



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมอาหาร)

ปริญญา

วิศวกรรมอาหาร

วิศวกรรมอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การประเมินคุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปี
อินฟราเรดย่านใกล้

Rapid Nutrition Assessment in Guava by Near Infrared Spectroscopy

نامผู้วิจัย นางสาวชลพร ชนานิรมิตผล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รณฤทธิ์ ฤทธิธิน, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์, วท.ด.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์รังสิณี โสธรวิทย์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การประเมินคุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปี
อินฟราเรดย่านใกล้

Rapid Nutrition Assessment in Guava by Near Infrared Spectroscopy

โดย

นางสาวดลพร ชนนารมิตผล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมอาหาร)

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดลพร ชนานิรมิตผล 2555: การประเมินคุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิค
สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมอาหาร)
สาขาวิศวกรรมอาหาร ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์รณฤทธิ์ ฤทธิธ, Ph.D. 148 หน้า

งานวิจัยนี้ต้องการสร้างระบบเพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งอย่างรวดเร็วกว่าวิธี
วิเคราะห์อย่างดั้งเดิมด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRs) ในผลฝรั่ง 68 สายพันธุ์ โดยแบ่งเป็นสอง
ระบบ ระบบแรกเป็นระบบการวิเคราะห์อย่างรวดเร็วและไม่ทำลายผลฝรั่งเพื่อการคัดเลือกผลฝรั่งในการ
ปรับปรุงพันธุ์ มีคุณภาพทางโภชนาการที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ปริมาณ total soluble solids (TSS) ปริมาณ total
phenolics ปริมาณคาเตชิน และปริมาณวิตามินซี ผลฝรั่งถูกนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR สเปกโตรมิเตอร์
แบบพกพา ในระบบการวัดแบบ Interactance ในช่วงความยาวคลื่น 700-1100 nm และเครื่อง FT-NIR
Spectrometer ในระบบการวัดแบบ Reflectance ในช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm จากนั้นนำตัวอย่างผลฝรั่งไป
วิเคราะห์คุณภาพทางโภชนาการ ด้วยวิธีใช้เครื่อง digital refractometer วิธี Folin Ciocalteu-based วิธี High
Liquid Chromatography (HPLC) และวิธีไตเตรท ตามลำดับ จากนั้นสมการเทียบมาตรฐานทำนายในระบบการ
วัดแบบ Interactance และระบบการวัดแบบ Reflectance ถูกสร้างด้วยวิธี Multiple Linear Regression (MLR)
โดยใช้โปรแกรม Ca Maker และวิธี Partial Least Square (PLS) regression โดยใช้โปรแกรม OPUS 6.5
ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างขึ้นด้วยวิธี MLR และวิธี PLS ทั้งหมดนี้
สามารถใช้เพื่อทำนายคุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งอย่างรวดเร็วได้ โดยไม่ทำลายตัวอย่าง

ระบบที่สองเป็นระบบการวิเคราะห์อย่างแม่นยำสูง แต่จะใช้ตัวอย่างในรูปของน้ำฝรั่ง โดยหาปริมาณ
TSS ปริมาณ และ total phenolics ด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer ที่ใช้ร่วมกับเซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัด
สเปกตรัมของสารละลายที่พัฒนาขึ้น ในระบบการวัดแบบ Transflectance ในช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm
และสมการเทียบมาตรฐานทำนายถูกสร้างด้วยวิธี PLS โดยใช้โปรแกรม OPUS 6.5 จากผลการทดลองพบว่า
สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างขึ้นสามารถใช้ทำนายคุณภาพทางโภชนาการของน้ำฝรั่ง ได้อย่างแม่นยำสูง
สามารถใช้ทดแทนวิธีการวิเคราะห์อย่างดั้งเดิมได้ โดยสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS ที่ได้มีค่า
Correlation coefficient $R = 0.99$, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 0.22 %Brix และค่าความ
ผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = 0.05 %Brix และสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ total phenolics
ที่ได้ มีค่า $R = 0.92$, RMSEP = 2.63 mg/100g และ bias = -0.05 mg/100g

จากผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี paired t-test พบว่า สมการเทียบมาตรฐานทำนายคุณภาพทาง
โภชนาการของผลฝรั่งและน้ำฝรั่งทั้งหมดนี้สามารถทำนายค่าได้ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ
ความเชื่อมั่น 95%

Dollaphon Chananiramitphon 2012: Rapid Nutrition Assessment in Guava by Near Infrared Spectroscopy. Master of Engineering (Food Engineering), Major Field: Food Engineering, Department of Food Engineering. Thesis Advisor: Assistant Professor Ronnarit Rittiron, Ph.D. 148 pages.

The objective of this research was to develop a system for nutrition assessment of guava fruit by Near Infrared Spectroscopy (NIRs). Sixty-eight cultivars of guava were used as samples. There were two systems developed. The first system was developed for rapid and nondestructive analysis. The qualities considered were total soluble solids (TSS), total phenolics, catechin and vitamin C contents. The spectra of intact guava were measured by portable NIR spectrometer in the wavelength region of 700-1100 nm in interactance mode and FT-NIR spectrometer in the region of 900-2500 nm in reflectance mode. Then, the values of nutrition were measured by digital refractometer, Folin Ciocalteu-based, High performance liquid chromatography (HPLC) and titration methods, respectively. Multiple linear regression (MLR) and partial least square (PLS) regression were used to develop calibration equation. From the results, the calibration equation by MLR and PLS could be used for rapid prediction and nondestructive determination of values of nutrition.

Second system was developed for highly accurate analysis. The qualities considered were TSS and total phenolics contents. The spectra of guava juice were acquired by FT-NIR spectrometer in the region of 900-2500 nm with a specially designed sample cell for solution in transfectance mode. Then, TSS and total phenolics contents of guava juice were measured by digital refractometer and Folin Ciocalteu-based methods, respectively. PLS regression was used to develop calibration equation. The developed system gave very high accuracy with a correlation coefficient R of 0.99, root mean square error of prediction (RMSEP) of 0.22 %Brix and bias of 0.05 %Brix for TSS content and R of 0.92, RMSEP of 2.63 mg/100g and bias of -0.05 mg/100g for total phenolics content.

Using the paired t-test for all developed calibration equations, there was not significant difference between NIR predicted values and actual values analyzed by standard methods at 95% confidence.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รณฤทธิ์ ฤทธิธรม อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
ไว้เป็นอย่างสูง ที่ได้ความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการเรียน สนับสนุนการศึกษาวิจัย
ตลอดจนคอยช่วยในการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการจัดทำวิทยานิพนธ์ทุกขั้นตอนจน
สำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณอาจารย์ รองศาสตราจารย์ ดร.อนุรุจ บุญประกอบ คณาจารย์ เจ้าหน้าที่
ห้องปฏิบัติการทุกท่าน รวมถึงเจ้าหน้าที่ประจำสวนฝรั่ง ของภาควิชาพืชสวน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างสารเคมี อุปกรณ์
และสถานที่ในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวงที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่อง NIR สเปกโตรมิเตอร์แบบ
พกพา และขอขอบคุนบริษัท Bruker Optics Germany ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่อง FT-NIR
Spectrometer Model Vector22/N

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมอาหารทุกท่านที่ให้ความกรุณามอบ
ความรู้ทางด้านวิชาการ รวมถึงคอยอบรมสอนสั่งในด้านคุณธรรมและจริยธรรมอันเป็นประโยชน์
อย่างยิ่งที่ข้าพเจ้าจะได้นำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ทั้งต่อตัวข้าพเจ้าเอง และสังคมต่อไป ขอขอบคุณพี่ๆ
เพื่อนๆ น้องๆ ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร ภาควิชาพืชสวน ภาควิชา
เทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และเพื่อนๆ น้องๆ
มหาวิทยาลัยมหิดลทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือและกำลังใจ

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณศิริชัย ชนานิรมิตผล และคุณปรานี ชนานิรมิตผลที่ได้
ให้การอบรม ช่วยเหลือ สนับสนุน และเป็นกำลังใจที่ดีที่สุดของลูกเสมอมา และขอบคุณญาติพี่น้อง
น้องทุกท่านที่ให้การสนับสนุน ช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจอย่างดียิ่งตลอดมา

คลพร ชนานิรมิตผล

พฤษภาคม 2554

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(3)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	52
อุปกรณ์	52
วิธีการ	57
ผลและวิจารณ์	71
สรุปและข้อเสนอแนะ	107
สรุป	107
ข้อเสนอแนะ	109
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	110
ภาคผนวก	115
ภาคผนวก ก ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700-1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set	116
ภาคผนวก ข ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700-1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set	120
ภาคผนวก ค ปริมาณคาเตชินของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700-1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set	124

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ง ปริมาณวิตามินซีของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700-1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set	128
ภาคผนวก จ ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900-2500 nm) โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set	132
ภาคผนวก ฉ ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่น ยาว (900-2500 nm) โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set	136
ภาคผนวก ช ปริมาณ TSS ของน้ำฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900-2500 nm) โดยระบบการวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set	140
ภาคผนวก ช ปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900-2500 nm) โดยระบบการวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set	144
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	148

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของฝรั่งพันธุ์กลมสีปีพ.ศ. 2548 และพ.ศ. 2549	4
2	ปริมาณและมูลค่าส่งออก ฝรั่งสด ปี 2546 – 2550	5
3	ปริมาณและมูลค่าการบริโภคภายในประเทศ	6
4	การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด	13
5	แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า RPD	48
6	แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า R	48
7	ค่าทางสถิติปริมาณ TSS ที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน	71
8	ค่าทางสถิติปริมาณ Total Phenolics ที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน	72
9	ค่าทางสถิติปริมาณคาเตชินที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน	72
10	ค่าทางสถิติปริมาณวิตามินซีที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน	72
11	ตัวแปรอิสระของสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า TSS ด้วยวิธี Multiple Linear Regression (MLR) ในช่วงความยาวคลื่นสั้น	75
12	ตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณ Total Phenolics ด้วยวิธี Multiple linear Regression (MLR) ในช่วงความยาวคลื่นสั้น	78
13	ตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณคาเตชินด้วยวิธี Multiple linear Regression (MLR) ในช่วงความยาวคลื่นสั้น	82
14	ตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณวิตามินซี ด้วยวิธี Multiple linear Regression (MLR) ในช่วงความยาวคลื่นสั้น	86

ตารางผนวกที่

ก1	ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set	117
ก2	ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Validation sample set	119

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข1 ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set	121
ข2 ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Validation sample set	123
ค1 ปริมาณคาเดชินของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set	125
ค2 ปริมาณคาเดชินของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Validation sample set	127
ง1 ปริมาณวิตามินซีของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set	129
ง2 ปริมาณวิตามินซีของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm) โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Validation sample set	131
จ1 ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900 – 2500 nm) โดยระบบ การวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Calibration sample set	133
จ2 ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900 – 2500 nm) โดยระบบ การวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Validation sample set	135
ฉ1 ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900 -2500 nm) โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Calibration sample set	137
ฉ2 ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900 -2500 nm) โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Validation sample set	139
ช1 ปริมาณ TSS ของน้ำฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900 – 2500 nm) โดยระบบ การวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Calibration sample set	141
ช2 ปริมาณ TSS ของน้ำฝรั่งที่ช่วงความยาวคลื่นยาว (900 – 2500 nm) โดยระบบ การวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Validation sample set	143

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ซ1 ปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 -2500 nm) โดยระบบการวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Calibration sample set	145
ซ2 ปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 -2500 nm) โดยระบบการวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Validation sample set	147

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลซูโครส	9
2 โครงสร้างทางเคมีของคาเตชิน	10
3 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี	11
4 ระบบการวัดสเปกตรัม	18
5 สเปกตรัมจากการวัดที่ยังไม่ได้ปรับ	23
6 สเปกตรัมที่ได้รับผลกระทบแบบ (a) เบสไลน์ออฟเซต (baseline offset) และ (b) เบสไลน์ชิฟต์เชิงเส้น (linear baseline shift)	23
7 ตัวอย่างสเปกตรัมแบ่งสาลีที่มีความชื้นแตกต่างกัน a) ตัวอย่างที่มีความชื้น b) ตัวอย่างผ่านการอบแห้ง	25
8 สเปกตรัมของตัวอย่างผลส้มที่มีขนาดผลต่างกัน โดยผลขนาดใหญ่ (a) จะดูดกลืนแสงมากกว่าผลขนาดกลาง (b) และผลขนาดเล็ก (c)	27
9 สเปกตรัมเริ่มต้น (เส้นทึบ) และอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) ของสเปกตรัมเริ่มต้น (เส้นประ)	29
10 การแปลงเป็นค่าอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) (เส้นไขว้ปลา) เพื่อแยกจุดยอดของสเปกตรัม	30
11 การแปลงค่าเป็นอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (first derivative) (เส้นประ) แก้ปัญหาการบวกเพิ่มที่คงที่ตลอดความยาวคลื่นของสเปกตรัมหรือเบสไลน์ออฟเซต	31
12 การแปลงค่าเป็นอนุพันธ์อันดับสองเพื่อแก้ปัญหการบวกเพิ่มที่มีค่าเปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นเป็นเส้นตรงมีความชันของสเปกตรัม	32
13 อนุพันธ์อันดับหนึ่งให้สเปกตรัมที่มีค่าความชันตรงกับจุดยอดของสเปกตรัมเดิม	32
14 ขนาดเซกเมนต์ (segment size) และขนาดช่องว่าง (gap size) ที่กำหนดในสเปกตรัมเพื่อคำนวณค่าอนุพันธ์	34
15 ค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (1 st derivative) และอนุพันธ์อันดับสอง (2 nd derivative) เปรียบเทียบกับสเปกตรัมเริ่มต้น (original spectrum)	35
16 กราฟที่มีความชันเปลี่ยนแปลงไปเปรียบเสมือนเส้นตรงนั้นหมุน	36
17 ตัวอย่างแบ่งที่มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน 3 ขนาดแต่มีค่าทางเคมีเท่ากัน	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
18	พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง Asi (absorbance หรือ $\log(1/R)$) ของสเปกตรัมของตัวอย่าง s1 และ s2 (แกน Y) กับค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมเฉลี่ย Aavi (แกน x)
19	สเปกตรัม NIR ที่ได้รับผลกระทบแบบผลคูณ (multiplicative effect) หลังจากการปรับแก้ด้วย MSC
20	การควบคุมอุณหภูมิตัวอย่างที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ก่อนทำการวัดสเปกตรัมโดยใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิ
21	เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา (FQA-NIRGUN, Japan)
22	การวัดสเปกตรัมผลฝรั่งด้วยเครื่อง NIR Spectrometer FQA-NIRGUN
23	เครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics Vector22/N, Germany)
24	ภาพขณะทำการวัดสเปกตรัมผลฝรั่งด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer Model Vector22/N
25	การวัดสเปกตรัมน้ำฝรั่งด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer Model Vector22/N
26	ภาพเขียนแบบบอกขนาดของเซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่งที่ได้ออกแบบและสร้างขึ้น
27	เครื่อง Digital Refractrometer (Atago PR-320, Japan)
28	ขั้นตอนการสกัดสารเพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolics และปริมาณคาเตชิน
29	เครื่อง Spectrophotometer
30	ขั้นตอนการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณ Total Phenolics
31	เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) (Agilent Technologies 1100, Thailand)
32	ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี
33	Original spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction
34	First derivative spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
35 Second derivative spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction	74
36 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น	76
37 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น	77
38 Second derivative spectrum ของน้ำตาล sucrose ในช่วงความยาวคลื่น 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan)	77
39 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น	79
40 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น	80
41 Second derivative spectrum ของ Gallic acid ที่ช่วงความยาวคลื่น 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan)	81
42 Original spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 600-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction	83
43 Second derivative spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 600-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction	83
44 Second derivative spectrum ของคาเตชิน ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan)	84
45 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณคาเตชินในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น	84
46 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณคาเตชินในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น	85
47 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณวิตามินซีในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น	87

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
48 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณวิตามินซีในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น	88
49 Second derivative spectrum ของ Ascorbic acid ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan)	88
50 เซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่งที่พัฒนา	89
51 ตัวอย่าง Original Spectrum ของน้ำฝรั่งในระบบการวัดแบบ Transflection ด้วยเซลล์ใส่ตัวอย่างที่พัฒนาขึ้น ช่วงความยาวคลื่น $16000-4000\text{ cm}^{-1}$ ($625-2500\text{ nm}$) ด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer Model Vector22/N ของบริษัท Bruker Optics Germany	90
52 Original Spectrum ของผลฝรั่งในช่วง $900-2500\text{ nm}$ ด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ในระบบการวัดแบบ Reflection	91
53 Original Spectrum ที่ถูกปรับแต่งด้วยวิธี First derivative ร่วมกับวิธี Standard Normal Variate (SNV) ของผลฝรั่งในช่วง $900-2500\text{ nm}$ ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ในระบบการวัดแบบ Reflection	91
54 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) กับความยาวคลื่นในช่วง $1333-1833\text{ nm}$ ของสมการทำนายค่า TSS ของผลฝรั่ง	92
55 Second derivative spectrum ของ Sucrose ในช่วงความยาวคลื่นยาว	92
56 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว	94
57 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว	95
58 Original Spectrum ที่ถูกปรับแต่งด้วยวิธี Second derivative ของผลฝรั่งในช่วง $900-2500\text{ nm}$	96
59 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว	97

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
60 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว	98
61 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) กับความยาวคลื่นในช่วง 2175-2354 nm ของสมการทำนายปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่ง	98
62 Second derivative spectrum ของ Gallic acid	99
63 Original Spectrum ของน้ำฝรั่งในช่วง 900-2500 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ร่วมกับเซลล์ใส่ตัวอย่างที่พัฒนา ในระบบการวัดแบบ Transflection	100
64 Original Spectrum ที่ถูกปรับแต่งด้วยวิธี First derivative ของน้ำฝรั่งในช่วง 900-2500 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ในระบบการวัดแบบ Transflection	101
65 Original Spectrum ที่ถูกปรับแต่งด้วยวิธี MSC ของน้ำฝรั่งในช่วง 900-2500 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ในระบบการวัดแบบ Transflection	101
66 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration set ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว	103
67 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของ ค่า TSS ในกลุ่ม Validation set ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว	103
68 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) กับความยาวคลื่นในช่วง 1333-2355 nm ของสมการทำนายค่า TSS ของน้ำฝรั่ง	104
69 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในกลุ่ม Calibration set ในช่วงความยาวคลื่นยาว	105
70 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในกลุ่ม Validation set ในช่วงความยาวคลื่นยาว	106

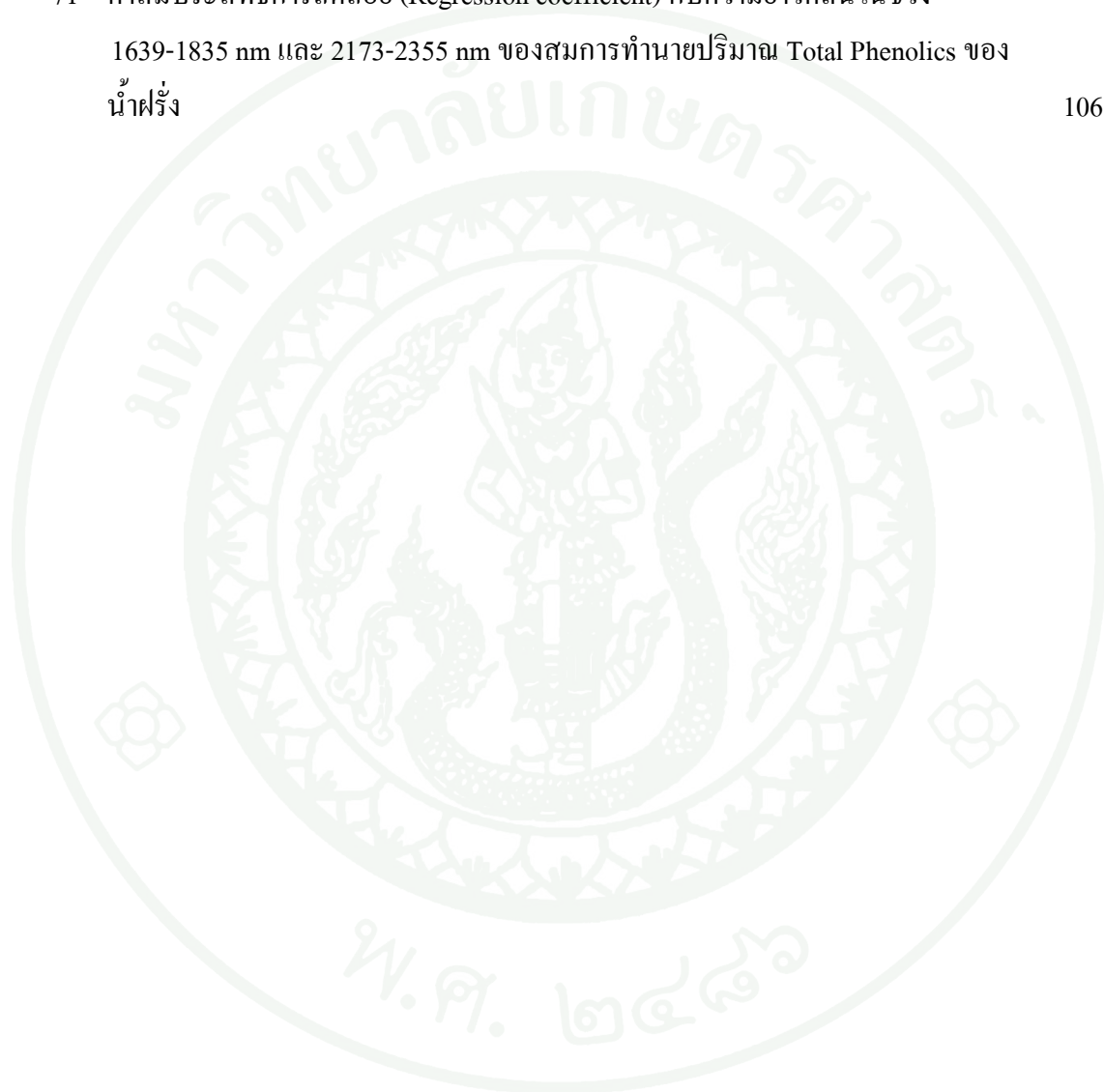
สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- 71 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) กับความยาวคลื่นในช่วง
1639-1835 nm และ 2173-2355 nm ของสมการทำนายปริมาณ Total Phenolics ของ
น้ำฝรั่ง

106



การประเมินคุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งอย่างรวดเร็วด้วยเทคนิค สเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้

Rapid Nutrition Assessment in Guava by Near Infrared Spectroscopy

คำนำ

ฝรั่งเป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคกันมากภายในประเทศ จากข้อมูลของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ในปี 2549 พบว่ามีปริมาณการบริโภคภายในประเทศ 130,843 ตัน และมีมูลค่าการส่งออกทั้งหมด 100,000,000.19 บาท ทั้งนี้เนื่องจากฝรั่งเป็นผลไม้ที่หาซื้อได้สะดวก ง่าย ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในทุกภาคของประเทศไทย ทำให้ในปัจจุบันมีการขยายการเพาะปลูกกันมากขึ้น ที่สำคัญในผลฝรั่งมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เช่น วิตามิน น้ำตาล กลีโคไซด์ สารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ เป็นต้น จึงทำให้ฝรั่งเป็นผลไม้ที่ผู้บริโภค นักวิจัย และผู้ประกอบการได้ให้ความสนใจกันเป็นอย่างมากในเรื่องของสารอาหารต่าง ๆ ที่อยู่ในผลฝรั่ง รวมถึงการปรับปรุงพันธุ์ให้ได้ฝรั่งสายพันธุ์ใหม่ที่มีคุณภาพการบริโภคดีและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง

ปัจจุบันการวิเคราะห์สารอาหารในผลฝรั่ง โดยทั่วไปยังใช้การวิเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solids, TSS) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics compound) การวิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน (catechin) และการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (vitamin C) ซึ่งแม้การวิเคราะห์ดังกล่าวจะให้ผลลัพธ์ที่ออกมาถูกต้องแม่นยำ แต่ต้องใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์มาก มีค่าใช้จ่ายของสารเคมี และใช้เครื่องมือที่มีราคาค่อนข้างสูง ต้องทำลายตัวอย่าง อีกทั้งยังต้องอาศัยผู้มีทักษะในการตรวจสอบ ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้ในระยะยาว

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy หรือ NIRs) เป็นวิธีการตรวจสอบคุณภาพแบบไม่ทำลายวิธีหนึ่งที่มีศักยภาพสูง สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่เราสนใจในผลฝรั่งได้ โดยวิธีนี้มีข้อดี หลายประการคือ รวดเร็ว ไม่ต้องทำลายตัวอย่าง ลดต้นทุนในระยะยาว ไม่ต้องใช้สารเคมี ไม่ต้องใช้ผู้มีทักษะในการวิเคราะห์

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างและทดสอบสมการเทียบมาตรฐานทำนาย
คุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งด้วยเทคนิค NIRs โดยมีคุณภาพทางโภชนาการที่ต้องการจะ
ศึกษา ได้แก่ ปริมาณ TSS ปริมาณ Total Phenolics ปริมาณคาเทชิน และปริมาณวิตามินซี



วัตถุประสงค์

1. เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ Total Soluble Solids ของฝรั่งด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRs)
2. เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ Total Phenolics ของฝรั่งด้วยเทคนิค NIRs
3. เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณคาเตชินของฝรั่งด้วยเทคนิค NIRs
4. เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณวิตามินซีของฝรั่งด้วยเทคนิค NIRs
5. เพื่อสร้างเซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่งสำหรับเครื่อง NIR Spectrometer แบบ Top window

การตรวจเอกสาร

1. ฝรั่ง (Guava)

1.1 ความสำคัญ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อยู่ในเขตร้อนซึ่งเป็นแหล่งที่มีการปลูกไม้ผลชนิดต่างๆ ได้มากมายหลายหลากชนิด ซึ่งหนึ่งในผลไม้ที่คนไทยนิยมนับรับประทานและรู้จักคุ้นเคยกันเป็นอย่างดีก็คือ ฝรั่ง (Guava) เนื่องจากฝรั่งเป็นผลไม้ที่หารับประทานได้ง่าย และให้ผลผลิตได้ตลอดทั้งปี ทั้งยังเป็นพืชที่มีความทนทานต่อสภาพภูมิอากาศ และสภาพดินชนิดต่างๆ จึงสามารถปลูกได้ง่ายและมีการเจริญเติบโตได้ดีทั่วทุกภาคของประเทศไทย (พรพิมล, 2548) ทางด้านโภชนาการ เป็นที่ทราบกันดีว่าในผลฝรั่งนั้นเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยน้ำตาล (sugar) ใยอาหาร (fiber) วิตามิน (vitamin) สารเพคติน (pectin) แคลเซียม (calcium) ฟอสฟอรัส (phosphorous) และสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ดังตารางที่ 1 แสดงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของฝรั่งพันธุ์กลมสาเล่ โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดโรคต่างๆ มากมาย อาทิเช่น โรคหัวใจ โรคกระเพาะ โรคเชื้อหุ้มสมองอักเสบ ซึ่งโรคเหล่านี้ล้วนแต่เป็นโรคร้ายที่เมื่อเป็นแล้วจะมีโอกาสในการรักษาให้หายขาดได้ยาก ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการป้องกันเพื่อไม่ให้เกิดโรคเหล่านี้ขึ้นกับตัวเรา สำหรับแนวทางในการป้องกันที่ง่ายที่สุดคือการรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบรวมอยู่ด้วย

ตารางที่ 1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของฝรั่งพันธุ์กลมสาเล่ปีพ.ศ. 2548 และพ.ศ. 2549

ชนิดสาร	พ.ศ.	
	2548	2549
Total Phenolics (mg/100g)	228.0	218.0
Catechin (mg/100g)	112.0	152.0
Ascorbic acid (mg/100g)	190.0	162.0
Quercetin galactoside (mg/100g)	21.3	31.4
Quercetin glucoside (mg/100g)	14.6	24.0

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดสาร	พ.ศ.	
	2548	2549
Quercetin rhamnoside (mg/100g)	5.7	7.3

ที่มา: Thaipong (2007)

ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ฝรั่งเป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่มีความสนใจจากนักวิจัย ผู้บริโภค รวมไปถึงผู้ประกอบการ ปัจจุบันฝรั่งได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั้งในรูปผลไม้สด และผลิตภัณฑ์แปรรูป ซึ่งไทยเป็นประเทศหนึ่ง ที่ส่งออกผลฝรั่งสดและผลิตภัณฑ์แปรรูปสู่ตลาดต่างประเทศ ทำรายได้ให้กับเกษตรกรผู้ปลูกฝรั่งและมีแนวโน้มการส่งออกเพิ่มขึ้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2550) โดยมีข้อมูลปริมาณและมูลค่าการส่งออกดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณและมูลค่าส่งออก ฝรั่งสด ปี 2546 – 2550

พ.ศ.	ปริมาณ (ตัน)	มูลค่า (บาท)
2546	1,147	12,100,000
2547	1,641	23,600,000
2548	2,751	61,300,000
2549	3,382	94,900,000
2550	2,187	55,900,000

ที่มา: ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร (2551)

จากข้อมูลการบริโภคภายในประเทศจะเห็นได้ว่าปริมาณและมูลค่ามีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณและมูลค่าการบริโภคภายในประเทศ

พ.ศ.	ปริมาณ (ตัน)	มูลค่า (บาท)
2540	116,588	1,165,880,000
2541	131,000	1,310,000,000
2546	167,200	1,672,000,000

ที่มา: ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร (2550)

1.2 การจำแนกฝรั่ง

ฝรั่งมีชื่อสามัญว่า Guava เป็นผลไม้ที่อยู่ในวงศ์ (Family) Myrtaceae และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Psidium guajava* L. มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อน และเขตอบอุ่นของทวีปอเมริกาตั้งแต่เม็กซิโกถึงเปรู (พรพิมล, 2548) ฝรั่งเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง โดยมีทรงต้นสูงประมาณ 3-10 เมตร มีเปลือกลำต้นเรียบเป็นสีน้ำตาลปนแดง เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ใบมีสีเขียวลักษณะไม่เรียบ มีขนอ่อนปกคลุม ใบมีลักษณะรูปร่างเป็นแบบ elliptic จนถึงรูปร่างแบบ oblong (ศรีธนา, 2539) ดอกมีสีขาวเป็นดอกสมบูรณ์เพศ อาจเกิดเป็นได้ทั้งดอกเดี่ยวและเป็นดอกช่อ โดยมากดอกของฝรั่งมักออกที่ตาข้าง เมื่อผลฝรั่งยังเล็กจะมีลักษณะผิวเป็นสีเขียวเข้ม แต่เมื่อแก่สีผิวจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน รสชาติของผลฝรั่งมีทั้งหวานและเปรี้ยว มีกลิ่นเป็นลักษณะเฉพาะตัว อย่างไรก็ตามลักษณะต่างๆ ของผลฝรั่งจะขึ้นอยู่กับลักษณะเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์ (สุรธานี, 2544)

ข้อดีของไม้ผลชนิดนี้ที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือเป็นไม้ผลที่สามารถบังคับให้ออกดอกและติดผลได้ตลอดทั้งปี โดยใช้วิธีตัดแต่งกิ่งและโน้มกิ่งลงเพื่อบังคับให้เกิดการแตกกิ่งใหม่จากตาข้าง เมื่อกิ่งใหม่แตกออกมาเป็นกิ่งแล้วจะมีดอกเกิดขึ้นบนกิ่งนี้ สำหรับระยะเวลาหลังการตัดแต่งกิ่งจนถึงระยะดอกบานมีพันธุ์ที่เร็วที่สุดคือพันธุ์ 'MCL-326-S' คือ 48.5 วัน และพันธุ์ที่ใช้เวลานานที่สุดคือพันธุ์ 'บางกอกแอปเปิ้ล' ใช้เวลา 59.2 วัน ได้มีการศึกษาการเจริญเติบโตของผลฝรั่งพบว่าอายุการเจริญตั้งแต่หลังดอกบานจนผลมีการพัฒนาเต็มที่ (maturation) ใช้เวลาประมาณ 120 วัน

จากรายงานของกรมส่งเสริมการเกษตร (2550) พบว่าในประเทศไทยมีการจำแนกฝรั่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1.2.1 กลุ่มรับประทานสด ได้แก่ พันธุ์กลมสาละ พันธุ์กลมสาละสีทอง พันธุ์ขาว อัมพร พันธุ์เย็นสอง พันธุ์แป้นยักษ์ พันธุ์แป้นสีทอง พันธุ์น้ำสวน พันธุ์กิมจู พันธุ์แดงสยาม พันธุ์ฟิลิปปินส์ พันธุ์ขึ้นเนื้อแดง พันธุ์ขึ้นกระของ ฯลฯ

1.2.2 กลุ่มแปรรูปหรือกลุ่มคั้นน้ำ ได้แก่ พันธุ์พิจิตร 13-10 พันธุ์ G097 เป็นต้น

1.2.3 กลุ่มไม้ประดับ ได้แก่ พันธุ์ใบเล็ก พันธุ์จิ๋วใบจิ๋ว เป็นต้น

สำหรับพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกกันโดยทั่วไป มีดังต่อไปนี้

ก. พันธุ์กลมสาละ ใน พ.ศ. 2539 ทศวรรษ ได้กล่าวว่า ฝรั่งพันธุ์กลมสาละ นั้นจะมีลักษณะผลกลมแป้นโต ผลมีสีเขียวอ่อนอมเหลืองออกขาวนวล ผิวขรุขระเล็กน้อย เนื้อหนาละเอียดแน่นกรอบและมีสีขาว มีเมล็ดปานกลาง รสชาติหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.8 กิโลกรัมต่อผล เป็นสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตดี อายุการให้ผลหลังการปลูกเร็ว ติดผลดกมาก ผลที่แก่สามารถปล่อยผลไว้บนต้นได้นาน ต้นเป็นทรงพุ่มเตี้ยแผ่กว้าง ใบค่อนข้างยาวรีมีปลายแหลมและมีขนละเอียด สามารถปลูกได้ทั้งในดินเหนียวและดินทราย เป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกกันมาก

ข. พันธุ์เย็นสอง เป็นพันธุ์ที่คาดว่าเกิดจากการกลายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด และมีการสันนิษฐานกันว่าได้จากการผสมข้ามตามธรรมชาติระหว่างพันธุ์กลมสาละ และพันธุ์กลมทูลเกล้าซึ่งทั้งสองสายพันธุ์เป็นพันธุ์ที่มาจากเวียดนาม โดยพันธุ์เย็นสองนี้เป็นพันธุ์ที่มีลำต้นแข็งแรงมาก ทรงต้นเป็นพุ่มแผ่กว้าง แต่ต้นมีขนาดเล็กกว่าพันธุ์กลมสาละ จึงสะดวกกว่าในเรื่องการเก็บเกี่ยว มีการเจริญเติบโตเร็ว ใบมีลักษณะเรียวยาวสีเขียวเข้ม ผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่าพันธุ์กลมสาละ ผิวขรุขระเล็กน้อย เนื้อสีขาวกรอบ มีปริมาณเนื้อและรสชาติหวานอมเปรี้ยวมากกว่าพันธุ์กลมสาละ แต่เมื่อปลูกไปนานๆ จะมีปัญหาเรื่องผลเล็กเมื่ออายุมาก เป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกในระดับปานกลาง

ค. พันธุ์แป้นสีทอง คาดว่ากลายพันธุ์มาจากกลมสาละ มีทรงพุ่มเตี้ย กิ่งค่อนข้างเลื้อย ทอดขนานไปกับพื้น โดยจะสังเกตได้ชัดหลังจากปลูกไปแล้ว 1 ปี ใบมีสีเขียวเข้มเรียวยาวและขนาดแผ่นใบใหญ่กว่ากลมสาละ ผลกลมแป้นใหญ่ ขั้วใหญ่ หัวนูน ผิวผลขรุขระเล็กน้อย มีกลีบขึ้นบริเวณขั้ว เนื้อหนาละเอียดมาก แน่นและกรอบ มีเมล็ดน้อย รสชาติหวานกรอบ

ติดผลตก สามารถให้ผลที่มีน้ำหนักมากที่สุด ตั้งแต่ 1-2 กิโลกรัม อายุการออกดอกติดผลหลังการปลูกด้วยกิ่งตอนประมาณ 4-6 เดือน ข้อเสียของฝรั่งพันธุ์นี้ คือ หลังการเก็บเกี่ยวผิวเปลือกผลมักแสดงอาการเหี่ยวแห้งได้ง่าย เมื่อเก็บรักษาไว้ประมาณ 2-3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เป็นฝรั่งที่ตลาดต่างประเทศมีความต้องการมาก และเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรมีการขยายพื้นที่ปลูกมากอีกพันธุ์หนึ่ง

2. คุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งที่ต้องการศึกษา

คุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่งที่ถูกเลือกเพื่อนำมาศึกษาในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย 4 ชนิด คือ ของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solids, TSS) Total Phenolics คาเทชิน และวิตามินซี โดยสาเหตุที่เลือกคุณภาพทางโภชนาการต่างๆ เหล่านี้ เนื่องจาก TSS เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพด้านรสชาติของผลฝรั่งได้เป็นอย่างดี ถึงแม้ว่าจะเคยมีผู้ทำการศึกษาไว้แล้วในงานวิจัยของธนฤทธิ์ และคณะ (2551) สำหรับ Total Phenolics คาเทชิน และวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในผลฝรั่งที่มีปริมาณมาก ซึ่งมีความสำคัญในด้านการปรับปรุงพันธุ์ของผลฝรั่งในอนาคต

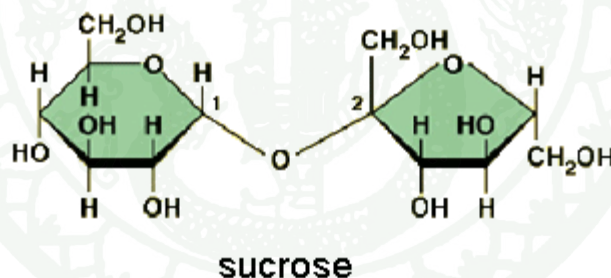
อนุมูลอิสระ (free radical) เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร ดังนั้นจึงมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวมันเองกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร อนุมูลอิสระพบได้ในสิ่งมีชีวิตที่มีการใช้ก๊าซออกซิเจน (oxygen) ในกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) นอกจากนี้ยังพบได้ในแสงแดด ควันบุหรี่ ควันจากท่อไอเสีย และยาบางชนิด เป็นต้น อนุมูลอิสระเหล่านี้โดยทั่วไปจะเป็นตัวเข้าไปทำลายองค์ประกอบของเซลล์ทำให้มีผลคือเกิดการเสียสมดุลของระบบต่างๆ ในร่างกาย เช่น ทำให้ดีเอ็นเอหรือสารพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไป ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์หรือโปรตีนต่างๆ ในร่างกายไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ซึ่งผลเสียดังกล่าวมานี้ล้วนเป็นสาเหตุของการเกิดโรคร้ายต่างๆ ยกตัวอย่างเช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ โรคไขข้ออักเสบ และโรคอัลไซเมอร์ เป็นต้น

แม้ว่าอนุมูลอิสระจะส่งผลเสียอย่างมากต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิต แต่อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีว่ายังมีสารที่สามารถช่วยควบคุมและป้องกันอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้หรือ นั่นก็คือที่เราเรียกกันว่าสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่ยับยั้ง หรือต่อต้านปฏิกิริยาถูกไขว่ของกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะมีอยู่ในสารอาหารบางชนิด อาทิเช่น วิตามิน (vitamin) เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) คาเทชิน (catechin) เป็นต้น การรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้จะช่วยทำให้ระบบของ

ร่างกายสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยสารอาหารต่างๆ ดังที่กล่าวมานี้สามารถพบได้โดยทั่วไปในอาหารชนิดต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผักและผลไม้ (อัญชนา, 2546)

2.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solids, TSS)

เป็นค่าที่บ่งชี้บอกถึงคุณภาพของผลไม้ได้ดีตัวหนึ่ง เป็นที่ทราบกันดีว่าในการหาปริมาณค่า TSS ในผลไม้ก็คือการหาค่าของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำ (total soluble solids, TSS) เนื่องจากในผลไม้มีของแข็งที่ละลายน้ำได้ส่วนใหญ่ก็คือน้ำตาล ดังนั้นเราจึงสามารถใช้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดที่วัดได้แทนค่าน้ำตาลของผลไม้ที่เราต้องการศึกษา นอกจากน้ำตาลจะเป็นสารที่ทำให้ผลไม้มีรสชาติดหวานแล้ว ยังเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญให้แก่ร่างกายอีกด้วย สำหรับน้ำตาล (total sugar) ในผลไม้ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยซูโครส (sucrose) (ศรีธนา, 2539) ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ ดังภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลซูโครส



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลซูโครส

ที่มา: วารุณี (2548)

2.2 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics compound)

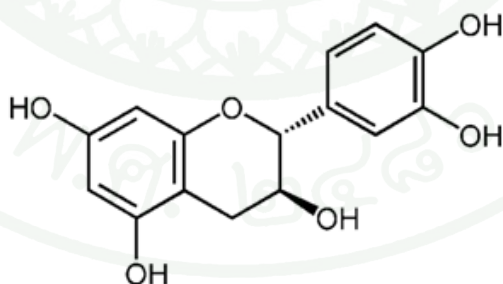
เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่มีความสำคัญและพบมากที่สุดผลไม้ มีสูตรโมเลกุลคือ C_6H_5OH โดยทั่วไปมีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มี hydroxyl group อย่างน้อยหนึ่งกลุ่ม ซึ่งอาจอยู่

ในรูป -OH อิสระ หรือจับกับสารอื่นในรูปของอีเทอร์ เอสเทอร์ หรือกลัยโคไซด์ก็ได้ สารประกอบฟีนอลิกสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายชนิด อาทิเช่น ฟีนอล และฟีนอลิก กลัยโคไซด์ (Phenol and Phenolic glycosides) คูมารินส์ (Coumarins) แทนนิน (Tannins) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นต้น (วันดี, 2544: 34-35) นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในพืชมีมาก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชชนิดนั้นจะมีประสิทธิภาพสูงตามไปด้วย

2.3 คาเทชิน (Catechin)

เป็นสารที่สำคัญทางเภสัชกรรมและการแพทย์แผนปัจจุบัน เนื่องจากมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยสารชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟลาโวนอยด์ และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ดังภาพที่ 2 จากการศึกษาในมนุษย์เบื้องต้นพบว่า การบริโภคคาเทชินจากชาเขียวเพิ่มอัตราการเผาผลาญพลังงาน และเพิ่มอัตราการออกซิเดชันของไขมัน และจากการทดลองให้คาเทชินจากชาเขียวและชาอูหลงกับเซลล์ไขมันของหนูในห้องทดลอง พบว่าเกิดการเพิ่มการทำงานของอินซูลินมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งจะช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด

นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 2001 ยังมีการศึกษากับประชากรสูงกว่าแปดร้อยคนในเจ็ดประเทศยุโรป พบว่า การเกิดความเสี่ยงชีวิตด้วยโรคหัวใจขาดเลือด มีความสัมพันธ์อย่างผกผันกับปริมาณการบริโภคคาเทชิน (สุชาติพ, 2549)

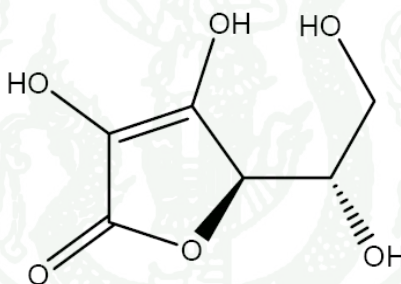


ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของคาเทชิน

ที่มา: ปรีชา (2550)

2.4 วิตามินซี (Vitamin C)

