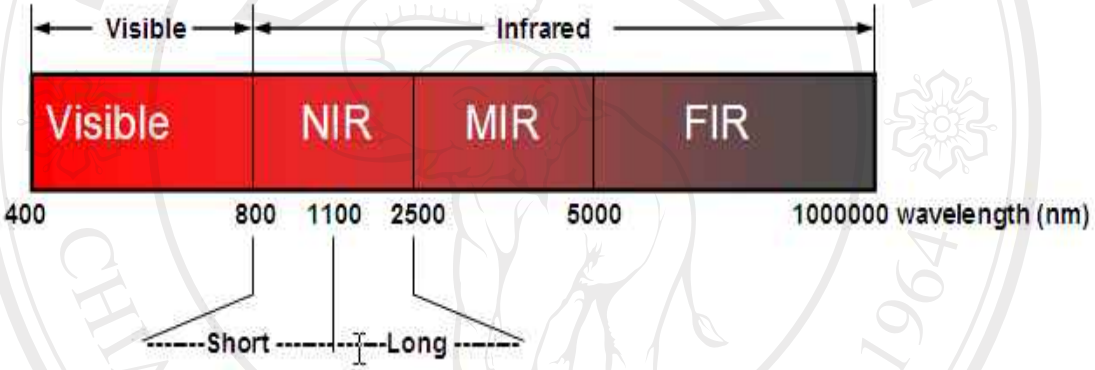
บทที่ 2
การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Near infrared spectroscopy; NIRS)

คลื่นแสงเนียร์อินฟราเรด (near infrared; NIR) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่อยู่ระหว่างช่วงคลื่นแสงวิสิเบิล (visible) และช่วงคลื่นแสงอินฟราเรดย่านกลาง (middle infrared; MIR) ดังในภาพ 2.1



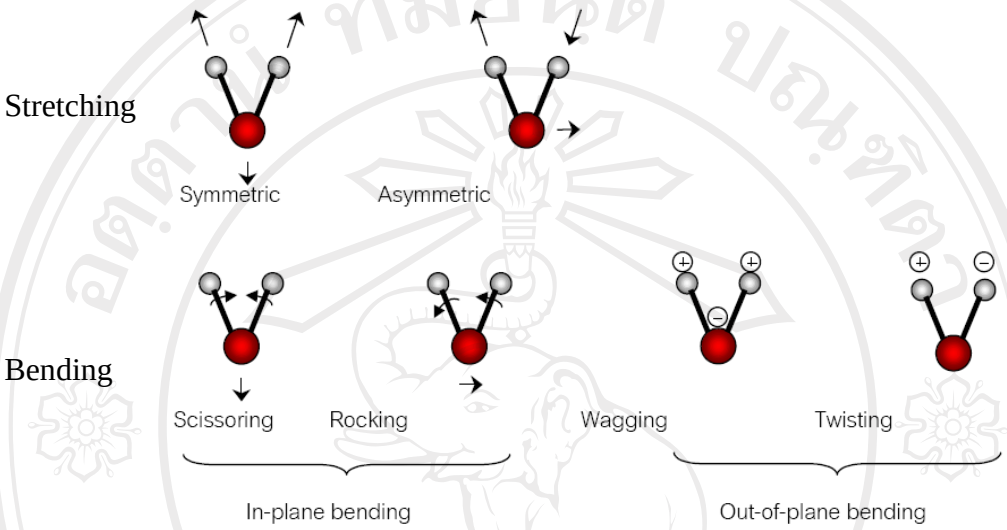
ภาพ 2.1 ช่วงสเปกตรัมของคลื่นแสงอินฟราเรด (Osborne *et al.*, 1993)

คลื่นแสง NIR มีช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 800-2500 นาโนเมตร สามารถแบ่งช่วงความยาวคลื่นออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงคลื่นสั้นที่มีความยาวคลื่น 800-1100 นาโนเมตร และช่วงคลื่นยาวที่มีความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร (Osborne *et al.*, 1993) พลังงานของคลื่นแสง NIR จะอยู่ในช่วงที่สอดคล้องกับการสั่น (vibration) ของพันธะภายในโมเลกุล หากการสั่นของพันธะใดเกิดที่ความถี่ที่ตรงกับความถี่ของคลื่นแสง NIR ก็จะเกิดการดูดกลืนขึ้น (วิชัยและคณะ, 2527) ซึ่งการดูดกลืนแสง NIR ใช้มากในการวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพของสารประกอบอินทรีย์ในผลผลิตต่างๆ

การสั่นของโมเลกุลในกลุ่มฟังก์ชันต่างๆ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะหลักๆ ลักษณะที่หนึ่ง คือ การยืดหด (stretching) ของพันธะเป็นการสั่นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความยาวระหว่างอะตอมที่สร้างพันธะกันซึ่งมีสองรูปแบบย่อยคือ แบบสมมาตร (symmetric) และแบบอสมมาตร (asymmetric) และลักษณะที่สองคือ การงอ (bending) หรือการผิดรูป (deformation)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นการสั่นที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมุมพันธะ ที่มีรูปแบบปลีกย่อยอีกได้แก่ scissoring, rocking, wagging และ twisting ซึ่งทั้งหมดนี้อาจเกิดการเคลื่อนที่อยู่ในระนาบเดียวกัน (in-plane) หรือต่างระนาบกัน (out-of-plane) ก็ได้ ดังภาพ 2.2 (ธีรยุทธ และวรวรรณ, 2548)



ภาพ 2.2 การเปลี่ยนแปลงพันธะของโมเลกุลในรูปแบบต่างๆ (พรรณทิพย์, 2548)

การสั่นของพันธะในลักษณะต่างๆ จะมีการดูดกลืนพลังงานที่เป็นเฉพาะของมัน เนื่องจากโมเลกุลหนึ่งๆ มีพันธะได้หลายแบบ ซึ่งแต่ละพันธะก็มีรูปแบบการสั่นได้อีกหลายรูปแบบ ทำให้โมเลกุลหนึ่งๆ จะแสดงการดูดกลืนแสง NIR ได้หลายช่วงคลื่นพร้อมกัน ลักษณะการดูดกลืนแสงจะเกิดเป็นแถบ (band) หรือ พีก (peak) แสดงถึงพลังงานคลื่นแสง NIR ที่ถูกดูดกลืน ซึ่งสามารถวัดได้ใน 2 รูปแบบ คือรูปแบบความเข้มแสงที่ส่องผ่าน (transmittance) และรูปแบบความเข้มแสงสะท้อนออกมา (reflectance) แล้วนำค่าความเข้มแสงที่ได้ในแต่ละความยาวคลื่น มาเขียนกราฟโดยให้แกนนอนเป็นค่าความยาวคลื่น แกนตั้งเป็นค่าการดูดกลืนแสง จะได้กราฟการดูดกลืนแสงของตัวอย่างนั้นๆ กราฟที่ได้เรียกว่า เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัม (NIR spectrum) โมเลกุลของสารแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างกัน เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารแต่ละชนิดจึงได้สเปกตรัมที่มีลักษณะต่างกัน (ธีรยุทธ และวรวรรณ, 2548) ในสารประกอบอินทรีย์จะมีหมู่ฟังก์ชันในกลุ่ม X-H เป็นโมเลกุลหลัก และสามารถเกิดปฏิกิริยา (interaction) กับคลื่นแสง NIR ทำให้โมเลกุลเกิดการสั่นและเปลี่ยนระดับพลังงานการสั่นจากสถานะพื้น (ground vibration) แล้วเปลี่ยนไปยังสถานะกระตุ้น (excited vibration) แบบข้ามขั้น จึงเกิดลักษณะของแถบคลื่นแสง NIR แบบโอเวอร์โทน (overtone band) และคอมบิเนชั่น (combination band)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร จะพบโอเวอร์โทนระดับที่หนึ่งและคอมบิเนชั่นโมเลกุลของสารที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วง NIR ได้ดี คือ โมเลกุลของสารที่มี H เป็นองค์ประกอบอยู่ในพันธะ ซึ่งพันธะ O-H จะพบในโครงสร้างของโมเลกุลน้ำ สำหรับพันธะ O-H และ C-H จะพบในโครงสร้างของโมเลกุลแป้ง และน้ำตาล ส่วนพันธะ N-H จะพบในโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีน และพันธะ C-H จะพบในโครงสร้างของโมเลกุลไขมัน (Osborne *et al.,* 1993)

