

การใช้เนียร์อินฟราเรดรีเฟลคแตนสเปคโตรสโคปีทำนายองค์ประกอบของโปรตีนในข้าวโพดข้าวเหนียว Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to Determine Protein Content of Waxy Corn Kernel

พจนานา สิมันตรา¹ บุปผา คงสมัย² พรศิริ เลี้ยงสกุล² และ ชรินทร์นัท กาพภักดี¹
Pojana Simantara¹, Buppha Kongsamai², Pornsiri Liengsakul², and Charinrat Kanpakdee¹

Abstract

Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRs) can be used for rapid composition prediction, useful for many areas of crop science, including plant breeding which reference methods are costly and take long time. The objective of this study was to explore the potential of NIRs to determine protein content of waxy corn varieties which were dried and ground. NIR spectra and analytical measurements of protein were determined from 59 samples representing 59 varieties. Partial least squares (PLS) regression models were developed with 41 waxy corn accessions randomly assigned to a calibration data set and 18 accessions assigned to an external validation set. NIRCal 5.2 software was used to create the equation to predict protein content in corn kernel. The result showed that protein content gave the most accurate PLS regression using first derivative (db 1) pretreatment and normalization to unit length (nle) pretreatment at wavelength 1,100-1,200, 1,350-1,650, 1,950-2,500 nm with the external validation set having a standard error of prediction (SEP) = 0.6168 and coefficient regression (R) = 0.94. This research demonstrates that NIRs is an advantage technique for protein content prediction in waxy corn varieties which were dried and ground.

Keywords: waxy corn, NIRs, protein content

บทคัดย่อ

เนียร์อินฟราเรดรีเฟลคแตนสเปคโตรสโคปี (NIRs) ถูกนำมาใช้เพื่อทำนายองค์ประกอบอย่างรวดเร็ว และมีประโยชน์ต่อวิทยาศาสตร์ด้านพืช รวมทั้งการปรับปรุงพันธุ์พืช ซึ่งวิธีอ้างอิงที่ใช้วัดองค์ประกอบมีค่าใช้จ่ายสูงและใช้เวลานาน การทดลองในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาศักยภาพของการใช้ NIRs ในการทำนายองค์ประกอบของโปรตีนที่มีอยู่ในเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียว นำตัวอย่างข้าวโพดข้าวเหนียวจำนวน 59 สายพันธุ์ มาวัดสเปคตรัม และวิเคราะห์โปรตีนในทางเคมี ใช้รีเกรสชันแบบพาร์เทียลลีสแควร์ (PLS) สร้างสมการทำนาย โดยสุ่มตัวอย่างจำนวน 41 ตัวอย่างเพื่อเป็นชุดข้อมูลแคลิเบรท และอีก 18 ตัวอย่าง ใช้ในการทำชุดข้อมูลเวริเดชัน โดยใช้ซอฟต์แวร์ NIRCal 5.2 ในการสร้างสมการทำนาย เพื่อใช้ในการทำนายองค์ประกอบของโปรตีนที่มีอยู่ในเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวที่ผ่านการอบแห้งและบดละเอียดแล้ว พบว่าสมการทำนายที่ให้ความแม่นยำมากที่สุดคือสมการทำนายที่สร้างโดยวิธี PLS และปรับแต่งสเปคตรัมด้วยวิธี first derivative (db 1) และ normalization to unit length (nle) ที่ความยาวคลื่น 1,100-1,200, 1,350-1,650, 1,950-2,500 nm ให้ค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนาย (SEP) ชุดข้อมูลเวริเดชันเป็น 0.6168 และมีค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจเป็น 0.94 การทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าเทคนิค NIRs มีประโยชน์ในการทำนายองค์ประกอบของโปรตีนที่มีอยู่ในเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวที่ผ่านการอบแห้งและบดละเอียดได้

คำสำคัญ: ข้าวโพดข้าวเหนียว, เนียร์อินฟราเรดรีเฟลคแตนสเปคโตรสโคปี, โปรตีน

คำนำ

ข้าวโพดข้าวเหนียวมีองค์ประกอบของแป้งที่เป็นอมัยโลเพคตินอยู่ร้อยละ 100 และควบคุมโดย a single recessive gene คือ ยีน wx ต่างจากข้าวโพดทั่วไปซึ่งมีปริมาณแป้งเป็นอมัยโลเพคตินอยู่ร้อยละ 75 และแป้งอมัยโลสร้อยละ 25 แป้งอมัยโลเพคตินเป็นแป้งที่มีโมเลกุลสายยาวที่มีสาขาที่มีองค์ประกอบของกลูโคสอยู่ ข้าวโพดข้าวเหนียวถูกค้นพบในประเทศจีนมาตั้งแต่ปี 1908 ปัจจุบันมีการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวสลับสี โดยคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นพันธุ์ลูกผสมชั่วแรก (F1-hybrid) เป็นข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมพันธุ์ที่มีเมล็ดสองสี คือสีขาวและสีเหลืองสลับกันอยู่ในฝักเดียวกัน

