การประเมินสารสำคัญในผลิตผลเกษตร โดยใช้เทคนิคการไม่ทำลายตัวอย่าง ด้วย Near Infrared Spectroscopy

Evaluation of Phytochemical Contents in Products by Using Near Infrared Spectroscopy

อนุวัฒน์ รัตนชัย[1] จารุรัตน์ พุ่มประเสริฐ[1] และจารุวรรณ บางแวก[1]
Anuwat Rattanachai Jarurat Pumprasert and Charuwan Bangwaek

Abstract

Rice and bean grains consist of various phytochemical compounds both primary metabolites; carbohydrate, protein, and fat, and secondary metabolites; vitamin, phenolic. This research aimed to use Near Infrared Spectroscopy (NIRS) technique for predicting aroma in roasted coffee and Gamma Aminobutyric Acid (GABA) contents in germinated brown rice, soybean and mungbean, germinated soybean and mungbean grains and flours. The aroma in roasted coffee (2010-2012) and GABA (2012-2015) in soybean and mungbean were analyzed in the laboratory at Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture. The roasted coffee, the germinated brown rice (from Rice Department), soybean (from Chang Mai Filed Crop Research Center, Lopburi Agricultural Research and Development Center), mungbean (from Chai Nat Filed Crop Research Center) and markets were randomly collected for 100, 124, 310 and 260 samples, respectively. Samples were scanned by NIRS with the reflectance mode in the wavelength region 800-2500 nm. The aroma in roasted coffee samples were analyzed by GC-Headspace. The GABA contents were analyzed by HPLC. The Partial Least Squares Regression (PLSR) model was calculated by The Unscrambler. The results showed the equation of 2-methylfuran determination in roasted coffee had correlation coefficient (R); 0.85 and standard error of prediction (SEP); 16.67 pA*s which standard deviation (SD) was lower than the GC-Headspace method; 26.91 pA*s, Equation of 2-butanone determination in roasted coffee had correlation coefficient (R); 0.83 and standard error of prediction (SEP); 32.23 pA*s which standard deviation (SD) was lower than the GC-Headspace method; 49.93 pA*s and Equation of ratio 2-methylfuran : 2-butanone determination in roasted coffee had high correlation coefficient (R); 0.91 and standard error of prediction (SEP); 0.45 pA*s

which standard deviation (SD) was lower than the GC -Headspace method; 0.77 pA*s. When the results of two methods were plotted, 2-methylfuran 2-butanone and 2-methylfuran per 2-butanone had low coefficient of determination (R^2); 0.45 0.46 and 0.62 there showed that both

[1]กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่
กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

methods were related on the different trend of aroma index. The results showed the calibration for predicting GABA contents in germinated brown rice grains and flours, the high correlations (R) = 0.93 and 0.91, SEP = 2.42 and 3.34 mg/ 100 g, SD = 7.05 and 8.23 mg/ 100 g, R^2 = 0.94 and 0.82, respectively. The calibration for predicting GABA contents in soybean grains and soybean flours, the high correlations (R) = 0.90 and 0.92, SEP = 2.80 and 1.91 mg/ 100 g, SD = 6.50 and 4.91 mg/ 100 g, R^2 = 0.82 and 0.88, respectively. The calibration for predicting GABA contents in germinated soybean grains and germinated soybean flours, the high correlations (R) = 0.90 and 0.91, SEP = 55.17 and 47.31 mg/ 100 g, SD = 129.16 and 114.22 mg/ 100 g, R^2 = 0.87 and 0.79, respectively. The calibration for predicting GABA contents in mungbean grains and mungbean flours, the high correlations (R) = 0.90 and 0.93, SEP = 2.02 and 1.75 mg/ 100 g, SD = 4.83 and 5.10 mg/ 100 g, R^2 = 0.81 and 0.87, respectively. The calibration for predicting GABA contents in germinated mungbean grains and germinated mungbean flours, the high correlations (R) = 0.90 and 0.90, SEP = 28.13 and 22.15 mg/ 100 g, SD = 65.64 and 51.72 mg/ 100 g, R^2 = 0.92 and 0.87, respectively. Therefore, the NIRs technique can predict GABA contents in germinated brown rice grains and flours, soybean and mungbean grains and flours, germinated soybean and mungbean grains and flours.

Keywords: Roasted coffee, aroma index, germinated brown rice, germinated soybean, germinated mungbean, Near Infrared Spectroscopy

บทคัดย่อ

ข้าว ถั่วต่างๆ และพืชหลายชนิด ประกอบด้วยสารพฤกษเคมี ซึ่งเป็นสารสำคัญในพืช ทั้งที่เป็นสารปฐมภูมิ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน และสารทุติยภูมิ ได้แก่ วิตามิน สารฟีนอลิก งานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาวิธีการประเมินปริมาณสารสำคัญในผลผลิตเกษตร ได้แก่ ค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบด และกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (Gamma aminobutyric acid) หรือกาบา (GABA) ในเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียว ถั่วเขียวเพาะงอก ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ที่กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ซึ่งการประเมินค่าสารให้กลิ่นในกาแฟ

