การประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายในถั่วเหลือง โดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy

Evaluation of Essential Amino Acids in Soybean by Using Near Infrared Spectroscopy

อนุวัฒน์ รัตนชัย* นฤเทพ เวชภิบาล และ จารุวรรณ บางแวก
Anuwat Rattanachai* Naruthep Wechpibal and Charuwan Bangwaek

กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่
กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

.....

บทคัดย่อ

ถั่วเหลืองมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนนั้นใช้เวลานาน ใช้สารเคมีและตัวอย่างถูกทำลายไป วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี มาใช้ในการประเมินค่ากรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย 8 ชนิด โดยรวบรวมตัวอย่างถั่วเหลืองนำไปทำแป้งฟลาว จำนวน 200 ตัวอย่าง สแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ได้สเปคตรัมของเมล็ดและแป้งฟลาวของถั่วเหลือง นำตัวอย่างแป้งฟลาวของถั่วเหลืองไปวิเคราะห์ค่ากรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายในห้องปฏิบัติการกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงของเมล็ดและแป้งฟลาวของถั่วเหลืองกับค่ากรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย 8 ชนิด หาสมการถดถอยเชิงสมการเส้นด้วยเทคนิค Partial Least Square Regression โดยใช้โปรแกรม the Unscrambler ข้อมูลถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ calibration set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่าง ข้อมูลค่ากรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายกับสร้างข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง กลุ่มที่ 2 คือ validation set เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบสมการถดถอยเชิงเส้นในการทำนายค่ากรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายนำสมการที่ได้ไปทดสอบกับตัวอย่าง ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2559-กันยายน 2561 จากการทดลองพบว่า สมการประเมินปริมาณ ทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ในเมล็ดและแป้งฟลาวของถั่วเหลือง สมการมีค่าสหสัมพันธ์ (R) = 0.92 และ 0.90, 0.90 และ 0.90, 0.90 และ 0.93, 0.95 และ 0.95, 0.91 และ 0.93, 0.94 และ 0.92, 0.93 และ 0.94, 0.93 และ 0.94 ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 0.85 และ 0.82, 0.81 และ 0.84, 0.81 และ 0.93, 0.90 และ 0.90, 0.84 และ 0.86, 0.90 และ 0.84, 0.86 และ 0.90, 0.92 และ 0.88 ตามลำดับ ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) = 0.54 และ 0.58%, 0.32 และ 0.60%, 0.26 และ 0.14%, 0.21 และ 0.24%, 0.28 และ 0.32%, 0.23 และ 0.28%, 0.68 และ 0.51%, 0.59 และ 0.46% ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่าความคลาดเคลื่อน (Standard Deviation, SD) = 1.45 และ 1.40%, 0.76 และ 1.43%, 0.61 และ 0.41%, 0.71 และ 0.79%, 0.72 และ 0.88%, 0.74 และ 0.75%,

1.88 และ 1.64%, 1.64 และ 1.39% ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสมการสำหรับการประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย 8 ชนิดนั้น สามารถนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีไปประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย 8 ชนิด ของเมล็ดและแป้งฟลาวของถั่วเหลืองได้

คำหลัก: ถั่วเหลือง กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

Abstract

Soybean is nutrient-rich plant protein complete with essential amino acids. Amino acids analysis method takes long time, used chemicals, and destructed samples. The objective of this research was study on Near Infrared Spectroscopy (NIRS) technique. This technique use to predict for 8 essential amino acids values of soybean flours and starches. The 200 soybean samples were collected and processed soybean flours. The samples scanned in the region 400-2500 nm. The spectrum of soybean grains and flours were shown. Amino acids in soybean grains and flours were analyzed at Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture. The Least Squares Partial (PLS) linear regression models were calculated using the Unscrambler (Camo, Oslo Norway). The absorbance of samples correlates with 8 essential amino acids values. Data were divided 2 groups, group 1 is calibration set, and group 2 is validation set. This research was done in 2016-2018. The calibration for predicting threonine, tryptophan, methionine, valine, phenylalanine, isoleucine, lysine and leucine values of soybean grains and flours, multiple correlation coefficient (R) are 0.92 and 0.90, 0.90 and 0.90, 0.90 and 0.93, 0.95 and 0.95, 0.91 and 0.93, 0.94 and 0.92, 0.93 and 0.94, 0.93 and 0.94, respectively. Squared correlation coefficients (R^2) are 0.85 and 0.82, 0.81 and 0.84, 0.81 and 0.93, 0.90 and 0.90, 0.84 and 0.86, 0.90 and 0.84, 0.86 and 0.90, 0.92 and 0.88, respectively. Standard Error of Prediction (SEP) are 0.54 and 0.58%, 0.32 and 0.60%, 0.26 and 0.14%, 0.21 and 0.24%, 0.28 and 0.32%, 0.23 and 0.28%, 0.68 and 0.51%, 0.59 and 0.46%, respectively. Standard Deviation (SD) are 1.45 and 1.40%, 0.76 and 1.43%, 0.61 and 0.41%, 0.71 and 0.79%, 0.72 and 0.88%, 0.74 and 0.75%, 1.88 and 1.64%, 1.64 and 1.39%. Therefore, the NIRs technique can predict 8 essential amino acids values in soybean grains and flours.

Keywords: soybean, essential amino acids, Near Infrared Spectroscopy

คำนำ

ถั่วเหลืองเมล็ดแห้งมีโปรตีนประมาณ 35% ซึ่งสูงกว่าเนื้อสัตว์ต่างๆ ประมาณ 2 เท่า แต่มีกรดเมไทโอนีนต่ำซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าที่ร่างกายต้องการ มีไลซีนสูงกว่าถั่วชนิดอื่นๆ และมีวาลีนสูงด้วย โปรตีนที่มีคุณภาพที่ดีที่สุด คือโปรตีนที่มีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วนทุกชนิด และมีปริมาณเพียงพอแก่ความต้องการของร่างกาย รวมทั้งสามารถถูกย่อยและดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ทั้งหมด อาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนหรือโปรตีนสูงอาจเป็นโปรตีนที่ด้อยคุณภาพได้ ถ้าขาดกรดอะมิโนจำเป็นชนิดใด หรือเมื่อกินเข้าไปแล้วร่างกายไม่สามารถย่อยได้ หรือย่อยได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ดังนั้น โปรตีนในอาหารแต่ละชนิดต้องมีการประเมินคุณภาพว่าเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพดีตามหลักโภชนาการหรือไม่ (นิธิยา, 2556)

กรดอะมิโนจะต่อกันด้วยพันธะเพปไทด์ (Peptide bond) เมื่อต่อกันจำนวนมากๆ เรียกว่าพอลิเพปไทด์ (Polypeptide) และเป็นโปรตีนนั่นเอง กรดอะมิโนนั้นแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

1. กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย (essential amino acid) คือ กรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสร้างได้ หรือสร้างได้แต่ไม่พอกับความต้องการของร่างกาย ต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น ร่างกายจะขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นแม้แต่เพียงตัวใดตัวหนึ่งไม่ได้ จะทำให้ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตได้ กรดอะมิโนที่จำเป็นทั้ง 8 ตัว ได้แก่ ไอโซลูซีน (isoleucine) ลูซีน (leucine) ไลซีน (lysine) เมไทโอนีน (methionine) ฟีนิลแอลานีน (phenylalanine) ทรีโอนีน (threonine) ทริพโตเฟน (tryptophan) วาลีน (valine)

2. กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นแก่ร่างกาย (non-essential amino acid) คือ กรดอะมิโนที่ร่างกายสร้างขึ้นได้เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย ไม่จำเป็นได้รับจากอาหาร แต่ก็มีความจำเป็นต่อร่างกาย ได้แก่ เซรีน (serine) ไทโรซีน (tyrosine) โพรลีน (proline) ซีสทีน (cycstine) ไกลซีน (glycine) อะลานีน (alanine) ซีสเทอีน (cysteine) อาร์จีนีน (arginine) กรดแอสพาร์ติก (aspartic acid) กรดกลูตามิก (glutamic acid) และออร์นิทีน (ornithine) (สุนีย์, 2554)

เทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น นำไปหาค่าปริมาณอมิโลสของข้าวขาวเต็มเมล็ด (Delwiche *et al*., 1996) อนุวัฒน์ และจารุวรรณ (2556) ได้ประเมินปริมาณโปรตีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองและถั่วเขียวโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร อนุวัฒน์ และจารุวรรณ (2559) ได้ทดลองประเมินปริมาณสาร gamma-aminobutyric acid (GABA) ในเมล็ดถั่วเหลือง และถั่วเขียวโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy

กรมวิชาการเกษตรประเทศสหรัฐอเมริกา (USDA) โดย Germplasm Resources Information Network (GRIN) ได้ศึกษาองค์ประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง พบว่าปริมาณของโปรตีน 32.5-55.9% กรดอะมิโนที่จำเป็น ได้แก่ ไอโซลูซีน (isoleucine) 2.30-6.40% ลูซีน (leucine) 6.50-9.20% ไลซีน (lysine) 2.50-7.70% เมไทโอนีน (methionine) 1.50-2.80% ทรีโอนีน (threonine) 2.80-4.30% ทริพโตเฟน (tyrptophan) 0.90-1.70% วาลีน (valine) 4.10-6.90% และอาร์จีนีน (arginine) 5.0-9.8% ซึ่งเป็นกรดอะ

มิโนที่จำเป็นสำหรับเด็ก โดยทั่วไปแล้ว เชื้อพันธุกรรมของถั่วเหลือง (soybean germplasm) จะมีปริมาณสารสำคัญชนิดต่างๆที่หลากหลายโดยจะขึ้นอยู่กับความผันแปรทางพันธุกรรม และพบว่าปริมาณโปรตีน และน้ำมันจะมีช่วงความผันแปรที่กว้าง 8.9-25.6% (Jeong-Dong, 2011) และ Fontaine (2001) ได้ประเมินปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในแป้งฟลาวถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค NIRS ที่ความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร

เทคนิค Near Infrared Spectroscopy เป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายตัวอย่าง โดยใช้หลักการการสร้างสมการจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Coefficient of correction) หรือ R ระหว่างค่าการดูดซับแสงเนียร์อินฟราเรดที่ส่องผ่านวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์ และค่าที่วิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ เมื่อได้สมการที่มีค่าความสัมพันธ์สูง ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) ต่ำ สามารถนำสมการที่ได้ใช้ทำนายค่าของตัวอย่างแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี เป็นวิธีทดสอบที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็ว และปลอดภัย ไม่ใช้สารเคมี การทดลองนี้เพื่อนำเทคนิค Near Infrared Spectroscopy ใช้ประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับวิธีในห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดถั่วเหลือง จำนวน 200 ตัวอย่าง
2. เครื่อง Near Infrared Spectrophotometer จากบริษัท FOSS รุ่น 6500 (NIRSystems 6500)
3. เครื่องบดตัวอย่าง
4. เครื่อง High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)
5. อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนด้วยเทคนิค HPLC (High Performance Liquid Chromatography)
    - 5.1 คอลัมน์ (Column) C18 ZORBAX Eclipse XDB-C18 4.6x150 mm 3.5 Micron
    - 5.2 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
    - 5.3 หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 50 มิลลิลิตร
    - 5.4 เครื่องเขย่าผสม (Vortex mixer)
    - 5.5 เครื่องชั่ง
    - 5.6 เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator)
6. สารเคมี
    - 6.1 เมทานอล (Methanol)
    - 6.2 แอซีโตไนทริล (Acetonitrile)

6.3 คลอโรฟอร์ม (Chloroform AR grade)

6.4 สารละลายบัฟเฟอร์ไดโซเดียมเททระบอเรต (Di-sodium tetraborate buffer)

6.5 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)

6.6 สารละลายกรดไทรฟลูออโรแอซีติก (Trifluoroacetic acid: TFA)

6.7 สารละลาย 9-ฟลูออรีนิลเมทิลคลอโรฟอร์มเมต (9-Fluorenylmethyl chloroformate)

6.8 กรดอะมิโนมาตรฐาน

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างถั่วเหลือง โดยรวบรวมตัวอย่างถั่วเหลืองจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 200 ตัวอย่างนำเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400–2500 นาโนเมตร ในห้องปฏิบัติการกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

2. วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 8 ชนิด ด้วยเครื่อง High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ดัดแปลงตามวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา ตามมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่องข้าวกล้องงอก (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555)

3. นำ spectra ต้นแบบ (original spectra) ที่ได้สร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์

4. ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า Correlation Coefficient (R) สูง ค่า Standard Error of Calibration (SEC) ต่ำ และค่า Standard Error of Prediction (SEP) ต่ำ

5. ตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้น โดยนำสมการไปประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 8 ชนิด ได้แก่ ทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และลูซีน ในตัวอย่างถั่วเหลืองเปรียบเทียบค่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

6. นำสมการประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายในตัวอย่างถั่วเหลือง

เวลาและสถานที่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ระยะดำเนินการ ตุลาคม 2559-กันยายน 2561

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปี 2559 ถึง 2560 ได้ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบการวิเคราะห์ ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 8 ชนิด ได้แก่ ทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และลูซีน ในถั่วเหลือง และรวบรวมตัวอย่างถั่วเหลืองจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และจากแหล่งจำหน่ายต่างๆ จำนวน 100 ตัวอย่าง นำถั่วเหลืองไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer ได้สเปกตรัมของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง และวิเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 8 ชนิด ในถั่วเหลืองในห้องปฏิบัติการ และได้สมการเบื้องต้นสำหรับประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 8 ชนิด ในเมล็ดและแป้งฟลาว รวม 16 สมการ

2. ปี 2561 ทำการทดลองถึงเดือนมิถุนายนโดยได้เพิ่มจำนวนตัวอย่าง 80 ตัวอย่าง รวมจำนวน 180 ตัวอย่าง ได้สเปกตรัมของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง รวมจำนวน 180 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายในถั่วเหลืองในห้องปฏิบัติการ ได้สเปกตรัมของถั่วเหลือง สร้างสมการเบื้องต้น

3. ทำการทดลองถึงเดือนกันยายน 2561 เพิ่มจำนวนตัวอย่าง 20 ตัวอย่าง รวมจำนวน 200 ตัวอย่าง ได้สเปกตรัมของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง รวมจำนวน 200 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายในถั่วเหลืองในห้องปฏิบัติการ ได้สเปกตรัมของถั่วเหลือง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 910 1020 1510 1980 2050 และ 2180 นาโนเมตร ที่ความยาวคลื่นเหล่านี้เป็น peak ของโปรตีนซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับกรดอะมิโน และที่ความยาวคลื่น 2294 นาโนเมตรนั้น เป็น peak ของกรดอะมิโนในเมล็ดถั่วเหลือง (Figure 1) และแป้งฟลาวถั่วเหลือง (Williams and Norris 2001) (Figure 2)

