การศึกษาเชิงทดลองเพื่อปรับปรุงการทำนายคุณภาพภายในผลส้มโดยใช้การดูดกลืน แสงใกล้อินฟราเรดของเปลือกส้ม

An Empirical Study on the Improvement of the Accuracy of the Equation for Intact Orange Fruit Internal Quality Prediction Using Peel Near Infrared Absorbtion Spectra

> ประสาน เหล่าทรัพย์เจริญ^{1*} และ อนุพันธ์ เทอดวงศ์วรกุล² Prasan Laosubcharoen^{1*} and Anupun Terdwongworakul²

ABATRACT

In this research, the improvement of the accuracy of orange fruit internal quality prediction using the fruit peel absorbance spectra in a Near Infrared Spectroscope of 1100-2500 nm was investigated. A sample of 204 oranges was divided into a calibration set of 137 fruits and a prediction set of 67 fruits. The diffuse reflectance of each intact fruit was measured before its juice was extracted for the determination of soluble solids content and total acidity. Results showed that Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) was applicable for the determination of the wave bands associated with the peel absorbance. Therefore, the wave bands associated with the peel absorbance fruit spectra. The normalized spectra were pretreated with second derivative (2D) or multiplicative scatter correction (MSC) prior to analysis with Partial Least Squares Regression (PLSR).

The normalized spectra resulted in lower error in the prediction of soluble solids content and total acidity. With respect to the prediction of soluble solids content, the Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP) and the correlation coefficient (R) of measured spectra were 0.478 and 0.845 and of normalized spectra were 0.462 and 0.845, respectively. With relevant to the prediction of total acidity, the RMSEP and R of measured spectra were 0.096 and 0.744 and of normalized spectra were 0.076 and 0.912, respectively. This empirical study showed possibility to use wave bands associated with the peel absorbtion spectra for improving intact orange fruit internal quality prediction.

Key words: Near infrared, Nondestructive quality analysis, Citrus, Acidity, Soluble solids content

^{1.2}ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140 Department of Food Engineering, Faculty of Engineering at Kamphaengsaen, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

^{*} Corresponding author: Tel. 08-5840-8330, Fax.0-3428-1038, E-mail address: fengant@ku.ac.th, prasan_zae@hotmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการปรับปรุงความแม่นยำในการทำนายคุณภาพภายในของส้มสายน้ำผึ้งด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) ที่ช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร โดยมุ่งเน้นใช้ประโยชน์จาก ข้อมูลการดูดกลืนแสงของเปลือกที่มีอิทธิพลต่อการดูดกลืนแสงโดยรวม ในการวิจัยใช้ผลส้มสายน้ำผึ้ง 204 ผล แบ่งเป็นกลุ่ม calibration 137 ผล และกลุ่ม prediction 67 ผล นำมาวัดการดูดกลืนแสงแบบ diffuse reflectance ต่อจากนั้นนำน้ำส้มที่คั้นมาวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมด ผลการวิจัย พบว่า เมื่อใช้เทคนิค Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) ตรวจสอบหาช่วงความยาวคลื่นที่ สัมพันธ์กับการดูดกลืนแสงของเปลือก และนำค่าการดูดกลืนของความยาวคลื่นดังกล่าวมาทำเป็นค่ามาตรฐาน (normalization) กับสเปกตรัมของส้มทั้งผล แล้วปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี second derivative (2D) หรือ Multiplicative scatter correction (MSC) จากนั้นวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Partial Least Square Regression (PLSR) จะทำให้ค่าความผิดพลาดในการทำนายลดลง โดยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีค่า Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP) เท่ากับ 0.478 และ 0.462 และค่า correlation coefficient (R) เท่ากับ 0.845 และ 0.845 ปริมาณกรดทั้งหมดมีค่า RMSEP เท่ากับ 0.096 และ 0.076 และค่า R เท่ากับ 0.744 และ 0.912 สำหรับก่อนและหลังปรับปรุงสมการตามลำดับ ดังนั้นวิธีนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ในการปรับปรุงความ แม่นยำในการทำนายคุณภาพภายในของสัมทั้งผลได้

