การตรวจเอกสาร

ลักษณะของผลแก้วมังกร

ถิ่นกำเนิด

แก้วมังกรในต่างประเทศจะเรียกว่า "ดราก้อนฟรุต" เป็นพืชในตระกูลกระบองเพชร มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกากลาง และมีปลูกแพร่หลายในเวียดนาม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Hylocercus undatus*(Haw) Brit. & Rose. ในเมืองไทยเองจากการเปิดเผยของ ดร.สุรพงษ์ โกสิยะจินดา (อาจารย์พิเศษเกษตรกรและที่ปรึกษา) ซึ่งเป็นเจ้าของสวนมังกรขนาดใหญ่ในจังหวัดราชบุรี เป็นอีกผู้หนึ่งที่ได้ให้ความสนใจเป็นพิเศษหลังจากได้ไปเห็นแก้วมังกรเมื่อปี 2534 โดยได้เดินทางในฐานะผู้เชี่ยวชาญ ไปยังประเทศจีน และมีโอกาสแวะที่ฮ่องกง และได้ไปเห็นผลไม้นี้ที่ฮ่องกง ซึ่งเป็นผลไม้ที่มีผิวพรรณดี สีสันสวยงาม รูปร่างแปลกตา รสชาติที่ไม่อ่อนจนเกินไป และก็ไม่จัดจนเกินไป จึงมีความคิดว่าหากนำมาปลูกในเมืองไทยได้และมีการปรับปรุงพันธุ์ให้เหมาะสม มีการประชาสัมพันธ์ที่ดี คิดว่าผลไม้ชนิดนี้จะต้องมีอนาคตแน่นอน

ผลแก้วมังกรมีเปลือกเป็นสีชมพูอมแดง บางสายพันธุ์ก็อาจจะเป็นสีเหลืองทอง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่เกษตรกรนำมาปลูกภายนอกเปลือกจะมีกลีบเลี้ยงอยู่ประมาณ 5-10 กลีบโดยประมาณ และเมื่อผ่าครึ่งลูกแก้วมังกรออกเป็น 2 ซีกจะพบว่าเนื้อของแก้วมังกร มีลักษณะโดยรอบของเนื้อเป็นวงกลมคล้ายลูกส้ม ลักษณะเนื้อจะกรอบนุ่ม มีสีขาว เหลือง แดง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ภายในเนื้อแก้วมังกรจะมีเมล็ดคล้ายเมล็ดงาหรือเมล็ดแมงลักสีดำติดอยู่โดยทั่วไป และที่สำคัญผลของแก้วมังกรสามารถเก็บไว้ได้นาน 2-3 อาทิตย์

ผลแก้วมังกรที่มีคุณภาพดีนั้นต้องแก่ได้ที่ สมบูรณ์ ผิวมันและสดตามสมควร ไม่มีตำหนิมากไม่มีแผลที่แมลงเจาะเสียหายถึงเนื้อ ส่วนเนื้อภายในต้องแน่น ผลหนักประมาณ 250 กรัม รสสัมผัสกรอบนุ่ม มีรสหวานอมเปรี้ยว ผลแก่จัดจะเปรี้ยวเล็กน้อย

<u>วิธีคัดเลือกแก้วมังกร</u> (คชษิณ, 2544)

เนื่องจากผลแก้วมังกรเมื่อสังเกตจากภายนอกแล้วนั้นแก้วมังกรในท้องตลาดมีความคล้ายกันมาก ไม่ว่าจะเป็นสีสันที่ใกล้เคียงกัน หรือแม้กระทั่งกลีบเลี้ยงสีเขียวปนแดงที่กระจายกันอยู่ทั่วผล

1. ลักษณะที่ 1 ให้สังเกตความแข็งที่ กลีบเลี้ยงที่อยู่รอบผลแก้วมังกรเพราะคือส่วนสำคัญที่ชี้ว่าผลแก้วมังกรนั้นได้มาตรฐานและให้รสชาติดีเพียงใดกลีบเลี้ยงผลแก้วมังกรนี้ ชาวสวนเรียกว่า “ขน” ดังนั้นขนก็คือกลีบเลี้ยงซึ่งต้องมีลักษณะแข็งแรงสดและยังมีขนาดค่อนข้างใหญ่สำหรับผลแก้วมังกรที่ได้มาตรฐาน

2. ลักษณะที่ 2 ให้สังเกตความห่างของกลีบเลี้ยง กลีบเลี้ยงแก้วมังกรที่ได้มาตรฐานนั้นต้องกว้างใหญ่และมีระยะห่างของกลีบห่างกันพอประมาณ ผลที่ยังไม่ได้มาตรฐานนั้นลักษณะของกลีบเลี้ยงจะเล็กและถี่ ซึ่งผู้บริโภคจะสามารถคาดคะเนได้ว่าผลแก้วมังกรยังไม่แก่เต็มที่

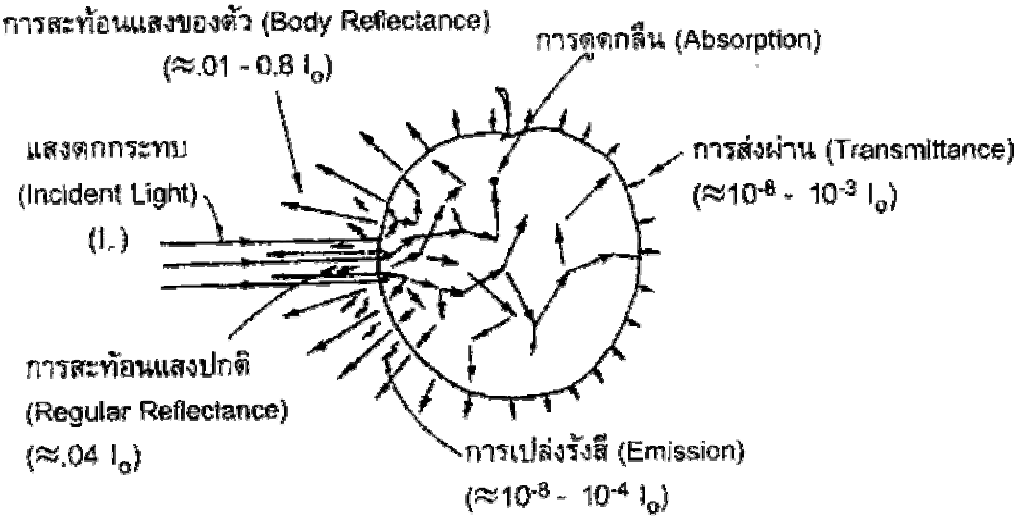
3. ลักษณะที่ 3 สังเกตจากสีขาวเล็กๆ บนผิวผล แก้วมังกรที่ได้มาตรฐานจะมีผิวเนียนและมีอณูสีขาวเล็กบนผิวมองดูไม่บอบช้ำหรือไม่มีรอยแมลงแทะก็สามารถบอกได้ว่าเป็นแก้วมังกรที่น่าซื้อไปบริโภค

<u>คุณสมบัติเชิงแสงของผลิตภัณฑ์เกษตร</u>

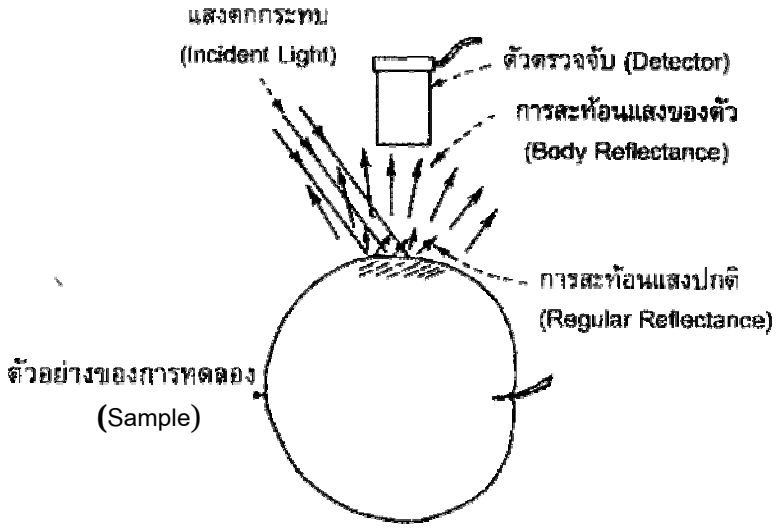
เมื่อลำแสงสว่างตกลงบนวัตถุหนึ่ง ส่วนหนึ่งของลำแสงตกกระทบถูกสะท้อนโดยพื้นผิวของวัตถุนั้น ส่วนที่เหลือถูกส่งผ่านเข้าไปในวัตถุที่ซึ่งถ้าไม่ถูกดูดกลืนโดยวัตถุ ก็อาจจะถูกสะท้อนกลับไปสู่พื้นผิว (การสะท้อนของตัว – body reflectance) หรือการส่งผ่านวัตถุออกไป ส่วนของรังสีแสงที่ถูกดูดกลืนอาจจะถูกแปลงให้อยู่ในรูปแบบรังสีอื่น เช่น แสงฟลูออเร็สเซ็นต์ การเปล่งรังสีแสงสว่างล่าช้า (Delayed-Light Emission) ซึ่งหมายถึง แสงสว่างที่ถูกปล่อยจากตัวอย่างหลังจากเอาต้นกำเนิดแสงออกไปแล้ว ปริมาณของพลังงานแสงในการสะท้อน การส่งผ่านการดูดกลืน การเปล่งรังสี ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของวัตถุและรังสีตกกระทบ ดังนั้น การหาคุณลักษณะเชิงแสงของวัตถุสามารถจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติต่าง ๆ ของวัตถุนั้นได้ (บัณฑิต, 2546)

1. ปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างแสงและวัสดุเกษตร

วัสดุเกษตรส่วนมากไม่เป็นเนื้อเดียวกัน แต่จะประกอบด้วยผนังกั้น (Interface) ภายในอันเล็กๆ มากมาย แสงสว่างที่เข้าไปในวัสดุนั้นจะกระจายในทุกทิศทาง (ภาพที่ 1) เมื่อลำแสงสว่างอันหนึ่งตกกระทบผลไม้ประมาณ 4% ของรังสีตกกระทบถูกสะท้อนกลับออกมาจากผิวผลไม้ เป็นการสะท้อนแสงปกติ รังสีที่เหลือเดินทางผ่านผิวผลไม้และชนกับผนังกั้นเล็กๆ ในโครงสร้างเซลล์และกระจายไปทุกทิศทาง ส่วนใหญ่ของรังสีจะกระจายกลับออกไปสู่ผิวผลไม้และออกจากผลไม้ในบริเวณที่แสงตกกระทบ สำหรับการสะท้อนแบบนี้ Birth (1976) เรียกว่า การสะท้อนของตัวแสงที่กระจัดกระจาย ที่เหลือจะแพร่ลึกเข้าไปในผลไม้ และสุดท้ายอาจจะออกไปถึงผิวผลไม้อีกด้านที่ห่างจากจุดกระทบออกไป ในขณะที่แสงเดินทางผ่านผลไม้ ปริมาณแสงจำนวนหนึ่งจะถูกดูดกลืนโดยส่วนประกอบต่างๆ ของผลไม้ การดูดกลืนจะแปรผันกับส่วนประกอบของผลไม้ ความยาวคลื่น และความยาวของการเดินทางของแสง พลังงานดูดกลืนถูกแปลงเป็นพลังงานในรูปแบบอื่นกับวัสดุบางอย่าง ส่วนของแสงที่ถูกดูดกลืนอาจถูกแปลงเป็นแสงฟลูออเร็สเซ็นต์ การเปล่งรังสีแสงสว่างล่าช้า ดังนั้น รังสีแสงที่ออกจากผิวของผลไม้อาจประกอบด้วย การสะท้อนแสงปกติ การสะท้อนแสงของตัว การส่งผ่านและการเปล่งรังสี



