

การประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีสำหรับวัดเบต้ากลูแคน
ในเห็ดหอมฟรีซดราย

Application of near infrared spectroscopy for evaluation of beta-glucan
in freeze-dried shitake mushroom



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

หลักสูตรวิศวกรรมเกษตร สาขาวิศวกรรมเครื่องกล

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

การประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีสำหรับวัดเบต้ากลูแคน

ในเห็ดหอมฟรีซดราย

Application of near infrared spectroscopy for evaluation of beta-glucan

in freeze-dried shitake mushroom



ปริญญาานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

หลักสูตรวิศวกรรมเกษตร สาขาวิศวกรรมเครื่องกล

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีสำหรับวัดเบต้ากลูแคน

ในเห็ดหอมฟรีซดราย

Application of near infrared spectroscopy for evaluation of beta-glucan

in freeze-dried shitake mushroom



ปริญญาานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

หลักสูตรวิศวกรรมเกษตร สาขาวิศวกรรมเครื่องกล

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Application of near infrared spectroscopy for evaluation of beta-glucan
in freeze-dried shitake mushroom



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE
OF BACHELOR OF ENGINEERING IN AGRICULTURAL ENGINEERING
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาานิพนธ์ปีการศึกษา 2558

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองปริญญาานิพนธ์

หัวข้อปริญญาานิพนธ์ การประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีสำหรับวัดเบต้า
กลูแคนในเห็ดหอมฟรีซดราย

Application of near infrared spectroscopy for evaluation of
beta-glucan in freezedried shitake mushroom


นักศึกษาผู้จัดทำ นายกิตติกุล ศรีปัญญานนท์ รหัสนักศึกษา 55010085
นางสาวคันธีรัตน์ กล่อมเกลี้ยง รหัสนักศึกษา 55010128
นายวรุตม์ จัง รหัสนักศึกษา 55011109
นางสาวศิริภัสสร กิตระกูล รหัสนักศึกษา 55011202

ปริญญา วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมเกษตร)

หลักสูตร วิศวกรรมเกษตร

สาขาวิชา วิศวกรรมเครื่องกล

ปีการศึกษา 2558

อาจารย์ผู้ควบคุมปริญญาานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร. ปานมนัส ศิริสมบุรณ์	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีสำหรับวัดเบต้ากลูแคน
ในเห็ดหอมฟรุ๊ตตราาย

นักศึกษาผู้จัดทำ

นายกิตติกุล ศรีปัญญานนท์	รหัสนักศึกษา 55010085
นางสาวคันธรัตน์ กล่อมเกลี้ยง	รหัสนักศึกษา 55010128
นายวรุฒม์ จัง	รหัสนักศึกษา 55011109
นางสาวศิริภัสสร กี่ตระกูล	รหัสนักศึกษา 55011202

อาจารย์ที่ปรึกษา

รศ.ดร.ปานมนัส ศิริสมบุรณ์

พ.ศ.

2559

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาความเป็นไปได้ในการการประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในการตรวจวัดปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรุ๊ตตราายโดยใช้เครื่อง FT-NIR Spectrometer ช่วงเลขคลื่น 12,500-4,000 cm^{-1} (800-2,500 nm) มีการสร้างแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างสารเบต้ากลูแคนของเห็ดหอมกับข้อมูลสเปกตรัมโดยวิธีทางเคโมเมตริกแบบการถดถอยยกกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน โดยแบบจำลองที่ดีที่สุดสร้างจากสเปกตรัมที่ผ่านการจัดการเบื้องต้นด้วยวิธี First derivative และ Vector normalization (SNV) ที่ช่วงเลขคลื่น 11,602-10,707, 9,828-5,369, 4,482-4,458 cm^{-1} ซึ่งมีค่าจำนวน PLS factorsเท่ากับ 8 โดยชุดสร้างแบบจำลองมีค่าสัมประสิทธิ์การพิจารณา (R^2) = 0.929 ค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนยกกำลังสองเฉลี่ยของการประมาณ (Root Mean Square Error of Estimation, RMSEE) = 0.156 สำหรับชุดทำนายมีค่า R^2 = 0.710 ค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนยกกำลังสองเฉลี่ยของการพิสูจน์แบบไขว้ (Root Mean Square Error of cross validation, RMSECV) = 0.292 ความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (Bias) = 0.0131% และ อัตราส่วนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต่อความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการทำนาย (RPD) = 1.85 นอกจากนี้พบว่าความสัมพันธ์ของพันธะซึ่งเป็นองค์ประกอบของสตาร์ช, กลูโคสและสารประกอบอินทรีย์มีอิทธิพลต่อการทำนายปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรุ๊ตตราายมาก

คำสำคัญ : เห็ดหอมฟรุ๊ตตราาย, เบต้ากลูแคน, เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี,
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตั้งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title Application of near infrared spectroscopy for evaluation of beta-glucan in freeze-dried shitake mushroom

Authors Mr. Kittikul Sripanyanon Student ID. 55010085
 Ms. Kantharat Klomkeang Student ID. 55010128
 Mr. Warut Chang Student ID. 55011109
 Ms. Sirapat Keetrakul Student ID. 55011202

Thesis Advisor Assoc. Prof. Dr. Panmanas Sirisomboon

Year 2016

ABSTRACT

This research studied the application of near infrared spectroscopy to measure the β -glucan in freeze-dried shitake mushroom. This research used FT-NIR Spectrometer in wavenumber range 12,500-4,000 cm^{-1} (800-2500 nm). The model developed from β -glucan and optical data by chemometric was done by partial least squares regression. The model using the first derivative and vector normalization (SNV) in 11,602-10,707, 9,828-5,369, 4,482-4,458 cm^{-1} with 8 PLS factors provided coefficient of determination of calibration (R^2) of 0.929, root mean square error of estimate (RMSEE) of 0.156, For prediction R^2 was 0.710, root mean square error of cross validation (RMSCV) was 0.292%, bias was 0.0131%, and ratio of prediction deviation (RPD) of 1.85. In addition it was found that the vibration band of starch, glucose and hydrocarbons was highly affected the prediction of β -glucan in freeze-dried shitake mushroom

Key words : freeze-dried shitake mushroom, beta glucan, near infrared spectroscopy

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และตัดแจ้งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จอย่างสมบูรณ์ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. ปานมนัส ศิริสมบุญรณ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้ความรู้ คำชี้แนะและช่วยแก้ปัญหาต่างๆ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณพิชญ์นิภา ขวัญเผือก ที่ให้ความรู้และคำปรึกษาในการจัดเตรียมสารเคมีในการทดลอง รวมถึงวิธีการทดลองต่างๆ ในงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คณะวิศวกรรมศาสตร์ หลักสูตรวิชาวิศวกรรมเกษตร ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมืออุปกรณ์ในการทำการทดลอง

ขอขอบคุณบิดามารดา ครูอาจารย์ เพื่อน พี่ และน้องทุกคนในภาควิชาวิศวกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำและให้กำลังใจเสมอมา

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้แก่บิดามารดาซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้

นายกิตติกุล ศรีปัญญานนท์
นางสาวคันธรัตน์ กล่อมเกลี้ยง
นายวุฒ จัง
นางสาวศิริภัสสร กี่ตระกูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญรูป.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของวิทยานิพนธ์.....	2
1.2 วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์.....	2
1.3 ขอบเขตการวิจัยของวิทยานิพนธ์.....	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับของวิทยานิพนธ์.....	2
1.5 แผนการดำเนินงาน.....	3
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร.....	4
2.1 เห็นทอม.....	4
2.2 เบต้ากลูแคนและการวัด.....	6
2.3 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี.....	9
2.3.1 คลื่นเนียร์อินฟราเรด.....	9
2.3.2 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์.....	10
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	12
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....	14
3.1 ตัวอย่างเห็นทอม.....	13
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	16
3.2.1 FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany).....	15
3.2.2 GENESYS™ 10S UV-Vis Spectrophotometer.....	16
3.2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า (Mettler toledo Capacity 500 Ct. x 0.001 Ct.).....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.4 Carousel™ Stirring Hotplates.....	17
3.2.5 pH Meter (Hanna Instruments HI 8520 Microprocessor Bench-top pH Meter).....	18
3.2.6 Microliter-pipettes (WITOPET variable).....	18
3.2.7 อุปกรณ์อื่นๆ	
3.2.7.1 ขวดชมพูขนาด 250 มิลลิเมตร.....	19
3.2.7.2 ทิชชู.....	19
3.2.7.3 น้ำกลั่น.....	20
3.2.7.4 ขวดบีบน้ำกลั่น.....	20
3.2.7.5 กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร.....	21
3.2.7.6 ปีกเกอร์.....	21
3.2.7.7 ขวดวัดปริมาตรขนาดต่าง.....	22
3.3 การสแกนหีตหอมพีรีซตรายด้วยคลื่นเนียร์อินฟราเรด.....	23
3.4 การวัดเบต้ากลูแคนในหีตด้วยวิธีอ้างอิง.....	23
3.5 การวิเคราะห์สเปกตรัม.....	26
3.6 การสร้างแบบจำลอง.....	27
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	28
4.1 ผลการวิเคราะห์สเปกตรัม.....	28
4.2 ผลการทำนายของแบบจำลอง.....	31
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	37
5.1 สรุปผลการวิเคราะห์สเปกตรัม.....	37
5.2 สรุปผลการทำนายแบบจำลอง.....	37
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	37
เอกสารอ้างอิง.....	38
ภาคผนวก.....	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	3
2.1 การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานที่ความยาวคลื่นต่างๆ.....	10
4.1 Bond vibration of the apparent peaks in average spectrum and second derivative spectrum of freeze dried Shitake mushroom.....	30
4.2 Statistical data of β -glucan of freeze-dried shitake mushroom used in model development	31
4.3 Result of partial least squares regression model for β -glucan of freeze-dried shitake mushroom	32
4.4 Regression coefficient plot และ X-loading plot ของแบบจำลองค่าการตรวจวัดปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรีซดรายโดยการสแกนของเครื่อง FT-NIR spectrometer.....	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา **vi** ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Beta-glucan 1,3-linked glucose (1,3-d glucan) chain และ Beta-glucan 1,6-linked glucose (1,6-d glucan) chain.....	6
2.2 รูปแบบที่สสารเกิดอันตรกิริยากับรังสีเนียร์อินฟราเรด.....	12
3.1 ตัวอย่างเห็ดหอมจากสถานที่ต่างๆ.....	15
3.2 เครื่อง FT-NIR spectrometer.....	16
3.3 UV-VIS spectrophotometer.....	16
3.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า.....	17
3.5 เครื่อง Stiring Hotplates.....	17
3.6 เครื่อง pH Meter.....	18
3.7 Micropipettes.....	18
3.8 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร.....	19
3.9 กระดาษทิชชู.....	19
3.10 น้ำกลั่น.....	20
3.11 ขวดบีบน้ำกลั่น.....	20
3.12 กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร.....	21
3.13 ปีกเกอร์.....	21
3.14 ขวดวัดปริมาตรขนาดต่างๆ.....	22
3.15 การสแกนเห็ดหอมฟรีซดรายด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์.....	23
3.16 เห็ดหอมฟรีซดรายบดกวนในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์.....	24
3.17 การกรองตะกอนออกจากสารแขวนลอย.....	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา **VI** ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.18 สารสกัดเบต้ากลูแคนย้อม congo red และส่วนของ Blank ในคิวเว็ต.....	25
3.19 ส่วนของ background absorption ในคิวเว็ต.....	26
4.1 Average NIR spectra of freeze-dried shitake mushroom.....	28
4.2 Average second derivative average NIR spectra of freeze-dried shitake mushroom	29
4.3 Measured vs NIR spectroscopy predicted β -glucan of freeze-dried shitake mushroom of calibration.....	33
4.4 Measured vs NIR spectroscopy predicted β -glucan of freeze-dried shitake mushroom of validation.....	33
4.5 Regression coefficient plots.....	34
4.6 X-loading plots.....	34