้**คำสำคัญ**: อินฟราเรดย่านใกล้ การวิเคราะห์คุณภาพแบบไม่ทำลาย ส้ม ความเป็นกรด ของแข็งที่ละลายได้

คำนำ

การเพิ่มมูลค่าผลิตผลทางการเกษตร จำเป็นต้องส่งผลิตผลไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ ผลิตผลจำเป็นต้องมีคุณภาพดี ซึ่งประกอบด้วยปัจจัย ต่างๆ เช่น สี ความแก่ ขนาด รูปร่าง ความแข็งของผล ตำหนิต่างๆ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกรดทั้งหมด และอาการผิดปรกติทางสรีรวิทยา ต่างๆ เป็นต้น

การตรวจคุณภาพภายในผลไม้ด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) มีข้อดีหลาย ประการ เช่น รวดเร็ว ไม่ทำลายตัวอย่าง ใช้สารเคมี ปริมาณน้อยหรือไม่มีการใช้สารเคมี ประหยัดแรงงาน ช่วยลดต้นทุนการผลิต การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วย เทคนิค Near Infrared (NIR) มีพื้นฐานจากการที่มีสาร ที่ดูดกลืนคลื่นแสงในช่วง NIR ซึ่งเป็นคลื่น แม่เหล็กไฟฟ้าที่มีช่วงความยาวคลื่น 700-2500 นาโน เมตร ที่เกิดจากสารดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น ถัดจากความยาวคลื่นมูลฐาน (overtone) และที่ความ ยาวคลื่นซึ่งเป็นผลรวมของความยาวคลื่นมูลฐาน (combination) แล้วทำให้โมเลกุลเกิดการสั่นที่ความถึ่ สูง และโมเลกุลจะถูกกระตุ้นจากสภาวะพื้น (ground vibration level) ไปยังสภาวะกระตุ้น (excited vibration level) งานวิจัยที่เกี่ยวข้องมีดังนี้ Miyamoto and Kitano (1995) ใช้เทคนิค NIR วัดปริมาณน้ำตาล ของผลส้ม โดยใช้ส้มที่มีขนาดแตกต่างกันแต่มีปริมาณ น้ำตาลเท่ากัน เพื่อหาความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์ กับขนาดของผลส้ม จากนั้นนำค่าการดูดกลืนที่ความ ยาวคลื่นดังกล่าวมาหารด้วยค่าการดุดกลืนแสง ทั้งหมด พบว่าสามารถกำจัดอิทธิพลของขนาดของผล ส้มที่มีต่อความแม่นยำในการทำนายปริมาณน้ำตาล ออกไปได้ Gomez et al. (2005) ทำนายปริมาณกรด, ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และความแน่นเนื้อของ

ทำนายและกลุ่ม prediction ใช้สำหรับทดสอบความ แม่นยำของสมการในการทำนายค่าทางเคมีนั้นๆ ใน การเลือกตัวอย่างส้มให้อยู่ในแต่ละกลุ่มนั้นจะเริ่มจาก น้ำตัวอย่างผลส้มมาเรียงลำดับตามค่าสมบัติทางเคมี นั้นๆ แล้วเลือกตัวอย่างส้มสองผลแรกให้อยู่ในกลุ่ม Calibration และผลที่สามอยู่ในกลุ่ม prediction และ เลือกสลับเช่นนี้จนครบโดยเลือกผลส้มที่มีค่าทางเคมี ้ต่ำสุดอยู่ในกลุ่ม calibration ซึ่งจะทำให้ได้ส้มในกลุ่ม calibration มีช่วงของค่าทางเคมีกว้างกว่าช่วงค่าทาง เคมีของกลุ่ม prediction และกลุ่มผลส้มทั้งสองกลุ่ม จะมีค่าทางเคมีที่มีการกระจายในลักษณะเดียวกัน จำนวนผลส้มในกลุ่ม calibration (137 ผล) จะมี จำนวนโดยประมาณสองเท่าของจำนวนส้มในกลุ่ม prediction (67 ผล) ค่าทางสถิติของสมบัติทางเคมี ของกลุ่มตัวอย่างผลส้มทั้งสองกลุ่มแสดงใน Table 1 การวัดค่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและค่าสมบัติ

