Agricultural Sci. J. 48 : 3 (Suppl.) : 85-88 (2017) ว. วิทย. กษ. 48 : 3 (พิเศษ) : 85-88 (2560)

เทคนิคการคัดแยกเมล็ดพันธุ์ข้าวเปลือกด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดต้นแบบ

Paddy Seed Variety Identification Technique using a Prototype of Near Infrared Instrument

จุฬวฎี ตุ่นป่า[1] **กุลลดา ชำนาญบึงแก**[1] **ปัทมา นามแดง**[1] **ลัดดาพร ทองจันทร์**[1] **คนึงนิตย์ จับใจเหมาะ**[2] **และ ภานุวัฒน์ ทรัพย์ปรุง**[2]

Jurawadee Thunpa[1], Kunlada Chamnanbuengkae[1], Pattama Namdang[1], Laddaporn Thongjan[1], Khanuengnit Chapchaimoh[2] and Panuwat Supprung[2]

Abstract

Each paddy variety is unique in both quality and price. DNA identification takes time longer than near infrared (NIR). This research aimed to investigate for single kernel paddy seed variety identification technique using a prototype for near infrared instrument (NIR-EPE). Each of 50 kernels in 7 paddy breeder seed varieties were used for NIR spectra from 360-1100 nm in reflectance mode measurement. The spectra consisted of calibration set and validation set were developed using some pretreatments. It was found that the first derivative was the best pretreatment because of the highest R^2 and lowest SEC of 0.950 and 0.447 for the calibration. It provided the SEP and Bias of 0.831 and 0.006 for the validation, which quite high accuracy.

Keywords: paddy seed, near infrared, prototype

บทคัดย่อ

ข้าวเปลือกแต่ละสายพันธุ์มีคุณภาพและราคาแตกต่างกัน การตรวจดีเอ็นเอเพื่อระบุพันธุ์ต้องใช้เวลานานกว่าการใช้เนียร์อินฟราเรด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาเทคนิคในการคัดแยกเมล็ดพันธุ์ข้าวเปลือกรายเมล็ดด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดต้นแบบ(NIR-EPE) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 360-1100 nm ข้าวเปลือกชนิดเมล็ดพันธุ์คัด 7 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 50 เมล็ด นำค่าสเปกตร้าซึ่งประกอบด้วยกลุ่มคาลิเบรชันและกลุ่มวาลิเดชันมาปรับค่าด้วยเทคนิคต่างๆ พบว่าการใช้อนุพันธ์อันดับหนึ่งเป็นเทคนิคที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากกลุ่มคาลิเบรชันมีค่า R^2 สูงที่สุดซึ่งเท่ากับ 0.950 และ SEC ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.447 โดยกลุ่มวาลิเดชันมีค่า SEP 0.831 และ Bias 0.006 ซึ่งมีความแม่นยำค่อนข้างมาก

คำสำคัญ: เมล็ดพันธุ์ข้าวเปลือก เนียร์อินฟราเรด เครื่องต้นแบบ

คำนำ

สายพันธุ์ข้าวที่บริสุทธิ์มีความสำคัญมากเนื่องจากมีผลต่อราคาที่เกษตรกรจะได้รับและคุณภาพในทางการค้า การพิสูจน์ด้วย DNA Fingerprint Method เป็นวิธีที่ยอมรับว่ามีความแม่นยำมาก แต่ต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญ สารเคมีและมีค่าใช้จ่ายสูงถึงตัวอย่างละ 200 US$ หรือประมาณ 7,000 บาท (Rittiron *et al*., 2005) ใช้เวลานาน และเป็นการตรวจสอบซึ่งตัวอย่างที่ใช้ทดสอบต้องถูกทำลายไป ดังนั้นการวิจัยเพื่อหาวิธีหรือเทคโนโลยีเนียร์อินฟราเรดที่สามารถพิสูจน์พันธุ์ข้าวได้อย่างแม่นยำ ราคาถูก รวดเร็ว ซึ่งไม่ทำลายตัวอย่าง และลดการใช้สารเคมี (Delwiche *et al*., 1995) และสามารถตรวจวัดองค์ประกอบหลายอย่างพร้อมกันได้ (วรินทร และคณะ, 2553) จึงมีความสำคัญ เนียร์อินฟราเรดแสงสเปคโตรสโกปี้ (NearInfrared Spectroscopy, NIRs) เป็นเทคโนโลยีที่ใช้ความยาวคลื่นในช่วง 780 - 2,500 nm เพื่อวัดการสั่นแบบโอเวอร์โทน (Overtone Vibration) และการสั่นแบบผลรวม (Combination Vibration) ของพันธะเคมีในโมเลกุล ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดขององค์ประกอบของวัสดุตัวอย่าง ร่วมกับวิธีทางเคโมเมตริกซ์ (Chemometrics) เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลสเปคตรัม ทั้งนี้เทคนิคการตรวจสอบแบบกลุ่มตัวอย่างนั้นไม่สามารถเจาะจงการปลอมปนรายเมล็ดได้ อีกทั้งต้องเตรียมตัวอย่างที่บริสุทธิ์หรือผสมกันในสัดส่วนชัดเจน ดังนั้นจึงมีการประยุกต์เทคนิค NIR เพื่อตรวจสอบคุณภาพเมล็ดเดี่ยวหรือรายเมล็ด (Single Kernel) เริ่มแรกในการหาความชื้นข้าวโพด (Finney and Norris, 1978) การตรวจสอบการปลอมปนของข้าวญี่ปุ่นด้วยการวัดปริมาณ

