



รายงานการวิจัย เรื่อง

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมังคุดและมะขามป้อมด้วยเทคนิค
สเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

Rapid method development for phenolic compounds in the fruits of mangosteen and
malacca tree using near infrared spectroscopy

ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเรื่อง

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพของผลิตผลการเกษตร และผลิตภัณฑ์
อาหารอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

Development in rapid methods to predict the properties of agricultural
produces and food products through near infrared spectroscopy

ผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ

รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณีต โอปนะโสภิต

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ปีที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2558



รายงานการวิจัย

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมังคุดและ มะขามป้อมด้วยเทคนิค
สเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

Rapid method development for phenolic compounds in the fruits of mangosteen and
malacca tree using near infrared spectroscopy

ภายใต้ชุดโครงการวิจัยเรื่อง

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพของผลิตผลการเกษตร และผลิตภัณฑ์
อาหารอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้
Development in rapid methods to predict the properties of agricultural
produces and food products through near infrared spectroscopy

ผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ
รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณีต โอปนะโสภิต

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2558

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของชุดโครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพของผลิดผลการเกษตร และผลิตภัณฑ์อาหารอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้” ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2555-2556 จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การพัฒนาวิธีการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมังคุดและ
มะขามป้อมด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

ชื่อผู้วิจัย 1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ (หัวหน้าโครงการ)
2. รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณีต โอปนะโสภิต (ผู้ร่วมวิจัย)

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2555 และ 2556 สถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2558

ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์

สาขาวิชา เกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มวิชาอุตสาหกรรมเกษตร

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้เทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS) ในการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในมังคุดและมะขามป้อม โดยวัดสเปกตรัมของมังคุดในรูปแบบทั้งผล น้ำมังคุดและสารสกัดด้วยเมทานอล และวัดสเปกตรัมมะขามป้อมวัดในรูปแบบทั้งผลและสารสกัดด้วยเมทานอลในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 800-2500 นาโนเมตร ผลการศึกษาพบว่าการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเปลือกมังคุด น้ำมังคุดและผลมะขามป้อมด้วย NIRS ยังมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการนำไปใช้งานจริง แต่การใช้ NIRS ในการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดด้วยเมทานอลให้ผลการทำนายที่น่าพอใจ โดยสมการที่ดีที่สุดการทำนายค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในช่วง 499-4,656 และ 360-4,200 mg GAE/L สำหรับสารสกัดจากเปลือกมังคุดและมะขามป้อมมีค่า R^2 ค่า RMSECV และค่า Bias เป็น 0.98, 171 mg GAE/L, -0.676 mg GAE/L และ 0.97, 198 mg GAE/L, -1.12 mg GAE/L ตามลำดับ และ สมการที่ดีที่สุดการทำนายค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในช่วง 5-48 และ 6-67 mmol Trolox/L สำหรับสารสกัดจากเปลือกมังคุดและมะขามป้อมมีค่า R^2 ค่า RMSECV และค่า Bias เป็น 0.97, 2.0 mmol Trolox/L, - 0.003 mmol Trolox/L และ 0.97, 3.54 mmol Trolox/L และ 0.00 mmol Trolox/L ตามลำดับ

คำสำคัญ: เทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ สารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ มังคุด มะขามป้อม

Abstract

Research Title Rapid method development for phenolic compounds in the fruits of mangosteen and malacca tree using near infrared spectroscopy

Project Leader Assistant Professor Pramote Khuwijtjaru

Co-Researcher Associate Professor Praneet Opanasopit

Research Grants Research and Development Institute, Silpakorn University (FY 2011-2012)

Year of completion 2014

Type of research Applied research

Subjects (NRCT) Agriculture and Biology, Agro-Industry

The objective of this study was to evaluate the feasibility of near infrared spectroscopy (NIRS) for determination of phenolic compounds content and free radical scavenging capacity in fruits of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn) and malacca tree (*Phyllanthus emblica*). In this study, NIR spectra of mangosteen were measured in intact fruit, juice and methanolic extract while the NIR spectra of malacca tree fruit were measured in intact fruit and methanolic extract in a wavelength ranged from 800 to 2500 nm. Insufficient prediction performances were found for NIRS of intact fruit and juice of mangosteen and intact fruit of malacca tree while NIRS employing methanolic extracts resulted in reliable prediction. The best prediction models for total phenolic compound contents in the ranges 499-4,656 and 360-4,200 mg GAE/L for methanolic extracts of mangosteen peel and malacca gave R^2 , RMSECV, and Bias values of 0.98, 171 mg GAE/L, -0.676 mg GAE/L and 0.97, 198 mg GAE/L, -1.12 mg GAE/L, respectively while the best prediction models for free radical scavenging capacities in the ranges 5-48 and 6-67 mmol Trolox/L for methanolic extracts of mangosteen peel and malacca gave R^2 , RMSECV, and Bias values of 0.97, 2.0 mmol Trolox/L, - 0.003 mmol Trolox/L and 0.97, 3.54 mmol Trolox/L, 0.00 mmol Trolox/L, respectively.

Keywords: Analytical method, Phenolic compounds, Extraction, Mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn), Indian gooseberry (*Phyllanthus emblica*)

สารบัญเรื่อง

หน้าที่

กิตติกรรมประกาศ.....	ก
สารบัญเรื่อง.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1.....	1
1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
บทที่ 2.....	3
2.1 สารประกอบฟีนอลิก.....	4
2.2 มังคุด.....	8
2.3 มะขามป้อม	10
2.4 วิธีตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก	11
2.5 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ.....	13
2.6 เทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้.....	13
2.7 การใช้ NIRS ในการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการ ความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชั่น.....	20
บทที่ 3.....	23
3.1 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุด	23
3.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำมังคุด	26
3.3 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดเปลือกมังคุด.....	28
3.4 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของมะขามป้อม.....	30
3.5 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดมะขามป้อม	33

บทที่ 4	36
4.1 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุด	36
4.2 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูล อิสระของน้ำมังคุด	45
4.3 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูล อิสระของสารสกัดเปลือกมังคุด	57
4.4 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูล อิสระของมะขามป้อม	72
4.5 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูล อิสระของสารสกัดมะขามป้อม	86
บทที่ 5	99
5.1 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุด	99
5.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำมังคุด	99
5.3 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดเปลือกมังคุด	99
5.4 สรุปผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูล อิสระของมะขามป้อม	100
5.5 สรุปผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูล อิสระของสารสกัดมะขามป้อม	100
บรรณานุกรม	102
การเผยแพร่ผลงานวิจัย	110

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในอาหารที่มาจากพืชบางชนิด 5
2	การแบ่งกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก 6
3	คุณค่าทางด้านโภชนาการของมังคุด 9
4	การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด 14
5	แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชันด้วยค่า R 19
6	เกณฑ์การพิจารณาค่า RPD 19
7	การใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 23
8	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของมังคุดที่มีระดับความแตกต่างกัน 37
9	ค่าทางสถิติของสมการทำนายจากการใช้ NIRS 43
10	ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมังคุดรวมทุยี่ห้อยี่ที่ resolution 8 cm ⁻¹ 50
11	ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมังคุดรวมทุยี่ห้อยี่ที่ resolution 16 cm ⁻¹ 50
12	ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมังคุดยี่ห้อยี่ดอยคำที่ resolution 8 cm ⁻¹ 51
13	ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมังคุดยี่ห้อยี่ดอยคำที่ resolution 16 cm ⁻¹ 51
14	ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมังคุดยี่ห้อยี่เนเจอร์แซนโกลด์ที่ resolution 8 cm ⁻¹ 52
15	ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมังคุดยี่ห้อยี่เนเจอร์แซนโกลด์ที่ resolution 16 cm ⁻¹ 52
16	ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมังคุดยี่ห้อยี่ก้านันจุลที่ resolution 8 cm ⁻¹ 53
17	ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมังคุดยี่ห้อยี่ก้านันจุลที่ resolution 16 cm ⁻¹ 53
18	ความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากวิธีทาง NIR และค่าทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมังคุด ที่ resolution 8, 16 และ 32 cm ⁻¹ scantime 32 ที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมต่างๆ ของการ Cross validation 61
19	ค่าทางสถิติของสมการ calibration ในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีการเลือกแต่ละการปรับแต่งที่ resolution ต่างๆ ที่ดีที่สุดซึ่งมีการปรับปรุงสมการ calibration แล้วมาทำการ cross validation 62

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
20	ค่าการทำนายที่ได้จากวิธีทาง NIR (predict) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี(true) ของสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดเปลือกมังคุดที่ resolution 8, 16, 32 cm ⁻¹ scantime 32 64
21	ค่าการทำนายที่ได้จากวิธีทาง NIR (predict) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี (true) ของสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดเปลือกมังคุดที่ resolution 8, 16, 32 cm ⁻¹ scantime 32 ของสมการที่มีการปรับปรุงแล้ว 65
22	ความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากวิธีทาง NIR และค่าทางเคมีของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ที่ resolution 8, 16 และ 32 cm ⁻¹ scantime 32 ที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมต่างๆ 67
23	ค่าทางสถิติของสมการ calibration ในการหาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ที่มีการเลือกแต่ละการปรับแต่งที่ resolution ต่างๆ ที่ดีที่สุดซึ่งมีการปรับปรุงสมการ calibration แล้ว..... 68
24	ค่าการทำนายที่ได้จากวิธีทาง NIR (predict) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี (true) ของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ resolution 8, 16, 32 cm ⁻¹ scantime 32 70
25	ค่าการทำนายที่ได้จากวิธีทาง NIR (predict) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี(true) ของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมังคุดที่ resolution 8, 16, 32 cm ⁻¹ scantime 32 ของสมการที่มีการปรับปรุงแล้ว 71
26	ผลการวิเคราะห์ส่วนหัวของลูกมะขามป้อม 83
27	ผลการวิเคราะห์ส่วนฐานของลูกมะขามป้อม 83
28	ผลการวิเคราะห์ส่วนด้านข้างของลูกมะขามป้อม 84
29	ผลการวิเคราะห์ส่วนสารสกัดของลูกมะขามป้อม..... 84
30	ผลการสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแบบ cross validation ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm ⁻¹ 90

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้าที่
31	ผลการปรับปรุงการสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดมะขามป้อมแบบ cross validation ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm ⁻¹	92
32	การสร้างสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดมะขามป้อม แบบ cross validation ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm ⁻¹	64
33	ผลการปรับปรุงการสร้างสมการทำนายความสามารถในการต้าน อนุมูลอิสระแบบ cross validation ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm ⁻¹	96

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ตัวอย่างของสารกรดฟีนอลิก (a) กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids)	6
2 โครงสร้างทั่วไปของสารกลุ่มหลักของฟลาโวนอยด์	7
3 โครงสร้าง hydrolysable tannin (A) และ condensed tannin (B)	8
4 ลักษณะของผลมังคุด	9
5 ลักษณะของผลมะขามป้อม	11
6 องค์ประกอบของเครื่อง NIRS	15
7 รูปแบบการวัดสำหรับผลไม้ (1) Reflectance (2) Transmittance (3) Interactance	16
8 การวัดมังคุดทั้งผลด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้แบบ FT-NIR Spectrometer (MPA, Bruker Optik, Germany)	24
9 น้ำมังคุดสกัดเข้มข้น 100% (ก) ดอยคำ (ข) เนเจอร์แซนโกลด์ (ค) กำนันจุล (ง) เปลือก มังคุดผงแก้วเกษตร	26
10 การวัดสารสกัดด้วย NIR โหมด transreflectance	30
11 แทนวาทตัวอย่างของเครื่อง NIR	31
12 (a) ตำแหน่งการวัดของลูกมะขามป้อม (b) การวัดสเปกตรัมของลูกมะขามป้อมด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	32
13 การวัดส่วนสารสกัดด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	32
14 การวัดสารสกัดด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้	35
15 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม phenolic acids ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี HPLC	38
16 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม hydroxycinamates ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี HPLC	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
17	โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม flavonols ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี HPLC 40
18	ตัวอย่างสเปกตรัมของเปลือกมังคุด 41
19	ตัวอย่างเส้นสเปกตรัมของเปลือกมังคุดที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธี second derivative 42
20	ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง 43
21	ความสัมพันธ์ของปริมาณ Phenolic acids ที่วัดได้และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี First derivative 44
22	ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร Hydroxycinnamates ที่วัดได้และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี Second derivative 44
23	ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร Flavonols ที่วัดได้และค่าทำนายจาก NIRs โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี Second derivative+ Multiplicative scatter correction (MSC) 45
24	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างน้ำมังคุดจำนวน 120 ตัวอย่าง 46
25	กราฟเปรียบเทียบระหว่าง TPC กับ EC ₅₀ 46
26	สเปกตรัมของน้ำมังคุดเข้มข้นทั้ง 3 ปีห่อ จำนวน 120 ตัวอย่าง 47
27	สเปกตรัมของน้ำมังคุดเข้มข้นยี่ห้อดอยคำ จำนวน 40 ตัวอย่าง 48
28	สเปกตรัมของน้ำมังคุดเข้มข้นยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ จำนวน 40 ตัวอย่าง 48
29	สเปกตรัมของน้ำมังคุดเข้มข้นยี่ห้อกำนันจุล จำนวน 40 ตัวอย่าง 49

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้าที่
30 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้ในน้ำมั่งคุดยี่ห้อดอยคำและค่าทำนายจาก NIRs โดยใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง	54
31 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้ในน้ำมั่งคุดยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ และค่าทำนายจาก NIRs โดยใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง.....	54
32 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้ในน้ำมั่งคุดยี่ห้อก้านจูล และค่าทำนายจาก NIRs โดยใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง	55
33 ความสัมพันธ์ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ของน้ำมั่งคุดยี่ห้อดอยคำ และค่าทำนายจาก NIRs โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี MSC.....	55
34 ความสัมพันธ์ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ของน้ำมั่งคุดยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ และค่าทำนายจาก NIRs โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี SNV.....	56
35 ความสัมพันธ์ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ของน้ำมั่งคุดยี่ห้อก้านจูล และค่าทำนายจาก NIRs โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี 2°	56
36 การกระจายของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมังคุด 100 ตัวอย่าง	57
37 การกระจายค่าทางเคมีของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมังคุด 100 ตัวอย่าง	58
38 เปรียบเทียบลักษณะสเปกตรัมของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ได้จากการวัด NIR ที่ resolution 8, 16, 32 cm ⁻¹	59

สารบัญภาพ

ภาพที่	เนื้อหา	หน้าที่
39	ความสัมพันธ์ระหว่างความผิดพลาดในการทำนาย (%error) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมังคุดของสมการเดิมที่ไม่มีการปรับปรุงและสมการที่มีการปรับปรุงแล้ว ที่ (1) resolution 8 cm ⁻¹ , (2) resolution 16 cm ⁻¹ , (3) resolution 32 cm ⁻¹	63
40	ความสัมพันธ์ระหว่างความผิดพลาดในการทำนาย(%error) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ของสมการเดิมที่ไม่มีการปรับปรุงและสมการที่มีการปรับปรุงแล้ว ที่ (1) resolution 8 cm ⁻¹ , (2) resolution 16 cm ⁻¹ , (3) resolution 32 cm ⁻¹	69
41	การกระจายของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างมะขามป้อม จำนวน 120 ผล	72
42	การกระจายของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างมะขามป้อม จำนวน 120 ผล	73
43	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างมะขามป้อมทั้งหมด 120 ผล.....	74
44	เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนฐานของผลมะขามป้อม (a) resolution 8 cm ⁻¹ (b) resolution 16 cm ⁻¹	75
45	เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนฐานของผลมะขามป้อม (c) resolution 32 cm ⁻¹ (d) resolution 64 cm ⁻¹	76
46	เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนด้านข้างของผลมะขามป้อม (e) resolution 8 cm ⁻¹ (f) resolution 16 cm ⁻¹	77
47	เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนด้านข้างของผลมะขามป้อม (g) resolution 32 cm ⁻¹ (h) resolution 64 cm ⁻¹	78
48	เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนหัวของผลมะขามป้อม (i) resolution 8 cm ⁻¹ (j) resolution 16 cm ⁻¹	79
49	เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนหัวของผลมะขามป้อม (k) resolution 32 cm ⁻¹ (l) resolution 64 cm ⁻¹	80

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้าที่
50	เส้นสเปกตรัมของสารสกัดจากมะขามป้อม (m) resolution 8 cm ⁻¹ (n) resolution 16 cm ⁻¹ 81
51	เส้นสเปกตรัมของสารสกัดจากมะขามป้อม (o) resolution 32 cm ⁻¹ (p) resolution 64 cm ⁻¹ 82
52	ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมด ที่มีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีการอนุพันธ์อันดับสอง, resolution 16 cm ⁻¹ 85
53	ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของความสามารถใน การต้านอนุมูลอิสระที่ไม่มีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม, resolution 16 cm ⁻¹ 85
54	การกระจายค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัด จากมะขามป้อม 86
55	การกระจายค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัด จากมะขามป้อม 87
56	(1) เส้นสเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่งของสารสกัดจากมะขามป้อม และ (2) ส่วนขยายของเส้นสเปกตรัมของสารสกัดจากมะขามป้อม ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm ⁻¹ 88
57	ผลความคลาดเคลื่อนของการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดมะขามป้อม ที่ (1) Resolution 8 cm ⁻¹ (2) Resolution 16 cm ⁻¹ และ (3) Resolution 32 cm ⁻¹ 93
58	ผลความคลาดเคลื่อนของการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ที่ (1) Resolution 8 cm ⁻¹ (2) Resolution 16 cm ⁻¹ และ (3) Resolution 32 cm ⁻¹ 97

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ประเทศไทยเป็นแหล่งของพืชสมุนไพรที่มีความหลากหลายสูงซึ่งพืชจำนวนมากมีสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันนั้นช่วยป้องกันการเกิดโรคได้หลายชนิด และในปัจจุบันพืชหลายชนิด เช่น มังคุด มะขามป้อมได้ถูกนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ เช่น ในรูปของเครื่องดื่ม หรือแคปซูล เป็นต้น แต่ปริมาณสารประกอบเหล่านี้ในพืชมักจะมีค่าแปรปรวนสูงทั้งด้านของปริมาณและชนิดเนื่องจากปัจจัยต่างๆ ในระหว่างการเจริญเติบโตของพืช นอกจากนี้การวัดปริมาณของสารประกอบเหล่านี้โดยทั่วไปจะใช้วิธีทางเคมีซึ่งต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงเช่น HPLC อีกทั้งใช้ระยะเวลาในการตรวจวัดนาน ไม่เหมาะสมสำหรับการใช้ในการคัดเลือกวัตถุดิบเริ่มต้น (screening) ที่จะนำมาผลิต

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near infrared spectroscopy, NIRS) ได้ถูกนำมาใช้สำหรับการวิเคราะห์เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์อาหารเนื่องจากสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้โดยไม่ทำให้ตัวอย่างได้รับความเสียหาย และวิเคราะห์ผลได้อย่างรวดเร็วทั้งการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคในการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันแบบรวดเร็ว (rapid method) ด้วยเทคนิค NIRS ในพืชบางชนิดของไทยจึงเป็นปัญหาวิจัยที่น่าจะมีการศึกษาอย่างยิ่งเนื่องจากสามารถใช้เป็นเทคนิคในการคัดเลือเบื้องต้น (screening) ในการคัดเลือกวัตถุดิบที่จะนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น ยารักษาโรค หรืออาหารเพื่อสุขภาพรูปแบบต่างๆ ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อตรวจวัดสเปกตรัมของมังคุดและมะขามป้อมด้วยสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

1.2.2 เพื่อตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมังคุดและมะขามป้อมด้วยวิธีทางเคมี

1.2.3 เพื่อศึกษาการสร้างแบบจำลองที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบ

พีนอลิกในมังคุด และมะขามป้อมด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบฟีนอลิกในพืชแต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันไป ในปัจจุบันพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกที่ทราบโครงสร้างแน่นอนแล้วมากกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignins) คุณสมบัติของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน คือการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไฮดรอกซิลของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว

มังคุด และมะขามป้อมเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยวิตามิน สารประกอบฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณมาก ในเปลือกมังคุดมีสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญ ซึ่งได้แก่ แทนนิน และแซนโทน ในขณะที่ ผลมะขามป้อมนั้นมีวิตามินซีสูง และมีความคงตัวมาก รวมถึงมีแทนนินด้วย ด้วยเหตุนี้ จึงมีการนำผลไม้ทั้งสองชนิดนี้มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพออกจำหน่ายมากมาย โดยส่วนมากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกมักใช้วิธี HPLC หรือวิธี Folin - Ciocalteu reagent ในขณะที่การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระก็จะนิยมใช้วิธี DPPH, ABTS, และ FRAP เป็นต้น ซึ่งวิธีที่กล่าวมานี้มีข้อจำกัดตรงที่ต้องวิเคราะห์โดยการทำลายตัวอย่าง ใช้นาน ใช้สารเคมีจำนวนมาก อีกทั้งสารเคมีที่ใช้ยังเป็นอันตรายต่อผู้วิเคราะห์ จึงมีแนวคิดที่จะนำวิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้มาใช้ เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารได้รวดเร็ว และยังเป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่างอีกด้วย

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้เป็นเทคนิคที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจพืชผักผลไม้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้อาศัยคุณสมบัติของเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้นี้มาทำการตรวจวิเคราะห์ในเชิงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุด, ผลิตภัณฑ์จากมังคุดซึ่งก็น้ำมังคุด, มะขามป้อม และสารสกัดจากมะขามป้อม

2.1 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่ได้จากเมทาบอลิซึมลำดับที่สองจากอนุพันธ์ของเพนโทส ฟอสเฟต (pentose phosphate) ชิคิเมท (shikimate) และวิถีฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid pathways) ในพืช (Shahidi และคณะ, 2004) สารประกอบนี้มีคุณประโยชน์ต่อสุขภาพมาก กล่าวคือ สารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยังสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ รวมถึงมีความสามารถด้านการกลายพันธุ์ได้อีกด้วย สารประกอบฟีนอลิกพบได้ทั่วไปในอาหารที่มาจากพืช ซึ่งปริมาณที่พบนั้นก็จะเป็นไปตามชนิดของพืชด้วยเช่นกัน ดังตารางที่ 1

สารประกอบฟีนอลิก เป็นกลุ่มของสารเคมีที่ประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, OH) 1 หมู่หรือมากกว่า เกาะอยู่กับวงแหวนอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และมีการแทนที่หมู่ในตำแหน่ง ออโท (ortho) เมทา (meta) และ พารา (para) การแทนที่ของหมู่แทนที่ในตำแหน่งต่างๆ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีโครงสร้างแตกต่างกันไปตามตารางที่ 2 สารประกอบฟีนอลิกมีตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์เช่น ลิกนิน (lignin) ในขณะที่กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบก็คือสารประกอบพอลิฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

2.1.1 กรดฟีนอลิก (Phenolic acids)

ประกอบด้วยกลุ่มย่อย ได้แก่ กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) และ กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก ประกอบด้วย กรดแกลลิก (gallic acid) กรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิก (p-hydroxybenzoic acids) กรดโพรโทแคเทอจิก (protocatechuic acid) และกรดวานิลลิก (vanillic acid) ซึ่งสารเหล่านี้ด้านข้างโครงสร้างวงแหวนอะโรมาติกต่อกับคาร์บอน 1 อะตอม (C6-C1) กรดไฮดรอกซีซินนามิก คือ สารประกอบอะโรมาติกโดยมีสามคาร์บอนที่ด้านข้างสาย (C6-C3) ได้แก่ กรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) กรดพาราคูเมอริก (p-coumaric acid) และ กรดซินาปิก (sinapic acids) ดังภาพที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในอาหารที่มาจากพืชบางชนิด

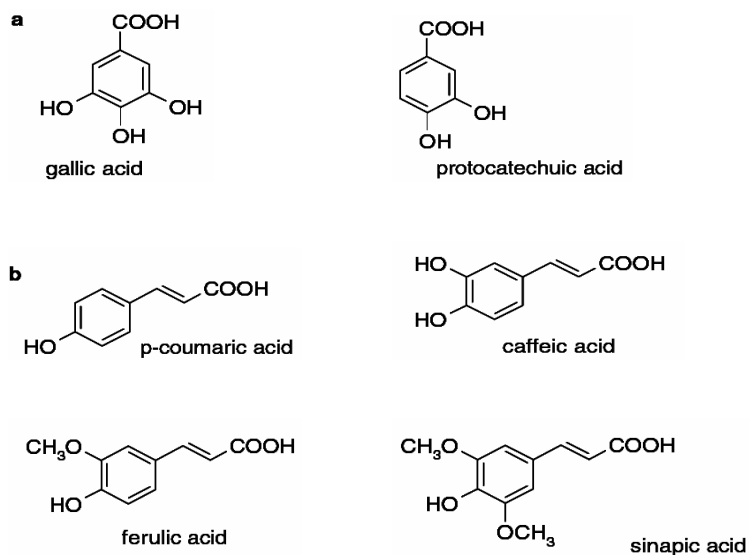
อาหาร	สารประกอบฟีนอลิก	ปริมาณ (%)
ข้าวฟ่าง	พอลิฟีนอล เช่น (คาเทชิน)	0.01-7.45
ข้าวฟ่าง (finger millet)	คอนเดนส์แทนนิน เช่น (คาเทชิน)	0.04-3.47
แป้งข้าวสาลี	กรดฟีนอลิก (ทั้งอิสระและรวมกับสารอื่น)	0.0105-0.0134
ข้าวโพด	แทนนิน	0.00-0.01
ถั่วเหลือง	กรดฟีนอลิก	0.00119-0.00355
แป้งถั่วเหลือง	กรดฟีนอลิก	0.0234
ชิกพี (chick pea)	แทนนิน	0.51-0.85
ถั่วพุ่ม (cow pea)	แทนนิน	0.46-0.76
ถั่วเขียว (mung bean)	แทนนิน	1.32-1.55
ผลไม้ (แอปเปิ้ล สาลี่)		
- เปลือก	ฟลาโวนอยด์	0.02
- เนื้อ	ฟลาโวนอยด์	0.0002-0.001
ผัก	ฟลาโวนอยด์	0.0002-0.4000
พริก (paprika)	ฟลาโวนอยด์	0.0033-0.0205
พืชเครื่องเทศ	ฟลาโวนอยด์	0.007-0.2
ใบชาสด	คาเทชิน	20.0
ใบหมี้ยง (fermented tea leaves)	คาเทชิน	3.0
เมล็ดโกโก้	คาเทชิน	3.0
	ลิวโคแอนโทไซยานิน	2.5
เมล็ดกาแฟ	กรดคลอโรจีนิค	6-8
เมล็ดกาแฟคั่ว	กรดคลอโรจีนิค	4-5

ที่มา: Dostalova และ Pokorny (1995)

ตารางที่ 2 การแบ่งกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

Class	Structure
Simple phenolics, benzoquinones	C ₆
Hydroxybenzoic acids	C ₆ -C ₁
Acetophenones, phenylacetic acids	C ₆ -C ₂
Hydroxycinnamic acids, phenylpropanoids	C ₆ -C ₃
(coumarins, isocoumarins, chromones, chromenes)	
Napthoquinones	C ₆ -C ₄
Xanthones	C ₆ -C ₁ -C ₆
Stilbenes, anthraquinones	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoids, isoflavonoids	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignans, neolignans	(C ₆ -C ₃) ₂
Biflavonoids	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Lignins	(C ₆ -C ₃) _n
Condensed tannins (proanthocyanidins or flavolans)	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

ที่มา: Balasundram และคณะ (2006)



ภาพที่ 1 ตัวอย่างของสารกรดฟีนอลิก (a) กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids)

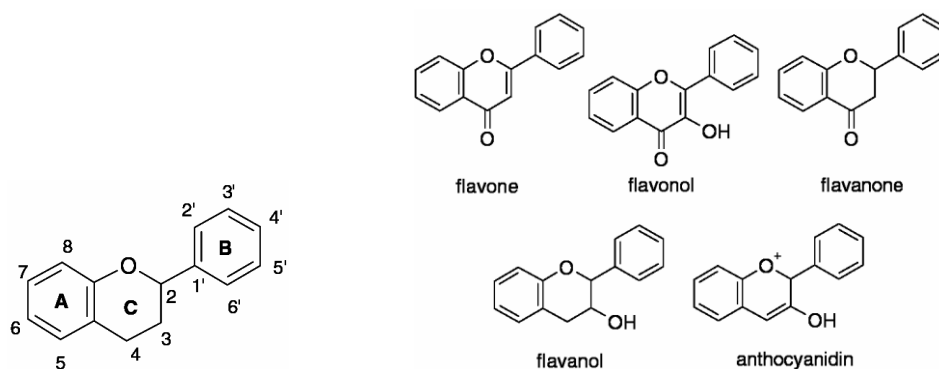
(b) กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids)

ที่มา: Balasundram และคณะ (2006)

2.1.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่จัดเป็นกลุ่มใหญ่ที่พบในพืช มีมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลต่ำ ประกอบด้วย 15 คาร์บอน จัดเรียงโครงสร้างกันด้วย C6-C3-C6 (ภาพที่ 2) โครงสร้างที่จำเป็นต้องประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก A และ B และเชื่อมต่อกันด้วย 3 คาร์บอน โดยปกติแล้วจะอยู่ในรูปของวงแหวนเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic ring) C รูปแบบการจัดเรียงตัวที่หลากหลายนของวงแหวน C ทำให้ฟลาโวนอยด์แบ่งเป็นกลุ่มหลักๆ คือ ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาวานอล (flavanols หรือ catechins) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) และ แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ซึ่งฟลาโวนและฟลาโวนอลสามารถพบได้อย่างกว้างขวางมากที่สุด

การแทนที่ในวงแหวน A และ B ทำให้สารประกอบที่ได้มีความหลากหลายภายในแต่ละกลุ่มของฟลาโวนอยด์ ได้แก่การแทนที่ด้วย ออกซิเจน หมู่แอลคิล ไกลโคไซด์ เอซิล และหมู่ซัลเฟต

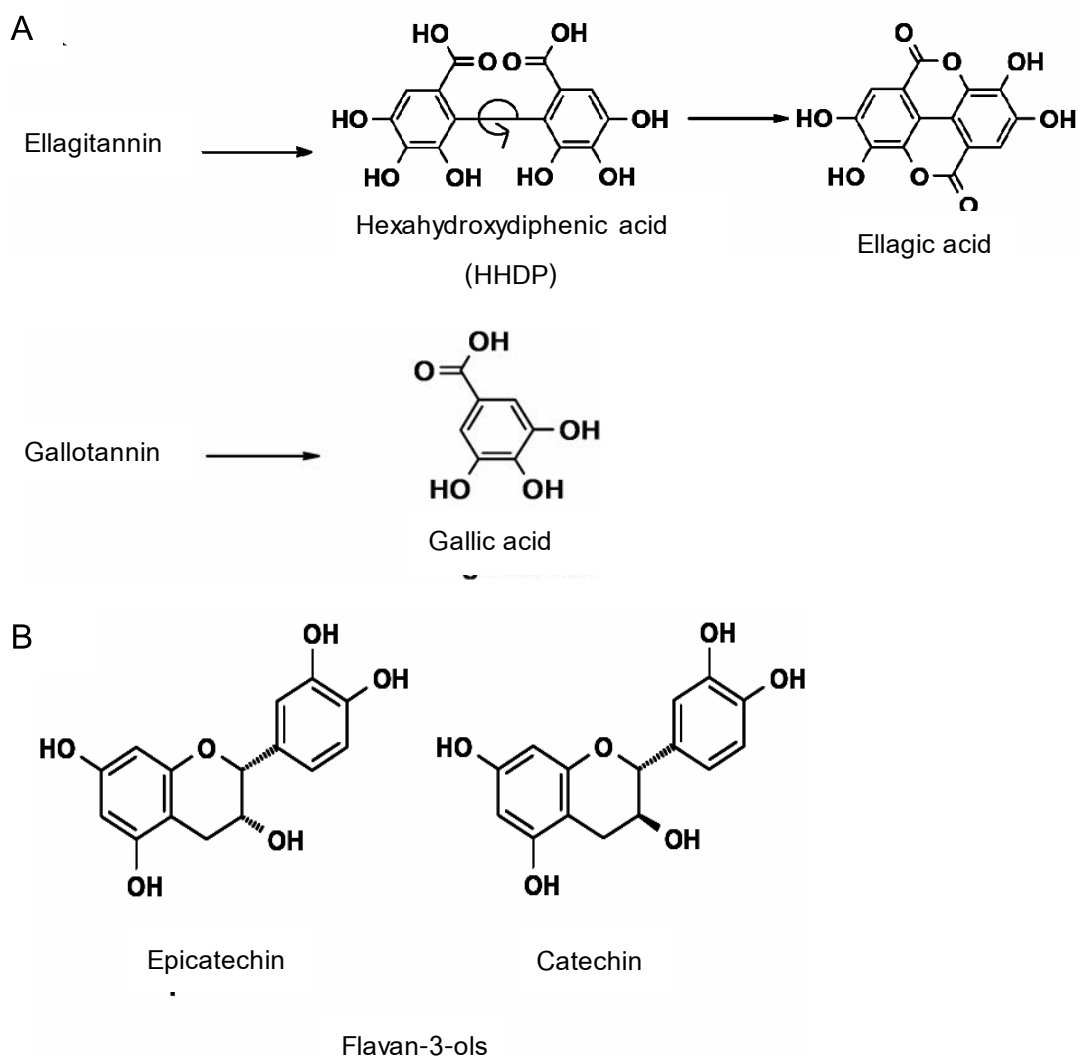


ภาพที่ 2 โครงสร้างทั่วไปของสารกลุ่มหลักของฟลาโวนอยด์

ที่มา: Balasundram และคณะ (2006)

2.1.3 แทนนิน (Tannins)

เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญในกลุ่มที่สามแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้คือ hydrolysable tannin และ condensed tannin การพหุรวมของเอสเทอร์ของกรด แกลลิก (gallo and ellagi-tannins) ต่อมารู้จักในชื่อโพรแอนโทไซยานินส์ (proanthocyanidins) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของพอลิไฮดรอกซีฟลาวานสามไฮดรอกซี (polyhydroxyflavan-3-ol) (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 โครงสร้าง hydrolysable tannin (A) และ condensed tannin (B)

ที่มา: Hagerman (2002)

2.2 มังคุด

มังคุดเป็นผลไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ชอบอากาศร้อนชื้น ภาคใต้เป็นแหล่งปลูกมังคุดที่ใหญ่ที่สุดในประเทศไทย สามารถผลิตมังคุดที่มีคุณภาพ (ภาพที่ 4)

เนื้อมังคุดมีคุณค่าทางอาหารสูงโดยเฉพาะ โพแทสเซียม โปรตีน เส้นใย วิตามินซี ฟอสฟอรัส แคลเซียมและแมกนีเซียม เนื้อมังคุดยังประกอบด้วยคุณค่าทางโภชนาการของธาตุอาหารอื่นๆจำนวนมากดังแสดงในตารางที่ 3



ภาพที่ 4 ลักษณะของผลมังคุด

ที่มา: <https://www.flickr.com/photos/tiddlywinker/3089168080/>

(วันที่สืบค้นข้อมูล: 12 เมษายน 2557)

ตารางที่ 3 คุณค่าทางด้านโภชนาการของมังคุด

ธาตุอาหาร	ส่วนประกอบของธาตุอาหารต่อ 100 กรัม		ธาตุอาหาร	ส่วนประกอบของธาตุอาหารต่อ 100 กรัม	
พลังงาน	34	กิโลแคลอรี	ฟอสฟอรัส	13	มิลลิกรัม
ความชื้น	87.6	เปอร์เซ็นต์	เหล็ก	1	มิลลิกรัม
โปรตีน	0.6	กรัม	โซเดียม	7	มิลลิกรัม
ไขมัน	1	กรัม	โพแทสเซียม	45	มิลลิกรัม
คาร์โบไฮเดรต	5.6	กรัม	วิตามินบี 1	0.03	มิลลิกรัม
เส้นใย	5.1	กรัม	วิตามินบี 2	0.03	มิลลิกรัม
เถ้าถ่าน	0.1	กรัม	ไนอะซิน	0.3	มิลลิกรัม
แคลเซียม	7	มิลลิกรัม	วิตามินซี	4.2	มิลลิกรัม
			(แอสคอร์บิกเอซิด)		
แมกนีเซียม	13	มิลลิกรัม			

ที่มา: สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (2544)

2.2.1 สารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุด

มังคุดจัดเป็นยาสมุนไพรซึ่งถูกนำมาใช้ในการรักษาอาการต่างๆ จากตำรับยาแผนโบราณระบุว่าเปลือกของมังคุดมีฤทธิ์ในการแก้ท้องเสียได้ เป็นยาสมานแผล แก้แผลเปื่อยพุพองและติดเชื้อได้ โดยมีการศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุด พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด มีฤทธิ์ในการต่อต้านแบคทีเรียได้หลายชนิด มีความสามารถในการต้านการอักเสบต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเกิดก้อนเนื้อได้อีกด้วย การศึกษาทางพิษวิทยาเคมี แสดงให้เห็นว่าเปลือกมังคุดมีองค์ประกอบเคมีในกลุ่มฟลูฟิโนลิก ซึ่งส่วนใหญ่มีสูตรโครงสร้างแบบที่เป็นอนุพันธ์ของแซนโทน (xanthone derivatives) เช่น แอลฟา, เบต้า, และแกมมาแมงโกสติน (α -, β - and γ -mangostin), การ์ทีนิน (gartinin), วัน-แอน ทรี-ไอโซแมงโกสติน (1- and 3-isomangostin), และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อื่นๆ (Deachathai และคณะ, 2005; Jung และคณะ, 2006) โดยสารที่มีปริมาณมากและมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีคือ แอลฟา-แมงโกสติน (α -mangostin) ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการต่อต้านแบคทีเรียมากที่สุด (Punjabratheep และคณะ, 2007)

