

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ค
สารบัญภาพ	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
2.1 น้ำตาลโตนด	3
2.2 ลักษณะทางสรีรวิทยาและนิเวศวิทยาของตาลโตนดสด	3
2.3 การเก็บเกี่ยวน้ำตาลโตนดสด	4
2.3.1 วิธีการเก็บน้ำตาลสดจากต้นตาลตัวผู้	5
2.3.2 วิธีการเก็บน้ำตาลสดจากต้นตัวเมีย	5
2.4 องค์ประกอบของน้ำตาลโตนดสด	5
2.5 จุลินทรีย์ในน้ำตาลโตนดสด	6
2.6 การป้องกันการเสื่อมคุณภาพของน้ำตาลโตนดสด	7
2.7 ไม่เคี่ยม	7
2.8 เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIR)	8
2.9 การวิเคราะห์ทางเคมีและทางกายภาพโดยใช้เทคนิค NIR	10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	15
3.1 วัตถุประสงค์	15
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์	15
3.3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	15
3.4 สารเคมี	16
3.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำตาลโตนดสด	16
3.6 การวัดสเปกตรัม NIR ของน้ำตาลโตนดสด	16
3.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนดสด	17
3.8 การสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนดสด	17

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	18
4.1 ค่าการวิเคราะห์ทางเคมีของน้ำตาลโตนดสด	18
4.2 ค่าการดูดกลืนแสง NIR ของน้ำตาลโตนดสด	18
4.3 สมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำตาลโตนดสด	20
4.4 สมการทำนายค่า pH ของน้ำตาลโตนดสด	22
4.5 สมการทำนายปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ของน้ำตาลโตนดสด	24
4.6 สมการทำนายปริมาณความชื้นของน้ำตาลโตนดสด	26
4.7 สมการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลโตนดสด	28
บทที่ 5 สรุป	30
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	33
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางเคมี	33
ภาคผนวก ข สูตรที่ใช้ในการคำนวณค่าทางเทคนิค NIR	43
ภาคผนวก ค ข้อมูลทางเคมี	45
ภาคผนวก ง ข้อมูลสเปกตรัม	48

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 องค์ประกอบของน้ำตาลโตนดสด	6
2 ประสิทธิภาพของสมการทำนาย โดยพิจารณาจากค่า R และ R^2	14
3 ค่าทางเคมีและค่าสถิติเบื้องต้นของน้ำตาลโตนดสด	18
4 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโตนดสด	20
5 ค่าทางสถิติของสมการทำนายค่า pH จากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโตนดสด	22
6 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณกรดที่ไต่เตรตได้จากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโตนดสด	24
7 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณความชื้นจากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโตนดสด	26
8 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโตนดสด	28
9 Invert sugar for 10 cm ³ of Fehling's solution	39
10 Invert sugar for 10 cm ³ of Fehling's solution (ต่อ)	40
11 Invert sugar for 25 cm ³ of Fehling's solution	41
12 Invert sugar for 25 cm ³ of Fehling's solution (ต่อ)	42

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แถบการดูดกลืนแสงในช่วง NIR	8
2 ระบบการวัด NIR	9
3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR	12
4 sample cell สำหรับใช้วัดสเปกตรัม NIR ของตัวอย่างน้ำตาลโดนดสด	16
5 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ของน้ำตาลโดนดสดจำนวน 104 ตัวอย่าง	19
6 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณของแข็ง	21
7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า TSS ที่วัดได้จริงกับค่า TSS ที่ทำนายได้	21
8 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนาย pH	23
9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ที่วัดได้จริงกับค่า pH	23
10 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนาย TA	25
11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า TA ที่วัดได้จริงกับค่า TA	25
12 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณความชื้น	27
13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณความชื้นที่วัดได้จริงกับค่าปริมาณความชื้น	27
14 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	29
15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จริงกับค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	29
16 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโดนดสด	45
17 การกระจายตัวของข้อมูล pH ที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโดนดสด	45
18 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณกรดที่ไต่เตรตได้ที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโดนดสด	46
19 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโดนดสด	46

20	การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณความชื้นที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโตนดสด	47
21	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ของน้ำตาลโตนดสด	48
22	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ของน้ำตาลโตนดสด	48
23	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ของน้ำตาลโตนดสด	49
24	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ของน้ำตาลโตนดสด	49
25	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D กับ SNV ของน้ำตาลโตนดสด	50
26	ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D กับ MSC ของน้ำตาลโตนดสด	50

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

การทำน้ำตาลโตนด เป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือนที่ดำเนินสืบทอดกันมาเป็นระยะเวลายาวนานในประเทศไทย แหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ที่จังหวัดเพชรบุรี วัตถุดิบที่สำคัญที่ใช้ผลิตน้ำตาลโตนดคือน้ำตาลสดจากงวงตาลและผลตาลอ่อน น้ำตาลสดที่เก็บได้นั้นสามารถนำไปผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย เช่น การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำตาลโตนดสดพร้อมบริโภค หรือนำไปผ่านกระบวนการต้มเคี่ยวด้วยความร้อนเพื่อผลิตเป็นน้ำตาลปีบ เป็นต้น แต่ปัญหาที่พบและส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์คือน้ำตาลสดซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตที่ได้จากการเก็บเกี่ยวนั้นมีความแปรปรวนทางด้านองค์ประกอบ ทำให้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นการวิเคราะห์น้ำตาลโตนดสดโดยการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ ฟิเคส ปริมาณกรดทั้งหมด และความชื้น จึงเป็นสิ่งสำคัญในการวัดคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำตาลโตนดแปรรูป

โดยปกติการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหาร ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ ฟิเคส ปริมาณกรดทั้งหมด และความชื้น จะใช้วิธีการทางเคมีซึ่งมีข้อเสียหลายประการ คือ ใช้ระยะเวลานานในการวิเคราะห์ สามารถวิเคราะห์ได้เพียงครั้งละองค์ประกอบ มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูง สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพและเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งหากสามารถหาวิธีที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้ครั้งละหลายองค์ประกอบ มีความรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ โดยไม่ใช้สารเคมีมาทดแทนการวิเคราะห์แบบดั้งเดิมได้ ก็จะเป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์น้ำตาลโตนดสด

เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near-Infrared Spectroscopy, NIR) เป็นเทคนิควิเคราะห์ที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นการวิเคราะห์แบบไม่ทำลาย (non-destructive analysis technique) ให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ รวดเร็ว ไม่ต้องใช้สารเคมี มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างต่ำ และสามารถวิเคราะห์ได้หลายองค์ประกอบในครั้งเดียว จึงเป็นเทคนิคที่น่านำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ ฟิเคส ปริมาณกรดทั้งหมด และความชื้นในน้ำตาลโตนดได้ โดยมีรายงานวิจัยมากมายที่แสดงถึงความสามารถและประสิทธิภาพของเทคนิค NIR ในการตรวจสอบปริมาณน้ำ น้ำตาล ฟิเคส และปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำผลไม้ เช่น น้ำส้ม (Cen และคณะ, 2007) น้ำเบย์เบอร์รี่ (Xie และคณะ, 2009) น้ำบ๊วย (Chen และคณะ, 2006) น้ำส้มสายชูที่ผลิตจากข้าว (Liu และคณะ, 2011) อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาถึงความสามารถในการใช้เทคนิค NIR ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทาง

เคมีของน้ำตาลโตนดมาก่อน ดังนั้น การศึกษาวิจัยเพื่อใช้เทคนิค NIR ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนดจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจและจะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมการเกษตรของประเทศไทย

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิธีการใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนดสด

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 น้ำตาลโตนด

น้ำตาลโตนด คือ น้ำตาลสดที่สามารถเก็บเกี่ยวได้จากงวงของต้นตาล ต้นตาลมีชื่อในภาษาอังกฤษว่า Palmyra Palm ชื่อในทางพฤกษศาสตร์ว่า *Borassus flabellifer* วงศ์ Palmae (วิญญู บุญยงค์, 2535) เป็นพืชตระกูลปาล์มที่มีแหล่งกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในทวีปแอฟริกา ต่อมาได้กระจายพันธุ์มายังอินเดียตอนใต้และภูมิภาคเอเชีย ได้แก่ ศรีลังกา กัมพูชา มาเลเซีย พม่า อินโดนีเซีย และสันนิษฐานว่าตาลโตนดแพร่เข้ามาแพร่พันธุ์ในประเทศไทยเนื่องจากการติดต่อค้าขายกับต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศอินเดีย จึงเห็นได้ว่าหัวเมืองที่เคยเป็นเมืองท่าที่สำคัญในอดีตมักมีต้นตาลเป็นจำนวนมาก อาทิ เพชรบุรี สุพรรณบุรี สงขลา นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี เป็นต้น จึงมีชื่อเรียกต่างกันตามท้องถิ่น

2.2 ลักษณะทางสรีรวิทยาและนิเวศวิทยาของตาลโตนดสด

ตาลโตนดเป็นไม้วงศ์ปาล์มเช่นเดียวกับมะพร้าว แต่ตาลโตนดมีความแข็งแรง ทนทาน และอายุยืนยาวกว่ามะพร้าวมาก โดยมีอายุยืนยาวประมาณ 80-100 ปี โตเต็มที่สูงประมาณ 2,700 เซนติเมตร (90 ฟุต) หรือมากกว่า มีเส้นรอบวงโคนต้นอยู่ระหว่าง 60-120 ซม. (2-4 ฟุต) และมีใบเป็นรูปพัด (Fan leaf) ขนาดใหญ่แข็ง และหนา โดยจะให้ผลผลิตหลังจากปลูกแล้วประมาณ 10-15 ปี ตาลโตนดขึ้นได้บนดินทุกชนิดทนทั้งความแห้งแล้ง และน้ำท่วม มีรากลึกมากโดยรากของตาลโตนดไม่แผ่ออกด้านข้าง จึงสามารถปลูกร่วมกับพืชอื่นได้ดี ตาลโตนดที่ขึ้นอยู่บริเวณนาข้าวก็ไม่ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันลมพายุ เป็นที่อยู่อาศัยของนกและค้างคาวซึ่งช่วยควบคุมแมลงและให้ปุ๋ยแก่ข้าวนาอีกด้วย ตาลโตนดที่ขึ้นอยู่โดยทั่วไปมีลักษณะและส่วนประกอบดังนี้ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544)

ราก รากเป็นเส้น เป็นกระจุกคล้ายมะพร้าว แต่หยั่งลึกลงไปในดินให้ลึกมาก ไม่แผ่ไปตามผิวดินเหมือนรากมะพร้าว จึงยึดกับดินได้ดี โอกาสที่จะโคนล้มหรือถอนรากเป็นไปได้น้อย จึงใช้ปลูกเพื่อเป็นหลักในการแบ่งเขตของคันนาหรือเพื่อเสริมความแข็งแรงให้กับดินในบริเวณที่ทำการท่อน้ำเข้านา

ลำต้น ตาลโตนดเป็นพืชลำต้นเดี่ยวที่มีลักษณะสูงชะลูด ความสูงโดยทั่วไปประมาณ 18-20 เมตร โตเต็มที่สูงประมาณ 25-27 เมตร (บางต้นสูงถึง 30 เมตร) ลำต้นตรงหรือโค้งเล็กน้อย โคนต้นอวบใหญ่วัดโดยรอบได้ประมาณ 1 เมตร เมื่อมีความสูงประมาณ 4 เมตร ลำต้นจะเริ่มเรียวยาว วัดโดยรอบได้ประมาณ 40 เซนติเมตร ระยะความสูง 10 เมตร นับจากพื้นดิน ลำต้นจะเริ่มขยายออกใหม่

วัดโดยรอบได้ประมาณ 50 เซนติเมตร และคงขนาดนี้ไปถึงยอด เปลือกลำต้นขรุขระ และมีสีซีดๆเป็นวงซ้อนๆกัน เป็นเสี้ยนแข็ง เหนียว ไม่หักง่าย ส่วนเนื้อไม้ภายนอกแข็งแรง และค่อยๆ อ่อนเข้าไปภายในลำต้น

ใบ มีลักษณะเป็นรูปพัด (fan leaf หรือ palmate) ขนาดใหญ่แข็งและหนา โดยแต่ละใบจะมีใบย่อยเรียกว่า segment ซึ่งจะแตกออกจากจุดๆ เดียวกันที่ปลายก้านใบ ยอดตาลแต่ละต้นประกอบด้วยใบตาลประมาณ 25-40 ใบ (แล้วแต่อายุตาล) ใบมีสีเขียวเข้มเป็นรูปใบพัด ใบแต่ละใบอายุไม่เกิน 3 ปี ตาลโตจนต้นหนึ่งๆ สามารถให้ใบตาลได้ 12-15 ใบต่อปี ส่วนที่เป็นก้านใบหรือทางตาลยาวประมาณ 1-2 เมตร ทางตาลนี้จะหนาโค้งตามความยาว รอบขอบทางตาลทั้งสองข้างมีหนามแหลมสั้น ขนาดไม่สม่ำเสมอ

ดอก ออกดอกเป็นช่อ โดยดอกตัวผู้และตัวเมียจะอยู่แยกต้นกัน ช่อดอกของต้นผู้เรียกว่า “งวงตาล” แตกแขนงออกเป็น 2-4 งวงต่อช่อ ยาวงวงละประมาณ 30-40 เซนติเมตร ในแต่ละงวงมีดอกเล็กๆ ต้นตัวผู้ต้นหนึ่งจะมีช่อดอก 3-9 ช่อ ส่วนช่อดอกของต้นตัวเมียเรียก “ปลีตาล” ต้นตัวเมียจะออกช่อหลังต้นตัวผู้เล็กน้อยมีประมาณ 10 ช่อ ขนาดใหญ่และชุ่มน้ำหวานมากกว่า ในแต่ละช่อจะมีดอกน้อยกว่าดอกตัวผู้ โดยทั้งต้นตัวผู้และต้นตัวเมียจะทยอยออกช่อเรื่อยๆสามารถเก็บร่อนน้ำตาลได้ตลอดปี

ผล จะออกกับต้นตัวเมียเท่านั้น ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกจนถึงเก็บผลอ่อนใช้เวลาประมาณ 75-80 วัน โดยผลจะออกเวียนรอบต้นตามก้านใบ โดยในแต่ละก้านใบจะออกหนึ่งปลี โดยแต่ละปลีจะให้ช่อดอกประมาณสามช่อ ในหนึ่งช่อให้ผลหนึ่งทะลาย โดยในแต่ละทะลายมี 10-20 ผล ผลอ่อนมีสีเขียว ผลแก่จัดมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำเป็นมัน เนื้อภายในเป็นเส้นใยละเอียด เมื่อสุกเต็มที่ประกอบไปด้วยแป้งและน้ำตาล มีสีเหลืองและมีกลิ่นหอม นิยมนำไปทำขนมตาล และใช้แต่งสีขนมต่างๆ โดยทั่วไปในแต่ละผลจะประกอบด้วยเมล็ดตาลสามเมล็ดอยู่ภายในผลเมล็ดมีลักษณะแบนๆยาวประมาณ 4 นิ้ว และหนาประมาณ 1.5 นิ้ว

2.3 การเก็บเกี่ยวน้ำตาลโตนดสด

น้ำตาลโตนดสดที่ได้จากช่อดอกส่วนที่เรียกว่า “งวงตาล” และ “ปลีตาล” ซึ่งทำให้น้ำหวานได้ทั้งสองชนิด โดยมีวิธีการในการเก็บเกี่ยวที่คล้ายกัน แตกต่างกันบ้างเฉพาะไม้ที่ใช้งวงและปลี ซึ่งของต้นตัวผู้จะใช้ไม้ขนาดที่แบนกว่าของต้นตัวเมีย โดยไม้ที่ใช้ขนาดเรียกว่า “ไม้คาบตาล” (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544)

2.3.1 วิธีการเก็บน้ำตาลสดจากต้นตาลตัวผู้

ขนาดของต้นตาลที่เหมาะสมในการเก็บน้ำหวาน คือ หลังจากที่ยอดงวงยาวประมาณ 50 เซนติเมตร ดอกบานพอประมาณ ให้รวบงวงตาลเข้าด้วยกัน ใช้ไม้คาบตาล บีบงวงตาลเบาๆ วันละครั้ง ทำติดต่อกันประมาณ 3-4 วัน หักปลายงวงทิ้งประมาณ 1 นิ้ว ใส่กระบอกล้างน้ำทิ้งไว้ประมาณ 3 คืน วันรุ่งขึ้นเทน้ำในกระบอกล้างทิ้งไว้ 1 คืน ทดลองปาดตาลโดยทำตอนเช้า ถ้ามีน้ำไหลซึมออกมาไม่หยุดถือว่าใช้ได้ โดยใช้กระบอกล้างน้ำตาลสด ซึ่งทำจากกระบอกล้างไม้ไผ่ใส่ไม้พยอม (*Shorea floribunda kurz.*) หรือไม้เคี่ยม (*Cotylelobium lanceolatum craih*) ที่ตัดเป็นชิ้นๆ ขนาด 3-5 กรัม แขนงรองรับน้ำตาลที่ไหลซึมออกมาจากงวงตาลนั้น แต่ถ้าปาดแล้วรอยแผลไม่มีน้ำไหลก็ใช้ไม่ได้ โดยไม้เคี่ยมหรือไม้พยอมจะช่วยป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ไม่ให้น้ำตาลสดบูด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544; เรณูภา แจ่มฟ้า, 2545; สุภารัตน์ เตียไพบุญ, 2547)