การวัดค่าสเปกตรัมการดูดกลินแสงและค่าสมบัติ ทางเคมีส้มสายน้ำผึ้ง

การวัดสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของผล ส้มจะวัดที่ตำแหน่งเดียวกันบริเวณกึ่งกลางของผลส้ม ในแนวตั้งฉากกับขั้วของผล โดยเริ่มวัดค่าการดูดกลืน แสงของส้มสายน้ำผึ้งทั้งผลก่อน แล้วปอกเปลือกทำ การวัดสเปกตรัมของส้มปอกเปลือกและเปลือกส้ม และนำไปคั้นน้ำเพื่อวัดสเปกตรัมของน้ำส้มด้วยเครื่อง NIRS (Bran+Luebbe รุ่น InfraAlyzer 500) ที่ช่วง ความยาวคลื่น 1100-2500 nm (Figure 1) หลังจาก นั้นนำน้ำส้มมาวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ด้วย เครื่อง Digital Refractometer (Atago รุ่น PR 32) และ วัดปริมาณกรดทั้งหมด ด้วยวิธีการไทเทรต ด้วยเครื่อง ไทเทรต (Mettler Toledo รุ่น T50) โดยจะวัดผลละ 3 ช้ำ แล้วใช้ค่าเฉลี่ยในการวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อสร้างสมการ ทำนายค่าทางเคมีนั้นจะใช้ข้อมูลการดูดกลืนแสงและ ค่าทางเคมีจากส้มในกลุ่ม calibration โดยเริ่มจากการ

ผลส้ม โดยใช้วิธี Partial least square regression (PLSR) และ Principle Component Regression (PCR) ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-2350 นาโนเมตร สามารถประเมินคุณภาพภายในผลส้มได้ Krivoshiev *et al.* (2000) ทำการทดลองลดอิทธิพลจากเปลือกของ หัวมันฝรั่งด้วยวิธี V (virtual)-method ทำการวัดแบบ ส่งผ่านแสง (transmittance) และแบบสะท้อนแสง (reflectance) โดยใช้พื้นฐานของทฤษฎี Kubelka-Munk และใช้ค่าการดูดกลืนของการวัดแบบส่งผ่าน แสง (transmittance) ลบด้วยค่าการดูดกลืนของการ วัดแบบสะท้อนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 600-1000 นา โนเมตร

งานวิจัยที่ผ่านมาได้พบว่าเปลือกมีผลทำให้ ความแม่นยำของการทำนายค่าทางเคมีลดลง งานวิจัย นี้มุ่งเน้นศึกษาการนำค่าการดูดกลืนแสงที่เกี่ยวข้องกับ เปลือกมาปรับค่าการดูดกลืนแสงทั้งหมดให้เป็น มาตรฐานเพื่อลดอิทธิพลการดูดกลืนแสงของเปลือก เพื่อเพิ่มความแม่นยำของสมการทำนายคุณสมบัติ ภายใน (ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด และ ปริมาณกรดทั้งหมด) ของผลส้มสายน้ำผึ้ง

อุปกรณ์และวิธีการ การเตรียมตัวอย่างส้มสายน้ำผึ้ง

ในการทดลองใช้ส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ซื้อมา จากตลาดจำนวน 204 ผล โดยเลือกส้มที่มีขนาดและสี ผลใกล้เคียงกัน นำส้มมาวัดและบันทึกขนาดด้วยเวอร์ เนียแคลิเปอร์ส (ยี่ห้อ Mitutoyo) ในแนวตั้งฉากกับขั้ว ผล เก็บส้มทั้งหมดในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิ ประมาณ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลาสองชั่วโมง ก่อนที่ จะนำส้มมาวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงอินฟราเรด ย่านใกล้และนำส้มไปคั้นน้ำเพื่อนำน้ำส้มมาวัดค่า สมบัติทางเคมี

