



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การวิเคราะห์ฮิสตามีนและความสดของปลาซาร์ดีน
ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

**Evaluation of histamine in sardine fish and its freshness
by near infrared spectroscopy technique**

รศ. ดร. ปานมนัส ศิริสมบูรณ์

ผศ. ดร. พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การวิเคราะห์ฮิสตามีนและความสดของปลาซาร์ดีน
ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

**Evaluation of histamine in sardine fish and its freshness
by near infrared spectroscopy technique**

รศ. ดร. ปานมนัส ศิริสมบูรณ์

ผศ. ดร. พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์ฮิสตามีนและความสดของปลาชาร์ดินด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

แหล่งเงิน//งบประมาณแผ่นดิน ทุนอุดหนุนทั่วไป

ประจำปีงบประมาณ 2557 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 729,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึงวันที่ 30 เดือน กันยายน พ.ศ. 2557

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย

น.ส. ปานมนัส ศิริสมบูรณ์ (หัวหน้าโครงการ) สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล.

นาง พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ (ผู้ร่วมโครงการวิจัย) สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล.

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ ศึกษาความเป็นไปได้ในการวิเคราะห์ฮิสตามีนของปลาชาร์ดินซึ่งบ่งบอกความสดของปลา โดยตรวจวัดสเปกตรัมของตัวอย่างปลาชาร์ดิน ด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์สี่เครื่องคือ FT-NIR spectrometer (MPA และ Matrix, Bruker, Germany) ช่วงเลขคลื่น 12,500-3,600 ซม.⁻¹ (ความยาวคลื่น 700-2500 นาโนเมตร) เครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) ช่วงความยาวคลื่น 1150-2150 นาโนเมตร และเครื่อง FQA NIR GUN (Fantec, Japan) ความยาวคลื่น 600-1100 นาโนเมตรโดยใช้ปลาชาร์ดินสด *sardinella longiceps* จากประเทศจีน ลักษณะปลาที่ใช้ในการสแกนมีดังต่อไปนี้ ปลาเต็มตัว (Intact fish) ปลาผ่าครึ่งเอาก้างออก (Fillet) เนื้อปลาสับละเอียด (Mined meat) (ในกรณีของเครื่อง MICRO NIR จะสแกนเนื้อปลาสับผ่านแก้ว (Mined meat with glass) ด้วย) จากนั้นนำข้อมูลสเปกตรัมแบบการดูดกลืนแสงที่ผ่านการจัดการทางคณิตศาสตร์ โดยวิธีต่างๆหรือไม่ผ่าน ไปสร้างแบบจำลองในการทำนายปริมาณฮิสตามีนด้วยวิธี Partial least square regression (PLSR) พบว่าแบบจำลองในการทำนายฮิสตามีนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany) สามารถให้การทำนายได้ดีกว่าเครื่องอื่น สำหรับลักษณะตัวอย่างปลาสำหรับการสแกนพบว่าปลาเต็มตัวได้ผลดีที่สุด โดยแบบจำลองได้มาจากการพัฒนาสเปกตรัมด้วยวิธี SNV (Standard vector normalization) โดยมีค่า R², RMSEP และ Bias คือ 0.696, 16.1 และ 5.95 ตามลำดับ โดยมี PLS factor เท่ากับ 7 อย่างไรก็ตามก็ตีจากค่า R² ระหว่าง 0.66-0.81 นั้นสามารถนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดไปใช้สำหรับการทำนายค่าโดยประมาณ ยังไม่สามารถนำไปใช้การวิจัยหรือการประกันคุณภาพได้ นอกจากนี้พบว่าการสั่นสะเทือนของพันธะขององค์ประกอบของโปรตีน (N-H bond) และองค์ประกอบของไขมัน (C=OOH bond) มีอิทธิพลต่อการทำนายปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact มาก

คำสำคัญ : ความสด ฮิสตามีน ปลาชาร์ดิน เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

Research Title: Evaluation of histamine in sardine fish and its freshness by near infrared spectroscopy technique

Researchers: Panmanas Sirisomboon and Pimpen Pornchaloempong

Faculty: Engineering **Department:** Mechanical Engineering and Food Engineering

ABSTRACT

Objective of this research was to study the feasibility on evaluation of histamine content in sardine fish which indicated the freshness of fish by measuring spectra of sardine samples using four spectrometers which were FT-NIR spectrometers (MPA ๓๓๒ Matrix, Bruker, Germany) (12,500-3,600 cm^{-1} or 700-2500 nm), MICRO NIR spectrometer (JDSU, USA) (1150-2150 nm) and FQA NIR GUN (Fantec, Japan) (600-1100nm). The fresh sardine fish (*sardinella longiceps*) from China were subjected to the experiment in three different forms including intact fish, fillet, minced meat, and in case of MICRO NIR spectrometer, minced meat with glass. The absorbance spectra with or without different mathematic pretreatment were used to develop the prediction model for histamine using Partial least square regression (PLSR). It was found that the model developed by FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany) gave a better prediction performance than other spectrometers. The best form of fish that gave better model performance was intact form. The best model was developed after spectra pretreatment of SNV (Standard vector normalization) and it provided coefficient of determination (R^2), root mean squares error of prediction (RMSEP) and Bias of 0.696, 16.1 and 5.95, respectively with 7 PLS factors. However, if the R^2 is between 0.66-0.81, the model could be used for screening and some other approximate calibration. It could not be used for quantify or in quality control in factory. In addition, it was found that the vibration band of chemical bonds in protein (N-H bond) and fat (C=OOH bond) highly affected the prediction of histamine content in sardines.

Keywords : Freshness, Histamine, Sardine fish, Near infrared spectroscopy

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งการวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินงบประมาณแผ่นดิน ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

รศ.ดร. ปานมนัส	ศิริสมบูรณ์
ผศ.ดร. พิมพ์เพ็ญ	พรเฉลิมพงศ์
นางสาว กิ่งดาว	ชนะ โชติ
นางสาว กรนรรณ	แก่นภิรมย์
นางสาว ภคินี	แสนพินิจ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	2
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม.....	4
2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.2 การตรวจสอบปริมาณฮิสตามีน.....	5
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	6
3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง.....	6
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	7
3.3 การวัดปริมาณฮิสตามีนด้วยวิธี Fluorometric Method ด้วยเครื่อง Fluorometer.....	9
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลและสร้างแบบจำลองในการทำนายค่า.....	9
3.5 การปรับปรุงวิธีการ.....	10
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	18
4.1 ผลการทดลองก่อนการปรับปรุงวิธีการ.....	18
4.2 ผลการทดลองหลังการปรับปรุงวิธีการ.....	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	35
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย.....	36
เอกสารอ้างอิง.....	43
ภาคผนวก.....	45
สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย.....	46
ประวัตินักวิจัย.....	48

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลาซาร์ดีนสด.....	10
3.2 ผลของระยะเวลาที่วางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมิห้องต่อการแบ่งกลุ่มของปริมาณฮิสตามีน.....	11
3.3 การปรับตั้งสเปกโตรมิเตอร์เมื่อปรับปรุงระบบ	14
3.4 การปฏิบัติงานเมื่อปรับปรุงระบบแล้ว.....	15
4.1 ข้อมูลทางสถิติของค่าฮิสตามีนของปลาซาร์ดีนสำหรับชุดกาลิเบรชันและชุดทำนาย.....	21
4.2 แบบจำลองPLSที่ดีที่สุดสำหรับการวัดฮิสตามีนของปลาซาร์ดีนด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบต่างๆ..	22
4.3 ค่าทางสถิติของปริมาณฮิสตามีนในปลาซาร์ดีนที่ใช้สร้างสมการทำนายหลังปรับปรุงวิธีการ.....	27
4.4 แบบจำลอง PLS ที่ดีที่สุดสำหรับการวัดฮิสตามีนของปลาซาร์ดีนในตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิด ด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบต่างๆ.....	28
4.5 การสันนิษฐานของพันธะที่เลขคลื่นหรือความยาวคลื่นที่มีค่า Regression coefficient และ X-loading weight ที่สูง ของสมการปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact ที่ตัดตัวอย่างที่ผิดปกติ ออกแล้วโดยสแกน ด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany).....	33

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 โครงสร้างของ ฮิสทีดีนและฮิสตามีน (Food Wiki, 2012).....	3
3.1 Intact fish.....	6
3.2 Fillet.....	6
3.3 Minced meat.....	6
3.4 การสแกนด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบต่างๆ.....	7
3.5 เครื่อง FT-NIR spectrometer.....	7
3.6 เครื่อง MICRO NIR.....	8
3.7 เครื่อง FQA NIR GUN.....	8
3.8 ค่าเฉลี่ยของปริมาณฮิสตามีนตามเวลาในการวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมิห้อง (สมการเส้นตรง).....	12
3.9 ค่าเฉลี่ยของปริมาณฮิสตามีนตามเวลาในการวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมิห้อง (สมการเอ็กซ์โพเนนเชียล).....	12
4.1 สเปกตรัมของฮิสตามีนบริสุทธิ์ในช่วงเลขคลื่น $12500 - 3600 \text{ cm}^{-1}$	19
4.2 สเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลาและเนื้อปลาสับที่สแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer.....	20
4.3 สเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลา เนื้อปลาสับและเนื้อปลาสับผ่านแก้วที่สแกนด้วยเครื่อง MICRO NIR.....	20
4.4 สเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลาและเนื้อปลาสับที่สแกนด้วยเครื่อง FQA NIR GUN.....	21
4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ในการทำนายค่าฮิสตามีนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer.....	23
4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ในการทำนายค่าฮิสตามีนด้วยเครื่อง MICRO NIR.....	23
4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ในการทำนายค่าฮิสตามีนด้วยเครื่อง FQA NIR GUN.....	24
4.8 สเปกตรัมของตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิด ที่ wavenumber $11,500-4,500 \text{ cm}^{-1}$ ของเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany).....	25
4.9 สเปกตรัมของตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิด ที่ wavelength $1,150-2,150 \text{ nm}$ ของเครื่อง MICRO NIR spectrometer.....	26
4.10 สเปกตรัมของตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิด ที่ wavelength $600-1100 \text{ nm}$ ของเครื่อง FQA NIR GUN spectrometer.....	26

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.11 การเปรียบเทียบปริมาณฮิสตามีนที่ทำนายโดยวิธีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีด้วยเครื่อง Matrix spectrometer ในตัวอย่างปลา Intact ของชุดคาลิเบรชัน กับค่าวัดจากวิธีมาตรฐานของโรงงาน.....	30
4.12 การเปรียบเทียบปริมาณฮิสตามีนที่ทำนายโดยวิธีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีด้วยเครื่อง Matrix spectrometer ในตัวอย่างปลา Intact ของชุดทำนาย กับค่าวัดจากวิธีมาตรฐานของโรงงาน	31
4.13 Regression coefficient plot ของสมการปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact ที่ตัดตัวอย่างที่ผลิตปกติออกแล้ว โดยสแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany).....	32
4.14 X-loading weight plot ของสมการปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact ที่ตัดตัวอย่างที่ผลิตปกติออกแล้ว โดยสแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany).....	33

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมการทำปลาทูสดกระป๋องนับเป็นกิจการที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจอย่างหนึ่งของประเทศไทย จากสถิติของกรมศุลกากร (2012) รายงานว่า ประเทศไทยมีการส่งออก ปลาทูสด ปลาทูสดเนลล่า และปลาบรอสลิ่ง หรือปลาแปดที่บรรจุภาชนะที่อากาศผ่านเข้าออกไม่ได้ ซึ่งเป็นปลาทั้งตัวหรือเป็นชิ้น แต่ไม่บด จัดเป็นประเภทปลาที่ปรุงแต่งหรือทาไว้ไม่ให้เสียเป็นปริมาณ 53,908,502 กก.คิดเป็นมูลค่า 3,849,618,979 บาท การตรวจรับปลาทูสดเข้าสู่โรงงานจำเป็นต้องตรวจความสดของปลาโดยวัดปริมาณฮิสตามีน (histamine) ในเนื้อปลามีสารฮิสติดีน (histidine) ที่เป็นกรดอะมิโนจำเป็นต่อร่างกายและ สารฮิสติดีนเป็นสารตั้งต้นของสารฮิสตามีน (histamine) ซึ่งเกิดจากการเก็บรักษาปลาไว้นานที่อุณหภูมิสูงเกินไปทำให้แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ histidine decarboxylase ซึ่งจะย่อยสลายกรดอะมิโน ฮิสติดีน ให้กลายเป็นสาร ฮิสตามีน ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ ฉะนั้น ระดับฮิสตามีนในเนื้อปลาเป็นดัชนีหนึ่งในการบ่งบอกความสดของปลาและการวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนในเนื้อปลาจึงเกี่ยวข้องกับสุขภาพของผู้บริโภค และอายุการเก็บรักษาเนื้อปลา การทดสอบฮิสตามีนจึงเป็นกลยุทธ์ในการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยซึ่งสามารถใช้โดยผู้ประกอบการอาหารทะเล จากรายงานของ Köse et al.(2011) กล่าวว่า ระดับการควบคุมปริมาณฮิสตามีนในปลาตระกูล scombrototoxic มีค่าประมาณ 10-200 ppm ระดับที่ผิดปกติของฮิสตามีน คือสูงกว่า 50 ppm ซึ่งกำหนดในสหรัฐอเมริกา (Federal Register, 1995 อ้างโดย Köse et al.(2011))

การวัดปริมาณฮิสตามีน โดยวิธีดั้งเดิมต้องใช้เวลาและขั้นตอนที่ซับซ้อนด้วยวิธีการที่มีราคาแพงใช้สารเคมีจำนวนมาก ซึ่งวิธีการที่ยอมรับในการนำเข้าและส่งออกในอุตสาหกรรมปลากระป๋องคือวิธี AOAC Official Method 977.13 Histamine in Seafood โดยใช้ Fluorometric Method ซึ่งต้องใช้สารเคมีจำนวนมาก เช่น Histamine dichloride, o-Phthaldialdehyde (OPT), Phosphoric acid และ Ion-exchange resin เป็นต้น

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี เป็นวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่รวดเร็ว แม่นยำ ไม่ต้องใช้สารเคมี เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ไม่ต้องเตรียมตัวอย่าง แต่การนำเทคโนโลยีนี้มาใช้จำเป็นต้องมีการสร้างแบบจำลองเพื่อใช้ในการทำนาย (Calibration model) ก่อนการนำไปใช้งาน เพื่อเปรียบเทียบความแม่นยำกับวิธีอ้างอิงที่เป็นมาตรฐานในปัจจุบัน หากพิสูจน์ได้ว่ามีความแม่นยำเป็นที่ยอมรับได้จะใช้เวลาเพียง 2-3 วินาที ในการวิเคราะห์ ทำให้ลดต้นทุนในการตรวจรับปลาทูสดเข้าสู่โรงงาน ดังนั้นด้วยเหตุผลและความสำคัญดังกล่าวมาจึงขอเสนอโครงการวิจัยเพื่อของบประมาณเพื่อการวิจัย เรื่องการวิเคราะห์ฮิสตามีนและความสดของปลาทูสดด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

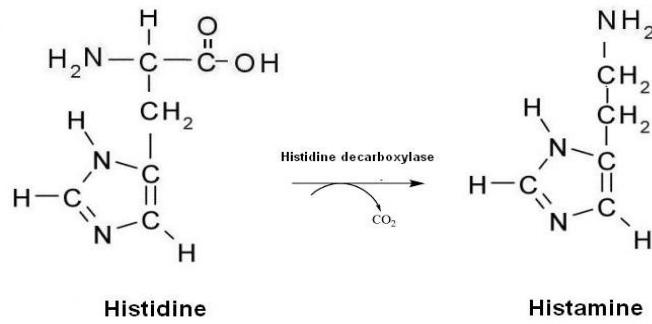
1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในการวิเคราะห์ฮิสตามีนและความสดของปลาซาร์ดีน ที่ตัวปลาโดยตรงเป็นวิธีไม่ทำลายซึ่งช่วยให้ประหยัดเวลาและลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์
2. เพื่อสร้างแบบจำลองในการวิเคราะห์ฮิสตามีนและความสดของปลาซาร์ดีน ด้วยวิธีไม่ทำลายโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี
3. เพื่อประยุกต์แบบจำลองที่ได้ใน 2 ใช้จริงในโรงงานผลิตภัณฑ์ปลาซาร์ดีนกระป๋องเพื่อลดเวลาและแรงงานในการตรวจสอบคุณภาพปลาซาร์ดีนซึ่งหมายถึงการลดต้นทุนในการผลิต
4. เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ในการประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีเพื่อการตรวจวัดฮิสตามีนและความสดของปลาซาร์ดีน เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมผลิตปลากระป๋อง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยจะใช้ความยาวช่วงคลื่นเนียร์อินฟราเรดระหว่าง 700 – 2500 nm

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐานและกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

Scombrototoxin เกิดจาก แบคทีเรีย ที่สร้างเอนไซม์ histidine decarboxylase ซึ่งย่อยสลายกรดอะมิโน ฮิสติดีน (histidine) ที่มีอยู่มากในโปรตีนเนื้อปลา ให้เปลี่ยนเป็นฮิสตามีน (histamine) ซึ่งเป็นสารพิษและบ่งชี้การเน่าเสียของปลา (Food Wiki 2012) ซึ่งจะเห็นว่าโครงสร้างทางเคมีของฮิสตามีนประกอบด้วย พันธะ CH, NH, CH₂, C=C และ NH₂ (ภาพที่ 1.1) ซึ่งคลื่นเนียร์อินฟราเรดมีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 700-2500 nm ซึ่งจะเกิดการดูดซับที่ความถี่แบบ Overtone และ/หรือ Combination เช่น ที่ความยาวคลื่น 1140 nm เป็นการสั่นสะเทือนแบบ 2×C-H str. + C-H def. (Osborne and Fearn, 1986) ที่ความยาวคลื่น 1500 nm เป็นการสั่นสะเทือนแบบ N-H str. First overtone ของโครงสร้าง NH (Osborne and Fearn, 1986) ที่ความยาวคลื่น 746, 913, 1053, 1215, 1415, 1725 และ 2323 nm มีการสั่นสะเทือนของ CH₂ (Osborne and Fearn, 1986) ที่ความยาวคลื่น 2347 nm เป็นการสั่นสะเทือนแบบ CH₂ sym. str. + =CH₂ def. ของโครงสร้าง HC=CH CH₂ (Osborne and Fearn, 1986) และ 779, 1030, 1060 และ 1530 nm เป็นการสั่นสะเทือนของโครงสร้าง RNH₂ (Osborne and Fearn, 1986)



ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของ ฮิสตีดีนและฮิสตามีน (Food Wiki, 2012)

ดังนั้นการนำเทคโนโลยีเนียร์อินฟราเรด มาใช้วิเคราะห์ฮิสตามีนซึ่งบ่งบอกความสดของปลาจึงมีความเป็นไปได้ อย่างไรก็ตาม การที่จะมองเห็นความเปลี่ยนแปลงในรูปแบบการดูดกลืนแสงโดยตรงนั้นเป็นไปได้ยาก เนื่องจากน้ำซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อปลามีรูปแบบการดูดกลืนแสง (Absorption band) ขนาดใหญ่ครอบคลุมรูปแบบการดูดกลืนแสงของสารเคมีชนิดอื่น ดังนั้นจึงต้องนำการใช้หลักการทาง Chemometric เทคนิคการวิเคราะห์ข้อมูลแบบตัวแปรพหุ (Multivariate analysis) มาช่วยในการขจัดตัวแปรรบกวนออกไปแล้วสร้างแบบจำลองในการทำนาย (Calibration model) ซึ่งเป็นเทคนิคหนึ่งของเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี จากการตรวจสอบเอกสารยังไม่พบการนำเทคนิคนี้มาใช้กับการวิเคราะห์ฮิสตามีน จึงเป็นการท้าทายที่จะได้องค์ความรู้ใหม่จากโครงการวิจัยที่ได้นำเสนอนี้พร้อมกับการสามารถประยุกต์ใช้ได้ในงาน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้แบบจำลองในการวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนเพื่อบ่งบอกความสดของปลาซาร์ดีน โดยตรงด้วยวิธีไม่ทำลายโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี
2. สามารถประยุกต์แบบจำลองที่ได้ใน 1 ใช้จริงในห้องปฏิบัติการแผนกตรวจสอบคุณภาพของโรงงานผลิตปลาซาร์ดีนกระป๋อง หรือหน่วยงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจปริมาณฮิสตามีนของปลาซาร์ดีน เพื่อลดเวลา การใช้สารเคมี และแรงงานในการตรวจสอบซึ่งหมายถึงการลดต้นทุนในการผลิต
3. ได้องค์ความรู้ใหม่ในการประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีเพื่อการตรวจวัดปริมาณฮิสตามีนในเนื้อปลาซาร์ดีนและสามารถใช้เป็นแนวทางในการวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนในปลาชนิดอื่นอีกด้วย
4. สามารถเพิ่มศักยภาพของการปรับปรุงและประกันคุณภาพของการผลิตปลาซาร์ดีนกระป๋องทั้งเพื่อการส่งออกและบริโภคภายในประเทศได้ ทำให้โรงงานสามารถมั่นใจในคุณภาพของผลิตภัณฑ์
5. ผลงานสามารถจดสิทธิบัตร และเผยแพร่ในวารสารระดับชาติและระดับนานาชาติได้
6. นอกจากนี้นักศึกษาที่เข้าร่วม โครงการนี้ระดับปริญญาตรีและโทจะได้รับความรู้และทักษะในการตรวจวัดปริมาณฮิสตามีนในเนื้อปลา และเทคนิคทาง Near Infrared Spectroscopy

