



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การพัฒนาสมการสำหรับหาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันแบบ
รวดเร็วโดยการประยุกต์ใช้แสงย่านใกล้อินฟราเรด

โดย

ดร. ศุมาพร เกษมสำราญ

พฤษภาคม 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การพัฒนาสมการสำหรับหาปริมาณสารเคอร์คูมินอยต์ในขมิ้นชันแบบรวดเร็วโดยการ
ประยุกต์ใช้แสงย่านใกล้อินฟราเรด

ผู้วิจัย

สังกัด

ดร. ศุมาพร เกษมสำราญ

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและ
อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ด้วยการสนับสนุนทุนในการดำเนินการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.)

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะที่ปรึกษางานวิจัยเป็นอย่างสูง สำหรับคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย กำลังใจและสนับสนุนการดำเนินงานวิจัย ท่านทั้ง 3 ได้แก่ 1) Prof. Dr. Yukihiro Ozaki อาจารย์จาก Department of Chemistry, School of Science and Technology, Kwansei Gakuin University, JAPAN 2) ผศ.ดร.วิเชียร กীরตินิจกาล อาจารย์ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และผู้อำนวยการศูนย์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ 3) คุณวราณี ชนะแพสย์ (ผู้เชี่ยวชาญ 9) หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดยวิธีไม่ทำลาย สถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขอขอบคุณบุคลากรศูนย์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ตลอดจนบุคลากรหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดยวิธีไม่ทำลาย สถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ที่อำนวยความสะดวกส่งเสริม สนับสนุนผู้วิจัยให้ดำเนินการวิจัยสำเร็จตามความมุ่งหมายทุกประการ

ดร.ศุมาพร เกษมสำราญ
ผู้วิจัย

Abstract

Project Code: MRG5180181

Project Title: Application of Near Infrared Spectroscopy in Turmeric : Model Development for Rapid Quantitative Determination of Curcuminoid

Investigator: Dr. Sumaporn Kasemsumran

Nondestructive Quality Evaluation Unit

Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute

Kasetsart University

E-mail Address: aapspk@ku.ac.th

Project Period: 2 Years

Near infrared spectroscopy (NIRS) in combination with chemometric method was applied to determine curcuminoid content in turmeric and classify turmeric samples according to their DNA fingerprint. Totally, 196 turmeric rhizomes consisting in 8 turmeric accessions were divided into two sets of 148 and 48 turmeric samples for calibration set and prediction set, respectively. To develop a calibration model for quantitative determination of curcuminoid in turmeric, partial least squares (PLS) regression was used. The NIR spectra of turmeric samples were collected in the region of 1100-2500 nm and their curcuminoid contents were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) as a reference method. The best model of NIR analysis was obtained by using the second derivative NIR spectra of turmeric in the region of 2100 – 2500 nm with 7 factor number. Its statistic results were the correlation (R) of 0.982 and root mean squares error of prediction (RMSEP) of 1.011%. For classification object, each sample set contained two clusters of A and B according to DNA fingerprint was measured in the region of 1100-2500 nm. The classification of turmeric samples were conducted by using partial least squares discrimination analysis (PLSDA) method. The results showed that a PLSDA calibration model of use the second derivative NIR spectra in the whole region with 7 factor number yielded the highest correct classification of 100%.

Keywords: near infrared spectroscopy, turmeric, curcuminoid, PLS, PLSDA, DNA fingerprint

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5180181

ชื่อโครงการ : การพัฒนาสมการสำหรับหาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันแบบรวดเร็วโดยการประยุกต์ใช้แสงย่านใกล้อินฟราเรด

ชื่อนักวิจัย : ดร.ศุมาพร เกษมสำราญ

หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดยวิธีไม่ทำลาย

ฝ่ายนาโนเทคโนโลยีและเทคโนโลยีชีวภาพ

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อีเมล : aapspk@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

การประยุกต์ใช้แสงย่านใกล้อินฟราเรดร่วมกับวิธีการคำนวณเชิงสถิติเคมี ในการวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน และการจัดกลุ่มตัวอย่างขมิ้นชันตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ใช้ตัวอย่างขมิ้นชัน 196 ตัวอย่างมาจาก 8 พันธุ์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างใช้สร้างสมการ 148 ตัวอย่าง และกลุ่มตัวอย่างใช้ทดสอบสมการ 48 ตัวอย่าง ตามลำดับ ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันจะเลือกใช้วิธี partial least squares (PLS) regression นำตัวอย่างขมิ้นไปสแกนในช่วง 1100 – 2500 นาโนเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ด้วยวิธีอ้างอิง high performance liquid chromatography (HPLC) สมการที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยแสงย่านใกล้อินฟราเรดที่ดีที่สุด สร้างจากสเปกตร้าอนุพันธ์อันดับสองในช่วง 2100-2500 นาโนเมตร ใช้ 7 แฟกเตอร์ให้ผลทางสถิติคือค่าสหสัมพันธ์เป็น 0.982 และค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนในการทำนาย 1.011 % สำหรับการวิเคราะห์เพื่อจัดกลุ่มนั้น ตัวอย่างขมิ้นในแต่ละกลุ่มที่แบ่งจะประกอบด้วยขมิ้นกลุ่ม A และ B ซึ่งแยกได้ตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ นำตัวอย่างมาสแกนในช่วง 1100-2500 นาโนเมตร และคำนวณจัดกลุ่มด้วยวิธี partial least squares discrimination analysis (PLSDA) ผลการสร้างสมการมาตรฐาน PLSDA ด้วยสเปกตร้าอนุพันธ์อันดับสอง ใช้ทั้งช่วงความยาวคลื่น ด้วย 7 แฟกเตอร์ สามารถจัดกลุ่มตัวอย่างขมิ้นได้ถูกต้อง 100%

คำหลัก : เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี ขมิ้นชัน เคอร์คูมินอยด์ การจัดกลุ่ม ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(1)
Abstract	(2)
บทคัดย่อ	(3)
สารบัญ	(4)
สารบัญตาราง	(5)
สารบัญภาพ	(6)
Executive summary	(8)
คำนำ	1
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผลและวิจารณ์	16
สรุปผลการวิจัย	37
เอกสารอ้างอิง	40
Output	43
ภาคผนวก	44

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ข้อกำหนดมาตรฐานของการผลิตขมิ้นชัน	5
2	การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด	7
3	การแบ่งช่วงคลื่นย่านเนียร์อินฟราเรด	8
4	เปรียบเทียบค่าทางสถิติของสมการ PLSDA ที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่ง ในช่วง 1100 - 2500 นาโนเมตร สำหรับการจัดกลุ่มขมิ้นชัน B47-39 และ B51-1 ด้วยเทคนิค NIRS ที่สแกนจากแง	19
5	เปรียบเทียบค่าทางสถิติของสมการ PLSDA ที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่ง ในช่วง 1100 - 2500 นาโนเมตร สำหรับการจัดกลุ่มขมิ้นชัน B47-39 และ B51-1 ด้วยเทคนิค NIRS ที่สแกนจากผ	21
6	เปรียบเทียบค่าทางสถิติของสมการ PLSDA ที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่ง ในช่วง 1100 - 2500 นาโนเมตร สำหรับการจัดกลุ่มขมิ้นตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ	25
7	ความหมายทางเคมีของพีคที่ปรากฏในสเปกตรัม NIR ของสารเคอร์คูมินอยด์มาตรฐาน	27
8	เปรียบเทียบผลทางสถิติของสมการ PLS สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ ในแงขมิ้นชัน (2.43 – 11.02%) โดยเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัม NIR ไม่ปรับแต่งและปรับแต่งวิธีต่างๆ และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน	28
9	เปรียบเทียบผลทางสถิติของสมการ PLS สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ ในผขมิ้นชัน (2.43 – 11.02%) โดยเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัม NIR ไม่ปรับแต่งและปรับแต่งวิธีต่างๆ และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน	30
10	เปรียบเทียบผลทางสถิติของสมการ PLS สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ ในขมิ้นชัน (2.43 – 17.07%) โดยเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัม NIR ไม่ปรับแต่งและปรับแต่งวิธีต่างๆ และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน	33
11	เปรียบเทียบผลทางสถิติของสมการ PLS สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ ในขมิ้นชัน (0.03 – 17.07%) โดยเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัม NIR ไม่ปรับแต่งและปรับแต่งวิธีต่างๆ และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน	36

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
1	1
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของขมิ้นชัน (1) ช่อดอกของขมิ้นชัน (2), (3) เหง้าใต้ดินของต้นขมิ้นชัน	
2	4
สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids)	
3	8
การดูดกลืนของโมเลกุล X-H ทำให้เกิดพีคในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด	
4	9
ลักษณะ Sample presentations ในเทคนิคเนียร์อินฟราเรด	
5	16
การปลูกและเก็บเกี่ยวขมิ้นในแปลงทดลอง	
6	17
ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างขมิ้น	
7	18
สเปกตรัม NIR เฉลี่ยของแงขมิ้นชัน B47-39 และ B51-1 ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm	
8	19
สเปกตรัม NIR เฉลี่ยของผงขมิ้นชัน B47-39 และ B51-1 ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm	
9	20
(ก) สเปกตรัม NIR อนุพันธ์อันดับที่ 2 ของแงขมิ้นชัน 2 กลุ่มที่ใช้สร้างสมการจัดกลุ่ม (ข) พล็อตระหว่างค่าที่กำหนดและค่าที่ทำนายด้วยสมการ PLSDA Calibration สร้างจากสเปกตรัมภาพ (ก) เพื่อจัดกลุ่มขมิ้น B47-39 ($Y < 0.5$) และขมิ้น B51-1 ($Y \geq 0.5$) (ค) ผลการทดสอบสมการเพื่อจัดกลุ่มขมิ้นชัน 19 ตัวอย่าง ให้ความถูกต้อง 100%	
10	22
(ก) สเปกตรัม NIR อนุพันธ์อันดับที่ 2 ของผงขมิ้นชัน 2 กลุ่มที่ใช้สร้างสมการจัดกลุ่ม (ข) พล็อตระหว่างค่าที่กำหนดและค่าที่ทำนายด้วยสมการ PLSDA Calibration สร้างจากสเปกตรัมภาพ (ก) เพื่อจัดกลุ่มขมิ้น B47-39 ($Y < 0.5$) และขมิ้น B51-1 ($Y \geq 0.5$) (ค) ผลการทดสอบสมการเพื่อจัดกลุ่มขมิ้นชัน 19 ตัวอย่าง ให้ความถูกต้อง 100%	
11	23
สเปกตรัม NIR เฉลี่ยของขมิ้นชันกลุ่ม A และ B ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm (ก) สเปกตรัมดิบ (ข) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับที่ 2	
12	24
สเปกตรัม NIR อนุพันธ์อันดับที่ 2 เฉลี่ยของขมิ้นกลุ่ม A, B และสารมาตรฐานเคอร์คูมินอยด์ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm	
13	25
(ก) สเปกตรัม NIR อนุพันธ์อันดับที่ 2 ของขมิ้นชัน 2 กลุ่มที่ใช้สร้างสมการจัดกลุ่มตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (ข) พล็อตระหว่างค่าที่กำหนดและค่าที่ทำนายด้วยสมการ PLSDA Calibration สร้างจากสเปกตรัมภาพ (ก) สำหรับจัดกลุ่มขมิ้น A ($Y < 0.5$) และ B ($Y \geq 0.5$) (ค) ผลการทดสอบสมการเพื่อจัดกลุ่มขมิ้นชัน 48 ตัวอย่าง ให้ความถูกต้อง 100%	
14	26
(ก) การสกัดสารเคอร์คูมินอยด์ด้วยวิธี Soxhlet extraction (ข) การระเหยสารด้วยเครื่อง Rotary evaporator และ (ค) การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ด้วยวิธี HPLC	

15	Maximum normalized original และ 2 nd derivative NIR spectra ของ standard curcuminoid ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm	27
16	NIR สเปกตร้าดิบของแ่งขมิ้นชัน B51-1 ในช่วง 1100 – 2500 nm	28
17	2 nd derivatived NIR สเปกตร้าของแ่งขมิ้นชัน B51-1 ในช่วง 1100 – 2500 nm	29
18	Correlation plot ระหว่างปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (แกน x) และปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยสมการ PLSR ที่สร้างจาก 2 nd derivatived NIR spectra ของแ่งขมิ้นชัน B51-1 ในช่วง 1600 - 2100 nm (แกน y)	29
19	NIR สเปกตร้าดิบของผงขมิ้นชัน B51-1 ในช่วง 1100 – 2500 nm	31
20	2 nd derivatived NIR สเปกตร้าของผงขมิ้นชัน B51-1 ในช่วง 1100 – 2500 nm	31
21	Correlation plot ระหว่างปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (แกน x) และปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยสมการ PLSR ที่สร้างจาก 2 nd derivatived NIR spectra ของผงขมิ้นชัน B51-1 ในช่วง 1550-2500 nm (แกน y)	32
22	NIR สเปกตร้าดิบของขมิ้นชัน 60 ตัวอย่างในช่วง 1100 – 2500 nm	32
23	2 nd derivatived NIR สเปกตร้าของขมิ้นชัน 60 ตัวอย่างในช่วง 1100 – 2500 nm	33
24	Correlation plot ระหว่างปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (แกน x) และปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยสมการ PLSR ที่สร้างจาก 2 nd derivatived NIR spectra ของขมิ้นชันในช่วง 1100-1550 nm (แกน y)	34
25	NIR สเปกตร้าดิบของขมิ้นชัน 148 ตัวอย่างในช่วง 1100 – 2500 nm	34
26	2 nd derivatived NIR สเปกตร้าของขมิ้นชัน 148 ตัวอย่างในช่วง 1100 – 2500 nm	35
27	Correlation plot ระหว่างปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (แกน x) และปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยสมการ PLSR ที่สร้างจาก 2 nd derivatived NIR spectra ของขมิ้นชันในช่วง 2100-2500 nm (แกน y)	36

หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)
ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่

1. ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนาสมการสำหรับหาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันแบบรวดเร็ว
โดยการประยุกต์ใช้แสงย่านใกล้อินฟราเรด

(ภาษาอังกฤษ) Application of Near Infrared Spectroscopy in Turmeric : Model
Development for Rapid Quantitative Determination of Curcuminoid

2. ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานที่สังกัด ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ดร. ศุมาพร เกษมสำราญ

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
50 พหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ ๑๐๙๐๐

โทรศัพท์ 02-9428600-3 ต่อ 502, 507 โทรสาร 02-5620339 e-mail aapspk@ku.ac.th

3. สาขาวิชาที่ทำการวิจัย เคมีวิเคราะห์ที่เกี่ยวข้องกับเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร

4. งบประมาณทั้งโครงการ 480,000 บาท

5. ระยะเวลาดำเนินงาน 2 ปี

6. ได้เสนอโครงการนี้ หรือโครงการที่มีส่วนเหมือนกับเรื่องนี้บางส่วนเพื่อขอทุนต่อแหล่งทุนอื่นที่ใดบ้าง

☒ ไม่ได้เสนอต่อแหล่งทุนอื่น

☐ เสนอต่อ

ชื่อโครงการที่เสนอ

กำหนดทราบผล (หรือสถานภาพที่ทราบ)

7. ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

ขมิ้นชัน (turmeric) เป็นพืชสมุนไพรที่คนไทยใช้กันมาแต่โบราณ มีสารสำคัญสีเหลือง-ส้ม กลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoid) ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญตัวหนึ่งโดยพบอยู่ในเหง้าขมิ้นชัน ผงขมิ้นชันถูกนำมาใช้ผสมอาหารเป็นเครื่องเทศ ใช้ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ในทางการแพทย์ขมิ้นมีสรรพคุณทางยาในการรักษาโรคหลายชนิด เช่น โรคเกี่ยวกับระบบการย่อยอาหาร รักษาโรคผิวหนังบางชนิด มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและรา ฤทธิ์ต้านอักเสบ ได้ดีกว่าวิตามินซีและวิตามินอี จากงานวิจัยหลายชิ้นพบว่า สารเคอร์คูมิน (Curcumin) มีฤทธิ์ช่วยป้องกันโรคมะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ สารเคอร์คูมินอยด์เป็นสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenolic compound) โครงสร้างทางเคมีของสารเคอร์คูมินอยด์

ประกอบด้วย ferric acid 2 โมเลกุล เชื่อมต่อกันด้วยหมู่คาร์บอนิล (carbonyl group) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า diferuloylmethane สารเคอร์คิวมินอยด์ในขมิ้นชันมีอยู่ 3 ชนิดด้วยกันคือ Bis-(feruloyl)methane หรือ 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione หรือเคอร์คิวมิน (curcumin) เป็นเคอร์คิวมินอยด์ที่พบมากที่สุดใข้ขมิ้นชัน คือ ประมาณ 49% สำหรับ Feruloyl-(p-hydroxycinnamoyl)methane หรือ demethoxycurcumin และ Bis(p-hydroxycinnamoyl)methane หรือ bisdemethoxycurcumin เป็นเคอร์คิวมินอยด์ที่พบในขมิ้นชันในปริมาณที่น้อย ปัญหาหลักของขมิ้นชันไทยคือ ความไม่สม่ำเสมอของปริมาณสารเคอร์คิวมิน ซึ่งอาจเกิดจากสภาพแวดล้อมและพันธุกรรม การวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คิวมินด้วยสามารถทำได้โดยสกัดสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ออกมา จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อแยกและคำนวณหาปริมาณสารเคอร์คิวมินออกมา ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้ล้วนใช้เวลายาวนานและมีค่าใช้จ่ายสูงไม่ต่ำกว่า 2500 บาทต่อตัวอย่าง รวมทั้งผู้ทำการวิเคราะห์ต้องมีความเชี่ยวชาญ ปัญหาเหล่านี้จึงเป็นที่มาให้คณะนักวิจัยมีความสนใจที่จะนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีเข้ามาประยุกต์ใช้ เพื่อให้การวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คิวมินในขมิ้นชัน มีความสะดวก รวดเร็ว ลดค่าใช้จ่าย แต่ยังคงความถูกต้องแม่นยำ โครงการวิจัยนี้จึงเป็นองค์ความรู้สำคัญ สมการที่พัฒนาขึ้นจะช่วยให้การวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คิวมินในขมิ้นชันทำได้สะดวก รวดเร็ว ทำให้การนำทรัพยากรทางการเกษตรอันได้แก่ขมิ้นชันมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

8. วัตถุประสงค์

8.1 นำเทคนิคแสงย่านใกล้อินฟราเรด (NIR spectroscopy) มาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ในขมิ้นชัน

8.2 สร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างการวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ด้วยการใช้แสงย่านใกล้อินฟราเรดและด้วยวิธี HPLC

8.3 เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่เพื่อการประยุกต์ใช้เทคนิคแสงย่านใกล้อินฟราเรดในสมุนไพรไทย

9. ระเบียบวิธีวิจัย

ปีที่หนึ่ง

9.1 ทำการศึกษาเบื้องต้นโดยใช้ตัวอย่างขมิ้นชัน B47-39 (บ้านตาขุน) และ B51-1 (ปากช่อง) มาศึกษาดังนี้

1) หาสภาวะในการทดลองและทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการสกัด ส่วนการวิเคราะห์ด้วย HPLC ได้ทำการจ้างเหมาศูนย์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ฉีดวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คิวมินอยด์

2) หาสภาวะในการทดลองของเทคนิคแสงย่านใกล้อินฟราเรด ได้แก่ การเตรียมตัวอย่างเพื่อสแกนทั้งแห้งและแบบผง การเลือกใช้ sample cell ช่วงความยาวคลื่น จำนวนการสแกนซ้ำ เป็นต้น

9.2 หาเอกสารข้อมูล

9.3 จำแนกหาคุณสมบัติความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หาพันธุ์ขมิ้น ปลุกและขยายพันธุ์

9.4 ได้ขมิ้น 2 พันธุ์ คือ B47-39 และ B51-1 สแกนจากเหง้า แล้วจึงนำเหง้าไปหั่น อบแห้ง และบดเป็นผง จากนั้นสแกนผงขมิ้น นำผงขมิ้นไปสกัด ได้สารสกัดส่งวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ ด้วยวิธี HPLC ต่อไป

9.5 คำนวณสร้างสมการ PLSDA แยกกลุ่มขมิ้น B47-39 และ B51-1 เปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่ง และคำนวณสร้างสมการเบื้องต้นสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชั้นในช่วงปริมาณ 2.43 – 11.02% เปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่ง และใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน

9.6 ทดสอบประสิทธิภาพของสมการที่สร้างขึ้นในข้อ 9.5

ปีที่สอง

9.7 จำแนกหาคุณสมบัติความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หาพันธุ์ขมิ้น ปลุกและขยายพันธุ์ต่อเนื่อง ได้ตัวอย่างอีก 6 พันธุ์

9.8 คำนวณสร้างสมการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชั้นในช่วงปริมาณ 2.43 – 17.07% เปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่ง และใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน และทดสอบประสิทธิภาพของสมการ

9.9 คำนวณสร้างสมการ PLSDA แยกกลุ่มขมิ้นชั้นตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่ง ทดสอบประสิทธิภาพของสมการที่สร้างขึ้น

9.10 คำนวณสร้างสมการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชั้นในช่วงปริมาณ 0.03-17.07% เปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่ง และใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน ทดสอบประสิทธิภาพของสมการที่สร้างขึ้น

คำนำ

ขมิ้นชัน

ขมิ้นชันเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ขิงข่า มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* L. ชื่อพ้อง *C. domestica* Valetton วงศ์ Zingiberaceae ชื่อสามัญ Turmeric, Curcuma, Indian saffron และ Yellow root ชื่อท้องถิ่น ขมิ้น(ทั่วไป) ขมิ้นแกง ขมิ้นหยวก ขมิ้นหัว (เชียงใหม่) ขมิ้น หมิ้น (ใต้) (นิจศิริ, 2542) ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรอย่างหนึ่งที่มีความนิยมนำมาใช้แพร่หลายในทุกภาคของประเทศ มีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปลูกกันมากในอินเดีย จีน อินโดนีเซีย ไทย และประเทศในเขตร้อนอื่น ๆ ขมิ้นชันเป็นพืชเก่าแก่ที่รู้จักกันมานาน และนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่างๆ มากมาย ทั้งในรูปยา ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม และเครื่องสำอาง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ขมิ้นเป็นพืชล้มลุก มีอายุหลายปี สูง 30-90 เซนติเมตร มีเหง้าใต้ดิน (ภาพที่ 1) ลักษณะเป็นแท่งยาว และมีข้อปล้องชัดเจน มีการแตกแขนงไม่เป็นระเบียบ ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เรียกว่า หัวหลัก (mother rhizome) และแง่ง (rhizome) ภายในประกอบด้วยสารสำคัญ 2 ชนิด คือสารสีเหลืองกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ และน้ำมันหอมระเหย มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว และมีรสขมปนเผ็ดเล็กน้อย มีรากจำนวนมาก ลักษณะอวบน้ำ จัดกลุ่มสีภายในเหง้าขมิ้นชันเป็น 3 โทนสี คือ ส้ม เหลือง และเหลืองส้ม พบว่าโทนสีเดียวกันมีเปอรูเซ็นต์ curcuminoid ใกล้เคียงกัน



(1)



(2)



(3)

ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของขมิ้นชัน (1)ช่อดอกของขมิ้นชัน (2),(3)เหง้าใต้ดินของต้นขมิ้นชัน

ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์

เหง้าแห้งและเหง้าสดรวมทั้งใบ เป็นส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ (วันดี, 2537) โดยมีอายุที่เก็บเกี่ยวได้คือ 9-10 เดือน (วันดี, 2538) องค์ประกอบที่พบส่วนใหญ่เป็นแป้งและเยื่อใยแต่ปริมาณมากน้อยขึ้นอยู่กับการเพาะปลูกและอายุการเก็บเกี่ยว โดยแป้งจะมีอยู่ประมาณร้อยละ 40-50 ของน้ำหนักแห้ง และองค์ประกอบที่สำคัญคือรงควัตถุที่ให้สีเหลือง ได้แก่ สารประกอบเคอร์คูมินอยด์ และน้ำมันหอมระเหย (กานดา, 2540; Govindarajan, 1980)

พันธุ์และการคัดเลือกพันธุ์

ขมิ้นชันที่ดีในตลาดโลกมีมากกว่า 50 สายพันธุ์ ส่วนมากมาจากอินเดีย ซึ่งจำแนกสายพันธุ์โดยใช้คุณสมบัติต่างๆ ทางด้านรูปร่าง ลักษณะ สี กลิ่น และอายุที่สมบูรณ์พร้อมเก็บเกี่ยว (maturity of rhizome) มีทั้งสายพันธุ์อายุพร้อมเก็บเกี่ยวสั้น 7 เดือน สายพันธุ์อายุพร้อมเก็บเกี่ยว 9 เดือน และสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดีมีปริมาณสารสำคัญสูง (Atal and Kapur, 1989) ซึ่งประเทศอินเดียเป็นผู้ผลิตและใช้ขมิ้นชันมากที่สุดถึง 80% ของโลก และเป็นประเทศที่ส่งออกมากที่สุด โดยมีพันธุ์มากกว่า 50 พันธุ์ พันธุ์การค้าที่ใช้ส่งออกมีลักษณะเนื้อในแข็งสีส้มเข้มให้สารเคอร์คูมินสูง เช่น พันธุ์ Roma (PCT-10) และ Suroma (PTS-24) มีปริมาณเคอร์คูมินสูง 9.3 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ดีของประเทศอินเดียที่ได้รับการยอมรับคือ กลุ่มพันธุ์ Alleppey (Niir board, n.d.) นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ Erode Rajapore และพันธุ์ Sangli (India AGRO Industry, 2005)

สำหรับประเทศไทยงานรวบรวมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ปลูกยังมิได้มีการดำเนินการน้อย ส่วนใหญ่ยังคงใช้พันธุ์ที่มีอยู่ในท้องถิ่นหรือแหล่งขายวัตถุดิบ ในปี พ.ศ. 2543 มีรายงานผลการรวบรวมพันธุ์ไว้ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง ของกรมวิชาการเกษตร จำนวน 10 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ชุมพร 10018801 ให้ผลผลิต 4.5 ตันต่อไร่ใกล้เคียงกับสายพันธุ์อื่นๆ ที่ปลูกไว้ทั้ง 9 สายพันธุ์ (กรมวิชาการเกษตร, 2544) อย่างไรก็ตามผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในขมิ้นชันที่เก็บจากแหล่งปลูกต่างๆ ในประเทศไทยจำนวน 44 ตัวอย่าง ที่ไม่ได้ระบุสายพันธุ์ และอายุการเก็บเกี่ยว พบว่ามีการแปรผันสูงมากระหว่างภูมิภาคของประเทศ โดยพบปริมาณเคอร์คูมินอยด์ มีค่าแปรผันระหว่าง 3.81-15.32% และปริมาณน้ำมันหอมระเหยระหว่าง 4.70-16.14% ตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งปลูกภายในจังหวัดเดียวกันมีความแปรผันสูง (Chavalittumrong and Dechatiwongse, 1988; สมภพ และคณะ, 2543)

ในปี 2552 ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง กรมวิชาการเกษตร มีการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันพันธุ์ใหม่ได้เสร็จสมบูรณ์แล้ว ซึ่งคณะกรรมการวิจัยปรับปรุงพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ได้พิจารณาเห็นชอบให้เป็นพันธุ์แนะนำชื่อ “ขมิ้นชันพันธุ์ตรัง 2” โดยขมิ้นชันพันธุ์นี้มีความสูงของต้นประมาณ 0.8-1.1 เมตร หลังปลูก 9 เดือน ก็สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตจำหน่ายได้ ให้ผลผลิตหัวสดในภาคใต้ประมาณ 2.59 ตัน/ไร่ นอกจากนี้ยังมีความโดดเด่นที่มีสารสำคัญเคอร์คูมินอยด์เฉลี่ย 11.04 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานยาสมุนไพรไทย 120.80 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำมันหอมระเหยเฉลี่ย 7.78 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ามาตรฐานยาสมุนไพรไทย 29.67 เปอร์เซ็นต์ เนื้อในหัวมีสีส้มแกมแดง หรือ Orange group 28 B โดยใช้แผ่นเทียบสีของ The Royal Horticulture Society (RHS) ซึ่งการคัดเลือกจากพันธุ์ที่มีคุณภาพตามมาตรฐานการผลิตยา มาตรฐานตำรับยาสมุนไพรไทย กำหนดให้ผงวัตถุดิบขมิ้นชันที่ใช้ผลิตยาต้องมีปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ไม่ต่ำกว่า 5% และปริมาณน้ำมันหอมระเหยไม่ต่ำกว่า 6% (Thai Herbal Pharmacopoeia, 1995)

องค์ประกอบทางเคมี

เหง้าของขมิ้นจะมีน้ำมันหอมระเหยและสารสีเหลือง ซึ่งน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) มีสีส้ม-เหลือง ให้กลิ่นหอมที่เกิดจากส่วนผสมของ turmerone และ ar-turmerone (Bainiam, 1985) และสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) มีลักษณะเป็นผงสีเหลืองสะสมอยู่ในเซลล์พาราเรโนไมมาของชั้นคอร์เท็กซ์ในเหง้า ประกอบด้วยสาร curcumin, demethoxy curcumin และ bisdemethoxy curcumin (Tang and Eisenbrand, 1992) องค์ประกอบทางเคมีในเหง้าของขมิ้นชั้นแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มสารประกอบเทอร์ปีนอยด์ (terpenoid compounds) หรือเทอร์ปีน (terpenes)

สารประกอบเทอร์ปีนอยด์ (terpenoid compounds) หรือเทอร์ปีน (terpenes) เป็นกลุ่มสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) ซึ่งมีทั้งที่เป็นชนิดโมโนเทอร์ปีน (monoterpene) ไดเทอร์ปีน (diterpene) (ขวัญใจ, 2535; นาฏศิจิ และคณะ, 2542) และสารกลุ่มเซสควิเทอร์ปีน คีโตน (sesquiterpene ketone) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยหลักที่พบในขมิ้นชัน (Rao and Reddy, 1977) สารกลุ่ม sesquiterpene ketone ได้แก่ turmerone และ ar-turmerone (Rupe *et al.*, 1934; Shivashankar *et al.*, 1976)

น้ำมันหอมระเหย (volatile oil หรือ essential oils) เป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีอยู่ในพืช พบน้ำมันหอมระเหยได้ในเซลล์พิเศษ ต่อมหรือท่อ (ธวัชชัย, 2531) ตามส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผลเปลือก ผิวของผล และเหง้า (อุดมลักษณ์, 2534) น้ำมันหอมระเหยสามารถระเหยได้ที่อุณหภูมิปกติ มีกลิ่นเฉพาะตัว ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์เบาหรือน้ำหรือหนักกว่าน้ำก็ได้ มีจุดเดือดอยู่ในช่วง 150-300 องศาเซลเซียส เมื่อกลั่นได้ใหม่ๆ จะมีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้จะออกซิไดซ์ (oxidize) มีสีคล้ำลง

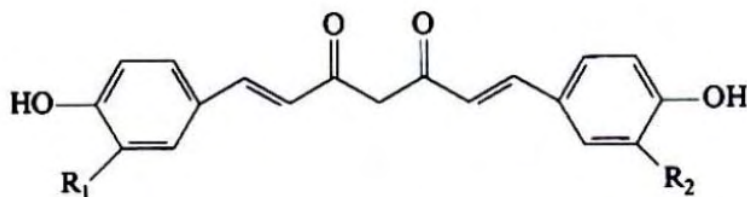
2. สารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids)

สารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) หรือเรียกว่า diaryl heptanoid coloring material เป็นสารจำพวก diferuloylmethane ซึ่งมีลักษณะเป็นสารสีเหลือง (crystalline yellow substance) สะสมอยู่ในเซลล์พาราเรโนไมมาของชั้นคอร์เท็กซ์ในเหง้า เป็นสารที่มีกลิ่นและคุณสมบัติเฉพาะ ซึ่งเมื่อเติมต่างจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดง (reddish-brown) ประกอบด้วยสารฟีนอลิก 3 ชนิด ได้แก่ เคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และบิสเดสเมทอกซีเคอร์คิวมิน

2.1 เคอร์คิวมิน (curcumin, diferuloyl methane) มีชื่อเรียกตามโครงสร้างทางเคมีว่า 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) 1, 6-heptadiene 3,5 dione มีสูตรโครงสร้างเป็น CHO และมีน้ำหนักโมเลกุล 368.4 ลักษณะเป็นผลึกขนาดเล็ก สีส้มปนน้ำตาล (orange-brown) ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ จุดหลอมเหลวประมาณ 183 องศาเซลเซียส เคอร์คิวมินเป็นองค์ประกอบหลักในกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์

2.2 ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน (desmethoxycurcumin, monodesmethoxycurcumin) จุดหลอมเหลว 172.5-174.5 องศาเซลเซียส ลักษณะเป็นผลึก สีคล้ำยเคอร์คูมิน และการละลายเช่นเดียวกับเคอร์คูมิน

2.3 บีสเดสเมทอกซีเคอร์คูมิน (bidesmethoxycurcumin, didesmethoxycurcumin) หรือ bis-(4-hydroxycinnmoyl) methane น้ำหนักโมเลกุล 308.1 จุดหลอมเหลว 224 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีใน คลอโรฟอร์ม และแอลกอฮอล์ (Tang and Eisenbrand, 1992)



ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids)

Curcumin : $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$

desmethoxycurcumin : $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3$

bidesmethoxycurcumin : $R_1 = R_2 = \text{H}$

ที่มา : Thai Herbal Pharmacopeia (1995)

Srinivasan (1953) และ Rouseff (1988) สกัดขมิ้นชันโดยใช้เทคนิค HPLC ปริมาณสารให้สีของ ขมิ้นชันจะมีอยู่ร้อยละ 0.02 – 8.1 และรงควัตถุที่ให้สีทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณแตกต่างกันคือ เคอร์คูมินมี ปริมาณร้อยละ 49-61 ดีเมทอกซีเคอร์คูมินมีปริมาณร้อยละ 20-29 และบีสเดสเมทอกซีเคอร์คูมินมีปริมาณ ร้อยละ 15-26 (Purseglove *et al.*, 1981)

3. สารอื่น ๆ

สารอื่นๆที่พบในเหง้าขมิ้นชัน เช่น โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ซึ่ง ประกอบด้วย starch grains ขนาดประมาณ 30-60 ไมโครเมตร มีลักษณะยาว พบน้ำตาลที่เป็นชนิด arabinose และ fructose

ข้อกำหนดมาตรฐานของการผลิตขมิ้นชัน

การผลิตขมิ้นชันให้ได้มาตรฐานตามที่สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กำหนดนั้น มีรายละเอียด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อกำหนดมาตรฐานของการผลิตขมิ้นชัน

รายการ	ไม่เกิน (% w/w)	ไม่น้อยกว่า (% w/w)
ปริมาณสิ่งแปลกปลอม	2	
ปริมาณความชื้น (% w/w)	10	
ปริมาณเถ้ารวม (% w/w)	8	
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (% w/w)	1	
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล (% w/w)		10
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (% w/w)		9
ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (% w/w)		6
ปริมาณเคอร์คูมินอยด์คำนวณเป็นเคอร์คูมิน (% w/w)		5

ที่มา : สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (2544)

สถานการณ์การผลิต

ขมิ้นชันนอกจากจะใช้ได้ทั้งเป็นเครื่องเทศในการปรุงอาหารเพื่อแต่งสีและกลิ่นอาหาร เช่น แกง เหลือง แกงไตปลา และใช้เป็นเครื่องสำอาง (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2544) และที่สำคัญคือใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยาที่ให้สรรพคุณหลายประการ เช่น มีฤทธิ์ขับลม ด้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร และรักษาอาการอาหารไม่ย่อย ฤทธิ์ฆ่าเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ เป็นต้น จึงทำให้เกิดความสนใจที่จะมีการขยายพื้นที่การปลูกเพื่อการค้าแพร่หลายมากขึ้น ปัจจุบันประเทศไทยปลูกขมิ้นชันส่งขายเป็นสินค้าส่งออก โดยเฉพาะประเทศญี่ปุ่นสั่งซื้อขมิ้นชันจากประเทศไทยจำนวนมาก เนื่องจากผลงานวิจัยของประเทศญี่ปุ่นได้ผลสรุปว่าขมิ้นชันสามารถป้องกันอันตรายของสารเคมีต่อตับได้ ส่งผลให้การส่งออกของขมิ้นสูงขึ้น สำหรับการส่งออกขมิ้นชันและการใช้ขมิ้นชันในประเทศผ่านทางร้านขายยาในประเทศ ในปี 2544 มีมูลค่า 4,618,389 บาท และ 17,861,472 บาท ตามลำดับ ขมิ้นชันจึงถือเป็นสมุนไพรนำร่องชนิดหนึ่งเนื่องจากได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย มีการปลูกทุกภาคของประเทศ และขมิ้นชันที่ปลูกในภาคใต้โดยเฉพาะในจังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นขมิ้นชันที่มีคุณภาพที่ดีที่สุดของประเทศ เนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหยและสารเคอร์คูมิน (Curcumin) สูงมาก (อาทร,2545) และปัจจุบันขมิ้นชันแคปซูลได้ขึ้นทะเบียนบัญชียาหลักแห่งชาติและเป็นยาสาธารณสุขมูลฐานอีกด้วย (สุภาพรณ์, 2544)

สำหรับประเทศไทยสามารถปลูกได้ดีทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ส่วนใหญ่ปลูกเป็นพืชรองหรือพืชเสริมรายได้ แต่ในขณะนี้มีการส่งเสริม การใช้ประโยชน์จากขมิ้นมากขึ้น จึงทำให้เกษตรกรปลูกในลักษณะพืชเดี่ยวมากขึ้น และมีรายได้สูงด้วย สำหรับผลผลิตเฉลี่ยในประเทศไทยประมาณ 2 ตัน/ไร่ ขมิ้นที่จำหน่าย ในประเทศไทยเป็นขมิ้นสด ส่วนใหญ่จะเป็นแง่น้ำมือ ราคาอยู่ในระหว่าง 15-20 บาท/กก. โดย

ในปี 2552 (กรมวิชาการเกษตร) พบว่ามีพื้นที่ปลูก 5,000 - 6,000 ไร่กระจายอยู่ทั่วประเทศ ได้ผลผลิต 10,000 - 12,000 ตัน ขณะที่ราคาก็อยู่ในเกณฑ์สูง โดยหัวสดซื้อขายที่ราคากิโลกรัมละ 10 - 50 บาท หัวแห้ง (ทั้งหัว) 30 - 150 บาท/กิโลกรัม หัวหั่นเป็นแว่นแห้ง 60 - 150 บาท/กิโลกรัม และผงขมิ้นชั้นแห้ง 80-150 บาท/กิโลกรัม

งานวิจัยและพัฒนา

เนื่องจากการใช้ประโยชน์จากขมิ้นมากขึ้น ประกอบกับภูมิประเทศของไทยสามารถปลูกได้ดี จึงมีการวิจัยและส่งเสริมพัฒนาเรื่อยมา เพื่อปรับปรุงสายพันธุ์ ควบคู่กับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้คุณสมบัติที่ดียิ่งขึ้น ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการในการหาองค์ประกอบทางเคมีของขมิ้น เช่น เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต่างๆ ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้ล้วนใช้เวลายาวนานและมีค่าใช้จ่ายสูงไม่ต่ำกว่า 2500 บาทต่อตัวอย่าง รวมทั้งผู้ทำการวิเคราะห์ต้องมีความเชี่ยวชาญ ปัญหาเหล่านี้จึงเป็นที่มาให้คณะนักวิจัยมีความสนใจที่จะนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีเข้ามาประยุกต์ใช้ เพื่อให้การวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินในขมิ้นชั้น มีความสะดวก รวดเร็ว ลดค่าใช้จ่าย แต่ยังคงความถูกต้องแม่นยำ โครงการวิจัยนี้จึงเป็นองค์ความรู้สำคัญสมการที่พัฒนาขึ้นจะช่วยให้การวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินในขมิ้นชั้นทำได้สะดวก รวดเร็ว ทำให้การนำทรัพยากรทางการเกษตรอันได้แก่ขมิ้นชั้นมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

หลักการพื้นฐานของเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

เมื่อปี ค.ศ.1800 Sir William Herschel ได้ศึกษาเกี่ยวกับ Heating effect ในช่วงต่าง ๆ ของสเปกตรัม โดยค้นพบ Heating effect สูงสุดในแถบแสงที่อยู่ถัดไปจากแสงสีแดง (red end) แต่ไม่สามารถมองเห็นสเปกตรัม (Spectrum) ได้ จึงเรียกช่วงรังสีที่เค้านับพบว่ารังสีอินฟราเรด (Infrared Radiation) การค้นพบครั้งนี้ถือเป็นการค้นพบที่ยิ่งใหญ่ เพราะรังสีอินฟราเรดประกอบไปด้วยสามช่วงความยาวคลื่นที่สำคัญ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่างกัน หนึ่งในนั้นก็คือช่วงรังสีเนียร์อินฟราเรดเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) นั่นเอง

แสงใกล้อินฟราเรด (Near Infrared) เป็นคลื่นแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 780-2500 นาโนเมตร โดยมีหลักการดังนี้ คือ เมื่อแสงส่องผ่านเข้าไปยังสารละลายหรือวัตถุแล้วสารเกิดการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วง Near Infrared ทำให้โมเลกุลของสารเกิดการสั่นที่ความถี่สูงในการสั่นของพันธะต่างๆเกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่นแตกต่างกันซึ่งเป็นค่าเฉพาะของแต่ละพันธะรวมทั้งตำแหน่งของโมเลกุลและช่วงการดูดกลืนแสงก็เป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละหมู่ฟังก์ชันด้วย ดังนั้นเมื่อโมเลกุลได้รับรังสีอินฟราเรดที่มีความยาวคลื่นตรงกับพันธะในโมเลกุลก็จะเกิดการสั่นและดูดกลืนรังสีไว้ทำให้มีพลังงานมากกว่าปกติ จากเดิมที่โมเลกุลอยู่ในสภาวะพื้น (ground vibration level) เมื่อได้รับพลังงานเพิ่มขึ้นจะอยู่ในสภาวะกระตุ้น (excited vibration level) อย่างไรก็ตามเมื่อโมเลกุลกลับสู่สภาวะพื้นก็จะปล่อยพลังงานที่รับเพิ่มเข้าไปออกมาในรูปพลังงานความร้อน ปริมาณการดูดกลืนพลังงานแสง (Absorbance, A) เป็นไปตามกฎของเบียร์ – แลมเบิร์ต (Beer – Lambert) พลังงานของคลื่นแสงเมื่อผ่านเข้าไปในตัวอย่าง พลังงานจะถูกดูดกลืนไว้โดยองค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่าง ความเข้มของแสงที่ผ่านออกมาโดยทั่วไปจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีนั้น (Osborne *et al.*, 1993)

สารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในลักษณะนี้จะมี H-atom เป็นองค์ประกอบ เช่น O-H พบในแป้ง น้ำ น้ำตาล N-H พบในโปรตีน C-H พบในน้ำมัน

ช่วงคลื่นอินฟราเรด (IR) สามารถแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ดังนี้

ตารางที่ 2 การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด

ช่วงคลื่น	Wavelength (nm)	Wavenumber (cm ⁻¹)
อินฟราเรดย่านใกล้ (Near IR, NIR)	800 – 2500	12500 – 4000
อินฟราเรดย่านกลาง (Mid IR or fundamental IR)	2500 – 25000	4000 – 400
อินฟราเรดย่านไกล (Far IR)	25000 – 100000	400 – 10

ช่วงใกล้อินฟราเรด (Near Infrared)

มีความยาวคลื่นในช่วง 800 – 2500 นาโนเมตร แยกการดูดกลืนคลื่นแสงเกิดจากโอเวอร์โทน และมักพบว่าช่วงการดูดกลืนแสงที่ได้ค่อนข้างต่ำ มีประโยชน์ในการวิเคราะห์หาปริมาณของกลุ่มฟังก์ชันนัล และศึกษาโครงสร้างโมเลกุล

ช่วงกลางอินฟราเรด (Middle Infrared)

มีความยาวคลื่นในช่วง 2500 – 50000 นาโนเมตร สเปกตรัมที่ได้ค่อนข้างยุ่งยาก เพราะโครงสร้างของโมเลกุลที่สมบูรณ์ การวิเคราะห์จึงต้องให้วิธีเปรียบเทียบกับสเปกตรัมที่ทราบโครงสร้างแล้ว ใช้ในการวิเคราะห์พวกกลุ่มฟังก์ชันนัล

ช่วงไกลอินฟราเรด (Far Infrared)

มีความยาวคลื่นในช่วง 50,000 – 1,000,000 นาโนเมตร ช่วงนี้ไม่ค่อยที่จะได้ใช้ในการวิเคราะห์ เนื่องจากสเปกตรัมไม่ได้เกิดจากการสั่นหรือการหมุนของโมเลกุล แต่สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับการทรานสิชันที่เกี่ยวกับการหมุนของโมเลกุล

