บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

ไลโคพีน (Lycopene) จัดเป็นสารในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ประเภทไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว (Unsaturated Hydrocarbon) มีคาร์บอนเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะคู่ 11 พันธะ มีสูตรโมเลกุล $C_{40}H_{56}$ ไลโคพีนเป็นรงควัตถุ (Pigmentที่มีผลึกแป็นสีแดง ซึ่งไลโคปีนมีสีแดงเนื่องจากโครงสร้าง (ของไลโคปีนมีการเชื่อมกันของโครงสร้างโพลีอีน[1]

เนื่องจากร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์(carotenoid)ขึ้นเองได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับจากการบริโภคเข้าไป ไลโคพีนมีอยู่ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม องุ่น เกรฟฟรุต ฝรั่ง มะม่วง มะละกอ แตงโม พืช พลัม แครอท สตอเบอร์รี่

ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างแหล่งที่พบ Lycopene [2, 3, 4]

ผลไม้	ปริมาณไลโคปีน ไมโครกรัม/กรัม (น้ำหนักสด)
มะเขือเทศ (Fresh Tomato)	8.8-42
แตงโม (Water Melon)	23.0-72.0
ฝรั่ง (Guava)	54.0
ส้ม (Orange)	33.6
มะละกอ (Papaya)	20.0-53.0

ส่วนใหญ่แล้วไลโคพีนที่ได้จากธรรมชาตินั้น พันธะคู่ทั้งหมดจะอยู่ในรูป trans แต่สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการผลิตมักจะพบไลโคพีนไอโซเมอร์ ในรูป cis 1.7-10.1 % ปะปนอยู่เสมอ

ไลโคพีน เป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ (Antioxidant) ที่สามารถป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังได้หลายชนิด โดยเฉพาะโรคมะเร็งต่างๆ เนื่องจากไลโคพีนมีคุณสมบัติพิเศษในการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Free radical) ในร่างกาย ซึ่งอนุมูลอิสระนั้นเป็นสาเหตุสำคัญอันหนึ่งของการทำลายสายดีเอ็นเอและนำไปสู่การเกิดโรคมะเร็งในที่สุด ไลโคปีน มีสารที่มีฤทธิ์ที่ดีมากในการเป็น “แอนตี้ออกซิแดนท์ (antioxidant)” ในร่างกาย ช่วยยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันชนิด Low density lipoprotein (LDL) จึงสามารถป้องกันการเกิดโรค

หลอดเลือดแข็งตัว (Atherosclerosis) ได้ สำหรับการศึกษาในสัตว์ทดลองมีรายงานว่าไลโคพีนสามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งเต้านมและยับยั้งการเจริญแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเยื่อบุมดลูก รวมทั้งมีผลยับยั้ง insulin-like growth factor-I ซึ่งเป็นตัวควบคุมการเจริญแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเต้านมและเยื่อบุมดลูกดังกล่าว ดังนั้นไลโคพีนจึงเป็นสารที่ช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างได้หลายชนิด รวมทั้งโรคมะเร็งต่างๆ ได้แก่ มะเร็งต่อมลูกหมาก (Prostate cancer), มะเร็งในระบบทางเดินอาหาร (Digestive tract cancer) มะเร็งถุงน้ำดี (Bladder cancer) มะเร็งผิวหนัง (Skin cancer) มะเร็งเต้านม (Breast cancer) มะเร็งปากมดลูก (Cervical cancer) โรคหลอดเลือดหัวใจ (Cardiovascular disease)[5]

