การประเมินปริมาณวิตามิน บี 1 ในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้
Evaluation of Vitamin B_1 in Soybean using Near Infrared Spectroscopy

นฤเทพ เวชภิบาล[11] และ ภัทระ ลูกรักษ์[1]
Naruthep Wechpibal[1] and Pattara Lookruk[1]

Abstract

The establishing for nutritional value evaluation method is an importance feature which is a rapid and non-destructive techniques including the utilization in the next process. Near infrared spectroscopy (NIRS) is a possible tool to reduce cost for a long term, fast and reliable analytical monitoring method for determination of vitamin B_1 in soybean. A total of 190 soybean samples were loaded into the standard cup and measured the spectra by NIRSystems 6500 with reflectance mode in the wavelength region from 400 to 2500 nm. After that, vitamin B_1 was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Then, partial least squares regression (PLSR) was used to develop the calibration equation. The result showed that the content of vitamin B_1 was in the range of 0.02-1.23 mg/100g DW. The calibration equation of vitamin B_1 in soybean presented the correlation coefficient (R) of 0.92, the standard error of calibration (SEC) was 0.14 mg/100g DW, the standard error of prediction (SEP) was 0.15 mg/100g DW and the average difference between actual value and NIR predicted value was -0.001 mg/100g DW. Therefore, NIRS could be used to predict vitamin B_1 detection in soybean.

Keywords: near infrared spectroscopy (NIRS), soybean, vitamin B_1

บทคัดย่อ

การหาวิธีการประเมินคุณค่าทางโภชนาการในเมล็ดถั่วเหลืองที่ดำเนินการได้อย่างรวดเร็ว และไม่ทำความเสียหายให้แก่ตัวอย่าง รวมถึงสามารถนำผลผลิตไปใช้ประโยชน์ต่อได้นั้นยังมีความสำคัญ โดยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (near infrared spectroscopy, NIRS) เป็นทางเลือกในการวิเคราะห์อีกหนึ่งวิธีที่ช่วยลดต้นทุนในระยะยาว รวดเร็ว และเชื่อถือได้ อาจเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการประเมินปริมาณวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลืองได้ โดยบรรจุเมล็ดถั่วเหลืองลงในเซลล์บรรจุตัวอย่างชนิด standard cup จำนวน 190 ตัวอย่าง นำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยวิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ และวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลือง ด้วยเครื่อง HPLC แล้วจึงนำข้อมูลสเปกตรัม และปริมาณวิตามินบี 1 มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นในเชิงพยากรณ์ด้วยวิธี partial least squares regression (PLSR) ผลการทดลอง พบว่า เมล็ดถั่วเหลืองมีปริมาณวิตามินบี 1 ระหว่าง 0.02-1.23 mg/100g DW ส่วนผลของสมการทำนายมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.92 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณวิตามินบี 1 ของตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration, SEC) เท่ากับ 0.14 mg/100g DW และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณวิตามินบี 1 ของตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction, SEC) เท่ากับ 0.15 mg/100g DW ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการ (bias) เท่ากับ -0.001 mg/100g DW จากผลการวิจัย พบว่าเทคนิค NIRS เป็นวิธีการที่สามารถนำมาใช้ในการประเมินปริมาณวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลืองได้

คำสำคัญ: สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ถั่วเหลือง วิตามินบี 1

คำนำ

ถั่วเหลืองเป็นธัญพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากอุดมไปด้วยโปรตีน และสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อประกอบอาหารได้หลากหลายชนิด นอกจากนี้พบว่าถั่วเหลืองยังเป็นแหล่งของแร่ธาตุ กรดไขมัน และวิตามินชนิดต่างๆ เช่น วิตามินบี 1 (vitamin B_1) หรือไทแอมีน เป็นที่รู้จักกันดีในการป้องกันโรคเหน็บชา หรือโรคที่เกิดจากการขาดวิตามินบี 1 ซึ่งเกิด

[1]กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900
[1]Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

