Agricultural Sci. J. 41 : 1 (Suppl.) : 389-392 (2010) ว. วิทย. กษ. 41 : 1 (พิเศษ) : 389-392 (2553)

การประเมินค่าอมิโลสในเมล็ดข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร โดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy

Evaluation of Amylose Content in Rough Rice, Brown Rice and Milled Rice by using Near Infrared Spectroscopy

จารุวรรณ บางแวก[1], อรวรรณ จิตต์ธรรม[1] และ อรณิชชา สุวรรณโฉม[1]
Charuwan Bangwaek[1], Orawan Jitham[1] and Onicha Suwanachom[1]

Abstract

Amylose which is a linear polymer of glucose had shown the grain quality characteristics of rice. Generally, amylose analysis, it required time, experience of examiner, chemical and destroyed samples. Near Infrared (NIR) Spectroscopy was the one of effective method to predict the organic matter and saved time, getting precision and accuracy, no chemical used. Dry matter in onion, soluble solid in cantaloupe, Brix in peach, etc. could be evaluated by NIR Spectroscopy technique. In this experiment, the evaluation of amylose content in rough, brown and milled rice by NIR Spectroscopy were studied. About one hundred of rice grain samples were used. The unscrambler software was used to analyze chemometric. The effective models were obvious to evaluate amylose content of rough, brown and milled rice with high correlation between wet lab and NIR absorption (R = 0.98, 0.84 and 0.88, respectively). Low standard error in cross validation (SECV = 3.85%) for rough rice and low standard error of prediction for brown and milled rice (SEP = 2.79 and 1.99%, respectively) were presented. High regression coefficient had shown at wavelength 1215, 1360, 1705, 1725 and 1900 nm which involved with starch.

Key word: amylase, NIR, rice

บทคัดย่อ

อมิโลสเป็นองค์ประกอบของแป้งที่ประกอบด้วยสายของโมเลกุลกลูโคสด้วยพันธะ **α**1-4, D Glucose เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่จะบ่งบอกถึงลักษณะของข้าวสุกหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแป้ง การวิเคราะห์อมิโลสจะค่อนข้างยุ่งยาก ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย ใช้เวลานาน ต้องอาศัยผู้วิเคราะห์ที่มีประสบการณ์ และทำลายตัวอย่าง NIR Spectroscopy เป็นวิธีที่ใช้ประเมินคุณภาพอินทรีย์สาร นิยมใช้กันแพร่หลาย เช่น การประเมินปริมาณน้ำหนักแห้งในหอม soluble solid ในแคนตาลูป ค่าความหวานในพีช เป็นต้น การทดลองนี้จึงได้นำเอาเทคนิคนี้มาใช้ประเมินปริมาณอมิโลสในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร เพื่อลดเวลา ค่าใช้จ่าย และได้ค่าที่ถูกต้องแม่นยำในการวิเคราะห์ และใช้แทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จากการทดลอง ได้สร้างสมการขึ้นมา 3 สมการสำหรับข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร ที่มีค่าความสัมพันธ์สูงระหว่างค่าที่ประเมินได้จากสมการและค่าจริงจากห้องปฏิบัติการ (R=0.98, 0.84 and 0.88 ตามลำดับ) และมีค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน Standard Error in Cross Validation (SECV = 3.85%) สำหรับข้าวเปลือก และค่า (Standard Error of Prediction: SEP) คือ 2.79 และ 1.99% ในข้าวกล้องและข้าวสาร ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่า standard deviation (SD) ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการประเมินอยู่ในช่วง 800-2000 nm ทั้ง 3 สมการจะประกอบด้วยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับแป้ง (starch) คือ ความยาวคลื่นที่ 1215, 1360, 1705, 1725 และ 1900 nm ดังนั้นสมการทั้ง 3 สามารถนำไปใช้ประเมินค่าอมิโลสในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ อมิโลส, NIR, ข้าว

[1] สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900
[1] Postharvest and Processing Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900