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การรับซื้อปลาซาร์ดีนของโรงงานอุตสาหกรรมปลากระป๋องต้องมีการตรวจสอบปริมาณฮิสตามีนก่อนนำเข้าสู่กระบวนการหรือการเก็บรักษา หากมีการเก็บรักษาก่อนนำมาขายให้โรงงานไม่ถูกต้องจะมีปริมาณฮิสตามีนเกินกำหนด ดังการศึกษาของ Guizani et al. (2005) ซึ่งศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิการเก็บรักษาปลานำต่ออายุการเก็บรักษาและความปลอดภัยของปลานำพบว่า ปลานำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8-20 องศาเซลเซียสไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภคของมนุษย์ โดยมีค่าฮิสตามีนที่ยอมรับไม่ได้หลังจากการเก็บ 4 และ 1 วันตามลำดับ การศึกษาของ Bøknæs et al. (2002) ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในการประเมินความสดของเนื้อปลา cod แช่เย็นและที่ถูกละลาย โดยพิจารณาตามอุณหภูมิในการแช่เยือกแข็ง ระยะเวลาในการแช่เยือกแข็ง และระยะเวลาในการแช่เย็นในบรรจุภัณฑ์แบบ Modified atmosphere (ไม่ได้พิจารณาตามค่าฮิสตามีน) โดยสแกนเนื้อปลาสด ทั้งนี้โดยใช้วิธีการสร้างแบบจำลองแบบ partial least-squares regression (PLSR) และวิธี discriminant partial least-squares regression (DPLSR) ผลของการทำนายจำนวนวันในการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ได้ค่า correlation coefficient เท่ากับ 0.90 root-mean-square error of cross-validation (RMSECV) เท่ากับ 3.4 วัน ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส มีการศึกษาของ El Barbri et al. (2007) ใช้ electronic nose ในการประเมินความสดของปลาซาร์ดีนที่เก็บในห้องเย็น พบว่าเทคนิคที่ใช้สามารถจำแนกความสดของปลาเป็น 3 ระดับ คือ สด ปานกลาง และเก่า โดยจำแนกได้ถูกต้องเท่ากับ 96.88 % โดยใช้วิธีโครงข่ายประสาทเทียม แต่วิธีนี้ไม่ใช่วิธีที่ยอมรับในการซื้อขายและการส่งออกในอุตสาหกรรม (อุตสาหกรรมการส่งออกผลิตภัณฑ์ปลายอมรับวิธีการตรวจสอบฮิสตามีน) Xiccato et al. (2004) ได้ทำการศึกษาเรื่องการทำนายองค์ประกอบทางเคมีและแหล่งกำเนิดของปลา Sea bass (*Dicentrarchus labrax*L.) ในยุโรปโดยใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี มีการเตรียมตัวอย่าง 3 ชนิด (ชิ้นเนื้อปลา, เนื้อปลาสดบด, เนื้อปลาสดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง) การทำนายด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีขององค์ประกอบทางเคมีพิสูจน์ว่าจะแม่นยำขึ้นเมื่อใช้เนื้อปลาสดมากกว่าเนื้อปลาสดที่ไม่บด ความแม่นยำของเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ได้ถูกปรับปรุงขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อใช้เนื้อปลาแช่แข็งซึ่งไม่ควรทำเพราะต้องเตรียมตัวอย่างและเวลามากในการเตรียม

2.2 การตรวจสอบปริมาณฮิสตามีน

การตรวจสอบปริมาณฮิสตามีนใช้วิธี *AOAC Official Method 977.13* และ *AOAC Official Method 957.07 Histamine in Seafood* (AOAC, 2005) ซึ่งตัวอย่างถูกสกัดโดยใช้ 75%(v/v) Methanol นำสารละลายที่สกัดได้ไปผ่าน anion exchange resin column หลังจากนั้นจึงนำไปสร้างอนุพันธ์ฮิสตามีนกับสาร o-Phthalaldehyde (OPT)แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณของอนุพันธ์ Histamine ด้วยเครื่อง Fluorometer ที่ Excitation wavelength 360 และ Emission wavelength 450 นาโนเมตร และคำนวณกลับไปเป็นปริมาณ Histamine โดยวิธี External calibration curve

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 การเตรียมตัวอย่างปลา

ปลาที่ใช้ในโครงการวิจัยคือซาร์ดีนสด *sardinella longiceps* จากประเทศจีนซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างปลาจาก บริษัท ไทยยูเนี่ยนฟิรเช่น โปรดักส์ จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร จำนวน 200 ตัวโดยแบ่งออกเป็นสองชุด คือชุดแรก 150 ตัวจะถูกสุ่มมาจากบล็อกที่แช่เยือกแข็งไว้ในห้องเย็นของโรงงานปลาที่ถูกแช่เยือกแข็งจะถูกนำมาละลายด้วยกรรมวิธีของโรงงาน การสุ่มจะสุ่มมาจากบล็อกๆละ 25 ตัวจำนวน 6 บล็อกและชุดที่สองอีก 50 ตัว จะสุ่มจากปลาซาร์ดีนสดที่เข้าสู่โรงงาน ในชุดที่สองจะเป็นการปรับระดับฮิสตามีน โดยจะเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง ที่เวลาที่แตกต่างกัน 5 ช่วงเวลา คือ 4, 10, 15, 20 และ 24 ชั่วโมงช่วงเวลาระยะ 10 ตัวปลาที่ละลายแล้วจะแช่น้ำแข็งไว้ รักษาอุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียสก่อนนำออกมาทดลองในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 22-25 องศาเซลเซียส ลักษณะปลาที่ใช้ในการสแกนมีดังต่อไปนี้ ปลาเต็มตัว (Intact fish) ปลาผ่าครึ่งเอาก้างออก (Fillet) และเนื้อปลาสับละเอียด (Minced meat)



ภาพที่ 3.1 Intact fish



ภาพที่ 3.2 Fillet

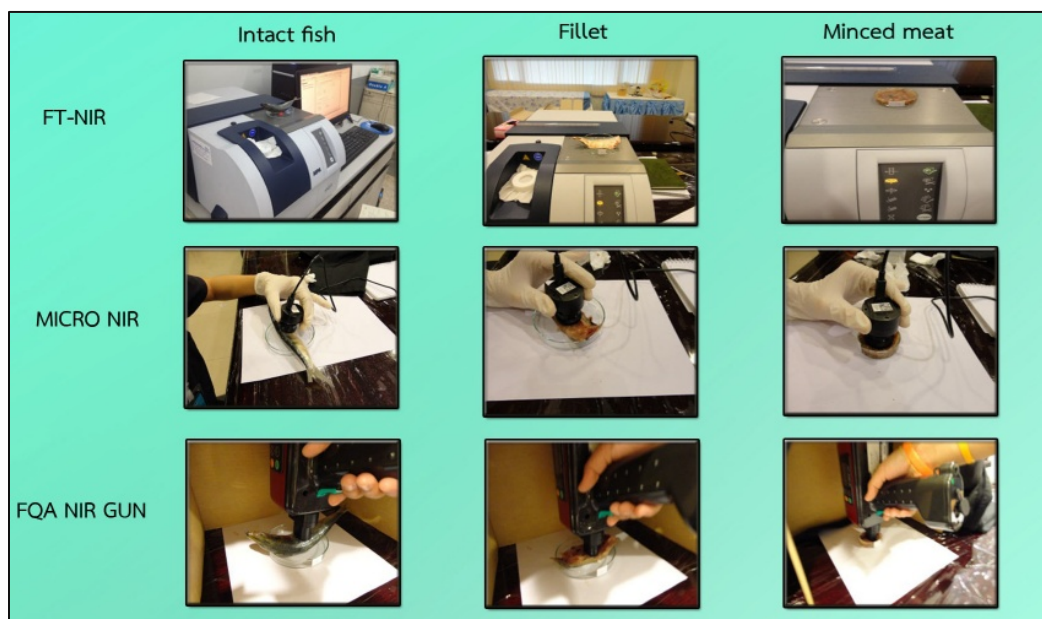


ภาพที่ 3.3 Minced meat

3.1.2 การสแกนคลื่นแสงที่มองเห็นได้และหรือคลื่นเนียร์อินฟราเรด

ปลาที่นำออกมาใช้ผ้าซับน้ำออก แล้ววางลงบนจานแก้วกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตรสูง 20 มิลลิเมตรแล้วสแกนบริเวณกลางลำตัวปลา ด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany) ช่วงคลื่น 12,500-3,600 ซม.⁻¹ (ความยาวคลื่น 700-2500 นาโนเมตร) ตามด้วยเครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) ช่วงความยาวคลื่น 1150-2150 นาโนเมตร และเครื่อง FQA NIR GUN (Fantec, Japan) ความยาวคลื่น 600-1100 นาโนเมตร จากนั้นนำปลามาผ่าครึ่ง นำด้านที่ไม่มีก้างมาสแกนเนื้อปลาด้านในโดยวางบนจานแก้วกลมขนาดเดิมด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ชุดเดิมตามลำดับ จากนั้นนำชิ้นเนื้อปลามาตัดเฉพาะส่วนที่ผ่านการสแกนมาสับด้วยมีดให้ละเอียดแล้วนำเนื้อปลาสับไปใส่ในจานแก้วกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร สูง 15 มิลลิเมตรด้วยเครื่องสเปกโตร

มีเตอร์ชุดเดิมตามลำดับซึ่งการสแกนด้วยเครื่อง FQA NIR GUN จะคลุมเครื่องด้วยกล่องและผ้าสีดำเพื่อป้องกันแสงจากภายนอกบริเวณ และการสแกนด้วยเครื่อง MICRO NIR มีการสแกนเนื้อปลาผ่านกันงานแก้วด้วย



ภาพที่ 3.4 การสแกนด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบต่างๆ

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

1. เครื่อง FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany)

ช่วงจำนวนคลื่น 12,500-3,600 cm^{-1} (ความยาวคลื่น 700-2500 นาโนเมตร)



ภาพที่ 3.5 เครื่อง FT-NIR spectrometer

การตั้งค่าเครื่อง FT-NIR spectrometer Resolution 16 cm^{-1} , Sample scan time 64 scans, Background scan time 64 scans, Save data from 12500-3600 cm^{-1}

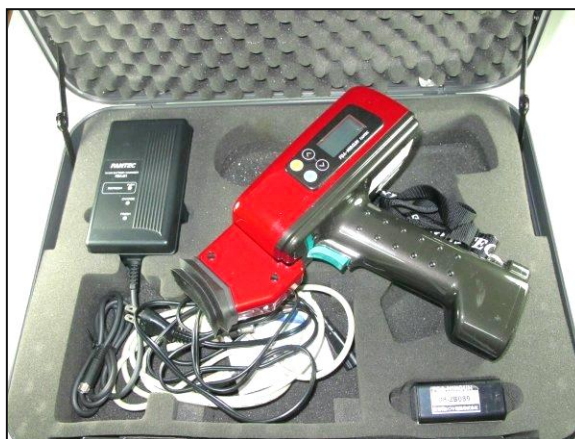
2. เครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) ช่วงความยาวคลื่น 1150-2150 นาโนเมตร



ภาพที่ 3.6 เครื่อง MICRO NIR

การตั้งค่าเครื่อง MICRO NIR Int. time (μ s) 100 μ s, No. Sample 5000 s

3. เครื่อง FQA NIR GUN (Fantec, Japan) ช่วงความยาวคลื่น 600-1100 นาโนเมตร



ภาพที่ 3.7 เครื่อง FQA NIR GUN

การตั้งค่าเครื่อง FQA NIR GUN Custum (Max.) 1000 ms เลือก 15 ms

3.2.2 อุปกรณ์อื่นๆ

1. งานแก้วกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตรสูง 20 มิลลิเมตร

2. งานแก้วกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตรสูง 15 มิลลิเมตร
3. มีด, เขียง
4. ผ้าขนหนู
5. กะละมัง
6. ถุงพลาสติกใส
7. ทิชชู
8. น้ำกลั่น
9. ขวดบีบน้ำกลั่น

3.3 การวัดปริมาณฮิสตามีนด้วยวิธี Fluorometric Method ด้วยเครื่อง Fluorometer

นำเนื้อปลาสดละเอียดที่ผ่านการสแกนไปวิเคราะห์หาปริมาณฮิสตามีนด้วยวิธีทางเคมีดั้งเดิมตามมาตรฐานของโรงงานซึ่งประยุกต์มาจากมาตรฐานสากล AOAC Official Method 977.13 และ AOAC Official Method 957.07 Histamine in Seafood (AOAC, 2005) ด้วยเครื่อง Fluoromete (Quantech, USA)

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลและสร้างแบบจำลองในการทำนายค่า

ก่อนทำการวิเคราะห์ต้องทำการตรวจสอบค่าออกกกลุ่ม (Outlier) ของข้อมูลฮิสตามีนโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\frac{X - \bar{X}}{SD} > 3$$

โดยที่ X คือ ค่าฮิสตามีนที่วัดจากวิธีทางเคมี \bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของฮิสตามีน และ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำข้อมูลของสเปกตรัมที่ได้มาตรวจสอบค่าออกกกลุ่มด้วยวิธี Principle Component Analysis (PCA) จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาสร้างแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮิสตามีนของปลาซาร์ดีนกับ Optical data โดยวิธีทาง Chemometric แบบ Partial least square regression โดยแบ่งข้อมูลเป็นสองชุดคือ ชุดสร้างแบบจำลองและชุดพิสูจน์แบบจำลองโดยมีอัตราส่วนข้อมูล 8:2 ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากเครื่อง FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany) วิเคราะห์โดยโปรแกรม OPUS 7.0 (Bruker, Germany) โดยมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นโดยวิธี constant offset elimination, straight line subtraction, vector normalization (SNV), min-max normalization, multiplicative scattering correction (MSC), first derivative, second derivative, first derivative+straight line subtraction, first derivative+ SNV และ first derivative+MSC หรือใช้สเปกตรัมดั้งเดิม ส่วนข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากเครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) และเครื่อง FQA NIR GUN (Fantec, Japan) วิเคราะห์โดยโปรแกรม Unscrambler 9.8 (Camo,

Norway) โดยมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นโดยวิธี Smoothing S. Golay, Normalization (Mean, Maximum, Range), multiplicative scattering correction (MSC), first derivative (5 and 11 points), second derivative (5 and 11 points), baseline offset, de-trending และ standard normal variate+de-trending การคัดเลือกแบบจำลองที่ดีที่สุดจะพิจารณาจากค่า Coefficient of determination (R^2) ที่สูงที่สุด Standard error of prediction (SEP) หรือ Root mean square error of prediction (RMSEP) และ Bias ต่ำที่สุด

3.5 การปรับปรุงวิธีการ

3.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลาแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลาซาร์ดีนสด

กลุ่มตัวอย่างปลา	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
กลุ่มที่รักษาอุณหภูมิที่ 0 °C	150	2.9841	1.69434	.12	8.02
กลุ่มที่วางไว้ในอุณหภูมิห้อง (22-25 °C)					
4 hr	10	.8950	.20813	.54	1.20
10 hr	10	.4700	.40931	.27	1.59
15 hr	10	2.2520	.92388	1.07	3.70
20 hr	10	2.6080	1.61619	.67	5.95
24 hr	10	4.6770	.76674	3.44	5.68
Total	200	2.7832	1.73688	.12	8.02

จะเห็นได้ว่ากลุ่มปลาซาร์ดีนสดที่รักษาอุณหภูมิที่ 0 °C มีปริมาณฮิสตามีนสูงสุดและต่ำสุด คือ 0.12 ppm และ 8.02 ppm ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่วางไว้ในอุณหภูมิห้อง (22-25 °C) 24 hr มีปริมาณฮิสตามีนสูงสุดเพียง 5.68 ppm จากระดับการควบคุมปริมาณฮิสตามีนในปลาตระกูล scombrototoxic มีค่าประมาณ 10-200 ppm ระดับที่ผิดปกติของฮิสตามีน คือ สูงกว่า 50 ppm ซึ่งกำหนดในสหรัฐอเมริกา (Federal Register, 1995 อ้างโดย Köse et al. (2011)) ซึ่งค่าที่ได้ในการทดลองน้อยกว่ามาก ทำให้ไม่สามารถสร้างแบบจำลองที่ครอบคลุมตัวอย่างที่มีค่าฮิสตามีนที่ผิดปกติได้ เพราะฉะนั้นแบบจำลองที่ได้จึงใช้ไม่ได้ในความเป็นจริงจำเป็นต้องเพิ่มช่วงตัวอย่างปลาที่มีปริมาณฮิสตามีนที่กว้างขึ้น เป็น 0-200 ppm

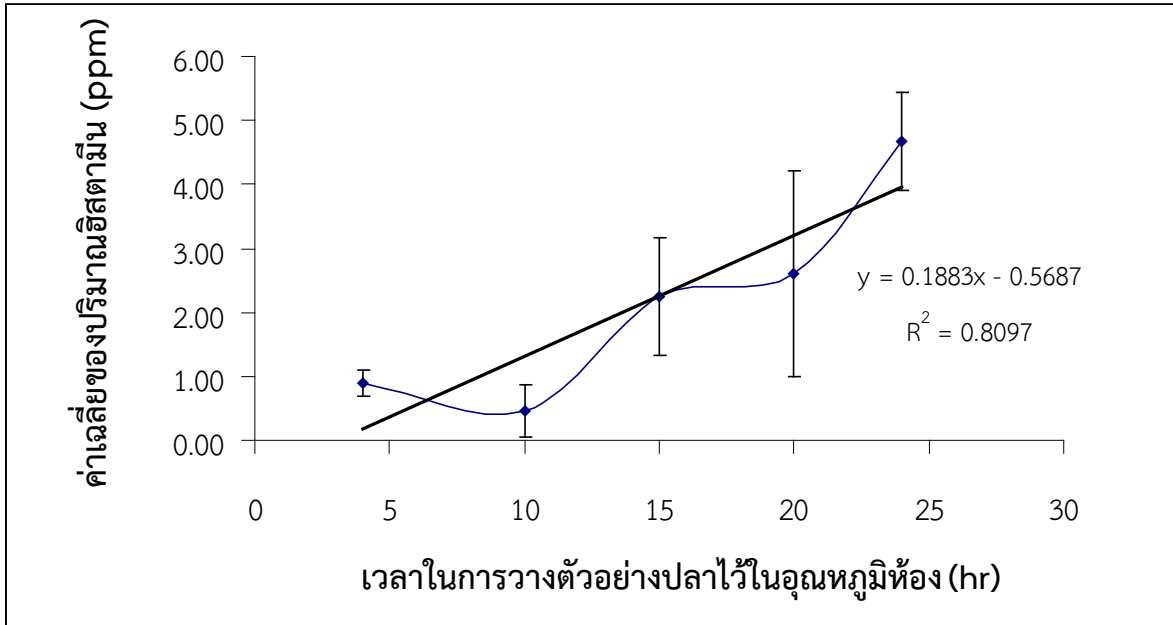
3.5.2 การปรับระดับปริมาณฮิสตามีน

ตารางที่ 3.2 แสดงผลของระยะเวลาที่วางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมิห้องต่อการแบ่งกลุ่มของปริมาณฮิสตามีน

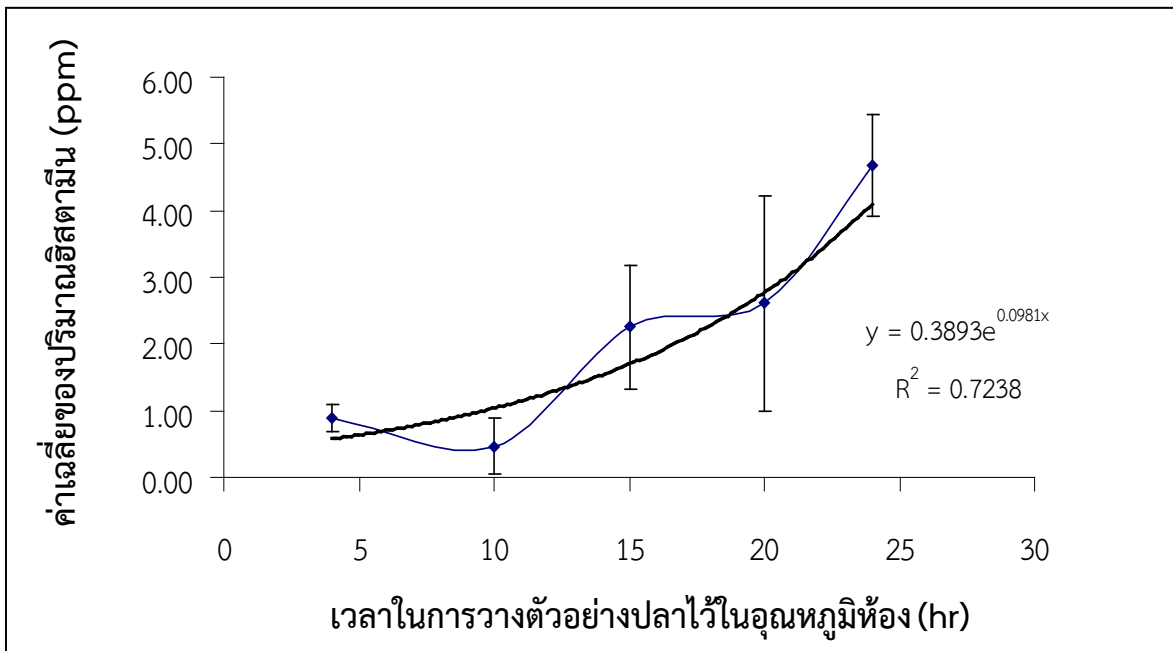
ตารางที่ 3.2 ผลของระยะเวลาที่วางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมihห้อง
ต่อการแบ่งกลุ่มของปริมาณฮิสตามีน

Histamine				
Duncan ^a				
Time	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
10	10	.4700		
4	10	.8950		
15	10		2.2520	
20	10		2.6080	
24	10			4.6770
Sig.		.309	.393	1.000

จากตารางที่ 3.2 จะเห็นได้ว่าที่เวลา 4 hr และ 10 hr อยู่ในกลุ่มเดียวกัน 15 hr และ 20 hr อยู่ในกลุ่มเดียวกัน และ 24 hr อยู่อีกกลุ่มหนึ่ง ดังนั้นในการวางแผนการทดลองต่อไปจึงควรจะวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมihห้องที่มากกว่า 10 ชั่วโมงขึ้นไป จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ภาพที่ 3.8 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณฮิสตามีนตามเวลาในการวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมihห้องที่แสดงเป็นสมการเส้นตรง แนวโน้มที่จะวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมihห้องเพื่อให้ได้ปริมาณฮิสตามีน 200 ppm จะต้องใช้เวลา 1065 ชั่วโมงหรือ 45 วัน และภาพที่ 3.9 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณฮิสตามีนตามเวลาในการวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมihห้องที่แสดงเป็นสมการเอ็กซ์โพเนนเชียล จะต้องใช้เวลา 64 ชั่วโมงหรือ 3 วัน เมื่อเปรียบเทียบกันพบว่า เวลาในการวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมihห้องเป็นเวลา 45 วัน ไม่มีความเป็นไปได้ จึงจะวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมihห้อง เป็นเวลา 3 วัน โดยแบ่งเป็น เช่น 10 20 30 40 50 60 และ 70 ชั่วโมง ใช้ตัวอย่างปลาชุดละ 5 ตัว รวม 35 ตัว



ภาพที่ 3.8 ค่าเฉลี่ยของปริมาณฮิสตามีนตามเวลาในการวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมิห้อง (สมการเส้นตรง)



ภาพที่ 3.9 ค่าเฉลี่ยของปริมาณฮิสตามีนตามเวลาในการวางตัวอย่างปลาไว้ในอุณหภูมิห้อง (สมการเอ็กซ์โพเนนเชียล)

