โครงการ การประเมินคุณภาพผลผลิตและผลิตภัณฑ์โดยใช้เทคนิคการไม่ทำลายตัวอย่าง

2.7 การประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งธัญพืช โดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

จารุวรรณ บางแวก อนุวัฒน์ รัตนชัย จารุรัตน์ พุ่มประเสริฐ

บทคัดย่อ

สารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งพืชเป็นสารก่อมะเร็งที่มักจะเกิดการปนเปื้อนเมื่อสภาพการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษาไม่เหมาะสม แต่การวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินเป็นวิธีที่ยุ่งยาก ใช้เครื่องราคาสูง สารเคมีที่อันตราย ใช้เวลานาน การทดลองนี้จึงนำเทคนิค Near Infrared Spectroscopy: NIRS มาใช้ประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน เพื่อใช้แทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เพื่อลดเวลา ค่าใช้จ่าย และได้ค่าที่ถูกต้องแม่นยำ ไม่ทำลายตัวอย่าง เพื่อใช้แทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จากการทดลอง ได้สมการที่มีประสิทธิภาพจำนวน 2 สมการสำหรับประเมินสารพิษแอฟลาทอกซินในผลผลิตพืชที่อยู่ในรูปเมล็ดและแป้ง ทุกสมการมีค่าความสัมพันธ์สูงระหว่างค่าการดูดซับแสงและค่าวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในรูปเมล็ดและแป้ง มีค่าสหสัมพันธ์สูง (R = 0.92 และ 0.99 ตามลำดับ) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ในรูปเมล็ดและแป้ง (SEP = 14.86 และ 0.62 ppm) ซึ่งมีค่าต่ำกว่า ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย (sd) จากการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีค่า 35.86 ppm.

คำหลัก: เทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) การไม่ทำลายตัวอย่าง แป้ง เมล็ด ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน

Abstract

Aflatoxin which contaminated in grains and flour of crop yield was dangerous for consumers and feed. It caused of cancer. It was contaminated at inappropriate and conditions during harvest and/or storage. The aflatoxin analysis was hard, complicated, take time, expensive equipment, etc. NIR Spectroscopy (NIRS) was the one of laboratory analyses to use widely due to simple, not dangerous, accuracy, precision, short time, nondestructive was interesting to replace laboratory analyses. The experiments were conducted at Postharvest and Product Processing Research Development Division, Department of Agriculture during the year 2013-16. It was found that NIRS technique was effective to evaluate the amount of aflatoxin in crop grains and flour In 2 equations, high correlation (R=0.92 and 0.99, in grain and flour, respectively. Standard Error of Prediction (SEP) which was less than sd were 14.86 and 0.62 ppm in grain and flour, respectively.

Key words: Near Infrared Spectroscopy (NIRS), non destructive, flour, grain, aflatoxin

ทะเบียนวิจัยเลขที่ 03-09-54-04-02-00-07-57

คำนำ

เมล็ดพืชและแป้งที่เก็บเกี่ยวใหม่หรือที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลานานถ้าสภาพแปลงปลูกหรือการเก็บรักษาไม่เหมาะสม มักจะพบการปนเปื้อนสารพิษแอฟลาทอกซิน ซึ่งถ้านำไปใช้หรือบริโภค สารพิษแอฟลาทอกซิน ก็จะสะสมและก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ แต่สารพิษไม่สามารถมองเห็นได้ การปนเปื้อนต้องตรวจสอบด้วยวิธีที่ยุ่งยาก ซับซ้อน ใช้เครื่องมือราคาสูง ต้องใช้ประสบการณ์ ใช้เวลานาน ถ้าสามารถหาวิธีที่จะตรวจสอบง่ายๆ ใช้เวลาสั้น ให้ค่าที่ถูกต้อง แม่นยำ ใช้เวลาสั้น ไม่ทำลายตัวอย่าง ก็จะให้เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคมาก

Near Infrared Spectroscopy (NIRS) เป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่ใช้หลักการสร้างสมการเพื่อการประเมินระหว่างค่าการดูดซับแสงในช่วง Near Infrared (800-2500 นาโนเมตร) ของตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ และค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ นำสมการที่ได้มาทำนายค่าของวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์ต่อไป ซึ่งทั้ง NIRS เป็นเครื่องมือที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์รวดเร็ว แม่นยำ ไม่ทำลายตัวอย่าง และมีค่าใช้จ่ายต่ำ

เทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIR Spectroscopy) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เทคนิคนี้ใช้หลักการการดูดกลืนแสง NIR แล้วนำมาหาความสัมพันธ์กับค่าที่วิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ ได้สมการที่มีค่าความสัมพันธ์แบบถดถอย (Regression) สูง ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินต่ำ ก็นำสมการที่ได้ไปประเมินตัวอย่างที่ต้องการ วิธีนี้ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในสหรัฐอเมริกา ยุโรป ญี่ปุ่น เกาหลี และจีน ให้ความถูกต้อง แม่นยำ ใช้เวลาสั้น ไม่ใช้สารเคมี ตัวอย่างไม่ถูกทำลาย แต่สามารถใช้ประเมินได้เฉพาะองค์ประกอบที่เป็นอินทรีย์สารเท่านั้น เทคนิคนี้ได้นำไปประเมินคุณสมบัติต่าง เช่น น้ำหนักแห้งในหัวหอม (Birth *et al.,* 1985), soluble solids ในแคนตาลูป (Dull *et al*., 1989) ค่า ^{o}Brix ในพืช (Kawano *et al*. 1992) ปริมาณแป้ง ปริมาณโปรตีนในข้าวสาลี ความชื้นเมล็ด เป็นต้น การทดลองนี้จึงนำเทคนิค Near Infrared Spectroscopy มาใช้ประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน แทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

-เมล็ดและแป้งพืช ที่มีปริมาณแอฟลาทอกซินระดับต่างๆ

-เครื่อง NIR Spectrometer

-อุปกรณ์และเครื่องมือการวิเคราะห์ปริมาณแอฟลาทอกซิน

-เครื่องชั่ง

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การวัดการดูดซับแสง

นำเมล็ดพืชพืชชนิดต่างๆ ที่มีปริมาณแอฟลาทอกซินระดับต่างๆ ปริมาณ 200 กรัม ในรูปเมล็ดและแป้ง ใส่ในเซลสำหรับวัดการดูดซับแสง ของเครื่อง Near Infrared Spectrometer รุ่น 4500 โดยใช้หลักการสะท้อนแสง (Reflection) ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ลักษณะตัวอย่างเมล็ดและแป้งที่ใช้ในการทำสมการ ตามตารางที่ 1

ขั้นตอนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณแอฟลาทอกซิน

นำเมล็ดและแป้งพืชจากขั้นตอนที่ 1 ไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ด้วย ELISA Test kit

ขั้นตอนที่ 3 สร้างและปรับปรุงสมการเพื่อใช้ประเมินปริมาณแอฟลาทอกซิน

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

เวลาและสถานที่ดำเนินงาน ตั้งแต่ ตค. 2556 –กย. 2557

ดำเนินงานที่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

ผลการทดลอง

คุณสมบัติของตัวอย่างในการทำสมการ

ตัวอย่างเมล็ดพืชและแป้งพืชชนิดต่างๆ เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด และอื่นๆ แหล่งต่างๆ ที่มีปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินระดับต่างๆ ดังตารางที่ 1

จากการวัดค่าการดูดซับแสงของสารพิษแอฟลาทอกซินในย่าน NIR (400-2500 นาโนเมตร) จากการใช้เครื่อง NIR spectrometer ดังภาพที่ 1 พบว่า เมล็ดพืชสามารถดูดซับแสงสูงที่ความยาวคลื่น 1200 1450 1700 และ 1900 นาโนเมตร แป้งดูดซับแสงสูงที่ความยาวคลื่น 1400 และ 1900 นาโนเมตร (ภาพที่ 1

การสร้างสมการประเมินคุณภาพน้ำมันพืชด้วยเทคนิค NIRS

เทคนิค NIRS นำมาใช้เพื่อสร้างสมการจากความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดซับแสงในย่าน NIR และค่าปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ในรูปเมล็ดและแป้ง พบว่า ค่าจากสมการที่ได้มีค่าความสัมพันธ์ (R) สูง โดยมีปัจจัยหลายอย่างมาเกี่ยวข้อง (ตารางที่ 2)

ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง และปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในรูปเมล็ด มีค่าสหสัมพันธ์สูง (R = 0.92) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ในรูปเมล็ด (SEP = 14.86 ppm) ซึ่งมีค่าต่ำกว่า ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย (sd) จากการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีค่า 35.86 ppm. (ตารางที่ 2)

ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง และปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในรูปแป้ง มีค่าสหสัมพันธ์สูง (R = 0.99) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซิน ในรูปเมล็ด (SEP = 0.62 ppm) ซึ่งมีค่าต่ำกว่า ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย (sd) จากการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีค่า 4.45 ppm. (ตารางที่ 2)

ความถูกต้องในการใช้สมการประเมิน

สมการทั้ง 2 สมการ สามารถใช้ประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในรูปเมล็ดและแป้งได้อย่างมีประสิทธิภาพการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในรูปเมล็ดและแป้ง จะได้ใกล้เคียงกับค่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มีความผิดพลาด (Standard error of prediction : SEP) ต่ำกว่าค่าการวิเคราะห์ (sd) (ภาพที่ 2)

ค่า Regression coefficient

จากค่า Regression coefficient จากสมการที่วิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม The Unscrambler พบว่า ปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินที่ทำการวิเคราะห์ในรูปเมล็ดและแป้งพืชมีปัจจัยหลายชนิดที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

ในสมการที่ใช้ประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในเมล็ดและแป้งจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 20 และ 17 ปัจจัย ตามลำดับ พบว่า ค่า regression coefficient สูงที่ ความยาวคลื่น 920 1580 และ 2050 นาโนเมตร ในเมล็ด และ 910 1510 และ 2050 นาโนเมตร ในแป้ง

Osborne (1993) รายงานว่า ความยาวคลื่น 990 1900 นาโนเมตร และความยาวคลื่น 760 970 1450 นาโนเมตร จะเกี่ยวข้องกับน้ำ 990 1440 1450 1528 1540 1580 1900 2000 2100 2252 2276 2461 จะเกี่ยวข้องกับแป้ง ความยาวคลื่น 910 1020 1510 1980 2050 2180 นาโนเมตร จะเกี่ยวข้องกับโปรตีน ความยาวคลื่น 928 1037 นาโนเมตร จะเกี่ยวข้องกับน้ำมัน ความยาวคลื่น 1490 1780 1820 2352 นาโนเมตร จะเกี่ยวข้องกับเซลลูโลส

จะเห็นว่า ค่า Regression coefficient ของทั้ง 2 สมการ ชี้ให้เห็นว่า ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับปริมาณสารพิษแอฟล่ทอกซิน คือ โปรตีน และ แป้ง เป็นส่วนใหญ่

สรุป

-เทคนิค NIRS สามารถใช้ประเมินปริมาณแอฟลาทอกซิน ในเมล็ดและแป้งพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่ทำลายตัวอย่าง ให้ค่าการประเมินที่ถูกต้องในระยะเวลาสั้น

-ความยาวคลื่นที่ใช้ในเทคนิค NIRS เพื่อการประเมินปริมาณแอฟลาทอกซิน ในเมล็ดและแป้งพืช คือ 400 - 2500 นาโนเมตร ใช้หลักการส่งผ่านแสง (Transmission)

เอกสารอ้างอิง

Birth, G.S., G.G. Dull, W.T. Renfore and S.J. Kays. 1985. Nondestructive spectrophotometric determination of dry matter in onions. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110: 297-303.

Dull, G.G., G.S. Birth, D.A. Smittle and R.G. Leffler. 1989. NIR analysis of soluble solids in intact cantaloupe. J. Food Sci. 54: 393-395.

Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61 (2): 445-451.

Osborne, B.G., T. Fearn, P.H. Hindle. 1993. “Practical NIR Spectroscopy with applications in food and beverage analysis”, 2nd Edition. Longman Scientific and Technical, Singapore. 227 p.

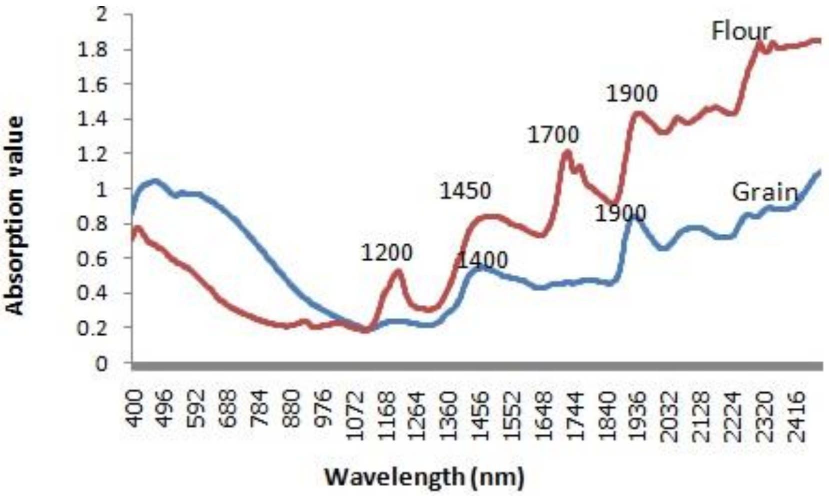
ตารางที่ 1 คุณสมบัติของตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการในรูปแป้งและเมล็ดพืช