คำนำ

อมิโลส (Amylose) เป็นองค์ประกอบทางเคมีของแป้ง ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายยาวที่ต่อกันเป็นเส้นที่ไม่มีกิ่งก้านแบบ α1-4, D Glucose (Anonymous, 2008) ปริมาณอมิโลสในเมล็ดข้าวของข้าวพันธุ์ต่างๆจะไม่เท่ากัน แต่บางพันธุ์จะมีปริมาณอมิโลสที่ใกล้เคียงกัน ปริมาณอมิโลสจะแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1. กลุ่มอมิโลสต่ำ ปริมาณอมิโลสมากกว่า 9% -20% ข้าวจะมีความนุ่มเหนียว เช่น ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ข้าวปทุมธานี1 เป็นต้น 2. กลุ่มอมิโลส ปานกลาง ปริมาณอมิโลส มากกว่า 20 -25% ข้าวสุกจะมีความร่วนแต่นุ่ม เช่น ข้าวพันธุ์ขาวตาแห้ง เป็นต้น 3. กลุ่มอมิโลสสูง ปริมาณอมิโลสมาก กว่า 25-33% ข้าวสุกจะมีความแข็งและร่วน เช่น ข้าวพันธุ์ชัยนาท1 สุพรรณบุรี1 เป็นต้น (Juliano, 1972) ดังนั้นปริมาณอมิโลสจะบอกถึงความแข็งของข้าวสุก ซึ่งจะมีผลต่อลักษณะของข้าวสุก คุณภาพของผลิตภัณฑ์แปรรูปจากข้าว และความชอบของผู้บริโภค การวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลสนั้นเป็นวิธีที่ต้องใช้สารเคมีหลายชนิดที่มีอันตราย ใช้เวลานานในการวิเคราะห์ ผู้วิเคราะห์ต้องเป็นผู้มีความสามารถและมีประสบการณ์ และตัวอย่างที่ใช้ก็ถูกทำลายไปไม่สามารถเอามาใช้ได้อีก

เทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIR Spectroscopy) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในสหรัฐอเมริกา ยุโรป ญี่ปุ่น เกาหลี และจีน เทคนิคนี้เป็นวิธีที่ให้ความถูกต้อง แม่นยำ ใช้เวลาสั้น ไม่ใช้สารเคมี ตัวอย่างไม่ถูกทำลาย แต่สามารถใช้ประเมินได้เฉพาะองค์ประกอบที่เป็นอินทรีย์สารเท่านั้น เช่น น้ำหนักแห้งในหัวหอม (Birth et al., 1985), soluble solids ในแคนตาลูป (Dull et al., 1989) ค่า Brix ในพีช (Kawano et al. 1992) ปริมาณแป้ง ปริมาณโปรตีนในข้าวสาลี ความชื้นเมล็ด เป็นต้น การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะหาความเป็นไปได้ในการใช้เทคนิค NIR Spectroscopy ในการประเมินปริมาณอมิโลสในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร เพื่อใช้แทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการที่ สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ปี 2551-52 โดยนำตัวอย่างข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร ที่มีปริมาณอมิโลสต่างๆ ตั้งแต่ 15.59-30% จำนวน 50, 101 และ 101 ตัวอย่าง ตามลำดับ ความชื้นเมล็ดประมาณ 11% วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 800-2000 nm ด้วยเครื่อง NIR Spectroscopy จากบริษัท Perkin Elmer โดยใช้ระบบการวัดแบบสะท้อนกลับ (reflection) แปลงจากค่าการดูดซับแสง NIR ที่ความยาวคลื่นต่างๆ ให้อยู่ในรูป spectra (ภาพที่ 1) เมล็ดข้าวอีกส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์อมิโลส ตามวิธีของ Juliano (1971) จากค่าการดูดซับแสง NIR นำมาพัฒนาสมการที่จะนำไปประเมินค่าอมิโลสในตัวอย่างข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย แบบ Partial Least Square (PLS) โดยโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler (Camo, Oslo, Norway) ข้าวเปลือกจะใช้การวิเคราะห์แบบ Cross validation ส่วนข้าวกล้องและข้าวสาร จะใช้การวิเคราะห์แบบ test set มีกลุ่ม calibration จำนวน 51 ตัวอย่าง กลุ่ม validation จำนวน 50 ตัวอย่าง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

NIR spectra ของเมล็ดข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร

ค่าการดูดซับแสง (log 1/R) ของเมล็ดข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร แสดงใน Fig 1 จะสังเกตเห็นค่าการดูดซับแสงมากจะอยู่ที่ 1200 และ 1450 nm เนื่องจากเป็นการดูดกลืนของ แป้ง (starch) และน้ำในข้าว

ค่าการดูดซับแสงของเมล็ดข้าวเปลือก จะต่ำกว่า ข้าวกล้อง และข้าวสาร ตามลำดับ เพราะข้าวเปลือกจะมีส่วนของเปลือก ข้าวกล้องจะมีส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (pericarp) ทำให้การดูดซับแสงต่ำ

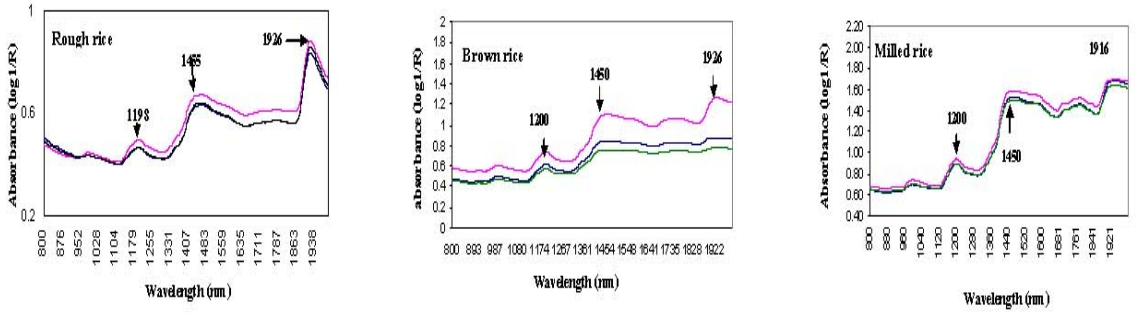

Figure 1 The original spectra of rough, brown and milled rice in the wavelength region at 800-2500 nm

การทำ Calibration ด้วย PLS regression

จากการทำ calibration ด้วยวิธี PLS regression โดยการใช้ spectra เริ่มต้น (original) หรือ spectra ที่ทำการใช้วิธีทางคณิตศาสตร์ปรับ spectra ด้วยวิธี second derivative แต่พบว่า สมการจาก original spectra ของข้าวเปลือก ที่ความยาวคลื่น 800-2000 nm จะมีค่าความสหสัมพันธ์ (R) = 0.96, Standard Error in Cross Validation (SECV) = 3.85% มีปัจจัย (F) ที่เกี่ยวข้อง 6 ปัจจัย ดีกว่าสมการที่ได้จากการแปลงข้อมูลด้วย second derivative (Table1)

สมการจาก original spectra ของข้าวกล้อง ที่ความยาวคลื่น 800-2000 nm จะมีค่า R = 0.84, SEP = 2.79% มีปัจจัย (F) ที่เกี่ยวข้อง 11 ปัจจัย ดีกว่าสมการที่ได้จากการแปลงข้อมูลด้วย second derivative (Table 1)

สมการจาก original spectra ของข้าวสาร ที่ความยาวคลื่น 1000-2000 nm จะมีค่า R = 0.88, SEP = 1.99% มีปัจจัย (F) ที่เกี่ยวข้อง 7 ปัจจัย ดีกว่าสมการที่ได้จากการแปลงข้อมูลด้วย second derivative (Table 1)

