



รายงานการวิจัย เรื่อง

การใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการวิเคราะห์แอนโทไซยานินส์และ
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอก
Using Near-Infrared Spectroscopy Analysis for Determination of Anthocyanins and
Antioxidant Capacity of Germinated Brown Rice

เอกพันธ์ แก้วมณีชัย

Eakaphan Keowmaneechai

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557-2558
ภายใต้ชุดโครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนาวิธีตรวจสอบอย่างรวดเร็วเพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทาง
ชีวภาพในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

ปีที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2559

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย และให้คำปรึกษาในระหว่างการดำเนินโครงการ และขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีอาหารที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยให้กับโครงการวิจัย

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

แบบ สว.ว 5

ชื่อโครงการ การใช้เทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการวิเคราะห์แอนโทไซยานินส์
และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอก

ชื่อผู้วิจัย ผศ.ดร.เอกพันธ์ แก้วมณีชัย (หัวหน้าโครงการ)
คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2557-2558

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ พ.ศ. 2559

ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์

สาขาวิชา เกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มวิชา อุตสาหกรรมเกษตร

บทคัดย่อ

ข้าวกล้องงอกเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่สำคัญของประเทศไทย การพัฒนาวิธีการตรวจสอบปริมาณแอนโทไซยานินส์ ปริมาณสารฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ให้มีความถูกต้อง แม่นยำและรวดเร็ว จะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมข้าวกล้องงอก จึงได้ทำการศึกษาเพื่อประยุกต์ใช้เทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIR) กับการวิเคราะห์ทางเคมีดังกล่าวของกล้องงอก โดยเมื่อใช้เทคนิค NIR ที่ช่วงคลื่น $12480-4000\text{ cm}^{-1}$ และทำการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิคคณิตศาสตร์ร่วมกับการสร้างสมการด้วยเทคนิค partial least squares regression (PLS) พบว่าสมการทำนายปริมาณของแอนโทไซยานินส์ ปริมาณสารฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay) ของเมล็ดข้าวกล้องงอก เมื่อใช้เมล็ดข้าวกล้องงอกทั้งเมล็ดมีค่า coefficients of determination (R^2) เท่ากับ 0.5360, 0.8761, 0.5805 และ 0.7155 ตามลำดับ เมื่อใช้เมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดพบว่ามีค่า R^2 เท่ากับ 0.8037, 0.8306, 0.5783 และ 0.5957 และเมื่อใช้สารสกัดข้าวกล้องงอกมีค่า R^2 เท่ากับ 0.3603, 0.4645, 0.6882 และ 0.4242 ตามลำดับ ดังนั้น NIR จึงอาจนำไปใช้ในการคัดเลือกหรือประมาณค่าเบื้องต้นของปริมาณแอนโทไซยานินส์ ปริมาณสารฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกได้

คำสำคัญ : แอนโทไซยานินส์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก
สเปกโตรสโคปี อินฟราเรดย่านใกล้

Project	Using Near-Infrared Spectroscopy Analysis for Determination of Anthocyanins and Antioxidant Capacity of Germinated Brown Rice
Researcher	Assistant Prof. Eakaphan Keowmaneechai (Project Leader) Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University
Research Grants	Fiscal Budget of Year 2012 Research and Development Institute, Silpakorn University
Year of completion	2016
Type of research	Applied Research
Subjects	Agriculture and Biology, Agro-Industry

Abstract

Germinated brown rice is an important agricultural product of Thailand. Development of accurate, precise and rapid analysis methods for determining anthocyanin content, phenolic compound content and antioxidant activity is beneficial to germinated brown rice industry. Therefore, application of near-infrared spectroscopy (NIR) technique for the chemical determination was investigated in this study. The NIR was performed by using the wavenumber region of 12480-4000 cm^{-1} . Pretreated NIR spectra were used to develop the calibration equations by partial least squares regression (PLS). Results showed that the calibration equations for predicting anthocyanin content, phenolic compound content and antioxidant activity (analyzed by DPPH assay and ABTS assay) of germinated brown rice gave coefficients of determination (R^2) of 0.5360, 0.8761, 0.5805 and 0.7155, respectively, when using the whole rice grains. In addition, the R^2 values were 0.8037, 0.8306, 0.5783 and 0.5957, respectively, when using the ground rice grain. Finally, the R^2 values were 0.3603, 0.4645, 0.6882 and 0.4242, respectively, when using the grain extract. Therefore, NIR could be used for initial screening or estimation of anthocyanin content, phenolic compound content and antioxidant activity in germinated brown rice.

Key words: anthocyanins, antioxidant capacity, brown rice, germinated brown rice, near-infrared spectroscopy

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 สมมติฐานและกรอบแนวความคิด	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ข้าว	4
2.2 ข้าวกล้องงอก	5
2.2.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในข้าวกล้องงอก	6
2.2.2 การผลิตข้าวกล้องงอกอย่างง่ายด้วยตนเอง	9
2.3 แอนโทไซยานินส์ (Anthocyanins)	12
2.4 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)	14
2.5 แอนติออกซิเดนต์ (antioxidant) หรือสารต้านอนุมูลอิสระ	16
2.5.1 ประเภทสารต้านอนุมูลอิสระ	16
2.5.2 กลไกในการทำงานของสารแอนติออกซิเดนต์	17
2.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน	17
2.6 NIR spectroscopy (near infrared spectroscopy)	18
2.6.1 การแบ่งช่วงแสงเนียร์อินฟราเรด	19
2.6.2 กระบวนการดูดกลืนแสงเนียร์อินฟราเรด	20
2.6.3 หลักการทำงานของเครื่องเนียร์อินฟราเรด	23
2.6.4 อันตรกิริยา (interaction) ของตัวอย่างกับแสง NIR	24
2.6.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ด้วยเนียร์อินฟราเรด	25

2.7 การแปลงข้อมูลสเปกตรัม (Spectral pretreatment)	27
2.8 การเลือกวิธีการแปลงข้อมูลสเปกตรัม NIR	29
2.9 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis)	30
2.9.1. การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน	30
2.9.2 การทดสอบสมการ	32
2.10 ข้อได้เปรียบของเทคนิคเนียร์อินฟราเรด	33
2.11 การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS กับเมล็ดข้าวสาร	34
2.12 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเมล็ดข้าวสารในระหว่าง การเก็บรักษาที่มีผลต่อสเปกตรัม	36
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	37
3.1 วัตถุประสงค์	37
3.2 สารเคมี	37
3.3 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี	37
3.3.1 อุปกรณ์ในเตรียมตัวอย่างและการสกัดสาร	37
3.3.2 อุปกรณ์ในวิเคราะห์สารแอนโทไซยานินส์	38
3.3.3 อุปกรณ์ในวิเคราะห์สารฟีนอลิก	38
3.3.4 อุปกรณ์ในวิเคราะห์สารแอนติออกซิแดนส์	38
3.4 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์สารทาง NIR	38
3.5 แผนและทิศทางการดำเนินงาน	39
3.6 วิธีการทดลองทางเคมี	39
3.6.1 การสกัดสาร	39
3.6.2 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด โดยวิธี pH-differential	40
3.6.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu	41
3.6.4 การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้าน ออกซิเดชันโดย DPPH assay	41

3.6.5 การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดย ABTS assay	42
3.7 การศึกษาการใช้เทคนิค NIR ในการวิเคราะห์หองค์ประกอบ	42
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	43
4.1 การศึกษาการใช้ NIR ในการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวกล้องงอก	43
4.1.1 ค่าทางเคมีของข้าวกล้องงอก	43
4.1.2 ค่าการดูดกลืนแสง NIR ของเมล็ดข้าวกล้องงอก	43
4.1.3 สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอก	44
4.1.4 สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอก	47
4.1.5 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในเมล็ดข้าวกล้องงอก	49
4.1.6 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในเมล็ดข้าวกล้องงอก	52
4.2 การศึกษาการใช้ NIR ในการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	54
4.2.1 ค่าทางเคมีของข้าวกล้องงอก	54
4.2.2 ค่าการดูดกลืนแสง NIR ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	55
4.2.3 สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	56
4.2.4 สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	58
4.2.5 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	60
สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	62
4.3 การศึกษาการใช้ NIR ในการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดข้าวกล้องงอก	64

4.3.1 ค่าทางเคมีของข้าวกล้องงอก	64
4.3.2 ค่าการดูดกลืนแสง NIR ของสารสกัดข้าวกล้องงอก	65
4.3.3 สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้องงอก	66
4.3.4 สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้องงอก	69
4.3.5 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก	71
4.3.6 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก	73
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	75
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	82
ภาคผนวก ก ประวัติตัวอย่างข้าวกล้องงอก	83
ภาคผนวก ข ข้อมูลทางเคมี	91
ภาคผนวก ค ข้อมูลสเปกตรัม NIR	95

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การแบ่งช่วงของรังสีอินฟราเรด	18
2	การแบ่งช่วงแสงเนียร์อินฟราเรดตามระดับพลังงาน	19
3	การแบ่งช่วงรังสีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีตามชนิดแถบอินฟราเรดย่านใกล้	19
4	ชนิดแถบในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด	22
5	ตำแหน่งพีกในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรดที่เด่นชัด	22
6	ตำแหน่งพีกในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรดที่สัมพันธ์กับองค์ประกอบต่างๆของผลิตภัณฑ์	23
7	ค่าทางเคมีและค่าสถิติเบื้องต้นที่ใช้เปรียบเทียบกับ NIR ของเมล็ดข้าวกล้องงอก	44
8	ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอก	46
9	ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอก	48
10	ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay เมล็ดข้าวกล้องงอก	50
11	ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay เมล็ดข้าวกล้องงอก	52
12	ค่าทางเคมีและค่าสถิติเบื้องต้นที่ใช้เปรียบเทียบกับ NIR ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	54
13	ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	56
14	ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	58
15	ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	60

16	ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วย ABTS sassy ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ	62
17	ค่าทางเคมีและค่าสถิติเบื้องต้นที่ใช้เปรียบเทียบกับ NIR ของสารสกัด ข้าวกล้องงอก	64
18	ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดสาร สกัดข้าวกล้องงอก	66
19	ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดข้าว กล้องงอก	69
20	ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วย DPPH assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก	71
21	ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วย ABTS assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก	73
22	ข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีเขียว	83
23	ข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีแดง	85
24	ข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีดำ	86
25	รูปภาพตัวอย่างข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีเขียว	87
26	รูปภาพตัวอย่างข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีแดง	89
27	รูปภาพตัวอย่างข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีดำ	90

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะโครงสร้างของเมล็ดข้าว	5
2	กลไกการเกิด GABA	7
3	สูตรโครงสร้างของแกมมา-โอโรซานอล	9
4	แช่ข้าวกล้องในน้ำ	10
5	ข้าวกล้องเตรียมการบ่ม	10
6	การบ่มข้าวกล้องในภาชนะปิดสนิท	10
7	ล้างข้าวกล้องระหว่างการบ่ม	11
8	เมล็ดข้าวกล้องงอก	11
9	ปริมาณสารกาบา (GABA) ของข้าวกล้องงอกจากขั้นตอน การผลิตช่วงต่างๆ	11
10	สูตรโครงสร้างของแอนโทไซยานินส์	12
11	การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินส์ ตามค่าความเป็นกรด-ด่าง	14
12	โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก	15
13	ตำแหน่งของรังสีเนียร์อินฟราเรดในสเปกตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	19
14	การเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนในแถบโอเวอร์โทนอันดับต่างๆ	21
15	หลักการทำงานของเครื่อง NIR	25
16	แผนภาพการดำเนินงาน	40
17	สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ของเมล็ดข้าวกล้องงอกจำนวน 100 ตัวอย่าง	45
18	ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของ สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอก ที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-4246.8 cm^{-1}	47
19	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอนโทไซยานินส์ที่วัดค่าจริงกับค่า แอนโทไซยานินส์ที่ทำนายได้ของเมล็ดข้าวกล้องงอก	47

- 20 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสง
ของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกในเมล็ดข้าวกล้องอกที่ผ่านการ
ปรับแก้ด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น $9403.8-7498.4 \text{ cm}^{-1}$
และ $6102.8-4246.8 \text{ cm}^{-1}$ 49
- 21 ความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่ทำนายได้
ของเมล็ดข้าวกล้องอก 49
- 22 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของ
สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH
assay ในข้าวกล้องอกที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วง
ความยาวคลื่น $9403.8-6098.1 \text{ cm}^{-1}$ 51
- 23 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของ
สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องอก
ที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น $9403.8-$
 7498.4 cm^{-1} และ $4601.6-4246.8 \text{ cm}^{-1}$ 51
- 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูล
อิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้
ของเมล็ดข้าวกล้องอก 53
- 23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูล
อิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้
ของเมล็ดข้าวกล้องอก 53
- 25 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ของข้าวกล้องอกที่ผ่านการบด
จำนวน 100 ตัวอย่าง 55
- 26 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของ
สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องอกที่
ผ่านการบดโดยมีการปรับแก้ด้วย เทคนิค 2D ที่ช่วงความยาวคลื่น
 $9403.8-4246.8 \text{ cm}^{-1}$ 57
- 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอนโทไซยานินส์ที่วัดค่าจริงกับ
ค่าแอนโทไซยานินส์ที่ทำนายได้ของข้าวกล้องอกที่ผ่านการบด 57

- 28 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของ
สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ
โดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค 1D+MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น
9403.8-5446.4 cm^{-1} และ 424.2-4246.9 cm^{-1} 59
- 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่
ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ 59
- 30 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของ
สมการทำนายความ สามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH
assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบโดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค
2D ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-7498.4 cm^{-1} และ 4424.2-4246.8
 cm^{-1} 61
- 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูล
อิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPH
assay ที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ 61
- 32 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของ
สมการทำนายความ สามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS
assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบโดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค
1D+SNV ที่ช่วงความยาวคลื่น 7502.2-6098.2 cm^{-1} และ 5450.2-
4597.8 cm^{-1} 63
- 33 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูล
อิสระด้วย ABTS assay ที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้าน
อนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ 64
- 34 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ของเมล็ดข้าวกล้องงอกจำนวน 100
ตัวอย่าง 66
- 35 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของ
สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้อง
งอกโดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค SNV ที่ช่วงความยาวคลื่น 7502.2-
6800.1 cm^{-1} 68
- 36 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอนโทไซยานินส์ที่วัดค่าจริงกับ
ค่าแอนโทไซยานินส์ที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอก 68

37	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอนโธไซยานินส์ที่วัดค่าจริงกับค่าแอนโธไซยานินส์ที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอก	70
38	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอก	70
39	ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอกเทคนิค 1D ที่ช่วงความยาวคลื่น 7502.2-4597.8 cm^{-1}	72
40	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอก	72
41	ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอกเทคนิค 1D ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-7498.4 cm^{-1} และ 5450.2-4246.8 cm^{-1}	74
42	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอก	74
43	การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณ Anthocyanins (mg/100g) ของข้าวกล้องงอก 100 ตัวอย่าง	91
44	การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณ Phenolics (mg/gSample) ของข้าวกล้องงอก 100 ตัวอย่าง	91
45	การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณ Antioxidant (mgTE/gSample) ของข้าวกล้องงอก 100 ตัวอย่าง	92
46	การเปรียบเทียบปริมาณปริมาณ Phenolic (mgGAC/g) กับปริมาณ Anthocyanins (mg/100g)	92
47	กราฟมาตรฐาน Gallic acid	93
48	กราฟมาตรฐาน trolox ของ DPPH assay	93
49	กราฟมาตรฐาน trolox ของ ABTS assay	94

110	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV สารสกัดข้าวกล็องงอก	125
111	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC สารสกัดข้าวกล็องงอก	125
112	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D สารสกัดข้าวกล็องงอก	126
113	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D สารสกัดข้าวกล็องงอก	126
114	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV สารสกัดข้าวกล็องงอก	127
115	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC สารสกัดข้าวกล็องงอก	127
116	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV สารสกัดข้าวกล็องงอก	128
117	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC สารสกัดข้าวกล็องงอก	128
118	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D สารสกัดข้าวกล็องงอก	129
119	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D สารสกัดข้าวกล็องงอก	129
120	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV สารสกัดข้าวกล็องงอก	130
121	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC สารสกัดข้าวกล็องงอก	130

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ข้าวเป็นอาหารหลักของชาวเอเชียแปซิฟิกและไทย (Liang et al, 2008) ประเทศในทวีปอเมริกาเหนือและใต้ และประเทศในทวีปแอฟริกา มาเป็นเวลานาน ข้าวมีส่วนประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ในการเป็นอาหารให้พลังงานของโลก ข้าวเป็นแหล่งที่ดีของไรโบฟลาวิน และไนอาซิน และยังเป็นแหล่งที่ดีของสารอาหารรอง (micronutrients) ประชากรเอเชียประมาณ 3 พันล้านคนบริโภคข้าวเพื่อให้พลังงานเป็นสัดส่วน 30-60% ของปริมาณพลังงานทั้งหมดที่ได้รับ (Khush, 1997) ร่องรอยเก่าแก่ที่สุดเท่าที่ค้นพบเกี่ยวกับการปลูกข้าวเป็นหลักฐานจากภาชนะที่มีรอยประทับของเมล็ดข้าวและแกลบจากแหล่งโบราณคดีในนงกทาจังหวัดนครราชสีมา โดยพบว่ามีอายุไม่ต่ำกว่า 4,000 ปี (Khush, 1997) ประเทศในเอเชียปลูกและบริโภคข้าวประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของโลก (Khush, 1997; Hossain and Narciso, 2004) พื้นที่ปลูกข้าวของโลกคิดเป็นประมาณ 11% ของพื้นที่เพาะปลูกทั่วโลก ซึ่งน้อยกว่าพื้นที่ปลูกข้าวสาลีเล็กน้อย แต่ผลผลิตข้าวสาลีส่วนใหญ่ใช้เป็นอาหารสัตว์ ซึ่งต่างจากข้าวที่ส่วนใหญ่บริโภคโดยมนุษย์ (Khush, 1997)

ประชากรประเทศไทยประมาณ 64.24 ล้านคนบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก โดยข้าวที่ปลูกในประเทศไทยนั้นใช้บริโภคประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ และ ส่งออกประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ โดยประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกข้าวอันดับของโลกมาเป็นเวลานานกว่า 1 ทศวรรษ ซึ่งสร้างรายได้ประมาณ 1,700 ถึง 1,900 ล้านดอลลาร์สหรัฐอเมริกาต่อปี (Vanichanont, 2004) ถึงแม้ว่าคนไทยปลูก บริโภคข้าว และใช้ประโยชน์จากเกือบทุกส่วนของข้าวรวมทั้งส่งออกข้าวมาเป็นเวลานาน แต่ในเรื่องของการพัฒนาผลิตภัณฑ์ และนวัตกรรมใหม่ๆ ยังคงมีไม่มาก ซึ่งทำให้ประเทศขาดรายได้จากสินค้าเพิ่มมูลค่า (value-added goods) ข้าวกล้องงอก (germinated brown rice) หรือ GABA rice เป็นข้าวนี้ที่อุดมไปด้วยคุณประโยชน์ที่มากกว่าข้าวปกติหลากหลาย เช่น มีปริมาณ GABA เพิ่มขึ้น 10 เท่า สารประกอบประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น 1.2 เท่า เส้นใยอาหาร วิตามินอี เพิ่มขึ้น 4 เท่า วิตามินบี 1 และบี 6 เพิ่มขึ้น 3 เท่า มีแกมมา-โอไรซานอลเพิ่มขึ้น 1.3 เท่า ทำให้มูลค่าของข้าวกล้องงอกและสินค้าจากข้าวกล้องงอกมีราคาเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกษตรกรผู้ผลิตผู้จำหน่าย อีกทั้งผู้บริโภคยังได้รับสุขภาพที่ดี

โดยทั่วไปเมล็ดข้าวกล้องงอกตามท้องตลาดต่างๆจะมีรวงควัตถุแอนโทไซยานินส์สะสมอยู่ที่เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้องงอก เช่น ข้าวเจ้าหอมนิลงอก ข้าวก่างอก ข้าวเหนียวดำงอก รวมทั้งข้าวพันธุ์พื้นเมืองต่างๆ ซึ่งแต่ละชนิดที่จำหน่ายตามท้องตลาดต่างมีกระบวนการผลิตที่แตกต่างกันออกไป แอนโทไซยานินส์และสารประกอบอื่นๆในเมล็ดข้าวกล้องงอกเหล่านี้มีคุณประโยชน์เชิง

สุขภาพ เช่น มีความสามารถในการต่อต้านการเกิดออกซิเดชัน ต่อต้านอนุมูลอิสระ ต่อต้านมะเร็ง ลดการบวมในส่วนของเนื้อเยื่อ ลดความเปราะของเส้นเลือดและการเกิดโรคหัวใจ ดังนั้นข้าวกล้องที่มีรงควัตถุแอนโทไซยานินส์จึงจัดได้ว่ามีศักยภาพสูงในการพัฒนาเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งในปัจจุบันได้มีการจำหน่ายและการบริโภคข้าวกล้องงอกกันอย่างแพร่หลายมาก ทั้งข้าวกล้องงอกในรูปแบบปกติ และข้าวกล้องงอกที่ผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว เช่น แป้งข้าวกล้องงอก เครื่องดื่มข้าวกล้องงอก

การวัดปริมาณแอนโทไซยานินส์ ฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอก (germinated brown rice) และผลิตภัณฑ์จากข้าวกล้องงอก เป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นอย่างมากในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ การเลือกซื้อของผู้บริโภค การทำการตลาดของผู้ผลิต การเปรียบเทียบและการจัดระดับชั้นคุณภาพของข้าวกล้องงอกและผลิตภัณฑ์จากข้าวกล้องงอกที่ได้จากผู้ผลิตต่างๆ รวมทั้งการระบุข้อมูลบนฉลากทางโภชนาการ

โดยปกติการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินส์ ปริมาณฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอกและผลิตภัณฑ์จากข้าวกล้องงอก จะใช้วิธีการทางเคมี ซึ่งมีข้อเสียอยู่หลายประการ คือ การใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างพร้อมกันได้ มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูง และใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมจำนวนมาก ดังนั้นหากสามารถหาวิธีวิเคราะห์ที่มีความรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ ไม่ใช้สารเคมีอันตรายและค่าใช้จ่ายต่ำลงก็จะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมข้าวกล้องงอกและผลิตภัณฑ์จากข้าวกล้องงอก

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near-Infrared Spectroscopy, NIR) เป็นเทคนิควิเคราะห์อาหารที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นวิธีวิเคราะห์แบบไม่ทำลาย (non-destructive analysis technique) ให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ รวดเร็วในการวิเคราะห์ไม่ใช้สารเคมี มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างต่ำ สามารถวิเคราะห์ได้หลายองค์ประกอบ หลายตัวอย่างได้ในครั้งเดียว และเป็นเทคนิคที่มีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินส์ ปริมาณฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอกและผลิตภัณฑ์จากข้าวกล้องงอกได้เป็นอย่างดี ซึ่งในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีเป้าหมายที่จะประเมินความเป็นไปได้ของการใช้เทคนิค NIR ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินส์ ปริมาณฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอกซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เบื้องต้น

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการใช้เทคนิค NIR ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด (total anthocyanins) สารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant capacity) ข้าวกล้องงอก (germinated brown rice)

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด สารฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอกด้วยเทคนิค NIR โดยวิเคราะห์ข้าวกล้องงอกที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดซึ่งผลิตจากข้าวพันธุ์ต่างกันและใช้กระบวนการผลิตที่ต่างกัน

1.4 สมมติฐานและกรอบแนวคิด (Conceptual Framework) ของการศึกษา

แอนโทไซยานินส์ ฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอก มีธาตุ C, H, และ O เป็นองค์ประกอบ ทำให้นำจะสามารถวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมด ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ด้วยเทคนิค NIR spectroscopy

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าว

ข้าว เป็นธัญพืชที่อยู่ในวงศ์หญ้า (Gramineae) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* L. เป็นแหล่งอาหารหลักที่ให้คาร์โบไฮเดรตที่สำคัญในการดำรงชีวิตของประชากรโลก เมล็ดข้าวประกอบด้วยส่วนเปลือกที่ห่อหุ้มอยู่ภายนอก ถัดเข้าไปจะเป็นชั้นราที่เป็นเยื่อบางๆ ห่อหุ้มเมล็ดข้าวขาว และจมูกข้าว หรือคัพภะไว้ (embryo) ตัวเมล็ดข้าวขาวที่เราบริโภคกันประกอบขึ้นจากโมเลกุลของแป้งที่อัดกันแน่นเป็นอนุภาคเล็กๆ นับล้านล้านอนุภาค และส่วนของคัพภะจะอยู่ปลายเมล็ด เป็นส่วนของต้นอ่อนที่จะเจริญงอกงามเป็นต้นข้าวต่อไป ซึ่งเป็นแหล่งของเอนไซม์ วิตามิน และแร่ธาตุ ที่เกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ด

เมล็ดข้าว (rice grain) เป็นผลชนิดคาริออปซิส (caryopsis) เนื่องจากส่วนที่เป็นเมล็ดเดี่ยว (single seed) ติดแน่นอยู่กับผนังของรังไข่ หรือเยื่อหุ้มผล (pericarp) เมล็ดข้าวประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ๆ (อรอนงค์, 2547) ดังนี้

2.1.1 เปลือกข้าว หรือเรียกว่า แกลบ (hull or husk) ประกอบด้วยเปลือกใหญ่ (lemma) เปลือกเล็ก (palea) หาง (awn) ชั่วเมล็ด (rachilla) และกลีบรองเมล็ด (sterile lemmas) โดยเปลือกข้าวมีน้ำหนักประมาณร้อยละ 20 ของน้ำหนักเมล็ดข้าวเปลือก

2.1.1 ส่วนของเมล็ด หรือเมล็ดข้าวกล้อง (caryopsis or brown rice) คือส่วนที่เอาเปลือกหรือแกลบออกไปแล้วแต่ยังไม่ผ่านการขัดสี เป็นส่วนที่รับประทานได้ ประกอบด้วย

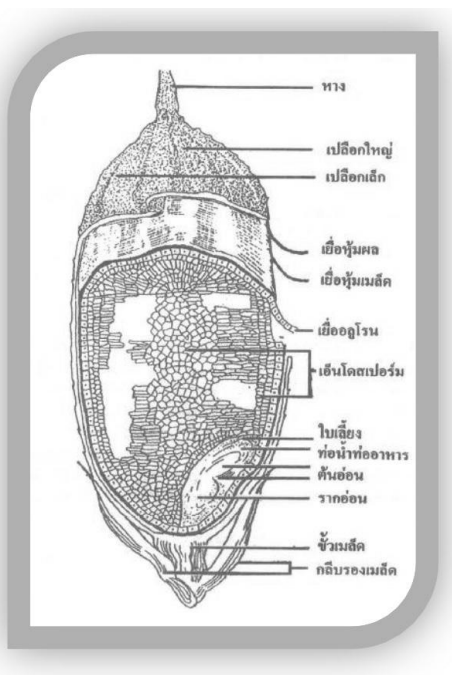
1) เยื่อหุ้มผล (pericarp) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น คือ epicarp mesocarp และ endocarp มีลักษณะเป็นเส้นใยผนังเซลล์ประกอบด้วยโปรตีน เซลลูโลส (cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses)

2) เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มผลเข้าไปประกอบด้วยเนื้อเยื่อสองชั้นเรียงกันเป็นแถวเป็นที่อยู่ของสารประเภทไขมัน

3) เยื่อแอลิวโรน (aleurone layer) อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดเข้าไป เยื่อแอลิวโรนจะห่อหุ้มเนื้อเมล็ด (endosperm) และคัพภะ องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นโปรตีน นอกจากนี้ยังประกอบด้วย ไขมัน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส

4) เนื้อเมล็ด (endosperm) อยู่ชั้นในสุดของเมล็ด ประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่ แป้งในเมล็ดข้าวมีอยู่ 2 ชนิด คือ แอมิโลส (amylose) และแอมิโลเพคติน (amylopectin) ซึ่งมีสัดส่วนแตกต่างกันไปตามชนิดของข้าว นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยโปรตีน ไขมัน และเส้นใย ประมาณร้อยละ 7.8 0.5 และ 0.4 ตามลำดับ

5) คัพภะ (embryo) อยู่ติดกับเนื้อเมล็ดทางด้านเปลือกใหญ่ที่หุ้มเมล็ดเป็นส่วนที่เจริญเป็นต้นต่อไป คัพภะประกอบด้วย ต้นอ่อน (plumule) รากอ่อน (radicle) เยื่อหุ้มต้นอ่อน (coleoptiles) เยื่อหุ้มรากอ่อน (coleorhizae) ท่อน้ำอาหาร (epiblast) และใบเลี้ยง (scutellum) คัพภะเป็นส่วนที่มีโปรตีน และไขมันสูง



ภาพที่ 1 ลักษณะโครงสร้างของเมล็ดข้าว

ที่มา: สุนน และจตุรงค์ (2556)

2.2 ข้าวกล้องงอก

ข้าวกล้อง (brown rice or unpolished rice) คือ เมล็ดข้าวที่กะเทาะออกเฉพาะเปลือก แต่ยังไม่ได้ขัดสี เมล็ดข้าวยังมีจะมีคัพภะอยู่บริเวณโคนเมล็ดด้านเปลือกใหญ่ และมีเยื่อหุ้มติดอยู่ ซึ่งเป็นส่วนที่มีคุณค่าทางอาหาร และมีประโยชน์ต่อร่างกาย ในส่วนคัพภะประกอบด้วย โปรตีน วิตามิน ไขมัน แร่ธาตุ และกรดอะมิโน (amino acid) ที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย ข้าวกล้องจะมีสีเดียวกับเยื่อหุ้มผล และเยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งเป็นส่วนที่มีเส้นใยอาหารสูง โดยทั่วไปข้าวกล้องจะมีโปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 7-12 และถ้าขัดสีข้าวกล้องจนมีสีขาวจะทำให้โปรตีนสูญเสียไปประมาณร้อยละ 30

ข้าวกล้องงอก (germinated unpolished rice or germinated brown rice) คือข้าวที่ผ่านกระบวนการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างๆ แล้วนำไปเพาะจนกระทั่งงอกข้าวงอกออกมา ในระหว่างการงอกของข้าว สารอาหารในข้าวกล้องจะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก โดยสารอาหารหลักที่

เพิ่มขึ้นในข้าวกล้องงอก คือ เส้นใยอาหาร กรดแกมมา-แอมิโนบิวทิริก (gamma-aminobutyric acid, GABA) แกมมา-โอริซานอล (gamma-oryzanol) วิตามินอี วิตามินบี1 และวิตามินบี 6 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างข้าวกล้องงอก และไม่ผ่านการงอก พบว่าข้าวกล้องงอกมีปริมาณ GABA เพิ่มขึ้น 10 เท่า เส้นใยอาหาร และวิตามินอี เพิ่มขึ้น 4 เท่า ส่วนวิตามินบี 1 และบี 6 เพิ่มขึ้น 3 เท่า (Kayahara and Tsukahara, 2000) นอกจากนี้ Moongngarm and Saetung (2010) ได้รายงาน ว่าข้าวกล้องที่ผ่านการงอกมีแกมมา-โอริซานอลเพิ่มขึ้น 1.3 เท่า และสารประกอบประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compounds) เพิ่มขึ้น 1.2 เท่า ซึ่งนอกจากจะได้ประโยชน์จากการที่มีปริมาณสารอาหารที่สูงขึ้นแล้ว ยังทำให้ข้าวกล้องงอกที่หุงสุกมีเนื้อสัมผัสที่อ่อนนุ่ม รับประทานได้ง่ายกว่าข้าวกล้องธรรมดาอีกด้วย จึงง่ายแก่การหุงรับประทานได้โดยไม่ต้องผสมกับข้าวขาวตามความนิยมของผู้บริโภค

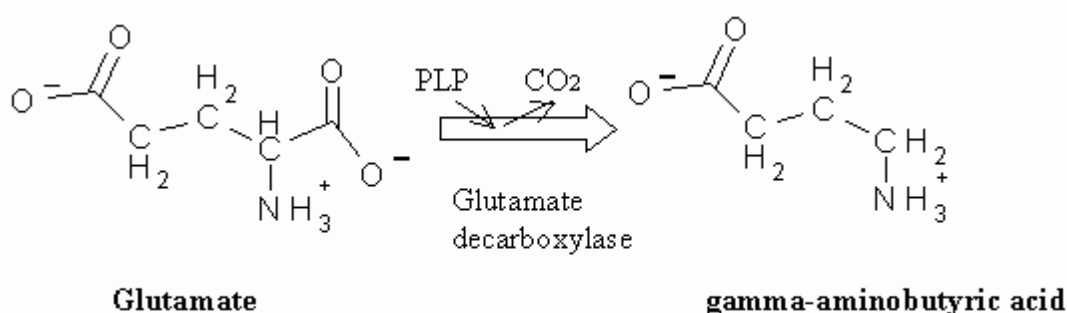
เมล็ดข้าวเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีการเจริญเติบโตจะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี การเปลี่ยนแปลงจะเริ่มขึ้นเมื่อน้ำได้แทรกเข้าไปในเมล็ดข้าว โดยจะกระตุ้นให้เอนไซม์ภายในเมล็ดข้าวเกิดการทงานเมื่อเมล็ดข้าวเริ่มงอกสารอาหารที่ถูกเก็บไว้ในเมล็ดข้าวก็จะถูกย่อยสลายไปตามกระบวนการทางชีวเคมีจนเกิดเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กลง และน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) นอกจากนั้นโปรตีนภายในเมล็ดข้าวก็จะถูกย่อยให้เกิดเป็นกรดแอมิโนและเปปไทด์ (peptide) รวมทั้งยังพบการการสะสมสารเคมีสำคัญต่างๆ เช่น แกมมา-โอริซานอล โทโคฟีรอล (tocopherol) โทโคไตรอีนอล (tocotrienol) และโดยเฉพาะ GABA (Ito and Ishikawa, 2004)

2.2.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในข้าวกล้องงอก

1) กรดแกมมา-แอมิโนบิวทิริก (Gamma-aminobutyric acid, GABA)

กรดแกมมา-แอมิโนบิวทิริก คือ กรดแอมิโนที่ไม่ได้นำไปสังเคราะห์เป็นโปรตีน มีทั้งประจุบวก และลบในโมเลกุล (zwitterionic) สมบัติทางกายภาพของ GABA ได้แก่ มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 203 องศาเซลเซียส ความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศา ค่าคงที่การแตกตัว (pKa dissociation constant) เท่ากับ 4.03 และ 10.56 GABA ถูกผลิตขึ้น โดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลส (glutamate decarboxylase, GAD) เปลี่ยนจากกรดแอล-กลูตามิก (L-glutamic acid) ไปเป็น GABA (ภาพที่ 2) (Komatsuzaki et al., 2007) โดยกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ซึ่งเกิดขึ้นมากในระหว่างกระบวนการแช่ และการงอกของข้าว สำหรับ GABA ในมนุษย์เป็นจุดประสานประสาทแบบยับยั้ง (inhibitory synapses) ช่วยให้สมองเกิดการผ่อนคลาย ลดอาการนอนไม่หลับ และลดอาการซึมเศร้า (Hayakawa et al., 2002; Sunte et al., 2007) ส่วน GABA ในสัตว์มีความเกี่ยวข้องในระบบประสาท และกล้ามเนื้อ (neuromuscular system) ซึ่งทำให้สัตว์สามารถรอดพ้น

ความเครียดจากสภาวะแวดล้อมได้ และ GABA ในพืชมีผลต่อกลไกในการตอบสนองทางเคมีเพื่อบรรเทาความเครียด โดยทั่วไปปริมาณ GABA ในพืชมีอยู่ในระดับต่ำ 0.03-2.00 ไมโครโมลต่อกรัม น้ำหนักสด แต่ปริมาณจะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสิ่งกระตุ้น เช่น ภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ (hypoxia) ทำให้ความเข้มข้นของ GABA ในข้าวงอกเพิ่มขึ้นถึง 8 ไมโครโมลต่อกรัม น้ำหนักสด ปริมาณ GABA ที่เพิ่มขึ้นยังขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ซึ่งได้แก่ ชนิดและสายพันธุ์ข้าว ขนาดคัพพะ อุณหภูมิ และเวลาการเพาะเมล็ด และกระบวนการอบแห้ง (ศุภนุช, 2554)



ภาพที่ 2 กลไกการเกิด GABA

ที่มา: Goto และคณะ (1994)

นอกจากนี้ GABA ยังถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการลดความดันโลหิต (Okada et al., 2000) ลดอาการติดสุราเรื้อรัง และยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว และกระตุ้นการตายของเซลล์มะเร็งได้ (Komatsuzaki et al., 2007) จึงได้มีการนำ GABA มาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดเพื่อให้มีผลป้องกันโรคดังกล่าว เช่น ยอดชาเสริม GABA ที่ถูกผลิตโดยการบ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นการบ่มในสภาวะที่มีออกซิเจน 1 ชั่วโมง และบ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนอีกครั้งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และการสะสมของ GABA ในคัพพะโดยการแช่น้ำ เป็นต้น (Sawai et al., 2001)

Wang et al. (2009) ได้ศึกษาความคงตัวของปริมาณสาร GABA ของอาหารต่อความร้อน พบว่าความแตกต่างของอุณหภูมิ ระยะเวลาในการให้ความร้อน และความแตกต่างของกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อปริมาณ GABA เมื่อทำให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ที่ค่าความเป็น pH เท่ากับ 5 และ 4.5 ทำให้ปริมาณ GABA ลดลงจากปริมาณเริ่มต้นร้อยละ 16.8, 22.2 ตามลำดับ เมื่อทำการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที ค่าความเป็น pH 4.5 พบว่ามี GABA ลดลงร้อยละ 30.4 และทำการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 และ 93 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที พบว่า GABA ลดลงน้อยกว่าร้อยละ

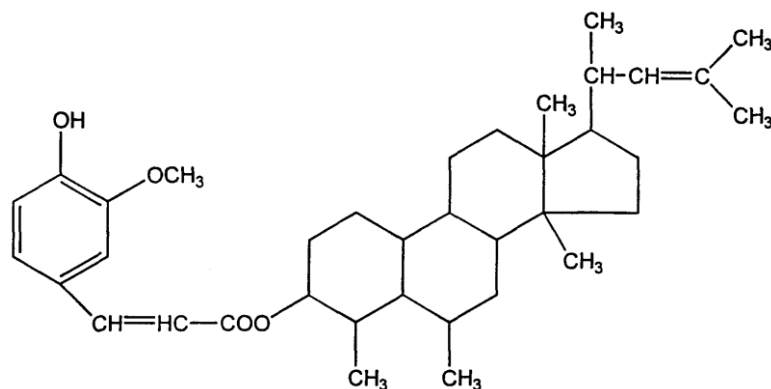
10 แสดงว่า GABA มีความเสถียรในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ ระยะเวลาสั้น และที่ค่าความเป็น pH เท่ากับ 5 มากกว่าค่าความเป็น pH 4.5

ชนินษฐา และคณะ (2553) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณ GABA ระหว่างการผลิตข้าวเหนียวต่างออกพอง โดยนำข้าวเปลือกเหนียวตากไปเพาะในไหงอก แล้วนำไปนึ่งด้วยไอน้ำ 15 นาที อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จึงนำมาแกะเพาะเปลือกออก และทอดที่อุณหภูมิ 180-200 องศาเซลเซียส นาน 5 วินาที จะได้ข้าวเหนียวต่างออกพอง พบว่าปริมาณ GABA ลดลงโดยคิดเปรียบเทียบกับ GABA เริ่มต้น โดยมี GABA เริ่มต้น 8.07 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อผ่านการทอดมี GABA เท่ากับ 3.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ทำให้สูญเสีย GABA ร้อยละ 56.38

ศุภนุช (2554) ได้ศึกษาปริมาณ GABA ในผลิตภัณฑ์อาหารเข้าธัญพืชจากข้าวกล้องงอกโดยใช้กระบวนการเอ็กซ์ทรูชัน (extrusion) พบว่าเมื่อมีการเพิ่มปริมาณแป้งข้าวกล้องงอกในผลิตภัณฑ์อาหารเข้าธัญพืชจะทำให้มี GABA เพิ่มขึ้นตาม และเปรียบเทียบ GABA ก่อน และหลังผ่านกระบวนการเอ็กซ์ทรูชัน พบว่า หลังผ่านกระบวนการเอ็กซ์ทรูชันมีปริมาณ GABA ลดลงร้อยละ 3.99

2) แกมมา-โอริซานอล (Gamma -oryzanol)

แกมมา-โอริซานอล เป็นสารประกอบของสเตอรอลเอสเทอร์ (sterol ester) ของกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) มีลักษณะเป็นผงสีขาวหรือสีขาวออกเหลือง ไม่มีกลิ่น ละลายดีในตัวทำละลายน้ำมัน และสารละลายคลอโรฟอร์ม (chloroform) เช่น อีเทอร์ (ether) เฮปเทน (heptane) เป็นต้น แต่ไม่ละลายน้ำ มีจุดหลอมเหลวประมาณ 161.2 องศาเซลเซียส เป็นสารประกอบที่พบมากในรำข้าว แกมมา-โอริซานอลมีสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยังสามารถลดระดับคอเลสเตอรอล (cholesterol) และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด เพิ่มระดับของฮอร์โมนอินซูลินในเลือดของคนเป็นโรคเบาหวาน และลดโอกาสในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ นอกจากนี้แล้วแกมมา-โอริซานอล ยังทำหน้าที่ในการต้านการหืนของไขมันในรำข้าว ซึ่งแกมมา-โอริซานอล มีคุณสมบัติต้านการหืนได้ดีกว่าวิตามินอี



ภาพที่ 3 สูตรโครงสร้างของแกมมา-โอริซานอล

ที่มา: Esser และคณะ (2000)

จากสมบัติที่มีประโยชน์ของแกมมา-โอริซานอลจึงมีงานวิจัยที่แพร่หลายมากขึ้น โดยงานวิจัยของ Boonsit et al. (2011) ได้ศึกษาแกมมา-โอริซานอลในข้าวเหนียวก่ำกล้อง 13 พันธุ์เปรียบเทียบกับข้าวกล้องพันธุ์หอมมะลิ 105 พบว่าข้าวเหนียวก่ำทั้ง 13 พันธุ์มีปริมาณแกมมา-โอริซานอลสูงกว่าในข้าวกล้องพันธุ์หอมมะลิ 105 โดยพบปริมาณแกมมา-โอริซานอลในข้าวเหนียวก่ำทุกพันธุ์เฉลี่ยที่ 55.58 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ขณะที่ข้าวกล้องพันธุ์หอมมะลิ 105 พบเพียง 30.68 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง โดยข้าวเหนียวก่ำพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด และก่ำมูเซอ มีปริมาณแกมมา โอริซานอลสูงสุดคือ 72.95 และ 70.16 นอกจากนี้ยังมีการศึกษาแกมมา-โอริซานอลในข้าวเหนียวก่ำ 4 พันธุ์เปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งได้แก่ ข้าวโพด งา ถั่วเหลือง และข้าวสาลี พบว่าข้าวเหนียวก่ำทั้ง 4 พันธุ์มีปริมาณแกมมา-โอริซานอลสูงกว่าพืชชนิดอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียวก่ำ พบว่า ข้าวเหนียวก่ำพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด และก่ำน่านมีปริมาณแกมมา-โอริซานอลใกล้เคียงกันคือร้อยละ 2.85 และ 2.69 ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ข้าวเหนียวก่ำพันธุ์ก่ำอมก๋อยมีค่าแกมมา-โอริซานอล ต่ำที่สุดในบรรดาข้าวเหนียวก่ำคือ ร้อยละ 1.882 อย่างไรก็ตาม ข้าวเหนียวก่ำทุกพันธุ์มีสารแกมมา-โอริซานอล สูงกว่าผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดต่างๆที่นำมาวิเคราะห์

2.2.2 การผลิตข้าวกล้องงอกอย่างง่ายด้วยตนเอง

1) หาซื้อข้าวกล้องสดพันธุ์ที่ต้องการบริโภค เช่น หอมมะลิ 105 ปทุมธานี หรือข้าวกล้องข้าวเหนียวดำที่มีคุณภาพดี เช่น ไม่มีมอดหรือรา ลักษณะเมล็ดดีสวย ไม่มีรอยถลอกของเมล็ด หรือซื้อข้าวกล้องที่บรรจุในถุงสุญญากาศก็ได้ หรือ หากที่บ้านมีเครื่องกะเทาะข้าวก็สามารถเตรียมข้าวกล้องโดยการกะเทาะจากข้าวเปลือก ก็จะได้ข้าวกล้องสดคุณภาพดี สามารถนำไปเพาะงอกได้เป็นอย่างดี

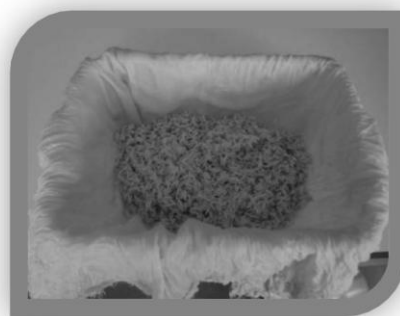
2) นำข้าวกล็องที่ได้จากขั้นตอนแรกมาแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ ประมาณ 35 - 40 องศาเซลเซียส แต่หากไม่มีเครื่องมือที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิ สามารถแช่ที่อุณหภูมิปกติได้ โดยแช่นาน 4 ชั่วโมงให้น้ำท่วมเมล็ดข้าวทุกเมล็ด (ดังภาพที่ 4)

3) หลังการแช่น้ำแล้วเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ให้นำข้าวกล็องล้างน้ำสะอาด แล้วนำมาห่อด้วยผ้าขาวบางแผให้เต็มภาชนะ (ใช้เป็นกล่องพลาสติก) ความหนาของชั้นข้าวกล็องในแต่ละกล่อง ประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร ไม่ควรมีความหนามากเพราะจะทำให้เกิดกลิ่นของการหมัก (ดังภาพที่ 5) ปิดฝาภาชนะไม่ต้องแน่น ให้มีอากาศถ่ายเทบ้าง



ภาพที่ 4 แช่ข้าวกล็องในน้ำ

ที่มา: สุนัน และจตุรงค์ (2556)



ภาพที่ 5 ข้าวกล็องเตรียมการบ่ม

ที่มา: สุนัน และจตุรงค์ (2556)

4) ทิ้งไว้ในห้องอุณหภูมิปกติเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เรียกขั้นตอนนี้ว่า “การบ่ม”



ภาพที่ 6 การบ่มข้าวกล็องในภาชนะปิดสนิท

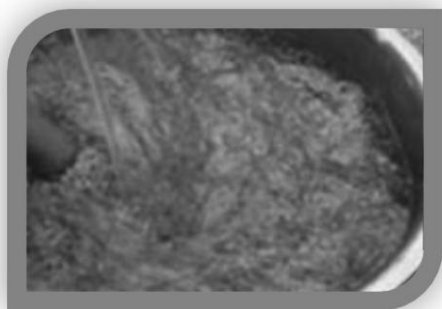
ที่มา: สุนัน และจตุรงค์ (2556)

5) หลังการบ่ม 4 ชั่วโมงให้นำข้าวกล็องออกมาล้างด้วยน้ำสะอาด โดยการขาวแล้วเทน้ำทิ้ง (ดังภาพที่ 7)

6) หลังจากนั้นนำกลับไปห่อด้วยผ้าขาวบางและบรรจุใส่กล่องเหมือนเดิม

7) ทิ้งไว้ในกล่องอีกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

8) นำออกมาล้างด้วยน้ำสะอาดทุก 4 ชั่วโมงจนกระทั่งสังเกตเห็นตุ่มที่จมูกข้าว เริ่มงอกออกมาโดยจะใช้เวลาในการบ่มทั้งสิ้นประมาณ 20 ชั่วโมง

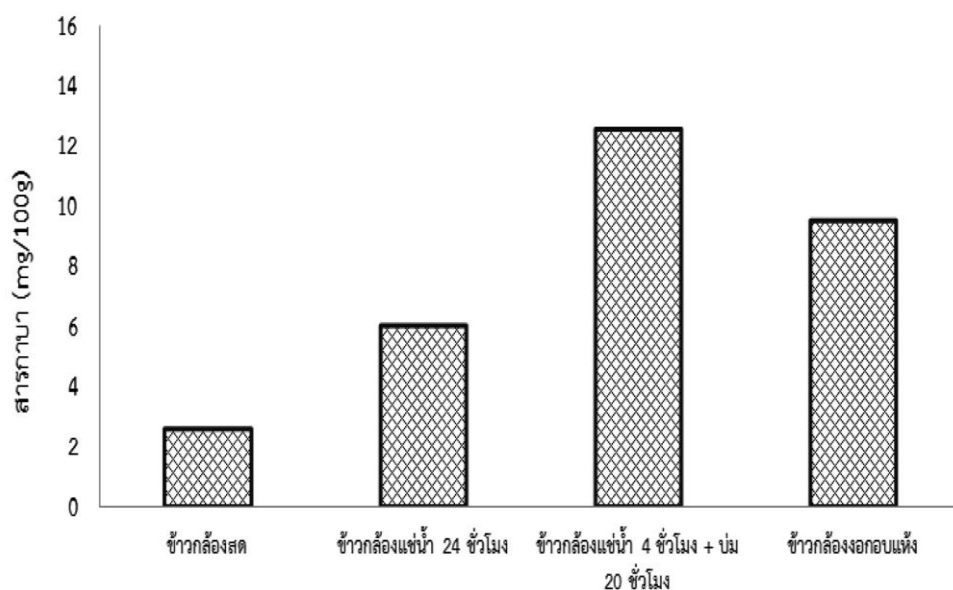


ภาพที่ 7 ล้างข้าวกล้องระหว่างการบ่ม
ที่มา: สุนัน และจตุรงค์ (2556)

ภาพที่ 8 เมล็ดข้าวกล้องงอก
ที่มา: สุนัน และจตุรงค์ (2556)

9) เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 24 ชั่วโมง คือ 4 ชั่วโมง สำหรับการแช่ข้าวกล้องใน น้ำสะอาด 20 ชั่วโมง สำหรับการบ่มในภาชนะจะได้ข้าวกล้องงอกออกมา

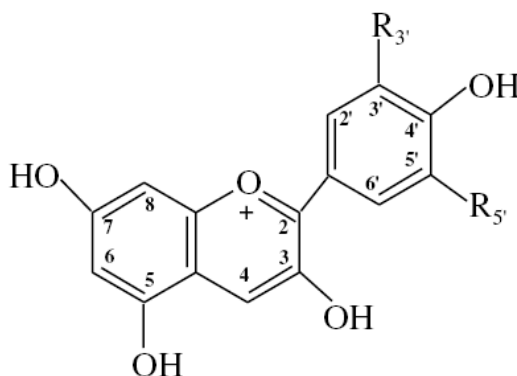
10) หากไม่สามารถบริโภคหมดได้ทันทีควรนำไปอบแห้งเพื่อลดความชื้นและยืดอายุการเก็บรักษาได้ ดังที่มีวางขายตามท้องตลาด อย่างไรก็ตามการลดความชื้นจะส่งผลต่อคุณค่าทางอาหารที่ลดลงบ้างหลังการอบแห้ง โดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูง (ดังภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 ปริมาณสารกาบา (GABA) ของข้าวกล้องงอกจากขั้นตอนการผลิตช่วงต่างๆ
ที่มา: สุนัน และจตุรงค์ (2556)

2.3 แอนโทไซยานินส์ (Anthocyanins)

แอนโทไซยานินส์ เป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ที่ให้สีตั้งแต่สีแดงไปจนถึงสีน้ำเงิน มีโครงสร้างหลักซึ่งเป็นอนุพันธ์ พอลิไฮดรอกซี (polyhydroxy) และพอลิเมทอกซี (polymethoxy) ของ เกลือฟลาวิลเลียม (flavylium salt) โมเลกุลประกอบด้วยแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) หรือเรียกว่า อะไกลโคโคน (aglycone) เชื่อมต่อกับน้ำตาลด้วยพันธะเบต้า-ไกลโคไซด์ (β -glycoside) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ (alcohol) และสามารถละลายได้ในน้ำ สารแอนโทไซยานินส์มีการเปลี่ยนแปลงสีตาม pH เมื่อ pH ต่ำจะมีสีแดง pH ปานกลางจะมีสีน้ำเงิน ม่วง เมื่อ pH สูงจะมีสีเหลืองซีด (Mazza and Miniati, 1993) ในธรรมชาติพบแอนโทไซยานิดินมากกว่า 15 ชนิดเรียกชื่อแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl, OH) หมู่ เมทอกซิล (methoxyl, OCH₃) สารประกอบแอนโทไซยานิดินที่พบมาก อยู่ในรูปของออกซิเนียมไอออน (oxonium ion) คือ ที่ออกซิเจนอะตอมมีประจุบวก ได้แก่ ไซยานิดิน (cyanidin) พัลลาร์ โคนิดิน (pelargonidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) พีโอนิดิน (peonidin)



ภาพที่ 10 สูตรโครงสร้างของแอนโทไซยานินส์

ที่มา: Wilska and Jeszka (2007)

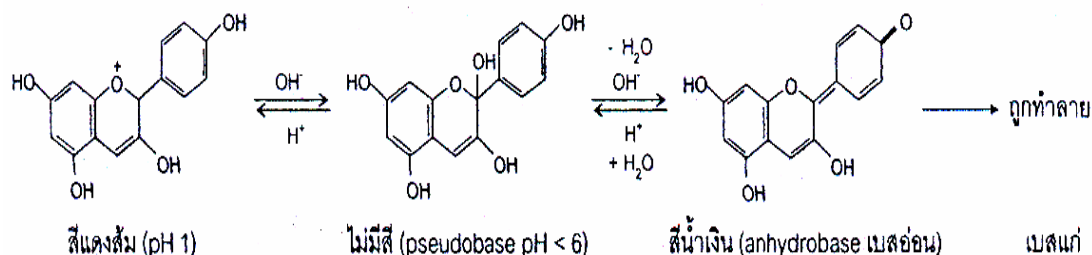
แอนโทไซยานิดินในผัก และผลไม้ต่างๆ จะมีอัตราส่วนและปริมาณที่แตกต่างกันไป เนื่องจากแอนโทไซยานิดินมักจะอยู่ในรูปอิสระในเซลล์ของพืช ส่งผลต่อความคงตัวของสี เมื่อเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ความคงตัวของสีจากแอนโทไซยานินส์จะขึ้นกับโครงสร้าง ความเข้มข้นของรงควัตถุ pH อุณหภูมิ แสง โลหะ เอนไซม์ ออกซิเจน กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) และน้ำตาล (Mazza and Miniati, 1993) สารแอนโทไซยานินส์นี้มีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ช่วยป้องกันโรคความดันโลหิตสูง ป้องกันการจับตัวของเกล็ดเลือด ลดอาการอักเสบของแผล และโรคเบาหวาน (Kong et al., 2003) และโรคเบาหวาน (Morimitsu et al., 2002)

อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารแอนโทไซยานินส์ที่พบในธรรมชาติมักพบสารแอนโทไซยานินอยู่ 3 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มของ pelargonidin (Pg) ซึ่งถูก hydroxylated ที่ตำแหน่ง 4'-position เท่านั้น และเกิดเป็นสีส้ม สีชมพู สีแดง และสีคล้ำยเนื้อปลาแซลมอนกลุ่มของ cyanidin (Cy) มี hydroxyl groups เกาะที่ตำแหน่ง 3' และ 4'-positions ซึ่งทำให้เกิดมีสีม่วง สีม่วงอมน้ำเงิน และสีฟ้า นอกจากนี้ ทั้ง Pg, Cy และ Dp สามารถที่จะเกิดการผสมกันแล้วเกิดเป็นสีต่าง ๆ ได้ตั้งแต่สีส้มแดงจนถึงสีฟ้าก็ได้ anthocyanidin methyl ethers รวมตัวกันเกิดเป็น peonidin ซึ่งมีสีม่วงแดง หรือเกิดจากการรวมตัวกันของ cyanidin และ petunidin ก็ได้ นอกจากนี้ malvidin ซึ่งมีสีม่วงก็เกิดจากการรวมตัวกันของ delphinidin ได้เช่นเดียวกัน

นั่นคือสารแอนโทไซยานินส์ที่สร้างขึ้นมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่ hydroxyl group ภายในโมเลกุล ชนิด และจำนวนน้ำตาลที่เกาะกับโครงสร้างของ anthocyanidin ทำให้เกิดชนิด และสีของสารแอนโทไซยานินที่แตกต่างกันไป ในสภาพที่เป็นกรดสารแอนโทไซยานินส์ดูดกลืนแสงในช่วงแสงสีเขียว ความยาวคลื่น 465-550 นาโนเมตร โดยวงแหวน B และในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ต ความยาวคลื่น 270-280 นาโนเมตร โดยวงแหวน A การดูดกลืนแสงของสารแอนโทไซยานินส์เปลี่ยนแปลงได้เมื่อกลุ่มต่างๆที่มาเกาะกับโครงสร้างหลักเปลี่ยนแปลงไป เช่น เมื่อเกิด hydroxylation หรือเพิ่มหมู่ hydroxyl เข้าไปจะทำให้ช่วงการดูดกลืนแสงขยับไปใน ช่วงคลื่นที่ยาวขึ้น แต่เมื่อเกิด glycosylation หรือน้ำตาลเข้ามาเกาะกับคาร์บอนตำแหน่งต่างๆ การดูดกลืนแสงจะขยับไปในช่วงคลื่นที่สั้นลงและเมื่อเกิด acylation หรือมีหมู่ acyl ของกรดในกลุ่ม cinnamic ต่าง ๆ มาเกาะกับน้ำตาลจะทำให้มีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นอีกในช่วงความยาวคลื่น 310-335 นาโนเมตร แต่การ methylation หรือการมีหมู่ methyl เข้ามาเกาะไม่ทำให้การดูดกลืนแสงเปลี่ยนไปมากนัก จากการดูดกลืนแสงของสารแอนโทไซยานินส์ดังกล่าวข้างต้น จึงทำให้สารแอนโทไซยานินส์ทำตัวเหมือน indicator ในสารละลาย กล่าวคือมีโครงสร้างและสีเปลี่ยนแปลงไปตามค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย ในสารละลายที่เป็นกรดมากๆ สารแอนโทไซยานินส์จะให้สีค่อนข้างแดงของ flavylium anion แต่เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นในช่วงกรดอ่อนหรือเป็นกลาง สีจะค่อย ๆ จางลงไม่มีสีของ pseudobase เมื่อสารละลายมีสภาพเป็นเบสอ่อนจะให้สีน้ำเงินของ anhydrobase แอนโทไซยานินในทั้ง 3 รูปนี้ ยังเปลี่ยนกลับไปกลับมา (reversible) ได้ แต่ในสภาพที่เป็นด่างจัดแอนโทไซยานินส์จะถูกทำลาย และไม่อาจเปลี่ยนกลับไปอยู่ในรูปอื่นได้อีก (ภาพที่ 11) จากการที่สารแอนโทไซยานินอยู่ในของแควคิวโอล ที่มีสารละลายเป็นกรดอ่อน ๆ ทำให้สามารถถูกทำลายด้วยกลุ่ม hydroxyl ส่งผลให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ไม่มีสี