จากการสร้างสมการและปรับสมการจากตัวอย่างถั่วเหลืองจำนวน 200 ตัวอย่าง ทำ calibration ด้วยวิธี PLS regression โดยการใช้ spectra เริ่มต้น (original) แบบ Full cross validation กับค่ากรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร พบว่าสมการจาก original spectra ของกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 8 ชนิด ได้แก่

1. ทรีโอนีน (threonine) มีค่าสหสัมพันธ์ (R) ระหว่างการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกับค่าการทำนาย เท่ากับ 0.92 และ 0.90 ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนาย Standard Error of Prediction (SEP) เท่ากับ 0.54 และ 0.58 mg/100 g ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่ม Standard Error of Calibration (SEC) เท่ากับ 0.39 และ 0.48 mg/100 g มีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง (F) 10 และ 10 ปัจจัย ค่าความคลาดเคลื่อน (Standard Deviation, SD) จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเท่ากับ 1.45 และ 1.40 mg/100 g และสมการประเมินปริมาณทรีโอนีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 1.38-7.69 mg/100 g และ 0.42-6.60 mg/100 g มีค่าเฉลี่ย 3.79 และ 3.28 mg/100 g ตามลำดับ (Table 1 และ 2) ค่า regression coefficient ของเมล็ดถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณทรีโอนีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 926 964 1020 1060 1482 1580 1940 2124 2240 และ 2290 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 926 nm เป็นค่าของ oil ที่ 964 และ 1940 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 1020 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1580 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1060 1482 2124 2240 และ 2290 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า regression coefficient ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณทรีโอนีน

ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 970 1038 1430 1530 1900 1978 2032 2110 2250 และ 2292 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 1038 nm เป็นค่าของ oil ที่ 970 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 1978 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1900 และ 2050 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1430 1530 2032 2110 และ 2292 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 4)

2. ทริพโตเฟน (tryptophan) ค่าสหสัมพันธ์ (R) = 0.90 และ 0.90 , SEP = 0.32 และ 0.60 mg/100 g, SEC = 0.26 และ 0.52 mg/100 g, F = 10 และ 10 ปัจจัย , SD = 0.76 และ 1.43 mg/100 g และสมการประเมินปริมาณทริพโตเฟนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 0.12-2.70 mg/100 g และ 0.69-6.60 mg/100 g มีค่าเฉลี่ย 1.30 และ 3.48 mg/100 g ตามลำดับ (Table 1 และ 2) ค่า regression coefficient ของเมล็ดถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณทริพโตเฟน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 970 1030 1430 1484 1520 1902 1984 2112 2244 และ 2292 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 970 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 1984 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1902 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1030 1430 1484 1520 2114 2244 และ 2292 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า regression coefficient ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณทริพโตเฟน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 968 1028 1434 1532 1894 1964 2028 2054 2100 และ 2260 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 968 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 2054 และ 2100 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1894 และ 2260 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1028 1434 1532 1964 และ 2028 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 4)

3. เมไทโอนีน (methionine) ค่าสหสัมพันธ์ (R) = 0.90 และ 0.93, SEP = 0.26 และ 0.14 mg/100 g, SEC = 0.21 และ 0.10 mg/100 g, F = 10 และ 10 ปัจจัย, SD = 0.61 และ 0.41 g/100 g และสมการประเมินปริมาณเมไทโอนีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 3.90-6.21 mg/100 g และ 4.30-5.80 mg/100 g มีค่าเฉลี่ย 4.93 และ 4.89 mg/100 g ตามลำดับ (Table 1 และ 2) ค่า regression coefficient ของเมล็ดถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณเมไทโอนีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 930 990 1054 1432 1532 1578 1918 2004 2100 และ 2258 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 930 nm เป็นค่าของ oil ที่ 990 1578 2100 และ 2258 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1054 1432 1532 1918 และ 2004 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า regression coefficient ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณเมไทโอนีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 928 990 1512 1562 1580 1898 1956 2024 2240 และ 2292 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 928 nm เป็นค่าของ oil ที่ 1512 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 990 1580 และ 1898 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1562 1956 2024 2240 และ 2292 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 4)

4. วาลีน (valine) ค่าสหสัมพันธ์ (R) = 0.95 และ 0.95 , SEP = 0.21 และ 0.24 mg/100 g, SEC = 0.17 และ 0.21 mg/100 g, F = 10 และ 9 ปัจจัย, SD = 0.71 และ 0.79 mg/100 g และสมการประเมินปริมาณวาลีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 0.93-3.64 mg/100 g และ 1.18-3.64

mg/100 g มีค่าเฉลี่ย 2.81 และ 2.79 mg/100 g ตามลำดับ (Table 1 และ 2) ค่า regression coefficient ของเมล็ดถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณวาลีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 808 910 970 1030 1432 1460 1510 1896 1964 และ 2240 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 970 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 910 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1896 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 808 1030 1432 1460 1964 และ 2240 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า regression coefficient ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณวาลีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 1020 1460 1520 1920 1964 2000 2050 2110 และ 2242 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 1020 และ 2050 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 2000 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1460 1520 1920 1964 2110 และ 2242 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 4)

5. ฟีนิลแอลานีน (phenylalanine) ค่าสหสัมพันธ์ (R) = 0.91 และ 0.93 , SEP = 0.28 และ 0.32 mg/100 g, SEC = 0.23 และ 0.25 mg/100 g, F = 8 และ 10 ปัจจัย, SD = 0.72 และ 0.88 mg/100 g และสมการประเมินปริมาณฟีนิลแอลานีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 1.19-4.25 mg/100 g และ 1.30-4.32 mg/100 g มีค่าเฉลี่ย 2.23 และ 2.55 mg/100 g ตามลำดับ (Table 1 และ 2) ค่า regression coefficient ของเมล็ดถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณฟีนิลแอลานีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 986 1020 1520 1580 1906 1960 2100 และ 2294 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 1020 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 986 1580 1906 และ 2100 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1520 1960 และ 2240 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า regression coefficient ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณฟีนิลแอลานีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 910 1020 1450 1580 1900 1940 2000 2050 2240 และ 2294 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 1940 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 910 และ 1020 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1450 1580 และ 1900 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 2000 2050 2240 และ 2294 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 4)

6. ไอโซลูซีน (isoleucine) ค่าสหสัมพันธ์ (R) =0.94 และ 0.92, SEP = 0.23 และ 0.28 mg/100 g, SEC = 0.18 และ 0.23 mg/100 g, F = 10 และ 10 ปัจจัย, SD = 0.74 และ 0.75 mg/100 g และสมการประเมินปริมาณไอโซลูซีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 1.48-4.01 mg/100 g และ 1.49-4.09 mg/100 g มีค่าเฉลี่ย 2.13 และ 2.17 mg/100 g ตามลำดับ (Table 1 และ 2) ค่า regression coefficient ของเมล็ดถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณไอโซลูซีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 928 1022 1430 1520 1896 2036 2036 2050 2100 2242 และ 2296 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 928 nm เป็นค่าของ oil ที่ 1022 และ 2050 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1896 และ 2100 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1430 1520 2036 2242 และ 2296 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า regression coefficient ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณไอโซลูซีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 928 970 1450 1490 1512 1570 1900 1980 2100 และ 2292 nm ซึ่ง

ตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 970 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 1512 และ 1980 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1450 1900 และ 2100 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1490 1570 และ 2292 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 4)