¹ ภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

¹ Department of Farm Mechanics, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhonpathom 73140

² ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhonpathom 73140

ปรับปรุงมาจากการผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวโพดข้าวเหนียว และข้าวโพดชูเปอร์สวีท ที่มียืนด้อยควบคุมแตกต่างกัน คือเป็น wxwx (waxy gene) ในข้าวโพดข้าวเหนียว และ sh2 sh2 (shrunk-2 gene) ในข้าวโพดหวาน แล้วรวมยีนทั้งสองคู่ให้มาแสดงออกในฝักเดียวกัน ทำให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะพิเศษคือ มีความเหนียวนุ่มรสชาติหวานรวมกันอยู่ในฝักเดียวกัน โดยเมล็ดส่วนใหญ่ประมาณ 3 ส่วน เป็นเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียว จึงมีรสเหนียวนุ่มและเมล็ดอีกหนึ่งส่วนเป็นเมล็ดของข้าวโพดหวาน ทำให้มีรสหวานข้าวโพดข้าวเหนียว (อำนาจและคณะ, 2550) ข้าวโพดข้าวเหนียวนอกจากสามารถนำไปใช้บริโภคสดแล้ว ยังสามารถนำไปทำแป้ง ซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษเหมาะสมเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่มีคุณภาพสำหรับนักกีฬาและนักเพาะกาย เพราะสามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้อย่างรวดเร็ว แต่มีโปรตีนค่อนข้างต่ำประมาณร้อยละ 9.5 (กฤษฎา, 2521) ในปัจจุบันเทคโนโลยีเกี่ยวกับการเกษตรมีความก้าวหน้าอย่างมาก หนึ่งในนั้นก็คือเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRs) หรือคลื่นแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่อยู่ในช่วงความยาว 780 – 2,500 nm หรือจำนวนคลื่น 12,800 – 4,000 cm⁻¹ ซึ่งสามารถนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบต่างๆ เช่น ความชื้น โปรตีน และไขมันได้ หลักการทำงานของ NIRs คือ เมื่อคลื่นแสงมาจาก Light source จะส่องมายังวัตถุหรือสารละลายบนตัวอย่าง จะทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดการสั่นสะเทือนและดูดกลืนแสงส่วนแสงที่เหลือจะมีการสะท้อนและส่องผ่านจากตัวอย่างไปยังตัวรับแสง (NIR detector) ซึ่งตัวรับแสงส่งสัญญาณสู่คอมพิวเตอร์ ซึ่งคอมพิวเตอร์จะแปลงสัญญาณ NIR Spectrum มาทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางเคมี ซึ่งวิเคราะห์ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ ในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาการใช้เทคนิค NIRS เพื่อวิเคราะห์หาโปรตีนในข้าวโพดข้าวเหนียว เปรียบเทียบกับผลที่ได้รับจากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในห้องปฏิบัติการ โดยในการทดลองนี้ใช้ข้าวโพดข้าวเหนียว จำนวนทั้งสิ้น 59 สายพันธุ์ ในการวิเคราะห์หาโปรตีน เพื่อเป็นข้อมูลในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างข้าวโพดข้าวเหนียว

เมื่อข้าวโพดที่เก็บฝักสดจากแปลง จำนวน 59 สายพันธุ์ นำไปแช่แข็ง บรรจุถุงพลาสติก บรรจุใส่กล่องโฟม และนำมาหยั่งห้องปฏิบัติการของภาควิชาพืชไร่นา นั้นแล้วอบให้ละเอียดด้วยครก จากนั้นก็นำไปอบด้วยอุณหภูมิ 60 °C ประมาณ 48 ชั่วโมง นำข้าวโพดที่อบจนแห้งแล้วไปบดให้ละเอียด แล้วเก็บไว้ในตู้ลดความชื้น

2. การวัดค่าการดูดกลืนแสงและการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในข้าวโพดข้าวเหนียว

นำข้าวโพดข้าวเหนียวที่เตรียมไว้ วัดค่าการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer (Buchi, model NIRFlex N-500 FT-NIR spectroscopy) ในช่วงความยาวคลื่น 1,000-2,500 nm ทำการวัดตัวอย่าง (scan) ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 32 จุด แล้วจึงนำตัวอย่างไปวัดองค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการต่อไป

3. การวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนโดยวิธีการอ้างอิง

นำตัวอย่างข้าวโพดข้าวเหนียวแห้งมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวบาล โดยวิธี Semi-automated Method (AOAC., 1980)

4. การสร้างสมการทำนาย

สร้างสมการทำนายโดยโปรแกรมสำเร็จรูป NIRCal 5.2 (Buchi) สร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมที่วัดได้จากเครื่อง กับปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการ

ผล

1. การเตรียมตัวอย่างข้าวโพดข้าวเหนียว

การเตรียมตัวอย่างของข้าวโพดข้าวเหนียวอบแห้งบดละเอียดจากจำนวนตัวอย่าง 59 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่ามีสีที่แตกต่างกันโดยสามารถทำการจัดแบ่งกลุ่มสีออกได้เป็น 4 กลุ่ม (Figure 1) ดังนี้

1.1 สีเหลืองนวลอ่อน ได้แก่พันธุ์ 1017 SW, 1022 SW, 0057 SX, 0052 SX, 926 BW, 1013 SW, 9220 SW, 0206 SX, 1016 SX, 1009 SX, Sweetwax 256, 0135 SX, 1012 SW, 0087 SX, 0120 SX, 0069 SX, 0090 SX, 09221 SW, 1021SW, 0066 SW, 7274 SW, 9170 SW, 0075 SX, 1024SW, BW 926 (อ่อน), 1028 SW, 9304 SW, 1014 SW, 7254 SW, 8004 SW, 852 SW, 0217 SX

1.2 สีเหลืองนวลเข้ม ได้แก่พันธุ์ ขาวนุ่มปุย เทนเดอร์ 58 BW 926(แก่) และ 23

- 1.3 สีเหลืองเข้ม ได้แก่พันธุ์ ปุ่มปุย น้ำวัง หัวปลี bigwhite 852 น้ำน่าน ลำลี ขาวนวลจันทร์ ข้าวเหนียวหวาน ข้าวโพด 8 แถว ข้าวโพดข้าวเหนียว Acti white น้ำยม ดอกบัว เทียนชัย 8 ทูโพน ข้าวโพดขาว 18 20 และ 22
- 1.4 สีม่วงอ่อน ได้แก่พันธุ์ 0217 SX, 852 bw, 0087 SX, 1022 SW

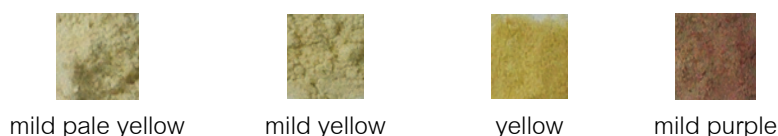


Figure 1 Four colour group of dried and ground 59 waxy corns varieties.

2. การวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนโดยวิธีอ้างอิง

จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า ปริมาณของโปรตีนในข้าวโพดข้าวเหนียวอบแห้งบดละเอียดโดยวิธี Semi-automated Method มีค่าปริมาณโปรตีนที่แตกต่างกันแต่ไม่มากนัก โดยค่าที่มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด และน้อยที่สุด คือ ข้าวโพดข้าวเหนียวตัวอย่างที่ 20 และ พันธุ์ 0075 SX ซึ่งมีโปรตีนอยู่ร้อยละ 14.97 และ 7.04 ตามลำดับ เมื่อนำค่าของโปรตีนมาบรรจลงตามกลุ่มสีของข้าวโพด พบว่า ข้าวโพดสีม่วงอ่อนจะมีค่าเฉลี่ยของโปรตีนต่ำที่สุด และสีเหลืองที่เข้มขึ้นจะมีปริมาณร้อยละของโปรตีนสูงขึ้นตามลำดับ (Table 1)

Table 1 Relation of percentage protein content and colour of waxy corn.

Colour Group	sample	Average Protein percentage (%)	Variance
Mild purple	4	9.30	0.53
Mild pale yellow	32	9.67	1.73
Mild yellow	4	9.93	0.36
Yellow	19	11.57	3.47

3. การวัดค่าการดูดกลืนแสงและสร้างสมการทำนายปริมาณโปรตีนของข้าวโพดข้าวเหนียว

สเปกตรัมที่วัดได้โดย NIRs และค่าวิเคราะห์ทางเคมีที่ได้จากห้องปฏิบัติการ (วิธีอ้างอิง) ถูกนำมาใช้เพื่อสร้างสมการทำนายโดยซอฟต์แวร์ NIRCal 5.2 สุ่มตัวอย่างจำนวน 41 ตัวอย่างเพื่อเป็นชุดข้อมูลแคลิเบรท และข้อมูลสุ่มอีก 18 ตัวอย่างนำไปใช้ในการทำชุดข้อมูลแวลิดชัน ทำการปรับแต่งสเปกตรัมที่ได้ด้วยวิธีต่างๆ (Table 2) และสร้างสมการทำนายที่เหมาะสม สร้างจากวิธีเรกเรชันแบบพาร์เทียลลีสสแควร์ (PLS) และปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี first derivative (db 1) และ normalization to unit length (nle) ที่ความยาวคลื่น 1,100-1,200, 1,350-1,650, 1,950-2,500 nm ให้ค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนาย (SEP) ชุดข้อมูลแวลิดชันเป็น 0.62 และมีค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจเป็น 0.94