คั่วบด ดำเนินการระหว่างตุลาคม 2553–กันยายน 2555 และการประเมินปริมาณสารกาบา ดำเนินการระหว่างตุลาคม 2555-กันยายน 2558 โดยรวบรวมตัวอย่างกาแฟคั่วบดจำนวน 100 ตัวอย่าง และตัวอย่างข้าวกล้องงอกจากกรมการข้าว ถั่วเหลืองจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี ถั่วเขียวจากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 124 310 และ 260 ตัวอย่าง ตามลำดับ ทำปีละพืช สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร และนำตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดด้วยเครื่อง GC-Headspace ส่วนปริมาณสารกาบา ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) หาสมการถดถอยเชิงสมการเส้นด้วยเทคนิค Partial Least Square Regression โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler พบว่าการประเมินปริมาณสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดนั้น สมการของสาร 2-methylfuran มีค่าสหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.85 ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) เท่ากับ 16.67 pA*s ซึ่งน้อยกว่าค่าความคลาดเคลื่อนที่ได้จากห้องปฏิบัติการ (Standard Deviation, SD) คือ 26.91 pA*s สมการของสาร 2-butanone มีค่าสหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.83 ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 32.23 pA*s ซึ่งกว่าค่าความคลาดเคลื่อนที่ได้จากห้องปฏิบัติการ (SD) คือ 49.93 pA*s และสมการของอัตราส่วนของสาร 2-methylfuran และ 2-butanone มีค่าสหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.91 ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 0.45 pA*s ซึ่งน้อยกว่าค่าความคลาดเคลื่อนที่ได้จากห้องปฏิบัติการ (SD) คือ 0.77 pA*s แต่เมื่อนำสมการที่สร้างขึ้นไปประเมินปริมาณสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดเปรียบเทียบกับวิธีในห้องปฏิบัติการและนำค่าสารให้กลิ่นที่ได้จากทั้ง 2 วิธีไปสร้างกราฟมาตรฐาน พบว่าความสัมพันธ์ของสาร 2-butanone 2-methylfuran และอัตราส่วนของสาร 2- methylfuran ต่อ 2-butanone มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.45 0.46 และ 0.62 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำมากทั้ง 3 สมการ นั่นแสดงว่าสมการที่ได้นั้น ยังไม่ดีมากพอที่จะนำมาใช้เป็นวิธีในการทำนายค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ส่วนสมการที่ใช้ประเมินสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอกมีค่า R = 0.93 และ 0.91 ระหว่างค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอกที่ได้จากการทำนายและค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอกที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) คือ 2.42 และ 3.34 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่าความคลาดเคลื่อน (SD) คือ 7.05 และ 8.23 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ค่า R^2 = 0.94 และ 0.82 สมการที่ใช้ประเมินสารกาบาในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ค่า R = 0.90 และ 0.92 ระหว่างค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองที่ได้จากการทำนายและค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มีค่า SEP คือ 2.80 และ 1.91 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่า SD คือ 6.50 และ 4.91 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ค่า R^2 = 0.82 และ 0.88 สมการที่ใช้ประเมินสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองเพาะงอก ค่า R = 0.90 และ 0.91 ระหว่างค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองเพาะงอกที่ได้จากการทำนายและค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองเพาะงอกที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ค่า SEP คือ 55.17 และ 47.31 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่า SD คือ 129.16 และ 114.22 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ค่า R^2 = 0.87 และ 0.79 ตามลำดับ สมการที่ใช้ประเมินสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียวมีค่า R = 0.90 และ 0.93 ระหว่างค่าปริมาณสาร GABA ใน

เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียวที่ได้จากการทำนายและค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียวที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ค่า SEP คือ 2.02 และ 1.75 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่า SD คือ 4.83 และ 5.10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ค่า R^2 = 0.81 และ 0.87 สมการที่ใช้ประเมินสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียวเพาะงอก ค่า R = 0.90 และ 0.90 ระหว่างค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียวเพาะงอกที่ได้จากการทำนายและค่าปริมาณสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียวเพาะงอกที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ค่า SEP คือ 28.13 และ 22.15 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่า SD คือ 65.64 และ 51.72 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ค่า R^2 = 0.92 และ 0.87 ตามลำดับ จากการทดลองแสดงว่าเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี สามารถนำมาใช้ในการประเมินสารกาบา ในเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองเพาะงอก เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียว เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียวเพาะงอก ได้

คำสำคัญ: กาแฟคั่ว ดัชนีวัดกลิ่น ข้าวกล้องงอก ถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียวเพาะงอก
เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

คำนำ

ข้าว ถั่วต่างๆ และพืชหลายชนิด ประกอบด้วยสารพฤกษเคมี ซึ่งเป็นสารสำคัญในพืช ทั้งที่เป็นสารปฐมภูมิ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน และสารทุติยภูมิ ได้แก่ วิตามิน สารฟีนอลิก กาแฟมีส่วนประกอบสำคัญที่เกิดจากสารประกอบหลายชนิด เช่น ฟูราน ไพราซีน คีโตน แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ แอสเทอร์ ไพโรล ไทโอเพน สารประกอบซัลเฟอร์ สารประกอบเบนซินิก ฟีนอล ไพริดีน ไทอาโซล อ๊อกซาโซล แลคโตน อัลคาล อัลคีน และกรด (Mondello, 2004) กาแฟดิบจะไม่มีกลิ่นกาแฟในตัวเอง การพัฒนาของกลิ่นกาแฟเกิดขึ้นในระหว่างการคั่วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี ซึ่งมีผลในการพัฒนากลิ่นและรสชาติของกาแฟ และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและมีขนาดของเมล็ดกาแฟที่ใหญ่ขึ้น การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เป็นผลมาจากปฏิกิริยาขององค์ประกอบต่างๆ ในเมล็ดกาแฟ เช่น ปฏิกิริยา maillard reaction strecker degradation caramelization และ ปฏิกิริยา degradation ของไตรโกนีลลีน กรดคลอโรจีนิก โปรตีน และโพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น คุณภาพของกาแฟในด้านกลิ่นรสมีองค์ประกอบของสารประกอบระเหยที่สำคัญได้แก่ ไพราซีน ฟีนอล และสเตรกเกอร์อัลดีไฮด์ โดยจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบกลิ่นคั่วเป็นกลิ่นของไพราซีน กลิ่นยางที่เกิดจากสารประกอบไทออล และพบว่า อัตราส่วนของสารประกอบ 2-methylfuran กับ 2-butanone ซึ่งเรียกว่า aroma index นั้นเป็นสิ่งที่บอกถึงความสดใหม่ของกาแฟคั่ว ซึ่งสารทั้งสองชนิดไม่สามารถทดสอบทางประสาท

