

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ด้วยการสนับสนุนจากนักศึกษาและบุคลากร จากภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม ผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่จัดสรรทุนสนับสนุนการวิจัยนี้ ขอขอบคุณ นางสาวเพ็ญพิสุทธิ์ ชาตรีคุ้มน์ และนาย ภาณุเมศ รจิตานนท์ นักศึกษาระดับปริญญาตรี ที่ช่วยงานในการทดลอง เก็บข้อมูล และวิเคราะห์ข้อมูล

ชื่อโครงการ การประยุกต์ใช้เทคนิคอินฟราเรดย่านใกล้ในการตรวจวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลมังคุด

- ผู้วิจัย 1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ (หัวหน้าโครงการ)
คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุศราภรณ์ มหาโยธี (ผู้ร่วมวิจัย)
คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
3. นางสาวชนิกร คงพาณิชย์ตระกูล (ผู้ร่วมวิจัย)
คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2557-2558
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2559
ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์
สาขาวิชา เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

บทคัดย่อ

มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย พบว่าเปลือกมังคุดประกอบไปด้วยสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก เช่น แชนโตนส์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในทางอุตสาหกรรมสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้ด้วยวิธีการทางเคมี แต่จะมีข้อจำกัดด้านระยะเวลาที่ใช้ ความปลอดภัยและมีการทำลายตัวอย่าง จึงได้มีการศึกษาการใช้เทคนิค สเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้แทนวิธีการทางเคมี การใช้สเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกมังคุดจะแสดงผลออกมาในรูปของสเปกตรัม จากนั้นนำข้อมูลของสเปกตรัมมาทำนายค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และประเมินความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าทำนายที่ได้จากสเปกตรัม ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณแชนโตนส์บริเวณเปลือกมังคุดด้านใน (mesocarp) และเปลือกมังคุดด้านนอก (exocarp) ของผลมังคุด โดยแบ่งมังคุดเป็น 3 กลุ่มตามระดับความเข้มของสี นำไปบดและอบเป็นผงแห้ง จากนั้นทำการผสมตัวอย่างเปลือกมังคุดผงแห้งทั้ง 3 กลุ่มโดยวิธีการทดลองแบบผสม (Mixture design) ได้ 7 ส่วนผสม จำนวน 12 ซ้ำ ได้จำนวนตัวอย่างเปลือกมังคุดผงแห้งจากแต่ละส่วนในการวิเคราะห์ 84 ตัวอย่าง และเตรียมตัวอย่างสกัดจากตัวอย่างดังกล่าวโดยแต่ละตัวอย่างเพิ่มจำนวนโดยการเจือจางลงอีก 1 เท่าตัว ทำให้ได้จำนวน 168 ตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์สเปกตรัมโดยเครื่องสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ และทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging (EC_{50}) จากผลการทดลองพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ของสารประกอบฟีนอลิกบริเวณเปลือกมังคุดด้านในในรูปผงแห้งและรูปสารสกัด มีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงมากกว่า ($R^2 = 0.365$ และ 0.510 ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบกับ การหาความสัมพันธ์ดังกล่าวกรณีศึกษาในบริเวณเปลือกมังคุดด้านนอกในรูปผงแห้งและรูปสารสกัด ($R^2 = 0.278$ และ 0.326 ตามลำดับ) ซึ่งสมการที่มีความแม่นยำมากที่สุดในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคือสมการที่สร้างจากสารสกัดบริเวณเปลือกมังคุดด้านใน ($RMSECV = 1.15$, $\%RPD = 1.42$ และ $Bias = 0.0213$) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารต้าน

อนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี และค่าที่ทำนายได้บริเวณเปลือกด้านในในรูปผงแห้งและรูปสารสกัด ($R^2 = 0.453$ และ 0.101 ตามลำดับ) และเปลือกมังคุดด้านนอกในรูปผงแห้งและรูปสารสกัด ($R^2 = 0.353$ และ 0.248 ตามลำดับ) มีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงใกล้เคียงกันโดยที่ข้อมูลจากการวิเคราะห์เปลือกมังคุดผงให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงดีกว่า ซึ่งการทดสอบความแม่นยำของสมการพบว่าสมการที่มีความคลาดเคลื่อนจากการทดสอบประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือสมการที่สร้างจากตัวอย่างเปลือกมังคุดบริเวณด้านนอกบดผง (RMCECV = 4.22) แต่สำหรับสมการที่มีเปอร์เซ็นต์การยอมรับดีที่สุดคือสมการที่สร้างจากการวิเคราะห์ตัวอย่างเปลือกมังคุดด้านในบดผง (%RPD = 1.35) และสมการที่เกิดความคลาดเคลื่อนจากการทดลองน้อยที่สุดคือสมการที่สร้างจากการรวมข้อมูลจากผงเปลือกมังคุดบริเวณด้านในและด้านนอก (Bias = -0.003) การวิเคราะห์ปริมาณแซนโทนส์พบว่าเมื่อทำการรวมข้อมูลจากทั้งบริเวณเปลือกมังคุดด้านในและเปลือกมังคุดด้านนอกความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายของตัวอย่างเปลือกมังคุดในรูปผงแห้งและรูปสารสกัดมีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงสูง ($R^2 = 0.970$ และ 0.869 ตามลำดับ) ซึ่งการทดสอบความแม่นยำของสมการพบว่าสมการที่มีความคลาดเคลื่อนจากการทดสอบประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือสมการที่สร้างจากสารสกัดบริเวณเปลือกมังคุดด้านใน (RMCECV = 0.00203) แต่สำหรับสมการที่มีเปอร์เซ็นต์การยอมรับดีที่สุดคือสมการที่สร้างจากการรวมข้อมูลผงเปลือกมังคุดบริเวณด้านในและด้านนอก (%RPD = 5.69) และสมการที่เกิดความคลาดเคลื่อนจากการทดลองน้อยที่สุดคือสมการที่สร้างจากสารสกัดบริเวณเปลือกมังคุดด้านนอก (Bias = -0.003) จึงสรุปได้ว่าสมการที่ได้จากรวมข้อมูลในรูปของผงทั้งบริเวณเปลือกด้านในและด้านนอกในการวิเคราะห์ปริมาณแซนโทนมีความน่าเชื่อถือมากที่สุด จึงทำการศึกษาต่อในส่วนของการวิเคราะห์ปริมาณแซนโทนส์ โดยแบ่งตัวอย่างมังคุดเป็น 3 กลุ่มตามระดับความเข้มของสีเปลือก ซึ่งเมื่อทำการรวมข้อมูลจากตัวอย่างที่มีสีเปลือกแตกต่างกัน พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายได้จะมีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงสูง ($R^2 = 0.78$) เช่นเดียวกันก็ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยอมรับดีที่สุด (%RPD = 2.13) และเกิดความคลาดเคลื่อนน้อย (Bias = 0.0032)

คำสำคัญ : มังคุด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ รังสีอินฟราเรดย่านใกล้ การทดสอบแบบไม่ทำลาย ตัวอย่าง

Research Title The application of near infrared spectroscopy for determination of antioxidative capacity of mangosteen fruit

Researcher Assist. Prof. Dr. Prasong Siri Wongwilaichat (Project Leader)

Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University

Researcher Assist. Prof. Dr. Busarakorn Mahayothee (Co-Researcher)

Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University

Miss Chanikorn Kongpanichtrakul

Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University

Research Grants Fiscal Year 2014-2015.,

Research and Development Institute, Silpakorn University

Year of completion 2016

Type of research applied research

Subjects Agriculture and Biology

Abstract

Mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) is a significantly Thai economy contributing fruit. Its rind was found composing of bioactive compounds, especially phenolics such as antioxidative xanthenes. In the industry, chemical analysis method is usually employed for antioxidant determination. However, chemical method is limited by time consuming, safety concern and sample destruction. The application of near infrared spectroscopy (NIR) is consequently studied for replacing chemical method. Antioxidants content in mangosteen rind were analyzed by NIR through spectrum which was subsequently used for prediction. The correlation between the predicted values from NIR and chemical values was then evaluated. In this study, phenolics content, antioxidative capacity and xanthenes content in mesocarp and exocarp of mangosteen fruit were analyzed. Mangosteen fruits were divided into 3 groups according to rind color intensity before grinding and drying to obtain powder which was used for experiments. Mixture design was employed for mixing 3 groups of mangosteen rind powder to obtain 7 combinations with 12 replications to obtain totally 84 samples which was then extracted and doubly diluted to get 168 extracted samples used for analysis. Samples including mangosteen rind powder and its extract were analyzed for NIR spectrum, phenolics content and antioxidant capacity using DPPH radical scavenging method (EC_{50}). According to experimental results, it was found that the correlations between chemical values and predicted NIR values of total phenolics in powder and extract from mangosteen mesocarp were more fitted ($R^2 = 0.365$ and 0.510 , respectively) as compared with those from exocarp ($R^2 = 0.278$ and 0.326 , respectively). The most accurate equation for total phenolics prediction was that derived from mesocarp extract values ($RMSECV = 1.15$, $\%RPD = 1.42$ and $Bias = 0.0213$). For analysis of antioxidant capacity by

DPPH radical scavenging, it was found that the correlations between chemical values and NIR values obtained from powder and extract from mangosteen mesocarp ($R^2 = 0.353$ and 0.248) and exocarp were similar ($R^2 = 0.453$ and 0.101), whilst data from powder form gave better linear fit. According to validation test, it was found that the least error equation was that derived from values of exocarp mangosteen rind powder (RMCECV = 4.22). Nevertheless, the most acceptable equation was that derived from values of mesocarp mangosteen rind powder (%RPD = 1.35). The least error equation from experiment was that derived from combined data from mesocarp and exocarp mangosteen rind (Bias = -0.003). According to xanthenes analysis, it was found that combining data from mangosteen mesocarp and exocarp provided considerably high linear correlation ($R^2 = 0.970$ and 0.869 , respectively). The validation test indicated that the least error equation was that derived from data from mesocarp (RMCECV = 0.00203). However, the most acceptable equation was that derived from combined data from mesocarp and exocarp mangosteen rind powder (%RPD = 5.69). The least error equation from experiment was that derived from values of exocarp extract (Bias = -0.003). It could be concluded that combining data from mesocarp and exocarp powder was the most reliable for xanthenes determination. Investigating xanthenes analysis in 3 groups of mangosteen according to rind color intensity was therefore performed. The results showed that combining data from all groups gave high linear correlation ($R^2 = 0.78$) with the most acceptability (%RPD = 2.13) and the lowest error (Bias = 0.0032).

