทั้ง 3 ช่วงจำนวนทั้งสิ้น 12 ตัวอย่าง ผลการวิจัยพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณอะฟลาทอกซินในข้าวโพดช่วงฝนหนักคือ 23.75  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ฝนเบาบาง 7.38  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และช่วงฝนแล้ง 4.94  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ตามลำดับ โดยค่าการ

ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินจากการวิเคราะห์หมีค่าต่ำกว่าค่าสูงสุดที่กำหนดให้มีได้ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ และอาหารตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ที่กำหนดให้มีค่าไม่เกิน 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$

ชาคริยา และสุนันทา (2555) ศึกษาเพื่อบ่งชี้ชนิดจุลินทรีย์และตรวจหาสารพิษอะฟลาทอกซินจากอาหารที่จำหน่ายในจังหวัดตรังจำนวน 10 ชนิด ตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด ได้แก่ เต้าหู้ยี้ เต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว ถั่วลิสงแห้ง ถั่วลิสงป่น พริกแห้ง พริกป่น หอม กระเทียมและเครื่องแกง รวม 100 ตัวอย่าง ผลการวิจัยพบว่า 24 ตัวอย่าง จากถั่วลิสงป่น ถั่วลิสงแห้ง พริกป่นและพริกแห้ง มีปริมาณ AFB1 อยู่ในช่วง 26.08 – 289.52  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ซึ่งมีระดับสูงกว่าที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ (ไม่เกิน 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (กระทรวงสาธารณสุข, 2522)

ศศิธร และคณะ (2558) ศึกษาเรื่องการปนเปื้อนเชื้อราและอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภคพบว่าจากการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภคจากร้านค้าปลีก ร้านค้าส่ง ห้างสรรพสินค้า ซูเปอร์มาร์เก็ต ตลาดสดและตลาดนัดในเขตกรุงเทพมหานครจำนวน 266 ตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ถั่วลิสง พิสทาชิโอ อัลมอนต์ แมคคาเดเมีย ลันเตา ปากอ้า เกาลัด ถั่วเขียวผ่าซีก และเม็ดมะม่วงหิมพานต์พบการปนเปื้อนเชื้อรา 67 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25.19 พบการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.51 โดยพบที่ปริมาณตั้งแต่ 1.02- 204.90  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ในถั่วลิสงอบกรอบ ขนมตัดบับ และถั่วลิสงป่น โดยตัวอย่างที่พบเกินเกณฑ์มาตรฐานพระราชบัญญัติกระทรวงสาธารณสุข 2522 ที่กำหนดให้ไม่เกิน 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  จำนวน 7 ตัวอย่าง

Lien และคณะ (2019) ศึกษาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสงที่นำเข้าจากประเทศจีน อินโดนีเซีย ไทย สหรัฐอเมริกา เวียดนาม ญี่ปุ่น และฟิลิปปินส์ มาในประเทศไทยได้หวน จำนวน 1,089 ตัวอย่าง ได้แก่ ขนมถั่วลิสง เนยถั่ว เก็บตัวอย่างในปี 2554-2560 พบว่าจำนวน 262 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 24 พบการปนเปื้อนของ AFB1 โดยพบปริมาณเฉลี่ยที่  $2.40 \pm 21.33 \mu\text{g}/\text{kg}$  โดยปริมาณ AFB1 ที่พบมากที่สุดจากผลิตภัณฑ์จากประเทศอินโดนีเซียพบการปนเปื้อนที่ 432.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  โดยการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินทั้งหมดในผลิตภัณฑ์จากแต่ละประเทศ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) และปริมาณสูงสุดที่พบอะฟลาทอกซิน (maximum) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสงจากแต่ละประเทศ

ประเทศ	จำนวน ตัวอย่าง	mean±SD	ร้อยละการปนเปื้อน N (%)	ปริมาณสูงสุดที่พบ (µg/kg)
จีน	49	0.947±1.953	17 (35%)	8.1
เวียดนาม	307	4.180±24.555	75 (24%)	258.3
อินโดนีเซีย	80	11.805±50.257	24 (30%)	412.0
ไทย	103	1.562±14.111	13 (13%)	143.0
สหรัฐอเมริกา	97	1.372±3.892	41 (42%)	28.0
ฟิลิปปินส์	109	1.053±2.363	51 (47%)	14.2
ญี่ปุ่น	344	1.784±24.002	46 (13%)	441.0

ที่มา: Lien และคณะ (2019)

Qi และคณะ (2019) ศึกษาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในน้ำมันถั่วลิสงจากมณฑลกว่างตุง ประเทศจีน จำนวน 427 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างในปี ค.ศ. 2016-2017 พบว่า ในปี 2016 พบการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินปี 1 ในตัวอย่างจำนวน 47 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22.5 โดยพบที่ปริมาณ 15.4–49.9 µg/kg และพบการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินปี 1 ในปี 2017 จำนวน 33 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.1 โดยพบที่ปริมาณ 8.8–22.2 µg/kg

Zahra และคณะ (2018) ศึกษาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในเครื่องเทศและผลไม้อบแห้ง จำนวน 90 ตัวอย่าง ประกอบด้วย พริกแดง พริกไทยดำ มะเดื่อ และแอปริคอตแห้งจากร้านค้าในตลาดที่ตั้งอยู่ในประเทศปากีสถานพบว่าตัวอย่าง 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26 พบมีปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินอยู่ระหว่าง 23.99-97.42 µg/kg

Torabi และคณะ (2018) ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อราและอะฟลาทอกซินปี 1 ในข้าวโพดหมักจำนวน 80 ตัวอย่างที่ถูกสุ่มมาจากฟาร์มเพาะพันธุ์สุสัตว์ 4 เมืองในจังหวัดเฮซด์ ประเทศอิหร่านในฤดูหนาวและฤดูใบไม้ผลิ (ฤดูกาลละ 40 ตัวอย่าง) ผลการวิจัยพบว่าเชื้อราที่แยกได้มากที่สุดจากผลผลิตในฤดูหนาวคือ *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp. , *Mucor* spp. และ *Fusarium* spp. (4.8%) คิดเป็นร้อยละ 49.3, 23, 22.3 และ 4.8 ตามลำดับ และผลผลิตในฤดูใบไม้ผลิ

*Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, *Mucor* spp. และ *Fusarium* spp. (4.8%) คิดเป็นร้อยละ 46.9, 21.8, 28.5 และ 2.8 การปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินปี 1 ในฤดูใบไม้ผลิและฤดูหนาวพบโดย ปริมาณที่พบเฉลี่ยที่ 0.25 และ 0.21  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ตามลำดับ สถานการณ์ปัญหาการปนเปื้อนอะฟลาทอก ซินที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์อาหารและอาหารสัตว์ในปี ค.ศ. 2016-2018 เป็นปัญหาที่เกิดขึ้นในหลาย ประเทศ และหลายผลิตภัณฑ์แสดงดังตารางที่ 5





ตารางที่ 5 ตัวอย่างการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารและอาหารสัตว์

ประเทศ	ผลิตภัณฑ์	จำนวน ตัวอย่าง	ชนิด อะฟลาทอกซิน	ร้อยละ การ ปนเปื้อน N (%)	ปริมาณ เฉลี่ย ที่พบ	ที่มา
ตะวันออก ของเคนย่า	ข้าวโพด	416	B1	274 (66.0)	67.8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ <sup>1</sup>	(Mahuku และ คณะ, 2019)
ตะวันตก เฉียงใต้ของ เคนย่า	ข้าวโพด	373	B1	233 (85.3)	22.3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ <sup>1</sup>	
ตุรกี	พริกชี้หูแดง	4	B1, B2, G1 และ G2	4 (100)	4.61 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ <sup>1</sup>	(Cavus และ คณะ, 2018)
	พริกไทยดำ	4	B1, B2, G1 และ G2	4 (100)	1.24 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ <sup>1</sup>	
	ผักชี	4	B1, B2, G1 และ G2	2 (50)	0.03 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ <sup>1</sup>	
	เครื่องเทศผสม	4	B1, B2, G1 และ G2	4 (100)	0.37 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ <sup>1</sup>	
ญี่ปุ่น	ข้าวโพด	246	B1	46%	3.9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	(Nomura และ คณะ, 2018)
	ถั่วเหลือง	126	B1	30%	6.7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	
	อาหารสัตว์	861	B1	47%	1.6 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	
จีน	ข้าวสาลี	32	B1	18.8%	0.06 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ <sup>1</sup>	(Singh และ คณะ, 2019)
	ผลิตภัณฑ์ จากข้าวสาลี	146	B1	8.2%	0.05 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ <sup>1</sup>	
บราซิล	เมล็ดโกโก้	123	B1, B2, G1 และ G2	20 (16.3)	5.7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	(Pires และคณะ , 2019)

## 2.7 มาตรฐานปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหาร

โดยในปัจจุบันมีข้อกำหนดกฎหมายเพื่อควบคุมปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดระหว่างประเทศเช่น องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) ร่วมกับองค์การการค้าโลก (World Trade Organization, WTO) กำหนดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารแต่ละชนิดตามโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission, CAC) มาตรฐานตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป (EU standard) มาตรฐานตามข้อกำหนดของประเทศญี่ปุ่น และมาตรฐานตามข้อกำหนดของประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ ในขณะที่เดียวกันในประเทศไทยก็มีข้อกำหนดเพื่อควบคุมปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดภายในประเทศเช่น มาตรฐานตามข้อกำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) มาตรฐานตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ปสร.) และมาตรฐานตามข้อกำหนดของมาตรฐานสินค้าเกษตร (มกษ.) แสดงปริมาณอะฟลาทอกซิน ที่อนุญาตให้พบตามมาตรฐานแสดงดังตารางที่ 6



ตารางที่ 6 มาตรฐานกำหนดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารระหว่างประเทศ

มาตรฐาน	หมายเลขเอกสาร	ผลิตภัณฑ์	รายการทดสอบ	เกณฑ์การยอมรับ
Regulation (EC)	1881/2006	ถั่วลิสงและ ถั่วอื่นๆ ชนิดพร้อมรับประทาน	Aflatoxin B1 Total Aflatoxin	$\leq 2.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$ $\leq 4.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$
Regulation (EC)	1881/2006	เครื่องเทศ: พริกไทย จันทร์เทศ ชิง และขมิ้น รวมถึงผลิตภัณฑ์ (ผ่านกระบวนการผลิต)	Aflatoxin B1 Total Aflatoxin	$\leq 5.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$ $\leq 10.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$
Regulation (EC)	1881/2006	ข้าวโพดที่ไม่ผ่านกระบวนการ	Aflatoxin B1 Total Aflatoxin	$\leq 5.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$ $\leq 10.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$
Codex standard	193-1995	ถั่วลิสง	Total Aflatoxin	$\leq 15.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$
มาตรฐานญี่ปุ่น	Ministry of Health, Labour and Welfare	อาหารทุกชนิด	Aflatoxin B1	$\leq 10.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$
มาตรฐานออสเตรเลียและนิวซีแลนด์	ANZFA (Australia New Zealand Food Authority)	อาหารทุกชนิด เนยถั่วลิสง	Aflatoxin B1 Aflatoxin B1	$\leq 10.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$ $\leq 15.0 \mu\text{g.kg}^{-1}$

ที่มา: กรมวิชาการเกษตร (2556)

โดยพบว่าข้อกำหนดมาตรฐานปริมาณการปนเปื้อน AFB1 ในผลิตภัณฑ์อาหารของแต่ละประเทศอยู่ในช่วง 2 – 15  $\mu\text{g/kg}$  จึงมีความสำคัญต่อการวิเคราะห์หาปริมาณ AFB1 ในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิดให้เป็นไปตามมาตรฐานสำหรับการซื้อขายในแต่ละประเทศ

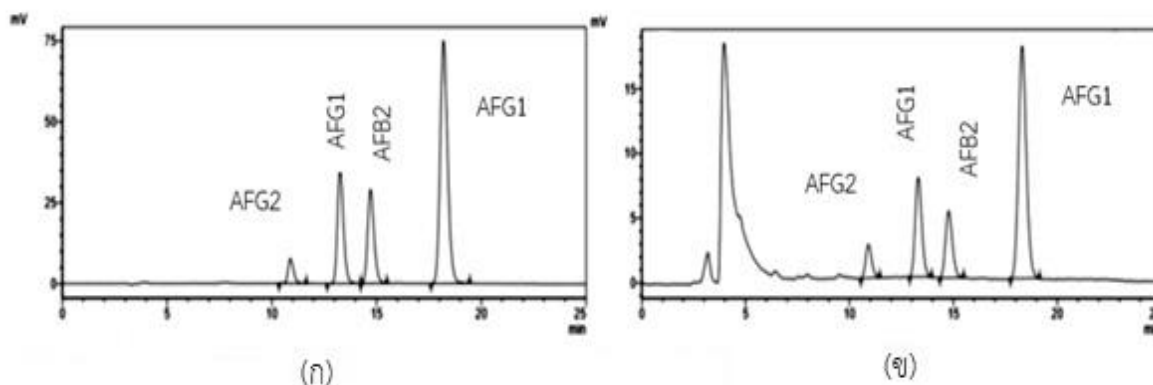
## 2.8 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินบี 1

การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินบี 1 สามารถทำได้หลายวิธีแต่ขั้นตอนเบื้องต้นก่อนนำไปวิเคราะห์อะฟลาทอกซินจะต้องมีการสุ่มตัวอย่างที่สามารถเป็นตัวแทนของประชากรทั้งหมด เนื่องจากการปนเปื้อนสารพิษเชื้อราในธรรมชาติมีลักษณะปนเปื้อนเฉพาะจุด (hot spot) และกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ หลังจากนั้นจะนำตัวอย่างไปทำการสกัดแยกอะฟลาทอกซินซึ่งมีหลายวิธี ได้แก่ 1) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) โดยทั่วไปนิยมใช้ตัวทำละลายมีขั้ว (aqueous polar solvent) ได้แก่ เมทานอล และอะซิโตรไนไตรล์ (Pascale, 2009) และนำสารสกัดที่ได้ไปทำความสะอาด (purification และ cleanup) เพื่อกำจัดองค์ประกอบที่ไม่ต้องการเช่น รงควัตถุสีในตัวอย่าง ไขมัน และน้ำมันซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีได้แก่ การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน (hexane) หรือปิโตรเลียมอีเทอร์ใช้ในการแยกไขมันออกจากสารสกัด การใช้เลดอะซิเตต (lead acetate) หรือคอปเปอร์คาร์บอเนต (copper carbonate) ใช้สำหรับกำจัดรงควัตถุสี (Pons และคณะ, 1966) 2) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (solid phase extraction : SPE) และ 3) การใช้ภูมิโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column: IAC) ที่สามารถแยกสารให้บริสุทธิ์ภายในขั้นตอนเดียวได้ (Penpun, 2004) โดยอาศัยหลักการใช้คอลัมน์ซึ่งมี monoclonal antibodies จับกับอะฟลาทอกซิน (อะฟลาทอกซิน) ที่สนใจเท่านั้น หลังจากนั้นจะใช้เมทานอลชะ (elute) เอาอะฟลาทอกซินออกไปทำการวิเคราะห์ต่อไป (Yao และคณะ, 2015, บดินทร์ บุตรอินทร์, 2555) ขั้นตอนการแยกและการตรวจวัดอะฟลาทอกซินมีหลายวิธี โดยในประเทศไทยวิธีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินตามมาตรฐานสินค้าเกษตรแสดงดังตารางที่ 7

## ตารางที่ 7 วิธีวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน

วิธีวิเคราะห์	หลักการ
เอโอเอซี (AOAC) 991.31	อิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column: Aflatest)
เอโอเอซี (AOAC) 993.17	โครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (Thin layer chromatography)
เอโอเอซี (AOAC) 975.36	โรเมอร์มินิคอลัมน์ (Romer minicolumn)
อีเอ็น (EN) 12955	โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่มีโพสต์คอลัมน์ดีไรเวไทเซชัน
ไอเอสโอ (ISO) 16050	และอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์สำหรับทำความสะอาด (HPLC with post column derivatization and immunoaffinity column clean up)
เอโอเอซี (AOAC) 979.18	ฮอลาเดย์-เวลาสโก มินิคอลัมน์ (Holaday-Velasco minicolumn)

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography: HPLC) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin) และปริมาณของอะฟลาทอกซินที่นิยมมากที่สุด โดยวิธีการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินด้วยเทคนิค HPLC ตัวอย่างที่ถูกสกัดจะถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์โครมาโทกราฟี HPLC และองค์ประกอบแต่ละตัวจะถูกแยกออกจากกันโดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) (Turner และคณะ, 2015) ปัจจุบันมีการศึกษาสภาวะการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยวิธี HPLC หลายรูปแบบ ยกตัวอย่างเช่น Pires และคณะ (2019) ใช้เครื่อง Shimadzu LC20AT HPLC system (Kyoto, Japan) และเครื่องตรวจวัดชนิด fluorescence detector (FD) โดยทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่นที่กระตุ้น (wavelengths of excitation) และความยาวคลื่นที่คายแสง (wavelengths of emission) ที่ 332 และ 476 นาโนเมตร ตามลำดับ คอลัมน์โครมาโทกราฟี HPLC ที่ใช้ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร ขนาด 250 × 4.6 มิลลิเมตร และใช้ mobile phase เป็น น้ำ:เมทานอล:อะซิโตรไนไตรล์ อัตราส่วน (6:2:2, v/v/v) แสดง HPLC-FD โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน (aflatoxin: AF) ชนิด B1, B2, G1 และ G2 และโครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ทั้ง 4 ชนิดตามธรรมชาติดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 HPLC-FD โครมาโทแกรม

(ก) สารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน AFB1, AFB2, AFG1 และ AFG2

(ข) ตัวอย่างที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินตามธรรมชาติ

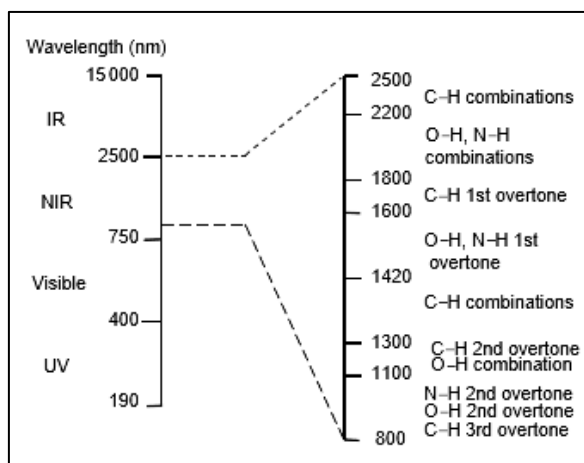
ที่มา: Pires และคณะ (2019)

## 2.9 หลักการเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy, NIRS)

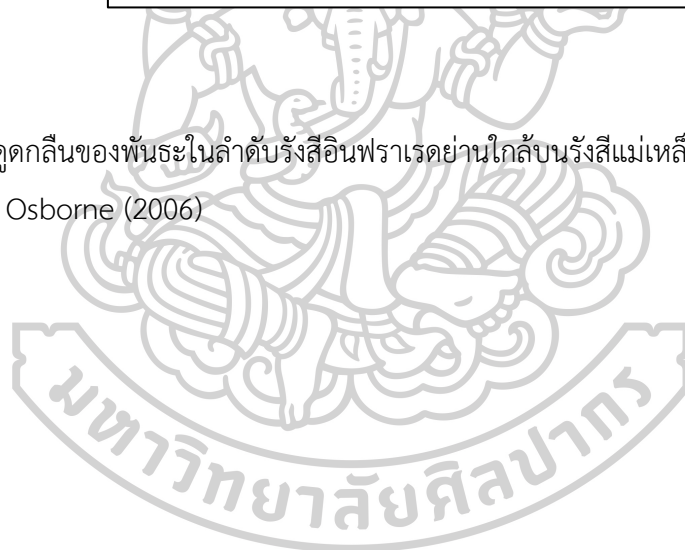
รังสีอินฟราเรดย่านใกล้เป็นส่วนหนึ่งของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่น (wave length, nm) ตั้งแต่ 750 ถึง 2500 นาโนเมตร หรือเลขคลื่น (wave number,  $\text{cm}^{-1}$ ) ระหว่าง 4000 ถึง  $12500 \text{ cm}^{-1}$  การใช้เทคนิค NIRS อาศัยหลักการที่สารอินทรีย์จะประกอบด้วยอะตอมและเชื่อมต่อกันด้วยพันธะระหว่างอะตอม (chemical bond) โดยตามธรรมชาติพันธะระหว่างอะตอมในโมเลกุลของสารอินทรีย์จะมีการสั่นแบบพื้นฐาน (fundamental vibration) 2 ลักษณะได้แก่ การยืดหด (stretching) และการเปลี่ยนมุมหรือการงอ (bending) โดยความถี่ของการสั่นจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของพันธะและมวลของอะตอมที่อยู่ระหว่างพันธะ เมื่อได้รับการส่องรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความยาวคลื่น NIR ผ่านตัวอย่าง ถ้าหากปริมาณพลังงานหรือความถี่ของรังสี NIR ณ ความยาวคลื่นใดตรงกับความถี่ของการสั่นของพันธะนั้น ตัวอย่างจะดูดกลืนและกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพันธะระหว่างอะตอมในโมเลกุลได้แก่ การสั่นแบบโอเวอร์โทน (overtone vibration) และคอมบิเนชัน (combination vibration) แสดงช่วงการดูดกลืนของพันธะดังภาพที่ 4 โดยความยาวคลื่นที่จำเพาะต่อหมู่ฟังก์ชันของโมเลกุลอะฟลาทอกซินที่ทำให้เกิดการดูดกลืนดังตารางที่ 8

ปริมาณการดูดกลืนแสงของตัวอย่างจะแปรผันตรงเป็นสัดส่วนกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสงตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต (Beer - Lambert Law or law of light absorption) นิยมแสดงในรูปของสเปกตรัมคือค่าการดูดกลืนแสงที่แต่ละความยาวคลื่น และด้วยเหตุนี้จึงทำให้

เทคนิค NIRS สามารถวิเคราะห์สารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชัน C-H, O-H, S-H และ N-H เป็นองค์ประกอบได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Osborne, 2006, Siesler และคณะ, 2008)



ภาพที่ 4 การดูดกลืนของพันธะในลำดับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้บนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า  
ที่มา: Osborne (2006)



ตารางที่ 8 ตำแหน่งการดูดกลืนแสงของข้าวกล้องปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ปี 1

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)*	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)**	การสั่นของพันธะ (bond vibration)**	โมเลกุล (structure)**
970	970	O-H str. second overtone	ROH, H <sub>2</sub> O
1000	1000	O-H str. second overtone	ROH
1020	1020	2 × NH str. + 2 amide I N-H str. second overtone	โปรตีน (protein) ArNH <sub>2</sub>
1140	1140	2 × CH str. + 2 CH dif. + (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>	น้ำมัน (oil)
1200	1200	C-H str. second overtone	CH <sub>3</sub>
1405	1405	O-H str. first overtone	ROH
1430	1430	N-H str. first overtone	CONH <sub>2</sub>
1450	1450	O-H str. first overtone	แป้ง (starch), H <sub>2</sub> O
1480	1480	O-H str. first overtone (intramol. H bond)	กลูโคส (glucose)
1515	1515	N-H str. first overtone	โปรตีน (protein)
1530	1530	N-H str. first overtone	RNH <sub>2</sub>
1545	1545	O-H str. first overtone (intramol. H bond)	แป้ง (starch)
1570	1570	N-H str. first overtone	-CONH <sup>-</sup>

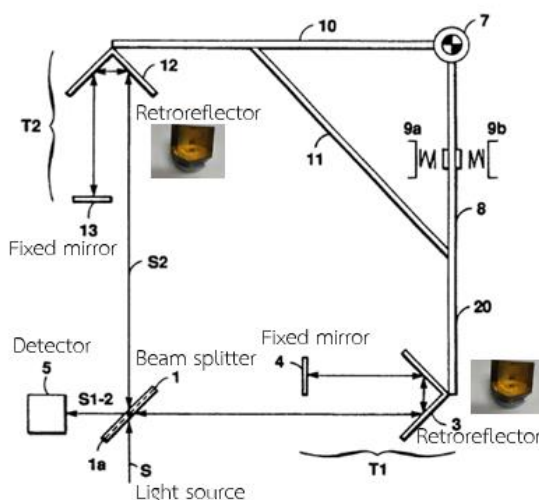
หมายเหตุ \*ความยาวคลื่นของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐานเลือกจากสมการที่มีค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยสูงของแบบจำลอง PLS ในการทำนายปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน ปี 1 ในข้าวกล้อง

\*\* ข้อมูลตำแหน่งการดูดกลืนแสงจาก Osborne และ Fearn (1986)

ที่มา: Sirisomboon และคณะ (2019)

ส่วนประกอบหลักของ NIR spectrometer ประกอบด้วย 1) แหล่งกำเนิดแสง (light source) 2) ระบบแยกลำแสง (beam splitter system) 3) บริเวณใส่ตัวอย่าง (sample detector หรือ chamber) 4) ตัวตรวจวัดสัญญาณ (optical detector) และ 5) ระบบประมวลผล (data processing analyzed system) แสดงตำแหน่งของส่วนประกอบหลักของเครื่อง NIR spectrometer (Cen และ He, 2007) ดังภาพที่ 5





ภาพที่ 5 องค์ประกอบของเครื่อง FT-NIR spectrometer (รุ่น MPA S/N2197, Bruker, Germany)

ที่มา: (Simon และคณะ, 1994)

ระบบการวัดของเทคนิค NIRS (measurement modes) ที่ส่วนใหญ่นิยมใช้งานคือ (1) การส่องผ่าน (transmittance) (2) การส่องผ่านสะท้อน (transflectance) (3) การสะท้อนกลับ (reflectance) และ อินเตอร์แอคแทนซ์ (Interactance) (Cen และ He, 2007, Osborne, 2006, Reich, 2005)

การดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วง NIR สเปกตรัมที่มีลักษณะฐานกว้างและเตี้ย (broad band) และลักษณะซ้อนพิก (overlapping band) (Osborne, 2006) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่มีอิทธิพลที่มีผลต่อการวิเคราะห์ NIRS คือปัจจัยที่ส่งผลทำให้ลักษณะสเปกตรัมของตัวอย่างเปลี่ยนแปลงไปโดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไม่ได้มาจากการเปลี่ยนแปลงจำนวนโมเลกุลขององค์ประกอบที่สนใจศึกษาวิเคราะห์ เช่น อุณหภูมิของตัวอย่าง ลักษณะทางกายภาพของตัวอย่าง อุณหภูมิห้องเครื่องมือวัด NIR ปริมาณความชื้น และขนาดของอนุภาคตัวอย่าง เป็นต้น การปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์เพื่อกำจัดอิทธิพลดังกล่าว ซึ่งจะบิดเบือนการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่สนใจ โดยวิธีการปรับแต่งสเปกตรัมที่ใช้ได้แก่ การทำให้สัญญาณเรียบ (smoothing) แบบซาวิตซ์กี-โกเลย์ (Savitzky-Golay: SG) เพื่อลดผลของสัญญาณรบกวน (Gorry, 1990) การใช้อนุพันธ์อันดับหนึ่ง (first derivative: 1<sup>st</sup> derivative) เพื่อช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอด

ช่วงความยาวคลื่น (baseline offset) การใช้อนุพันธ์อันดับสอง (second derivative: 2<sup>nd</sup> derivative) เพื่อกำจัดผลของการเคลื่อนเนื่องจากเส้นฐาน (baseline shift) การใช้การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (multiplicative scatter correction: MSC) และการปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน (standard normal variate: SNV) เพื่อกำจัดผลของการกระเจิงแสงจากขนาดของอนุภาค (Barnes และคณะ, 1989) และในบางกรณีสเปกตรัมจะต้องใช้การปรับแต่งมากกว่า 1 วิธีร่วมกัน (Roberts และคณะ, 2004)

ขั้นตอนการประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพประกอบด้วยสองขั้นตอนหลักได้แก่ การสร้างข้อมูลสเปกตรัมโดยนำตัวอย่างไปทำการวัดในช่วงคลื่น NIR และสร้างข้อมูลทางเคมีโดยนำเอาตัวอย่างที่ผ่านการวัดค่าการดูดกลืนแสง NIR ไปทำการวิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธีมาตรฐาน เมื่อได้ข้อมูลครบแล้วจึงนำไปหาความสัมพันธ์เพื่อสร้างเป็นสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า (calibration model) ด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติ วิธีที่นิยมใช้ได้แก่ การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression, MLR) การถดถอยองค์ประกอบหลัก (principal component regression, PCR) การถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least squares, PLS) และ โครงข่ายประสาทเทียม (artificial neuron network, ANN) เป็นวิธีการในการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่นิยมใช้ (Cen และ He, 2007) และวิธีการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเช่น สมการเชิงเส้นเพื่อการจำแนกกลุ่ม (linear discriminant analysis, LDA) (Coomans และคณะ, 1983) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principle component analysis, PCA) (Geladi และ Kowalski, 1986) การวิเคราะห์การจำแนกกลุ่มด้วยวิธี PLS (Partial least square discriminant analysis, PLS-DA) (Indahl และคณะ, 1999) การจำแนกกลุ่มด้วยวิธี soft independent modeling of class analogy (SIMCA) (Pontes และคณะ, 2005) และโครงข่ายประสาทเทียม (artificial neural network, ANN) (Marley และคณะ, 2001)

สมการเทียบมาตรฐานแต่ละสมการสามารถเปรียบเทียบค่าทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จริง และค่าที่ทำนายได้จากสมการ เพื่อนำมาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation: R) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (standard error of calibration: SEC) จากนั้นทำการตรวจสอบความแม่นยำของการทำนายด้วยกลุ่มตัวอย่างสำหรับทวนสอบสมการ (validation set) (รณฤทธิ์, 2555) มี 2 วิธี ได้แก่ test set และ cross validation (Martens และ Dardenne, 1998) แต่นิยมใช้กลุ่มตัวอย่างแบบ test set เนื่องจากหากสมการเทียบมาตรฐานหากสมการที่สร้างขึ้นมีค่า R และ SEC ใกล้เคียงกัน การตัดสินใจ

เลือกสมการเทียบมาตรฐานไปใช้อาจผิดพลาดได้ จึงต้องใช้กลุ่มตัวอย่างใหม่ในการทดสอบความแม่นยำ เพื่อให้ได้ค่าสถิติในการตัดสินใจเลือกสมการเทียบมาตรฐานได้แก่ ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย (bias) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ (standard error of prediction, SEP) เมื่อเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดแล้ว การประเมินผลความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานสามารถอธิบายได้จากค่าสถิติ ratio of standard error of prediction to standard deviation (RPD) (รณฤทธิ์, 2555) แสดงดังตารางที่ 9 และตารางที่ 10

ตารางที่ 9 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า R และ R<sup>2</sup>

R	R <sup>2</sup>	ประสิทธิภาพของสมการทำนาย
± 0.5	0.25	ไม่ควรใช้ในการทำนาย
± 0.51-0.70	0.26-0.49	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ
± 0.71-0.80	0.50-0.64	สามารถใช้คัดเลือกเบื้องต้นได้
± 0.81-0.90	0.65-0.81	สามารถใช้ในการคัดเลือกหรือประมาณค่าเบื้องต้น
± 0.91-0.95	0.82-0.91	สามารถใช้ตรวจคุณภาพได้
± 0.96-0.98	0.92-0.96	สามารถใช้ในงานประกันคุณภาพได้
± 0.99 ขึ้นไป	0.98 ขึ้นไป	สามารถใช้ได้กับทุกงาน

ที่มา: Williams (2007)

ตารางที่ 10 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า RPD

RPD	การแยกกลุ่มตัวอย่าง (classification)	การวิเคราะห์ที่ใช้เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณ
0.0-2.3	แย่มาก (vary poor)	ไม่แนะนำให้ใช้ (not recommended)
2.4-3.0	ไม่ดีพอ (poor)	การแบ่งปริมาณอย่างหยาบ (very rough screening)
3.1-4.9	ปานกลาง (fair)	การแบ่งระดับปริมาณ (screening)
5.0-6.4	ดี (good)	การควบคุมคุณภาพ (quality control)
6.5-8.0	ดีมาก (very good)	การควบคุมกระบวนการ (process control)
8.1 ขึ้นไป	ยอดเยี่ยม (excellent)	ทุกงาน (any application)

ที่มา: Williams (2001)

## 2.10 การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการทำนายปริมาณความชื้นธัญพืชและเครื่องเทศ

ในปัจจุบันมีการศึกษาการใช้เทคนิค NIRS สำหรับใช้ประเมินคุณภาพเมล็ดพืชและเครื่องเทศ โดยการประเมินปริมาณความชื้นพบว่าได้ผลความแม่นยำในการทำนายไม่ต่างจากวิธีมาตรฐาน สามารถช่วยใช้ในการจำแนกคุณภาพสำหรับกำหนดราคาซื้อขาย ในผลิตภัณฑ์ที่มีผลผลิตจำนวนมาก โดยมีการศึกษาการวัดกับเมล็ดพืชหลายเมล็ด (whole kernels) การวัดกับเมล็ดพืชหนึ่งเมล็ด (single kernel) หรือการวิเคราะห์ตัวอย่างแบบบด (ground samples) แสดงดังตารางที่ 11



ตารางที่ 11 งานวิจัยที่แสดงถึงความสามารถของศึกษาการใช้เทคนิค NIRS ในการทำนายปริมาณความชื้นในเมล็ดพืชและเครื่องเทศ

ตัวอย่างที่ศึกษา	ปริมาณความชื้น % wet based	จำนวนตัวอย่าง	ความยาวคลื่น (nm) หรือ เลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	ระบบการวัด	การวิเคราะห์ข้อมูล	ค่าความแม่นยำ	อ้างอิง
ขมิ้นชัน	7 - 9.5	120	12,500 - 3600 cm <sup>-1</sup> .	แบบสะท้อน	PLS	RMSECV = 0.032% R <sup>2</sup> = 81.1	Thangavel และ Dhivya (2019)
ข้าว	13 -30	90	950-1650 nm	แบบสะท้อน	PLS	RMSEP = 0.89, R <sup>2</sup> = 0.97	Lin และคณะ (2019)
ข้าวเปลือก	11.8-27.5	-	1000-2500 nm	แบบสะท้อน	CARS*	RMSEP = 0.93, R <sup>2</sup> = 0.98	Makky และคณะ (2018)
ข้าว	11.5 -28.7	-	-	-	PLS	RMSEP =2.095, R = 0.97 Bias = 0.2	(Heman และ Hsieh, 2016)
single kernel (SK)	-	180	400-1050 nm	แบบสะท้อน	PLS	SEP = 2.51 Rp = 0.92	
multi kernels (MK)	-	240	-	-	PLS	SEP = 3.47 Rp = 0.85	
multi kernels (CMK)	-	240	-	-	PLS	SEP = 2.92 Rp = 0.89	

หมายเหตุ \*CARS = competitive adaptive reweighted squares

## 2.11 การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการวิเคราะห์การปนเปื้อนอะฟลาทอกซินอาหาร

ปัจจุบันผู้บริโภคและผู้นำเข้า-ส่งออกอาหารตระหนักถึงข้อจำกัดทางการค้าด้านมาตรฐานสินค้า และเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ เป็นเทคนิคที่นำมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณองค์ประกอบต่างๆ ในอาหาร (Osborne และคณะ, 2007) และมีการศึกษาการนำเทคนิค NIRS มาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณไมโครทอกซินในระดับความเข้มข้นหนึ่งในพันล้านส่วน (parts per billion, mg kg<sup>-1</sup>) ระดับความเข้มข้นส่วนหนึ่งในล้านล้านส่วน (parts per trillion, ppt) (Cattaneo และคณะ, 2008) แสดงดัง

Feifei และคณะ (2018) ศึกษาการใช้เทคนิค Vis/NIR Spectroscopy ในการจำแนกกลุ่มเมล็ดถั่วลิสงที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินปี 1 โดยการวิเคราะห์การจำแนกประเภทด้วยแบบจำลองการจำแนกกลุ่มเทคนิคกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (PLS-DA) และ Least-squares support-vector machine (LS-SVM) ให้ผลการจำแนกที่น่าพอใจในช่วงความยาวคลื่น 410-1070 นาโนเมตร และช่วง 1120-2470 นาโนเมตร โดยใช้เกณฑ์การแบ่งที่ระดับความเข้มข้นอะฟลาทอกซิน 20 และ 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม การจำแนกกลุ่มด้วยเทคนิค PLS-DA ดีที่สุดใช้การทำนายจากสเปกตรัมที่ความยาวคลื่น 410-2470 นาโนเมตร ได้ความถูกต้องของการทำนายร้อยละ 88.6 และ 91.4 ตามลำดับ ส่วนเทคนิค LS-SVM สามารถจำแนกได้ดีที่สุดโดยการทำนายจากสเปกตรัมที่ความยาวคลื่น 410-2470 นาโนเมตร ได้ความถูกต้องของการทำนายร้อยละ 90.0 และ 97.1 ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อใช้เทคนิคการเลือกความยาวคลื่นแบบ competitive adaptive reweighted sampling (CARS) สามารถลดข้อมูลสเปกตรัมที่นำมาสร้างแบบจำลองร่วมกับ PLS-DA และ LS-SVM โดยร้อยละการจำแนกกลุ่มถั่วลิสงที่ปนเปื้อน ในระดับ 20 และ 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ให้ค่าความถูกต้องมากกว่าร้อยละ 90 ทุกแบบจำลองการจำแนกกลุ่ม

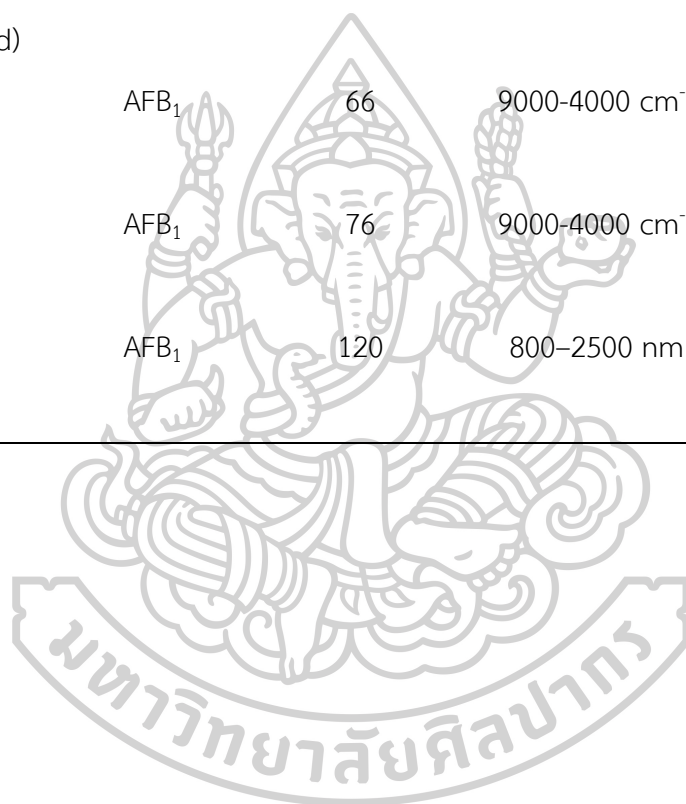
Cattaneo และคณะ (2008) ศึกษาการใช้เทคนิค NIRS ในการติดตามปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน เอ็ม 1 (AFM<sub>1</sub>) ในซีส กำหนดปริมาณการปนเปื้อน AFM<sub>1</sub> แตกต่างกันจากการกำหนดระยะเวลาการเก็บบ่มซีสตั้งแต่ 0-19 วัน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุก 3 วัน ใช้ช่วงความยาวคลื่น 850-1050 นาโนเมตร จำนวน 42 ตัวอย่าง ด้วยระบบการวัดแบบส่องผ่าน ผลการศึกษาสมการทำนายปริมาณการปนเปื้อน AFM<sub>1</sub> หาความสัมพันธ์ด้วยเทคนิค PLS มีค่า R<sup>2</sup> และ RMSECV เท่ากับ 0.743 และ 99.73 ppt ตามลำดับและแยกตัวอย่างที่มีการปนเปื้อน AFM<sub>1</sub> ได้ จะเห็นว่าเทคนิค NIRS สามารถหาปริมาณสารที่มีความเข้มข้นระดับมากกว่า 50 ppt ได้นั้นเป็นการวิเคราะห์ทางอ้อม

