การประเมินปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศโดยใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี
Evaluation of Lycopene in Tomatoes Using Near Infrared Spectroscopy

ปรางค์ทอง กวานห้อง[1] นฤเทพ เวชภิบาล[1] และ ศิรกานต์ ศรีธัญรัตน์[1]
Prangthong Kwanhong[1], Naruthep Wechpibal[1] and Siragan Srithanyarat[1]

Abstract

This research studied the capability of near infrared spectroscopy (NIRS) for evaluating lycopene content in fresh tomatoes. A partial least-squares regression (PLS-R) model was developed from the relationship between the spectral data in interactance measurement at the wavelength region of 600 - 1100 nm by using the portable FQA-NIR Gun and the reference values of lycopene content from laboratory analysis. The results of the equation analysis showed that the prediction accuracy of calibration equation for lycopene content in large-sized tomatoes (fruit size about 5 - 8 cm in diameter) could be used as a screening tool with approximation capability for lycopene within the range of 0.05 - 14.11 μg/g. The correlation coefficient (R) of the calibration equation for lycopene was 0.90, with the SEC and SEP values of 1.48 and 1.46 μg/g, respectively. Then, the prediction equation was tested to assess the accuracy of the equation for NIR applications. It was found that the predictions of the equation for lycopene content in tomatoes were not statistically different from the laboratory reference values at the 95% confidence interval.

Keywords: near infrared spectroscopy, tomato, lycopene

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาการประเมินปริมาณสารไลโคพีนในผลมะเขือเทศสดด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี โดยการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration model) ที่ได้จากความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลสเปกตรัมที่วัดได้จากเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา ที่มีระบบการวัดแบบสะท้อนกลับในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 600 - 1100 นาโนเมตร กับค่าอ้างอิงของสารไลโคพีนในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี partial least squares regression ซึ่งผลการวิเคราะห์สมการ พบว่า ในการประเมินหาปริมาณสารไลโคพีนในมะเขือเทศสดที่มีผลขนาดใหญ่ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 5 - 8 เซนติเมตร) มีความแม่นยำในการทำนายค่าของสมการในระดับการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้นในช่วง 0.05 - 14.11 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของสมการเทียบมาตรฐานของสารไลโคพีนที่มีค่าเท่ากับ 0.90 มีค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการสร้างสมการ (SEC) และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจากการทำนาย (SEP) เท่ากับ 1.48 และ 1.46 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อนำสมการที่ได้มาทดสอบการทำนายค่าเพื่อประเมินความแม่นยำกับตัวอย่างผลมะเขือเทศสดที่ไม่ได้นำมาใช้สร้างสมการ พบว่า การทำนายค่าของสมการในการประเมินหาสารไลโคพีนในผลมะเขือเทศเทียบกับค่าอ้างอิงในห้องปฏิบัติการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

คำสำคัญ: เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี มะเขือเทศ ไลโคพีน

คำนำ

มะเขือเทศ จัดเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางอาหารสูง โดยคุณค่าทางอาหารของมะเขือเทศที่สำคัญ คือ วิตามินเอ ในรูปของแคโรทีนอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ บีตา-แคโรทีน และไลโคพีน โดยมีรายงานว่า การบริโภคมะเขือเทศสดและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศที่มีสารไลโคพีนสูงมีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด (Agarwal and Rao, 2000) จึงมีผู้นิยมบริโภคมะเขือเทศมากขึ้น ทั้งนี้ ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคพีนในผลมะเขือเทศสด ทำได้โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งวิธีการนี้ให้ค่าที่มีความละเอียดแม่นยำ แต่ต้องใช้สารเคมีและระยะเวลาในการสกัด และยังเป็นการทำลายตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อได้อีก อย่างไรก็ตาม ในอุตสาหกรรมการผลิตผักและผลไม้สดในปัจจุบัน มีความต้องการการตรวจวัดคุณภาพที่ให้ผลรวดเร็วและไม่ทำลายผลิตผล ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี โดยเนียร์