จากความผิดปกติของระบบประสาทที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเจ็บป่วย และเสียชีวิตในแถบประเทศที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก เนื่องจากบริโภคอาหารที่มีวิตามินบี 1 ไม่เพียงพอ (อัจฉรา, 2550) วิตามินบี 1 ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต ในการสลายกลูโคสเพื่อให้เกิดพลังงาน ในรูป ATP นอกจากนี้วิตามินบี 1 ยังมีส่วนช่วยในการสื่อสัญญาณประสาท เนื่องจากไทแอมีนเป็นวิตามินที่สำคัญต่อเมแทบอลิซึมของสารอาหารที่ให้พลังงานภายในเซลล์ (นิธิยา และวิบูลย์, 2556) ปัจจุบันการวิเคราะห์วิตามินบี 1 มีค่าใช้จ่ายสูง โดยใช้ HPLC หรือ thiochrome แต่พบว่าการวิเคราะห์ดังกล่าวใช้เวลาค่อนข้างนาน รวมถึงจำเป็นต้องใช้สารเคมีที่ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการหาวิธีทดแทนหรือเทียบเท่าเพื่อนำมาใช้ตรวจสอบวิตามินบี 1 ที่รวดเร็วและถูกต้องจึงเป็นสิ่งจำเป็น เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (near infrared spectroscopy, NIRS) เป็นวิธีการที่สามารถตรวจสอบคุณลักษณะของผลิตผลเกษตรทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ ที่ประหยัดเวลาและแรงงาน ลดขั้นตอนเตรียมตัวอย่าง ปราศจากการใช้สารเคมีและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยเทคนิค NIRS สามารถประเมินองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีในผลิตผลเกษตร เช่น ความชื้น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น (Zhu *et al*., 2018) จากประโยชน์และข้อดีของเทคนิค NIRS จึงทำให้มีการนำไปใช้อย่างแพร่หลายในผลิตผลเกษตรชนิดต่างๆ เช่น การประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย กรดไขมัน สารประกอบฟีนอลและกรดไฟติกในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค NIRS (อนุวัฒน์ และคณะ, 2561; นฤเทพ และคณะ, 2561, 2563) นอกจากนี้ Tetsuo *et al.* (2008) ใช้เทคนิค NIRS ประเมินปริมาณวิตามินบี 1 ได้ในช่วง 0.56-0.81 mg/100g DW โดยมีค่า R เท่ากับ 0.57 สำหรับค่า SEC SEP และ Bias เท่ากับ 0.08, 0.08 และ 0.02 mg/100g DW ตามลำดับ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้สมการตรวจสอบปริมาณวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลืองที่มีความถูกต้องและแม่นยำโดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