โมเลกุลของ  $AFM_1$  เชื่อมติดอยู่กับองค์ประกอบของเคซีนโปรตีน โดยความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์ระหว่าง  $AFM_1$  และเคซีนในนมคือ 950 นาโนเมตร

Fernández-Ibañez และคณะ (2009) ศึกษาการใช้เทคนิค NIRS ในการติดตามปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินบี 1 ( $AFB_1$ ) ในข้าวโพดและข้าวบาเลย์ ช่วงความเข้มข้น  $AFB_1$  15-50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  กำหนดปริมาณการปนเปื้อน  $AFB_1$  แตกต่างกันจากนำข้าวโพดและข้าวบาเลย์ ที่ระเหยน้ำให้เหลือปริมาณความชื้นในช่วงร้อยละ 10-27 ซึ่งจะนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ  $20 \pm 2$  องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 เดือนสภาวะนี้จะเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญของเชื้อราและสร้างสาร  $AFB_1$  ตามธรรมชาติ จำนวน 152 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวโพด 66 (+ 28, - 48) ตัวอย่าง และข้าวบาเลย์ 76 (+ 24, - 52) ตัวอย่าง โดยจะให้ตัวอย่างที่มีปริมาณ  $AFB_1$  มากกว่า 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  มีผลเป็นบวก และต่ำกว่า 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ให้ผลเป็นลบ ด้วยระบบการวัดแบบสะท้อนกลับ หาความสัมพันธ์ด้วยเทคนิค PLS ผลการทดลองพบว่าตัวอย่างที่เกิดการสร้าง  $AFB_1$  ปริมาณมากกว่า 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  มาจากตัวอย่างที่มีปริมาณความชื้นมากกว่าร้อยละ 15 และพบว่า NIRS สามารถแยกการปนเปื้อนได้ร้อยละ 100 ในช่วงความเข้มข้นที่ 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  แต่เมื่อกำหนดความเข้มข้นที่ 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  สามารถแยกการปนเปื้อนได้ร้อยละ 75 วัด ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.82 และ 0.84 และ SECV เท่ากับ 0.200 และ 0.183 เปอร์เซ็นต์  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ในข้าวโพดและข้าวบาเลย์ตามลำดับ

ปัญหาการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายชนิด ที่มีองค์ประกอบทางเคมี และลักษณะกายภาพแตกต่างกัน ในขณะที่ปัจจุบันผู้บริโภคตระหนักถึงความปลอดภัยด้านอาหาร เทคโนโลยีที่ใช้ในการรับประกันความปลอดภัยและคุณภาพของอาหาร จึงต้องได้รับการพัฒนาให้ได้มาตรฐาน เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารแสดงดัง

ตัวอย่างที่ศึกษา	คุณลักษณะ	จำนวนตัวอย่าง	ความยาวคลื่น (nm)	ระบบการวัด	การวิเคราะห์ข้อมูล
			หรือ เลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )		
พริกบด (chilli powder)	AFB <sub>1</sub>	65	12000-4000 cm <sup>-1</sup>	แบบสะท้อน	PLS
พริกบด (red paprika found)	AFB <sub>1</sub>	63	1100-2000 nm	แบบสะท้อน	MPLS
ข้าวโพด (maize)	AFB <sub>1</sub>	66	9000-4000 cm <sup>-1</sup>	แบบสะท้อน	PLS
ข้าวบาเลย์	AFB <sub>1</sub>	76	9000-4000 cm <sup>-1</sup>	แบบสะท้อน	PLS
ข้าว	AFB <sub>1</sub>	120	800-2500 nm	แบบสะท้อน	PLS





ตารางที่ 12 งานวิจัยที่แสดงถึงความสามารถของศึกษาการใช้เทคนิค NIRS ในการทำนายปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหาร

ตัวอย่างที่ศึกษา	คุณลักษณะ	จำนวนตัวอย่าง	ความยาวคลื่น (nm)		ระบบการวัด	การวิเคราะห์ข้อมูล	ค่าความแม่นยำ	อ้างอิง
			หรือ	เลขคลื่น ( $\text{cm}^{-1}$ )				
พริกบด (chilli powder)	AFB <sub>1</sub>	65	12000-4000	$\text{cm}^{-1}$	แบบสะท้อน	PLS	$R^2 = 0.967$ RMSECV = 0.654 %	Tripathi และ Mishra (2009)
พริกบด (red paprika found)	AFB <sub>1</sub>	63	1100-2000	nm	แบบสะท้อน	MPLS	$R^2 = 0.962$ SEP = 0.2 $\text{mg kg}^{-1}$	Hernández-Hierro และคณะ (2008)
ข้าวโพด (maize)	AFB <sub>1</sub>	66	9000-4000	$\text{cm}^{-1}$	แบบสะท้อน	PLS	$R^2 = 0.82$ SECV = 0.200 $\text{mg kg}^{-1}$	Fernández-Ibañez และคณะ (2009)
ข้าวบาเลย์	AFB <sub>1</sub>	76	9000-4000	$\text{cm}^{-1}$	แบบสะท้อน	PLS	$R^2 = 0.084$ SECV = 0.183 $\text{mg kg}^{-1}$	Fernández-Ibañez และคณะ (2009)
ข้าว	AFB <sub>1</sub>	120	800-2500	nm	แบบสะท้อน	PLS	$R^2 = 0.965$ RMSEP 415.00 $\text{mg kg}^{-1}$	Sirisomboon และคณะ (2019)

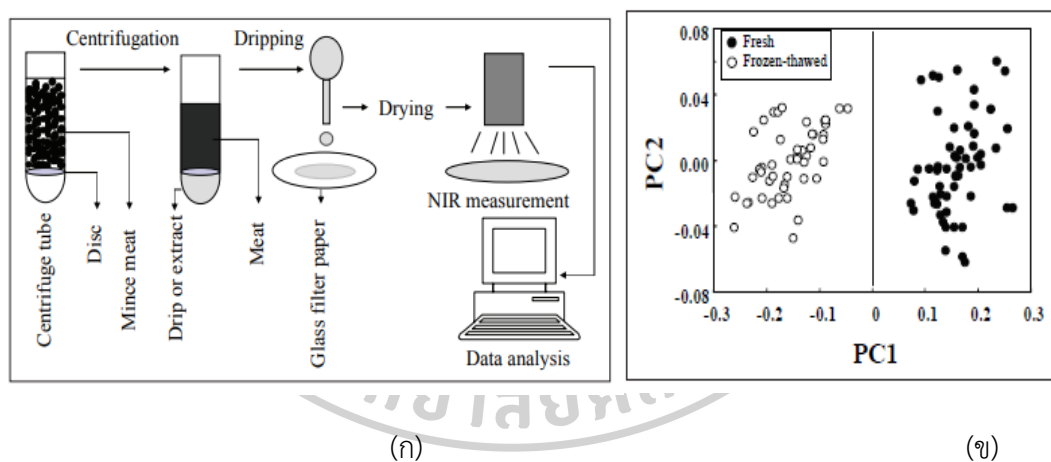
## 2.12 การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับการเตรียมตัวอย่างแบบ dry extract spectroscopy for infrared (DESIR)

เทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ dry extract system for infrared (DESIR) ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำระดับมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ  $\mu\text{g}/\text{kg}$  เพื่อเพิ่มความเข้มข้นให้กับตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ (Saranwong และ Kawano, 2007) โดยจะมีการเตรียมตัวอย่างก่อนการนำไปวัด NIRS หลักการคือนำตัวอย่างในรูปแบบของเหลวมาหยดลงบนสสารของแข็งที่มีคุณสมบัติในการดูดกลืนรังสีในช่วง NIR ต่ำ จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงสสารของแข็งที่ทำการระเหยตัวทำละลายออกไป เป็นการเพิ่มความเข้มข้นให้กับสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำ (Meurens และคณะ, 1987)

Beseos และคณะ (2018) ศึกษาการเตรียมแบบเทคนิค DESIR ในการติดตามยาฆ่าแมลง 3 ชนิด ในมะม่วงพันธุ์คาราบาว โดยการใช้การพ่นสารมาตรฐานไปที่ผิวมะม่วง 10 มิลลิลิตร ทำการทดลองในถุงโพลีเอทิลีนต่อมานำไปทำให้ผิวแห้งที่อุณหภูมิ  $29 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออนจำนวน 2 ครั้ง โดยไม่ใช้สารอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการละลายแวกซ์หรือรงควัตถุที่ผิวมะม่วงมาใช้ในการล้างผิวมะม่วง ครั้งที่ 1 ใช้น้ำล้าง 30 มิลลิลิตร และครั้งที่สอง 10 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองครั้งเข้าด้วยกันในบีกเกอร์ปิเปตสารละลายดังกล่าว 0.5 มิลลิลิตรสำหรับหยดลงแผ่นใยแก้วนำแสงขนาด 47 มิลลิเมตร นำไประเหยตัวทำละลายที่สภาวะ 31 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าการสามารถวิเคราะห์ปริมาณยาฆ่าแมลงที่ผิวมะม่วงโดยให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.70- 0.81 และ RMSECV เท่ากับ 0.13-1.004 กรัมต่อลิตร

Saranwong และ Kawano (2007) ศึกษาการใช้เทคนิค DESIR เตรียมตัวอย่างจากยาฆ่าแมลงชนิด acephate dichlofluanid และ TPN ที่ละลายในอะซิโตนจำนวน 2 มิลลิลิตร ในช่วงความเข้มข้น 0-50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นำไปหยดลงบนกระดาษใยแก้วนำแสงขนาด 37 มิลลิเมตร ผลการศึกษาพบว่าการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ให้ผลที่ดีในการทำนายปริมาณยาฆ่าแมลงชนิด acephate ด้วยเทคนิค NIRS โดยให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.96 ค่า SEP เท่ากับ 2.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้ผลดีในการทำนายปริมาณยาฆ่าแมลงชนิด dichlofluanid ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.92 ค่า SEP เท่ากับ 5.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ให้ผลดีน้อยที่สุดในยาฆ่าแมลงชนิด TPN ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.72 ค่า SEP เท่ากับ 9.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นผลมาจากลักษณะโครงสร้างทางเคมีของยาฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่มีผลต่อความสามารถของการดูดกลืนรังสี NIR ได้แตกต่างกัน

Uddin และคณะ (2005) ศึกษาการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR โดยนำน้ำที่ออกจากเนื้อปลาเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการแยกกลุ่มระหว่างปลาสดและปลาแช่แข็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ แสดงภาพขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ดังภาพที่ 6 ขึ้นเนื้อปลาจากเนื้อสัตว์หรือน้ำหยดธรรมชาติจากปลาสดหรือแช่แข็ง นำจากเนื้อปลาจะถูกสกัดเตรียมโดยนำเหรียญเนื้อปลา 15 กรัม ไปใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงที่สร้างขึ้นเป็นพิเศษนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้น ปิดเตาสารสกัด 0.6 มิลลิลิตรนำไปหยดที่กลางกระดาษกรองใยแก้วนำแสง (Whatman, GF / F, 5.5 ซม.) หลังจากนั้นรอการแพร่ของของเหลวผ่านกระดาษกรอง (ปกติ 1.5–2 นาที) นำกระดาษกระดาษกรองไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีโดยใช้ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Eyela, LTI-601SD) จากนั้นนำออกไปและระบายความร้อนที่อุณหภูมิห้องในเครื่องดูดความชื้นด้วยซิลิกาเจลก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง NIRS



ภาพที่ 6 การประยุกต์ใช้เทคนิค DESIR เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการแยกกลุ่มระหว่างปลาสดและปลาแช่แข็ง

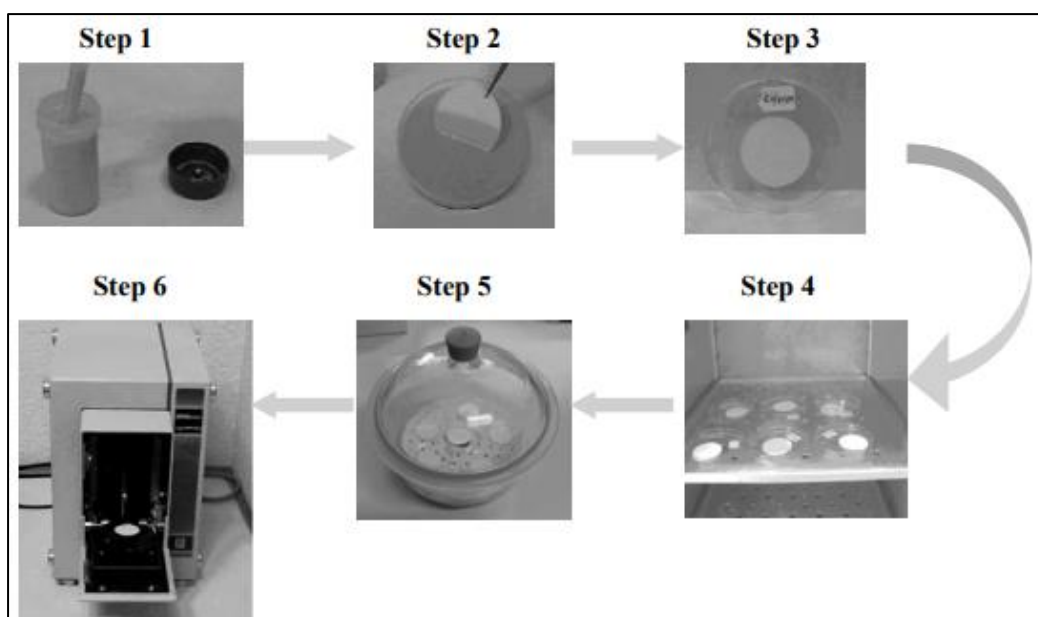
(ก) ขั้นตอนการทดลองใช้เทคนิคเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR

(ข) การจำแนกกลุ่มของเนื้อปลาสดและปลาแช่แข็งด้วยเทคนิคการวิเคราะห์การจำแนกกลุ่ม SIMCA

ที่มา: Uddin และคณะ (2005)

Núñez-Sánchez และคณะ (2008) ศึกษาอิทธิพลของการดูดความชื้นในการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR สำหรับการติดตามองค์ประกอบน้ำนมแกะด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ เตรียมตัวอย่างจากการให้ความร้อนนมแกะที่ 40 องศาเซลเซียส เพื่อเป็นการองค์ประกอบในน้ำนมกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอหลังจากนั้นลดอุณหภูมิให้น้ำนมลงที่อุณหภูมิห้อง นำนมที่ผ่านการเตรียมไปจุ่มแผ่นใยแก้วนำแสงและวางลงในจานวางตัวอย่าง 10 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บรักษาไว้ในโถดูดความชื้น 1 ชั่วโมงเพื่อควบคุมอุณหภูมิและป้องกันการดูดความชื้นกลับ ก่อนการนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIRS หลังจากนั้นนำแผ่นใยแก้วนำแสงออกจากโถดูดความชื้นทิ้งไว้ในบรรยากาศห้องปกติเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้ววัดสเปกตรัม NIRS อีกครั้ง แสดงการดูดความชื้นในการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ดังภาพที่ 7 พบว่าการวิเคราะห์เมื่อมีการเตรียมตัวอย่างแบบหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับอากาศจะเพิ่มความแม่นยำและความถูกต้องในการวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำนมแกะและการเตรียมแบบ DESIR เหมาะกับการวิเคราะห์น้ำนมที่มีจำนวนตัวอย่างมากและเป็นการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่มีการวิเคราะห์ทุกวัน เนื่องจากนมเป็นผลิตภัณฑ์ที่เน่าเสียง่าย วิธีการวัดด้วยเทคนิค DESIR จะได้เปรียบการวัดในลักษณะน้ำนมเหลว โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR สามารถเตรียมได้ในวันที่น้ำนมมาส่งแต่สามารถเก็บไว้ได้จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS





ภาพที่ 7 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR เพื่อศึกษาอิทธิพลของความชื้นในการเตรียมตัวอย่าง ต่อผลการติดตามองค์ประกอบน้ำนมแกะด้วย NIRS  
ที่มา: Núñez-Sánchez และคณะ (2008)

จากการทบทวนวรรณกรรมเรื่องการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR จะเป็นการเพิ่มความเข้มข้นขององค์ประกอบที่สนใจวิเคราะห์ โดยสามารถนำเทคนิคนี้ไปใช้กับการวิเคราะห์ที่มีปริมาณน้อย หรือกำจัดอิทธิพลรบกวนตัวอย่างในการวิเคราะห์ เช่น น้ำ หรือการกระเจิงแสงของตัวอย่าง และทำให้ตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์เก็บไว้ได้นานขึ้น อย่างไรก็ตามเทคนิค DESIR มีปัจจัยที่มีอิทธิพลที่ต้องควบคุมในการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคนี้เพื่อให้ได้ค่าการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำเช่น ความชื้นจากอากาศที่จะถูกดูดกลับจากบรรยากาศในขั้นตอนการควบคุมอุณหภูมิก่อนการวัด วิธีควบคุมการนำตัวอย่างลงบนสสารของแข็ง เช่นวิธีการจุ่ม หรือวิธีการหยด ระยะเวลาการระเหยตัวทำละลาย และ อุณหภูมิที่ใช้ในการระเหยตัวทำละลายจะต้องคำนึงถึงความเสถียรของสารที่ต้องการวิเคราะห์ว่าอุณหภูมิที่ใช้มีผลต่อการเสื่อมสลายต่อองค์ประกอบดังกล่าวหรือไม่ (Beseos และคณะ, 2018, Meurens และคณะ, 1987, Núñez-Sánchez และคณะ, 2008, Saranwong และ Kawano, 2007) งานวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อศึกษาการใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ร่วมกับการใช้เทคนิค NIRS ในการติดตามการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน บี 1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### 3.1 ตัวอย่าง

ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งการซื้อตัวอย่างแบ่งออกเป็นจำนวน 2 ตอน สำหรับการศึกษาในแต่ละข้อโดยแต่ละตอนมีรายละเอียดดังนี้

**ตอนที่ 1 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง ทั้ง 3 ชนิดในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด**

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มี 3 ชนิดได้แก่ เมล็ดข้าวโพดชนิดหัวแข็ง (flint corn) ชั้น 1 พริกไทยดำพันธุ์ซาราวัค เบอร์ 1 และเมล็ดถั่วลิสงดิบ โดยซื้อจากร้านค้าและห้างสรรพสินค้าในอำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ซึ่งวัตถุดิบแต่ละชนิดซื้อจากแหล่งจำหน่ายทั้งหมด 3 แห่ง โดยแหล่งที่ 1 ของแต่ละชนิดเป็นตัวอย่างสำหรับการนำไปสร้างสมการเทียบมาตรฐานและสมการทวนสอบ ( calibration และ validation ) และวัตถุดิบจากแหล่งจำหน่ายที่ 1, 2 และ 3 จำนวนแหล่งละ 1 กิโลกรัม ของตัวอย่างแต่ละชนิดใช้สำหรับเป็นกลุ่มตัวอย่างในการทวนสอบสมการเทียบมาตรฐานหรือเป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม (external validation) แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 สถานที่ซื้อและช่วงเวลาในการซื้อวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา

ชนิดตัวอย่าง	สมการเทียบมาตรฐานและสมการทวนสอบ		สมการทวนสอบภายนอก (external validation)	
	สถานที่ซื้อ	จำนวน	สถานที่ซื้อ	จำนวน
พริกไทย	สยามแมคโคร บมจ. (แหล่งที่ 1)	8 กก.	สยามแมคโคร บมจ. (แหล่งที่ 1)	1 กก.
			ตลาดปทุมมงคล (แหล่งที่ 2)	1 กก.
			ห้างสรรพสินค้า (แหล่งที่ 3)	1 กก.
ข้าวโพด	ร้านจำหน่ายอาหารสัตว์ (แหล่งที่ 1)	8 กก.	ร้านจำหน่ายอาหารสัตว์ (แหล่งที่ 1)	1 กก.
			ร้านจำหน่ายอาหารสัตว์ (แหล่งที่ 2)	1 กก.
			ห้างสรรพสินค้า (แหล่งที่ 3)	1 กก.
ถั่วลิสง	บิกซี ซูเปอร์เซ็นเตอร์ บมจ. (แหล่งที่ 1)	8 กก.	บิกซี ซูเปอร์เซ็นเตอร์ บมจ. (แหล่งที่ 1)	1 กก.
			ตลาดปทุมมงคล (แหล่งที่ 2)	1 กก.
			ห้างสรรพสินค้า (แหล่งที่ 3)	1 กก.

ตอนที่ 2 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common model) จากข้อมูลรวมของตัวอย่าง 3 ชนิด สำหรับการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ ข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงโดยซื้อจากจังหวัดนครปฐมโดยแต่ละชนิดซื้อจากสถานที่รายละเอียดซื้อวัตถุดิบดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 สถานที่ซื้อและช่วงเวลาในการซื้อวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา

ชนิดตัวอย่าง	สถานที่ซื้อ	จำนวน
พริกไทย	สยามแมคโคร บมจ.	1 กก.
ข้าวโพด	ร้านนครปฐมอาหารสัตว์ จังหวัดนครปฐม	2 กก.
ถั่วลิสง	บิกซี ซูเปอร์เซ็นเตอร์ บมจ.	2 กก.

หลังจากการซื้อวัตถุดิบก่อนนำไปเตรียมตัวอย่าง นำมาคัดแยกคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นด้วยสายตา โดยเมล็ดข้าวโพดจะคัดแยกตัวอย่างที่ปราศจากเมล็ดเสียเช่น เมล็ดแตกและเมล็ดที่มอดเจาะ สำหรับเมล็ดพริกไทยจะคัดแยกสิ่งปนเปื้อนของวัตถุดิบอื่น เช่น เศษก้อนหินและก้านพริกไทยแห้ง และเมล็ดถั่วลิสงดิบจะคัดเลือกตัวอย่างที่ปราศจากเมล็ดแตก และเมล็ดลีบแสดงลักษณะตัวอย่างที่มีข้อบกพร่องและถูกคัดแยกออกดังภาพที่ 8 และลักษณะของตัวอย่างเมล็ดดีทั้ง 3 ชนิด ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 8 ลักษณะตัวอย่างข้าวโพด พริกไทย ถั่วลิสงเมล็ดเสีย และสิ่งปนเปื้อนที่ถูกคัดแยกออก



ภาพที่ 9 ตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงเมล็ดดีที่ใช้ในการศึกษา

### 3.2 สารเคมี

1. น้ำขจัดไอออน (deionize water (DI), Vunique, Thailand)
2. โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride, Ajex Finechem, Australia)
3. เมทานอล เกรด HPLC (methanol HPLC grade 99.9%, RCl Labscan, Thailand)
4. อะซิโตนไนไตรล์ เกรด HPLC (acetonitrile HPLC grade 99.9%, RCl Labscan, Thailand)



5. สารมาตรฐานอะฟลาทอกซินบี 1 (Aflatoxin B1 from *Aspergillus flavus*, Fermentek, Israel)

### 3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrometer (FT-NIR), รุ่น MPA, Bruker Optics, Germany)
2. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography (HPLC), Shimadzu model RF-20A prominence fluorescence, Japan)
3. ตู้อบลมร้อนแบบมีพัดลม (hot air oven, รุ่น FED53, Binder, Germany)
4. เครื่องปั่นอเนกประสงค์ (blender, รุ่น HR2115, Philip Electronic, Thailand)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance, รุ่น TE 3102S, Sartorius, Germany)
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance, รุ่น BP 221S, Sartorius, Germany)
7. เครื่องเขย่าคลื่นความถี่สูง (high frequency ultrasonic, รุ่น 360D, Advance Ceramics Technology, Malaysia)
8. เครื่องผสมสารในหลอดทดลอง (vortex mixer genie, รุ่น G-560E, Scientific Industries, United States)
9. เวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ (vernier caliper, รุ่น 11205-200, INSIZEe1205 series, UK)
10. คอลัมน์ (column, รุ่น 00G-4252-E0: Luna® 5 µm C18(2) 100 Å, LC Column 250 x 4.6 mm, Phenomenex, USA)
11. ภาชนะใส่ตัวอย่างของเหลวสำหรับวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR มี path length 0.2 มิลลิเมตร
12. ภาชนะใส่ตัวอย่างของแข็งสำหรับวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR (petri dish, ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 38 มิลลิเมตร, Steriplan, Germany)
13. ภาชนะใส่ตัวอย่างของแข็งสำหรับวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRS (petri dish, ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร, Steriplan, Germany)
14. อุปกรณ์สะท้อนแสง (reflector) สำหรับวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRS ด้วยระบบส่องผ่านและสะท้อนกลับ (reflectance)
15. ตะแกรงร่อน (test sieves, diameter number 10 หรือ 2 มิลลิเมตร., Retsch GmbH, Germany)

16. กระดาษกรองใยแก้ว ชนิด GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 38 มิลลิเมตร (glass microfiber , grade GF/C diameter 38 mm, Whatman, UK)
17. กระดาษกรอง เบอร์ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร (filter papers, No.4 diameter 90 mm, Whatman, UK)
18. กระบอกฉีดยาขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร (syringe, Nipro, Thailand)
19. ขวดสีชาสำหรับใส่สารขนาด 2 มิลลิลิตร (2 ml screw thread vials, DIKMA, USA)
20. ตะแกรงหลอดทดลอง (test tube rack)
21. อิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column ชนิด AflaTest -P, VICAM, USA)
22. ซอฟต์แวร์ OPUS (เวอร์ชัน 7.2.139.1294, Bruker Optics, Germany)

### 3.4 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด

#### 3.4.1. การวัดขนาดและน้ำหนัก

ทำการวัดขนาดเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงจากแหล่งซั้ววัตถุดิบที่ต่างกันของตัวอย่างแต่ละชนิดแห้งละ 100 เมล็ด นำเมล็ดข้าวโพด เลี้ยงสัตว์ พริกไทยและถั่วลิสงไปวัดความกว้าง (W) และความยาว (L) ของตัวอย่างในหน่วยมิลลิเมตร ด้วยเวอร์เนียร์คาร์ลิเปอร์ แสดงตำแหน่งการวัดดังภาพที่ 10 และบันทึกผล หลังจากนั้นชั่งน้ำหนัก ตัวอย่างจำนวน 100 เมล็ด ในหน่วยกรัมด้วยเครื่องชั่งชนิด 2 ตำแหน่งแล้วบันทึกผล



ภาพที่ 10 การวัดค่าความกว้าง (W) และความยาว (L)

### 3.4.2. การเตรียมตัวอย่าง

เมล็ดพืชตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดที่ผ่านการคัดแยกสิ่งเจือปนและเมล็ดที่มีข้อบกพร่องออกแล้วถูกนำไปทำการเตรียมตัวอย่าง 3 รูปแบบได้แก่ 1) ตัวอย่างควบคุม 2) ตัวอย่างที่ลดความชื้น และ 3) ตัวอย่างที่เพิ่มความชื้น โดยการเตรียม 1 ตัวอย่างได้แก่การซีกตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง ตัวอย่างละ 50 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากสถานะในเตรียมตัวอย่างและจำนวนตัวอย่างในแต่ละสถานะสำหรับการสร้างสมการแสดงดังตารางที่ 15

1) ตัวอย่างควบคุม: บรรจุใส่ถุงอลูมิเนียมซีปล็อก เก็บรักษาไว้ในโถดูดความชื้น ณ อุณหภูมิห้อง ก่อนการนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIRS ภายใน 7 วัน

2) ตัวอย่างที่ลดความชื้น: 2.1) นำเมล็ดตัวอย่าง 1.5 กิโลกรัมใส่ถาด นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบแห้งลมร้อนแบบถาด (convection tray dryer) เป็นเวลา 7 ชั่วโมง และ 2.2) นำเมล็ดตัวอย่าง 1.5 กิโลกรัมใส่ถาดนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบลมร้อนแบบมีพัดลม (hot air oven) เป็นเวลา 7 และ 24 ชั่วโมง (จำนวน 1.5 กิโลกรัมต่อสถานะ) หลังจากนั้นบรรจุใส่ถุงอลูมิเนียมซีปล็อก เก็บรักษาไว้ในโถดูดความชื้น ณ อุณหภูมิห้องก่อนการนำไปวัด NIRS

3) ตัวอย่างที่เพิ่มความชื้น: 3.1) ชั่งเมล็ดตัวอย่าง 0.5 กิโลกรัม วางบนตะแกรง หลังจากนั้นนำไปใส่ในภาชนะปิดที่สถานะความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 84 ด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว KCl ปริมาตร 1 ลิตร เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 7 วัน ก่อนการวัด NIRS และ 3.2) ชั่งเมล็ดตัวอย่าง 1.0 กิโลกรัม วางบนตะแกรง หลังจากนั้นนำไปใส่ในภาชนะปิดที่รองด้วยน้ำปริมาตร 2 ลิตร เก็บรักษาเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน ก่อนการนำไปวัด NIRS แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้มีปริมาณความชื้นแตกต่างกันดังภาพที่ 11



(ก)

(ข)

ภาพที่ 11 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้มีปริมาณความชื้นแตกต่างกัน

(ก) การเตรียมตัวอย่างลดความชื้น

(ข) การเตรียมตัวอย่างเพิ่มความชื้น



ตารางที่ 15 การเตรียมตัวอย่างวัตถุบิ พริกไทย ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และถั่วลิสง

กลุ่มสมการเทียบมาตรฐานและกลุ่มทวนสอบสมการ						
ตัวอย่าง	แหล่งจำหน่าย	ปี	จำนวนตัวอย่าง: สภาวะ			
เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	2561	n = 20: ควบคุม			
			n = 20: ลดความชื้น: 60 °C 7 ชั่วโมง			
			n = 20: เพิ่มความชื้นเก็บในภาชนะบรรจุน้ำ 3 วัน			
			n = 20: เพิ่มความชื้นเก็บในภาชนะบรรจุน้ำ 5 วัน			
			n = 20: เพิ่มความชื้นเก็บในภาชนะบรรจุน้ำ 7 วัน			
พริกไทย	1	2561	n = 20: ควบคุม			
			n = 20: ลดความชื้น: 60 °C 7 ชั่วโมง			
			n = 20: ลดความชื้น: 105 °C 7 ชั่วโมง			
			n = 20: ลดความชื้น: 105 °C 7 ชั่วโมง			
			n = 10: เพิ่มความชื้น: เก็บในภาชนะบรรจุน้ำ 3 วัน			
			n = 10: เพิ่มความชื้น: เก็บในภาชนะบรรจุสารละลายอิมตัว KCl 7 วัน			
	1	2561	n = 20: ควบคุม			
			n = 20: ลดความชื้น: 60 °C 7 ชั่วโมง			
			n = 20: เพิ่มความชื้นเก็บในภาชนะบรรจุน้ำ 3 วัน			
			n = 20: เพิ่มความชื้นเก็บในภาชนะบรรจุน้ำ 5 วัน			
			n = 20: เพิ่มความชื้นเก็บในภาชนะบรรจุน้ำ 7 วัน			
กลุ่มทวนสอบสมการภายนอก						
ตัวอย่าง	แหล่งจำหน่าย	ปี	จำนวนตัวอย่าง: สภาวะ			
เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	2562	n = 10: ควบคุม			
พริกไทย	2	2562	n = 10: ควบคุม			
ถั่วลิสง	2	2562	n = 10: ควบคุม			
เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	3	2562	n = 10: ควบคุม			
			พริกไทย	3	2562	n = 10: ควบคุม
			ถั่วลิสง	3	2562	n = 10: ควบคุม
จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	1,2 และ 3	2561, 2562	n = 360			

### 3.4.3 การวัดค่าสเปกตรัมพริกไทย เมล็ดข้าวโพดและถั่วลิสงด้วยเครื่องสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

นำตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 จำนวนชนิดละ 120 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 50 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรไปทำการควบคุมอุณหภูมิโดยวางขวดรูปชมพู่ที่บรรจุตัวอย่างในห้องที่มีการเปิดเครื่องปรับอากาศที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการวัดสเปกตรัมของตัวอย่างแบบเมล็ดด้วยเครื่องสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ โดยวัดตัวอย่างละ 3 ตำแหน่งแบบสุ่ม วัดสเปกตรัมในรูปแบบสะท้อนกลับ (reflectance) ช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตรหรือมีเลขคลื่น 12500-4000  $\text{cm}^{-1}$  จำนวนความถี่ในการวัด (resolution) เท่ากับ 16  $\text{cm}^{-1}$  และจำนวนของการวัดในแต่ละครั้ง (scan time) เท่ากับ 36 ครั้ง แล้วใช้ค่าเฉลี่ยข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดทั้ง 3 ตำแหน่ง เป็นตัวแทนสเปกตรัมของตัวอย่าง แสดงการวัดสเปกตรัมตัวอย่างแบบเมล็ดดังภาพที่ 12



(ก)



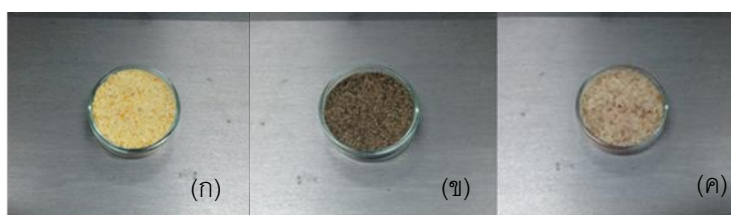
(ข)

ภาพที่ 12 การวัดสเปกตรัมตัวอย่างรูปแบบเมล็ดด้วยเทคนิค NIRS

(ก) ลักษณะการวางตัวอย่างในการวัดด้วยเทคนิค NIRS

(ข) ตำแหน่งการวัดการดูดกลืนแสงเมล็ดข้าวโพด

หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาบดด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์ระดับความเร็ว 5 เวลาใช้การปั่นเท่ากับ 30 วินาที แล้วร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 10 เพื่อควบคุมขนาดอนุภาค นำตัวอย่างที่ผ่านการบดบรรจุลงในจานใส่ตัวอย่าง (petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 38 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 5 กรัม ขณะบรรจุจะปาดผิวหน้าให้เรียบ ก่อนนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRS ในรูปแบบตัวอย่างที่ผ่านการบดโดยใช้เครื่อง NIRS และสภาวะการวัดสเปกตรัมเช่นเดียวกับกับการวัดในรูปแบบเมล็ดแสดงการวัดสเปกตรัมรูปแบบตัวอย่างบดดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 การวัดสเปกตรัมตัวอย่างรูปแบบบดด้วยเทคนิค NIRS

(ก) พริกไทย (ข) ถั่วลิสง และ (ค) ข้าวโพด

จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการวัดสเปกตรัมไปหาปริมาณความชื้นด้วยวิธี AOAC (2000) และนำข้อมูลสเปกตรัมเริ่มต้น (original spectrum) และสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่ง (pretreatment) ไปจับคู่กับปริมาณความชื้น สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้น

#### 3.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง

ซึ่งตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงแบบบดหลังจากการวัดสเปกตรัมในข้อ 3.4.3 ประมาณ 4-5 กรัม ใส่ในถ้วยอลูมิเนียมที่เตรียมไว้ บนที่ก้นน้ำหนักที่แน่นอน อบถ้วยอลูมิเนียมพร้อมตัวอย่างโดยเปิดฝาขณะอบในตู้อบลมร้อนมีอุณหภูมิที่  $105 \pm 1^{\circ}\text{C}$  จนกระทั่งน้ำหนักตัวอย่างคงที่ (AOAC, 2000) คำนวณปริมาณความชื้น (Moisture Content, MC)

#### 3.4.5 การปรับแต่งสเปกตรัม

ทำการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม (pretreatment) เพื่อกำจัดอิทธิพลที่เกิดจากปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ ซึ่งจะบิดเบือนการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่สนใจ โดยวิธีการปรับแต่งสเปกตรัมที่ใช้ได้แก่

- 1) การทำให้สัญญาณเรียบ (smoothing) แบบซาวิตสกี-โกลีย์ (Savitzky-Golay, SG)
- 2) การใช้อนุพันธ์อันดับหนึ่ง (first derivative, 1<sup>st</sup> derivative)
- 3) การใช้อนุพันธ์อันดับสอง (second derivative, 2<sup>nd</sup> derivative)
- 4) การใช้การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (multiplicative scatter correction, MSC)
- 5) การใช้การปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน (standard normal variate, SNV)
- 6) ในบางกรณีสเปกตรัมจะต้องใช้การปรับแต่งมากกว่า 1 วิธีร่วมกัน

### 3.4.6 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง

สร้างสมการทำโดยการนำข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดทั้งสองรูปแบบ ได้แก่ การวัดรูปแบบเมล็ด และรูปแบบตัวอย่างที่ผ่านการบด ที่เป็นสเปกตรัมเริ่มต้น (original spectrum) และสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งมาหาความสัมพันธ์กับค่าปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้ 2 วิธีได้แก่

- 1) วิธีการวิเคราะห์โดยใช้สเปกตรัมทั้งหมด (full spectrum analysis method) ด้วยโปรแกรม OPUS เวอร์ชัน 7.2.139.1294 โดยการเลือกใช้ฟังก์ชันการหาความสัมพันธ์ที่เหมาะสมที่สุดด้วยฟังก์ชันอัตโนมัติ (optimize) เพื่อเป็นแนวทางในการตรวจสอบช่วงความยาวคลื่นและเทคนิคการปรับแต่งสเปกตรัมที่มีประสิทธิภาพ โดยใช้วิธีทางสถิติได้แก่ การถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least square regression, PLS)

- 2) วิธีการเลือกความยาวคลื่น (wavelength selection method) ด้วยโปรแกรม The Unscrambler โดยจะเลือกจากความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณความชื้น โดยใช้เทคนิคการเลือกจากเอกสารอ้างอิง และการใช้สถิติในการคัดเลือกความยาวคลื่น และสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นโดยใช้วิธีทางสถิติได้แก่การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression, MLR)

โดยทั้ง 2 วิธีทดสอบสมการด้วยวิธีการทดสอบภายนอก (test set) ทำโดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ (calibration set) และกลุ่มทวนสอบสมการ (validation set) ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 โดยสร้างสมการทำนายปริมาณความชื้น ได้แก่ สร้างสมการจากข้อมูลตัวอย่างในแต่ละชนิด ได้แก่ ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

สำหรับสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นที่มีประสิทธิภาพสามารถพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficients of determination,  $R^2$ ) (Williams, 2007) และค่า