สัมผัสได้ (Teranishi, 1999) สารประกอบระเหยในกาแฟมีความซับซ้อน ดังนั้นในการวิเคราะห์สารประกอบระเหยจากกาแฟจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนการสกัดซึ่งทำได้หลายวิธี ได้แก่ ใช้ตัวทำละลายโดยตรง โดยวิธี purge and trap โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ และโดยใช้ตัวทำละลายในสภาวะสุญญากาศ อย่างไรก็ตามวิธีการสกัดเหล่านี้ยุ่งยาก ใช้เวลาและอุปกรณ์ราคาแพง รวมทั้งต้องใช้สารเคมีในการสกัด จึงควรหาวิธีการประเมินสารสำคัญของกาแฟ

ส่วนข้าวกล้องงอกเป็นผลผลิตที่ผ่านกระบวนการทำให้งอก โดยแช่ข้าวเปลือกหรือข้าวกล้องในน้ำ เพาะจนเกิดราก มีความยาวประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ถึง 1 มิลลิเมตร แล้วนำไปผ่านความร้อน (นึ่ง อบ หรือต้ม) และ/หรือลดความชื้นเพื่อทำให้แห้ง (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555) ข้าวกล้องงอกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำข้าวกล้องมาแปรรูปโดยการงอก สามารถใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพเนื่องจากมีปริมาณกาบา สูง ทั้งยังป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ รักษาระดับน้ำตาลในเลือดป้องกันโรคหัวใจช่วยลดความดันโลหิต รวมทั้งป้องกันโรคความจำเสื่อม (Shoichi, 2004) สารอาหารที่เมล็ดข้าวเก็บสะสมไว้ในส่วนเนื้อเยื่อสะสมอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ ไฮโดรเลส (hydrolase) เช่น อะไมเลส (amylase) และฟอสฟอริเลส (phosphorylase) จากรูปน้ำตาลที่ละลายไม่ได้เป็นรูปน้ำตาลที่ละลายได้ ทำให้ข้าวกล้องงอกมีรสหวาน โปรตีนถูกย่อยโดยเอนไซม์โปรทิเอส (protease) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นมาใหม่ในระหว่างการงอกของเมล็ด ได้กรดอะมิโนเกิดขึ้นหลายชนิดที่สำคัญ ได้แก่ กรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (gamma aminobutyric acid) หรือ กาบา (GABA) มีบทบาทสำคัญในการเป็นสารสื่อประสาท ภายในระบบประสาทส่วนกลาง ป้องกันการเสื่อมของสมอง (พัชรี, 2549) นอกจากนี้เมล็ดธัญพืชอื่นเช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียว เป็นต้น มีปริมาณสารกาบาสูงเช่นกัน งานวิจัยของ Komatsuzaki *et al*. (2007) พบว่าข้าวที่ผ่านกระบวนการงอก มีปริมาณสารกาบาเพิ่มขึ้น 2 เท่าของข้าวที่ไม่ผ่านการงอก วัฒนา (2550) พบว่าการควบคุมพีเอช และอุณหภูมิของน้ำ รวมทั้งระยะเวลาในการแช่ข้าว สามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารของข้าวกล้องงอกได้ การเพิ่มขึ้นของปริมาณกาบา ในสภาวะที่มีการปรับ pH เนื่องจากสภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อย H^+ จะไปกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ glutamate decarboxylase ทำให้เกิดการเปลี่ยน glutamic acid ไปเป็นกาบา ทำให้มีปริมาณกาบามากขึ้น (Shelp *et al*., 1999) การเพิ่มปริมาณสารอาหารของข้าวโดยใช้กระบวนการงอก พบว่าเมื่อนำข้าวกล้องไปแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พีเอช 5.5 นาน 48 ชั่วโมง ถั่วเหลือง และถั่วเขียว แช่นาน 6 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณกาบา สูงกว่าเมล็ดที่ยังไม่ผ่านกระบวนการงอก (อิงฟ้า, 2552) และวรัมพร (2555) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของข้าวกล้อง 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวหอมนิล ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวดำที่ผ่านกระบวนการงอกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลางอก 48 ชั่วโมง พบว่า ข้าวทั้ง 3 พันธุ์ที่ผ่านกระบวนการงอกมีปริมาณกาบา เพิ่มขึ้น 1-4 เท่าเมื่อเทียบกับข้าวที่ยังไม่เพาะงอก ในการวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา ในขั้นตอนการสกัดตัวอย่างต้องใช้สารที่เป็นอันตรายและเป็นสารควบคุมการซื้อขายคือ คลอโรฟอร์ม ก่อนวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งยุ่งยากและใช้สารเคมีในการวิเคราะห์ตัวอย่าง แต่เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีเป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ใช้หลักการการสร้างสมการจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Coefficient of correction) หรือ R ระหว่างค่าการดูดซับแสงเนียร์อินฟราเรดที่ส่องผ่านวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์จำนวนหนึ่ง และค่าที่วิเคราะห์จาก