ในหมู่ฟังก์ชัน O-H ของน้ำจะเห็นพีกที่ชัดเจนที่สุด เพราะน้ำเกิด weak band ในช่วงคลื่นแสง NIR ซึ่งเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่ดูดกลืนแสงที่มีประสิทธิภาพมาก จึงทำให้มีการซ้อนทับกับพีกของโมเลกุลอื่น โดยน้ำในภาวะปกติจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1150, 1350, 1440, 1790 และ 1930 นาโนเมตร (Iwamoto *et al.,* 1995) นอกจากนี้ที่ความยาวคลื่น 942 1430 และ 1910 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับโมเลกุลของน้ำ (Ozaki, 2002) ในการประยุกต์ใช้งาน Gunasekaran (2001) ได้ใช้เทคนิค NIR diffuse transmittance ทำการตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างเมล็ดธัญพืชที่ช่วงความยาวคลื่น 700-2400 นาโนเมตร พบว่าที่ความยาวคลื่น 970, 1180, 1450 และ 1940 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับปริมาณความชื้น ในขณะที่ William and Norris (2001) รายงานว่าพบพีกน้ำชัดเจนที่สุดที่ความยาวคลื่น 1450 และ 1940 นาโนเมตร ส่วนโมเลกุลของแป้ง (starch) ประกอบด้วยพันธะ O-H และ C-H พบพีกที่ความยาวคลื่น 990, 1440, 1450, 1528, 1540, 1900, 2000, 2080, 2100, 2252, 2276, 2461, 2488 และ 2500 นาโนเมตร โดยที่ความยาวคลื่น 2100 นาโนเมตร จะเป็นพีกโมเลกุลของแป้งที่เด่นชัดที่สุด (Osborne *et al.,* 1993; Shenk *et al*., 2001) ขณะที่ฟังก์ชัน O-H และ C-H ของน้ำตาลพบที่ความยาวคลื่น 1440, 1480, 1580 และ 2080 นาโนเมตร (Osborne *et al*., 1993) สำหรับหมู่ฟังก์ชัน C-H ในไขมัน พบพีกที่ความยาวคลื่น 1410, 2070, 2140, 2310 และ 2380 นาโนเมตร (Shenk *et al.*, 2001) ในหมู่ฟังก์ชัน N-H ที่เป็นโครงสร้างของโปรตีนจะพบพีกสเปกตรัมที่ความยาวคลื่น 910, 1020, 1510, 1980, 2050, 2180, 2310, 2242 และ 2290 นาโนเมตร (Osborne et *al.*, 1993; Williams and Norris, 2001) อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากเครื่อง NIR ควรจะหลีกเลี่ยงความยาวคลื่นที่ตำแหน่ง 2020 นาโนเมตร เนื่องจากที่ตำแหน่งดังกล่าวมีการสั่นของโมเลกุลเอไมด์ (amide) รวมทั้งมีการสั่นของโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของแป้ง ไขมัน และน้ำเกิดขึ้น (Camp and Huyghebaert, 1996) ในขณะที่ Czuchajowska *et al.* (1992) ได้รายงานว่าที่ความยาวคลื่น 2050 และ 2180 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับปริมาณแป้งและปริมาณโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kim and Williams (1990) ที่พบความยาวคลื่น 2060, 2096 และ 2132 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในอาหารสัตว์ ขณะที่ Rittiron *et al.* (2004, 2005) พบโปรตีนในการตรวจวัดข้าวเมล็ดเดียวของข้าวกล้องและข้าวสารในข้าวญี่ปุ่นที่ความยาวคลื่น 1735 และ1726 นาโนเมตร ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การรวบรวมตำแหน่งพีกในแถบสเปกตรัม NIR ที่สัมพันธ์กับองค์ประกอบต่างๆ ในผลผลิต ดังตาราง 2.1 ขณะที่ Shenk *et al.* (2001) รายงานว่า ผลผลิตทางการเกษตรส่วนใหญ่ พบพีกสเปกตรัม NIR ที่เด่นชัดขององค์ประกอบต่างๆ ในตาราง 2.2

ตาราง 2.1 ตำแหน่งพีกในแถบสเปกตรัม NIR ที่สัมพันธ์กับองค์ประกอบต่างๆ ในผลผลิต

Wavelength (nm)	Bond vibration	Structure
1143	C-H str. 2nd overtone	aromatic
1395	2xC-H str. + C-H def. combination	CH_2
1410	O-H str. + 1st overtone	ROH, oil
1440	O-H str. 1st overtone	sucrose, starch
	C-H combination	CH_2
1450	O-H str. 1st overtone	starch, H_2O
1510	N-H str. 1st overtone	protein
1520	O-H str. 1st overtone	$CONH_2$
	N-H str. 1st overtone (intramol. H-bond)	ROH
1528	O-H str. 1st overtone (intramol. H-bond)	starch
1540	O-H str. 1st overtone (intramol. H-bond)	starch
1580	O-H str. 1st overtone (intramol. H-bond)	starch, glucose
1725	C-H str. 1st overtone	CH_2
1765	C-H str. 1st overtone	CH_2
1900	O-H str. + 2xC-O str. combination	starch
1930	O-H str. + H-O-H def. combination	starch, cellulose
1940	O-H bend 2nd overtone	H_2O
1960	O-H str. + O-H bend combination	starch
1980	N-H asym. str. + amide II* combination	protein, $CONH_2$
2000	2x O-H def + C-O def. combination	starch
2050	N-H asym. str. + amide II* combination	protein
2055	N-H asym. str. + amide I* combination	protein
2060	N-H bend 2nd overtone	protein
	N-H bend + N-H str. combination	protein
2070	O-H combination	oil
2080	O-H str. + O-H def. combination	ROH, sucrose, starch
2100	2xO-H str. + 2xC-O str. combination	starch
	C-O-O asym. str. 3rd overtone	starch, cellulose
2132	N-H str. + C=O str. combination	amino acid
2140	C-H sym. def.	oil, NC=CH
2180	N-H bend 2nd overtone	protein
	C-H str. + C=O str. combination	protein
	C=O str. + amide III* combination	protein
2252	O-H str. + O-H def. combination	starch
2276	O-H str. + C-C str. combination	starch
2300	C-H bend 2nd overtone	protein
2310	C-H str. + C-H def. combination	CH_2
	C-H bend 2nd overtone	oil
2323	C-H str. + C-H def. combination	CH_2, starch
2380	C-H str. + C-C str. combination	oil
2461	C-H str. + C-C str. combination	starch
2470	C-N-C sym. str. 1st overtone	protein
2488	C-H str. + C-C str. combination	starch, cellulose
2500	C-H str. + C-C str. combination	starch

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

str. = stretch def. = deformation sym. = symmetric asym. = asymmetric

* amide I: C=O stretch. amide II: N-H in-plane bend, C-N stretch. amide III: C-N stretch, N-H in-plane bend

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2.2 ตำแหน่งพีกในแถบสเปกตรัม NIR ที่เด่นชัดขององค์ประกอบต่างๆ ในผลผลิตทางการเกษตร

องค์ประกอบ	ตำแหน่งความยาวคลื่น (นาโนเมตร)
น้ำ (ความชื้น)	1940
คาร์โบไฮเดรต	2100
โปรตีน	2180
ไขมัน	2310

ที่มา: Shenk *et al.* (2001)

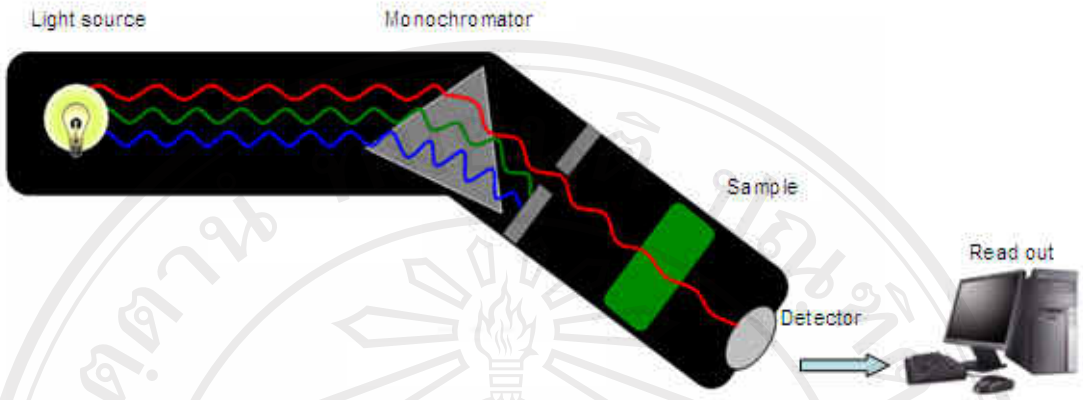
2.2 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Near infrared spectrophotometer)

ส่วนประกอบของเครื่อง NIR ที่สำคัญ ได้แก่

1. แหล่งกำเนิดแสง (light source) เป็นแหล่งให้พลังงานแสง
2. โมโนโครมาเตอร์ (monochromator) เป็นอุปกรณ์แยกความคลื่นแสงออกเป็นแต่ละความยาวคลื่น โดยอาศัยเกรตติ้ง (grating) ที่มีช่องผ่านแสงเข้าและแสงออก เพื่อควบคุมให้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ
3. ตำแหน่งที่วางตัวอย่าง (sample presentation) โดยที่แสงจะกระทำกับตัวอย่างในรูปแบบที่ต้องการวิเคราะห์
4. ตัวตรวจวัดสัญญาณ (detector) เป็นอุปกรณ์ที่วัดความเข้มของแสงหรือค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง
5. ระบบอ่านสัญญาณ (read out) เป็นตัวแปลค่าออกมา อาจเป็นตัวเลข หรือเป็นเส้นกราฟ แล้วบันทึกผลด้วยคอมพิวเตอร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หลักการทำงานของเครื่อง NIR คือ แสงจากแหล่งให้พลังงานแสง (light source) ที่มีการกระจายของแสง และควบคุมด้วยระบบโมโนโครมาเตอร์ (monochromator) ให้อยู่ในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ แล้วส่งผ่านไปยังตัวอย่าง (sample) และวัดปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้ด้วยอุปกรณ์สำหรับตรวจวัด (detector) และแปลงเป็นสัญญาณส่งเข้าสู่ส่วนประมวลผล (read out) ด้วยโปรแกรม ให้ออกมาในรูปที่ผู้ใช้สามารถนำค่านั้นไปใช้ได้ แล้วบันทึกผลด้วยคอมพิวเตอร์ (ภาพ 2.3) โดยจะบันทึกปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้เทียบกับความยาวคลื่นต่างๆ แล้วนำมาจับคู่กับค่าการวิเคราะห์เคมี (พรรณทิพย์, 2548)