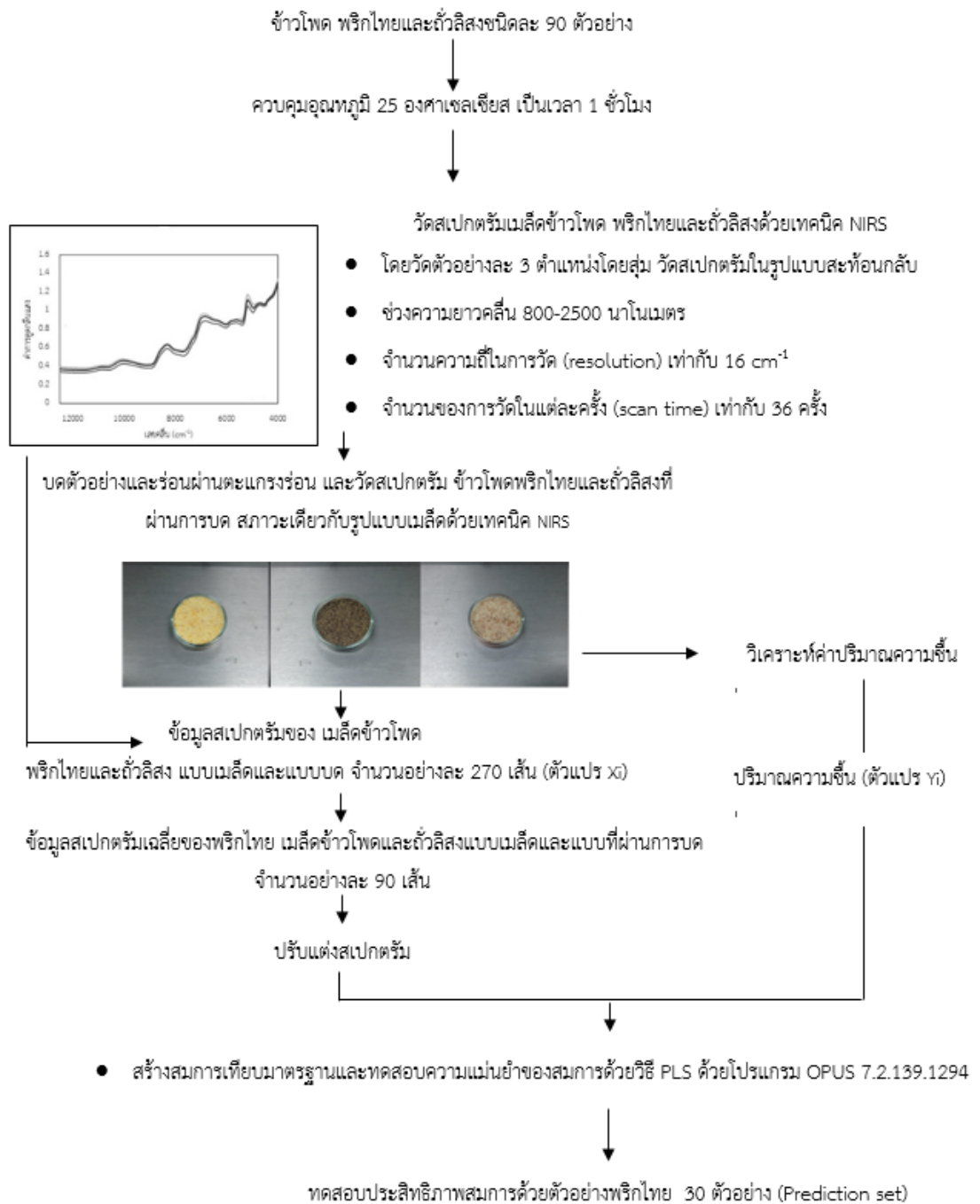
สัดส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทางเคมีและค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทวนสอบสมการ (ratio of standard error of prediction to standard deviation, RPD) ที่มีค่าสูง (Williams, 2001) ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (standard error of calibration, SEC) และความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายกลุ่มตัวอย่างทวนสอบสมการเทียบมาตรฐาน (standard error of prediction, SEP) ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (bias) ที่ต่ำ ซึ่งค่าที่ได้สามารถคำนวณได้จากสมการในภาคผนวก ก

### 3.4.6.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง

นำสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นที่ดีที่สุดของแต่ละชนิดมาทำการทดสอบประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นโดยใช้ตัวอย่างกลุ่มใหม่ จำนวนชนิดละ 30 ตัวอย่าง ที่ซื้อจากท้องตลาดและห้างสรรพสินค้าจำนวน 2 แห่ง จำนวนแห่งละ 10 ตัวอย่างและกลุ่มตัวอย่างจากแหล่งเดียวกับตัวอย่างที่สร้างสมการจำนวนชนิดละ 10 ตัวอย่าง โดยนำมาวัดสเปกตรัมในรูปแบบเมล็ดและรูปแบบตัวอย่างที่ผ่านการบด หลังจากนั้นทำการตรวจสอบความแม่นยำของการทำนายโดยนำข้อมูลปริมาณความชื้นจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ และค่าที่ได้จากการทำนายด้วยเทคนิค NIRS ไปวิเคราะห์ด้วย pair t- test เพื่อดูความแตกต่างของข้อมูล ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พร้อมทั้งวิเคราะห์ความถูกต้องของการทำนาย แสดงขั้นตอนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างดังภาพที่ 13

### 3.4.7 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด

สร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง ทำโดยการนำข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดทั้งสองรูปแบบ ได้แก่ การวัดรูปแบบเมล็ด และรูปแบบตัวอย่างที่ผ่านการบด ที่เป็นสเปกตรัมเริ่มต้น (original spectrum) และสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งมาหาความสัมพันธ์กับค่าปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้ 2 วิธี เช่นเดียวกับข้อ 3.4.6



ภาพที่ 14 ขั้นตอนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างด้วยเทคนิค NIRS

### 3.5 ศึกษาความเป็นไปได้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในสารละลายมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS ร่วมกับวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR

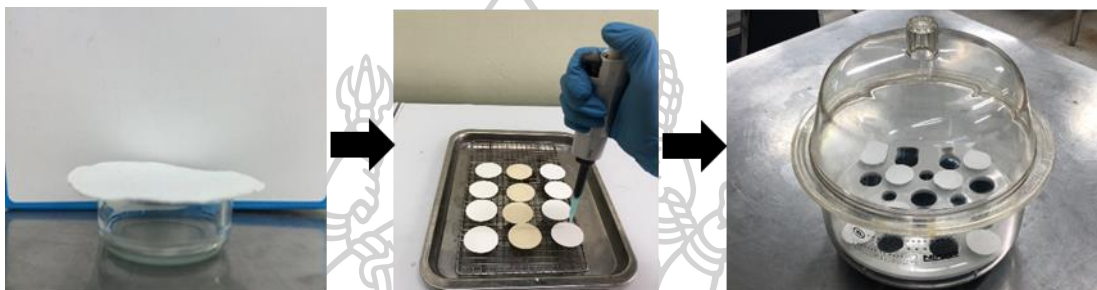
#### 3.5.1 การเตรียมตัวอย่างสารมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค DESIR

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเตรียมตัวอย่างสารละลายมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค DESIR จำนวน 50 ตัวอย่าง โดยนำสารมาตรฐาน AFB1 ที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 98 จำนวน 1 มิลลิกรัม (ทั้งขวด) (Fermentak, Israel) ละลายสารมาตรฐาน AFB1 และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยเมทานอลความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 ในขวดปรับปริมาตรให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นเตรียมสารละลาย AFB1 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 0 ถึง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.00, 0.01, 0.02, 0.08, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) จำนวน 10 ระดับ จาก stock solution โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย จะได้ความเข้มข้นของสารละลาย AFB1 ที่ระดับความเข้มข้นในช่วงมาตรฐานการกำหนดปริมาณ AFB1 และเป็นปริมาณระดับที่พบในการปนเปื้อนของธัญพืชและเครื่องเทศแสดงรายละเอียดดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 การเตรียมตัวอย่างสารละลายมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค DESIR ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน จาก stock solution 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตัวอย่างสารละลาย AFB1 (mg/L)	สารมาตรฐาน AFB1 (mg)	สารละลาย stock solution (ml)	เมทานอล (ml)	จำนวนตัวอย่าง
0.00				5
0.01		0.1	100	5
0.02		0.2	100	5
0.08		0.8	100	5
0.10		0.1	10	5
0.20		0.2	10	5
0.40		0.4	10	5
0.60		0.6	10	5
0.80		0.8	10	5
1.00		1	10	5
10 (stock solution)	1			50

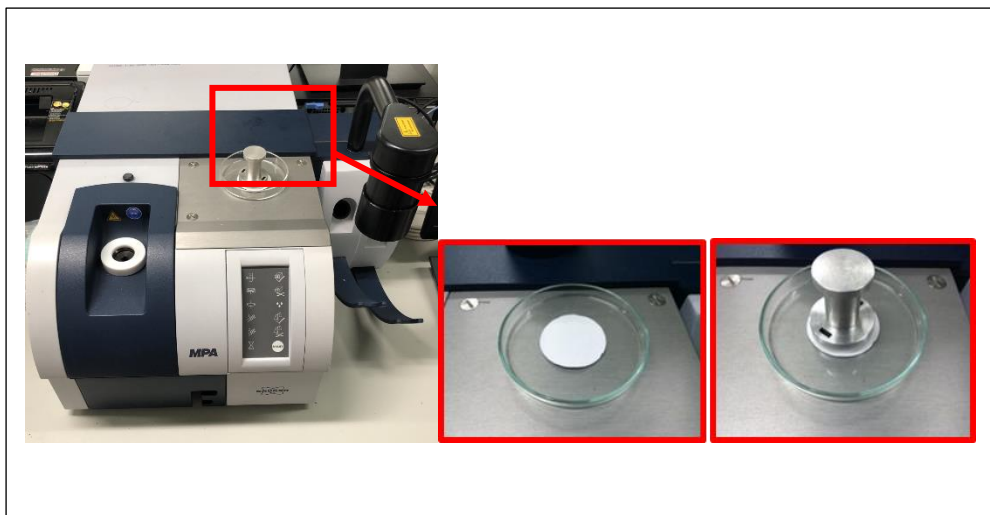
หลังจากนั้นปีเปตสารมาตรฐาน AFB1 จำนวน 1 มิลลิลิตร หยดลงบน glass micro fiber (GF/C) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.7 มิลลิเมตร ที่วางบน petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 มิลลิเมตร รอการแพร่ของของเหลวผ่านกระดาษกรองเป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งในตู้ดูดควันอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำออกไปเก็บในโถดูดความชื้นด้วยซิลิกาเจลก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง NIRS โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 แผ่น รวมทั้งหมด 50 แผ่น ดังแสดงการเตรียมตัวอย่างสารมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค DESIR ในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 การเตรียมตัวอย่างสารมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค *DESIR*

### 3.5.2 การวัดค่าสเปกตรัมสารมาตรฐาน AFB1

นำตัวอย่างสารมาตรฐาน AFB1 ที่หยดลงบน glass micro fiber (GF/C) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จำนวน 50 ตัวอย่างมาทำการวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIRS โดยก่อนวัดสเปกตรัมทำการควบคุมอุณหภูมิโดยวางตัวอย่างในห้องที่มีการเปิดเครื่องปรับอากาศที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง วัดตัวอย่างละ 1 ตำแหน่ง ในรูปแบบส่องผ่านและสะท้อนกลับ (transflectance) ที่ช่วงเลขคลื่น  $12500-4000\text{ cm}^{-1}$  จำนวนความถี่ในการวัด (resolution) เท่ากับ  $16\text{ cm}^{-1}$  และจำนวนของการวัดในแต่ละครั้ง (scan time) เท่ากับ 36 ครั้ง แสดงการวัดสเปกตรัมตัวอย่างสารมาตรฐาน AFB1 บนแผ่น GF/C ดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 การวัดสเปกตรัมสารมาตรฐาน AFB1 โดยวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ด้วยเทคนิค NIRS

### 3.5.3 การปรับแต่งสเปกตรัม

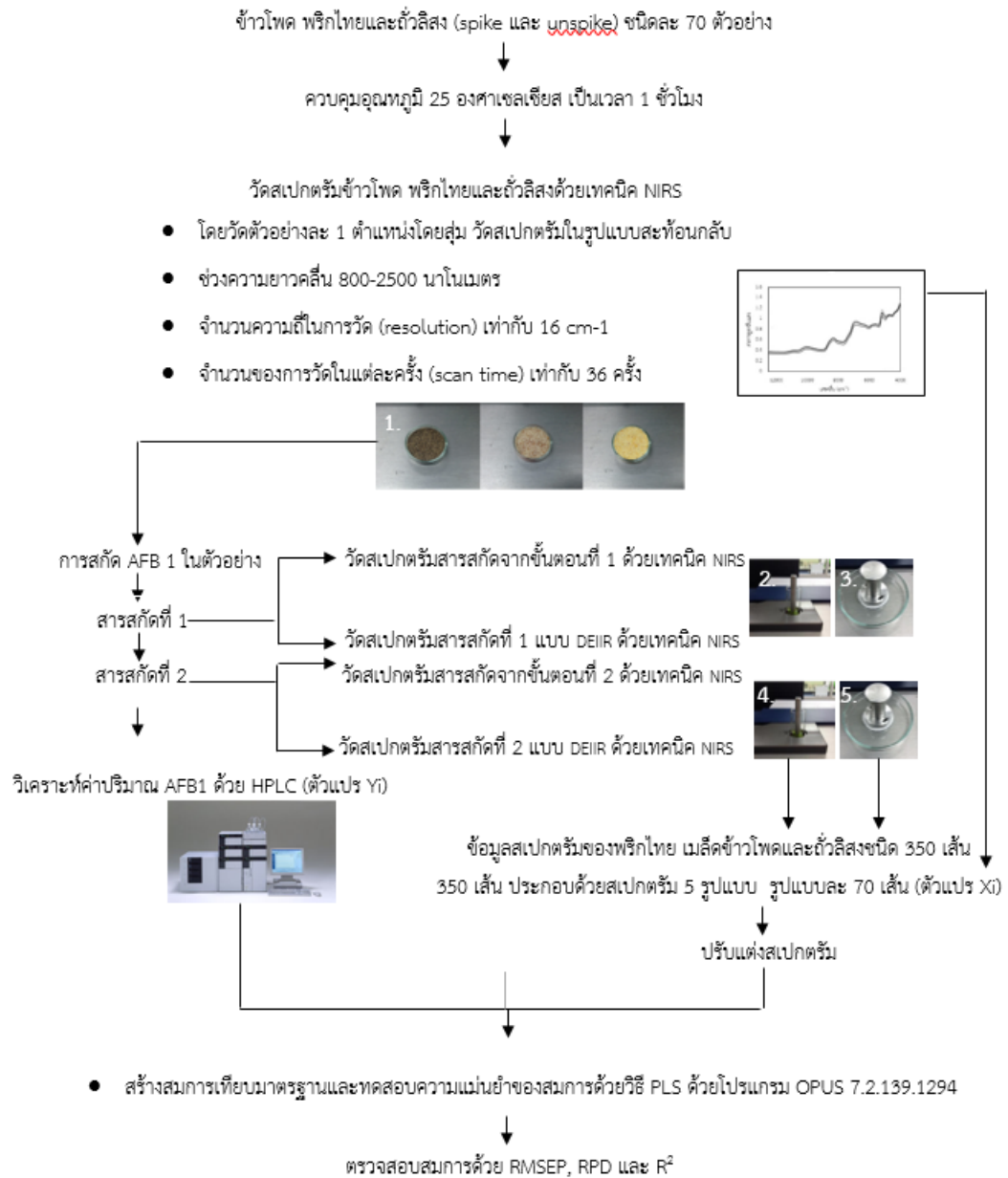
นำข้อมูลสเปกตรัมไปทำการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.4.5

### 3.5.4 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณ AFB1

สร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณ AFB1 โดยกำหนดสเปกตรัมหรือค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่นเป็นตัวแปร  $X_i$  และค่าปริมาณ AFB1 เป็นตัวแปร  $Y_i$  สร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมกับค่าปริมาณ AFB1 ด้วยวิธีการวิเคราะห์โดยใช้สเปกตรัมทั้งหมด (full spectrum analysis method) ด้วยโปรแกรม OPUS เวอร์ชัน 7.2.139.1294 และพิจารณาประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นเช่นเดียวกับข้อ 3.4.6

### 3.6 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common model) จากข้อมูลรวมของตัวอย่าง 3 ชนิด สำหรับการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

ขั้นตอนโดยทั่วไปในการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common model) จากข้อมูลรวมของตัวอย่าง 3 ชนิด สำหรับการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด ทำโดยการเตรียมตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง ให้มีการปนเปื้อน AFB1 ด้วยวิธี artificial contamination ชนิดละ 70 ตัวอย่าง นำไปวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIRS จำนวน 5 รูปแบบได้แก่ 1) ตัวอย่างที่ผ่านการบด 2) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 (สารสกัดก่อนผ่านอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column ชนิด AflaTest ) 3) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 ที่ 1 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR 4) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 ที่ 2 (สารสกัดหลังผ่านอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column ชนิด AflaTest ) และ 5) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 ที่ 2 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR หลังจากวัดสเปกตรัมแล้ว นำตัวอย่างสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินด้วยวิธีมาตรฐาน (ข้อที่ 3.6.3) นำค่าปริมาณ AFB1 และข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัด 5 รูปแบบของตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงมาหาความสัมพันธ์เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common model) จากข้อมูลรวมของตัวอย่าง 3 ชนิด สำหรับการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด และตรวจสอบประสิทธิภาพของเทคนิค NIRS จากค่า  $R^2$  และ RPD ของสมการทวนสอบที่ควรจะมีค่าสูง และค่า SEC, SEP และ bias ที่ต่ำ โดยขั้นตอนทั่วไปในการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common model) จากข้อมูลรวมของตัวอย่าง 3 ชนิด สำหรับการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด แสดงดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 แผนผังขั้นตอนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

### 3.6.1 การเตรียมตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงให้มีการปนเปื้อน AFB1 ด้วยวิธี artificial contamination

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเตรียมตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงให้มีการปนเปื้อน AFB1 ด้วยวิธี artificial contamination โดยนำตัวอย่างวัตถุดิบข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจากแหล่งจำหน่ายที่ปราศจาก AFB1 (ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยวิธี HPLC) มาเตรียมตัวอย่างให้ได้ตัวอย่างสำหรับการศึกษาจำนวนชนิดละ 70 ตัวอย่าง แบ่งเป็นกลุ่มที่ไม่มี AFB1 (unspiked) จำนวน 30 ตัวอย่าง และกลุ่มที่มีการเติมมี AFB1 (spiked) จำนวน 40 ตัวอย่าง

โดยชั่งตัวอย่างชนิดละ 50 กรัมนำมาบดด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์ระดับความเร็ว 5 เวลาในการปั่นเท่ากับ 30 วินาที แล้วร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 10 ที่มีขนาด 2 มิลลิเมตรเพื่อควบคุมขนาดของอนุภาค หลังจากนั้นทำการชั่งตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจำนวน  $5.00 \pm 0.10$  กรัม ใส่ในหลอดทดลองพลาสติกขนาด 100 มิลลิลิตรแบบมีฝาปิด ทำการจดบันทึกน้ำหนัก หลังจากนั้นเปิดสารมาตรฐาน AFB1 ในรูปแบบสารละลายมาตรฐาน AFB1 ความเข้มข้น 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เตรียมจาก stock solution ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นของ AFB1 แตกต่างกันตั้งแต่ 0- 300 ไมโครกรัมต่อลิตร (ทำ ความเข้มข้นละ 4 ตัวอย่าง) แสดงรายละเอียดจำนวนตัวอย่างดังตารางที่ ซึ่งเป็นช่วงปริมาณความเข้มข้นอยู่ในช่วงมาตรฐานการกำหนดปริมาณ AFB1 และ ที่พบปนเปื้อนในธัญพืชและเครื่องเทศ แสดงวิธีการคำนวณการ spike AFB1 ในตัวอย่างดังกล่าว ข. หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องผสมสารในหลอดทดลองความเร็วระดับ 9 จับเวลานาน 3 นาที บรรจุลงในจานใส่ตัวอย่าง (petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 38 มิลลิเมตร (ทำการจดบันทึกน้ำหนัก) และนำไปทำให้แห้งที่ตู้ดูดควันเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค NIRS แสดงแผนภาพขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 แผนภาพขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงให้มีการปนเปื้อน AFB1




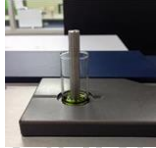
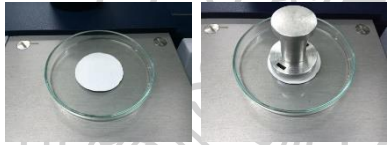
ตารางที่ 16 ชุดการเตรียมตัวอย่างของการวิเคราะห์การปนเปื้อนของ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS

ชุดการเตรียมตัวอย่าง	ระดับความเข้มข้นที่ spiked ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ): (จำนวนตัวอย่าง)		
	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	พริกไทย	ถั่วลิสง
	5 (4)	10 (4)	5 (4)
	10 (4)	15 (4)	20 (4)
	15 (4)	20 (4)	25 (4)
	20 (4)	30 (4)	30 (4)
	50 (4)	90 (4)	40 (4)
	70 (4)	100 (4)	70 (4)
	90 (4)	120 (4)	80 (4)
	100 (4)	150 (4)	100 (4)
	200 (4)	200 (4)	200 (4)
	300 (4)	300 (4)	300 (4)
จำนวนตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน AFB1 (spiked)	40	40	40
จำนวนตัวอย่างที่ปราศจาก AFB1 (unspiked)	30	30	30
จำนวนตัวอย่างรวมแต่ละชนิด	70	70	70

### 3.6.2 การวัดค่าสเปกตรัม

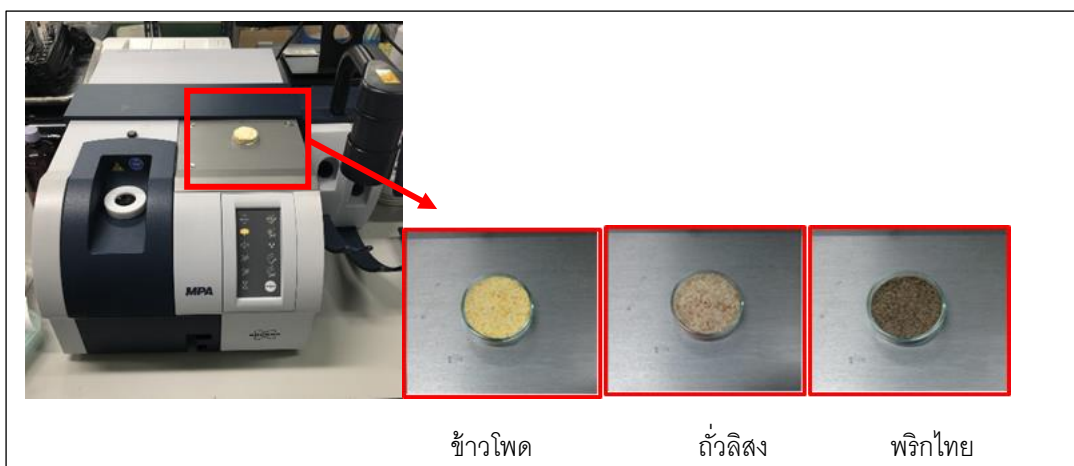
รูปแบบการวัด NIRS ตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงในการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงและการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป (common model) จากข้อมูลรวมของตัวอย่าง 3 ชนิด สำหรับการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด จะศึกษาการวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIRS จำนวน 5 รูปแบบได้แก่ 1) ตัวอย่างที่ผ่านการบด 2) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 ที่ 1 (สารสกัดก่อนผ่านอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column ชนิด AflaTest) 3) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 ที่ 2 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR 4) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 2 (สารสกัดหลังผ่านอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column ชนิด AflaTest) ) และ 5) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 ที่ 2 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR แสดงภาพรวมระบบการวัดด้วยเทคนิค NIRS ในการศึกษาครั้งนี้ดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 รูปแบบการวัด NIRS ในการตรวจสอบของ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทยและ ถั่วลิสงจำนวน 5 รูปแบบ

รูปแบบการวัดสเปกตรัม	ระบบการวัด
(ข้อ 3.6.2.1) ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง (spike และ unspike) 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ reflectance</li> <li>▪ 12500-4000 <math>\text{cm}^{-1}</math></li> <li>▪ ตัวอย่าง 5 g ใส่ใน petri dish</li> </ul>
(ข้อ 3.6.2.2) สารสกัดอะฟลาทอกซินบี 1 ชั้นที่ 1 และ 2 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ transflectance</li> <li>▪ 12500-4000 <math>\text{cm}^{-1}</math></li> <li>▪ สารสกัด 0.5 มล. ใส่ในภาชนะใส่ตัวอย่างของเหลว</li> </ul>
(ข้อ 3.6.2.3) สารสกัดในชั้นตอนที่ 1 และ 2 นำมาผ่านการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ transflectance</li> <li>▪ 12500-4000 <math>\text{cm}^{-1}</math></li> <li>▪ สารสกัด 1 มล. เตรียมตัวอย่างแบบ DESIR</li> </ul>

### 3.6.2.1 การวัดค่าสเปกตรัมข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

ทำการวัดสเปกตรัมตัวอย่างที่เตรียมได้ในข้อ 3.6.1 ด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (FT-NIR spectrometer รุ่น MPA) โดยก่อนวัดสเปกตรัมทำการควบคุมอุณหภูมิวางตัวอย่างบนภาตสแตนเลสในห้องที่มีการเปิดเครื่องปรับอากาศที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง วัดตัวอย่างละ 1 ตำแหน่ง ช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร ระบบการวัดแบบสะท้อนกลับ (reflectance) จำนวนความถี่ในการวัด (resolution) เท่ากับ  $16 \text{ cm}^{-1}$  และจำนวนของการวัดในแต่ละครั้ง (scan time) เท่ากับ 36 ครั้ง ดังแสดงในภาพที่ 19



ภาพที่ 19 การวัดสเปกตรัมตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและข้าวลิสงด้วยเครื่องเทคนิค NIRS

### 3.6.2.2 การวัดสเปกตรัมตัวอย่างสารสกัด AFB1 จากการสกัดขั้นตอนที่ 1 และขั้นตอนที่ 2

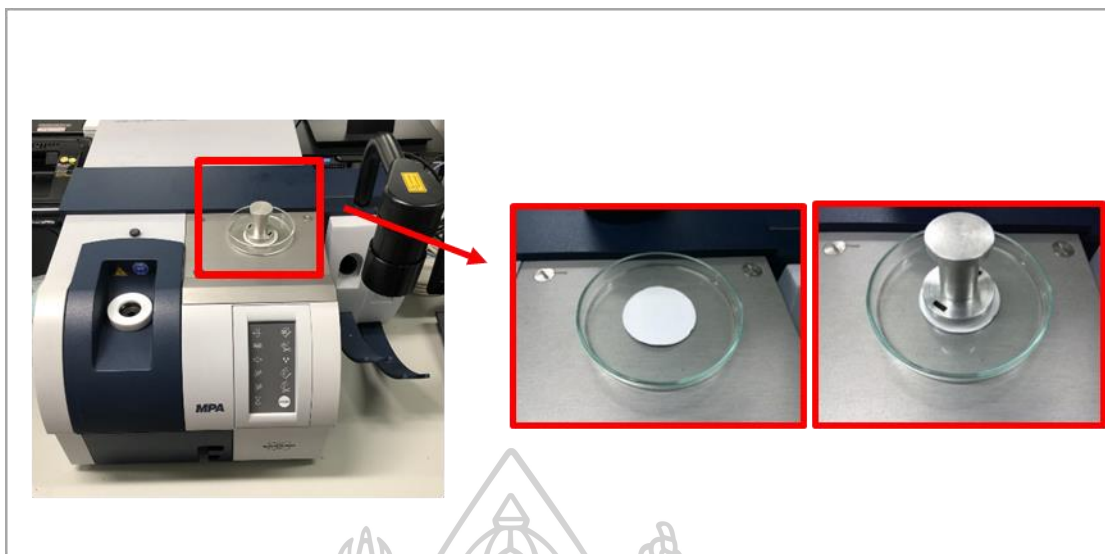
หลังจากการวัดสเปกตรัมในขั้นตอน 3.6.2.1 นำข้าวโพด พริกไทยและข้าวลิสงไปทำการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในข้อที่ 3.6.3 โดยสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนการสกัดที่ 1 จะถูกปิเปตแบ่งสารสกัด 0.5 มิลลิกรัม ใส่ในอุปกรณ์สำหรับวัดตัวอย่างสำหรับของเหลว แล้วนำไปควบคุมอุณหภูมิโดยวางตัวอย่างในห้องที่มีการเปิดเครื่องปรับอากาศที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง วัดสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร ระบบการวัดแบบส่องผ่านและสะท้อนกลับ (transflectance) จำนวนความถี่ในการวัด (resolution) เท่ากับ  $16 \text{ cm}^{-1}$  และจำนวนของการวัด ในแต่ละครั้ง (scan time) เท่ากับ 36 ครั้ง ก่อนจะนำสารสกัดที่เหลือไปผ่านอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column ชนิด AflaTest ) จะได้สารสกัด AFB1 จากขั้นตอนการสกัดที่ 2 สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC และ สำหรับวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIRS ด้วยสภาวะเช่นเดียวกับการวัดสเปกตรัมสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 1 แสดงภาพการวัดสเปกตรัมสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 1 และ 2 ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 การวัดสเปกตรัมสารสกัด AFB1 จากชั้นตอนที่ 1 และ 2 ตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่ว  
 ลิสงด้วยเครื่องเทคนิค NIRS

### 3.6.2.3 การวัดสเปกตรัมตัวอย่างสารสกัด AFB1 จากการสกัดชั้นตอนที่ 1 และชั้นตอนที่ 2 นำมาผ่านการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR

ปิเปตสารสกัด AFB1 จากสารสกัดชั้นตอนที่ 1 และชั้นตอนที่ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงบน glass micro fiber (GF/C) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 มิลลิเมตร ที่วางบน petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 มิลลิเมตร หลังจากนั้นรอการแพร่ของของเหลวผ่านกระดาษกรอง เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งในตู้ดูดควันอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำออกไปเก็บในโถดูดความชื้นด้วยซิลิกาเจลก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง NIRS โดยก่อนวัดสเปกตรัมทำการควบคุมอุณหภูมิโดยวางตัวอย่างในห้องที่มีการเปิดเครื่องปรับอากาศที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง วัดตัวอย่างละ 1 ตำแหน่ง ในรูปแบบส่องผ่านและสะท้อนกลับ (transflectance) ที่ช่วงเลขคลื่น  $12500-4000\text{ cm}^{-1}$  จำนวนความถี่ในการวัด (resolution) เท่ากับ  $16\text{ cm}^{-1}$  และจำนวนของการวัดในแต่ละครั้ง (scan time) เท่ากับ 36 ครั้ง แสดงการวัดสเปกตรัมตัวอย่างสารสกัด AFB1 จากสารสกัดชั้นตอนที่ 1 และชั้นตอนที่ 2 บนแผ่น GF/C ดังภาพที่ 21



ภาพที่ 21 การวัดสเปกตรัมสารสกัดขั้นตอนที่ 1 และขั้นตอนที่ 2 โดยวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ด้วยเทคนิค NIRS

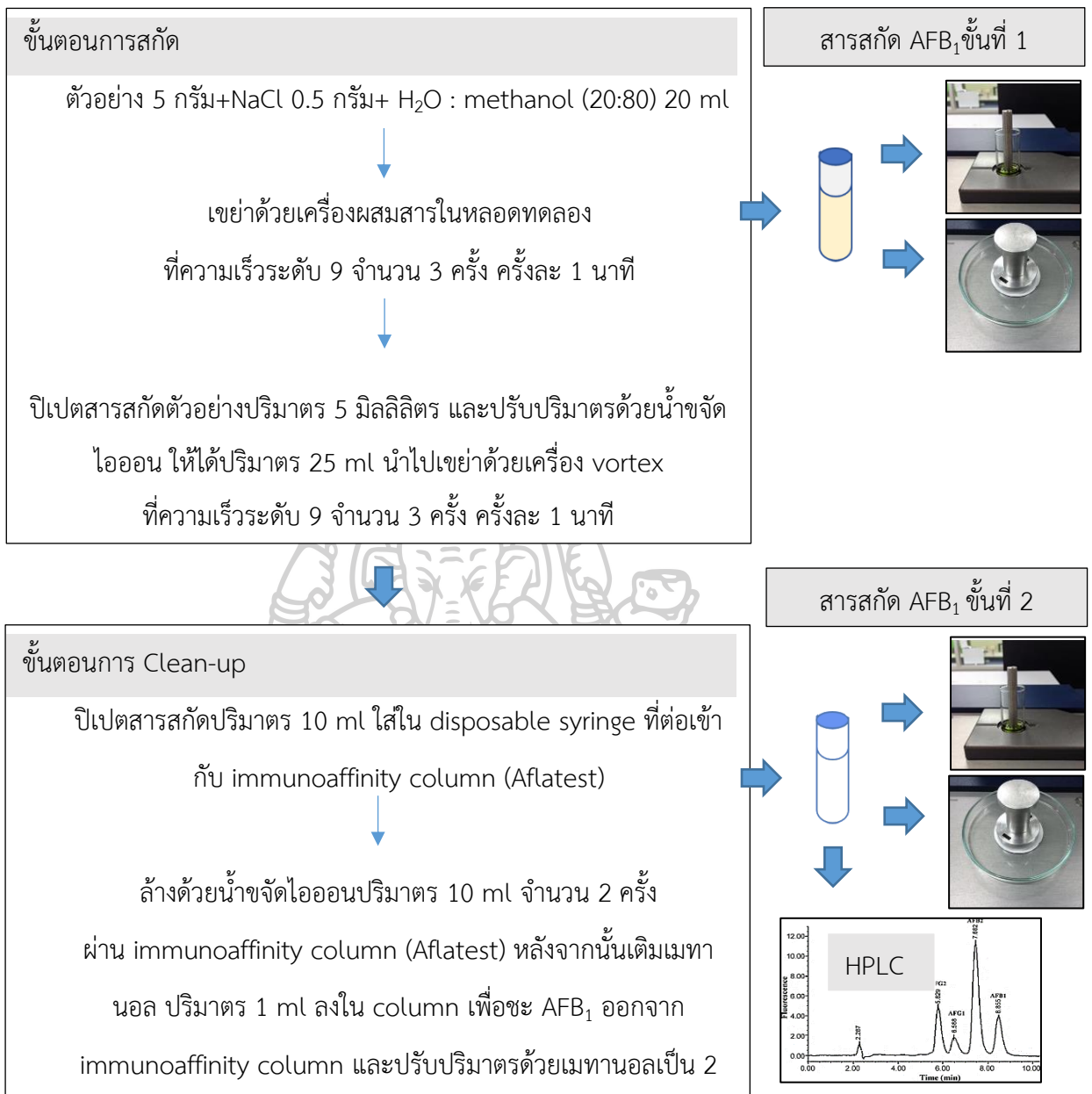
### 3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

#### 3.6.3.1 ขั้นตอนการสกัดอะฟลาทอกซินบี 1

หลังจากการวัดสเปกตรัมนำข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงไปชั่งน้ำหนักจำนวน 5 กรัม ใส่ในหลอดทดลองแบบมีฝาปิดขนาดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายเมทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองหลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องผสมสารในหลอดทดลอง (vortex) ที่ความเร็วระดับ 9 จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที แล้วกรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 สารสกัดที่ได้ ในขั้นตอนนี้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรจะถูกแบ่งนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIRS (สารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 1) ในข้อ 3.6.2.2 และนำไปผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR เพื่อวัดสเปกตรัม ในข้อ 3.6.2.3 หลังจากนั้นปิเปตสกัดที่เหลือปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำ (deionized water, DI) ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องผสมสารในหลอดทดลอง ที่ความเร็วระดับ 9 จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที ปิเปตสารละลายเจือจางปริมาตร 10 มิลลิลิตรใส่ใน disposable syringe ที่ต่อเข้ากับ immunoaffinity column (Aflatest) เพื่อขจัดสารรบกวนด้วยน้ำขจัดไอออน โดยปิเปตน้ำขจัดไอออน 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้งผ่าน immunoaffinity column (Aflatest) เติมสารละลายเมทานอลปริมาตร 1 มิลลิลิตรความเข้มข้น 99.9 ลงใน column เพื่อชะ AFB1 ออกจาก immunoaffinity column เก็บสารละลายที่ชะ

ออกมาใสในหลอด และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอลให้ได้ 2 มิลลิลิตร โดยสารสกัดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรจะถูกแบ่งนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIRS (สารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 2) ในข้อ 3.6.2.2 และสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR เพื่อวัดสเปกตรัม ในข้อ 3.6.2.3 สารสกัดที่เหลือนำไปกรองผ่าน nylon syringe filter pore ขนาด 0.45 ไมครอน สำหรับนำไปวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยเครื่อง HPLC โดยแสดงแผนแสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างจากสารสกัด AFB1 ซึ่งผ่านและไม่ผ่านดังภาพที่ 22





ภาพที่ 22 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างจากสารสกัด AFB<sub>1</sub> ที่ผ่านและไม่ผ่านการทำความสะอาดด้วย immunoaffinity column (Aflatest) ทั้งรูปแบบสารสกัดและแบบที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างแบบDESIR

### 3.6.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC

สารสกัด AFB1 จากตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจะถูกนำไปวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC สภาวะดังตารางที่ 18 และคำนวณปริมาณ AFB1 โดยนำพื้นที่ใต้กราฟของ ตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐาน AFB1

ตารางที่ 18 สภาวะสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
คอลัมน์	คอลัมน์ Luna C18 (2) 100 อังสตรอมขนาด 250 x 4.6 มิลลิเมตร (column, Phenomenex, Torrance, USA)
ความยาวคลื่นที่ให้พลังงานกับสาร	420 นาโนเมตร
ความยาวคลื่นที่สารดูดกลืน	360 นาโนเมตร
ประเภทของเครื่องตรวจจับ	Fluorescence detector
อุณหภูมิที่ทดสอบ	40 องศาเซลเซียส
ปริมาตรของสารที่ฉีดเข้าเครื่อง	20 ไมโครลิตร ( $\mu\text{L}$ )
อัตราการไหล	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ml/min)
ระยะเวลาในการฉีด	30 นาที
สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่	

### 3.6.4 การปรับแต่งสเปกตรัม

หลังจากทำการวัดสเปกตรัม จำนวน 5 รูปแบบต่อ 1 ตัวอย่าง ก่อนการนำข้อมูลสเปกตรัมไปวิเคราะห์ จะทำการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5

