

การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์นมผงปลอมปนในน้ำนมโคดิบด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบสั่น และการประมวลผลข้อมูลเชิงเคโมเมตริกซ์

นายชูศักดิ์ อาจสูงเนิน* นางสาวนันท์ กิตติจารุวัฒนา นายธิติ รุจิเชาว์

บทคัดย่อ

การปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์นมและความปลอดภัยของผู้บริโภค การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิค Raman spectroscopy และ Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy ร่วมกับการวิเคราะห์เชิงเคโมเมตริกซ์ เพื่อเป็นวิธีคัดกรองการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ โดยตัวอย่างประกอบด้วยน้ำนมโคดิบ 35 ตัวอย่าง และตัวอย่างน้ำนมโคดิบที่เติมนมผงที่ระดับ 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 10% (w/v) อีก 35 ตัวอย่าง ใช้วิธี pre-processing ได้แก่ Standard Normal Variate (SNV), Normalization + Multiplicative Scatter Correction (MSC) และ Normalization + MSC + 1st derivative ผลจาก Principal Component Analysis (PCA) แสดงการแยกกลุ่มของตัวอย่างที่เติมนมผงตั้งแต่ระดับ 2% ขึ้นไปได้อย่างชัดเจนเมื่อใช้ Raman spectroscopy ร่วมกับ SNV หรือ Normalization + MSC ในขณะที่ FT-IR spectroscopy ให้ผลการแยกกลุ่มที่ไม่ชัดเจนและเกิดการซ้อนทับของข้อมูลมากกว่า การวิเคราะห์ด้วย Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS-DA) แสดงให้เห็นว่าทั้ง SNV และ Normalization + MSC มีความสามารถในการทำนายที่ดีและใกล้เคียงกัน โดยสามารถตรวจจับตัวอย่างที่ปลอมปนตั้งแต่ระดับ $\geq 2\%$ ขึ้นไปได้ 100% แต่การใช้ 1st derivative กลับทำให้ประสิทธิภาพการทำนายลดลง โดยสรุป Raman spectroscopy มีศักยภาพดีกว่า FT-IR spectroscopy ในการตรวจสอบการปลอมปน เนื่องจากให้ข้อมูลสเปกตรัมที่มีรายละเอียดสูงกว่า สามารถแยกความแตกต่างของตัวอย่างที่เติมนมผงได้ชัดเจนกว่าเมื่อใช้ร่วมกับเทคนิคเคโมเมตริกซ์ โดยเฉพาะการใช้ Normalization + MSC อย่างไรก็ตาม การพัฒนาเพิ่มเติม เช่น การใช้ machine learning models หรือการเลือกช่วงเลขคลื่นสำคัญ อาจช่วยเพิ่มความแม่นยำของแบบจำลองและทำให้สามารถตรวจจับการปลอมปนที่ระดับต่ำกว่า 2% ได้ดีขึ้น

คำสำคัญ: น้ำนมโคดิบ นมผง การปลอมปน Raman spectroscopy FT-IR spectroscopy เคโมเมตริกซ์ PCA
PLS-DA

เลขทะเบียนวิชาการ: 68(2)-0304-011

สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ถนนติวานนท์ ตำบลบางกะดี อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

*ผู้รับผิดชอบ, e-mail: chusaka@gmail.com

Method development of milk powder adulterants detection in raw cow's milk using vibrational spectroscopic techniques and chemometric data processing

Chusak Ardsoongnearn* Sunan Kittijaruwattana Titi Rujichao

Abstract

Milk powder adulteration in raw cow's milk adversely impacts dairy product quality and consumer safety. This study aimed to develop Raman spectroscopy and Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy combined with chemometric analysis as rapid screening methods to detect milk powder adulteration in raw cow's milk. Samples consisted of 35 authentic raw milk samples, and 35 samples adulterated with milk powder at concentrations of 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, and 10% (w/v). Pre-processing techniques used were Standard Normal Variate (SNV), Normalization combined with Multiplicative Scatter Correction (MSC), and Normalization + MSC with 1st derivative. Principal Component Analysis (PCA) clearly distinguished adulterated samples at concentrations $\geq 2\%$, especially when using Raman spectroscopy preprocessed with SNV or Normalization + MSC, while FT-IR spectroscopy showed unclear separation and higher data overlap. Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS-DA) confirmed that SNV and Normalization + MSC yielded comparable prediction accuracies, successfully identifying all adulterated samples at levels $\geq 2\%$, whereas incorporating the 1st derivative resulted in significantly reduced predictive performance. In conclusion, Raman spectroscopy outperformed FT-IR spectroscopy due to its greater spectral detail, particularly when combined with Normalization + MSC pre-processing. Further developments, such as selecting optimal spectral regions or employing machine learning algorithms, could improve detection accuracy at adulteration levels below 2%.

Keyword: raw milk, milk powder, adulteration, Raman spectroscopy, FT-IR spectroscopy, chemometrics, PCA, PLS-DA

Scientific No.: 68(2)-0304-011

Bureau of Quality Control of Livestock Products, Tiwanon Rd., Bangkadi, Mueng, Pathumthani, 12000

*Corresponding author, e-mail: chusaka@gmail.com

บทนำ

การปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมนมของประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะในช่วงที่ราคาน้ำนมดิบมีความผันผวน ทำให้เกิดการลักลอบนำนมผงมาละลายน้ำและผสมกับน้ำนมโคดิบเพื่อเพิ่มปริมาณ ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อคุณภาพนมและความปลอดภัยของผู้บริโภค ปัญหาการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบส่งผลกระทบในวงกว้างต่อทั้งระบบอุตสาหกรรมนมของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมที่ทำการผลิตน้ำนมดิบอย่างถูกต้องตามมาตรฐาน เนื่องจากการปลอมปนนมผงทำให้ราคาซื้อขายน้ำนมดิบในตลาดมีความผันผวนและไม่เป็นธรรม นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ของอุตสาหกรรมนมไทยในตลาดต่างประเทศ และที่สำคัญคือส่งผลกระทบต่อความเชื่อมั่นของผู้บริโภคภายในประเทศ (นพนันท์, 2557)

ในด้านสุขภาพและความปลอดภัย การปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เนื่องจากกระบวนการละลายนมผงและการผสมที่ไม่ได้มาตรฐานอาจนำไปสู่การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค อีกทั้งคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่เทียบเท่ากับน้ำนมโคดิบแท้ (Chitra, 2021) ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะในกลุ่มเด็กและเยาวชนที่ได้รับนมจากโครงการอาหารเสริม(นม)โรงเรียน

กรมปศุสัตว์ในฐานะหน่วยงานที่มีหน้าที่กำกับดูแลคุณภาพน้ำนมโคและผลิตภัณฑ์นม ได้ตระหนักถึงความสำคัญของปัญหาดังกล่าว และได้ดำเนินมาตรการต่างๆ เพื่อป้องกันและแก้ไข้ปัญหาการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ อย่างไรก็ตาม การตรวจสอบการปลอมปนด้วยวิธีการทางเคมีแบบดั้งเดิม เช่น HPLC แบบดั้งเดิม และ Capillary Zone Electrophoresis (CZE) มีข้อจำกัดหลายประการ ทั้งในด้านความเร็ว ความแม่นยำ และความสามารถในการตรวจสอบตัวอย่างจำนวนมาก (Chen *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020)

ด้วยความก้าวหน้าของเทคโนโลยีการวิเคราะห์ในปัจจุบัน เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบสั่น (vibrational spectroscopy) ร่วมกับการประมวลผลข้อมูลเชิงเคมีเมตริกซ์ (chemometric data processing) ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในการตรวจวิเคราะห์การปลอมปนในผลิตภัณฑ์อาหาร เทคนิคดังกล่าวมีข้อได้เปรียบหลายประการ เช่น ความรวดเร็วในการวิเคราะห์ ความแม่นยำสูง ไม่ทำลายตัวอย่าง และสามารถวิเคราะห์องค์ประกอบหลายชนิดพร้อมกันได้ (Lohumi *et al.*, 2015; Domingo *et al.*, 2014; Nunes, 2014)

การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์การปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบสั่นและการประมวลผลข้อมูลเชิง chemometrics จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการยกระดับประสิทธิภาพการตรวจสอบคุณภาพน้ำนมโคของประเทศไทย วิธีการดังกล่าวจะช่วยเพิ่มความรวดเร็วและความแม่นยำในการตรวจสอบ ลดต้นทุนและเวลาในการวิเคราะห์ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบ ณ จุดรับน้ำนมดิบได้ นอกจากนี้ การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวยังสอดคล้องกับนโยบายของรัฐบาลในการยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยอาหาร และการพัฒนาอุตสาหกรรมการเกษตรของประเทศ โดยจะช่วยเสริมสร้างความเข้มแข็งให้กับระบบการตรวจสอบคุณภาพน้ำนมโคของประเทศไทย อันจะนำไปสู่การสร้างเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ และการพัฒนาอุตสาหกรรมนมไทยอย่างยั่งยืน ด้วยเหตุนี้ การวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์การปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบสั่นและการประมวลผลข้อมูลเชิง chemometrics จึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง

เพื่อให้กรมปศุสัตว์มีเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบและควบคุมคุณภาพน้ำนมโค อันจะนำไปสู่การแก้ไขปัญหาการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน

Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงสเปกโทรสโกปีที่อาศัยหลักการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของโมเลกุล ทำให้เกิดการสั่นและการหมุนของพันธะเคมี เครื่อง FT-IR ประกอบด้วยส่วนสำคัญคือ interferometer ที่ทำหน้าที่แยกลำแสง IR ออกเป็น 2 ลำแสง ผ่านกระจก beam splitter โดยลำแสงหนึ่งจะสะท้อนจากกระจกคงที่ และอีกลำแสงสะท้อนจากกระจกเคลื่อนที่ เมื่อลำแสงทั้งสองรวมกันจะเกิด interference pattern ที่เรียกว่า interferogram ซึ่งจะถูกแปลงเป็นสเปกตรัมด้วยสมการทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า fourier transform สเปกตรัมที่ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับเลขคลื่น ทำให้สามารถระบุหมู่ฟังก์ชันและโครงสร้างโมเลกุลได้ ข้อดีของ FT-IR คือมีความไวสูง ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย และให้อัตราส่วนสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนที่ดี (Baker *et al.*, 2014)

Raman spectroscopy เป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงสเปกโทรสโกปีที่อาศัยปรากฏการณ์การกระเจิงแบบไม่ยืดหยุ่น (inelastic scattering) ของแสงเมื่อตกกระทบกับโมเลกุลของสาร เมื่อแสงเลเซอร์ตกกระทบตัวอย่าง โฟตอนจะทำให้โมเลกุลเกิดการสั่นที่ระดับพลังงานเสมือน (virtual state) แล้วคายพลังงานออกมาในรูปของการกระเจิงแสง การกระเจิงส่วนใหญ่จะเป็นแบบยืดหยุ่น (Rayleigh scattering) ที่มีความถี่เท่ากับแสงตกกระทบ แต่จะมีการกระเจิงบางส่วนที่มีพลังงานต่างจากแสงตกกระทบเรียกว่า Raman scattering ความแตกต่างของพลังงานนี้สัมพันธ์กับการสั่นของพันธะเคมีในโมเลกุล ทำให้สามารถใช้ระบุชนิดและโครงสร้างของสารได้ เทคนิคนี้มีข้อดีคือไม่ต้องเตรียมตัวอย่าง ไม่ทำลายตัวอย่าง และสามารถวิเคราะห์สารได้ทั้งของแข็ง ของเหลว และก๊าซ นอกจากนี้ยังสามารถใช้วิเคราะห์สารในระดับไมโครเมตรได้เมื่อใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์ (Baker *et al.*, 2014)