ส่วนวิธีการวิเคราะห์ปริมาณของไลโคพีนนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ตัวอย่างเช่น วิธีสเปกโตโฟโตเมทรี โดยวิธีนี้จะวิเคราะห์โดยการชั่งตัวอย่างแตงโมบดละเอียดประมาณ 2 กรัม เติม Ethanol 25 ml, Acetone and 0.05% (w/v) butylated hydroxytoluene(BHT) 25 ml และ Hexane 50 ml ลงไปตามลำดับ จากนั้นนำไปเขย่าเป็นเวลา 10-15 นาที ที่อุณหภูมิ 5 °C เติมน้ำกลั่น 15 ml แล้วเขย่าต่ออีก 5 นาที ปล่อยทิ้งไว้ 15 นาทีให้แยกชั้นแล้วแยกชั้นของ Hexane ที่อยู่บนสุดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร [1] หรือที่ 503nm [6] โดยมี Hexane เป็นแบลงค์ และอีกวิธีหนึ่งคือ วิธีใช้ High Performance Liquid Chromatography)HPLC) ซึ่งวิธีนี้จะใช้อุปกรณ์และสารเคมีรวมกันกว่า 10 รายการ ส่วนขั้นตอนนั้นต้องมีการเตรียม mobile phase โดยใช้ acetonitrile, methanol และ 2-propanal ตามปริมาณที่ต้องการ ตามอัตราส่วน(44:54:2 v/v/v) แล้วกรองผ่านชุดกรองเชื้อโดยใช้กระดาษกรองไนลอน 0.45 ไมครอนและสารที่ใช้ในการเตรียม mobile phase ต้องเป็นเกรด HPLC เท่านั้นซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง และในการเตรียมตัวอย่างก่อนที่จะฉีดเข้าคอลัมน์นั้นก็จะใช้ระยะเวลามาก และมีขั้นตอนในการทำหลายขั้นตอน เริ่มจากชั่งตัวอย่างแตงโมบดละเอียดประมาณ 0.2 กรัม เติมสารละลาย tetrehydrofuran : methanol (1:1 v/v) 40 มิลลิลิตร คนให้ทั่วแล้วทิ้งไว้ในที่มืด 5 นาทีจากนั้นกรองผ่าน glass fiber filter GF/A ด้วย Vacuum pump เทสารละลาย tetrehydrofuran : methanol (1:1 v/v) 20 มิลลิลิตร ผ่าน glass fiber filter GF/A ที่มีกากของตัวอย่างติดอยู่ นำสารละลายที่กรองได้เทใส่กรวยแยก เติม petroleum ether (b.p. 40-60°C) 20 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10 %20 มิลลิลิตร เขย่าทิ้งไว้รอให้แยกชั้น จากนั้นแยกสารละลายชั้นบน (pretoleum ether) มาเติมน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าทิ้งไว้รอจนแยกชั้นอีกครั้ง จากนั้นจึงแยกของเหลวชั้นบน (pretoleum ether) มาระเหยให้แห้งด้วย Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 35°c จากนั้นละลายตัวอย่างที่ได้ด้วย hexane 4 มิลลิลิตร แล้วกรองตัวอย่างด้วย Millipore 0.45 ไมครอนกจะจบกระบวนการเตรียมตัวอย่าง[1] เพื่อให้ได้ค่าของปริมาณไลโคพีนจะต้องนำ mobile phase และ สารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยเราจะใช้คอลัมน์C_{18} ส่วน

การเปิดเครื่อง HPLC ในแต่ละครั้งนั้นก็จะใช้เวลาค่อนข้างมาก จะเห็นได้ว่ากระบวนการที่ได้กล่าวมาข้างต้นนอกจากจะลงทุนมาก ใช้เวลานาน มีอุปกรณ์และสารเคมีหลายชนิดต้องใช้ความชำนาญสูงแล้ว ยังเป็นการทำลายตัวอย่างอีกด้วย โครงงานวิจัยนี้จึงเสนอการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่เช่นเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีในการวิเคราะห์ค่าปริมาณไลโคพีนสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการหรือในการวัดค่าไลโคพีนซึ่งเป็นสารเพื่อสุขภาพของแตงโมที่ผ่าขาย)แตงโมพร้อมบริโภคหรือ Fresh cut) ในห้างสรรพสินค้าซึ่งสามารถวัดโดยผู้บริโภคเองหรือผู้ขายโดยจะรู้ผลทันทีและเป็นวิธีไม่ทำลาย จะช่วยทำให้ห้องปฏิบัติการแผนกตรวจสอบคุณภาพของโรงงานแปรรูปแตงโมพร้อมบริโภคหรือแผนกขายในห้างสรรพสินค้าสามารถวิเคราะห์ค่าปริมาณค่าไลโคพีน สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว ประมาณ) แรงงานและเวลาน้อยซึ่งหมายถึงการลดต้นทุนในการแม่นยำไม่ต้องใช้กรรมวิธีทางเคมีขณะวัด ใช้ (นาที 2 ผลิต ทำให้สามารถรายงานให้ฝ่ายผลิตและฝ่ายขายสามารถประกันคุณภาพเนื้อแตงโมก่อนส่งขาย สามารถรักษาตลาดที่ต้องการเนื้อแตงโมที่มีคุณภาพสูงเช่นญี่ปุ่นและยุโรปไว้ได้ ทำให้สามารถโรงงานผู้ส่งออกและห้างสรรพสินค้าเพิ่มความมั่นใจให้ลูกค้าและสามารถแข่งขันในตลาดโลกได้เพิ่มขึ้น แต่การนำเทคโนโลยีนี้มาใช้จำเป็นต้องมีการสร้างแบบจำลองเพื่อใช้ในการทำนาย (Calibration model) ก่อนการนำไปใช้งาน ดังนั้นด้วยเหตุผลและความสำคัญดังที่กล่าวมาจึงขอเสนอโครงการวิจัยเพื่อของบประมาณเพื่อการวิจัยเรื่องการวิเคราะห์ปริมาณไลโคปีนในเนื้อแตงโมด้วยเทคนิคที่ไม่ทำลายด้วยวิธีเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีในการวิเคราะห์ปริมาณไลโคพีนของเนื้อแตงโมโดยตรงเป็นวิธีไม่ทำลายซึ่งช่วยให้ประหยัดเวลาและลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์แทนวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม)วิธีสเปกโตโฟโตเมทรี(

