บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่วเหลือง (Soybean, *Glycine max* (L.) Merrill)

ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรและหน่วยงานราชการอื่นๆ เช่น มหาวิทยาลัยต่างๆ มีพันธุ์ถั่วเหลืองที่รับรองและแนะนำให้เกษตรกรปลูกหลายพันธุ์ ซึ่งพันธุ์ต่างๆเหล่านั้น เกษตรกรที่เคยปลูกถั่วเหลืองมาช้านานแล้ว จะสามารถเลือกพันธุ์ที่เหมาะสมกับฤดูปลูก และสถานที่ปลูกได้ด้วยประสบการณ์ของเกษตรกรเอง สำหรับพันธุ์ถั่วเหลืองทั้งหมดสามารถจำแนกได้ตามลักษณะอายุเก็บเกี่ยวได้ 3 กลุ่ม (ศุภชัย, 2534; สมศักดิ์, 2542) ดังนี้

2.1.1 พันธุ์อายุเก็บเกี่ยวสั้น ขณะนี้มีพันธุ์เชียงใหม่ 2 ที่สามารถปรับตัวได้กว้าง ปลูกได้ทั้งฤดูแล้งและฤดูฝน อายุไม่เกิน 80 วัน และ พันธุ์นครสวรรค์ 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคราน้ำค้าง จึงไม่เหมาะที่จะปลูกทางภาคเหนือ เพราะมีอากาศหนาวเย็นในฤดูแล้ง

2.1.2 พันธุ์อายุเก็บเกี่ยวปานกลาง ขณะนี้มีพันธุ์ที่รับรองโดยกรมวิชาการเกษตร ที่สามารถใช้ปลูกได้ทั่วไปในเขตชลประทานอย่างกว้างขวางมากที่สุด คือ พันธุ์เชียงใหม่ 60 พันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 พันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและมีขนาดเมล็ดโตกว่าพันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 เล็กน้อย ส่วนอายุเก็บเกี่ยวพันธุ์เชียงใหม่ 60 มีอายุเบากว่าพันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 ประมาณ 3-5 วัน ส่วนเรื่องการทนทานต่อโรคนั้น พันธุ์เชียงใหม่ 60 ทนทานต่อโรคราสนิมมากกว่าพันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 ส่วนโรคราน้ำค้างและใบจุดนูน พันธุ์เชียงใหม่ 60 ค่อนข้างต้านทานแต่พันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 อ่อนแอต่อโรคทั้ง 2 นี้ แต่อย่างไรก็ตามในการปลูกถั่วเหลืองฤดูแล้ง โรคทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวมานี้มีปัญหาการระบาดน้อยมาก นอกจาก 3 พันธุ์ที่กล่าวมาแล้วยังมีพันธุ์สุโขทัย 2 ที่เหมาะสมสำหรับปลูกในเขตภาคเหนือตอนล่าง ได้เช่นกัน พันธุ์สุโขทัย 2 อ่อนแอต่อโรคราสนิม มีอายุเก็บเกี่ยวสั้นกว่าทั้ง 3 พันธุ์ แต่ต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง และโรคใบจุดนูน ผลผลิตสูง สีตาเมล็ดมีสีดำต่างจากพันธุ์เชียงใหม่ 60 สจ.4 และ สจ.5 ซึ่งตาเมล็ดมีสีน้ำตาล ในเรื่องความสามารถในการงอก พันธุ์เชียงใหม่ 60 จะมีจุดอ่อนกว่าทุกๆพันธุ์ ในสภาพที่ไม่เหมาะสมของพื้นที่ปลูก โดยเฉพาะในเรื่องความชื้นแฉะหรือแห้งเกินไป พันธุ์เชียงใหม่ 60 จะมีความแข็งแรงน้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ ลักษณะการเจริญเติบโต พันธุ์สุโขทัย 2 เป็นแบบกึ่งทอดยอด ส่วนพันธุ์เชียงใหม่ 60 พันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 เป็นแบบไม่ทอดยอด ลักษณะสีดอกพันธุ์เชียงใหม่ 60 มีดอกสีขาว ส่วนพันธุ์อื่นๆดอกสีม่วง (ตารางที่ 2.1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.3 พันธุ์ที่มีอายุเก็บเกี่ยวค่อนข้างยาว ขณะนี้ทางกรมวิชาการเกษตร ยังไม่มีพันธุ์รับรอง แต่ที่เกษตรกรนิยมปลูกมีอยู่ 3 พันธุ์คือ พันธุ์ มข.35 ซึ่งเป็นพันธุ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น เหมาะสำหรับปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่นที่จังหวัดขอนแก่น พันธุ์ มข.35 นี้มีดอกสีขาวเหมือนพันธุ์เชียงใหม่ 60 ผลผลิตสูงกว่า อายุยาวกว่า 7-10 วัน มีความสูงมากกว่า ลักษณะการเจริญเติบโตเป็นแบบไม่ทอดยอด เมล็ดสีเหลือง ตาสีดำ ขนาดเมล็ดใกล้เคียงกับพันธุ์เชียงใหม่ 60 ส่วนอีกพันธุ์หนึ่งคือพันธุ์ราชมงคล ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ค้นคว้าและพัฒนาพันธุ์ขึ้นมาโดยสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ลำปาง พันธุ์นี้เหมาะสมที่จะปลูกในจังหวัดลำปาง ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เชียงใหม่ 60 ความสูงใกล้เคียงกัน ขนาดเมล็ดโตกว่าเล็กน้อย ต้านทานโรคราน้ำค้างและโรคใบจุดนูน ส่วนอายุยาวกว่าพันธุ์เชียงใหม่ 60 ประมาณ 5-7 วัน

ตารางที่ 2.1 ลักษณะประจำพันธุ์ของถั่วเหลืองพันธุ์อายุเก็บเกี่ยวปานกลาง

ลักษณะ	สจ.4	สจ.5	สุโขทัย 1	เชียงใหม่ 60	สุโขทัย 2
ผลผลิตเฉลี่ย (กก./ไร่)	280	274	252	288	305
ผลผลิตเฉลี่ย (กก./ไร่) เฉพาะฤดูปลูก/แหล่งปลูก	-	297 (ในฤดูฝน)	323 (ฤดูฝนภาคกลางตอนบน)	-	308 (ภาคเหนือตอนล่าง)
น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	13-15	13-15	14-16	15-17	14-16
ความสูง (ซม.)	56	58	65	62	67
อายุเก็บเกี่ยว (วัน)					
- ฤดูแล้ง	112	112	105	109	105
- ฤดูฝน	93	92	84	87	84
สีโคนต้นอ่อน	ม่วง	ม่วง	ม่วง	เขียวอ่อน	ม่วง
สีดอก	ม่วง	ม่วง	ม่วง	ขาว	ม่วง
สีฝักแก่	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	เทา	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม
สีตาเมล็ดแก่	น้ำตาล	น้ำตาล	เทา	น้ำตาล	ดำ
รูปร่างใบ	กว้าง	กว้าง	แคบ	กว้าง	แคบ
ลักษณะยอด	ไม่ทอดยอด	ไม่ทอดยอด	กึ่งทอดยอด	ไม่ทอดยอด	ไม่ทอดยอด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.1 ลักษณะประจำพันธุ์ของถั่วเหลืองพันธุ์อายุเก็บเกี่ยวปานกลาง (ต่อ)

ลักษณะ	สจ.4	สจ.5	สุโขทัย 1	เชียงใหม่ 60	สุโขทัย 2
- ราสนิม	ทนทาน	ทนทาน	อ่อนแอ	ทนทาน	อ่อนแอ
- ราน้ำค้าง	อ่อนแอ	อ่อนแอ	อ่อนแอ	ทนทาน	ต้านทาน
- ใบจุดนูน	อ่อนแอ	อ่อนแอ	ต้านทาน	ต้านทาน	ต้านทาน
- ไวรัสใบด่าง	อ่อนแอ	อ่อนแอ	ต้านทาน	ต้านทาน	ต้านทาน
ความงอก ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์	ค่อนข้างสูง	ค่อนข้างสูง	ค่อนข้างสูง	ค่อนข้างต่ำ	สูง
ปีที่รับรองพันธุ์ (โดยกรมวิชาการเกษตร)	2519	2523	2529	2530	2538

ที่มา : สมศักดิ์, 2542

2.2 ลักษณะประจำพันธุ์และลักษณะดีเด่นต่างๆของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60

พันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นพันธุ์ที่ผสมพันธุ์ถั่วเหลืองระหว่างพันธุ์ William ซึ่งมีลำต้นแข็งแรง จำนวนฝักต่อต้นมากเป็นพันธุ์แม่ กับพันธุ์ สจ.4 ซึ่งเป็นพันธุ์มาตรฐานให้ผลผลิตสูง ทนทานต่อโรคราสนิมเป็นพันธุ์พ่อ ในปี พ.ศ. 2518 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และคัดเลือกได้สายพันธุ์ 7508-50-10 ภายหลังจากปลูกศึกษาเปรียบเทียบผลผลิต จนถึงปี พ.ศ.2529 ปรากฏว่า เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง และต้านทานต่อโรคราสนิมเหมาะที่จะให้เป็นพันธุ์มาตรฐานจึงได้รับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 30 กันยายน 2530 โดยกรมวิชาการเกษตร (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2539)

ลักษณะเด่น

- ต้านทานต่อโรคราสนิม
- ผลผลิตสูง 320 กก./ไร่
- ตอบสนองต่อปุ๋ยอัตราต่ำดีกว่าพันธุ์ สจ.5

แหล่งปลูกที่แนะนำ

- เขตภาคเหนือตอนล่างและภาคกลาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข้อจำกัด

- ไม่ชอบน้ำมากในช่วงเวลาปลูก
- ในฤดูแล้งควรให้น้ำก่อนปลูก แต่ไม่ควรให้น้ำขังในหลุมปลูกเพราะทำให้เมล็ดเน่าได้ง่าย

การผลิตถั่วเหลืองของไทยมี 2 ลักษณะ คือ การผลิตเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ และเพื่อการบริโภคและเลี้ยงสัตว์ โดยในการผลิตเมล็ดพันธุ์นั้นต้องเน้นการผลิตให้ได้เมล็ดถั่วเหลืองมีชีวิตและสามารถงอกได้เมื่อได้รับปัจจัยในการงอกที่เหมาะสม และตรงตามพันธุ์ ส่วนการผลิตเพื่อบริโภค และเป็นอาหารสัตว์นั้น เมล็ดไม่จำเป็นต้องมีชีวิตแต่จะเน้นคุณค่าทางโภชนาการ และความปลอดภัยต่อการบริโภค อย่างไรก็ตามในการผลิตทั้ง 2 ลักษณะ จำเป็นต้องใช้กระบวนการจัดการหรือวิทยาการก่อน และหลังการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตสูง และมีคุณภาพดี ตามวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้ (นิลุบล และ ละอองดาว, 2548)

การเลือกเมล็ดพันธุ์ดี จะต้องใช้เมล็ดพันธุ์จากหน่วยราชการ บริษัท หรือห้างร้านที่เชื่อถือได้ จะได้เมล็ดพันธุ์ที่ถูกต้องตรงตามพันธุ์ที่ต้องการ คุณสมบัติของเมล็ดพันธุ์ที่ดีต้องมีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่ต่ำกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ การใช้เมล็ดพันธุ์ดีปลูกจะมีผลต่อความสำเร็จในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองได้อีกทางหนึ่งเช่นกัน

2.3 ลักษณะต่างๆของถั่วเหลือง

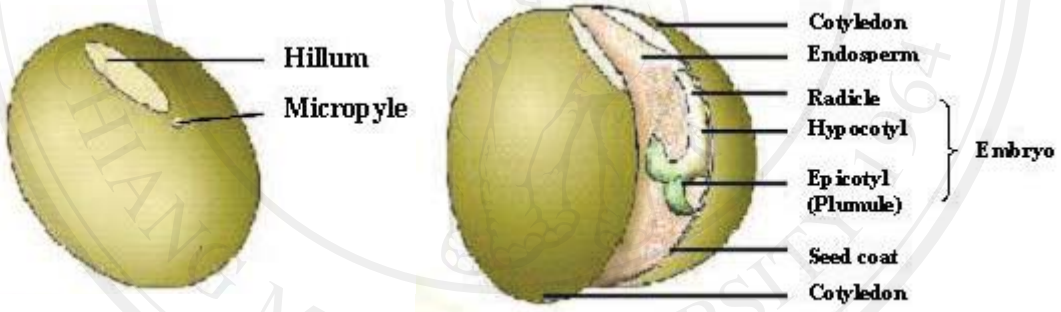
เมล็ดถั่วเหลืองเกิดขึ้นในฝัก ซึ่งฝักหนึ่งจะมีเมล็ดไม่เกิน 3 เมล็ด เมล็ดถั่วเหลืองมีลักษณะกลมรี คล้ายไต และหนักประมาณ 120-180 มิลลิกรัมต่อเมล็ด เมล็ดถั่วเหลืองส่วนใหญ่มีสีเหลืองฟาง มองจากภายนอกเมล็ด จะเห็นรอยแผลเป็น เรียกว่า ตา หรือขั้วเมล็ด หรือ hilum ซึ่งเป็นจุดที่เมล็ดติดกับฝัก และมีรูเล็กๆที่เป็นจุดที่เชื้อตัวผู้เข้าผสมกับไข่ เรียกว่า micropyle ถัดไปจะเป็นรอยนูนของ hypocotyls-radicle axis ปลายอีกด้านหนึ่งของ hilum จะเป็นร่องเล็กๆเรียกกันว่า raphe ซึ่งจะขนานยาวไปถึง chalaza ซึ่งเป็นจุดที่ integument ติดกับ ovule

เมล็ดถั่วเหลืองประกอบไปด้วยส่วนที่สำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ เปลือกเมล็ด (seed coat) ต้นอ่อน (embryo) และเนื้อเยื่อที่สะสมอาหาร (storage tissue หรือ supporting tissue) เปลือกเมล็ดนั้นเป็นส่วนนอกสุด ทำหน้าที่โอบอุ้มและห่อหุ้มส่วนประกอบภายใน ให้คงรูปเป็นเมล็ด เปลือกเมล็ดถั่วเหลืองนั้น เจริญมาจากส่วนของ integument ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อห่อหุ้ม ovule นอกจากเปลือกเมล็ดจะทำหน้าที่ห่อหุ้มเมล็ดส่วนที่อยู่ภายในไว้แล้ว ยังทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับส่วนที่อยู่ภายใน เช่น ใบเลี้ยง และต้นอ่อน ไม่ให้ถูกทำลายโดยเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย หากเปลือกเมล็ดชำรุดหรือถูกทำลาย โอกาสของการงอกของเมล็ดน้อยลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนที่สองที่มีความสำคัญอย่างยิ่งของเมล็ดถั่วเหลือง ได้แก่ ต้นอ่อน (embryo) หรือ embryonic axis ต้นอ่อนของถั่วเหลืองประกอบไปด้วยส่วนที่สำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ epicoty, hypocotyls และ radicle ซึ่ง radicle นั้นเป็นส่วนที่เจริญเติบโตเป็นราก hypocotyls จะยืดออกเมื่อเมล็ดงอก ทำหน้าที่ชูใบเลี้ยงขึ้นเหนือผิวดิน สำหรับ epicotyl จะกลายเป็นส่วนแรกของลำต้นและประกอบด้วยจุดเจริญ (growing point) (ภาพที่ 2.1) ซึ่งจะเติบโตเป็นต้นถั่วเหลือง ส่วนต่างๆ ของต้นอ่อนที่ได้กล่าวมาแล้วทั้งหมดนี้ อยู่ภายใต้เปลือกเมล็ดในตำแหน่งใต้ hilum

ส่วนที่สามที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของถั่วเหลือง ได้แก่ เนื้อเยื่อที่สะสมอาหาร (storage tissue หรือ supporting tissue) เนื้อเยื่อดังกล่าวได้แก่ ใบเลี้ยง (cotyledon) ซึ่งทำหน้าที่เก็บและจ่ายอาหารตลอดจนผลิตเอนไซม์ต่างๆให้แก่ต้นอ่อน ในลักษณะเดียวกันกับ endosperm ในเมล็ดข้าวโพด นอกจากนั้นในระยะหนึ่งสัปดาห์แรกของการเจริญเติบโต อาหารที่ใบเลี้ยงให้แก่ต้นอ่อนในระยะที่พืชเริ่มงอกได้จากอาหารเดิมที่เมล็ดเก็บไว้ และจากการปรุงอาหารของใบเลี้ยงอีกด้วย



ภาพที่ 2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดถั่วเหลือง
ที่มา: Michigan State University (2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

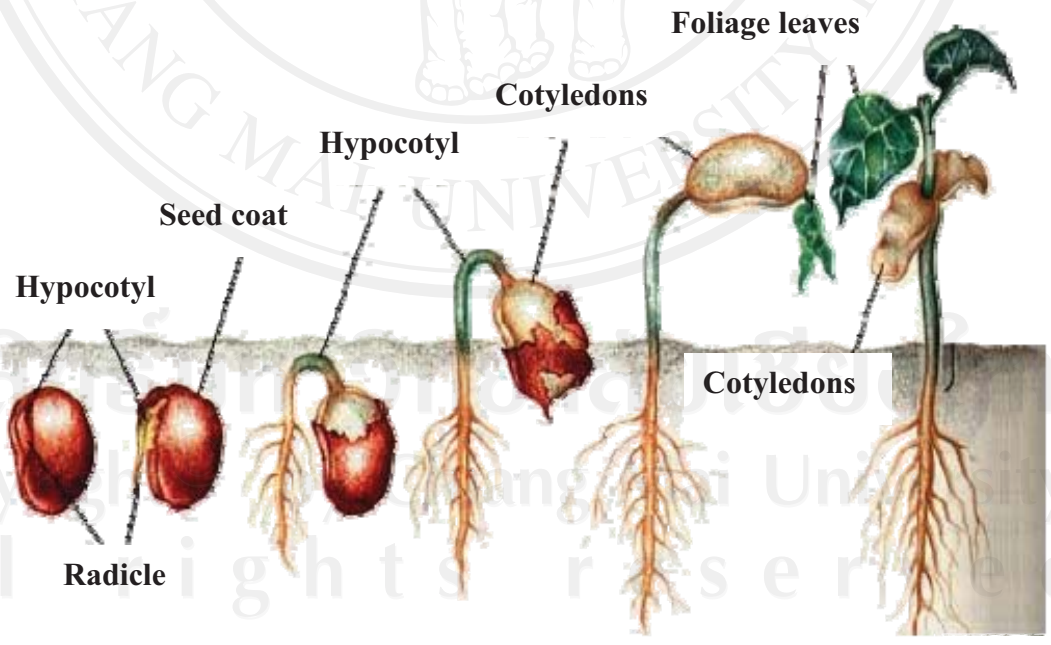
หากพิจารณาถึงส่วนต่างๆในเมล็ดถั่วเหลืองแล้ว ใบเลี้ยงเป็นส่วนเดียวในเมล็ดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและหนักที่สุดด้วยหากเมล็ดถั่วเหลืองมีขนาดเล็ก ก็หมายความว่าใบเลี้ยงก็จะเล็กด้วย ขณะเดียวกันหากเมล็ดถั่วเหลืองมีขนาดใหญ่ ใบเลี้ยงก็จะมีขนาดใหญ่ด้วย อาหารที่สะสมไว้ในใบเลี้ยงนี้ประกอบไปด้วยแป้ง โปรตีน และน้ำมัน หน้าที่สำคัญอย่างหนึ่งของใบเลี้ยง ได้แก่ การป้องกันต้นอ่อน ซึ่งอยู่ภายในใบเลี้ยงอีกทีหนึ่งด้วย (ชวารินทร์และคณะ, 2552)

2.3.1 การงอกของเมล็ด เมื่อเมล็ดได้รับความชื้นที่เหมาะสม radicle ก็จะเป็นส่วนแรกที่งอกออกมาจากเมล็ด โดยทะลุออกมาจากเปลือกเมล็ด และเจริญเติบโตกลายเป็นรากแก้ว (tap

root) ซึ่งจะงอกลงไปในดิน รากแขนง (lateral roots) ก็จะงอกออกจากรากแก้วอีกทีหนึ่ง ชั่วเวลา 4-5 วัน หลังจากเมล็ดงอกรากขนอ่อน (root hairs) ก็จะปรากฏขึ้นในปลายของรากแขนง สำหรับรากขนอ่อนนี้ จะทำหน้าที่ดูดซับน้ำและแร่ธาตุต่างๆจากดินเพื่อเลี้ยงต้นถั่วเหลืองซึ่งเจริญเติบโต

เป็นที่น่าสังเกตว่า รากแก้วของถั่วเหลืองนั้น จะไม่เจริญเติบโตในลักษณะที่ขยายขนาดจนใหญ่เป็นหัว และไม่ทำหน้าที่เก็บอาหารมากนัก ซึ่งผิดกับรากแก้วของพืชวงศ์ถั่วบางชนิด เช่น ถั่วอาหารสัตว์ได้แก่ อัลฟัลฟ่า (alfalfa. *Medicargo sative*) ในถั่วเหลือง ซึ่งเป็นพืชที่เจริญเติบโตเพียงปีเดียว (annual plant) รากแก้วจะทำหน้าที่เก็บกักอาหารสำรองก่อนส่งไปให้เมล็ดอีกทีหนึ่ง

หลังจากที่รากอ่อน (radicle) เจริญเติบโตกลายเป็นรากแก้วแล้ว ส่วนของไฮโปคอททิล (hypocotyls) ในต้นอ่อนจะค่อยๆยืดตัวออก จะยืดตัวในลักษณะของตะขอ ดันส่วนของใบเลี้ยงให้โผล่พ้นดิน (ภาพที่ 2.2) ใบเลี้ยงในขณะนั้นจะกลายเป็นสีเขียว เริ่มการปรุงอาหาร และในขณะเดียวกันก็ถ่ายเทอาหารที่สะสมให้ต้นอ่อนเพื่อการเจริญเติบโตต่อไป ในขณะที่อีพิคอททิล (epicoty)l ก็จะยืดตัวและชูใบอ่อนเพื่อรับแสง ความจริงแล้วใบอ่อนสองใบแรก หรือใบประกอบ (foliage leaves) ซึ่งโผล่ออกมาเมื่อใบเลี้ยง (cotyledon) คลี่กางนั้น ได้มีมาก่อนแล้วตั้งแต่เมล็ดยังไม่งอก หากแต่อยู่ในขนาดเล็กมากเท่านั้น



ภาพที่ 2.2 ลักษณะการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง
ที่มา : Cynthia (2008)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.4 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองจัดเป็นพืชตระกูลถั่วชนิดหนึ่งที่ใช้เมล็ดในการบริโภค โดยทั่วไปเมล็ดถั่วเหลืองจัดเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยโปรตีนประมาณ 17-34% นอกจากโปรตีนแล้วยังประกอบด้วยแป้ง ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามินต่างๆ ดังนี้

2.4.1 โปรตีน เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ สำหรับปริมาณโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ ของไทยอยู่ระหว่าง 34.4-43.6 % (ตารางที่ 2.2)

2.4.2 ไขมัน มีปริมาณไขมันประมาณ 18.7 % น้ำมันถั่วเหลืองเป็นไขมันไม่อิ่มตัว ส่วนใหญ่เป็น linoleic acids

2.4.3 แป้งและเถ้า ในส่วนของเถ้า (ash) มีธาตุที่สำคัญที่มีมากในเมล็ดถั่วเหลืองพอที่จะเป็นแหล่งโภชนาการสำคัญของธาตุนั้นๆ คือ ฟอสฟอรัส (500 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) แคลเซียม (245 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) เหล็ก (10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) เมล็ดถั่วเหลืองนับว่ามีคาร์โบไฮเดรตน้อย (26.7 กรัมต่อ 100 กรัม) เนื่องจากมีโปรตีนและไขมันในปริมาณสูง

2.4.4 วิตามิน เมล็ดถั่วเหลืองนับว่าเป็นแหล่งวิตามินที่สำคัญ โดยเฉพาะวิตามินไทอะมิน (thiamine) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) และไนอะซิน (niacin)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ

พันธุ์ถั่วเหลือง	โปรตีน (%)
สจ.4	43.6
สจ.5	41.8
ชม.60	39.4
นว.1	39.4
สท.1	34.4
สท.2	39.0
ชม.2	34.6
สจ.1	37.0
สจ.2	39.1
USA	37.4

ที่มา : มานิตย์และเพ็ญแข (2543)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5 การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

นอกจากจะเป็นพืชอาหารของมนุษย์และสัตว์โดยตรงแล้ว ยังมีส่วนสำคัญในอุตสาหกรรมต่อเนื่องอีกมากมาย เช่น ไก่สดแช่แข็ง ทำสี สบู่ เครื่องสำอาง หมึกพิมพ์ ตลอดจนยารักษาโรคอื่นๆ และปัจจุบันนี้เกษตรกรก็ได้หันมาปลูกถั่วเหลืองกันมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามก็ยังไม่เพียงพอกับความต้องการใช้ภายในประเทศ ซึ่งเกษตรกรจึงมีความต้องการเมล็ดพันธุ์ที่ดี มีคุณภาพสูง ในปริมาณที่มากขึ้นด้วย จากปริมาณการใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยเฉลี่ยของเกษตรกรในปัจจุบัน พบว่า เกษตรกรมีความต้องการเมล็ดพันธุ์จำนวน 31,884,000 กิโลกรัม แต่หน่วยงานของรัฐสามารถผลิตได้ประมาณ 4,628,000 กิโลกรัม หรือเพียงร้อยละ 14 เท่านั้น ส่วนที่เหลือเกษตรกรจะซื้อเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจากที่มีผู้นำมาบรรจุกระสอบขายทั่วไปตามท้องตลาด ซึ่งอาจมีปัญหาเกี่ยวกับคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ได้ และจากการที่เกษตรกรมีความต้องการเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงมากนั้น จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองไว้ปลูกในฤดูต่อไป

2.5.1 สิ่งที่ควรคำนึงในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์

1.ลักษณะของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองจัดเป็นพืชน้ำมัน องค์ประกอบส่วนใหญ่ในเมล็ดพันธุ์จึงเป็นโปรตีนและไขมัน ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจะต้องมีความระมัดระวังเป็นอย่างมาก เพราะความงอกและความแข็งแรงจะเปลี่ยนแปลง ลดต่ำลงได้อย่างรวดเร็ว

2. ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เก็บรักษา จากองค์ประกอบของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ทำให้ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เก็บรักษามีผลกระทบต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์มาก นอกจากนี้ยังมีผลทางอ้อมต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เนื่องจากปัจจัยอื่นๆ ด้วย เช่น เชื้อราและแมลง ในสถานที่เก็บเมล็ดพันธุ์ จากมาตรฐานเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองของกรมส่งเสริมการเกษตรจะกำหนดความชื้นของเมล็ดพันธุ์สูงสุดไว้ร้อยละ 12 ซึ่งตามหลักสากลได้กำหนดไว้ว่า หากความชื้นของเมล็ดพันธุ์ลดลงร้อยละ 1 จะเพิ่มอายุการเก็บรักษาได้ 1 เท่าตัว

3. สถานที่เก็บรักษา การเลือกสถานที่เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง มีความจำเป็นมาก เพราะถ้านำเมล็ดพันธุ์ไปเก็บในสถานที่ ที่มีความชื้นสูง ก็จะทำให้เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพลดต่ำลง สถานที่เก็บรักษาที่ดี จึงควรมีลักษณะคือ แห้ง และเย็น, สะอาด, อากาศถ่ายเทได้สะดวก ไม่ร้อนไม่อับชื้น, ป้องกันแดด และฝนได้, สามารถป้องกันนก หนู ปลวก มด และแมลงต่างๆไม่ให้เข้าไปกัดทำลายเมล็ดพันธุ์ได้, ไม่ใช้เป็นสถานที่เก็บปุ๋ย สารเคมี น้ำมันเชื้อเพลิง และของเหลวต่างๆ

4. ประเภทหรือชนิดของภาชนะที่ใช้บรรจุเมล็ดพันธุ์ ภาชนะที่ใช้บรรจุเมล็ดพันธุ์จะต้องมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับความชื้นของเมล็ดพันธุ์ และสภาพอากาศในสถานที่ใช้เก็บเมล็ด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พันธุ์ โดยทั่วไปภาชนะที่ใช้บรรจุเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ กระสอบป่าน ถุงพลาสติกสาน ถุงพลาสติกอับอากาศหรือกระป๋องปิดผนึก ซึ่งภาชนะแต่ละชนิดจะมีความเหมาะสมกับการใช้แตกต่างกันออกไป กระสอบป่านเป็นภาชนะที่สามารถถ่ายเทอากาศได้ดี จึงเหมาะสำหรับบรรจุเมล็ดพันธุ์ ที่มีความชื้นค่อนข้างสูง ซึ่งจำเป็นต้องลดความชื้นลงอีก ถุงพลาสติกสาน เป็นภาชนะที่ระบายอากาศได้ไม่ค่อยดีนัก ดังนั้น จึงเหมาะสำหรับ บรรจุเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นตรงตามมาตรฐานแล้ว สำหรับ ถุงพลาสติกปิดผนึก หรือ กระป๋องปิดผนึก เหมาะสมที่จะใช้บรรจุเมล็ดพันธุ์ ที่ต้องการเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานาน และเมล็ดพันธุ์ต้องมีการลดความชื้นให้ต่ำลงกว่ามาตรฐานทั่วไปที่กำหนด

5. ระยะเวลาที่ต้องการเก็บรักษา เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองส่วนมาก ไม่นิยมเก็บรักษาไว้นาน เนื่องจากมีอัตราการเสื่อมคุณภาพรวดเร็ว โดยเฉพาะในช่วงที่มีอากาศชื้นและอุณหภูมิสูง หากเกษตรกรต้องการเก็บเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองไว้ปลูกข้ามฤดู จะต้องเก็บเมล็ดไว้ในสภาพที่ควบคุมความชื้น และอุณหภูมิได้ ซึ่งต้องมีการลงทุนสูง ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง มักจะเก็บไว้ในระยะเวลาสั้นเพียง 1-2 เดือนเท่านั้น จากข้อควรคำนึงดังที่กล่าวมาแล้ว การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่ดี จะเป็นเพียงส่วนช่วยให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพช้าลงเท่านั้น แต่ทั้งนี้การดูแลรักษาที่ดี การจัดการที่เหมาะสม ตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวมาใช้เป็นพันธุ์ ปลูกตามขั้นตอนต่างๆ ล้วนจะต้องให้ความสำคัญเพื่อให้ได้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ดี มีคุณภาพสูงมาใช้เพาะปลูกต่อไป (อภิพรรณ, 2546)

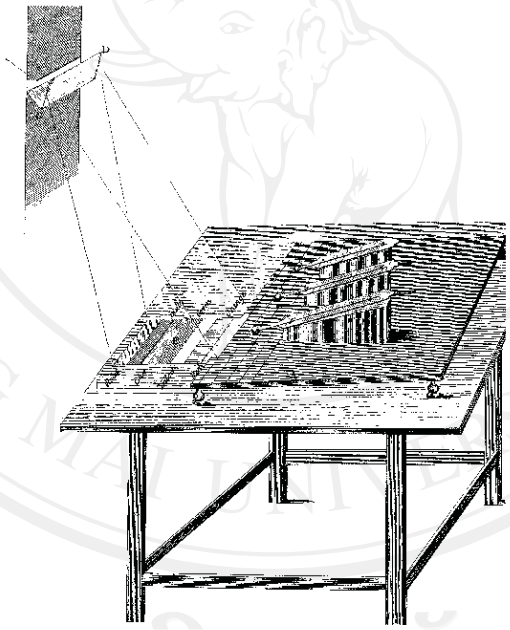
ในรายงานของสนิท (2524) พบว่า เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีความชื้น 8 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ความงอก 95 เปอร์เซ็นต์ บรรจุในถุงพลาสติกชนิดหนา เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 เดือน พบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ความงอกของเมล็ดที่มีความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ ต่ำกว่า 65 เปอร์เซ็นต์ หลังเก็บรักษาไว้ 6 เดือน ส่วนเมล็ดที่มีความชื้น 8 เปอร์เซ็นต์ มีความงอก 87 เปอร์เซ็นต์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ส่วน สลิลและคณะ (2526) ทำการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในถุงพลาสติกหนา ถุงพลาสติกบาง ถุงพลาสติกบาง 2 ชั้น ถุงไนลอน และ ถังพลาสติก เก็บรักษาในสภาพปกติ เมล็ดพันธุ์มีความชื้นเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ มีความงอกเริ่มต้น 96 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน มีความงอก 90 เปอร์เซ็นต์ ในทุกวิธีการ แต่หลังจากเก็บรักษา 6 เดือน ความงอกลดลง เหลือ 70 – 80 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Near infrared spectroscopy; NIRS)

2.6.1 ทฤษฎีของเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

รังสีเนียร์อินฟราเรดถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1800 โดย Sir William Herschel ซึ่งเป็นนักดาราศาสตร์ ท่านได้ศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของความร้อน (heating effect) ในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ ของแถบสเปกตรัม ที่เกิดจากการแยกแสงด้วยแท่งปริซึม และพบว่าผลกระทบของความร้อนเกิดขึ้นสูงสุดในแถบแสงที่อยู่ถัดไปจากแสงสีแดง (red end) แต่ไม่สามารถมองเห็นสเปกตรัม (spectrum) ได้ จึงเรียกช่วงรังสีที่เค้าค้นพบว่ารังสีย่านอินฟราเรด (infrared radiation) ดังภาพที่ 2.3 การค้นพบครั้งนี้ ถือเป็นครั้งที่ยิ่งใหญ่ เพราะรังสีอินฟราเรดประกอบได้ด้วย 3 ความยาวคลื่นที่สำคัญ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้แตกต่างกัน หนึ่งในนั้นก็คือช่วงรังสีอินฟราเรดย่านใกล้หรือเนียร์อินฟราเรด นั่นเอง (ศุมาพร, 2552)



ภาพที่ 2.3 ภาพวาดเครื่องมือที่ Sir William Herschel ใช้ขณะค้นพบรังสีอินฟราเรด
(Reproduced from “Philosophical transactions”, 90, (Plate XI), 292 (1800))

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

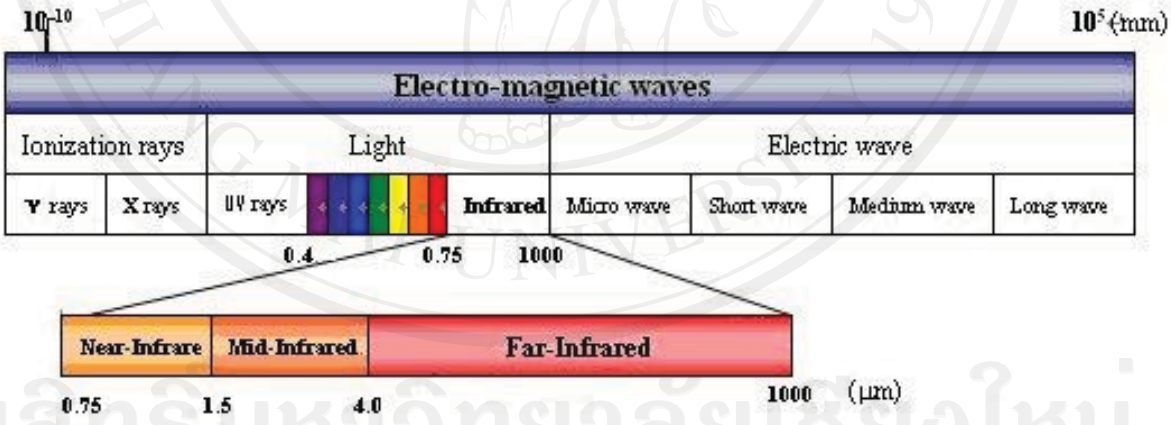
เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี เป็นการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างรังสีเนียร์อินฟราเรดกับสสาร สสารที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับรังสีเนียร์อินฟราเรด คือ สสารที่โมเลกุลประกอบด้วยพันธะโควาแลนซ์ (X-H) อะตอม X ได้แก่ C, O, N, S ฯลฯ อันตรกิริยาดังกล่าว คือ การที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีเนียร์อินฟราเรดเข้าไป ซึ่งจะมีผลต่อการสั่นของพันธะต่างๆในโมเลกุล ระดับการ

ดูดกลืนรังสีเนียร์อินฟราเรดของสสารที่ความยาวคลื่นต่างๆ จะปรากฏในสเปกตรัม NIR เพื่อนำไปประมวลผลในการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพต่อไป

รังสีเนียร์อินฟราเรด หมายถึง รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่จัดอยู่ในรังสีอินฟราเรด (IR radiation) โดยช่วงคลื่นอินฟราเรด (IR spectrum) สามารถแบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ เนียร์อินฟราเรด (NIR) อินฟราเรดย่านกลาง (Mid IR) และอินฟราเรดย่านไกล (Far IR) ตามลำดับ ภาพที่ 2.4

คลื่นแสงเนียร์อินฟราเรด (NIR) มีช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 800-2500 นาโนเมตร สามารถแบ่งช่วงความยาวคลื่นออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงคลื่นสั้นที่มีความยาวคลื่น 800-1100 นาโนเมตร เป็นช่วงที่มีพลังงานสูง สามารถทะลุทะลวงเข้าไปในเนื้อตัวอย่างได้ดี โดยทั่วไปสามารถทะลุเข้าไปได้ถึง 1 เซนติเมตร จึงมักนิยมใช้ช่วงคลื่นสั้นในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ข้อมูลต้องการอยู่ภายใน ได้แก่ ตัวอย่างประเภทผลไม้มีเปลือก โดยเฉพาะผลไม้เปลือกหนา เช่น มังคุด ส้มเปลือกหนา เป็นต้น ลำแสงจะผ่านเข้าไปยังเนื้อใน ทำให้ได้ข้อมูลสเปกตรัมเนื้อในของตัวอย่างสูงนั่นเอง

สำหรับช่วงคลื่นยาวที่มีความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร มีพลังงานต่ำกว่าช่วงคลื่นสั้น เนื่องจากเป็นช่วงที่แถบโอเวอร์โทนและคอมบิเนชันปรากฏ (Osborne *et al*., 1993)



ภาพที่ 2.4 ตำแหน่งรังสีเนียร์อินฟราเรดในแถบสเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า
ที่มา : Sang (2010)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.3 ตำแหน่งแถบในสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรดที่สำคัญ

Wavelength (nm)	Bond vibration	Structure
1143	C-H str.2nd overtone	aromatic
1152	C-H str.2nd overtone	CH_3
1170	C-H str.2nd overtone	HC = CH
1195	C-H str.2nd overtone	CH_3
1215	C-H str.2nd overtone	CH_2
1225	C-H str.2nd overtone	CH
1395	2xC-H str. + C-H def. combination	CH_2
1410	O-H str. + 1st overtone	ROH, oil
1440	O-H str.1st overtone	sucrose, starch
	C-H combination	CH_2
1450	O-H str.1st overtone	starch, H_2O
1510	N-H str.1st overtone	protein
1520	O-H str.1st overtone	$CONH_2$
	N-H str.1st overtone (intramol.H-bond)	ROH
1528	O-H str.1st overtone (intramol.H-bond)	starch
1540	O-H str.1st overtone (intramol.H-bond)	starch
1580	O-H str.1st overtone (intramol.H-bond)	starch, glucose
1725	C-H str. 1st overtone	CH_2
1765	C-H str. 1st overtone	CH_2
1900	O-H str. + 2xC-O str. Combination	starch
1930	O-H str. + H-O-H def. combination	starch, cellulose
1940	O-H bend 2nd overtone	H_2O
1960	O-H str.+ H-O-H def. combination	starch
1980	N-H asym.str. + amideII* combination	protein, $CONH_2$
2000	2x O-H def + C-O def. combination	starch
2050	N-H asym. str. + amideII* combination	protein
2055	N-H asym. str. + amideI* combination	protein
2060	N-H bend 2 nd overtone	protein
	N-H bend + N-H str. Combination	protein
2070	O-H combination	oil
2080	O-H str. + O-H def. combination	ROH, sucrose, starch
2100	2xO-H str. + 2xC-O str. Combination	starch
	C-O-O asym. str. 3rd overtone	starch, cellulose
2132	N-H str. + C=O str. Combination	amino acid
2140	C-H sym. Def.	oil, NC=CH

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Wavelength (nm)	Bond vibration	Structure
2180	N-H bend 2nd overtone	protein
	C-H str. + C=O str. Combination	protein
	C=O str. + amideIII* combination	protein
2252	O-H str. + O-H def. combination	starch
2276	O-H str. + C-C str. Combination	starch
2300	C-H bend 2nd overtone	protein
2310	C-H str. + C-H def. combination	CH_2
	C-H bend 2nd overtone	oil
2323	C-H str. + C-H def. combination	CH_2, starch
2380	C-H str. + C-C str. combination	oil
2461	C-H str. + C-C str. Combination	starch
2470	C-N-C sym. str. 1st combination	protein
2488	C-H str. + C-C str. Combination	starch, cellulose
2500	C-H str. + C-C str. combination	starch

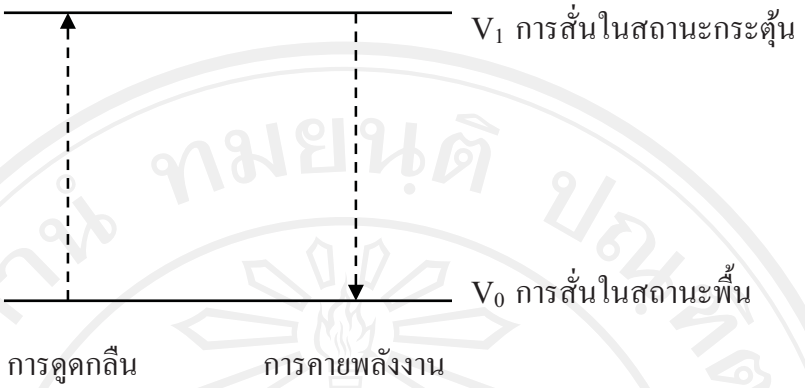
(ต่อ)

ที่มา: Osborne *et al*. (1993), Shenk *et al*. (2001), Williams and Norris (2001)

str. = stretch def. = deformation sym. = symmetric asym. = asymmetric
*amide I: C=H stretch. amide II: N=H in plane bend, C*N stretch. amide III: C-N stretch, N-H in plane bend

2.6.2 หลักการของสเปกโทรสโกปีการสั่น (Vibrational spectroscopy) จากทฤษฎีกลศาสตร์ควอนตัม อธิบายว่าโมเลกุลของสสารประกอบขึ้นด้วยอะตอมที่เชื่อมต่อกันด้วยการสร้างพันธะเคมี (chemical bonding) พันธะในโมเลกุลจะเกิดการสั่น (vibration) อยู่ตลอด เรียกการสั่นชนิดนี้ว่า การสั่นในสถานะพื้น (vibrational ground state) ด้วยความถี่ที่มีค่าเฉพาะ (quantized frequency) ถ้าในโมเลกุลเกิดอันตรกิริยากับรังสี NIR จะดูดกลืนรังสีที่มีความถี่ตรงกับความถี่ค่าเฉพาะ จนทำให้เกิดการสั่นในสถานะกระตุ้น (vibrational excited state) ระดับโอเวอร์โทน โมเลกุลไม่สามารถอยู่ในสถานะกระตุ้นได้ จึงต้องคายพลังงานออกมา เพื่อให้กลับคืนสู่การสั่นในสถานะพื้นตามเดิม เรียกปรากฏการณ์นี้ว่าทรานซิชั่น (transition) (ภาพที่ 2.5)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2.5 การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานการสั่น
ที่มา : ศุมาพร (2552)

โมเลกุลของสสารจะดูดกลืนรังสีในช่วงอินฟราเรดได้นั้น มีข้อกำหนดที่สำคัญ ดังนี้

1. พลังงานรังสีที่โมเลกุลดูดกลืนเข้าไป ต้องพอดีกับผลต่างของระดับพลังงานที่ทำให้เกิดทรานซิชั่นของการสั่น

2. พลังงานต้องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโมเมนต์ขั้วคู่ (dipole moment) ของโมเลกุล เรียกโมเลกุลเหล่านี้ว่า ไออาร์แอ็คทีฟ (IR-active) ได้แก่โมเลกุลที่ประกอบด้วยอะตอมต่างกัน ส่วนโมเลกุลที่ไม่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลขั้วคู่ได้ เรียก ไออาร์อินแอ็คทีฟ (IR-inactive) ได้แก่ โมเลกุลที่ประกอบด้วยอะตอมที่เหมือนกัน เช่น O_2 และ N_2 เป็นต้น

โมเลกุลจะมีความยาวพันธะเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา อันเนื่องมาจากการสั่นของพันธะตามธรรมชาติ ซึ่งมีอยู่ทั้งหมด 2 แบบ คือ การยืด (stretching) และการงอ หรือ การผิดรูป (bending or deformation)

1. การยืด เป็นการสั่นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความยาวระหว่างอะตอมที่สร้างพันธะกันแบบสมมาตร (symmetric stretching) และไม่สมมาตร (asymmetric stretching)

2. การงอ เป็นการสั่นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมุมระหว่างสองพันธะ มี 4 แบบ คือ การงอแบบกรรไกร (scissoring) การงอแบบโคลง (rocking) การงอแบบกระดิก (wagging) และการงอแบบบิด (twisting)

เมื่อแสงเนียร์อินฟราเรดส่องผ่านเข้าไปยังโมเลกุล คลื่นแสงที่ถูกดูดกลืนจะถูกใช้ไปเป็นพลังงานในการสั่นและการหมุนของโมเลกุลที่อยู่ในสถานะกระตุ้น (excited molecule) โดยทั่วไปแล้ว โมเลกุลที่ประกอบด้วย 2 อะตอม การสั่นจะเป็นการสั่นแบบยืดอย่างเดียว แต่ถ้า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โมเลกุลประกอบด้วยอะตอมมากกว่า 2 อะตอมขึ้นไป การสั่นจะเกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ เนื่องจากจะเกิดการสั่นแบบบิดด้วย ถ้าโมเลกุลไม่ได้มีโครงสร้างเป็นเส้นตรงและประกอบไปด้วยอะตอมจำนวน N อะตอม จะเกิดลักษณะการสั่นได้ 3N-6 แบบ แต่ถ้าโมเลกุลมีโครงสร้างเป็นเส้นตรงการสั่นจะเกิดได้เพียง 3N–5 แบบ เนื่องจากตัดการหมุนในแนวแกนพันธะออกไป (Osborne *et al*.,1993)

2.6.3 กระบวนการดูดกลืนรังสีเนียร์อินฟราเรด

กฎการดูดกลืนแสงที่เกี่ยวข้องกับสเปกโทรสโกปี คือ กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law) และกฎของเบียร์ (Beer's law)

1. กฎของแลมเบิร์ต "เมื่อมีแสงเดียวซึ่งก็คือแสงความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ไม่ขึ้นกับความเข้มของแสงที่ตกกระทบตัวกลางนั้น และความเข้มของแสงจะถูกแต่ละชั้นของตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน" อาจกล่าวได้ว่าเมื่อแสงความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียวกัน ความเข้มของแสงจะลดลงหรือเพิ่มขึ้น ขึ้นกับความหนาของตัวกลาง

2. กฎของเบียร์ "เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มแสงที่ถูกตัวกลางดูดกลืนไว้จะแปรโดยตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น" อาจกล่าวได้ว่า เมื่อโมเลกุลของสารแต่ละตัวเป็นอิสระต่อกันและไม่มีอิทธิพลจากตัวทำละลายจะทำให้สารดูดกลืนความเข้มแสงเท่ากัน

อย่างไรก็ตามการวัดการดูดกลืนแสง ปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นกับความเข้มข้นและความหนาของสารละลายที่ลำแสงผ่าน จึงมีการรวมกฎทั้งสองเข้าไว้ด้วยกัน เป็นกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law) ดังแสดงในสมการ (พิมล, 2525)

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = abc$$

$$T = \left(\frac{I}{I_0}\right)$$

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \log\left(\frac{1}{T}\right) = abc$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)

T = ค่าการส่องผ่านของแสง (transmittance)

a = Molar absorptivity of compound (cm^2/mol)

b = ความหนาของตัวอย่าง (cm)

c = ความเข้มข้นของสาร (mol/dm^3)

I_0 = ความเข้มแสงเริ่มต้น หรือความเข้มแสงก่อนส่องผ่านตัวอย่าง

I = ความเข้มแสงสุดท้าย หรือความเข้มแสงเมื่อผ่านตัวอย่าง

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ใช้ในการคำนวณหรือที่ได้จาก เครื่อง NIR จะเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่เทียบค่ากับค่าการดูดกลืนแสงของวัสดุอ้างอิง (reference) เช่น แผ่นเซรามิค ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงนี้จะเป็นค่าการดูดกลืนแสงสัมพัทธ์ (relative absorbance)

$$
\begin{aligned}
A_s^*(\lambda) &= \log[I_0(\lambda)/I_s(\lambda)] \\
A^*(\lambda) &= \log[I_o(\lambda)/I(\lambda)] \\
A(\lambda) &= \log[I_s(\lambda)/I(\lambda)] \\
&= \log[\{I_s(\lambda)/I_0(\lambda)\}\{I_0(\lambda)/I(\lambda)\}] \\
&= \log[I_0(\lambda)/I(\lambda)] - \log[I_0(\lambda)/I_s(\lambda)] \\
&= A^*(\lambda) - A_s^*(\lambda)
\end{aligned}
$$

เมื่อ $A^*s(\lambda)$ = ค่าการดูดกลืนแสงสัมบูรณ์ของวัสดุอ้างอิง (absorbance of reference)

$A^*(\lambda)$ = ค่าการดูดกลืนแสงสัมบูรณ์ของตัวอย่าง (absorbance of sample)

$A(\lambda)$ = ค่าการดูดกลืนแสงสัมพัทธ์ของตัวอย่าง (relative absorbance of sample)

$I_0(\lambda)$ = ความเข้มของแสงก่อนส่องผ่านตัวอย่างที่ความยาวคลื่น λ นาโนเมตร

$Is(\lambda)$ = ความเข้มของแสงหลังจากผ่านวัสดุอ้างอิงที่ความยาวคลื่น λ นาโนเมตร

$I(\lambda)$ = ความเข้มของแสงที่ส่องผ่านตัวอย่างที่ความยาวคลื่น λ นาโนเมตร

โมเลกุลที่สามารถดูดกลืนรังสีอินฟราเรด จะต้องมีลักษณะสำคัญ ดังนี้

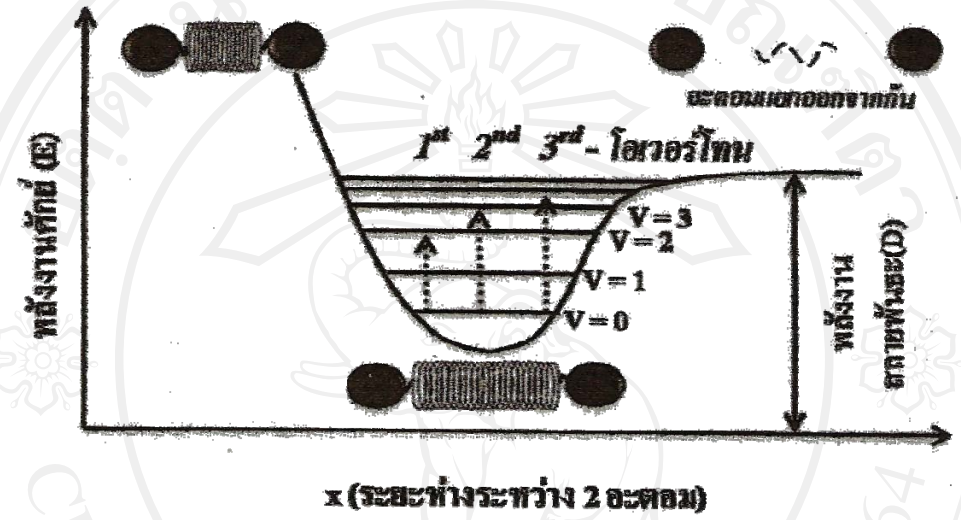
1. ประกอบด้วยพันธะ X – H; X ได้แก่ C, O, N, S

2. ควรมีคุณสมบัติผ่านตามกฎคัดเลือก (selection rule)

3. เกิดการสั่นแบบโอเวอร์โทน (overtone vibration) เป็นปรากฏการณ์ที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านใกล้เข้าไป ทำให้เกิดการทรานซิชั่นเปลี่ยนระดับพลังงานการสั่นจากระดับพื้น (v=0) ไปยังระดับกระตุ้นที่ 2, 3 ……. ขึ้นไป จะได้พีกที่เรียกว่าแถบโอเวอร์โทน มีลักษณะความเข้มต่ำฐานกว้าง ดังภาพที่ 2.6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. เกิดการสั่นแบบคอมบิเนชัน (combination vibration) หรือแบบรวม เกิดขึ้นเนื่องจากโมเลกุลหนึ่งๆ มีการสั่นได้หลายชนิดและเกิดขึ้นในเวลาพร้อมกัน บางครั้งการสั่นที่ต่างชนิดกันเกิดจากการรวมกันได้ จึงเกิดเป็นแถบคอมบิเนชันขึ้น



ภาพที่ 2.6 การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานการสั่นแบบโอเวอร์โทนของโมเลกุลที่ดูดกลืนรังสีเนียร์อินฟราเรดตามกฎการสั่นแบบแอนฮาร์โมนิก
ที่มา : ศุมาพร (2552)

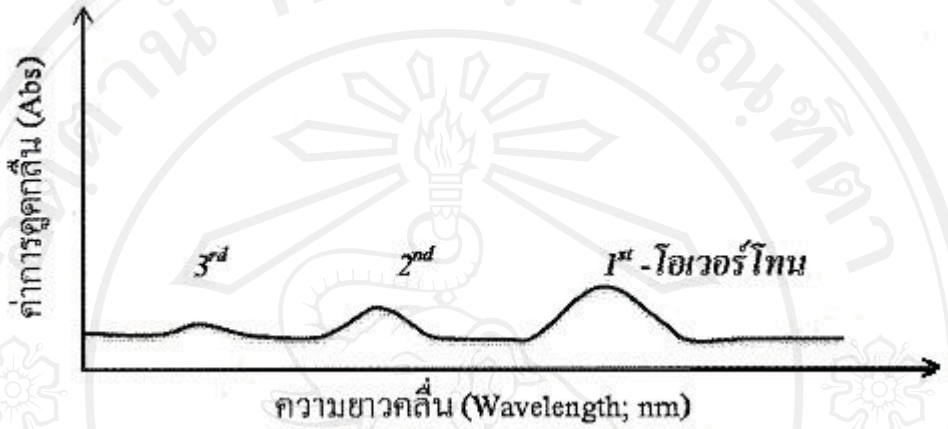
พีก (peak) หรือแถบ (band) การดูดกลืนระดับโอเวอร์โทน ที่พบในช่วงเนียร์อินฟราเรด เกิดจากการดูดกลืนพลังงานเข้าไปทำให้เกิดการทรานซิชันจากระดับพลังงานการสั่นที่สถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นมากกว่าเท่าตัว ดังนี้

การทรานซิชันจากระดับ $v = 0 \rightarrow v = 2$ เรียกโอเวอร์โทนระดับหนึ่ง (first overtone)
การทรานซิชันจากระดับ $v = 0 \rightarrow v = 3$ เรียกโอเวอร์โทนระดับสอง (second overtone)
การทรานซิชันจากระดับ $v = 0 \rightarrow v = 4$ เรียกโอเวอร์โทนระดับสาม (third overtone)

โดยทั่วไปแถบโอเวอร์โทนจะมีความเข้มหรือค่าการดูดกลืนต่ำ เมื่อเทียบกับพีกที่เกิดจากการเปลี่ยนระดับพลังงานพื้นฐาน ($v = 0 \rightarrow v = 1$) ถึง 10 และ 100 เท่าตัว โดยแถบโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งมีความเข้มสูงสุด รองลงมาคือโอเวอร์โทนอันดับสอง และสาม ตามลำดับ ดังนั้นเราจะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไม่สามารถสังเกตเห็น แถบโอเวอร์โทนอันดับสามขึ้นไป เนื่องจากมีความเข้มต่ำมาก ดังแสดงในภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนในแถบโอเวอร์โทนอันดับต่างๆ
ที่มา : ศุมาพร (2552)

2.7 เครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (near infrared spectrophotometer)

การทำงานของเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ อาศัยการดูดกลืนพลังงานในแต่ละช่วงคลื่นความยาว คลื่นของสารแต่ละชนิดมีไม่เท่ากัน ดังนั้นเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่จำเป็นที่จะต้องมีความสามารถในการแยกลำแสงออกเป็นทีละความยาวคลื่นได้ เพื่อที่จะใช้แสงความยาวนั้นส่องไปยังตัวอย่างและวัดค่าความเข้มของแสงที่สะท้อนออกมา เปรียบเทียบกับความเข้มของแสงที่ส่องเข้าไป (reflectance type) หรือวัดความเข้มของแสงที่ทะลุผ่านตัวอย่างเปรียบเทียบกับความเข้มของแสงที่ส่องเข้าไป (transmittance type) กระทำแบบนี้ทีละความยาวคลื่น และนำค่าความเข้มแสงที่ได้ในแต่ละความยาวคลื่นมาเขียนกราฟ โดยให้แกนนอนเป็นค่าความยาวคลื่น แกนตั้งเป็นค่าการดูดกลืนแสง จะได้กราฟการดูดกลืนแสงของตัวอย่างนั้นๆ หรือสเปกตรัม (spectrum) หลังจากนั้นข้อมูลจะถูกนำไปวิเคราะห์ต่อไป

วิธีง่ายที่สุดเพื่อที่จะแยกลำแสงออกเป็นแต่ละความยาวคลื่น คือ การใช้แท่งปริซึมแยกลำแสงสีขาวออกเป็นแถบสี หรือความยาวคลื่นต่างๆได้ ความยาวคลื่นช่วงเนียร์อินฟราเรด จะอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 700-2500 นาโนเมตร ซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

องค์ประกอบของเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรฟโตมิเตอร์ ประกอบด้วย ต้นกำเนิดแสง (light source) อุปกรณ์แยกแสงออกเป็นแต่ละความยาวคลื่นหรือโมโนโครเมเตอร์ (mono chromator) อุปกรณ์ใส่ตัวอย่าง (sample cell) ตัวรับแสง (detector or sensor) และคอมพิวเตอร์

หลักการสร้างเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ มีหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ การใช้หลักการของเทคนิคการแปลงฟูเรียร์ (fouriew transform technique) หลักการของ เกรตติ้งเคลื่อนที่ (moving gratings) หลักการของฟิลเตอร์เชิงแสง (optical filters) หลักการของแถวลำดับไอโอด (diode arrays) และหลักการของอคูสโตออปติกทูนเอเบิลฟิลเตอร์ (acousto-optic tunable filters; AOTF)

2.8 การเตรียมตัวอย่างและการเลือกอุปกรณ์ใส่ตัวอย่าง

2.8.1. การเตรียมตัวอย่าง

สำหรับการจัดวางตัวอย่างเพื่อวัดสเปกตรัมจะต้องคำนึงถึงลักษณะของตัวอย่าง ในการเลือกใช้อุปกรณ์ใส่ตัวอย่าง และต้องมีความเข้าใจโครงสร้างทางกายภาพของตัวอย่าง เมื่อนำมาใส่อุปกรณ์เพื่อวัดสเปกตรัมแล้ว ตำแหน่งของตัวอย่างที่ถูกวัดสเปกตรัมจะต้องเป็นตัวแทนของตัวอย่างนั้นๆได้ ซึ่งจะต้องควบคุมปัจจัยอื่นๆ ที่จะส่งผลกระทบต่อการกระเจิงแสง และการดูดกลืนแสง เช่น ขนาดอนุภาค ความแน่นตัวของตัวอย่าง ความชื้น อุณหภูมิ ความเป็นเนื้อเดียว ความแยกชั้น เป็นต้น ยกเว้นค่าทางเคมีที่เป็นค่าเป้าหมายในการทำนาย การเตรียมตัวอย่าง และการจัดวางตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมที่เหมาะสมจะช่วยลดผลกระทบจากปัจจัยต่างๆ และจะทำให้ได้สมการเทียบมาตรฐานที่เหมาะสมในการใช้งานต่อไป

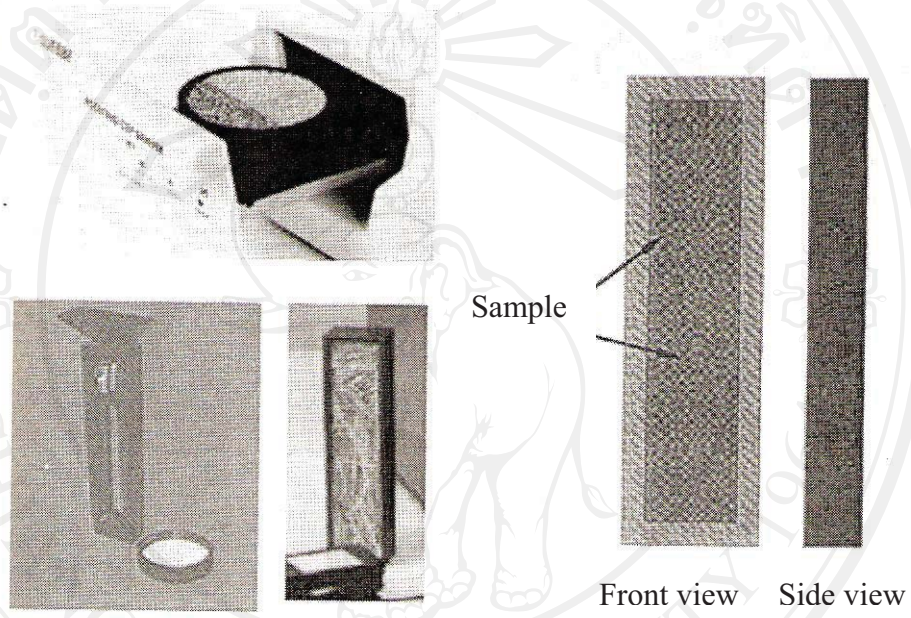
2.8.2 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่าง

2.8.2.1 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างสำหรับเมล็ดพืช (sample cell for whole grains)

อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างสำหรับเมล็ดพืช แสดงในภาพที่ 2.8 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างในภาพเป็นอุปกรณ์สี่เหลี่ยมยาวนั้นพัฒนาโดย NIRSystems สำหรับเครื่องมือรุ่น NIRS6500 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างแบบนี้มีส่วนที่ใช้สำหรับใส่ตัวอย่างที่มีขนาด 37 มิลลิเมตร (กว้าง) × 15 มิลลิเมตร (หนา) × 200 มิลลิเมตร (ยาว) สำหรับการวัดสเปกตรัมของตัวอย่างที่เป็นเมล็ดเต็มของข้าว หรือเมล็ดพืชชนิดต่างๆได้ การติดตั้งอุปกรณ์นี้ในเครื่องมือจะติดตั้งในแนวดิ่ง ในขณะวัดค่าการดูดกลืนแสง NIR ของตัวอย่าง อุปกรณ์นี้จะถูกเคลื่อนที่ขึ้นและลงอย่างช้าๆ เพื่อชดเชยตัวอย่างที่มีลักษณะไม่เป็นเนื้อเดียวกัน โดยทั่วไปตัวอย่างจะถูกสแกน 30 ถึง 50 รอบ สำหรับการวัด NIR ครั้งหนึ่งๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างที่เป็นเมล็ดอีกแบบหนึ่งเป็นแบบที่ใช้กับเครื่อง InfraAlyzer 500 อุปกรณ์นี้เป็นจานกลมที่เห็นในรูปที่ 2.8 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 85 มิลลิเมตร และมีความหนาหรือความลึก 12 มิลลิเมตร ในขณะสแกน อุปกรณ์นี้จะหมุนตัวอย่างในอุปกรณ์ และเนื่องจากอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างถูกออกแบบให้แสงที่ส่องมายังตัวอย่างเยื้องศูนย์กลางกับอุปกรณ์ ดังนั้นในขณะที่ถูกสแกน ตัวอย่างจะถูกส่องแสงเป็นวงแหวน ทำให้ได้พื้นที่ในการสแกนได้มากขึ้น

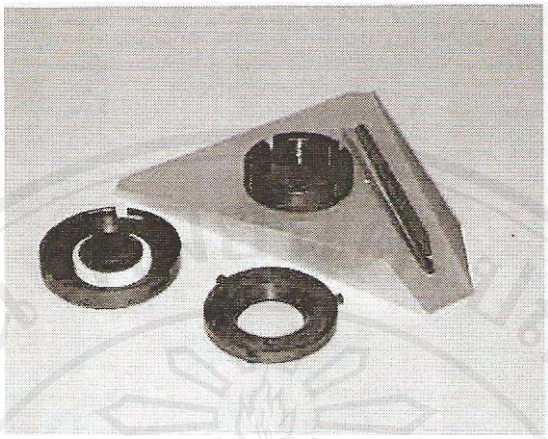


ภาพที่ 2.8 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างสำหรับเมล็ดธัญพืช
ที่มา : ศิวลักษณ์ และ อนุพันธ์ (2552)

2.8.2.2 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างแบบผง

อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างแบบผงมีหลายแบบ และมีโครงสร้างคล้ายๆกัน ภายในอุปกรณ์ด้านล่างจะมีแผ่นยางที่ยื่นออกมาโดยเฉพาะติดอยู่ แผ่นยางนี้จะทำหน้าที่กดตัวอย่างให้แนบกับผิวกระจกควอทซ์ของอุปกรณ์ด้านบน เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีความหนาแน่นการบรรจุอัดตัวที่คงที่ ภาพที่ 2.9 เป็นอุปกรณ์ที่ออกแบบมาให้ใช้กับเครื่อง InfraAlyzer 500 มีลักษณะเป็นถาดพลาสติกกลมสีดำเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 เซนติเมตร หนาหรือลึก 1 เซนติเมตร มีกระจกทำด้วยควอทซ์ด้านบน แบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนล่างที่มีแผ่นยาง และส่วนบนที่เป็นกระจกควอทซ์

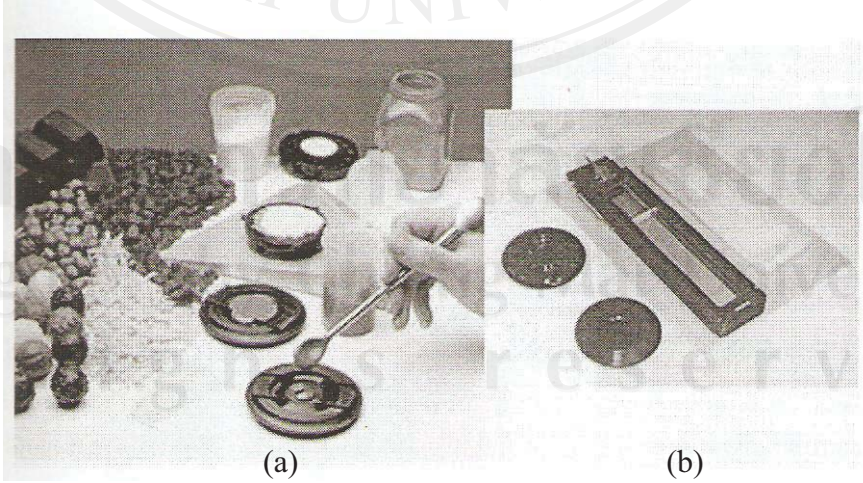
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2.9 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างแบบผง
ที่มา : ศิวลักษณ์ และ อนุพันธ์ (2552)

2.8.2.3 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างที่มีลักษณะคล้ายแป้งเปียก (sample cell for paste)

เป็นอุปกรณ์สำหรับใส่ตัวอย่าง เช่น แป้งโด เนื้อบด แยมผลไม้ เป็นต้น มีลักษณะเป็นถาดกลมเปิดเรียกว่า ถาดเปิด (open cup) หรือบางทีเรียกว่า ถาดอิตาเลียน (Italian cup) ใช้กับการสแกนตัวอย่างแบบสะท้อน ถูกออกแบบมาใช้งานเฉพาะกับเครื่อง InfraAlyzer 500 (ภาพที่ 2.10 a) ส่วนอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างอีกแบบหนึ่งที่เป็นสี่เหลี่ยม ใช้สำหรับการสแกนแบบส่องผ่านสำหรับวัสดุที่มีไขมัน/ความชื้นสูง (high fat/high moisture cell) ถูกออกแบบมาใช้งานกับเครื่อง NIRS6500 (ภาพที่ 2.10b)



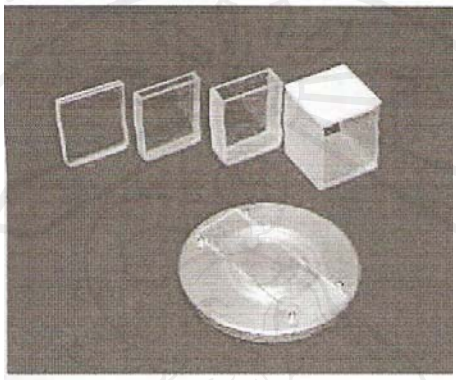
(a) (b)

ภาพที่ 2.10 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างที่มีลักษณะคล้ายแป้งเปียก
ที่มา : ศิวลักษณ์ และ อนุพันธ์ (2552)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8.2.4 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างสำหรับของเหลว (sample cell for liquid)

ในการวัดแบบส่องผ่านตัวอย่าง อาจใช้อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างที่เป็นคิวเวทเซลทำด้วยควอทซ์ (quartz cuvette cell) ซึ่งมีหลายขนาด (ภาพที่ 2.11) เป็นอุปกรณ์ที่นิยมในการวัดตัวอย่างที่เป็นของเหลว เช่น น้ำ แอลกอฮอล์ และน้ำผลไม้ เป็นต้น การเลือกความหนาของ cuvette cell สำหรับการวัดตัวอย่างขึ้นอยู่กับย่านความยาวคลื่น และชนิดของตัวอย่าง

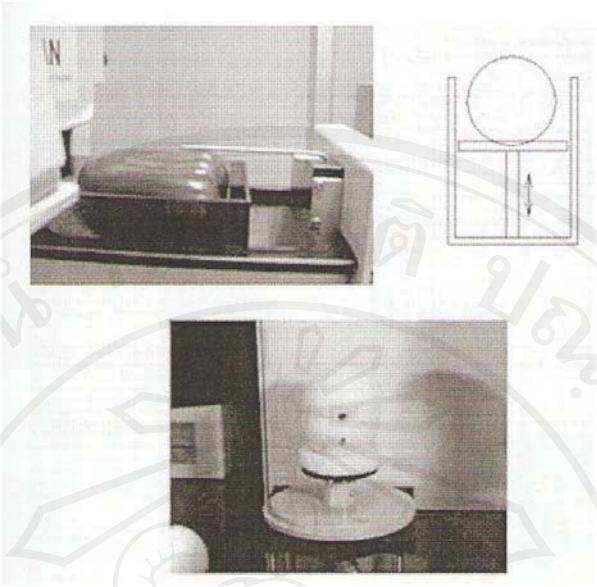


ภาพที่ 2.11 อุปกรณ์ใส่ตัวอย่างสำหรับของเหลว
ที่มา : ศิวลักษณ์ และ อนุพันธ์ (2552)

2.8.2.5 อุปกรณ์สำหรับผลไม้ (fruit holder)

ในกรณีที่ตัวอย่างมีขนาดใหญ่ เช่น ผลไม้ทั้งผล การวัดสเปกตรัม สามารถทำได้โดยใช้อุปกรณ์สำหรับผลไม้ ที่ออกแบบมาโดยเฉพาะ (ภาพที่ 2.12) ซึ่งใช้สำหรับการวัดแบบอินเตอร์แอคชั่น (interaction) ร่วมกับหัววัดแบบไฟเบอร์ออฟติก (fiber optic) หัววัดดังกล่าวเป็นแบบที่มีส่วนให้แสงเป็นวงแหวนรอบนอก และส่วนที่รับแสงเป็นวงแหวนรอบใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2.12 อุปกรณ์วางผลไม้
ที่มา : ศิวลักษณ์ และ อนุพันธ์ (2552)

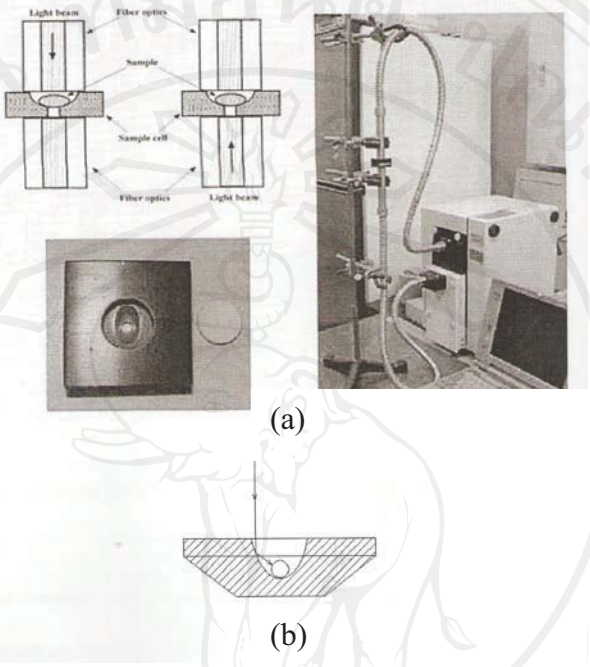
2.8.2.6 อุปกรณ์สำหรับเมล็ดพืชแบบเมล็ดเดี่ยว (sample holder for single kernel)

ในการวัดสเปกตรัมของตัวอย่างที่มีขนาดเล็ก เช่น เมล็ดพืชเมล็ดเดี่ยวนั้น ต้องใช้อุปกรณ์วางเมล็ดเดี่ยว ที่ได้รับการออกแบบมาโดยเฉพาะ อุปกรณ์วางเมล็ดพืชเมล็ดเดี่ยว (ภาพที่ 2.13) พัฒนาโดย Delwiche (1993) มีลักษณะเป็นอุปกรณ์หนีบ โดยการวางเมล็ดเดี่ยวที่ต้องการวัดครั้งละเมล็ดลงบนอุปกรณ์ ซึ่งเมล็ดจะถูกล็อคตำแหน่งไว้ และมีการวางตัวที่แน่นอน เมื่อส่องแสงแบบคลื่นเดี่ยว (monochromatic light) แสงจะทะลุผ่านเมล็ดพืชลงไปยังอุปกรณ์วัดด้านล่าง

อุปกรณ์วางเมล็ดข้าว ก็ถูกออกแบบให้ใช้ร่วมกับหัววัดไฟเบอร์ออฟติก ในโหมดการวัดแบบส่องผ่านสำหรับเครื่อง NIRS6500 (Rittiron *et al*., 2004) โดยมีลักษณะดังในภาพที่ 2.13a โดยอุปกรณ์วางเมล็ดข้าวญี่ปุ่นมีลักษณะเป็นร่องวงรีเจาะรูให้แสงผ่านได้ตรงกลาง ติดตั้งอยู่ระหว่างไฟเบอร์ออฟติกที่เป็นหัวให้แสงและหัววัดแสงที่ส่องผ่าน สำหรับเครื่อง InfraAlyzer 500 ก็มีอุปกรณ์วางเมล็ดเดี่ยวเช่นเดียวกัน โดยมีลักษณะเป็นถ้วยมีหลุมตรงกลางใช้สำหรับการวัดแบบสะท้อน เมล็ดพืชจะถูกวางที่ก้นหลุม โดยแสงจะถูกส่องจากทางด้านบนและสะท้อนที่ผิวด้านข้างของหลุมลงมาจนโฟกัสที่ตำแหน่งสูงจากก้นหลุมตามที่กำหนด โดยที่ด้านใต้ของถ้วยจะระบุขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดพืชที่สามารถใช้ได้ อุปกรณ์วางเมล็ดเดี่ยวแบบถ้วยนี้ (ภาพที่ 2.13b)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สามารถนำมาใช้วัดเมล็ดข้าวไทยได้ แต่เมล็ดข้าวไทยมีความยาวทำให้ไม่สามารถวางลงไปที่ก้นถ้วยในแนวนอนได้ จึงต้องตัดปลายเมล็ดข้าวหัวท้าย เพื่อให้แสงที่ส่องจะได้โฟกัสที่กลางเมล็ดข้าวพอดี อย่างไรก็ตามตัวอย่างข้าวที่จะนำมาวัดในอนาคตก็จะต้องตัดหัวท้ายเช่นเดียวกัน



(a)

(b)

ภาพที่ 2.13 อุปกรณ์วางเมล็ดเดี่ยว
ที่มา : Rittiron *et al*. (2004)

2.9 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการวิเคราะห์ NIRS (factors affecting near-infrared spectroscopic analysis)

ความคลาดเคลื่อน คือ ค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่คำนวณได้จากสมการทำนายและค่าจริงที่ได้จากห้องปฏิบัติการ ปัจจัยที่ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการใช้เทคนิค NIR นั้นแบ่งได้เป็น 3 ส่วนคือ ปัจจัยที่เกิดจากตัวเครื่อง NIR ปัจจัยที่เกิดจากตัวอย่าง และปัจจัยจากตัวผู้วัด ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.4 ปัจจัยที่ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการใช้เทคนิค NIR

A. Instrument sources	B. Sample sources	C. Operational sources
1. *Wavelength scale 2. Photometric scale 3. *Instrument temperature control 4. Cell covers 5. *Relative humidity of atmosphere 6. *Instrument-instrument differences 7. *Sample presentation system	1. Chemical composition a. Interactions among constituents b. Influence of chemical constituents on physical condition material c. Moisture status of material 2. *Bulk density 3. *Physical texture of sample 4. External factors (weather, etc.) 5. *Sample temperature 6. *Ambient temperature 7. Conversion factors 8. Whole grain application a. Kernel (seed) size b. Path-length c. Sample access d. Color e. Moisture content f. Foreign material g. Temperature	1. Calibration practice a. Number of samples b. *Sample selection c. Accuracy of reference analysis 2. Sample preparation a. *Sampling and sub sampling b. *Grinder type c. *Grinder condition d. *Blending after grinding 3. Sample storage a. Before preparation b. After preparation 4. Sample cell loading a. Mixing b. *Packing c. *Cleanup between samples 5. *General carelessness

* an asterisk indicated that factor also affects precision.
ที่มา : อนุพันธ์ (2552)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.10 การปรับแต่งสเปกตรัมสำหรับการวิเคราะห์ (pretreatment of spectra for analyses)

น้ำเป็นองค์ประกอบหลักของผลิตผลเกษตรและโมเลกุลน้ำสามารถดูดกลืนแสง NIR ได้ดี ดังนั้นพีกขององค์ประกอบทางเคมีชนิดอื่นมักจะถูกบดบังด้วยพีกของน้ำ นอกจากนั้นสเปกตรัม NIR ยังเกิดจากการรวมกันของแถบโอเวอร์โทนและคอมบิเนชันของกลุ่มฟังก์ชันต่างๆ ทำให้สเปกตรัมมีความซับซ้อนมาก สเปกตรัมถูกทำให้มีความซับซ้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการกระเจิงแสงที่ส่งผลต่อการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันตามความยาวคลื่น ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง สัญญาณรบกวนของเครื่องมือ สภาพแวดล้อมและแหล่งความแปรปรวนอื่นๆ ทำให้การระบุความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงของกลุ่มฟังก์ชันเฉพาะทำได้ค่อนข้างยาก ดังนั้นในการดึงข้อมูลที่อยู่ในสเปกตรัมจะต้องใช้เทคนิคทางสถิติแบบพหุตัวแปร (multivariate statistical technique) หรือที่เรียกว่า เคโมเมทริกซ์ ซึ่งเป็นหลักการที่อาศัยหลักทางเคมีร่วมกับหลักทางสถิติในการวิเคราะห์ เทคนิคนี้เป็นการใช้การวิเคราะห์ความถดถอยร่วมกับการปรับสเปกตรัมก่อนที่จะวิเคราะห์ (อนุพันธ์, 2552) วิธีทางคณิตศาสตร์ที่นิยมใช้ในการแปลงข้อมูลสเปกตรัมได้แก่

2.10.1 การแปลงค่าด้วยวิธีอนุพันธ์ (derivative transformation) การหาค่าอนุพันธ์ของสเปกตรัม เป็นวิธีที่ใช้ประโยชน์ในการแก้ปัญหาการซ้อนทับกันของจุดยอดในสเปกตรัม และการเลื่อนขึ้นของสเปกตรัม ทั้งแบบเบสไลด์ออฟเซ็ต (slide offset) และเบสไลน์ชิพต์เชิงเส้น (base line shift) (อนุพันธ์, 2552) การแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (first derivative) สามารถลดปัญหาการเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ของค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัม ตลอดช่วงความยาวคลื่นตามแกน Y ทำให้เส้นสเปกตรัมเลื่อนมาชิดกัน แต่พีก (peak) ของสเปกตรัมยังมีฐานกว้าง จึงไม่สามารถแยกพีกออกจากกันอย่างชัดเจน ส่วนการแปลงข้อมูลด้วย อนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) จะทำให้เกิดการแยกของจุดยอดที่ซ้อนทับกัน สามารถลดผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมมีขนาดเพิ่มขึ้น ตลอดช่วงความยาวคลื่นตามแกน Y ที่ชัดเจนกว่าวิธีอนุพันธ์อันดับหนึ่ง และสามารถแยกพีกบนสเปกตรัม ที่ซ้อนทับกันออกจากกันได้ชัดเจนทำให้ทราบตำแหน่งความยาวคลื่น แต่สเปกตรัมที่ได้มีลักษณะหัวกลับลงมาด้านล่าง (Osborne, *et al*., 1993)

2.10.2 การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (multiplicative scatter correction; MSC) เป็นเทคนิคทางคณิตศาสตร์ ที่สร้างขึ้นมาเพื่อลดผลที่เกิดจากการกระเจิงของแสง (scattered light) ต่อสเปกตรัม NIR ที่ได้จากการวัดแบบการสะท้อนแพร่ (diffuse reflectance) และแบบส่องผ่าน (transmittance) โดยทั่วไปการกระเจิงแสงจะทำให้ความชันโดยรวมของสเปกตรัมเปลี่ยนไป ซึ่งเปรียบเสมือนว่าสเปกตรัมถูกทำให้หมุนรอบจุดที่ความยาวคลื่นต่ำสุดของสเปกตรัม (multiplicative effect) ถ้าสมมติให้สเปกตรัมเป็นเส้นตรง สเปกตรัมก็จะถูกทำให้ความชันแตกต่างไปจากเดิม หรือเหมือนกับเส้นตรงถูกหมุนไป MSC นั้นถูกสร้างขึ้นมาเพื่อให้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สามารถลดผลกระทบแบบผลคูณ (multiplicative effect) แต่ในทางปฏิบัติสามารถลดผลในแบบผลบวก (additive effect) ได้ด้วย หรือผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นหรือลดลงเท่ากันตลอดช่วงความยาวคลื่น (อนุพันธ์, 2552)

2.10.3 วิธีปรับสเปกตรัมให้เรียบ (smoothing) เป็นการหาค่าเฉลี่ยเคลื่อนที่ โดยมีการแทนค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความยาวคลื่นด้วยค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงความยาวคลื่นที่มีจุดศูนย์กลางของช่วงความยาวคลื่นตรงกับจุดที่ถูกแทนที่ จากนั้นเลื่อนไปหนึ่งช่วงความยาวคลื่น แล้วคำนวณซ้ำจนครบตลอดช่วงความยาวคลื่น ซึ่งสามารถลดปัญหาของสัญญาณรบกวนต่อค่าการดูดกลืนแสง โดยจะได้สเปกตรัมที่มีลักษณะเหมือนสเปกตรัมดั้งเดิม (original spectrum) แต่จะเรียบสม่ำเสมอกว่า (Katsumoto *et al*., 2001; Siesler *et al*., 2002)

2.11 การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน

2.11.1 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและการทดสอบความแม่นยำ (calibration and validation)

หากมีจำนวนตัวอย่างมากกว่า 100 ตัวอย่าง โดยทั่วไปจะแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการแคลิเบรชั่นหรือกลุ่มตัวอย่างแคลิเบรชั่น (calibration sample set) และกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการแคลิเบรชั่นหรือกลุ่มตัวอย่างแวลิเดชั่น (validation sample set) โดยมีแนวทางที่สำคัญ คือ พิสัยค่าทางเคมีของตัวอย่างในกลุ่มแคลิเบรชั่นต้องกว้างเพียงพอ ครอบคลุมตัวอย่างในกลุ่มแวลิเดชั่น และต้องมีจำนวนมากกว่า ดังนั้นควรเริ่มการแบ่งกลุ่มตัวอย่างด้วยการเรียงลำดับค่าทางเคมีจากน้อยไปมาก จากนั้นกำหนดตัวอย่างแรก (หรือ 2 ตัวอย่างแรก) และตัวอย่างสุดท้าย (หรือ 2 ตัวอย่างสุดท้าย) เป็นตัวอย่างในกลุ่มแคลิเบรชั่น ส่วนตัวอย่างที่เหลือจะสลับตามสัดส่วนที่ต้องการ (รณฤทธิ์, 2552)

การหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่แต่ละความยาวคลื่น กับค่าทางเคมี โดยทั่วไปมักใช้การวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ซึ่งมีหลายวิธี เช่น การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression: MLR) การถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (partial least square regression: PLSR) การถดถอยองค์ประกอบหลัก (principle component regression: PCR) เป็นต้น โดยวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในขณะนี้คือ PLSR และ PCR เนื่องจากโปรแกรมจะวิเคราะห์การถดถอย เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานอย่างอัตโนมัติ รวดเร็ว ทำให้ผู้ใช้มีความสะดวก อย่างไรก็ดี เพื่อให้สมการเทียบมาตรฐานมีความเสถียร และมีจำนวนตัวแปรที่เหมาะสม ผู้ใช้ควรตรวจสอบช่วงความยาวคลื่นที่ดีที่สุด ที่สอดคล้องกับการดูดกลืนแสง ขององค์ประกอบที่สนใจ ดังนั้นระหว่างการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน ผู้ใช้ควรลองปรับช่วงความยาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คลื่นที่ใช้ วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม และเงื่อนไขการปรับแต่งในแต่ละวิธี เช่น จำนวนจุดที่ใช้ในการคำนวณ หรือหาค่าเฉลี่ย เป็นต้น เพื่อให้ได้สมการเทียบมาตรฐานที่ดี (รณฤทธิ์, 2552)

2.11.2 การทดสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐาน สมการเทียบมาตรฐานขององค์ประกอบทางเคมี ที่สร้างจากการวิเคราะห์ถดถอย ด้วยการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีและเงื่อนไขต่างๆกัน ช่วงความยาวคลื่นต่างกัน ในแต่ละสมการสามารถเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายได้จากสมการ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation: R) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (standard error of calibration: SEC) จากนั้นทดสอบความแม่นยำของการทำนายด้วยกลุ่มตัวอย่างแวลิเดชัน สาเหตุที่ต้องใช้กลุ่มตัวอย่างใหม่สำหรับการทดสอบความแม่นยำของสมการแคลิเบรชันมีอยู่ 2 ประการ คือ ประการแรก ตรวจสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐาน ในการนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างใหม่ เพราะการวิเคราะห์การถดถอยจะพยายามสร้างสมการให้มีค่า R สูงสุด และ SEC ต่ำสุด ซึ่งอาจจะดีสำหรับกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานเท่านั้น แต่อาจไม่ดีสำหรับกลุ่มตัวอย่างอื่น ประการที่สอง เลือกสมการเทียบมาตรฐาน หากสมการเทียบมาตรฐานที่พัฒนาขึ้นมีค่า R และ SEC ใกล้เคียงกัน การตัดสินใจเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ถูกต้องอาจผิดพลาดได้ จึงต้องใช้กลุ่มตัวอย่างใหม่ในการทดสอบความแม่นยำ เพื่อให้ได้ค่าสถิติสำหรับการตัดสินใจเลือกสมการเทียบมาตรฐาน คือ ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายหรือค่าไบแอส (bias) และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบสมการ (standard error of prediction: SEP) (รณฤทธิ์, 2552)

ในการเลือกสมการเทียบมาตรฐาน มีหลักโดยทั่วไปคือ มักเลือกสมการที่ให้ค่า R สูง ค่า SEC, SEP และ Bias ต่ำ เมื่อเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดแล้ว การประเมินผลความสามารถของสมการเทียบมาตรฐาน สามารถอธิบายได้จากสัดส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าวิเคราะห์ทางเคมี และค่า SEP ของตัวอย่างในกลุ่มที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐาน (ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP: RPD) ตามตารางที่ 2.5 และ 2.6 (William, 2001)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.5 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า RPD

RPD	Classification	Application
0.0-2.3	very poor	not recommended
2.4-3.0	poor	very rough screening
3.1-4.9	fair	screening
5.0-6.4	good	quality control
6.5-8.0	very good	process control
8.1>	excellent	any application

ที่มา: Williams (2001)

ตารางที่ 2.6 การอธิบายความสามารถของสมการทำนายด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R)

R	Interpretation
± 0.5	not usable
± 0.51 – 0.70	poor correlation
± 0.71 – 0.80	rough screening
± 0.81 – 0.90	screening
± 0.91 – 0.95	usable with caution for most application,including research
± 0.96 – 0.98	usable in most applications, including quality assurance
± 0.99 >	usable in any application

ที่มา : Williams (2001)

2.12 การประยุกต์ใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีในเมล็ดพืช

Williams *et al.* (1985) เปรียบเทียบความแม่นยำและความเที่ยงตรงของระบบการวัดแบบส่องทะลุผ่าน สำหรับเมล็ดพืชหลายเมล็ดในการประเมินปริมาณโปรตีน และความชื้นในเมล็ดข้าวสาลี และบาร์เลย์ พบว่า SEP ของระบบการวัดแบบส่องทะลุผ่าน มีค่ามากกว่าระบบการวัดแบบสะท้อนกลับเล็กน้อย อย่างไรก็ดีการวัดแบบส่องทะลุผ่านมีข้อดีคือ ไม่ต้องบดตัวอย่าง สามารถลดความผิดพลาดจากการใส่ตัวอย่างในอุปกรณ์สำหรับวัดสเปกตรัม และการใช้จำนวนตัวอย่างมาก ยังทำให้ลดความผิดพลาดจากการสุ่มตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนในการประเมินคุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Rittiron *et al*. (2004) รายงานว่าศักยภาพของการวิเคราะห์โปรตีน และความชื้นสำหรับข้าวกล้องทีละเมล็ด โดยใช้หัววัดเส้นใยแก้วนำแสง ที่ออกแบบเฉพาะ ประกอบกับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ NIRSystems 6500 วัดสเปกตรัมในระบบส่องทะลุผ่าน ในช่วงความยาวคลื่นยาว (1100-2500 nm) และพัฒนาอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างสำหรับเมล็ดข้าว ได้ผลของระบบมีความแม่นยำเทียบเท่ากับวิธีมาตรฐาน ทำให้สามารถคัดเลือกเมล็ดข้าวที่มีคุณภาพตามที่ต้องการสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ และได้เสนอการใช้เทคนิค PCA ในการตรวจสอบความถูกต้องของตำแหน่งข้าวในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างสำหรับเครื่องวิเคราะห์ และคัดแยกคุณภาพข้าวทีละเมล็ดอย่างอัตโนมัติ

จากการประยุกต์ใช้เทคนิค NIR ในการประเมินคุณภาพเมล็ดพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งธัญพืชมาเป็นระยะเวลานาน ทำให้ปัจจุบัน มีการนำเทคนิคนี้มาใช้วิเคราะห์ประจำวัน (Osborne, 2000) ดังตัวอย่างในประเทศออสเตรเลีย McGrath *et al*. (1997) นำเทคนิค NIR มาใช้ทำนายความต้องการปุ๋ยที่เหมาะสมในการปลูกธัญพืช โดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและคาร์โบไฮเดรตในตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช เช่น ข้าว และข้าวสาลี ซึ่งช่วยให้เกษตรกรเข้าใจ และจัดการแปลงเพาะปลูกได้ถูกต้องมากขึ้น และชาวนาในประเทศนี้ ยังนำเทคนิคนี้มาใช้ตรวจสอบความชื้นของข้าวเปลือก เนื่องจากมีผลโดยตรงต่อคุณภาพและปริมาณผลผลิต โดยใช้ระบบการวัดแบบส่องทะลุผ่านของข้าวเปลือกหลายเมล็ด นอกจากนี้เทคนิค NIRS ยังได้รับการยอมรับให้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์คุณภาพของเมล็ดพืชหลายชนิดในองค์กรกำหนดวิธีมาตรฐาน เช่น โปรตีนและความแข็งของข้าวสาลี โปรตีนและน้ำมันในถั่วเหลือง และ โปรตีนและความชื้นในข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น (Delwiche *et al*., 1998)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved