

ความเป็นไปได้ของการตรวจสอบเชื้อราในขิงด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

The Feasibility of Detection of Fungal Contaminants in Ginger Using Near Infrared Spectroscopy

กรรณพต แก้วสอน¹ ศุภสิทธิ์ ประเสริฐธรรมา¹ และวรินทร์ พูลศรี²Kannapot Kaewsorn¹ Supasit Prasertlarp¹ and Warinthorn Poonsri²

Abstract

The aim of this research was to investigate the feasibility of using near infrared spectroscopy to detect fungal contaminant in ginger for exportation. The total of 160 ginger samples were taken from Phetchabun province and followed by cleaning and drying process. Fungal contaminant was isolated by tissue transplanting method. After that, the samples were incubated for 5 days and the spectra were scanned by FT-NIR Spectrometer at 10,000-4,000 cm^{-1} (1,000-2,500 nm). The result showed that the growth of 18 fungi species were detected the functional group of CONH_2 , CH_2 and CH_3 including starch and water molecule can absorbed the energy of NIR. These were found in the structure of the fungi. Therefore, near infrared spectroscopy could be applied to detect fungal contaminants in ginger.

Keywords: ginger, fungal, near infrared spectroscopy

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในการตรวจสอบเชื้อราในขิงสำหรับการส่งออก นำตัวอย่างขิงมาจากจังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 160 ตัวอย่าง ทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อราและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplanting method ป้อนเชื้อให้เจริญเติบโตโดยเก็บไว้ประมาณ 5 วัน จึงวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer ที่จำนวนคลื่น 10,000-4,000 cm^{-1} (1,000-2,500 nm) เพื่อศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อรา พบการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้งสิ้น 18 ชนิด โดยพบการดูดกลืนคลื่นของ หมู่ฟังก์ชัน CONH_2 , CH_2 , CH_3 รวมทั้งแป้ง และน้ำ โดย CONH_2 , CH_2 , CH_3 เป็นส่วนประกอบในโครงสร้างของเชื้อราอีกด้วย ดังนั้นเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดใกล้มีความเป็นไปได้สำหรับประยุกต์เพื่อตรวจสอบเชื้อราในขิง

คำสำคัญ: ขิง, เชื้อรา, เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

คำนำ

ในปัจจุบันขิงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีคุณค่าทางโภชนาการอย่างมาก เช่น ด้านอาหารและยา จึงทำให้ขิงเป็นที่ต้องการของตลาดและมีมูลค่าการส่งออกสูง ในปี 2557 มีปริมาณการส่งออกขิงแห้งและขิงสดที่ 26,802,112 กิโลกรัม มูลค่าทั้งสิ้น 1,249,669,360 บาท สามารถส่งออกไปยังประเทศแถบยุโรป อเมริกา นิวซีแลนด์ ญี่ปุ่น และตะวันออกกลาง เป็นต้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) ดังนั้นขั้นตอนการควบคุมคุณภาพของขิงเพื่อการส่งออกตั้งแต่ การจัดซื้อ การคัดขนาด การขนส่งและการจัดเก็บ การล้าง การซบซารและการผึ่งแห้ง การบรรจุและขนส่ง จึงเป็นสิ่งที่สำคัญเพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้น

ปัญหาที่พบในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่งขิงสดหลังจากผ่านกระบวนการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวแล้ว คือ การเกิดเชื้อรา (mold หรือ mould) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มฟังไจ (fungi) เจริญได้ในภาวะที่มีอากาศเท่านั้น (obligate aerobe) จึงพบการเจริญของราบริเวณผิวหน้าของอาหาร ผงเซลลูโลสของราประกอบด้วย เซลลูโลส (cellulose) พบเฉพาะใน zygomycota หรือเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) หรือ ไคติน (chitin) (พิมพ์เพ็ญ, 2560) เชื้อราทำให้เกิดความเสียหายเมื่อส่งออกไปยังต่างประเทศ การป้องกันความเสียหายนั้นต้องมีการควบคุมกระบวนการผลิตและการตรวจสอบความชื้นของขิงสดให้เหมาะสมในระหว่างการเก็บรักษาและการส่งออก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการตรวจสอบเชื้อราในขิง

