

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญภาพ	ญ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ถ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	73
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	83
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	121
เอกสารอ้างอิง	123
ภาคผนวก	142
ประวัติผู้เขียน	157

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	การแบ่งช่วงรังสีอินฟราเรด	5
2.2	ตำแหน่งแถบในสเปกตรัม NIR ที่สำคัญ	18
2.3	วิธีการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์	40
2.4	เกณฑ์การพิจารณาค่า R และ R <sup>2</sup>	49
2.5	เกณฑ์การพิจารณาค่า RPD	49
2.6	การกระจายน้ำหนักของชิ้นส่วนหลักของเมล็ดข้าวโพด	50
2.7	องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวโพด แสดงจาก 100 กรัม	53
2.8	องค์ประกอบทางเคมีในส่วนต่างๆของเมล็ดข้าวโพด (%)	54
4.1	ผลของสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างด้วยวิธี PLSR สำหรับทำนายการผสมของข้าวโพดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก วัดสเปกตรัมด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with coarse sample cell	95
4.2	ผลของสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างด้วยวิธี PLSR สำหรับทำนายการผสมของข้าวโพดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก วัดสเปกตรัมด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	101
4.3	ผลของสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างด้วยวิธี PLSR สำหรับทำนายการผสมของข้าวโพดบดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก วัดสเปกตรัมด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	108

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
4.4	ค่าทางสถิติที่ได้จากการสร้างสมการทำนายการผสม ของข้าวโพดบดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ด้วยอุปกรณ์เสริม spinning module with standard cup	114
4.5	ความชื้นฐานเปียกในเมล็ดข้าวโพดชุดควบคุมและ ชุดปลูกสปอร์เชื้อรา <i>A. flavus</i> ในระหว่างการเก็บรักษา	116
4.6	ปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวโพดชุดควบคุมและ ชุดปลูกสปอร์เชื้อรา <i>A. flavus</i> ตรวจสอบด้วยชุดตรวจสอบสำเร็จรูป (DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit)	117
4.7	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราในเมล็ดข้าวโพดชุดควบคุม และชุดปลูกสปอร์เชื้อรา <i>A. flavus</i>	118

## สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
2.1	ลักษณะคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	3
2.2	สเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า	4
2.3	ช่วงสเปกตรัมของคลื่นแสงอินฟราเรด	6
2.4	การสั่นแบบการยืดแบบสมมาตรและการยืดแบบไม่สมมาตร	8
2.5	การสั่นแบบงอ (a) การงอแบบกรรไกร, (b) การงอแบบโคลง, (c) การงอแบบกระดิก และ (d) การงอแบบบิด	9
2.6	จำนวนแบบการสั่นของ CO <sub>2</sub>	9
2.7	จำนวนแบบการสั่นของ H <sub>2</sub> O	10
2.8	การสั่นแบบฮาร์โมนิกและการเปลี่ยนแปลงพลังงานศักย์ ของโมเลกุลสำหรับการสั่นแบบแอนฮาร์โมนิก; d <sub>e</sub> = equilibrium distance, U = minimum	10
2.9	การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานการสั่นแบบโอเวอร์โทนของ โมเลกุลที่ดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ตามกฎการสั่นแบบแอนฮาร์โมนิก	11
2.10	ช่วงความยาวคลื่นที่สำคัญของการดูดกลืนแสง NIR	18
2.11	หลักการการทำงานของเครื่อง NIR ทั้งแบบส่องผ่านและ สะท้อนกลับ	23
2.12	แบบวิธีการวัดด้วย NIRS (a) การส่องผ่าน (transmittance) (b) การส่องผ่านสะท้อน (transflectance) (c) การสะท้อนแบบแพร่ (diffuse transflectance) (d) อินเทอร์แอคแทนซ์ (interactance) (e) การส่องผ่านตัวอย่างที่มีการกระเจิงแสง (transmittance through scattering medium) (I <sub>o</sub> = incident light, I <sub>s</sub> = light comes from the sample)	24

## สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพ		หน้า
2.13	ความแตกต่างสเปกตรัมของเมล็ดข้าวสาลีเต็มเมล็ดกับขนาดเมล็ด ที่จำแนกทางการค้า 1= particle size index (PSI) (American Association of Cereal Chemists, 2000) 72 (very soft); 2= PSI 60 (medium hard/soft); 3= PSI 53 (hard) and 4= PSI 40 (extra hard: durum)	26
2.14	สเปกตรัม NIR ของข้าวสาลีแดงที่มีขนาดต่างกัน คือเมล็ดใหญ่ กลางและเล็ก. TKW= thousand kernel weight (น้ำหนักต่อ 1,000 เมล็ด)	27
2.15	สเปกตรัมของเมล็ดข้าวสาลีปกติ (a) และเมล็ดบด (b) โดยวิธีการวัด แบบสะท้อนกลับของแสง	28
2.16	ระบบการวิเคราะห์ตัวอย่างธัญพืชด้วยเทคนิค NIR ชนิดวัดแสงส่องผ่าน	29
2.17	สเปกตรัมดั้งเดิม (เส้นทึบ) และอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) ของสเปกตรัม (เส้นประ)	31
2.18	การแปลงเป็นค่าอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) (เส้นไขปลา) เพื่อแยกจุดยอดของสเปกตรัม	32
2.19	การแปลงค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (first derivative) (เส้นประ) แก้ปัญหาการบวกเพิ่มที่คงที่ตลอดความยาวคลื่นของสเปกตรัม หรือเบสไลน์ออฟเซต	32
2.20	การแปลงค่าเป็นอนุพันธ์อันดับสองเพื่อแก้ปัญหาการบวกเพิ่มที่มีค่า เปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นเป็นเส้นตรงมีความชันของสเปกตรัม	33
2.21	อนุพันธ์อันดับหนึ่งให้สเปกตรัมที่มีค่าความชันตรงกับ จุดยอดของสเปกตรัมเดิม	34

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพ		หน้า
2.22	กราฟที่มีความชันเปลี่ยนแปลงไปเปรียบเสมือนเส้นตรงนั้นหมุน	34
2.23	ตัวอย่างแป้งที่มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน 3 ขนาดแต่มีค่าทางเคมีเท่ากัน	35
2.24	พลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง Asi (absorbance หรือ Log (1/R) ของสเปกตรัมของตัวอย่าง s1 และ s2 (แกน Y) กับค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมเฉลี่ย Aavi (แกน X)	36
2.25	สเปกตรัม NIR ที่ได้รับผลกระทบแบบผลคูณหลังจากการปรับแก้ด้วย MSC	38
2.26	ส่วนประกอบของเมล็ดข้าวโพด แสดงลักษณะข้าวโพดเต็มเมล็ด (1) และภาพตัดขวางอธิบายส่วนประกอบของเมล็ด (2) ประกอบด้วย a: silk scar, b: pericarp, c: aleurone, d: endosperm, e: scutellum, f: glandular layer of scutellum, g: colcoptile, h: plumule with stem and leaves, i: first internode, j: lateral seminal root, k: scutellar node, l: primary root, m: coleorhizae, n: basal conducting cells of endosperm, o: brown abscission layer, p: pedicel or flower stalk	52
2.27	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Aspergillus spp.</i>	60
2.28	โครงสร้างทางเคมีของอะฟลาทอกซิน ชนิดบี1 (AFB <sub>1</sub> ) บี2 (AFB <sub>2</sub> ), จี1 (AFG <sub>1</sub> ) และ จี2 (AFG <sub>2</sub> )	63
2.29	ขบวนการเข้าทำลายของเชื้อรา <i>A. flavus</i>	66
2.30	การเข้าทำลายข้าวโพดของเชื้อรา <i>A. flavus</i>	67
3.1	ขั้นตอนการใช้โปรแกรม The unscrambler ® สร้างสมการด้วยเทคนิค PLSR	82

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
4.1	86
<p>การตรวจสอบหาเชื้อที่ติดมากับเมล็ดโดยวิธี agar method และ blotter method ลักษณะปรากฏของ <i>A. flavus</i> (1) และ <i>A. niger</i> (2) ของเมล็ดข้าวโพด บนอาหาร PDA และ ลักษณะปรากฏของ <i>A. flavus</i> (3) และ <i>A. niger</i> (4) ของเมล็ดข้าวโพดบนกระดาษเพาะ</p>	
4.2	86
<p>ลักษณะโคโลนีของเชื้อ <i>A. flavus</i> (1) และ <i>A. niger</i> (2) บนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน</p>	
4.3	87
<p>การเจริญของเชื้อ <i>A. flavus</i> ภายใต้กล้อง stereomicroscope and accessories</p>	
4.4	87
<p>ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>A. flavus</i> และ <i>A. niger</i> โดยวิธี slide culture</p>	
4.5	87
<p>การเจริญของเชื้อรา <i>A. flavus</i> บนเมล็ดข้าวโพด            (1) การเข้าทำลายของเชื้อราโดยเริ่มจากบริเวณ tip cap            (2) ลักษณะเมล็ดที่เริ่มมีการเข้าทำลายของเชื้อราโดยปรากฏเส้นใยปกคลุมผิวเมล็ด และ (3) เมล็ดที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเต็มเมล็ด</p>	
4.6	89
<p>สเปกตรัมของเชื้อรา <i>A. flavus</i> และเชื้อรา <i>A. niger</i>            ในช่วงความยาวคลื่น 400-1100 nm</p>	
4.7	90
<p>สเปกตรัมของเชื้อรา <i>A. flavus</i> และเชื้อรา <i>A. niger</i>            ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 nm</p>	
4.8	90
<p>principle component analysis plot (PC1 และ PC2) ของเชื้อรา <i>A. flavus</i> และ <i>A. niger</i></p>	

