

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์เกษตร
2. โครงการวิจัย : การประเมินคุณภาพเมล็ดและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี
- กิจกรรม : การประเมินผลิตภัณฑ์เกษตรโดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

3. ชื่อการทดลอง(ภาษาไทย) : การประเมินปริมาณเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) ในผลิตภัณฑ์ขมิ้นผง โดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy
- ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) : Evaluation of Curcuminoids in Turmeric Powder by Near Infrared Spectroscopy

4. คณะผู้ดำเนินงาน

- หัวหน้าการทดลอง : จารุรัตน์ พุ่มประเสริฐ กวป.
- ผู้ร่วมงาน : จารุวรรณ บางแวก กวป.

5. บทคัดย่อ

เคอร์คูมินอยด์ เป็นสารกลุ่มสีเหลืองส้มที่อยู่ในเหง้าขมิ้นชันพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ที่พบในเหง้าขมิ้นชันแตกต่างกันในแต่ละแหล่งปลูก วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการนำเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) มาใช้ในการตรวจสอบปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผง โดยรวบรวมตัวอย่างขมิ้นชันผงจากร้านค้าในจังหวัดต่างๆ จำนวน 60 ตัวอย่าง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่น 400 - 2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง (reflectance) วิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) ด้วยวิธีวิเคราะห์ In-house's method (HPLC) ดัดแปลงจาก Pei-Yin Zhan (High-efficient column chromatographic extraction of curcumin from Curcuma longa) Food Chemistry 129 (2011) 700-703 ที่กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่างตุลาคม 2562 – มีนาคม 2563 ในการประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์โดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy นำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของขมิ้นชันผงกับปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ โดยหาสมการถดถอยเชิงสมการเส้นด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) Regression โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler ® version 9.7 ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์ และมีการตรวจสอบสมการแบบ Full cross validation โดยใช้สเปกตรัม

ต้นแบบ (original spectra) จากการทดลองพบว่า สมการสามารถประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผงได้ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) สูง 0.92 มีค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) 3.96 เปอร์เซ็นต์ ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration, SEC) 2.25 เปอร์เซ็นต์ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี In-house's method (HPLC) คือ 5.66 เปอร์เซ็นต์ และสามารถประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ได้ในช่วง 8.14 – 40.01 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก: เคอร์คูมินอยด์ ขมิ้นชันผง เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

Abstract

Method of Curcuminoids evaluation in Turmeric Powder was modified by near infrared spectroscopy (NIRS) technique. It was conducted at Postharvest and Processing Research and Development Division during 2019 - 2020. The wave length region 400 - 2500 nm was used. Sixty samples of Turmeric Powder were used to create the effective model of Curcuminoids evaluation. Equation of Curcuminoids determination in Turmeric powder had high correlation coefficient (R); 0.92 which standard error of prediction (SEP); 3.96% was lower than standard deviation (SD) of the In-house's method (HPLC); 5.66% and also low standard error of calibration (SEC); 2.25%. The model from NIRS method can predict the amount of Curcuminoids in Turmeric Powder in the range of 8.14 – 40.01%.

Key Words: Curcuminoids, Turmeric Powder, near infrared spectroscopy

6. คำนำ

เหง้าขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) มีสารสำคัญ คือ เคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) ออกฤทธิ์ในการรักษาอาการแน่น จุก เสียด ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่พบในเหง้าขมิ้นชันแตกต่างกันในแต่ละแหล่งปลูก วัตถุดิบขมิ้นชันที่ดีควรมีเคอร์คูมินอยด์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 และมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยไม่น้อยกว่าร้อยละ 6 (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2544) มีการศึกษาวิจัยฤทธิ์ของเคอร์คูมินอยด์อย่างกว้างขวางในต่างประเทศ พบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี นอกจากนี้ในการวิจัยในสัตว์ทดลอง พบว่ามีฤทธิ์ต้านการอักเสบ มีฤทธิ์บำรุงและรักษาตับ ช่วยป้องกันมะเร็ง การรักษาผู้ป่วยโรคหัวใจ เบาหวาน ข้ออักเสบ ธาลัสซีเมีย ลดระดับคอเลสเตอรอล และป้องกันสมองเสื่อม วิธีการตรวจสอบปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ ในปัจจุบัน ได้แก่ วิธียูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และ High

performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งทั้ง 2 วิธี เป็นวิธีที่ต้องใช้สารเคมีในการสกัดตัวอย่าง และขั้นตอนการวิเคราะห์ ต้องใช้ผู้ที่มีความรู้ และความชำนาญสูงในการตรวจสอบ ใช้ระยะเวลานาน 2-3 วัน และมีค่าใช้จ่ายสูง ประมาณ 6,000 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง

Near Infrared Spectroscopy (NIRS) เป็นเทคนิคไม่ทำลายตัวอย่าง ใช้ระยะเวลาตรวจวิเคราะห์สั้น วัสดุเร็ว ในเวลา 1-2 นาที ไม่ต้องใช้สารเคมี โดยใช้หลักการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดของสารประกอบอินทรีย์ และน้ำ เมื่อคลื่นแสงมาจากแหล่งกำเนิดแสง (light source) ส่งมายังวัตถุหรือสารละลายบนตัวอย่าง (sample) จะทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดการสั่นสะเทือน และดูดกลืนแสง ส่วนแสงที่เหลือจะมีการสะท้อน และส่องผ่านจากตัวอย่างไปยังอุปกรณ์สำหรับตรวจวัด (detector) โดยจะบันทึกปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้เทียบกับความยาวคลื่นต่างๆ แล้วนำมาจับคู่กับค่าการวิเคราะห์เคมีจากห้องปฏิบัติการเพื่อสร้างสมการ เป็นการสร้างสมการจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) สมการที่มีประสิทธิภาพต้องสามารถนำไปประเมินลักษณะที่ต้องการได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ พิจารณาจากค่าต่างๆ เหล่านี้ คือ ค่าความสัมพันธ์ (R) ต้องมีค่าสูง หมายถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ในย่าน NIR และค่าการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ ถ้าค่า R มีค่าสูงใกล้ 1 แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันสูงสามารถใช้ทดแทนกันได้ ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการแคลิเบรชัน (Standard Error of Calibration, SEC) คือ ค่าคลาดเคลื่อนในการคำนวณในการสร้างสมการจากค่าการดูดซับแสงและค่าการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ ถ้าสมการมีความแม่นยำควรมีค่า SEC ต่ำ ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) ควรมีค่าต่ำ โดยค่า SEP ต้องต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสมการ (Factors) เป็นปัจจัยจากภายในของตัวอย่างนั้นๆ จึงจะแสดงว่าสมการที่ได้มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ทำนายคุณลักษณะที่ต้องการหา สามารถนำสมการที่ได้ใช้ทำนายค่าของตัวอย่างแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ปัจจุบันมีการนำเอาเทคนิค NIRS มาใช้ในการตรวจสอบปริมาณสารสำคัญในตัวอย่างสมุนไพรมากขึ้น และพบว่าใช้ได้ผลดี เช่น สุมาพรและคณะ (2557) การตรวจสอบปริมาณเคอร์คูมินในยาสมุนไพรขมิ้นชันแบบรู้ผลเร็วด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีโดยใช้ ฟลูเรียทรานฟอร์ม เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีเพื่อตรวจสอบปริมาณเคอร์คูมินในยาสมุนไพรขมิ้นชันที่ขายในร้านขายยา เลือกช่วงด้วยวิธี moving window partial least square regression (MWPLSR) และปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี multiplicative scattering correction (MSC) ใช้องค์ประกอบหลักเป็น 14 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R²) เป็น 0.97 ค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ปริมาณของตัวอย่างชุดทดสอบ (RMSEP) 0.19% โดยน้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานปริมาณเคอร์คูมินในชุดทดสอบต่อค่า RMSEP (RPD) เป็น 6.11 ค่าสถิติเหล่านี้ยืนยันประสิทธิภาพของ FT-NIR สเปกโตรสโกปีระดับการประกันคุณภาพในการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินในยาสมุนไพรขมิ้นชันได้อย่างรวดเร็วและไม่ทำลายตัวอย่าง และ นฤเทพ (2559) ประเมินองค์ประกอบในใบชาโดยเทคนิคสเปกโตรสโกปี ใช้ในการทำนายปริมาณสารสำคัญในใบชา จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ อีพิกัลโลคาเทชิน 3-แกลเลต (EGCG) คาเฟอีน (Caf) และอีพิกัลโลคาเทชิน (EGC) ด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ในช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร โดยวัดการสะท้อนกลับของแสง (reflectance) บนสเปกตรัม

ตั้งเดิม และวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในใบชาโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) นำค่าที่ได้มาสร้างสมการทำนายด้วยเทคนิค Partial Least Squares Regression (PLSR) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของสาร EGCG, Caf และ EGC เท่ากับ 0.954, 0.938 และ 0.938 mg/kg ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณสารสำคัญในกลุ่มสร้างสมการ (SEC) ของสาร EGCG, Caf และ EGC เท่ากับ 6.973, 2.762 และ 7.606 mg/kg ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณองค์ประกอบในกลุ่มทดสอบสมการ (SEP) ของสาร EGCG, Caf และ EGC เท่ากับ 8.224, 2.907 และ 8.099 mg/kg ตามลำดับ

ดังนั้นจึงควรนำเทคนิค NIRS ในการตรวจสอบหาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผง เพื่อลดระยะเวลาต้นทุน และการใช้สารเคมี

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. ขมิ้นชันผง
2. สารมาตรฐานเคอร์คูมินอยด์
3. เครื่อง Near Infrared spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร
4. เครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC) Agilent 1260 Infinity Series
5. โปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler ® version 9.7 ของบริษัท Camo Oslo ประเทศนอร์เวย์

- วิธีการ

- 1.1. รวบรวมตัวอย่างและเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ขมิ้นชันผงที่มีจำหน่ายในตลาดจำนวน 60 ตัวอย่าง
- 1.2. นำตัวอย่างขมิ้นชันผงไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่น 400 - 2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง (reflectance)
- 1.3. วิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) ด้วยวิธีวิเคราะห์ In-house's method (HPLC) ดัดแปลงจากวิธีของ Zhan (2011)

1.3.1 สกัดสารเคอร์คูมินอยด์ ด้วยวิธี Maceration extraction โดยชั่งตัวอย่างขมิ้นชันผง 0.1 กรัม และเติมเมทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 1 คืน กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ปิดเปิดส่วนใส่ที่กรองได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผ่าน nylon membrane 0.45 ไมโครเมตร ใส่ขวดแก้วสีชา

1.3.2 ฉีดสารละลายที่ได้ด้วยเครื่อง HPLC Agilent 1260 Infinity Series

- Column : RP-Amide

- Mobile phase : Acetonitrile : 5% Acetic acid in Water (50 : 50)
- Flow rate : 1 ml/min
- Run time : 20 min
- Detector : Diode Array Detector (DAD) wavelength 425 nm.
- Injection : 20 μ l
- Standard : 25 50 75 100 150 200 250 μ g/ml

1.4. นำสเปกตรัมต้นแบบ (original spectra) ที่ได้ มาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) regression แบบ Full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler® version 9.7 ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์

1.5. ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) ที่มีค่าสูงใกล้เคียง 1 ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration, SEC) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (Standard Error of Prediction, SEP) ที่มีค่าต่ำ

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลาทำการทดลอง : เริ่มต้น ตุลาคม 2561 – กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง : กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

เก็บตัวอย่างขมิ้นชันผงจากตลาดค้าปลีกจำนวน 60 ตัวอย่าง นำตัวอย่างขมิ้นชันผงมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS ที่ความยาวคลื่น 400 – 2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง ได้เส้นสเปกตรัมของตัวอย่างขมิ้นชันผง (Figure 1) และนำตัวอย่างเดียวกันนี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีวิเคราะห์ In-house's method (HPLC) ดัดแปลงจาก Pei-Yin Zhan (High-efficient column chromatographic extraction of curcumin from Curcuma longa) Food Chemistry 129 (2011) 700-703 (Table 1) นำสเปกตรัมต้นแบบและค่าวิเคราะห์ที่ได้ไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) regression แบบ Full cross validation จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler® version 9.7 พบว่าได้สมการของขมิ้นชันผงจำนวน 60 ตัวอย่าง สมการมีความสัมพันธ์ (R) 0.92 มีค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) 3.96 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2) ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration, SEC) 2.25 เปอร์เซ็นต์ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี In-house's method (HPLC) คือ 5.66 เปอร์เซ็นต์ และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 10 ปัจจัย (Table 2) มีค่า regression coefficient สูงที่ความยาวคลื่น 1143 1460 1685 1908 และ 2140 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ Aromatic CONH₂ CO₂H Aromatic POH และ HC=CH (Osborne, 1986) (Figure 3) ของสารเคอร์คูมินอยด์ในตัวอย่างขมิ้นชันผง

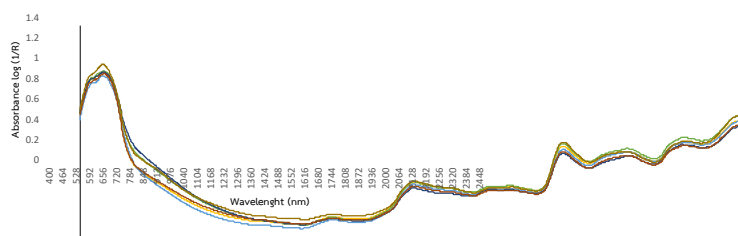


Figure 1 The original spectra of Turmeric powder samples at wavelength 400 – 2500 nm.

Table 1 The characteristics of samples used in model construction for curcuminoid contents in Turmeric powder samples.

Items	Curcuminoids
Min-Max	8.14 – 40.01
Mean	26.57
SD	5.66
Number	60
Unit	%

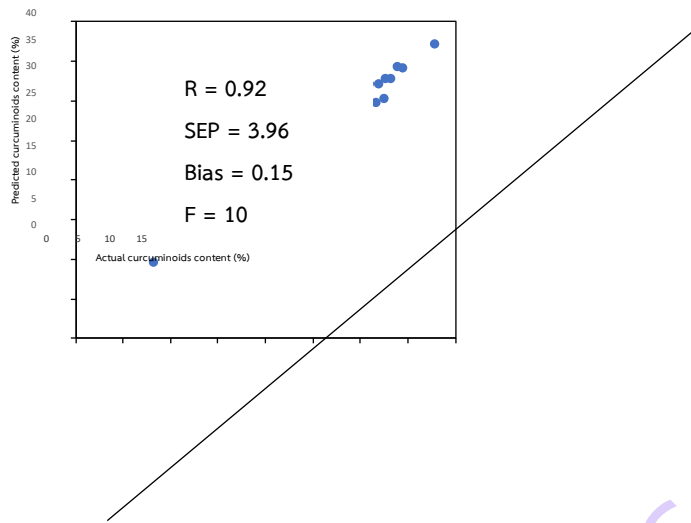


Figure 2 Scatter plots for calibration model of curcuminoid contents in Turmeric powder samples.

Table 2 The statistical analysis of NIRS models to predict curcuminoid contents in Turmeric powder samples by The Unscrambler® program

Quality	Sample	Math methods	Wavelength (nm)	N	SD	R	SEC	SEP	Bias	F
Curcuminoids	powder	Original	400 - 2500	60	5.66	0.92	2.25	3.96	0.15	10

R: Coefficient of correlation, SEC: Standard error of calibration, SEP: Standard error of prediction; Bias: The average difference between actual value and NIRS value, F: The number of factors used in the calibration equation, SD: Standard Deviation

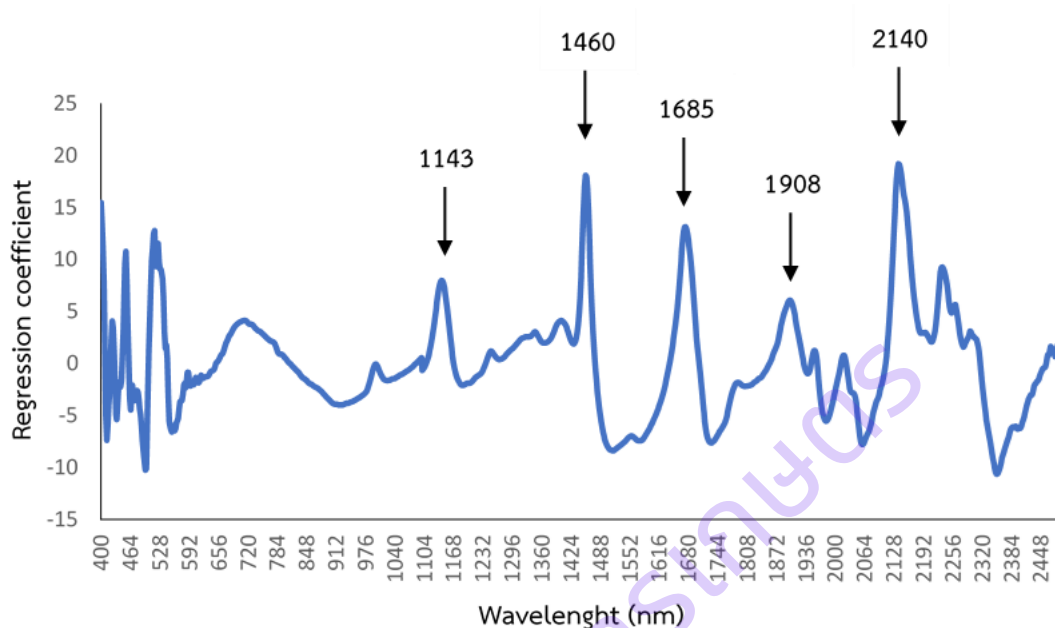


Figure 3 Regression coefficient for calibration model to predict curcuminoid contents in Turmeric powder samples.

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สมการประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผง ที่ช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ใช้ระบบสะท้อนแสง โดยใช้เครื่อง Near Infrared spectrometer รุ่น 6500 ของบริษัท FOSS มีค่า R 0.92 SEP 3.96 เปอร์เซนต์ และ SEC 2.25 เปอร์เซนต์ และมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 10 ปัจจัย

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ใช้ประเมินปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันผง ได้สะดวก รวดเร็ว ไม่ต้องใช้สารเคมี และประหยัดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์

11. คำขอบคุณ

-

12. เอกสารอ้างอิง

นฤเทพ เวชภิบาล และจารุวรรณ บางแวก. 2559. การประเมินองค์ประกอบในใบชาโดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดยานใกล้. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 47:3 (พิเศษ). หน้า 281-284.

ศุมาพร เกษมสำราญ วราภรณ์ อภิวัฒนาภิวัตม พิลานี ไวถนอมสัจย์ และ นางวารุณี ธนะแพสย์. 2557.

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการการตรวจสอบปริมาณเคอร์คูมินในยาสมุนไพรขมิ้นชันแบบรู้ผลเร็วด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

สถาบันวิจัยสมุนไพร. 2544. มาตรฐานสมุนไพรขมิ้นชัน. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

กรมวิชาการเกษตร