

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Near infrared spectroscopy หรือ NIRs)

2.1.1 หลักพื้นฐานของเทคนิคอินฟราเรดย่านใกล้

เมื่อ ปีค.ศ.1800 Sir William Herschel ได้ศึกษาเกี่ยวกับปรากฏการณ์ให้ความร้อน (Heating effect) ในช่วงต่างๆของสเปกตรัมโดยค้นพบ Heating effect สูงสุดในแถบแสงที่อยู่ถัดไปจากแสงสีแดง (Red end) แต่ไม่สามารถมองเห็นสเปกตรัม (Spectrum) ได้จึงเรียกช่วงรังสีที่ค้นพบว่ารังสีอินฟราเรด (Infrared radiation) การค้นพบครั้งนี้ถือเป็นการค้นพบที่ยิ่งใหญ่เพราะรังสีอินฟราเรดประกอบไปด้วยสามช่วงความยาวคลื่นสำคัญและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่างกันหนึ่งในนั้นคือช่วงรังสีเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Near infrared spectroscopy, NIRs) โดยอาศัยการตรวจวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนในโมเลกุลของตัวอย่าง วิธีนี้ถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ ตั้งแต่การตรวจสอบวัตถุดิบไปจนถึงการตรวจสอบและปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เมื่อฉายแสงในช่วงความยาวคลื่น NIRs ลงไปบนตัวอย่างแสงที่มีพลังงานเพียงพอจะถูกดูดกลืนและกระตุ้นให้เกิดการสั่นของโมเลกุลใน Functional groups ต่างๆ (ศุมาพร, 2545)

แสงใกล้อินฟราเรด (Near infrared) เป็นคลื่นแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 780 – 2,500 นาโนเมตรเมื่อแสงส่องผ่านเข้าไปยังสารละลายหรือวัสดุสารเกิดการดูดกลืนแสงในช่วง Near infrared ทำให้โมเลกุลของสารเกิดการสั่นที่ความถี่สูงในการสั่นของพันธะต่างๆเกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่นแตกต่างกันไปซึ่งเป็นค่าเฉพาะของแต่ละหมู่ฟังก์ชันดังนั้นเมื่อโมเลกุลได้รับรังสีอินฟราเรดที่มีความยาวคลื่นตรงกับพันธะในโมเลกุลจะเกิดการสั่นและดูดกลืนรังสีไว้ทำให้มีพลังงานมากกว่าปกติจากเดิมที่โมเลกุลอยู่ในสภาวะพื้น (Ground vibration level) เมื่อได้รับ

พลังงานเพิ่มขึ้นจะอยู่ในสภาวะกระตุ้น (Excited vibration level) อย่างไรก็ตามเมื่อโมเลกุลกลับสู่สภาวะพื้นก็จะปล่อยพลังงานที่รับเพิ่มเข้าไปออกมาในรูปพลังงานความร้อนปริมาณการดูดกลืนพลังงานแสงเป็นไปตามกฎของเบียร์ - แลมเบิร์ต (Beer–Lambert) พลังงานของคลื่นแสงเมื่อผ่านเข้าไปในตัวอย่งจะถูกดูดกลืนไว้โดยองค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่างความเข้มข้นของแสงที่ผ่านออกมาโดยทั่วไปจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีนั้น (Osborne และคณะ, 1993)

ช่วงคลื่นย่าน Near infrared spectroscopy หรือ NIRs สามารถแบ่งออกเป็น 3 ช่วงดังแสดงในตารางที่ 2.1 คือ

ตารางที่ 2.1 การแบ่งช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด

ช่วงคลื่น	ช่วงความยาวคลื่น (nm)	Wave number (cm^{-1})
Region I	800 – 1100	12500 – 9000
Region II	1200 – 1800	8500 – 5500
Region III	1800 – 2500	5500 – 4000

ที่มา: นิพนธ์ (2545)

Region I

มีชื่อเรียกกันว่า “รังสีเนียร์อินฟราเรดช่วงคลื่นสั้น” (Short wavelength NIR, SWNIR) หรือ “Herschel region” จะพบโอเวอร์โทนที่สองและสาม (2^{nd} and 3^{rd} overtones) และการสั่นรวม (Combination mode) สำหรับการสั่นแบบยืด (Stretching vibration) ของหมู่ฟังก์ชัน X-H, X=C, O, N

Region II

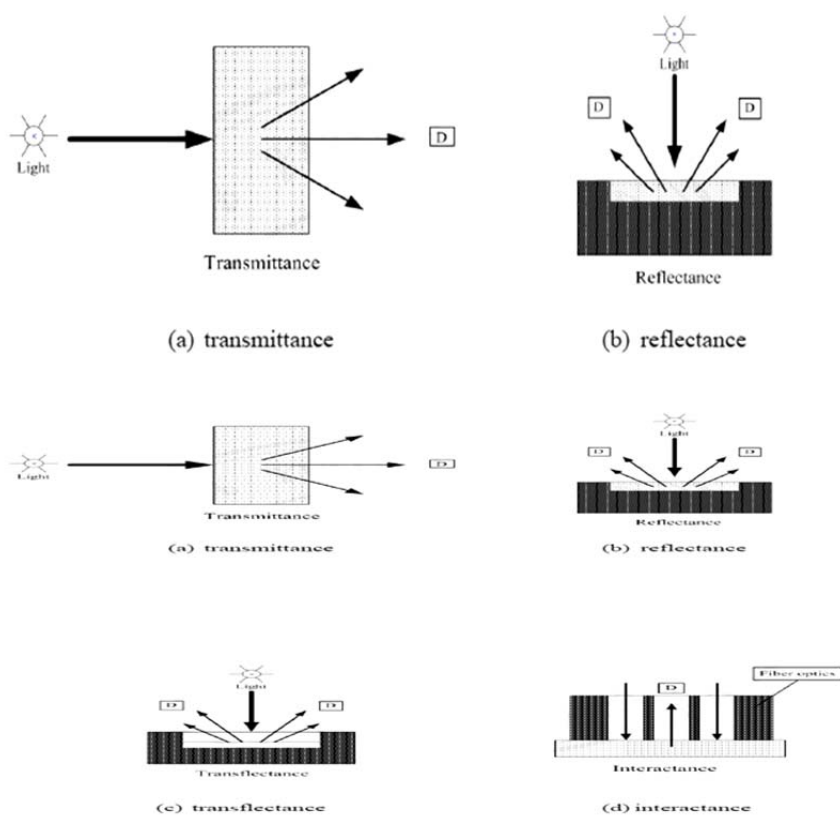
จะพบโอเวอร์โทนที่หนึ่งและการสั่นรวมหลากหลายแบบในการสั่นแบบยืด (Stretching vibration) ของ X-H

Region III

ส่วนมากจะปรากฏการสั่นรวม (Combination mode)

2.1.2 รูปแบบที่วัดภูมิปัญญาต่อแสงเนียร์อินฟราเรด (NIRs)

เมื่อเครื่อง NIRs ปล่อยแสงผ่านลงมาตัวอย่างจะเกิดการกระทำกับกับสารได้หลายแบบ ดังนั้นควรมีการจัดการวางตัวอย่างในการใช้เทคนิค NIRs เพื่อให้ได้สเปกตรัมที่สัมพันธ์กับปริมาณค่าทางเคมีที่สนใจ ได้แก่ (ศุมาพร, 2545)



ภาพที่ 2.1 รูปแบบการวัด (a) transmittance, (b) reflectance, (c) transreflectance และ (d) interactance

ที่มา: Kawano (2002)

1. Transmittance แสงตกกระทบตัวอย่างด้านหนึ่งโดยที่ detector จะวัดปริมาณแสงที่ผ่านออกมาจากตัวอย่างในด้านตรงกันข้ามดังภาพที่ 2.1 (a)

2. Reflectance แสงจะตกกระทบที่ผิวของตัวอย่างและอาจแพร่กระจายในปริมาณหนึ่งก่อน แล้ววัดปริมาณแสงสะท้อนกลับออกมาโดย detector ดังภาพที่ 2.1 (b)

3. Transflectance แสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบตัวอย่างและส่องผ่านตัวอย่างลงไป ตกกระทบวัตถุที่ไม่ดูดกลืนแสง (แผ่นเซรามิกทองหรืออลูมิเนียม) ที่อยู่ด้านล่างตัวอย่าง แล้วเกิดการสะท้อนกลับมายัง detector ดังภาพที่ 2.1 (c)

4. Interactance กระบวนการนี้เกิดในกรณีที่ใช้หัววัดใยแก้วนำแสง (fiber optics probe) แสงจะออกมาจากส่วนวงแหวนด้านนอกของหัววัดมาตกกระทบตัวอย่าง และแสงที่สะท้อนออกมาจากเนื้อตัวอย่างจะถูกส่งไปยังที่ detector บริเวณส่วนกลางของใยแก้วนำ แสงดังภาพที่ 2.1 (d) (Kawano, 2002)