2.3.2 วิธีการเก็บน้ำตาลสดจากต้นตัวเมีย

ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บน้ำหวานคือ หลังจากช่อดอกบานเป็นจันทิงประมาณ 1 นิ้ว ทดลองปาดจันทิงดู ถ้ามีน้ำไหลออกมาไม่หยุดแสดงว่าใช้ได้ หลังจากนั้นใช้กระบอกล้างไม้ไผ่ที่มีการเติมไม้เคี่ยมหรือไม้พยอมประมาณ 3-5 กรัม แขนงรองรับน้ำตาลสดที่ซึมออกมา แต่ถ้าปาดแล้วไม่มีน้ำออกมาให้น้ำจันทิงในกระบอกล้างทิ้งไว้ 1 คืน วันรุ่งขึ้นเทน้ำในกระบอกล้าง ทดลองปาดหน้าตาลใหม่ ถ้าไม่มีน้ำไหลออกมาก็เปลี่ยนต้นใหม่ โดยทั่วไปเกษตรกรไม่นิยมเก็บน้ำหวานจากต้นตัวเมีย ส่วนใหญ่จะปล่อยให้ออกจันทิงติดผลเพื่อเก็บผลตาลเป็นทะลายมากกว่า (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544) ช่วงเวลาในการเก็บน้ำตาลโดนดอยู่ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงปลายเดือนพฤษภาคม โดยจะเก็บได้วันละ 2 ครั้ง ในช่วงเช้าและช่วงบ่าย หลังจากนั้นเกษตรกรจะหยุดเนื่องจากเป็นช่วงหน้าฝนมีฝนตกชุก และเป็นช่วงที่ต้นตาลให้ผลผลิตน้อยลง โดยเฉลี่ยต้นตาลตัวเมียจะให้น้ำตาลสดวันละ 4-5 ลิตรต่อต้น ส่วนต้นตาลตัวผู้จะให้น้ำตาลสดวันละ 3 ลิตรต่อต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544) น้ำตาลโดนดที่เก็บในตอนเช้าจะมีคุณภาพดีกว่าน้ำตาลโดนดที่เก็บในตอนเย็นเพราะอากาศในตอนกลางวันเย็นกว่าตอนกลางวัน ทำให้อัตราการเสื่อมคุณภาพของน้ำตาลโดนดในตอนกลางวันเป็นไปได้ช้า นอกจากนี้พบว่า การเก็บน้ำตาลโดนดในตอนเช้าให้ปริมาณมากและมีความหวานสูงกว่าการเก็บน้ำตาลโดนดในช่วงบ่ายอีกด้วย (เกียรติบุญ, 2527)

2.4 องค์ประกอบของน้ำตาลโดนดสด

จากตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลโดนดสด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544) ทั้งนี้ระยะเวลาในการรองรับน้ำตาลโดนดที่ต้น จะส่งผลถึงคุณภาพน้ำตาลโดนดสด โดยเมื่อใช้ระยะเวลา

รองรับจนถึงระยะเวลาก่อนการวิเคราะห์หาค่าพีเอชของน้ำตาลโตนดสดเริ่มลดลงและค่าปริมาณกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์พวกแลกติกแอซิกแบคทีเรียที่มีปริมาณมากขึ้น และใช้น้ำตาลเป็นอาหารผลิตกรดแลกติกเพิ่มมากขึ้นนั่นเอง (เรณูภา แจ่มฟ้า, 2545; สุภารัตน์ เตียไพบูลย์, 2547)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของน้ำตาลโตนดสด

องค์ประกอบของน้ำตาลโตนดสด	ค่าที่วิเคราะห์ได้
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด	ร้อยละ 11.54
น้ำตาลซูโครส	ร้อยละ 13-17
น้ำตาลกลูโคส	ร้อยละ 0.78
โปรตีน	ร้อยละ 0.02-0.03
พีเอช	ร้อยละ 4.69
ปริมาณกรดทั้งหมด	ร้อยละ 0.098
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้	13.93°บrix

2.5 จุลินทรีย์ในน้ำตาลโตนดสด

Faparsui และ Barsir (1971) ศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำตาลสดที่ปล่อยให้เกิดการหมักเป็นเวลา 7 วัน พบว่าภายใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมักจุลินทรีย์ที่มีบทบาทมากคือ *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp. และ *Saccharomyces cerevisiae* หลังจาก 48 ชั่วโมงจะตรวจพบ *Acetobacter* sp. และหลังจาก 72 ชั่วโมงหลักการหมักจะเริ่มตรวจพบเชื้อยีสต์อีกกลุ่มหนึ่งซึ่งประกอบด้วย *Pichia* sp., *Schizosaccharomyces pombe* และ *Candida mycoderma* นอกจากนี้ยังพบเชื้อราพวก *Aspergillus flavus*, *Mucor* sp. และ *Rhizopus* sp.

Faparsui และ Barsir (1971) รายงานว่าน้ำตาลสดมีพีเอชอยู่ในช่วง 7.0-7.2 ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ *Lactobacillus* sp. และ *Leuconostoc* sp. โดยตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดในน้ำตาลสดภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พีเอชจะลดลงเหลือ 4.5 ซึ่งภายใต้สภาวะนี้ *Saccharomyces cerevisiae* จะเจริญได้ดีที่สุด แต่หลังจากการหมักได้ 3 วัน แอลกอฮอล์ที่ถูกสร้างขึ้นโดยยีสต์จะมีมากเพียงพอมีผลทำให้ *Acetobacter* sp. เจริญ และเมื่อแบคทีเรียชนิดนี้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น น้ำตาลสดนั้นก็จะมีรสเปรี้ยวไม่เหมาะสมจะใช้ดื่มอีกต่อไป ส่วน Okafor (1975) รายงานว่าในน้ำตาลเมาที่ได้จากต้นปาล์มจากประเทศไนจีเรียมีแบคทีเรียที่พบบ่อย 5 จี นั ส (genus) ได้แก่ *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* และ

Acetobacter ส่วนแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่พบ ได้แก่ Serratia และ Aerobacter จะสร้างกรดทำให้ พีเอชของน้ำตาลลดลงจาก 7.0 เหลือประมาณ 4.5 นอกจากนี้จากการศึกษาของ Okafor (1972) แยกยีสต์จากน้ำหมักที่ได้จากการหมักน้ำตาลสดของปาล์มในสกุล Elaeis และ Raphia ซึ่งเก็บจากสถานที่ต่างกัน พบยีสต์ทั้งหมด 17 สายพันธุ์ โดยที่เป็นยีสต์ในสกุลของ Saccharomyces 12 สายพันธุ์ Candida 4 สายพันธุ์ และ Endomycopsis 1 สายพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบว่า ชนิดของยีสต์ในไวน์ไม่ขึ้นอยู่กับชนิดของปาล์ม และสถานที่เก็บน้ำตาลสด ยีสต์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำตาลโดนดโดยจะทำให้เกิดกลิ่นรสของน้ำตาลสด ซึ่งเกิดการหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งมีประโยชน์ในการทำน้ำตาลเมา แต่มีผลเสียต่อคุณภาพน้ำตาลสดโดยจะเกิดฟอง มีกลิ่นเหม็น และสูญเสียปริมาณน้ำตาล (Faparusi, 1973)

2.6 การป้องกันการเสื่อมคุณภาพของน้ำตาลโดนดสด

เนื่องจากการรองรับน้ำตาลโดนดสดจากต้น จะต้องใช้เวลานานกว่า 8-10 ชั่วโมง ดังนั้นจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย และราที่ปนเปื้อนอยู่ในสภาพแวดล้อมมีโอกาสเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาที่รองรับน้ำตาลโดนดสดทำให้เกิดการเสื่อมสภาพคุณภาพ มีรสเปรี้ยว เป็นเมือก มีฟองและมีปริมาณน้ำตาลลดลง วิธีที่ง่ายที่สุดในการป้องกันการเสื่อมคุณภาพของน้ำตาล คือ การทำความสะอาดภาชนะที่จะนำไปร่อนน้ำตาลโดนดสดก่อนโดยการร่อนด้วยน้ำร้อนการลวกอาจใช้น้ำตาลโดนดสดที่กำลังเคี่ยวเดือดลวกภาชนะก็ได้ แต่ต้องมีที่คว่ำที่เหมาะสมเพื่อป้องกันแมลงหรือมดรบกวน (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2521)

2.7 ไม้เคี่ยม

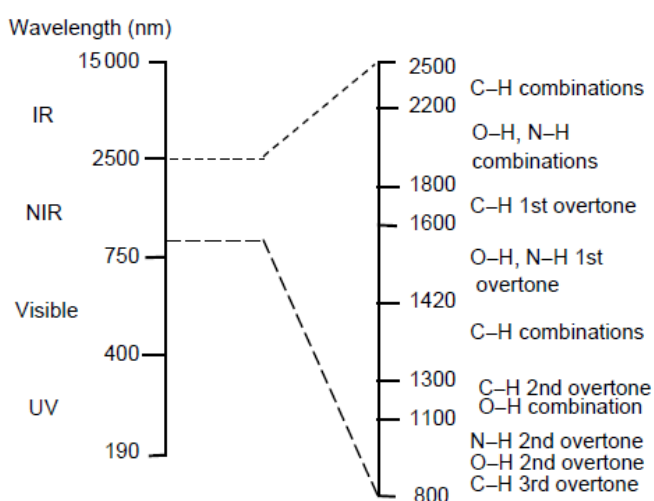
ไม้เคี่ยม (*Cotyleobium lancetatum* craih) พบมากในภาคใต้ของประเทศไทย ขึ้นส่วนของไม้จากต้นเคี่ยมที่แช่อยู่ในน้ำตาลสดสามารถป้องกันและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการหมักได้ โดยทั่วไปสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (antimicrobial) พบตามธรรมชาติในพืช สามารถชะลอการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหารได้ สารประกอบโพลีฟีนอลิก (polyphenolic compounds) ในพืชสมุนไพร (herbaceous plant) และไม้ยืนต้น (woody plant) มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Chanthachum และ Beuchat, 1997)

Balange และ Benjakul (2009) พบว่าแทนนินเป็นองค์ประกอบหลักที่พบในสารสกัดไม้เคี่ยม และเมื่อเปรียบเทียบการสกัดไม้เคี่ยมด้วยน้ำกับการสกัดด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดไม้เคี่ยมจากน้ำและเอทานอลมีปริมาณแทนนิน 251.90 และ 456.30 mg/g ตามลำดับ

Chanthachum และ Beuchat (1997) ศึกษาผลของสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่สกัดด้วยน้ำเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) และจุลินทรีย์จากน้ำตาลโตนด (sugar palm sap) พบว่า การใช้สารสกัดไม้เคี่ยม 0.2% (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Acetobacter*, *Flavoacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus* และ *Saccharomyces* จากน้ำตาลสดได้ และสารสกัดจากไม้เคี่ยมสามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* ได้

2.8 เทคนิคสเปกโตรสโคปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIR)

รังสีอินฟราเรดย่านใกล้ (near infrared, NIR) เป็นสเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 780-2500 nm ($12500-4000\text{ cm}^{-1}$) แสดงดังภาพที่ 1 พันธะภายในโมเลกุลที่สามารถดูดกลืนรังสีอินฟราเรดประกอบด้วยพันธะ O-H, C-H, C-O และ N-H ซึ่งพันธะเหล่านี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงพลังงานการสั่นเมื่อถูกรังสี NIR เนื่องจากความถี่ของรังสีนั้นตรงกับความถี่เฉพาะของโมเลกุลจึงทำให้โมเลกุลเกิดการสั่น ส่งผลให้มีการถ่ายโอนพลังงานทั้งหมดจากรังสีไปยังโมเลกุลซึ่งสามารถวัดได้โดยแสดงผลในรูปแบบของกราฟพลังงานกับความยาวคลื่นที่เรียกว่า สเปกตรัม ทั้งนี้รูปแบบการสั่นที่ปรากฏในพันธะเหล่านี้ประกอบด้วยการสั่นแบบยืด (stretch vibration) และการสั่นแบบงอ (bent vibration) (Nicolai และคณะ, 2007; Osborne, 2007; Lui และคณะ, 2009; Cozzolino และคณะ, 2011; Xie และคณะ, 2011)



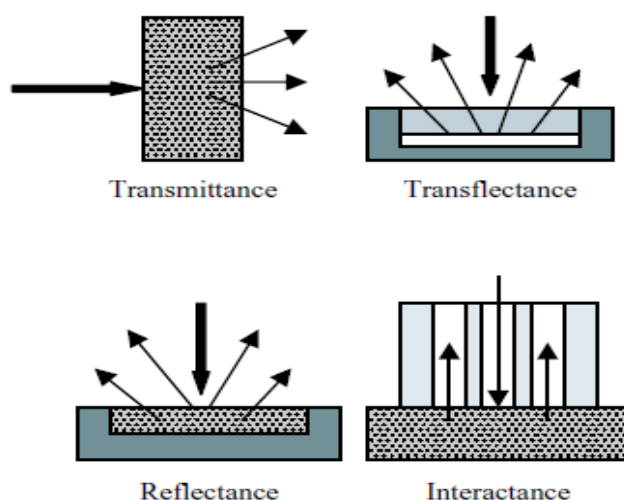
ภาพที่ 1 แถบการดูดกลืนแสงในช่วง NIR

ที่มา: Osborne (2007)

เมื่อรังสี NIR ผ่านเข้าไปในตัวอย่างอาจเกิดการถูกสะท้อน (reflected) ดูดกลืน (absorbed) หรือส่องผ่าน (transmitted) ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพของตัวอย่าง โดยส่วนใหญ่การดูดกลืนแสงในย่าน NIR ของสเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้าจะเป็นแถบโอเวอร์โทน (overtone) หรือคอมบิเนชัน (combination) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงแบบสั่น (vibrational) และแบบหมุน (rotational) ในกรณีตัวอย่างประกอบด้วยสารโมเลกุลใหญ่และสารประกอบที่มีความซับซ้อนอย่างเช่น อาหาร จะทำให้ได้เส้นสเปกตรัมที่มีลักษณะ multiple bands และพีกมีลักษณะกว้างเตี้ย

ความยาวคลื่นในย่าน NIR สามารถแบ่งได้เป็น 2 ช่วง คือ ช่วงคลื่นสั้นที่มีความยาวคลื่น 780-1100 nm และช่วงคลื่นยาวที่มีความยาวคลื่น 1100-2500 nm การเลือกช่วงความยาวคลื่นนั้นต้องคำนึงถึงพลังงานและองค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการวิเคราะห์ ทั้งนี้ปริมาณพลังงานในสเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้าเพิ่มขึ้นเมื่อความยาวคลื่นลดลง กล่าวคือช่วงคลื่นสั้นจะมีพลังงานมากกว่าช่วงคลื่นยาว ดังนั้นถ้าต้องการวัดองค์ประกอบทางเคมีที่อยู่ลึกเข้าไปในเนื้อผลไม่ควรใช้ช่วงคลื่นสั้น ในทางกลับกันถ้าต้องการวิเคราะห์องค์ประกอบที่อยู่บริเวณผิวควรใช้ช่วงคลื่นยาว

ระบบที่ใช้วัด NIR ในปัจจุบันมี 4 แบบ คือ ระบบสะท้อนแสง (reflectance) ระบบส่องผ่านแสง (transmittance) ระบบอินเทอร์แอคแทนซ์ (interactance) และระบบส่องผ่านสะท้อน (transflectance) ซึ่งวิธีการวัดแต่ละแบบขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างและองค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ (ภาพที่ 2) (Ozaki และคณะ, 2007)



ภาพที่ 2 ระบบการวัด NIR

ที่มา: Ozaki และคณะ (2007)

2.9 การวิเคราะห์ทางเคมีและทางกายภาพโดยใช้เทคนิค NIR

เทคนิค NIR เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถทดแทนการวิเคราะห์ทางเคมี (wet chemistry) ได้ โดยเป็น secondary method ที่สามารถใช้ตรวจสอบทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพโดยอาศัยการคำนวณหรือการสร้างสมการจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวัดด้วยเครื่อง NIR กับปริมาณหรือชนิดขององค์ประกอบที่ต้องการทำนายซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน (reference or standard method) ดังนั้นความแม่นยำในการทำนายค่าจึงขึ้นกับความถูกต้องของค่าทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ อีกทั้งยังสามารถใช้วัดคุณสมบัติของคุณภาพที่ซับซ้อนอย่างเช่น ลักษณะเนื้อสัมผัส และคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสได้ NIR เป็นเทคนิคที่มีความรวดเร็วในการวัดค่า ประหยัดเวลาการวัดในทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิตอาหาร ตั้งแต่การวิเคราะห์วัตถุดิบไปจนกระทั่งถึงการตรวจสอบผลิตภัณฑ์สุดท้าย มีความเชื่อถือได้ ไม่ทำลายตัวอย่าง วิธีการเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยาก ปราศจากการใช้สารเคมี สามารถวิเคราะห์ได้หลายองค์ประกอบในเวลาเดียวกัน (Jha และ Matsuoka, 2004; Woodcock และคณะ, 2007; Osborne, 2007; Liu และคณะ, 2011; Penchaiya และคณะ, 2009; Moghimi และคณะ, 2010)

สำหรับการเลือกตัวอย่างที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการสร้างสมการทำนายค่า (calibration) นั้นต้องเลือกจากกลุ่มตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของตัวอย่างที่จะนำมาใช้วิเคราะห์หาค่าทางเคมีในอนาคต โดยมีกระบวนการในการจัดการตัวอย่างเหมือนกับตัวอย่างในอนาคต กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ควรมีองค์ประกอบที่สนใจในช่วงกว้าง มีแหล่งกำเนิดที่หลากหลาย และมีจำนวนตัวอย่างที่มากเพียงพอ (Ozaki และคณะ, 2007)