Chemometrics เป็นการประยุกต์ใช้หลักการทางคณิตศาสตร์และสถิติในการวิเคราะห์ข้อมูลทางเคมี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมที่ซับซ้อนจากเทคนิค FT-IR และ Raman spectroscopy (Baker *et al.*, 2014) เทคนิคทาง chemometrics ที่นิยมใช้ประกอบด้วยการประมวลผลสเปกตรัม (spectral processing) เช่น การหาอนุพันธ์ (derivatization), standard normal variate (SNV) และ multiplicative scattering correction (MSC) (Rohman *et al.*, 2020) นอกจากนี้ยังรวมถึงเทคนิคการจำแนกประเภท (classification) ทั้งแบบมีการเรียนรู้ (supervised) เช่น linear discriminant analysis (LDA) และแบบไม่มีการเรียนรู้ (unsupervised) เช่น principal component analysis (PCA) (Biancolillo and Marini, 2018) สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ มีการใช้เทคนิคการสอบเทียบหลายตัวแปร (multivariate calibration) เช่น partial least square regression (PLSR) และ principal component regression (PCR) (Romía and Bernàrdez, 2010) การใช้ chemometrics ร่วมกับเทคนิคสเปกโทรสโกปีช่วยให้สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้โดยตรงโดยไม่ต้องใช้สารเคมีเฉพาะ ทำให้ลดขั้นตอนการวิเคราะห์และปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมตัวอย่าง (Biancolillo and Marini, 2018)

การปลอมปนในนมมีหลายรูปแบบ เช่น การเติมน้ำ การผสมนมจากสัตว์ต่างชนิด การเติมสารเคมีอันตราย เช่น เมลามีน ยูเรีย และฟอร์มาลดีไฮด์ รวมถึงการเติมโปรตีนจากพืช เช่น ถั่วเหลือง และการเติมหางนม เทคนิค

chemometrics ช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูลทางเคมีที่ซับซ้อนเพื่อตรวจจับและระบุปริมาณสารปลอมปนเหล่านี้ได้อย่างแม่นยำ วิธีการทาง chemometrics ที่นิยมใช้ประกอบด้วย การจัดกลุ่ม (clustering) การจำแนกประเภท (classification) และการวิเคราะห์การถดถอย (regression) โดยใช้ร่วมกับเทคนิควิเคราะห์ต่างๆ เช่น สเปกโทรสโกปีโครมาโทกราฟี และเซนเซอร์เคมีไฟฟ้า การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก PCA เป็นเทคนิคพื้นฐานที่สำคัญในการสำรวจข้อมูลหลายตัวแปร ในขณะที่เทคนิค k-Nearest Neighbor (kNN), partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) และ soft independent modeling of class analogy (SIMCA) นิยมใช้ในการจำแนกประเภทตัวอย่าง (Grassi *et al.*, 2022)

Du *et al.* (2019) ได้ตรวจสอบการปลอมปนนมผงในนมสดด้วยเทคนิค FT-IR ร่วมกับ chemometrics เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบความเป็นนมสดแท้ การศึกษานี้ได้ใช้ตัวอย่างนมสด 20 ตัวอย่างและนมผงทางการค้า 4 ยี่ห้อ โดยเตรียมตัวอย่างนมผสมที่ระดับการปลอมปน 0.5-10% (w/v) และทำการวิเคราะห์ด้วย FT-IR ที่ช่วงเลขคลื่น $650-4000\text{ cm}^{-1}$ ในด้านวิธีวิเคราะห์ข้อมูล ได้ใช้เทคนิค PCA เบื้องต้นเพื่อศึกษารูปแบบการกระจายตัวของข้อมูล แต่พบว่าไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างนมสดและนมผสมได้อย่างชัดเจน จึงได้นำเทคนิค PLS-DA มาใช้ ซึ่งให้ผลการแยกกลุ่มที่ชัดเจนขึ้น โดยเฉพาะในช่วงเลขคลื่น $800-1800\text{ cm}^{-1}$ ผลการวิเคราะห์พบพิกัดที่สำคัญในช่วงเลขคลื่น $904-1288\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งสัมพันธ์กับการสั่นของพันธะ C-H, C-O-H และ C-O ของไขมัน กรดอินทรีย์ และคาร์โบไฮเดรต การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง PLS-DA ด้วยวิธี model population analysis (MPA) ให้ค่าความแม่นยำในการจำแนกเฉลี่ย 98% เมื่อใช้ตัวแปรแฝง 11 ตัว นอกจากนี้ยังสามารถใช้ PLSR ในการประมาณระดับการปลอมปนได้อีกด้วย

Karunathilaka *et al.* (2017) ได้ศึกษาการใช้ Raman spectroscopy ร่วมกับ chemometrics เพื่อตรวจสอบการปลอมปนเมลามีนในนมผง โดยใช้ตัวอย่างนมผงจำนวน 38 ตัวอย่าง จาก 4 ประเทศ 12 แหล่งผลิต และ 3 อุณหภูมิการผลิตที่แตกต่างกัน การเตรียมตัวอย่างทำได้สองวิธีคือ dry-blending (DB) ที่ความเข้มข้น 0.125-2% และ wet-blending (WB) ที่ความเข้มข้น 0.089-1% ในด้านวิธีวิเคราะห์ ได้ใช้เทคนิค PCA เบื้องต้นเพื่อศึกษารูปแบบการกระจายตัวของข้อมูล และใช้ SIMCA ในการจำแนกตัวอย่าง การวัดสเปกตรัม Raman ทำในช่วง $154-3190\text{ cm}^{-1}$ โดยใช้เลเซอร์ความยาวคลื่น 780 nm ที่กำลัง 100 mW ผลการวิเคราะห์พบว่า PCA สามารถแยกตัวอย่างที่มีการปลอมปนออกจากตัวอย่างปกติได้ที่ระดับความเข้มข้น $\geq 1.0\%$ สำหรับ DB และ $\geq 0.3\%$ สำหรับ WB SIMCA model ที่ confidence level 97% สามารถตรวจจับการปลอมปนได้ที่ระดับ $\geq 0.5\%$ สำหรับ DB และ $\geq 0.3\%$ สำหรับ WB โดยไม่พบผลบวกจากตัวอย่างนมผงปกติ

งานวิจัยของ Alves Da Rocha *et al.* (2015) ได้เสนอวิธีการตรวจสอบการปลอมปน whey ในนมโดยใช้เทคนิค confocal Raman microscopy ร่วมกับ artificial neural network (ANN) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความแม่นยำและรวดเร็ว การศึกษาใช้ตัวอย่างนมที่มีการเติม whey ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0-100% โดยวิเคราะห์ Raman spectra ในช่วง $1,200-1,600\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งพบสัญญาณเด่นชัดที่ตำแหน่ง $1,430$ และ $1,540\text{ cm}^{-1}$ ข้อดีของวิธีนี้คือไม่ต้องการเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน เพียงหยดตัวอย่าง $1\text{ }\mu\text{L}$ ลงบนสไลด์และปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง การวัดแต่ละตัวอย่างใช้เวลาเพียง 5 นาที โดยวัด 3 จุดต่อตัวอย่างเพื่อความแม่นยำ การวิเคราะห์ข้อมูลใช้ ANN ที่มี hidden layer

19 nodes ซึ่งให้ผลการทำนายที่แม่นยำมากโดยมีค่า $R^2 = 0.9999$ ทั้งในชุดข้อมูลฝึกฝนและชุดข้อมูลตรวจสอบ เมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิมเช่น HPLC และ ELISA พบว่าวิธี Raman-ANN มีข้อได้เปรียบหลายประการ ทั้งความรวดเร็วในการวิเคราะห์ (1 นาที เทียบกับ 15-30 นาทีของ HPLC) ไม่ต้องเตรียมตัวอย่าง และสามารถพัฒนาเป็นระบบแบบพกพา สำหรับการวิเคราะห์ในภาคสนามได้ นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีได้ครอบคลุมกว่า HPLC เนื่องจากวัดในช่วง Raman shifts ที่กว้าง

Tian *et al.* (2022) ได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบการปลอมปนของ maltodextrin (0.5-15.0%), sodium carbonate (10-100 mg/kg) และ whey (1.0-20.0%) ในน้ำนมดิบ โดยใช้แบบจำลอง PLS-DA และ PLS ผลการศึกษาพบว่า การใช้ 1st derivative ในการประมวลผลสเปกตรัมรวมกับการคัดเลือกตัวแปรด้วยวิธี variable importance in projection (VIP) ให้ประสิทธิภาพการจำแนกที่ดีที่สุด แบบจำลอง PLS-DA สามารถจำแนกการปลอมปนได้แม่นยำถึง 95.83% สำหรับ maltodextrin, 100% สำหรับ sodium carbonate, 95.84% สำหรับ whey และ 92.25% สำหรับน้ำนมดิบที่ไม่มีการปลอมปน นอกจากนี้ แบบจำลอง PLS ยังสามารถตรวจวัดปริมาณการปลอมปนได้ที่ขีดจำกัดต่ำสุด 1.46% สำหรับ maltodextrin, 4.38 mg/kg สำหรับ sodium carbonate และ 2.64% สำหรับ whey ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าการใช้ Raman spectroscopy ร่วมกับเทคนิค chemometrics สามารถตรวจสอบการปลอมปนในน้ำนมดิบได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยไม่ต้องเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน

จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการใช้เทคนิค spectroscopy ร่วมกับการวิเคราะห์เชิง chemometrics สามารถใช้ตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบได้ในระดับหนึ่ง โดยเฉพาะงานของ Du *et al.* (2019) ที่ใช้ FT-IR spectroscopy ควบคู่กับ PCA และ SIMCA เพื่อแยกกลุ่มตัวอย่างน้ำนมแท้จากนมผงละลายน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เทคนิค FT-IR ยังมีข้อจำกัดในการตรวจจับการปลอมปนที่ระดับต่ำ (<2%) อันเนื่องมาจากความซ้อนทับของสเปกตรัมและผลกระทบจากน้ำในตัวอย่าง อย่างไรก็ตาม ยังขาดการประเมินผลอย่างเป็นระบบเกี่ยวกับผลของเทคนิคการประมวลผลล่วงหน้า (pre-processing) ต่อความแม่นยำของการจำแนกตัวอย่างปลอมปนในระดับต่ำ

ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและประเมินประสิทธิภาพของ FT-IR และ Raman spectroscopy ร่วมกับการวิเคราะห์ข้อมูลเชิง chemometrics ได้แก่ PCA และ PLS-DA โดยใช้เทคนิค pre-processing หลากรูปแบบ เพื่อสร้างแบบจำลองที่สามารถตรวจจับการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ และเหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในงานจริง

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. สารเคมีและสารมาตรฐาน

-

2. เครื่องมือและอุปกรณ์

การวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปีใช้เครื่องมือ Raman spectroscope แบบ Confocal Raman Microscope ยี่ห้อ Horiba รุ่น XploRA PLUS ร่วมกับโปรแกรม Labspec 6 และเครื่อง FT-IR Spectroscopy ของ PerkinElmer รุ่น Spectrum Two พร้อมโปรแกรม Spectrum IR ในการจัดเก็บข้อมูลสเปกตรัม สำหรับการประมวลผลข้อมูลเชิง chemometrics ใช้โปรแกรม The Unscrambler X v10.3 (CAMO Software AS, Norway) ในการประมวลผลวิเคราะห์ และสร้างแบบจำลอง