7. ไลซีน (lysine) ค่าสหสัมพันธ์ (R) = 0.93 และ 0.94 , SEP = 0.68 และ 0.51 mg/100 g, SEC = 0.57 และ 0.45 mg/100 g, F = 10 และ 9 ปัจจัย, SD = 1.88 และ 1.64 mg/100 g และสมการประเมินปริมาณไลซีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 2.19-8.64 mg/100 g และ 2.19-8.47 mg/100 g มีค่าเฉลี่ย 4.39 และ 3.97 mg/100 g ตามลำดับ (Table 1 และ 2) ค่า regression coefficient ของเมล็ดถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณไลซีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 990 1020 1490 1520 1584 1900 1936 2030 2100 และ 2240 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 1936 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 1020 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 990 1584 1900 และ 2100 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1490 1520 2030 และ 2240 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า regression coefficient ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณไลซีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 928 1030 1440 1530 1900 1940 2050 2180 และ 2294 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 1940 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 2180 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1440 และ 1900 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1030 1530 2050 และ 2294 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 4)

8. ลูซีน (leucine) ค่าสหสัมพันธ์ (R) = 0.93 และ 0.94 , SEP = 0.59 และ 0.46 mg/100 g, SEC = 0.44 และ 0.35 mg/100 g, F = 10 และ 10 ปัจจัย, SD = 1.64 และ 1.39 mg/100 g และสมการประเมินปริมาณลูซีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 0.20-5.88 mg/100 g และ 0.45-5.22 mg/100 g มีค่าเฉลี่ย 2.94 และ 3.06 mg/100 g ตามลำดับ (Table 1 และ 2) ค่า regression coefficient ของเมล็ดถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณลูซีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 928 970 1508 1582 1900 1940 2000 2100 2240 และ 2292 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 928 nm เป็นค่าของ oil ที่ 970 และ 1940 nm เป็นค่าของน้ำ ที่ 1508 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1582 1900 และ 2000 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 2000 2100 2240 และ 2292 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 3) ค่า regression coefficient ของแป้งฟลาวถั่วเหลือง ในการประเมินปริมาณลูซีน ตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่า regression coefficient ที่ 910 1020 1440 1520 1900 2000 2050 2150 2242 และ 2294 nm ซึ่งตำแหน่งความยาวคลื่นที่ 910 1020 และ 2050 nm เป็นค่าของโปรตีน ที่ 1440 และ 1900 nm เป็นค่าของแป้งสตาร์ช ที่ 1520 2000 2150 2242 และ 2294 nm เป็นค่าของกรดอะมิโน (Figure 4)

จากการหาความสัมพันธ์จากการทำนายค่าปริมาณทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ในเมล็ดถั่วเหลืองด้วย NIR และค่าที่วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มีค่า 0.85 0.81 0.81 0.90 0.84 0.90 0.86 และ 0.92 ตามลำดับ (Figure 5) และการทำนายค่าปริมาณทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ในแป้งฟลาวถั่วเหลืองด้วย NIR และค่าที่วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มีค่า 0.82 0.84 0.93 0.90 0.86 0.84 0.90 และ 0.88 ตามลำดับ (Figure 6) จากการสร้างสมการจาก

จำนวนตัวอย่าง 200 ตัวอย่างและทำการปรับสมการพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจสูงขึ้น แต่หากมีการทดลองเพิ่มเติมควรเพิ่มตัวอย่างที่มีค่ากรดอะมิโนที่หลากหลายมากขึ้น เช่น สมการประเมินกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายในเมล็ดถั่วเหลือง ควรเพิ่มตัวอย่างที่มีปริมาณ ฟีนิลแอลานีน ปริมาณ 2.5-3.5 mg/100 g ไอโซลูซีน ปริมาณ 2.5-3.0 mg/100 g และ ไลซีน ปริมาณ 4.5-6.0 mg/100 g สมการประเมินกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายในแป้ง ฟลาวถั่วเหลือง ทรีโอนีน ปริมาณ 4.5-5.0 mg/100 g วาลีน ปริมาณ 1.5-2.5 mg/100 g ฟีนิลแอลานีน ปริมาณ 2.5-3.0 mg/100 g และ ไอโซลูซีน ปริมาณ 2.5-3.5 mg/100 g จะทำให้สมการใช้ในการประเมินกรดอะมิโนดังกล่าวดีขึ้น

ขั้นตอนการทำ validation หลังจากได้สมการ calibration แล้ว ทำการทวนสอบว่าสมการที่สร้างขึ้นมาสามารถนำมาทำนายข้อมูลชุดอื่นได้ ซึ่งการทดสอบสมการประเมินค่าปริมาณทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง โดยนำตัวอย่างเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง จำนวน 10 ตัวอย่าง นำตัวอย่างไปสแกนด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer และทำนาย (predicted) ค่าปริมาณ ทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง เปรียบเทียบกับค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีความถูกต้องมากน้อยแค่ไหน (Standard Error of Prediction; SEP) ค่าเฉลี่ยของการทำนายกับค่าเฉลี่ยของค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีความแตกต่างกันหรือไม่ (bias) ค่าสถิติที่ใช้ในการตรวจสอบว่าสมการ calibration ที่สร้างขึ้นมามีความถูกต้องสามารถนำไปใช้งานได้คือ ค่า SEP และ bias ควรมีค่าน้อยๆ ถึงจะแสดงว่าสมการ calibration มีความเหมาะสมที่จะนำเครื่อง NIR มาใช้ในการทำนายคุณลักษณะที่ต้องการหา รวมทั้งค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ควรมีค่าเข้าใกล้ 1

การคำนวณค่า SEP และค่า bias ของปริมาณทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ของเมล็ดถั่วเหลือง ที่ทำนายได้กับค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการไม่แตกต่างกันมาก ซึ่งมีค่า SEP = 0.46 0.44 0.42 0.26 0.40 0.44 0.39 และ 0.39 mg/100 g ตามลำดับ ค่า bias = -0.10 -0.08 -0.29 -0.06 -0.18 0.06 0.21 และ -0.17 mg/100 g ตามลำดับ ค่า bias มีค่าเป็นลบแสดงว่า ค่าที่ทำนายได้มีค่ามากกว่าค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Table 3-10) และคำนวณค่า SEP และค่า bias ของปริมาณทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ของเมล็ดถั่วเหลืองที่ทำนายได้กับค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการไม่แตกต่างกันมาก ซึ่งมีค่า SEP = 0.31 0.40 0.19 0.22 0.37 0.44 0.26 และ 0.28 mg/100 g ตามลำดับ ค่า bias = -0.09 -0.17 0.11 -0.08 -0.16 -0.17 0.19 และ 0.19 mg/100 g ตามลำดับ (Table 11-18) และนำสถิติ t-test ใช้ทดสอบความแตกต่างหรือเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของวิธีการ 2 วิธี พบว่า สมการสำหรับการประเมินปริมาณทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองกับค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ดังนั้นจึงสามารถนำสมการไปใช้ประเมินปริมาณทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ของเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองได้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองสามารถนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโคปีมาประยุกต์ใช้ในการประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 8 ชนิด ได้แก่ ทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ในถั่วเหลือง ได้สมการสำหรับประเมินปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 8 ชนิด ในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลือง ปริมาณทรีโอนีน ทริพโตเฟน เมไทโอนีน วาลีน ฟีนิลแอลานีน ไอโซลูซีน ไลซีน และ ลูซีน ในเมล็ดถั่วเหลือง ตั้งแต่ 1.38-7.69 0.12-2.70 3.90-6.21 0.93-3.64 1.19-4.25 1.48-4.01 2.19-8.64 และ 0.20-5.88 mg/100 g ตามลำดับ ในแป้งฟลาวถั่วเหลือง ตั้งแต่ 0.42-6.60 0.69-6.60 4.30-5.80 1.18-3.64 1.30-4.32 1.49-4.09 2.19-8.47 และ 0.45-5.22 mg/100 g ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

นิธิยา รัตนาปนนท์ และ วิบูลย์ รัตนาปนนท์. 2556. หลักโภชนศาสตร์. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 512 หน้า.

สุนีย์ สหัสโพธิ์. 2554. ชีวเคมีทางโภชนาการ. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 144 หน้า.

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

อนุวัฒน์ รัตนชัย และจารุวรรณ บางแวก. 2556. *การประเมินโปรตีนในเมล็ดและแป้งฟลาวถั่วเหลืองถั่วเขียวโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy*. สืบค้นจากhttp://www.doa.go.th/pprdo/index.php?option=com_content&view=article&id=57:0016&catid=4:2012-01-23-08-30-06&Itemid=11, 26 พฤศจิกายน 2561.

อนุวัฒน์ รัตนชัย และ จารุวรรณ บางแวก. 2559. การประเมินปริมาณสาร gamma- aminobutyric acid (GABA) ในเมล็ดถั่ว เหลือง และถั่วเขียวโดยใช้ เทคนิค Near Infrared Spectroscopy. *วารสารวิชาการเกษตร* ปีที่ 34 ฉบับที่ 1: 45-53.

Delwiche, S. R., K. S. McKenzie, and B. D. Webb. 1996. Quality characteristics in rice by near-infrared reflectance analysis of whole-grain milled samples. *J. Cereal Chem*. 73 (2): 257-263.

Fontaine, J.; Horr, J.; & Schirmer, B. (2001). Near-infrared reflectance spectroscopy enables the fast and accurate prediction of the essential amino acid contents in soy, rapeseed meal, sunflower meal, peas, fishmeal, meat meal products, and poultry meal. J. Agric. Food Chem.,Vol.49, No.(1).57-66.

Jeong-Dong Lee, J. Grover Shannon and Myoung-Gun Choung. 2011. Application of Nondestructive Measurement to Improve Soybean Quality by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Soybean - Applications and Technology. 287-305.

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

Table 1 Partial Least Square calibration result for predicting essential amino acids values of 200 samples soybean grains and flours.

Animo acids	Sample	Math methods	Wavelength region (nm)	F	R	SEC	SEP	SD	Bias	N
Threonine	grains	Original	400-2500	10	0.92	0.39	0.54	1.45	0.0112	78
	flours	Original	400-2500	10	0.90	0.48	0.58	1.40	-0.0164	98
Tryptophan	grains	Original	400-2500	10	0.90	0.26	0.32	0.76	-0.0016	84
	flours	Original	400-2500	10	0.90	0.52	0.60	1.43	-0.0034	119
Methionine	grains	Original	400-2500	10	0.90	0.21	0.26	0.61	-0.0046	100
	flours	Original	400-2500	10	0.93	0.10	0.14	0.41	-0.0043	60
Valine	grains	Original	400-2500	10	0.95	0.17	0.21	0.71	-0.0013	98
	flours	Original	400-2500	9	0.95	0.21	0.24	0.79	-0.0021	84
Phenylalanine	grains	Original	400-2500	8	0.91	0.23	0.28	0.72	-0.0076	79
	flours	Original	400-2500	10	0.93	0.25	0.32	0.88	0.0041	70
Isoleucine	grains	Original	400-2500	10	0.94	0.18	0.23	0.74	-0.0031	102
	flours	Original	400-2500	10	0.92	0.23	0.28	0.75	-0.0088	94
Lysine	grains	Original	400-2500	10	0.93	0.57	0.68	1.88	-0.0020	117
	flours	Original	400-2500	9	0.94	0.45	0.51	1.64	-0.0034	120
Leucine	grains	Original	400-2500	10	0.93	0.44	0.59	1.64	0.0151	60
	flours	Original	400-2500	10	0.94	0.35	0.46	1.39	-0.0179	70

R: Multiple correlation coefficients F: The number of factors used in the calibration equation SEC: Standard error of calibration, SEP: Standard error of prediction, SD: Standard Deviation of actual value, Bias: The average of difference between actual value and NIR value, N: Number of samples

Table 2 The characteristics of samples used in model for essential amino acids values of samples soybean grains and flours.

Items	Sample	Min-Max	Mean	SD	Unit
Threonine	grains	1.38-7.69	3.79	1.45	mg/ 100 g
	flours	0.42-6.60	3.28	1.40	mg/ 100 g
Tryptophan	grains	0.12-2.70	1.30	0.76	mg/ 100 g
	flours	0.69-6.60	3.48	1.36	mg/ 100 g
Methionine	grains	3.90-6.21	4.93	0.61	mg/ 100 g
	flours	4.30-5.80	4.89	0.41	mg/ 100 g
Valine	grains	0.93-3.64	2.81	0.71	mg/ 100 g
	flours	1.18-3.64	2.79	0.79	mg/ 100 g
Phenylalanine	grains	1.19-4.25	2.23	0.72	mg/ 100 g
	flours	1.30-4.32	2.55	0.88	mg/ 100 g
Isoleucine	grains	1.48-4.01	2.13	0.74	mg/ 100 g
	flours	1.49-4.09	2.17	0.75	mg/ 100 g

Lysine	grains	2.19-8.64	4.39	1.88	mg/ 100 g
	flours	2.19-8.47	3.97	1.64	mg/ 100 g
Leucine	grains	0.20-5.88	2.94	1.64	mg/ 100 g
	flours	0.45-5.22	3.06	1.39	mg/ 100 g

Samples	Method to determine Tryptophan		d	d^2
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	$(x-y)^2$
	X	Y		
1	1.60	2.34	-0.74	0.54
2	1.64	2.22	-0.58	0.34
3	1.65	1.75	-0.10	0.01
4	1.66	2.08	-0.42	0.18
5	2.81	2.41	0.40	0.16
6	2.81	3.39	-0.58	0.34
7	2.09	1.88	0.21	0.04
8	2.07	1.56	0.51	0.26
9	2.57	2.39	0.18	0.03
10	2.56	2.27	0.30	0.09

Table 3 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Threonine value in soybean grain.

Samples	Method to determine Threonine		d	d^2
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	$(x-y)^2$
	X	Y		
1	2.16	2.67	-0.51	0.26
2	2.28	2.24	0.04	0.00
3	1.26	1.65	-0.39	0.15
4	2.37	1.71	0.66	0.43
5	2.43	2.42	0.01	0.00
6	3.81	4.80	-0.99	0.98
7	3.77	3.39	0.38	0.14
8	1.99	2.31	-0.32	0.10
9	1.97	1.72	0.25	0.06

Samples	Method to determine Phenylalanine		d	d^2
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	$(x-y)^2$
	X	Y		
1	3.85	3.29	0.56	0.32
2	3.79	3.50	0.29	0.08
3	2.15	2.81	-0.66	0.44
4	2.15	2.42	-0.27	0.07
5	2.15	2.42	-0.27	0.07
6	2.17	2.48	-0.31	0.10
7	1.83	2.51	-0.68	0.46
8	1.82	2.04	-0.22	0.05
9	1.53	1.66	-0.13	0.02
10	1.55	1.69	-0.14	0.02
Total	22.99	24.82	-1.83	1.62

Table 4 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Tryptophan value in soybean grain.

Table **Table 6** Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Valine value in soybean grain.