ในปัจจุบันมีการศึกษาถึงประโยชน์จากสารสำคัญที่มีอยู่ในเปลือกมังคุด และมีการศึกษามากมายที่ชี้ให้เห็นถึงประโยชน์ของสารแซนโทนที่มีในเปลือกมังคุด แซนโทนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) คือสารที่ทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในส่วนต่างๆ ของร่างกาย นอกจากร่างกายสามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้เองตามที่กล่าวข้างต้นแล้ว ในวิตามิน แร่ธาตุ และสารจากผักและผลไม้ก็พบสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ด้วย แซนโทนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่แรงพบได้มากในเปลือกมังคุด นอกจากนี้จากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารแซนโทนจึงสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของ LDL จึงช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular disease)

2.3 มะขามป้อม

มะขามป้อม (malacca หรือ Indian Gooseberry) มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Phyllanthus emblica* Linn. (ภาพที่ 5) มะขามป้อมเป็นผลไม้เพื่อสุขภาพเนื่องจากมีสารต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะวิตามินซีและสารประกอบฟีนอลิกสูงมาก นิยมนำมะขามป้อมเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารเสริมและเครื่องสำอาง และยังใช้เป็นยารักษาโรคบางชนิดได้อีกด้วย มะขามป้อมนั้นอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิดที่ประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น วิตามินเอ วิตามินบี 3 วิตามินซี ธาตุแคลเซียม ธาตุฟอสฟอรัส ธาตุเหล็กและยังประกอบไปด้วย คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ใยอาหาร เป็นต้น ใน

ประเทศไทยพบว่ามะขามป้อมจะมีช่วงการให้ผลผลิตแตกต่างกันไปตามสภาพท้องถิ่น ในเขตภาคใต้ช่วงการให้ผลผลิตจะอยู่ในช่วงเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนืออยู่ในช่วงเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน และบนดอยสูงที่อากาศหนาวเย็นในจังหวัดเชียงใหม่จะเก็บผลได้ในช่วงเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม (สุพนิดา และคณะ, 2553)



ภาพที่ 5 ลักษณะของผลมะขามป้อม

ที่มา: <http://biogaliaonline.es/amla/> (วันที่สืบค้นข้อมูล: 12 เมษายน 2557)

2.3.1 สรรพคุณและองค์ประกอบทางเคมีของมะขามป้อม

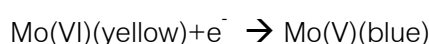
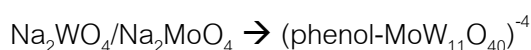
องค์ประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในผลมะขามป้อม คือวิตามินซี และแทนนิน โดยพบแทนนินอยู่ทุกส่วนของต้น โดยเฉพาะที่ผลมีแทนนินพวก gallotannins และ ellagic tannin ซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษในการช่วยรักษาความเสถียรของวิตามินซีให้คงคุณภาพได้นานแม้จะถูกแปรรูปโดยการดองหรือทำผง ผลดิบของมะขามป้อมมีแทนนินสูงถึงร้อยละ 8-35 ในขณะที่เปลือกมีแทนนินอยู่ร้อยละ 8-24 ส่วนที่ใบมีอยู่ประมาณร้อยละ 22-28 แทนนินในมะขามป้อมเป็นสารสำคัญที่เป็นยารักษาโรคต่างๆ เช่น โรคในระบบหัวใจ ระบบทางเดินอาหารแผลในลำไส้ ลดไขมันและน้ำตาลในเลือด กระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต (สุพนิดา และคณะ, 2553)

2.4 วิธีตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สามารถทำได้โดยการใช้เทคนิค Spectroscopy หรือ เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ก็ได้

2.4.1 Folin-Ciocalteu Assay

วิธีนี้ใช้สารเคมีคือ Folin–Ciocalteu Reagent (FCR) เป็นเทคนิค spectroscopy ที่นิยมใช้ในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในพวกสารสกัดจากผักและผลไม้ โดยวิธีนี้จะให้ตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ Folin–Ciocalteu Reagent และ โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate) การเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบ คือ Mo(VI) ซึ่งมีสีเหลือง แต่เมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันแล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ Mo(V) ซึ่งมีสีน้ำเงิน สามารถติดตามได้ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร



ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดนิยมนำมาคำนวณเป็นหน่วยของมิลลิกรัมของคาเทชิน (catechin) กรดแกลลิก (gallic acid) หรือ กรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) ต่อน้ำหนักของตัวอย่าง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกราฟของสารมาตรฐานที่สร้างขึ้นในการทดลอง ข้อดีของวิธีนี้ คือ สะดวก รวดเร็ว ง่าย มีค่าใช้จ่ายน้อย ส่วนข้อเสียคือสาร Folin–Ciocalteu reagent ไม่มีความจำเพาะ ทำให้มีการรบกวนในการวิเคราะห์ จากสารอื่น ๆ ได้โดยเฉพาะอย่างยิ่ง พวกน้ำตาล สารประกอบอะโรมาติกเอไมด์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ กรดแอสคอร์บิก ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีการประเมินตามวิธี Folin–Ciocalteu สูงกว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่วิเคราะห์โดย HPLC (Singleton และ Rossi, 1999)

2.4.2 Aluminum Chloride Colorimetric assay

วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้อะลูมิเนียมคลอไรด์ละลายในเมทานอลเนื่องจากฟลาโวนอยด์มีความไวและมีความจำเพาะในการทำปฏิกิริยากับโลหะ การทดสอบนี้อาศัยการรวมกันของฟลาโวนอยด์และอะลูมิเนียมเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ฟลาโวนอยด์อะลูมิเนียม (flavonoid-aluminium complex) และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 430 นาโนเมตร (Chen และคณะ 2012)

2.4.3 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดย HPLC ถือว่าเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับการนิยมนับเป็นอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำ รวมถึงสามารถแยกและวิเคราะห์สารได้แม้จะมีสารนั้นอยู่ในสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์เพียงปริมาณเล็กน้อย สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดย HPLC นิยมใช้เครื่องตรวจวัดชนิด UV detector โดยเฉพาะแบบ Photo-diode array detector เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกประเภทต่างๆมีความสามารถในการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นแสงแตกต่างกัน ซึ่งในการวิเคราะห์

ครั้งหนึ่งๆนั้น เครื่องตรวจวัด Photo-diode array detector นี้สามารถตรวจวัดสารพร้อมกันในหลายๆความยาวคลื่นแสง ดังนั้น จึงทำให้การวิเคราะห์เป็นไปอย่างรวดเร็วและยังสามารถระบุประเภทของสารประกอบฟีนอลิกนั้นๆได้อีกด้วย

2.5 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical assay เป็นเทคนิคที่นิยมใช้วิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารที่สนใจ โดยอนุมูล DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่มีความคงตัวสูง มีสีม่วง เมื่ออยู่ในรูปของสารละลาย ตัวสารจะอยู่ในสภาพที่เป็นอนุมูลอิสระอยู่แล้ว สำหรับในการวิเคราะห์นั้น จะเป็นการวัดความสามารถของสารที่ต้องการทดสอบว่ามีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิดนี้ได้มากน้อยเพียงใด โดยถ้าหากสารที่เราสนใจนั้นมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดี ก็จะทำให้สารละลายซึ่งมีสีม่วงมีสีจางลง และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 517 นาโนเมตรลดลง โดยความสามารถกำจัดอนุมูลอิสระนี้จะแปรผกผันกับค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารตัวอย่างนิยมรายงานเป็นค่า 50% effective concentration หรือ EC_{50} ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ 50% สำหรับการหาค่า EC_{50} สามารถทำได้โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %Remaining DPPH กับความเข้มข้นของสารที่สนใจ อย่างไรก็ตาม % Remaining DPPH สามารถคำนวณได้ตามสมการดังต่อไปนี้

$$\% \text{ Remaining DPPH} = \left(\frac{Abs_{\text{sample}}}{Abs_{\text{control}}} \right) \times 100$$

2.6 เทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

สเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ หรือ NIRS เป็นการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIR radiation) กับสสาร สสารที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับรังสีอินฟราเรดย่านใกล้คือสสารโมเลกุลประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจน (X-H) อะตอม X ได้แก่ C, O, N ฯลฯ อันตรกิริยาดังกล่าวคือการที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไป ซึ่งจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆในโมเลกุล ระดับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ของสารที่มีความยาวคลื่นต่างๆจะปรากฏในสเปกตรัม NIR เพื่อนำไปประมวลผลในการวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพต่อไป (ศุมาพร, 2545)

อันตรกิริยา คือ การที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไป ซึ่งจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆ ในโมเลกุล มีทั้งระดับการสั่นแบบโอเวอร์โทนและระดับการสั่นแบบคอมบิเนชัน ระดับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้ของสสารที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIR เพื่อนำไปประมวลผลในการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ การดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดของโมเลกุลสารอินทรีย์ช่วงคลื่นอินฟราเรดสามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 ช่วง ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด

ช่วงคลื่น	ช่วงความยาวคลื่น (nm)	เลขคลื่น (cm^{-1})
อินฟราเรดย่านใกล้ (Near IR, NIR)	800-2500	12800-4000
อินฟราเรดย่านกลาง (Mid IR, fundamental IR)	2500-50000	4000-200
อินฟราเรดย่านไกล(Far IR)	50000-1000000	200-10

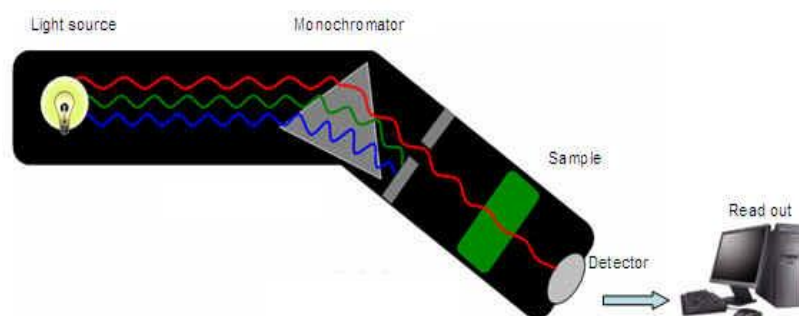
ที่มา:ดัดแปลงจาก นิพนธ์ (2545)

การสั่นของพันธะในลักษณะต่างๆจะมีการดูดกลืนพลังงานที่เป็นเฉพาะเนื่องจากโมเลกุลหนึ่งๆมีพันธะได้หลายแบบซึ่งแต่ละพันธะก็มีรูปแบบการสั่นได้อีกหลายรูปแบบทำให้โมเลกุลหนึ่งๆจะแสดงการดูดกลืนแสง NIR ได้หลายช่วงคลื่นพร้อมกันลักษณะการดูดกลืนแสงจะเกิดเป็นแถบ (band) หรือพีก (peak) แสดงถึงพลังงานคลื่นแสง NIR ที่ถูกดูดกลืน ทั้งนี้มีนักวิจัยได้ทำการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการทะลุผ่านของแสงสองช่วงความยาวคลื่นกับเนื้อแอปเปิลและพบว่ารังสีอินฟราเรดย่านใกล้มีความสามารถทะลุผ่านเข้าไปในเนื้อแอปเปิลได้ลึกกว่ารังสีอินฟราเรดย่านไกล (Lammertyn และคณะ, 2000) ดังนั้น เมื่อต้องการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารที่อยู่ลึกลงไปในเนื้อ เช่น ต้องการวิเคราะห์หาองค์ประกอบภายในเนื้อผลไม้ด้วยการวัดผลไม้ทั้งลูก งานลักษณะนี้ควรเลือกใช้รังสีอินฟราเรดย่านใกล้

2.6.1 หลักการทำงานของเครื่อง NIRS

หลักการทำงานของเครื่อง NIRS คือ แสงจากแหล่งให้พลังงานแสง (light source) ที่มีการกระจายของแสงและควบคุมด้วยระบบโมโนโครมาเตอร์ (monochromator) ให้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการแล้วส่งผ่านไปยังตัวอย่าง (sample) และวัดปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้

ด้วยอุปกรณ์สำหรับตรวจวัด (detector) และแปลงเป็นสัญญาณส่งเข้าสู่ส่วนประมวลผล (read out) ด้วยโปรแกรม (แสดงในภาพที่ 6) ให้ออกมาในรูปแบบที่ผู้ใช้สามารถนำค่านั้นไปใช้ได้แล้วบันทึกผลด้วยคอมพิวเตอร์โดยจะบันทึกปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้เทียบกับความยาวคลื่นต่างๆ แล้วนำมาจับคู่กับค่าการวิเคราะห์



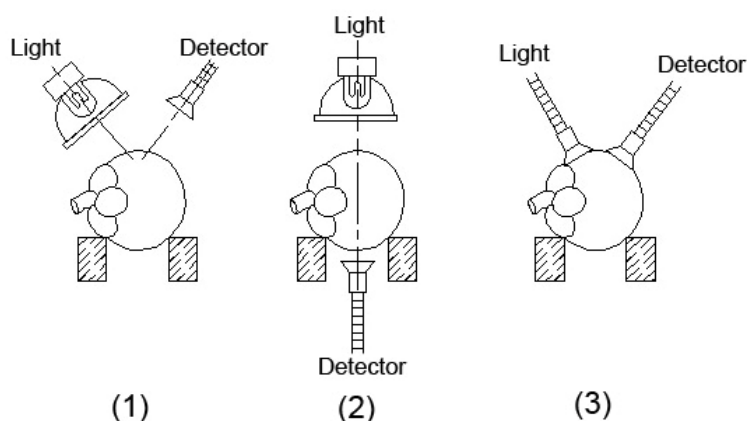
ภาพที่ 6 องค์ประกอบของเครื่อง NIRS

ที่มา: Osborne และคณะ, 1993

2.6.2 รูปแบบในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

เทคนิคที่ใช้ในการวัดหรือรูปแบบในการวัดเพื่อให้ได้ข้อมูลการดูดกลืนพลังงานแสงของตัวอย่างมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี ส่วนการเลือกใช้นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างที่จะทำการวัด สำหรับผลไม้ไม่มีวิธีการวัด 3 แบบได้แก่ วิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ (reflectance), ทะลุผ่าน (transmittance) และการสะท้อนกลับด้วยหัววัดชนิดไฟเบอร์ออปติก (interactance) (ภาพที่ 7) การเดินทางของแสงออกจากแหล่งกำเนิดแสงผ่านบรรยากาศไปยังผลไม้หรือแสงเดินทางผ่านท่อนำแสง (fiber optic cable) ไปยังผลไม้ก็ได้ ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น การเลือกใช้วิธีวัดแบบไหนนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของผลไม้ ตัวอย่างเช่น ถ้าต้องการตรวจวัดคุณภาพภายในของเนื้อผลไม้ ซึ่งเป็นผลไม้ที่มีเปลือกหนา การวัดด้วยวิธี reflectance ไม่เหมาะสมเพราะแสงจะทะลุเข้าไปในผลไม้ได้เพียงประมาณ 5 มิลลิเมตรเท่านั้น ซึ่งอาจจะเข้าไปไม่ถึงส่วนที่เป็นเนื้อของผลไม้ เว้นเสียแต่จะเป็นผลไม้เปลือกบางหรือมีวัตถุประสงค์ที่จะตรวจสอบองค์ประกอบของเปลือกก็สามารถใช้การวัดแบบ reflectance ได้ สำหรับการวัดแบบ transmittance และ interactance ซึ่งเหมาะสมสำหรับการตรวจวัดคุณภาพภายในเนื้อผลไม้มากกว่า แต่ก็มีข้อจำกัดเหมือนกันเนื่องจากต้องใช้แสงที่มีความเข้มสูง นั่นก็หมายความว่าต้องใช้หลอดไฟที่มีกำลังวัตต์สูง ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดความร้อนสูงขณะทำการวัด และความร้อนที่เกิดขึ้นนี้อาจทำให้เกิดความเสียหายต่อผลไม้ที่ทำการวัดได้

นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องขนาดของผลไม้ด้วยเช่นกัน จากการที่ผลไม้แต่ละชนิดมีขนาดและรูปร่างลักษณะแตกต่างกันทำให้ต้องออกแบบเครื่องมือที่ใช้ตรวจวัดให้เหมาะสมสำหรับผลไม้แต่ละชนิด



ภาพที่ 7 รูปแบบการวัดสำหรับผลไม้ (1) Reflectance (2) Transmittance (3) Interactance
ที่มา: สนธิสุข (2554)

2.6.3 หลักการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม (ปานมนัส, 2556)

การปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน (standard normal variate, SNV) เป็นวิธีที่มักใช้คู่กับการปรับแนวโน้มของเส้นสเปกตรัมโดยใช้การปรับแก้ด้วย SNV แล้วจึงตามด้วยการปรับแก้แนวโน้มหรือการลดความโน้มเอียงเส้นสเปกตรัม เพื่อปรับแก้ผลที่เกิดจากการกระเจิงแสงที่มักส่งผลเป็นแบบผลคูณต่อค่าการดูดกลืนแสง โดยผลที่ได้จะมีลักษณะคล้ายกับการปรับแก้แบบ MSC แต่ต่างกันตรงที่ไม่ต้องใช้สเปกตรัมอ้างอิง ผลที่ได้จากการปรับแนวโน้มคือ ช่วยเน้นให้ยอดของสเปกตรัมมีความเด่นชัดขึ้น

การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (Multiplicative scatter correction, MSC) เป็นเทคนิคทาง คณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้นมาเพื่อลดผลที่เกิดจากการกระเจิงแสง (scattered light) ต่อสเปกตรัม NIR ที่ได้จากการวัดในแบบต่างๆ การกระเจิงแสงต่อสเปกตรัม NIR ที่ได้จากการวัดแบบสะท้อนกลับ โดยทั่วไปการกระเจิงแสงจะทำให้ความชันโดยรวมของสเปกตรัมเปลี่ยนไป โดยสเปกตรัมที่ได้จะหมุนเข้ามาใกล้สเปกตรัมเฉลี่ยมากขึ้น รูปร่างของสเปกตรัมที่ได้มีลักษณะไม่แตกต่างเดิมมากนัก ซึ่งเมื่อใช้การปรับแต่งข้อมูลในกลุ่ม Calibration ก็ต้องใช้กับกลุ่มที่จะนำมาประเมินค่าทางเคมีในอนาคตด้วย การใช้ MSC นั้นใช้ได้ดีกับสเปกตรัมของตัวอย่างที่มีค่าทางเคมี

เหมือนกันและสเปกตรัมมีรูปร่างลักษณะเหมือนกัน แต่ถ้ารูปร่างสเปกตรัมแตกต่างกันมากการใช้ MSC ก็ไม่ได้ช่วยให้ผลการวิเคราะห์ดีขึ้น

อนุพันธ์อันดับหนึ่ง (First derivative, D) คำนวณอนุพันธ์ลำดับที่หนึ่ง สัญญาณที่มีความชันจะถูกเน้นมากกว่าสัญญาณที่ค่อนข้างแบนราบ วิธีนี้จะถูกใช้เน้นลักษณะที่ชัดเจน แต่มีค่าน้อยเมื่อเทียบกับโครงสร้างที่มีแถบการดูดซับคลื่นที่กว้าง การประยุกต์ใช้ที่สำคัญอีกอย่างหนึ่ง คือ การประเมินแถบการดูดซับคลื่นที่กว้างนี้มักจะทำในเทคโนโลยี NIRS โดยการคำนวณอนุพันธ์ โครงสร้างเหล่านี้จะมีรูปร่างที่สูงชันขึ้น ซึ่งสามารถได้รับการประเมินได้ง่ายขึ้น เมื่อใช้อนุพันธ์เป็น การจัดการข้อมูลเบื้องต้น จะต้องคำนึงถึงว่าสัญญาณรบกวนจะถูกจัดการเช่นกัน สิ่งนี้จะซ้อนทับบนสเปกตรัมเป็นสิ่งแวดล้อมเพิ่มเติม และสามารถทำให้สัญญาณของตัวอย่างลดลง

อนุพันธ์อันดับสอง (second derivative, D²) ช่วยลดผลกระทบจากการกระเจิงแสง เป็นการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมที่มีการเลือนตัวในแนวแกน y และเกิดการหมุนทำให้ค่าความยาวคลื่นสูงมีค่าเบี่ยงเบนกว่าที่ความยาวคลื่นต่ำ ทำการเปลี่ยนแปลงความชันของสเปกตรัม โดยสเปกตรัมที่ได้จะมีรูปร่างที่แตกต่างจากสเปกตรัมเริ่มต้น โดย จะมีการทำ Derivative อีกครั้ง โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการทำ First Derivative จะมีจุดยอดที่เป็นบวกในด้านซ้ายและด้านขวาของจุดยอดในสเปกตรัมปกติ ส่วนจุดยอดตรงกลางจะอยู่ในด้านตรงข้าม (ซึ่งเป็นค่าลบ) ที่สูงสุดและตรงกับจุดยอดเริ่มต้น โดยการคำนวณหา Second Derivative สามารถคำนวณได้จากสูตร

Vector Normalization ขั้นแรกสเปกตรัมจะถูกหาสเปกตรัมกลาง จากนั้นผลรวมของค่า ยกกำลังสองของค่า Y ทั้งหมดจะถูกคำนวณ และสเปกตรัมใดๆจะถูกหารด้วยค่ารากที่สองของผลรวมนี้ สิ่งนี้เรียกว่า vector norm ของสเปกตรัมที่ได้จะเท่ากับ 1 เสมอ ในหลักการสเปกตรัมจะประกอบด้วยสองส่วนของข้อมูล คือความสูงของแถบการดูดซับและโครงสร้าง หลังจากการ นอร์มัลไลเซชัน (Normalization) ข้อมูลความสูงจะหายไป; มีเพียงโครงสร้างข้อมูลยังคงอยู่ การ นอร์มัลไลเซชัน (Normalization) ถูกใช้เพื่อ เช่นการกำจัดผลกระทบของเส้นทางผ่านเชิงแสง (Optical Path Length) ที่แตกต่างกัน ในกรณีของการวัดแบบส่องผ่าน ความยาวของเส้นทางผ่านเชิงแสงทำให้ความสูงของสัญญาณเปลี่ยนแปลง แต่โครงสร้างยังเหมือนเดิม ในทำนองเดียวกันการ วัดแบบสะท้อนแบบแพร่จะมีผลกระทบของการรบกวนเนื่องจากความหนาแน่นของวัสดุแตกต่างกันหรือขนาดอนุภาคแตกต่างกัน สิ่งเหล่านี้ก็จะลดลง

Min-Max-Normalization (สำหรับสเปกตรัมการดูดซับคลื่น) สเปกตรัมจะถูกขยายเชิงเส้น เพื่อให้ค่า Y ที่ต่ำสุดมีค่าเท่ากับศูนย์ แล้วสเปกตรัมจะถูกขยายเพื่อให้ค่า Y สูงสุดเท่ากับสองหน่วยของการดูดซับคลื่น เทียบได้กับการปรับแต่งด้วยวิธี Vector Normalization

2.6.4 ค่าทางสถิติในการพิจารณาประสิทธิภาพของสมการทำนาย

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ หรือ R-Square: R^2 สามารถหาค่าได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$R^2 = \frac{SSR}{SST} \quad (2.2)$$

$$SST = SSR + SSE \quad (2.3)$$

โดยที่ $SST = \sum (y_i - \bar{y})^2$
 SSE (ผลรวมของกำลังสองของความคลาดเคลื่อน) $= \sum (y_i - \hat{y}_i)^2$
 SSR คือ ค่าความคลาดเคลื่อนเนื่องจากการถดถอย $= \sum (\hat{y}_i - \bar{y})^2$
 y_i เป็นค่าที่ได้จากข้อมูล
 $\hat{y}$ เป็นค่าที่ได้จากสมการถดถอย
 $\bar{y}$ เป็นค่าเฉลี่ยของ y_i

ค่าความคลาดเคลื่อน (Root mean square error of calibration, RMSEC)

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i^{mean} - Y_i^{pred})^2}{n - 2}} \quad (2.4)$$

ค่า Bias: เป็น ผลต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ห้ลบด้วยค่าที่ได้จากการสร้างสมการทำนายตัวอย่าง ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าน้อย

$$Bias = \bar{d} = \frac{\sum d_i}{n_v} \quad (2.5)$$

โดยที่ d_i เป็นค่าความแตกต่างระหว่างค่าคุณลักษณะทางเคมีที่ได้จากการทำนายด้วยสมการทำนายกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน
 n_v เป็นจำนวนตัวอย่างในชุดข้อมูลสำหรับตรวจสอบสมการ

ค่าทางสถิติ RPD (Ratio of standard error of performance to standard Deviation) ซึ่งเป็นสัดส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทางเคมีและค่า SEP ของตัวอย่างในกลุ่มที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการแคลิเบรชัน

Williams (2001) ได้เสนอการแปรผลค่า R^2 และ ค่าทางสถิติ RPD หรือ Ratio of standard error of performance to standard Deviation ซึ่งเป็นสัดส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทางเคมีและค่า SEP ของตัวอย่างในกลุ่มที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการแคลิเบรชันและค่าสถิติ R ไว้ในตารางที่ 5 และ 6 ตามลำดับ

ตารางที่ 5 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการแคลิเบรชันด้วยค่า R

ค่า R	ความสามารถของสมการแคลิเบรชัน
0.5	ไม่ควรใช้ในสมการทำนาย (Not usable)
0.51-0.70	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ (poor correlation)
0.71-0.80	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (rough screening)
0.81-0.90	การทำนายเพื่อแบ่งระดับปริมาณ หรือ ปริมาณค่าเบื้องต้น (screening)
0.91-0.95	การทำนายเพื่องานวิจัย (research) และงานทั่วไป
0.96-0.98	การทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (quality assurance)
0.99 ขึ้นไป	ทุกงาน (any application)

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Williams (2001)

ตารางที่ 6 เกณฑ์การพิจารณาค่า RPD

RPD Value	ความสามารถของกระบวนการ
0.0-2.3	ไม่ควรใช้ในการทำนาย
2.4-3.0	ความสัมพันธ์ไม่ดี
3.1-4.9	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ
5.0-6.4	การทำนายเพื่องานวิจัย
6.5-8.0	การทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ
8.1>	ทุกงาน

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Williams (2001)

2.7 การใช้ NIRS ในการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการ ความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชัน

การใช้ NIRS เพื่อทำนายองค์ประกอบสำคัญๆ ในอาหารได้รับการศึกษาและนำไปประยุกต์ใช้จริงในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวาง เช่น การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมัน เป็นต้น แต่การใช้ NIRS เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งมักจะมีในปริมาณน้อยนั้นยังมีการศึกษาไม่มากนัก และได้รับความสนใจมากในปัจจุบันเนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารประกอบฟีนอลิกนั้นมีความยุ่งยาก การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์อย่างรวดเร็วหรือใช้สารเคมีลดลงจึงมีประโยชน์อย่างยิ่ง การศึกษาการใช้ NIRS เพื่อทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีทั้งแบบทำนายค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากวิธี Folin-Ciocalteu เช่น Frizon และคณะ (2015) ใช้ NIRS ในการทำนายค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในใบ yerba mate ซึ่งทำให้สามารถจำแนกแหล่งที่มาของวัตถุดิบได้ หรือการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดโดยวิธี HPLC เช่น Ferrer-Gallego และคณะ (2011) ศึกษาการวัดปริมาณฟีนอลิก 4 กลุ่มในเปลือกองุ่น ได้แก่ flavanols, flavonols, phenolic acids, anthocyanins และ total phenolic compounds โดยวิธี HPLC ซึ่งพบว่าการวัดด้วย NIRS จากตัวอย่างผลองุ่นทั้งผลให้ประสิทธิภาพในการทำนายค่าที่ดีมากกว่าการวัดจากเปลือกองุ่นที่แยกออกมาแล้ว ส่วน Martelo-Vidal และ Vázquez (2014) พบว่า NIRS สามารถใช้ทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดในไวน์ได้เป็นอย่างดี

นอกจากนี้ความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชัน (antioxidant) เป็นคุณสมบัติสำคัญอย่างหนึ่งของอาหารที่ผู้บริโภคให้ความสนใจซึ่งการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชันสามารถทำได้โดยใช้วิธี colorimetry ต่างๆ เช่น DPPH, ABTS หรือ FRAP assay เป็นต้น Zhang และคณะ (2004) พบว่า NIRS สามารถใช้วิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชัน โดยวิธี ABTS assay ในใบชา โดยมีค่าความแม่นยำใกล้เคียงกัน Wu และคณะ (2012) ได้ศึกษาการทำนายค่าความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชันโดยตัวบ่งชี้ 3 ตัวคือ DPPH, FRAP หรือ ABTS assay ในสารสกัดใบไผ่พบว่า NIRS ให้ค่าทำนายที่ดี โดยมีค่า R เป็น 0.863, 0.910 และ 0.966 ตามลำดับ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chen และคณะ (2012) ซึ่งพบว่า NIRS สามารถทำนายค่า DPPH assay ในใบชาเขียวได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยมีค่า R เป็น 0.9691 นอกจากนี้แล้วยังมีการนำเทคนิค NIRS ไปประยุกต์ใช้ในการทำนายสารประกอบฟีนอลิกกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในแหล่งวัตถุดิบอื่นๆอีกมากมาย ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตัวอย่าง	ค่าทางเคมี	wavelength (nm)	Pretreatment	ค่าทางสถิติ	อ้างอิง
เมล็ดข้าวกล้อง	TPC	208.3-1785.7, 1666.6-1562.5	SNV, smoothing และ	$R^2 = 0.962$, RMSEP = 0.062	Fu และคณะ (2014)
	DPPH	2272.7-1923.1, 1666.6-1562.5	second derivative	$R^2 = 0.974$, RMSEP = 0.141	
เมล็ดข้าวฟ่าง	TPC	400-2500	first derivative และ	$R^2 = 0.97$, SEC = 1.03	Dykes และคณะ (2014)
	tannins		second derivative	$R^2 = 0.93$, SEC = 3.93	
พริกหยวก	ascorbic acid content	477-950	first derivative และ	$R^2 = 0.76$, RMSECV = 16.3	Ignat และคณะ (2012)
			second derivative		
ผิวองุ่น	anthocyanins	1100-2000	MSC และ SNV	$r = 0.974$, SEP = 0.36	Ferrer-Gallego และคณะ (2011)
	phenolic acids			$r = 0.947$, SEP = 0.04	
สารสกัดจากใบไผ่	total flavonoids	833.3-2500	first derivative, second	$R^2 = 0.9418$, RMSE = 3.91	Lu และคณะ (2011)
	total phenolic acids		derivatives, Norris derivative และ Savitzky-Golay filters	$R^2 = 0.9535$, RMSE = 3.61	
เมล็ดข้าว	phenolics	1100-2498	MSC และ SNV	$R^2 = 0.94$, SECV = 19.81	Zhang และคณะ (2008)
	flavonoids			$R^2 = 0.44$, SECV = 10.99	
	ABTS			$R^2 = 0.92$, SECV = 0.10	
ไวน์แดง	TPC	400-2500	second derivative	$R^2 = 0.80$, SECV = 31.5	Cozzolino และ คณะ (2004)
	tannins			$R^2 = 0.83$, SEC = 116.1	

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุด

3.1.1 วัตถุดิบ

มังคุดที่ใช้ในการศึกษาในการทดลองนี้ซื้อมาจาก อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยคัดเลือกมังคุดให้มีหลากหลายระดับความอ่อนแก่ ซึ่งดูได้จากสีมังคุด คือสีเขียวคืออ่อน สีแดงคือแก่ปานกลาง สีม่วงคือแก่มาก เพื่อให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีค่ากระจาย และเลือกขนาดผลที่ใกล้เคียงกันมากที่สุด นำมาเช็ดทำความสะอาด จากนั้นนำแต่ละผลไปชั่งน้ำหนัก

3.1.2 อุปกรณ์

- เครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้แบบ FT-NIR Spectrometer (MPA, Bruker Optik, Ettlingen, Germany)
- เครื่อง HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japan)
- เครื่อง spectrophotometer (10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)
- เครื่องแยกสารแบบหมุนเหวี่ยง (RC6 superspeed, Sorvall, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)
- เครื่องปั่นผสม (homogenizer) (UltraTurrax T25 Basic, IKA, Germany)

3.1.3 สารเคมี

- เมทานอล (Lab-Scan, Bangkok, Thailand)
- กรดแกลลิก (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)
- กรดคาเฟอิก (Sigma-Aldrich)
- รูทีน (Sigma-Aldrich)
- สาร Folin-Ciocalteu Reagent (Merck, Darmstadt, Germany)
- สารโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) (Ajax, New South Wales, Australia)
- น้ำกลั่น (Better Syndicate, Bangkok, Thailand)

3.1.4 ขั้นตอนการนำผลมังคุดมาทำการวัดสเปกตรัม

เริ่มจากกำหนดความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร วัดด้วยระบบแบบแสงสะท้อนกลับ ใช้ resolution ซึ่งคือค่าความสามารถในการแยกพีคที่เครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้จะ ใช้การสแกนเท่ากับ 16 cm^{-1} และใช้ sample scan time คือ จำนวนครั้งของการสแกนตัวอย่าง เท่ากับ 64 ครั้ง เพราะตัวอย่างเป็นของแข็ง จากนั้นนำ sample holder หรือ แท่นวางตัวอย่าง วาง ตรงบริเวณที่ช่องแสงส่องของเครื่อง NIRS จากนั้นจึงนำผลมังคุดที่ผ่านการแช่ทำความสะอาด และทิ้งไว้อุณหภูมิห้องปรับอากาศ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แบ่งผลมังคุดเป็น 2 ฝั่ง คือ ซ้ายและขวา ทำการวัดสเปกตรัมด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ทั้งสองด้าน โดย วิธีการวางผลมังคุดแสดงดังภาพที่ 8 แล้วบันทึกค่าสเปกตรัมเก็บไว้เพื่อใช้วิเคราะห์ผล จากนั้นนำ มังคุดไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส เพื่อรอสกัดและวิเคราะห์ค่าทางเคมีต่อไป



เครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้
แบบ FT-NIR Spectrometer

คอมพิวเตอร์ประมวลผล

ภาพที่ 8 การวัดมังคุดทั้งผลด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้แบบ

3.1.5 การเตรียมวัตถุดิบก่อนการสกัด

นำมังคุดมาหั่นแยกเป็น 2 ส่วนคือ ซ้ายและขวา ตามที่ทำการวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง สเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ จากนั้นแยกเอาส่วนที่เป็นเนื้อทิ้งไปเก็บไว้แต่เปลือก แล้วทำการ หั่นเปลือกแต่ละส่วนให้มีขนาดเล็ก จากนั้นจึงนำเปลือกที่หั่นแล้วไปปั่นผสมด้วยเครื่องปั่นผสม (homogenizer) เพื่อให้ได้เนื้อที่ละเอียดผสมเข้ากันดีไว้นำไปสกัดต่อไป

3.1.6 การสกัดเปลือกมังคุด (Ju และ Howard, 2005)

ซึ่งเปลือกมังคุดที่บดละเอียดแล้วปริมาณ 0.5 กรัม ใส่ในขวดสีชา จากนั้นเติมเมทานอล เข้มข้นร้อยละ 60 (v/v) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วนำขวดสีชาที่มีตัวอย่างอยู่วางในอ่างน้ำอัลตราโซนิกตั้งอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเริ่มให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึงที่ตั้งไว้ โดยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสใช้เวลาประมาณ 10 นาที แล้วจึงเริ่มจับเวลา เมื่อครบ 1 ชั่วโมง นำขวดสีชาออกจากอ่างน้ำอัลตราโซนิก รอให้เป็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องแยกสารแบบหมุนเหวี่ยงที่ 5000 x g เป็นเวลา 10 นาที เทเอาส่วนที่เป็นของเหลวออกมา จากนั้นนำไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางเคมี

3.1.7 การวัดคุณสมบัติทางเคมี

- วิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างเริ่มต้น (AOAC, 1990) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 1)
- วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu method (Maisuthisakul และคณะ, 2007) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 2)
- วิเคราะห์ปริมาณสาร phenolic acids, hydroxycinnamates และ flavonols โดยการฉีดสารสกัดเข้าเครื่อง HPLC (Ju และ Howard, 2005) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 3)

3.1.8 การสร้างสมการทำนายค่า

นำค่าทางเคมีที่ทำการวิเคราะห์ได้ และสเปกตรัมที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้มาสร้างสมการทำนายค่าด้วยโปรแกรม OPUS Version 7.0 โดยปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

- Vector Normalization นำค่าคำนวณค่าเฉลี่ยของเส้นสเปกตรัมและนำมาลบออกจากค่าของเส้นสเปกตรัมเดิมจากนั้นนำผลที่ได้มายกกำลังสองหารด้วยรากที่สองของผลนั้น
- Min-max Normalization ทำการลบค่าที่แตกต่างจากกลุ่มและกำหนดค่า y ที่มากที่สุดเป็น 2 เท่าจากผลคูณของค่าคงที่
- Multiplicative Scatter Correction ทำการเฉลี่ยค่าสเปกตรัมทั้งหมดจากนั้นทำการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมให้มีความเข้ากันมากที่สุด
- First Derivative หาอนุพันธ์อันดับหนึ่ง
- Second Derivative หาอนุพันธ์อันดับสอง

จากนั้นจึงสร้างสมการด้วยเทคนิคการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (Partial Least Square Regression; PLS) และแบบ full cross validation เลือกสมการทำนายโดยพิจารณาจากค่า R^2 , RMSECV และ Bias