รายการ	ปริมาณ แอฟลาทอกซิน (เมล็ด)	ปริมาณ แอฟลาทอกซิน (แป้ง)
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	0-178.1	0-15.3
ค่าเฉลี่ย	17.85	4.30
sd	35.86	4.45
จำนวน	336	108
หน่วย	ppm	ppm

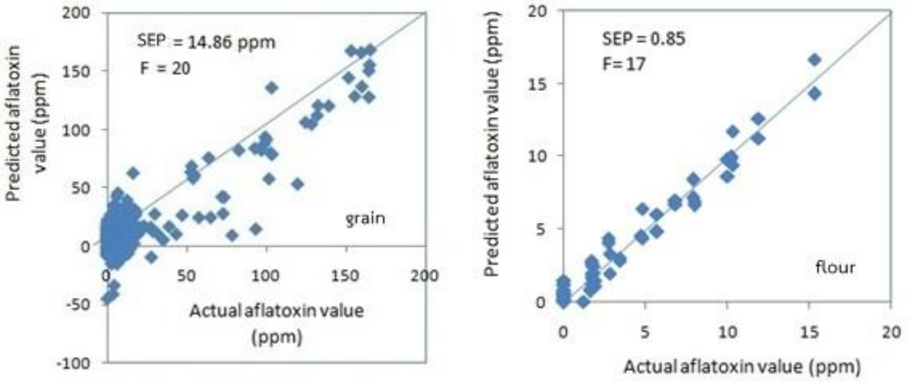
ตารางที่ 2 ค่าทางสถิติของสมการที่มีประสิทธิภาพจากเทคนิค NIRS ที่ใช้ในการประเมินปริมาณสารพิษแอฟลาทอกซินในรูปเมล็ดและแป้ง

ประเภท	**ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)**	R	SEC	SEP	Bias	sd	F	n
เมล็ด	**400-2500**	**0.92**	**14.03**	**14,86**	**0.224**	35.86	**20**	**336**
แป้ง	**400-2500**	**0.99**	**0.62**	**0.85**	**0.0149**	**4.45**	**17**	**108**

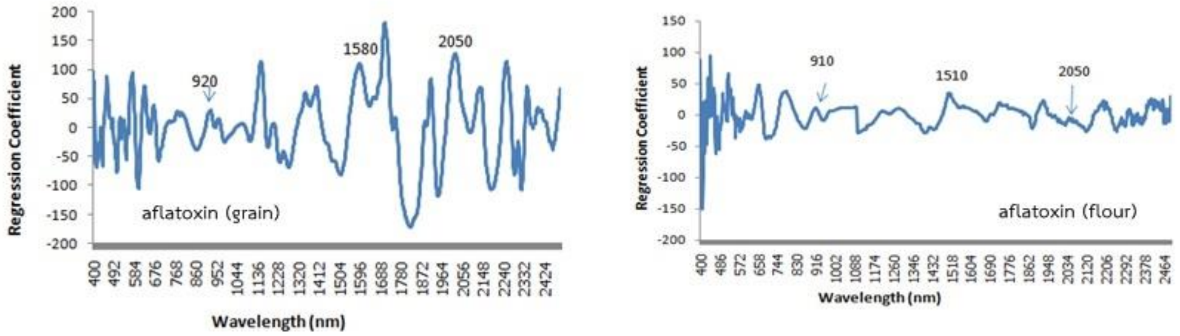
R : ค่าสหสัมพันธ์
SEC: ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์
SEP: ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน
Bias: ค่าความผิดพลาด
F: ปัจจัยกระทบ
sd: ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย



ภาพที่ 1 ค่าการดูดซับแสงของเมล็ดและแป้งพืชที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร



ภาพที่ 2 ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินปริมาณแอฟลาทอกซินในเมล็ดแป้งพืชจากสมการจากเทคนิค NIRS



ภาพที่ 3 Regression coefficient ของสมการที่ใช้ประเมินปริมาณสารแอฟลาทอกซิน ของเมล็ดและแป้งพืช