ดังนั้นการที่สารแอนโทไซยานินส์ให้สีต่าง ๆ ของดอกไม้อยู่ได้นานเป็นเพราะมีการป้องกันการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวซึ่งในธรรมชาติทำได้ 4 แนวทาง คือ การรวมตัวกันเอง (self association) การรวมตัวกับสารอื่นที่ไม่มีสีแล้วให้สีเกิดขึ้น (intermolecular copigmentation)

การจัดเรียงตัวภายใน (intramolecular copigmentation) และการจับตัวกับโลหะ (metal complexity) ทำให้โครงสร้างหลักปลอดภัยจากการทำลายจากไอออน



ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานิน ตามค่าความเป็นกรด-ด่าง
ที่มา: Gross (1987)

จะเห็นได้ว่าแอนโทไซยานินส์เป็นสารที่มีความไวต่อปฏิกิริยามาก เนื่องจากผลของการขาดอิเล็กตรอนของโมเลกุลแอนโทไซยานินส์จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับของสี โดยในการเปลี่ยนแปลงอาจเกิดจากสภาวะต่าง ๆ ในกระบวนการแปรรูป และในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารนั้น ๆ

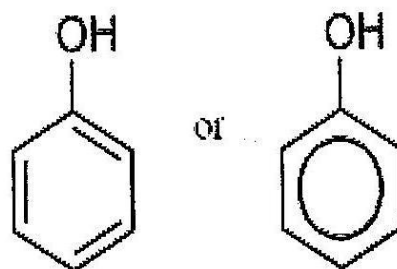
แอนโทไซยานินส์ ละลายน้ำได้ ไม่เสถียร สลายตัวได้ง่ายด้วยความร้อน ออกซิเจน แสง เมื่อโครงสร้างเปลี่ยนแปลงไป สีก็เปลี่ยนไปด้วย

การสลายตัวของสารแอนโทไซยานินส์ (anthocyanins degradation) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารแอนโทไซยานินส์ในแวคิวโอล เนื่องจากปัจจัยหลายประการ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่างในแวคิวโอล ปริมาณน้ำตาลในเซลล์ อายุของพืช แสง อุณหภูมิ ระดับฮอร์โมนภายในพืช และฮอร์โมนหรือสารเคมีที่ได้รับจากภายนอก เป็นต้น การใช้ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน เช่น อุตสาหกรรมผลไม้กระป๋อง นมเปรี้ยว อาหารหวาน และไวน์แดง เป็นต้น ซึ่งสีของแอนโทไซยานินจะคงสภาพได้ดีที่ความชื้นไม่เกินร้อยละ 3 และการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดจะให้สีคงทน

2.4 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

เป็นสารที่พบได้ในผักและผลไม้ทั่วไปมีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) มีจำนวน hydroxyl group อย่างน้อยหนึ่ง หรือมากกว่าหนึ่งหมู่ในโมเลกุลสามารถละลายในน้ำได้ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลมักพบอยู่ร่วมกับน้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่ม และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน

โดยสารประกอบฟีนอลิก สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ monocyclic phenol ประกอบด้วย วงแหวนฟีนอล 1 วง dicyclic phenol ประกอบด้วย วงแหวนฟีนอล 2 วง และสุดท้ายคือ polycyclic phenol หรือ polyphenolic ซึ่งถือเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญมากในการต้านอนุมูลอิสระ โดยตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในกลุ่ม polyphenolic ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และแอนโทไซยานินส์ (anthocyanins) (โสภา และคณะ, 2549)



ภาพที่ 12 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา : โสภา และคณะ (2549)

ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่พบจะเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบต่าง ๆ เช่น phenyl propanoid, phenolic quinone และ polyphenolic ซึ่งได้แก่พวก ลิกนิน (lignin) เมลานิน (melanin) และแทนนิน (tannin) เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ายังมีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้นหน้าที่ของสารประกอบฟีนอลเหล่านี้ บางชนิดก็ทราบแน่ชัด เช่น ลิกนิน ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช สารในกลุ่มแอนโทไซยานินส์ เป็นสารที่ให้สีในดอกไม้ ผัก และผลไม้ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญของพืชจำพวกถั่ว เป็นต้น สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ ซึ่งจะเป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระ โดยมีกลไก คือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลจะหน่วงเหนี่ยว หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขึ้นตอน propagation ได้ สารประกอบฟีนอลยังทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ เป็นตัวให้ไฮโดรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแคทีฟ ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลในการรักษาโรค เช่น ช่วยยับยั้งการแข็งตัวของเกร็ดเลือด ต่อด้านอาการอักเสบและบวม รักษาแผลในกระเพาะอาหารต่อต้านการแพ้จากการหลังของฮีสตามีน และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

ศักยภาพของสารประกอบฟีนอลในการเป็นสารแอนติออกซิแดนต์นั้นขึ้นอยู่กับค่า redox potential ของ hydroxyl group ในโมเลกุล และโครงสร้างทางเคมีซึ่งแตกต่างกัน

2.5 แอนติออกซิเดนท์ (antioxidant) หรือสารต้านอนุมูลอิสระ

แอนติออกซิเดนท์ (antioxidant) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าสารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ บ้างก็เรียกว่า free radical scavenger ในที่นี้รวมถึงสารที่สามารถยับยั้ง และควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ และจะไปหยุดยั้งปฏิกิริยาถูกใช้ของอนุมูลอิสระทำให้คงตัว จึงทำให้หยุดการก่อตัวใหม่ นอกจากนี้ยังซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย อีกทั้งกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลายเพราะสารเหล่านี้อาจเป็นพิษต่อร่างกายได้ สารแอนติออกซิเดนต์มีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ (natural antioxidant) มักพบในอาหารจำพวก ผักและผลไม้ ได้แก่ phenolic compounds, peptides, amino acid, ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, melanoidin, other organic acid, tannins, quercetin และ tocopherols เป็นต้น (Huang et al, 1992) และสารสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) ได้แก่ tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA), tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) และ tert-butylhydroquinone (TBHQ) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์หลักในระบบต้านอนุมูลอิสระ ประกอบด้วย superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase

2.5.1 สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ ๆ (Hudson, 1990) ดังนี้

1) primary antioxidant สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic substances) ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาถูกใช้ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลจากธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ (natural and synthetic tocopherol) alkyl gallate, BHA, BHT, TBHQ และอื่น ๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

2) oxygen scavenger สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ ascorbic acid, ascorbyl palmitate erythorbic acid (isoascorbic acid) และ sodium erythorbate เป็นต้น สารกลุ่มนี้จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้

3) secondary antioxidant สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ dilauryl thiopropionate และ thiopropionic acid ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ lipid hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

4) enzymic antioxidant สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ เอนไซม์ต่าง ๆ ซึ่งแบ่งเป็น primary antioxidant enzyme และ ancillary antioxidant enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

5) chelating agent หรือ sequestrant สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดซิตริก กรดอะมิโน และ ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA) เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริม และเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

เนื่องจากสารแอนติออกซิแดนต์มีหน้าที่หลายอย่าง เช่น ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) เป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระ จับกับไอออนของโลหะที่เร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยับยั้งการเกิดออกซิเจนในรูปแอกทีฟ ซึ่งพบในขั้นตอนอินิเชียชันของปฏิกิริยาออกซิเดชัน หน้าที่ต่าง ๆ เหล่านี้จึงทำให้มีผลในการชะลอ หรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยการทำปฏิกิริยากับอนุมูล peroxy เพื่อให้เป็นสารที่มีความเสถียร หรือเป็นสารที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกต่อไป จนได้เป็นสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (non-radical product) (Huang et al, 1992)

2.5.2 กลไกในการทำงานของสารแอนติออกซิแดนต์

- 1) เข้าจับกับ oxygen-derived species โดยใช้เอนไซม์ หรือเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรง
- 2) ลดการเกิดของ oxygen-derived species
- 3) เข้าจับไอออนโลหะเพื่อทำให้ปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแปลง reactive species ลดลง เช่น $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 ส่งผลให้เกิด OH^{\bullet} ได้น้อยลง
- 4) ช่วยซ่อมแซมส่วนที่ถูกทำลาย
- 5) ทำลายโมเลกุลที่ถูกทำลาย และเติมโมเลกุลใหม่เข้าไปแทนที่ซึ่งทั้งหมดนี้เป็นกลไกในการป้องกัน และควบคุมอนุมูลอิสระ โดยการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) และช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

2.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมีการทดสอบได้หลายวิธี ได้แก่

1) วิธี thiobarbituric reactive substances (TBARS) เป็นวิธีการติดตามปริมาณสารประกอบอัลดีไฮด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ low density lipoprotein (LDL) กับโลหะไอออน เช่น Fe^{2+} และ Cu^{2+} โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (Pokorny et al., 2001)

2) วิธี 2,2-azinobis [ethylbenzothiazoline-6-sulphonate] (ABTS) เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ABTS ในรูปของ $ABTS^+$ ซึ่งใช้ทดสอบกับสารสกัดจาก

อาหารวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (Whiteman and Guan, 2003)

3) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (ในรูปกรดแกลลิก) เป็นการทดสอบสารฟีนอลทั้งหมด โดยใช้สาร folin-ciocalteu reagent ทำปฏิกิริยากับตัวอย่างสารละลาย และทำการเปรียบเทียบด้วยสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (Waterman and Mole, 1994)

4) การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radicalscavenging เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ติดตามผลการทดลองโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความยาวคลื่น 516 นาโนเมตร (Yen and Hsieh, 1997)

2.6 NIR spectroscopy (near infrared spectroscopy)

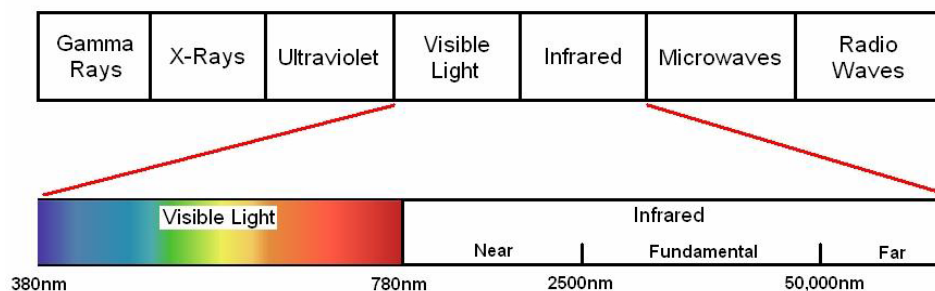
รังสีเนียร์อินฟราเรด หมายถึง รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่จัดอยู่ในรังสีอินฟราเรด (IR radiation) โดยช่วงคลื่นอินฟราเรดสามารถแบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ เนียร์อินฟราเรด หรืออินฟราเรดย่านใกล้ (Near IR, NIR) อินฟราเรดย่านกลาง (Mid IR) และอินฟราเรดย่านไกล (Far IR) ตามลำดับ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแบ่งช่วงของรังสีอินฟราเรด

ช่วง	ความยาวคลื่น (nm)	จำนวนคลื่น (cm ⁻¹)	ย่านอันตรกิริยา
เนียร์อินฟราเรด (Near IR, NIR)	800-2500	14300-4000	โอเวอร์โทน, คอมบิเนชัน
อินฟราเรดย่านกลาง (Mid IR)	2500-50000	4000-200	การสั่นแบบพื้นฐาน
อินฟราเรดย่านไกล (Far IR)	50000-1000000	200-10	การหมุน

ที่มา: นิพนธ์ (2545) ; Osborne et al. (1993a)

ตำแหน่งของรังสีเนียร์อินฟราเรดในสเปกตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าอยู่ระหว่างรังสีวิสิเบิล (visible radiation) และรังสีอินฟราเรดย่านกลาง (mid infrared radiation) รังสีเนียร์อินฟราเรดมีความยาวคลื่นตั้งแต่ 800-2500 นาโนเมตร เป็นย่านโอเวอร์โทน (overtone region)



ภาพที่ 13 ตำแหน่งของรังสีเนียร์อินฟราเรดในสเปกตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

ที่มา: <http://www.mosslands.co.uk/page/?title=Extras&pid=224>.

2.6.1 การแบ่งช่วงแสงเนียร์อินฟราเรด

แสงเนียร์อินฟราเรดสามารถแบ่งได้ด้วย 2 ลักษณะ คือ ตามระดับพลังงาน ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ช่วง และตามชนิดแถบอินฟราเรดย่านใกล้ของโมเลกุลแบ่งได้เป็น 3 ช่วง

ตารางที่ 2 การแบ่งช่วงแสงเนียร์อินฟราเรดตามระดับพลังงาน

ความยาวคลื่น (nm)	ช่วง	พลังงาน (kJ/mol)
800-1100	คลื่นสั้น (short wavelength NIR, SWNIR, Herschel region)	~ 150-109
1100-2500	คลื่นยาว (long wavelength NIR, LWNIR)	~ 109-48

ที่มา: ศุมาพร (2552); Franklin (2002)

ตารางที่ 3 การแบ่งช่วงรังสีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีตามชนิดแถบอินฟราเรดย่านใกล้

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ชนิดแถบ
800-1200	โอเวอร์โทนอันดับสองและสาม, คอมบิเนชันของ XH (X=O, N, C)
1200-1800	โอเวอร์โทนอันดับหนึ่ง, คอมบิเนชันของ XH
1800-2500	คอมบิเนชัน, โอเวอร์โทนอันดับสองของ C=O

ที่มา: ศุมาพร (2552); Chalmers (2000)

ช่วงคลื่นสั้นเริ่มตั้งแต่ความยาวคลื่น 800-1100 นาโนเมตร เป็นช่วงที่มีพลังงานสูง สามารถทะลุทะลวงเข้าไปในเนื้อในตัวอย่างได้ดี โดยทั่วไปสามารถทะลุเข้าไปได้ถึง 1-2 เซนติเมตร จึงมักนิยมใช้ช่วงคลื่นสั้นในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ข้อมูลที่ต้องการอยู่ภายใน ได้แก่ ตัวอย่างประเภทผลไม้ไม่มีเปลือก โดยเฉพาะผลไม้เปลือกหนา เช่น มังคุด ส้มเปลือกหนา เป็นต้น ลำแสงจะผ่านเข้าไปยังเนื้อใน ทำให้ได้ข้อมูลสเปกตรัมเนื้อในของตัวอย่างสูง (ศุมาพร, 2552; Franklin, 2002) สำหรับช่วงคลื่นยาวเริ่มตั้งแต่ความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร มีพลังงานต่ำกว่าช่วงคลื่นสั้น โดยทั่วไปลำแสงสามารถทะลุผ่านได้ไม่เกิน 5 มิลลิเมตรถึง 1 เซนติเมตร เหมาะกับตัวอย่างทั่วไปทั้งของเหลว และของแข็ง ซึ่งตัวอย่างจะถูกบรรจุอยู่ใน cell ที่มีผิวหน้าเรียบ เป็นช่วงที่ให้ข้อมูลทางเคมีมากกว่าช่วงคลื่นสั้นเนื่องจากเป็นช่วงที่แถบโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งและคอมบิเนชันปรากฏ (ศุมาพร, 2552; Franklin, 2002)

เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีหรือ NIRs เป็นการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างรังสีเนียร์อินฟราเรดกับสสาร สสารที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับรังสีเนียร์อินฟราเรด คือ สสารที่โมเลกุลประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจน (X-H) อะตอม X ได้แก่ C, O, N, S ฯลฯ อันตรกิริยาดังกล่าวคือ การที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไป ซึ่งจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆ ในโมเลกุล ระดับการดูดกลืนรังสีเนียร์อินฟราเรดของสสารที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIR เพื่อนำไปประมวลผลในการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพต่อไป (ศุมาพร, 2552)

2.6.2 กระบวนการดูดกลืนแสงเนียร์อินฟราเรด

โมเลกุลที่สามารถดูดกลืนแสงเนียร์อินฟราเรด จะต้องมีลักษณะสำคัญ ดังนี้

- 1) ประกอบด้วยพันธะ X-H; X ได้แก่ O, N, S ฯลฯ
- 2) ควรมีสสมบัติผ่านตามกฎการเลือก (selection rule) โดยพลังงานของแสงที่โมเลกุลดูดกลืนเข้าไป ต้องพอดีกับผลต่างของระดับพลังงานที่ทำให้เกิดแทรนซิชันของการสั่น และพลังงานต้องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโมเมนต์ขั้วคู่ของโมเลกุล ได้แก่ โมเลกุลที่ประกอบด้วยอะตอมต่างกัน

3) เกิดการสั่นแบบโอเวอร์โทน เป็นปรากฏการณ์ที่โมเลกุลดูดกลืนแสงเนียร์อินฟราเรดเข้าไปทำให้เกิดการแทรนซิชันเปลี่ยนระดับพลังงานการสั่นจากระดับพื้น ($v = 0$) ไปยังระดับกระตุ้นที่ 2, 3 ขึ้นไป จะได้ฟีกที่เรียกว่าแถบโอเวอร์โทน มีลักษณะความเข้มต่ำและฐานกว้าง

4) เกิดการสั่นแบบคอมบิเนชัน การสั่นแบบคอมบิเนชันหรือแบบรวม เกิดขึ้นเนื่องจากโมเลกุลหนึ่งๆ มีการสั่นได้หลายชนิดและเกิดขึ้นในเวลาพร้อมกัน บางครั้งการสั่นที่ต่างชนิดกันเกิดการรวมกันได้ จึงเกิดเป็นแถบคอมบิเนชันขึ้น

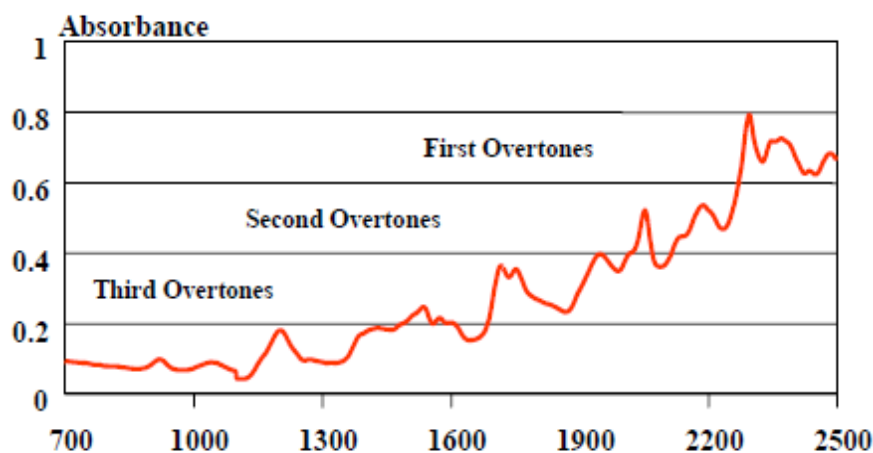
พีก (peak) หรือแถบ (band) การดูดกลืนระดับโอเวอร์โทนที่พบในช่วงเนียร์อินฟราเรด เกิดจากการดูดกลืนพลังงานเข้าไปทำให้เกิดการแทนที่ชั้นจากระดับพลังงานการสั่นที่สถานะพื้น ไปยังสถานะกระตุ้นมากกว่าเท่าตัว ดังนี้

- การแทนที่ชั้นจากระดับ $v = 0 \rightarrow v = 2$ เรียกว่าโอเวอร์โทนอันดับที่หนึ่ง (first overtone)

- การแทนที่ชั้นจากระดับ $v = 0 \rightarrow v = 3$ เรียกว่าโอเวอร์โทนอันดับที่สอง (second overtone)

- การแทนที่ชั้นจากระดับ $v = 0 \rightarrow v = 4$ เรียกว่าโอเวอร์โทนอันดับที่สาม (third overtone)

โดยทั่วไปแถบโอเวอร์โทนจะมีความเข้มหรือค่าการดูดกลืนต่ำ เมื่อเทียบกับพีกที่เกิดจากการเปลี่ยนระดับพลังงานพื้นฐาน ($v = 0 \rightarrow v = 1$) ถึง 10 และ 100 เท่าตัว โดยแถบโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งมีความเข้มสูงสุด รองลงมาคือโอเวอร์โทนอันดับสอง และสาม ตามลำดับ ดังนั้นเราไม่สามารถสังเกตเห็นแถบโอเวอร์โทนอันดับที่สูงขึ้นไป เนื่องจากมีความเข้มต่ำมาก (ศุมาพร, 2552; Karlberg, 2006)



ภาพที่ 14 การเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนในแถบโอเวอร์โทนอันดับต่างๆ

ที่มา: Karlberg (2006)

ตารางที่ 4 ชนิดแถบในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ชนิดแถบ
800-1100 1100-1300	โอเวอร์โทนอันดับสองของ N-H, โอเวอร์โทนอันดับสามของ C-H, โอเวอร์โทนอันดับสองของ C-H
1300-1420 1420-1600 1600-1800	คอมบิเนชันของ C-H, โอเวอร์โทนอันดับหนึ่งของ N-H, โอเวอร์โทนอันดับหนึ่งของ O-H, โอเวอร์โทนอันดับหนึ่งของ C-H
1800-2200 2200-2500	คอมบิเนชันของ N-H, คอมบิเนชันของ O-H คอมบิเนชันของ C-H

ที่มา: ศุมาพร (2552)

ตารางที่ 5 ตำแหน่งพีกในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรดที่เด่นชัด

องค์ประกอบ	ตำแหน่งความยาวคลื่น (นาโนเมตร)
น้ำ (ความชื้น)	1940
คาร์โบไฮเดรต	2100
โปรตีน	2180
ไขมัน	2310

ที่มา: Shenk et al. (2001)

ตารางที่ 6 ตำแหน่งพีคในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด ที่สัมพันธ์กับองค์ประกอบต่างๆ ของผลิตภัณฑ์

Wavelength (nm)	Bond vibration	Structure
1195	C-H str. 2nd overtone	CH ₃
1215	C-H str. 2nd overtone	CH ₂
1410	O-H str. 1st overtone	ROH
1440	O-H str. 1st overtone	sucrose, starch
1440	C-H str. + C-H def.	CH
1450	O-H str. 1st overtone	starch, H ₂ O
1460	N-H str. 1st overtone	CONH ₂
1540	O-H str. 1st overtone	starch
1645	C-H str. 1st overtone	R-CH-CH
1820	O-H str. + 2 C-O str.	cellulose
1900	O-H str. + 2 C-O str.	Starch
1900	C=O str. 2nd overtone	-CO ₂ H
1940	O-H str. + O-H def.	H ₂ O
2180	amide I + amide III	protein
2190	CH ₂ asym. str. + C=str.	CH=CH
2242	N-H str. + NH ₃ ⁺ def.	amino acid
2280	C-H str. + C-H def.	CH ₃
2310	C-H str. + C-H def.	CH ₂
2323	C-H str. + C-H def.	CH ₂
2336	C-H str. + C-H def.	cellulose
2347	CH ₂ sym. str. + =CH ₂ def.	HC=CHCH ₂
2352	C-H def. 2nd overtone	cellulose

ที่มา: Osborne et al. (1993a)

str. = stretch def. = deformation sym. = symmetric asym. = asymmetric

* amide I: C=O stretch. amide II: N-H in-plane bend, C-N stretch. amide III: C-N stretch, N-H in-plane bend

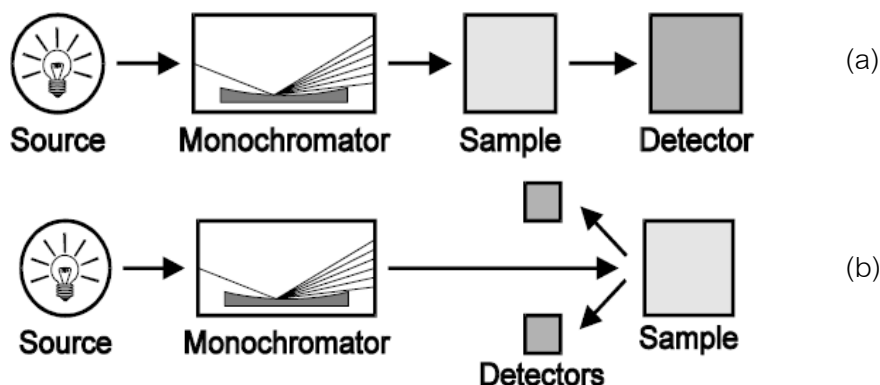
2.6.3 หลักการทำงานของเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1) แหล่งกำเนิดแสง (light source) ชนิดของแหล่งกำเนิดแสงที่นิยมใช้ เช่น tungsten halogen ซึ่งใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงช่วงวิสิเบิล (visible light) และแสงอุลตราไวโอเล็ต (ultraviolet light) เนื่องจากมีขนาดเล็กและหยาบ ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 2500 นาโนเมตร (nm) ดังนั้นจึงมักจะถูกใช้เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นแสงของ NIR

2) โมโนโครมาเตอร์ (monochromator) เป็นอุปกรณ์แยกแสงออกเป็นแต่ละความยาวคลื่นอุปกรณ์ที่ใช้ต้องไม่ดูดกลืนแสงในช่วง NIR ที่นิยมใช้ คือ ปริซึม (prisms) ซึ่งทำได้จาก NaCl หรือ KBr และเกรตติง (grating) ทำได้จากแผ่นแก้วหรือวัสดุโปร่งใสที่ขีดผิวหน้าให้เป็นร่องหรือแผ่นแก้วที่เคลือบด้วยโลหะหรือฟิล์มโลหะที่ขีดเงาให้เป็นร่อง ปัจจุบันนิยมใช้เกรตติงมากกว่าปริซึม เพราะเกรตติงสามารถแยกสเปกตรัมออกจากกันได้มากกว่า และการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของเกรตติงน้อยกว่าปริซึม โดยแสงที่ผ่านเกรตติงและมีความยาวคลื่นที่ต้องการแล้วจะถูกส่งผ่านมายังตัวอย่าง เมื่อแสงผ่านตัวอย่างแล้วก็จะถูกส่งผ่านไปยังอุปกรณ์สำหรับตรวจวัด

3) อุปกรณ์สำหรับตรวจวัดหรือตัวรับแสง (detector or sensor) จะทำหน้าที่บันทึกปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนและแปลงผลเป็นสัญญาณส่งเข้าสู่ส่วนประมวลผล สำหรับอุปกรณ์ที่ใช้ทำตัวตรวจวัดมี 3 ชนิด ชนิดแรก คือ ซิลิกอน (silicon, Si) ซึ่งมักจะใช้กับเครื่อง NIR ที่ให้ความยาวคลื่นในช่วงวิสิเบิลหรือช่วงแสงที่มองเห็นได้และช่วงความยาวคลื่น 700-1100 นาโนเมตร ซึ่งถือว่ามีขนาดเล็ก มีความเร็วสูง และเกิดคลื่นรบกวน (noise) ต่ำ ชนิดที่สอง คือ เลดซัลไฟด์ (lead sulfide, PbS) ซึ่งจะใช้กับช่วงความยาวคลื่น 1100-2600 นาโนเมตร (Givens et al., 1997) แต่มีความช้าในการวัดและให้สัญญาณรบกวนต่อค่าการดูดกลืนแสงสูง (good signal-to-noise) และชนิดที่สาม คือ อินเดียม แกลเลียม อาร์เซไนด์ (Indium Gallium Arsenide, InGaAs) ซึ่งถือว่ามีราคาแพงที่สุด โดยจะรวมทั้งความเร็วและขนาดเล็กของซิลิกอนกับช่วงความยาวคลื่นที่กว้างของเลด ซัลไฟด์ ไว้ด้วยกัน (Gabriele, 2005)

4) การอ่านสัญญาณ (read out) โปรแกรมจะประมวลผลให้อยู่ในรูปแบบที่สามารถนำไปใช้ได้ เช่น สเปกตรัม คือ ปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้ที่ความยาวคลื่นต่างๆ แล้วบันทึกผลด้วยคอมพิวเตอร์ (Siesler et al., 2002)



ภาพที่ 15 หลักการทำงานของเครื่อง NIR (a) transmittance และ (b) reflectance

ที่มา : Siesler et al. (2002)

2.6.4 อันตรกิริยา (interaction) ของตัวอย่างกับแสง NIR

เมื่อเครื่อง NIR ให้แสง NIR ส่งผ่านไปยังตัวอย่างจะเกิดอันตรกิริยากับตัวอย่างได้หลายแบบ ดังนี้

1) แบบส่องผ่าน (transmittance) โดยแหล่งกำเนิดแสง NIR ให้แสง NIR ตกกระทบที่ผิวตัวอย่างด้านหนึ่งและส่องผ่านตัวอย่างไปยังอีกด้านหนึ่ง โดยที่ detector จะวัดปริมาณแสงที่ส่องผ่านออกมาจากตัวอย่างในด้านตรงกันข้ามเป็นลักษณะของแสงที่ส่องกระทบผิวของตัวอย่างที่เป็นของแข็งทึบและของแข็ง (Gabriele, 2005)

2) แบบสะท้อนกลับ (reflectance) โดยแหล่งกำเนิดแสง NIR ให้แสง NIR ตกกระทบที่ผิวของตัวอย่างและอาจแพร่กระจายในปริมาณหนึ่งก่อน โดยที่ detector จะวัดปริมาณแสงที่สะท้อนกลับออกมาจากผิวของตัวอย่างในด้านเดียวกันและนิยมใช้การวัดแบบ reflectance กับเมล็ดพืชหรือเมล็ดพันธุ์ (Williams and Sobering, 1993)

3) แบบส่องผ่านและสะท้อนกลับ (transflectance) โดยแหล่งกำเนิดแสง NIR ให้แสง NIR ตกกระทบที่ผิวของตัวอย่างและส่องผ่านตัวอย่างลงไปตกกระทบวัตถุที่ไม่ดูดกลืนแสง (เช่น แผ่นเซรามิก ทอง หรืออลูมิเนียม) ที่อยู่ด้านล่างตัวอย่างแล้วเกิดการสะท้อนกลับผ่านตัวอย่างมายัง detector โดยที่ detector จะทำการบันทึกการดูดกลืนแสงทั้งในขณะที่แสงส่องลงไปด้านล่างและขณะที่แสงสะท้อนกลับมายัง detector

4) แบบสะท้อนกลับจากด้านใน (interactance) กระบวนการนี้เกิดในกรณีที่ใช้หัววัดแบบใยแก้วนำแสง (fiber optics probe) แสงจะออกมาจากส่วนวงแหวนด้านนอกของหัววัดมาตกกระทบตัวอย่าง และแสงที่สะท้อนออกมาจากเนื้อตัวอย่างจะถูกส่งไปยัง detector บริเวณส่วนกลางของใยแก้วนำแสง

2.6.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

2.6.5.1 การสุ่มและการเตรียมตัวอย่าง (sampling and sample preparation)

การสุ่มตัวอย่างมีความสำคัญมากที่จะทำให้ได้ผลการที่ดี ตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการควรเป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่างในอนาคต ในกรณีของผลิตผลทางการเกษตร ตัวอย่างควรต้องมีความหลากหลายในเรื่องของพันธุ์ พื้นที่การผลิต ฤดูเพาะปลูกและระยะสุกแก่ ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ศึกษาควรมีค่าครอบคลุมค่าสูงสุดและต่ำสุด การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ด้วย NIRS อาจไม่จำเป็นในบางผลิตผลเพราะอาจสามารถวัดทั้งผลได้แต่อาจมีการเตรียมตัวอย่างบ้างกับตัวอย่างบางชนิด เช่น การบด (grinding) การตัด (cutting) รวมถึงการควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่าง ซึ่งก็ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง

1) อุณหภูมิของตัวอย่าง (sample temperature) ตัวอย่างที่มีขนาดและรูปร่างเดียวกัน แต่อุณหภูมิในตัวอย่างแตกต่างกันอาจทำให้ได้ข้อมูลสเปกตรัมที่ต่างกัน เนื่องจากอุณหภูมิของตัวอย่างมีผลโดยตรงต่อโมเลกุลของน้ำ ซึ่งความแตกต่างของสเปกตรัมนี้อาจจะไม่สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจน แต่จะส่งผลกระทบต่อความแม่นยำของสมการ ตัวอย่างเช่น ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1210 นาโนเมตร ซึ่งสัมพันธ์กับพันธะ C-H มีค่าการดูดกลืนแสงต่ำลงเมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นอุณหภูมิที่ใช้ควรคงที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่ใช้ในการวิเคราะห์ในอนาคต

2) การบรรจุ (packing) ตัวอย่างในเซลล์บรรจุที่มีการอัดตัวแน่นมาก ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างตัวอย่างน้อย มีการสะท้อนกลับของแสงมาก ค่าการดูดกลืนแสงของเส้นสเปกตรัมจะมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างที่มีการอัดตัวน้อย (Williams and Norris, 2001) เช่นเดียวกับ ณัฐกานต์ (2547) พบว่าการบรรจุเมล็ดข้าวสารให้มีความหนาแน่นมากในเซลล์บรรจุ ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงมีค่าน้อย สอดคล้องกับ ศศิวิมล (2553) ที่พบว่าการอัดตัวกันแน่นของข้าวสารในเซลล์บรรจุ จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่าข้าวสารที่อัดตัวกันน้อย

3) ขนาดอนุภาคของตัวอย่าง (particle size) ตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน จะทำให้ได้ข้อมูลสเปกตรัมที่แตกต่างกันด้วย โดยตัวอย่างขนาดเล็กจะสามารถสะท้อนแสงได้ดีกว่าตัวอย่างขนาดใหญ่ ดังนั้นการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่มีขนาดเล็กจึงมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่ และขนาดอนุภาคมีผลต่อค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อค่าการดูดกลืนแสง ยิ่งขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นค่าการดูดกลืนแสงจะมากขึ้นตามไปด้วย เช่นเดียวกับ ณัฐกานต์ (2547) ที่พบว่าตัวอย่างข้าวสารที่มีรูปร่างใหญ่ เมล็ดเรียวยาว จะมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าข้าวสารที่มีรูปร่างเล็ก เมล็ดสั้น และป้อม

4) ความชื้น (moisture content) ตัวอย่างที่มีความชื้นสูงจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่าตัวอย่างที่มีความชื้นต่ำ โดยตัวอย่างที่มีความชื้นต่ำแทบจะไม่มีค่าการ

ดูดกลืนแสงของน้ำเลยที่ความยาวคลื่น 1940 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่สเปกตรัมของน้ำมีการดูดกลืนแสงที่ชัดเจน ตรงกันข้ามกับตัวอย่างที่มีความชื้นสูงจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่าตัวอย่างที่มีความชื้นต่ำ (Osborne et al., 1993a)

2.6.5.2 การเลือกความยาวคลื่น (wavelength selection)

เนื่องจากสเปกตรัมที่ได้จากเครื่อง NIR จะมีสเปกตรัมที่ซ้อนทับกันและมีพีกที่กว้าง ดังนั้นความแม่นยำ ของสมการทำนายนอกจากขึ้นอยู่กับเตรียมตัวอย่างแล้วยังขึ้นอยู่กับ การเลือกความยาวคลื่นด้วย โดยส่วนมากพบว่าการใช้ความยาวคลื่นทั้งสเปกตรัม (full spectrum) จะให้ความแม่นยำ ของสมการดีกว่าการใช้ความยาวคลื่นเพียงความยาวคลื่นเดียว หรือบางช่วงของสเปกตรัม ในการสร้างสมการทำนายด้วย multiple linear regression (MLR) การเลือกความยาวคลื่นจะเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากต่อสมการทำนายแต่จะมีผลกระทบ น้อยเมื่อใช้ partial least squares regression (PLSR) (ศศิวิมล, 2553) มีหลายงานวิจัยที่แสดง ให้เห็นว่าการสร้างสมการทำนายด้วย PLSR ช่วงของความยาวคลื่นที่เลือกก็มีผลต่อความ แม่นยำของสมการ ในการสร้างสมการด้วย PLSR กับตัวอย่างที่มีความชื้นสูง เช่น ผักและผลไม้ ซึ่งปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำตาลมีความสัมพันธ์กันอย่างมาก เนื่องจากน้ำมีคุณสมบัติใน การดูดกลืนคลื่นแสง NIR ได้ดี จึงพบพีกที่ชัดเจนกว่าพีกของน้ำตาล การเลือกความยาวคลื่นจึง อาจเกิดความผิดพลาดได้บ่อย มีการทดลองที่พบว่า การเลือกความยาวคลื่น 950 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณความชื้นเป็นความยาวคลื่นแรกของสมการ ทำนายปริมาณน้ำตาล ทำให้มีค่าความแตกต่างเฉลี่ย (bias) สูงกว่าการเลือกความยาวคลื่น 906 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับน้ำตาล

2.6.5.3 การวิเคราะห์ค่าเคมี (chemical analysis)

เนื่องจาก NIRs เป็นวิธีการวิเคราะห์แบบใช้ความสัมพันธ์ลำดับที่ 2 (secondary relation) ข้อมูลการวิเคราะห์ทางเคมีจึงมีผลกระทบกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย NIRS นอกจากนี้การใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ทางเคมีนาน อาจทำให้องค์ประกอบทางเคมีใน ตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อความแม่นยำของข้อมูลวิเคราะห์ทางเคมี ทำให้มีความ แปรปรวนสูง (ศศิวิมล, 2553)

2.7 การแปลงข้อมูลสเปกตรัม (Spectral pretreatment)

สเปกตรัมในย่านเนียร์อินฟราเรดโดยทั่วไปจะมีลักษณะที่เห็นได้ชัดคือ มีเหลื่อมซ้อนกัน (overlapping) ของแถบการดูดกลืนแสงและมีความแตกต่างของขนาดของสเปกตรัมหรือ Log (1/R) อันเนื่องมาจากการกระเจิงแสงหรือปัจจัยอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ ขนาดตัวอย่าง การบรรจุ ตัวอย่าง ความชื้นในตัวอย่าง เป็นต้น ซึ่งมักจะส่งผลกระทบต่อมากกว่าผลจากความแตกต่างของความเข้มข้นขององค์ประกอบที่ต้องการตรวจวัด ดังนั้นก่อนที่จะนำสเปกตรัมไปวิเคราะห์จึงควรนำข้อมูลสเปกตรัมไปแปลงข้อมูลด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์เพื่อลดความคลาดเคลื่อนให้เหลือต่ำที่สุด (ศุมาพร, 2552) และช่วยให้สมการมีความแม่นยำมากขึ้น วิธีการแปลงข้อมูลสเปกตรัมที่ดีที่สุดคือ วิธีที่ทำให้สมการทำนายมีความสามารถทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างได้ใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากวิธีวิเคราะห์ทางเคมีที่ดีที่สุด ทำได้โดยการทดลองใช้แต่ละวิธีจนกว่าจะได้วิธีการทำนายที่มีความแม่นยำที่สุด โดยต้องเข้าใจความหมายและคำนึงถึงข้อดีข้อเสียของแต่ละวิธีให้ชัดเจน (Hruschka, 2001) วิธีการทางคณิตศาสตร์ที่นิยมใช้ในการแปลงข้อมูลสเปกตรัม ได้แก่

1) การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (multiplicative scatter correction, MSC)

สเปกตรัมที่ได้จากการวัดการดูดกลืนแสง NIR แบบ reflectance และแบบ transmittance มักจะเกิดการกระเจิงแสง ซึ่งการกระเจิงแสงโดยทั่วไปจะทำให้ความชันโดยรวมของสเปกตรัมเปลี่ยนไป จึงมีการใช้วิธีทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า MSC คือ การแปลงข้อมูลสเปกตรัมโดยการนำสเปกตรัมของตัวอย่างทั้งหมดมาเฉลี่ย เพื่อให้สามารถลดผลกระทบแบบผลคูณ (multiplicative effect) และยังสามารถลดผลในแบบผลบวก (additive effect) ได้ด้วย หรือผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นหรือลดลงเท่ากันตลอดช่วงความยาวคลื่น ซึ่งเป็นผลจากการใช้ตัวอย่างชนิดเดียวกัน แต่มีขนาดอนุภาคที่แตกต่างกัน จึงส่งผลให้เกิดการกระเจิงแสงทำให้ได้สเปกตรัมของตัวอย่างดังกล่าวมาแล้ว ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีหนึ่งที่ยอมรับใช้ในการลดค่าความผิดพลาด (error) จากอิทธิพลของการกระเจิงแสง โดยมีวิธีการ คือ การหาสเปกตรัมเฉลี่ยของการทดลองนั้น จากนั้นหามุขสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่างให้มาตรงกับสเปกตรัมเฉลี่ย โดยการหาค่าคงที่ค่าหนึ่งมาลบออกจากสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่างเพื่อลดการเลื่อนตัวของสเปกตรัม จากนั้นนำค่าคงที่อีกค่าหนึ่งมาหารค่าการดูดกลืนแสง (Log (1/R)) ของทุกๆ จุดของตัวอย่างเพื่อปรับความชันของสเปกตรัมที่เปลี่ยนไป หรือก็คือการปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เพิ่มขึ้นหรือลดลงเป็นสัดส่วนเพื่อให้มีค่าตรงกับสเปกตรัมเฉลี่ย โดยรูปร่างของสเปกตรัมหลังการใช้วิธี MSC จะมีรูปร่างไม่แตกต่างจากสเปกตรัมก่อนการปรับแก้มากนัก ซึ่ง Delwiche et al. (1995) ได้ทดลองใช้ NIRs แบบ reflectance หาปริมาณอะไมโลสในเมล็ดข้าว โดยใช้วิธี MSC ในการแปลงข้อมูลสเปกตรัมเพื่อลดอิทธิพลของขนาดอนุภาคตัวอย่างก่อนการสร้างสมการ พบว่ามีค่าความคลาดเคลื่อนของสมการต่ำกว่าสมการของสเปกตรัมดั้งเดิม

2) วิธีปรับสเปกตรัมให้เรียบ (smoothing) เป็นวิธีที่ใช้กับข้อมูลที่มีสัญญาณรบกวน (noise) สูงซึ่งมีผลทำให้สเปกตรัมไม่เรียบ วิธีการ คือ หาค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ (moving average) โดยแทนค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความยาวคลื่นด้วยค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงในช่วงหนึ่งความยาวคลื่น จากนั้นคำนวณซ้ำจนครบตลอดช่วงความยาวคลื่น วิธีนี้สามารถลดปัญหาของสัญญาณรบกวนต่อค่าการดูดกลืนแสง (signal to noise) (ศศิวิมล, 2553) ทำให้ได้สเปกตรัมที่มีลักษณะเหมือนสเปกตรัมดั้งเดิม แต่จะเรียบสม่ำเสมอ (Siesler et al., 2002)

3) การแปลงค่าด้วยวิธีอนุพันธ์ (derivative transformation) การหาค่าอนุพันธ์ (derivative) ของสเปกตรัมเป็นวิธีที่ใช้เพื่อแก้ปัญหาฟีกที่มีฐานกว้าง (broad peak) เนื่องจากการซ้อนทับกันของฟีกและอิทธิพลจากการยกตัวของเส้นสเปกตรัม (baseline shift) ที่เกิดจากการกระเจิงของแสง (scattering) ทำให้แสงที่ตกกระทบตัวอย่างเปลี่ยนทิศทาง การบรรจุตัวอย่างและความชื้นภายในตัวอย่างที่แตกต่างกันมีผลต่อการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ (William and Norris, 2001) การแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยอนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง (first derivative) เป็นการหาความชันของทั้งสเปกตรัม โดยหาอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความยาวคลื่น ช่วยลดปัญหาการเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ของค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมแต่ยังมีฐานกว้างอยู่ ทำให้ฟีกแยกออกจากกันไม่ชัดเจน นอกจากนี้วิธีอนุพันธ์อันดับที่หนึ่งให้ผลเป็นค่าความชันของสเปกตรัมแต่ละความยาวคลื่น ทำให้แปลความหมายยาก แต่การแปลงข้อมูลด้วยอนุพันธ์อันดับที่สอง (second derivative) เป็นที่นิยมมากกว่า โดยเป็นการนำอนุพันธ์อันดับที่หนึ่งมาหาความชันอีกครั้ง (Siesler et al., 2002) เพราะสามารถแยกฟีกที่มีการซ้อนทับกันออกจากกันได้อย่างชัดเจน เนื่องจากการทำอนุพันธ์อันดับที่สูงขึ้นทำให้ความกว้างของฟีกแคบลง สามารถลดผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมมีขนาดเพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่นตามแกน Y ทำให้ทราบตำแหน่งความยาวคลื่นที่ชัดเจนขึ้นแต่สเปกตรัมจะมีลักษณะหัวกลับลงมาด้านล่าง (ศศิวิมล, 2553)

นอกจากนี้ยังมีวิธีการแปลงสเปกตรัมที่นิยมใช้อีกหลายวิธี เช่น วิธีการปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐานและการปรับแนวโน้ม (standard normal variate, SNV and detrending) ซึ่งเป็นวิธีในการกำจัดอิทธิพลของการกระเจิงแสงวิธีหนึ่งโดยผลที่ได้จะคล้ายคลึงกับวิธี MSC แต่กระบวนการปรับแก้แตกต่างตรงที่ SNV ไม่จำเป็นต้องใช้สเปกตรัมอ้างอิงแต่สเปกตรัมแต่ละเส้นจะถูกปรับแก้โดยปรับค่าการดูดกลืนให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน (normalization) คล้ายกับการคำนวณค่ามาตรฐาน หรือค่า Z ในทางสถิติ แต่โดยทั่วไปแล้วหลังจากใช้วิธี SNV แล้วจะตามด้วยการปรับแนวโน้มของเส้นสเปกตรัม (detrending) เพื่อลดความโน้มเอียงของเส้นสเปกตรัม และปรับแก้ผลที่เกิดจากการกระเจิงแสงที่มักจะส่งผลเป็นแบบผลคูณต่อค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งผลที่ได้จากการปรับแนวโน้มที่ชัดเจนขึ้น คือจะช่วยเน้นให้ยอด

ของสเปกตรัมมีความเด่นชัดขึ้นและวิธีการปรับเป็นค่ามาตรฐาน เป็นการปรับแก้กลุ่มของสเปกตรัมเพื่อให้ได้สเปกตรัมมีจุดที่สำคัญเด่นชัดขึ้น และเป็นการกำจัดความแปรปรวนอันเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ ที่ไม่ต้องการออกไปช่วยให้สามารถศึกษาหาความเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมกับค่าทางเคมีที่วิเคราะห์ได้ดีขึ้น หรือเป็นการลดความซับซ้อนของข้อมูลช่วยให้นำข้อมูลสเปกตรัมไปทำการปรับเทียบมาตรฐาน (calibration equations) ได้ง่ายขึ้น แต่วิธีนี้เป็นเพียงการนำสเปกตรัมมาปรับเทียบในสเกลใหม่เพื่อศึกษาแนวโน้มการเปลี่ยนสเปกตรัมตามค่าที่สนใจในเบื้องต้นเท่านั้น

2.8 การเลือกวิธีการแปลงข้อมูลสเปกตรัม NIR

- 1) ถ้าสเปกตรัมมีสัญญาณรบกวนมากหรือสเปกตรัมมีลักษณะเป็นยอดแหลมเล็กกระจายตลอดช่วงความยาวคลื่นบนสเปกตรัม อาจพิจารณาใช้วิธีการทำให้สเปกตรัมเรียบ (smoothing) เพื่อปรับให้สเปกตรัมเรียบขึ้น
 - 2) ถ้าสเปกตรัมมีการเลื่อนตัวในแนวแกน Y (baseline shift or offset) อันเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ ควรใช้อนุพันธ์อันดับที่หนึ่ง (first derivative) ปรับสเปกตรัมหรือใช้อนุพันธ์อันดับที่สอง (second derivative)
 - 3) ถ้าสเปกตรัมมีการเลื่อนตัวในแนวแกน Y และเกิดการหมุนทำให้ค่าความยาวคลื่นสูงมีค่าเบี่ยงเบนมากกว่าที่ความยาวคลื่นต่ำ และถ้าต้องการให้เกิดการแยกยอดสเปกตรัมออกจากกัน ในกรณีสเปกตรัมเหลื่อมซ้อนกันอันเนื่องมาจากแถบคอมบิเนชัน (combination bands) ควรใช้อนุพันธ์อันดับที่สอง (second derivative)
 - 4) ถ้าต้องการแก้ปัญหาอิทธิพลของขนาดตัวอย่างให้เลือกใช้วิธีการปรับให้เป็นปกติ (normalization)
 - 5) ถ้าต้องการแก้อิทธิพลของการกระเจิงแสง (scattering) ที่ทำให้สเปกตรัมเลื่อนตัวตามแกน Y และเกิดการหมุนในข้อ 3 ควรใช้วิธี MSC (multiplicative scatter correction)
- ข้อแนะนำอย่างหนึ่ง คือ ไม่ควรเลือกใช้วิธีหลายๆ วิธีที่ให้ผลการปรับสเปกตรัมเหมือนกัน และควรศึกษาพิจารณารูปร่างสเปกตรัมโดยรวมก่อนว่าน่าจะเป็นการเกิดจากอิทธิพลของอะไร แล้วจึงเลือกใช้วิธีการปรับแต่งตามข้อ 1 ถึง 5 ดังนั้นโดยสรุป วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม NIR ที่ดีที่สุดก็คือวิธีที่ทำให้สามารถวิเคราะห์ได้สมการ calibration ที่มีความสามารถในการประเมินค่าของตัวอย่างในอนาคตได้ใกล้เคียงที่สุด โดยต้องเข้าใจความหมายและคำนึงถึงข้อดีข้อเสียของแต่ละวิธีให้ชัดเจน และโดยทั่วไปอาจจะต้องใช้วิธีลองผิดลองถูก (อนุพันธ์, 2552)

2.9 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณต้องอาศัยการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration equation) โดยขั้นตอนการสร้างสมการต้องมีการสุ่มเก็บตัวอย่างที่ทราบทั้งปริมาณองค์ประกอบของตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้จากวิธีมาตรฐาน (standard method of laboratory analysis) กับข้อมูลสเปกตรัมของตัวอย่าง ซึ่งการสุ่มตัวอย่างเป็นสิ่งสำคัญ โดยตัวอย่างต้องเป็นตัวแทนที่ดีของกลุ่มประชากรตัวอย่างในอนาคตที่จะถูกทำนายโดยเครื่อง NIR นอกจากนี้ต้องคำนึงถึงความถูกต้อง ความแม่นยำของวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วย เพราะสุดท้ายจะต้องนำค่าที่ได้จากการทำนายด้วยเทคนิค NIR ไปเปรียบเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานเพื่อพิสูจน์ความน่าเชื่อถือของสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างขึ้น (ธงชัยและปิติพร, 2552) วิธีการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้ NIRS แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ

2.9.1. การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration equation) สามารถทำได้ 2 วิธี

1) วิธีการเลือกความยาวคลื่น (wavelength selection method) เป็นวิธีที่ใช้ในการคัดเลือกตัวแปรอิสระเฉพาะความยาวคลื่นที่น่าจะมีความสัมพันธ์กับตัวแปรตามที่จะทำนายโดยพิจารณาจากข้อมูลทางสถิติ

1.1 การถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (simple linear regression, SLR) หรือเรียกว่า การถดถอยเชิงเส้นเทอมเดียว (single term linear regression) ซึ่งถือว่าเป็นการทำแคลิเบรชันอย่างง่าย (simple calibration) ประกอบด้วยตัวแปรอิสระ (X) เพียง 1 ตัว และตัวแปรตาม (Y) เพียง 1 ตัว โดยเป็นการเลือกพิจารณาความสัมพันธ์เชิงปริมาณของตัวอย่างที่ความยาวคลื่นเพียงความยาวคลื่นเดียว (single wavelength) แต่เนื่องจากสเปกตรัมของตัวอย่างมีข้อมูลขององค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด ในการวิเคราะห์วิเคราะห์ด้วย NIRS จึงไม่สามารถใช้ความยาวคลื่นเพียงความยาวคลื่นเดียวได้ จึงต้องใช้ข้อมูลจากหลายความยาวคลื่น (multiple wavelength) เพื่อทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ (ธงชัยและปิติพร, 2552) สมการ SLR สามารถเขียนได้ดังนี้

$$Y = b_0 + b_1 X$$

เมื่อ Y = ค่าองค์ประกอบทางเคมี

X = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับค่าทางเคมี

b_0 = ค่าคงที่ ณ จุดตัดแกน Y เมื่อ X มีค่าเท่ากับ 0

b_1 = ค่าคงที่การถดถอย หรือค่าความชันของกราฟ

1.2 การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression, MLR) เป็นการสร้างสมการที่ประกอบไปด้วยตัวแปรอิสระ (X) มากกว่า 1 ตัว และตัวแปรตาม (Y) ซึ่งเป็นค่าตัวแปรที่ได้มาจากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน (reference method) 1 ตัว เทคนิคนี้มีความ

ซับซ้อนในการแสดงรูปแบบความสัมพันธ์และการสร้างสมการมากกว่าเทคนิค SLR ซึ่งความยุ่งยากและซับซ้อนอยู่ที่การเลือกตัวแปรอิสระที่เหมาะสม และการหาค่าคงที่ของตัวแปรในสมการ (ธงชัยและปิติพร, 2552) แต่ข้อเสียของวิธีนี้ คือ การคัดเลือกตัวแปรอิสระหรือความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากความยาวคลื่นทั้งหมดเพื่อมาสร้างสมการอาจได้ข้อมูลที่ไม่ครอบคลุมมากพอ ทำให้ได้ค่าจากการทำนายสูงหรือต่ำกว่าค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี (Osborne et al., 1993b) สมการ MLR สามารถเขียนได้ดังนี้

$$C = K_0 + K_1A_1 + K_2A_2 \dots + K_nA_n$$

เมื่อ $C =$ ค่าองค์ประกอบทางเคมี

$A_1, A_2 \dots, A_n =$ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นตำแหน่งที่ n

$K_1, K_2 \dots, K_n =$ ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยที่ความยาวคลื่นตำแหน่งที่ n

2) วิธีการวิเคราะห์โดยใช้สเปกตรัมทั้งหมด (full spectrum analysis method)

การใช้วิธีคัดเลือกหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม (selection wavelength) จากความยาวคลื่นทั้งหมดเป็นเรื่องที่ยากและอาจเกิดข้อผิดพลาดได้ค่าข้อมูลที่ไม่ถูกต้องและเกิดปัญหาได้ค่าที่ทำนายต่ำกว่าหรือสูงกว่าค่าที่แท้จริง (underestimation) อันเนื่องมาจากการเกิดความคลาดเคลื่อนในการสร้างสมการหรือเกิดปัญหาเมื่อมีจำนวนตัวอย่างที่นำมาใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานน้อย และทำให้ได้สมการที่มีตัวแปรอิสระมากเกินไป ทำให้ข้อมูลไม่น่าเชื่อถือ (over fitting) ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นการใช้ข้อมูลทั้งสเปกตรัมหรือช่วงความยาวคลื่นที่สนใจ มาสร้างสมการ โดยทำการลดจำนวนตัวแปรอิสระ (X) และสร้างตัวแปรกลุ่มใหม่ขึ้นมาโดยวิธีทางสถิติซึ่งได้แก่

2.1 การถดถอยโดยใช้องค์ประกอบหลัก (principle components

regression, PCR) เป็นการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) กับข้อมูลที่เป็นตัวแปรอิสระ (X) ที่ได้จากข้อมูลของสเปกตรัมเพื่อลดจำนวนตัวแปรเดิมลงโดยการสร้างองค์ประกอบหรือตัวแปรใหม่ที่เรียกว่า แฟกเตอร์ (factor score, F) หรือ principle component (PC) แล้วจึงนำค่าแฟกเตอร์ไปสร้างสมการเชิงถดถอย ก่อนนำมาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม (Y) ที่ได้จากวิธีวิเคราะห์มาตรฐานเพื่อสร้างสมการทำนายตัวแปรตาม (Y)

2.2 การถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least square

regression, PLSR) เป็นเทคนิควิเคราะห์หลายตัวแปร (multivariate analysis) ซึ่งเป็นการลดจำนวนตัวแปร เช่นเดียวกับวิธี PCR แต่วิธี PLSR ต่างตรงที่ในช่วงการจับกลุ่มลดจำนวนตัวแปรโดยการสร้างตัวแปรใหม่นั้นจะมีการนำข้อมูลตัวแปรตาม (Y) เข้ามาร่วมในการสร้างตัวแปรใหม่ที่เรียกว่า ค่าคะแนนปัจจัยใหม่ (factor loading) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับตัวแปรตามอยู่แล้ว ในการประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ เพื่อสร้างสมการแคลิเบรชันสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การสร้างสมการถดถอย

แบบ PLS1 และ PLS2 โดยวิธีการถดถอยแบบ PLS1 เป็นการสร้างสมการสำหรับทำนายค่าตัวแปรตามเพียง 1 ตัว โดยใช้สมการ 1 สมการ ในขณะที่วิธีการถดถอยแบบ PLS2 เป็นการสร้างสมการสำหรับทำนายค่าตัวแปรตามหลายตัวแปรโดยใช้สมการเดียวกัน แต่โดยทั่วไปแล้วสมการที่สร้างด้วยวิธีแบบ PLS1 จะให้ค่าความถูกต้องของการทำนายที่ดีกว่าสมการที่สร้างโดยวิธีแบบ PLS2 (ธงชัยและปิติพร, 2552)

2.9.2 การทดสอบสมการ (validation method)