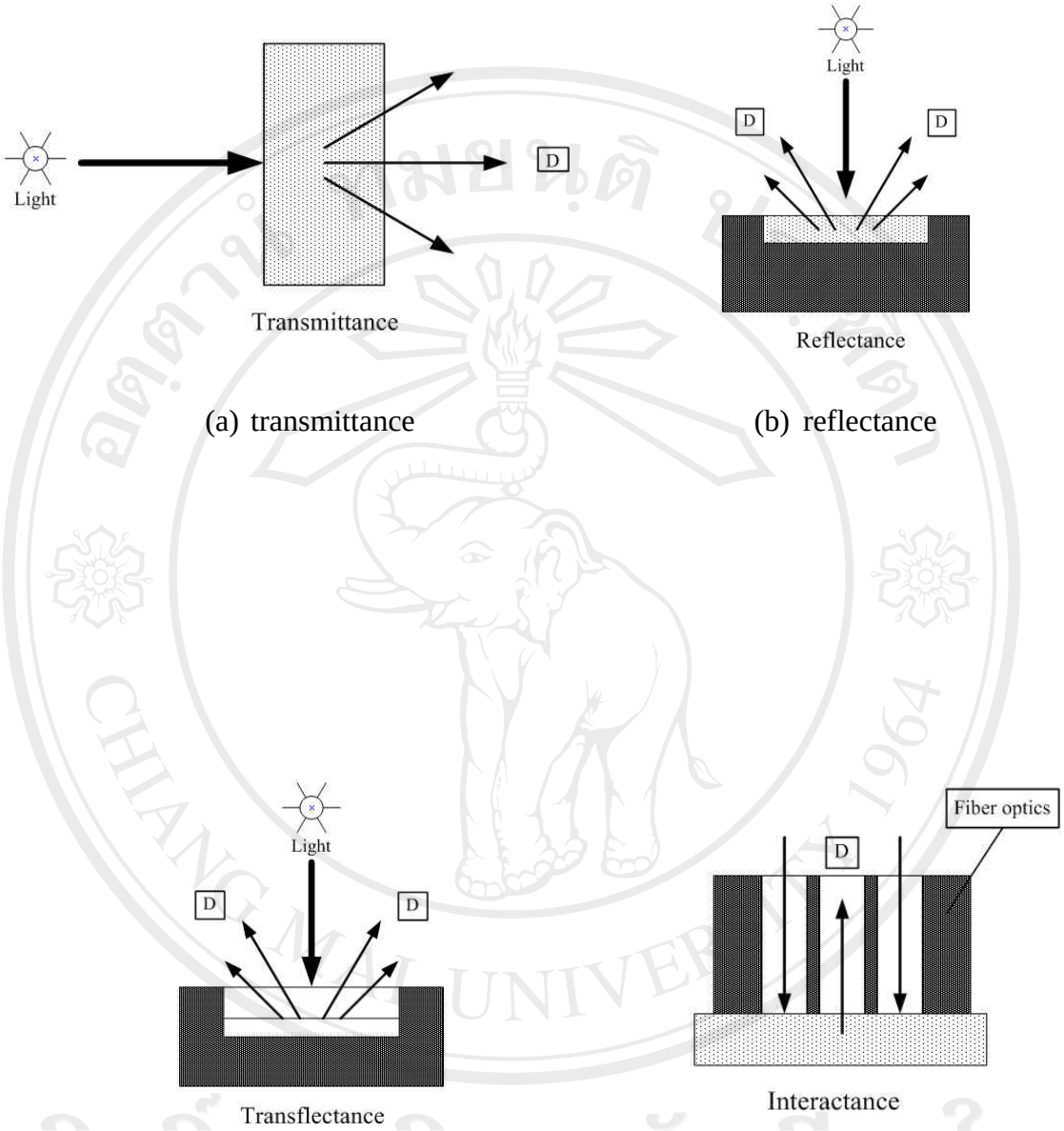
ภาพ 2.3 หลักการทำงานของเครื่อง NIR (Osborne *et al.*, 1993)

2.3 รูปแบบที่ตัวอย่างเกิดปฏิกิริยา (Interaction)

เครื่อง NIR เป็นเครื่องมือที่ให้แสง NIR ส่องมายังตัวอย่าง เมื่อคลื่นแสง NIR ผ่านไปยังตัวอย่างจะเกิดปฏิกิริยากับตัวอย่างได้หลายแบบ เช่น transmittance, reflectance, transflectance และ interactance ดังแสดงในภาพ 2.4

1. transmittance แสงตกกระทบตัวอย่างด้านหนึ่ง โดยที่ detector จะวัดปริมาณแสงที่ผ่านออกมาจากตัวอย่างในด้านตรงกันข้าม ดังภาพ 2.4 (a)
2. reflectance แสงจะตกกระทบที่ผิวของตัวอย่าง และอาจแพร่กระจายในปริมาณหนึ่งก่อนแล้ววัดปริมาณแสงสะท้อนกลับออกมาโดย detector ดังภาพ 2.4 (b)
3. transflectance แสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบตัวอย่างและส่องผ่านตัวอย่างลงไปตกกระทบวัตถุที่ไม่ดูดกลืนแสง (แผ่นเซรามิก, ทอง หรืออลูมิเนียม) ที่อยู่ด้านล่างตัวอย่าง แล้วเกิดการสะท้อนกลับมายัง detector ดังภาพ 2.4 (c)
4. interactance กระบวนการนี้เกิดในกรณีที่ใช้หัววัดใยแก้วนำแสง (fiber optics probe) แสงจะออกมาจากส่วนวงแหวนด้านนอกของหัววัดมาตกกระทบตัวอย่าง และแสงที่สะท้อนออกมาจากเนื้อตัวอย่างจะถูกส่งไปยังที่ detector บริเวณส่วนกลางของใยแก้วนำแสง ดังภาพ 2.4 (d) (Kawano, 2002)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(a) transmittance (b) reflectance

(c) transflectance (d) interactance

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 2.4 รูปแบบที่วัตถุเกิดปฏิกิริยา (interaction) กับแสง NIR (a) transmittance, (b) reflectance, (c) transflectance และ (d) interactance (Kawano, 2002)

โดยส่วนใหญ่นิยมวัดค่าในรูปแบบ reflectance ที่วัดค่าความเข้มของแสงที่สะท้อนออกมาเปรียบเทียบกับความเข้มแสงที่ส่องเข้าไป หรือ transmittance ที่วัดความเข้มแสงที่ทะลุผ่านตัวอย่างเปรียบเทียบกับความเข้มแสงที่ส่องเข้าไป (ศิวลักษณ์, 2550) โดย Mark (2001) กล่าวไว้ว่า เทคนิค NIRS สามารถตรวจวัดองค์ประกอบของผลผลิตได้ทั้งในรูปแบบ transmittance และ reflectance โดยให้ประสิทธิภาพของการตรวจวัดไม่ต่างกัน แต่การเลือกรูปแบบในการวัดและช่วงของสเปกตรัมที่ใช้งานเป็นสิ่งสำคัญ รุ่งนภา (2550) ได้วิเคราะห์หาไขมันและความชื้นในผลิตภัณฑ์เนยแข็งด้วย NIRS พบว่าในตัวอย่างที่มีความชื้นหรือไขมันสูง ถ้าวัดด้วยรูปแบบ reflectance จะให้ผลการวัดที่ไม่ค่อยดี เนื่องจากผิวหน้าที่เปียกของตัวอย่าง จึงให้ค่าที่สูงกว่าปกติ ทำให้ไม่สามารถทำนายความเข้มข้นที่ถูกต้องได้ จึงเปลี่ยนรูปแบบการวัดใหม่โดยวิธี transmittance ในช่วงความยาวคลื่น 400-1100 นาโนเมตร ซึ่งรูปแบบการวัดนี้แสง NIR สามารถส่องผ่านตัวอย่างได้มากกว่า จึงทำให้เกิดค่าผิดพลาดที่ผิวหน้าน้อยกว่า คลื่นแสง NIR ในช่วงคลื่นสั้นที่มีความยาวคลื่น 800-1100 นาโนเมตร แสงสามารถส่องผ่านตัวอย่างได้ลึกถึง 10 มิลลิเมตร เป็นช่วงคลื่นที่เหมาะกับตัวอย่างที่มีปริมาณความชื้นหรือน้ำสูง ส่วนช่วงคลื่นยาวที่มีความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร แสงสามารถส่องผ่านตัวอย่างได้ลึกประมาณ 1-3 มิลลิเมตร จึงเป็นช่วงคลื่นที่เหมาะกับตัวอย่างที่มีปริมาณความชื้นหรือน้ำน้อย ดังนั้น ตัวอย่างที่เป็นของเหลวหรือเป็นของแข็งที่เป็นชั้นบางๆ สามารถใช้รูปแบบ transmittance ตรวจวัด ส่วนตัวอย่างที่เป็นของแข็งนิยมตรวจวัดในรูปแบบ reflectance (อนุพันธ์, 2545)

การใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพืชและเมล็ดพันธุ์ (grains and seeds) โดย Norris and Williams (1984) ใช้เทคนิค NIRS transmittance หาปริมาณโปรตีนและความชื้นของข้าวสาลีได้ ขณะที่รณฤทธิ์ และคณะ (2549) ทำนายความชื้นข้าวเปลือกพันธุ์ Koshihikari ที่ละเมล็ดด้วยเทคนิค NIRS ในระบบการวัด 3 รูปแบบ คือ การวัดแบบ transmittance ช่วงความยาวคลื่นสั้น การวัดแบบ transmittance ช่วงความยาวคลื่นยาว และการวัดแบบ reflectance ช่วงความยาวคลื่นยาว พบว่า การวัดแบบ transmittance ช่วงความยาวคลื่นสั้นและคลื่นยาว มีความเหมาะสมสามารถทำนายความชื้นข้าวเปลือกที่ละเมล็ดได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ไม่ว่าความชื้นภายในเมล็ดข้าวเปลือกจะมีการกระจายสม่ำเสมอทั้งเมล็ดหรือไม่ ส่วน Williams and Sobering (1993) ได้ศึกษาการใช้เทคนิค NIRS ในรูปแบบ transmittance และ reflectance ตรวจหาปริมาณโปรตีน น้ำมัน ความชื้น และคุณสมบัติอื่นๆ ในเมล็ดพืชและเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆ พบว่าการใช้ NIRS ในรูปแบบทั้งสองสามารถตรวจหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดพืชและเมล็ดพันธุ์ชนิดต่างๆได้ แต่ NIRS ในรูปแบบ reflectance จะให้ค่าความแม่นยำที่สูงกว่าการวัดในรูปแบบ transmittance สอดคล้องกับ Norris and Hart (1965) กล่าวว่าเทคนิค reflectance