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจในเรื่องของการรักษาสุขภาพทั้งในแง่ของการออกกำลังกายและการเลือกรับประทานอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงซึ่งเรียกว่า อาหารเพื่อสุขภาพ เห็นเป็นอาหารอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการค่อนข้างสูง เห็นมีสรรพคุณในการช่วยบำรุงรักษาและบรรเทาอาการของร่างกายให้พ้นจากโรคต่างๆ มากมาย ไม่ว่าจะเป็นโรคมะเร็ง โรคความดันโลหิต โรคเบาหวาน โรคทางเดินอาหาร ต่อต้านโรคเมอเร็ง โรคท้องผูก ฯลฯ เห็ดหอมเป็นเห็ดชนิดหนึ่งในเห็ดหลากหลายชนิดที่คุณค่าทางโภชนาการสูง ทารับประทานได้ง่ายมีราคาค่อนข้างถูก (เทียบกับเห็ดชนิดอื่น) เห็ดหอมจะมีสารอาหารชนิดหนึ่งคือ เบต้ากลูแคน (β -glucan) เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากส่วนของเห็ดที่ใช้บริโภค เบต้ากลูแคนเป็นตัวแปรในการวัดคุณค่าทางอาหารของเห็ดหอม ปัจจุบันวิธีการวัดค่าเบต้ากลูแคนของเห็ดชนิดต่างๆ นั้นมีขั้นตอนในการวัดที่ค่อนข้างที่จะยาก ใช้เวลานาน ใช้สารเคมี ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญและมีค่าใช้จ่ายสำหรับการวัดต่อตัวอย่างค่อนข้างมาก รวมทั้งเป็นวิธีทำลายตัวอย่างต้องเสียวัตถุดิบตัวอย่างที่นำมาทำการทดสอบด้วยทั้งที่มีราคาสูง จึงไม่สามารถวัดตัวอย่างจำนวนมากได้ เทคโนโลยีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ตรวจสอบวัสดุเกษตรและอาหารแบบไม่ทำลาย รวดเร็ว ไม่ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญ ไม่ต้องใช้สารเคมีและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถที่จะนำวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบแล้วนำมาบริโภคได้โดยที่ยังคงมีคุณค่าของสารอาหารและสภาพของวัสดุเหมือนเดิม นอกจากนี้แล้วยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้จำนวนมากในแต่ละรอบของการผลิต และนอกเหนือจากการติดตั้งเครื่องมือในครั้งแรกแล้วก็ไม่มีค่าใช้จ่ายที่ต้องใช้ในการตรวจสอบอีก เหมาะที่จะนำมาใช้กับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การตรวจหาเบต้ากลูแคนในเห็ดหอม ทำให้ผู้ผลิตและผู้บริโภคมีความมั่นใจในวัตถุดิบอย่างใดก็ได้ การที่จะมองเห็นความเปลี่ยนแปลงในรูปแบบการดูดกลืนแสงโดยตรงนั้นเป็นไปได้ยาก เนื่องจากน้ำซึ่งประกอบประกอบหลักของเห็ดและเห็ดสกัดเข้มข้นมีรูปแบบการดูดกลืนแสง (Absorption band) ขนาดใหญ่ครอบคลุมรูปแบบการดูดกลืนคลื่นของสารเคมีชนิดอื่นและการซ้อนทับของแถบการดูดกลืนของคลื่นขององค์ประกอบที่มีความซับซ้อน ดังนั้นจึงต้องนำการใช้หลักการทาง Chemometric เทคนิคการวิเคราะห์ข้อมูลแบบตัวแปรพหุ (Multivariate analysis) มาช่วยในการจัดตัวแปรรบกวนออกไปแล้วสร้างแบบจำลองในการทำนาย (Calibration model) ซึ่งเป็นเทคนิคหนึ่งของเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี จึงเป็นการทำหายที่จะได้องค์ความรู้ใหม่จากโครงการวิจัยที่ได้นำเสนอนี้ พร้อมกับการสามารถประยุกต์ใช้ได้ ในอุตสาหกรรมผลิตเห็ดสกัดเข้มข้นหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อนำเทคโนโลยีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบแบบไม่ทำลายมาใช้ในการวัดเบต้ากลูแคนซึ่งเป็นสารเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของเห็ดหอม (Shitake mushroom) เพื่อลดระยะเวลาสารเคมีและค่าใช้จ่ายในการวัดต่อตัวอย่างและเพื่อให้สามารถวัดตัวอย่างได้ในจำนวนที่มากขึ้นและตัวอย่างสามารถถูกนำกลับเข้ามาบริโภคได้ทำให้ลดต้นทุนการผลิตและสามารถควบคุมการผลิตได้แน่นอนขึ้นและผลิตภัณฑ์มีคุณภาพที่สม่ำเสมอมากขึ้น
2. เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ซึ่งไม่เคยมีนักวิจัยใดทำมาก่อนในการประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี เพื่อการวัดปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอม

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ใช้เห็ดหอม (shitake mushroom) และใช้ความยาวช่วงคลื่นเนียร์อินฟราเรดระหว่าง 700 – 2500 nm

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผู้ผลิตสามารถลดค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอขึ้นตลอดจนลดระยะเวลาการรอในกระบวนการผลิต
2. ผู้บริโภคสามารถมั่นใจในคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมกับราคา มีสุขภาพที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 แผนการทดลอง

ตารางที่ 1.1 ขั้นตอนการดำเนินงาน

ขั้นตอนการดำเนินงาน	ปี / เดือน									
	พ.ศ.2558					พ.ศ.2559				
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.
ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับสารเบต้ากลูแคน ของเห็ดหอม และกระบวนการสกัดเบต้ากลูแคนออกจากเห็ด เตรียมอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	*	*								
เก็บตัวอย่างเห็ดหอม			*	*	*	*	*	*	*	
เก็บข้อมูลสเปกตรัม (Optical data) ของตัวอย่างด้วยสเปกโตรมิเตอร์ 3 เครื่อง			*	*	*	*	*	*	*	
ตัวอย่างที่ผ่านการสแกนจะถูกนำมาสกัดแล้ววิเคราะห์ปริมาณสารเบต้ากลูแคนด้วยวิธี colorimetric				*	*	*	*	*	*	
นำข้อมูลทั้งหมดมาสร้างแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่าง สารเบต้ากลูแคนของตัวอย่างเห็ด กับ Optical data โดยวิธีทาง Chemometric แบบ Partial least squares regression								*	*	*
ทดสอบแบบจำลองเพื่อใช้ทำนายสารเบต้ากลูแคนของตัวอย่างต่างๆ โดยวิธีการพิสูจน์แบบไขว้								*	*	*
สรุปผล เขียนรายงานฉบับสมบูรณ์								*	*	*

บทที่ 2 ตรวจเอกสาร

2.1 เห็ดหอม (Shitake mushroom)

เห็ดหอมเป็นเห็ดชนิดหนึ่งซึ่งเป็นที่ยอมรับในการบริโภคจากสังคม เพราะนอกจากจะเป็นเห็ดที่มีรสชาติอร่อย กลิ่นหอม และมีคุณค่าทางอาหารสูงแล้วยังเป็นเห็ดที่มีสรรพคุณทางยาอีกด้วย เห็ดหอมจึงเป็นอาหารอีกประเภทหนึ่งที่มนุษย์รู้จักและนิยมบริโภคกันตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

เมื่อเอ่ยชื่อเห็ดหอมขึ้นมาหลายคนคงมีความรู้สึกคุ้นเคยเป็นอย่างดี เห็ดหอมนี้เป็นที่นิยมบริโภคกันมากในหมู่ชาวจีนและญี่ปุ่น ส่วนชาวไทยเรานั้นก็กำลังเป็นที่ตื่นตัวกัน เห็ดหอมนับเป็นเห็ดที่มีรสชาติที่ดีมี กลิ่นหอม และมีคุณค่าทางอาหารสูงกว่าเห็ดชนิดอื่นๆที่ยังอุดมไปด้วยวิตามินที่มีความสำคัญต่อร่างกาย เหมาะอย่างยิ่งกับการทำอาหารประเภท ต้ม ตุ่น โดยเฉพาะอาหารชนิดที่เข้าเครื่องยาจีน ทั้งชาวจีนและญี่ปุ่นเชื่อกันว่าเมื่อได้รับประทานเข้าไปแล้วจะช่วยบำรุงร่างกายให้มีสุขภาพแข็งแรงอยู่เสมอสามารถช่วยให้เลือดในร่างกายไหลเวียนได้ดีและป้องกันโรคบางอย่างได้จึงนิยมบริโภคในรูปอายุวัฒนะขนานหนึ่งมาเรื่อยๆจนทุกวันนี้ จากความเชื่อดังกล่าวนี้ได้นำมาพิสูจน์ให้เห็นความเป็นจริงโดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติได้นำเห็ดหอมมาตรวจวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าเห็ดหอมนั้นมีคุณค่าทางอาหารสูงจริง ไม่ว่าจะเป็นคาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุบางชนิด [1]

นอกจากนี้สถาบันมะเร็งแห่งชาติของญี่ปุ่น และมหาวิทยาลัยแพทย์ รัฐเซาท์แคโรไลนาของสหรัฐอเมริกา ได้ร่วมกันค้นคว้าวิจัยเห็ดหอมและพบว่า มีสารพิเศษที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายที่สำคัญ 3 ชนิด [1] คือ

1. สารเลนตินาน (Lentinan) เป็นสารที่ช่วยลดคอเลสเตอรอลในเลือด
2. สารอีริทาดีนิน (Eritadenin) เป็นสารที่ต่อต้านเซลล์เนื้องอก (มะเร็ง) โดยเฉพาะมะเร็งในกระเพาะอาหาร
3. สารเอซีทูพี (Ac 2 p) เป็นสารที่ต่อต้านเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคหวัด หัด และ โปлио

เมื่อเห็ดหอมเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางอาหารที่สูงและเป็นยารักษาโรคอยู่ในตัวเช่นนี้ จึงทำให้ได้รับความนิยมบริโภคและเป็นที่ต้องการของตลาดเป็นอย่างมากทั้งในและต่างประเทศในปัจจุบัน ทำให้เห็ดหอมถูกจัดเป็นเห็ดเศรษฐกิจที่ส่งออกอันดับ 2 ของโลกด้วยเหตุนี้เองจึงทำให้คนศึกษาประวัติและการเจริญเติบโตของเห็ดหอมมากขึ้น โดยมีการระบุนายละเอียดทางพฤกษศาสตร์ของเห็ดหอม [12] ดังนี้

Division	Eumycophyta
Class	Basidiomycetes
Sub class	Helerobasidiomycetes
Order	Agaricales
Family	Tricholomataceae
Genus	Lentinus
Species	edodes

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปร่างลักษณะทั่วไป

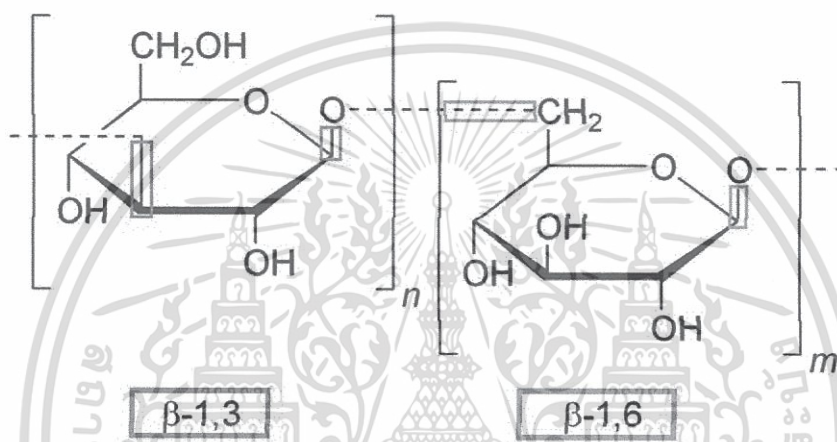
เห็ดหอมเกิดในธรรมชาติ หรือเกิดขึ้นโดยการเพาะเลี้ยง ต่างก็มีรูปร่างและลักษณะโดยทั่วไปที่ไม่แตกต่างกันนัก [1] ดังนี้

1. ก้านดอก (Stipe) เป็นส่วนที่ขุ่หมวกดอก ซึ่งมีส่วนโคนติดอยู่กับเปลือกไม้ เป็นส่วนประกอบของดอกเห็ดที่มีเนื้อเยื่อประกอบแข็งแรงกว่าส่วนอื่นๆ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7-2.5 เซนติเมตร และยาวประมาณ 1.5-7.2 เซนติเมตร ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์และสภาพสิ่งแวดล้อมที่เจริญเติบโตมา สีของก้านดอกเห็ดหอมที่ส่วนโคนจะมีสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลอ่อน ส่วนที่สูงขึ้นมาเรื่อยๆจะมีสีขาว โดยก้านดอกจะตั้งอยู่ตรงกลางของดอกเห็ดหรือเอียงเล็กน้อย
2. วงแหวน (Punulus) เป็นเนื้อเยื่อบางๆสีขาว เมื่อดอกเห็ดยังอ่อนอยู่นเนื้อเยื่อนี้จะยึดติดอยู่บริเวณก้านดอกกับขอบหมวกดอก เพื่อป้องกันอันตรายให้กับครีบของดอกเห็ด เมื่อดอกเห็ดเจริญขึ้นเต็มที่ก็จะดึงเนื้อเยื่อนี้จนขาดออก และจะมีส่วนหนึ่งขาดติดกับก้านดอกส่วนบนโดยรอบ
3. หมวกดอก (Pileus) เป็นส่วนที่เจริญกางออกต่อกจากปลายก้านดอกในระยะแรกมีรูปร่างลักษณะเป็นครึ่งวงกลมคล้ายกำร่มกาง ครั้นเมื่อเจริญเติบโตแก่เต็มที่ก็จะกลางแผ่หรือป้านลง ซึ่งหมวกดอกเห็ดหอมนี้จะมีขอบหมวกโดยรอบโค้ง บริเวณดอกหมวกค่อนข้างแห้งและผิวแตกเป็นลาย สีผิวดอกจะเปลี่ยนไปตามสภาพแวดล้อม คือถ้าหากได้รับแสงมากและมีความชื้นสูงจะเป็นสีน้ำตาลเข้ม และถ้าหากได้รับความชื้นต่ำและมีอุณหภูมิต่ำจะมีสีขาวและผิวดอกแตก ซึ่งจะเห็นเนื้อภายในเป็นสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน มีลักษณะเนื้อนุ่มเหนียวพอสมควร และมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว
4. ครีบ (Lamellae) เป็นส่วนที่เจริญติดกับหมวกดอกด้านล่างมีลักษณะคล้ายกับใบมีด ขนาดความกว้างประมาณ 0.3-0.4 มิลลิเมตร สีขาวหรือสีเหลืองอ่อน โดยมีการจัดเรียงตัวเป็นแนวยาวตามรัศมีจากส่วนในไปยังขอบหมวกดอกเห็ด ซึ่งครีบนี้อันจะแยกกันอย่างอิสระกับก้านดอกและมีการเรียงตัวของครีบทั้งขนาดยาว ปานกลาง และสั้น เรียงต่อสลับกันไปจนถึงเส้นสุดที่ขอบหมวกดอก ส่วนครีบนี้นี้เป็นส่วนที่สร้างสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์ต่อไปของเห็ดหอม โดยภายในครีบจะมีเซลล์รูปคล้ายกระบองที่เรียกว่าแบซิเดียม (Basidium) เป็นเซลล์สร้างสปอร์ ซึ่งสปอร์จะสร้างขึ้นบนก้านชู สปอร์มีรูปร่างเป็นวงรี ผิวเรียบ มีผนังสีขาวมาก มีขนาดเล็กมาก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-3.5 ไมครอน และยาวประมาณ 5.5-5.6 ไมครอน จึงไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เบต้ากลูแคน (Beta-glucan) และการวัด

เบต้ากลูแคนเป็นสารชีวโมเลกุลประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) จัดเป็นอาหารเสริมจากธรรมชาติล้วนๆ สารที่เรียกว่าเบต้ากลูแคนประกอบด้วยลูกโซ่โกลูโคสหลายแบบ แต่สิ่งสำคัญที่ต้องทราบคือ Beta-glucan 1,3-linked glucose (1,3-d glucan) chain และ Beta-glucan 1,6-linked glucose (1,6-d glucan) chain ดังแสดงในรูปที่ 2.1 เป็นเบต้ากลูแคนที่มีการศึกษาวิจัยมากที่สุดและได้พิสูจน์แล้วว่าเป็นสารที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการสนับสนุนระบบภูมิคุ้มกันเท่าที่เคยค้นพบ [2] เนื่องจากเบต้ากลูแคนเป็นสารจากธรรมชาติ ดังนั้นโดยทั่วไปจึงถือว่าปลอดภัย ไม่ปรากฏผลข้างเคียง ข้าพผลการทดลองแนะนำว่ายิ่งใช้ในปริมาณที่สูงยิ่งให้ผลดี