3. ตัวอย่างที่ศึกษา

การเก็บรวบรวมและการเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำมันโคดิบที่ใช้ในการศึกษานี้ ได้รับมาจากศูนย์รวมน้ำมันที่ส่งตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพที่สำคัญ ตรวจสอบคุณภาพสินค้าปุศสัตว์ กรมปศุสัตว์ โดยมีการเก็บตัวอย่างเป็นประจำในแต่ละสัปดาห์ ประมาณ 3–8 ตัวอย่างต่อสัปดาห์ จากนั้นนำข้อมูลสเปกตรัมมาวิเคราะห์เบื้องต้นโดยวิธี Hierarchical Cluster Analysis (HCA) ด้วยโปรแกรม Unscrambler X เพื่อจัดกลุ่มตัวอย่าง และแยกตัวอย่างที่มีลักษณะแตกต่างจากตัวอย่างส่วนใหญ่ออกจากกลุ่ม หลังจากนั้นจึงคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่ไม่มีแนวโน้มการปลอมปนนมผง จำนวน 35 ตัวอย่าง มาใช้ในการศึกษาโดยเป็นตัวอย่างน้ำมันโคดิบบริสุทธิ์ 35 ตัวอย่าง และแบ่งมาเตรียมเป็นตัวอย่างน้ำมันโคดิบที่เติมนมผงทางการค้าชนิดเต็มมันเนย ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 และ 10.0% (w/v) จำนวน 35 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 70 ตัวอย่าง เพื่อใช้ในการสร้างแบบจำลองเชิงสำรวจด้วยเทคนิค PCA ซึ่งแต่ละตัวอย่างเป็นข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดซ้ำและนำค่าเฉลี่ยของสเปกตรัมที่วัดซ้ำ 3 ครั้ง มาวิเคราะห์ต่อไป โดยตัวอย่างน้ำมันโคดิบถูกเตรียมในสภาพแห้ง (dried sample) เพื่อขจัดอิทธิพลจากน้ำที่มีต่อสัญญาณสเปกตรัม ทั้งในการวิเคราะห์ด้วย FT-IR spectroscopy และ Raman spectroscopy นอกจากนี้ ได้มีการเตรียมตัวอย่างน้ำมันโคดิบเพิ่มเติมอีกจำนวนหนึ่ง แยกต่างหาก สำหรับใช้เป็นชุดข้อมูลตรวจสอบความถูกต้อง (validation set) เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของแบบจำลองที่ได้จากการวิเคราะห์เชิง chemometrics ในขั้นตอนถัดไป

4. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์

ขั้นตอนที่ 1: การเตรียมตัวอย่าง

1. เตรียมตัวอย่างน้ำมันโคดิบบริสุทธิ์ และตัวอย่างนมผงทางการค้า
2. เตรียมตัวอย่างน้ำมันโคดิบที่ผสมนมผงที่ระดับต่างๆ ได้แก่ 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 และ 10.0% (w/v)

3. ผสมตัวอย่างให้เข้ากันโดยการเขย่าแบบพลิกหลอดบรรจุตัวอย่างน้ำมันดิบไปมาประมาณ 30 วินาที สำหรับตัวอย่างน้ำมันโคดิบที่ผสมนมผงใช้ช้อนตักสารคนให้ละลายเข้ากัน และนำไปหยดลงบนแผ่นรองตัวอย่างที่เหมาะสม เช่น Slide แก้วหรือ Aluminum foil โดยตัวอย่างสำหรับ Raman spectroscopy ใช้ 100 μL ส่วน FT-IR ใช้ 200 μL

4. ปลอ่ยให้ตัวอย่างแห้งสนิทในสภาพอุณหภูมิห้องก่อนการวัดด้วยเครื่องมือ

ขั้นตอนที่ 2: การเก็บข้อมูลสเปกตรัม

1. การวัดด้วย Raman Spectroscopy

1.1. ใช้เครื่อง Horiba Confocal Raman Microscope รุ่น XploRA PLUS ควบคุมการทำงานด้วยโปรแกรม LabSpec 6

1.2. เลือกช่วงวัดสเปกตรัม Raman ระหว่าง $400\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ โดยใช้เลเซอร์ความยาวคลื่น 785 nm ที่ 50% กำลังเลเซอร์ 100 mW ตั้งค่า parameters ในการวัด ดังนี้ range $400\text{--}3400$, AE level (cnts) 2000, Accumulation 2, RTD time (s) 2, Autofocus at each XY point, Objective 20, Grating 1200 gr/mm, Slit 100 μm และ hole 300 μm

1.3. ทำการวัดตัวอย่างน้ำมันโคดิบบริสุทธิ์และน้ำมันที่เติมนมผงที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 ซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง ต่อหนึ่งตัวอย่าง

2. การวัดด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy

2.1. ตั้งค่าเครื่อง FT-IR Spectrometer (PerkinElmer รุ่น Spectrum Two) โดยควบคุมการทำงานด้วยโปรแกรม Spectrum IR และใช้อุปกรณ์ ATR (Attenuated Total Reflectance) ที่มีผลึกเป็นเพชร (Diamond crystal)

2.2. ทำการวัดสเปกตรัมของตัวอย่างน้ำมันโคดิบบริสุทธิ์และน้ำมันที่เติมนมผงที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 ในช่วงเลขคลื่น $550\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ในการวัด ดังนี้

- แรงกด (Force applied): 50–75 N หรือปรับให้มีค่า % Transmission อยู่ในช่วง 40–80%
- จำนวนครั้งในการสแกน (Number of scans): 4 scans
- ค่าความละเอียด (Resolution): 4 cm^{-1}
- ความเร็วในการสแกน (Scan speed): 0.2 cm/s

2.3. วัดซ้ำตัวอย่างแต่ละตัวอย่างน้ำมันโคดิบบริสุทธิ์และน้ำมันที่เติมนมผงที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 อย่างน้อย 3 ครั้ง และนำสเปกตรัมที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยก่อนนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนถัดไป

ขั้นตอนที่ 3: การประมวลผลข้อมูลเชิง Chemometric

1. นำข้อมูลสเปกตรัมที่ได้เข้าสู่โปรแกรม The Unscrambler X v10.3 เพื่อทำการประมวลผลข้อมูลเบื้องต้น (pre-processing) โดยมีการใช้เทคนิคต่อไปนี้ร่วมกันหรือแยกกันตามความเหมาะสม:

- Normalization เพื่อลดผลกระทบจากความเข้มสัญญาณที่แตกต่างกัน และช่วยให้การเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างมีความแม่นยำมากขึ้น

- Standard Normal Variate (SNV) และ Multiplicative Scatter Correction (MSC) เพื่อลดผลกระทบที่เกิดจาก scattering effect และความแตกต่างระหว่างตัวอย่างแต่ละตัว
 - Derivative (อนุพันธ์) โดยวิธี Savitzky-Golay เพื่อเพิ่มความละเอียดของพีคและลดผลกระทบจาก baseline drift เพิ่มเติมก่อนนำข้อมูลไปวิเคราะห์ในขั้นตอนถัดไป
2. วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นด้วย PCA รายละเอียดตามตารางที่ 1 เพื่อสำรวจแนวโน้มการกระจายตัวและการแยกกลุ่มของข้อมูลในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง (น้ำมันโคดีบบริสุทธ์และน้ำมันที่เติมนมผง)
 3. วิเคราะห์เชิงจำแนกกลุ่มด้วยวิธีการจำแนกประเภทเชิงควบคุม (supervised classification) ได้แก่ PLS-DA เพื่อสร้างแบบจำลองสำหรับจำแนกกลุ่มตัวอย่างได้อย่างชัดเจน
 4. ประเมินประสิทธิภาพของแบบจำลองด้วยวิธี Cross-validation เช่น Leave-one-out cross-validation (LOOCV) หรือ k-fold cross-validation
 5. ทดสอบแบบจำลองด้วยชุดข้อมูลที่ไม่เคยใช้ในการสร้างแบบจำลอง (validation set) เพื่อประเมินประสิทธิภาพและความถูกต้องของแบบจำลองที่พัฒนาขึ้น

ตารางที่ 1 การทดสอบ PCA ของสเปกตรัมที่วัดจาก Raman microscope และ FT-IR

	Raman microscope	FT-IR
Raw spectrum data	whole region	whole region
	fingerprint region	fingerprint region
SNV	whole region	whole region
	fingerprint region	fingerprint region
Normalization + MSC	whole region	whole region
	fingerprint region	fingerprint region
SNV + 1 st derivative	whole region	whole region
	fingerprint region	fingerprint region
SNV + 2 nd derivative	whole region	whole region
	fingerprint region	fingerprint region
Normalization + MSC + 1 st derivative	whole region	whole region
	fingerprint region	fingerprint region
Normalization + MSC + 2 nd derivative	whole region	whole region
	fingerprint region	fingerprint region

หมายเหตุ: Whole region ของ Raman spectroscopy และ FT-IR ที่วัด คือ $400 - 3,400 \text{ cm}^{-1}$ และ $550 - 4,000 \text{ cm}^{-1}$ ส่วน fingerprint region ของ Raman spectroscopy และ FT-IR คือ $800 - 1,800 \text{ cm}^{-1}$

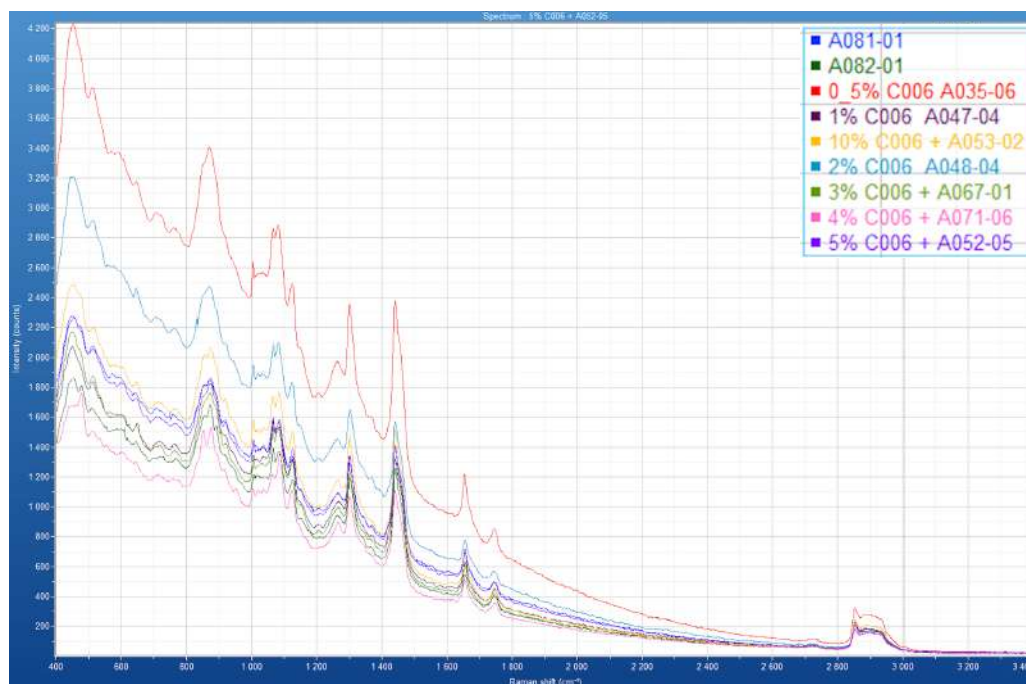
ขั้นตอนที่ 4: การแปลผลและสรุปผล

1. แปลผล สรุปผลและเลือกแบบจำลองที่เหมาะสมที่สุดในการตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ
2. รายงานผลในรูปแบบของกราฟและตารางที่ได้จากโปรแกรม The Unscrambler X v10.3 และอภิปรายผลการวิเคราะห์เชิง chemometrics อย่างเป็นระบบ

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเปรียบเทียบสเปกตรัมที่ได้จาก Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy

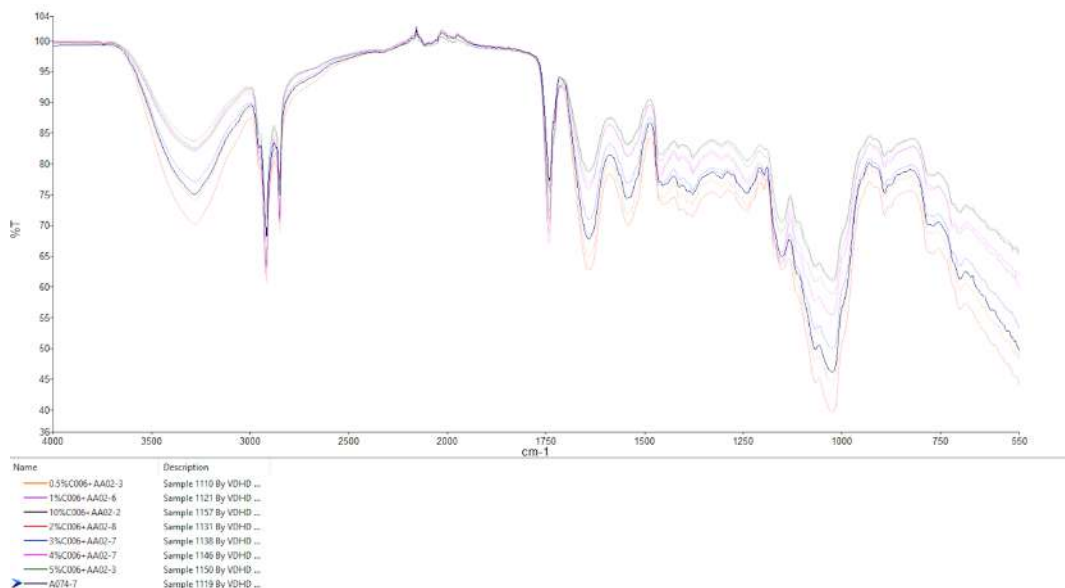
เพื่อตรวจสอบความแตกต่างเบื้องต้นระหว่างตัวอย่างน้ำนมโคดิบที่ไม่ได้เติมนมผง (0%) และตัวอย่างที่มีการเติมนมผงในระดับต่างๆ (0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 และ 10.0% (w/v)) จึงได้ทำการศึกษาข้อมูลสเปกตรัมที่วัดได้ด้วยเทคนิค Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy ดังแสดงในรูปที่ 1 และ 2 ตามลำดับ เพื่อประเมินเบื้องต้นถึงลักษณะความแตกต่างและการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมเมื่อระดับการเติมนมผงในตัวอย่างเพิ่มขึ้น