### 3.6.5 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1

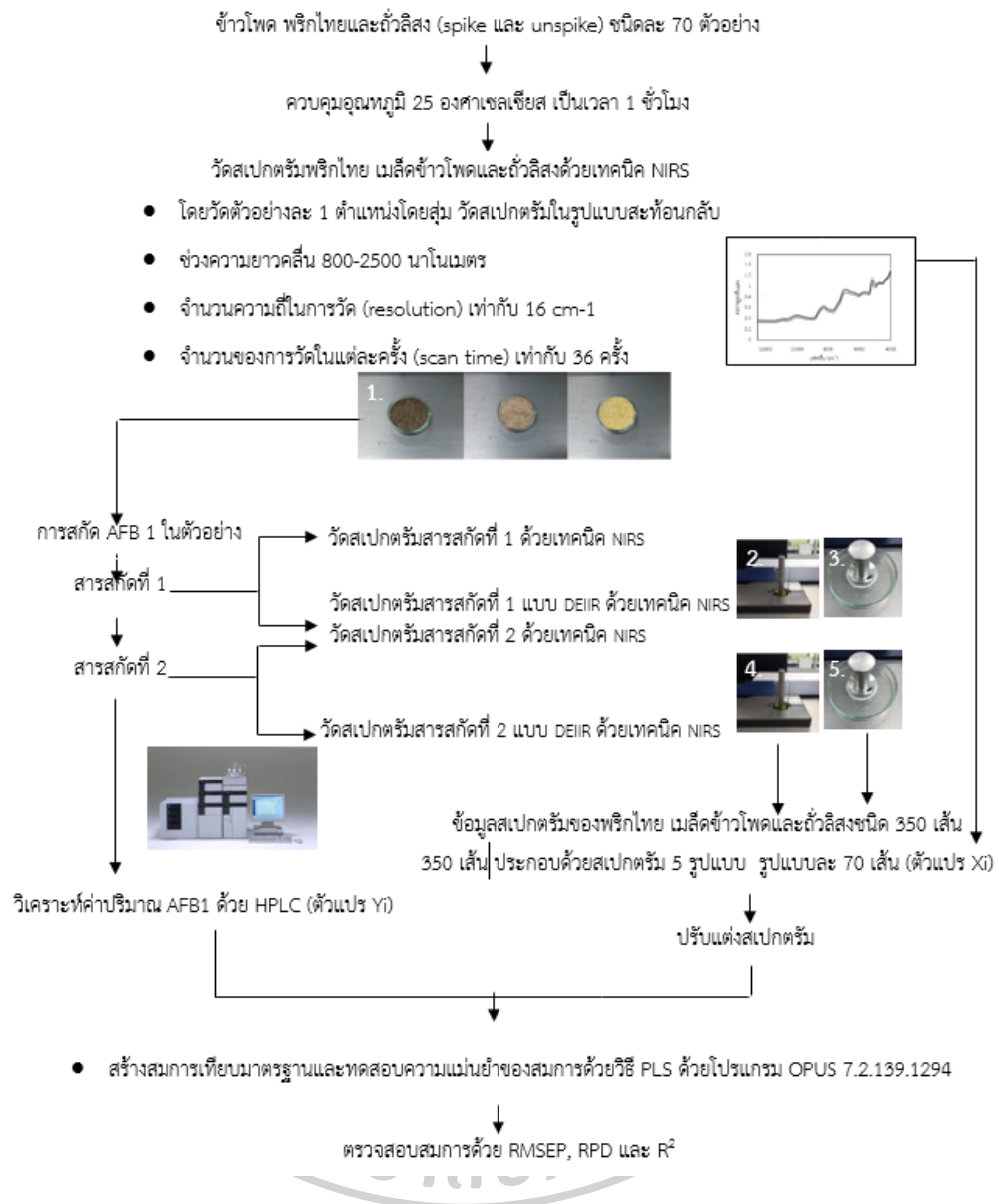
สร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณ AFB1 ในตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงที่มีการเตรียมตัวอย่างต่างกัน 5 รูปแบบได้แก่ 1) ตัวอย่างที่ผ่านการบด 2) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 1 (สารสกัดก่อนผ่านอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column ชนิด AflaTest ) 3) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 1 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR 4) ตัวอย่างสารสกัด AFB1 จากขั้นตอนที่ 2 (สารสกัดหลังผ่านอิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (Immunoaffinity column ชนิด AflaTest ) และ 5) ตัวอย่างสารสกัด



AFB1 จากขั้นตอนที่ 2 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมแต่ละรูปแบบและปริมาณ AFB1 โดยกำหนดสเปกตรัมหรือค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่นเป็นตัวแปร Xi และปริมาณ AFB1 ที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิค HPLC เป็นตัวแปร Yi สร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมกับค่าปริมาณ AFB1 2 วิธีได้แก่ 1) วิธีการวิเคราะห์โดยใช้สเปกตรัมทั้งหมด (full spectrum analysis method) ด้วยโปรแกรม OPUS เวอร์ชัน 7.2.139.1294 2) วิธีการเลือกความยาวคลื่น (wavelength selection method) ด้วยโปรแกรม The Unscrambler ทดสอบสมการด้วยวิธีการทดสอบภายนอก (test set) ทำโดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ (calibration set) จำนวนชนิดละ 60 ตัวอย่าง และกลุ่มทวนสอบสมการ (validation set) จำนวนชนิดละ 10 ตัวอย่าง และพิจารณาประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณอะฟลาทอกซินเช่นเดียวกับข้อ 3.4.6

### 3.6.6 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

สร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป ที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิดที่มีการเตรียมตัวอย่างต่างกัน 5 รูปแบบเช่นเดียวกับข้อ 3.6.4 หาความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมแต่ละรูปแบบและปริมาณ AFB1 โดยกำหนดสเปกตรัมหรือค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่นเป็นตัวแปร Xi และปริมาณ AFB1 ที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิค HPLC เป็นตัวแปร Yi สร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมกับค่าปริมาณ AFB1 2 วิธีได้แก่ 1) วิธีการวิเคราะห์โดยใช้สเปกตรัมทั้งหมด (full spectrum analysis method) ด้วยโปรแกรม OPUS เวอร์ชัน 7.2.139.1294 2) วิธีการเลือกความยาวคลื่น (wavelength selection method) ด้วยโปรแกรม The Unscrambler ทดสอบสมการด้วยวิธีการทดสอบภายนอก (test set) ทำโดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ (calibration set) จำนวนชนิดละ 180 ตัวอย่าง และกลุ่มทวนสอบสมการ (validation set) จำนวนชนิดละ 30 ตัวอย่าง และพิจารณาประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณอะฟลาทอกซินเช่นเดียวกับข้อ 3.4.6



ภาพที่ 23 แผนผังขั้นตอนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงและการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด

#### 4.1.1 คุณภาพทางกายภาพของตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต่อ 100 เมล็ด (100 seed mass) ของตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงแสดงดังตารางที่ 19 พบว่าน้ำหนักต่อ 100 เมล็ด จากแหล่งจำหน่ายทั้ง 3 แห่งของตัวอย่างแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 100 เมล็ดของตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง จาก 3 แหล่ง

ตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)		
	แหล่งที่ 1	แหล่งที่ 2	แหล่งที่ 3
ข้าวโพด	27.14 <sup>a</sup>	25.23 <sup>b</sup>	19.62 <sup>c</sup>
พริกไทย <sup>ns</sup>	9.92	10.06	9.85
ถั่วลิสง	56.23 <sup>a</sup>	62.14 <sup>b</sup>	59.74 <sup>b</sup>

\* ตัวอักษร a, b และ c หมายถึง ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เปรียบเทียบในแถวเดียวกันของเมล็ดแต่ละชนิด

\*\* ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เปรียบเทียบในแถวเดียวกันของเมล็ดแต่ละชนิด

ขนาดของเมล็ดตัวอย่างข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงจากแหล่งจำหน่ายจำนวน 3 แห่งในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเมล็ดพริกไทยจากแหล่งจำหน่ายทั้ง 3 แห่ง มีค่าเฉลี่ยขนาดความกว้างและความยาวของเมล็ดพริกไทยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และพบว่ามีค่าเฉลี่ยความกว้างหรือเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดพริกไทยอยู่ในช่วง 4.30 – 4.59 มิลลิเมตร อยู่ในช่วงของมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (codex alimentarius commission, CAC) มาตรฐานพริกไทย (CXS 326, 2017) ที่กำหนดให้เมล็ดพริกไทยดำมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 2.0-7.0 มิลลิเมตร ในขณะที่เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และถั่วลิสงจากแหล่งจำหน่ายทั้ง 3 แห่งที่ใช้ในการศึกษา

มีขนาดความกว้างและความยาวของเมล็ดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงค่าเฉลี่ยความกว้างและความยาวของตัวอย่างดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ยความกว้าง (W) ความยาว (L) ตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจาก 3 แหล่ง

ตัวอย่าง	เมล็ดข้าวโพด			พริกไทย <sup>ns</sup>			ถั่วลิสง		
	แหล่งที่ 1	แหล่งที่ 2	แหล่งที่ 3	แหล่งที่ 1	แหล่งที่ 2	แหล่งที่ 3	แหล่งที่ 1	แหล่งที่ 2	แหล่งที่ 3
ความกว้าง	9.13 <sup>a</sup>	8.28 <sup>b</sup>	5.71 <sup>c</sup>	4.47	4.30	4.59	8.49 <sup>b</sup>	7.75 <sup>c</sup>	9.06 <sup>a</sup>
ความยาว	9.10 <sup>b</sup>	10.92 <sup>a</sup>	10.28 <sup>a</sup>	4.68	4.53	4.83	14.31 <sup>a</sup>	11.84 <sup>b</sup>	12.47 <sup>b</sup>










\* ตัวอักษร a, b และ c หมายถึง ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เปรียบเทียบในแถวเดียวกันของเมล็ดแต่ละชนิด

\*\* ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เปรียบเทียบในแถวเดียวกันของเมล็ดแต่ละชนิด

ผลการศึกษาปริมาณความชื้นเริ่มต้นของตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจากแหล่งจำหน่ายจำนวนทั้ง 3 แห่งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเมล็ดข้าวโพดทั้ง 3 แห่ง มีค่าเฉลี่ยปริมาณความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 13.45, 13.52 และ 12.50 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าสูงสุดที่กำหนดให้มีได้ในข้าวโพดเมล็ดแห้งตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ที่กำหนดให้มีปริมาณความชื้นได้ไม่เกินร้อยละ 14 สำหรับการเก็บรักษา 3 เดือน และมีค่าต่ำกว่าค่าสูงสุดที่กำหนดให้มีได้ในข้าวโพดเมล็ดแห้งตามมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (codex alimentarius commission, CAC) มาตรฐานข้าวโพด (CXS 153, 1985) ที่กำหนดให้มีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 15.5 และพริกไทยจากแหล่งจำหน่ายจากแหล่งจำหน่ายทั้ง 3 แห่งมีค่าเฉลี่ยปริมาณความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 11.62, 11.12 และ 12.21 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าสูงสุดที่กำหนดให้มีได้ในพริกไทยดำตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมที่กำหนดให้มีปริมาณความชื้นได้ไม่เกินร้อยละ 13 ในขณะที่พริกไทยจากแหล่งจำหน่ายที่ 3 มีค่าสูงกว่าค่าสูงสุดที่กำหนดให้มีได้ในพริกไทยดำตามมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (codex alimentarius commission, CAC) มาตรฐานพริกไทย (CXS 326, 2017) ที่กำหนดให้มีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 12 ในขณะที่ถั่วลิสงจากแหล่งจำหน่ายทั้ง 3 แห่งมีค่าเฉลี่ยปริมาณความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 6.24, 7.90 และ 6.92 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าสูงสุดที่กำหนดให้มีได้ในถั่วลิสงตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมและมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (codex alimentarius commission, CAC) มาตรฐานถั่วลิสง (CXS 200, 1995) ที่กำหนดให้มี

ปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 9 แสดงปริมาณความชื้นเริ่มต้นและลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาจากแหล่งจำหน่ายทั้ง 3 แห่ง ดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ค่าเฉลี่ยปริมาณความชื้นเริ่มต้นและภาพประกอบลักษณะกายภาพของตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจากแหล่งจำหน่ายจำนวน 3 แห่งที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่าง	แหล่งที่ 1	แหล่งที่ 2	แหล่งที่ 3
เมล็ดข้าวโพด เลี้ยงสัตว์	 ความชื้นเริ่มต้น = 13.45%	 ความชื้นเริ่มต้น = 13.52%	 ความชื้นเริ่มต้น = 12.50%
พริกไทย	 ความชื้นเริ่มต้น = 11.62%	 ความชื้นเริ่มต้น = 11.12%	 ความชื้นเริ่มต้น = 12.21%
ถั่วลิสง	 ความชื้นเริ่มต้น = 6.24%	 ความชื้นเริ่มต้น = 7.90%	 ความชื้นเริ่มต้น = 6.92%

#### 4.1.2 สเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง

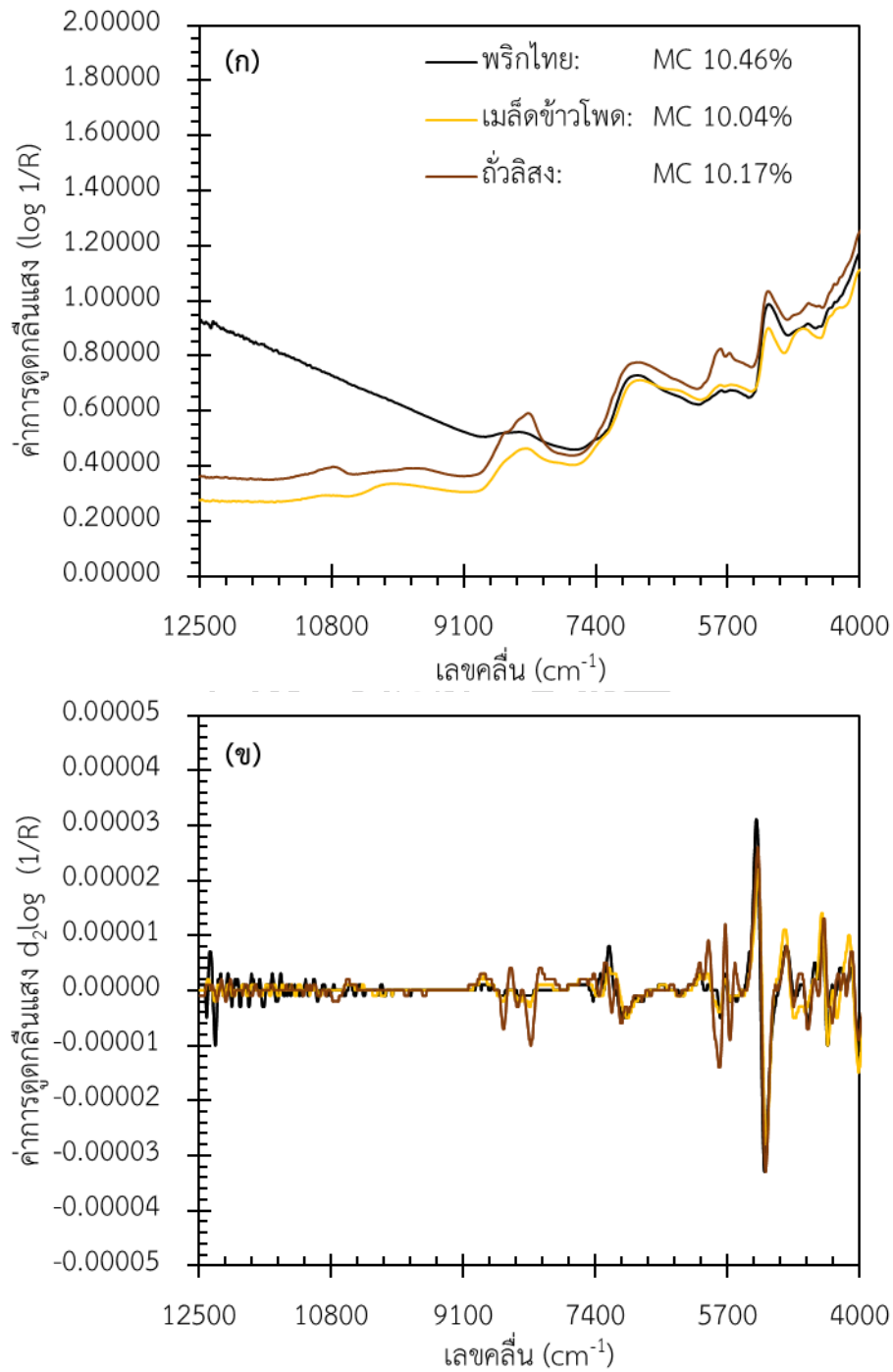
สเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น  $4000-12500\text{ cm}^{-1}$  ของเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจากการวัดรูปแบบเมล็ดและการวัดตัวอย่างรูปแบบบดที่ระดับปริมาณความชื้นของตัวอย่างร้อยละ 10 แสดงดังภาพที่ 24 และ 25 พบว่าสเปกตรัมของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดมีการลักษณะการดูดกลืนแสงคล้ายคลึงกันในช่วงเลขคลื่น  $4000-7775\text{ cm}^{-1}$  ในขณะที่สเปกตรัมในพริกไทยในช่วงการดูดกลืนที่ตำแหน่งเลขคลื่นตั้งแต่  $12000$  ถึง  $8800\text{ cm}^{-1}$  มีลักษณะแตกต่างจากตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสงเป็นผลมาจากการกระเจิงแสง เนื่องจากบริเวณผิวของพริกไทยมีลักษณะขรุขระ โดยสเปกตรัมพริกไทยดำในการศึกษามีลักษณะเหมือนกับสเปกตรัมพริกไทยดำที่วัดด้วยเครื่อง NIR ในงานวิจัยของ Wilde และคณะ (2019) โดยสเปกตรัมที่ยังไม่ผ่านการปรับแต่งของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดพบตำแหน่ง

การดูดกลืนของการวัดรูปแบบเมล็ดและแบบบดเหมือนกัน โดยพบตำแหน่งการดูดกลืนแสงที่ชัดเจน อยู่ที่เลขคลื่นแสดงดังตารางที่ 22 (Osborne และคณะ, 1993)

เมื่อพิจารณาสเปกตรัมเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงจากการวัดรูปแบบเมล็ดและการวัด ตัวอย่างรูปแบบบดที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสองเพื่อแยกพีคที่ซ้อนทับออกมาได้ชัดเจน ขึ้นสามารถสังเกตการดูดกลืนแสงขององค์ประกอบสำคัญต่าง ๆ ของตัวอย่างได้ดีขึ้น โดยพบเลขคลื่น สำคัญในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงที่ช่วง 5208-5214 และ 5261-5292 โดยสัมพันธ์กับการสั่น แบบโอเวอร์โทนอันดับสองของ C-H stretching และ C=O stretching และพบว่าสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสองของพริกไทยและข้าวโพดจากการวัดทั้ง 2 รูปแบบ มีตำแหน่ง การดูดกลืนแบบเมล็ดและแบบบดลักษณะเหมือนกัน ในขณะที่สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธี อนุพันธ์อันดับสองของถั่วลิสงแบบเมล็ดมีความแตกต่างจากแบบบด กล่าวคือพบว่ารูปแบบบดมีการ ดูดกลืนเพิ่มสูงขึ้นที่เลขคลื่น 5747, 5677 และ 5801  $\text{cm}^{-1}$  โดยการศึกษาของ Yang และคณะ (2005) รายงานว่าตำแหน่งการดูดกลืนที่เลขคลื่น 5500 และ 6000  $\text{cm}^{-1}$  คือตำแหน่งการดูดกลืน ของโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งของ C-H stretching จาก  $-\text{CH}_2$ ,  $-\text{CH}_3$  และ  $-\text{CH}=\text{CH}-$  ของโมเลกุล น้ำมัน และไขมัน สอดคล้องกับการพิจารณาลักษณะตัวอย่างถั่วลิสงที่เป็นเมล็ดพีชน้ำมันเมื่อผ่าน ขั้นตอนการบดถั่วลิสงจะพบว่าตัวอย่างรูปแบบบดจะมีลักษณะของน้ำมันออกมาจากถั่วลิสง โดย ปริมาณน้ำมันมีอิทธิพลอย่างมากกับการเกิดรูปแบบการวัดแบบสะท้อนแสงแบบแพร่ (diffuse reflectance form) กับสภาพกายภาพของพื้นผิวตัวอย่าง เมื่อบดเมล็ดน้ำมันจะเกิดการรวมตัวเป็น ก้อนและลักษณะเฉพาะของอนุภาคจะเปลี่ยนแปลงไป (วารุณี และศุมาพร, 2555) โดยเมื่อ เปรียบเทียบกับสภาพทางกายภาพของบดพริกไทยและบดข้าวโพดตัวอย่างจะร้อนเป็นบด

ตารางที่ 22 ตำแหน่งการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมเมสิตซ์ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

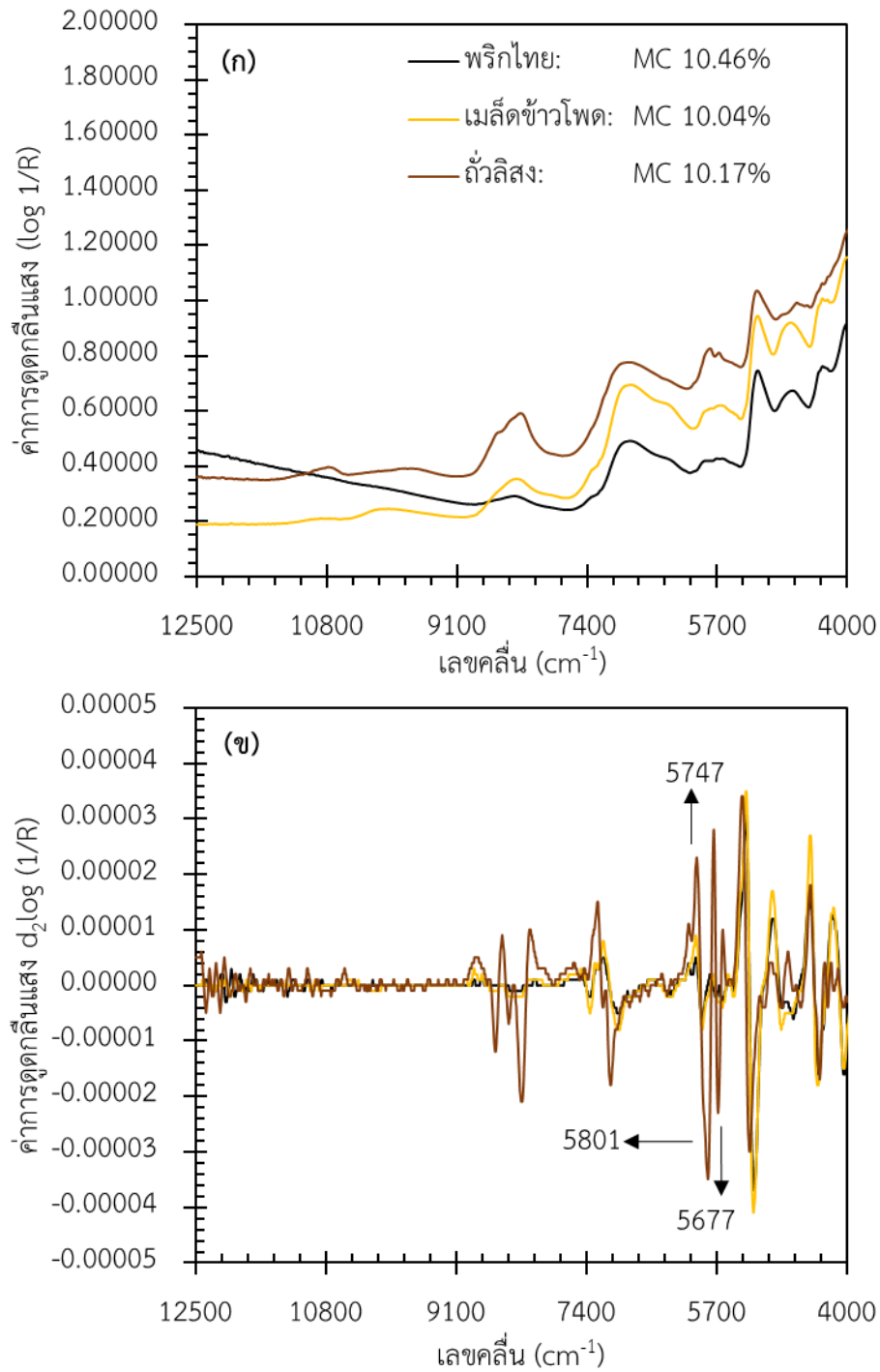
ตัวอย่าง	เลขคลื่น ( $\text{cm}^{-1}$ )	ความยาวคลื่น (nm)	การสั่นของพันธะ (bond vibration)	โมเลกุล (structure)	
เมสิตซ์ข้าวโพด	8230	1215	C-H str. 2 <sup>nd</sup> overtone	$\text{CH}_2$	
	6849	1460	N-H str. 1 <sup>st</sup> overtone	$\cdot\text{CONH}_2$	
	5165	1936	NH bend 2 <sup>nd</sup> overtone C-H str. / C=O str. combination	โปรตีน (protein)	
พริกไทย	6743	1483	C=O str. / amide str. combination N-H str. 1 <sup>st</sup> overtone	$\cdot\text{CONH}_2$	
	5155	1940	O-H bend 2 <sup>nd</sup> overtone	$\text{H}_2\text{O}$	
	5617	1780	O-H str./ HOH deformation combination	เซลลูโลส (cellulose)	
	4584	2090	O-H combination	-OH	
	4250	2352	$\text{CH}_2$ bend 2 <sup>nd</sup> overtone	เซลลูโลส (cellulose)	
	ถั่วลิสง	5754	1215	C-H 2 <sup>nd</sup> overtone	$\cdot\text{CH}_2$
		5160	1471	N-H str. 1 <sup>st</sup> overtone	CONHR
5666		1765	C-H str. 1 <sup>st</sup> overtone	$\cdot\text{CH}_2$	
5618		1780	C-H str. 1 <sup>st</sup> overtone	เซลลูโลส (cellulose)	



ภาพที่ 24 เส้นสเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสงที่ระดับปริมาณความชื้นร้อยละ 10

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น (ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง

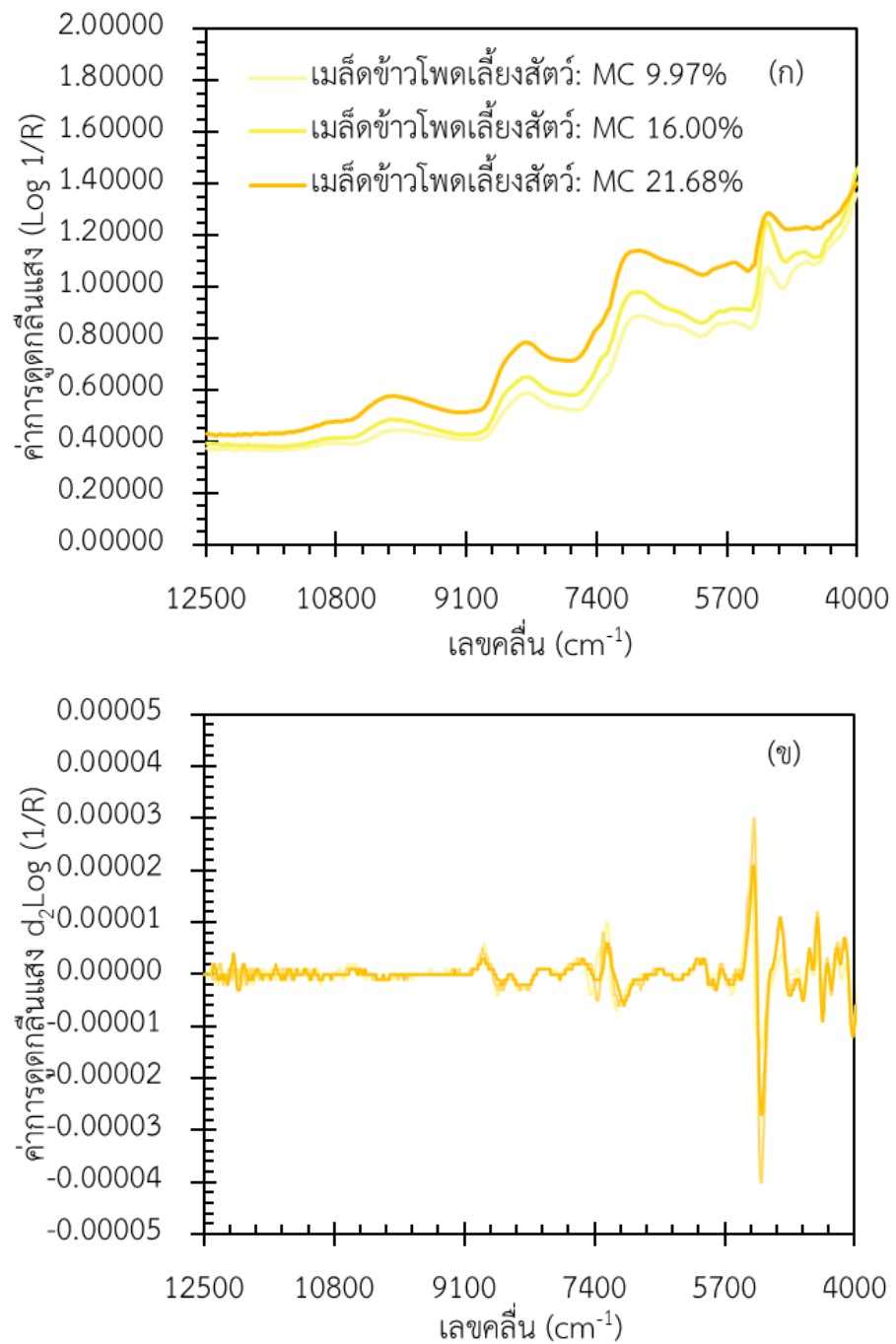




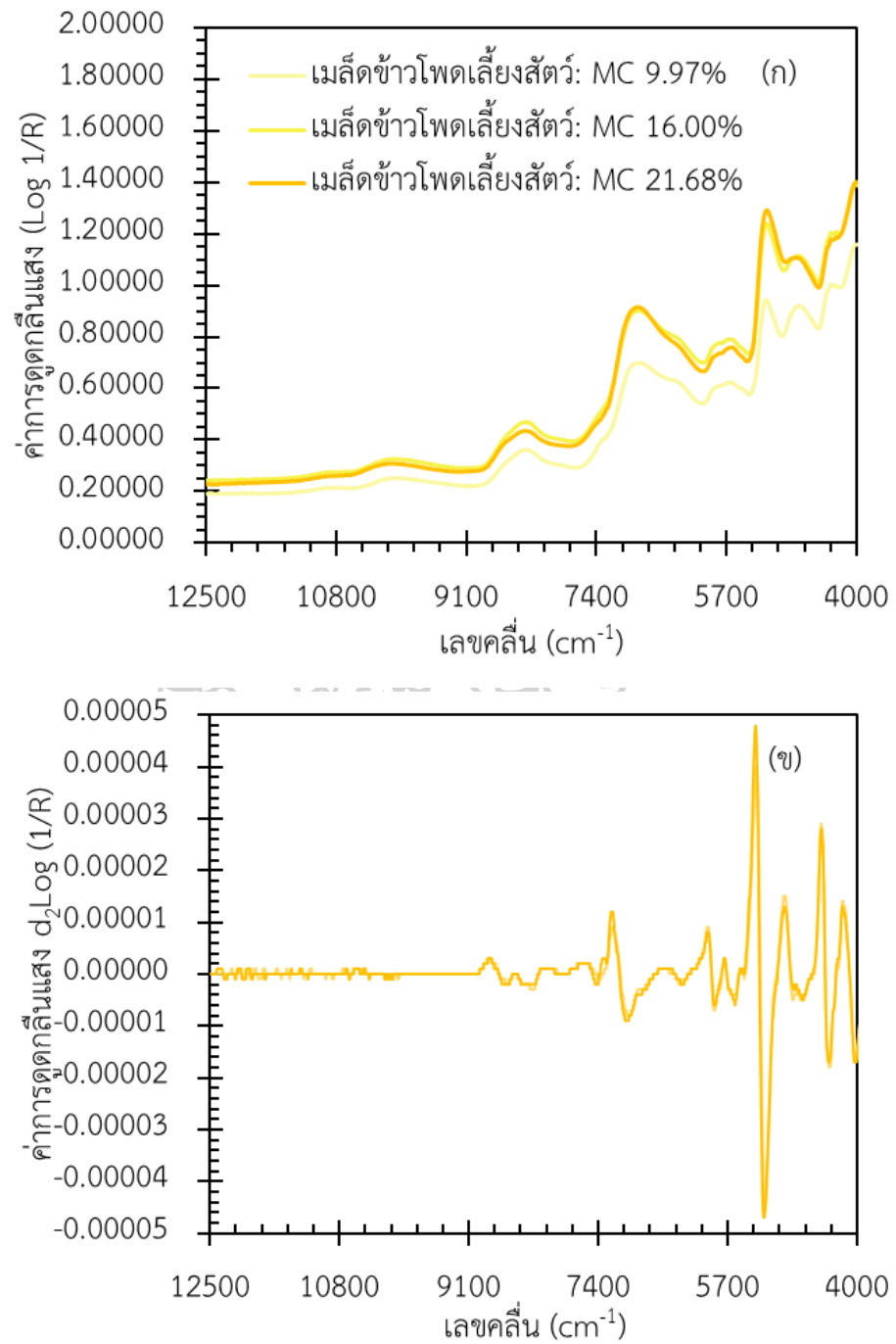
ภาพที่ 25 เส้นสเปกตรัมของข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสงแบบบดที่ระดับปริมาณความชื้นร้อยละ 10  
 (ก) สเปกตรัมเริ่มต้น (ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง

สเปกตรัมในช่วงเลขคลื่น  $12500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$  ของข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงจากการวัดรูปแบบเมล็ดและการวัดตัวอย่างรูปแบบบดที่ระดับปริมาณความชื้นต่างกัน 3 ระดับคือ 1) ตัวอย่างควบคุม 2) ตัวอย่างที่ผ่านการลดความชื้น และ 3) ตัวอย่างที่เพิ่มความชื้นพบว่า สเปกตรัมของตัวอย่างที่มีการผ่านกระบวนการลดความชื้นมีค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่าเส้นสเปกตรัมของตัวอย่างที่มีการเพิ่มความชื้นแสดงดังภาพที่ 26-31 โดยสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Osborne และคณะ (1993) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบสเปกตรัมของข้าวสาลีก่อนและหลังทำการอบแห้งมีการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัม โดยในตัวอย่างหลังอบที่มีการลดความชื้นจะเห็นการดูดกลืนแสง ณ ตำแหน่งของน้ำหายไปและพบการดูดกลืนแสงลดลงทั้งสเปกตรัม อันเนื่องมาจากตัวอย่างแห้งสะท้อนแสงได้มากกว่าตัวอย่างเปียก (Ozaki และคณะ, 2007) และความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญโดยมีผลต่อสเปกตรัมเพราะน้ำเป็นองค์ประกอบที่สามารถดูดกลืนรังสี NIR ได้สูง และรูปร่างสเปกตรัมของน้ำมียอดสูง (อนุพันธ์, 2555)



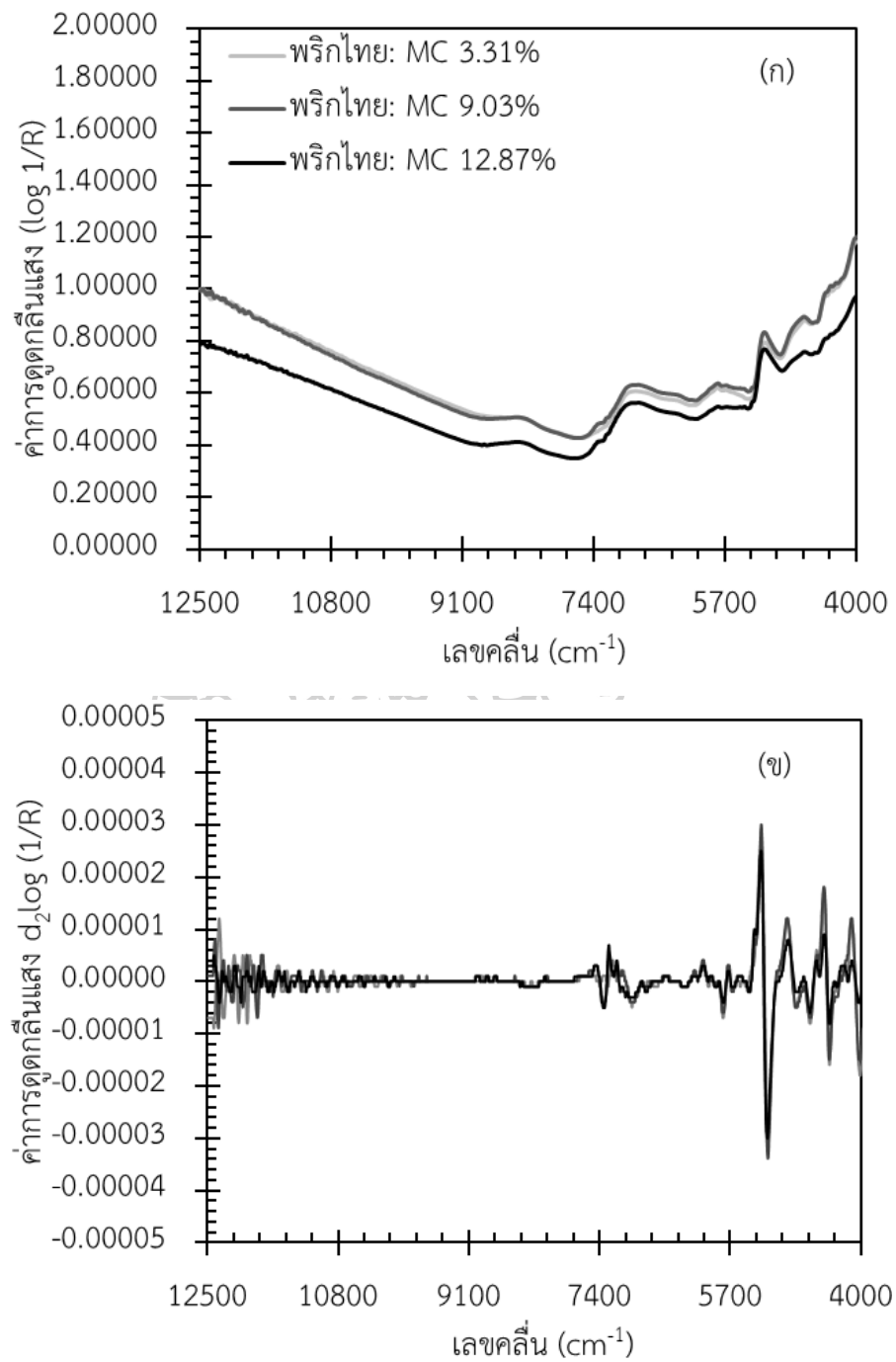


ภาพที่ 26 เส้นสเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน  
 (ก) สเปกตรัมเริ่มต้น (ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง



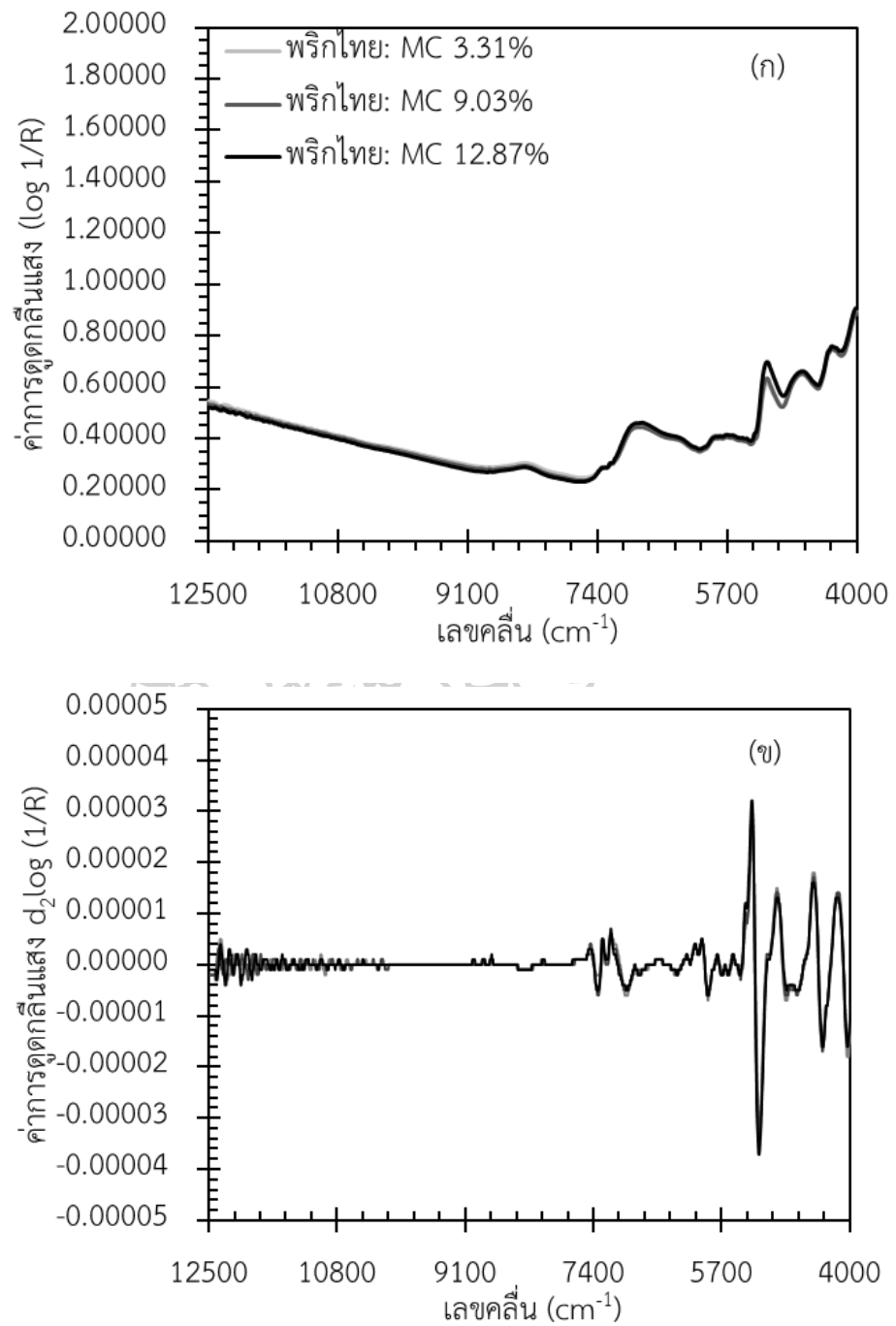
ภาพที่ 27 เส้นสเปกตรัมของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น (ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง



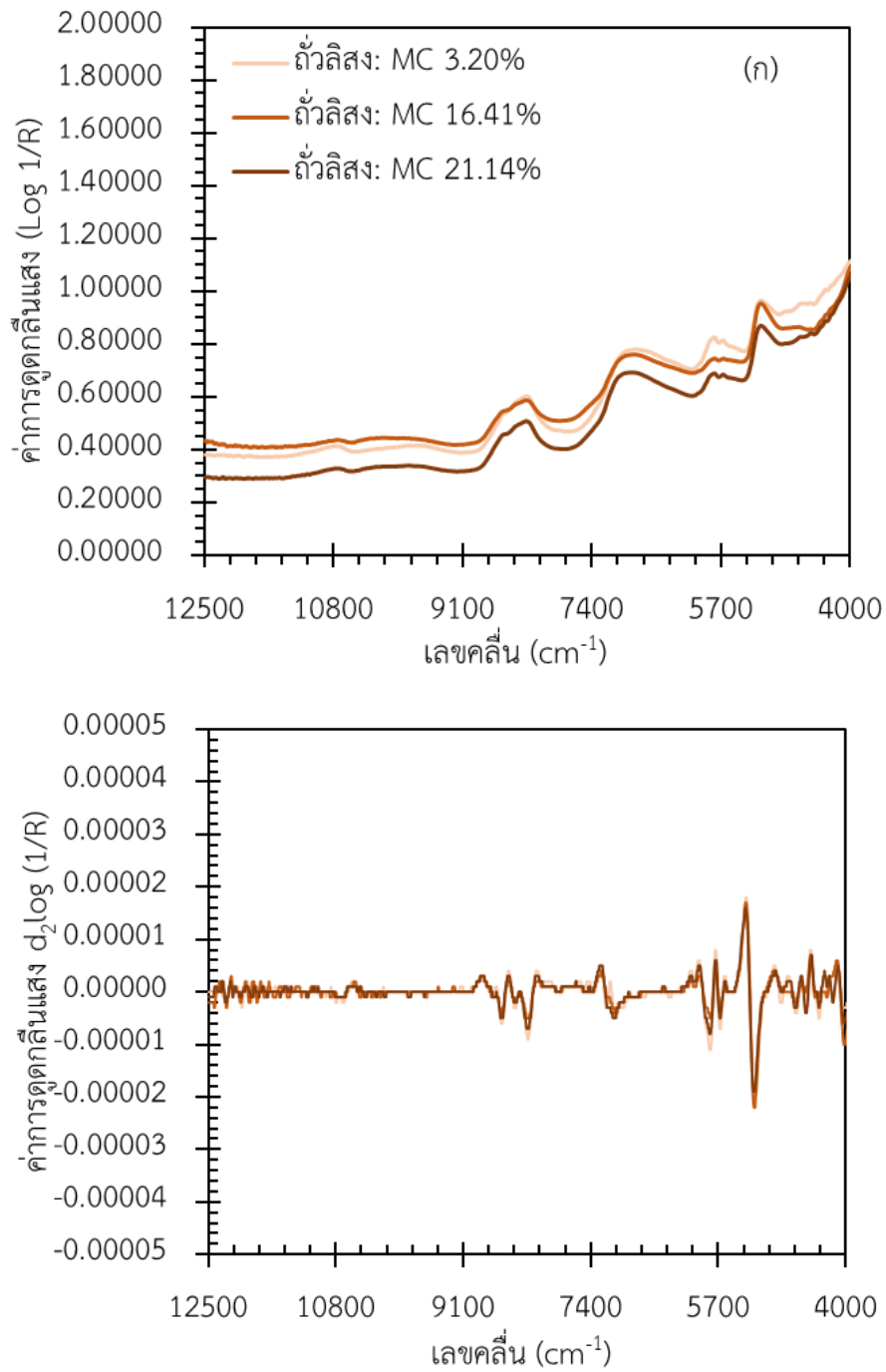
ภาพที่ 28 เส้นสเปกตรัมของพริกไทยที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น (ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง



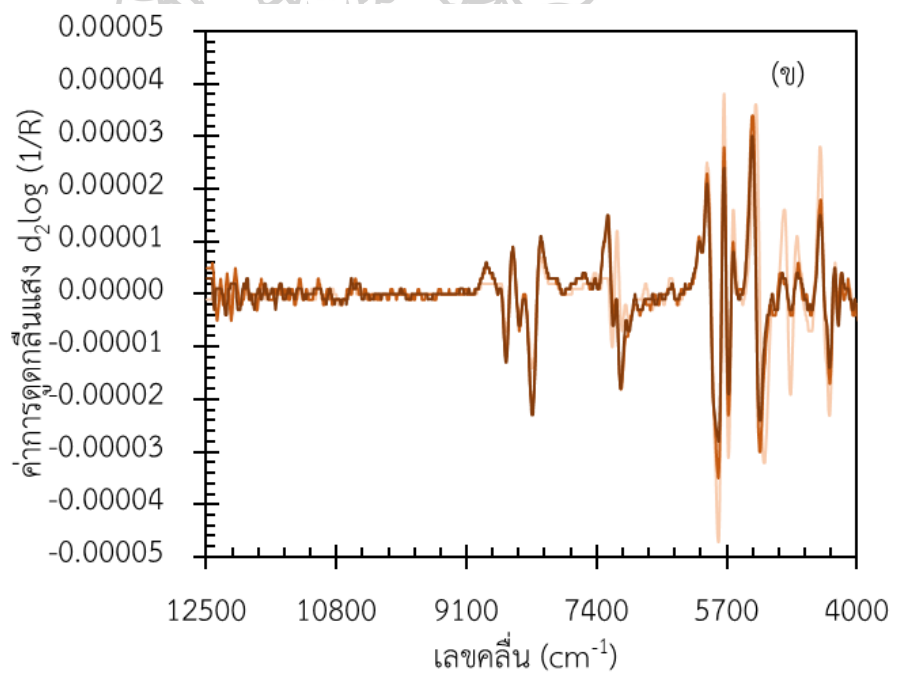
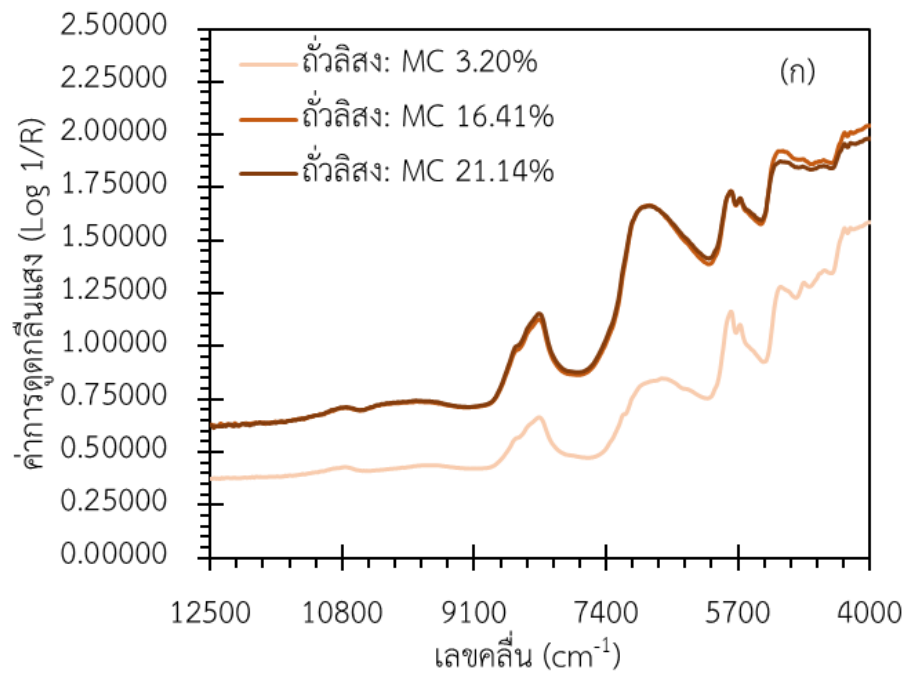
ภาพที่ 29 เส้นสเปกตรัมของพริกไทยชนิดที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น (ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง



ภาพที่ 30 เส้นสเปกตรัมของถั่วลิสงที่ระดับปริมาณความชื้นแตกต่างกัน

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น (ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง



ภาพที่ 31 เส้นสเปกตรัมของถั่วลิสงที่ระดับปริมาณความเข้มข้นแตกต่างกัน

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น (ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง



#### 4.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

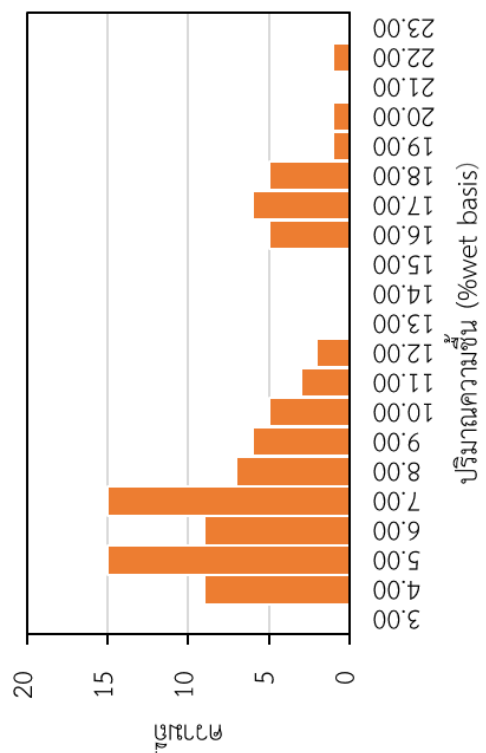
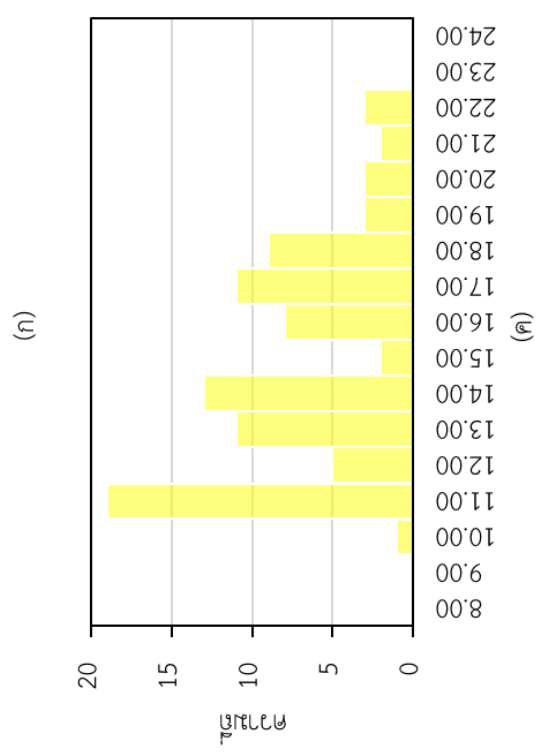
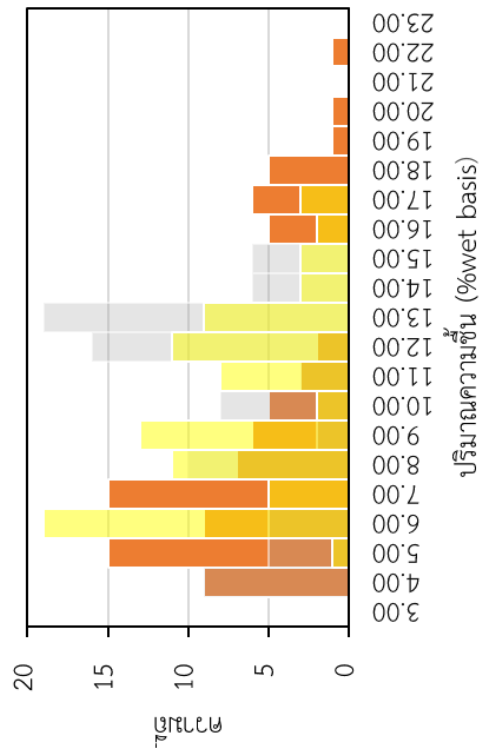
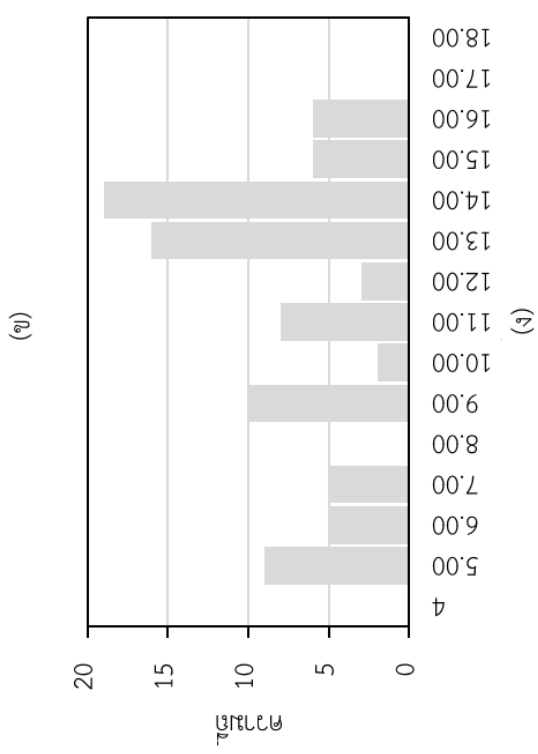
ตัวอย่างสำหรับใช้ในการศึกษาการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration set) และสมการทวนสอบ (validation set) ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจำนวน 270 ตัวอย่าง มีช่วงปริมาณความชื้นดังแสดงในตารางที่ 23 โดยเมื่อพิจารณากราฟการกระจายตัวของค่าปริมาณความชื้นแสดงดังภาพที่ 32 พบว่าขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้มีปริมาณความชื้นแตกต่างกันในเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานมีช่วงปริมาณความชื้นครอบคลุมของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทวนสอบภายนอก และมีช่วงค่าปริมาณความชื้นครอบคลุมมาตรฐานปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดได้แก่

- มอก.297-2556 ที่กำหนดให้ปริมาณความชื้นของพริกไทยดำไม่เกินร้อยละ 13
- มกษ 4405-2555 ที่กำหนดให้ปริมาณความชื้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่เกินร้อยละ 14
- มกษ 4901-2555 ที่กำหนดให้ปริมาณความชื้นถั่วลิสงไม่เกินร้อยละ 9
- CXS 326 กำหนดให้ปริมาณความชื้นของพริกไทยดำไม่เกินร้อยละ 12
- CXS 153 ที่กำหนดให้ปริมาณความชื้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่เกินร้อยละ 15.5
- CXS 200 ที่กำหนดให้ปริมาณความชื้นถั่วลิสงไม่เกินร้อยละ 9

ในการศึกษากลุ่มตัวอย่างทดสอบสมการเทียบมาตรฐานภายนอก (external validation) ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงมีปริมาณความชื้นตามมาตรฐานทุกตัวอย่าง โดยในตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัวอย่างสำหรับทดสอบความแม่นยำของสมการมีค่าปริมาณความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 14 ซึ่งเป็นปริมาณความชื้นที่เชื่อว่าไม่สามารถเจริญได้ ดังตารางที่ 24

ตารางที่ 23 ค่าสถิติของปริมาณความชื้นที่ใช้การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและสมการทวนสอบด้วยเทคนิค NIRS ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง)

ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ต่ำสุด – สูงสุด (% wet basis)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน (% wet basis)
พริกไทย	90	5.43 – 13.38	10.23 $\pm$ 2.40
ข้าวโพด	90	9.97 – 21.68	14.45 $\pm$ 3.17
ถั่วลิสง	90	3.20 – 21.14	8.58 $\pm$ 4.87
พริกไทย ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และถั่วลิสง	270	3.20 – 21.68	11.08 $\pm$ 3.48



ภาพที่ 32 กราฟแสดงการกระจายตัวของค่าปริมาณความชื้น

(ก) เมล็ดข้าวโพด (ข) พริกไทย (ค) ถั่วลิสง (ง) เมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

ตารางที่ 24 ค่าทางสถิติของปริมาณความชื้นในกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบสมการเทียบมาตรฐาน  
ทำนายปริมาณความชื้นโดยใช้ตัวอย่างกลุ่มใหม่ (external validation)

ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ต่ำสุด – สูงสุด (% wet basis)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (% wet basis)
เมล็ดข้าวโพดจากแหล่งที่ 1	10	13.23 – 13.87	13.52 $\pm$ 0.17
เมล็ดข้าวโพดจากแหล่งที่ 2	10	13.24 – 13.79	13.54 $\pm$ 0.15
เมล็ดข้าวโพดจากแหล่งที่ 3	10	12.07 -12.71	12.46 $\pm$ 0.18
เมล็ดข้าวโพดจาก 3 แหล่ง	30	12.07 – 13.79	13.17 $\pm$ 0.16
พริกไทยจากแหล่งที่ 1	10	11.24 -11.87	11.65 $\pm$ 0.18
พริกไทยจากแหล่งที่ 2	10	11.12 – 12.06	11.74 $\pm$ 0.28
พริกไทยจากแหล่งที่ 3	10	11.83 – 12.61	12.12 $\pm$ 0.20
พริกไทยจาก 3 แหล่ง	30	11.12 – 12.61	11.83 $\pm$ 0.22
ถั่วลิสงจากแหล่งที่ 1	10	4.87 – 6.39	5.83 $\pm$ 0.43
ถั่วลิสงจากแหล่งที่ 2	10	7.42 – 9.21	7.82 $\pm$ 0.52
ถั่วลิสงจากแหล่งที่ 3	10	6.44 – 7.55	6.99 $\pm$ 0.32
ถั่วลิสงจาก 3 แหล่ง	30	3.97 -9.21	6.88 $\pm$ 0.42
เมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง	90	3.97 – 13.87	10.62 $\pm$ 0.27

#### 4.1.4 ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พริกไทยและถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของแต่ละชนิด

##### 4.1.4.1 ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี PLSR

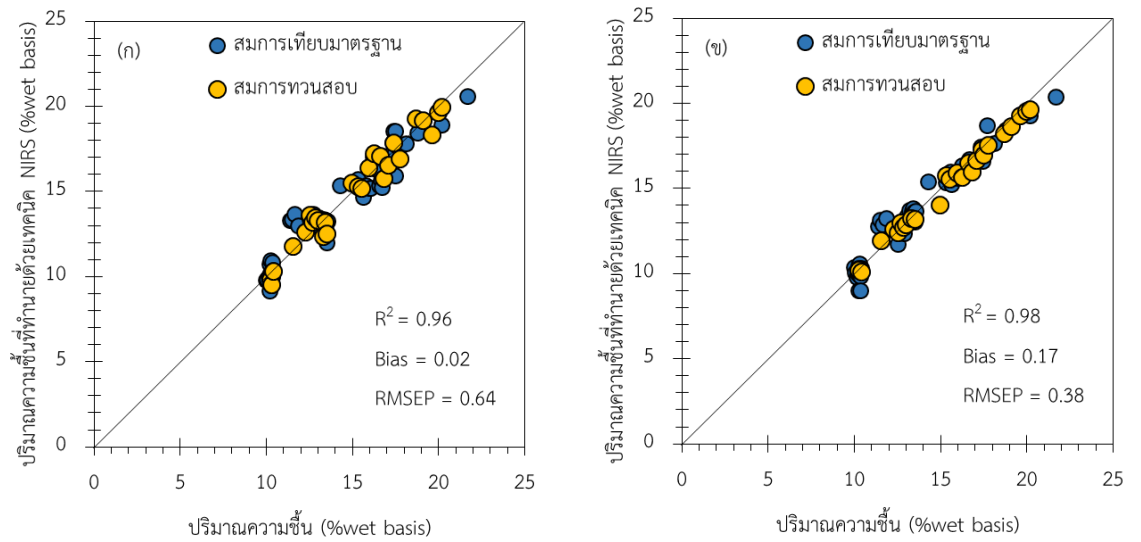
การสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงแต่ละชนิด ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 25 โดยพบว่า สามารถใช้ทำนายปริมาณความชื้นได้ดีทั้งการเตรียมตัวอย่างแบบเมล็ดและเตรียมตัวอย่างแบบบดในตัวอย่างทุกชนิด โดยมีความเหมาะสมพิจารณาจากการให้ค่า  $R^2$  มากกว่า 0.95 ทุกสมการ Williams (2007) ได้อธิบายค่า  $R^2$  ไว้ว่าค่า  $R^2$  ในช่วง 0.91-0.96 สามารถนำไปใช้ในงานประกันคุณภาพได้ และให้ค่า RMSEP และ Bias ที่มีค่าต่ำ สำหรับสมการเทียบมาตรฐานการทำนายปริมาณความชื้นรูปแบบเมล็ดมีค่า RMSEP อยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.45-1.10 (% wat basis) และสำหรับสมการเทียบมาตรฐานการทำนายปริมาณความชื้นรูปแบบบด RMSEP มีค่าอยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.37-0.93 (% wat basis) และพบว่าเมื่อพิจารณาวิธีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมที่เหมาะสมของแต่ละตัวอย่าง ในตัวอย่างพริกไทยไม่จำเป็นต้องปรับแต่งสเปกตรัม ในขณะที่ในถั่วลิสงและข้าวโพดใช้วิธีการปรับแต่งแบบ SNV และ Min-max normalization โดยวิธีดังกล่าวจะช่วงปรับแต่งลักษณะสเปกตรัมที่เกิดขึ้นมีการเลื่อนตัวขึ้นของสเปกตรัมตามแนวแกน y และการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่นที่เพิ่มขึ้น (multiplicative scattering)

โดยช่วงการดูดกลืนแสงที่ใช้ในการสร้างสมการทำนายความชื้นของข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสงอยู่ในช่วงสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงของน้ำที่ตำแหน่ง  $6896 \text{ cm}^{-1}$  (1450 nm) (วารุณี และศุมาพร, 2555) แต่จะพบว่าการเตรียมตัวอย่างแบบบดจะให้ค่าทางสถิติที่ดีกว่า เนื่องจากลดอิทธิพลของการกระเจิงแสงอันเป็นผลมาจากลักษณะรูปร่างของเมล็ดตัวอย่างดังกล่าว ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยเทคนิค NIRS ของสมการทำนายปริมาณความชื้นในแต่ละตัวอย่างดังภาพที่ 33-35

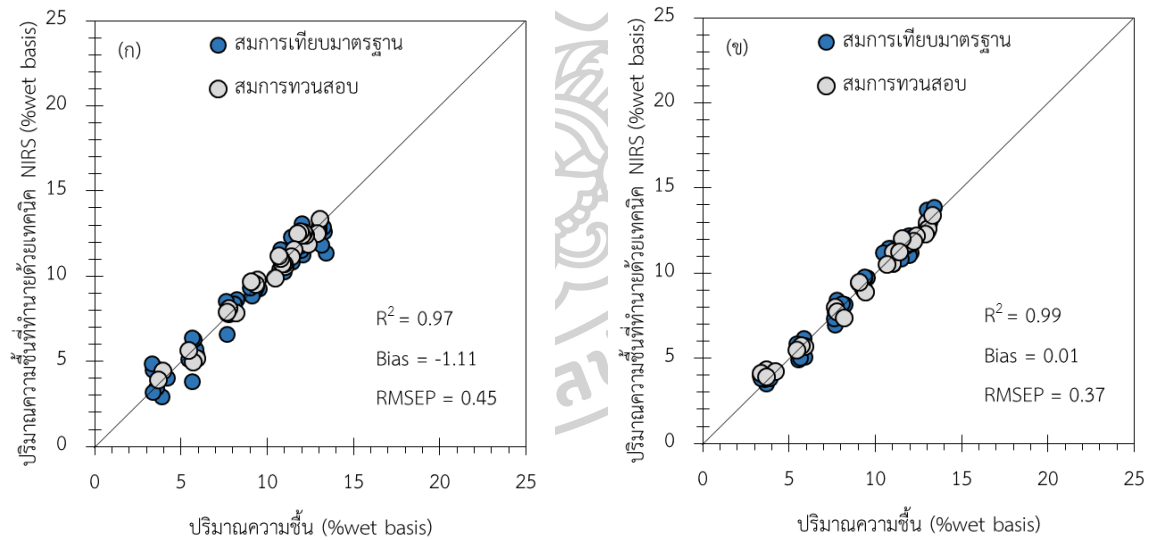
ตารางที่ 25 ค่าสถิติของสมการทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพดพริกไทย และถั่วลิสงแบบเมล็ดและแบบบดด้วยเทคนิค NIRS

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง (n)	ช่วงเลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	วิธีปรับแต่งสเปกตรัม	PLS factor		ชุดข้อมูลสมการเทียบมาตรฐาน (70%)		ชุดข้อมูลทดสอบสมการ (30%)			
				R <sup>2</sup>	RMSEC	RPD	R <sup>2</sup>	RMSEP	RPD	Bias	
แบบเมล็ด											
ข้าวโพด	90	8454.9-7498.4	Min-max normalization	3	0.93	0.85	3.67	0.96	0.64	4.66	0.02
พริกไทย	90	5454.1 – 4597.8									
		9403.8 – 5446.3	No-data processing	10	0.96	0.71	4.92	0.97	0.45	6.14	-1.11
ถั่วลิสง	90	7506.1 – 6094.3									
		5454.1 – 4597.8	SNV	5	0.94	1.24	4.11	0.95	1.10	4.43	0.06
แบบบด											
ข้าวโพด	90	9403.8 – 7498.4	1 <sup>st</sup> + SNV	1	0.96	0.60	4.98	0.98	0.38	8.96	0.17
		5454.1 – 4242.9									
พริกไทยบด	90	6102.1 - 5446.3	No-data processing	9	0.98	0.46	7.12	0.99	0.37	8.33	0.01
ถั่วลิสงบด	90	9403.8 – 7498.4									
		6102.1 – 4242.9	SNV	9	0.97	0.79	6.12	0.96	0.93	5.27	0.23

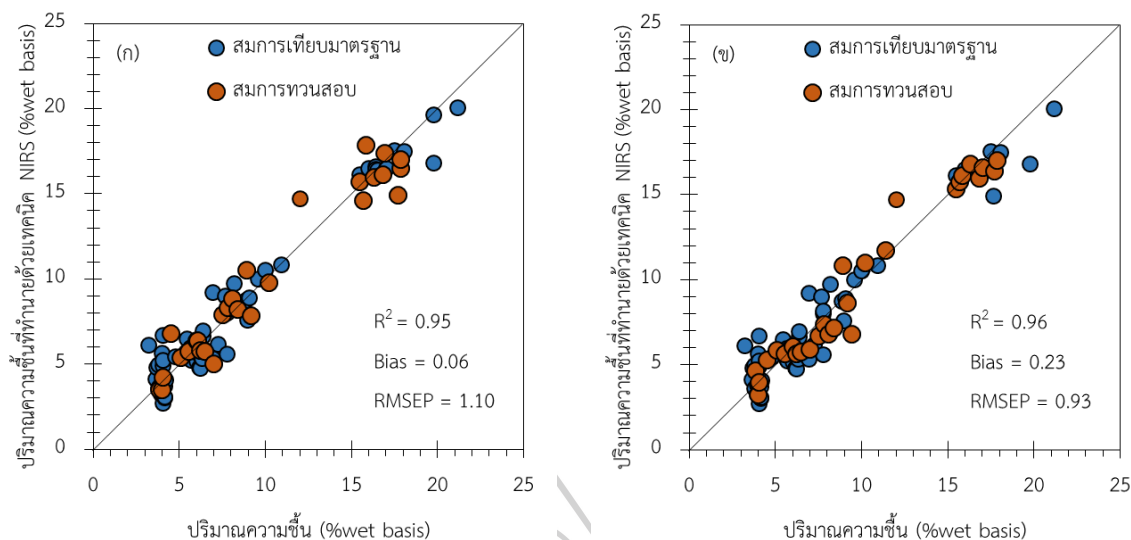
**หมายเหตุ:** R<sup>2</sup>: coefficients of determination, RMSEP: root mean square error of prediction, RMSEC: root mean square error of calibration and RPD: ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP \* คือ สมการที่ได้จากการ optimization ด้วยโปรแกรม OPUS software.



ภาพที่ 33 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยสมการเทียบมาตรฐานในตัวอย่างข้าวโพด  
(ก) แบบเมลิ็ด (ข) แบบบด



ภาพที่ 34 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยสมการเทียบมาตรฐานในตัวอย่างพริกไทย  
(ก) แบบเมลิ็ด (ข) แบบบด



ภาพที่ 35 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยสมการเทียบมาตรฐานในตัวอย่างถั่วลิสง  
(ก) แบบเมล็ด (ข) แบบบด

#### 4.1.4.2 การตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐาน

เมื่อทำการตรวจสอบความแม่นยำของสมการทำนายตามมาตรฐาน ISO 12099 ได้แก่การตรวจสอบ Bias SEP และ Slope โดยการตรวจสอบค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย (bias) โดยการเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีมาตรฐานและค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐาน ด้วยการทดสอบ pair t-test โดยค่า bias ที่ได้จากทุกสมการมีค่าน้อยกว่า  $T_b$  ซึ่งหมายถึงค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐานมีค่าไม่แตกต่างกับค่าที่วิเคราะห์จากวิธีมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงการตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานตารางที่

ตารางที่ 26 การตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานนายปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง

สมการ	Bias checking	SEP checking	Slope checking	ความสามารถในการนำไปใช้งานจริง
รูปแบบเมล็ด				
ข้าวโพด	✓	✓	✓	✓
พริกไทย	✓	✓	✓	✓
ถั่วลิสง	✓	✓	✓	✓
รูปแบบบด				
ข้าวโพด	✓	✓	✓	✓
พริกไทย	✓	✓	✓	✓
ถั่วลิสง	✓	✓	✓	✓

#### 4.1.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง

หลังจากสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงเพื่อทดสอบความแม่นยำของสมการ จะนำตัวอย่างนอกกลุ่มสมการเทียบมาตรฐาน ที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาดมาทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐานแต่ละชนิด โดยสุ่มตัวอย่างจำนวนชนิดละ 30 ตัวอย่าง จากแหล่งจำหน่ายที่แตกต่างกัน 3 แห่ง แห่งละ 10 ตัวอย่างพบว่าสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง สามารถทำนายปริมาณความชื้นได้ดีในรูปแบบเมล็ดและแบบบด โดยพิจารณาค่าสถิติ Bias และ RMSEP ดังตารางที่ 27 โดยสมการเทียบมาตรฐานมีในการทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงมีประสิทธิภาพสามารถทำนายตัวอย่างนอกกลุ่ม แม้ว่าจะมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวอย่าง (factors associated with the sample) ด้านองค์ประกอบทางเคมีและขนาดของเมล็ดแตกต่างกัน



ตารางที่ 27 ค่าสถิติของสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและ ถั่วลิสงนอกกลุ่มสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค NIRS

สมการ	จำนวนตัวอย่าง	ตัวอย่างทวนสอบนอกกลุ่ม: แหล่ง	จำนวนตัวอย่าง	Bias	RMSEP
<b>เมล็ด</b>					
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	90	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์: 1, 2 และ 3	30	0.63	0.86
พริกไทย	90	พริกไทย: 1, 2 และ 3	30	1.42	1.50
ถั่วลิสง	90	ถั่วลิสง: 1, 2 และ 3	30	1.25	1.73
<b>แบบบด</b>					
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	90	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์: 1, 2 และ 3	30	0.76	1.39
พริกไทย	90	พริกไทย: 1, 2 และ 3	30	1.00	2.09
ถั่วลิสง	90	ถั่วลิสง: 1, 2 และ 3	30	-0.68	0.96

#### 4.1.5 ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิด

การศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณความชื้นของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง ด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป เพื่อศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบทางเคมีภายในตัวอย่างแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน และขนาดของอนุภาคต่อการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยเทคนิค NIRS ทั้งนี้จากการศึกษาแสดงค่าทางสถิติของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิดในการทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงแต่ละชนิด ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 28 โดยพบว่า สามารถใช้ทำนายปริมาณความชื้นได้ดี โดยในการสร้างสมการจากข้อมูลตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด แบบเมล็ดมีค่า  $R^2$  สูงเท่ากับ 0.92 และมีค่า RMSEP ต่ำเท่ากับ 1.28 (%wet basis) โดยปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี Min-max normalization เป็นวิธีที่ช่วยลดอิทธิพลของการเลื่อนขึ้นของสเปกตรัมตามแนวแกน y ในขณะที่สมการจากข้อมูลตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดแบบบดปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี MSC โดยทั้งสองสมการแบบเมล็ดและแบบบดจากการใช้ข้อมูลตัวอย่าง 3 ชนิด เลือกใช้ช่วงความยาวคลื่นในการนำมาสร้างสมการเหมือนกันที่ ใช้จำนวนตัวแปรที่  $9403.8 - 6094.3 \text{ cm}^{-1}$  และ ใช้จำนวนตัวแปรในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปเท่าคือจำนวน 8 ตัวแปร

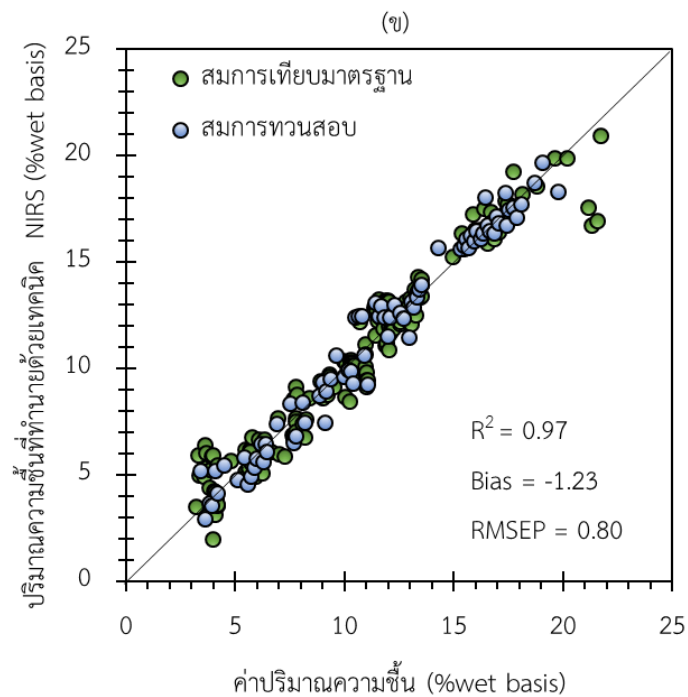
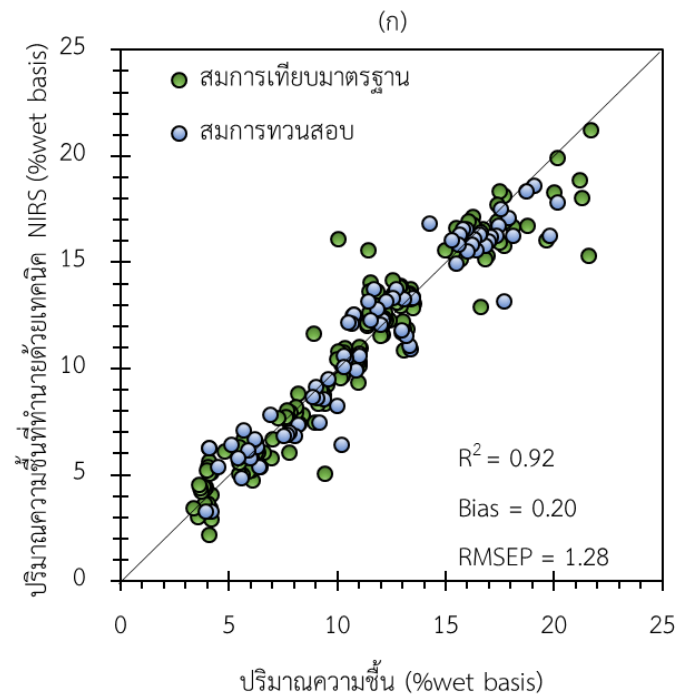
แสดงการกระจายตัวของค่าปริมาณความชื้นที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและการทำนายด้วยเทคนิค NIRS ของตัวอย่างกลุ่มสมการเทียบมาตรฐานและสมการทวนสอบดังภาพที่ 36 พบว่ามีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรงข้อมูลมีการกระจายตัวเข้าใกล้เส้นทแยงมุม (target line) บ่งบอกถึงการทำนายได้อย่างถูกต้อง โดยพบว่าสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปจากข้อมูลตัวอย่างแบบเดิมมีค่าเข้าใกล้ค่าเป้าหมายมากกว่าแบบเมล็ด



ตารางที่ 28 ค่าสถิติของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของชาวโพตพริกไทยและถั่วลิสงขึ้นของตัวอย่างแต่ละชนิดแบบ  
เมล็ดและแบบบดด้วยเทคนิค NIRS

