Agricultural Sci. J. 49 : 4 (Suppl.) : 187-190 (2018) ว. วิทย. กษ. 49 : 4 (พิเศษ) : 187-190 (2561)

การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และวิตามินซีผลฝรั่งหนองข้างคอก (กลมสาลี่) ด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

Determination of Total Soluble Solids and Vitamin C of Nong Khang Khok Guava (Klom Sali) by Near Infrared Spectroscopy

กรรณพต แก้วสอน[1] มาโนช รัตนคุณ[2] ธิดารัตน์ รักษากิจ[1] และธนิน พันธ์พิจิตร[1]
Kannapot Kaewsorn[1], Manoch Ratanacoon[1], Thidarat Raksakit [1] and Thanin Phunphijit[1]

Abstract

Total soluble solids (TSS) is a quality index for evaluating fresh nong khang khok guava (klom sali). Vitamin C is an antioxidant in guava and a substance that inhibits oxidation. The aim of this research was to determine the feasibility of predicting TSS and vitamin C content in guava. The total of 200 samples (170 samples for calibration set and 30 samples for prediction set) were measured near infrared absorbance spectra in a wave number range 12500 – 4000 cm^{-1} (800 – 2500 nm) by diffuse reflectance mode. The calibration equation was computed by partial least squares regression (PLS). After that, the calibration equation was used to predict TSS and vitamin C in a prediction set. The calibration equation of predicting TSS by the spectra scanning surface of guava was showed high correlation coefficient (R) of 0.81, root mean squares error of prediction (RMSEP) of 0.61%, Bias of 0.08%, and residual predictive deviation (RPD) or value of the ability of calibration equation of 1.71. The results suggested that near infrared spectroscopy had potential to predict TSS in the estimation. In addition, the amount of vitamin C measured by chemical methods was very low then the correlation was also low value.

Keywords: total soluble solids, vitamin C, guava, near infrared spectroscopy

บทคัดย่อ

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS) เป็นตัวชี้วัดคุณภาพผลฝรั่ง ส่วนปริมาณวิตามินซีเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีในผลฝรั่ง ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และวิตามินซีในผลฝรั่งหนองข้างคอก (กลมสาลี่) ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี โดยนำผลฝรั่งสดจำนวน 200 ผล (ชุดสร้างสมการจำนวน 170 ผล และชุดทดสอบสมการจำนวน 30 ผล) มาวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงจำนวนคลื่น 12500 – 4000 cm^{-1} (800 – 2500 nm) ด้วยระบบการวัดแบบสะท้อนกลับ (diffuse reflectance mode) แล้วสร้างสมการเทียบมาตรฐานโดยใช้วิธี partial least squares regression (PLS) เมื่อนำสมการเทียบมาตรฐานมาใช้ทำนายปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และ วิตามินซีในผลฝรั่งชุดทดสอบสมการ พบว่า สมการทำนายปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้โดยใช้สเปกตรัมการสแกนผิวนอกผลฝรั่งให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.81, ค่ารากที่สองของความผิดพลาดเฉลี่ยยกกำลังสองของการทำนาย (Root mean squares error of prediction: RMSEP) เท่ากับ 0.61%, ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยทั้งหมด (Bias) เท่ากับ 0.08%, และค่า Residual predictive deviation (RPD) หรือค่าที่ใช้ประเมินความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานพบว่า มีค่าเท่ากับ 1.71 ผลการทดลองจะเห็นว่าเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีมีประสิทธิภาพในการทำนายปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในการประมาณค่าอย่างหยาบๆได้ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาปริมาณวิตามินซีที่วัดได้ด้วยวิธีทางเคมีมีปริมาณต่ำมากทำให้สมการทำนายได้ค่าความสัมพันธ์ต่ำ

คำสำคัญ: ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้, วิตามินซี, ฝรั่ง, เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

[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] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ชลบุรี 20110
[2] Department of Science and mathematics, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-Ok, Chon Buri, 20110