3.5.3 การตั้งค่าเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ จากรูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลาและเนื้อปลาสับ ที่ สแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany) ซึ่งแกน x คือค่า wavenumber หรือช่วงจำนวน คลื่น ตั้งแต่ $12500-5000 \text{ cm}^{-1}$ และแกน y คือค่า Absorbance ในกรณีของ Fillet และ Chopped meat จะเกิด over

absorption ของคลื่นที่จำนวนคลื่น $8000-3600\text{ cm}^{-1}$ จึงต้องมีการแก้ไข เพื่อไม่ให้เกิด over absorption ที่ช่วงคลื่นนี้ จากรูปที่ 4.3 แสดงสเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลา เนื้อปลาสับและเนื้อปลาสับผ่านแก้วที่สแกนด้วยเครื่อง MICRO NIR ซึ่งแกน x คือค่า wavelength หรือช่วงความยาวคลื่น ตั้งแต่ $1150-2150\text{ nm}$ และแกน y คือค่า Reflectance พบว่า การสแกนสามารถสแกนได้ตลอดช่วงความยาวคลื่น แต่ค่า Absorbance มีค่าน้อย จึงต้องมีการปรับการตั้งค่าเครื่องใหม่ โดยการตั้งค่า Integrating time (μs) $100\ \mu\text{s}$ อาจจะต้องมากกว่านี้ เช่น $1000\ \mu\text{s}$ และ ใช้ No. Sample 5000 sample เท่าเดิม และจากรูปที่ 6 แสดงสเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลาและเนื้อปลาสับที่สแกนด้วยเครื่อง FQA NIR GUN ซึ่งแกน x คือค่า wavelength หรือช่วงความยาวคลื่น ตั้งแต่ $600-1100\text{ nm}$ และแกน y คือค่า Absorbance พบว่าเป็นเช่นเดียวกับการสแกนด้วยเครื่อง MICRO NIR จึงต้องมีการปรับค่า Integrating time ใหม่จากเดิม 15 ms เช่นกัน

3.5.4 การปรับปรุงระบบ

ทดลองสแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Metrix, Bruker, Germany) ช่วงจำนวนคลื่น $12500-3600\text{ cm}^{-1}$ (ความยาวคลื่น $700-2500\text{ nm}$) เครื่อง MICRO NIR ช่วงความยาวคลื่น $1150-2150\text{ nm}$ และเครื่อง FQA NIR GUN ความยาวคลื่น $600-1100\text{ nm}$ จำนวน 2 ตัวอย่าง เพื่อการปรับตั้งค่าเครื่องที่เหมาะสม ซึ่งผลการปรับตั้งสเปกโตรมิเตอร์ทั้งสามแสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 การปรับตั้งปรับตั้งสเปกโตรมิเตอร์เมื่อปรับปรุงระบบ

Spectrometers	Wavenumber or Wavelength	Remark	Samples	Adjustment
1. FT-NIR spectrometer (Metrix, Bruker, Germany)	12500-3600 cm ⁻¹ 700-2500 nm	มีการปรับ gain (Gain adjustment) เพื่อปรับแสงที่เข้าสู่ Detector ให้เหมาะสม ค่า Ref หมายถึง ไม่มีการปรับแต่งสเปกตรัมใดๆ ส่วน A B และ C เป็น preamp gain หมายถึง การขยายสัญญาณ (amplify) โดยการ x3, x30 และ x300 ตามลำดับ	intact	preamp gain ของตัวอย่างเป็น A และ preamp gain ของ background เป็น A
			fillet	preamp gain ของ
			minced meat	ตัวอย่างเป็น C และ preamp gain ของ background เป็น A
2. MICRO NIR (JDSU, USA)	1150-2150 nm		intact	Integrating time 1000 μs
			fillet	No. Sample 5000 samples
			minced meat	
3. FQA NIR GUN (Fantec, Japan)	600-1100 nm		intact	Integrating time 150 μs
			fillet	Integrating time 25 μs
			minced meat	Integrating time 150 μs

3.5.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน (ดูตารางที่ 3.4 ประกอบ)

1. ตัวอย่างปลาจะถูกสแกนด้วยด้วยเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ทั้งสาม โดยใช้ตัวอย่างปลาจำนวน 149 ตัวจะแบ่งออกเป็นสองชุด คือชุดแรก 49 ตัว จะสุ่มจากปลาซาร์ดีนสดที่เข้าสู่โรงงาน ในชุดแรกจะเป็นการปรับระดับฮิสตามีน โดยจะเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง ที่เวลาที่แตกต่างกัน 7 ช่วงเวลา คือ 10, 20, 30, 40, 50 60 และ 70 hr ช่วงเวลาละ 7 ตัว และชุดที่สอง 100 ตัวจะถูกสุ่มมาจากบล็อกที่แช่เยือกแข็งไว้ในห้องเย็นของโรงงานปลาที่ถูกแช่เยือกแข็งจะถูกนำมาละลายด้วยกรรมวิธีของโรงงาน การสุ่มจะสุ่มมาจากบล็อกๆละ 25 ตัวจำนวน 4 บล็อก ปลาที่ละลายแล้วจะแช่น้ำแข็งไว้รักษาอุณหภูมิประมาณ 0 °C และวัดปริมาณฮิสตามีนด้วยวิธีดั้งเดิม

2. แล้วนำข้อมูลทั้งหมดมาสร้างแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮิสตามีนของปลาซาร์ดีนกับ Optical data โดยวิธีทาง Partial least square regression

3. ทดสอบแบบจำลองเพื่อใช้ทำนายสารฮิสตามีนในเนื้อปลาของตัวอย่างที่เป็น Unknown

ตารางที่ 3.4 การปฏิบัติงานเมื่อปรับปรุงระบบแล้ว

สถานี	หน้าที่	ผู้รับผิดชอบ
1. การเตรียมตัวอย่างปลา (มีการปรับระดับฮิสตามีน)	สุ่มตัวอย่างปลามา 49 ตัว ละลายน้ำแข็ง (ตามกรรมวิธีของโรงงาน) วางไว้ในห้องทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 22-25 C° ที่ช่วงเวลาที่แตกต่างกัน 7 ช่วงเวลา คือ 10, 20, 30, 40, 50 60 และ 70 hr ช่วงเวลาละ 7 ตัว ปลาที่ละลายแล้วจะแช่น้ำแข็งไว้รักษาอุณหภูมิประมาณ 0 °C และทำข้อ 3-9 ตามลำดับ	
2.การเตรียมตัวอย่างปลา (ไม่มีการปรับระดับฮิสตามีน)	1. สุ่มตัวอย่างปลามา 25 ตัวจาก 1 บล็อก ทั้งหมด 100 ตัวอย่าง ละลายน้ำแข็ง (ตามกรรมวิธีของโรงงาน) ใส่ไว้ในกล่องที่บรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาอุณหภูมิของตัวปลาไม่ให้เกิน 0 C° ในห้องทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 22-25 C° และทำข้อ 3-9 ตามลำดับ	
3.การสแกนตัวอย่างปลาด้วยเครื่อง NIR Spectrometer ต่างๆ	1.FT NIR : สแกนปลาตัวที่สุ่มมาสแกนบริเวณตั้งแต่ครีบท้องเป็นต้นไป	
	2.MICRO NIR : สแกนปลาตัวที่สุ่มมาสแกนบริเวณตั้งแต่ครีบท้องเป็นต้นไป	

สถานี	หน้าที่	ผู้รับผิดชอบ
	3.NIR GUN : สแกนปลาตัวที่สุ่มมาสแกนบริเวณตั้งแต่ครีบต้องเป็นต้นไป	
4.เตรียมตัวอย่างปลาผ่าครึ่ง	ตัดหัว ตัดหาง และเอาไส้ออกให้หมดจากนั้นก็ผ่าครึ่ง	
5.การสแกนตัวอย่างปลาผ่าครึ่ง	1.FT NIR : สแกนบริเวณเนื้อปลา	
	2.MICRO NIR : สแกนบริเวณเนื้อปลา	
	3.NIR GUN : สแกนบริเวณเนื้อปลา	
6.การเตรียมตัวอย่างปลาบด	1.ตัดเนื้อปลาตรงตำแหน่งที่สแกน 2.ปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่อง homogenizer	
7.เตรียมตัวอย่างสำหรับสแกนปลาบด	นำตัวอย่างที่ได้ใส่ petri dish พร้อมใส่ชื่อตัวอย่าง	
8.การสแกนตัวอย่างปลาบด	1.สแกนตัวอย่างด้วยเครื่อง FT NIR	
	2.สแกนตัวอย่างด้วยเครื่อง MICRO NIR	
	3.สแกนตัวอย่างด้วยเครื่อง NIR GUN	
9.วิเคราะห์หาปริมาณฮิสตามีนด้วยเครื่อง Fluorometer	ตัวอย่างจะถูกเก็บไว้ในถังโฟมบรรจุน้ำแข็งแล้วส่งตัวอย่างให้ห้องปฏิบัติการที่ละ 10 ตัวอย่าง	

3.5.6 การวิเคราะห์ข้อมูลและสร้างแบบจำลองในการทำนายค่า

ก่อนทำการวิเคราะห์ต้องทำการตรวจสอบค่านอกกลุ่ม (Outlier) ของข้อมูลฮิสตามีนโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\frac{X - \bar{X}}{SD} > 3$$

โดยที่ X คือ ค่าฮิสตามีนที่วัดจากวิธีทางเคมี \bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของฮิสตามีน และ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและนำข้อมูลของสเปกตรัมที่ได้มาตรวจสอบค่านอกกลุ่มด้วยวิธี Principle Component Analysis (PCA) จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาสร้างแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮิสตามีนของปลาซาร์ดีนกับ Optical data โดยวิธีทาง Chemometric แบบ Partial least square regression โดยแบ่งข้อมูลเป็นสองชุดคือ ชุดสร้างแบบจำลองและชุดพิสูจน์แบบจำลอง โดยมีอัตราส่วนข้อมูล 8:2 ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany) วิเคราะห์โดยโปรแกรม OPUS 7.0 (Bruker, Germany) โดยมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นโดยวิธี constant offset elimination, straight line subtraction, standard vector normalization (SNV), min-max normalization, multiplicative scattering correction (MSC), first derivative, second derivative, first derivative+straight line

subtraction, first derivative+ SNV และ first derivative+MSC หรือใช้สเปกตรัมดั้งเดิม ส่วนข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากเครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) และเครื่อง FQA NIR GUN (Fantec, Japan) วิเคราะห์โดยโปรแกรม Unscrambler 9.8 (Camo, Norway) โดยมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นโดยวิธี Smoothing S. Golay, Normalization (Mean, Maximum, Range), multiplicative scattering correction (MSC), first derivative (5 and 11 points), second derivative (5 and 11 points), baseline offset, de-trending และ standard normal variate+de-trending การคัดเลือกแบบจำลองที่ดีที่สุดจะพิจารณาจากค่า Coefficient of determination (R^2) ที่สูงที่สุด Root mean squares error of prediction (RMSEP) หรือ Root mean square error of prediction (RMSEP) และ Bias ต่ำที่สุด

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการทดลองก่อนการปรับปรุงวิธีการ

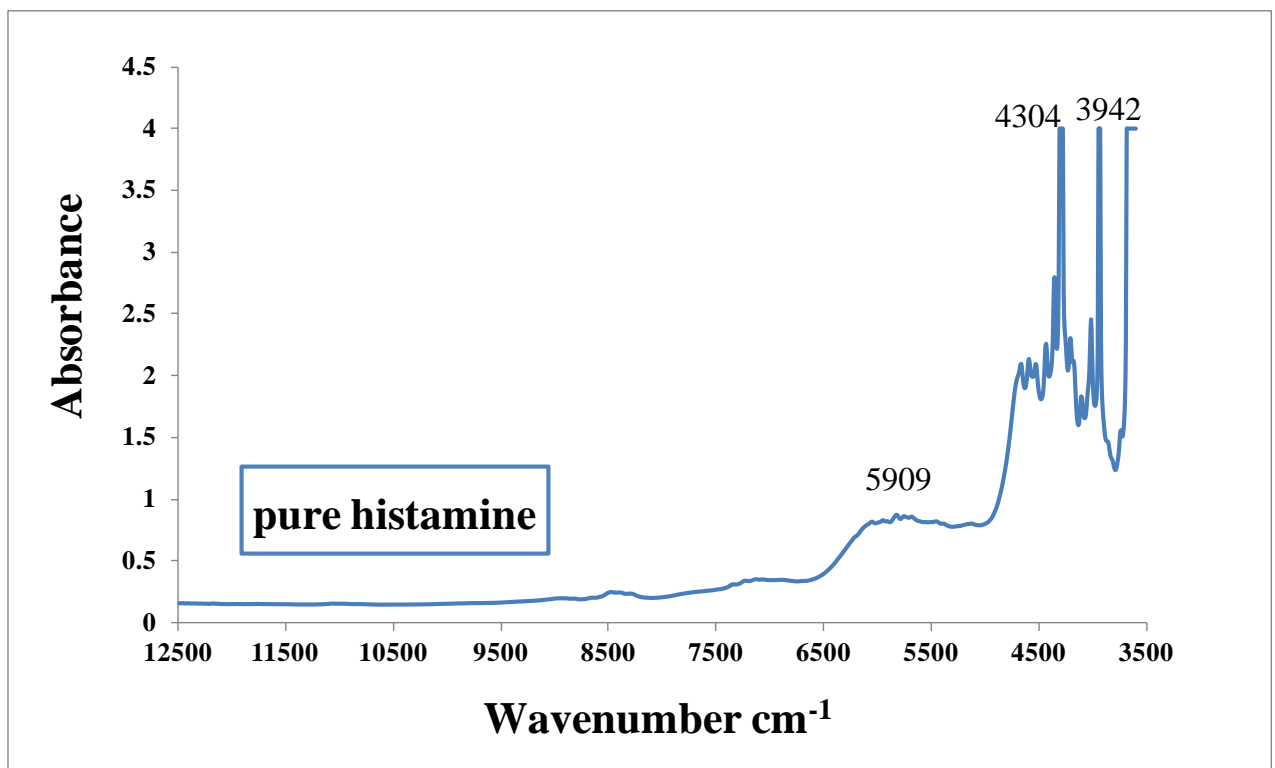
จากการตรวจวัดสเปกตรัมของอิสตามีนบริสุทธิ์ พบว่ามี peak เกิดขึ้นที่เลขคลื่น 3942, 4304 และ 5909 cm^{-1} (2537, 2323 และ 1692 นาโนเมตร) (ภาพที่ 4.1) จากการตรวจวัดสเปกตรัมด้วย

สเปกโตรมิเตอร์ทั้งสามเครื่องคือ FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany) ของปลาเต็มตัว (Intact fish) ปลาผ่าครึ่งเอาก้างออก (fillet) และเนื้อปลาสับละเอียด (Chopped meat) พบว่า peak เด่นชัดเกิดที่เลขคลื่น 10191 และ 8347; 8447 และ 8216 และ 6927 cm^{-1} (981, 1198, 1184, 1217, 1444 นาโนเมตร) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2)

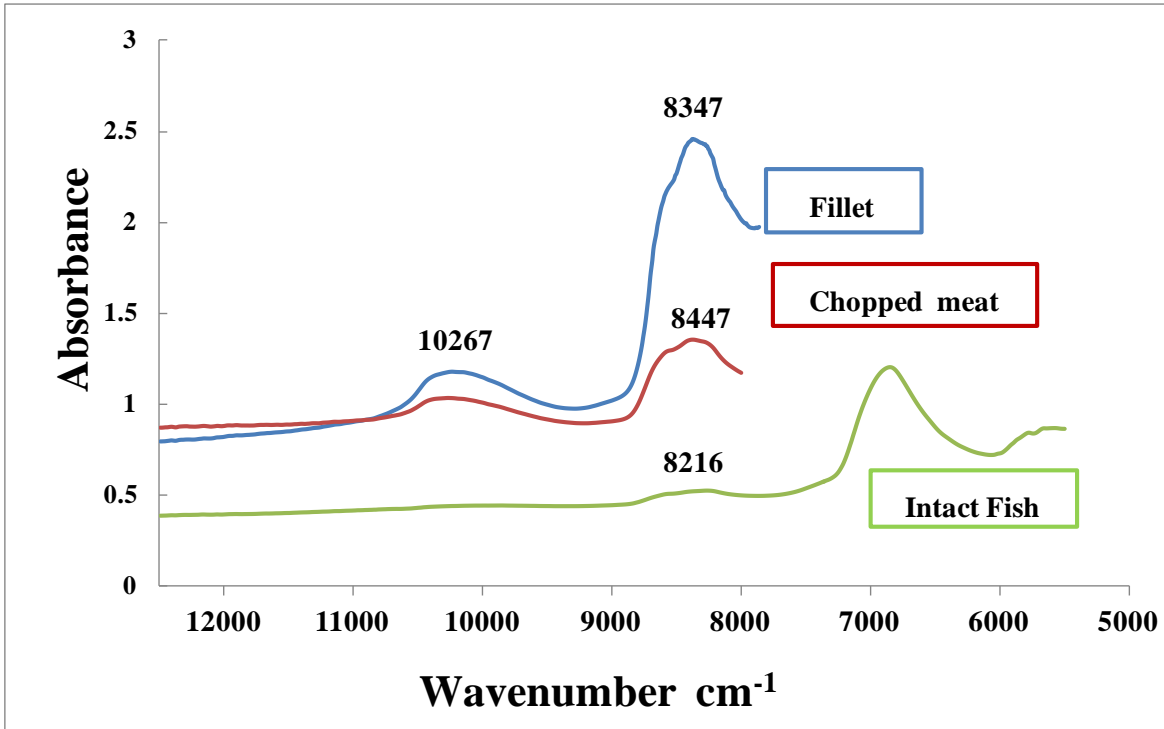
จากการตรวจวัดสเปกตรัมของเครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) ของปลาชนิดต่างๆดังกล่าว พบว่า peak เด่นชัดเกิดความยาวคลื่น 1284 และ 1595; ไม่พบ peak; 1292 และ 1646; และ 1578 นาโนเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.3) และจากการตรวจวัดสเปกตรัมของเครื่อง FQA NIR GUN (Fantec, Japan) ของปลาชนิดต่างๆดังกล่าว พบว่า peak เด่นชัดเกิดความยาวคลื่น 991; 969; และ 993 นาโนเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4) เนื่องจากปลาปริมาณน้ำมากจึงปรากฏ peak ของน้ำที่ 969, 981, 991, 993 และ 1444 นาโนเมตร โดยเป็น peak ที่ขยับจาก 970 และ 1450 นาโนเมตรซึ่งเป็นการดูดซับของ O-H str. Second overtone และ O-H str. First overtone (Osborne et al., 1993) peak ที่ขยับจาก 1160 นาโนเมตร (8621 cm^{-1}) เป็นการดูดซับของ C=O stretch 4th overtone Amino acid (เป็นส่วนหนึ่งของโปรตีน) และ peak ที่ขยับจาก 1170 นาโนเมตร (8547 cm^{-1}) เป็นการดูดซับของ HC=CH (รูปที่ 4.2) (Shenk et al., 1986)

จากตารางที่ 1 ข้อมูลทางสถิติของค่าอิสตามีนของปลาซาร์ดีน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ Calibration set และ Prediction set ซึ่งอยู่ในช่วง 0.120-8.020 ppm ตารางที่ 2 แบบจำลอง PLS ที่ดีที่สุดสำหรับการวัดอิสตามีนของปลาซาร์ดีนด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบต่างๆพบว่าแบบจำลองในการทำนายปริมาณอิสตามีนที่ดีที่สุดได้จากเครื่อง MICRO NIR ในปลาเต็มตัว (Intact fish) ได้มาจากการพัฒนาสเปกตรัมด้วยวิธี Smoothing (19 points) + 2nd derivative (11 point) โดยมีค่า Coefficient of determination (R^2), Standard error of prediction (SEP) และ Bias คือ 0.364, 1.247 และ -0.290 ตามลำดับ โดยมี PLS factor เท่ากับ 16 ปลาผ่าครึ่งเอาก้างออก (fillet) ได้มาจากการพัฒนาสเปกตรัมด้วยวิธี Smoothing (19 points) + Baseline offset โดยมีค่า R^2 , SEP และ Bias คือ 0.601, 0.990 และ -0.008 ตามลำดับ โดยมี PLS factor เท่ากับ 14 ในเนื้อปลาสับละเอียด (Chopped meat) ได้มาจากการพัฒนาสเปกตรัมด้วยวิธี Smoothing (19 points) + Baseline offset โดยมีค่า R^2 , SEP และ Bias คือ 0.481, 1.245 และ -0.042 ตามลำดับ โดยมี PLS factor เท่ากับ 17 และในเนื้อปลาสับผ่านแก้ว (Chopped

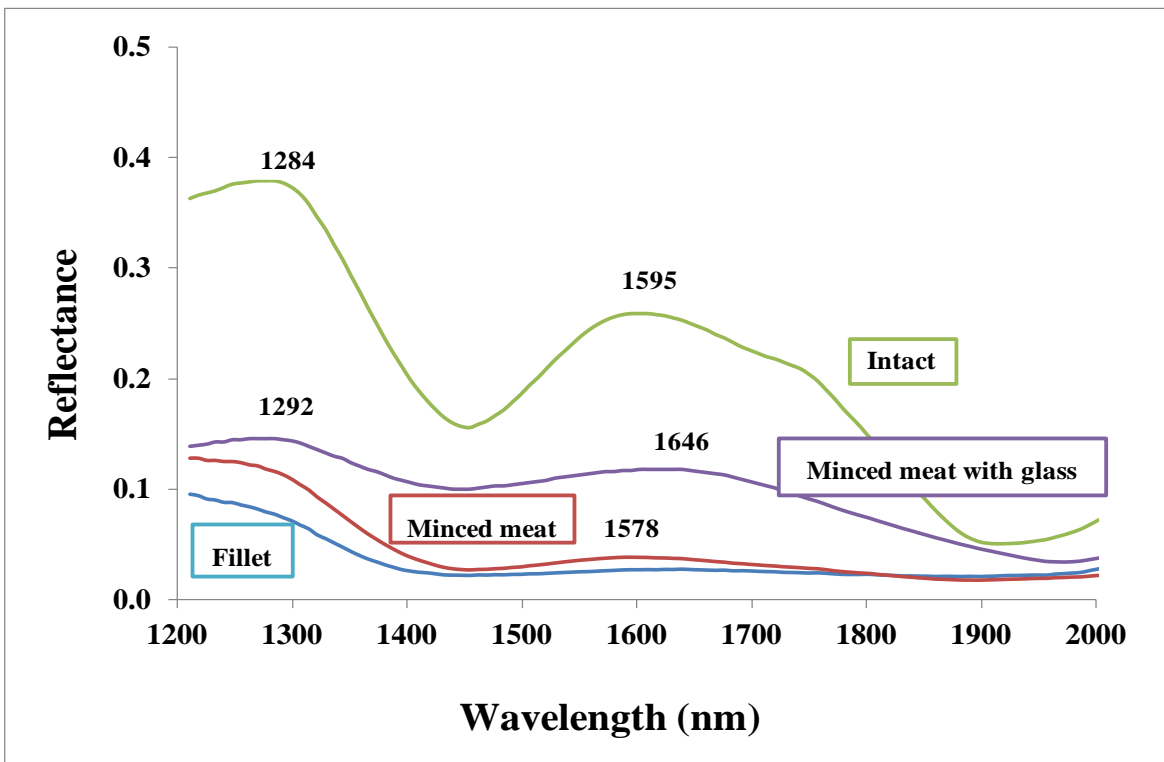
meat with glass) ได้มาจากการพัฒนาสเปกตรัมด้วยวิธี Smoothing (19 points) + Multiplicative Scatter Correction โดยมีค่า R^2 , SEP และ Bias คือ 0.459, 1.158 และ 0.140 ตามลำดับ โดยมี PLS factor เท่ากับ 12 ซึ่งจะเห็นว่า การสแกนเนื้อปลาผ่าครึ่งเอาข้างออกได้ผลดีที่สุด แต่แบบจำลองที่ได้ใช้ PLS factor ที่ค่อนข้างสูง และ Williams (2010) ระบุว่าค่า R^2 ระหว่าง 0.50-0.64 นั้นสามารถนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดไปใช้สำหรับการแบ่งกลุ่มอย่างหยาบ (Rough screening) ยังไม่สามารถนำไปใช้ระบุค่าหรือในการควบคุมกระบวนการในโรงงานได้อย่างไรก็ดี จากผลที่ได้ชี้ให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะวัดปริมาณฮิสตามีนในปลาซาร์ดีนโดยใช้เทคนิคนี้ แต่ต้องการการปรับปรุงวิธีการเช่น เวลาในการสแกนและเพิ่มช่วงตัวอย่างปลาที่มีปริมาณฮิสตามีนที่กว้างขึ้น