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการทดลองพบว่าเทคนิค NIRs มีประโยชน์ในการทำนายองค์ประกอบของโปรตีนที่มีอยู่ในเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวที่ผ่านการอบแห้งและบดละเอียดได้ โดยวิธีเรกเรชันแบบพาร์เทียลลีสสแควร์ (PLS) และปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี first derivative (db 1) และ normalization to unit length (nle) ที่ความยาวคลื่น 1,100-1,200, 1,350-1,650, 1,950-2,500 nm โดยจะให้ค่าความคลาดเคลื่อนของการทำนาย (SEP) ชุดข้อมูลแวลิดชันเป็น 0.6168 และมีค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจเป็น 0.94 การทดลองนี้ สอดคล้องกับการทดลองของ Egesel and Kahrman (2012) ซึ่งใช้เทคนิคนี้ในการทำนายปริมาณโปรตีนของแป้งข้าวโพด (maize flour) 138 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นพันธุ์ลูกผสม (hybrid) 115 ตัวอย่าง และพันธุ์แท้ (inbreds) 23 ตัวอย่าง ซึ่งพบว่าเทคนิค PLS สามารถใช้ในการทำนายค่าได้ดี และ ให้ค่าสัมประสิทธิ์ $r = 0.99$ ขณะที่ วรินทร์และคณะ (2553) ใช้เทคนิคนี้ในการทำนายปริมาณโปรตีนของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง พันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยปริมาณโปรตีนของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีค่าที่แตกต่างจากข้าวโพดข้าวเหนียว คือมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 35.46-44.77 ทำให้สมการทำนายมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายปริมาณโปรตีนในกลุ่ม calibration (SEC) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานใน

การทำนายปริมาณโปรตีนในกลุ่ม validation (SEP) และสัดส่วนของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณโปรตีนในกลุ่ม validation ต่อค่า SEP (RPD) เท่ากับร้อยละ 0.94, 1.34, 1.36 และ 2.69 ตามลำดับ

Table 2 Result of crucial decision values, R (regression), SEP (standard error of prediction), SEC (standard error of calibration) and Q-value of pretreatment spectrums with partial least square method

Pretreatment	Wavelength (nm)	Calibration			Cross Validation	
		Slope	R	SEP	SEC	Q-value
Original	1,100-1,200, 1,350-1,650, 1,950-25,00	0.90	0.84	0.9812	0.5256	0.4217
ds2	1,000-2,500	0.86	0.93	0.6405	0.6109	0.7050
db1 และ nle	1,100-1,200, 1,350-1,650, 1,950-2,500	0.86	0.94	0.6168	0.6112	0.7264
db1 และ ncl	1,100-1,200, 1,350-1,650, 1,950-2,500	0.82	0.92	0.6947	0.6990	0.6773
ncl	1,100-1,200, 1,350-1,650, 1,950-2,500	0.80	0.91	0.7383	0.7367	0.6736

Remark: ds2 (second derivative), db1 (first derivative), nle (normalization to unit length) and ncl (normalization by closure) are pretreatment methods.

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนทุนการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2521. พีชไร่. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. แปลจาก S.C. Litzenger (ed.). Guide for Field Crops in the Tropics and the Subtropics. Agency for International development. Washington, D.C.

วรินทร์ มณีวรรณ, ศุภศักดิ์ ลิ้มปิติ และปาริชาติ เทียนจุมพล. 2553. การหาปริมาณโปรตีนในเมล็ดพันธุ์ข้าวเหลืองด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี. ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อำนาจ จันทร์คุช, ศุภภาพัฒน์ บถพิบูลย์ และณรงค์ วุฒิมวรรณ. 2550. คู่มือการถ่ายทอดเทคโนโลยีโครงการส่งเสริมการผลิตสินค้าเกษตรที่ได้มาตรฐานและปลอดภัย.กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ.

AOAC. 1980. Official Methods of Analysis, 13th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA,

Egesel , C. and F. Kahrman. 2012. Determination of Quality Parameters in Maize Grain by NIR Reflectance Spectroscopy. Journal of Agricultural Sciences 18: 31-42