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Beta-glucan 1,3-linked glucose (1,3-d glucan) chain และ Beta-glucan 1,6-linked glucose (1,6-d glucan) chain

เป็นที่ตระหนักดีว่า การที่จะมีสุขภาพที่ดีขึ้นหรือคงสุขภาพให้แข็งแรงเหมือนเดิมคนเราต้องการระบบภูมิคุ้มกันที่ดี และเมื่อร่างกายอ่อนแอจนนำมาซึ่งโรคร้ายไข้เจ็บ เบต้ากลูแคนก็จะเป็นตัวเลือกหนึ่งที่สามารถสกัดกั้นโรคร้ายไข้เจ็บได้ดีที่สุด เบต้ากลูแคนได้พิสูจน์ให้เห็นว่า เป็นสารอาหารที่ดีที่สุดที่เคยค้นพบในการช่วยสนับสนุนระบบภูมิคุ้มกันให้มีความแข็งแรง

การทำงานของเบต้ากลูแคนจะทำงานโดยเบต้ากลูแคนจะเข้าไปอยู่ในเซลล์เม็ดเลือดขาว (macrophage) ที่รับผิดชอบกิจกรรมต่างๆ จำนวนมากในการป้องกันและส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน และให้ความต้านทานที่เหมาะสมต่อสิ่งที่เข้ามาโจมตีสุขภาพเท่าที่จะทำได้ เซลล์ macrophage เป็นเซลล์ที่สำคัญชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับธรรมชาติของสารภูมิคุ้มกันโดยทำหน้าที่ดูดกลืนสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายและทำลายไปนอกจากนี้ Macrophage ยังทำหน้าที่ผลิตสารที่ช่วยในการเจริญเติบโตให้กับเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ จากนั้นแตกตัวเล็กลงและละลายจนถูกขับออกมาให้กระจายทั่วระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย แสดงให้เห็นว่าเบต้ากลูแคนขนาดเล็กที่สามารถละลายได้ภายในเซลล์ไขกระดูกได้ การทำหน้าที่ของภูมิคุ้มกันที่ตีรวมถึง phagocytosis (ความสามารถในการดูดกลืนเซลล์และสิ่งแปลกปลอมเข้ามา) สามารถปลดปล่อย Cytokines (Intercellular hormone) IL-1, IL-6, GM-CSF, interferon ออกมาและสร้าง antigens macrophage เกี่ยวข้องกับกระบวนการล้างพิษทุกวัน intestinal flora maintenance, ยับยั้งการติดเชื้อป้องกันการก่อตัวของมะเร็งเนื้องอก และดูแลสุขภาพทั้งหมดให้เป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน การกลืนกิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เบต้ากลูแคนต่างกับสารอาหารอื่น กลูแคนประเภทนี้ทนทานต่อกรด ดังนั้นจึงไม่เปลี่ยนสภาพเมื่อผ่านกระเพาะอาหาร Macrophage ซึ่งอยู่ในเมือกเคลือบผนังลำไส้จับอนุภาคเบต้ากลูแคน โดย beta glucan receptor และในทันทีที่เกิด การกระตุ้นต่อเซลล์เหล่านั้น หลังจากนั้นจะสามารถกลับไปยังต่อมน้ำเหลืองเดิม ที่ส่วนหนึ่งทำหน้าที่ในการทำ เครื่องหมายให้ T cell สามารถจดจำสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาได้ เพื่อปล่อย cytokine และก่อให้เกิดการกระตุ้น ภูมิคุ้มกันอย่างเป็นระบบ [2]

จากการศึกษาเรื่องเบต้ากลูแคนทำให้ทราบว่าเบต้ากลูแคนเหมาะที่จะให้ประโยชน์กับมนุษย์ทุกช่วงวัยที่ ต้องการรักษาสุขภาพหรือเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันของตัวเอง ผู้ที่มีความเครียดเป็นประจำ ประสงค์ที่จะ ชะลอความชราภาพ มีโรคภูมิแพ้ แพ้ภูมิตัวเอง โรคติดเชื้อ แผลหายช้าและหายไม่สมบูรณ์ รวมทั้งผู้ที่ได้รับเชื้อ HIV/AIDS หรือมะเร็ง ควรได้รับเบต้ากลูแคนทุกวันเพราะในแต่ละวันระบบภูมิคุ้มกันจะเปลี่ยนแปลงขึ้นๆลงๆ เมื่ออยู่ ในภาวะขาลงจะเป็นช่วงที่ง่ายต่อการเจ็บป่วย คนป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องจากสาเหตุต่างๆรวมทั้งอาหารล้า อ่อนเพลียเรื้อรัง กรณีที่ติดเชื้อ fibromyalgia หรือเชื้อไวรัสที่มีการติดเชื้อระยะยาวหรือถาวร เบต้ากลูแคนสามารถ ยกกระดับความต้านทานขึ้นมาได้ คนไข้ที่ได้รับความทุกข์ทรมานจากโรคเสื่อมเรื้อรัง เช่นโรคเบาหวาน หรือการอักเสบ เรื้อรัง อาจได้รับประโยชน์จากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเบต้ากลูแคนผู้ที่ได้รับสารพิษทางสิ่งแวดล้อม รังสี และพิษ ต่างๆ สามารถได้ประโยชน์จากฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ [2]

มีผลการวิจัยเกี่ยวกับเบต้ากลูแคน ที่ยกมากล่าวเป็นเพียงไม่กี่เรื่องที่ได้ยอมรับจากผู้เชี่ยวชาญในการตรวจ เอกสารวิชาการ ซึ่งผลการวิจัยนี้ไม่ได้เจาะจงเข้าไปหาเบต้ากลูแคนตัวใดตัวหนึ่งและ การรับรองผลงานดังกล่าวไม่ได้ หมายถึงการรับรองผลิตภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง แต่จุดมุ่งหมายในการยกตัวอย่างเพื่อเสนอมุมมองจากการตรวจเอกสาร วิชาการเกี่ยวกับ beta 1,3-d glucan เท่าที่มีอยู่ขณะนี้ว่ามีบทบาทที่สำคัญ [16] ได้แก่

1. ศัลยกรรมช่องท้องและทรวงอก : Havard Medical School (USA) รายงานว่าไม่มีอาการไม่พึงประสงค์จากการ ใช้ beta 1,3-d glucan มีความปลอดภัยและได้ผลอย่างเห็นได้ชัดโดยขนาดของเนื้องอกลดลงโดยไม่จำเป็นต้องมีการ ผ่าตัดใหญ่
2. มะเร็งปอดและทรวงอก : National Cancer Inst (USA) รายงานว่าเมื่อใช้เบต้ากลูแคนร่วมกับเทคนิคการปล่อย คลื่นไฟฟ้าอ่อนในรูปของคลื่นวิทยุ (RF fraction) กับบริเวณที่ผิดปกติเป็นมะเร็งขนาดของบริเวณที่ผิดปกติจะลดลง อย่างเห็นได้ชัดในช่วงระยะเวลา 5 วัน
3. มะเร็ง : Chemical and Pharmaceucal Bulletin (Japan) พบว่า เบต้ากลูแคนสามารถรักษามะเร็งและ สามารถปรับการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน
4. การติดเชื้อ : Candida albican Department of Surgery, Tulane University รายงานว่าสารที่กระตุ้นร่างกาย ในการตอบสนองการติดเชื้อ เช่น กลูแคนอาจมีประสิทธิภาพในการรักษาคนไข้ที่ติดเชื้อ Candida albican หลังการ ผ่าตัด
5. Cholesterol (LDL) : Ottawa Civic Hospital (Canada) สรุปว่า การลดระดับ Cholesterol ในผู้ใหญ่ที่มี Cholesterol ในเลือดสูงอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ HDL Cholesterol ไม่เปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เบาหวาน : Nestle Research Center (Switzerland) พบว่าผู้ป่วยเบาหวานสามารถได้ประโยชน์จากอาหารที่มีเบต้ากลูแคนสูง

7. การอักเสบจากเชื้อ E. Coli หรือ Staphylococcus : Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital (USA, Massachusetts) พบว่า หนูทดลองสามารถมีภูมิคุ้มกันต่อสาเหตุการตายจากการอักเสบของเนื้อเยื่อในช่องท้อง จากเชื้อ Escherichia coli หรือ staphylococcus aureus

8. คนไข้กุ่มที่มีความเสี่ยงตายจากการผ่าตัดสูง : Havard Medical School (USA) รายงานว่าสามารถลดปริมาณความต้องการการให้สารปฏิชีวนะทางเส้นเลือดลงได้และใช้เวลาในการดูแลในห้องไอซียูลดลง

9. ฝีที่เกิดจากการติดเชื้อ staphylococca : Vanderbilt University School of Medicine กล่าวว่า PGG Glucan สามารถลดความเสี่ยงการเกิดเป็นฝีที่เกิดจากการติดเชื้อ

จะเห็นได้ว่าได้มีการวิจัยทดสอบในเกือบทุกๆด้าน beta 1,3-d glucanที่ใช้ในการวิจัยเกือบทั้งหมดได้จากห้องปฏิบัติการมหาวิทยาลัยและมีการควบคุมมาตรฐานการผลิตเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพสูง เมื่อมีคนเล็งเห็นถึงความสำคัญของเบต้ากลูแคนจึงมีนักวิจัยที่พยายามที่จะวัดปริมาณเบต้ากลูแคนที่ได้จากเห็ดต่างๆรวมถึงเห็ดหอม สรุปวิธีการหาปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ด [11] ดังนี้ 1) enzymatic method หรือ McCleary method 2) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method 3) fluorimetric method with aniline blue และ 4) colorimetric method with Congo red

วิธี enzymatic method เป็นวิธีที่ทำได้โดยการย่อย (hydrolyze) น้ำตาลแล็กโทสในตัวอย่างด้วยเอนไซม์ β -galactosidase ได้เป็นกลูโคส และ β -galactose แล้วจึงวัดปริมาณ NADH (Nicotinamide adenine dinucleotide) ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณ β -galactose

วิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method เป็นการตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะเอนไซม์ที่นิยมใช้กันคือ peroxidase และ alkaline phosphatase. ELISA เป็นวิธีที่มีความไวสูงมาก

วิธี fluorimetric method with aniline blue เป็นวิธีการวัดตัวหาตัวอย่างจากการอาศัยคุณสมบัติในการย้อมสีโดยใช้สีน้ำเงิน

วิธี colorimetric method with Congo red จะใช้หลักการเจือจางในบัฟเฟอร์ pH 7 เกิดเป็นช่วงโทนสีแดงหรือใกล้เคียงจากนั้นเปรียบสีโดยการเข้าเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 523 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

2.3.1 คลื่นเนียร์อินฟราเรด

รังสีเนียร์อินฟราเรดหมายถึงรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่จัดอยู่ในรังสีอินฟราเรด (IR radiation) โดยช่วงคลื่นอินฟราเรดสามารถแบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ คลื่นเนียร์อินฟราเรดหรืออินฟราเรดย่านใกล้ (Near IR, NIR) ช่วงความยาวคลื่น 800-2500 nm (เลขคลื่น 12500-4000 cm^{-1}) คลื่นอินฟราเรดย่านกลาง (Mid IR) ช่วงความยาวคลื่น 2500-50000 nm (เลขคลื่น 4000-200 cm^{-1}) และคลื่นอินฟราเรดย่านไกล (Far IR) ช่วงความยาวคลื่น 50000-100000 nm (เลขคลื่น 200-10 cm^{-1}) ตามลำดับ [3] ตำแหน่งของรังสีเนียร์อินฟราเรดในสเปกตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าอยู่ระหว่างรังสีวิสิเบิล (visible radiation) และรังสีอินฟราเรดย่านกลาง (mid infrared radiation) รังสีเนียร์อินฟราเรดมีความยาวคลื่นตั้งแต่ 800-2500 nm เป็นย่านโอเวอร์โทน (overtone region) รังสีเนียร์อินฟราเรดสามารถแบ่งตามระดับพลังงานเป็น 2 ช่วงคือ ช่วงคลื่นสั้นเริ่มตั้งแต่ความยาวคลื่น 800-1100 nm เป็นช่วงที่มีพลังงานสูงสามารถทะลุทะลวงเข้าไปในเนื้อในตัวอย่างได้ดีโดยทั่วไปสามารถทะลุเข้าไปได้ถึง 1-2 เซนติเมตร จึงมักนิยมใช้ช่วงคลื่นสั้นในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ข้อมูลที่ต้องการอยู่ภายใน ได้แก่ ตัวอย่างประเภทผลไม้เปลือก โดยเฉพาะผลไม้เปลือกหนา เช่น มังคุด ส้มเปลือกหนา เป็นต้น รังสีจะผ่านเข้าไปยังเนื้อในทำให้ได้ข้อมูลสเปกตรัมเนื้อในของตัวอย่างสูงสำหรับช่วงคลื่นยาวเริ่มตั้งแต่ความยาวคลื่น 1100-2500 nm มีพลังงานต่ำกว่าช่วงคลื่นสั้น โดยทั่วไปสามารถทะลุผ่านได้ไม่เกิน 5 มิลลิเมตรถึง 1 เซนติเมตรเหมาะกับตัวอย่างทั่วไปทั้งของเหลวและของแข็ง ซึ่งตัวอย่างจะถูกบรรจุอยู่ใน cell ที่มีผิวหน้าเรียบ เป็นช่วงที่ให้ข้อมูลทางเคมีมากกว่าช่วงคลื่นสั้นเนื่องจากเป็นช่วงที่แถบโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งและคอมบิเนชัน [4], [5]

ตาราง 2.1 การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานที่ความยาวคลื่นต่างๆ [15]

ความยาวคลื่น (nm)	การเปลี่ยนระดับพลังงาน
800 - 1300	โอเวอร์โทนอันดับสองและสาม, คอมบินเนชัน
1300 - 1800	โอเวอร์โทนอันดับหนึ่ง, คอมบินเนชัน
1800 - 2500	คอมบินเนชัน