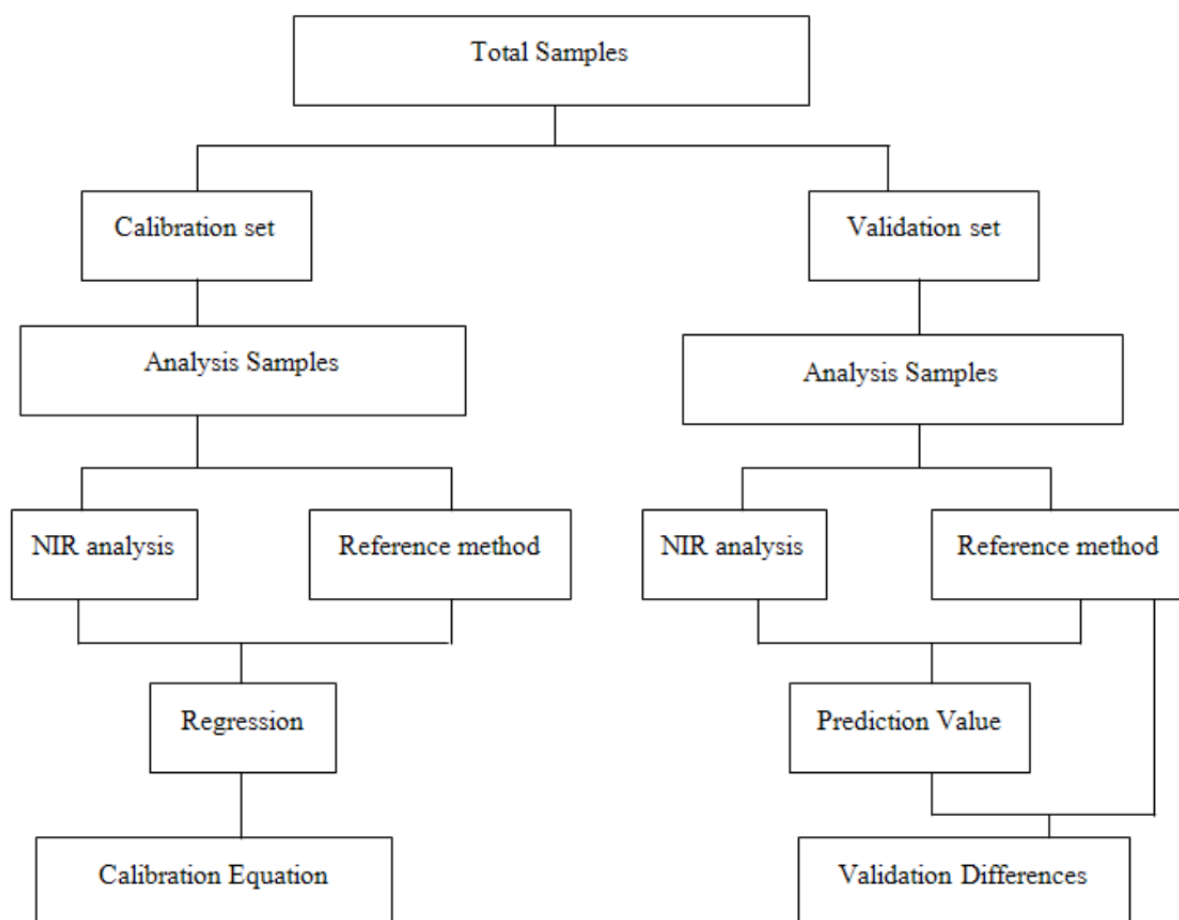
โดยส่วนใหญ่นิยมวัดค่าในรูปแบบ Reflectance ที่วัดค่าความเข้มของแสงที่สะท้อนออกมา เปรียบเทียบกับความเข้มแสงที่ส่องเข้าไป หรือ Transmittance ที่วัดความเข้มแสงที่ทะลุผ่านตัวอย่าง เปรียบเทียบกับความเข้มแสงที่ส่องเข้าไป (อาทิตย์ และคณะ, 2550) โดย Mark และคณะ (2001) กล่าวว่าเทคนิค NIRS สามารถตรวจวัดองค์ประกอบของผลผลิตได้ทั้งในรูปแบบ transmittance และ reflectance โดยให้ประสิทธิภาพของการตรวจวัดไม่ต่างกัน แต่การเลือกรูปแบบในการวัดและ ช่วงของสเปกตรัมที่ใช้งานให้เหมาะสมเป็นสิ่งสำคัญ

รุ่งนภา (2550) ได้วิเคราะห์หาไขมันและความชื้นในผลิตภัณฑ์เนยแข็งด้วย NIRS พบว่าใน ตัวอย่างที่มีความชื้นหรือไขมันสูง ถ้าวัดด้วยรูปแบบ reflectance จะให้ผลการวัดที่ไม่ค่อยดี เนื่องจากผิวหน้าที่เปียกของตัวอย่างจึงให้ค่าที่สูงกว่าปกติทำให้ไม่สามารถทำนายความเข้มข้นที่ถูกต้องได้ จึงเปลี่ยนรูปแบบการวัดใหม่โดยวิธี transmittance ในช่วงความยาวคลื่น 400 - 1100 นาโนเมตรซึ่งรูปแบบการวัดนี้แสง NIR สามารถส่องผ่านตัวอย่างได้มากกว่าจึงทำให้เกิดค่าผิดพลาดที่ ผิวนำน้อยกว่า

คลื่นแสง NIR แบบ reflectance ในช่วงคลื่นสั้นที่มีความยาวคลื่น 800-1100 นาโนเมตรแสงสามารถส่องผ่านตัวอย่างได้ลึกถึง 10 มิลลิเมตรส่วนช่วงคลื่นยาวที่มีความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร แสงสามารถส่องผ่านตัวอย่างได้ลึกประมาณ 1-3 มิลลิเมตรแสดงให้เห็นว่าแสงในช่วงคลื่นสั้นจะทะลุผ่านเข้าไปในเนื้อสารได้ดีกว่า (อนุปันท์, 2545)

2.1.3 ขั้นตอนในการวิเคราะห์ข้อมูล Near infrared spectra (NIRs)

การดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลจากสเปกตรัม NIRs แสดงได้ดังภาพที่ 2.2 ซึ่งประกอบไปด้วยขั้นตอน 2 ขั้นตอนหลักเป็นอย่างน้อย คือ ขั้นตอนการสร้างสมการที่ใช้ทำนาย (Calibration set) และขั้นตอนการตรวจสอบความถูกต้องของสมการที่สร้างขึ้นมา (Validation set) ในการสร้างสมการที่ใช้ทำนายก็เพื่อให้ได้สมการมาตรฐานที่ใช้ในการทำนายค่าคุณลักษณะคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทราบต่อจากนั้นต้องมีการนำสมการมาตรฐานที่ได้จากการทำ Calibration มาตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำของสมการมาตรฐานในการทำนายค่าคุณภาพ ซึ่งขั้นตอนนี้ เรียกว่า การทำ Validation เพื่อทดสอบสมการที่ได้ว่ามีความแม่นยำหรือไม่เมื่อได้ผลการทดสอบที่น่าเชื่อถือ แล้วจึงนำสมการที่ได้ไปใช้ทำนายค่าคุณลักษณะที่ต้องการศึกษา จากสเปกตรัม NIRs ที่ทำการวัดมาได้ โดยกลุ่มตัวอย่างที่ดีจะต้องมีจำนวนตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์อย่างพอเพียงทั้งตัวอย่างในปัจจุบันและตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์ในอนาคต โดยเฉพาะปริมาณองค์ประกอบทางเคมีจะต้องมีค่าครอบคลุมปริมาณทั้งต่ำสุดและสูงสุดของตัวอย่าง โดยมีการสุ่มตัวอย่าง (Sampling) ที่ถูกต้องเพียงพอและเป็นตัวแทนที่ของประชากร การสุ่มตัวอย่างถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการที่จะได้สมการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ดี ทำให้ค่าผิดพลาดที่ได้จากการทดลองลดลง (Hruschka, 2001) นอกจากนี้ควรพิจารณาวิธีวิเคราะห์ทางเคมีซึ่งควรเป็นวิธีที่เป็นมาตรฐานและมีความแม่นยำเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องเนื่องจากส่งผลต่อสมการที่สร้างขึ้นต่อไป (Kawano, 2002)



ภาพที่ 2.2 ขั้นตอนในการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัม NIRs

ที่มา: Kawano และคณะ (1995)

2.1.4 การปรับแต่งข้อมูลก่อนการวิเคราะห์

ปัจจัยที่มีผลต่อสเปกตรัมของตัวอย่างได้แก่ความชื้นและขนาดอนุภาค (Particle size) ซึ่งจะทำให้สเปกตรัมที่ได้มีความแตกต่างกันอื่น เนื่องมาจากสภาพกระเจิงแสงและความแตกต่างที่เป็นผลมาจากความเข้มข้นขององค์ประกอบที่ต้องการวัด ซึ่งอาจจะทำให้เกิดความแตกต่างในผลเชิงบวก (Additive scattering) สเปกตรัมเพิ่มขึ้นตามตลอดช่วงความยาวคลื่น หรือผลเชิงคูณ (Multiplicative scattering) สเปกตรัมเพิ่มขึ้นเมื่อความยาวคลื่นสูงขึ้น นอกจากนี้สเปกตรัมที่ได้จากการดูดกลืนแสงในย่านใกล้อินฟราเรดเป็นสเปกตรัมที่มีการเหลื่อมซ้อนทับกันอยู่ (Overlapping band) ดังนั้นในการ

วิเคราะห์จึงนำไปปรับแต่งด้วยวิธีทางคณิตศาสตร์ก่อน เพื่อลดความคลาดเคลื่อนให้น้อยลงวิธีที่นิยมใช้ มี 2 วิธีคือ

2.1.4.1 วิธีอนุพันธ์ (Derivative)

เป็นการหาความชันของเส้นสเปกตรัม เพื่อแก้ปัญหาฟิคที่มีฐานกว้าง (Broad peak) เนื่องจากการซ้อนทับกันของฟิค (Overlapping) และอิทธิพลจากการยกตัวของเส้นสเปกตรัม (Base line shift) ที่เกิดจากการกระเจิงแสง (Scattering light) เมื่อแสงตกกระทบที่ตัวอย่างทำให้แสงเปลี่ยนทิศทางซึ่งมีผลต่อการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ทั้งนี้มีสาเหตุมาจากขนาดของตัวอย่าง ไม่สม่ำเสมอ การอัดตัว และการกระจายตัวของตัวอย่างภายในเซลล์บรรจุที่แตกต่างกัน รวมทั้งความชื้นภายในตัวอย่าง ที่แตกต่างกันด้วย (William และ Norris, 2001)

2.1.4.1.1 First derivative เป็นการหาความชันของสเปกตรัมซึ่งจะช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่น หรือการเลื่อนตัวของสเปกตรัมแกน Y เนื่องจากอิทธิพลของความชื้นและขนาดของอนุภาคที่แตกต่างกัน การทำ First derivative ทำให้การแปลความหมายยากดังนั้นจึงนิยมใช้ Second derivative มากกว่า First derivative

2.1.4.1.2 Second derivative การใช้ Second derivative จะเป็นการเปลี่ยนแปลงความชันของสเปกตรัมสเปกตรัมที่ได้จะมีรูปร่างที่แตกต่างจากสเปกตรัมเริ่มต้น การหาการเปลี่ยนแปลงของความชันสามารถแยกจุดยอดที่เหลื่อมซ้อนกันอยู่ สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธี Second derivative ที่ได้จะมีจุดยอดที่เป็นบวกในด้านซ้ายและด้านขวา ส่วนจุดยอดตรงกลางจะอยู่ตรงด้านซ้ายที่มีค่ามากที่สุดและตรงกับจุดยอดเริ่มต้น การคำนวณการเปลี่ยนแปลงความชันของสเปกตรัมสามารถแยกจุดยอดของสเปกตรัมที่เหลื่อมซ้อนกันของสเปกตรัมเริ่มต้นได้ ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี Second derivative จึงเป็นที่นิยมมากกว่าวิธี First derivative

2.1.4.2 Multiplicative scatter correction (MSC) สเปกตรัมที่ได้จากการวัดการดูดกลืนย่านแสง NIRs แบบ Diffuse reflectance และแบบ Transmission มักจะเกิดการกระเจิงแสง (Scatter light) ดังนั้น ได้มีการใช้วิธีทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า MSC มาปรับแต่งสเปกตรัม เป็นการหาค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งสเปกตรัมเพื่อลดอิทธิพลของการกระเจิงของแสง ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการลดค่าผิดพลาด Barnes และคณะ (1989) ใช้ NIRs แบบวัดการสะท้อนกลับของแสง เพื่อหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดพืช โดยแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยวิธี MSC พบว่ามีค่าผิดพลาดของสมการต่ำกว่าสมการของสเปกตรัมดั้งเดิม (Original spectrum)

2.1.4.3 วิธี Smoothing เป็นการหาค่าเฉลี่ยคลื่นโดยมีการแทนค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความยาวคลื่นด้วยค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่มีจุดศูนย์กลางของช่วงความยาวคลื่นตรงกับจุดที่ถูกแทนที่ ต่อจากนั้นเลื่อนช่วงไปหนึ่งความยาวคลื่น แล้วคำนวณซ้ำจนครบตลอดช่วงความยาวคลื่น ซึ่งสามารถลดปัญหาของสัญญาณรบกวนต่อค่าการดูดกลืนแสง โดยจะได้สเปกตรัมที่มีลักษณะเหมือนสเปกตรัมดั้งเดิมแต่จะเรียบสม่ำเสมอมากกว่า (Siesler และคณะ 2002)

2.2 วิธีการสร้างสมการ (Calibration equation)

สมการ Calibration ประกอบไปด้วยตัวแปร 2 ชนิด คือ ตัวแปรอิสระ (X) และตัวแปรตาม (Y) การหาตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์กับค่าตัวแปรตามเป็นสิ่งสำคัญของการสร้างสมการ Calibration ซึ่งแบ่งได้ 2 วิธีหลัก คือ

2.2.1 Wavelength selection เป็นการเลือกความยาวคลื่นเฉพาะซึ่งเป็นตัวแปรอิสระให้มีความสัมพันธ์กับค่าตัวแปรตามนั้น โดยการพิจารณาจากข้อมูลทางสถิติ ดังนี้

2.2.1.1 Simple linear regression (SLR) เป็นการสร้างสมการที่ประกอบด้วยตัวแปรสองชนิดที่มีความสัมพันธ์กัน คือ ตัวแปรอิสระ (X) และตัวแปรตาม (Y) SLR เป็นการเลือกพิจารณาความสัมพันธ์เชิงปริมาณของตัวอย่างที่ความยาวคลื่นเพียงความยาวคลื่นเดียว (Single wavelength) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย NIRs เป็นไปไม่ได้ที่จะใช้ความยาวคลื่นใด ความ

ยาวคลื่นหนึ่งในการหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างได้ เนื่องจากตัวอย่าง ประกอบด้วย องค์ประกอบทางเคมีหลายชนิดด้วยกัน ดังนั้นจึงต้องใช้ข้อมูลจากหลายความยาวคลื่น (Multiple wavelengths) เพื่อทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของผลผลิต (ศุมาพร, 2545) สมการ SLR สามารถเขียนได้ดังนี้คือ

$$Y = b_0 + b_1X$$

เมื่อ Y = ค่าองค์ประกอบทางเคมี

X = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นตำแหน่งเดียว

b_0 = ค่าคงที่จุดตัดแกน Y เมื่อ X มีค่าเท่ากับศูนย์

b_1 = ค่าคงที่การถดถอย

2.2.1.2 Multiple linear regression (MLR) เป็นวิธีการวิเคราะห์ผลทางสถิติที่นำ

ตัวแปรอิสระ (ตัวแปร X) มากกว่าหนึ่งตัวมาใช้ในการประมาณค่าตัวแปรตาม (ตัวแปร Y) การนำ เทคนิค MLR มาใช้ในการวิเคราะห์ผลมีข้อดีมากกว่าวิธี SLR หลายประการ เช่นสมการที่สร้างขึ้น สามารถนำไปใช้กับตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้ อย่างไรก็ตามการสร้างสมการด้วยวิธี MLR มีข้อเสียคือการคัดเลือกตัวแปรอิสระหรือค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับ ข้อมูลทางเคมีต้องใช้เวลานาน จำนวนของตัวแปรอิสระหรือจำนวนของความยาวคลื่นที่นำมาใช้ในการ สมการจะถูกจำกัด โดยจำนวนของตัวอย่างที่นำมาทำการทดสอบต้องมีตัวอย่างจำนวนมากเพื่อให้ สมการที่สร้างขึ้นมีความถูกต้องและแม่นยำ การคัดเลือกตัวแปรอิสระหรือความยาวคลื่นที่เหมาะสม จากความยาวคลื่นทั้งหมดมาสร้างสมการอาจได้ข้อมูลที่ไม่ครอบคลุมมากพอ ทำให้ค่าที่ทำนายได้จาก วิธีนี้มีค่าต่ำกว่าหรือสูงกว่าค่าที่แท้จริง (Osborne และคณะ, 1993) สมการ MLR สามารถเขียนได้ ดังนี้คือ

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 \dots + b_nX_n$$

เมื่อ $X_1, X_2, \dots, X_n$ = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น n ตำแหน่ง

$b_0, b_1, b_2, \dots, b_n$ = ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยที่ความยาวคลื่น n ตำแหน่ง

2.2.2 Full spectrum method การที่จะพิจารณาเลือกความยาวคลื่นที่มี

ความสัมพันธ์กับค่าองค์ประกอบที่ศึกษานั้นค่อนข้างทำได้ยาก เกิดข้อผิดพลาดได้ง่าย การใช้ข้อมูลสเปกตรัมทั้งหมดหรือในช่วงความยาวคลื่นที่สนใจจะช่วยให้สมการ Calibration ที่ได้มีความถูกต้องมากขึ้น Full spectrum method เป็นการเลือกช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากความยาวคลื่นทั้งหมดในสเปกตรัม (Full spectrum) มาสร้างสมการโดยทำการลดจำนวนตัวแปรอิสระ (X) และสร้างตัวแปรกลุ่มใหม่ขึ้นมา วิธีทางสถิติที่นิยมใช้ได้แก่ 2 วิธีคือ Principle component regression (PCR) และ Partial least square regression (PLSR) ทั้งสองวิธีนี้ต้องใช้ในการสร้างตัวแปรใหม่ที่เรียกว่า Factor หรือองค์ประกอบ

2.2.2.1 Principle component regression (PCR) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการลด

จำนวนของตัวแปรอิสระ ในกรณีที่ตัวแปรอิสระมีจำนวนมาก การลดจำนวนของตัวแปร คือแบ่งกลุ่มตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันเพื่อสร้างตัวแปรขึ้นมาใหม่เรียกว่า Factor หรือองค์ประกอบ Factor ที่สร้างขึ้นก็คือผลรวมของค่าสเปกตรัมทุกความยาวคลื่นที่น้ำหนักแตกต่างกัน Factor แรกจะถูกสร้างขึ้นมาให้สามารถอธิบายความแปรปรวนที่เหลือซึ่งจะทำให้ Factor แต่ละ Factor แทบไม่มีความสัมพันธ์ต่อกันซึ่งเป็นข้อดีสำหรับการวิเคราะห์ด้วย PCR เมื่อทำการหา Factor เรียบร้อยแล้ว นำ Factor ที่ได้มาทำ Regression กับค่าทางเคมีโดยใช้วิธีกำลังสองน้อยที่สุด (Least square method) ก็จะได้ค่า Calibration coefficient

2.2.2.2 Partial least square regression (PLSR) วิธีนี้จะคล้ายคลึงกับ PCR แต่จะ

ต่างกันตรงที่วิธี PCR กระบวนการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมจะเป็นอิสระจากกระบวนการทำสมการถดถอยของสมการ Calibration ซึ่งใน PLSR ทั้งสองกระบวนการจะถูกเชื่อมโยงเข้าไว้ด้วยกันโดยมีการนำค่าองค์ประกอบทางเคมีมาคิดรวมข้อมูลและเกี่ยวข้องกับการประเมินค่าทางเคมีทำให้ Factor

ที่ได้จากวิธี PLSR สามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลและเกี่ยวข้องกับการประเมินค่าทางเคมีในเวลาเดียวกันสมการ Calibration ที่ได้จากวิธี PLSR จึงประเมินค่าทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น Saranwong (2003) ได้ศึกษาการพัฒนาสมการที่ใช้ในการทำนายค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solid) และค่าน้ำหนักเนื้อแห้ง (Dry matter) ของมะม่วงด้วยวิธี PLSR กับ MLR ในการสร้างสมการทำนาย พบว่าวิธี PLSR ให้ค่าผิดพลาดของสมการทำนายของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่ำกว่าวิธี MLR แต่สำหรับสมการทำนายค่าน้ำหนักเนื้อแห้งด้วยวิธี PLSR กับ MLR ที่สร้างขึ้นให้ค่าไม่แตกต่างกัน

2.3 วิธีการทดสอบสมการ (Validation test)

เมื่อได้สมการ Calibration แล้วจะต้องนำสมการที่ได้มาทดสอบเพื่อวัดประสิทธิภาพของสมการว่าสามารถใช้ในการประเมินค่าได้แม่นยำมากน้อยเพียงใดวิธีที่นิยมใช้ในเทคนิค NIRs มี 2 วิธี คือ

2.3.1 Full cross validation วิธีนี้การทดสอบในลักษณะนี้เป็นการทดสอบภายใน (Internal validation) มีวิธีทดสอบดังนี้คือ

ตอนที่ 1 ตัดตัวอย่างที่ 1 ออกไปจากกลุ่ม Calibration แล้วนำตัวอย่างที่เหลือมาสร้างสมการ Calibration เมื่อได้สมการ Calibration แล้วก็นำมาประเมินค่าตัวอย่างที่ 1 ที่ตัดไปก่อนหน้านี้

ตอนที่ 2 ตัดตัวอย่างที่ 2 ออกไปนำตัวอย่างที่ 1 กลับเข้ามาในกลุ่ม Calibration รวมกับตัวอย่างอื่นๆที่เหลือเพื่อสร้างสมการ Calibration เมื่อได้สมการ Calibration นำมาประเมินค่าของตัวอย่างที่ 2 ทำซ้ำอย่างนี้ไปเรื่อยๆจนกระทั่งประเมินค่าตัวอย่างครบทุกตัวอย่างซึ่งตัวอย่างแต่ละตัวจะถูกตัดออก 1 ครั้งเท่านั้น

การทดสอบภายใน (Internal validation) จะวัดผลโดยการดูค่า RMSECV (Root mean square error of cross validation) เป็นการวัดค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการประเมินโดยใช้สมการ Calibration กับค่าที่วิเคราะห์ได้ (Measured value or true value) ให้ค่าที่ยอมรับได้

การใช้วิธี Full cross validation มักใช้กับวิธีการวิเคราะห์โดยวิธี PLSR ไม่นิยมใช้กับวิธีการวิเคราะห์โดยวิธี MLR

2.3.2 การทดสอบผลการประเมิน (Prediction testing) เป็นการทดสอบโดยนำกลุ่มตัวอย่างชุดใหม่ (External validation) มาประเมินค่าจากสมการ Calibration ที่ได้ โดยตัวอย่างชุดใหม่ที่น่ามาวิเคราะห์ต้องมีวิธีการเตรียมตัวอย่างการวัดสเปกตรัมสภาวะในการทดลองรวมไปถึงการแปลงข้อมูลสเปกตรัมต้องเหมือนกับกลุ่ม Calibration ข้อควรระวัง คือ ตัวอย่างในกลุ่มใหม่จะต้องมีค่าที่ต้องการประเมินอยู่ในช่วงของกลุ่ม Calibration การทดสอบลักษณะนี้มีวิธีการ คือ นำตัวอย่างกลุ่มใหม่มาวิเคราะห์หาค่าที่ต้องการ เช่น ค่าโปรตีนโดยใช้วิธีวิเคราะห์แบบ Reference methods แทนด้วยข้อมูลชุด X และนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRs แล้วนำค่าที่ได้ไปแทนค่าในสมการ Calibration แทนด้วยข้อมูลชุด Y นำผลที่ได้จากทั้งสองวิธีมาพิจารณาเปรียบเทียบ โดยมีค่าทางสถิติที่ใช้วัดคือ SEP (Standard error of prediction) หรือ RMSEP (Root mean square error of prediction) และ bias ซึ่งค่าสถิติเหล่านี้เป็นค่าที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของสมการ Calibration ถ้าผลการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับผลที่อ้างอิง และให้ค่าทางสถิติที่ดีแสดงว่าสมการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีนั้นยอมรับได้ และสามารถนำไปใช้ทำนายปริมาณตัวอย่างต่อไปได้อย่างถูกต้อง (อนุพันธ์, 2545)

2.4 ค่าทางสถิติที่ใช้ในการพิจารณาการสร้างสมการ

2.4.1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R) คือค่าที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (X) และตัวแปรตาม (Y) หากค่าที่คำนวณได้มีค่าเข้าใกล้ 1 หรือเท่ากับ 1 หมายความว่า สมการที่สร้างขึ้นสามารถนำมาใช้ในการอธิบายค่าทำนายที่เกิดจากอิทธิพลของตัวแปรอิสระ (X) กับค่าแปรตาม (Y) ที่มีความสัมพันธ์กันมาก การแปลความหมายของค่า r และ r^2 อยู่ในตาราง 2.2

2.4.2 ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (Standard error of calibration; SEC) คือ ค่าที่บอกถึงสมการที่สร้างขึ้นสามารถนำไปใช้ในการทำนายต่อไปได้ดีหรือไม่ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าน้อย

2.4.3 ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (Standard error of prediction; SEP) คือ ค่าที่บอกถึงการนำเอาสมการที่สร้างขึ้นมาทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากเครื่อง NIRs มีความแม่นยำสูงหรือต่ำ ซึ่งถ้าค่าที่คำนวณได้มีค่าน้อย หมายความว่าสมการที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำสูง

2.4.4 ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIRs (Average of difference between actual value and NIR value; bias) คือค่าเฉลี่ยของการทำนายข้อมูลของตัวแปรตาม (Y) และค่าเฉลี่ยข้อมูลของตัวแปรอิสระ (X) มีความแตกต่างกันหรือไม่ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าน้อย

2.4.5 อัตราส่วนของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่ม Validation set ต่อค่า SEP (Ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP; RPD) ค่าจากที่คำนวณได้มีค่าสูง หมายถึง ค่าผิดพลาดมาตรฐานที่ทำนายได้จาก NIRs มีค่าน้อยกว่าค่าผิดพลาดมาตรฐานที่ได้จากวิเคราะห์จริง

ตารางที่ 2.2 เกณฑ์การพิจารณาค่า R และ R^2

Value of R	Value of R^2	Interpretation
Up to ± 0.5	5 Up to 0.25	Not usable in NIRs calibration
$\pm 0.51 - 0.70$	0.26 – 0.49	Poor correlation, research the reasons
$\pm 0.71 - 0.80$	0.50 – 0.64	Rough screening
$\pm 0.81 - 0.90$	0.66 – 0.81	Screening and approximate calibration
$\pm 0.91 - 0.95$	0.83 – 0.90	Usable with caution for most applications, including research
$\pm 0.96 - 0.98$	0.92 – 0.96	Usable in most applications, including quality assurance
$\pm 0.99 >$	0.98 >	Usable in any application

ที่มา: Williams (2007)

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้เทคนิค NIRs

2.5.1 ขนาดของอนุภาค

ขนาดของอนุภาคเป็นแหล่งของความผิดพลาดที่สำคัญ เพราะขนาดของตัวอย่างมีความสัมพันธ์กับการดูดกลืนแสง ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติขององค์ประกอบของสาร โดยตัวอย่างขนาดเล็กสามารถสะท้อนแสงได้ดีกว่าตัวอย่างขนาดใหญ่ ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงของเส้นสเปกตรัมตัวอย่างขนาดเล็กจึงมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างขนาดใหญ่ (Osborne และคณะ, 1993) ขนาดของอนุภาคยังขึ้นอยู่กับการเตรียมตัวอย่างอีกด้วย เพราะจะทำให้การวัดค่าองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน จึงควรใช้การเตรียมตัวอย่างแบบเดียวกันทุกครั้งที่ทำการวัด และควรให้มีขนาดใกล้เคียงกัน

2.5.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิของตัวอย่างระหว่างการวัดโดยใช้ NIRs อาจทำให้เกิดข้อผิดพลาดในการวัดองค์ประกอบทางเคมี Guyer และคณะ (2006) ได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในพริกหยวก พบว่า เมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างที่ -5 องศาเซลเซียส ความแน่นเนื้อที่วัดได้จะสูงกว่าการใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส แต่เมื่อวัดค่าความแน่นเนื้อของตัวอย่างที่ 45 องศาเซลเซียสความแน่นเนื้อที่วัดได้จะต่ำกว่าค่าจริง 0.5% ทำการแก้ไขโดยควบคุมอุณหภูมิของห้องทดลองให้คงที่

2.5.3 ความชื้น

เป็นปัจจัยที่ก่อให้เกิดความผิดพลาดในการอ่านค่าองค์ประกอบทางเคมี ความชื้นอาจสูญเสียไปได้จากการเตรียมตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง Greensill และ Walsh (2000) ได้ศึกษาความแปรปรวนของความชื้นในลูกพลัม พบว่า ลูกพลัมที่มีความชื้นสูงจะทำให้การอ่านค่าผิดไปจากค่าจริงมาก

2.6 การประยุกต์ใช้ NIRs ในการตรวจสอบคุณภาพของผลิตผลทางการเกษตร

การใช้ประโยชน์ทางด้านเทคนิค NIRs ค่อนข้างจะแพร่หลายมากขึ้นส่วนมากจะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร เพราะเป็นการตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบและ

ผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะการตรวจสอบคุณภาพของผลไม้ ซึ่งมีงานวิจัยจากต่างประเทศมากมายที่วิจัยเกี่ยวกับการใช้เทคนิค NIRs ตรวจสอบคุณภาพของผลไม้ เช่น

พัลลภ และคณะ (2544) ศึกษาการตรวจสอบคุณภาพภายในของผลมังคุดโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรด พบว่า สามารถแยกผลมังคุดที่มีลักษณะเนื้อแก้วออกจากมังคุดปกติได้ และได้สมการทำนายค่าความแน่นเนื้อของผลมังคุดโดยมีค่า $R = 0.92$, $SEE = 0.879$, $SEP = 1.016$ และ $Bias = 3.905 \times 10^{-15}$ และได้สมการทำนายค่า Degree of Elasticity โดยมีความ $R = 0.92$, $SEE = 0.077$, $SEP = 0.076$ และ $Bias = 3.706 \times 10^{-16}$ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดมีความเป็นไปได้ที่จะใช้คัดแยกมังคุดเนื้อแก้วออกจากมังคุดปกติ ทำนายค่าความแน่นเนื้อและค่า Degree of Elasticity ของผลมังคุดได้

พัชรารณ และ เอกชัย (2545) ศึกษาการตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัมผัสของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้โดยใช้เทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดในช่วงความยาวคลื่นที่ 800 – 2,500 nm โดยใช้วิธี MLR และตรวจวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในช่วงความยาวคลื่นที่ 800 – 2,500 nm โดยใช้วิธี PLS พบว่าสมการทำนายคุณภาพเนื้อสัมผัสซึ่งวัดได้จากค่า Energy Absorption ในช่วงความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงดีที่สุดคือ 1,178 – 2,420 nm มีค่า $R = 0.813$, $SEE = 0.021$, นำมาใช้ในการคัดแยกอายุการเก็บเกี่ยวของส้มโอและทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

ศุภกิจ (2552) ใช้เทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดในช่วงความยาวคลื่นที่ 1,100 – 2,500 nm ในการทำนายองค์ประกอบของน้ำผึ้งและแบ่งกลุ่มน้ำผึ้งที่ได้มาตรฐานและไม่ได้มาตรฐานโดยวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลฟรุกโตสกลูโคสและซูโครส ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และความชื้นของน้ำผึ้ง โดยก่อนทำชุดข้อมูล Calibration ได้ใช้วิธี PCA เพื่อตรวจสอบข้อมูลที่ผิดปกติจากกลุ่มจากนั้นสร้างโมเดลด้วยวิธี PLSR พบว่า สมการทำนายปริมาณน้ำตาลฟรุกโตสที่ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี 1st derivative มีค่า $R = 0.851$, $SEP = 7.69\%$ และ $Bias = 0.031\%$ สมการ

ทำนายปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี 1st derivative มีค่า $R = 0.807$, $SEP = 6.15\%$ และ $Bias = 0.47\%$ สมการทำนายปริมาณน้ำตาลซูโครสปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี 2nd derivative มีค่า $R = 0.937$, $SEP = 4.07\%$ และ $Bias = 0.28\%$ สมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี 2nd derivative มีค่า $R = 0.965$, $SEP = 0.57\%$ Brix และ $Bias = -0.23\%$ Brix สมการทำนายความชื้นปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี MSC มีค่า $R = 0.979$, $SEP = 0.47\%$ และ $Bias = 0.11\%$ ส่วนการแบ่งกลุ่มของน้ำผึ้งจะใช้วิธี PLS – DA และ SIMCA ในการแบ่งกลุ่มน้ำผึ้งที่ได้มาตรฐานและไม่ได้มาตรฐาน พบว่าวิธี PLS – DA สามารถแบ่งกลุ่มน้ำผึ้งที่ได้มาตรฐานและไม่ได้มาตรฐานได้ถูกต้องกว่าวิธีแบบ SIMCA ซึ่งค่าการแบ่งกลุ่มนั้นพบว่าโมเดลของน้ำผึ้งที่ได้มาตรฐานจะทำนายตัวเองได้ถูกต้อง 92.3% และทำนายกลุ่มอื่นได้ถูกต้อง 100% ส่วนโมเดลของน้ำผึ้งที่ไม่ได้มาตรฐานจะทำนายตัวเองได้ถูกต้อง 100% และทำนายอีกกลุ่มหนึ่งได้ถูกต้อง 92.3% ซึ่งการทำนายโดยรวมมีความถูกต้อง 95.8% จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเทคนิคการดัดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ทำนายองค์ประกอบของน้ำผึ้งและแบ่งกลุ่มน้ำผึ้งที่ได้มาตรฐานและไม่ได้มาตรฐาน

ปาริชาติ และ คณะ (2553) ศึกษาอิทธิพลของตำแหน่งบนผลมะม่วงในการวัดสเปกตรัมเพื่อประเมินคุณภาพด้วยเทคนิคการดัดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดทำการวัดสเปกตรัมของผลมะม่วงที่ตำแหน่งไหล่แก้มและปลายผลที่ความยาวคลื่น 700 – 1,100 nm พบว่าสเปกตรัมของผลมะม่วงพบพีคที่ชัดเจนที่ความยาวคลื่น 978 nm คือ แถบการดูดกลืนแสงของน้ำค่าการดูดกลืนแสงของน้ำในผลมะม่วงที่ตำแหน่งแก้มทั้งผลดิบมีค่าเท่ากับ 1.16 ซึ่งมีค่าสูงกว่าตำแหน่งไหล่และปลายผลซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.03 และ 1.02 ตามลำดับนอกจากนี้พบว่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปรของค่าการดูดกลืน

แสงของน้ำที่ตำแหน่งแก้มของผลมะม่วงดิบมีค่าเท่ากับ 6.9 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าที่ตำแหน่งไหล่และปลายผลซึ่งมีค่าเท่ากับ 14.6 และ 16.7 ตามลำดับ จากผลการทดลองสรุปได้ว่าตำแหน่งของผลมะม่วงมีอิทธิพลต่อความแปรปรวนของสเปกตรัม ซึ่งสัมพันธ์กับความแม่นยำในการประเมินคุณภาพมะม่วงด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรด

อาทิตย์ และ คณะ (2553ก.) ศึกษาการทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของผลลองกองด้วยการใช้เทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดในช่วงคลื่นสั้นโดยการวัดตัวอย่างแบบใช้วิธีทะลุผ่านในช่วงความยาวคลื่น 650 – 955 nm พบว่าการปรับสเปกตรัมแบบ 2nd derivative มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ดีที่สุดและมีค่า RMSEC ต่ำที่สุดคือ 0.935 และ 0.396 จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดในช่วงคลื่นสั้นแบบทะลุผ่านมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของผลลองกองแบบไม่ทำลายได้อย่างแม่นยำ

อาทิตย์ และคณะ (2553ข.) ศึกษาการทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณกรดทั้งหมดของส้มโอตัดแต่งด้วยการใช้เทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดในช่วงคลื่นสั้นในช่วงความยาวคลื่น 400 – 1,028 nm พบว่าสมการทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีค่า R = 0.835, SEP = 0.383 และ Bias = -0.0054 และสมการทำนายปริมาณกรดทั้งหมดมีค่า R = 0.687, SEP = 0.063 และ Bias = -0.0003 จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าเทคนิคแสงย่านใกล้อินฟราเรดในช่วงคลื่นสั้นมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณกรดทั้งหมดของส้มโอตัดแต่ง

สนธิสุข และ คณะ (2554) ศึกษาการคัดแยกมังคุดเปลือกแข็งโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์การดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดแบบทะลุผ่านพบว่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่สุดในการคัดแยกคือ 717 nm และได้ผลวิเคราะห์ความถูกต้องในการคัดแยกด้วยวิธี Leave – one – out cross validation จากสมการคัดแยกกลุ่ม Fisher เท่ากับ 80.8% ซึ่งกล่าวได้ว่าการใช้เทคนิคการวิเคราะห์พหุตัวแปรมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการทำนายมังคุดเปลือกแข็ง

Villareal และคณะ (1994) ได้วิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสของข้าวด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดแบบ Transmittance mode ที่ช่วงความยาวคลื่นที่ 800 – 1,050 nm เพื่อศึกษา

ความเป็นไปได้ในการทำนายปริมาณอะไมโลสของข้าวกล้องและข้าวสารวิเคราะห์ผลด้วยวิธี PLSR โดยสมการทำนายปริมาณอะไมโลสของข้าวกล้องและข้าวสารมีค่า $R = 0.87$ และ 0.98 จากข้อมูลดังกล่าวพบว่าการทำนายปริมาณอะไมโลสด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดแบบ Transmittance mode ให้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี

Delwiche และคณะ (1996) ศึกษาปริมาณอะไมโลสของข้าวขาวเต็มเมล็ดด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดแบบ Reflectance mode ที่ช่วงความยาวคลื่นที่ $1,110 - 1,800$ nm วิเคราะห์ผลด้วยวิธี PLS พบว่าสมการทำนายปริมาณอะไมโลสมีค่า $R = 0.887$, $SEP = 1.33\%$ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดแบบ Reflectance mode มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ทำนายปริมาณอะไมโลสของข้าวขาวเต็มเมล็ด

Bao และคณะ (2001) ได้วิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสของข้าวที่ปลูกในประเทศจีนด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดแบบ Reflectance mode ที่ช่วงความยาวคลื่นที่ $400 - 2,500$ nm วิเคราะห์ผลด้วยวิธี PLS พบว่าสมการทำนายปริมาณอะไมโลสมีค่า $R = 0.960$, $SEP = 1.39\%$ และ $Bias = -0.17\%$ ผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดแบบ Reflectance mode มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ทำนายปริมาณอะไมโลสของข้าวที่ปลูกในประเทศจีน

Manuela และคณะ (2002) ทำนายการปริมาณน้ำตาลของผล Grapefruit ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำคือ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 1 เดือนโดยใช้เทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดที่ช่วงความยาวคลื่นที่ $1,100 - 1,500$ nm แบบ Reflectance mode และวิเคราะห์สเปกตรัมที่วัดได้ด้วยวิธี PLS และใช้โปรแกรมพบว่าสมการทำนายปริมาณน้ำตาลซูโครสมีค่า $R = 0.65$, $SEC = 0.8$ และ $SECV = 1.2$ ส่วนสมการทำนายปริมาณน้ำตาลกลูโคสมีค่า $R = 0.84$, $SEC = 0.6$ และ $SECV = 0.9$ และสมการทำนายปริมาณน้ำตาลฟรุกโตสมีค่า $R = 0.74$, $SEC = 0.8$ และ $SECV = 1.1$ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ทำนายปริมาณน้ำตาลของผล Grapefruit ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

Shao และคณะ (2007) ได้นำเทคนิค Vis – NIRs มาใช้เพื่อประเมินคุณภาพภายในของมะเขือเทศได้แก่ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และค่าความเป็นกรดต่างแบบไม่ทำลายในช่วงความยาวคลื่น 400 – 2,350 nm พบว่าสมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีค่า $R = 0.90$ และ $SEP = 0.19$ และสมการทำนายค่าความเป็นกรดต่างมีค่า $R = 0.83$ และ $SEP = 0.09$ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเทคนิค Vis – NIRs มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และค่าความเป็นกรดต่างของมะเขือเทศ

Liu และคณะ (2008) ได้นำเทคนิค Vis – NIRs มาใช้ทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และความแน่นเนื้อของผลลูกแพร์แบบไม่ทำลายในช่วงความยาวคลื่น 350 – 1,800 nm พบว่าการปรับสเปกตรัมแบบ 2nd derivative มีค่า R ที่ดีที่สุดและมีค่า RMSEP ที่ต่ำที่สุดของสมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 0.912 และ 0.662 ตามลำดับและค่า R ที่ดีที่สุดและค่า RMSEP ที่ต่ำที่สุดของสมการทำนายค่าความแน่นเนื้อเท่ากับ 0.854 และ 1.232 ตามลำดับจากผลการวิจัยสรุปได้ว่าเทคนิค Vis – NIRs สามารถทำนายได้ถูกต้องและเชื่อถือได้โดยไม่ทำลายคุณภาพภายในของลูกแพร์

Guoqiang และคณะ (2009) ได้นำเทคนิค Vis/NIRs มาใช้ทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และความแน่นเนื้อในผลแอปเปิ้ลฟูจิโดยใช้ช่วงความยาวคลื่นที่ 650 – 920 nm ในขั้นตอนการทำ Calibration เกิดจุด Peak ที่ไม่ชัดเจนแก้ไขโดยวิธี PLS และปรับแต่งเส้นสเปกตรัมด้วยวิธี Second derivative พบว่าสมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีค่า $R = 0.9532$ และ $SEP = 0.3838$ และสมการทำนายค่าความแน่นเนื้อมีค่า $R = 0.8136$ และ $SEP = 0.5344$ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเทคนิค Vis – NIRs มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และค่าความแน่นเนื้อในผลแอปเปิ้ลฟูจิ

2.7 ไนเตรทและไนไตรท์

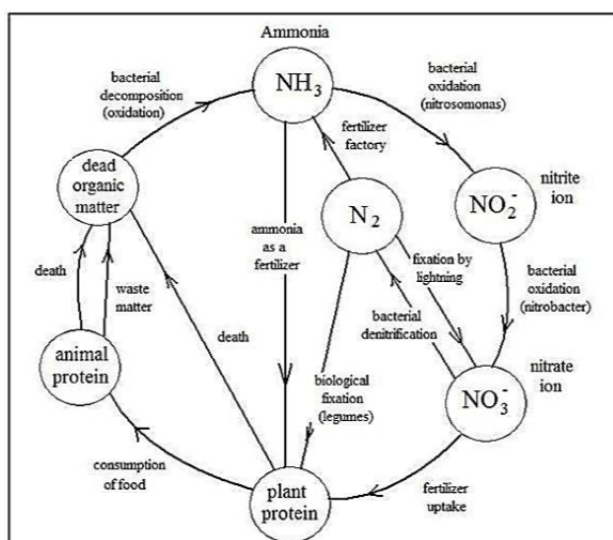
ไนเตรทและไนไตรท์เป็นสารที่นิยมใช้เป็นสารกันเสียในอาหารสำเร็จรูปประเภทเนื้อสัตว์และเป็นส่วนประกอบของปุ๋ยซึ่งใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของพืชหากใช้ในปริมาณมากและต่อเนื่องจะมีผลให้เกิดการสะสมในเนื้อเยื่อพืชโดยเฉพาะในผักที่รับประทานใบดังนั้นจึงมักพบไนเตรทและไนไตรท์ปริมาณสูงในผักบางชนิดเช่นผักโขม (Spinach) บล็อกโคลี (Broccoli) และผักกาดหัว (White radish) (Yau, 2008) แม้ไนเตรทและไนไตรท์จะเป็นสารปกติที่พืชสมควรได้รับอยู่แล้วแต่ถ้าผักไฮโดรโปนิกส์ได้รับสารอาหารปริมาณมากและต่อเนื่องเกินไปอาจทำให้มีปริมาณสารอาหารต่างๆสะสมอยู่มากจนทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ดังแสดงในตารางที่ 2.3

สารที่ควรจะต้องให้ความสำคัญคือเกลือไนเตรทและเกลือไนไตรท์ซึ่งเป็นส่วนประกอบของปุ๋ยอินทรีย์โปตัสเซียมไนเตรทและแคลเซียมไนเตรทในพืชผักต่างๆมีการใช้ปุ๋ยพวกไนเตรทเพิ่มมากขึ้นก็จะมีผลทำให้มีสารไนเตรทและไนไตรท์เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักของพืชที่ช่วยในการเจริญของลำต้นและใบพืชดังนั้นจึงพบไนเตรทและไนไตรท์มากในพืชที่บริโภคใบและหัว โดยเฉพาะระยะที่พืชผักถูกเก็บไว้เพื่อรอการบริโภคสารไนเตรทจะเปลี่ยนเป็นสารไนไตรท์โดยแบคทีเรีย (ภาพที่ 2.3) ซึ่งผักบางชนิดอาจมีไนไตรท์สูงถึง 3.6 กรัมต่อผักแห้ง 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 2.3 ข้อมูลผลกระทบต่อการร่างกายจากสารอาหารในปริมาณสูง

ธาตุอาหาร	ผลกระทบของสารอาหารต่อร่างกาย
ไนโตรเจน	เกลือไนเตรทและเกลือไนไตรท์จะเป็นสารตั้งต้นของไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในตับในระบบทางเดินอาหาร
ฟอสฟอรัส	ทำให้เกิด Hyperparathyroidism และ Resorption ของกระดูก
แคลเซียม	ทำให้ท้องผูกอัตราเสี่ยงต่อการเป็นโรคนิ่วสูงขึ้น
แมกนีเซียม	ถ้าไตไม่ดีจะพบ Hypermagnesemia
เหล็ก	เกิดภาวะ Hemochromatosis ทำลายเนื้อเยื่อที่เก็บสะสมเหล็กเช่นตับ
สังกะสี	เกิดภาวะขาดทองแดงเนื่องจากสังกะสีจะไปกระตุ้นเซลล์ลำไส้สร้าง Intestinal binding จับกับทองแดง

ที่มา : พนมพร (2545)

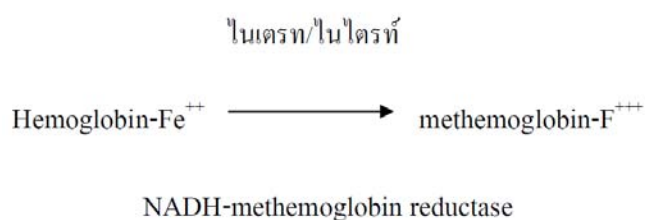


ภาพที่ 2.3 วัฏจักรไนโตรเจน

ที่มา : Harlan (2010)

2.7.1 อันตรายและความเป็นพิษของไนเตรทและไนไตรท์

สำหรับเด็กความเป็นพิษของไนเตรทและไนไตรท์เกิดจากเม็ดเลือดแดงของเด็กไม่มี เอ็นไซม์ เอ็นเอดีเอช เมธฮีโมโกลบินรีดักเตส (NADH-methemoglobin reductase) ซึ่งเปลี่ยน Methemoglobin (Ferric, Fe^{+3}) กลับเป็น Hemoglobin (Ferrous, Fe^{+2}) ดังแสดงในภาพที่ 2.4 เมื่อเด็กรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนไนเตรทเข้าไป แบคทีเรียในลำไส้จะเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ซึ่งสามารถดูดซึมได้และสร้าง Methemoglobin (ปณิธานและวินัย, ม.ป.ป.) เนื่องจาก Hemoglobin ถูกออกซิไดซ์ด้วยไนไตรท์เป็นเมธฮีโมโกลบินได้ดีและง่ายกว่า ดังนั้นการสะสมของ Methemoglobin จึงทำให้เด็กมีอาการขาดออกซิเจน ปวดศีรษะ หายใจหอบ หัวใจเต้นแรง และเร็วกว่าปกติ



ภาพที่ 2.4 ผลของสารไนเตรทและไนไตรท์ต่อฮีโมโกลบิน

ที่มา : พนมพร (2545)

เกลือไนโตรที่รวมตัวกับสารามีน (Amines) เกิดเป็นสารประกอบที่เรียกว่าไนโตรซามีน ซึ่งจะทำปฏิกิริยาได้ดีในสภาพความเป็นกรดสูงในกระเพาะอาหาร สารพิษไนโตรซามีนสามารถถูกดูดซึมไปทั่วร่างกาย และก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า เกลือไนเตรทเป็นสารตั้งต้นของสารก่อมะเร็ง สารไนโตรซามีนมี 4 ชนิดที่ได้รับการพิสูจน์ว่า เป็นสารก่อมะเร็งคือ ไดเมทิลไนโตรซามีน (Dimethylnitrosamine) ทำให้เกิดมะเร็งตับ ไดเอทิลไนโตรซามีน (Diethylnitrosamine) ทำให้เกิดมะเร็งในหลอดอาหารและตับ เมทิลเบนซิลไนโตรซามีน (Methylbenzyl nitrosamine) และเมทิลเฟนิล ไนโตรซามีน (Methylphenyl nitrosamine) ทำให้เกิดมะเร็งหลอดอาหาร ทั้งหมดนี้เป็นสมมติฐานของการรับประกันถึงความปลอดภัยของผักไฮโดรโปนิคส์เท่าที่ตรวจสอบได้ (พนมพร, 2545)

ธรรมศักดิ์ และคณะ (2545) ได้รายงานการสำรวจเบื้องต้นปริมาณไนเตรทตกค้างในผักกาดหอมสายพันธุ์ต่างประเทศที่ปลูกโดยไม่ใช้ดิน โดยเก็บตัวอย่างผักกาดหอมชนิดต่าง ๆ ในตลาดกรุงเทพฯ พบว่าผักกาดหอมมีการตกค้างของสารไนเตรทเกินค่าสูงสุดที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป (>2500 mg/Kg FW ในช่วงเดือนพฤษภาคม-ตุลาคม และ <3000 mg/Kg FW ในช่วงเดือนพฤศจิกายน - เมษายน) จำนวนร้อยละ 27, 81 และ 81 สำหรับตัวอย่างที่เก็บในฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อนตามลำดับ และชนิดของผักที่พบว่ามีสารสะสมของไนเตรทสูงกว่าผักชนิดอื่น ได้แก่ Red coral, Butter head, Ice berg ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เช่น ร่างกายค่อย ๆ อ่อนแอ และก่อให้เกิดมะเร็ง หรือร่างกายของผู้บริโภคบางรายเกิดอาการขาดออกซิเจนอย่างเฉียบพลันในเรทที่สะสมในผักอาจถูกกรดในกระเพาะอาหารเปลี่ยนเป็นไนโตรที่ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค Methemoglobinemia และยังสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งได้ในภายหลัง (มนูญ, 2544)

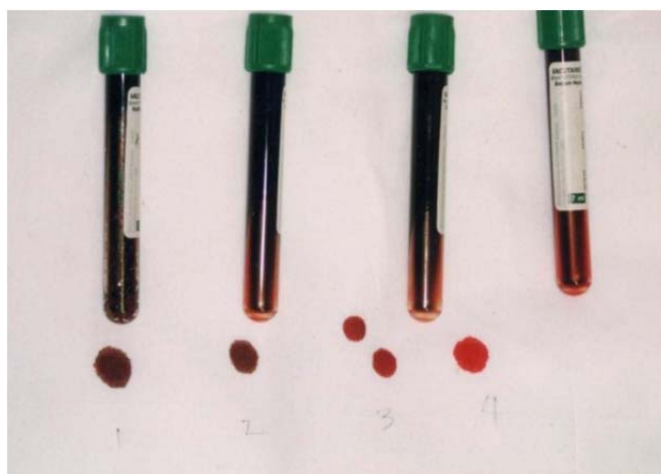
โรค Methemoglobinemia เป็นภาวะที่เม็ดเลือดแดงของร่างกายลดความสามารถในการขนส่งออกซิเจนลง เกิดจากการมี Methemoglobin มากกว่าปกติ คือ ไม่เกิน 3% ทำให้ Hemoglobin ไม่สามารถจับหรือปล่อยออกซิเจนได้ตามปกติ ความรุนแรงของอาการจะขึ้นกับปริมาณ Methemoglobin โดยอาจไม่มีอาการของโรค หรือผิวหนังหรือเยื่อบุมีสีคล้ำลง อ่อนแรง

หายใจหอบเหนื่อย หน้ามืด และอาจเสียชีวิตได้ อาการของโรคที่เกิดขึ้นตามปริมาณ Methemoglobin ดังแสดง ในตารางที่ 2.4 ซึ่งมีลักษณะสีของเลือดดังแสดงในภาพที่ 2.5

ตารางที่ 2.4 ปริมาณ Methemoglobin ในร่างกายและลักษณะอาการของโรค Methemoglobinemia

ปริมาณ Methemoglobinemia(%)	ลักษณะและอาการที่เกิดขึ้น
0 – 3	ไม่มีอาการ
3 – 15	สีผิวซีด เทา หรือคล้ำ
15 - 20	ริมฝีปากเขียว (Central cyanosis) เลือดมีสี Chocolate brown
20 – 25	ปวดศีรษะ หอบเหนื่อย วิงเวียน/เป็นลม อ่อนแรง ใจสั่น เจ็บแน่นหน้าอก
50 – 70	จังหวะการเต้นของหัวใจผิดปกติ ชัก หหมดสติ
มากกว่า 70	ผู้ป่วยอาจเสียชีวิตได้

ที่มา : จิตติมา และคณะ (2554)



ภาพที่ 2.5 ลักษณะสีของเลือดเมื่อมีปริมาณ Methemoglobin ในร่างกายต่าง ๆ กัน

1 และ 2 คือ มีปริมาณ Methemoglobin ในร่างกาย 70%

3 คือ มีปริมาณ Methemoglobin ในร่างกาย 20%

4 คือ มีปริมาณ Methemoglobin ในร่างกายในระดับปกติ

ที่มา : จิตติมา และคณะ (2554)

2.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรทและไนโตรท์

เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนโตรท์มีหลายวิธี ได้แก่

2.7.2.1 Spectrophotometry เป็นเทคนิคการวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล ช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190 – 1,000 nm ของสารเคมีนั้น ได้แก่ สารอินทรีย์ (Organic compound) สารประกอบเชิงซ้อน (Complex compound) หรือ สารอนินทรีย์ (Inorganic compound) โดยนำสารตัวอย่างใส่ในเซลล์ควอร์ตซ์ (Quart) แล้ววางในบริเวณใกล้แหล่งกำเนิดแสง สารตัวอย่างจะดูดกลืนรังสีหรือแสงบางส่วนไว้ แสงที่ไม่ดูดกลืนจะผ่านออกมายังเครื่องวัดแสง (Photomultiplier tube) เครื่องวัดแสงจะทำการวัดปริมาณแสงที่ออกมา โดยการหักล้างกับปริมาณของแสงก่อนดูดกลืน จากนั้นจะทำการประมวลผลเป็น Curve หรือ สเปกตรัมซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง(Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (ศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์, 2557)

พัชราภรณ์ และคณะ (2552) รายงานการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในผักคะน้าและผักกาดหอมด้วยเทคนิค Spectrophotometry ด้วยวิธี Brucine method (AOAC, 2000) และวิธี Salicylic (Cataldo และคณะ, 1975) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm เมื่อเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธีพบว่าสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในตัวอย่างพืชได้โดยไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ แต่วิธี Salicylic อาจไม่เหมาะสมสำหรับใช้วิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างพืชที่มีปริมาณไนเตรทน้อย

2.7.2.2 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) มีหลักการแยกสารคือของเหลวความดันสูงจะสร้างแรงพา (Impelling force) ดันสารต่าง ๆ ในสารตัวอย่างผ่านไปบนตัวกลางที่ไม่เคลื่อนที่หรือเคลื่อนที่ได้เล็กน้อย เรียกว่า เฟสนิ่ง (Stationary phase) ซึ่งเฟสนิ่งจะสร้างแรงหน่วง (Retention force) ต่อสารชนิดต่าง ๆ ซึ่งจะแตกต่างกันโดยขึ้นอยู่กับ ขนาด รูปร่าง ประจุ ความจำเพาะ การดูดซับ การละลาย ดังนั้นความแตกต่างกันของแรงหน่วง จึงทำให้โมเลกุลของสารแต่

ละชนิดเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ที่บรรจุเฟสนิ่งในเวลาหนึ่ง (Retention time) ที่แตกต่างกัน (ชูชาติ , ม.ป.ป.)

Sarah และคณะ (2005) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในอาหารสำหรับเด็กทารกที่มีส่วนประกอบของผักและผลไม้ด้วยเทคนิค Ion chromatography พบว่า มีค่าเฉลี่ย % Recovery ของไนเตรทระหว่าง 87 – 104% และมีค่าเฉลี่ย % Recovery ของไนไตรท์ระหว่าง 91 – 104% ซึ่งมีค่าอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ และพบว่าปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ของอาหารสำหรับเด็กทารกมีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์กำหนด

แต่เนื่องจากวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ดังกล่าวเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีการใช้สารเคมีที่มีอันตรายและมีราคาแพง ใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์นาน รวมทั้งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ต้องทำลายตัวอย่าง ดังนั้นเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดซึ่งเป็นเทคนิคการตรวจสอบโดยไม่ทำลาย ง่าย รวดเร็ว แม่นยำ เชื่อถือได้ สามารถตรวจสอบได้ในสายการผลิต ไม่ต้องการใช้สารเคมีหรือใช้น้อย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถวัดองค์ประกอบหรือสมบัติต่าง ๆ ของผลผลิตทางการเกษตรและอาหาร ในเชิงปริมาณได้ง่ายขึ้นและเป็นวิธีไม่ทำลายตัวอย่าง จึงเป็นเทคนิควิเคราะห์อีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ (ปานมนัส, 2556)

2.8 คะน่ำ

กะน่ำมีชื่อสามัญว่า Chinese kale มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* L. var *alboglabra* คะน่ำจัดอยู่ในกลุ่มผักใบเขียวที่มีคุณค่าทางโภชนาการและสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (ตารางที่ 2.5) จากการศึกษาในประชากรจำนวนมาก พบว่าการรับประทานอาหารที่มีผักใบเขียว เช่น คะน่ำ เป็นประจำจะลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง มะเร็งลำไส้ใหญ่ ปาก กระเพาะอาหาร ปอด และเต้านม นอกจากนี้คะน่ำยังมีแคลเซียมชนิดที่ดูดซึมในร่างกายได้ดี อยู่มากร ต่างจากแคลเซียมในปวยเล้งและนมวัวที่เป็นสารประกอบออกซาเลต ซึ่งที่ยากต่อการดูดซึมเข้าร่างกาย (พงษ์ศักดิ์, 2547)

ตารางที่ 2.5 คุณค่าทางโภชนาการต่อน้ำหนักสด 100 กรัม ของคะน้า

สารอาหาร	ปริมาณ
ไขมัน (กรัม)	0.45
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	6.8
ไฟเบอร์ (กรัม)	1.2
โปรตีน (กรัม)	2.85
แคลเซียม (กรัม)	237.5
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	58
เหล็ก (มิลลิกรัม)	2.0
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	0.10
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.13
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	93
วิตามินอี (มิลลิกรัม)	24
เบต้าแคโรทีน (RE)*	186.92

หมายเหตุ : * คือ RE หมายถึง Retinal Equivalent

ที่มา : ยวดีและคณะ (2541); ระพีพรรณ (2544)

2.9 ปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณค่าทางโภชนาการของผัก

คุณภาพของผักซึ่งรวมถึงคุณค่าทางอาหารหลังการเก็บเกี่ยวนั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับพันธุ์กรรมแล้วยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในระหว่างการปลูก ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และธาตุอาหาร (Beverly และคณะ, 1993; Salunkhe และคณะ, 1991)

2.9.1 แสง เป็นปัจจัยหลักในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตและสารอาหารของผักโดยปกติการสะสมวิตามินซีจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณแสงที่เพิ่มขึ้น (Weston และ

Brath, 1997) เพราะการเพิ่มแสงเป็นการส่งเสริมการสังเคราะห์แสงจึงทำให้มีการสะสมน้ำตาลเพิ่มขึ้น (Schreiner และคณะ, 2002) และพืชจะนำน้ำตาลที่ได้จากการสังเคราะห์แสงมาสังเคราะห์วิตามินซี (Lee และ Kader, 2000) ดังนั้นในสภาพที่มีความเข้มแสงต่ำส่งผลให้มีวิตามินซีในผักและผลไม้ต่ำ (Nagy และ Wardowski, 1988: Shewfelt, 1990)

2.9.2 อุณหภูมิ เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลอย่างมากต่อกระบวนการต่าง ๆ ของสรีรวิทยาของพืช เช่น การสังเคราะห์แสงและการหายใจ ส่งผลให้ผักที่ได้รับอุณหภูมิสูงระหว่างการเจริญเติบโตจะเก็บเกี่ยวได้เร็วและยังมีผลต่อมวลชีวภาพของพืช (สัมฤทธิ์, 2544) รสสุคนธ์ (2547) รายงานว่าคะน้าที่ปลูกในช่วงฤดูร้อนมีปริมาณไนโตรเจนสะสมสูงกว่าคะน้าที่ปลูกในฤดูฝนและฤดูหนาว สอดคล้องกับสุภาพร (2547) ที่รายงานว่าต้นคะน้าที่ปลูกในฤดูร้อนมีธาตุอาหารสะสมมากที่สุด รองลงมา คือ คะน้าที่ปลูกในฤดูหนาว และฤดูฝน ตามลำดับ

2.9.3 ธาตุอาหาร มีความสำคัญโดยตรงต่อพืช เพราะพืชจำเป็นต้องนำธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโตและสังเคราะห์สารอาหารต่าง ๆ ธาตุอาหารที่จัดเป็นธาตุหลักและมีอิทธิพลมากต่อองค์ประกอบทางเคมีในผัก ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม เป็นต้น

Sorenson (1984) และ Muller และ Hippe (1987) รายงานว่าปริมาณวิตามินซีในใบของกะหล่ำดอก ผักสลัด และปวยเล้งแปรผกผันกับปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น

Mozafar (1996) รายงานว่าการลดปริมาณไนโตรเจนก่อนเก็บเกี่ยวจะเพิ่มการสะสมปริมาณวิตามินซีในผักสลัด สอดคล้องกับนันท์ (2549) ที่รายงานว่าการงดการให้สารละลายธาตุอาหารก่อนการเก็บเกี่ยว 1- 2 วัน เพื่อลดความเข้มข้นของอนุมูลไนเตรท (NO_3^-) ทำให้ผักบึงมีวิตามินซีเพิ่มขึ้น

Babik และคณะ (1996) รายงานว่าการเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจนจาก 100 เพิ่มขึ้นเป็น 200 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ในการปลูก Brussels sprouts จะทำให้น้ำหนักแห้ง วิตามินซี และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่ถ้าให้ระดับไนโตรเจนมากกว่า 200 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์จะทำให้ปริมาณวิตามินซี และ

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Babik และ Elkner (2002) ที่รายงานว่า การเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจนจาก 100 – 400 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ให้กับบล็อกโคลีพบว่าการให้ไนโตรเจนมากกว่า 200 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลง

Xiao-feng และคณะ (2007) รายงานว่าการปลูกผักกาดหอมที่ใส่โพแทสเซียมมากกว่า 4 มิลลิโมลต่อลิตรจะทำให้น้ำหนักแห้งลดลง และการเพิ่มระดับความเข้มข้นของโพแทสเซียมทำให้ปริมาณไนเตรตลดลงในขณะที่ปริมาณวิตามินซีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

Chewya (1984) และ Elkner และ Kaniszewski (1995) รายงานว่าการให้ปริมาณไนโตรเจนสูงทำให้ปริมาณเส้นใยในคะน้าและกะหล่ำปลีเพิ่มขึ้น แต่บางรายงานกลับพบว่าการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนกลับทำให้ปริมาณเส้นใยลดลง (Sorenson, 1984)

2.10 การปลูกพืชไร้ดิน (Soiless Culture)

การปลูกพืชไร้ดิน หมายถึง วิธีการปลูกพืชโดยไม่ต้องใช้ดิน แต่จะใช้วัสดุอื่น ๆ แทน เช่น การปลูกพืชให้รากลอยอยู่ในอากาศ การปลูกพืชในสารละลาย หรือการปลูกพืชในวัสดุปลูก เช่น ทราย แกลบ และวัสดุอื่น ๆ โดยให้สารละลายธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตแก่รากโดยตรงในปริมาณที่เหมาะสมทดแทนธาตุอาหารที่มีอยู่ในดิน เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการปลูกในส่วนที่เกี่ยวข้องกับดิน เช่น ดินที่มีคุณภาพต่ำ มีความเค็มสูงหรือมีโรคระบาด อีกทั้งการปลูกพืชไร้ดินนี้ยังสามารถควบคุมคุณภาพและปริมาณของผลผลิตให้ได้ตามต้องการ

2.11 ความแตกต่างระหว่างการปลูกพืชบนดินตามธรรมชาติกับปลูกพืชไฮโดรโปนิคส์

ปกติแล้วพืชจะเจริญเติบโตได้ดินนั้นต้องมีปัจจัยสำหรับเจริญเติบโตที่เหมาะสม คือ แสง น้ำ ธาตุอาหาร อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง (pH) ออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ การปลูกพืชบนดิน แม้จะมีธาตุอาหารและอากาศอันเป็นปัจจัยที่พืชต้องการแต่ก็มักพบข้อเสีย เช่น ดินมีคุณภาพที่ไม่แน่นอนแตกต่างกันไปตามสภาพ เช่น โครงสร้างของดิน ปริมาณธาตุอาหารหรือความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ค่าความเป็นกรดต่างไม่เหมาะสม ปัญหาเหล่านี้ทำให้ได้ผลผลิตและคุณภาพที่ไม่สม่ำเสมอ

การปลูกพืชไฮโดรโปนิคส์ พืชจะได้รับสารละลายที่มีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืชที่อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันทีเพราะ มีการปรับค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity) และความเป็นกรดต่าง (pH) ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการไปใช้ประโยชน์ของพืชอยู่ตลอดเวลาพืชที่ปลูกอาจมีสารอาหารบางอย่างสะสมจนถึงขีดที่อาจจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคสหภาพยุโรป (European Union, EU) ได้ตั้งข้อบังคับของปริมาณสูงสุดของไนเตรท (Nitrate) ที่สะสมไว้ ณ พืชผัก ดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ปริมาณของไนเตรทในพืชผักตามข้อบังคับของสหภาพยุโรป (European Union, EU) ปี พ.ศ. 2536

พันธุ์พืช	ปริมาณไนเตรท (ม.ก. ไนเตรท/ก.ก. น้ำหนักสด)	
	พฤษภาคม-ตุลาคม	พฤศจิกายน-เมษายน
1. ผักกาดหอม (Lambs lettuce) (<i>Valerianella locusta</i> L.) (<i>Valerianella olitola</i> Poit)	2,500 (ใหม่)	3,000
2. ผักกาดฝอยก้านแข็ง (Endive) (<i>Cichorium endivia</i> L.)	2,500	3,000
3. หัวผักกาดแดง (Radish and small Radish) (<i>Raphanus sativus</i> L.)		3,000
4. หัวบีท (Beetroot) (<i>Beta vulgaris</i> L. var. <i>esculenta</i>)		3,000 (เดิม 3,500)
5. คื่นฉ่ายขาวและเขียว (White celery and green celery) (<i>Apium graveolens</i> L.)		4,000 (คื่นฉ่ายเขียวลดลงจาก 5,000)
6. มันฝรั่ง (Potatoes) (<i>Solanum tuberosum</i> L.)		2,000 (ใหม่)

ที่มา : ราเชนทร์ และคณะ (2548)