การวิเคราะห์ตำแหน่งพีคในแถบสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด (Band assignment of NIR spectrum)
โดยทั่วไปช่วงคลื่นแสง NIR ยังแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วง ดังนี้

ตารางที่ 3 การแบ่งช่วงคลื่นย่านเนียร์อินฟราเรด

ช่วงคลื่น	Wavelength (nm)	Wavenumber (cm ⁻¹)
Region I	800 – 1100	12500 – 9000
Region II	1200 – 1800	8500 – 5500
Region III	1800 – 2500	5500 – 4000

Region I

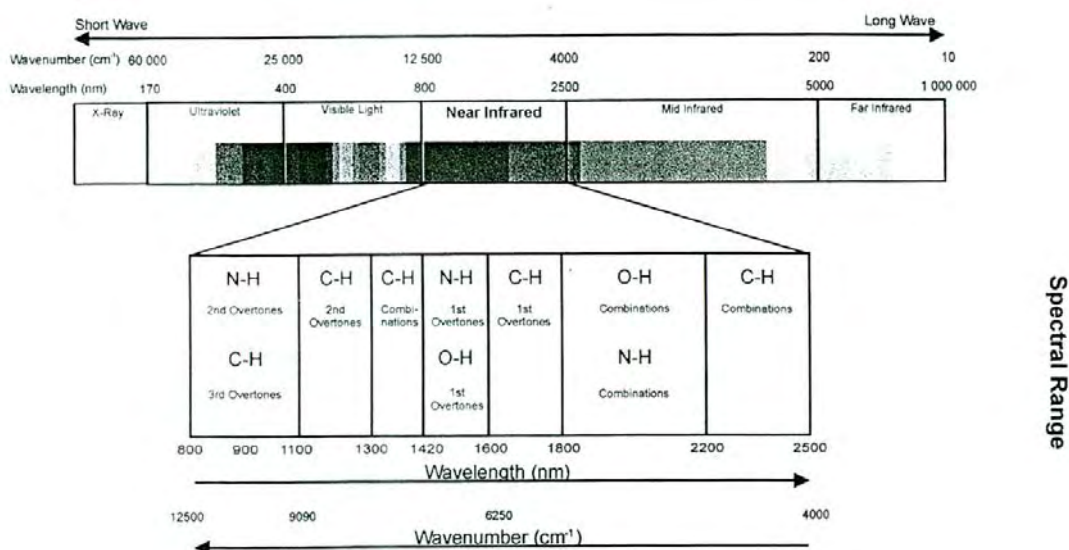
มีชื่อเรียกกันว่า “รังสีเนียร์อินฟราเรดช่วงคลื่นสั้น” (Short wavelength NIR, SWNIR) หรือ “Herschel region” เราจะพบโอเวอร์โทนที่สองและสาม (2nd and 3rd overtones) และการสั่นรวม (combination mode) สำหรับการสั่นแบบยืด (stretching vibration) ของหมู่ฟังก์ชัน X-H, X=C, O, N

Region II

จะพบโอเวอร์โทนที่หนึ่งและการสั่นรวมหลากหลายแบบในการสั่นแบบยืด (stretching vibration) ของ X-H

Region III

ส่วนมากจะปรากฏการสั่นรวม (combination mode)

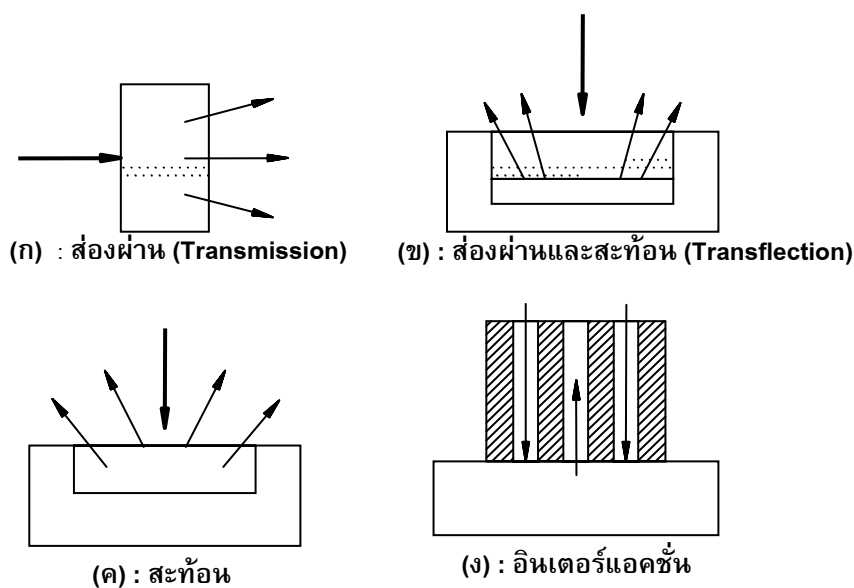


ภาพที่ 3 การดูดกลืนของโมเลกุล X-H ทำให้เกิดพีคในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด

รูปแบบที่วัดคุณสมบัติปฏิกิริยาต่อแสงเนียร์อินฟราเรด (NIR)

แสงเนียร์อินฟราเรด (NIR) เมื่อผ่านไปยังตัวอย่างจะเกิดการกระทำกับสารได้หลายแบบ เช่น คลื่นแสงถูกดูดกลืน (absorbtion) การส่องผ่าน (transmission) การสะท้อน (reflection) การเรืองแสง (fluorescence) การกระเจิงแสง (scattering) (อนุพันธ์, 2545) ดังนั้นควรมีการจัดวางตัวอย่างในการใช้เทคนิค NIR เพื่อให้ได้สเปกตรัมที่สัมพันธ์กับปริมาณค่าทางเคมีที่สนใจ ได้แก่ (สุมาพร, 2545)

1. Transmission เป็นการวัดปริมาณแสงที่ผ่านออกมาในด้านตรงกันข้ามกับด้านที่แสงตกกระทบ ดังภาพ 4ก
2. Reflection แสงตกกระทบที่พื้นผิวของตัวอย่าง วัดปริมาณแสงที่สะท้อนออกมาโดยรวมถึงแสงที่สะท้อนจากเนื้อตัวอย่างส่วนที่ใกล้ผิวตัวอย่างได้อีกด้วย ดังภาพ 4ข
3. Transflection แสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบตัวอย่าง ผ่านตัวอย่างลงไปตกกระทบแผ่นเซรามิก ทอง หรืออะลูมิเนียมในชั้นใต้สุด แล้วสะท้อนกลับมายัง detector ดังภาพ 4ค
4. Interaction ใช้ในกรณี fiber optics probe แสงจากแหล่งกำเนิดแสงย่าน NIR ส่องผ่านลงมายังตัวอย่างในวงแหวนด้านนอก แล้วแสงที่สะท้อนออกมาจากเนื้อตัวอย่างถูกส่งไปยัง detector บริเวณส่วนกลาง fiber optics probe ดังภาพ 4ง



ภาพที่ 4 ลักษณะ Sample presentations ในเทคนิคเนียร์อินฟราเรด

ประโยชน์ของเทคนิค NIR

Osborne *et al.* (1993) ได้กล่าวว่า เครื่องมือแต่ละประเภทต่างก็มีข้อจำกัดในการใช้งาน แต่เครื่อง NIR มีประโยชน์และข้อดีมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีหรือการวิเคราะห์ด้วยวิธีอื่น สำหรับการนำเครื่อง NIR ประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมมีประโยชน์มากมายเช่น

1. ง่ายต่อการเตรียมตัวอย่าง ไม่จำเป็นต้องชั่งตัวอย่างก่อนนำมาวัดค่า
2. มีความรวดเร็วในการวัดค่า
3. การตรวจสอบเป็นแบบไม่ทำลาย ทำให้ตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบ สามารถจำหน่ายส่งออกหรือบริโภคต่อไปได้ เป็นการประหยัดต้นทุนของผลิตภัณฑ์อีกทางหนึ่ง
4. ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้ลดต้นทุนในการดูแลรักษาสภาพแวดล้อมเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางด้านเคมี
5. สะดวกต่อการใช้งาน เนื่องจากในการปฏิบัติไม่จำเป็นต้องใช้ผู้ที่มีประสบการณ์ หรือต้องได้รับการฝึกฝนโดยเฉพาะ สามารถปฏิบัติตามคู่มือการใช้งานได้ทันที
6. ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี และเครื่องแก้วเป็นจำนวนมาก ทำให้สามารถลดต้นทุนในเรื่องสารเคมี และอุปกรณ์เครื่องแก้วลงไปได้
7. เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับนำไปควบคุมคุณภาพในกระบวนการผลิต

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (NIRS) ในพืชสมุนไพร

ปัจจุบันสมุนไพรได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เพราะนอกจากจะช่วยบำรุงรักษาร่างกายแล้ว ยังช่วยในการรักษาโรคภัยไข้เจ็บได้อีกด้วย ผู้บริโภคยุคใหม่ที่เล็งเห็นความสำคัญกับมาตรการลดการใช้ยาสังเคราะห์ จึงหันมาใช้ผลิตภัณฑ์อื่นที่มาจากธรรมชาติ โดยคำนึงถึงความปลอดภัย และมีการสะสมตกค้างในร่างกายน้อย อันได้แก่สมุนไพรไทยซึ่งมีคุณสมบัติเทียบเคียงได้กับยาสังเคราะห์ทางเคมี ตอบสนองเพื่อสุขภาพของผู้บริโภคเป็นหลัก ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรที่มีความโดดเด่น เนื่องจากให้ประโยชน์มากมายโดยเฉพาะสารสำคัญที่ทำหน้าที่ออกฤทธิ์ที่พบในขมิ้นชัน ได้แก่ เคอร์คูมินอยด์ ดังนั้นเทคโนโลยีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน จึงต้องได้รับการพัฒนาให้มีความสะดวก รวดเร็ว และถูกต้องแม่นยำ ซึ่งเป็นการตอบสนองต่อผู้ผลิตเพื่อให้การค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารเคอร์คูมินอยด์มีความก้าวหน้ายิ่งขึ้น และเพื่อให้ผู้บริโภคมีทางเลือกในการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) ก็เป็นอีกเทคโนโลยีหนึ่งที่มีศักยภาพสูงและสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบคุณภาพสินค้าทั้งทางด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างแพร่หลาย เนื่องจากเทคโนโลยี NIRS มีคุณสมบัติพิเศษ คือสามารถตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีได้โดยไม่ต้องทำลายตัวอย่าง ลดขบวนการเตรียมตัวอย่าง จึงตรวจวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว และแทบไม่ต้องใช้สารเคมีใดๆเลย นอกจากนั้นเทคโนโลยีนี้ยังสามารถนำมาใช้ในการจำแนกตัวอย่างตามคุณสมบัติเชิงคุณภาพได้อีกด้วย

ในช่วงปี ค.ศ. 1950 นักวิจัยในกระทรวงเกษตรของประเทศสหรัฐอเมริกา (USDA) ได้เริ่มนำเทคโนโลยี NIRS มาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจวัดปริมาณความชื้นในธัญพืชโดยไม่ทำลายตัวอย่าง ในปัจจุบันเทคโนโลยีนี้ได้ถูกนำไปใช้ในกระบวนการควบคุมตรวจสอบคุณภาพทั้งในผลิตผลทางการเกษตรและใน

อุตสาหกรรม รวมทั้งการศึกษาวิจัยเชิงพื้นฐานในแทบทุกสาขาวิชา ซึ่งข้อเท็จจริงนี้สามารถพิสูจน์ได้จากจำนวนผลงานวิจัยจำนวนมากที่มีการตีพิมพ์ในปัจจุบัน

การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS เพื่อการวิเคราะห์หาองค์ประกอบสำคัญในพืชสมุนไพรนั้น เริ่มแพร่หลายในประเทศแถบเอเชีย โดยเฉพาะในประเทศจีนและเกาหลี ซึ่งมีการนำพืชสมุนไพรมาใช้ในแขนงต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย หากแต่องานวิจัยในการศึกษาทางพืชสมุนไพรที่ได้รับการตีพิมพ์ยังมีจำนวนไม่มากนัก ในปี 1999 Woo *et al.* ประยุกต์ใช้ NIRS ในการจำแนกพืชสมุนไพรตามแหล่งปลูก (geographical origin) ได้แก่ หวงฉี (Astragali Radix) เห็ดหลินจือ (Ganoderma) และ Smilacis Rhizoma นอกจากนี้ยังประยุกต์ใช้ NIRS เพื่อจำแนกสมุนไพร 3 ชนิดที่มีความคล้ายคลึงกันจนไม่สามารถแยกได้ด้วยตา คือ โสม (Ginseng Radix) หวงฉี (Astragali Radix) และ Smilacis Rhizoma ในประเทศจีน Li *et al.* (2001) ทำการคัดเลือกเพื่อหาสมุนไพรแท้ ที่มีชื่อว่า อังตังเซียม (Danshen) โดยใช้เทคนิค NIRS นอกจากนี้จะใช้เทคนิค NIRS ในการจำแนกแล้ว ยังมีการศึกษาเพื่อหาปริมาณสารสำคัญ Harpagoside และ Cinnamic acid ในสมุนไพร Radix Scrophulariae (Zhou *et al.*, 2001) กลุ่มนักวิจัยในแอฟริกาใต้ใช้เทคนิค NIRS ในการหาปริมาณ Mangiferin และ Hesperidin ใน Green Honeybush (Cyclopia genistoides) ซึ่งนิยมนำมาทำชาสมุนไพร (Joubert *et al.*, 2006) เป็นต้น เมื่อปี 2008 Tanaka *et al.* เป็นกลุ่มแรกที่น่าเทคนิค NIRS มาใช้หาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้น ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ผู้วิจัยกำลังดำเนินงานวิจัยด้านนี้อยู่ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยยังเล็งเห็นถึงประโยชน์และมุมมองในการดำเนินงานวิจัยที่แตกต่างเพื่อนำเทคนิค NIRS มาใช้ในการหาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้น และเพื่อคัดแยกขมิ้นที่มีสารเคอร์คูมินอยด์สูงและต่ำได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. นำเทคนิคแสงย่านใกล้อินฟราเรด (NIR spectroscopy) มาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน
2. สร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างการวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ด้วยการใช้แสงย่านใกล้อินฟราเรดและด้วยวิธี HPLC
3. เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่เพื่อการประยุกต์ใช้เทคนิคแสงย่านใกล้อินฟราเรดในสมุนไพรไทย

อุปกรณ์และวิธีการ อุปกรณ์

1. ตัวอย่างขมิ้นชัน

- 1.1 A47-13
- 1.2 A47-54
- 1.3 A47-57
- 1.4 A47-110
- 1.5 B47-39
- 1.6 B47-62
- 1.7 B47-75
- 1.8 B51-1

(จ้างเหมาศูนย์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ดำเนินการหาตัวอย่างและขยายพันธุ์)

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- 2.1 เครื่อง NIR spectrophotometer รุ่น InfraAlyzer 500 ของ BRAN+LUEBBE, Germany พร้อมเซลล์ใส่ตัวอย่างชนิดผงและลิ้นชักใส่ตัวอย่างผลไม้
- 2.2 เครื่องมือชุดสกัดสาร (soxhlet extraction) ของ LabHeat, Germany
- 2.3 เครื่องมือชุดระเหยสาร (rotary vacuum evaporator) รุ่น N-N series ของ EYELA, Japan
- 2.4 เครื่องชั่งวิเคราะห์อย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น TB214 ของ Denver instrument, USA
- 2.5 เครื่องบดตัวอย่าง Cyclotec รุ่น 1093 ของ FOSS, Hillerød, Denmark
- 2.6 เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (moisture analyzer) รุ่น HB43 ของ Mettler Toledo, Bangkok, Thailand
- 2.7 เครื่อง HPLC รุ่น HP1100 ของ Agilent, California, USA (จ้างเหมาศูนย์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ดำเนินการฉีดวิเคราะห์)
- 2.8 ตู้บลมร้อน
- 2.9 Magnetic-Assist Pipette 1 ml, Rianin, USA
- 2.10 เครื่องแก้วและอุปกรณ์พลาสติกต่าง ๆ

3. เครื่องมือที่ใช้คำนวณและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- 3.1 เครื่องไมโครคอมพิวเตอร์
- 3.2 The Unscrambler version 9.8 ของ CAMO, Norway
- 3.2 MATLAB version 6.5 ของ The MathWorks, USA

วิธีการวิจัย

1. ประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) ในการวิเคราะห์ไขมันชั้นเชิงคุณภาพ

1.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการจัดกลุ่มไขมันชั้น B51-1 และ B47-39 ที่เตรียมตัวอย่างต่างกัน คือ แบบแ่ง และผง

1.1.1 เตรียมตัวอย่างไขมัน 2 กลุ่ม ได้แก่ B47-39 จำนวน 43 แ่ง และ B51-1 จำนวน 36 แ่ง นำตัวอย่างมาสแกน 2 แบบ คือ 1) แ่ง และ 2) ผง จำนวนตัวอย่างไขมัน 1 แ่ง คิดเป็น 1 ตัวอย่าง เมื่อสแกนแ่งเสร็จจึงนำมาป่นให้เป็นผง แล้วนำผงไปสแกนต่อ โดยมีขั้นตอนเตรียมไขมันให้เป็นผง ดังนี้ นำเหง้าไขมันมาหั่นเป็นชิ้นบางๆ นำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาบดละเอียดให้ได้ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร จากนั้นนำผงไขมันไปหาความชื้น

1.1.2 สแกนตัวอย่างด้วยเครื่อง NIR spectrophotometer ระบบสะท้อนแสง (reflectance) ความยาวคลื่นตั้งแต่ 1100 – 2500 นาโนเมตร การวางตัวอย่างแ่งไขมันเพื่อการสแกน จะวางบนที่ใส่ตัวอย่าง ที่เรียกว่าลิ้นชักใส่ตัวอย่างผลไม้ (Fruit drawer) ส่วนไขมันที่บดเป็นผงแล้วจะนำมาบรรจุในเซลล์ใส่ตัวอย่างชนิดผง (Standard powder cup) ทำการสแกน 2 ครั้ง/ 1 ตัวอย่าง

1.1.3 เก็บข้อมูลสเปกตรัม NIR ของไขมันทั้ง 2 กลุ่ม เพื่อนำมาคำนวณสร้างสมการแยกกลุ่มด้วยวิธี Partial Least Squares Discrimination Analysis (PLSDA) พร้อมเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องในการจัดกลุ่ม เมื่อศึกษาจากตัวอย่างแบบแ่งและผง

1.1.4 การคำนวณสร้างสมการ จะสุ่มสเปกตรัมของไขมันทั้ง 2 กลุ่ม กลุ่มละ 30 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 60 สเปกตรัม นำมาคำนวณสร้างสมการจัดกลุ่ม (Classification model) สเปกตรัมที่เหลือของไขมันแต่ละกลุ่มจะใช้ทดสอบสมการจัดกลุ่มที่สร้างขึ้นว่าสามารถคัดแยกชนิดไขมันได้ถูกต้องเพียงใด เรียกตัวอย่างนี้ว่าชุดทดสอบ (prediction set) ประกอบด้วยไขมัน B47-39 จำนวน 6 สเปกตรัม และไขมัน B51-1 จำนวน 13 สเปกตรัม

สำหรับสมการ PLSDA เป็นการกำหนดให้กลุ่มไขมัน B47-39 มีค่า Y ที่จะทำนายเป็น 0 และกลุ่มไขมัน B51-1 มีค่า Y ที่จะทำนายเป็น 1 ใช้ค่า Y ที่กำหนดนี้และค่าสเปกตรัม NIR (ค่า X) ในการคำนวณสร้างสมการ PLS เพื่อทำนายค่า Y โดยมีเกณฑ์การทำนายกลุ่มตัวอย่าง ดังนี้ สำหรับไขมัน B47-39 ต้องได้ผลการทำนายต่ำกว่า 0.5 และไขมัน B51-1 ต้องมีค่าทำนายตั้งแต่ 0.5 ขึ้นไป

1.1.5 เปรียบเทียบสมการจัดกลุ่มที่สร้างจากสเปกตรัมไขมันที่ได้จากแ่งและผง

1.1.6 เปรียบเทียบสมการจัดกลุ่มที่คำนวณจากสเปกตรัมดิบ คือ ข้อมูลสเปกตรัม NIRS ที่ได้จากเครื่อง ไม่มีการคำนวณปรับแต่งใด ๆ และสเปกตรัม NIRS ที่ทำการคำนวณปรับแต่งด้วยวิธี ดังนี้

1) Multiplicative Scattering Correction (MSC) แบบ Full ($X = (X-a)/b$)

2) 2nd derivative (วิธี Savitzky Golay : smoothing points 7:7, Polynomial order = 2)

1.2 การจัดกลุ่มขมิ้นชันตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint)

1.2.1 จากผลการทดลองข้อ 1.1 ผู้วิจัยเลือกการเตรียมตัวอย่างขมิ้นแบบผงสำหรับการจัดกลุ่มขมิ้นชัน โดยเตรียมตัวอย่างขมิ้น ซึ่งแบ่งได้ตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม A คือ ขมิ้น A47-13, A47-54, A47-57, A47-110 และกลุ่ม B คือ ขมิ้น B47-39, B47-62, B47-75, B51-1 (न्हันวรรณ 2549) แบ่งตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเป็น 2 ชุด คือ ชุดสร้างสมการจำนวน 74 ตัวอย่าง และชุดทดสอบสมการจำนวน 24 ตัวอย่าง รวมตัวอย่างทั้งสิ้น 196 ตัวอย่าง

1.2.2 อบและบดตัวอย่างทั้งหมดตามวิธีในข้อ 1.1.1

1.2.3 นำตัวอย่างผงขมิ้นไปสแกนตามขั้นตอนการสแกนตัวอย่างผงในข้อ 1.1.2

1.2.4 เก็บข้อมูลสเปกตรัม NIR ของขมิ้นทั้ง 2 กลุ่ม เพื่อนำมาคำนวณสร้างสมการแยกกลุ่มด้วยวิธี Partial Least Squares Discrimination Analysis (PLSDA) พร้อมเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความถูกต้องในการจัดกลุ่ม

1.2.5 การคำนวณสร้างสมการ จะสุ่มสเปกตรัมของขมิ้นทั้ง 2 กลุ่ม กลุ่มละ 74 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 148 สเปกตรัม นำมาคำนวณสร้างสมการจัดกลุ่ม (Classification model) สเปกตรัมหรือตัวอย่างขมิ้นที่เหลือจัดอยู่ในชุดทดสอบ (prediction set) ประกอบด้วยขมิ้นทั้ง 2 กลุ่ม กลุ่มละ 24 ตัวอย่าง รวมเป็น 48 สเปกตรัม

สำหรับสมการ PLSDA กำหนดให้ขมิ้นกลุ่ม A มีค่า Y เป็น -1 และขมิ้นกลุ่ม B มีค่า Y เป็น 1 ใช้ค่า Y ที่กำหนดนี้และค่าสเปกตรัม NIR ของขมิ้น (ค่า X) ในการคำนวณสร้างสมการ PLS เพื่อทำนายค่า Y โดยมีเกณฑ์การทำนายหรือจัดกลุ่มตัวอย่าง ดังนี้ สำหรับขมิ้นกลุ่ม A ต้องได้ผลการทำนายต่ำกว่า 0 และขมิ้นกลุ่ม B ต้องมีค่าทำนายตั้งแต่ 0 ขึ้นไป

1.2.6 เปรียบเทียบสมการจัดกลุ่มที่คำนวณจากสเปกตรัมดิบ คือ ข้อมูลสเปกตรัม NIRS ที่ได้จากเครื่อง ไม่มีการคำนวณปรับแต่งใด ๆ และสเปกตรัม NIRS ที่ทำการคำนวณปรับแต่งด้วยวิธี ดังนี้

1) Multiplicative Scattering Correction (MSC) แบบ Full ($X = (X-a)/b$)

2) 2nd derivative (วิธี Savitzky Golay : smoothing points 7:7, Polynomial order = 2)

2. ประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) ในการวิเคราะห์ขมิ้นชันเชิงปริมาณ

2.1 สร้างสมการสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในช่วงปริมาณ 2.43 – 11.02%

2.1.1 นำข้อมูลสเปกตรัม NIR ของขมิ้น B51-1 จำนวน 31 ตัวอย่างทั้งแบบแห้งและผง ที่ได้จากการทดลองข้อ 1.1 มาใช้คำนวณสร้างสมการเทียบมาตรฐาน และเลือกแฟกเตอร์ที่เหมาะสมพร้อมทดสอบสมการด้วยข้อมูลเดียวกันนี้ เรียกวิธีนี้ว่า Full cross validation

2.1.2 นำตัวอย่างขมิ้นมาสกัดด้วยวิธี Soxhlets extraction และนำสารสกัดไปวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ด้วยวิธี HPLC (เครื่อง HPLC ของ Agilent รุ่น 1100 ระบบ UV-Vis detector ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร คอลัมน์ Zorbax SB-C18 (4.6 x 150 mm))

2.1.3 คำนวณสร้าง Calibration model สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นทั้งแบบแห้งและผง ใช้วิธีทางสถิติ Partial Least Squares (PLS) Regression โดยใช้ข้อมูลสเปกตรัม NIR และ

ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ได้จากข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเชิงสมการเส้นตรง เลือกจำนวนแฟกเตอร์ที่เหมาะสมและทดสอบสมการด้วยวิธี Full cross validation

2.1.4 เปรียบเทียบสมการทำนายปริมาณที่คำนวณจากสเปกตรัมดิบ คือ ข้อมูลสเปกตรัม NIRS ที่ได้จากเครื่อง ไม่มีการคำนวณปรับแต่งใด ๆ และสเปกตรัม NIRS ที่ทำการคำนวณปรับแต่งด้วยวิธี ดังนี้

1) Multiplicative Scattering Correction (MSC) แบบ Full ($X = (X-a)/b$)

2) 2nd derivative method

2.1) สเปกตรัมแสงขม้นใช้วิธี Savitzky Golay : smoothing points 15:15, Polynomial order = 2

2.2) สเปกตรัมแสงขม้นใช้วิธี Savitzky Golay : smoothing points 7:7, Polynomial order = 2

2.1.5 พัฒนาสมการโดยการใช้วิธี Wavelength selection โดยการเลือกช่วงความยาวคลื่นที่ใช้คำนวณสร้างสมการจากข้อมูลสเปกตรัม NIR ของสารเคอร์คูมินอยด์มาตรฐาน (Sigma-Aldrich; assay $\geq 80\%$ Curcumin, $\geq 94\%$ Curcuminoid content)

2.1.6 ทดสอบสมการและเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ของสมการที่เลือกใช้ช่วงความยาวคลื่นในการคำนวณต่างกัน เพื่อหาสมการที่มีประสิทธิภาพในการทำนายสูงสุด

2.2 สร้างสมการสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในช่วงปริมาณ 2.43 – 17.07%

2.2.1 นำข้อมูลสเปกตรัม NIR ของขม้นแบบผง ที่ได้จากการทดลองข้อ 1.1 มาใช้คำนวณสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (สเปกตรัมขม้น B51-1 จำนวน 30 ตัวอย่าง และ B47-39 จำนวน 30 ตัวอย่าง) และทดสอบสมการ (สเปกตรัมขม้น B51-1 จำนวน 6 ตัวอย่าง และ B47-39 จำนวน 13 ตัวอย่าง)

2.2.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

2.2.3 คำนวณสร้าง Calibration model สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขม้น ใช้วิธีทางสถิติ Partial Least Squares (PLS) Regression โดยใช้ข้อมูลสเปกตรัม NIR และปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ได้จากข้อ 2.2.1 และ 2.2.2 เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเชิงสมการเส้นตรง เลือกจำนวนแฟกเตอร์ที่เหมาะสมด้วยวิธี Full cross validation และทดสอบประสิทธิภาพการทำนายปริมาณของสมการที่สร้างขึ้น ด้วยการใส่สมการนี้ทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ของตัวอย่างชุดทดสอบสมการ

2.2.4 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.4 – 2.1.6

2.3 สร้างสมการสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในช่วงปริมาณ 0.03 – 17.07%

2.3.1 นำข้อมูลสเปกตรัมขม้น A47-13, A47-54, A47-57, A47-110, B47-39, B47-62, B47-75 และ B51-1 ที่ได้จากการทดลองที่ 1.2 มาใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน จำนวน 148 ตัวอย่าง และใช้ตัวอย่างที่เหลือสำหรับทดสอบสมการ จำนวน 48 ตัวอย่าง

2.3.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2.2 – 2.2.6

ผลและวิจารณ์

1. ประยุกต์ใช้เทคนิคเหียร์อินฟราเรดสเปคโตรสโกปี (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) ในการวิเคราะห์ไขมันชั้นเชิงคุณภาพ

1.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการจัดกลุ่มไขมันชั้น B51-1 และ B47-39 ที่เตรียมตัวอย่างต่างกัน คือแบบแห้ง และแบบผง

ขั้นตอนการขยายพันธุ์ และการเก็บเกี่ยวขมิ้นแสดงในภาพที่ 5 เมื่อเก็บเกี่ยวเหง้าขมิ้นแล้ว จึงนำมาเตรียมตัวอย่าง ตามการทดลองข้อ 1.1.1 – 1.1.2 ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 5 การปลูกและเก็บเกี่ยวขมิ้นในแปลงทดลอง



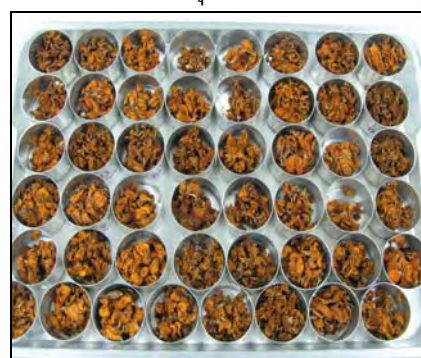
แงงขมิ้นกลุ่มที่ 1 B47-39



แงงขมิ้นกลุ่มที่ 2 B51-1



อบแห้งขมิ้นกลุ่มที่ 1



อบแห้งขมิ้นกลุ่มที่ 2



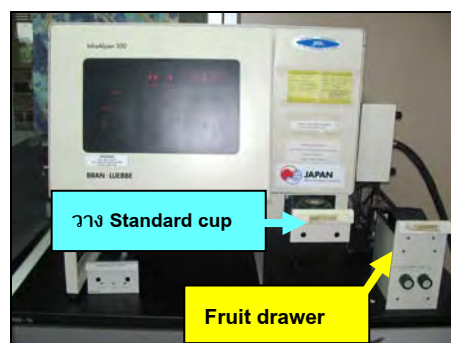
บดขมิ้นที่อบแห้งแล้ว



นำผงขมิ้นไปหาความชื้น



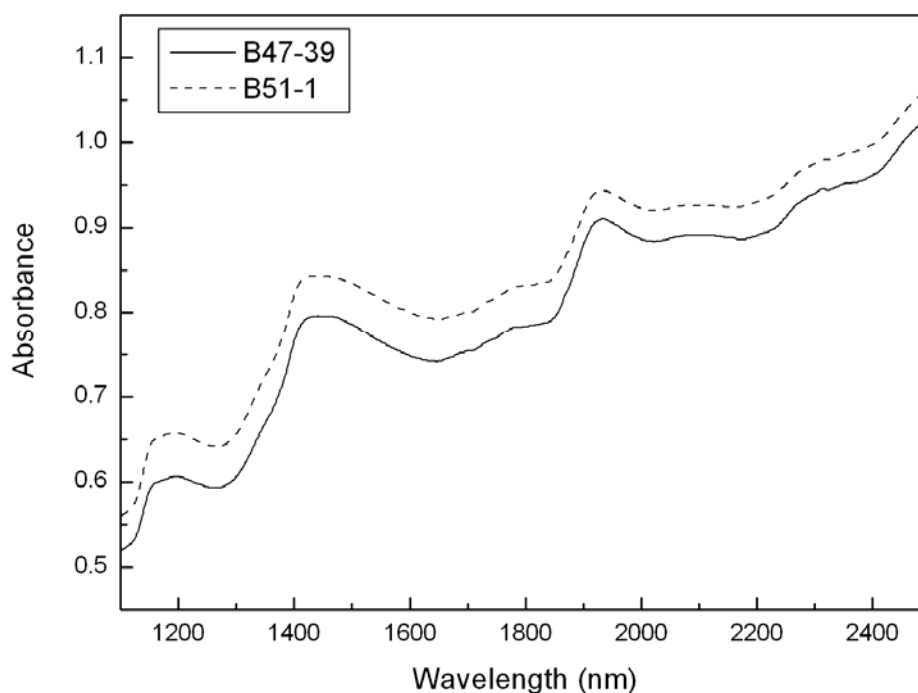
บรรจุผงขมิ้นใน Standard cup



วาง Standard cup ในลิ้นชักเพื่อสแกนผงขมิ้น
สำหรับการสแกนแงงขมิ้น จะวางใน Fruit drawer

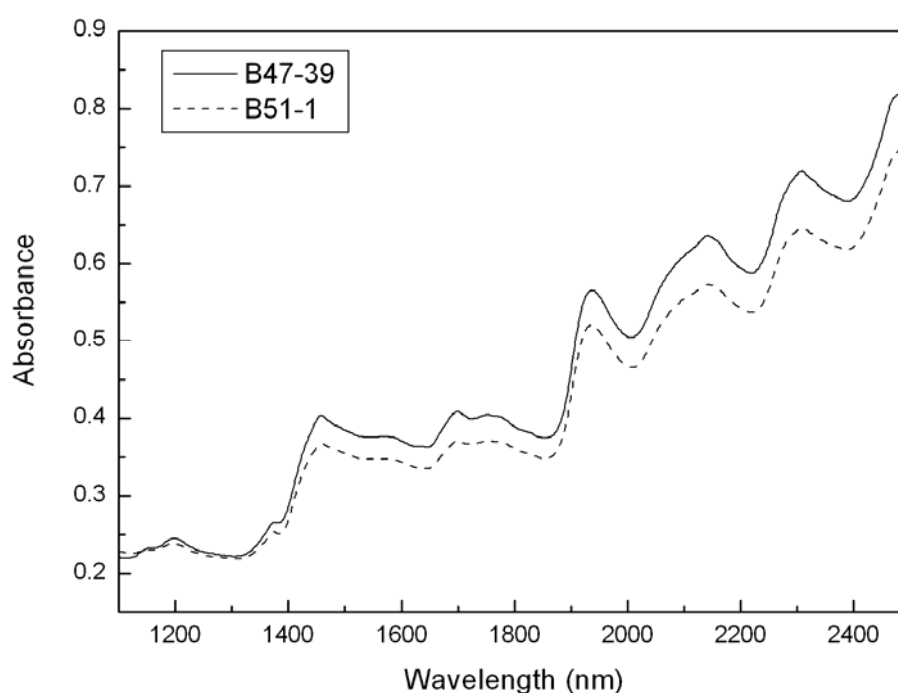
ภาพที่ 6 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างขมิ้น

สเปกตรัม NIR เฉลี่ยของแ่งขม้นทั้ง 2 กลุ่ม ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 1100 – 2500 นาโนเมตร แสดงในภาพที่ 7 เส้นประเป็นของขม้น B51-1 และเส้นทึบเป็นของขม้น B47-39 โดยทั้งสองกลุ่มมีลักษณะของสเปกตรัมคล้ายคลึงกัน ให้พิกขนาดใหญ่ 2 พิก ซึ่งเป็นพิกของน้ำที่ความยาวคลื่นประมาณ 1400 และ 1900 นาโนเมตร



ภาพที่ 7 สเปกตรัม NIR เฉลี่ยของแ่งขม้นชั้น B47-39 และ B51-1 ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm

ภาพที่ 8 แสดงสเปกตรัม NIR เฉลี่ยของขม้นที่เตรียมแบบผง ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 1100 – 2500 นาโนเมตร เส้นทึบเป็นของขม้น B47-39 และเส้นประเป็นของขม้น B51-1 โดยทั้งสองกลุ่มมีลักษณะของสเปกตรัมคล้ายคลึงกันเหมือนที่พบในสเปกตรัมที่วัดจากแ่ง แต่ปรากฏพิกจำนวนมากกว่า อาจเป็นเพราะการบดถือเป็นการเตรียมตัวอย่างแบบหนึ่ง ที่ช่วยให้ลักษณะทางเคมีในเนื้อขม้นได้สัมผัสแสงในช่วง NIR และเกิดการ interaction แสดงให้เห็นข้อมูลทางสเปกตรัมได้มากกว่านั่นเอง



ภาพที่ 8 สเปกตรัม NIR เกลี่ยของผงขมิ้นชัน B47-39 และ B51-1 ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm

ตารางที่ 4 แสดงผลการเปรียบเทียบค่าทางสถิติของสมการการจัดกลุ่มขมิ้น 3 สมการที่สแกนจากแสงโดยตรง สมการที่มีประสิทธิภาพการจัดกลุ่มดีที่สุด ได้แก่ สมการที่คำนวณโดยใช้สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยอนุพันธ์อันดับที่สอง (ภาพที่ 9(ก-ค)) สมการนี้ให้ความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยในการจัดกลุ่มขมิ้นชุดทดสอบต่ำที่สุด คือ RMSEV เป็น 0.212 หมายถึงการจำแนกขมิ้นว่าจะเป็นชนิด B47-39 หรือ B51-1 จะมีค่าคลาดเคลื่อนไปจากค่า 0 และ 1 ไม่เกิน 0.212 มีค่าความสัมพันธ์ (Correlation) ของสมการ อยู่ในระดับสูง 0.955 แม้ว่าค่าจะไม่สูงสุด แต่เป็นจุดที่สมการมีความเสถียร และให้ผลความคลาดเคลื่อนในการทำนายต่ำที่สุด ใช้จำนวนแฟกเตอร์ต่ำสุดด้วย แสดงให้เห็นว่าหลังการปรับแต่งข้อมูลจะเห็นพิกต่าง ๆ ปรากฏชัดเจขึ้น ทำให้ใช้จำนวนแฟกเตอร์ในการสร้างสมการจำนวนน้อย แต่หากจะเปรียบเทียบความถูกต้องในการจำแนกชนิดขมิ้น ทั้ง 3 สมการที่สร้างขึ้นสามารถจำแนกได้ถูกต้องทั้งสิ้น 100%

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าทางสถิติของสมการ PLSDA ที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่งในช่วง 1100 - 2500 nm สำหรับการจัดกลุ่มขมิ้นชัน B47-39 และ B51-1 ด้วยเทคนิค NIRS ที่สแกนจากแสง

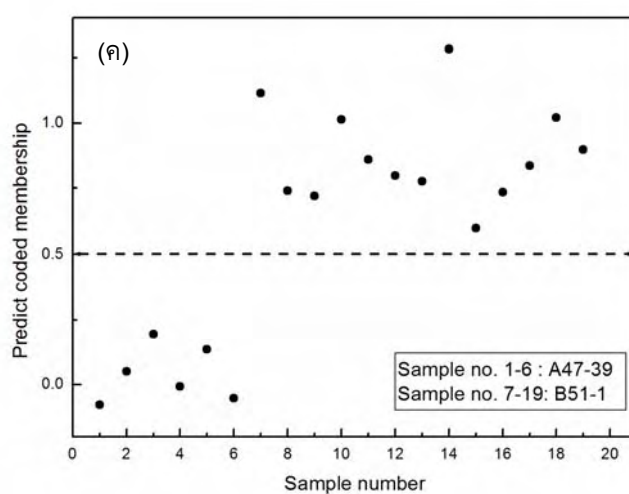
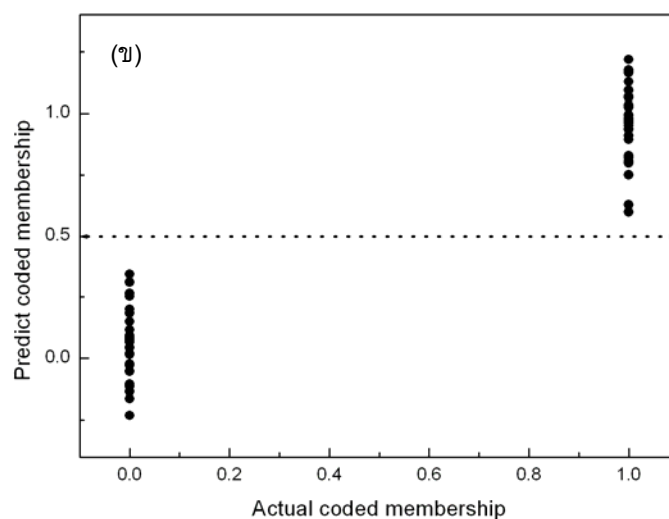
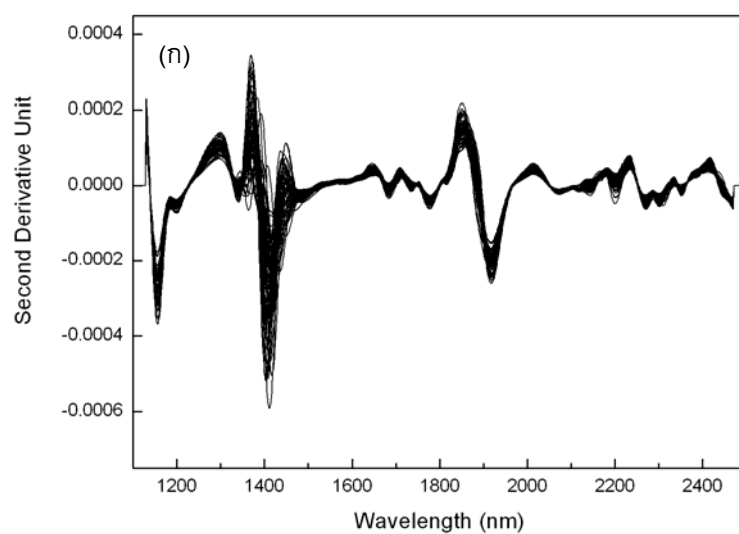
Pretreatment	Whole Wavelength Region						
	PLSDA calibration			PLSDA validation			Correct Classification (%)
	Factor	R	RMSEC	R	RMSEV	Bias	
Original	17	0.987	0.081	0.893	0.225	0.0002	100
MSC	16	0.985	0.085	0.899	0.220	-0.0048	100
2nd derivative*	8	0.955	0.149	0.906	0.212	0.0045	100

* = selected calibration model

R = correlation,

RMSEC = root mean squares error of calibration; ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนาย

RMSEV = root mean squares error of validation



ภาพที่ 9 (ก) สเปกตรัม NIR อนุพันธ์อันดับที่ 2 ของแรงแม่เหล็ก 2 กลุ่มที่ใช้สร้างสมการจัดกลุ่ม (ข) พล็อตระหว่างค่าที่กำหนดและค่าที่ทำนายด้วยสมการ PLSDA Calibration สร้างจากสเปกตรัมภาพ (ก) เพื่อจัดกลุ่มไขมัน B47-39 ($Y < 0.5$) และไขมัน B51-1 ($Y \geq 0.5$) (ค) ผลการทดสอบสมการเพื่อจัดกลุ่มไขมัน 19 ตัวอย่าง ให้ความถูกต้อง 100%

ตารางที่ 5 แสดงสมการการจัดกลุ่มไขมันด้วยวิธีการสแกนจากผง สร้างสมการทั้ง 4 แบบ พร้อมเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่า สมการที่คำนวณโดยใช้สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยอนุพันธ์อันดับที่สองให้ผลดีที่สุด ในตารางแสดงทั้งสมการที่ไม่ตัด (ภาพ 10 (ข)) และตัด outlier ออก (ภาพ 10 (ค)) จากภาพที่ 10 (ข) สมการ Calibration แสดงเส้นแบ่งกลุ่ม 2 กลุ่มนี้ที่ตำแหน่ง 0.5 มีตัวอย่างไขมัน B47-39 จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่แตกต่างจากกลุ่มไปตกในกลุ่มไขมัน B51-1 จัดเป็น outlier เมื่อทำการตัดออกจะได้สมการใหม่ ดังรูป (ค) และให้ผลทางสถิติดังนี้ สมการนี้ให้ความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยในชุด Validation ต่ำที่สุด คือ RMSEV หมายถึงการจำแนกไขมันว่าจะเป็นชนิด B47-39 หรือ B51-1 จะมีค่าคลาดเคลื่อนไปจากค่า 0 และ 1 ไม่เกิน 0.171 สมการ Calibration มี Correlation สูงที่สุดเป็น 0.956 และยังใช้แฟกเตอร์ต่ำสุด เพียง 5 แฟกเตอร์ เมื่อเปรียบเทียบความถูกต้องในการจำแนกชนิดไขมันของสมการทั้งหมด พบว่ามีประสิทธิภาพสูงถูกต้อง 100 % ทั้ง 4 สมการ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่าทางสถิติของสมการ PLSDA ที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่งในช่วง 1100 - 2500 nm สำหรับการจัดกลุ่มไขมันชั้น B47-39 และ B51-1 ด้วยเทคนิค NIRS ที่สแกนจากผง