รูปที่ 1 Raman spectra ที่ได้จากตัวอย่างน้ำนมโคดิบเปรียบเทียบกับน้ำนมโคดิบที่เติมนมผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0.5–10.0%) วัดด้วย Confocal Raman Microscope ช่วงเลขคลื่น 400–3400 cm^{-1}

ในรูปที่ 1 แสดง Raman spectra ของตัวอย่างน้ำนมโคดิบและตัวอย่างที่มีการเติมนมผงในระดับต่างๆ (0.5–10%) เปรียบเทียบกับน้ำนมบริสุทธิ์ พบว่าสัญญาณมีลักษณะคล้ายกันโดยรวม แต่มีการเปลี่ยนแปลงของความเข้มที่สำคัญในช่วง 400–520 cm^{-1} , 800–1800 cm^{-1} (fingerprint region) และ ใกล้ 2900 cm^{-1} (ไขมันและโปรตีน) (Hernández and Pflüger, 2013; Zhu and Zhu, 1999)

อย่างไรก็ตาม ช่วง $800\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ แสดงสัญญาณทับซ้อนสูง จำเป็นต้องใช้เทคนิค chemometrics เช่น PCA หรือ PLS-DA ในการช่วยวิเคราะห์เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการแยกแยะตัวอย่างในขั้นตอนถัดไป



รูปที่ 2 FT-IR spectra ที่ได้จากตัวอย่างน้ำมันโคดิบเปรียบเทียบกับน้ำมันโคดิบที่เติมนมผงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0.5–10%) วัดด้วยเทคนิค ATR-FTIR โดยใช้ช่วงเลขคลื่น $550\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$

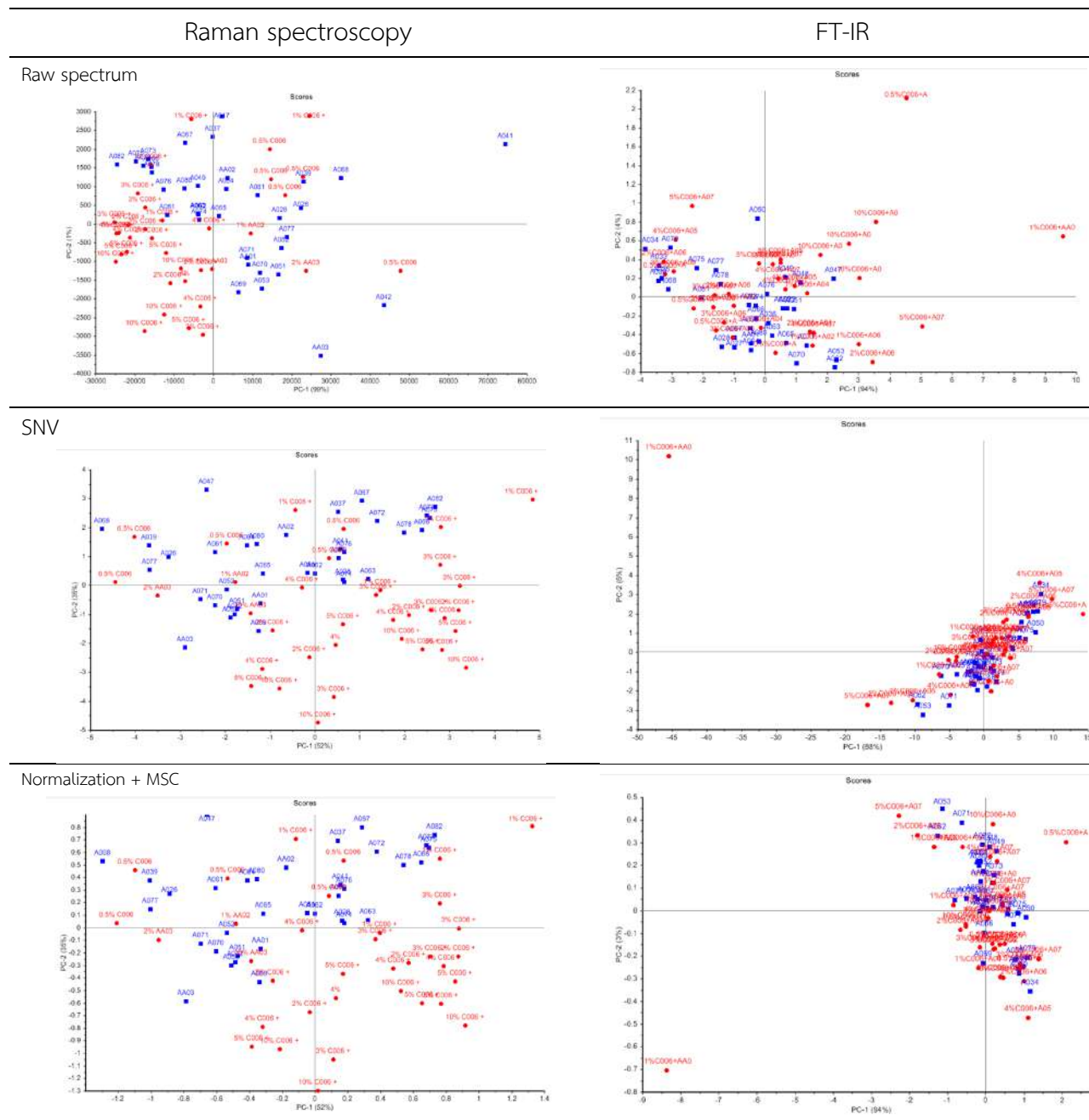
ในรูปที่ 2 แสดง FT-IR spectra ของตัวอย่างน้ำมันโคดิบเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีการเติมนมผงในระดับต่างๆ (0.5–10%) ในช่วงเลขคลื่น $550\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ พบว่าการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญเกิดขึ้นในช่วง Fingerprint region ($800\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$) และ ช่วง $\sim 2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งการสั่นของพันธะ C–H ในบริเวณช่วงคลื่นประมาณ 2900 cm^{-1} ของสเปกตรัม FT-IR สัมพันธ์กับองค์ประกอบไขมัน (Portaccio *et al.*, 2023) และโปรตีน (Barth, 2007) โดยเฉพาะบริเวณ $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ ที่สัมพันธ์กับโครงสร้างของแลคโตส (Nicolaou *et al.*, 2010) มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสัญญาณตามระดับการเติมนมผง แม้ว่าสัญญาณในช่วง Fingerprint region จะสามารถบ่งชี้ความแตกต่างได้บางส่วน แต่การซ้อนทับของสัญญาณในตัวอย่างระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–3%) ทำให้จำเป็นต้องใช้เทคนิค chemometrics เช่น PCA หรือ PLS-DA ในการช่วยวิเคราะห์เชิงลึกเพื่อให้สามารถจำแนกตัวอย่างได้อย่างแม่นยำมากขึ้น

2. การประมวลผลข้อมูลเชิง Chemometric ด้วย PCA

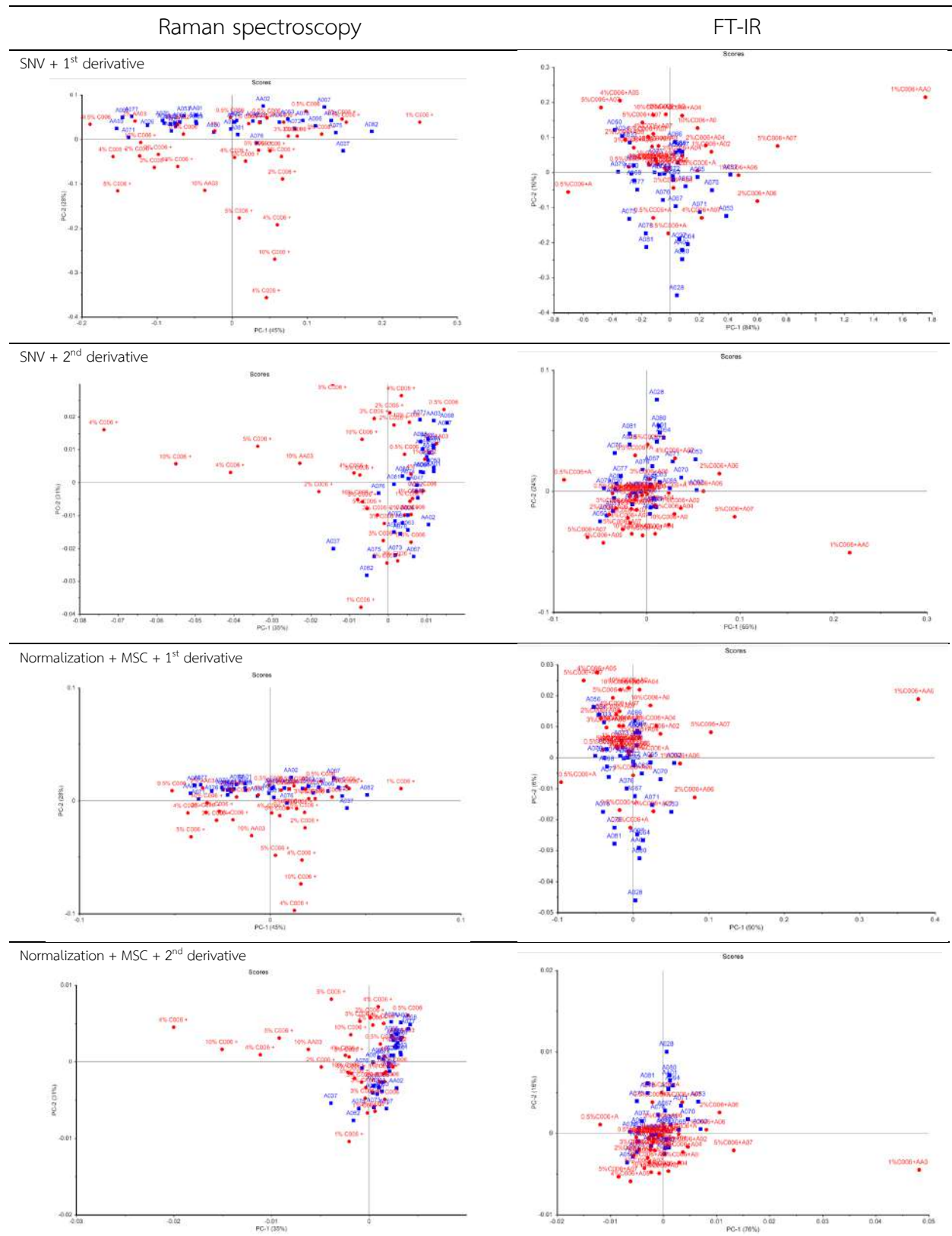
หลังจากทำการศึกษาสเปกตรัมที่ได้จาก Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่สัมพันธ์กับระดับการเติมนมผง อย่างไรก็ตาม การแปลผลสเปกตรัมโดยตรงอาจมีข้อจำกัดเนื่องจากการซ้อนทับของสัญญาณในช่วงที่สำคัญ โดยเฉพาะที่ระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–3%)