1.2.2 เพื่อสร้างแบบจำลองในการวิเคราะห์ ปริมาณไลโคพีน ของเนื้อแตงโมโดยตรงด้วยวิธีไม่ทำลายโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

1.2.3 เพื่อประยุกต์แบบจำลองที่ได้ใน 1.2.1 ใช้จริงในโรงงานผู้ส่งออกและห้างสรรพสินค้าเพื่อลดเวลาและแรงงานในการตรวจสอบคุณภาพของเนื้อแตงโมซึ่งหมายถึงการลดต้นทุนในการผลิตและเพื่อสนับสนุนให้คนบริโภคแตงโมมากขึ้นเนื่องจากรู้คุณภาพแต่เริ่มต้น

1.2.4 เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ในการประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีเพื่อการปริมาณไลโคพีน ของเนื้อแตงโมและเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้กับผักผลไม้อื่นต่อไป

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

การหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไลพีนที่มีในเนื้อแตงโมที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ กับสเปกตรัมการดูดกลืนคลื่น NIR ของผลแตงโมที่ได้จากการวัด

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 การศึกษาปริมาณไลโคพีนที่มีในเนื้อแตงโมพันธุ์กินรีที่ระยะการเก็บเกี่ยว 4 ช่วงอายุ คือ 21, 23, 25 และ 27 วันหลังดอกบานครอบคลุมทั้ง 3 ฤดู คือ ฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน

1.4.2 ตรวจสอบปริมาณโดยใช้คุณสมบัติเชิงแม่เหลกไฟฟ้าด้วยเครื่อง NIR Spectrophotometer การทำงานแบบ interactance ของคลื่นที่มีช่วงคลื่น 600-1,100 nm

1.5 ขั้นตอนการศึกษา

1.5.1 ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับไลโคพีน และกระบวนการสกัดไลโคพีนออกจากเนื้อแตงโม

1.5.2 หาแหล่งเพาะปลูกแตงโมเพื่อติดต่อขอซื้อตัวอย่างการทดลอง

1.5.3 ทดสอบครั้งที่ 1 โดยใช้แตงโมที่เพาะปลูกในฤดูฝน แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ตามช่วงอายุการเก็บเกี่ยวที่ 21, 23, 25 และ 27 วันหลังดอกบานตามลำดับ โดยช่วงอายุที่ วันหลังดอกบานเป็นอายุเก็บเกี่ยวทาง 25 มช่วงละการค้า โดยในแต่ละช่วงอายุการเก็บเกี่ยวจะใช้แตงโ20 ตัวอย่าง รวมเป็นทั้งหมด 80 ตัวอย่าง เก็บข้อมูลสปกตรัมที่ช่วงคลื่น 1100-600 nm (Optical data (และ วิเคราะห์ปริมาณไลโคปีน ของเนื้อแตงโมโดยตรงด้วยวิธีของห้องปฏิบัติการทั่วไป (วิธีสเปกโตโฟโตเมทรี)