การเปลี่ยนแปลงพลังงานในช่วงรังสีเนียร์อินฟราเรด สสารที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับรังสีเนียร์อินฟราเรด คือสสารที่โมเลกุลประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจน (X-H) อะตอม X ได้แก่ C, O, N, S ฯลฯ อันตรกิริยาดังกล่าวคือการที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดเข้าไปถึงจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆในโมเลกุลระดับการดูดกลืนรังสีเนียร์อินฟราเรดของสสารที่ความยาวคลื่นต่างๆจะปรากฏในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด [3]

2.3.2 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์

เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ สามารถแยกลำแสงออกเป็นทีละความยาวคลื่นได้ เพื่อใช้ความยาวคลื่นนั้นส่องไปยังตัวอย่างและวัดค่าความเข้มแสงที่สะท้อนออกมาจากตัวอย่างเปรียบเทียบกับความเข้มแสงที่ส่องเข้าไปในตัวอย่างหรือวัดค่าความเข้มแสงที่ส่องเข้าไปในตัวอย่างเปรียบเทียบกับความเข้มแสงที่ทะลุผ่านออกมาจากตัวอย่างองค์ประกอบของเครื่อง [6] มีดังนี้

1. แหล่งกำเนิดแสง (light source) ชนิดของแหล่งกำเนิดแสงที่นิยมใช้เช่น tungsten halogen ซึ่งใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงช่วงวิสิเบิล (visible light) และแสงอุลตราไวโอเลต (ultraviolet light) ให้แสงที่มีความเข้มคงที่ ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 2500 นาโนเมตร [7] ดังนั้นจึงมักจะเป็นแหล่งกำเนิดคลื่นแสงของ NIR
2. โมโนโครมาเตอร์ (monochromator) เป็นอุปกรณ์แยกแสงออกเป็นแต่ละความยาวคลื่น อุปกรณ์ที่ใช้ต้องไม่ดูดกลืนแสงในช่วง NIR ที่นิยมใช้คือปริซึม (prisms) ซึ่งทำจากโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) และเกรตติง (grating) ทำจากแผ่นแก้วหรือวัสดุโปร่งใสที่ขีดผิวหน้าให้เป็นร่องหรือแผ่นแก้วที่เคลือบด้วยโลหะหรือฟิล์มโลหะที่ขีดเงาให้เป็นร่องปัจจุบันนิยมใช้เกรตติงมากกว่าปริซึมเพราะเกรตติง สามารถแยกสเปกตรัมออกจากกันได้มากกว่าและการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของเกรตติง น้อยกว่าปริซึมโดยแสงที่ผ่านเกรตติงและมีความยาวคลื่นที่ต้องการแล้วจะถูกส่งผ่านมายังตัวอย่างเมื่อแสงผ่านตัวอย่างแล้วจะถูกส่งผ่านต่อไปยังอุปกรณ์สำหรับตรวจวัด
3. อุปกรณ์สำหรับตรวจวัดหรือตัวรับแสง (detector or sensor) ทำหน้าที่บันทึกปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนและแปลงผลเป็นสัญญาณส่งเข้าสู่ส่วนประมวลผลสำหรับอุปกรณ์ที่ใช้ทำตัวตรวจวัดมี 3 ชนิด ชนิดแรกคือซิลิกอน (silicon, Si) ซึ่งมักจะใช้กับเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีที่ให้ความยาวคลื่นในช่วงวิสิเบิลหรือช่วงแสงที่มองเห็นได้และช่วงความยาวคลื่น 700-1100 nm ซึ่งถือว่ามีความเร็วสูงและเกิดคลื่นรบกวน (noise) ต่ำ ชนิดที่สองคือเลดซัลไฟด์ (lead sulfide, PbS) ซึ่งจะใช้กับช่วงความยาวคลื่น 1100-2600 nm [8] แต่มีความช้าใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวัดและให้สัญญาณรบกวนต่อค่าการดูดกลืนแสงสูงและชนิดที่สามคืออินเดียมแกลเลียมอาร์เซไนด์ (Indium Gallium Arsenide, InGaAs) ซึ่งถือว่ามีราคาแพงที่สุดโดยจะรวมทั้งความเร็วและขนาดที่เล็กของซิลิกอนกับช่วงความยาวคลื่นที่กว้างของเลเซอร์ไดโอดไว้ด้วยกัน [9]

4. การอ่านสัญญาณ (read out) โปรแกรมจะประมวลผลให้อยู่ในรูปแบบที่สามารถนำไปใช้ได้เช่นสเปกตรัมคือปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้ที่ความยาวคลื่นต่างๆแล้วบันทึกผลด้วยคอมพิวเตอร์ [10]

5. ช่องใส่ตัวอย่าง (sample cell)

เมื่อเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีให้รังสีเนียร์อินฟราเรดส่องผ่านไปยังตัวอย่างจะเกิดอันตรกิริยากับตัวอย่างได้หลายแบบดังนี้

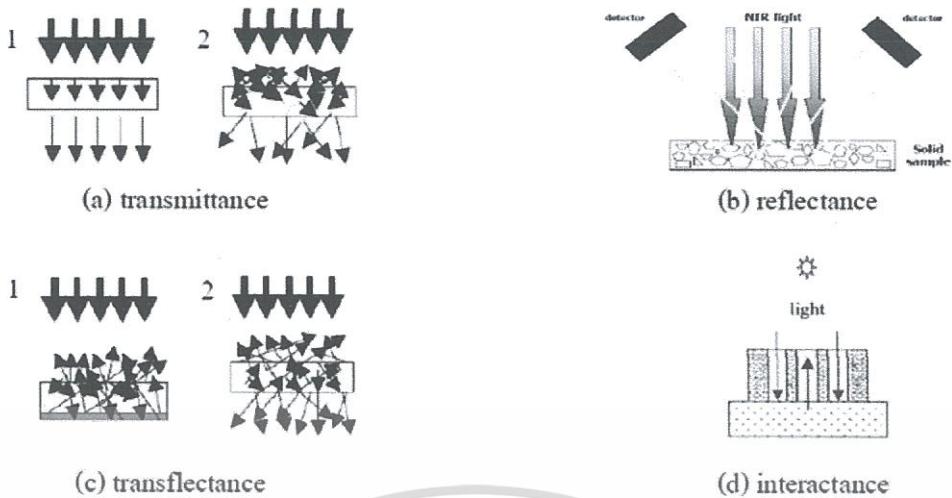
1. แบบส่องผ่าน (transmittance) โดยแหล่งกำเนิดรังสีเนียร์อินฟราเรดให้รังสีเนียร์อินฟราเรดตกกระทบที่ผิวของตัวอย่างด้านหนึ่งและส่องผ่านตัวอย่างไปยังอีกด้านหนึ่งโดยที่ detector จะวัดปริมาณแสงที่ส่องผ่านออกมาจากตัวอย่างในด้านตรงกันข้ามดังรูปที่ 1 (a1) และรูปที่ 1 (a2) เป็นลักษณะของแสงที่ส่องกระทบผิวของตัวอย่างที่เป็นของแข็งกึ่งเหลวและของแข็ง [9]

2. แบบสะท้อนกลับ (reflectance) โดยแหล่งกำเนิดรังสีเนียร์อินฟราเรดให้รังสีเนียร์อินฟราเรดตกกระทบที่ผิวของตัวอย่างและอาจแพร่กระจายในปริมาณหนึ่งก่อนโดยที่ detector จะวัดปริมาณรังสีที่สะท้อนกลับออกมาจากผิวของตัวอย่างในด้านเดียวกันดังรูปที่ 1 (b) และนิยมใช้การวัดแบบ reflectance กับเมล็ดพืชหรือเมล็ดพันธุ์

3. แบบส่องผ่านและสะท้อนกลับ (transflectance) โดยแหล่งกำเนิดรังสีเนียร์อินฟราเรดให้รังสีเนียร์อินฟราเรดตกกระทบที่ผิวของตัวอย่างและส่องผ่านตัวอย่างลงไปตกกระทบวัตถุที่ไม่ดูดกลืนรังสี (เช่น แผ่นเซรามิกทองหรืออลูมิเนียม) ที่อยู่ด้านล่างตัวอย่างแล้วเกิดการสะท้อนกลับผ่านตัวอย่างมายัง detector โดยที่ detector จะทำการบันทึกการดูดกลืนรังสีทั้งในขณะที่รังสีส่องลงไปด้านล่างและขณะที่รังสีสะท้อนกลับมายัง detector ดังรูปที่ 1 (c)

4. แบบสะท้อนกลับจากด้านใน (interactance) กระบวนการนี้เกิดในกรณีที่ใช้หัววัดแบบใยแก้วนำแสง (fiber optics probe) รังสีจะออกมาจากส่วนวงแหวนด้านนอกของหัววัดมาตกกระทบตัวอย่างและรังสีที่สะท้อนออกมาจากเนื้อตัวอย่างจะถูกส่งไปยัง detector บริเวณส่วนกลางของใยแก้วนำแสงดังภาพที่ 2.4 (d) [7]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 รูปแบบที่สสารเกิดอันตรกิริยากับรังสีเนียร์อินฟราเรด (a) transmittance (b) reflectance (c) transreflectance (d) interactance [9], [11]

เนื่องจากเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ เป็นวิธีการตรวจสอบวัสดุเกษตรและอาหารแบบไม่ทำลาย ใช้เวลารวดเร็ว ไม่ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญ ไม่ต้องใช้สารเคมีและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถที่จะนำวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบแล้วนำมาบริโภคหรือมาตรวจสอบด้วยวิธีอื่นได้โดยที่ยังคงมีคุณค่าของสารอาหารและสภาพของวัสดุเหมือนเดิม นอกจากนี้แล้วยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้จำนวนมากในการเก็บข้อมูลเก็บข้อมูลสเปกตรัม

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เห็ดหอมเป็นเห็ดชนิดหนึ่งในเห็ดหลากหลายชนิดที่คุณค่าทางโภชนาการสูง หารับประทานได้ง่ายมีราคาค่อนข้างถูก (เทียบกับเห็ดชนิดอื่น) เห็ดหอมนั้นนอกจากจะเป็นอาหารที่มีรสชาติอร่อยแล้วยังแฝงไปด้วยคุณค่าทางอาหารมากมายหลายอย่างหนึ่งในนั้นคือสารอาหารที่เรียกว่า เบต้ากลูแคน (β -glucan) เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เบต้ากลูแคนเป็นโพลีแซคคาไรด์ของ โมโนเมอร์ของ D-glucose ที่เชื่อมต่อด้วยพันธะ β -glycosidic [12] เบต้ากลูแคนที่ได้จากเห็ดประกอบด้วย β -(1 \rightarrow 3) และ (1 \rightarrow 6) (Laroche and Michaud, 2007)

สารเบต้ากลูแคนจากเห็ดมีคุณสมบัติออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (antitumour) และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immune-stimulating) [12] ด้านแบคทีเรีย (Beattie et al., 2010) ด้านโรคอ้วน (Zhang et al., 2013) ด้านไวรัส ซึ่งพบว่ามีปริมาณเบต้ากลูแคน (β -1,3-1,6-glucan) ในเนื้อเห็ดหอมเท่ากับ 9.54 g/100 g มวลแห้ง [12], [13] ได้สรุปวิธีการหาปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดต่างๆดังนี้ 1) enzymic method หรือ McCleary method 2) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method 3) fluorimetric method with aniline blue และ 4) colorimetric method with Congo red ดังที่กล่าวมาแล้วว่าวิธีเหล่านี้มีขั้นตอนในการวัดที่ค่อนข้างที่จะยาก ใช้เวลามาก ใช้สารเคมี ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญและมีค่าใช้จ่ายสำหรับการวัดตัวอย่างค่อนข้างมาก รวมทั้งเป็นวิธีทำลายตัวอย่างต้องเสียวัตถุดิบตัวอย่างที่นำมาทำการทดสอบด้วยทั้งที่มีราคาสูง จึงไม่สามารถวัดตัวอย่างจำนวนมากได้ ดังนั้นเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี เป็นวิธีที่น่าสนใจในการนำมาวัดเบต้ากลูแคนในเห็ดหอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลื่นเนียร์อินฟราเรดทำให้พันธะทางเคมีที่ประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจน เช่น O-H, C-H, N-H เป็นต้น เกิดการสั่นสะเทือนเนื่องจากดูดกลืนคลื่นดังกล่าวที่ความยาวคลื่นต่างๆ จากการสังเกตโครงสร้างของเบต้ากลูแคนในเห็ด (รูปที่1) พบว่ามีพันธะไฮโดรเจนคือ O-H และ CH₂ จึงเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิคนี้ในการวัดเบต้ากลูแคนในเห็ด นอกจากนี้ยังพบว่าเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีได้ถูกนำมาใช้ในการวัดเบต้ากลูแคนในข้าวบาร์เลย์ [14] ซึ่งระบุการดูดซับคลื่นเนียร์อินฟราเรดของเบต้ากลูแคนที่ความยาวคลื่น 2282 nm และในช่วง 2260-2380 nm มีการวัดเบต้ากลูแคนในข้าวโอ๊ตโดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี [15] ซึ่งแบบจำลองที่สร้างขึ้นจากเทคนิคดังกล่าวให้ค่าสัมประสิทธิ์การพิจารณา (coefficient of determination, R²) เท่ากับ 0.98 สำหรับตัวอย่างข้าวโอ๊ตที่เป็นเมล็ดและตัวอย่างข้าวโอ๊ตบด ค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนยกกำลังสองเฉลี่ยของการพิสูจน์แบบไขว้ (root mean square errors of cross-validation, RMSECV) เท่ากับ 0.09% สำหรับตัวอย่างข้าวโอ๊ตที่เป็นเมล็ดและเท่ากับ 0.06% สำหรับตัวอย่างข้าวโอ๊ตบด และค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนยกกำลังสองเฉลี่ยของการทำนายโดยใช้ชุดทดสอบ (root mean square errors of prediction, RMSEP) เท่ากับ 0.10% สำหรับตัวอย่างข้าวโอ๊ตที่เป็นเมล็ดและเท่ากับ 0.09% สำหรับตัวอย่างข้าวโอ๊ตบด อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีมาใช้ในการวิเคราะห์เบต้ากลูแคนในเห็ด

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างเห็ดหอม

ตัวอย่างเห็ดหอม (*Lentinula edodes*) การทดลองนี้ใช้ตัวอย่างเห็ดที่ได้มาจากหลายสถานที่ เพื่อที่จะได้ตัวอย่างเห็ดที่มีค่าเบต้ากลูแคนหลากหลายค่า เพื่อให้ได้ช่วงค่าเบต้ากลูแคนกว้างมากที่สุด สถานที่ที่เก็บตัวอย่างเห็ดได้แก่