ดังนั้น จึงได้ใช้เทคนิค chemometrics เพื่อช่วยวิเคราะห์ข้อมูลให้ชัดเจนขึ้น โดยเริ่มจาก Principal Component Analysis (PCA) เพื่อสำรวจแนวโน้มของการกระจายตัวของข้อมูล และประเมินความสามารถในการแยกกลุ่มของตัวอย่างน้ำมันโคดีบบริสุทธ์และตัวอย่างที่มีการเติมนมผงที่ระดับต่างๆ ซึ่งได้ผลตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ PCA score plots ของข้อมูลที่ได้จาก Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy จากสเปกตรัม whole region ที่ผ่าน pre-processing ที่แตกต่างกัน



ตารางที่ 2 (ต่อ) แสดงผลการวิเคราะห์ PCA score plots ของข้อมูลที่ได้จาก Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy จากสเปกตรัม whole region ที่ผ่าน pre-processing ที่แตกต่างกัน



ในตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ PCA จากข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จาก Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการ pre-processing หลายวิธี พบว่าแม้การใช้ข้อมูลบริเวณ fingerprint region ($800\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$) จะเป็นที่ยินยอมเนื่องจากมีสัญญาณจำเพาะของหมู่ฟังก์ชันสำคัญ แต่จากผลการทดลองในงานศึกษานี้ กลับไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการจำแนกกลุ่มตัวอย่างได้ดีกว่าการใช้ข้อมูลจากช่วงแบบ whole region ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการซ้อนทับของสัญญาณและผลกระทบจากองค์ประกอบของน้ำนมที่หลากหลายในช่วงดังกล่าว การใช้ whole region จึงให้ข้อมูลที่ครอบคลุมและเหมาะสมกว่าสำหรับการวิเคราะห์เบื้องต้นด้วย PCA ดังนั้นจึงเลือกนำเสนอผลเฉพาะจากการวิเคราะห์ในช่วง whole region เท่านั้นในบทความนี้ ข้อสังเกตนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Karunathilaka *et al.* (2017) ที่ใช้ Raman spectroscopy ร่วมกับ PCA ในการตรวจจับเมลามีนในนมผง โดยระบุว่าการใช้สเปกตรัมในช่วงกว้างช่วยให้จำแนกตัวอย่างได้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีการปลอมปนระดับต่ำ ($<1\%$) ทั้งนี้แม้ PCA จะมีข้อดีในการวิเคราะห์แบบ unsupervised แต่ก็มีข้อจำกัดในการจำแนกกลุ่มที่มีความแตกต่างเพียงเล็กน้อย จึงแนะนำให้ต่อยอดด้วยเทคนิคแบบ supervised เช่น PLS-DA เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของแบบจำลองในการวิเคราะห์ข้อมูลซับซ้อน (Tian *et al.*, 2022)

ตารางที่ 3 สรุป explained variance (%) จาก PCA ของ Raman spectroscopy และ FT-IR

วิธี Pre-processing	Raman				FT-IR			
	PC1 (%)	PC2 (%)	PC3 (%)	รวม (%)	PC1 (%)	PC2 (%)	PC3 (%)	รวม (%)
Raw data	99	1	<1	~ 100	94	4	1	99
SNV	52	35	5	92	88	6	2	96
Normalization + MSC	52	35	5	92	94	3	1	98
SNV + 1 st derivative	45	28	8	81	84	10	2	96
SNV + 2 nd derivative	35	31	8	74	65	24	5	94
Normalization + MSC + 1 st derivative	45	28	8	81	90	6	1	97
Normalization + MSC + 2 nd derivative	35	31	8	74	76	16	3	95

จากข้อมูลในตารางที่ 2 และ 3 การวิเคราะห์ PCA ถูกใช้เพื่อสำรวจแนวโน้มการกระจายตัวของข้อมูลและประเมินความสามารถในการแยกกลุ่มตัวอย่างน้ำมันโคดิบที่เติมนมผงในระดับต่างๆ (0.5–10%) จากน้ำมันบริสุทธิ์ ผลลัพธ์จาก PCA Score plots ของ Raman spectroscopy แสดงให้เห็นว่า:

- Raw data ให้ค่า variance explained ใน PC1 สูง (99%) แต่ไม่สามารถแยกกลุ่มตัวอย่างที่ระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–4%) ได้ชัดเจน มีการซ้อนทับของข้อมูลอยู่มาก
- ผลการประมวลผลข้อมูลด้วยวิธี SNV และ Normalization + MSC ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดในการวิเคราะห์ PCA ด้วย Raman spectroscopy โดยมีค่าผลรวม variance explained ของ PC1 และ PC2 เท่ากับ 87% ซึ่งแสดงถึงการลดผลกระทบจากการกระเจิงแสงและความแปรปรวนของลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Gautam *et al.*, 2015) ส่งผลให้สามารถแยกกลุ่มตัวอย่างที่มีการเติมนมผงระดับต่ำ ($\geq 2\%$) และระดับสูง ($\geq 5\%$) ได้อย่างชัดเจนและแม่นยำยิ่งขึ้น
- การใช้อนุพันธ์ (1st และ 2nd derivative) ลดค่า variance explained ลงอย่างมาก และทำให้ข้อมูลซับซ้อนขึ้น ทำให้การแยกกลุ่มแย่ง

จากผลการวิเคราะห์นี้ วิธีที่ดีที่สุดสำหรับ PCA คือ Normalization + MSC และ SNV เนื่องจากสามารถแยกกลุ่มตัวอย่างได้อย่างชัดเจนและยังรักษาค่า variance explained ที่สูง

สำหรับผลลัพธ์ PCA ของ FT-IR พบว่า

- Raw data มีค่า variance explained สูงมากใน PC1 (94%) แสดงให้เห็นว่าข้อมูลส่วนใหญ่อธิบายได้ด้วยองค์ประกอบหลักเพียงองค์ประกอบเดียว แต่ยังคงมีการซ้อนทับของข้อมูลที่ระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–3%) อย่างชัดเจน ทำให้ยากในการแยกกลุ่มตัวอย่าง
- Normalization + MSC มี variance explained จาก PC1 + PC2 ถึง 97% แต่การซ้อนทับข้อมูลค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับผลลัพธ์จาก PCA Score plot จาก Raman spectroscopy
- Normalization + MSC + 1st และ 2nd Derivative พบว่าการใช้อนุพันธ์ส่งผลให้ variance explained ใน PC1 ลดลงอย่างชัดเจน (เหลือ 90% และ 76%) ทำให้การแยกกลุ่มตัวอย่างลงอย่างเห็นได้ชัด การใช้อนุพันธ์ทำให้ข้อมูลซับซ้อนขึ้น ไม่เหมาะในการวิเคราะห์ข้อมูล FT-IR ชุดนี้
- Standard Normal Variate (SNV) ให้ผลที่ดี มี variance explained ใน PC1 + PC2 สูงถึง 94% คล้ายกับ Normalization + MSC การใช้ SNV เป็นอีกทางเลือกที่ดีในการลด scattering effect ของตัวอย่าง
- SNV + Derivative (1st และ 2nd) ทำให้ variance explained ลดลงอย่างมาก (PC1 เหลือ 84% และ 65%) และการแยกกลุ่มตัวอย่างไม่ดีเท่า SNV หรือ Normalization + MSC อย่างเดียว การซ้อนทับของข้อมูลเพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจน

จากผลการวิเคราะห์ PCA ของ FT-IR spectroscopy พบว่า Normalization + MSC และ SNV เป็นวิธีที่ดีที่สุดเนื่องจากมี variance explained สูง และสามารถแยกกลุ่มตัวอย่างได้ชัดเจน การใช้ derivative ทั้ง 1st และ 2nd ส่งผลให้ประสิทธิภาพลดลงอย่างชัดเจนและไม่ควรใช้ในขั้นตอนต่อไป ดังนั้น การวิเคราะห์ขั้นถัดไป เช่น PLS-DA ควรใช้ข้อมูลจากวิธี Normalization + MSC หรือ SNV เพื่อให้ได้ผลการจำแนกตัวอย่างที่แม่นยำและเชื่อถือได้สูงสุด

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ PCA ของข้อมูล Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy โดยภาพรวมแล้วพบว่า มีลักษณะที่แตกต่างกันดังนี้

1. ด้าน Variance Explained

Raman spectroscopy มีความผันแปรของค่า variance explained สูงในบางวิธี pre-processing เช่น raw data (PC1 สูงถึง 99%) แต่เมื่อใช้ pre-processing อื่นๆ โดยเฉพาะ Normalization + MSC และ SNV จะได้ค่า PC1 และ PC2 ที่สมดุลกว่า (รวมกัน 87%) และให้การแยกกลุ่มที่ดูอย่างชัดเจน โดยเฉพาะที่ระดับการเติมนมผงสูง ($\geq 4\%$) รวมถึงการแยกกลุ่มในระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–3%) ก็ยังมีความชัดเจนในระดับหนึ่ง ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า แม้ค่า variance explained จะลดลงเล็กน้อย แต่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการแยกกลุ่มได้ดีกว่า

FT-IR spectroscopy โดยทั่วไปมี variance explained ใน PC1 สูงมาก ($\geq 84\%$) แม้ในวิธี pre-processing อื่นๆ เช่น SNV และ Normalization + MSC ก็ยังคงรักษาค่า variance explained ที่สูงไว้ได้ดี ($\geq 88\%$) แต่ข้อมูลมีลักษณะซ้อนทับมากกว่าข้อมูลจาก Raman spectroscopy โดยเฉพาะที่ระดับการเติมนมผงต่ำ ทำให้แยกกลุ่มได้ยากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Raman spectroscopy ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Du *et al.* (2019) ที่พบข้อจำกัดของ FT-IR ในการจำแนกตัวอย่างปลอมปนในระดับต่ำเนื่องจากผลกระทบของน้ำในตัวอย่าง

2. ด้านการแยกกลุ่มข้อมูล

Raman spectroscopy การทำ pre-processing โดยเฉพาะ Normalization + MSC และ SNV ช่วยให้สามารถแยกกลุ่มตัวอย่างที่ระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–3%) ได้ดีกว่าอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับ FT-IR spectroscopy รวมทั้งระดับสูง (4–10%) ก็สามารถแยกกลุ่มได้อย่างแม่นยำและชัดเจนยิ่งขึ้น

FT-IR spectroscopy แม้จะมีค่า variance explained สูง แต่การแยกกลุ่มในระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–3%) กลับต้อยกว่าข้อมูล Raman spectroscopy มีการซ้อนทับของข้อมูลค่อนข้างชัดเจน โดยเฉพาะเมื่อใช้ derivative จะทำให้แยกกลุ่มได้ยากขึ้นอย่างชัดเจน

3. ผลของการใช้ Derivative

Raman spectroscopy การใช้อนุพันธ์ (1^{st} และ 2^{nd} derivative) ทำให้ข้อมูลซับซ้อนมากขึ้นและลด variance explained ลงอย่างชัดเจน ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการแยกกลุ่มตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในระดับการปลอมปนต่ำซึ่งข้อมูลมีแนวโน้มซ้อนทับสูง การใช้ derivative จึงไม่เหมาะกับข้อมูล Raman spectroscopy ชุดนี้ แม้ว่าในบางกรณีจะช่วยเพิ่มความชัดเจนของพีคในสเปกตรัม แต่ผลที่ได้กลับทำให้แบบจำลองวิเคราะห์ทำงานได้ไม่ดี

FT-IR spectroscopy พบผลเช่นเดียวกับ Raman spectroscopy คือการใช้ derivative ทำให้ variance explained ลดลงชัดเจน และเพิ่มการซ้อนทับของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญ ทำให้ประสิทธิภาพการแยกกลุ่มตัวอย่างลดลง ไม่เหมาะในการใช้ derivative กับข้อมูล FT-IR ชุดนี้เช่นกัน