3.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมังคุด

3.2.1 วัตถุดิบ

- น้ำมังคุดสำเร็จรูปสกัดเข้มข้น 100% ยี่ห้อ เนเจอร์แซนโกลด์ บริษัท ทาโกฟู้ดส์อินดัสทรี จำกัด ซื้อมาจากร้านจินดาพรรณ อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร

- น้ำมังคุดสำเร็จรูปสกัดเข้มข้น 100% ยี่ห้อกำนันจุล บริษัท ไร่นายจุล คูนวงศ์ 442 หมู่ที่ 3 ต.สามัคคีชัย ต.วังชมภู อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67210 ซื้อมาจากร้านไร่นายจุล จ.เพชรบูรณ์

- น้ำมังคุดสำเร็จรูปสกัดเข้มข้น 100% ยี่ห้อดอยคำ บริษัท ดอยคำผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด เลขที่ 173 ถนนราชสีมา แขวงดุสิต เขตดุสิต กทม. ซื้อมาจากร้านผลิตภัณฑ์โครงการหลวง ดอยคำ อ.เมือง จ.นครปฐม

- เปลือกมังคุดผง 100% ยี่ห้อแก้วเกษตร ซื้อมาจากร้าน 41/802 อาคารทวีบุญ หมู่ 7 ต.คลองสาม อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

ภาพตัวอย่างทั้ง 4 ชนิดแสดงในภาพที่ 9



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 9 น้ำมังคุดสกัดเข้มข้น 100% (ก) ดอยคำ (ข) เนเจอร์แซนโกลด์ (ค) กำนันจุล (ง) เปลือกมังคุดผงแก้วเกษตร

3.2.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ED 224S, Sartorius, Göttingen, Germany)
- เครื่อง Spectrophotometer (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific)
- เครื่อง magnetic stirrer
- เครื่องปั๊มสุญญากาศ

- เครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้แบบ FT-NIR Spectrometer (MPA, Bruker Optik)

3.2.3 สารเคมี

- กรดแกลลิก (Sigma-Aldrich)
- สาร Folin-Ciocalteu Reagent (Merck)
- สารโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) (Ajax)
- Methanol 99.9% (Merck)
- สาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich)
- น้ำกลั่น (Better Syndicate)

3.2.4 การเตรียมน้ำมั่งคุดผสมเปลือกมั่งคุดสกัดด้วย 80% เมทานอล

ซึ่งเปลือกมั่งคุดผง 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 และ 0.7 กรัม ลงในขวดสีชา ปิดเต้าน้ำมั่งคุดเข้มข้น 100% 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในผงเปลือกมั่งคุดที่เตรียมไว้และเติมสารละลาย 80 % เมทานอล ปริมาตร 7 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปั่นผสมด้วย magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปเหวี่ยงแยกส่วนที่เป็นตะกอนและส่วนใสออกจากกันด้วยเครื่องแยกสารแบบหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำสารสกัดมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ด้วยเครื่องปั๊มสุญญากาศ แยกเก็บส่วนใสในขวดสีชา แล้วนำตะกอนที่ได้ไปสกัดซ้ำที่สองในสภาวะเดียวกัน นำส่วนใสที่สกัดในครั้งที่ 1 และ 2 ผสมกันแล้วปรับปริมาตรด้วย 80 % เมทานอลให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียสเพื่อใช้เป็น stock solution

3.2.5 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี

- วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin–Ciocalteu method (Maisuthisakul และคณะ, 2007) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 2)
- วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity) โดยใช้ DPPH assay (ดัดแปลงจาก Brand-Williams และคณะ, 1995) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 4)

3.2.6 ขั้นตอนการวัดสเปกตรัมจากน้ำมั่งคุด

นำน้ำมั่งคุดผสมผงเปลือกมั่งคุดทั้งหมด 8 ความเข้มข้น ทั้ง 3 ยี่ห้อ จำนวน 120 ตัวอย่าง ที่ผ่านการสกัดแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เทลงใน Petri dish และใช้ reflector วางทับโดยห้ามให้เกิดฟองอากาศ จากนั้นนำ Petri dish วางบริเวณช่องส่องแสงของเครื่อง FT-NIR Spectrometer จากนั้นเริ่มการวิเคราะห์โดยกำหนดความยาวคลื่นที่ 800 -

2500 นาโนเมตร ใช้ resolution 8 และ 16 cm^{-1} ค่า scan time เท่ากับ 32 ใช้วิธีการวัดแบบ transfectance

3.2.7 ขั้นตอนของการสร้างสมการทำนายค่า

นำค่าทางเคมีที่ทำการวิเคราะห์ได้ และสเปกตรัมที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้มาสร้างสมการทำนายค่าด้วยโปรแกรม OPUS Version 7.0 โดยปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ตามการทดลองในข้อ 3.1.8

3.3 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมังคุด

3.3.1 วัตถุประสงค์

- ผงเปลือกมังคุดของบริษัทพีพีพี อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
เพื่อใช้ในการสร้างสมการทำนาย (calibration)
- ผงเปลือกมังคุดของกลุ่มวังไพรพฤษภา
เพื่อเป็นชุดตัวอย่างในการทำนาย (predict) ค่าทางเคมี จากสมการ calibration ที่สร้าง

3.3.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ED 2278, Sartorius)
- เครื่องแยกสารแบบหมุนเหวี่ยง (rc6, Sorvall)
- เครื่อง Spectrophotometer (Genesys 10s UV, Thermo Scientific)
- เครื่อง rotary evaporator (RV 10 digital, IKA)
- เครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้แบบ FT-NIR Spectrometer (MPA, Bruker

Optik)

3.3.3 สารเคมี

- สาร gallic acid (Sigma-Aldrich)
- สารFolin-Ciocalteu Reagent (Merck)
- สารโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) (Ajax Finechem)
- absolute Methanol (Merck)
- สาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich)
- สาร 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox)

(Sigma-Aldrich)

3.3.4 การสกัดผงเปลือกมังคุดเพื่อใช้ในการสร้างสมการการทำนาย (ดัดแปลงจาก Zaderowski และคณะ, 2009)

นำผงเปลือกมังคุดของบริษัทพีพีพี อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ปริมาณ 25 กรัม มาสกัดด้วย 80% เมทานอล ปริมาณ 75 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมงในที่มืด โดยใช้ magnetic stirrer กวนตลอดเวลา เมื่อครบ 1 ชั่วโมงแล้วจึงกรองผงเปลือกมังคุดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยใช้ปั๊มสุญญากาศ นำผงเปลือกมังคุดที่ผ่านการกรองมาสกัดต่อด้วย 80% เมทานอล 75 mL อีก ทำเช่นนี้จนครบ 6 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดไประเหยตัวทำละลายออก ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้ rotary evaporator จนกระทั่งปริมาณสารสกัดลดลงไปประมาณครึ่งหนึ่ง จากนั้นนำสารสกัดไปทำการแยกตะกอนออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 rpm 30 นาที แล้วจึงกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 จากนั้นจึงเจือจางสารสกัดจากผงเปลือกมังคุด โดยดูดสารสกัดเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวดสีชา ความเข้มข้นละ 10 ข้าง จากนั้นปรับปริมาตรแต่ละขวดด้วย 80% เมทานอล ให้ได้ปริมาตรสุทธิ 4 มิลลิลิตร รวมตัวอย่างเท่ากับ 100 ตัวอย่าง

3.3.5 การสกัดสารเพื่อเป็นชุดตัวอย่างในการทำนาย

นำผงเปลือกมังคุดของกลุ่มวังไพรพฤษภา มาสกัดเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 3.3.4 เมื่อได้สารสกัดจากเปลือกมังคุดแล้ว จากนั้นจึงเจือจางสารสกัด โดยดูดสารสกัด ปริมาตร 0.2, 0.6, 1, 1.4, 1.8 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวดสีชา ความเข้มข้นละ 5 ข้าง จากนั้นปรับปริมาตรแต่ละขวดด้วย 80% เมทานอล ให้ได้ปริมาตรสุทธิ 4 มิลลิลิตร รวมตัวอย่างเท่ากับ 25 ตัวอย่าง

3.3.6 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี

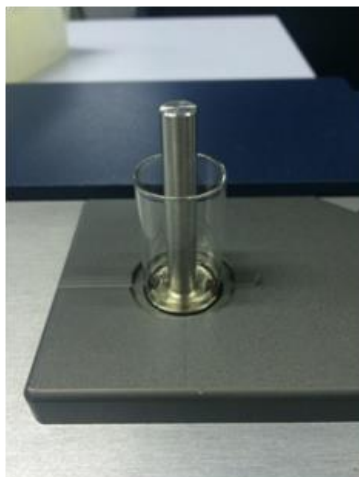
- วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin–Ciocalteu method (Maisuthisakul และคณะ, 2007) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 2)

- วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity) โดยใช้ DPPH assay (Enujiugha และคณะ, 2012) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 5)

3.3.7 ขั้นตอนการวัดสเปกตรัมจากสารสกัดเปลือกมังคุด

วัดสเปกตรัมโดยใช้เครื่อง NIRS และกำหนดความยาวคลื่นที่ 800 - 2500 นาโนเมตร ใช้ค่าความละเอียด (resolution) เท่ากับ 8, 16 และ 32 cm^{-1} และจำนวนครั้งของการสแกนตัวอย่าง (scan time) เท่ากับ 32 ใช้วิธีการวัดแบบ transreflectance โดยนำสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่

ใน vial ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร วาง reflector ลงใน vial วัดสารสกัดด้วยโหมด transfectance เลขคลื่น 12500 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} (800-2500 nm) ดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 การวัดสารสกัดด้วย NIRS โหมด transfectance

3.3.8 ขั้นตอนของการสร้างสมการทำนายค่า

นำค่าทางเคมีที่ทำการวิเคราะห์ได้ และสเปกตรัมที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้มาสร้างสมการทำนายค่าด้วยโปรแกรม OPUS Version 7.0 โดยปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ตามการทดลองในข้อ 3.1.8

3.4 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของมะขามป้อม

3.4.1 วัตถุประสงค์

ผลมะขามป้อมสดซื้อจากเกษตรกรในจังหวัดกาญจนบุรีและชุมพร โดยทำการเก็บมะขามป้อมจากการซื้อให้มีหลากหลายระดับความอ่อนแก่ เพื่อให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระที่มีค่ากระจาย

3.4.2 อุปกรณ์

- เครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ (MPA, Bruker Optik)
- เครื่อง spectrophotometer (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific)
- เครื่องแยกสารแบบหมุนเหวี่ยง (RC6 superspeed, Sorvall, Thermo Scientific)

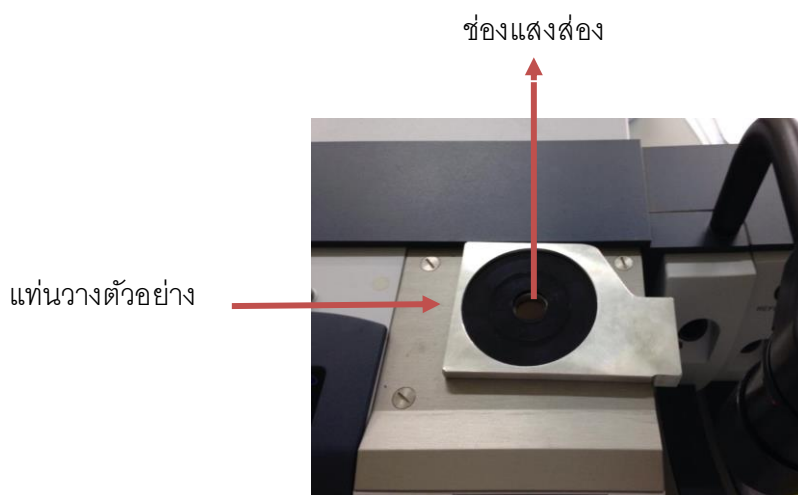
- เครื่องปั่นผสม (homogenizer) (รุ่น A11/B, IKA)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (WB22, Memmert)

3.4.3 สารเคมี

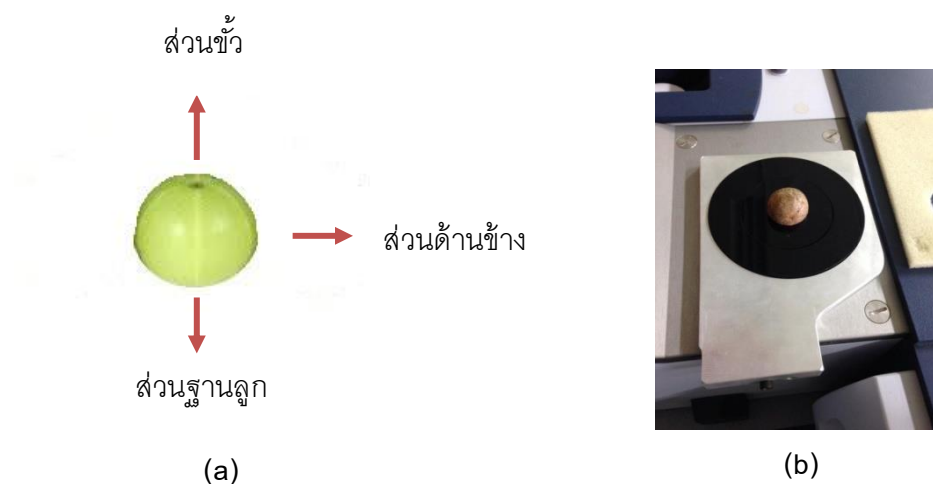
- Methanol (99.9%, Merck)
- Folin-Ciocalteu reagent (100%, Merck)
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma-Aldrich)

3.4.4 ขั้นตอนการวัดสเปกตรัมจากผลมะขามป้อม

กำหนดความยาวคลื่นในช่วง 800-2500 nm กำหนดวิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ (reflectance) ใช้ค่าความละเอียด (resolution) ในการแยกพีคที่เครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรด ย่านใกล้เท่ากับ 8, 16, 32 และ 64 cm^{-1} และใช้ ซึ่งหมายถึงจำนวนครั้งของการสแกนตัวอย่าง (sample scan time) เท่ากับ 64 ครั้ง จากนั้นนำ sample holder (แท่นวางตัวอย่าง) วางตรงบริเวณที่ช่องแสงส่องของเครื่อง NIRS (ภาพที่ 11) แล้วนำผลมะขามป้อมที่ผ่านการแช่ทำความสะอาดและวางในตู้บ่มที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการวัดสเปกตรัมจำนวน 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ส่วนหัว ส่วนฐานลูก และส่วนด้านข้าง ดังภาพที่ 12

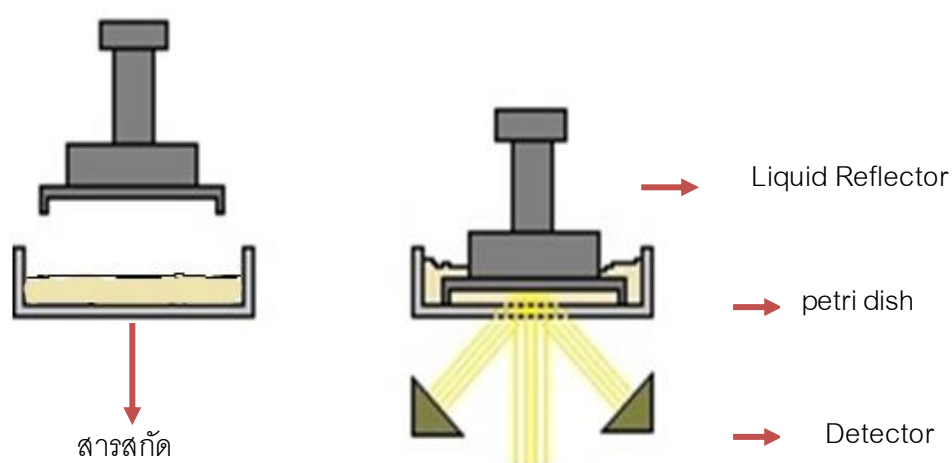


ภาพที่ 11 แท่นวางตัวอย่างของเครื่อง NIRS



ภาพที่ 12 (a) ตำแหน่งการวัดของลูกมะขามป้อม (b) การวัดสเปกตรัมของลูกมะขามป้อมด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

สำหรับการวัดส่วนสารสกัดทำหลังขั้นตอนการสกัดเสร็จโดยใช้รูปแบบ transfectance โดยใช้ petri dish เป็นภาชนะใส่สารสกัดปริมาณ 5 มิลลิลิตร และใช้ Liquid Reflector ทำจาก Stainless Steel ช่วยควบคุมปริมาณสารสกัดให้เท่ากัน โดยระดับความหนาของสารสกัดอยู่ที่ 2 มิลลิเมตร ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 การวัดส่วนสารสกัดด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

3.4.5 การสกัดมะขามป้อม (ดัดแปลง Liu และ คณะ, 2008)

นำมะขามป้อมมาหั่นเอาเมล็ดออก แล้วนำเข้าเครื่องปั่นเพื่อบดให้มีขนาดเล็กและละเอียด จากนั้นนำส่วนที่บดมาชั่งใส่ในขวดสีชาปริมาณขวดละ 1 กรัม สกัดครั้งที่ 1 โดยเติมเมทานอลเข้มข้น 60% (v/v) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่าในอ่างน้ำแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชม. นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 แล้วเก็บส่วนใสไว้ในขวดสีชา จากนั้นนำกากที่ได้จากการกรองมาสกัดครั้งที่ 2 ด้วยเมทานอลเข้มข้น 60% (v/v) ปริมาณ 10 mL ในอ่างน้ำแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา นาน 3 ชม. นำสารสกัดครั้งที่ 2 มากรอง แล้วรวมกับสารสกัดในครั้งที่ 1 จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 20 มิลลิลิตร เก็บในที่ปลอดภัย เพื่อนำส่วนที่เป็นของเหลวไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

3.4.6 ขั้นตอนของการศึกษาคุณสมบัติทางเคมี

- วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin – Ciocalteu assay (Maisuthisakul และคณะ, 2007) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 2)
- วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH (ดัดแปลงจาก Brand-Williams และคณะ, 1995) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 4)

3.4.7 ขั้นตอนของการสร้างสมการทำนายค่า

นำค่าทางเคมีที่ทำการวิเคราะห์ได้ และสเปกตรัมที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้มาสร้างสมการทำนายค่าด้วยโปรแกรม OPUS Version 7.0 โดยปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ เช่น เดียวกับการทดลองในข้อ 3.1.8

3.5 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม

3.5.1 วัตถุดิบ

ผลมะขามป้อมสด ชื้อจากตลาดปทุมมงคล จังหวัดนครปฐม

3.5.2 อุปกรณ์

- เครื่องสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (FT-NIR Spectrometer) (รุ่น MPA, บริษัท Bruker, Germany)
- เครื่อง UV-Vis spectrophotometer (Genesys 10s, Thermo Scientific, USA)
- เครื่องแยกสารแบบหมุนเหวี่ยง (rc6, Sorval, USA)
- เครื่อง rotary evaporator (RV10 digital, IKA, Germany)

3.5.3 สารเคมี

- Methanol (99.9%, Merck)
- Folin-Ciocalteu reagent (100%, Merck)
- 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma-Aldrich)
- Na_2CO_3 (Ajax Finechem)
- Gallic acid (Sigma - Aldrich)
- Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) (Sigma-Aldrich)

3.5.4 การสกัดมะขามป้อมเพื่อใช้ในการสร้างสมการการทำนาย (ดัดแปลงจาก Zadernowski และคณะ, 2009)

นำมะขามป้อมมาล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นหั่นแยกเมล็ดออกและนำเข้าเครื่องปั่นเพื่อบดให้มีขนาดเล็กและละเอียด จากนั้นสกัดครั้งที่ 1 ด้วย 80% เมทานอล ปริมาตร 70 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่าง 35 กรัม กวนนาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง magnetic stirrer จากนั้นกรองเอาตัวอย่างออกโดยใช้กระดาษกรอง Whatman No.1 นำกากตัวอย่างที่ได้จากการกรองมาทำการสกัดซ้ำอีก 5 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดไประเหยเอาตัวทำละลายออก โดยระเหยสารสกัดให้เหลือปริมาตรครึ่งหนึ่งของสารสกัดทั้งหมด ด้วยเครื่อง rotary evaporator นำสารสกัดที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายไปเหวี่ยงเอาตะกอนออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง แล้วกรองสารสกัดที่ได้อีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้นเก็บสารสกัดไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการวิเคราะห์ตัวอย่างจึงนำสารสกัดมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10 ระดับ ระดับละ 10 ตัวอย่าง รวมเป็น 100 ตัวอย่าง

3.5.5 การสกัดมะขามป้อมเพื่อเป็นชุดตัวอย่างในการทำนาย

ในส่วนของวิธีสกัดกลุ่มตัวอย่างที่นำมาใช้ในการทำนาย สกัดเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 3.5.4 แต่ไม่มีการนำสารสกัดที่ได้ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator และเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเพียง 5 ระดับ ระดับละ 5 ตัวอย่าง รวมเป็น 25 ตัวอย่าง

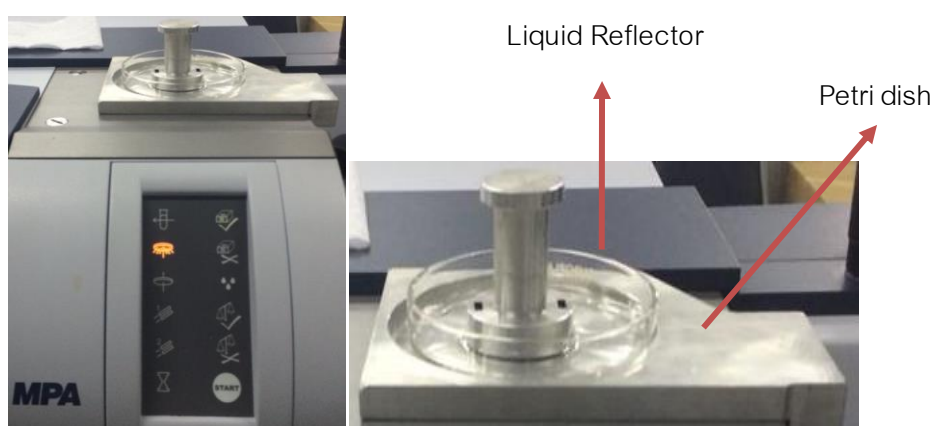
3.5.6 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี

- วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul และคณะ, 2007) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 2)

- วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant capacity) โดยใช้ DPPH assay (Enujiugha และคณะ, 2012) (ดูที่ภาคผนวก ข้อ 5)

3.5.7 ขั้นตอนการวัดสเปกตรัมจากสารสกัดมะขามป้อม

วัดสเปกตรัมโดยใช้เครื่อง NIRS และกำหนดความยาวคลื่นในช่วง $4000-12500\text{ cm}^{-1}$ ใช้วิธีการวัดแบบ transreflectance มีค่าความละเอียด (resolution) ในการแยกเท่ากับ 8, 16 และ 32 cm^{-1} และจำนวนครั้งของการสแกนตัวอย่าง เท่ากับ 32 ครั้ง โดยบีบตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม ใส่ใน petri dish และใช้ Liquid Reflector ทำจาก stainless steel มี path length เท่ากับ 0.1 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 4 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2.8 เซนติเมตร ช่วยควบคุมปริมาณสารสกัดให้เท่ากัน ดังภาพที่ 14



ภาพที่ 14 การวัดสารสกัดด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้

3.5.8 ขั้นตอนของการสร้างสมการทำนายค่า

นำค่าทางเคมีที่ทำการวิเคราะห์ได้ และสเปกตรัมที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้มาสร้างสมการทำนายค่าด้วยโปรแกรม OPUS Version 7.0 โดยปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ตามการทดลองในข้อ 3.1.8

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุด

4.1.1 ปริมาณความชื้นของเปลือกมังคุด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นของเปลือกมังคุดสด โดยการใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณความชื้นของเปลือกมังคุดสดมีค่า 65.43 ± 0.85 (%) wet basis)

4.1.2 ผลของความอ่อนแก่ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

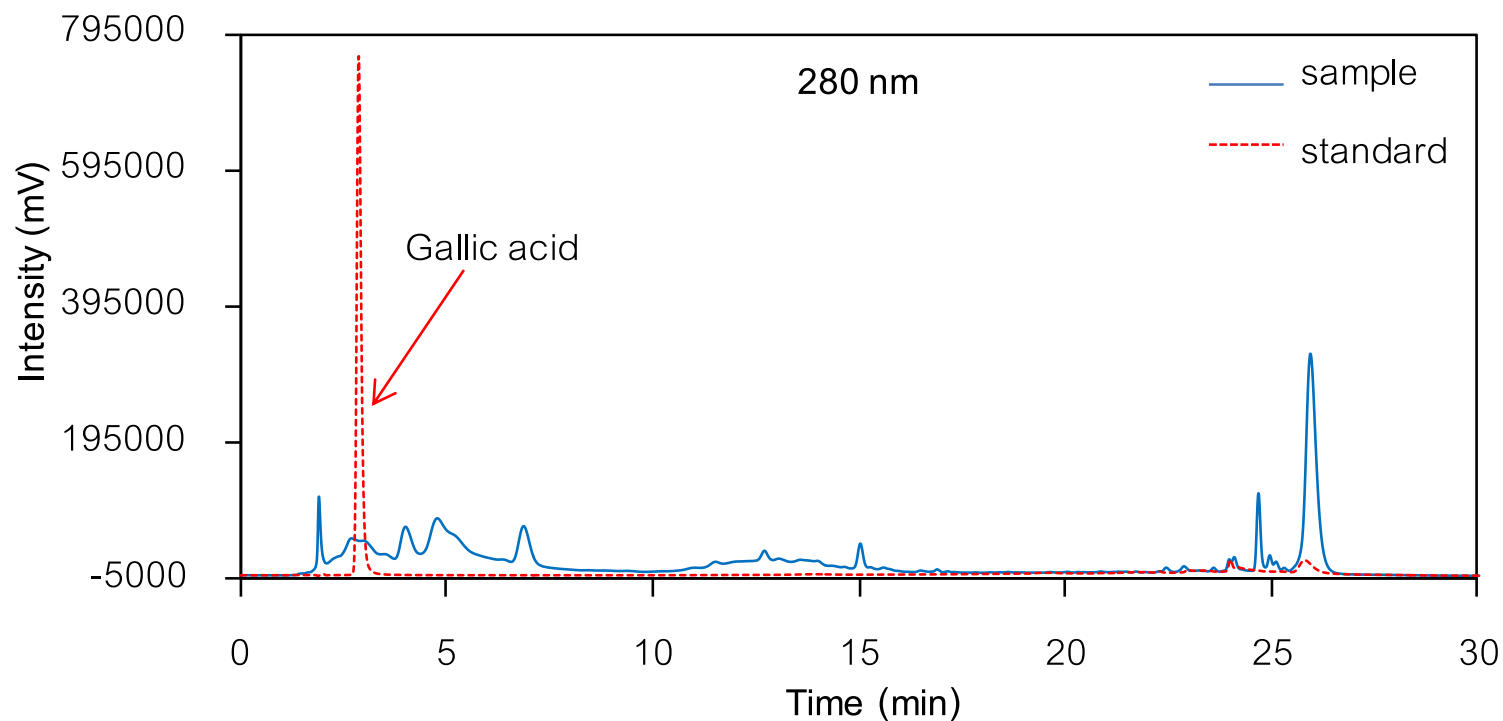
การสกัดโดยเปลือกมังคุดที่มีความอ่อนแก่ต่างกัน ซึ่งดูได้จากสีมังคุด คือขาวอมเหลืองคืออ่อน สีแดงคือแก่ปานกลาง สีม่วงคือแก่มาก เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกัน ดังตารางที่ 8 ซึ่งสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แบ่งระดับสีของมังคุดเมื่อเข้าสู่ระยะการสุกไว้ 7 ระดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2556) เริ่มตั้งแต่สีขาวอมเหลืองจนถึงสีม่วง

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกมังคุดที่มีสีแตกต่างกัน พบว่าเปลือกมังคุดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในช่วงตั้งแต่ 100 ถึง 300 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (ตารางที่ 8) Pothitirat และคณะ (2009) รายงานค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกมังคุดว่ามีค่าประมาณ 28-42 g GAE/100 g extract หรือคำนวณได้เป็นประมาณ 70-140 mg/g dry sample และในการศึกษานี้ได้พบว่ามังคุดในช่วงที่มีเปลือกสีแดงและสีเหลืองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสีม่วงซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pothitirat และคณะ (2009) ซึ่งรายงานเปลือกมังคุดอ่อนมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด แทนินทั้งหมด และค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเปลือกจากผลแก่ นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มที่พบมากคือกลุ่ม Phenolic acid และกลุ่ม Hydroxycinnamates โดยพบสารประกอบ Flavonoids เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ตารางที่ 8) Zadernowski และคณะ (2009) รายงานผลการวัดปริมาณ phenolic acid ทั้งหมดด้วยวิธี GC-FID พบว่ามีในปริมาณเพียง 0.26 mg/g dry sample สำหรับเนื้อ (aril) 3.58 mg/g dry sample สำหรับเปลือกด้านใน (rind) และ 5.03 mg/g dry sample สำหรับเปลือกด้านนอก (peel) ความแตกต่างของผลการวิเคราะห์อาจเกิดเนื่องจากการศึกษานี้ใช้วิธีการคิดปริมาณจากพื้นที่ของพีคทั้งหมดที่ปรากฏสำหรับการตรวจวัดด้วยความยาวคลื่นแสงสำหรับสารประกอบฟีนอลิกแต่ละกลุ่ม

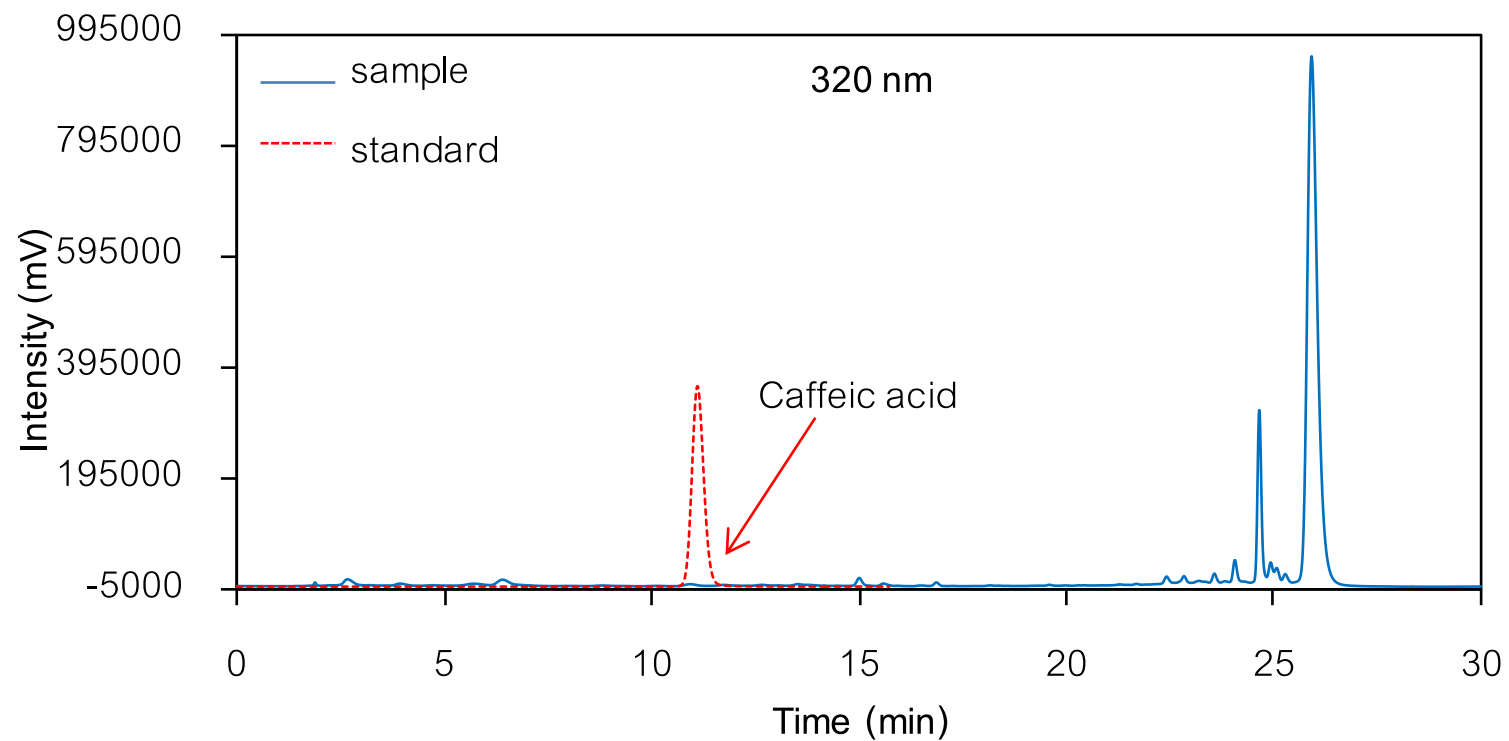
ตารางที่ 8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของมังคุดที่มีระดับความแตกต่างกัน

ผลมังคุด	TPC (mg GAE/g dry weight)	Phenolic acid (as gallic acid mg/g dry weight)	Hydroxycinnamates (as caffeic acid mg/g dry weight)	Flavonoids (as rutin mg/g dry weight)
	160-300	150 - 200	50 - 100	0.9 - 4.0
	200-300	200 - 400	139 - 250	1.9 - 3.6
	100-180	100 - 200	100 - 200	2.4 - 3.4

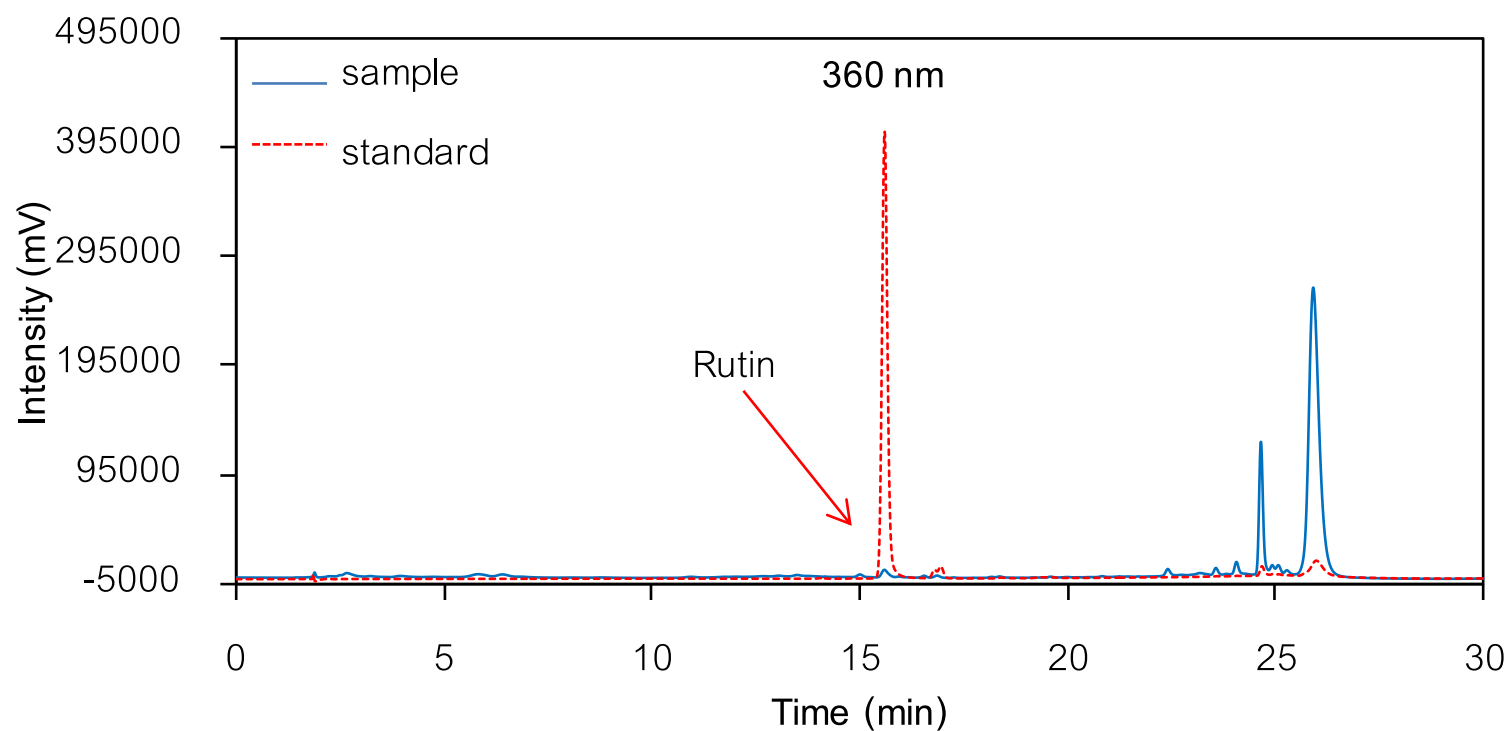
ภาพที่ 15-17 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มต่างๆ ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี HPLC ซึ่งได้แก่ phenolic acids, hydroxycinnamates และ flavonols โดยใช้ gallic acid, caffeic acid และ rutin เป็นสารมาตรฐาน ตามลำดับ โดยในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้มีการระบุชนิดของสารประกอบฟีนอลิกแต่ละกลุ่มเนื่องจากการระบุจำเป็นต้องมีสารมาตรฐานจำนวนมาก นอกจากนี้เครื่องมือในการวิจัยคือการใช้ตัวตรวจวัดแบบ Photo-diode array อาจจะไม่สามารถบอกความถูกต้องของชนิดสารได้แน่นอน Zadernowski และคณะ (2009) รายงานพบ protocatechuic acid เป็นกรดฟีนอลิกสำคัญในเปลือกชั้นนอกและชั้นใน



ภาพที่ 15 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม phenolic acids ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ C-18, ใช้ 5% กรดอะซิติกในน้ำกับ 100% เมทานอล เป็นเฟสเคลื่อนที่, อัตราการชะเท่ากับ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที, อุณหภูมิคอลัมน์เท่ากับ 40 °C,



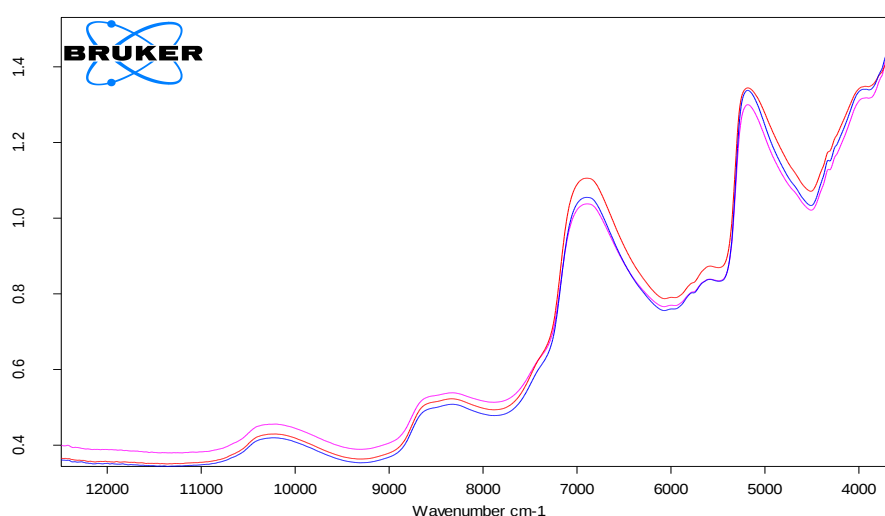
ภาพที่ 16 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม hydroxycinamates ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ C-18, ใช้ 5% กรดอะซิติกในน้ำกับ 100% เมทานอล เป็นเฟสเคลื่อนที่, อัตราการชะเท่ากับ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที, อุณหภูมิคอลัมน์เท่ากับ 40 °C,



ภาพที่ 17 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม flavonols ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ C-18, ใช้ 5% กรดอะซิติกในน้ำกับ 100% เมทานอล เป็นเฟสเคลื่อนที่, อัตราการชะเท่ากับ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที, อุณหภูมิคอลัมน์เท่ากับ 40 °C,

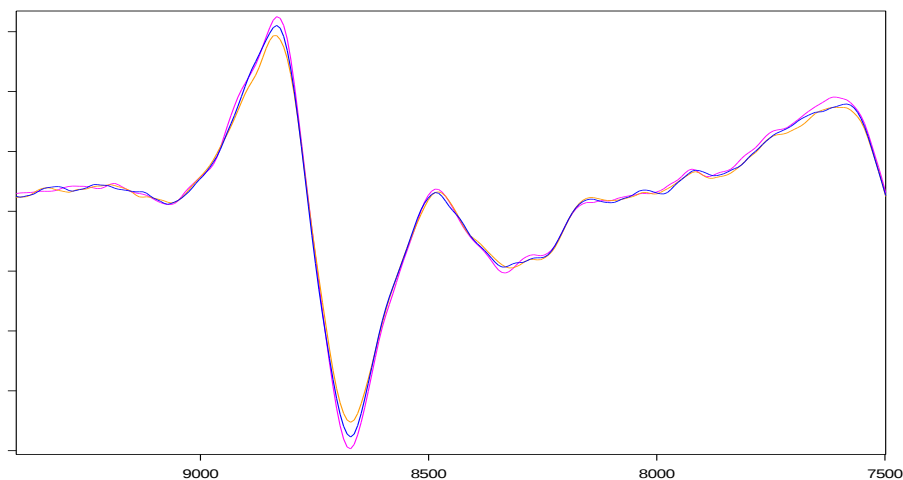
4.1.3 สเปกตรัมและการปรับแต่งสเปกตรัม

จากการวัดสเปกตรัมด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ ได้เส้นสเปกตรัมแสดงดังภาพที่ 18 พบว่า จากการนำผลมาทำการวัดด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ จะเห็นการดูดกลืนที่ชัดเจนมากคือพีคของน้ำบริเวณ 5100 , 6800 และ 8300 cm^{-1} สำหรับพีคบริเวณ 4600 cm^{-1} ซึ่งแสดงพันธะ C-H ของสารที่เป็นวงแหวน (aromatic) โดยเฉพาะของสารประกอบฟีนอลิกนั้นจะเห็นได้ไม่ชัดเจนนัก (Frizon, 2015)



ภาพที่ 18 ตัวอย่างสเปกตรัมของเปปไทด์

ดังนั้นจึงนำวิธีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม (pretreatment) เข้ามาช่วยเพื่อให้ได้พีคที่มีลักษณะชัดเจนมากขึ้นดัง ภาพที่ 19 เป็นภาพตัวอย่างของการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมโดยการใช้เทคนิค second derivative ซึ่งเป็นเทคนิคที่ช่วยลดการเกิดการซ้อนทับกันของพีค ลดอิทธิพลของการเกิดพีคที่ไม่ชัดเจนให้เห็นชัดเจนมากขึ้น และยังช่วยลดการเกิดการเลื่อนขึ้นตามแนวแกน y โดยจะเห็นว่า baseline มีลักษณะอยู่ในระดับเดียวกัน ทำให้สามารถวิเคราะห์ช่วงความยาวคลื่นที่มีความเกี่ยวข้องกับค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ต้องการศึกษา



ภาพที่ 19 ตัวอย่างเส้นสเปกตรัมของเปลือกมังคุดที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธี second derivative

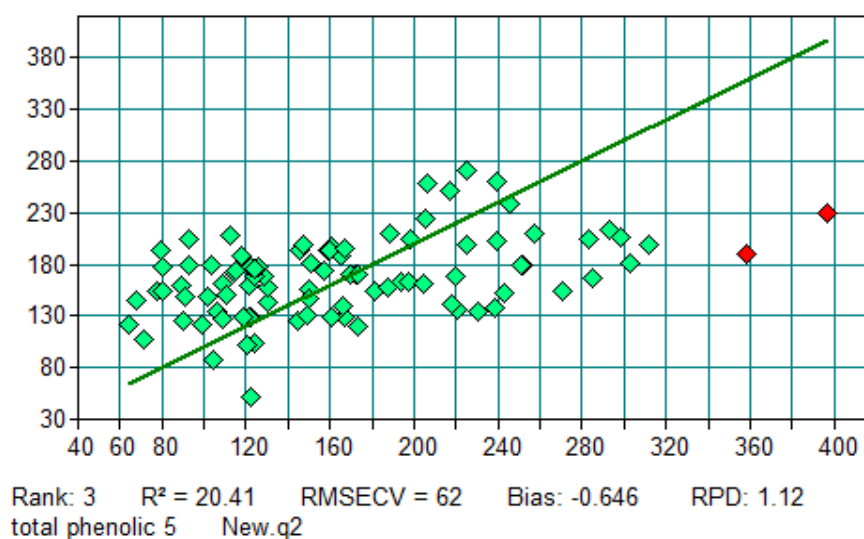
ในการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมมีหลายวิธี แต่ในการวิจัยครั้งนี้ใช้ด้วยกันทั้งหมด 7 วิธี คือ ไม่มีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม (Raw) , standard normal variate (SNV), Multiplicative scatter correction (MSC), First derivative, Second derivative, First derivative + standard normal variate (SNV) และ Second derivative+ Multiplicative scatter correction (MSC) ซึ่งค่าทางสถิติที่ใช้ในการพิจารณามีด้วยกันทั้งหมด 4 ค่า คือ R^2 , RMSECV, RPD และ Bias โดยค่าที่ใช้ในการตัดสินใจในการเลือกสมการพิจารณาจากค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 ค่า RMSECV ที่เข้าใกล้ 0 และ RPD ควรมีค่าเท่ากับหรือมากกว่า 3 ขึ้นไป ผลทางสถิติแสดงดังตารางที่ 9 พบว่า NIRS มีประสิทธิภาพต่ำในการทำนายค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งค่าแต่ละกลุ่มทั้งที่ได้จาก HPLC และค่า TPC โดยมี R^2 ที่ต่ำ จัดอยู่ในช่วงที่ไม่ดีพอเพื่องานวิจัย (Williams, 2001) และ RPD มีค่าต่ำกว่า 3

กราฟ scattering plot แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Total Phenolic compound, สาร Phenolic Acids, สาร Hydroxycinnamates และสาร Flavonols ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีกับการทำนายด้วย NIRS แสดงดังภาพที่ 20, 21, 22 และ 23

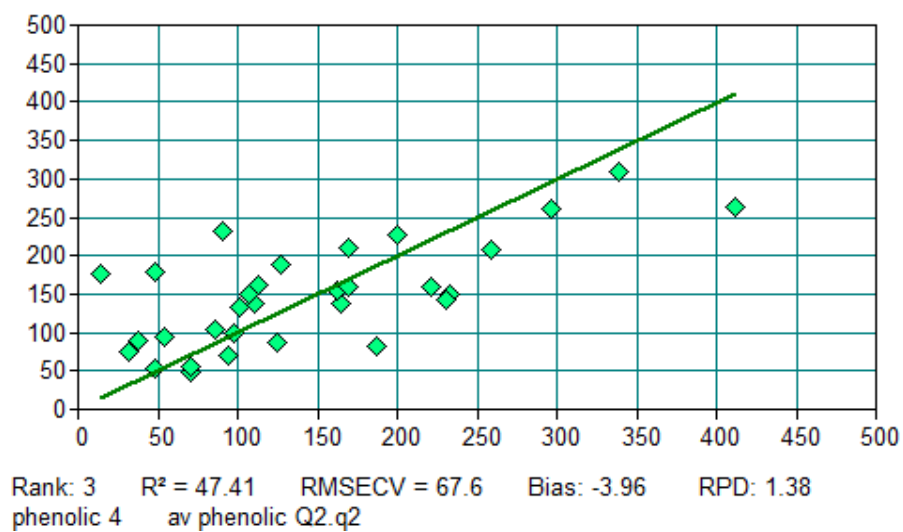
ตารางที่ 9 ค่าทางสถิติของสมการทำนายจากการใช้ NIRS

Pretreatment		Raw	SNV	MSC	D	D ²	D+ SNV	D ² + MSC
Total	R ²	0.27	0.11	0.11	0.11	0.14	0.13	0.05
phenolic ¹	RPD	1.01	1.06	1.06	1.06	1.08	1.07	1.03
	RMSECV	71.1	68.7	68.7	68.6	67.3	67.8	70.9
Phenolic	R ²	-0.04	0.30	0.25	0.47	0.41	0.43	0.43
acids ²	RPD	1.02	1.19	1.16	1.38	1.32	1.33	1.32
	RMSECV	95.1	78.2	80.6	67.6	71.4	70.3	70.4
Hydroxycina-	R ²	0.13	0.22	0.21	0.19	0.25	0.24	0.19
mates ³	RPD	1.07	1.14	1.13	1.11	1.16	1.15	1.11
	RMSECV	85.1	80.6	81.0	82.1	79	79.5	82.1
	R ²	-0.01	0.03	0.05	0.04	0.07	0.14	0.14
Flavonols ⁴	RPD	0.99	1.01	1.03	1.02	1.04	1.08	1.08
	RMSECV	1.18	1.16	1.15	1.15	1.14	1.09	1.09

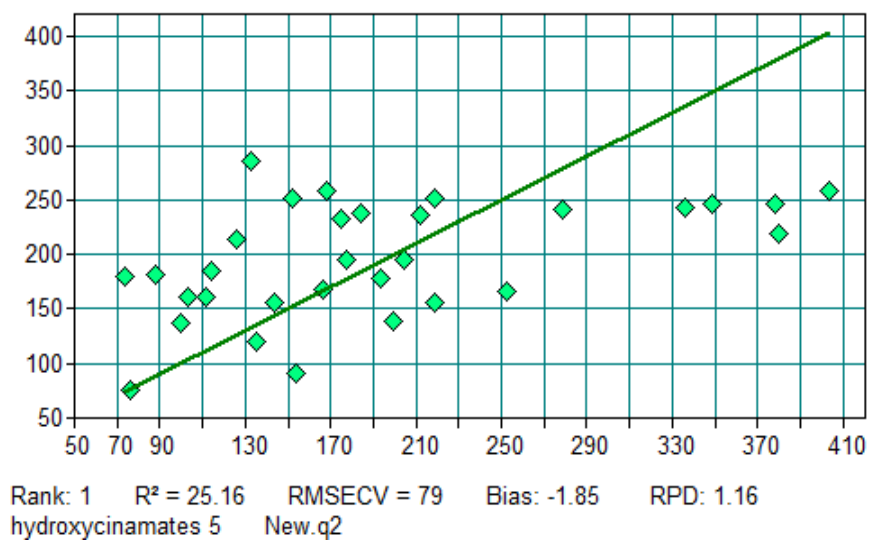
¹ mg GAE/g dry weight, ² as gallic acid mg/g dry weight, ³ as caffeic acid mg/g dry weight, ⁴ as rutin mg/g dry weight



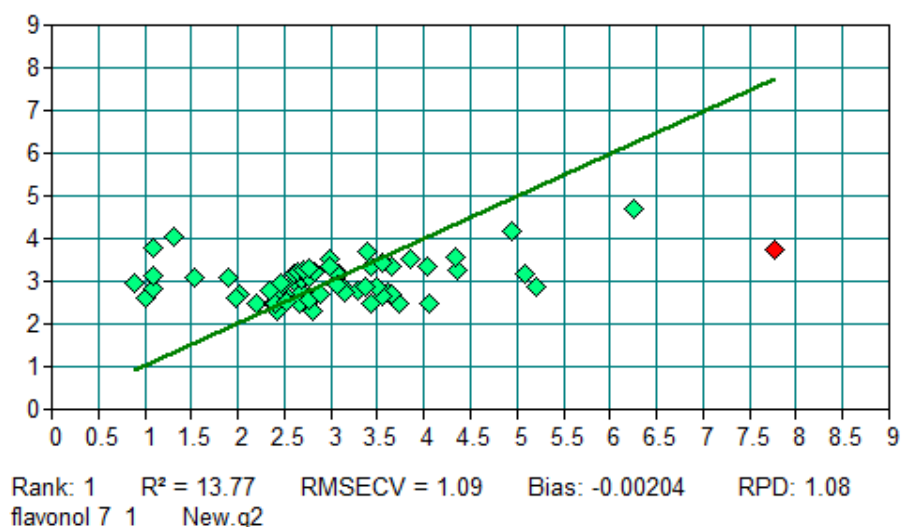
ภาพที่ 20 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง



ภาพที่ 21 ความสัมพันธ์ของปริมาณ Phenolic acids ที่วัดได้และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี First derivative



ภาพที่ 22 ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร Hydroxycinnamates ที่วัดได้และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี Second derivative



ภาพที่ 23 ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร Flavonols ที่วัดได้และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี Second derivative+ Multiplicative scatter correction (MSC)

ปัญหาของการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุดด้วยวิธี NIRS ด้วยการวัดสเปกตรัมจากผลโดยตรง อาจเกิดจากความหนาของเปลือกและลักษณะเปลือกนอกที่มีความแข็งซึ่งอาจจะทำให้การส่งผ่านคลื่น NIR เข้าไปสู่ด้านในเป็นไปได้น้อยและเนื่องจากการวัดเป็นแบบ reflectance ทำให้ข้อมูลที่ได้รับจากสเปกตรัมมีค่าน้อย จากผลการศึกษาในส่วนนี้ทำให้เห็นว่าการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกโดยตรงเพื่อให้ได้ค่าที่แม่นยำนั้นทำได้ยากจึงได้มีการศึกษาขั้นตอนต่อไปโดยการศึกษาในน้ำเปลือกมังคุดแทน

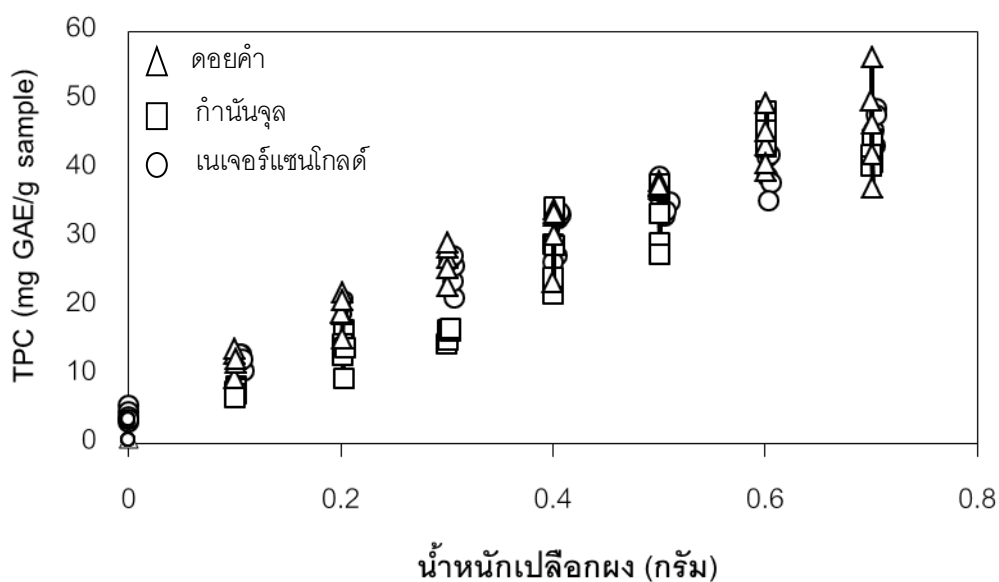
4.2 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมังคุด

4.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

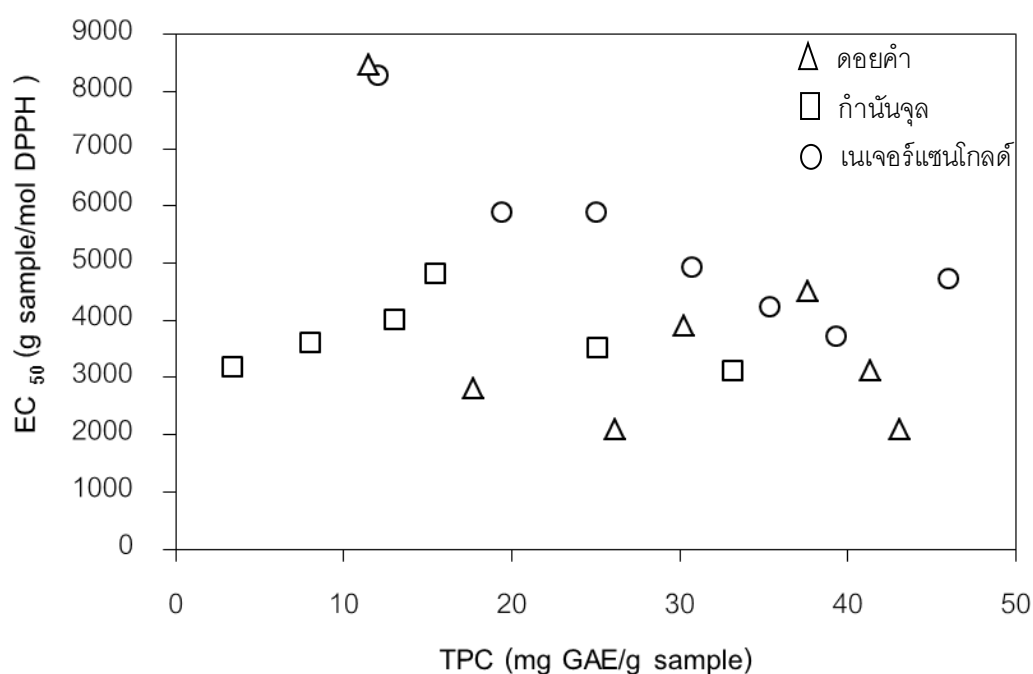
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมังคุดทั้งสามยี่ห้อก่อนใส่ผงเปลือกพบว่าน้ำมังคุดยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ มีปริมาณ TPC มากที่สุด 4.19 mg GAE/g sample, กำนันจุล 3.35 mg GAE/g sample และดอยคำ 0.67 mg GAE/g sample

จากการวิเคราะห์ TPC ในน้ำมังคุด 3 ยี่ห้อคือ เนเจอร์แซนโกลด์กำนันจุลและดอยคำ ซึ่งได้เติมเปลือกผงมังคุดหนัก 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 และ 0.7 กรัม โดยที่แต่ละความเข้มข้นมีจำนวน 5 ซ้ำ ได้ตัวอย่างน้ำมังคุดยี่ห้อละ 40 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 120 ตัวอย่าง ปรากฏ

ว่า TPC เพิ่มขึ้นตามปริมาณเปลือกที่เติม โดยที่น้ำมังคุดยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์อยู่ในช่วง 4 – 45 mg GAE/g sample กำนันจุลอยู่ในช่วง 5 - 43 mg GAE/g sample และ ดอยคำอยู่ในช่วง 0.5 – 43 mg GAE/g sample ดังภาพที่ 24



ภาพที่ 24 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างน้ำมังคุดจำนวน 120 ตัวอย่าง

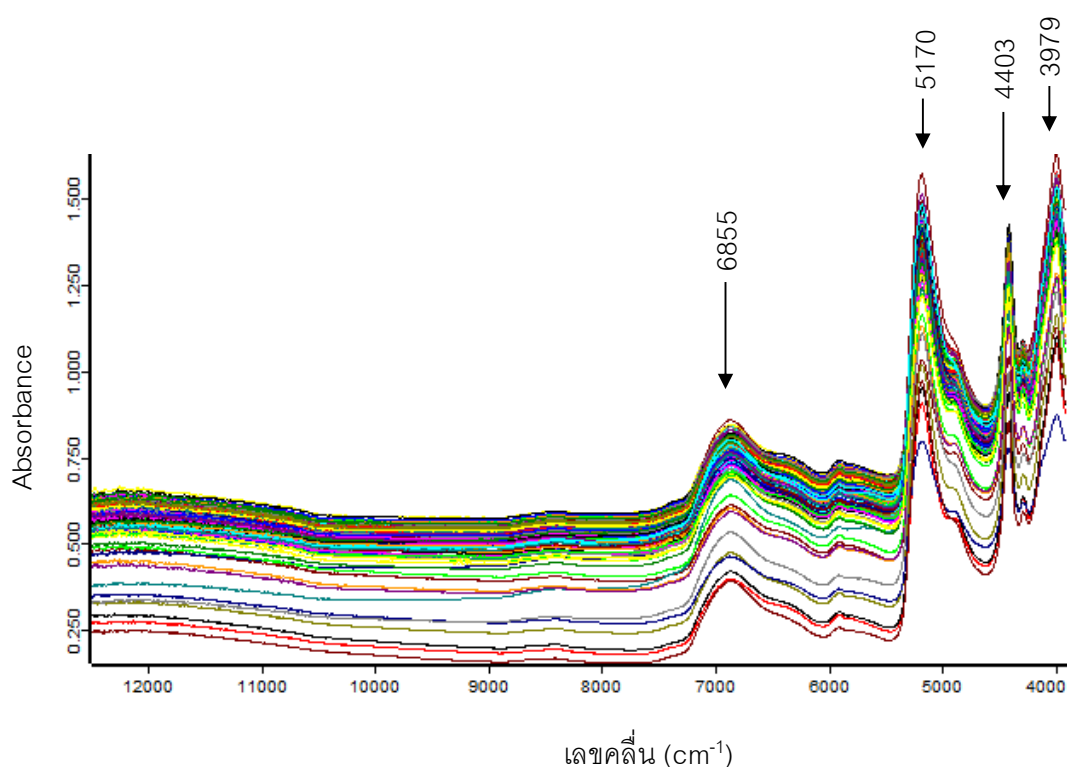


ภาพที่ 25 กราฟเปรียบเทียบระหว่าง TPC กับ EC_{50}

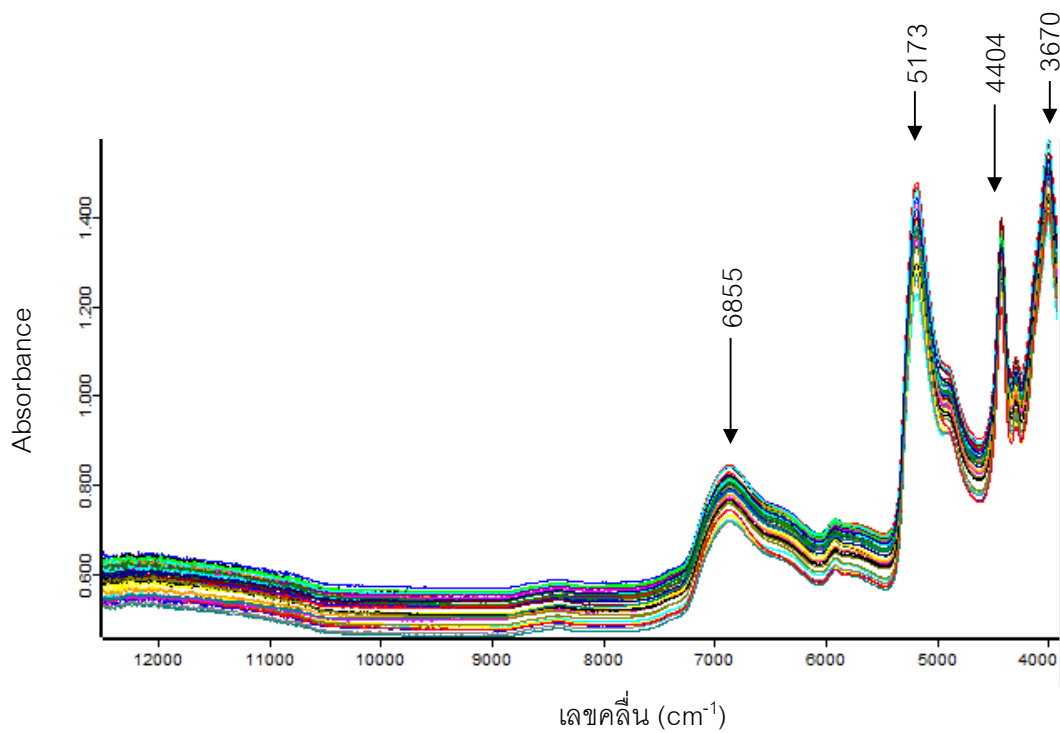
จากภาพที่ 25 พบว่าค่าสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับค่า TPC ไม่ได้มีความสัมพันธ์ที่มีรูปแบบชัดเจน ซึ่งอาจเกิดจากในส่วนของเปลือกนั้นประกอบไปด้วยสารประกอบอื่นๆ ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้โดยค่า TPC เช่น วิตามินซีและวิตามินอีอยู่เป็นจำนวนมาก

4.2.2 สเปกตรัมและการปรับแต่งสเปกตรัม

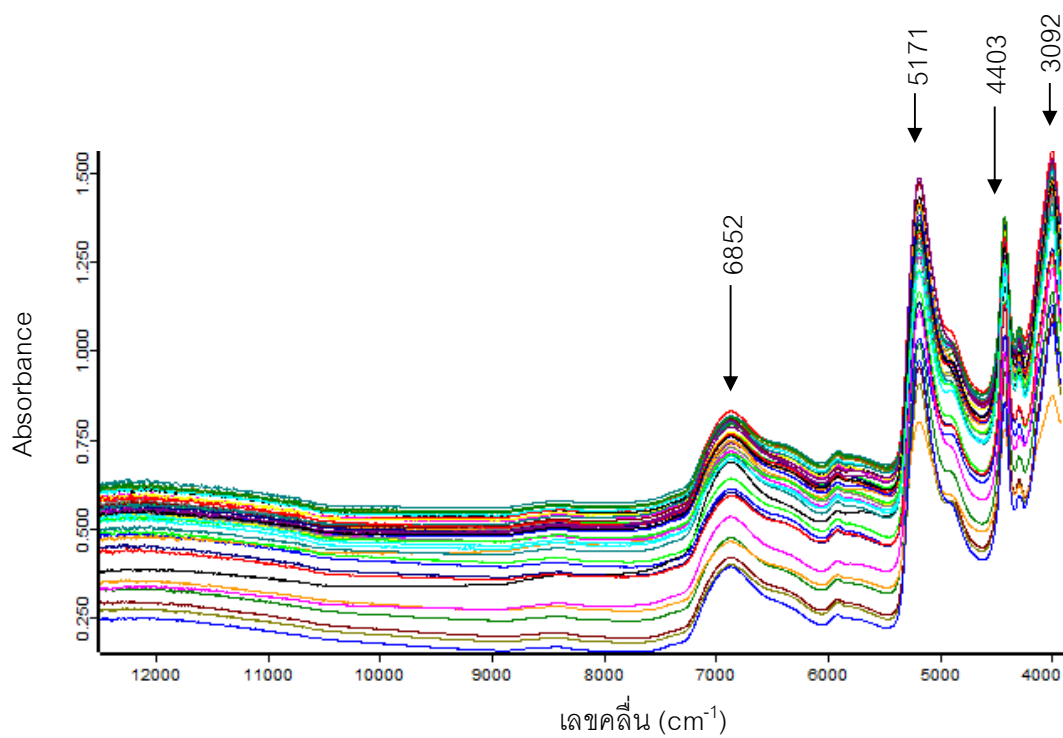
จากการวัดสเปกตรัมน้ำมังคุดทั้ง 3 ยี่ห้อ ด้วยเครื่องสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ได้เส้นสเปกตรัมแสดงดังภาพที่ 26-29 จากเส้นสเปกตรัมของน้ำมังคุดที่ได้พบว่า จากน้ำมังคุดที่มีการเติมผงเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้นต่างๆ และน้ำมังคุดที่ไม่มีการเติมผงเปลือกมังคุด พิกเก็ตได้มีการบวกรบกวนของพีคน้ำ (5170 และ 6855 cm^{-1}) แต่พีค C-H ที่ 4403 cm^{-1} มีความชัดเจนมากกว่าการวัด NIRS จากผลมังคุดโดยตรงอย่างมาก จากนั้นจึงใช้การปรับแต่งเส้นสเปกตรัมทั้งหมด 6 วิธี คือ ไม่มีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม, Vector normalization (SNV), Multiplicative scattering correction (MSC), First derivative (1°), Second derivative (2°), First derivative (1°) + Vector normalization (SNV) และ First derivative (2°) + Multiplicative scattering correction (MSC)



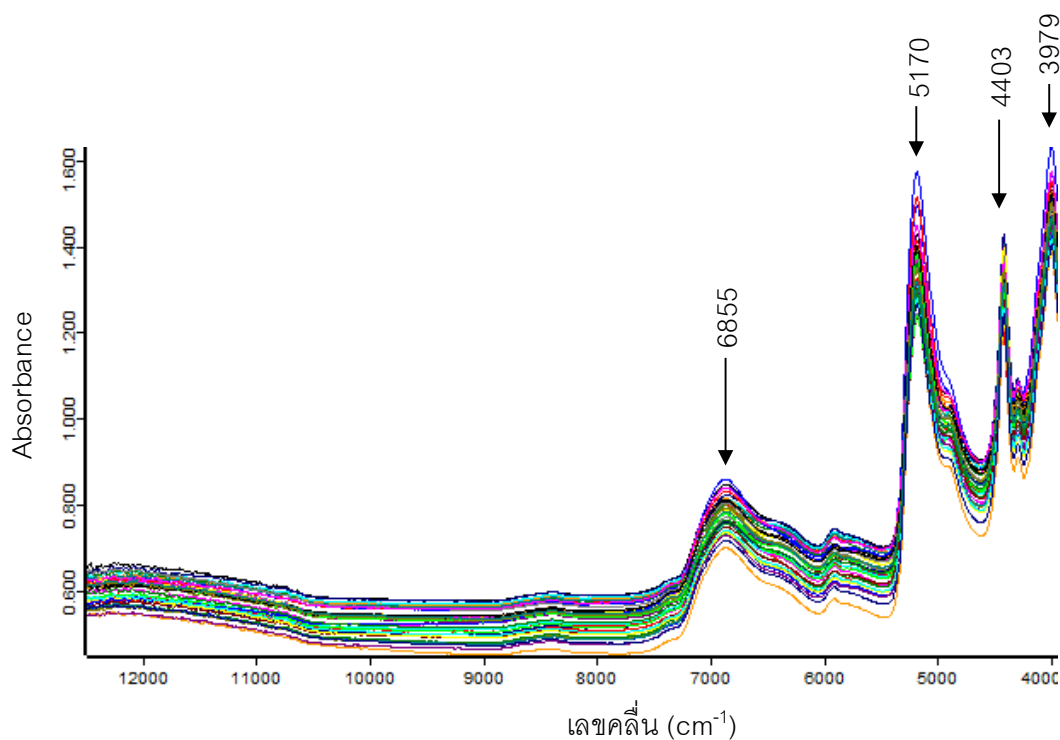
ภาพที่ 26 สเปกตรัมของน้ำมังคุดเข้มข้นทั้ง 3 ยี่ห้อ จำนวน 120 ตัวอย่าง



ภาพที่ 27 สเปกตรัมของน้ำมั่งคุดเข้มข้นยี่ห้อดอยคำ จำนวน 40 ตัวอย่าง



ภาพที่ 28 สเปกตรัมของน้ำมั่งคุดเข้มข้นยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ จำนวน 40 ตัวอย่าง



ภาพที่ 29 สเปกตรัมของน้ำมั่งคุดเข้มข้นยี่ห้อกำนันจุล จำนวน 40 ตัวอย่าง

4.2.3 ความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากเส้นสเปกตรัมและค่าทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ค่าที่ได้จากการปรับแต่งสเปกตรัมแสดงดังตารางที่ 10-17 จากการสร้างสมการทำนาย (calibration) ความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีกับค่าที่ได้จากการทำนายด้วย NIRS สำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมั่งคุดแต่ละยี่ห้อ แสดงดังภาพที่ 30-32

จากการศึกษาพบว่าเทคนิค NIRS ในการทำนายค่า TPC ของน้ำมั่งคุดเมื่อแยกวิเคราะห์สำหรับยี่ห้อกำนันจุลให้ผลที่ดีแต่ในกรณีของอีกสองยี่ห้อให้ผลการทำนายค่อนข้างต่ำ รวมถึงการวิเคราะห์โดยใช้ตัวอย่างทุกยี่ห้อรวมกันให้ผลการทำนายที่ต่ำมาก

ตารางที่ 10 ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมั่งคุดรวมทุกยี่ห้อที่ resolution 8 cm⁻¹

รวมทุกยี่ห้อ resolution 8 cm ⁻¹										
	Calibration						Validation			
	R ²		RMSEE		R ²		RMSECV		Bias	
pretreatment	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀
no pretreatment	0.86	0.01	0.57	19.20	0.34	-0.01	1.19	19.30	-0.03	-0.01
MSC	0.34	0.01	1.23	20.50	0.16	-0.08	1.35	21.20	0.01	-0.04
SNV	0.34	0.01	1.22	20.50	0.16	-0.08	1.34	21.20	0.02	-0.04
1°	0.36	0.01	1.19	20.50	0.12	-0.06	1.38	21.00	-0.01	-0.02
2°	0.09	0.15	1.41	19.00	0.01	-0.34	1.46	23.60	0.00	-0.21
1°+SNV	0.26	0.00	1.28	20.50	0.12	-0.06	1.38	21.00	0.00	-0.04
1°+MSC	0.24	0.00	1.29	20.50	0.10	-0.06	1.39	20.90	-0.01	-0.03

หน่วยของ TPC คือ mg GAE/g sample, หน่วยของ EC₅₀ คือ g sample/mol DPPH

ตารางที่ 11 ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมั่งคุดรวมทุกยี่ห้อที่ resolution 16 cm⁻¹

รวมทุกยี่ห้อ resolution 16 cm ⁻¹										
	Calibration						Validation			
	R ²		RMSEE		R ²		RMSECV		Bias	
pretreatment	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀
no pretreatment	0.86	0.00	0.58	20.50	0.38	-0.04	1.16	20.80	-0.04	-0.05
MSC	0.31	0.00	1.25	20.50	0.16	-0.11	1.34	21.50	-0.01	0.14
SNV	0.32	0.00	1.24	20.50	0.17	-0.11	1.33	21.50	0.00	0.14
1°	0.49	0.02	1.08	20.40	0.13	-0.10	1.37	21.40	-0.02	-0.01
2°	0.09	0.09	1.41	19.70	-0.01	-0.16	1.48	21.90	-0.01	0.13
1°+SNV	0.23	0.01	1.31	20.40	0.07	-0.12	1.42	21.60	-0.02	0.28
1°+MSC	0.21	0.01	1.32	20.40	0.46	-0.11	1.43	21.50	-0.02	0.25

หน่วยของ TPC คือ mg GAE/g sample, หน่วยของ EC₅₀ คือ g sample/mol DPPH

ตารางที่ 12 ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมั่งคุดยี่ห้อดอยคำที่ resolution 8 cm⁻¹

น้ำมั่งคุดยี่ห้อดอยคำ resolution 8 cm ⁻¹										
	Calibration					Validation				
	R ²		RMSEE		R ²		RMSECV		Bias	
pretreatment	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀
no pretreatment	0.84	0.02	0.68	22.70	0.40	-0.07	1.18	23.20	-0.07	0.13
MSC	0.72	0.18	0.85	21.00	0.31	0.08	1.26	21.40	-0.06	0.09
SNV	0.73	0.19	0.85	21.00	0.31	0.08	1.26	21.40	-0.06	0.07
1°	0.67	0.08	0.92	22.00	0.15	-0.21	1.40	24.60	-0.03	-0.67
2°	0.65	0.39	0.92	17.80	0.03	-0.57	1.50	28.00	-0.09	-0.94
1°+SNV	0.65	0.02	0.94	22.70	0.18	-0.40	1.38	26.50	-0.03	-0.56
1°+MSC	0.65	0.02	0.94	22.70	0.18	-0.38	1.38	26.30	-0.03	-0.61