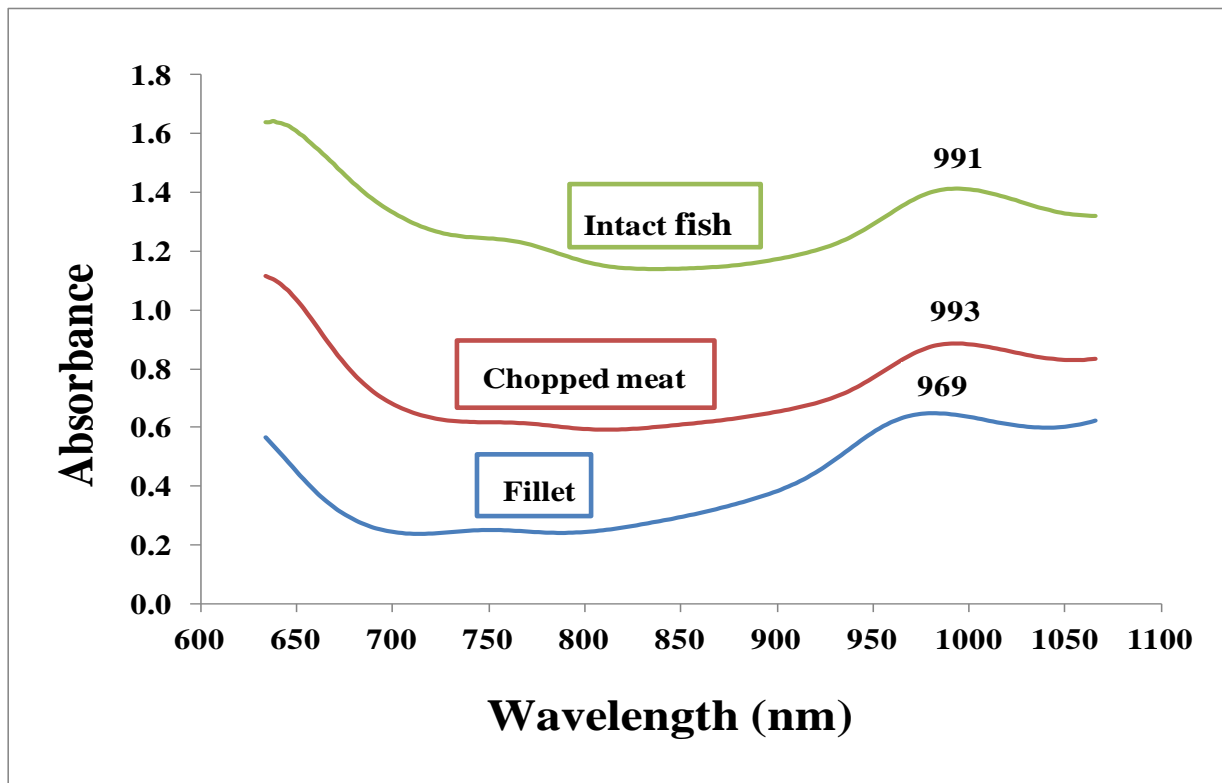
ภาพที่ 4.1 สเปกตรัมของฮิสตามีนบริสุทธิ์ในช่วงเลขคลื่น 12500 – 3600 cm⁻¹



ภาพที่ 4.2 สเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลาและเนื้อปลาสับที่สแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer



ภาพที่ 4.3 สเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลา เนื้อปลาสับและเนื้อปลาสับผ่านแก้ว ที่สแกนด้วยเครื่อง MICRO NIR



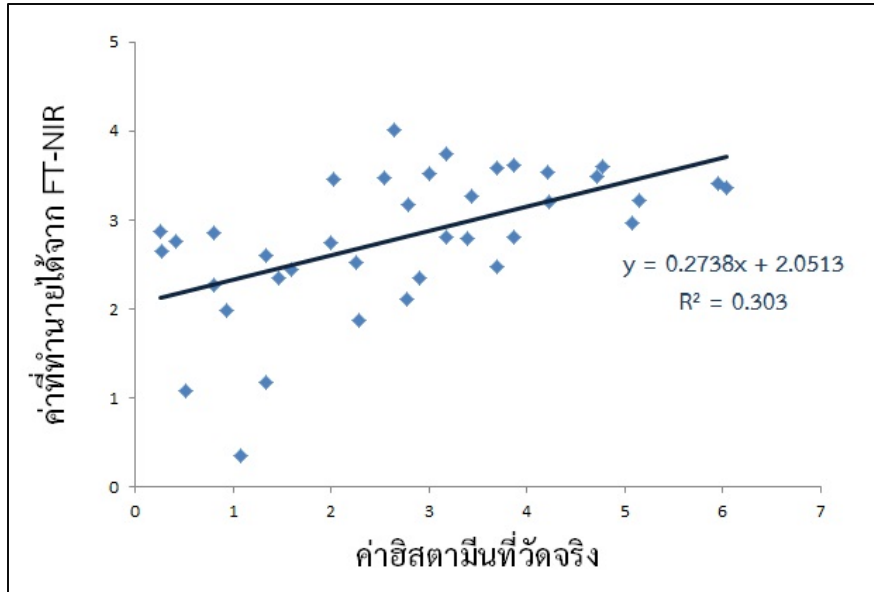
ภาพที่ 4.4 สเปกตรัมเฉลี่ยของปลาทั้งตัว เนื้อปลาและเนื้อปลาสับที่สแกนด้วยเครื่อง FQA NIR GUN

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลทางสถิติของค่าอิสตามีนของปลาชาร์ดินสำหรับชุดคาลิเบรชันและชุดทำนาย

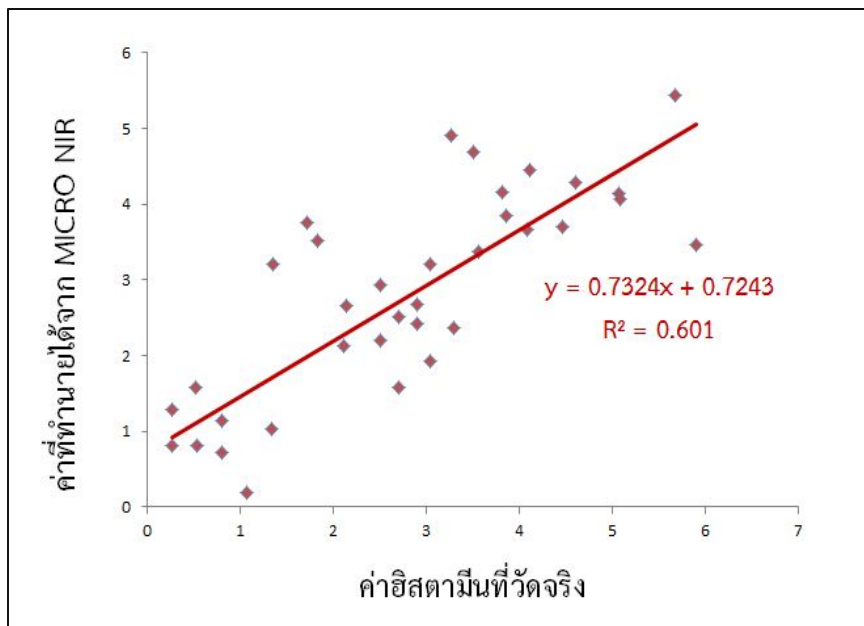
Spectrometer	Sample	Calibration set					Prediction set				
		N	Mean	Max	Min	SD	N	Mean	Max	Min	SD
FT-NIR	Intact	160	2.79	8.02	0.12	1.77	38	2.75	6.04	0.25	1.60
	Fillet	160	2.81	8.02	0.12	1.77	38	2.71	5.95	0.25	1.59
	Minced meat	153	2.76	8.02	0.12	1.77	37	2.82	7.61	0.25	1.75
MICRO NIR	Intact	152	2.80	8.02	0.12	1.78	36	2.72	6.04	0.25	1.61
	Fillet	152	2.80	8.02	0.12	1.78	36	2.74	5.91	0.27	1.57
	Minced meat	157	2.71	8.02	0.12	1.78	39	2.82	7.61	0.25	1.73
	Minced meat with glass	160	2.78	8.02	0.12	1.78	38	2.74	5.95	0.25	1.59
FQA NIR GUN	Intact	161	2.81	8.02	0.12	1.78	38	2.74	5.95	0.25	1.58
	Fillet	160	2.78	8.02	0.12	1.78	38	2.72	5.95	0.25	1.60
	Minced meat	161	2.80	8.02	0.12	1.78	38	2.71	5.95	0.25	1.59

ตารางที่ 4.2 แบบจำลอง PLS ที่ดีที่สุดสำหรับการวัดฮิสตามีนของปลาซาร์ดีนด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบต่างๆ

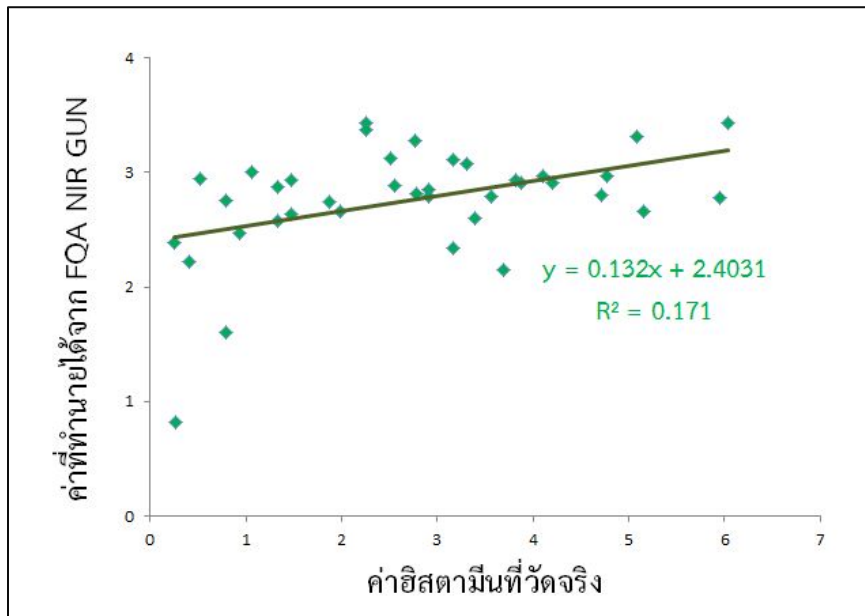
Spectrometer (Frequency Range)	Sample	Pre treatment	PC	Calibration set			Prediction set		
				R ²	SEC/ RMSEE	Bias	R ²	SEP/ RMSEP	Bias
FT-NIR (MPA, Bruker, Germany) (12500-3600 cm ⁻¹)	Intact Fish	Multiplicative Scatter Correction	7	0.303	1.520	-	0.163	1.620	0.018
	Fillet	2 nd derivative	1	0.037	1.740	-	0.012	1.470	-0.001
	Minced meat	Constant offset elimination	1	0.015	1.770	-	-0.011	1.740	0.043
MICRO NIR (1150-2150 nm)	Intact Fish	Smoothing (19 points) + 2 nd derivative (11 point)	16	0.471	1.293	-2.23E-07	0.364	1.247	-0.290
	Fillet	Smoothing (19 points) + Baseline offset	14	0.694	0.977	-9.95E-07	0.601	0.990	-0.008
	Minced meat	Smoothing (19 points) + Baseline offset	17	0.688	0.966	-6.21E-06	0.481	1.245	-0.042
	Minced meat with glass	Smoothing (19 points) + Multiplicative Scatter Correction	12	0.510	1.232	-3.55E-05	0.459	1.158	0.140
FQA NIR GUN (600-1100 nm)	Intact Fish	Baseline offset	1	0.025	1.753	1.09E-07	0.023	1.560	0.043
	Fillet	De-trending	1	0.093	1.691	9.55E-08	0.171	1.459	0.040
	Minced meat	Multiplicative Scatter Correction	1	0.009	1.770	-3.69E-07	0.014	1.576	-0.004



ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ในการทำนายค่าอิสตามีนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer



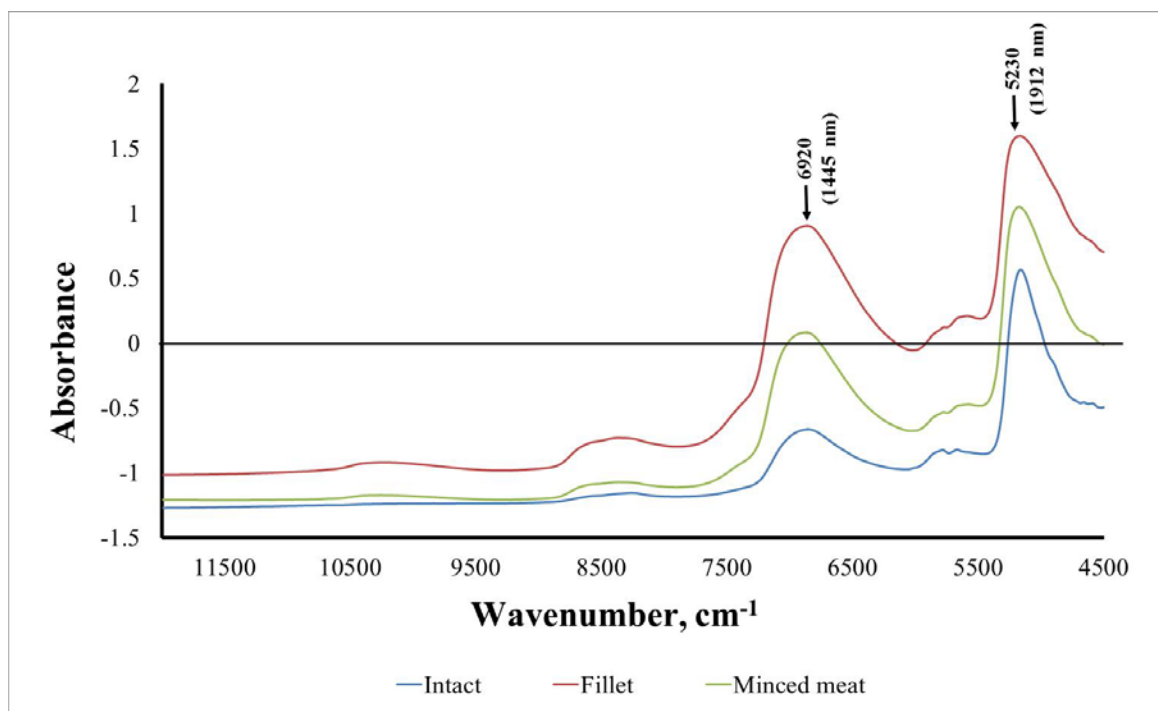
ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ในการทำนายค่าอิสตามีนด้วยเครื่อง MICRO NIR



ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ในการทำนายค่าอิสตามีนด้วยเครื่อง FQA NIR GUN

4.2 ผลการทดลองหลังการปรับปรุงวิธีการ

ในการวิเคราะห์สเปกตรัมเฉลี่ยของตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิดคือ ปลาเต็มตัว (Intact fish) ปลาผ่าครึ่งเอาก้างออก (fillet) และเนื้อปลาบด (Minced meat) ที่ wavenumber ระหว่าง $12500\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ ($800\text{-}2778\text{ nm}$) ของเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, germany) ภาพที่ 4.8 พบว่าตัวอย่างปลามีการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ในช่วง wave number 6920 และ 5230 cm^{-1} (1445 และ 1912 nm) ซึ่งเป็นพีคการ peak ที่ขยับจาก 1450 nm ซึ่งเป็นการสั่นสะเทือนของ O-H str. First overtone (Osborne et al., 1993) และจาก 1923 nm ซึ่งเป็นการสั่นสะเทือนของ O-H assigned to molecular water [O-H stretching and HOH deformation combination] (Workman and Weyer, 2008) จะเห็นว่าเส้นสเปกตรัมของปลาผ่าครึ่งเอาก้างออก (fillet) และเนื้อปลาบด (Minced meat) สมบูรณ์ ไม่เกิด Over-absorption ในช่วง $8000\text{-}5500\text{ cm}^{-1}$ เหมือนกับกรณีวัดด้วย MPA FT-NIR spectrometer (Bruker, Germany)

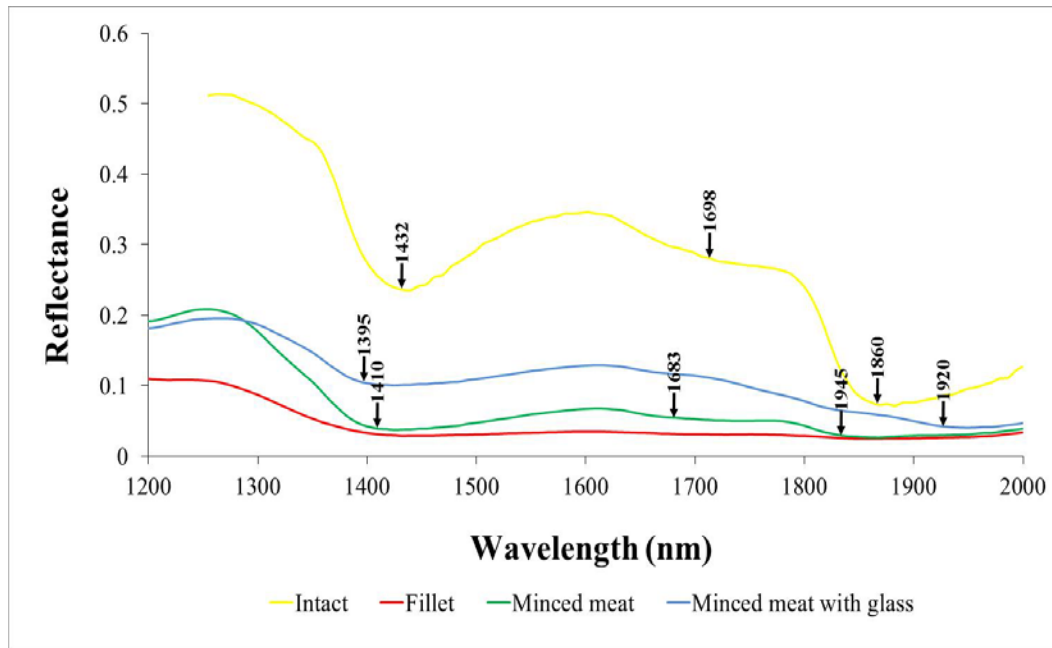


ภาพที่ 4.8 สเปกตรัมของตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิด ที่ wavenumber 11,500-4,500 cm^{-1} ของเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany)

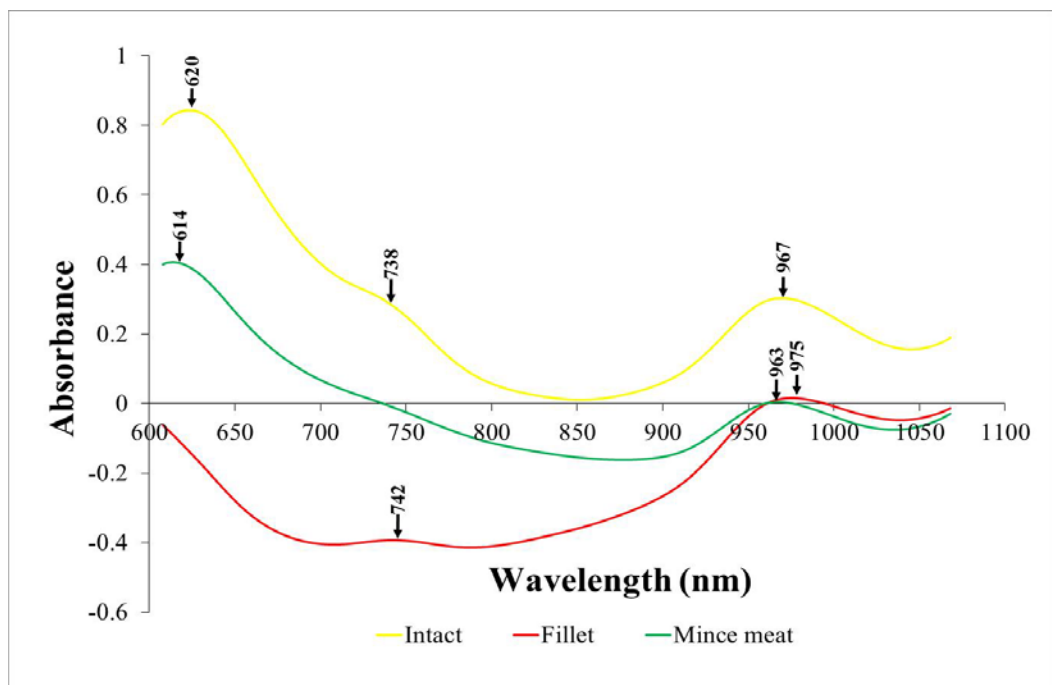
ในการวิเคราะห์สเปกตรัมเฉลี่ยของตัวอย่างปลา Intact fish, fillet, Minced meat และเนื้อปลาบดที่สแกนผ่านแก้ว (Minced meat with glass) ที่ wavelength ระหว่าง 1150-2150 nm ของเครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) ภาพที่ 4.9 พบว่าในตัวอย่างปลา Intact มีการดูดกลืนคลื่นแสงเป็นแถบกว้างที่ wavelength 1432 และ 1860 nm ในตัวอย่างปลา Minced meat มีการดูดกลืนคลื่นแสงที่ไม่ชัดเจนที่ wavelength 1410 และ 1945 nm โดยเป็น peak ที่ขยับจาก 1450 และ 1940 nm ซึ่งเป็นการดูดซับคลื่นของน้ำ ซึ่งเป็นการสั่นสะเทือนของ O-H str. First overtone และ O-H stretch + O-H deformation (Osborne et al., 1993) ในตัวอย่าง Minced meat with glass มีการดูดกลืนคลื่นแสงที่ไม่ชัดเจนที่ wavelength 1395 และ 1920 nm และเนื้อปลาบดทั้งสองให้สเปกตรัมที่เกิด Over-absorption หลังจาก 1400 nm และในตัวอย่างปลา ปลา Fillet สเปกตรัมอยู่ในช่วงที่ต่ำและเกิด Over-absorption ตลอดทั้งช่วง