คำนำ

ฝรั่งเป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคกันมากในประเทศทั้งแบบในรูปผลสดและผลิตภัณฑ์แปรรูป มีปริมาณการส่งออกฝรั่งสด 4,985,000 กิโลกรัม และมีมูลค่าการส่งออกทั้งหมด 118,681,000 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) นอกจากนี้ฝรั่งเป็นผลไม้ที่ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี สร้างรายได้ให้เกษตรกรจำนวนมาก และที่สำคัญในผลฝรั่งมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เช่น วิตามิน น้ำตาล ใยอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ในพื้นที่จังหวัดชลบุรีมีการปลูกฝรั่งกลมสาลี่เป็นจำนวนมาก ผู้บริโภคในพื้นที่เรียกฝรั่งนี้ว่า “ฝรั่งหนองข้างคอก” ซึ่งปลูกในเขตพื้นที่ตำบลหนองข้างคอก จังหวัดชลบุรี ฝรั่งหนองข้างคอกมีลักษณะเด่น คือ มีรสชาติหวานและกรอบ ทั้งนี้เป็นเพราะสภาพแวดล้อมในการปลูก ซึ่งน่าสนใจเป็นอย่างมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และวิตามินซีในผลฝรั่งหนองข้างคอก (กลมสาลี่) ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี ซึ่งทำให้สามารถตรวจสอบค่าทางเคมีได้รวดเร็ว ลดค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมี และไม่ต้องทำลายตัวอย่าง

อุปกรณ์และวิธีการ

การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และวิตามินซีผลฝรั่งพันธุ์หนองข้างคอก (กลมสาลี่) ด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ 1.) การสแกนผลฝรั่งหนองข้างคอกด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี 2) การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และวิตามินซีผลฝรั่งด้วยวิธีทางเคมี และ 3) การสร้างสมการการทำนาย

เก็บเกี่ยวผลฝรั่งพันธุ์กลมสาลี่ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 75-90 วันหลังจากดอกบาน จากสวนเกษตรกร ตำบลหนองข้างคอก อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี จำนวน 200 ผล ห่อหุ้มผลฝรั่งด้วยตาข่ายโฟมกันกระแทก แล้วขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

วัดสเปกตรัมตัวอย่างด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (TANGO, Bruker Ltd., Germany) รูปแบบการวัดแบบสะท้อนกลับ (reflectance mode) ที่จำนวนคลื่น 12500 – 4000 cm^{-1} (800 – 2500 nm) วัดทุกๆ 16 cm^{-1} จำนวน 32 ครั้งต่อ 1 สเปกตรัม ในตัวอย่าง 3 ชนิด คือ ผิวนอก เนื้อ และน้ำคั้นฝรั่ง ชนิดละ 3 ครั้ง (น้ำฝรั่งใช้อุปกรณ์การวัดแบบ XL Option) หลังจากนั้นนำไปวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ด้วยเครื่อง Hand Refractometer และวิตามินซี ด้วยวิธี 2,6–dichloroindophenol titrimetric (AOAC, 1990) ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าทางเคมีที่ได้มาสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และวิตามินซีโดยโปรแกรม OPUS 7.0

การคำนวณปริมาณ ascorbic acid (AOAC, 1990) จากสูตร mg ascorbic acid = (X - B)(F/E)(V/Y)

เมื่อ X = ปริมาตรของ 2,6 -dichloroindophenol ที่ใช้ไทเทรตกับสารละลาย (มิลลิลิตร), B = ปริมาตรของ 2,6 -dichloroindophenol ที่ใช้ไทเทรตกับ blank (น้ำเปล่า) (มิลลิลิตร = 0), F = มิลลิกรัม equivalent ascorbic acid / 1 มิลลิลิตร dye solution, E = ปริมาตรของ standard (1 มิลลิกรัม ascorbic acid / 1 มิลลิลิตร) ที่ใช้ (มิลลิลิตร), V = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (น้ำคั้น) ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร) (มิลลิลิตร), Y = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (น้ำคั้น) ทั้งหมดที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