1. วังน้ำเขียวฟาร์ม (mr.mushroom) ที่อยู่ 155 หมู่ 2 บ.สุขสมบูรณ์ ต.ไทยสามัคคี อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา 30370 อายุ 1 วัน จำนวน 4 ตัวอย่าง อายุ 2 วัน 1 ตัวอย่าง อายุ 3 วัน 1 ตัวอย่าง
2. เคหะราม ที่อยู่ หน้าหมู่บ้านเคหะราม ดิถถนนรามคำแหง แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510 จำนวน 1 ตัวอย่าง
3. ธารากร ที่อยู่ ซอยรามคำแหง 166 แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510 จำนวน 3 ตัวอย่าง
4. เปี่ยมภิรมณ์ ที่อยู่ ซอย ราษฎร์พัฒนา 15 ราษฎร์พัฒนา แขวงสะพานสูง เขตสะพานสูง กรุงเทพฯ 10240 จำนวน 1 ตัวอย่าง
5. Villa market ที่อยู่ ทางสรรพสินค้า paseo สาขาสุขาภิบาล 3 7/2-7 ถ.รามคำแหง 127/2 แขวงสะพานสูง เขตสะพานสูง กรุงเทพฯ 10240 จำนวน 1 ตัวอย่าง
6. top supermarket ที่อยู่ 7/4 หมู่ที่ 1 ถ.รามคำแหง แขวงสะพานสูง เขตสะพานสูง กรุงเทพฯ 10240 จำนวน 2 ตัวอย่าง
7. Fashion island ที่อยู่ 587/589/589/7-9 ถนนรามอินทรา แขวงคันทนายาว เขตคันทนายาว กรุงเทพฯ 10230 จำนวน 2 ตัวอย่าง
8. Golden Place ที่อยู่ 99 ถนนรามคำแหง แขวงสะพานสูง เขตสะพานสูง กรุงเทพฯ 10240 จำนวน 4 ตัวอย่าง
9. Lotus ที่อยู่ 101 ถนนรามคำแหง แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510 จำนวน 1 ตัวอย่าง
10. Big-c ที่อยู่ 42, 44 ถนนร่มเกล้า แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510 จำนวน 2 ตัวอย่าง
11. ตลาดสี่มุมเมือง ที่อยู่ 355/155-116 ถนนพหลโยธิน ต.คูคต อ.ลำลูกกา จ.ปทุมธานี 12130 จำนวน 15 ตัวอย่าง
12. ตลาดไท ที่อยู่ 32/44 ถนนพหลโยธิน ต.คลองหลวง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 จำนวน 11 ตัวอย่าง
13. ตลาดมีนบุรี ถนน สีหบุรณุกิจ แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี กรุงเทพ 10510 จำนวน 1 ตัวอย่าง
14. ตลาดบางกะปิ ซอย ลาดพร้าว 125 ลาดพร้าว แขวง คลองจั่น เขต บางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240 จำนวน 3 ตัวอย่าง
15. รถเข็นผัก หมู่บ้านเคหะธานี ซอย ราษฎร์พัฒนา 5 ถนน ราษฎร์พัฒนา รามคำแหง แขวง สะพานสูง เขต สะพานสูง กรุงเทพมหานคร 10240 จำนวน 1 ตัวอย่าง
16. Home fresh ทางสรรพสินค้าเดอะมอลล์ บางกะปิ ที่ตั้ง. 3522 ถ.ลาดพร้าว แขวงคลองจั่น เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ 10240 จำนวน 1 ตัวอย่าง
17. ตลาดหมู่บ้านปรีชา 10 ถนนรามคำแหง แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510 จำนวน 2 ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18. ตลาดจตุจักรมีนบุรี ถนน สีหบุรานุกิจ แขวง มีนบุรี เขต มีนบุรี กรุงเทพมหานคร 10510 จำนวน 3 ตัวอย่าง
19. วิลล่ามาร์เก็ต พาซิโอ (สุขาภิบาล3) ซอย รามคำแหง 127/3 แขวง สะพานสูง เขต สะพานสูง กรุงเทพมหานคร 10240 จำนวน 1 ตัวอย่าง

หลังจากได้ตัวอย่างเห็ดมาแล้ว ตัวอย่างเห็ดจะถูกส่งไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dry) ด้วยความดัน 0.2-0.3 mbar เป็นเวลา 27 ชั่วโมง

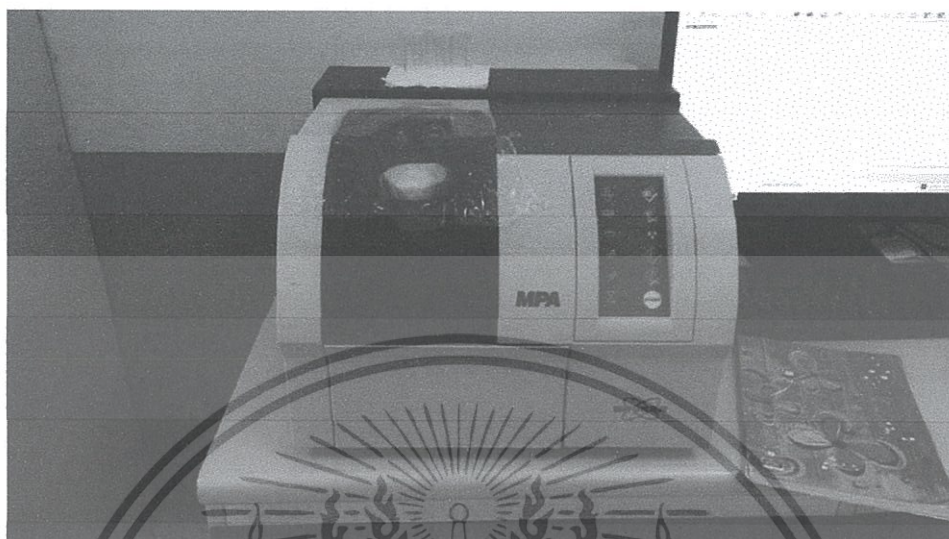


รูปที่ 3.1 ตัวอย่างเห็ดหอมจากสถานที่ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

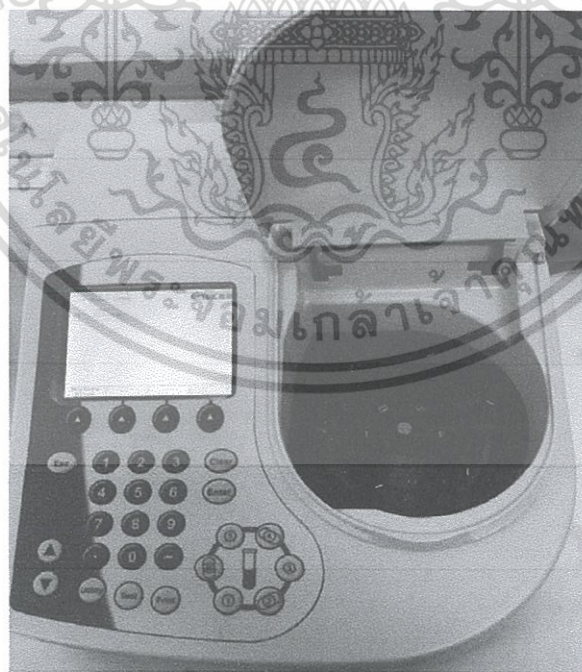
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany)



รูปที่ 3.2 เครื่อง FT-NIR spectrometer

3.2.2 GENESYS™ 10S UV-Vis Spectrophotometer



รูปที่ 3.3 เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

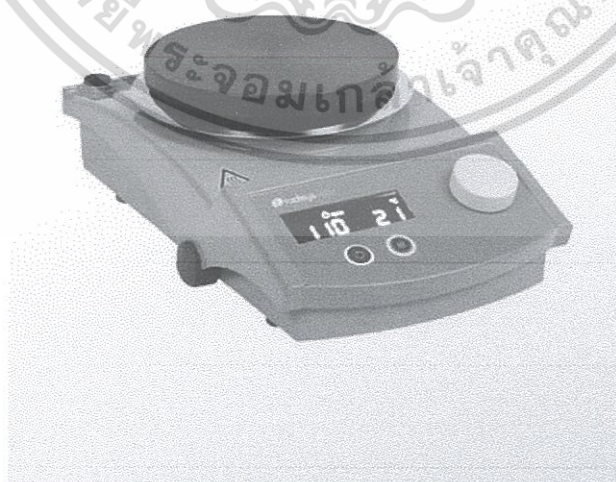
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า (Mettler toledo Capacity 500 Ct. x 0.001 Ct.)



รูปที่ 3.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า

3.2.4 Carousel™ Stirring Hotplates



รูปที่ 3.5 เครื่อง Stirring Hotplates

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 pH Meter (Hanna Instruments HI 8520 Microprocessor Bench-top pH Meter, Italy)



รูปที่ 3.6 เครื่อง pH Meter

3.2.6 Microliter-pipettes (WITOPET variable, Germany)

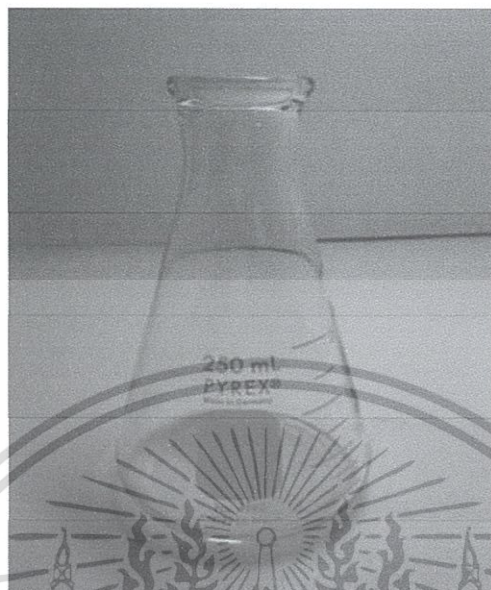


รูปที่ 3.7 Micropipettes

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7 อุปกรณ์อื่นๆ

3.2.7.1 ขวดชมพู่ขนาด 250 มิลลิเมตร



รูปที่ 3.8 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิเมตร

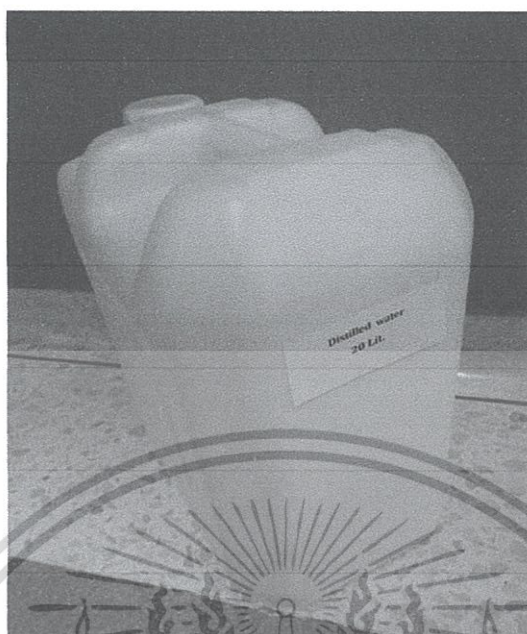
3.2.7.2 ทิชชู



รูปที่ 3.9 กระดาษทิชชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7.3 น้ำกลั่น



รูปที่ 3.10 น้ำกลั่น

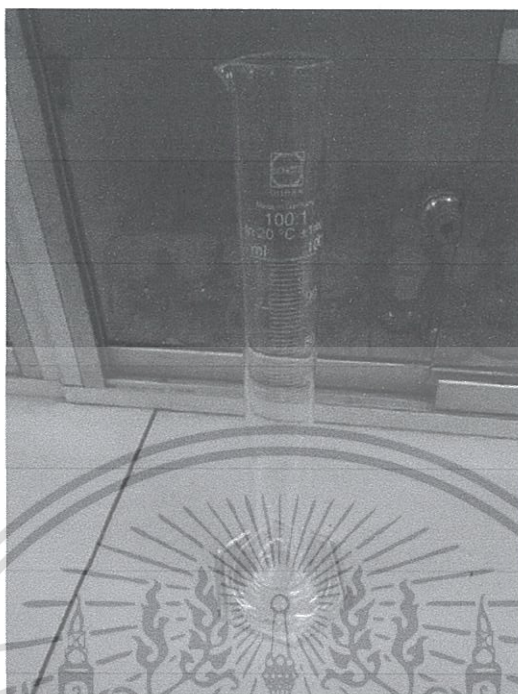
3.2.7.4 ขวดบีบน้ำกลั่น



รูปที่ 3.11 ขวดบีบน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7.5 กระจกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร



รูปที่ 3.12 กระจกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร

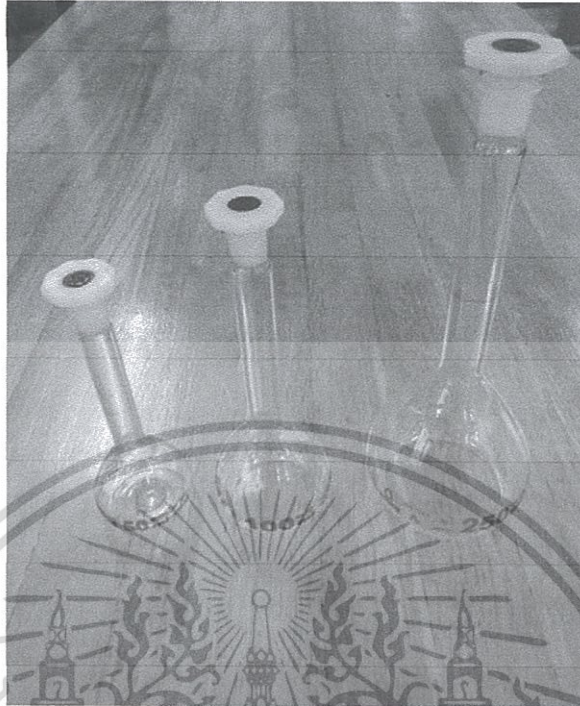
3.2.7.6 ปีกเกอร์



รูปที่ 3.13 ปีกเกอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7.7 ขวดวัดปริมาตรขนาดต่างๆ