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
4.9	สเปกตรัมดั้งเดิมของเมล็ดข้าวโพดปกติ (non-infected) และเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with coarse sample cell	94
4.10	สเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดปกติ (non-infected) และเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ด้วยอนุพันธ์อันดับที่สอง (2 <sup>nd</sup> derivative) ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with coarse sample cell	94
4.11	สัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างด้วย PLSR สำหรับทำนายระดับการผสมของเมล็ดข้าวโพดปกติ ด้วยเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with coarse sample cell	95
4.12	การวิเคราะห์ PCA ของสเปกตรัมของข้าวโพดปกติ (control) และข้าวโพดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อรา <i>A. flavus</i> ที่ 10% โดยน้ำหนักด้วยชุดอุปกรณ์เสริม transportation module with coarse sample cell	96

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
4.13	สเปกตรัมดั้งเดิมของเมล็ดข้าวโพดปกติ (non-infected) และเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	100
4.14	สเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดปกติ (non-infected) และเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ด้วยอนุพันธ์อันดับที่สอง (2 <sup>nd</sup> derivative) ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	100
4.15	สัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการเทียบมาตรฐาน ที่สร้างด้วย PLSR สำหรับทำนายระดับการผสมของเมล็ดข้าวโพดปกติ ด้วยเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	101
4.16	การวิเคราะห์ PCA ของสเปกตรัมของข้าวโพดปกติ (control) และข้าวโพดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ <i>A. flavus</i> ที่ 5 % โดยน้ำหนักด้วยชุดอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	102

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
4.17	สเปกตรัมดั้งเดิมของเมล็ดข้าวโพดปกติ (non-infected) และเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	107
4.18	สเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดปกติ (non-infected) และเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ด้วยอนุพันธ์อันดับที่สอง (2 <sup>nd</sup> derivative) ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	107
4.19	สัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการเทียบมาตรฐาน ที่สร้างด้วย PLSR สำหรับทำนายระดับการผสมของเมล็ดข้าวโพดปกติด้วยเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก วัดด้วยอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	108
4.20	การวิเคราะห์ PCA ของสเปกตรัมของข้าวโพดปกติ (control) และข้าวโพดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อรา <i>A. flavus</i> ที่ 5 % โดยน้ำหนักด้วยชุดอุปกรณ์เสริม transportation module with pasting cell	109
4.21	สเปกตรัมดั้งเดิมของเมล็ดข้าวโพดปกติ (non-infected) และเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร วัดด้วยอุปกรณ์เสริม spinning module with standard cup	113

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
4.22	สเปกตรัมของเมล็ดข้าวโพดปกติ (non-infected) และเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก ด้วยอนุพันธ์อันดับที่สอง (2 <sup>nd</sup> derivative) ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร วัดด้วยอุปกรณ์เสริม spinning module with standard cup	114
4.23	สัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการเทียบมาตรฐาน ที่สร้างด้วย PLSR สำหรับทำนายระดับการผสมของเมล็ดข้าวโพดปกติ ด้วยเมล็ดข้าวโพดที่ผสมด้วยเมล็ดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อราที่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนัก วัดด้วยอุปกรณ์เสริม spinning module with standard cup	115
4.24	การวิเคราะห์ PCA ของสเปกตรัมของข้าวโพดปกติ (control) และข้าวโพดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อรา <i>A. flavus</i> ที่ 5 % โดยน้ำหนักด้วยชุดอุปกรณ์เสริม spinning module with standard cup	115
4.25	แผนภูมิฮิสโตแกรมการกระจายตัวของค่าทางเคมีปริมาณอะฟลาทอกซิน ในข้าวโพดที่ไม่ได้รับการปลูกสปรอร์เชื้อรา <i>A. flavus</i> (ชุดควบคุม)	120
4.26	แผนภูมิฮิสโตแกรมการกระจายตัวของค่าทางเคมีปริมาณอะฟลาทอกซิน ในข้าวโพดที่ได้รับการปลูกสปรอร์เชื้อรา <i>A. flavus</i> เดือนที่ 0, 1, 2 และ 3	120

อักษรย่อและสัญลักษณ์

1 <sup>st</sup>	First derivative
2 <sup>nd</sup>	Second derivative
<i>A. flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
NIR	Near infrared
NIRS	Near infrared spectroscopy
MSC	Multiplicative scatter correction
SNV	Standard normal variant
PCA	Principal component analysis
PLSR	Partial least square regression
R	Correlation coefficient
R <sup>2</sup>	Correlation of determination
SEC	Standard error of calibration
SEP	Standard error of prediction
Bias	Average of difference between actual value and NIR value
RPD	Ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP
SECV	Standard errors of cross validation
PDA	Potato dextrose ager