อุปกรณ์และวิธีการ

นำเมล็ดถั่วเหลืองจากแหล่งผลิต และร้านค้าจำหน่ายต่าง ๆ ได้แก่ กรมวิชาการเกษตร (ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชลพบุรี) จำนวน 190 ตัวอย่าง ถูกนำมาใช้เป็นในการสร้างสมการตรวจสอบปริมาณวิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง โดยบรรจุเมล็ดถั่วเหลืองประมาณ 10 กรัมต่อตัวอย่าง ลงในเซลล์บรรจุตัวอย่างชนิด standard cup นำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยวิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ (reflectance) ได้ข้อมูลเชิงแสง (optical data) ในรูปของสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่าง แล้วจึงนำเมล็ดถั่วเหลืองไปวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ด้วยเครื่อง HPLC นำข้อมูลสเปกตรัมและปริมาณวิตามินบี 1 มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นด้วยวิธี partial least squares regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler® version 9.7 (Camo, Oslo, Norway)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมล็ดถั่วเหลืองที่นำมาใช้ในการสร้างสมการประเมินปริมาณวิตามินบี 1 มีปริมาณสารวิตามินบี 1 ในช่วง 0.02-1.23 mg/100g DW มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.55 mg/100g DW และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ของวิตามินบี 1 เท่ากับ 0.35 mg/100g DW (Table 1) และเมื่อนำเมล็ดถั่วเหลืองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยวิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ พบว่า เมล็ดถั่วเหลืองสามารถดูดกลืนแสงได้ดี โดยพบพีกของเส้นสเปกตรัมที่ความยาวคลื่น 1215, 1471, 1725 ,1940, 2110, 2275 และ 2347 นาโนเมตร (Figure 1) ที่เกี่ยวข้องกับสูตรโครงสร้างโมเลกุลของ CH_2, $CONH_2$, H_2O (น้ำ) และโปรตีน (Williams and Norris, 2001) อีกทั้งเมื่อพิจารณาจากสูตรเมโลกุลของวิตามินบี 1 (Figure 2) ที่เป็นสารอินทรีย์ที่มีสารประกอบไฮโดรคาร์บอนและสารอนุพันธ์อื่นๆ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและองค์ประกอบทางเคมีของวิตามินบี 1 ในเมล็ดถั่วเหลืองที่นำมาใช้ดำเนินทดสอบ เมื่อทำการสร้างสมการประเมินปริมาณวิตามินสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.92 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณวิตามินบี 1 ของตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration, SEC) เท่ากับ 0.14 mg/100g DW และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณวิตามินบี 1 ของตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction, SEC) เท่ากับ 0.15 mg/100g DW ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการ (averages of difference between actual and predicted values, Bias) ของวิตามินบี 1 เท่ากับ -0.001 mg/100g DW (Table 2) เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficient) ของสมการประเมินปริมาณสารวิตามินบี 1 ในถั่วเหลือง พบว่ามีค่าสูงที่ความยาวคลื่น 1360, 1395, 1460, 1990, 1980, 2252 และ 2294 นาโนเมตร (Figure 3) โดยพบว่าที่ความยาวคลื่น 1990 และ 2252 นาโนเมตร สัมพันธ์กับการสั่นของพันธะในโมเลกุลสตาร์ช ที่ความยาวคลื่น 1980 และ 2294 นาโนเมตร สัมพันธ์กับการสั่นของพันธะในโมเลกุลโปรตีน และโครงสร้างโมเลกุลของวิตามินบี 1 ประกอบด้วย

พันธะ C-H และ N-H เกิดการสั่นที่ความยาวคลื่น 1360, 1395 และ 1460 นาโนเมตร (Osborne *et al*., 1993) เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการทำนาย และค่าที่ได้จากวิธีวิเคราะห์ทางเคมีของวิตามินบี 1 พบว่าสมการที่ได้ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง และให้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่ม calibration และกลุ่ม validation ต่ำ นั่นคือปริมาณวิตามินบี 1 ที่ได้จากการทำนายด้วยสมการมีความสัมพันธ์ค่อนข้างสูงกับค่าที่ได้จากวิธีวิเคราะห์ทางเคมี และค่าที่ทำนายได้ มีความผิดพลาด (SEP) ต่ำกว่าค่าการวิเคราะห์ (SD) (Figure 4) ดังนั้นจึงสามารถนำสมการไปใช้ในการประเมินปริมาณวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองได้

Table 1 The statistical data of vitamin B_1 in soybean samples

Items	Vitamin B_1
Min-Max	0.02-1.23
Mean	0.55
SD	0.35
Unit	mg /100g DW

Table 2 Results of PLSR calibration for vitamin B_1 content in soybean

Compositions	Wavelength (nm)	F	R	SEC (mg /100g DW)	SEP (mg /100g DW)	Bias (mg /100g DW)
Vitamin B_1	400-2500	7	0.92	0.14	0.15	-0.001

F: The number of factors used in the calibration equation, R: Coefficient of correlation, SEC: Standard error of calibration, SEP: Standard error of prediction; Bias: averages of difference between actual and predicted values

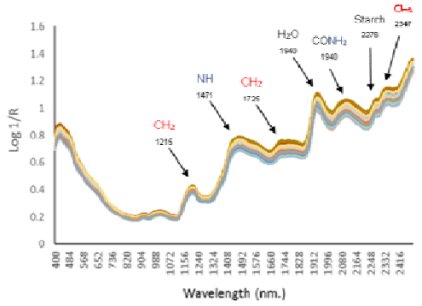

Figure 1 The original NIR spectra of soybean samples in wavelength region from 400 to 2500 nm