รูปที่ 3.14 ขวดวัดปริมาตรขนาดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การสแกนเห็ดหอมฟริชตรายด้วยคลื่นเนียร์อินฟราเรด

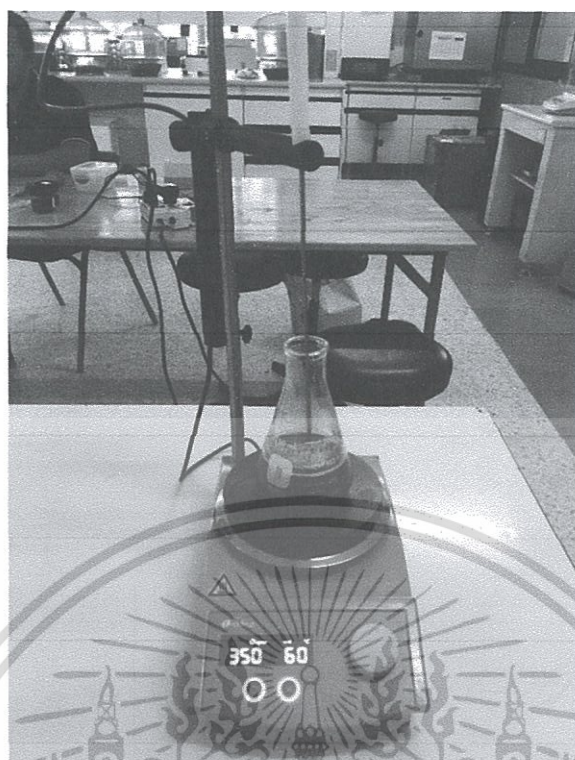
ตัวอย่างเห็ดหอมที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ซึ่งต่อไปนี้จะเรียกว่าเห็ดหอมฟริชตราย ถูกนำมาสแกนด้วยคลื่นเนียร์อินฟราเรด แบบสะท้อนแบบแพร่ (Diffuse reflectance) ด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany) ที่ช่วงความยาวคลื่น 800–2500 นาโนเมตร (เลขคลื่น 12500–4000 cm^{-1}) โดยใช้ความละเอียด 16 cm^{-1} 64 สแกนต่อสเปกตรัมเฉลี่ย 1 สเปกตรัม และใช้ทองเป็นวัสดุอ้างอิง ทำการสแกน 1 ครั้งต่อ 1 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างบรรจุอยู่ในถ้วยที่มีกันทำด้วยแผ่นควอทซ์ที่นี้โดยสแกนที่ตำแหน่งกันถ้วยควอทซ์ (รูปที่ 3.2) ในการสแกนทั้งหมดทำที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 1 องศาเซลเซียส



รูปที่ 3.15 การสแกนเห็ดหอมฟริชตรายด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

3.4 การวัดเบต้ากลูแคนในเห็ดด้วยวิธีอ้างอิง

ตัวอย่างที่ผ่านการสแกนจะถูกนำมาสกัดด้วยวิธีที่อธิบายไว้ใน [13] เป็นการวัด beta glucan 1,3-linked glucose (1,3-d glucan) ใช้เห็ดที่ผ่านการฟริช ตรายที่บดแล้วประมาณ 3-7 g ทำให้อุ่นที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 20 นาที โดยกวนอย่างสม่ำเสมอใน potassium hydroxide (1 mol/L) ปริมาณ 120 ml ในขวดรูปชมพู่ (รูปที่ 3.2) เห็ดหอมฟริชตรายบดกวนในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ แล้วกรองสารแขวนลอยออกส่วนตะกอนที่กรองได้ จะถูกล้างด้วยน้ำกลั่น (รูปที่ 3.3) และนำของเหลวที่ผ่านการกรองทั้งหมดมาทำให้เป็นกลางด้วยกรด hydrochloric (6 mol/L) นำของเหลวที่เป็นกลางแล้วใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 ml แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร 250 ml ส่วนนี้จะเรียกว่า KOH-fraction



รูปที่ 3.16 เท็ดหอมฟริชตรายบดกวนในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์



รูปที่ 3.17 การกรองตะกอนออกจากสารแขวนลอย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนตะกอนที่ได้นำมาใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีกรด hydrochloric 1 mol/L 10 ml และกรด hydrochloric 0.55 mol/L 120 ml และทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วกรอง นำตะกอนที่ได้ล้างด้วยน้ำกลั่นหลายครั้ง นำของเหลวจากการกรองทั้งหมดทำให้เป็นกลางด้วย sodium hydroxide (6 mol/L) แล้วถ่ายเทไปยังขวดวัดปริมาตรขนาด 250 ml แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร 250 ml ส่วนนี้เรียกว่า HCl-fraction

ส่วนตะกอนที่เหลือจะนำมาใส่ใน sodium hydroxide (1 mol/L) 120 ml แล้วทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 20 นาที แล้วกรอง ตะกอนที่ได้จะถูกล้างด้วยน้ำกลั่นอีกและนำของเหลวที่ผ่านการกรองทำให้เป็นกลางด้วยกรด hydrochloric acid (6 mol/L) แล้วถ่ายเทไปยังขวดวัดปริมาตรขนาด 250 ml แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร 250 ml ส่วนนี้เรียกว่า NaOH-fraction

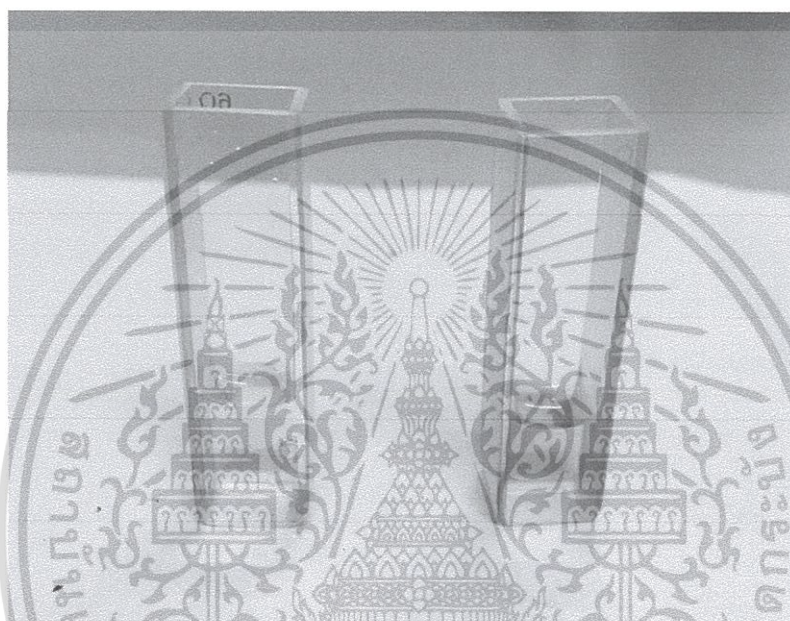
ทั้งสามส่วนจะถูกนำมาใช้ในการวัดปริมาณเบต้ากลูแคน โดยปิเปตสารสกัดเบต้ากลูแคน KOH-fraction ลงในคิวเว็ตปริมาตร 400 μL แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 300 μL แล้วเติมบัฟเฟอร์กรดซิตริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.2 mol/L, pH 7) 600 μL และสารละลาย Congo red (0.08 g Congo red ละลายในบัฟเฟอร์ 100 ml) 100 μL ผสมกัน แล้ววิเคราะห์ด้วยความยาวคลื่น 523 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer (Geneis 10s UV-VIS, Thermo Scientific, USA) โดยส่วนของ blank จะมีส่วนผสมของน้ำกลั่น 700 μL บัฟเฟอร์กรดซิตริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.2 mol/L, pH 7) 600 μL และสารละลาย Congo red (0.08 g Congo red ละลายในบัฟเฟอร์ 100 ml) 100 μL เนื่องจากส่วนผสมมีสีน้ำตาลอ่อนจึงจำเป็นต้องมีการวัดการดูดซับคลื่นที่ 523 nm



รูปที่ 3.18 สารสกัดเบต้ากลูแคนย้อม congo red และส่วนของ Blank ในคิวเว็ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนของ background absorption จะปิเปตสารสกัดเบต้ากลูแคน OH-fraction 400 μL ที่ลงในควิเว็ต แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 300 μL แล้วเติมบัฟเฟอร์ (0.2 mol/L, pH 7) อีก 700 μL ผสมกัน แล้ววิเคราะห์ด้วยความยาวคลื่น 523 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer (Geneis 10s UV-VIS, Thermo Scientific, USA) โดยใช้ส่วนของ blank เป็นส่วนผสมของน้ำกลั่น 700 μL ผสมกับ บัฟเฟอร์ (0.2 mol/L, pH 7) 700 μL การวัดทำ 3 ซ้ำต่อหนึ่งตัวอย่าง ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer (Geneis 10s UV-VIS, Thermo Scientific, USA) ที่ความยาวคลื่น 523 nm ซึ่งส่วนของ HCl fraction และ NaOH-fraction ทำเช่นเดียวกับ KOH-fraction



รูปที่ 3.19 ส่วนของ background absorption ในควิเว็ต

3.5 การวิเคราะห์สเปกตรัม

สเปกตรัมดิบของเห็ดหอมฟรุชตราย ถูกนำมาวิเคราะห์การสั่นสะเทือนของพันธะต่างๆและคำนวณสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสองและวิเคราะห์การสั่นสะเทือนของพันธะต่างๆ โดยใช้ Osbourne et al. [15] เป็นเอกสารอ้างอิง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การสร้างแบบจำลอง

นำข้อมูลสเปกตรัมและค่าอ้างอิงมาสร้างแบบจำลองแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรีซดรายกับข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากเครื่อง FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany) โดยวิธีการทาง Chemometric แบบ Partial least squares regression โดยแบ่งข้อมูลเป็นสองชุดคือชุด calibration และชุด Prediction โดยมีอัตราส่วนข้อมูล 1:1 วิเคราะห์โดยโปรแกรม OPUS 7.0.129 (Bruker, Germany) โดยไม่มีหรือมีการจัดการสเปกตรัมเบื้องต้นโดยวิธี constant offset elimination, straight line subtraction, vector normalization (SNV), min-max normalization, multiplicative scattering correction (MSC), first derivative, second derivative, first derivative+Straight line subtraction, first derivative+SNV และ first derivative+MSC การคัดเลือกแบบจำลองที่ดีที่สุดจะพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์การพิจารณา (Coefficient of determination, R^2) ที่สูงที่สุดหรือค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนยกกำลังสองเฉลี่ยของการทำนาย (Root Mean Square Error of Prediction, RMSEP) และค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (Bias) ต่ำที่สุด

