

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด ในน้ำมันดิบด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectrometry (FTIR)

ปารัช ขุนพรม สมชาย วงศ์สมุทร ทศนีย์ แว่นแก้ว อุทร เป้าช้างเผือก ลำริ ผสม

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ทำขึ้นเพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด ในน้ำมันดิบด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectrometry อ้างอิงวิธี ISO 9622:2013/IDF 141:2013 โดยทำการทดสอบตัวอย่างเพื่อทำการเก็บข้อมูลในการสร้าง Calibration curve และทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี โดยการทดสอบความเป็นเส้นตรงของน้ำมันดิบที่ผ่านการเจือจางแต่ ละระดับพบว่า Coefficient of determination (R^2) ของค่าไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.999 0.999 และ 0.99 และมีค่า r ratio เท่ากับ 0.95% 1.58% และ 0.97% ซึ่งผ่านตามเกณฑ์การ ยอมรับ ทำการทดสอบความแม่นยำของวิธี(accuracy) โดยการวิเคราะห์สารมาตรฐานอ้างอิง พบว่า ค่า % Recovery ของไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 100.29% 99.77% และ 100.39% ทดสอบความเที่ยงของวิธี (precision) ประเมินความเที่ยงแบบการทวนซ้ำได้ (repeatability) โดย เปรียบเทียบค่า %RSD ของการวิเคราะห์ซ้ำกับค่า Predicted Horwitz RSD (%PRSD) พบว่าผ่าน เกณฑ์การยอมรับ ประเมินความเที่ยงแบบการทำซ้ำได้ (reproducibility) จากค่า HORRAT พบว่า ผ่านเกณฑ์การยอมรับ และการทดสอบ carry-over ของไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.57% 0.61% และ 0.42% ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าวิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็ง ทั้งหมด ในน้ำมันดิบด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectrometry มีความถูกต้อง แม่นยำ สามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์น้ำมันโคดิบได้ต่อไป

สำคัญ: โปรตีน, ไขมัน, ของแข็งทั้งหมด, ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพนมและผลิตภัณฑ์นม สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

Method validation of Determination of fat, protein and total solids in raw milk

By Fourier transform infrared spectrometry technique

Paruch Kunprom Somchai Wongsamoot Tasanee Waenkaew
Uthorn Baochangpheuk Sumree Phasom

Abstract

The aim of this study was to validate Fourier transform infrared spectrometry technique for the assessment of quality parameters in raw cow's milk: fat, protein, and total solids according to ISO 9622:2013. The assessment was based on calibration adjustment with local sample data. The validation parameters included linearity, accuracy, repeatability, reproducibility, and carry over. The coefficient of determination (R^2) was 0.999%. The r ratio calculated for the fat, protein and total solids were 0.95% 1.58% and 0.97% respectively. Accuracy of the method was evaluated using reference material samples. The recovery calculated for the fat, protein and total solid were 100.29%, 99.77% and 100.39% respectively. The repeatability and reproducibility calculated as the Horwitz and HORRAT for all parameters were within the criterion limits. The data obtained for carry-over were 0.61% for fat, 0.57% for protein and 0.42% for total solids. Based on the obtained results were indicated that validate method was suitable for the determination of fat, protein, and total solids in raw cow's milk.

Keywords: method validation, fat, protein, total solids, Fourier transform infrared spectrometry

Milk and Milk Products Quality Control Division, Bureau of Quality Control of Livestock
Products, Department of Livestock Development

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด ในน้ำมันดิบด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectrometry (FTIR)