ค่าความคลาดเคลื่อน (standard deviation, sd) จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เท่ากับ 4.28%

Table 1 The PLS analysis of amylose content in rough, brown and milled rice in the wavelength region of 800-2500 nm

Type of Rice grain	Math methods	Wavelength region (nm)	F^x	*R*	*SEC*	*SECV (SEP)*	*Bias*
Rough Rice	Original	800-2000	6	0.98	0.83	**3.85**	0.10
Brown Rice	Original	800-2000	11	0.84	2.18	**2.79**	0.50
Milled Rice	Original	1000-2000	7	0.88	1.91	**1.99**	-0.32

^{x}F is the number of factors used in the calibration equation SEP:Standard error of prediction

R: Multiple correlation coefficients Bias: The average of difference between actual value and NIR value

SEC: Standard error of calibration ^{Y}SECV: Standard error in cross validation

จากสมการทั้ง 3 จะเห็นว่า ช่วงคลื่นแสง 800-2000 nm เหมาะที่จะใช้ในการประเมินค่าอมิโลสในเมล็ดข้าวทั้งข้าวเปลือก ข้าวกล้องและข้าวสาร ค่า SECV ต่ำกว่าค่า SD (Table 1) แสดงว่า สมการทั้ง 3 นี้สามารถใช้ประเมินค่าอมิโลสอย่างมีประสิทธิภาพ และสมการของข้าวสารจะประเมินได้ดีกว่าข้าวกล้องและข้าวเปลือก ตามลำดับ เพราะมีค่า SECV หรือค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินต่ำที่สุด ที่เป็นเช่นนี้เพราะข้าวเปลือกจะมีค่าการดูดซับแสง NIR ต่ำกว่าข้าวกล้องและข้าวสาร เนื่องจากข้าวเปลือกมีเปลือกที่ทำให้แสงซึมผ่านได้ยากกว่าข้าวกล้องและข้าวสาร ตามลำดับ

จาก Fig.2 แสดงค่า Regression coefficient ของข้าวเปลือกตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient สูงอยู่ที่ 1230, 1461, 1499, 1676, 1878 และ 1897 nm ซึ่งที่ความยาวคลื่น 1230, 1878 และ 1897 nm จะสัมพันธ์กับแป้งในเมล็ดข้าว และที่ความยาวคลื่น 1461, 1499 และ 1676 nm จะมีความสัมพันธ์กับโปรตีนในเมล็ดข้าว ตามลำดับ

ค่า Regression coefficient ของข้าวกล้อง มีตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient สูง ที่ 1159, 1211, 1331, 1467, 1716, 1856 และ 1908 nm ซึ่งที่ความยาวคลื่น 1159, 1211, 1331, 1716, 1856 และ 1908 nm จะสัมพันธ์กับ แป้งในเมล็ดข้าว ตามลำดับ

ค่า Regression coefficient ของข้าวสาร มีpeak ที่มีค่า regression coefficient สูง ที่ 1127, 1322, 1468, 1709 และ 1883 nm ซึ่ง ที่ความยาวคลื่น 1322, 1709 และ 1183 nm สัมพันธ์กับแป้งในเมล็ดข้าว ตามลำดับ

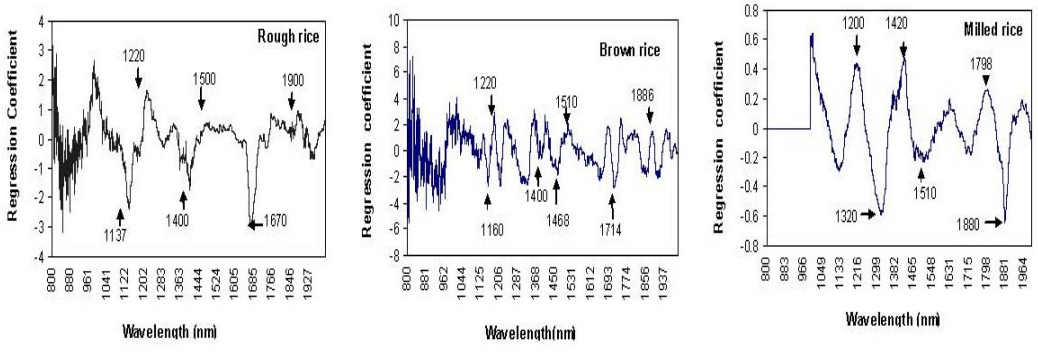

Figure 2 Regression coefficient plot of rough, brown and milled rice in the wavelength region of 800-2500 nm