ห้องปฏิบัติการ เมื่อได้สมการที่มีค่าความสัมพันธ์สูง ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) ต่ำ ก็นำสมการนี้ใช้ทำนายค่าของตัวอย่างแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป ซึ่งข้อได้เปรียบของการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี เป็นวิธีทดสอบที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ประหยัดเวลา เช่น การปรับปรุงพันธุ์ช่วยลดเวลาในการตรวจสอบคุณภาพผลผลิต และปลอดภัย ไม่ใช้สารเคมี สามารถใช้ทดแทนการวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการได้ งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาวิธีการประเมินปริมาณสารสำคัญในผลผลิตเกษตร ได้แก่ ค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบด และกาบาในเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียว ถั่วเขียวเพาะงอก ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กาแฟคั่วบด เมล็ดข้าวกล้องงอก เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเขียว
2. เครื่อง Near Infrared Spectrophotometer จากบริษัท FOSS รุ่น 6500
3. เครื่อง GC-Headspace Sampler จากบริษัท HEWLETT PACKARD รุ่น HP 7694 E
4. เครื่องบดตัวอย่าง
5. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากบริษัท Agilent รุ่น 1260 infinity
6. อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณกาบา
   - 6.1 คอลัมน์ (Column) C18 ZORBAX Eclipse XDB-C18 4.6x150 mm 3.5 Micron
   - 6.2 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
   - 6.3 หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 50 มิลลิลิตร
   - 6.4 เครื่องเขย่าผสม (Vortex mixer)
   - 6.5 เครื่องชั่ง
   - 6.6 เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator)
7. สารเคมี
   - 7.1 เมทานอล (Methanol)
   - 7.2 แอซีโตไนไตร์ (Acetonitrile, HPLC)
   - 7.3 คลอโรฟอร์ม (Chloroform, AR)
   - 7.4 สารละลายบัฟเฟอร์ไดโซเดียมเททระบอเรต (Di-sodium tetraborate buffer)
   - 7.5 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
   - 7.6 กรดไทรฟลูออโรแอซีติก (Trifluoroacetic acid: TFA)
   - 7.7 9-ฟลูออรีนิลเมทิลคลอโรฟอร์มเมต (9-Fluorenylmethyl chloroformate)
   - 7.8 สารมาตรฐานกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (gamma aminobutyric acid, GABA)

วิธีการ

1. นำตัวอย่างกาแฟคั่วบด จำนวน 100 ตัวอย่าง เมล็ดข้าวกล้องงอกพันธุ์ต่างๆ จากกรมการข้าวและแหล่งจำหน่าย จำนวนรวม 124 ตัวอย่าง ถั่วเหลืองจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 310 ตัวอย่าง ถั่วเขียวจากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท และแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 260 ตัวอย่าง ทำปีละพืช โดยนำตัวอย่างบรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่าง นำไปสแกนด้วยครื่อง Near Infrared Spectrometer (NIRS) ที่ความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของกาแฟคั่วบด ข้าวกล้องงอก เมล็ดถั่วเหลือง และเมล็ดถั่วเขียว

2. นำเมล็ดถั่วเหลือง ถั่วเขียว ไปเพาะงอก โดยแช่เมล็ดถั่วเหลือง ถั่วเขียว ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พีเอช (pH) 5.5 นาน 6 ชั่วโมง และอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ดัดแปลงวิธีการเพาะงอก (อิงฟ้า, 2552) นำไปสแกนด้วยเครื่อง NIRS ที่ความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร ได้ spectrum ของเมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก และเมล็ดถั่วเขียวเพาะงอก

3. ตัวอย่างเมล็ดข้าวกล้องงอก เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเขียว เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก เมล็ดถั่วเขียวเพาะงอก บดเป็นแป้งฟลาวด้วยเครื่อง cyclotec แล้วนำไปบรรจุเซลล์บรรจุตัวอย่างสำหรับแป้ง สแกนด้วยเครื่อง NIRS ที่ความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร เลือกใช้ mode ประเภทการสะท้อนกลับ (transport reflectance) ได้ spectrum ของแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วเหลืองเพาะงอก และถั่วเขียวเพะงอก

4. นำตัวอย่างกาแฟคั่วบดวิเคราะห์ปริมาณค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดด้วยเครื่อง GC-Headspace ส่วนแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วเหลืองเพะงอก ถั่วเขียวเพาะงอก ไปสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา ในห้องปฏิบัติการด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ดัดแปลงตามวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา ตามมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่องข้าวกล้องงอก (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555) และหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง (absorption) กับปริมาณค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบด ปริมาณปริมาณสารกาบา ของตัวอย่างเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียวเพาะงอกและค่าความคลาดเคลื่อนของการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP)

5. สร้างสมการถดถอยเชิงสมการเส้นโดยใช้เทคนิค Partial Least Square Regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler (CAMO, Oslo, Norway) ข้อมูลถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ calibration set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่างข้อมูลปริมาณค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบด ปริมาณสารกาบา ที่วัดโดยวิธีมาตรฐานกับข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร กลุ่มที่ 2 คือ validation set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบสมการถดถอยเชิงเส้น ในการทำนายปริมาณค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบด ปริมาณสารกาบา ของตัวอย่างเมล็ดและแป้งฟลาวข้าวกล้องงอก ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วเหลืองเพาะงอก ถั่วเขียวเพาะงอก

ผลการทดลองและวิจารณ์

การประเมินค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดโดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