ในการวิเคราะห์สเปกตรัมเฉลี่ยของตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิดคือ Intact fish, และ fillet ที่ wavelength ระหว่าง 600-1100 nm ด้วยเครื่อง FQA NIR GUN (Fantec, Japan) ภาพที่ 4.10 พบว่าในตัวอย่างปลา Intact มีสเปกตรัมที่สมบูรณ์กว่าตัวอย่างชนิดอื่น มีการดูดกลืนคลื่นแสงที่ wavelength 620, 738 และ 967 nm โดยเป็นพีคที่ขยับจาก 760 และ 970 นาโนเมตรซึ่งเป็นการดูดซับคลื่นของน้ำซึ่งเป็นการสั่นสะเทือนของ O-H str. Third overtone และ O-H str. Second overtone (Osborne et al., 1993) ในตัวอย่างปลา Fillet มีการดูดกลืนคลื่นแสงที่ wavelength 742 และ 975 nm

และในตัวอย่างปลา Minced meat มีการดูดกลืนคลื่นแสงที่ wavelength 614 และ 963 nm ที่ความยาวคลื่นที่ต่ำกว่า 700 nm เป็นการดูดกลืนคลื่นของแสงที่มองเห็นได้ (สี)



ภาพที่ 4.9 สเปกตรัมของตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิด ที่ wavelength 1,150-2,150 nm ของเครื่อง MICRO NIR spectrometer



ภาพที่ 4.10 สเปกตรัมของตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิด ที่ wavelength 600-1100 nm ของเครื่อง FQA NIR GUN spectrometer

ค่าทางสถิติของปริมาณฮิสตามีนของตัวอย่างปลาซาร์ดีนแต่ละชนิดในชุดคาลิเบรชัน (Calibration set) ที่ใช้สร้างสมการทำนายและชุดทดสอบ (Prediction set) โดยใช้วิธี Partial Least Square Regression จากการตรวจวัดปริมาณฮิสตามีนตามกรรมวิธีของโรงงาน แสดงดังตารางที่ 4.3 ซึ่งผลการสร้างสมการทำนายค่าความสัมพันธ์ มีรายละเอียดดังตารางที่ 4.4 ซึ่งสำหรับการวัดด้วยเครื่อง Matrix FT-NIR spectrometer มีทั้งชุดตัวอย่างที่มีไม่มีการกำจัด outlier และมีการกำจัด outlier ในตัวอย่างปลาตัวที่ 25 (40 hr) 31 (30 hr) 35 (30 hr) 91 (10 hr) 94 (20 hr) และ 95 (20 hr) ออก

ตารางที่ 4.3 ค่าทางสถิติของปริมาณฮิสตามีนในปลาซาร์ดีนที่ใช้สร้างสมการทำนายหลังปรับปรุงวิธีการ

Spectrometer	Sample	Calibration set					Prediction set				
		N	Mean	Max	Min	SD	N	Mean	Max	Min	SD
Matrix	Intact	133	23.786	188.2	-1.45	37.7	28	20.7	103	-1.1	29.69
	Intact (outlier deleted)	119	17.368	103	-1.45	25.3	28	20.7	103	-1.1	29.69
	Fillet	119	24.428	188.2	-1.45	38.1	27	18.7	103	-1.1	27.07
	Fillet (outlier deleted)	115	19.753	118	-1.45	28.9	27	18.7	103	-1.1	27.07
	Minced meat	118	23.751	118	-1.45	37.6	28	21.7	103	-1.1	30.99
	Minced meat (outlier deleted)	113	18.135	114.6	-1.45	26.5	28	21.7	103	-1.1	30.99
MICRO NIR	Intact	233	23.364	188.2	-1.45	36.2	57	23.8	188.2	-1.3	37.28
	Fillet	235	23.101	188.2	-1.45	36.1	58	24	155	-1.3	37.05
	Minced meat	238	27.454	188.2	-1.45	36.1	58	24.3	155	-1.3	37.39
	Minced meat with glass	236	23.085	188.2	-1.45	36.1	58	23.7	153	-1.3	36.73
NIR GUN	Intact	233	22.373	188.2	-1.45	35.5	57	22.9	188.2	-1.3	36.9
	Fillet	234	21.958	188.2	-1.45	34.1	58	23.7	153	-1.3	36.73
	Minced meat	233	22.593	188.2	-1.45	35.4	58	25.2	188.2	-1.3	40.24

Remark : N= Number of scanning, Mean= Average, Max= Maximum, Min= Minimum, SD= Standard Deviation

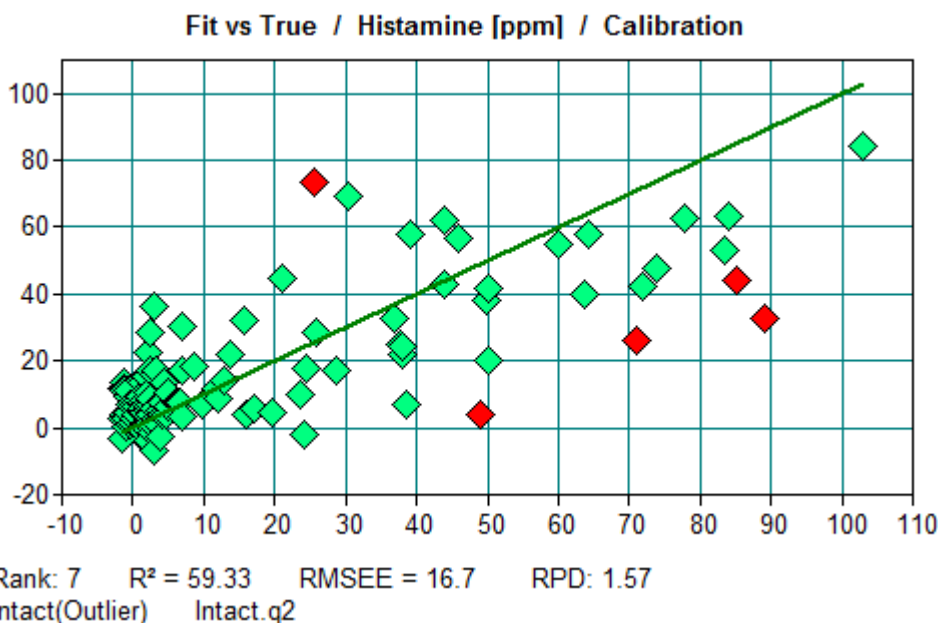
ตารางที่ 4.4 แบบจำลอง PLS ที่ดีที่สุดสำหรับการวัดอิสตามีนของปลาซาร์ดีนในตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบต่างๆ

Spectrometer (Frequency Range)	Sample	Wavelength/ Wavenumber Range (nm, cm ⁻¹)	Pre-processing	PC/ Rank	Calibration set			Prediction set		
					R ²	SEC/ RMSEE	Bias	R ²	SEP/ RMSEP	Bias
Matrix spectrometer (12500-3600 cm ⁻¹)	Intact	9404-7499 cm ⁻¹ , 5454-4598 cm ⁻¹	SNV	7	0.429	29.400	-	0.823	12.300	1.020
	Intact (outlier deleted)	9404-7499 cm⁻¹, 5454-4599 cm⁻¹	SNV	7	0.593	16.700	-	0.696	16.100	5.950
	Fillet	9404-5447 cm ⁻¹ , 4606-4243 cm ⁻¹	No spectral data preprocessing	6	0.411	30.000	-	0.565	17.500	-1.240
	Fillet (outlier deleted)	9404-5447 cm ⁻¹ , 4606-4244 cm ⁻¹	No spectral data preprocessing	3	0.308	24.400	-	0.452	19.700	2.160
	Minced meat	6102-5447 cm ⁻¹	First derivative (17 Pts)	3	0.426	28.800	-	0.300	25.500	-1.110
	Minced meat (outlier deleted)	6102-5448 cm ⁻¹	First derivative (17 Pts)	3	0.556	17.900	-	0.370	24.200	3.240
MICRO NIR (1150-2150 nm)	Intact	1255-2060 nm	De-trending	8	0.570	23.750	-1.69E-05	0.467	27.485	-8.231
			Raw spectrum	13	0.609	22.582	-2.33E-05	0.307	30.069	-7.622
			SNV+ De-trending	10	0.609	22.640	2.23E-06	0.253	30.727	-9.587
	Fillet	1181-2030 nm	SM 11 points+Normalize Range	8	0.354	28.994	2.22E-05	0.389	30.764	-1.612
			SM 11 point+ 2nd Derivative 5 points	6	0.358	28.908	-4.23E-06	0.318	30.289	-4.204
	Minced meat	1159-2053 nm	SM 5 points+2nd Derivative 11 points	7	0.409	27.726	7.76E-08	0.470	27.209	1.094
			SM 5 point+ Normalize Max	5	0.340	29.280	4.41E-06	0.376	29.516	-0.682
	Minced meat with glass	1158-2053 nm	SM 5 points+2nd Derivative 11 points	7	0.489	27.726	7.76E-08	0.470	27.209	1.094
SM 5 points			19	0.608	22.590	-0.0002	0.136	33.954	-3.433	
FQA NIR GUN (600-1100 nm)	Intact	608-1068 nm	1st Derivative 5 points	5	0.484	25.511	6.41E-07	0.592	23.120	-4.511
			2nd Derivative 11 points	12	0.558	23.619	6.65E-07	0.357	29.009	-5.816
	Fillet	608-1069 nm	Baseline offset	10	0.578	22.178	-1.07E-06	0.475	26.545	-1.790
			Normalize Range	10	0.581	22.083	1.20E-05	0.500	25.956	-1.166
			2nd Derivative 11 points	5	0.581	22.102	8.38E-07	0.350	29.573	-1.397
	Minced meat	608-1070 nm	SNV	7	0.515	24.626	3.99E-06	0.311	33.321	2.333

หมายเหตุ : Rank= PLS factor, SM= Smoothing, SNV= Vector normalization, R^2 = Coefficient of determination, , SEC= Standard error of Calibration, RMSEE=Root mean square error of estimation, Bias= average error, SEP= Standard error of prediction, RMSEP= Root mean square error of prediction

4.2.1 ผลการสร้างสรรค์การทำนายปริมาณฮิสตามีนของตัวอย่างปลา Intact ที่วัดโดยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany) ที่กำจัดตัวอย่างผิดปกติแล้ว

จากตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany) ที่วัดที่ตัวอย่างปลา Intact ที่กำจัดตัวอย่างผิดปกติแล้ว ให้แบบจำลองที่ดีที่สุด โดยมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นแบบ SNV (Standard vector normalization) และภาพที่ 4.11 แสดงผลการทำนายปริมาณฮิสตามีนเปรียบเทียบกับค่าที่วัดได้โดยวิธีมาตรฐานของโรงงาน มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination; R^2) ของชุดคาลิเบรชัน เท่ากับ 0.593, ค่ารากที่สองของความผิดพลาดเฉลี่ยยกกำลังสองของการประมาณค่า (root mean squared error of estimation; RMSEE) เท่ากับ 16.7

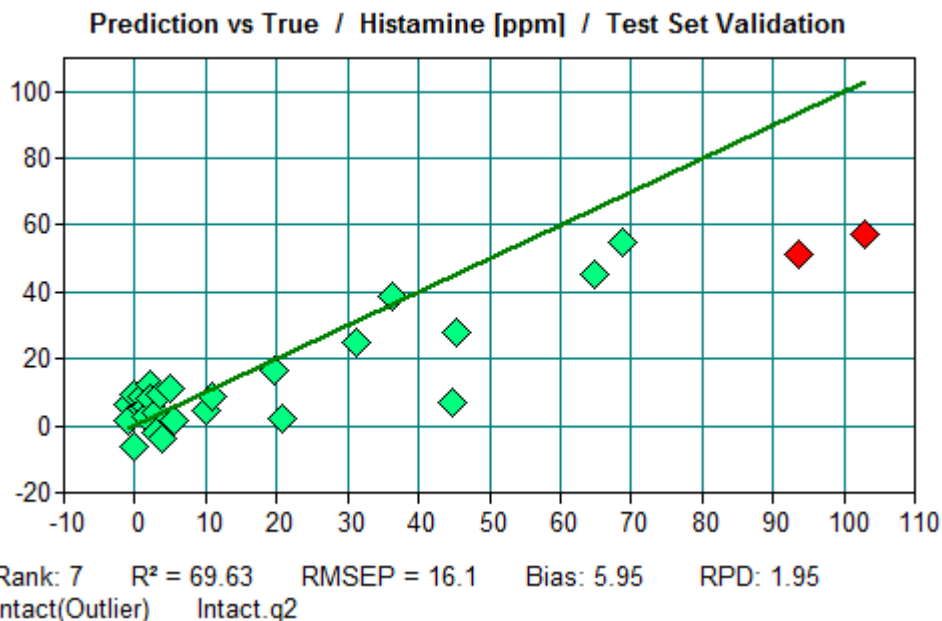


ภาพที่ 4.11 การเปรียบเทียบปริมาณฮิสตามีนที่ทำนายโดยวิธีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีด้วยเครื่อง Matrix spectrometer ในตัวอย่างปลา Intact ของชุดคาลิเบรชัน กับค่าวัดจากวิธีมาตรฐานของโรงงาน

หมายเหตุ จุดแดงหมายถึงตัวอย่างที่เป็น outlier

จากตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.12 แสดงผลการทำนายปริมาณฮิสตามีนเปรียบเทียบกับค่าที่วัดได้โดยวิธีมาตรฐานของโรงงาน ในตัวอย่างปลา Intact ของชุดทำนาย มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination; R^2) เท่ากับ 0.696, ค่ารากที่สองของความผิดพลาดเฉลี่ยยกกำลังสองของการทำนาย (root mean squared error of prediction; RMSEP) โดยการพิสูจน์ภายนอก เท่ากับ 16.1, ความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) เท่ากับ 5.95 และ อัตราส่วนระหว่างค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าอ้างอิงของชุดทำนายต่อค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความผิดพลาดของชุดทำนาย (Residual prediction deviation, RPD) เท่ากับ 1.95

จะเห็นได้ว่าค่าทางสถิติที่ใช้ตรวจสอบความถูกต้องและความแม่นยำในการทำนายค่าโดยวิธีการที่ปรับปรุงแล้วดีขึ้นกว่าเดิม (เดิม R^2 , RMSEP, และ bias เท่ากับ 0.163, 1.62 ppm และ 0.018 ppm แบบจำลองหลังจากปรับปรุงวิธีการ R^2 , RMSEP, และ bias เท่ากับ 0.696, 16.1 ppm และ 5.95 ppm) อย่างไรก็ตาม ถึงแม้จะดีขึ้นแต่ Williams (2010) แนะนำว่า R^2 ระหว่าง 0.66-0.81 นั้นแบบจำลองใช้ได้กับการทำนายค่าโดยประมาณ ไม่สามารถนำมาใช้ในการวิจัยหรือการประกันคุณภาพได้



ภาพที่ 4.12 การเปรียบเทียบปริมาณฮิสตามีนที่ทำนายโดยวิธีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีด้วยเครื่อง Matrix spectrometer ในตัวอย่างปลา Intact ของชุดทำนาย กับค่าวัดจากวิธีมาตรฐานของโรงงาน
หมายเหตุ จุดแดงหมายถึงตัวอย่างที่เป็น outlier

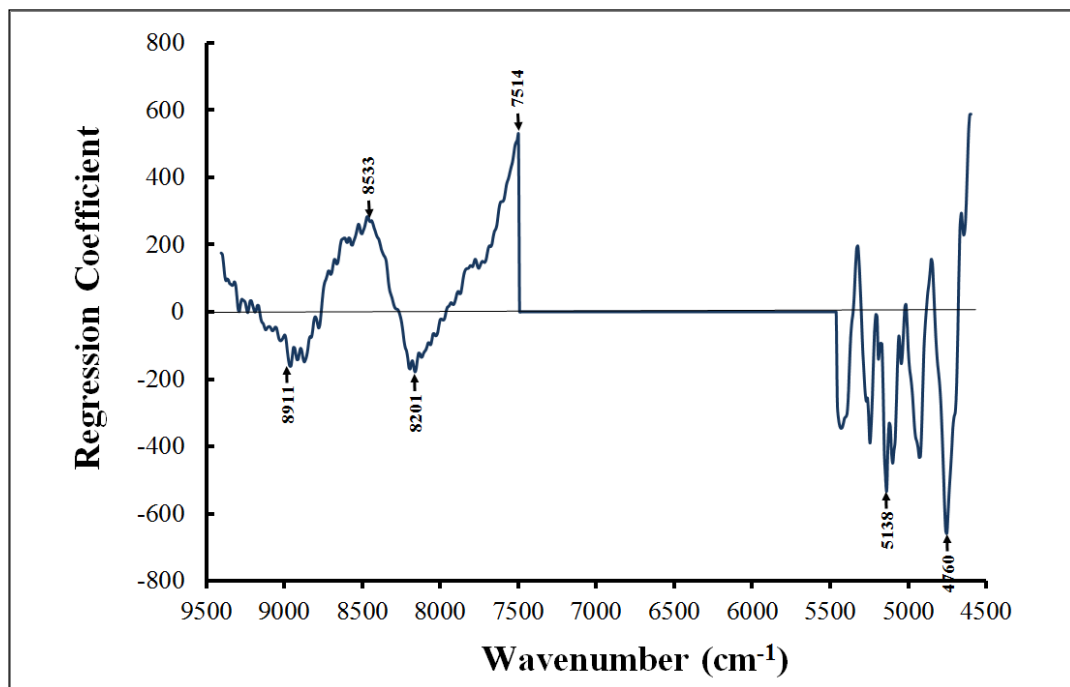
ค่า Regression coefficient ถูกใช้เป็นพื้นฐานแรกในการตรวจผลกระทบของความยาวคลื่นต่างๆ (X-variable) ในการทำนายตัวแปรตาม (Y) และค่าสัมบูรณ์ของ Regression coefficient ที่มีค่าสูงซึ่งได้ถึงความสำคัญของอิทธิพลของความยาวคลื่นนั้นต่อโมเดลอย่างมีนัยสำคัญ

จากรูปที่ 4.13 Regression coefficient plot ของปริมาณฮิสตามีน พบพิกซึ่งมีความสำคัญต่อสมการที่ wave number เท่ากับ 8911, 8533, 8201, 7514, 5138 และ 4760 cm^{-1} (1122, 1172, 1219, 1331, 1946 and 2101 nm)

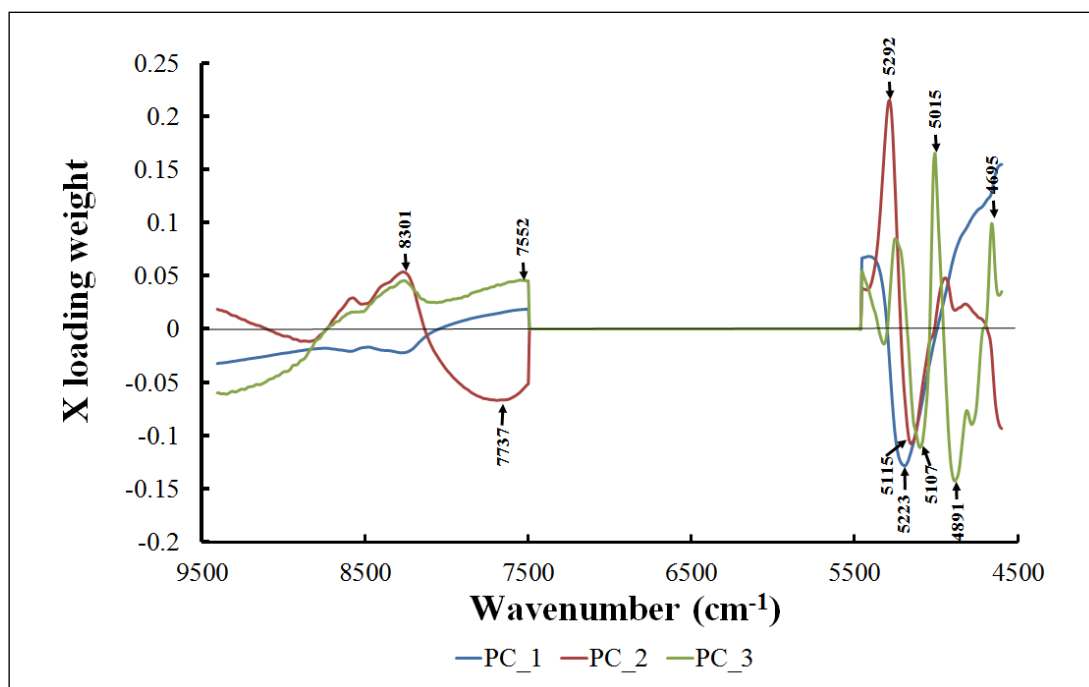
สำหรับค่า X-loading weight plot นั้นถ้าความยาวคลื่นที่มีค่า X-loading weight มากแสดงว่ามีความสำคัญต่อการทำนายตัวแปรตาม ในทำนองเดียวกันกับ Regression coefficient รูปที่ 4.14 แสดงค่า X-loading weight ของสมการปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact ซึ่งมี 3 factor (rank) สำหรับการทำนายผล สำหรับ factor 1 พบพิกซึ่งมีความสำคัญต่อสมการสำหรับที่ wavenumber เท่ากับ 5223 cm^{-1} (1915 nm) factor 2 ที่ wavenumber เท่ากับ 8301,

7737, 5292 และ 5115 cm^{-1} (1205, 1292, 1890 และ 1955 nm) และ factor 3 ที่ wavenumber เท่ากับ 8301, 7552, 5107, 5015, 4891 และ 4695 cm^{-1} (1205, 1324, 1958, 1994, 2045 และ 2130 nm)

ตารางที่ 4.5 แสดงการสัมพันธ์ของพันธะที่เลขคลื่นหรือความยาวคลื่นที่มีค่า Regression coefficient และ X-loading weight ที่สูงของสมการปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact ที่ตัดตัวอย่างที่ผิปกดออกแล้ว โดยสแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany) จะสังเกตเห็นว่าการสัมพันธ์ของพันธะขององค์ประกอบของโปรตีน (N-H bond) และองค์ประกอบของไขมัน (C=OOH bond) มีอิทธิพลต่อการทำนายปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact มาก



รูปที่ 4.13 Regression coefficient plot ของสมการปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact ที่ตัดตัวอย่างที่ผิปกดออกแล้ว โดยสแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany)



รูปที่ 4.14 X-loading weight plot ของสมการปริมาณอิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact ที่ตัดตัวอย่างที่ผิปกค้อออกแล้ว โดยสแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany)

ตารางที่ 4.5 การสัมพันธ์ของพันธะที่เลขคลื่นหรือความยาวคลื่นที่มีค่า Regression coefficient และ X-loading weight ที่สูง ของสมการปริมาณอิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact ที่ตัดตัวอย่างที่ผิปกค้อออกแล้ว โดยสแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany)

Wavenumber (cm^{-1})	Wavelength (nm)	Wavelength assigned in references (nm)	Bond vibration	Structure	Source (Fig.4.13 and Fig. 4.14)
8911	1122	-	-	-	RC
8533	1172	1170	C-H str. Second overtone	HC=CH	RC
8301	1205	1211*	C-H Third overtone	CH ₂	PC2, PC3
8201	1219	1215	C-H str. Second overtone	CH ₂	RC
7737	1292	-	-	-	PC2
7552	1324	-	-	-	PC3
7514	1331	-	-	-	RC

Wavenumber (cm^{-1})	Wavelength (nm)	Wavelength assigned in references (nm)	Bond vibration	Structure	Source (Fig.4.13 and Fig. 4.14)
5292	1890	1892*	C=O Third overtone	COOH	PC2
5223	1915	1920	C=O str. Second overtone	CONH	PC1
5138	1946	1940	O-H str. + O-H def.	H ₂ O	RC
5115	1955	1950	C=O str. Second overtone	-CO ₂ R	PC2
5107	1958	1960	N-H asym. str. + amide II	CONH ₂	PC3
5015	1994	1990*	N-H str. + N-H bending	N-H amide	PC3
4760	2101	2110	N-H sym. str. + amide III	CONH₂, CONHR	RC
4891	2045	2050	N-H sym. str. + amide II	Protein	PC3
4695	2130	2132	N-H str. + C=O str.	Amino acid	PC3

PC is PLS factor. RC is regression coefficient. Remark: Wavelength assigned in references without * were from Osborne et al., 1993 and with * were from Workman and Weyer, 2008. The – means no band assignment indicated in both references. The row in bold letters indicated the highest peak in the corresponding plot.