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นที่นิยมและได้รับการยอมรับสำหรับการวิเคราะห์ความชื้นของเมล็ดพืชและพืชน้ำมัน ดังนั้น การเลือกรูปแบบในการวัด และช่วงของสเปกตรัมที่ใช้งานเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้การวิเคราะห์เหมาะสมและทำนายค่าได้อย่างแม่นยำ (Kawano, 2002)

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัม (Factors affecting NIR spectra)

2.4.1 ขนาดอนุภาคของตัวอย่าง (particle size) ตัวอย่างที่มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน จะทำให้ได้เส้นสเปกตรัมที่แตกต่างกันด้วย โดยตัวอย่างขนาดเล็กสามารถสะท้อนแสงได้ดีกว่าตัวอย่างขนาดใหญ่ ฉะนั้น ค่าการดูดกลืนแสงของเส้นสเปกตรัมตัวอย่างที่มีขนาดเล็กจึงมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่ (Osborne *et al.*, 1993)

2.4.2 ความชื้น (moisture) ตัวอย่างที่มีความชื้นสูงจะมีค่าการดูดกลืนแสงของเส้นสเปกตรัมสูงกว่าตัวอย่างที่มีความชื้นต่ำ จากการศึกษาของ Osborne *et al.* (1993) พบว่า สเปกตรัมของข้าวสาลีก่อนอบและหลังอบแห้ง จะเห็นพีกของน้ำจะหายไปและค่าการดูดกลืนแสงลดลงทั้งสเปกตรัม เนื่องจากตัวอย่างแห้งสะท้อนแสงได้มากกว่าตัวอย่างเปียก

2.4.3 อุณหภูมิของตัวอย่าง (sample temperature) ตัวอย่างที่มีขนาดและรูปร่างเดียวกัน แต่อุณหภูมิในตัวอย่างแตกต่างกันก็อาจทำให้ได้เส้นสเปกตรัมที่ต่างกัน เมื่อวัดผลพืชที่อุณหภูมิ 3 ระดับ พบสเปกตรัมมีความแตกต่างในช่วงการดูดกลืนแสงของน้ำที่พีก 970 นาโนเมตร เนื่องจากอุณหภูมิของตัวอย่างจะมีผลโดยตรงต่อโมเลกุลของน้ำ ซึ่งความแตกต่างของสเปกตรัมนี้จะไม่สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจน แต่สามารถส่งผลกระทบต่อความแม่นยำสมการได้มาก (Kawano *et al.*, 1995)

2.4.4 การบรรจุ (packing) ตัวอย่างในเซลล์บรรจุที่มีการอัดตัวแน่นมาก ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างตัวอย่างน้อย มีการสะท้อนกลับของแสงมาก ค่าการดูดกลืนแสงของเส้นสเปกตรัมจะมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างที่มีการอัดตัวกันน้อย (William and Norris, 2001)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5 การแปลงหรือการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัม (Spectrum pretreatment)

การแปลงข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จากเครื่อง NIR เพื่อลดอิทธิพลของปัจจัยดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้สเปกตรัมมีความแตกต่างกัน ส่งผลต่อสมการที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำในการทำนายลดลง (Bokobza, 1998) ดังนั้นการแปลงข้อมูลสเปกตรัมโดยวิธีการทางคณิตศาสตร์ถือเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้ขั้นตอนการสร้างสมการทำนายมีความแม่นยำมากขึ้น วิธีการทางคณิตศาสตร์ที่นิยมใช้ในการแปลงข้อมูลสเปกตรัมได้แก่

2.5.1 วิธีอนุพันธ์ (derivative) เป็นการหาความชันของเส้นสเปกตรัม เพื่อแก้ปัญหาพีกที่มีฐานกว้าง (broad peak) เนื่องจากการซ้อนทับกันของพีก (overlapping) และอิทธิพลจากการยกตัวของเส้นสเปกตรัม (base line shift) ที่เกิดจากการกระเจิงแสง (scattering light) เมื่อแสงตกกระทบที่ตัวอย่างทำให้แสงเปลี่ยนทิศทาง ซึ่งมีผลต่อการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ทั้งนี้มีสาเหตุมาจากขนาดของตัวอย่างไม่สม่ำเสมอ การอัดตัว และการกระจายตัวของตัวอย่างภายในเซลล์บรรจุที่แตกต่างกัน รวมทั้งความชื้นภายในตัวอย่างที่แตกต่างกันด้วย (William and Norris, 2001) โดยการแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยอนุพันธ์อันดับที่ 1 (first derivative) สามารถลดปัญหาการเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ของค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมตลอดช่วงความยาวคลื่นตามแกน Y ทำให้เส้นสเปกตรัมเลื่อนมาชิดกัน แต่พีกของสเปกตรัมยังมีฐานกว้าง จึงไม่สามารถแยกพีกออกจากกันอย่างชัดเจนได้ อีกทั้งวิธีอนุพันธ์อันดับที่ 1 ให้ความหมายเป็นค่าความชันของสเปกตรัมแต่ละความยาวคลื่น ซึ่งทำให้แปลความหมายได้ยาก แต่การแปลงข้อมูลด้วยอนุพันธ์อันดับที่ 2 (second derivative) สามารถลดผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมมีขนาดเพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่นตามแกน Y ที่ชัดเจนกว่าวิธีอนุพันธ์อันดับที่ 1 และแยกพีกสเปกตรัมที่มีการซ้อนทับกันออกจากกันได้อย่างชัดเจน ทำให้ทราบตำแหน่งความยาวคลื่น แต่สเปกตรัมมีลักษณะหัวกลับลงมาด้านล่าง (Osborne *et al.*, 1993) ดังนั้น การคำนวณการแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยวอนุพันธ์อันดับที่ 2 จึงเป็นที่นิยมมากกว่าวิธีอนุพันธ์อันดับที่ 1 (Siesler *et al*., 2002) โดยการเพิ่มอันดับของอนุพันธ์สูงขึ้น ก็จะได้สเปกตรัมที่มีความซับซ้อนมากขึ้น ซึ่งอาจเป็นข้อมูลที่ดีในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ แต่การทำอนุพันธ์ที่สูงเกินไปทำให้อัตราส่วนระหว่างสัญญาณวัดกับสัญญาณรบกวน (signal to noise ratio) ลดลง เนื่องจากแถบสัญญาณรบกวนมักมีรูปร่างแคบชัน ดังนั้นเมื่อแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยอนุพันธ์สเปกตรัมที่ได้ของสัญญาณรบกวน จึงมีแอมพลิจูด (amplitude) เด่นชัดมากยิ่งขึ้นจนสามารถรบกวนการวิเคราะห์ได้ (ธีรศักดิ์ และวนิดา, 2550)

2.5.2 วิธี multiplicative scatter correction (MSC) เป็นการหาค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งสเปกตรัม เพื่อลดอิทธิพลของการกระเจิงของแสงที่เกิดจากสาเหตุที่ได้กล่าวมาข้างต้น ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการลดค่าผิดพลาด Barnes *et al.* (1989) ใช้ NIRS แบบวัดการสะท้อนกลับของแสง เพื่อหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดพืช โดยแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยวิธี MSC พบว่า มีค่าผิดพลาดของสมการต่ำกว่าสมการของสเปกตรัมดั้งเดิม (original spectrum) ในทำนองเดียวกัน Maleki *et al.* (2007) ได้ศึกษาการแปลงข้อมูลสเปกตรัมของดินที่วัดด้วยเทคนิค NIRS ด้วยวิธี MSC พบว่าให้ค่า $r^2 > 0.99$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5.3 วิธี smoothing เป็นการหาค่าเฉลี่ยเคลื่อน โดยมีการแทนค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความยาวคลื่นด้วยค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่มีจุดศูนย์กลางของช่วงความยาวคลื่นตรงกับจุดที่ถูกแทนที่ ต่อจากนั้นเลื่อนช่วงไปหนึ่งความยาวคลื่น แล้วคำนวณซ้ำจนครบตลอดช่วงความยาวคลื่น ซึ่งสามารถลดปัญหาของสัญญาณรบกวนต่อค่าการดูดกลืนแสง โดยจะได้สเปกตรัมที่มีลักษณะเหมือนสเปกตรัมดั้งเดิม แต่จะเรียบสม่ำเสมอมากกว่า (Katsumoto *et al.*, 2001; Siesler *et al.*, 2002)

วิธีการแปลงข้อมูลสเปกตรัมที่ดีที่สุดก็คือ วิธีที่ทำให้สามารถวิเคราะห์ได้สมการทำนายที่มีความสามารถในการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างได้ใกล้เคียงที่สุด อย่างไรก็ตามไม่มีกฎตายตัวแน่นอนสำหรับในการตัดสินใจเลือกวิธีที่จะใช้ในการแปลงข้อมูล วิธีที่ดีที่สุดคือ การลองผิดลองถูกในการทดลองใช้แต่ละวิธีจนกว่าจะได้สมการทำนายที่แม่นยำสุด โดยต้องเข้าใจความหมายและคำนึงถึงข้อดีข้อเสียของแต่ละวิธีให้ชัดเจน (Hruschka, 2001)