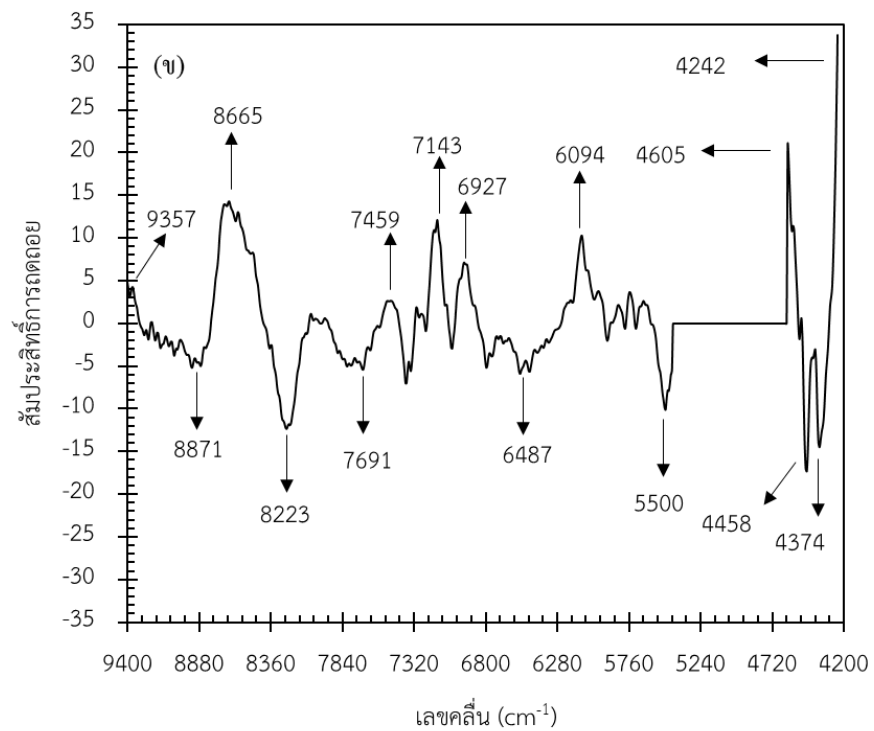
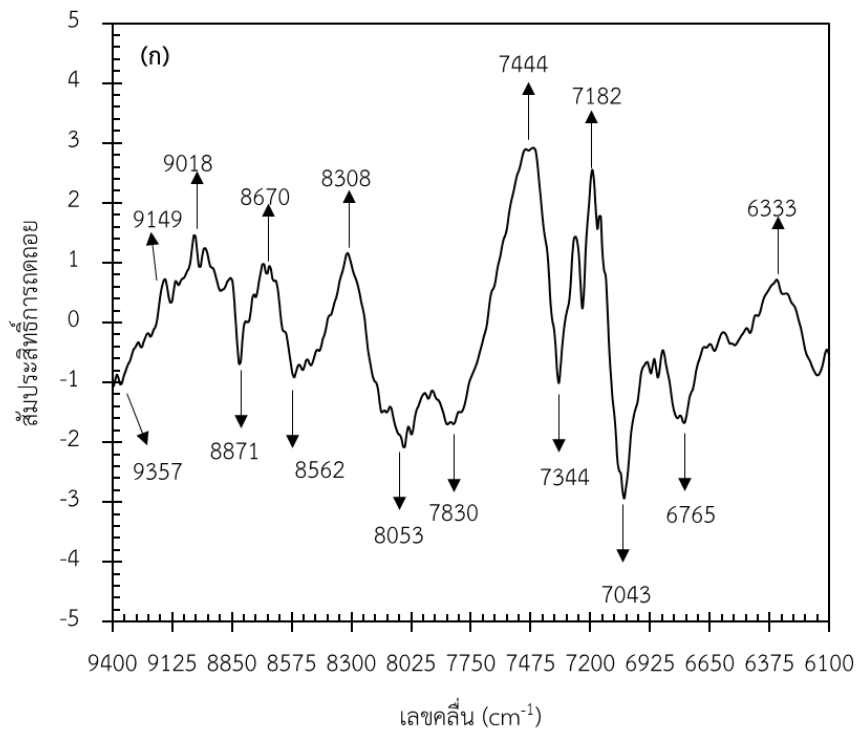
ชนิดตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง (n)	ช่วงเลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	วิธีปรับแต่งสเปกตรัม	PLS factor		ชุดข้อมูลสมการเทียบมาตรฐาน (70%)			ชุดข้อมูลทดสอบสมการ (30%)		
				R <sup>2</sup>	RMSEC	RPD	R <sup>2</sup>	RMSEP	RPD	Bias	
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์- พริกไทย	180	9403.8 – 7498.4	Min-max normalization	9	0.95	0.85	4.53	0.96	0.81	5.40	-1.18
		6102.1 - 5446.3									
	180	9403.8 – 7498.4	1st + SNV	8	0.96	0.83	4.95	0.95	0.91	4.61	0.06
ถั่วลิสง – ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	180	9403.8 – 7498.4	MSC	7	0.97	0.88	5.76	0.96	1.00	5.11	0.03
	270	9403.8 – 6094.3	Min-max normalization	8	0.92	1.29	3.58	0.92	1.28	3.62	0.20
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์- พริกไทย (บด)	180	9403.8 – 5446.3	1st + SNV	10	0.98	0.48	7.78	0.99	0.52	8.76	-0.17
		4605.5 – 4242.9									
	180	9403.8 – 6094.3	Min – max normalization	7	0.94	1.01	3.93	0.96	0.88	4.84	0.15
ถั่วลิสง – ข้าวโพด(บด)	180	9403.8 – 7498.4	Min – max normalization	7	0.98	0.81	6.32	0.98	0.66	7.61	-0.09
		6102.1 – 4242.9									
	270	9403.8 – 5446.3	MSC	8	0.95	1.04	4.37	0.97	0.80	5.89	-1.23
		4605.5 - 4242.9									

**หมายเหตุ:** R<sup>2</sup>: coefficients of determination, RMSEP: root mean square error of prediction, RMSEC: root mean square error of calibration and RPD: ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP \* คือ สมการที่ได้จากการ optimization ด้วยโปรแกรม OPUS software.



ภาพที่ 36 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากตัวอย่าง 3 ชนิด  
(ก) แบบเมล็ด (ข) แบบบด

ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นจากข้อมูล ตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดแบบเมล็ดที่ผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี Min-max normalization แสดง ดังภาพที่ 37 ซึ่งสังเกตเห็นตัวแปรที่มีความสำคัญต่อแบบจำลองอยู่ที่เลขคลื่น 9109, 9018, 8670, 8308, 7444, 7344, 7482, 7043 และ  $6333\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งที่เลขคลื่น  $6333\text{ cm}^{-1}$  สอดคล้องกับการ ดูดกลืนของการ สั่นของพันธะโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งของ O-H stretching (intermol H-bond) ของโครงสร้างน้ำตาลกลูโคสและแป้ง ที่เลขคลื่น  $6765\text{ cm}^{-1}$  พันธะโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งของ O-H stretching (intermol H-bond) ของโครงสร้างโมเลกุลกลูโคส ที่เลขคลื่น  $7043\text{ cm}^{-1}$  สอดคล้องกับการดูดกลืนของการ สั่นของพันธะโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งของ O-H stretching ของ โมเลกุล ArOH ที่เลขคลื่น 7344 และ  $7444\text{ cm}^{-1}$  ของพันธะ C-H stretching และ พันธะ C-H deformation ของโมเลกุล  $\text{CH}_3$  (Osborne และคณะ, 1993) โดยพบว่าการสร้างแบบจำลองไม่ได้ สร้างจากการดูดกลืนแสงของ พันธะของน้ำโดยตรงที่ความเลขคลื่น 5154, 6896 และ  $10309\text{ cm}^{-1}$  โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kandala และคณะ (2014) ในการติดตามปริมาณความชื้นในถั่วลิสง พบว่า ลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของถั่วลิสงมี การดูดกลืนสูงของพันธะ O-H แต่ไม่พบการ ดูดกลืนของพันธะน้ำบริสุทธิ์ที่เลขคลื่น  $10256\text{ cm}^{-1}$  (975 นาโนเมตร) โดยกล่าวว่าโมเลกุลของน้ำ บริสุทธิ์จะมีอะตอมของ H ที่เป็นอิสระที่ไม่ได้สร้างพันธะกับโมเลกุลอื่นๆ ในขณะที่ในองค์ประกอบ ของอาหาร (food material) อะตอมของไฮโดรเจนในโมเลกุล O-H จะสร้างพันธะกับ คาร์บอน ไนโตรเจนและอะตอมอื่น ๆ เป็นต้น ทำให้สามารถเห็นการดูดกลืนแสงของพันธะ O-H ที่หลายความ ยาวคลื่น



ภาพที่ 37 สัมประสิทธิ์การดูดกลืนของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากตัวอย่าง 3 ชนิด

(ก) แบบเมล็ด (ข) แบบบด

#### 4.1.1 การตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไป

เมื่อทำการตรวจสอบความแม่นยำของสมการทำนายตามมาตรฐาน ISO 12099 ได้แก่การตรวจสอบ Bias SEP และ Slope ค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐานมีค่าไม่แตกต่างกับค่าที่วิเคราะห์จากวิธีมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงการตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานดังตารางที่ 29

ตารางที่ 29 การตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานนายปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสง

สมการ	Bias checking	SEP checking	Slope checking	ความสามารถในการนำไปใช้งานจริง
รูปแบบเมล็ด				
ข้าวโพด-พริกไทย	✓	✓	✓	✓
พริกไทย – ถั่วลิสง	✓	✓	✓	✓
ถั่วลิสง – ข้าวโพด	✓	✓	✓	✓
3 ชนิด	✓	✓	✓	✓
รูปแบบบด				
ข้าวโพด	✓	✓	✓	✓
พริกไทย	✓	✓	✓	✓
ถั่วลิสง	✓	✓	✓	✓
3 ชนิด	✓	✓	✓	✓

4.1.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิดการทดสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปสำหรับทำนายปริมาณความชื้น

ทำโดยการนำตัวอย่างที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาดมาทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐานจากข้อมูลตัวอย่าง 3 ชนิด โดยสุ่มตัวอย่างจำนวน 90 ตัวอย่าง ได้แก่ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงชนิดละ 30 ตัวอย่างจากแหล่งจำหน่ายที่แตกต่างกันชนิดละ 3 แห่ง แห่งละ 10 ตัวอย่าง พบว่าสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณความชื้นจากข้อมูลตัวอย่าง 3 ชนิด สามารถทำนายปริมาณความชื้นได้มี

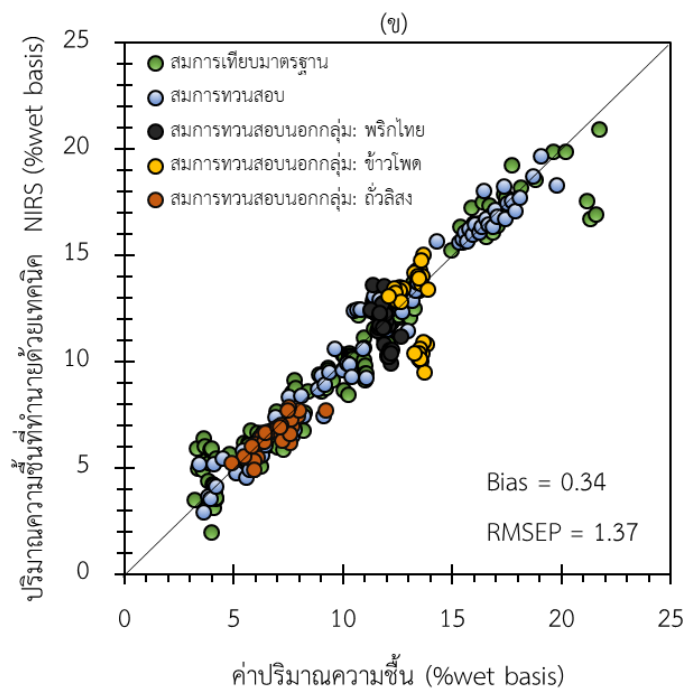
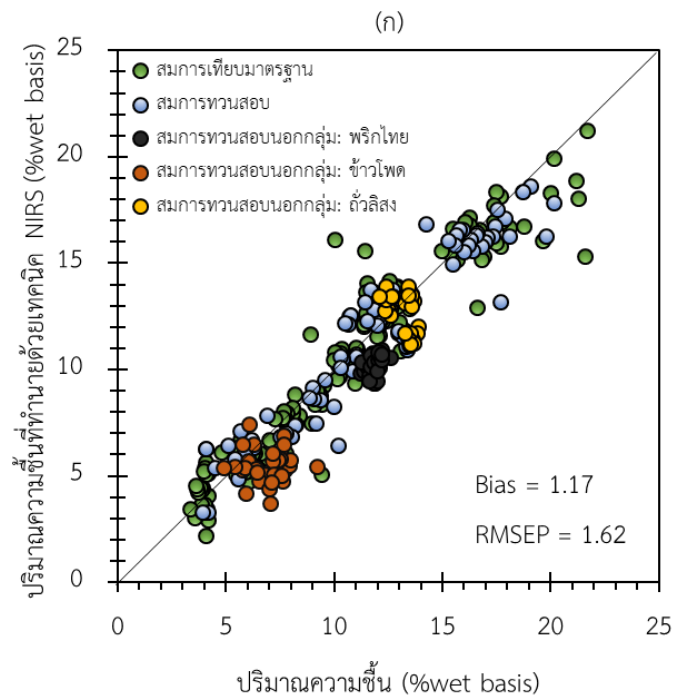
ประสิทธิภาพโดยพิจารณาจากค่า Bias และ RMSEP ที่มีค่าต่ำโดยมีค่า Bias และ RMSEP สูงสุดเท่ากับ 1.43 (%wet basis) และ 1.74 ตามลำดับ แสดงค่าสถิติดังตารางที่ 30

ตารางที่ 30 ค่าสถิติการใช้สมการเทียบมาตรฐานทั่วไปสำหรับทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพด  
พริกไทย และถั่วลิสงนอกกลุ่มสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค NIRS

สมการ	จำนวน ตัวอย่าง	ตัวอย่างทวนสอบนอกกลุ่ม: แหล่งจำหน่าย	จำนวน ตัวอย่าง	Bias (%)	RMSEP (%)
<b>แบบทั้งเมล็ด</b>					
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์- พริกไทย	180	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์-พริกไทย: 1, 2 และ 3	60	1.07	1.29
พริกไทย – ถั่วลิสง	180	พริกไทย – ถั่วลิสง: 1, 2 และ 3	60	1.02	1.53
ถั่วลิสง – ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	180	ถั่วลิสง – ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์: 1, 2 และ 3	60	1.43	1.74
3 ชนิด	270	3 ชนิด: 1, 2 และ 3	90	1.17	1.62
<b>แบบบด</b>					
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์- พริกไทย	180	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์-พริกไทย: 1, 2 และ 3	60	0.46	1.43
พริกไทย – ถั่วลิสง	180	พริกไทย – ถั่วลิสง: 1, 2 และ 3	60	0.11	0.62
ถั่วลิสง – ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	180	ถั่วลิสง – ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์: 1, 2 และ 3	60	0.73	1.63
3 ชนิด	270	3 ชนิด: 1, 2 และ 3	90	0.34	1.37

แสดงการกระจายตัวของค่าปริมาณความชื้นในกลุ่มตัวอย่างทวนสอบสมการแต่ละชนิดที่ได้จากการทำนายด้วยเทคนิค NIRS และค่าจริงที่วิเคราะห์ได้ทางเคมีดังแสดงในภาพที่ 32





ภาพที่ 38 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณความชื้นระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ของกลุ่มตัวอย่างทวนสอบสมการภายนอกทั้ง 3 ชนิด  
(ก) แบบเมล็ด (ข) แบบบด

ตารางที่ 31 ค่าร้อยละความถูกต้องของการแบ่งข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงตามเกณฑ์มาตรฐาน ปริมาณความชื้นด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปจากข้อมูลตัวอย่าง 3 ชนิด

สมการ	ตัวอย่างสำหรับ ทำนาย	เกณฑ์มาตรฐาน ความชื้น	ร้อยละความถูกต้องในการแบ่งกลุ่ม (%)
3 ชนิด	เมล็ดข้าวโพด 3 แห่ง	15.5	100
3 ชนิด	พริกไทย 3 แห่ง	12.0	86.6
3 ชนิด	ถั่วลิสง 3 แห่ง	9.0	100

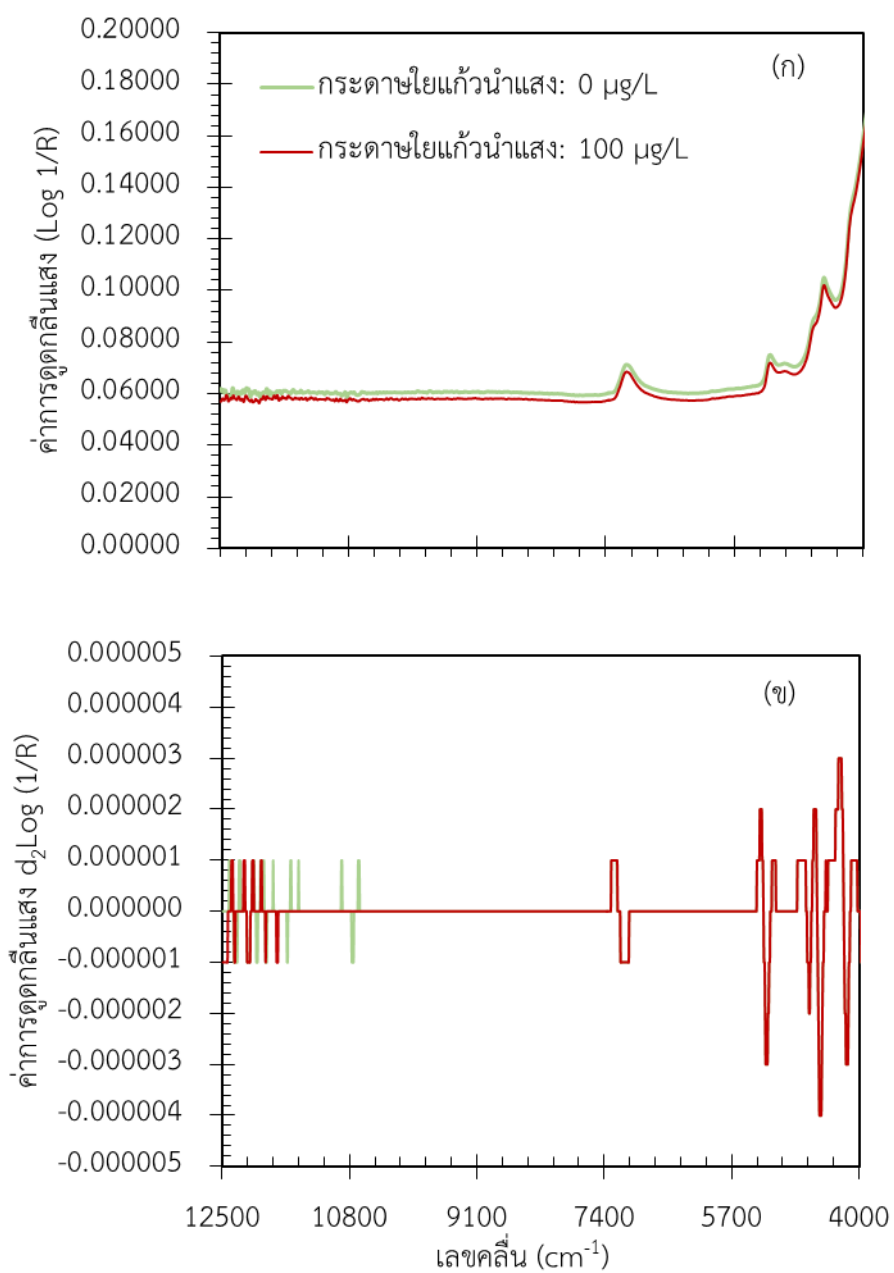
#### 4.2 การใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการติดตามปริมาณสารละลายมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR

##### 4.2.1 ลักษณะสเปกตรัมของสารละลายมาตรฐาน AFB1 ที่เตรียมตัวอย่างแบบ DESIR

สเปกตรัมเฉลี่ยในช่วงเลขคลื่น  $12500 - 4000\text{cm}^{-1}$  ของสารละลายมาตรฐาน AFB1 ที่เตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ที่ระดับปริมาณความเข้มข้นของสารมาตรฐาน AFB1 ที่แตกต่างกันตั้งแต่  $0 - 1.0\text{ mg/L}$  พบว่าสามารถสังเกตการดูดกลืนแสงขององค์ประกอบสำคัญต่างๆ ของตัวอย่างโดยพบเลขคลื่นสำคัญที่  $5100\text{ cm}^{-1}$  โดยสอดคล้องกับการสั่นแบบของ OH stretching และ OH combination และที่ตำแหน่ง  $6800\text{ cm}^{-1}$  สัมพันธ์กับการสั่นแบบโอเวอร์โทนอันดับสองของ OH stretching และเมื่อพิจารณาลักษณะสเปกตรัมจากการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ไม่พบลักษณะสเปกตรัมที่มีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นหรือเลื่อนขึ้นตามแนวแกน y แสดงดัง

ภาพที่ 39

อย่างไรก็ตามสเปกตรัมมีการดูดกลืนที่ซ้อนทับกัน (overlapping) มักจะส่งผลกระทบต่อตัวแปรที่สนใจดังนั้น จึงนำวิธีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม (pretreatment) ด้วยวิธีการทำอนุพันธ์อันดับสองเข้ามาช่วยเพื่อทำให้ได้พีคที่มีลักษณะชัดเจนมากขึ้น โดยพบเลขคลื่นสำคัญที่  $7236\text{ cm}^{-1}$ ,  $5376\text{ cm}^{-1}$ ,  $5263\text{ cm}^{-1}$ ,  $4512\text{ cm}^{-1}$  และ  $4260\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งตรงกับรายงานการศึกษาของ Tripathi และ Mishra (2009) พบการดูดกลืนแสงของวงคูมารินในโครงสร้าง AFB1 ที่มีตำแหน่งการดูดกลืนที่  $4262.37\text{ cm}^{-1}$  ตำแหน่งการดูดกลืนของ lactone moiety ของ AFB1 ที่  $4825.90\text{ cm}^{-1}$ ,  $4390.42\text{ cm}^{-1}$ ,  $5868.42\text{ cm}^{-1}$  and  $5789.24\text{ cm}^{-1}$  ตามลำดับ



ภาพที่ 39 สเปกตรัมของสารละลายมาตรฐาน AFB1 ที่เตรียมตัวอย่างแบบ DESIR

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น

(ข) สเปกตรัมปรับแต่งด้วยวิธีการคำนวณค่าอนุพันธ์อันดับสอง

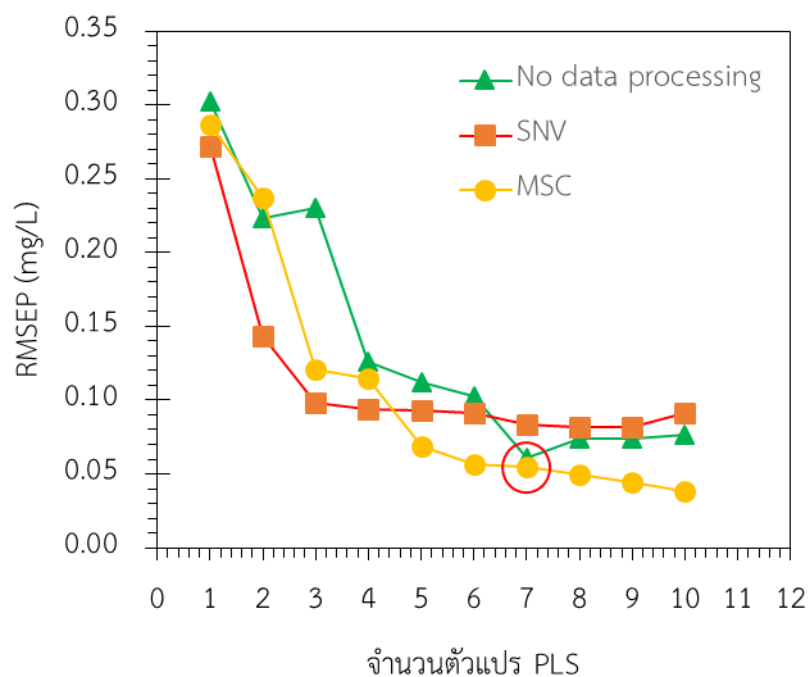
#### 4.2.2 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิคการเตรียม

##### ตัวอย่างแบบ DESIR

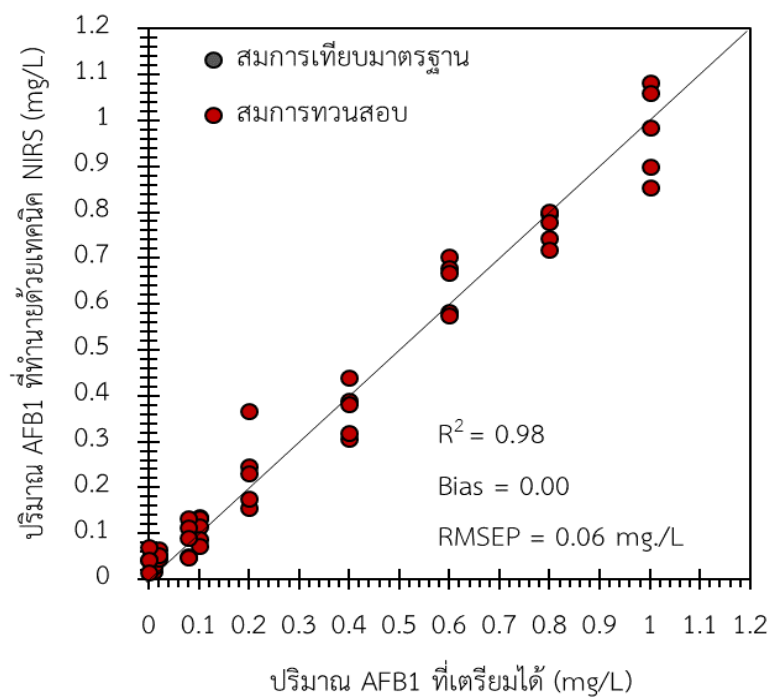
จากการศึกษาพบว่าสมการทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ที่ได้ มีความเหมาะสมโดยให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.98 ให้ค่า RMSECV และ Bias ที่มีค่าต่ำเท่ากับ 0.06 และ 5.65 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับแสดงดังตารางที่ 32 สมการที่ดีที่สุดไม่มีการปรับแต่งสเปกตรัม เนื่องมาจากการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ช่วยในการกำจัดอิทธิพลการดูดกลืนแสงขององค์ประกอบอื่น ๆ และลดอิทธิพลด้านการกระเจิงแสงแสดง และเมื่อพิจารณาการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีที่แตกต่างกันได้แก่ สเปกตรัมเริ่มต้น การปรับแต่งด้วยวิธี SNV และ MSC ต่อจำนวนตัวแปรที่นำมาใช้ในแบบจำลองพบว่า วิธีการไม่ปรับแต่งสเปกตรัมและใช้จำนวนตัวแปร 7 ตัวแปรให้ค่า RMSEP ต่ำที่สุดแสดงดังภาพที่ 40 แสดงลักษณะการกระจายตัวของจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ระหว่างค่าจริงของสารละลายมาตรฐาน AFB1 และค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR โดยลักษณะการกระจายตัวของจุดบนกราฟเข้าใกล้เส้น target line แสดงดังภาพที่ 41

ตารางที่ 32 ค่าสถิติของสมการทำนายปริมาณอะฟลาทอกซิน บี 1 (AFB1) โดยการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ด้วยเทคนิค NIRS

วิธีปรับแต่ง สเปกตรัม	เลขคลื่น ( $\text{cm}^{-1}$ )	สมการเทียบ มาตรฐาน			สมการทวนสอบ		
		$R^2$	RMSEC (mg/L)	$R^2$	RMSECV (mg/L)	RPD	Bias (mg/L)
No spectral data	9403.8-7498.4 6102.1- 4597.8	0.98	0.05	0.97	0.06	5.65	-0.0003



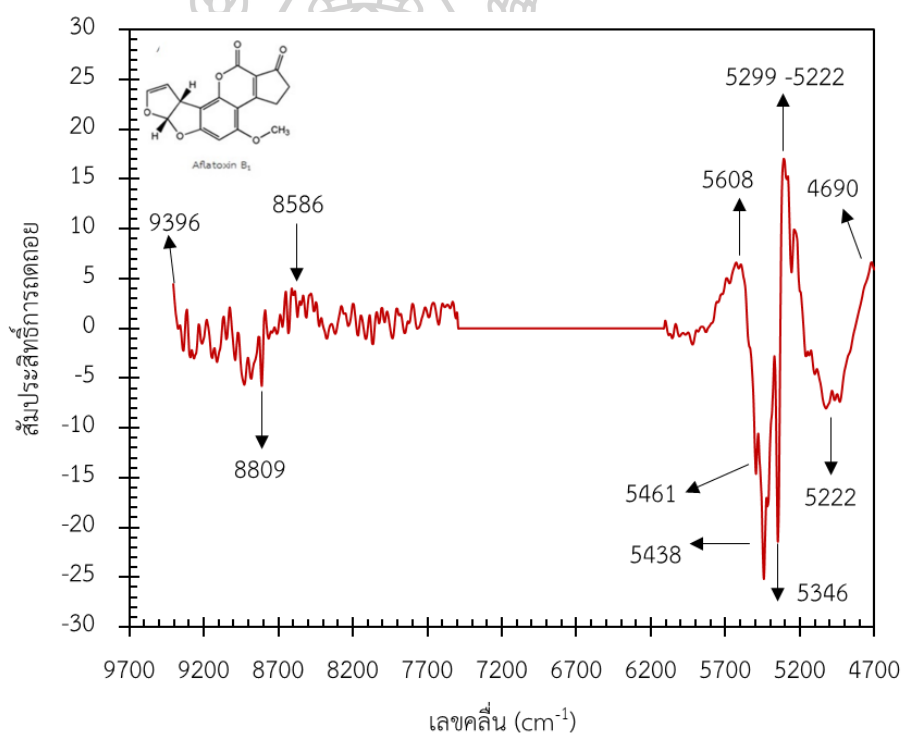
ภาพที่ 40 อิทธิพลของจำนวนตัวแปร PLS ต่อค่า RMSEP ของสมการเทียบมาตรฐานทำนาย ปริมาณ AFB1 เมื่อใช้วิธีการปรับแต่งสเปกตรัมแตกต่างกัน



ภาพที่ 41 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR

#### 4.2.3 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี Multiple linear Regression (MLR)

เมื่อพิจารณากราฟค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย (regression coefficient plots) สำหรับสมการ PLS ที่ใช้ในการทำนายปริมาณ AFB1 ในสารละลายมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR ในภาพที่ 42 แสดงให้เห็นตำแหน่งการดูดกลืนแสงที่สำคัญกับการสร้างแบบจำลองมีเลขคลื่นที่ 5222, 5230, 5276, 5299, 5346, 5438, 5492, 5592 และ 8786  $\text{cm}^{-1}$  และพบค่าการดูดกลืนที่ตำแหน่ง 5492 เป็นการสั่นของพันธะ O-H combination ของโมเลกุล เซลลูโลส ตำแหน่งการดูดกลืนแสงที่ 4690  $\text{cm}^{-1}$  เป็นการสั่นของพันธะ N-H stretching และ C=O stretching (Osborne และคณะ, 1993) และไม่พบการดูดกลืนของเมทานอลที่เป็นตัวทำละลายสาร AFB1 โดยตำแหน่งการดูดกลืนของเมทานอลพบที่ตำแหน่ง 6450  $\text{cm}^{-1}$  (Ozaki และคณะ, 2007)

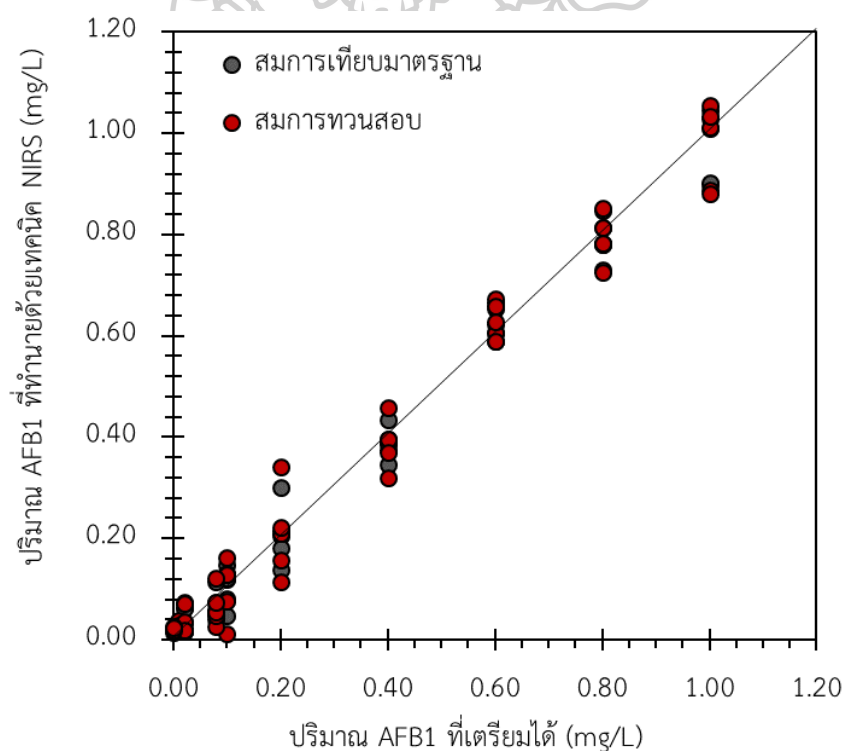


ภาพที่ 42 กราฟค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย สำหรับสมการ PLS ที่ใช้ทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR

จากนั้นทำการคัดเลือกเลขคลื่นที่สำคัญมาใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี MLR ในการศึกษาครั้งนี้ เลือกใช้เลขคลื่นโดยพิจารณาจากกราฟสัมประสิทธิ์การถดถอยร่วมกับเลขคลื่นอ้างอิงจากงานวิจัยที่เคยมีการใช้เทคนิค NIRS ในการติดตามปริมาณ AFB1 ซึ่งเลขคลื่นที่เลือกมาเป็นเลขคลื่นที่มีความ

สอดคล้องกับพันธะภายในโครงสร้าง AFB1 จำนวน 17 เลขคลื่น ได้แก่ 8809.80, 8586.09, 5870.63, 5785.77, 5461.77, 5438.63, 5346.05, 5299.77, 5222.63, 5168.63, 5160.91, 4929.48, 4821.48, 4651.76, 4597.76, 4389.47 และ 4273.758 จากตารางที่ 33 แสดงค่าสถิติสำหรับการสร้างสมการความสัมพันธ์ด้วยการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณ (multiple linear regression, MLR) โดยสมการที่ดีที่สุดใช้เลขคลื่นจำนวน 10 เลขคลื่น ได้แก่ 5870.63, 5785.77, 5461.77, 5438.63, 5346.05, 5299.77, 5168.63, 5160.91, 4821.47 และ 4651.76 ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.98 RMSEP เท่ากับ 0.051 mg/L และค่า slope เท่ากับ 0.99

แสดงการกระจายตัวของค่าความเข้มข้น AFB1 ที่ได้จากการสร้างสมการเทียบมาตรฐานและสมการทวนสอบด้วยเทคนิค NIRS พบว่ามีการกระจายตัวของจุดเข้าใกล้เส้นทแยงมุมแสดงภาพที่



ภาพที่ 43 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR โดยการสร้างสมการด้วยวิธี MLR

ตารางที่ 33 การเลือกเลขคลื่นในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี MLR

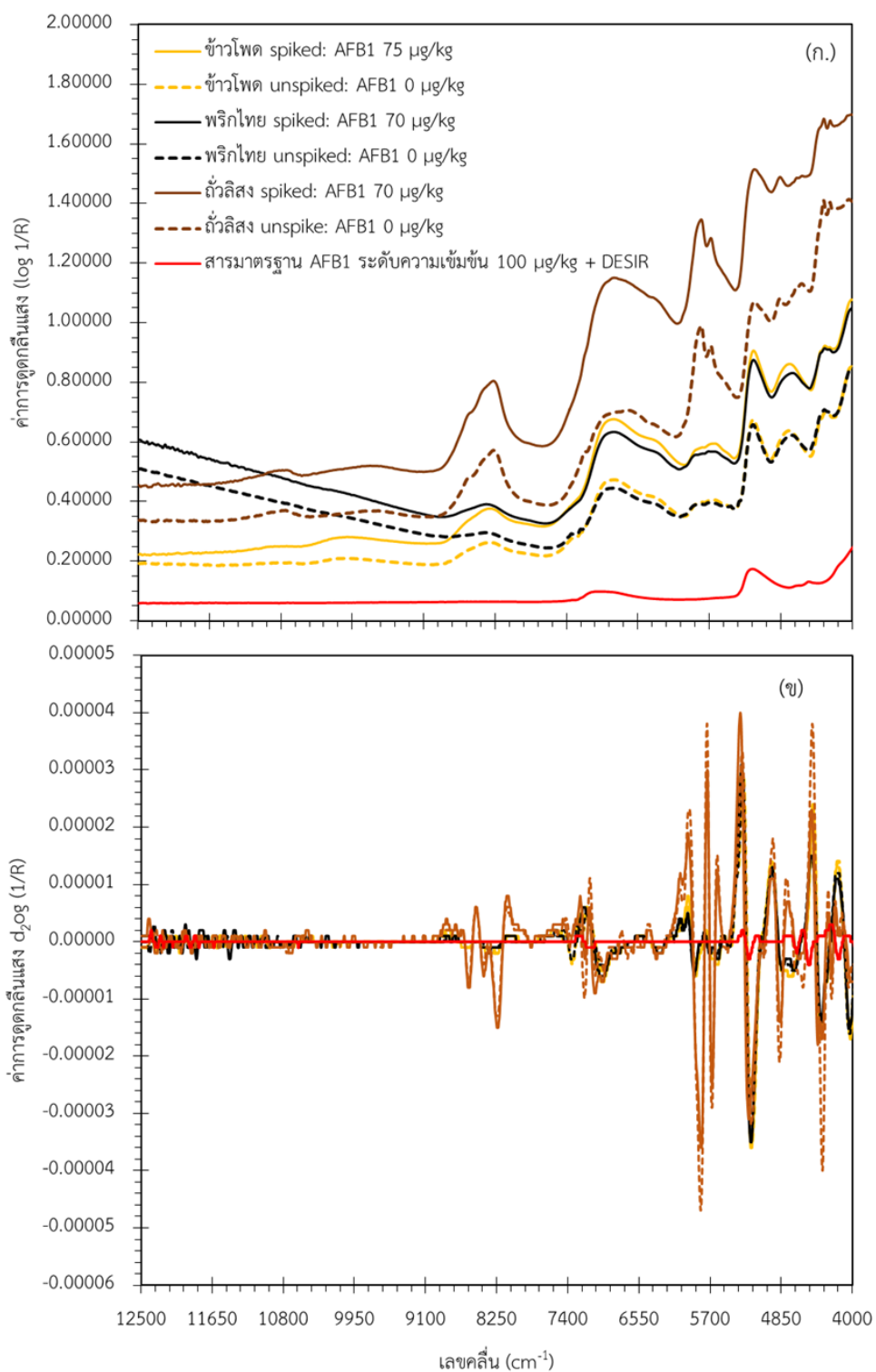
เลขคลื่นที่เลือก	จำนวนเลขคลื่นที่เลือกตัดออก	สมการเทียบมาตรฐาน		Cross validation		
		R <sup>2</sup>	RMSEC mg/L	R <sup>2</sup>	RMSECV mg/L	Slope
8809.80, 8586.09, 5870.63, 5785.77, 5461.77, 5438.63, 5346.05, 5299.77, 5222.63, 5168.63, 5160.91, 4929.48, 4821.48, 4651.76, 4597.76, 4389.47 และ 4273.758	-	0.99	0.037	0.97	0.037	0.987
8809.80, 8586.09, 5870.63, 5785.77, 5461.77, 5438.63, 5346.05, 5299.77, 5222.63, 5168.63, 5160.91, 4929.48, 4821.48, 4651.76 และ 4273.758	4597.76, 4389.47	0.99	0.058	0.97	0.037	0.987
5870.63, 5785.77, 5461.77, 5438.63, 5346.05, 5299.77, 5168.63, 5160.91, 4821.47 และ 4651.762	4597.76, 4389.47, 4273.76, 4929.48, 8809.80, 8586.09, 5870.63	0.99	0.039	0.98	0.051	0.987