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

อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) ซึ่งอาศัยหลักการด้านการสั่นของพันธะเคมีที่อยู่ในอินทรียสารของผลิตผลในช่วงรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ที่ความยาวคลื่นระหว่าง 800 - 2500 นาโนเมตร หรือ 12500 - 4000 ลูกคลื่นต่อเซนติเมตร (Osborne *et al*., 1993) โดยค่าการดูดกลืนพลังงานแสงดังกล่าวสามารถนำไปพัฒนาสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายคุณภาพของตัวอย่างทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพได้ (McGlone *et al*., 2002) จึงเป็นเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจในการใช้ประเมินคุณภาพผลิตผลเกษตร เพราะสามารถทำงานได้รวดเร็ว สะดวก และปลอดภัย

ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการใช้ NIRS เพื่อหาสมการในการประเมินปริมาณไลโคพีนในผลมะเขือเทศสด เพื่อเป็นทางเลือกสำหรับการทำนายค่าปริมาณสารไลโคพีนอย่างรวดเร็วและไม่มีการทำลายตัวอย่าง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง และการวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคพีน

นำตัวอย่างมะเขือเทศสดพันธุ์ที่มีขนาดผลใหญ่ 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เทเบิล (table) โทมัส (thomas) เนื้อ (red) และท้อ (plum) ที่ระยะผลสีเขียวจนถึงสีแดงเข้ม จากแหล่งต่าง ๆ จำนวนไม่ต่ำกว่า 200 ตัวอย่าง แบ่งตัวอย่างมะเขือเทศออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เป็นตัวแทนสำหรับใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน หรือ Cset (ร้อยละ 70 ของตัวอย่างทั้งหมด) และกลุ่มที่เป็นตัวแทนสำหรับทดสอบความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้น หรือ Vset (ร้อยละ 30 ของตัวอย่างทั้งหมด) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา ที่มีช่วงความยาวคลื่นสั้นระหว่าง 600 - 1100 นาโนเมตร และมีอันตรกิริยาแบบสะท้อนกลับจากด้านใน (interactance) สามารถวัดสะท้อนลงได้ลึก 0.5 - 1 เซนติเมตร โดยนำเครื่อง NIRs ทาบบนตัวอย่างบริเวณที่จะทำการวัดสเปกตรัม เลือกจุดตรงกลางผล 2 ด้าน จากนั้น นำตัวอย่างมะเขือเทศบริเวณส่วนที่ทำการวัดหาเส้นสเปกตรัมไปวิเคราะห์หาปริมาณไลโคพีนในห้องปฏิบัติการตามวิธี Kimura method (Nagata and Yamashita, 1992) โดยนำตัวอย่างมาสับและปั่นให้ละเอียดในสารละลายผสมของ acetone:hexane (4:6, v/v) ในอัตราส่วน 1:4 ตั้งทิ้งไว้นาน 15 นาที ก่อนนำส่วนของสารละลายใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณสารไลโคพีนตามสูตรดังต่อไปนี้

ไลโคพีน (μg/g) = (-0.0458 x A663) + (0.2040 x A645) + (0.3720 x A505) - (0.0806 x A453)

เมื่อ A663 A645 A505 และ A453 คือ ค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 663 645 505 และ 453 นาโนเมตร