1.5.4 ทดสอบครั้งที่ 2 โดยใช้แตงโมที่เพาะปลูกในฤดูหนาว แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ตามช่วงอายุการเก็บเกี่ยวที่ 21, 23, 25 และ 27 วันหลังดอกบานตามลำดับ โดยช่วงอายุที่ วันหลังดอกบานเป็นอายุเก็บเกี่ยวทาง 25 การค้า โดยในแต่ละช่วงอายุการเก็บเกี่ยวจะใช้แตงโมช่วงละ20 ตัวอย่าง รวมเป็นทั้งหมด 80 ตัวอย่าง เก็บข้อมูลสปกตรัมที่ช่วงคลื่น 1100-600 nm (Optical dataและ วิเคราะห์ปริมาณไลโคปีน (ของเนื้อแตงโมโดยตรงด้วยวิธีของห้องปฏิบัติการทั่วไป (วิธีสเปกโตโฟโตเมทรี)

1.5.5 ทดสอบครั้งที่ 3 โดยใช้แตงโมที่เพาะปลูกในฤดูร้อน แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ตามช่วงอายุการเก็บเกี่ยวที่ 21, 23, 25 และ 27 วันหลังดอกบานตามลำดับ โดยช่วงอายุที่ วันหลังดอกบานเป็นอายุเก็บเกี่ยวทาง 25 การค้า โดยในแต่ละช่วงอายุการเก็บเกี่ยวจะใช้แตงโมช่วงละ20 ตัวอย่าง รวมเป็นทั้งหมด 80 ตัวอย่าง เก็บข้อมูลสปกตรัมที่ช่วงคลื่น1100-600 nm (Optical dataและ วิเคราะห์ปริมาณไลโคปีน (ของเนื้อแตงโมโดยตรงด้วยวิธีของห้องปฏิบัติการทั่วไป (วิธีสเปกโตโฟโตเมทรี)

1.5.6 แล้วนำข้อมูลทั้งหมดมาสร้างแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณไลโคปีน ของเนื้อแตงโม และ กับ Optical data โดยวิธีทาง Chemometric แบบ Partial least square regression

1.5.7 ทดสอบแบบจำลองเพื่อใช้ทำนาย ปริมาณไลโคปีน ของเนื้อแตงโมของตัวอย่างที่เป็น Unknown

1.5.8 ประยุกต์ใช้วิธีการในโรงงานแปรรูปแตงโมพร้อมบริโภคหรือแผนกขายในห้างสรรพสินค้า

1.5.9 สรุปผล และ เขียนรายงาน

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1.6.1 ได้แบบจำลองและเทคนิคทาง NIRS ที่สามารถใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไลโคปีนของเนื้อแตงโมพันธุ์กินรีที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างครอบคลุมทุกฤดูโดยตรงด้วยวิธีไม่ทำลาย โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

1.6.2 สามารถประยุกต์แบบจำลองที่ได้ใน ใช้จริงในห้องปฏิบัติการแผนกตรวจสอบคุณภาพของ 1 โรงงานแปรรูปแตงโมพร้อมบริโภคหรือแผนกขายในห้างสรรพสินค้าเพื่อลดเวลา การใช้สารเคมี และแรงงานในการตรวจสอบซึ่งหมายถึงการลดต้นทุนในการผลิต

1.6.3 ได้องค์ความรู้ใหม่ในการประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี เพื่อการตรวจวัดปริมาณไลโคปีนของเนื้อแตงโม และสามารถใช้เป็นแนวทางในการวิเคราะห์ปริมาณไลโคปีนในผักผลไม้อื่นอีกด้วย

1.6.4 สามารถเพิ่มศักยภาพของการปรับปรุงและประกันคุณภาพของการผลิตเนื้อแตงโมพร้อมบริโภคทั้งเพื่อการส่งออกและบริโภคภายในประเทศได้ ทำให้โรงงานแปรรูปแตงโมพร้อมบริโภคหรือแผนกขายในห้างสรรพสินค้าสามารถมั่นใจในคุณภาพของวัตถุดิบ

1.6.5 ผลงานสามารถจดสิทธิบัตร และเผยแพร่ในวารสารระดับชาติและระดับนานาชาติได้