สมชาย วงศ์สมุทร ปาริชาต ชุนพรม ทศนีย์ แว่นแก้ว อุทร เป้าช้างเผือก ลำริ ผสม

บทนำ

หลักการ Fourier transform infrared spectrometry (FTIR) เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการจำแนกประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และพันธะเคมีในโมเลกุล รวมถึงสามารถบอกถึงปริมาณองค์ประกอบที่มีอยู่ในโมเลกุลของสารผสม โดยทำการตรวจวัดการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของตัวอย่างที่มีความถี่ต่างๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของแต่ละพันธะ ข้อมูลนี้จะถูกประมวลโดยคอมพิวเตอร์โดยการใส่สมการเชิงอนุพันธ์ที่เรียกว่า Fourier Transform ซึ่งจะคำนวณพลังงานของแต่ละความยาวคลื่นและแปรผลออกมาเป็นสเปกตรัม สำหรับเทคนิค FTIR ได้รับความนิยมในการใช้ตรวจคุณภาพน้ำมันเป็นอย่างมากเนื่องจากสามารถให้ผลการตรวจวิเคราะห์ได้ค่อนข้างถูกต้องและได้ผลรวดเร็ว ทั้งนี้วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันด้วยเทคนิค FTIR จัดเป็นวิธีการวิเคราะห์แบบ secondary method ซึ่งจำเป็นต้องสอบเทียบ (calibrated) โดยใช้ค่าที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีอ้างอิงมาตรฐาน (Reference method) เพื่อให้เหมาะสมกับการใช้งาน ซึ่งวิธีอ้างอิงที่แนะนำให้ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ไขมัน คือ วิธี Mojonnier ether extraction สำหรับโปรตีน วิธี Kjeldahl total protein หรือ True protein และสำหรับของแข็งทั้งหมด วิธี Forced air oven [1]ตัวอย่างที่ใช้สำหรับการสอบเทียบนั้นควรเป็นตัวอย่างธรรมชาติ มีค่าครอบคลุมช่วงกว้าง ได้จากหลากหลายฤดูกาล ภูมิภาค และจากหลายสายพันธุ์[3]เครื่องมืออัตโนมัติส่วนใหญ่ได้ทำการเก็บข้อมูลและทำการสอบเทียบเครื่องให้พร้อมใช้งาน ทั้งนี้มีการแนะนำให้สามารถทำการปรับการสอบเทียบ (Calibration Adjustment) เพิ่มเติมโดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในพื้นที่ โดยจำนวนตัวอย่างที่ใช้ควรมีไม่น้อยกว่า 20 ตัวอย่าง เพื่อให้ค่าที่วิเคราะห์ได้มีความใกล้เคียงตัวอย่างจริงในพื้นที่ [2]

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพนมและผลิตภัณฑ์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ได้ทำการเก็บตัวอย่างในพื้นที่เขต 1 จำนวน 40 ตัวอย่างและได้ทำการส่งตัวอย่างไปทดสอบยังห้องปฏิบัติการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อนำผลตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวมาทำการปรับเทียบ (Calibration Adjustment) กับเครื่องมืออัตโนมัติที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความใกล้เคียงกับคุณภาพน้ำมันภายในพื้นที่จริง และภายหลังจาก

การเปรียบเทียบได้ทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด ใน น้ำนมดิบ

1.วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมดในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค Fourier transform Infrared spectrometry (FTIR) เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นและยอมรับในวิธีวิเคราะห์

2.ขอบข่าย

ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมดในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค Fourier transform Infrared spectrometry (FTIR)

3. ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้วิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมดในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค Fourier transform Infrared spectrometry (FTIR) ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ

3.2 ทำให้เกิดความเชื่อมั่นในวิธีวิเคราะห์และใช้เป็นข้อมูลในการขอรับรอง ความสามารถห้องปฏิบัติการตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025

4.วิธีดำเนินการ

4.1 เครื่องมือ

4.1.1 MilkoScan FT+ (Foss Analytical, Denmark)

4.1.2 Conveyor 4000

4.1.3 Water bath อุณหภูมิ 40 ± 2 องศาเซลเซียส

4.2 สารเคมี

MSC Zero, MSC Wash ซึ่งเป็นสารเคมีเฉพาะจากทางบริษัทผู้ผลิตเครื่องมือ

4.3 สารมาตรฐาน

สารอ้างอิงมาตรฐาน (Reference Material) ยี่ห้อ Muva Kempten GmbH

4.4 ขั้นตอนการทดสอบ

4.4.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างสำหรับการทำ Calibration Adjustment และการทวนสอบสมการ ทดสอบตัวอย่างน้ำมัน 40 ตัวอย่าง โดยทำ 2 วิธี ประกอบด้วย 1.) ทดสอบด้วยเทคนิค FTIR โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ 2.) จัดส่งตัวอย่างไปทดสอบยังห้องปฏิบัติการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งทดสอบด้วยวิธีอ้างอิง (Reference method) โดยทดสอบไขมันด้วยวิธี ISO 1211/IDF 1:2010 ทดสอบโปรตีนด้วยวิธี AOAC (2012) 991.20 และทดสอบของแข็งทั้งหมดด้วยวิธี ISO 6731/IDF 21:2010 เมื่อได้ผลการทดสอบจากวิธีอ้างอิงแล้วให้นำค่าที่ได้กรอกเข้าสู่โปรแกรมของเครื่องอัตโนมัติเพื่อทำการคำนวณสมการของเครื่องได้เป็น Calibration curve ที่ใช้สำหรับการทดสอบ

เมื่อทำการปรับ Calibration curve จากเครื่องแล้วนำผลของ Mean Difference (MD) และ Standard Deviation of the Difference (SDD) ระหว่างค่าที่ได้จากเครื่องและวิธีอ้างอิงมาคำนวณ มีเกณฑ์ดังนี้ ค่า MD และ SDD ของการทดสอบ Fat, Protein ต้องมีค่าไม่เกิน 0.05% และ 0.06% ตามลำดับ ค่า MD และ SDD ของการทดสอบ Total solids ต้องมีค่าไม่เกิน 0.09% และ 0.12% ตามลำดับ

4.4.2 การทดสอบหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range) ทำการทดสอบตัวอย่างที่ได้จากการเตรียม Stock ของน้ำมันที่มีส่วนประกอบ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด 8% 5.5% และ 17% ตามลำดับ นำ Stock ที่เตรียมได้แต่ละพารามิเตอร์มาเจือจางด้วยน้ำ Deionize ที่ระดับความเข้มข้นทั้งหมด 11 ระดับตามตารางที่ 1 ระดับละ 3 ซ้ำ และทำการตรวจวิเคราะห์ นำผลที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าแต่ละพารามิเตอร์ที่วัดได้ โดยให้ค่าที่วัดได้จากเครื่อง (แกน Y) กับค่าที่ได้จากการคำนวณ (แกน X) คำนวณค่า Coefficient of determination (R^2) กำหนดเกณฑ์การยอมรับ คือ $R^2 \geq 0.990$ และคำนวณค่า r ratio เกณฑ์การยอมรับ r ratio < 2%

ตารางที่ 1 ระดับความเข้มข้นต่างๆที่ใช้ในการทดสอบหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) [3]

Part of Stock solution	Part of dilution	Relative concentration
100	0	1.0
90	10	0.9
80	20	0.8
70	30	0.7
60	40	0.6
50	50	0.5
40	60	0.4
30	70	0.3
20	80	0.2
10	90	0.1
0	100	0

4.4.3 ทดสอบความแม่นยำของวิธี (accuracy) ทำการทดสอบตัวอย่างสารอ้างอิงมาตรฐานทั้งหมด 7 ซ้ำ มาคำนวณ % Recovery เกณฑ์การยอมรับ %Recovery ที่ความเข้มข้น $\geq 1\%$ ถึง $< 10\% = 97-103\%$ และ ที่ความเข้มข้น $\geq 10\%$ ถึง $\leq 100\% = 98-102\%$