[1] นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาวิศวกรรมหลังการเก็บเกี่ยวและแปรสภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตขอนแก่น 40000

[1] Bachelor Student, Department of Postharvest and Processing Engineering, Faculty of Engineering, Rajamangala University of Technology Isan, Khonkaen Campus, Khon Kaen 40000

[2] อาจารย์ สาขาวิชาวิศวกรรมหลังการเก็บเกี่ยวและแปรสภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตขอนแก่น 40000

[2] Lecturer, Department of Postharvest and Processing Engineering, Faculty of Engineering, Rajamangala University of Technology Isan, Khonkaen Campus, Khon Kaen 40000

โปรตีน (Supprung *et al*., 2010) งานวิจัยเทคนิคการคัดแยกเมล็ดพันธุ์ข้าวเปลือกแบบเมล็ดเดี่ยวด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดต้นแบบจึงเป็นประโยชน์ในด้านการเกษตร และการค้า

อุปกรณ์และวิธีการ

เครื่องมือ NIRs Spectrometer ประกอบด้วยแหล่งกำเนิดแสง NIR – LED, ตัวตรวจจับแสง (Detectors), อุปกรณ์ขยายสัญญาณ และคอมพิวเตอร์ (Lin *et al*., 2008) (Figure 1) ใช้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 360 - 1,100 nm ในรูปแบบอินเตอร์แอกแตนซ์ (Interactance) ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของชุดป้อนตัวอย่างและชุดตรวจวัดคลื่นแสง โดยชุดตรวจวัดคลื่นแสงประกอบด้วยแหล่งกำเนิดแสง, ท่อใยแก้วนำแสงและแยกแสง, ชุดตรวจรับแสง, โพรบตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงแบบรีเฟลกแตนส์ (Reflectance Mode), อุปกรณ์อ้างอิงสีขาว, ชุดหน่วยเก็บและจ่ายไฟฟ้า, และชุดวิเคราะห์และประมวลผล ข้าวเปลือกประเภทเมล็ดพันธุ์คัด จากศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวขอนแก่น 7 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าว กข 15 สุรินทร์ (RD15 Surin), ปทุมธานี 1 (PT1), ขาวดอกมะลิ 105 อุบลราชธานี (KDML 105 Ubon), ขาวดอกมะลิ 105 สุรินทร์ (KDML 105 Surin), สุพรรณบุรี 2 (SPR2), พิษณุโลก 2 (PSL2), และชัยนาท 1 (CHN1) บรรจุ สายพันธุ์ละ 50 เมล็ด ในถุงพลาสติกแบบถุงซิปขนาด 7 x 10 cm ปิดมิดชิดและเก็บที่อุณหภูมิ 25 °C นำแต่ละตัวอย่างลงในชุดป้อนตัวอย่างของเครื่องเนียร์อินฟราเรดต้นแบบ (Figure 2) ทีละเมล็ด วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยหลักการสะท้อนแสง (Reflectance) เมล็ดละ 6 ซ้ำ บันทึกผลในรูปแบบ JCAMP - DX สายพันธุ์ละ 50 ตัวอย่าง จนครบทุกสายพันธุ์ นำข้อมูลสเปคตรัมไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Unscrambler V. 10.1 (CAMO software, Norway) ทั้งหมด เรียงลำดับค่าทางเคมีจากน้อยไปมาก แบ่งแต่ละสายพันธุ์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มคาลิเบรชั่น (Calibration Set) จำนวน 176 เมล็ด ซึ่งเป็นกลุ่มที่ใช้สำหรับสร้างสมการ และกลุ่มวาลิเดชั่น (Validation Set) จำนวน 174 เมล็ด เป็นกลุ่มทดสอบสมการ ปรับแต่งสเปคตรัม (Pretreatment) ของกลุ่มคาลิเบรชั่น วิเคราะห์การจำแนกกลุ่ม (Discriminant Analysis) ด้วยการถดถอยโดยวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (Partial Least Square Regression) หรือ PLSR-DA และเฉลี่ยสเปคตรัมด้วยวิธีต่างๆ แล้วพิจารณาความแม่นยำของสมการจากค่าทางสถิติ