ภาพที่ 1 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างแสงสว่างและผลไม้
ที่มา: บัณฑิต (2546)

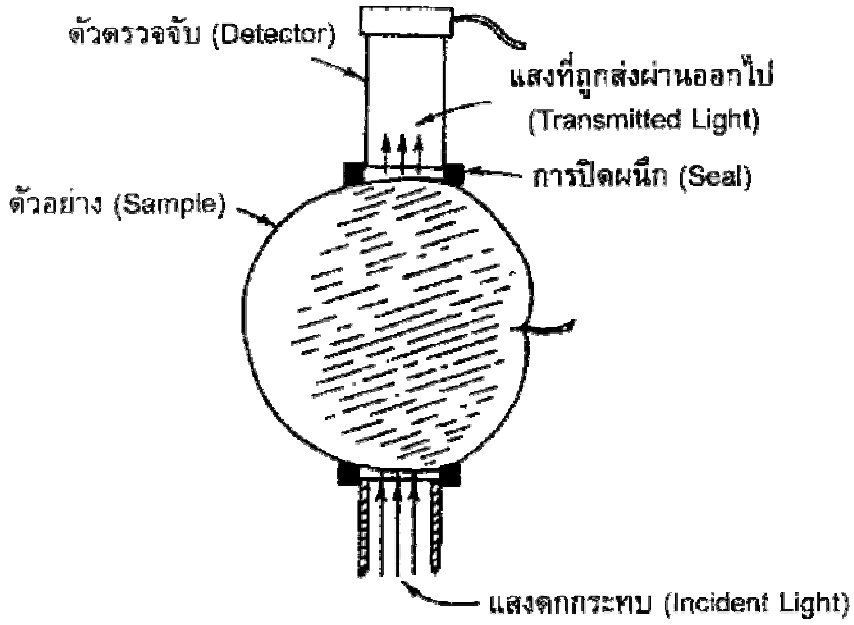


ภาพที่ 2 ตำแหน่งที่สัมพันธ์กัน ต้นกำเนิดแสง ตัวอย่าง และตัวตรวจจับสำหรับการวัดการสะท้อนแสง

ที่มา: บัณฑิต (2546)

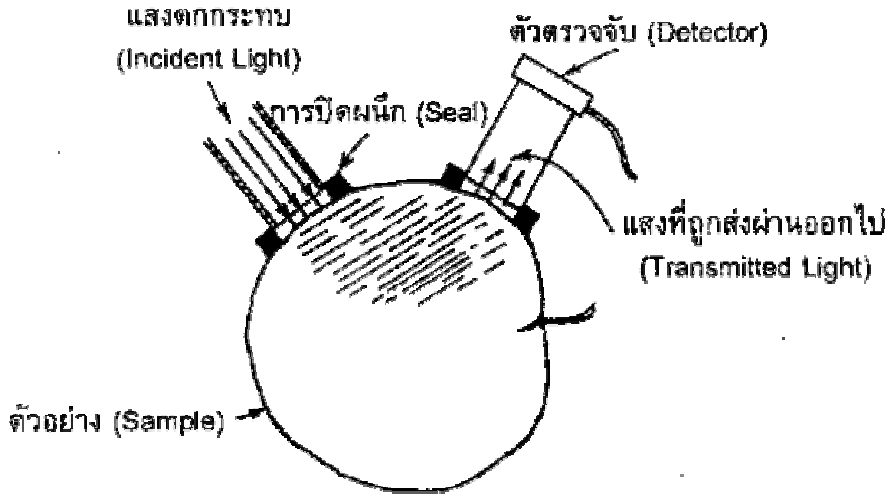
2. ตำแหน่งที่สัมพันธ์กันของต้นกำเนิดแสง ตัวอย่าง และเครื่องตรวจจับ

ในการวัดปัจจัยที่เกี่ยวกับคุณภาพ ณ บริเวณหนึ่ง ๆ ของตัวอย่าง จำเป็นต้องระบุตำแหน่งต้นกำเนิดแสงตัวอย่าง และตัวตรวจจับแสง เพื่อให้ส่วนใหญ่ของแสงสว่างที่ถูกวัดผ่านบริเวณที่เราสนใจ (ภาพที่ 2) แสดงตำแหน่งที่สัมพันธ์กันของต้นกำเนิดแสง ตัวอย่างและตัวตรวจจับ บริเวณแรเงาแสดงพื้นที่โดยประมาณซึ่งแสงสว่างที่เราจะวัดผ่านไป การวัดแสงสะท้อนของตัว ทั่ว ๆ ไปเรียกว่า แสงสะท้อน (ภาพที่ 2) อาจจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับคุณลักษณะของบริเวณใกล้ผิวในบริเวณแสงตกกระทบ ดังนั้นการวัดแบบนี้เหมาะสำหรับวัดองค์ประกอบของคุณภาพ เช่น สีภายนอก ความเสียหายที่ผิว การช้ำ การแตกต่างภายนอกระหว่างวัตถุ 2 อัน รูปแบบในภาพที่ 3 จะทำให้สะดวกแก่การวัดแสงที่ถูกส่งผ่านตัวอย่าง และเหมาะกับการตรวจจับปัจจัยคุณภาพภายใน เช่น สีภายในมะเขือเทศ หัวใจกลวงในมันฝรั่ง (hollow heart) รูปแบบภาพที่ 4 แม้ว่าอาจจะไม่ใช้บ่อย แต่อาจมีศักยภาพสำหรับประเมินคุณสมบัติของบริเวณกึ่งกลางระหว่างผิวกับจุดศูนย์กลางของผลไม้



ภาพที่ 3 ตำแหน่งที่สัมพันธ์กัน ต้นกำเนิดแสง ตัวอย่างและตัวตรวจจับ สำหรับการวัดการส่งผ่านของแสง

ที่มา: บัณฑิต (2546)



ภาพที่ 4 ตำแหน่งที่สัมพันธ์กัน ต้นกำเนิดแสง ตัวอย่างและตัวตรวจจับสำหรับการวัดการส่งผ่านส่วนหนึ่งของตัวอย่าง

ที่มา: บัณฑิต (2546)

3. ความเข้มของแสงสว่างที่จะวัด

ความเข้มของแสงสว่าง ที่ออกมาจากตัวอย่างผันแปรอย่างมากกับความหนาแน่นเชิงแสงของตัวอย่างและระยะทางซึ่งแสงสว่างเดินทางผ่านไปจากต้นกำเนิดแสงไปสู่จุดที่ทำการวัด Birth *et al.* (1957) อธิบายว่าการกระจายของพลังงานที่ถูกส่งผ่านรอบๆ ผิวของผลมะเขือเทศจากการส่องสว่าง แสดงว่าระดับพลังงานสูงสุดอยู่ใกล้สุดกับต้นกำเนิดแสง และพลังงานลดลงแบบบล็อก (logarithm) กับระยะทางจากต้นกำเนิดแสงสำหรับวัสดุเกษตร- อาหารส่วนมาก การสะท้อนแสงโดยทั่วไปจะสูงกว่าการส่งผ่านแสง และการเปล่งรังสีจะช้ามากในความเข้ม การสะท้อนแสงในช่วงแสงที่มองเห็นได้และอินฟราเรด มีค่าระหว่าง 1-80 % ของพลังงานแสงตกกระทบ เนื่องจากความเข้มแสงประเมินคุณภาพ ต้นกำเนิดแสงอาจจะไม่จำเป็นต้องมีความเข้มสูง และตัวตรวจจับอาจไม่จำเป็นต้องมีความไวมาก(sensitive)และการวัดแสงสะท้อนก็ไม่ได้ถูกกระทบอย่างกว้างขวางโดยแสงแห่งสภาพแวดล้อมที่มีความเข้มต่ำ

การส่งผ่านและการเปล่งรังสีจากวัสดุเกษตรจะมีขนาดความเข้มน้อยกว่าการสะท้อนแสงมาก ตัวอย่าง แสงสว่างถูกส่งผ่านผลไม้มีความเข้มในช่วง 10 - 8 ถึง 10 - 3 ของแสงตกกระทบ การวัดแสงส่งผ่านไปต้องการต้นกำเนิดแสงความเข้มสูง ตัวตรวจจับที่มีความไวต่อแสงมาก และขยายสัญญาณ (amplifier) ที่มีอัตราการขยาย (gain) สูง และอัตราส่วนขยายต่อการรบกวนต่ำ การปิดผนึกที่ดีที่จะป้องกันแสงจากการรั่วรอบๆ ตัวอย่างเข้าสู่ตัวตรวจจับ Massie และ Norris(1975) ได้อธิบายการเลือกต้นกำเนิดแสงและตัวตรวจจับและวิธีทำให้แสงที่ไม่ต้องการมีผลน้อยที่สุด

การเปล่งรังสีล่าช้ามีความเข้มประมาณพอ ๆ กับการส่งผ่านรังสีในการวัดต้องการตัวตรวจจับที่มีความไวสูง และต้องอยู่ในห้องมืด (Jacob *et al.*, 1965)

4. ดัชนีคุณภาพ (Quality Index)

ปัจจัยที่สำคัญในการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหารโดยวิธีเชิงแสง คือ การเลือกดัชนีคุณภาพ (เป็นค่าปริมาณหนึ่งหรือหลายๆ ตัวที่ถูกคำนวณมาจากข้อมูลทางสายตา) ดัชนีคุณภาพที่ดีควรมีลักษณะดังต่อไปนี้

4.1 ควรจะสัมพันธ์อย่างดีกับปัจจัยคุณภาพที่ถูกประเมิน

4.2 ไม่ควรจะได้รับอิทธิพลโดยปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องของผลิตภัณฑ์

4.3 ควรจะแปรเปลี่ยนกับตัวแปรปรวนของอุปกรณ์เล็กน้อย เช่น ความเข้มแสงของต้นกำเนิดแสงสว่าง ความไวของตัวตรวจจับ และการแปรปรวนของการตอบสนองของระบบ

วิธีการทั่วไปเพื่อที่จะศึกษาคุณลักษณะเชิงแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ และเลือกชุดของความยาวคลื่นที่ซึ่งข้อมูลเชิงแสง ปรากฏว่า สัมพันธ์กับปัจจัยทางคุณภาพ ดัชนีคุณภาพจึงถูกสร้างขึ้นมาจากการวัดเชิงแสงหลายการวัดที่ความยาวคลื่น 2 อัน หรือมากกว่า Birth (1975) และ Powers *et al.* (1953) ได้แสดงให้เห็นว่าดัชนีคุณภาพซึ่งถูกอธิบายเป็นอัตราส่วนของการวัดทางสายตา 2 อันที่ถูกดำเนินการภายในช่วงเวลาสั้น ๆ จะทำให้ผลกระทบทางตัวแปรของอุปกรณ์มีน้อยที่สุด ความแตกต่างในความหนาแน่นทางสายตาสามารถที่จะถูกใช้ไปหักล้างผลของความแตกต่างของขนาดของตัวอย่างและความแปรปรวนของความไวของอุปกรณ์