4.4.4 ทดสอบความเที่ยงของวิธี (precision) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันหาค่า ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด จำนวน 3 ระดับ ระดับละ 10 ซ้ำ คำนวณหาค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ และหาค่า SD ของแต่ละตัวอย่างแล้วคำนวณ %RSD ของการวิเคราะห์ซ้ำ ประเมินผลตามสมการ Predicted Horwitz RSD (%PRSD) เกณฑ์การยอมรับ คือ ค่า %RSD จากการทดสอบต้องน้อยกว่า %PRSD และคำนวณหาค่า HORRAT โดย เกณฑ์การยอมรับ HORRAT น้อยกว่า 2

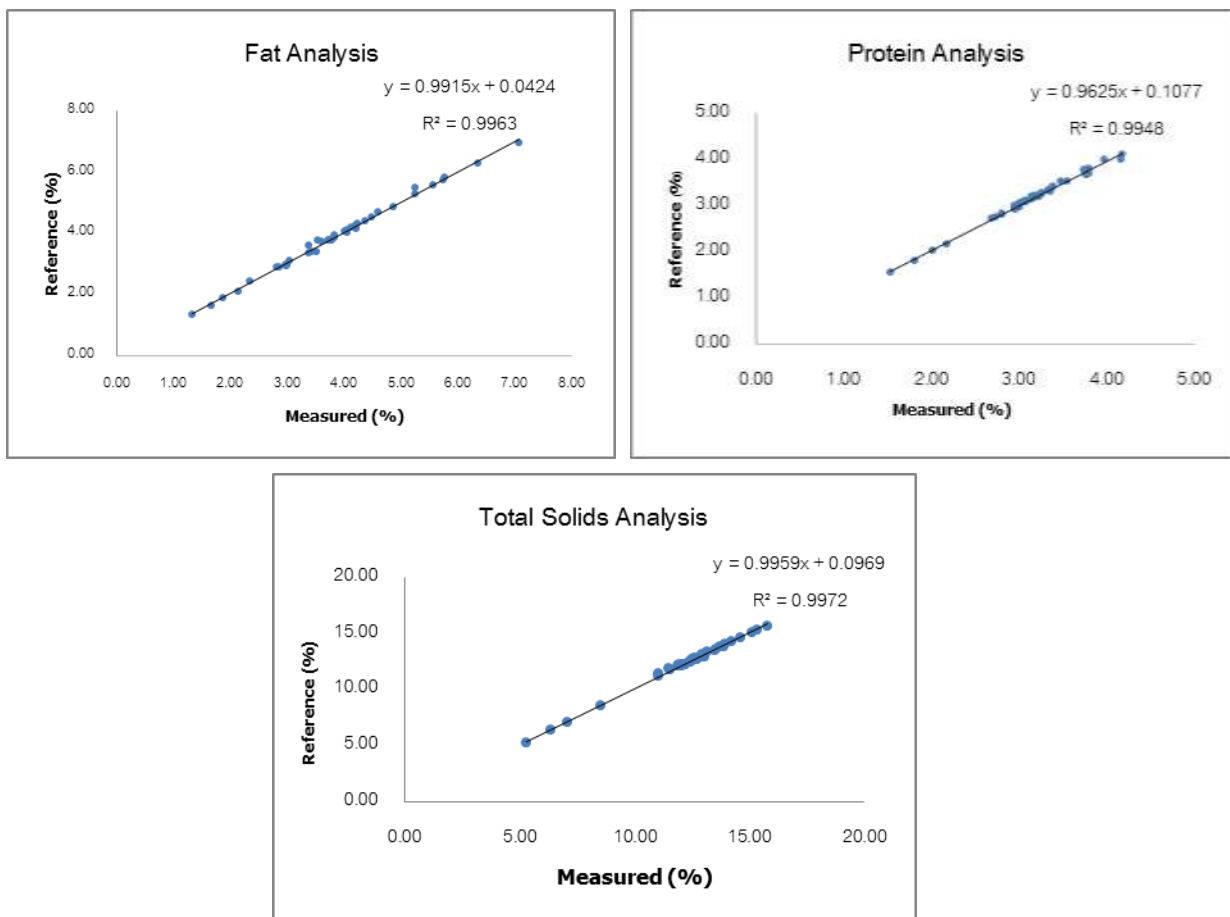
4.4.5 Carry-over ทำการทดสอบตัวอย่างจำนวน 20 ตัวอย่าง โดยเรียงลำดับตัวอย่าง คือ ตัวอย่างน้ำ 2 ตัวอย่าง ตัวอย่างน้ำมัน 2 ตัวอย่าง เรียงสลับกันให้ครบ 20 ตัวอย่าง และคำนวณค่า Carry-over (Ew) โดยเกณฑ์การยอมรับ $Ew \leq 1\%$

5. ผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์ตัวอย่างสำหรับ Calibration curve และการทวนสอบสมการ

จากการทดสอบตัวอย่างน้ำมัน 40 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค FTIR และวิธีอ้างอิง (Reference method) นำผลที่ได้ทำการปรับ Calibration curve และสร้างกราฟเส้นตรงระหว่างค่าแต่ละพารามิเตอร์ที่วัดได้ คำนวณค่า Coefficient of determination (R^2) พบว่าค่า R^2 ของไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.996 0.994 และ 0.997 ตามลำดับ (กราฟที่ 1)

ค่า Mean Difference (MD) และ Standard Deviation of the Difference (SDD) ระหว่างค่าที่ได้จากเครื่องและวิธีอ้างอิง (Reference method) (ตารางที่2) พบมีค่า MD และ SDD ของแต่ละพารามิเตอร์ผ่านเกณฑ์กำหนด



กราฟที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR และตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีอ้างอิง

ตารางที่ 2 แสดงค่า Mean Difference (MD) และ Standard Deviation of the Difference (SDD)

Parameter	Mean Difference (MD)	Standard Diviation of the Difference (SDD)
%Fat	0.04	0.02
%Protein	0.01	0.01
%Total solids	0.07	0.05

2. การทดสอบหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range)

จากทดสอบตัวอย่างทั้งหมด 11 ระดับ ระดับละ 3 ซ้ำ และทำการตรวจวิเคราะห์ นำผลที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าแต่ละพารามิเตอร์ที่วัดได้ ค่า Coefficient of determination (R^2) ของไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.999 0.999 และ 0.999 ตามลำดับ และมีค่าการยอมรับของเส้นกราฟ (r ratio) เท่ากับ 0.95% 1.58% และ 0.97% (ตารางที่ 3) ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับคือ $R^2 \geq 0.990$ และคำนวณค่า r ratio เกณฑ์การยอมรับ r ratio < 2% [3]

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบที่ระดับความเจือจางต่างๆ ระดับละ 3 ซ้ำ

No.	%FAT			%Protein			%Total Solids		
	Mean	Calculations	Residuals	Mean	Calculations	Residuals	Mean	Calculations	Residuals
1	8.03	8.03	-0.028	5.53	5.53	-0.053	16.25	16.25	0
2	7.23	7.23	-0.025	5.03	4.98	-0.003	14.67	14.63	0.003
3	6.50	6.42	0.048	4.49	4.42	0.007	13.18	13.00	0.096
4	5.67	5.62	0.022	3.95	3.87	0.017	11.47	11.38	-0.031
5	4.83	4.82	-0.015	3.38	3.32	-0.003	9.86	9.75	-0.058
6	4.07	4.02	0.028	2.87	2.77	0.037	8.33	8.13	-0.005
7	3.22	3.21	-0.019	2.32	2.21	0.037	6.70	6.50	-0.051
8	2.45	2.41	0.015	1.77	1.66	0.037	5.18	4.88	0.012
9	1.60	1.61	-0.032	1.16	1.11	-0.023	3.54	3.25	-0.045
10	0.84	0.80	0.011	0.62	0.55	-0.013	2.05	1.63	0.048
11	0.02	0	-0.005	0.04	0	-0.043	0.45	0	0.031
	$R^2 = 0.999$, r ratio = 0.95%			$R^2 = 0.999$, r ratio = 1.58%			$R^2 = 0.999$, r ratio = 0.97%		