เมื่อได้สมการแล้วจะต้องนำสมการที่มาทดสอบเพื่อวัดประสิทธิภาพของสมการว่าสามารถใช้ประเมินค่าได้แม่นยำมากน้อยเพียงใด โดยวิธีที่นิยมมี 2 วิธี ดังนี้

1) full cross validation วิธีนี้ตัวอย่างที่นำมาทดสอบเป็นตัวอย่างชุดเดียวกันกับกลุ่มที่ใช้ในการสร้างสมการมีวิธีการ คือ

ขั้นตอนที่ 1 ตัดตัวอย่างที่ 1 ออกไปจากกลุ่มแล้วนำตัวอย่างที่เหลือมาสร้างสมการ เมื่อได้สมการแล้วนำตัวอย่างที่ 1 ที่ตัดออกไปตอนแรกมาทดสอบสมการ

ขั้นตอนที่ 2 ตัดตัวอย่างตัวที่ 2 ออกไป นำตัวอย่างตัวที่ 1 กลับเข้ามาในกลุ่มสร้างสมการรวมกับตัวอย่างอื่นๆ ที่เหลือเพื่อสร้างสมการ เมื่อได้สมการแล้วจึงนำตัวอย่างที่ 2 มาทดสอบสมการ ทำซ้ำอย่างนี้ไปเรื่อยๆ จนกระทั่งทดสอบสมการครบทุกตัว ซึ่งตัวอย่างแต่ละตัวจะถูกตัดออก 1 ครั้งเท่านั้น

การทดสอบในลักษณะนี้เป็นการทดสอบภายใน (internal validation) ซึ่งวัดผลโดยการดูค่า root mean square of cross validation (RMSECV) เป็นการวัดค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการประเมินด้วยสมการที่สร้างขึ้นกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ ถ้ามีความแตกต่างกันน้อยแสดงว่าสมการมีประสิทธิภาพให้ค่าที่สามารถยอมรับได้และมักใช้กับตัวอย่างที่มีจำนวนน้อย (ศศิวิมล, 2553)

2) prediction testing เป็นการทดสอบโดยการนำกลุ่มตัวอย่างชุดใหม่ (test set) มาทดสอบค่าจากสมการที่ได้ โดยตัวอย่างชุดใหม่ที่นำมาวิเคราะห์ต้องมีวิธีการเตรียมตัวอย่างการวัดสเปกตรัม ปัจจัยต่างๆ ในระหว่างการวิเคราะห์และการแปลงข้อมูลสเปกตรัมต้องเหมือนกับกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ การทดสอบลักษณะนี้เรียกว่า การทดสอบภายนอก (external validation) และพิจารณาความแม่นยำจากค่าทางสถิติ ได้แก่ ค่า bias คือ ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธี NIR กับค่าจากวิธีอ้างอิง และค่า root mean square error of prediction (RMSEP) ถ้าผลของการหาปริมาณใกล้เคียงกับผลของค่าอ้างอิงและค่าทางสถิติดี แสดงว่าสมการประเมินค่าทางเคมีสามารถยอมรับได้ และนำไปใช้หาปริมาณตัวอย่างต่อไปได้ ถูกต้อง (ศิริพร, 2551) ในการเลือกสมการเทียบมาตรฐาน มีหลักการทั่วไปคือ เลือกสมการที่ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (multiple coefficient of correlation, R) สูงและควรมีค่าเข้าใกล้ 1 ส่วนค่า

ผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration, SEC) ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction, SEP) และ ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIR (bias) ควรมีค่าต่ำ) ส่วนค่าสถิติที่ใช้ในการตรวจสอบว่าสมการเทียบมาตรฐานมีความถูกต้องสามารถนำไปใช้งานได้หรือไม่ คือ ค่า SEP และ bias ซึ่งควรมีค่าต่ำ ถึงจะแสดงว่าสมการเทียบมาตรฐานมีความเหมาะสมที่จะนำเครื่อง NIR มาใช้ในการทำนายคุณลักษณะที่ต้องการหา รวมทั้งค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) ควรมีค่าเข้าใกล้ 1 (ธงชัยและปิติพร, 2552)

2.10 ข้อได้เปรียบของเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

- 1) เป็นการตรวจสอบที่ไม่ทำลายตัวอย่าง (non-destructive) รวมทั้งวิธีการเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยากและใช้ตัวอย่างในปริมาณน้อย
- 2) เป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ประหยัดเวลา เชื่อถือได้ และปลอดภัย
- 3) เป็นวิธีที่สามารถใช้ทดแทนการวิเคราะห์ทางเคมีได้ และในระยะยาวสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ อีกทั้งไม่ใช้สารเคมีในการเตรียมตัวอย่างดังนั้นจึงเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมด้วย
- 4) ในการวัดสเปกตรัมแต่ละครั้งสามารถนำมาวิเคราะห์เพื่อทำนายค่าต่างๆ ได้หลายค่าในเวลาเดียวกัน
- 5) สามารถใช้ในสถานที่ที่มีการสั่นสะเทือนหรือเคลื่อนไหวได้ เช่น บนเรือ เพราะไม่ต้องอาศัยการชั่งน้ำหนัก
- 6) สามารถนำเครื่องไปตรวจสอบคุณภาพผลผลิตทางการเกษตรก่อนเก็บเกี่ยวได้ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเก็บเกี่ยวผลผลิต

2.11 การประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS กับเมล็ดข้าวสาร

ที่ผ่านมาได้มีงานวิจัยหลากหลายที่นำเอาเทคนิค NIRS มาใช้เพื่อทำนายหาปริมาณขององค์ประกอบของข้าวสาร เช่น เมื่อปี ค.ศ. 1995 Delwiche และคณะ ได้นำเทคนิค NIRS มาใช้หาปริมาณอะไมโลสในข้าวสาร โดยวัดแบบการสะท้อนกลับในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร และวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค PLSR พบว่า ค่า R^2 เท่ากับ 0.95 ซึ่งความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับปริมาณอะไมโลสอยู่ในช่วง 1690-1840 นาโนเมตร, 2040-2190 นาโนเมตร และ 2250-2375 นาโนเมตร ต่อมา Delwiche et al. (1996) ได้ศึกษาต่อเพื่อใช้ในการแบ่งลักษณะคุณภาพของข้าวสาร โดยวัด NIR ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-2500 นาโนเมตร ซึ่งมีปริมาณอะไมโลสระดับการสีโดยดูจากความขาว และปริมาณโปรตีน พบว่า ปริมาณอะไมโลสและปริมาณโปรตีนได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.98 และ 0.97 ตามลำดับ โดยใช้ช่วงความยาวคลื่น 1100-1800 นาโนเมตร

ส่วนระดับการสื้ได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.97 โดยใช้ช่วงความยาวคลื่น 400-1100 นาโนเมตร ให้ผลการตรวจวัดได้ดีที่สุด เมื่อนำเทคนิค NIRS ที่วัดแบบการสะท้อนกลับ ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร เพื่อใช้ทำนายปริมาณของกรดอะมิโนและไนโตรเจนในข้าวสาลี พบว่า กรดอะมิโน 15 ชนิด ยกเว้น cystine, methionine และ histidine ให้ค่า R^2 ต่ำ ส่วนกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ได้ค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.84-0.97 และมีค่า SEC ต่ำ ส่วนไนโตรเจนมีค่า R^2 เท่ากับ 0.94 นอกจากนี้ หากใช้เทคนิค NIRS ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ทำนายคุณภาพแป้งในข้าวสาลี พบว่า ปริมาณอะไมโลส ค่าการคืนตัวของแป้งข้าว (setback) การแตกหัก (breakdown) และ อุณหภูมิที่ทำให้เกิดเจล (gelatinization peak temperature) มีค่า R^2 เท่ากับ 0.91, 0.92, 0.88 และ 0.89 ตามลำดับ การทำนายองค์ประกอบทางเคมีของข้าวสาลี โดยวัด NIR ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร พบว่า ปริมาณอะไมโลส ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมันโดยรวม และ ปริมาณความชื้นของข้าวสาลี มีค่า R^2 เท่ากับ 0.97, 0.95, 0.95 และ 0.93 ตามลำดับ ช่วงความยาวคลื่นที่ใช้สร้างสมการทำนายปริมาณอะไมโลส ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมันโดยรวม และ ปริมาณความชื้น คือ 1300-2300 นาโนเมตร 1130-2250 นาโนเมตร 1500-2450 นาโนเมตร และ 1300-2300 นาโนเมตร ตามลำดับ (ศิริพร, 2551) การทำนายปริมาณอะไมโลสเทียบต่อ ปริมาณสตาร์ช ปริมาณสตาร์ช ปริมาณโปรตีน และปริมาณความชื้นของข้าวสาลีจำนวน 6 พันธุ์ โดยวัด NIR ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร พบว่า ปริมาณอะไมโลสเทียบต่อ ปริมาณสตาร์ช ปริมาณสตาร์ช ปริมาณโปรตีน และปริมาณความชื้น มีค่า R^2 เท่ากับ 0.98, 0.95, 0.89 และ 0.74 ตามลำดับ และความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับปริมาณอะไมโลส คือ 1260, 2080 และ 2270 นาโนเมตร ซึ่งเกี่ยวข้องกับพันธะ C-H ความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับปริมาณสตาร์ช คือ 1460 และ 1830 นาโนเมตร โดยเกี่ยวข้องกับพันธะ C-H และโมเลกุลของสตาร์ช ความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับปริมาณความชื้น คือ 1460 และ 1910 นาโนเมตร โดยเกี่ยวข้องกับพันธะ O-H (ณัฐกานต์, 2547) การใช้เทคนิค NIRS เพื่อตรวจสอบการปนของข้าวสาลีพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 โดยวัดช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร พบว่า เทคนิคนี้สามารถใช้แยกข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่างกับปริมาณอะไมโลสสูงออกจากกันได้อย่างชัดเจน โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.99 โดยช่วงความยาวคลื่นที่ใช้สร้างสมการทำนายการปนของข้าว คือ 1140-2358 นาโนเมตร (ศศิวิมล, 2553) จากผลการวิจัยข้างต้นปรากฏเด่นชัดว่าเทคนิค NIRs สามารถใช้ตรวจสอบองค์ประกอบต่างๆ รวมถึงคุณภาพของข้าวสาลีทั้งทางด้านกายภาพ และเคมี ได้อย่างแม่นยำและถูกต้อง โดยจะเห็นว่าเทคนิคนี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการตรวจสอบที่รวดเร็ว แม่นยำ ลดการใช้สารเคมี และไม่ทำลายตัวอย่างด้วย

2.12 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเมล็ดข้าวสารในระหว่างการเก็บรักษาที่มีผลต่อสเปกตรัม

ภายหลังจากการเก็บเกี่ยว ภายในเมล็ดข้าวจะเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น โดยเฉพาะในระยะเวลา 3-4 เดือนหลังเก็บเกี่ยว เอนโดสเปิร์มจะแกร่งขึ้นทำให้คุณภาพการสีดีขึ้น การเปลี่ยนแปลงในเมล็ดข้าวเกิดขึ้นจากกระบวนการที่เกี่ยวข้อง 3 องค์ประกอบ คือ แป้ง ไขมัน และโปรตีน (Moritaka and Yasumatsu, 1972) การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของข้าวสารในระหว่างการเก็บรักษา เช่น ความชื้นในเมล็ด ปริมาณแป้ง ปริมาณไขมัน ปริมาณโปรตีน ปริมาณอะไมโลส ปริมาณน้ำตาล และความหนืดของแป้งข้าว สิ่งเหล่านี้มีผลทำให้สเปกตรัมที่ได้จากตัวอย่างมีค่าต่ำหรือสูงจากเริ่มต้นหรือก่อนทำการเก็บรักษาซึ่งโดยปกติหากปริมาณสารนั้นๆ มีค่าสูงขึ้นมักส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงมีค่าสูงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้องค์ประกอบในเมล็ดบางอย่างที่ถือว่าสำคัญมาก และมีผลกระทบต่อค่าการดูดกลืนแสงเป็นอย่างมาก นั่นก็คือ ความชื้น เนื่องจากน้ำเป็นองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ที่ดูดกลืนคลื่นแสง NIR ได้ดี จึงส่งผลให้เกิดการซ้อนทับ (overlapping) กับพีคของโมเลกุลขององค์ประกอบอื่น (Osborn et al., 1993a) สอดคล้องกับณัฐกานต์ (2547) กล่าวว่าปริมาณความชื้นมีความสำคัญต่อการวิเคราะห์หาปริมาณอะไมโลสในเมล็ดข้าวเป็นอย่างมาก เนื่องจากน้ำทำให้ผลการวิเคราะห์เกิดความเบี่ยงเบนไป ทำให้ลักษณะของสเปกตรัมที่ได้เปลี่ยนแปลงไปด้วย

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุดิบ

ข้าวกล้องงอก 100 ตัวอย่าง

3.1.1 ข้าวกล้องงอกจากท้องตลาดจำนวน 50 ตัวอย่าง

3.1.2 ข้าวกล้องงอกจากท้องตลาดจาก 3.1.1 ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จำนวน 50 ตัวอย่าง

3.2 สารเคมี

3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดข้าวกล้องงอก

- 99% Ethanol + 1 %HCl

3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แอนโทไซยานินส์

- 99% Ethanol + 1 %HCl

- Sodium acetate : $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$

- Potassium persulfate : $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$

- Hydrochloric acid : HCl

3.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟีนอลิก

- 99% Ethanol + 1 %HCl

- Folin-Ciocalteu's phenol reagent

- Sodium carbonate : Na_2CO_3

- Gallic acid (Sigma)

3.2.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์แอนติออกซิแดนส์

- 99% Ethanol + 1 %HCl

- 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl : DPPH (Sigma)

- 3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid : ABTS

- sodium persulphate

- Methanol (Carlo erba, Thailand)

- Trolox

3.3 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

3.3.1 อุปกรณ์ในเตรียมตัวอย่างและการสกัดสาร

- Hammer mill : เครื่องโม่, บดลดขนาด
- Centrifuge : เครื่องปั่นเหวี่ยง (Scientific Industries, G 560 E, USA)
- pH meter : เครื่องวัดค่าความเป็นกรด (Hanna, HI 2213, USA)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, BS 224 S, Germany)
- Beaker
- กระจกตวง
- ข้อนตักสาร
- กระดาษทิชชู

3.3.2 อุปกรณ์ในวิเคราะห์สารแอนโทไซยานินส์

- ขวดสีชา
- Spectrophotometer (Spectrophotometer G10)
- Glass cuvet
- Beaker

3.3.3 อุปกรณ์ในวิเคราะห์สารฟีนอลิก

- ขวดสีชา
- Spectrophotometer (Spectrophotometer G10)
- Glass cuvet
- Beaker

3.3.4 อุปกรณ์ในวิเคราะห์สารแอนติออกซิแดนส์

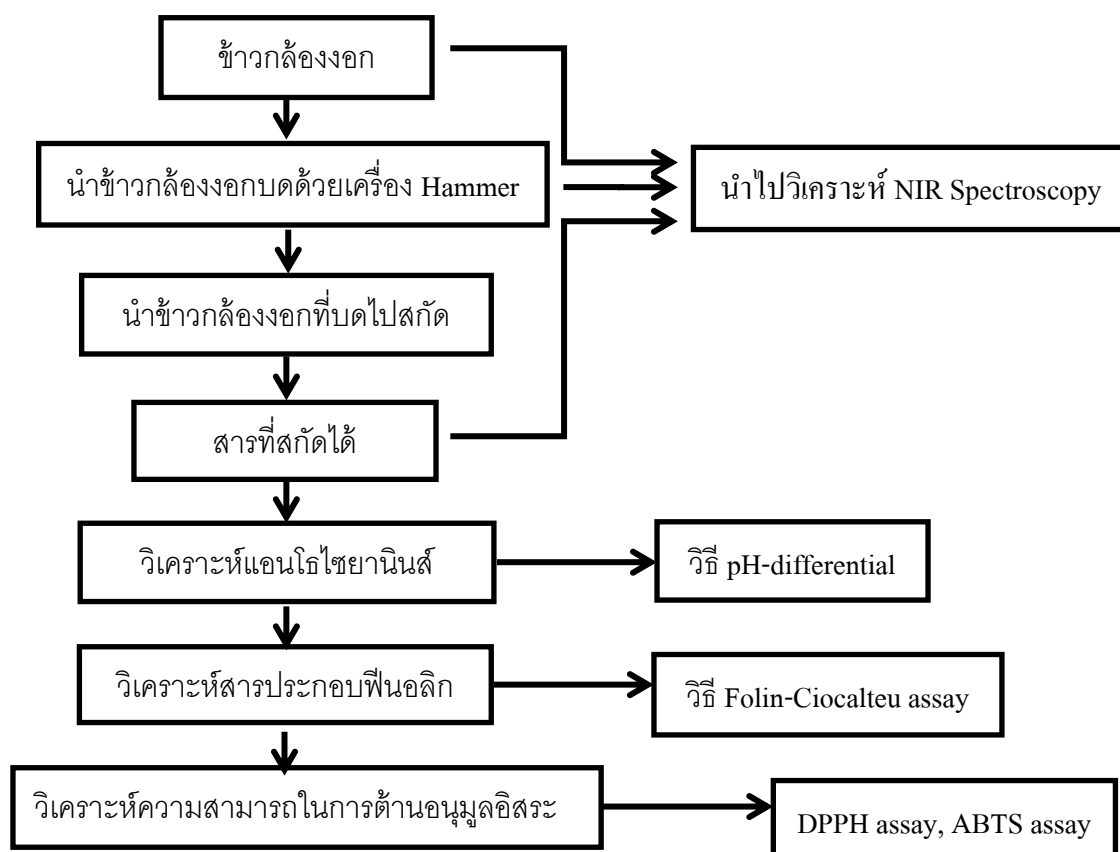
- ขวดสีชา
- Spectrophotometer (Spectrophotometer G10)
- Glass cuvet
- Beaker

3.4 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์สารทาง NIR

- เครื่อง Near Infrared(NIR) Spectroscopy (Bruker Optics, MPA, Germany)
- NIR sample cup ใช้ petri dish ขนาด 100 mm x 15 mm
- NIR sample cell สำหรับวัดตัวอย่างของเหลวมี path length 0.2 mm

3.5 แผนและทิศทางการดำเนินงาน

นำข้าวกล้องงอกที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดมาแบ่งเป็น 3 ส่วน โดยส่วนที่ 1 นำไปวิเคราะห์ NIRS ส่วนที่ 2 นำไปบด และส่วนที่ 3 นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำส่วนที่ 2 ที่บดเสร็จแล้วมาแบ่งเป็นสองส่วนคือนำไปวิเคราะห์ NIRS กับสกัดสาร และแบ่งสารสกัดออกเป็นสองส่วนโดยนำส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์ NIRS และอีกส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์องค์ประกอบของข้าวกล้องงอกด้วยวิธีทางเคมี ดังที่แสดงในแผนภาพ



ภาพที่ 16 แผนภาพการดำเนินงาน

3.6 วิธีการทดลองทางเคมี

3.6.1 การสกัดสาร

ซึ่งที่บดได้มาประมาณ 1 g จากนั้นเติม 99% Ethanol + 1 %HCl 25 ml ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 °C) เขย่านาน 24 ชั่วโมง นำไปใส่ใน centrifuge tube นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 6170 rpm เป็นเวลา ชั่วโมง 15 นาที แล้วนำใส่ขวดสีชาแล้วนำวิเคราะห์ต่อไป

3.6.2 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดโดยวิธี pH-differential

ในการวิเคราะห์แอนโทไซยานินจึงใช้วิธี pH-differential ซึ่งจะวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างสองความยาวคลื่นคือ 520 และ 700 nm โดยที่ 520 nm วัดหา แอนโทไซยานินส์ส่วนที่ 700 nm นั้นเป็นการวัดสีหรือความขุ่นของสารละลายที่ไม่ใช่สารแอนโทไซยานิน และวัดที่ pH สองค่า คือ 1.0 ซึ่งเป็นค่า pH ที่สารแอนโทไซยานินสามารถคงตัวอยู่ได้ และที่ 4.5 ซึ่งเป็นค่า pH ที่สารแอนโทไซยานินไม่สามารถคงตัวอยู่ได้

การวิเคราะห์แอนโทไซยานิน (AOAC international, 2006) สามารถทำได้โดยนำสารสกัดจากหา dilution factor ที่เหมาะสมที่ให้ค่า A_{520} อยู่ในช่วง 0.2 – 1.4 โดยการ diluted จะ diluted ด้วย pH 1.0 buffer เมื่อได้ dilution factor แล้ว จะใช้ค่า dilution factor นี้ในการเตรียมสารละลายที่จะใช้ในการทดสอบดังนี้ คือ ผสมสารสกัดตัวอย่างกับ pH 1.0 buffer และ ผสมผสมสารสกัดตัวอย่างกับ pH 4.5 buffer ตาม dilution factor ที่ได้ จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm และ 700 nm ภายในเวลา 20 – 50 นาที หลังจากผสมสารสกัดกับ บัฟเฟอร์ (Blank: distilled water)

นำค่าการดูดกลืนแสงของที่ได้มาคำนวณแอนโทไซยานินรวมตามสมการ

Anthocyanin pigment (cyanidin-3-glucoside equivalents, mg/L)

$$= \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{(\epsilon \times 1)}$$

- เมื่อ
- A = $(A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 1.0}} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 4.5}}$
- MW = molecular weight ของ cyaniding-3-glucoside = 449.2 g/mol
- DF = dilution factor (เช่น ถ้าตัวอย่าง 0.2 ml เจือจางด้วยบัฟเฟอร์จนมีปริมาตรเป็น 3 ml จะใช้ค่า DF = 15)
- 1 = ระยะทางที่แสงผ่าน
- ϵ = molar extinction coefficient ที่ขึ้นกับชนิดของ Anthocyanin และตัวทำละลายโดยทั่วไปใช้ค่าของ cyaniding-3-glucoside ใน buffer ที่ pH 1.0 = $26900 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$
- 1000 = factor สำหรับเปลี่ยนเป็น mg

3.6.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธี Folin-Ciocalteu

ในการทดสอบจะใช้ Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Molybdate (VI)) ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือน้ำเงิน ซึ่งเป็นสีของ Molybdate (V) ติดตามการเกิดปฏิกิริยาที่ความยาวคลื่น 725 nm

การวิเคราะห์สามารถทำได้โดยผสมสารสกัดจากข้าวกล้องงอกปริมาตร 1 ml กับ 10 % (v/v) Folin-Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 5 ml แล้วจากนั้นเขย่าให้สารผสมกัน และทิ้งไว้ 3 นาทีเติม 7.5% (w/v) Na_2CO_3 ปริมาตร 4 ml เขย่าให้สารผสมกัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีที่เปลี่ยนแปลงที่ความยาวคลื่น 725 nm (Blank : 1 ml of 99% Ethanol + 1 %HCL, 5 ml of 10 % (v/v) Folin-ciocalteu's phenol reagent, 4 ml of 7.5% (w/v) Na_2CO_3)

กราฟมาตรฐานของ Gallic acid ทำโดย ชั่ง gallic acid 0.01 g ปรับปริมาณ 100 ml เป็น stock solution ความเข้มข้น 100 ppm. จากนั้นนำ stock solution มา 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ml ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 10ml ด้วย น้ำกลั่น แล้วทำการวิเคราะห์ เหมือนกับสารสกัดจากข้าวกล้องงอกแต่ใช้สารละลาย Gallic acid แทนสารสกัดข้าวกล้องงอก ต่อไปนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานของ Gallic acid โดยให้แกน x เป็นค่าความเข้มข้นของ Gallic acid และแกน y เป็นค่าการดูดกลืนแสง และวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกโดยนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างมาเทียบกับกราฟมาตรฐานซึ่งค่าที่ได้จะแสดงเป็น mg Gallic acid equivalent (GAE)/g ของสารสกัด

3.6.4 การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดย DPPH assay

เป็นการติดตามการเกิดปฏิกิริยาโดยวัดสีม่วงของ DPPH radical ที่ลดลงเมื่อเติมสารสกัดโดยวัดที่ความยาวคลื่น 517 nm ซึ่ง DPPH เป็นสารประกอบของอนุมูลอิสระที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ การคงตัวหรือเสถียรของอนุมูล DPPH นี้คือมันมีลักษณะที่สามารถให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ได้ โดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) จะให้โปรตอนกับอนุมูล DPPH แล้วทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ลดลง ซึ่งจะประเมินผลของการต้านจากสีของ DPPH ที่ลดลง (Kubola และ Siriamornpun, 2008)

การวิเคราะห์สามารถทำได้โดยผสม 0.0001 M DPPH ใน Methanol ปริมาตร 3.9 ml กับสารสกัดจากข้าวกล้องงอกปริมาตร 0.1 ml เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 30 นาทีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm (Blank: of 99% Ethanol + 1 %HCL 0.1 ml, 0.0001 M DPPH in methanol 3.9 ml) นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากข้าวกล้องงอก หลังทำปฏิกิริยาแล้วมาคำนวณตามสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH radical-scavenging activity} = ((A_c - A_s) / A_c) \times 100$$

เมื่อ A_c = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากข้าวกล้องงอก

กราฟมาตรฐานของ Trolox ทำโดย ปิเปต Trolox จาก stock solution 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ml และปรับปริมาตรเป็น 10 ml ด้วย Methanol และทำการวิเคราะห์เหมือนกับสารสกัดจากข้าวกล้องงอกแต่ใช้สารละลาย Trolox แทนสารข้าวกล้องงอก แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงจากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานของ Trolox โดยให้แกน x เป็นค่าความเข้มข้นของ Trolox และแกน y เป็นค่าการดูดกลืนแสงนำค่าการดูดกลืนแสง

3.6.5 การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดย ABTS assay

เตรียม ABTS ความเข้มข้น 7 mM โดยชั่ง ABTS 0.0384 g Ethanol 10 ml เตรียม potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ดังนี้ potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) เข้มข้น 2.75 mM ซึ่ง 0.0165 g น้ำกลั่น 25 ml ผสมสารละลาย 7 mM ABTS และ 2.75 mM $K_2S_2O_8$ ในขวดสีชา จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จะได้ ABTS radical cation stock solution นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง 0.7-0.9 ที่ความยาวคลื่น 734 nm

เตรียมสารสกัดตัวอย่าง 0.1 ml ผสมสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้ว 0.9 ml ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ Trolox เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ คำนวณหาปริมาณ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

3.7 การศึกษาการใช้เทคนิค NIR ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องงอก

นำเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ต่างๆ ที่มีสีหรือรวงควัตถุ จำนวน 100 ตัวอย่างที่มีการเก็บรักษาเพื่อควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส มาสแกนเพื่อวัดค่าการดูดกลืนด้วยเครื่อง NIR spectrophotometer ด้วยสะท้อนแสง (reflectance) โดยเลือกใช้ช่วงความยาวคลื่น 1,100 – 2,500 nm จะได้ผลการสแกนออกมาเป็นเส้นสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่างออกมา นำผลการมาเรียงลำดับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์จากค่าน้อยไปหามากในแต่ละชนิดองค์ประกอบที่สำคัญ แล้วแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มจะมีตัวอย่างที่มีค่าครอบคลุมตั้งแต่ต่ำไปจนถึงมาก ดังนี้ ตัวอย่างกลุ่มแรกเป็น calibration set นำข้อมูลการดูดกลืนแสงจากเส้นสเปกตรัมมาทำการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป OPUS ในการปรับแต่งข้อมูล (pretreatment) บางส่วนด้วยวิธี second derivative (2D) และวิธี multiplicative scatter correction (MSC) เพื่อลดผลกระทบจากการขนาดที่ต่างกันของข้าวกล้องแต่ละตัวอย่าง จากนั้นจึงนำข้อมูลผ่านการปรับแต่ง

มาแล้วไปสร้างสมการ calibration equation ด้วยวิธี vector normalization (SNV), multiplicative scattering correction (MSC), first derivative (1D), second derivative (2D), first derivative กับ vector normalization (1D+SNV), first derivative กับ multiplicative scattering correction (1D+MSC) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสเปกตรัมกับค่าทางเคมีในตัวอย่าง ส่วนตัวอย่างกลุ่มที่สองเป็น prediction set ใช้สำหรับตรวจสอบความแม่นยำของสมการ calibration equation ที่สร้างขึ้นได้โดยการแทนค่าการสะท้อนแสงของตัวอย่างในกลุ่มตัวอย่าง prediction set ลงในสมการและทำการคำนวณค่าทางเคมีที่วัดได้ โดยจะเลือกพิจารณาสมการทำนายที่ให้ค่า root mean square error of prediction (RMSEP) ต่ำที่สุด และให้ค่า coefficient of determinations (R^2) สูง เพื่อให้ได้สมการที่มีความเหมาะสมแต่การนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีที่สุด

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาการใช้ NIR ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวกล้องงอก

4.1.1 ค่าทางเคมีของข้าวกล้องงอก

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐานและค่าทางสถิติเบื้องต้นได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 โดยตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ (calibration set) มีค่าทางเคมีครอบคลุมตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของสมการ (validation set) และตัวอย่างทั้งสองกลุ่มนั้นมีการกระจายของค่าทางเคมีที่ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 7 ค่าทางเคมีและค่าสถิติเบื้องต้นที่ใช้เปรียบเทียบกับ NIR ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

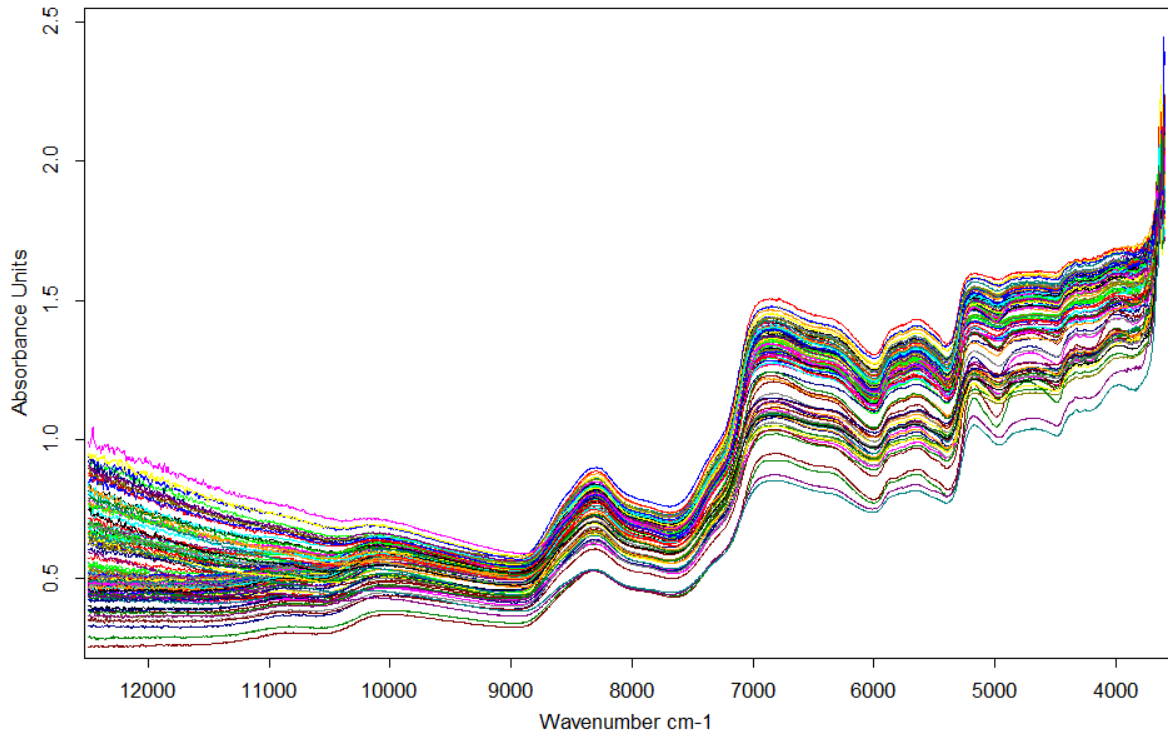
พารามิเตอร์	calibration			validation		
	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	SD	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	SD
Anthocyanins (mg/100gSample)	0.0263-4.8773	1.8036	1.3523	0.0789-4.8176	1.7906	1.3706
Phenolic (mg/gSample)	5.0092-22.3817	10.7721	3.7639	6.1099-22.0875	10.4404	3.7542
Antioxidant: DPPH (gTE/gSample)	0.6600-42.5010	19.4414	10.1095	7.6283-41.0011	20.0131	10.6569
Antioxidant: ABTS (gTE/gSample)	12.5-104.896	48.6120	35.7140	13.33-101.667	40.4629	32.3845

การจัดเตรียมตัวอย่างควรจัดให้มีลักษณะคุณภาพที่หลากหลาย เนื่องจากการสร้างสมการทำนายค่าด้วยเทคนิค NIR จำเป็นต้องใช้กลุ่มตัวอย่างที่มีองค์ประกอบที่สนใจในช่วงที่กว้างมากพอ เพื่อให้สมการที่สร้างขึ้นมีประสิทธิภาพที่ดี จึงได้นำเอาข้าวกล้องงอกทั้งสายพันธุ์ที่มีสีขาว แดง และดำมาวิเคราะห์ในครั้งนี้

4.1.2 ค่าการดูดกลืนแสง NIR ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดตัวอย่างข้าวกล้องงอกด้วยเทคนิค NIR ในระบบส่องผ่านสะท้อน (transflectance) ที่ช่วง $12480-4000\text{ cm}^{-1}$ ด้วย Sample cell ที่มี petri dish ขนาด $100\text{ mm} \times 15\text{ mm}$ แสดงดังภาพที่ 17 จากภาพนี้จะเห็นได้ว่าการดูดกลืนแสงที่ชัดเจนในช่วง 9000 cm^{-1} ถึง 8000 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับ C-H str. 2nd overtone ของ CH_3 ที่ wavelength 1195 nm และ C-H str. 2nd overtone ของ CH_2 ที่ Wavelength 1215 nm ช่วง 7000 cm^{-1} ถึง 6500 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับ N-H str. 1st overtone ของ CONH_2 ที่ Wavelength 1460 nm และ O-H str. 1st overtone ของ starch ที่ wavelength 1540 nm และช่วง 5500 cm^{-1} ถึง 5000 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์

กับ O-H str. + 2 C-O str. ของ Starch ที่ wavelength 1900 nm กับ C=O str. 2nd overtone ของ $\text{-CO}_2\text{H}$ ที่ wavelength 1900 และ O-H str. + O-H def. ของ H_2O ที่ wavelength 1940 nm



ภาพที่ 17 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ของเมล็ดข้าวกล้องออกจำนวน 100 ตัวอย่าง

ข้อมูลจากเส้นสเปกตรัมที่ได้จากการวัด NIR อาจมีสัญญาณรบกวน (noise) มีการเกิดการกระเจิงแสงเนื่องจากขนาดของเมล็ด ช่องว่างระหว่างเมล็ด ส่งผลให้เกิด baseline และ tangent effect ดังนั้นเพื่อให้ได้สมการที่สร้างขึ้นมีความถูกต้องแม่นยำน่าเชื่อถือจึงจำเป็นต้องทำการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้การ Optimize ในโปรแกรม OPUS_7.2.139.1294 โดยได้เลือก 6 เทคนิคที่ใช้ในการปรับแต่งด้วยกัน คือ vector normalization (SNV), multiplicative scattering correction (MSC), first derivative (1D), second derivative (2D), first derivative กับ vector normalization (1D+SNV), first derivative กับ multiplicative scattering correction (1D+MSC)

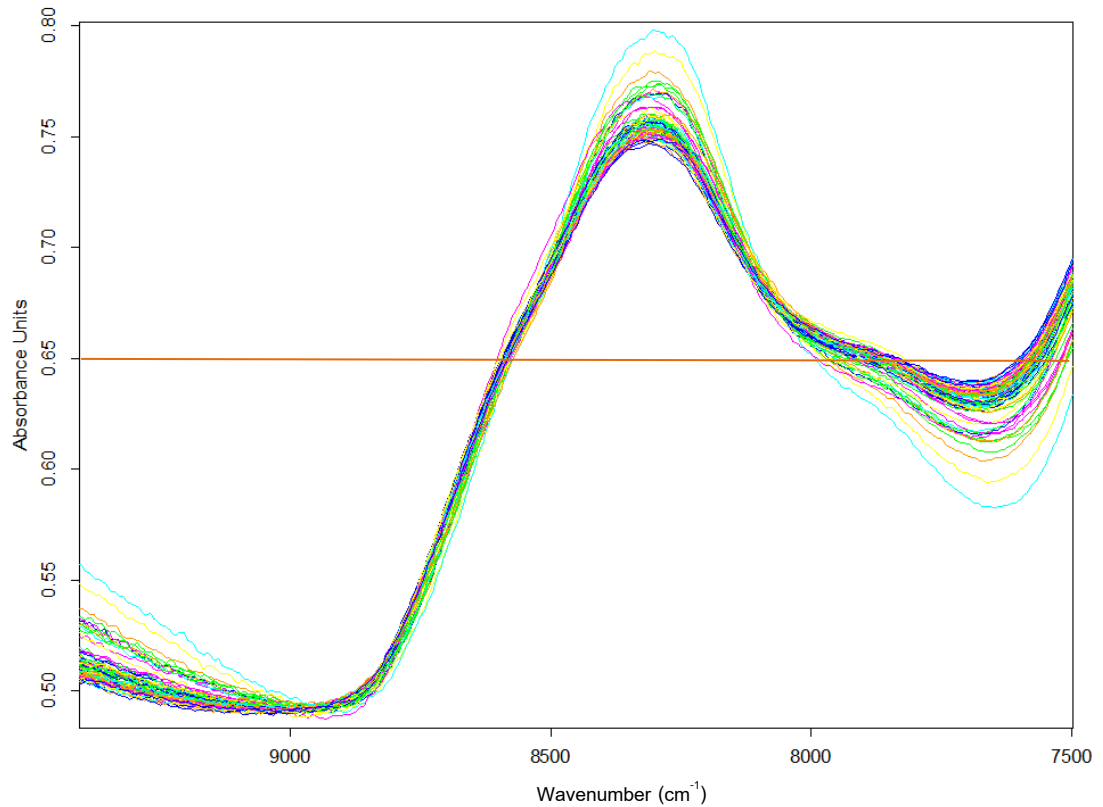
4.1.3 สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอก

สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่สร้างด้วยเทคนิค PLS จากข้อมูลสเปกตรัมเดิมและข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่าง ตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 86 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 60 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 26 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 8 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค MSC จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.5360 ค่า RPD เท่ากับ 2.5200 ค่า RMSEE เท่ากับ 0.7730 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 0.5360

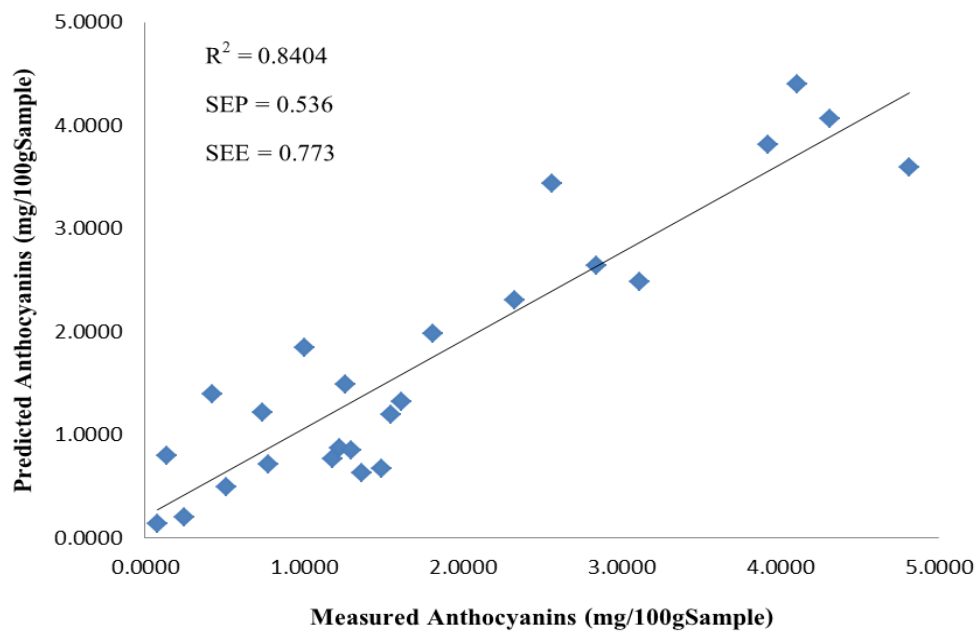
ตารางที่ 8 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอก

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แพคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	9403.8-4246.7	9	0.7040	0.8000	0.8273	0.5580	2.4400	0.0969
MSC	9403.8-4246.8	9	0.7241	0.7730	0.8404	0.5360	2.5200	0.0610
1D	9403.8-8451.1	3	0.4560	1.0200	0.7324	0.6950	1.9800	0.0145
2D	9403.8-6096.2	1	0.3031	1.1400	0.2394	1.1700	1.1600	0.2050
1D+SNV	9403.8-7498.4	2	0.2943	1.1600	0.5624	0.8880	1.5100	0.0273
1D+MSC	9403.8-8451.4	2	0.2925	1.1600	0.5606	0.8900	1.5100	0.0270

สมการการถดถอยเป็นตัวแปรสำคัญหลักที่สามารถอธิบายการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่สนใจในสมการทำนาย โดยตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่าสัมประสิทธิ์มากคือตำแหน่งที่มีการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการ และจากภาพที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอนโทไซยานินส์ที่วัดค่าจริงกับค่าแอนโทไซยานินส์ที่ทำนายได้ของเมล็ดข้าวกล้องงอกจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอกได้อย่างหยาบ



ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องอกที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-4246.8 cm^{-1}



ภาพที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอนโทไซยานินส์ที่วัดค่าจริงกับค่าแอนโทไซยานินส์ที่ทำนายได้ของเมล็ดข้าวกล้องอก

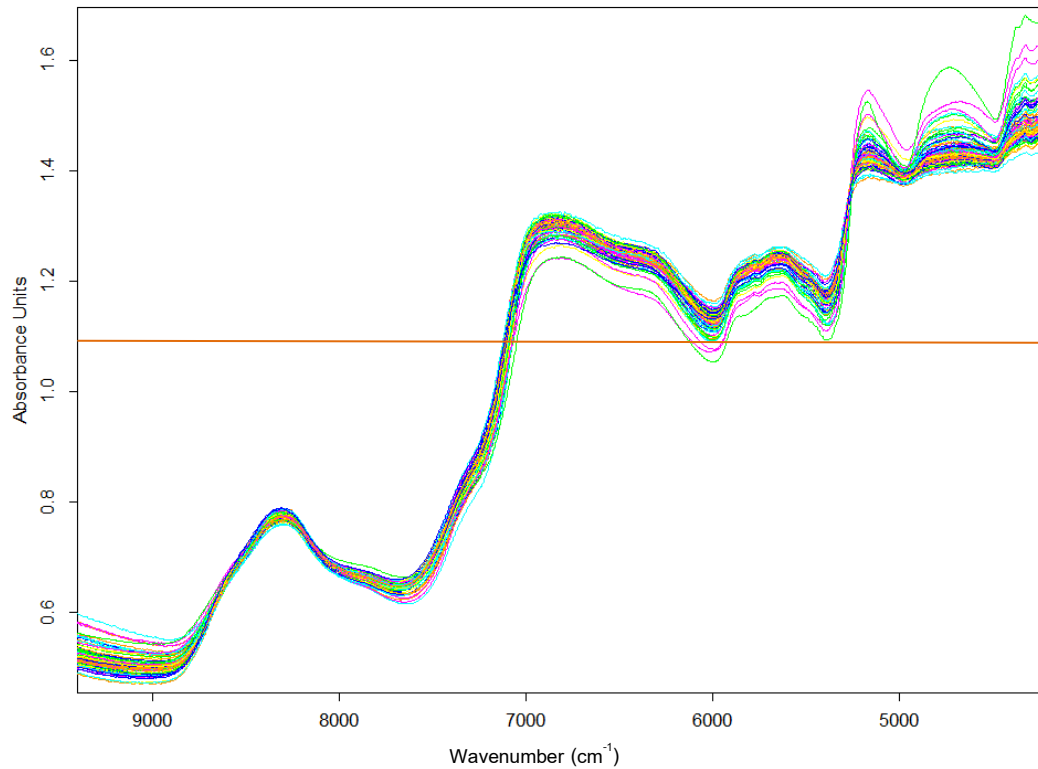
4.1.4 สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอก

สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 89 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 64 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 25 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 9 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค MSC จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.8761 ค่า RPD เท่ากับ 2.8500 ค่า RMSEE เท่ากับ 2.0000 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 1.2900

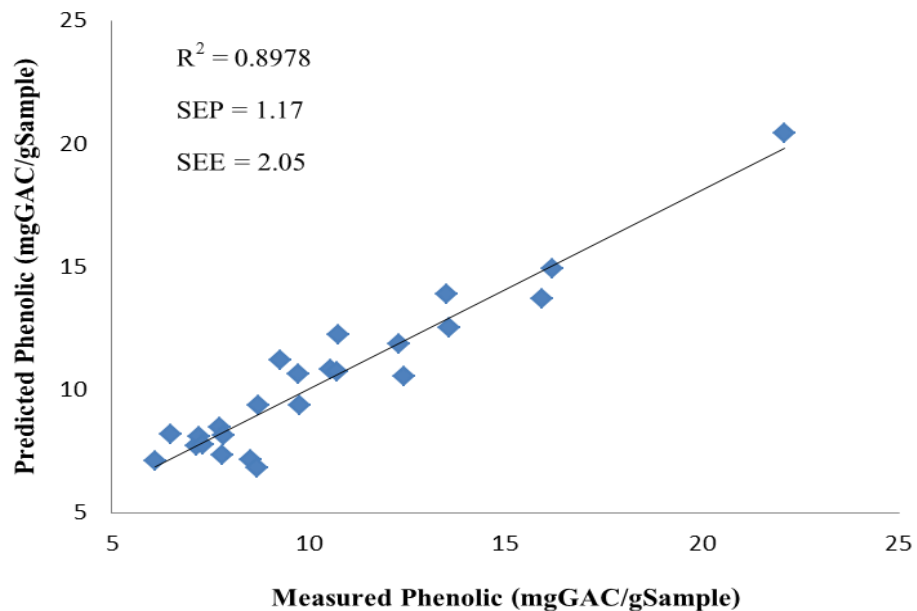
ตารางที่ 9 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอก

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แพคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	9403.8-5446.3	6	0.6469	2.3500	0.8635	1.3600	2.7100	0.0203
	4601.6-4424.2							
MSC	9403.8-7498.4	7	0.7496	2.0000	0.8761	1.2900	2.8500	-0.1020
	6102.8-4246.8							
1D	7502-7446.8	6	0.7132	2.1200	0.7857	1.7000	2.2.7	-0.5130
2D	9403.8-5446.3	2	0.5411	2.5900	0.3849	2.8800	1.3000	-0.5160
1D+SNV	9403.8-4246.8	5	0.7265	2.0500	0.8978	1.1700	3.1300	0.0681
1D+MSC	9403.8-4246.9	5	0.7315	2.0300	0.9023	1.1500	3.2000	0.0582

สมการการถดถอยเป็นตัวแปรสำคัญหลักที่สามารถอธิบายการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่สนใจในสมการทำนาย โดยตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่าสัมประสิทธิ์มากคือตำแหน่งที่มีการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการ และจากภาพที่ 21 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่ทำนายได้ของเมล็ดข้าวกล้องงอกจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอกได้อย่างหยาบ



ภาพที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกในเมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-7498.4 cm^{-1} และ 6102.8-4246.8 cm^{-1}



ภาพที่ 21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่ทำนายได้ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

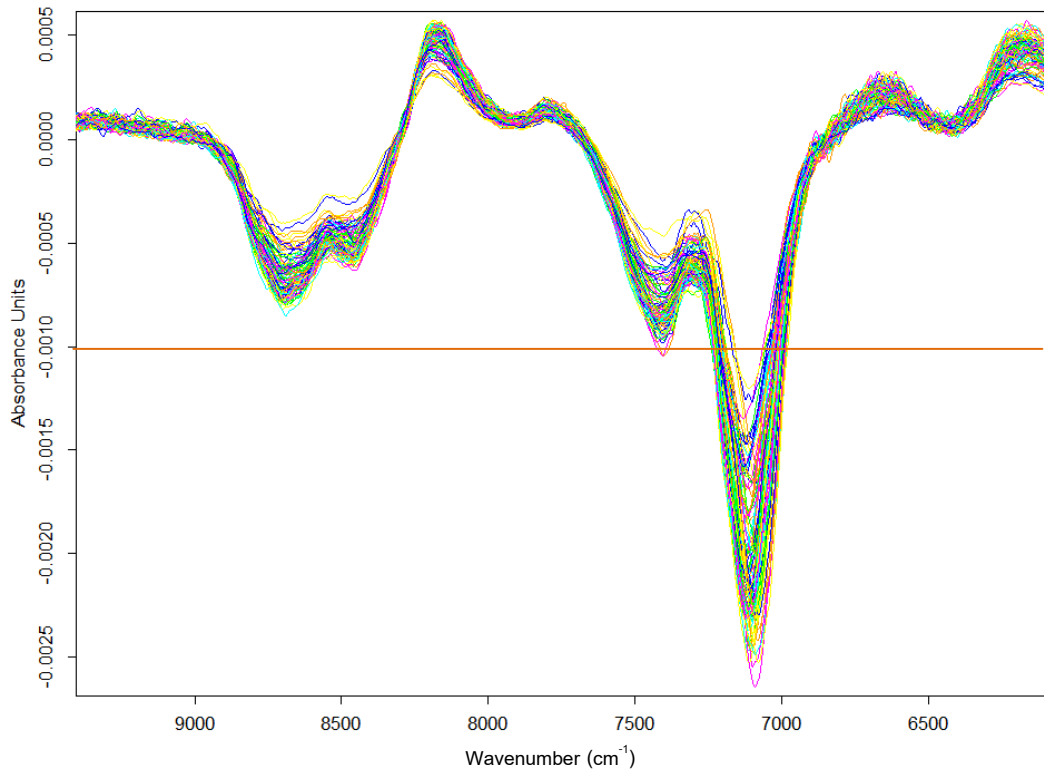
4.1.5 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวกล้องงอก ด้วยวิธี DPPH assay

สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 99 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 75 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 24 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 10 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค 1D จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.5805 ค่า RPD เท่ากับ 1.5400 ค่า RMSEE เท่ากับ 8.7100 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 6.7500

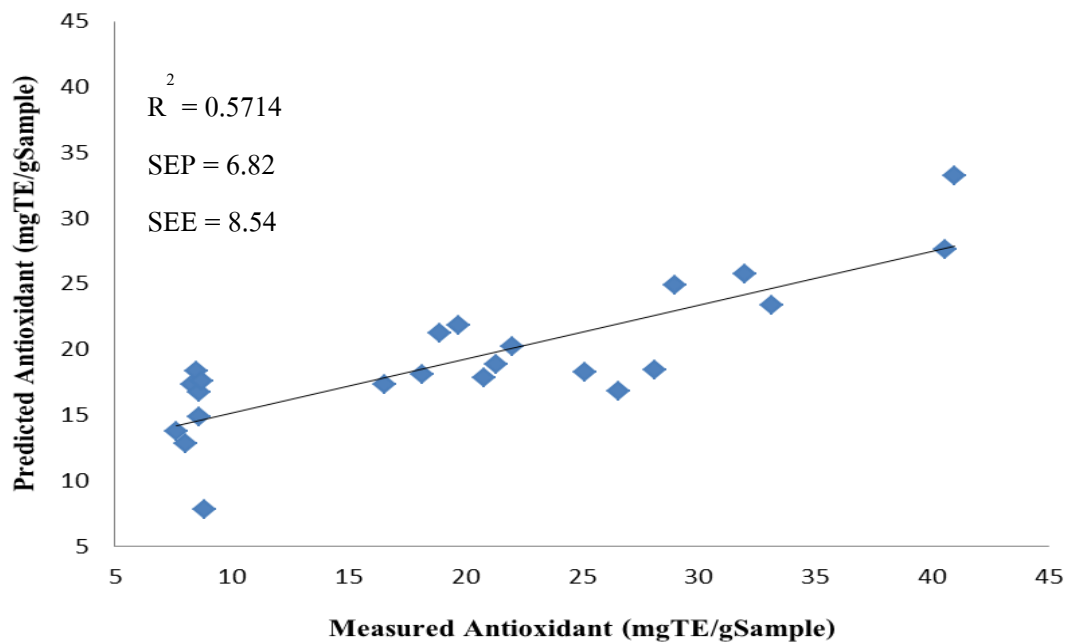
ตารางที่ 10 ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay เมล็ดข้าวกล้องงอก

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แฟคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	7425.1-5446.3	4	0.2536	8.9800	0.5093	7.3000	1.4300	0.3270
MSC	7425.1-5446.4	4	0.2662	8.9100	0.5148	7.2600	1.4400	0.2900
	4601.6-4246.8							
1D	9403.8-6098.1	4	0.2984	8.7100	0.5805	6.7500	1.5400	0.1920
2D	9403.8-4246.8	2	0.3437	8.3000	0.3976	8.0900	1.2900	0.5370
1D+SNV	9403.8-6098.1	3	0.3111	8.5200	0.5710	6.8300	1.5400	0.7170
1D+MSC	9403.8-6098.2	3	0.3104	8.5700	0.5714	6.8200	1.5400	0.7540

จากภาพที่ 23 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของเมล็ดข้าวกล้องงอกจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนายความสามารถการต้านอนุมูลอิสระเมล็ดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 22 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-6098.1 cm^{-1}



ภาพที่ 23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

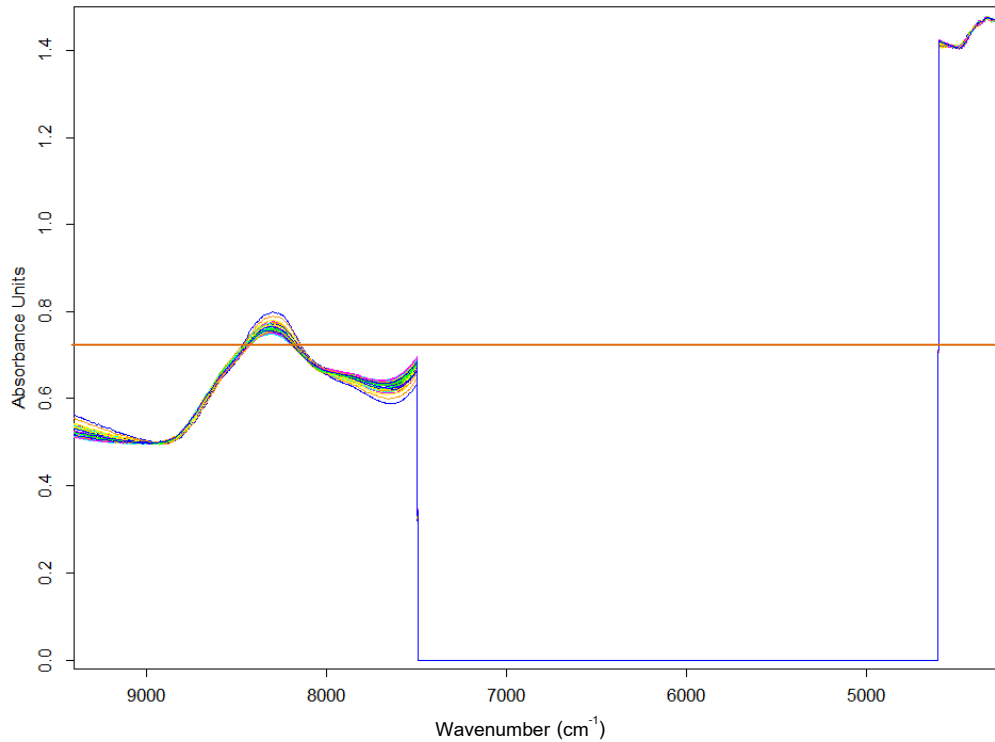
4.1.6 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวกล้องงอก ด้วยวิธี ABTS assay

สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 86 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 67 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 19 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 11 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค MSC จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R² สูงที่สุดคือ R² เท่ากับ 0.7155 ค่า RPD เท่ากับ 1.9100 ค่า RMSEE เท่ากับ 20.5000 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 17.6000

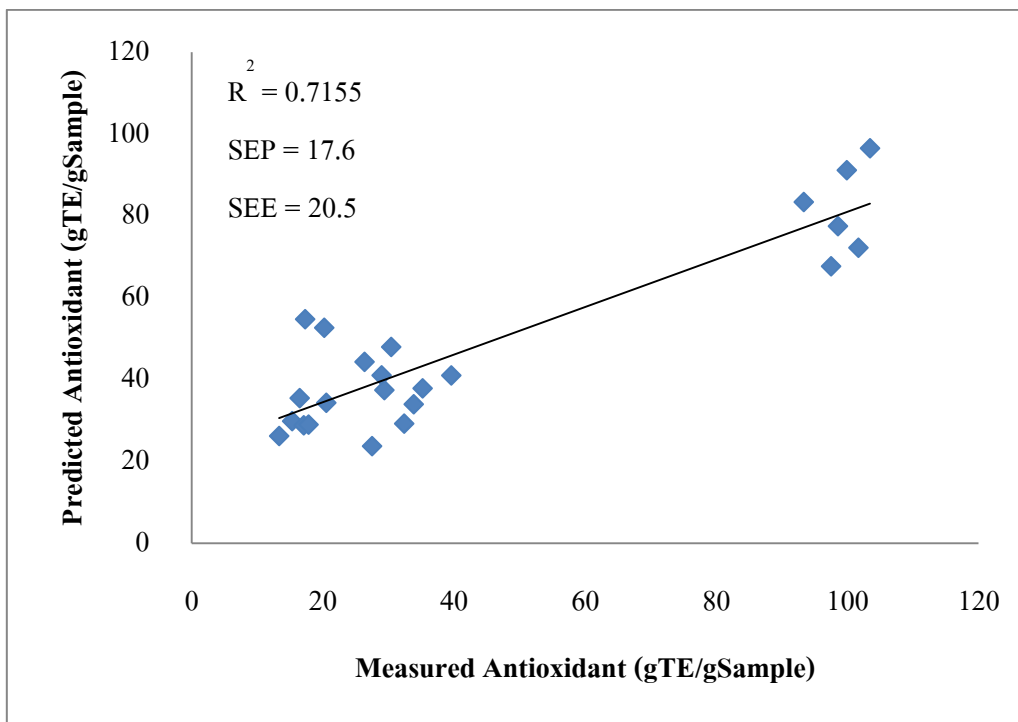
ตารางที่ 11 ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay เมล็ดข้าวกล้องงอก