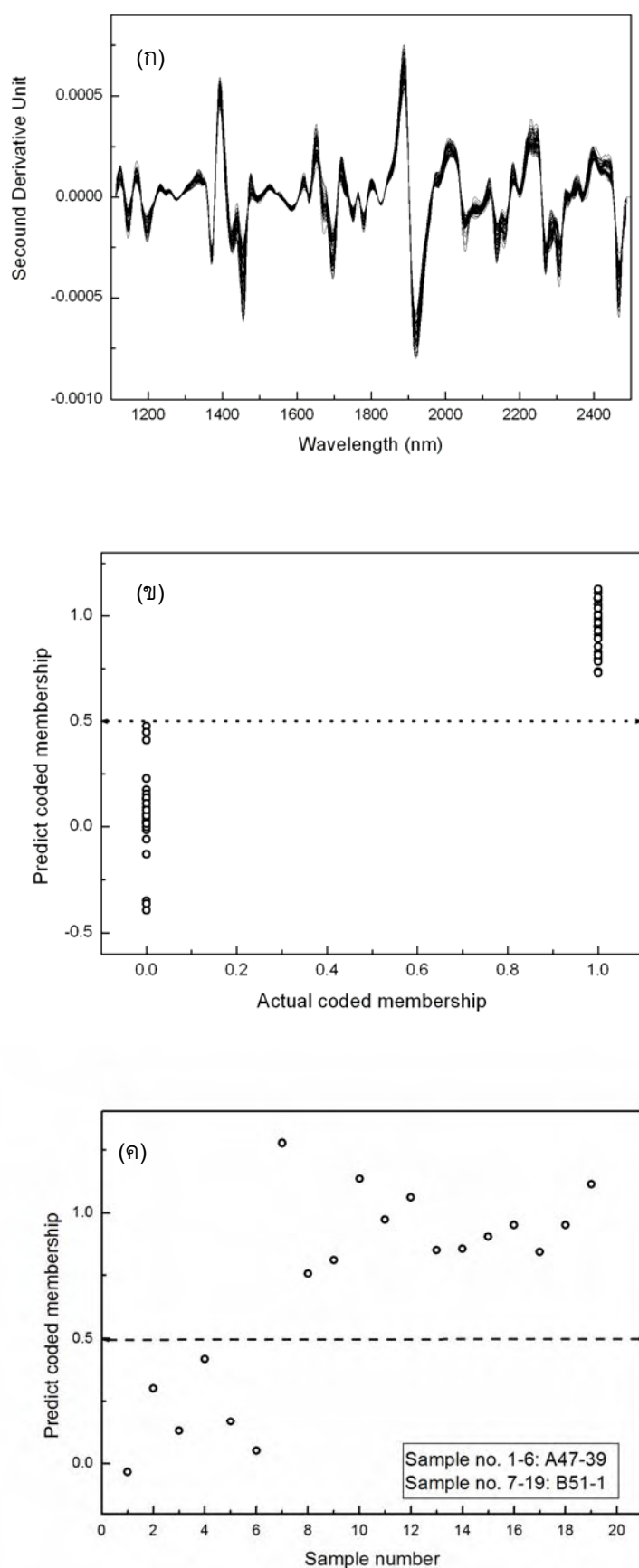
Pretreatment	Whole Wavelength Region						
	PLSDA calibration			PLSDA validation			Correct Classification (%)
	Factor	R	RMSEC	R	RMSEV	Bias	
Original	8	0.944	0.165	0.909	0.208	0.0016	100
MSC	8	0.933	0.180	0.913	0.205	-0.0047	100
2nd derivative	5	0.944	0.165	0.926	0.188	0.0041	100
2nd derivative* (cut outlier)	5	0.956	0.147	0.940	0.171	0.0040	100

* = selected calibration model

R = correlation,

RMSEC = root mean squares error of calibration; ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนาย

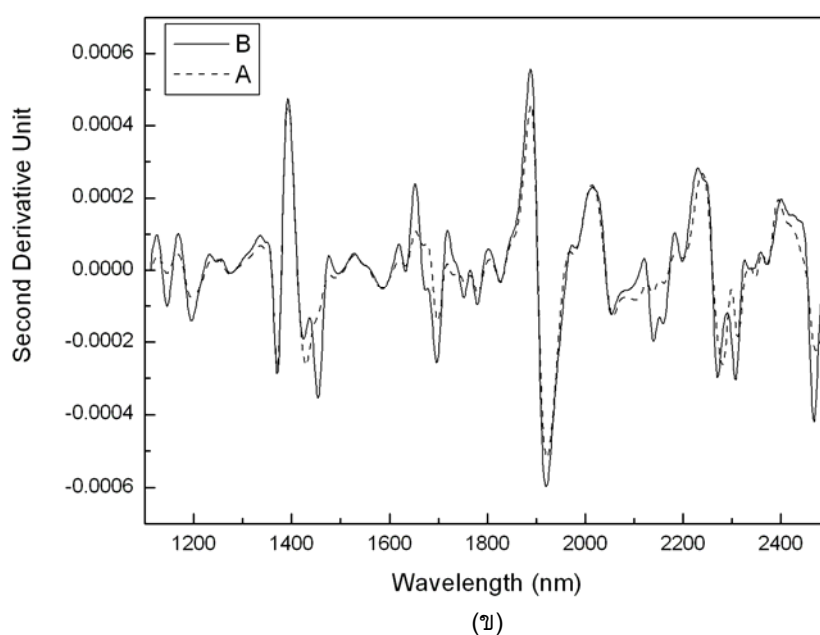
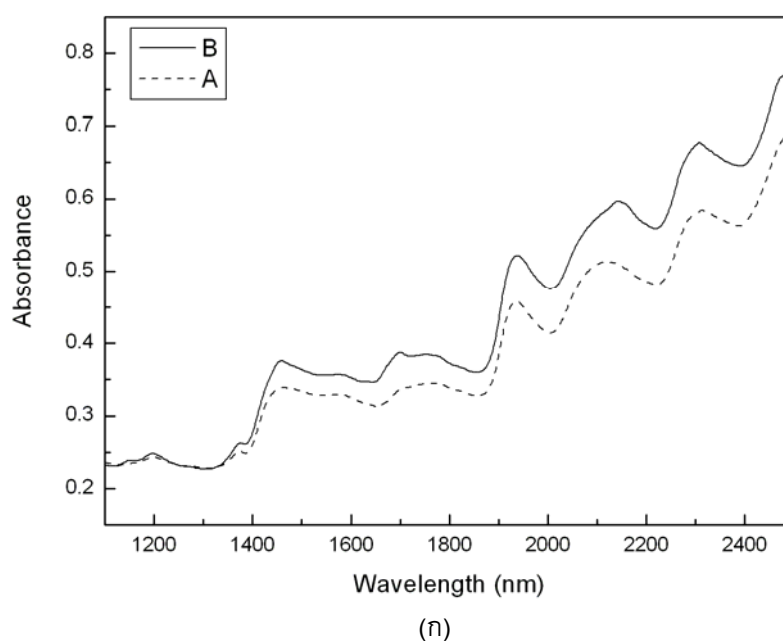
RMSEV = root mean squares error of validation



ภาพที่ 10 (ก) สเปกตรัม NIR อนุพันธ์อันดับที่ 2 ของผงขมิ้นชัน 2 กลุ่มที่ใช้สร้างสมการจัดกลุ่ม (ข) พล็อตระหว่างค่าที่กำหนดและค่าที่ทำนายด้วยสมการ PLSDA Calibration สร้างจากสเปกตรัมภาพ (ก) เพื่อจัดกลุ่มขมิ้น B47-39 ($Y < 0.5$) และขมิ้น B51-1 ($Y \geq 0.5$) ตัด outlier (ค) ผลการทดสอบสมการเพื่อจัดกลุ่มขมิ้นชัน 19 ตัวอย่าง ให้ความถูกต้อง 100%

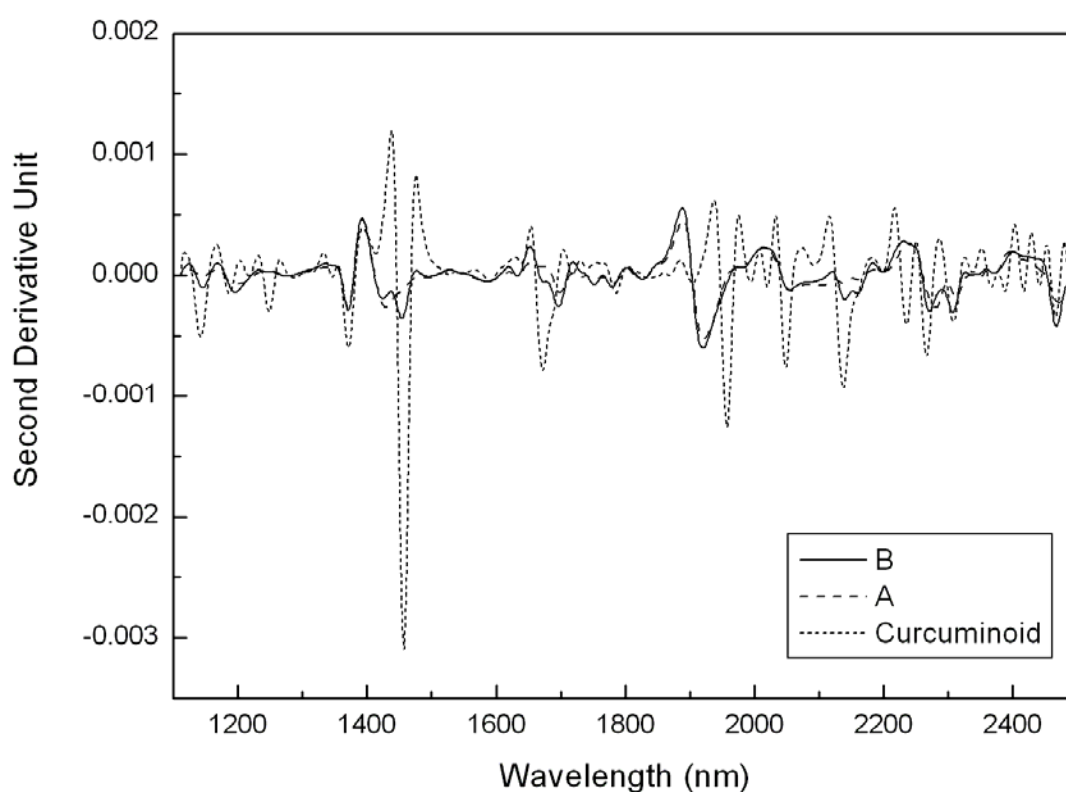
1.2 การจัดกลุ่มขมิ้นชันตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ตัวอย่างขมิ้นที่ใช้ในการทดลอง แบ่งตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้เป็นกลุ่ม 2 กลุ่ม คือ A และ B เมื่อนำตัวอย่างผงมาสแกนในช่วงคลื่นแสง NIR จะได้สเปกตรัม ดังแสดงในภาพที่ 11 (ก) คือ สเปกตรัม NIR เฉลี่ยของขมิ้นผงในกลุ่ม A (เส้นประ) และ B (เส้นทึบ) ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 1100 – 2500 นาโนเมตร จะสังเกตเห็นความแตกต่างของสเปกตรัมได้ชัดเจนในภาพที่ 11 (ข) หลังจากปรับแต่งสเปกตรัม ดิบให้เป็นสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับที่สอง โดยมีตำแหน่งช่วงพิกที่แตกต่างกันที่ 1430-1470, 1670-1700, 2050-2150, 2270-2300 นาโนเมตร



ภาพที่ 11 สเปกตรัม NIR เฉลี่ยของขมิ้นชันกลุ่ม A และ B ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm (ก) สเปกตรัมดิบ (ข) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับที่ 2

ความแตกต่างระหว่างขมิ้น 2 กลุ่มแสดงให้เห็นในสเปกตรัม NIR หมายถึง ขมิ้นแต่ละกลุ่มมีพันธะขององค์ประกอบทางเคมีที่เกิดอันตรกิริยากับแสงช่วง NIR ต่างกัน นั่นคือ มีองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน รวมถึงสารแสดงพันธะกรรมทางที่ต่างกัน และปริมาณสารสำคัญ เช่น ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ไม่เท่ากันอีกด้วย เมื่อนำสารมาตรฐานเคอร์คูมินอยด์มาสแกนในช่วงคลื่น NIR และนำมาเปรียบเทียบกับสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับที่สองของขมิ้นทั้งสองกลุ่ม จะเห็นความสัมพันธ์ดังแสดงในภาพที่ 12 สเปกตรัม NIR ของขมิ้นกลุ่ม B ปรากฏตำแหน่งพีคหลายจุดที่ตรงกับพีคในสเปกตรัม NIR ของสารมาตรฐานเคอร์คูมินอยด์ นั้นอาจแสดงถึงความเป็นไปได้ที่จะพบปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นกลุ่ม B ในปริมาณมากกว่าในกลุ่ม A



ภาพที่ 12 สเปกตรัม NIR อนุพันธ์อันดับที่ 2 เฉลี่ยของขมิ้นกลุ่ม A, B และ สารมาตรฐานเคอร์คูมินอยด์ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm

ตารางที่ 6 แสดงผลการเปรียบเทียบค่าทางสถิติของสมการการจัดกลุ่มขมิ้นตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอทั้ง 3 สมการที่มีประสิทธิภาพการจัดกลุ่มดีที่สุด ได้แก่ สมการที่คำนวณโดยใช้สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยอนุพันธ์อันดับที่สอง (ภาพที่ 13(ก-ค)) สมการนี้สามารถแยกขมิ้นตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ถูกต้อง 100% ขณะที่อีกสองสมการ สามารถจัดกลุ่มขมิ้นได้ถูกต้องเพียง 97.92%

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบค่าทางสถิติของสมการ PLSDA ที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่งในช่วง 1100 - 2500 นาโนเมตร สำหรับการจัดกลุ่มขมิ้นตามสายพิมพ์ดีเอ็นเอ

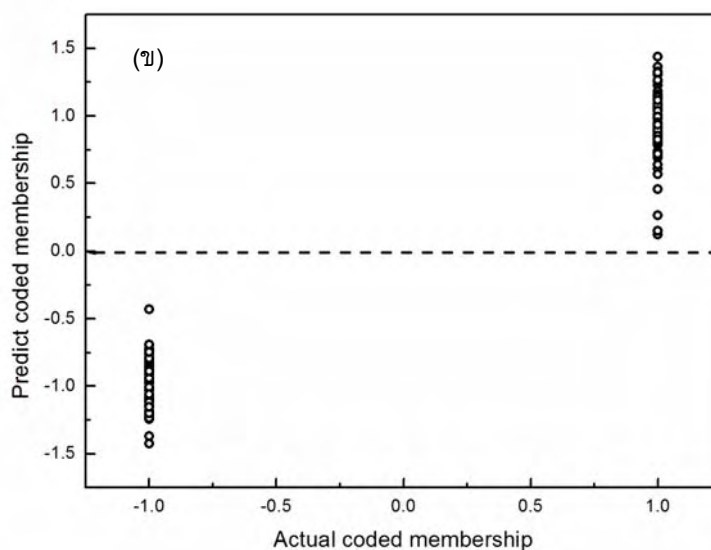
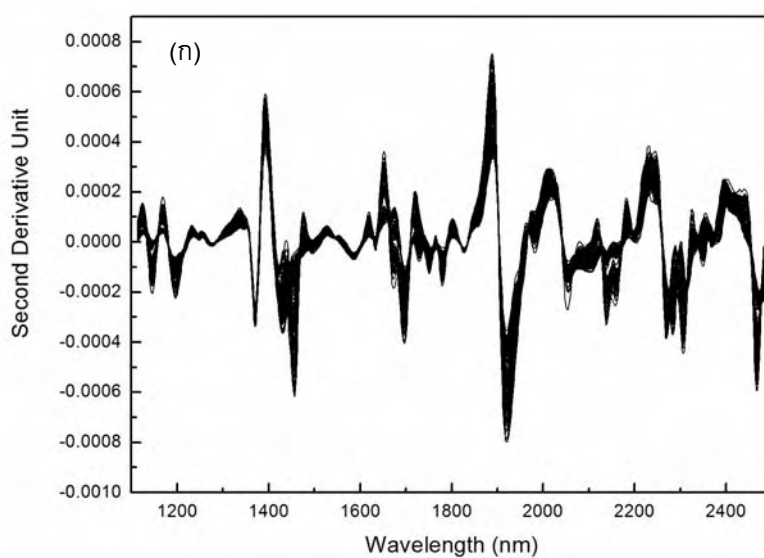
Pretreatment	Whole Wavelength Region						
	PLSDA calibration			PLSDA validation			Correct Classification (%)
	Factor	R	RMSEC	R	RMSEV	Bias	
Original	5	0.927	0.375	0.918	0.397	0.002	97.92
MSC	10	0.970	0.242	0.958	0.288	0.004	97.92
2nd derivative*	7	0.967	0.254	0.956	0.294	0.002	100

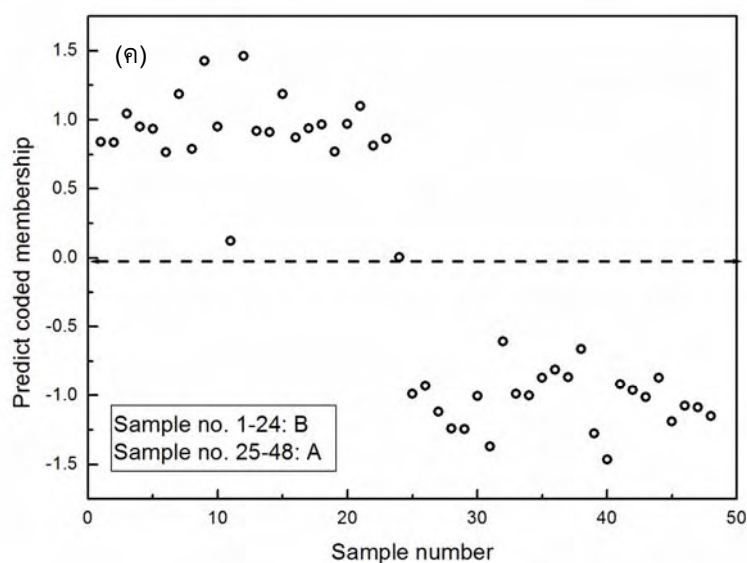
* = selected calibration model

R = correlation,

RMSEC = root mean squares error of calibration; ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนาย

RMSEV = root mean squares error of validation





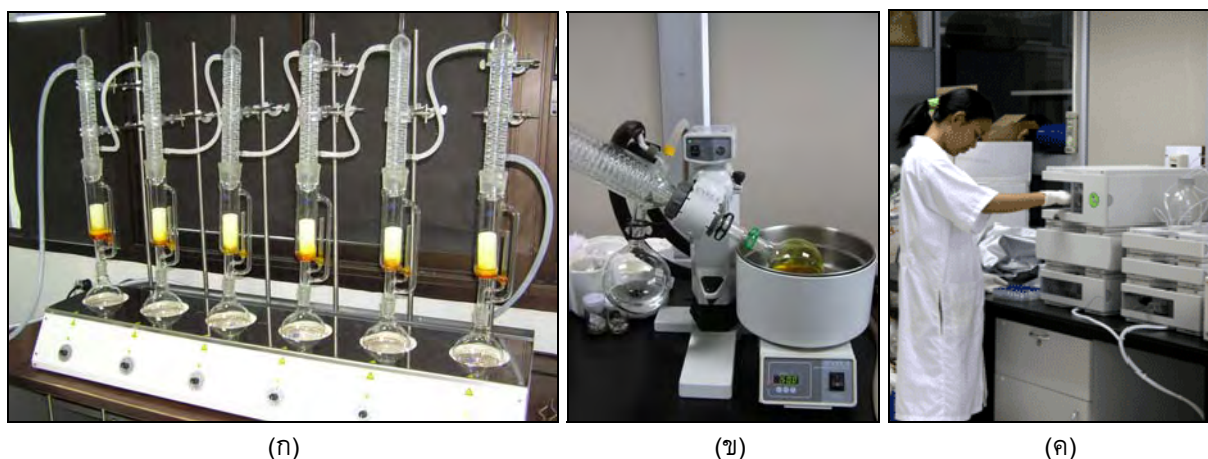
ภาพที่ 13 (ก) สเปกตรัม NIR อันดับ 2 ของไขมันชั้น 2 กลุ่มที่ใช้สร้างสมการจัดกลุ่มตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (ข) พล็อตระหว่างค่าที่กำหนดและค่าที่ทำนายด้วยสมการ PLSDA Calibration สร้างจากสเปกตรัมภาพ (ก) สำหรับจัดกลุ่มไขมัน A ($Y < 0.5$) และ B ($Y \geq 0.5$) (ค) ผลการทดสอบสมการเพื่อจัดกลุ่มไขมันชั้น 48 ตัวอย่าง ให้ความถูกต้อง 100%

2. ประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) ในการวิเคราะห์ไขมันชั้นเชิงปริมาณ

2.1 สร้างสมการสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในช่วงปริมาณ 2.43 – 11.02%

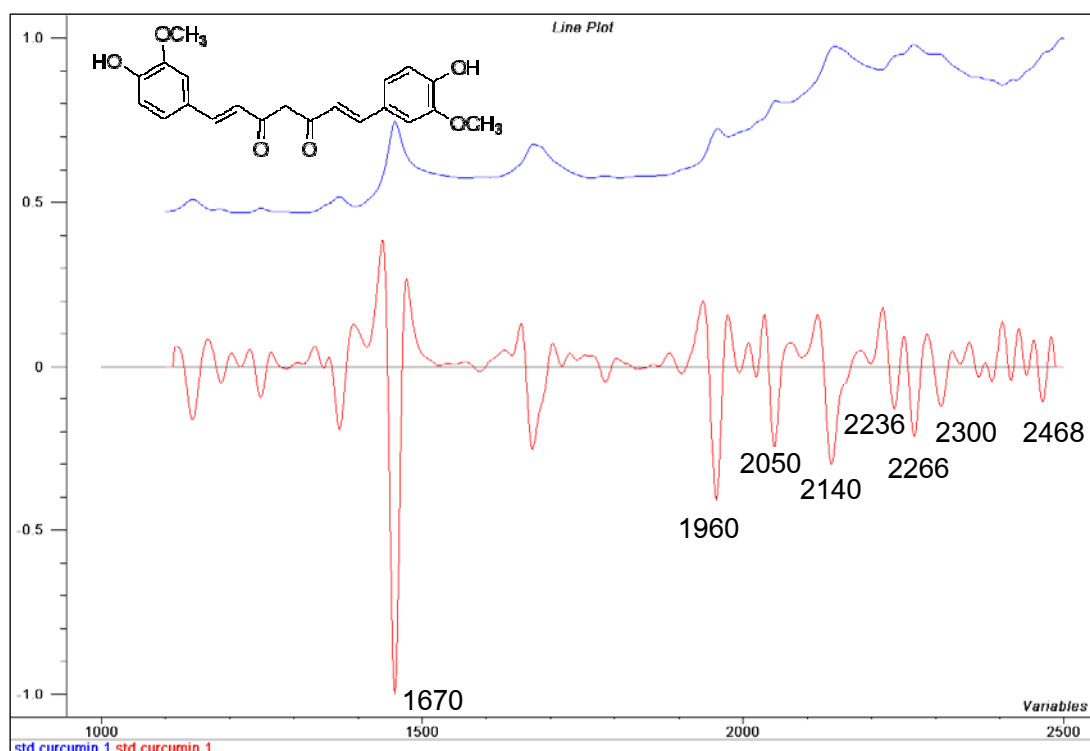
ขั้นตอนการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ด้วยวิธีมาตรฐาน HPLC แสดงในภาพ

ที่ 14



ภาพที่ 14 (ก) การสกัดสารเคอร์คูมินอยด์ด้วยวิธี Soxhlet extraction (ข) การระเหยสารด้วยเครื่อง Rotary evaporator และ (ค) การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ด้วยวิธี HPLC

ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี PLS นั้น นอกจากจะคำนวณทั้งช่วงความยาวคลื่นแล้ว จะตัดช่วงให้สั้นลงด้วยวิธีการ Wavelength selection โดยเลือกช่วงความยาวคลื่นจากข้อมูลสเปกตรัม NIR ของสารเคอร์คูมินอยด์มาตรฐาน (assay $\geq 80\%$ Curcumin, $\geq 94\%$ Curcuminoid content) โดยนำสารเคอร์คูมินอยด์มาตรฐานปริมาณเท่าเมล็ดถั่ว ซึ่งมีลักษณะเป็นผงละเอียด ใส่ลงใน Gold cup แล้วนำเข้าเครื่อง NIR สเปกโตรมิเตอร์ เพื่อสแกนตั้งแต่ความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร ได้สเปกตรัมแสดงดังภาพที่ 15



ภาพที่ 15 Maximum normalized original และ 2nd derivative NIR spectra ของ standard curcuminoid ในช่วงความยาวคลื่น 1100 – 2500 nm.