<u>หลักพื้นฐานของเทคนิคอินฟราเรดย่านใกล้</u>

อินฟราเรดย่านใกล้ (near infrared) เป็นคลื่นแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 780 - 2500 นาโนเมตร (นิพนธ์, 2545)โดยมีหลักการดังนี้คือเมื่อแสงส่องผ่านเข้าไปยังสารละลายหรือวัตถุ แล้วสารเกิดการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วง near infrared ทำให้โมเลกุลของสารเกิดการสั่นที่ความถี่สูง ในการสั่นของพันธะต่างๆ จะเกิดขึ้นที่ช่วงความยาวคลื่นแตกต่างกัน ซึ่งเป็นค่าเฉพาะของแต่ละพันธะ รวมทั้งตำแหน่งของโมเลกุลและช่วงการดูดกลืนแสงก็เป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละหมู่ฟังก์ชันด้วย ดังนั้นเมื่อโมเลกุลได้รับรังสีอินฟราเรดที่มีความยาวคลื่นตรงกับพันธะในโมเลกุลก็จะเกิดการสั่นและดูดกลืนรังสีไว้ ทำให้มีพลังงานมากกว่าปกติ จากเดิมที่โมเลกุลอยู่ในสภาวะพื้น (ground vibration level) เมื่อได้รับพลังงานเพิ่มขึ้นจะอยู่ในสภาวะกระตุ้น (excited vibration level) อย่างไรก็ตามเมื่อโมเลกุลกลับสู่สภาวะพื้นก็จะปล่อยพลังงานที่รับเพิ่มเข้าไปออกมาในรูปพลังงานความร้อน ปริมาณการดูดกลืนพลังงานแสง (Absorbance, A) เป็นไปตามกฎของเบียร์ – แลมเบิร์ต (Beer-Lambert)พลังงานของคลื่นแสงเมื่อผ่านเข้าไปในตัวอย่าง พลังงานจะถูกดูดกลืนไว้โดยองค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่าง ความเข้มของแสงที่ผ่านออกมาโดยทั่วไปจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีนั้น (Osborne *et al.*, 1993) สารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในลักษณะนี้จะมี H - atom เป็นองค์ประกอบ เช่น O-H พบในแป้ง น้ำ น้ำตาล N-H พบในโปรตีน C-H พบในน้ำมัน (นิพนธ์, 2545)

การดูดกลืนแสงย่านใกล้อินฟราเรดของโมเลกุลสารอินทรีย์ ช่วงคลื่นอินฟราเรดสามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 ช่วง ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ช่วงคลื่นย่านอินฟราเรด

ช่วงคลื่น	ช่วงความยาวคลื่น (μm)	จำนวนคลื่น (CM^{-1})
อินฟราเรดย่านใกล้ (Near IR, NIR)	0.78 –2.5	12800 – 4000
อินฟราเรดย่านกลาง (Mid IR or fundamental IR)	2.5 – 50	4000 – 200
อินฟราเรดย่านไกล (Far IR)	50 -1000	200 – 10

ที่มา: นิพนธ์ (2545)

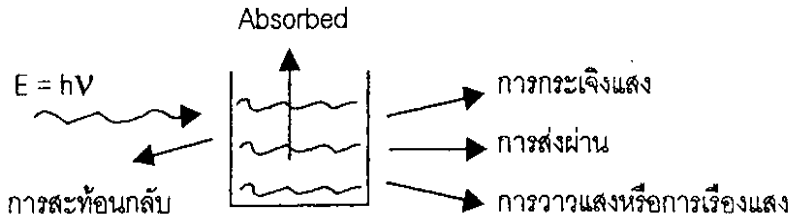
ช่วงใกล้อินฟราเรด (near infrared หรือ overtone region) มีความยาวคลื่นในช่วง 780 – 2500 นาโนเมตร แถบการดูดกลืนคลื่นแสงเกิดจากโอเวอร์โทน และมักพบว่าช่วงการดูดกลืนแสงที่ได้ค่อนข้างต่ำ มีประโยชน์ในการวิเคราะห์หาปริมาณของกลุ่มฟังก์ชั่นนัล และศึกษาโครงสร้างโมเลกุล (วิชัย และคณะ, 2527)

ช่วงกลางอินฟราเรด (middle Infrared หรือ fundamental region) มีความยาวคลื่นในช่วง 2500 – 50,000 นาโนเมตร สเปกตรัมที่ได้ค่อนข้างยุ่งยาก เพราะโครงสร้างของโมเลกุลที่สมบูรณ์ การวิเคราะห์จึงต้องใช้วิธีเปรียบเทียบกับสเปกตรัมที่ทราบโครงสร้างแล้ว ใช้ในการวิเคราะห์พวกกลุ่มฟังก์ชั่นนัล (วิชัย และคณะ , 2527)

ช่วงไกลอินฟราเรด (Far Infrared) มีความยาวคลื่นในช่วง 50,000 – 1,000,000 นาโนเมตร ช่วงนี้ไม่ค่อยที่จะได้ใช้ในการวิเคราะห์ เนื่องจากสเปกตรัมไม่ได้เกิดจากการสั่นหรือการหมุนของโมเลกุล แต่สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับการทรานสิชันที่เกี่ยวกับการหมุนของโมเลกุล (วิชัย และคณะ, 2527)

<u>หลักการของเครื่อง Near Infrared Spectroscopy (NIR)</u>

หลักการของสเปกโตรสโคปี คือ เมื่อลำแสงของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าผ่านเข้าไปยังสารละลายหรือวัตถุ จะมีแสงบางส่วนที่จะถูกดูดกลืน (absorbed) บางส่วนผ่านทะลุออกไป (transmitted) บางส่วนเกิดการสะท้อนกลับ (reflected) บางส่วนเกิดการวาวแสงหรือการเรืองแสง (fluorescence or phosphorescence) และบางส่วนอาจเกิดการกระเจิงแสง (scattered) ดังแสดงในภาพที่ 5 (นิพนธ์ , 2545)



<u>ภาพที่ 5</u> การกระทำกับสารในแบบต่าง ๆ ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า
ที่มา : นิพนธ์ (2545)

สเปกโตรสโคปีมีกฎของการดูดกลืนแสงที่สำคัญที่เกี่ยวข้องอยู่ 2 กฎ ดังนี้คือ

1. กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law) กล่าวว่า "เมื่อแสงสีเดียว (monochromatic light) ซึ่งก็คือแสงความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว (homogeneous) สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงที่กระทบตัวกลางนั้น และความเข้มของแสงจะถูกแต่ละชั้นของตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน" (วิชัย และคณะ, 2527)

2. กฎของเบียร์ (Beer's law) กล่าวไว้ว่า " เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้จะแปรโดยตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น" (วิชัย และคณะ, 2527)

ในทางปฏิบัติปริมาณความเข้มข้นของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายและความหนาของสารละลายที่สำแสงส่องผ่าน จึงต้องรวมกฎทั้งสองเข้าด้วยกันเรียกว่า กฎของเบียร์ – แลมเบิร์ต เขียนในรูปสมการได้ดังนี้

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon bc$$

เนื่องจาก T (Transmittance) เท่ากับ

$$T = \frac{I_0}{I}$$

เพราะฉะนั้น

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon bc = \log \frac{1}{T}$$

เมื่อ I = ความเข้มของแสงความยาวคลื่นเดียว

ε = สัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสง ปกติเปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นและอุณหภูมิ

I_0 = ความเข้มของแสงก่อนผ่านตัวกลาง เมื่อ b = 0

b = ความหนาของตัวกลางในหน่วยเซนติเมตร

c = ความเข้มข้นของสารในหน่วย โมล/ลิตร

A = ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

โมเลกุลของสารแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์กับช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกันเนื่องจาก การจัดเรียงโครงสร้างของโมเลกุลต่างกัน นอกจากนั้นในแต่ละโมเลกุลจะสัมพันธ์กับความยาวคลื่นมากกว่า 1 ช่วง เช่นโมเลกุลของน้ำ (H_2O) ที่มีมากในผลิตภัณฑ์อาหาร มีความสัมพันธ์กับความยาวคลื่น 4 ช่วง คือ 760, 970, 1450 และ 1940 นาโนเมาตร ดังนั้นถ้าทำการทดสอบที่ช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวจะสามารถหาความสัมพันธ์ของน้ำภายในตัวอย่างได้ (Osborne และคณะ, 1993) นอกจากนั้นในผลิตภัณฑ์อาหารยังมีองค์ประกอบอื่นๆ ที่สำคัญ เช่น โปรตีน ไขมัน แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบภายในอาหารกับช่วงอินฟราเรด

องค์ประกอบ	โมเลกุลที่เกี่ยวข้อง	ช่วงที่เกี่ยวข้อง	
		ความยาวคลื่น (nm)	เลขคลื่น (cm^{-1})
น้ำ	- OH	1920 – 1950,	5208 – 5128,
		1400 - 1450	7142 – 6896
โปรตีน	- NH	2080 – 2220,	4807 – 4504,
		1560 – 1670	6410 – 5988
ไขมัน	Methylene, - CH, - CH_2, -	2300 – 2350,	4347 – 4255,
	CH_3	1680 – 1760	5952 – 5681
คาร์โบไฮเดรต	- CO, - OH combination	2060 - 2150	4854 - 4651

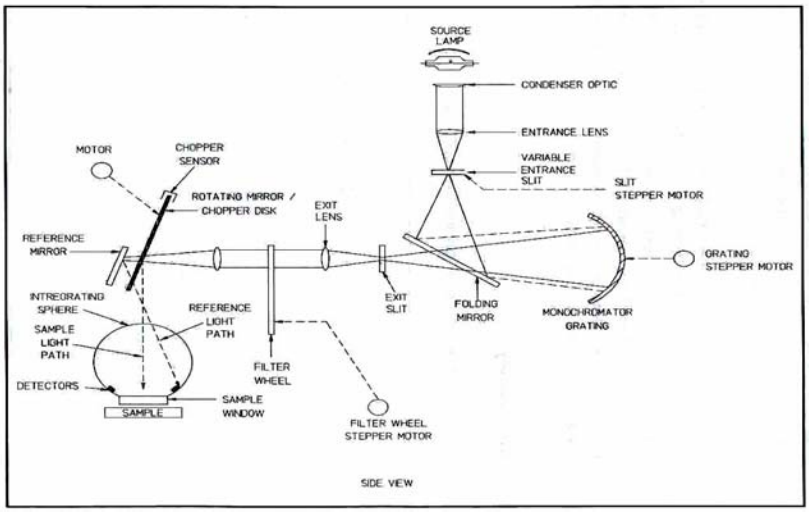
ที่มา: นิพนธ์ (2542)

ในการตรวจวัดตัวอย่างด้วยเครื่อง NIR Spectroscopy ข้อมูลที่ได้จะอยู่ในรูปของสเปกตรัมที่มีความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance : A = - log 1/T) และความยาวคลื่น (นาโนเมตร) ดังแสดงในภาพที่ 6 โดยเครื่อง NIR นั้นจะมีการต่อเชื่อมกับโปรแกรมสำเร็จรูปทางคอมพิวเตอร์

<u>การทำงานของเครื่อง InfraAlyzer 500 ของ Bran + Luebbe</u>

เครื่อง NIR Spectroscopy ที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ เป็นเครื่อง model InfraAlyzer 500 ของ Bran + Luebbe ดังภาพที่ 6 ซึ่งมีหลักการทำงาน ดังภาพที่ 7

<u>ภาพที่ 6</u> เครื่อง NIR Spectroscopy ที่เชื่อมต่อกับโปรแกรมสำเร็จรูปทางคอมพิวเตอร์
ที่มา: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



<u>ภาพที่ 7</u> ไดอะแกรมแสดงรายละเอียดการทำงานภายในเครื่อง Near Infrared Spectroscopy
รุ่น InfraAlyzer 500
ที่มา: คู่มือการใช้เครื่อง Near Infrared Spectroscopy รุ่น InfraAlyzer 500

แสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่เป็น tungsten halogen เดินทางผ่านเลนส์และ slit เข้ามาที่ folding mirror สะท้อนมาที่ monochromator grating ซึ่งสามารถเคลื่อนที่ได้โดยมี Grating stepper motor ควบคุมให้แสงออกมาแต่ละความยาวคลื่นตั้งแต่ 1100 – 2500 นาโนเมตร จากนั้นแสงก็เดินทางผ่าน slit และเลนส์เพื่อให้แน่ใจว่าแสงที่ผ่านออกมาเป็นความยาวคลื่นที่ต้องการเพียงความยาวคลื่นเดียว ผ่านเข้าไปที่ Reference Mirror ส่งผ่านไปยังบริเวณ Intregrating sphere ภายในประกอบด้วย lead sulfide photodetectors 2 ตัว ทำหน้าที่รับแสงที่สะท้อนออกมาจากตัวอย่าง