วิตามินซี หรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_8O_6$ และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 3 เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่ช่วยในการป้องกันการเกิดโรคต่างๆ จากอนุมูลอิสระดังที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น นอกจากนี้วิตามินซียังมีคุณสมบัติอื่นๆ อีกมากมาย อาทิเช่น ช่วยป้องกันโรคไขหวัด รักษาโรคเลือดออกตามไรฟัน (scurvy) ช่วยเสริมสร้างให้เกิดคอลลาเจน (collagen) ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกล้ามเนื้อ ผิวหนัง ปอด เซลล์ของกระดูกและฟัน ทั้งยังช่วยกระตุ้นการผลิตอินเตอร์เฟอรอน (interferon) ที่ทำหน้าที่เป็นตัวทำให้เกิดตัวต่อต้านเชื้อไวรัส เช่น โรคเริม (herpes) โรคตับอักเสบ (hepatitis) โรคเชื้อหุ้มสมองอักเสบ โรคหัด โรคปอดบวม เป็นต้น วิตามินซีมีลักษณะเป็นผลึกสีขาวและมีรสเปรี้ยว สามารถละลายน้ำได้ แต่ไม่ทนต่อความร้อน ในผักและผลไม้สดเป็นแหล่งสำคัญของวิตามินชนิดนี้ สำหรับฝรั่งจัดได้ว่าเป็นผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีที่สูงมากเมื่อเทียบกับผักและผลไม้สดชนิดอื่นๆ คือ มีปริมาณวิตามินซี 228.3 mg/100 g ในขณะที่มะนาวและส้มมีเพียง 46 mg/100 g (Anonymous, 2011)



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี

ที่มา: Anonymous (2010)

3. ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค Near Infrared spectroscopy (NIRs)

Near Infrared (NIR) คือ คลื่นแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีช่วงความยาวคลื่นประมาณ 700-2500 นาโนเมตร หรือที่เลขคลื่น $12,500-4,000\text{ cm}^{-1}$ เมื่อลำแสงของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าผ่านเข้าไปยังสารละลายหรือวัตถุ จะมีแสงบางส่วนถูกดูดกลืน (Absorption) บางส่วนผ่านทะลุออกไป (Transmittance) บางส่วนเกิดการสะท้อนกลับ (Reflection) และบางส่วนเกิดการวาวแสงหรือการ

เรืองแสง (Fluorescence or Phosphorescence) และบางส่วนอาจเกิดการกระเจิงแสง (Scattered) แต่แสงส่วนที่สำคัญ ได้แก่ ส่วนที่ถูกดูดกลืน สะท้อนกลับ และทะลุออกไป (วลัยพร, 2548)

กฎของการดูดกลืนแสงที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับสเปกโตรสโกปีมีอยู่ 2 กฎ ดังนี้คือ

1. กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law) กล่าวว่า เมื่อแสงสีเดียว (Monochromatic light) ซึ่งก็คือแสงความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว (Homogeneous) สัดส่วนของความเข้มแสงที่ตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงที่กระทบตัวกลางนั้น และความเข้มของแสงจะถูกแต่ละชั้นของตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน จากนั้นนี้อธิบายได้ว่า ถ้าให้แสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางหนึ่งที่เป็นเนื้อเดียวกันแล้ว ความเข้มของแสงจะลดลงแบบ exponential โดยจะขึ้นกับความหนาของตัวกลาง เขียนในรูปสมการได้ดังนี้

$$\log \frac{I_0}{I} = K_1 b \quad (1)$$

เมื่อ b คือ ความหนาของตัวกลางในหน่วยเซนติเมตร
 I_0 คือ ความเข้มของแสงก่อนผ่านตัวกลาง เมื่อ $b = 0$
 I คือ ความเข้มของแสงความยาวคลื่นเดียวหลังผ่านตัวอย่าง
 K_1 คือ proportionality constant

2. กฎของเบียร์ (beer's law) กล่าวว่า เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น อธิบายได้ว่าสัดส่วนของลำแสงที่ผ่านสารละลายที่มีความหนาขนาดหนึ่งจะลดลงแบบ exponential โดยจะขึ้นกับความเข้มข้นของสารนั้น (สุพรรณิกา, 2548) เขียนในรูปสมการได้ดังนี้

$$\log \frac{I_0}{I} = K_2 c \quad (2)$$

เมื่อ K_2 คือ proportionality constant
 c คือ ความเข้มข้นของสารในหน่วย โมล/ลิตร

ในทางปฏิบัติปริมาณความเข้มข้นของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายและความหนาของสารละลายที่ลำแสงส่องผ่านจึงต้องรวมกฎทั้งสองเข้าด้วยกัน เรียกว่า กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (พิมล, 2524) เขียนในรูปสมการได้ดังนี้

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon bc \quad (3)$$

เมื่อ A คือ Absorbance

ϵ คือ สัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสง ปกติเปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นและอุณหภูมิ

เนื่องจาก T (Transmittance) เท่ากับ

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (4)$$

เพราะฉะนั้น

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon bc = \log \frac{1}{T} \quad (5)$$

การดูดกลืนแสงย่านอินฟราเรดของโมเลกุลสารอินทรีย์ สามารถแบ่งย่อย ออกเป็น 3 ช่วง ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด

ช่วงคลื่น	Characteristic transitions	ช่วงความยาวคลื่น (nm)	เลขคลื่น (cm ⁻¹)
อินฟราเรดย่านใกล้ (Near IR, NIR)	Overtone combinations	780 – 2500	12800 – 4000
อินฟราเรดย่านกลาง (Mid IR or fundamental IR)	Fundamental vibrations	2500 – 5x10 ⁴	4000 – 200

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ช่วงคลื่น	Characteristic transitions	ช่วงความยาวคลื่น (nm)	เลขคลื่น (cm ⁻¹)
อินฟราเรดย่านไกล (Far IR)	Rotations	$5 \times 10^4 - 10^6$	200 – 10

ที่มา: Osborne *et al.* (1993)

โดยปกติแล้วช่วงคลื่นอินฟราเรดมีพลังงานที่ทำให้โมเลกุลเกิดการหมุนและการสั่น (Rotation and Vibration transition) ซึ่งโมเลกุลจะเกิดการสั่นอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงความยาว พันธะของโมเลกุลเรียกว่าการสั่นแบบยืด (Stretching or Valance vibration) หรืออาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงมุมพันธะในโมเลกุลเรียกว่าการสั่นแบบงอ (Bending) หรือการผิดรูป (Deformation) การคำนวณจำนวนแบบการสั่นแบบพื้นฐาน (Fundamental vibration) ตามทฤษฎีโมเลกุลอาจคำนวณ ได้ดังนี้ สำหรับโมเลกุลที่มีโครงสร้างแบบไม่เป็นเส้นตรงที่มี N อะตอม จำนวนแบบของการสั่น = $3N-6$ เช่น H₂O มี 3 อะตอม จำนวนแบบของการสั่นจึงมีทั้งหมด 3 แบบ สำหรับโมเลกุลที่มีโครงสร้างแบบเป็นเส้นตรงที่มี N อะตอม จำนวนแบบของการสั่น = $3N-5$ เช่น CO₂ มี 3 อะตอมจำนวนแบบของการสั่นจึงมีทั้งหมด 4 แบบ (Osborne *et al.*, 1993)

Absorption band ในย่าน Near Infrared (NIR) เป็นแบบ overtone และ combination band ของ fundamental vibration ที่เกิดในย่าน Infrared การสั่นแบบ overtone จะเกิดการสั่นในตำแหน่งที่มีเลขคลื่นเป็น 2 เท่าหรือ 3 เท่าของเลขคลื่นที่มีการสั่นในแบบพื้นฐานและมีความเข้มต่ำ การสั่น แบบรวม (combination vibration) เกิดจากผลรวมของเลขคลื่นที่มีค่าต่างกันตั้งแต่ 2 ค่าขึ้นไป รวมกันจะได้ combination band การสั่นแบบผลต่างเกิดจากผลต่างของเลขคลื่นที่มีตั้งแต่ 2 ค่าขึ้นไปจะได้ difference band (Osborne *et al.*, 1993)

เมื่อสารดูดกลืนคลื่นแสงในช่วง Near Infrared ทำให้โมเลกุลเกิดการสั่นที่ความถี่สูง ซึ่งโมเลกุลจะถูกกระตุ้นจาก ground vibration level ไปยัง excited vibration level ปริมาณการดูดกลืนพลังงานแสง (Absorbance, A) เป็นไปตามกฎของเบียร์ – แลมเบิร์ต (Beer – Lambert law) พลังงานของคลื่นแสงเมื่อผ่านเข้าไปในตัวอย่าง พลังงานจะถูกดูดกลืนไว้โดยองค์ประกอบทางเคมี ในตัวอย่าง ความเข้มของแสงที่ออกมาโดยทั่วไปจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณองค์ประกอบทางเคมีนั้น

สารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในลักษณะนี้จะมี H – atom เป็นองค์ประกอบเช่น O-H พบในแป้ง น้ำ น้ำตาล N-H พบในโปรตีน C-H พบในน้ำมัน (Osborne *et al.*, 1993)

สำหรับการสร้างระบบ NIR โดยทั่วไปเริ่มจากการวัดการดูดกลืนพลังงานย่าน NIR ที่ตำแหน่งความยาวคลื่นต่างๆ หรือ สเปกตรัมของตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างนั้นมาวิเคราะห์ค่าทางเคมี และหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลสเปกตรัมกับค่าทางเคมี ในรูปของสมการเทียบมาตรฐาน (calibration equation) และตรวจสอบความแม่นยำ (validation) ของสมการเทียบมาตรฐาน ทั้งนี้เพื่อเลือกสมการแคลิเบรชันที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้งานต่อไป (รณฤทธิ์, 2552) สำหรับขั้นตอนการสร้างระบบโดยละเอียดมีดังต่อไปนี้

3.1 กำหนดแหล่งความแปรปรวนของตัวอย่าง

ความแปรปรวนของตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานเป็นตัวแปรสำคัญในการกำหนดความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานที่เราสร้างขึ้น โดยสมการเทียบมาตรฐานถูกสร้างจากตัวอย่างที่ครอบคลุมความแปรปรวนที่คาดว่าจะพบในตัวอย่างอนาคต ซึ่งจะทำให้สมการเทียบมาตรฐานได้เรียนรู้และรู้จักลักษณะตัวอย่างอย่างกว้างขวางมากพอ แต่หากตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานมีความแปรปรวนที่แคบ หรือไม่ครอบคลุมตัวอย่างอนาคตจะมีผลทำให้สมการเทียบมาตรฐานที่เราสร้างขึ้นมีความแม่นยำลดน้อยลง เกิดความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย (bias) เกินขีดจำกัดทางสถิติได้ สำหรับแหล่งความแปรปรวนของตัวอย่างที่สำคัญ ได้แก่

- 1) ค่าทางเคมี มักเป็นความแปรปรวนแรกที่ต้องคำนึงถึง โดยต้องเตรียมตัวอย่างให้มีพิสัย (range) ค่าทางเคมีให้กว้างมากที่สุดเท่าที่จะจัดเตรียมได้ หากสมการเทียบมาตรฐานสร้างจากตัวอย่างที่มีค่าทางเคมีไม่ครอบคลุมช่วงในอนาคต จะทำให้สมการเทียบมาตรฐานนี้ไม่สามารถทำนายตัวอย่างนั้นๆ ได้
- 2) ลักษณะทางกายภาพ หรือเนื้อสัมผัสของตัวอย่าง
- 3) สายพันธุ์ของผลไม้
- 4) สถานที่เพาะปลูก ฤดูกาลเพาะปลูก พันธุกรรม
- 5) การเปลี่ยนแปลงสูตร หรือตำราที่ใช้ในการผลิต
- 6) แหล่งวัตถุดิบ

- 7) เทคนิคการผลิต เช่น ระดับการขัดสีของข้าว เป็นต้น
- 8) การเก็บรักษา และเวลา เช่น อายุการเก็บรักษาผลไม้ อายุของยา เป็นต้น
- 9) อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ เช่น ผลไม้ในสวนจะมีอุณหภูมิแตกต่างจากผลไม้ในห้องปรับอากาศ เป็นต้น

ผู้สร้างสมการเทียบมาตรฐานควรพิจารณาลำดับความสำคัญของแหล่งความแปรปรวนของตัวอย่าง เพื่อพยายามเตรียมตัวอย่างให้ครอบคลุมความแปรปรวนของตัวอย่างอนาคต (รณฤทธิ์, 2552)

3.2 กำหนดวิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ค่าทางเคมีของตัวอย่างต้องถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน หรือวิธีที่มีการใช้กันแพร่หลายและได้รับการยอมรับ โดยวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวต้องสามารถทำซ้ำได้ และค่าที่วิเคราะห์ได้ต้องคงที่สม่ำเสมอ ทั้งนี้เพื่อให้ผู้เชื่อมั่นว่าค่าทางเคมีเหล่านั้นถูกต้อง (รณฤทธิ์, 2552)

3.3 กำหนดวิธีการเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างบางประเภทจะต้องมีการเตรียมตัวอย่างก่อนการวัดสเปกตรัม เช่น ทำความสะอาดผิว บดละเอียด อบลดความชื้น ผสมให้เข้ากัน เป็นต้น โดยวิธีการที่ใช้เตรียมต้องมีความสม่ำเสมอ เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่อสเปกตรัมโดยทั่วไปคือ ขนาดอนุภาค ความชื้น อุณหภูมิ ขนาดของความหนาของเซลล์ใส่ตัวอย่าง เป็นต้น ดังนั้นต้องพยายามควบคุมปัจจัยเหล่านี้ให้คงที่มากที่สุด (รณฤทธิ์, 2552)

อย่างไรก็ดีปัจจัยข้างต้นถือเป็นความแปรปรวนอย่างหนึ่งของตัวอย่าง ดังนั้นจะต้องรวบรวมตัวอย่างที่มีการเตรียมอย่างหลากหลายครอบคลุมการเตรียมตัวอย่างที่คาดว่าจะพบในอนาคต เช่น หากใช้หลอดทดลองเป็นเซลล์ใส่ตัวอย่าง และไม่สามารถกำหนดให้ใช้หลอดทดลองอันนั้นสำหรับทุกตัวอย่างได้ ก็ควรใช้หลอดทดลองหลายหลอดสำหรับใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัม เนื่องจากความหนาของแก้วที่ใช้ทำหลอดทดลองมีความหนาไม่เท่ากัน หรือหากไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างให้คงที่ได้ นั่นก็ให้รวมตัวอย่างที่มีอุณหภูมิหลากหลายที่คาดว่าจะอุณหภูมิของตัวอย่างอนาคต สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน การสร้างสมการ

ลักษณะนี้เรียกว่า การสร้างสมการแคลิเบรชันแบบชดเชยอุณหภูมิ (temperature compensation) (ธนฤทธิ์, 2552)

3.4 กำหนดระบบการวัดสเปกตรัม

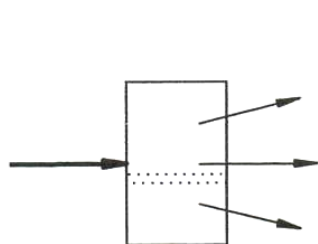
ในการกำหนดระบบการวัดสเปกตรัมเป็นการจัดลักษณะการวางตัวอย่างในการวัดสเปกตรัม ซึ่งควรเลือกให้เหมาะสมกับลักษณะของตัวอย่างเพื่อให้ได้สเปกตรัมที่สัมพันธ์กันกับค่าทางเคมีที่เราสนใจ โดยมีระบบการวัดต่างๆ (ศุมาพร, 2545) ดังนี้

3.4.1 Transmission เป็นการวัดปริมาณแสงที่ผ่านออกมาในด้านตรงกันข้ามกับด้านที่แสงตกกระทบบนตัวอย่างที่ 4 (ก) ด้วยตัวตรวจจับสัญญาณ หรือที่เรียกว่า detector

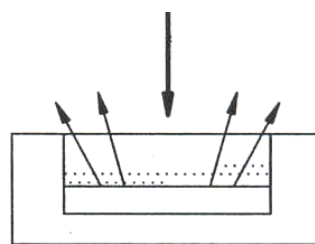
3.4.2 Reflection แสงตกกระทบบนผิวของตัวอย่าง วัดปริมาณแสงที่สะท้อนออกมาได้ด้วย detector โดยรวมถึงแสงที่สะท้อนออกมาจากบริเวณส่วนเนื้อที่ใกล้กับผิวของตัวอย่างได้อีกด้วย ดังภาพที่ 4 (ข)

3.4.3 Transflection แสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบบนตัวอย่าง และผ่านตัวอย่างกระทบบนแผ่นเซรามิก ทอง หรืออะลูมิเนียมชั้นใต้สุด แล้วสะท้อนกลับมายัง detector ดังภาพที่ 4 (ค)

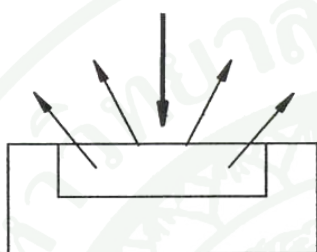
3.4.4 Interaction ใช้ในกรณีอาศัย fiber optics probe นำพาแสงจากแหล่งกำเนิดแสงส่องผ่านลงมายังตัวอย่างโดยผ่านจากวงแหวนด้านนอก แล้วแสงที่สะท้อนออกมาจากเนื้อตัวอย่างถูกส่งไปยัง detector บริเวณส่วนกลาง fiber optics probe ดังภาพที่ 4 (ง)



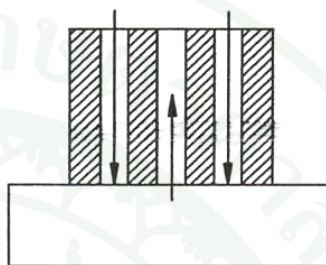
ก. ส่องผ่าน (Transmission)



ค. ส่องผ่านและสะท้อน (Transflection)



ข. สะท้อน (Reflection)



ง. อินเตอร์แอคชั่น (Interaction)

ภาพที่ 4 ระบบการวัดสเปกตรัม

ที่มา: สุมาพร (2545)

สำหรับช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ก็มีความสำคัญ เนื่องจากเครื่องสเปกโตรมิเตอร์บางเครื่องสามารถกำหนดช่วงความยาวคลื่นที่จะวัดสเปกตรัมได้ ตามความเหมาะสมของตัวตรวจจับสัญญาณ (detector) โดยทั่วไปช่วงความยาวคลื่นสั้นจะประมาณ 700-1000 นาโนเมตร สามารถส่องทะลุได้ลึกประมาณ 5-10 มิลลิเมตร และมักใช้กับตัวอย่างที่มีความชื้นหรือปริมาณน้ำมาก เนื่องจากในย่านนี้องค์ประกอบทางเคมีจะมีความสามารถในการดูดกลืนพลังงานย่าน NIR ต่ำ สำหรับช่วงความยาวคลื่นยาวจะมีช่วงความยาวคลื่น 1000-2500 นาโนเมตร จะสามารถทะลุได้ลึกประมาณ 2-5 มิลลิเมตร และมักใช้กับตัวอย่างที่มีความชื้นต่ำ เนื่องจากในย่านนี้ องค์ประกอบทางเคมีจะมีความสามารถในการดูดกลืนพลังงานย่าน NIR สูง นอกจากนั้นควรเลือกอุปกรณ์ในการใส่ตัวอย่างให้เหมาะสมกับลักษณะตัวอย่างที่เราต้องการจะวัดสเปกตรัม

3.5 เตรียมตัวอย่าง และเอกสารรายชื่อ

ตั้งชื่อตัวอย่างพร้อมจกรายชื่อในตารางการเก็บข้อมูล (data sheet) สำหรับใส่ค่าทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างนั้นๆ ขั้นตอนนี้ควรทำอย่างละเอียดรอบคอบ มีบ่อยครั้งที่พบตัวอย่างไม่สอดคล้องกับชื่อและค่าทางเคมี ทำให้เกิดความผิดพลาดได้

จำนวนตัวอย่างที่แนะนำควรมีขั้นต่ำ 100 ตัวอย่าง จึงจะสามารถแยกตัวอย่างเป็นสองกลุ่มอิสระจากกัน โดยกลุ่มที่หนึ่งจะใช้สำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration sample set) และอีกหนึ่งกลุ่มใช้สำหรับทดสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐาน (validation sample set or test set) ที่สร้างขึ้น โดยอย่างน้อยต้องมี 20 ตัวอย่าง จึงจะให้ค่าทางสถิติที่น่าเชื่อถือ แต่หากมีจำนวนตัวอย่างน้อย เราสามารถจำลองตัวอย่างสำหรับการทดสอบสมการเทียบมาตรฐานได้ โดยอาศัยตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน ลักษณะการทดสอบสมการเทียบมาตรฐานแบบนี้เรียกว่า การทดสอบความแม่นยำภายในกลุ่ม หรือ cross validation (รณฤทธิ์, 2552)

3.6 วัดสเปกตรัมของตัวอย่าง

ตัวอย่างที่เตรียมแล้ว อาจต้องนำมาใส่ในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างก่อนการวัดสเปกตรัม ควรกำหนดขั้นตอนในการใส่ตัวอย่างเพื่อให้เกิดความสม่ำเสมอ และมีความผิดพลาดในการวัดสเปกตรัมน้อยที่สุด โดยควรคำนึงถึงสิ่งต่างๆ เหล่านี้ เช่น ปริมาณของตัวอย่างในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่าง ความหนาแน่นของตัวอย่างในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่าง เป็นต้น นอกจากนี้ควรตรวจสอบความผิดปกติของสเปกตรัมบนจอแสดงผลที่อาจเกิดขึ้นในขณะวัดสเปกตรัมได้ เช่น วางตัวอย่างไม่ถูกต้อง แรงดันไฟฟ้าไม่สม่ำเสมอ มีแสงจากภายนอกรบกวน มีสัญญาณรบกวน เป็นต้น หากตรวจพบการรบกวนสเปกตรัมนั้น และใส่ตัวอย่างใหม่ เพื่อทำการวัดสเปกตรัมใหม่อีกครั้ง (รณฤทธิ์, 2552)

3.7 วิเคราะห์ค่าทางเคมี

เป็นที่ทราบกันดีว่าความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานจะขึ้นโดยตรงกับความแม่นยำของการวิเคราะห์ทางเคมี ดังนั้นต้องให้ความสำคัญกับความถูกต้องของผลการวิเคราะห์ หากเกิดความผิดพลาดหรือข้อสงสัย ให้ตัดค่าเหล่านั้นก่อนนำไปสร้างสมการเทียบมาตรฐาน ข้อควรระวังสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี คือการเปลี่ยนแปลงค่าทางเคมีภายหลังการวัดสเปกตรัม หากมีการเปลี่ยนแปลงรวดเร็วจะต้องวางแผนการวิเคราะห์ทันทีภายหลังวัดสเปกตรัม

เนื่องจากสเปกตรัมของตัวอย่างที่เราวัดนั้นจะต้องสะท้อนปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ณ เวลานั้นเช่นกัน (รณฤทธิ์, 2552)

3.8 บันทึกค่าทางเคมี

ค่าทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จะต้องนำมาใส่ให้ถูกต้องสอดคล้องกับสเปกตรัมของตัวอย่าง ขั้นตอนนี้มีความสำคัญยิ่ง บ่อยครั้งที่พบปัญหาใส่ค่าทางเคมีผิด หรือไม่ถูกต้องกับสเปกตรัม และหากมีตัวอย่างมากก็จะทำให้ตรวจสอบได้ยาก ดังนั้นควรตรวจสอบความถูกต้องเป็นระยะ หรือหลังบันทึกค่าทางเคมี ก่อนการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (รณฤทธิ์, 2552)

3.9 ตรวจสอบข้อมูลผิดปกติ (outliers)

ก่อนการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน จะต้องตรวจสอบความผิดปกติ 2 แหล่งข้อมูล คือข้อมูลสเปกตรัม และค่าทางเคมี ซึ่งอาจเกิดความผิดพลาดในขณะวัดสเปกตรัมหรือวิเคราะห์ค่าทางเคมีในห้องปฏิบัติการ ต้องลบข้อมูลที่ผิดปกติก่อนเสมอ

การตรวจสอบข้อมูลสเปกตรัมที่ผิดปกติ เริ่มแรกควรตรวจดูที่สเปกตรัมเริ่มต้น (original spectrum) หากพบบางเส้นอยู่ในตำแหน่งผิดปกติจากกลุ่มให้จัดบันทึก และพิจารณาตัดข้อมูล นอกจากนั้นการตรวจดูเส้นสเปกตรัมเริ่มต้น อาจพบความผิดปกติอื่นๆ เช่น มีสัญญาณรบกวน (noise) ในบางช่วงความยาวคลื่น ก็ควรตัดข้อมูลช่วงความยาวคลื่นเหล่านั้นทิ้งไป

สำหรับการตรวจสอบค่าทางเคมีที่ผิดปกติ ทำได้โดยการตรวจสอบพิสัยของค่าทางเคมี เป็นการตรวจสอบการกระจายค่าทางเคมีของกลุ่มประชากรกลุ่มตัวอย่าง หากตัวอย่างมีค่าทางเคมีสูงหรือต่ำ จากการกระจายค่าทางเคมีปกติ (normal distribution) ตัวอย่างเหล่านั้นอาจไม่อยู่ในกลุ่มประชากรที่สนใจ โดยทั่วไปจะใช้ค่าทางสถิติคะแนน t (t-score) ในการตัดสินใจ โดยแปลงค่าทางเคมีเป็นค่าทางสถิติ t ดังนี้

$$t_i = \frac{x_i - \bar{x}}{SD} \quad (6)$$

โดยค่า t_i คือ ค่าทางสถิติ t ของตัวอย่าง i

x_i คือ ค่าทางเคมีของตัวอย่าง i

$\bar{x}$ คือ ค่าเฉลี่ยทางเคมี

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทางเคมี

หากค่าสัมบูรณ์ของค่าทางสถิติคะแนน t ของตัวอย่างใดมีค่ามากกว่า 2 จะหมายถึงตัวอย่งนั้นอยู่นอกกลุ่มประชากรตัวอย่างที่สนใจ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ให้พิจารณาตัดตัวอย่งนั้นทิ้ง หรือหากใช้ระดับความเชื่อมั่นที่ 99% ก็จะกำหนดค่าสัมบูรณ์ของค่าทางสถิติคะแนน t ของตัวอย่างใดมีค่ามากกว่า 3 เป็นขอบเขตการพิจารณา นอกจากนี้การตรวจสอบ outlier อีกวิธีหนึ่งคือการดูจาก scatter plot ซึ่งเป็นกราฟที่พล็อตระหว่างค่าทางเคมีกับค่าที่ทำนายได้จาก NIR หากจุดใดอยู่ห่างจากเส้นทแยงมุม และอยู่นอกกลุ่มตัวอย่างมาก ก็ถือว่าข้อมูลนั้นเป็นข้อมูลผิดปกติ

ในปัจจุบันบางโปรแกรมอาจมีวิธีการ หรือเครื่องมืออื่นๆ ที่ใช้ตรวจสอบ outliers นอกจากวิธีการที่แนะนำข้างต้น ซึ่งโดยทั่วไปสามารถตัดตัวอย่างที่เป็นข้อมูลผิดปกตินี้ได้ไม่เกิน 5% ของตัวอย่างทั้งหมด (รณฤทธิ์, 2552)

3.10 การเลือกตัวอย่างตามค่าทางเคมี

โดยทั่วไปหากมีการเก็บตัวอย่างแบบสุ่ม และมีจำนวนตัวอย่างมากพอ การกระจายค่าทางเคมีจะเป็นแบบปกติ (normal distribution) และหากนำตัวอย่างที่มีการกระจายตัวลักษณะนี้ไปสร้างสมการเทียบมาตรฐาน จะเกิดอิทธิพลดัน (dunne effect) ขึ้น ทำให้ค่าที่ทำนายด้วยวิธี NIR คู่เข้าค่าเฉลี่ย เพื่อลดอิทธิพลดังกล่าว หากมีจำนวนตัวอย่างมากพอ เช่น เกือบหนึ่งพันตัวอย่าง ควรตัดตัวอย่างส่วนเกินที่มีค่าทางเคมีใกล้เคียงกัน ให้มีการกระจายตัวแบบสม่ำเสมอ (uniform distribution)

ก่อนการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน หากมีจำนวนตัวอย่างมากกว่า 100 ตัวอย่าง โดยทั่วไปจะแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานหรือกลุ่มแคลิเบรชัน (calibration sample set) และกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานหรือกลุ่มแวลิดเคชัน (validation sample set) โดยมีแนวทางที่สำคัญ คือค่าพิสัยค่าทางเคมีของตัวอย่างในกลุ่ม calibration sample set ต้องกว้างเพียงพอ

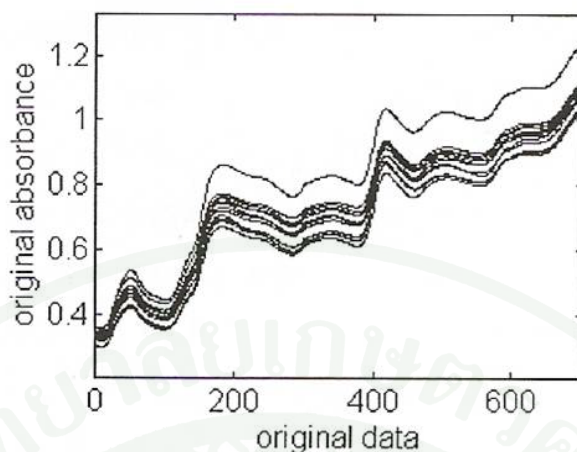
ครอบคลุมตัวอย่างในกลุ่ม validation sample set และต้องมีจำนวนมากกว่า ดังนั้นควรเริ่มการแบ่งกลุ่มตัวอย่างด้วยการเรียงลำดับข้อมูลค่าทางเคมี จากนั้นน้อยไปมาก (odd-even sort) จากนั้นกำหนดสามตัวอย่างแรก และสามตัวอย่างสุดท้าย เป็นตัวอย่างในกลุ่ม calibration sample set ส่วนตัวอย่างที่เหลือให้สลับตามสัดส่วนที่ต้องการ (calibration sample set : validation sample set) เช่น 1:1, 3:2 เป็นต้น (รณฤทธิ์, 2552)

3.11 การปรับแต่งสเปกตรัม (pretreatment of spectral data)

แม้ว่าในขั้นตอนการวัดสเปกตรัมของตัวอย่างจะมีการควบคุมปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสเปกตรัมแล้วก็ตาม แต่โดยทั่วไปสเปกตรัมของตัวอย่างยังคงมีอิทธิพลบางส่วนเหลืออยู่ หรือมีปัจจัยบางประการของตัวอย่างที่ไม่สามารถควบคุมได้ เช่น ความหนาแน่นเนื้อของผลไม้ ความแข็งแรงของเมล็ด ความมันวาวที่ผิว เป็นต้น ซึ่งจะบิดเบือนการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่เราสนใจ ดังนั้นจึงต้องมีการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนที่จะนำไปทำการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน เพื่อกำจัดอิทธิพลดังกล่าว ซึ่งวิธีปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์นี้มีหลายแบบด้วยกัน แต่จะใช้แตกต่างกันตามจุดมุ่งหมาย (อนุพันธ์, 2545)

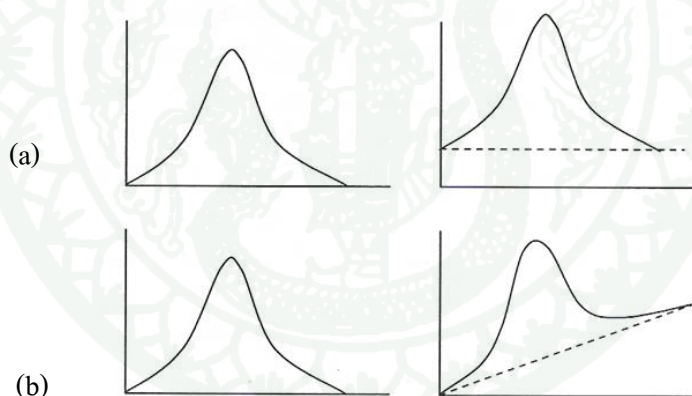
3.11.1 ปัจจัยที่มีผลต่อสเปกตรัม

ในการวัดตัวอย่างด้วยการฉายแสงย่านใกล้อินฟราเรด สเปกตรัมที่ได้ อาจจะมีลักษณะเหมือนกับมีเส้นตรงที่มีความชันรวมอยู่กับสเปกตรัมหรือมีการเลื่อนตัวของสเปกตรัมในแนวแกน Y ดังภาพที่ 5 และภาพที่ 6 โดยรูปทางซ้ายเปรียบเสมือนสเปกตรัมที่ไม่ได้รับผลกระทบ ภาพที่ 6 (a) เป็นสเปกตรัมที่ได้รับผลกระทบเรียกว่า เบสไลน์ออฟเซต (Baseline offset) ซึ่งทำให้สเปกตรัมเปลี่ยนแปลงเลื่อนขึ้นตามแนวตั้ง ส่วนภาพที่ 6 (b) เป็นผลกระทบที่เรียกว่า เบสไลน์ชิฟต์เชิงเส้น (Linear baseline shift) ซึ่งทำให้สเปกตรัมเอียงขึ้นไปทางด้านขวาที่มีความยาวคลื่นสูง เหมือนกับมีเส้นตรงที่มีความชันเป็นบวกถูกนำไปบวกเพิ่มกับสเปกตรัมเริ่มต้นที่อยู่ทางด้านซ้ายของภาพ



ภาพที่ 5 สเปกตรัมจากการวัดที่ยังไม่ได้ปรับ

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)



ภาพที่ 6 สเปกตรัมที่ได้รับผลกระทบแบบ (a) เบสไลน์ออฟเซต (baseline offset) และ (b) เบสไลน์ชิฟต์เชิงเส้น (linear baseline shift)

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

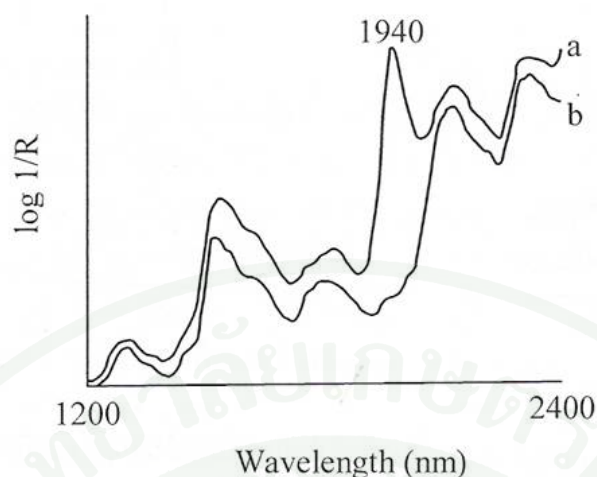
ปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดผลต่อสเปกตรัมคือ ขนาดอนุภาคของตัวอย่าง (particle size) และความชื้นในตัวอย่าง (moisture content) โดยปัจจัยทั้งสองมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการกระเจิงแสง (scattering) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่ทำให้แสงเปลี่ยนทิศทาง อันเป็นผลจากการสะท้อนแสง การหักเห หรือการเบี่ยงเบนแสง แสงที่เกิดการกระเจิงจะไม่ทะลุทะลวงลึกลงไป

ตัวอย่างมาก และจะสะท้อนกลับไปที่ผิวของตัวอย่างโดยแทบจะไม่มีข้อมูลการดูดกลืนแสง การกระเจิงแสงจะเกิดขึ้นในตัวอย่างที่มีอนุภาคเล็กๆ และทำให้ระยะแสงผ่านสัมฤทธิ์ (effective pathlength) เพิ่มขึ้น โดยระยะแสงผ่านสัมฤทธิ์ คือ ระยะในแนวเส้นตรงที่แสงจะต้องทะลุผ่านวัตถุ ก่อนที่จะถูกดูดกลืนแสง และจะเป็นสัดส่วนกลับกับการกระเจิงแสง ถ้าส่องแสงที่วัตถุและทำให้มีระยะแสงผ่านสัมฤทธิ์มาก แสงนั้นก็มีแนวโน้มที่จะถูกดูดกลืนสูง นอกจากนั้นแล้วการกระเจิงแสงยังขึ้นอยู่กับความยาวคลื่นของแสงด้วย เนื่องจากความเร็วของแสงจะไม่เหมือนกันในตัวอย่างเดียวกันถ้ามีความยาวคลื่นแตกต่างกัน ซึ่งทำให้สเปกตรัมที่ความยาวคลื่นต่างๆ ได้รับผลกระทบแตกต่างกัน โดยที่ความยาวคลื่นสูงจะได้รับอิทธิพลมากกว่าที่ความยาวคลื่นต่ำ (อนุพันธ์, 2552) จะสังเกตเห็นได้ในภาพที่ 5

สำหรับอิทธิพลที่มีผลต่อสเปกตรัมอาจมีสาเหตุมาจากปัจจัยได้หลายประการ ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ (อนุพันธ์, 2552)

ก. ความชื้นในตัวอย่าง (moisture content)

ในภาพที่ 7 แสดงสเปกตรัมแป้งสาลีปนที่มีความชื้นแตกต่างกันสองระดับ สเปกตรัมของน้ำมีการดูดกลืนแสงเด่นชัดที่ความยาวคลื่น 2 ค่า คือ 1450 nm และ 1940 nm น้ำเป็นสารดูดกลืนแสงที่มีประสิทธิภาพมาก (ค่า $\log(1/R)$ ในรูปมีค่าสูงหรืออาจเป็นค่า $\log(1/T)$) ย่านการดูดกลืนแสงของน้ำที่ความยาวคลื่น 1940 nm จะแตกต่างจากย่านการดูดกลืนแสงของสารอื่น เพราะฉะนั้นสารที่มีความชื้นจะมีสเปกตรัมที่มีการดูดกลืนสูงในย่านความยาวคลื่นของน้ำนี้ ซึ่งส่งผลเหมือนกับดังให้การดูดกลืนที่ความยาวคลื่นใกล้เคียงรอบๆ ข้างสูงขึ้นไปด้วย จากภาพที่ 7 ซึ่งจะสังเกตเห็นว่า สารที่มีความชื้นสูงจะมีการดูดกลืนโดยรวมสูงกว่าสารที่มีความชื้นต่ำกว่า อันเป็นผลมาจากการดูดกลืนแสงในย่านความยาวคลื่นของน้ำสูงนั่นเอง และจะเห็นว่าตัวอย่างที่มีความชื้นต่ำ ดังภาพที่ 7 (b) แทบจะไม่มีย่านการดูดกลืนของน้ำที่ความยาวคลื่น 1940 nm อยู่เลย ตรงกันข้ามกับตัวอย่างที่มีความชื้นสูงที่แสดงในภาพที่ 7 (a) จะมีการดูดกลืนแสงสูงกว่า เหตุผลคือน้ำมีดัชนีการหักเหสูงกว่าอากาศจึงทำให้ความแตกต่างระหว่างดัชนีการหักเหขององค์ประกอบในสารกับตัวกลางน้อยลง (โดยทั่วไปสารจะมีดัชนีการหักเหของแสงสูงกว่าตัวกลางที่เป็นอากาศมาก) การหักเหของแสงจึงไม่เกิดขึ้นมาก และการกระเจิงของแสงจึงเกิดขึ้นน้อยด้วย แสงจึงผ่านลงไปในสารได้ลึกขึ้นและถูกดูดกลืนแสงมากขึ้น (อนุพันธ์, 2552)



ภาพที่ 7 ตัวอย่างสเปกตรัมแป้งสาลีที่มีความชื้นแตกต่างกัน a) ตัวอย่างที่มีความชื้น b) ตัวอย่างผ่านการอบแห้ง

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

การทำความเข้าใจปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้ อีกลักษณะหนึ่งคือการนำไปเปรียบเทียบกับกรณีการดูดกลืนแสงที่สามารถมองเห็นได้ ยกตัวอย่างเช่น วัตถุที่เปียกขึ้นจะมองเห็นเป็นสีเข้มขึ้นหรือมืดขึ้นเมื่อเทียบกับขณะที่แห้ง เช่น เกลือที่แห้งจะเห็นเป็นสีขาวสว่าง ส่วนเกลือที่ชื้นจะเห็นเป็นสีขาวมัว นั่นคือ สำหรับวัตถุขึ้นแสงจะสะท้อนกลับมายังตาผู้มองน้อยลง นั่นหมายความว่าวัตถุดูดกลืนแสงมากขึ้นเมื่อมีความชื้น โดยทั่วไปสารที่แห้งจะมีคุณสมบัติในการกระเจิงแสงสูงกว่าสารชนิดเดียวกันที่เปียก ทำให้แสงเข้าไปในเนื้อวัตถุได้น้อยและถูกดูดกลืนต่ำ (อนุพันธ์, 2552)

ข. ขนาดอนุภาค (particle size)

ขนาดของอนุภาคที่แตกต่างกันเป็นสาเหตุให้ปริมาณการกระเจิงแสงในตัวอย่างแตกต่างกันไปด้วย เนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดใหญ่จะเปลี่ยนทิศทางการเดินทางของแสงลงไปในตัวอย่างไม่บ่อยครั้งเท่ากับอนุภาคขนาดเล็ก ทำให้แสงสามารถเดินทางเข้าไปในตัวอย่างไม่ระยะทางมากกว่าก่อนที่แสงจะสะท้อนกลับออกมาทำให้ถูกดูดกลืนมากกว่า (ค่า $\log(1/R)$ สูงขึ้น) ตามที่ได้กล่าวมาแล้วว่า การกระเจิงแสงขึ้นอยู่กับความยาวคลื่น ดังนั้นผลจากขนาดของอนุภาคจึงแตกต่างกันไปตามความยาวคลื่นด้วย ผลที่เกิดขึ้นนี้จะเห็นได้จากสเปกตรัมที่ความยาวคลื่นสั้นจะ

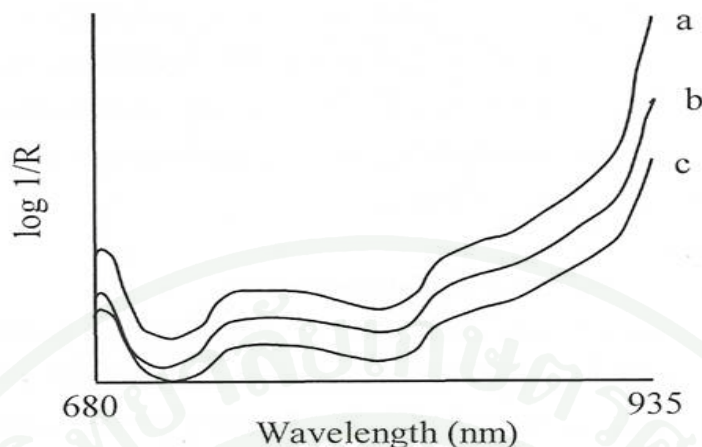
ได้รับผลกระทบน้อยกว่าที่ความยาวคลื่นสูงผลที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า ผลกระทบแบบคูณ (multiplicative effect) (อนุพันธ์, 2552)

ตัวอย่างเปรียบเทียบในกรณีของแสงที่มองเห็นได้คือ น้ำตาลในขวดโหลที่มีผลึกใหญ่เมื่อนำมาบดให้ละเอียดขึ้นแล้วใส่ในขวดโหลใบใหม่ เมื่อนำมาตั้งเปรียบเทียบกับน้ำตาลผลึกใหญ่จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า น้ำตาลบดละเอียดจะขาวกว่าน้ำตาลผลึกใหญ่นั้นคือ น้ำตาลบดละเอียดจะสะท้อนแสงกลับออกมายังผู้มองได้มากกว่าหรือแสงถูกดูดกลืนน้อยกว่า หรือน้ำแข็งเกล็ดจะเห็นเป็นสีขาวมากกว่าน้ำแข็งก้อนใหญ่ (อนุพันธ์, 2552)

ค. ขนาดของตัวอย่าง (sample size)

ตัวอย่างที่เป็นผลไม้ทั้งผลถ้ามีขนาดแตกต่างกันก็จะส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างกันได้ ถึงแม้ว่าจะเป็นผลไม้ที่มีสมบัติทางเคมีเหมือนกันก็ตาม ดังเช่นแสดงในภาพที่ 8 ซึ่งเป็นสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลส้ม (Satsuma mandarin) ที่ขนาดต่างๆ กันแต่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดที่เท่ากัน ผลไม้ถูกวัดในแบบการส่องผ่าน (Transmittance) พบว่าผลไม้ขนาดใหญ่จะมีการดูดกลืนแสงมากกว่าผลไม้ที่มีขนาดเล็ก หรือผลไม้ขนาดใหญ่ยอมให้แสงทะลุผ่านได้น้อยกว่าผลไม้ขนาดเล็ก ในกรณีนี้ซึ่งเป็นการวัดแบบส่องผ่าน ดังนั้นระยะทางที่แสงเดินทางผ่านเนื้อผลไม้ในผลขนาดใหญ่จึงมีมากกว่าในผลขนาดเล็ก เป็นสาเหตุให้แสงถูกดูดกลืนได้มากกว่า

ในทำนองเดียวกันถ้าตัวอย่างเป็นสารละลาย ระดับของสารละลายในภาชนะสำหรับการวัดแบบส่องผ่าน ก็จะมีผลต่อการดูดกลืนแสงเช่นเดียวกัน โดยตัวอย่างที่มีระดับของสารละลายสูงมากกว่าจะดูดกลืนแสงได้มากกว่า ซึ่งระดับของของเหลวจะสัมพันธ์กับระยะทางเดินของแสง ดังนั้นจึงต้องควบคุมระดับความสูงในภาชนะให้คงที่ในการวัดสเปกตรัมของทุกตัวอย่าง (อนุพันธ์, 2552)



ภาพที่ 8 สเปกตรัมของตัวอย่างผลส้มที่มีขนาดผลต่างกัน โดยผลขนาดใหญ่ (a) จะดูดกลืนแสงมากกว่าผลขนาดกลาง (b) และผลขนาดเล็ก (c)

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

ง. อุณหภูมิ (temperature)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่อสเปกตรัมของตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่ เช่น สารละลายหรือผลไม้ เป็นต้น น้ำในตัวอย่างจะค่อนข้างได้รับอิทธิพลจากอุณหภูมิได้ง่าย มีงานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าการวัดการดูดกลืนแสง NIR ของพืชซึ่งควบคุมให้มีอุณหภูมิแตกต่างกันในขณะวัดนั้น อุณหภูมิของตัวอย่างจะมีผลต่อสเปกตรัมในการทำงานเดียวกันกับผลกระทบที่ค่าทางเคมีในตัวอย่างมีต่อสเปกตรัม นั่นคือ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการดูดกลืนแสงของตัวอย่างก็จะสูงตามไปด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่สูงเป็นเหตุให้โมเลกุลของน้ำมีการสั่นที่มากขึ้นและทำให้การดูดกลืนแสงเกิดขึ้นมากตามไปด้วย ดังนั้นหากตัวอย่างที่นำมาวัดสเปกตรัมมีองค์ประกอบของน้ำมาก ก็ควรที่จะมีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ เครื่องมือวัดสเปกตรัมหรือ NIR spectrometer บางรุ่นจะมีอุปกรณ์ที่ออกแบบมาเป็นพิเศษ เพื่อให้มีการควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างที่เป็นสารละลายให้คงที่ เช่น อาจเป็นอุปกรณ์ที่ทำให้น้ำที่มีอุณหภูมิคงที่ไหลหมุนเวียนในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่างอยู่ตลอดเวลา เพื่อรักษาอุณหภูมิของตัวอย่างสารละลายในเซลล์ให้คงที่ เป็นต้น (อนุพันธ์, 2552)

จ. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับผิว

ในกรณีตัวอย่างที่เป็นผิวนั้น การบรรจุตัวอย่างลงในอุปกรณ์ใส่ตัวอย่าง สำหรับการวัดในแบบสะท้อนกลับต้องระมัดระวังในการใช้แรงหรือน้ำหนักในการกดบนตัวอย่างให้เท่าๆ กัน ทั้งนี้เพื่อป้องกันไม่ให้ความหนาแน่นระหว่างตัวอย่างแตกต่างกัน นอกจากนั้นจะต้องทำให้ผิวหน้าของตัวอย่างมีความเรียบสม่ำเสมอ ทั้งนี้เนื่องจากผิวหน้าตัวอย่างที่ขรุขระจะส่งผลต่อการดูดกลืนแสงที่แตกต่างจากผิวหน้าที่เรียบ ซึ่งผิวหน้าที่เรียบจะทำให้เกิดการสะท้อนแสงที่ผิวหน้ามากกว่า และอาจจะทำให้มีการดูดกลืนแสงน้อยลง นอกจากนี้ตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นสารแขวนลอยสามารถเกิดการดูดกลืนแสงแตกต่างกันได้ ยกตัวอย่างเช่น ฟองในสารละลาย ไชมันแขวนลอยในนม ตะกอนแป้งที่ละลายไม่สมบูรณ์ เป็นต้น (อนุพันธ์, 2552)

3.11.2 เทคนิคการลดผลกระทบจากปัจจัยที่มีต่อสเปกตรัม

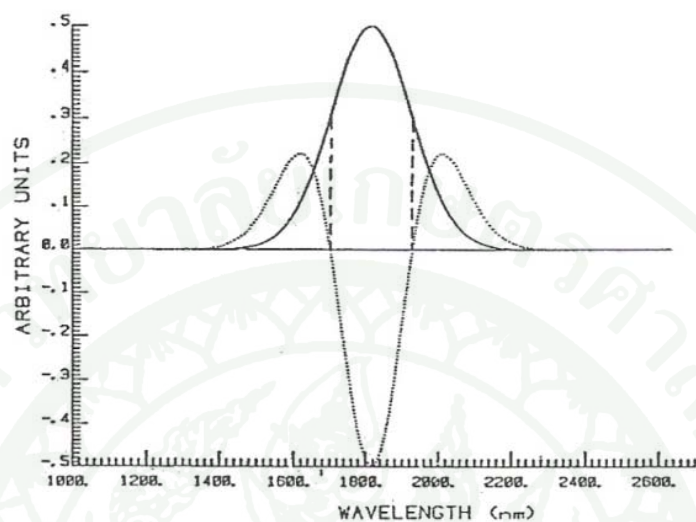
สเปกตรัมในย่านการดูดกลืนแสงใกล้อินฟราเรด โดยทั่วไปจะมีลักษณะที่เห็นได้ชัดคือ มีย่านการดูดกลืนเหลื่อมซ้อนกัน (overlapping) และความแตกต่างของขนาดของสเปกตรัมหรือ $\log(1/R)$ อันเนื่องมาจากสภาพการกระเจิงแสงหรือปัจจัยอื่นๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น ซึ่งมักส่งผลกระทบต่อที่มากกว่าผลจากความแตกต่างของความเข้มข้นขององค์ประกอบที่ต้องการวัด ดังนั้นก่อนที่จะนำสเปกตรัมไปวิเคราะห์จึงควรนำข้อมูลสเปกตรัมไปปรับด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์เพื่อลดความคลาดเคลื่อนดังกล่าวลงให้เหลือน้อยที่สุด (อนุพันธ์, 2552)

สำหรับวิธีการทางคณิตศาสตร์ที่นิยมใช้มีดังนี้

ก. การแปลงค่าด้วยวิธีอนุพันธ์ (derivative transformation)

การหาค่าอนุพันธ์ (derivative) ของสเปกตรัมเป็นวิธีที่ใช้ประโยชน์ในการแก้ปัญหาการซ้อนทับกันของจุดยอดในสเปกตรัม (overlapping) และการเลื่อนขึ้นของสเปกตรัมทั้งแบบเบสไลน์ออฟเซต (baseline offset) และเบสไลน์ชิฟต์เชิงเส้น (linear baseline shift) การคำนวณค่าอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) ของสเปกตรัม ดังภาพที่ 9 แสดงให้เห็นภาพทั่วไปของแถบดูดกลืนแสงของสเปกตรัมเริ่มต้น (absorption band) และอนุพันธ์อันดับสองของสเปกตรัมนั้น ทั้งนี้จะพบว่าจุดยอดที่เป็นบวกในส่วนซ้ายและส่วนขวาของค่าอนุพันธ์

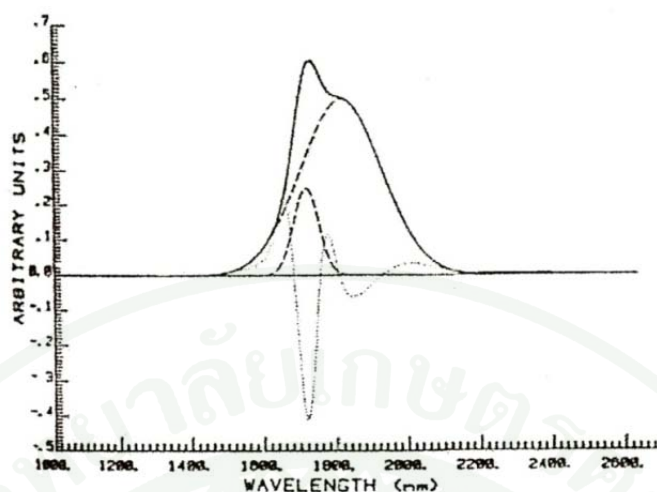
อันดับสอง (เส้นประในภาพที่ 9) ส่วนจุดยอดตรงกลางจะมีค่าลบสูงสุดและตรงกับจุดยอดของสเปกตรัมเริ่มต้น (อนุพันธ์, 2552)



ภาพที่ 9 สเปกตรัมเริ่มต้น (เส้นทึบ) และอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) ของสเปกตรัมเริ่มต้น (เส้นประ)

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

การแก้ปัญหาคือการเลื่อนซ้อนกันของจุดยอดในเส้นสเปกตรัมด้วยการแปลงเป็นค่าอนุพันธ์อันดับสอง แสดงในภาพที่ 10 ซึ่งจะเห็นสเปกตรัมเริ่มต้น 2 สเปกตรัม (เส้นประในภาพ) มีจุดยอดเหลื่อมซ้อนกันเป็นผลให้บางส่วนของสเปกตรัมด้านซ้ายบวกเพิ่มกับค่าจุดยอดของสเปกตรัมทางซ้าย ทำให้สเปกตรัมรวมมีจุดยอดด้านซ้ายสูงกว่าจุดยอดด้านขวา เมื่อแปลงสเปกตรัมเป็นค่าอนุพันธ์อันดับสอง (เส้นไขว้ปลาในภาพที่ 10) จะทำให้จุดยอดทั้งสองแยกตัวออกจากกันอย่างชัดเจนเพียงแต่จุดยอดกลับหัวเท่านั้นเอง (อนุพันธ์, 2552)



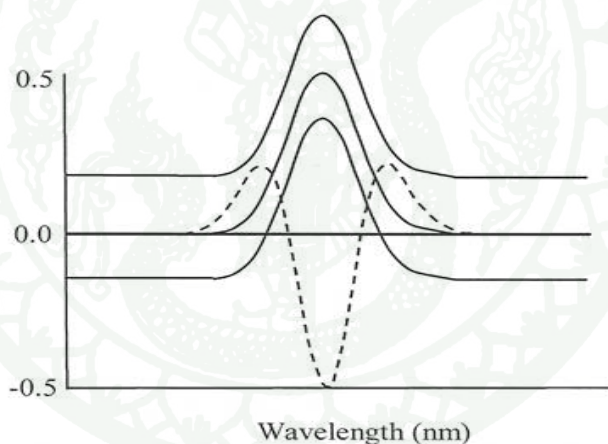
ภาพที่ 10 การแปลงเป็นค่าอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) (เส้นไขว้ปลา) เพื่อแยกจุดยอดของสเปกตรัม

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

นอกจากนั้นแล้วอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) ของสเปกตรัมยังช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่น (เบสไลน์ออฟเซต) อันเนื่องมาจากปัจจัยที่กล่าวมาแล้ว (ภาพที่ 11) ถ้าค่าที่เพิ่มขึ้นของสเปกตรัมอันเนื่องมาจากปัจจัยที่ทำให้สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นตามความยาวคลื่นหรือเพิ่มขึ้นเสมือนถูกบวกเพิ่มด้วยเส้นตรงที่มีความชันเป็นบวก การแปลงเป็นค่าอนุพันธ์อันดับสองของสเปกตรัมก็จะช่วยลดผลกระทบดังกล่าวลง ดังภาพที่ 12 ทั้งนี้เนื่องจากอนุพันธ์อันดับสองของเส้นตรงจะมีค่าเป็นศูนย์ (อนุพันธ์, 2552)

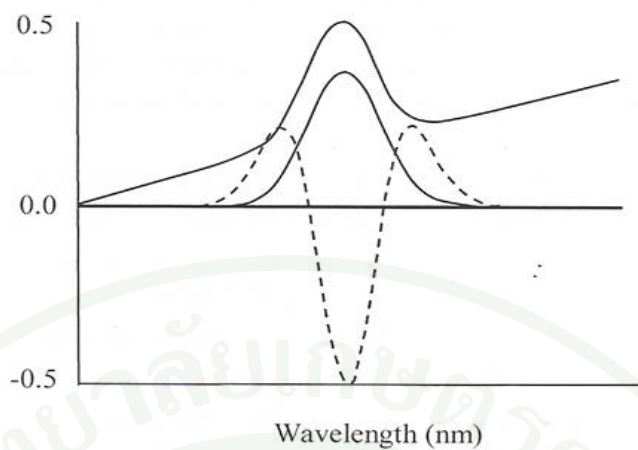
สำหรับการแปลงค่าเป็นอนุพันธ์อันดับสองจะช่วยลดผลกระทบจากการกระเจิงแสง ทั้งที่เป็นผลเชิงบวก (additive effect) ที่ทำให้ขนาดสเปกตรัมเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่นในลักษณะที่เป็นการบวกเพิ่มด้วยค่าบนเส้นตรงที่เป็นมุมเอียงซึ่งค่าบวกเพิ่มจะน้อยที่ความยาวคลื่นต่ำๆ และค่าบวกเพิ่มจะสูงที่ความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 12) และผลเชิงคูณ (multiplicative effect) ที่ทำให้ขนาดสเปกตรัมเพิ่มขึ้นตามความยาวคลื่นในลักษณะที่มีค่าคงที่มาก่อนค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่น โดยจะลดผลกระทบหลักจากผลเชิงบวก (อนุพันธ์, 2552)

โดยสรุปแล้วจุดเด่นของวิธีการแปลงเป็นค่าอนุพันธ์อันดับสองในงานด้าน NIR คือ การแยกจุดยอดที่เหลื่อมซ้อนกันในสเปกตรัมออกจากกัน และการลดผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมมีขนาดเพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่น การแปลงค่าเป็นอนุพันธ์อันดับหนึ่งก็ให้ผลในลักษณะเดียวกันแต่จะชัดเจนน้อยกว่า อย่างไรก็ตามอนุพันธ์อันดับหนึ่งมีความหมายอีกนัยหนึ่ง นั่นคือ เปรียบเสมือนเป็นการนำค่า $\log(1/R)$ ที่ความยาวคลื่นที่ใกล้เคียงกัน 2 ค่ามาลบกัน อย่างไรก็ตามอนุพันธ์อันดับหนึ่งให้ความหมายเป็นค่าความชันของสเปกตรัมที่แต่ละความยาวคลื่น (ภาพที่ 13) ซึ่งทำให้แปลความหมายยาก อนุพันธ์อันดับสองจึงได้รับความนิยมมากกว่าอนุพันธ์อันดับหนึ่ง เนื่องจากว่า อนุพันธ์อันดับสองจะให้จุดยอดตรงกับจุดยอดของสเปกตรัมดั้งเดิม แม้ว่าจะเป็นจุดยอดกลับหัวก็ตาม ข้อดีอีกด้านหนึ่งของการแปลงเป็นค่าอนุพันธ์ก็คือ ในการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (multiple regression) เพื่อสร้างสมการแคลิเบรชัน (calibration) นั้น ถ้าใช้ $\log(1/R)$ ที่ความยาวคลื่นต่างๆ ในสมการค่า $\log(1/R)$ เหล่านั้นจะมีความสัมพันธ์ต่อกันสูงซึ่งจะทำให้สมการไม่น่าเชื่อถือ แต่การใช้ค่าอนุพันธ์ของ $\log(1/R)$ แทน $\log(1/R)$ นั้นจะไม่เกิดปัญหาดังกล่าว (อนุพันธ์, 2552)



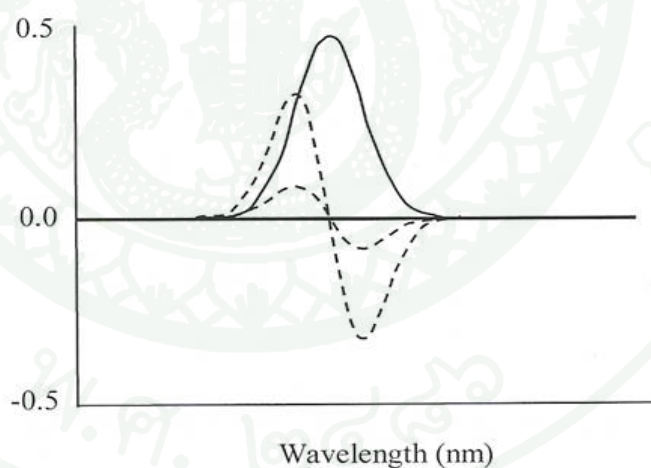
ภาพที่ 11 การแปลงค่าเป็นอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) (เส้นประ) แก้ปัญหาการบวกเพิ่มที่คงที่ตลอดความยาวคลื่นของสเปกตรัมหรือเบสไลน์ออฟเซต

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)



ภาพที่ 12 การแปลงค่าเป็นอนุพันธ์อันดับสองเพื่อแก้ปัญหการบวกเพิ่มที่มีค่าเปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นเป็นเส้นตรงมีความชันของสเปกตรัม

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)



ภาพที่ 13 อนุพันธ์อันดับหนึ่งให้สเปกตรัมที่มีค่าความชันเป็นศูนย์ตรงกับจุดยอดของสเปกตรัมเดิม

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

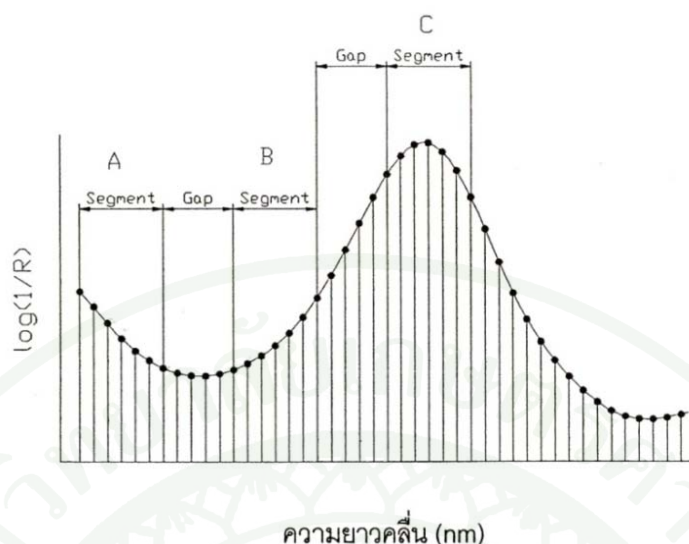
ค่าอนุพันธ์อันดับที่สูงขึ้นก็จะช่วยกำจัดผลกระทบทั้งสองกรณีได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าอนุพันธ์อันดับที่ต่ำกว่า โดยจะกำจัดการเพิ่มขึ้นทั้งเชิงเส้นและไม่เชิงเส้น อย่างไรก็ตามจะมีข้อเสียคือ สเปกตรัมที่ได้จะมีผลจากสัญญาณรบกวนมากขึ้นตาม เนื่องจากสัญญาณรบกวนมักจะเป็นจุดยอดเล็กๆ บนสเปกตรัม ซึ่งการแปลงเป็นค่าอนุพันธ์จะมีผลให้จุดยอดแยกจากกันชัดเจนขึ้นนั่นเองจึงทำให้สัญญาณรบกวนเหล่านี้ยังคงอยู่ด้วย ดังนั้นวิธีที่ดีคือให้ปรับสเปกตรัมให้เรียบก่อนการแปลงค่าอนุพันธ์ นอกจากนั้นแล้วค่าอนุพันธ์อันดับที่สูงให้ผลเป็นสเปกตรัมที่แปลความหมายเทียบกับสเปกตรัมเดิมได้ลำบาก จึงไม่นิยมใช้และไม่ค่อยได้ประโยชน์เพิ่มขึ้นแต่อย่างใดเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนของการสร้างสมการแคลิเบรชัน (calibration) และการทำแวลิดชัน (validation) (อนุพันธ์, 2552)

การคำนวณค่าอนุพันธ์ (derivative) หรือ ความชันของสเปกตรัมสามารถทำได้วิธีหนึ่งดังนี้

$$\begin{aligned}\text{First derivative} &= \text{slope} \\ &= B-A\end{aligned}$$

โดยที่ A และ B เป็นค่าเฉลี่ยสเปกตรัมของเซกเมนต์ (segment) ที่มีช่วงเท่ากันและอยู่ติดกัน ในการคำนวณต้องกำหนดขนาดของเซกเมนต์ (segment size) และขนาดของช่องห่าง (gap size) ก่อน ในภาพที่ 14 เป็นตัวอย่างการคำนวณที่เลือกขนาดของเซกเมนต์เท่ากับ 12 nm และขนาดของช่องห่างเท่ากับ 10 nm (ในกรณีนี้สเปกตรัมในแต่ละความยาวคลื่นหรือแต่ละจุดห่างกัน 2 nm) การคำนวณเริ่มต้นด้วย การนำค่าสเปกตรัมทั้ง 7 ค่าในช่วงของเซกเมนต์แรกมาบวกกันแล้วหาค่าเฉลี่ย จะได้ค่า A เป็นตัวแทนของเซกเมนต์ จากนั้นข้ามสเปกตรัมไปเท่ากับค่าขนาดของช่องห่างและคำนวณค่าเฉลี่ยของสเปกตรัมอีก 7 ค่าในช่วงเซกเมนต์ถัดไป จะได้ค่า B เป็นตัวแทนของเซกเมนต์ที่สอง แล้วนำค่า A ลบออกจากค่า B ผลที่ได้นำไปแทนค่าสเปกตรัมที่จุดเริ่มต้นของเซกเมนต์แรก ซึ่งการคำนวณจะกระทำทุกเซกเมนต์ต่อเนื่องกันไปจนตลอดความยาวคลื่นทั้งหมดต่อนั้นก็ข้ามเซกเมนต์ไปทางขวา 1 จุดหรือ 2 nm ดังในกรณีนี้ แล้วคำนวณซ้ำเหมือนกับที่กล่าวมาจนเสร็จสิ้น (อนุพันธ์, 2552)

การคำนวณค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่งใช้ได้ผลกับตัวอย่างที่มีเนื้อสม่ำเสมอ เช่น แป้งสาลีที่บดจนละเอียดและมีการกระจายตัวของอนุภาคสม่ำเสมอทั่วถึง



ภาพที่ 14 ขนาดเซกเมนต์ (segment size) และขนาดช่องว่าง (gap size) ที่กำหนดในสเปกตรัม เพื่อคำนวณค่าอนุพันธ์

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

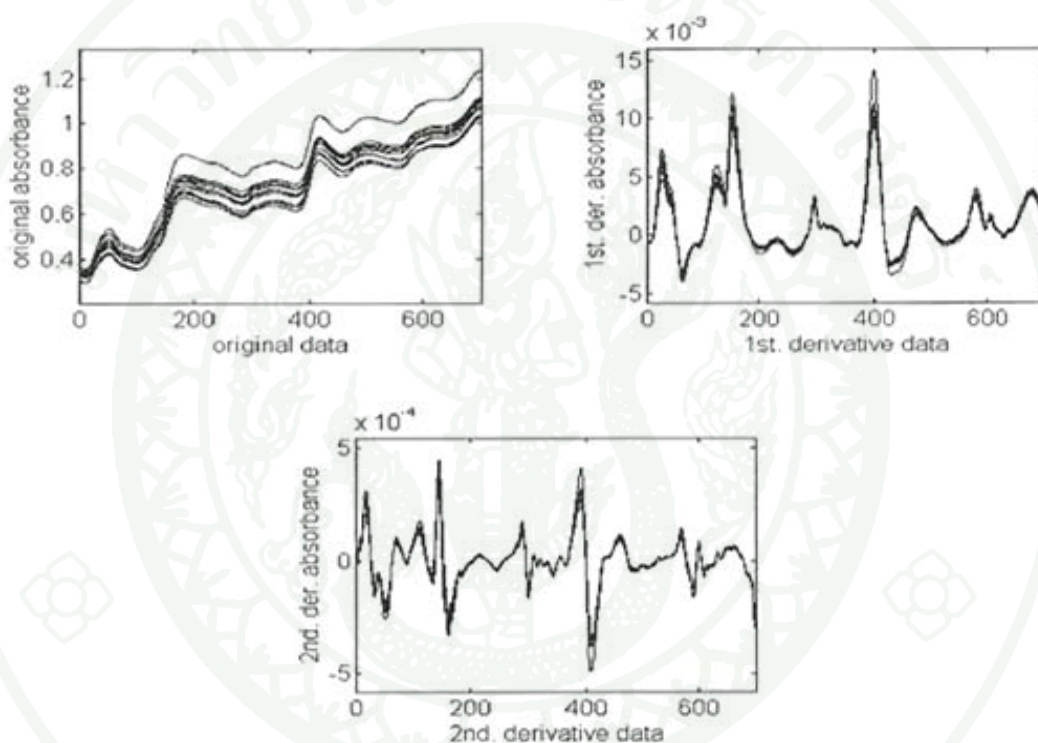
สำหรับการคำนวณค่าอนุพันธ์อันดับสองก็คือ การคำนวณผลลบของค่าที่ได้จากอนุพันธ์อันดับหนึ่งที่ติดกันนั่นเองหรือเป็นที่รู้จักกันว่าเป็นการคำนวณหาการเปลี่ยนแปลงความชันของสเปกตรัม ดังสมการคือ

$$\begin{aligned}
 \text{Second derivative} &= \text{change in slope} \\
 &= \text{First derivative แรก} - \text{First derivative ถัดมา} \\
 &= (B - A) - (C - B) \\
 &= 2B - A - C
 \end{aligned}$$

โดยที่ A, B และ C เป็นค่าเฉลี่ยสเปกตรัมของเซกเมนต์ที่อยู่ติดกันและมีช่วงเซกเมนต์เท่ากัน การคำนวณก็จะคล้ายกับการคำนวณอนุพันธ์อันดับหนึ่งโดยในการคำนวณค่าอนุพันธ์อันดับสองของจุดแรกต้องหาค่า C ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของสเปกตรัมในช่วงที่สามหรือ C ในภาพที่ 14 ด้วย แล้วคำนวณผลลบของค่าเฉลี่ยในเซกเมนต์แรกและเซกเมนต์ที่สองซึ่งคือ $B - A$ แล้วคำนวณผลลบของค่าเฉลี่ยในเซกเมนต์ที่สองและเซกเมนต์ที่สามซึ่งคือ $C - B$ แล้วนำมาผลลบค่าแรกมาลบออกจากผลลบค่าที่สอง ตามสมการ ค่าผลลบสุดท้ายที่ได้นำไปแทนค่า

สเปกตรัมที่จุดแรกของเซกเมนต์แรก และคำนวณผลลบตามสมการไปจนครบตลอดช่วงความยาวคลื่น ต่อจากนั้นจึงเลื่อนเซกเมนต์ไปทางขวา 1 จุดหรือ 2 nm และทำการหาผลลบซ้ำจนเสร็จสมบูรณ์ (อนุพันธ์, 2552)

ค่าอนุพันธ์อันดับสองใช้ได้ผลดีกับตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคต่างๆ ผสมผสานกันอยู่ สเปกตรัมที่ได้จากการคำนวณค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่งและอันดับสอง เปรียบเทียบกับสเปกตรัมเริ่มต้น แสดงในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 ค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (1^{st} derivative) และอนุพันธ์อันดับสอง (2^{nd} derivative) เปรียบเทียบกับสเปกตรัมเริ่มต้น (original spectrum)

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

ข. การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (multiplicative scatter correction, MSC)

เป็นเทคนิคทางคณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้นมาเพื่อลดผลที่เกิดจากการกระเจิงแสง (scattered light) ต่อสเปกตรัม NIR ที่ได้จากการวัดแบบการสะท้อนแพร่ (diffuse reflectance) และแบบส่องผ่าน (transmittance) โดยทั่วไปการกระเจิงแสงจะทำให้ความชันโดยรวมของสเปกตรัมเปลี่ยนไป ซึ่งเปรียบเสมือนว่าสเปกตรัมถูกทำให้หมุนรอบจุดที่ความยาวคลื่นต่ำสุดของสเปกตรัม (multiplicative effect) ถ้าสมมติให้สเปกตรัมเป็นเส้นตรง สเปกตรัมก็จะถูกทำให้มีความชันแตกต่างไปจากเดิมหรือเหมือนกับเส้นตรงถูกหมุนไป (อนุพันธ์, 2552) แสดงดังภาพที่ 16



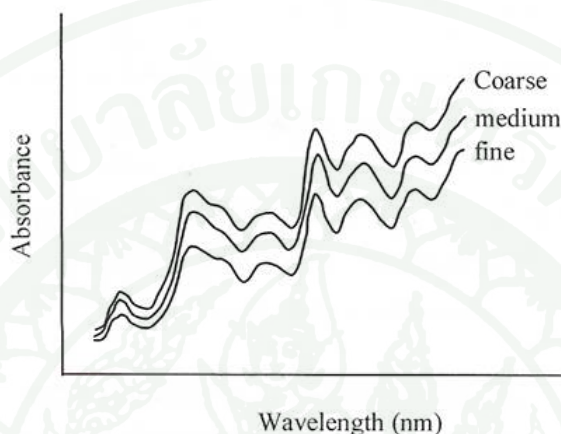
ภาพที่ 16 กราฟที่มีความชันเปลี่ยนแปลงไปเปรียบเสมือนเส้นตรงนั้นหมุน

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

MSC นั้นถูกสร้างขึ้นมาเพื่อให้สามารถลดผลกระทบแบบผลคูณ (multiplicative effect) แต่ในทางปฏิบัติสามารถลดผลในแบบผลบวก (additive effect) ได้ด้วย หรือผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นหรือลดลงเท่ากันตลอดช่วงความยาวคลื่น

จากภาพที่ 17 เป็นตัวอย่างสเปกตรัมที่ได้รับผลแบบ Multiplicative effect โดยในรูปเป็นแท่งที่มีส่วนประกอบทางเคมีเหมือนกัน แต่ถูกบดให้มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน 3 ขนาด จะพบว่าตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคใหญ่จะดูดกลืนแสงมากกว่าตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า และผลที่เกิดขึ้นจะทำให้สเปกตรัมแตกต่างกันมากขึ้นที่ความยาวคลื่นสูงขึ้น ซึ่งเปรียบ

เสมือนจะทำให้สเปกตรัมหมุนรอบจุดเริ่มต้นเป็นมุมแตกต่างกัน เนื่องจากการกระเจิงแสงที่เกิดจากขนาดอนุภาคที่ต่างกัน จากงานวิจัยที่ผ่านมา ได้มีผู้คิดค้นวิธีทางคณิตศาสตร์ที่ทำให้สเปกตรัมแต่ละอันหมุนกลับมาที่เดิมเพื่อให้สเปกตรัมตรงกับสเปกตรัมเฉลี่ยของตัวอย่างทั้งหมดให้มากที่สุด (อนุพันธ์, 2552)



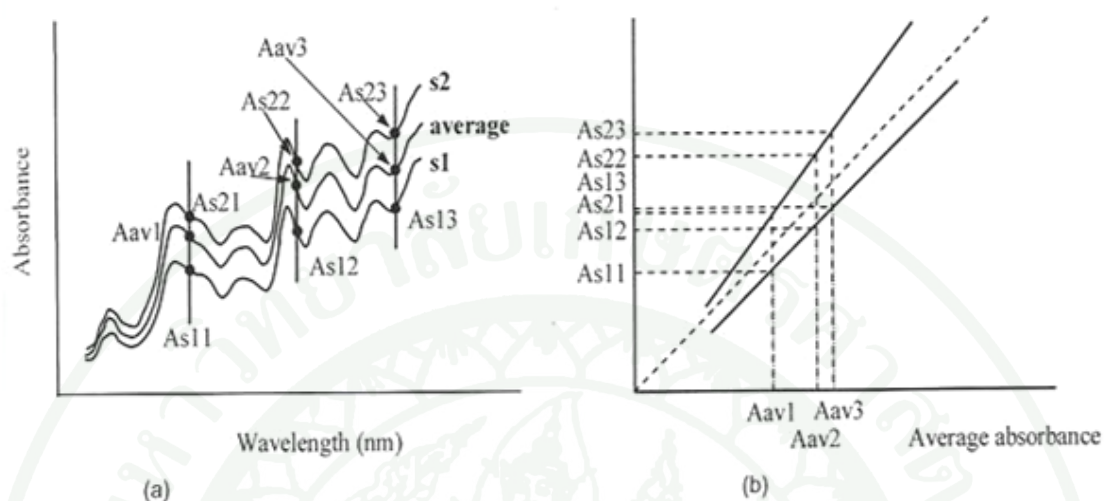
ภาพที่ 17 ตัวอย่างแป้งที่มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน 3 ขนาดแต่มีค่าทางเคมีเท่ากัน

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

การปรับแก้ด้วยวิธี MSC มีขั้นตอนดังนี้ พิจารณาภาพที่ 18 ขั้นแรกจะต้องนำสเปกตรัมของตัวอย่างทั้งหมดมาเฉลี่ยเพื่อให้ได้สเปกตรัมเฉลี่ยก่อน จากนั้นนำค่า $\log(1/R)$ หรือค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ในภาพที่ 18(a) ที่แต่ละความยาวคลื่นของแต่ละตัวอย่างมาพลอตกับค่า $\log(1/R)$ ของสเปกตรัมเฉลี่ยของตัวอย่างทั้งหมดทุกความยาวคลื่น ซึ่งจะได้เส้นตรงที่มีความชันไม่เท่ากับหนึ่ง เช่นในภาพที่ 18 ตัวอย่าง s2 มีความชันของเส้นตรงมากกว่าหนึ่งเกิดจากพลอตค่า Aav1 กับ As21 เป็นต้น ส่วนตัวอย่าง s1 มีความชันน้อยกว่าหนึ่งเกิดจากพลอต Aav1 กับ As11 เป็นต้น ถ้าตัวอย่างใดมีสเปกตรัมเหมือนกับสเปกตรัมเฉลี่ยกราฟจะเป็นเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับหนึ่ง (อนุพันธ์, 2552)

แต่ละจุดในภาพที่ 18 คือการดูดกลืนแสงของตัวอย่างหนึ่งๆ กับค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของตัวอย่าง s1 และตัวอย่าง s2 ที่ความยาวคลื่นต่างๆ ตลอดช่วง ดังนั้นถ้าสเปกตรัมประกอบด้วย 701 จุด แต่ละเส้นในภาพที่ 18 ก็จะมี 701 จุดด้วยเช่นกัน เส้นแต่ละเส้น

แทนหนึ่งตัวอย่างการพล็อตในลักษณะนี้จะแสดงให้เห็นถึงรูปแบบการกระเจิงแสง (scattering profile) ที่มีอยู่ในสเปกตรัม (อนุพันธ์, 2552)



ภาพที่ 18 พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสง Asi (absorbance หรือ $\log(1/R)$) ของสเปกตรัมของตัวอย่าง s1 และ s2 (แกน Y) กับค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมเฉลี่ย Aavi (แกน x)

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

วิธีการของ MSC ก็คือการหมุนสเปกตรัมในภาพที่ 17 ของแต่ละตัวอย่างให้มาตรงกับสเปกตรัมเฉลี่ย ขั้นตอนการหมุนดังกล่าวทำได้โดยการหาค่าคงที่ค่าหนึ่งมาลบออกจากสเปกตรัมเพื่อลดผลจากการเลื่อนตัวของสเปกตรัมและต้องหาค่าคงที่อีกค่าหนึ่งมาหารค่าการดูดกลืนแสงของทุกๆ จุด (ความยาวคลื่น) ของตัวอย่างเพื่อปรับความชันของสเปกตรัมที่เปลี่ยนไป หรือก็คือการปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เพิ่มขึ้นหรือลดลงเป็นสัดส่วนเพื่อให้มีค่าตรงกับสเปกตรัมเฉลี่ย วิธีการให้ได้มาซึ่งค่าคงที่ดังกล่าวคือวิธีวิเคราะห์ความถดถอย (regression) เพื่อหาสมการเส้นตรงของแต่ละตัวอย่างในภาพที่ 18 ดังนี้

$$x_{iw} = a_i + b_i \bar{x}_w \quad (7)$$

$$w = 1, \dots, p$$

โดยที่ x_{iw} คือ ค่า $\log(1/R)$ ของตัวอย่าง i ที่ความยาวคลื่น w ของตัวอย่างที่มี p ความยาวคลื่น

$\bar{x}_w$ คือ ค่าเฉลี่ย $\log(1/R)$ ที่ความยาวคลื่น w ของตัวอย่างทั้งหมด
 a_i และ b_i คือ ค่าคงที่สำหรับสมการความถดถอยของตัวอย่าง i

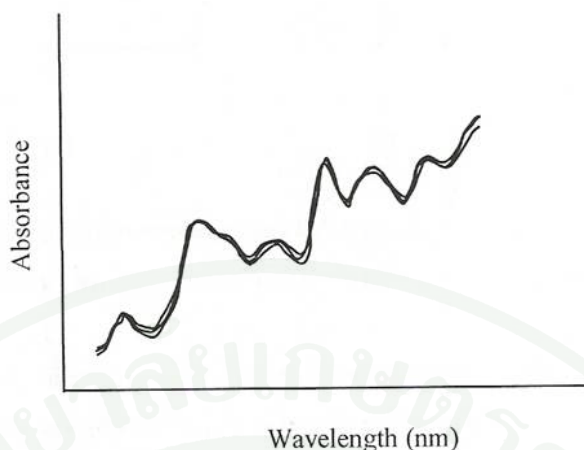
ในแต่ละตัวอย่างก็จะได้ค่า a_i และ b_i อย่างละค่าแตกต่างกัน ค่า a_i และ b_i นี้จะนำมาใช้คำนวณ (หรือหาค่าสเปกตรัม) ค่าสเปกตรัมใหม่ดังนี้

$$x_{i,MSC} = \frac{(x_{iw} - a_i)}{b_i} \quad (8)$$

$$w = 1, \dots, p$$

สเปกตรัม NIR ของแป้งตัวอย่างที่ปรับแก้ด้วยวิธี MSC แล้วแสดงผลอยู่ในภาพที่ 19 ซึ่งสเปกตรัม NIR ในรูปของแต่ละตัวอย่างจะถูกปรับแก้ เสมือนกับถูกหมุนให้มาใกล้กับสเปกตรัมเฉลี่ย ข้อพึงระวังคือถ้าใช้ MSC กับสเปกตรัมในตัวอย่างกลุ่มแคเลิเบรชันก็จะต้องใช้ MSC กับกลุ่มตัวอย่างที่จะนำมาประเมินค่าทางเคมีในอนาคตด้วย ดังนั้นสเปกตรัมเฉลี่ยที่ใช้จะถูกบันทึกเก็บไว้สำหรับใช้กับตัวอย่างในอนาคต (อนุพันธ์, 2552)

การใช้วิธี MSC ให้ผลต่อรูปร่างของสเปกตรัมแตกต่างจากการใช้วิธีอนุพันธ์อันดับสองอย่างเห็นได้ชัด แม้ว่าผลการปรับแก้จะเป็นไปในแนวเดียวกันในการวิเคราะห์ก็ตาม โดยรูปร่างของสเปกตรัมหลังจากใช้วิธี MSC แล้วจะมีรูปร่างไม่แตกต่างจากสเปกตรัมก่อนการปรับแก้มาก ในขณะที่รูปร่างของสเปกตรัมหลังจากวิธีอนุพันธ์อันดับสอง จะแตกต่างจากสเปกตรัมเริ่มต้นอย่างชัดเจน การใช้วิธี MSC จะให้ผลได้ดีที่สุด ถ้ามีการปรับแก้การเลื่อนตัวของสเปกตรัมก่อน (อนุพันธ์, 2552)



ภาพที่ 19 สเปกตรัม NIR ที่ได้รับผลกระทบแบบผลคูณ (multiplicative effect) หลังจากการปรับแก้ด้วย MSC

ที่มา: อนุพันธ์ (2552)

ค. วิธีการปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐานและการปรับแนวโน้ม (Standard Normal Variate, SNV และ Detrending)

ตัวอย่างที่ถูกวัดด้วยวิธีการสะท้อนแบบแพร่ (diffuse reflectance) โดยทั่วไปจะทำให้เกิดสเปกตรัมที่แตกต่างกันอันเนื่องมาจากการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอของอนุภาคในตัวอย่าง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกิดการกระเจิงแสงที่สูงและเป็นสาเหตุให้เกิดความแปรปรวนส่วนใหญ่ในข้อมูลที่วัดได้ (อนุพันธ์, 2552)

ขนาดของการกระเจิงแสงจะขึ้นอยู่กับความยาวคลื่นของแสง ขนาดอนุภาค และดัชนีหักเหของตัวอย่าง เพราะฉะนั้นการกระเจิงแสงจึงเกิดไม่สม่ำเสมอตลอดช่วงสเปกตรัม โดยทั่วไปการกระเจิงแสงจะทำให้เกิดการเลื่อนตัวขึ้นในแนวตั้งของสเปกตรัมทั้งเส้น การเลื่อนตัวและทำให้เกิดการหมุนของเส้นสเปกตรัม หรือทำให้สเปกตรัมมีความโค้งเพิ่มขึ้น เป็นต้น นอกจากนั้นอิทธิพลของการกระเจิงแสงจะเกิดมากในช่วงความยาวคลื่นสูงที่ส่วนปลายสเปกตรัม (อนุพันธ์, 2552) ซึ่งจะเห็นได้ดังภาพที่ 17

วิธีการกำจัดอิทธิพลของการกระเจิงแสงออกจากสเปกตรัมอีกวิธีหนึ่งคือ การปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน (Standard Normal Variate, SNV) โดยเป็นวิธีที่

มักจะใช้คู่กับการปรับแนวโน้มของเส้นสเปกตรัม (detrending) โดยใช้การปรับแก้ด้วย SNV แล้วจึงตามด้วยการปรับแก้แนวโน้มหรือการลดความโน้มเอียงเส้นสเปกตรัม ทั้งนี้เพื่อปรับแก้ผลที่เกิดจากการกระเจิงแสงที่มักจะส่งผลเป็นแบบผลคูณต่อค่าการดูดกลืนแสง โดยผลจากการปรับแก้จะคล้ายคลึงกับวิธีปรับแก้แบบ MSC ส่วนวิธีการปรับแนวโน้มนั้นจะใช้ต่อ จากวิธี SNV เพื่อปรับแก้เพิ่มเติมโดยเป็นวิธีลดความแปรปรวนที่ทำให้เกิดการเคลื่อนตัวในแนวตั้งของเส้นสเปกตรัม (baseline shift) แต่โดยทั่วไปการปรับแก้ด้วยวิธี SNV อย่างเดียวก็เพียงพอ วิธีการปรับแนวโน้มจะใช้ต่อจากวิธี SNV เสมอจะไม่ถูกนำมาใช้เพียงลำพังวิธีเดียว (อนุพันธ์, 2552)

กระบวนการปรับแก้แบบ SNV จะแตกต่างจากวิธี MSC โดยไม่จำเป็นต้องใช้สเปกตรัมอ้างอิงเหมือนในวิธี MSC ที่ต้องใช้สเปกตรัมเฉลี่ยเป็นค่าอ้างอิง ในวิธี SNV สเปกตรัมแต่ละเส้นจะถูกปรับแก้โดยปรับค่าการดูดกลืนให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน (normalization) คล้ายกับการคำนวณค่ามาตรฐานหรือ ค่า z ในทางสถิติ โดยปรับแก้ให้ค่าเฉลี่ยของสเปกตรัมมีค่าเป็นศูนย์ด้วยการนำค่าเฉลี่ยของสเปกตรัม (ค่าการดูดกลืนแสง) ของตัวอย่างนั้นๆ มาลบออกจากค่าสเปกตรัมที่แต่ละความยาวคลื่นตลอดช่วง และปรับแก้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานให้เท่ากับหนึ่ง โดยนำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมตลอดช่วงมาหารค่าสเปกตรัมหรือค่าการดูดกลืนแสงที่แต่ละความยาวคลื่น ดังแสดงในสมการด้านล่าง

$$A_{i,j}(\text{SNV}) = \frac{(A_{i,j} - \bar{a}_i)}{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^p (A_{i,j} - \bar{a}_i)^2}{(p-1)}}} \quad (9)$$

โดยที่ $A_{i,j}$ คือ ค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น j (ความยาวคลื่นมีทั้งหมด p ความยาวคลื่น) ของตัวอย่าง i

และ $\bar{a}_i$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนตลอดช่วงสเปกตรัมของตัวอย่าง i

ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจะคำนวณมาจากค่าการดูดกลืนแสงของเส้นสเปกตรัมแต่ละเส้นที่ต้องการปรับแก้ของตัวอย่างนั้นๆ เองโดยอิสระ เมื่อปรับแก้แล้วจะได้สเปกตรัมคล้ายคลึงกับภาพที่ 19

ขั้นตอนต่อมาคือการปรับแก้แนวโน้มของสเปกตรัมซึ่งจะใช้ข้อมูลของสเปกตรัมนั้นๆ โดยอิสระจากสเปกตรัมอื่น วิธีการปรับแก้เริ่มจากการคำนวณสร้างสมการแนวโน้มในรูปแบบพหุนามกำลังสาม (quadratic polynomial) ด้วยวิธีวิเคราะห์การถดถอย

ลีสตแควร์ (linear least square regression) หรือหาสมการที่เป็นตัวแทนเส้นสเปกตรัมได้ดีที่สุด หลังจากนั้นนำค่าของสมการโพลีโนเมียลที่ได้ในแต่ละความยาวคลื่นไปลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงที่ปรับแก้ด้วยวิธี SNV แล้วที่ความยาวคลื่นนั้นๆ ก็จะได้สเปกตรัมที่ปรับแก้ ซึ่งจะชดเชยและปรับแก้ผลที่เกิดจากขนาดอนุภาค และความแน่นของตัวอย่างที่เกิดจากการบรรจุที่แตกต่างกัน ผลที่ได้จากการปรับแนวโน้มที่ชัดเจนอย่างหนึ่งคือจะช่วยให้ยอดของสเปกตรัมมีความเด่นชัดขึ้น (อนุพันธ์, 2552)

3.12 การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน

การหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลการดูดกลืนแต่ละความยาวคลื่นกับค่าทางเคมี โดยทั่วไปมักใช้การวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis) ซึ่งมีหลายวิธี เช่น การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression or MLR) การถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least square regression or PLS) การถดถอยองค์ประกอบหลัก (principle component regression or PCR) เป็นต้น โดยวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในขณะนี้คือ PLS และ PCR เนื่องจากโปรแกรมจะวิเคราะห์การถดถอย เพื่อสร้างสมการแคลิเบรชันอย่างอัตโนมัติ รวดเร็ว ทำให้ผู้ที่มีความสะดวก ใดก็ได้ เพื่อให้สมการแคลิเบรชันมีความเสถียร และมีจำนวน factors ที่เหมาะสม ผู้ใช้ควรตรวจสอบช่วงความยาวคลื่นที่ดีที่สุดที่สอดคล้องกับการดูดกลืนขององค์ประกอบที่เราสนใจ ดังนั้นระหว่างการสร้างสมการแคลิเบรชัน ผู้ใช้ควรลองปรับช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ วิธีการปรับแต่งสเปกตรัม และเงื่อนไขการปรับแต่งในแต่ละวิธี เช่น จำนวนจุดที่ใช้ในการคำนวณ หรือหาค่าเฉลี่ยเป็นต้น เพื่อให้ได้สมการแคลิเบรชันที่ดีที่สุด (รณฤทธิ์, 2552)

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีการต่างๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้นจะถูกนำมาสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนาย โดยเริ่มจากนำตัวอย่างทั้งหมดที่มีข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีการใดวิธีการหนึ่ง และมีข้อมูลการวิเคราะห์ค่าคุณภาพด้วยวิธีทางเคมีแล้ว (reference method) มาแบ่งแบบสุ่ม ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างในการสร้างสมการทำนาย (calibration sample set) และกลุ่มตัวอย่างตรวจสอบความถูกต้องของสมการที่สร้างขึ้น (validation sample set) จากนั้นกำหนดให้ข้อมูลสเปกตรัมที่ความยาวคลื่นต่างๆ เป็นตัวแปรอิสระ(x) ส่วนข้อมูลค่าคุณภาพที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีเป็นตัวแปรตาม (Y) ทั้งในกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการและกลุ่มตรวจสอบความถูกต้องของสมการที่สร้างขึ้น และนำข้อมูลตัวแปรอิสระ (x) และตัวแปรตาม (Y) ของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการมาหาความสัมพันธ์กันด้วยวิธีทางสถิติเพื่อสร้างสมการ ในการสร้างสมการทำนายนั้น สิ่งสำคัญ คือ การหาตัวแปรอิสระที่

น่าจะมีความสัมพันธ์กับค่าตัวแปรตามที่ทำการศึกษา ซึ่งการคัดเลือกหาตัวแปรอิสระสามารถแบ่งออกได้ 2 วิธีหลัก คือ วิธีการคัดเลือกความยาวคลื่น (wavelength selection methods) และวิธีการใช้ความยาวคลื่นตลอดช่วง (Full-spectrum methods) (อนุพันธ์, 2552) ซึ่งแต่ละวิธีมีรายละเอียด ดังนี้

3.12.1 วิธีการคัดเลือกความยาวคลื่น (wavelength selection methods)

เป็นวิธีการที่ใช้ในการคัดเลือกตัวแปรอิสระเฉพาะความยาวคลื่น (wavelength) ที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรตามที่จะทำการทำนายหรือวิเคราะห์ ซึ่งเทคนิคในการคัดเลือกตัวแปรอิสระนี้มีหลายเทคนิคด้วยกัน เช่น เลือกจากความถี่ความชันหรือเอกสารอ้างอิงที่บ่งบอกถึงช่วงความยาวคลื่นที่คาดว่าจะมีความสัมพันธ์กับค่าที่นำมาวิเคราะห์ เช่น ปริมาณน้ำในตัวอย่างน่าจะมีความสัมพันธ์กับค่าที่อ่านได้จากสเปกตรัม NIR ที่ตำแหน่งความยาวคลื่น 1940 นาโนเมตร เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้เทคนิคทางสถิติในการคัดเลือกความยาวคลื่นที่คาดว่าจะมีความสัมพันธ์ เช่น การถดถอยพหุคูณ (multiple regression) หรือการสร้างกราฟคอเรลโลแกรม (correlation diagram) เป็นต้น (อนุพันธ์, 2545)

วิธีการสร้างสมการแคลิเบรชัน แบบวิธีการคัดเลือกความยาวคลื่นวิธีหนึ่ง ที่อาศัยหลักและวิธีทางสถิติเข้ามาช่วยในการสร้างสมการคือ วิธีการถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple linear regression or MLR) โดยสมการที่สร้างขึ้นมานี้จะเป็นสมการการถดถอยที่ประกอบด้วยตัวแปรอิสระ (x) มากกว่า 1 ตัว และตัวแปรตาม (Y) ในการประเมินค่าตัวแปรตาม (Y) ด้วยวิธี MLR นี้จะทำให้สมการที่ได้ลดความผิดพลาดในการประมาณลง สำหรับตัวอย่างของสมการ MLR ดังสมการ (10)

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_kx_k \quad (10)$$

เมื่อ $b_0, b_1, b_2, \dots, b_k$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

หากพิจารณาเรื่องการใช้เทคนิค NIR ในการหาความสัมพันธ์เชิงปริมาณของตัวอย่าง ตัวแปรอิสระ (x) ในที่นี้จะหมายถึงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ นั้นเอง (อนุพันธ์, 2545)

อย่างไรก็ตาม สมการทำนายที่สร้างขึ้นอาจจะมีปัญหาเกิดขึ้น เนื่องจาก การเกิดความคลาดเคลื่อนจากการสร้างสมการ (interference) หรือสมการที่ได้มีตัวแปรอิสระมากเกินไปในสมการทำให้ข้อมูลไม่น่าเชื่อถือ หรือที่เรียกว่าเกิด over fitting หรืออาจเกิดจากตัวแปรอิสระที่นำมาใช้สร้างสมการมีความสัมพันธ์กันเอง (multicollinearity)

3.12.2 วิธีการใช้ความยาวคลื่นตลอดช่วง (Full-spectrum method)

เป็นวิธีการคัดเลือกหาช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม (selective wavelength) จากความยาวคลื่นทั้งหมดที่มีในสเปกตรัม หรือความยาวคลื่นตลอดช่วงทั้งหมด (Full spectrum) มาใช้ในการสร้างสมการทำนาย โดยใช้วิธีทางสถิติในการจัดกลุ่มตัวแปรอิสระ หรือความยาวคลื่นที่มีความเกี่ยวข้องกันให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน หรือทำการสร้างตัวแปรใหม่จากตัวแปรเดิม ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถช่วยแก้ปัญหาข้างต้นได้ (อนุพันธ์, 2545) วิธีการทางสถิติที่นิยมใช้ ได้แก่

ก. วิธีการถดถอยโดยใช้องค์ประกอบหลัก (Principal component regression or PCR)

การทำ PCR จะเริ่มจากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis or PCA) กับข้อมูลที่เป็นตัวแปรอิสระ (x) ที่ได้จากข้อมูลเส้นสเปกตรัมเพื่อลดจำนวนตัวแปรอิสระลง โดยการสร้างตัวแปรขึ้นมาใหม่ (new factors) จากนั้นนำตัวแปรที่สร้างขึ้นมานี้มาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม (Y) ที่หาได้จากวิธีมาตรฐาน เพื่อสร้างสมการแคลิเบรชัน โดยใช้หลักการของการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ (multiple regression analysis)

ข. วิธีการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (Partial least square regression or PLS)

PLS เป็นเทคนิคการวิเคราะห์หลายตัวแปรเทคนิคหนึ่งที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัม NIR โดยถือเป็นเทคนิคการลดจำนวนตัวแปรเทคนิคหนึ่งเช่นเดียวกับวิธี PCR ซึ่งแตกต่างกันที่ในช่วงการจัดกลุ่มลดจำนวนตัวแปรเพื่อสร้างตัวแปรใหม่นั้น จะมีการนำข้อมูลของตัวแปรตาม เข้ามาร่วมในการสร้างตัวแปรใหม่ด้วย ซึ่งจะเห็นได้ว่าวิธี PLS นี้เป็นวิธีการแบบการขั้นตอนเดียว ไม่จำเป็นต้องมีการแยกไปทำขั้นตอน regression อีก

การพิจารณาหรือตรวจสอบสมการถดถอย (regression) ที่ใช้ในการทำนายค่าทางเคมี ว่าสมการทำนายที่สร้างขึ้นมีความเหมาะสมหรือไม่ สามารถพิจารณาได้จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการแคลิเบรชัน (Standard Error of Calibration, SEC) วิธีการคำนวณค่า R แสดงดังสมการ (11) โดยตัวแปรอิสระ X คือค่าการดูดกลืนของความยาวคลื่นที่อ่านได้จากสเปกตรัมของตัวอย่าง ตัวแปรตาม (Y) คือ ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี หรือ reference laboratory method และ n คือจำนวนตัวอย่าง สำหรับค่า SEC สามารถหาได้ดังสมการ (12) โดย a คือ ค่าคงที่ ณ จุดตัดแกน Y เมื่อ X มีค่าเท่ากับ 0 ในขณะที่ b คือค่าคงที่ regression หรือค่าความชันของกราฟ

$$R = \frac{\sum XY - \frac{\sum X \sum Y}{n}}{\sqrt{\left(\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}\right) \left(\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}\right)}} \quad (11)$$

โดยที่ R คือ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

n คือ จำนวนตัวอย่าง

X คือ ค่าการดูดกลืนของความยาวคลื่นที่อ่านได้จากสเปกตรัมของตัวอย่าง

Y คือ ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี

$$SEC = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (Y_i - a - aX_i)^2}}{n-2} \quad (12)$$

เมื่อ SEC คือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการสร้างสมการ

a คือ ค่าคงที่ ณ จุดตัดแกน Y

b คือ ค่าคงที่ regression

® คือ 1,2,3,...n

3.13 ตรวจสอบความแม่นยำและทดสอบสมการเทียบมาตรฐาน

หลังจากที่ได้สร้างสมการเทียบมาตรฐานที่เหมาะสมแล้ว ต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพของสมการนั้นว่าสมการทำนายที่สร้างขึ้นจากชุดข้อมูลที่สุ่มมานั้นสามารถนำมาทำนายข้อมูลชุดอื่นที่เป็นประชากรกลุ่มเดียวกันได้หรือไม่ก่อนที่จะนำไปใช้จริง ซึ่งการทดสอบสมการที่นิยมมี 2 วิธี ดังนี้

3.13.1 Full cross validation

การทดสอบในลักษณะนี้เป็นการทดสอบภายใน (Internal Validation) โดย ตัวอย่างที่นำมาทดสอบสมการ คือตัวอย่างชุดมาตรฐานทั้งหมด ที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานประเมินค่าทางเคมีนั่นเอง มีขั้นตอนดังนี้

- 1) ตัดตัวอย่างมาตรฐานตัวที่ 1 ออกจากชุดตัวอย่างมาตรฐาน
- 2) ใช้ตัวอย่างมาตรฐานที่เหลือทำการสร้างสมการ
- 3) นำสมการที่ได้มาประเมินค่าทางเคมีของตัวอย่างมาตรฐานตัวที่ 1 ที่เราตัดออกมา
- 4) ใส่ตัวอย่างมาตรฐานตัวที่ 1 กลับเข้าไป
- 5) ตัดตัวอย่างมาตรฐานตัวที่ 2 ออกจากชุดตัวอย่างมาตรฐาน
- 6) ทำซ้ำขั้นตอนข้างต้นจนครบทุกตัวอย่าง

3.13.2 Test set validation

วิธีนี้จะทดสอบสมการแบบภายนอก โดยการเตรียมตัวอย่างชุดใหม่มาทำการวิเคราะห์ในสภาวะการทดลองเช่นเดียวกับชุดมาตรฐาน เรียกชุดตัวอย่างที่นำมาทดสอบสมการนี้ว่า ชุดทดสอบ (test set) สิ่งที่ต้องระวัง คือ ปริมาณค่าทางเคมี ที่เราจะใช้ทดสอบ ต้องอยู่ในช่วงชุดมาตรฐาน หลังจากได้สเปกตรัมจากชุดทดสอบ ก็นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณจากสมการค่าทางเคมี จากนั้นดูผลการคำนวณที่ได้จากค่าทางสถิติ ซึ่งค่าทางสถิติที่ควรพิจารณา คือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนาย (Standard Error of Prediction, SEP) และค่าความแตกต่าง (Bias) ระหว่างค่าที่ทำนายได้จากสมการที่สร้างขึ้น (Y) กับค่าทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จริง (X) วิธีคำนวณค่า SEP และ Bias แสดงในสมการ (13), (14) ตามลำดับ

$$SEP = \sqrt{\frac{\Sigma(X-Y)^2 - \frac{(\Sigma(X-Y))^2}{n}}{(n-1)}} \quad (13)$$

โดยที่	SEP	คือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานจากการทำนาย
	n	คือ จำนวนตัวอย่าง
	X	คือ ค่าทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จริง
	Y	คือ ค่าที่ทำนายได้จากสมการที่สร้างขึ้น

$$\text{Bias} = \frac{\Sigma(X-Y)}{n} \quad (14)$$

โดยที่	Bias	คือ ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย
	n	คือ จำนวนตัวอย่าง
	X	คือ ค่าทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จริง
	Y	คือ ค่าที่ทำนายได้จากสมการที่สร้างขึ้น

สำหรับค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย หากไม่แน่ใจว่ามีค่าน้อยเพียงพอหรือไม่ ควรตรวจสอบโดยเปรียบเทียบค่าทางเคมีจริง และค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐานด้วยการทดสอบแบบจับคู่ (paired t-test) หรือใช้สูตรการคำนวณนัยสำคัญของค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย ดังนี้

$$t = \frac{\text{Bias} \times \sqrt{n_v}}{SEP} \quad (15)$$

เมื่อ	SEP	คือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานจากการทำนาย
	Bias	คือ ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย
	n_v	คือ จำนวนตัวอย่างในกลุ่ม Validation

หากค่าสัมบูรณ์ t มีค่าน้อยกว่า 2 จะหมายถึง ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายมีค่าน้อยมากไม่มีนัยสำคัญ หรือค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐาน ไม่แตกต่างจากค่าทางเคมีอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดแล้ว การประเมินผล
ความสามารถของสมการเทียบมาตรฐาน สามารถอธิบายได้จากค่าทางสถิติ RPD (Ratio of standard
error of Performance to standard Deviation) ซึ่งเป็นสัดส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า
ทางเคมี และค่า SEP ของตัวอย่างในกลุ่มที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำของสมการเทียบ
มาตรฐาน และค่าสถิติ R ดังตารางที่ 5 และ 6 (รณฤทธิ์, 2552)

ตารางที่ 5 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า RPD

ค่า RPD	การคัดแยกกลุ่มตัวอย่าง (classification)	การประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณ
0.0-2.3	แย่มาก (very poor)	ไม่แนะนำให้ใช้ (not recommended)
2.4-3.0	ไม่ดีพอ (poor)	การแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (very rough screening)
3.1-4.9	ปานกลาง (fair)	การแบ่งระดับปริมาณ (screening)
5.0-6.4	ดี (good)	การควบคุมคุณภาพ (quality control)
6.5-8.0	ดีมาก (very good)	การควบคุมกระบวนการ (process control)
8.1 ขึ้นไป	ยอดเยี่ยม (excellent)	ทุกงาน (any application)

ที่มา: รณฤทธิ์ (2552)

ตารางที่ 6 แนวทางการอธิบายความสามารถของสมการเทียบมาตรฐานด้วยค่า R

ค่า R	ความสามารถของสมการเทียบมาตรฐาน
± 0.5	ไม่ควรใช้ในการทำนาย (not usable)
$\pm 0.51-0.70$	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ (poor correlation)
$\pm 0.71-0.80$	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบ (rough screening)
$\pm 0.81-0.90$	การทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณ หรือประมาณค่าเบื้องต้น (screening)
$\pm 0.91-0.95$	การทำนายเพื่องานวิจัย (research) และงานทั่วไป
$\pm 0.96-0.98$	การทำนายเพื่อการประกันคุณภาพ (quality assurance)
± 0.99 ขึ้นไป	ทุกงาน (any application)

ที่มา: รณฤทธิ์ (2552)

4. การประยุกต์ใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้กับผลไม้

ณัฐกานต์ และคณะ (2545: 85-286) ได้ใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ด้วยระบบการสะท้อนกลับของแสงที่มีช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 nm ในการประเมินคุณภาพของกรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี น้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณความชื้นของผลฝรั่งพันธุ์กลมสาเล่ พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) คือ 0.75, 0.91 และ 0.90 ตามลำดับ และมีค่าความคลาดเคลื่อนในการสร้างสมการ Calibration (SEC) คือ 0.22 mg/ml, 0.09 % Reducing sugar และ 0.43 % wb ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนาย (SEP) คือ 0.30 mg/ml, 0.14 % Reducing sugar และ 0.51 % wb ตามลำดับ

รณฤทธิ์ และคณะ (2551) ได้ทำการประเมินคุณภาพของผลฝรั่งแบบไม่ทำลายเพื่อการค้าเชิงพาณิชย์ ในฝรั่ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กลมสาเล่ พันธุ์แป้นสีทอง และพันธุ์ลูกผสม (HORT-D1) ด้วยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรด ด้วยวิธี MLR ซึ่งผลฝรั่งถูกวัดสเปกตรัมด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา ในระบบการวัดแบบ Interaction ผลการสร้างระบบพบว่าสามารถทำนายปริมาณ TSS ได้อย่างแม่นยำ ด้วยค่า R เท่ากับ 0.94 ค่า SEP เท่ากับ 0.54% ค่า bias เท่ากับ -0.08% สำหรับการทำนายปริมาณวิตามินซี สามารถนำไปใช้ในการคัดแยกกลุ่มของผลฝรั่งเบื้องต้นได้ โดยมีค่า R เท่ากับ 0.74 ค่า SEP เท่ากับ 0.2 mg/g ค่า bias เท่ากับ 0.03 mg/g

ศิรินนภา และคณะ (2545) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ NIR ในการประเมินคุณภาพของผลมะม่วงสดโดยไม่ทำลาย โดยทำการเปรียบเทียบความแม่นยำของสมการที่สร้างจากค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นสั้น 700-1100 นาโนเมตร และในช่วงความยาวคลื่นยาว 1100-2500 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบความสามารถของเครื่อง NIR ชนิดพกพา กับเครื่อง NIR ชนิดที่ใช้ในงานวิจัย ผลการวิจัยพบว่า ช่วงความยาวคลื่นสั้น เป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการประเมินคุณภาพของผลมะม่วงสดแบบไม่ทำลาย และสมการที่สร้างจากเครื่อง NIR ชนิดพกพา มีความแม่นยำเท่าเทียมกับสมการที่ทำนายที่สร้างจากเครื่องมือที่มีความแม่นยำสูงสำหรับใช้ในระดับงานวิจัย

อนุพันธ์ และคณะ (2545: 291-293) ได้ทำการประเมินค่า brix ของน้ำส้ม โดยใช้ส้ม 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์สายน้ำผึ้ง พันธุ์ลายน้ำตาล และส้มฟริมองด์ โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ ในระบบการสะท้อนแสงกลับที่มีช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 nm และวิเคราะห์หาสมการแคลิเบรชันด้วยเทคนิค MLR จากการศึกษาพบว่า เมื่อนำสมการแคลิเบรชันที่

สร้างจากส้ม 3 พันธุ์มาประเมินค่า brix ของส้มแต่ละพันธุ์ จะประเมินค่าได้แม่นยำขึ้นเฉพาะพันธุ์
พริมอนด์เท่านั้น (ค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนาย (SEP) เท่ากับ 0.329 %) ส่วนพันธุ์สายน้ำผึ้ง
และพันธุ์ลายน้ำตาล สมการแคลิเบรชันรวมพันธุ์ ประเมินค่าได้แม่นยำน้อยกว่าสมการแคลิเบรชัน
ของแต่ละพันธุ์

อนุพันธ์ และคณะ (2545: 295-297) ได้นำเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้
ระบบ Reflectance ที่มีช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 1100-2500 nm ในการทำนายปริมาณ TSS และค่า
ความชื้นของผลชมพูพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ พันธุ์ทูลเกล้า พันธุ์สายเพชร พันธุ์เพชรสามพราน และพันธุ์
ทับทิมจันทร์ จากผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ว่า เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้
สามารถนำมาใช้หาค่าทางเคมี คือ ปริมาณ TSS และค่าความชื้นได้ สมการ Calibration รวมพันธุ์
ให้ผลที่มีค่าต่างๆ ดังนี้ R เท่ากับ 0.876, SEC เท่ากับ 1.080 %, SEP เท่ากับ 0.905 %, bias เท่ากับ
0.042 % ซึ่งดีกว่าสมการ Calibration แยกพันธุ์ในชมพูบางพันธุ์

Kawano *et al.* (1993) ได้นำเทคนิค NIRs ที่มีช่วงความยาวคลื่นสั้นตั้งแต่ 680-1235 nm ใน
ระบบ Transmittance มาทำการตรวจสอบปริมาณน้ำตาลใน Satsuma Mandarin โดยการศึกษาครั้งนี้
ได้มีการเปรียบเทียบค่าปริมาณน้ำตาลใน Satsuma Mandarin ที่ได้จากการวัดสเปกตรัมในแบบ
Intact fruit และ Fruit juice ซึ่งหลังจากที่ได้ทำการทดลองพบว่า การวัดสเปกตรัมทั้งสองแบบ ไม่มี
ความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้งานวิจัยชิ้นนี้ยังแสดงการเปรียบเทียบตำแหน่งการวัด NIR ซึ่ง
พบว่ามีผลต่อเส้นสเปกตรัม

Kawano *et al.* (1992) ศึกษาปริมาณน้ำตาลในผลลูกพีช ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปี
อินฟราเรดย่านใกล้ (NIRs) ในระบบ Interactance ที่ความยาวคลื่น 680-1235 nm ซึ่งในการวัด
สเปกตรัมใช้ Fiber optics probe ผลการทดลองพบว่า Correlation coefficient R^2 มีค่าสูงสุดเท่ากับ
0.97 ค่า Standard error of calibration (SEC) เท่ากับ 0.48 °Brix ค่า Standard error of prediction
(SEP) เท่ากับ 0.5 °Brix และได้ค่า bias เท่ากับ 0.01 °Brix

Liu *et al.* (2007) ใช้เทคนิค FT-NIR ด้วยระบบการสะท้อนกลับ ที่มีช่วง Wavenumber
ตั้งแต่ 12500-4000 cm^{-1} ในการหาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของผลแอปเปิ้ล ที่
ระยะห่างระหว่าง Fiber optics probe กับผลแอปเปิ้ลมีค่าต่างกัน คือ 0, 2, 4 และ 6 mm หลังจากนั้น
ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ด้วยวิธีทางสถิติ และใช้วิธี PLS ในการสร้างสมการ

ทำนาย หลังทำการทดลองสามารถสรุปได้ว่าระยะห่างระหว่าง Fiber optics probe กับผลแอปเปิล มีอิทธิพลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดที่วัดได้

Slaughter (1995) ได้ทำการสร้างสมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ ของผลลูกพีชและผลลูกท้อ โดยใช้ช่วงความยาวคลื่นที่ 400-1000 nm เมื่อทำการทดลองได้สมการ Calibration ของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำของลูกพีช ซึ่งมีค่า R เท่ากับ 0.920, ค่า SEP เท่ากับ 1.000 % ส่วนลูกท้อได้สมการ Calibration ของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ ที่มีค่า R เท่ากับ 0.870, SEP เท่ากับ 0.580%

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างผลฝรั่ง

ผลฝรั่งจำนวนทั้งหมด 143 ผล ในฝรั่ง 68 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้นสีทอง, พันธุ์กลมสาเล่, พันธุ์เขินสอง, พันธุ์แป้นยักษ์, พันธุ์กิมจู, พันธุ์บางกอกแอปเปิ้ล, พันธุ์พจ.13-10, พันธุ์ G097, พันธุ์แดงสยาม, พันธุ์อินเดีย, พันธุ์ Hort D1 และพันธุ์ลูกผสมอีกจำนวน 57 สายพันธุ์ จากสวนของภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดสเปกตรัม

- 2.1 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 2.2 พลาสติกที่ใช้สำหรับคลุม water bath
- 2.3 เซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมสารละลาย
- 2.4 เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา (FANTEC FQA-NIRGUN, Japan)
- 2.5 เครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics Vector22/N, Germany)

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Total Soluble Solids

- 3.1 เครื่อง Digital Refractometer (Atago PR-32 α , Japan)
- 3.2 ผ้ากรอง
- 3.3 น้ำกลั่น
- 3.4 เข็มฉีดยา
- 3.5 หลอดฉีดยา
- 3.6 ถังพลาสติกขนาด 2×5 นิ้ว
- 3.7 กระดาษทิชชู

4. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolics

- 4.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าน้ำหนักสูงสุด 4100 g ความละเอียด 0.01 g (Scientific Promotion, Sartorius, Germany)
- 4.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าน้ำหนักสูงสุด 205 g ความละเอียด 0.0001 g (Bangkok Equipment & Chemical, Precisa 205 A, Swiszerland)
- 4.3 เครื่อง Centifugal
- 4.4 เครื่อง Homogenizer
- 4.5 เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer
- 4.6 Round centrifugal tube
- 4.7 Conical tube 50 ml ,Screw Cap
- 4.8 Auto pipette (Gilson, USA)
- 4.9 Tip ,White 10 ml (Gilson, USA)
- 4.10 Tip ,White 1000 μ l (Gilson, USA)
- 4.11 Vial amber 10 ml
- 4.12 Beaker 100 ml
- 4.13 Beaker 1000 ml
- 4.14 Magnetic bar
- 4.15 ขวดปรับปริมาตร 1000 ml
- 4.16 ขวดสีชาปริมาตร 1000 ml
- 4.17 น้ำกลั่น
- 4.18 Methanol (Fisher Sciencetific, UK)
- 4.19 2.0 N Folin & Ciocalteu phenol reagent
- 4.20 Anhydrous Na_2CO_3 (purity 99.8%)
- 4.21 Gallic acid Solution
- 4.22 Brown micro centrifuge tube 1.5 ml
- 4.23 Vortex Mixer

5. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณคาเตชิน

- 5.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าน้ำหนักสูงสุด 4100 g ความละเอียด 0.01 g (Scientific Promotion, Sartorius, Germany)
- 5.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าน้ำหนักสูงสุด 205 g ความละเอียด 0.0001 g (Bangkok Equipment & Chemical, Precisa 205 A, Switzerland)
- 5.3 เครื่อง Centifugal
- 5.4 เครื่อง Homogenizer
- 5.5 Round centrifugal tube
- 5.6 Conical tube 50 ml ,Screw Cap
- 5.7 Auto pipette (Gilson, USA)
- 5.8 Tip ,White 10 ml (Gilson, USA)
- 5.9 Tip ,White 1000 µl (Gilson, USA)
- 5.10 Vial amber 10 ml
- 5.11 Brown micro centrifuge tube 1.5 ml
- 5.12 Beaker 100 ml
- 5.13 Beaker 1000 ml
- 5.14 Magnetic bar
- 5.15 Aluminium Foil
- 5.16 ขวดปรับปริมาตร 1000 ml
- 5.17 ขวดสีขาปริมาตร 1000 ml
- 5.18 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) รุ่น 1100 (Agilent Technologies, Germany)
- 5.19 Glass Vacuum Filter Holder
- 5.20 Methanol ,HPLC grade (Fisher Scientific, UK)
- 5.21 Water ,HPLC grade (RCI Labscan, Thailand)
- 5.22 Nylon membrane filter, Pore size 0.45µm, Diameter 47 mm (Whatman Ltd, USA)
- 5.23 Screw cap and amber vial kit, 1.5 ml (Agilent Technologies, Germany)
- 5.24 Syringe filter nylon, Pore size 0.45µm, Diameter 13 mm (National Scientific company, US)
- 5.25 Syringe 3 ml
- 5.26 glacial grade Acetic acid

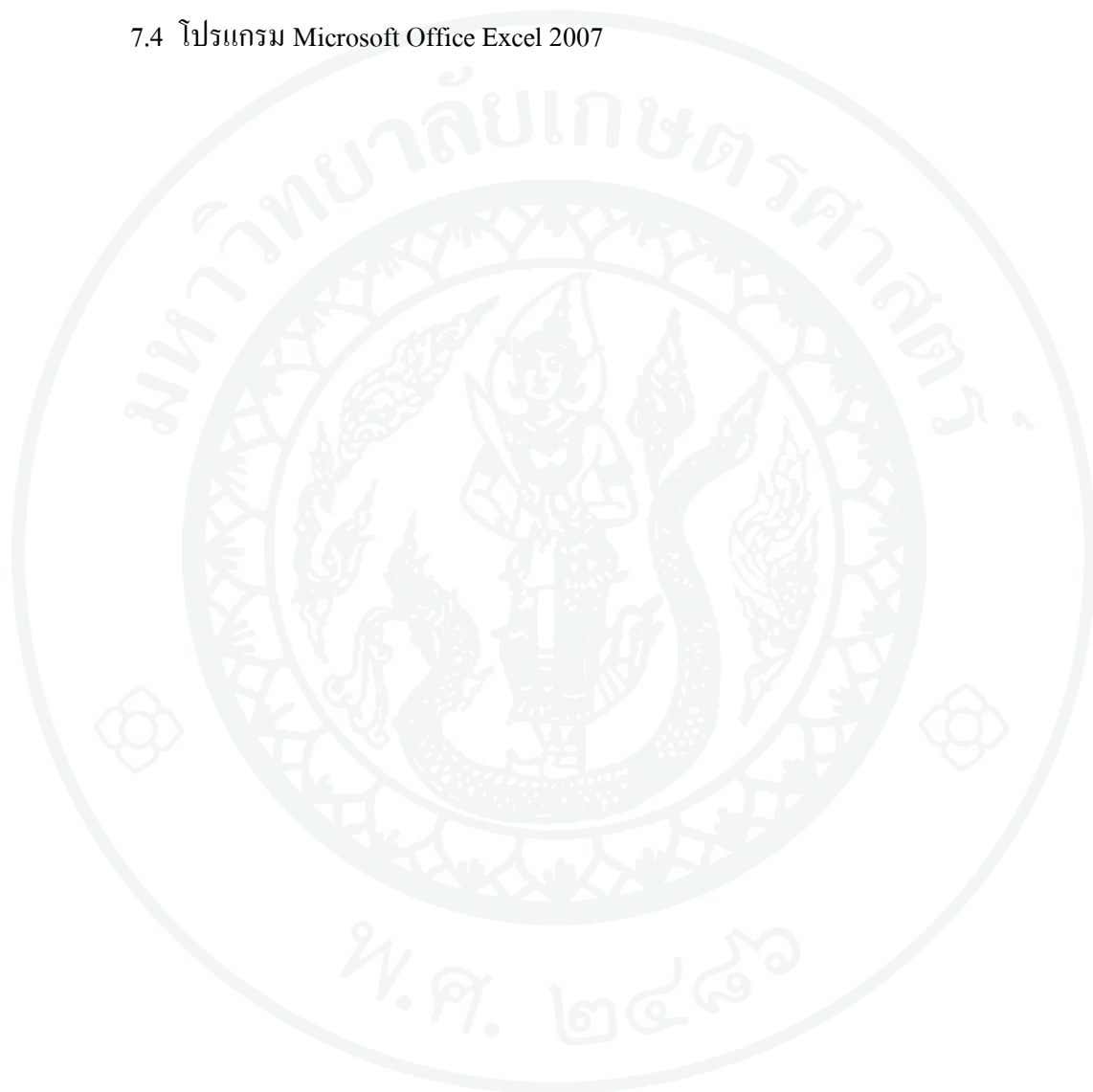
- 5.27 Acetonitrile
- 5.28 Catechin
- 5.29 C₁₈ column, 220 mm x 4.6 mm (ThermoHypersil-Keystone, USA)
- 5.30 Guard column (Thermo Electron Corporation, USA)
- 5.31 Vortex Mixer

6. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

- 6.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าน้ำหนักสูงสุด 4100 g ความละเอียด 0.01 g (Scientific Promotion, Sartorius, Germany)
- 6.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าน้ำหนักสูงสุด 205 g ความละเอียด 0.0001 g (Bangkok Equipment & Chemical, Precisa 205 A, Swiszerland)
- 6.3 เครื่อง Centifugal
- 6.4 เครื่อง Homogenizer
- 6.5 Round centrifugal tube
- 6.6 Conical tube 50 ml ,Screw Cap
- 6.7 Auto pipette (Gilson, USA)
- 6.8 Tip ,White 10 ml (Gilson, USA)
- 6.9 Tip ,White 1000 µl (Gilson, USA)
- 6.10 Brown micro centrifuge tube 1.5 ml 5.11
- 6.11 Beaker 100 ml
- 6.12 Beaker 1000 ml
- 6.13 Magnetic bar
- 6.14 Aluminium Foil
- 6.15 ขวดปรับปริมาตร 1000 ml
- 6.16 ขวดสีขาปริมาตร 1000 ml
- 6.17 Burette
- 6.18 2,6 –dichloroindophenol
- 6.19 Methanol
- 6.20 Ascorbic acid
- 6.21 Acetic acid glacial grade
- 6.22 Vortex Mixer

7. โปรแกรมที่ใช้ในการคำนวณและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- 7.1 โปรแกรม CA Maker version 2.01 (Fantec, Japan)
- 7.2 โปรแกรม OPUS 6.5 OPUS (Bruker Optics, Germany)
- 7.3 โปรแกรม The Unscrambler ® 9.8 (Camo AS, Norway)
- 7.4 โปรแกรม Microsoft Office Excel 2007



วิธีการ

1. การเก็บเกี่ยว

หลังการตัดแต่งกิ่งจนถึงระยะดอกบานที่เร็วที่สุดคือ 48 วัน จากนั้นประมาณ 1 เดือนจึงเริ่มทำการห่อผลฝรั่งด้วยถุงพลาสติกและคลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์อีกชั้นหนึ่ง เพื่อป้องกันแมลงและแสงแดดที่อาจทำให้เกิดความเสียหายต่อผลฝรั่ง โดยมีผลฝรั่งรวมทั้งหมด 143 ผล ในฝรั่ง 68 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้นสีทอง, พันธุ์กลมสาเล่, พันธุ์เย็นสอง, พันธุ์แป้นยักษ์, พันธุ์กิมจู, พันธุ์บางกอกแอปเปิ้ล, พันธุ์พจ.13-10, พันธุ์ G097, พันธุ์แดงสยาม, พันธุ์อินเดีย, พันธุ์ Hort D1 และพันธุ์ลูกผสมอีกจำนวน 57 สายพันธุ์ เมื่อผลฝรั่งมีอายุประมาณ 120 วันหลังจากดอกบาน หรือประมาณ 168 วันหลังจากการตัดแต่งกิ่ง ผลฝรั่งจะมีการพัฒนาเต็มที่ เก็บผลฝรั่งโดยสังเกตจากสีผิวที่มีลักษณะสีเขียวอ่อน หรือในสายพันธุ์ที่มีสีอื่น ให้สังเกตดูจากสีที่เปลี่ยนไปซึ่งโดยทั่วไปจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีที่อ่อนกว่าเดิม หรือในบางสายพันธุ์อาจเปลี่ยนจากเดิมไป อาทิเช่น จากสีเขียวเป็นสีเหลือง เป็นต้น การเก็บผลฝรั่งให้มีค่าคุณภาพ มีความแปรปรวนยิ่งขึ้น ทำได้โดยการเก็บผลฝรั่งทั้งที่อยู่ในกิ่งพุ่ม นอกกิ่งพุ่ม หลังจากนั้นรับนำผลฝรั่งใส่กล่องโฟมกันกระแทก แล้วนำไปยังห้องปฏิบัติการ NIR ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ซึ่งเป็นห้องที่ใช้ทำการวัดเส้นสเปกตรัมของผลฝรั่งทั้งหมด

2. การวัดสเปกตรัม

นำตัวอย่างผลฝรั่งที่เก็บมาทำความสะอาดด้วยกระดาษทิชชูที่มีเนื้อสัมผัสนุ่ม จากนั้นควบคุมอุณหภูมิผลฝรั่งก่อนทำการวัดสเปกตรัมด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งใช้น้ำเป็นตัวกลางในการพาความร้อนที่อุณหภูมิที่ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาทีโดยวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่มีพลาสติกคลุมเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างสัมผัสกับน้ำ ดังภาพที่ 20 แล้ววัดสเปกตรัมของผลฝรั่งด้วยเครื่อง NIR Spectrometer 2 ชนิด ชนิดแรกคือ เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา (FQA-NIRGUN, Japan) ดังภาพที่ 21 ที่มีระบบการวัดแบบ Interaction ในช่วงความยาวคลื่น 700-1100 nm ซึ่งมีความสามารถในการทะลุทะลวงสูงประมาณ 5-10 mm นอกจากนี้เครื่อง NIR Spectrometer แบบนี้จะมีลักษณะเฉพาะคือกะทัดรัดสามารถนำไปใช้ในสวนได้ และสามารถวัดสเปกตรัมได้อย่างรวดเร็ว (รณฤทธิ์, 2552) สำหรับการวัดสเปกตรัมจะทำการเลือกด้านที่จะวัดเพียงตำแหน่งเดียว ซึ่งในการวัดต้องวางแนวแกนผลให้ขนานกับหัววัดของเครื่อง NIR Spectrometer ดังภาพที่ 22 และ

ขณะทำการวัดใช้ผ้าดำคลุมทั้งผลฝรั่งและหัววัดของเครื่อง NIR Spectrometer เพื่อป้องกันไม่ให้แสงภายนอกเข้ามารบกวนซึ่งอาจมีผลกระทบต่อเส้นสเปกตรัมที่เก็บได้



ภาพที่ 20 การควบคุมอุณหภูมิตัวอย่างที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ก่อนทำการวัดสเปกตรัมโดยใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิ



ภาพที่ 21 เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา (FQA-NIRGUN, Japan)

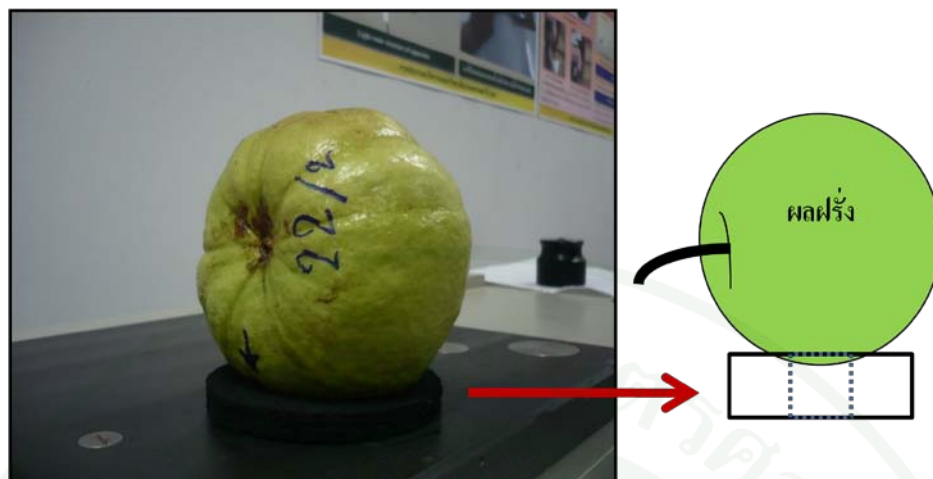


ภาพที่ 22 การวัดสเปกตรัมผลฝรั่งด้วยเครื่อง NIR Spectrometer FQA-NIRGUN

เครื่อง NIR Spectrometer ชนิดที่สอง คือ เครื่อง FT-NIR Spectrometer Model Vector22/N ดังภาพที่ 23 ถูกใช้วัดผลฝรั่งในระบบการวัดแบบ Reflection ช่วงความยาวคลื่น 700-2500 nm โดยมีอุปกรณ์ช่วยวางตัวอย่างแนบกับหน้าต่างวัด ดังภาพที่ 24



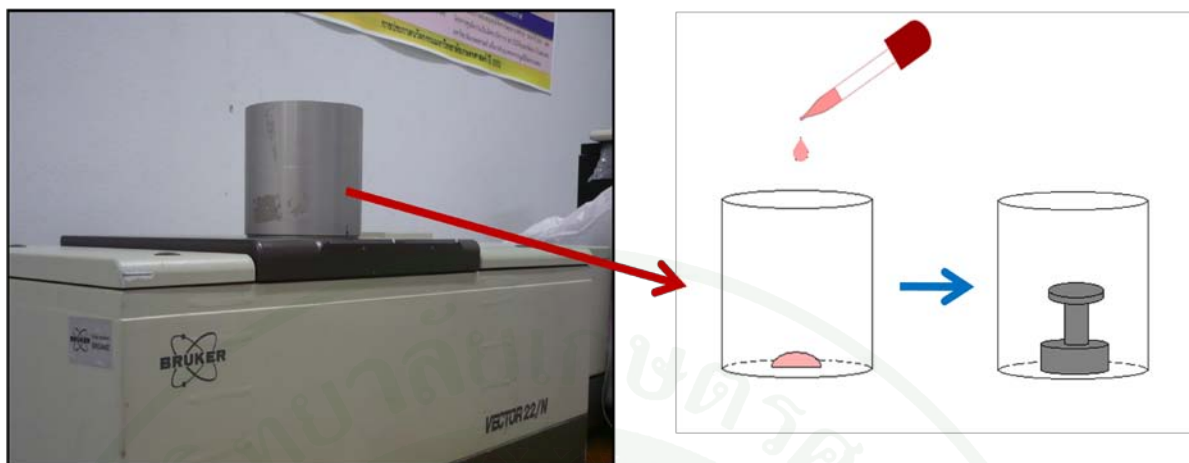
ภาพที่ 23 เครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics Vector22/N, Germany)



ภาพที่ 24 การวัดสเปกตรัมผลฝรั่งด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer

Model Vector22/N

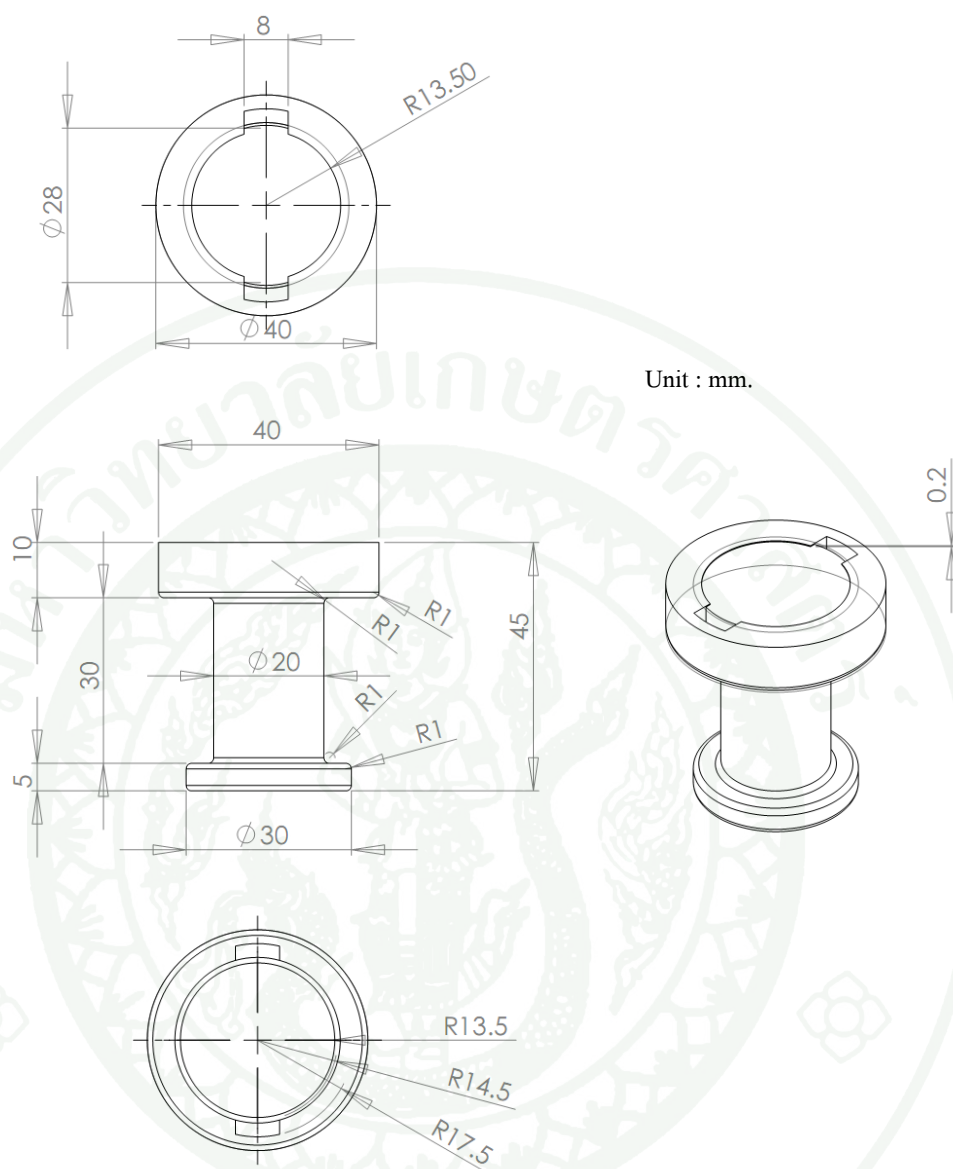
สำหรับตัวอย่างที่เป็นน้ำฝรั่งจะถูกวัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer Model Vector22/N ดังภาพที่ 23 เช่นเดียวกันแต่จะใช้ระบบการวัดแบบ Transflection ในช่วงความยาวคลื่น 700-2500 nm ดังภาพที่ 24 การวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่งจะเริ่มจากหั่นฝรั่งตรงจุดเดียวกัน กับที่วัดสเปกตรัม โดยให้มีระยะความหนาของเนื้อฝรั่งที่หั่นไม่เกิน 5 mm (แบ่งเนื้อฝรั่งที่หั่นได้เป็น 3 ส่วน โดยส่วนที่ 1 และ 2 จะถูกนำไปวิเคราะห์ค่าทางเคมี และส่วนที่ 3 นำมาวัดสเปกตรัมในรูปของน้ำฝรั่ง) จากนั้นคั้นน้ำฝรั่งผ่านผ้าขาวบางแล้วหยดลงกลาง quartz cup แล้วนำเซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมของสารละลายที่สร้างขึ้น (อธิบายไว้ในหัวข้อถัดไป) วางทับลงบนหยดน้ำฝรั่งอีกที เพื่อเป็นการควบคุมความหนาของตัวอย่าง จากนั้นจึงนำ quartz cup ที่มีน้ำฝรั่งอยู่นี้วางลงบน Top windows ของเครื่อง FT-NIR ก่อนทำการวัดสเปกตรัม ดังภาพที่ 25



ภาพที่ 25 การวัดสเปกตรัมน้ำฝรั่งด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer Model Vector22/N

3. การออกแบบและสร้างเซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่ง

เนื่องจากไม่มีเซลล์ใส่ตัวอย่าง สำหรับการวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่งด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer Model Vector22/N แบบ Top Window ของบริษัท Bruker Optics Germany ที่ใช้วัดสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่นยาว ดังนั้นจึงได้ทำการออกแบบเซลล์ใส่ตัวอย่างน้ำฝรั่ง ดังแสดงในภาพที่ 26 ซึ่งเซลล์ใส่ตัวอย่างนี้ทำมาจากวัสดุอะลูมิเนียมที่มีความยาว 45.00 mm. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 40.00 mm. มีระยะของเส้นผ่านศูนย์กลางวงในคือ 27.00 mm. มีช่องเพื่อระบายฟองอากาศที่อาจเกิดขึ้นขณะทำการใส่ตัวอย่าง ซึ่งช่องระบายฟองอากาศนี้มีความยาว 8.00 mm. และมีความกว้าง 3.00 mm. โดยมีระยะรัศมีของความกว้างจากจุดศูนย์กลางเท่ากับ 14.50 mm. และ 17.50 mm. ตามลำดับ แต่ส่วนที่สำคัญที่สุดของเซลล์ใส่ตัวอย่างนี้คือตรงบริเวณผิวหน้าที่จะต้องสัมผัสกับตัวอย่างโดยต้องมีพื้นผิวหน้าที่เรียบเนียนเป็นพิเศษ และมีระยะความลึกลงไปของเส้นผ่านศูนย์กลางวงในเท่ากับ 0.20 mm. ซึ่งก็หมายความว่าน้ำฝรั่งที่เราจะวัดสเปกตรัมจะถูกควบคุมความหนา หรือมี Physical pathlength เท่ากับ 0.20 mm. ตามระยะความลึกนั้นเช่นกัน



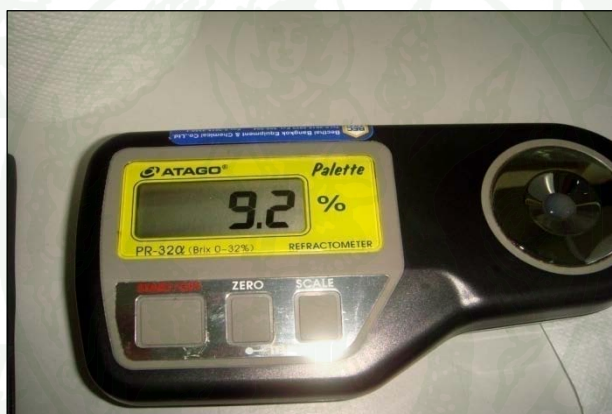
ภาพที่ 26 ภาพเขียนแบบบอกขนาดของเซลล์ไต้ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่งที่ได้
ออกแบบและสร้างขึ้น

4. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลฝรั่ง

การวิเคราะห์สาระสำคัญที่ใช้เป็นพารามิเตอร์ด้านคุณภาพและคุณค่าทางสารอาหารที่ต้องการทำการศึกษา มีดังต่อไปนี้

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณ Total Soluble Solids

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดหรือปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำฝรั่ง (Total Soluble Solid, TSS) สามารถหาได้โดยใช้เครื่อง Digital Refractometer (Atago PR-32 α , Japan) ในหน่วย % Brix



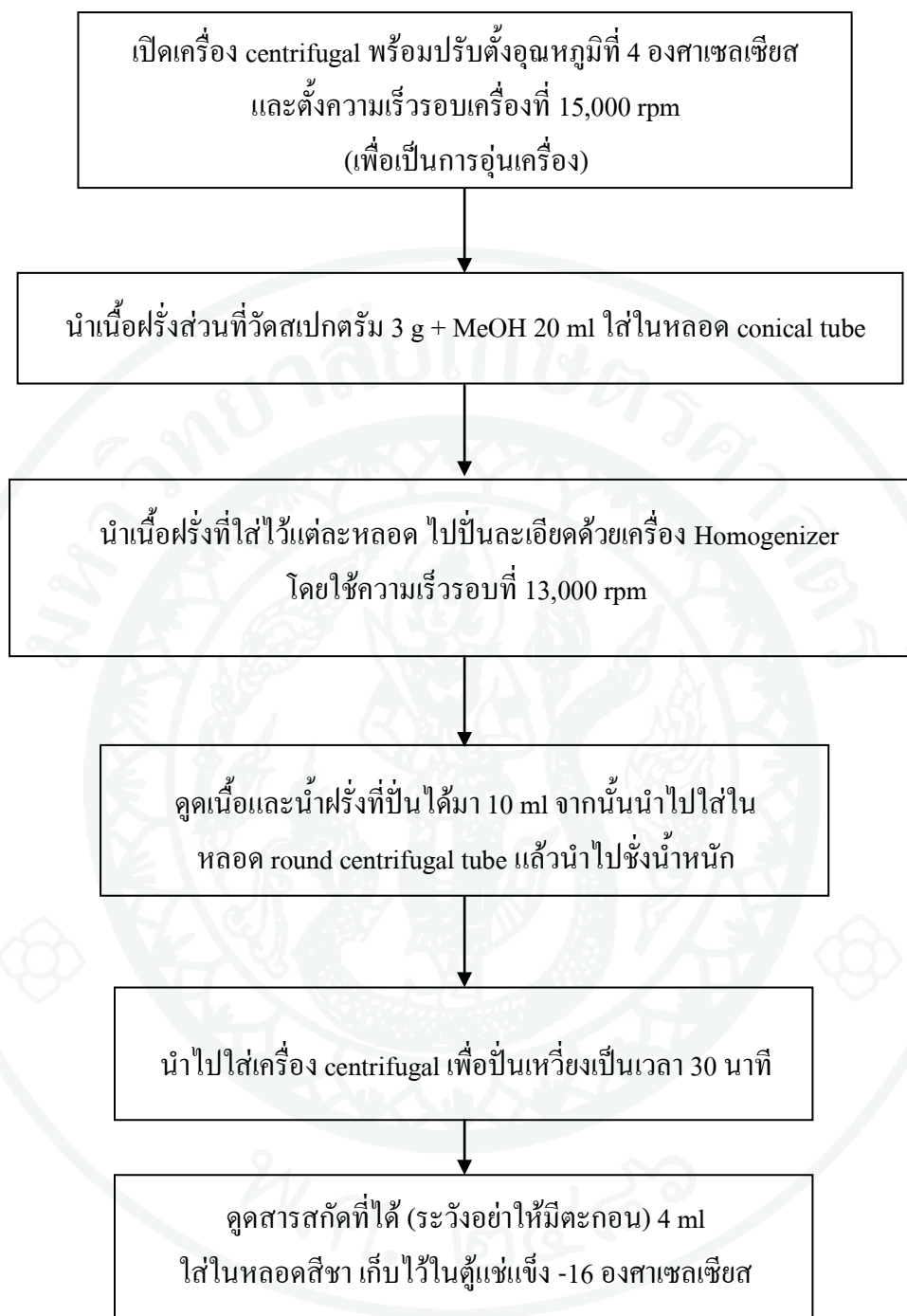
ภาพที่ 27 เครื่อง Digital Refractometer (Atago PR-32 α ,Japan)

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำฝรั่ง เริ่มจากนำเนื้อฝรั่ง ส่วนที่วัดสเปกตรัมมาคั้นน้ำโดยกรองผ่านผ้าขาวบาง หยคน้ำคั้นประมาณ 3-4 หยด อ่านค่าที่ได้เป็น % Brix ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ย

4.2 การสกัดสารเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolics และปริมาณคาเตชิน

เมื่อวัดสเปกตรัมผลฝรั่งและน้ำฝรั่งเรียบร้อยแล้ว จากนั้นนำเนื้อฝรั่งส่วนที่วัดสเปกตรัมมาทำการสกัดสารโดยมีขั้นตอนดังภาพที่ 28 ซึ่งเริ่มจากการ warm เครื่อง centrifugal พร้อมปรับตั้งความเร็วรอบเครื่อง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ระหว่างนั้นนำเนื้อฝรั่งส่วนที่วัดสเปกตรัมปริมาณ 3 กรัม พร้อมด้วยเมธานอลปริมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด conical tube จากนั้นนำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่อง Homogenizer โดยใช้ความเร็วรอบที่ 13,000 rpm เมื่อปั่น

เสร็จแล้วดูดทั้งเนื้อและน้ำฝรั่งป้อนมา 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปใส่ในหลอด round centrifugal ก่อนจะนำไปแช่เพื่อจมน้ำหนัก แล้วนำไปใส่เครื่อง centrifugal เพื่อทำการเหวี่ยงให้สารแขวนลอยตกตะกอนเป็นเวลา 30 นาที ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ข้อควรระวังในการใส่หลอด round centrifugal คือต้องใส่ให้สมดุลกัน ไม่เช่นนั้นแกนเครื่องอาจเกิดการเสียหายได้) หลังจากทำการเหวี่ยงเป็นเวลา 30 นาทีแล้ว จะสังเกตเห็นว่าสารในหลอดเกิดการแยกชั้นระหว่างตะกอนกับของเหลวหรือสารสกัดอย่างเห็นได้ชัด จากนั้นดูดสารสกัดที่เราสกัดได้ปริมาณ 4 มิลลิลิตร (ระวังอย่าให้มีตะกอนติดมา) ใส่ในหลอดสีขาเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -16 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาและนำไปใช้ในการวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป



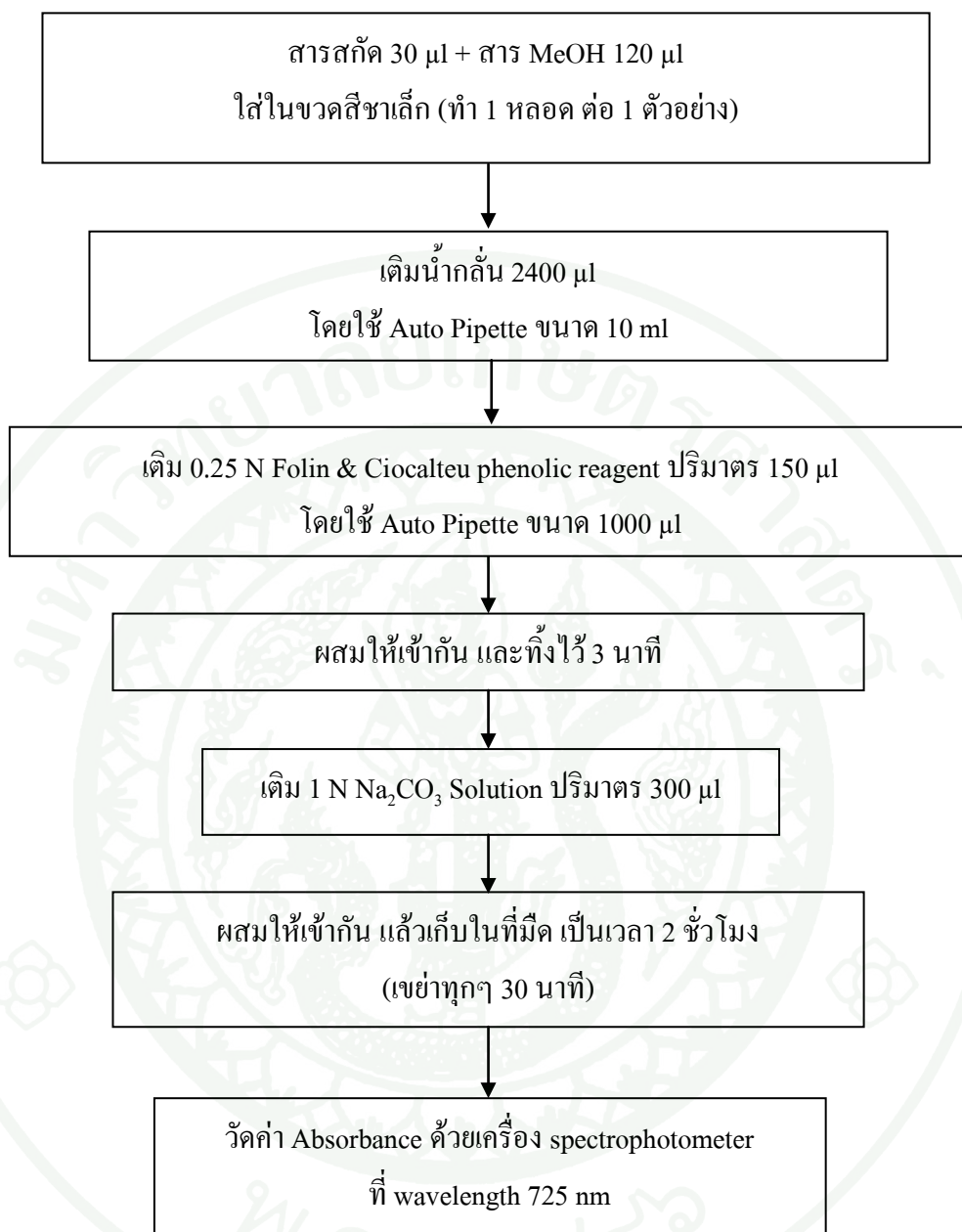
ภาพที่ 28 ขั้นตอนการสกัดสารเพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolics
และปริมาณคาเทชิน

4.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolics

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ตามวิธี Folin Ciocalteu-based โดยประยุกต์ตามวิธีการของ Thaipong et al. (2006) ในหน่วย mg/100 g สำหรับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolics นี้ ก่อนอื่นต้องเตรียมสาร 2 ชนิดด้วยกัน คือ 0.25 N Folin & Ciocalteu phenolic reagent และ 1 N Na_2CO_3 Solution จากนั้นทำตามขั้นตอน ดังภาพที่ 30 โดยเริ่มจากนำสารสกัดที่ได้สกัดไว้ในขั้นตอนที่แล้ว ปริมาณ 30 μl กับเมธานอล 120 μl ใส่ในขวดสีชา แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2400 μl จากนั้นเติม 0.25 N Folin & Ciocalteu phenolic reagent ปริมาตร 150 μl ลงไปในขวดสีชาขวดเดียวกัน แล้วเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นเติม 1 N Na_2CO_3 Solution เขย่าให้เข้ากันอีกครั้ง เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ระหว่างนี้จะต้องนำออกมาเขย่าทุกๆ 30 นาที ก่อนที่จะนำมาวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ดังภาพที่ 29



ภาพที่ 29 เครื่อง Spectrophotometer



ภาพที่ 30 ขั้นตอนการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณ Total Phenolics

4.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณคาเตชิน

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาเตชินด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ตามวิธีการประยุกต์ตามวิธีการของ Thaipong (2007) จะใช้สารสกัดที่ได้ที่ได้อีกแล้วไว้ในข้างต้นเช่นเดียวกัน โดยในการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC นี้จะต้องใช้ความระมัดระวังในการวิเคราะห์ในแต่ละขั้นตอนเป็นอย่างมาก เช่น การบรรจุสารสกัดลงใน vial amber จะต้องมีการกรองด้วย nylon membrane 0.45 μm เพราะหากไม่กรองก่อนบรรจุลงใน vial อาจมีตะกอนไปอุดตันที่เครื่องและทำให้เครื่องเกิดความเสียหายได้ เป็นต้น ในการวิเคราะห์จะใช้ column C_{18} (BETASIL C_{18} : 220 mm x 4.6 mm, ThermoHypersil-Keystone, U.S.A.) ร่วมกับ guard column และเครื่อง HPLC (Agilent Technologies 1100, Thailand) ดังภาพที่ 31 สำหรับการฉีดตัวอย่างแต่ละครั้งจะใช้ปริมาตรของตัวอย่าง 10 μl ต่อหนึ่งตัวอย่าง และใช้ 10% acetic acid ใน HPLC water grade และ acetonitrile เป็น mobile phases และใช้ค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



ภาพที่ 31 เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

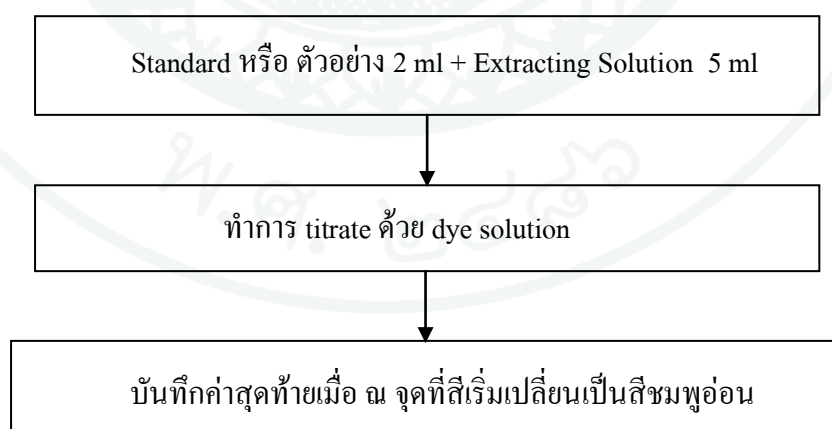
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

นำเนื้อฝรั่งส่วนที่วัดสเปกตรัมมาทำการสกัดเช่นเดียวกับการสกัดเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Total Phenolics และคาเตชิน โดยเปลี่ยนสารที่ใช้สกัดจาก เมธานอล เป็น Extracting Solution (3% Oxalic, 8% Acetic acid)

สำหรับขั้นตอนต่อไปในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีตามวิธี Association of Office Analytical Chemists (1996) มีสาร 2 ชนิดที่ต้องเตรียมก่อนทำการไทเทรต คือ Indophenol Solution (dye solution) ซึ่งจะใช้เป็นตัว titrant และ Ascorbic acid standard (1 mg/ml) ซึ่งจะใช้เป็นตัวอย่างมาตรฐาน จากนั้นสามารถทำตามขั้นตอนดังภาพที่ 32 ซึ่งเริ่มจากการนำตัวอย่างที่สกัดไว้แล้ว 2 มิลลิลิตร ผสมกับ Extracting Solution 5 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ หยด dye solution และบันทึกปริมาตรที่ใช้ ณ จุดที่สีเริ่มเปลี่ยน เป็นสีชมพูอ่อน หลังจากได้ปริมาณของ dye solution ที่ใช้ในการไทเทรตแล้ว นำมาคำนวณในสมการ (16) จะได้ปริมาณวิตามินซี ในหน่วย มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

$$\text{ปริมาณวิตามินซี (mg/g)} = [X (F/E)(V/Y)] * [(G+D)/D] \quad (16)$$

โดยที่ X คือ ปริมาณของ dye solution ที่ใช้ไทเทรตกับน้ำสกัดฝรั่ง ในหน่วย ml
 F คือ ascorbic acid equivalent (mg) ต่อ dye solution 1 ml ในหน่วย ml
 E คือ ปริมาตรของสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน (1 mg./1 ml) ในหน่วย ml
 V คือ ปริมาตรของน้ำฝรั่งที่ใช้ไทเทรต ในหน่วย ml
 Y คือ ปริมาตรของสารละลายทั้งหมดที่ใช้ไทเทรต ในหน่วย ml
 G คือ ปริมาตรของสารสกัดที่ใช้ปนรวมกับเนื้อฝรั่ง ในหน่วย ml
 D คือ น้ำหนักของเนื้อฝรั่งที่ใช้ปนรวมกับสารสกัด (g)



ภาพที่ 32 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

5. การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายคุณภาพทางโภชนาการของผลฝรั่ง

เมื่อได้สเปกตรัมของผลฝรั่งและค่าปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของผลฝรั่งแล้ว ทำการตรวจสอบข้อมูลค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้ หากพบว่าตัวอย่างใดเกิดความผิดพลาดในการทดลองซึ่งให้ค่าข้อมูลทางเคมีที่ไม่สอดคล้องกับความเป็นจริง ต้องตัดตัวอย่างนั้นออกก่อนนำมาวิเคราะห์ เพราะหากไม่ตัดออกอาจทำให้การวิเคราะห์สมการเกิดความคลาดเคลื่อนได้ จากนั้นจึงค่อยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม โดยให้กลุ่มที่ 1 เป็น Calibration set ใช้สำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐาน จากนั้นนำสมการเทียบมาตรฐานที่ได้ไปตรวจสอบประสิทธิภาพในกลุ่มที่ 2 คือ Validation set เพื่อเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุด

สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration equation) เป็นการนำข้อมูลสเปกตรัมและค่าองค์ประกอบทางเคมีมาหาความสัมพันธ์กัน โดยใช้วิธี Multiple Linear Regression (MLR) ด้วยโปรแกรม Ca Maker และวิธี Partial Least Square (PLS) regression ด้วยโปรแกรม OPUS 6.5 ซึ่งก่อนทำการวิเคราะห์ข้อมูลต้องทำการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนเพื่อลดสัญญาณรบกวน (noise) และอิทธิพลอื่นๆ ภายนอกที่ไม่สามารถควบคุมได้ วิธีปรับแต่งสเปกตรัมที่ใช้ ได้แก่ วิธี First derivative, Second derivative, Multiplicative scattering correction (MSC) และวิธี Standard Normal Variate (SNV) เป็นต้น

ผลและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์ค่าทางเคมี

จากการตรวจสอบข้อมูลค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ได้มาพบว่าบางตัวอย่างเกิดความผิดพลาดในการทดลอง เช่น ทำตัวอย่างหล่นหกขณะทำการทดลอง ฝรั่งบางพันธุ์มีขนาดของผลเล็ก จึงให้ปริมาณน้ำคั้นที่ได้ออกมาน้อยมากซึ่งไม่เพียงพอในการทดลอง และค่าทางเคมีของตัวอย่างนั้นเป็น outlier เป็นต้น ทำให้ค่าข้อมูลทางเคมีที่ไม่สอดคล้องกับความเป็นจริง จึงต้องตัดตัวอย่างนั้นออกก่อนนำมาวิเคราะห์ เพราะหากไม่ตัดออกอาจทำให้การวิเคราะห์สมการเกิดความคลาดเคลื่อนได้ จากนั้นจึงค่อยทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม โดยให้กลุ่มที่ 1 เป็น Calibration set ใช้สำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐาน จากนั้นนำสมการเทียบมาตรฐานที่ได้ไปตรวจสอบประสิทธิภาพของสมการในกลุ่มที่ 2 คือ Validation set เพื่อเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุด ฉะนั้นจะได้จำนวนตัวอย่างของแต่ละกลุ่ม และค่าทางสถิติของ TSS Total Phenolics คาเตชิน และวิตามินซีของผลฝรั่งที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานดังตารางที่ 7, 8, 9 และ 10 ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ค่าทางสถิติปริมาณ TSS ที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน

ปริมาณ TSS	Calibration set	Validation set
ค่าต่ำสุด (% Brix)	6.7	7.9
ค่าเฉลี่ย (% Brix)	11.6	11.4
ค่าสูงสุด (% Brix)	18.9	16.0
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (% Brix)	2.6	2.0
จำนวนตัวอย่าง	88	44

ตารางที่ 8 ค่าทางสถิติปริมาณ Total Phenolics ที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน

ปริมาณ Total Phenolics	Calibration set	Validation set
ค่าต่ำสุด (mg/100g)	219.22	223.07
ค่าเฉลี่ย (mg/100g)	239.61	239.93
ค่าสูงสุด (mg/100g)	258.51	256.97
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mg/100g)	6.93	7.01
จำนวนตัวอย่าง	89	44

ตารางที่ 9 ค่าทางสถิติปริมาณคาเตชินที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน

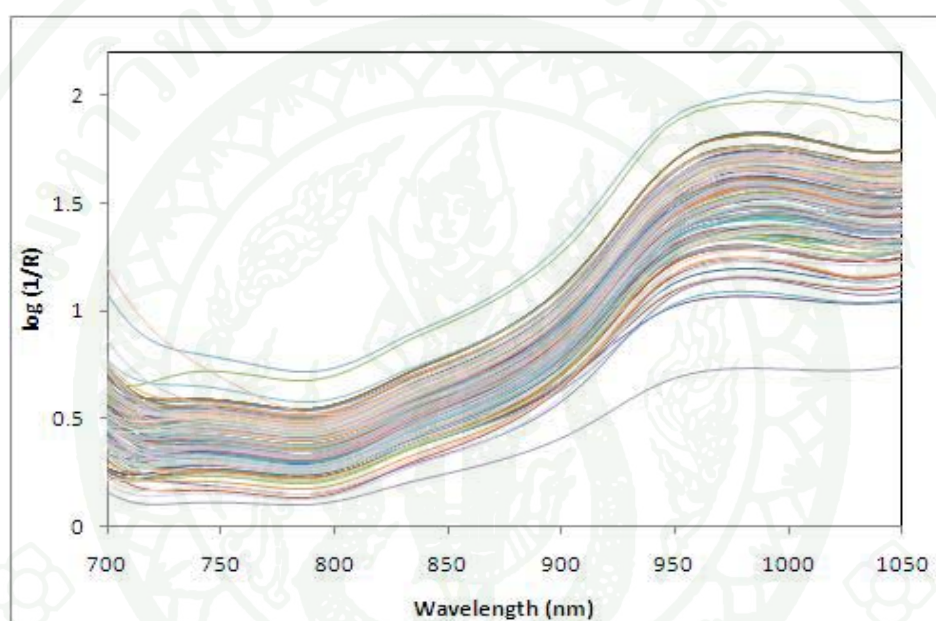
ปริมาณคาเตชิน	Calibration set	Validation set
ค่าต่ำสุด (mg/g)	1.20	1.23
ค่าเฉลี่ย (mg/g)	3.08	3.20
ค่าสูงสุด (mg/g)	10.82	6.74
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mg/g)	1.44	1.40
จำนวนตัวอย่าง	88	44

ตารางที่ 10 ค่าทางสถิติปริมาณวิตามินซีที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน

ปริมาณวิตามินซี	Calibration set	Validation set
ค่าต่ำสุด (mg/g)	0.53	0.92
ค่าเฉลี่ย (mg/g)	1.82	1.66
ค่าสูงสุด (mg/g)	2.82	2.48
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mg/g)	0.47	0.36
จำนวนตัวอย่าง	92	46

2. การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายคุณภาพของผลฝรั่งอย่างรวดเร็วด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา

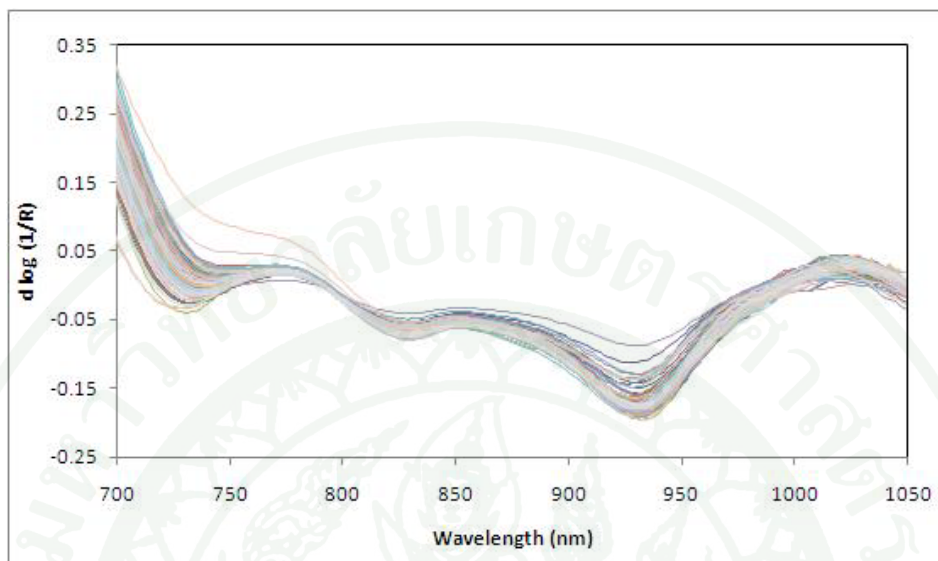
สำหรับตัวอย่างที่เป็นผลฝรั่งจะถูกนำมาวัดสเปกตรัมด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา หรือที่เรียกกันว่าเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction จะได้เส้นสเปกตรัมที่จะนำมาสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายคุณภาพของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 700-1050 nm ดังภาพที่ 33



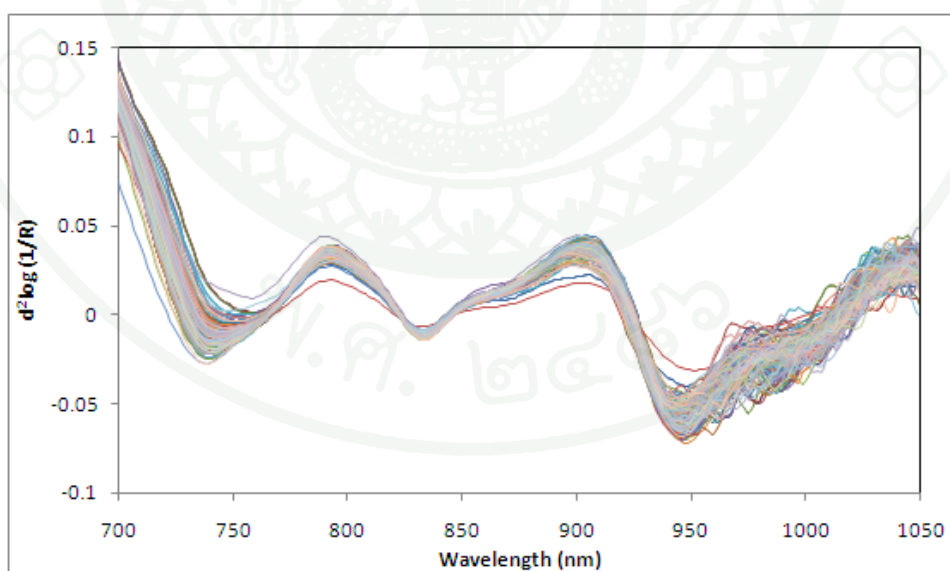
ภาพที่ 33 Original spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction

จากสเปกตรัมของผลฝรั่งซึ่งแสดงในภาพที่ 33 พบว่ามีการดูดกลืนของน้ำซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผลฝรั่งที่ความยาวคลื่น 970 nm นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นว่าเส้นสเปกตรัมมีการยกตัวเป็นขั้น (baseline shift) ซึ่งเกิดจากการกระเจิงแสง (scattering) ที่ผิวฝรั่งและความแตกต่างของความแน่นเนื้อเป็นผลให้สเปกตรัมเกิดการเบี่ยงเบนไป จึงต้องทำการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนนำไปใช้ในการสร้างสมการทำนายขององค์ประกอบทางเคมีของผลฝรั่ง โดยอาศัยโปรแกรม Ca Maker ซึ่งในโปรแกรมนี้มีวิธีในการปรับแต่งสเปกตรัม 2 วิธีด้วยกัน คือ วิธีอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (First derivative) และวิธีอนุพันธ์อันดับสอง (Second derivative) ซึ่งผลจากการปรับแต่งสเปกตรัมของทั้ง

สองวิธีนี้สามารถช่วยลดอิทธิพลจากการกระเจิงแสงได้ โดยสังเกตได้จากการที่เส้นสเปกตรัมเลื่อนตัวชิดกันมากขึ้น ซึ่งแสดงในภาพที่ 34 และภาพที่ 35 ตามลำดับ



ภาพที่ 34 First derivative spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction



ภาพที่ 35 Second derivative spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction

2.1 สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า TSS

จากการปรับแต่งสเปกตรัมของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่น 700-1050 nm ก่อนนำมาสร้างสมการทำนายด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง แสดงในภาพที่ 35 โดยกำหนด Segment 30 nm, Smooth 20 nm และ Step size 6 nm ได้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุดดัง Scatter plots ในภาพที่ 36 และภาพที่ 37 จาก Scatter plots ของทั้งสองภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set ตามลำดับ ซึ่งได้ค่า Correlation coefficient $R = 0.96$, Standard Error of Calibration (SEC) = 0.76 % Brix, Standard Error of Prediction (SEP) = 0.83 % Brix และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -0.2 % Brix จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ สมการนี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายเพื่อการประกันคุณภาพได้ โดยที่ค่าทำนายปริมาณ TSS อยู่ใกล้เส้นทแยงมุม (ค่าจริงมีค่าเท่ากับค่าที่ทำนายด้วยเทคนิค NIR) ซึ่งบ่งบอกถึงการทำนายได้อย่างแม่นยำ จากผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี paired t-test พบว่าค่า TSS ที่ทำนายด้วยวิธี NIR ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีตัวแปรอิสระของสมการทำนายค่า TSS ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ตัวแปรอิสระของสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า TSS ด้วยวิธี Multiple Linear Regression (MLR) ในช่วงความยาวคลื่นสั้น

ตัวแปรที่	1	2	3	4	5
ความยาวคลื่น (nm)	A_{730}	A_{764}	A_{864}	A_{874}	A_{890}

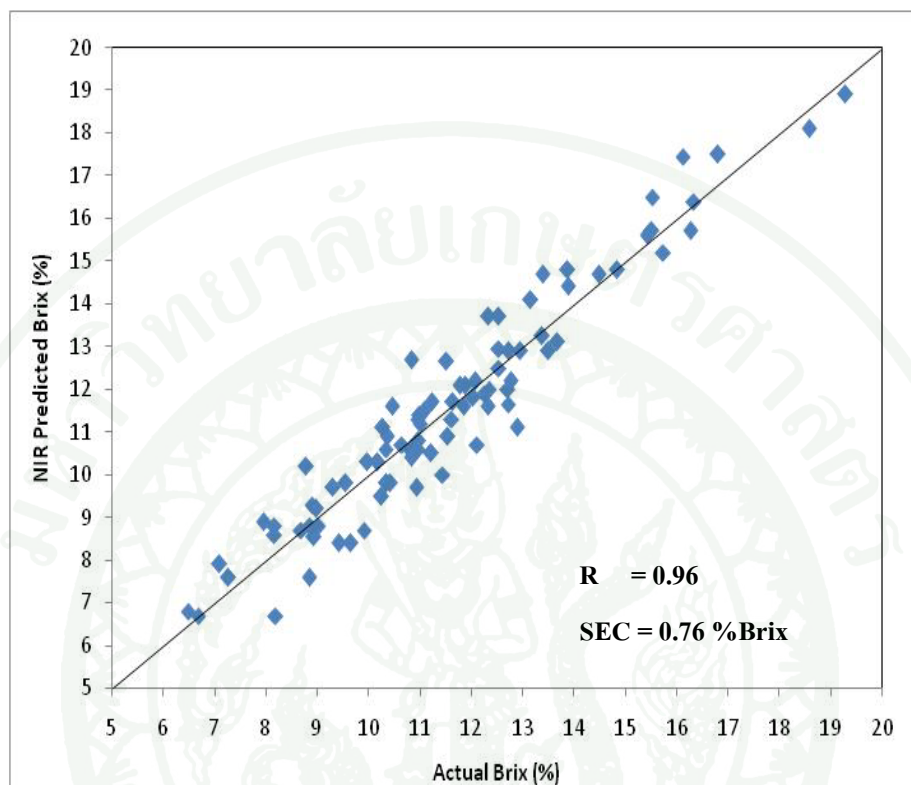
โดยที่ A_x คือ ค่าอนุพันธ์อันดับสองของการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น x nm

โดยมีสัมประสิทธิ์ของแต่ละตัวแปรในสมการทำนายค่า TSS ดังสมการด้านล่างนี้

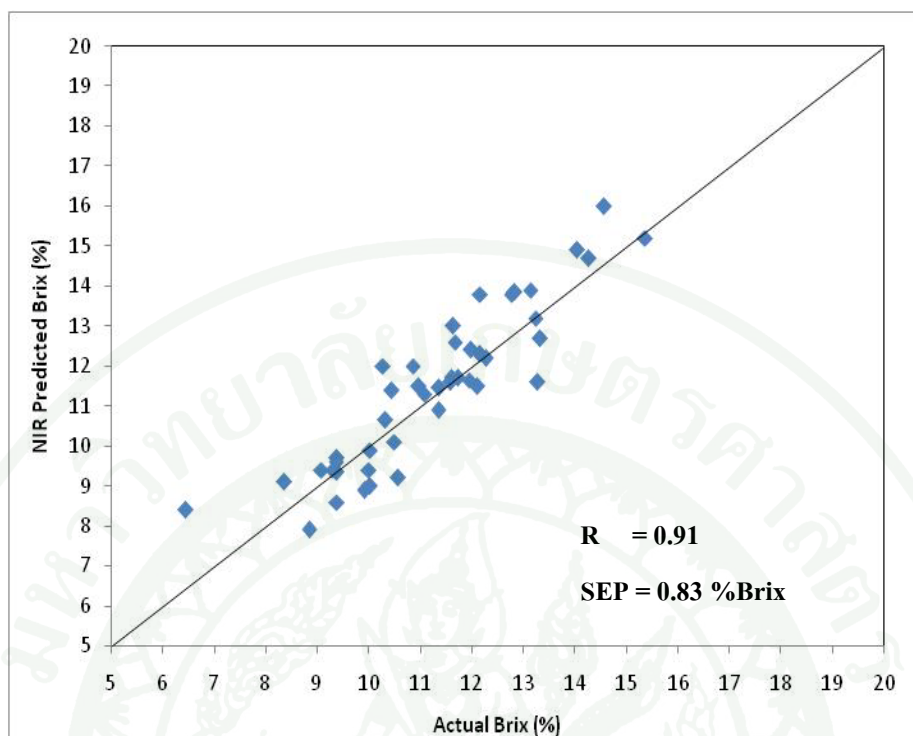
$$\begin{aligned} \%Brix = & 19.17 + 31.45 A_{730 \text{ nm}} - 192.52 A_{764 \text{ nm}} + 572.53 A_{864 \text{ nm}} + 302.38 A_{874 \text{ nm}} \\ & - 245.88 A_{890 \text{ nm}} \end{aligned}$$

จากสมการจะสังเกตเห็นว่าตัวแปรที่มีความสำคัญสอดคล้องกับน้ำตาล อยู่ที่ตำแหน่งการดูดกลืนที่ 890 nm ซึ่งใกล้เคียงกับตำแหน่งการดูดกลืนของน้ำตาล Sucrose ดังภาพที่ 38 แสดง

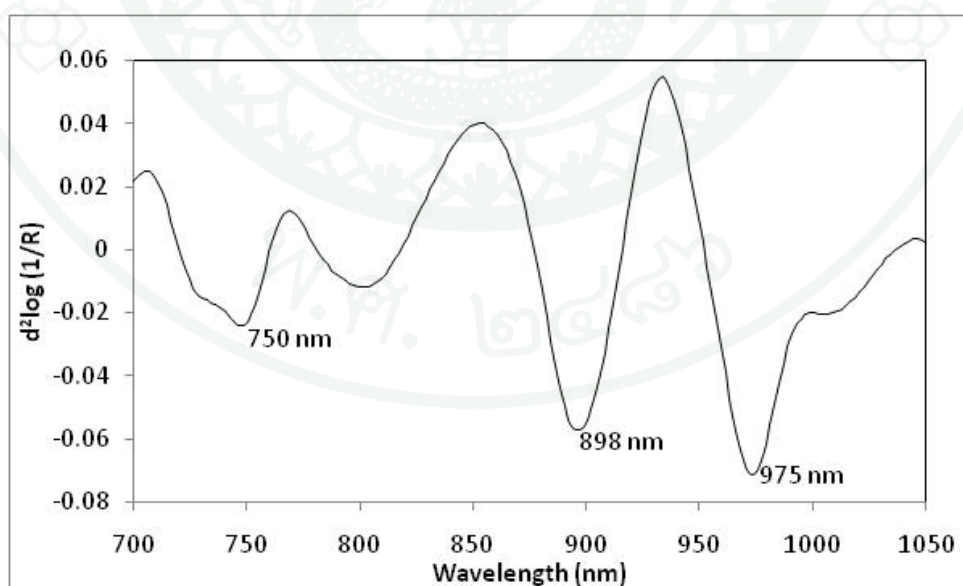
Second derivative spectrum ของน้ำตาล Sucrose โดยมีตำแหน่งการดูดกลืนของน้ำตาล Sucrose ที่ 750 nm, 898 nm และ 975 nm



ภาพที่ 36 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น



ภาพที่ 37 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น



ภาพที่ 38 Second derivative spectrum ของน้ำตาล sucrose ในช่วงความยาวคลื่น 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan)

2.2 สมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ Total Phenolics

จากการปรับแต่งสเปกตรัมของผลฝรั่งก่อนนำมาสร้างสมการทำนายด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับหนึ่ง ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 700-1050 nm โดยกำหนด Segment 20 nm, Smooth 20 nm และ Step size 4 nm ได้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุดดัง Scatter plots ในภาพที่ 39 และภาพที่ 40 จากภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set ตามลำดับ ได้ค่า Correlation coefficient $R = 0.84$, Standard Error of Calibration (SEC) = 3.88 mg/100g, Standard Error of Prediction (SEP) = 4.92 mg/100g และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -1.06 mg/100g จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สมการนี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายปริมาณ Total Phenolics เพื่อการประมาณค่าเบื้องต้นได้ โดยสาเหตุที่อาจมีผลทำให้ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ไม่สูงมากอาจเนื่องมาจากพิสัยค่า Total Phenolics ไม่กว้างมากนัก นอกจากนี้วิธีการวิเคราะห์นี้ต้องใช้ความละเอียดและความชำนาญเป็นอย่างมาก ทำให้การวิเคราะห์ค่าทางเคมีอาจมีความคลาดเคลื่อนได้ง่าย อย่างไรก็ตามก็ได้ดีจากผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี paired t-test พบว่าค่าปริมาณ Total Phenolics ที่ทำนายด้วยวิธี NIR ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณ Total Phenolics ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณ Total Phenolics ด้วยวิธี Multiple linear Regression (MLR) ในช่วงความยาวคลื่นสั้น

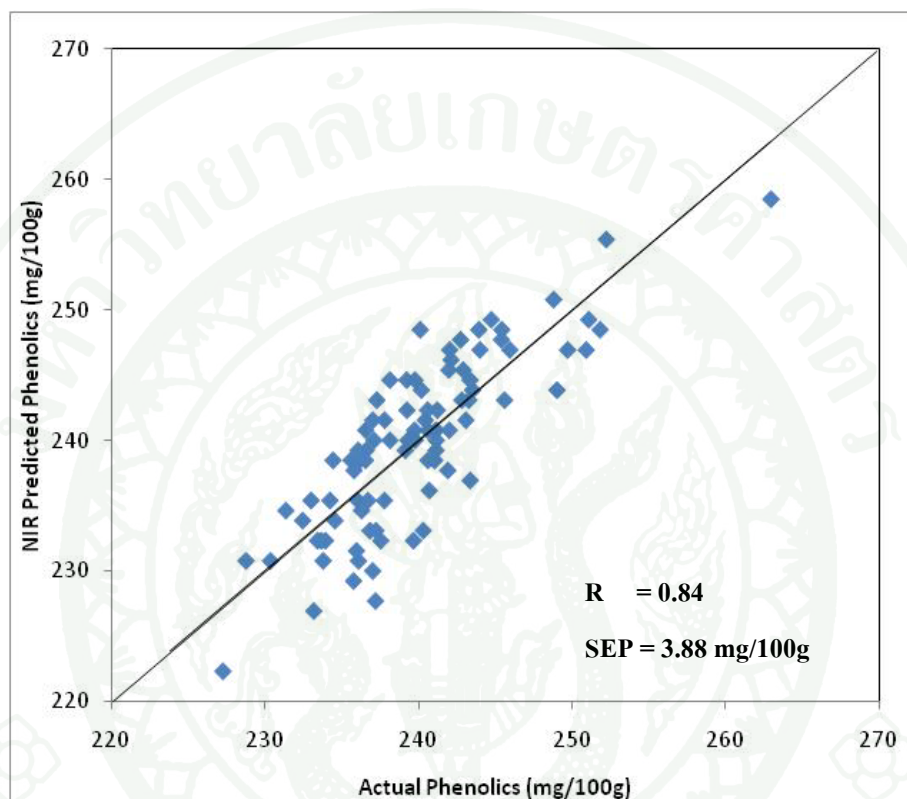
ตัวแปรที่	1	2	3	4	5	6
ความยาวคลื่น (nm)	A_{804}	A_{856}	A_{888}	A_{908}	A_{936}	A_{1012}

โดยที่ A_x คือ ค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่งของการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น x nm

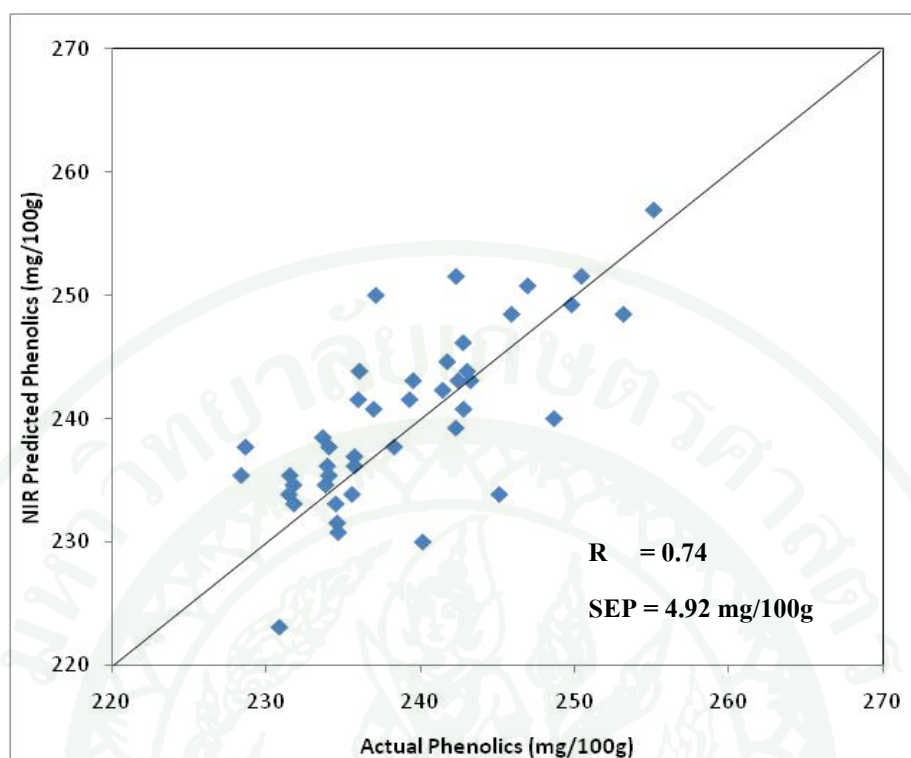
โดยมีสัมประสิทธิ์ของแต่ละตัวแปรในสมการทำนายปริมาณ Total Phenolics ดังสมการนี้

$$\begin{aligned} \text{Total Phenolics (mg/100g)} = & 261.75 - 666.85 A_{804 \text{ nm}} + 3105.92 A_{856 \text{ nm}} - 4290.49 A_{888 \text{ nm}} \\ & + 1979.64 A_{908 \text{ nm}} - 255.61 A_{936 \text{ nm}} - 152.64 A_{1012 \text{ nm}} \end{aligned}$$

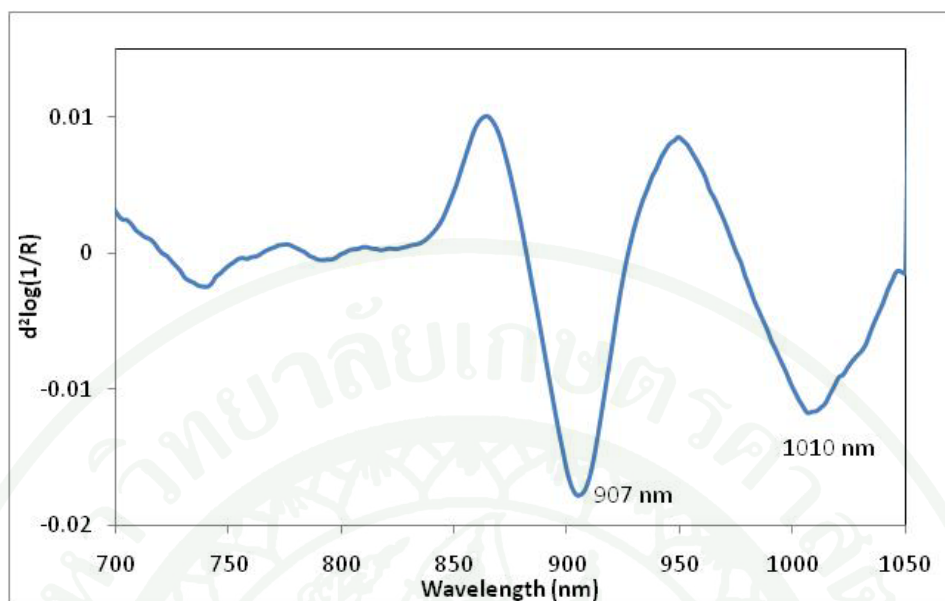
จากสมการข้างต้นจะสังเกตเห็นว่าตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กับ Gallic acid ซึ่งเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบหลักของ Total Phenolics อยู่ที่ตำแหน่งการดูดกลืนที่ 908 nm และ 1012 nm ซึ่งใกล้เคียงกับตำแหน่งการดูดกลืนของ Gallic acid ที่ 907 nm และ 1010 nm ตามลำดับดังภาพที่ 41 แสดง Second derivative spectrum ของ Gallic acid



ภาพที่ 39 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น



ภาพที่ 40 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น



ภาพที่ 41 Second derivative spectrum ของ Gallic acid ที่ช่วงความยาวคลื่น 700-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan)

2.3 สมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณคาเตชิน

สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณคาเตชินจะทำการพิจารณาสเปกตรัมตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่น 600-1050 nm เพื่อต้องการให้ครอบคลุมค่าการดูดกลืนที่ตำแหน่งความยาวคลื่น 655 nm และ 908 nm ซึ่งตำแหน่งค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นดังกล่าวมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับคาเตชิน โดยสังเกตได้จากภาพที่ 44 แสดง Second derivative spectrum ของคาเตชิน และจาก Original spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 600-1050 nm ซึ่งแสดงในภาพที่ 42 พบว่ามีการดูดกลืนของคลอโรฟิลล์ที่ความยาวคลื่นประมาณ 650 nm การดูดกลืนของน้ำซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผลฝรั่งที่ความยาวคลื่น 760 nm และ 970 nm นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นว่าเส้นสเปกตรัมมีการยกตัวเป็นขั้น (Baseline shift) ซึ่งเกิดจากการกระเจิงแสง (scattering) ที่ผิวฝรั่งและความแตกต่างของความหนาแน่นเนื้อเป็นผลให้สเปกตรัมเกิดการเบี่ยงเบนไป จึงต้องทำการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนนำไปใช้ในการสร้างสมการทำนายเทียบมาตรฐานด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง ซึ่งผลจากการปรับแต่งสเปกตรัมพบว่าวิธีนี้สามารถช่วยลดอิทธิพลจากการกระเจิงแสงได้ โดยสังเกตได้จากการที่เส้นสเปกตรัมเลื่อนตัวชิดกันมากขึ้น แสดงในภาพที่ 43 การปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี Second derivative spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 600-1050 nm โดยกำหนด Segment 22 nm, Smooth

8 nm และ Step size 4 nm ได้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุดดัง Scatter plots ในภาพที่ 45 และภาพที่ 46 จากภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงของปริมาณคาเตชินในกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set ตามลำดับ ได้ค่า Correlation coefficient $R = 0.80$, Standard Error of Calibration (SEC) = 0.89 mg/g, Standard Error of Prediction (SEP) = 0.97 mg/g และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -0.10 mg/g จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สมการนี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายปริมาณคาเตชินเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบได้ โดยสาเหตุที่อาจมีผลทำให้ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ไม่สูงมากอาจเนื่องมาจากปริมาณคาเตชินของตัวอย่างที่น้อยที่สุดเท่ากับ 0.12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปริมาณที่คิดเป็นเปอร์เซ็นต์นี้ ใกล้กับความเข้มข้นต่ำสุดของเทคนิค NIR ที่วิเคราะห์ได้ (0.1เปอร์เซ็นต์) (เป็นปริมาณน้อยที่สุดที่แนะนำให้ใช้) อีกทั้งปริมาณการวิเคราะห์ค่าทางเคมีมีความยุ่งยากซับซ้อน ทำให้การวิเคราะห์ค่าทางเคมีมีความคลาดเคลื่อนได้ง่าย อย่างไรก็ตามจากผลการทดสอบทางสถิติ พบว่าค่าปริมาณคาเตชินที่ทำนายด้วยวิธี NIR ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธีการทดสอบ paired t-test โดยมีตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณคาเตชิน ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณคาเตชินด้วยวิธี Multiple linear Regression (MLR) ในช่วงความยาวคลื่นสั้น

ตัวแปรที่	1	2	3	4	5	6
ความยาวคลื่น (nm)	A_{612}	A_{672}	A_{716}	A_{736}	A_{784}	A_{832}

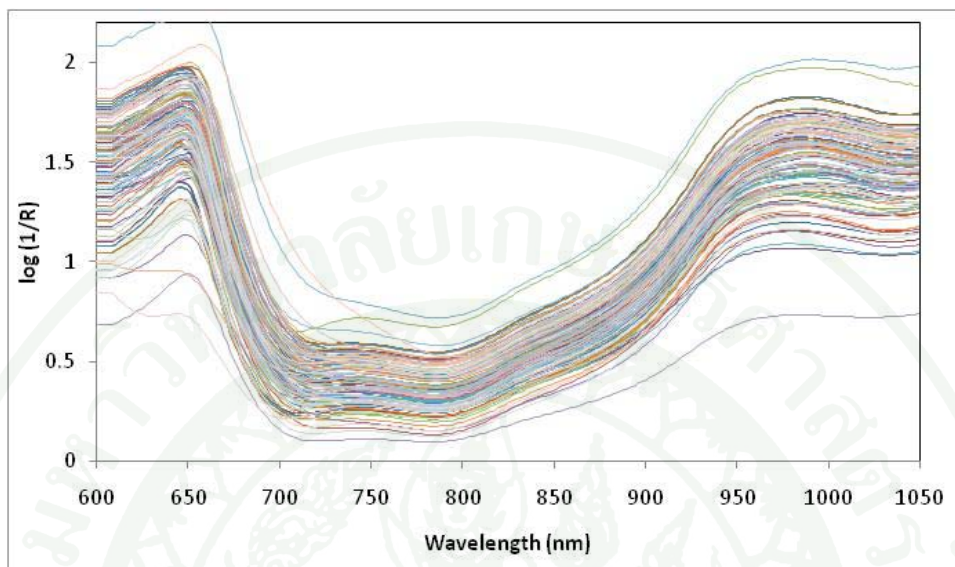
โดยที่ A_x คือ ค่าอนุพันธ์อันดับสองของการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น x nm

โดยมีสัมประสิทธิ์ของแต่ละตัวแปรในสมการทำนายปริมาณคาเตชิน ดังสมการนี้

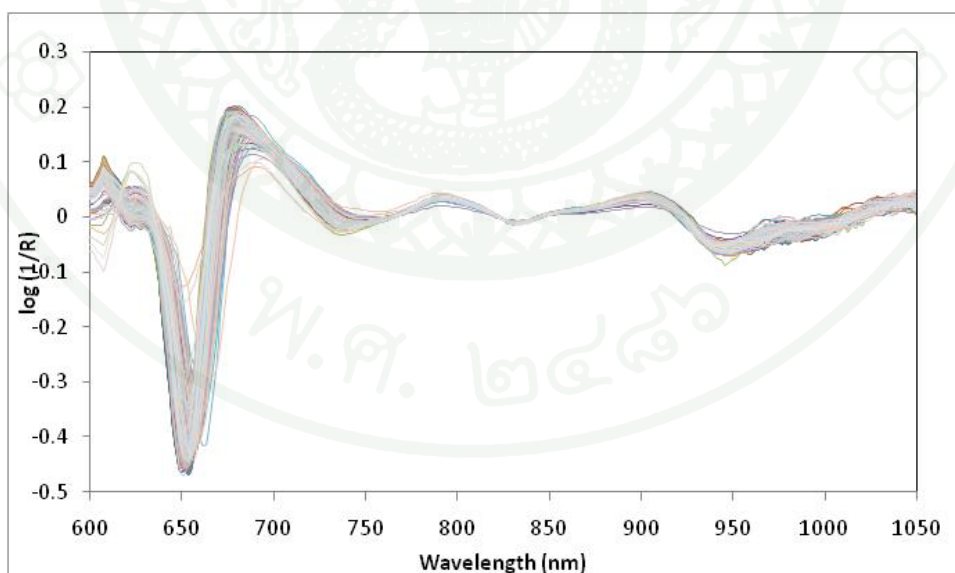
$$\begin{aligned} \text{Catechin (mg/g)} = & 0.73 + 10.86 A_{612 \text{ nm}} - 7.90 A_{672 \text{ nm}} - 63.73 A_{716 \text{ nm}} + 103.03 A_{736 \text{ nm}} \\ & + 276.84 A_{784 \text{ nm}} + 125.58 A_{832 \text{ nm}} \end{aligned}$$

จากสมการข้างต้นจะสังเกตเห็นว่าตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กับคาเตชิน (Catechin) ซึ่งเห็นอยู่ที่ตำแหน่งการดูดกลืนที่ 672 nm ซึ่งใกล้เคียงกับตำแหน่งการดูดกลืนของคาเตชินที่ 655 nm ดังภาพที่ 44 แสดงการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี Second derivative spectrum ของคาเตชิน ซึ่งมีตำแหน่งการดูดกลืนของคาเตชินที่ 655 nm และ 908 nm โดยสาเหตุที่ทำให้ตำแหน่งการดูดกลืนไม่

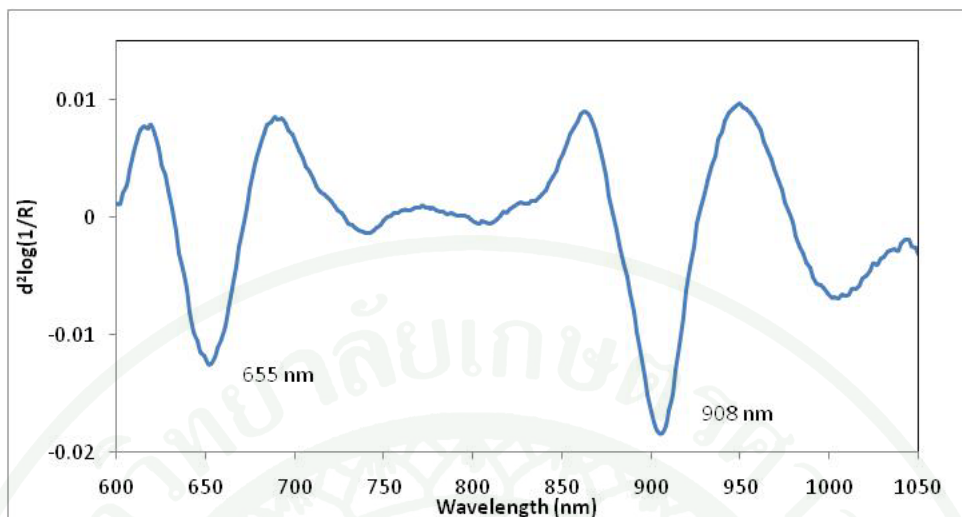
ตรงกันเนื่องจาก ในผลฝรั่งมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิด รวมถึงการปรับแต่งสเปกตรัม อาจส่งผลให้การดูดกลืนของคาเตชินในผลฝรั่งเบี่ยงเบนไป



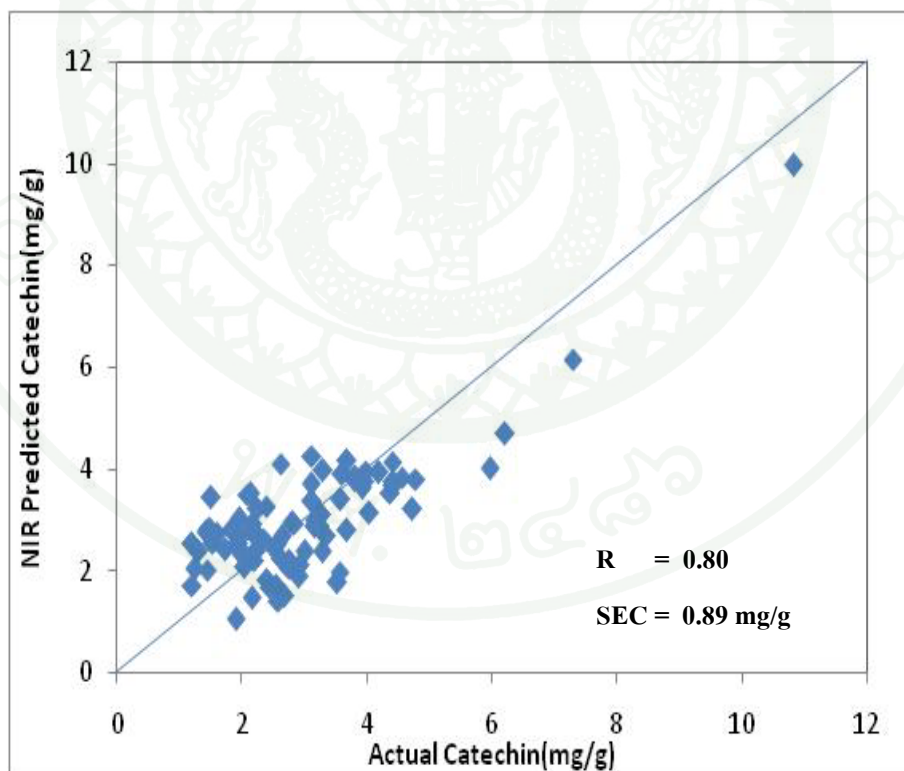
ภาพที่ 42 Original spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 600-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction



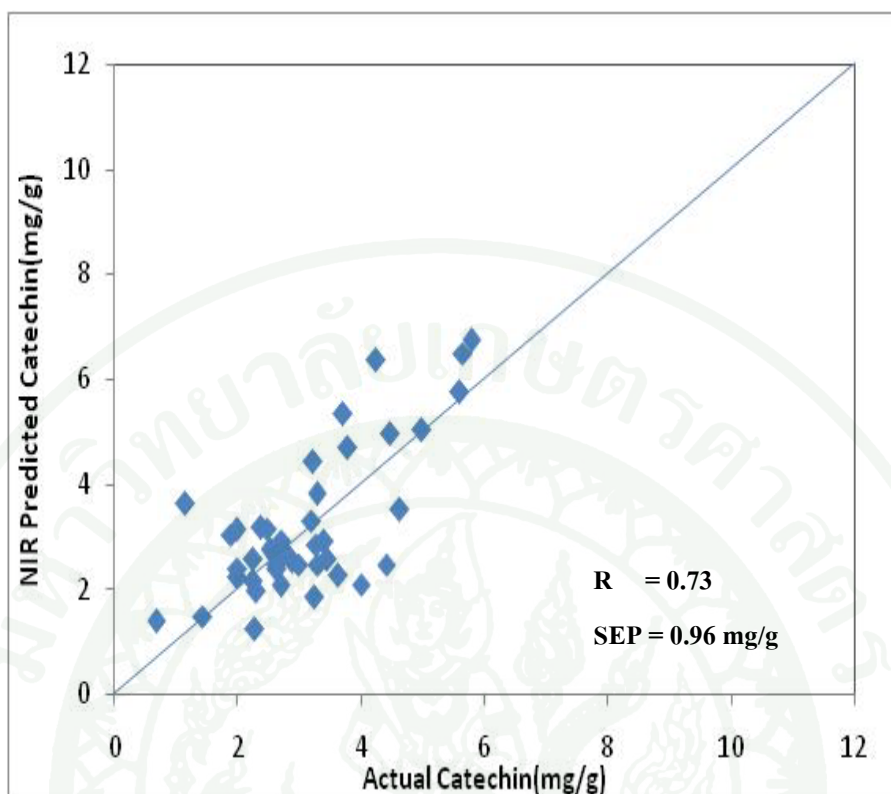
ภาพที่ 43 Second derivative spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 600-1050 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan) ในระบบการวัดแบบ Interaction



ภาพที่ 44 Second derivative spectrum ของคาเตชิน ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan)



ภาพที่ 45 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณคาเตชินในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น



ภาพที่ 46 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณคาเทชินในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น

2.4 สมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณวิตามินซี

จากการปรับแต่งสเปกตรัมของผลฝรั่งก่อนนำมาสร้างสมการทำนายด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับหนึ่ง ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 700-1050 nm ดังภาพที่ 34 โดยกำหนด Segment 10 nm, Smooth 2 nm และ Step size 4 nm ได้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุดแสดงดัง Scatter plots ในภาพที่ 47 และภาพที่ 48 จากภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงของปริมาณวิตามินซีในกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set ตามลำดับ ได้ค่า Correlation coefficient $R = 0.87$, Standard Error of Calibration (SEC) = 0.24 mg/g, Standard Error of Prediction (SEP) = 0.16 mg/g และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = 0.03 mg/g จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สมการนี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายปริมาณวิตามินซีเพื่อประมาณค่าเบื้องต้นได้ โดยสาเหตุที่อาจมีผลทำให้ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ไม่สูงมากอาจเนื่องมาจาก ปริมาณวิตามินซีน้อยที่สุดที่คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ มีค่าน้อยกว่าปริมาณขีดจำกัดต่ำสุดของวิธี NIR คือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นปริมาณ

น้อยที่สุดที่แนะนำให้ใช้ อีกทั้งการเสื่อมสภาพที่รวดเร็วของวิตามินซี ทำให้การวิเคราะห์ค่าทางเคมี มีความผิดพลาดได้ง่าย จากผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี paired t-test พบว่าค่าปริมาณวิตามินซีที่ทำนายด้วยวิธี NIR ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณวิตามินซี ดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ตัวแปรอิสระของสมการทำนายปริมาณวิตามินซี ด้วยวิธี Multiple linear Regression (MLR) ในช่วงความยาวคลื่นสั้น

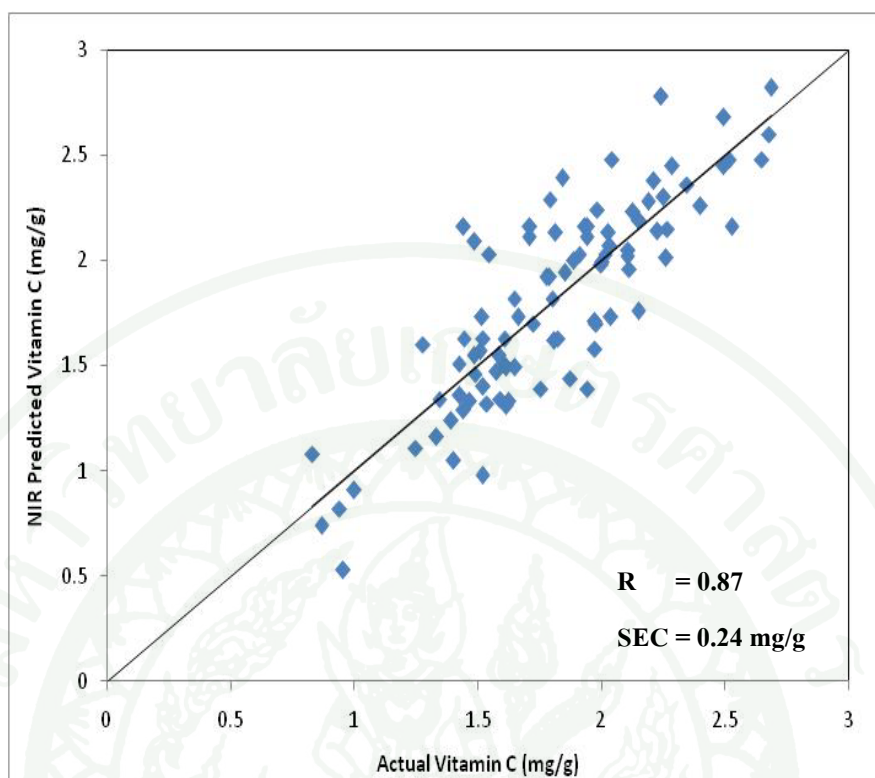
ตัวแปรที่	1	2	3	4	5	6
ความยาวคลื่น (nm)	A ₇₀₄	A ₇₂₀	A ₇₃₆	A ₇₇₂	A ₈₈₀	A ₉₃₆

โดยที่ A_x คือ ค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่งของการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น x nm

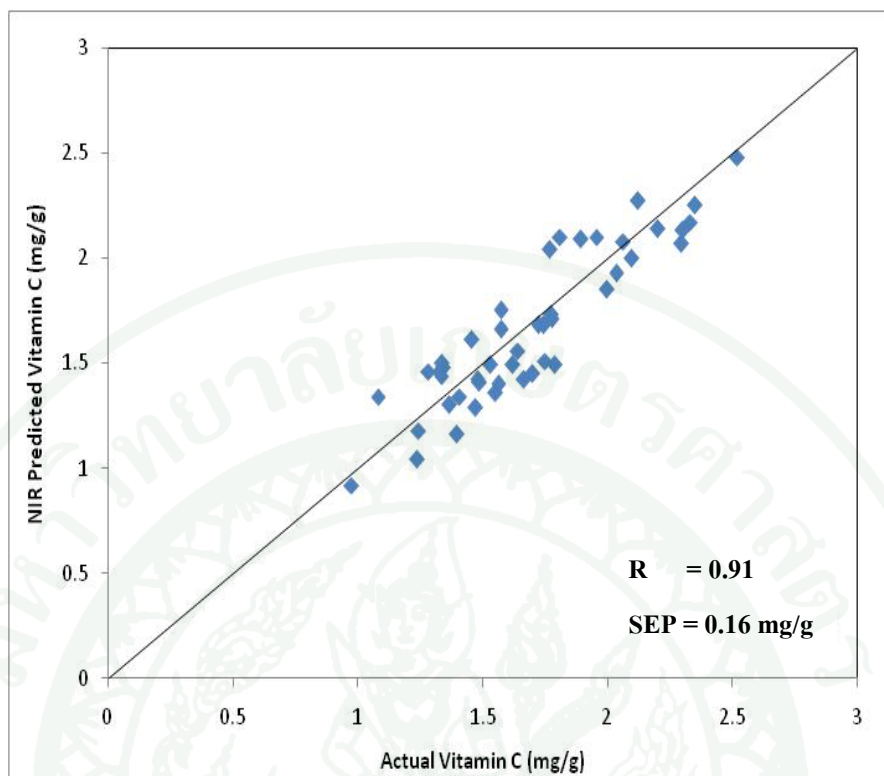
โดยมีสัมประสิทธิ์ของแต่ละตัวแปรในสมการทำนายปริมาณวิตามินซี ดังสมการนี้

$$\text{Vitamin C (mg/g)} = 2.83 + 9.46 A_{704 \text{ nm}} - 21.75 A_{720 \text{ nm}} + 32.84 A_{736 \text{ nm}} - 89.38 A_{772 \text{ nm}} + 48.45 A_{880 \text{ nm}} - 13.59 A_{936 \text{ nm}}$$

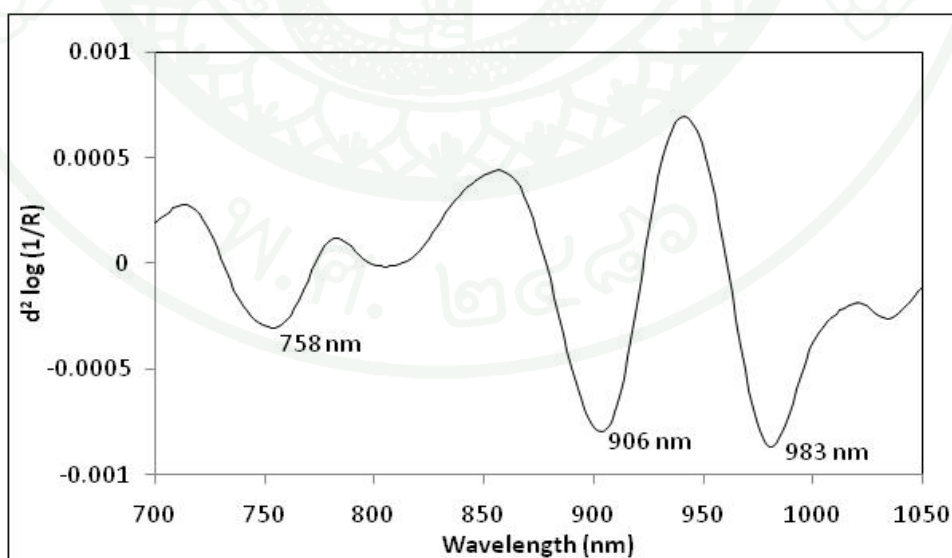
จากสมการข้างต้นจะสังเกตเห็นว่าตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กับกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ซึ่งเห็นอยู่ที่ตำแหน่งการดูดกลืนที่ 772 nm ซึ่งใกล้เคียงกับตำแหน่งการดูดกลืนของกรดแอสคอร์บิกที่ 758 nm ดังภาพที่ 49 แสดง Second derivative spectrum ของกรดแอสคอร์บิก ซึ่งมีตำแหน่งการดูดกลืนของกรดแอสคอร์บิกที่ 758 nm, 906 nm และ 983 nm โดยสาเหตุที่ทำให้ตำแหน่งการดูดกลืนแตกต่างกันเนื่องจาก ในผลฝรั่งมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิด รวมถึงการปรับแต่งสเปกตรัมอาจส่งผลให้การดูดกลืนของวิตามินซีในผลฝรั่งเบี่ยงเบนไป



ภาพที่ 47 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณวิตามินซีในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น



ภาพที่ 48 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณวิตามินซีในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น



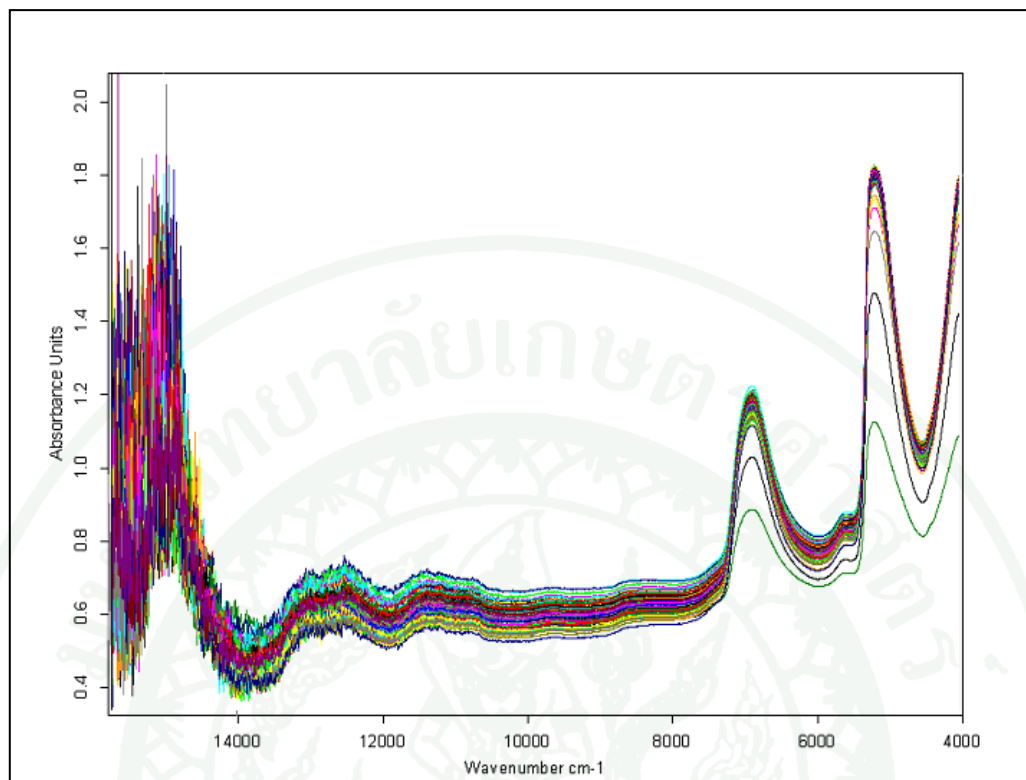
ภาพที่ 49 Second derivative spectrum ของ Ascorbic acid ที่วัดด้วยเครื่อง FQA-NIR GUN (Shizuoka Shibuya Seiki, Japan)

3. การทดสอบเซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมน้ำฝรั่งที่สร้างขึ้น

เมื่อทำการสร้างเซลล์ใส่ตัวอย่างตามภาพเขียนแบบในภาพที่ 26 สำหรับวัดสเปกตรัมน้ำฝรั่งจะได้เซลล์ใส่ตัวอย่างดังภาพที่ 50 การทดสอบทำโดยการวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่ง ในช่วงตั้งแต่ $16000-4000\text{ cm}^{-1}$ ดังตัวอย่างที่แสดงในภาพที่ 51 พบว่าในช่วง $16000-8000\text{ cm}^{-1}$ มี noise เกิดขึ้น ส่วน peak ที่มีความชัดเจนอยู่ในช่วง $8000-4000\text{ cm}^{-1}$ และไม่เกิดฟลักที่มีลักษณะหัวตัด (Over flow) ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ใส่ตัวอย่างที่ออกแบบนี้มี Physical pathlength เท่ากับ 0.2 mm มีความเหมาะสมในการวัดสเปกตรัมสำหรับตัวอย่างที่อยู่ในสถานะของสารละลาย ที่มีความสามารถในการดูดกลืนได้ดีในช่วงคลื่นยาว ($8000-4000\text{ cm}^{-1}$) ดังนั้นเซลล์ใส่ตัวอย่างนี้สามารถนำไปใช้วัดสเปกตรัมของสารละลายหรือน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาวได้อย่างมีประสิทธิภาพ



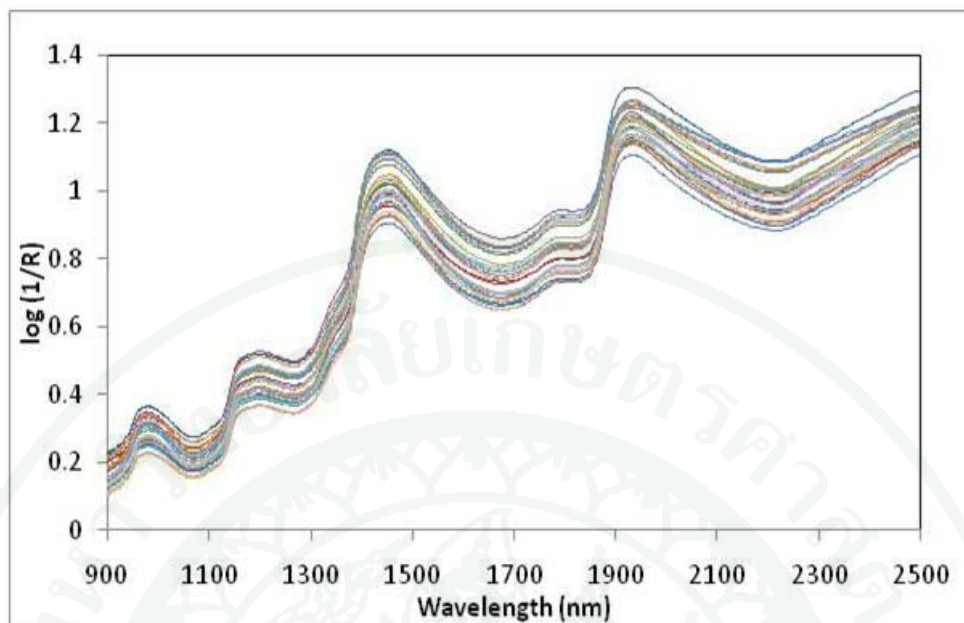
ภาพที่ 50 เซลล์ใส่ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่งที่สร้างขึ้น



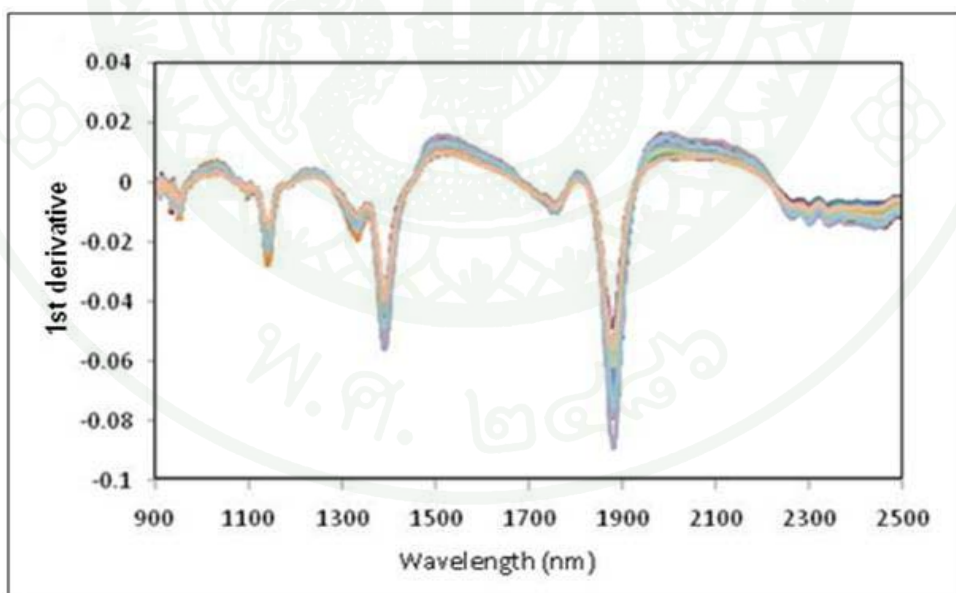
ภาพที่ 51 ตัวอย่าง Original Spectrum ของน้ำฝรั่งในระบบการวัดแบบ Transflection ด้วยเซลล์ใต้ตัวอย่างที่พัฒนาขึ้น ช่วงความยาวคลื่น $16000-4000\text{ cm}^{-1}$ ($625-2500\text{ nm}$) ด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer Model Vector22/N ของบริษัท Bruker Optics Germany

4. การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS และปริมาณ Total Phenolics ของฝรั่งอย่างแม่นยำด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ FT-NIR Spectrometer

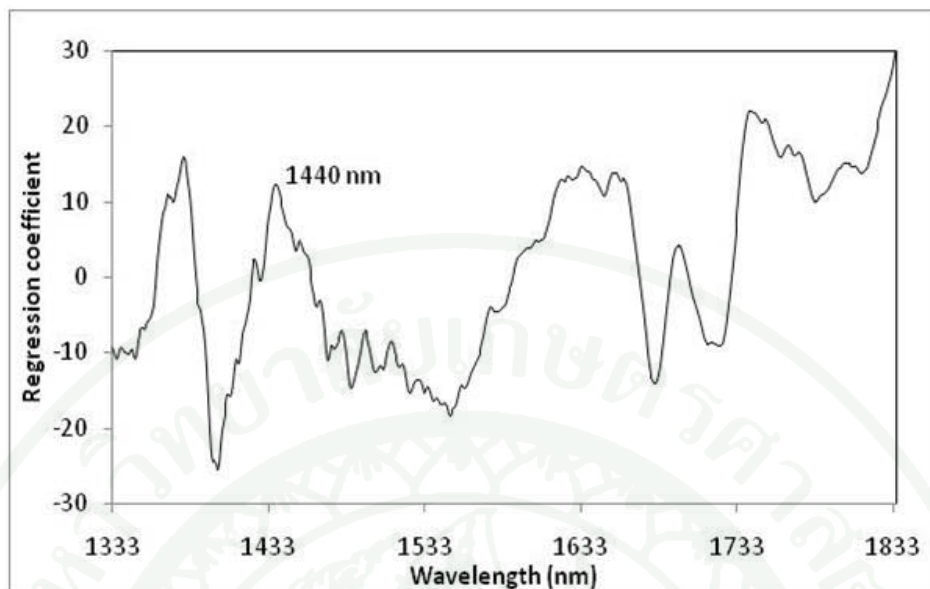
นำตัวอย่างผลฝรั่งมาวัดสเปกตรัมในระบบการวัดแบบ Reflection ด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ซึ่งจะได้สเปกตรัมที่จะนำมาสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS และปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ $900-2500\text{ nm}$ ดังภาพที่ 52 แสดง Original spectrum ของผลฝรั่งในช่วง $900-2500\text{ nm}$ ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer



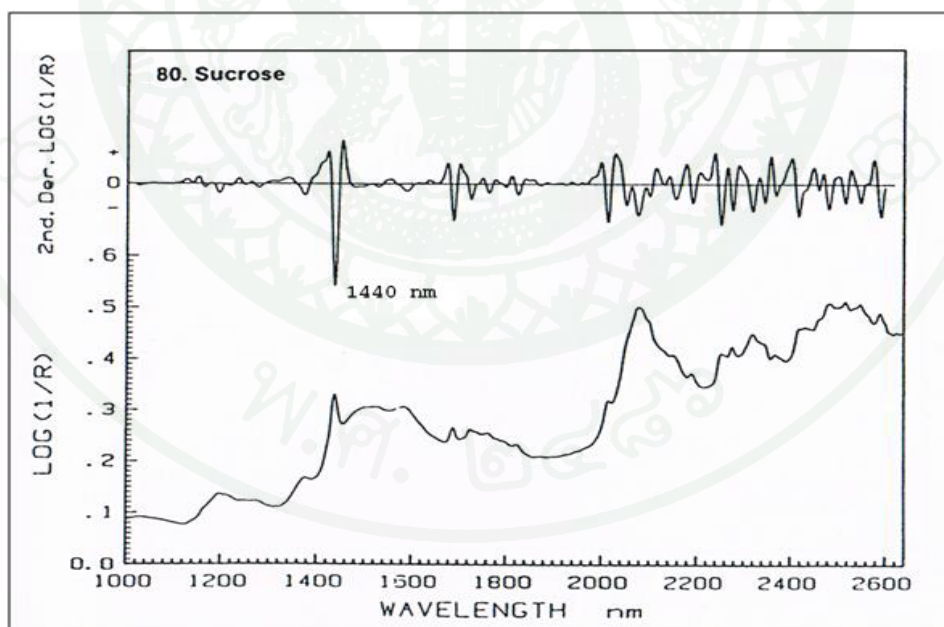
ภาพที่ 52 Original Spectrum ของผลฝรั่งในช่วง 900-2500 nm ด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ในระบบการวัดแบบ Reflection



ภาพที่ 53 Original Spectrum ที่ถูกปรับแต่งด้วยวิธี First derivative ร่วมกับวิธี Standard Normal Variate (SNV) ของผลฝรั่งในช่วง 900-2500 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ในระบบการวัดแบบ Reflection



ภาพที่ 54 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) กับความยาวคลื่นในช่วง 1333-1833 nm ของสมการทำนายค่า TSS ของผลฝรั่ง



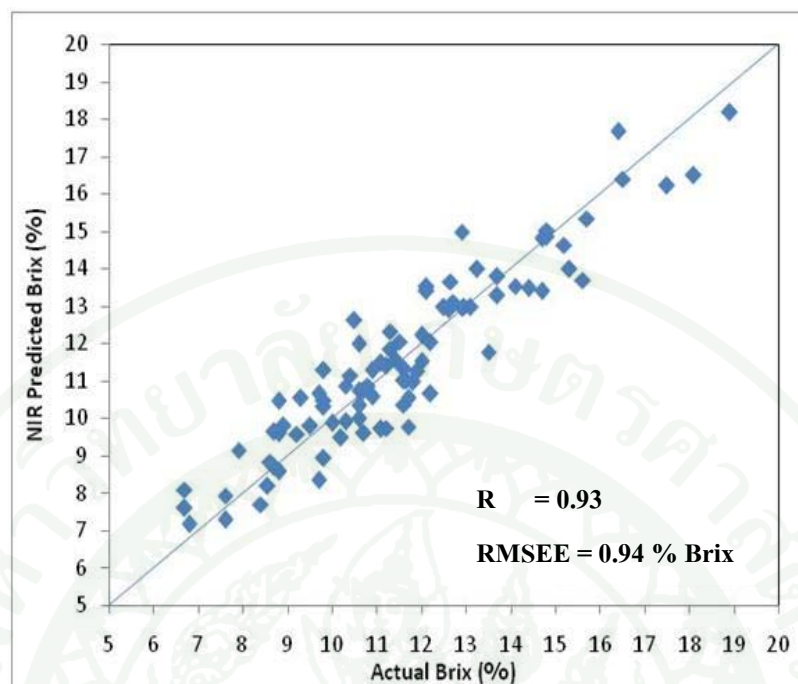
ภาพที่ 55 Second derivative spectrum ของ Sucrose ในช่วงความยาวคลื่นขาว

ที่มา: Phil Williams and Karl Norris (2001)

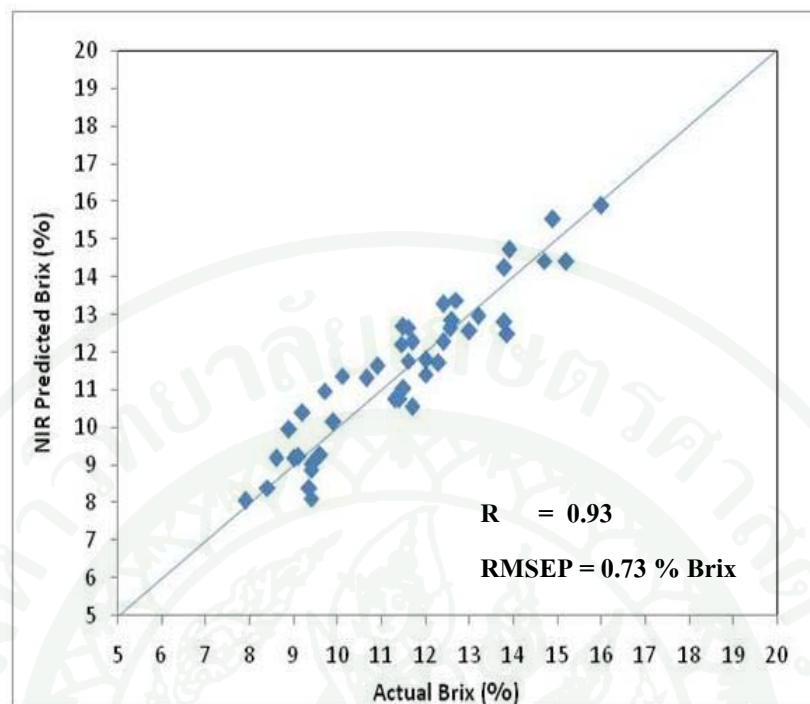
จากการวัดสเปกตรัมด้วยระบบการวัดแบบ Reflection ด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) จะได้สเปกตรัมดังภาพที่ 52 พบว่าเส้นสเปกตรัมมีการยกตัวเป็นขั้น (Baseline shift) จากการกระเจิงแสง (Scattering) ที่ผิวของผลฝรั่ง เนื่องจากความแตกต่างของความหนาแน่นเนื้อของผลฝรั่ง ทำให้ค่าการดูดกลืนเบี่ยงเบนไป นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นการดูดกลืนของน้ำซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผลฝรั่ง โดยมีค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 970 nm, 1450 nm และ 1940 nm (Osborne *et al.*, 1993) ดังนั้นจึงต้องทำการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนจะนำมาทำการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน โดยอาศัยโปรแกรม OPUS 6.5

4.1 สมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS ของผลฝรั่ง

จากการปรับแต่งสเปกตรัมของผลฝรั่งก่อนนำมาสร้างสมการทำนายด้วยวิธี First Derivative ร่วมกับวิธี Standard Normal Variate (SNV) ในช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm พบว่าเส้นสเปกตรัมเลื่อนตัวชิดกันมากขึ้นเนื่องด้วยอิทธิพล Baseline shift ถูกกำจัดออกไป แสดงในภาพที่ 53 โดยกำหนด Smoothing 17 nm และ Resolution 32 cm^{-1} และพบว่าช่วงการดูดกลืนที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS ใช้ค่าการดูดกลืนในช่วงความยาวคลื่น 1333-1835 nm ซึ่งจัดอยู่ในช่วงความยาวคลื่นยาว ได้ผลการสร้างสมการที่ดีที่สุดดัง Scatter plots ภาพที่ 56 และภาพที่ 57 จาก Scatter plots ของทั้งสองภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set ตามลำดับ ซึ่งได้ค่า Correlation coefficient $R = 0.93$, Root mean squares error of estimate (RMSEE) = 0.94 % Brix, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 0.73 % Brix และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -0.07 % Brix จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ สมการนี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายเพื่องานวิจัยได้ และผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี paired t-test พบว่าค่าเฉลี่ยความผิดพลาดของการทำนายด้วยวิธี NIR ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และจากผลสมการทำนายที่ดีที่สุด เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) ที่ตำแหน่งความยาวคลื่นต่างๆ ในภาพที่ 54 พบว่าที่ตำแหน่งการดูดกลืนที่ 1440 nm มีความสำคัญสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนของน้ำตาล sucrose ที่ความยาวคลื่น 1440 nm ดังภาพที่ 55 ซึ่งแสดง Second derivative spectrum ของน้ำตาล sucrose โดยที่น้ำตาลส่วนใหญ่ในฝรั่งคือน้ำตาล sucrose (ศรีธนา, 2539)



ภาพที่ 56 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว

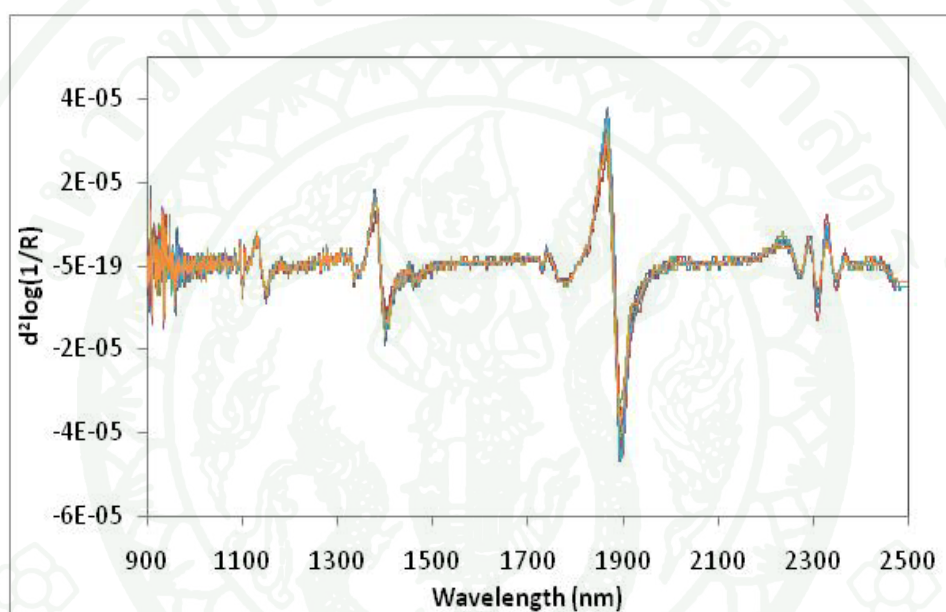


ภาพที่ 57 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว

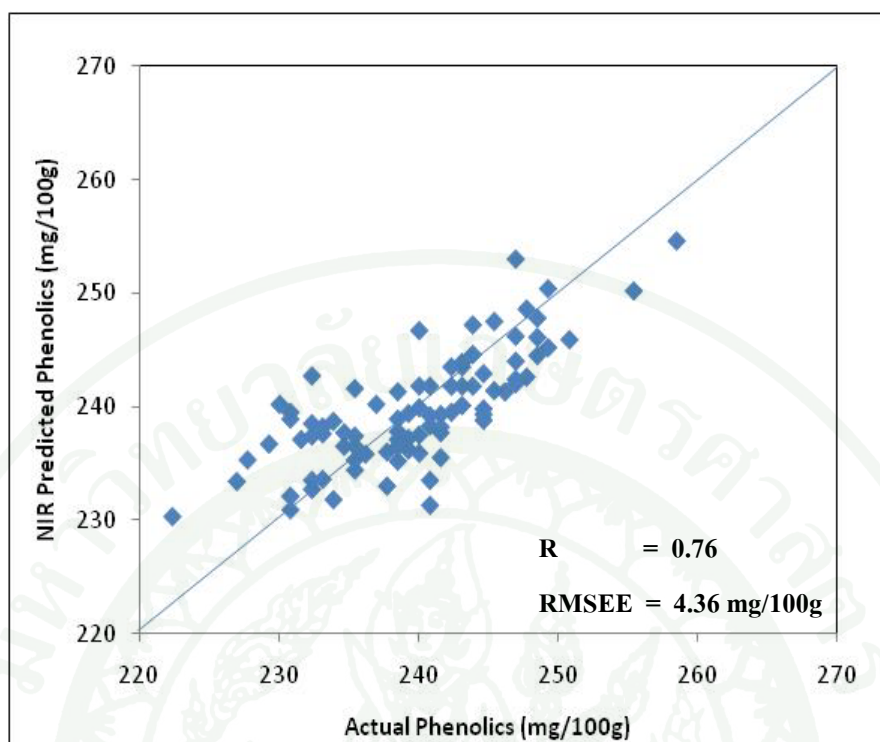
4.2 สมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่ง

เมื่อปรับแต่งสเปกตรัมของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm ก่อนนำมาสร้างสมการทำนายด้วยวิธี Second derivative พบว่าเส้นสเปกตรัมเลือนตัวชัดเจนมากขึ้นเนื่องจากอิทธิพล Baseline shift ถูกกำจัดออกไปแสดงในภาพที่ 58 โดยกำหนด Smoothing 17 nm และ Resolution 32 cm^{-1} และพบช่วงการดูดกลืนที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ Total Phenolics ที่ช่วงความยาวคลื่น 2175-2354 nm ซึ่งจัดอยู่ในช่วงความยาวคลื่นยาว ได้ผลการสร้างสมการดัง Scatter plots ในภาพที่ 59 และภาพที่ 60 จาก Scatter plots ของทั้งสองภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set ตามลำดับ ซึ่งได้ค่า Correlation coefficient $R = 0.76$, Root mean squares error of estimate (RMSEE) = 4.36 mg/100g, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 4.52 mg/100g และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = 0.32 mg/100g จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ สมการนี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบได้ และ

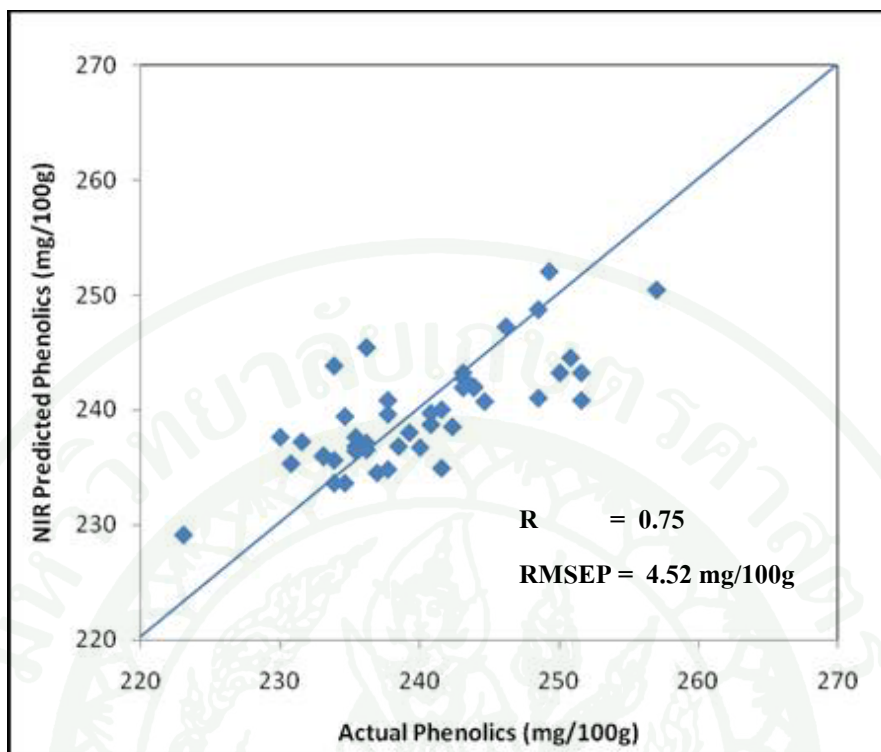
ผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี paired t-test พบว่าค่าเฉลี่ยความผิดพลาดของการทำนายด้วยวิธี NIR ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) ที่ตำแหน่งความยาวคลื่นต่างๆ ในภาพที่ 61 จะสังเกตเห็นว่าตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีความสำคัญสอดคล้องกับ Gallic acid อยู่ที่ตำแหน่งการดูดกลืนที่ 2200 nm ซึ่งใกล้เคียงกับตำแหน่งค่าการดูดกลืนของ Gallic acid ที่ตำแหน่งความยาวคลื่น 2190 nm ดังภาพที่ 62 แสดง Second derivative spectrum ของ Gallic acid โดยมีตำแหน่งการดูดกลืนของ Gallic acid ที่ความยาวคลื่น 2002 nm, 2120 nm และ 2190 nm



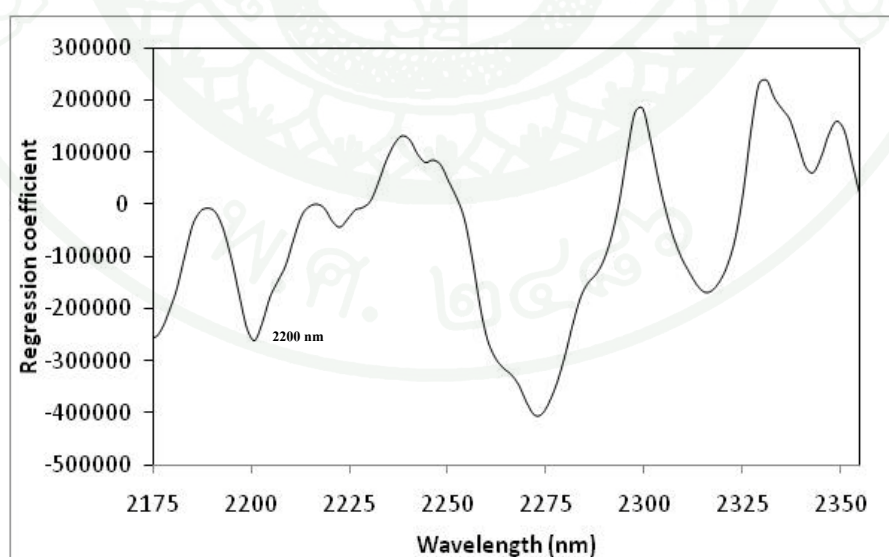
ภาพที่ 58 Original Spectrum ที่ถูกปรับแต่งด้วยวิธี Second derivative ของผลฝรั่งในช่วง 900-2500 nm



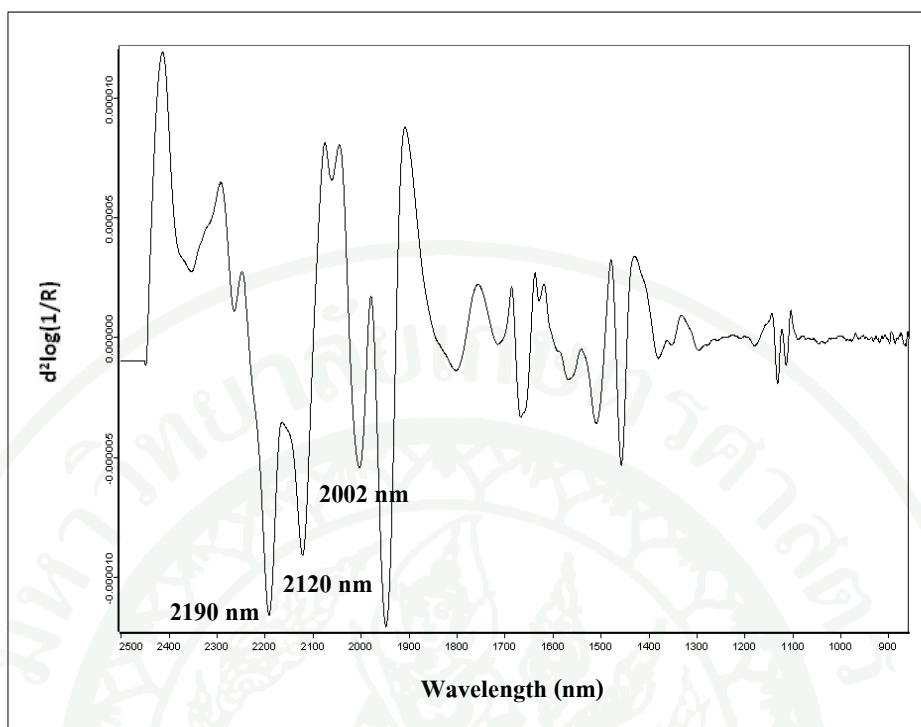
ภาพที่ 59 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Calibration set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นขาว



ภาพที่ 60 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ในกลุ่ม Validation set ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว

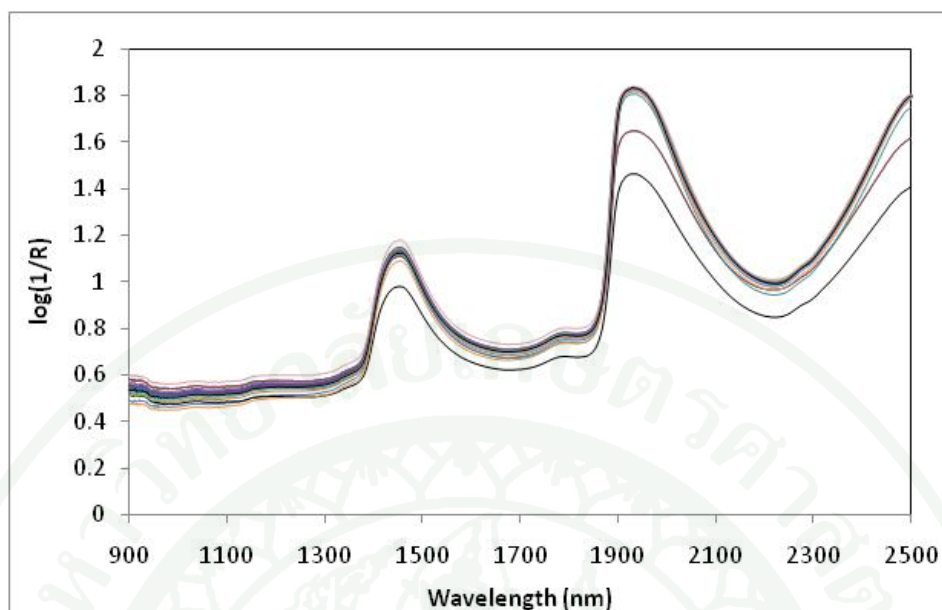


ภาพที่ 61 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) กับความยาวคลื่นในช่วง 2175-2354 nm ของสมการทำนายปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่ง



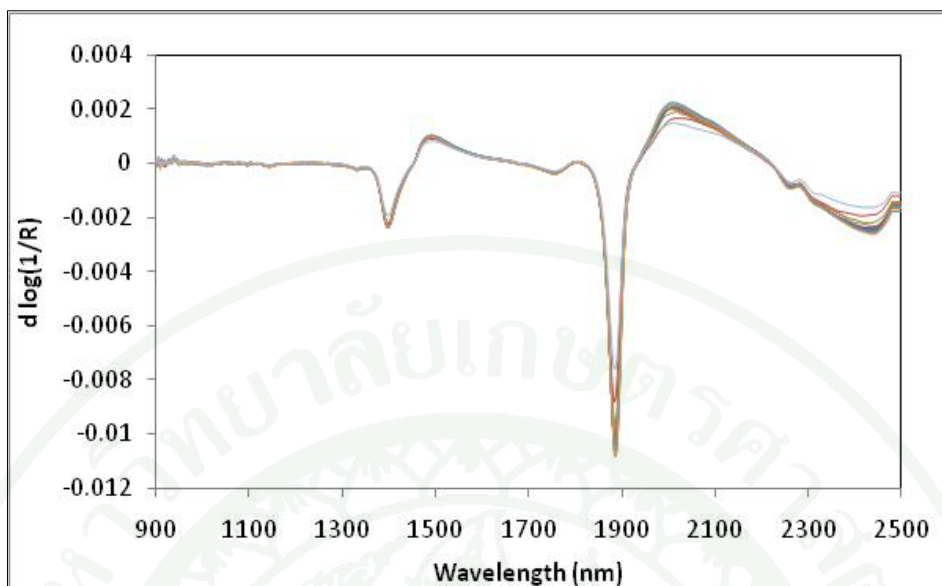
ภาพที่ 62 Second derivative spectrum ของ Gallic acid

สำหรับตัวอย่างที่เป็นน้ำฝรั่งจะถูกนำมาวัดสเปกตรัมในระบบการวัดแบบ Transflection ด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) โดยใช้เซลล์ใส่ตัวอย่างที่สร้างขึ้น ซึ่งจะได้สเปกตรัมที่จะนำมาสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายคุณภาพของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 900-2500 nm ดังภาพที่ 63 แสดง Original spectrum ของน้ำฝรั่งในช่วง 900-2500 nm

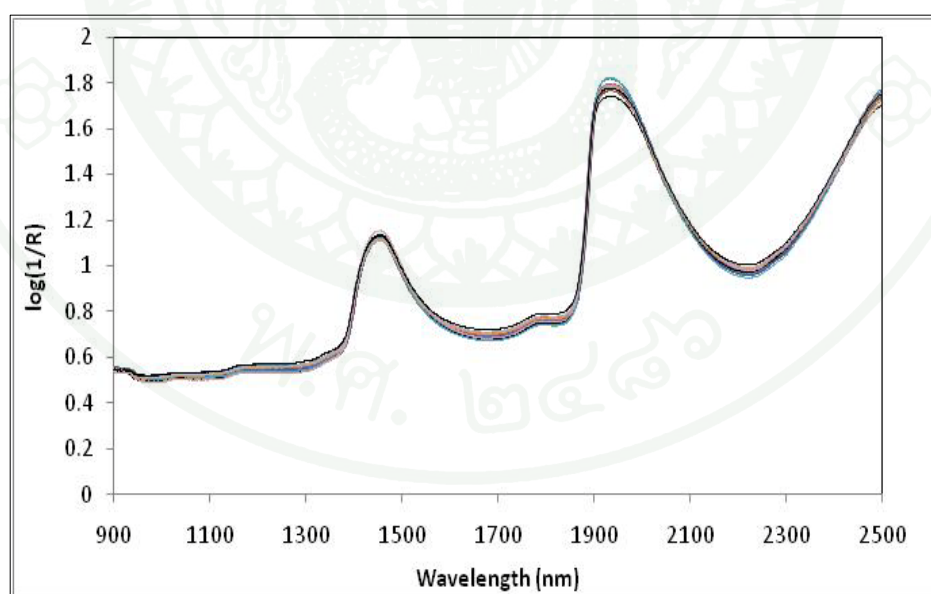


ภาพที่ 63 Original Spectrum ของน้ำฝรั่งในช่วง 900-2500 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ร่วมกับเซลล์ใส่ตัวอย่างที่สร้างขึ้นในระบบการวัดแบบ Transflection

จากภาพที่ 63 พบว่าเส้นสเปกตรัมมีการค่าการดูดกลืนที่มีลักษณะเป็นยอดสูงที่ความยาวคลื่น 1450 nm และ 1940 nm เนื่องจากตัวอย่างที่ทำการวัดมีลักษณะเป็นสารละลายที่มีองค์ประกอบของน้ำเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นเส้นสเปกตรัมเกิดความแตกต่างในช่วงคลื่นยาวมากกว่าช่วงคลื่นสั้น ซึ่งน่าจะเกิดจากการกระเจิงแสงอันเป็นผลมาจากสารแขวนลอย ทำให้เส้นสเปกตรัมถูกเบี่ยงเบนไป จึงต้องทำการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี Multiplicative scatter correction (MSC) และวิธี First derivative ก่อนนำไปใช้ในการสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีของน้ำฝรั่ง โดยอาศัยโปรแกรม OPUS 6.5 ซึ่งผลจากการปรับแต่งสเปกตรัมนี้สามารถช่วยลดอิทธิพลดังที่กล่าวมาในข้างต้นได้ โดยสังเกตได้จากการที่เส้นสเปกตรัมเลื่อนตัวชิดกันมากขึ้น เนื่องจากอิทธิพลที่กล่าวมาแล้วในข้างต้นถูกกำจัดออกไป ซึ่งแสดงในภาพที่ 64 และภาพที่ 65



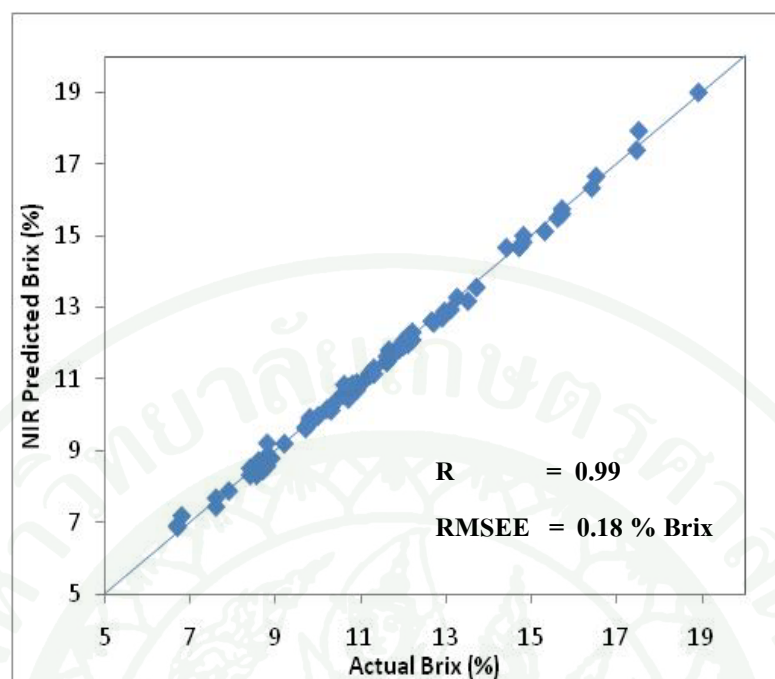
ภาพที่ 64 Original Spectrum ที่ถูกปรับแต่งด้วยวิธี First derivative ของน้ำฝรั่งในช่วง 900-2500 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ในระบบการวัดแบบ Transflection



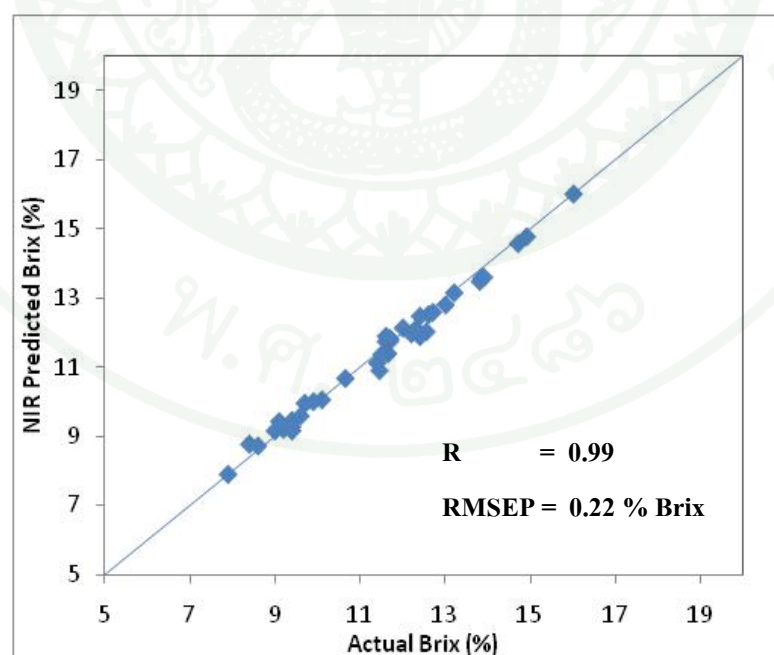
ภาพที่ 65 Original Spectrum ที่ถูกปรับแต่งด้วยวิธี MSC ของน้ำฝรั่งในช่วง 900-2500 nm ที่วัดด้วยเครื่อง FT-NIR Spectrometer (Bruker Optics, Germany) ในระบบการวัดแบบ Transflection

4.3 สมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS ของน้ำฝรั่ง

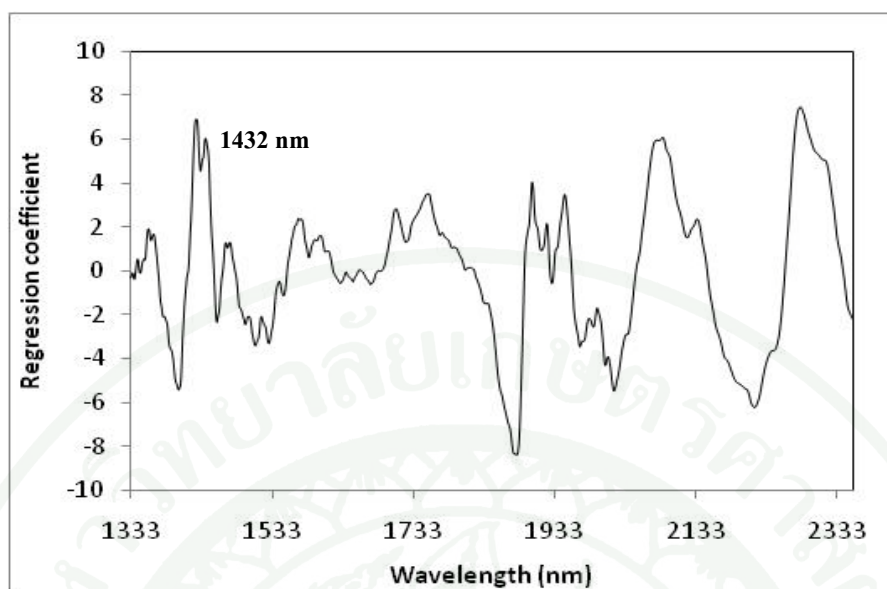
จากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำฝรั่งก่อนนำมาสร้างสมการทำนายด้วยวิธี MSC ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 900-2500 nm แสดงในภาพที่ 65 โดยกำหนด Smoothing 25 nm และ Resolution 32 cm^{-1} พบช่วงการดูดกลืนที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS ใช้ค่าการดูดกลืนในช่วงความยาวคลื่น 1333-2355 nm ซึ่งจัดอยู่ในช่วงความยาวคลื่นยาว ได้ผลการสร้างสมการดัง Scatter plots ในภาพที่ 66 และภาพที่ 67 จาก Scatter plots ของทั้งสองภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set ตามลำดับ ซึ่งได้ค่า Correlation coefficient $R = 0.99$, Root mean squares error of estimate (RMSEE) = 0.18 % Brix, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 0.22 % Brix และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = 0.05 % Brix จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ สมการนี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายเพื่อทุกงานได้ และผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี paired t-test พบว่าค่าเฉลี่ยความผิดพลาดของการทำนายด้วยวิธี NIR ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากผลสมการทำนายที่ดีที่สุด เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) ที่ตำแหน่งความยาวคลื่นต่างๆ ในภาพที่ 68 พบว่าที่ตำแหน่งการดูดกลืนที่ 1432 nm มีความสำคัญสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนของน้ำตาล sucrose ที่ความยาวคลื่น 1440 nm ดังภาพที่ 55 ซึ่งแสดง Second derivative spectrum ของน้ำตาล sucrose



ภาพที่ 66 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของค่า TSS ในกลุ่ม Calibration set ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว



ภาพที่ 67 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของ ค่า TSS ในกลุ่ม Validation set ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว

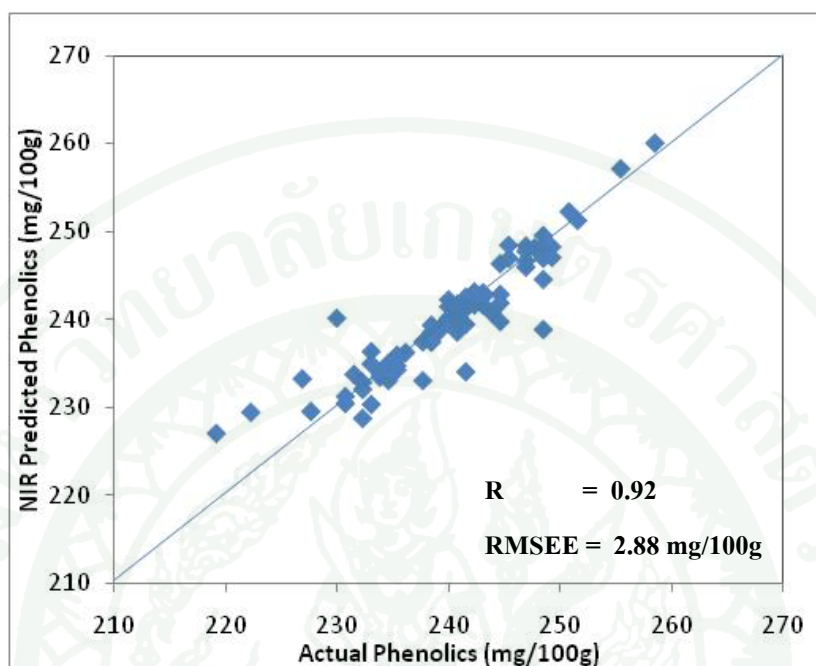


ภาพที่ 68 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) กับความยาวคลื่นในช่วง 1333-2355 nm ของสมการทำนายค่า TSS ของน้ำฝรั่ง

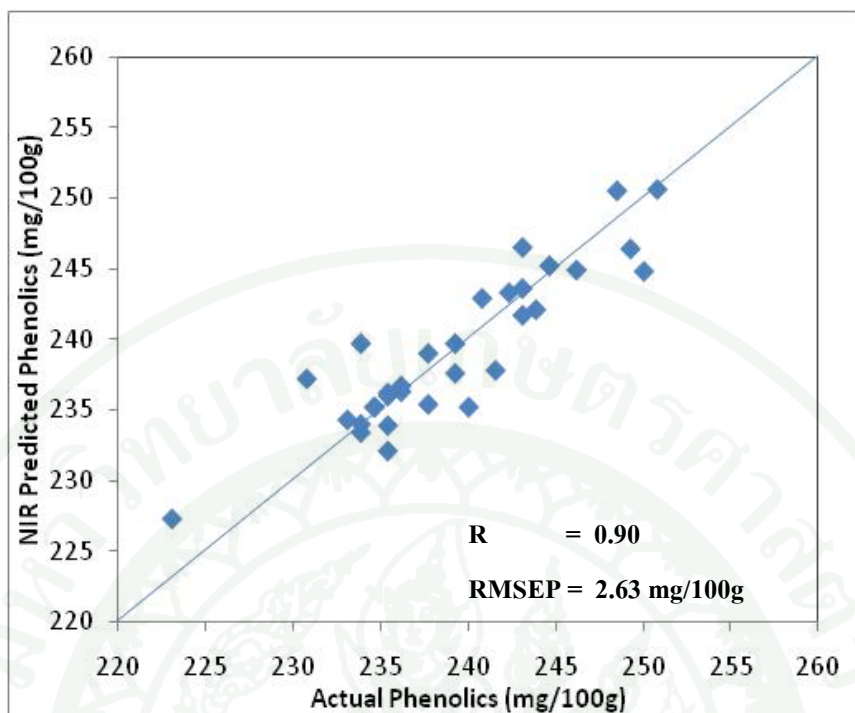
4.4 สมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่ง

จากการปรับแต่งสเปกตรัมของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm ก่อนนำมาสร้างสมการทำนายด้วยวิธี First Derivative ดังภาพที่ 64 ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยกำหนด Smoothing 17 nm และ Resolution 32 cm^{-1} พบช่วงการดูดกลืนที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ Total Phenolics ที่ช่วงความยาวคลื่น 1639-1835 nm และ 2173-2355 nm ซึ่งจัดอยู่ในช่วงความยาวคลื่นยาว และมีได้ผลการสร้างสมการดัง Scatter plots ในภาพที่ 69 และภาพที่ 70 จาก Scatter plots ของทั้งสองภาพแสดงการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ของในกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set ตามลำดับ ซึ่งได้ค่า Correlation coefficient $R = 0.92$, Root mean squares error of estimate (RMSEE) = 2.88 mg/100g, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 2.63 mg/100g และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -0.05 mg/100g จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ สมการนี้สามารถนำไปใช้ในการทำนายเพื่องานวิจัยได้ และผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี paired t-test พบว่าค่าเฉลี่ยความผิดพลาดของการทำนายด้วยวิธี NIR ไม่แตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) ที่ตำแหน่งความยาวคลื่นต่างๆ ในภาพที่ 71 พบว่าที่ตำแหน่งการดูดกลืนที่ 2191 nm มีความสำคัญสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนของ Gallic

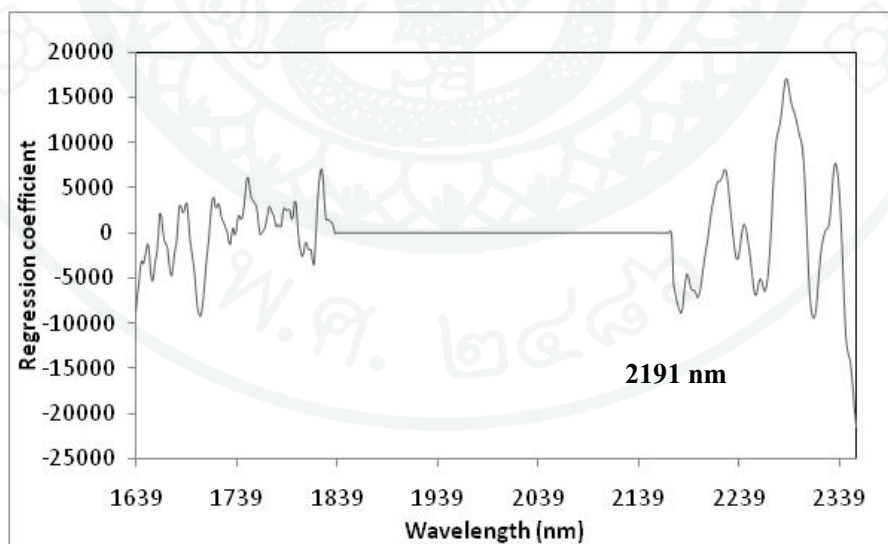
acid ซึ่งถือเป็นองค์ประกอบหลักของ Total Phenolics ที่ความยาวคลื่น 2190 nm ดังภาพที่ 62 ซึ่งแสดง Second derivative spectrum ของ Gallic acid



ภาพที่ 69 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในกลุ่ม Calibration set ในช่วงความยาวคลื่นยาว



ภาพที่ 70 Scatter plots ระหว่างค่าที่ทำนายได้จาก NIRs กับค่าจริงของปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในกลุ่ม Validation set ในช่วงความยาวคลื่นยาว



ภาพที่ 71 ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Regression coefficient) กับความยาวคลื่นในช่วง 1639-1835 nm และ 2173-2355 nm ของสมการทำนายปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่ง

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพาในระบบการวัดแบบ Interaction ที่ช่วงความยาวคลื่น 700-1050 nm สามารถนำไปใช้ในการทำนายปริมาณ TSS ของผลฝรั่งเพื่อการประกันคุณภาพได้ โดยมีค่า Correlation coefficient $R = 0.96$, Standard Error of Calibration (SEC) = 0.76 % Brix, Standard Error of Prediction (SEP) = 0.83 % Brix ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -0.2 % Brix และค่า Ratio of Standard Error of Performance to Standard Deviation (RPD) เท่ากับ 2.41
2. เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา ในระบบการวัดแบบ Interaction ที่ช่วงความยาวคลื่น 700-1050 nm สามารถทำนายปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งเพื่อการประมาณค่าเบื้องต้นได้ ซึ่งมีค่า Correlation coefficient $R = 0.84$, Standard Error of Calibration (SEC) = 3.88 mg/100g, Standard Error of Prediction (SEP) = 4.92 mg/100g ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -1.06 mg/100g และค่า Ratio of Standard Error of Performance to Standard Deviation (RPD) เท่ากับ 1.43
3. เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพาในระบบการวัดแบบ Interaction ที่ช่วงความยาวคลื่น 600-1050 nm สามารถนำไปใช้ในการทำนายปริมาณคาเตชินเพื่อการแบ่งระดับปริมาณอย่างหยาบได้ โดยมีค่า Correlation coefficient $R = 0.80$, Standard Error of Calibration (SEC) = 0.90 mg/g, Standard Error of Prediction (SEP) = 0.97 mg/g ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -0.10 mg/g และค่า Ratio of Standard Error of Performance to Standard Deviation (RPD) เท่ากับ 1.44
4. เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบพกพาในระบบการวัดแบบ Interaction ที่ช่วงความยาวคลื่น 700-1050 nm สามารถนำไปใช้ในการทำนายปริมาณวิตามินซี เพื่อการประมาณค่าเบื้องต้นได้ โดยมีค่า Correlation coefficient $R = 0.87$, Standard Error of Calibration (SEC) = 0.24 mg/g, Standard Error of Prediction (SEP) = 0.16 mg/g ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = 0.03 mg/g และค่า Ratio of Standard Error of Performance to Standard Deviation (RPD) เท่ากับ 2.32
5. เซลล์ไส้ตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมของสารละลายที่ได้ออกแบบและสร้างขึ้น สามารถนำไปวัดสเปกตรัมของน้ำฝรั่งในช่วงคลื่นยาวได้ และให้ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายที่แม่นยำ

6. เครื่อง FT-NIR Spectrometer ในระบบการวัดแบบ Reflection ที่ช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm สามารถนำไปใช้ในการทำนายปริมาณ TSS ของผลฝรั่งเพื่องานวิจัยได้ ซึ่งมีค่า

Correlation coefficient $R = 0.93$, Root mean squares error of estimate (RMSEE) = 0.94 % Brix, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 0.73 % Brix ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -0.07 % Brix และค่า Ratio of Standard Error of Performance to Standard Deviation (RPD) เท่ากับ 2.76

7. เครื่อง FT-NIR Spectrometer ในระบบการวัดแบบ Reflection ที่ช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm สามารถทำนายปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งเพื่อใช้ในการแบ่งระดับปริมาณอย่างหายาได้ โดยมีค่า Correlation coefficient $R = 0.76$, Root mean squares error of estimate (RMSEE) = 4.36 mg/100g, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 4.52 mg/100g ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = 0.32 mg/100g และค่า Ratio of Standard Error of Performance to Standard Deviation (RPD) เท่ากับ 1.52

8. เครื่อง FT-NIR Spectrometer ในระบบการวัดแบบ Transflection ที่ช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm สามารถทำนายปริมาณค่า TSS ของน้ำฝรั่งเพื่อใช้กับทุกงานได้ โดยมีค่า Correlation coefficient $R = 0.99$, Root mean squares error of estimate (RMSEE) = 0.18 % Brix, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 0.22 % Brix ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = 0.05 % Brix และค่า Ratio of Standard Error of Performance to Standard Deviation (RPD) เท่ากับ 9.16

9. เครื่อง FT-NIR Spectrometer ในระบบการวัดแบบ Transflection ที่ช่วงความยาวคลื่น 900-2500 nm สามารถทำนายปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งเพื่องานวิจัยได้ ซึ่งมีค่า Correlation coefficient $R = 0.92$, Root mean squares error of estimate (RMSEE) = 2.88 mg/100g, Root mean squares error of prediction (RMSEP) = 2.63 mg/100g ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (bias) = -0.05 mg/100g และค่า Ratio of Standard Error of Performance to Standard Deviation (RPD) เท่ากับ 2.31

10. สมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS และปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาวในระบบการวัดแบบ Transflection มีความแม่นยำที่สุด สำหรับสมการเทียบมาตรฐานทำนายปริมาณ TSS และปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความคลื่นยาวในระบบการวัดแบบ Reflection ให้ผลการทำนายที่ตรงลงมา และสมการเทียบมาตรฐานทำนาย

ปริมาณ TSS และปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความคลื่อนั่นในระบบการวัดแบบ Interaction ให้ผลการทำนายที่ดี ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากเซลล์ใส่ตัวอย่างที่สร้างขึ้นให้สมรรถนะการวัดที่ดีที่สุด ดังนั้นหากต้องการวัดสเปกตรัมของน้ำผลไม้จึงขอแนะนำให้ใช้เซลล์ใส่ตัวอย่างนี้
2. ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ หากต้องการที่จะเพิ่มความสามารถและความแม่นยำของสมการเทียบมาตรฐานทำนาย ควรมีการเก็บตัวอย่างให้มีความแปรปรวนมากขึ้น เช่น ฤดูกาลที่แตกต่างกัน จำนวนสายพันธุ์ และการวัดสเปกตรัมที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อเพิ่มพิสัย (Range) ซึ่งจะส่งผลให้ความแม่นยำในการทำนายของสมการเทียบมาตรฐานสูงขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. การจำแนกพันธุ์ฝรั่ง. ฝรั่ง.

แหล่งที่มา: <http://www.doae.go.th/thai.html>, 17 พฤศจิกายน 2550.

ณัฐกานต์ นวเศรษฐวิสูตร, นงนุช เจริญวาสนุตร์, ชงชัย สุวรรณสิขณน์ และ วารุณี ชนะแพสย์.

2545. การประเมินคุณภาพฝรั่งพันธุ์กลมสาส์ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด, น. 285-286. ใน วารุณี ชนะแพสย์, อนุพันธ์ เทิดวงศ์วรกุล และ ชงชัย สุวรรณสิขณน์, ผู้รวบรวม. การอบรมเชิงปฏิบัติการ การควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค **Near Infrared Spectroscopy** เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทัศนวรรณ ทองพูน. 2539. การศึกษาการเจริญเติบโตของผลฝรั่งกลมสาส์. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 25 น.

ชงชัย สุวรรณสิขณน์. 2552. การวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพ, น. 2-32. ใน วารุณี ชนะแพสย์, อนุพันธ์ เทิดวงศ์วรกุล และ ชงชัย สุวรรณสิขณน์, ผู้รวบรวม. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปรีชา บุญจง. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ, 171-192. ใน โอภา วัชรคุปต์, บรรณาธิการ. สารต้านอนุมูลอิสระ. นิวไทม์มิตรการพิมพ์ (1996) จำกัด. กรุงเทพฯ.

พรพิมล แดงเที่ยง. 2548. การประเมินขนาดตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์คุณภาพผลฝรั่งในประชากรลูกผสม. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 36 น.

พิมล เรียนวัฒนา. 2524. สเปกโตรสโกปีขั้นพื้นฐานกับการประยุกต์ทางเคมี. ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์อักษรเจริญทัศน์, กรุงเทพฯ.

รณฤทธิ์ ฤทธิธ. 2551. การประเมินคุณภาพของผลฝรั่งแบบไม่ทำลายเพื่อการค้าในเชิงพาณิชย์. ว. วิทย กษ. 39 (39) (พิเศษ) : 70-73.

_____. 2552. การสร้างระบบ NIR สำหรับการวิเคราะห์ประจำวัน, น. 7-1 – 7-16. ใน วารุณี ษณะแพทย, อนุพันธ์ เทิดวงศวรรกุล และ ชงชัย สุวรรณสิขณ, ผู้รวบรวม. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณกนก ทาสวรรณ์. 2546. การตรวจสอบคุณภาพของส้มเขียวหวานด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วลัยพร เตียประสิทธิ์. 2548. การทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณกรดทั้งหมดของชมพูพันธุ์ทับทิมจันทร์ เพชรสามพราน และทุลเกล้าด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันดี กฤษณพันธ์. 2544. พฤษเคมีเบื้องต้น, 34-102. ใน นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, บรรณาธิการ. เกษษวิญญัยยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ. หจก.แสงเทียนการพิมพ์. กรุงเทพฯ.

วารุณี สุวรรณานนท์. 2548. น้ำตาล. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารเบื้องต้น. แหล่งที่มา: <http://science.srru.ac.th/org/sci-elearning/courseonline/4022503/chapter3-sucrose.htm>, 10 เมษายน 2551.

ศรีธนา ชุมวิสูตร. 2539. การศึกษาการเจริญเติบโตของผลฝรั่งพันธุ์เย็นสอง. ปัญหาพิเศษปริญญาตรีภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 26 น.

ศิรินภา ศรีณยวงศ์, จินดา ศรีศรีวิชัย และสุมิโอะ คาวาโนะ. 2545 การใช้ประโยชน์ NIRS กับผลไม้เขตร้อน : ช่วงความยาวคลื่นและเครื่องมือสำหรับการประเมินคุณภาพของมะม่วงสด. น. 213-230. ใน การอบรมเชิงปฏิบัติการ การควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีโลก. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศุมาพร เกษมสำราญ. 2545. ขั้นตอนการสร้างสมการประเมินค่าทางเคมีและการทดสอบสมการในเทคนิคสเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด, น. 131-152. ใน วารุณี ษณะแพทย, อนุพันธ์ เทิดวงศวรรกุล และ ชงชัย สุวรรณสิขณ, ผู้รวบรวม. การอบรมเชิงปฏิบัติการ การควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวที

การค้าโลก. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. **ปริมาณและมูลค่า
การบริโภคภายในประเทศ.** การบริโภคสินค้าเกษตร. แหล่งที่มา:
<http://www.agriinfo.doae.go.th/thai.html>, 3 สิงหาคม 2551.

_____. 2551. **ปริมาณและมูลค่าการส่งออกของผลไม้.** การส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร.
แหล่งที่มา: <http://www.agriinfo.doae.go.th/import/import.html>, 7 มกราคม 2553.

สุชาติภพ ภูมิประวดี. 2549. **ฟลาวานอล.** สารประกอบทุติยภูมิ. แหล่งที่มา:
<http://med.tu.ac.th/Uploads/sheet/D14.pdf>, 27 มีนาคม 2551.

สุชาติณี เพ็งสลุ. 2544. **ผลของการตัดแต่งกิ่งต่อการออกดอกของฝรั่ง 16 สายพันธุ์.** ปัญหาพิเศษ
ปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 25 น.

สุพรรณิกา เวียนทอง. 2548. **การประเมินคุณภาพของน้ำมันปาล์มโดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานฟอร์ม
สเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด.** วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2549. **องค์ความรู้เรื่องปริมาณสารต้าน
อนุมูลอิสระในผลไม้เพื่อส่งเสริมสุขภาพ (วิตามินซี วิตามินอี และ เบต้าแคโรทีน) ในผลไม้.**
วิชาการ. แหล่งที่มา:
<http://nutrition.anamai.moph.go.th/temp/main/view.php?group=3&id=117>, 16
พฤศจิกายน 2551.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. **บทนำ.**
สารสนเทศอารักขาพืช“ฝรั่ง”. แหล่งที่มา:
<http://www.doa.go.th/plp/plant%20protection%20farang%20compend/Intro.htm>, 2
กันยายน 2550.

อนุพันธ์ เท็ดวงศ์วรกุล, วารุณี ธนะแพสย์ และ สุพรรณิกา เวียนทอง. 2545. การศึกษาเบื้องต้นในการตรวจสอบคุณภาพภายในของชมพูพันธุ์ต่างๆ ด้วยเทคนิค Near Infrared Reflectance Spectroscopy, น. 295-297. ใน วารุณี ธนะแพสย์, อนุพันธ์ เท็ดวงศ์วรกุล และ ธงชัย สุวรรณสิขณน์, ผู้รวบรวม. การอบรมเชิงปฏิบัติการ การควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค **Near Infrared Spectroscopy** เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. สถาบันคั่นคว่ำและพัฒนาลิขิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2545. การศึกษาเบื้องต้นในการใช้เทคนิค Near infrared spectroscopy ในการวัดค่า Brix ในน้ำของส้ม, น. 291-293. ใน วารุณี ธนะแพสย์, อนุพันธ์ เท็ดวงศ์วรกุล และ ธงชัย สุวรรณสิขณน์, ผู้รวบรวม. การอบรมเชิงปฏิบัติการ การควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค **Near Infrared Spectroscopy** เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. สถาบันคั่นคว่ำและพัฒนาลิขิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2552. การปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์, น. 1-22. ใน วารุณี ธนะแพสย์, อนุพันธ์ เท็ดวงศ์วรกุล และ ธงชัย สุวรรณสิขณน์, ผู้รวบรวม. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันคั่นคว่ำและพัฒนาลิขิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อัญชนา เจนวิธิสุข. 2546. ป้องกันโรคด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ. RISE-AT NEWSLETTER. แหล่งที่มา: <http://www.ist.cmu.ac.th/riseat/nl/2003/08/02.php>, 25 เมษายน 2551.

Association of Office Analytical Chemists. 1996. **Official Methods of Analysis**, 15th ed. George Banta, Washington, DC.

Anonymous. 2010. **Ascorbic acid**. Available Source:

http://en.wikipedia.org/wiki/Ascorbic_acid, April 22, 2010.

_____. 2011. **Nutrition Facts Comparison**. Nutrition Facts. Available Source:

http://en.wikipedia.org/wiki/Ascorbic_acid, April 26, 2010.

- Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of Sugar Content in Intact Peaches by Near Infrared Spectroscopy with Fiber Optics in Interactance Mode. **J. Japan Soc. Hort. Sci.** 61: 445-451.
- Kawano, S., T. Fujiwara and M. Iwamoto. 1993. Nondestructive Determination of Sugar Content in Satsuma Mandarin using Near Infrared (NIR) Transmittance. **J. Japan Soc. Hort. Sci.** 62: 465-470.
- Liu, Y.D., X. Chen and A. Ouyang. 2007. Nondestructive determination of pear internal quality indices by visible and near-infrared spectroscopy. **LWT.** 1-6.
- Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hindl. 1993. **Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis.** 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Saranwong, S., J. Sornsivichai and S. Kawano. 2001. Improvement of PLS calibration for Brix value and dry matter of mango using information from MLR calibration. **J. Near Infrared Spectroscopy.** 9: 287-295.
- Slaughter, D.C. 1995. Nondestructive determination of internal quality in peaches and nectarines. **Transactions of the ASAE.** 38: 617-623.
- Thaipong, K. 2007. **Heritability and Variance Components of Antioxidants in Fruits.** Ph.D. Thesis, Kasetsart University.
- _____, _____, U. Boonprakob and C. Crosby. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **J. Food Composition and Analysis.** 19: 669–675.



ภาคผนวก ก

ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700-1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set

ตารางผนวกที่ ก1 ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
1	00213120109	11.4	26	04161020209	11.8
2	00425120109	10.6	27	04269020209	17.45
3	00610120109	11.5	28	04396020209	8.55
4	00805120109	18.1	29	04458020209	12.95
5	00905120109	15.2	30	04650020209	17.5
6	01106120109	9.5	31	04784020209	15.3
7	01224120109	14.1	32	04851020209	18.9
8	01345120109	12.6	33	05054020209	13.5
9	01437120109	8.7	34	05193020209	7.6
10	01531120109	13.7	35	05301090209	14.8
11	01715120109	11.1	36	05604090209	10.6
12	01818120109	12.5	37	05710090209	12.65
13	02019120109	12.9	38	05812090209	12
14	02114120109	10.5	39	05914090209	11.7
15	02203120109	9.3	40	06216060509	14.7
16	02444200109	13.1	41	06427060509	11.3
17	02543200109	14.4	42	06529060509	15.7
18	02608200109	11.65	43	06633060509	15.6
19	02965200109	16.5	44	06849060509	15.7
20	03256200109	13.7	45	07049060509	16.4
21	03659200109	11.9	46	07156060509	13.25
22	03783200109	14.7	47	07365060509	14.8
23	03807020209	8.8	48	07511120509	9.8
24	03909020209	9.8	49	08034120509	11.7
25	04062020209	11.2	50	08137120509	12.7

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
51	08243120509	12.1	76	12066050609	9.7
52	08454120509	11.2	77	12107050609	7.6
53	08683120509	11.1	78	12411100609	10.2
54	08720150509	8.9	79	12521100609	10.6
55	08928150509	12.9	80	12622100609	10.9
56	09130150509	6.8	81	12752100609	11.6
57	09230150509	6.7	82	12997100609	6.7
58	09470150509	8.8	83	13055040709	10.7
59	09570150509	9.2	84	13394040709	10.9
60	09657150509	10.7	85	13481040709	10
61	09771150509	12.2	86	13563040709	12
62	09912150509	11.3	87	13699040709	12.2
63	10007150509	7.9	88	13758040709	11.6
64	10272270509	10.3			
65	10320270509	9.8			
66	10473270509	8.7			
67	10538270509	8.8			
68	10813270509	10.4			
69	10916270509	10.6			
70	11037270509	9.8			
71	11253050609	10.8			
72	11422050609	12.9			
73	11592050609	8.6			
74	11765050609	10.3			
75	11970050609	11.6			

ตารางผนวกที่ ก2 ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Validation sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
1	00110120109	8.9	26	07616120509	9
2	00313120109	12	27	07828120509	12.4
3	00525120109	13.8	28	07934120509	11.4
4	01005120109	15.2	29	08343120509	8.6
5	01616120109	10.9	30	08561120509	9.4
6	01913120109	11.3	31	08814150509	12.4
7	02314120109	11.5	32	09030150509	9.7
8	02766200109	11.65	33	09871150509	11.6
9	02837200109	10.65	34	10196270509	7.9
10	03093200109	12.55	35	10620270509	9.2
11	03173200109	9.35	36	10721270509	9.6
12	03365200109	13.85	37	11153050609	10.1
13	03495200109	11.45	38	11322050609	12.2
14	03558200109	13.8	39	11657050609	9.4
15	04550020209	12.6	40	11870050609	11.5
16	04954020209	13	41	12311100609	9.9
17	05201090209	11.6	42	12872100609	12.3
18	05407090209	8.4	43	13179040709	9.4
19	05503090209	11.7	44	13269040709	11.7
20	06004060509	12			
21	06324060509	14.9			
22	06733060509	14.7			
23	06949060509	13.2			
24	07256060509	12.7			
25	07404120509	13.9			

ภาคผนวก ข

ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700-1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set

ตารางผนวกที่ ข1 ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm)
โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
1	00110120109	236.94	26	04062020209	242.33
2	00213120109	230.00	27	04458020209	243.10
3	00425120109	237.71	28	04550020209	244.64
4	00525120109	238.48	29	04650020209	255.43
5	00610120109	241.56	30	04784020209	248.50
6	00805120109	256.97	31	04851020209	258.51
7	00905120109	243.87	32	04954020209	245.41
8	01106120109	233.09	33	05054020209	244.64
9	01224120109	232.32	34	05193020209	233.86
10	01437120109	229.23	35	05201090209	243.10
11	01531120109	236.94	36	05407090209	233.86
12	01715120109	251.58	37	05503090209	243.10
13	01818120109	230.77	38	05604090209	240.79
14	02019120109	247.73	39	05710090209	243.10
15	02114120109	230.77	40	05914090209	231.54
16	02444200109	246.18	41	06004060509	241.56
17	02543200109	248.50	42	06112060509	250.04
18	02608200109	236.17	43	06427060509	241.56
19	03093200109	243.87	44	06529060509	249.27
20	03173200109	227.69	45	06633060509	251.58
21	03256200109	246.95	46	07156060509	244.64
22	03365200109	247.73	47	07256060509	243.10
23	03783200109	233.86	48	07365060509	248.50
24	03807020209	231.54	49	07616120509	235.40
25	03909020209	238.48	50	07727120509	250.81

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
51	08243120509	240.02	76	11970050609	240.79
52	08343120509	226.92	77	12066050609	235.40
53	08454120509	239.25	78	12107050609	232.32
54	08561120509	237.71	79	12208100609	240.02
55	08928150509	240.79	80	12311100609	233.09
56	09030150509	236.17	81	12411100609	236.17
57	09130150509	222.30	82	12521100609	238.48
58	09230150509	219.22	83	12622100609	238.48
59	09357150509	237.71	84	12752100609	240.49
60	09470150509	233.86	85	12997100609	223.07
61	09871150509	239.25	86	14017190809	234.63
62	09912150509	237.71	87	14117190809	233.09
63	10007150509	230.77	88	14250190809	230.00
64	10196270509	230.77	89	14397190809	245.41
65	10272270509	235.40			
66	10320270509	235.40			
67	10473270509	237.71			
68	11037270509	235.40			
69	11153050609	235.40			
70	11253050609	238.48			
71	11322050609	240.02			
72	11422050609	241.56			
73	11592050609	234.63			
74	11657050609	241.56			
75	11765050609	233.86			

ตารางผนวกที่ ข2 ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Validation sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
1	00313120109	246.18	26	07404120509	243.87
2	00706120109	236.17	27	07511120509	248.50
3	01005120109	246.95	28	07828120509	242.33
4	01345120109	243.87	29	07934120509	238.48
5	01616120109	240.97	30	08034120509	240.79
6	01913120109	232.32	31	08137120509	240.79
7	02203120109	243.87	32	08683120509	233.09
8	02314120109	239.25	33	08720150509	235.40
9	02766200109	239.25	34	08814150509	239.25
10	02837200109	234.63	35	09570150509	234.63
11	02965200109	248.50	36	09657150509	241.56
12	03495200109	240.02	37	09771150509	240.02
13	03558200109	246.95	38	10538270509	232.32
14	03659200109	244.64	39	10620270509	235.40
15	04161020209	242.33	40	10721270509	233.09
16	04269020209	248.50	41	10813270509	230.77
17	04396020209	232.32	42	10916270509	244.64
18	05301090209	250.81	43	11870050609	238.48
19	05812090209	242.33	44	12872100609	240.02
20	06216060509	243.10			
21	06324060509	246.95			
22	06733060509	249.27			
23	06849060509	249.27			
24	06949060509	243.10			
25	07049060509	246.95			



ภาคผนวก ค

ปริมาณค่าเตชินของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700-1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set

ตารางผนวกที่ ก1 ปริมาณคาเตชินของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g
1	00110120109	3.00	26	04269020209	2.20
2	00213120109	1.96	27	04396020209	1.86
3	00313120109	3.16	28	04650020209	2.45
4	00610120109	2.47	29	04784020209	3.27
5	00706120109	1.30	30	04851020209	3.80
6	00805120109	4.56	31	05193020209	3.11
7	01106120109	1.94	32	05201090209	4.07
8	01224120109	2.40	33	05301090209	2.79
9	01345120109	1.74	34	05407090209	7.29
10	01616120109	1.44	35	05710090209	3.34
11	01715120109	1.47	36	05812090209	2.23
12	01818120109	2.67	37	05914090209	2.51
13	02114120109	2.56	38	06216060509	1.95
14	02203120109	3.52	39	06324060509	3.24
15	02314120109	3.58	40	06427060509	2.08
16	02608200109	3.56	41	06733060509	2.53
17	02766200109	4.72	42	06849060509	3.68
18	02837200109	3.59	43	06949060509	2.56
19	03173200109	1.35	44	07256060509	5.61
20	03256200109	1.52	45	07365060509	4.69
21	03365200109	1.20	46	07404120509	4.36
22	03659200109	2.15	47	07727120509	2.20
23	03783200109	6.36	48	07828120509	1.85
24	03807020209	6.74	49	07934120509	4.78
25	04161020209	1.20	50	08243120509	2.94

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
51	08343120509	3.30	76	11970050609	2.17
52	08454120509	4.03	77	12066050609	3.10
53	08720150509	6.20	78	12107050609	10.82
54	08814150509	5.04	79	12208100609	3.53
55	08928150509	2.13	80	12311100609	2.38
56	09230150509	4.42	81	12411100609	2.77
57	09357150509	6.50	82	12521100609	5.32
58	09470150509	5.33	83	12622100609	2.35
59	09771150509	2.41	84	12997100609	4.41
60	09871150509	2.62	85	14017190809	2.85
61	09912150509	3.64	86	14117190809	2.83
62	10196270509	2.09	87	14250190809	2.15
63	10272270509	2.47	88	14397190809	3.17
64	10320270509	2.39			
65	10620270509	3.31			
66	10721270509	2.55			
67	10813270509	3.96			
68	10916270509	1.41			
69	11037270509	3.28			
70	11322050609	2.92			
71	11422050609	2.16			
72	11592050609	2.24			
73	11657050609	2.75			
74	11765050609	3.04			
75	11870050609	2.93			

ตารางผนวกที่ ค2 ปริมาณคาเตชินของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Validation sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g
1	00425120109	1.99	26	06633060509	2.90
2	00525120109	2.44	27	07049060509	4.18
3	00905120109	4.43	28	07156060509	3.92
4	01005120109	5.96	29	07511120509	6.84
5	01437120109	2.21	30	07616120509	2.58
6	01531120109	1.39	31	08034120509	4.95
7	01913120109	2.04	32	08137120509	3.15
8	02019120109	2.57	33	08561120509	2.76
9	02444200109	3.23	34	08683120509	2.61
10	02543200109	1.90	35	09030150509	3.68
11	02965200109	1.23	36	09130150509	3.82
12	03093200109	4.40	37	09570150509	3.81
13	03495200109	3.99	38	09657150509	7.14
14	03558200109	1.49	39	10473270509	1.50
15	03909020209	2.40	40	10538270509	5.75
16	04062020209	1.23	41	11153050609	2.10
17	04458020209	1.59	42	11253050609	2.20
18	04550020209	2.02	43	12752100609	2.27
19	04954020209	1.97	44	12872100609	2.75
20	05054020209	1.83			
21	05503090209	3.14			
22	05604090209	2.64			
23	06004060509	2.62			
24	06112060509	3.11			
25	06529060509	3.16			

ภาคผนวก ง

ปริมาณวิตามินซีของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700-1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณวิตามินซีของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Calibration sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g
1	00110120109	1.44	26	04269020209	1.62
2	00213120109	1.63	27	04396020209	2.48
3	00313120109	2.78	28	04458020209	1.93
4	00610120109	2.07	29	04784020209	1.45
5	00706120109	2.25	30	04851020209	1.76
6	00805120109	1.71	31	04954020209	2.45
7	01106120109	1.34	32	05054020209	2.13
8	01224120109	2.28	33	05301090209	1.49
9	01345120109	1.99	34	05407090209	2.04
10	01616120109	2.13	35	05503090209	2.39
11	01715120109	1.49	36	05812090209	2.05
12	01818120109	1.39	37	05914090209	2.24
13	02114120109	1.96	38	06004060509	1.50
14	02203120109	2.27	39	06324060509	1.93
15	02314120109	1.34	40	06427060509	1.49
16	02608200109	1.66	41	06529060509	1.82
17	02766200109	1.39	42	06849060509	1.18
18	02837200109	2.14	43	06949060509	1.33
19	03173200109	1.73	44	07049060509	0.53
20	03256200109	2.16	45	07365060509	2.10
21	03365200109	2.82	46	07404120509	1.30
22	03659200109	2.45	47	07511120509	2.02
23	03783200109	1.44	48	07828120509	2.07
24	03807020209	2.01	49	07934120509	1.33
25	04062020209	2.68	50	08034120509	2.30

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g
51	08137120509	2.03	76	11657050609	2.23
52	08454120509	2.00	77	11765050609	2.08
53	08561120509	2.11	78	12311100609	2.11
54	08683120509	1.32	79	12411100609	1.63
55	08928150509	1.68	80	12521100609	1.73
56	09030150509	1.41	81	12622100609	1.40
57	09130150509	1.24	82	13022150709	1.71
58	09230150509	1.57	83	13152150709	0.98
59	09570150509	1.34	84	13397150709	1.51
60	09657150509	1.85	85	13423150709	0.82
61	09771150509	1.46	86	13512150709	1.58
62	09871150509	1.82	87	13674150709	1.04
63	09912150509	1.75	88	13778150709	2.00
64	10007150509	0.74	89	14017190809	1.94
65	10196270509	2.29	90	14117190809	1.70
66	10272270509	1.16	91	14250190809	2.09
67	10320270509	1.60	92	14397190809	2.07
68	10620270509	1.49			
69	10721270509	1.36			
70	10813270509	1.61			
71	10916270509	1.92			
72	11037270509	2.10			
73	11153050609	1.11			
74	11253050609	0.91			
75	11592050609	1.42			

ตารางผนวกที่ ๖๒ ปริมาณวิตามินซีของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นสั้น (700 -1050 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Interaction ในกลุ่ม Validation sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/g
1	00425120109	1.42	26	06733060509	1.16
2	00525120109	1.70	27	07156060509	2.03
3	00905120109	1.31	28	07256060509	1.46
4	01005120109	2.60	29	07616120509	2.13
5	01437120109	2.36	30	07727120509	2.24
6	01531120109	2.09	31	08243120509	2.03
7	01913120109	2.48	32	08343120509	2.16
8	02019120109	1.73	33	08720150509	1.46
9	02444200109	1.68	34	08814150509	1.44
10	02543200109	2.16	35	09357150509	2.16
11	02965200109	1.73	36	09470150509	1.63
12	03093200109	2.16	37	10473270509	1.50
13	03495200109	2.30	38	10538270509	1.49
14	03558200109	2.15	39	11322050609	1.55
15	03909020209	1.98	40	11422050609	2.19
16	04161020209	2.26	41	12107050609	1.36
17	04550020209	2.48	42	12208100609	1.29
18	04650020209	1.48	43	12872100609	1.29
19	05193020209	1.63	44	12997100609	1.56
20	05201090209	2.48	45	13872150709	1.51
21	05604090209	2.38	46	13912150709	1.08
22	05710090209	2.14			
23	06112060509	1.34			
24	06216060509	0.92			
25	06633060509	2.17			



ภาคผนวก จ
ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900-2500 nm)
โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set

ตารางผนวกที่ จ1 ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 – 2500 nm)
โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Calibration sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
1	00213120109	11.4	26	04161020209	11.8
2	00425120109	10.6	27	04269020209	17.45
3	00610120109	11.5	28	04396020209	8.55
4	00805120109	18.1	29	04458020209	12.95
5	00905120109	15.2	30	04650020209	17.5
6	01106120109	9.5	31	04784020209	15.3
7	01224120109	14.1	32	04851020209	18.9
8	01345120109	12.6	33	05054020209	13.5
9	01437120109	8.7	34	05193020209	7.6
10	01531120109	13.7	35	05301090209	14.8
11	01715120109	11.1	36	05604090209	10.6
12	01818120109	12.5	37	05710090209	12.65
13	02019120109	12.9	38	05812090209	12
14	02114120109	10.5	39	05914090209	11.7
15	02203120109	9.3	40	06216060509	14.7
16	02444200109	13.1	41	06427060509	11.3
17	02543200109	14.4	42	06529060509	15.7
18	02608200109	11.65	43	06633060509	15.6
19	02965200109	16.5	44	06849060509	15.7
20	03256200109	13.7	45	07049060509	16.4
21	03659200109	11.9	46	07156060509	13.25
22	03783200109	14.7	47	07365060509	14.8
23	03807020209	8.8	48	07511120509	9.8
24	03909020209	9.8	49	08034120509	11.7
25	04062020209	11.2	50	08137120509	12.7

ตารางผนวกที่ จ1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
51	08243120509	12.1	76	12066050609	9.7
52	08454120509	11.2	77	12107050609	7.6
53	08683120509	11.1	78	12411100609	10.2
54	08720150509	8.9	79	12521100609	10.6
55	08928150509	12.9	80	12622100609	10.9
56	09130150509	6.8	81	12752100609	11.6
57	09230150509	6.7	82	12997100609	6.7
58	09470150509	8.8	83	13055040709	10.7
59	09570150509	9.2	84	13394040709	10.9
60	09657150509	10.7	85	13481040709	10
61	09771150509	12.2	86	13563040709	12
62	09912150509	11.3	87	13699040709	12.2
63	10007150509	7.9	88	13758040709	11.6
64	10272270509	10.3			
65	10320270509	9.8			
66	10473270509	8.7			
67	10538270509	8.8			
68	10813270509	10.4			
69	10916270509	10.6			
70	11037270509	9.8			
71	11253050609	10.8			
72	11422050609	12.9			
73	11592050609	8.6			
74	11765050609	10.3			
75	11970050609	11.6			

ตารางผนวกที่ จ2 ปริมาณ TSS ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 – 2500 nm) โดยระบบ
การวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Validation sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
1	00110120109	8.9	26	07616120509	9
2	00313120109	12	27	07828120509	12.4
3	00525120109	13.8	28	07934120509	11.4
4	01005120109	15.2	29	08343120509	8.6
5	01616120109	10.9	30	08561120509	9.4
6	01913120109	11.3	31	08814150509	12.4
7	02314120109	11.5	32	09030150509	9.7
8	02766200109	11.65	33	09871150509	11.6
9	02837200109	10.65	34	10196270509	7.9
10	03093200109	12.55	35	10620270509	9.2
11	03173200109	9.35	36	10721270509	9.6
12	03365200109	13.85	37	11153050609	10.1
13	03495200109	11.45	38	11322050609	12.2
14	03558200109	13.8	39	11657050609	9.4
15	04550020209	12.6	40	11870050609	11.5
16	04954020209	13	41	12311100609	9.9
17	05201090209	11.6	42	12872100609	12.3
18	05407090209	8.4	43	13179040709	9.4
19	05503090209	11.7	44	13269040709	11.7
20	06004060509	12			
21	06324060509	14.9			
22	06733060509	14.7			
23	06949060509	13.2			
24	07256060509	12.7			
25	07404120509	13.9			

ภาคผนวก จ

ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900-2500 nm)
โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set

ตารางผนวกที่ ๑1 ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 -2500 nm)
โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Calibration sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
1	00110120109	236.94	26	04062020209	242.33
2	00213120109	230.00	27	04458020209	243.10
3	00425120109	237.71	28	04550020209	244.64
4	00525120109	238.48	29	04650020209	255.43
5	00610120109	241.56	30	04784020209	248.50
6	00805120109	256.97	31	04851020209	258.51
7	00905120109	243.87	32	04954020209	245.41
8	01106120109	233.09	33	05054020209	244.64
9	01224120109	232.32	34	05193020209	233.86
10	01437120109	229.23	35	05201090209	243.10
11	01531120109	236.94	36	05407090209	233.86
12	01715120109	251.58	37	05503090209	243.10
13	01818120109	230.77	38	05604090209	240.79
14	02019120109	247.73	39	05710090209	243.10
15	02114120109	230.77	40	05914090209	231.54
16	02444200109	246.18	41	06004060509	241.56
17	02543200109	248.50	42	06112060509	250.04
18	02608200109	236.17	43	06427060509	241.56
19	03093200109	243.87	44	06529060509	249.27
20	03173200109	227.69	45	06633060509	251.58
21	03256200109	246.95	46	07156060509	244.64
22	03365200109	247.73	47	07256060509	243.10
23	03783200109	233.86	48	07365060509	248.50
24	03807020209	231.54	49	07616120509	235.40
25	03909020209	238.48	50	07727120509	250.81

ตารางผนวกที่ ๑1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
51	08243120509	240.02	76	11970050609	240.79
52	08343120509	226.92	77	12066050609	235.40
53	08454120509	239.25	78	12107050609	232.32
54	08561120509	237.71	79	12208100609	240.02
55	08928150509	240.79	80	12311100609	233.09
56	09030150509	236.17	81	12411100609	236.17
57	09130150509	222.30	82	12521100609	238.48
58	09230150509	219.22	83	12622100609	238.48
59	09357150509	237.71	84	12752100609	240.49
60	09470150509	233.86	85	12997100609	223.07
61	09871150509	239.25	86	14017190809	234.63
62	09912150509	237.71	87	14117190809	233.09
63	10007150509	230.77	88	14250190809	230.00
64	10196270509	230.77	89	14397190809	245.41
65	10272270509	235.40			
66	10320270509	235.40			
67	10473270509	237.71			
68	11037270509	235.40			
69	11153050609	235.40			
70	11253050609	238.48			
71	11322050609	240.02			
72	11422050609	241.56			
73	11592050609	234.63			
74	11657050609	241.56			
75	11765050609	233.86			

ตารางผนวกที่ ๓2 ปริมาณ Total Phenolics ของผลฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 -2500 nm)
โดยระบบการวัดแบบ Reflection ในกลุ่ม Validation sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
1	00313120109	246.18	26	07404120509	243.87
2	00706120109	236.17	27	07511120509	248.50
3	01005120109	246.95	28	07828120509	242.33
4	01345120109	243.87	29	07934120509	238.48
5	01616120109	240.97	30	08034120509	240.79
6	01913120109	232.32	31	08137120509	240.79
7	02203120109	243.87	32	08683120509	233.09
8	02314120109	239.25	33	08720150509	235.40
9	02766200109	239.25	34	08814150509	239.25
10	02837200109	234.63	35	09570150509	234.63
11	02965200109	248.50	36	09657150509	241.56
12	03495200109	240.02	37	09771150509	240.02
13	03558200109	246.95	38	10538270509	232.32
14	03659200109	244.64	39	10620270509	235.40
15	04161020209	242.33	40	10721270509	233.09
16	04269020209	248.50	41	10813270509	230.77
17	04396020209	232.32	42	10916270509	244.64
18	05301090209	250.81	43	11870050609	238.48
19	05812090209	242.33	44	12872100609	240.02
20	06216060509	243.10			
21	06324060509	246.95			
22	06733060509	249.27			
23	06849060509	249.27			
24	06949060509	243.10			
25	07049060509	246.95			

ภาคผนวก ข

ปริมาณ TSS ของน้ำฝรั้งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900-2500 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set

ตารางผนวกที่ ข1 ปริมาณ TSS ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 – 2500 nm) โดยระบบ
การวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Calibration sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
1	02444200109	13.1	26	06427060509	11.3
2	02543200109	14.4	27	06529060509	15.7
3	02608200109	11.65	28	06633060509	15.6
4	02965200109	16.5	29	06849060509	15.7
5	03256200109	13.7	30	07049060509	16.4
6	03659200109	11.9	31	07156060509	13.25
7	03783200109	14.7	32	07365060509	14.8
8	03807020209	8.8	33	07511120509	9.8
9	03909020209	9.8	34	08034120509	11.7
10	04062020209	11.2	35	08137120509	12.7
11	04161020209	11.8	36	08243120509	12.1
12	04269020209	17.45	37	08454120509	11.2
13	04396020209	8.55	38	08683120509	11.1
14	04458020209	12.95	39	08720150509	8.9
15	04650020209	17.5	40	08928150509	12.9
16	04784020209	15.3	41	09130150509	6.8
17	04851020209	18.9	42	09230150509	6.7
18	05054020209	13.5	43	09470150509	8.8
19	05193020209	7.6	44	09570150509	9.2
20	05301090209	14.8	45	09657150509	10.7
21	05604090209	10.6	46	09771150509	12.2
22	05710090209	12.65	47	09912150509	11.3
23	05812090209	12	48	10007150509	7.9
24	05914090209	11.7	49	10272270509	10.3
25	06216060509	14.7	50	10320270509	9.8

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
51	10473270509	8.7
52	10538270509	8.8
53	10813270509	10.4
54	10916270509	10.6
55	11037270509	9.8
56	11253050609	10.8
57	11422050609	12.9
58	11592050609	8.6
59	11765050609	10.3
60	11970050609	11.6
61	12521100609	10.6
62	12622100609	10.9
63	12752100609	11.6
64	12997100609	6.7
65	13055040709	10.7
66	13394040709	10.9
67	13481040709	10
68	13563040709	12
69	13699040709	12.2
70	13758040709	11.6

ตารางผนวกที่ ข2 ปริมาณ TSS ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 – 2500 nm) โดยระบบ
การวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Validation sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	TSS (%Brix)
1	02766200109	11.65	26	09871150509	11.6
2	02837200109	10.65	27	10196270509	7.9
3	03093200109	12.55	28	10620270509	9.2
4	03173200109	9.35	29	10721270509	9.6
5	03365200109	13.85	30	11153050609	10.1
6	03495200109	11.45	31	11322050609	12.2
7	03558200109	13.8	32	11657050609	9.4
8	04550020209	12.6	33	11870050609	11.5
9	04954020209	13	34	12311100609	9.9
10	05201090209	11.6	35	12872100609	12.3
11	05407090209	8.4	36	13179040709	9.4
12	05503090209	11.7	37	13269040709	11.7
13	06004060509	12			
14	06324060509	14.9			
15	06733060509	14.7			
16	06949060509	13.2			
17	07256060509	12.7			
18	07404120509	13.9			
19	07616120509	9			
20	07828120509	12.4			
21	07934120509	11.4			
22	08343120509	8.6			
23	08561120509	9.4			
24	08814150509	12.4			
25	09030150509	9.7			

ภาคผนวก ข

ปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900-2500 nm)

โดยระบบการวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Calibration sample set และ Validation sample set

ตารางผนวกที่ ข1 ปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 -2500 nm)
โดยระบบการวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Calibration sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
1	02444200109	246.18	26	06004060509	241.56
2	02543200109	248.50	27	06112060509	250.04
3	02608200109	236.17	28	06427060509	241.56
4	03093200109	243.87	29	06529060509	249.27
5	03173200109	227.69	30	06633060509	251.58
6	03256200109	246.95	31	07156060509	244.64
7	03365200109	247.73	32	07256060509	243.10
8	03783200109	233.86	33	07365060509	248.50
9	03807020209	231.54	34	07616120509	235.40
10	03909020209	238.48	35	07727120509	250.81
11	04062020209	242.33	36	08243120509	240.02
12	04458020209	243.10	37	08343120509	226.92
13	04550020209	244.64	38	08454120509	239.25
14	04650020209	255.43	39	08561120509	237.71
15	04784020209	248.50	40	08928150509	240.79
16	04851020209	258.51	41	09030150509	236.17
17	04954020209	245.41	42	09130150509	222.30
18	05054020209	244.64	43	09230150509	219.22
19	05193020209	233.86	44	09357150509	237.71
20	05201090209	243.10	45	09470150509	233.86
21	05407090209	233.86	46	09871150509	239.25
22	05503090209	243.10	47	09912150509	237.71
23	05604090209	240.79	48	10007150509	230.77
24	05710090209	243.10	49	10196270509	230.77
25	05914090209	231.54	50	10272270509	235.40

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
51	10320270509	235.40
52	10473270509	237.71
53	11037270509	235.40
54	11153050609	235.40
55	11253050609	238.48
56	11322050609	240.02
57	11422050609	241.56
58	11592050609	234.63
59	11657050609	241.56
60	11765050609	233.86
61	11970050609	240.79
62	12066050609	235.40
63	12107050609	232.32
64	12208100609	240.02
65	12311100609	233.09
66	12411100609	236.17
67	12521100609	238.48
68	12622100609	238.48
69	12752100609	240.49
70	12997100609	223.07
71	14017190809	234.63
72	14117190809	233.09
73	14250190809	230.00
74	14397190809	245.41

ตารางผนวกที่ ข2 ปริมาณ Total Phenolics ของน้ำฝรั่งในช่วงความยาวคลื่นยาว (900 -2500 nm)
โดยระบบการวัดแบบ Transflection ในกลุ่ม Validation sample set

ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g	ตัวอย่างที่	รหัสตัวอย่าง	mg/100g
1	00313120109	246.18	26	07404120509	243.87
2	00706120109	236.17	27	07511120509	248.50
3	01005120109	246.95	28	07828120509	242.33
4	01345120109	243.87	29	07934120509	238.48
5	01616120109	240.97	30	08034120509	240.79
6	01913120109	232.32	31	08137120509	240.79
7	02203120109	243.87	32	08683120509	233.09
8	02314120109	239.25	33	08720150509	235.40
9	02766200109	239.25	34	08814150509	239.25
10	02837200109	234.63	35	09570150509	234.63
11	02965200109	248.50	36	09657150509	241.56
12	03495200109	240.02	37	09771150509	240.02
13	03558200109	246.95	38	10538270509	232.32
14	03659200109	244.64	39	10620270509	235.40
15	04161020209	242.33	40	10721270509	233.09
16	04269020209	248.50	41	10813270509	230.77
17	04396020209	232.32	42	10916270509	244.64
18	05301090209	250.81	43	11870050609	238.48
19	05812090209	242.33	44	12872100609	240.02
20	06216060509	243.10			
21	06324060509	246.95			
22	06733060509	249.27			
23	06849060509	249.27			
24	06949060509	243.10			
25	07049060509	246.95			

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวคณพร ชนานิรมิตผล
เกิดวันที่	7 มกราคม 2528
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดอ่างทอง
ประวัติการศึกษา	วศ.บ. (วิศวกรรมอาหาร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