ในการนำข้อมูลไปสร้างสมการเพื่อทำนายค่า ทางเคมีแต่ละค่านั้น ตัวอย่างผลส้มจะถูกแบ่งออกเป็น สองกลุ่มคือ กลุ่ม calibration ใช้สำหรับสร้างสมการ

สมการเดิมของส้มทั้งผลกับสมการที่ได้หลังจากลด อิทธิพลของเปลือก โดยพิจารณาจากค่า RMSEP ของ การทำนายในการเปรียบเทียบ เนื่องจากเป็นค่าที่แสดง ถึงความแม่นยำและความเที่ยงตรงของสมการทำนาย ซึ่งควรจะมีค่าต่ำๆ

ผลและวิจารณ์

ลักษณะสเปกตรัมของส้มสายน้ำผึ้งที่ช่วงคลื่น ยาว คือ 1100-2500 นาโนเมตร (Figure 2) สเปกตรัม ของส้มสายน้ำผึ้งทั้งผลมีลักษณะคล้ายกับของเปลือก โดยที่สเปกตรัมของส้มทั้งผลมีค่าการดูดกลืนแสงสูง กว่าของเปลือกเล็กน้อย ส่วนสเปกตรัมของส้มปอก เปลือกแตกต่างกับส้มทั้งผลและเปลือกส้ม เนื่องจาก เกิดการกระเจิงแสงสูงเพราะผิวส้มไม่เรียบยังมีใยส้ม บางส่วนติดอยู่ และมีอากาศกระจายอยู่ระหว่างผิว นอกกับถุงส้ม เมื่อสังเกตที่ช่วงความยาวคลื่น 1450 และ 1940 นาโนเมตร จะเห็นค่าการดูดกลืนแสงอย่าง ชัดเจนซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนของน้ำ (Osborne *et al.*, 1993) ซึ่งมีความสอดคล้องกับของทุกสเปกตรัมในผล ส้มซึ่งมีน้ำเป็นองค์ประกอบ

ปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี second derivative (2D) หรือ multiplicative scatter correction (MSC) เพื่อลด ผลกระทบจากการกระเจิงแสงที่แตกต่างกันของส้มแต่ ละผล ต่อจากนั้นสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่าง สเปกตรัมกับคณสมบัติภายในผลส้มโดยใช้วิธี PLSR ด้วยโปรแกรม Unscrambler (version 9.7) ตรวจสอบ ความแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้นโดยแทนค่าการ ดูดกลื่นแสงของส้มในกลุ่ม prediction ในสมการที่ได้ และคำนวณค่าทางเคมีของส้มแต่ละผลและนำมา เปรียบเทียบกับค่าทางเคมีที่วัดได้ของส้มแต่ละผล โดย เลือกสมการทำนายที่ให้ค่า Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP) ต่ำที่สุด จากนั้นทดลอง ปรับปรุงความแม่นยำของสมการทำนายของส้มทั้งผล โดยใช้เทคนิค Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) เพื่อตรวจสอบหาช่วงความยาว คลื่นที่สัมพันธ์กับการดูดกลืนแสงของเปลือก และนำ ้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวมาทำ ค่าสเปกตรัมเริ่มต้นของส้มทั้งผลให้เป็นมาตรฐาน (normalization) เพื่อลดอิทธิพลของเปลือก โดยใช้ 3 ้วิธี ได้แก่ การหาร การลบ และการตัดการดูดกลื่นแสง ที่ช่วงความยาวคลื่นที่เกี่ยวข้องกับเปลือกออก แล้ว วิเคราะห์ด้วยวิถี PI SR และเปรียบเทียบประสิทธิภาพ