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แฟคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	9403.8-6098.2	7	0.5546	25.2000	0.6540	19.4000	1.7000	1.0900
	4601.6-4246.8							
MSC	9403.8-7498.4 4601.6-4246.8	5	0.6970	20.5000	0.7155	17.6000	1.9100	-3.2400
1D	9403.8-7498.4	6	0.7533	18.6000	0.6001	18.6000	1.6900	-6.5600
	4601.6-4246.8							
2D	6102.1-5446.3	1	0.2754	30.6000	0.1944	26.4000	1.1900	-9.2200
1D+SNV	9403.8-6098.2	5	0.6585	21.7000	0.4642	21.5000	1.3800	-3.0500
	4601.6-4246.8							
1D+MSC	9403.8-4246.8	5	0.6057	23.3000	0.4214	2.3900	1.3700	-7.0000

จากภาพที่ 24 นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนายความสามารถการต้านอนุมูลอิสระเมล็ดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 23 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น $9403.8-7498.4 \text{ cm}^{-1}$ และ $4601.6-4246.8 \text{ cm}^{-1}$



ภาพที่ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

4.2 การศึกษาการใช้ NIR ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ

4.2.1 ค่าทางเคมีของข้าวกล้องงอก

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐานและค่าทางสถิติเบื้องต้นได้แสดงไว้ โดยตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ (calibration set) มีค่าทางเคมีครอบคลุมตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของสมการ (validation set) และตัวอย่างทั้งสองกลุ่มนั้นมีการกระจายของค่าทางเคมีที่ใกล้เคียงกัน ดังตารางที่ 12

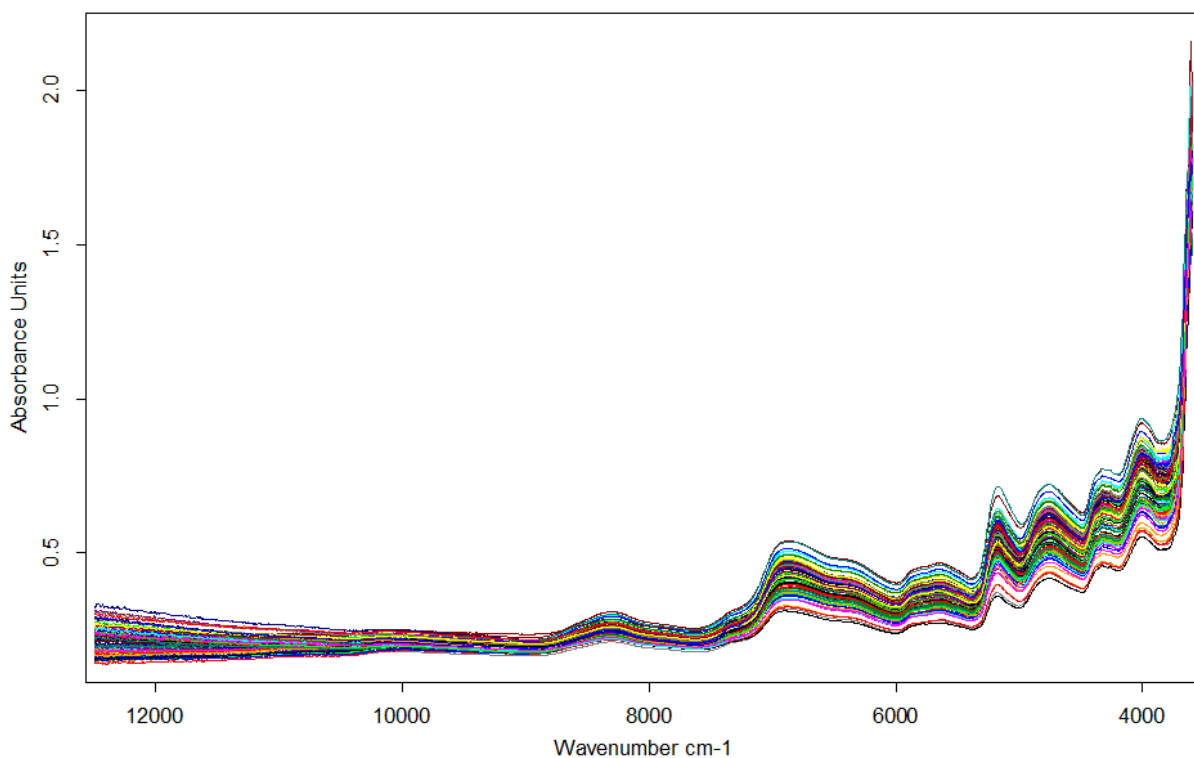
ตารางที่ 12 ค่าทางเคมีและค่าสถิติเบื้องต้นที่ใช้เปรียบเทียบกับ NIR ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ

พารามิเตอร์	calibration			validation		
	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	SD	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	SD
Anthocyanins (mg/100gSample)	0.0263-4.8773	1.7541	1.3084	0.0789-4.8176	1.7770	1.2792
Phenolic (mg/gSample)	5.0092-24.4115	11.5978	4.7382	6.1099-22.3165	10.9144	4.4630
Antioxidant: DPPH (gTE/gSample)	0.6600-42.5010	19.5923	9.9892	7.6283-41.0011	20.2987	10.7434
Antioxidant: ABTS (gTE/gSample)	12.5-104.89	48.6110	35.7140	13.33-104.89	48.6450	35.6270

การจัดเตรียมตัวอย่างให้มีลักษณะคุณภาพที่หลากหลาย เนื่องจากการสร้างสมการทำนายค่าด้วยเทคนิค NIR จำเป็นต้องใช้กลุ่มตัวอย่างที่มีองค์ประกอบที่สนใจในช่วงที่กว้างมากพอ เพื่อให้สมการที่สร้างขึ้นมีประสิทธิภาพที่ดี จึงได้นำเอาข้าวกล้องงอกทั้งสายพันธุ์ที่มีสีขาว แดง และดำมาวิเคราะห์ในครั้งนี้

4.2.2 ค่าการดูดกลืนแสง NIR ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ

ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดตัวอย่างข้าวกล้องงอกด้วยเทคนิค NIR ในระบบส่องผ่านสะท้อน (transflectance) ที่ช่วง $12480-4000\text{ cm}^{-1}$ ด้วย sample cell ที่มี petri dish ขนาด $100\text{ mm} \times 15\text{ mm}$ แสดงดังภาพที่ 25 จากภาพนี้จะเห็นได้ว่าการดูดกลืนแสงที่ชัดเจนในช่วง 7000 cm^{-1} ถึง 6500 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับ N-H str. 1st overtone ของ CONH₂ ที่ wavelength 1460 nm และ O-H str. 1st overtone ของ starch ที่ wavelength 1540 nm และ ช่วง 6500 cm^{-1} ถึง 4000 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับ N-H str. 1st overtone ของ CONH₂ ที่ wavelength 1460 nm , O-H str. 1st overtone ของ starch ที่ wavelength 1540 nm O-H str. + 2 C-O str. ของ starch ที่ wavelength 1900 nm , C=O str. 2nd overtone ของ -CO₂H ที่ Wavelength 1900 และ O-H str. + O-H def. ของ H₂O ที่ wavelength 1940 nm



ภาพที่ 25 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดจำนวน 100 ตัวอย่าง

ข้อมูลจากเส้นสเปกตรัมที่ได้จากการวัด NIR อาจมีสัญญาณรบกวน (noise) มีการเกิดการกระเจิงแสงเนื่องจากขนาดผงข้าวกล้องงอก การกดทับ ปริมาณ ส่งผลให้เกิด baseline และ tangent effect ดังนั้นเพื่อให้ได้สมการที่สร้างขึ้นมีความถูกต้องแม่นยำน่าเชื่อถือจึงจำเป็นต้องทำการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์ (Cen และ He, 2009) ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้การ Optimize ในโปรแกรม OPUS_7.2.139.1294 โดยได้เลือก 6 เทคนิคที่ใช้ในการปรับแต่งด้วยกัน คือ vector normalization (SNV), multiplicative scattering correction (MSC), first derivative (1D), second derivative (2D), first derivative กับ vector normalization (1+SNV), first derivative กับ multiplicative scattering correction (1D+MSC)

4.2.3 สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

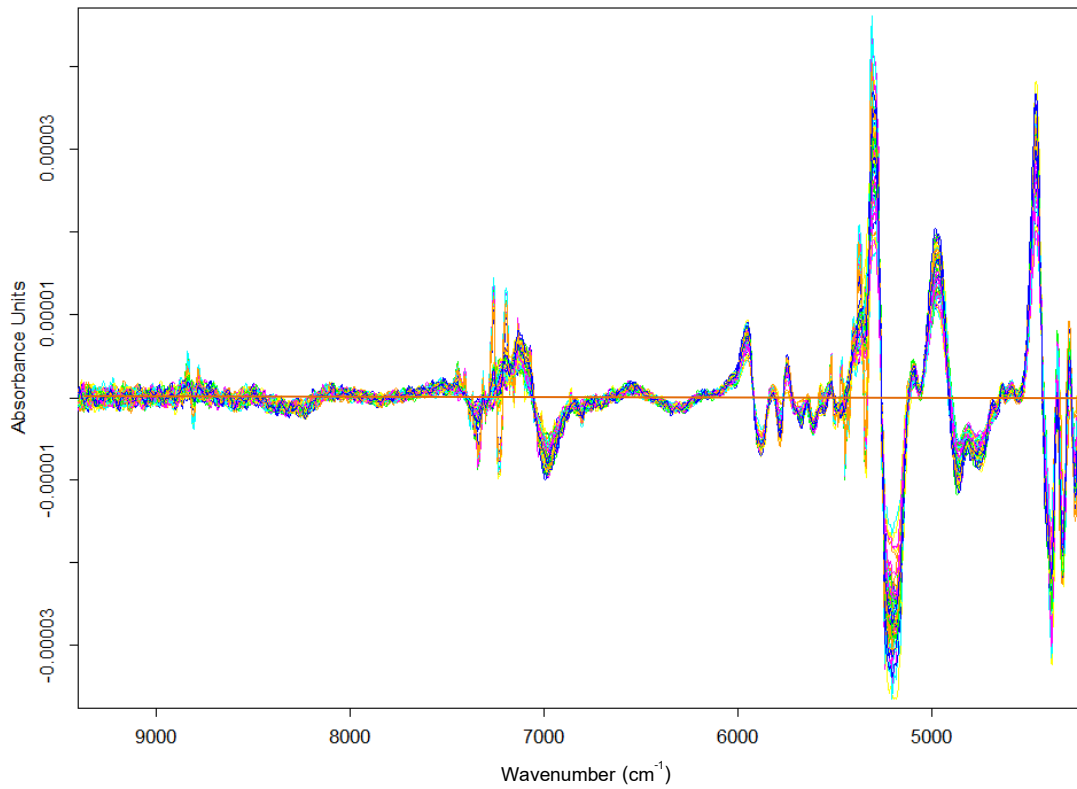
สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 77 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 53 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 24 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 13 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการ

ปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค 1D+SNV จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.8037 ค่า RPD เท่ากับ 2.3000 ค่า RMSEE เท่ากับ 0.7340 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 0.5540

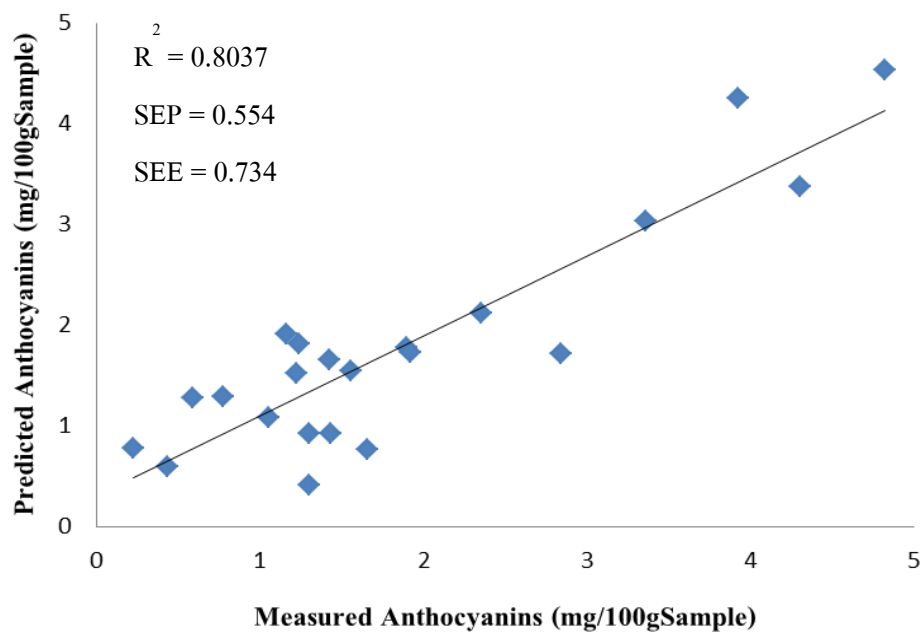
ตารางที่ 13 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอมโมไนโอไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แฟคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	8451.1-7498.4	3	0.4046	1.0400	0.6827	0.7050	1.7800	-0.0453
MSC	8451.1-7498.5	3	0.6827	1.0400	0.6827	0.7050	1.7800	-0.0438
1D	9403.8-5446.3	3	0.5341	1.2000	0.5341	0.8500	1.4900	0.1690
2D	9403.8-4246.8	5	0.7842	0.6400	0.5389	0.8050	1.5100	0.1960
1D+SNV	8451.1-7498.4 5025.9-4597.8	7	0.7285	0.7340	0.8037	0.5540	2.3000	0.1060
1D+MSC	9403.8-4597.8	3	0.2520	1.1700	0.5497	0.8400	1.5300	0.1840

จากภาพที่ 27 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอมโมไนโอไนโตรเจนที่วัดค่าจริงกับค่าแอมโมไนโอไนโตรเจนที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนายปริมาณแอมโมไนโอไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบได้อย่างหยาบ



ภาพที่ 26 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดโดยมีการปรับแก้ด้วย เทคนิค 2D ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-4246.8 cm^{-1}



ภาพที่ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอนโทไซยานินส์ที่วัดค่าจริงกับค่าแอนโทไซยานินส์ที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

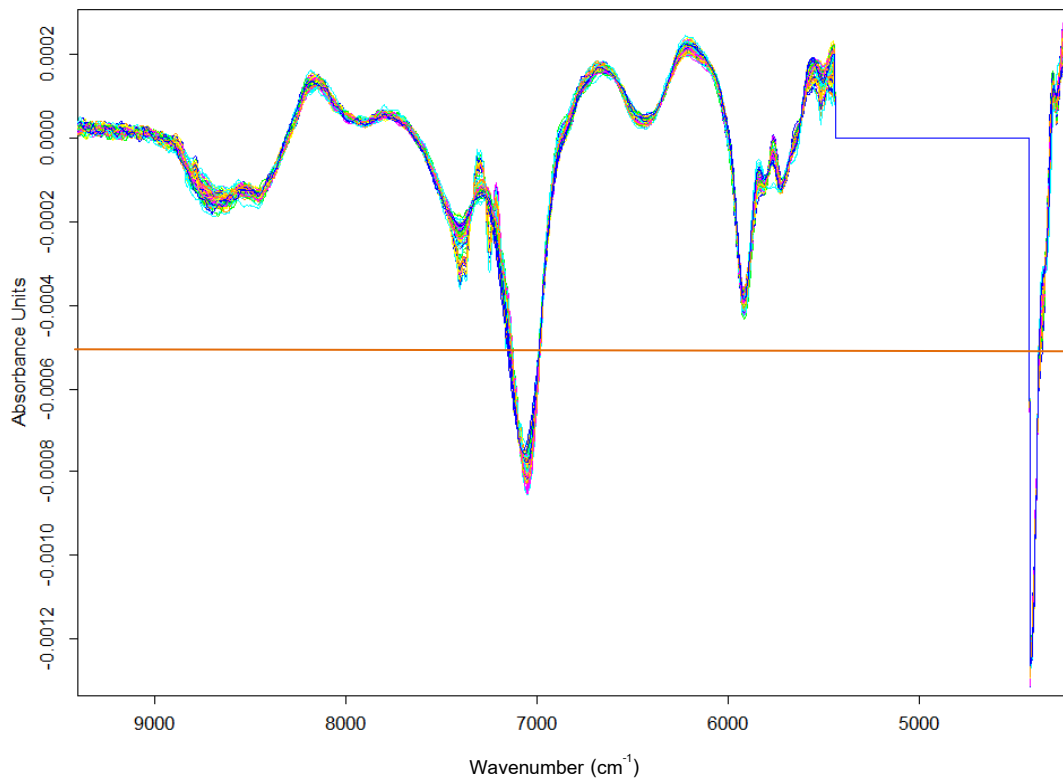
4.2.4 สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 100 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 70 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 27 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 14 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค 1D+MSC จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.8306 ค่า RPD เท่ากับ 1.8400 ค่า RMSEE เท่ากับ 2.8400 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 1.8400

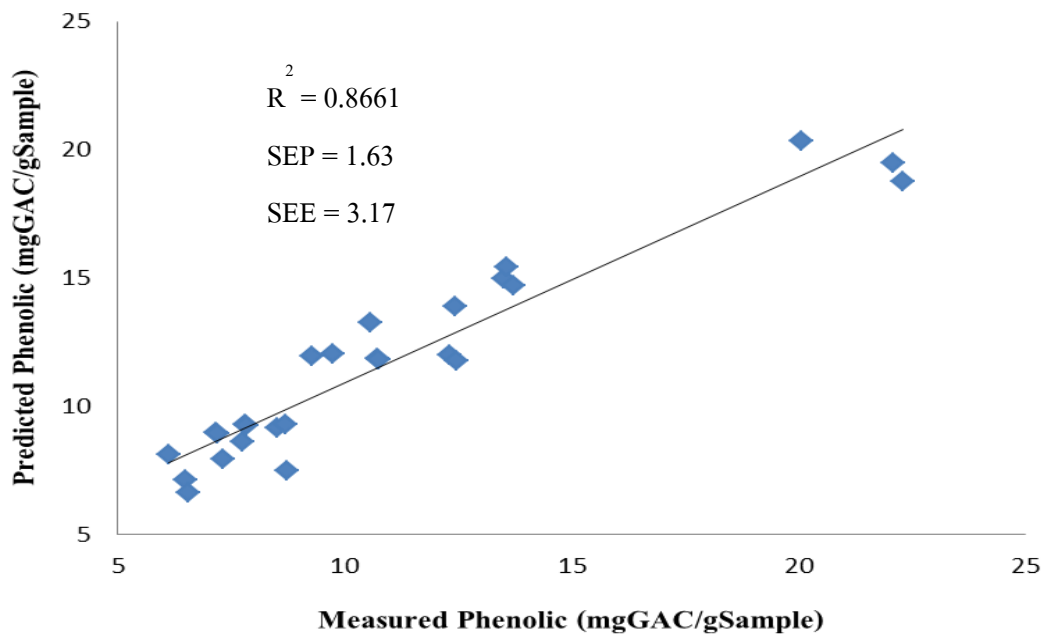
ตารางที่ 14 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แพคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	9403.8-6098.1	6	0.6054	3.1200	0.8565	1.6900	3.0800	-0.8670
MSC	9403.8-6098.2	6	0.5927	3.1700	0.8661	1.6300	3.0800	-0.7490
1D	9403.8-7498.4	4	0.5505	3.2600	0.7356	2.2900	2.2900	0.0158
	6102.1-5446.3							
2D	9403.8-4597.8	4	0.6530	2.8800	0.5979	2.8300	2.8300	-0.5870
1D+SNV	9403.8-5446.3	6	0.6635	2.8800	0.7855	2.0700	2.0700	-0.6660
	424.2-4246.8							
1D+MSC	9403.8-5446.4	5	0.6683	2.8400	0.8306	1.8400	1.8400	-0.6890
	424.2-4246.9							

จากภาพที่ 29 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดได้ดี



ภาพที่ 28 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดโดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค 1D+MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-5446.4 cm^{-1} และ 424.2-4246.9 cm^{-1}



ภาพที่ 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

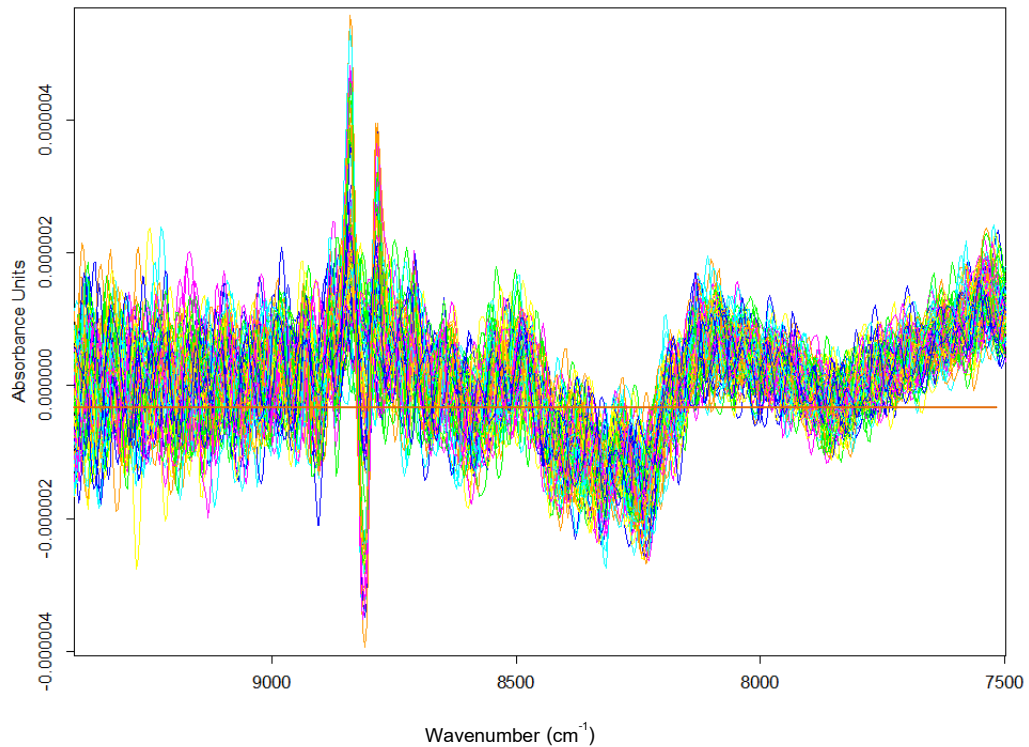
4.2.5 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 97 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 68 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 29 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 15 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค 2D จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.5783 ค่า RPD เท่ากับ 1.5400 ค่า RMSEE เท่ากับ 4.5900 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 6.8500

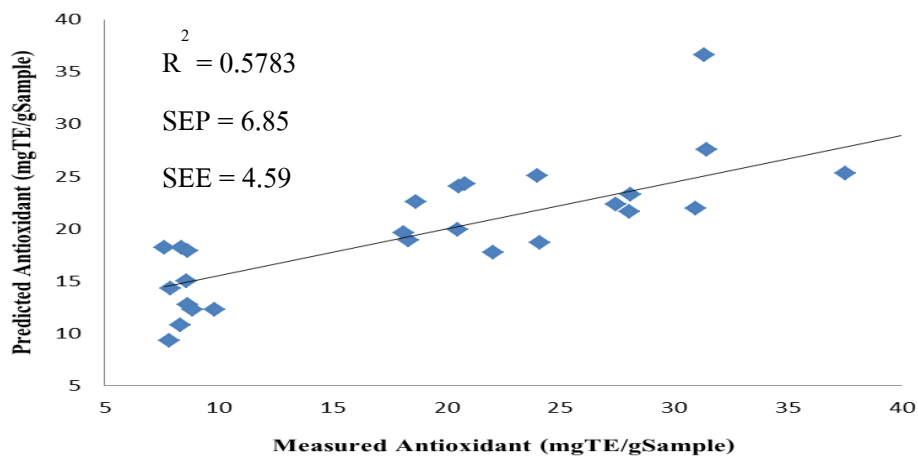
ตารางที่ 15 ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แพคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	9403.8-4597.8	2	0.1857	9.1500	0.4103	8.1000	1.3000	0.0784
MSC	9403.8-4597.9	2	0.1853	9.1600	0.4103	8.1000	1.3000	0.0784
1D	9403.8-7498.3	2	0.2329	8.8800	0.3311	8.1300	1.2200	0.1560
2D	9403.8-7498.4	6	0.8076	4.5900	0.5783	6.8500	1.5400	0.2000
	4424.2-4246.8							
1D+SNV	8451.1-7498.4	4	0.3212	8.4900	0.4269	7.9900	1.3300	0.7960
	4424.2-4246.8							
1D+MSC	9403.8-7498.4	1	0.2890	8.4900	0.3447	8.5400	1.2400	0.2020

จากภาพที่ 31 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงไม่มีประสิทธิภาพในการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด



ภาพที่ 30 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดโดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค 2D ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-7498.4 cm^{-1} และ 4424.2-4246.8 cm^{-1}



ภาพที่ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

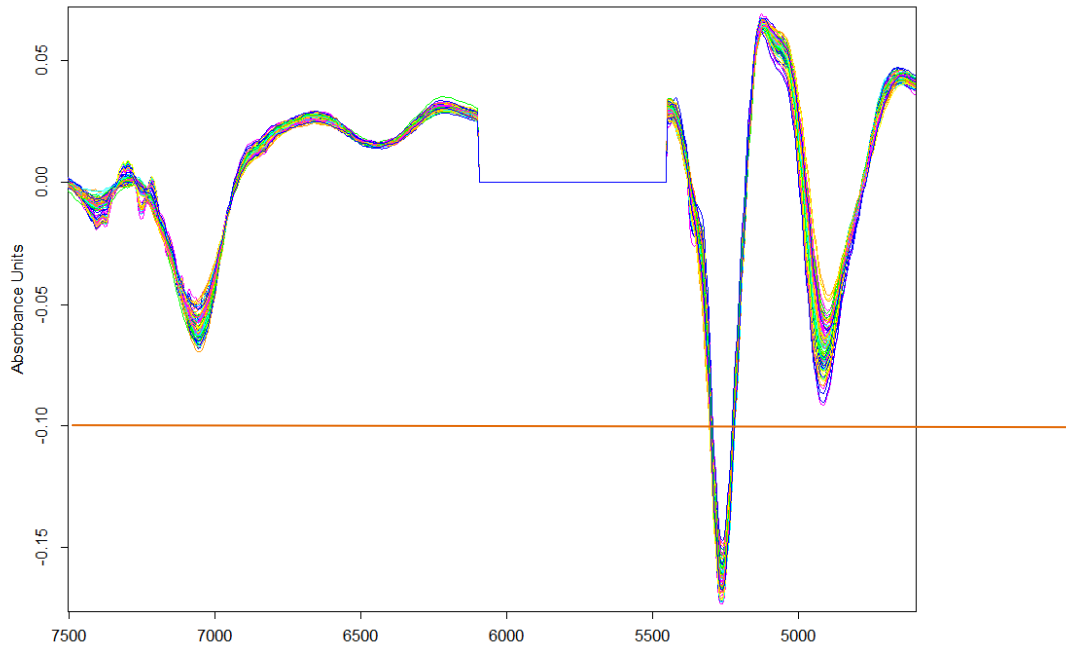
4.2.6 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ

สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 100 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 67 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 33 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 16 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค 1D+SNV จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.4184 ค่า RPD เท่ากับ 1.3200 ค่า RMSEE เท่ากับ 23.8000 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 26.8000

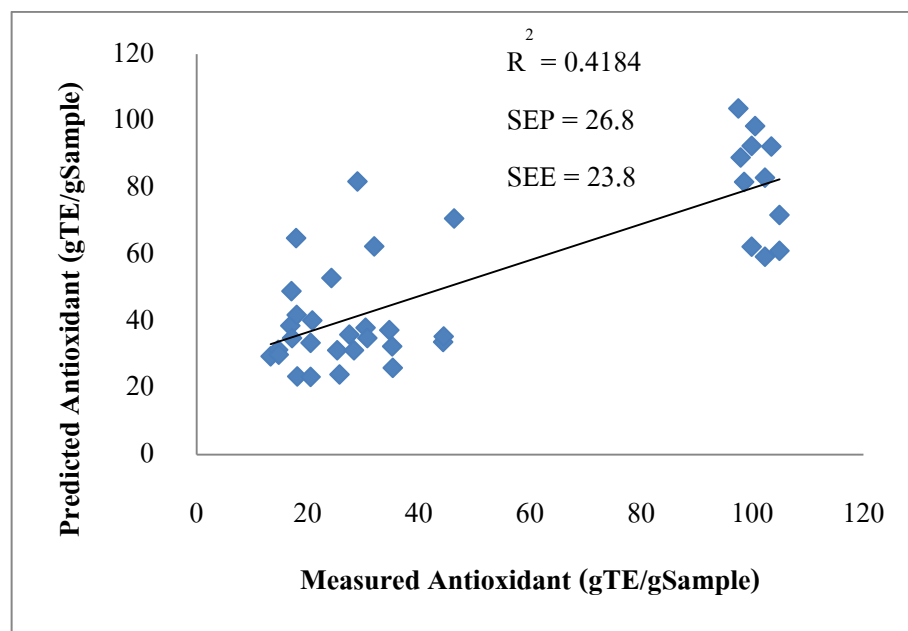
ตารางที่ 16 ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แพคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	7502.2-5472.4	5	0.3487	30.0000	0.4249	26.6000	1.3200	-0.7580
MSC	7502.2-5472.5	5	0.346	30.0000	0.4341	26.6000	1.3200	-0.7770
1D	7502.2-5472.6	3	0.1981	32.7000	0.2474	30.4000	1.16	-3.7100
	4601.6-4246.8							
2D	8451.1-7498.4	1	0.1156	33.8000	0.2889	29.6000	1.1900	-3.2000
	5450.2-4246.8							
1D+SNV	7502.2-6098.2	7	0.6043	23.8000	0.4184	26.8000	1.3200	-3.1700
	5450.2-4597.8							
1D+MSC	5774.2-5446.3	1	0.2049	32.1000	0.2880	29.6000	1.1900	0.6560
	4601.6-4246.8							

จากภาพที่ 33 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบจาก



ภาพที่ 32 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABT Wavenumber (cm^{-1}) ออกนอกที่ผ่านการบดโดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค 1D+SNV ที่ช่วงความยาวคลื่น $7502.2\text{-}6098.2 \text{ cm}^{-1}$ และ $5450.2\text{-}4597.8 \text{ cm}^{-1}$



ภาพที่ 33 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

เทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงไม่มีประสิทธิภาพในการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด

4.3 การศึกษาการใช้ NIR ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดข้าวกล้องงอก

4.3.1 ค่าทางเคมีของข้าวกล้องงอก

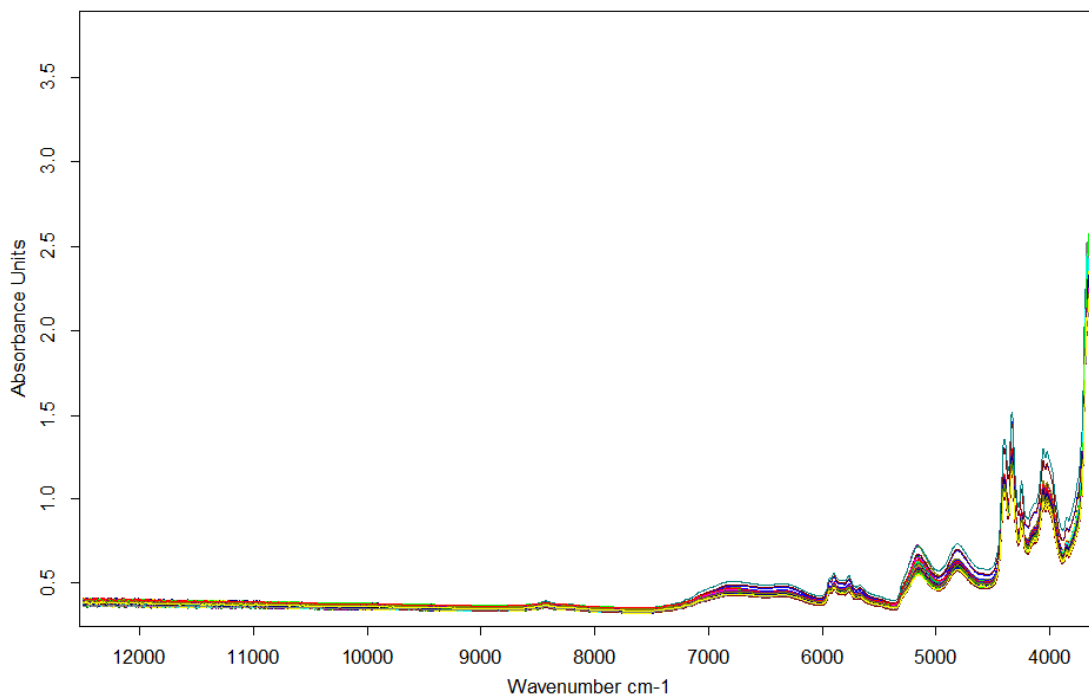
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐานและค่าทางสถิติเบื้องต้นได้แสดงไว้ในตารางที่ 17 โดยตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ (calibration set) มีค่าทางเคมีครอบคลุมตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของสมการ (validation set) และตัวอย่างทั้งสองกลุ่มนั้นมีการกระจายของค่าทางเคมีที่ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 17 ค่าทางเคมีและค่าสถิติเบื้องต้นที่ใช้เปรียบเทียบกับ NIR ของสารสกัดข้าวกล้องงอก

พารามิเตอร์	calibration			validation		
	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	SD	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	SD
Anthocyanins (mg/100gSample)	0.0263-4.3176	1.6786	1.2034	0.0789-4.5412	10.7721	1.3150
Phenolic (mg/gSample)	5.0092-24.4115	11.2903	4.3769	6.1099-24.1965	12.0415	5.5114
Antioxidant: DPPH (gTE/gSample)	0.6600-42.5010	19.7284	10.3922	7.6283-41.0011	20.0894	10.6002
Antioxidant: ABTS (gTE/gSample)	12.5-104.792	45.1390	35.8280	13.333-104.896	47.7790	35.4320

4.3.2 ค่าการดูดกลืนแสง NIR ของสารสกัดข้าวกล้องงอก

ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดตัวอย่างข้าวกล้องงอกด้วยเทคนิค NIR ในระบบส่องผ่านสะท้อน (transflectance) ที่ช่วง $12480-4000\text{ cm}^{-1}$ ด้วย NIR sample cell สำหรับวัดตัวอย่างของเหลวมี path length 0.2 mm ภาพที่ 34 จากภาพนี้จะเห็นได้ว่าการดูดกลืนแสงที่ชัดเจนในช่วง 6000 cm^{-1} ถึง 5500 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับ C-H str. 1st overtone ของ R-CH-CH ที่ Wavelength 1645 nm ช่วง 5500 cm^{-1} ถึง 4000 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับ N-H str. 1st overtone ของ CONH₂ ที่ Wavelength 1460 nm ,O-H str. 1st overtone ของ starch ที่ wavelength 1540 nm O-H str. + 2 C-O str. ของ starch ที่ wavelength 1900 nm, C=O str. 2nd overtone ของ -CO₂H ที่ wavelength 1900 และ O-H str. + O-H def.ของ H₂O ที่ wavelength 1940 nm



ภาพที่ 34 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ของเมล็ดข้าวกล้องงอกจำนวน 100 ตัวอย่าง

ข้อมูลจากเส้นสเปกตรัมที่ได้จากการวัด NIR อาจมีสัญญาณรบกวน (noise) มีการเกิดการกระเจิงแสงเนื่องจากขนาดของเมล็ด ช่องว่างระหว่างเมล็ด ส่งผลให้เกิด baseline และ tangent effect ดังนั้นเพื่อให้ได้สมการที่สร้างขึ้นมีความถูกต้องแม่นยำน่าเชื่อถือจึงจำเป็นต้องทำการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้การ Optimize ในโปรแกรม OPUS_7.2.139.1294 โดยได้เลือก 6 เทคนิคที่ใช้ในการปรับแต่งด้วยกัน คือ vector normalization (SNV), multiplicative scattering correction (MSC), first derivative (1D), second derivative (2D), first derivative กับ vector normalization (1D+SNV), first derivative กับ multiplicative scattering correction (1D+MSC)

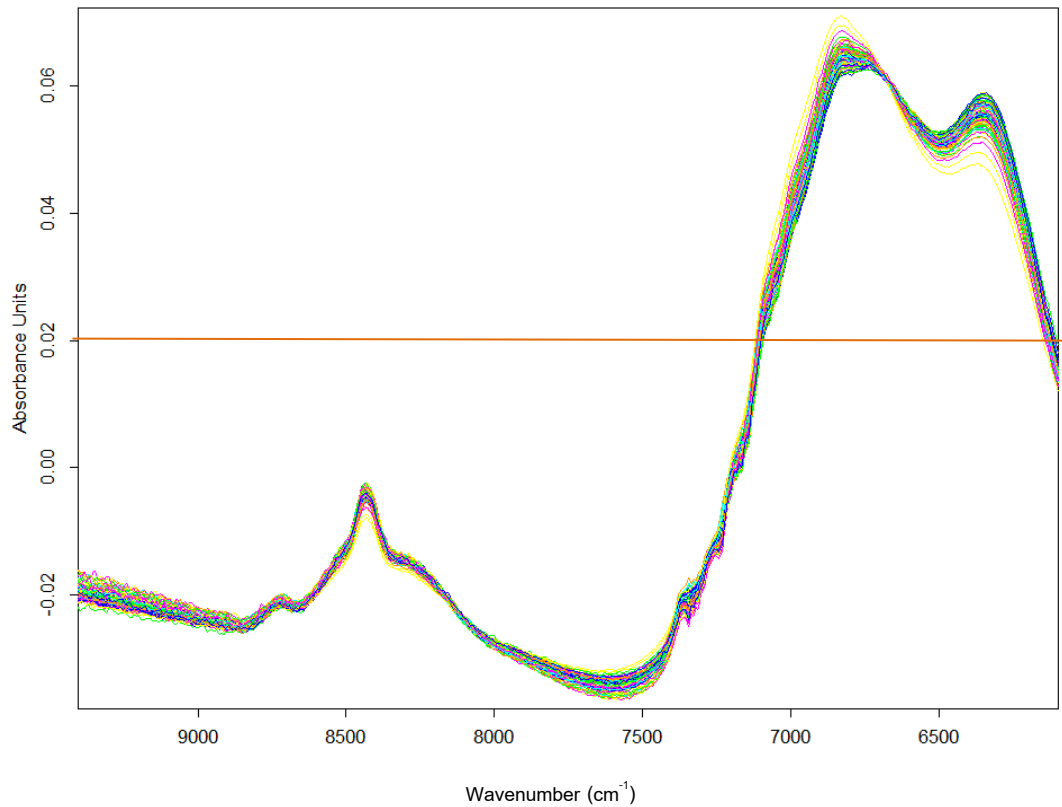
4.3.3 สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้องงอก

สมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 88 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 61 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 26 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 18 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค SNV จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.3603 ค่า RPD เท่ากับ 1.2500 ค่า RMSEE เท่ากับ 0.8270 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 1.0300

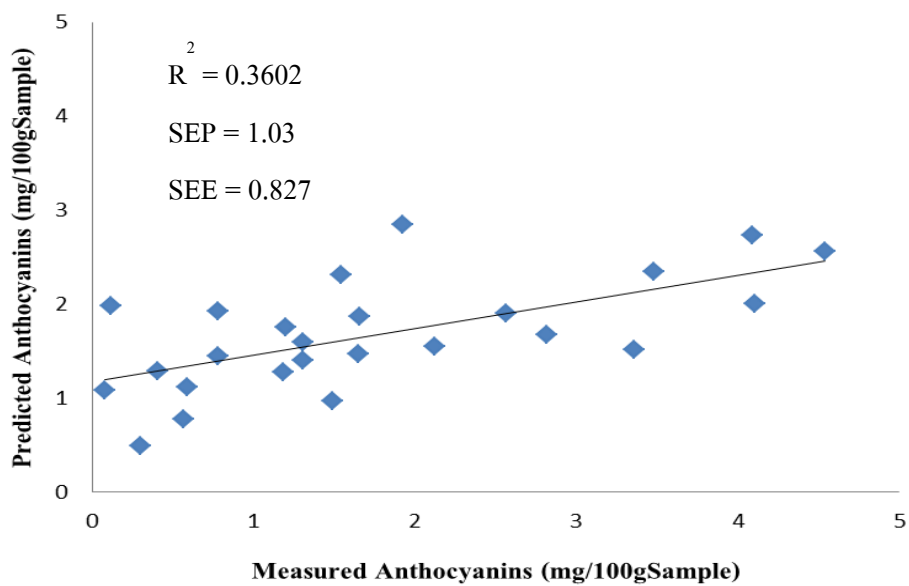
ตารางที่ 18 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนทั้งหมดสารสกัดข้าวกล้องงอก

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แฟคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	7502.2-6800.1	4	0.5600	0.8270	0.3603	1.0300	1.2500	0.0783
MSC	7502.2-6800.2	4	0.5598	0.8270	0.3602	1.0300	1.2500	0.0789
1D	6800.2-6098.2	4	0.0599	1.1800	0.0353	1.2700	1.0200	0.0384
2D	7502.2-6800.1	4	0.2552	1.0800	0.1714	1.1700	1.1200	0.2200
	5450.2-4597.8							
1D+SNV	7502.2-6800.2	1	0.0639	1.1700	0.0359	1.2700	1.0200	0.0086
1D+MSC	9403.8-6098.2	1	0.0637	1.1700	0.0359	1.2700	1.0200	0.0085

จากภาพที่ 36 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอมโมเนียไนโตรเจนที่วัดค่าจริงกับค่าแอมโมเนียไนโตรเจนที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอกจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงไม่มีประสิทธิภาพในการทำนายปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนทั้งหมดสารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 35 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้องงอกโดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค SNV ที่ช่วงความยาวคลื่น 7502.2-6800.1 cm^{-1}



ภาพที่ 36 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอนโทไซยานินส์ที่วัดค่าจริงกับค่าแอนโทไซยานินส์ที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอก

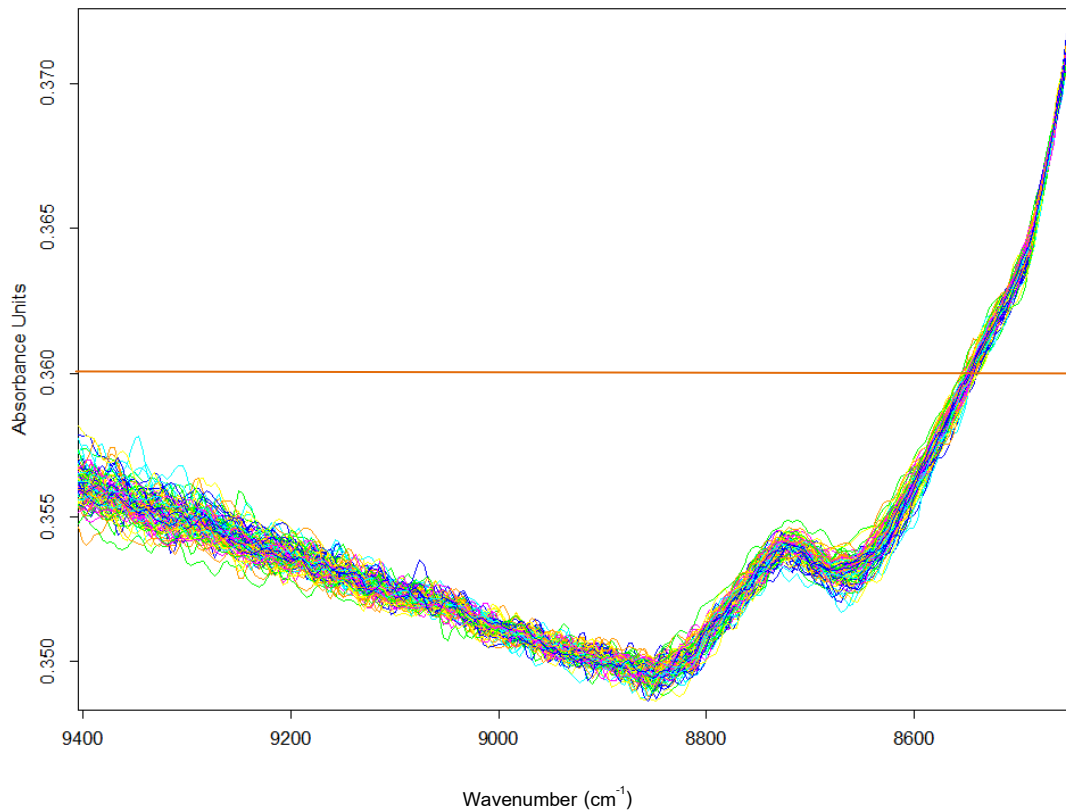
4.3.4 สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้องงอก

สมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 98 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 78 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 20 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 19 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค MSC จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.4645 ค่า RPD เท่ากับ 1.3700 ค่า RMSEE เท่ากับ 2.3500 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 3.9300

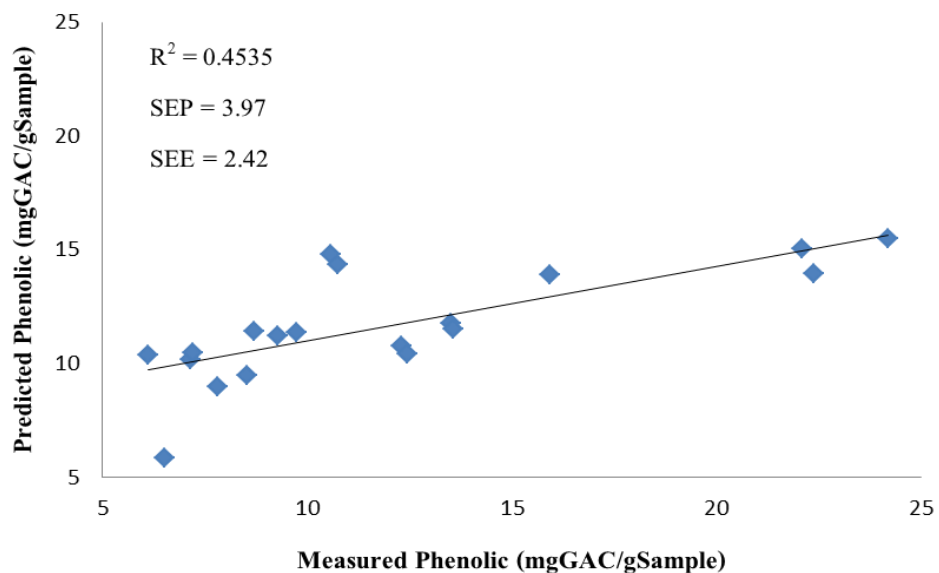
ตารางที่ 19 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้องงอก

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แพคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	9403.8-6098.2	6	0.4983	3.2300	0.4030	4.1400	1.3000	0.2760
	5450.2-4246.8							
MSC	9403.8-4246.8	8	0.7426	2.3500	0.4645	3.9300	1.3700	0.3920
1D	9403.8-4246.8	1	0.0656	4.2600	-0.0178	5.4000	0.9940	0.4380
2D	7502.2-6800.2	5	0.3742	3.5800	0.3250	4.4100	1.2800	1.3200
	4601.6-4246.8							
1D+SNV	9403.8-4246.8	1	0.2222	3.8900	-0.0049	5.3800	1.0000	0.4630
1D+MSC	9403.8-4246.8	1	0.2213	3.8900	-0.0049	5.3800	1.0000	0.4690

จากภาพที่ 38 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอกจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 37 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล็องงอกโดยมีการปรับแก้ด้วยเทคนิค MSC ที่ช่วงความยาวคลื่น $9403.8-4246.8 \text{ cm}^{-1}$



ภาพที่ 38 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างฟีนอลิกที่วัดค่าจริงกับค่าฟีนอลิกที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล็องงอก

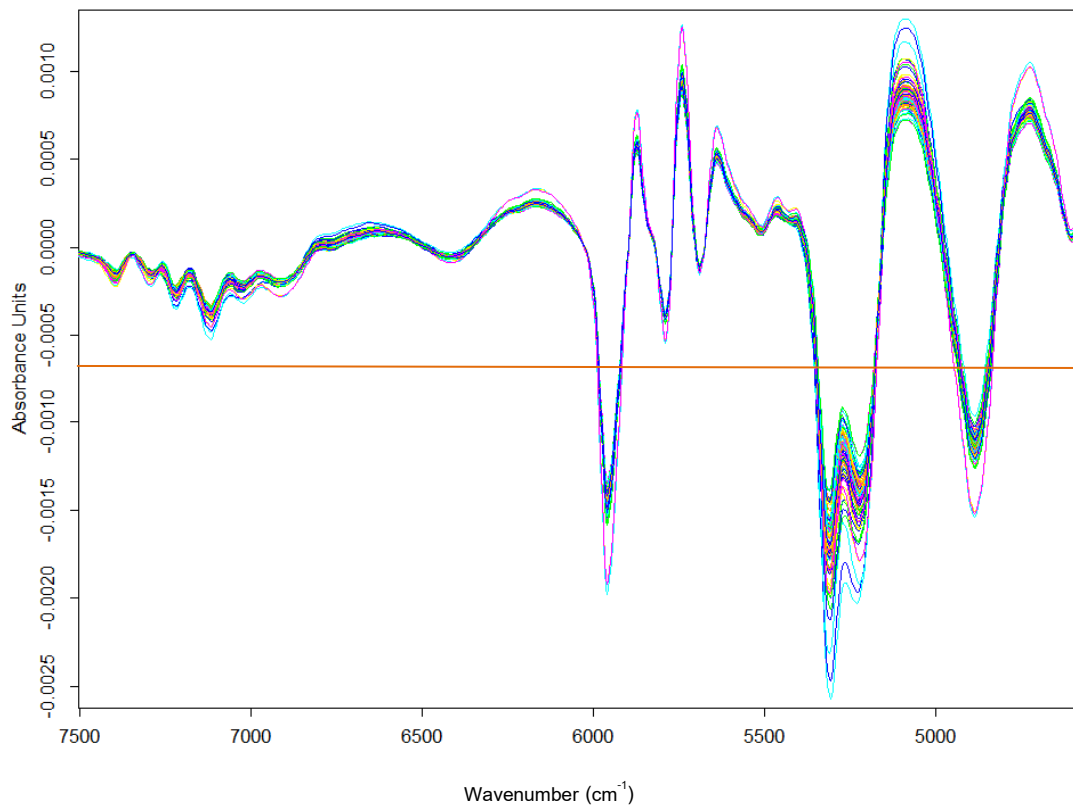
4.3.5 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก

สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 100 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 68 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 28 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 20 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแก้และสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแก้ทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแก้สเปกตรัมด้วยเทคนิค 1D จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.6882 ค่า RPD เท่ากับ 1.7900 ค่า RMSEE เท่ากับ 6.1200 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 5.8100

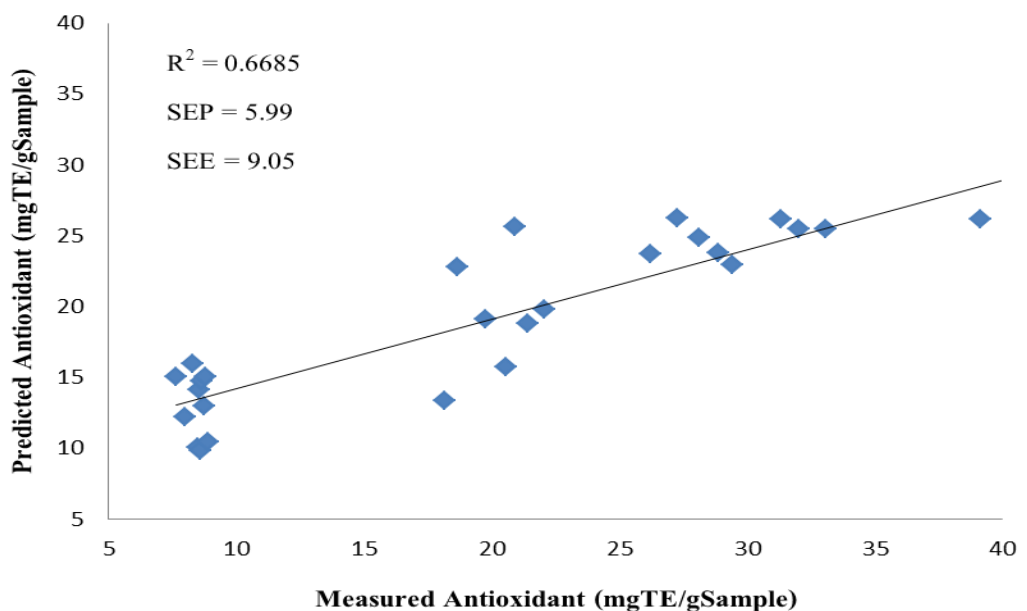
ตารางที่ 20 ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แพคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	6102.1-4246.8	3	0.2958	8.9300	0.6770	5.9100	1.7900	1.1300
MSC	6102.1-4246.9	3	0.3032	8.8800	0.6846	5.8400	1.8100	1.1200
1D	7502.2-4597.8	5	0.6796	6.1200	0.6882	5.8100	1.7900	1.1100
2D	7502.2-6098.2	3	0.3078	8.8500	0.6211	6.4100	1.6300	0.4880
	5450.2-4597.8							
1D+SNV	7502.2-4246.8	3	0.2786	9.0300	0.6466	6.1800	1.6900	0.5290
1D+MSC	7502.2-4246.8	3	0.2785	9.0300	0.6468	6.1800	1.6900	5.5470

จากภาพที่ 40 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอกจากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงไม่มีประสิทธิภาพในการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 39 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอกเทคนิค 1D ที่ช่วงความยาวคลื่น 7502.2-4597.8 cm^{-1}



ภาพที่ 40 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay ที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอก

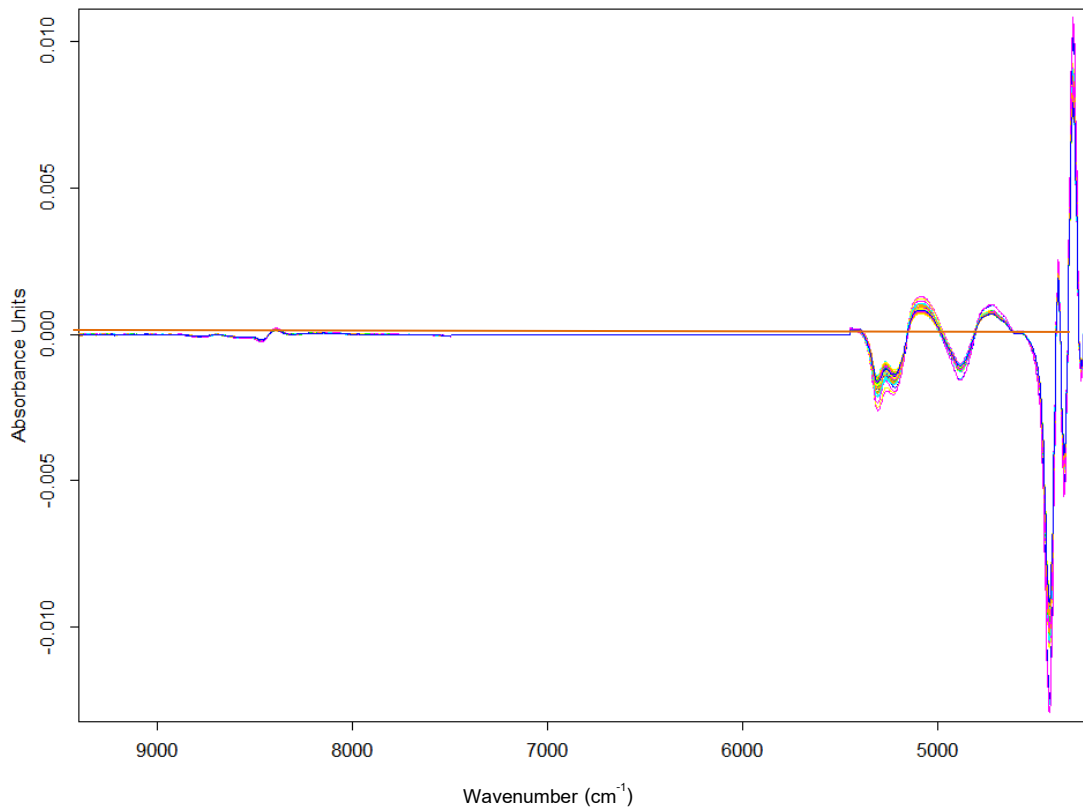
4.3.5 สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก

สมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างข้าวกล้องงอกจำนวน 100 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 68 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 28 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 21 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแก้และสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแก้ทั้งหมดนั้น ได้เลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแก้สเปกตรัมด้วยเทคนิค 1D จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.5957 ค่า RPD เท่ากับ 1.6000 ค่า RMSEE เท่ากับ 27.4000 และ ค่า RMSEP เท่ากับ 22.0000