หน่วยของ TPC คือ mg GAE/g sample, หน่วยของ EC₅₀ คือ g sample/mol DPPH

ตารางที่ 13 ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมั่งคุดยี่ห้อดอยคำที่ resolution 16 cm⁻¹

น้ำมั่งคุดยี่ห้อดอยคำ resolution 16 cm ⁻¹										
	Calibration					Validation				
	R ²		RMSEE		R ²		RMSECV		Bias	
pretreatment	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀
no pretreatment	0.89	0.15	0.55	22.80	0.47	-0.06	1.11	23.00	-0.03	-0.01
MSC	0.93	0.72	0.44	11.70	0.47	0.36	1.10	16.50	-0.04	-0.23
SNV	0.93	0.09	0.44	22.20	0.46	-0.02	1.11	22.50	-0.04	0.41
1°	0.73	0.14	0.83	21.20	0.22	-0.08	1.34	23.20	-0.04	-0.03
2°	0.62	0.42	0.97	17.40	0.12	-0.02	1.43	22.60	-0.07	-0.17
1°+SNV	0.73	0.05	0.82	22.30	0.27	-0.09	1.30	23.40	-0.04	-0.07
1°+MSC	0.73	0.54	0.83	22.30	0.26	-0.09	1.30	23.40	-0.04	-0.07

หน่วยของ TPC คือ mg GAE/g sample, หน่วยของ EC₅₀ คือ g sample/mol DPPH

ตารางที่ 14 ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมั่งคุดยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ที่ resolution 8 cm⁻¹

น้ำมั่งคุดยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ resolution 8 cm ⁻¹										
	Calibration				Validation					
	R ²		RMSEE		R ²		RMSECV		Bias	
pretreatment	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀
no pretreatment	0.34	0.07	1.11	16.10	0.28	-0.05	1.13	16.70	-0.01	-0.05
MSC	0.17	0.08	1.25	16.00	0.07	-0.08	1.29	16.90	0.00	-0.04
SNV	0.17	0.08	1.25	16.00	0.07	-0.08	1.29	16.90	7.85E-005	-0.04
1°	0.13	2.22	1.30	16.50	-0.03	-0.17	1.35	17.60	-0.06	0.01
2°	0.94	0.16	0.34	15.30	0.26	-0.18	1.15	17.70	-0.12	0.18
1°+SNV	0.07	0.02	1.32	16.50	-0.03	-0.21	1.36	17.90	0.00	-0.21
1°+MSC	0.07	0.02	1.32	16.50	-0.03	-0.20	1.36	17.80	0.00	-0.20

หน่วยของ TPC คือ mg GAE/g sample, หน่วยของ EC₅₀ คือ g sample/mol DPPH

ตารางที่ 15 ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมั่งคุดยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ที่ resolution 16 cm⁻¹

น้ำมั่งคุดยี่ห้อเนเจอร์แซนโกลด์ resolution 16 cm ⁻¹										
	Calibration				Validation					
	R ²		RMSEE		R ²		RMSECV		Bias	
pretreatment	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀
no pretreatment	0.47	0.07	0.994	16.10	0.41	-0.05	1.02	16.70	-0.02	-0.05
MSC	0.17	0.08	1.25	16.00	0.07	-0.09	1.29	17.00	-0.001	-0.04
SNV	0.17	0.46	1.25	9.60	0.07	0.31	1.29	10.50	-0.001	-0.24
1°	0.08	0.02	1.32	16.50	-0.07	-0.17	1.38	17.60	0.02	0.93
2°	0.95	0.11	0.33	15.80	0.13	-0.34	1.25	18.90	1.09	-0.22
1°+SNV	0.06	0.02	1.33	16.50	-0.04	-0.19	1.36	17.70	-0.003	-0.16
1°+MSC	0.06	0.02	1.33	16.50	-0.04	-0.18	1.36	17.70	-0.003	-0.14

หน่วยของ TPC คือ mg GAE/g sample, หน่วยของ EC₅₀ คือ g sample/mol DPPH

ตารางที่ 16 ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมั่งคุดยี่ห้อก้านจูลที่ resolution 8 cm⁻¹

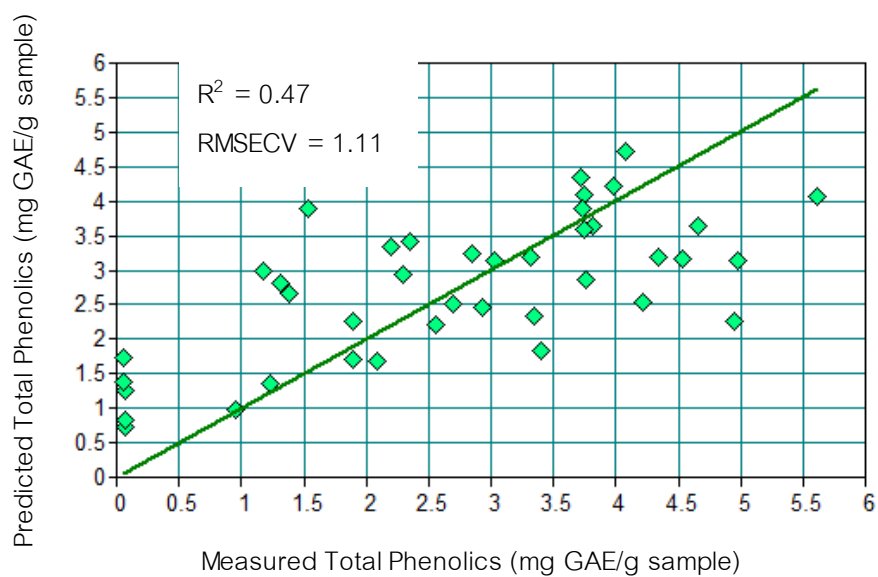
น้ำมั่งคุดยี่ห้อก้านจูล resolution 8 cm ⁻¹										
	Calibration					Validation				
	R ²		RMSEE		R ²		RMSECV		Bais	
pretreatment	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀
no pretreatment	0.98	0.06	0.22	20.90	0.71	-0.06	0.82	21.60	0.00	0.10
MSC	0.78	0.02	0.77	21.30	0.59	-0.27	0.97	23.70	0.01	-0.01
SNV	0.77	0.02	0.77	21.30	0.58	-0.27	0.98	23.70	0.01	-0.01
1°	0.75	0.01	0.80	21.40	0.67	-0.25	0.87	23.50	-0.01	0.14
2°	0.93	0.02	0.44	21.30	0.62	-0.25	0.94	23.50	-0.03	0.16
1°+SNV	0.76	0.00	0.77	21.50	0.68	-0.22	0.85	23.20	-0.03	-0.13
1°+MSC	0.76	0.01	0.78	21.40	0.69	-0.22	0.84	23.20	-0.02	0.02

หน่วยของ TPC คือ mg GAE/g sample, หน่วยของ EC₅₀ คือ g sample/mol DPPH

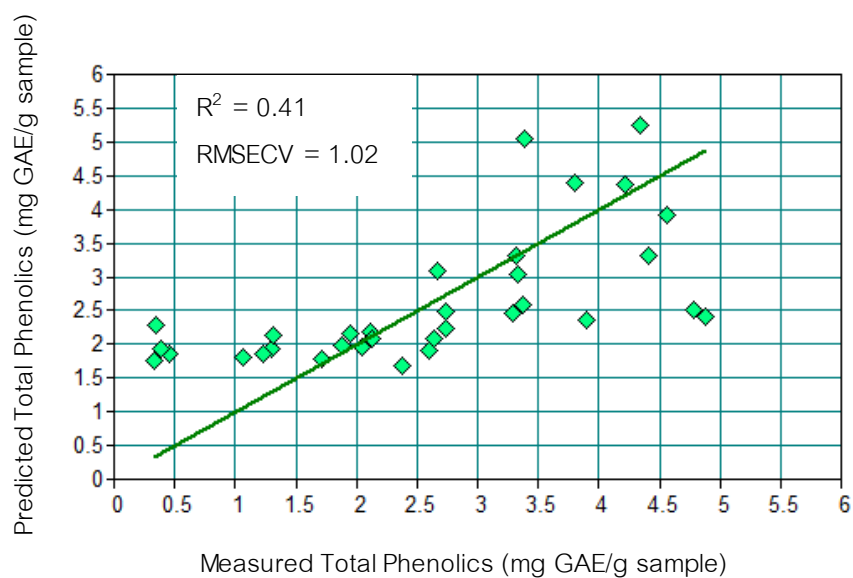
ตารางที่ 17 ค่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำมั่งคุดยี่ห้อก้านจูลที่ resolution 16 cm⁻¹

น้ำมั่งคุดยี่ห้อก้านจูล resolution 16 cm ⁻¹										
	Calibration					Validation				
	R ²		RMSEE		R ²		RMSECV		Bais	
pretreatment	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀	TPC	EC ₅₀
no pretreatment	0.99	0.17	0.20	19.30	0.82	0.05	0.64	20.10	-0.02	0.12
MSC	0.79	11.78	0.75	18.40	0.62	0.01	0.93	19.00	0.02	0.18
SNV	0.79	0.59	0.75	19.50	0.61	-0.06	0.95	20.10	0.01	0.18
1°	0.74	0.04	0.82	21.10	0.66	-0.26	0.88	23.50	-0.003	0.18
2°	1.00	0.94	0.10	5.11	0.80	0.38	0.67	15.40	-0.04	1.06
1°+SNV	0.75	0.06	0.79	20.90	0.69	-0.20	0.85	23.00	-0.02	0.64
1°+MSC	0.75	0.07	0.80	20.70	0.69	-0.19	0.85	22.90	-0.01	0.59

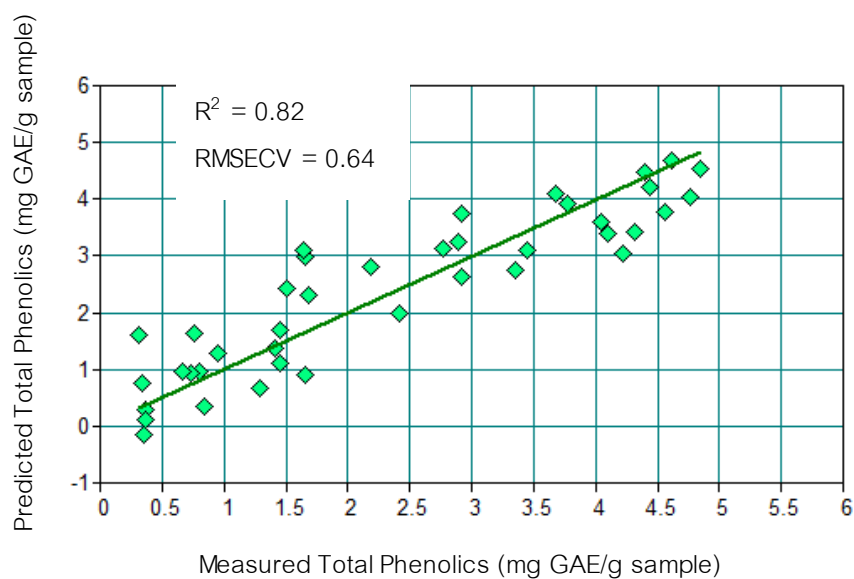
หน่วยของ TPC คือ mg GAE/g sample, หน่วยของ EC₅₀ คือ g sample/mol DPPH



ภาพที่ 30 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้ในน้ำมังคุดยี่ห้อดอยคำ และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง

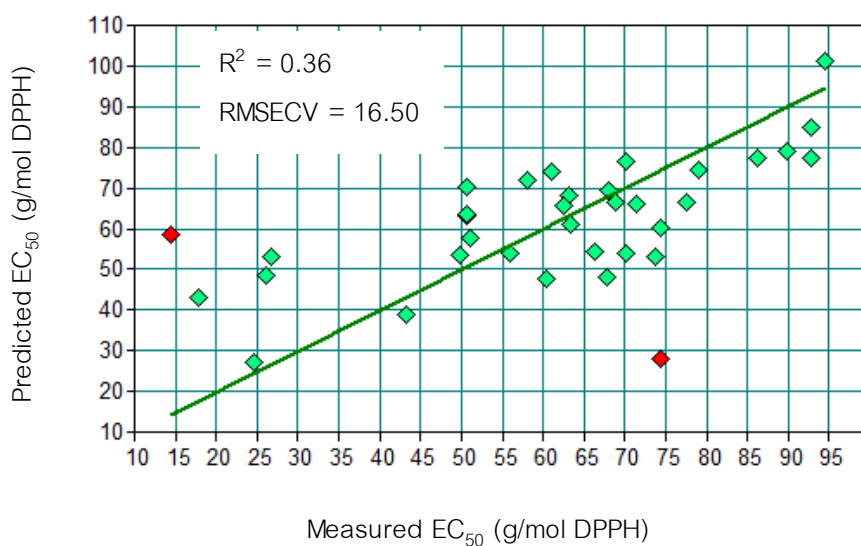


ภาพที่ 31 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้ในน้ำมังคุดยี่ห้อเนเจอร์ แชนโกลด์ และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง

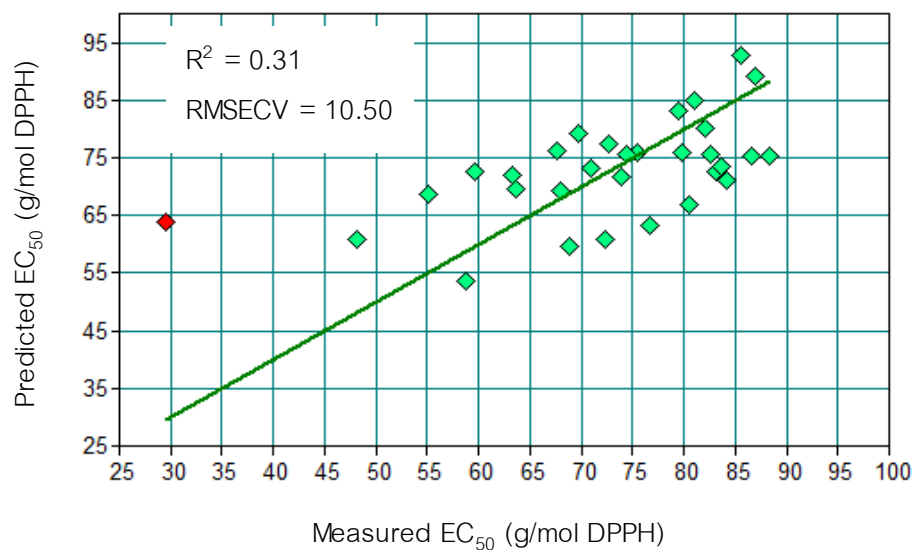


ภาพที่ 32 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วัดได้ในน้ำมังคุดยี่ห้อก้านจูล และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง

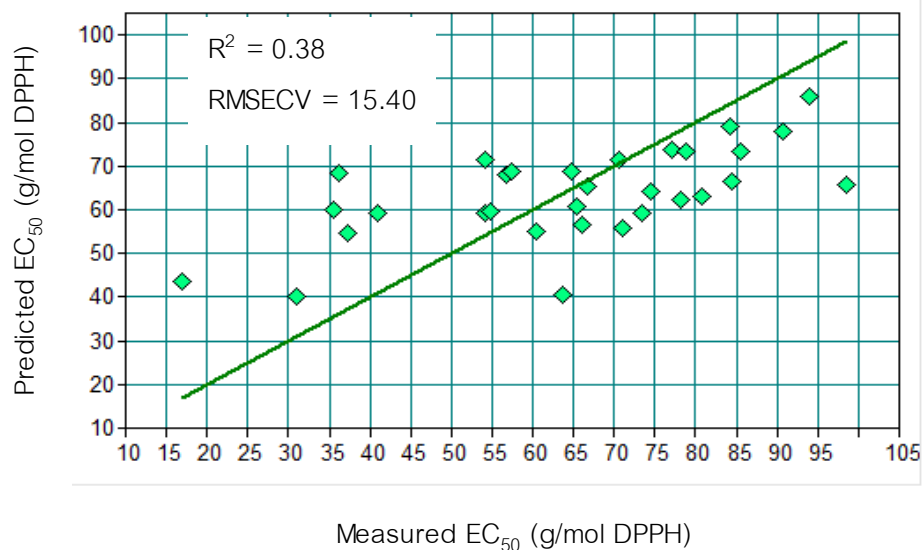
ความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีกับค่าที่ได้จากการทำนายด้วย NIRS สำหรับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำมังคุดแต่ละยี่ห้อแสดงดังภาพที่ 33-35



ภาพที่ 33 ความสัมพันธ์ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ของน้ำมังคุดยี่ห้อดอยคำ และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี MSC



ภาพที่ 34 ความสัมพันธ์ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ของน้ำมั่งคุดยี่หอเนเจอร์ แชนโกลด์ และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี SNV



ภาพที่ 35 ความสัมพันธ์ของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้ของน้ำมั่งคุดยี่หอกำนัน จุล และค่าทำนายจาก NIRS โดยใช้สเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี 2°

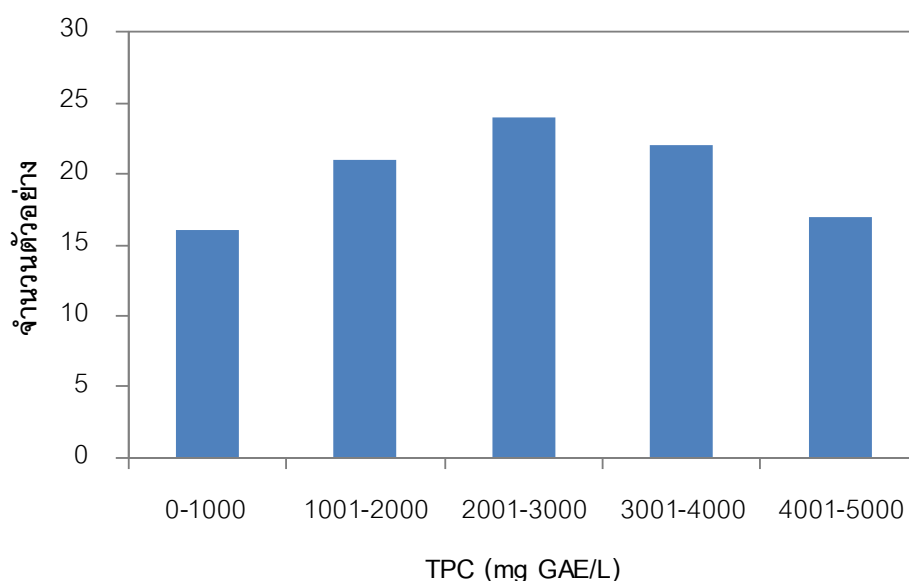
จากผลการศึกษาในส่วนที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำมั่งคุดไม่สามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำได้ซึ่งอาจ

เกิดเนื่องจากมีองค์ประกอบอื่นๆ ที่รบกวนการดูดกลืนแสงของสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีอยู่ในปริมาณต่ำในน้ำมังคุด

4.3 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมังคุด

4.3.1 การกระจายของค่าทางเคมี

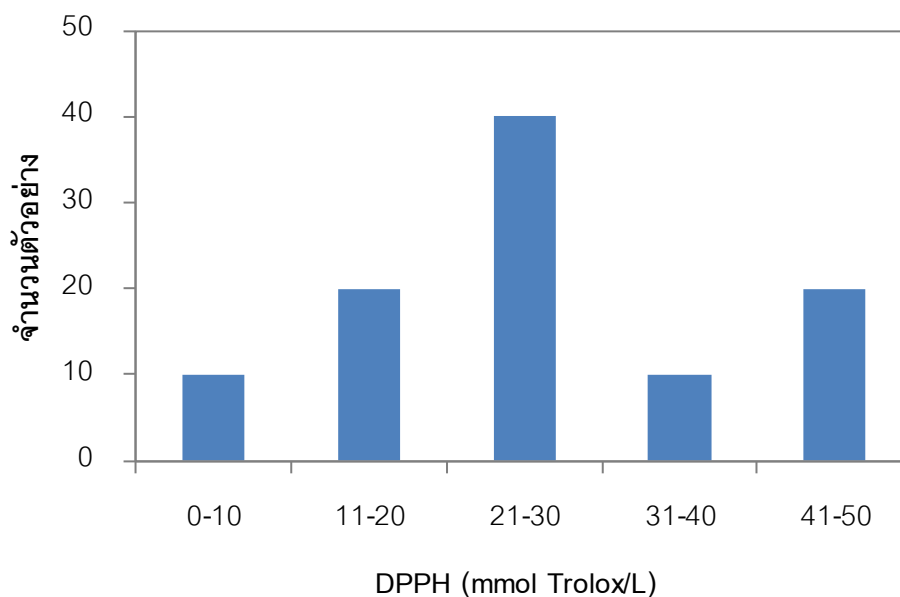
การกระจายค่าทางเคมีควรมีการกระจายให้มีความครอบคลุมกับตัวอย่างที่ต้องใช้วัด จึงจะเหมาะสมแก่การนำไปสร้างสมการในการทำนาย การกระจายค่าทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกที่ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดอยู่ที่ช่วง 499-4656 mg GAE/L ซึ่งค่าต่ำสุดอยู่ที่ 499 mg GAE/L และสูงสุดอยู่ที่ 4656 mg GAE/L โดยในช่วงค่า 2001-3000 mg GAE/L นั้นจะมีอยู่ตัวอย่างในช่วงนี้สูงที่สุด คิดเป็น 25% และค่าทางเคมีทั้งหมดนี้มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 2558 mg GAE/L ค่ากลางอยู่ที่ 2578mg GAE/L ดังภาพที่ 36



ภาพที่ 36 การกระจายของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมังคุด 100 ตัวอย่าง

การกระจายค่าทางเคมีของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุดอยู่ในช่วง 5-48 mmol Trolox/L ซึ่งค่าต่ำสุดอยู่ที่ 5 mmol Trolox/L และสูงสุดอยู่ที่ 48 mmol Trolox/L โดยในช่วงค่า 21-30 mmol Trolox/L นั้นจะมีอยู่ตัวอย่างในช่วงนี้สูงที่สุด คิดเป็น 40%

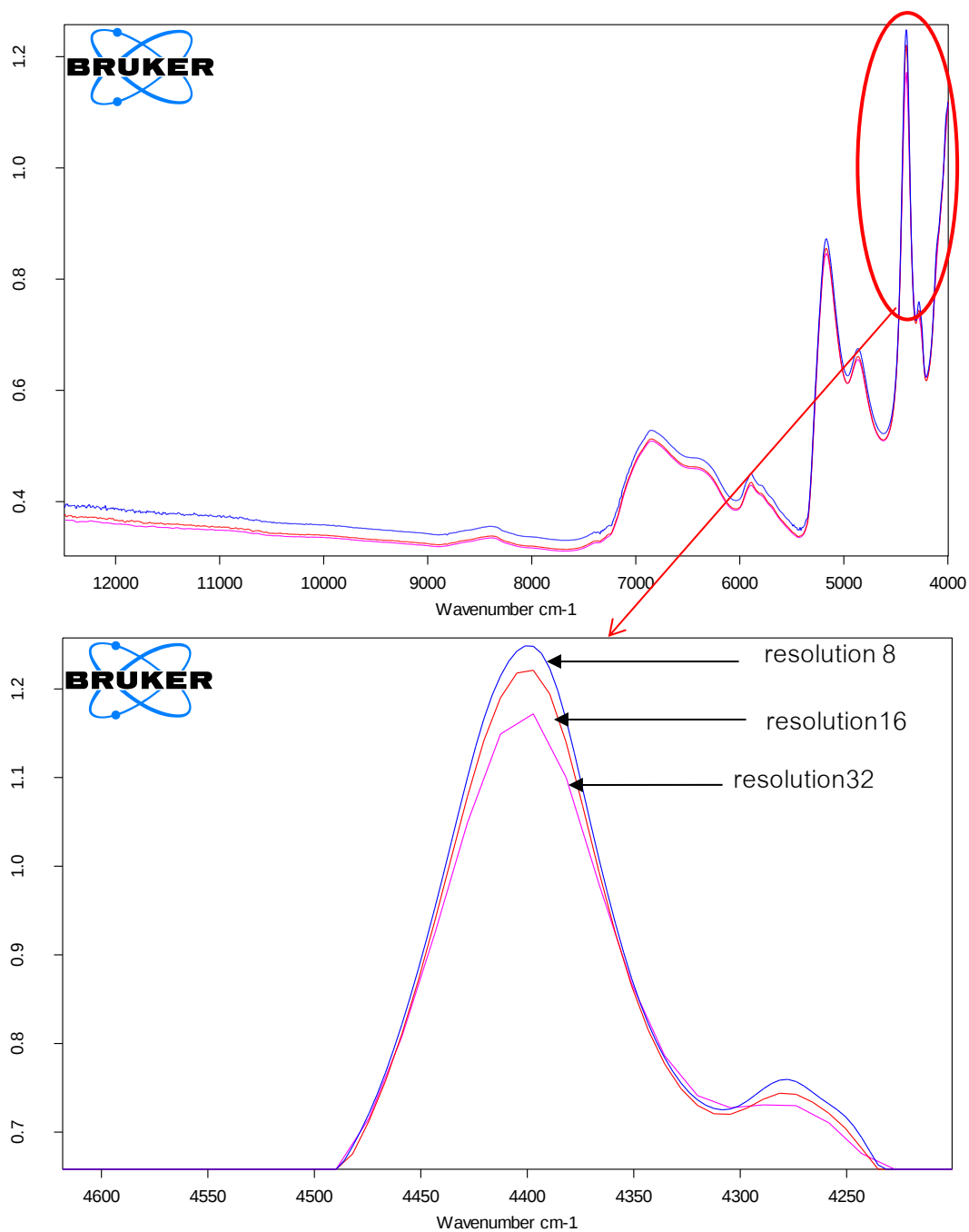
และค่าทางเคมีทั้งหมดนี้มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 25 mmol Trolox/L ค่ากลางอยู่ที่ 23 mmol Trolox/L ดังภาพที่ 37



ภาพที่ 37 การกระจายค่าทางเคมีของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมังคุด 100 ตัวอย่าง

4.3.2 สเปกตรัม

จากการวัดสเปกตรัมของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ resolution 8, 16, 32 cm^{-1} scantime 32 และเลขคลื่น 12500-4000 cm^{-1} นั้นจะเห็นว่า ที่ resolution 8 cm^{-1} พิกที่ได้มาจาก การรบกวนโดยสารประกอบอื่นๆ ที่ไม่ต้องการ จึงทำให้พิกมีลักษณะที่สูงกว่าที่ resolution 16 และ 32 cm^{-1} ดังภาพที่ 38



ภาพที่ 38 เปรียบเทียบลักษณะสเปกตรัมของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ได้จากการวัด NIRS ที่ resolution 8, 16, 32 cm^{-1}

ซึ่งจากภาพสเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่งสเปกตรัมใดๆ ที่ resolution ต่างๆ นั้น จะมีการรบกวนของพีคน้ำซึ่งจะบดบังพีคที่เราสนใจ จึงต้องมีการปรับแต่งสเปกตรัมให้สเปกตรัมที่เราสนใจ

เด่นชัดยิ่งขึ้น การปรับแต่งสเปกตรัมที่เลือกใช้คือ MSC, SNV, first derivative ร่วมกับ MSC, first derivative ร่วมกับ SNV

4.3.3 การสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมังคุด

หลังจากวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วทั้ง 3 resolution ที่ resolution 8, 16, 32 cm^{-1} scantime เท่ากับ 32 จากนั้นนำสเปกตรัมที่วัดได้จากเทคนิค NIR และค่าทางเคมีมาสร้างสมการด้วยโปรแกรม OPUS version 7.0 โดยเส้นสเปกตรัมที่ได้จะถูกปรับแต่งด้วยวิธีต่างๆ ดังตารางที่

ตารางที่ 18 ความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากวิธีทาง NIRS และค่าทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมังคุด ที่ resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} scantime 32 ที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมต่างๆ ของการ Cross validation

resolution (cm^{-1})	จำนวนตัวอย่าง	treatment	เลขคลื่น (cm^{-1})	R^2	RMSECV (mg GAE/L)	RPD	Bias (mg GAE/L)
8	100	No preprocessing	7502.2-4597.8	0.97	236	5.46	0.081
	100	SNV	7502.2-4246.8	0.97	212	6.04	0.0229
	100	MSC	7502.2-4246.8	0.97	202	6.3	0.591
	100	$1^0 + \text{SNV}$	7502.2-4246.8	0.96	236	5.38	-0.171
	100	$1^0 + \text{MSC}$	7502.2-4597.8	0.96	248	5.11	-0.511
16	100	No preprocessing	7506.1-4242.9	0.97	222	6.16	-2.81
	100	SNV	7506.1-4597.8	0.97	221	5.82	-3.52
	100	MSC	7506.1-4242.9	0.97	210	6.14	-2.28
	100	$1^0 + \text{SNV}$	7506.1-4242.9	0.97	209	6.16	-0.141
	100	$1^0 + \text{MSC}$	7506.1-4242.9	0.97	210	6.16	-0.534
32	100	No preprocessing	7513.8-4242.9	0.97	215	5.99	-1.63
	100	SNV	7513.8-4242.9	0.98	194	6.64	0.819
	100	MSC	7513.8-4242.9	0.98	182	7.04	-1.78
	100	$1^0 + \text{SNV}$	7513.8-4242.9	0.98	182	7	0.0613
	100	$1^0 + \text{MSC}$	7513.8-4242.9	0.98	176	7.25	0.169

เมื่อพิจารณาการปรับแต่งที่ดีที่สุดในแต่ละ resolution ปรากฏว่าที่ resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} การปรับแต่งที่ดีที่สุดคือ การใช้การปรับแต่งแบบ MSC, first derivative ร่วมกับ SNV และ first derivative ร่วมกับ MSC ตามลำดับ

4.3.4 การปรับปรุงสมการในการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมังคุด

ทำการปรับปรุงสมการการทำนายให้มีประสิทธิภาพในการทำนายให้ดียิ่งขึ้นเนื่องจากสมการที่ใช้ในการทำนายมีความผิดพลาดระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายได้นั้นสูงโดยจะแบ่งตัวอย่างจากชุดที่ใช้เพื่อการทำนาย (25 ตัวอย่าง) แบ่งมา 15 ตัวอย่าง ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง รวมกับ 100 ตัวอย่างชุดเดิมจากนั้นเลือกการปรับแต่งสมการที่ดีที่สุด ที่ resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} scantime 32 ดังตารางที่ 19 แล้วมาทำนายกลุ่มตัวอย่างที่เตรียมไว้เพื่อการทำนาย 25

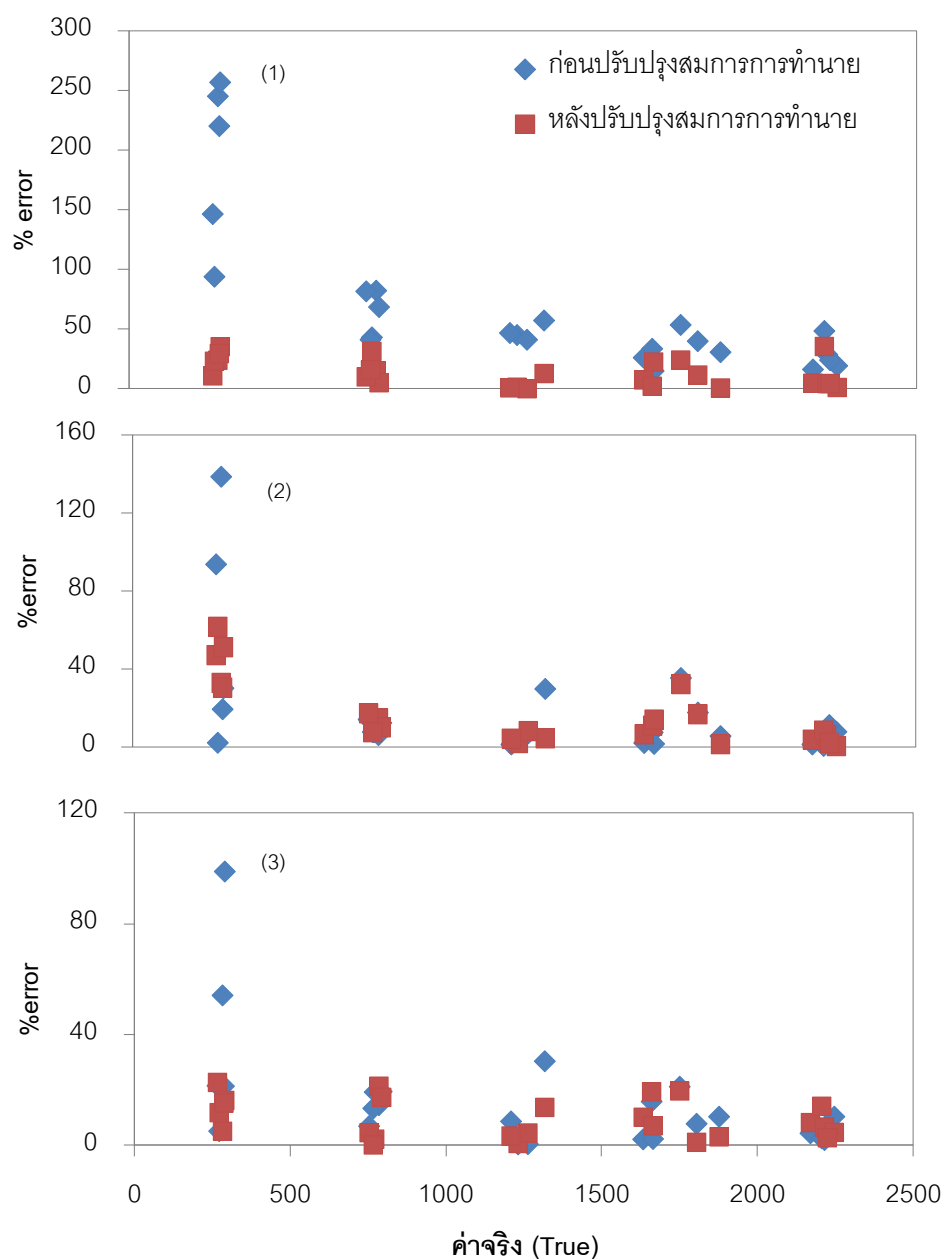
การเพิ่มตัวอย่างให้มีความหลากหลายของความเข้มข้นมากขึ้นในการสร้างสมการการทำนายจะทำให้ สมการในการทำนายครอบคลุมตัวอย่างจากภายนอกมากขึ้น

ตารางที่ 19 ค่าทางสถิติของสมการ calibration ในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีการเลือกแต่ละการปรับแต่งที่ resolution ต่างๆ ที่ดีที่สุดซึ่งมีการปรับปรุงสมการ calibration แล้วมาทำการ cross validation

resolution (cm^{-1})	จำนวน ตัวอย่าง	treatment	เลขคลื่น (cm^{-1})	R^2	RMSECV (mg GAE/L)	RPD	Bias (mg GAE/L)
8	115	SNV	7502.2-4246.8	0.98	196	6.58	1.79
16	115	MSC	7502.2-4246.8	0.98	200	6.51	-1.55
32	115	SNV	7513.8-4597.8	0.98	171	7.5	-0.676

4.3.5 ผลการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างสารสกัดเปลือกมังคุด

จากการนำสมการที่มีการปรับแต่งที่ดีที่สุด ใน resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} ทั้งสมการการทำนายก่อนการปรับปรุงสมการและสมการการทำนายที่มีการปรับปรุงสมการแล้ว มาทำนายผลสารประกอบฟีนอลิก โดยแสดงออกมาในรูปแบบของความผิดพลาดระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายโดย NIRS (%error) ของกลุ่มตัวอย่างที่เตรียมไว้เพื่อการทำนาย 25 ตัวอย่าง ดังภาพที่ 39 และ ตารางที่ 20 และ 21 ตามลำดับ



ภาพที่ 39 ความสัมพันธ์ระหว่างความผิดพลาดในการทำนาย (%error) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมังคุด (mg GAE/L) ของสมการเดิมที่ไม่มีการปรับปรุงและสมการที่มีการปรับปรุงแล้ว ที่ (1) resolution 8 cm^{-1} , (2) resolution 16 cm^{-1} , (3) resolution 32 cm^{-1}

ตารางที่ 20 ค่าการทำนายที่ได้จากวิธีทาง NIRS (predict) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี (True) ของสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/L) จากสารสกัดเปลือกมังคุดที่ resolution 8, 16, 32 cm^{-1} scantime 32

No. sample	True	resolution (cm^{-1})					
		8		16		32	
		Prediction	error(%)	Prediction	error(%)	Prediction	error(%)
1	281	-410	246	-109	139	129	54
2	265	-124	147	16	94	208	22
3	271	15	94	276	2	256	5
4	289	-454	257	376	30	3	99
5	286	-345	221	230	19	225	21
6	770	435	44	828	8	621	19
7	784	136	83	736	6	669	15
8	793	246	69	891	12	638	20
9	752	135	82	858	14	805	7
10	766	448	42	707	8	663	13
11	1231	671	45	1189	3	1225	0
12	1317	557	58	924	30	915	30
13	1262	738	42	1174	7	1269	1
14	1208	638	47	1224	1	1102	9
15	1750	806	54	1130	35	1378	21
16	1876	1293	31	1772	6	1680	10
17	1804	1076	40	1485	18	1662	8
18	1633	1200	27	1599	2	1670	2
19	1660	1096	34	1535	8	1924	16
20	1664	1409	15	1691	2	1624	2
21	2170	1809	17	2141	1	2073	4
22	2215	1571	29	2056	7	2260	2
23	2247	1804	20	2071	8	2482	10
24	2206	1128	49	2218	1	2265	3
25	2224	1681	24	1974	11	2130	4

ตารางที่ 21 ค่าการทำนายที่ได้จากวิธีทาง NIRS (predict) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี (True) ของสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดเปลือกมังคุด (mg GAE/L) ที่ resolution 8, 16, 32 cm^{-1} scantime 32 ของสมการที่มีการปรับปรุงแล้ว

No. sample	True	resolution (cm^{-1})					
		8		16		32	
		Prediction	error(%)	Prediction	error(%)	Prediction	error(%)
1	281.36	212.64	24.42	374.00	32.93	296.02	5.21
2	265.11	294.97	11.26	390.18	47.18	325.64	22.83
3	270.52	206.93	23.51	437.55	61.74	302.80	11.93
4	288.58	185.59	35.69	436.43	51.23	241.42	16.34
5	285.88	200.29	29.94	198.66	30.51	329.89	15.40
6	770.19	1015.10	31.80	868.10	12.71	752.01	2.36
7	783.73	661.65	15.58	668.96	14.64	615.48	21.47
8	792.76	836.44	5.51	872.97	10.12	654.42	17.45
9	752.13	673.93	10.40	621.79	17.33	787.48	4.70
10	765.67	891.04	16.37	707.51	7.60	763.61	0.27
11	1230.71	1209.10	1.76	1205.80	2.02	1240.30	0.78
12	1316.50	1142.60	13.21	1257.70	4.47	1134.60	13.82
13	1262.32	1256.10	0.49	1159.10	8.18	1320.10	4.58
14	1208.14	1222.70	1.21	1156.50	4.27	1250.30	3.49
15	1749.94	1320.90	24.52	1184.60	32.31	1404.10	19.76
16	1876.36	1896.80	1.09	1903.80	1.46	1816.50	3.19
17	1804.12	1588.90	11.93	1500.60	16.82	1782.20	1.21
18	1632.55	1761.20	7.88	1739.10	6.53	1800.10	10.26
19	1659.64	1617.00	2.57	1842.00	10.99	1982.50	19.45
20	1664.16	2044.40	22.85	1898.50	14.08	1783.50	7.17
21	2169.83	2280.60	5.11	2251.60	3.77	1989.00	8.33
22	2214.99	2320.20	4.75	2350.90	6.14	2364.10	6.73
23	2246.59	2280.70	1.52	2235.90	0.48	2354.20	4.79
24	2205.96	1414.42	35.88	2391.70	8.42	2519.80	14.23
25	2224.01	2116.70	4.83	2176.60	2.13	2160.10	2.87

จากการนำสมการที่มีการปรับแต่งที่ดีที่สุดในแต่ละ resolution มาทำนายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ จะเห็นว่าทั้ง 3 resolution นั้น ความผิดพลาด (%error) ที่สูงจะปรากฏในความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำ เมื่อทำการปรับปรุงสมการที่ใช้ในการทำนายแล้วจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาด (%error) ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายโดยวิธีทาง NIRS มีการลดลงจากการใช้สมการเดิมที่ไม่มีการปรับปรุง

4.3.6 การสร้างสมการทำนายความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

หลังจากวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วทั้ง 3 resolution ที่ resolution 8 , 16, 32 cm^{-1} scantime 32 จากนั้นนำสเปกตรัมที่วัดได้จากเทคนิค NIRS และค่าทางเคมีมาสร้างสมการด้วยโปรแกรม OPUS version 7.0 โดยเส้นสเปกตรัมที่ได้จะได้รับการปรับแต่งด้วยวิธีต่างๆดังตารางที่

ตารางที่ 22 ความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากวิธีทาง NIRS และค่าทางเคมีของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ที่ resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} scantime 32 ที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมต่างๆ

resolution (cm^{-1})	จำนวนตัวอย่าง	treatment	เลขคลื่น (cm^{-1})	R^2	RMSECV (mmol Trolox/L)	RPD	Bias (mmol Trolox/L)
8	100	No preprocessing	7502.2-4597.8	0.96	2.44	4.83	-0.00382
	100	SNV	7502.2-4597.8	0.96	2.37	4.96	-0.0127
	100	MSC	7502.2-4597.8	0.96	2.35	5.02	-0.0134
	100	first derivative+ SNV	7502.2-4597.8	0.96	2.21	5.32	0.00435
	100	first derivative+ MSC	7502.2-4597.8	0.96	2.21	5.32	0.00335
16	100	No preprocessing	9403.8-4597.8	0.96	2.41	4.85	-0.00327
	100	SNV	6102.1-4597.8	0.96	2.31	5.06	-0.00043
	100	MSC	9403.8-4597.8	0.96	2.3	5.09	0.00112
	100	first derivative+ SNV	7506.1-4242.9	0.96	2.29	5.16	-0.00004
	100	first derivative+ MSC	9403.8-4597.8	0.96	2.25	5.24	0.00892
32	100	No preprocessing	9411.5-4597.8	0.96	2.23	5.34	-0.0185
	100	SNV	7513.8-4597.8	0.97	2.18	5.44	0.00671
	100	MSC	7513.8-4597.8	0.96	2.32	5.09	0.00421
	100	first derivative+ SNV	7513.8-4597.8	0.97	1.76	6.65	-0.00281
	100	first derivative+ MSC	7513.8-4597.8	0.97	1.98	5.99	-0.00699

และเมื่อพิจารณาการปรับแต่งที่ดีที่สุดในแต่ละ resolution ปรากฏว่าที่ resolution 8 การปรับแต่งที่ดีที่สุดคือ first derivative ร่วมกับ MSC ที่ resolution 16 และ 32 cm^{-1} การปรับแต่งที่ดีที่สุดคือ การใช้การปรับแต่งแบบ first derivative ร่วมกับ SNV

4.3.7 การปรับปรุงสมการทำนายความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

การปรับปรุงสมการการทำนายให้มีประสิทธิภาพในการทำนายให้ดียิ่งขึ้นนั้น กระทำเนื่องจากเห็นว่า สมการที่ใช้ในการทำนายก่อนหน้าพบความผิดพลาดระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายได้นั้นสูงโดยจะแบ่งตัวอย่างจากชุดที่ใช้เพื่อการทำนาย (25 ตัวอย่าง) แบ่งมา 15 ตัวอย่างความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง รวมกับ 100 ตัวอย่างชุดเดิมจากนั้นเลือกการปรับแต่งสมการที่ดีที่สุดที่ resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} scantime 32 ดังตารางที่ 23 แล้วมาทำนายกลุ่มตัวอย่างที่เตรียมไว้เพื่อการทำนาย 25

การเพิ่มตัวอย่างให้มีความหลากหลายของความเข้มข้นมากขึ้นในการสร้างสมการการทำนายจะทำให้ สมการในการทำนายครอบคลุมตัวอย่างจากภายนอกมากขึ้น

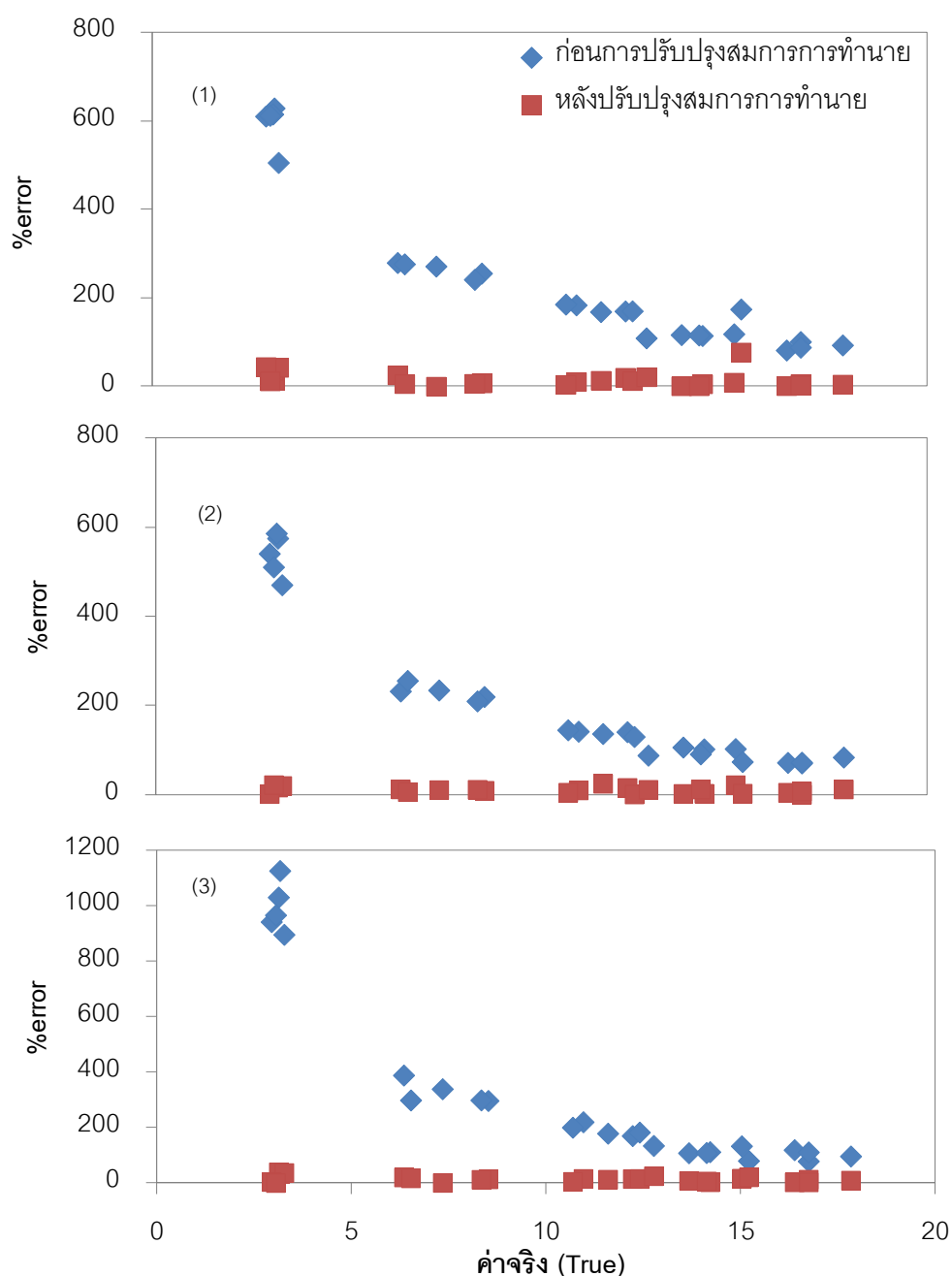
ตารางที่ 23 ค่าทางสถิติของสมการ calibration ในการหาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ที่มีการเลือกแต่ละการปรับแต่งที่ resolution ต่างๆ ที่ดีที่สุดซึ่งมีการปรับปรุงสมการ calibration แล้ว

resolution (cm^{-1})	จำนวน ตัวอย่าง	treatment	เลขคลื่น (cm^{-1})	R^2	RMSECV (mmol Trolox/L)	RPD	Bias (mmol Trolox/L)
8	115	MSC	6102.1-4597.8	0.98	1.9	4.67	0.00862
16	115	MSC	7506.1-4242.9	0.97	2.00	6.08	-0.00339
32	115	1°+MSC	5461.8-4597.8	0.98	2.00	5.98	0.0043

4.3.8 ผลการทำนายความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

จากการนำสมการที่มีการปรับแต่งที่ดีที่สุดที่ resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} ทั้งสมการการทำนาย ก่อนการปรับปรุงสมการและสมการการทำนายที่มีการปรับปรุงสมการแล้ว มาทำนาย

ผล โดยแสดงออกมารูปของความผิดพลาดระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายโดย NIRS (%error) ของกลุ่มตัวอย่างที่เตรียมไว้เพื่อการทำนาย 25 ตัวอย่าง ดังภาพที่ 40 และตารางที่ 24 และ 25



ภาพที่ 40 ความสัมพันธ์ระหว่างความผิดพลาดในการทำนาย(%error) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด (mmol Trolox/L) ของสมการเดิมที่ไม่มีการปรับปรุงและสมการที่มีการปรับปรุงแล้ว ที่ (1) resolution 8 cm⁻¹, (2) resolution 16 cm⁻¹, (3) resolution 32 cm⁻¹

ตารางที่ 24 ค่าการทำนายที่ได้จากวิธีทาง NIRS (predict) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี (true) ของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุด (mmol Trolox/L) ที่ resolution 8, 16, 32 cm^{-1} scantime 32

No. sample	TRUE	Resolution (cm^{-1})					
		8		16		32	
		Prediction	error(%)	Prediction	error(%)	Prediction	error(%)
1	3.15	-16.65	628.83	-14.95	574.75	-32.32	1126.39
2	3.11	-16.04	615.26	-15.13	585.96	-28.97	1030.68
3	3.26	-13.21	505.71	-12.06	470.22	-25.93	896.07
4	2.93	-14.97	610.57	-12.91	540.45	-24.69	942.12
5	3.04	-15.57	612.24	-12.47	510.30	-26.34	966.41
6	8.50	-13.23	255.57	-10.16	219.52	-16.71	296.52
7	6.33	-11.37	279.49	-8.35	231.87	-18.26	388.38
8	8.32	-11.77	241.43	-9.12	209.60	-16.53	298.57
9	7.33	-12.56	271.41	-9.82	234.03	-17.51	338.88
10	6.51	-11.49	276.42	-10.13	255.46	-12.92	298.43
11	10.95	-9.17	183.81	-4.56	141.67	-13.10	219.69
12	11.58	-7.94	168.60	-4.22	136.42	-9.09	178.48
13	10.68	-9.13	185.48	-4.78	144.76	-10.67	199.98
14	12.21	-8.55	170.00	-4.96	140.57	-8.53	169.80
15	12.40	-8.71	170.24	-3.69	129.79	-10.21	182.33
16	14.21	-2.07	114.58	-0.28	101.99	-1.66	111.68
17	15.02	-2.76	118.36	-0.40	102.66	-4.93	132.81
18	13.66	-2.27	116.59	-0.83	106.04	-1.06	107.78
19	12.76	-1.17	109.21	1.55	87.88	-4.35	134.12
20	14.12	-2.21	115.68	1.30	90.78	-1.20	108.52
21	16.38	3.00	81.71	4.64	71.66	-3.09	118.87
22	16.74	-0.15	100.90	4.95	70.43	3.66	78.14
23	17.83	1.21	93.23	2.90	83.70	0.69	96.11
24	15.20	-11.31	174.41	4.02	73.57	3.10	79.59
25	16.74	1.97	88.21	4.67	72.12	-1.81	110.83

ตารางที่ 25 ค่าการทำนายที่ได้จากวิธีทาง NIRS (predict) และค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี(true) ของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมังคุด (mmol Trolox/L) ที่ resolution 8, 16, 32 cm^{-1} scantime 32 ของสมการที่มีการปรับปรุงแล้ว

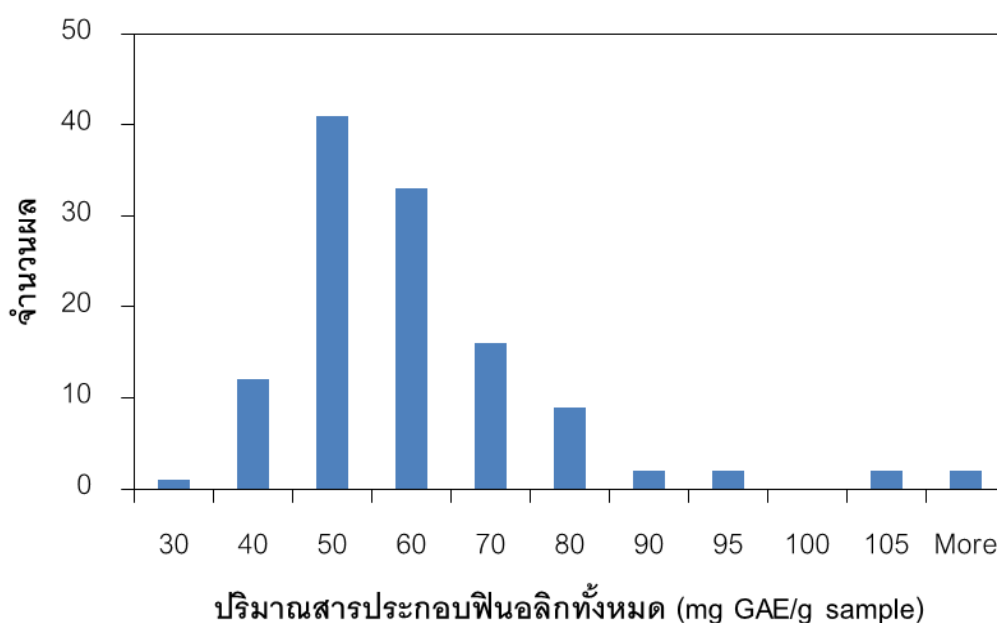
No. sample	TRUE	resolution (cm^{-1})					
		8		16		32	
		Prediction	error(%)	Prediction	error(%)	Prediction	error(%)
1	3.15	2.74	13.06	2.64	16.26	2.10	33.21
2	3.11	4.23	35.89	3.65	17.39	1.90	39.12
3	3.26	1.88	42.40	2.61	19.96	2.07	36.60
4	2.93	1.63	44.38	2.98	1.59	3.04	3.74
5	3.04	3.40	11.85	3.70	21.84	3.04	0.02
6	8.50	7.88	7.28	7.72	9.26	7.36	13.43
7	6.33	7.94	25.46	7.10	12.13	7.61	20.24
8	8.32	7.79	6.46	7.37	11.44	7.32	12.09
9	7.33	7.33	0.04	8.11	10.70	7.30	0.42
10	6.51	6.88	5.67	6.91	6.07	7.62	17.02
11	10.95	9.80	10.52	12.02	9.84	9.27	15.32
12	11.58	10.03	13.39	8.72	24.66	10.12	12.62
13	10.68	11.11	4.10	11.21	4.96	10.18	4.68
14	12.21	9.74	20.23	10.30	15.65	10.44	14.55
15	12.40	10.85	12.48	12.49	0.75	10.50	15.27
16	14.21	13.46	5.27	14.57	2.58	14.62	2.91
17	15.02	13.65	9.11	11.75	21.79	12.58	16.27
18	13.66	13.55	0.83	13.36	2.24	14.76	8.01
19	12.76	10.05	21.23	14.21	11.40	15.92	24.82
20	14.12	14.24	0.85	12.43	11.97	13.27	6.00
21	16.38	16.55	1.05	17.18	4.90	16.82	2.71
22	16.74	17.66	5.50	16.65	0.54	18.84	12.53
23	17.83	16.98	4.73	15.68	12.03	19.47	9.24
24	15.20	3.46	77.26	15.61	2.71	18.36	20.76
25	16.74	16.36	2.25	15.46	7.63	16.31	2.54

เมื่อทำการปรับปรุงสมการที่ใช้ในการทำนายแล้วจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาด (%error) ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายโดยวิธีทาง NIRS มีการลดลงจากการใช้สมการเดิมที่ไม่มีการปรับปรุง

4.4 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของมะขามป้อม

4.4.1 การกระจายของค่าทางเคมี

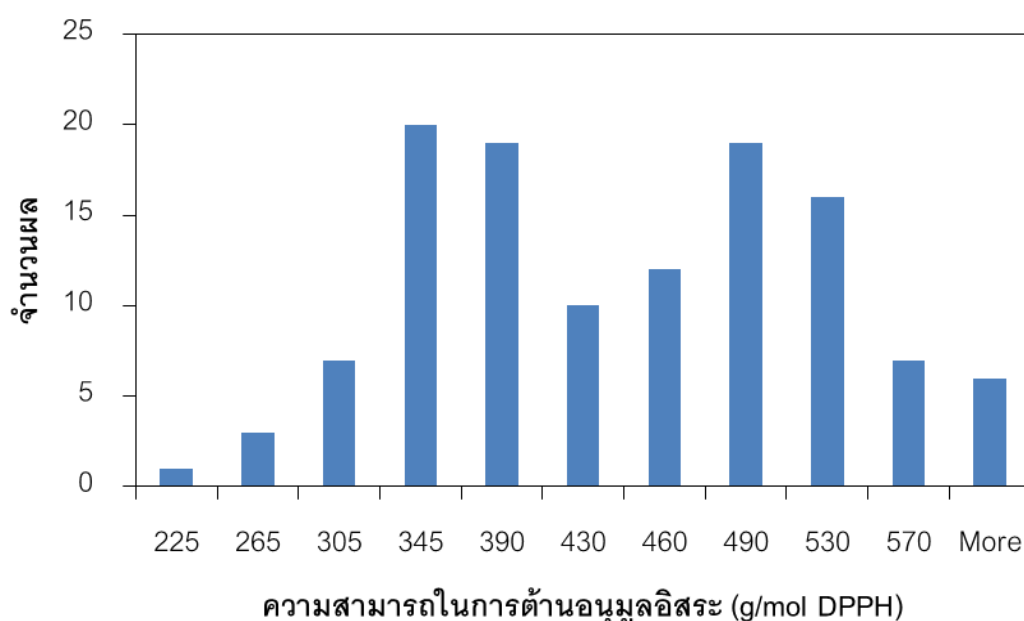
การสร้างสมการในการทำนายด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้เน้นการเลือกตัวอย่างเพื่อให้มีค่าทางเคมีที่สนใจอยู่ในช่วงที่ครอบคลุมช่วงที่ต้องการใช้ทำนายจริงทั้งนี้ค่าการกระจายของค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในมะขามป้อมนั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 30-105 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งค่าต่ำสุดมีค่าประมาณ 30 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง และค่าสูงสุดมีค่าประมาณ 105 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง และตัวอย่างส่วนใหญ่มีค่า 47-63 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ดังภาพที่ 41



ภาพที่ 41 การกระจายของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างมะขามป้อมจำนวน 120 ผล

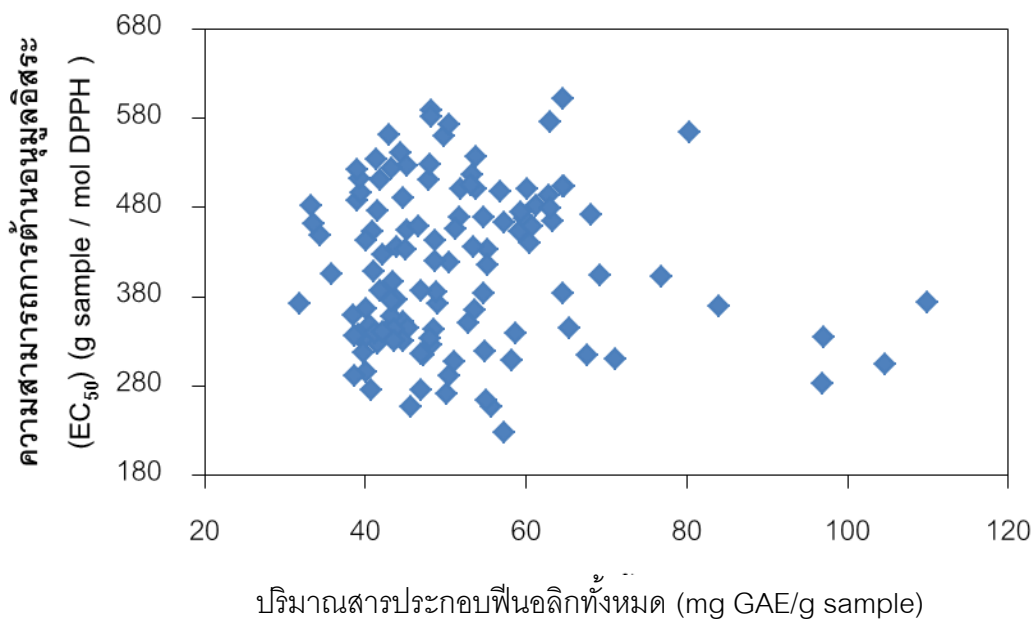
Krishnaveni และ Mirunalini (2012) รายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในมะขามป้อมพบว่ามีความประมาณ 61 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ทั้งนี้จากการกระจายตัวที่พบในการทำวิจัยครั้งนี้พบว่าค่ายังคงเกาะกลุ่มกัน

การกระจายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในรูปของค่า EC_{50} (หน่วย) ภาพที่ 42 แสดงให้เห็นว่าค่าการกระจายตัวของการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีค่าการกระจายตัวที่กว้างและอยู่ในช่วงตั้งแต่ 300-530 กรัมตัวอย่างต่อโมล DPPH ค่าต่ำสุดอยู่ในช่วง 225 กรัมตัวอย่างต่อโมล DPPH และค่าสูงสุดอยู่ในช่วง 570 กรัมตัวอย่างต่อโมล DPPH



ภาพที่ 42 การกระจายของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างมะขามป้อมจำนวน 120 ผล

การกระจายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในมะขามป้อมตัวอย่างนั้นพบได้ว่ามีการกระจายตัวอยู่ในช่วงที่กว้างมากซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าการกระจายตัวของการวิเคราะห์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของมะขามป้อมดังนั้นความแปรปรวนที่เกิดขึ้นของค่าการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจึงมีมากในการนำไปสร้างสมการทำนาย ทั้งนี้สารที่พบมากในมะขามป้อมคือวิตามินซีซึ่งเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารก่ออนุมูลอิสระได้อย่างดี จากรายงานการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในมะขามป้อมโดยสุชาติและอโนชา (2543) พบว่าปริมาณวิตามินซีในมะขามป้อมมี 226 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมผลสดและพบว่ามะขามป้อมที่ทำแห้งเก็บไว้นาน 2 เดือนยังมีปริมาณวิตามินซีสูงถึง 172.7 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมผลสด

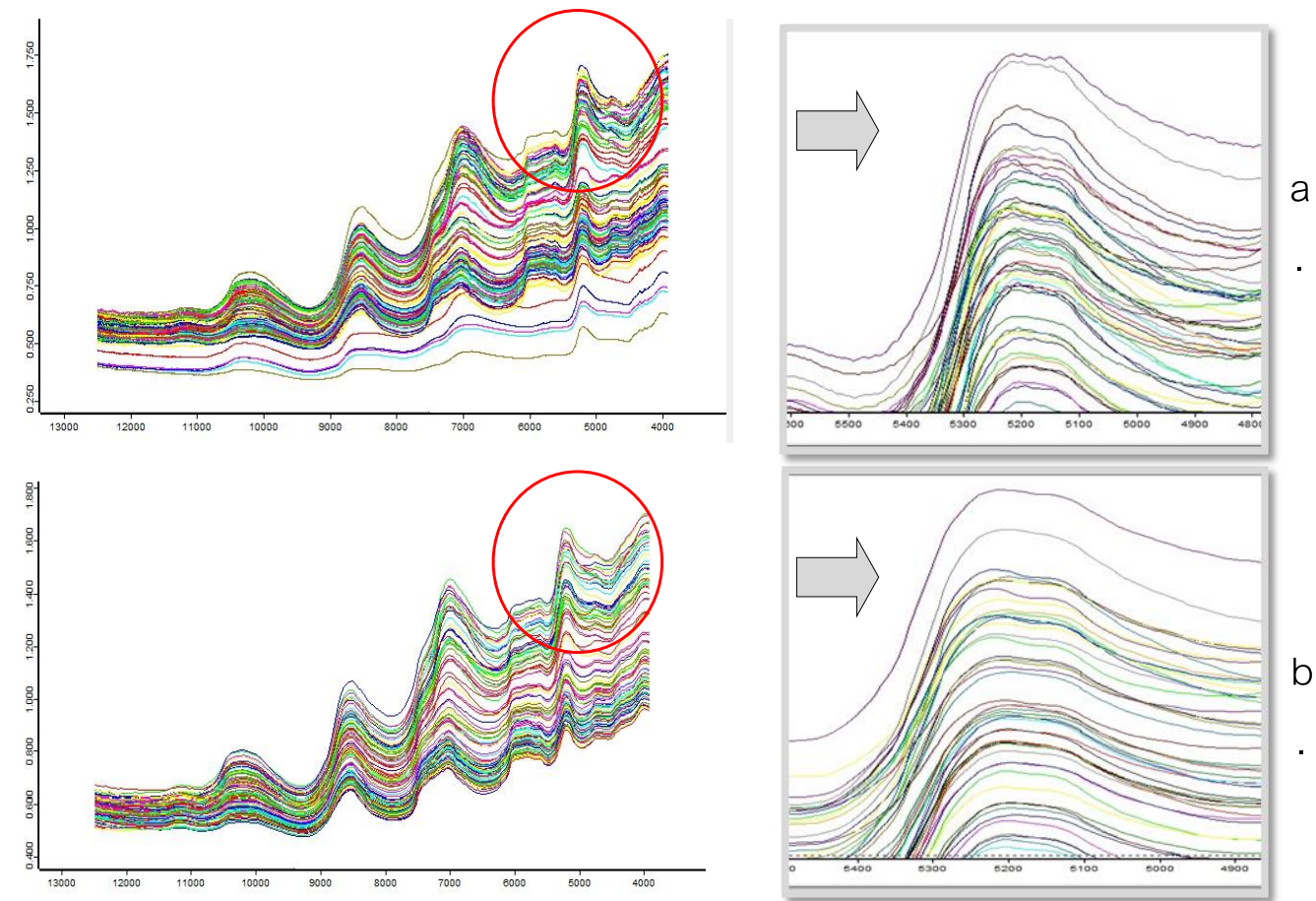


ภาพที่ 43 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างมะขามป้อมทั้งหมด 120 ผล

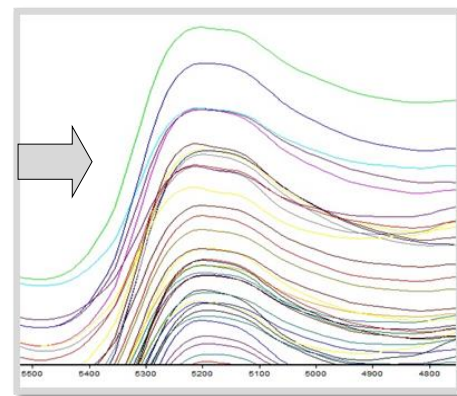
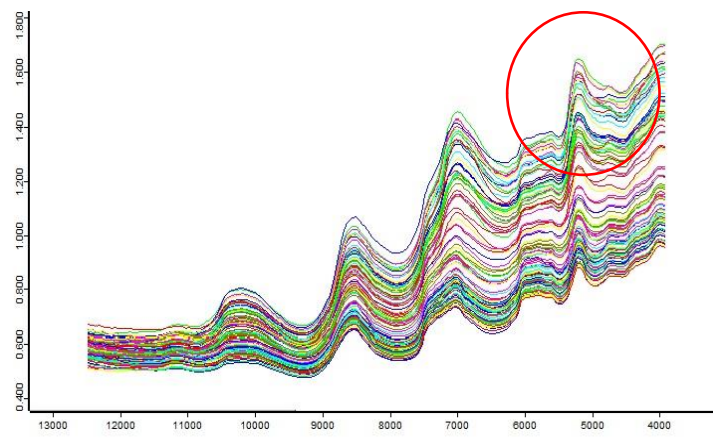
จากภาพที่ 43 แสดงให้เห็นว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดทั้งนี้เนื่องจากค่าความสามารถในการสารต้านอนุมูลนั้นอาจมาจากวิตามินซีได้เช่นกัน

4.4.2 เส้นสเปกตรัมไม่มีการปรับแต่ง

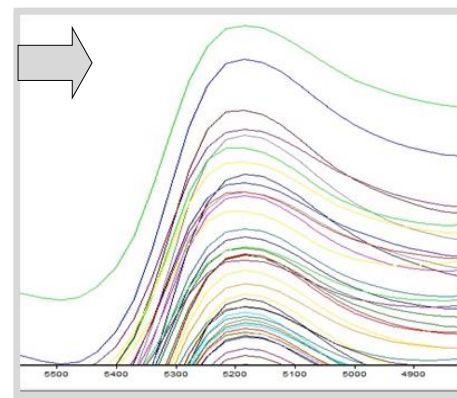
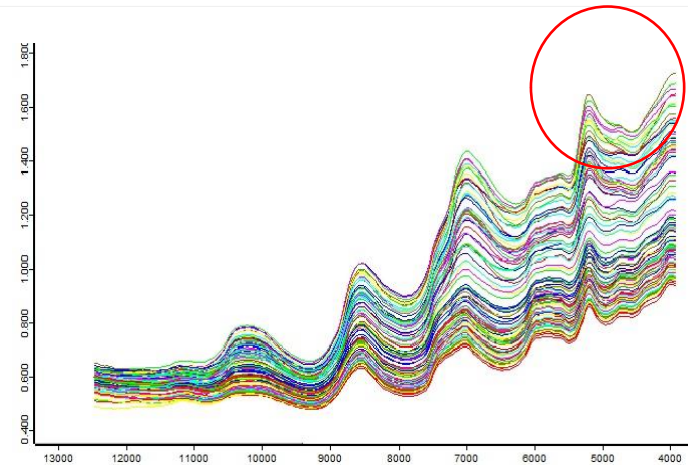
ค่าความละเอียดในการเก็บข้อมูลที่ 8 cm^{-1} มีความละเอียดในการเก็บข้อมูลที่สูงเส้นสเปกตรัมที่ได้จะมีความละเอียดและมีความหยักของเส้นมากกว่าเส้นสเปกตรัมที่มีค่าความละเอียดในการเก็บข้อมูลที่ 64 cm^{-1} และตำแหน่งด้านข้างของการวัด (ภาพที่ 44-51)



ภาพที่ 44 เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนฐานของผลมะขามป้อม (a) resolution 8 cm⁻¹ (b) resolution 16 cm⁻¹

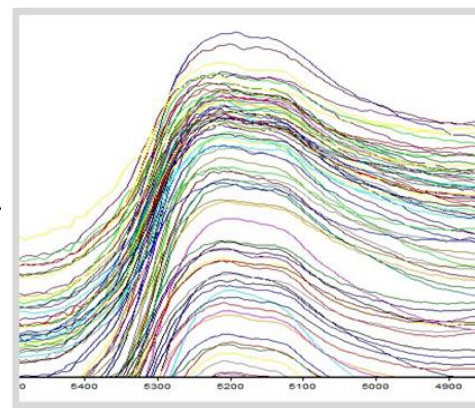
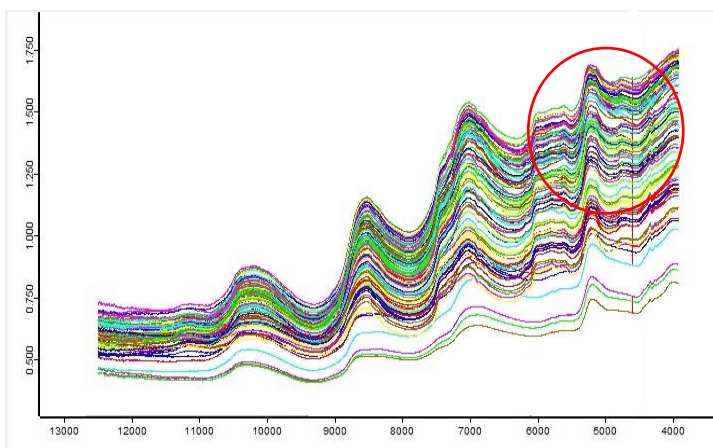


c

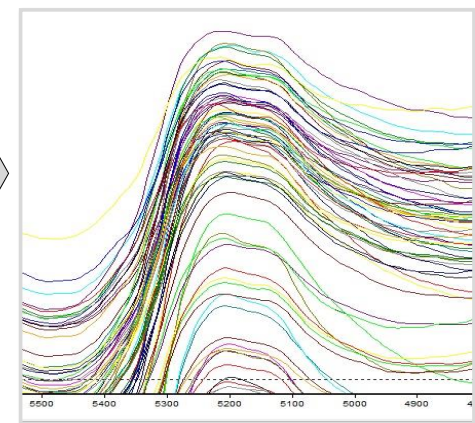
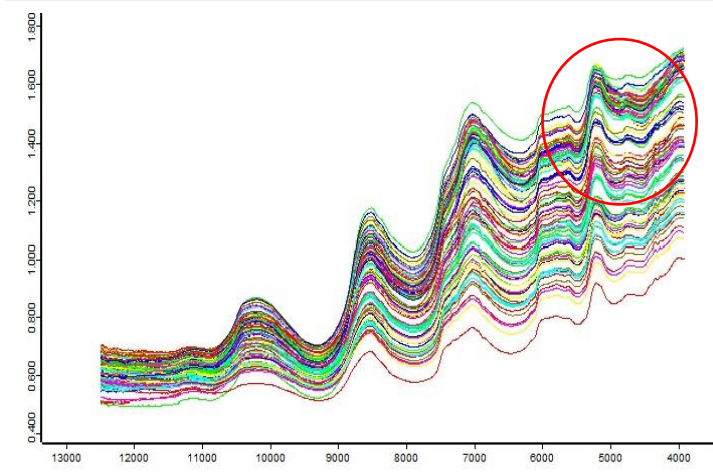


d

ภาพที่ 45 เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนฐานของผลมะขามป้อม (c) resolution 32 cm⁻¹ (d) resolution 64 cm⁻¹