เมื่อทำการวัดการดูดกลืนแสง NIR ของตัวอย่างจะได้เส้นสเปกตรัมที่แสดงค่าการดูดกลืนแสงของโมเลกุลต่างๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างที่แต่ละความยาวคลื่น แต่เนื่องจากสเปกตรัมที่ได้จากการวัดการดูดกลืนแสง NIR ของตัวอย่างนั้นเกิดจากการรวมตัวกันของโอเวอร์โทนและคอมบินेशनของกลุ่มฟังก์ชันต่างๆ อีกทั้งการรวมกันขององค์ประกอบเชิงซ้อนทางเคมีที่อาจมีอยู่ในตัวอย่างทำให้สเปกตรัม NIR มีความซับซ้อนมาก นอกจากนี้สเปกตรัม NIR ยังอาจซับซ้อนมากขึ้นจากการกระเจิงแสง ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง สัญญาณรบกวนในเครื่องมือ สภาพแวดล้อม และแหล่งความแปรปรวนอื่นๆ จึงทำให้สเปกตรัมที่มีลักษณะ multiple bands และพีกมีลักษณะกว้างเดี่ยว นอกจากนี้ น้ำซึ่งเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของอาหารสดนั้นยังมีการดูดกลืนรังสี NIR เป็นอย่างสูง ดังนั้นสเปกตรัม NIR ที่ได้มักถูกบดบังด้วยน้ำ ส่งผลให้การระบุความยาวคลื่นจากการดูดกลืนแสงของกลุ่มฟังก์ชันเฉพาะเพื่อจำแนกองค์ประกอบทางเคมีเป็นไปได้ยาก ดังนั้นจึงมีการใช้เทคนิคทางสถิติแบบตัวแปรพหุ (multivariate statistical technique) หรือที่เรียกว่า เคมีเมทริกซ์ (chemometrics) เพื่อแยกข้อมูลลักษณะคุณภาพที่ฝังอยู่ในเส้นสเปกตรัม โดยเทคนิคนี้เป็นการใช้การวิเคราะห์ความถดถอย

ร่วมกับการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์ ซึ่งเทคนิคการปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์ใช้เพื่อกำจัดข้อมูลที่ไม่เกี่ยวข้อง เนื่องจากเทคนิคการวิเคราะห์ความถดถอยไม่สามารถกำจัดข้อมูลดังกล่าวนี้ได้ การปรับแต่งสเปกตรัมมีหลายวิธียกตัวอย่างเช่น

- การหาค่าเฉลี่ย (averaging) เป็นการหาค่าเฉลี่ยสเปกตรัม มักดำเนินการระหว่างการวัดสเปกตรัมเพื่อลดสัญญาณรบกวนที่อาจเกิดขึ้นจากความร้อนของเครื่องตรวจจับสัญญาณ จำนวนครั้งในการสแกนขึ้นอยู่กับการใช้งาน

- การปรับเรียบ (smoothing) เทคนิคการปรับให้เรียบใช้เพื่อกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากสเปกตรัม NIR ประกอบด้วยวิธี moving average filters และวิธีปรับเรียบแบบซาวิตซ์กีโกเลย์ (Savitzky-Golay smoothing) การปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีนี้จะทำให้สามารถสังเกตเห็นได้ว่าเส้นสัญญาณสเปกตรัมมีความเรียบมากขึ้น

- การปรับแก้การกระเจิงแบบผลคูณ (multiple scatter correction, MSC) ช่วยให้เราสามารถลดผลกระทบแบบผลบวก (additive effect) และแบบผลคูณ (multiplicative effect) ในข้อมูลสเปกตรัม ทั้งนี้ระดับการกระเจิงแสงขึ้นอยู่กับความยาวคลื่นของรังสี ขนาดอนุภาค และดัชนีการหักเห วิธีนี้ช่วยให้สามารถลดผลกระทบได้ด้วยการปรับค่าการดูดกลืนแสงเพื่อให้มีค่าตรงกับสเปกตรัมเฉลี่ย

- การปรับความแปรปรวนให้เป็นมาตรฐาน (standard normal variate, SNV) เป็นเทคนิคที่สามารถกำจัดอิทธิพลของการกระเจิงแสงออกจากสเปกตรัมได้อีกเทคนิคหนึ่ง แต่ต่างกับเทคนิค MSC คือไม่ต้องใช้สเปกตรัมเฉลี่ยเป็นค่าอ้างอิง เทคนิค SNV ทำโดยปรับแก้สเปกตรัมแต่ละเส้นให้มีค่าการดูดกลืนเป็นมาตรฐานเดียวกัน (normalization) คล้ายกับการคำนวณค่ามาตรฐานหรือค่า z ในทางสถิติ ดังนี้

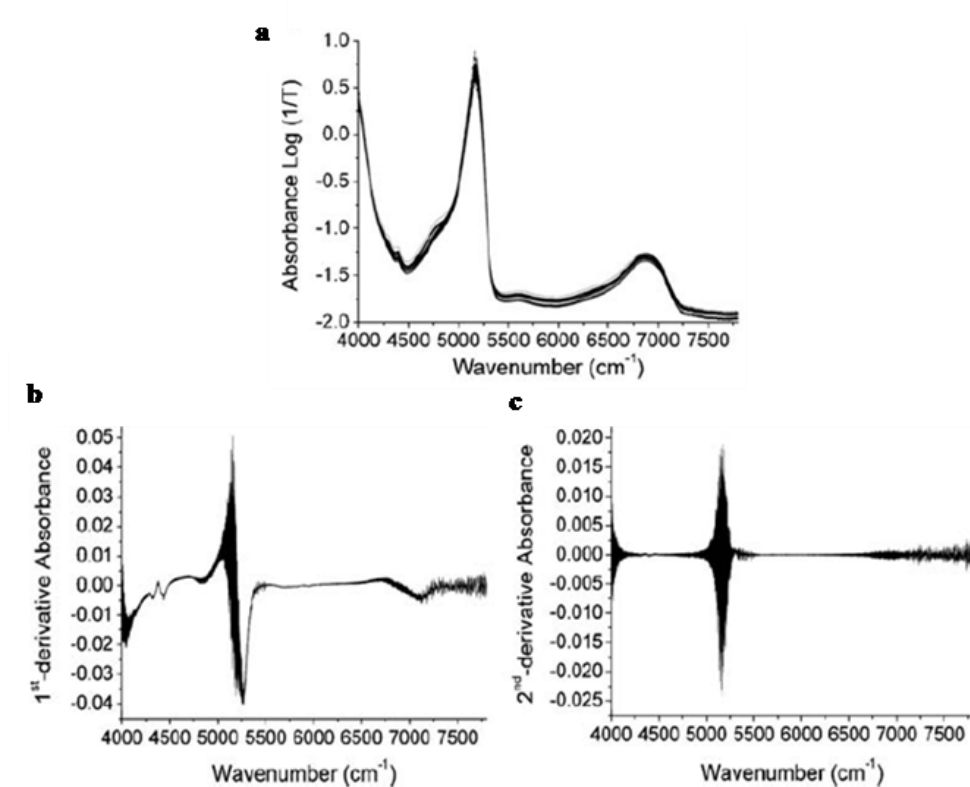
$$A_{i(SNV)} = \frac{(A_i - \bar{a}_i)}{\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^p (A_{i,j} - \bar{a}_i)^2}{(p-1)}}$$

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

$\bar{a}_i$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนตลอดช่วงสเปกตรัมของตัวอย่าง i

การหาค่าอนุพันธ์ (derivative) การหาค่าอนุพันธ์ของสเปกตรัมมีประโยชน์ในแก้ปัญหาการเลื่อนขึ้นของสเปกตรัม (baseline shift) และการซ้อนทับกันของจุดยอด (ภาพที่ 3) โดยวิธีอนุพันธ์

อันดับหนึ่ง (first derivative, 1D) ช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าคงที่เพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่น (baseline offset) ส่วนวิธีอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative, 2D) จะนิยมใช้ช่วยลดผลกระทบจากการกระเจิงแสง ทั้งที่เป็นผลเชิงบวกและผลเชิงคูณ (อนุพันธ์, 2552; Nicolai และคณะ, 2007; Xie และคณะ, 2011; Cozzolino และคณะ, 2011)



ภาพที่ 3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR โดย (a) สเปกตรัมเริ่มต้น, (b) สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับหนึ่ง และ (c) สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง
ที่มา: Liu และคณะ (2011)

สำหรับขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมเพื่อสร้างสมการทำนายค่าประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ ขั้นตอนการสร้างสมการทำนายค่า (calibration) และขั้นตอนการตรวจสอบความถูกต้องของสมการทำนายค่าที่สร้างขึ้น (validation)

(1) การสร้างสมการทำนายค่า (calibration) เป็นบทบาทสำคัญของการใช้เทคนิค NIR เพราะเป็นตัวกำหนดพฤติกรรมของระบบโดยตรง ที่แสดงถึงความถูกต้องแม่นยำของการทำนายค่าและการแบ่งกลุ่มตัวอย่าง (Lin และ Ying, 2009) ขั้นตอนการสร้างสมการเริ่มจากนำตัวอย่างในกลุ่มสร้างสมการมาวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค NIR และวิธีมาตรฐาน (reference method) จากนั้นนำข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง (ตัวแปรอิสระ) และข้อมูลค่าคุณภาพ (ตัวแปรตาม) มาหาความสัมพันธ์ด้วยเทคนิคทางสถิติ เช่น วิธี partial least squares regression (PLS) เพื่อสร้างสมการทำนายที่ใช้ในการทำนายค่าคุณภาพที่ต้องการศึกษา (กรกช, 2553) ประสิทธิภาพของสมการทำนายค่าสามารถพิจารณาได้จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation, R) หรือค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) ควรมีค่าเข้าใกล้ 1 และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการ (standard error of calibration, SEC) ควรมีค่าต่ำ (รณฤทธิ์, 2552) สำหรับการสร้างสมการทำนายเชิงปริมาณนิยมใช้เทคนิค step multiple linear regression (SMLR), principle component regression (PCR), partial least square regression (PLSR), artificial neural network (ANN) ส่วนการสร้างสมการทำนายเชิงคุณภาพนิยมใช้เทคนิค linear discriminant analysis (LDA), principle component analysis (PCA), K-nearest neighbors (KNN), cluster analysis (CA), discriminating partial least square (DPLS), soft independent modeling of class analogy (SIMCA), artificial neural network (ANN) และ support vector machine (SVM) (Cen และ He, 2007)

(2) การตรวจสอบความถูกต้องของสมการทำนายค่า (validation) การตรวจสอบความถูกต้องของสมการที่สร้างขึ้นด้วยกลุ่มตัวอย่างตรวจสอบความถูกต้องเพื่อใช้ในการวัดประสิทธิภาพความแม่นยำในการทำนายค่าคุณภาพของสมการ และเพื่อตรวจสอบความถูกต้องของสมการ อีกทั้งเป็นการกำหนดจำนวนตัวแปรที่ใช้ในการสร้างสมการทำนายเพื่อหลีกเลี่ยงการมีตัวแปรในสมการมากเกินไปซึ่งทำให้สมการไม่น่าเชื่อถือ (overfitting) (Cen และ He, 2007; Cozzolino และคณะ, 2011) วิธีการตรวจสอบความถูกต้องที่นิยมใช้ในเทคนิค NIR 2 วิธีคือ 1) วิธี full cross validation เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของสมการที่สร้างขึ้น โดยเป็นการตรวจสอบภายใน (internal validation) ซึ่งกลุ่มตัวอย่างที่นำมาใช้ในการตรวจสอบต้องเป็นตัวอย่างชุดเดียวกับตัวอย่างในกลุ่มสร้าง การตรวจสอบความแม่นยำด้วยวิธีนี้มักใช้กับการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ PLS และใช้กับกรณีที่มีตัวอย่างจำนวนน้อย 2) วิธี prediction testing เป็นวิธีการทดสอบโดยนำตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบความถูกต้อง (test set) มาประเมินค่าของสมการทำนายที่สร้างขึ้น โดยตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบความถูกต้องที่นำมาวิเคราะห์ต้องมีวิธีการเตรียมตัวอย่าง การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัม สภาวะในการทดลอง รวมถึงวิธีการแปลงข้อมูลสเปกตรัมเหมือนกับชุดข้อมูลของตัวอย่างใน

กลุ่มสร้างสมการและที่สำคัญตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบความถูกต้องจะต้องมีค่าคุณภาพที่ต้องการประเมินอยู่ในช่วงของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการ การตรวจสอบความแม่นยำในลักษณะนี้เรียกว่า การทดสอบแบบภายนอก (external validation) (สุพรรณิกา, 2548) ค่าสถิติที่ใช้ในการประเมินประสิทธิภาพความเหมาะสมต่อการนำไปใช้งานของสมการทำนายคือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการ (standard error of prediction, SEP) และค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย (bias) ซึ่งควรจะมีค่าต่ำ และค่า R^2 ควรมีค่าเข้าใกล้ 1 จึงจะทำให้สมการที่สร้างขึ้นมีความเหมาะสมต่อการนำเทคนิค NIR ไปประยุกต์ใช้ในการทำนายองค์ประกอบของตัวอย่างในอนาคต (ธงชัยและปิติพร, 2552)

การประเมินผลความสามารถของสมการทำนายสามารถอธิบายได้จากค่าสถิติ R และ R^2 แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสมการทำนาย โดยพิจารณาจากค่า R และ R^2

R	R^2	ประสิทธิภาพของสมการทำนาย
± 0.5	0.25	ไม่ควรใช้ในการทำนาย
$\pm 0.51-0.70$	0.26-0.49	ความสัมพันธ์ไม่ดีพอ
$\pm 0.71-0.80$	0.50-0.64	สามารถใช้คัดเลือกเบื้องต้นได้
$\pm 0.81-0.90$	0.65-0.81	สามารถใช้ในการคัดเลือกหรือประมาณค่าเบื้องต้น
$\pm 0.91-0.95$	0.82-0.90	สามารถใช้ตรวจคุณภาพได้
$\pm 0.96-0.98$	0.92-0.96	สามารถใช้ในงานประกันคุณภาพได้
± 0.99 ขึ้นไป	0.98 ขึ้นไป	สามารถใช้ได้กับทุกงาน

ที่มา: ดัดแปลงจาก William (2007)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

น้ำตาลโตนดสด จากสวนตาลโตนดต่างๆ จังหวัดเพชรบุรี นำมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อกำจัดเศษไม้ และสิ่งแปลกปลอมต่างๆ จากนั้นจึงนำไปต้มจนเดือดด้วยกระทะไฟฟ้า แล้วทำให้เย็นลงทันที บรรจุในถุงพลาสติก เก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิประมาณ -18°C จนกว่าจะนำออกมาเตรียมตัวอย่างและทำการวิเคราะห์ต่อไป ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- 3.2.1 กระดาษกรองเบอร์ 4 ขนาด 110 mm (Whatman, UK)
- 3.2.2 NIR sample cup
- 3.2.3 NIR sample cell สำหรับวัดตัวอย่างที่เป็นของเหลว (น้ำตาลโตนดสด) มี path length 0.2 mm
- 3.2.4 หม้อสแตนเลสกันแบน ขนาด 16 cm (Zebra, Thailand)
- 3.2.5 แท่นให้ความร้อน (hot plate) (IKA, yellow MAG HS 7, USA)
- 3.2.6 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Ohaus, Pioneer PA 2102, USA)
- 3.2.7 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius, BS 224 S, Germany)
- 3.2.8 ตู้อบลมร้อน (Binder, FED 53, Germany)
- 3.2.9 ตู้แช่แข็ง (Sanyo, Japan)
- 3.2.10 ตู้ควบคุมอุณหภูมิต่ำ (cool incubator) (Binder, KB, Germany)

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

- 3.3.1 digital refractometer (Atago, PAL-1, Japan)
- 3.3.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์อินฟราเรดย่านใกล้ (near-infrared spectrophotometer) (Bruker Optics, MPA, Germany)
- 3.3.3 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) (Hanna, HI 2213, USA)
- 3.3.4 เครื่องอบแห้งแบบใช้สุญญากาศ (Eyela, VOS-300 SD, Japan)

3.4 สารเคมี

- 3.4.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) (Merck, Germany)
- 3.4.2 ฟีนอล์ฟธาเลอิน (phenolphthalein) (Labchem, USA)
- 3.4.3 โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (potassium hydrogen phthalate) (Ajax, New Zealand)
- 3.4.4 น้ำกลั่น (distilled water) (Vunique, Thailand)
- 3.4.5 Methylene blue 0.2% w/v ในน้ำ
- 3.4.6 Fehling's solution (Soxhlet's modification)
- 3.4.7 Standard invert sugar Solution

3.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำตาลโดนดสด

ละลายน้ำตาลโดนดสดที่แช่แข็งไว้ โดยนำไปแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4°C จนตัวอย่างน้ำตาลโดนดสดละลายหมด แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 เป็นจำนวน 104 ตัวอย่างเพื่อใช้ในการวัดสเปกตรัม NIR และการวิเคราะห์ค่าทางเคมี