¹ สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ชลบุรี 20110

¹ Department of Agricultural Engineering, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-Ok, Chon Buri, 20110

² สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปผลิตภัณฑ์เกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

² Department of Agricultural Products Processing Engineering, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology, Prathumthani, 12110

ซึ่งด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ทำให้สามารถตรวจสอบความเสียหายได้อย่างรวดเร็ว ลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมี และไม่ต้องทำลายตัวอย่าง ซึ่งจะเป็นประโยชน์กับผู้ส่งออกขิงสด

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การสร้างสมการการทำนายปริมาณความชื้นในขิง และการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในการทำนายการเกิดเชื้อราในขิง ซึ่งมีวิธีการศึกษาดังนี้

นำตัวอย่างขิงสดจากโรงงานขิง อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งเก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงเดือน มกราคม-มีนาคม 2560 โดยเป็นขิงแก่ที่ผ่านกระบวนการเก็บเกี่ยว ทำความสะอาด และคัดขนาด แล้วเก็บรักษาไว้ที่สาขาวิศวกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) โดยนำขิงสดมาตากแดดเป็นเวลา 7 ชั่วโมง (Figure 1) และขิงที่ไม่ได้ตากแดดเป็นชุดควบคุม สุ่มตัวอย่างขิง จำนวน 20 ตัวอย่างต่อชั่วโมง รวมตัวอย่างทั้งสิ้น 160 ตัวอย่าง



Figure 1 Sun drying of ginger.



Figure 2 Measuring the spectra by NIR Flex N-500



Figure 3 The isolated cultures incubated for 5 days

นำมาวัดสเปกตรัมบริเวณเนื้อของขิงด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (NIR Flex N-500, BUCHI Ltd., Switzerland) ด้วยอุปกรณ์การวัดแบบ XL Option ที่ความยาวคลื่น 1000-2500 nm (Figure 2) จากนั้นนำไปทดสอบความชื้นโดยวิธี Hot air oven method (AOAC,1990) แล้วนำค่าที่ได้มาสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าความชื้นโดยโปรแกรม NIRCal Calibration Wizard V5.20 ทั้งนี้จะใช้ข้อมูลสเปกตรัมที่ไม่มีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้น พิสูจน์สมการโดยวิธี Test set validation เมื่อได้สมการจะคัดเลือกสมการที่ดีที่สุด โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Coefficient of correlation, R), ค่าความคาดเคลื่อนมาตรฐานในการประมาณ (Standard error of estimation; SEE), ค่าความคาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนาย (Standard Error of prediction; SEP)

ตัวอย่างขิงสดอีกส่วนหนึ่งจะนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อราที่ทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplanting method (Figure 3) แล้ววางแผนเพื่อดูค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อรา เพื่อเปรียบเทียบการสันสะเทือนของพันธะและระบุโครงสร้างของเชื้อรา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สเปกตรัมของขิง

จากการวิเคราะห์สเปกตรัมตั้งแต่ห้วงคลื่นของตัวอย่างขิงสดที่ได้จากเขตพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ พบว่าขิงสามารถดูดกลืนแสง NIR จึงพบพีคที่ความยาวคลื่น 1198, 1458, 1791 และ 1935 nm (Figure 4) ซึ่ง Osborn *et al.* (1993) ได้อธิบายการสันสะเทือนของพันธะและองค์ประกอบต่างๆ โดยพีคที่ 1198 เกิดการสันสะเทือนของ C-H stretching second overtone เป็นการดูดกลืนแสงของ CH_3 พีคที่ 1458 เกิดการสันสะเทือนของ N-H stretching first overtone เป็นการดูดกลืนแสงของ CONH_2 และพีคที่ 1935 เกิดการสันสะเทือนของ O-H stretching + O-H deformation เป็นการดูดกลืนแสงของโมเลกุลน้ำ