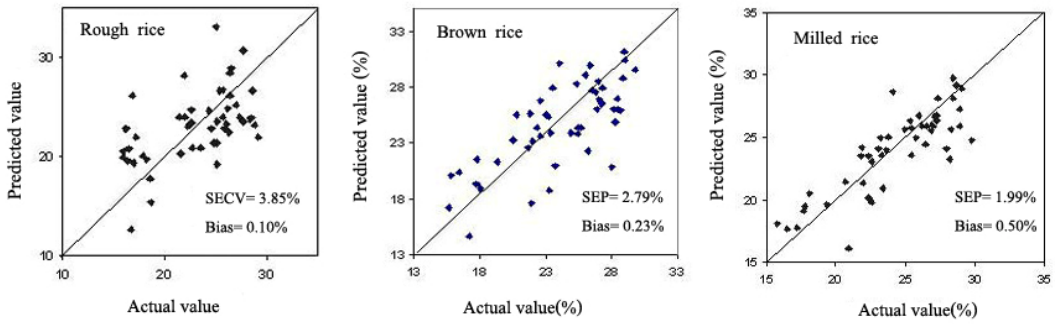

Fig. 3 เป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการประเมินจากสมการที่ดีที่สุดของข้าว (ข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร) และค่าจากห้องปฏิบัติการ สมการทั้ง 3 มีค่าความคลาดเคลื่อนต่ำกว่าค่า sd แสดงว่าการพัฒนาสมการได้ค่าความถูกต้องที่เพียงพอแล้ว

สรุป

เทคนิค Near Infrared Spectroscopy สามารถใช้ในการประเมินค่าอมิโลสในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง ข้าวสารได้ โดยการทำสมการเทียบมาตรฐาน ค่าประเมินได้มีความถูกต้อง

ช่วงคลื่นแสงที่เหมาะสมที่จะใช้ประเมินค่าอมิโลสทั้งในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง ข้าวสาร คือ 800-2500 nm

การทำสมการเทียบมาตรฐาน โดยใช้ Partial Least Square เพื่อพัฒนาสมการ จะมีตำแหน่งความยาวคลื่น 1215, 1360, 1705, 1725 และ 1900 nm เกี่ยวข้องกับแป้งของเมล็ด

การประเมินค่าอมิโลสในเมล็ดข้าวสารจะให้ค่าที่ถูกต้องกว่าในข้าวกล้องและข้าวเปลือก ตามลำดับ เพราะ ค่าการคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) ต่ำกว่าค่า Standard deviation

เอกสารอ้างอิง

Anonymous, 2008. Amylose. Site: http://en.wikipedia.org/wiki/Amylose,2008)

Birth, G.S., G.G. Dull, W.T. Renfore and S.J. Kays. 1985. Nondestructive spectrophotometric determination of dry matter in onions. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110: 297-303.

Dull, G.G., G.S. Birth, D.A. Smittle and R.G. Leffler. 1989. Near infrared analysis of soluble solids in intact cantaloupe. J. Food Sci. 54: 393-395.

Juliano, B.O. 1971. A simplified assay for milled rice amylose, Cereal Science Today, 16: 334-338, 340-360.

Juliano, B.O. 1972. Physicochemical properties of starch and protein in relation to grain quality and nutritional value of rice. In IRRI Rice Breeding. IRRI, Los Baños, Philippines, pp: 389-405.

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. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61 (2): 445-451.