3.6 การวัดสเปกตรัม NIR ของน้ำตาลโดนดสด

นำตัวอย่างน้ำตาลโดนดสดที่เตรียมไว้ มาปรับอุณหภูมิตัวอย่างให้ได้ 25°C ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (cool incubator) จากนั้นจึงนำตัวอย่างมาสแกนวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR ที่ช่วงเลขคลื่น $12480\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ resolution 32 cm^{-1} และ 32 scan ในระบบส่องผ่านสะท้อน (transflectance) โดยเทตัวอย่างลงใน NIR sample cup จำนวน 5 ml จากนั้นใช้ sample cell ที่มี path length ขนาด 0.2 mm ดังภาพที่ 4 วางลงบนตัวอย่าง ทำการวัดตัวอย่างละ 3 ครั้ง (ทำการยก sample cell ขึ้น แล้ววางลงบนตัวอย่างใหม่) แล้วใช้ค่าเฉลี่ยข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดทั้ง 3 ครั้ง เป็นตัวแทนข้อมูลสเปกตรัมของน้ำตาลโดนดสดตัวอย่างนั้นๆ



ภาพที่ 4 sample cell สำหรับใช้วัดสเปกตรัม NIR ของตัวอย่างน้ำตาลโดนดสด

3.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนดสด

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและของน้ำตาลโตนดที่เตรียมไว้ ซึ่งเป็นดัชนีสำคัญที่บ่งบอกถึงคุณภาพของน้ำตาลโตนดสด ได้แก่

- 3.7.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solids, TSS) ด้วย digital refractometer
- 3.7.2 ความเป็นกรด-ด่าง หรือค่า pH ด้วย pH meter
- 3.7.3 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity, TA) โดยการไทเทรต
- 3.7.4 ปริมาณความชื้นด้วยเครื่องอบแห้งสุญญากาศตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1995)
- 3.7.5 ปริมาณ Reducing sugar ด้วยวิธี Lane-Eynon Volumetric method

3.8 การสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนดสด

ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้ถูกนำไปทำการปรับแต่งด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ (pretreatment)

6 วิธี ได้แก่ vector normalization (SNV), multiplicative scattering correction (MSC), first derivative (1D), second derivative (2D), first derivative กับ vector normalization (1D+SNV) และ first derivative กับ multiplicative scattering correction (1D+MSC) เพื่อลดผลกระทบจากการกระเจิงแสงที่แตกต่างกันของน้ำตาลโตนดสดแต่ละตัวอย่าง จากนั้นจึงทำการแบ่งข้อมูลสเปกตรัมออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ข้อมูลสเปกตรัมที่ใช้ในการสร้างสมการ (calibration set) และข้อมูลสเปกตรัมที่ใช้การตรวจสอบความถูกต้องของสมการ (validation set) วิธีการแบ่งกลุ่มตัวอย่างทำโดยเรียงค่าทางเคมีของตัวอย่างน้ำตาลสดจากน้อยไปหามาก แล้วจึงแบ่งกลุ่มตัวอย่างในอัตราส่วน 60:40 โดย calibration set จะต้องมีตัวอย่างที่มีค่าทางเคมีต่ำที่สุดและสูงที่สุดอยู่ด้วยเพื่อให้ครอบคลุมค่าที่นำมาทำนาย นำข้อมูลสเปกตรัมทั้งหมดไปสร้างสมการทำนายค่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนดสดโดยอาศัยเทคนิค partial least squares regression (PLS) ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลสเปกตรัมกับค่าองค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้ด้วยโปรแกรม OPUS version 7.2 โดยเลือกใช้ฟังก์ชัน optimize เพื่อตรวจสอบช่วงคลื่นและเทคนิคการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมที่มีประสิทธิภาพ โดยโปรแกรมจะแสดงผลค่า root mean square error of prediction (RMSEP) ช่วงคลื่น (informative region) และเทคนิคการปรับสเปกตรัมที่ใช้ ในงานวิจัยนี้เลือกพิจารณาสมการทำนายที่ให้ค่า root mean square error of prediction (RMSEP) ที่ต่ำ และให้ค่า coefficients of determination (R^2) และ RPD ที่สูง และตรวจสอบค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนาย (bias) เพื่อให้ได้สมการที่มีความแม่นยำต่อการนำไปใช้วิเคราะห์ได้ดีที่สุด

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ค่าจากการวิเคราะห์ทางเคมีของน้ำตาลโตนดสด

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของตัวอย่างน้ำตาลโตนดสดทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐานและค่าทางสถิติเบื้องต้นแสดงไว้ในตารางที่ 3 โดยตัวอย่างกลุ่มที่ใช้ในการสร้างสมการ (calibration set) มีค่าทางเคมีครอบคลุมกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของสมการ (validation set) และตัวอย่างทั้งสองกลุ่มนั้นมีการกระจายของค่าทางเคมีที่ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 3 ค่าทางเคมีและค่าสถิติเบื้องต้นของน้ำตาลโตนดสด

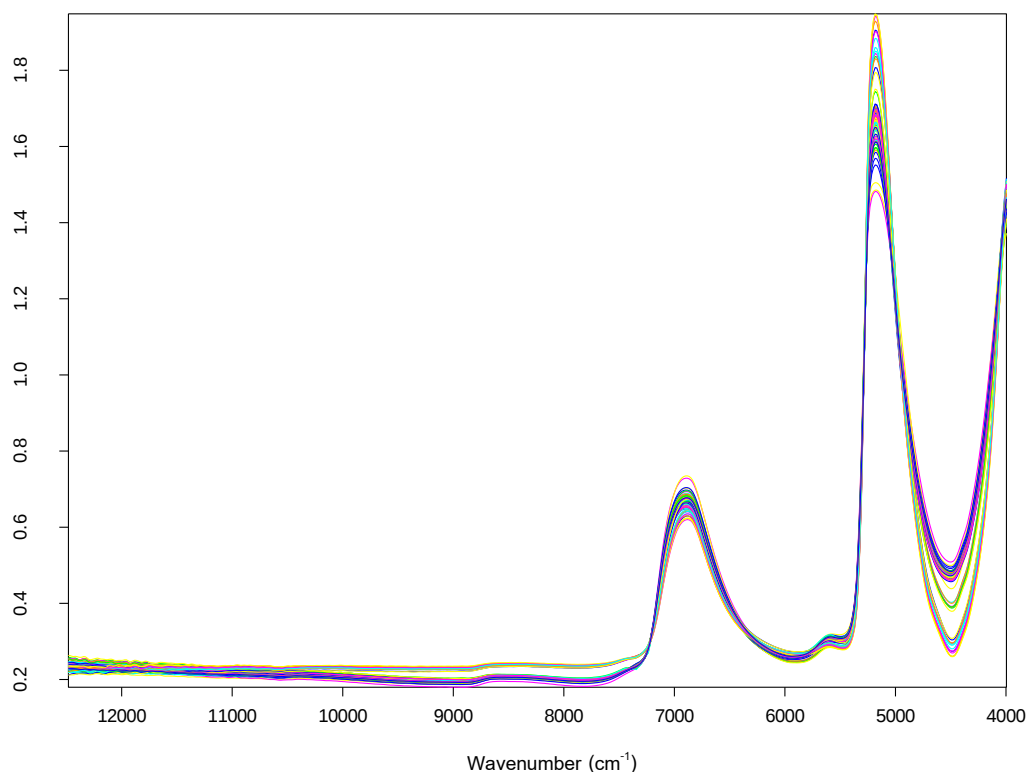
พารามิเตอร์	Calibration			Validation		
	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	SD	ช่วงข้อมูล	ค่าเฉลี่ย	SD
TSS (°Brix)	7.50-18.50	12.9	1.79	10.1-17.6	13.0	1.72
Reducing sugar (mg/100ml)	117.04-627.45	262.28	111.87	125.42-616.34	264.27	111.74
pH	4.76-8.54	6.67	1.19	5.13-8.27	6.73	1.18
TA (%)	0.003-0.056	0.200	0.011	0.004-0.050	0.200	0.011
ความชื้น (%)	55.34-90.64	79.60	8.19	57.75-89.02	79.95	7.94

ทั้งนี้เพราะในการศึกษาครั้งนี้ได้จัดเตรียมตัวอย่างน้ำตาลโตนดสดให้มีลักษณะคุณภาพที่หลากหลาย เนื่องจากการสร้างสมการทำนายค่าด้วยเทคนิค NIR จำเป็นต้องใช้กลุ่มตัวอย่างที่มีองค์ประกอบในช่วงที่กว้างมากพอ เพื่อให้สมการที่สร้างขึ้นมีประสิทธิภาพที่ดี (Ozaki และคณะ, 2007)

4.2 ค่าการดูดกลืนแสง NIR ของน้ำตาลโตนดสด

ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัดตัวอย่างน้ำตาลโตนดสดด้วยเทคนิค NIR ในระบบส่องผ่านสะท้อน (transflectance) เป็นการวัดแสงที่มีการสะท้อนและส่องผ่านในตัวอย่งที่ช่วง 12400-4000 cm^{-1} ด้วย sample cell ที่มี path length ขนาด 0.2 mm แสดงดังภาพที่ 5 จากภาพนี้จะเห็นได้ว่าการดูดกลืนแสงชัดเจนที่ตำแหน่ง 6800 cm^{-1} และ 5100 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับโอเวอร์โทนอันดับหนึ่งของพันธะ O-H และการสั่นแบบยืดของพันธะ O-H ของน้ำ ตามลำดับ (Osborn และคณะ, 1993)

เนื่องจากน้ำสามารถดูดกลืนคลื่นรังสี NIR ได้สูง จึงส่งผลให้ตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบในจำนวนมาก (>80%) มีสเปกตรัมการดูดกลืนคลื่น NIR ที่เด่นชัดจากโมเลกุลของน้ำ (Büning-Pfaue, 2003)



ภาพที่ 5 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ของน้ำตาลโตนดสดจำนวน 104 ตัวอย่าง

ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากการวัด NIR อาจมีสัญญาณรบกวน (noise) มีการเกิดการกระเจิงแสงเนื่องจากอนุภาคคอลลอยด์ของตัวอย่างน้ำตาลสด ส่งผลให้เกิด baseline shift และ tangent effect ดังนั้นเพื่อให้สมการที่สร้างขึ้นมีความถูกต้องแม่นยำน่าเชื่อถือจึงจำเป็นต้องทำการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์ (Cen และ He, 2009) ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เทคนิคในการปรับแต่งสเปกตรัมทั้งหมด 6 เทคนิค คือ vector normalization (SNV), multiplicative scattering correction (MSC), first derivative (1D), second derivative (2D), first derivative กับ vector normalization (1D+SNV) และ first derivative กับ multiplicative scattering correction (1D+MSC) โดยเทคนิค SNV และเทคนิค MSC สามารถช่วยลดอิทธิพลของการกระเจิงแสงได้ เทคนิค 1D และ 2D ช่วยเพิ่ม resolution ของเส้นสเปกตรัมได้ โดย 1D ช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่น (baseline offset) ส่วน 2D ช่วยลดผลกระทบจากการกระเจิงแสง ทั้งที่เป็นผลเชิงบวก (additive effect) และผลเชิงคูณ (multiplicative effect) โดยสรุปแล้วการปรับแต่งแบบ 2D ในงาน

ด้าน NIR คือ การแยกจุดยอดที่เหลื่อมล้ำซ้อนกันในสเปกตรัมออกจากกัน และลดผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมมีขนาดเพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่น (อนุพันธ์, 2552; Swierenga และคณะ, 1999) ข้อมูลสเปกตรัมเดิมและข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งที่แตกต่างกัน 6 เทคนิคถูกนำมาสร้างสมการโดยใช้เทคนิค PLS ซึ่งลักษณะข้อมูลสเปกตรัมหลังผ่านการปรับแต่งแล้วแสดงในภาคผนวก

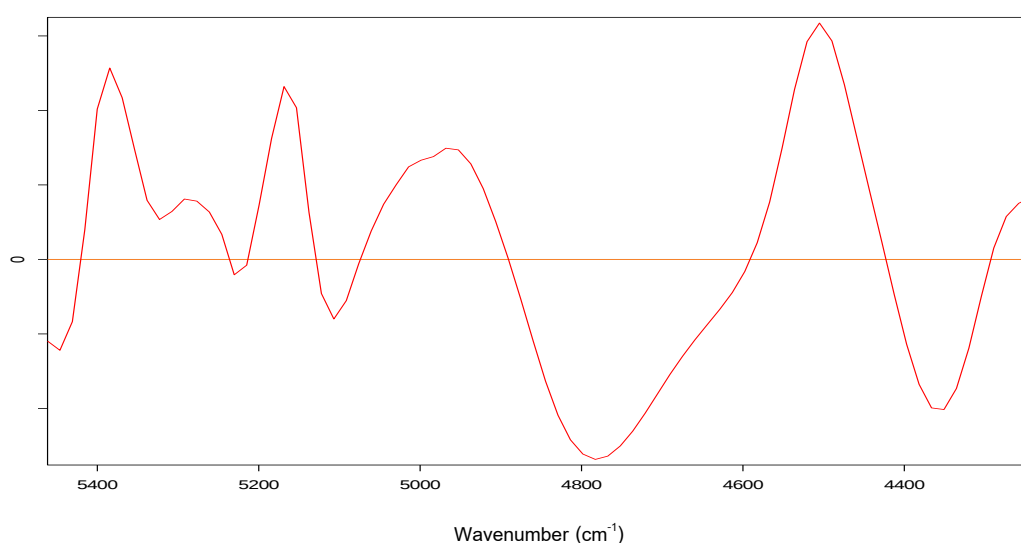
4.3 สมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำตาลโตนดสด

สมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solids, TSS) ที่สร้างด้วยเทคนิค PLS จากข้อมูลสเปกตรัมเดิมและข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิคต่างๆ ของตัวอย่างน้ำตาลสดจำนวน 104 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 62 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการอีกจำนวน 42 ตัวอย่าง มีค่าสถิติของสมการแสดงดังตารางที่ 4 เมื่อพิจารณาสมการทำนายที่สร้างขึ้นพบว่า สเปกตรัมที่ไม่ผ่านการปรับแต่งและสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งทั้งหมดมีประสิทธิภาพสำหรับการทำนายปริมาณ TSS เนื่องจากสมการทั้งหมดให้ค่า R^2 สูงกว่า 0.8 และให้ค่า RMSEP ที่ต่ำที่สุด การเลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุด เมื่อผ่านการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิค 2D จากการสร้างสมการทำให้ได้ค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดคือ R^2 เท่ากับ 0.898 ค่า RPD เท่ากับ 3.13 ค่า RMSEE เท่ากับ 1.02 °Brix และ ค่า RMSEP เท่ากับ 0.515 °Brix

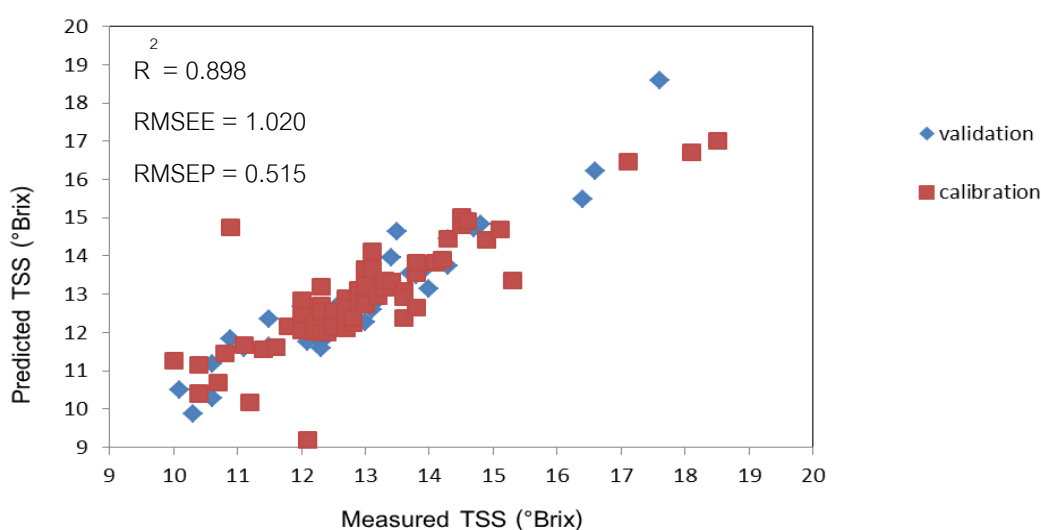
ตารางที่ 4 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโตนดสด

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	Calibration			Validation			
		R^2	RMSEE	RPD	R^2	RMSEP	RPD	Bias
SNV	5461.8-4242.9	0.725	0.971	1.91	0.856	0.652	2.65	0.0657
MSC	9411.5-5446.3	0.680	1.07	1.77	0.835	0.697	2.47	0.0598
1D	5461.8-4242.9	0.709	1.01	1.85	0.830	0.708	2.44	0.0855
2D	5461.8-4242.9	0.693	1.02	1.8	0.898	0.515	3.13	0.0279
1D+SNV	4613.2-4428	0.606	1.15	1.59	0.864	0.632	2.72	0.0507
1D+MSC	4613.2-4428	0.618	1.15	1.16	0.876	0.604	2.85	0.0590

สมการการถดถอยเป็นตัวแปรสำคัญหลักที่สามารถอธิบายการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่สนใจในสมการทำนาย โดยตำแหน่งความยาวคลื่นที่มีค่าสัมประสิทธิ์มากคือตำแหน่งที่มีการดูดกลืนขององค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการ (ธนฤทธิ, 2552) และจากภาพที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า TSS ที่วัดได้จริงของตัวอย่างกับค่า TSS ที่ทำนายได้จากเทคนิค NIR นั้นมีความสัมพันธ์ที่ดีในเชิงเส้นตรง ดังนั้นสมการนี้จึงมีประสิทธิภาพในการทำนาย TSS ในน้ำตาลโตนดสดได้เป็นอย่างดี



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำตาลโตนดสดที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิค 2D ที่ช่วงความยาวคลื่น 5461.8-4242.9 cm^{-1}



ภาพที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า TSS ที่วัดได้จริงกับค่า TSS ที่ทำนายได้ของน้ำตาลโตนดสด โดย ■ เป็นตัวอย่างกลุ่มสร้างสมการ และ ◆ เป็นตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบสมการ

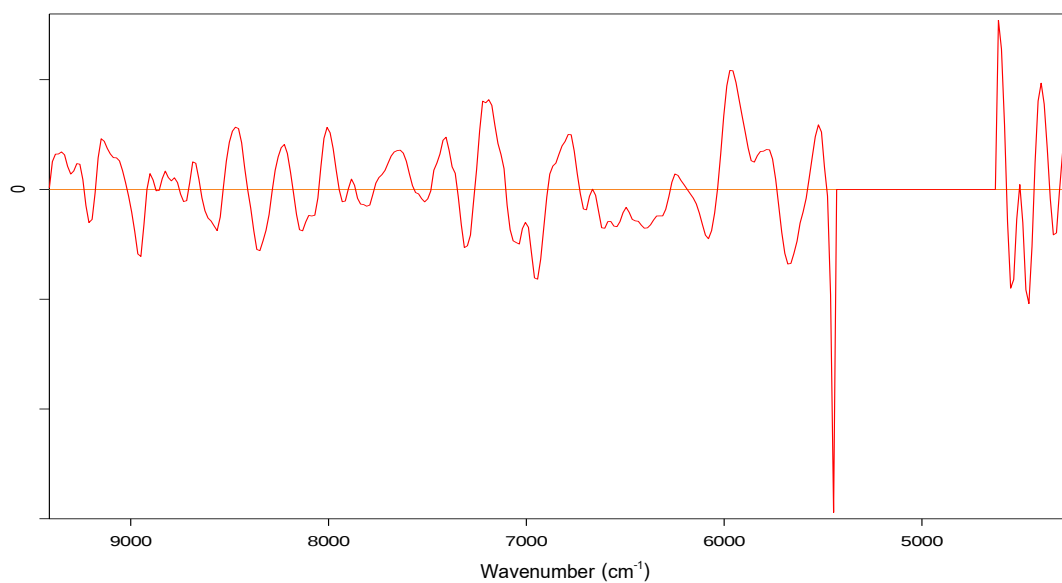
4.4 สมการทำนายค่า pH ของน้ำตาลโตนดสด

ค่าทางสถิติของสมการทำนายค่า pH ที่สร้างจากตัวอย่างน้ำตาลโตนดสดจำนวน 104 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 62 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการจำนวน 42 ตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 5 การเลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดซึ่งพบว่าสมการทำนายที่สร้างจากข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ที่ช่วงคลื่น 9411.5-5446.3 cm^{-1} และ 4613.2-4242.9 cm^{-1} มีประสิทธิภาพสามารถใช้ในการคัดเลือกหรือประมาณค่าเบื้องต้นสำหรับการทำนายปริมาณ pH เนื่องจากสมการทั้งหมดให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.737 สูงที่สุดและมีค่า RPD สูงที่สุดเท่ากับ 1.98 โดยให้ ค่า RMSEE เท่ากับ 0.764 ค่า RMSEP เท่ากับ 0.596

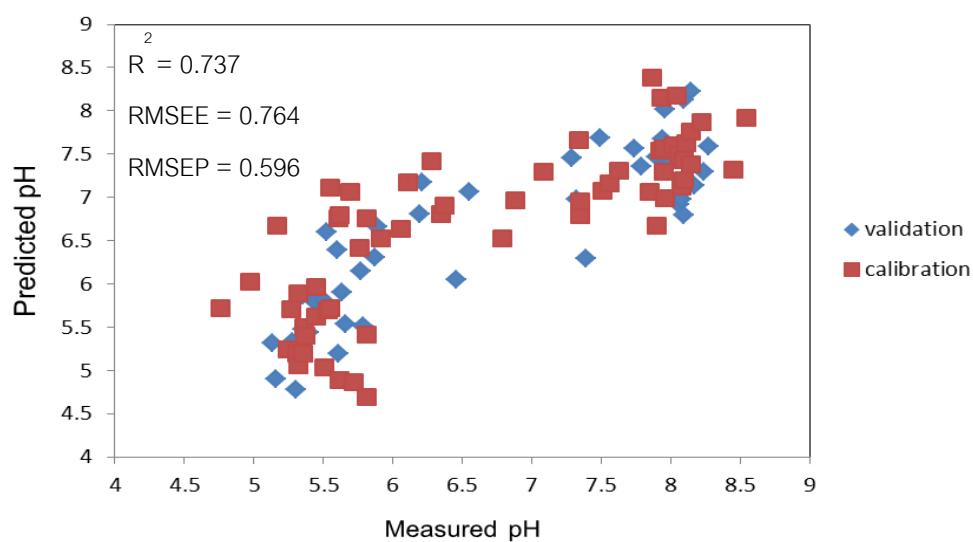
ตารางที่ 5 ค่าทางสถิติของสมการทำนายค่า pH จากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโตนดสด

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm^{-1})	Calibration			Validation			
		R^2	RMSEE	RPD	R^2	RMSEP	RPD	Bias
SNV	75138-6094.3 4613.2-4242.9	0.590	0.826	1.56	0.554	0.777	1.53	0.1540
MSC	4613.2-4242.9	0.449	0.922	1.35	0.583	0.762	1.57	0.1270
1D	5461.8-4242.9	0.599	0.825	1.58	0.682	0.65	1.79	0.1020
2D	9411.5-5446.3 4613.2-4242.9	0.642	0.764	1.67	0.737	0.596	1.98	0.1090
1D+SNV	6109.8-4242.9	0.641	0.78	1.67	0.610	0.727	1.6	0.0277
1D+MSC	5461.8-424.9	0.587	0.829	1.56	0.641	0.097	1.67	0.0134

จากภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนาย pH ของน้ำตาลโตนดสดที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ที่ช่วงความยาวคลื่นพบพีคที่ตำแหน่ง 9411.5-5446.3 cm^{-1} และ 4613.2-4242.9 cm^{-1} และกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ที่วัดได้จริงกับค่า pH ที่ทำนายได้จากเทคนิค NIR แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนาย pH ของน้ำตาล
โตนดสดที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ที่ช่วงความยาวคลื่น $9411.5\text{--}5446.3\text{ cm}^{-1}$ และ
 $4613.2\text{--}4242.9\text{ cm}^{-1}$



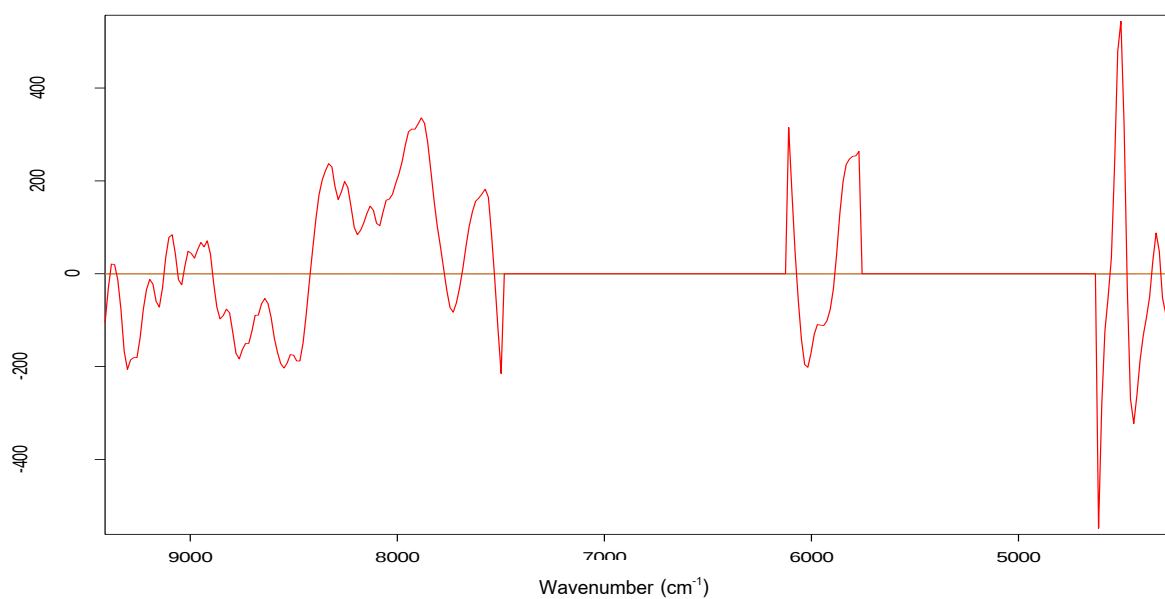
ภาพที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ที่วัดได้จริงกับค่า pH ที่ทำนายได้ของน้ำตาล
โตนดสด โดย ■ เป็นตัวอย่างกลุ่มสร้างสมการ และ ◆ เป็นตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบสมการ

4.5 สมการทำนายปริมาณกรดที่ไทเตรตได้ของน้ำตาลโคנדสด

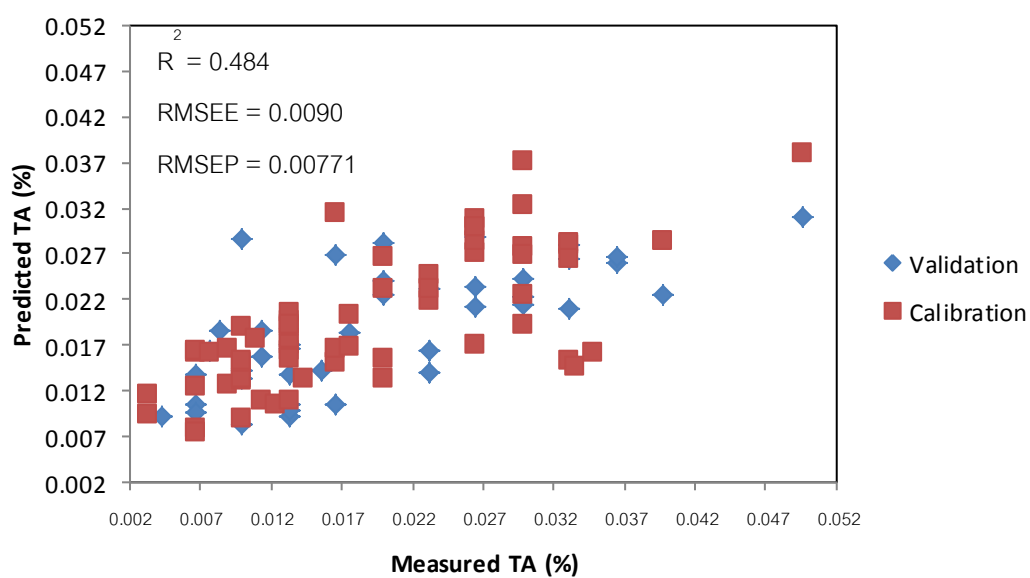
สมการทำนายปริมาณกรดที่ไทเตรตได้ (titratable acidity, TA) จากจำนวนตัวอย่างน้ำตาลโคנדสดทั้งหมด 104 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ 62 ตัวอย่าง และใช้ในการตรวจสอบสมการจำนวน 42 ตัวอย่าง จากตารางที่ 6 การเลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดพบว่า สมการที่สร้างขึ้นด้วยข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D โดยใช้ช่วงคลื่น $9411.5\text{--}7498.4\text{ cm}^{-1}$, $6109.8\text{--}5446.3\text{ cm}^{-1}$ และ $4613.2\text{--}4242.9\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งให้ค่า R^2 , RPD, RMSEE และ RMSEP เท่ากับ 0.484, 1.40, 0.009 และ 0.008 ตามลำดับ และภาพที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณ TA ที่ได้จากการไทเตรตและปริมาณ TA ที่ทำนายได้จากเทคนิค NIR

ตารางที่ 6 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณกรดที่ไทเตรตได้จากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโคנדสด

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm^{-1})	Calibration			Validation			
		R^2	RMSEE	RPD	R^2	RMSEP	RPD	Bias
SNV	9411.5-5446.3	0.412	0.00905	1.31	0.363	0.00860	1.27	0.001240
MSC	9411.5-7498.4	0.341	0.00943	1.23	0.439	0.00782	1.34	-0.000367
	4613.2-4242.9							
1D	9411.5-7498.4	0.421	0.00900	1.31	0.484	0.00771	1.40	0.000818
	6109.8-5770.3							
	4613.2-4242.9							
2D	6109.8-5770.3	0.289	0.00971	1.19	0.301	0.00901	1.20	-0.000336
1D+SNV	9411.5-7498.4	0.349	0.00937	1.24	0.320	0.00888	1.22	0.000571
	6109.8-5770.3							
1D+MSC	7513.8-5446.3	0.308	0.00975	1.20	0.228	0.00946	1.14	0.000762



ภาพที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนาย TA ของน้ำตาลโตนดสดที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ที่ช่วงคลื่น 9411.5-7498.4 cm^{-1} , 6109.8-5446.3 cm^{-1} และ 4613.2-4242.9 cm^{-1}



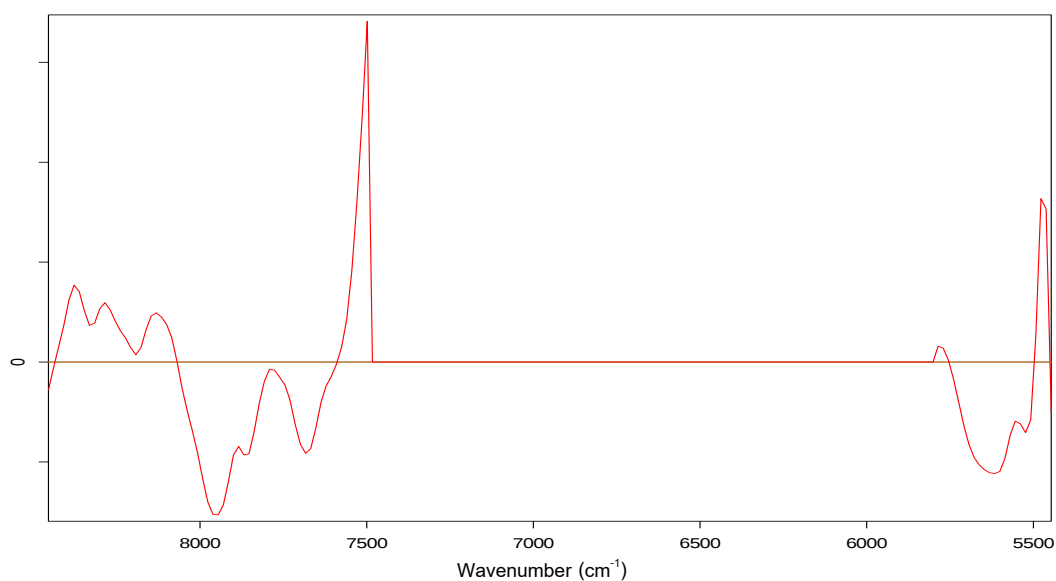
ภาพที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า TA ที่วัดได้จริงกับค่า TA ที่ทำนายได้ของน้ำตาลโตนดสด โดย ■ เป็นตัวอย่างกลุ่มสร้างสมการ และ ◆ เป็นตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบสมการ

4.6 สมการทำนายปริมาณความชื้นของน้ำตาลโตนดสด

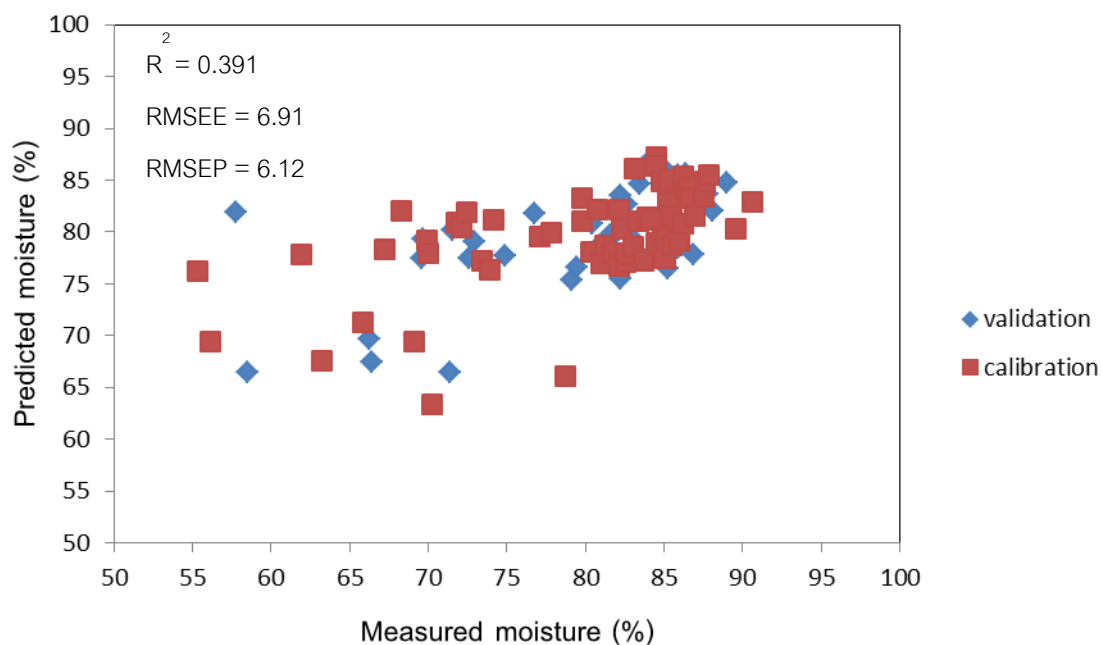
ค่าทางสถิติของสมการทำนายค่าปริมาณความชื้น ที่สร้างจากตัวอย่างน้ำตาลโตนดสดจำนวน 104 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 62 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการจำนวน 42 ตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 7 การเลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R^2 สูงที่สุดพบว่า สมการที่สร้างขึ้นด้วยข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแก้ด้วยเทคนิค 1D โดยใช้ช่วงคลื่น 8454.9-748.4 cm^{-1} และ 5785.8-5446.3 cm^{-1} ซึ่งให้ค่า R^2 , RPD, RMSEE และ RMSEP เท่ากับ 0.391, 1.28, 6.91 และ 1.28 ตามลำดับ และภาพที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้และปริมาณความชื้นที่ทำนายได้จากเทคนิค NIR