ค่าทางสถิติของความชื้นในขิงที่ใช้สร้างสมการทำนายโดยวิธี Partial Least Square Regression (PLSR) ซึ่งแสดงจำนวนตัวอย่าง ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทั้งชุดสร้างสมการ (Calibration set) และชุดตรวจสอบสมการ (Prediction set) (Table 1) ซึ่งพบว่า ความชื้นของขิงอยู่ระหว่าง 82.67-93.67%(wb)

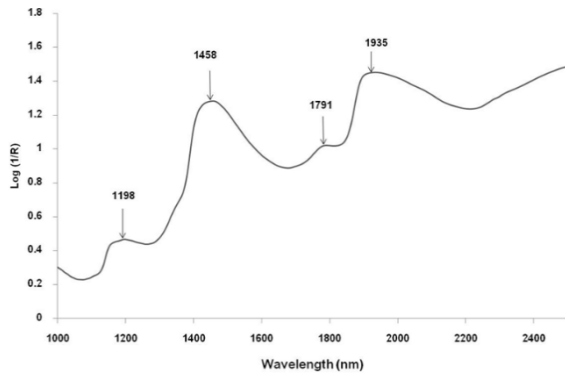


Table 1 Statistical values, minimum (Min), maximum (Max) and standard deviation (SD) of moisture content (%wb) of ginger samples in calibration and prediction set.

Group	No.	Min	Max	SD
Calibration set	112	82.67	93.67	1.81
Prediction set	45	82.72	93.33	1.97

Figure 4 Mean of original NIR spectra of ginger

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายความชื้นในขิง

สร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายความชื้นในขิง ซึ่งการเลือกสมการที่ดีที่สุดจะพิจารณาจากสมการที่มีความแม่นยำในการทำนายสูงที่สุดในชุด Prediction พบว่า สมการการทำนายความชื้นในขิงมีการแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วย second derivative + standard normal variate (SNV) ให้ค่า R_{cal} เท่ากับ 0.67 (Figure 5), R_{val} เท่ากับ 0.65, SEE เท่ากับ 1.73%, SEP เท่ากับ 1.70% และ Bias เท่ากับ 0.05% (Figure 6) ซึ่ง Williams (2007) อธิบายว่าค่า R ระหว่าง 0.51-0.70 แสดงว่าเป็นความสัมพันธ์ที่แย่มาก ดังนั้นสมการยังไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทำนายความชื้นในขิงได้

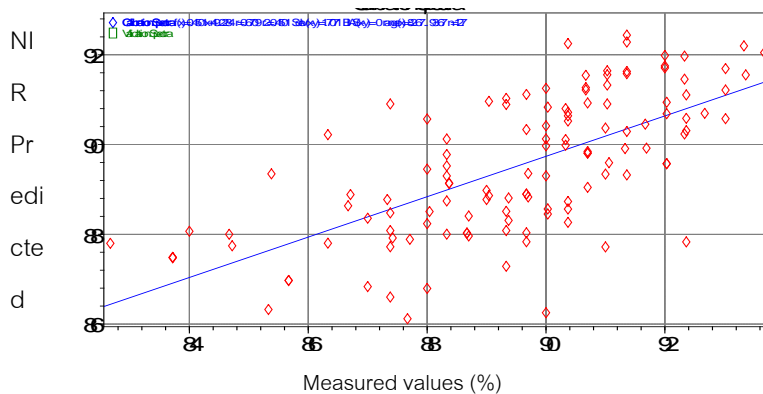


Figure 5 Scatter plot between moisture content measured values by reference method and NIR predicted values of ginger in the calibration set

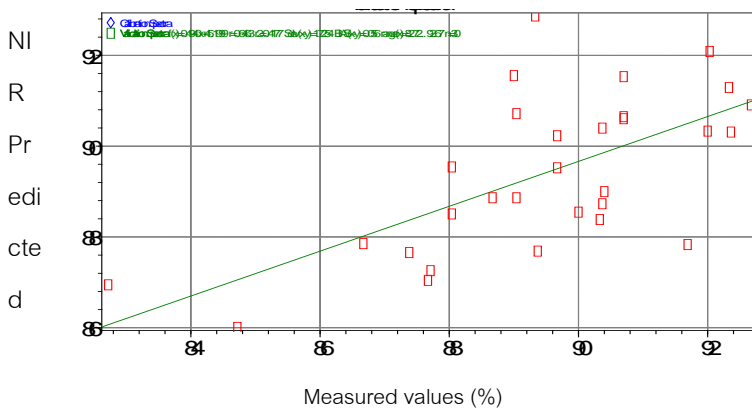


Figure 6 Scatter plot between moisture content measured values by reference method and NIR predicted values of ginger in the prediction set