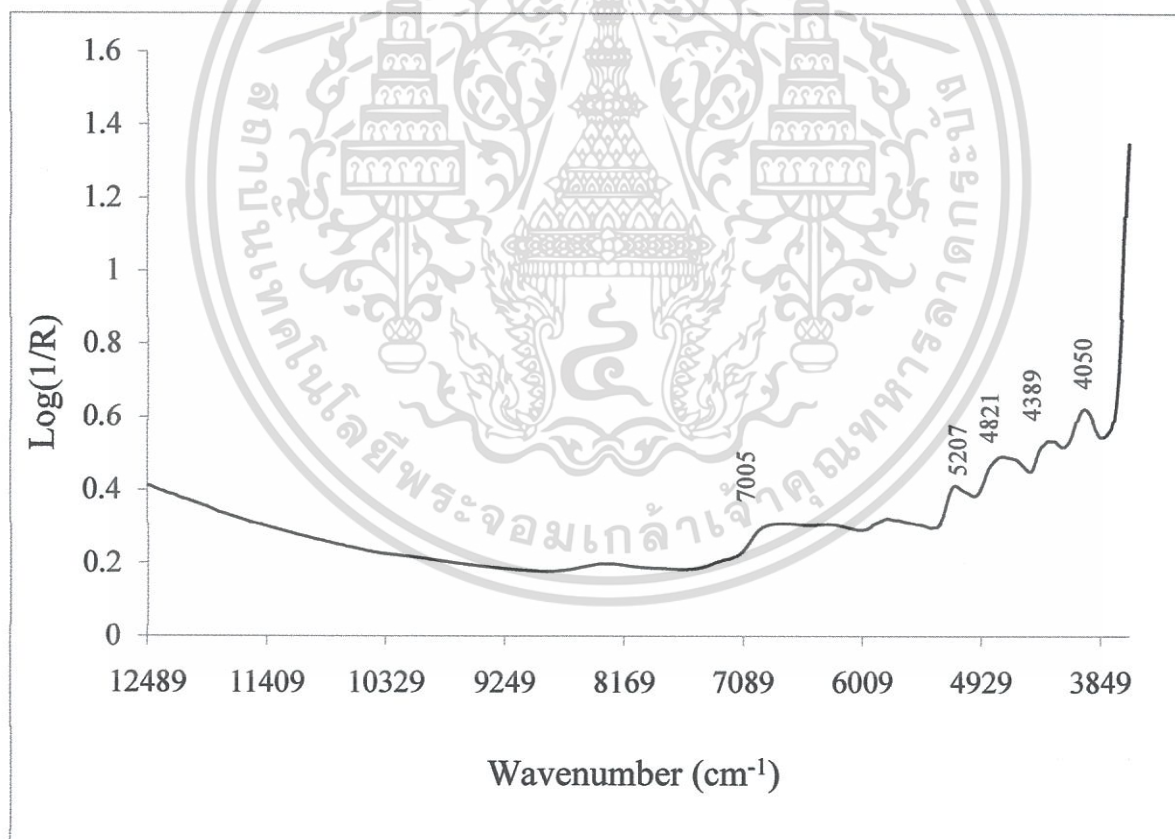


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการทดลอง

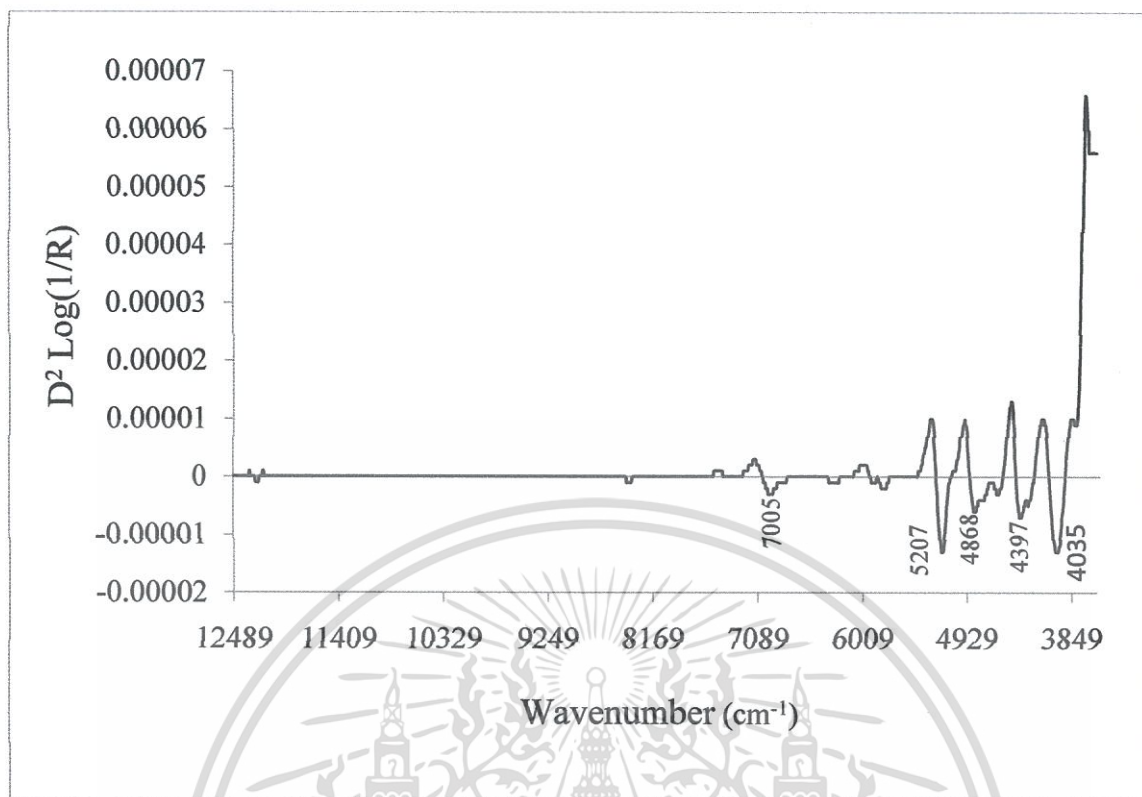
4.1 ผลการวิเคราะห์สเปกตรัม

จากการตรวจวัดสเปกตรัมของเครื่อง FT-NIR spectrometer (MPA, Bruker, Germany) แสดงสเปกตรัมเฉลี่ยของเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรียดรายพบว่า มีพีคเกิดขึ้นที่เลขคลื่น 5207, 4389 และ 4050 cm^{-1} (1920, 2278 และ 2469 nm) โดยเลขคลื่นแรกเป็นพีคของ CONH และเลขคลื่นที่สองและสามเป็นสตาร์ช เมื่อนำเอาสเปกตรัมเฉลี่ยมาทำ second derivative (รูปที่ 4.2) จะพบพีคเพิ่มเติมที่เลขคลื่น 4868, 4397 และ 4035 (2054, 2274 และ 2478 nm) เป็นคลื่นแรกเป็นพีคของ CONH_2 เลขที่สองและสามเป็นพีคของสตาร์ช เนื่องจากเห็ดหอมฟรียดรายมีสตาร์ชและปริมาณสารอินทรีย์มาก จะปรากฏพีคส่วนใหญ่เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวิเคราะห์สเปกตรัมแสดงการสั่นสะเทือนของพันธะที่ปรากฏเป็นพีคในสเปกตรัมเฉลี่ยและสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสองของเห็ดหอมฟรียดราย



รูปที่ 4.1 Average NIR spectra of freeze-dried shitake mushroom

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 average second derivative NIR spectra of freeze-dried shitake mushroom

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 Bond vibration of the apparent peaks in average spectrum and second derivative spectrum of freeze dried Shitake mushroom.

Average spectrum				
Wavenumber (cm^{-1})	Wavelength (nm)	Wavelength (nm) referred from reference	Bond vibration	structure
5207	1920	1920 ^[8]	C-O str. second overtone	CONH
4389	2278	2276 ^[8]	O-H str. + C-C str.	starch
4050	2469	2461 ^[8]	O-H str. + C-C str.	starch
average second derivative				
Wavenumber (cm^{-1})	Wavelength (nm)	Wavelength (nm) referred from reference	Bond vibration	structure
4868	2054	2050 ^[8]	2 x amide I + amide III	CONH ₂
4397	2274	2276 ^[8]	O-H str. + C-C str.	starch
4035	2478	2461 ^[8]	O-H str. + C-C str.	starch

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทำนายแบบจำลอง

ข้อมูลทางสถิติของค่าปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรีซดรายจากเครื่อง FT-NIR spectrometer (ตารางที่ 4.1) โดยแบ่งข้อมูลเป็น 2 ชุดคือชุด Calibration และ Validation ซึ่งมีเบต้ากลูแคนอยู่ในช่วง 0.5 – 3 g ต่อ 100g ของเห็ดหอมฟรีซดราย ตารางที่ 4.2 คือผลของการทำ PLS regression สำหรับวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรีซดรายด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer พบว่าแบบจำลองที่ดีที่สุดถูกพัฒนาสเปกตรัมด้วยวิธี First derivative + Vector normalization (SNV) ในการวัดปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรีซดรายในช่วง 11602–10707, 9828–5369, 4482–4458 cm^{-1} โดยมี PLS factor = 8 จากรูปที่ 4.3 และ 4.4 คือกราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณเบต้ากลูแคนระหว่างค่าทำนายกับค่าวัดจริงโดยชุด Calibration (รูปที่ 4.3) มีค่า $R^2 = 0.929$, RMSEE 0.156 สำหรับชุด Validation (รูปที่ 4.4) มีค่า $R^2 = 0.710$, RMSEP = 0.292, Bias = 0.0131 และ RPD = 1.85

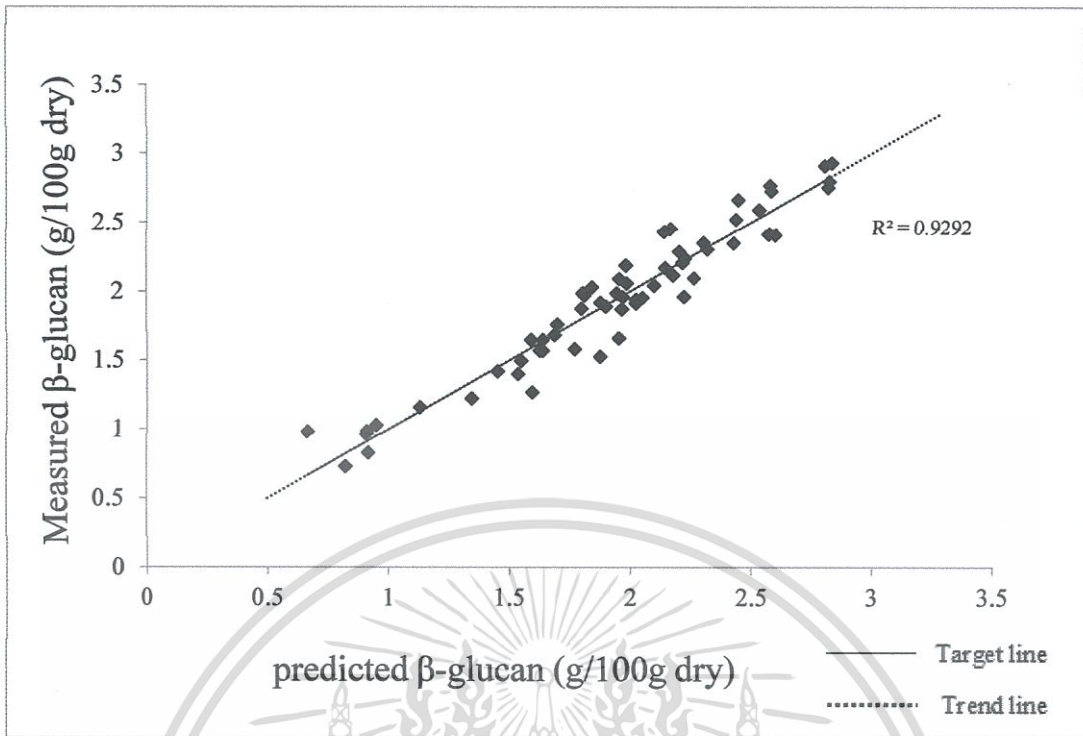
ตารางที่ 4.2 Statistical data of β -glucan of freeze-dried shitake mushroom used in model development.

จำนวนตัวอย่าง	จำนวนสเปกตรัม	Min	Max	Mean	S.D.
60	60	0.732	2.933	2.197	0.579

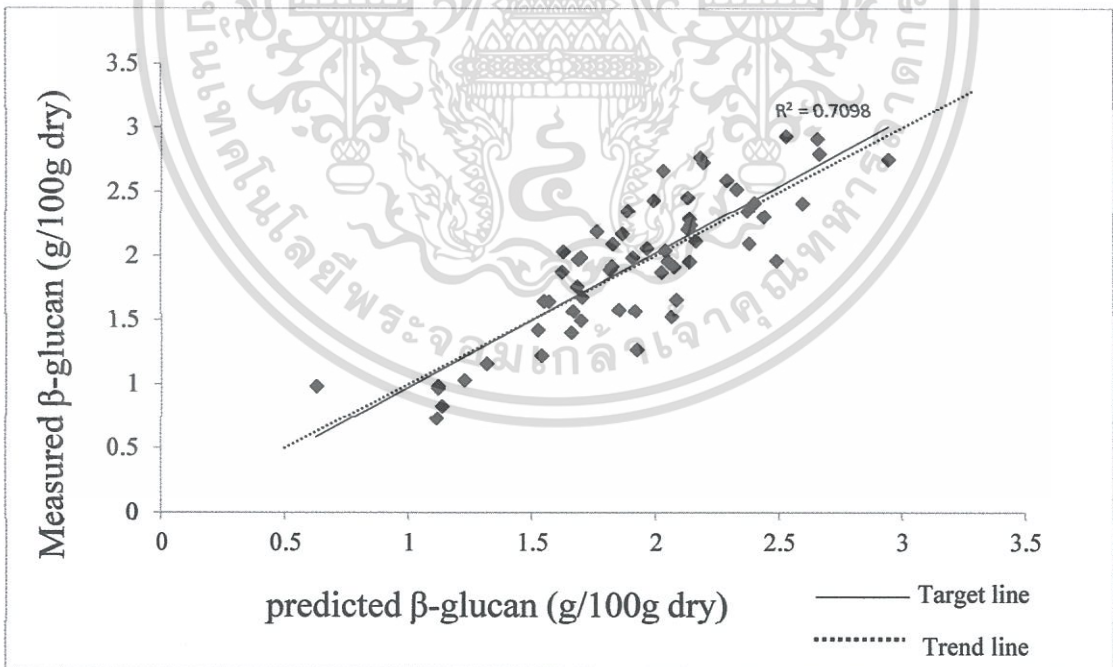
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 Result of partial least squares regression model for β -glucan of freeze-dried shitake mushroom

Data set	N	Pretreatment	wavenumber range (cm ⁻¹)	Factor	R ²	RMSEE/ RMSCV	Bias	RPD
Calibration	60	First derivative + Vector normalization (SNV)	11602 - 10707 9828 - 5369 4482 - 4458	8	0.929	0.156	-	3.76
Validation	60	First derivative + Vector normalization (SNV)	11602 - 10707 9828 - 5369 4482 - 4458	8	0.710	0.292	0.0131	1.85

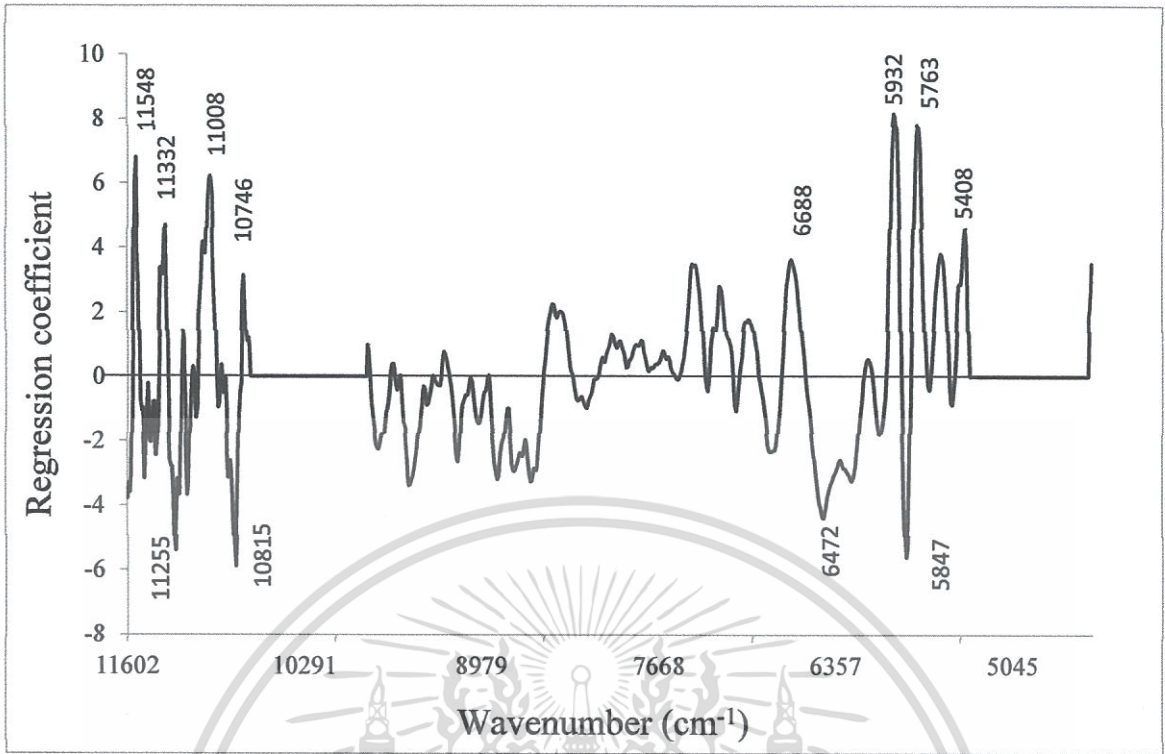


รูปที่ 4.3 Measured vs NIR spectroscopy predicted β -glucan of freeze-dried shiitake mushroom of calibration