2. การสร้างสมการและการคัดเลือกสมการในการทำนายค่าปริมาณสารไลโคพีน

สร้างสมการเทียบมาตรฐานเบื้องต้นเพื่อทำนายค่าปริมาณสารไลโคพีน โดยการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนพลังงานที่ได้จากการสแกนผลมะเขือเทศด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา และค่าวิเคราะห์อ้างอิงในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี PLS-R ในโปรแกรม The Unscrambler แล้ววิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อตรวจสอบความแม่นยำของสมการเบื้องต้นจากข้อมูลของกลุ่ม Cset และ Vset โดยพิจารณาจาก ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ที่มีค่าสูงใกล้เคียง 1 รวมทั้งค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการหรือกลุ่ม Cset (SEC) ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการหรือกลุ่ม Vset (SEP) และค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จาก NIRS และวิธีการในห้องปฏิบัติการ (bias) ซึ่งควรมีค่าต่ำ จากนั้น นำสมการที่ได้ไปทดสอบการประเมินหาปริมาณสารไลโคพีนในผลมะเขือเทศสดที่ไม่ได้ใช้ในการสร้างสมการ (external validation) จำนวน 16 ตัวอย่าง แล้วเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันความถูกต้องแม่นยำของสมการ

ผลการทดลอง

ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานเบื้องต้นในการทำนายค่าปริมาณไลโคพีนในผลมะเขือเทศสดที่ได้จากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา (Figure 1) กับค่าวิเคราะห์อ้างอิงในห้องปฏิบัติการ (Table 1) พบว่า ปริมาณไลโคพีนจากตัวอย่างจำนวน 538 ตัวอย่าง (ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ) มีค่าระหว่าง 0.05 - 14.11 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งมะเขือเทศที่มีผลสีเขียวมีปริมาณไลโคพีนต่ำและมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมะเขือเทศมีผลสีแดงมากขึ้น โดยสมการทำนายค่าไลโคพีนมีค่า R ของกลุ่ม Cset เท่ากับ 0.90 ค่า SEC และค่า bias เท่ากับ 1.48 และ $12.72e^{-07}$ ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม Vset มีค่า R เท่ากับ 0.89 ขณะที่ค่า SEP และ Bias เท่ากับ 1.46 และ - 0.15 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (Table 1 and Figure 2) สำหรับกราฟแสดงค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการทำนายค่าไลโคพีน (Figure 2) พบค่าการดูดกลืนแสงของความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับการเกิดสารสีเขียว/แดงในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 640 - 670 นาโนเมตร ซึ่งมีพีคของค่าแคโรทีนอยด์ (บีตา-แคโรทีน

และไลโคพีน) รวมถึงคลอโรฟิลล์เอและบี นอกจากนี้ ยังพบตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 840 นาโนเมตร ซึ่งมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างน้ำ (second overtone ของหมู่ O-H) (Osborne, 1981)

จากการพิจารณาจากค่า R ของสมการเทียบมาตรฐานเบื้องต้นของค่าไลโคพีนที่พบว่า ค่า R ของกลุ่ม Cset และ Vset มีค่า 0.90 และ 0.89 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาเทียบกับตารางแปลความหมายค่า R ของ Williams (2007) สามารถตีความได้ว่าสมการทำนายค่าไลโคพีนอยู่ในระดับที่สามารถนำไปใช้คัดกรองได้เพื่อการแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น และเมื่อนำสมการที่ได้ไปทดสอบเพื่อประเมินความแม่นยำในการทำนายค่ากับตัวอย่างผลมะเขือเทศสดที่ไม่ได้นำมาใช้ในการสร้างสมการด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา แล้วนำไปคำนวณกับค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการจนได้ออกมาเป็นค่าทำนาย จากนั้นนำค่าทำนายที่ได้ไปทำการเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ค่าความแตกต่างของปริมาณไลโคพีนจากค่าอ้างอิงกับค่าทำนายมีค่าระหว่าง - 3.11 ถึง 2.67 ไมโครกรัมต่อกรัม (Figure 3) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 วิธี ด้วย paired t-test พบว่า ค่าอ้างอิงกับค่าทำนายของปริมาณไลโคพีน มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Table 1 Statistics of the calibration and validation equations of lycopene content in tomatoes

Items	No. of samples	Lycopene (µg/g)	R	SEC / SEP (µg/g)	Bias (µg/g)
Cset	766	0.05 - 14.11	0.90	1.48	-2.72^{e-07}
Vset	310	0.06 - 11.20	0.89	1.46	-0.15

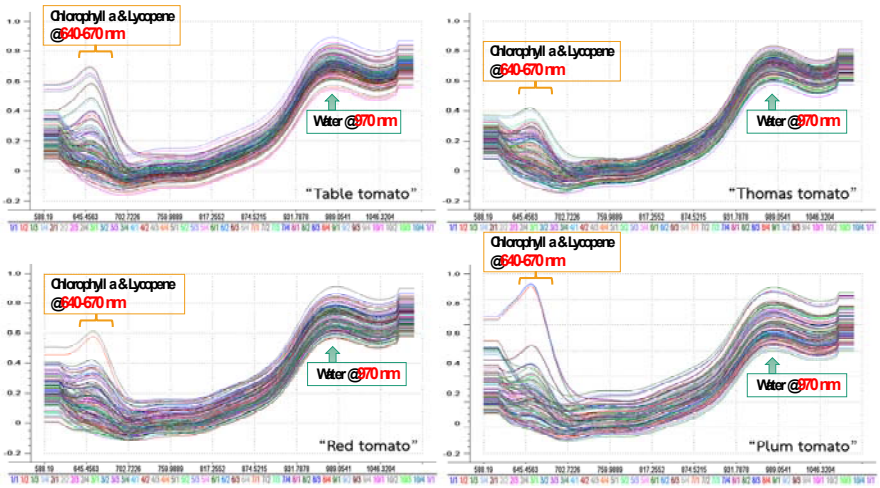

Figure 1 Original NIR spectra of four fresh tomato cultivars at wavelength 600 - 1100 nm acquired by FQA-NIR gun

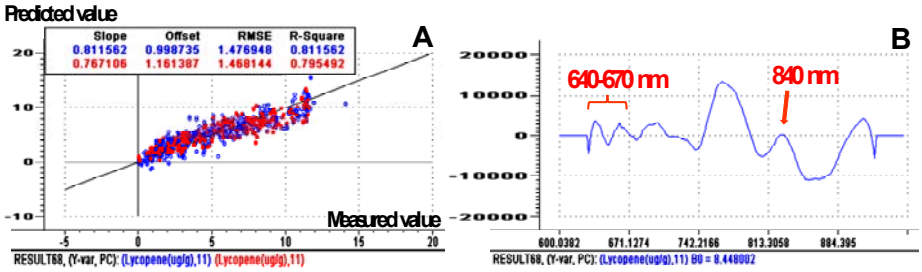

Figure 2 Scatter plot of calibration and validation of PLS regression for quantifying lycopene content (A) and the regression coefficients of PLS model

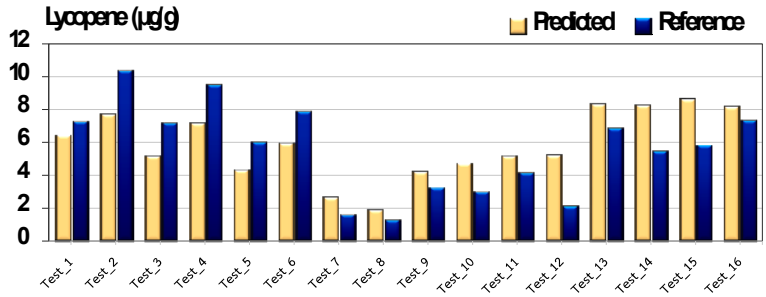

Figure 3 Comparison of laboratory reference and predicted values using the NIR model to estimate lycopene content in tomatoes

วิจารณ์ผล

จากการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า NIRS มีความแม่นยำเพียงพอสำหรับใช้ทำนายค่าปริมาณไลโคพีนในระดับการประมาณค่าเบื้องต้น แต่ยังมีประสิทธิภาพไม่มากพอจะนำไปใช้ทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างกันของสภาพทางกายภาพภายนอกของผลผลมะเขือเทศ เช่น สี ความหนาและลักษณะของผิวผล และองค์ประกอบภายในผล เช่น ปริมาณน้ำ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด เป็นต้น เพราะผลิตผลสดแต่ละผลมีความหลากหลายและไม่สม่ำเสมอกัน ซึ่งมีอิทธิพลต่อการตอบสนองที่มีต่อแสง NIR (Williams and Norris, 2001) รวมทั้งข้อจำกัดของเครื่องมือ (เครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา) ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่นสั้น (600 - 1100 นาโนเมตร) แต่ช่วงความยาวคลื่นหลักที่สัมพันธ์กับค่าไลโคพีนสอดคล้องกับเครื่องมือในช่วงคลื่นยาว (1100 - 2500 นาโนเมตร) ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลทำให้ค่าที่ทำนายได้มีความคลาดเคลื่อน จึงส่งผลต่อความแม่นยำในการทำนายค่าเมื่อนำไปทดสอบการใช้งานจริง สอดคล้องกับการศึกษาของ กฤตกร และคณะ (2552) ที่กล่าวว่า ความยาวคลื่นช่วงยาวให้ผลการสร้างสมการที่ดีกว่าช่วงความยาวคลื่นสั้น

สรุป

การประเมินปริมาณไลโคพีนในผลมะเขือเทศสดขนาดผลใหญ่ 4 พันธุ์ คือ เทเบิล โทมัส เนื้อ และท้อ โดยใช้สมการเทียบมาตรฐานเบื้องต้นในการทำนายค่าปริมาณไลโคพีนด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพา ที่ช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 600 - 1100 นาโนเมตร มีความแม่นยำเพียงพอสำหรับการทำนายค่าเพื่อแบ่งระดับปริมาณหรือประมาณค่าเบื้องต้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสมการที่สร้างได้ยังมีประสิทธิภาพไม่มากพอจะนำไปใช้ทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ แต่หากต้องการประเมินปริมาณไลโคพีนแบบหยาบ ๆ อย่างรวดเร็วและไม่ทำลายตัวอย่าง การใช้ NIRS ด้วยเครื่อง FQA-NIR Gun แบบพกพานี้มีความแม่นยำเพียงพอที่จะใช้ในการทำนายค่าได้

เอกสารอ้างอิง

กฤตกร ทรัพย์เจริญ, รณฤทธิ์ ฤทธิรณ, ศุมาพร เกษมสำราญ และภาณี ทองพำนัก. 2552. การประเมินคุณภาพของมะเขือเทศเกษตรอินทรีย์ด้วยเทคนิค Near infrared spectroscopy. ในเรื่องเต็ม การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 5. 8-9 ธันวาคม 2551. หน้า 557-564.

Agarwal, S. and A.V. Rao. 2000. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. Canadian Medical Association Journal 163(6): 739-744.

McGlone, V.A., R.B. Jordan and P.J. Martinsen. 2002. Vis/NIR estimation at harvest of pre- and post-storage quality indices for 'Royal Gala' apple. Postharvest Biology and Technology 25: 135-144.

Nagata, M. and I. Yamashita. 1992. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. Journal of The Japanese Society for Food Science and Technology 39: 925-926.

Osborne, B.G. 1981. Principles and practice of near infra-red (NIR) reflectance analysis. International Journal of Food Science & Technology 16: 13-19.

Osborne, B.G., T. Fearn, and P.H. Hindle. 1993. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. 2nd ed. Longman Group UK limited. 227 p.

Williams, P. 2007. Application to agricultural and marine products. pp. 165-218. *In*: Y. Ozaki, W.F. McClure and A.A. Christy (eds.). Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology. John Wiley and Sons Inc. Publication, New Jersey, USA.

Williams, P. and K. Norris. 2001. Near-Infrared technology in the agricultural and food industries. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. 296 p.