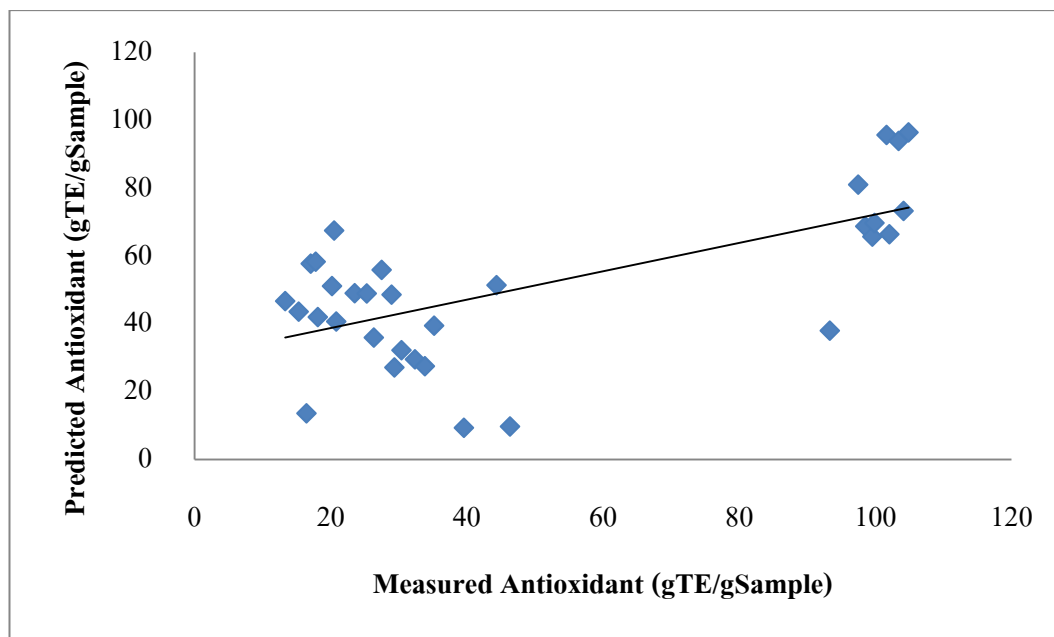
ตารางที่ 21 ค่าทางสถิติของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	แฟคเตอร์	Calibration		Validation			
			R ²	SEE	R ²	SEP	RPD	Bias
SNV	6102.1-4246.8	4	0.4440	27.6000	0.4573	25.8000	1.3700	-3.5100
MSC	9403.8-7498.4	4	0.4112	28.2000	0.4593	25.7000	1.3800	-4.0300
	6102.1-4246.8							
1D	9403.8-7498.4	4	0.4526	27.4000	0.5957	22.0000	1.6000	-3.8800
	5450.2-4246.8							
2D	6102.1-4246.8	4	0.4055	28.6000	0.5204	24.2000	1.4500	-2.2800
1D+SNV	6102.1-4246.9	4	0.4216	28.2000	0.5177	24.3000	1.4600	-3.9100
1D+MSC	5450.2-4246.8	4	0.4162	28.3000	0.5227	24.2000	1.4700	-4.1700

จากภาพที่ 42 นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 41 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ในสารสกัดข้าวกล้องงอกเทคนิค 1D ที่ช่วงความยาวคลื่น 9403.8-7498.4 cm^{-1} และ 5450.2-4246.8 cm^{-1}



ภาพที่ 42 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วัดค่าจริงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay ที่ทำนายได้ของสารสกัดข้าวกล้องงอก

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การประยุกต์ใช้เทคนิค NIR ที่ช่วงความยาวคลื่น 12480-4000 cm^{-1} ในการตรวจสอบและทำนายค่าทางเคมีแอนโทไซยานินส์ ฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay และ ABTS assay เพื่อควบคุมและศึกษาคุณภาพของข้าวกล้องงอกสามารถทำได้โดยการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิคคณิตศาสตร์และการเลือกช่วงคลื่นที่เหมาะสมร่วมกับการสร้างสมการด้วยเทคนิค PLS จะทำให้ได้สมการทำนายค่าทางเคมีต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพ

จากการสร้างสมการทำนายค่าทางเคมีของเมล็ดข้าวกล้องงอกพบว่า สมการทำนายปริมาณของแอนโทไซยานินส์ ฟีนอลิก แอนติออกซิแดนซ์ด้วย DPPH assay และ ABTS assay ให้ค่า คือ R^2 เท่ากับ 0.5360, 0.8761, 0.5805 และ 0.7155 ตามลำดับ ค่า RPD เท่ากับ 2.5200, 2.8500, 1.5400 และ 1.91 ตามลำดับ ค่า RMSEE เท่ากับ 0.7730, 2.000, 8.7100 และ 20.5000 ตามลำดับ ค่า RMSEP เท่ากับ 0.5360, 1.2900, 6.7500 และ 17.6000 ตามลำดับ

สมการทำนายค่าทางเคมีของเมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบดพบว่า สมการทำนายปริมาณของแอนโทไซยานินส์ ฟีนอลิก แอนติออกซิแดนซ์ด้วย DPPH assay และ ABTS assay ให้ค่า คือ R^2 เท่ากับ 0.8037, 0.8306, 0.5783 และ 0.5957 ตามลำดับ ค่า RPD เท่ากับ 2.3000, 1.8400, 1.5400 และ 1.6000 ตามลำดับ ค่า RMSEE เท่ากับ 0.7340, 2.8400, 4.5900 และ 27.4000 ตามลำดับ ค่า RMSEP เท่ากับ 0.5540, 1.8400, 6.8500 และ 22.000 ตามลำดับ

สมการทำนายค่าทางเคมีของสารสกัดข้าวกล้องงอกพบว่า สมการทำนายปริมาณของแอนโทไซยานินส์ ฟีนอลิก แอนติออกซิแดนซ์ด้วย DPPH assay และ ABTS assay ให้ค่า คือ R^2 เท่ากับ 0.3603, 0.4645, 0.6882 และ 0.4242 ตามลำดับ ค่า RPD เท่ากับ 1.2500, 1.3700, 1.7900 และ 1.3000 ตามลำดับ ค่า RMSEE เท่ากับ 0.8270, 2.3500, 6.1200 และ 30.0000 ตามลำดับ ค่า RMSEP เท่ากับ 1.0300, 3.9300, 5.8100 และ 26.6000 ตามลำดับ

พบว่าค่า R^2 และ RPD ของ ปริมาณแอนโทไซยานินส์ทั้งหมดในสารสกัดข้าวกล้องงอก ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด และสารสกัดข้าวกล้องงอก ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay และ ABTS assay ของเมล็ดข้าวกล้องงอก ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด และสารสกัดข้าวกล้องงอก มีค่าต่ำเมื่อนำมาประเมินผลทดสอบความแม่นยำของสมการในกลุ่ม Validation มีความสัมพันธ์ไม่ดีพอ (poor correlation) จึงไม่ควรใช้ในการสร้างสมการทำนายค่าองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ทั้งนี้เนื่องจากค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ค่าทางเคมีมีการกระจายตัวของข้อมูลไม่สม่ำเสมอ การควบคุมกระเจิงของแสงได้ไม่เท่ากัน ความแม่นยำในการทำนายผลจึงลดลง แต่จากการศึกษาในครั้งนี้ค่า R^2 และ RPD ของปริมาณ

แอนโธไซยานินส์ทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอก และ ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องงอกมีค่าค่อนข้างสูง สามารถสร้างสมการทำนายปริมาณองค์ประกอบในข้าวกล้องงอกได้อย่างหยาบ และได้ดีกว่าค่าวิเคราะห์ทางเคมีอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

- ชนิษฐา อุ่มอารีย์, อุทัยวรรณ ฉัตรธง, เรวัตกร พงษ์พิสุทธินันท์ และ ไพโรจน์ วิริยจารี. 2553. การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจากข้าวเจ้ามะลิแดงอก และข้าวเหนียวดำ อก. หน่วยวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารพื้นบ้าน สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ณัฐกานต์ นวเศรษฐวิสูตร. 2547. การทำนายคุณภาพข้าวเจ้าของไทยด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปี ย่านใกล้อินฟราเรด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- นิตยา โพธิ์แสง และเสาวรี อุดมพันธ์. 2545. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโคโคซาน จากเชื้อรา *Aspergillus niger*. รายงานการวิจัย. สำนักวิจัยและบริการวิชาการ สถาบัน ราชภัฏเพชรบุรีวิทยาลัยเกษตรกรรมในพระบรมราชูปถัมภ์.
- ดำเนิน กาละดี, พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์ และ ศันสนีย์ จำจด. 2543. พันธุศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์ และโภชนศาสตร์เกษตรของข้าวเหนียวดำ. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.
- ธงชัย สุวรรณสีขณณ์ และ ปิติพร ฤทธิเรืองเดช. 2552. บทที่ 6 การวิเคราะห์เชิงปริมาณและ คุณภาพ. ใน: เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบัน คั้นคว่ำและ พัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์. 2545. หลักพื้นฐานของเทคนิคอินฟราเรดย่านใกล้สเปกโตรสโกปี. หน้า 39-61. การอบรมเชิงปฏิบัติการการควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. 27-28 พฤศจิกายน 2545. สถาบัน คั้นคว่ำและ พัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- วิไลลักษณ์ พละกลาง. 2541. ลักษณะประจำพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย. ศูนย์วิจัยข้าวปราจีนบุรี, สถาบันวิจัยข้าว, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- มลศิริ วิโรทัย. 2540. ส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่ ๆ. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 13(2): 67-75
- ศศิวิมล มากมูล. 2553. การใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีตรวจสอบการปนข้าวมลพิษข้าวดอกมะลิ 15 ด้วยข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

- ศิริภาพร วิพล. 2551. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของข้าวโดยเนียร์อินฟราเรดรีเฟลกแทนซ์สเปกโทรสโกปี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.
- ศุภานุช ใสแปง. 2554. การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเข้าธัญพืชจากข้าวกล้องงอกด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.
- ศุมาพร เกษมสำราญ. 2552. บทที่ 2 หลักการพื้นฐานของสเปกโทรสโกปี อินฟราเรดย่านใกล้. ใน: เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สุนัน ปานสาคร และ จตุรงค์ ลังกาพินธุ์. 2556. ข้าวกล้องงอกทาง่าย ได้ประโยชน์สูง. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. บริษัท ทริปเพิ้ล กรุ๊ป จำกัด. กรุงเทพฯ.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. พี.เอส.พริ้นท์. กรุงเทพฯ.
- Boonsit, P., Pongpiachan, P., Julsrigival, S. and Karladee, D. 2010. Gamma oryzanol content in glutinous purple rice landrace varieties. Chiang Mai University Journal of Natural Sciences. 9(1), 151-157.
- Delwiche, S. R., M. M. Bean, R. E. Miller, B. D. Webb and P. C. Williams. 1995. Apparent amylose content of milled rice by near-infrared reflectance spectrophotometry. Cereal Chemistry. 72: 182-187.
- Delwiche, S. R., K. S. McKenzie and B. D. Webb. 1996. Quality characteristics in rice by nearinfrared reflectance analysis of whole-grain milled samples. Cereal Chemistry. 73: 257-263.
- Esser, I. C. H. M., Franklin, K.R., Grainger, L., Kowalski, A. J., Rowe, K. E. 2000. Antiperspirant compositions. WO 2000061094 A1.
- Franklin, E. B. 2002. Theory and principle near infrared spectroscopy. Spectroscopy Europe. 14: 12-18.
- Gabriele, R. 2005. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications. Advanced Drug Delivery Reviews. 57: 1109-1143.

- Givens, D. I., J. L. De Boever and E. R. Deaville. 1997. The principle practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animal and human. *Nutrition Research Review*. 10: 83-114.
- Goto, T., Matsuo, N. and Takahashi, T. 1994. CSF glutamate/GABA concentrations in pyridoxine-dependent seizures and the mechanisms of pyridoxine action in seizure control. *Brain and Development*. 23(1), 24-29.
- Harborne, J.B, and Grayer, R.J. 1988. The anthocyanins. *In The Flavonoids : Advances in Research Since 1980*, J.B. Harborne (Editor). Chapman and Hall. London.
- Hayakawa, K., M. Kimura and K. Kamata. 2002. Mechanism underlying gamma-aminobutyric acid induced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Pharmacology*. 438: 107-113.
- Hossain, M., and Narciso, J. 2004. Global rice economy: Long-term perspectives. *Proceedings of the FAO Rice Conference, Rice in Global Markets*. pp 4-7. FAO, Rome, Italy.
- Hruschka, W. R. 2001. Data analysis: wavelength selection method. pp. 39-58. In: Williams, P. and K. Norris, (eds.), *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists, Inc., USA.
- Huang, M.T., Ho, C.T. and Lee, C.Y. 1992. ACS Symposium Series 507. American Chemical Society, Washington, DC.
- Hudson, B.J.F. 1990. *Food Antioxidants*. Elsevier Science Publisher Ltd, UK.
- Kadokura, T, Maruyama, C., Nakazato, A., Takeda, M., Kanebo, T., Nagoshi, T., and Ohmori, S. 1995. Fermentation tests for red rice wine using black rice and red rice. *Journal of Agricultural Science*. 40(1): 1-7.
- Karlberg, B. 2006. Principles of NIR and mid-IR spectroscopy. [Online]. Available: <http://lipas.uwasa.fi/~TAU/AUTO3220/Umea2handouts.pdf> (December 3, 2011).
- Kayahara, H., and Tsukahara, K. 2000. Flavor, health and nutritional quality of pre-germinated brown rice. Presented at International Chemical Congress of Pacific Basin Societies in Hawaii, December 2000.
- Khush, G. 1997. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Molecular Biology*. 35: 25-34.

- Kim, S.D., Kim, M.H., and Ham, S.S. 2000. Preparation and quality of uncooked-colored wine using black rice. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 29(2): 224- 230.
- Koh, H.J., Won, Y.J. Cha, G.W., and Heu, M.H. 1996. Varietal variation of pigmentation and some nutritive characteristics of colored rices. *Korean Journal of Crop Science*. 41(5): 600-607.
- Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N., and Kimura, T. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. *Journal of Food Engineering*. 78(2):556-560.
- Kong, J.M., C. Lian-Sai., G. Ngoh-Khang., C. Tet-Tatt. and R. Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. 64(5): 923-933.
- Kubola, J. and Siriamornpun, S. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry*. 110(4): 881–890.
- Liang, J., Han, B.Z., Nout, M.J.R. and Hamer, R.J. 2008. Effects of soaking, germination and fermentation on phytic acid, total and in vitro soluble zinc in brown rice. *Food Chemistry*. 110:821-828.
- Ling, W.H., Cheng, Q.X., Ma, J. and Wang, T. 2001. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. *Journal of Nutrition*. 135(5): 1421-1426.
- Luh, B.S. 1991. *Rice Production*, Vol. I., 2nd Edition. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Mazza, G. and Miniati, E. 1993. *Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains*. CRC Press. USA.
- Mingwei, Z., Ling, S., Jianwei, C., Laizhan, L. and Zhijian, W. 1998. Comparative study on natural pigments in black rice, black soybean, and black sesame. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*. 13(2): 6-9.
- Moongngarm, A., and Saetung, N. 2010. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. *Food Chemistry*. 122(3): 782-788.

- Morimitsu, Y., Kubota, K., Tashiro, T., Hashizume, E., Kamiy. T. and Osawae, T. 2002. Inhibitory effect of antocyanins and coloured rice on diabetic cataract formation in ratlenses. *International Congress Series*,1245: 503-508.
- Moritaka, S. and Yasumatsu, K. 1972. Studies on cereals and the effects of sulfhydryl groups on storage deterioration of milled rice. *Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science* 25: 59-62.
- Osborne, B. G., Fearn, T. and Hindle, P. H. 1993a. *Practical NIR spectroscopy: with Applications in Food and Beverage Analysis*. 2 nd ed. Longman Singapore Publisher (Pte) Ltd, Singapore. 227 pp.
- Osborne, B. G., Mertens, B., Thompson, M. and Fearn, T. 1993b. The authentication of basmati rice using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 1: 77-83.
- Perdon, A..A., Siebenmorgen, T.J., Buescher, R.W., and Gbur, E.E. 1999. Starch retrogradation and texture of cooked rice during storage. *Journal of Food Science*. 64(5): 828-832.
- Ryu, S.N., Park, S.Z., and Ho, C.T. 1998. High performance liquid chromatographic determination of anthocyanin pigments in some variety of black rice. *Journal of Food and Drug Analysis*. 6(4): 729-736.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2001. *Antioxidants in Food*. Boca Raton Boston New York Washington, DC. Woodhead Pubishing Limited.
- Sawai, Y., Yamaguchi, Y., Miyama, D., and Yoshitomi, H. 2001. Cycling treatment of anaerobic and aerobic incubation increase the content of γ -aminobutyric acid in tea shoots. *Amino Acids* 20, 331-334.
- Shenk, J. S., Workman, J. J. and Westerhaus M. O. 2001. Application of NIR spectroscopy to agricultural products. pp. 419-474. In: D. A. Burns and E. W. Ciurczak, (eds.), *Handbook of Near-Infrared Spectroscopy*. 2nd ed. Marcel Dekker Inc., New York.
- Siesler, H. W., Y. Ozaki and S. Kawata. 2002. *Near-infrared spectroscopy*. Wiley-VCH Verlag, Federal Republic, Germany.

- Sunte, J., Srijesdaruk, V. and Tangwongchai, R. 2007. Effects of soaking and germinating process on gamma-aminobutyric acid (GABA) content in germinated brown rice (Hom mali 105). *Agricultural Science Journal (Supplement)*: 103-106.
- Vanichanont, P. 2004. Thai rice: Sustainable life for rice growers. *Proceedings of the FAO Rice Conference, Rice in Global Markets*. Pp. 113-117. FAO, Rome, Italy.
- Wang, H, Nair, M.G., Strasberg, G.M., Chang, Y.C., Booren, A.M., Gray, I.J., and Dewitt, D.L. 1999. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycone, cyanidin, from tart cherries. *Journal of Natural Products*. 62: 294-296.
- von Elbe, J.H. and Schwartz, S.J. 1996. Colorants. *In Food Chemistry*, O.R. Fennema (Editor). Marcel Dekker Inc., New York. p.651-722.
- Waterman, P. G. and Mole, S. 1994. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Whiteman, M. and Guan, T. 2003. Antioxidant actives of some tropical fruits. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, National University of Singapore.
- Williams, P. and Norris, K. 2001. *Near infrared technology in agricultural and food industries*. 2 nd ed. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. 296 pp.
- Williams, P. C. and Sobering. D. C. 1993. Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 1: 25-32.
- Wilska-Jeszka, J. 2007. *Chemical and Functional Properties of Food Components*. United Kingdom, Taylor & Francis Group.
- Yen, G.C. and Hsieh, G.L. 1997. Antioxidant effects on dopamine and related compounds. *Biosci. Biotech. Biochem*. 61: 1646-1649.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ประวัติตัวอย่างข้าวกล้องงอก

ตารางที่ 22 ข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีขาว

รหัส	ชื่อผลิตภัณฑ์	ยี่ห้อผลิตภัณฑ์	วันที่ผลิต	หมายเหตุ
G-001	ข้าวกล้องงอกไตรทิพย์	ดอยคำ	21/2/2015	
G-002	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิ 100%	ดอยคำ	23/1/2015	
G-003	ข้าวกล้องหอมมะลิเพาะงอก	B-Herbs	7/10/2014	
G-004	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิบริสุทธิ์	ปิ่นเงิน	8/12/2014	
G-005	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิกาบาไรซ์	มานูญครอง		
G-006	ข้าวกล้องหอมมะลิเพาะงอก	ORGARICE	21/1/2015	
G-007	ข้าวกล้องงอก	ทุ่งกุลา ๑๐๑	13/2/2015	
G-008	ข้าวดอกมะลิ 105 กล้องเพาะงอก	ฟาร์มในพระองค์	2/12/2014	
G-009	ข้าวกล้องงอก	Thammachaad	10/2/2015	
G-010	ข้าวกล้องหอมมะลิเพาะงอก	ORGARICE	15/12/2014	
G-011	ข้าวกล้องเพาะงอก	Hongthong	20/1/2015	
G-012	ข้าวเพาะงอก/กาบา	เผ่าทอง	24/10/2014	
G-013	ข้าวกล้องเพาะงอก	ข้าวแม่		
G-014	ข้าวกล้องเพาะงอกหอมมะลิ	ข้าวสราญ์รมณ์		
G-015	ข้าวกล้องงอกสามสี	ข้าวสราญ์รมณ์		
G-016	ข้าวกล้องงอกลินเหล็ก	Doctor Organic		
G-017	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิ	Doctor Organic		
G-018	ข้าวกล้องปรุงรสบัญจกระยาทิพย์	คุณหญิงพรรณทอง		
G-019	ข้าวเกษตรอินทรีย์คัดพิเศษเพาะงอก	Be Live Rice	12/10/2014	
G-020	ข้าวกล้องเพาะงอก 100%	Be Live Rice	26/1/2015	
G-021	ข้าวเหนียวงอก	คันไถ	16/8/2014	
G-022	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิ 105	คันไถ	21/3/2015	
G-023	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิอินทรีย์	บ้านไร่ต้นฝัน		
G-024	ข้าวกล้องงอกอินทรีย์ 3 สี	บ้านไร่ต้นฝัน		
G-025	ข้าวฮางอกศรีโคตรบูรณ์	ข้าวคุณแม่		
G-026	ข้าวฮางอกหอมมะลิ	ข้าวคุณแม่		
G-027	ข้าวอกมะลิอินทรีย์	แทนรักษ์		
G-028	ข้าวกล้องงอก			
G-029	ข้าวกล้องงอกไตรทิพย์	ดอยคำ	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-001
G-030	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิ 100%	ดอยคำ	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-002

รหัส	ชื่อผลิตภัณฑ์	ยี่ห้อผลิตภัณฑ์	วันที่ผลิต	หมายเหตุ
G-031	ข้าวกล้องหอมมะลิพะวงอก	B-Herbs	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-003
G-032	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิบริสุทธิ์	ปิ่นเงิน	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-004
G-033	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิกาบาไรซ์	มานัญครอง	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-005
G-034	ข้าวกล้องหอมมะลิพะวงอก	ORGARICE	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-006
G-035	ข้าวกล้องงอก	ทุ่งกุลลา ๑๐๑	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-007
G-036	ข้าวดอกมะลิ 105 กล้องพะวงอก	ฟาร์มในพระองค์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-008
G-037	ข้าวกล้องงอก	Thammachaad	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-009
G-038	ข้าวกล้องหอมมะลิพะวงอก	ORGARICE	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-010
G-039	ข้าวกล้องพะวงอก	Hongthong	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-011
G-040	ข้าวพะวงอก/กาบา	เผ่าทอง	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-012
G-041	ข้าวกล้องพะวงอก	ข้าวแม่	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-013
G-042	ข้าวกล้องพะวงอกหอมมะลิ	ข้าวสราญ์รมณ์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-014
G-043	ข้าวกล้องงอกสามสี	ข้าวสราญ์รมณ์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-015
G-044	ข้าวกล้องงอกสินเหล็ก	Doctor Organic	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-016
G-045	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิ	Doctor Organic	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-017
G-046	ข้าวกล้องปรุงเบญจกระยาทิพย์	คุณหญิงพรรณทอง	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-018
G-047	ข้าวเกษตรอินทรีย์คัดพิเศษพะวงอก	Be Live Rice	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-019
G-048	ข้าวกล้องพะวงอก 100%	Be Live Rice	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-020
G-049	ข้าวเหนียวงอก	คันไถ	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-021
G-050	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิ 105	คันไถ	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-022
G-051	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิอินทรีย์	บ้านไร่ต้นฝัน	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-023
G-052	ข้าวกล้องงอกอินทรีย์ 3 สี	บ้านไร่ต้นฝัน	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-024
G-053	ข้าวฮางอกศรีโครตบุรณ์	ข้าวคุณแม่	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-025
G-054	ข้าวฮางอกหอมมะลิ	ข้าวคุณแม่	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-026
G-055	ข้าวฮอกมะลิอินทรีย์	แทนรักษ์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-027
G-056	ข้าวกล้องงอก		เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก G-028

ตารางที่ 23 ข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีแดง

รหัส	ชื่อผลิตภัณฑ์	ยี่ห้อผลิตภัณฑ์	วันที่ผลิต	หมายเหตุ
RR-001	ข้าวกล้องสังข์หยดเพาะงอก	B-Herbs	21/5/2014	
RR-002	ข้าวกล้องหอมมะลิแดงเพาะงอก	B-Herbs	15/11/2015	
RR-003	ข้าวหอมมะลิแดงเพาะงอก	ฟาร์มในพระองค์	2/2/2015	
RR-004	ข้าวกล้องหอมมะลิแดงเพาะงอก	Cooking for fun	1/9/2014	
RR-005	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิแดง	บ้านไร่ต้นฝัน		
RR-006	ข้าวงอกหอมมะลิแดงอินทรีย์	แทนรักษ์		
RR-007	ข้าวกล้องงอกมะลิแดงอินทรีย์คัดพิเศษ	BE Live Rice	6/2/2015	
RR-008	ข้าวกล้องหอมนิลเกษตรอินทรีย์คัดพิเศษ	BE Live Rice	17/12/2014	
RR-009				
RR-010	ข้าวกล้องสังข์หยดเพาะงอก	B-Herbs	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-001
RR-011	ข้าวกล้องหอมมะลิแดงเพาะงอก	B-Herbs	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-002
RR-012	ข้าวหอมมะลิแดงเพาะงอก	ฟาร์มในพระองค์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-003
RR-013	ข้าวกล้องหอมมะลิแดงเพาะงอก	Cooking for fun	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-004
RR-014	ข้าวกล้องงอกหอมมะลิแดง	บ้านไร่ต้นฝัน	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-005
RR-015	ข้าวงอกหอมมะลิแดงอินทรีย์	แทนรักษ์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-006
RR-016	ข้าวกล้องงอกมะลิแดงอินทรีย์คัดพิเศษ	BE Live Rice	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-007
RR-017	ข้าวกล้องหอมนิลเกษตรอินทรีย์คัดพิเศษ	BE Live Rice	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-008
RR-018			เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก RR-009

ตารางที่ 24 ข้าวกล็องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีดำ

รหัส	ชื่อผลิตภัณฑ์	ยี่ห้อผลิตภัณฑ์	วันที่ผลิต	หมายเหตุ
BB-001	ข้าวกล็องหอมนิลงอก 100%	ดอยคำ	24/1/2015	
BB-002	ข้าวลิ้มผิว/ข้าวเหนียวดำ	ข้าวอารมณ์ดี	10/2/2015	
BB-003	ข้าวกำาดอยมุเซอ	B-Herbs	3/2/2015	
BB-004	ข้าวแจสเบอร์รี่	Jasberry	1/1/2015	
BB-005	ข้าวกำาดอยมุเซอเพาะงอก	ฟาร์มในพระองค์	29/1/2015	
BB-006	ข้าวกล็องงอกไรซ์เบอร์รี่	Doctor Organic		
BB-007	ข้าวกำางอก	คันไถ	4/4/2015	
BB-008	ข้าวงอกไรซ์เบอร์รี่	คันไถ	28/1/2015	
BB-009	ข้าวกล็องงอกหอมมะลินิล	คันไถ		
BB-010	ข้าวกล็องงอกหอมนิลอินทรีย์	บ้านไร่ต้นฝัน		
BB-011		ข้าวคุณแม่		
BB-012	ข้าวงอกไรซ์เบอร์รี่อินทรีย์	แทนรักษ์	2/3/2015	
BB-013	ข้าวงอกหอมนิลอินทรีย์	แทนรักษ์	21/4/2015	
BB-014	ข้าวกล็องงอกหอมนิลงอก 100%	ดอยคำ	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-001
BB-015	ข้าวลิ้มผิว/ข้าวเหนียวดำ	ข้าวอารมณ์ดี	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-002
BB-016	ข้าวกำาดอยมุเซอ	B-Herbs	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-003
BB-017	ข้าวแจสเบอร์รี่	Jasberry	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-004
BB-018	ข้าวกำาดอยมุเซอเพาะงอก	ฟาร์มในพระองค์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-005
BB-019	ข้าวกล็องงอกไรซ์เบอร์รี่	Doctor Organic	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-006
BB-020	ข้าวกำางอก	คันไถ	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-007
BB-021	ข้าวงอกไรซ์เบอร์รี่	คันไถ	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-008
BB-022	ข้าวกล็องงอกหอมมะลินิล	คันไถ	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-009
BB-023	ข้าวกล็องงอกหอมนิลอินทรีย์	บ้านไร่ต้นฝัน	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-010
BB-024		ข้าวคุณแม่	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-011
BB-025	ข้าวงอกไรซ์เบอร์รี่อินทรีย์	แทนรักษ์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-012
BB-026	ข้าวงอกหอมนิลอินทรีย์	แทนรักษ์	เก็บที่@45 °C 14วัน	มาจาก BB-013

ตารางที่ 25 รูปภาพตัวอย่างข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีขาว

			
G-001	G-002	G-003	G-004
			
G-005	G-006	G-007	G-008
			
G-009	G-010	G-011	G-012
			
G-013	G-014	G-015	G-016

			
<p>G-017</p>	<p>G-018</p>	<p>G-019</p>	<p>G-020</p>
			
<p>G-021</p>	<p>G-022</p>	<p>G-023</p>	<p>G-024</p>
			
<p>G-025</p>	<p>G-026</p>	<p>G-027</p>	<p>G-028</p>

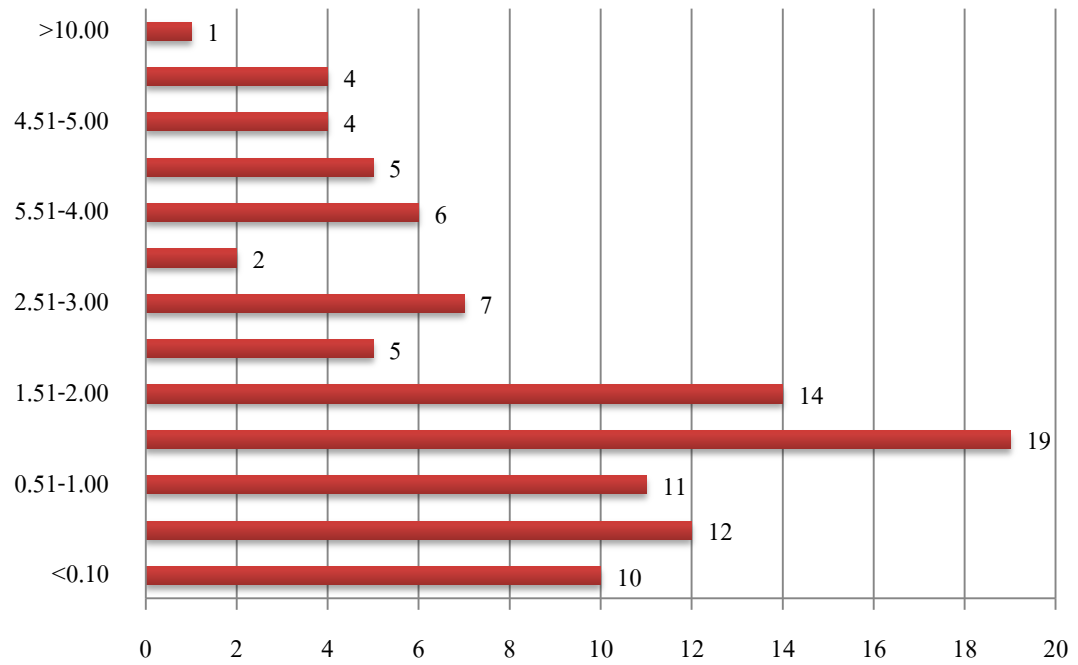
ตารางที่ 26 รูปภาพตัวอย่างข้าวกล้องงอกที่มีลักษณะทางกายภาพสีแดง

<p>RR-001</p>	<p>RR-002</p>	<p>RR-003</p>	<p>RR-004</p>
<p>RR-005</p>	<p>RR-006</p>	<p>RR-007</p>	<p>RR-008</p>
<p>RR-009</p>			

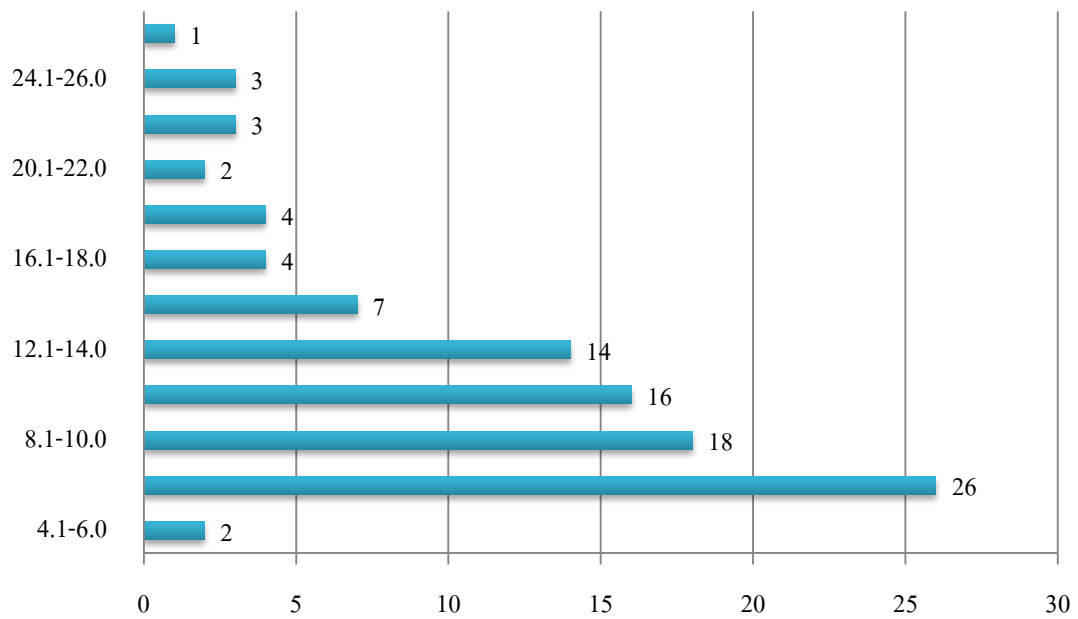
ตารางที่ 27 รูปภาพตัวอย่างข้าวกล้องออกที่มีลักษณะทางกายภาพสีดำ

			
<p>BB-001</p>	<p>BB-002</p>	<p>BB-003</p>	<p>BB-004</p>
			
<p>BB-005</p>	<p>BB-006</p>	<p>BB-007</p>	<p>BB-008</p>
			
<p>BB-009</p>	<p>BB-010</p>	<p>BB-011</p>	<p>BB-012</p>
			
<p>BB-013</p>			

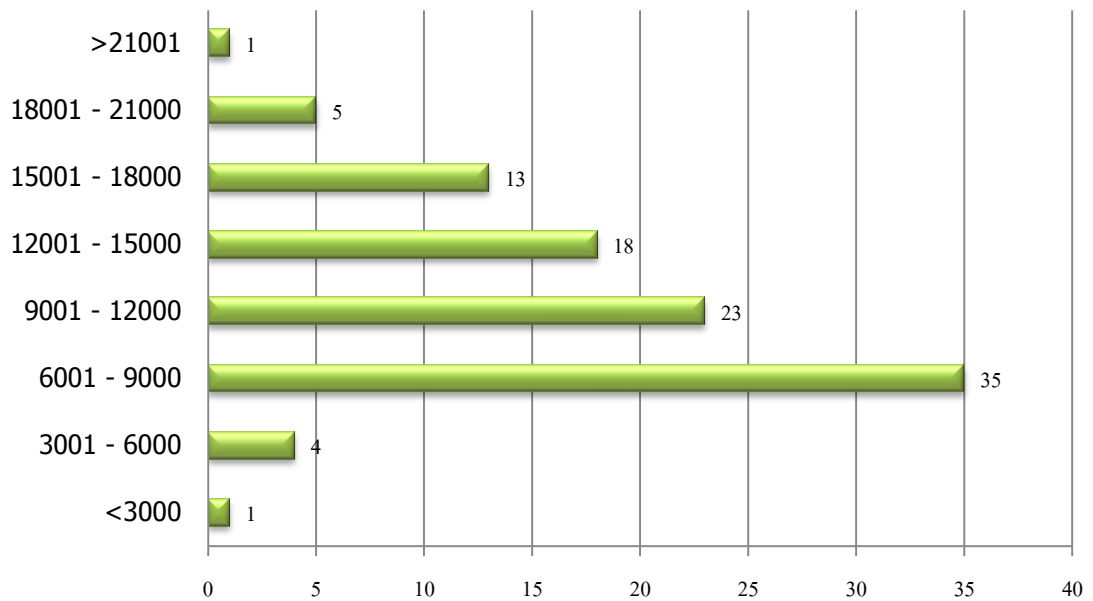
ภาคผนวก ข
ข้อมูลทางเคมี



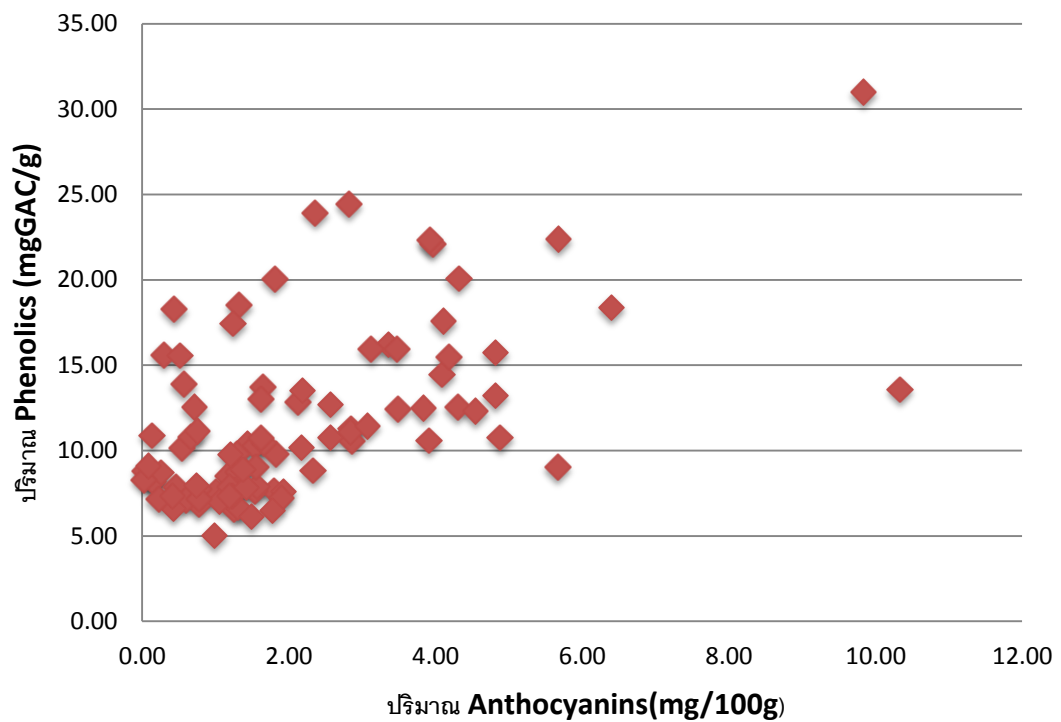
ภาพที่ 43 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณ Anthocyanins (mg/100g) ของข้าวกล้องงอก 100 ตัวอย่าง



ภาพที่ 44 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณ Phenolics (mg/gSample) ของข้าวกล้องงอก 100 ตัวอย่าง

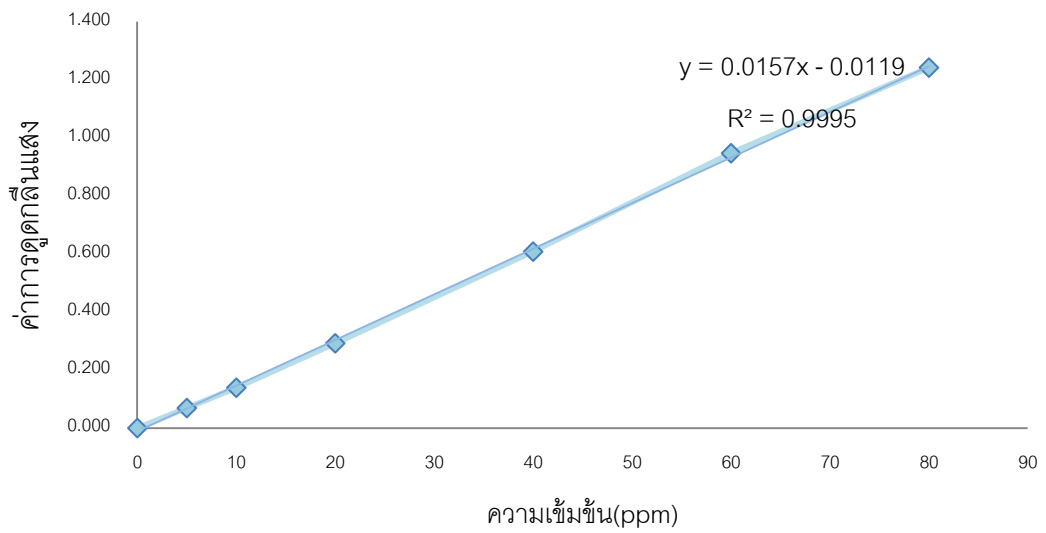


ภาพที่ 45 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณ Antioxidant (mgTE/gSample) ของข้าวกล้องงอก 100 ตัวอย่าง



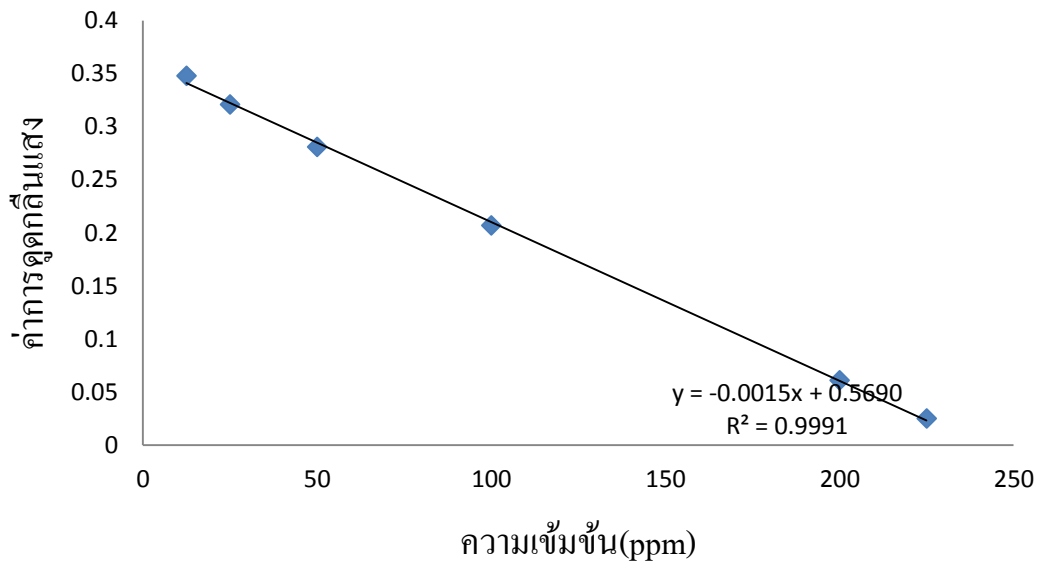
ภาพที่ 46 การเปรียบเทียบปริมาณ Phenolic (mgGAC/g) กับ ปริมาณ Anthocyanins (mg/100g)

กราฟมาตรฐานแกลลิก

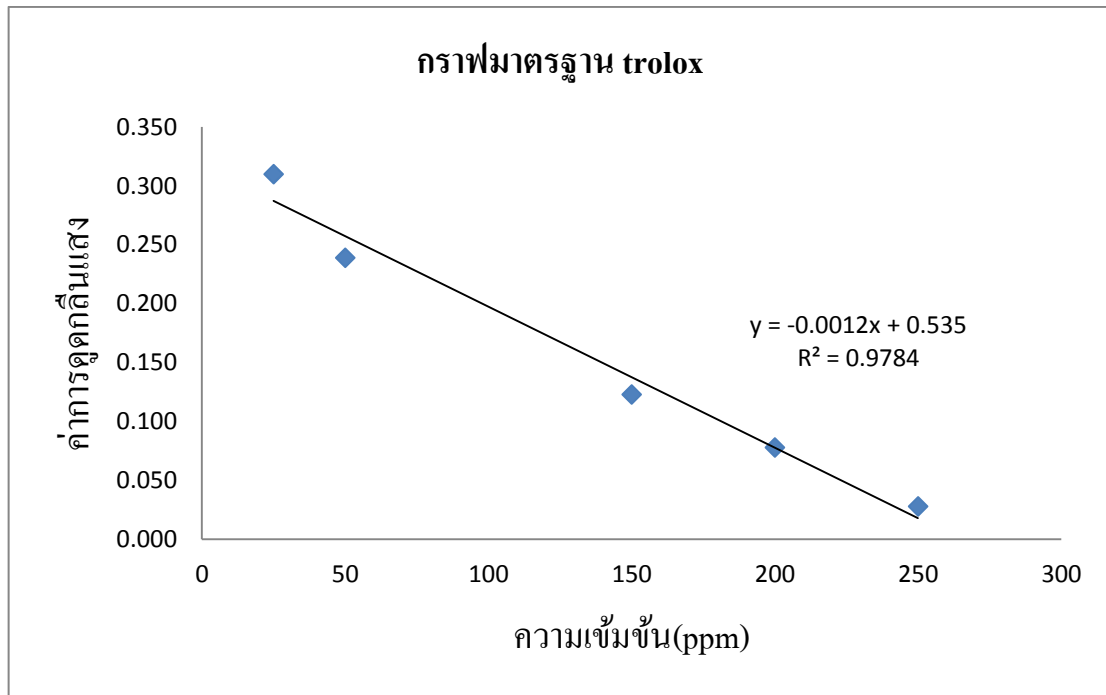


ภาพที่ 47 กราฟมาตรฐาน Gallic acid

กราฟมาตรฐาน trolox

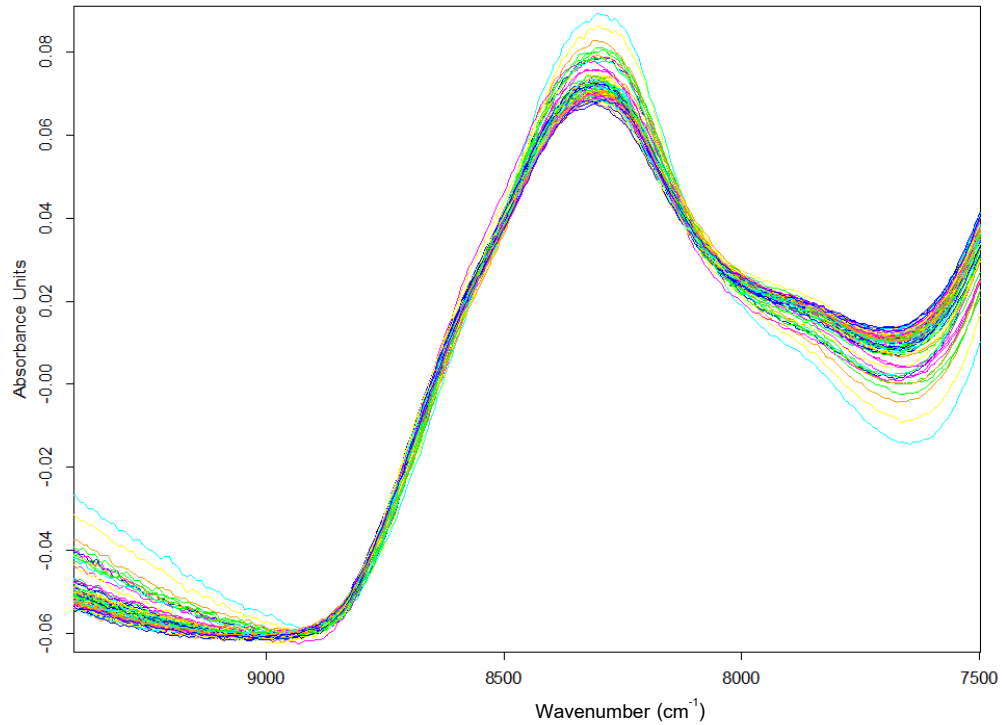


ภาพที่ 48 กราฟมาตรฐาน trolox ของ DPPH

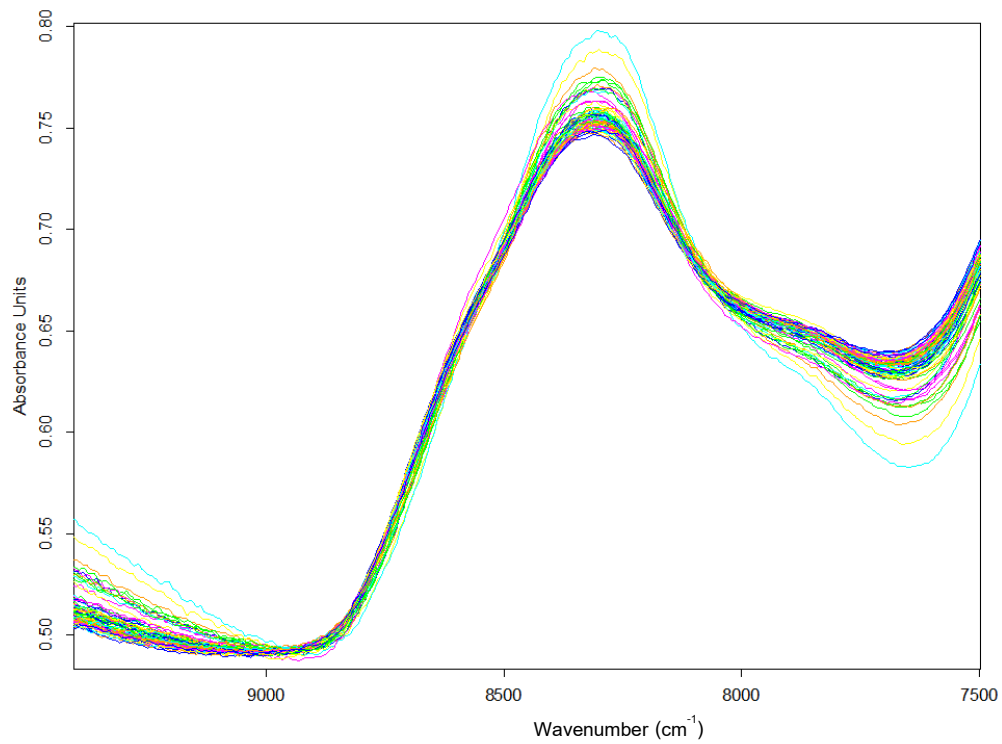


ภาพที่ 49 กราฟมาตรฐาน trolox ของ ABTS

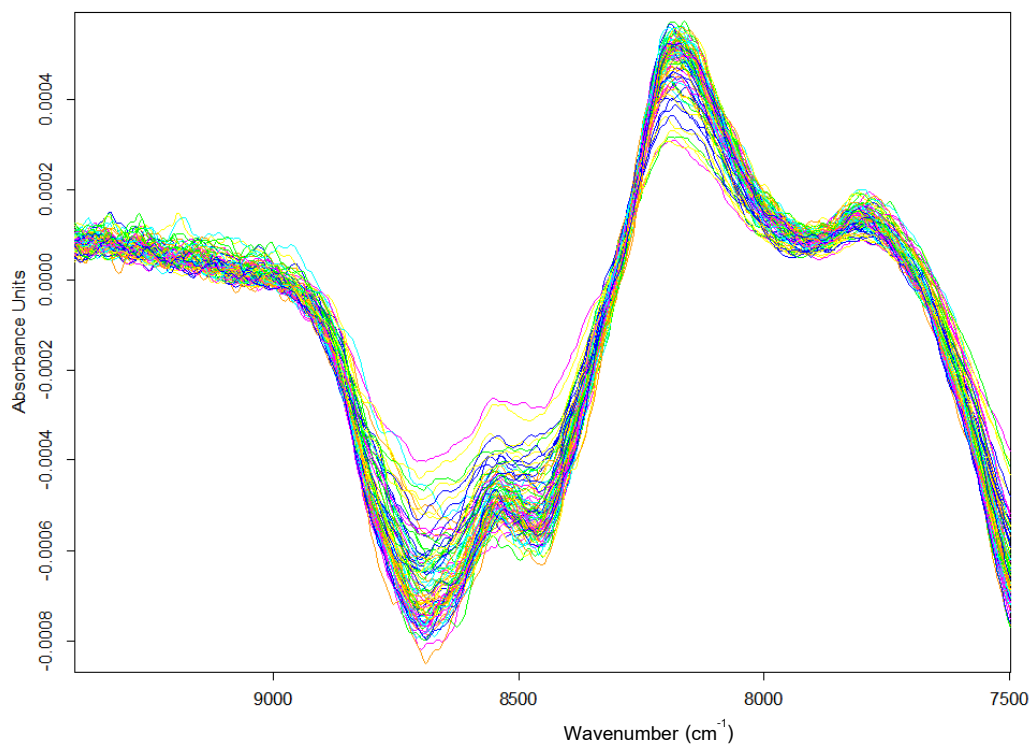
ภาคผนวก ค
ข้อมูลสเปกตรัม NIR
สเปกตรัมแอนโธไซยานินส์หลังการปรับแต่งของเมล็ดข้าวกล้องงอก



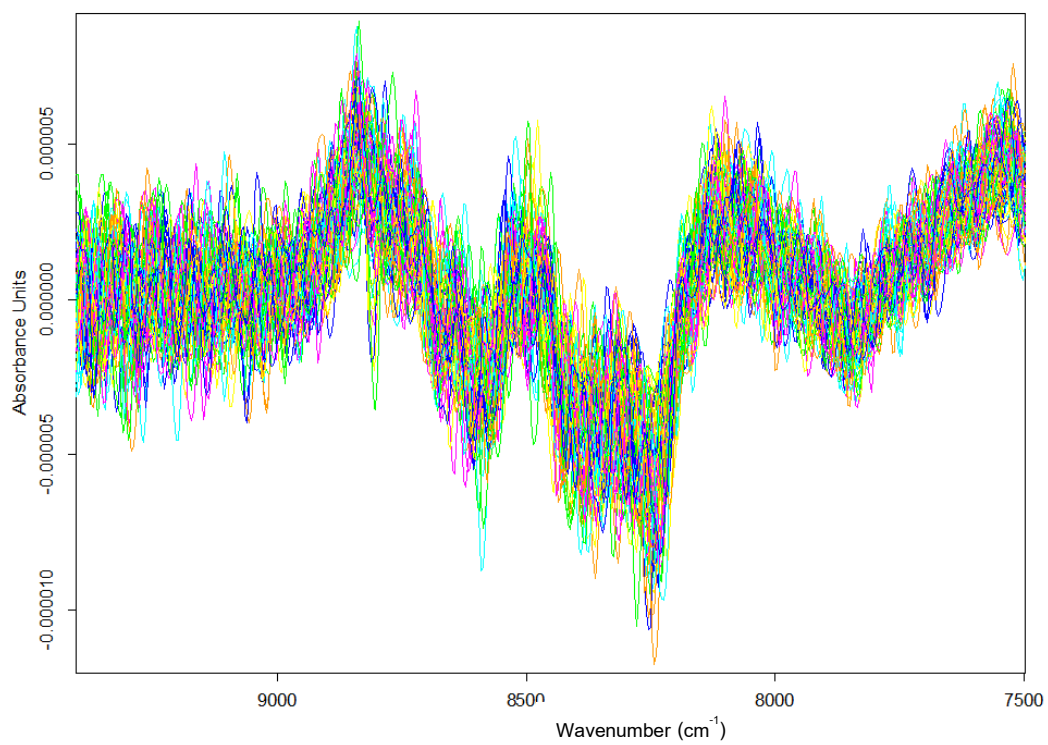
ภาพที่ 50 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



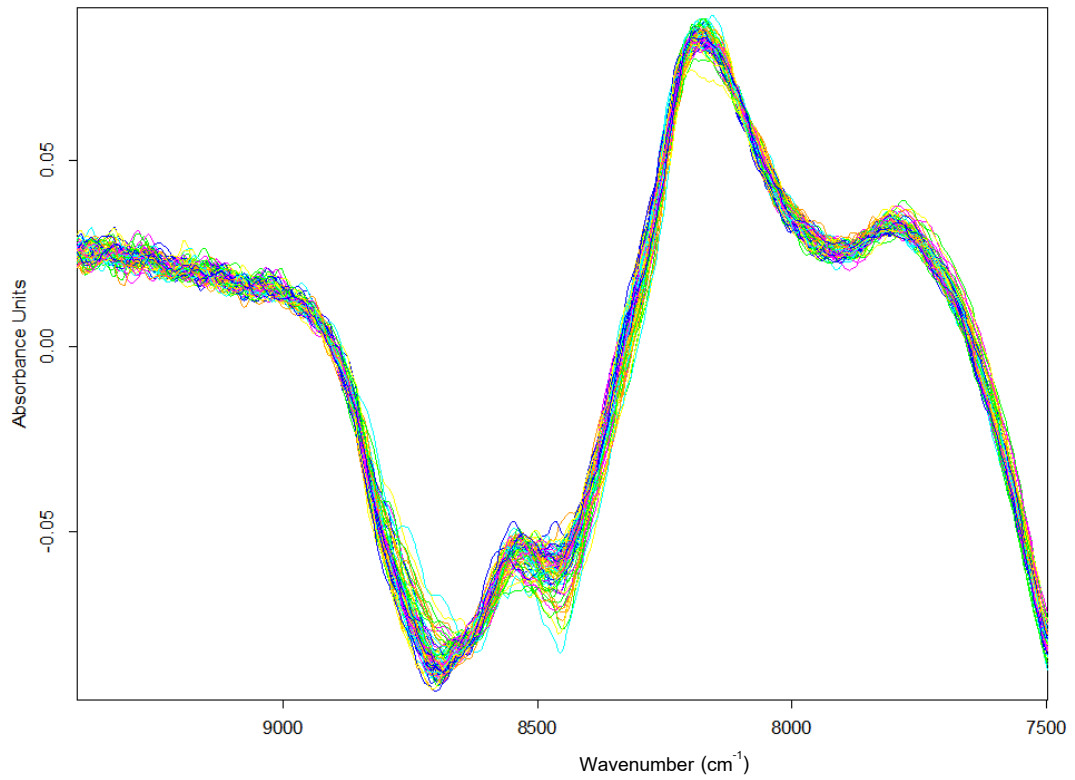
ภาพที่ 51 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



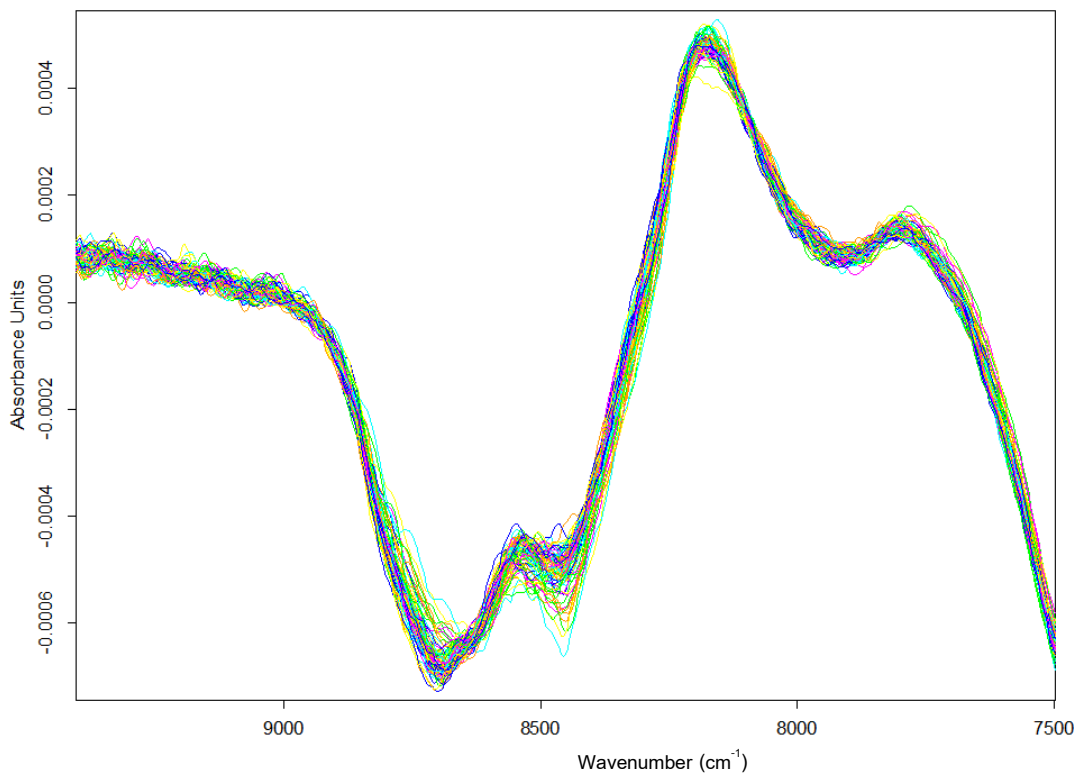
ภาพที่ 52 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 53 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

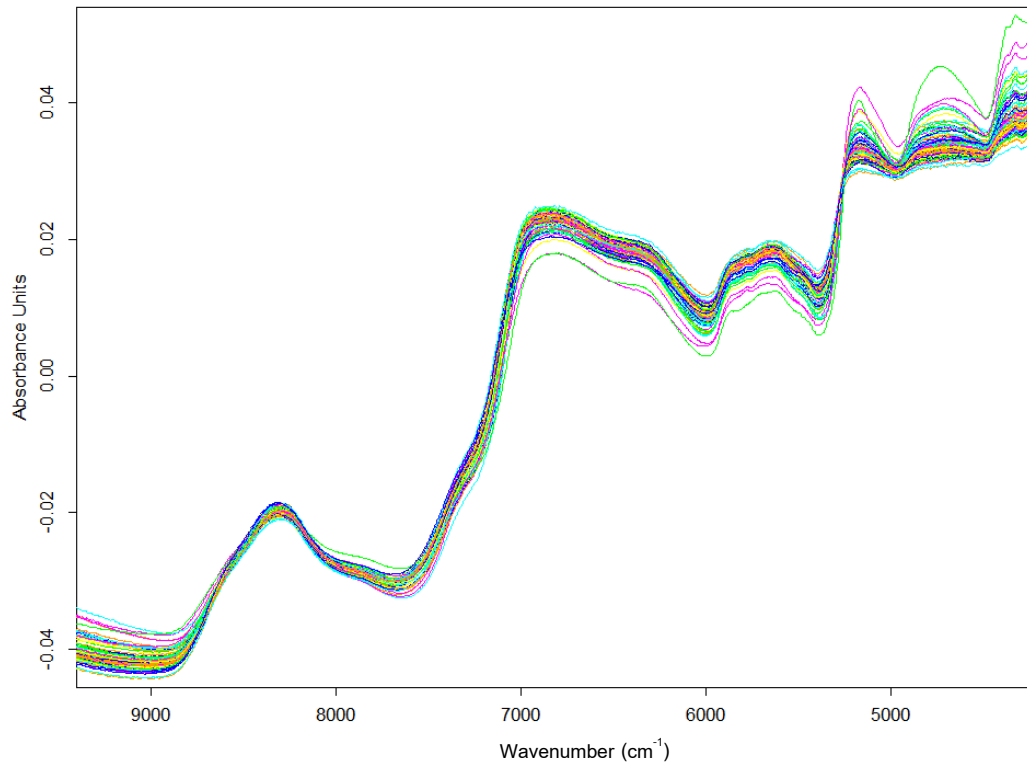


ภาพที่ 54 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV ของเมล็ดข้าวกล้องอก

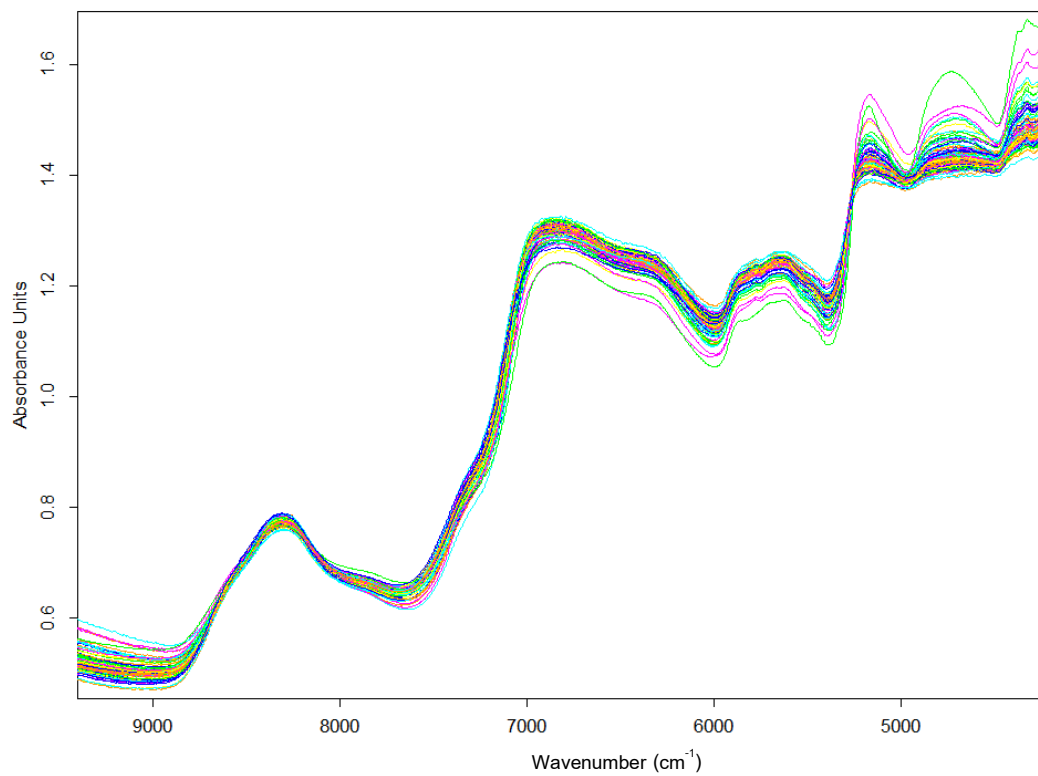


ภาพที่ 55 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC ของเมล็ดข้าวกล้องอก

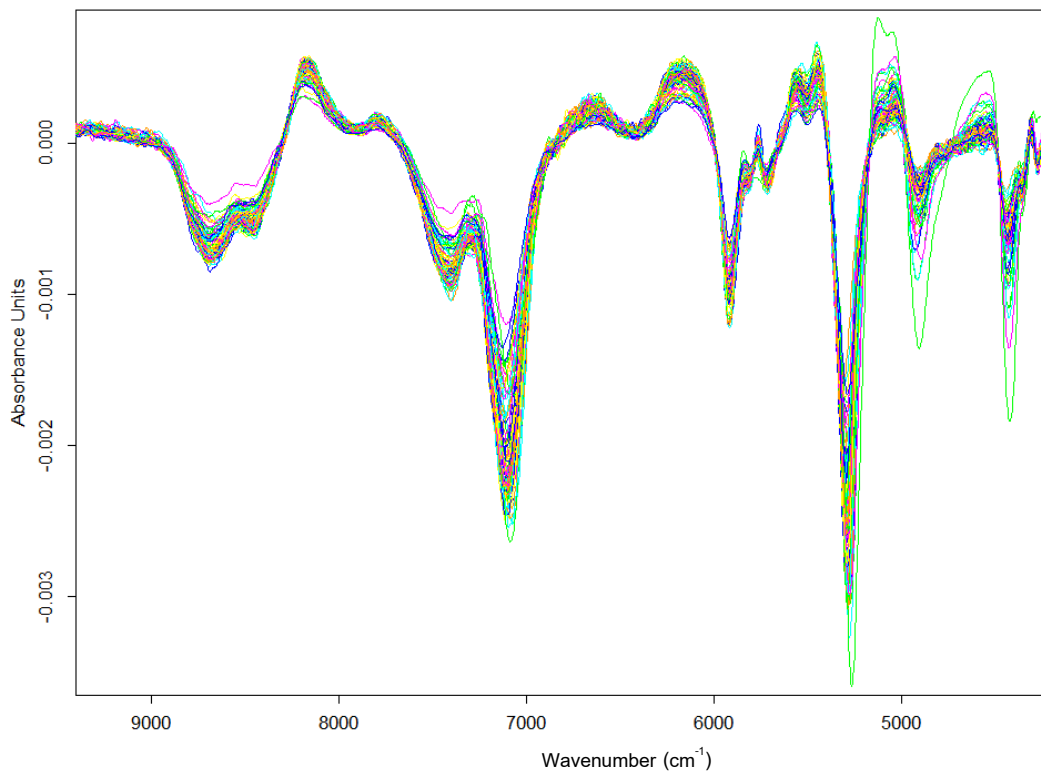
สเปกตรัมฟิโนลิกหลังการปรับแต่งของเมล็ดข้าวกล้องงอก



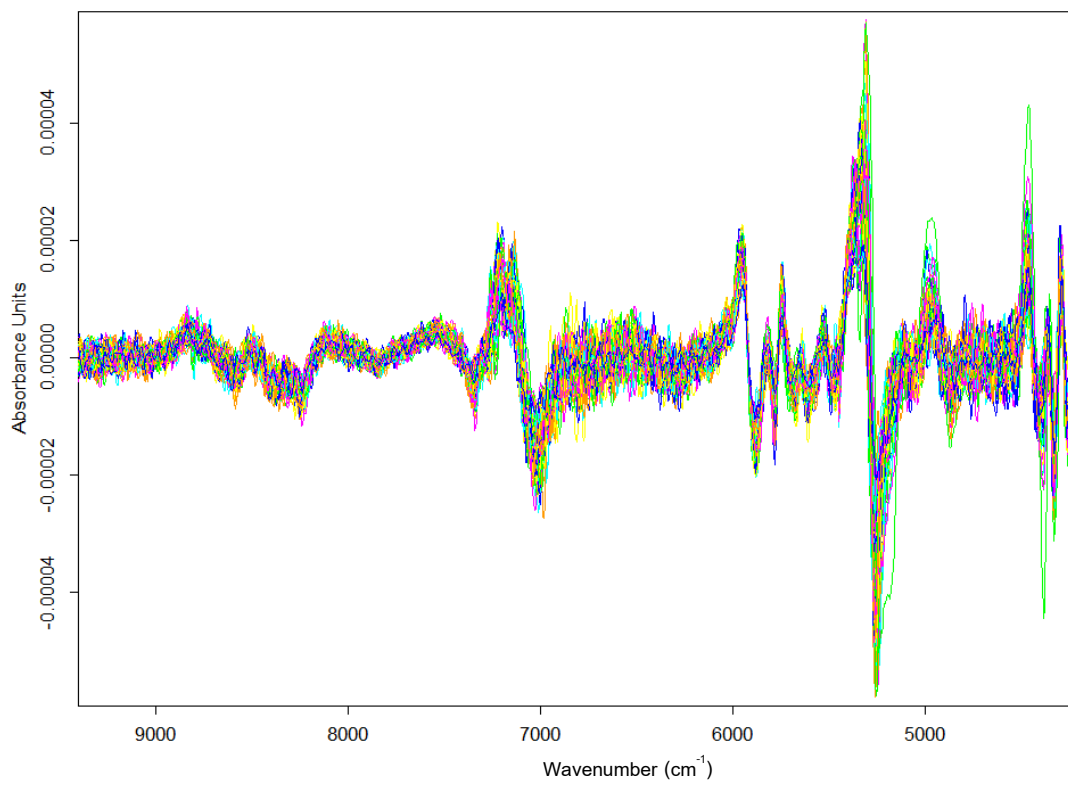
ภาพที่ 56 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



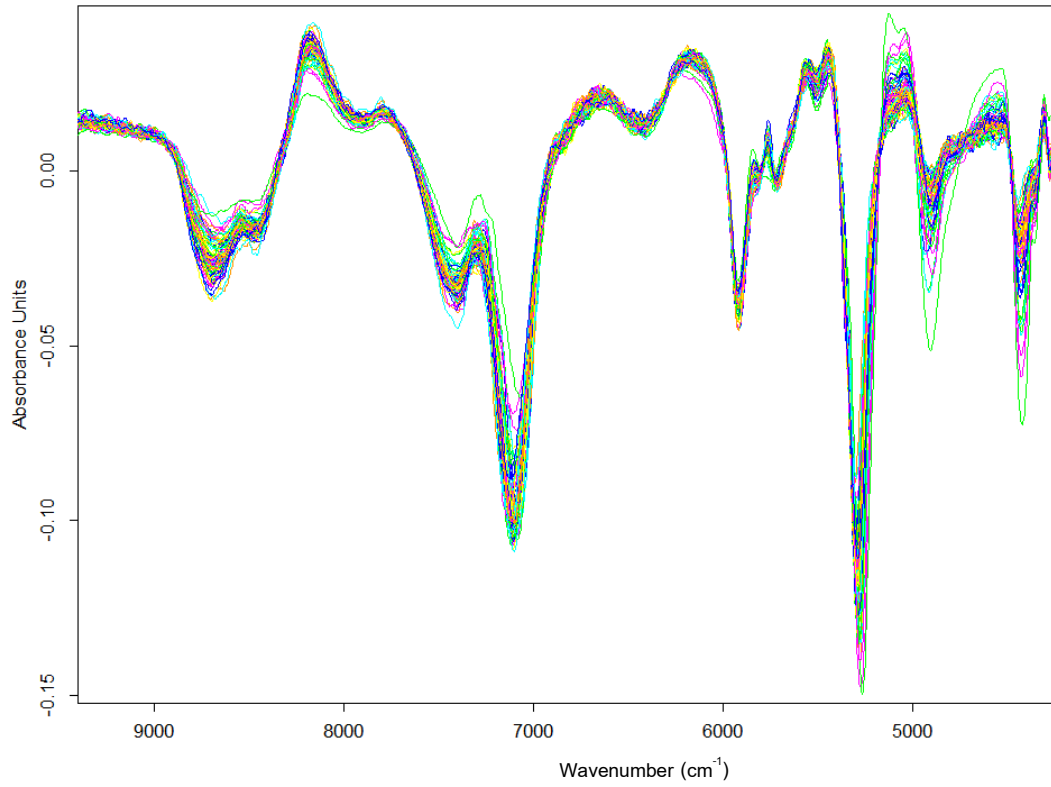
ภาพที่ 57 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



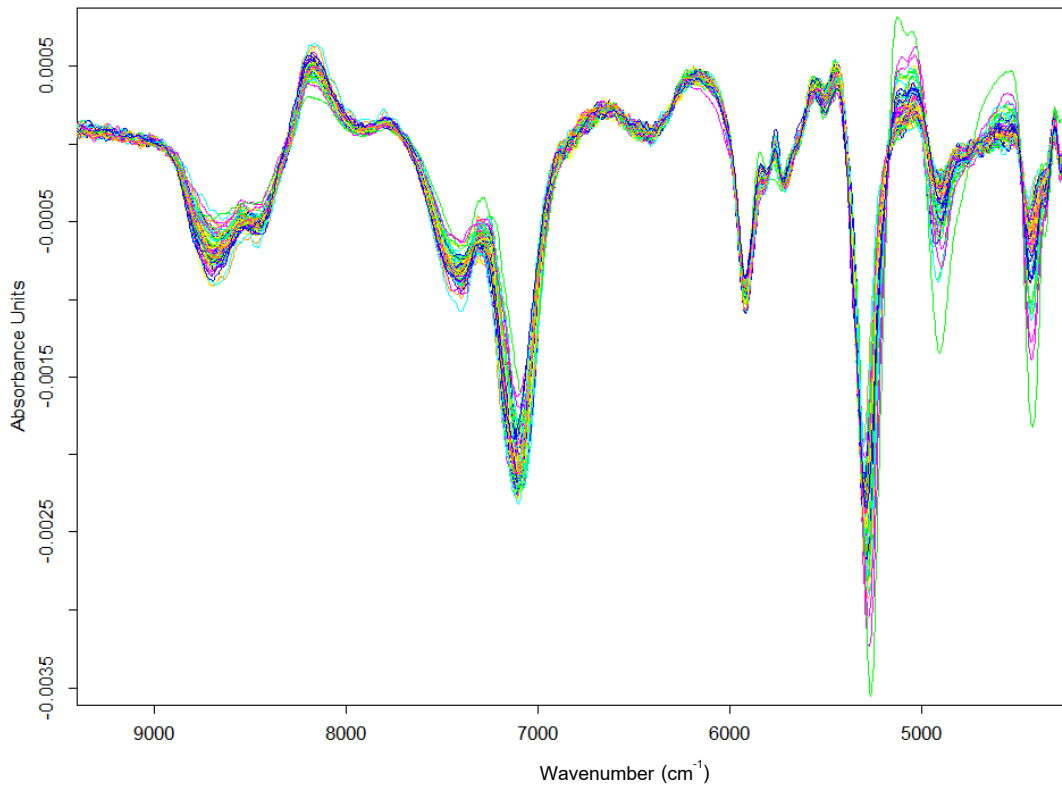
ภาพที่ 58 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ของเมล็ดข้าวกัล้องอก



ภาพที่ 59 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ของเมล็ดข้าวกัล้องอก

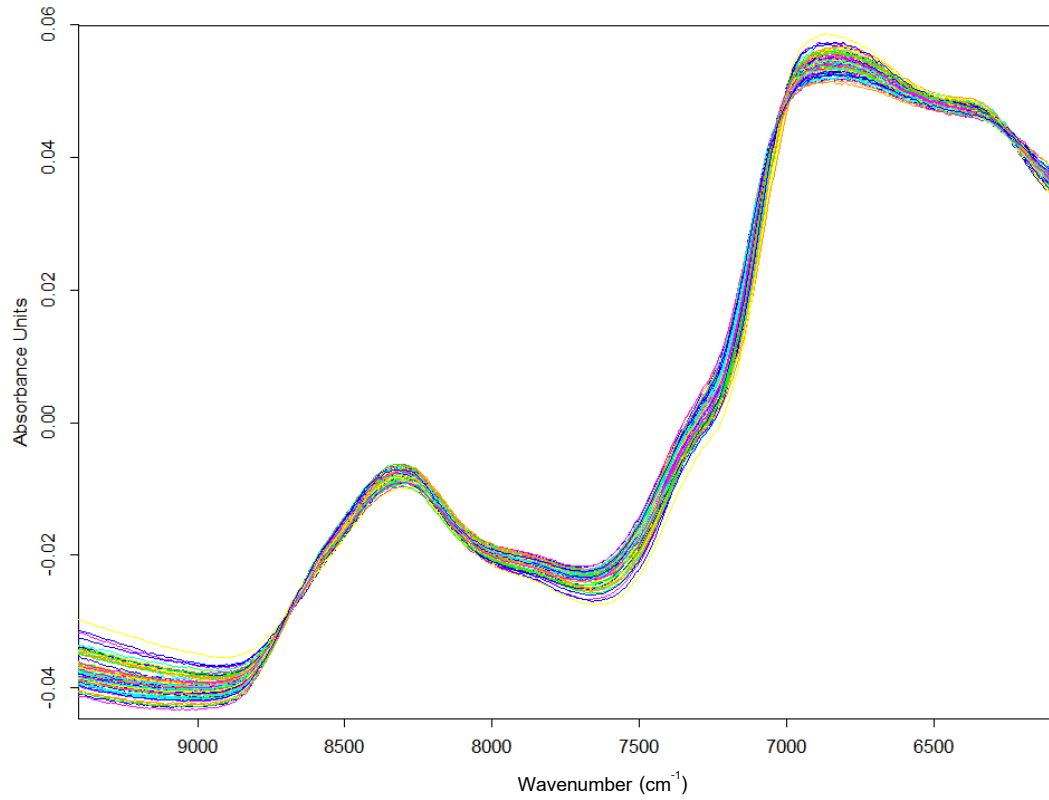


ภาพที่ 60 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

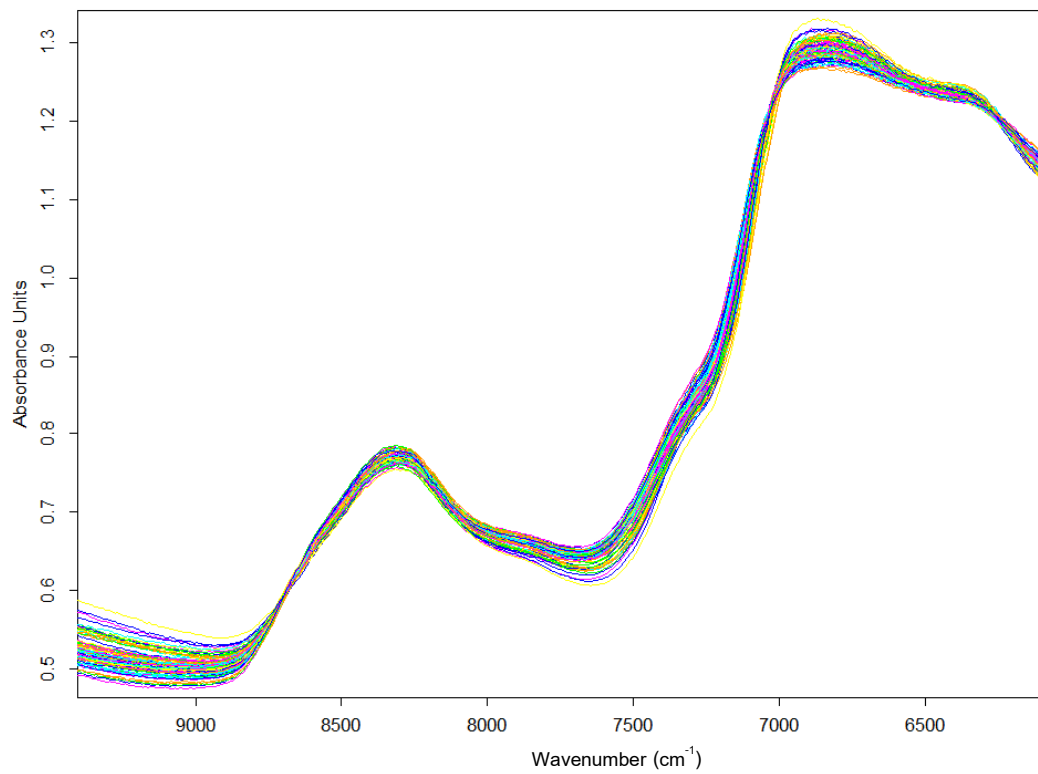


ภาพที่ 61 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

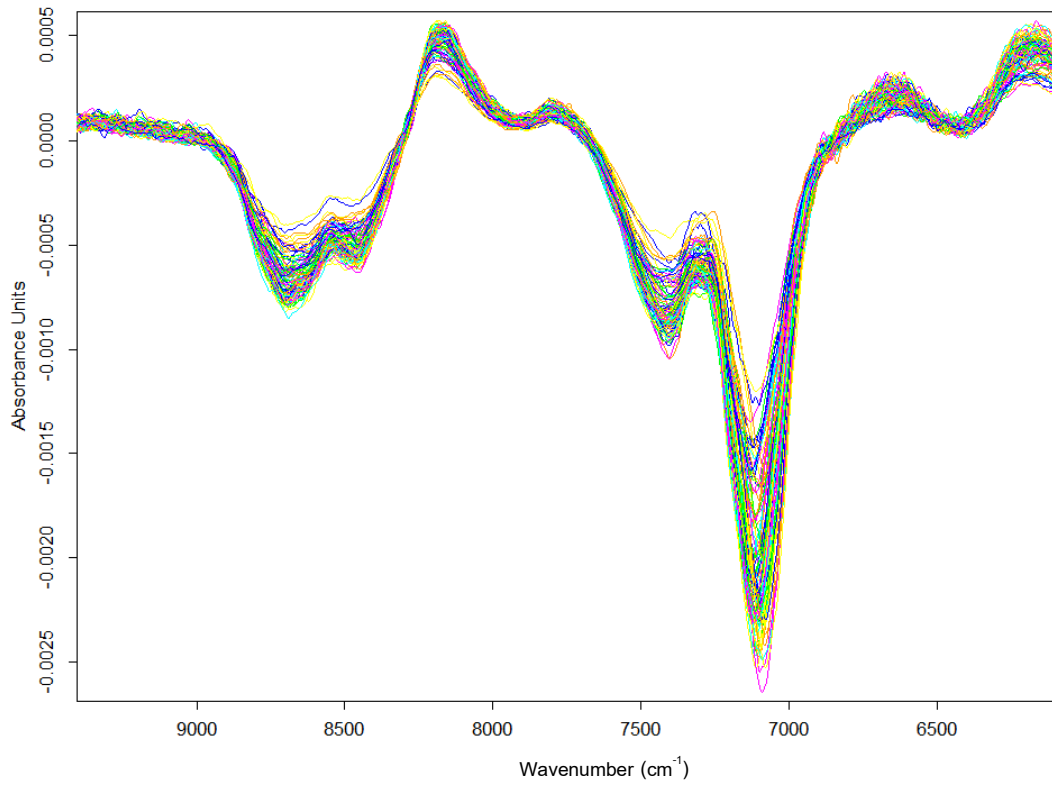
สเปกตรัมดิออกซิแดนซ์ด้วย DPPH assay หลังการปรับแต่งของเมล็ดข้าวกล้องงอก



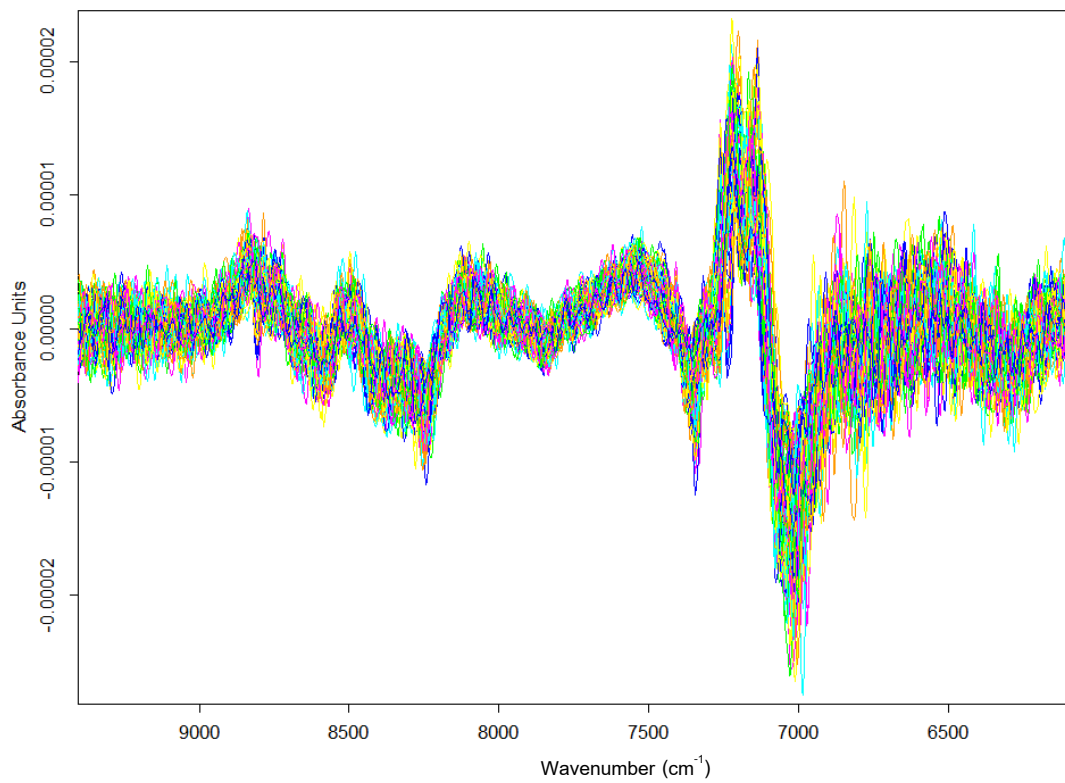
ภาพที่ 62 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



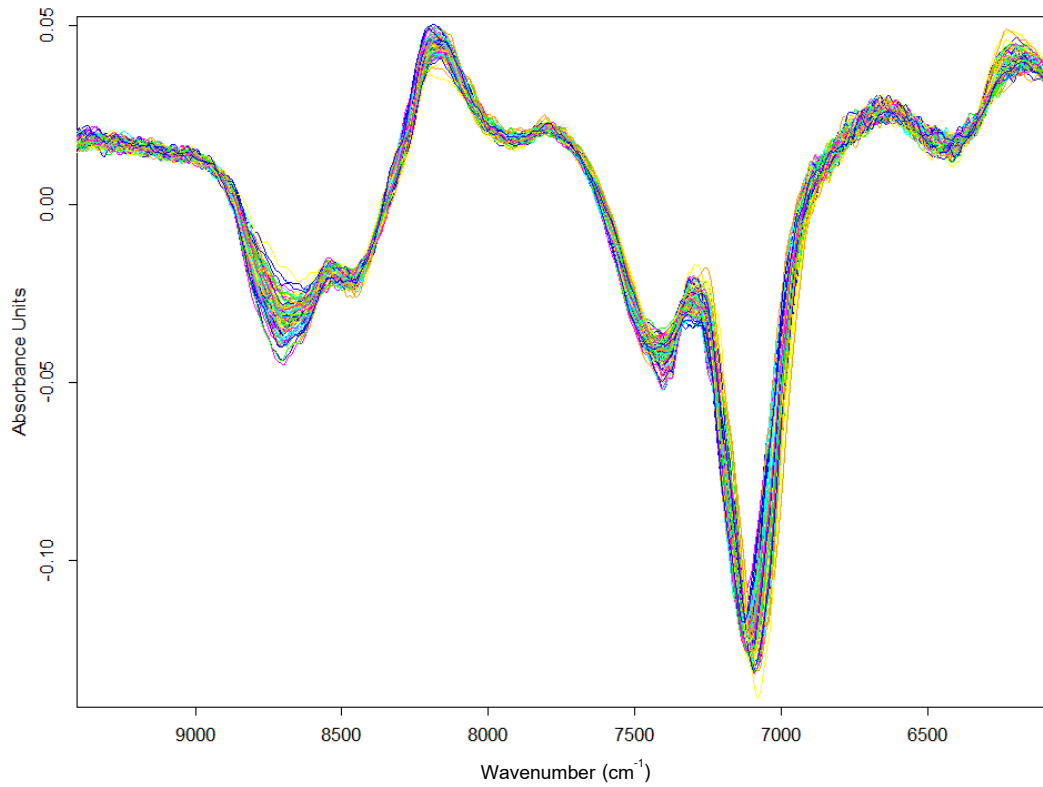
ภาพที่ 63 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



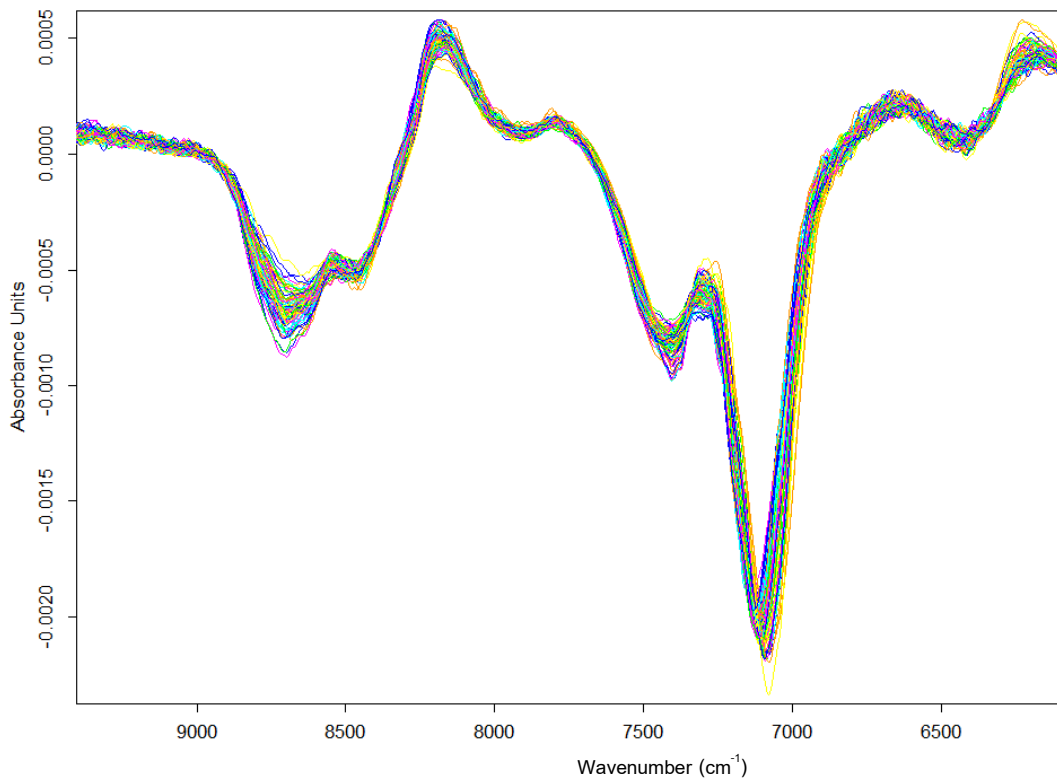
ภาพที่ 64 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 65 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

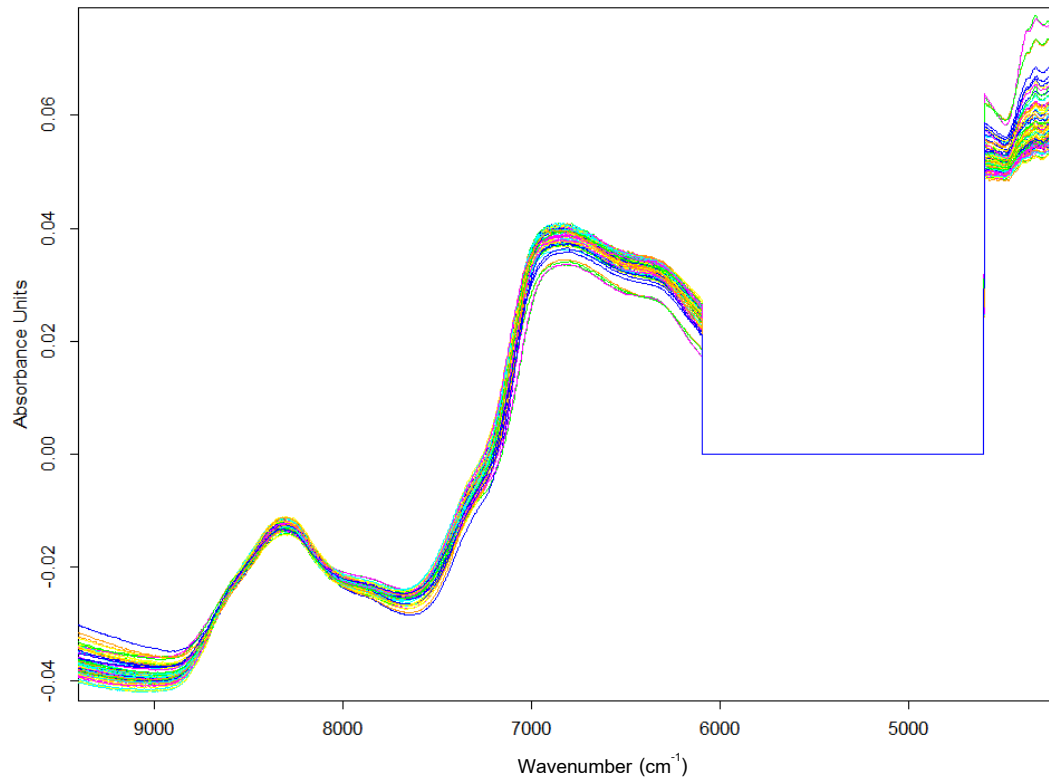


ภาพที่ 66 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

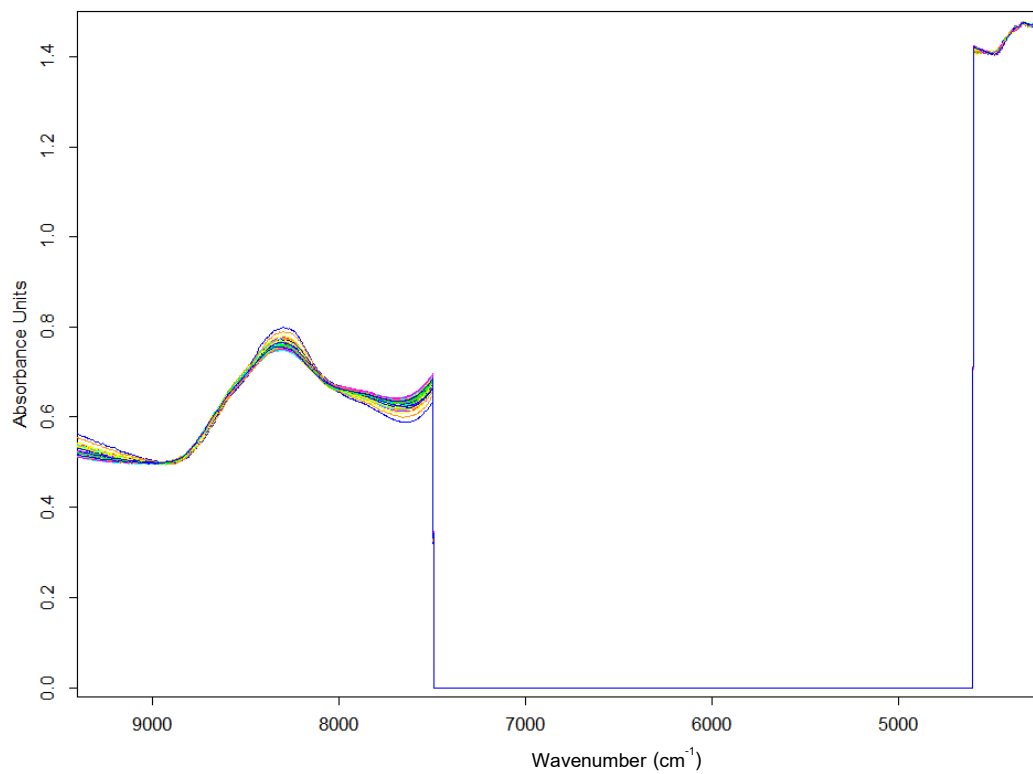


ภาพที่ 67 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC ของเมล็ดข้าวกล้องงอก

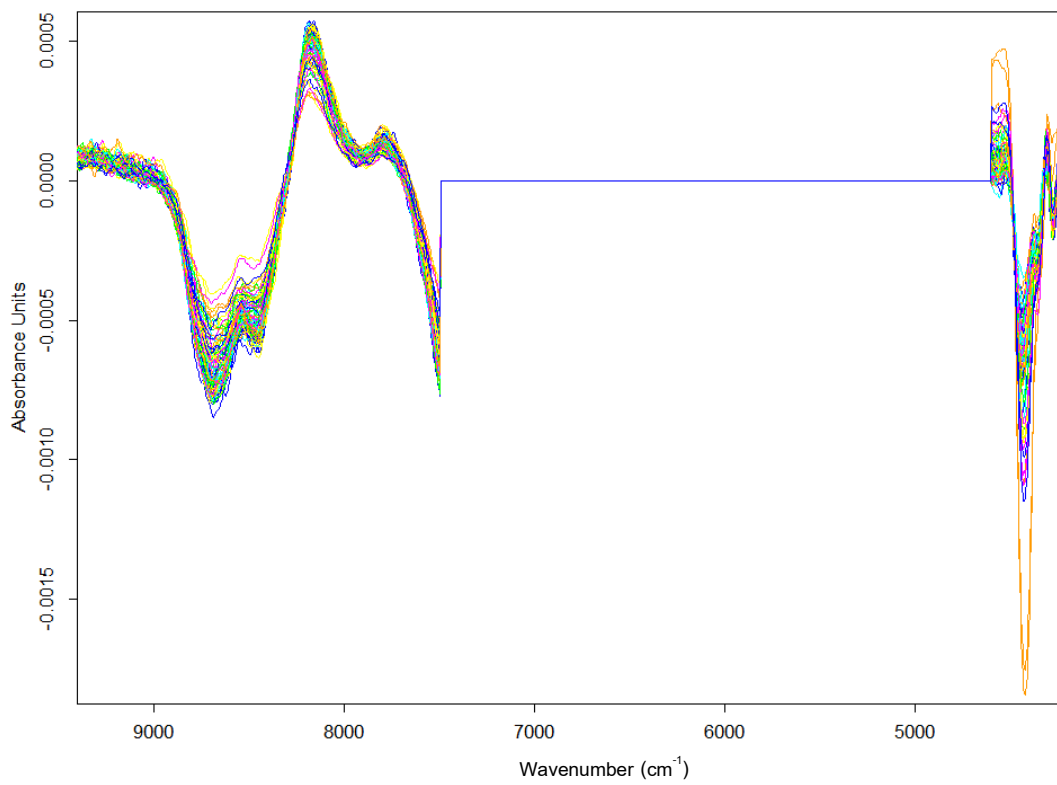
สเปกตรัมดิวอกซิแดนซ์ด้วย ABTS assay หลังการปรับแต่งของเมล็ดข้าวกล้องงอก



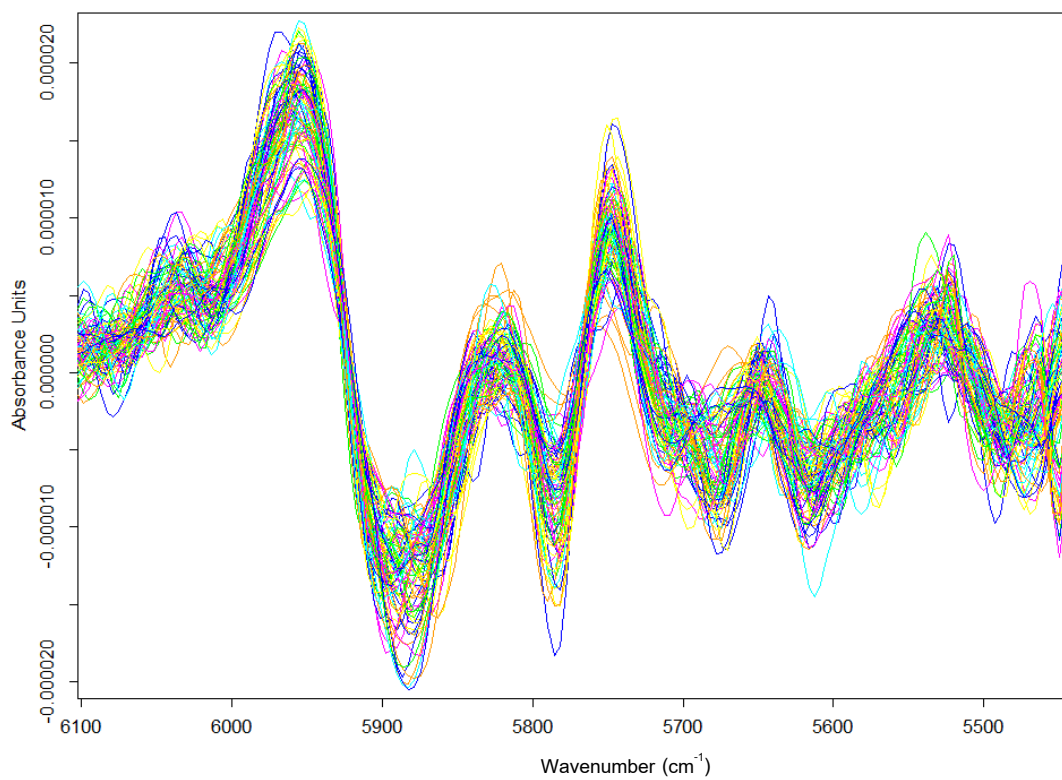
ภาพที่ 68 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



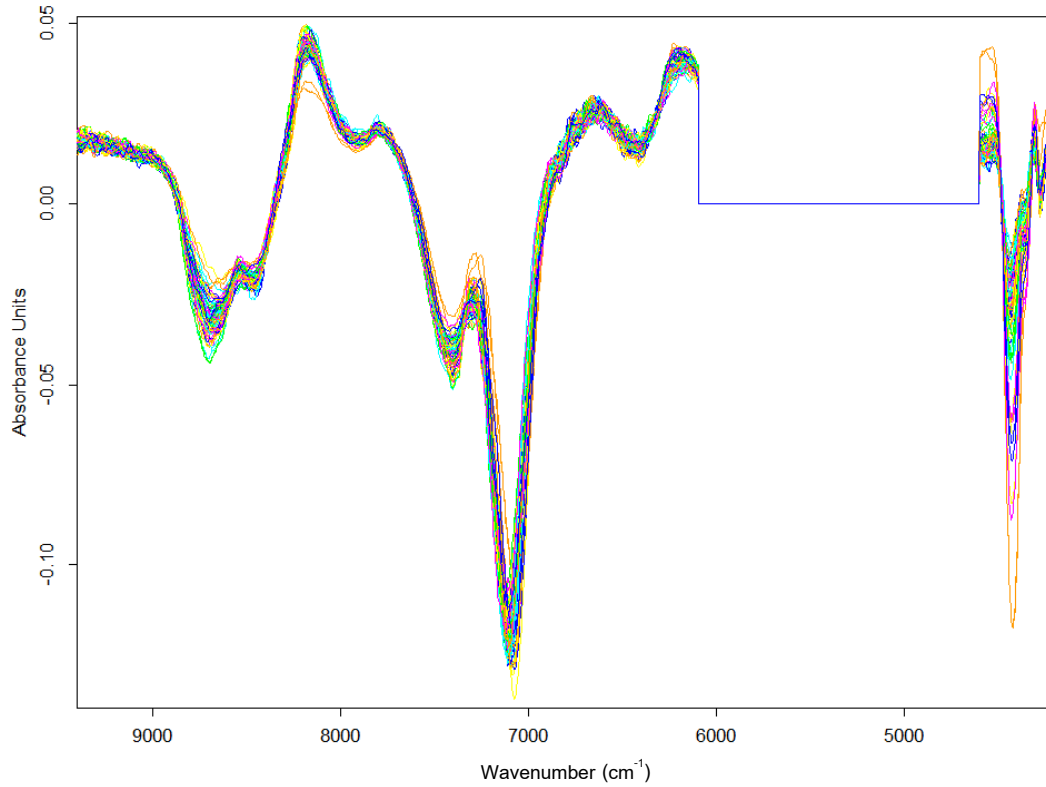
ภาพที่ 69 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ของเมล็ดข้าวกล้องงอก



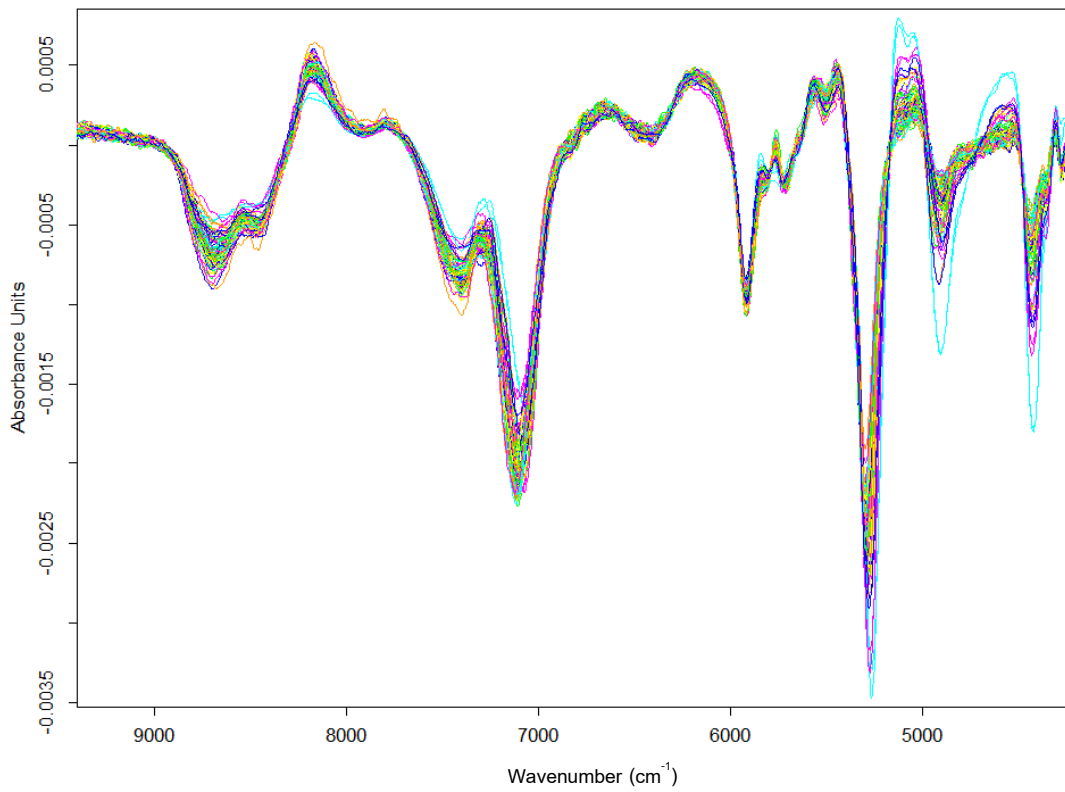
ภาพที่ 70 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ของเมล็ดข้าวกล้องอก



ภาพที่ 71 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ของเมล็ดข้าวกล้องอก

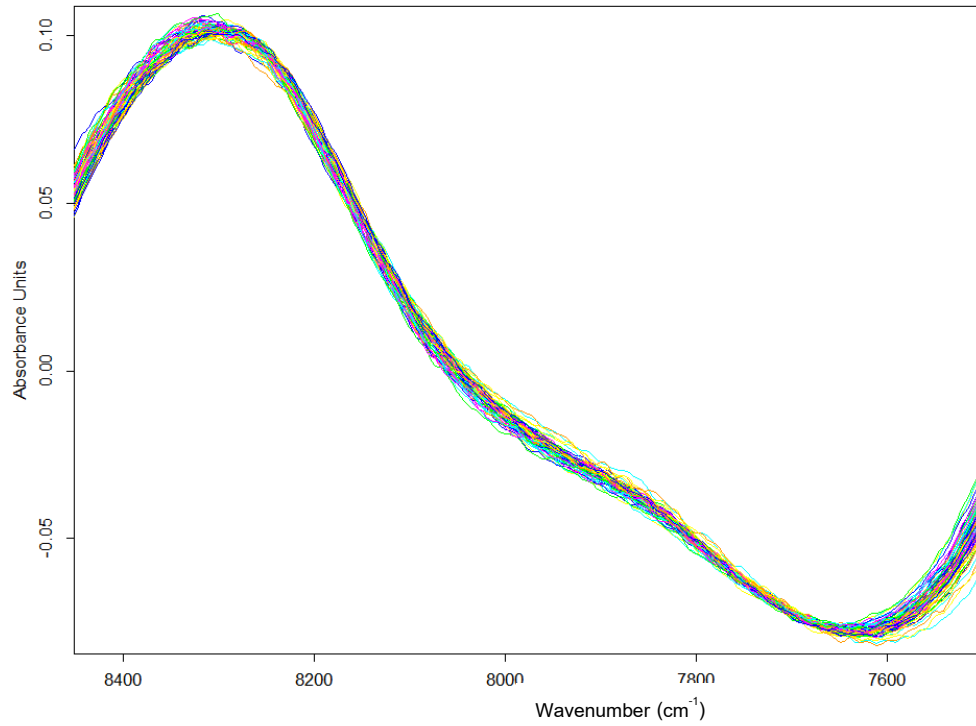


ภาพที่ 72 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV ของเมล็ดข้าวกล้างออก

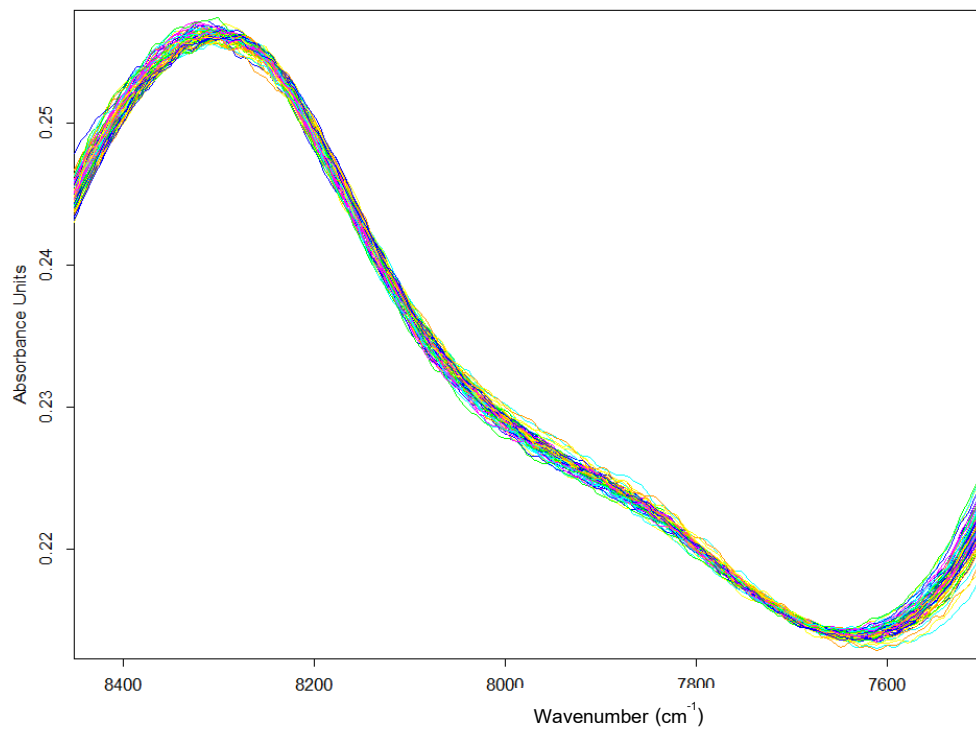


ภาพที่ 73 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC ของเมล็ดข้าวกล้างออก

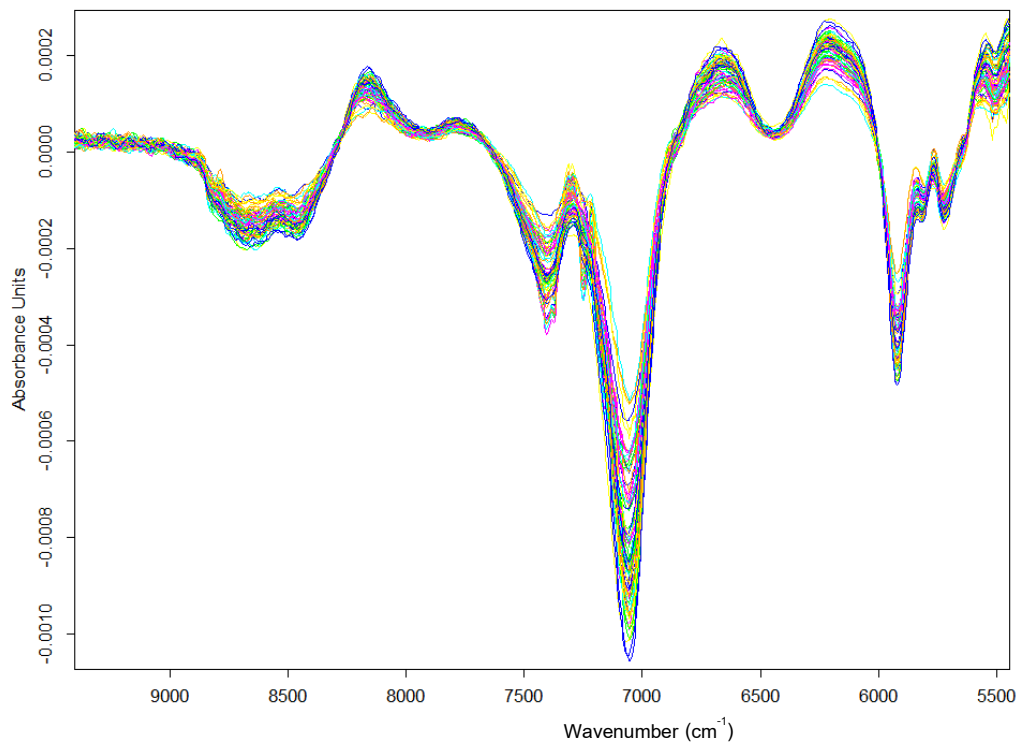
สเปกตรัมแอนโธไซยานินส์หลังการปรับแต่งของเมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ



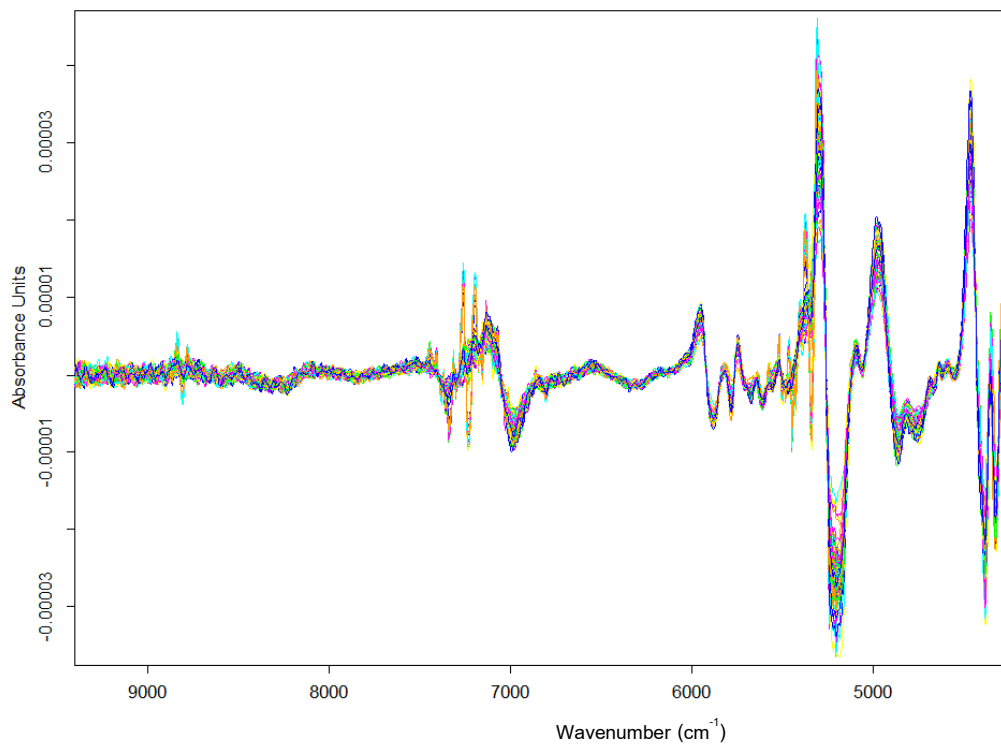
ภาพที่ 74 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ข้าวที่ผ่านการอบ



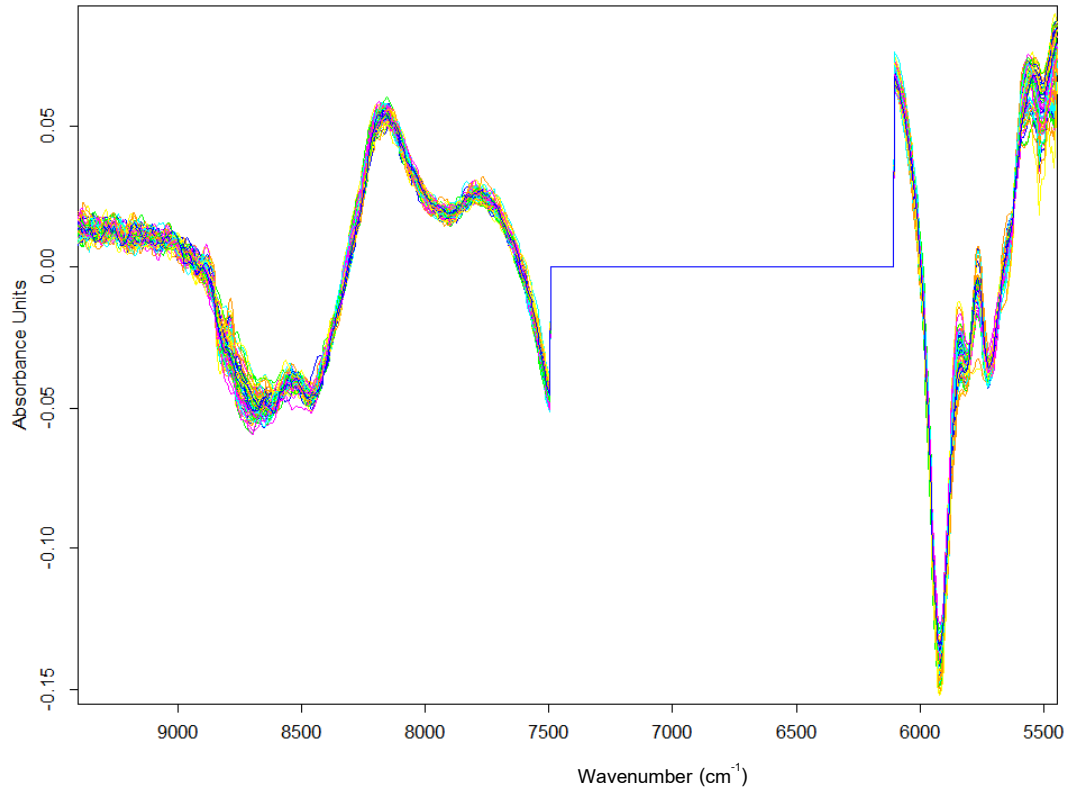
ภาพที่ 75 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ข้าวที่ผ่านการอบ



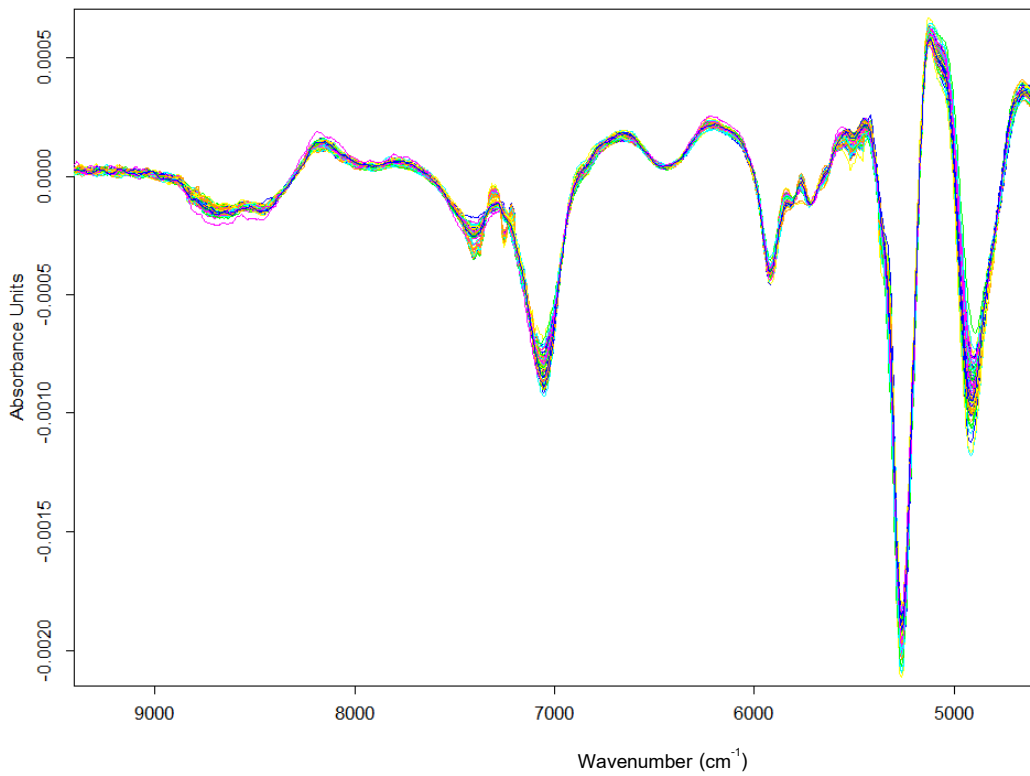
ภาพที่ 76 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ข้าวที่ผ่านการอบ



ภาพที่ 77 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ข้าวที่ผ่านการอบ

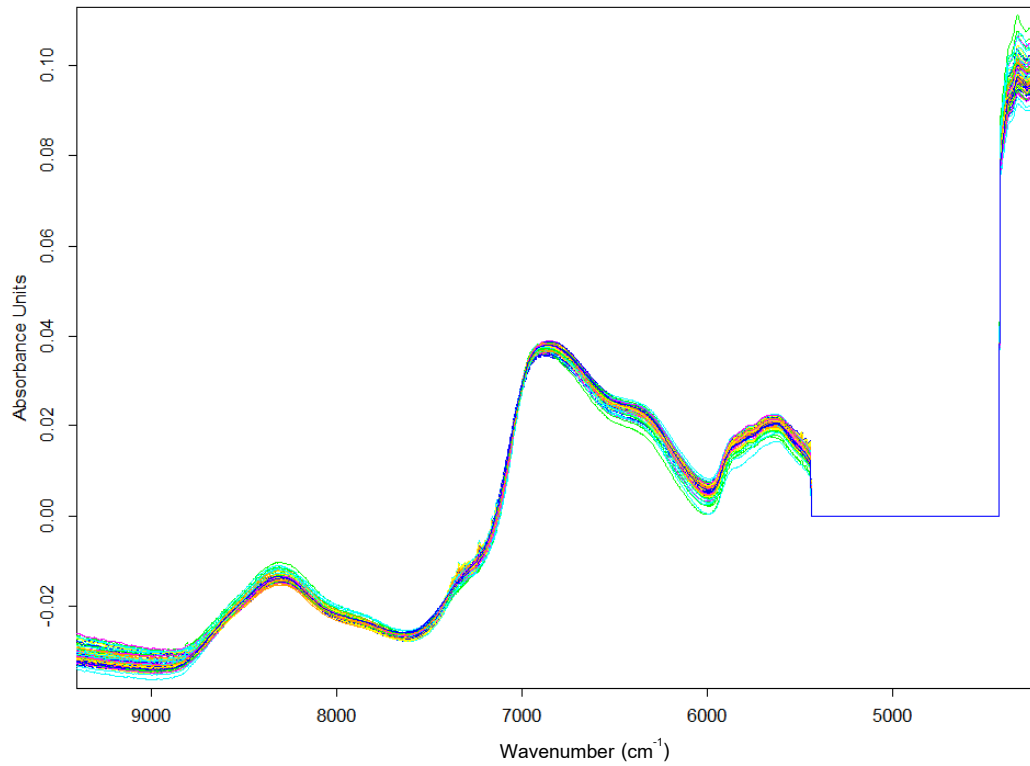


ภาพที่ 78 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV ข้าวที่ผ่านการอบ

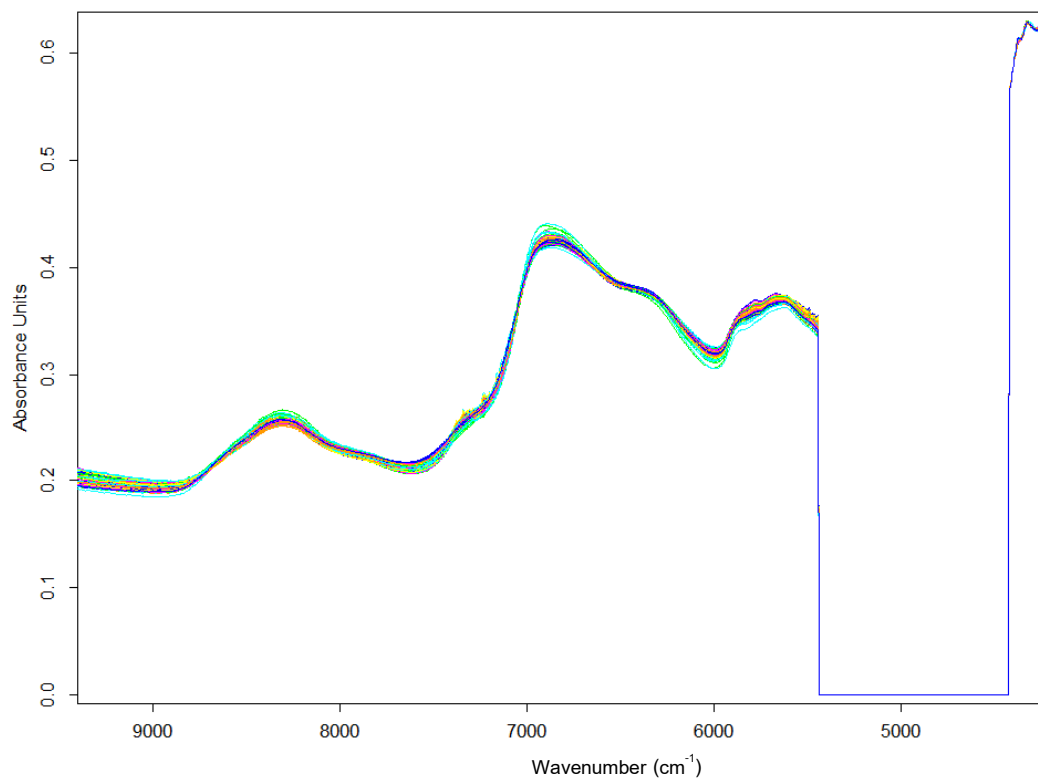


ภาพที่ 79 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC ข้าวที่ผ่านการอบ

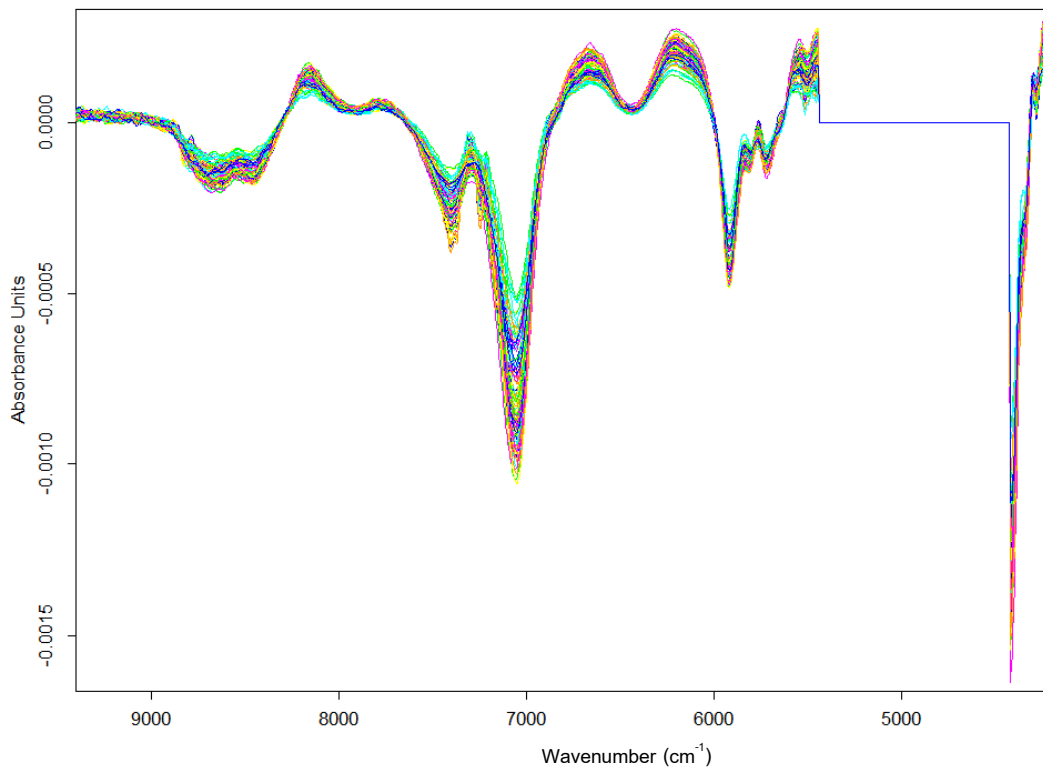
สเปกตรัมฟิโนลิตหลังการปรับแต่งของเมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการบด



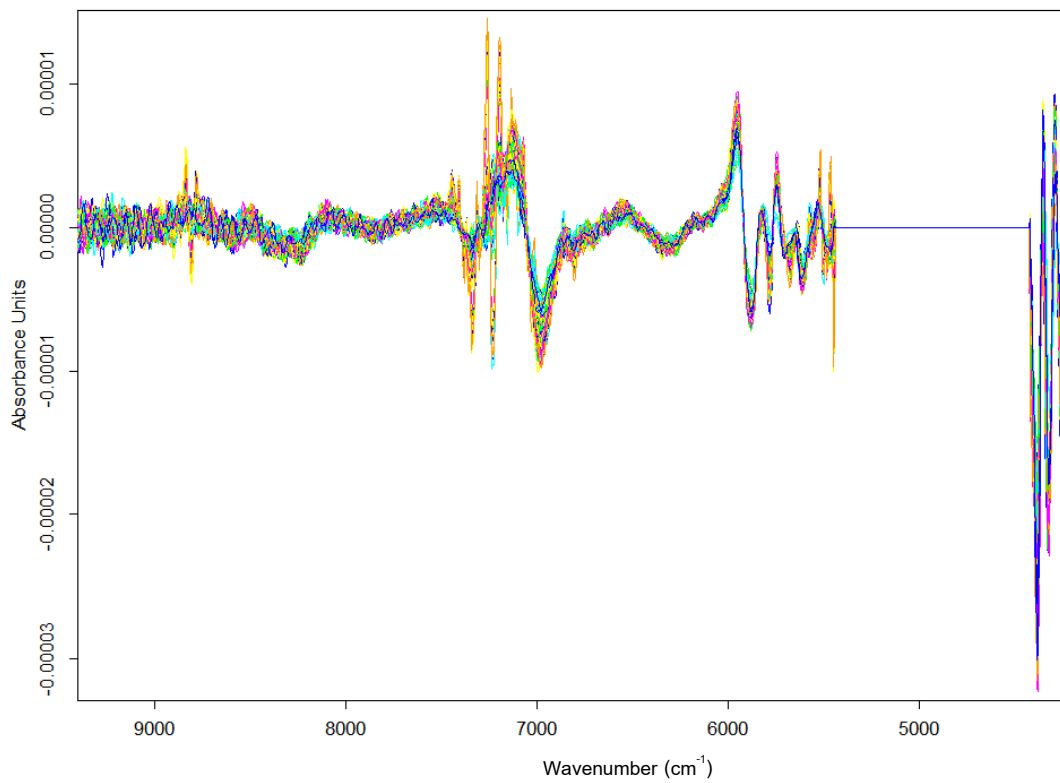
ภาพที่ 80 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ข้าวที่ผ่านการบด



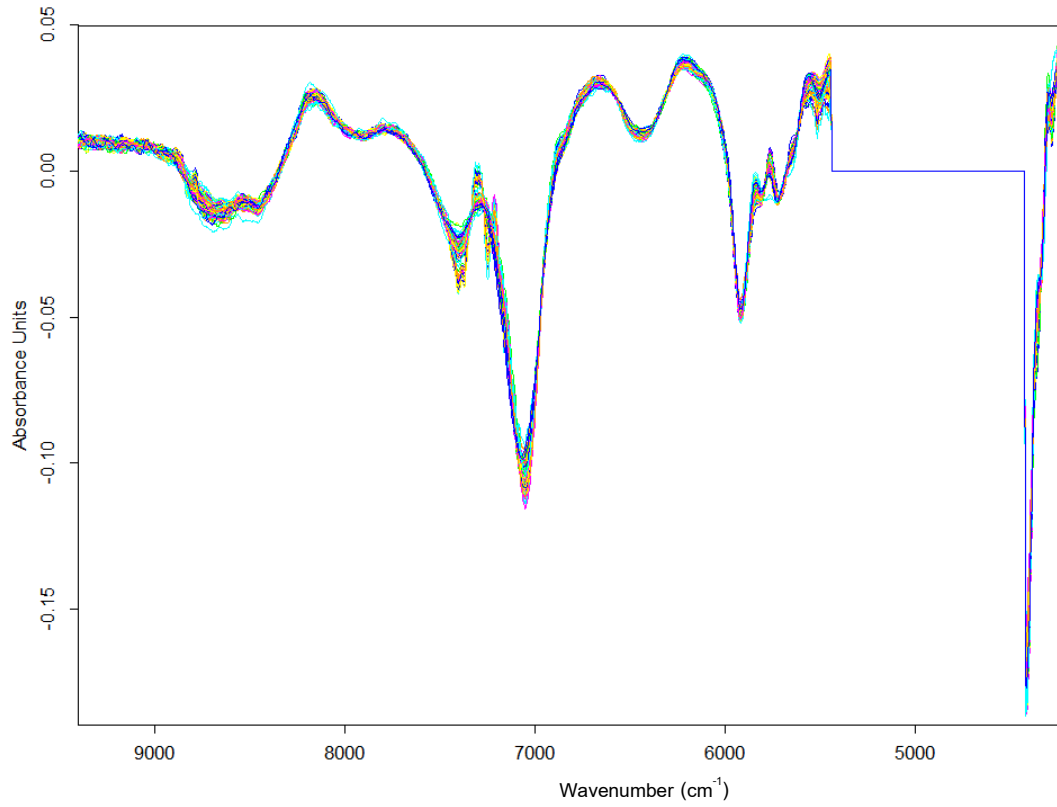
ภาพที่ 81 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ข้าวที่ผ่านการบด



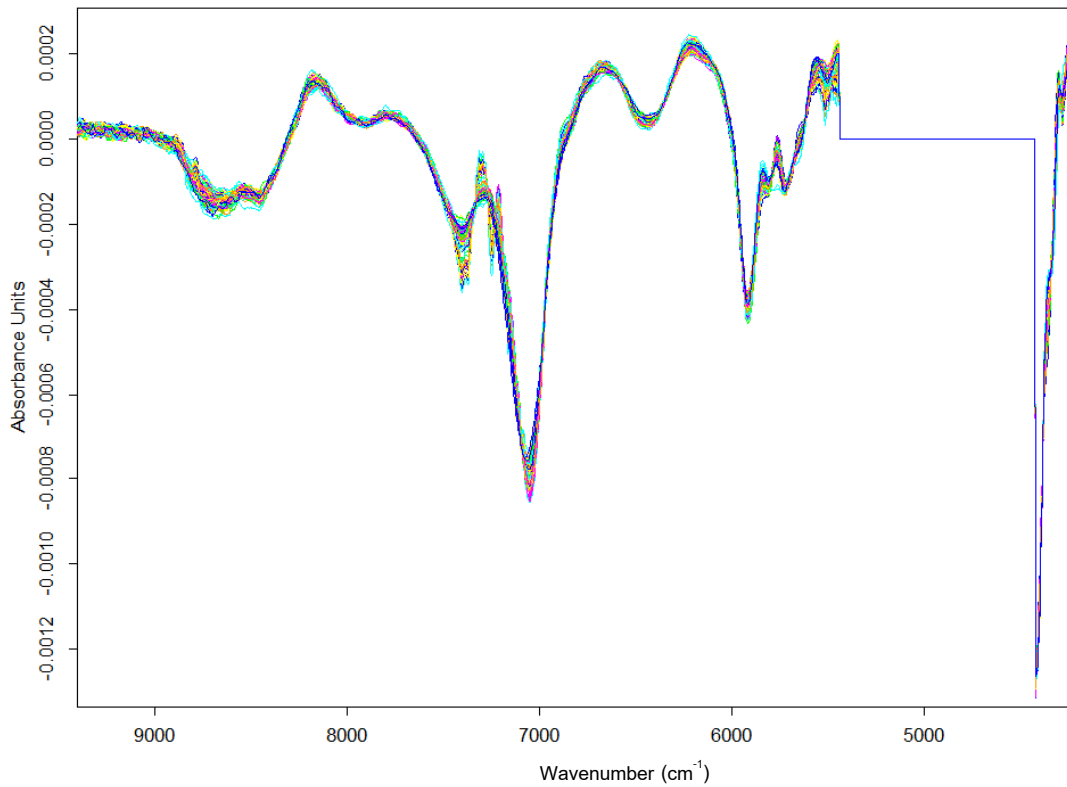
ภาพที่ 82 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ซ้ำวที่ผ่านการบิด



ภาพที่ 83 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ซ้ำวที่ผ่านการบิด

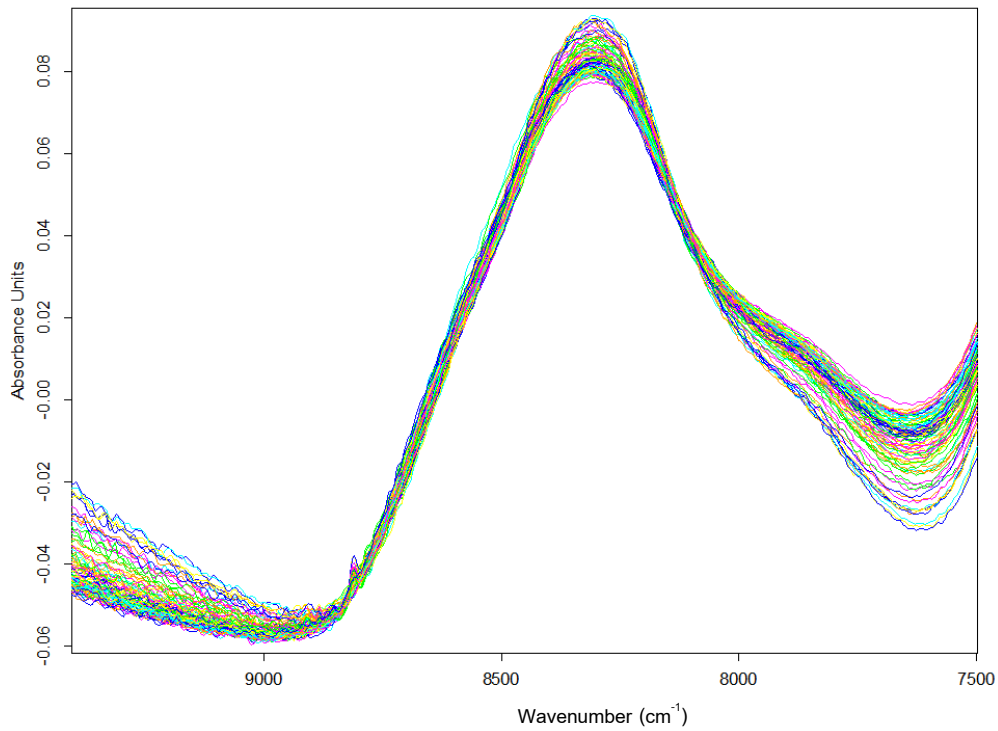


ภาพที่ 84 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV ข้าวที่ผ่านการอบ

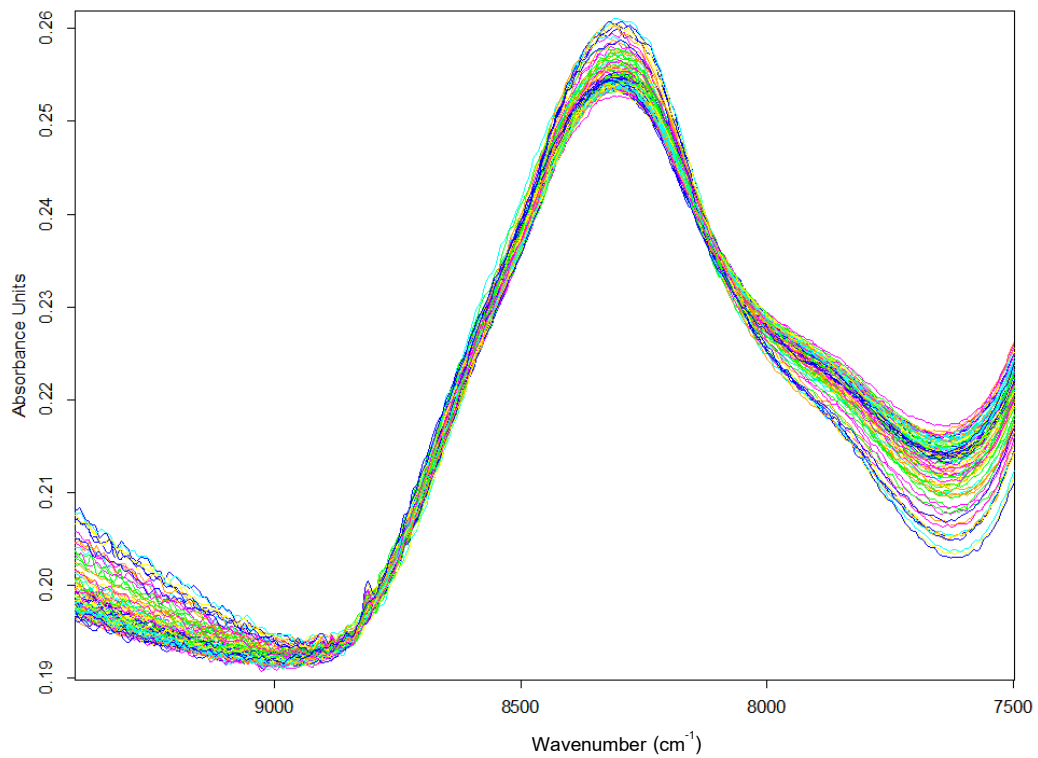


ภาพที่ 85 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC ข้าวที่ผ่านการอบ

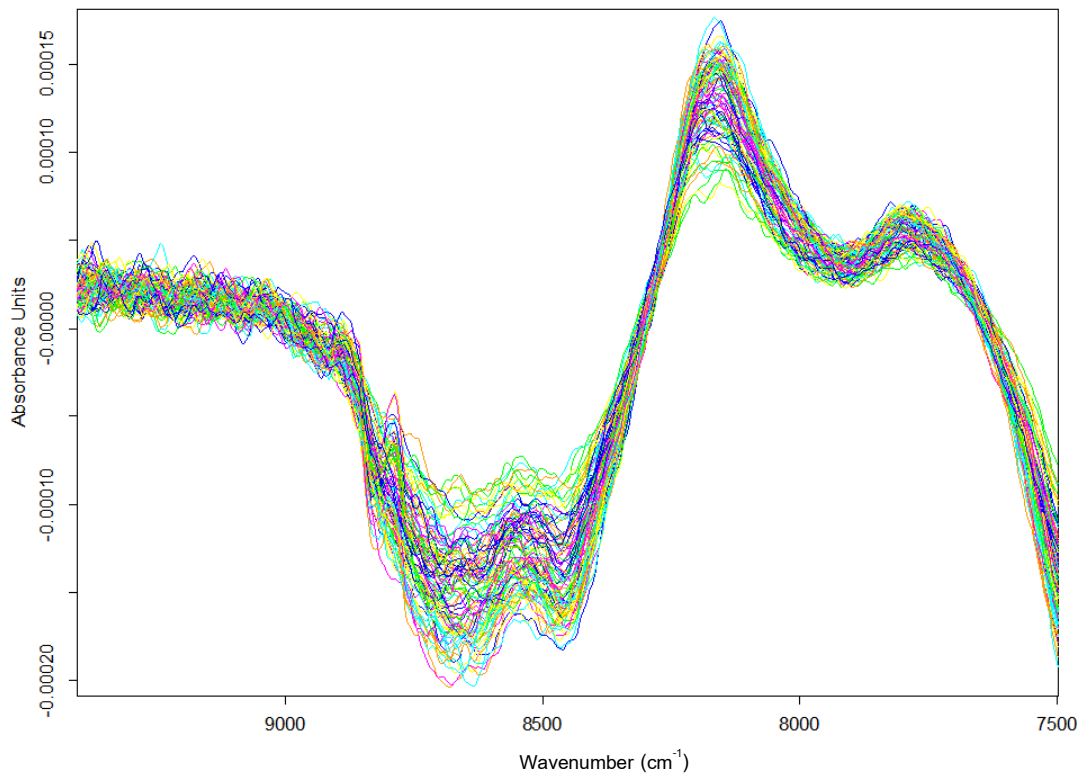
สเปกตรัมดิออกซิแดนซ์ด้วย DPPH assay หลังการปรับแต่งของเมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ



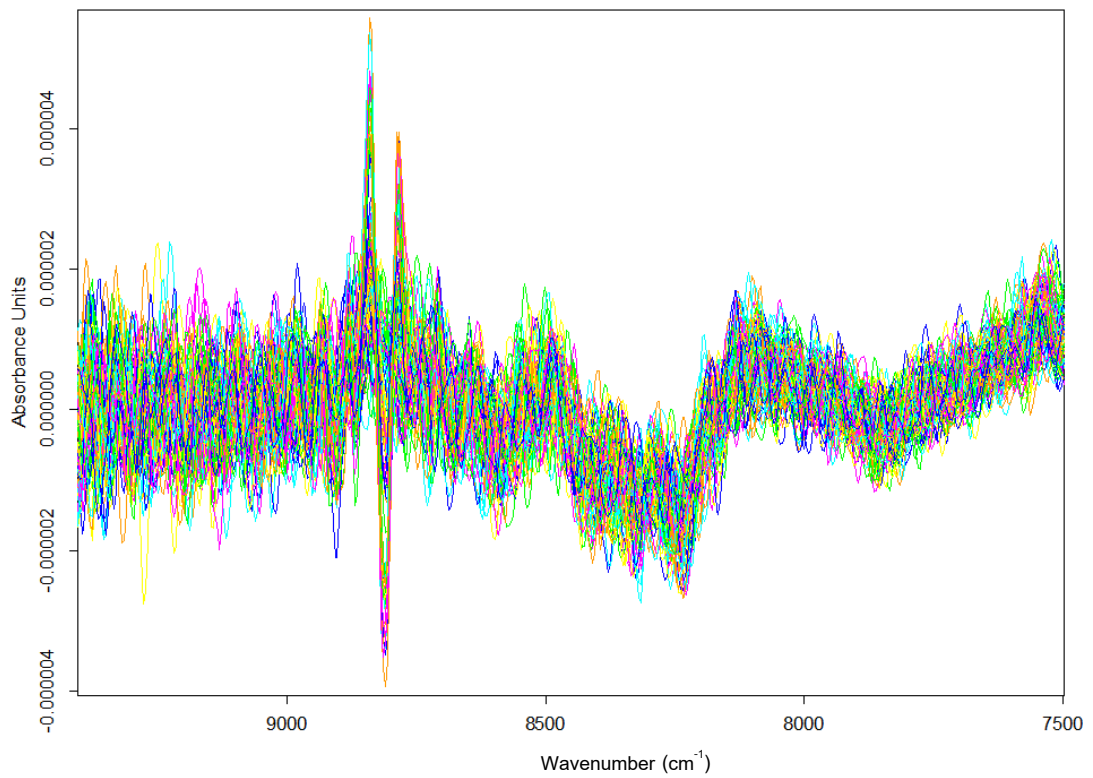
ภาพที่ 86 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ข้าวที่ผ่านการอบ



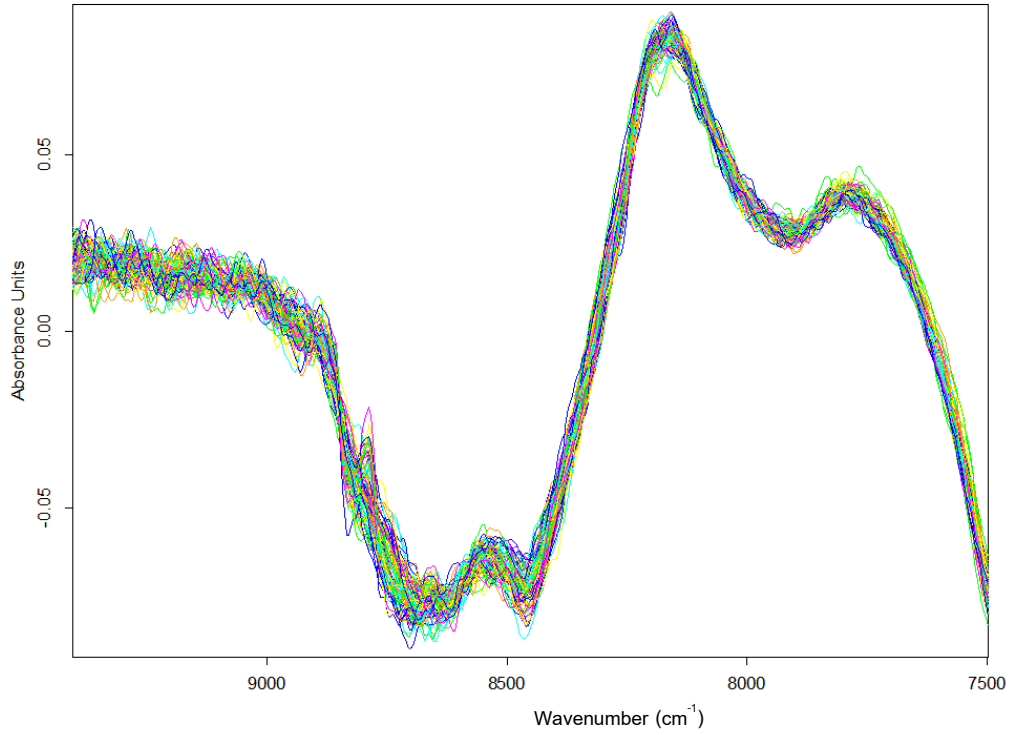
ภาพที่ 87 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ข้าวที่ผ่านการอบ



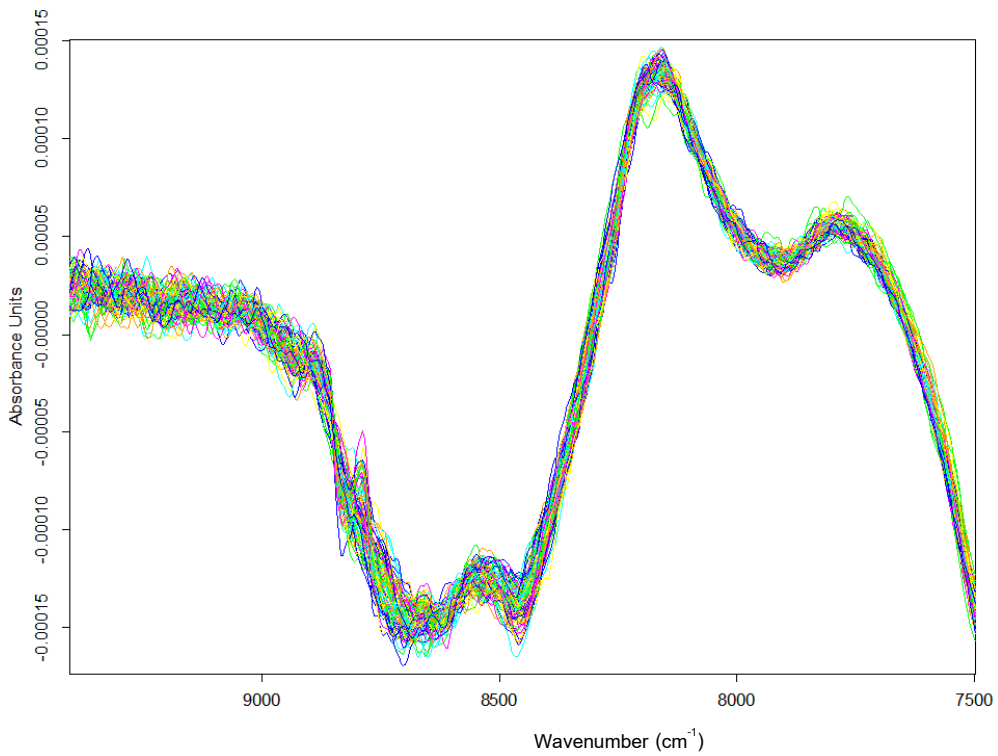
ภาพที่ 88 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ข้าวที่ผ่านการบด



ภาพที่ 89 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ข้าวที่ผ่านการบด

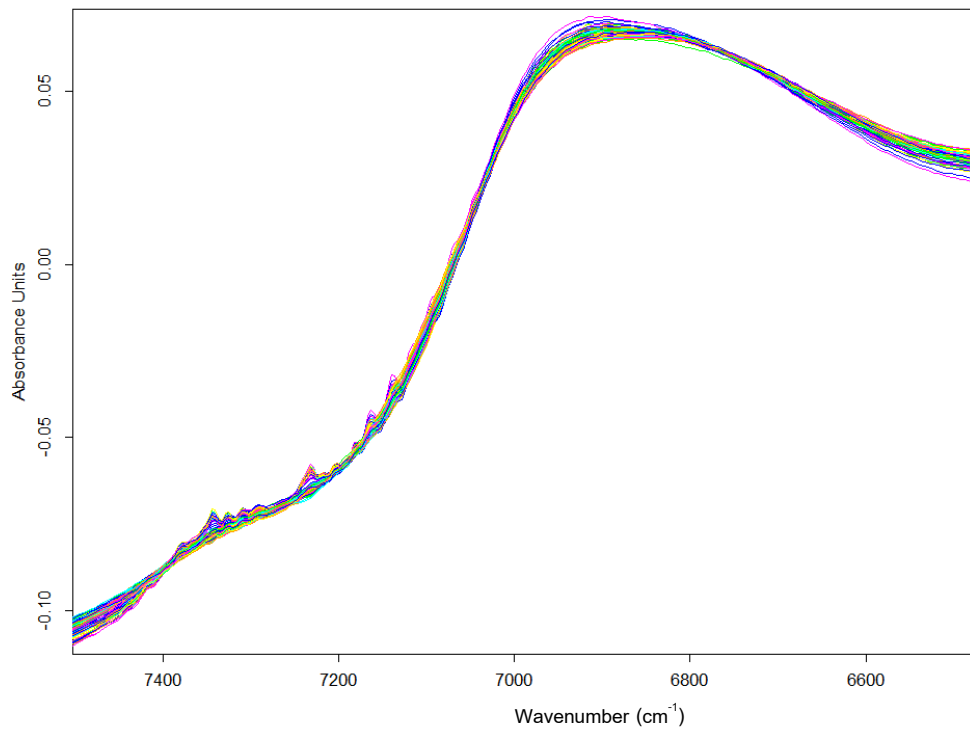


ภาพที่ 90 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV ข้าวที่ผ่านการลบ

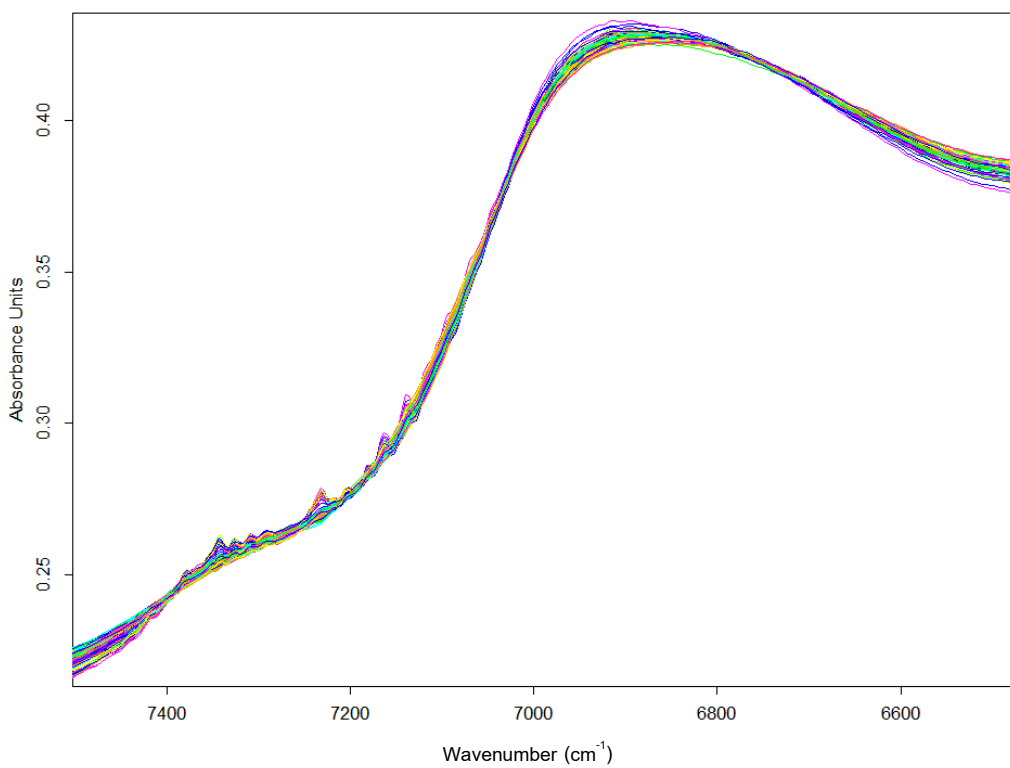


ภาพที่ 91 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC ข้าวที่ผ่านการลบ

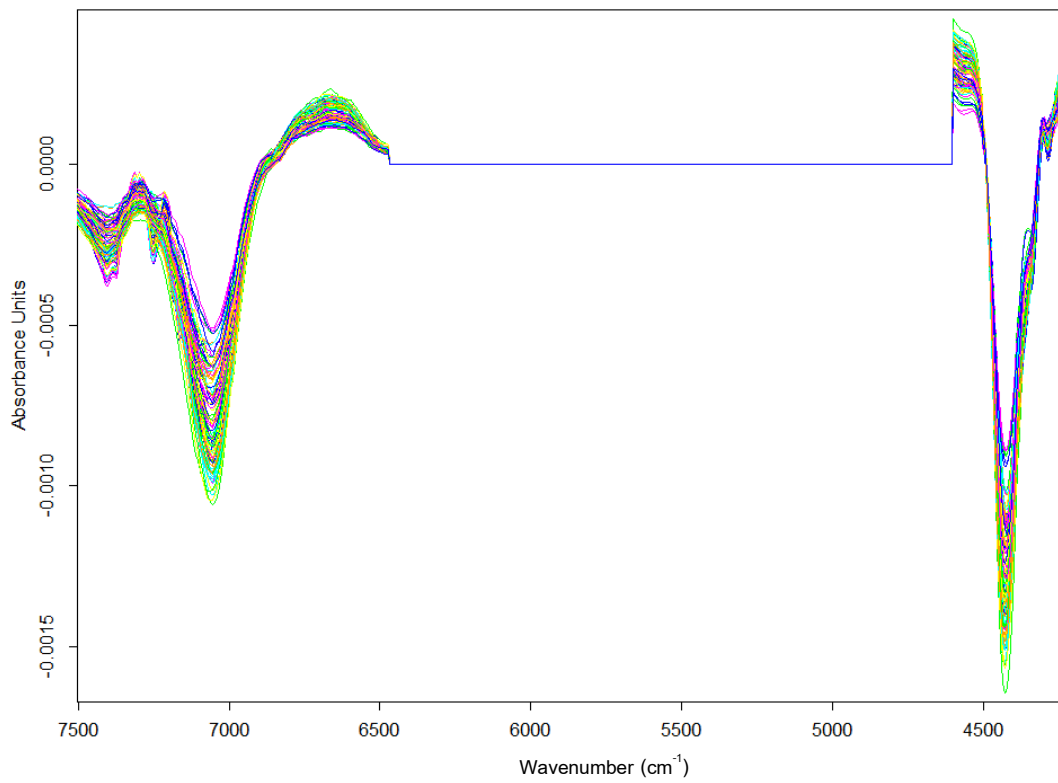
สเปกตรัมไดออกซีแดนซ์ด้วย ABTS assay หลังการปรับแต่งของเมล็ดข้าวกล้องงอกที่ผ่านการอบ



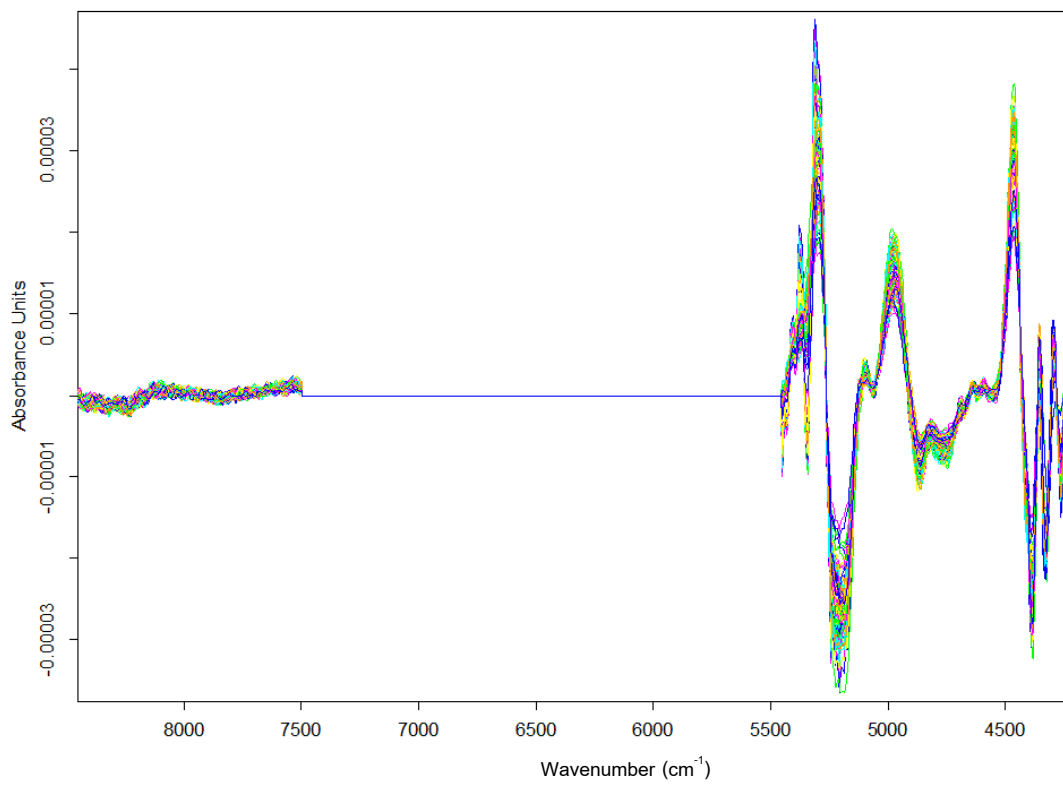
ภาพที่ 92 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ข้าวที่ผ่านการอบ



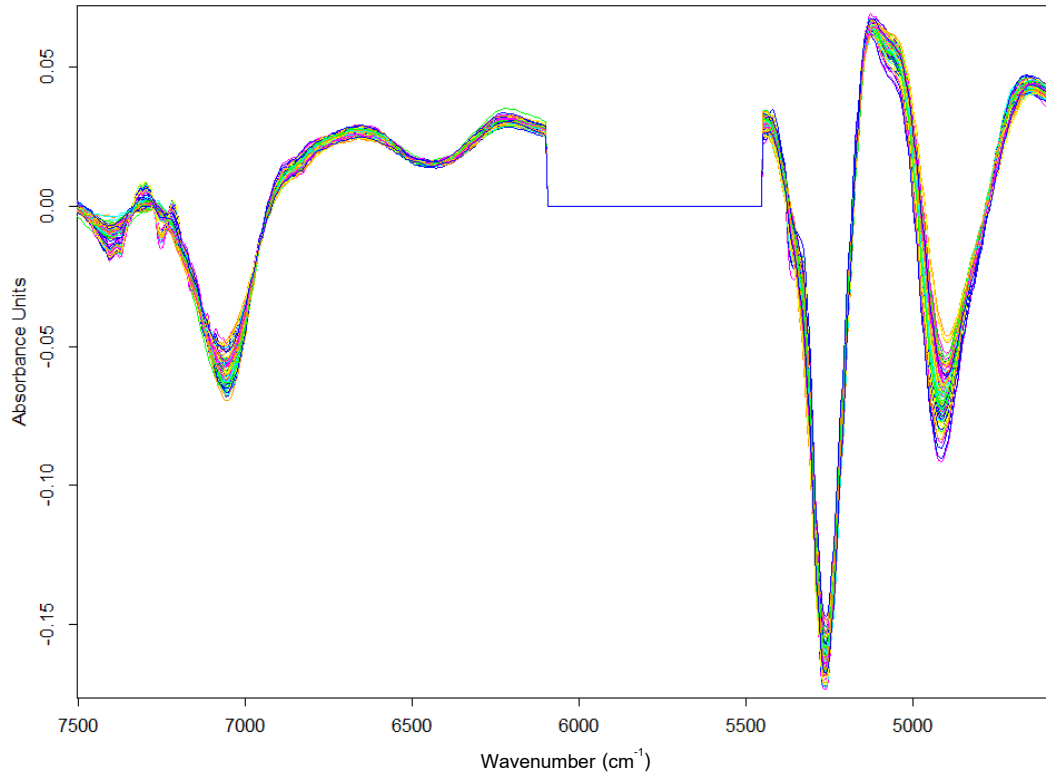
ภาพที่ 93 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ข้าวที่ผ่านการอบ



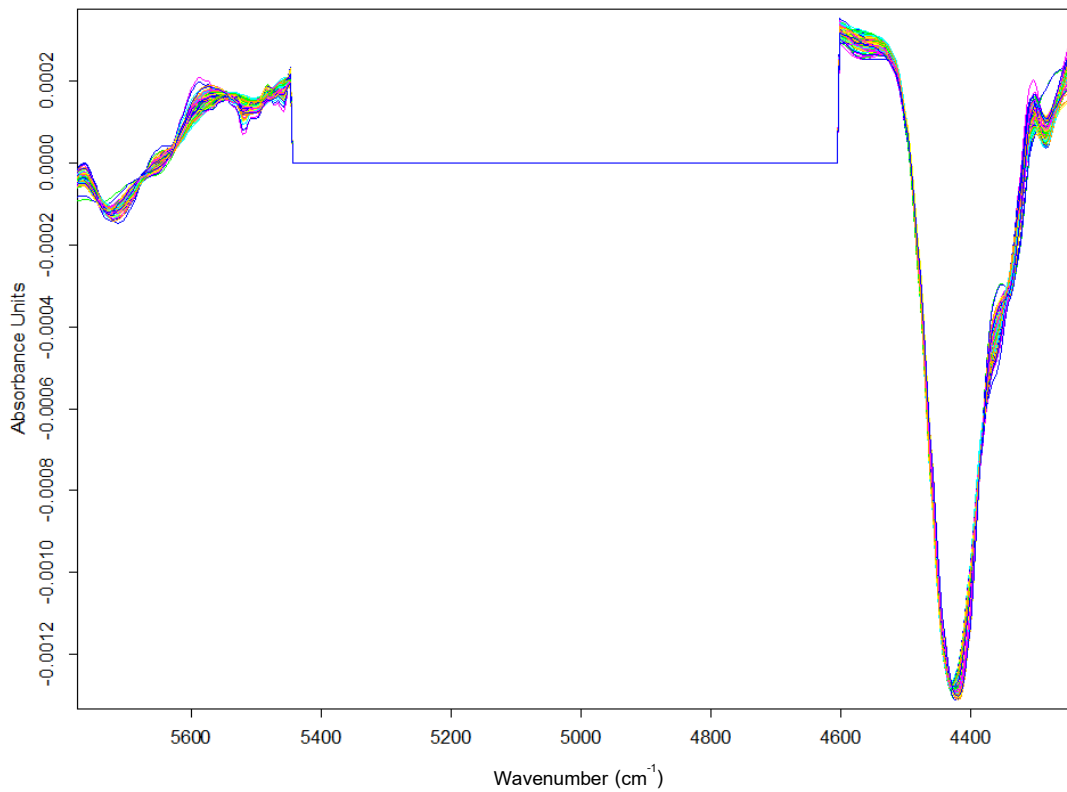
ภาพที่ 94 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ซ้ำที่ผ่านการบิด



ภาพที่ 95 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ซ้ำที่ผ่านการบิด

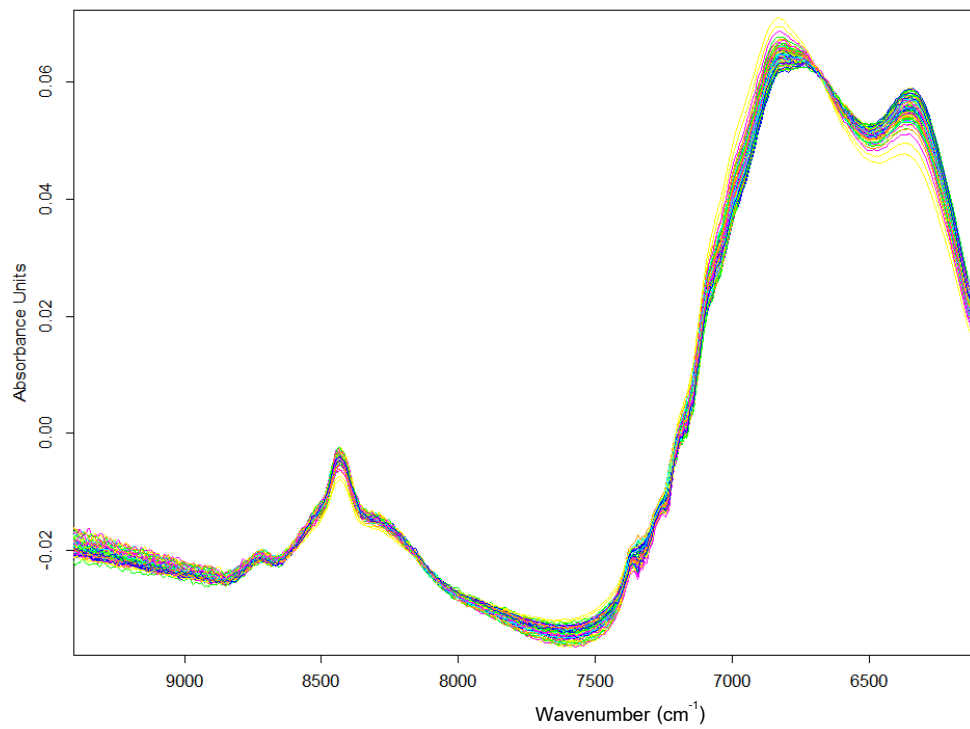


ภาพที่ 96 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV ซ้ำวที่ผ่านการอบ

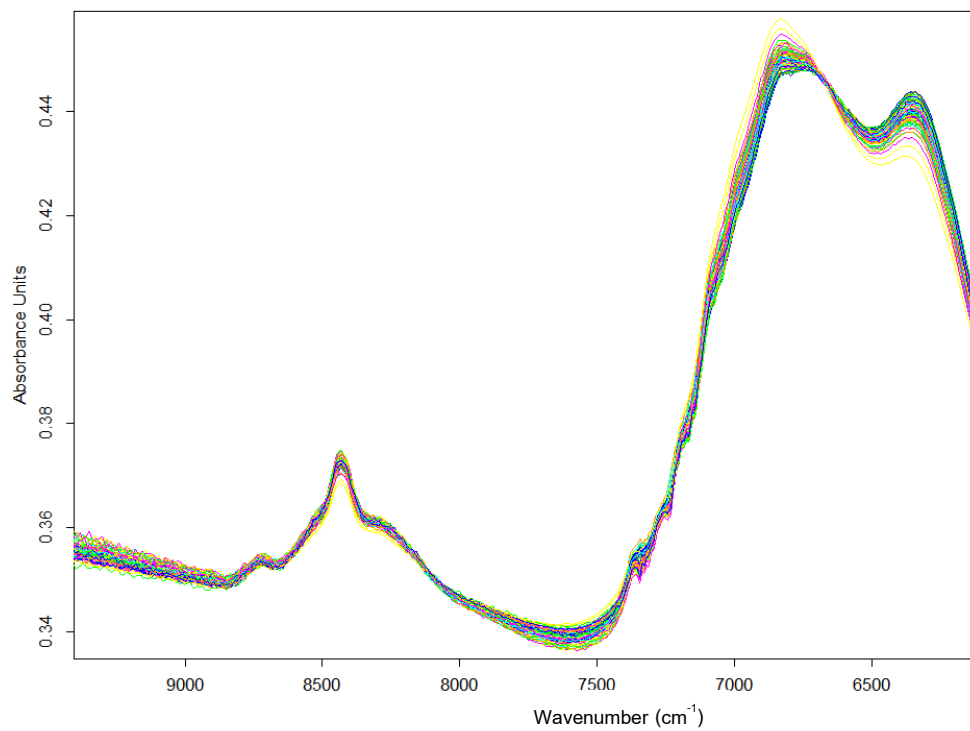


ภาพที่ 97 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC ซ้ำวที่ผ่านการอบ

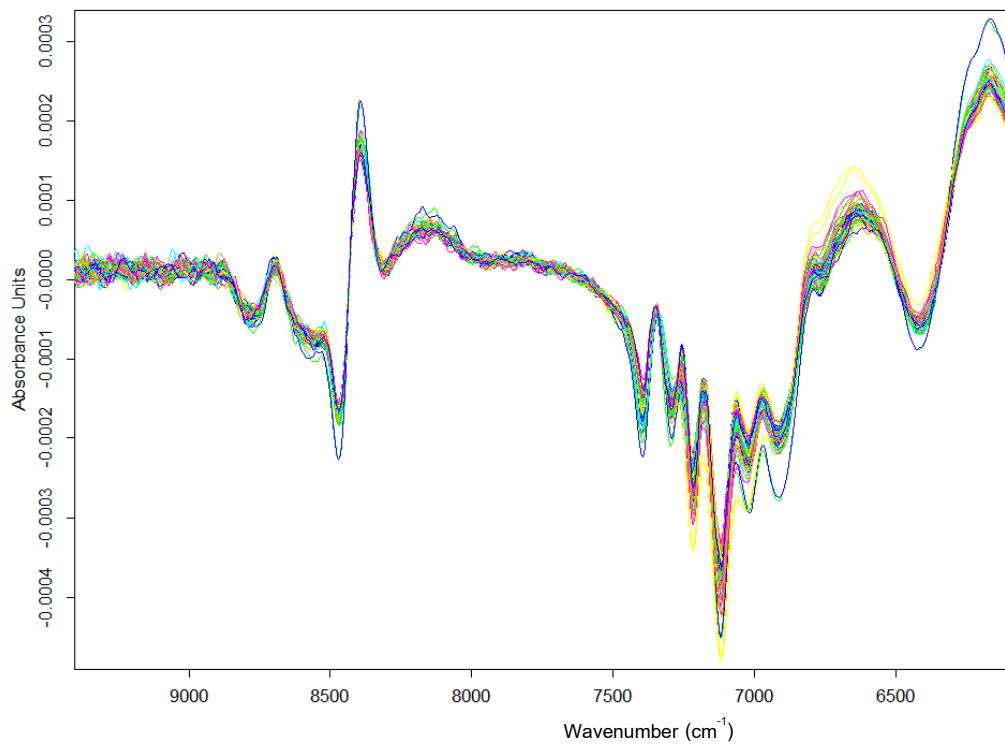
สเปกตรัมแอนโธไซยานินส์หลังการปรับแต่งของสารสกัดข้าวกล้องงอก



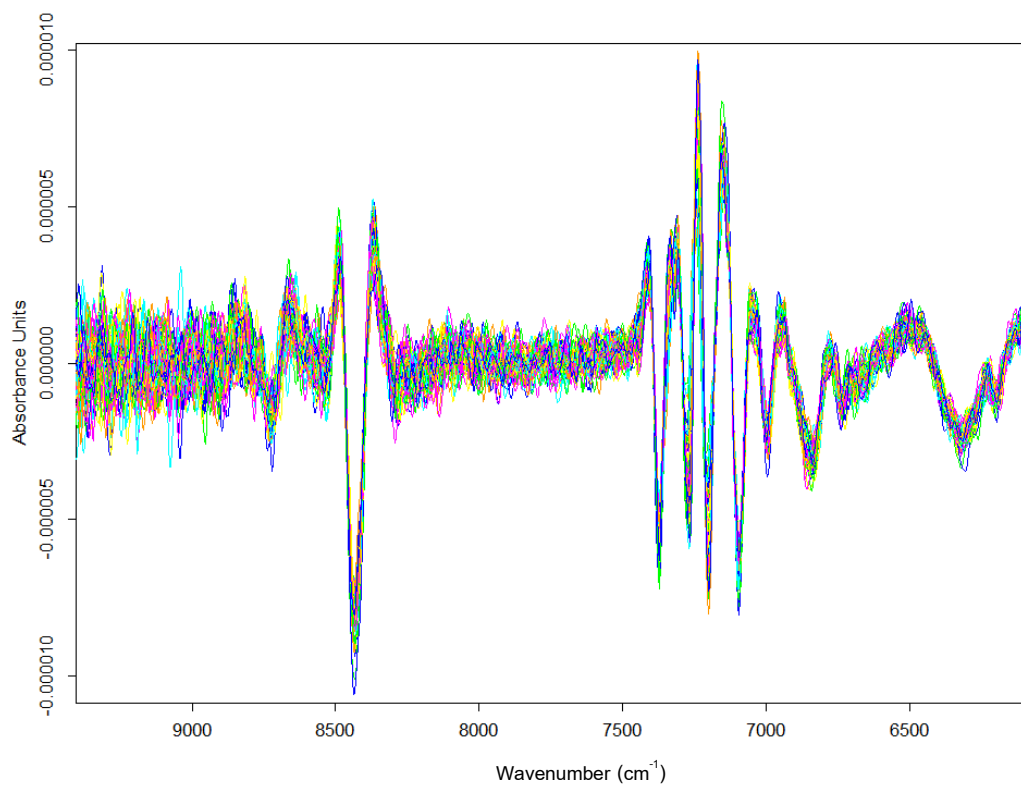
ภาพที่ 98 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV สารสกัดข้าวกล้องงอก



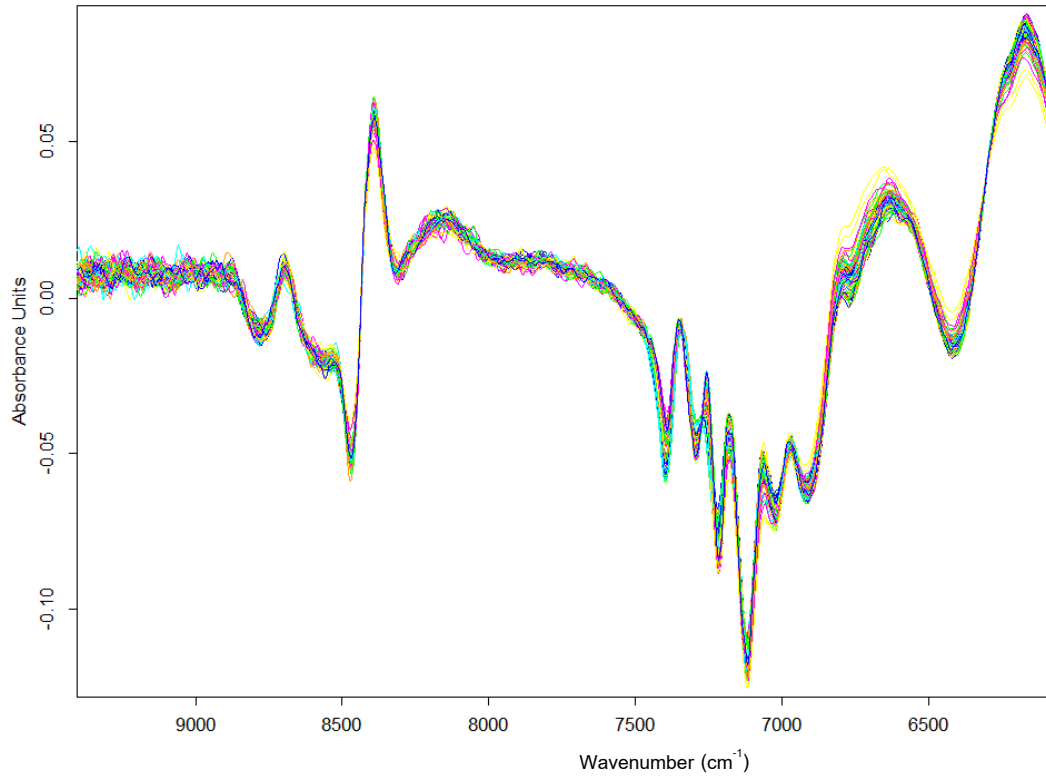
ภาพที่ 99 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC สารสกัดข้าวกล้องงอก



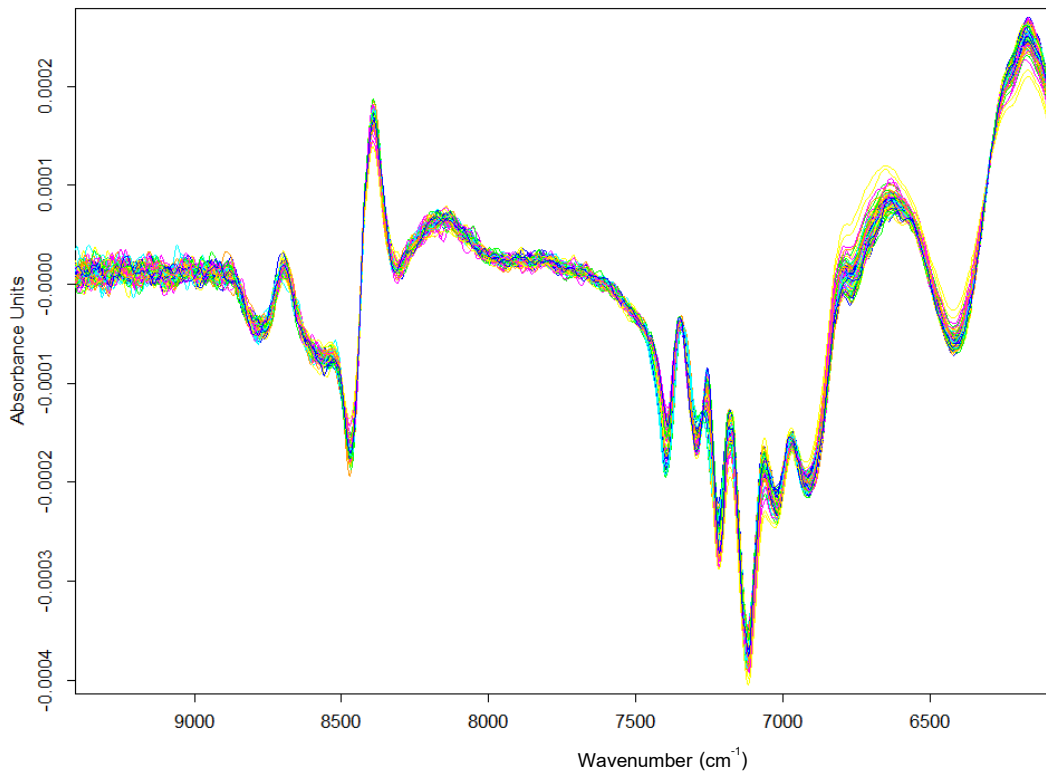
ภาพที่ 100 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D สารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 101 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D สารสกัดข้าวกล้องงอก

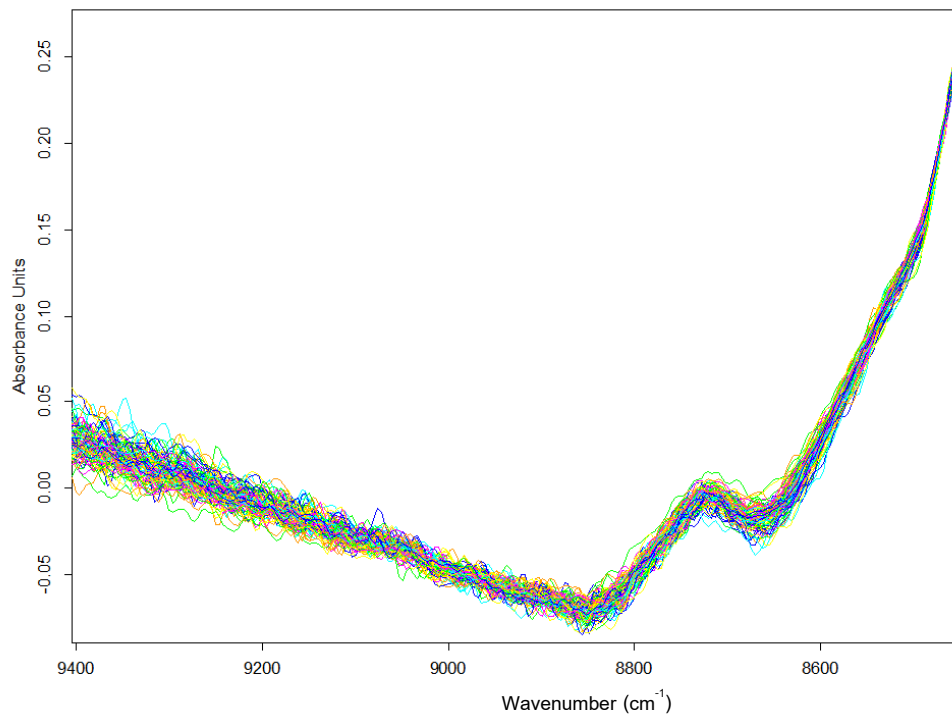


ภาพที่ 102 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV สารสกัดข้าวกล้อง

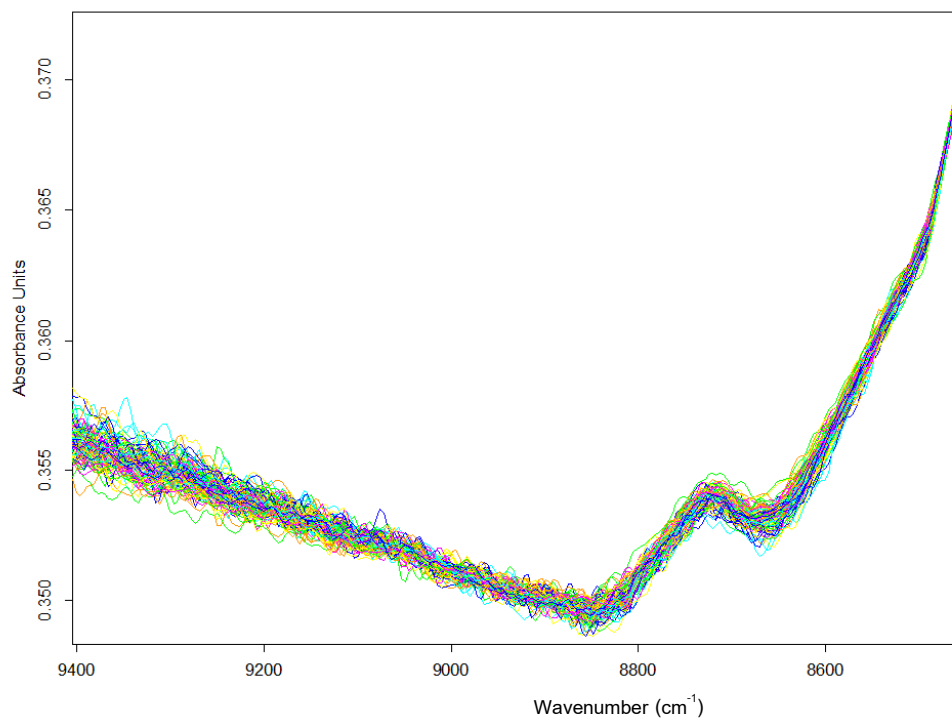


ภาพที่ 103 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC สารสกัดข้าวกล้องอก

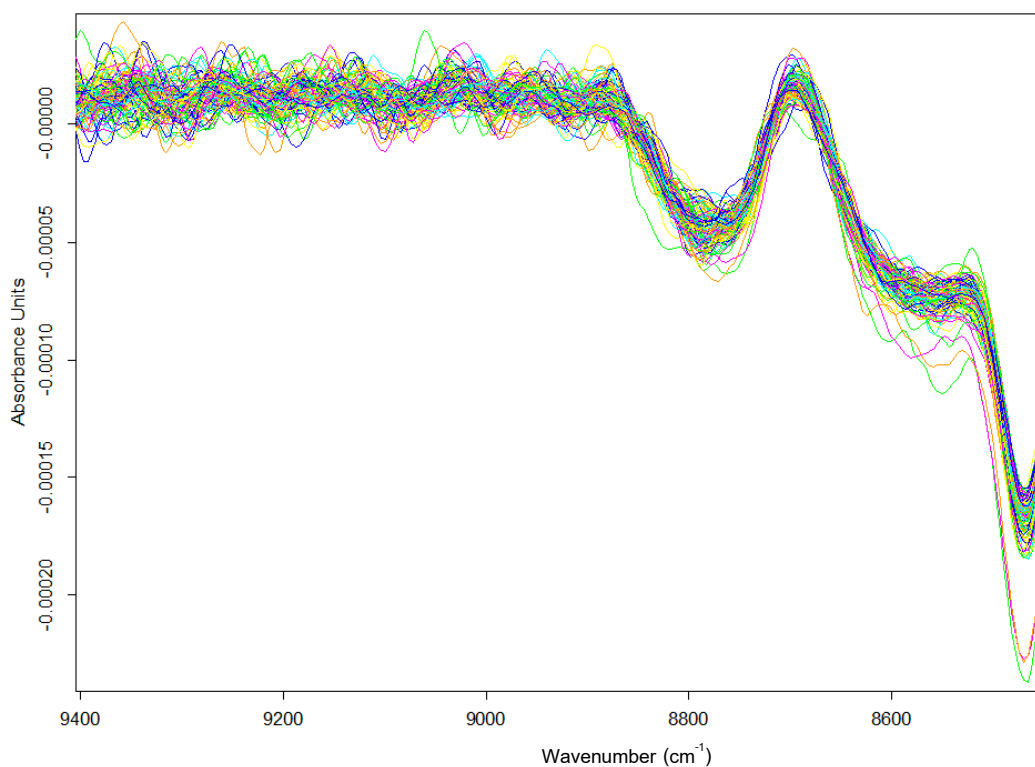
สเปกตรัมฟิโนลิกหลังการปรับแต่งของสารสกัดข้าวกล้องงอก



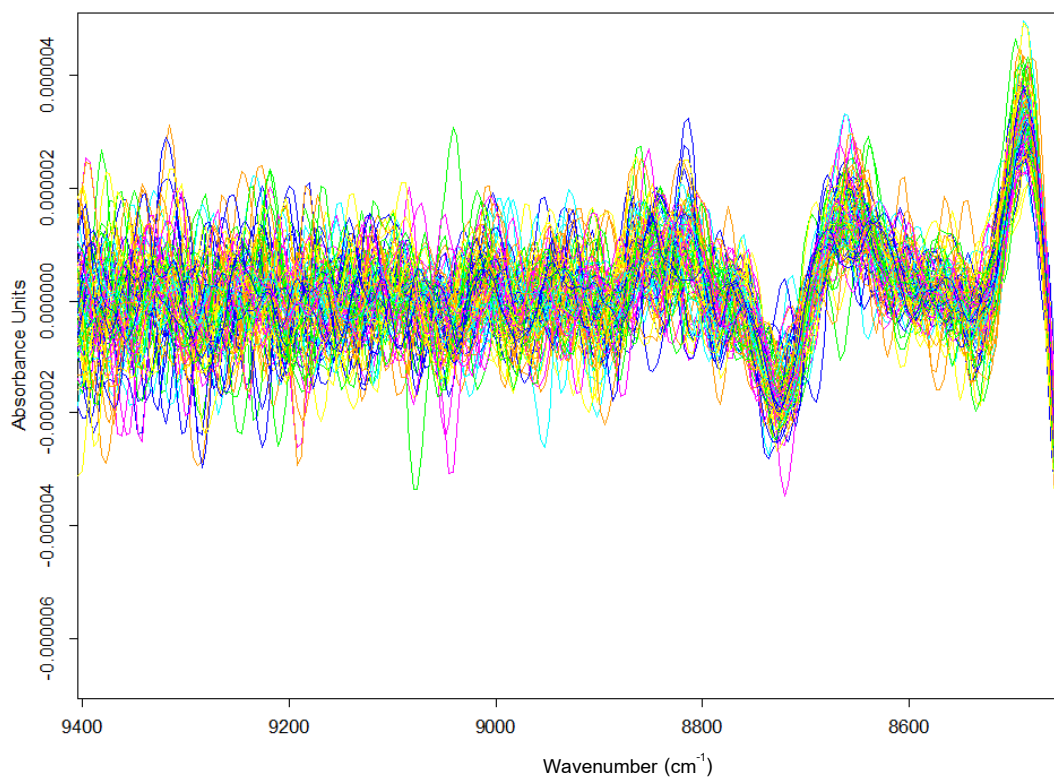
ภาพที่ 104 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV สารสกัดข้าวกล้องงอก



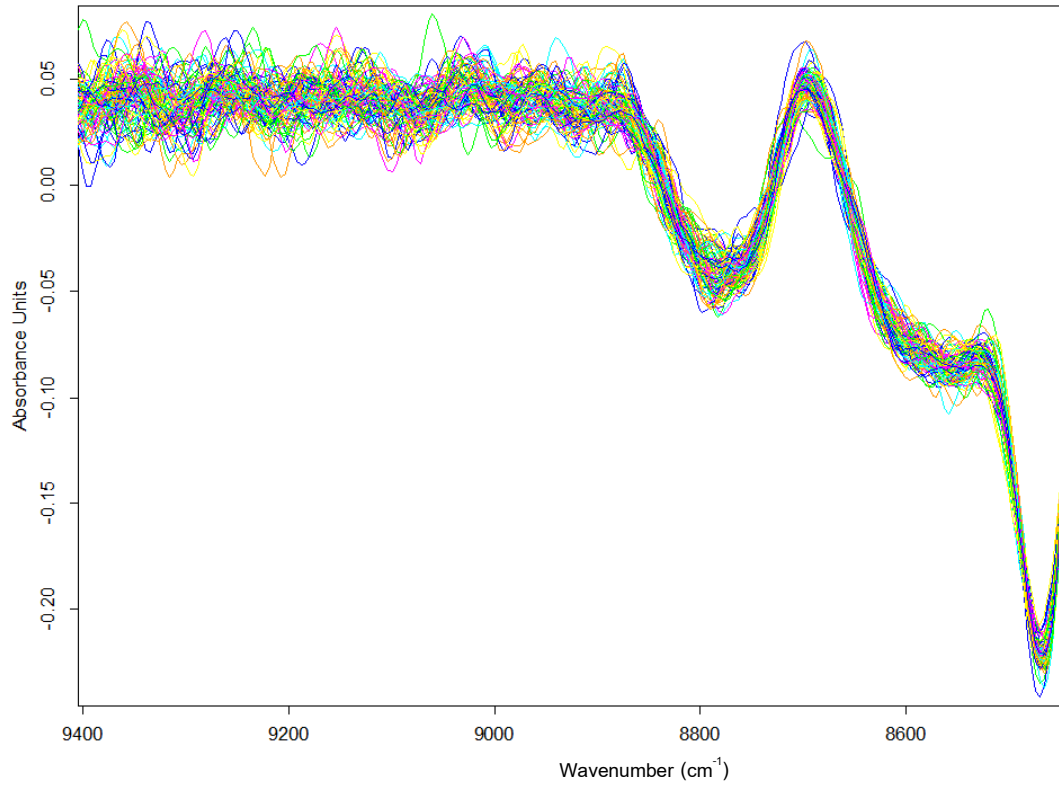
ภาพที่ 105 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC สารสกัดข้าวกล้องงอก



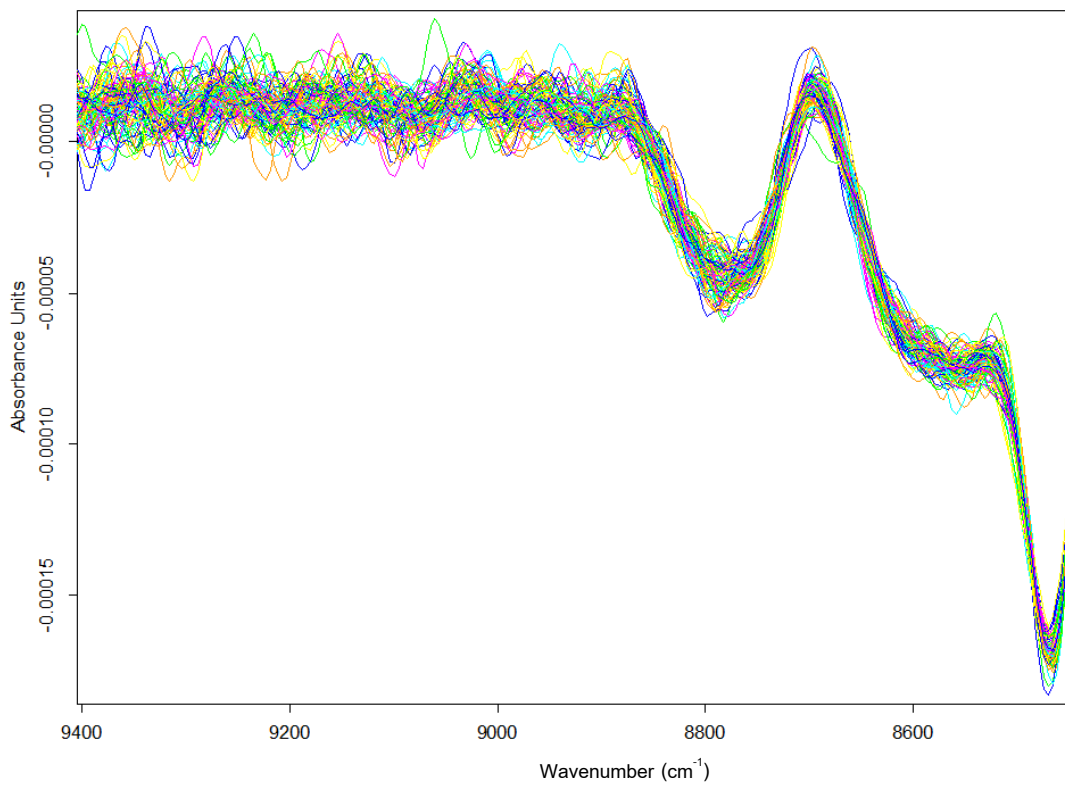
ภาพที่ 106 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D สารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 107 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D สารสกัดข้าวกล้องงอก

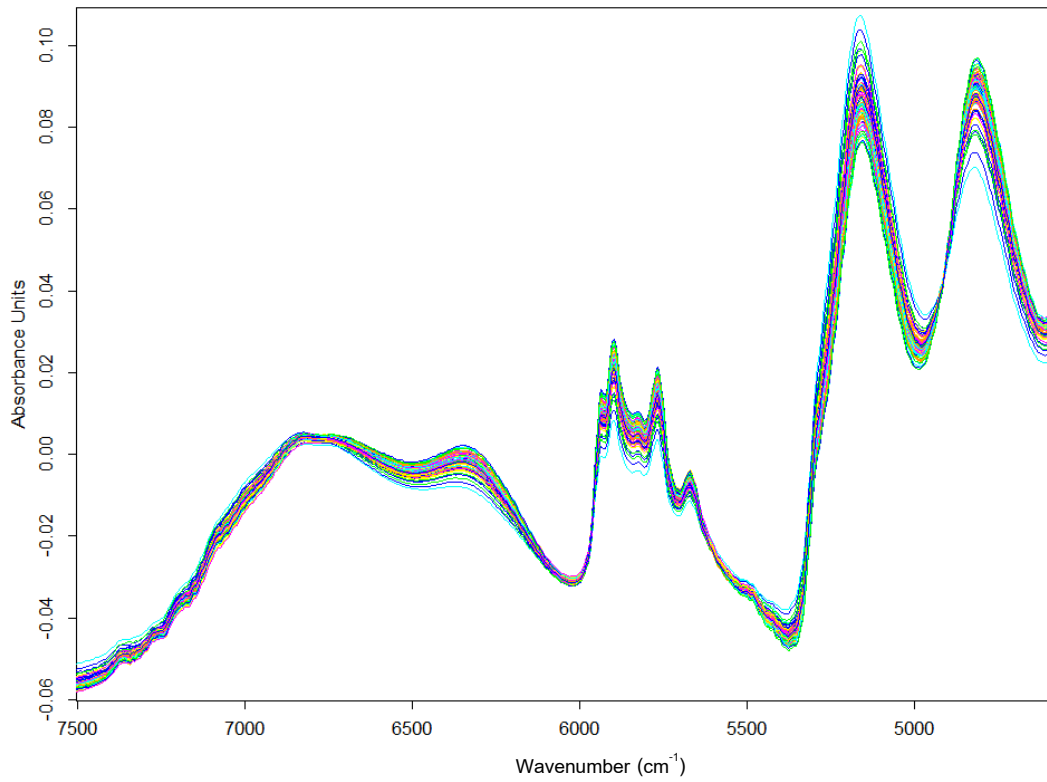


ภาพที่ 108 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV สารสกัดข้าวกล้อง

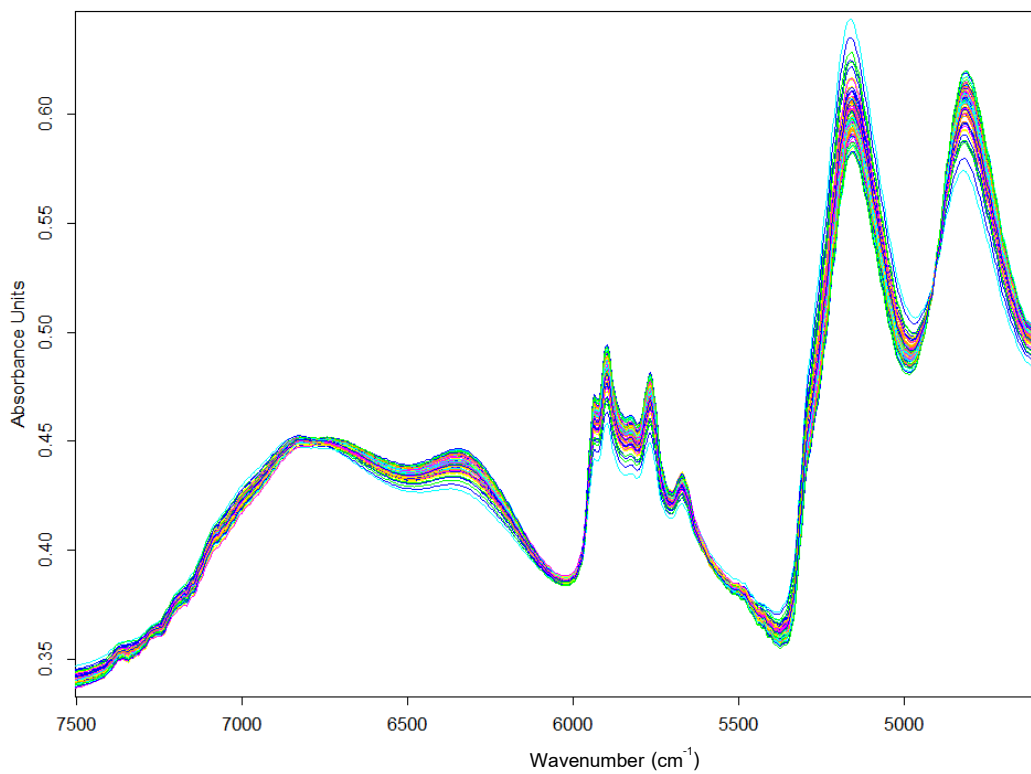


ภาพที่ 109 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC สารสกัดข้าวกล้องอก

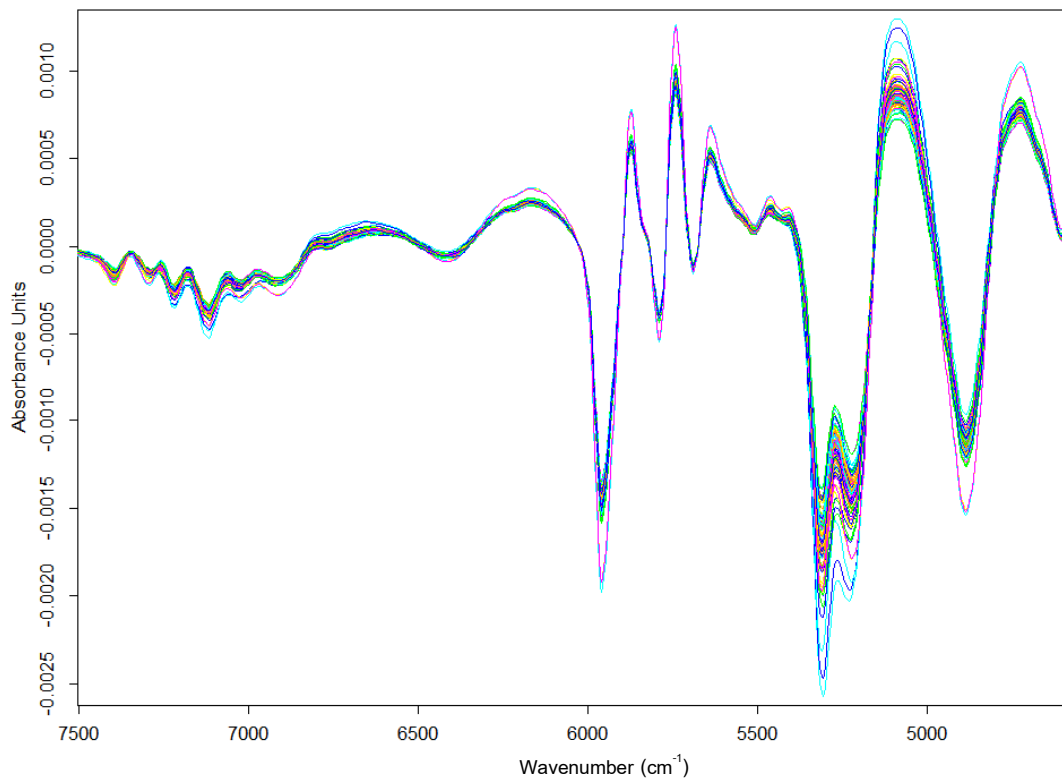
สเปกตรัมดิออกซิแดนซ์ด้วย DPPH assay หลังการปรับแต่งของสารสกัดข้าวกล้องงอก



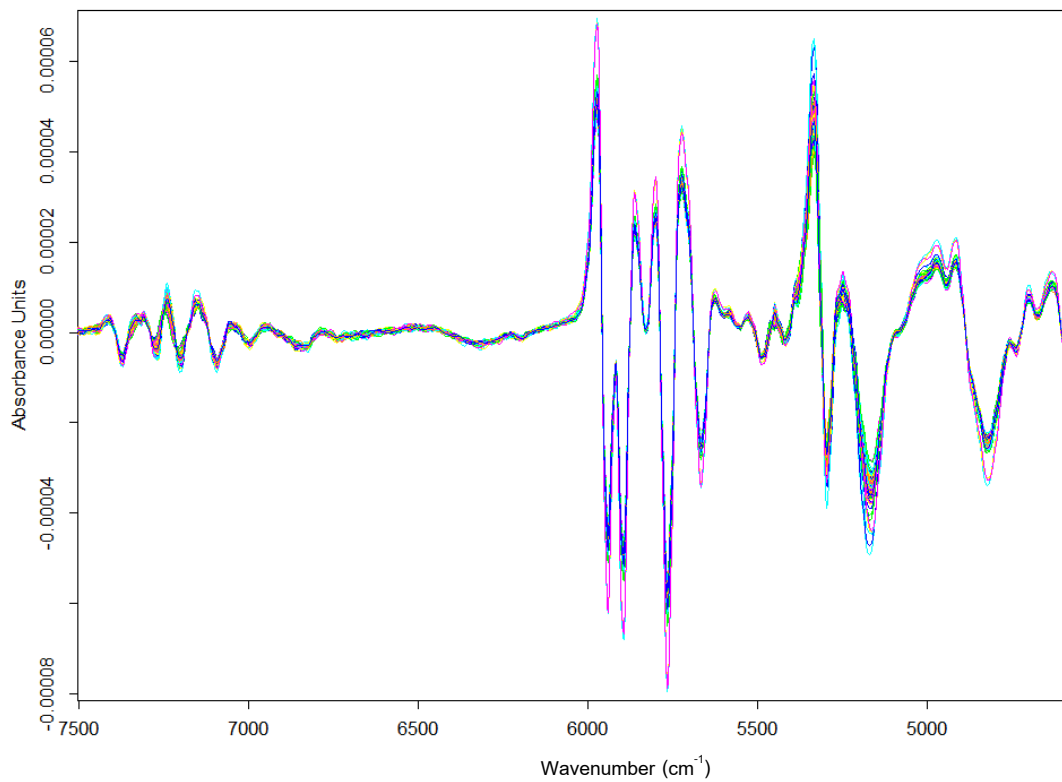
ภาพที่ 110 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV สารสกัดข้าวกล้องงอก



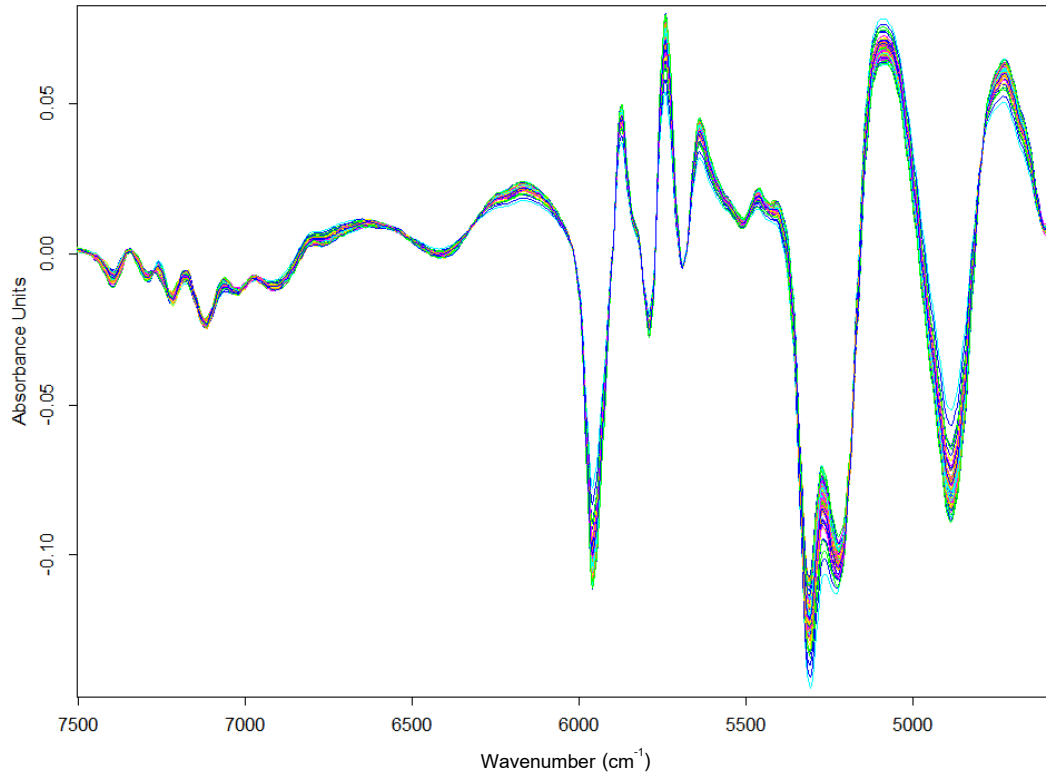
ภาพที่ 111 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC สารสกัดข้าวกล้องงอก



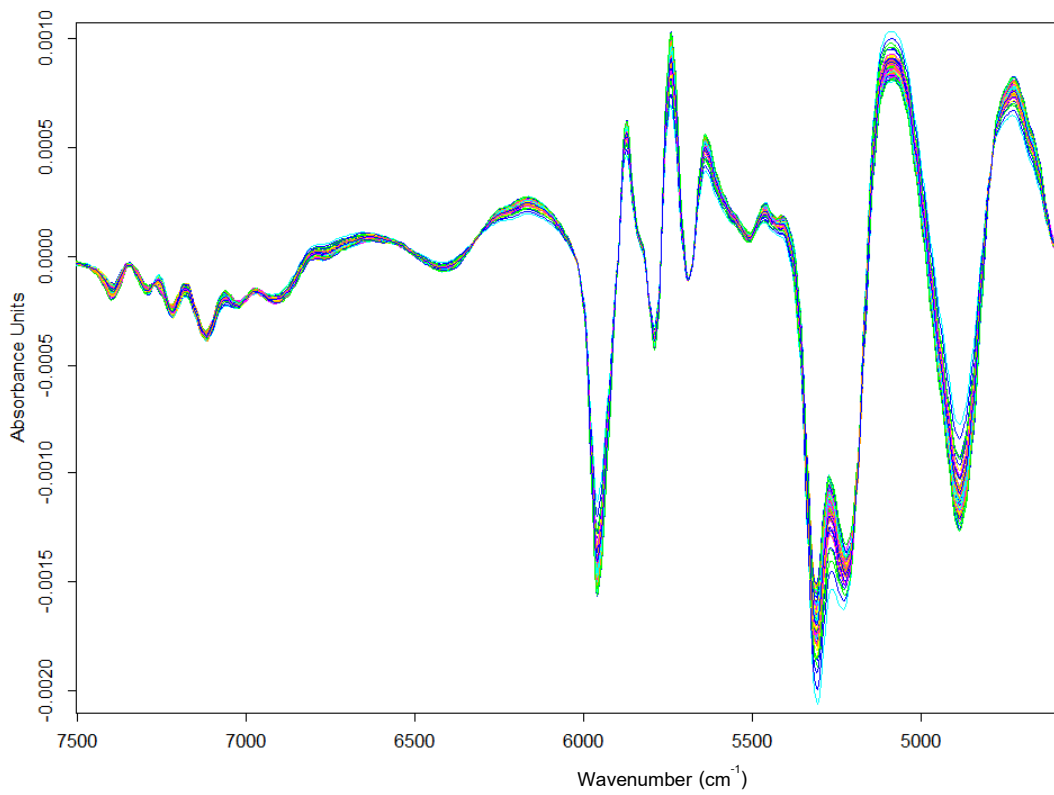
ภาพที่ 112 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D สารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 113 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D สารสกัดข้าวกล้องงอก

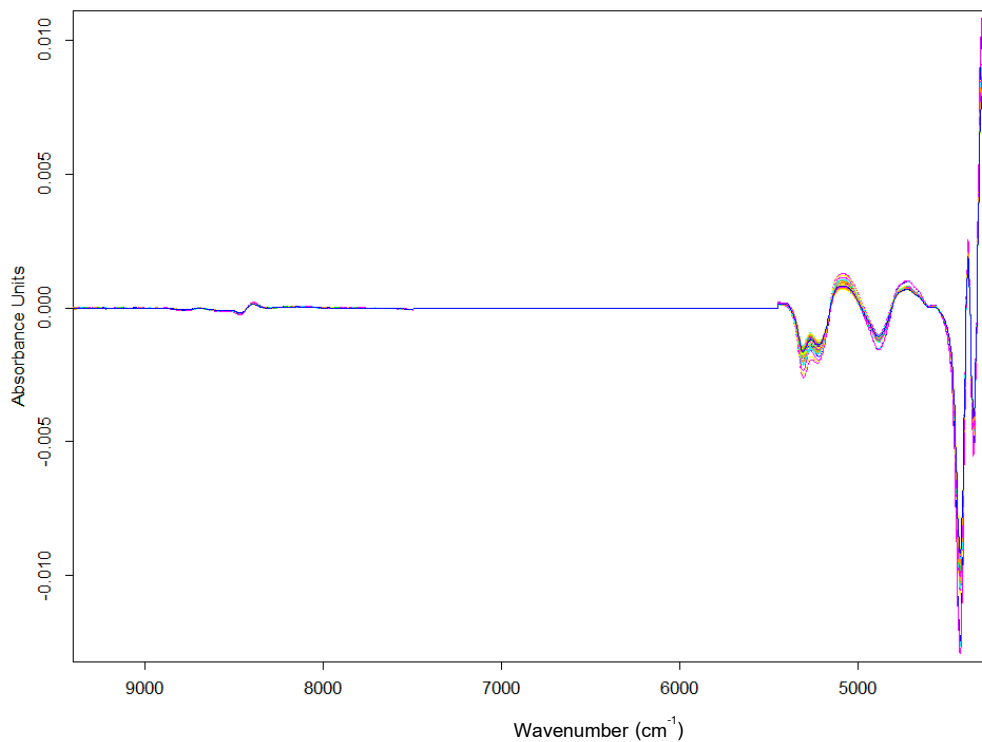


ภาพที่ 114 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV สารสกัดข้าวกล้อง

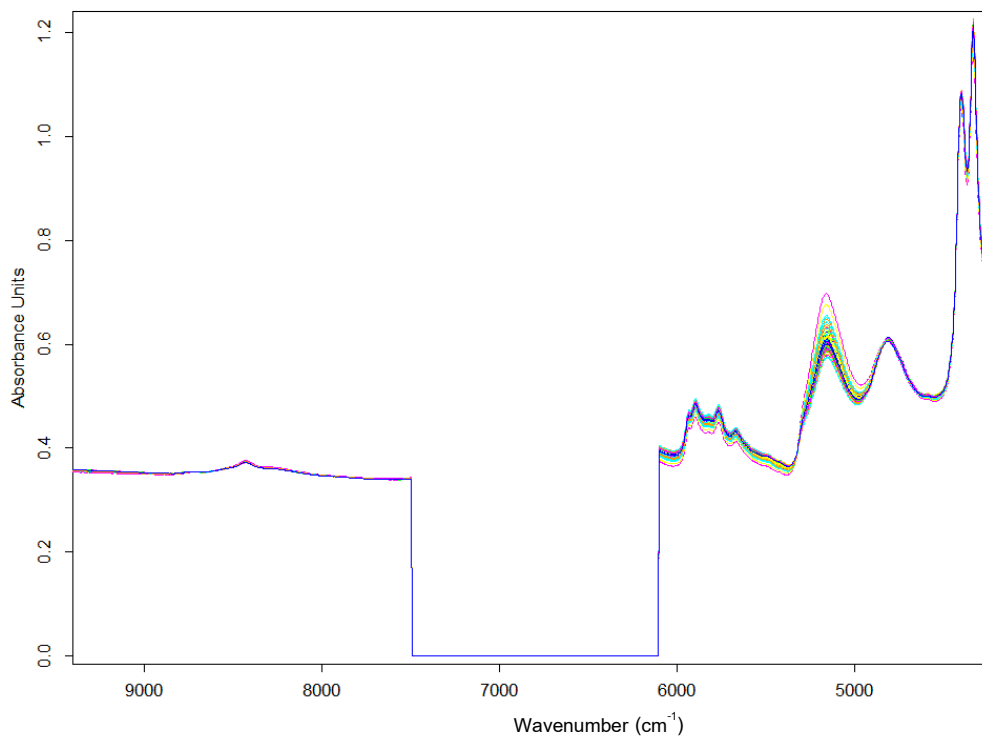


ภาพที่ 115 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC สารสกัดข้าวกล้องอก

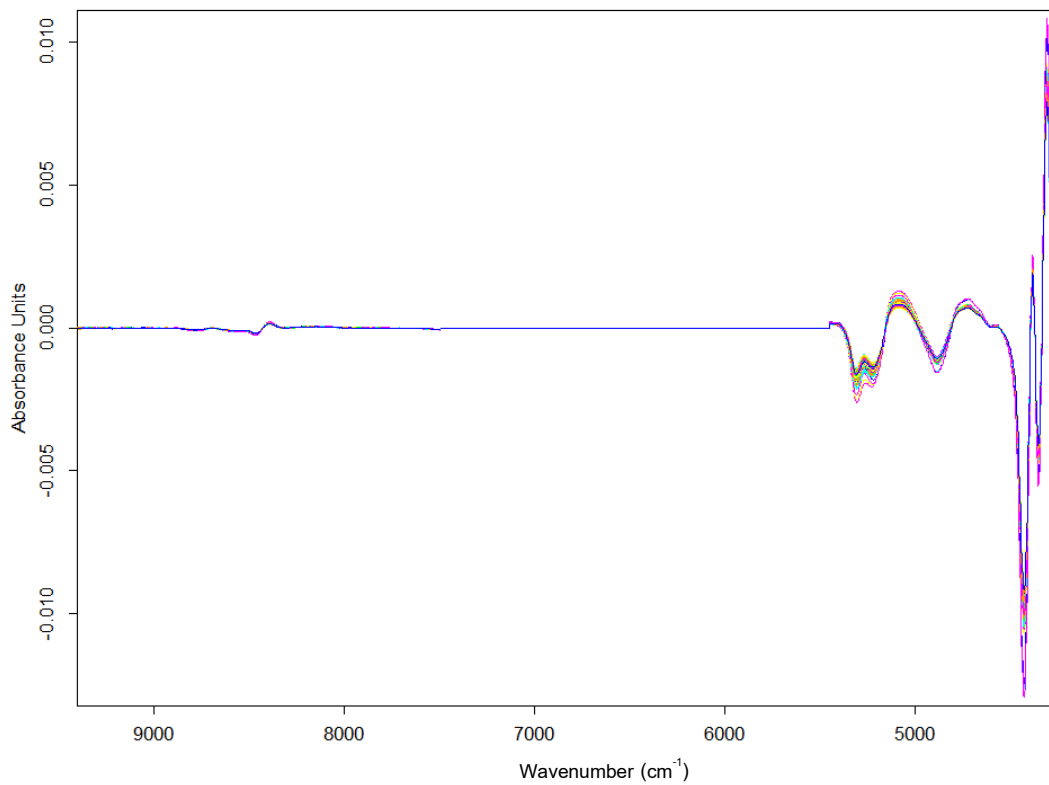
สเปกตรัมดิวอกซีแดนซ์ด้วย ABTS assay หลังการปรับแต่งของสารสกัดข้าวกล้องงอก



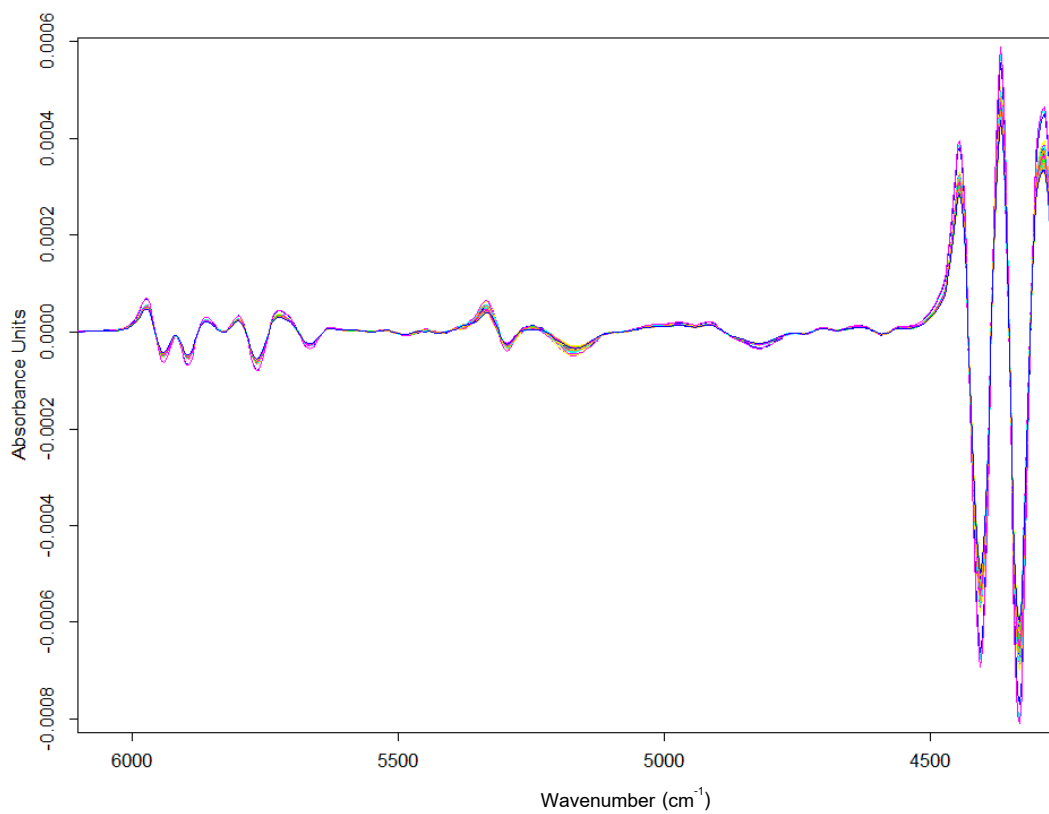
ภาพที่ 116 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV สารสกัดข้าวกล้องงอก



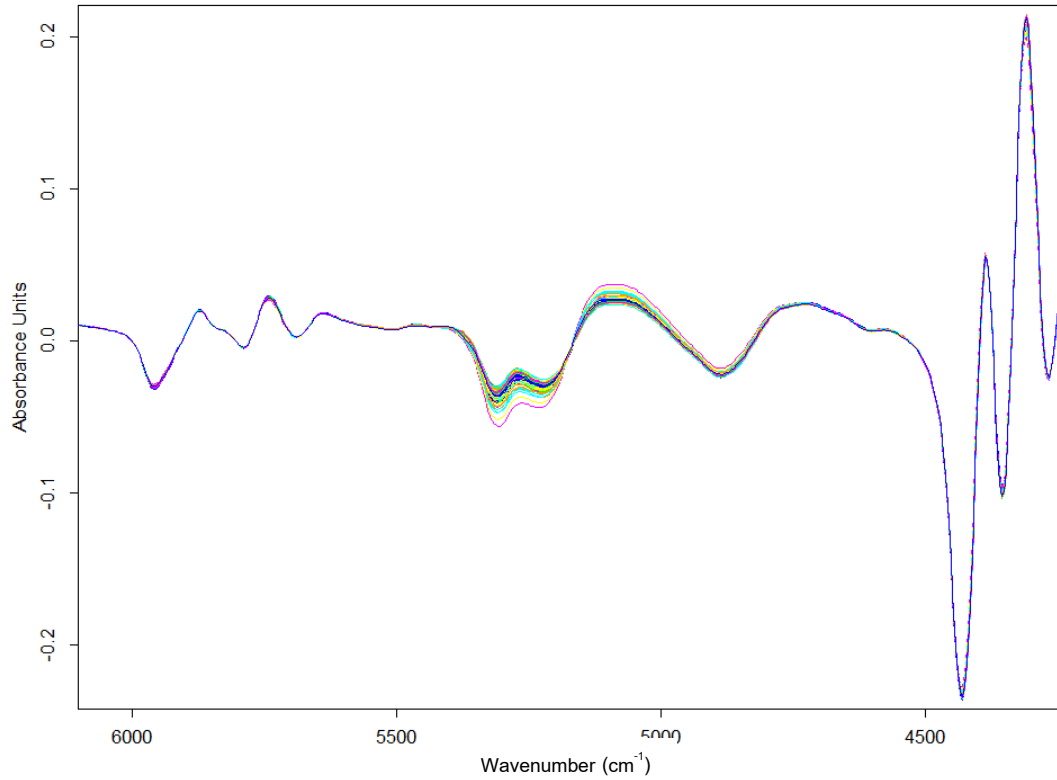
ภาพที่ 117 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC สารสกัดข้าวกล้องงอก



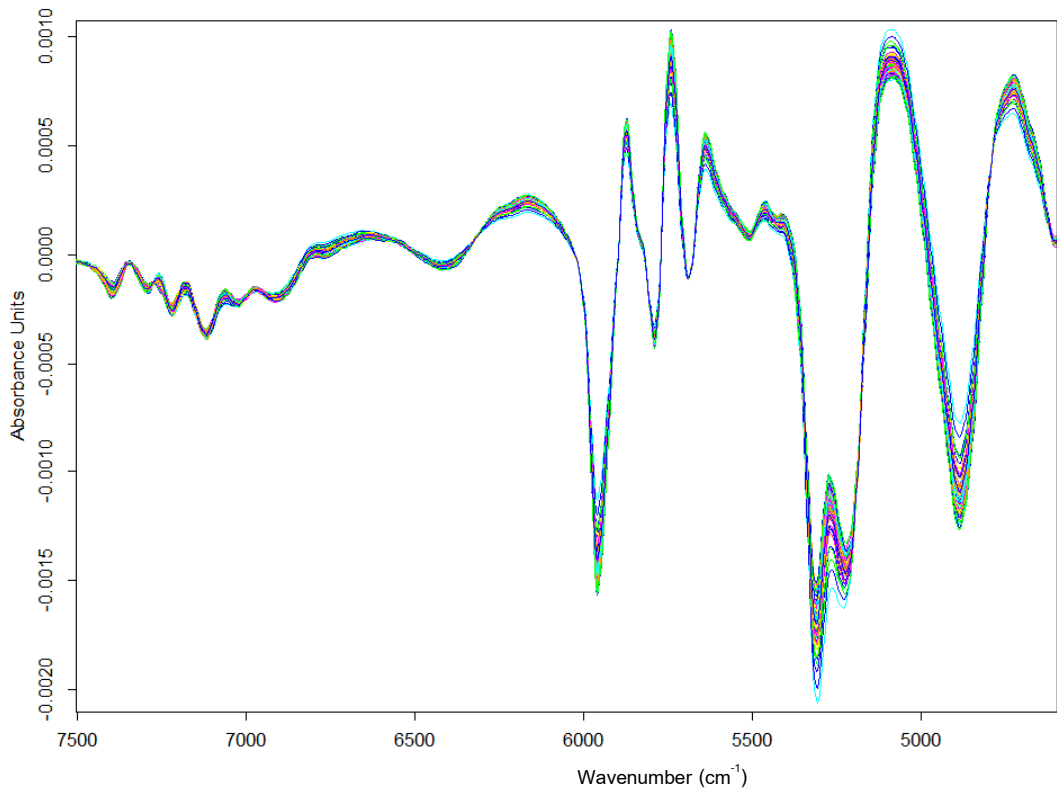
ภาพที่ 118 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D สารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 119 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D สารสกัดข้าวกล้องงอก



ภาพที่ 120 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV สารสกัดข้าวกล้อง



ภาพที่ 121 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+MSC สารสกัดข้าวกล้องอก