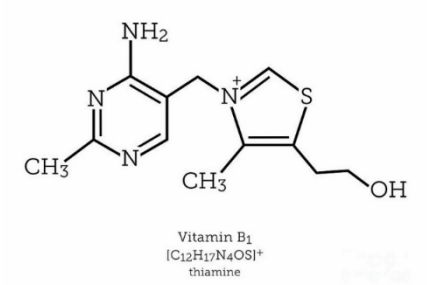

Figure 2 Molecular structure of vitamin B_1 (Source: https://fineartamerica.com/featured/molecular-structure-of-vitamin-b1-greg-williamsscience-photo-library.html?product=poster)

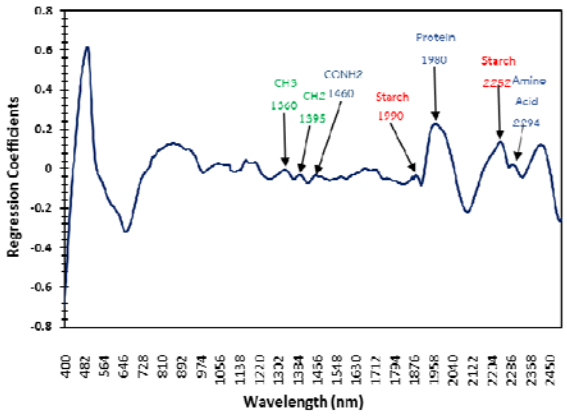

Figure 3 Regression coefficient plots of PLSR result of vitamin B_1 content in soybean.

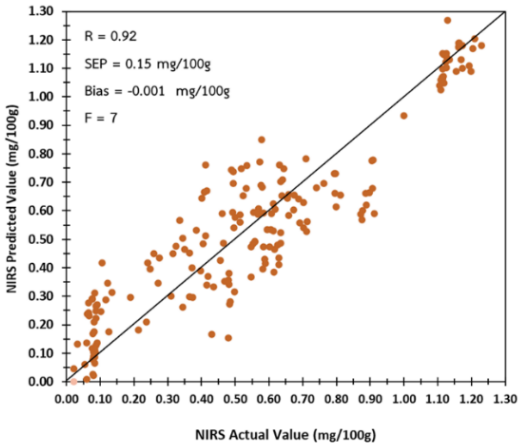

Figure 4 The relationship between actual values of vitamin B_1 and NIRS predicted values in soybean.

สรุป

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS) สามารถใช้ประเมินปริมาณวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองในช่วง 0.02-1.23 mg/100g DW ในระยะเวลาสั้น โดยความยาวคลื่นที่ใช้ในเทคนิค NIRS เพื่อการประเมินปริมาณวิตามินบี 1 ในถั่วเหลืองอยู่ในช่วง 400 - 2500 นาโนเมตร โดยวิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ (reflectance) และใช้ original spectrum

เอกสารอ้างอิง

นฤเทพ เวชภิบาล ภัทระ ลูกรักษ์ และจารุวรรณ บางแวก. 2561. การประเมินปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy. หน้า 70-84. *ใน*: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2561. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

นฤเทพ เวชภิบาล ภัทระ ลูกรักษ์ และจารุวรรณ บางแวก. 2563. การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy. หน้า 490-498. *ใน*: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2563. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

นิธิยา รัตนาปนนท์ และ วิบูลย์ รัตนาปนนท์. 2556. หลักโภชนศาสตร์. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 512 หน้า.

อนุวัฒน์ รัตนชัย นฤเทพ เวชภิบาล และจารุวรรณ บางแวก. 2561. การประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy. หน้า 117-135. *ใน*: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2561. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

อัจฉรา ดลวิทยาคุณ. 2550. พื้นฐานโภชนาการ. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 200 หน้า.

Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hondle. 1993. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. Longman Singapore Publisher (Pte) Ltd, Singapore. 227 pp.

Tetsuo, S., K. Equch, T. Hatano and Y. Nishiba. 2008. Use of near-infrared reflectance spectroscopy for the estimation of the isoflavone contents of soybean seeds, Plant Production Science 11(4) 481-486.

Williams, P. and K. Norris. 2001. Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. Inc.: St Paul, Minesota. 312 p

Zhu, Z., S. Chen, X. Wu, C. Xing and J. Yuan. 2018. Determination of soybean routine quality parameters using near-infrared spectroscopy. Food Science & Nutrition 6:1109-1118.