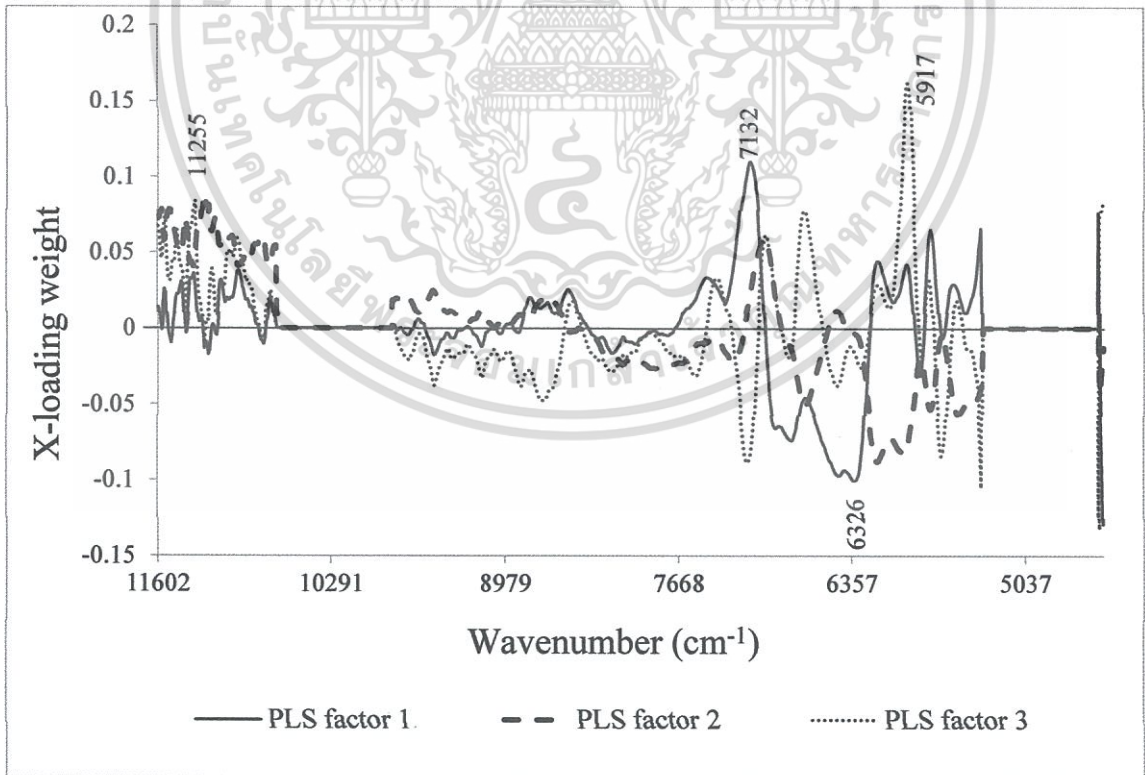


รูปที่ 4.4 Measured vs NIR spectroscopy predicted β -glucan of freeze-dried shiitake mushroom of validation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 Regression coefficient plots



รูปที่ 4.6 X-loading plots

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูป 4.6 แสดง Regression coefficient plot ของแบบจำลองค่าการวัดปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรุ๊ตราย โดยการสแกนด้วยเครื่อง FT-NIR spectrometer พบพีคที่เลขคลื่นต่างๆ โดยสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.3 จากตารางที่ 4.3 แสดงเลขคลื่นที่มีผลต่อการทำนายปริมาณเบต้ากลูแคน จาก Regression coefficient plot จะเห็นว่าการดูดซับคลื่นของ aromatic ซึ่งเป็นการสั่นสะเทือนของพันธะ C-H str. first-overtone มีอิทธิพลต่อการทำนายปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรุ๊ตรายมากที่สุด เนื่องจากมีค่า Regression coefficient สูงที่สุด (รูปที่ 4.6)

สำหรับ X-loading weight plot (รูปที่ 4.7) ถ้าเลขคลื่นมีค่า X-loading weight มากแสดงว่ามีความสำคัญต่อการทำนายของสมการซึ่งทั้ง 3 factor มี พีคที่สำคัญที่เลขคลื่นต่างๆสรุปดังตารางที่ 4.3 เลขคลื่นที่มีผลต่อการทำนายปริมาณเบต้ากลูแคนจาก X-loading plot จะเห็นว่า การดูดซับคลื่นของ สตาร์ช, กลูโคส, CH_2 , CH_3 , และ CH_3 มีอิทธิพลต่อการทำนายปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรุ๊ตรายมาก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 Regression coefficient plot และ X-loading plot ของแบบจำลองค่าการตรวจวัดปริมาณเบต้ากลูแคน ในเห็ดหอมฟรุ้ชตรายโดยการสแกนของเครื่อง FT-NIR spectrometer

Regression coefficient					
Wavenumber (cm ⁻¹)	Wavelength (nm)	Wavelength (nm) referred from reference	Bond vibration		structure
5932	1686	1685 ^[10]	C-H str. first overtone		aromatic
11548	866	874 ^[10]	C-H str. third overtone		benzene
5847	1710	1705 ^[10]	C-H str. first overtone		CH ₃
6472	1545	1540 ^[10]	O-H str. first overtone (internal mol. H bond)		starch
X-loading weight					
Wavenumber (cm ⁻¹)	Wavelength (nm)	Wavelength (nm) referred from reference	PLS latent variable	Bond vibration	structure
6326	1580	1580 ^[10]	PLS 1	O-H str. First overtone (intermol H-bond)	Starch, glucose
7132	1402	1395 ^[10]	PLS 1	2 x C-H str.+C-H def.	CH ₂
11255	888	890 ^[10]	PLS 2	C-H str. third overtone	CH ₃
5917	1690	1695 ^[10]	PLS 3	C-H str. first overtone	CH ₃

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการวิเคราะห์สเปกตรัม

การตรวจวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง FT- NIR Spectrometer พบว่ามีพีคเด่นที่เลขคลื่น 4050 cm^{-1} และ 4389 cm^{-1} (2469 nm และ 2278 nm) ซึ่งเป็นพีคของสตาร์ช เมื่อนำสเปกตรัมมาทำ Second Derivative มีพีคเพิ่มเติมปรากฏขึ้นคือ 4035 cm^{-1} ซึ่งเป็นการสั่นสะเทือนของพันธะ C-H str.+ C- C str. ของสตาร์ช

5.2 สรุปผลการทำนายของแบบจำลอง

จากการศึกษาข้อมูลของตัวอย่างเห็ดหอมที่สเปกตรัมที่วัดโดยเครื่อง FT-NIR Spectrometer เพื่อใช้หาเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรุ๊ตราาย พบว่ามีความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในการตรวจวัดค่าเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรุ๊ตราาย ซึ่งเมื่อนำมาสร้างแบบจำลองเพื่อทำนายปริมาณของเบต้ากลูแคน มีค่า R^2 เท่ากับ 70.98 %

5.3 ข้อเสนอแนะ

ผู้ทำการทดลองควรศึกษาฤดูกาลเจริญเติบโตของเห็ดหอมตลอดจนสภาพแวดล้อมที่เห็ดหอมสามารถเจริญเติบโตได้ดี และจำนวนตัวอย่างควรมีจำนวนมากกว่านี้เพื่อให้แบบจำลองและการทำนายมีความถูกต้องและความแม่นยำมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] บรรณ-บุรณะชนบท.2553. เห็ดหอม ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ: ไม่ปรากฏสถานที่พิมพ์
- [2] องอาจ ผ่องลักษณ์ 2557. เบต้ากลูแคน ครั้งที่1. กรุงเทพฯ: หจก.มิเดียเพลส
- [3] วารุณี ชนะแพสย์. 2555. บทที่ 1 สถานการณ์การใช้ประโยชน์เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในประเทศไทย. 8 หน้า. ใน: เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร.สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- [4] Franklin, E. B. 2002. Theory and principle near infrared spectroscopy. *Spectroscopy Europe* 14: 12-18.
- [5] ศุมาพร เกษมสำราญ. 2552. บทที่ 2 หลักการพื้นฐานของสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. 23 หน้า. ใน: เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- [6] ศิวลักษณ์ ปฐวีรัตน์ และอนุพันธ์ เท็ดวงศ์วรกุล. 2552. บทที่ 3 เครื่องมือและอุปกรณ์สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. 19 หน้า. ใน: เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- [7] Kawano, S. 2002. Application to Agricultural products and foodstuffs. pp. 269-288. In: Siesler, H. W., Y. Ozaki, S. Kawata and H. M. Heise, (eds.), *Near Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*. WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany. *Near Infrared Spectroscopy* 1: 25-32.
- [8] Givens, D. I., J. L. De Boever and E. R. Deaville. 1997. *The principle practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animal and human*. *Nutrition Research Review* 10: 83-114.
- [9] Gabriele, R. 2005. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57: 1109-1143.
- [10] Siesler, H. W., Y. Ozaki and S. Kawata. 2002. *Near-infrared spectroscopy*. WILEY-VCH Verlag, Federal Republic, Germany. 348 pp.
- [11] Karlberg, B. 2006. Principles of NIR and mid-IR spectroscopy. [Online]. Available: <http://lipas.uwasa.fi/~TAU/AUTO3220/Umea2handouts.pdf> (December 3, 2011).
- [12] Zhu F., Du B., Bian Z., Xu B. (2015). Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 165-173.
- [13] Nitschke J., Modick H., Busch E, von Rekowski R.W., Altenbach H.-J., Mölleken H. (2011). A new colorimetric method to quantify β -1,3-1,6-glucans in comparison with total β -1,3-glucans in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 127(2), 791-796.
- [14] Czchajowska Z., Szczodrak J.,Pomeranz Y. (1992). Characterization and Estimation of Barley Polysaccharides by Near-Infrared Spectroscopy. I. Barleys, Starches, and Beta-D-Glucans, *Cereal Chem*, 69,413-418
- [15] Liu H., Zhou H., Ren J G. (2014). Using Fourier transform near infrared spectroscopy to estimate the nutritional value in whole and milled naked oats, 22(2), 93-102.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาปริมาณเบต้ากลูแคนในเห็ดหอมฟรีซดราย

ตัวอย่างที่	ชื่อ	ชื่อตลาด	ปริมาณเบต้ากลูแคน (g/100g dry weight)
1	3-1-2	วังน้ำเขียวฟาร์ม	0.984
2	3-3	วังน้ำเขียวฟาร์ม	1.528
3	4-1-1	วังน้ำเขียวฟาร์ม	2.033
4	4A-6	ตลาดสี่มุมเมือง	1.915
5	4B-2	ตลาดสี่มุมเมือง	2.729
6	4B-4	ตลาดสี่มุมเมือง	2.592
7	4B-6	ตลาดสี่มุมเมือง	1.944
8	4B-8	ตลาดสี่มุมเมือง	1.877
9	4B-9	ตลาดสี่มุมเมือง	1.661
10	4C-1	ตลาดสี่มุมเมือง	2.456
11	4C-2	ตลาดสี่มุมเมือง	1.496
12	4C-3	ตลาดสี่มุมเมือง	1.581
13	4C-6	ตลาดสี่มุมเมือง	1.920
14	4D-1	ตลาดสี่มุมเมือง	0.732
15	4D-2	ตลาดสี่มุมเมือง	0.969
16	4D-3	ตลาดสี่มุมเมือง	0.987
17	4D-4	ตลาดสี่มุมเมือง	1.269
18	4D-6	ตลาดสี่มุมเมือง	1.960
19	5-1-1	วังน้ำเขียวฟาร์ม	1.649
20	5-1-2	วังน้ำเขียวฟาร์ม	2.770

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ขออนุญาตจากเจ้าของเอกสาร

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่	ชื่อ	ชื่อตลาด	ปริมาณเบต้ากลูแคน (g/100g dry weight)
21	6-2	วังน้ำเขียวฟาร์ม	1.648
22	BigC-3	ห้างบิ๊กซี	1.682
23	BigC-7	ห้างบิ๊กซี	1.162
24	Car-1	รถขายผัก	1.974
25	ETC-2	ตลาดบางกะปิ	2.060
26	ETC-3	ตลาดบางกะปิ	1.422
27	ETC-5	ตลาดบางกะปิ	1.987
29	Fashion-3	ห้างแฟชั่นไอซ์แลนด์	1.571
30	GP-1	โกลเด้น เพรส	2.933
31	GP-2	โกลเด้น เพรส	2.094
32	GP-3	โกลเด้น เพรส	2.118
33	GP-4	โกลเด้น เพรส	1.874
34	Home Fresh	โฮม เฟรช	2.173
35	JA-1	ตลาดจตุจักร (มีนบุรี)	2.352
36	JA-4	ตลาดจตุจักร (มีนบุรี)	2.667
37	JA-5	ตลาดจตุจักร (มีนบุรี)	2.242
38	Keharam-1	ตลาดเคหะราม	1.570
39	Lotus-2	ห้างโลตัส	1.964
40	MinburiB-4	ตลาดมีนบุรี	2.307
41	PE-2	ตลาดเปี่ยมภิรมย์	0.830
42	Ph-1	ตลาดปรีชา	1.957
43	Ph-3	ตลาดปรีชา	2.044

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่	ชื่อ	ชื่อตลาด	ปริมาณเบต้ากลูแคน (g/100g dry weight)
44	TaradthaiA-2	ตลาดไท	1.224
45	TaradthaiA-4	ตลาดไท	2.416
46	TaradthaiB-1	ตลาดไท	2.755
47	TaradthaiB-2	ตลาดไท	1.764
48	TaradthaiB-3	ตลาดไท	2.353
49	TaradthaiB-4	ตลาดไท	2.435
50	TaradthaiB-5	ตลาดไท	2.291
51	TaradthaiB-7	ตลาดไท	2.798
52	TaradthaiC-1	ตลาดไท	2.522
53	TaradthaiC-3	ตลาดไท	2.410
54	TaradthaiD-3	ตลาดไท	2.914
55	THC-3	ตลาดธรรากร	2.191
56	THC-5	ตลาดธรรากร	1.988
57	THC-8	ตลาดธรรากร	2.099
58	Top-2	ห้างท็อป	1.402
59	Top-3	ห้างท็อป	2.211
60	Villa Market	วิลล่า มาร์เก็ต	1.894

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้