จากภาพรวมพบว่า Raman spectroscopy ให้ผลที่มีประสิทธิภาพกว่า FT-IR spectroscopy ในแง่ของการแยกกลุ่มตัวอย่างที่ระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–3%) โดยเฉพาะเมื่อใช้ pre-processing ที่เหมาะสม เช่น Normalization + MSC และ SNV ซึ่งสามารถใช้ในการพัฒนาแบบจำลองเชิง chemometric ต่อไปได้ดี ส่วนข้อมูล

FT-IR spectroscopy แม้จะมี variance explained สูงแต่มีข้อจำกัดในการแยกกลุ่มตัวอย่างระดับการเติมนมผงต่ำ ได้ยากกว่า ดังนั้นจึงนำข้อมูล Raman spectroscopy ไปศึกษาต่อโดยใช้เทคนิค chemometrics ขั้นสูง เช่น PLS-DA ที่มีความละเอียดและแม่นยำสูงเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจสอบการปลอมปนในขั้นตอนต่อไป

3. การวิเคราะห์เชิงจำแนกประเภทโดย Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS-DA) จาก Raman Spectroscopy

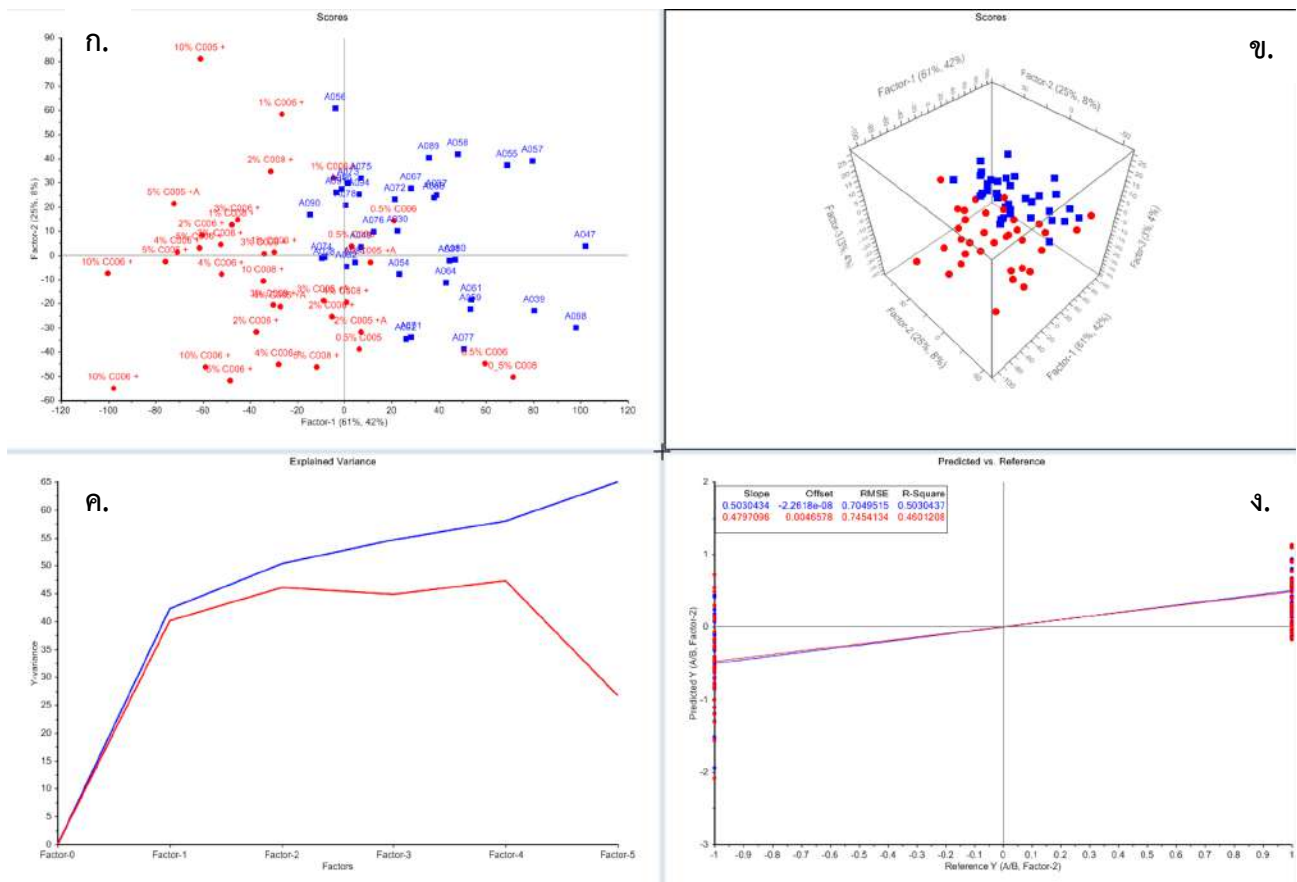
ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเป็นน้ำนมโคดิบจำนวน 35 ตัวอย่าง และน้ำนมโคดิบที่เติมนมผงในระดับ 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 และ 10% (w/v) ระดับละ 5 ตัวอย่าง รวม 35 ตัวอย่าง ทำให้มีตัวอย่างทั้งหมด 70 ตัวอย่าง การวิเคราะห์สเปกตรัมดำเนินการโดยใช้ Raman spectroscopy ครอบคลุมช่วงความยาวคลื่นแบบ whole range ข้อมูลที่ได้รับถูกประมวลผลด้วยโปรแกรม The Unscrambler X v10.3

ก่อนการวิเคราะห์ PLS-DA ข้อมูลได้รับการปรับแต่งโดยใช้ pre-processing ได้แก่ SNV, Normalization + MSC และ Normalization + MSC + 1st derivative เพื่อปรับปรุงคุณภาพของสัญญาณและเพิ่มความสามารถในการแยกแยะองค์ประกอบทางเคมี แบบจำลอง PLS-DA ถูกสร้างขึ้นเพื่อจำแนกกลุ่มระหว่างน้ำนมโคดิบและน้ำนมโคดิบที่เติมนมผง โดยใช้ cross-validation แบบ full cross validation และประเมินประสิทธิภาพแบบจำลองผ่านค่าทางสถิติ ได้แก่ Explained Variance ของ Factor-1 และ Factor-2, R^2 (Coefficient of Determination) และ RMSE (Root Mean Square Error)

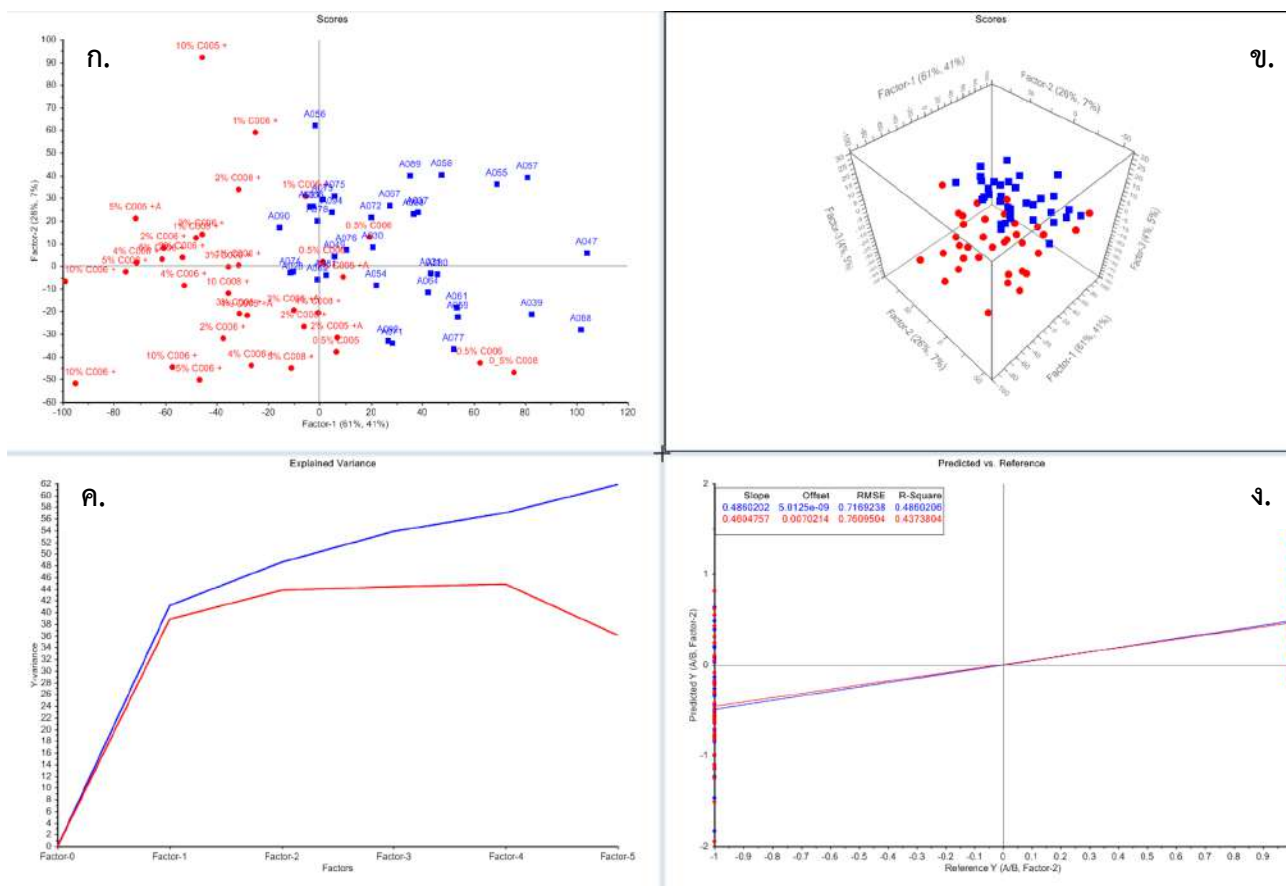
การวิเคราะห์ผลดำเนินการโดยพิจารณา score plot เพื่อประเมินการแยกกลุ่มตัวอย่าง และตรวจสอบค่าทำนาย (Predicted vs. Reference) เพื่อประเมินความแม่นยำของแบบจำลอง ผลลัพธ์ที่ได้ถูกนำไปใช้เพื่อประเมินความเป็นไปได้ของ Raman spectroscopy และ PLS-DA ในการใช้เป็น screening method สำหรับการตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ

การใช้ PLS-DA เพื่อจำแนกน้ำนมโคดิบและตัวอย่างที่มีการเติมนมผงโดยใช้ Raman spectroscopy พบว่าการประมวลผลล่วงหน้าด้วย SNV และ Normalization + MSC (รูปที่ 3 และ 4) ให้ผลการจำแนกกลุ่มที่มีแนวโน้มดี โดย Factor-1 และ Factor-2 สามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลได้ในระดับที่เหมาะสม (SNV: 61%, 42% และ 25%, 8%; Normalization + MSC: 61%, 41% และ 26%, 7% ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม ค่า R^2 ของชุดข้อมูล validation มีค่าเพียง 0.503 (SNV) และ 0.486 (Normalization + MSC) ซึ่งชี้ว่าแบบจำลองยังมีข้อจำกัดในการทำนายตัวอย่างใหม่ได้อย่างแม่นยำ อัตราความผิดพลาดของแบบจำลองยังอยู่ในระดับที่ต้องพิจารณา โดยค่า RMSE สูงกว่า 0.70 (SNV) และ 0.72 (Normalization + MSC) ซึ่งสะท้อนถึงความเสี่ยงของแบบจำลองในการจำแนกกลุ่มที่มีความแตกต่างกันเล็กน้อย ปัญหานี้สอดคล้องกับรายงานของ Leblond *et al.* (2025) ที่แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองจาก Raman spectroscopy ที่ใช้ machine learning หรือ chemometrics หากไม่มีการเลือกช่วงคลื่นอย่างเหมาะสม หรือมีระดับ noise สูง อาจทำให้ความสามารถของแบบจำลองในการนำไปใช้กับข้อมูลใหม่ลดลง ขณะที่ Wei *et al.* (2025) รายงานว่า pre-processing ที่ไม่เหมาะสม เช่น derivative ที่ไม่เหมาะสมกับคุณสมบัติของ