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการวิเคราะห์ผลและสร้างแบบจำลองในการทำนายความสัมพันธ์ระหว่างการดูดซับแสงกับปริมาณฮิสตามีนในปลาซาร์ดีน จากการตรวจวัดสเปกตรัมด้วยสเปกโตรมิเตอร์ทั้งสามเครื่องคือ เครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany) เครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) เครื่อง FQA NIR GUN (Fantec, Japan) พบว่าแบบจำลองในการทำนายฮิสตามีนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (Matrix, Bruker, Germany) โดยวัดที่ตัวอย่างปลา Intact ให้ผลดีที่สุด โดยมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นแบบ SNV (Standard vector normalization) อย่างไรก็ดี มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination; R^2) เท่ากับ 0.696, ค่ารากที่สองของความผิดพลาดเฉลี่ยยกกำลังสองของการทำนาย (root mean squared error of prediction; RMSEP) โดยการพิสูจน์ภายนอก เท่ากับ 16.1, ความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) เท่ากับ 5.95 และ อัตราส่วนระหว่างค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าอ้างอิงของชุดทำนาย ต่อค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความผิดพลาดของชุดทำนาย (Residual prediction deviation, RPD) เท่ากับ 1.95 จากค่า R^2 ระหว่าง 0.66-0.81 นั้นแบบจำลองใช้ได้กับการทำนายค่าโดยประมาณ ไม่สามารถนำมาใช้ในการวิจัยหรือการประกันคุณภาพได้

จากการวิเคราะห์ค่า Regression coefficient และ X-loading weight พบว่าการสั่นสะเทือนของพันธะขององค์ประกอบของโปรตีน (N-H bond) และองค์ประกอบของไขมัน (C=OOH bond) มีอิทธิพลต่อการทำนายปริมาณฮิสตามีนในตัวอย่างปลา Intact มาก

บทที่ 6

สรุปผลผลิตงานวิจัย

เนื่องจากผลการสร้างแบบจำลองไม่ดี และไม่สามารถประยุกต์ใช้งานได้จึงเป็นเรื่องยากที่จะนำผลตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ จึงจำเป็นต้องตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ คือ

ปานมนัส ศิริสมบูรณ์, กิ่งดาว ชนะ โชติ, การวิเคราะห์ฮีสตามีนในปลาซาร์ดีนสดด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ช่วงความยาวคลื่นยาว,วารสารสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ปีที่ 20 ฉบับที่ 1 (2557), 26-31.



การวิเคราะห์ฮิสตามีนในปลาซาร์ดีนสดด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีช่วงความยาวคลื่นยาว
Evaluation of Histamine in Sardine Fish by Long Wave Near Infrared Spectroscopy

ปานณัส สิริสมบูรณ์¹, กิ่งดาว ชะโชนี^{2*}

Panmanas Sirisomboon¹, Kingdow Charachot^{2*}

¹หลักสูตรวิศวกรรมเกษตร สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

²Curriculum of Agricultural Engineering, Department of Mechanical Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok,
10520

*Corresponding author: Tel: 082-777-5688, Email: al_kingdow_63@hotmail.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ เพื่อสร้างแบบจำลองการวิเคราะห์ฮิสตามีนในปลาซาร์ดีนสดด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีช่วงความยาวคลื่นยาว โดยตรวจวัดสเปกตรัมของตัวอย่างปลาซาร์ดีนสด ด้วยเครื่อง MICRO NIR Spectrometer ช่วงความยาวคลื่น 1150-2150 nm โดยใช้ปลาซาร์ดีนสด *sardinella longiceps* จากประเทศจีน จำนวน 149 ตัว โดยศึกษาผลของปลาที่ใช้ในการสแกนมีดังต่อไปนี้ ปลาเต็มตัว (Intact fish) ปลาผ่าครึ่งเอาทังออก (Fillet) เนื้อปลาบด (Minced meat) และเนื้อปลาบดจะสแกนผ่านแก้ว (Minced meat with glass) จากนั้นนำข้อมูลสเปกตรัมการดูดกลืนคลื่นแสงตั้งเดิมและที่ผ่านการจัดการทางคณิตศาสตร์โดยวิธีต่างๆ ไปสร้างแบบจำลองในการทำนายปริมาณฮิสตามีนด้วยวิธี Partial least square regression (PLSR) พบว่าแบบจำลองในการทำนายสามารถให้การทำนายปริมาณฮิสตามีนในเนื้อปลาบดและในเนื้อปลาบดที่สแกนผ่านแก้วได้ผลดีที่สุด โดยแบบจำลองทั้งสองได้มาจากการพัฒนาสเปกตรัมด้วยวิธี Smoothing 5 point+Derivative S. Golay 2 nd 11 point โดยมีค่า Coefficient of determination (R^2), Standard error of prediction (SEP) และ Bias ของทั้งสองแบบจำลองเท่ากัน คือ 0.470, 27.209 และ 1.094 ppm ตามลำดับ โดยมี PLS factor เท่ากับ 7 จากค่า R^2 ระหว่าง 0.26-0.49 แสดงว่าความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลเชิงแสงกับค่าที่วัดโดยวิธีมาตรฐานมีความสัมพันธ์ที่ไม่ดี อาจเป็นเพราะองค์ประกอบภายในของปลาที่มีน้ำมาก ทำให้เกิดการบดบังทัศนของฮิสตามีนซึ่งมีปริมาณน้อยมากในระดับ ppm

คำสำคัญ: ฮิสตามีน, เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี, การดูดกลืนแสง, การสะท้อนแสง

Abstract

Objective of this research was to evaluate the histamine in sardine by measuring spectra of sardine samples using MICRO NIR spectrometer (1150-2150 nm). The 149 fresh sardine fish (*sardinella longiceps*) from China were subjected to the experiment in four different forms including intact fish, fillet, minced meat, and minced meat through glass. The absorbance spectra with or without different mathematic pretreatment were used to develop the prediction model for histamine using Partial Least Square Regression (PLSR). The best form of fish that gave better model performance was minced meat and minced meat with glass. The best model was developed after spectra pretreatment of Smoothing (5 points)+Derivative S. Golay 2 nd 11 point and they provided the same coefficient of determination (R^2), Standard Error of Prediction (SEP) and bias of 0.470, 27.209 ppm and 1.094 ppm, respectively with 7 PLS factors. The R^2 between 0.26-0.49 indicated that the correlation between optical data and the reference values of histamine was not good. This might be

because fish contained a lot of water and the water absorbance band covered the peak of the histamine content which was very low in ppm level.

Keywords: Histamine, Near Infrared Spectroscopy, Absorbance, Reflectance

1 บทนำ

อุตสาหกรรมการทำปลาทูสดที่ประเทศไทยมีมูลค่าทางเศรษฐกิจอย่างหนึ่งของประเทศไทย จากสถิติของกรมศุลกากร รายงานว่า ประเทศไทยมีการส่งออกปลาทูสดประมาณ 2554 (ม.ค.-มี.ค.) ปริมาณ 16,909.69 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,153.39 ล้านบาท และปี 2555 (ม.ค.-มี.ค.) ปริมาณ 24,444.99 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,919.96 ล้านบาท อัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณ 44.56 ตัน คิดเป็นมูลค่า 66.46 ล้านบาท การตรวจรับปลาทูสดเข้าสู่โรงงาน จำเป็นต้องตรวจหาความสดของปลาโดยวัดปริมาณฮิสตามีน (histamine) เนื่องจากในเนื้อปลาที่มีฮิสตามีน (histidine) ที่เกินขีดจำกัดจะเป็นอันตรายต่อร่างกายและฮิสตามีนเป็นสารตั้งต้นของฮิสตามีน (histamine) ที่เกิดจากการเก็บรักษาปลาไว้เป็นเวลานาน ในอุณหภูมิสูงเกินไปทำให้แบคทีเรียที่เป็นตัวสร้างเอนไซม์ histidinedecarboxylase ทำการย่อยสลายกรดอะมิโนฮิสตามีนให้กลายเป็นฮิสตามีนซึ่งเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ ฉะนั้น ระดับฮิสตามีนในเนื้อปลาเป็นดัชนีหนึ่งในการบ่งบอกความสดของปลา และการวิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีนในเนื้อปลาจึงเกี่ยวข้องกับสุขภาพของผู้บริโภค และอายุการเก็บรักษาเนื้อปลา การทดสอบฮิสตามีนจึงเป็นกลยุทธ์ในการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยซึ่งสามารถทำได้โดยผู้ประกอบการอาหารทะเล จากรายงานของ Köse et al. (2011) กล่าวว่า ระดับการควบคุมปริมาณฮิสตามีนในปลาทูสดระดับ scombrotic มีค่าประมาณ 10-200 ppm ระดับที่ผิดปกติของฮิสตามีน คือสูงกว่า 50 ppm ซึ่งกำหนดในสหรัฐอเมริกา ตามที่กล่าวถึงโดย Köse et al. (2011) ซึ่งได้อ้างอิงผลการวิจัยของ Federal Register (1995)

การวัดปริมาณฮิสตามีนโดยวิธีดั้งเดิมต้องใช้เวลาและขั้นตอนที่ซับซ้อนด้วยวิธีการที่มีราคาแพงใช้สารเคมีจำนวนมาก ซึ่งวิธีการที่ยอมรับในการนำเข้าและส่งออกในอุตสาหกรรมปลาทูสด คือ วิธีตามมาตรฐานของโรงงานซึ่งประยุกต์มาจากมาตรฐานสากล AOAC official method 977.13 และ AOAC official method 957.07 Histamine in seafood โดยวิธี Fluorometric method ด้วยเครื่อง Fluorometer ซึ่งต้องใช้สารเคมีจำนวนมาก เช่น Histamine dichloride, o-Phthalaldehyde (OPT), Phosphoric acid และ ion-exchange resin เป็นต้น

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี เป็นวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่รวดเร็ว แม่นยำ ไม่ต้องใช้สารเคมี เป็นมิตร

กับสิ่งแวดล้อม ไม่ต้องเตรียมตัวอย่าง แต่การนำเทคโนโลยีนี้มาใช้จำเป็นต้องมีการสร้างแบบจำลองเพื่อใช้ในการทำนาย (Calibration model) ก่อนการนำไปใช้งานเพื่อเปรียบเทียบความแม่นยำกับวิธีอ้างอิงที่เป็นมาตรฐานในปัจจุบัน หากพิสูจน์ได้ว่ามีความแม่นยำเพียงพอถึงได้จะใช้เวลาเพียง 2-3 s ในการวิเคราะห์ ทำให้ลดต้นทุนในการตรวจรับปลาทูสดเข้าสู่โรงงาน ดังนั้นด้วยเหตุผลและความสำคัญดังกล่าวกรมกึ่งทางการวิจัย เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในการวิเคราะห์ฮิสตามีนของปลาทูสดที่ตัวปลาโดยตรง เป็นวิธีที่ไม่ทำลายซึ่งช่วยให้ประหยัดเวลาและลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์

2 อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างปลา

ปลาที่ใช้ในโครงการวิจัยคือซาร์ดีนสด *sardinella longiceps* จากประเทศจีน ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างปลาจากบริษัทไทยยูเนียน โฟรเซน โปรดักส์ จำกัด มหาชน จังหวัดสมุทรสาคร จำนวน 149 ตัว จะแบ่งออกเป็นสองชุด คือ ชุดแรก 100 ตัว จะถูกสุ่มมาจากบล็อกที่แช่เยือกแข็งไว้ในห้องเย็นของโรงงาน อุณหภูมิประมาณ -20°C โดยการสุ่มจะสุ่มตามกรรมวิธีของโรงงาน คือจะสุ่มมาจากบล็อกๆ ละ 25 ตัว จำนวน 4 บล็อก ปลาที่ถูกแช่เยือกแข็งจะถูกนำมาแช่น้ำประมาณ 5-10 min จนกว่าอุณหภูมิตัวปลาจะเป็น 0°C แล้วนำขึ้น และชุดที่สองอีก 49 ตัว จะสุ่มตามกรรมวิธีของโรงงานเช่นกัน คือจะสุ่มมาจากบล็อกๆ ละ 7 ตัว จำนวน 7 บล็อก แล้วนำมาแช่น้ำประมาณ 5-10 min แล้วนำขึ้น โดยในชุดที่สองจะเป็นการปรับระดับฮิสตามีน โดยจะเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง ที่เวลาที่แตกต่างกัน 7 ช่วงเวลา คือ 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 70 h ช่วงเวลาละ 7 ตัว ปลาที่ละลายแล้วจะแช่น้ำแข็งไว้ รักษาอุณหภูมิประมาณ 0°C ก่อนนำออกมาทดสอบในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25°C ลักษณะปลาที่ใช้ในการทดลองมีดังต่อไปนี้ ปลาเต็มตัว (Intact fish) ปลาผ่าครึ่งเอาหางออก (Filet) และเนื้อปลาคั่ว (Minced meal)

2.2 การสแกนเส้นแอสของเห็นได้และหรืออินฟราเรด

ปลาที่นำออกมาใช้ฝักจับน้ำออก แล้วสแกนบริเวณกลางลำตัวปลาด้วยเครื่อง MICRO NIR (JDSU, USA) ช่วงความยาวคลื่น 1,150-2,150 nm จากนั้นนำปลาตามน้ำหนัก นำด้านที่ไม่มีก้างมา

ลงบนเนื้อปลาสดในโดยวางบนจานแก้วกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 mm สูง 20 mm ด้วยเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ จากนั้นนำชิ้นเนื้อปลาแช่แข็งน้ำหนักประมาณ 80 g (ตัดบริเวณส่วนที่ผ่านการสแกน) นำมาบดด้วยเครื่องปั่น (OKU SAN NO, Thailand) เป็นเวลา 1 min แล้วนำเนื้อปลาที่ปั่นได้ใส่ในจานแก้วกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 mm สูง 15 mm จากนั้นจะนำปลาสดมาสแกนด้วยเครื่องสเปกโทรมิเตอร์บริเวณด้านหน้าเนื้อปลาสดและผ่านกันจานแก้ว การสแกนทุกแบบทำ 2 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณฮิสตามีน

นำเนื้อปลาสดที่ผ่านการสแกนไปวิเคราะห์หาปริมาณฮิสตามีนด้วยวิธีทางเคมีดั้งเดิมตามมาตรฐานของโรงงานซึ่งประยุกต์มาจากมาตรฐานสากล AOAC official method 977.13 และ AOAC official method 957.07 Histamine in seafood ด้วยเครื่อง Fluorometer (Quantech, USA)

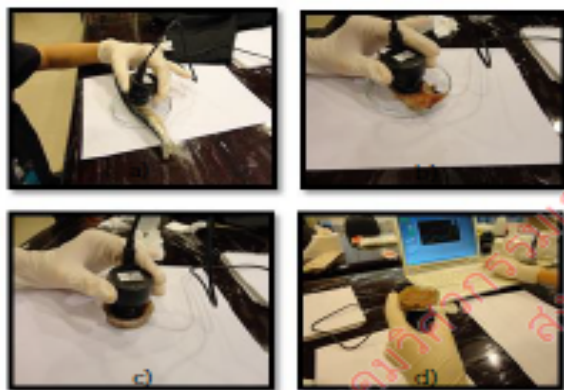


Figure 1 Fish sample presentation for MICRO NIR spectrometer a) Intact fish, b) Fillet, c) Minced meat and d) Minced meat through glass.

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลและสร้างแบบจำลอง

ก่อนทำการวิเคราะห์ต้องทำการตรวจสอบค่าผิดปกติ (Outlier) ของข้อมูลฮิสตามีนโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\frac{X - \bar{X}}{SD} > 3$$

โดยที่ X คือ ค่าฮิสตามีนที่วัดจากวิธีทางเคมี \bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของฮิสตามีน และ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำข้อมูลของสเปกตรัมที่ได้มาตรวจสอบค่าผิดปกติด้วยวิธี Principal component analysis (PCA) จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาสร้าง

แบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮิสตามีนของปลาสดกับการดูดกลืนคลื่นที่ความยาวคลื่นต่างๆ ตั้งแต่ 1,255-2,067 nm สำหรับตัวอย่างปลาสดตัว, 1,181-2,030 nm สำหรับตัวอย่างชิ้นเนื้อปลา และ 1,159-2,036 nm สำหรับตัวอย่างเนื้อปลาสดและเนื้อปลาสดที่สแกนผ่านแก้ว โดยวิธีทาง Chemometric แบบ Partial least squares regression โดยแบ่งข้อมูลเป็นสองชุด คือ ชุดสร้างแบบจำลองและชุดพิสูจน์แบบจำลองโดยมีอัตราส่วนข้อมูล 8:2 ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากเครื่องสเปกโทรมิเตอร์วิเคราะห์โดยโปรแกรม Unscrambler 9.8 (Camo, Norway) โดยมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นโดยวิธี Smoothing S. Golay, Normalization (Mean, Maximum, Range), Baseline offset, Standard normal variate (SNV), de-trending, SNV+De-trending, Multiplicative scattering correction (MSC), First derivative (5 and 11 points) และ Second derivative (5 and 11 points) และจะคัดเลือกแบบจำลองที่ดีที่สุดโดยพิจารณาจากค่า Coefficient of determination (R^2) ที่สูงที่สุด Standard error of prediction (SEP) และ Bias ค่าที่สุด

3 ผลและวิจารณ์

จากการตรวจวัดสเปกตรัมของฮิสตามีนบริสุทธิ์พบว่า มีพีคเกิดขึ้นที่เลขคลื่น 3,942, 4,304 และ 5,909 cm^{-1} (2,537, 2,323 และ 1,692 nm) (Figure 2)

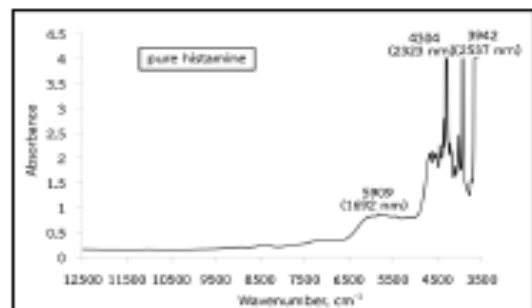


Figure 2 Average spectrum of pure histamine.

จากการตรวจวัดสเปกตรัมแบบ Reflectance ของเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ในตัวอย่างปลาทั้งตัวพบว่า พีคการดูดกลืนคลื่นเด่นชัดเกิดที่ความยาวคลื่น 1,432, 1,705 และ 1,882 nm ตามลำดับ (Figure 3) ซึ่งพีคที่กว้างในช่วง 1,350-1,500 nm และ 1,800-2,050 nm เป็นพีคของน้ำ

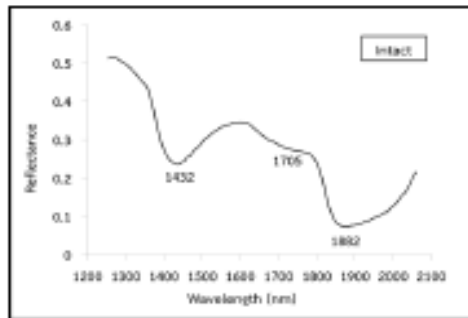


Figure 3 Average spectrum of intact fish.

ในตัวอย่างชิ้นเนื้อปลา พบว่าพีคการดูดกลืนคลื่น ไม่เด่นชัดที่ความยาวคลื่น 1,417, 1,698 และ 1,860 nm ตามลำดับ (Figure 4)

ในตัวอย่างเนื้อปลาบด พบว่าพีคการดูดกลืนคลื่นเด่นชัดเกิดที่ความยาวคลื่น 1,417, 1,690 และ 1,853 nm ตามลำดับ (Figure 5) ซึ่งพีคที่ 1,690 nm เป็นพีคของฮีสตามีน และในตัวอย่างเนื้อปลาบดที่สแกนผ่านแก้วพบว่า พีคการดูดกลืนคลื่นแสงเด่นชัดเกิดที่ความยาวคลื่น 1,410, 1,653, 1,816 และ 1,941 nm ตามลำดับ (Figure 6) ซึ่งพีคที่กว้างในช่วง 1,350-1,500 nm และ 1,900-2,050 nm เป็นพีคของน้ำ

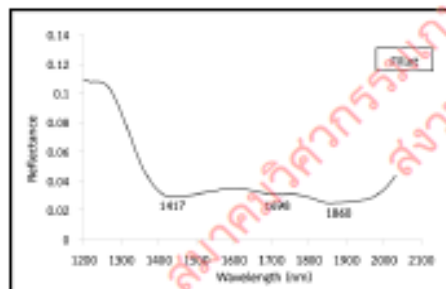


Figure 4 Average spectrum of fillet.



Figure 5 Average spectrum of minced meat.



Figure 6 Average spectrum of minced meat with glass.

จาก Table 1 แสดงทางสถิติของค่าฮีสตามีนของปลาจารีฟัน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ Calibration set และ Prediction set ค่าที่ผิดพลาดแสดงถึงปริมาณฮีสตามีนที่วัดโดย Fluorometer มีค่าน้อยมากและอยู่นอกช่วงมาตรฐานของภาควิชา

Table 2 แสดงสมรรถนะของแบบจำลอง PLS สำหรับการวัดฮีสตามีนของปลาจารีฟันในตัวอย่างชนิดต่างๆ โดยแสดงแบบจำลองที่ดีที่สุดสำหรับชุด Prediction และชุด Calibration จะเห็นได้ว่าในตัวอย่างเนื้อปลาบดและตัวอย่างเนื้อปลาบดที่สแกนผ่านแก้วแบบจำลองสามารถทำนายความแม่นยำได้เท่ากัน แสดงว่าจานแก้วไม่มีผลต่อสเปกตรัม ซึ่งจะเห็นว่าการสแกนเนื้อปลาบดได้ผลที่ดีที่สุดทั้งนี้อาจเป็นเพราะการบดเนื้อปลาทำให้เนื้อของตัวอย่างสม่ำเสมอขึ้นและน้ำบางส่วนได้ระเหยออกไปจากตัวอย่าง และจากการสแกนเนื้อปลาบดจะเห็นพีคของฮีสตามีนปรากฏดัง Figure 5 จาก Williams ระบุว่าค่า R^2 ระหว่าง 0.26-0.49 แสดงว่าความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลเชิงแสงกับค่าที่วัดโดยวิธีมาตรฐานมีความสัมพันธ์ที่ไม่ดี ความแม่นยำที่ต่ำอาจเป็นเพราะเนื้อปลามีปริมาณน้ำมาก ดังจะเห็นใน Figure 3 ในกรณีตัวอย่างปลาเต็มตัว พบพีคเด่นชัดที่เห็นพีคกว้างของน้ำที่ความยาวคลื่น 1,450 และ 1,940 nm ในกรณีตัวอย่างชิ้นเนื้อปลา (Figure 4) เกิด over absorption (ดูดกลืนคลื่นมาก) คือสัญญาณการสะท้อนกลับของคลื่นต่ำมาก ในช่วงประมาณ 0.3 และในกรณีของเนื้อปลาบดและเนื้อปลาบดที่สแกนผ่านแก้ว (Figure 5 and 6) ลักษณะของสเปกตรัมพบการดูดกลืนแสงของน้ำมาก (พีคของน้ำสูง) แต่มีการดูดกลืนคลื่นของฮีสตามีนน้อยกว่า จากเหตุผลดังกล่าวประกอบกับปริมาณที่ต่ำของฮีสตามีนในเนื้อปลา จึงทำให้ความแม่นยำในการตรวจวัดโดยใช้เทคนิคนี้ย่ำแย่เพราะเดสเพลทโรสโกปีไม่เพียงพอ

4 สรุป

จากการวิเคราะห์ผลและสร้างแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมการสะท้อนแสงของปลาจารีฟันจากการตรวจวัดเชิง

MICRO NIR Spectrometer (JDSU, USA) ช่วงความยาวคลื่น 1,150-2,150 nm กับปริมาณฮิสตามีนในเนื้อปลา

Table 1 Statistic of histamine content (ppm) in sardine of calibration set and prediction set.

Sample	Calibration set					Prediction set				
	N	Mean	Max	Min	SD	N	Mean	Max	Min	SD
Intact	233	23.364	188.190	-1.450	36.207	57	23.826	188.190	-1.250	37.276
Fillet	235	23.101	188.190	-1.450	36.075	58	24.006	154.970	-1.250	37.049
Minced meat	238	27.454	188.190	-1.450	36.052	58	24.305	154.970	-1.250	37.389
Minced meat with glass	236	23.085	188.190	-1.450	36.112	58	23.663	153.010	-1.250	36.729

Remark N= Number of scanned spectra, Mean= Average, Max= Maximum, Min= Minimum, SD= Standard deviation.

Table 2 Result of PLS modelling for histamine in sardine.

Sample (Wavelength Range, nm)	Pre treatment	PC	Calibration set			Prediction set		
			R2	SEC	Bias	R2	SEP	Bias
Intact 1255-2060	De-trending	8	0.570	23.750	-1.691e-05	0.467	27.485	-8.231
	Raw spectrum	13	0.609	22.582	-2.325e-05	0.307	30.069	-7.622
	SNV+De-trending	10	0.609	22.640	2.225e-06	0.253	30.727	-9.587
Fillet 1181-2030	SM 11 point+ Normalize Range	8	0.354	28.994	2.215e-05	0.389	30.764	-1.612
	SM 11 point+ Derivative S.Golay 2nd 5 point	6	0.358	28.908	-4.232e-06	0.318	30.289	-4.204
	SM 5 point+ Derivative S.Golay 2nd 11 point	7	0.409	27.726	7.763e-08	0.470	27.209	1.094
Minced meat 1159-2053	SM 5 point+ Normalize Max	5	0.340	29.280	4.410e-06	0.376	29.516	-0.682
Minced meat with glass 1158-2053	SM 5 point+ Derivative S.Golay 2nd 11 point	7	0.489	27.726	7.763e-08	0.470	27.209	1.094
	SM 5 point	19	0.608	22.59	-0.0002	0.136	33.954	-3.433

Remark SM= Smoothing, PC= PLS factor, SNV= Standard normal variate, R²= Coefficient of determination, SEC= Standard error of Calibration, SEP= Standard error of prediction, Bias= average error.

พบว่าแบบจำลองในการทำนายสามารถให้การทำนายปริมาณ ฮิสตามีนในเนื้อปลาสดและเนื้อปลาทกที่สมกันกว่าแก้วได้ผลดีที่สุด โดยแบบจำลองได้มาจากการพัฒนาสเปกตรัมด้วยวิธี Smoothing 5 points+Derivative S. Golay 2 nd 11 points

โดยมีค่า R^2 , SEP และ Bias คือ 0.470, 27.209 และ 1.094 ตามลำดับ โดยมี PLS factor เท่ากับ 7 แสดงว่าความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลเชิงแสงกับค่าที่วัดโดยวิธีมาตรฐานมีความสัมพันธ์ที่ไม่ดี อาจเป็นเพราะองค์ประกอบภายในของปลาที่มีน้ำมาก ทำให้เกิดการดับสีของสีตามีนซึ่งมีปริมาณน้อยมากในระดับ ppm

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณบริษัท ไทยยูเนียนฟิชเฟรช โปรดักส์ จำกัด มหาชน จังหวัดสมุทรสาคร ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการเก็บข้อมูลตัวอย่างปลาและเครื่องมือในการวัดปริมาณสีตามีน

6. เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิเคราะห์การค้าสินค้าประมงระหว่างประเทศ กองประมงต่างประเทศ กรมประมง ประมวลข้อมูลจากกรมศุลกากร 2012. การส่งออกสินค้าประมงของไทย, แหล่งข้อมูล: <http://www.fisheries.go.th/foreign/images/pdf/v07255.pdf> เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2556.

AOAC international. 2005. AOAC Official Method 977.13 and AOAC Official Method 957.07 Histamine in Seafood.

Federal Register. 1995. Decomposition and histamine—raw, frozen tuna and mahi-mahi; canned tuna; and related, Species 60, 39754–30956.

Köse S., Kakkaya N., Koral S., Tufan B., Buruk K. C., Aydın F. 2011. Commercial test kits and the determination of histamine in traditional (ethnic) fish products—evaluation against an EU accepted HPLC method, Journal of Food Chemistry 125, 1490-1497.

Williams, P. 2007. Near-infrared Technology—Getting the Best out of Light, Canada: PDK Grain.

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร (2012) สถิติการนำเข้า-ส่งออก

<http://internet1.customs.go.th/ext/Statistic/StatisticResult2550.jsp?page=1&statType=export&month=12&year=2011&productCodeCheck=Y&productCode=16041311000&countryCheck=null&country=> เข้าถึงเมื่อ 27 สิงหาคม 2555

AOAC international. (2005). *AOAC Official Method 977.13 and AOAC Official Method 957.07 Histamine in Seafood.*

Bøknæs N., Jensen K. N., Andersen C. M., Martens H. (2002) Freshness Assessment of Thawed and Chilled Cod Fillets Packed in Modified Atmosphere Using Near-infrared Spectroscopy LWT – Food Science and Technology, 35(7), 628-634

El Barbri N., Amari A., Vinaixa M., Bouchikhi B., Correig X., Llobet E. (2007) Building of a metal oxide gas sensor-based electronic nose to assess the freshness of sardines under cold storage Sensors and Actuators B: Chemical, 128(1), 235-244

Federal Register, (1995). Decomposition and histamine--raw, frozen tuna and mahi-mahi; canned tuna; and related Species; 60 (149) 39754–30956, CPG 7108.24

Food Wiki (2012) Scombrototoxin <http://www.foodnetworksolution.com/vocab/word/2039> เข้าถึงเมื่อ 27 สิงหาคม 2555

Guizani N., Al-Busaidy M. A., Al-Belushi I. M., Mothershaw A., Rahman M. S. (2005) The effect of storage temperature on histamine production and the freshness of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) Food Research International, 38(2), 215-222.

Köse S., Kaklıkkaya N., Koral S., Tufan B., Buruk K. C., Aydın F. (2011) Commercial test kits and the determination of histamine in traditional (ethnic) fish products-evaluation against an EU accepted HPLC method Food Chemistry, 125(4), 1490-1497.

Xiccato G., Trocino A., Tulli F., Tibaldi E., (2004) Prediction of chemical composition and origin identification of european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), Journal of Food Chemistry, 86(7), 275-281.

Shenk, J.s., Workman. Jr., J.J., Westerhaus, M.O.. (1986) Handbook of Near-Infrared Analysis Edition, Revised and Expanded, 431 pages.

- Williams, P. (2010) Near-infrared Technology—Getting the best out of light Edition 5.0. A short course in the practical implementation of near-infrared spectroscopy for the user. PDK Grain, Nanaimo, Canada.
- Osborne, B., Fearn, T. and Hindle, P.H. (1993) Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis. Longman Scientific and Technical, Harlow, UK.
- Workman, J., Jr. and Weyer, L., Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy. CRC Press, Taylor & Francis group, New York, USA (2008).

ภาคผนวก
สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินงานโครงการวิจัย



แบบรายงานการใช้จ่ายเงินโครงการวิจัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รายงานความก้าวหน้า ครั้งที่.....2 รอบ..12 เดือน ประจำปีงบประมาณ..2557

แหล่งงบประมาณแผ่นดิน (แบบปกติ) แหล่งเงินรายได้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การวิเคราะห์ฮิสตามีนและความสดของปลาซาร์ดีนด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (ภาษาอังกฤษ) Evaluation of Histamine in sardine fish and its freshness by near infrared spectroscopy technique

ชื่อ-สกุลหัวหน้าโครงการวิจัย/ผู้รับทุน/ผู้วิจัย (อ./ดร./ผศ./รศ./ศ.) ปานมนัส ศิริสมบุญ.....

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 เดือน เมษายน พ.ศ.2557 ถึงวันที่ 30เดือน กันยายน พ.ศ2557 .

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี - เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 เดือน ตุลาคม พ.ศ2556 . ถึงวันที่ 30เดือน กันยายน พ.ศ2557 .

ข้อมูลการรายงานค่าใช้จ่ายงบประมาณโครงการวิจัย

1. การเบิกจ่ายงบประมาณ (กรณีการจ่ายเงินถ้าจ่ายงวดเดียวให้ลบข้อที่ไม่เกี่ยวข้องออก)

- งวดที่ 1 1,129,500 บาท 17.76 % วันที่ได้รับอนุมัติให้เบิกจ่ายเงิน (ว/ด/ป) ..11 ธันวาคม 2556
- งวดที่ 2 70,000 บาท 9.60 % วันที่ได้รับอนุมัติให้เบิกจ่ายเงิน (ว/ด/ป) ..21 พฤศจิกายน 2556
- งวดที่ 3 400,000 บาท 54.88 % วันที่ได้รับอนุมัติให้เบิกจ่ายเงิน (ว/ด/ป) ..17 เมษายน 2557
- งวดที่ 4 129,500 บาท 17.76 % วันที่ได้รับอนุมัติให้เบิกจ่ายเงิน (ว/ด/ป) ..22 พฤษภาคม 2557

2. สรุปงบประมาณค่าใช้จ่ายที่ใช้ นับตั้งแต่เริ่มทำการวิจัยถึงปัจจุบัน (จำแนกตามหมวดค่าใช้จ่าย)

หมวดค่าใช้จ่าย	งบประมาณรวมทั้งโครงการ	ค่าใช้จ่าย (บาท)	คงเหลือ (หรือเกิน)
งบบุคลากร :ค่าจ้างชั่วคราว	116,800	116,800	0.00

งบดำเนินงาน			
ค่าตอบแทน	-	-	-
ค่าใช้สอย	63,000	63,000	0.00
ค่าวัสดุ	79,200	79,200	0.00
ค่าสาธารณูปโภค	-	-	-
งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์	470,000	470,000	0.00
รวม	729,000	729,000	0.00

อยู่ระหว่างการดำเนินการเคลียร์ด้านเอกสารทางการเงิน



(รศ. ดร. ปานมนัส ศิริสมบุญ)

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

30 / กันยายน / 2557

.....
 (.....)
 ลงนามเจ้าหน้าที่การเงิน/เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง
/...../.....

หมายเหตุ : นักวิจัยหรือเจ้าหน้าที่การเงินสามารถปรับหรือเปลี่ยนแปลงเพิ่มเติมข้อความได้ตามความเหมาะสมและสอดคล้องกับการดำเนินงาน อาทิเช่น นักวิจัยอยู่ระหว่างการดำเนินการเคลียร์ด้านเอกสารทางการเงิน หรือข้อความอื่นๆ

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาว ปานมนัส ศิริสมบุรณ์
(ภาษาอังกฤษ) Ms. Panmanas Sirisomboon
2. รหัสประจำตัวนักวิจัยแห่งชาติ 38-50-0171
3. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 4-1009-00107-43-1
4. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์
5. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมเบอร์โทรศัพท์และโทรสาร
หลักสูตรวิศวกรรมเกษตร สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์ 02-329800 ต่อ 5120, 5008
โทรสาร 02-33298336
6. ประวัติการศึกษา
ปริญญาตรี (พ.ศ.2519 - พ.ศ.2523) วศ.บ. (วิศวกรรมเกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ปริญญาโท (พ.ศ.2525 - พ.ศ. 2527) M.Eng. (Farm machinery and management)
Asian Institute of Technology (Thailand)
ปริญญาเอก (พ.ศ.2540 - พ.ศ.2544) Ph.D. (Agric. Science) United Graduate School of
Kagoshima University (Saga University), Japan.
6. สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
สมบัติทางกายภาพและวิศวกรรมของวัสดุเกษตรและอาหาร
สมบัติทางเนื้อสัมผัสของวัสดุเกษตรและอาหาร
การตรวจสอบคุณภาพของวัสดุเกษตรและอาหารโดยใช้ Near Infrared Spectroscopy
เทคโนโลยีการขนถ่ายวัสดุ

รางวัลงานวิจัยคุณภาพในการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่
6 ประจำปี 2552 (The 6th Conference of Kasetsart University Kamphaeng Saen
Campus)

สาขาวิศวกรรมศาสตร์

ระดับดีเด่น

ปานมนัส ศิริสมบุรณ์ และ พัชรี คล้ายมณี

เรื่อง : สมบัติเชิงกายภาพของข้าวโพดหวาน

(Physical Properties of Sweet Corn)

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานการณ์ในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัยหรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น
- 7.1 ผู้อำนวยการแผนการวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -
- 7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย
1. โครงการ เครื่องเกี่ยวนวดถั่วเหลือง (ทุนวิจัยกระทรวงวิทยาศาสตร์และสิ่งแวดล้อม)
 2. โครงการ เครื่องคัดแยกถั่วเหลืองฝักสด (ทุนวิจัยเงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล.)
 3. โครงการ การศึกษาสมบัติทางกายภาพและวิศวกรรมของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการส่งออก (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดินโดยพิจารณาโครงการโดยสภาวิจัย 496,280 บาท)
 4. โครงการเครื่องทำน้ำกะทิเข้มข้นแบบที่ระเหยที่ความดันต่ำกว่าบรรยากาศ (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 147,000 บาท ปี 2549)
 5. โครงการการออกแบบและพัฒนาเครื่องผลิตเนยแข็งขนาดเล็ก (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 152,500 บาท ปี 2550)
 6. โครงการการออกแบบและพัฒนาเครื่องทำไอศกรีมโดยใช้ระบบการทำความเย็นเบื้องต้นที่ความดันสูญญากาศ (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 67,060 บาท ปี 2551)
 7. การประเมินดัชนีคุณภาพภายในและภายนอกของส้มโอเพื่อการส่งออกที่ระยะเวลาเก็บรักษาต่าง ๆ กันด้วยวิธีไม่ทำลายโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 200,000 บาท ปี2551)
 8. โครงการเครื่องทำแห้งเนื้อมะพร้าวชูดด้วยความดันสูญญากาศเพื่อการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 100,000 บาท ปี 2552)
 9. โครงการการวิเคราะห์ค่าปริมาณเนื้ออย่างแห้งและความหนืดของน้ำยางชั้น สำหรับห้องปฏิบัติการในโรงงานด้วยวิธีไม่ทำลายโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (สกว. ฝ่ายอุตสาหกรรม ในโครงการวิจัยขนาดเล็กเรื่องยางพารา ปี 2552 132,000 บาท)
 10. โครงการเครื่องทำแห้งเนื้อมะพร้าวชูดด้วยความดันสูญญากาศร่วมกับคลื่นอินฟราเรดเพื่อการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 59,000 บาท ปี 2553)
 11. โครงการการวิเคราะห์ปริมาณเนื้ออย่างแห้งในน้ำยางสดและน้ำยางชั้นโดยการวัดที่ต้นยางพาราโดยตรงด้วยวิธีไม่ทำลายโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2553-2554โดยพิจารณาโครงการโดยสภาวิจัย 551,200 บาทและ สกอ. 192,800บาท)
 12. โครงการการวิเคราะห์ปริมาณไลโคปีนในเนื้อแดงโมด้วยเทคนิคที่ไม่ทำลายด้วยวิธีเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2554โดยพิจารณาโครงการโดยสภาวิจัย 242,500บาท)
 13. โครงการการพัฒนาเทคนิคมาตรฐานการวัดเนื้อสัมผัสข้าวสอยเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมผลิตข้าวสารและข้าวแปรรูป (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 72,000 บาท ปี 2555)

14. โครงการการตรวจสอบคุณภาพของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง โดยวิธีแบบไม่ทำลาย ด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 72,000 บาท ปี 2555)
15. โครงการเครื่องกะเทาะเปลือกผลและเปลือกเมล็ดสับุดำ (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 72,000 บาท ปี 2555)
16. โครงการการวิเคราะห์สารแกมมาอะมิโนบิวทริกแอซิดหรือสารกาบาในข้าวกล้องงอกด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2555โดยพิจารณาโครงการโดยสภาวิจัย 1,207,000บาท)
17. โครงการการจำแนกพันธุ์ข้าวหอมมะลิจากพันธุ์ปลอมปนโดยวิธีไม่ทำลายด้วยเทคนิคการประมวลผลภาพ (เงินรายได้คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 80,000 บาท ปี 2556)
18. โครงการการพัฒนาเทคนิคการวัดปริมาณน้ำมันและสมบัติเชิงความร้อนของชีวมวลโดยวิธีไม่ทำลายด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี: กรณีศึกษา เนื้อในเมล็ดสับุดำ (ประจำปี 2556 โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 270,000บาท)
19. โครงการการวิเคราะห์ปริมาณเกลือของปลาซาร์ดินในอุตสาหกรรมผลิตปลาซาร์ดินกระป๋องด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (ประจำปี 2556 ทุนพัฒนานักวิจัย กองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 924,000 บาท)
20. โครงการเทคนิคแบบไม่ทำลายสำหรับการวัดความหนืด ปริมาณความเป็นต่าง และจำนวนโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในน้ำยางพาราชั้นโดยเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี(โครงการทุนพอ. ระดับปริญญาโท ประจำปี 2556 300,000 บาท)
21. โครงการการวิเคราะห์ฮีสตามีนและความสดของปลาซาร์ดินด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี(ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2557โดยพิจารณาโครงการโดยสภาวิจัย 729,000 บาท)

7.3 งานวิจัยที่สำเร็จแล้วที่เกี่ยวข้องกับเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี :

1. โครงการวิจัย เครื่องคัดแยกถั่วเหลืองฝักสด (หัวหน้าโครงการ)

Panmanas Sirisomboon, Yuki Hashimoto and Munehiro Tanaka, 2008. Study on Non-destructive Evaluation Methods for Defect Pods for Green Soybean Processing by Near-Infrared Spectroscopy. Annual Meeting on the Japanese Society of Agricultural Machinery, 27 - 30 March 2008. Miyazaki Kanko Hotel 1-1-1 Matsuyama, Miyazaki-city, Miyazaki-prefecture, Japan.

Panmanas Sirisomboon, Yuki Hashimoto, Munehiro Tanaka. Study on non-destructive evaluation methods for defect pods for green soybean processing by near-infrared spectroscopy Journal of Food Engineering, 93 (4), 502-512 (2009)

2. โครงการวิจัย Study on the relationship between texture and pectin constituents of Japanese pear (ผู้ร่วมวิจัย)

Panmanas Sirisomboon, Munehiro Tanaka, Takayoshi Akinaga and Takayuki Kojima 2001. Evaluation

of the texture properties of Japanese pear, Journal of Texture Studies 31. 665-677. (be cited by Thompson A.K.: Fruit ripening conditions. In Fruit and vegetables-harvesting, handling and storage. 2nd editions. Blackwell Publishing. UK p. 88 (2003))

Panmanas Sirisomboon, Munehiro Tanaka, Shuji Akinaga and Takayuki Kojima 2001. Relationship between the texture and pectin constituents of Japanese pear, Journal of Texture Studies 31. 679-690.

Panmanas Sirisomboon, Munehiro Tanaka, Shuji Fujita, Takayoshi Akinaga and Takayuki Kojima 2001. A simplified method for the determination of total oxalate soluble pectin content of Japanese pear. Journal of food Composition and Analysis. 14, 14: 83-91.