4.3 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง และการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

#### 4.3.1 สเปกตรัมในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบของ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค NIRS

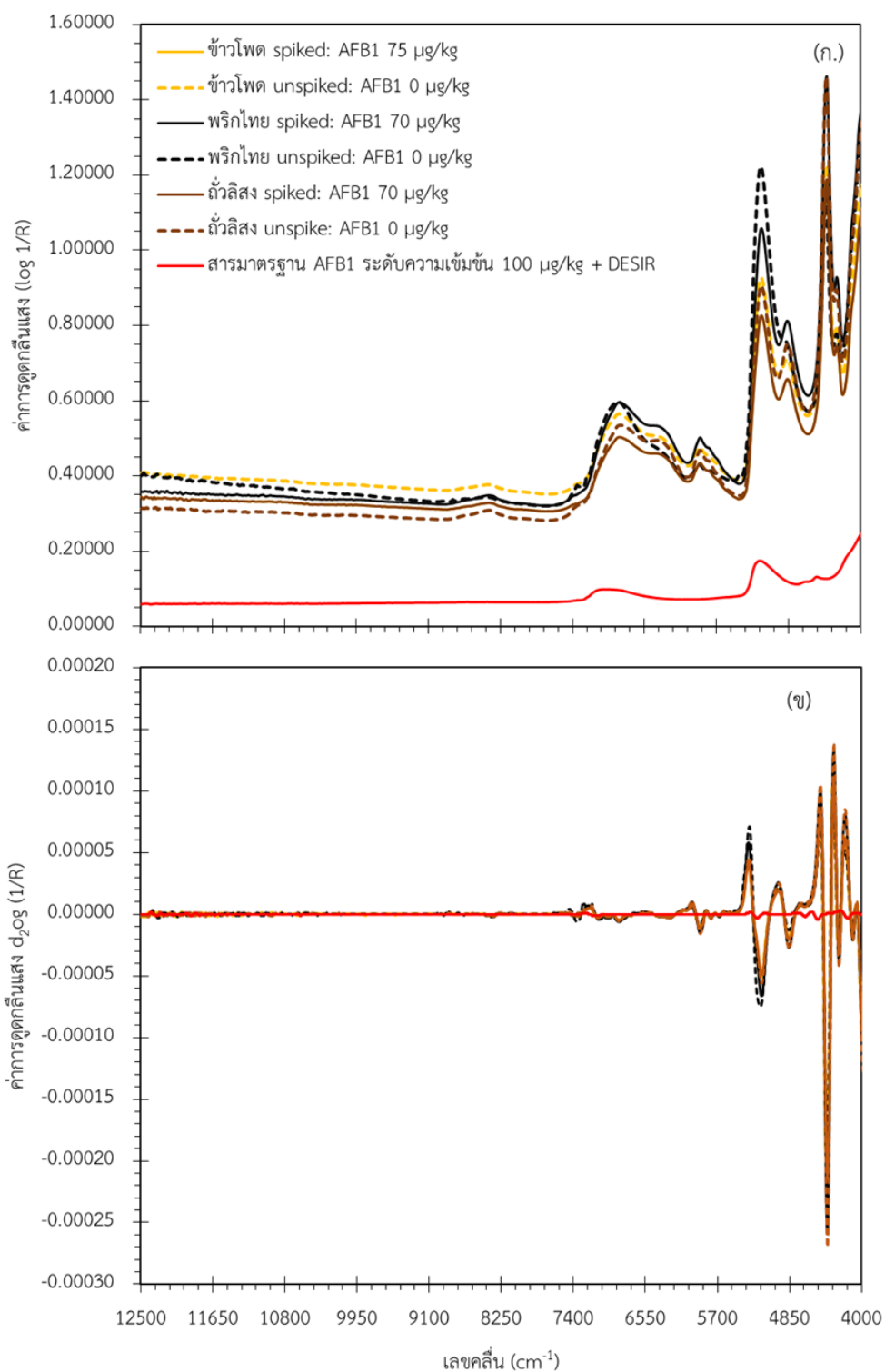
สเปกตรัมเริ่มต้นในช่วงเลขคลื่น  $4000-12500\text{ cm}^{-1}$  ของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจากการวัดรูปแบบเมล็ดและการวัดตัวอย่างรูปแบบบดที่ระดับปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแตกต่างกัน แสดงดังภาพที่ 44-48 พบว่าสเปกตรัมของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดมีลักษณะการดูดกลืนแสงคล้ายคลึงกันในช่วงเลขคลื่น  $4000-7775\text{ cm}^{-1}$  ในขณะที่สเปกตรัมในพริกไทยในช่วงการดูดกลืนที่ตำแหน่งเลขคลื่นตั้งแต่  $12000$  ถึง  $8800\text{ cm}^{-1}$  มีความแตกต่างของการดูดกลืนแสงจากข้าวโพดและถั่วลิสง และสเปกตรัมมีลักษณะของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นตามความยาวคลื่น (base line offset) อันเนื่องมาจากอิทธิพลของการกระเจิงแสงในตัวอย่าง โดยสเปกตรัมเริ่มต้นไม่สามารถสังเกตเห็นการดูดกลืนแสงของ AFB1 ได้ชัดเจน จึงมีการเมื่อแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสองของตัวอย่างทุกรูปแบบ เพื่อสังเกตตำแหน่งการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน เมื่อสังเกตสเปกตรัมจากการเตรียมตัวอย่างแบบ DESIR จะไม่มีลักษณะการเลื่อนขึ้นตามแนวแกน y เนื่องจากการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ได้กำจัดอิทธิพลของตัวทำละลายที่รบกวนการวิเคราะห์



ภาพที่ 44 สเปกตรัมตัวอย่างรูปแบบบดในการศึกษาความเป็นไปได้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 1)

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น

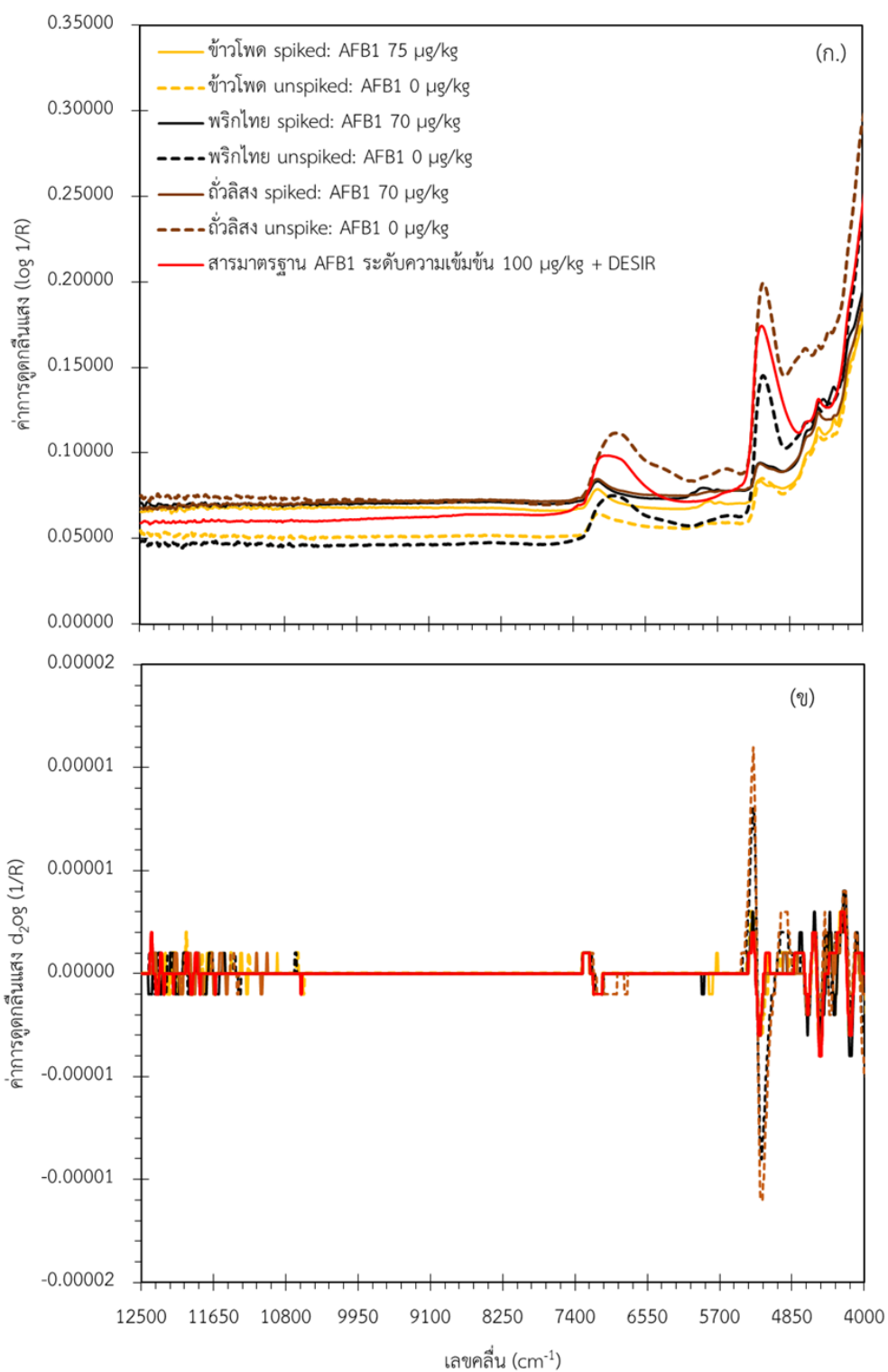
(ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยอนุพันธ์อันดับสอง



ภาพที่ 45 สเปกตรัมตัวอย่างสารสกัดที่ 1 ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 2)

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น

(ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยอนุพันธ์อันดับสอง

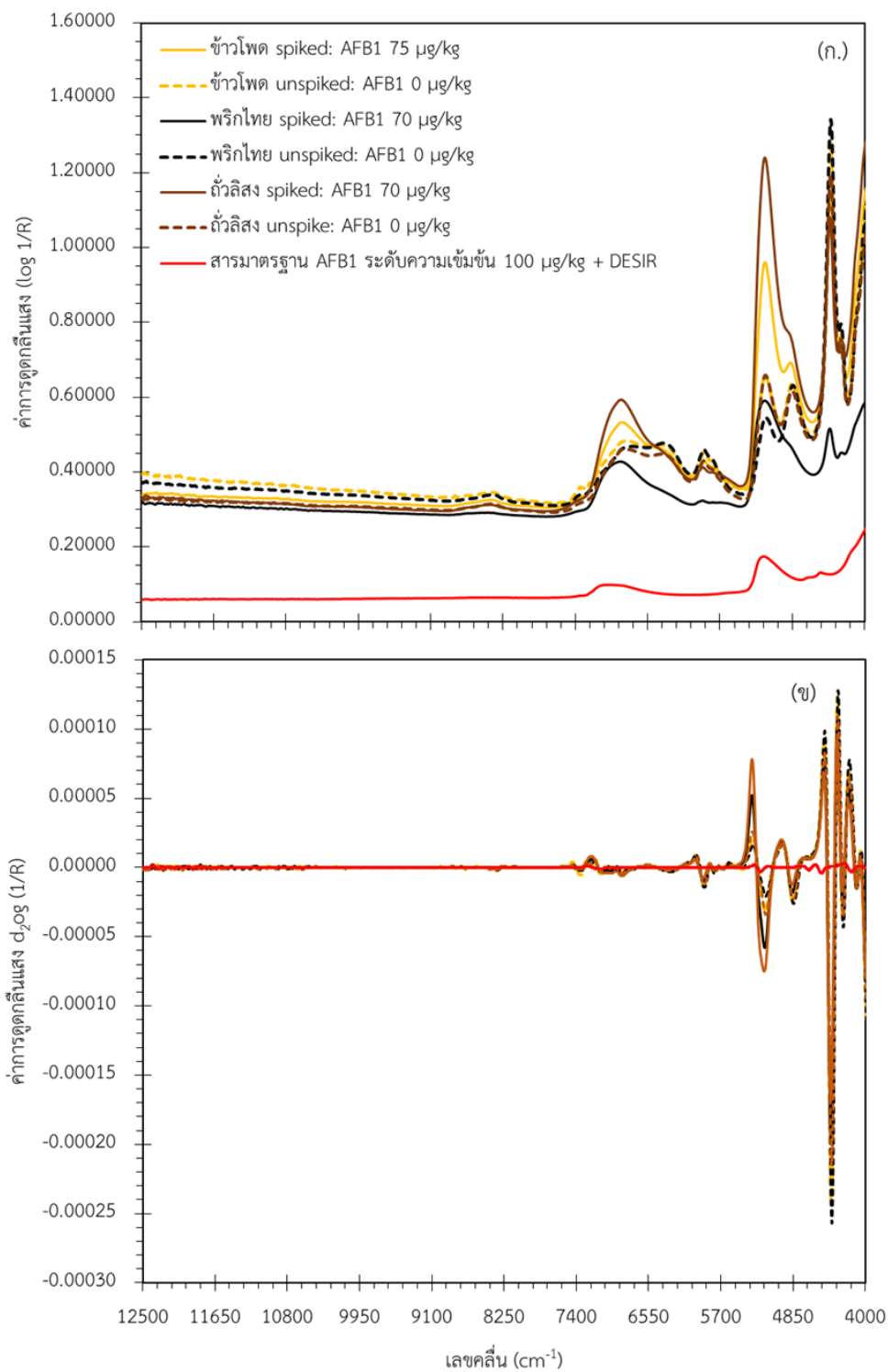


ภาพที่ 46 สเปกตรัมตัวอย่างสารสกัดที่ 1 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ในการศึกษา

ความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 3)

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น

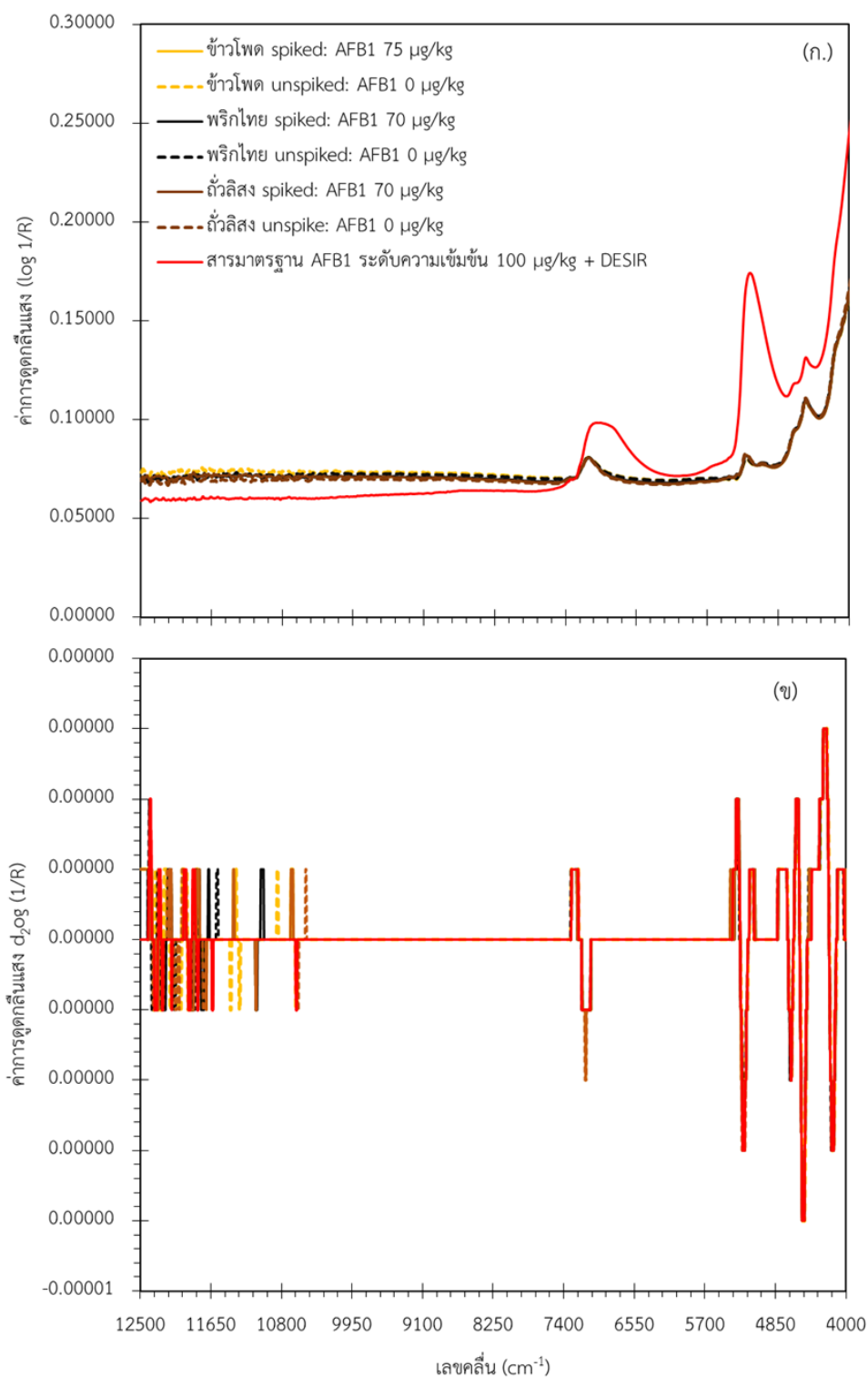
(ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยอนุพันธ์อันดับสอง



ภาพที่ 47 สเปกตรัมตัวอย่างสารสกัดที่ 2 ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 4)

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น

(ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยอนุพันธ์อันดับสอง



ภาพที่ 48 สเปกตรัมตัวอย่างสารสกัดที่ 2 ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ในการศึกษา

ความเป็นไปได้ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค NIRS (รูปแบบที่ 5)

(ก) สเปกตรัมเริ่มต้น

(ข) สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยอนุพันธ์อันดับสอง

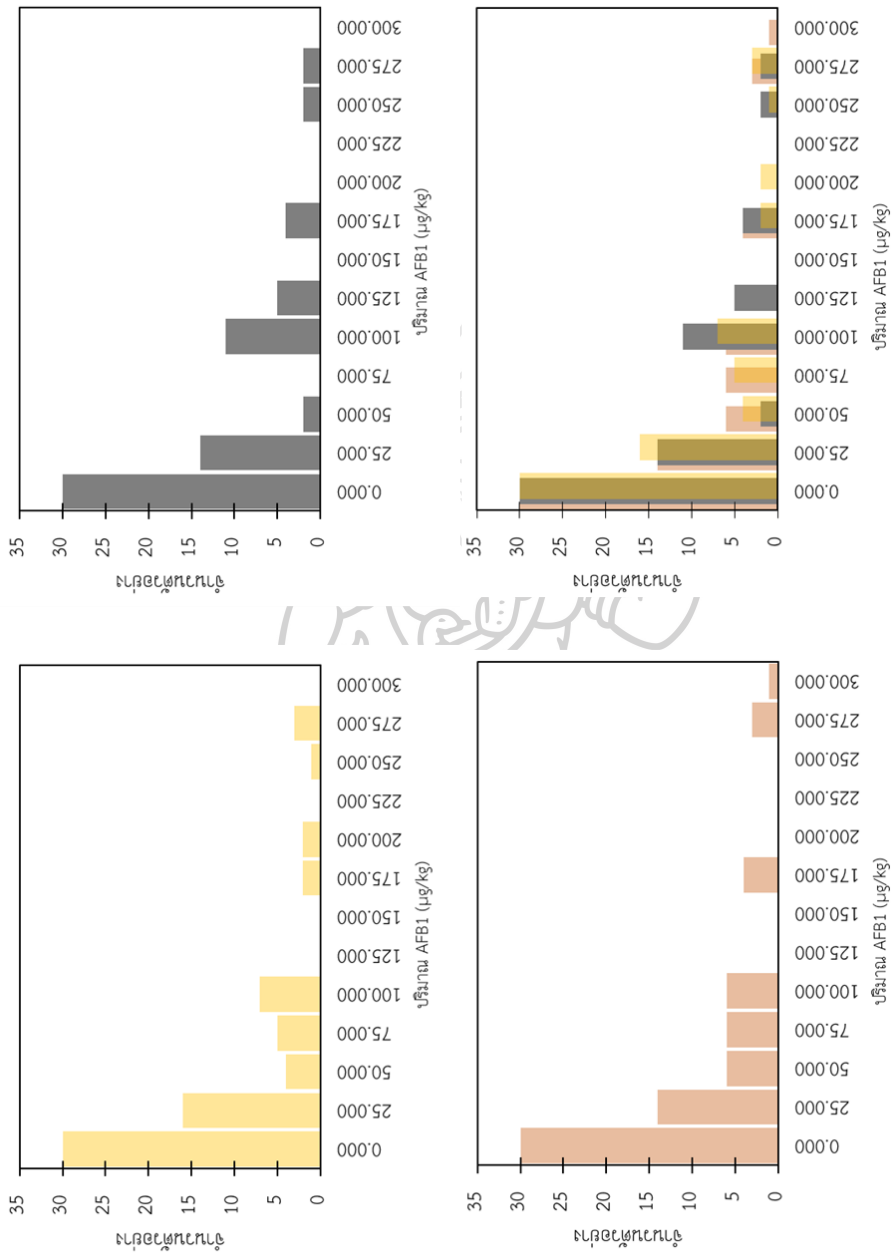
#### 4.3.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค HPLC

ตัวอย่างสำหรับใช้ในการศึกษาการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 (calibration set) และสมการทวนสอบ (validation set) ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง จำนวน 210 ตัวอย่าง มีช่วงปริมาณ AFB1 ดังแสดงในตารางที่ 34 พบว่าจากการเตรียมตัวอย่างใน ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง มีช่วงค่าปริมาณ AFB1 คลอบคลุมมาตรฐานการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด (ภาพที่ 49) ได้แก่

- โครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission, CAC)
- มาตรฐานตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป (EU standard)
- มาตรฐานตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ปสธ.)

ตารางที่ 34 ค่าสถิติของปริมาณ AFB1 สำหรับการสร้างสมการและสำหรับการทวนสอบสมการด้วย เทคนิค NIRS

ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ต่ำสุด - สูงสุด ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
ข้าวโพด	70	0-261.36	41.77 $\pm$ 68.77
พริกไทย	70	0-264.18	50.46 $\pm$ 71.18
ถั่วลิสง	70	0-275.21	43.06 $\pm$ 69.74
ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง	210	0-275.21	45.09 $\pm$ 69.89



ภาพที่ 49 กราฟแสดงการกระจายตัวของค่าปริมาณ AFB1 (ก) ข้าวโพด (ข) พริกไทย (ค) ถั่วลิสง (ง) เมล็ดข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง



### 4.3.3 ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง

การใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง และศึกษาเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี dry-extract system for infrared (DESIR) ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทย และถั่วลิสง จำนวนชนิดละ 70 ตัวอย่าง พบว่า เทคนิค NIRS มีความเป็นไปได้ในการติดตามปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยสมการของตัวอย่างแต่ละชนิด โดยในข้าวโพดสามารถใช้ในการคัดเลือกหรือประมาณค่าเบื้องต้นได้ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.824 RMSEP เท่ากับ 31.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และ Bias เท่ากับ -5.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ในพริกไทยและถั่วลิสงสามารถใช้ตรวจคุณภาพได้ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.964 และ 0.965 RMSEP เท่ากับ 10.30 และ 15.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และ Bias เท่ากับ -5.34 และ 3.72  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ตามลำดับ

แสดงลักษณะการกระจายตัวของจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ระหว่างค่าจริงของสารละลายมาตรฐาน AFB1 และค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS ด้วยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบบด โดยลักษณะการกระจายตัวของจุดบนกราฟเข้าใกล้เส้น target line แสดงดังภาพที่ 50

เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี dry-extract system for infrared (DESIR) จากสารสกัดในขั้นตอนที่ 1 มีความสามารถในการทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยสมการของสารสกัดในขั้นตอนที่ 1 ของตัวอย่างแต่ละชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะการเตรียมตัวอย่างพบว่าการเตรียมตัวอย่างรูปแบบสารสกัดพบว่าให้ค่าการทำนายที่ไม่ดีนัก เนื่องจากสารสกัดมีการเจือจางความเข้มข้นของ AFB1 และเมทานอลนั้นสามารถทำให้องค์ประกอบอื่น ๆ ในตัวอย่างละลายมากับสารสกัดทำให้เกิดการรบกวนการวิเคราะห์การดูดกลืนแสงของ AFB1

เมื่อเปรียบเทียบการเตรียมตัวอย่างทั้งสองขั้นตอนของวิธี DESIR พบว่าการเตรียมตัวอย่างจากสารสกัดที่ 2 ให้ค่าความสัมพันธ์ที่ดีกว่าอันเนื่องมาจาก สารสกัดที่ 2 ที่ผ่าน IAC จะกำจัดองค์ประกอบอื่น ๆ ที่อยู่ในตัวอย่างทำให้สารสกัดมีสิ่งรบกวนการดูดกลืนแสงของโมเลกุล AFB1 ลดลง ดังแสดงค่าสถิติการสร้างสมการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค NIRS ดังตารางที่ 32 และแสดงกราฟกระจายค่าปริมาณ AFB1 ที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธีมาตรฐานและค่าปริมาณ AFB1 ที่ทำนายจากเทคนิค NIRS ดังภาพที่ 50-54

ตารางที่ 35 ค่าสถิติของสมการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค NIRS

รูปแบบตัวอย่าง	ชนิด ตัวอย่าง	ช่วงเลขคลื่น ( $\text{cm}^{-1}$ )	วิธีปรับแต่งสเปกตรัม	PLS factor	ชุดข้อมูลสมการเทียบ			ชุดข้อมูลทวนสอบสมการ			
					มาตรฐาน (n=60)		RMSEP RPD		RMSEP RPD		Bias
					R <sup>2</sup>	RMSEC	RPD	R <sup>2</sup>	RMSEP	RPD	
แบบบด	ข้าวโพด	9403.8-4597.8	Min- max normalize	9	0.744	36.40	1.98	0.824	31.30	2.42	-5.16
	พริกไทย	7506.1-5446.3	1 <sup>st</sup> – straight line subtraction	8	0.971	21.20	3.70	0.964	10.30	6.13	-5.34
	ถั่วลิสง	9403.8-5454.6	1 <sup>st</sup>	8	0.963	13.80	5.18	0.965	15.30	5.52	3.72
สารสกัดที่ 1	ข้าวโพด	7506.1-6094.3	MSC	8	0.823	30.50	2.38	0.898	23.30	3.29	7.28
		4605.5-4242.9									
	พริกไทย	9403.8-4597.8	1 <sup>st</sup> – straight line subtraction	9	0.974	19.80	3.71	0.886	28.50	3.07	7.63
สารสกัดที่ 1 – DESIR	ถั่วลิสง	7506.1-4597.8	MSC	9	0.883	24.80	2.92	0.859	31.30	2.67	2.33
	ข้าวโพด	7506.1-6094.3	SNV	10	0.993	6.22	11.7	0.985	9.41	9.63	-4.80
	พริกไทย	5454.1-4242.9	1 <sup>st</sup> + SNV	10	0.983	6.42	7.68	0.958	12.90	6.77	-8.98
ถั่วลิสง		9403.8-6094.3	1 <sup>st</sup> + SNV	6	0.921	19.90	3.55	0.946	19.6	4.18	0.892

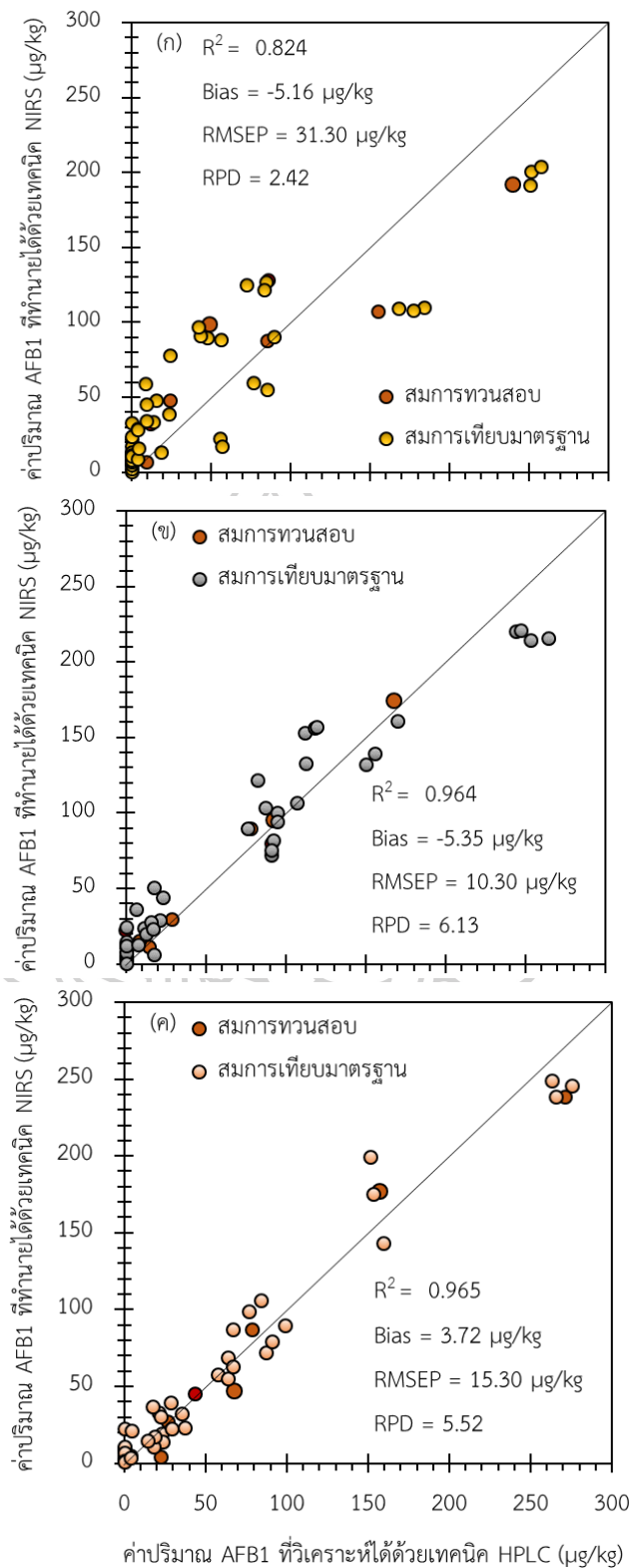
ตารางที่ 35 ค่าสถิติของสมการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค NIRS (ต่อ)

รูปแบบตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	ช่วงเลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	วิธีรับแสงสเปกตรัม	PLS factor	ชุดข้อมูลสมการเทียบ			ชุดข้อมูลทวนสอบสมการ				
					มาตรฐาน (n=60)		(n=10)					
					R <sup>2</sup>	RMSEC	RPD	R <sup>2</sup>	RMSEP	RPD	Bias	
สารสกัดที่ 2	ข้าวโพด	4605.5-4242.9	1 <sup>st</sup>	8	0.612	47.20	1.61	0.921	15.10	3.78	5.07	
	พริกไทย	7506.1-6094.3	original spectral	7	0.717	38.70	1.88	0.911	24.20	3.49	-6.77	
	ถั่วลิสง	6102.1-5446.3	1 <sup>st</sup> - SNV	6	0.804	30.9	2.26	0.876	17.50	3.77	-11.5	
สารสกัดที่ 2 – DESIR	ข้าวโพด	7506.1 - 6094.3	1 <sup>st</sup>	10	0.984	8.910	8.0	0.993	6.810	13.4	2.830	
		4605.5 – 4242.9										
	พริกไทย	9403.8 - 7498.4	Min-max	8	0.990	7.180	10.4	0.977	11.200	6.75	-1.460	
		5454.1 – 4597.8	normalization									
	ถั่วลิสง	7506.1 - 4597.8	original spectral	6	0.952	15.600	4.56	0.950	17.300	4.52	-2.240	

**หมายเหตุ:** R<sup>2</sup>: coefficients of determination, RMSEP: root mean square error of prediction, RMSEC: root mean square error of calibration

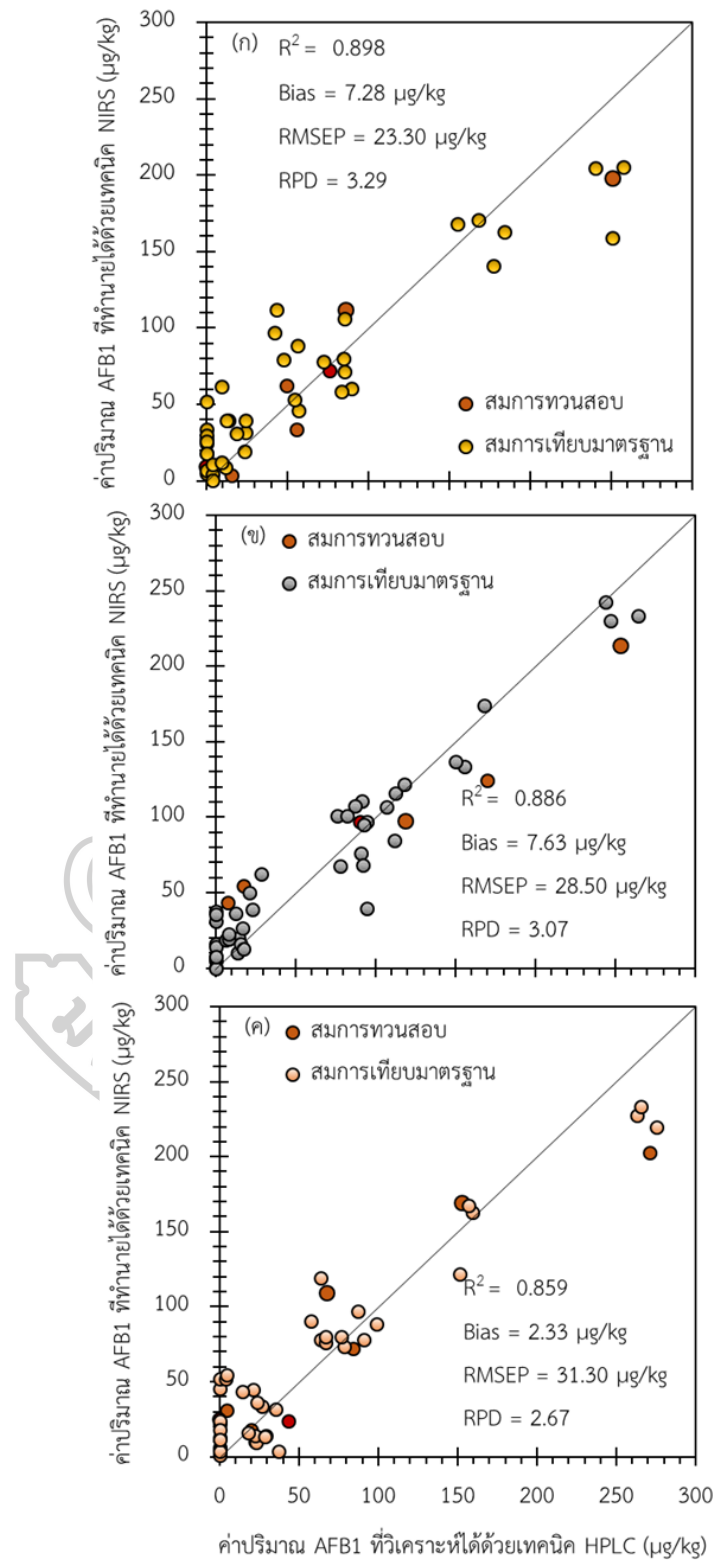
and RPD: ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP \* คือ สมการที่ได้จากการ optimization ด้วยโปรแกรม OPUS

software



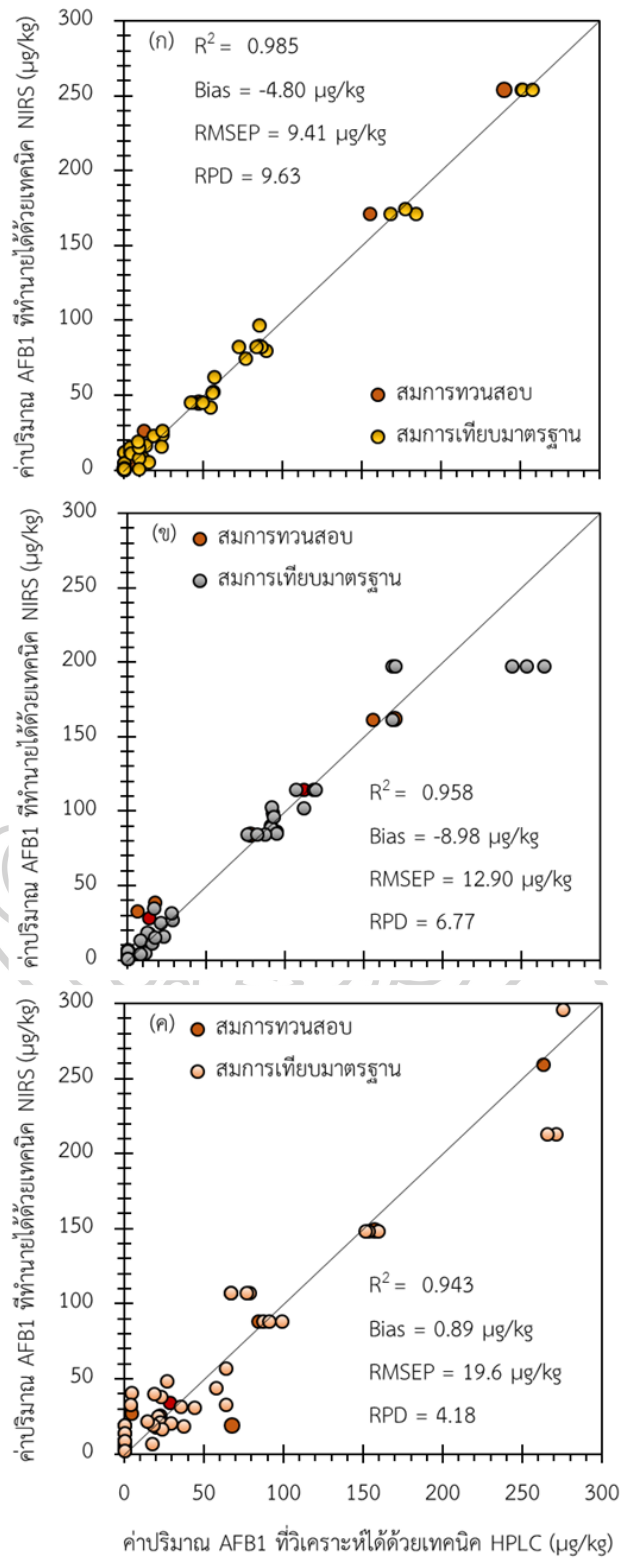
ภาพที่ 50 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างรูปแบบบด (รูปแบบที่ 1) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS

(ก) ข้าวโพด (ข) พริกไทย และ (ค) ถั่วลิสง



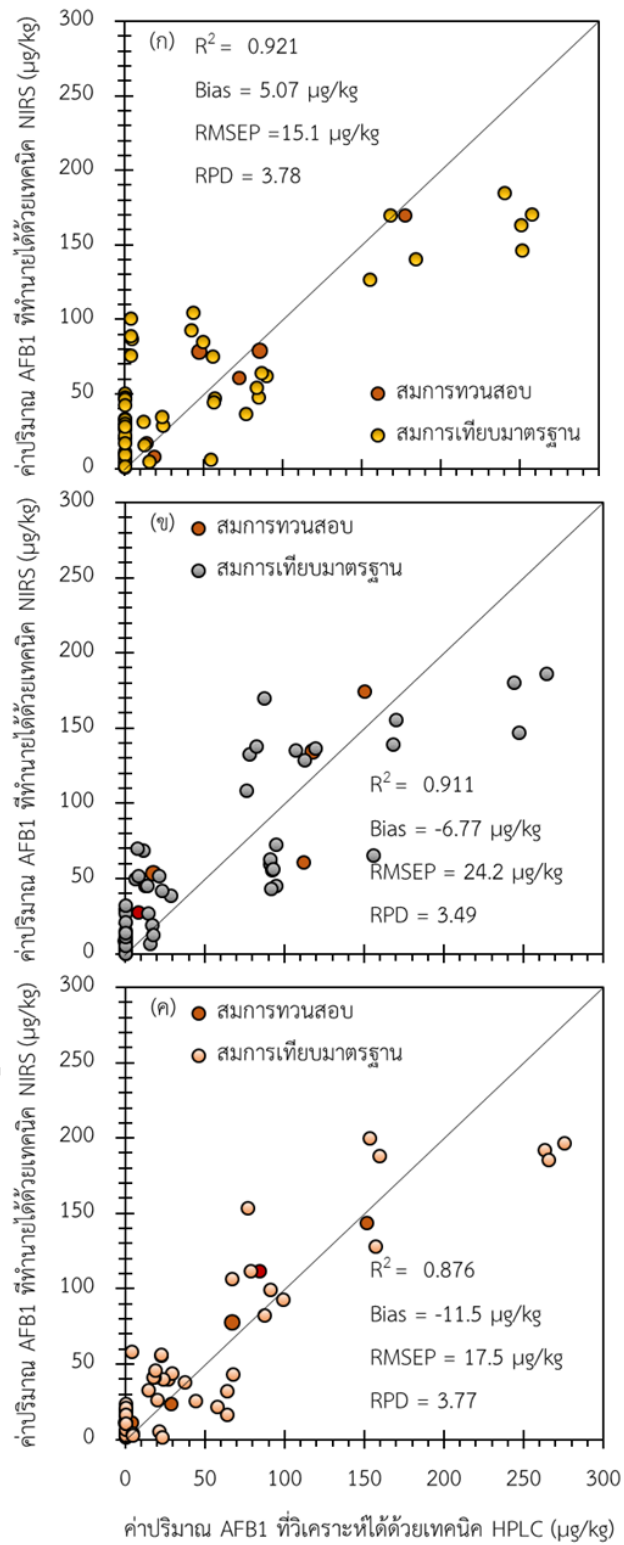
ภาพที่ 51 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของสารสกัดที่ 1 (รูปแบบที่ 2) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS

(ก) ข้าวโพด (ข) พริกไทย และ (ค) ถั่วลิสง



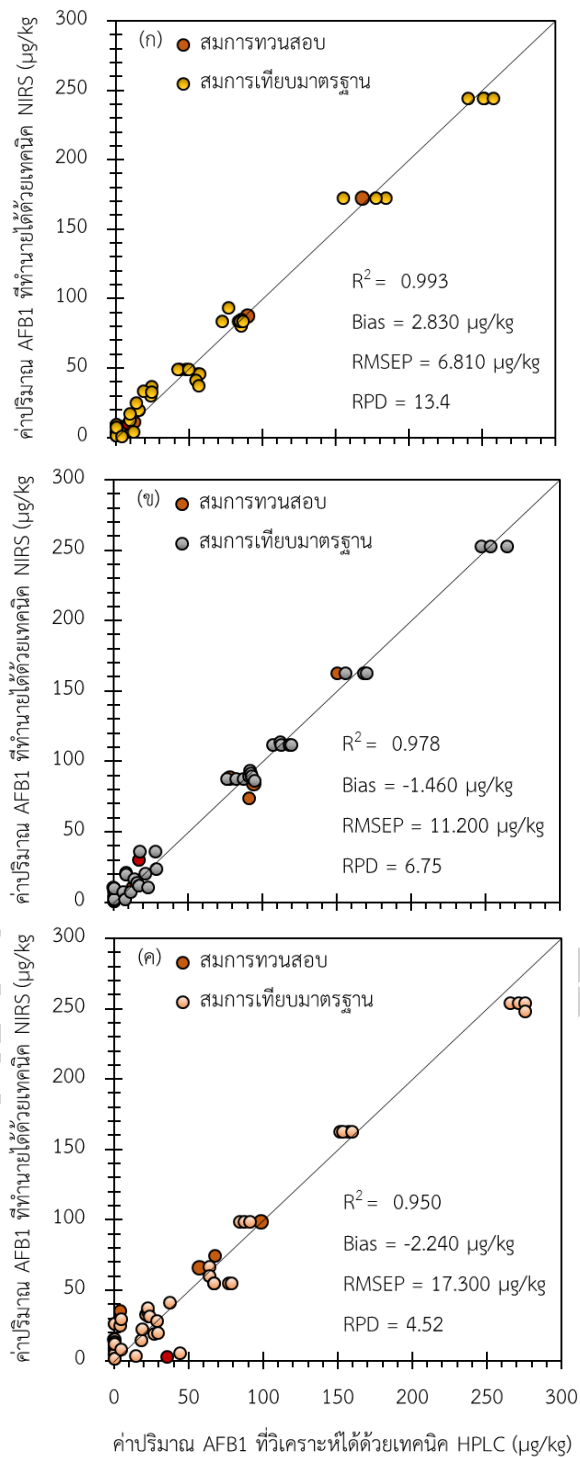
ภาพที่ 52 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของสารสกัดที่ 1 ที่ผ่านการเตรียมด้วยเทคนิค DESIR (รูปแบบที่ 3) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS

(ก) ข้าวโพด (ข) พริกไทย และ (ค) ถั่วลิสง



ภาพที่ 53 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของสารสกัดที่ 2 (รูปแบบที่ 4) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS

(ก) ข้าวโพด (ข) พริกไทย และ (ค) ถั่วลิสง



ภาพที่ 54 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณ AFB1 ของสารสกัดที่ 2 ที่ผ่านการเตรียมด้วยเทคนิค DESIR (รูปแบบที่ 5) ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIRS  
(ก) ข้าวโพด (ข) พริกไทย และ (ค) ถั่วลิสง



#### 4.3.4 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด และศึกษาเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี dry-extract system for infrared (DESIR) ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิด จำนวนชนิดละ 70 ตัวอย่างพบว่าเทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี dry-extract system for infrared (DESIR) จากสารสกัดที่ผ่านคอลัมน์ Aflatest-P มีความสามารถในการทำนายปริมาณ AFB1 ในตัวอย่างแต่ละชนิด ด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสง ให้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.993, 0.977 และ 0.950 RMSEP เท่ากับ 6.80, 11.20 และ 17.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  และ Bias เท่ากับ 2.83, -1.46 และ -2.24  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ตามลำดับ เนื่องจาก คอลัมน์ Aflatest-P เป็นกระบวนการทำความสะอาดสารสกัด องค์ประกอบต่างๆ เช่น รงควัตถุ โปรตีน และไขมันที่รบกวนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS จะถูกกำจัดออกไป และสารสกัดในขั้นตอนที่ 2 เมื่อถูกนำไปเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR ตัวทำละลายเมทานอลจะถูกระเหยออกไป ทำให้สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้จากโมเลกุล AFB1 ดังจะเห็นว่าการสร้างสมการจากการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DESIR จากสารสกัดที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยคอลัมน์ Aflatest-P แสดงค่าทางสถิติของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค NIRS ดังตารางที่ 36



ตารางที่ 36 ค่าสถิติของสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลตัวอย่าง 3 ชนิด ในการทำนายปริมาณ AFB1 ในข้าวโพดพริกไทยและถั่วลิสงด้วยเทคนิค NIRS (ต่อ)

รูปแบบตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	ช่วงเลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	วิธีปรับแต่งสเปกตรัม	PLS factor	ชุดข้อมูลสมการเทียบ			ชุดข้อมูลทดสอบสมการ			
					มาตรฐาน (n=180)			(n=30)			
					R <sup>2</sup>	RMSEC	RPD	R <sup>2</sup>	RMSEP	RPD	Bias
สารสกัดที่ 2	3 ชนิด	6102.1-5446.3	Min-max normalization	6	0.633	41.80	1.65	0.594	47.20	1.60	7.15
สารสกัดที่ 2 - DESIR	3 ชนิด	7506.1-6796.4	1 <sup>st</sup> +MSC	8	0.920	19.40	3.54	0.945	18.80	4.27	0.70
		4852.3-4242.9									

**หมายเหตุ:** R<sup>2</sup>: coefficients of determination, RMSEP: root mean square error of prediction, RMSEC: root mean square error of calibration and RPD: ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP \* คือ สมการที่ได้จากการ optimization ด้วยโปรแกรม OPUS software

## บทที่ 5

## สรุปผลการทดลอง

1. เทคนิค NIRS มีความสามารถในการทำนายปริมาณความชื้นในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยสมการของตัวอย่างแต่ละชนิด และมีความสามารถในการทำนายปริมาณความชื้นจากการใช้สมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงในการทำนายปริมาณความชื้นของตัวอย่างแต่ละชนิดด้วยเทคนิค PLS
2. การทำนายปริมาณความชื้นของข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยตัวอย่างกลุ่มใหม่ ได้แก่ข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงจากแหล่งจำหน่าย 3 แหล่ง จำนวนชนิดละ 30 ตัวอย่างด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่าง 3 ชนิด พบว่าร้อยละความถูกต้องของการแบ่งกลุ่มตามมาตรฐานความชื้นของตัวอย่างข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงเท่ากับร้อยละ 100, 86.60 และ 100
3. เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบ dry-extract system for infrared (DESIR) มีความสามารถในการทำนายปริมาณความเข้มข้นของ AFB1 ในสารละลายมาตรฐาน AFB1 ด้วยเทคนิค PLS และ MLR
4. เทคนิค NIRS มีความเป็นไปได้ในการติดตามปริมาณ AFB1 ในข้าวโพด พริกไทยและถั่วลิสงด้วยสมการของตัวอย่างแต่ละชนิด โดยในข้าวโพดสามารถใช้ในการคัดเลือกหรือประมาณค่าเบื้องต้นได้ และในพริกไทยและถั่วลิสงสามารถใช้ตรวจคุณภาพได้
5. เทคนิค NIRS ร่วมกับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี DESIR จากสารสกัดที่ผ่านคอลัมน์ Aflatest-P มีความสามารถในการทำนายปริมาณ AFB1 ด้วยสมการเทียบมาตรฐานทั่วไปที่สร้างจากข้อมูลของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดในการทำนายปริมาณ AFB1 ของตัวอย่างแต่ละชนิดด้วยเทคนิค PLS



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

### สูตรที่ใช้ในการคำนวณค่าทางสถิติของเทคนิค NIRS

- ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R)

$$R = \left[ \frac{\sum(\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum(y_i - \bar{y})^2} \right]^{1/2}$$

- ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination; R<sup>2</sup>)

$$R^2 = \left[ \frac{\sum(\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum(y_i - \bar{y})^2} \right]$$

- ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนาย (Root mean squares error of prediction; RMSEP)

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum y - \hat{y}_i^2}{n_v}}$$

- ความผิดพลาดมาตรฐานของการทำนาย (Standard error of prediction, SEP)

$$SEP = \left[ \frac{\sum(d_i - bias)^2}{n_v - 1} \right]^{1/2}$$

- ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (Bias)

$$Bias = \bar{d} = \left( \frac{\sum d_i}{n_v} \right) = \frac{\sum(y - \hat{y}_i)}{n_v}$$

- ค่าสัดส่วนระหว่างส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานกับค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มทวนสอบสมการ (Ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP; RPD)

$$RPD = \frac{SD_{val}}{SEP}$$

เมื่อ	$y_i$	คือ	ค่าทางกายภาพหรือเคมีที่ได้จากการวัดด้วยวิธีมาตรฐาน
	$\hat{y}$	คือ	ค่าทางกายภาพหรือเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยสมการทำนาย

$\bar{y}$	คือ	ค่าเฉลี่ยของค่าทางกายภาพหรือเคมี
$d_i$	คือ	ค่าความแตกต่างระหว่างค่าทางกายภาพหรือเคมีที่ได้จากการวัดด้วยวิธีมาตรฐานกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยสมการทำนาย
$n_c$	คือ	จำนวนตัวอย่างในชุดข้อมูลสำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐาน
$n_v$	คือ	จำนวนตัวอย่างในชุดข้อมูลสำหรับสร้างสมการทวนสอบ
$p$	คือ	จำนวนตัวแปรที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน
$SD_{val}$	คือ	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสมการทวนสอบ







การคำนวณปริมาณอะฟลาทอกซิน บี 1 (aflatoxin B1, AFB1)

AFB1 ที่วิเคราะห์ได้จากเครื่อง HPLC =  $X_1$  ng/mL

$$\text{Inject 10 mL มี AFB}_1 = \frac{X_1 \times 10}{1000} \text{ ng}$$

$$\text{ในสารละลาย 2000 } \mu\text{L มี AFB}_1 = \frac{X_1 \times 10 \times 2000}{1000 \times 20} \text{ ng}$$

$$\text{ในสารละลาย 4 mL มี AFB}_1 = \frac{X_1 \times 10 \times 2000}{1000 \times 20} \text{ ng}$$

$$\text{ในสารละลาย 25 mL มี AFB}_1 = \frac{X_1 \times 10 \times 2000 \times 25}{1000 \times 20 \times 4} \text{ ng}$$

$$\text{สารละลาย 5 mL มี AFB}_1 = \frac{X_1 \times 10 \times 2000 \times 25}{1000 \times 20 \times 4} \text{ ng}$$

$$\text{สารละลาย 20 mL มี AFB}_1 = \frac{X_1 \times 10 \times 2000 \times 25 \times 20}{1000 \times 20 \times 4 \times 5} \text{ ng}$$

$$= X_1 \times 25 \text{ ng}$$

$$\text{ดังนั้น ความเข้มข้นของ AFB}_1 \text{ ในตัวอย่าง} = \frac{X_1 \times 25}{5} \text{ ng/g (ppb)}$$

### การคำนวณ spike level

$$\text{Spike level (ppb)} = (\text{Conc.} \times \text{Volume}) / \text{Weight}$$

โดยที่                      Conc. = Stock standard solution (ppm)

Volume = ปริมาณของสารมาตรฐานที่ต้องเติมลงในตัวอย่าง (μL)

Weight = น้ำหนักของตัวอย่าง (g)

ตัวอย่าง ต้องการเตรียมให้ข้าวโพดปน 5 กรัมมีปริมาณ AFB<sub>1</sub> 100 ppb (ng/g)

$$\text{Spike level (ng/g)} = (\text{Conc.} \times \text{Volume}) / \text{Weight}$$

$$100 \text{ (ng/g)} = (1 \text{ ng/}\mu\text{L} \times \text{Volume}) / 5 \text{ g}$$

$$500 \text{ ng} = (1 \text{ ng/}\mu\text{L} \times \text{Volume})$$

$$\text{Volume} = 500 \mu\text{L}$$

ดังนั้นเติม Stock standard solution (ppm) ความเข้มข้น 1 ng/μL ปริมาตร 500 μL ลงในข้าวโพดปนจำนวน 5 กรัม แล้วนำไปทำให้แห้งที่ตู้ดูดควันเป็นเวลา 30 นาทีก่อนการวิเคราะห์



## การคำนวณเปอร์เซ็นต์ Recovery

$$\% \text{ recovery} = \frac{(\text{ปริมาณที่ตรวจวัดได้} - \text{ปริมาณที่มีอยู่เดิม}) \times 100}{\text{ปริมาณที่เติม}}$$



## รายการอ้างอิง

- Abbas, H. K., Shier, W. T., Plasencia, J., Weaver, M. A., Bellaloui, N., Kotowicz, J. K., Butler, A. M., Accinelli, C., de la Torre-Hernandez, M. E., and Zablotowicz, R. M. 2017. Mycotoxin contamination in corn smut (*Ustilago maydis*) galls in the field and in the commercial food products. *Food Control*, 71, 57-63.
- Alshannaq, A. F., Gibbons, J. G., Lee, M., Han, K., Hong, S., and Yu, J. 2018. Controlling aflatoxin contamination and propagation of *Aspergillus flavus* by a soy-fermenting *Aspergillus oryzae* strain. *Scientific reports*, 8(1), 16871.
- Asare, B. K., Ofori, K., Offei, S. K., Dzidzieny, D., Asibuo, J. Y., and Adu, A. R. 2019. Aflatoxin contamination of groundnut (*Arachis hypogaea* L.): Predisposing factors and management interventions. *Food Control*, 98, 61-67.
- Barnes, R. J., Dhanoa, M. S., and Lister, S. 1989. Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Journal of Applied Spectroscopy*, 43(5), 772-777.
- Belyea, R. L., Rausch, K. D., and Tumbleson, M. E. 2004. Composition of corn and distillers dried grains with solubles from dry grind ethanol processing. *Bioresource Technology*, 94(3), 293-298.
- Ben, A. S., Mars, A., Catanante, G., Marty, J., and Raouafi, N. 2019. Design of a redox-active surface for ultrasensitive redox capacitive aptasensing of aflatoxin M1 in milk. *Talanta*, 195, 525-532.
- Beseos, M. E. J., Yaptenco, K. F., Esguerra, E. B., and Peralta, E. K. 2018. Evaluation of Dry Extract System Involving NIR Spectroscopy (DESIR) for Pesticide Residues Detection on Fresh Carabao Mango (*Mangifera indica* L. cv 'Carabao') Fruit.
- Cattaneo, T., Cabassi, G., Panarelli, E., and Giangiacomo, R. 2008. Why does near infrared transmittance spectroscopy discriminate Quark-type cheese manufactured in the presence or absence of aflatoxin M1 (AFM1). *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 16.

- Cavus, S., Tornuk, F., Sarioglu, J., and Yetim, H. 2018. Determination of mold contamination and aflatoxin levels of the meat products/ingredients collected from Turkey market. *Journal of Food Safety*, 38(5), e12494.
- Cen, H., and He, Y. 2007. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends in Food Science & Technology*, 18(2), 72-83.
- Codex Alimentarius Commission. 1985. CODEX STANDARD FOR MAIZE (CORN). 153-1985. 1.
- Codex Alimentarius Commission. 1995. STANDARD FOR PEANUTS. 200-1995. 1.
- Codex Alimentarius Commission. 2017. STANDARD FOR BLACK, WHITH AND GREEN PEPPERS. 326-2017. 4.
- Coomans, D., Broeckaert, I., Jonckheer, M., and Massart, D. L. . 1983. Comparison of multivariate discrimination techniques for clinical data—application to the thyroid functional state. *Journal Methods of Information in Medicine*, 22(02), 93-101.
- Cotty, P. J., and Lee, L. S. (1990). *Position and aflatoxin levels of toxin positive bolls on cotton plants*. Paper presented at the Proceedings of the Beltwide Cotton Production and Research Conference. National Cotton Council of America, Las Vegas, NV.
- Damanhour, Z. A. 2014. A Review on Therapeutic Potential of *Piper nigrum* L. (Black Pepper): The King of Spices *Journal of Medicinal & Aromatic Plants*, 3, 1-6.
- Feifei, T., Haibo, Y., Zuzana, H., Yongliang, L., Kanniah, R., and Deepak, B. 2018. Rapid and non-destructive detection of aflatoxin contamination of peanut kernels using visible/near-infrared (Vis/NIR) spectroscopy. *SPIE*.
- Fernández-Ibañez, V., Soldado, A., Martínez-Fernández, A., and De la Roza-Delgado, B. . 2009. Application of near infrared spectroscopy for rapid detection of aflatoxin B1 in maize and barley as analytical quality assessment. *Food Chemistry*, 113(2), 629-634.
- Garduño-García, J. I., Carvajal-Moreno, M., Rojo-Callejas, F., and Ruiz-Velasco, S. 2017. Detection of Aflatoxins, Mutagens and Carcinogens in Black, White and Green Peppers. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 9, 095-104.

- Geladi, P., and Kowalski, B. R. . 1986. Partial least-squares regression: a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185, 1-17.
- Giray, B., Girgin, G., Engin, A. B., Aydın, S., and Sahin, G. 2007. Aflatoxin levels in wheat samples consumed in some regions of Turkey. *Food Control*, 18(1), 23-29.
- Gorry, P. A. . 1990. General least-squares smoothing and differentiation by the convolution (Savitzky-Golay) method. *Analytical Chemistry*, 62(6), 570-573.
- Guan, S., Ji, C., Zhou, T., Li, J., Ma, Q., and Niu, T. 2008. Aflatoxin B(1) degradation by *Stenotrophomonas maltophilia* and other microbes selected using coumarin medium. *International journal of molecular sciences*, 9(8), 1489-1503.
- Guo, B., Sobolev, V., Holbrook, C., and Lynch, R. . 2004. Impact of phytoalexins and lesser cornstalk borer damage on resistance to aflatoxin contamination. *American Peanut Research*.
- Heman, A., and Hsieh, C. 2016. Measurement of moisture content for rough rice by visible and near-infrared (NIR) spectroscopy. *Engineering in Agriculture, Environment and Food*, 9(3), 280-290.
- Hernández-Hierro, J. M., García-Villanova, R. J., and González-Martín, I. 2008. Potential of near infrared spectroscopy for the analysis of mycotoxins applied to naturally contaminated red paprika found in the Spanish market. *Analytica Chimica Acta*, 622(1), 189-194.
- Horn, B. W., and Dorner, J. W. 1998. Soil populations of *Aspergillus* species from section *Flavi* along a transect through peanut-growing regions of the United States. *Mycologia*, 90(5), 767-776.
- Indahl, U. G., Sahni, N. S, Kirkhus, B., and Næs, T. . 1999. Multivariate strategies for classification based on NIR-spectra—with application to mayonnaise. *Chemometrics Intelligent Laboratory Systems*, 49(1), 19-31.
- Ismael, G. G. J., Carvajal-Moreno, M., Rojo, F., and Ruiz velasco, S. 2017. Detection of aflatoxins, mutagens and carcinogens in black, white and green peppers (*Piper Nigrum* L.).
- ISO665. 2000. Oilseeds-Determination of moisture and volatile matter content. International standard.

- Kandala, Chari V, Sundaram, Jaya %J Journal of Food Measurement, and Characterization. 2014. Nondestructive moisture content determination of three different market type in-shell peanuts using near infrared reflectance spectroscopy. 8(2), 132-141.
- Kirkpatrick, T. L., and Rockroth, C. S. 2001. Compendium of cotton diseases. American Phytopathological Society (APS Press).
- Kok, W. T. . 1994. Derivatization reactions for the determination of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences, 659(1-2), 127-137.
- Lien, K., Wang, X., Pan, M., and Ling, M. 2019. Assessing Aflatoxin Exposure Risk from Peanuts and Peanut Products Imported to Taiwan. Journal of Food and Drug Analysis, 11(2), 80.
- Lin, L., He, Y., Xiao, Z., Zhao, K., Dong, T., and Nie, P. 2019. Rapid-Detection Sensor for Rice Grain Moisture Based on NIR Spectroscopy. Applied Sciences, 9(8), 1654.
- Liu, X., Guan, X., Xing, F., Lv, C., Dai, X., and Liu, Y. 2017. Effect of water activity and temperature on the growth of *Aspergillus flavus*, the expression of aflatoxin biosynthetic genes and aflatoxin production in shelled peanuts. Food Control, 82, 325-332.
- Lohmar, J. M., Puel, O., Cary, J. W., and Calvo, A. M. 2019. The rtfA gene regulates plant and animal pathogenesis and secondary metabolism in *Aspergillus flavus*. Appl. Environ. Microbiol., AEM. 02446-02418.
- Loy, D. D., and Lundy, E. L. (2019). Chapter 23 - Nutritional Properties and Feeding Value of Corn and Its Coproducts. S. O. Serna-Saldivar (Ed.), Corn (Third Edition) (633-659). Oxford: AACC International Press.
- Mahuku, G., Nzioki, H., Mutegi, C., Kanampiu, F., Narrod, C., and Makumbi, D. 2019. Pre-harvest management is a critical practice for minimizing aflatoxin contamination of maize. Food Control, 96, 219-226.
- Makky, M., Putry, R. E., and Nakano, K. (2018). *Nondestructive evaluation of Bakwan paddy grains moisture content by means of spectrophotometry*. Paper presented at the Journal of Physics: Conference Series.

- Mariey, L, Signolle, JP, Amiel, C, and Travert, J %J *Vibrational spectroscopy*. 2001. Discrimination, classification, identification of microorganisms using FTIR spectroscopy and chemometrics. 26(2), 151-159.
- Marimón Sibaja, Karen Vanessa, Gonçalves, Keven David Moreira, Garcia, Sabrina De Oliveira, Feltrin, Ana Carla Penteado, Nogueira, Wesclen Vilar, Badiale-Furlong, Eliana, Garda-Buffon, Jaqueline %J *Food Additives, and B, Contaminants: Part*. 2019. Aflatoxin M1 and B1 in Colombian milk powder and estimated risk exposure. 1-8.
- Martens, Harald A., and Dardenne, Pierre. 1998. Validation and verification of regression in small data sets. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 44(1), 99-121.
- Meurens, M., Van Den Eymde, O, and Vanbelle, M. 1987. Fine analysis of liquids by NIR reflectance spectroscopy of dry extract on solid supprt (DESIR) Near Infrared Diffuse Reflectance/Transmittance Spectroscopy, 297.
- Muga, Francis Collins, Marenya, Moses Okoth, and Workneh, Tilahun Seyoum %J *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2019. Effect of temperature, relative humidity and moisture on aflatoxin contamination of stored maize kernels. 25(2), 271-277.
- Munkvold, Gary P, Arias, Silvina, Taschl, Ines, and Gruber-Dorninger, Christiane. (2019). *Mycotoxins in corn: occurrence, impacts, and management*. Corn (235-287): Elsevier.
- Nomura, Masayo, Aoyama, Koji, and Ishibashi, Takayuki %J *Mycotoxin research*. 2018. Sterigmatocystin and aflatoxin B 1 contamination of corn, soybean meal, and formula feed in Japan. 34(1), 21-27.
- Núñez-Sánchez, N., Serradilla, J. M., Ares, J. L., and Garrido-Varo, A. 2008. Effect of Moisture Uptake on the Repeatability of near Infrared Spectroscopy Analyses of Ewe Milk Using the Dry Extract System for Infrared (DESIR) Method. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 16(4), 381-388.
- Odvody, G. N., Spencer, N., and Remmers, J. 1997. A description of silk cut, a stress-related loss of kernel integrity in preharvest maize. *Journal of Plant Disease*, 81(5), 439-444.



- Orina, I., Manley, M., and Williams, P. J. 2017. Non-destructive techniques for the detection of fungal infection in cereal grains. *Food Research International*, 100, 74-86.
- Osborne, G. 2006. Near infrared spectroscopy in food analysis.
- Osborne, G., and Fearn, T. (1986). *Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis*; Longman Scientific & Technical: Essex. In: UK.
- Osborne, G., Fearn, T., and Hiddle, H. P. 1993. *Practicle NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysts*. Longman Group UK Limited. UK.
- Osborne, G., Kays, S. E., Barton, F. E., Cozzolino, D., Giangiacomo, R., and Cattaneo, T. M. P. 2007. *Applications to foodstuffs*. John Wiley & Sons. NJ, USA.
- Ozaki, Y., McClure, W. F., and Christy, A. 2007. *Near-infrared spectroscopy in food science and technology*. John Wiley & Sons, Inc. Canada.
- Pascale, M. N. . 2009. Detection methods for mycotoxins in cereal grains and cereal products. *Journal Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 117, 15-25.
- Penpun, W. 2004. Isolation, qualitation and quantitation of substances in herbal drugs by monoclonal antibody. *Naresuan University Journal*, 12(2), 39-49.
- Pires, P. N., Vargas, E. A., Gomes, M. B., Vieira, C. B. M., Santos, E. A. D., Bicalho, A. A. C., Silva, S. C., Rezende, R. P., Oliveira, I. S., and Luz, E. D. M. N. . 2019. Aflatoxins and ochratoxin A: occurrence and contamination levels in cocoa beans from Brazil. *Journal Food Additives Contaminants: Part A*, 1-10.
- Pons, A. W., Cucullu, F. A., Lee, S. L., Robertson, A. J., Franz, O. A., and Goldblatt, A. L. 1966. Determination of aflatoxins in agricultural product. *Assoc Off Anal Chem*, 49, 554-562.
- Pontes, M. J. C., Galvao, R. K. H., Araújo, M. C. U., Moreira, P. N. T., Neto, O. D. P., Jose, G. E., and Saldanha, T. C. B. 2005. The successive projections algorithm for spectral variable selection in classification problems. *Journal Chemometrics Intelligent Laboratory Systems*, 78(1-2), 11-18.
- Qi, N., Yu, H., Yang, C., Gong, X., Liu, Y., and Zhu, Y. . 2019. Aflatoxin B1 in peanut oil from Western Guangdong, China, during 2016–2017. *Journal Food Additives Contaminants: Part B*, 12(1), 45-51.

- Reich, G. J. *Advanced drug delivery reviews*. 2005. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications. *Journal Advanced drug delivery reviews*, 57(8), 1109-1143.
- Roberts, C. A., Workman, J., and Reeves, J. B. 2004. Near-infrared spectroscopy in agriculture. American Society of Agronomy Madison.
- Rocha, M. E. B., Freire, F. C.O., Maia, F. E. F., Guedes, M. I. F., and Rondina, D. 2014. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*, 36(1), 159-165.
- Saranwong, S., and Kawano, S. 2007. The reliability of pesticide determinations using near infrared spectroscopy and the dry-extract system for infrared (DESIR) technique. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 15(4), 227-236.
- Seenappa, M., and Kempton, A. G. 1980. *Aspergillus* growth and aflatoxin production on black pepper. *Journal of Mycopathologia*, 70(3), 135-137.
- Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S., and Heise, H. S. 2008. Near-infrared spectroscopy: principles, instruments, applications. John Wiley & Sons.
- Simon, J. , Gast, A. , Keens, A., and US Patent No. 5, 309, 217. (1994). Washington DC: US Patent No. Patent and Trademark Office.
- Singh, G., Velasquez, L., Huet, A., Delahaut, P., Gillard, N., and Koerner, T. . 2019. Development of a polyclonal antibody-based indirect competitive ELISA for determination of sterigmatocystin in wheat and corn flours. *Journal Food Additives Contaminants: Part A*, 1-9.
- Sirisomboon, C., Wongthip, P., and Sirisomboon, P. . 2019. Potential of near infrared spectroscopy as a rapid method to detect aflatoxins in brown rice. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*.
- Sommer, N. F., Buchanan, J. R., and Fortlage, R. J. . 1986. Relation of early splitting and tattering of pistachio nuts. *Journal of Phytopathology*, 76, 692-694.
- Stroka, J., and Gonçalves, C. (2019). Mycotoxins in Food and Feed: An Overview. L. Melton, F. Shahidi, & P. Varelis (Eds.), *Encyclopedia of Food Chemistry* (401-419). Oxford: Academic Press.

- Thangavel, K., and Dhivya, K. 2019. Determination of curcumin, starch and moisture content in turmeric by Fourier transform near infrared spectroscopy (FT-NIR). *Engineering in Agriculture, Environment and Food*, 12(2), 264-269.
- Torabi, S., Yahyaraeyat, R., Shokri, H., and Khosravi, A. R. . 2018. Contamination of corn silage and concentrate samples to fungi and aflatoxin B1 in some cattle farms in some cities of Yazd province. *Journal of Veterinary Research*, 73(1).
- Torres, A. M., Barros, G. G., Palacios, S. A., Chulze, S. N., and Battilani, P. 2014. Review on pre- and post-harvest management of peanuts to minimize aflatoxin contamination. *Journal of Food Research International*, 62, 11-19.
- Tripathi, Smita, and Mishra, H. N. 2009. A rapid FT-NIR method for estimation of aflatoxin B1 in red chili powder. *Food Control*, 20(9), 840-846.
- Turner, N. W., Bramhmbhatt, H., Szabo-Vezse, M., Poma, A., Coker, R., and Piletsky, S. A. . 2015. Analytical methods for determination of mycotoxins: An update (2009–2014). *Journal Analytica Chimica Acta*, 901, 12-33.
- Uddin, M., Okazaki, E., and Fukuda, Y. 2005. Classification of fresh and frozen–thawed fish by dry extract spectroscopy by near infrared reflection. *Journaol of Food Science*, 16(8), 4-7.
- Waliyar, F., Kumar, L., .Traore, A, and Kodio, O. 2008. Pre- and post-harvest management of aflatoxin contamination in peanuts. CAB International/Cromwell Press. Trowbridge, UK
- Wilde, A. S., Haughey, S. A., Galvin-King, P., and Elliott, C. T. 2019. The feasibility of applying NIR and FT-IR fingerprinting to detect adulteration in black pepper. *Food Control*, 100, 1-7.
- Williams, P. H. I. L. 2001. *Implementation of Near-infrared Technology*. USA.
- Williams, P. H. I. L. 2007. *Grains and seeds. Near-infrared spectroscopy in food science and technology*, 7.
- Wotton, H. R., and Strange, R. N. . 1987. Increased susceptibility and reduced phytoalexin accumulation in drought-stressed peanut kernels challenged with *Aspergillus flavus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(2), 270-273.
- Yang, H., Irudayaraj, J., and M Paradkar, M. 2005. Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 93(1), 25-32.

- Yao, H., Hruska, Z., and Di Mavungu, J. D. %J World Mycotoxin Journal. 2015.  
Developments in detection and determination of aflatoxins. World Mycotoxin Journal, 8(2), 181-191.
- Zahra, N., Khan, M., Mehmood, Z., Saeed, M. K., Kalim, I., Ahmad, I., and Malik, K. A. 2018. Determination of aflatoxins in spices and dried Fruits. Journal of Scientific Research, 10(3), 315-321.
- กรมวิชาการเกษตร. 2556. หลักเกณฑ์และมาตรฐานประกอบการตรวจรับรองสินค้าเกษตรด้านพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. นนทบุรี.
- กรมวิชาการเกษตร. 2558. วิจัยและพัฒนาถั่วลิสง. เข้าถึงได้จาก <http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=2248>
- คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่. (2547). พืชเศรษฐกิจ: ถั่วลิสง. (2 ed., 460). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชาคริยา ฉลาด และสุนันทา ช้องสาย. 2555. จุลินทรีย์และสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารที่จำหน่ายในจังหวัดตรัง. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, 4(2), 56-69.
- บดีนทร์ บุตรอินทร์. 2555. สารพิษจากเชื้อรา: อะฟลาทอกซิน. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่, 45(2), 1-8.
- รณฤทธิ ฤทธิธรม. (2555). การสร้างระบบ NIR สำหรับการวิเคราะห์ประจำวัน. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร (270 หน้า). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร.
- วัฒน์สิทธิ์, ฐนิตา วิโรจน์กุล สุรพล ชลดำรงกุล เสาวนิต คูประเสริฐ และสุธา. 2551. การปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ, 11(1), 9-17.
- วารุณี ธนะแพสย์ และศุมาพร เกษมสำราญ. (2555). ตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการวิเคราะห์ NIRS. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร (270). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร.
- ศศิธร ฐิติเพชรกุล กนกพรรณ สมบูรณ์ทรัพย์ ก่อเกียรติ ศาสตรินทร์ ประภาศรี บุญยประภาพันธ์ และนันทวรรณ เมฆา. 2558. การปนเปื้อนเชื้อราและอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ถั่วพร้อมบริโภค. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 244-253.
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร. 2560. รายงานสถานการณ์การปลูกถั่วลิสง รุ่นที่ 2 ปี 2559 เข้าถึงได้จาก [www.agriinfo.doae.go.th/year60/plant/rortor/agronomy/17.2Guondnut.pdf](http://www.agriinfo.doae.go.th/year60/plant/rortor/agronomy/17.2Guondnut.pdf)

- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2555a. การปฏิบัติที่ดีสำหรับโรงกะเทาะถั่วลิสง. 4901-2555. 5.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2555b. การปฏิบัติที่ดีหลังการเก็บเกี่ยวสำหรับข้าวโพดเมล็ดแห้ง. 4405-2555. 3 หน้า.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2556. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พริกไทย. 297-2556. 3.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560a. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร เรื่อง พริกไทย เข้าถึงได้จาก [http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/peper60\(1\).pdf](http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/peper60(1).pdf)
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560b. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปี 2559. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2561. ข้อมูลการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เรื่อง ร้อยละและปริมาณผลผลิตจากการเก็บเกี่ยวรายเดือน รายจังหวัด ปีเพาะปลูก 2559/2560 เข้าถึงได้จาก <http://www.oae.go.th/view/1/ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์/TH-TH>
- สุธน วงษ์ชีรี. (2525). การศึกษาหมู่ *thiol* และเอนไซม์ *Akaline Phosphatase* ในตับหนูขาวที่ได้รับอะฟลาทอกซิน. (2525), มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,



## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	รติพร เอกตาแสง
วัน เดือน ปี เกิด	07 พฤษภาคม 2536
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	วท.บ. วิทยาศาสตร์บัณฑิต
ที่อยู่ปัจจุบัน	18 หมู่ 3 ตำบล กระนวน อำเภอลำดวน จังหวัด ขอนแก่น
ผลงานตีพิมพ์	รติพร เอกตาแสง จริยา เกวียนวงษ์ ปราโมทย์ คูวิจิตรจาร์ และ บุศรากรณ์ มหาโยธี. 2559. การตรวจสอบแคปไซซินในพริกแบบรวดเร็วด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. งานประชุมวิชาการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวแห่งชาติ ครั้งที่ 14, 2-3 มิถุนายน 2559 ณ โรงแรมเวียงอินทร์ จังหวัดเชียงราย (oral presentation) Ratiporn Ektasaeng, Sinjai Tantinijakun, Pramote Khuwijitjaru and Busarakorn Mahayothee. 2016. Rapid Determination of Moisture Content, Mold and Aflatoxin B1 in Corn using Near Infrared Spectroscopy. The 5th Asian NIR Symposium (The ANS2016 and The 32nd NIR Forum), Kagoshima, Japan. 30 November - 3 December 2016. (Poster)