สัญญาณ อาจนำไปสู่ความผิดพลาดในการจำแนกกลุ่ม รวมถึงค่า RMSE ที่สูงขึ้น แบบจำลองที่มีความเสถียรจึงควรผ่านการตรวจสอบ cross-validation อย่างเข้มงวดก่อนนำไปใช้งานจริง

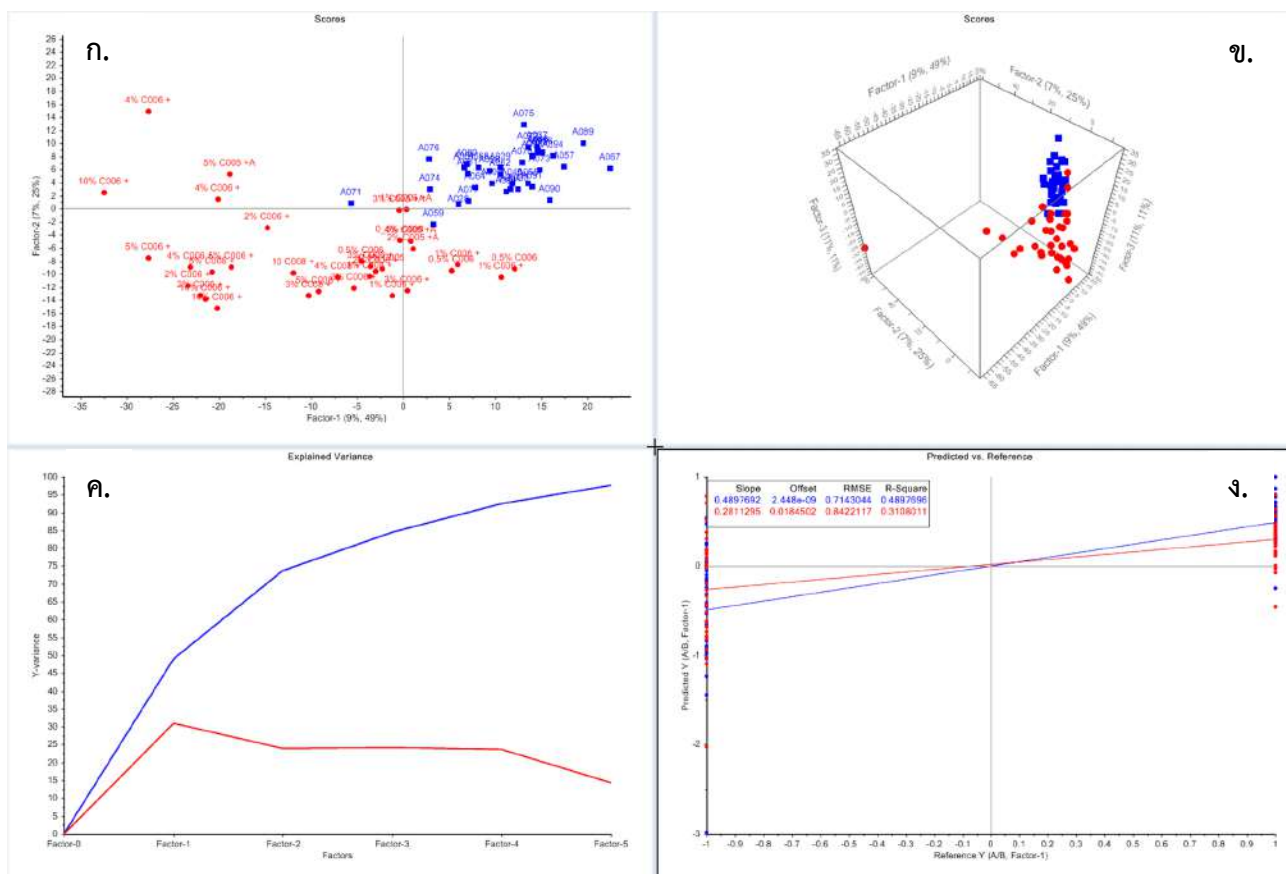


รูปที่ 3 ก. และ ข. แผนภาพคะแนน (score plot) ของ PLS-DA สำหรับจำแนกตัวอย่างน้ำมันโคดิบและตัวอย่างที่มีการเติมนมผงที่ระดับความเข้มข้น 0.5–10% โดยใช้เทคนิค Raman spectroscopy ข้อมูลได้รับการประมวลผลล่วงหน้าด้วย SNV ค. กราฟแสดงค่าความแปรปรวนที่อธิบายได้ของตัวแปรตอบสนอง (เส้นสีน้ำเงิน) และค่าการตรวจสอบข้ามชุดข้อมูล (เส้นสีแดง) ง. แผนภาพพยากรณ์เทียบกับค่าจริง (predicted vs. reference)



รูปที่ 4 ก. และ ข. แผนภาพคะแนน (score plot) ของ PLS-DA สำหรับจำแนกตัวอย่างน้ำมันโคดิบและตัวอย่างที่มีการเติมนมผงที่ระดับความเข้มข้น 0.5–10% โดยใช้เทคนิค Raman spectroscopy ข้อมูลได้รับการประมวลผลล่วงหน้าด้วย Normalization + MSC ค. กราฟแสดงค่าความแปรปรวนที่อธิบายได้ของตัวแปรตอบสนอง (เส้นสีน้ำเงิน) และค่าการตรวจสอบข้ามชุดข้อมูล (เส้นสีแดง) พร้อมทั้ง ง. แผนภาพพยากรณ์เทียบกับค่าจริง (predicted vs. reference)

แม้ว่าการใช้ Normalization + MSC จะช่วยลดผลกระทบของการกระเจิงแสงและปรับปรุงความสามารถในการเปรียบเทียบสเปกตรัม แต่แบบจำลองยังคงมีการซ้อนทับของกลุ่มตัวอย่างในระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5-1%) ทำให้ความสามารถในการจำแนกตัวอย่างปลอมปนที่มีปริมาณนมผงต่ำยังไม่ชัดเจนเพียงพอ ผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นว่าอาจจำเป็นต้องใช้เทคนิคการประมวลผลเพิ่มเติม เช่น การใช้อนุพันธ์อันดับแรก (1st derivative) หรือการรวมตัวแปรเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของแบบจำลองและปรับปรุงค่าความแม่นยำของการจำแนกกลุ่ม



รูปที่ 5 ก. และ ข. แผนภาพคะแนน (score plot) ของ PLS-DA สำหรับจำแนกตัวอย่างน้ำมันโคดิบและตัวอย่างที่มีการเติมนมผงที่ระดับความเข้มข้น 0.5–10% โดยใช้เทคนิค Raman spectroscopy ข้อมูลได้รับการประมวลผลล่วงหน้าด้วย Normalization + MSC + 1st derivative ค. กราฟแสดงค่าความแปรปรวนที่อธิบายได้ของตัวแปรตอบสนอง (เส้นสีน้ำเงิน) และค่าการตรวจสอบข้ามชุดข้อมูล (เส้นสีแดง) พร้อมทั้ง ง. แผนภาพพยากรณ์เทียบกับค่าจริง (predicted vs. reference)

เมื่อเพิ่มอนุพันธ์อันดับแรก (1st derivative) เข้าไปใน pre-processing (Normalization + MSC + 1st Derivative) (รูปที่ 5) พบว่าจาก score plot ดูเหมือน model สามารถแยกกลุ่มได้ดีขึ้น แต่ค่า R^2 ของ validation set เท่ากับ 0.490 ซึ่งไม่แตกต่างจาก SNV และ Normalization + MSC อย่างไรก็ตาม ค่าความคลาดเคลื่อน (RMSE) ยังคงสูงอยู่ในระดับที่ต้องพิจารณา ซึ่งอาจแสดงถึงความเป็นไปได้ของ overfitting ในบางส่วน รวมถึงค่า slope ของเส้นพยากรณ์มีความแตกต่างจากเส้นค่าจริงมากขึ้น สอดคล้องกับผลงานของ Zhang *et al.* (2025) ที่ระบุว่า การใช้อนุพันธ์ใน pre-processing อาจเพิ่มความชัดเจนของพิก แต่หากข้อมูลมีสัญญาณรบกวนสูงหรือไม่มีการเลือกช่วงคลื่นที่เหมาะสม อาจทำให้แบบจำลองเกิดความไม่เสถียรและทำนายตัวอย่างใหม่ได้ไม่แม่นยำ

เมื่อนำตัวอย่าง external validation จำนวน 60 ตัวอย่างที่ประกอบไปด้วย ตัวอย่างน้ำมันโคดิบ 20 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ผสมนมผงตั้งแต่ 0.5 – 10% มาทำนายโดยใช้ model SNV, Normalization + MSC และ Normalization + MSC + 1st derivative พบว่า SNV มีความสามารถที่ทำนายตัวอย่างน้ำมันโคดิบ และตัวอย่างที่มีการเติมนมผง 2% ขึ้นไป ได้ถูกต้อง 100% เช่นเดียวกับ Normalization + MSC ในขณะเดียวกันพบว่าการใช้

1st derivative ให้ผลที่ความถูกต้องลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ตามตารางที่ 4 โดยเฉพาะในกลุ่มตัวอย่างที่มีการปลอมปนในระดับต่ำ สอดคล้องกับข้อสังเกตจาก Zhang *et al.* (2025) ที่ระบุว่า การใช้ derivative อาจเพิ่มความคมชัดของพีคในสเปกตรัม แต่หากข้อมูลมีความซับซ้อนหรือมี noise สูง อาจทำให้แบบจำลองมีความเสถียรลดลง และไม่สามารถทำนายข้อมูลใหม่ได้แม่นยำเท่าที่ควร โดยเฉพาะในระดับความเข้มข้นต่ำ ซึ่งต้องอาศัย pre-processing ที่เหมาะสมและการเลือกตัวแปรที่มีความสำคัญ

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบความแม่นยำของแบบจำลอง PLS-DA ที่ผ่านการปรับแต่งสัญญาณด้วย SNV, Normalization + MSC และ Normalization + MSC + 1st derivative ในการทำนายตัวอย่าง External Validation (60 ตัวอย่าง)

External validation sample	จำนวนตัวอย่าง	SNV		Normalize +MSC		Normalize +MSC +1 st	
		จำนวนที่ทำนายถูกต้อง	ร้อยละ	จำนวนที่ทำนายถูกต้อง	ร้อยละ	จำนวนที่ทำนายถูกต้อง	ร้อยละ
Raw Milk	20	20	100.00	20	100.00	19	95.00
0.5%	13	5	38.46	5	38.46	8	61.54
1%	7	5	71.43	5	71.43	6	85.71
2%	5	5	100.00	5	100.00	2	40.00
3%	4	4	100.00	4	100.00	3	75.00
4%	2	2	100.00	2	100.00	2	100.00
5%	5	5	100.00	5	100.00	3	60.00
10%	4	4	100.00	4	100.00	4	100.00

ดังนั้น SNV และ Normalization + MSC เป็นวิธีที่เหมาะสมในการพัฒนาแบบจำลอง PLS-DA สำหรับการตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ และสามารถตรวจจับการปลอมปนได้ที่ระดับ ≥ 2 % อย่างไรก็ตาม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของแบบจำลองสำหรับการจำแนกตัวอย่างที่มีการปลอมปนต่ำกว่า 2% อาจต้องปรับปรุง pre-processing เช่น การใช้ higher-order derivatives, wavelet transform หรือเลือกตัวแปรที่สำคัญเพิ่มเติม ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มที่พบในงานของ Du *et al.* (2019) ที่ใช้ FTIR spectroscopy รายงานดังกล่าวระบุว่า การจำแนกกลุ่มตัวอย่างที่มีระดับการปลอมปนต่ำทำได้ยาก เนื่องจากการซ้อนทับของกลุ่มข้อมูล แม้ว่าทั้งสองเทคนิคจะใช้หลักการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน แต่ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความท้าทายที่คล้ายคลึงกันของ PLS-DA ในการแยกกลุ่มตัวอย่างที่ระดับการปลอมปนต่ำ ซึ่งอาจชี้ให้เห็นว่าการเพิ่ม pre-processing ขั้นสูงสามารถช่วยลดผลกระทบของ baseline variation และเพิ่ม contrast ของสัญญาณสำคัญได้ ทั้งนี้ Zhang *et al.* (2025) ยังเน้นว่า pre-processing เพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ หากไม่มีการคัดเลือกตัวแปร (feature selection) หรือการลดมิติ (dimensionality reduction) อย่างเหมาะสม ซึ่งเป็นแนวทางที่เป็นไปได้สำหรับการพัฒนา screening method ที่