Sample	Samples	Method to determine Valine		d	d^2
		Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	$(x-y)^2$
		X	Y		
1	1	2.78	2.35	0.43	0.18
2	2	2.79	2.61	0.18	0.03
3	3	1.57	2.06	-0.49	0.24
4	4	1.58	1.45	0.13	0.02
5	5	2.03	2.16	-0.13	0.02
6	6	2.03	2.31	-0.28	0.08
7	7	0.93	1.12	-0.19	0.04
8	8	0.94	1.20	-0.26	0.07
9	9	2.53	2.43	0.10	0.01
10	10	2.50	2.60	-0.10	0.01
Total	Total	19.68	20.29	-0.61	0.68

Table **Table 8** Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Isoleucine

Samples	Method to determine Isoleucine		d	d^2
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	$(x-y)^2$
	X	Y		
1	3.62	3.18	0.44	0.19
2	3.61	2.88	0.73	0.53
3	3.34	3.15	0.19	0.04
4	3.15	3.33	-0.18	0.03
5	1.53	2.19	-0.66	0.43
6	1.48	2.09	-0.61	0.37
7	3.98	4.15	-0.17	0.03
8	3.96	3.91	0.05	0.00
9	4.04	3.66	0.39	0.15
10	4.06	3.63	0.43	0.19

Table 9 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Lysine value in soybean grain.

Samples	Method to determine Lysine		d (x-y)	d^2 $(x-y)^2$
	Reference Method	NIR Prediction		
	X	Y		
1	6.51	6.64	-0.13	0.02
2	6.72	6.45	0.27	0.07
3	6.84	6.27	0.57	0.33
4	6.90	6.84	0.06	0.00
5	7.59	7.98	-0.39	0.15
6	7.62	7.80	-0.18	0.03
7	7.12	6.76	0.36	0.13
8	7.08	6.51	0.57	0.33
9	7.05	6.54	0.51	0.26
10	7.05	6.63	0.42	0.18

Table 10 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Leucine value in soybean

Samples	Method to determine Leucine		d (x-y)	d^2 $(x-y)^2$
	Reference Method	NIR Prediction		
	X	Y		
1	1.78	1.98	-0.20	0.04
2	1.81	2.15	-0.34	0.11
3	0.73	0.58	0.15	0.02
4	0.72	0.71	0.01	0.00
5	1.00	0.87	0.13	0.02
6	1.00	1.31	-0.31	0.09
7	2.13	2.39	-0.26	0.07
8	2.18	1.74	0.44	0.19
9	1.91	2.28	-0.37	0.14
10	1.82	2.73	-0.91	0.82

Table 11 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Threonine value in soybean flour.

Samples	Method to determine Threonine		d (x-y)	d^2 $(x-y)^2$
	Reference Method	NIR Prediction		
	X	Y		
1	2.16	2.42	-0.26	0.07
2	2.28	2.80	-0.52	0.27
3	1.68	1.47	0.21	0.04
4	1.66	1.87	-0.21	0.04
5	1.49	1.82	-0.33	0.11
6	1.46	1.90	-0.44	0.20
7	1.27	1.29	-0.02	0.00
8	1.26	1.20	0.06	0.00
9	5.59	5.42	0.18	0.03
10	5.57	5.17	0.40	0.16
Total	24.42	25.36	0.94	0.93

Table 12 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Tryptophan value in soybean flour.

Samples	Method to determine Tryptophan		d (x-y)	d^2 $(x-y)^2$
	Reference Method	NIR Prediction		
	X	Y		
1	5.06	5.90	-0.84	0.70
2	5.05	5.85	-0.80	0.63
3	1.49	1.37	0.12	0.02
4	1.46	1.37	0.09	0.01
5	1.27	1.44	-0.17	0.03
6	1.26	1.38	-0.12	0.01
7	2.37	2.05	0.32	0.10
8	2.43	2.34	0.09	0.01
9	3.67	3.88	-0.21	0.04
10	3.66	3.82	-0.16	0.03

Table 13 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Methionine value in soybean flour.

Samples	Method to determine Methionine		d	d ²
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	(x-y)²
	X	Y		
1	4.30	4.38	-0.08	0.01
2	4.34	4.40	-0.06	0.00
3	5.80	5.70	0.10	0.01
4	5.77	5.68	0.09	0.01
5	6.74	6.36	0.38	0.14
6	6.76	6.36	0.40	0.16
7	4.62	4.53	0.09	0.01
8	4.61	4.67	-0.06	0.00
9	4.30	4.19	0.11	0.01
10	4.41	4.31	0.10	0.01
Total	51.65	50.60	1.05	0.36

Table 14 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Valine value in soybean flour.

Samples	Method to determine Valine		d	d ²
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	(x-y)²
	X	Y		
1	1.64	1.49	0.15	0.02
2	1.63	1.43	0.20	0.04
3	2.03	2.15	-0.12	0.01
4	2.03	2.17	-0.14	0.02
5	2.26	2.11	0.16	0.02
6	2.29	2.19	0.10	0.01
7	1.58	1.94	-0.36	0.13
8	1.59	1.95	-0.36	0.13
9	1.60	1.85	-0.25	0.06
10	1.64	1.83	-0.19	0.04
Total	18.29	19.11	-0.82	0.49
Average	1.83	1.91	-0.08	0.05

Table 15 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Phenylalanine value in soybean flour.

Samples	Method to determine Phenylalanine		d	d ²
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	(x-y)²
	X	Y		
1	3.16	2.89	0.27	0.07
2	3.19	2.91	0.28	0.08
3	2.15	2.08	0.07	0.00
4	2.15	2.26	-0.11	0.01
5	4.76	5.39	-0.63	0.39
6	4.86	5.37	-0.51	0.26
7	2.23	2.27	-0.04	0.00
8	2.21	2.22	-0.01	0.00
9	1.53	1.80	-0.27	0.07
10	1.55	2.24	-0.69	0.47
Total	27.79	29.43	-1.64	1.36

Table 16 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Isoleucine value in soybean flour.

Samples	Method to determine Isoleucine		d	d ²
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	(x-y)²
	X	Y		
1	1.92	1.54	0.38	0.15
2	1.89	1.58	0.31	0.09
3	1.77	1.95	-0.18	0.03
4	1.81	1.96	-0.15	0.02
5	3.34	3.92	-0.58	0.34
6	3.15	3.88	-0.73	0.53
7	4.04	3.84	0.20	0.04
8	4.06	3.88	0.18	0.03
9	3.95	4.61	-0.66	0.43
10	4.01	4.49	-0.48	0.23
Total	29.94	31.66	-1.72	1.91

Table 17 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Lysine value in soybean flour.

Samples	Method to determine Lysine		d	d^2
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	$(x-y)^2$
	X	Y		
1	3.17	2.75	0.42	0.18
2	3.15	2.80	0.36	0.13
3	6.70	6.65	0.05	0.00
4	6.71	6.58	0.13	0.02
5	7.05	6.90	0.15	0.02
6	7.05	7.00	0.05	0.00
7	6.10	6.28	-0.18	0.03
8	6.10	5.92	0.18	0.03
9	8.42	8.15	0.27	0.07
10	8.47	8.04	0.43	0.19
Total	62.92	61.07	1.85	0.67

Table 18 Comparison of predicted and actual values when used NIR model to evaluate Leucine value in soybean flour.