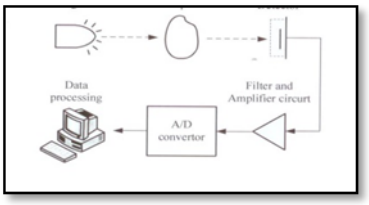


Figure 1 NIR spectrometer diagram

Figure 2 NIR – EPE prototype for single paddy seed kernels

ผลและวิจารณ์ผล

เครื่องต้นแบบ NIR – EPE เพื่อคัดแยกพันธุ์ข้าวเปลือกแบบเมล็ดเดี่ยว (Figure 2) สามารถบรรจุในกระเป๋า สะดวกในการเคลื่อนย้ายและใช้งานในแปลงหรือในสถานที่เก็บรักษาหรือจำหน่ายเมล็ดพันธุ์ได้ ออกแบบและพัฒนาหลุมสำหรับป้อนเมล็ดข้าวเปลือกแบบทีละเมล็ด, มือจับจานป้อน และอุปกรณ์เสริมสำหรับจับโพรบวัดค่าการดูดคลื่นแสง ผลการทดสอบพบว่าลักษณะสเปคตรัมของข้าวเปลือกชั้นพันธุ์คัดแต่ละพันธุ์มีความคล้ายคลึงและมีค่าใกล้เคียงกันทั้ง 7 สายพันธุ์ (Figure 3) สเปคตรัมที่เกิดมีการรบกวนมาก (Noise) ไม่สามารถเห็นพีคได้เด่นชัด และพีคแยกออกจากกันไม่ชัดเจน อาจเป็นผลจากการกระเจิงแสงเมื่อตกกระทบกับตัวอย่างที่แสดงการดูดกลืนแสงช่วง 360 - 1,100 nm ซึ่งเป็นแถบแสงโอเวอร์โทนอันดับสองของ O - H หรือการดูดกลืนแสงของน้ำ เนื่องจากตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มีขนาดไม่สม่ำเสมอกันซึ่งมีผลต่อการสร้างสมการเช่นเดียวกับงานวิจัยการผ่านคลื่นแสงของส้มซัทซูม่า (Kawano *et al*., 1992) ซึ่งเสนอแนะการแก้ปัญหาการเลื่อนของเส้นสเปคตรัม (Base Line) ได้ด้วยการทำอนุพันธ์ลำดับที่สอง (Second Derivative Pretreatment) แต่พบว่าผลการตรวจวัดแล้วปรับแต่งสเปคตรัมด้วยอนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง (1st Derivative) เป็นวิธีที่ให้ค่า R^2 ของกลุ่มคาลิเบรชั่นมากที่สุดคือ 0.950 โดยมีค่า SEC เท่ากับ 0.447 และทำให้ได้ค่า SEP ของกลุ่มวาลิเดชั่น 0.831 และ Bias 0.006 (Table 1 and Figure 4)

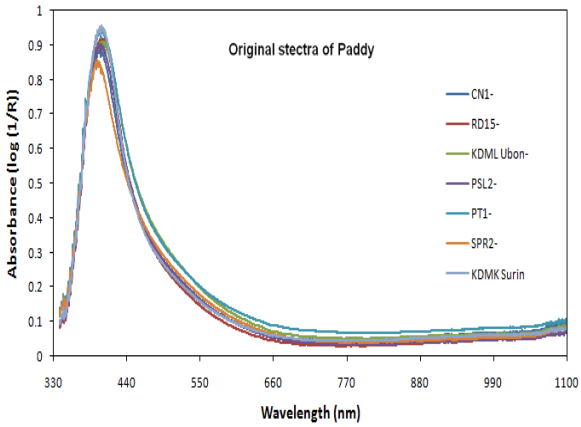
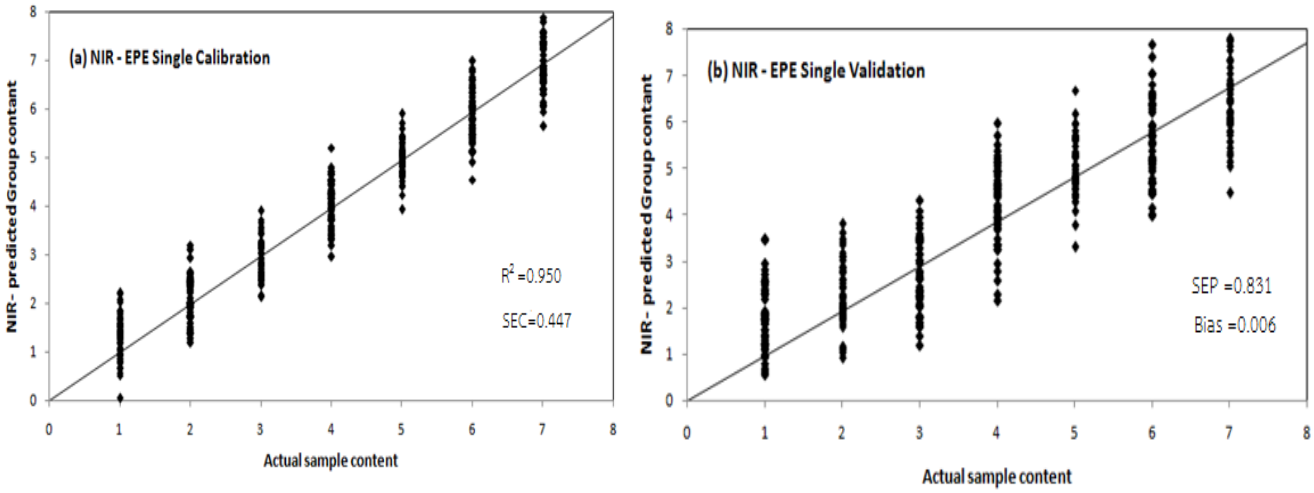


