

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย

-

โครงการวิจัย

การประเมินคุณภาพเมล็ดและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

2. กิจกรรมที่ 1

การประเมินคุณภาพเมล็ดโดยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)

การประเมินปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)

Evaluation of Fatty Acid in Soybean by Using Near Infrared Spectroscopy

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง

นายอนุเทพ เวชภิบาล

สังกัด กวป.

ผู้ร่วมงาน

นางสาวจรรุวรรณ บางแวก

สังกัด กวป.

5. บทคัดย่อ

ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโภชนาการที่สำคัญสำหรับมนุษย์และสัตว์ ถั่วเหลืองมีองค์ประกอบทางเคมีภายในเมล็ดที่มีประโยชน์อย่างมากมาย อาทิเช่น กรดไขมัน น้ำมัน โปรตีนในน้ำมันถั่วเหลือง ไอโซฟลาโวน น้ำตาลซูโครส และแคโรทีนอยด์ องค์ประกอบของกรดไขมันเป็นดัชนีสำคัญในการตรวจสอบคุณภาพของน้ำมัน หากปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีในพืชน้ำมันที่ระดับเหมาะสม จะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค หากปริมาณกรดลิโนเลนิกลดลง และปริมาณกรดโอเลอิก (oleic) เพิ่มขึ้น จะช่วยเพิ่มปรับปรุงความเสถียรของน้ำมันถั่วเหลืองในระหว่างการเก็บรักษา และการแปรรูป ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะช่วยลดกระบวนการเติมไฮโดรเจน (hydrogenation) ที่จะนำไปสู่การเพิ่มไขมันทรานส์ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ วิธีการวิเคราะห์กรดไขมันแบบดั้งเดิม (ภายในห้องปฏิบัติการ) เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองแรงงาน ตั้งแต่ขั้นตอนการบด สกัดน้ำมัน ปฏิกริยาทางเคมี และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ดังนั้นการพัฒนาวิธีตรวจสอบที่คุ้มค่า และรวดเร็วจึงเป็นสิ่งจำเป็น เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (NIRS) เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง คุ้มค่า และน่าเชื่อถือ ที่มีการนำมาใช้ในการวิเคราะห์ทางเกษตรและอาหาร นำมาใช้ในการทดแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เพราะสามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็ว ไม่ใช้สารเคมี และไม่ทำลายตัวอย่าง โดยทำการสุ่มเลือกตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง จำนวน 266 ตัวอย่าง มาวัดสเปกตรัมเพื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง ด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ช่วงคลื่น 400-2500 นาโนเมตร และวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลือง จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic) กรดสเตียริก (stearic) กรดโอเลอิก (oleic) กรดลิโนเลอิก (linoleic) และกรดลิโนเลนิก (linolenic) ด้วยวิธี

GC-FID ระหว่างเดือน ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2561 ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว และแปรรูปผลิตภัณฑ์เกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ จากผลการทดลอง พบว่าในเมล็ดถั่วเหลืองจะมี ปริมาณกรดปาล์มติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก โดยเฉลี่ยเท่ากับ 11.20 3.40 22.75 54.95 และ 8.59% ตามลำดับ ในแป้งถั่วเหลืองจะมีปริมาณกรดปาล์มติก กรดสเตียริก กรด โอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิก โดยเฉลี่ยเท่ากับ 11.23 3.46 22.61 54.37 และ 8.28% ตามลำดับ นำค่าที่ได้มาสร้างสมการทำนาย ด้วยเทคนิค PLSR โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของกรด ปาล์มติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกในเมล็ดถั่วเหลือง เท่ากับ 0.92 0.83 0.91 0.85 และ 0.84 ตามลำดับ ค่า R ของกรดปาล์มติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิ โนเลนิกในแป้งถั่วเหลือง เท่ากับ 0.93 0.85 0.93 0.93 และ 0.93 ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ในการทำนายปริมาณกรดไขมันถั่วเหลืองในกลุ่ม calibration (SEC) ของกรดปาล์มติก กรดสเตียริก กรด โอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกในเมล็ดถั่วเหลือง เท่ากับ 0.40 0.19 1.30 1.10 และ 0.74% ตามลำดับ ค่า SEC ของกรดปาล์มติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกในแป้งถั่ว เหลือง เท่ากับ 0.38 0.20 1.18 0.93 และ 0.46% ตามลำดับ และ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำ ทำนายปริมาณกรดไขมันถั่วเหลืองในกลุ่ม validation (SEP) ของกรดปาล์มติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกในเมล็ดถั่วเหลือง เท่ากับ 0.47 0.23 1.59 1.30 และ 0.81% ตามลำดับ ค่า SEP ของกรดปาล์มติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกในแป้งถั่วเหลือง เท่ากับ 0.49 0.28 1.41 1.10 และ 0.53% ตามลำดับ จากผลการทดสอบ พบว่า สมการสำหรับการประเมินปริมาณ กรดไขมันในเมล็ดและแป้งถั่วเหลืองนั้น สามารถนำไปใช้ในการประเมินปริมาณกรดปาล์มติก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดลิโนเลนิกในเมล็ดและแป้งถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค NIRS ได้

Abstract

Soybean is an essential and dominant source of nutrition for humans and animals. Soybean has many useful chemical components, such as fatty acids, oil, protein, isoflavones, sucrose and carotenoids. The fatty acid composition is an important index of fat or oil quality from nutritional classification. Proper levels of unsaturated fatty acid moieties in vegetable oils have been recognized as good nutritional characteristics for health. Reduction of levels of linolenic acid and increase of oleic acid concentration improves oxidative stability of soybean oil during storage and processing. This avoids the hydrogenation process that results in increased concentrations of unhealthy *trans*-fatty acid. However, the conventional method for FA determination is labor intensive (milling, oil extraction, chemical reaction, and GC analysis). Therefore, there is a need for developing cost-effective and rapid method to determine fatty acid composition in soybean seeds. Near Infrared Spectroscopy (NIRS) is one of the most useful,

rapid, nondestructive, cost-effective and reliable multi-trait techniques in agricultural and food analysis. Soybean samples were randomized and measured the spectrum by NIRSystems 6500 in wavelength region from 400 nm to 2500 nm. Five fatty acid constituents (palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic) were determined by gas chromatograph (GC) method and conducted from October 2016 to September 2018 at Postharvest and Processing Research and Development Division, Bangkok. The average contents of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean grains were 11.20, 3.40, 22.75, 54.95 and 8.59%, respectively. Meanwhile, average contents of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean flours were 11.23, 3.46, 22.61, 54.37 and 8.29%, respectively. Partial least squares regression (PLSR) was used to develop the calibration equation for prediction. The correlation coefficient (R) of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean grains were 0.92, 0.83, 0.91, 0.85 and 0.84, respectively. Moreover, correlation coefficient (R) of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean flours were 0.93, 0.85, 0.93, 0.93 and 0.93, respectively. The standard error of calibration (SEC) of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean grain were 0.40, 0.19, 1.30, 1.10 and 0.74%, respectively. The SEC of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean flours were 0.38, 0.20, 1.18, 0.93 and 0.46%, respectively. The standard error of prediction (SEP) of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean grain were 0.47, 0.23, 1.59, 1.30 and 0.81%, respectively. The SEP of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean flours were 0.49, 0.28, 1.41, 1.10 and 0.53%, respectively. The results showed that the calibration equations from obtained experiment had high values of R and low values of SEC and SEP which were indicating a good correlation between reference values and NIRS predicted values. Therefore, these results suggest that NIRS could be applied for assessment of 5 fatty acid constituents (palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic) in soybean grains and flours.

6. คำนำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่นำมาผลิตเป็นน้ำมันมากถึง 56% ของโลกเมื่อเปรียบเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ และยังเป็นพืชนิยมบริโภคเป็นอันดับสองของโลก ซึ่งถั่วเหลืองเป็นพืชที่อุดมไปด้วยแหล่งโภชนาการที่สำคัญสำหรับมนุษย์และสัตว์ จากการศึกษาของ Birt *et al.*(2004) พบว่าการบริโภคถั่วเหลืองจะช่วยลดอัตราการเป็นมะเร็ง ไชมันในเลือด โรคกระดูกพรุน และโรคหัวใจ นอกจากนี้พบว่าถั่วเหลืองยังเป็นแหล่งของแร่ธาตุ วิตามิน กรดฟอริก และปริมาณสารไอโซฟลาโวนสูงช่วยป้องกันลดอัตราเสี่ยงการเป็นมะเร็งและมีประโยชน์สูงต่อสุขภาพร่างกาย รวมทั้งถั่วเหลืองอุดมไปด้วยโปรตีนที่มีคุณภาพ เหมาะสำหรับการผลิตเป็นอาหารเพื่อการบริโภคและอาหารสัตว์ กล่าวคือ คุณสมบัติด้านกรดไขมันที่มีปริมาณมากเหมาะสำหรับนำไปประกอบอาหารและพืชพลังงานทดแทน ปริมาณกรดไฟติกที่ต่ำจะช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยฟอสฟอรัสในอาหารสัตว์และจะช่วยลดมลพิษจากฟอสฟอรัสในสิ่งแวดล้อม อีกทั้งถั่วเหลืองได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมอย่างมากมาย อาทิเช่น วัสดุก่อสร้าง พลาสติก หมึกพิมพ์ สีระบาย เครื่องสำอาง และเภสัชกรรม

น้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดไขมันที่สำคัญ 5 ชนิด ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic) กรดสเตียริก (stearic) กรดโอเลอิก (oleic) กรดลิโนเลอิก (linoleic) และกรดลิโนเลนิก (linolenic) หากปริมาณกรดลิโนเลนิก (linolenic acid) ลดลง และปริมาณกรดโอเลอิก (oleic) เพิ่มขึ้นจะช่วยเพิ่มปรับปรุงความเสถียรของน้ำมันถั่วเหลืองในระหว่างการเก็บรักษา และการแปรรูป ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะช่วยลดกระบวนการเติมไฮโดรเจน (hydrogenation) ที่จะนำไปสู่การเพิ่มไขมันทรานส์ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยพบว่ากรดไขมันทรานส์ให้ผลร้ายเช่นเดียวกับกรดไขมันอิ่มตัว เนื่องจากกรดไขมันทรานส์ไปส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ cholesterol acyltransferase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในการเมตาบอลิซึมของคอเลสเตอรอล ทำให้ระดับคอเลสเตอรอลรวม (total cholesterol) และคอเลสเตอรอลตัวไม่ดี (LDL-cholesterol) เพิ่มขึ้น ซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ ในทางตรงข้าม หากถั่วเหลืองสายพันธุ์ใดที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระชนิดอิ่มตัวมาก เช่น กรดปาล์มิติก และสเตียริก จะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตเป็นเนยเทียม (margarine) และเนยขาว (shortening) องค์ประกอบของกรดไขมันจึงเป็นดัชนีสำคัญในการตรวจสอบคุณภาพของน้ำมัน

วิธีการวิเคราะห์กรดไขมันแบบดั้งเดิม (ภายในห้องปฏิบัติการ) เป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายที่สูง ยุ่งยาก ซับซ้อน สิ้นเปลืองแรงงาน และใช้เวลานาน ตั้งแต่ขั้นตอนการบด สกัดน้ำมัน การทำปฏิกิริยาทางเคมี และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC(Gas Chromatography) วิเคราะห์ดังกล่าวจำเป็นต้องทำลายตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง ปังจ้ยดังกล่าวเป็นอุปสรรคในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ ดังนั้นการพัฒนาวิธีตรวจสอบที่คุ้มค่า และรวดเร็วจึงเป็นสิ่งจำเป็น

การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Near Infrared Spectroscopy (NIRS) เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง คุ้มค่า และน่าเชื่อถือ จึงเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่ใช้หลักการสร้างสมการเพื่อการประเมินระหว่างค่า spectra ที่ได้จากการให้แสง Near Infrared ผ่านวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์ และค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ นำสมการที่ได้มาทำนายค่าของวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์ต่อไป NIRS เริ่มใช้ครั้งแรกในการวัดปริมาณความชื้นของถั่วเหลือง (Ben-Gera & Norris, 1968) จากนั้นจึงนำมาใช้วัดปริมาณโปรตีน น้ำมัน