ค่าการดูดซับแสง (log1/R) ของกาแฟคั่วบด ค่าดูดซับแสงอยู่ที่ 1417 นาโนเมตร เป็น peak ของ aromatic ซึ่งมีความสัมพันธ์กับสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบด (Figure 1) การสร้างสมการเพื่อใช้ประเมินปริมาณสาร 2- methylfuran และ 2-butanone และอัตราส่วนของสาร 2- methylfuran และ 2-butanone โดยใช้เทคนิค NIRS ที่ช่วงคลื่น 800-2500 นาโนเมตร พบว่าสมการของสาร 2- methylfuran มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.85 ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 16.67 pA*s ซึ่งน้อยกว่าค่าความคลาดเคลื่อนที่ได้จากห้องปฏิบัติการ (SD) คือ 26.91 pA*s สมการของสาร 2-butanone มีค่า R เท่ากับ 0.83 ค่า SEP เท่ากับ 32.23 pA*s ซึ่งน้อยกว่าค่า SD คือ 49.93 pA*s และสมการของอัตราส่วนของสาร 2- methylfuran และ 2-butanone มีค่าสหสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.91 ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 0.45 pA*s ซึ่งน้อยกว่าค่าความคลาดเคลื่อนที่ได้จากห้องปฏิบัติการ (SD) คือ 0.77 pA*s (Table 1) ซึ่งเป็นค่าความสัมพันธ์ที่ค่อนข้างสูง แสดงว่าเทคนิค NIRS ที่ช่วงคลื่น 800-2500 นาโนเมตร สามารถนำมาใช้ทำการประเมินปริมาณสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดได้ แต่เมื่อทดสอบโดยการนำสมการที่สร้างขึ้นไปประเมินปริมาณสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดเปรียบเทียบกับวิธีในห้องปฏิบัติการ และนำค่าสารให้กลิ่นที่ได้จากทั้ง 2 วิธีไปสร้างกราฟมาตรฐาน พบว่าความสัมพันธ์ของสาร 2-butanone 2- methylfuran และอัตราส่วนของสาร 2- methylfuran ต่อ 2-butanone มีค่า R^2 เท่ากับ 0.45 0.46 และ 0.62 ตามลำดับ (Figure 2) ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำมากทั้ง 3 สมการ แสดงว่าสมการที่ได้ยังไม่ดีมากพอที่จะนำมาใช้ในการทำนายค่าสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบดได้อย่างถูกต้องแม่นยำ อาจเนื่องมาจากสารให้กลิ่นเป็นสารที่ระเหยได้ง่ายเมื่อสัมผัสอากาศภายนอกในระหว่างการบรรจุตัวอย่างเพื่อนำตัวอย่างไปสแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer และในระหว่างการทำงานของเครื่องไม่ได้มีการให้ความร้อนเพื่อให้กลิ่นระเหยทำให้ค่าที่ได้มีความคลาดเคลื่อนจากวิธีในห้องปฏิบัติการที่บรรจุในภาชนะปิดสนิดและระหว่างขั้นตอนมีการให้ความร้อนเพื่อระเหยกลิ่นออกมา สอดคล้องกับ ณฐมน (2549) รายงานว่า กาแฟคั่วมีการสูญเสียกลิ่นในระหว่างการเก็บรักษา อุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยในกาแฟ

การประเมินปริมาณสารกาบา ในข้าวกล้องงอกและธัญพืชงอกโดยใช้เทคนิค NIR Spectroscopy

Near Infrared Spectroscopy spectra ของเมล็ดข้าวกล้องงอก แป้งฟลาวข้าวกล้องงอก เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก แป้งฟลาวถั่วเหลือง แป้งฟลาวถั่วเหลืองเพาะงอก เมล็ดถั่วเขียว เมล็ดเขียวเพาะงอก แป้งฟลาวถั่วเขียว แป้งฟลาวถั่วเขียวเพาะงอก

ค่าการดูดซับแสง (log1/R) ของสารกาบาในเมล็ดข้าวกล้องงอก มีค่าดูดซับแสงอยู่ที่ 2132 นาโนเมตร เป็น peak ของกรดอะมิโน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับสารกาบา (Williams and Norris, 2001) การเพิ่มขึ้นของปริมาณกาบาเกิดจากเอนไซม์ glutamate decarboxylase ที่ถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการทางชีวเคมี เร่งปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนกลูตาเมทกับไฮโดรเจนไอออนได้สารกาบา (Coda *et al*., 2010) และแป้งฟลาวข้าวกล้องงอกมีค่าดูดซับแสงที่ 2294 นาโนเมตร เป็น peak ของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า Regression coefficient

plot สำหรับประเมินปริมาณสารกาบา ของเมล็ดและแป้งข้าวกล้องงอก (Figure 6) เมล็ดถั่วเหลืองและเมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก มีค่าดูดซับแสงที่ 2294 นาโนเมตร เป็น peak ของกรดอะมิโน (Figure 4) การเพิ่มขึ้นของปริมาณกาบา ในสภาวะที่มีการปรับพีเอช เนื่องจากสภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อย ไฮโดรเจนไอออนไปกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ glutamate decarboxylase ทำให้เกิดการเปลี่ยน glutamic acid เป็นกาบา ทำให้มีปริมาณกาบา มากขึ้น (Shelp *et al*., 1999) จากการทดลองของอิงฟ้า (2552) เรื่องการเปลี่ยนแปลงสารอาหารของข้าวและธัญพืชในระหว่างการงอก พบว่า พีเอช อุณหภูมิ และเวลาการแช่น้ำมีผลร่วมกันต่อปริมาณกาบา จากการทดลองพบว่าที่ พีเอช 5.5 พบว่ามีปริมาณกาบา มากที่สุด ค่าการดูดซับแสงของสารกาบา แป้งฟลาวถั่วเหลืองและแป้งฟลาวถั่วเหลืองเพาะงอก มีค่าดูดซับแสงที่ 2132 นาโนเมตร เป็น peak ของกรดอะมิโน (Figure 4) ค่า Regression coefficient plot สำหรับประเมินปริมาณสารกาบา ของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองและถั่วเหลืองเพาะงอก (Figure 7) เมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดถั่วเขียวเพาะงอก มีค่าดูดซับแสงที่ 2294 นาโนเมตร เป็น peak ของกรดอะมิโน (Figure 5) ค่าการดูดซับแสงของสารกาบา แป้งฟลาวถั่วเขียว มีค่าดูดซับแสงที่ 2294 นาโนเมตร เป็น peak ของกรดอะมิโน และแป้งฟลาวถั่วเขียวเพาะงอก มีค่าดูดซับแสงที่ 2294 นาโนเมตร เป็น peak ของกรดอะมิโน (Figure 5) Regression coefficient plot สำหรับประเมินปริมาณสารกาบา ของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียวและถั่วเขียวเพาะงอก (Figure 8)

การทำ calibration ด้วยวิธี PLS regression ของเมล็ดข้าวกล้องงอก แป้งฟลาวข้าวกล้องงอก เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก แป้งฟลาวถั่วเหลือง แป้งฟลาวถั่วเหลืองเพาะงอก เมล็ดถั่วเขียว เมล็ดเขียวเพาะงอก แป้งฟลาวถั่วเขียว แป้งฟลาวถั่วเขียวเพาะงอก

จากการทำ calibration ด้วยวิธี PLS regression โดยการใช้สเปกตรัมเริ่มต้น (original spectrum) กับค่าปริมาณสารกาบา ของเมล็ดข้าวกล้องงอก แป้งฟลาวข้าวกล้องงอก เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดถั่วเหลืองเพาะงอก แป้งฟลาวถั่วเหลือง แป้งฟลาวถั่วเหลืองเพาะงอก เมล็ดถั่วเขียว เมล็ดเขียวเพาะงอก แป้งฟลาวถั่วเขียว แป้งฟลาวถั่วเขียวเพาะงอกนั้น พบว่าสมการจาก original spectrum ของค่าปริมาณสารกาบา ที่ความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร มีค่า R เท่ากับ 0.93 0.91 0.90 0.90 0.92 0.91 0.90 0.90 0.93 และ 0.90 ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.94 0.82 0.82 0.88 0.87 0.79 0.81 0.92 0.87 และ 0.87 ตามลำดับ (Figure 9-11) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (SEP) เท่ากับ 2.42 3.34 2.80 55.17 1.91 47.31 2.02 28.13 1.75 และ 22.15 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่ม (Standard Error of Calibration, SEC) เท่ากับ 1.56 2.58 2.53 42.84 1.61 29.91 1.95 20.96 1.61 และ 17.36 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ เมื่อทำ validation ค่า R เท่ากับ 0.97 0.94 0.92 0.94 0.94 0.96 0.91 0.94 0.94 และ 0.94 ตามลำดับ มีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 10 9 7 8 9 10 3 10 5 และ 10 ปัจจัย ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อน (Standard Deviation, SD) จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเท่ากับ 7.05 8.23 6.50 129.16 4.91 114.22 4.83 65.64 5.10 และ 51.72 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ (Table 1)

สรุปผลการทดลอง

ได้สมการที่สามารถประเมินปริมาณสารให้กลิ่นในกาแฟคั่วบด คือ ปริมาณสาร 2- methylfuran 2-butanone และอัตราส่วนของสาร 2- methylfuran และ 2-butanone จากการใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy ที่ช่วงคลื่น 800-2500 นาโนเมตร แต่สมการที่ได้ไม่แม่นยำมากพอที่จะนำไปใช้เป็นวิธีประเมินได้ ต้องมีการศึกษาทดลองเพิ่มเติม และจากการทดลองนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา ในเมล็ดข้าวกล้องงอก แป้งฟลาวข้าวกล้องงอก เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง เมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเขียว ทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการได้

เอกสารอ้างอิง

ณฐมน รุ่งสร้างธรรม. 2549. การเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยในเมล็ดกาแฟอาราบิก้าคั่วระหว่างการเก็บรักษา. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศิลปากร. 85 หน้า.

พัชรี ตั้งตระกูล วารุณี วารัญญานนท์ วิภา สุโรจนะเมธากุล และลัดดา วัฒนาศิริธรรม. 2549. การใช้ประโยชน์จากคัพภะข้าวและข้าวกล้องงอกเป็นอาหารสุขภาพเพื่อเพิ่มมูลค่า. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2548.

สถาบันวิจัยพืชสวน. 2553. การจัดการความรู้เทคโนโลยีการผลิตกาแฟครบวงจร. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2555. มาตรฐานสินค้าเกษตร ข้าวกล้องงอก. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: กรุงเทพฯ. 16 หน้า.

วรัมพร วงศ์สุดิน พัชราภรณ์ รัตนธรรม ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. 2555. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสำคัญในข้าวกล้องงอก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 43 (2): 553-556.

วัฒนา วัชรอาภาไพบูลย์ ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ อรพิน เกิดชูชื่น และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. 2550. ผลของพีเอช อุณหภูมิ และเวลาการแช่ข้าวต่อคุณภาพของข้าวกล้องงอก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 38 (6): 169-172.

อิงฟ้า คำแพง อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2552. การเปลี่ยนแปลงสารอาหารของข้าวและธัญพืชในระหว่างการงอก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 40 (3): 341-344.

Coda, R., C.G. Rizzello and M. Gobbetti. 2010. Use of sourdough fermentation and psedo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA). Food Microbiology. *J*. 137: 236-245.

Komatsuzaki, N., K. Tsukahara, H. Toyoshima, T. Suzuki, N. Shimizu and T. Kimura. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. Food Engineering. *J*. 78: 556-560.

Modello, L., A. Casilli. P.Q. Tanchida, P. Dugo, R. Costa, S. Festa and G. Dugo. 2004, Comprehensive multidimensional GC for the characterization of roasted coffee beans, *J. Sep. Sci*. 27: 442-450.

Williams, P. and K. Norris. 2001. Near infrared technology in the agricultural and food industries. Inc.: St Paul, Minesota, USA, 312 p.

Teranishi, R., E.L. Wick and I. Hornstein. 1999. Flavor Chemistry. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 258 p.

Shelp, B.J., A.W. Bown and M.D. McLean. 1999. Metabolism and functions of γ-aminobutyric acid. Trends in plant science. *J*. 4: 446-452.

Shoichi, I. 2004. Marketing of value-added rice products in Japan: germinated brown rice and rice bread. Italy, February 12-13, 2004: 1-10.