2.6 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยทั่วไป ต้องมีการสร้างสมการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (calibration equation developed) ในการสร้างสมการจำเป็นต้องมีกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการถดถอยเชิงเส้นระหว่างข้อมูลวิเคราะห์ทางเคมีกับข้อมูลสเปกตรัม กลุ่มตัวอย่างที่ดีจะต้องมีจำนวนตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์อย่างพอเพียงทั้งตัวอย่างในปัจจุบันและตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์ในอนาคต โดยเฉพาะปริมาณองค์ประกอบทางเคมี จะต้องมีค่าครอบคลุมปริมาณทั้งต่ำสุดและสูงสุดของตัวอย่าง โดยมีการสุ่มตัวอย่าง (sampling) ที่ถูกต้อง เพียงพอและเป็นตัวแทนที่ดีของประชากร การสุ่มตัวอย่างถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการที่จะได้สมการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ดี ทำให้ค่าผิดพลาดที่ได้จากการทดลองลดลง (Hruschka, 2001) นอกจากนี้ควรพิจารณาวิธีวิเคราะห์ทางเคมี ซึ่งควรเป็นวิธีที่เป็นมาตรฐานและมีความแม่นยำเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องเนื่องจากส่งผลต่อสมการที่สร้างขึ้นต่อไป (Kawano, 2002) เช่นเดียวกับพรรณทิพย์ (2548) กล่าวว่าความแม่นยำของ NIRS ขึ้นกับความแม่นยำของวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ สำหรับตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์จะต้องทำการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับตัวอย่างที่จะนำไปวัดด้วยเครื่อง NIR ในอนาคต (สุมาพร, 2545) การวิเคราะห์เชิงปริมาณทาง NIRS แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

2.6.1 ขั้นตอนการสร้างสมการ (Calibration equation) แบ่งได้ 2 วิธีหลักคือ

1. Wavelength selected method เป็นวิธีการที่ต้องเลือกข้อมูลแต่ละความยาวคลื่นหนึ่งๆ ที่มีความสัมพันธ์กับค่าวิเคราะห์ทางเคมี โดยการพิจารณาจากข้อมูลทางสถิติ ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.1 Single linear regression (SLR) เป็นการสร้างสมการที่ประกอบด้วยตัวแปรสองชนิดที่มีความสัมพันธ์กัน คือ ตัวแปรอิสระ (X) และตัวแปรตาม (Y) SLR เป็นการเลือกพิจารณาความสัมพันธ์เชิงปริมาณของตัวอย่างที่ความยาวคลื่นเพียงความยาวคลื่นเดียว (single wavelength) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย NIRS เป็นไปไม่ได้ที่จะใช้ความยาวคลื่นใดความยาวคลื่นหนึ่งในการหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างได้ เนื่องจากตัวอย่างประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิดด้วยกัน ดังที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งมีผลต่อสเปกตรัม และส่งผลโดยตรงต่อความแม่นยำของสมการ ดังนั้นจึงต้องใช้ข้อมูลจากหลายความยาวคลื่น (multiple wavelengths) เพื่อทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของผลผลิต (ศุมาพร, 2545) สมการ SLR สามารถเขียนได้ดังนี้คือ

$$Y = b_0 + b_1X$$

เมื่อ Y = ค่าองค์ประกอบทางเคมี

X = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นตำแหน่งเดียว

b_0 = ค่าคงที่ ณ จุดตัดแกน Y เมื่อ X มีค่าเท่ากับศูนย์

b_1 = ค่าคงที่การถดถอย

1.2 Multiple linear regression (MLR) เป็นการวิเคราะห์ผลทางสถิติที่นำตัวแปรอิสระ (X) มากกว่าหนึ่งตัว มาใช้ในการประเมินค่าตัวแปรตาม (Y) การพิจารณาความสัมพันธ์เชิงปริมาณของตัวอย่างจากหลายความยาวคลื่น การใช้เทคนิค MLR ในการสร้างสมการ โดยใช้ตัวแปรอิสระที่ได้จากการเลือกความยาวคลื่นมากกว่าหนึ่งความยาวคลื่นมาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม การสร้างสมการด้วยวิธี MLR มีข้อเสียคือ ในการคัดเลือกตัวแปรอิสระหรือความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากความยาวคลื่นทั้งหมดมาสร้างสมการอาจได้ข้อมูลที่ไม่ครอบคลุมมากพอ ทำให้ค่าที่ทำนายได้จากวิธีนี้ มีค่าต่ำกว่าหรือสูงกว่าค่าที่แท้จริง (Osborne et *al.*, 1993) สมการ MLR สามารถเขียนได้ดังนี้คือ

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

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

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. Full spectrum method เป็นการเลือกช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม จากความยาวคลื่นทั้งหมดในสเปกตรัม (full spectrum) มาสร้างสมการ โดยทำการลดจำนวนตัวแปรอิสระ (X) และสร้างตัวแปรกลุ่มใหม่ขึ้นมา วิธีทางสถิติที่นิยมใช้ได้แก่

2.1 Principle component regression (PCR) เป็นการวิเคราะห์ผล โดยทำการลดจำนวนตัวแปรอิสระ (X) ด้วยการแบ่งกลุ่มตัวแปรอิสระเดิมที่มีความสัมพันธ์กันเพื่อสร้างตัวแปรใหม่หรือองค์ประกอบที่เรียกว่าแฟกเตอร์ (factor score; F) หรือ principal combination (PC) แล้วจึงนำค่าแฟกเตอร์ไปสร้างสมการเชิงถดถอย ก่อนการนำมาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม (Y) ที่ได้จากวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน เพื่อสร้างสมการทำนายค่าตัวแปรตาม (Y) สมการ PCR สามารถเขียนได้ดังนี้คือ

$$Y = b_0 + b_1PC_1 + b_2PC_2 \ldots + b_nPC_n$$

เมื่อ $PC_1, PC_2, \ldots, PC_n$ = ค่าตัวแปรใหม่ที่ตำแหน่ง n ตัวแปร

$b_0, b_1, b_2, \ldots, b_n$ = ค่าสัมประสิทธิ์ในการถ่วงน้ำหนักที่ตำแหน่ง n ตัวแปร

2.2 Partial least square regression (PLSR) เป็นเทคนิคในการลดจำนวนตัวแปรอิสระ (X) เช่นเดียวกับวิธี PCR แต่จะแตกต่างตรงที่ในช่วงจัดกลุ่มการลดจำนวนตัวแปรอิสระ (X) โดยการสร้างแฟกเตอร์นั้นจะมีการนำข้อมูลตัวแปรตาม (Y) เข้ามารวมในการสร้างแฟกเตอร์ ซึ่งในการหาค่าสเปกตรัมทุกความยาวคลื่นมีน้ำหนัก (loading weight; W) แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับข้อมูลที่ได้จากวิธีทางเคมีที่นำมาหาความสัมพันธ์กัน ทำให้สมการที่สร้างขึ้นสามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลได้ (ธงชัย, 2550) สมการ PLSR สามารถเขียนได้ดังนี้คือ

$$Y = b_0 + b_1F_1 + b_2F_2 \ldots + b_nF_n$$

เมื่อ $F_1, F_2, \ldots, F_n$ = ค่าตัวแปรใหม่ที่มีความสัมพันธ์กับข้อมูล Y ที่ตำแหน่ง n ตัวแปร

$b_0, b_1, b_2, \ldots, b_n$ = ค่าสัมประสิทธิ์ในการถ่วงน้ำหนักที่มีความสัมพันธ์กับข้อมูล Y ที่ตำแหน่ง n ตัวแปร

ลักษณะสเปกตรัมของคลื่นแสง NIR โดยทั่วไปจะมีสเปกตรัมซ้อนทับกัน และมีพีกที่กว้าง ดังนั้นการสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีที่พิจารณาเพียงความยาวคลื่นเดียวหรือจำนวนความยาวคลื่นน้อยๆ จะให้ผลการวิเคราะห์ได้ไม่ถูกต้องไม่เท่ากับการพิจารณาทั้งสเปกตรัม (full spectrum) หรือบางช่วงของสเปกตรัม วิธีการพิจารณาเช่นนี้จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการประเมินค่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ทางเคมีได้ถูกต้องมากขึ้น Saranwong (2003) ได้ศึกษาการพัฒนาสมการที่ใช้ในการทำนายค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solid) และค่าน้ำหนักเนื้อแห้ง (dry matter) ของมะม่วงด้วยวิธี PLSR กับ MLR ในการสร้างสมการทำนาย พบว่า วิธี PLSR ให้ค่าผิดพลาดของสมการทำนายของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่ำกว่าวิธี MLR แต่สำหรับสมการทำนายค่าน้ำหนักเนื้อแห้งด้วยวิธี PLSR กับ MLR ที่สร้างขึ้นให้ค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ณัฐกานต์ (2547) ที่ได้ศึกษาการทำนายปริมาณอมิโลส ปริมาณโปรตีน และปริมาณความชื้นของข้าวเจ้าของไทยด้วยเทคนิค NIRS พบว่าวิธี PLSR สามารถสร้างสมการที่ใช้ในการทำนายคุณภาพข้าวได้แม่นยำมากกว่าวิธี SLR และ MLR นอกจากนี้ จีรวรรณ และคณะ (2545) พบว่าการเลือกช่วงความยาวคลื่นจากวิธี MLR ที่เป็นการดูดกลืนแสงที่มีความเกี่ยวข้องกับปริมาณโปรตีนและไขมันในกุ้ง โดยตัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นไม่เกี่ยวข้องออกไป จะทำให้เพิ่มความแม่นยำของสมการในวิธี PLSR มากขึ้น ในการทำนายค่าองค์ประกอบทางเคมีจากค่าการดูดกลืนแสงในช่วง NIR สมการทำนายแบบ MLR และ PLSR จะมีความแม่นยำเท่าเทียมกัน หากสมการทำนายที่สร้างขึ้นใช้กลุ่มความยาวคลื่นหรือช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม Saranwong *et al.* (2001)