และแป้งสตาร์ชในข้าวฟ่าง พืชตระกูลถั่ว และธัญพืช เทคนิค NIRS ถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดคุณภาพน้ำมันถั่วเหลืองหลายๆ ด้าน อาทิเช่น การตรวจวัดคุณภาพน้ำมันที่ใช้ทอดอาหาร ค่า peroxide น้ำมันถั่วเหลืองที่เกิดการออกซิไดซ์ (Yildiz *et al.*, 2003) และปริมาณการเป็น *cis* และ *trans* ของน้ำมันถั่วเหลืองที่เกิดการเติมไฮโดรเจน (hydrogenation) Sato *et al.*(2002) วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเหลืองด้วย NIRS ที่ค่าการดูดกลืนแสง 1708 nm พบว่า ค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ของกรดลิโนเลอิกและโอเลอิก เป็น -0.85 และ 0.88 ตามลำดับ ในขณะที่ส่วน cotyledons ของถั่วเหลืองพบว่าค่าสหสัมพันธ์ (correlation) กรดไขมันชนิดปาล์มิติก (palmitic) กรดสเตียริก (stearic) กรดโอเลอิก (oleic) และกรดลิโนเลอิก เป็น 0.93, 0.89, 0.95 และ 0.93 ตามลำดับ NIRS สามารถวิเคราะห์กลุ่มประชากรที่ใหญ่ในปริมาณตัวอย่างที่น้อยในรูปแบบของเมล็ด ซึ่งช่วยลดความคลาดเคลื่อนการวิเคราะห์ได้ดี ดังนั้น วิธี NIRS จึงเป็นเครื่องมือที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่ทำลายตัวอย่าง สะดวก รวดเร็ว แม่นยำ มีประสิทธิภาพ และมีค่าใช้จ่ายต่ำ เหมาะสมอย่างยิ่งในการเพิ่มความก้าวหน้าในการปรับปรุงคุณสมบัติต่าง ๆ ที่สำคัญของเมล็ดถั่วเหลือง

ดังนั้นการศึกษาวิธีการประเมินกรดไขมันไม่อิ่มตัวเหลืองโดยเทคนิค NIRS เปรียบเทียบกับวิธีในห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นวิธีการเดิมนั้น จะทำให้ได้เทคโนโลยีการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่างๆ จำนวน 266 ตัวอย่าง
2. เครื่องบดตัวอย่าง
3. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC) รุ่น Nexis GC-2030 ยี่ห้อ Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น
4. เครื่อง Near Infrared Spectroscopy รุ่น NIRSystems 6500 ยี่ห้อ FOSS ประเทศเดนมาร์ก
5. โปรแกรม The Unscrambler version 9.7 ประเทศนอร์เวย์

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างถั่วเหลือง จากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และแหล่งจำหน่ายถั่วเหลือง จำนวนไม่น้อยกว่า 266 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 บรรจุตัวอย่างแบ่งในเซลล์บรรจุตัวอย่างชนิด standard cup นำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystems 6500 ด้วยชุดอุปกรณ์ transportation module ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร โดยวัดการสะท้อนกลับของแสง (reflectance) จะได้ข้อมูลเชิงแสง (optical data) ในรูปของสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่าง เมื่อได้ข้อมูลของทุกตัวอย่างให้ตรวจสอบค่าออกกลุ่ม (outlier) โดยการสังเกตด้วยตา หากมีสเปกตรัมผิดปกติให้คัดออก ซึ่งเส้นสเปกตรัมผิดปกตินี้ อาจเกิดจากการสแกนที่ผิดพลาด ส่วนที่ 2 วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลือง จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กรดปาล์มิติก

(palmitic) กรดสเตียริก (stearic) กรดโอเลอิก (oleic) กรดลิโนเลอิก (linoleic) และกรดลิโนเลนิก (linolenic) ด้วยวิธี GC-FID

2. นำเส้นเปคตรัมต้นแบบ (original spectra) ที่ได้ ไปสร้างสมการทำนายด้วยเทคนิค Partial Least Squares Regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม The Unscrambler® version 9.7 (Camo, Oslo, Norway)

3. ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation, R) สูง ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration, SEC) ต่ำ และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction, SEP) ต่ำ

4. ตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้น โดยนำสมการไปประเมินปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับค่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

5. นำสมการประเมินปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างถั่วเหลือง

เวลา ตุลาคม 2559 – กันยายน 2561

สถานที่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

คุณสมบัติของตัวอย่างในการทำสมการ

ตัวอย่างถั่วเหลืองที่อยู่ในรูปเมล็ด (grain) และแป้งฟลาว (flour) ที่นำมาใช้ในการทำสมการเพื่อประเมินปริมาณกรดไขมัน จะมีปริมาณกรดปาล์มติก (palmitic) กรดสเตียริก (stearic) กรดโอเลอิก (oleic) กรดลิโนเลอิก (linoleic) และกรดลิโนเลนิก (linolenic) ระดับต่าง ๆ พบว่า ในเมล็ดถั่วเหลืองจะมีปริมาณกรดปาล์มติก ในช่วง 9.70-13.39% กรดสเตียริก อยู่ในช่วง 2.42-4.17% กรดโอเลอิก อยู่ในช่วง 16.49-33.20% กรดลิโนเลอิก อยู่ในช่วง 48.39-58.48% และ กรดลิโนเลนิก อยู่ในช่วง 5.18-12.23.05% (Table 1) ในส่วนของแป้งฟลาวถั่วเหลืองจะมีปริมาณกรดปาล์มติก ในช่วง 9.43-13.70% กรดสเตียริก อยู่ในช่วง 2.42-4.63% กรดโอเลอิก อยู่ในช่วง 16.49-33.20% กรดลิโนเลอิก อยู่ในช่วง 45.95-58.48% และ กรดลิโนเลนิก อยู่ในช่วง 5.48-11.56.05% (Table 2)

จากการวัดค่าการดูดซับแสงของกรดไขมันในย่าน NIR (800-2500 นาโนเมตร) โดยใช้เครื่อง NIR spectrometer พบว่า เมล็ด และแป้งฟลาวถั่วเหลืองสามารถดูดซับแสงสูงที่ความยาวคลื่น 1208 1496 1724 1765 2310 และ 2338 nm ซึ่งเป็นค่าการดูดซับแสงของโมเลกุลกรดไขมัน (Williams and Norris, 2001) (Figure 1 และ 2)

Table 1 The characteristics of samples used in model construction for palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean grain analyzed by GC-FID.

| Items | Palmitic | Stearic | Oleic | Linoleic | Linolenic |
|---------|------------|-----------|-------------|-------------|------------|
| Min-Max | 9.70-13.39 | 2.42-4.17 | 16.49-33.20 | 48.39-58.48 | 5.18-12.23 |
| Mean | 11.20 | 3.40 | 22.75 | 54.95 | 8.59 |
| SD | 1.03 | 0.34 | 3.21 | 2.08 | 1.35 |
| Unit | % | % | % | % | % |

Table 2 The characteristics of samples used in model construction for palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean flour analyzed by GC-FID.

| Items | Palmitic | Stearic | Oleic | Linoleic | Linolenic |
|---------|------------|-----------|-------------|-------------|------------|
| Min-Max | 9.43-13.70 | 2.42-4.63 | 16.49-33.20 | 45.95-58.48 | 5.48-11.56 |
| Mean | 11.23 | 3.46 | 22.61 | 54.37 | 8.28 |
| SD | 1.06 | 0.39 | 3.21 | 2.49 | 1.23 |
| Unit | % | % | % | % | % |