<u>เทคนิคในการวิเคราะห์ตัวอย่าง</u>

เป็นการจัดวางตัวอย่างเพื่อให้ได้สเปกตรัมที่สัมพันธ์กับปริมาณค่าทางเคมีที่สนใจโดยใช้เทคนิค NIR ได้แก่ (ศุมาพร, 2545)

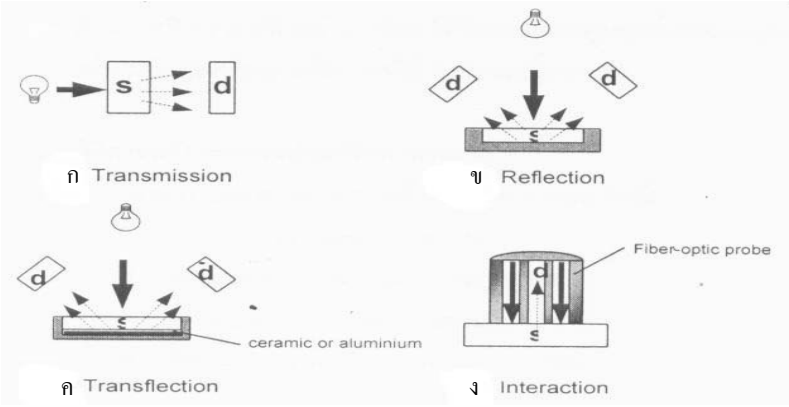
1. Transmission เป็นการวัดปริมาณแสงที่ผ่านออกมาในด้านตรงกันข้ามกับด้านที่แสงตกกระทบ ดังภาพที่ 8ก

2. Reflection แสงตกกระทบที่พื้นผิวของตัวอย่าง วัดปริมาณแสงที่สะท้อนออกมาโดยรวมถึงแสงที่สะท้อนจากเนื้อตัวอย่างส่วนที่ใกล้ผิวตัวอย่างได้อีกด้วย ดังภาพที่ 8ข

3. Transflection แสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบตัวอย่าง ผ่านตัวอย่างลงไปตกกระทบแผ่นเซรามิก ทอง หรืออะลูมิเนียมในชั้นใต้สุด แล้วสะท้อนกลับมายัง detector ดังภาพที่ 8ค

4. Interaction ใช้ในกรณี fiber optics probe แสงจากแหล่งกำเนิดแสงย่าน NIR ส่องผ่านลงมายังตัวอย่างในวงแหวนด้านนอก แล้วแสงที่สะท้อนออกมาจากเนื้อตัวอย่างถูกส่งไปยัง detector บริเวณส่วนกลาง fiber optics probe ดังภาพที่ 8ง

เทคนิคที่ใช้ในเครื่อง Near Infrared Spectroscopy รุ่น InfraAlyzer 500 ใช้การวัดแบบ Reflection หรือ Diffuse reflection



<u>ภาพที่ 8</u> เทคนิคการวัดตัวอย่าง
ที่มา: ศุมาพร (2545)

<u>การแปลงข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ (Pretreatment of spectral data)</u>

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสเปกตรัมมากได้แก่ ความชื้น และขนาดของอนุภาค ซึ่งทำให้สเปกตรัมที่ได้มีความแตกต่างกัน เนื่องมาจากการกระเจิงแสง และความแตกต่างที่เป็นผลมาจากความเข้มข้นขององค์ประกอบที่ต้องการวัด ซึ่งอาจจะทำให้เกิดความแตกต่างในผลเชิงบวก(Additive scattering) ทำให้สเปกตรัม เพิ่มขึ้น ตามตลอดช่วงความยาวคลื่น หรือผลเชิงคูณ (Multiplicative scattering) สเปกตรัมเพิ่มขึ้นเมื่อความยาวคลื่นสูงขึ้น

นอกจากนี้สเปกตรัมที่ได้จากการดูดกลืนแสง ในย่านใกล้อินฟราเรด เป็นสเปกตรัมที่มีการเหลื่อมซ้อนทับกันอยู่ (Overlapping band) ดังนั้น ในการวิเคราะห์จึงควรนำไปปรับแต่งด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์ก่อน เพื่อให้สเปกตรัม มีความเด่นชัดมากขึ้น และลดความคลาดเคลื่อนให้น้อยลง วิธีการที่นิยมใช้มี 2 วิธี คือ

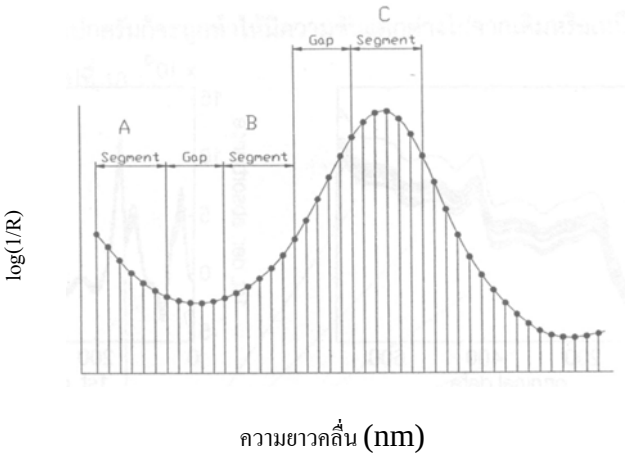
1. <u>Derivative transformation</u>

1.1 First derivative การคำนวณ Derivative หรือ ความชันของสเปกตรัม สามารถทำได้ดังนี้

$$\text{First derivative} = \text{Slope}$$
$$= B - A$$

โดยที่ A และ B คือ ค่าเฉลี่ยสเปกตรัมของ Segments ที่มีช่วงเท่ากัน และอยู่ติดกัน

ในการคำนวณต้องกำหนดขนาดของ Segment และ Gap ก่อน ซึ่งขนาด Segment คือ ขนาดของความยาวคลื่นที่เราทำการเฉลี่ย ให้ได้ค่าใหม่เพื่อเป็นตัวแทนขึ้นมาหนึ่งจุด แล้วทำการข้ามช่วงความยาวคลื่นไปเท่ากับขนาดของ Gap เพื่อเริ่มนับเป็นจุดแรกในการคำนวณ Segment ต่อไป ตัวอย่างดังในภาพที่ 9 เป็นสเปกตรัมที่มีความยาวคลื่นที่แต่ละจุดห่างกัน 2 นาโนเมตร มีขนาด Segment และ Gap เท่ากับ 12 และ 10 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยที่ จุด A คือ จุดที่ได้จากการหาค่าเฉลี่ยในช่วงความยาวคลื่น 12 นาโนเมตร (ขนาด Segment) จากนั้นข้ามไป 10 นาโนเมตร (ขนาด Gap) แล้วจึงเฉลี่ยอีกครั้งในช่วงความยาวคลื่น 12 นาโนเมตร เพื่อให้เป็นจุด B แล้วนำค่า A ลบจากค่า B ผลที่ได้นำไปแทนค่าสเปกตรัมที่จุดเริ่มต้นของ Segment แรก ซึ่งการคำนวณจะกระทำทุก Segment ต่อเนื่องกันไปจนตลอดความยาวคลื่น ต่อจากนั้นก็ขยับ Segment ไปทางขวา 1 จุด หรือ 2 นาโนเมตร แล้วคำนวณซ้ำเหมือนที่กล่าวมา จนเสร็จสิ้น



<u>ภาพที่ 9</u> ขนาด Segment และ Gap ที่กำหนดในสเปกตรัมเพื่อคำนวณ Derivative
ที่มา: อนุพันธ์(2545)

First derivative ใช้ได้ผลกับตัวอย่างที่มีเนื้อสม่ำเสมอ และมีการกระจายของอนุภาคสม่ำเสมอทั่วถึง นอกจากนั้นแล้ว First derivative ของสเปกตรัมจะช่วยแก้ปัญหา ที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่น

1.2 Second derivative คือ การคำนวณผลลบของ ค่าที่ได้จาก First derivative ที่ติดกันนั่นเอง หรือเป็นที่รู้จักกันว่าเป็นการคำนวณหาการเปลี่ยนแปลงความชันของสเปกตรัม มาจากสูตรดังนี้

$$\frac{d^2 \log(1/R)}{d\lambda^2}$$

ซึ่งเขียนแทนด้วย

$$d^{2}\log(1/R)$$

สามารถคำนวณได้จาก

Second derivative = change in slope

= First derivative แรก – First derivative ถัดมา

= (C - B) – (B - A)

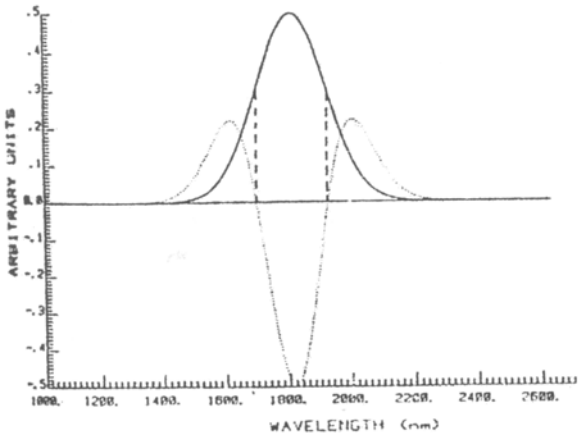
= C - 2B + A

โดยที่ A, B และ C เป็นค่าเฉลี่ยสเปกตรัมของ Segments ที่ติดกัน และมีช่วงเท่ากัน

การคำนวณคล้ายกับ First derivative โดยในการคำนวณค่า Second derivative ของจุดแรก ต้องหาค่า C ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของสเปกตรัมในช่วงที่สาม หรือ C ในภาพที่ 9 แล้วคำนวณผลลบของค่าเฉลี่ยใน Segment แรก และ Segment ที่สอง ซึ่งก็คือ B-A แล้วคำนวณผลลบของค่าเฉลี่ยใน Segment ที่สองและ Segment ที่สาม ซึ่งก็คือ C-B แล้วนำผลลบค่าแรกมาลบออกจากผลลบค่าที่สอง ตามสมการ ค่าผลลบสุดท้ายที่ได้นำไปแทนค่าสเปกตรัมที่จุดแรกของ Segment แรก และคำนวณผลลบตามสมการ ไปจนครบตลอดช่วงความยาวคลื่น ต่อจากนั้นจึงเลื่อนไปทางขวา ยาว 1 จุด หรือ 2 นาโนเมตร แล้วทำการหาซ้ำจนเสร็จสมบูรณ์

การใช้ Second derivative จะช่วยลดผลกระทบจากการกระเจิงแสง ทั้งที่เป็นผลเชิงบวกที่ทำให้ขนาดสเปกตรัมเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่น และผลเชิงคูณที่ทำให้ขนาดสเปกตรัมเพิ่มขึ้นตามความยาวคลื่น Second derivative ใช้ได้ผลดีกับตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคต่างๆ ผสมผสานกันอยู่

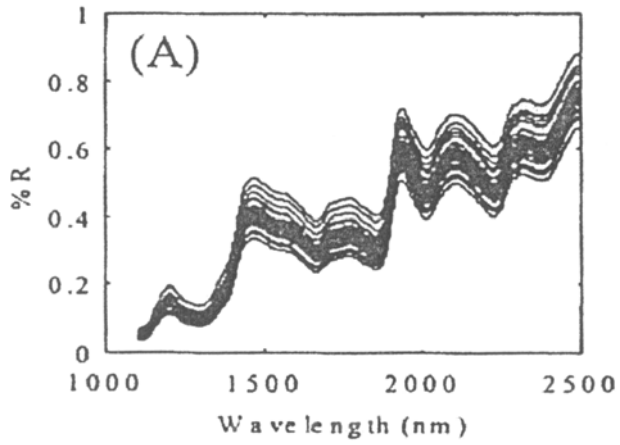
First derivative ให้ความหมายเป็นค่าความยาวคลื่นที่แต่ละความยาวคลื่น ซึ่งทำให้แปลความหมายยากกว่า Second derivative ซึ่งได้รับความนิยมมากกว่า เนื่องจาก Second derivative จะให้จุดยอดตรงกับจุดยอดของสเปกตรัมเดิม แม้ว่าจะกลับหัว ดังภาพที่10