Mean = ค่าเฉลี่ยจากการวัดซ้ำ 3 ครั้ง , Calculations = ค่าที่คำนวณได้จากการเจือจาง

3. ทดสอบความแม่นยำของวิธี (accuracy)

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสารอ้างอิงมาตรฐาน 7 ซ้ำ พบว่าค่า % Recovery ของไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 100.36% 99.37% และ 100.6% (ตารางที่ 4) ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ %Recovery ที่ความเข้มข้น $\geq 1\%$ ถึง $< 10\%$ = 97-103 % และ ที่ความเข้มข้น $\geq 10\%$ ถึง $\leq 100\%$ = 98-102 %

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิงมาตรฐาน

Parameter	%Fat	%Protein	%Total solids
Minimum	3.49	3.48	12.47
Maximum	3.48	3.5	12.43
Average value	3.484	3.494	12.458
Reference value	3.474	3.502	12.41
%Recovery	100.29	99.77	100.39

4. ทดสอบความเที่ยงของวิธี (precision)

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันหาค่า ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด จำนวน 3 ระดับ ระดับละ 10 ซ้ำ ประเมินความเที่ยงแบบการทวนซ้ำได้ (repeatability) โดย %RSD ของการวิเคราะห์ซ้ำและประเมินผลตามสมการ Predicted Horwitz RSD (%PRSD) (ตารางที่ 5) พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ และประเมินความเที่ยงแบบการทำซ้ำได้ (reproducibility) จากค่า HORRAT (ตารางที่ 6) โดยเกณฑ์การยอมรับค่า HORRAT น้อยกว่า 2

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อหาความเที่ยงแบบการทวนซ้ำได้ (repeatability)

Parameter	%Fat			%Protein			%Total solids		
	Level 1	Level 2	Level 3	Level 1	Level 2	Level 3	Level 1	Level 2	Level 3
Average	2.45	4.08	8.06	2.31	3.38	5.54	9.23	11.95	16.3
SD	0.003	0.005	0.005	0.005	0	0.005	0.010	0.010	0.005
%RSD _r	0.13	0.12	0.06	0.21	0	0.09	0.10	0.07	0.03
%PRSD	1.15	1.07	0.96	1.16	1.1	1.02	0.94	0.91	0.87
HORRAT	0.11	0.11	0.06	0.18	0.00	0.09	0.11	0.08	0.03

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อหาความเที่ยงแบบการทำซ้ำได้ (reproducibility)

Parameter	%Fat			%Protein			%Total solids		
	Level 1	Level 2	Level 3	Level 1	Level 2	Level 3	Level 1	Level 2	Level 3
Average	2.51	4.18	8.13	2.35	3.39	5.48	9.43	12.04	16.54
SD	0.065	0.107	0.075	0.048	0.016	0.062	0.200	0.100	0.251
%RSD _R	2.61	2.56	0.92	2.04	0.48	1.13	2.15	0.79	1.51
%PRSD	1.74	1.61	1.46	1.76	1.66	1.55	1.43	1.38	1.31
HORRAT	1.50	1.59	0.63	1.16	0.29	0.73	1.50	0.57	1.15

5. Carry-over

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวน 20 ตัวอย่าง ค่า Ew ของไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด แสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อหา Carry – over

Parameter	%Fat	%Protein	%Total solids
Water	0.05	0.07	0.53
Water	0.03	0.06	0.47
Milk	3.81	3.05	12.31
Milk	3.80	3.08	12.34
Water	0.05	0.07	0.54
Water	0.03	0.05	0.47
Milk	3.80	3.07	12.31
Milk	3.83	3.08	12.38
Water	0.05	0.07	0.53
Water	0.03	0.05	0.47
Milk	3.80	3.07	12.32
Milk	3.82	3.08	12.37
Water	0.05	0.07	0.54
Water	0.03	0.06	0.47
Milk	3.82	3.06	12.34

Parameter	%Fat	%Protein	%Total solids
Milk	3.80	3.08	12.35
Water	0.05	0.07	0.53
Water	0.03	0.05	0.47
Milk	3.82	3.07	12.34
Milk	3.82	3.08	12.37
Ew	0.57%	0.61%	0.42%

6.สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างธรรมชาติ จำนวน 40 ตัวอย่างแล้วนำค่าที่ได้มาทำการปรับ Calibration curve ของเครื่องมืออัตโนมัติและทำการทวนสอบผลการโดยค่า Mean Difference (MD) และ Standard Deviation of the Difference (SDD) ระหว่างผลวิเคราะห์ที่ได้จากเครื่องมืออัตโนมัติและวิธีอ้างอิงทางเคมีพบว่าอยู่ในเกณฑ์กำหนด แล้วทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด ในน้ำนมดิบด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectrometry โดย การทดสอบ Linearity ของน้ำนมดิบที่ผ่านการเจือจางแต่ละระดับพบว่า Coefficient of determination (R^2) ของค่าไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.999 0.999 และ 0.999 ตามลำดับ และมีค่า r ratio เท่ากับ 0.95% 1.58% และ 0.97% ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับคือ $R^2 \geq 0.990$ และเกณฑ์การยอมรับของเส้นกราฟ (r ratio) $< 2\%$ ทำการทดสอบความแม่นยำของวิธี (accuracy) พบว่าค่า % Recovery ของไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 100.29% 99.72% และ 100.39% ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ %Recovery ที่ความเข้มข้น $\geq 1\%$ ถึง $< 10\%$ อยู่ในช่วง 97-103 % และ ที่ความเข้มข้น $\geq 10\%$ ถึง $\leq 100\%$ อยู่ในช่วง 98-102 % การทดสอบความเที่ยงของวิธี (precision) จากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมหาค่า ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด ประเมินความเที่ยงแบบการทวนซ้ำได้ (repeatability) และประเมินความเที่ยงแบบ การทำซ้ำได้ (reproducibility) จากค่า HORRAT พบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับโดยมีค่า HORRAT < 2 และผลการวิเคราะห์การปนเปื้อนข้าม (carry-over) ของไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 0.57% 0.61% และ 0.42% ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมด ในน้ำนมดิบด้วย เทคนิค Fourier transform infrared spectrometry โดยทดสอบ ความเป็นเส้นตรง ความแม่นยำของวิธี

ความเที่ยงของวิธี และ การปนเปื้อนข้าม ได้ผลการทดสอบเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ ซึ่งสามารถนำวิธีดังกล่าวไปใช้ตรวจวิเคราะห์นํ้านมดิบได้ต่อไป

7. ข้อเสนอแนะ

การทดสอบเป็นการเก็บตัวอย่างจากธรรมชาติโดยไม่มีการเติมสารใดๆเพื่อเก็บรักษาสภาพตัวอย่าง และในการเตรียมตัวอย่างทดสอบทั้งหมดต้องคำนึงถึงความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยที่ตัวอย่างที่เก็บมาตรวจวิเคราะห์ไม่ควรเกิน 36 ชั่วโมงและแช่เย็นที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 °C

8. กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนโดยสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ขอขอบคุณ นายไพโรจน์ อํารงโสภาส ผู้อํานวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ และเจ้าหน้าที่กลุ่มตรวจสอบคุณภาพนมและผลิตภัณฑ์นม ที่ช่วยดำเนินการในครั้งนี้จนแล้วเสร็จ

9. เอกสารอ้างอิง

- [1] American Public Health Association (APHA). 2004. Standard methods for the examination of dairy products. 17th Edition p.460-473
- [2] Combi Foss TM FT⁺ User Manula 60054828/Rev.2
- [3] ISO 9622 / IDF 141:Second edition 2013, Milk and liquid milk products-Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry.
- [4] Denis S. Kucevic et.al. VALIDATION AND APPLICATION OF FTIR SPECTROSCOPY IN RAW MILK ANALYSIS. APTEFF, 48. 2017, 167-175