สารมาตรฐานเคอร์คูมินอยด์นี้ ประกอบด้วย สารเคอร์คูมิน 80% และ Demethoxycurcumin และ Bisdemethoxycurcumin อีก 14% รวมปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์เป็น 94% เมื่อนำสารมาตรฐานมาสแกนเพื่อสเปกตรัม และวิเคราะห์ข้อมูล Band assignment ได้ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ความหมายทางเคมีของพีคที่ปรากฏในสเปกตรัม NIR ของสารเคอร์คูมินอยด์มาตรฐาน

Band	Assignments
1460	1 st overtone of O-H
1670	1 st overtone of C-H stretching
1900 - 2500	Combination bands of substitution on the benzene ring

สเปกตรัม NIR ของแ่งขม้นในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร ปรากฏพีกเด่นชัดที่ตำแหน่ง 1400 และ 1900 นาโนเมตร ซึ่งแสดงพีกน้ำที่มีอยู่ในแ่งขม้น (ภาพที่ 16) ส่วนพีกที่สำคัญที่แสดงองค์ประกอบของสารเคอร์คูมินอยด์ดังตารางที่ 7 จะไม่ปรากฏออกมาให้เห็นในสเปกตรัมดิบ แต่เมื่อทำการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี 2nd derivation (ภาพที่ 17) จะปรากฏพีกให้เห็นชัดเจนขึ้น ในการสร้างสมการ PLS จึงทำการเปรียบเทียบทั้งวิธีการปรับแต่งสเปกตรัมและช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ เพื่อให้ได้สมการที่มีประสิทธิภาพการทำนายสูงสุด ดังตารางที่ 8 และพบว่าสมการที่มีประสิทธิภาพการทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในแ่งขม้นที่ดีที่สุด สร้างจากสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี 2nd derivation ในช่วงความยาวคลื่น 1600-2100 นาโนเมตร สร้างด้วยแฟกเตอร์ 13 ได้สมการที่มีค่าสหสัมพันธ์ (correlation) สูง 0.992 และให้ค่าเฉลี่ยความผิดพลาดในการทำนาย (RMSECV) ต่ำสุด 1.320% (ภาพที่ 18) ซึ่งในช่วง 1600 -2100 นาโนเมตร มีข้อมูลทางเคมีสำคัญ คือ 1st overtone of C-H และ combination bands of substitution บนหมู่เบนซีนบางส่วน

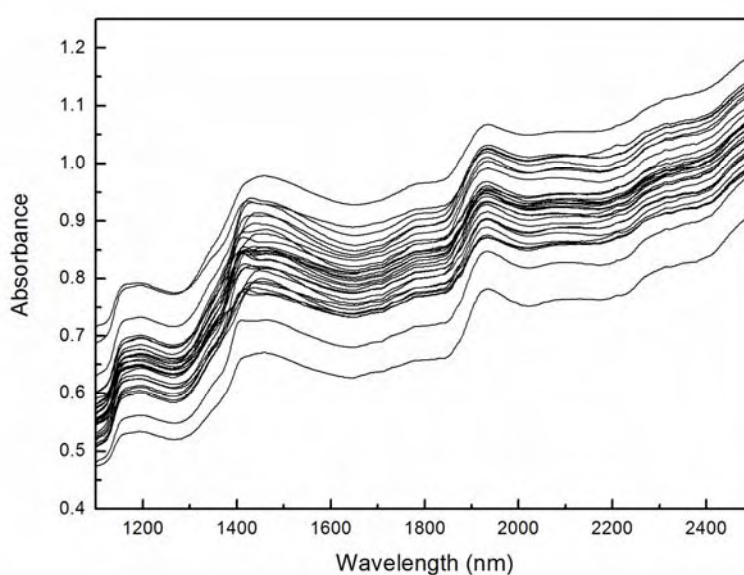
ตารางที่ 8 เปรียบเทียบผลทางสถิติของสมการ PLS สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในแ่งขม้นชั้น (2.43 – 11.02%) โดยเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัม NIR ไม่ปรับแต่งและปรับแต่งวิธีต่างๆ และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน

Pretreatment	Wavelength (nm)														
	Whole region			1100-1600			1600-2100			1600-2500			2100-2500		
	F	Rc	RMSECV (%)	F	Rc	RMSECV (%)	F	Rc	RMSECV (%)	F	Rc	RMSECV (%)	F	Rc	RMSECV (%)
Original	2	0.394	1.944	2	0.362	1.959	2	0.365	1.968	2	0.378	1.981	6	0.771	1.898
MSC	1	0.247	1.944	1	0.209	1.962	11	0.973	1.710	1	0.278	1.930	2	0.404	1.937
2 nd derivative	9	0.871	1.864	5	0.613	1.978	13	0.992	1.320	4	0.709	1.848	4	0.744	1.829

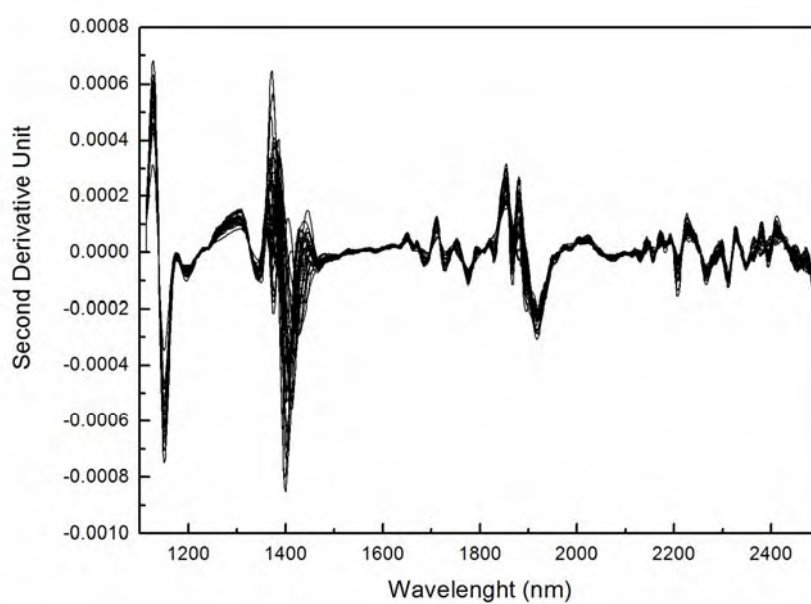
F = factor

Rc = correlation of calibration model

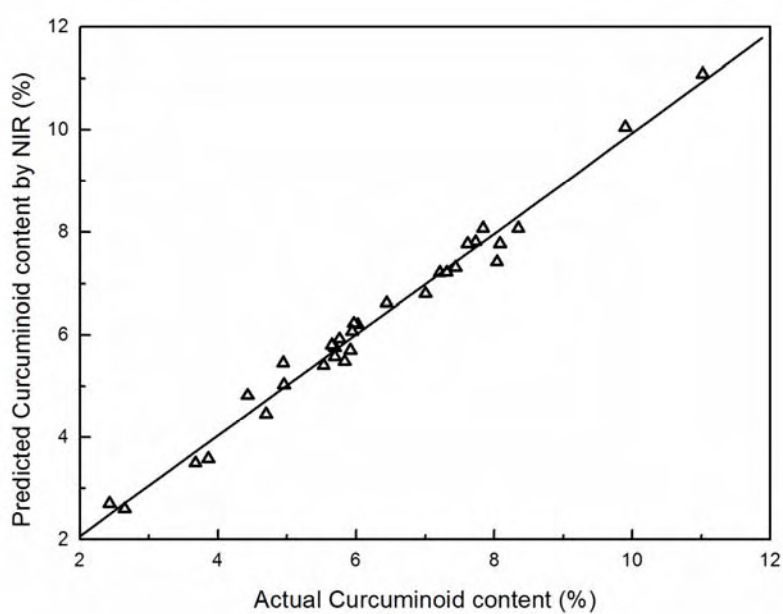
RMSECV = root mean squares error of cross validation



ภาพที่ 16 NIR สเปกตรัมดิบของแ่งขม้นชั้น B51-1 ในช่วง 1100 – 2500 nm



ภาพที่ 17 2nd derivated NIR สเปกตร้าของแ่งขมันชั้น B51-1 ในช่วง 1100 – 2500 nm



ภาพที่ 18 Correlation plot ระหว่างปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (แกน x) และ ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยสมการ PLSR ที่สร้างจาก 2nd derivated NIR spectra ของแ่งขมันชั้น B51-1 ในช่วง 1600 - 2100 nm (แกน y)

ภาพที่ 19 แสดงสเปกตรัาดิบ NIR ของผงขมิ้น B51-1 ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร ปรากฏพีกเด่นชัดหลายพีก มากกว่าสเปกตรัาดิบของแงงขมิ้น พีกที่ปรากฏแสดงองค์ประกอบที่สำคัญทางเคมีของสารเคอร์คูมินอยด์ ได้แก่ พีกในช่วง 1670, 1900, 2100 และ 2300 นาโนเมตร ดังข้อมูลตารางที่ 7 และเมื่อปรับแต่งสเปกตรัาด้วยวิธี 2nd derivation (ภาพที่ 20) จะเห็นพีกแยกจากกันชัดเจนมากยิ่งขึ้น การสร้างสมการ PLS ทำการเปรียบเทียบทั้งวิธีการปรับแต่งสเปกตรัาและช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ เพื่อให้ได้สมการที่มีประสิทธิภาพการทำนายสูงสุด ดังตารางที่ 9 และพบว่าสมการที่มีประสิทธิภาพการทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นผง B51-1 ที่ดีที่สุดนั้นสร้างจากสเปกตรัาที่ปรับแต่งด้วยวิธี 2nd derivation ในช่วงความยาวคลื่น 1550-2500 นาโนเมตร สร้างด้วยแฟกเตอร์ 8 ได้สมการที่มีค่าสหสัมพันธ์ (correlation) สูง 0.978 และให้ค่าเฉลี่ยความผิดพลาดในการทำนาย (RMSECV) ต่ำสุด 1.249% ซึ่งในช่วง 1550 -2500 นาโนเมตร (ภาพที่ 21) มีข้อมูลทางเคมีสำคัญ คือ 1st overtone of C-H และ combination bands of substitution บนหมู่เบนซีนทั้งหมดอยู่ หากจะเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากการเก็บข้อมูลของเหง้าขมิ้นที่ใช้ช่วงความยาวคลื่นสั้นกว่า จะข้อมูลทางเคมีน้อยกว่าจึงต้องใช้จำนวน PC สูงถึง 13 แต่ถึงแม้จะใช้ช่วงความยาวคลื่นถึง 2500 นาโนเมตร กลับไม่ได้สมการที่ดีกว่า อาจเนื่องมาจากข้อมูลจากการสแกนจากเหง้ามีองค์ประกอบ (matrix) ซับซ้อนกว่า ทั้งเปลือกและชั้นเนื้อขมิ้น ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้มีอิทธิพลต่อพีกที่เราสนใจ การดึงข้อมูลเคอร์คูมินอยด์ออกมาด้วยวิธีทางสถิติจึงต้องใช้จำนวน PC มาก ในช่วงความยาวคลื่นที่มีการรบกวน (interference) ต่ำ

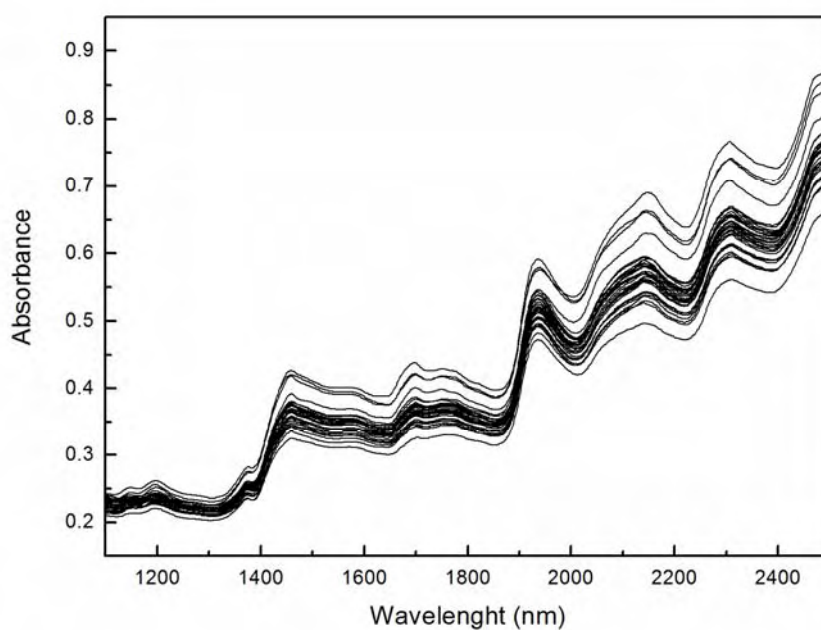
ตารางที่ 9 เปรียบเทียบผลทางสถิติของสมการ PLS สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในผงขมิ้นชัน (2.43 – 11.02%) โดยเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัม NIR ไม่ปรับแต่งและปรับแต่งวิธีต่างๆ และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน

Pretreatment	Wavelength (nm)														
	Whole region			1100-1550			1550-2100			1550-2500			2100-2500		
	F	Rc	RMSECV (%)	F	Rc	RMSECV (%)	F	Rc	RMSECV (%)	F	Rc	RMSECV (%)	F	Rc	RMSECV (%)
Original	5	0.817	1.600	7	0.897	1.354	5	0.838	1.470	10	0.944	1.336	9	0.968	1.409
MSC	5	0.858	1.557	5	0.876	1.366	11	0.957	1.444	9	0.922	1.339	12	0.997	1.488
2 nd derivative	3	0.837	1.292	3	0.815	1.304	2	0.827	1.272	8	0.978	1.249	2	0.820	1.339

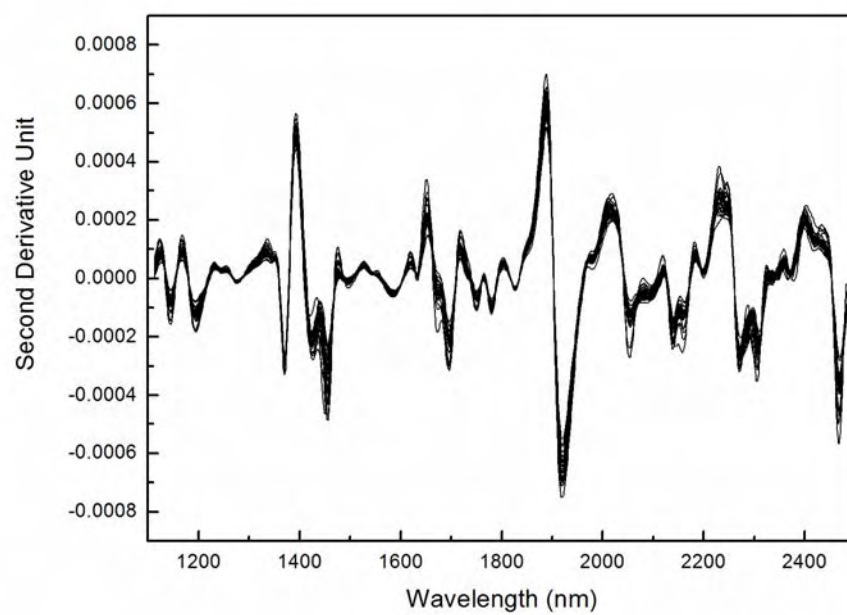
F = factor

Rc = correlation of calibration model

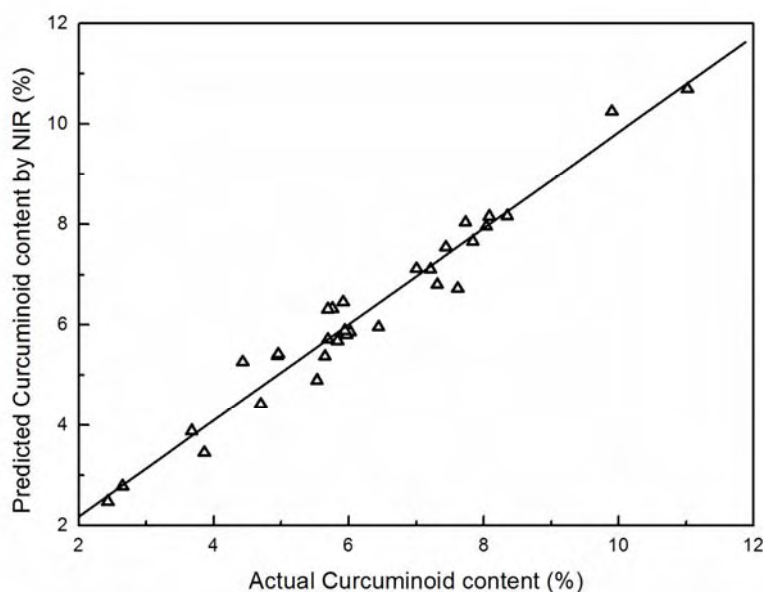
RMSECV = root mean squares error of cross validation



ภาพที่ 19 NIR สเปกตร้าดิบของผงมันชั้น B51-1 ในช่วง 1100 – 2500 nm



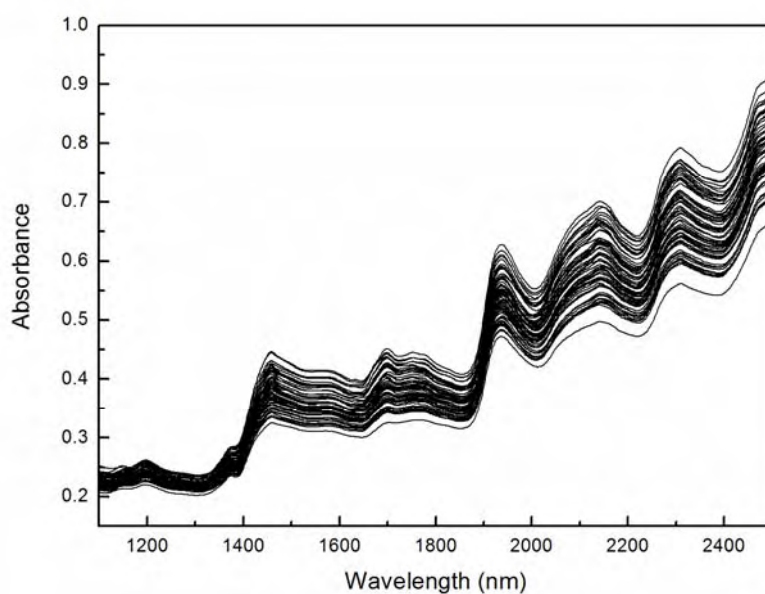
ภาพที่ 20 2nd derivated NIR สเปกตร้าของผงมันชั้น B51-1 ในช่วง 1100 – 2500 nm



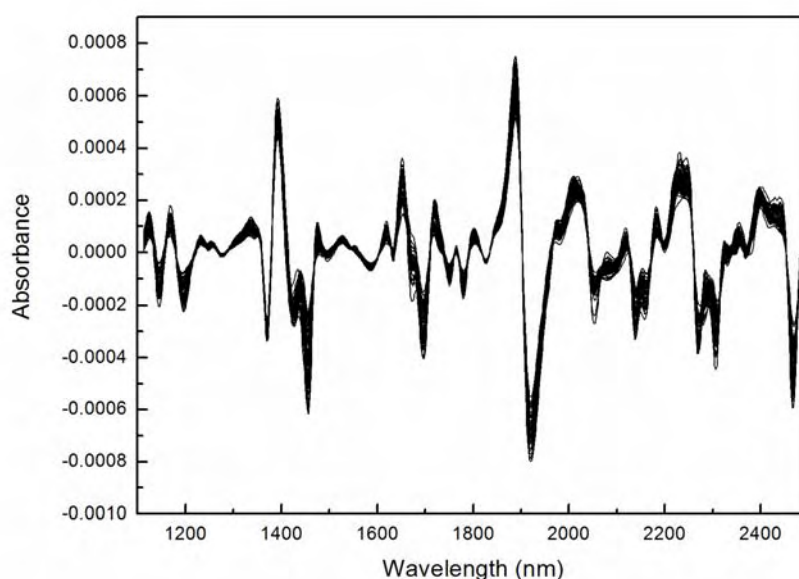
ภาพที่ 21 Correlation plot ระหว่างปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (แกน x) และปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยสมการ PLSR ที่สร้างจาก 2nd derivative NIR spectra ของผงขมิ้นชัน B51-1 ในช่วง 1550-2500 nm (แกน y)

2.2 สร้างสมการสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในช่วงปริมาณ 2.43 – 17.07%