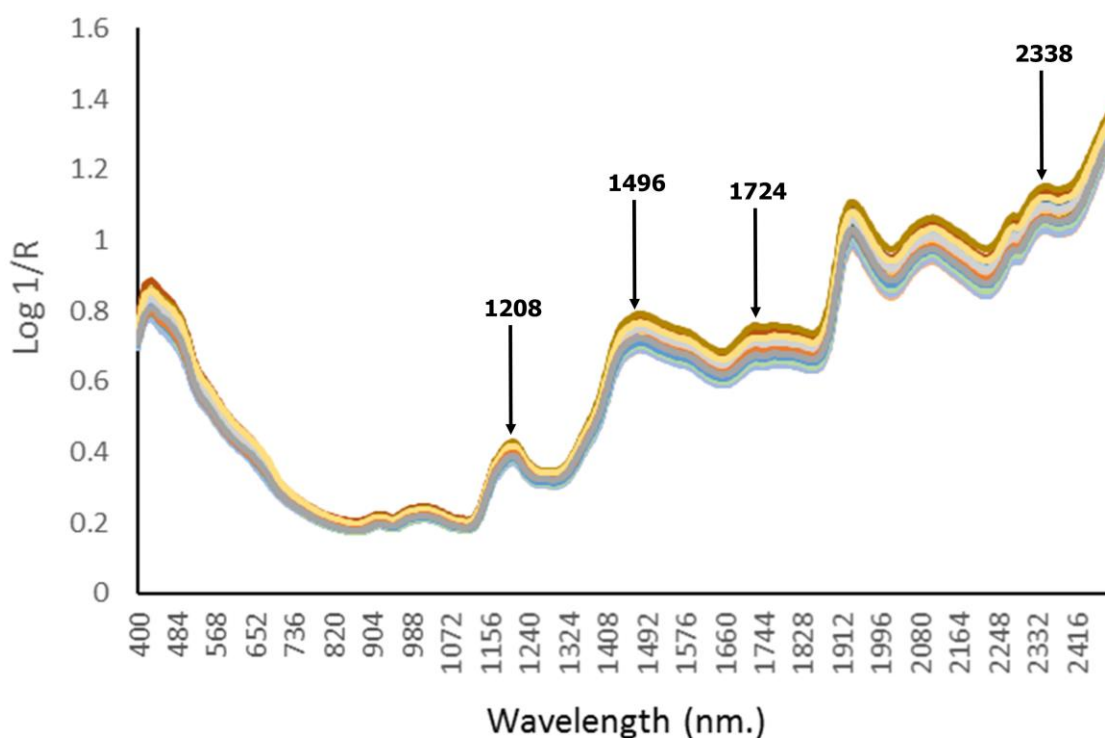


Figure 1 The original NIR spectra of soybean grain samples in wavelength region 400 – 2500 nm.

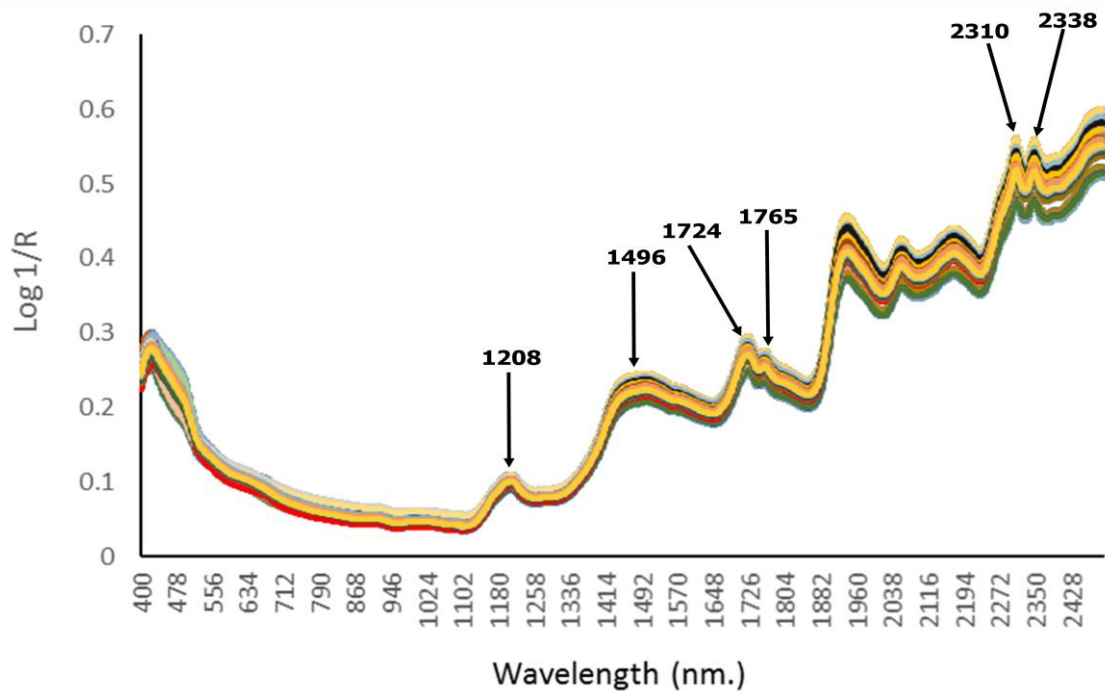


Figure 2 The original NIR spectra of soybean flour samples in wavelength region 400 – 2500 nm.

การสร้างสมการประเมินปริมาณกรดไขมันด้วยเทคนิค NIRS

จากการนำเทคนิค NIRS มาใช้เพื่อสร้างสมการจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลืองทั้งในรูปแบบเมล็ด และแป้งฟลาวในห้องปฏิบัติการ และค่าการดูดซับแสงในย่าน NIR (400-2500 nm) พบว่า ค่าจากสมการที่ได้มีค่าสหสัมพันธ์ (R) สูง โดยมีปัจจัยหลายอย่างมาเกี่ยวข้อง (Table 3 และ 4) พบว่า

เมล็ดถั่วเหลือง

กรดปาล์มติก มีค่า R เท่ากับ 0.92 ในขณะที่ค่า SEC เท่ากับ 0.40% ค่า SEP เท่ากับ 0.47% ค่า Bias เท่ากับ -0.001% ค่า F จำนวน 14 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 1.03% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 206 ตัวอย่าง

กรดสเตียริก มีค่า R เท่ากับ 0.83 ค่า SEC เท่ากับ 0.19% ค่า SEP เท่ากับ 0.23% ค่า Bias เท่ากับ 0.0002% ค่า F จำนวน 15 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 0.34% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 201 ตัวอย่าง

กรดโอเลอิก มีค่า R เท่ากับ 0.91 ค่า SEC เท่ากับ 1.30% ค่า SEP เท่ากับ 1.59% ค่า Bias เท่ากับ 0.008% ค่า F จำนวน 19 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 3.21% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 211 ตัวอย่าง

กรดลิโนเลอิก มีค่า R เท่ากับ 0.85 ค่า SEC เท่ากับ 1.10% ค่า SEP เท่ากับ 1.30% ค่า Bias เท่ากับ 0.003% ค่า F จำนวน 19 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 2.089% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 266 ตัวอย่าง

กรดลิโนเลนิก มีค่า R เท่ากับ 0.84 ค่า SEC เท่ากับ 0.74% ค่า SEP เท่ากับ 0.81% ค่า Bias เท่ากับ 0.010% ค่า F จำนวน 12 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 1.35% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 244 ตัวอย่าง (Table 3)

แป้งฟลาวัวเหลือง

กรดปาล์มิติก มีค่า R เท่ากับ 0.93 ในขณะที่ค่า SEC เท่ากับ 0.38% ค่า SEP เท่ากับ 0.49% ค่า Bias เท่ากับ -0.003% ค่า F จำนวน 20 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 1.06% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 216 ตัวอย่าง

กรดสเตียริก มีค่า R เท่ากับ 0.85 ค่า SEC เท่ากับ 0.20% ค่า SEP เท่ากับ 0.28% ค่า Bias เท่ากับ 0.001% ค่า F จำนวน 20 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 0.39% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 196 ตัวอย่าง

กรดโอเลอิก มีค่า R เท่ากับ 0.93 ค่า SEC เท่ากับ 1.18% ค่า SEP เท่ากับ 1.41% ค่า Bias เท่ากับ 0.003% ค่า F จำนวน 18 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 3.21% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 228 ตัวอย่าง

กรดลิโนเลอิก มีค่า R เท่ากับ 0.93 ค่า SEC เท่ากับ 0.93% ค่า SEP เท่ากับ 1.10% ค่า Bias เท่ากับ -0.004% ค่า F จำนวน 18 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 2.49% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 223 ตัวอย่าง

กรดลิโนเลนิก มีค่า R เท่ากับ 0.93 ค่า SEC เท่ากับ 0.46% ค่า SEP เท่ากับ 0.53% ค่า Bias เท่ากับ 0.003% ค่า F จำนวน 14 ปัจจัย ค่า SD เท่ากับ 1.23% และตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเท่ากับ 208 ตัวอย่าง (Table 4)

Table 3 Results of PLSR calibration for contents of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean grain.

| Fatty Acid Compositions | Wavelength (nm) | R | SEC (%) | SEP (%) | Bias (%) | F | SD (%) | N (%) |
|-------------------------|-----------------|------|---------|---------|----------|----|--------|-------|
| Palmitic | 400-2500 | 0.92 | 0.40 | 0.47 | -0.001 | 14 | 1.03 | 206 |
| Stearic | 400-2500 | 0.83 | 0.19 | 0.23 | 0.0002 | 15 | 0.34 | 201 |
| Oleic | 400-2500 | 0.91 | 1.30 | 1.59 | 0.008 | 19 | 3.21 | 211 |
| Linoleic | 400-2500 | 0.85 | 1.10 | 1.30 | 0.003 | 19 | 2.08 | 266 |
| Linolenic | 400-2500 | 0.84 | 0.74 | 0.81 | 0.010 | 12 | 1.35 | 244 |

R: Coefficient of correlation, SEC: Standard error of calibration, SEP: Stand error of prediction; Bias: The average difference between actual value and NIRS value, F: The number of factors used in the calibration equation, SD: Standard deviation of average, N: Number of samples

Table 4 Results of PLSR calibration for contents of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic in soybean flour.

| Fatty Acid Compositions | Wavelength (nm) | R | SEC (%) | SEP (%) | Bias (%) | F | SD (%) | N |
|-------------------------|-----------------|------|---------|---------|----------|----|--------|-----|
| Palmitic | 400-2500 | 0.93 | 0.38 | 0.49 | -0.003 | 20 | 1.06 | 217 |
| Stearic | 400-2500 | 0.85 | 0.20 | 0.28 | 0.001 | 20 | 0.39 | 196 |
| Oleic | 400-2500 | 0.93 | 1.18 | 1.41 | 0.003 | 18 | 3.21 | 228 |
| Linoleic | 400-2500 | 0.93 | 0.93 | 1.10 | -0.004 | 18 | 2.49 | 223 |
| Linolenic | 400-2500 | 0.93 | 0.46 | 0.53 | 0.003 | 14 | 1.23 | 208 |

R: Coefficient of correlation, SEC: Standard error of calibration, SEP: Stand error of prediction; Bias: The average difference between actual value and NIRS value, F: The number of factors used in the calibration equation, SD: Standard deviation of average, N: Number of samples

ความถูกต้องในการใช้สมการประเมิน

เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของข้อมูล 2 ชุดที่มีต่อกัน พบว่าสมการที่ได้ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง และให้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่ม calibration และกลุ่ม validation ต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ตรงระหว่างค่าอ้างอิง และค่าที่ทำนายได้ มีความผิดพลาด (Standard error of prediction; SEP) ต่ำกว่าค่าการวิเคราะห์ (SD) (Figure 2 และ 3) ทำให้สามารถนำสมการทั้ง 10 สมการ ไปใช้ในการประเมินปริมาณกรดไขมันจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic) กรดสเตียริก (stearic) กรดโอเลอิก (oleic) กรดลิโนเลอิก (linoleic) และกรดลิโนเลนิก (linolenic) ในรูปแบบของเมล็ด และแบ่งฟลาวัวเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีความหลากหลายมากขึ้นเพื่อเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ของเมล็ด และแบ่งฟลาวัวให้ใกล้เคียง 1 เพื่อเป็นการพัฒนาสมการให้สามารถนำไปใช้ในการประเมินปริมาณกรดไขมันได้อย่างแม่นยำยิ่งขึ้น