Table 1. Statistical characteristics of samples used

Chemical characteristics	Sample	Method	No. of sample	Range	Mean value	SD	Unit
2-Butanone	Roasted coffee	Full cross	72	7.80-130.53	71.60	26.91	pA*s
2-Methyfuran	Roasted coffee	Full cross	80	28.80-230.34	119.03	49.93	pA*s
Ratio of 2 Methyfuran/ 2-Butanone	Roasted coffee	Full cross	65	0.23-3.07	1.55	0.77	pA*s
GABA	Germinated brown rice grains	Full cross	50	2.28-27.95	7.72	7.05	mg/100g
	Germinated brown rice flours	Full cross	59	2.25-58.17	10.92	11.94	mg/100g
	Soybean grains	Full cross	118	0.00-30.83	9.20	6.50	mg/100g
	Germinated soybean grains	Full cross	68	6.62-464.65	197.05	129.16	mg/100g
	Soybean flours	Full cross	90	0.71-18.37	9.54	4.91	mg/100g
	Germinated	Full cross	50	10.46-379.12	175.41	114.22	mg/100g

soybean flours						
Mungbean grains	Full cross	142	1.66-23.26	9.24	4.83	mg/100g
Germinated mungbean grains	Full cross	76	5.08-234.35	94.04	65.64	mg/100g
Mungbean flours	Full cross	90	1.66-23.26	7.64	5.10	mg/100g
Germinated mungbean flours	Full cross	76	6.15-234.35	102.52	51.72	mg/100g

Table 2. The PLS analysis of chemical characteristic in roasted coffee, germinated brown rice grains and flours, soybean and germinated soybean grains and flours, mungbean and germinated mungbean grains and flours

Chemical characteristics	Sample	Math methods	Wavelength region (nm)	F	R	SEC	SEP	Bias
2-Butanone	Roasted coffee	Original	800-2500	6	0.83	14.98	16.97	-0.15
2-Methyfuran	Roasted coffee	Original	800-2000	9	0.85	26.65	32.23	-0.07
Ratio of 2 Methyfuran/ 2-Butanone	Roasted coffee	Second derivative	800-2500	10	0.91	0.31	0.45	0.03

F: The number of factors used in the calibration equation R: Multiple correlation coefficients

SEC: Standard error of calibration SEP: Standard error of prediction

Bias: The average of difference between actual value and NIR value

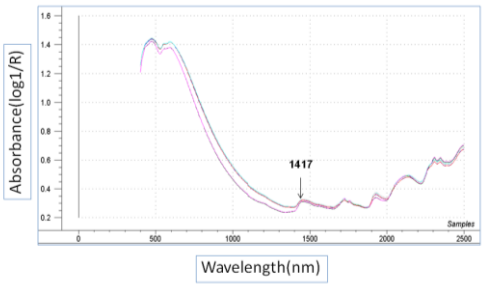


Figure 1. The original NIR spectra of roasted coffee of 800-2500 nm

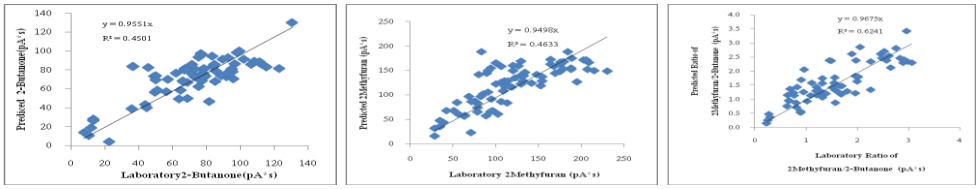
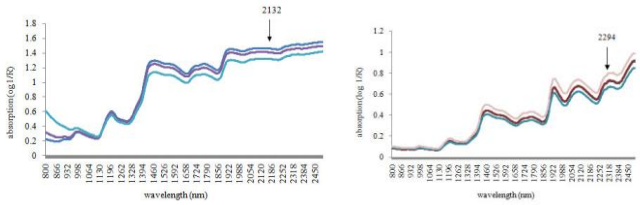
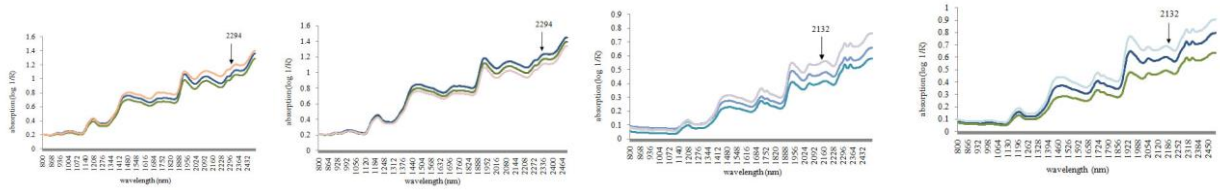


Figure 2. The correlation between laboratory analysis and predicted the amount (pA*s)



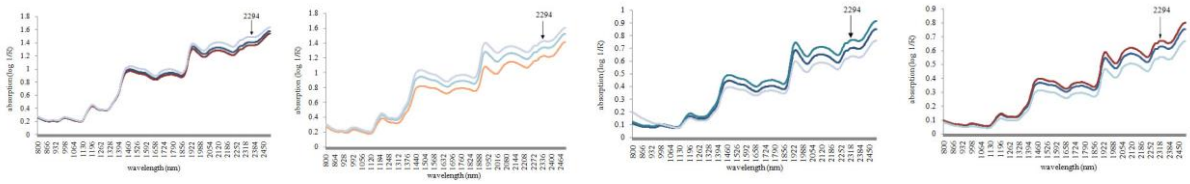
(a) (b)

Figure 3. The original NIR spectra of germinated brown rice grains (a) and flours (b) in the wavelength region 800-2500 nm



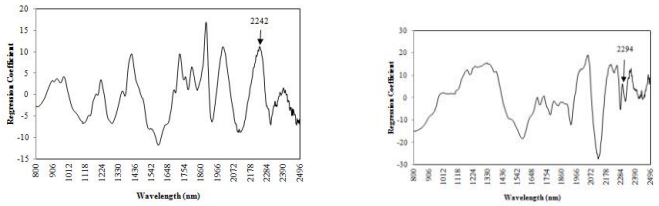
(a) (b) (c) (d)

Figure 4. The original NIR spectra of soybean grains (a), germinated soybean grains (b), soybean flours (c) and germinated soybean flours (d) in the wavelength region 800-2500 nm



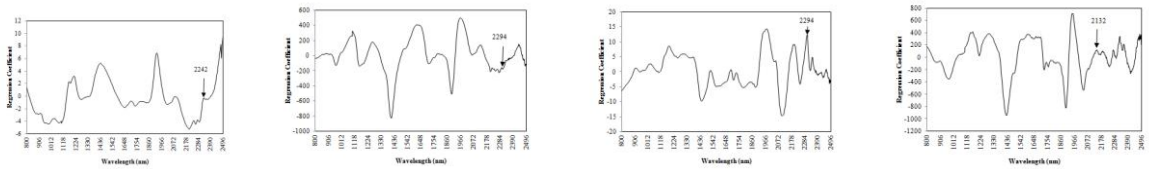
(a) (b) (c) (d)

Figure 5. The original NIR spectra of mungbean grains (a), germinated mungbean grains (b), mungbean flours (c) and germinated mungbean flours (d) in the wavelength region 800-2500 nm



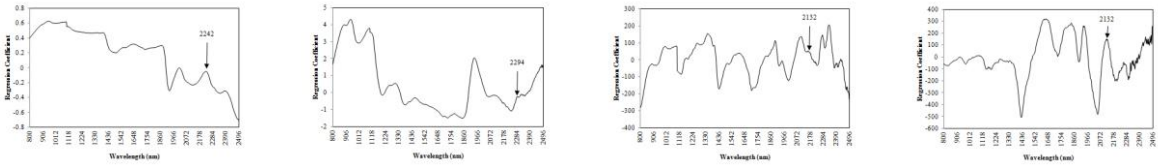
(a) (b)

Figure 6. Regression coefficient plots for evaluating GABA value in germinated brown rice grains (a) and flours (b)



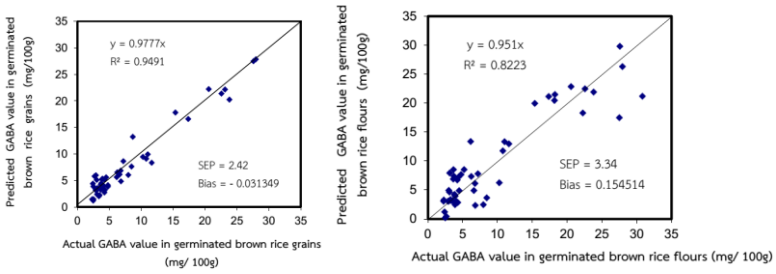
(a) (b) (c) (d)

Figure 7. Regression coefficient plots for evaluating GABA value in soybean grains (a), germinated soybean grains (b), soybean flours (c) and germinated soybean flours (d)



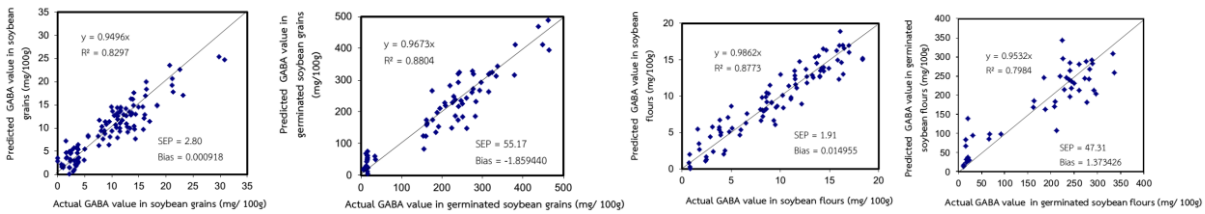
(a) (b) (c) (d)

Figure 8. Regression coefficient plots for evaluating GABA value in mungbean grains (a), germinated mungbean grains (b), mungbean flours (c) and germinated mungbean flours (d)



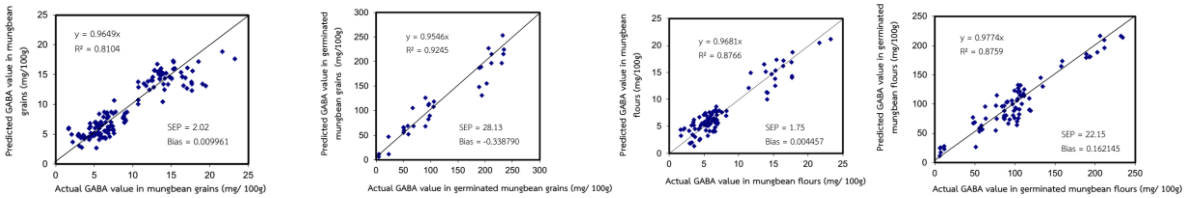
(a) (b)

Figure 9. Scatter plots of actual GABA value in germinated brown rice grains (a) and flours (b) (mg/100g) vs. NIR predicted GABA value



(a) (b) (c) (d)

Figure 10. Scatter plots of actual GABA value in soybean grains (a), germinated soybean grains (b), soybean flours (c) and germinated soybean flours (d) (mg/100g) vs. NIR predicted GABA value



(a) (b) (c) (d)

Figure 11. Scatter plots of actual GABA value in mungbean grains (a), germinated mungbean grains (b), mungbean flours (c) and germinated mungbean flours (d) (mg/100g) vs. NIR predicted GABA value