สมการทำนายที่สร้างขึ้นมีความเหมาะสมหรือไม่ สามารถพิจารณาได้จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; R) ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration; SEC) และค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIR (bias) (Williams, 2001)

2.6.2 ขั้นตอนการทดสอบสมการ (Validation test)

เมื่อได้สมการทำนายค่าองค์ประกอบทางเคมีแล้ว ต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพของสมการก่อนนำไปใช้จริง ซึ่งมี 2 วิธีคือ

1. Full cross validation เป็นการทดสอบภายในกลุ่มตัวอย่าง (internal validation) โดยตัวอย่างที่นำมาทดสอบสมการ คือ ตัวอย่างชุดเดียวกับที่ใช้สร้างสมการทำนายค่าทางเคมี โดยมีขั้นตอนการทดสอบดังนี้ ตัดตัวอย่างที่ 1 ออกจากชุดตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการทำนายค่าทางเคมี จากนั้นใช้ตัวอย่างที่เหลือทำการคำนวณหาสมการ เมื่อได้สมการแล้ว จึงนำตัวอย่างที่ 1 มาทดสอบสมการ ขั้นต่อไปใส่ตัวอย่างที่ 1 กลับคืน และตัดตัวอย่างที่ 2 ออกจากชุดตัวอย่าง แล้วจึงสร้างสมการทำนายค่าทางเคมี นำสมการที่ได้จากการทำนายของตัวอย่างที่ 2 ทำขั้นตอนข้างต้นซ้ำจนกระทั่งหาค่าทางเคมีของตัวอย่างครบทั้งชุด ดังนั้นตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นจะถูกตัดออกจากชุดตัวอย่าง 1 ครั้งเท่ากัน ทำการหาค่า RMSECV (root square error of cross validation)

2. Prediction testing เป็นการทดสอบสมการแบบภายนอกกลุ่มตัวอย่าง (external validation) โดยการเตรียมตัวอย่างชุดใหม่มาทำการวิเคราะห์ในสภาวะการทดลอง เช่นเดียวกันกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการทำนายค่าทางเคมี (calibration set) รวมถึงวิธีการแปลงข้อมูลสเปกตรัมก็ต้องเป็นชุดเดียวกันกับตัวอย่าง calibration set เรียกชุดตัวอย่างที่นำมาทดสอบสมการนี้ว่า ชุดทดสอบ (validation set) วิธีการเตรียมตัวอย่างทำเช่นเดียวกับกลุ่มตัวอย่างใน calibration set แต่จุดที่ต้องระวังคือ ค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการหาในตัวอย่าง validation set ต้องมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับ calibration set หลังจากได้สเปกตรัมของชุด validation set นำค่าที่ได้ไปคำนวณจากสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมี จากนั้นดูผลการคำนวณที่ได้จากค่าสถิติ ได้แก่ bias, RMSEP (root square error of prediction) ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction; SEP)

ถ้าผลการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับผลที่อ้างอิง และให้ค่าทางสถิติที่ดี แสดงว่าสมการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีนั้นยอมรับได้ และสามารถนำไปใช้ทำนายปริมาณตัวอย่างต่อไปได้อย่างถูกต้อง (อนุพันธ์, 2545)

ค่าทางสถิติที่ใช้ในการพิจารณาการสร้างสมการ

1. ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; R) คือ ค่าที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (X) และตัวแปรตาม (Y) หากค่าที่คำนวณได้มีค่าเข้าใกล้ 1 หรือเท่ากับ 1 หมายความว่า สมการที่สร้างขึ้นสามารถนำมาใช้ในการอธิบายค่าทำนายที่เกิดจากอิทธิพลของตัวแปรอิสระ (X) กับค่าแปรตาม (Y) ที่มีความสัมพันธ์กันมาก เกณฑ์การพิจารณายอมรับค่า R ดังตาราง 2.3 (Williams, 2007)

2. ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration; SEC) คือ ค่าที่บอกถึงสมการที่สร้างขึ้นสามารถนำไปใช้ในการทำนายต่อไปได้ดีหรือไม่ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าน้อย

3. ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction; SEP) คือ ค่าที่บอกถึงการนำเอาสมการที่สร้างขึ้น มาทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากเครื่อง NIR มีความแม่นยำสูงหรือต่ำ ซึ่งถ้าค่าที่คำนวณได้มีค่าน้อย หมายความว่าสมการที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำสูง

4. ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIR (average of difference between actual value and NIR value; bias) คือ ค่าเฉลี่ยของการทำนายข้อมูลของตัวแปรตาม (Y) และค่าเฉลี่ยข้อมูลของตัวแปรอิสระ (X) มีความแตกต่างกันหรือไม่ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าน้อย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. อัตราส่วนของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่ม validation set ต่อค่า SEP (ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP; RPD) ค่าจากที่คำนวณได้มีค่าสูง หมายถึง ค่าผิดพลาดมาตรฐานที่ทำนายได้จาก NIR มีค่าน้อยกว่าค่าผิดพลาดมาตรฐานที่ได้จากวิเคราะห์จริง เกณฑ์การพิจารณาค่า RPD ดังตาราง 2.4 (Williams, 2007)

ตาราง 2.3 เกณฑ์การพิจารณาค่า R และ R^2

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

ที่มา: Williams (2007)

ตาราง 2.4 เกณฑ์การพิจารณาค่า RPD

RPD Value	**Classification**	**Application**
0.0 – 2.3	Very poor	Not recommended
2.4 – 3.0	Poor	Rough screening
3.1 – 4.9	Fair	Screening
5.0 – 6.4	Good	Quality control
6.5 – 8.0	Very good	Process control
8.1 >	Excellent	Any application

ที่มา: Williams (2007)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7 แหล่งความผิดพลาดของเทคนิค NIRS (Source of error in NIRS)

1. ตัวอย่าง (samples)
    - การสุ่มตัวอย่าง เช่น สายพันธุ์ ฤดูกาลเพาะปลูก สถานที่เพาะปลูก ระยะการสุกแก่ ลักษณะทางกายภาพของผลผลิต ที่ไม่ครอบคลุมตัวอย่างทั้งหมด
    - ลักษณะตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ เช่น เป็นผง ขนาดและความหนาของตัวอย่างมีลักษณะไม่เหมือนกัน
2. การวัดสเปกตรัม (NIR spectral acquisition)
    - การเลือกช่วงความยาวคลื่น ที่ไม่เหมาะสมกับตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์
    - การเลือกตำแหน่งวางตัวอย่างสำหรับวัดสเปกตรัมไม่ถูกต้อง
    - สภาพแวดล้อมขณะวัดในแต่ละครั้งไม่เหมือนกัน เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ แสงแดด เป็นต้น
3. การวิเคราะห์ทางเคมี (chemical analysis)
    - การใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ทางเคมีนาน อาจทำให้องค์ประกอบทางเคมีในผลผลิตมีการเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้ความแม่นยำของข้อมูลทางเคมี มีความแปรปรวนสูง
    - การใส่ข้อมูลทางเคมีไม่ตรงกับเส้นสเปกตรัมที่วัด
4. การสร้างสมการ (calibration model)
    - สมการที่สร้างขึ้นไม่ครอบคลุมข้อมูลทั้งหมด ทำให้การทำนายตัวอย่างในอนาคตมีค่าผิดพลาดมาก
    - การไม่ตัดตัวอย่างที่ไม่สามารถเข้ากลุ่มกับตัวอย่างอื่นได้ (outliers)
    - การเลือกสมการที่พิจารณาจากค่าทางสถิติ เช่น จำนวนแฟกเตอร์ (F), R, SEC, SEP, bias และ RPD อาจมีการเลือกสมการที่ไม่เหมาะที่จะนำไปทำนายตัวอย่างในอนาคต
5. เครื่อง NIR (NIR instrument)
    - เครื่องมือและอุปกรณ์อาจเก่า ไม่มีการซ่อมบำรุงให้สมบูรณ์ อาจทำให้เกิดสัญญาณรบกวนมาก ซึ่งมีผลต่อข้อมูลสเปกตรัมที่ได้
    - กระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับเครื่องอาจไม่เพียงพอ (Osborne *et al.*, 1993; William and Norris, 2001; Kawano and Saranwong, 2007)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8 ข้าว (Rice)

เมล็ดข้าว (rice grain) ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ ส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าว เรียกว่า แกลบ (hull) และส่วนเนื้อผล หรือข้าวกล้อง (caryopsis grain or brown rice)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเมล็ดข้าวคือ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และน้ำ หรือความชื้น ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของข้าวทั้งในลักษณะข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวเปลือก และส่วนที่ได้จากการขัดสีที่ความชื้น 14% พบว่าแต่ละส่วนมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน (ตาราง 2.5)

ตาราง 2.5 แสดงปริมาณองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวเปลือก และส่วนที่ได้จากการขัดสี (กรัม) ที่ความชื้น 14%

ส่วนประกอบของข้าว	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เส้นใย (%)	เถ้า (%)	คาร์โบไฮเดรต (%)	เส้นใยอาหาร (%)
ข้าวเปลือก	5.8-7.7	1.5-2.3	7.2-10.4	2.9-5.2	64-73	16.4-19.2
ข้าวกล้อง	7.1-8.3	1.6-2.8	0.6-1.0	1.0-1.5	73-87	2.9-3.9
ข้าวสาร	6.3-7.1	0.3-0.5	0.2-0.5	0.3-0.8	77-89	0.7-2.3
รำข้าว	11.3-14.9	15.0-19.7	7.0-11.4	6.6-9.9	34-62	24-29
แกลบ	2.0-2.8	0.3-0.8	34.5-45.9	13.2-21.0	22-34	66-74

ที่มา : Juliano (1993)