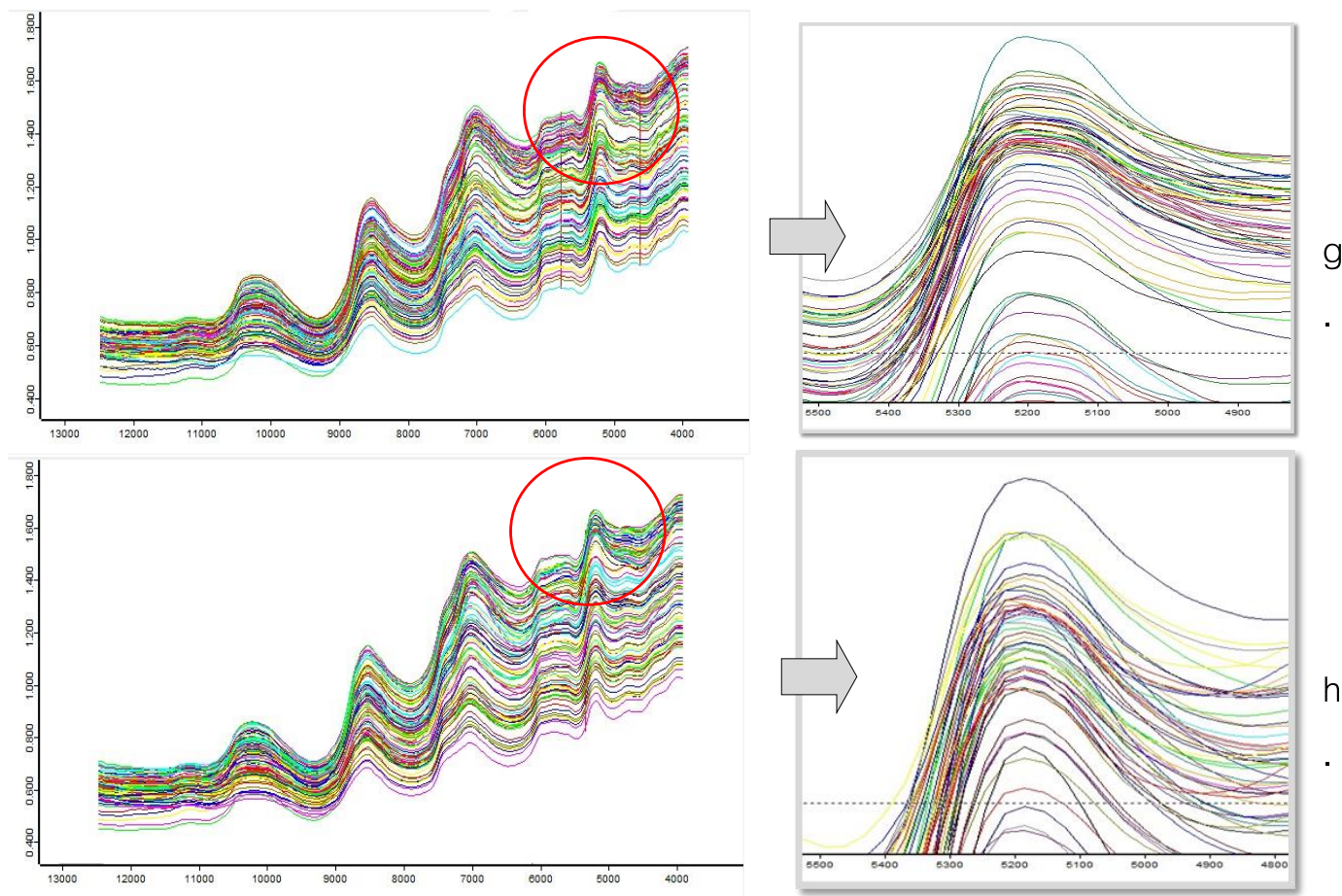


e

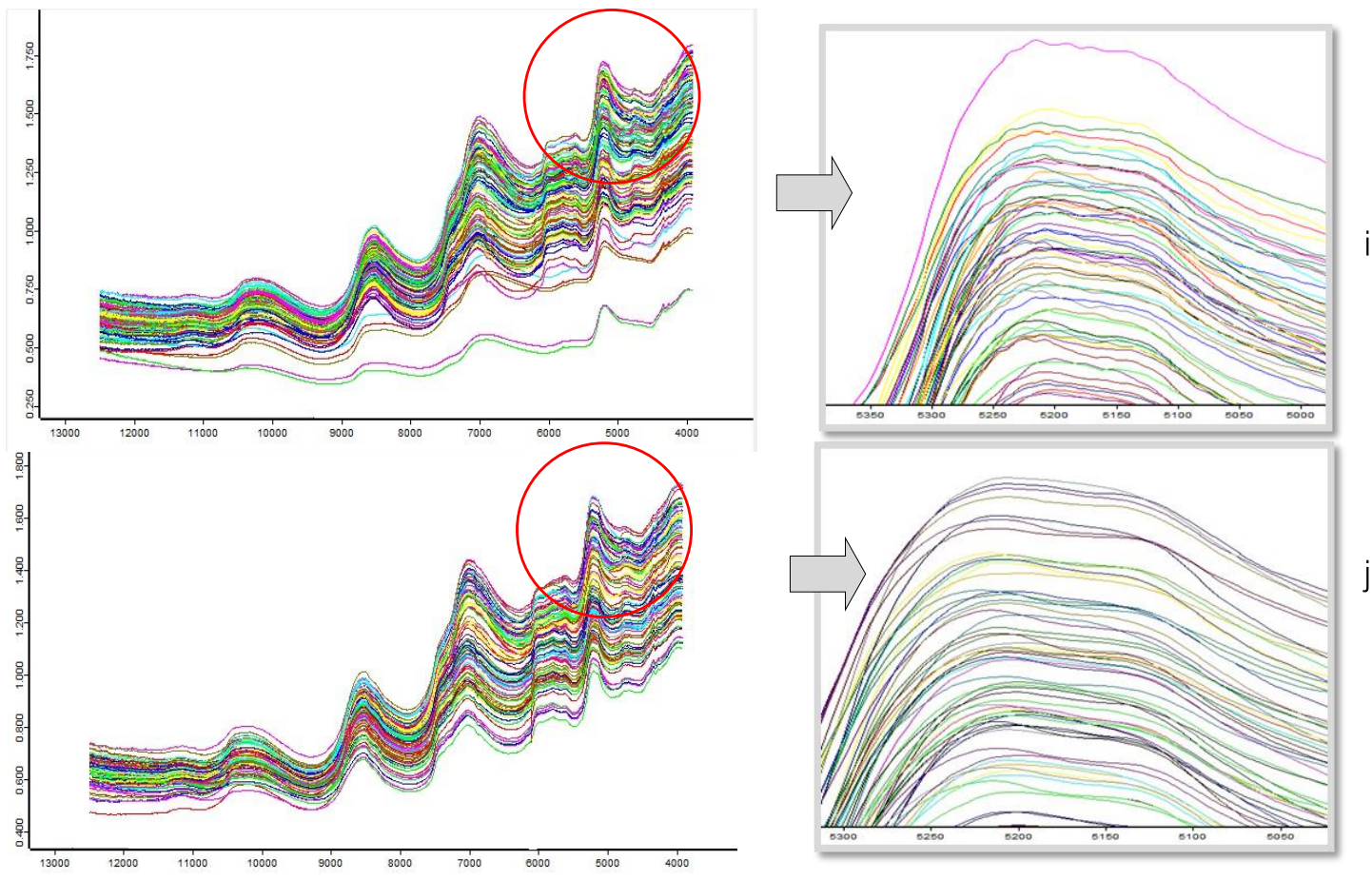


f.

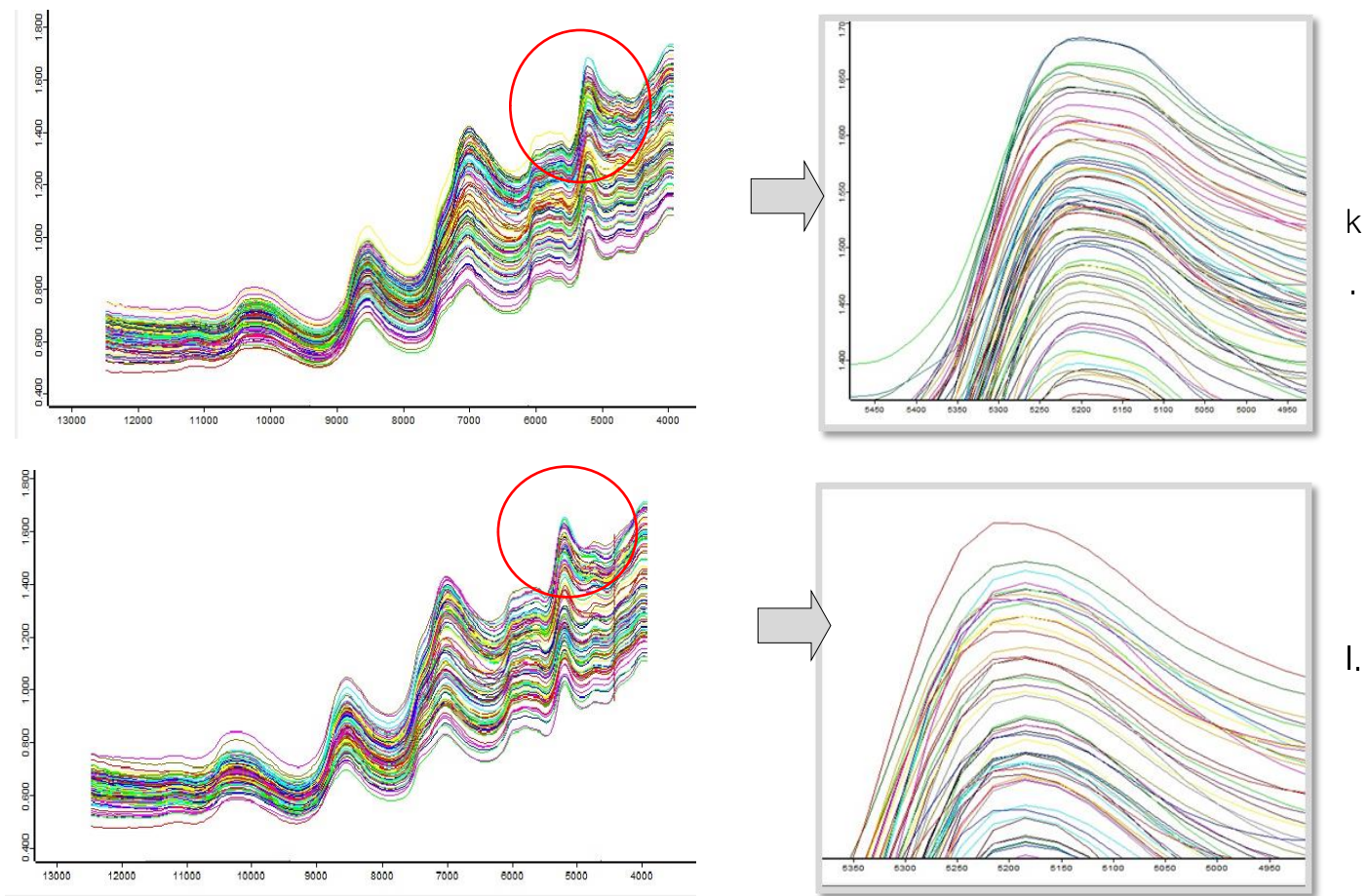
ภาพที่ 46 เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนด้านข้างของผลมะขามป้อม (e) resolution 8 cm^{-1} (f) resolution 16 cm^{-1}



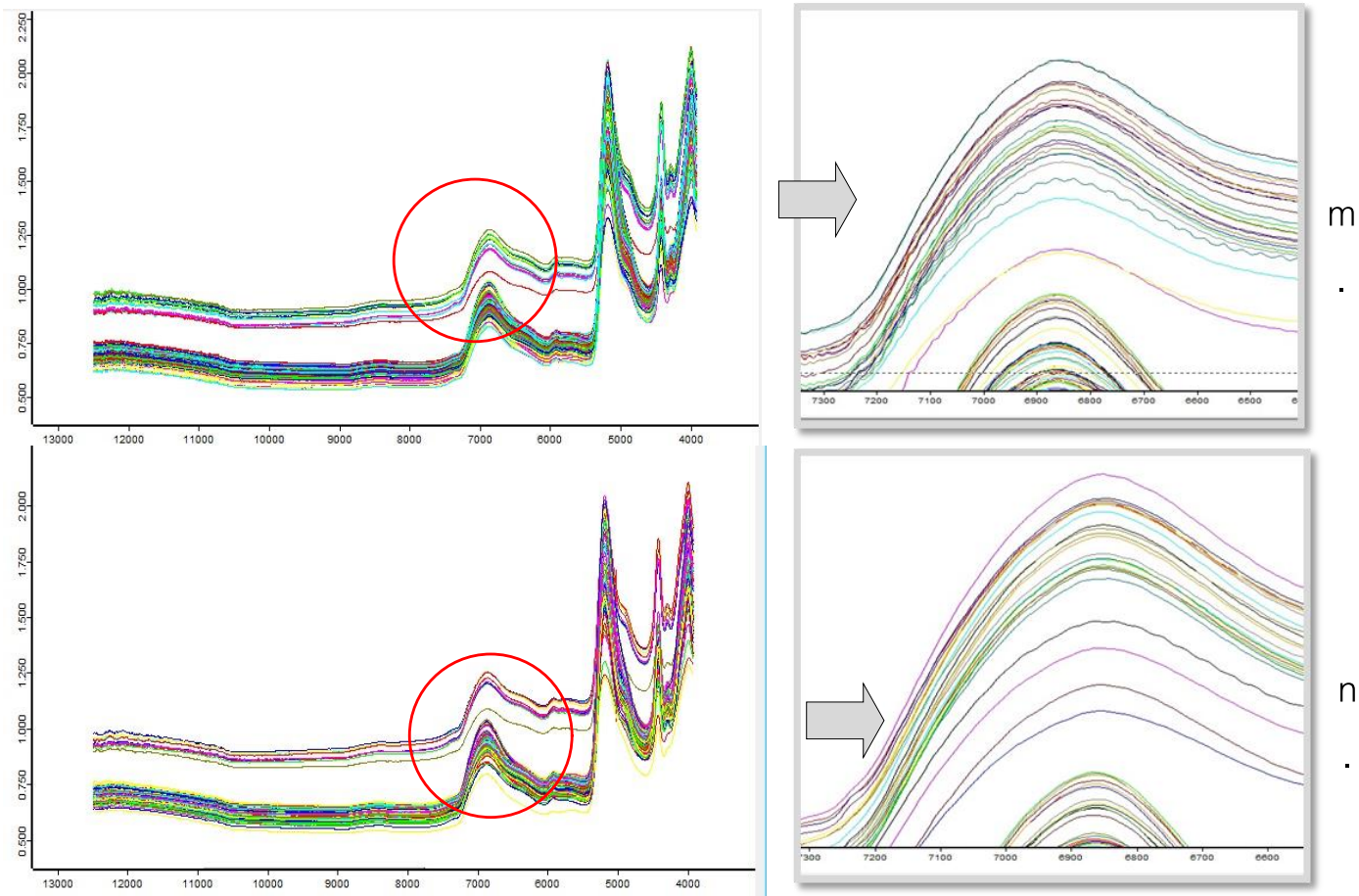
ภาพที่ 47 เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนด้านข้างของผลมะขามป้อม (g) resolution 32 cm^{-1} (h) resolution 64 cm^{-1}



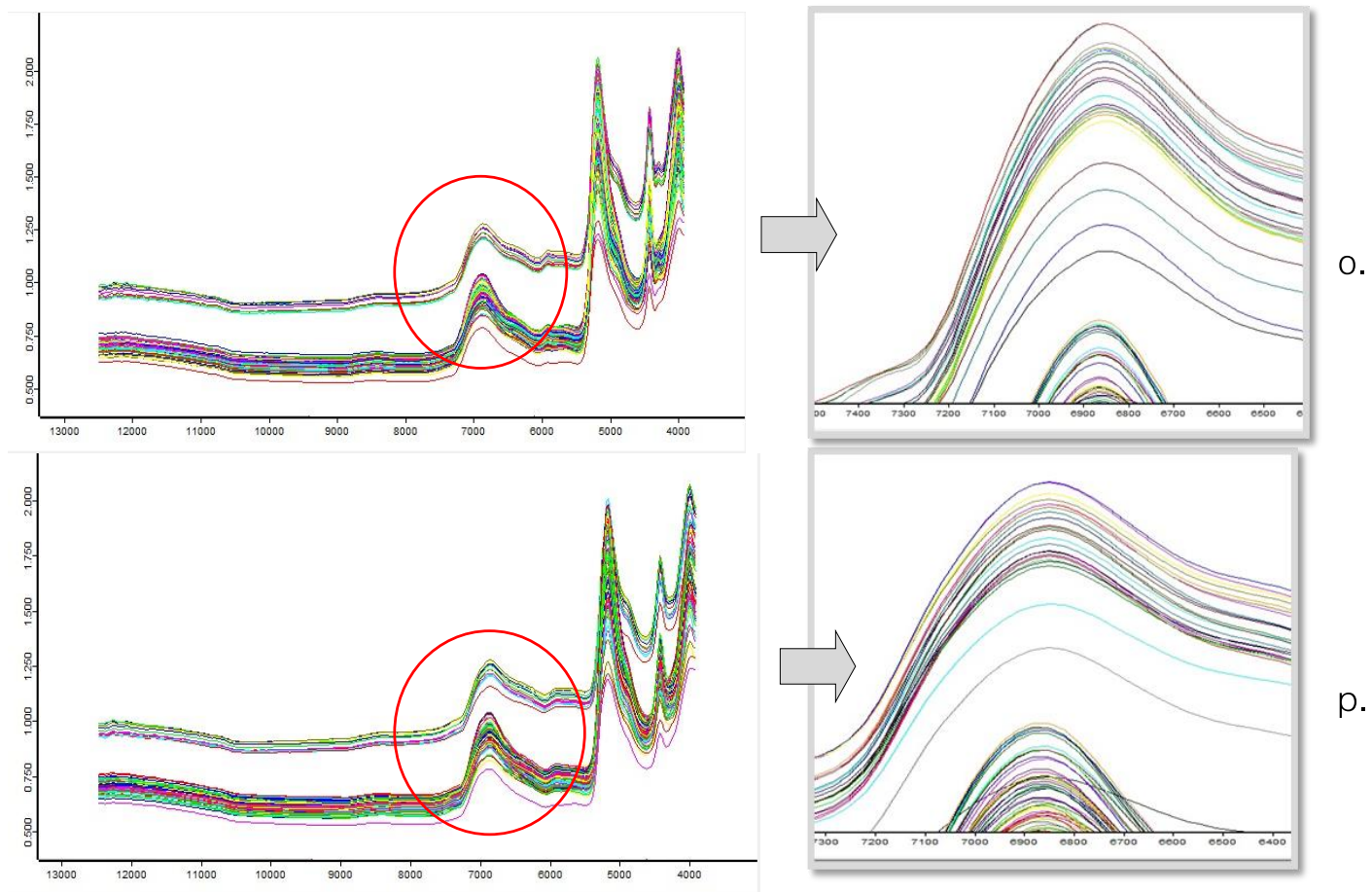
ภาพที่ 48 เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนหัวของผลมะขามป้อม (i) resolution 8 cm⁻¹ (j) resolution 16 cm⁻¹



ภาพที่ 49 เส้นสเปกตรัมของตำแหน่งส่วนหัวของผลมะขามป้อม (k) resolution 32 cm⁻¹ (l) resolution 64 cm⁻¹



ภาพที่ 50 เส้นสเปกตรัมของสารสกัดจากมะขามป้อม (m) resolution 8 cm⁻¹ (n) resolution 16 cm⁻¹



ภาพที่ 51 เส้นสเปกตรัมของสารสกัดจากมะขามป้อม (o) resolution 32 cm⁻¹ (p) resolution 64 cm⁻¹

4.4.3 ประสิทธิภาพของสมการทำนาย

การวิเคราะห์แบ่งเป็น 4 รูปแบบหลักคือค่าความละเอียดในการเก็บข้อมูลที่ 8, 16, 32 และ 64 cm^{-1} โดยทุกรูปแบบเป็นตัวอย่างเดียวกันเพื่อควบคุมความแปรปรวนและเพื่อการเปรียบเทียบวิธีการจัดการข้อมูลแต่ละรูปแบบว่าแบบใดมีประสิทธิภาพในการทำนายค่าทางการวิเคราะห์ทางเคมีมากที่สุด ดังตารางที่ 26-29

ตารางที่ 26 ผลการวิเคราะห์ส่วนหัวของลูกมะขามป้อม

	Resolution	Process	R^2	RMSECV ^{***}	Bias ^{***}
8	Total phenolic	D	0.37	10.9	0.28
	Antioxdant	MSC	0.36	71.9	2.01
16	Total phenolic	D	0.24	12	0.02
	Antioxdant	Min-Max	0.26	78.3	0.45
32	Total phenolic	D ²	0.28	11.6	0.03
	Antioxdant	D	0.27	77.3	0.90
64	Total phenolic	MSC	0.23	12	0.29
	Antioxdant	D	0.34	73.9	1.07

ตารางที่ 27 ผลการวิเคราะห์ส่วนฐานของลูกมะขามป้อม

	Resolution	Process	R^2	RMSECV ^{***}	Bias ^{***}
8	Total phenolic	MSC	0.29	11.5	0.17
	Antioxdant	Min-Max	0.49	62.3	0.24
16	Total phenolic	SNV	0.29	11.6	0.10
	Antioxdant	D ²	0.59	57.5	1.88
32	Total phenolic	SNV	0.13	13.4	0.01
	Antioxdant	D	0.61	55.3	0.06
64	Total phenolic	SNV	0.20	12.3	0.09
	Antioxdant	D	0.50	62.5	0.06

ตารางที่ 28 ผลการวิเคราะห์ส่วนด้านข้างของลูกมะขามป้อม

	Resolution	Process	R ²	RMSECV ^{***}	Bias ^{***}
8	Total phenolic	SNV	0.28	11.6	0.11
	Antioxdant	Vector Normalization	0.41	68.7	0.05
16	Total phenolic	D ²	0.39	10.7	0.18
	Antioxdant	D	0.39	70.7	0.05
32	Total phenolic	SNV	0.36	10.9	0.02
	Antioxdant	D	0.49	63.7	0.15
64	Total phenolic	D+MSC	0.29	11.6	0.047
	Antioxdant	D+MSC	0.35	72.6	1.83

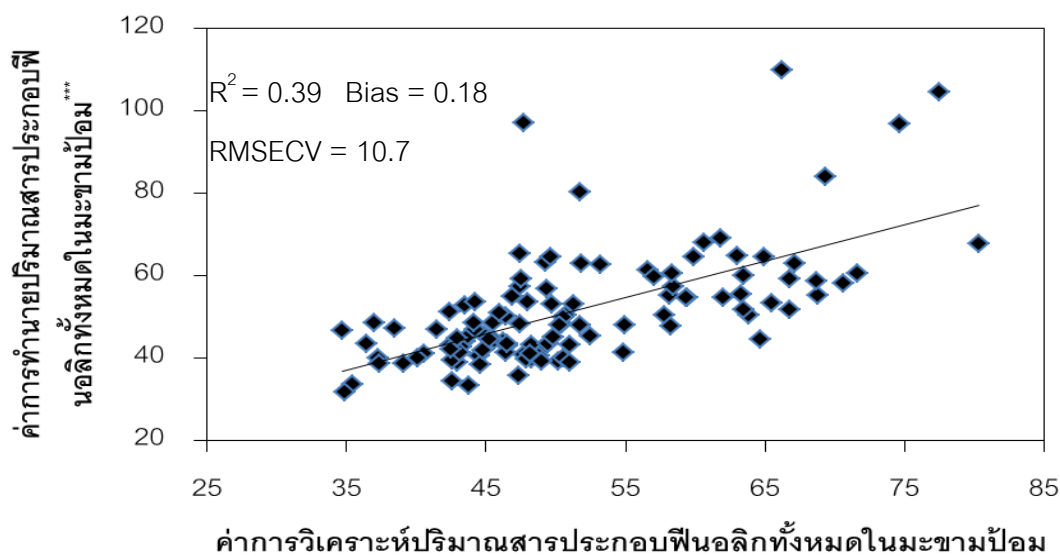
ตารางที่ 29 ผลการวิเคราะห์ส่วนสารสกัดของลูกมะขามป้อม

	Resolution	Process	R ²	RMSECV ^{***}	Bias ^{***}
8	Total phenolic	Min-Max	0.22	12.1	0.01
	Antioxdant	Min-max	0.56	59.3	1.94
16	Total phenolic	D+SVN	0.21	12.2	0.01
	Antioxdant	No process	0.72	43.1	0.45
32	Total phenolic	MSC	0.21	12.2	0.001
	Antioxdant	SNV	0.52	62.5	0.15
64	Total phenolic	Min-Max	0.21	12.2	0.001
	Antioxdant	D	0.68	50	0.10

*** หมายถึง หน่วย Total phenolic; mg GAE/g sample

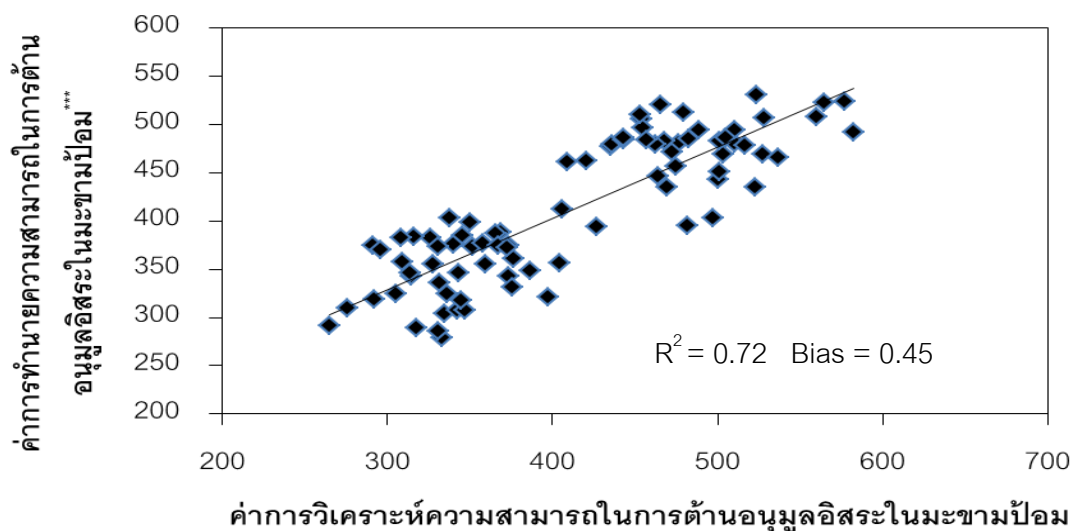
Antioxdant; g sample /mol DPPH

ผลการสร้างสมการทำนายของการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ให้ค่า RMSECV ดีที่สุดโดยตำแหน่งที่ใช้ในการวิเคราะห์คือตำแหน่งส่วนด้านข้างของลูกมะขามป้อมโดยใช้ค่าความละเอียดที่ 16 cm⁻¹ และวิธีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับที่สองแสดงในภาพที่ 52 ค่า RMSECV เท่ากับ 10.7 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง และค่า Bias เท่ากับ 0.18 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง



ภาพที่ 52 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่มีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธีการอนุพันธ์อันดับสอง, resolution 16 cm^{-1} *** หน่วย mg GAE/g sample

ผลจากการสร้างสมการทำนายการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งให้ค่าการทำนายที่แม่นยำมากที่สุดคือส่วนของสารสกัดโดยใช้ค่าความละเอียดที่ 16 cm^{-1} ดังแสดงในภาพที่ 53



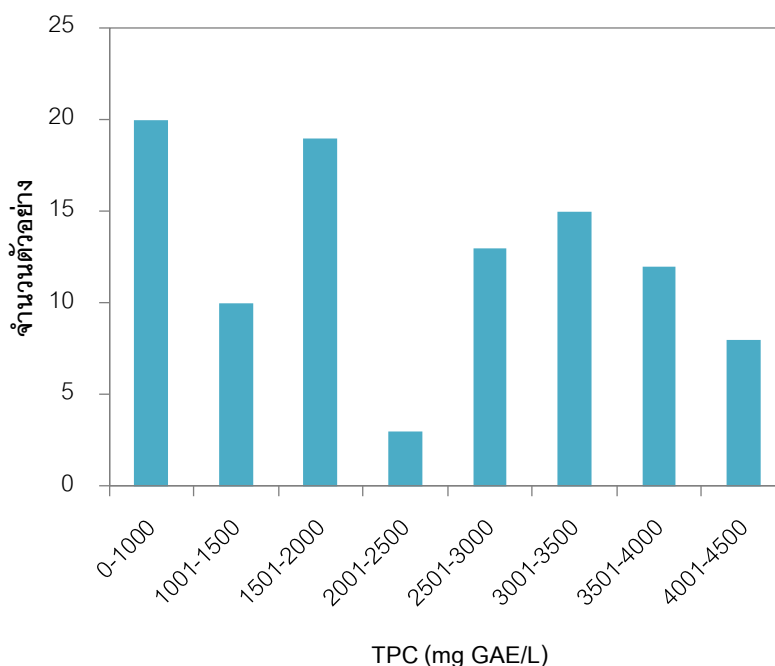
ภาพที่ 53 ลักษณะการกระจายจุดบนกราฟการกระจายของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ไม่มีการปรับแต่งเส้นสเปกตรัม, resolution 16 cm^{-1} *** หน่วย g sample /mol DPPH

การทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระนั้นมีค่า RMSECV เท่ากับ 43.1 กรัมต่อโมล DPPH และค่า Bias เท่ากับ 0.45 กรัมต่อโมล DPPH

4.5 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม

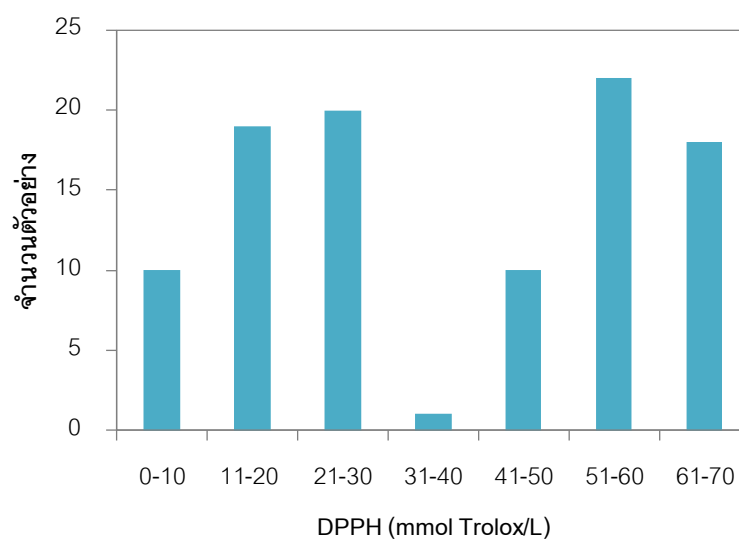
4.5.1 การกระจายของค่าทางเคมี

การสร้างสมการในการทำนายด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ นั้น การเลือกตัวอย่างควรเลือกให้มีค่าทางเคมีที่สนใจมีความครอบคลุมเหมาะแก่การใช้งานจริง ทั้งนี้ค่าการกระจายของการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากมะขามป้อมนั้นพบว่ามีกระจายตัวที่กว้างและมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 360-4,200 mg GAE/L ซึ่งมีค่าเฉลี่ยประมาณ 2,240 mg GAE/L ค่ามัธยฐานประมาณ 2,231 mg GAE/L ดังภาพที่ 54



ภาพที่ 54 การกระจายค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากมะขามป้อม

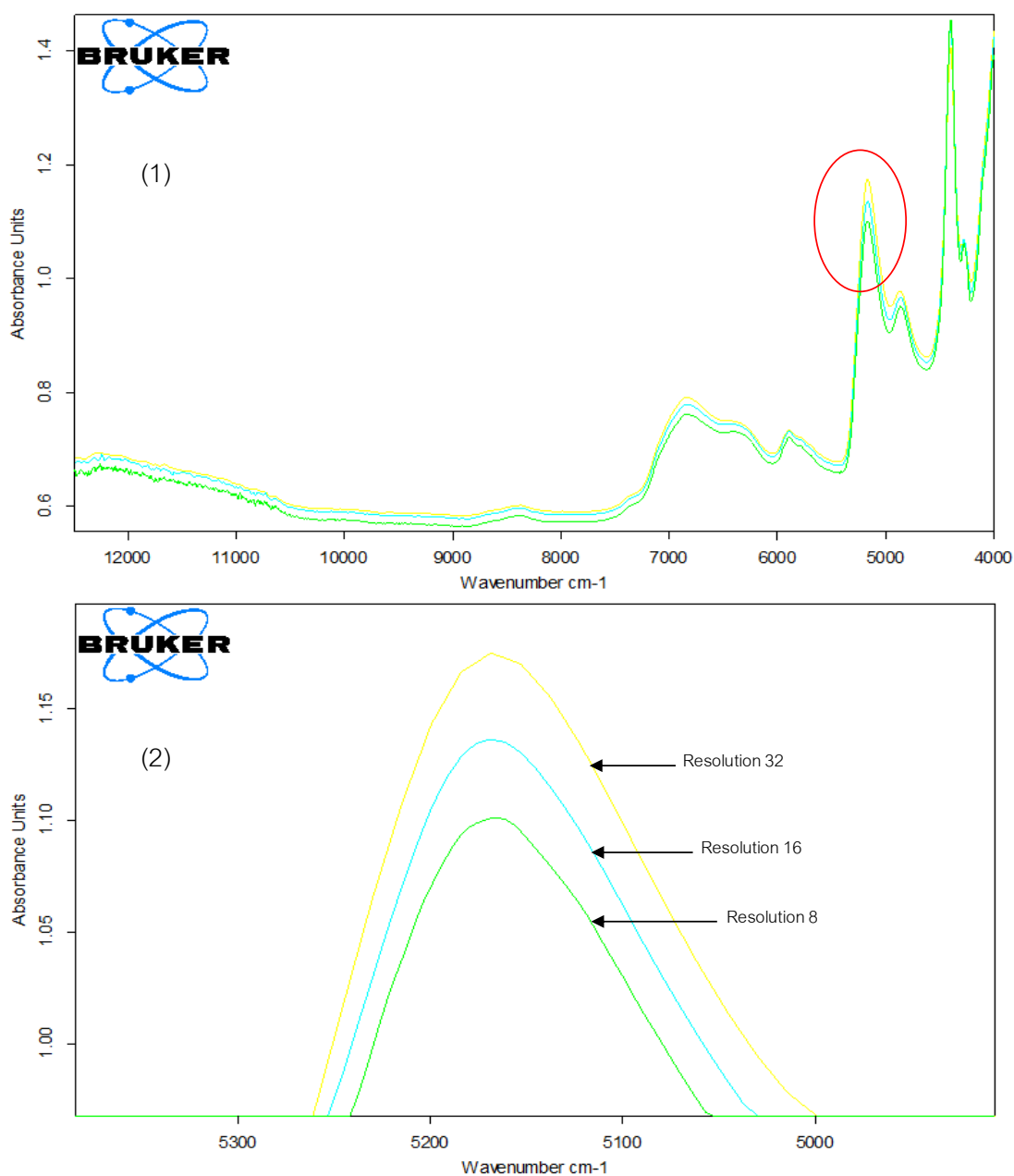
จากค่าการวิเคราะห์ทางเคมีของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัดจากมะขามป้อมนั้น (ภาพที่ 55) มีค่าการกระจายตัวที่กว้างและอยู่ในช่วงตั้งแต่ประมาณ 6-67 mmol Trolox/L โดยมีค่าเฉลี่ยประมาณ 37 mmol Trolox/L ค่ามัธยฐานประมาณ 38 mmol Trolox/L



ภาพที่ 55 การกระจายค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัดจากมะขามป้อม

4.5.2 เส้นสเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง

ค่าความละเอียดในการเก็บข้อมูลที่ $\text{resolution } 8 \text{ cm}^{-1}$ มีความละเอียดในการเก็บข้อมูลสูง เส้นสเปกตรัมที่ได้จึงมีความละเอียด สามารถเห็นเส้นสเปกตรัมได้ชัดเจนกว่า และยังมีความหยักของเส้นมากกว่าเส้นสเปกตรัมที่มีค่าความละเอียดในการเก็บข้อมูลที่ $\text{resolution } 16$ และ 32 cm^{-1} ดังภาพที่ 56



ภาพที่ 56 (1) เส้นสเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่งของสารสกัดจากมะขามป้อม และ (2) ส่วนขยายของเส้นสเปกตรัมของสารสกัดจากมะขามป้อม ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1}

4.5.3 ผลการสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดมะขามป้อม จากตารางที่ 30 เมื่อพิจารณาผลการสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากค่าทางสถิติแล้ว พบว่าที่ Resolution 8 cm^{-1} วิธีการปรับแต่งแบบ Vector normalization (SNV) ให้ผลการ

สร้างสมการที่ดีที่สุด ส่วน Resolution 16 cm^{-1} วิธีการปรับแต่งแบบ First derivative + SNV ให้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุด และที่ Resolution 32 cm^{-1} วิธีการปรับแต่งแบบ Vector normalization (SNV) ให้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุด โดยเมื่อเปรียบเทียบผลการสร้างสมการทำนายจากทั้ง 3 Resolution แล้ว พบว่าที่ Resolution 8 cm^{-1} ให้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุด

ตารางที่ 30 ผลการสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแบบ cross validation ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm⁻¹

Resolution (cm ⁻¹)	Pretreatment	Wavenumber (cm ⁻¹)	Cross validation			
			R ²	RPD	Bias*	RMSECV*
8	No spectral data preprocessing	6102.1-4246.8	0.97	5.54	1.43	218
	Vector normalization (SNV)	7502.2-6098.2, 5450.2-4246.8	0.97	5.71	2.23	212
	Multiplicative scattering correction (MSC)	6102.1-4246.8	0.96	5.14	-0.58	238
	First derivative + SNV	7502.2-4246.8	0.95	4.42	0.20	272
	First derivative + MSC	7502.2-4246.8	0.95	4.53	-1.55	266
16	No spectral data preprocessing	7506.1-6094.3, 5454.1-4242.9	0.92	3.49	17.00	345
	Vector normalization (SNV)	7506.1-6094.3, 5454.1-4242.9	0.95	4.55	-1.09	265
	Multiplicative scattering correction (MSC)	7506.1-4242.9	0.94	4.21	0.54	290
	First derivative + SNV	6102.1-4242.9	0.96	4.73	-1.40	257
	First derivative + MSC	7506.1-4242.9	0.95	4.59	0.68	265
32	No spectral data preprocessing	7513.8-4242.9	0.96	4.82	-1.78	250
	Vector normalization (SNV)	6109.8-4242.9	0.96	5.05	-6.90	239
	Multiplicative scattering correction (MSC)	7513.8-4242.9	0.95	4.71	-6.23	256
	First derivative + SNV	7513.8-6094.3, 5461.8-4242.9	0.96	4.79	1.85	253
	First derivative + MSC	7513.8-4242.9	0.95	4.44	-3.06	273

* หน่วย mg GAE/L

เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของสมการทำนายที่สร้างขึ้น จึงทำการวิเคราะห์ผลความคลาดเคลื่อนของการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าสมการทำนายที่สร้างขึ้นมานั้นยังมีความคลาดเคลื่อนสูง จึงต้องทำการปรับปรุงการสร้างสมการทำนายในขั้นต่อไป

4.5.4 การปรับปรุงการสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดมะขามป้อม

การปรับปรุงการสร้างสมการทำนายโดยเพิ่มข้อมูลในการสร้างสมการจาก 100 ข้อมูล เป็น 115 ข้อมูล ซึ่งแบ่งมาจากสารสกัดกลุ่มตัวอย่างอีกชุด 15 ข้อมูล (5 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง) ได้ผลดังตารางที่ 31

ตารางที่ 31 ผลการปรับปรุงการสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดมะขามป้อมแบบ cross validation ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1}

Resolution (cm^{-1})	Wavenumber (cm^{-1})	Cross validation			
		R^2	RPD	Bias*	RMSECV*
8	6102.1-4246.8	0.97	5.98	-1.12	198
16	6102.1-4242.9	0.96	4.12	0.85	259
32	6109.8-4242.9	0.96	4.94	0.48	243

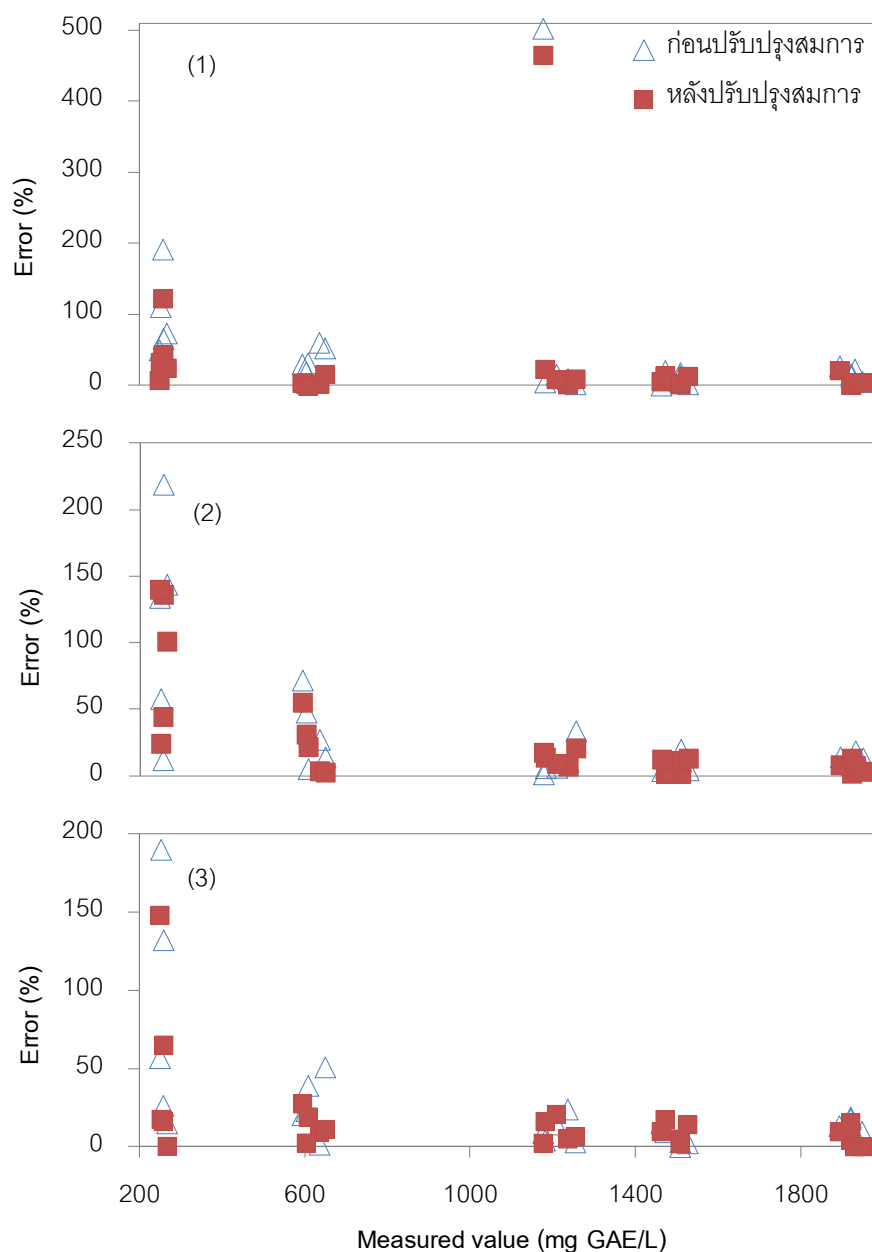
* หน่วย mg GAE/L

จากผลการสร้างสมการทำนายที่ปรับปรุงแล้วทั้ง 3 resolution พบว่า ที่ Resolution 8 cm^{-1} ให้ค่าทางสถิติที่ดีที่สุด

4.5.5 ผลความคลาดเคลื่อนของการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดมะขามป้อมอีกชุด 25 ตัวอย่าง ของสมการทำนายก่อนการปรับปรุงและสมการทำนายหลังการปรับปรุง

จากภาพที่ 57 พบว่าค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมการทำนายก่อนการปรับปรุงนั้น ค่าความคลาดเคลื่อนที่มีค่าสูงมักเกิดกับการทำนายตัวอย่างกลุ่มที่มีค่าการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีค่าต่ำ อาจเนื่องมาจากตัวอย่างกลุ่มที่มีค่าการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีค่าต่ำ มีปริมาณสารที่เราต้องการวิเคราะห์ในปริมาณน้อยจึงส่งผลให้การทำนายเป็นไปได้ยากขึ้น ทำให้ผลการทำนายมีค่าความคลาดเคลื่อนสูงกว่าการทำนายกลุ่ม

ตัวอย่างที่มีค่าการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีค่าสูง สำหรับค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมการทำนายหลังการปรับปรุงพบว่าค่าความคลาดเคลื่อนมีค่าสูง สำหรับการทำนายตัวอย่างกลุ่มที่มีค่าการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีค่าต่ำเช่นเดียวกับผลการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมการทำนายก่อนการปรับปรุง นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการเพิ่มข้อมูลอีกชุดหนึ่งมาใช้ในการปรับปรุงการสร้างสมการทำนายสามารถทำให้ผลการทำนายมีค่าความคลาดเคลื่อนลดลง



ภาพที่ 57 ผลความคลาดเคลื่อนของการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดมะขามป้อม ที่ (1) Resolution 8 cm⁻¹ (2) Resolution 16 cm⁻¹ และ (3) Resolution 32 cm⁻¹

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสมการทำนายที่สร้างขึ้น พบอีกว่าค่าความคลาดเคลื่อนการทำนายของสมการทำนายก่อนการปรับปรุงที่ผ่านเกณฑ์ error 10% มีจำนวน 6, 9 และ 10 ตัวอย่าง สำหรับ Resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} ตามลำดับ ในส่วนของค่าความคลาดเคลื่อนการทำนายของสมการทำนายหลังการปรับปรุงที่ผ่านเกณฑ์ error 10% มีจำนวน 15, 10 และ 13 ตัวอย่าง สำหรับ Resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} ตามลำดับ โดยรวมแล้วที่ Resolution 8 cm^{-1} ให้ผลการทำนายที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด อีกทั้งยังมีค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนายผ่านเกณฑ์ error 10% มากที่สุด (จำนวน 15 ตัวอย่าง)

4.5.6 ผลการสร้างสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม

จากตารางที่ 32 เมื่อพิจารณาผลการสร้างสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากค่าทางสถิติแล้ว พบว่าที่ Resolution 8 cm^{-1} วิธีการปรับแต่งแบบ No spectral data preprocessing ให้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุด ส่วน Resolution 16 cm^{-1} วิธีการปรับแต่งแบบ Vector normalization (SNV) ให้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุด และที่ Resolution 32 cm^{-1} วิธีการปรับแต่งแบบ Vector normalization (SNV) ให้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุด โดยเมื่อเปรียบเทียบผลการสร้างสมการทำนายจากทั้ง 3 Resolution แล้ว พบว่าที่ Resolution 8 cm^{-1} ให้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุด

\

ตารางที่ 32 การสร้างสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม แบบ cross validation ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm⁻¹

Resolution (cm ⁻¹)	Pretreatment	Wavenumber (cm ⁻¹)	Cross validation			
			R ²	RPD	Bias*	RMSECV*
8	No spectral data preprocessing	6102.1-4246.8	0.97	6.10	-0.10	3.32
	Vector normalization (SNV)	9403.8-7498.4, 5450.2-4246.8	0.96	5.25	-0.02	3.84
	Multiplicative scattering correction (MSC)	6102.1-4246.8	0.97	5.93	0.01	3.41
	First derivative + SNV	7502.2-4246.8	0.95	4.27	0.01	4.72
	First derivative + MSC	7502.2-4246.8	0.94	4.14	-0.05	4.88
16	No spectral data preprocessing	6102.1-4242.9	0.94	4.15	-0.03	4.83
	Vector normalization (SNV)	6102.1-4242.9	0.95	4.55	-0.01	4.40
	Multiplicative scattering correction (MSC)	7506.1-4242.9	0.95	4.65	0.02	4.43
	First derivative + SNV	6102.1-4242.9	0.95	4.45	-0.04	4.44
	First derivative + MSC	6102.1-4242.9	0.95	4.28	-0.11	4.70
32	No spectral data preprocessing	7513.8-4242.9	0.94	4.18	-0.07	4.77
	Vector normalization (SNV)	6109.8-4242.9	0.95	4.54	-0.05	4.43
	Multiplicative scattering correction (MSC)	7513.8-4242.9	0.94	4.18	-0.07	4.77
	First derivative + SNV	6109.8-4242.9	0.95	4.52	-0.02	4.44
	First derivative + MSC	7513.8-4242.9	0.95	4.52	-0.14	4.44

* หน่วย mmol Trolox/L

เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของสมการทำนายที่สร้างขึ้น จึงทำการวิเคราะห์ผลความคลาดเคลื่อนของการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สมการทำนายที่สร้างขึ้นมานั้นยังมีค่าความคลาดเคลื่อนสูง จึงต้องทำการปรับปรุงการสร้างสมการทำนายในขั้นต่อไป

4.5.7 การปรับปรุงการสร้างสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม

การปรับปรุงการสร้างสมการทำนายโดยเพิ่มข้อมูลในการสร้างสมการจาก 100 ข้อมูล เป็น 115 ข้อมูล ซึ่งแบ่งมาจากสารสกัดกลุ่มตัวอย่างอีกชุด 15 ข้อมูล (5 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง) ดังแสดงในตารางที่ 33

ตารางที่ 33 ผลการปรับปรุงการสร้างสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบ cross validation ที่ Resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1}

Resolution (cm^{-1})	Wavenumber (cm^{-1})	Cross validation			
		R^2	RPD	Bias*	RMSECV*
8	6102.1-4246.8	0.97	5.62	0.00	3.54
16	6102.1-4242.9	0.93	3.83	-0.02	5.18
32	6109.8-4242.9	0.95	4.27	0.14	4.61

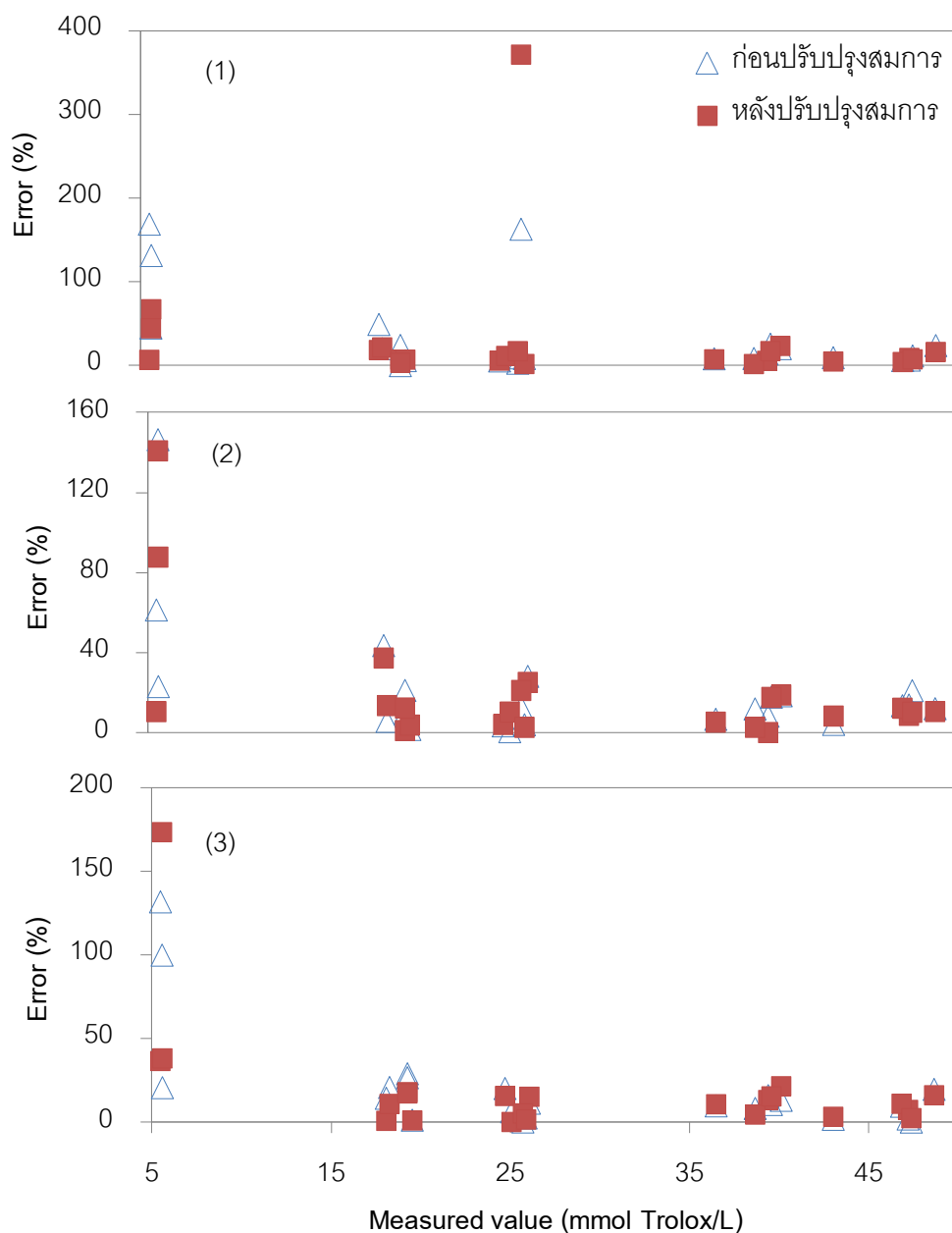
* หน่วย mmol Trolox/L

จากผลการสร้างสมการทำนายที่ปรับปรุงแล้วทั้ง 3 resolution พบว่าที่ Resolution 8 cm^{-1} ให้ค่าทางสถิติที่ดีที่สุด

4.5.8 ผลความคลาดเคลื่อนของการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อมอีกชุด 25 ตัวอย่าง ของสมการทำนายก่อนการปรับปรุงและสมการทำนายหลังการปรับปรุง

จากภาพที่ 58 พบว่าค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสมการทำนายก่อนการปรับปรุงนั้น ค่าความคลาดเคลื่อนที่มีค่าสูงมักเกิดกับการทำนายตัวอย่างกลุ่มที่มีค่าการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีค่าต่ำ อาจเนื่องมาจากตัวอย่างกลุ่มที่มีค่าการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีค่าต่ำ มีปริมาณสารที่เราต้องการวิเคราะห์ในปริมาณน้อยจึงส่งผลให้การทำนายเป็นไปได้ยากขึ้น ทำให้ผลการทำนายมีค่าความคลาดเคลื่อนสูงกว่าการทำนายกลุ่มตัวอย่างที่มีค่าการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีค่าสูง สำหรับ ค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนาย

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสมการทำนายหลังการปรับปรุงพบว่าค่าความคลาดเคลื่อนมีค่าสูง สำหรับการทำนายตัวอย่างกลุ่มที่มีค่าการวิเคราะห์ทางเคมีที่มีค่าต่ำ เช่นเดียวกับผลการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสมการทำนายก่อนการปรับปรุง นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการเพิ่มข้อมูลอีกชุดหนึ่งมาใช้ในการปรับปรุงการสร้างสมการทำนายสามารถทำให้ผลการทำนายมีค่าความคลาดเคลื่อนลดลง



ภาพที่ 58 ผลความคลาดเคลื่อนของการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ (1) Resolution 8 cm⁻¹ (2) Resolution 16 cm⁻¹ และ (3) Resolution 32 cm⁻¹

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสมการทำนายที่สร้างขึ้น พบอีกว่าค่าความคลาดเคลื่อนการทำนายของสมการทำนายก่อนการปรับปรุงที่ผ่านเกณฑ์ error 10% มีจำนวน 11, 9 และ 11 ตัวอย่าง สำหรับ Resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} ตามลำดับ ในส่วนของค่าความคลาดเคลื่อนการทำนายของสมการทำนายหลังการปรับปรุงที่ผ่านเกณฑ์ error 10% มีจำนวน 13, 9 และ 9 ตัวอย่าง สำหรับ Resolution 8, 16 และ 32 cm^{-1} โดยรวมแล้วที่ Resolution 8 cm^{-1} ให้ผลการทำนายที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด อีกทั้งยังมีค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนายที่ผ่านเกณฑ์ error 10% มากที่สุด (จำนวน 13 ตัวอย่าง)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุด

ปริมาณ Total Phenolic Compound ส่วนใหญ่แปรผกผันตามความแก่อ่อนของผลมังคุด โดยผลที่มีความแก่มากมีปริมาณ Total Phenolic Compound ต่ำลง สารประกอบกลุ่มกรดฟีนอลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดเปลือกมังคุดทุกระดับความแก่อ่อน

การใช้เทคนิค NIRS ในการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรูป Total Phenolic Compound, สาร Phenolic Acids, สาร Hydroxycinnamates, สาร Flavonols โดยวัดจากผลนั้นให้ค่า R^2 และ RPD ที่ต่ำ สมการที่ได้นี้ไม่สามารถนำไปใช้จริงได้

5.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมังคุด

การสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมังคุด การทำนายผลในน้ำมังคุดทำได้ไม่ดี แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบของน้ำมังคุดแต่ละยี่ห้อส่งผลต่อประสิทธิภาพในการทำนายค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

5.3 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมังคุด

จากผลการทดลองในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยวิธีทาง NIRS ปรากฏว่า สมการที่ใช้ในการทำนายนี้ยังให้ผลการทำนายที่ผิดพลาดค่อนข้างสูงในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำ ซึ่งสมการในการทำนายที่ใช้ resolution 32cm^{-1} เป็นสมการที่ใช้ในการทำนายได้ดีที่สุดโดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.98 ค่า RMSEC เท่ากับ 171 ค่า RPD เท่ากับ 7.5 และ ค่า Bias เท่ากับ -0.676 สำหรับสมการของสารประกอบฟีนอลิก ส่วนสมการของความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.98 ค่า RMSEC เท่ากับ 2 ค่า RPD เท่ากับ 5.98 และ ค่า Bias เท่ากับ 0.0043 ทั้งนี้การที่ resolution 32cm^{-1} สามารถสร้างสมการได้ดีกว่า resolution 8 และ 16cm^{-1} เนื่องจาก resolution 32cm^{-1} นี้เป็นการวัดโดยใช้ความละเอียดที่น้อยที่สุดซึ่งสามารถลดสิ่งรบกวนหรือ noise ที่เกิดจากการวัดได้

สมการที่สร้างจากความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีความหลากหลายหรือมีการกระจายสูง จะให้สมการมีความเหมาะสมแก่การนำไปใช้ทำนายมากกว่าเนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการนั้นครอบคลุมการทำนายจากภายนอกมากกว่า สมการที่สร้างจากตัวอย่างที่มีการกระจายของค่าทางเคมีต่ำ เนื่องจากจะทำให้สมการที่ได้ไม่ครอบคลุมตัวอย่าง ความคลาดเคลื่อนระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายโดย NIRS จึงมีค่อนข้างสูง ซึ่งความผิดพลาดของการทำนายระหว่างค่าจริงและค่าที่ทำนายโดย NIRS ของการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุดจะอยู่ที่ประมาณ 20% และ 40% ตามลำดับที่ resolution 32 ของสมการการทำนายที่มีการปรับปรุงแล้ว

5.4 สรุปผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของมะขามป้อม

จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าการสร้างสมการโดยใช้ลูกมะขามป้อมสดนั้นไม่สามารถนำสมการมาทำนายค่าทางเคมีได้ การใช้สารสกัดสามารถนำมาสร้างสมการการทำนายค่าทางเคมีของค่าความสามารถในการต้านสารต้านอนุมูลอิสระได้โดยใช้ความละเอียดที่ 16 cm^{-1} ซึ่งให้ได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.72 ค่า RMSEC เท่ากับ 40 และค่า Bias เท่ากับ 0.45 นั่นคือใช้ในการทำนายแบบหยาบได้ แต่การทำนายค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกยังทำได้ไม่ดี

5.5 สรุปผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อม

จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้มีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะขามป้อมได้ โดยพบว่า resolution มีผลต่อประสิทธิภาพของการทำนาย ซึ่งในการทดลองนี้ 8 cm^{-1} มีประสิทธิภาพในการทำนายที่ดีกว่า 16 และ 32 cm^{-1} ทั้งการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะขามป้อม เนื่องจากความละเอียดในการเก็บข้อมูลที่ 8 cm^{-1} มีความละเอียดในการเก็บข้อมูลสูง เส้นสเปกตรัมที่ได้จึงมีความละเอียด และชัดเจน ส่งผลให้การทำนายมีความแม่นยำกว่าที่ 16 และ 32 cm^{-1} ซึ่งค่าทางสถิติที่ได้จากการสร้างสมการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ปรับปรุงแล้วที่ 8 cm^{-1} นั้นมีค่า $R^2 = 0.97$, $RPD = 5.98$, $\text{Bias} = -1.12\text{ mg GAE/L}$ และ $\text{RMSECV} = 198\text{ mg GAE/L}$ ในส่วนของค่าทางสถิติที่ได้จากการสร้างสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ปรับปรุงแล้วที่ 8 cm^{-1} นั้นมีค่า $R^2 = 0.97$, $RPD = 5.62$, $\text{Bias} = 0.00\text{ mmol Trolox/L}$ และ $\text{RMSECV} = 3.54\text{ mmol Trolox/L}$

อย่างไรก็ตามสมการทำนายที่ได้จากการสร้างสมการทำนายในการทดลองนี้ เมื่อนำไปใช้จริงกับตัวอย่างอีกชุด พบว่าการทำนายยังคงมีความผิดพลาดสูง และการเพิ่มข้อมูลอีกชุดหนึ่งมาใช้ในการปรับปรุงสมการทำนายนั้น สามารถทำให้การทำนายมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้ NIRS เพื่อทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในผลไม้สองชนิดคือมังคุดและมะขามป้อมนั้นมีความเป็นไปได้แต่การวิเคราะห์จากผลโดยตรงนั้นให้ผลการทำนายที่มีประสิทธิภาพต่ำกว่าการวิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำสกัดหรือตัวอย่างสกัดด้วยตัวทำละลาย เช่นเมทานอลซึ่งช่วยกำจัดสารรบกวนอื่นๆที่มีในผลได้มาก อย่างไรก็ตามพบว่า NIRS สามารถทำนายความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชั่น หรือในรูปของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ค่อนข้างดี ซึ่งค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นค่าที่เป็นที่สนใจของทั้งนักวิจัยและผู้บริโภค NIRS จึงน่าจะเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่สามารถนำมาประเมินค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างอาหารได้อย่างรวดเร็ว

บรรณานุกรม

- นิพนธ์ ตั้งคณานุกรณ์. 2545. หลักการพื้นฐานของเทคนิคอินฟราเรดย่านใกล้สเปกโตรสโคปี. อบรมเชิงปฏิบัติการการควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค near infrared spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. สถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 39-66.
- ปานมนัส ศิริสมบุรณ์. 2556. แนวทางเชิงปฏิบัติสำหรับการพัฒนาแบบจำลองในเคมีวิเคราะห์. เข้าถึงได้จาก: [www.nirsresearch.com /NP-15972-link.html/](http://www.nirsresearch.com/NP-15972-link.html/) (วันที่สืบค้นข้อมูล: 26 มิถุนายน 2557)
- ศุมาพร เกษมสำราญ. 2545. ขั้นตอนการสร้างสมการประเมินค่าทางเคมี และการทดสอบสมการ ในเทคนิคสเปกโตรสโคปีย่านใกล้อินฟราเรด. การอบรมเชิงปฏิบัติการการควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค near infrared spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. สถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 131-151.
- สนธิสุข วีระชัยยุดิ. 2554. การตรวจสอบคุณภาพผลไม้โดยใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี. วารสารอุตสาหกรรมเกษตรพระจอมเกล้า 3(1): 44-52.
- สุชาดา นิลกำแหง และ อโนชา เปาชม. 2543. การสกัดแยกวิตามินซีจากสมุนไพรวิตานินพันธ์ ปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
- สุพนิดา วินิจชัย นคร เหลืองประเสริฐ นวลปรางค์ ไชยคุป และจันทิมา หอมกลบ. 2553. มะขามป้อมแหล่งพันธุ์และลักษณะของผลมะขามป้อมเพื่อการประยุกต์ใช้ใน อุตสาหกรรมยา อาหารและ เครื่องสำอาง. เข้าถึงได้จาก: <http://www2.rdi.ku.ac.th/newweb/exhibition/53/group06/supanida/supinda02.htm> (วันที่สืบค้นข้อมูล: 5 มิถุนายน 2559)
- สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. 2544. การแปรรูปและการใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการ. เข้าถึงได้จาก: <http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/mangosteen/used/index.php> (วันที่สืบค้นข้อมูล: 19 มิถุนายน 2557)
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556. ศูนย์ข้อมูลผลไม้. เข้าถึงจาก <http://www.oae.go.th/fruits/index.php> เมื่อวันที่ 20 สิงหาคม 2556

- AOAC. 1990. Official Method of Analysis of AOAC International. 16th ed. AOAC International, Gaithersburg. MD.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 99: 191-203
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT - Food Science and Technology. 28(1): 25-30.
- Chen, Q., Guo, Z., Zhao, J., Ouyang, Q. 2012. Comparisons of different regressions tools in measurement of antioxidant activity in green tea using near infrared spectroscopy. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 60(0): 92-97.
- Cozzolino, D., Kwiatkowski, M. J., Parker, M., Cynkar, W. U., Damberg, R. G., Gishen, M. and Herderich, M. J. 2004. Prediction of phenolic compounds in red wine fermentations by visible and near infrared spectroscopy. Analytica Chimica Acta. 513: 73-80.
- Dostalova, J. and Pokorny, J. 1995. Plant phenols. pp. 75-95. In Davidek, J. (ed) Natural toxic compounds of foods. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Deachathai, S., Mahabusarakam, W., Phongpaichit, S. and Taylor, W.C. 2005. Phenolic compounds from the fruit of *Garcinia dulcis*. Phytochemistry. 66(19): 2368-75.
- Dykes, L., Hoffmann Jr., L., Portillo-Rodriguez, O., Rooney, W.L. and Rooney, L.W. 2014. Prediction of total phenols, condensed tannins, and 3-deoxyanthocyanidins in sorghum grain using near-infrared (NIR) spectroscopy. Journal of Cereal Science. 2014: 1-5
- Enujiugha, V.N., Talabi, J.Y., Malomo, S.A. and Olagunju, A.I. 2012. DPPH radical scavenging capacity of phenolic extracts from African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*). Food and Nutrition Sciences. 3: 7-13.

- Ferrer-Gallego, R., Hernández-Hierro, J. M., Rivas-Gonzalo, J. n. C., Escribano-Bailón, M. T. 2011. Determination of phenolic compounds of grape skins during ripening by NIR spectroscopy. *LWT - Food Science and Technology*. 44(4): 847-853.
- Frizon, C. N. T., Oliveira, G. A., Perussello, C. A., Peralta-Zamora, P. G., Camlofski, A. M. O., Rossa, Ü. B., Hoffmann-Ribani, R. 2015. Determination of total phenolic compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) combining near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis. *LWT - Food Science and Technology*. 60(2, Part 1): 795-801.
- Fu, X., Yu, X., Ye, Z. and Cui, H. 2014. Analysis of antioxidant activity of Chinese brown rice by fourier-transformed near infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal of Chemistry*. 2015: 1-5.
- Hagerman, A. E. 2002. Tannin structural chemistry. *Tannin Chemistry. Handbook*. Oxford, USA. 3-9
- Ignat, T., Schmilovitch, Z., Fefoldi, J., Steiner, B. and Alkalai-Tuvia, S. 2012. Non-destructive measurement of ascorbic acid content in bell peppers by VIS-NIR and SWIR spectrometry. *Postharvest Biology and Technology*. 74: 91-99.
- Ju, Z.Y. and Howard, L.R. 2005. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. *Journal of Food Science*. 70: 270-276
- Jung, H.A., Su, B.N., Keller, W.J., Mehta, R.G. and Kinghorn, A.D. 2006. Antioxidant xanthonenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 54(6): 2077-82.
- Krishnaveni, M. and Mirunalini, S. 2012. Chemopreventive efficacy of *Phyllanthusemblica* L. (amla) fruit extract on 7,12 dimethylbenz(a)anthracene Induced oral carcinogenesis – A dose–response study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 34: 801-810
- Lammertyn, J. A., Peirs, J., De Baerdemaeker and B. Nicolai. 2000. Light penetration properties of NIR radiation in fruit with respect to non-destructive quality assessment. *Postharvest Biology and Technology*. 18: 121–132.

- Liu, X., Zhao, M., Wang, J., Yang, B. and Jiang, Y. 2008. Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21: 219-228
- Lu, B., Chen, J., Huang, W., Wu, D., Xu, W., Xie, Q., Yu, X. and Li, L. 2011. Determination of flavonoids and phenolic acids in the extract of bamboo leaves using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. *African Journal of Biotechnology*. 10(42): 8448-8455.
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*. 100: 1409–1418.
- Martelo-Vidal, M. J., Vázquez, M. 2014. Determination of polyphenolic compounds of red wines by UV-VIS-NIR spectroscopy and chemometrics tools. *Food Chemistry*. 158(0): 28-34.
- Osborne, B.G., Fearn, T. and Hindle, P.H. 1993. *Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis*, 2nd edition. Longman Scientific and Technical, Harlow.
- Pothitirat, W., Chomnawang, M.T., Supabphol, R., W. Gritsanapan. 2009. Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. *Fitoterapia* 80: 442-447.
- Punjapratheep, W., Pienputtarapong, U. and Gritsanapan, W. 2007. Developmental of herbal mouthwash for prevention of tooth decay (online). Available from: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th>. (Accessed on 2011 Dec 1).
- Shahidi, F and Naczki, M. 2004. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. CRC Press LLC. New York.
- Singelton, V., R., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178.

- Williams, P.C. 2001. Implementation of near infrared technology in near infrared technology in the Agricultural and Food Industries, 2nd edition, Ed by P.C. Williams and Norris, K.H. American association of cereal chemists, St Paul, MN, USA. 163-165 p.
- Wu, D., Chen, J., Lu, B., Xiong, L., He, Y., Zhang, Y. 2012. Application of near infrared spectroscopy for the rapid determination of antioxidant activity of bamboo leaf extract. Food Chemistry. 135(4): 2147-2156.
- Zhang, C., Shen, Y., Chen, J., Xiao, P. and Bao, J. 2008. Nondestructive prediction of total phenolics, flavonoid contents, and antioxidant capacity of rice grain using near-infrared spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56(18): 8268-72.
- Zhang, M. H., Luypaert, J., Fernández Pierna, J. A., Xu, Q. S., Massart, D. L. 2004. Determination of total antioxidant capacity in green tea by near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. Talanta. 62(1): 25-35.
- Zadernowski, R., Czaplicki, S., M. Naczek. 2009. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). Food Chemistry 112: 685-689.
- <http://biogaliaonline.es/amla/> (วันที่สืบค้นข้อมูล: 12 เมษายน 2557)
- <https://www.flickr.com/photos/tiddlywinker/3089168080/> (วันที่สืบค้นข้อมูล: 12 เมษายน 2557)

ภาคผนวก

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้า แล้วนำออกจากตู้อบไปไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้ทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก จากนั้นจึงหั่นตัวอย่างเปลือกมังคุดเป็นชิ้นเล็กขนาด 0.5 X 0.5 มิลลิเมตร ชั่งตัวอย่าง 3.00 กรัมลงในภาชนะที่เตรียมไว้แล้ว นำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง ทิ้งตัวอย่างให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วจึงนำไปชั่งน้ำหนักซ้ำจนได้น้ำหนักสุดท้ายเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม นำค่าของน้ำหนักที่ได้ไปคำนวณหา % ความชื้น โดย

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

2. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกมังคุดและมะขามป้อม (Maisuthisakul และคณะ, 2007)

ปิเปตสารสกัด 0.4 ml ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายเข้มข้น 10 % Folin – Ciocalteu's reagent ปริมาตร 2.0 ml ลงไปแล้วเขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 3 นาที ก่อนที่จะเติม 7.5% (w/v) Na_2CO_3 1.6 ml ลงไป แล้วเขย่าด้วย vortex ทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที เมื่อครบกำหนดแล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานโดยมีสารละลายกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานและรายงานความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อตัวอย่าง 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง)

3. การหาปริมาณสาร phenolic acids สาร hydroxycinnamates และสาร flavonols ด้วยเทคนิค HPLC (Ju และ Howard, 2005)

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

- Column: C-18 column (Inertsil ODS 3, 150 × 4.6 mm, Ø 5 µm, GL Sciences, Tokyo, Japan)
- Mobile phase: 5% กรดอะซิติกในน้ำ และ 100% เมทานอล
- Flow rate: 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที
- Oven temperature: 40 °C

- UV detector: phenolic acids ที่ 280 nm
- hydroxycinnamates ที่ 320 nm
- flavonols ที่ 360 nm

เมื่อปรับสถานะของเครื่อง HPLC เรียบร้อยแล้วจึงฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตรเข้าเครื่อง HPLC และนำค่าพื้นที่ใต้กราฟทั้งหมดของตัวอย่างในแต่ละความยาวคลื่น มาคำนวณหาความเข้มข้น โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐานเพื่อหาปริมาณของสาร phenolic acids ใช้ caffeic acid เป็นสารมาตรฐานเพื่อหาปริมาณของสาร hydroxycinnamates และใช้ rutin เป็นสารมาตรฐานเพื่อหาปริมาณของสาร flavonols

4. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมังคุดและมะขามป้อม

การเตรียม DPPH solution ดัดแปลงจาก Brand-Williams และคณะ (1995)

เติมสารละลาย DPPH (ในเมทานอล) เข้มข้น 6×10^{-5} M ปริมาตร 3.9 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชาที่มีสารสกัดตัวอย่างอยู่ 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % remaining DPPH โดย

$$\% \text{ remaining DPPH} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ผสมสารตัวอย่าง} \times 100}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เริ่มต้น}}$$

จากนั้นจึงนำค่า % remaining DPPH ที่ได้ ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัดต่อโมลของ DPPH เพื่อหาค่า EC_{50} ของสารสกัดแต่ละชนิด

5. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมังคุดและมะขามป้อม โดยใช้วิธีของ Enujiugha และคณะ (2012)

ชั่ง DPPH solution 0.0237 กรัม ละลายด้วยเมทานอล ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้ stock solution ที่มีความเข้มข้น 6×10^{-4} M ปิเปต stock solution ที่มีความเข้มข้น 6×10^{-4} M 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้ Stock solution ที่มีความเข้มข้น 6×10^{-5} M ปิดฝาและปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์

ปิเปตสารสกัดความเข้มข้นต่างๆ ที่เจือจางให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.2-0.5 nm 0.1 มิลลิลิตร จากนั้น เติม DPPH solution (6×10^{-5} M) 3.9 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30

นาที่ แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Trolox โดยแสดงผลเป็นค่า mmol Trolox/L

หมายเหตุ ในส่วนของการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของกลุ่มตัวอย่างที่นำมาใช้ในการทำนาย วิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการทำนายนี้ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Trolox เพื่อหาความเข้มข้นของแต่ละตัวอย่าง ซึ่งแสดงผลเป็นค่า mmol Trolox/L

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

พนัสนิศา จรัสเพชร วิไลลักษณ์ แสงทอง ขวัญใจ กลิ่นจงกล ปราณิต โอปณะโสภิต และปราโมทย์
คูวิจิตรจารุ. (2556) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมังคุดที่ระดับความสูง
ต่างกัน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 44 ฉบับที่ 3 (พิเศษ) หน้า 146-149.

Pramote Khuwijitjaru, Chutsunt Kittikanjanasophon, Palathip Amornneungwanich,
Busarakorn Mahayothee, Praneet Opanasopit. 2014. Prediction of DPPH radical
scavenging activity in *Phyllanthus emblica* L. fruit using near infrared
spectroscopy. The 4th Asian NIR Symposium, June 17 - 20, 2014, Daegu,
Korea.