Figure 1 The near infrared spectroscopy instrument (InfraAlyzer 500) and scanning of citrus



Figure 2 Average long wavelength spectra of intact fruit, peeled fruit, peel and juice



Figure 3 Score Plot between fruit peel and peeled fruit in long wavelength region (a) PC1 and PC2 (b) PC1 and PC3

0.478°Brix) ส่วนสมการที่สร้างโดยใช้สเปกตรัมส้ม ปอกเปลือกนั้นการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี MSC ให้ ผลดีที่สุด (RMSEP = 0.606°Brix) สำหรับสมการที่ใช้ สเปกตรัมเปลือกส้ม การปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี MSC ให้ผลดีที่สุด (RMSEP = 0.519°Brix) และ สมการที่สร้างจากสเปกตรัมของน้ำส้ม การปรับแต่ง สเปกตรัมด้วยวิธี 2D ให้ผลดีที่สุด (RMSEP = 0.241°Brix) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการทำนายค่า

การทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

ค่าทางสถิติในการทำนายปริมาณของแข็งที่ ละลายน้ำได้ของสมการที่สร้างจากสเปกตรัมการ ดูดกลืนแสงของส้มทั้งผล ส้มปอกเปลือก เปลือกส้ม และน้ำส้ม แสดงใน Table 2 พบว่า สมการทำนาย ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่สร้างจากสเปกตรัม ของส้มทั้งผลนั้น การใช้ค่าสเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่ง (measured spectra) ให้ผลดีที่สุด (RMSEP = ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้พบว่า สมการที่สร้าง จากสเปกตรัมของน้ำส้มจะให้ผลการทำนายที่แม่นยำ ที่สุด อย่างไรก็ตามการทำนายค่าด้วยสมการที่สร้าง จากสเปกตรัมของส้มทั้งเปลือกกลับให้ความแม่นยำ กว่าสมการที่สร้างจากสเปกตรัมของผลส้มปอกเปลือก ทั้งนี้เนื่องมาจากส้มปอกเปลือกมีผิวไม่เรียบยังมีใยส้ม บางส่วนติดอยู่ และมีอากาศกระจายอยู่ระหว่างผิว นอกกับถุงส้ม

การทำนายปริมาณกรด

ในการทำนายปริมาณกรดของสมการที่สร้าง จากสเปกตรัมการดูดกลื่นแสงของส้มทั้งผล ส้มปอก เปลือก เปลือกส้ม และน้ำส้ม ได้ค่าทางสถิติแสดงใน Table 3 ซึ่งพบว่า สมการทำนายปริมาณกรดที่สร้าง จากสเปกตรัมของส้มทั้งผลนั้น การใช้ค่าสเปกตรัมที่ ปรับแต่งด้วยวิธี 2D ให้ผลดีที่สุด (RMSEP = 0.096%) ส่วนสมการที่สร้างโดยใช้สเปกตรัมส้มปอกเปลือกนั้น การใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการปรับแต่งให้ผลดีที่สุด (RMSEP = 0.129%) สำหรับสมการที่สร้างโดยใช้ สเปกตรัมเปลือกส้ม การปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี 2D ให้ผลดีที่สุด (RMSEP = 0.120%) และสมการที่สร้าง จากสเปกตรัมของน้ำส้ม การใช้สเปกตรัมที่ไม่มีการ ปรับแต่งให้ผลดีที่สุด (RMSEP = 0.084%) เมื่อ พิจารณาเปรียบเทียบการทำนายค่าปริมาณกรด พบว่า สมการที่สร้างจากสเปกตรัมของน้ำส้มจะให้ผลการ ทำนายที่แม่นยำที่สุด และการทำนายค่าปริมาณกรด ด้วยสมการที่สร้างจากสเปกตรัมของส้มทั้งเปลือกให้ ความแม่นยำกว่าสมการที่สร้างจากสเปกตรัมของผล ส้มปอกเปลือก โดยแนวโน้มความแม่นยำสอดคล้องกับ การทำนายปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