ภาพที่ 10 สเปกตรัม และ Second derivative ของสเปกตรัม
ที่มา: Hruschka (1987)

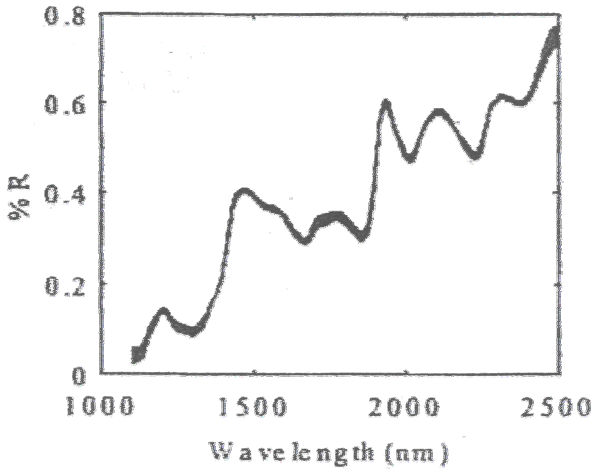
2. Multiplicative scatter correction (MSC)

เป็นวิธีการที่ช่วยลดผลจากการกระเจิงของแสง ซึ่งโดยทั่วไปการกระเจิงของแสง ทำให้ความชันของสเปกตรัมโดยรวมเปลี่ยนไป ดังภาพที่ 11 คล้ายกับว่าสเปกตรัมถูกทำให้หมุนรอบจุดที่ความยาวคลื่นต่ำสุด



ภาพที่ 11 NIR สเปกตรัม ที่ได้รับผลกระทบแบบ Multiplicative effect ก่อนการปรับแก้ด้วย MSC
ที่มา: Boyworth and Booksh (2001)

วิธีการ MSC คือ ทำการหมุนสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่างให้มาตรงกับสเปกตรัมเฉลี่ย มีขั้นตอนคือ ในแต่ละตัวอย่างต้องหาค่าคงที่ค่าหนึ่งมาลบออกจากสเปกตรัมเพื่อลดผลที่เกิดจากการเลื่อนตัวของสเปกตรัม และต้องหาค่าคงที่ค่าหนึ่งมาหาร ค่า log(1/R) ของทุกๆจุดเพื่อปรับความชันของสเปกตรัมที่เปลี่ยนไป ได้สเปกตรัมดังภาพที่12



ภาพที่ 12 NIR สเปกตรัมที่ได้รับผลกระทบแบบ Multiplicative effect หลังการปรับแก้ด้วย MSC
ที่มา: Boyworth and Booksh (2001)

การวิเคราะห์ข้อมูลจาก Near Infrared Spectral

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR จะอยู่ในรูปของสเปกตรัม ส่วนข้อมูลของค่าคุณลักษณะคุณภาพวิเคราะห์ได้จากวิธีแบบ conventional นำข้อมูลที่ได้จากทั้ง 2 ส่วนมารวมเข้าด้วยกัน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ ซึ่งขั้นตอนวิเคราะห์ข้อมูลประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือขั้นตอนการวิเคราะห์หาสมการ calibration เพื่อใช้เป็น model ในการวัดค่าคุณลักษณะคุณภาพต่าง ๆ ตามที่ต้องการตรวจสอบ ส่วนขั้นที่ 2 เป็นขั้นตอนการทดสอบความแม่นยำของสมการ calibration ที่สร้างขึ้น ซึ่งในขั้นตอนนี้จะเรียกว่า ขั้นตอนการทำ validation เพื่อเลือกสมการที่มีความเหมาะสม และสามารถทำนายค่าได้แม่นยำมากที่สุด เมื่อได้ผลการทดสอบที่น่าเชื่อถือแล้วจึงจะนำสมการ calibration ที่ได้ไปใช้ทำนายค่าคุณลักษณะที่ต้องการศึกษาจากสเปกตรัม NIR ที่ทำการวัดมาได้

<u>การสร้างสมการ Calibration</u>

การหาตัวแปรอิสระที่น่าจะมีความสัมพันธ์กับตัวแปรตามที่จะทำการวิเคราะห์คุณภาพ มีวิธีการหา 2 วิธีหลัก คือ

1. Wavelength selection

เป็นวิธีการคัดเลือกตัวแปรอิสระ เฉพาะความยาวคลื่น ที่น่าจะมีความสัมพันธ์ กับตัวแปรที่จะทำการวิเคราะห์ เทคนิคในการคัดเลือกมีหลายแบบเช่น

1.1 เลือกจากความรู้ความชำนาญ หรือเอกสารอ้างอิง ที่บ่งบอกถึงช่วงความยาวคลื่นที่คาดว่าน่าจะสัมพันธ์กับค่าที่จะทำการวิเคราะห์

1.2 อาจจะใช้เทคนิคทางสถิติในการคัดเลือกความยาวคลื่นที่คาดว่าน่าจะมีความสัมพันธ์ เช่น Multiple regression หรือการสร้าง correllelogram

การสร้าง correllelogram เป็นการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง แกน X คือ ความยาวคลื่น กับ แกน Y คือ ค่า correlation อย่างง่ายของความสัมพันธ์ระหว่าง optical data ณ ความยาวคลื่นนั้น กับค่าวิเคราะห์ที่หามาได้ด้วยวิธี Reference measurement ซึ่งจะช่วยให้นักวิจัยสามารถคัดเลือกความยาวคลื่นที่มีความเป็นไปได้ที่จะสัมพันธ์ กับค่าที่วิเคราะห์

วิธีการสร้างสมการ Calibration แบบ Wavelength selection อาศัยหลัก และวิธีการทางสถิติมาช่วยในการสร้างสมการ เช่น Simple linear regression, Multiple linear regression เป็นต้น

แต่การเลือกความยาวคลื่นที่เหมาะสม จากความยาวคลื่นทั้งหมด ไม่ใช่เรื่องง่าย และอาจเกิดข้อผิดพลาดได้ ค่าข้อมูลที่ไม่ถูกต้องอาจเกิดปัญหา ทำให้ได้ค่าทำนายที่ต่ำกว่า หรือสูงกว่าค่าแท้จริง อันเนื่องมาจากความผิดพลาดจากการสร้างสมการ หรือเกิดปัญหาเมื่อจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการน้อย และทำให้ได้สมการที่มีตัวแปรอิสระมากเกินไปในสมการทำให้ได้ข้อมูลที่ไม่น่าเชื่อถือ

1.2.1 Simple linear regression

หมายถึง สมการ regression ที่ประกอบไปด้วยตัวแปรอิสระ(X) และตัวแปรตาม (Y) เพียงตัวเดียวในสมการ โดยใช้วิธีกำลังสองน้อยที่สุดหรืออธิบายความหมายของข้อมูลให้ได้มากที่สุด เส้นตรงที่ได้นี้เรียกว่า linear regression

สมการของ linear regression คือ $y = b_0+b_1X$

โมเดลของ linear regression คือ $Y = b_0+b_1X+e$

โดย b_0 = ค่าคงที่ ณ จุดตัดแกน Y

b_1 = ค่าคงที่ regression หรือ ค่าความชันของกราฟ

e = ผลต่างระหว่างค่า Y – y = เรซิดัล (residual) หรือค่าความคลาดเคลื่อน

ซึ่งสามารถคำนวณได้จาก

$$b_0 = \sum \overline{Y} - b\overline{X}$$

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^{n} \left(Y_i - \overline{Y}\right)\left(X_i - \overline{X}\right)}{\sum_{i=1}^{n} \left(X_i - \overline{X}\right)^2}$$

โดย n = จำนวนตัวอย่าง (Observation)

การสร้างสมการด้วยวิธี Simple linear regression จะพิจารณาโดยให้มีค่าความคลาดเคลื่อน (residual) น้อยที่สุดโดยพิจารณาจากค่าความแปรปรวนที่เกิดจากการประมาณค่า Y ภายใต้ค่า X (minimize sum of square error : SSE)

$$SSE = \sum_{i=1}^{n} (Y_i - b_0 - b_1 X_i)^2$$

การวัดความน่าเชื่อถือของการประมาณโดยใช้สมการ Regression วัดได้จาก Standard Error of Calibration (SEC) หรือ residual standard deviation ($S_{y.x}$ หรือ SEC) ซึ่งคำนวณได้จาก

$$SEC = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(Y_i - b_0 - b_1 x_i)^2}}{n-2} = \sqrt{\frac{SSE}{n-2}}$$

หรือวัดจาก Root Mean Square Error of Calibration (RMSEC) ซึ่งคำนวณจาก

$$RMSEC = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(y_i - Y_i)^2}}{n-2}$$

โดยที่ $y_i = b_0 + b_1 X_i$ และ $Y_i = b_0 + b_1 X_i$

นอกจากนี้ยังมีการวัดระดับความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระ(X) และตัวแปรตาม (Y) โดยวัดจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์หรือ Correlation coefficient (R) โดยมีค่าระหว่าง –1 ถึง 1 ถ้ามีค่า R สูงหมายถึง ถ้าตัวแปรอิสระ(X) เปลี่ยนแปลงจะมีอิทธิพลมากกับตัวแปรตาม ถ้าค่า R = 0 แสดงว่าตัวแปรทั้งสองไม่มีความสัมพันธ์กัน ค่า R คำนวณได้จาก

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

การสร้างสมการ Calibration โดยใช้ Simple linear regression หรือ Single term linear regression ในเทคนิค NIR เป็นการเลือกใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่สัมพันธ์กับค่าที่ต้องการวิเคราะห์เพียงความยาวคลื่นเดียวซึ่งทำให้ค่า R ที่ได้มีค่าต่ำจึงไม่นิยมนำมาใช้ในการสร้างสมการ Calibration

1.2.2 Multiple linear regression (MLR)

เป็นวิธีการใช้ตัวแปรอิสระ(X) มากกว่าหนึ่งตัวในการประมาณค่าตัวแปรตาม (Y) จะทำให้สมการที่ได้ลดความผิดพลาดในการประมาณค่าลงได้ หากพิจารณาในเรื่องการใช้เทคนิค NIRS ในการหาความสัมพันธ์เชิงปริมาณของตัวอย่างก็หมายถึงการพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงที่หลายความยาวคลื่นนั่นเอง สมการ regression คือ

สมการ regression $y = b_0+b_1X_1+b_2X_2+\ldots\ldots..+b_kX_k$

โมเดล regression $Y = b_0+b_1X_1+b_2X_2+\ldots\ldots..+b_kX_k + e$

ซึ่ง $b_0, b_1, b_2, \ldots\ldots.., b_k$ = สัมประสิทธิ์รีเกรซชั่นบางส่วน (partial regression coefficient)

วิธีกำลังสองน้อยที่สุดนำมาใช้ในการพิจารณาในการสร้างสมการโดยค่า SSE คำนวณได้จาก

$$SSE = \sum_{i=1}^{n} (Y_i - b_0 - b_j X_i)^2$$

$$SEC = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^{n} (Y_i - b_0 - b_j X_i)^2}}{n-2} = \sqrt{\frac{SSE}{n-k-1}}$$

n = จำนวนตัวอย่าง

i = 1,2,3,…….n

j = 1,2,3,…….k

k = จำนวนตัวแปรอิสระที่มีอยู่ในสมการ Calibration

ซึ่งการคำนวณหาค่าสัมประสิทธ์เมื่อมีตัวแปรอิสระเป็นจำนวนมากจะทำได้ยากและค่อนข้างซับซ้อนจึงใช้ระบบเมตริกมาช่วย มีการคิดโปรแกรมสำเร็จรูปมาช่วยในการคำนวณ ยกตัวอย่างเช่น โปรแกรม NSAS สามารถลดความยุ่งยากและความผิดพลาดได้มาก

2. Full spectrum analysis

Full spectrum analysisเป็นวิธีการคัดเลือกหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม (Selective wavelength) จากความยาวคลื่นทั้งหมดที่มีในสเปกตรัมมาสร้างสมการ Calibration ดังวิธีข้างต้น บางครั้งอาจเกิดข้อผิดพลาดได้ ถ้ามีการสร้างสมการที่ไม่ถูกต้องอาจเกิดปัญหาทำให้ได้ค่าที่ทำนายต่ำกว่าหรือสูงกว่าค่าที่แท้จริง (Underestimation) อันเนื่องมาจากการเกิดความคลาดเคลื่อนจากการสร้างสมการ (Interference) หรือเกิดปัญหาเมื่อมีจำนวนตัวอย่างที่นำมาใช้ในการสร้างสมการทำนายน้อยและทำให้ได้สมการที่มีตัวแปรอิสระมากเกินไปในสมการ ทำให้ข้อมูลไม่น่าเชื่อถือ (Over fitting) การใช้ข้อมูลทั้งหมดที่มีในทุกความยาวคลื่นของสเปกตรัม (Full spectrum) น่าจะเป็นหนทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามปัญหาที่มีอยู่คือการที่มีตัวแปรอิสระมากเกินไป การใช้วิธีทางสถิติในการจัดกลุ่มแยกประเภทตัวแปรที่มีความเกี่ยวข้องกัน และทำการสร้างตัวแปรใหม่ที่เกิดมาจากตัวแปรเดิมจะช่วยทำให้แก้ปัญหาดังกล่าวได้ วิธีการทางสถิติที่นิยมใช้ได้แก่

2.1 Principal Components Regression (PCR)

การทำPCR จะเริ่มจากการทำ Principal Component analysis (PCA) กับข้อมูลที่เป็นตัวแปรอิสระที่ได้มาจากข้อมูลของสเปกตรัมเพื่อสร้างองค์ประกอบหรือตัวแปรใหม่ที่เรียกว่า New Factors ก่อนแล้วจึงนำค่าของตัวแปรใหม่ที่สร้างขึ้นมาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรตามที่หามาได้จากวิธี Reference Methods เพื่อสร้างสมการ Calibration โดยใช้หลักการของ MLR

2.2 Principal Component Analysis (PCA)

PCA เป็นเทคนิคที่ใช้ในการลดจำนวนของตัวแปรอิสระ ในกรณีที่ตัวแปรอิสระมีเป็นจำนวนมาก ยกตัวอย่างเช่น วัดค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมที่ 700 ความยาวคลื่น จำนวนสเปกตรัมดังกล่าว คือจำนวนของตัวแปรอิสระนั่นเอง การลดจำนวนของตัวแปรมีวิธีการคือ แบ่งกลุ่มตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันเพื่อสร้างตัวแปรขึ้นมาใหม่เรียกว่า แฟกเตอร์ หรือ องค์ประกอบ แฟกเตอร์ที่สร้างขึ้นอีกนัยหนึ่งก็คือผลรวมของค่าสเปกตรัมทุกความยาวคลื่นที่น้ำหนักแตกต่างกัน แฟกเตอร์จะมีได้หลายแฟกเตอร์ โดยแต่ละแฟกเตอร์จะแตกต่างกันที่น้ำหนักของแต่ละค่าสเปกตรัมที่ความยาวคลื่นต่างๆซึ่งประกอบกันเป็นแฟกเตอร์นั้นๆ แฟกเตอร์แรกจะถูกสร้างขึ้นมาให้สามารถอธิบายความแปรปรวนของค่าสเปกตรัมได้มากที่สุด แฟกเตอร์ที่สองอธิบายความแปรปรวนที่เหลือ ซึ่งจะทำให้แฟกเตอร์แต่ละแฟกเตอร์ แทบจะไม่มีความสัมพันธ์ต่อกัน (Non-Co linearity) ซึ่งเป็นข้อดีสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ เมื่อทำการหาแฟก

เตอร์เรียบร้อยแล้ว นำแฟกเตอร์ที่ได้มาทำ Regression กับค่าทางเคมีโดยใช้วิธีกำลังสองน้อยที่สุด ทำให้ได้ค่า Chemical loading หรือ Calibration coefficient

2.3 Partial Least Square (PLS) Regression

PLS เป็นวิธีการที่คล้ายกับ PCR แต่ต่างกันตรงที่วิธี PCR กระบวนการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมจะเป็นอิสระจากกระบวนการทำสมการถดถอยของสมการทำนาย ซึ่งใน PLS ทั้งสองกระบวนการจะถูกเชื่อมโยงเข้าไว้ด้วยกันโดยมีการนำค่าองค์ประกอบทางเคมีมาคิดในกระบวนการหาแฟกเตอร์ด้วย ซึ่ง Kasemsamran (2005) ได้อธิบายถึง PLS ว่าเป็นเทคนิคในการวิเคราะห์ข้อมูลแบบหลายตัวแปร โดยการสร้างแฟกเตอร์แบบสมการเชิงเส้นตรงจากข้อมูลของสเปกตรัมเริ่มต้น และนำแฟกเตอร์ที่ได้ไปใช้ในการสร้างสมการถดถอย โดยแฟกเตอร์ที่ได้จากการสร้างสมการด้วยวิธีสถิติ PLS ต้องสามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูล และเกี่ยวข้องกับการประเมินค่าทางเคมีในเวลาเดียวกัน วัตถุประสงค์ของ PLS เพื่อต้องการลดจำนวนข้อมูลสเปกตรัม ให้ได้เฉพาะข้อมูลสเปกตรัมที่มีความสำคัญกับการทำนายค่าทางเคมีที่สนใจเท่านั้น เพื่อให้สามารถประเมินค่าทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น

2.4 Moving Window Partial Least (MWPLS) Regression

Kasemsamran (2005) อธิบายว่า คือ วิธีการเลือกช่วงความยาวคลื่นสำหรับวิเคราะห์สเปกตรัมที่มีความซับซ้อนเนื่องจากเป็นสเปกตรัมของตัวอย่างที่มีหลายองค์ประกอบ วิธีนี้ได้มีการพิสูจน์แล้วว่าสามารถเลือกช่วงความยาวคลื่นที่ให้สมการที่มีประสิทธิภาพสูงและมีความเสถียรต่อการแทรกสอดของข้อมูลที่ไม่เกี่ยวข้อง ใน MWPLS มีการกำหนดให้มี 1 หน้าต่างสเปกตรัมขนาด X_i เมตริกซ์ขนาด m แถว h คอลัมน์ ให้เคลื่อนที่ไปตามสเปกตรัมตลอดช่วงความยาวคลื่น (ในที่นี้สเปกตรัมคือเมตริกซ์ขนาด m แถว n คอลัมน์) ตำแหน่งข้อมูลที่หน้าต่างเคลื่อนที่ไปถึงก็จะนำไปสร้างสมการด้วยวิธี PLS ที่ค่าแฟกเตอร์ต่าง ๆ หลังจากนั้นจะทำการคำนวณหาค่า log (Sum of Squares Residues: SSR) จากสมการ PLS ที่ได้และนำไปเขียนกราฟโดยให้แกน X เป็นความยาวคลื่น และแกน Y เป็นค่า log (SSR) กราฟแต่ละเส้นแสดงค่า log (SSR) ที่ได้จากการคำนวณในแต่ละแฟกเตอร์ แล้วทำการพิจารณาเพื่อเลือกช่วงสเปกตรัมที่มีความสัมพันธ์กับค่าทางเคมี โดยเลือกช่วงกราฟที่มีค่า log (SSR) ต่ำ เพื่อนำมาสร้างสมการทำนายที่ดีที่สุด

<u>การทำ Validation</u>

หลังจากที่ได้สร้างสมการแล้ว ต้องมีการทดสอบความประสิทธิของสมการนั้น ก่อนนำไปใช้งานจริง ซึ่งการทดสอบสมการที่นิยม มี 2 วิธี คือ

1. Full cross validation

เป็นการทดสอบสมการภายใน ความหมายคือ ตัวอย่างที่นำมาทดสอบสมการ ก็คือตัวอย่างชุดมาตรฐานทั้งหมด ที่ใช้สร้างสมการประเมินค่าทางเคมีนั่นเอง มีขั้นตอนดังนี้

1.1 ตัดตัวอย่างมาตรฐานตัวที่ 1 ออกจากชุดตัวอย่างมาตรฐาน
1.2 ใช้ตัวอย่างมาตรฐานที่เหลือทำการสร้างสมการ
1.3 นำสมการที่ได้มาประเมินค่าทางเคมีของตัวอย่างมาตรฐานตัวที่ 1 เราตัดออกมา
1.4 ใส่ตัวอย่างมาตรฐานตัวที่ 1 กลับคืนเข้าไป
1.5 ตัดตัวอย่างมาตรฐานตัวที่ 2 ออกจากชุดตัวอย่างมาตรฐาน
1.6 ทำขั้นตอนซ้ำข้างต้น จนครบทุกตัวอย่าง

2. Full spectrum analysis

Full spectrum analysisเป็นวิธีการคัดเลือกหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม (Selective wavelength) จากความยาวคลื่นทั้งหมดที่มีในสเปกตรัมมาสร้างสมการ Calibration ดังวิธีข้างต้น บางครั้งอาจเกิดข้อผิดพลาดได้ ถ้ามีการสร้างสมการที่ไม่ถูกต้องอาจเกิดปัญหาทำให้ได้ค่าที่ทำนายต่ำกว่าหรือสูงกว่าค่าที่แท้จริง (Underestimation) อันเนื่องมาจากการเกิดความคลาดเคลื่อนจากการสร้างสมการ (Interference) หรือเกิดปัญหาเมื่อมีจำนวนตัวอย่างที่นำมาใช้ในการสร้างสมการทำนายน้อยและทำให้ได้สมการที่มีตัวแปรอิสระมากเกินไปในสมการ ทำให้ข้อมูลไม่น่าเชื่อถือ (Over fitting) การใช้ข้อมูลทั้งหมดที่มีในทุกความยาวคลื่นของสเปกตรัม (Full spectrum) น่าจะเป็นหนทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามปัญหาที่มีอยู่คือการที่มีตัวแปรอิสระมากเกินไป การใช้วิธีทางสถิติในการจัดกลุ่มแยกประเภทตัวแปรที่มีความเกี่ยวข้องกัน และทำการสร้างตัวแปรใหม่ที่เกิดมาจากตัวแปรเดิมจะช่วยทำให้แก้ปัญหาดังกล่าวได้ วิธีการทางสถิติที่นิยมใช้ได้แก่

2.1 Principal Components Regression (PCR)

การทำPCR จะเริ่มจากการทำ Principal Component analysis (PCA) กับข้อมูลที่เป็นตัวแปรอิสระที่ได้มาจากข้อมูลของสเปกตรัมเพื่อสร้างองค์ประกอบหรือตัวแปรใหม่ที่เรียกว่า New Factors ก่อนแล้วจึงนำค่าของตัวแปรใหม่ที่สร้างขึ้นมาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรตามที่หามาได้จากวิธี Reference Methods เพื่อสร้างสมการ Calibration โดยใช้หลักการของ MLR

2.2 Principal Component Analysis (PCA)

PCA เป็นเทคนิคที่ใช้ในการลดจำนวนของตัวแปรอิสระ ในกรณีที่ตัวแปรอิสระมีเป็นจำนวนมาก ยกตัวอย่างเช่น วัดค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมที่ 700 ความยาวคลื่น จำนวนสเปกตรัมดังกล่าว คือจำนวนของตัวแปรอิสระนั่นเอง การลดจำนวนของตัวแปรมีวิธีการคือ แบ่งกลุ่มตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันเพื่อสร้างตัวแปรขึ้นมาใหม่เรียกว่า แฟกเตอร์ หรือ องค์ประกอบ แฟกเตอร์ที่สร้างขึ้นอีกนัยหนึ่งก็คือผลรวมของค่าสเปกตรัมทุกความยาวคลื่นที่น้ำหนักแตกต่างกัน แฟกเตอร์จะมีได้หลายแฟกเตอร์ โดยแต่ละแฟกเตอร์จะแตกต่างกันที่น้ำหนักของแต่ละค่าสเปกตรัมที่ความยาวคลื่นต่างๆซึ่งประกอบกันเป็นแฟกเตอร์นั้นๆ แฟกเตอร์แรกจะถูกสร้างขึ้นมาให้สามารถอธิบายความแปรปรวนของค่าสเปกตรัมได้มากที่สุด แฟกเตอร์ที่สองอธิบายความแปรปรวนที่เหลือ ซึ่งจะทำให้แฟกเตอร์แต่ละแฟกเตอร์ แทบจะไม่มีความสัมพันธ์ต่อกัน (Non-Collinearity) ซึ่งเป็นข้อดีสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ เมื่อทำการหาแฟกเตอร์เรียบร้อยแล้ว นำแฟกเตอร์ที่ได้มาทำ Regression กับค่าทางเคมีโดยใช้วิธีกำลังสองน้อยที่สุด ทำให้ได้ค่า Chemical loading หรือ Calibration coefficient

2.3 Partial Least Square (PLS) Regression

PLS เป็นวิธีการที่คล้ายกับ PCR แต่ต่างกันตรงที่วิธี PCR กระบวนการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมจะเป็นอิสระจากกระบวนการทำสมการถดถอยของสมการทำนาย ซึ่งใน PLS ทั้งสองกระบวนการจะถูกเชื่อมโยงเข้าไว้ด้วยกันโดยมีการนำค่าองค์ประกอบทางเคมีมาคิดในกระบวนการหาแฟกเตอร์ด้วย ซึ่ง Kasemsamran (2005) ได้อธิบายถึง PLS ว่าเป็นเทคนิคในการวิเคราะห์ข้อมูลแบบหลายตัวแปร โดยการสร้างแฟกเตอร์แบบสมการเชิงเส้นตรงจากข้อมูลของสเปกตรัมเริ่มต้น และนำแฟกเตอร์ที่ได้ไปใช้ในการสร้างสมการถดถอย โดยแฟกเตอร์ที่ได้จากการสร้างสมการด้วยวิธีสถิติ PLS ต้องสามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูล และเกี่ยวข้องกับการประเมินค่าทางเคมีในเวลาเดียวกัน

วัตถุประสงค์ของ PLS เพื่อต้องการลดจำนวนข้อมูลสเปกตรัม ให้ได้เฉพาะข้อมูลสเปกตรัมที่มีความสำคัญกับการทำนายค่าทางเคมีที่สนใจเท่านั้น เพื่อให้สามารถประเมินค่าทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น

2.4 Moving Window Partial Least (MWPLS) Regression

Kasemsamran (2005) อธิบายว่า คือ วิธีการเลือกช่วงความยาวคลื่นสำหรับวิเคราะห์สเปกตรัมที่มีความซับซ้อนเนื่องจากเป็นสเปกตรัมของตัวอย่างที่มีหลายองค์ประกอบ วิธีนี้ได้มีการพิสูจน์แล้วว่าสามารถเลือกช่วงความยาวคลื่นที่ให้สมการที่มีประสิทธิภาพสูงและมีความเสถียรต่อการแทรกสอดของข้อมูลที่ไม่เกี่ยวข้อง ใน MWPLS มีการกำหนดให้มี 1 หน้าต่างสเปกตรัมขนาด X_i เมตริกซ์ขนาด m แถว h คอลัมน์ ให้เคลื่อนที่ไปตามสเปกตรัมตลอดช่วงความยาวคลื่น (ในที่นี้สเปกตรัมคือเมตริกซ์ขนาด m แถว n คอลัมน์) ตำแหน่งข้อมูลที่หน้าต่างเคลื่อนที่ไปถึงก็จะนำไปสร้างสมการด้วยวิธี PLS ที่ค่าแฟกเตอร์ต่าง ๆ หลังจากนั้นจะทำการคำนวณหาค่า log (Sum of Squares Residues: SSR) จากสมการ PLS ที่ได้และนำไปเขียนกราฟโดยให้แกน X เป็นความยาวคลื่น และแกน Y เป็นค่า log (SSR) กราฟแต่ละเส้นแสดงค่า log (SSR) ที่ได้จากการคำนวณในแต่ละแฟกเตอร์ แล้วทำการพิจารณาเพื่อเลือกช่วงสเปกตรัมที่มีความสัมพันธ์กับค่าทางเคมี โดยเลือกช่วงกราฟที่มีค่า log (SSR) ต่ำ เพื่อนำมาสร้างสมการทำนายที่ดีที่สุด

ดังนั้นตัวอย่างแต่ละตัว จะถูกตัดออกจากชุด ตัวอย่างละหนึ่งครั้งเท่ากัน ทำการหาค่า Root Mean Square Error of Cross Validation (RMSECV)

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\left(\sum_{i=1}^{n} Y_{cv,i} - Y_i \right)}{n - 1}}$$

3. การทดสอบผลการประเมิน (Prediction testing)

วิธีนี้จะทดสอบสมการแบบภายนอก โดยการเตรียมตัวอย่างชุดใหม่มาทำการวิเคราะห์ในสภาวะการทดลอง เช่นเดียวกับชุดตัวอย่างมาตรฐาน เรียกชุดตัวอย่างที่นำมาทดสอบสมการนี้ว่า ชุดทดสอบ (Testing set) ตัวแปรอิสระ(X) มากกว่าหนึ่งตัวในการประมาณค่าตัวแปรตาม (Y) สิ่งที่ต้องระวังคือ ปริมาณค่าทางเคมี ที่เราจะใช้ทดสอบ ต้องอยู่ในช่วงชุดมาตรฐาน หลังจากได้สเปกตรัมจากชุดทดสอบก็นำค่าที่ได้ ไปคำนวณหา ปริมาณจากสมการค่าทางเคมี จากนั้นดูผลการคำนวณที่ได้จากค่าทางสถิติ ซึ่งค่าทางสถิติที่ควรพิจารณา คือ ค่า Bias คือค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธี NIR กับค่าที่ได้จากวิธี Reference และค่า Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP)

$$Bias \quad (\overline{d}) = \frac{\sum (X - Y)}{n}$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum (X - Y)^2}{n}} = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n}}$$

<u>ประโยชน์ของเทคนิค NIR</u>

Osborne และคณะ (1993) ได้กล่าวว่า เครื่องมือแต่ละประเภทต่างก็มีข้อจำกัดในการใช้งาน แต่เครื่อง NIR มีประโยชน์และข้อดีมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ทางเคมีหรือการวิเคราะห์ด้วยวิธีอื่น สำหรับการนำเครื่อง NIR ประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมีประโยชน์มากมาย เช่น

1. ง่ายต่อการเตรียมตัวอย่าง ไม่จำเป็นต้องชั่งตัวอย่างก่อนนำมาวัดค่า
2. มีความรวดเร็วในการวัดค่า
3. การตรวจสอบเป็นแบบไม่ทำลาย ทำให้ตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบ สามารถจำหน่าย ส่งออกหรือบริโภคต่อได้ เป็นการประหยัดต้นทุนของผลิตภัณฑ์อีกทางหนึ่ง
4. ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้ลดต้นทุนในการดูแลรักษาสภาพแวดล้อม เมื่อเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางด้านเคมี
5. สะดวกต่อการใช้งาน เนื่องจากในการปฏิบัติไม่จำเป็นต้องใช้ผู้ที่มีประสบการณ์ หรือต้องได้รับการฝึกฝนโดยเฉพาะ สามารถปฏิบัติตามคู่มือการใช้งานได้ทันที
6. ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี และเครื่องแก้วเป็นจำนวนมาก ทำให้สามารถลดต้นทุนในเรื่องสารเคมี และอุปกรณ์เครื่องแก้วลงไปได้
7. เป็นวิธีการที่เหมาะสำหรับนำไปควบคุมคุณภาพในกระบวนการผลิต

<u>งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจสอบคุณภาพผลไม้โดยใช้เทคนิคเชิงแสง</u>

Sohn *et al*. (2000) ใช้เทคนิค NIR วัดคุณภาพของแอปเปิล โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ NIR เพื่อตรวจสอบคุณภาพภายในของแอปเปิล และ ทำการพัฒนาสมการ Calibration ปัจจัยที่ทำการศึกษาคือ ความหวาน ปริมาณกรด และความแน่นเนื้อ โดยสแกนผลแอปเปิล ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร นำสเปกตรัมที่ได้มาหาความสัมพันธ์กับ ค่าต่างๆที่ทำการวัดโดยวิธีทางกายภาพและทางเคมี ด้วยโปรแกรม Sesame ซึ่งอาศัยวิธีการทางสถิติ คือ Multiple linear regression (MLR) ช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูล และพบว่า มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ เทคนิค NIR ในการตรวจสอบคุณภาพภายในของแอปเปิล

และในปีต่อมา Sohn *et al*. (2001) ได้ทำการพัฒนาสมการ Calibration เพื่อตรวจสอบความหวานของ แอปเปิลพันธุ์ฟูจิ โดยใช้เทคนิค NIR โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาถึงอิทธิพลของแหล่งเพาะปลูก และปีที่เก็บเกี่ยว ต่อสมการ Calibration ที่วัดความหวานของแอปเปิลพันธุ์ฟูจิ ตัวอย่างที่ใช้เป็นแอปเปิลจากแหล่งต่างๆกัน 3 แหล่ง ในประเทศเกาหลี อยู่ในช่วงเก็บเกี่ยว ระหว่างปี 1995 – 1997 ประมาณ 2,000 – 3,000 ผล ทำการสแกนน้ำคั้นด้วย NIR InfraAlyzer 500 C ในช่วงคลื่น 1100 – 2500 นาโนเมตร และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างค่า Brix ของน้ำคั้น กับ สเปกตรัมที่สแกนด้วยโปรแกรม Sesame โดยวิธี Multiple linear regression (MLR) และได้ผลสรุปว่า สามารถใช้เทคนิค NIR ในการประเมินความหวานของแอปเปิลได้ และแหล่งเพาะปลูกรวมถึงปีที่เก็บเกี่ยว มีอิทธิพลต่อการทำสมการ Calibration

Mc Glone *et al*. (1998) ได้ประเมินความแน่นเนื้อ, น้ำหนักแห้งและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของผลกีวีโดยใช้เทคนิค NIR ทำการวัดผลกีวีจากแหล่งต่าง ๆ กันทั้งหมด 5 กลุ่ม ด้วย Fiber interactance probe ในช่วงคลื่น 400 – 700 นาโนเมตร และ 700 – 1000 นาโนเมตร นำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วยวิธี Partial least squares (PLS) โดยโปรแกรม Unscrambler สรุปผลได้ว่า ตัวอย่างที่เรานำมาวัดควรจะมีความหลากหลายในด้านของแหล่งเพาะปลูก อายุ และขนาด เพื่อให้การสร้างสมการมีความคลอบคลุมเมื่อนำไปทำนายค่า ส่วนช่วงคลื่น 800 –1,100 นาโนเมตรเป็นช่วงคลื่นที่เหมาะในการสร้างสมการ เพราะให้ค่าการดูดกลืนแสงได้ดี ในกลุ่มของ คาร์โบไฮเดรต และน้ำ ส่วนในการทำนายความแน่นเนื้อนั้นให้ค่าที่ไม่ดีอาจเนื่องมาจากในผล กีวีมีปริมาณ Pectin น้อยกว่า 1% โดยน้ำหนัก จึงทำให้การทำนายค่าของสมการไม่ดีนัก