ภาพที่ 22 แสดงสเปกตรัาดิบ NIR ของผงขมิ้น 60 ตัวอย่าง ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร ซึ่งใช้คำนวณสร้างสมการเทียบมาตรฐาน พิกัดที่ปรากฏแสดงองค์ประกอบที่สำคัญทางเคมีของสารเคอร์คูมินอยด์ ได้แก่ พีกในช่วง 1670, 1900, 2100 และ 2300 นาโนเมตร ดังข้อมูลตารางที่ 7 เช่นเดียวกับผลการทดลองการสแกนขมิ้นผง B51-1 ในการทดลองข้อ 2.1 ยอดพีคจะปรากฏชัดเจนเมื่อปรับแต่งสเปกตรัาด้วยวิธี 2nd derivation (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 22 NIR สเปกตรัาดิบของขมิ้นชัน 60 ตัวอย่างในช่วง 1100 – 2500 nm



ภาพที่ 23 2nd derivated NIR สเปกตรัมของไขมันชั้น 60 ตัวอย่างในช่วง 1100 – 2500 nm

ตารางที่ 10 แสดงผลทางสถิติของสมการ PLS ที่สร้างจากสเปกตรัมดิบและปรับแต่งในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน 5 ช่วง คือ 1100-2500, 1100-1550, 1550-2100, 1550-2500 และ 2100-2500 นาโนเมตร สมการที่มีประสิทธิภาพการทำนายปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ในไขมันได้ดีที่สุด สร้างจากสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี 2nd derivation ในช่วงความยาวคลื่น 1550-2100 นาโนเมตร สร้างด้วยแฟกเตอร์ 5 ได้สมการที่มีค่าสหสัมพันธ์ 0.919 และให้ค่าเฉลี่ยความผิดพลาดในการทำนาย (RMSEP) ต่ำสุด 1.489% การเลือกสมการพิจารณาจากค่า RMSEP เป็นหลัก เนื่องจากค่า RMSEP ได้จากการทดสอบสมการด้วยตัวอย่างชุด prediction set ที่ไม่ได้นำไปใช้ในการสร้างสมการ จึงไม่มี bias จากการทดสอบ ค่านี้แสดงถึงประสิทธิภาพของสมการในการทำนายปริมาณเคอร์คิวมินอยด์อย่างแท้จริง พล็อตความสัมพันธ์ระหว่างค่าทำนายปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ด้วยสมการ PLS ของ NIR ที่สร้างจากสเปกตรัมฉบับอันดับที่สองในช่วง 1100-1550 นาโนเมตร เทียบกับปริมาณจริงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอ้างอิง HPLC แสดงในภาพที่ 24

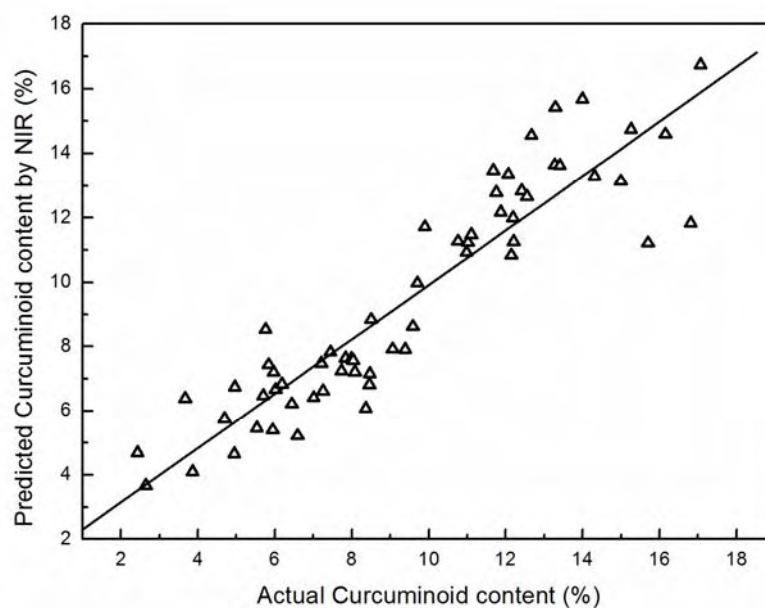
ตารางที่ 10 เปรียบเทียบผลทางสถิติของสมการ PLS สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ในไขมันชั้น (2.43 – 17.07%) โดยเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัม NIR ไม่ปรับแต่งและปรับแต่งวิธีต่างๆ และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน

Pretreatment	Wavelength (nm)														
	Whole region			1100-1550			1550-2100			1550-2500			2100-2500		
	F	Rc	RMSEP (%)	F	Rc	RMSEP (%)	F	Rc	RMSEP (%)	F	Rc	RMSEP (%)	F	Rc	RMSEP (%)
Original	7	0.931	1.614	8	0.931	1.631	5	0.925	1.709	5	0.926	1.732	5	0.926	2.017
MSC	6	0.930	1.840	6	0.921	1.629	9	0.935	1.889	7	0.934	1.961	6	0.929	2.183
2 nd derivative	5	0.934	1.848	5	0.919	1.489	8	0.948	2.027	4	0.934	1.842	4	0.934	2.040

F = factor

Rc = correlation of calibration model

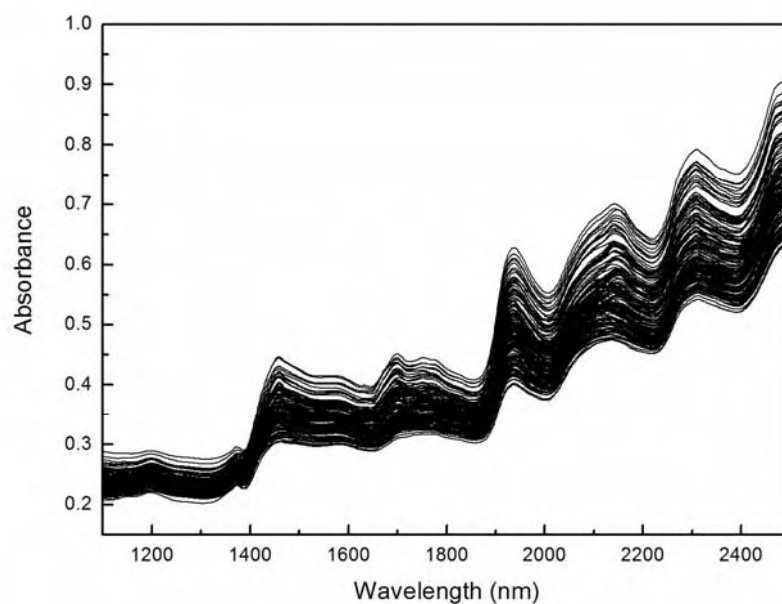
RMSEP = root mean squares error of prediction



ภาพที่ 24 Correlation plot ระหว่างปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (แกน x) และปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยสมการ PLSR ที่สร้างจาก 2nd derivated NIR spectra ของขมิ้นชันในช่วง 1100-1550 nm (แกน y)

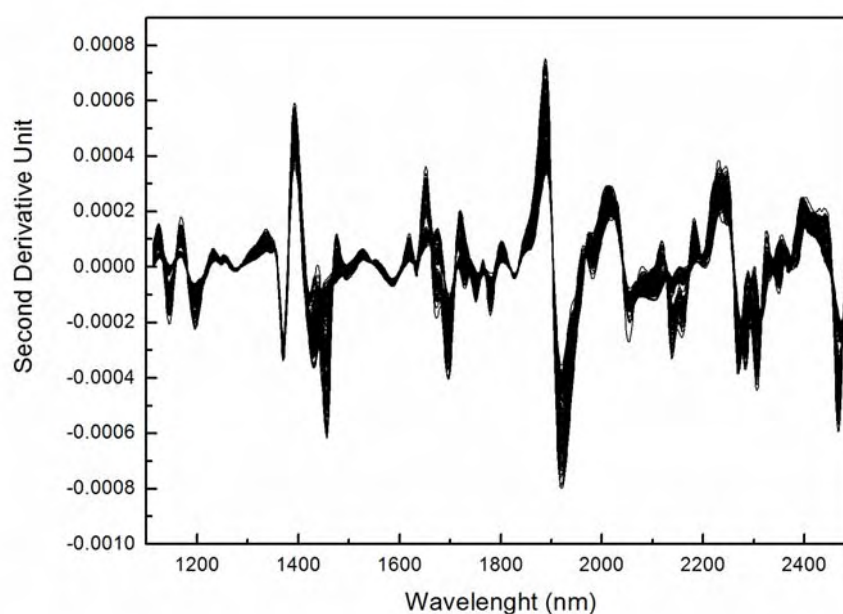
2.3 สร้างสมการสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในช่วงปริมาณ 0.03 – 17.07%

เมื่อนำข้อมูลสเปกตรัม NIR ของผงขมิ้น A47-13, A47-54, A47-57, A47-110, B47-39, B47-62, B47-75 และ B51-1 มาคำนวณสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี PLS จำนวน 148 ตัวอย่าง และใช้ตัวอย่างที่เหลือสำหรับทดสอบสมการ จำนวน 48 ตัวอย่าง ลักษณะสเปกตร้าดิบ NIR ของขมิ้นทั้ง 148 ตัวอย่าง แสดงในภาพที่ 25 ลักษณะสเปกตร้าจะเห็นการเคลื่อนของ baseline มากขึ้น ซึ่งอาจเกิดจาก



ภาพที่ 25 NIR สเปกตร้าดิบของขมิ้นชัน 148 ตัวอย่างในช่วง 1100 – 2500 nm

ขนาดผงขี้มันของแต่ละพันธุ์มีการกระจายตัวแตกต่างกัน ทำให้เกิดอันตรกิริยากับแสงในช่วง NIR แตกต่างไป หากมีขนาดผงเล็กจะอัดตัวกันแน่น ช่องว่างน้อย จึงสะท้อนแสงได้ดีกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ นอกจากนี้ยังเห็นระดับการดูดกลืนแสง NIR ในช่วงพีคต่าง ๆ สูงต่ำแตกต่างกัน อันเนื่องมาจากปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่างมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ที่พบได้ตามตำแหน่งพีคที่วิเคราะห์ในตารางที่ 7 เมื่อนำข้อมูลสเปกตรัม NIR ดิบมาคำนวณปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับที่สอง จะช่วงลดปัญหาในการเกิด baseline shift และทำให้เห็นระดับการดูดกลืนแสง NIR ที่ตำแหน่งต่าง ๆ ชัดเจนยิ่งขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 26



ภาพที่ 26 2nd derivated NIR สเปกตรัมของขี้มันชั้น 148 ตัวอย่างในช่วง 1100 – 2500 nm

ผลการคำนวณสร้างสมการเทียบมาตรฐาน PLS เพื่อหาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขี้มันตั้งแต่ 0.03-17.07% แสดงในตารางที่ 11 ซึ่งเปรียบเทียบสมการทั้ง 15 สมการ ที่คำนวณด้วยข้อมูลสเปกตรัมดิบและปรับแต่งในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน 5 ช่วง สมการที่มีประสิทธิภาพการทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขี้มันได้ดีที่สุด สร้างจากสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี 2nd derivation ในช่วงความยาวคลื่น 2100 - 2500 นาโนเมตร สร้างด้วยแฟกเตอร์ 7 ได้สมการที่มีค่าสหสัมพันธ์ 0.982 และให้ค่าเฉลี่ยความผิดพลาดในการทำนาย (RMSEP) ต่ำสุด 1.011% ในขณะที่สมการที่คำนวณด้วยสเปกตรัมในช่วงเดียวกันนี้ (2100 – 2500 นาโนเมตร) แต่ใช้สเปกตรัมดิบและปรับด้วยวิธี MSC ต่างก็ให้ผลการทำนายที่แม่นยำใกล้เคียงกันนั้นแสดงว่าข้อมูลของสารเคอร์คูมินอยด์ปรากฏในช่วงความยาวคลื่น 2100 – 2500 นาโนเมตรสูง ดังนั้นการใช้ข้อมูลในช่วงนี้จึงให้สมการที่มีประสิทธิภาพการทำนายสูงกว่าการใช้ข้อมูลจำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับสมการที่สร้างจากช่วงความยาวคลื่นอื่น ๆ

ภาพที่ 24 แสดงการพล็อตความสัมพันธ์ระหว่างค่าทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ด้วยสมการ PLS ของ NIR ที่สร้างจากสเปกตรัมอันดับที่สองในช่วง 2100-2500 นาโนเมตร เทียบกับปริมาณจริงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีอ้างอิง HPLC

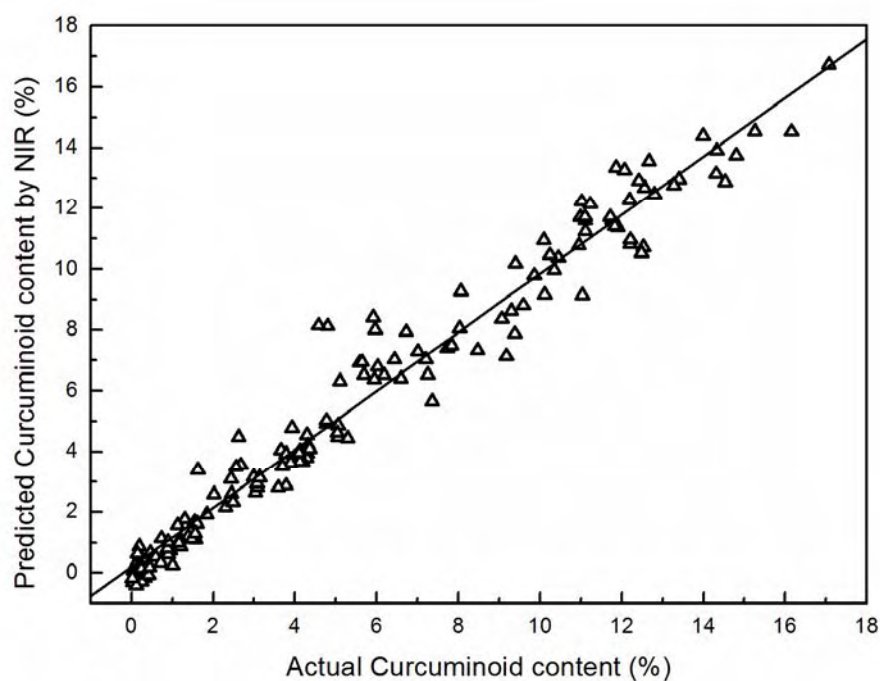
ตารางที่ 11 เปรียบเทียบผลทางสถิติของสมการ PLS สำหรับทำนายปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน (0.03 – 17.07%) โดยเปรียบเทียบสมการที่สร้างจากสเปกตรัม NIR ไม่ปรับแต่งและปรับแต่งวิธีต่างๆ และการใช้ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน

Pretreatment	Wavelength (nm)														
	Whole region			1100-1550			1550-2100			1550-2500			2100-2500		
	F	Rc	RMSEP (%)	F	Rc	RMSEP (%)	F	Rc	RMSEP (%)	F	Rc	RMSEP (%)	F	Rc	RMSEP (%)
Original	6	0.979	1.066	7	0.978	1.199	5	0.974	1.255	6	0.976	1.137	8	0.980	1.021
MSC	6	0.976	1.111	7	0.974	1.249	5	0.969	1.335	5	0.970	1.289	7	0.974	1.038
2 nd derivative	6	0.983	1.164	7	0.982	1.230	5	0.978	1.205	5	0.982	1.132	7	0.982	1.011

F = factor

Rc = correlation of calibration model

RMSEP = root mean squares error of prediction



ภาพที่ 27 Correlation plot ระหว่างปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC (แกน x) และปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยสมการ PLSR ที่สร้างจาก 2nd derivated NIR spectra ของขมิ้นชันในช่วง 2100-2500 nm (แกน y)

สรุปผลการวิจัย

1. จากการศึกษาวิจัยเพื่อจัดกลุ่มขมิ้นชันตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยการประยุกต์ใช้เทคนิค NIR ร่วมกับวิธีการจัดกลุ่ม PLSDA พบว่าสเปกตรัมของขมิ้นชันที่เตรียมแบบผง นำมาปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับที่สองและคำนวณในช่วง 1100 – 2500 นาโนเมตร สามารถจัดกลุ่มขมิ้นชันตามลักษณะ DNA ได้ถูกต้องสูงสุด 100%

สมการ PLSDA และ PLS สามารถเขียนให้อยู่ในรูปสมการทั่วไป ดังอธิบายในสมการที่ (1)

$$Y = \sum_i^k b_{i,j} X_{i,j} \quad (j = 1, 2 \dots n \text{ Factor}), \quad (1)$$

Y = ค่าที่ทำนายได้จากข้อมูล NIRS

: กรณีการจัดกลุ่มขมิ้นชันตามลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอ Y = ค่า coded membership (0, 1) ที่ทำนายจากสมการ PLSDA นั่นคือ $y \geq 0.5$ จัดเป็นกลุ่ม B และ $y < 0.5$ จัดเป็นกลุ่ม A

: กรณีการทำนายปริมาณสารเคอร์คูมินอยต์ในขมิ้นชัน Y = ปริมาณเคอร์คูมินอยต์ที่ทำนายจากสมการ PLS ที่สร้างขึ้น

X = ข้อมูลสเปกตรัม NIRS ดิบที่ไม่มีการปรับแต่ง

i = ลำดับข้อมูลที่มีความยาวคลื่น NIRS เริ่มต้น

k = ลำดับข้อมูลที่มีความยาวคลื่น NIRS สุดท้าย

j = แฟกเตอร์ที่เหมาะสมในการสร้างสมการ

b = regression coefficient. $b = W / (P^T W) Q$

เมื่อทำการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัม NIRS คำนวณได้ X ใหม่ ดังนี้

- ข้อมูลสเปกตรัม NIRS ที่ผ่านการทำ Pretreatment ด้วยวิธี MSC ดังสมการ;

$$X_{i, MSC} = (X_{iw} - a_i) / b_i$$

$$X_{iw} = a_i + b_i \bar{X}_{iw}$$

- ข้อมูลสเปกตรัม NIRS ที่ผ่านการทำ Pretreatment ด้วยวิธี 2nd derivative (Savitzky Golay);

$$X_\lambda = a_0 + 2xa_2\lambda + K + 2xa_2\lambda^l$$

และสามารถสรุปผลในแต่ละช่วงของการวิจัย ได้ดังนี้

1.1 ผู้วิจัยเริ่มงานวิจัยด้วยการจัดกลุ่มขมิ้นชัน 2 พันธุ์ คือ B47-39 และ B51-1 โดยใช้เทคนิค NIRS และวิธี PLSDA และศึกษาเปรียบเทียบลักษณะตัวอย่างที่จะนำมาสแกนด้วยแสง NIR เพื่อใช้ในการจัดกลุ่มขมิ้นชัน ได้แก่ 1) แ่ง และ 2) ผง พบว่าเทคนิค NIR สามารถจัดกลุ่มขมิ้นชันทั้ง 2 พันธุ์ได้ถูกต้อง 100% ทั้งการสแกนจากแ่งและผง โดยสมการสร้างจากสเปกตรัมปรับแต่งวิธีอนุพันธ์อันดับที่สองในช่วง 1100 – 2500 นาโนเมตร

จากผลการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบการเตรียมตัวอย่างในการสแกนทั้ง 2 วิธี คือ การสแกนทั้งแห้ง และการสแกนผง พบว่าการนำไขมันมาทำเป็นผงแล้วสแกนจะได้สเปกตรัมที่แสดงข้อมูลทางเคมีมากกว่า ปรากฏฟีกจำนวนมาก อีกทั้งสมการที่สร้างขึ้นอาศัยปัจจัยในการคำนวณที่เรียกว่าแฟกเตอร์หรือ principle component (PC) น้อยกว่าสมการที่สร้างจากสเปกตรัมแห้งไขมัน ผู้วิจัยมีความคิดเห็นว่าการสแกนทั้งแห้งถึงจะรวดเร็วกว่าและการจัดกลุ่มมีประสิทธิภาพทัดเทียมกันก็ตาม แต่ความเสถียรของสมการอาจจะต่ำกว่า ดังแสดงจากการใช้แฟกเตอร์จำนวนมากในการคำนวณเพื่อให้สมการมีประสิทธิภาพดี ประกอบกับลักษณะแห้งไขมันมีรูปร่างไม่แน่นอน การโค้งงอ ความหนาแตกต่างกัน การสแกนแต่ละครั้งต้องระมัดระวัง และต้องวางในตำแหน่งที่เหมาะสมเท่านั้น ความคลาดเคลื่อนจากจุดเหล่านี้สามารถลดลงได้ หากมีการเตรียมตัวอย่างโดยการนำไปบดเป็นผงละเอียดก่อนนำมาสแกน ดังนั้นจึงควรเตรียมตัวอย่างไขมันให้เป็นผงเมื่อจะใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIR

1.2 การจัดกลุ่มไขมันชั้นตามลายพิมพ์ดีเอ็นเอ แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม A และ B ใช้เทคนิค NIRS ร่วมกับวิธี PLSDA สมการจัดกลุ่มไขมันชั้นที่มีประสิทธิภาพสูงสร้างจากสเปกตรัมไขมันชั้นที่ปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับที่สองในช่วง 1100-2500 นาโนเมตร สามารถจัดกลุ่มตัวอย่างชุดทดสอบได้ถูกต้อง 100%

หากนำสมการที่สร้างขึ้นมาประยุกต์ใช้ในการคัดแยกไขมันชั้นตามลักษณะ DNA สามารถช่วยคัดเลือกไขมันชั้นให้มีคุณสมบัติตามวัตถุประสงค์ในการนำไปใช้ประโยชน์ได้รวดเร็ว ดังเช่น ไขมันชั้นกลุ่ม A จะมีปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ต่ำกว่ากลุ่ม B หากมีตัวอย่างไขมันชั้นที่ต้องการประเมินระดับสารเคอร์คูมินอยด์ก็สามารถประยุกต์ใช้เทคนิค NIR วิเคราะห์จัดกลุ่มตัวอย่างได้

2. จากการศึกษาวิจัยเพื่อหาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในไขมันชั้นด้วยการประยุกต์ใช้เทคนิค NIR ร่วมกับวิธี PLS นั้น ได้สมการ PLS ที่มีประสิทธิภาพในการทำนายสูง

2.1 การศึกษาเบื้องต้นเริ่มจากการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน PLS สำหรับหาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ระดับ 2.43 – 11.02% ในไขมันชั้น โดยเปรียบเทียบการเตรียมตัวอย่างสำหรับการสแกนแบบแห้งและผง ได้สมการทำนายที่มีประสิทธิภาพสูงดังนี้

- สร้างจากสเปกตรัม NIRS ของแห้งไขมันชั้น ปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับที่สอง ใช้ช่วงความยาวคลื่น 1600 - 2100 นาโนเมตร 13 แฟกเตอร์ สมการให้ค่า R_c เป็น 0.992 RMSECV เป็น 1.320%
- สร้างจากสเปกตรัม NIRS ของผงไขมันชั้น ปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับที่สอง ใช้ช่วงความยาวคลื่น 1550 - 2500 นาโนเมตร 8 แฟกเตอร์ สมการให้ค่า R_c เป็น 0.978 RMSECV เป็น 1.249%

2.2 การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน PLS สำหรับหาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ระดับ 2.43 – 17.07% ในไขมันชั้น เตรียมตัวอย่างสำหรับการสแกนแบบผง ได้สมการทำนายที่มีประสิทธิภาพสูงดังนี้

- สร้างจากสเปกตรัม NIRS ของไขมันชั้น ปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับที่สอง ใช้ช่วงความยาวคลื่น 1550 - 2100 นาโนเมตร 5 แฟกเตอร์ สมการให้ค่า R_c เป็น 0.919 RMSEP เป็น 1.489%

2.3 การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน PLS สำหรับหาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ระดับ 0.03-17.07% ในขมิ้นชัน เติรียมตัวอย่างสำหรับการสแกนแบบผง ได้สมการทำนายที่มีประสิทธิภาพสูงดังนี้

- สร้างจากสเปกตรัม NIRS ของขมิ้นชัน ปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับที่สอง ใช้ช่วงความยาวคลื่น 2100 - 2500 นาโนเมตร 7 แฟกเตอร์ สมการให้ค่า R_c เป็น 0.982 RMSEP เป็น 1.011%

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2544. ผลงานวิชาการประจำปี 2543. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. หน้า 241-244.

กานดา วณิชกาญจนกุล. 2540. การผลิตและการใช้ประโยชน์จากขมิ้นชันผง และโอลีโอเรซิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขวัญใจ กนกเมธากุล. 2535. เคมีของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

รัชชัย สันติสุข. 2531. พันธุ์ไม้ป่าที่ให้น้ำมันหอมระเหยในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ 32(2-3): 47-58.

นาฏจี สุวรรณโรจน์, ศรีอัมพร ปรีเปรม, ตรเพชร กาญจนภูมิ และวราภรณ์ ภูตะลุน. 2542. คู่มือปฏิบัติการเภสัชเวท เล่มที่ 2. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์และเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2542. เครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. บัญญัติ สุขศรีงาม. 2538. ขมิ้น. ใกล้เคียง 9(5): 9-10.

นันทวรรณ ฉิมพลี. 2549. การจำแนกสายพันธุ์ขมิ้นชันในประเทศไทยโดยใช้ **Microsatellite Markers**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันดี กฤษณพันธ์. 2537. สมุนไพรหน้ารู้. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. หน้า 81-85.

วันดี กฤษณพันธ์. 2538. สมุนไพรสารพัดประโยชน์. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. หน้า 48-49.

ศุมาพร เกษมสำราญ. 2545. ขั้นตอนการสร้างสมการประเมินค่าทางเคมีและทดสอบสมการในเทคนิคสเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด. หน้า 131 – 151. การอบรมเชิงปฏิบัติการควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. 27 – 28 พฤศจิกายน 2545. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมภพ ประธานธรรารักษ์, วงศ์สถิต ฉั่วกุล, พร้อมจิต ศรีลัมพ์ และนพมาศ สุนทรเจริญนนท์. 2543. คุณภาพวัตถุขมิ้นชันจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย. ใน รายงานการสัมมนาเรื่องแนวทางการพัฒนาสมุนไพรของประเทศไทย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. บริษัท เฟื่องฟ้า พรินติ้ง จำกัด, กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2544. มาตรฐานสมุนไพรไทย ขมิ้นชัน. โรงพิมพ์ ร. ส. พ., กรุงเทพมหานคร.

สุภาภรณ์ ปิติพร. 2544. ขมิ้นชัน สมุนไพรอภัยภูเบศร์ สืบสารภูมิปัญญาไทย. โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร์, ปราชินบุรี. หน้า 30-31.

หนังสือพิมพ์คมชัดลึก. 2552. ขมิ้นชันตรัง 2” สมุนไพรตัวใหม่ ระยะเวลาปลูกสั้นให้ผลผลิตสูง (10 พฤษภาคม 2553) <http://www.komchadluek.net/detail/200907.html>

อนุพันธ์ เทอดวงศ์สกุล. 2545. การปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์. หน้า 67 – 98. ใน วารุณี ฐานะแพสย์, อนุพันธ์ เทอดวงศ์สกุล และธงชัย สุวรรณสิขณห์, ผู้รวบรวม. การอบรมเชิงปฏิบัติการควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. พิมพ์ครั้งที่ 1. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อาทร รวีไพบูลย์. 2545. รายงานวิจัยโครงการวิจัยตลาดขมิ้นชันและกาวาเครีโอ. ภาควิชาเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. หน้า 6-8.

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรธนะ. 2534. น้ำมันหอมระเหยจากพืชใช้เป็นวัตถุมีพิษ. ข่าวสารวัตถุมีพิษ 18(3): 125-128.

Atal, C.K. and B.M. Kapur 1989. **Cultivation and Utilization of Aromatic Plants**. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.

Bainiam, N. 1985. **Effect of Potassium and Phosphorus on the Yield and Anti-infection Constituents of the Volatile oil of Curcuma Rhizome (*Curcuma longa* Linn., Family Zingiberaceae) and the Total Content and Ratio of the Curcuminoid Compounds**. Thesis Graduate School, Chaing Mai University.

Chavalittumrong, P. and T. Dechatiwongse. 1988. **Quality evaluation of Turmeric**. Thai J.Pharm. Sci. 13(3): 317-327.

Govindarajan, V. 1980. **Turmeric-chemistry, Technology and Quality**. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition. CRC Press. Inc, Boca Raton.

India AGRO Industry. 2005. **Turmeric.. Source:** <http://www.agriculture-industry-India.com/spices/turmeric.html>. 12 January 2006.

Joubert E, Manley M, Botha M. **Use of NIRS for quantification of mangiferin and hesperidin contents of dried Green honeybush (*Cyclopia genistoides*) plant material**. J. Arg Food Chem. 2006, 54: 5279-5283.

Li W, Tsang Y. M, Lee F S C, Leung H W, Wang Xiaoru, **Development of near-infrared diffuse reflectance spectroscopy for rapid screening and authentication of chinese materia medica**. Anal. Sci. 2001, 17: a439-a442.

Niir board. n.d. **Hand Book on Spices**. Asia Pacific Business Press inc. 72-84 p.

Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hindle. 1993. **Practical NIR Spectroscopy with Application on Food and Beverage Analysis**. Longman Scientific & Technical. 217 p.

Purseglove, J.W. , E.G. Brown, C.L. Green and S.R.J. Robbins. 1981. **Turmeric., Species Vol II. Tropical Agriculture Series**. Longman Inc., New York. 813 p.

Rao, M. and V. Reddy. 1977. **Effect of different levels of nitrogen, phosphorus and potassium on the yield of Turmeric (*Curcuma longa* L.)**. J. Plantation Crops 5(1): 60.

Rouseff, R. L. 1988. **High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in turmeric and annatto.** J. Food Sci. 53(6): 1823-1826.

Rupe, H., G. Clar., A. Pfau and P.I. Plattner. 1934. **Volatile plant constituents II. Turmerone, the aromatic principle of turmeric oil (in German).** Helv. Chim. Acta. : 372-389.

Shivashankar, S., Y. Lewis, C. Natarajan, N. Krishnamurthy, G. Mathew and E. Nambudiri. 1976. **Oil and oleoresin of turmeric. Tropical Science.** Central Food Technological Research Institute. India 18: 37-45.

Srinivasan, KR. 1953. **A Chromatographic study of the curcuminoid in *Curcuma longa*** L. J Pharm Pharmacol 5: 448-457.

Tanaka, K., Y. Kuba, T. Sasaki, F. Hiwatashi and K. Komatsu. 2008. **Quantitation of curcuminoids in curcuma rhizome by near-infrared spectroscopic analysis.** J. Agric. Food Chem 56: 8787-8792.

Tang, W. and G. Eisenbrand. 1992. **Chinese Drugs of Plant Origin.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.

Thai Herbal Pharmacopoeia. 1995. Vol. 1. Khamin Chan. Bangkok, Prachachon.

Woo Y-A, Kim H-J, Cho J, Chung Hoeil. **Discrimination of herbal medicines according to geographical origin with near infrared reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques.** J. Pharmaceut. Biomed. 1999, 21: 407-413.

Woo Y-A, Kim H-J, Cho J. **Identification of herbal medicines using pattern recognition techniques with near-infrared reflectance spectra.** Microchem J. 1999, 63: 61-70.

Zhou Q, Cai S, Wang J, Sun S. **A rapid method to determine the harpagoside and cinnamic acid in *Radix Scrophulariae* by NIR spectroscopy.** Anal. Sci. 2001, 17: a443-a446.

Output

1. Kasemsumran, Sumaporn; Keeratinijakal, Vichien; Thanapase, Warunee; Yukihiro, Ozaki. Rapid Discrimination and Determination of Curcuminoids Content in Turmeric Rhizome by Near Infrared Spectroscopy. The 14th International Conference on Near Infrared Spectroscopy (NIR2009), Abstrack book, p 162, 7-16 Nov 2009.
2. Kasemsumran, Sumaporn; Thanapase, Warunee; Yukihiro, Ozaki. New Advantage of Moving Window Partial Least Squares Regression for Discrimination Analysis: MWPLS-DA. The 14th International Conference on Near Infrared Spectroscopy (NIR2009), Abstrack book, p 237, 7-16 Nov 2009.
3. เขียน Manuscript แล้วเสร็จ 1 เรื่อง อยู่ระหว่างการอ่านและตรวจแก้จาก Prof. Dr. Yukihiro Ozaki ชื่อเรื่อง Advantage of Moving Window Partial Least Squares Regression for Discrimination Analysis: MWPLS-DA
4. กำลังอยู่ในขั้นตอนการเขียนบทความเพื่อส่งตีพิมพ์ในวารสารอีก 1 เรื่อง

กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำโครงการไปใช้ประโยชน์

นำผลงานวิจัยบางส่วน ไปใช้ประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการเทคนิค Near Infrared Spectroscopy จัดโดยสถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระหว่างวันที่ 15 – 19 มีนาคม 2553

ภาคผนวก

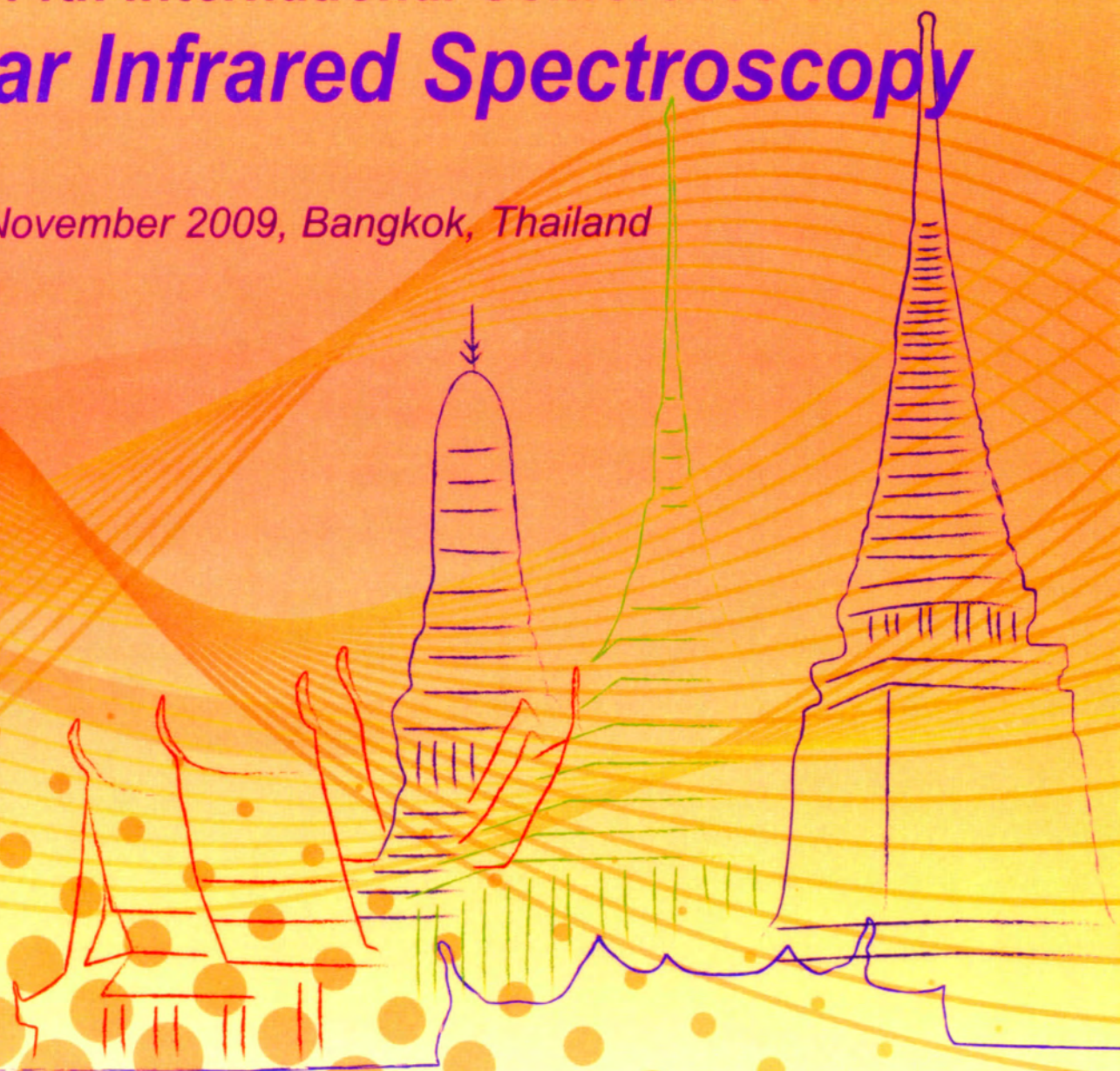
Abstract Book

NIR-2009

Breaking the Dawn

*The 14th International Conference on
Near Infrared Spectroscopy*

7-16 November 2009, Bangkok, Thailand



Co-organised by Kasetsart University & Asian NIR Consortium

Rapid Discrimination and Determination of Curcuminoids Content in Turmeric Rhizome by Near Infrared Spectroscopy

S. Kasemsumran,^{1*} V. Keeratinijakal,² W. Thanapase¹ and Y. Ozaki³

¹Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute (KAPI), Kasetsart University, Bangkok 10900 Thailand, E-mail: aapspk@ku.ac.th

²Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900 Thailand

³Department of Chemistry, School of Science & Technology, Kwansei-Gakuin University, 2-1 Gakuen, Sanda, Hyogo 669-1337 Japan

[Introduction] Turmeric (*Curcuma longa*) rhizome is a perennial herb from the Zingiberaceae family. Thailand has been one of the countries those can produce and supply massive turmeric and its products throughout the world market. Its rhizome is used as a spice, a pigment dye, and in traditional medicine. Especially, the curcuminoids has various pharmacological activities. However, its extraction and determination are very complication and time consuming. In this study, we developed the rapid technique for discriminating and determining curcuminoids content in turmeric rhizome by using near-infrared spectroscopy and chemometrics.

[Materials and Methods] Turmeric rhizome was sliced (1 rhizome = 1 sample) and dried at 50°C in a tray dry oven for 2 days before grinding to particle size of 1 mm by Cyclotec model 1093 (Foss, Hillerød, Denmark). Then, the moisture of each turmeric powder sample was determined by a moisture analyzer model HB43 (Mettler Toledo, Bangkok, Thailand). Powder sample was packed in a standard cup. NIR spectra of 2 types of turmeric powder; B47-39 of 43 samples and B51-1 of 36 samples, were collected in the region of 1100 – 2500 nm by IA500 NIR reflectance analyzer (BRAN+LUEBBE, Norderstedt, Germany). Then, the curcuminoids in turmeric powder was extracted by soxhlet extraction method and was detected of its content by a HPLC model HP1100 (Agilent, California, USA) as a reference method. Discriminant PLS (DPLS) and PLS calibrations were calculated by Unscrambler (Ver. 9.8: CAMO AS, Trondheim, Norway). The NIR spectra were subjected to a multiplicative scatter correction (MSC) and 2nd derivative (7-point Savitsky–Golay filter) before developing PLS models for the classification and quantitative determination. Validation was performed by a separated test set.

[Results and Discussion] In this study, we obtained the best DPLS model for classifying two groups of turmeric as B47-39 and B51-1. This model built by using 2nd derivative spectra can classify with the highest of 100% correct classification. Advantage of use 2nd derivative spectra in the selected region of 1100-1550 nm showed in PLS calibration for curcuminoids prediction in turmeric. We obtained a very good model which yields the lowest RMSEP of 1.49% when performed through a separated prediction set.



Figure 1. Fresh turmeric rhizomes.

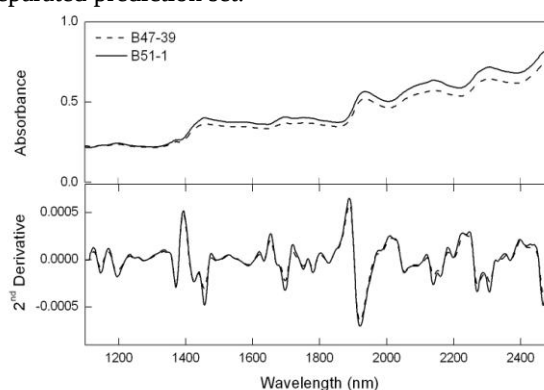


Figure 2. Averaged raw NIR and 2nd derivative spectra of turmeric rhizomes; B47-39 and B51-1.

Table 1. PLS calibration results for predicting content of curcuminoids in turmeric rhizomes

Pretreatments	Wavelength region (nm)	F	R	RMSEC	RMSECV	RMSEP
2 nd Derivative	Whole	5	0.93	1.31	1.57	1.85
	1100-1550	5	0.92	1.45	1.68	1.49
	1550-2100	4	0.92	1.41	1.63	1.78
	1550-2500	4	0.93	1.37	1.58	1.84
	2100-2500	4	0.93	1.32	1.52	2.04

RMSEC: root mean squared error of calibration, RMSECV: root mean squared error of cross validation, RMSEP: root mean squared error of prediction, Unit: % for curcuminoids

[Acknowledgements] Authors would like to thanks Thailand Research Fund (TRF) for financial support.

New Advantage of Moving Window Partial Least Squares Regression for Discrimination Analysis: MWPLS-DA

S. Kasemsumran,^{1*} W. Thanapase¹ and Y. Ozaki²

¹Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute (KAPI), Kasetsart University, Bangkok 10900 Thailand, E-mail: aapspk@ku.ac.th

²Department of Chemistry, School of Science & Technology, Kwansei-Gakuin University, 2-1 Gakuen, Sanda, Hyogo 669-1337 Japan

[Introduction] Generally, a wavelength interval selection method named moving window partial least-squares regression (MWPLSR) can accurately select informative regions for the determination of a component and improve the prediction of PLS regression. Otherwise, this theory is very promising for combination with the partial least squares discrimination analysis (PLSDA). Therefore, in this paper, we reported the new advantage of MWPLSR for discrimination object as MWPLS-DA, in which it can optimizes informative region for the fitting and prediction to {-1/0/1}--coded membership--indicating variables in the development of latent variables in discrimination analysis.

[Materials and Methods] In order to investigate the performance of MWPLS-DA in various conditions, 3 NIR spectral data sets, i.e. 2 groups of turmeric (data set A), 2 groups of lemon juice (data set B) and 3 groups of milk (data set C) are employed in the present study. Data set A is composed of the 79 NIR spectra of 2 types of turmeric powder; B47-39 of 43 samples and B51-1 of 36 samples. Data set B contains 224 NIR spectra of lemon juice (102 samples) and synthetic lemon juice (122 samples). Data set C is consisted of the 622 NIR spectra of 3 groups of milk; natural milk of 138 samples, milk adulterated by water of 219 samples and milk adulterated by milk powder solution of 265 samples. All spectra were collected in the region of 1100 – 2500 nm by IA500 NIR reflectance analyzer (BRAN+LUEBBE, Norderstedt, Germany). PLSDA was calculated by Unscrambler (Ver. 9.8: CAMO AS, Trondheim, Norway) and MWPLSR was carried out by in-house-written programs in MATLAB (ver. 7.0.4: The MathWorks, USA). All spectra were used without pretreatment and PLSDA model validation was performed by a separated test set.

[Results and Discussion] Efficiency of MWPLS-DA has been evaluated and proved in the present study for three real NIR spectral data sets. By the selection of informative region for the fitting and predicting to coded membership, can be signified wavelength variables in development of the precise discrimination model. As the result shows in Table 1 that discrimination models built by MWPLS-DA yielded better CP% than those PLSDA model using the whole region.

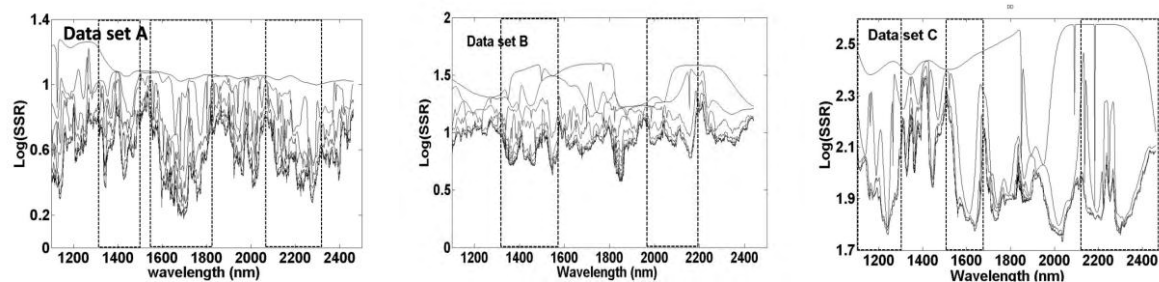


Figure 1. Residue lines obtained by MWPLSR for data sets of A, B and C.

Table 1. The statistical results for discrimination analysis developed by use of PLSDA in the whole spectral region and of MWPLS-DA in the regions selected by MWPLSR.

Data set	Wavelength region (nm)	F	%CP	R	RMSEP
A	PLSDA	8	94.7	0.926	0.189
	MWPLS-DA	10	100.0	0.930	0.186
B	PLSDA	14	100.0	0.974	0.110
	MWPLS-DA	12	100.0	0.929	0.177
C	PLSDA	9	94.6	0.958	0.238
	MWPLS-DA	10	95.8	0.952	0.256

F: factor number, %CP: percentage of correct discrimination for a prediction set, R: correlation, RMSEP: root mean squared error of prediction, Unit: %

[Acknowledgements] S. K. wishes to thank Thailand Research Fund (TRF) and Kasetsart University Research and Development Institute (KURDI) for financial support.