Key words : mangosteen, antioxidative capacity, near infrared, non-destructive measurement

สารบัญ

หัวข้อ	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตการศึกษา	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
2.1 มังคุด	3
2.2 สารต้านปฏิกิริยาอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ	3
2.3 การประเมินประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ	4
2.4 ทฤษฎีของสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	6
2.5 ขั้นตอนการประยุกต์ใช้เทคนิค NIR	11
2.6 เทคนิคการลดผลกระทบจากปัจจัยที่มีผลต่อสเปกตรัม	13
2.7 ตรวจสอบความแม่นยำและทดสอบสมการแคลิเบรชัน	15
2.8 ข้อดีและข้อเสียของการวิเคราะห์ด้วย NIR	17
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	18
3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์ในการวิจัย	18
3.1.1 วัตถุดิบ	18
3.1.2 สารเคมี	18
3.1.3 อุปกรณ์ในการทำวิจัย	18
3.2 วิธีการทดลอง	19
3.2.1 วิธีการเตรียมตัวอย่าง	19
3.2.2 การวิเคราะห์ทางเคมี	21
3.2.3 วิธีสร้างสมการทำนาย	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	22
4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรด ย่านใกล้	22
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรด ย่านใกล้	28
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณแซนโทนด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	32
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	40

สารบัญ (ต่อ)

หัวข้อ	หน้า
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	45
ภาคผนวก ก วิธีการทดลอง	45
ภาคผนวก ข ผลการทดลอง	51
ภาคผนวก ค การเผยแพร่ผลงานวิจัย	84
ภาคผนวก ง ประวัติและผลงานวิจัยที่สำคัญของนักวิจัย	85

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การแบ่งช่วงรังสีสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ตามระดับพลังงาน	8
2	การแบ่งช่วงรังสีสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ตามชนิดแถบอินฟราเรดย่านใกล้	8
3	เกณฑ์การพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ	16
4	เกณฑ์การพิจารณาเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของข้อมูล	16
5	อัตราส่วนในการผสมผงเปลือกมังคุด	19
6	ช่วงของค่าทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์	22
7	ผลการวิเคราะห์สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	28
8	ผลการทดสอบการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	32
9	ผลการทดสอบสมการทำนายสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแซนโทนีนด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ของเปลือกมังคุดจำแนกตัวอย่างตามชั้นของเปลือกและรูปแบบ	36
10	ผลการทดสอบสมการทำนายสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแซนโทนีนด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ของเปลือกมังคุดจำแนกตัวอย่างตามสีเปลือก	39

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานการสั่น	7
2	รูปแบบการเกิดอัตรกริยาของรังสีอินฟราเรดย่านใกล้กับสสาร	8
3	การแยกลำแสงออกเป็นแถบโดยใช้แท่งปริซึม	9
4	หลักการทำงานของสเปกโตรมิเตอร์แบบแถบลำดับไดโอด	10
5	แบบวิธีการวัดด้วย NIR สเปกโตรสโกปี	10
6	ขั้นตอนการสร้างสมการมาตรฐาน	11
7	ขั้นตอนการทดสอบสมการมาตรฐาน	12
8	การแปลงค่าด้วยวิธีอนุพันธ์	13
9	การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ	14
10	วิธีปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐานและการปรับแนวโน้ม	14
11	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดลองเพื่อสร้างสมการจากผงเปลือกมังคุดในการวิเคราะห์ค่าทางเคมีด้วยวิธี DPPH	20
12	แสดงข้อมูลสเปกตรัมในรูปของผงที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIR	23
13	แสดงข้อมูลสเปกตรัมในรูปของสารสกัดที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIR	23
14	ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากผงเปลือกมังคุดด้านใน (mesocarp) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	24
15	ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากสารสกัดเปลือกมังคุดด้านใน (mesocarp) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	25
16	ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากผงเปลือกมังคุดด้านนอก (exocarp) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	25
17	ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากสารสกัดเปลือกมังคุดด้านนอก (exocarp) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	26
18	ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากผงเปลือกมังคุดรวมข้อมูลเปลือกด้านนอกและด้านใน (mesocarp + exocarp) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	26
19	ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากสารสกัดเปลือกมังคุด (mesocarp + exocarp) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้อินฟราเรดย่านใกล้	27

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
30	ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากเปลือกมังคุดสีเหลืองด้วยเทคนิค สเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	37
31	ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากเปลือกมังคุดสีม่วงแดงด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	37
32	ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากเปลือกมังคุดสีม่วงดำด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	38
33	ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากเปลือกมังคุดทั้ง 3 สีรวมกันด้วยเทคนิค สเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	38