

การประเมินปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในข้าวโพดโดยใช้เทคนิคการไม่ทำลายตัวอย่าง
ด้วยคลื่นอินฟราเรดย่านใกล้

Evaluation of Carotenoids Content in Maize Using Non-destructive Testing of Near Infrared Spectroscopy

อนุวัฒน์ รัตนชัย¹ และ จารุวรรณ บางแวก¹
Anuwat Rattanachail¹ and Charuwan Bangwaek¹

Abstract

This research aimed to use Near Infrared Spectroscopy technique to predict carotenoids content in maize grains. The 236 samples were collected, packed in coarse sample cell and scanned in reflectance mode in the region 800-2500 nm by Near Infrared Spectrophotometer with transportation module. The samples were analyzed for carotenoids (lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, and β -carotene) in maize by HPLC. The samples were analyzed for carotenoids in laboratory, at Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture in 2014. The Partial Least Square Regression models were calculated using the original spectrum. The results showed that the NIRs technique could be used to predict carotenoids content in maize grains with the correlations (R) = 0.91, 0.90, 0.93 and 0.90, respectively, Standard of prediction (SEP) = 0.33, 0.07, 0.01 and 0.32 mg/ 100 g, respectively, Standard deviation (SD) = 0.81, 0.18, 0.04 and 0.77 mg/ 100 g, respectively, Squared Correlation Coefficients (R^2) = 0.85, 0.84, 0.89 and 0.80 mg/ 100 g, respectively. This study shows that NIR spectroscopy can be used to predict the content in maize grains.

Keywords: carotenoids, maize, Near Infrared Spectroscopy

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการนำเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) มาใช้ในการประเมินปริมาณสารแคโรทีนอยด์ ในเมล็ดข้าวโพด จำนวน 236 ตัวอย่าง บรรจุใน coarse sample cell สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ด้วยชุดอุปกรณ์เสริม transportation module ที่ความยาวคลื่น 800-2500 nm ในระบบการวัดแบบสะท้อนกลับ (reflectance) และนำตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณสารแคโรทีนอยด์ 4 ชนิด คือ ลูทีน ซีแซนทีน เบต้า คริปโตแซนทีน และ เบต้าแคโรทีน ด้วยเครื่อง HPLC ที่กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ในปี 2557 หาสมการถดถอยเชิงสมการเส้นด้วยเทคนิค Partial Least Square Regression ใช้สเปกตรัมดั้งเดิม (original spectrum) พบว่า เทคนิค NIRS สามารถนำมาใช้ในการประเมินปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้ง 4 ชนิด ในเมล็ดข้าวโพดได้ โดยมีค่าความสัมพันธ์ (R) = 0.91, 0.90, 0.93 และ 0.90 ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนาย (Standard of prediction, SEP) คือ 0.33, 0.07, 0.01 และ 0.32 มก./100 ก. ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่าความคลาดเคลื่อน (Standard deviation, SD) คือ 0.81, 0.18, 0.04 และ 0.77 มก./100 ก. ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 0.85, 0.84, 0.89 และ 0.80 ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี สามารถใช้ประเมินสารแคโรทีนอยด์ทั้ง 4 ชนิดในเมล็ดข้าวโพด

คำสำคัญ: แคโรทีนอยด์, ข้าวโพด, เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

คำนำ

แคโรทีนอยด์ มีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายและในอาหาร ซึ่งสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของแคโรทีนอยด์ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอกลักษณ์สำคัญในข้าวโพด คือ แคโรทีนอยด์ (ศิริธร, 2557) ข้าวโพดเป็นพืชที่มีความสำคัญของโลก เมล็ดข้าวโพดนำไปเป็นอาหารมนุษย์ อาหารสัตว์ และเป็นแหล่งวัตถุดิบมากมายในอุตสาหกรรม องค์ประกอบทางโภชนาการของเมล็ดจะเป็นโอกาสใหม่ในการเพิ่มมูลค่าเพิ่มของข้าวโพด แคโรทีนอยด์เป็นอีกหนึ่งตัวอย่าง (Leath, 2003) แคโรทีนอยด์ที่พบในเมล็ดข้าวโพด ได้แก่ ลูทีน ซีแซนทีน เบต้าคริปโต

¹ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

¹ Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

โตแซนทิน เบต้าแคโรทีน (Egesel *et al.*, 2003) ในการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ ในขั้นตอนการสกัดตัวอย่างต้องระวังอย่าให้ตัวอย่างถูกแสง จะทำให้เกิดการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ได้ และต้องใช้สารเคมีและก๊าซในการเตรียมตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งมีขั้นตอนยุ่งยากและใช้สารเคมี จึงนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี ซึ่งเป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่ใช้สารเคมี และตรวจสอบได้รวดเร็วมาใช้ในการประเมินสารแคโรทีนอยด์

วัตถุประสงค์

เพื่อนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีมาใช้ในการประเมินปริมาณแคโรทีนอยด์ของเมล็ดข้าวโพด

วิธีการดำเนินการ

นำตัวอย่างข้าวโพดจากศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 236 ตัวอย่างนำเมล็ดข้าวโพดลดความชื้นเมล็ดให้เหลือประมาณ 14% บรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่าง coarse sample cell นำไปสแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 800-2500 nm เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของข้าวโพด นำตัวอย่างข้าวโพดไปสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค HPLC ตัดแปลงตามวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ของ Riso and Porrini (1997) และหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง (absorption) กับปริมาณปริมาณสารแคโรทีนอยด์และค่าความคลาดเคลื่อนของการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) สร้างสมการถดถอยเชิงสมการเส้นด้วยเทคนิค partial least square regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม the Unscrambler (CAMO, Oslo, Norway) ข้อมูลถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ calibration set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่างข้อมูลปริมาณสารแคโรทีนอยด์ ที่วัดโดยวิธีมาตรฐานกับข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 800-2500 nm กลุ่มที่ 2 คือ validation set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบสมการถดถอยเชิงเส้นในการทำนายปริมาณสารแคโรทีนอยด์ของเมล็ดข้าวโพด

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ค่าการดูดซับแสง (\log_1/R) ของสารแคโรทีนอยด์ เมล็ดข้าวโพด มีค่าดูดซับแสงอยู่ที่ 2347 nm เป็น peak ของไขมัน สอดคล้องกับ Williams and Norris (2001) พบว่า peak ที่ค่าดูดซับแสงที่ 2347 nm เป็น peak ของไขมัน ซึ่ง peak ของไขมัน มีความสัมพันธ์กับสารแคโรทีนอยด์ เนื่องจากแคโรทีนอยด์ เป็นอนุพันธ์ของไขมัน (Simpson *et al.*, 1989) และที่ค่าดูดซับแสงที่ 2347 nm เกี่ยวกับพันธะไฮโดรคาร์บอน (C-H bond) ของไขมัน (Murray and Williams, 1987) ที่ค่าดูดซับแสงที่ 1720 และ 1766 nm เกี่ยวกับพันธะคาร์บอนและออกซิเจน (C-O bond) และพันธะไฮโดรคาร์บอน (C-H bond) น่าจะเป็น peak ของคาร์โรทีนอยด์ที่เกี่ยวข้องกับซีแซนทีน และที่ค่าดูดซับแสงที่ 2270 nm เกี่ยวกับพันธะคาร์บอนและออกซิเจน (C-O bond) และหมู่ไฮดรอกซิล (OH) น่าจะเป็น peak ของคาร์โรทีนอยด์ที่เกี่ยวข้องกับลูทีน (Figure 1)

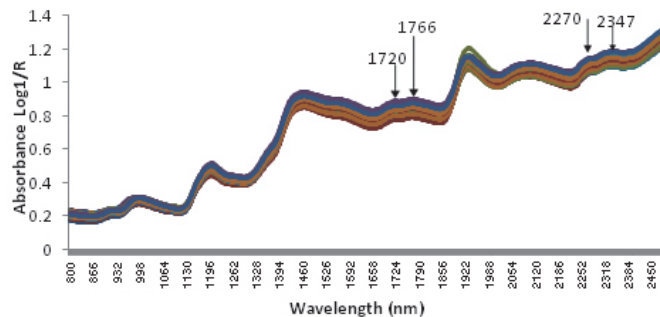


Figure 1. The original NIR spectra of maize grains of 800-2500 nm

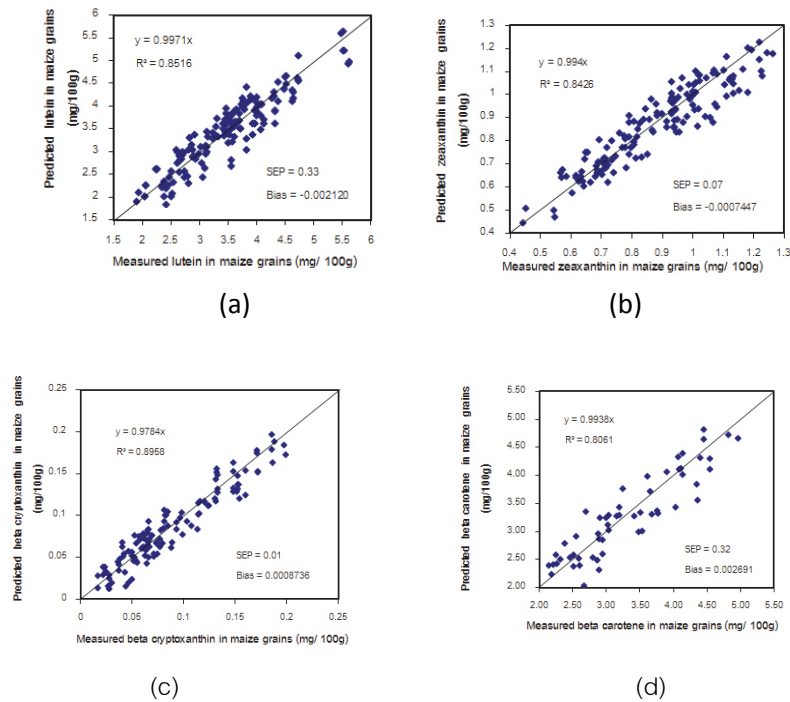


Figure 2. Scatter plots of actual lutein (a), zeaxanthin (b), beta cryptoxanthin (c), and beta carotene (d) and NIR predicted lutein, zeaxanthin, beta cryptoxanthin, and beta carotene maize value in maize grains (mg/100g) in validation set

ผลการประเมินหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์และสมการในการทำนาย จำนวน 4 ชนิด ลูทีน ซีแซนทีน เบต้า คริฟโตแซนทีน และเบต้า แคโรทีน ในเมล็ดข้าวโพด มีค่าความสัมพันธ์ (R) = 0.91 0.90 0.93 และ 0.90 ตามลำดับ มีค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) คือ 0.33 0.07 0.01 และ 0.32 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ แต่ต่ำกว่าค่าความคลาดเคลื่อน (SD) คือ 0.81 0.18 0.04 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ (Table1)

Table1. Partial Least Square calibration result for predicting lutein, zeaxanthin, beta cryptoxanthin and beta carotene values of maize grains

Carotenoids	Type	Math method	Wavelength (nm)	F	R	SEC	SEP	SD	Bias	RPD
Lutein	maize grains	Original	800-2500	10	0.91	0.28	0.33	0.81	-0.002120	2.45
Zeaxanthin	maize grains	Original	800-2500	8	0.90	0.06	0.07	0.18	-0.0007447	2.57
Beta cryptoxanthin	maize grains	Original	800-2500	10	0.93	0.01	0.01	0.04	0.0008736	4.0
Beta carotene	maize grains	Original	800-2500	9	0.90	0.23	0.32	0.77	0.002691	2.40

F: the number of factors used in the calibration equation R: multiple correlation coefficients
 SEP: standard error of prediction SEC: Standard error of calibration
 Bias: the average of difference between actual value and NIR value
 RPD: the ratio of standard deviation of reference data in the validation set to SEP

การหาความสัมพันธ์จากการทำนายค่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ และค่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ของเมล็ดข้าวโพดที่วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ความสัมพันธ์ในการทำนายค่ากับค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการของสารลูทีน สารซีแซนทีน สารเบต้า คริปโตแซนทีน และสารเบต้า แคโรทีน มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 0.85 0.84 0.89 และ 0.80 ตามลำดับ (Figure 2) และค่าปริมาณสารลูทีน ซีแซนทีน เบต้า คริปโตแซนทีน และเบต้า แคโรทีนของเมล็ดข้าวโพด มีปริมาณค่าเฉลี่ยเป็น 3.44 0.87 0.10 และ 3.31 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ (Table 2)

Table 2. Characteristics of maize samples used for model construction by NIRS

Carotenoids	No. of samples	Carotenoids contents (mg/ 100 g)		
		Minimum	Maximum	Average
Lutein	236	1.88	5.59	3.44
Zeaxanthin	236	0.43	1.25	0.87
Beta cryptoxanthin	236	0.01	0.19	0.10
Beta carotene	236	2.13	4.95	3.31

สรุป

การประเมินปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้ง 4 ชนิด คือ ลูทีน ซีแซนทีน เบต้าคริปโตแซนทีน และ เบต้าแคโรทีนของเมล็ดข้าวโพดสามารถนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีมาใช้ได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ที่สนับสนุนตัวอย่างทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- ศิริธร ศิริอมรพรรณ. 2557. สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 272 น.
- Egesel, C.O., J.C. Wong, R.J. Lambert and T.R. Rocheford. 2003. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Science J.* 43: 818-823.
- Leath, M. N. 2003. Economics of production, marketing and utilization. pp. 241-288. *In*: P. J. White and L. A. Johnson (Eds.). *Corn: chemistry and technology*. AACC Publications: Minnesota.
- Murray, I. and P.C. Williams. 1987. Chemical Principles of Near-Infrared Technology. pp. 29-31. *In*: P. Williams and K. Norris (Eds.). *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists Press: Minnesota.
- Riso, P. and M. Porrini. 1997. Determination of carotenoids in vegetable foods and plasma. *Int. J. Vitam. Nutr. J.* 67: 47 -54.
- Simpson, K. L., I. S. T. C. Tsou and C. O. Chichester. 1989. Biochemical methodology for the assessment of carotene. The International Vitamin A Consultative Group (IVACG): Washington DC.
- Williams, P. and K. Norris. 2001. *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. Inc.: St Paul, Minesota, USA. 312 p.