จากการวิเคราะห์สเปกตรัมทั้งหมด พบการสั่นสะเทือนของพันธะใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงที่ 1430, 1455, 1456, 1458 nm เป็นโครงสร้างของ CONH_2 (Figure 7) ซึ่งเป็นกรดอะมิโน และเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อรา (สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้, 2560) และ Delwiche and Hareland (2004) รายงานว่าช่วงความยาวคลื่นที่ 870-1200 nm เป็นช่วงที่สัมพันธ์กับพันธะ N-H ส่วนใหญ่เป็นพวกกรดอะมิโน อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และ radical structure ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์และเชื้อรา นอกจากนี้ยังพบการดูดกลืนแสงที่เป็นโครงสร้างของ starch, CH_2 , และ CH_3 ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เช่นกัน

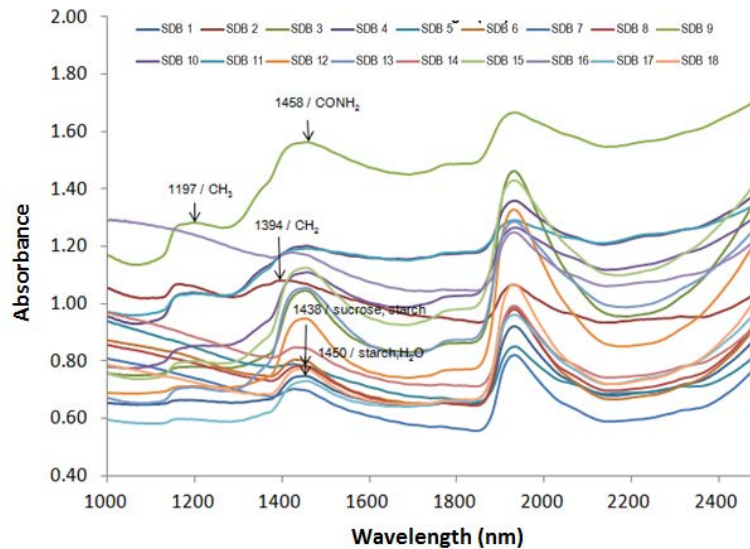


Figure 7 NIR spectra of fungal contaminant in ginger

สรุป

การสแกนเชื้อราด้วยเครื่อง NIR Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 1000-2500 nm พบการดูดกลืนแสงของ CONH_2 , CH_2 , CH_3 , Starch และ H_2O ซึ่งเป็นโครงสร้างของเชื้อรา ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ของการตรวจสอบเชื้อราในเชิงด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณพรพล นุ่นนั๊กดีวรกุล โรงซิงโกพล อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่ให้ความกรุณาแก่คณะผู้จัดทำได้เข้าศึกษาฐานกระบวนการผลิตซิงสอดเพื่อการส่งออก ขอขอบคุณ บริษัท บูชิ (ไทยแลนด์) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออกที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร. 2557. การสถิติการส่งออกซิง. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
 พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2560. Mold / รา. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com> (4 กุมภาพันธ์ 2560).
 สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้. 2560. ชิวโมเลกุล. มหาวิทยาลัยมหิดล. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/biomolecule/chapter2_1.html. (19 พฤษภาคม 2560).
 AOAC. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 2 vols. 15th ed. Washington, DC.
 Delwiche, S.R. and G.A. Hareland. 2004. Detection of scab-damaged hard red spring wheat kernels by near-infrared reflectance. Journal of Cereal Chemistry 81: 643-649.
 Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hindle. 1993. Practical NIR spectroscopy with applications beverage analysis. New York: John Wiley and Sons.
 Williams, P. 2007. Near infrared technology-Getting the best out of light. Canada: PDK projects, Inc.