ตารางที่ 7 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณความชื้นจากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆ ของน้ำตาลโตนดสด

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm^{-1})	Calibration			Validation			
		R^2	RMSEE	RPD	R^2	RMSEP	RPD	Bias
SNV	7.513.8-5446.3	0.238	7.33	1.15	0.301	6.56	1.20	0.6630
MSC	8454.9-7498.4 5029.8-4597.8	0.334	6.98	1.23	0.369	6.23	1.26	-0.0369
1D	8454.9-7498.4 5785.8-5446.3	0.347	6.91	1.24	0.391	6.12	1.28	0.3540
2D	9411.5-7498.4 6109.8-5446.3 4613.2-4242.9	0.600	5.51	1.58	0.376	6.20	1.27	0.2560
1D+SNV	9411.5-5446.3	0.211	7.46	1.13	0.329	6.42	1.22	-0.0294
1D+MSC	9411.5-6094.3 4613.2-4242.9	0.410	6.52	1.30	0.320	6.54	1.23	0.9380



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณความชื้นของน้ำตาลโตนดสดที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ที่ช่วงคลื่น 8454.9-748.4 cm^{-1} และ 5785.8-5446.3 cm^{-1}



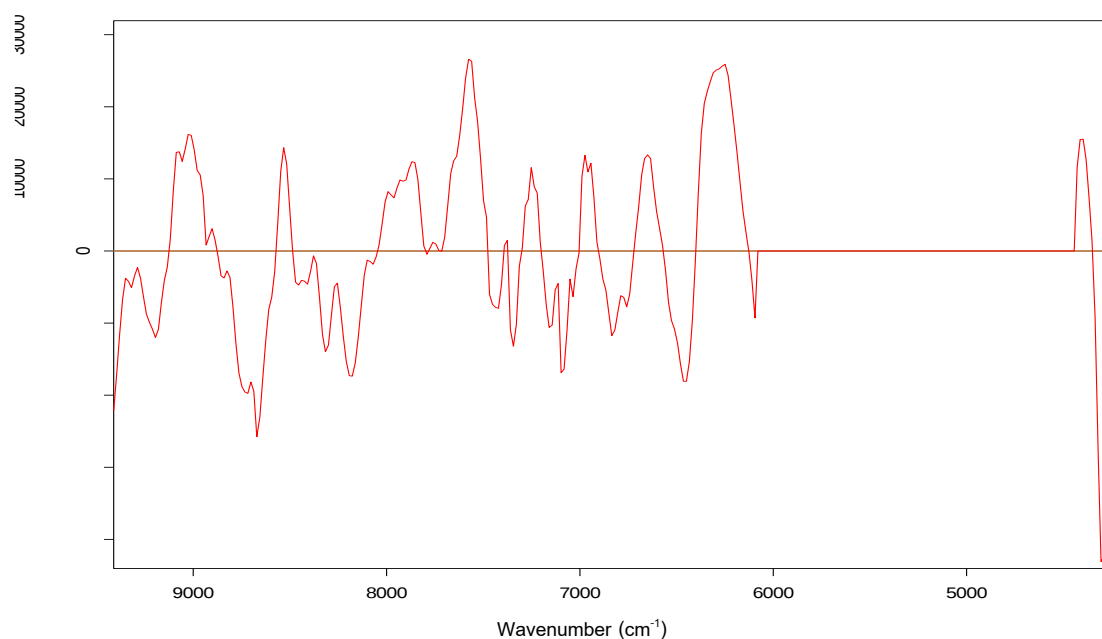
ภาพที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณความชื้นที่วัดได้จริงกับค่าปริมาณความชื้นที่ทำนายได้ของน้ำตาลโตนดสดโดย ■ เป็นตัวอย่างกลุ่มสร้างสมการ และ ◆ เป็นตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบสมการ

4.7 สมการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลโตนดสด

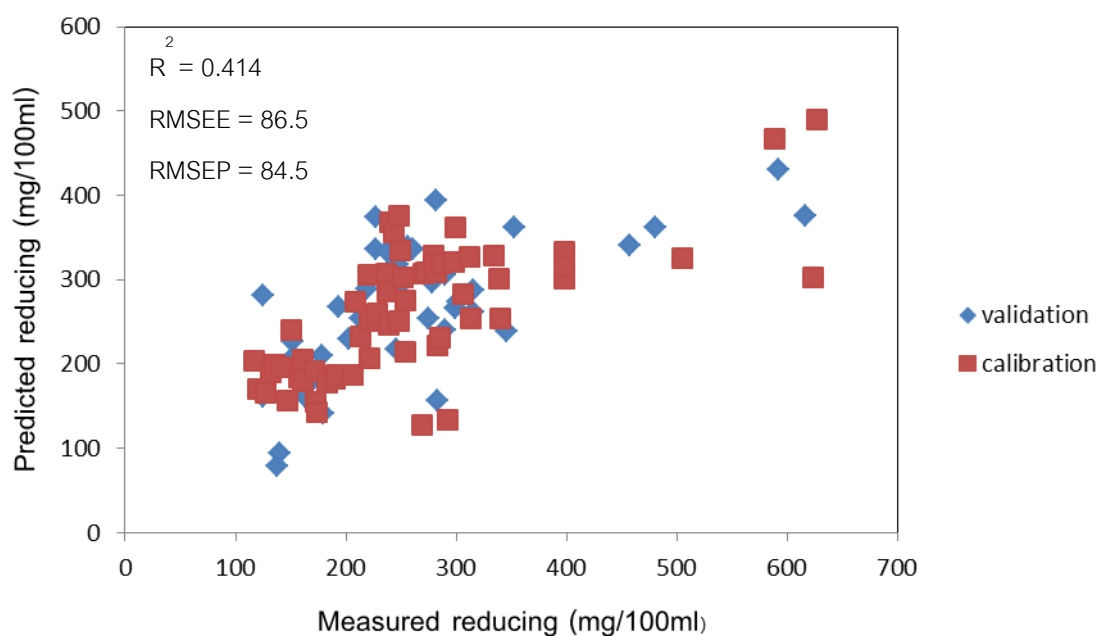
ค่าทางสถิติของสมการทำนายค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สร้างจากตัวอย่างน้ำตาลโตนดสดจำนวน 100 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการจำนวน 60 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสมการจำนวน 40 ตัวอย่าง แสดงตารางที่ 8 การเลือกสมการจะเลือกจากสมการในกลุ่ม Validation โดยเลือกจากค่า RPD และค่า R² สูงที่สุดพบว่า สมการที่สร้างขึ้นด้วยข้อมูลสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV โดยใช้ช่วงคลื่น 9411.5-6094.3 cm⁻¹ และ 4428.0-4242.9 cm⁻¹ ซึ่งให้ค่า R², RPD, RMSEE และ RMSEP เท่ากับ 0.414, 1.31, 86.5 และ 1.39 ตามลำดับ และภาพที่ 15 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ทำนายได้จากเทคนิค NIR

ตารางที่ 8 ค่าทางสถิติของสมการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากข้อมูลสเปกตรัมต่างๆของน้ำตาลโตนดสด

เทคนิค	ช่วงคลื่น (cm ⁻¹)	Calibration			Validation			
		R ²	RMSEE	RPD	R ²	RMSEP	RPD	Bias
SNV	9411.5-7498.4	0.289	97.7	1.19	0.310	91.6	1.21	-8.7600
MSC	9411.5-6094.3 4613.2-4242.9	0.407	91.8	1.30	0.375	87.2	1.27	-3.1300
1D	9411.5-7498.4 6019.8-5770.3 4613.2-4428.0	0.498	84.4	1.41	0.319	91.1	1.22	8.1100
2D	9411.5-5446.3 4613.2-4242.9	0.515	83.0	1.44	0.250	95.5	1.16	-1.5000
1D+SNV	9411.5-6094.3 4428.0-4242.9	0.483	86.5	1.39	0.414	84.5	1.31	-5.4000
1D+MSC	9411.5-6094.3	0.167	104.0	1.10	0.177	100.0	1.10	0.9200



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงของสมการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลโตนดสดที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D+SNV โดยใช้ช่วงคลื่น 9411.5-6094.3 cm^{-1} และ 4428.0-4242.9 cm^{-1}



ภาพที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จริงกับค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ทำนายได้ของน้ำตาลโตนดสดโดย ■ เป็นตัวอย่างกลุ่มสร้างสมการ และ ◆ เป็นตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบสมการ

บทที่ 5

สรุป

การประยุกต์ใช้เทคนิค NIR ที่ช่วงคลื่น $12480\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ในการตรวจสอบและทำนายค่าทางเคมีเพื่อควบคุมคุณภาพของน้ำตาลโตนดสดสามารถทำได้โดยการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์และการเลือกช่วงคลื่นที่เหมาะสมร่วมกับการสร้างสมการด้วยเทคนิค PLS จะทำให้ได้สมการทำนายค่าทางเคมีต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพ

จากการสร้างสมการทำนายค่าทางเคมีของน้ำตาลโตนดสดพบว่า สมการทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ค่า pH และปริมาณความชื้นให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.898, 0.414, 0.484, 0.737 และ 0.391 ตามลำดับ ค่า RMSEP เท่ากับ 0.515 °Brix, 84.5, 0.00771, 0.596 และ 6.12 ตามลำดับ ค่า RPD เท่ากับ 3.13, 1.31, 1.40, 1.98 และ 1.28 ตามลำดับ พบว่าค่า R^2 ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ค่า pH และปริมาณความชื้นมีค่าต่ำเมื่อนำมาประเมินผลทดสอบความแม่นยำของสมการในกลุ่ม Validation มีความสัมพันธ์ไม่ดีพอ (poor correlation) จึงไม่ควรใช้ในการสร้างสมการทำนายค่าองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ทั้งนี้เนื่องจากค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ค่าทางเคมีมีการกระจายตัวของข้อมูลไม่สม่ำเสมอ ความแม่นยำในการทำนายผลจึงลดลง แต่จากการศึกษาในครั้งนี้ค่า R^2 ของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าสูง จึงสามารถสร้างสมการทำนายวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบได้ดีกว่าค่าวิเคราะห์ทางเคมีอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

- กี๋ เทพบุยส์. 2557. ประเภทและกลไกการทำงานของระบบการผลิตทางการเกษตรของสทิงพระในปัจจุบัน. โครงการวิจัยระบบการผลิตทางการเกษตร. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544. ตาลโตนครผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปและรูปแบบโรงผลิต. กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- ณัฐฐิ์จิรัชยา อุตสาหกรรม. 2549. ผลของปัจจัยในการผลิตและการเก็บรักษาต่อคุณสมบัติของน้ำตาลมะพร้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- ปราโมทย์ ธรรมรัตน์. 2521. การศึกษายีสต์ในน้ำตาลสด น้ำตาลเมา และการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อการหมักแอลกอฮอล์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รณฤทธิ์ ฤทธิธ. 2552. การสร้างระบบ NIR สำหรับการวิเคราะห์ประจำวัน. ใน เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ในอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า 1-16
- เรณูภา แจ่มฟ้า. 2545. การผลิตไซรัปจากน้ำตาลสด. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- วิญญู บุญยงค์. 2535. คนปาดตาล ความหวานบนความสูง. บริษัทต้นอ้อ จำกัด. กรุงเทพฯ. หน้า 70-74.
- สุภารัตน์ เตียไพบูลย์. 2547. ผลของการใช้ความดันสูงและความร้อนต่อคุณภาพของน้ำตาลโตนด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- Büning-Pfaue, H. 2003. Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. Journal of Food Chemistry. 82: 107-115.
- Cen, H. and He, Y. 2007. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. Journal of Food Science and Technology. 18(2): 72-83.
- Chanthachum, S. and Beuchat, L.R. 1997. Inhibitory effect of kiam (Cotyledonium lanceotatum craih.) wood extract on gram-positive food-borne pathogens and spoilage micro-organisms. Food Microbiology. 14 : 603-608.

- Faparusi, S.I. 1973. Origin of initial microflora of palm wine from oil palm tree (*Elaeis guineensis*). *J. Food Sci Technol.* 36(3) : 559-565.
- Faparusi, S.I. and Bassir, O. 1971. Microflora of fermenting palm sap. *J. Food Sci Technol.* 8 : 206.
- Okafor, N. 1972. Palm-wine yeasts from parts of Nigeria. *J. Food Sci Agric.* 23 : 1399-1407.
- Okafor, N. 1975. Preliminary microbiological studies on the preservation of palm wine. *J. Appl Bacteriol.* 38(4) : 1-7.
- Osborne, B.G., Fearn, T. and Hindle, P.H. 1993. *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*. 2nd. Longman Scientific and Technical. UK.
- Ozaki, Y., McClure, W.F. and Christy, A. 2007. *Near-infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. determination of food quality. *Journal of Food Science and Technology.* 18(2): 72-83.

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS)

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำตาลโตนดสดด้วย digital refractometer

2. การวิเคราะห์หาค่า pH

วัดค่า pH ตัวอย่างน้ำตาลโตนดสด โดยน้ำตาลโตนดสดใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วนำมาวัด pH ด้วยเครื่อง pH meter

3. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity, TA) (ณัฐจิรัชยา, 2549)

3.1 ชั่งตัวอย่างน้ำตาลให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 10 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 250 ml

3.2 เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และหยดสารละลายฟีนอล์ฟธาเลอิน (phenolphthalein) 1% ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ลงไป 3 หยด

3.3 ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งได้เทียบมาตรฐานกับโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (potassium hydrogen phthalate) แล้วไทเทรตจนกระทั่งถึงจุดยุติสีชมพู

3.4 คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซีติกตามสูตร

$$\text{ร้อยละกรดทั้งหมด} = \frac{\text{ความเข้มข้น (โมลาร์) NaOH} \times \text{ปริมาตร NaOH} \times 60^* \times 100}{1000 \times \text{กรัมของตัวอย่าง}}$$

เมื่อ 60* คือ น้ำหนักสมมูลของกรดอะซีติก

การเทียบความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

1. อบโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลตที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาเก็บในโถดูดความชื้นและปล่อยให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง

2. บรรจุสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ต้องการหาความเข้มข้นลงในบิวเรต และจัดเตรียมอุปกรณ์สำหรับการไทเทรตให้พร้อม (บิวเรตที่ใช้บรรจุสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ควรใช้ชนิดปิดด้วยเทฟลอน)

3. ชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตประมาณ 0.7 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 250 ml
4. เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 70 มิลลิลิตร เขย่า flask เพื่อให้โพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตละลายหมด
5. หยด 1% ฟีนอล์ฟธาไลน์ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ลงไปในการละลาย 3 หยด
6. ไตรเตตรสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จนกระทั่งเห็นสารละลายเป็นสีชมพู
7. บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้
8. ทำการไตรเตตร blank โดยใช้โพแทสเซียมพาทาเลตประมาณ 0.83-0.85 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 ml และฟีนอล์ฟธาไลน์ 3 หยด เพื่อหาปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ไม่ใช่โพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตแล้วนำไปลบออกจากปริมาตรในข้อ 7 เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)

$$\frac{\text{น้ำหนัก KHP (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโมเลกุลของ KHP (กรัม/โมล)}} \times \frac{1}{\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร)}} \times \frac{100 \text{ มิลลิลิตร}}{1 \text{ ลิตร}}$$

4. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (moisture content) (AOAC, 1995)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2-5 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมที่มีฝาปิดและได้ผ่านการอบแห้งมาแล้ว นำไปอบในตู้อบสุญญากาศ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 50 mmHg โดยตัวอย่างน้ำตาลสดใช้เวลาอบ 8 ชั่วโมง ส่วนตัวอย่างน้ำตาลเคี้ยวใช้เวลาอบ 3 วัน ปลอ่ยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักที่หายไป

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์หาปริมาณ Reducing sugar โดยวิธี Lane-Eynon Volumetric method (AOAC, 2000)

Cupric ion ใน Alkaline copper solution จะถูก reduced เป็น cuprous oxide (Cu_2O) โดย reducing sugar ใช้ methylene blue เป็น internal indicator ที่ end point methylene blue จะถูก reduced เป็นสารไม่มีสี

เครื่องมือ

1. Buret ขนาด 50 ml
2. Erlenmeyer Flask 250 ml
3. Pipet ขนาด 10 และ 50 ml
4. เตาไฟฟ้า

สารเคมี

1. Methylene blue 0.2% w/v ในน้ำ
2. Fehling's solution (Soxhlet's modification)

Solution A : ละลาย copper sulfate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 69.28 กรัมในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

Solution B : ละลาย Potassium Sodium Tartrate [Rochelle salt ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)] 346 กรัม และ Sodium Hydroxide 100 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 วัน แล้วกรองเวลาใช้ให้เติม Solution A ลงใน Solution B ซึ่งมีปริมาตรเท่ากัน โดยผสมตาม Order ดังกล่าวเพื่อป้องกันการเกิดตะกอนของ $\text{Cu}(\text{OH})_2$

3. Standard invert sugar Solution

ชั่ง pure sucrose (อบแห้งที่ 100°C) 2.375 กรัม ละลายน้ำ 130 มิลลิลิตร เติมน้ำ 1N HCl 15 มิลลิลิตร ต้มเดือด 2 นาที ทำให้เย็นแล้วทำให้เป็นกลางด้วย 10% NaOH ใช้ Phenolphthalein เป็น indicator ถ่ายสารละลายที่ได้ใส่ใน Volumetric flask 500 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำจนได้ 500 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

1 ml ของ Standard invert sugar สัมมูลกับ 0.00475 กรัม sucrose

~ 0.005 กรัม invert sugar

25 ml ของ Fehling's solution สัมมูลกับ 24.80 ml ของ standard invert sugar (0.5 กรัม / 100 ml)

10 ml ของ Fehling's solution สัมมูลกับ 10.5 ml ของ standard invert sugar (0.5 กรัม / 100 ml)

วิธีทดลอง

Standardization of Fehling's Solution

ใช้ mixed Fehling's solution 10 หรือ 25 ml ซึ่งควรจะพอดีกับ Standard invert sugar solution (0.5 กรัม / 100 ml) 10.5 หรือ 24.80 ml ตามลำดับ ผลแตกต่างที่ได้ (B) นำไปหักออกจากค่า titre ที่ได้จากการ titrate Fehling's solution โดยใช้ sugar solution (ที่ได้จากตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณ invert sugar ก่อนเปิดตาราง Lane-Eynon

ตัวอย่าง สมมติค่า titre จาก Standard invert sugar solution	= A
เมื่อใช้ Fehling's solution 10 มิลลิตร	$B = A - 10.5$
เมื่อใช้ Fehling's solution 25 มิลลิตร	$B = A - 24.8$
สมมติค่า titre จาก sample solution	= Y
ดังนั้น ค่าที่จะนำไปเปิดตาราง Lane-Eynon คือ	$= Y - B$

การเตรียมตัวอย่าง

Sugar solution

1. ชั่ง Sample มา 100 กรัม ใส่ลง separatory funnel
2. เติมสารละลาย 5% ammonia ใน 95% Ethanol 150 ml ลงใน separatory funnel
3. เขย่า 5 นาที
4. นำสารที่ได้มากรองด้วยวิธีการ suction โดยใช้กระดาษกรอง Whatman No.4
5. ทำการกรองซ้ำอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1
6. นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยบน water bath จนกระทั่งไม่เหลือกลิ่นของ Ethanol
7. นำสารที่เหลือไปใส่ใน volumetric flask 500 ml แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 ml
8. ให้เก็บสารสกัดในตู้เย็น

Total invert sugar

1. นำ extract ที่ปรับปริมาตรแล้วมา 50 ml ใส่ลงใน beaker 250 ml
2. เติม citric acid 5 กรัม และเติมน้ำ 50 ml
3. นำไปต้มเดือด 10 นาทีแล้วทิ้งให้เย็น
4. จากนั้นถ่ายสารละลายที่ได้ใส่ volumetric flask 250 ml
5. neutralized ด้วย 1 N NaOH โดยใช้ phenolphthalein เป็น indicator
6. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

Preliminary Titration

กรณีไม่ทราบว่ามีตัวอย่างมี reducing sugar อยู่เท่าไร การทำ preliminary titration จะช่วยให้ทราบปริมาณได้อย่างคร่าวๆซึ่งมีความสำคัญมากสำหรับความถูกต้อง (accuracy) ของการทำ standard method of titration เพื่อหาปริมาณที่แท้จริงของ reducing sugar

1. ปิเปต mixed Fehling's solution 10 หรือ 25 ml (แล้วแต่ความเข้มข้นของน้ำตาลในตัวอย่าง) ใส่ลงใน flask 250 ml
2. เติม sugar solution ลงไป 15 ml ผสมให้เข้ากันโดยการเขย่า flask
3. ต้มบน heater ให้เดือดประมาณ 10-15 วินาที ถ้า solution ยังคงมีสีน้ำเงินอยู่ แสดงว่า Fehling's Solution ยังไม่ถูก reduced ทั้งหมด ให้ titrate ต่อ โดยการเติม sugar solution ครั้งละ 5 ml ต้มเดือด 2-3 วินาที หลังจากเติมในแต่ละครั้ง จนกระทั่งได้สีน้ำเงินจางๆ
4. เติม 0.2% methylene blue 1 ml titrate ต่อ โดยเติม sugar solution ครั้งละ 1 ml ต้มเดือด 10 วินาที ก่อนที่จะเติมครั้งต่อไป titrate ต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินของ methylene blue หายไป สารละลายที่ได้มีสีส้มหรือสีแดงอิฐ จุดปริมาตรไว้ = V (ค่าที่ได้จะ accurate มากขึ้น ถ้าเวลาในการ titrate ทำเสร็จภายในเวลา 3 นาที)

Standard method of titration

1. ปิเปต mixed Fehling's solution 10 หรือ 25 ml ใส่ลงใน flask 250 ml
2. เติม sugar solution ลงไป ให้มีปริมาตร $V - 1$ ml
3. ผสมให้เข้ากันโดยการเขย่า flask ต้มเดือด 2 นาทีพอดี (exactly) เติม 0.2% methylene blue 1 ml โดยหยดลงในสารละลายที่ต้มเดือดโดยตรง
4. titrate ต่อ โดยการเติม sugar solution ครั้งละ 2-3 หยด ห่างกัน 10 วินาที จนสีน้ำเงิน หายไป สารละลายที่ได้มีสีส้มหรือสีแดงอิฐ (การ titrate ในช่วงนี้ต้องทำให้เสร็จภายใน 1 นาที)
5. จากค่า titre = Y ที่ได้สามารถหาค่า factor ได้โดยการนำค่า Y - (B) ไปเปิดตาราง Lane-Eynon ตามปริมาณของ Fehling's solution ที่ใช้ในการ titrate

ทั้ง preliminary titration และ standard method of titration จะใช้กับ sugar solution และ total invert sugar โดยผลต่างของปริมาณ invert sugar ก่อนและหลัง inversion คูณด้วย 0.95 คือปริมาณ sucrose ที่มีอยู่ในสารละลายนั้น

การคำนวณ

$$\text{Invert sugar of solution (C)} = \frac{\text{Factor (mg)} \times 100}{\text{Titer (ml)}} \%w/v$$

Factor คือ ค่าที่ได้จากการนำ Y – (B) ไปเปิดตาราง Lane-Eynon เป็นมิลลิกรัม

Titer คือ ปริมาณของ sugar solution ที่ใช้ในการ titrate = Y มิลลิลิตร

$$\text{Invert sugar of sample} = C/D \times 100 \%w/v$$

C = Invert sugar of solution (mg/100ml)

D = ความเข้มข้นของ sugar solution (mg/100ml)

$$\% \text{sucrose} = (\% \text{total invert} - \% \text{reducing sugar original}) \times 0.95$$

$$\% \text{total sugar} = \% \text{reducing sugar} + \% \text{sucrose}$$

ตารางที่ 9 Invert sugar for 10 cm³ of Fehling's solution

cm ³ of sugar solution required	Solution containing beside invert sugar
	Invert sugar factor*
15	50.5
16	50.6
17	50.7
18	50.8
19	50.8
20	50.9
21	51.0
22	51.0
23	51.1
24	51.2
25	51.2
26	51.3
27	51.4
28	51.4
29	51.5
30	51.5
31	51.6
32	51.6
33	51.7
34	51.7

ตารางที่ 10 Invert sugar for 10 cm³ of Fehling's solution (ต่อ)

cm ³ of sugar solution required	Solution containing beside invert sugar
	Invert sugar factor*
35	51.8
36	51.8
37	51.9
38	51.9
39	52.0
40	52.0
41	52.1
42	52.1
43	52.2
44	52.2
45	52.3
46	52.3
47	52.4
48	52.4
49	52.5
50	52.5

ตารางที่ 11 Invert sugar for 25 cm³ of Fehling's solution

cm ³ of sugar solution required	Solution containing beside invert sugar
	Invert sugar factor*
15	123.6
16	123.6
17	123.6
18	123.7
19	123.7
20	123.8
21	123.8
22	123.9
23	123.9
24	124.0
25	124.0
26	124.1
27	124.1
28	124.2
29	124.2
30	124.3
31	124.3
32	124.4
33	124.4
34	124.5

ตารางที่ 12 Invert sugar for 25 cm³ of Fehling's solution (ต่อ)

cm ³ of sugar solution required	Solution containing beside invert sugar
	Invert sugar factor*
35	124.5
36	124.6
37	124.6
38	124.7
39	124.7
40	124.8
41	124.8
42	124.9
43	124.9
44	125.0
45	125.0
46	125.1
47	125.1
48	125.2
49	125.2
50	125.3

ภาคผนวก ข
สูตรที่ใช้ในการคำนวณค่าทางเทคนิค NIR

1. Coefficient of determination (R^2)

$$R^2 = \left[\frac{\sum (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \right]$$

2. Standard error of calibration (SEC)

$$SEC = \left[\frac{\sum d_i^2}{n_c - p - 1} \right]^{1/2}$$

3. Stand error of prediction (SEP)

$$SEP = \left[\frac{\sum (d_i - \text{bias})^2}{n_v - 1} \right]^{1/2}$$

4. Bias

$$\text{Bias} = \bar{d} = \frac{\sum d_i}{n_v}$$

5. Ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP (RPD)

$$RPD = \frac{\text{Standard deviation of reference data in validation set}}{SEP}$$

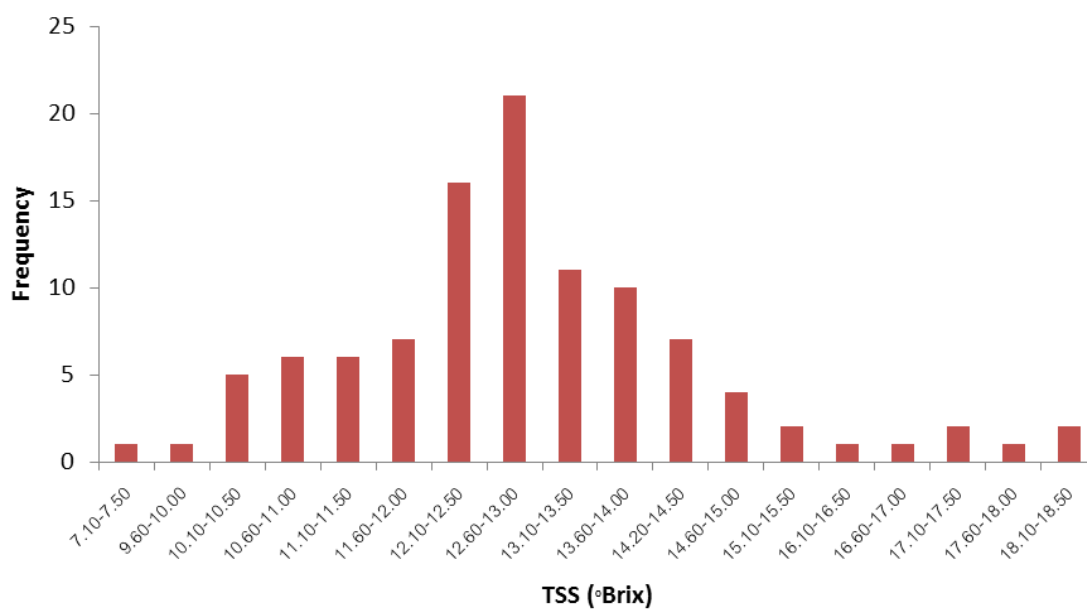
โดยที่

- $\hat{y}_i$ คือ ค่าคุณลักษณะทางเคมีที่ได้จากการทำนายด้วยสมการทำนาย
- y_i คือ ค่าคุณลักษณะทางเคมีที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน
- $\bar{y}$ คือ ค่าเฉลี่ยคุณลักษณะทางเคมี
- d_i คือ ค่าความแตกต่างระหว่างค่าคุณลักษณะทางเคมีที่ได้จากการทำนายด้วย
สมการทำนายกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน
- n_c คือ จำนวนตัวอย่างในชุดข้อมูลสำหรับสร้างสมการ
- n_v คือ จำนวนตัวอย่างในชุดข้อมูลสำหรับตรวจสอบสมการ
- p คือ จำนวนตัวแปรที่ใช้ในสร้างสมการ

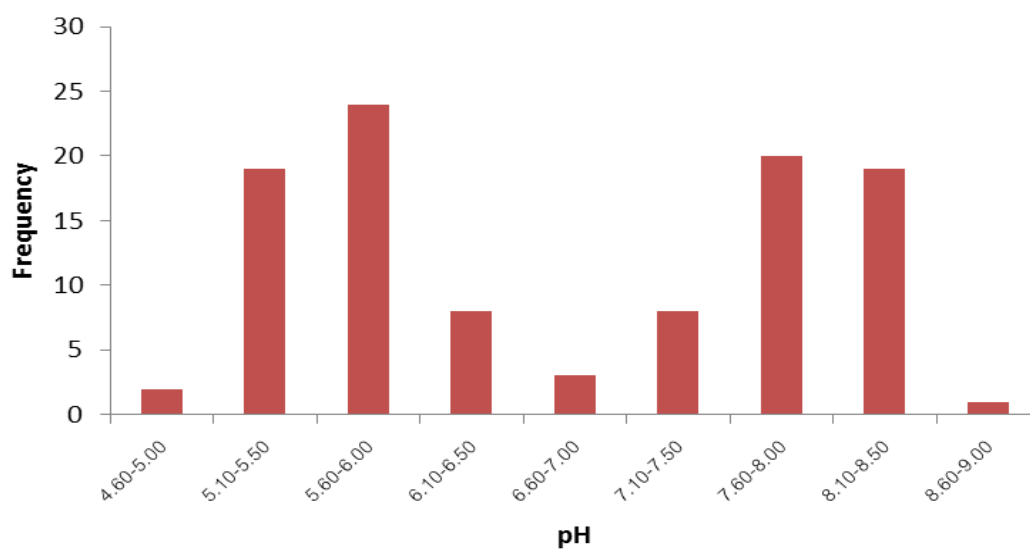
ภาคผนวก ค

ข้อมูลทางเคมี

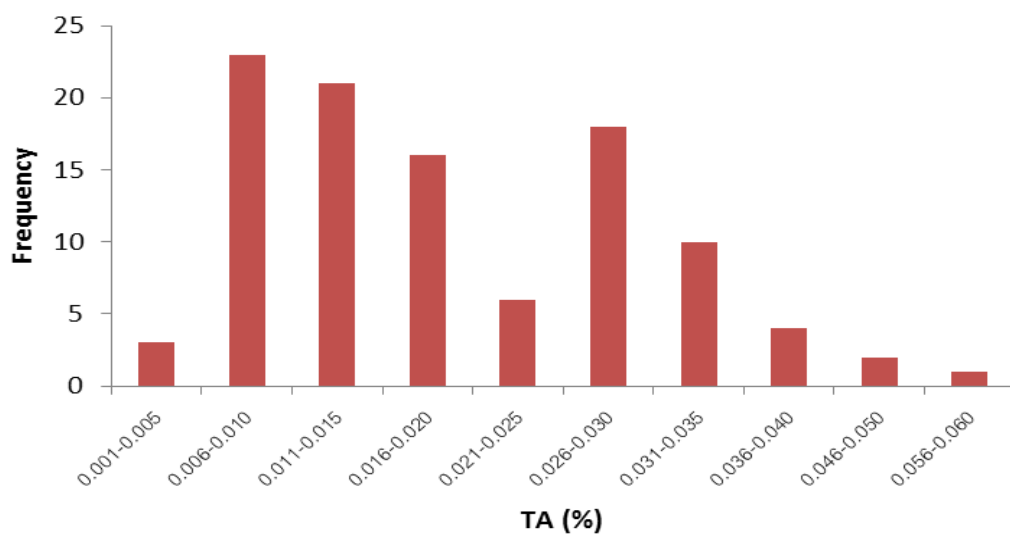
การกระจายตัวของข้อมูลทางเคมีของน้ำตาลโตนดสด



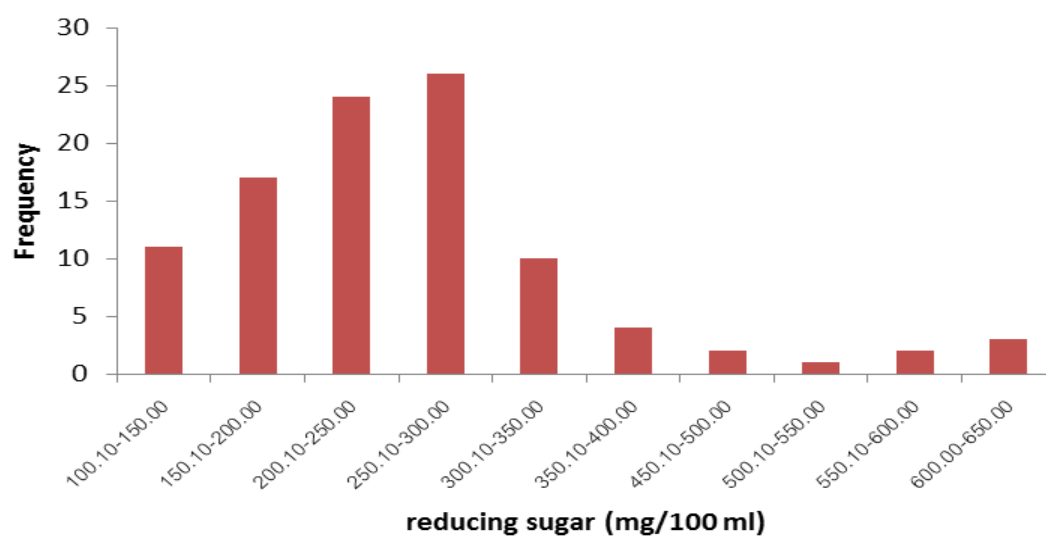
ภาพที่ 16 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโตนดสด



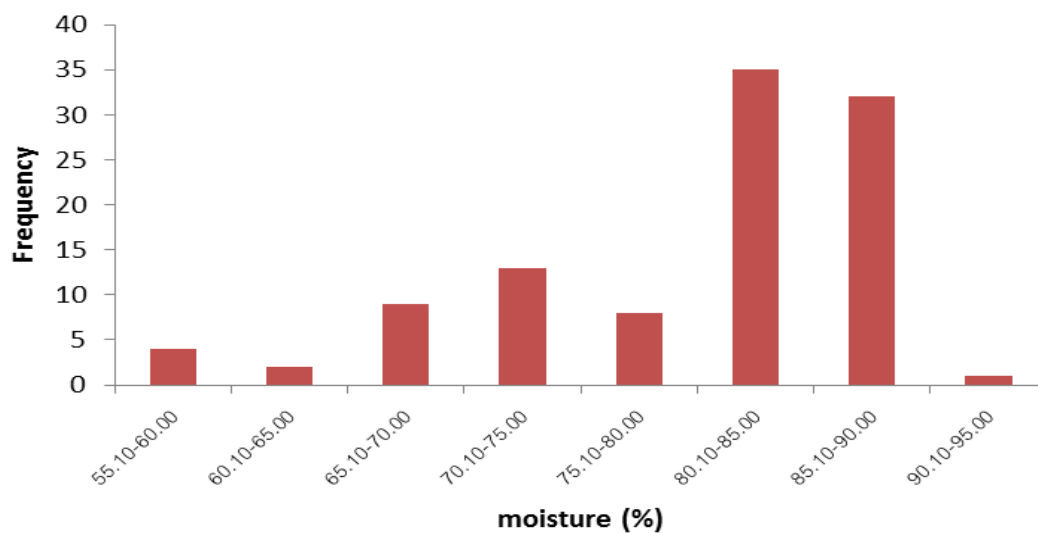
ภาพที่ 17 การกระจายตัวของข้อมูล pH ที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโตนดสด



ภาพที่ 18 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโตนดสด



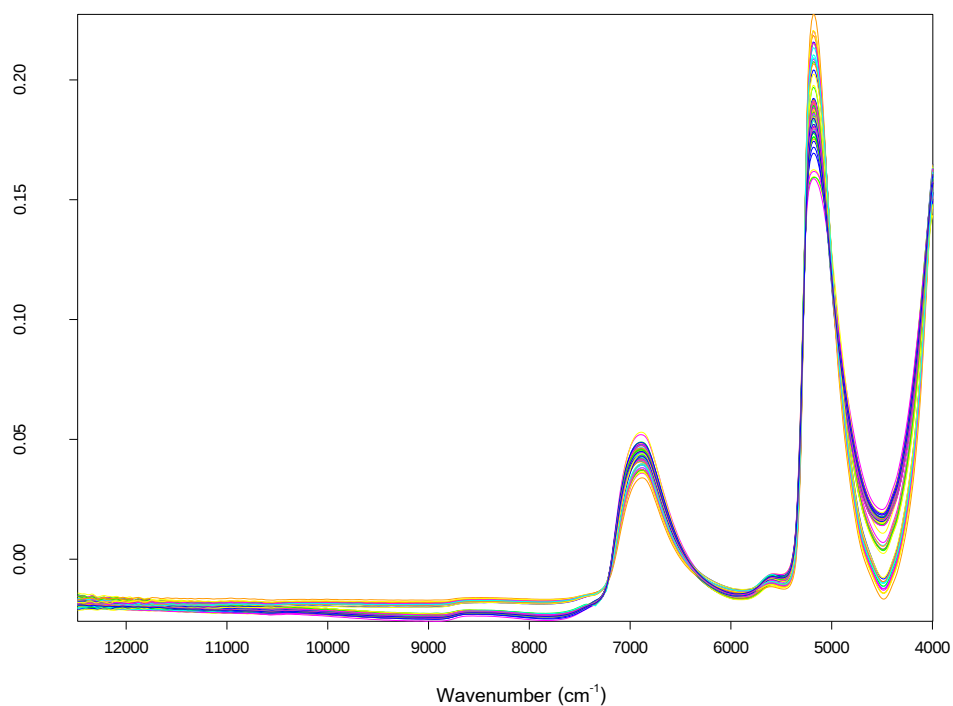
ภาพที่ 19 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโตนดสด



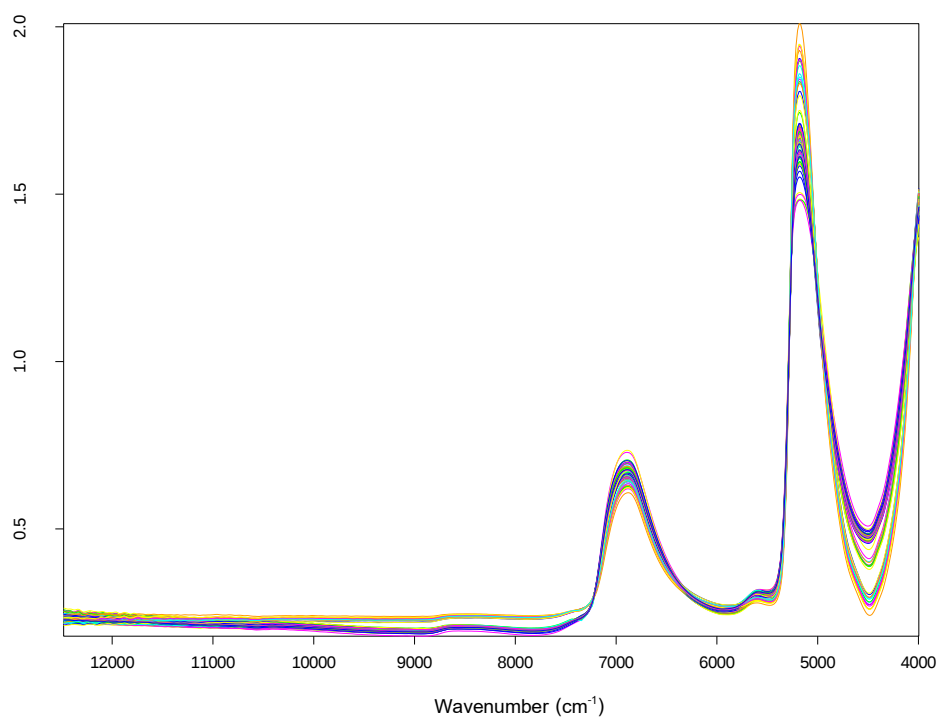
ภาพที่ 20 การกระจายตัวของข้อมูลปริมาณความชื้นที่ใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสมการทำนายของน้ำตาลโตนดสด

ภาคผนวก ง
ข้อมูลสเปกตรัม NIR

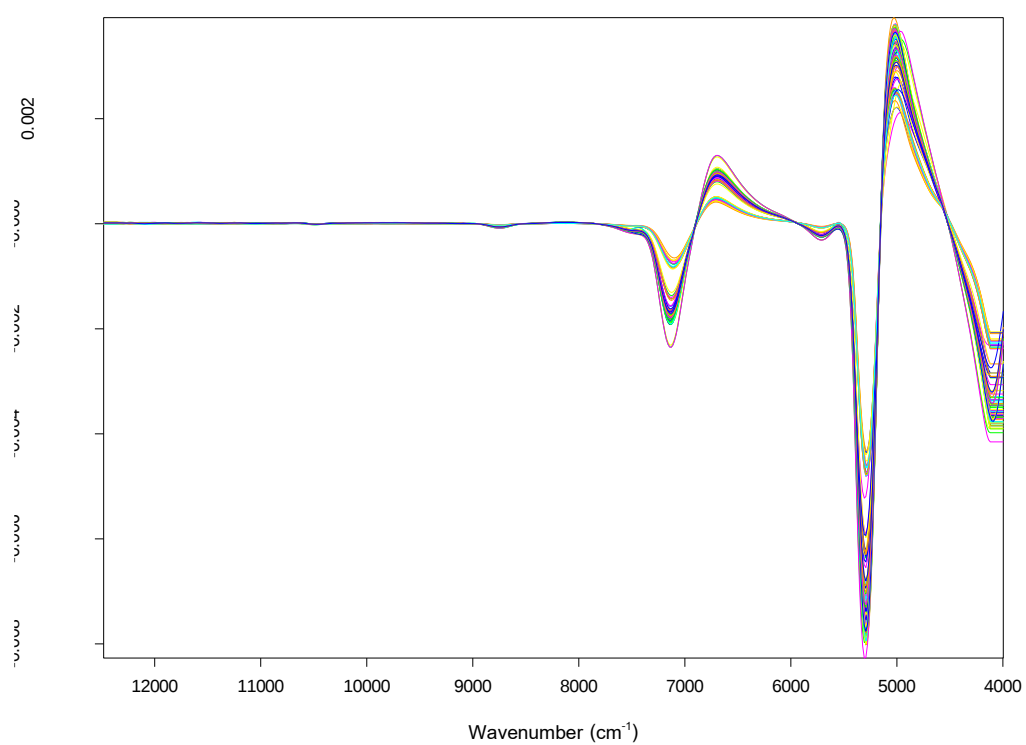
สเปกตรัมหลังการปรับแต่งของน้ำตาลโตนดสด



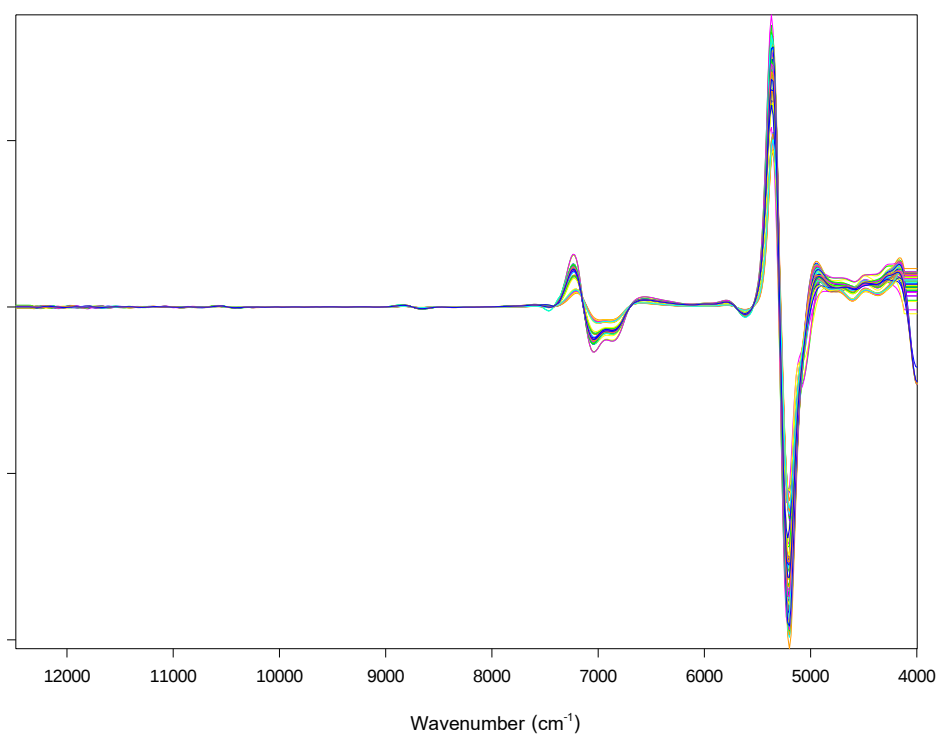
ภาพที่ 21 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค SNV ของน้ำตาลโตนดสด



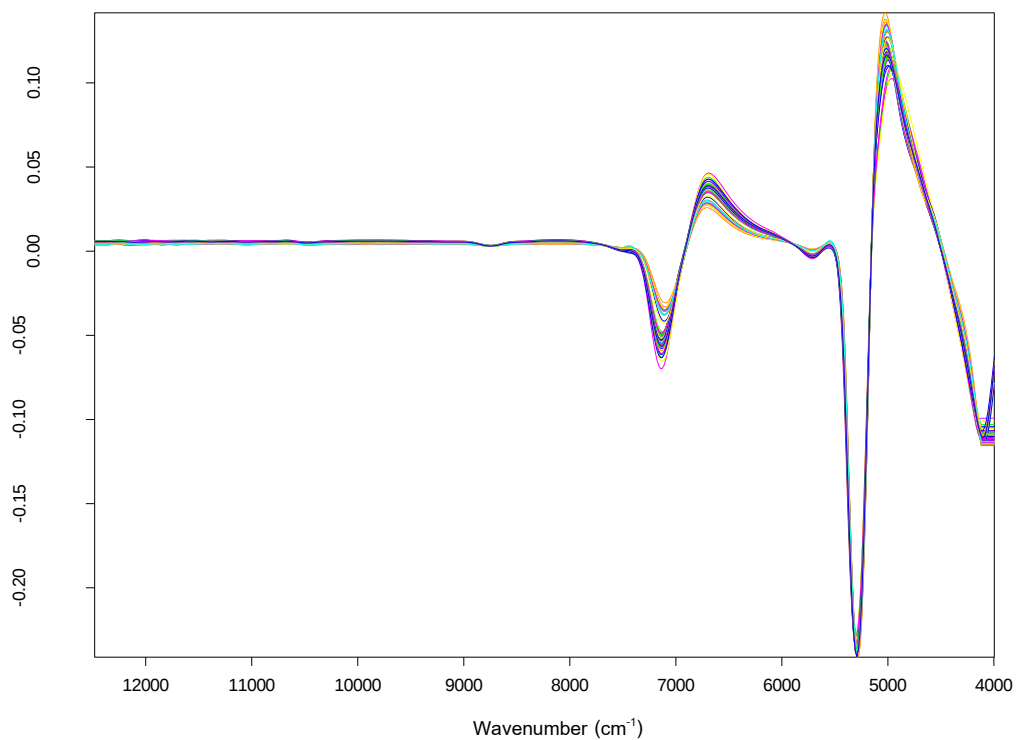
ภาพที่ 22 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค MSC ของน้ำตาลโตนดสด



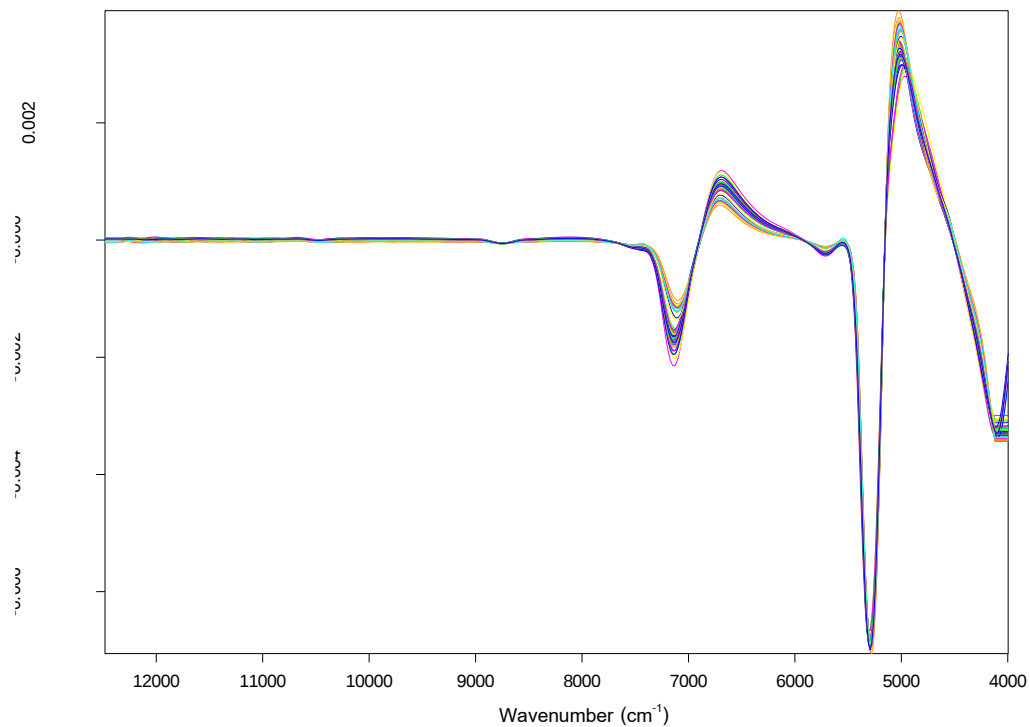
ภาพที่ 23 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D ของน้ำตาลโตนดสด



ภาพที่ 24 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 2D ของน้ำตาลโตนดสด



ภาพที่ 25 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D กับ SNV ของน้ำตาลโตนดสด



ภาพที่ 26 ลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยเทคนิค 1D กับ MSC ของน้ำตาลโตนดสด