Takayuki Kojima, Shuji Fujita, Munehiro Tanaka, Panmanas Sirisomboon 2004 Chapter 11, Plant Compounds and Fruit Texture: the Case of Pear. In Texture in Food, Volume 2: Solid Foods, David Kilcast Editor. Woodhead publishing limited. Cambridge, England. 1st edition p 259-294.

Panmanas Sirisomboon, Munehiro Tanaka, Shuji Fujita, Takayuki Kojima 2007. Evaluation of pectin constituents of Japanese pear by near infrared spectroscopy, J. Food Engineering 78(2): 701-707.

3. โครงการ สบู่ดำ

Panmanas Sirisomboon, Prakob Kitchaiya, Teerapong Pholpho and Wiroj Mahuttanyavanitch: Physical and mechanical properties of Jatropha curcas L. fruits, nuts and kernels, Biosystems Engineering, 2007, 97:201-207.

P. Sirisomboon, P. Kitchaiya, [Physical properties of Jatropha curcas L. kernels after heat treatments](#). Biosystems Engineering, 2009, 102 (2), 244-250.

Panmanas Sirisomboon, Jetsada Posom, Thermal properties of Jatropha curcas L. kernels. Biosystems Engineering, 113(4), 402-409.

Jetsada Posom and **Panmanas Sirisomboon**. Development of the technique for measuring of oil content and thermal properties of biomass by non-destructive method using near infrared spectroscopy: case study of Jatropha cur as kernels. RRI-MAG Congress I, the Twin Tower, Bangkok, Thailand Thailand during April 3-5, 2014 (in Thai).

4. โครงการตรวจสอบคุณภาพส้มโอโดยไม่ทำลาย

ปานมนัส ศิริสมบุญ, จริญญาพงศ์ เทียมประทีป, รวิภัทร ลากเจริญสุข, จิตรา ดั่งช้าง. 2551. คุณภาพของเนื้อส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างๆ. รายงานการประชุมทางวิชาการและเสนอผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยทักษิณครั้งที่ 18 ประจำปี 2551, การวิจัยกับการแก้ปัญหาวิกฤติชาติ 25-26 กันยายน 2551. โรงแรมกรีนเวิลด์ พาเลซ อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา หน้า 27 (6 หน้า)

ปานมนัส ศิริสมบุญ และ รวิภัทร ลากเจริญสุข. 2552. การศึกษาสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ “เกษตรนำไทย : อาหารและพลังงานทดแทนสู่สมดุอย่างยั่งยืน” เล่มที่ 7 สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และ

วิศวกรรมศาสตร์ 17-20 มีนาคม 2552 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

Panmanas Sirisomboon, Jitra Duangchang. 2009. Prediction and analysis of peel essential oil of pomelo by NIR spectroscopy. 10th International Conference of Thailand Society of Agricultural Engineering on “Innovations of Agricultural, Food and Renewable Energy Productions for Mankind” 1-3 April 2009 , Suranaree Univeristy of Technology, THAILAND.

Panmanas Sirisomboon, Warunee Thanapase, Ravipat Lapcharoensuk 2009. Identification of Different Storage Duration of Pomelo (Kao Num Peung Variety) by Near Infrared Spectroscopy using SIMCA. 10th International Conference of Thailand Society of Agricultural Engineering on “Innovations of Agricultural, Food and Renewable Energy Productions for Mankind” 1-3 April 2009 , Suranaree Univeristy of Technology, THAILAND.

Panmanas Sirisomboon, Charoonpong Theamprateep 2009. Maturity Classification of Kao Nampueng Pomelo Fruit using Visible Range Spectrum. 10th International Conference of Thailand Society of Agricultural Engineering on “Innovations of Agricultural, Food and Renewable Energy Productions for Mankind” 1-3 April 2009 , Suranaree Univeristy of Technology, THAILAND.

Panmanas Sirisomboon, Warunee Thanapase, Ravipat Lapcharoensuk. Identification of Different Storage Duration of Pomelo (Kao Num Peung Variety) by Near Infrared Spectroscopy using PLS-DA. The 3rd Asian Near Infrared Symposium (ANS2012) Amari Watergate Hotel, Bangkok, Thailand; 14-18 May 2012.

P. Sirisomboon and C. Theamprateep, Physicochemical and Textural Properties of Pomelo (*Citrus maxima* Merr. cv. Kao Num Peung) at Preharvest, Postharvest and During the Commercial Harvest Period. *The Philippine Agricultural Scientist*, 95 (1), 43-52 (2012).

P. Sirisomboon, R. Lapchareonsuk, Evaluation of the physicochemical and texture properties of pomelo fruit following storage. *Fruits*, 67 (6), 399-414 (2012).

Panmanas Sirisomboon, Warunee Thanapase, Ravipat Lapcharoensuk. Identification of Different Storage Duration of Pomelo (Kao Num Peung Variety) by Near Infrared Spectroscopy using PLS-DA. The 3rd Asian Near Infrared Symposium (ANS2012) Amari Watergate Hotel, Bangkok, Thailand; 14-18 May 2012.

5. โครงการขยายพารา

ปานมนัส ศิริสมบุญ และรวีพันธ์ ชาวบ้านกร่าง 2552. สมบัติเชิงความหนืดของน้ำยางชั้นที่อายุการเก็บรักษาต่าง ๆ. การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 6, 8-9 ธันวาคม 2552. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม

ปานมนัส ศิริสมบุญ, และ อภิดุลย์ แก้วก๊บบทอง, 2553. ผลของอายุการเก็บรักษาน้ำยางข้นต่อปริมาณเนื้อยางแห้ง. รายงานการประชุมทางวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 11. 6-7 พฤษภาคม 2553. นวัตกรรมทางวิศวกรรมเกษตรเพื่อเศรษฐกิจพอเพียงและชุมชนเข้มแข็ง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. หน้า 382-385.

Panmanas SIRISOMBOON and Apidul KEAWKUPTONG. Evaluation of dry rubber content of concentrated latex by Near-infrared Spectroscopy, The 12th Annual Conference of Thai Society of Agricultural Engineering “International Conference on Agricultural Engineering” (Novelty, Clean and Sustainable) Chon-Chan Pattaya Resort, Chonburi, Thailand; 31 March-1 April 2011, p 49-1 -49-5.

ปานมนัส ศิริสมบุญ, รวิพันธ์ ชาวบ้านกร่างและ อภิดุลย์ แก้วก๊บบทอง, 2554. การวิเคราะห์ค่าความหนืดและปริมาณเนื้อยางแห้งของน้ำยางสดและน้ำยางข้นสำหรับห้องปฏิบัติการในโรงงานด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรด สเปคโตรสโคปี วิจัยยางพารา เล่มที่ 6, 297-308.

Panmanas Sirisomboon, Rawiphan Chowbankrang, Phil Williams, Evaluation of apparent viscosity of Para rubber latex by diffuse reflection near infrared spectroscopy. Applied Spectroscopy, 66(5), 595-599 (2012).

Tetsuya Inagaki, Panmanas Sirisomboon, Chang Liu, Warunee Thanapase, and Satoru Tsuchikawa, High accuracy in-line prediction and feasibility of on-site nondestructive estimation of Para rubber quality by spectroscopic methods. Journal of Wood Science, 59(2), 119-126, 2013.

P. Sirisomboon, A. Kaewkuptong and P. Williams, Feasibility study on the evaluation of the dry rubber content of field and concentrated latex of Para rubber by diffuse reflectance near infrared spectroscopy. J. Near Infrared Spectrosc. 21, 81–88 (2013).

Aphichart Sompiw and **Panmanas Sirisomboon**. Nondestructive evaluation technique for viscosity, alkalinity and potassium hydroxide number in concentrated para rubber latex by near infrared spectroscopy. RRI-MAG Congress I, the Twin Tower, Bangkok, Thailand during April 3-5, 2014 (in Thai).

Aphichart Sompiw and **Panmanas Sirisomboon**. Evaluation of Para rubber latex viscosity using shortwave near infrared spectroscopy. The 7th TSAE International conference, Krungsri River Hotel, Ayudhya, Thailand during April 2-4, 2014.

6. โครงการข้าว

Areerat Imsil, Ronnarit Rittiron, **Panmanas Sirisomboon** and Varipat Areekul, Classification of Hom Mali rice with different degrees of milling based on physicochemical measurements by

principal component analysis. Kasetsart Journal: Natural Science, 45(5), 863-873 (2011)

Somchai Kladsuk, **Panmanas Sirisomboon**, Selection of cooking method for cooked rice texture determination and sensory panel training in research work. International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology (ICEAST - 2012) November 21 - 24, 2012, SwissÔtel Le Concorde, Bangkok, Thailand (Paper ID 00136)

Nuttagorn Sonsanguan, **Panmanas Sirisomboon**, Jiraporn Sripinyowanich Jongyingcharoen, Selection of objective test for cooked rice texture determination in research and industrial work. International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology (ICEAST - 2012) November 21 - 24, 2012, SwissÔtel Le Concorde, Bangkok, Thailand (Paper ID 00137)

C. Dachoupan Sirisomboon, R. Putthang, P. Sirisomboon, Application of near infrared spectroscopy to detect aflatoxigenic fungal contamination in rice. Food Control, 33(1), 207-214, 2013.

Ravipat Lapcharoensuk and **Panmanas Sirisomboon**. Some physical properties of rice in rice improvement plant. The 7th TSAE International conference, Krungsri River Hotel, Ayudhya, Thailand during April 2-4, 2014.

Kannapot Kaewson and Panmanas Sirisomboon. Feasibility study for evaluation of gamma-aminobutyric acid (GABA) content of germinated brown rice by visible and near infrared spectroscopy. The 7th TSAE International conference, Krungsri River Hotel, Ayudhya, Thailand during April 2-4, 2014.

K. Kaewson and Panmanas Sirisomboon, Determination of the gamma-aminobutyric acid content of germinated brown rice by near infrared spectroscopy, J. Near Infrared Spectrosc. 22(1), 45-54 (2014).

7. โครงการมะเขือเทศ

Panmanas Sirisomboon, Munehiro Tanaka and Takayuki Kojima, 2008. Intensive Evaluation of Tomato 'Momotaro' Textural Properties. Annual Meeting on the Japanese Society of Agricultural Machinery, 27 - 30 March 2008. Miyazaki Kanko Hotel 1-1-1 Matsuyama, Miyazaki-city, Miyazaki-prefecture, Japan

Panmanas Sirisomboon, Munehiro Tanaka, Takayuki Kojima, Evaluation of tomato textural mechanical properties. Journal of Food Engineering, 111(4), 618-624, 2012.

Panmanas Sirisomboon, Munehiro Tanaka, Takayuki Kojima, Phil Williams, Nondestructive

Estimation of Maturity and Textural Properties on Tomato ‘Momotaro’ by Near Infrared Spectroscopy. Journal of Food Engineering, 112(3), 218-226, 2012.

8. ทูเรียน

Phalanon Onsawai and **Panmanas Sirisomboon**. Color and soluble solids content of Durian pulp at different maturity stages. The 7th TSAE International conference, Krungsri River Hotel, Ayudhya, Thailand during April 2-4, 2014.

9. แป้งมันสำปะหลัง

Wantanee Phoonphatthanachai and **Panmanas Sirisomboon**. Feasibility study for the evaluation of moisture content in tapioca starch cake by near Infrared spectroscopy. The 3rd International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology (ICEAST 2013), The Sukosol, Bangkok, Thailand during August 21-24, 2013.

10. น้ำแกงสำเร็จรูป

Natcha Thitibunjan and **Panmanas Sirisomboon**. Feasibility study on evaluation of salt content of Massaman curry soup using near infrared spectroscopy. The 7th TSAE International conference, Krungsri River Hotel, Ayudhya, Thailand during April 2-4, 2014.

Jutharat Nawayon and **Panmanas Sirisomboon**. Feasibility study on evaluation of total solids of Massaman curry soup using near infrared spectroscopy. The 7th TSAE International conference, Krungsri River Hotel, Ayudhya, Thailand during April 2-4, 2014.

11. อื่นๆ

Panmanas Sirisomboon, Suppakit Howwimanporn 2009. Determination of soluble solids of honey by near infrared spectroscopy. 10th International Conference of Thailand Society of Agricultural Engineering on “Innovations of Agricultural, Food and Renewable Energy Productions for Mankind” 1-3 April 2009 , Suranaree Univeristy of Technology, THAILAND.

P. Sirisomboon, W. Thanapase, S. Kasemsumran and S. Howwimanporn 2009. Identification of honey authenticity by NIRS. The 14th International Conference on Near Infrared Spectroscopy. NIR 2009 Breaking the Dawn. 7-16 Novemebr 2009, Amari Watergate Hotel, Bangkok, Thailand.

Panmanas SIRISOMBOON, Sarid CHURCHART. Prediction of soluble solids content in cut watermelons using near infrared Spectroscopy, The 12th Annual Conference of Thai Society of Agricultural Engineering “International Conference on Agricultural Engineering” (Novelty, Clean and Sustainable) Chon-Chan Pattaya Resort, Chonburi, Thailand; 31 March-1 April 2011, p 48-1 -48-5.

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยคล่องแล้วประมาณ ร้อยละเท่าใด

ชื่อข้อเสนอการวิจัย	ปีที่รับทุน	ระยะเวลา (ปี)	วิจัยลุล่วงแล้ว (ร้อยละ)	แหล่งทุน
เทคนิคแบบไม่ทำลายสำหรับการวัดความหนืด ปริมาณความเป็นต่าง และจำนวนโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ในน้ำยาฆ่าเชื้อราชั้นโดยเนียร์ อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	2556	1	95	ทุน พวอ. (สกว.) ระดับปริญญาโท ประจำปี 2556
การวิเคราะห์ปริมาณเกลือของปลา ชาร์ดินในอุตสาหกรรมผลิตปลา ชาร์ดินกระป๋องด้วยเทคนิคเนียร์ อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	2556	2	95	ทุนพัฒนานักวิจัยกองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
การวิเคราะห์ฮิสตามีนและความสดของปลาชาร์ดินด้วยเทคนิคเนียร์ อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	2557	1	95	งบประมาณประจำปี 2557 (วช)

ผู้ร่วมวิจัย

ชื่อ-สกุล นางพิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.บ.	พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2533
วท.ม.	พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2539
Doctor of Philosophy	Food Science	University Florida, USA	2542

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ..

Thermal processing of Food

Design, implementation and testing of computer program in the area of Food Engineering

รางวัลด้านวิชาการ/ด้านวิจัย/งานสร้างสรรค์ (ด้านศิลปะ หรืออื่น ๆ) ที่ได้รับ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	สถาบันที่ให้
2540	การประกวดสิ่งประดิษฐ์คิดค้นทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสาขาเครื่องจักรกลเกษตรและสิ่งแวดล้อม	กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมร่วมกับมูลนิธิธนาคารกรุงเทพ

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2550	การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำพริกแกงแดง บรรจุกระป๋องและแพ็คเกจคุณภาพสูง	ศูนย์พันธุวิศวกรรมและ เทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) สำนักงานพัฒนา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งชาติ (สวทช.)
2551	การพัฒนาโปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อควบคุม ระบบการนึ่งปลาทูน่า เพื่อเพิ่มผลผลิตและ คุณภาพปลาทูน่ากระป๋อง	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ร่วมกับ บ.ฟู้ด แมชชีนเนอร์รี่ จำกัด
2552-2554	การพัฒนาโปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อควบคุม การละลายและการนึ่งปลาทูน่าเพื่อเพิ่มผลผลิต และคุณภาพปลาทูน่ากระป๋อง	สำนักงานกองทุนสนับสนุน การวิจัย (สกว.) ร่วมกับ บ.ฟู้ด แมชชีนเนอร์รี่ จำกัด

๑.๒ ผลงาน

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

- **Ponchaloeampong, P.**, Narkrugsa, W., O.BalAban M., Prinyawiwatkul, W. 2005. Effect of Processing Conditions on Yield and Color of Albacore Tuna. In: Proceedings of the 2nd International Conference on Innovations in Food Processing Technology and Engineering.
- **Ponchaloeampong, P.**, Narkrugsa, W., O.BalAban M., Prinyawiwatkul, W. 2005. Effect of Processing Conditions on Yield and Color of Albacore Tuna. Journal Food and Beverage Asia
- Pornchaloempong, P., Balaban, M. O., Chau, K.V. 2001. Thermal Processing Optimization of Quality Retention in a Conical Shape. In: "Proceedings of the 8th International Congress on Engineering and Food". J. Welti-Chanes, G.V. Barbosa-Canovas and J.M. Aguilera, Eds. Technomic Publishing Co., Lancaster, PA. p: 676-681.
- Pornchaloempong, P., Balaban, M. O., Chau, K.V. 2001. Simulation of Conduction Heating in Conical Shapes. In : "Proceedings of the 8th International Congress on Engineering and Food". J. Welti-Chanes, G.V. Barbosa-Canovas and J.M. Aguilera, Eds. Technomic Publishing Co., Lancaster, PA. p: 671-675.
- Pornchaloempong, P., Narkrugsa, W., Chrdareekit K., Piyaaphantawong K., and Peerajit S. 2002. Proceeding of the International Conference on Innovations in Food Processing Technology and Engineering.

- Porchaloempong, P., Balaban, M.O., Chau, K.V., and Teixeira, A.A. 2003. Optimization of quality retention in conduction-heating foods of conical shape. Journal of food process engineering. Vol25 (6) 557-570,.
- **Porchaloempong, P.,** Balaban, M.O., Chau, K.V., and Teixeira, A.A. 2003. Numerical simulation of conduction heating in conically shaped bodies. Journal of food process engineering. Vol25 (6),539-555.
- ปานมนัส ศิริสมบุญรณ์ **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** และ สาทิป รัตนภาสกร 2537 , สมบัติทางกายภาพและวิศวกรรมของชีววัสดุ สำนักพิมพ์คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล. 121 หน้า
- **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** นาขวัญ สายเสน บงกชธรรม พบหิรัญโสภณ และ วาริรัตน์ ทรงคำ 2544 อุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อนแบบแผ่นในอุตสาหกรรมอาหาร วารสารอาหาร ปีที่ 31 ฉบับที่ 1 หน้า 85 – 93.
- สาทิป รัตนภาสกร และ **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** 2545. การออกแบบและพัฒนาเครื่องนวดพริกไทย วารสารสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ปีที่ 8 ฉบับที่ 1 หน้า 9-13
- **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** ดำเกิง โดประเสริฐพงศ์ วรินทร์ วิโรจน์วรานุรักษ์ อรนุช พันธุ์ไม้สี และ วันชัย สุทธิหนู 2545 โปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อหาเวลาในการฆ่าเชื้ออาหารกระป๋อง วิศวกรรมสารลาดกระบัง ปีที่ 19 ฉบับที่ 2
- มธุรดา จิโนรส **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** และ นวภัตรา พิธิยากุล 2545 โปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อคำนวณภาระห้องเย็นสำหรับเก็บผักผลไม้ในประเทศไทย วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 33, หน้า 149 -147 ฉบับที่ 4 – 5 กรกฎาคม – ตุลาคม 2545
- Sirisomboon, P., Boonmung, S., **Pornchaloempong P.,** and Pithuncharurnlap, M. A Preliminary Study on Classification of Mango Maturity by Compression Test. International Journal of Food Properties, 11: 206-212 (2008)
- P. Sirisomboon, **P. Pornchaloempong.** Instrumental textural properties of mango (cv Nam Doc mai) at commercial harvesting time. International Journal of Food Properties, 14, 441-449 (2011).

การเสนอผลงานวิชาการ

- ปานมนัส ศิริสมบุญรณ์ ชีรนุช ร่มโพธิ์ภักดี และ**พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** 2545 เครื่องคัดแยกถั่วเหลืองฝักสด การประชุมวิชาการวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ประจำปี 2545 วันที่ 23-24 พฤษภาคม 2545 จังหวัดเชียงใหม่
- ณิชชา จัตถรมชื่น ธนา ศิริรัตนสุวรรณ **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** เอกสิทธิ์ ศรีธรรม โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการทดสอบความแตกต่าง การประชุมวิชาการนวัตกรรมทางวิศวกรรมเกษตรเพื่อเพิ่มผลผลิต สมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 5 ประจำปี 2547 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ, หน้า 397-403, 26-27 เมษายน 2547.
- ปานมนัส ศิริสมบุญรณ์ **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** และชีรนุช ร่มโพธิ์ภักดี สมบัติทางกายภาพของถั่วเหลืองฝักสด การประชุมวิชาการนวัตกรรมทางวิศวกรรมเกษตรเพื่อเพิ่มผลผลิต สมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ครั้งที่

5 ประจำปี 2547 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ, หน้า 360-367, 26-27 เมษายน 2547.

- Sirisomboonl, P., **Ponchaloeampong, P.**, Romphophak, T., 2005. Physical properties Of Green Soybean : Criteria For Sorting. In: Proceedings of the 2nd International Conference on Innovations in Food Processing Technology and Engineering.
- Chomchai, K., **Ponchaloeampong, P.**, Chalidabhongse, T. 2005. Computer-Assited Sensory Evaluation for Food Industry. In: Proceedings of the 2nd International Conference on Innovations in Food Processing Technology and Engineering.
- กาญจนา เหล่าศรีวิจิตร จิรภา สีมะเสถียรโสภณ วรางคณา ณ พัทลุง **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** และ เอกสิทธิ์ ศรีธรรม. 2548. จลนพลศาสตร์การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสระหว่างการลวกของแครอต 2 สายพันธุ์. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 วันที่ 26-27 เมษายน 2548 โรงแรมเวลคัมจอมเทียนบีช พัทยา ชลบุรี.
- จิรภา วิทยาภักษ์ และ **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** 2548. พจนานุกรมวิศวกรรมอาหาร (อังกฤษ-ไทย). การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 7 วันที่ 22-24 มิถุนายน 2548 ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพฯ.
- นวรัตน์ วงษ์สมัย นันทินัย ถนอมเลิศชัย สุริยะ เบี้ยอยู่ **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** และ เอกสิทธิ์ ศรีธรรม. 2548. ผลของสารให้ความคงตัวต่อคุณสมบัติทางรีโอโลยีและคุณภาพของไอศกรีมกะทิ. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 7 วันที่ 22-24 มิถุนายน 2548 ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพฯ.
- กนกวรรณ บัวจันทร์ กฤษชัย ถนอมสุข ณีฐฎาพร จิระกิจกุล **พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์** และ เอกสิทธิ์ ศรีธรรม. 2548. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 7 วันที่ 22-24 มิถุนายน 2548 ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพฯ.

ผลงานสิทธิบัตร/สิ่งประดิษฐ์/งานสร้างสรรค์ (ศิลปะ หรือ อื่น ๆ)

แบบจำลองโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ควบคุมการละลายและการนึ่งปลาทุ่นา สิทธิบัตรเลขที่.....