ในรายงานของ Hirohata and Chen (1959) พบว่าข้าวสารมีปริมาณฐานน้ำหนักเปียก (%) ของโปรตีนในช่วง 6.5-9.6%, ไขมันในช่วง 0.3-1.1%, เส้นใยในช่วง 0.4-1.0%, เถ้าในช่วง 0.5-1.9% และคาร์โบไฮเดรตในช่วง 86.9-89.8% สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ของ Marshall and Wadsworth (1994) ที่ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้ง (%) ขององค์ประกอบทางเคมีในข้าวสาร พบว่ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเท่ากับ 90.2%, โปรตีนในช่วง 7.3-8.3%, ไขมันในช่วง 0.4-0.6%, เส้นใยในช่วง 0.3-0.6% และเถ้าในช่วง 0.4-0.9% จากรายงานดังที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นว่าองค์ประกอบเคมีของข้าวสารมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด รองลงมาคือ โปรตีน ไขมัน เส้นใย และเถ้า ตามลำดับ ซึ่งข้าวที่นำมาศึกษาทั้ง 5 พันธุ์ มีลักษณะประจำพันธุ์ ดังตาราง 2.6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2.6 ลักษณะประจำพันธุ์ข้าว 5 พันธุ์

พันธุ์	ชนิด	คุณภาพข้าวสุก	อมิโลส (%)	โปรตีน (%)[a]
ชัยนาท 1	ข้าวเจ้า ไม่ไวแสง	ร่วนและแข็ง	26-27	8.9
ปทุมธานี 1	ข้าวเจ้าหอม ไม่ไวแสง	นุ่มค่อนข้างเหนียว มีกลิ่นหอมอ่อน	17.8	7.8
ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี	ข้าวเจ้าหอม ไม่ไวแสง	นุ่มเหนียวและหอม คล้ายพันธุ์ขาวดอก-มะลิ 105	18-19	9.5
กข15	ข้าวเจ้า ไวแสง	หอมนุ่ม	14-17	8.2
ขาวดอกมะลิ 105	ข้าวเจ้าหอม ไวแสง	หอมนุ่ม	12-17	7.7

ที่มา: กรมการข้าว (2550), [a] งามชื่น (2547)

2.9 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวและการประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในเมล็ดธัญพืช

1. คาร์โบไฮเดรต

แป้งข้าว (strach) เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบมากที่สุดในเนื้อเมล็ดของข้าว (ประมาณ 90%) จึงมีผลต่อคุณภาพของข้าวมากที่สุด สามารถแยกออกเป็น 2 ชนิด (งามชื่น, 2545) คือ

1.1 อมิโลเปกติน (amylopectin) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลกลูโคสจำนวนมากและมีโครงสร้างเชื่อมต่อกันแบบเป็นกิ่งก้านสาขา เมื่อย้อมสีด้วยน้ำยาไอโอดีนจะเป็นสีน้ำตาลแดง เมื่อทำให้สุกในน้ำเดือดจะค่อนข้างคงสภาพเดิมไว้ และเป็นส่วนที่ทำให้ข้าวสุกเหนียวติดกัน

1.2 อมิโลส (amylose) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากการรวมตัวของกลูโคสจำนวนมากเช่นกัน แต่มีโครงสร้างต่อกันเป็นแนวยาว เมื่อทำให้สุกในน้ำเดือดและทำให้เย็นจะเกิดกระบวนการคืนตัวเป็นของแข็งขึ้น ทำให้ความสามารถในการละลายลดลง และมีผลทำให้ข้าวสุกร่วนและแข็งกระด้างมากขึ้น อัตราส่วนของปริมาณอมิโลสและอมิโลเปกตินในเมล็ดที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ พันธุ์ข้าวและฤดูที่ปลูก ซึ่งอัตราส่วนดังกล่าวนี้เองเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่ทำให้คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การบริโภคหลังการหุงต้มแตกต่างกันไป เช่น ข้าวเหนียวเมื่อหุงต้มแล้วจะนุ่มเหนียว และเลื่อมกว่าข้าวเจ้า ซึ่งข้าวเจ้าที่มีอมิโลสสูง เมื่อสุกจะร่วนและแข็งกว่าอมิโลสต่ำ เป็นต้น (งามชื่น, 2545) การแบ่งประเภทพันธุ์ข้าวตามปริมาณอมิโลสในข้าวสารสามารถแบ่งกลุ่มข้าวได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มข้าวอมิโลสต่ำ อมิโลสปานกลาง และอมิโลสสูง ดังแสดงในตาราง 2.7 (งามชื่น, 2547)

ตาราง 2.7 การแบ่งประเภทข้าวเจ้าตามปริมาณอมิโลสในข้าวสาร

ข้าวเจ้า	ปริมาณอมิโลส (%)	ลักษณะข้าวสุก
ข้าวอมิโลสต่ำ	10-19	เหนียวนุ่ม
ข้าวอมิโลสปานกลาง	20-25	ค่อนข้างร่วนไม่แข็ง
ข้าวอมิโลสสูง	26-34	ร่วนแข็ง

ที่มา: งามชื่น (2547)

การวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลสสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การทำให้เกิดสี (colorimetric method) Williams *et., al.* (1958) และ Juliano (1971) ได้วิเคราะห์หาปริมาณอมิโลสจากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างแป้งที่ละลายในสารละลายด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตรมิเตอร์ที่ช่วงคลื่นแสง 620 นาโนเมตร ในประเทศญี่ปุ่นได้ให้ความสำคัญต่อการพัฒนาเทคโนโลยีในการตรวจสอบคุณภาพข้าวด้วยเทคนิค NIR transmittance ที่ช่วงความยาวคลื่น 825-1075 นาโนเมตร วัดปริมาณอมิโลสในข้าวญี่ปุ่น โดยใช้วิธีทางคณิตศาสตร์ คือ Partial least squares (PLS) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการวิเคราะห์ทางเคมีกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ พบว่าสามารถประเมินปริมาณอมิโลสได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสมการดังกล่าวไปประเมินองค์ประกอบอื่นๆ ของข้าว เช่น ความชื้น และโปรตีน เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามเทคนิคที่ได้ยังมีความแม่นยำต่ำในการประเมินคุณภาพทางกายภาพ (Shimizu *et al.*, 1998) ในประเทศสหรัฐอเมริกามีการนำเทคนิค NIRS มาวิเคราะห์สายพันธุ์ข้าวที่มีการพัฒนาหรือได้รับการปรับปรุงพันธุ์ โดย Delwiche *et al.* (1995, 1996) ได้ศึกษาเทคนิค NIR reflectance ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2498 นาโนเมตร โดยการวิเคราะห์ทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี PLS ในการหาปริมาณอมิโลสของสายพันธุ์ข้าวที่เป็นการค้า 50 สายพันธุ์ แล้ววิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธี colorimetry พบว่ามีค่า r^2 เท่ากับ 0.95 และ SEP เท่ากับ 1.04% ในปีต่อมา ยังได้ศึกษาหาปริมาณอมิโลส ที่ใช้ตัวอย่างข้าวจำนวน 196 ตัวอย่าง ในช่วงแสง visible ถึงช่วงแสง NIR (400-2498 นาโนเมตร) พบว่า ปริมาณอมิโลสมีค่า SEP เท่ากับ 1.3%, r^2 เท่ากับ 0.89 จะเห็นว่า การทำนายปริมาณอมิโลสด้วยเครื่อง NIR ให้ความแม่นยำค่อนข้างสูง ในทำนองเดียวกัน Fertig *et al.* (2003) ได้ทดลองใช้คลื่นแสง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

NIR หาปริมาณอมิโลสในตัวอย่างแป้ง 6 ชนิด ที่มีปริมาณอมิโลสในช่วง 2-95% ปริมาณอมิโลสในแป้งที่ผลิตขึ้นในแต่ละครั้งจะมีปริมาณไม่เท่ากัน ซึ่งขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในการปลูก และระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว การสร้างสมการของตัวอย่างปริมาณอมิโลสที่ระดับต่างๆ ในช่วงความยาวคลื่น 1700-1800 นาโนเมตร พบว่า มีค่า $r > 0.99$ และค่า RMSEP เท่ากับ 1.2% ซึ่งปริมาณอมิโลสที่วัดได้มีค่าที่เหมาะสมและอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ตามปริมาณอมิโลสเฉลี่ยที่กำหนดไว้ เช่นเดียวกัน Wu and Shi (2003) ได้ใช้เทคนิค NIR reflectance ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร หาปริมาณอมิโลสในเมล็ดข้าวเพียงเมล็ดเดียว (single kernel) ซึ่งใช้เมล็ดข้าวทั้งหมด 474 เมล็ด พบว่าปริมาณอมิโลสในเมล็ดข้าว มีค่า SEP เท่ากับ 2.82 และค่า r^2 เท่ากับ 0.85 นอกจากนี้มีการนำเทคนิค NIR หาปริมาณอมิโลสในข้าวโพดได้เช่นกัน (Campbell *et al.*, 1997)

ดังนั้น อุตสาหกรรมแปรรูปข้าวสารเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ซึ่งต้องการข้าวที่มีปริมาณอมิโลสต่างกัน แต่ไม่สามารถแบ่งกลุ่มข้าวสารที่มีปริมาณอมิโลสต่างกันด้วยตาเปล่าได้ การตรวจหาพันธุ์ข้าว หรือการตรวจข้าวสารด้วยเทคนิค NIRS จะสามารถแบ่งพันธุ์ข้าวเป็นกลุ่มอมิโลสสูง ปานกลาง และต่ำได้ จึงทำให้โรงงานอุตสาหกรรมสามารถเลือกใช้พันธุ์ข้าวที่มีปริมาณอมิโลสตรงตามต้องการ และเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์นั้นๆ ได้