Samples	Method to determine Leucine		d	d^2
	Reference Method	NIR Prediction	(x-y)	$(x-y)^2$
	X	Y		
1	3.17	2.75	0.42	0.18
2	3.15	2.80	0.36	0.13
3	6.70	6.65	0.05	0.00
4	6.71	6.58	0.13	0.02
5	7.12	6.76	0.36	0.13
6	7.08	6.90	0.18	0.03
7	8.42	8.15	0.27	0.07
8	8.47	8.04	0.43	0.19
9	7.39	7.46	-0.07	0.01
10	7.83	8.03	-0.20	0.04
Total	66.04	64.12	1.92	0.79

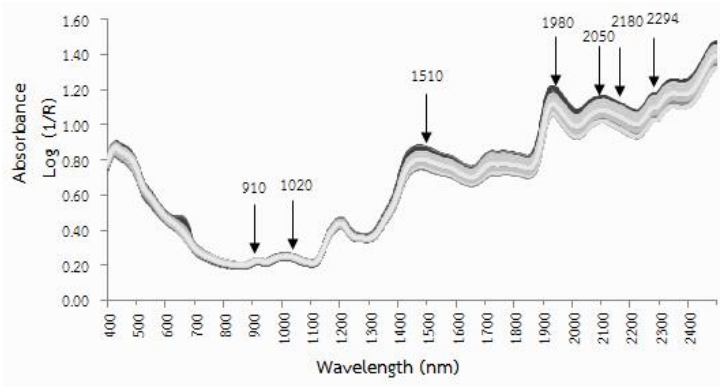

Figure 1 The original NIR spectra of soybean grains of 400-2500 nm.

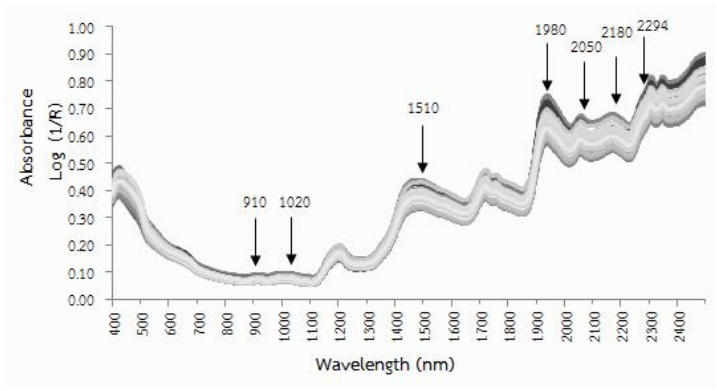

Figure 2 The original NIR spectra of soybean flours of 400-2500 nm.

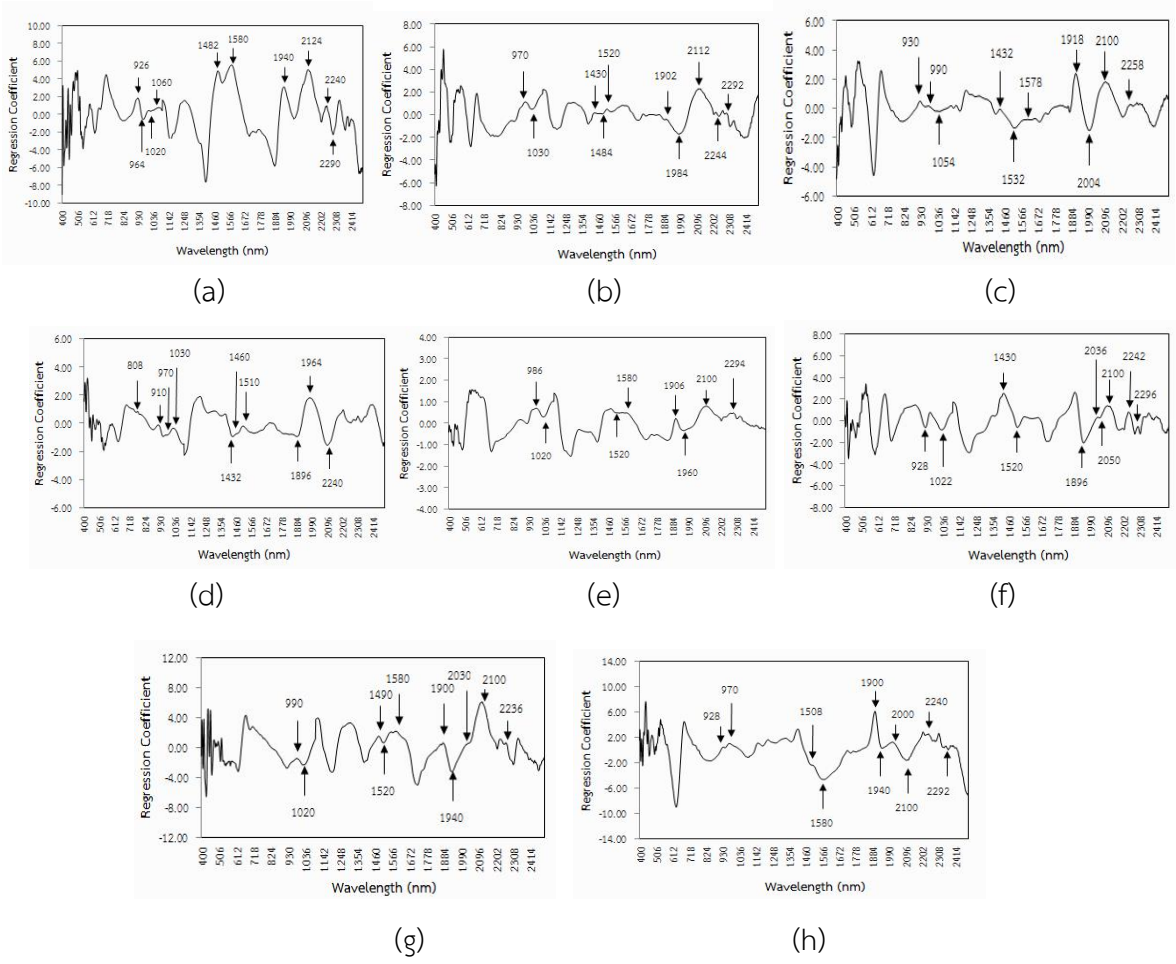

Figure 3 Regression coefficient plots to evaluate Threonine (a), Tryptophan (b), Methionine (c), Valine (d), Phenylalanine (e), Isoleucine (f), Lysine (g), Leucine (h) values in soybean grains.

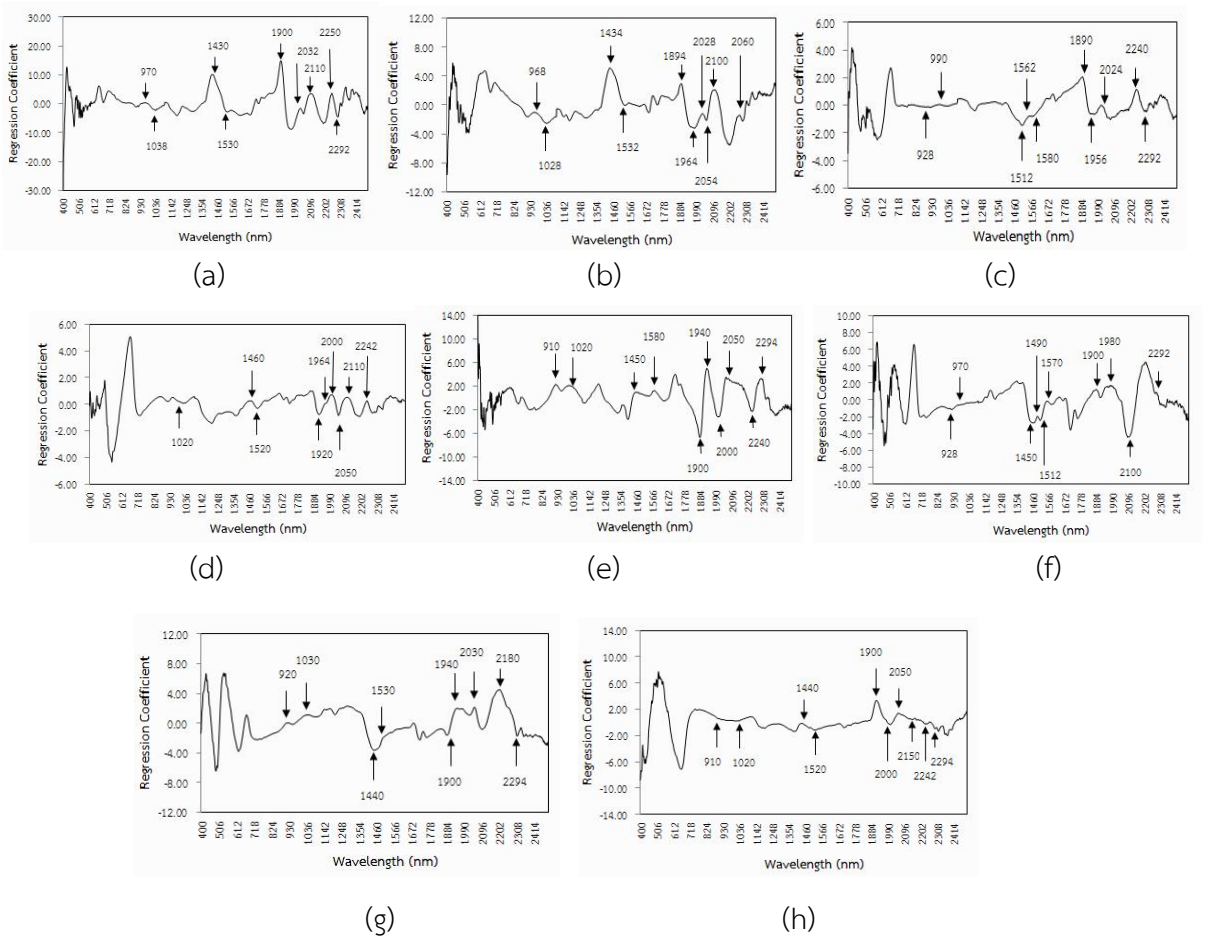

Figure 4 Regression coefficient plots to evaluate Threonine (a), Tryptophan (b), Methionine (c), Valine (d), Phenylalanine (e), Isoleucine (f), Lysine (g), Leucine (h) values in soybean flours.

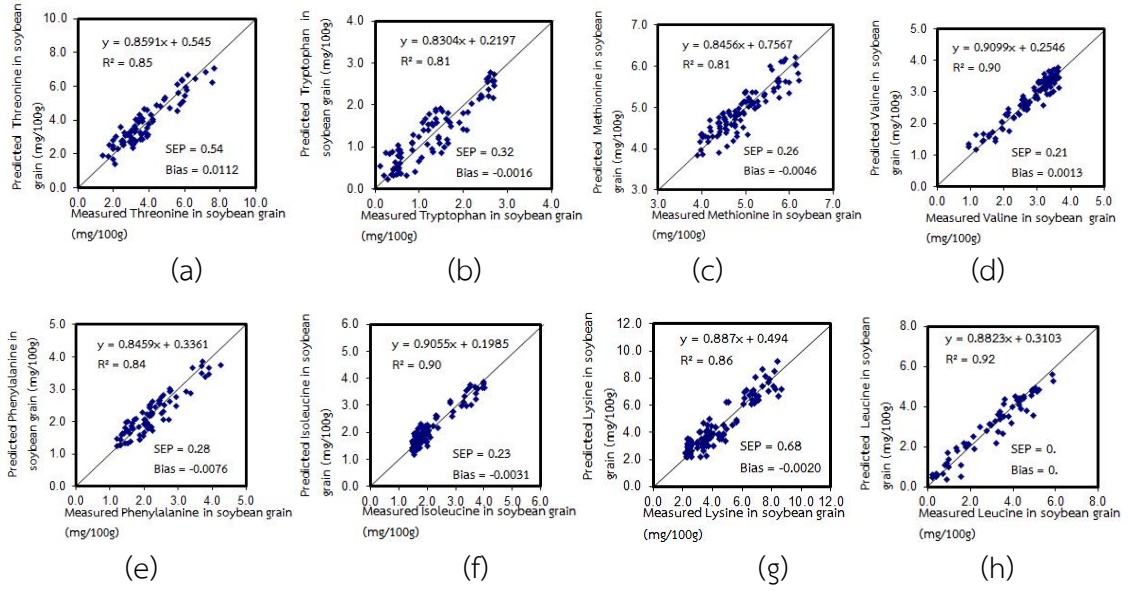

Figure 5 Scatter plots of actual Threonine (a), Tryptophan (b), Methionine (c), Valine (d), Phenylalanine (e), Isoleucine (f), Lysine (g), Leucine (h), value in soybean grains (mg/100g) vs. NIR predicted essential amino acids value

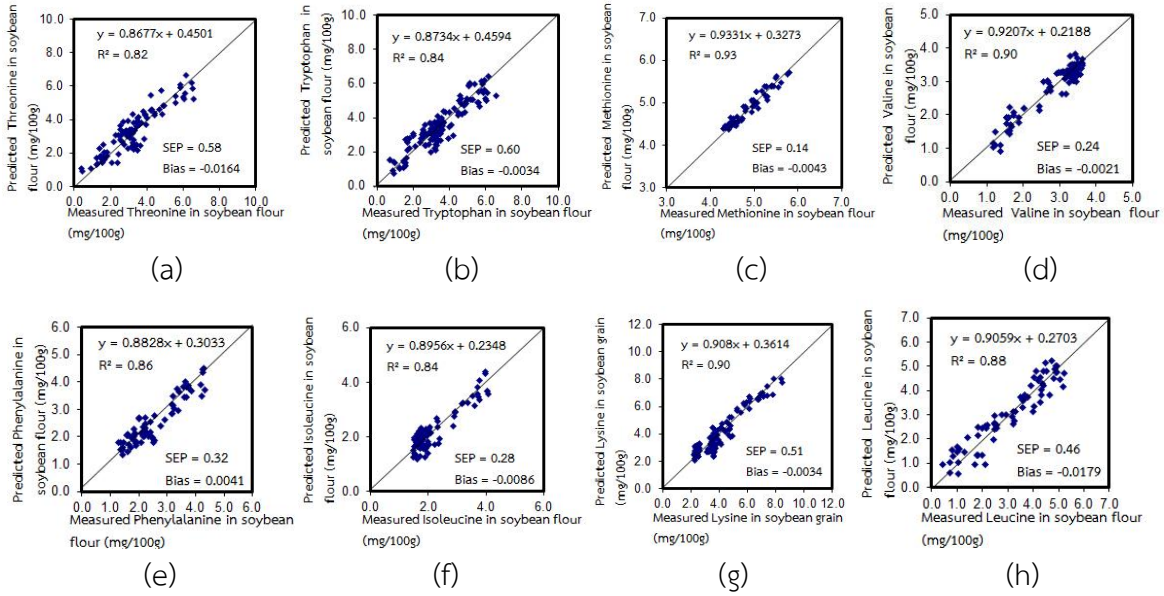

Figure 6 Scatter plots of actual Threonine (a), Tryptophan (b), Methionine (c), Valine (d), Phenylalanine (e), Isoleucine (f), Lysine (g), Leucine (h), value in soybean flours (mg/100g) vs. NIR predicted essential amino acids value