แม่นยำยิ่งขึ้นสำหรับการตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ นอกจากนี้ การใช้ FT-IR spectroscopy และ Raman spectroscopy ควบคู่กันอาจเป็นแนวทางที่เป็นไปได้สำหรับการพัฒนา screening method ที่แม่นยำยิ่งขึ้น สำหรับการตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ

สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้ได้พัฒนา Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy ร่วมกับ chemometric analysis เพื่อใช้เป็น screening method สำหรับตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ พบว่า Raman spectroscopy เมื่อใช้ SNV และ Normalization + MSC ซึ่งเป็น pre-processing ที่มีประสิทธิภาพสูง ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วย PCA หรือ PLS-DA สามารถจำแนกตัวอย่างน้ำนมโคที่เติมนมผงได้ตั้งแต่ระดับ $\geq 2\%$ ขึ้นไป ในขณะที่การใช้ 1st derivative กลับลดประสิทธิภาพของแบบจำลอง และเพิ่มความผิดพลาดในการทำนาย สำหรับ FT-IR spectroscopy เมื่อวิเคราะห์ด้วย PCA แม้จะสามารถจำแนกตัวอย่างน้ำนมโคที่เติมนมผงได้เช่นกัน แต่มีข้อจำกัดในการแยกกลุ่มอย่างชัดเจนที่ระดับการเติมนมผงต่ำ (0.5–3%) โดยเฉพาะเมื่อใช้ pre-processing แบบ Normalization + MSC และ SNV แม้ variance explained จะสูงแต่มีการซ้อนทับของข้อมูลมากกว่าวิธี Raman spectroscopy ทำให้การใช้งาน FT-IR spectroscopy ต้องอาศัยเทคนิค chemometric ที่มีความละเอียดและแม่นยำเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจสอบการปลอมปนในขั้นตอนต่อไป

โดยสรุป SNV และ Normalization + MSC เป็น pre-processing ที่เหมาะสมสำหรับการใช้ Raman spectroscopy ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วย PLS-DA ในการตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบ แบบจำลองสามารถตรวจจับการปลอมปนได้ตั้งแต่ 2% ขึ้นไป อย่างไรก็ตาม การปรับปรุงเพิ่มเติม เช่น การใช้ feature selection (VIP scores), machine learning models หรือการเลือกช่วงเลขคลื่นที่เหมาะสม อาจช่วยเพิ่มความแม่นยำของแบบจำลองและลดความผิดพลาดในการทำนาย โดยเฉพาะในระดับการปลอมปนต่ำกว่า 2%

ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า Raman spectroscopy ควบคู่กับการวิเคราะห์เชิง chemometrics สามารถใช้เป็น screening method สำหรับตรวจสอบการปลอมปนนมผงในน้ำนมโคดิบได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม เพื่อเพิ่มความแม่นยำและความสามารถในการตรวจจับการปลอมปนที่ระดับต่ำกว่า 2% ควรมีการศึกษาต่อยอดโดยเพิ่มขนาดและความหลากหลายของตัวอย่าง เพื่อให้แบบจำลองมีความสามารถในการจำแนกตัวอย่างจากแหล่งผลิตที่แตกต่างกันได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ ควรทดสอบ pre-processing method อื่นๆ เช่น wavelet transform เพื่อหาวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการลดสัญญาณรบกวนและเพิ่มความคมชัดของสเปกตรัม

การใช้ feature selection techniques เช่น Variable Importance in Projection (VIP scores) หรือ Selective Wavenumber Regions อาจช่วยลดความซับซ้อนของแบบจำลองและเพิ่มความแม่นยำในการจำแนกตัวอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการตรวจจับการปลอมปนที่ระดับต่ำ ควรมีการพัฒนาแบบจำลองที่ใช้ machine

learning หรือ deep learning algorithms เช่น Support Vector Machines (SVM) หรือ neural networks เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพของการจำแนกตัวอย่างที่มีการปลอมปนต่ำ และลดปัญหาการเกิด overfitting

นอกจากนี้ ควรมีการทดสอบ cross-validation กับชุดข้อมูลภายนอก (external validation set) เพื่อประเมินความสามารถของแบบจำลองในการใช้งานจริงในสภาวะที่แตกต่างกัน รวมถึงการศึกษาผลกระทบของปัจจัยแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และองค์ประกอบอื่นๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อสเปกตรัมของน้ำนม สุดท้าย ควรพิจารณาการใช้ Raman spectroscopy ควบคู่กับ FT-IR spectroscopy เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการวิเคราะห์ เนื่องจากทั้งสองเทคนิคสามารถเสริมกันและช่วยให้ได้ข้อมูลเชิงลึกที่ครบถ้วนยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายสัตวแพทย์อุดม เจือจันทร์ ผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่ให้การสนับสนุนในการดำเนินงาน สัตวแพทย์หญิงเนาวรัตน์ กำภูศิริ หัวหน้ากลุ่มตรวจสอบคุณภาพนมและผลิตภัณฑ์นม ที่ให้การอนุเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมดิบในการตรวจวิเคราะห์ และบุคลากรงานพัฒนา กลุ่มตรวจสอบคุณภาพยาสัตว์และวัตถุดิบทรายด้านการปศุสัตว์ในความร่วมมือปฏิบัติงานให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

นพนันท์ วรรณเทพสกุล. (2557). ปัญหาและแนวทางแก้ไขทุจริตคุณภาพนมในโครงการอาหารเสริม (นม) โรงเรียน.

วารสารวิชาการ ป.ป.ช., 7(1), 89-103.

Alves Da Rocha, R., Paiva, I. M., Anjos, V., Furtado, M. A. M., & Bell, M. J. V. (2015). Quantification of whey in fluid milk using confocal Raman microscopy and artificial neural network. *Journal of Dairy Science*, 98(6), 3559–3567. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8548>. Accessed November 16, 2024.

Baker, M. J., Trevisan, J., Bassan, P., Bhargava, R., Butler, H. J., Dorling, K. M., Fielden, P. R., Fogarty, S. W., Fullwood, N. J., Heys, K. A., Hughes, C., Lasch, P., Martin-Hirsch, P. L., Obinaju, B., Sockalingum, G. D., Sulé-Suso, J., Strong, R. J., Walsh, M. J., Wood, B. R., ... Martin, F. L. (2014). Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nature Protocols*, 9(8), 1771–1791.

Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1767(9), 1073–1101.

Biancolillo, A., & Marini, F. (2018). Chemometric Methods for Spectroscopy-Based Pharmaceutical Analysis. *Frontiers in Chemistry*, 6, 576. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00576>. Accessed November 16, 2024.

- Chitra, P. (2021). Milk adulteration: An overview on adulterants, detection tests and effects on human health. *Advances in Applied Research*, 13(2), 63–68.
- Chen, M., Chen, C., Wang, F., Wen, F., Li, M., Zheng, N., & Wang, J. (2020). A rapid UPLC method with optimized sample preparation procedures for determination of furosine in milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 92, 103571.
- Domingo, E., Tirelli, A. A., Nunes, C. A., Guerreiro, M. C., & Pinto, S. M. (2014). Melamine detection in milk using vibrational spectroscopy and chemometrics analysis: A review. *Food Research International*, 60, 131–139.
- Du, L., Lu, W., Gao, B., Wang, J., & Yu, L. (Lucy). (2019). Authenticating Raw from Reconstituted Milk Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *Journal of Food Quality*, 2019, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2019/5487890>. Accessed November 16, 2024.
- Gautam, R., Vanga, S., Ariese, F., & Umapathy, S. (2015). Review of multidimensional data processing approaches for Raman and infrared spectroscopy. *EPJ Techniques and Instrumentation*, 2(1), 1–38.
- Grassi, S., Tarapoulouzi, M., D'Alessandro, A., Agriopoulou, S., Strani, L., & Varzakas, T. (2022). How Chemometrics Can Fight Milk Adulteration. *Foods*, 12(1), 139. <https://doi.org/10.3390/foods12010139>. Accessed November 16, 2024.
- Hernández, B., & Pflüger, F. (2013). Interpretation of Raman Spectrum of Proteins. *Spectroscopy Online*, 28(12), 32–39. Retrieved from <https://www.spectroscopyonline.com/view/interpretation-of-raman-spectrum-of-proteins>. Accessed November 16, 2024.
- Karunathilaka, S. R., Farris, S., Mossoba, M. M., Moore, J. C., & Yakes, B. J. (2017). Non-targeted detection of milk powder adulteration using Raman spectroscopy and chemometrics: Melamine case study. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(2), 170–182.
- Leblond, F., Dallaire, F., Ember, K., Le Moël, A., Blanquez-Yeste, V., Tavera, H., Sheehy, G., Tran, T., Guiot, M.-C., Weil, A. G., Dudley, R., Hadjipanayis, C., & Petrecca, K. (2025). Quantitative assessment of the generalizability of a brain tumor Raman spectroscopy machine learning model to various tumor types including astrocytoma and oligodendroglioma. *Journal of Biomedical Optics*, 30(1), 010501. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.30.1.010501>. Accessed November 16, 2024.
- Lohumi, S., Lee, S., Lee, H., & Cho, B.-K. (2015). A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 85–98.

- Nicolaou, N., Xu, Y., & Goodacre, R. (2010). Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis for the detection and quantification of different milk species. *Journal of Dairy Science*, 93(12), 5651–5660.
- Nunes, C. A. (2014). Vibrational spectroscopy and chemometrics to assess authenticity, adulteration and intrinsic quality parameters of edible oils and fats. *Food Research International*, 60, 255–261.
- Portaccio, M., Faramarzi, B., & Lepore, M. (2023). Probing biochemical differences in lipid components of human cells by means of ATR-FTIR spectroscopy. *Biophysica*, 3(3), 524–538.
- Rohman, A., Windarsih, A., Lukitaningsih, E., Rafi, M., Betania, K., & Fadzillah, N. A. (2020). The use of FTIR and Raman spectroscopy in combination with chemometrics for analysis of biomolecules in biomedical fluids: A review. *Biomedical Spectroscopy and Imaging*, 8(3–4), 55–71. <https://doi.org/10.3233/BSI-200189>. Accessed November 16, 2024.
- Romía, M. B., and Bernàrdez, M. A. (2009). Multivariate Calibration for Quantitative Analysis. In *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control* (pp. 51-81). Elsevier.
- Tian, H., Chen, S., Li, D., Lou, X., Chen, C., & Yu, H. (2022). Simultaneous detection for adulterations of maltodextrin, sodium carbonate, and whey in raw milk using Raman spectroscopy and chemometrics. *Journal of Dairy Science*, 105(9), 7242–7252. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21082>. Accessed November 16, 2024.
- Wang, F., Zhang, Y., Wen, F., Zheng, N., & Wang, J. (2020). Rapid determination of furosine in milk using microwave-assisted HCl hydrolysis and ultra-performance liquid chromatography. *Journal of Dairy Science*, 103(12), 11086–11093. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18614>. Accessed November 16, 2024.
- Wei, X., Wu, G., Qiu, P., Yang, H., Yan, S., Di, J., Zhao, X., Zhang, F., & Zhang, H. (2025). Analysis of corn deterioration due to molding using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Bioresources*, 20(1), 1860–1871. <https://doi.org/10.15376/biores.20.1.1860-1871>. Accessed November 16, 2024.
- Zhang, Z.-Y., Su, J.-S., & Xiong, H.-M. (2025). Technology for the Quantitative Identification of Dairy Products Based on Raman Spectroscopy, Chemometrics, and Machine Learning. *Molecules*, 30(2), 239. <https://doi.org/10.3390/molecules30020239>. Accessed March 21, 2025.
- Zhu, G., & Zhu, X. (1999). Raman spectral analysis in the C–H stretching region of proteins and amino acids. *Journal of Raman Spectroscopy*, 30(12), 1067–1072.