การไทเทรตสารละลายตัวอย่างด้วยวิธี 2,6 –dichloroindophenol titrimetric โดยนำน้ำคั้นฝรั่งปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย Oxalic – acetic acid 5 มิลลิลิตร ไทเทรตด้วย 2,6 –dichloroindophenol (dye solution) กระทั่งเปลี่ยนเป็นสีชมพูอย่างน้อย 5 วินาที (end point)

การไทเทรตสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid โดยการนำสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมลงไปในสารละลาย oxalic acid 5 มิลลิลิตร แล้วนำมาไทเทรตด้วย 2,6 –dichloroindophenol จนถึง end point

ผลและวิจารย์ผลการทดลอง

ปริมาณ TSS และวิตามินซีในผลฝรั่งที่ใช้ในการทดลอง พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของ Calibration set อยู่ในช่วง 6.13 – 12.00% ใน Validation set อยู่ในช่วง 5.57 – 12.00% และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในช่วง 1.04 – 1.09% ส่วนปริมาณวิตามินซีของ Calibration set อยู่ในช่วง 0.15 – 0.51 mg และ Validation set อยู่ในช่วง 0.18 – 0.48 mg และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในช่วง 0.06 – 0.07 mg (Table 1) จากปริมาณ TSS ที่วิเคราะห์ได้มีค่าอยู่ในช่วงปริมาณที่มีอยู่ในฝรั่งทั่วไป แต่เมื่อพิจารณาค่าวิตามินซีจะเห็นว่ามีค่าต่ำกว่างานวิจัยที่ผ่านมา (ดลพร, 2555)

Table 1 Statistical values, minimum (Min), maximum (Max), mean and standard deviation (SD) of TSS (%) and vitamin C (mg) of guava in calibration and prediction set.

Parameter	NO.	Calibration set				NO.	Prediction set			
		Max	Min	Mean	SD		Max	Min	Mean	SD
$Peel_{TSS}$	417	11.13	6.13	8.60	1.04	174	11.03	6.80	8.69	1.04
$Pulp_{TSS}$	548	11.13	6.13	8.61	1.04	217	12.00	6.63	8.66	1.08
$Juice_{TSS}$	277	12.00	6.13	8.63	1.09	111	11.03	5.57	8.58	1.05
$Peel_{Vitamin\ C}$	426	0.51	0.15	0.31	0.07	168	0.45	0.18	0.28	0.06
$Pulp_{Vitamin\ C}$	266	0.51	0.15	0.30	0.07	126	0.48	0.18	0.30	0.07
$Juice_{Vitamin\ C}$	514	0.51	0.15	0.30	0.07	250	0.45	0.19	0.31	0.07

สเปกตรัมของผลฝรั่ง

สเปกตรัมวัดจากผิวด้านนอกของผลฝรั่ง (Figure 1) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีจำนวนคลื่นลดลงหรือความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น จะเห็นว่าเกิดการดูดกลืนแสงที่จำนวนคลื่น 5191 cm^{-1} *(*1926 nm*)*, 6872 cm^{-1} *(*1455 nm*)*, 8333 cm^{-1} *(*1200 nm*) และ* 10219 cm^{-1} *(*978 nm*) โดยพีค* 6872 cm^{-1} *(*1455 nm*)* เกิดการสั่นสะเทือนของพันธะ O-H stretching first overtone เป็นการดูดกลืนแสงของ starch หรือ H_2O และที่พีค 8333 cm^{-1} *(*1200 nm*)* เกิดการสั่นสะเทือนของพันธะ C-H stretching second overtone เป็นการดูดกลืนแสงของ CH_3 *(*Osborne *et al*., 1993*)* ซึ่งเป็นองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต

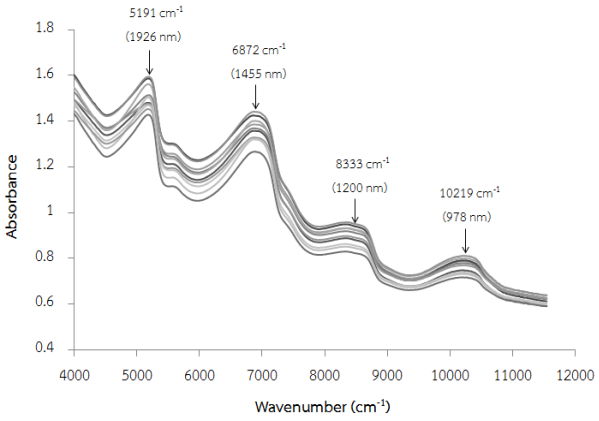

Figure 1 NIR spectra of the peel of guava fruit

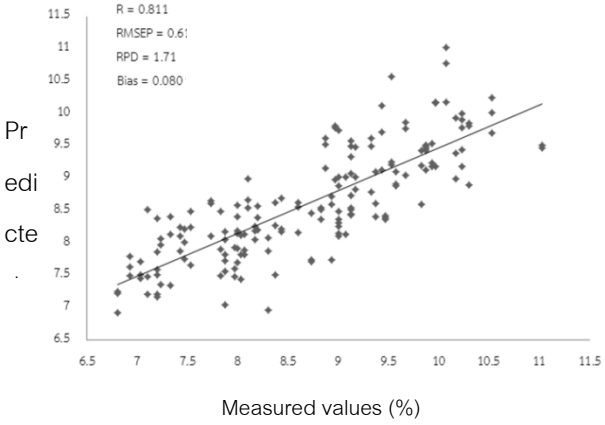

Figure 2 Scatter plot between TSS measured values by reference method and NIR predicted values of guava fruit in the prediction set

สมการทำนายปริมาณ TSS และวิตามินซีในผลฝรั่ง

จากการสร้างสมการทำนายปริมาณ TSS (Table 2) ซึ่งพิจารณาจากสมการที่มีประสิทธิภาพในการทำนายดีที่สุด พบว่า สมการที่สร้างจากสเปกตรัมที่ผิวนอกทำนายปริมาณ TSS ได้แม่นยำที่สุด โดยมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นแบบ Constant offset elimination ที่จำนวนคลื่นในช่วง 9402.5 – 5444 และ 4603.3 – 4244.2 cm^{-1} ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ Prediction set (R_{Pre}) เท่ากับ 0.81 ทั้งนี้ Williams (2007) ได้อธิบายว่าค่า R ระหว่าง 0.81 – 0.90 คือยอมรับได้สำหรับการคัดเลือกและการประมาณค่าอย่างหยาบๆ และแสดงให้เห็นว่าค่ารากที่สองของความผิดพลาดเฉลี่ยยกกำลังสองของการทำนาย (RMSEP) และค่าความผิดพลาดมาตรฐาน (Bias) เท่ากับ 0.61 และ 0.08% ตามลำดับ (Figure 2) สำหรับค่า RPD หรือค่าที่ใช้ประเมินความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานพบว่า มีค่าเท่ากับ 1.71 ซึ่งหมายถึง สมการเทียบมาตรฐานไม่ดีและไม่แนะนำให้นำไปประยุกต์ใช้ จากการพิจารณาสมการจะเห็นว่ายังมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอที่จะนำไปทำนายกับตัวอย่างใหม่

จากการสร้างสมการทำนายปริมาณวิตามินซี (Table 2) ซึ่งพิจารณาจากสมการที่มีประสิทธิภาพในการทำนายดีที่สุด พบว่า สมการที่สร้างจากสเปกตรัมที่ผิวนอกทำนายปริมาณวิตามินซี โดยให้มีค่า R_{Pre} สูงสุด เท่ากับ 0.63 ทั้งนี้ Williams (2007) ได้อธิบายว่าค่า R ระหว่าง 0.51 – 0.70 แสดงว่าเป็นความสัมพันธ์ที่ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ และยังแสดงให้เห็นว่าค่า RMSEP และค่า Bias เท่ากับ 0.05 และ -0.01 mg ตามลำดับ สำหรับค่า RPD มีค่าเท่ากับ 1.28 ซึ่งหมายถึงสมการเทียบมาตรฐานไม่ดีและไม่แนะนำให้นำไปประยุกต์ใช้