การปรับปรุงประสิทธิภาพของสมการในการ ทำนายคุณสมบัติภายในของส้มสายน้ำผึ้งทั้งผล

เนื่องจากเปลือกจะมีผลต่อการดูดกลืนแสง โดยรวม จึงมีความสนใจที่จะหาข้อมูลการดูดกลืนแสง ที่สัมพันธ์กับเปลือก เทคนิคที่ใช้คือ Partial Least

Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) ซึ่งเป็นวิธี ในการจำแนกกลุ่ม โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงของส้ม ปอกเปลือกและเปลือกส้ม (Figure 2) เพื่อหาความ ยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับการดูดกลืนแสงของเปลือกส้ม จากนั้นนำช่วงความยาวคลื่นนั้นมาทำ normalization กับสเปกตรัมของส้มทั้งผลทีละความยาวคลื่น เพื่อ ปรับแก้ให้เปลือกส้มมีอิทธิพลใกล้เคียงกันในทุกผล โดยเริ่มจากหาค่า Principal Component (PC) ที่ทำ ให้เกิดการแบ่งกลุ่มระหว่างส้มทั้งผลกับส้มปอกเปลือก (Figure 3a and 3b) PC ที่ใช้ในการแบ่งกลุ่มคือ PC1 จึงใช้ค่า x-loading weight ของ PC1 ซึ่งค่านี้จะแสดง สัดส่วนการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่นที่มีผล ต่อค่า PC1 ที่อธิบายความแปรปรวนระหว่างส้มปอก เปล็คกและเปล็คก ซึ่งค่าช่วงความยาวคลื่นที่มีค่า loading weight สูงจะมีความสำคัญในการแบ่งกลุ่ม (Lui et al., 2008) ซึ่งค่า loading weight ของ PC1 กับ PC3 คือ ช่วง 1128-1144 นาโนเมตร และของ PC1 กับ PC2 คือ ช่วง 1654-1672 นาโนเมตร จากนั้น นำช่วงความยาวคลื่นที่ได้มาปรับปรุงความแม่นยำของ สมการ โดยวิธีแรก คือ นำค่าการดูดกลืนช่วงความยาว คลื่นที่ได้มาหารกับค่าการดูดกลืนทุกความยาวคลื่นที ละความยาวคลื่น วิธีที่สอง คือ นำค่าการดูดกลืนช่วง ความยาวคลื่นที่ได้มาลบกับค่าการดูดกลืนทุกความ ยาวคลื่นทีละความยาวคลื่น วิธีสุดท้าย คือ ตัดช่วง ความยาวคลื่นที่มีความสัมพันธ์กับเปล็จกจจก จากนั้น ทำการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี second derivative หรือ multiplicative scatter correction และจึงน้ำ ู้สเปกตรัมที่ได้มาสร้างสมการ calibration โดย วิเคราะห์ทางสถิติด้วย Partial Least Square Regression (PLSR) จากนั้นเลือกสมการที่ดีที่สุด ที่ได้ ค่า RMSEP ต่ำที่สุด

การทำ normalization ทั้ง 3 วิธี คือ การหาร การลบ และการตัดช่วงความยาวคลื่นที่มีอิทธิพลทำให้ ส้มปอกเปลือกและเปลือกส้มแยกออกจากกันด้วยการ วิเคราะห์ด้วย PLS-DA พบว่ามี 2 วิธี คือ การลบ และ การทำ normalization ทั้ง 3 วิธี คือ การหาร การฉบ และการตัดช่วงความยาวคลื่นที่มีอิทธิพลทำ ให้ผลปอกเปลือกและเปลือกแยกออกจากกันด้วยการ วิเคราะห์ด้วย PLS-DA สามารถปรับปรุงสมการทำนาย ค่าปริมาณกรดทั้งหมดได้ โดยทำให้ค่า RMSEP ลดลง ซึ่งเมื่อหารด้วยค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 1654 nm ทำให้ RMSEP ลดลง 21.47% (Table 5) แต่ จำนวน factor ที่ใช้ในการสร้างสมการทำนายเพิ่มขึ้น เนื่องจากการสร้างสมการทำนายจะเลือกจำนวน factor ที่ให้ค่าความผิดพลาดในการทำนายต่ำที่สุด ซึ่ง การดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 1654 นาโนเมตร จะ สัมพันธ์กับ C-H stretch first overtone ซึ่งสัมพันธ์กับ สารประกอบที่มีกลิ่นหอมในเปลือกส้ม (Osborne *et al.*, 1993) ซึ่งเมื่อนำค่าความผิดพลาดในการทำนาย (SEP) ไปเปรียบเทียบด้วยวิธี Paired t-test การ ทำนายปริมาณกรดทั้งหมดภายหลังปรับปรุงสมการ ของส้มทั้งผลให้ค่า SEP ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ช่วง ความเชื่อมั่น 95%

Table 1	Soluble	solids conter	nt and tota	l acidity o	f calibration	and	prediction	orange	fruit	samples
---------	---------	---------------	-------------	-------------	---------------	-----	------------	--------	-------	---------

	Soluble solids	content ([°] Brix)	Total acidity (%)			
-	Calibration	Prediction	Calibration	Prediction		
Number of Sample	137	67	137	67		
Min.	8.533	8.967	0.310	0.335		
Max.	12.800	12.100	0.975	0.895		
Mean	10.585	10.577	0.545	0.541		
SD	0.778	0.734	0.137	0.128		

 Table 2
 Calibration and prediction figures of soluble solids content of intact fruit, peeled fruit, peel and juice from PLSR

	Pretreatment	F	R^{a}	${\sf SEC}^{\circ}$	R^{b}	${\sf SEP}^{\circ}$	$BIAS^{\circ}$	$RMSEP^{c}$
Intact fruit	neasured spectra	10	0.845	0.416	0.768	0.479	0.052	0.478
Peeled fruit	MSC	4	0.569	0.639	0.715	0.610	-0.008	0.606
Peel	MSC	5	0.693	0.56	0.521	0.521	0.039	0.519
Juice	2D	4	0.960	0.218	0.946	0.239	0.040	0.241

F is the number of factor used for the PLSR

R^b is correlation coefficient of prediction

2D is second derivative

MSC is multiplicative scatter correction SEC is st

SEC is standard error of calibration

SEP is standard error of prediction

R^ª is correlation coefficient of calibration

RMSEP is Root Mean Square Error of Prediction

_45

PLSF	2							
	Pretreatment	F	R	${\sf SEC}^d$	R	SEP^d	$BIAS^{d}$	RMSEP ^d
Intact fruit	2D	10	0.744	0.092	0.662	0.097	-0.009	0.096
Peeled fruit	measured spectra	8	0.628	0.107	0.284	0.128	-0.024	0.129
Peel	2D	4	0.378	0.127	0.335	0.121	-0.006	0.120
Juice	measured spectra	11	0.973	0.032	0.813	0.084	-0.010	0.084

 Table 3
 Calibration and prediction figures of total acidity of intact fruit, peeled fruit, peel and juice from

^dUnit is %

 Table 4
 Improvement of calibration equation of soluble solids content in intact citrus with normalization

 based on division, subtraction and wavelength removal

	Pretreatment	F	R	SEC	R	SEP	BIAS	RMSEP
A _λ /A ₁₁₃₀	original spectra	10	0.8552	0.403	0.765	0.484	0.030	0.481
A _λ -A ₁₆₆₀	original spectra	10	0.845	0.416	0.778	0.462	0.061	0.462
A _{1128-1144, 1654-1672}	MSC	10	0.860	0.397	0.782	0.465	0.038	0.463

 A_{λ}/A_{1130} dividing total absorbance (A_{λ}) with absorbance of 1130 nm (A_{1130})

 $A_{\lambda}-A_{1660}$ subtracting total absorbance (A_{λ}) with absorbance of 1660 nm (A_{1660})

 $A_{1128-1144, 1654-1672}$ removal of wavelength range of 1128 to 1144 nm ($A_{1128-1144}$) and of 1654 to 1672 nm ($A_{1654-1672}$) from whole range spectra

 Table 5
 Improvement of calibration equation of total acidity in intact citrus with normalization based on division, subtraction and wavelength removal

	Pretreatment	F	R	SEC	R	SEP	BIAS	RMSEP
A_{λ}/A_{1654}	2D	14	0.912	0.056	0.823	0.076	-0.007	0.076
A _λ -A ₁₁₄₀	2D	14	0.917	0.055	0.815	0.079	-0.007	0.078
A ₁₆₅₄₋₁₆₇₂	2D	14	0.916	0.055	0.819	0.077	-0.007	0.077

 $A_\lambda/A_{_{1654}}$ dividing total absorbance (A_λ) with absorbance of 1654nm $(A_{_{1654}})$

 A_{λ} - A_{1140} subtracting total absorbance (A_{λ}) with absorbance of 1140 nm (A_{1140})

A1654-1672 removal of wavelength range of 1654 to1672 nm (A1654-1672) from whole range spectra

สรุปผลและเสนอแนะ

ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะ ใช้เทคนิค NIR เพื่อตรวจสอบคุณภาพภายในของส้ม สายน้ำผึ้ง ที่สร้างสมการทำนายด้วยวิธี PLSR และ ปรับปรุงความแม่นยำของสมการโดยใช้วิธี PLS-DA ร่วมกับ normalization เพื่อนำข้อมูลสเปกตรัมที่ สัมพันธ์กับเปลือกมาใช้เพื่อให้การทำนายปริมาณกรด ทั้งหมดมีความแม่นยำมากขึ้น ซึ่งการทำนายปริมาณ กรดโดยทั่วไปจะให้ความแม่นยำต่ำ ดังนั้นวิธี normalization โดยใช้ข้อมูลเปลือกจึงเป็นวิธีเชิง ทดลองที่ควรจะมีการศึกษาโดยละเอียดต่อไปในเรื่อง เกี่ยวกับค่าทางเคมีในเปลือกที่มีความสัมพันธ์กับ ปริมาณกรดในผลส้ม

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณชุดโครงการวิจัยอุดหนุนวิจัย มก. ประจำปี 2552 เรื่องการควบคุมมาตรฐานสินค้า ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมโดยเทคนิคการ ตรวจสอบด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าย่านใกล้อินฟราเรด ที่ให้ทุนในการทำวิจัย และสถาบันค้นคว้าและพัฒนา ผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตรที่ให้ใช้ เครื่องมือและห้องปฏิบัติการในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Lui, F., H. Yong and W. Li. 2008. Determination of effective wavelengths for discrimination of fruit vinegars using near infrared spectroscopy and multivariate analysis. Analytica Chimica Acta. 615:10–17.
- Gomez, A.H., H. Yong and G.P. Annia. 2005. Non-destructive measurement of acidity, soluble solids and firmness of Satsuma mandarin using Vis/NIR-spectroscopy

techniques. Journal of Food Engineering. 77: 313–319.

- Miyamoto, K. and Y. Kitano. 1995. Nondestructive determination of sugar content in Satsuma mandarin fruit by near infrared transmittance spectroscopy. J. Near Infrared Spectrosc. 3: 227-237.
- Krivoshiev, G.P., R.P. Chalucova and M.I. Moukarev. 2000. A Possibility for Elimination of the Interference from the Peel in Nondestructive Determination of the Internal Quality of Fruit and Vegetables by VIS/NIR Spectroscopy. Lebensm.-Wiss. U.-Technol. 33: 344-353.
- Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hindle. 1993. Practical NIR Spectroscopy with Application in Food and Beverage Analysis. Longman Scientific and Technical. 217 p.

Received 19 December 2008 Accepted 3 June 2009