Figure 3 Original spectra for the single paddy seed kernels of NIR – EPE



1.RD15 2.PT1 3.KDML Ubon 4.KDML Surin 5. SPR2 6.PSL2 7.CHN1

Figure 4 NIR – EPE measured and predicted of single paddy seed kernels
a) Calibration set b) Validation set

Table 1 PLSR-DA for the single paddy seed kernels of NIR – EPE for the wave length of 360-1,100 nm

Spectral pretreatment	N	F	Calibration		Validation	
			R^2	SEC	SEP	Bias
Original	350	16	0.941	0.488	0.895	-0.007
Smoothing	350	14	0.824	0.840	1.039	0.005
1st derivative	350	9	0.950	0.447	0.831	0.006
2st derivative	350	10	0.926	0.541	1.007	-0.006

สรุป

เครื่องต้นแบบ NIR – EPE ความยาวคลื่น 360 - 1,100 nm เพื่อคัดแยกเมล็ดพันธุ์ข้าวเปลือกแบบเมล็ดเดี่ยว วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม Unscramble V. 10.1 โดยการปรับเส้นสเปคตรัมด้วยอนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง และคำนวณ PLS – DA พบว่าสมการคาลิเบรชั่นมีความแม่นยำถึง 95% ก่อให้เกิดประโยชน์ด้านการเกษตรและการค้า ตลอดจนการพัฒนางานวิจัยต่อไป

คำขอบคุณ

ขอบคุณหน่วยวิจัยและทดสอบคุณภาพผลผลิตเกษตรและอาหารแบบไม่ทำลาย สาขาวิชาวิศวกรรมหลังการเก็บเกี่ยวและแปรสภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

วรินทร มณีวรรณ, ศุภศักดิ์ ลิมปิติ และ ปาริชาติ เทียนจุมพล. 2553. การหาปริมาณโปรตีนในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปคโตรสโกปี้. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 41(1พิเศษ): 401- 404.

Delwiche, S.R., M.M. Bean, R.E. Miller and P.C Williams. 1995. Apparent Amylose Content of Milled Rice by Near-Infrared Reflectance Spectrophotometry. Cereal Chemistry Journal 72(2): 182-187.

Finney, E.E. and K.H. Norris. 1978. Determination of Moisture in Corn Kernel by near-Infrared Transmittance Measurements. Transactions of the ASAE (American Society of Agricultural Engineers) 21: 581-584.

Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of Sugar Content in Intact Peaches by Near Infrared Spectroscopy with Fiber Optics in Interactance Mode. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 61: 445-451.

Lin, L.H., Y.C. Chang, G.J. Wu and F.M. Lu. 2008. Automated Detection of Single Rice Kernels Moisture Content using NIR LED System. Proceeding of the 4th International Symposium on Machinery and Mechatronics for Agriculture and Bio-systems Engineering (ISMAB). Taiwan.

Rittiron, R., I.S. Saranwong and S. Kawano. 2005. Detection of Variety Contamination in Milled Japanese Rice using a Single Kernel Near Infrared Technique in Transmittance Mode. Journal of Near Infrared Spectroscopy 13: 19-25.

Supprung, P., S. Ratree and S. Saranwong. 2010. Performance of Fourier Transform NIR Spectrophotometer for Determining Variety Contamination of Thai “KDML105” Rough Rice. The 2nd Asian NIR Symposium. Shianghai, Chaina.