Table 2 Statistic of prediction of total soluble solid and vitamin C of guava by PLS models

Parameter	Factors	Wavenumber (cm^{-1})	Preprocessing	Calibration		Prediction			
				R_c	RMSEE (%)	R_{pre}	RMSEP (%)	RPD	Bias (%)
$Peel_{TSS}$	10	9402.5 – 5444 4603.3 – 4244.2	Constant offset elimination	0.77	0.67	0.81	0.61	1.71	0.08
$Pulp_{TSS}$	8	9402.5 – 8447.6 6105.1 – 5444	Min-Max normalization	0.73	0.72	0.77	0.70	1.57	0.05
$Juice_{TSS}$	2	9402.5 – 7492.7	First derivative + Vector normalization	0.65	0.83	0.73	0.72	1.46	-0.05
$Peel_{Vitamin\ C}$	3	9402.5 – 8447.6 6105.1 – 5444	Constant offset elimination	0.64	0.05	0.63	0.05	1.28	-0.01
$Pulp_{Vitamin\ C}$	3	9402.5 – 7492.7	Vector normalization	0.18	0.07	0.31	0.06	1.05	0.01
$Juice_{Vitamin\ C}$	3	9402.5 – 7492.7	No spectral data preprocessing	0.25	0.07	0.38	0.06	1.08	-0.00

จากค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) ของปริมาณ TSS จากสมการที่สร้างจากสเปกตรัมที่ผิวนอกพบพีคที่มีความสำคัญต่อสมการที่จำนวนคลื่น 6000 cm^{-1} (1667 nm), 6214 cm^{-1} (1609 nm), 6805 cm^{-1} (1469 nm), 7070 cm^{-1} (1414 nm), 7240 cm^{-1} (1381 nm), 8665 cm^{-1} (1154 nm), 8767 cm^{-1} (1151 nm) และ 8997 cm^{-1} (1111 nm) เป็นความยาวคลื่นที่มีค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยสูง นั่นคือมีผลต่อการทำนายปริมาณ TSS โดยพีคที่ 6805 cm^{-1} (1469 nm) เป็นการดูดกลืนแสงของ CONHR พีคที่ 7070 cm^{-1} (1414 nm) เป็นการดูดกลืนแสงของ CH_2 พีคที่ 8665 cm^{-1} (1154 nm) และพีคที่ 8767 cm^{-1} (1151 nm) เป็นการดูดกลืนแสงของ CH_3 (Osborne *et. al*., 1993) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผลฝรั่ง

สรุป

มีความเป็นไปได้ในการใช้ NIRS ในการทำนายปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS) ในผลฝรั่งพันธุ์หนองข้างคอกด้วยสเปกตรัมที่ผิวนอก ซึ่งการทำนายสามารถยอมรับได้สำหรับการคัดเลือกและการประมาณค่าอย่างหยาบๆ แต่ยังไม่สามารถใช้ NIRS ในการทำนายปริมาณวิตามินซีจากสเปกตรัมที่ผิวนอก เนื้อ และน้ำคั้นได้

เอกสารอ้างอิง

ดลพร ชนานิรมิตร. 2555. การประเมินคุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. ปริญญานิพนธ์ปริญญาโท (วิศวกรรมอาหาร), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 148 น.

สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร. 2557. การสถิติการส่งออกฝรั่ง. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

AOAC. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 2 vols. 15th ed. Washington, DC.

Osbone, B.G., T. Fean and P.H. Hindle. 1993. Practical NIR Spectroscopy with applications in food and beverage analysis. 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Williams, P. 2007. Near infrared technology-Getting the best out of light. Canada: PDK projects, Inc.