Iwamoto และคณะ (1979)ได้ทำการศึกษาโดยใช้แสงเพื่อวัดค่าสีของมะเขือเทศ พบว่าที่ความยาวคลื่น 660, 620 และ 550 นาโนเมตร แสงมีความสัมพันธ์กับสีของมะเขือเทศ ซึ่งประกอบไปด้วยคลอโรฟิลและแคโรทีนอย อย่างมาก และสามารถใช้เป็นดัชนีในการวัดการเปลี่ยนแปลงของสีในระหว่างการสุกของมะเขือเทศได้ รูซและเชน (Ruiz and Chen, 1982) ได้ทำการตรวจสอบหาราในมะเขือเทศ โดยการใช้อนุพันธ์อันดับหนึ่งของค่าการสะท้อนของแสง (First Derivative of Spectral Reflectance) พบว่าความยาวคลื่น 590 และ 710 นาโนเมตรสามารถใช้แยกมะเขือเทศที่เป็นราออกจากมะเขือเทศที่ดีได้ ดังนั้นการใช้แสง Near Infrared จึงเป็นเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจศึกษาค้นคว้าเพื่อที่จะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น

Greensill และ Newman (2001) เนื่องจากความต้องการเพิ่มขึ้นของผู้บริโภค ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนของการผลิต และการขายปลีกของสินค้าอุตสาหกรรมผักและผลไม้สด ดังนั้นจึงมีผลทำให้ต้องใช้เทคโนโลยีใหม่ ๆ เพื่อตอบสนองต่อการรักษาและการตอบรับในการตรวจสอบคุณภาพของผลผลิต ความเข้มงวดในมาตรฐานดังกล่าว มีผลต่อปัจจัยต่างๆ เช่น อายุการเก็บลักษณะภายนอกและ กลิ่นรสที่ถูกกำหนดโดยผู้ขายปลีก แรงผลักดันที่เพิ่มขึ้น ทำให้การตรวจสอบคุณภาพที่ออกมาแต่ละผลิตภัณฑ์และระบบการบรรจุในแต่ละระดับ “Farm Gate” ปริมาตรของบรรจุภัณฑ์ที่ผ่านการบรรจุในแต่ละครั้งนั้นแสดงให้เห็นถึงระบบอัตโนมัติ ที่นำมาประยุกต์ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ วิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจคือการใช้รังสี Near Infrared (NIR) เพื่อกระตุ้นระดับความสุก และ/หรือ ความหวานของผลิตภัณฑ์สด โดยอาศัยความสัมพันธ์ของการตอบสนองของ Spectral ในขอบเขตของ NIR ที่องค์ประกอบเหมือนกับการไม่ละลายของความจุของแข็ง (Kawano and Iwamoto, 1990; Osborne *et al.,* 1993) เมื่อ Sensor สามารถจับความแตกต่างของสีบนระบบขนถ่าย การที่จะรู้ถึงการเจริญเติบโตและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในแต่ละเกรดก็สามารถกระทำได้ ระบบ NIR นี้มีประสิทธิภาพในการคัดแยกผลไม้ได้ 3-15 ลูกต่อวินาที (ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์) ซึ่งประสบผลสำเร็จแล้วในออสเตรเลีย

Greensill และ Newman (2001) การวัดค่าแสงนี้ใช้ทั้งการสะท้อนและการทะลุผ่านของแสงในกรณีการสะท้อนแสง การวัดการกระจายของรังสี จากชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าของอาหารและผลไม้ และความสัมพันธ์ระหว่างค่าการวัดและคุณสมบัติในเนื้อ ในกรณีการส่องผ่านของรังสี จะตรวจพบหลังจากทะลุผ่านตัวอย่างไปแล้ว ซึ่งขึ้นอยู่กับค่าความสว่างและรูปทรงทางเรขาคณิตของตัวอย่าง

การส่องผ่านทะลุนั้นจะครอบคลุม 2 กรณีใหญ่ ๆ คือ

1. การวัดคุณสมบัติจากเนื้อโดยตรง
2. ไม่มีผลของการสะท้อนจาก Background ต่อแถบแยกสี

ค่าที่อ่านได้จากการสะท้อนของแสงจำเป็นต้องใช้วิธีทางคณิตศาสตร์เพื่อแยกแถบสี การดูดสับและการกระจายของรังสีจะขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของผลไม้ (ความหนาแน่น, ขนาด, น้ำในเนื้ออาหาร, สารละลายน้ำตาล การมีเมล็ด ฯลฯ)

เนื่องจากลักษณะของทางเดินของแสงในการส่องผ่าน ในการวัดแสงที่เจือจางจะพุ่งเข้าหาแสงที่เข้มข้นซึ่งจะถูกใช้ให้เป็นประโยชน์ในการเพิ่มในการส่งสัญญาณ อีกทางเลือกหนึ่งสัญญาณขั้นต่ำจะสามารถระบุที่มา เพื่อให้เหมาะสมกับการวัดค่า เพื่อใช้ในการประยุกต์ออกแบบ เช่น ประสิทธิภาพการกระจายแสง, แหล่งกำเนิดแสง, โครงสร้าง และความไวต่อการตรวจจับ ปัจจัยขั้นพื้นฐานที่มีผลกระทบต่อการทำงานของเครื่องมือวัดแถบแสงสีในการส่องผ่านของแสงคือความไวของแสงระดับต่ำ การปฏิเสธแสงจาก Background การไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อสภาวะแวดล้อม เช่นอุณหภูมิและความชื้น การตอบสนองแบบ Linear ผลของ Band Width และ Data Processing Rate ค่าความไว ค่าสัญญาณที่ทะลุผ่านเป็นสิ่งที่พิจารณาในระบบนี้ การแก้ปัญหาสามารถพิจารณา ความเกี่ยวข้องขั้นที่ 2 ตั้งแต่ลักษณะของ Spectral ในขอบเขตของ NIR ซึ่งมีผลต่อการสั่นสะเทือน Overtones หรือการรวม Bands ของการสั่นสะเทือนเบื้องต้นของ Molecular และ Hence กว้างมาก โดยทั่วไป 50 nm Full Width Half Maximum

Kawano *et al*. (1992) ศึกษาการวัดปริมาณน้ำตาล โดย Near Infrared Spectroscopy ด้วย Fiber optic probe ในผลพีชพันธุ์ Shimizu Hakuto โดยวัดในช่วงความยาวคลื่น 680 – 1235 นาโนเมตร ผลพบว่าจาก สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วย Second derivative ที่ค่า Brix สูงกลาง ต่ำ พบความยาวคลื่นที่ 906 นาโนเมตร อย่างชัดเจน และให้เป็นความยาวคลื่นของน้ำตาลตัวแรก ในสมการ Calibration ค่า Correlation coefficient สูงสุดอยู่ที่ 0.97 และ ความยาวคลื่นที่สร้างสมการที่ได้จากสเปกตรัม Second derivative คือ 906 878 870 และ 889 นาโนเมตร ในขณะที่ Standard error of calibration (SEC) คือ 0.48 Brix และเทคนิค NIR มีความแม่นยำที่จะวัดปริมาณน้ำตาลในผลพีช

Kawano และคณะ(1995) ศึกษาถึงอุณหภูมิต่อการวัดค่า Brix ของพีช โดยใช้ เทคนิค NIR สแกนผล พีช พันธุ์ Shimizu Hakuto ในช่วงคลื่น 680 – 1235 นาโนเมตร โดยควบคุมอุณหภูมิของผลไม้ โดยการใช้อ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 21 26 และ 31 องศาเซลเซียส ได้ผลดังนี้ สมการ Calibration ที่สร้างจากตัวอย่างที่มีอุณหภูมิคงที่จะวัดตัวอย่างที่มีอุณหภูมิหลากหลายได้ค่าที่ไม่คงที่ สเปกตรัมที่ได้มีผลกระทบจากอุณหภูมิของตัวอย่าง เช่น เมื่อตัวอย่างมีอุณหภูมิสูงขึ้น การดูดกลืนแสงที่ 841 และ 966 นาโนเมตรจะมีค่ามากขึ้นอันเนื่องมาจากน้ำ เนื่องจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงเกิดอิทธิพลได้ง่ายต่อน้ำ ดังนั้นน้ำจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ควรจะคำนึงถึงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และ สมการ Calibration ที่สร้างจากตัวอย่างที่อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 21 – 30 องศาเซลเซียส มีความแม่นยำสูงในการทำนายค่าถึงแม้ตัวอย่างเราจะมีอุณหภูมิที่

เปลี่ยนแปลงในช่วงนั้น ดังนั้น เราอาจจะพัฒนาสมการ Calibration โดยการรวมกลุ่มตัวอย่างที่มีอุณหภูมิหลากหลายแล้วจึงสร้างสมการ Calibration ก็ได้

Sirinnapa และคณะ (2001) ได้พัฒนาสมการ PLS Calibration สำหรับประเมินค่า Brix และน้ำหนักแห้งของมะม่วง โดยใช้ข้อมูลจากสมการ MLR Calibration เนื่องจาก ในการใช้งานเครื่อง Near Infrared Spectroscopy มีทั้งการใช้ช่วงคลื่นสั้น คือ 500-1200 นาโนเมตร หรือช่วงคลื่นยาว 1100-2500 นาโนเมตร หรืออาจใช้ทั้ง 2 ช่วง คือ 700-2500 นาโนเมตร ในการสร้างสมการ Calibration ซึ่งก็ขึ้นอยู่กับการใช้งาน และวิธีการสร้างสมการในช่วงแรก จะใช้วิธี Multiple linear regression (MLR) ในการสร้างสมการ ซึ่งเป็นวิธีที่เราสามารถเลือกช่วงคลื่นในการ วิเคราะห์และสร้างสมการได้ แต่ในปัจจุบัน วิธี Partial least square (PLS) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการสร้างสมการ Calibration ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ข้อมูลช่วงคลื่นทั้งหมดมาใช้ในการวิเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการเลือกใช้บางช่วงความยาวคลื่นมาสร้างสมการ Calibration จะทำให้ได้ค่าที่ดีกว่า แต่การทำต้องมีความยุ่งยาก และใช้เวลามากด้วยเหตุนี้ งานวิจัยครั้งนี้จึงต้องการที่จะหาวิธีการที่จะแก้ปัญหาดังกล่าว เพื่อจะศึกษาวิธีการ MLR และ PLS ในการสร้างสมการ Calibration โดยใช้ทั้งช่วงคลื่นสั้นและยาว รวมถึงศึกษาถึงความสัมพันธ์ของทั้ง 2 วิธีการนี้ด้วย

Chen และ Nattuvetty (1980) ได้ศึกษาการส่งผ่านทะลุของแสงผ่านผลไม้โดยไม่ทำความเสียหายกับผลไม้โดยการที่ใช้คลื่นแสงอยู่ในช่วงที่สายตามองเห็น และใช้ fiber optic เป็นตัวกลางในการส่งผ่านแสงไปยังผลไม้ และรับแสงส่งไปยัง detector ในการผ่านทะลุผลไม้เพื่อประเมินค่าที่ได้จากการทดลองผลของรายงานประกอบด้วย การเปลี่ยนแปลงในการทดสอบรอบผลไม้ และระยะห่างของผลกระทบระหว่าง จุด incident และ จุด detection และความลึกที่ทะลุเพื่อวัดค่าที่รับแสงผ่านทะลุในผลไม้