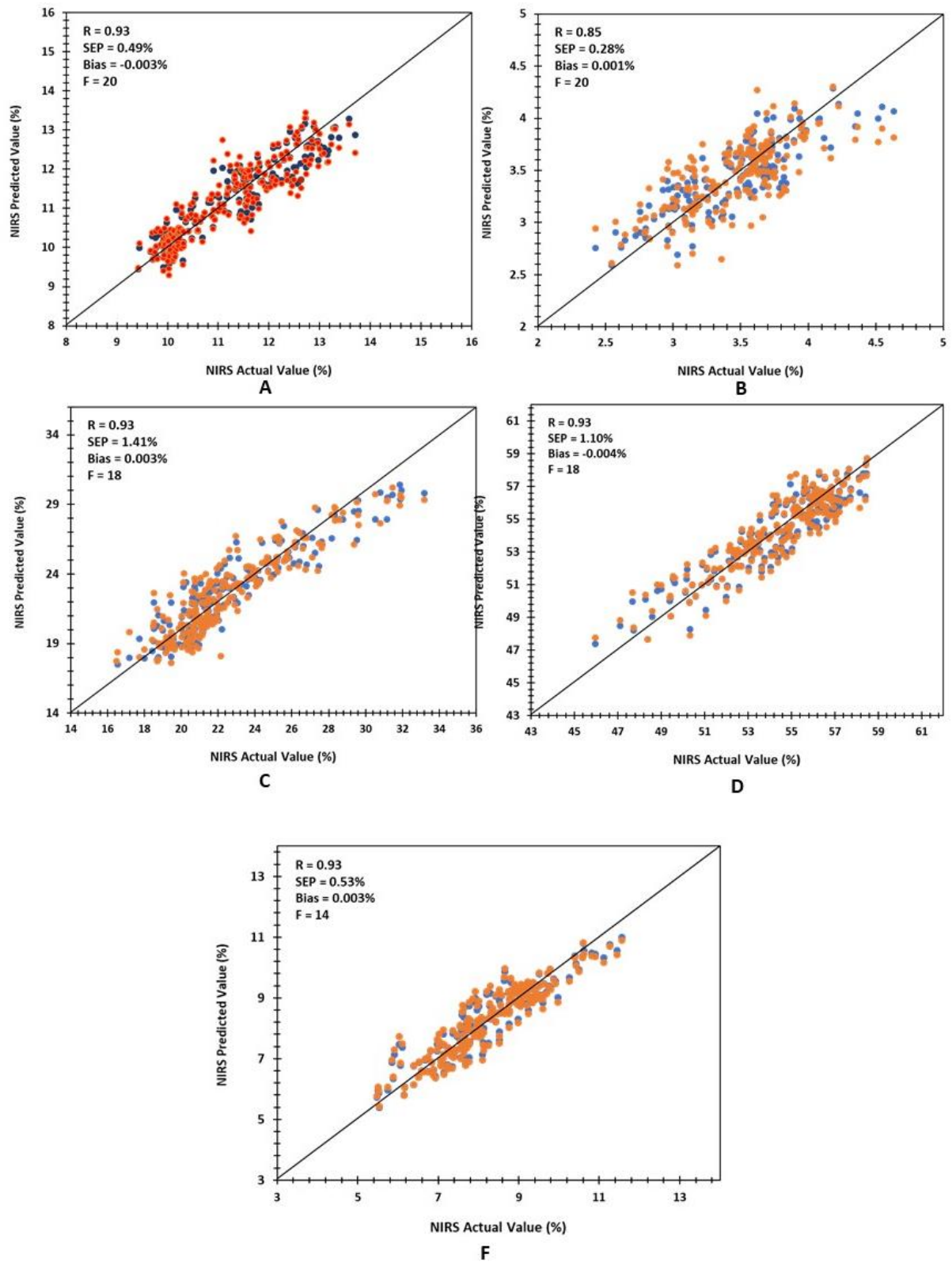


Figure 3 The relationship between palmitic (A), stearic (B), oleic (C), linoleic (D) and linolenic (E) values (%) and each predicted content (%) in soybean grains.

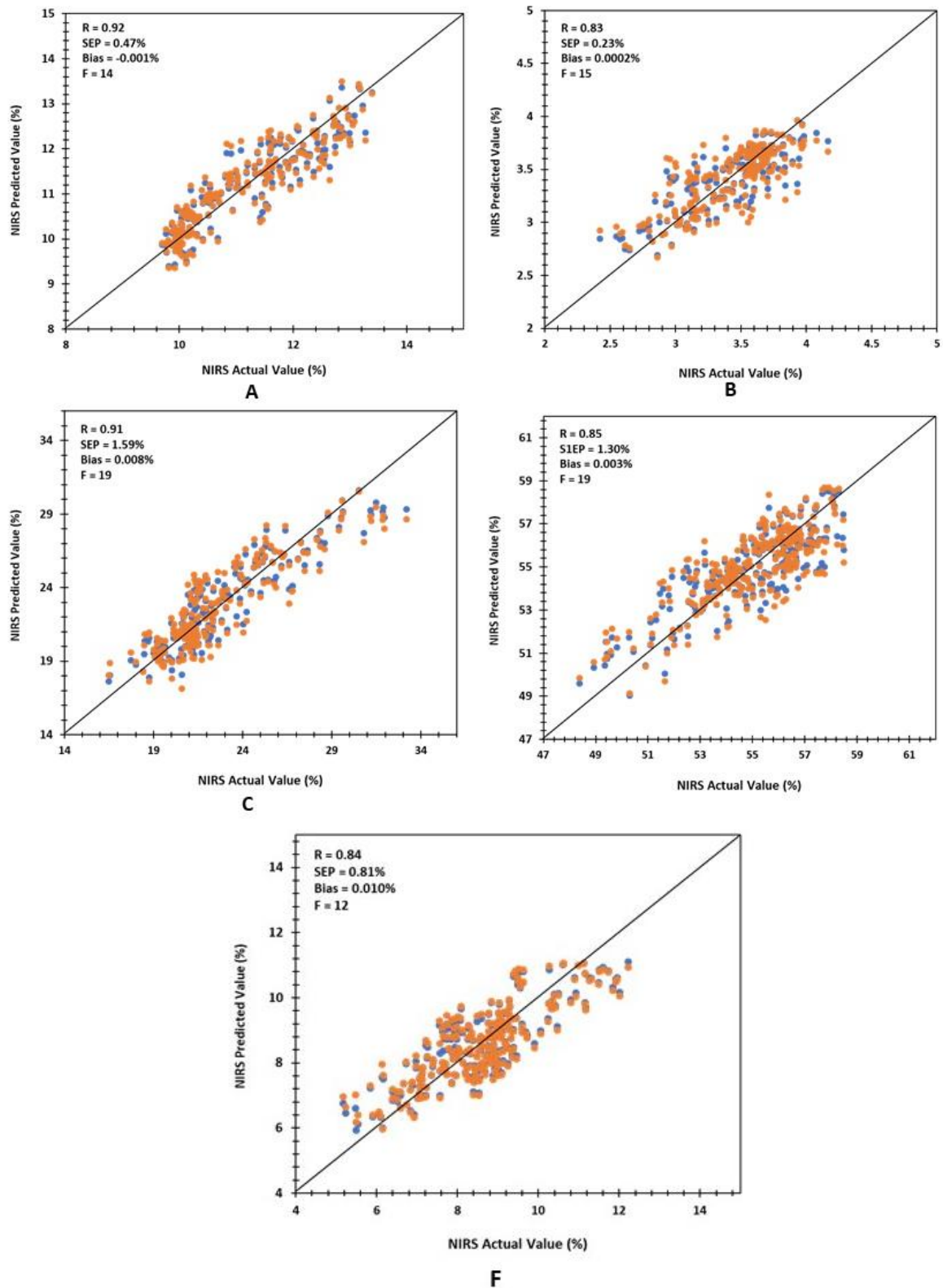


Figure 4 The relationship between palmitic (A), stearic (B), oleic (C), linoleic (D) and linolenic (D) values (%) and each predicted content (%) in soybean flour.

ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (regression coefficient)

เมล็ดถั่วเหลือง

ค่า regression coefficient ของสมการการวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุคูณ (Multiple Linear Regression Analysis) ด้วยโปรแกรม The Unscrambler พบว่าคุณภาพของเมล็ด และแป้งถั่วเหลืองที่นำมาวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันมีปัจจัยหลายชนิดที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดปาล์มติกในเมล็ดถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 14 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1410 1724 1752 2070 2316 และ 2380 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 5.A)

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดสเตียริกในเมล็ดถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 15 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1410 1732 1765 2140 และ 2308 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 5.B)

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดโอเลอิกในเมล็ดถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 19 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1215 1374 1496 1724 2066 และ 2316 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 5.C)

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดลิโนเลอิกในเมล็ดถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 19 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1496 1765 และ 2140 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 5.D)

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดลิโนเลนิกในเมล็ดถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 12 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1765 2308 และ 2380 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 5.E)

แป้งพลาถั่วเหลือง

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดปาล์มติกในแป้งถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 20 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1208 1496 1696 2070 และ 2126 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 6.A)

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดสเตียริกในแป้งถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 20 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1208 1410 1496 1752 และ 2338 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 6.B)

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดโอเลอิกในแป้งถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 18 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1208 1410 1724 1752 1822 2126 2300 และ 2338 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 6.C)

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดลิโนเลอิกในแป้งถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 18 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1374 1724 1752 2140 และ 2338 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 6.D)

สมการที่ใช้ประเมินปริมาณกรดลิโนเลนิกในแป้งถั่วเหลืองจะมีปัจจัยที่มีผลอยู่ 14 ปัจจัย พบว่ามีค่า regression coefficient ที่ความยาวคลื่น 1496 1698 1752 2140 2308 และ 2338 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับกรดไขมัน (Figure 6.E)

Osborne (1993) รายงานว่า ความยาวคลื่น 1208 1215 1374 1410 1496 1698 1724 1732 1752 1765 1822 2066 2070 2126 2140 2300 2310 2316 2338 และ 2380 นาโนเมตร จะเกี่ยวข้องกับกรดไขมันและน้ำมัน

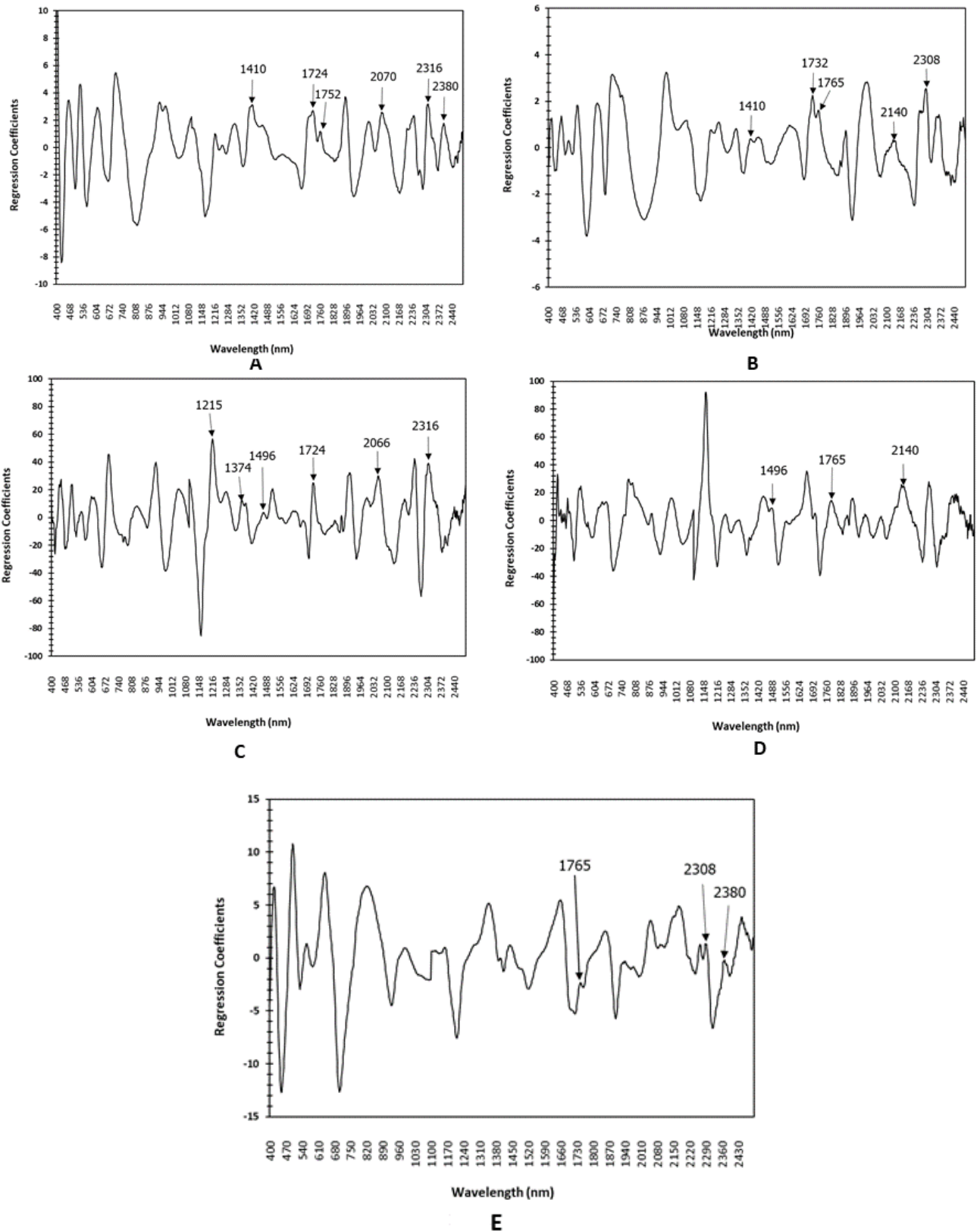


Figure 5 Regression coefficient plots to evaluate contents of palmitic (A), stearic (B), oleic (C), linoleic (D) and linoleic (E) in soybean grain.

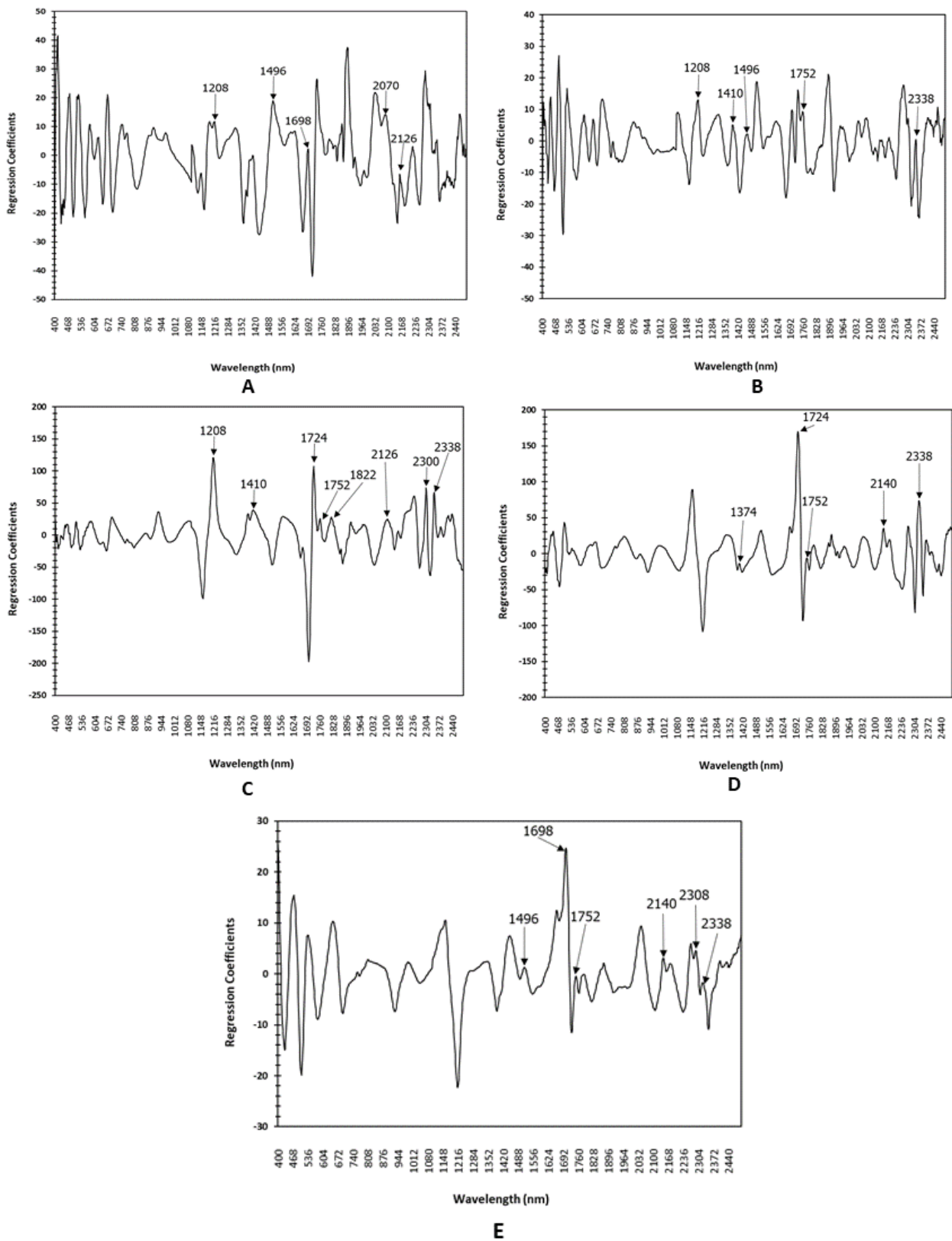


Figure 6 Regression coefficient plots to evaluate contents of palmitic (A), stearic (B), oleic (C), inoleic (D) and linoleic (E) in soybean flour.

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีสามารถใช้ประเมินปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลืองที่อยู่ในรูปเมล็ด (grain) และแป้งฟลาว (flour) ในเมล็ดถั่วเหลืองสามารถประเมินปริมาณกรดพาล์มิติก ในช่วง 9.70-13.39% กรดสเตียริก ในช่วง 2.42-4.17% กรดโอเลอิก ในช่วง 16.49-33.20% กรดลิโนเลอิก ในช่วง 48.39-58.48% และ กรดลิโนเลนิก ในช่วง 5.18-12.23.05% ในส่วนของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ประเมินปริมาณกรดพาล์มิติก ในช่วง 9.43-13.70% กรดสเตียริก ในช่วง 2.42-4.63% กรดโอเลอิก ในช่วง 16.49-33.20% กรดลิโนเลอิก ในช่วง 45.95-58.48% และ กรดลิโนเลนิก ในช่วง 5.48-11.56.05% ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และให้ค่าการประเมินที่ถูกต้องในระยะเวลาสั้น โดยความยาวคลื่นที่ใช้ในเทคนิค NIRS เพื่อการประเมินปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลือง อยู่ใน ช่วง 400 - 2500 นาโนเมตร ใช้หลักการสะท้อนแสง (reflection)

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นักวิชาการ และผู้ประกอบการ สามารถนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีไปประเมินปริมาณกรดไขมันในถั่วเหลือง ซึ่งเป็นเทคนิคที่ไม่ใช้สารเคมี ไม่ทำลาย และใช้ระยะเวลาสั้นในการประเมินตัวอย่าง

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่ ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัย ลุล่วงไปด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

- Ben-Gera, J. and K.H. Norris. 1968. Determination of moisture content in soybean by direct spectrophotometry. *Israel Journal of Agricultural Research*.18: 125–132.
- Birt, D.F., S. Hendrick and D.L. Alekel. 2004. Soybean and the prevention of chronic human disease, *In: Soybeans: Improvement, Production, and Uses*, Boerma, H.R. and J.E. Specht. (Ed.), pp. 1047-1117, ASA-CSSA-SSSA, ISBN 0-89118-154-7, Madison, WI, USA.
- Sato, T., M. Takahashi and R. Matsunaga. 2002. Use of NIR spectroscopy for estimation of FA composition of soy flour. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Vol.79 : 535-537.
- Yildiz, G., R.L. Wehling and S.L. Cuppett. Comparison of four analytical methods for the determination of peroxide value in oxidized soybean oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Vol.80 : 103-107.

Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hondle. 1993. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. Longman Singapore Publisher (Pte) Ltd, Singapore. 227 pp.

Williams, P. and K. Norris. 2001. Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. Inc.: St Paul, Minesota. 312 p.

13. ภาคผนวก

-