2. โปรตีน

โปรตีนในข้าวมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว และโดยทั่วไปจะมีปริมาณน้อยกว่าในธัญพืชชนิดอื่น โปรตีนที่มีในข้าวนี้เกิดขึ้นตามส่วนต่างๆ ของเมล็ด ซึ่งมีมากในชั้นเปลือกหุ้มเมล็ดและเนื้อเมล็ดด้านนอกจะมีโปรตีนมากกว่าใจกลางเมล็ด ในส่วนของข้าวสารมีโปรตีนอยู่ 6.3-7.1% (ตารางที่ 2.5) สำหรับปริมาณโปรตีนในข้าวที่แตกต่างกันจะมีผลต่อระยะเวลาการหุงต้ม และการขัดสีข้าว งามชื่น (2547) รายงานว่า ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูงทำให้การดูดซึมน้ำของเมล็ดช้าลง ความนุ่ม ความเหนียว และความเลื่อมลดลง Delwiche *et al.* (1995, 1996) ได้ศึกษาเทคนิค NIR reflectance ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2498 นาโนเมตร หาปริมาณโปรตีนในข้าวหลายสายพันธุ์ทางการค้า แล้ววิเคราะห์ทางเคมีด้วยวิธี combustion เมื่อสร้างสมการหาความสัมพันธ์ พบว่ามี r^2 เท่ากับ 0.98 และ SEP เท่ากับ 0.1% และในปีต่อมายังได้ศึกษาหาปริมาณโปรตีนในข้าว ในช่วงแสง visible ถึงช่วงแสง NIR (400-2498 นาโนเมตร) พบว่าปริมาณโปรตีนมีค่า r^2 เท่ากับ 0.97 และ SEP เท่ากับ 0.13% อีกทั้ง Chang and Jae (1996) หาปริมาณโปรตีนจากเมล็ดข้าวเปลือกเพียงเมล็ดเดียว ในช่วงแสง visible ถึงช่วงแสง NIR (400-2498 นาโนเมตร) ของข้าว 3 สายพันธุ์ คือ Dongjin, Ilpum และ Chucheong โดยใช้เทคนิค PLS แล้วแปลงสเปกตรัมด้วยอนุพันธุ์อันดับที่ 2 (second derivative) พบว่าปริมาณโปรตีนในข้าวพันธุ์ Dongjin ให้ค่า r^2 เท่ากับ 0.829, ค่า SEP

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เท่ากับ 0.508 ข้าวพันธุ์ Ilpum ให้ค่า r^2 เท่ากับ 0.901, ค่า SEP เท่ากับ 0.433 และข้าวพันธุ์ Chucheong ให้ r^2 เท่ากับ 0.838, ค่า SEP เท่ากับ 0.450 ต่อมา Kay *et al.* (2000) ใช้เทคนิค NIRS ช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร หาปริมาณโปรตีนในเมล็ดธัญพืช พบว่า สมการที่ได้มีค่า r^2 เท่ากับ 0.97 และ SEP เท่ากับ 0.07% ตามลำดับ

3. ไขมัน

ข้าวมีปริมาณไขมันประมาณ 3% คล้ายกับธัญพืชชนิดอื่น และมีอยู่ในส่วนด้านนอกของเมล็ดมากว่าส่วนภายในเมล็ด ดังนั้นการขัดสีข้าวให้ขาว ทำให้ข้าวสารมีไขมันอยู่เพียง 0.3-0.5% (Hoseney, 1986) สำหรับปริมาณไขมันในข้าว จะมีผลต่อการเสื่อมของเมล็ดข้าวขณะเก็บรักษา รวมทั้งเมล็ดที่แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ การสกัดไขมันในเมล็ดข้าวมีผลต่อความนุ่มของแป้งข้าว คือ แป้งที่สกัดไขมันออกจะมีความนุ่มกว่าแป้งที่ไม่ได้สกัดไขมัน ซึ่งปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา(Maningat and Juliano, 1980) ในประเทศญี่ปุ่นได้พัฒนาวิธีการวัดค่าสีแบบใหม่ในการตรวจสอบความเป็นกรดของไขมัน ที่แสดงถึงความเสื่อมของคุณภาพของข้าวในขณะเก็บรักษา (Ohtsubo *et al.*, 1997) ซึ่งวิธีการนี้ใช้ได้ผลดีในการตรวจสอบข้าวกล้อง และข้าวสาร และอีกวิธีการหนึ่งที่ประเทศญี่ปุ่นนิยมใช้คือ ระบบ NIRS ซึ่งให้ผลการวัดค่าการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวขณะเก็บรักษาได้อย่างรวดเร็ว Wang *et al.*, (2006) ใช้เทคนิค NIRS หาปริมาณน้ำมันในข้าวสารที่ความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร แล้ววิเคราะห์ทางเคมีวิธี solvent extraction พบว่า สมการให้ค่า r^2 เท่ากับ 0.89, ค่า RMSECV เท่ากับ 0.12% และค่า RMSEEV เท่ากับ 0.30% ในทำนองเดียวกันได้มีรายงานการใช้ NIRS หาปริมาณน้ำมันในเมล็ดพืชชนิดอื่น เช่น เมล็ด rape (Velasco *et al.*, 1999), เมล็ดถั่วเหลือง (Li *et al.*, 2004), เมล็ดข้าวฟ่าง (Hicks *et al.*, 2002) และในเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (Wei *et al.*, 2005) เป็นต้น

4. น้ำหรือความชื้น

น้ำหรือความชื้น เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญและเกี่ยวข้องกับคุณภาพเมล็ดข้าวทั้งทางตรงและทางอ้อม คือ ปริมาณความชื้นของข้าวในข้าวเปลือกและข้าวสาร ใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานที่สำคัญ เพื่อการซื้อขายข้าว เนื่องจากปริมาณความชื้นสามารถบ่งชี้ถึงน้ำหนักของเนื้อข้าวที่ผู้ซื้อและผู้ขายเกี่ยวข้องโดยตรงในการกำหนดราคาซื้อขาย และในทางอ้อมนั้น ความชื้นสามารถบ่งชี้ถึงอายุการเก็บรักษาข้าว หรือความปลอดภัยในการเก็บรักษาให้ข้าวมีคุณภาพดี (อรอนงค์, 2547) ข้าวที่มีความชื้นสูงจะเสื่อมเร็วกว่าข้าวที่มีความชื้นต่ำ ระดับความชื้นทั่วไปของข้าวที่ยอมรับว่าปลอดภัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต่อการเก็บรักษาข้าวที่เหมาะสมคือ 13% ซึ่งจะเก็บรักษาได้ดีภายในเวลา 6 เดือน และถ้าข้าวมีความชื้น 12% จะทำให้เก็บรักษาได้นานขึ้น (Juliano, 1985) นอกจากนี้ความชื้นของข้าวยังมีผลต่อคุณภาพการสีของข้าวเปลือกอีกด้วย จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำหรือความชื้นมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษา รวมถึงการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวในขั้นตอนต่างๆ ด้วย

วิธีการตรวจวัดความชื้นที่ใช้ในปัจจุบันสามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธีด้วยกันคือ

1. วิธีการวัดโดยตรง (direct method) เป็นการวัดปริมาณน้ำที่ไล่ออกจากเมล็ดพืช ได้แก่ oven drying, distillation และ infrared heat lamp
2. วิธีการวัดโดยอ้อม (indirect method) เป็นการวัดคุณสมบัติอื่นๆที่สัมพันธ์กับความชื้นเมล็ด เช่น การนำไฟฟ้า (conductivity) ความจุไฟฟ้า (capacitance) (Hall, 1971)

เครื่องวัดเหล่านี้ ไม่เพียงแต่จะมีผลต่อปริมาณความชื้นเท่านั้น แต่ยังขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพและทางเคมีขององค์ประกอบของเมล็ด เช่น ขนาด รูปร่าง และอุณหภูมิ โดยความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติทางไฟฟ้าและปริมาณความชื้นนั้นจะเปลี่ยนแปลงไป จึงส่งผลกระทบโดยตรงต่อค่าความชื้นที่อ่านได้ (บุญมี และศิริพร, 2545) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น ความละเอียดของเมล็ดข้าว จำนวนเมล็ดข้าว สภาวะตัวอย่างทดสอบ และค่าความชื้นอ้างอิงของผู้ผลิตที่แตกต่างกับผู้ใช้มีผลให้ การ calibration ค่าทางไฟฟ้ากับความชื้นแตกต่างจากผู้ผลิต การวัดคุณสมบัติอื่นที่สัมพันธ์กับความชื้นเมล็ด โดยทั่วไปมักมีค่าผิดพลาดมาตรฐาน 0.5-2.0% (Alberta Farm Machinery Research Centre, 1997; ชูศักดิ์ และคณะ, 2548) ในขณะที่ Chang and Jae (1996) จึงได้ศึกษาหาความชื้นจากเมล็ดข้าวเปลือกเพียงเมล็ดเดียวด้วยเครื่อง NIR ในช่วงความยาวคลื่น 400-2498 นาโนเมตร ของข้าว 3 สายพันธุ์ คือ Dongjin, Ilpum และ Chucheong โดยใช้เทคนิค PLS หาสมการ พบว่ามีค่า r^2 เท่ากับ 0.988, 0.993 และ 0.992 ตามลำดับ และค่า SEP เท่ากับ 0.122, 0.114 และ 0.148% ตามลำดับ เช่นเดียวกับรณฤทธิ์ และคณะ (2549) ใช้เทคนิค NIRS transmittance ทำนายความชื้นข้าวเปลือกพันธุ์ Koshihikari ที่ละเมล็ดได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ไม่ว่าความชื้นภายในเมล็ดข้าวเปลือกจะมีการกระจายสม่ำเสมอทั้งเมล็ดหรือไม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved