



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การคัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีแมลงฝังตัวอยู่ในโดยวิธีไม่ทำลาย
ด้วยคลื่นอินฟราเรดย่านใกล้

โดย

ดร.ณัฐภรณ์ สุทธิวิจิตรภักดี และคณะ

มีนาคม 2559

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การคัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีแมลงฝังตัวอยู่ในโดยวิธีไม่ทำลาย

ด้วยคลื่นอินฟราเรดย่านใกล้

ผู้วิจัย

สังกัด

ดร. ญัฐภรณ์ สุทธิวิจิตรภักดี

สถาบันผลิตผลเกษตรฯ ม.เกษตรศาสตร์

ที่ปรึกษา

ดร. ญัฐภรณ์ สุทธิวิจิตรภักดี

สถาบันผลิตผลเกษตรฯ ม.เกษตรศาสตร์

นางวารุณี ณะแพสย์

สถาบันผลิตผลเกษตรฯ ม.เกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รูปแบบ Abstract (ภาษาอังกฤษ)

Project Code : TRG5680003
Project Title : Non-destructive Discrimination of Insect Infestation on Green Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) by Near Infrared Spectroscopy
Investigator : Nattaporn Suttiwijitpukdee; Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University
E-mail Address : aapntp@ku.ac.th
Project Period : June 3rd, 2013 – December 3rd, 2015

Green okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) grows in the tropical and subtropical regions. It was popular in fresh consumption. Mainly, Thai exported its pod to Japan and Australia which strict to monitor the contamination of worms and insects in fruits and vegetables. Usually, the classification between the intact and the contaminated okra gumbos can be performed by the eye observation from specialists. However, this is time consuming in packing and shipping processes. In addition, it contains a lot of errors and the tasks of worms are sometimes very small, making a difficult observation. This research was focused on the classification of the okras with worms and insects infested the inside and the insect-free pods by using near infrared technology. *Erias vittella* worms which embed inside the pods of okra are the major problem for exportation of green okras. The amounts of the protein and lipid compositions between the contaminated and intact okra gumbos are significantly difference. However, the types of fatty acid are similar to each other. For comparison, the measurements were performed both transmittance and interactance modes. The calculated equations which were performed by using interactant spectra and principal component analysis (PCA) provide more accurate results (82%) than those of the transmittance spectral equation (72%). In case of partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), the similar results (93%) were obtained from the all parts of spectra while the analysis of the separated parts of okra indicated that the results obtained from the interactance mode are more accurate and precise than those of the transmittance mode. Also, it is possible to indicate that the near infrared technology can be for discrimination of the infested of insect in green okra pod.

Key words: green okra, near infrared spectroscopy, discrimination analysis

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

รหัสโครงการ: TRG5680003

ชื่อโครงการ: การคัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีแมลงฝักตัวอยู่ภายในโดยวิธีไม่ทำลายด้วยคลื่นอินฟราเรดย่านใกล้

ชื่อนักวิจัย: ญัฐภรณ์ สุทธิจิตรภักดี สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางเกษตรและ
อุตสาหกรรมเกษตร ม.เกษตรศาสตร์

E-mail Address : aapntp@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 3 มิถุนายน 2556-3 ธันวาคม 2558

กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) เป็นพืชที่ขึ้นได้ดีในเขตร้อนและเขตอบอุ่น โดยได้รับความนิยมในการบริโภคแบบสด โดยส่วนใหญ่ส่งออกไปในประเทศญี่ปุ่นและออสเตรเลีย ซึ่งจะมีเผ้าร่วงเรื่องการปนเปื้อนของหนอนและแมลงในผักผลไม้เป็นอย่างมาก โดยทั่วไปแล้วผู้ส่งออกกระเจี๊ยบเขียวจะทำการคัดเลือกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและแมลงปนด้วยโดยการคัดแยกด้วยผู้เชี่ยวชาญและสังเกตโดยใช้สายตาทำให้เสียเวลาในกระบวนการบรรจุและการจัดส่งสินค้า ทั้งยังอาจเกิดความผิดพลาดในการวิเคราะห์คัดแยกได้อีกด้วยเนื่องจากรอยทางเข้าของหนอนมีขนาดเล็กมากทำให้สังเกตได้ยาก ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นการศึกษาและประยุกต์ใช้เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้มาใช้ในการวิเคราะห์คัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนและแมลงที่ปนเปื้อนอยู่ในภายในและกระเจี๊ยบที่ปลอดแมลงออกจากกัน ในงานวิจัยพบว่า หนอนหนามสะปี่ (*Earias vittella*) มีลักษณะฝักตัวอยู่ภายในผักกระเจี๊ยบเขียวเป็นปัญหาที่พบบ่อยที่สุดในการส่งออก เมื่อศึกษาองค์ประกอบของปริมาณโปรตีนและปริมาณไขมันเปรียบเทียบกันพบว่าในกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนและไม่มีหนอนมีปริมาณโปรตีน และปริมาณไขมันที่สกัดได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ชนิดของกรดไขมันที่พบไม่แตกต่างกัน จากนั้นศึกษาเปรียบเทียบถึงระบบการวัดแสงในการวางตำแหน่งแหล่งกำเนิดแสง (light source) และตัวรับแสง (detector) ด้วยใช้ระบบ transmittance mode และ interactance mode พบว่าระบบเมื่อคำนวณเปรียบเทียบด้วยวิธี Principal component analysis (PCA) การวัดแสงในระบบ interactance ให้ความถูกต้องในการทำนาย 82% ดีกว่าระบบ transmittance mode 72% และเมื่อคำนวณด้วยวิธี Partial least square discriminant analysis (PLS-DA) ให้ความถูกต้องในการทำนายของสเปกตรัมรวมมีค่าเท่ากับ 93% เท่ากัน แต่เมื่อวิเคราะห์ในแต่ละส่วนจะเห็นได้ว่าการวัดแสงในระบบ interactance mode ให้สมการที่มีความแม่นยำและถูกต้องในการทำนายมากกว่าการวัดแสงในระบบ transmittance mode และมีความเป็นไปได้ในการนำเทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้มาใช้ในการคัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนเข้าทำลายภายใน

คำหลัก : กระเจี๊ยบเขียว, อินฟราเรดย่านใกล้, การวิเคราะห์การคัดแยก

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณวารุณี ธนะแพทย์ ผู้อำนวยการสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ม.เกษตรศาสตร์ และ ดร.ศุมาพร เกษมสำราญ นักวิจัยชำนาญการพิเศษ ของสถาบันผลิตผลเกษตรฯ ที่ปรึกษาโครงการ ซึ่งช่วยให้คำปรึกษาและสนับสนุนในการทำงานวิจัย รวมถึง Prof. Sumio Kawano, Kagoshima University กรุณาช่วยให้คำแนะนำเรื่องเครื่องมือ และที่สำคัญยิ่งขอขอบคุณ บริษัทชวัลลอว์คิด จำกัด ที่อนุเคราะห์ให้ตัวอย่างผักกระเจียบเขียวสำหรับใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ในงานวิจัยยังได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักวิจัยพัฒนา อารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ในการวิเคราะห์สายพันธุ์ของแมลงที่อยู่ภายในผักกระเจียบเขียว

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนวิจัยในการทำงานในครั้งนี้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 แสดงหนอนที่ฝังตัวอยู่ภายในกระเจี๊ยบเขียวระยะตัวอ่อนมีขนาดเล็กกว่า 0.5 cm (ก) ระยะหนอนมีขนาดประมาณ 0.5-1 cm (ข) ระยะหนอนมีขนาดยาวกว่า 1 cm (ค) ระยะตัวเต็มวัย (ง)	12
2 แสดงวงจรการเจริญเติบโตของหนอนหนามสะไปนี้	12
3 แสดงโครมาโตแกรมปริมาณกรดไขมันด้วยวิธี chromatography ในกระเจี๊ยบเขียว	16
4 การควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ก่อนการวัดแสง (ก) และการแบ่งกระเจี๊ยบ ออกเป็นส่วนๆเพื่อใช้ในการวัดแสง (ข)	19
5 แสดงสเปกตรัมเฉลี่ย absorbance และ second derivative Spectra ของตัวอย่างกระเจี๊ยบ เขียวที่มีหนอนและไม่มีหนอนจากที่วัดได้ในแต่ละส่วน ส่วนหัว (ก,ข), ส่วนกลาง(ค,ง)และ ส่วนปลาย(จ,ฉ)	21
6 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของ second derivative Spectra จากการวัดแสงส่วนหัวของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) เปรียบเทียบกับการสังเกตด้วยตา	22
7 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธี MSC จากการวัดแสงส่วนกลางของกลุ่ม สมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	24
8 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม original จากการวัดแสงส่วนปลายของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	25
9 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม MSC จากการวัดแสงส่วนหัวและส่วนกลางของกลุ่ม สมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	26
10 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA(PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม MSC จากการวัดแสงรวมทุกส่วนของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	27
11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกำหนดขึ้นโดยให้กระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1และค่าที่ได้จากการทำนายในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ที่ วัดได้จากบริเวณส่วนหัว (ก), ส่วนกลาง (ข), และส่วนปลาย (ค)	31

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
12	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกำหนดขึ้นโดยให้กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1 และค่าที่ได้จากการทำนายในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ที่วัดได้จากบริเวณส่วนหัวรวมกับส่วนปลาย (ก) และทุกส่วนรวมกัน (ข)	33
13	แสดงสเปกตรัมเฉลี่ย Absorbance และ second derivative Spectra ของตัวอย่างกระเจียบเขียวที่มีหนอนและไม่มีหนอนจากที่วัดได้ในแต่ละส่วน ส่วนหัว (ก, ข), ส่วนกลาง(ค, ง) และส่วนปลาย(จ, ฉ)	38
14	แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของ Original Spectra จากการวัดแสงส่วนหัว ของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	40
15	แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธี MSC จากการวัดแสงส่วนกลางของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	41
16	แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA(PC1 และ PC2) ของสเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธีMSC จากการวัดแสงส่วนกลาง ของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	42
17	แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม MSC จากการวัดแสงส่วนหัวและส่วนกลางของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	43
18	แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม MSC จากการวัดแสงรวมทุกส่วนของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข)	44
19	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกำหนดขึ้นโดยให้กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1และค่าที่ได้จากการทำนายในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ที่วัดได้จากบริเวณส่วนหัว (ก), ส่วนกลาง (ข), และส่วนปลาย (ค)	48
20	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกำหนดขึ้นโดยให้กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1และค่าที่ได้จากการทำนายในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ที่วัดได้จากบริเวณส่วนหัวและส่วนกลาง (ก) และ ทั้งสามส่วนรวมกัน (ข)	50

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์โดยวิธี combustion analysis	13
2	แสดงเวลาและปริมาณของกรดไขมันในกระเจียบเขียว	17
3	แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนหัวได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	22
4	แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนกลางได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	23
5	แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนปลายได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	24
6	แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงรวมบริเวณส่วนหัวรวมกับส่วนกลางได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	25
7	แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงรวมทุกส่วนได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	27
8	แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายถูกต้องเมื่อคัดแยกด้วยสมการ PCA เทียบกับการผ่าตรวจสอบในการสังเกต	28
9	แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมของการวัดแสงส่วนและผลความถูกต้องในการทำนายด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมส่วนหัวจำนวน	29
10	แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมของการวัดแสงส่วนกลาง และผลความถูกต้องในการทำนายด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมส่วนหัว	30
11	แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมของการวัดแสงส่วนปลายและผลความถูกต้องในการทำนายด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมส่วนหัว	30
12	แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมรวมส่วนหัวและส่วนกลาง	32
13	แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมรวมส่วนหัวส่วนกลางและส่วนปลาย	32
14	แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกคำนวณด้วยวิธี PLS-DA ของการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงส่วนต่างๆ	33
15	แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนหัวได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	39

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
16	แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนกลางได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	40
17	แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนปลายได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	41
18	แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนหัวและส่วนกลางได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	42
19	แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงรวมทุกส่วนได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน	43
20	แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายถูกต้องเมื่อคัดแยกด้วยสมการ PCA เทียบกับการผ่าตรวจสอบในการสังเกต	44
21	แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอนโดยคำนวณจากสเปกตรัมส่วนหัวใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-955 nm	45
22	แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอน ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-955 nm โดยคำนวณจากสเปกตรัมส่วนกลาง	46
23	แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอน ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-955 nm โดยคำนวณจากสเปกตรัมส่วนปลาย	47
24	แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอน ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-960 nm โดยคำนวณจากสเปกตรัมส่วนหัวและส่วนกลาง	49
25	แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอน ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-955 nm โดยคำนวณจากสเปกตรัมรวมทุกส่วน	49
26	แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกคำนวณด้วยวิธี PLS-DA ของการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงส่วนต่างๆ	51
27	เปรียบเทียบความแม่นยำในการทำนายเมื่อคำนวณด้วยวิธี PCA	52
28	เปรียบเทียบความแม่นยำในการทำนายเมื่อคำนวณด้วยวิธี PLS-DA	53

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญรูป	(3)
บทนำ	1
ตรวจเอกสาร	2
กิจกรรมที่ 1 หาชนิดสายพันธุ์ที่แท้จริงของหนอนกระเจียวเขียว	11
อุปกรณ์	11
วิธีการ	11
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	11
กิจกรรมที่ 2 ศึกษาเปรียบเทียบระบบการวัดแสงในกระเจียวเขียวเบื้องต้น	13
อุปกรณ์	13
วิธีการ	13
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	13
กิจกรรมที่ 3 ศึกษาการคัดแยกด้วยระบบ transmittance ในกระเจียวเขียว	18
อุปกรณ์	18
วิธีการ	18
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	20
กิจกรรมที่ 4 : ศึกษาการคัดแยกด้วยระบบ interactance ในกระเจียวเขียว	35
อุปกรณ์	34
วิธีการ	34
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	35
สรุปผลการวิจัย	54
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก	57

บทนำ

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่มีพื้นฐานทางเกษตรกรรม ผักและผลไม้สดจึงนับเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยที่สามารถนำเงินตราเข้าประเทศได้ปีละหลายพันล้านบาท กรมเศรษฐกิจการเกษตรได้รายงานการส่งออกกระเจี๊ยบในปี 2554 มีประมาณ 320 ล้านบาท โดยส่วนใหญ่ส่งออกไปในประเทศญี่ปุ่น ในการส่งออกผักและผลไม้ไปขายยังต่างประเทศ เช่น ประเทศญี่ปุ่นและออสเตรเลีย จะมีการเฝ้าระวังเรื่องการปนเปื้อนของหนอนและแมลงในผักผลไม้เป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามยังพบว่าการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชการระบาดของแมลงภายในทำให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงต่อผลิตผลทางการเกษตร ปัจจุบันได้นำเทคนิค near-Infrared-spectroscopy (NIRS) เข้ามาใช้ในการตรวจสอบผลิตผลทางการเกษตรแบบไม่ทำลายกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งเป็นทางเลือกและมีความเป็นไปได้ในการจำแนกและทำนายคุณภาพภายในของผลไม้และผัก ได้อย่างรวดเร็ว ประหยัดเวลา มีประสิทธิภาพ และลดต้นทุนในการใช้สารเคมีและลดต้นทุนการผลิตในระยะยาว เทคนิค NIRS เป็นการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรโดยสามารถตรวจสอบคุณภาพภายในและภายนอกในผลไม้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการตรวจสอบภายใน เทคนิค NIRS มีความสามารถในการวิเคราะห์ความผิดปกติที่อยู่ภายในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น สามารถจำแนกเมล็ดคอลลอยด์ที่มีความผิดปกติภายในและเมล็ดที่ปกติได้ (Tigabu and Odén, 2002) ใช้วิเคราะห์ความผิดปกติภายในผลกีวีฟรุต (Clark *et al.*, 2004) การถูกทำลายภายในเมล็ดข้าวสาลี และเมล็ด chestnuts (Dowell *et al.*, 1999 ; Moscettiet *al.*, 2013) และการฝังตัวของหนอนในเมล็ด Picea abies, เชอร์รี่ และพุทรา (Tigabu *et al.*, 2004; Xing and Guyer, 2008, Wang *et al.*, 2011) Saranwong *et al.*, (2010) นำเทคนิค NIRS มาประยุกต์ใช้กับการตรวจสอบไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง

เทคนิค NIRS จึงมีความสำคัญที่สามารถนำไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตผลหรือผลิตภัณฑ์เพื่อการบริโภค หรือเพื่อคุณภาพวัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะงานตรวจวิเคราะห์ที่เป็นงานประจำ (routine) หรือในอุตสาหกรรมที่ต้องมีการตรวจวิเคราะห์คุณภาพวัตถุดิบก่อนเข้าผลิต รวมทั้งตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ก่อนขายสู่ผู้บริโภคหรือลูกค้า ดังนั้นเทคนิค NIRS จึงเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาคัดแยกคุณภาพของกระเจี๊ยบก่อนการส่งออกต่างประเทศและเป็นสิ่งสำคัญมากในการควบคุมและป้องกันศัตรูพืชและแมลงการแพร่กระจายไปยังภูมิภาคอื่นๆของโลก

ตรวจเอกสาร

1. กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus* L. Moench)

กระเจี๊ยบเขียว (Okra, Lady's Finger, Gombo, Gumbo, Bendee, Quimbamto) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Abelmoschus esculentus* L. Moench จัดอยู่ในวงศ์ฝ้ายหรือวงศ์ Malvaceae โดยมีถิ่นกำเนิดในแถบแอฟริกาตะวันตก

ลักษณะของกระเจี๊ยบเขียว (นุชจรี และคณะ, 2551)

ต้นกระเจี๊ยบเขียวจัดเป็นพืชล้มลุก โดยเฉลี่ยอายุประมาณ 1 ปี มีความสูงประมาณ 0.9-2.5 เมตร ตามลำต้นจะมีขนอ่อนหนายาวๆ ขึ้นปกคลุม เช่นเดียวกับใบและผล เจริญเติบโตได้ดีในอากาศที่ร้อน ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการใช้เมล็ด

ใบกระเจี๊ยบเขียวมีใบเป็นใบเดี่ยวมีขนาดใหญ่ ลักษณะของใบคล้ายรูปฝ่ามือเรียงสลับกัน ใบมักเว้าเป็น 3, 5 หรือ 7 แฉก โคนใบเว้าเป็นรูปหัวใจ

ผลกระเจี๊ยบเขียวหรือฝักกระเจี๊ยบเขียวคล้ายกับนิ้วมือผู้หญิง ฝักมีสีเขียวทรงเรียวยาว มักโค้งเล็กน้อย ลายฝักแหลมเป็นจีบ มีทั้งชนิดฝักกลมและฝักเหลี่ยม ชนิดฝักเหลี่ยมมีเหลี่ยมตั้งแต่ 5-9 เหลี่ยม ความยาวของฝักมีขนาดตั้งแต่ 3-5 เซนติเมตร ทั้งนี้จำนวนเหลี่ยมและความยาวของฝักแตกต่างกันตามพันธุ์ บนผิวฝักจะมีขนอ่อนๆ (spine) อยู่ทั่วฝัก ฝักอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ในฝักมีน้ำเมือกข้นเหนียวอยู่มาก

เมล็ดลักษณะกลมอยู่มาก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-6 มิลลิเมตร เรียงกันเป็นแนวยาวของฝัก เมล็ดอ่อนมีสีขาว เมื่อแก่จะมีสีเขียวเข้มจนถึงเทาดำ

สภาพแวดล้อมของกระเจี๊ยบเขียว (ฐานข้อมูลพืชผัก บทความเกษตร, 2008-2014)

กระเจี๊ยบเขียว เป็นผักที่ปลูกได้ตลอดปีในประเทศไทย อุณหภูมิที่เหมาะสมในการปลูกและเติบโตคือ 20-30 องศาเซลเซียส กระเจี๊ยบเขียวขึ้นได้ที่อุณหภูมิต่ำสุด 18 องศาเซลเซียส เติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด แต่ไม่ชอบดินที่มีน้ำขังแฉะหรือระบายน้ำยากและดินที่เป็นกรดจัด ค่า pH ของดินควรอยู่ระหว่าง 6.0-6.8

พันธุ์และแหล่งพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียวมีพันธุ์ต่าง ๆ มากมายซึ่งมีความแตกต่างกัน พันธุ์พื้นเมืองเดิมจะมีเหลี่ยมบนฝักมากประมาณ 7-10 เหลี่ยม พันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่ใช้ปลูกเพื่อการส่งออกฝักสดและแช่แข็ง จะต้องเป็นพันธุ์ที่มีฝัก 5 เหลี่ยม สีฝักเขียวเข้ม มีเส้นใยน้อย ลำต้นเตี้ย ผิวฝักมีขนละเอียด ฝักดกให้ผลผลิตสูง ซึ่งพันธุ์ที่ใช้ปัจจุบันได้แก่

1. พันธุ์ของประเทศไทยปรับปรุงโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลักษณะฝักมีสีเขียวปานกลาง ฝักเมื่อตัดตามขวางเป็นรูปห้าเหลี่ยม ต้นแข็งแรง ผลผลิตสูง ราคาเมล็ดพันธุ์ 50-80 บาทต่อกิโลกรัม พันธุ์เหล่านี้ผู้ส่งออกและแปรรูปสามารถนำไปทดสอบตลาดได้ โดยเฉพาะตลาดยุโรป หรืออื่น ๆ

2. พันธุ์ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง จากประเทศญี่ปุ่น เป็นพันธุ์ที่มีคุณสมบัติฝักอ่อนที่ตลาดญี่ปุ่นนิยมมาก ลักษณะฝักสีเขียวเข้มมาก เมื่อตัดตามขวางของฝักเป็นรูป 5 เหลี่ยม ซึ่งมีเหลี่ยมเห็นได้ชัดเจน ต้นแข็งแรง ผลผลิตสูง ราคาเมล็ดพันธุ์แพงมากประมาณ 2,000-5,000 บาทต่อกิโลกรัม

3. พันธุ์ผสมเปิดจากต่างประเทศ ได้แก่ เคลมสัน สบายน์เลส ซึ่งฝักกลมป้อมและพันธุ์ดอร์ฟกรีน สบายน์เลส ซึ่งมีฝักเรียวยาว เป็นพันธุ์ที่มี 8 เหลี่ยม สีเขียวปานกลางใช้ในการแปรรูปบรรจุกระป๋อง

4. พันธุ์ที่เกษตรกรเก็บพันธุ์เอง ซึ่งต้องทำอย่างถูกวิธีจะมีผลต่อคุณภาพฝักมาก อย่างไรก็ตามพันธุ์ที่จะใช้ขึ้นอยู่กับผู้ซื้อกำหนดเป็นประการสำคัญ ซึ่งผู้ปลูกต้องทำการตกลงกับผู้ซื้อก่อนปลูก

ฤดูปลูก กระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียวสามารถปลูกได้ตลอดปีในประเทศไทย แต่การปลูกเพื่อส่งออกต่างประเทศ จะปลูกในช่วงเดือนสิงหาคมถึงพฤษภาคมเท่านั้น เนื่องจากตลาดหลักคือประเทศญี่ปุ่นไม่สามารถปลูกได้ ในช่วงนี้ ญี่ปุ่นจะปลูกกระเจี๊ยบเขียวทางตอนใต้ของประเทศและจะหยุดปลูกในช่วงฤดูหนาวและเริ่มปลูกราวเดือนกุมภาพันธ์ถึงมีนาคม ซึ่งผลผลิตจะออกราวเดือนพฤษภาคม ดังนั้นโดยมากจะหยุดเมล็ดเดือนสิงหาคมถึงตุลาคม เพื่อเก็บเกี่ยวประมาณตุลาคมถึงเมษายน หรือตามผู้ซื้อต้องการ

อายุการเก็บเกี่ยวกระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียว เป็นพืชที่โตเร็ว เมื่ออายุได้ 40 วัน จะเริ่มออกดอก หลังดอกบาน 5 วัน ฝักจะยาว 4-9 เซนติเมตร ซึ่งสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตฝักสดได้ ลักษณะฝักที่มีคุณภาพดี คือ ฝักกระเจี๊ยบมีความอ่อนนุ่มมีรสชาติ และเนื้อสัมผัสที่ผู้บริโภครู้สึกพอใจ อ่อน ไม่มีเส้นใยตรงตามที่ต้องการ ฝักกระเจี๊ยบเขียวโตเร็วมากโดยเฉพาะอากาศร้อนจะเติบโตวันละ 2-3 เซนติเมตร เกษตรกรจึงต้องเก็บเกี่ยวทุกวัน และไม่ควรปล่อยให้ฝักที่สามารถตัดได้ให้หลงเหลืออยู่บนต้น เพราะต้นจะต้องส่งอาหารมาเลี้ยง ทำให้ผลผลิตต่ำ เกษตรกรจะสามารถเก็บฝักที่มีคุณภาพดีได้ประมาณ 1-2 เดือน ฝักที่แตกยอดจะเริ่มหมดและไม่แข็งแรง สังเกตจะมีกิ่งแขนงออกจากต้น 2-3 กิ่ง ควรตัดต้นทิ้ง เพื่อให้แตกแขนงใหม่ซึ่งสามารถเก็บผลผลิตได้อีกประมาณ 2 เดือน ผลผลิตที่ได้เฉลี่ยตลอดฤดูปลูก 30 กิโลกรัมต่อไร่ต่อวัน หรือประมาณ 3,000-5,000 กิโลกรัมต่อไร่ต่อฤดูปลูก (ก.ย.-พ.ค.) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ การดูแลรักษา และความยาวนานในการเก็บผลผลิต

วิธีการเก็บเกี่ยว

ควรสวมถุงมือผ้าหัดด้วยถุงมือยาง เพื่อป้องกันการระคายเคืองเนื่องจากขนของกระเจี๊ยบเขียว และใช้วัสดุที่คมตัดขั้วกระเจี๊ยบเขียวให้ตรง ไม่เป็นปากฉลาม มีก้านติดไม่เกิน 1 เซนติเมตร และตัดที่ละฝัก ใส่ภาชนะที่สะอาดภาชนะที่ใส่ผลผลิตระหว่างเก็บเกี่ยวควรบรรจุได้ไม่เกิน 3 กิโลกรัมจะเกิดการเหี่ยวหรือชอกช้ำได้ง่าย เนื่องจากเก็บเกี่ยวในระยะฝักอ่อน มีอัตราการตายสูง การเก็บเกี่ยวและการปฏิบัติต่างๆ หลังจากเก็บฝักแล้วจึงต้องทำอย่างปราณีตตั้งแต่วิธีการเก็บจนถึงการเลือกภาชนะบรรจุหีบห่อ

2. แมลงศัตรูกระเจี๊ยบเขียว

เนื่องจากกระเจี๊ยบเขียวเป็นผักที่เจริญเติบโตในเขตกึ่งร้อน ทำให้มีแมลงศัตรูพืชหลายชนิดแบ่งเป็นเพลี้ย ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อนฝ้าย เพลี้ยจักจั่นฝ้ายเพลี้ยไฟฝ้าย นอกจากนั้นยังมีหนอนที่สำคัญ ได้แก่ หนอนกะหล่ำหอม หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก เป็นต้น

2.1 หนอนกระทู้หอม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Spodoptera exigua* Hubner

ชื่ออื่น Beet armyworm, Lesser armyworm, หนอนหลอดหอม, หนอนหอม, หนอนหน้าง
เหี้ยว

วงศ์ Noctuidae

อันดับ Lepidoptera

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

หนอนกระทู้หอมจัดได้ว่าเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญต่อการปลูกพืชมีการระบาดอย่างกว้างขวางและมักจะเกิดการระบาดในช่วงฤดูหนาวและฤดูร้อน เมื่อหนอนฟักออกจากไข่ในวัยแรกอยู่รวมเป็นกลุ่ม 3-5 ตัว เข้าทำลายพืชโดยกัดกินบริเวณส่วนยอดและใบ ทำให้ใบมีรูพรุน

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

หนอนกระทู้หอมมีลำตัวอ้วน ผ้นลำตัวเรียบ มีหลายสี ด้านข้างมีแถบสีขาวพาดตามยาวลำตัว ด้านละแถบจากส่วนอกจนถึงปลายสุดของลำตัว หนอนมีการเจริญเติบโต 6 ระยะ โตเต็มที่ มีขนาด 2.5 เซนติเมตร ระยะหนอนประมาณ 14-17 วัน หนอนเข้าดักแด้ใต้ดินบริเวณโคนต้น ลึกลงมา 1-2 นิ้ว ระยะดักแด้ประมาณ 5-7 วัน ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อขนาดกลางสีน้ำตาลแก่ปนเทา เมื่อกางปีกกว้าง 2.0-2.5 เซนติเมตร มีจุดสีน้ำตาลอ่อน 2 จุด ตรงกลางปีกคู่หน้า อายุตัวเต็มวัย 4-10 วัน แม่ผีเสื้อจะวางไข่เป็นกลุ่มเล็กๆตามใต้ใบ โดยเฉลี่ยวางไข่ประมาณ 20 ฟองต่อกลุ่ม ระยะไข่ประมาณ 2-3 วัน แม่ผีเสื้อจะวางไข่ในตอนหัวค่ำ (18.00-20.00) วงจรชีวิตของหนอนประมาณ 30-35 วัน

ช่วงการระบาด

เริ่มพบในระยะกระเจียบที่มีขนาดเล็กจนกระทั่งกระเจียบอยู่ในช่วงก่อนให้ผลผลิตการระบาดมักพบเสมอในช่วงฤดูร้อนและฤดูหนาว

2.2 หนอนเจาะสมอฝ้าย

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Helicoverpa armigera* Hubner

ชื่ออื่น Cotton bollworm, American bollworm, Corn earworm, หนอนเจาะสมออเมริกัน,
หนอนเจาะฝักข้าวโพด, หนอนเจาะผลมะเขือเทศ

วงศ์ Noctuidae

อันดับ Lepidoptera

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

หนอนเจาะสมอฝ้ายจัดได้ว่าเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญต่อการปลูกพืช มีการระบาดรุนแรงทั่วทุกแห่ง เนื่องจากหนอนเจาะสมอฝ้ายมีพืชอาหารมากมายที่เป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ จึงทำให้มีอาหารตลอดปี สามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างต่อเนื่องและกว้างขวาง และพบการระบาดติดต่อกันทุกปี หนอนชนิดนี้ทำลายกระเจียบเขียว โดยการกัดกินส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก และฝัก

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ ตามส่วนอ่อนของพืช ไข่มีลักษณะกลมคล้ายฝาสี ไข่ที่วางใหม่จะมีสีขาวนวลเป็นมัน ระยะไข่ 2-3 วัน จึงฟักออกเป็นตัวหนอน หนอนมีตัวกันทั้งหมด 5 วัย โดยวัยแรกจะมีสีขาวนวล และเมื่อเข้าสู่วัยที่สองสีของลายลำตัวเข้มขึ้นเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีตุ่มขนสีน้ำตาลเข้ม เส้นขนสีดำ หนอนวัยที่สามลำตัวมีสีน้ำตาลปนเขียว เมื่อเข้าสู่วัยที่สี่ลำตัวจะมีสีเข้มขึ้นเป็นสีดำปนเขียว หนอนวัยที่ห้า ลำตัวจะเปลี่ยนเป็นสีส้มแก่ หนอนตัวโตเต็มที่มีขนาด 3.5 เซนติเมตร ระยะหนอนประมาณ 16-22 วัน ดักแด้ มีสีน้ำตาลไหม้ ขนาด 1.8 เซนติเมตร อายุดักแด้ ประมาณ 10-12 วัน จึงออกเป็นตัวเต็มวัย เป็นผีเสื้อกลางคืน วัดเมื่อกางปีกยาว 3-4 เซนติเมตร ตัวเมียปีกคู่หน้าสีน้ำตาลปนแดง ส่วนตัวผู้ซึ่งมีสีน้ำตาลอมเขียว เลยกึ่งกลางปีกคู่หน้าไปทางหน้าเล็กน้อยมีจุดสีน้ำตาลเข้มขนาดโตกว่าหัวเข็มหมุดปีกจะจุดเลยจุดนี้ไปทางปลายปีกเล็กน้อยมีแถบสีน้ำตาลเข้มพาดตามขวางและมีจุดสีดำเรียงรายตามแถบนี้ ปีกคู่หลังมีแถบสีน้ำตาลที่ปลายปีกพาดต่อกับปีกคู่หน้า สีของปีกคู่หน้าเข้มกว่าปีกคู่หน้า อายุเต็มวัยประมาณ 7-18 วัน รวมวงจรชีวิตประมาณ 29-38 วัน (เกศราและคณะ, 2545)

ช่วงการระบาด

พบระบาดในระยะกระเจี๊ยบอยู่ในช่วงให้ผลผลิต

2.3 หนอนกระทู้ผัก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Spodoptera litura Fabricius*

ชื่ออื่น Cotton worm, Tobacco cutworm, Cotton leaf

วงศ์ Noctuidae

อันดับ Lepidoptera

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

หนอนกระทู้ผักพบทั่วทุกภาคของประเทศไทย มักพบระบาดทั่วไปตลอดปีไม่จำกัดฤดูปลูก ตัวหนอนเริ่มทำลายตั้งแต่เริ่มฟักออกมาจากไข่ใหม่ๆ โดยอาศัยอยู่รวมกันเป็นกลุ่มใต้ใบกระเจี๊ยบเขียว ในระยะต่อมาจะเริ่มทำลายรุนแรง โดยจะกระจายตัวไปกัดกิน ใบ และดอก ของกระเจี๊ยบเขียวในบริเวณกว้าง ทำให้เกิดความเสียหายมาก เนื่องจากเป็นหนอนที่มีขนาดใหญ่ และแพร่ระบาดได้รวดเร็ว

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

หนอนกระทู้ผักมีลำตัวอ้วนป้อม มีจุดสีดำใหญ่ตรงปล้องที่ 3 แม่ผีเสื้อวางไข่เป็นกลุ่มใต้ใบจำนวนนับร้อยฟอง ไข่ปกคลุมด้วยขนสีฟางขาว ระยะไข่ 3-4 วัน หนอนที่เกิดใหม่จะอยู่รวมกันแทะกินผิวใบพืช จากนั้นหนอนจะแยกย้ายไปต้นอื่นๆ หลังจากพ้นวัยที่ 2 หนอนโตเต็มที่มีขนาด 3-4 เซนติเมตร และเคลื่อนไหวช้าหนอนมีการเจริญเติบโต 5 ระยะ ระยะหนอน 10-14 วัน หนอนเข้าเป็นดักแด้ในดิน ดักแด้มีสีน้ำตาลเข้มยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร ระยะดักแด้ 7-10 วัน ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อขนาดกลาง เมื่อกางปีกกว้าง 3-3.5 เซนติเมตร ปีกสีน้ำตาล ปีกคู่หน้ามีเส้นเหลืองพาดหลายเส้น

ช่วงการระบาด

เริ่มพบในระยะกระเจี๊ยบเขียวที่มีขนาดเล็ก จนกระทั่งกระเจี๊ยบเขียวอยู่ในช่วงก่อนให้ผลผลิต

2.4 หนอนหนามสะไปนี้ หรือ หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Earias fabia* Stoll

ชื่ออื่น Spiny bollworm

วงศ์ Noctuidae

อันดับ Lepidoptera

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

หนอนหนามเจาะสมอฝ้ายพบทั่วทุกภาคของประเทศไทย ตัวหนอนเริ่มทำลายตั้งแต่เริ่มพักจากไข่ออกมาใหม่ๆ จะเจาะเข้าทำลายในขณะที่กระเจี๊ยบเขียวยังเล็กอยู่ คือ ยังไม่มีดอกและฝัก หนอนจะเจาะยอทำให้ยอดกระเจี๊ยบเขียวเหี่ยวแห้งเป็นสาเหตุให้กระเจี๊ยบเขียวไม่เจริญขึ้นทางยอด แต่จะแตกกิ่งก้านสาขาออกข้างๆ ทำให้ต้นกระเจี๊ยบเขียวทึบ เสียรูปทรง ผลที่ตามมา คือ เข้าปฏิบัติงานได้ยาก พ่นสารป้องกันกำจัดแมลงลำบากและไม่ทั่วถึง และเมื่อกระเจี๊ยบเขียวติดดอก และฝัก เมื่อถูกหนอนเจาะจะทำให้ดอกไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่ถ้าเจาะฝักจะทำให้คุณภาพฝักเสียไม่สามารถส่งขายตลาดได้

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ไข่ มีลักษณะกลมเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 มิลลิเมตร สีเขียวอมน้ำเงิน เมื่อยังใหม่มีสันตามยาวประมาณ 30 สัน ซึ่งทำให้เกิดเป็นรูปมงกุฎขึ้นที่ตรงส่วนบนของไข่ ระยะไข่ 3 วัน

หนอน หนอนโตเต็มที่จะยาวประมาณ 15-18 มิลลิเมตร ตัวป้อม มีขนแข็งยาวทุกปล้อง พื้นสีน้ำตาลอ่อนปนด้วยสีเทาและสีเขียว ส่วนหลังสีขาวซีด โดยมีจุดดำที่ฐานของขน ระยะหนอน 9 วัน ลอกคราบ 4 ครั้ง หนอนมี 5 ระยะ ลอกคราบภายในอุโมงค์ หนอนมีลักษณะพิเศษผิดกับหนอนชนิดอื่นๆ คือ เจาะลำต้นเข้าไปทางส่วนยอด เป็นทางลึกลงไปกัดกินเฉพาะเนื้ออ่อน ทำให้ยอดกระเจี๊ยบเขียวเหี่ยวหักพับลง แต่ถ้าทำลายส่วนดอกหรือฝัก หนอนจะเป็นทางเข้าไปข้างใน แล้วอุดรูไว้ด้วยมูล หนอนจะกินอยู่เพียงเฉพาะดอก หรือฝักใดฝักหนึ่งจนกระทั่งเข้าดักแด้

ดักแด้ มีสีน้ำตาล ยาวประมาณ 1.3 เซนติเมตร ห่อหุ้มด้วยรังเป็นรูปเรียวคว่ำ สีน้ำตาลซีดหรือสีนวล ระยะเป็นดักแด้ 11 วัน เมื่อจะเข้าดักแด้หนอนจะสร้างรังตามส่วนต่างๆ ของต้นกระเจี๊ยบเขียว มักพบตามฝัก ใบเลี้ยง ใบแห้ง

ตัวเต็มวัย อายุ 7-14 วัน ตอนกลางวันตัวแก่หลบซ่อนในที่มืด ออกหากินในเวลากลางคืน เวลาเกาะอยู่กับที่ ปีกจะพชนกันเป็นรูปหลังคา ตัวยาว 1.2 เซนติเมตร ปีกเมื่อกางยาว 2.0-2.2 เซนติเมตร ฝีเสื้อวางไข่ทีละฟองเกือบทุกส่วนของต้นกระเจี๊ยบเขียว ฝีเสื้อตัวหนึ่งวางไข่ได้ 40-298 ฟอง ตลอดวงจรชีวิตตั้งแต่ไข่ถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 20-29 วัน (เกศราและคณะ, 2545)

3. หลักการพื้นฐานของเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี Near-Infrared-Spectroscopy (NIRS)

แสงอินฟราเรดย่านใกล้ (near-infrared) เป็นคลื่นแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 780-2500 นาโนเมตร โดยมีหลักการ คือ เมื่อแสงส่องผ่านเข้าไปยังสารละลายหรือวัตถุ แล้วสารเกิดการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงอินฟราเรดย่านใกล้ทำให้โมเลกุลของสารเกิดการสั่นที่ความถี่สูง ในการสั่นของพันธะต่างๆจะเกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่นแตกต่างกันซึ่งเป็นค่าเฉพาะของแต่ละ

ละพันธะรวมทั้งตำแหน่งของโมเลกุลและช่วงการดูดกลืนแสงก็เป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละหมู่ฟังก์ชันด้วย ดังนั้นเมื่อโมเลกุลได้รับรังสีอินฟราเรดที่มีความยาวคลื่นตรงกับพันธะในโมเลกุลก็จะเกิดการสั่นและดูดกลืนรังสีไว้ ทำให้มีพลังงานมากกว่าปกติ จากเดิมที่โมเลกุลอยู่ในสภาวะพื้น (ground vibration level) เมื่อได้รับพลังงานเพิ่มขึ้นจะอยู่ในสภาวะกระตุ้น (excited vibration level) อย่างไรก็ตามเมื่อโมเลกุลกลับสู่สภาวะพื้นก็จะปล่อยพลังงานที่รับเพิ่มเข้าไปออกมาในรูปพลังงานความร้อน ปริมาณการดูดกลืนพลังงานแสง (absorbance) เป็นไปตามกฎของเบียร์ – แลมเบิร์ต (Beer – Lambert) พลังงานของคลื่นแสงเมื่อผ่านเข้าไปในตัวอย่าง พลังงานจะถูกดูดกลืนไว้โดยองค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่าง ความเข้มของแสงที่ผ่านออกมาโดยทั่วไปจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีนั้น (Osborne *et al.*, 1993)

ช่วงคลื่นอินฟราเรด (IR) สามารถแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ดังนี้

ช่วงใกล้อินฟราเรด (near-infrared region)

มีความยาวคลื่นในช่วง 800 – 2500 นาโนเมตร แยกการดูดกลืนคลื่นแสงเกิดจากโอเวอร์โทน และมักพบว่าช่วงการดูดกลืนแสงที่ได้ค่อนข้างต่ำ มีประโยชน์ในการวิเคราะห์หาปริมาณของกลุ่มฟังก์ชันนัล และศึกษาโครงสร้างโมเลกุล

ช่วงกลางอินฟราเรด (mid-infrared region)

มีความยาวคลื่นในช่วง 2500 – 50000 นาโนเมตร สเปกตรัมที่ได้ค่อนข้างยุ่งยาก เพราะโครงสร้างของโมเลกุลที่สมบูรณ์ การวิเคราะห์จึงต้องให้วิธีเปรียบเทียบกับสเปกตรัมที่ทราบโครงสร้างแล้ว ใช้ในการวิเคราะห์พวกกลุ่มฟังก์ชันนัล

ช่วงไกลอินฟราเรด (far-infrared region)

มีความยาวคลื่นในช่วง 50,000 – 1,000,000 นาโนเมตร ช่วงนี้ไม่ค่อยที่จะได้ใช้ในการวิเคราะห์ เนื่องจากสเปกตรัมไม่ได้เกิดจากการสั่นหรือการหมุนของโมเลกุล แต่สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับการทรานสิชันที่เกี่ยวข้องกับการหมุนของโมเลกุล

ระบบการวัดวิธีเนียร์อินฟราเรด

เมื่อแสงเนียร์อินฟราเรดออกจากแหล่งกำเนิดแสงส่องกระทบไปยังตัวอย่าง ตัวอย่างจะเกิดอันตรกิริยากับแสงนั้นและเกิดผลกระทบต่างๆ เช่น คลื่นแสงถูกดูดกลืน (absorption) การส่องผ่าน (transmission) การสะท้อน (reflection) การเรืองแสง (fluorescence) การกระเจิงแสง (scattering) (อนุพันธ์, 2545) ดังนั้นควรมีการจัดวางตัวอย่างในการใช้เทคนิค NIR เพื่อให้ได้สเปกตรัมที่สัมพันธ์กับปริมาณค่าทางเคมีที่สนใจ ได้แก่ (ศุมาพร, 2545)

1. Transmission เป็นการวัดปริมาณแสงที่ผ่านออกมาในด้านตรงกันข้ามกับด้านที่แสงตกกระทบ
2. Reflection แสงตกกระทบที่พื้นผิวของตัวอย่าง วัดปริมาณแสงที่สะท้อนออกมาโดยรวมถึงแสงที่สะท้อนจากเนื้อตัวอย่างส่วนที่ใกล้ผิวตัวอย่างได้อีกด้วย
3. Transflection แสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบตัวอย่าง ผ่านตัวอย่างลงไปตกกระทบแผ่นเซรามิกทอง หรืออะลูมิเนียมในชั้นใต้สุด แล้วสะท้อนกลับมายังตัวรับแสง (detector)

4. Interaction ใช้ในกรณี fiber optics probe แสงจากแหล่งกำเนิดแสงส่องผ่านมายังตัวอย่าง และสะท้อนออกมาจากเนื้อตัวอย่างถูกส่งไปยังตัวรับแสง

ประโยชน์ของเทคนิค NIR

Osborne *et al.* (1993) ได้กล่าวว่า เครื่องมือแต่ละประเภทต่างก็มีข้อจำกัดในการใช้งาน แต่เครื่อง NIRS มีประโยชน์และข้อดีมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีหรือการวิเคราะห์ด้วยวิธีอื่น สำหรับการนำเครื่อง NIRS ประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมมีประโยชน์มากมายและมีข้อดีที่สำคัญในการนำมาใช้ได้แก่

1. การเตรียมตัวอย่างค่อนข้างง่ายกว่าการวัดด้วยเทคนิคอื่น
2. มีการวิเคราะห์ค่าต่างๆที่ต้องการตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว
3. ไม่ทำลายตัวอย่างหรือผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการตรวจสอบ ทำให้ตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบ สามารถจำหน่ายส่งออก หรือบริโภคต่อไปได้ เป็นการประหยัดต้นทุนของผลิตภัณฑ์อีกทางหนึ่งและสามารถนำไปปรับเป็นระบบ online ในการวิเคราะห์ได้
4. ลดต้นทุนในการวิเคราะห์เมื่อใช้ในระยะเวลา รวมถึงสามารถช่วยลดมลภาวะและรักษาสภาพแวดล้อมเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี
5. เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับนำไปควบคุมคุณภาพในกระบวนการผลิต

การวิเคราะห์ข้อมูลจากสเปกตรัม NIRS

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR spectrometer จะอยู่ในรูปของสเปกตรัมส่วนข้อมูลของค่าคุณลักษณะคุณภาพวิเคราะห์ได้จากวิธีมาตรฐาน (reference method) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมทางสถิติซึ่งขั้นตอนวิเคราะห์ข้อมูลประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือ ขั้นตอนการวิเคราะห์สร้างสมการ เพื่อใช้เป็น model และขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพของสมการที่สร้างขึ้น

การคำนวณการตัดแยก (Classification analysis)

ในการคำนวณการตัดแยกมีหลายวิธีด้วยกัน ในงานวิจัยนี้จะใช้การคำนวณ 2 แบบ คือ principal component analysis (PCA) และ partial least square discriminant analysis (PLS-DA)

1. Principal component analysis (PCA) เป็นการวิเคราะห์ความแตกต่างกันของสเปกตรัม (ตัวแปรอิสระ, X) ที่วัดได้ โดยจะนำค่าสเปกตรัมในแต่ละความยาวคลื่นมาคำนวณจัดกลุ่มโดยใช้เทคนิคที่ใช้ในการลดจำนวนของตัวแปรอิสระ(X) ให้น้อยลงโดยใช้วิธีการสร้างตัวแปรขึ้นมาใหม่เรียกว่ากลุ่มตัวแปรใหม่หรือแฟกเตอร์สามารถมีได้หลายแฟกเตอร์โดยแต่ละแฟกเตอร์จะอธิบายความแปรปรวนของค่าสเปกตรัมได้

2. Partial least square discriminant analysis (PLS-DA) ซึ่งวิธีสถิติ PLS-DA เป็นวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัม โดยการนำค่าตัวแปรตามมาคำนวณด้วยกันเพื่อนำมาใช้ในการคำนวณการสร้างแฟกเตอร์ด้วยหรือกล่าวได้ว่าการจัดกลุ่มของตัวแปรอิสระ (X) จะเกี่ยวข้องกับค่าตัวแปรตาม (Y) โดย PLS-DA เป็นการวิเคราะห์แบบจำแนกกลุ่ม มีขั้นตอนดังนี้ (ธงชัย และ ปิติพร, 2555)

- 1.) เลือกตัวอย่างที่นำมาใช้ในการสร้างสมการ โดยกลุ่มตัวอย่างนี้เรียกว่ากลุ่มเทรนนิ่ง (training หรือ calibration set) ทั้งนี้ต้องเป็นกลุ่มตัวอย่างที่ทราบกลุ่มมาก่อน
- 2.) กำหนดค่าตัวแปรตาม (Y) ที่สำคัญในการแบ่งกลุ่มตัวอย่างมาใช้ในการสร้างสมการ ในงานวิจัยนี้กำหนดให้ค่า Y ของกระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนเท่ากับ 0 และ กระเจียบเขียวที่มีหนอนเท่ากับ 1
- 3.) สร้างสมการแบ่งกลุ่มโดยใช้กลุ่มตัวอย่างเทรนนิ่งและประเมินสมการเบื้องต้นด้วยวิธี full-cross validation เพื่อเลือกจำนวนแฟกเตอร์ที่เหมาะสมในแต่ละสมการ
- 4.) ทำการตรวจสอบความถูกต้องของสมการแบ่งกลุ่มโดยใช้ตัวอย่างอีกกลุ่มคือกลุ่มทดสอบ และเปรียบเทียบจากค่าจริง

บททวนวรรณกรรม

ปัจจุบันการวิเคราะห์ด้านงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ได้นำเครื่องมือการวิเคราะห์มาประยุกต์ใช้ในทางการเกษตรและมีการวิจัยที่ตีพิมพ์จำนวนมากที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค near infrared spectroscopy (NIRS) เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ให้ผลเที่ยงตรง แม่นยำและมีความสามารถวิเคราะห์ได้หลายค่าในการวัดเพียงครั้งเดียว อีกทั้งไม่มีการใช้สารเคมีในการวิเคราะห์ ซึ่งปลอดภัยต่อผู้ทำการวิจัยและยังเป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (non-destructive technique) วิธีนี้จึงเป็นวิธีที่น่าสนใจและในหลายๆประเทศที่ใช้วิเคราะห์อย่างแพร่หลาย เช่น ในประเทศ จีน ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา งานวิจัยส่วนใหญ่ต้องการนำเทคโนโลยี NIRS นี้ มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการควบคุมคุณภาพ เพื่อสร้างความเป็นมาตรฐานของสินค้าในกระบวนการทางอุตสาหกรรม

ช่วงความยาวคลื่น NIRS สามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 ช่วงตามความยาวคลื่นได้แก่ ช่วงความยาวคลื่นสั้น (short-wave near-infrared ; SWNIR มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 780-1100 นาโนเมตร และ ช่วงความยาวคลื่นยาว (Long-wave near-infrared ; LWNIR) มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 1100-2500 นาโนเมตร จากงานวิจัยเปรียบเทียบกับแสงทั้งสองช่วง โดยทดลองกับเนื้อแอปเปิล พบว่าแสง NIRS ช่วงคลื่นสั้นนั้นสามารถทะลุผ่านเข้าไปในเนื้อแอปเปิลได้ลึกกว่าช่วงคลื่นยาว (Lammertyn *et al.*, 2000) ซึ่งจากความรู้การเลือกใช้ช่วงความยาวคลื่นแสงข้างต้นจึงมีหลายงานวิจัยของต่างประเทศนำมาวิเคราะห์พืชผลทางการเกษตรที่ใช้พื้นฐานแบบเดียวกัน เช่น งานวิจัยของ Vanoli *et al.*, (2014) เป็นการศึกษาการเกิดสีน้ำตาลภายในเนื้อแอปเปิลได้ใช้ช่วงความยาวคลื่น NIRS ช่วงคลื่นสั้นโดยใช้คุณสมบัติทางแสงโดยวัดสัมประสิทธิ์การดูดซึมและสัมประสิทธิ์การกระเจิงแสงของเนื้อแอปเปิลในหลักการ time-resolved reflectance spectroscopy (TRS) ซึ่งสามารถแยกผลแอปเปิลที่เนื้อไม่ช้ำและมีความสดออกมาจากกลุ่มแอปเปิลที่มีเนื้อช้ำและไม่สดได้โดยเป็นวิธีไม่ทำลายผลไม้ โดยสัมประสิทธิ์ค่าการดูดกลืนแสงที่ 670 cm^{-1} และ 780 cm^{-1} จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามการเกิดสีน้ำตาลภายในเนื้อแอปเปิลและสัมประสิทธิ์การกระเจิงแสงที่ 780 cm^{-1} จะมีค่าลดลงเมื่อมีการเกิดสีน้ำตาลภายในเนื้อแอปเปิลในประเทศญี่ปุ่นได้นำเทคนิค NIRS มาพัฒนาวัดหัวไชเท้าซึ่งเป็นพืชที่นิยมรับประทานและปลูกได้ง่ายในญี่ปุ่น และเมื่อเป็นสินค้า

ส่งออกมา NIRS มาใช้วัดแบบไม่ทำลายคุณภาพของผลิตภัณฑ์ก่อนจำหน่ายโดยตรวจวัดความผิดปกติ เช่น จุดรอยตำและรูพรองอากาศเล็กๆภายในหัวใจท้าวญี่ปุ่นที่ไม่สามารถตรวจวัดด้วยสายตาได้ (Takizawa *et al.*, 2014) นอกจากนี้นำมาใช้วัดกับตัวอย่างเมล็ดพืชต่างๆ เช่น พืชตระกูลถั่วที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนและไขมันในเมล็ดถั่วเหลือง (Pazdernik *et al.*, 1997) ตัวอย่างการนำมาใช้วิเคราะห์ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ สัตว์ปีกและอาหารทะเล ตรวจสอบคุณภาพของปลาทูน่า วิเคราะห์หาปริมาณเกลือในปลา (ศุทธหทัย และคณะ, 2554) เนื่องจากปริมาณเกลือในเนื้อปลาที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ปลาทูน่าที่ได้ไม่มีคุณภาพ ทำให้ในอุตสาหกรรมนิยมใช้วิธีนี้วิเคราะห์เป็นอย่างมาก

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยี NIRS มีการใช้ในการตรวจสอบคุณภาพในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ และผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น การวัดความสุกของมะละกอ (Greensill and Newman, 1999) การวัดคลอโรฟิลล์และความหวาน (Slaughter, 1995) การคัดเลือกความหวานของส้ม (Kawano *et al.*, 1993) แอปเปิ้ล (Liu *et al.*, 2006) พืช (Kawano *et al.*, 1992) เซอร์รี่ (Lu, 2001) และ เมลอน (Dull *et al.*, 1989; Dull *et al.*, 1992; Guthrie *et al.*, 2006) อีกทั้งยังมีการวิจัยด้านการหาความชื้น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน ไขมันอิ่มตัว ไฟเบอร์ เป็นต้น

ในการวิเคราะห์ความผิดปกติของผักและผลไม้พบว่าการนำมาใช้ตรวจสอบหาห่อนภายในผลไม้รวมถึงความผิดปกติภายในอื่นๆ เนื่องจาก NIRS ให้ผลที่แม่นยำแน่นอนและสามารถแยกความปกติและสิ่งผิดปกติได้ดี อีกทั้งยังสามารถประยุกต์และปรับลักษณะของเครื่องมือให้เข้ากับลักษณะตัวอย่างได้หลายวิธี ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ความผิดปกติของผลไม้ เช่น การหาห่อนและไข่แมลงในผลมะม่วง (Saranwong *et al.*, 2010) การตรวจวัดหาห่อนในพุทราโดยใช้ช่วงความยาวคลื่นแสงที่มองเห็นได้ visible และ NIRS วิเคราะห์ โดยเปรียบเทียบการวัด 3 วิธีคือ interactance, reflectance, transmittance ผลงานวิจัยสรุปว่าวิธีวัดทั้งแบบ interactance และแบบ transmittance สามารถจำแนกระหว่างผลพุทราที่มีห่อนและไม่มีห่อนได้ชัดเจนกว่าการวัดแบบ reflectance (Wang *et al.*, 2011) นอกจากนี้ยังใช้แยกกลุ่มตามระดับความสุกแก่ของผลอินทผลัม ซึ่งในงานวิจัยได้ใช้การคำนวณคัดแยก 2 วิธีคือ partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), principal components analysis ร่วมกับ artificial neural networks (PCA-ANN) จากงานวิจัยสรุปออกมาว่าการคำนวณแบบ PLS-DA สามารถคัดแยกผลอินทผลัมที่เหี่ยวออกจากผลปกติได้ดีที่สุดตามด้วยวิธีคำนวณแบบ SIMCA และ PCA-ANN ตามลำดับ (Mireei and Sadeghi, 2013) ซึ่งจะเห็นได้ว่าเทคนิค NIRS มีประโยชน์อย่างมากในการวิเคราะห์คุณภาพของผักและผลไม้ก่อนการส่งออกเพื่อจำหน่าย

กิจกรรมที่ 1 หาชนิดสายพันธุ์ที่แท้จริงของหนอนกระเจี๊ยบเขียว

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 ตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียว

1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1.2.1 งานเตรียมตัวอย่าง

- ฟรอยด์อะลูมิเนียม
- มีด เขียง

1.2.2 เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์สายพันธุ์ของหนอน

- Stereoscopic Microscope Nikon SMZ800

2. วิธีการทดลอง

ในการวิเคราะห์ระยะการเจริญเติบโตและชนิดของหนอนที่อยู่ในกระเจี๊ยบเขียว พบว่าหนอนที่ตรวจพบมีหลายขนาด ในการศึกษาระยะการเจริญเติบโตเบื้องต้นจึงนำหนอนที่มีขนาดเล็กกว่า 0.5 cm มาทดลองเลี้ยงด้วย โดยการนำตัวหนอนที่อยู่ในกระเจี๊ยบเขียวได้รับจากผู้ส่งออกมาเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย แล้วส่งวิเคราะห์และจำแนกสายพันธุ์ที่สำนักวิจัยพัฒนา อารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแยกหนอนที่อยู่ในกระเจี๊ยบเขียวออกจากผักมาวัดขนาด พบว่ามีหลายขนาดตั้งแต่ขนาดเล็กกว่า 0.5 เซนติเมตร จนถึงขนาดยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร และเมื่อนำหนอนขนาดประมาณ 0.4 เซนติเมตร มาเลี้ยงจนเป็นผีเสื้อใช้ระยะเวลา 17 วัน และเมื่อตรวจสอบจากสำนักวิจัยพัฒนา อารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระบุว่า เป็น *Erias vittella*

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ (เกศรา และคณะ, 2545)

Erias vittella หรือ Spiny bollworm หนอนหนามสะไปนี อยู่ในวงศ์ Noctuidae อันดับ Lepidoptera โดยตัวหนอนจะเริ่มเข้าทำลายตั้งแต่เริ่มฟักออกจากไข่ใหม่ๆ ถ้าหนอนเจาะผักทำให้คุณภาพผักเสียหาย

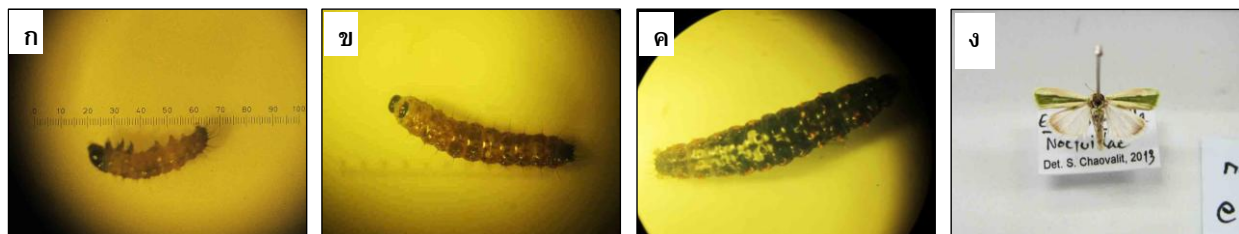
ไข่ มีลักษณะกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 มิลลิเมตร มีสีเขียวอมน้ำเงิน ระยะไข่ประมาณ 3 วัน

หนอน หนอนโตเต็มที่จะยาวประมาณ 1.5-1.8 เซนติเมตร ตัวป้อมมีขนแข็ง พื้นสีน้ำตาลอ่อนปนเทาและเขียว หลังสีขาว ระยะหนอน 9 วันลอกคราบ 4 ครั้ง หนอนมี 5 ระยะ หนอนจะเจาะเข้าด้านในแล้วจะกินอยู่ภายในเฉาะดอก หรือฝักใดฝักหนึ่งจนเป็นดักแด้

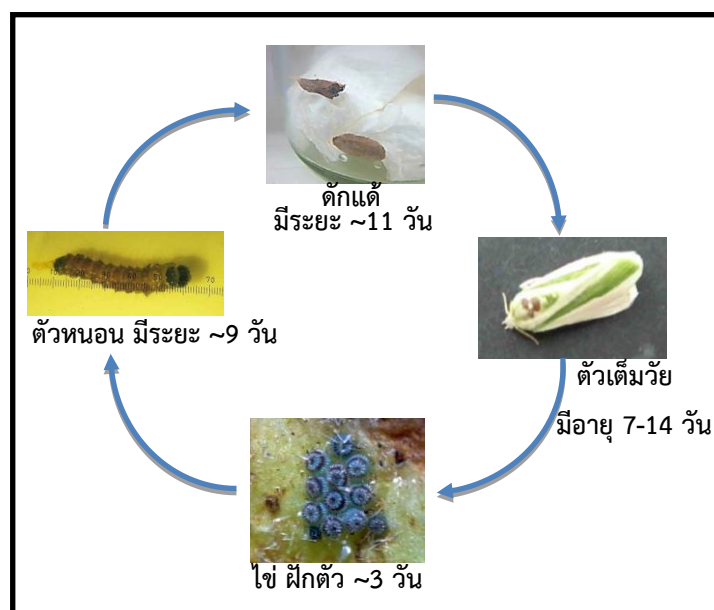
ดักแด้ มีสีน้ำตาล ยาวประมาณ 1.3 เซนติเมตร ห่อหุ้มด้วยรังเป็นรูปรีคล้าย สีน้ำตาลซีดหรือสีนวล ระยะเป็นดักแด้ 11 วัน

ตัวเต็มวัย อายุ 7-14 วัน ตอนกลางวันตัวแก่หลบซ่อนในที่มืด ออกหากินในเวลากลางคืน อาหารของผีเสื้อ คือน้ำหวาน ตัวยาว 1.2 เซนติเมตร ปีกเมื่อกางยาว 2.0-2.2 เซนติเมตร ปีกหลังสีขาว

นวล ปีกหน้ามีสีเขียวพาด ผีเสื้อตัวหนึ่งวางไข่ได้ 40-298 ฟอง (เฉลี่ย 115 ฟอง) ตลอดวงจรชีวิตตั้งแต่ไข่จนถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 20-29 วัน



รูปที่ 1 แสดงหนอนที่ฝังตัวอยู่ภายในกระเจี๊ยบเขียวระยะตัวอ่อนมีขนาดเล็กกว่า 0.5 เซนติเมตร (ก) ระยะหนอนมีขนาดประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร (ข) ระยะหนอนมีขนาดยาวกว่า 1 เซนติเมตร (ค) ระยะตัวเต็มวัย (ง)



รูปที่ 2 แสดงวงจรการเจริญเติบโตของหนอนหนามสะไปนี้ มีอายุ 20-29 วัน

กิจกรรมที่ 2 : การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1. ตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน จำนวน 20 ตัวอย่าง และตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอน 20 ตัวอย่าง

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

2.1 งานเตรียมตัวอย่าง

- ถุงซิปใส่ตัวอย่าง
- เครื่องชั่งวิเคราะห์อย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (TB214 ของ Denver instrument, USA)
- ฟรอยด์อะลูมิเนียม
- ตู้อบลมร้อน
- เครื่องบด (Cyclotec 1093, Foss, USA)

2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี

- เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน Protein/Nitrogen (FP-528 S/N, LECO, USA)

2.3 เครื่องมือที่ใช้คำนวณและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- โปรแกรม SPSS version 11.5

2. วิธีการทดลอง

สุ่มตัวอย่างที่ผ่านการวัดแสงแล้ว มาจำนวน 40 ตัวอย่าง ตัดเฉพาะส่วนของกระเจี๊ยบที่พบหนอน นำส่งไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี combustion analysis ที่ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) โดยใช้วิธี In house method based on AOAC (2005) 992.23

3. ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนเจริญเติบโตทุกระยะและที่ไม่มีหนอน

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนพบว่า กระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนมีปริมาณโปรตีน 15.39-24.15% ส่วนกระเจี๊ยบเขียว ที่มีหนอนรวมระยะ 3 มีปริมาณโปรตีน 18.50-35.79%

ตารางที่ 1 แสดงผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์โดยวิธี combustion analysis

Parameter	no. of sample	Protein (%)			
		Min	Max	Average	SD
Infested	20	18.504	35.790	25.985	5.011
Non-infest	20	15.385	24.149	19.697	2.383
Total sample	40	15.385	35.790	22.841	5.014

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณโปรตีนของกระเจียบเขียวด้วยวิธี T-test method (Independent sample) ระหว่างกระเจียบเขียวที่มีหนอนฝั้วและไม่หนอน พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของหนอนฝั้วและไม่หนอนมีค่าเท่ากับ 25.985 และ 19.697 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1. ตัวอย่างกระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอน และตัวอย่างกระเจียบเขียวที่มีหนอน จำนวน 20 ผัก
2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
 - 2.1 งานเตรียมตัวอย่าง
 - ถูขีปใส่ตัวอย่าง
 - เครื่องชั่งวิเคราะห์อย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (TB214 ของ Denver instrument, USA)
 - ฟรอยด์อะลูมิเนียม
 - ตู้อบลมร้อน
 - เครื่องบด (Cyclotec 1093, Foss, USA)
 - 2.2 ชุดเครื่องสกัดไขมัน soxhlet extractor
 - 2.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี
 - เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography)

2. วิธีการทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างกระเจียบเขียวที่ผ่านการวัดแสงแล้วจำนวน 5 ผักมารวมกัน เนื่องจากปริมาณไขมันที่สกัดได้มีปริมาณน้อยมากจึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ที่ละผักได้ นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณเวลา 24 ชั่วโมง จนตัวอย่างแห้งจากนั้นนำตัวอย่างมาบดด้วยเครื่องบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน รวมเป็น 1 ตัวอย่าง แล้วนำตัวอย่างที่บดเรียบร้อยแล้วทำการสกัดไขมันต่อไปโดยวิเคราะห์กระเจียบเขียวที่มีหนอน 2 ตัวอย่าง และกระเจียบเขียวไม่มีหนอน 2 ตัวอย่าง รวมเป็น 4 ตัวอย่าง

การสกัดไขมัน

โดยชั่งตัวอย่างกระเจียบเขียวที่บดแล้วประมาณ 5 กรัม ลงในกระดาษกรอง พับแล้วใส่ใน timber จากนั้นนำไปสกัดด้วยวิธี soxhlet extraction โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน ปริมาตร 250 มิลลิลิตร โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ควบคุมให้อัตราการควบแน่นของตัวทำละลายประมาณ 3-4 หยด/วินาที ใช้เวลาการสกัดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำมากลั่นเอาตัวทำละลายออกจนเหลือสารละลายเพียงเล็กน้อยประมาณ 1-2 มิลลิลิตร แล้วใช้แก๊สไนโตรเจนบริสุทธิ์เป่าไล่ตัวทำละลายออกจนหมด นำมาชั่งและคำนวณปริมาณของ น้ำมันที่วิเคราะห์ได้ในขวดกันกลม

การวิเคราะห์ด้วย gas chromatography

การทำ methylation ของกรดไขมัน (AOCS official method Ce2-66, 2009) นำน้ำมันกระเจี๊ยบเขียวที่ได้จากการสกัดประมาณ 100 มิลลิกรัม ในขวดกันกลม จากนั้นเติม 0.5 M NaOH ใน methanol ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสาร 14% borontrifluoride (BF₃) 5 มิลลิลิตร แล้วให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 2 นาที และสกัดด้วย heptane ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายอิ่มตัวของ NaCl ลงไปทำให้เกิดการแยกชั้นขึ้น ดูดแยกสารชั้นที่เป็นชั้นสารละลาย heptane ออกมา และเติม anhydrous Na₂SO₄ เล็กน้อย จากนั้นดูดสารละลายที่ได้มาประมาณ 1 มิลลิลิตร และนำไปส่งวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิด ที่สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ม.เกษตรศาสตร์ อย่างไรก็ตามทางสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ได้เติม internal standard เป็น heptadecanoate (C17:0) ลงเพื่อคำนวณค่าก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography

การคำนวณ

การคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำมันหรือไขมัน

$$\text{Percentage of fat (F}_T\text{)} = \frac{(M_2 - M_1) \times 100}{W}$$

เมื่อ M_1 = น้ำหนักขวดกันกลมและน้ำมัน (กรัม)
 M_2 = น้ำหนักขวดกันกลม (กรัม)
 W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

การคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่กรดไขมัน (Area Fatty acid ; F_A)

$$\text{Area Percentage of Fatty acid (F}_A\text{)} = \frac{100 \times A_X}{A_t - A_{IS}}$$

เมื่อ A_X = น้ำหนักขวดกันกลมและน้ำมัน (กรัม)
 A_t = น้ำหนักขวดกันกลม (กรัม)
 A_{IS} = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

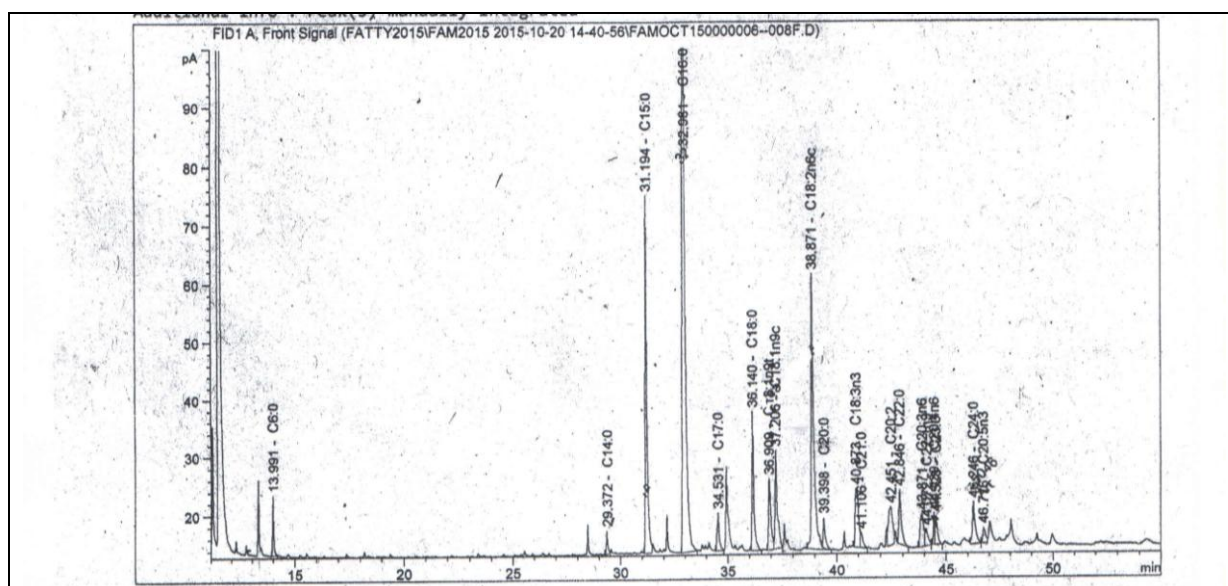
การคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน (Fatty acid) (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)

$$\text{Fatty acid, g/100g sample} = \frac{F_T \times F_C \times F_A}{100}$$

เมื่อ F_T = ปริมาณไขมันหรือน้ำมันในตัวอย่าง 100 กรัม
 F_T = correction factor (ผัก = 0.8)
 F_A = % Area Fatty acid

3. ผลการทดลอง

จากการสกัดปริมาณไขมันในกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนมีไขมันเฉลี่ยอยู่ภายในผัก 0.973% และกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนมีในน้ำหนักของปริมาณไขมัน 1.06 % และเมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิด มีชนิดของกรดไขมันใกล้เคียงกัน มีกรดไขมันจำนวน 19 ชนิด แสดงดังรูปที่ 3 โดยมีปริมาณ palmitic acid (C16:0) มากที่สุด ประมาณ 0.4 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง รองมาคือกรด linoleic acid มี 0.09 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกรดไขมันแต่ละชนิดในกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองแบบ แสดงดังตารางที่ 2 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 3 แสดงโครมาโตแกรมปริมาณกรดไขมันด้วย chromatography ในตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียว

ตารางที่ 2 แสดงเวลาและปริมาณของกรดไขมันในกระเจียบเขียว

	เวลา/ นาที	สาร	ปริมาณเฉลี่ยกรดไขมัน (กรัม/100 กรัม ตัวอย่าง)	
			กระเจียบเขียวที่ ไม่มีหนอน	กระเจียบเขียวที่มี หนอนอยู่ภายใน
1	13.991	Caproic acid (C6:0)	0.0151	0.0148
2	29.372	Myristic acid (C14:0)	0.0059	0.0063
4	32.961	Palmitic acid (C16:0)	0.4109	0.4460
6	36.140	Stearic acid (C18:0)	0.0428	0.0495
7	36.909	trans-9-Elaidic acid (C18:1n9t)	0.0308	0.0333
8	37.206	Cis-9-Oleic acid (C18:1n9c)	0.0168	0.0359
9	38.871	Linoleic acid (C18:2n6c)	0.0954	0.0945
10	39.398	Arachidic acid (C20:0)	0.0138	0.0130
11	40.873	Alpha-Linolenic acid (C18:3n3)	0.0231	0.0225
12	41.106	Heneicosanoic acid (C21:0)	0.0065	0.0061
13	42.451	Cis-11,14-Eicosadienoic acid (C20:2)	0.0186	0.0330
14	42.846	Behenic acid (C22:0)	0.0241	0.0230
15	43.871	Cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid (C20:3n6)	0.0171	0.0186
16	44.072	Erucic acid (C22:1n9)	0.0076	0.0077
17	44.439	Arachidonic acid (C20:4n6)	0.0088	0.0080
18	46.246	Lignoceric acid (C24:0)	0.0226	0.0234
19	46.716	Eicosapentaenoic acid (C20:5n3)	0.0072	0.0076

กิจกรรมที่ 3 ศึกษาการคัดแยกด้วยระบบ transmittance ในกระเจี๊ยบเขียว

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 ตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวจำนวน 508 ผัก

1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1.2.1 งานเตรียมตัวอย่าง

- ถุงซีบีไใส่ตัวอย่าง
- ตู้อุ่น
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (TB214 ของ Denver instrument, USA)
- ฟรอยด์อะลูมิเนียม
- มีด เขียง
- ตู้อบลมร้อน
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Thomas Kagaku Co. Ltd., Japan)

1.2.2 งานเก็บข้อมูลสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด

- เครื่อง Near Infrared ในช่วงคลื่นสั้นในช่วงความยาวคลื่น 665-955 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง NIRS วัดด้วยระบบ transmittance (Purespect, Saika, Japan)

1.2.3 เครื่องมือที่ใช้คำนวณและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

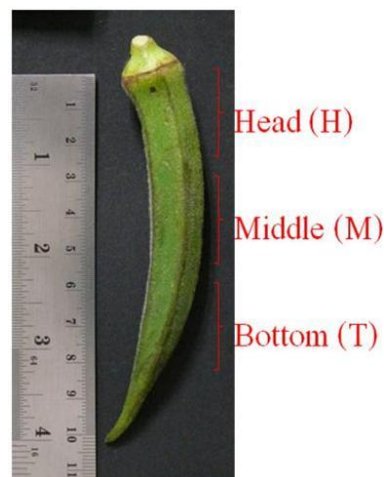
- The Unscrambler version 9.8 (CAMO, Norway)

2. วิธีการทดลอง

2.1 นำตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวทั้งหมด 508 ตัวอย่าง โดยการวัดแต่ละครั้งมาควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส การวัดแบ่งกระเจี๊ยบเขียวออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว (head) กำหนดให้อยู่ในระยะระหว่าง 2-3 เซนติเมตร เมื่อวัดจากขั้ว, ส่วนกลาง (middle) ระยะระหว่าง 4-5 เซนติเมตร, ส่วนปลาย (bottom) ระยะระหว่าง 6-7 เซนติเมตร ในแต่ละส่วนวัดสเปกตรัมทั้ง 5 ด้านของผักกระเจี๊ยบเขียว



ก



ข

รูปที่ 4 การควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ก่อนการวัดแสง (ก) และการแบ่งกระเจี๊ยบออกเป็น ส่วนๆเพื่อใช้ในการวัดแสง (ข)

2.2 ศึกษาการวัดแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer PureSpect

นำตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียววัดแบบ transmittance mode โดยวัดในช่วง ความยาวคลื่น 665-955 nm และทำการปรับตำแหน่ง detector กับ light source ในการทดลองนี้จะวัดแสงโดยให้แสงออกจากไฟเบอร์ออฟติกด้านบนส่องผ่านผลกระเจี๊ยบเขียวให้ detector อยู่ด้านล่างเพื่อรับแสงให้ light source และ detector ทำมุมต่อกัน 180 องศา วัดในลักษณะ transmittance mode โดยวัดทั้งห้าด้านของกระเจี๊ยบเขียวแต่ละส่วน แล้วนำมาเฉลี่ยเป็น 1 สเปกตรัม จากนั้นนำกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการวัดแสงแล้วมาผ่าเพื่อตรวจสอบหอนที่มีอยู่ในกระเจี๊ยบเขียวแต่ละจุด

2.3 ทำการวัดขนาด ชั่งน้ำหนัก และถ่ายรูปตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียว หลังจากนั้นมาผ่าออกเพื่อตรวจสอบหอนที่ฝังตัวอยู่ในกระเจี๊ยบเขียว และจำแนกว่ามีหอนอยู่ในส่วนใดของฝักกระเจี๊ยบเขียว

2.4 การสร้างและทดสอบสมการ

2.4.1 การปรับแต่งสเปกตรัม (spectral pretreatment)

เนื่องจากฝักกระเจี๊ยบมีลักษณะที่โค้งงอไม่เหมือนกันรวมถึงมีเหลี่ยมและมุมซึ่งอาจส่งผลต่อการวัดแสง ดังนั้นจึงต้องมีการคำนวณเพื่อปรับ spectra ก่อนนำมาคำนวณสมการเปรียบเทียบ

1) original spectra : เป็นการนำ intensity ของแสงมาคำนวณเป็น absorbance แล้วนำมาคำนวณโดยตรง

2) second derivative spectra : เป็นการนำ spectral absorbance ที่ได้มีคำนวณโดยใช้วิธี second derivative แบบ savitzky golay

3) multiplicative scattering correction (MSC) : เป็นการนำ absorbance มาคำนวณ MSC เพื่อลดผลกระทบของการกระเจิงแสง

4) การใช้วิธี multiplicative scattering correction (MSC) ร่วมกับ second derivative spectra โดยนำค่า absorbance มาคำนวณค่าโดย MSC เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นจึงนำมาคำนวณด้วย second derivative spectra อีกครั้ง

2.4.1 การคำนวณ spectra

คำนวณการคัดแยกด้วยวิธี principal component analysis (PCA) และวิธี Partial least square discriminant analysis (PLS-DA) เพื่อทดสอบความเป็นไปได้ในการคัดแยก โดยกำหนดให้สเปกตรัมของกระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และสเปกตรัมของกระเจียบเขียวที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1

3. ผลการทดลอง

กระเจียบเขียวทั้งหมด ได้รับจากบริษัทส่งออกกระเจียบเขียว โดยเบื้องต้นได้ทำการคัดแยกโดยผู้ชำนาญในการคัดแยกด้วยตาเปล่า แต่พบว่ายังคลาดเคลื่อนค่อนข้างมากจากลักษณะทางกายภาพพบว่า กระเจียบเขียวไม่มีหนอนมีรูปร่างค่อนข้างตรงกว่ากระเจียบเขียวที่มีหนอน .ในกิจกรรมนี้ใช้กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนจำนวน 254 ผัก และมีหนอน จำนวน 254 ผัก รวมทั้งหมด 508 ผัก โดยมีน้ำหนักของผักกระเจียบเขียวอยู่ประมาณ 5.28-17.56 กรัมความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร โดยแบ่งกระเจียบเขียวออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่

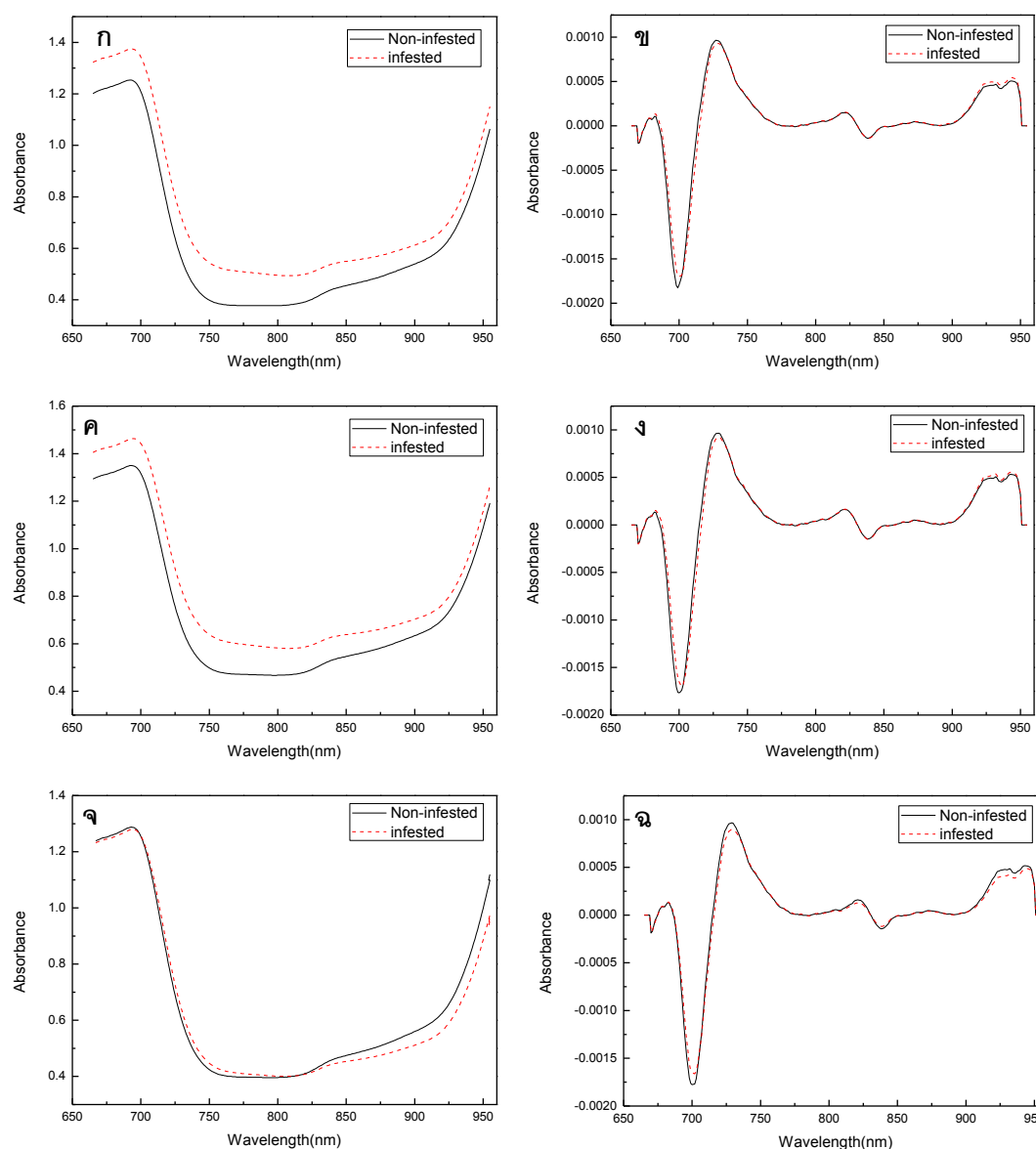
1) กลุ่มสร้างสมการ (calibration set) จำนวน 408 ผัก โดยแบ่งการวิเคราะห์ตามบริเวณที่พบหนอน โดยแบ่งออกเป็น 3 ส่วน

- ส่วนหัวจำนวน 160 ผัก : ไม่มีหนอน 80 ผัก และมีหนอน 80 ผัก
- ส่วนกลาง จำนวน 160 ผัก : ไม่มีหนอน 80 ผัก และมีหนอน 80 ผัก
- ส่วนปลายจำนวน 88 ผัก : ไม่มีหนอน 44 ผัก และมีหนอน 44 ผัก

2) กลุ่มทำนาย (prediction set) จำนวน 100 ผัก

- ส่วนหัวจำนวน 40 ผัก : ไม่มีหนอน 20 ผัก และมีหนอน 20 ผัก
- ส่วนกลาง จำนวน 40 ผัก : ไม่มีหนอน 20 ผัก และมีหนอน 20 ผัก
- ส่วนปลาย จำนวน 20 ผัก : ไม่มีหนอน 10 ผัก และมีหนอน 10 ผัก

จากสเปกตรัมเฉลี่ยของแสงที่วัดได้ในแต่ละจุดของกระเจียบเขียวที่มาเปรียบเทียบ จะเห็นได้ว่าลักษณะ baseline ของกระเจียบเขียวที่มีหนอนฝังตัวอยู่บริเวณส่วนหัวและส่วนกลาง มีลักษณะสูงกว่ากระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอน และจากสเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative spectra) มีความแตกต่างกันเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนสเปกตรัมเฉลี่ยที่วัดแสงได้จากส่วนปลายมีลักษณะ baseline ที่ใกล้เคียงกันแต่มี slope ของสเปกตรัมที่แตกต่างกัน แสดงดังรูปที่ 5 จากการผ่าตรวจสอพบพบว่า กระเจียบเขียวที่มีหนอนฝังตัวอยู่ส่วนปลายมีจำนวนน้อยกว่าการฝังตัวในส่วนอื่นๆ



รูปที่ 5 แสดงสเปกตรัมเฉลี่ย absorbance และ second derivative spectra ของตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียว ที่มีหนอนและไม่มีหนอนจากที่วัดได้ในแต่ละส่วน ส่วนหัว (ก,ข), ส่วนกลาง (ค,ง) และส่วนปลาย (จ,ฉ) ตามลำดับ

3.1 การคำนวณตัดแยกสเปกตรัมของกระเจี๊ยบเขียวด้วยวิธี principal component analysis (PCA)

3.1.1 การคำนวณการตัดแยกการฝังตัวของหนอนในแต่ละส่วน

ส่วนหัว

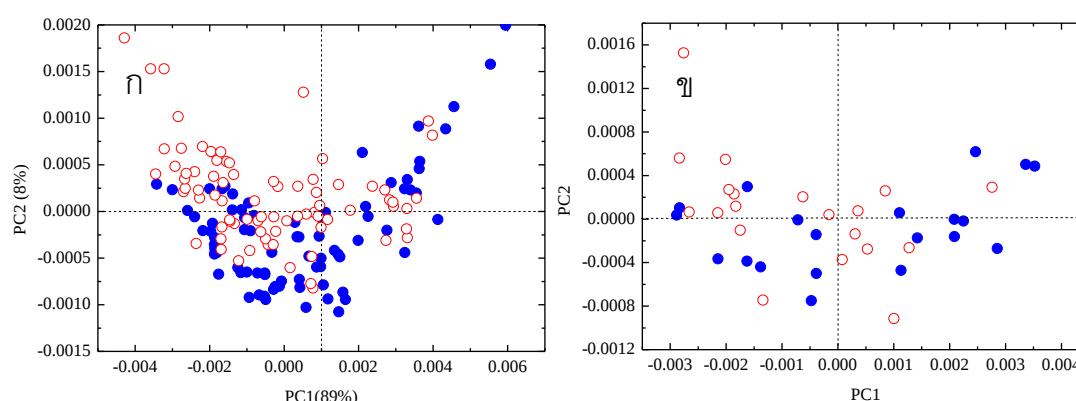
นำสเปกตรัมมาคำนวณด้วยวิธี PCA เพื่อตัดแยกความแตกต่างของสเปกตรัมของกระเจี๊ยบเขียวเบื้องต้น โดยแบ่งการวัดแสงเป็นส่วนๆ จากการวัดแสงบริเวณส่วนหัวของกระเจี๊ยบเขียว พบว่าในการคำนวณตัดแยกเพื่อแบ่งกลุ่มสเปกตรัมการดูดกลืน ไม่สามารถแยกกลุ่มได้ชัดเจนเนื่องจากสเปกตรัม

ของกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนและไม่มีหนอนมีลักษณะใกล้เคียงกันมากและเมื่อนำมาทดสอบทำนายค่าการคัดแยกแสดงผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนหัวได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Spectral Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	10/20	14/20	24/40 (60%)
Second derivative	13/20	13/20	26/40 (65%)
MSC	10/20	16/20	26/40 (65%)
MSC+Second derivative	11/20	12/20	23/40 (57.5%)

จากการทดสอบคัดแยกพบว่า การปรับด้วยวิธี second derivative และ MSC ให้การคำนวณคัดแยกด้วย PCA โดยมีความถูกต้องในการคัดแยก 65% เท่ากัน



รูปที่ 6 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของ second derivative Spectra จากการวัดแสงส่วนหัว ของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) เปรียบเทียบกับการสังเกตด้วยตา (● กระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

จะเห็นได้ว่า score plot จากสมการ PCA ที่คำนวณได้ของกลุ่มสร้างสมการ (ดังรูปที่ 6) ไม่สามารถแยกกลุ่มได้อย่างชัดเจน ส่งผลให้เมื่อนำมาทดสอบทำนายด้วยกลุ่มทำนายได้ค่าที่ไม่แม่นยำ โดยคำนวณความถูกต้องจาก score plot ของการทำนาย ดังรูปที่ 6 (ข) ให้ PC2 เป็นแฟกเตอร์ที่สำคัญในการคัดแยก กำหนดให้ค่า PC2 จากที่ทำนายได้มีค่ามากกว่า 0 กำหนดเป็นกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอน ผังตัวอยู่ และกรณี PC2 น้อยกว่า 0 เป็นกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน

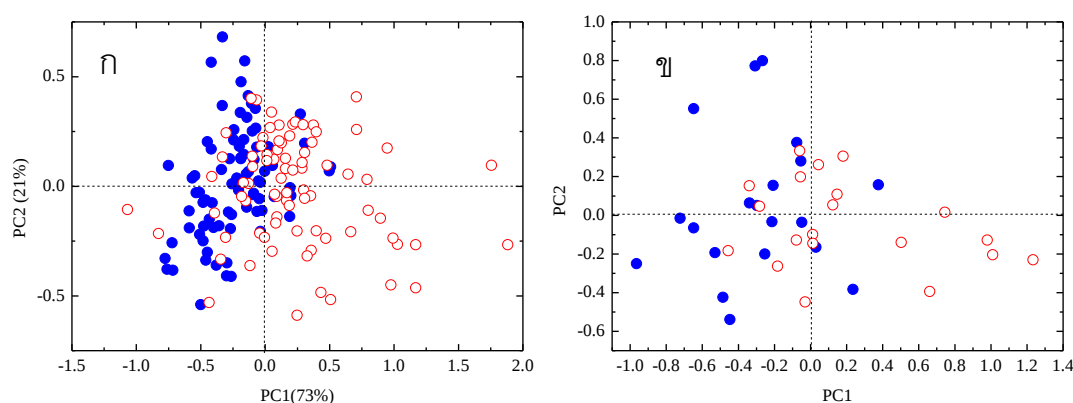
ส่วนกลาง

เมื่อนำสเปกตรัมที่วัดได้จากการดูดกลืนแสงส่วนกลางของกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนมาคำนวณเปรียบเทียบกับกระเจี๊ยบที่มีหนอนฝั่งตัวอยู่บริเวณกลางฝักของกระเจี๊ยบโดยการคำนวณด้วยวิธี PCA พบว่า การแยกกลุ่มของสเปกตรัมค่อนข้างชัดเจนกว่าการวัดแสงจากบริเวณส่วนหัว และเมื่อนำมาปรับสเปกตรัมก่อนการคำนวณคัดแยกให้ค่าความถูกต้องดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนฝักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณ *ส่วนกลาง* ได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	13/20	15/20	38/40 (70%)
Second derivative	9/20	11/20	20/40 (50%)
MSC	12/20	17/20	29/40 (72.5%)
MSC+Second derivative	9/20	12/20	21/40 (52.5%)

สเปกตรัมที่ผ่านการปรับด้วยวิธี MSC ก่อนคำนวณสมการ PCA ให้ค่าการทำนายที่ถูกต้องที่สุดเท่ากับ 72.5% score plot ของสมการและของกลุ่มทำนาย แสดงดังรูปที่ 7 ในการคำนวณความถูกต้องในการทำนาย กำหนดให้ PC1 เป็นแฟกเตอร์สำคัญในการคัดแยก กำหนดให้ค่า PC1 จากที่ทำนายได้มีค่ามากกว่า 0 เป็นกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนฝั่งตัวอยู่ และกรณี PC1 น้อยกว่า 0 เป็นกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน และสามารถคำนวณความถูกต้องการทำนายเทียบกับค่าจริงจากการผ่าตรวจสอบได้



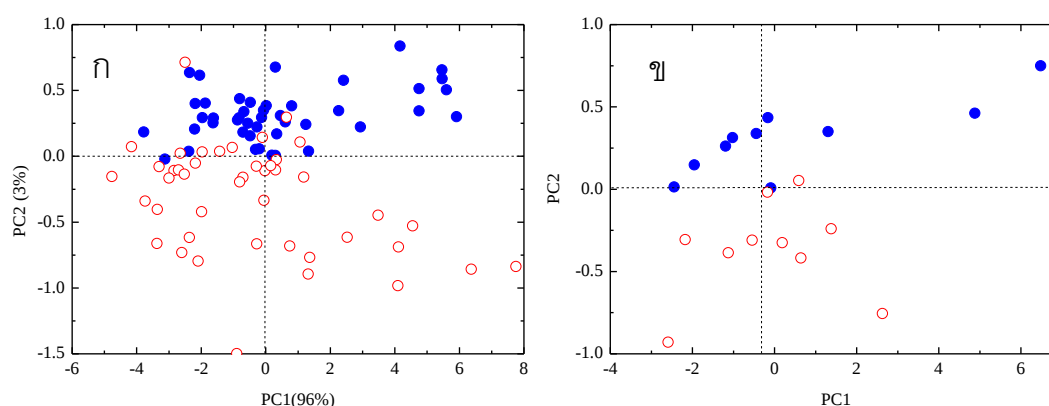
รูปที่ 7 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธี MSC จากการวัดแสง *ส่วนกลาง* ของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) (● กระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

ส่วนปลาย

จากการทดสอบพบกระเจี๊ยบที่มีหนอนฝังตัวอยู่ด้านปลายเป็นจำนวนน้อย ดังนั้นในการวิเคราะห์ในส่วนนี้จึงมีสเปกตรัมที่นำมาสร้างสมการน้อยกว่าส่วนอื่น จากการคำนวณด้วยวิธี PCA เพื่อคัดแยกกลุ่มสเปกตรัมพบว่า การคำนวณจากสเปกตรัม original ให้ผลการคัดแยกที่ถูกต้อง 95% แสดงผลดังตารางที่ 5 และรูปที่ 8

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณ **ส่วนปลาย** ได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	9/10	10/10	19/20 (95%)
Second derivative	6/10	10/10	16/20 (80%)
MSC	9/10	9/10	18/20 (90%)
MSC+Second derivative	7/10	7/10	14/20 (70%)



รูปที่ 8 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม original จากการวัดแสง **ส่วนปลาย** ของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) (● กระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

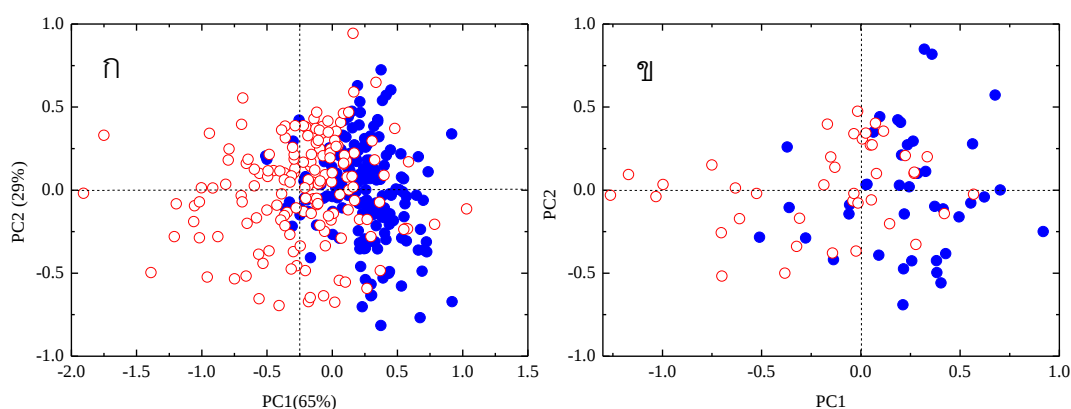
3.1.2 การคำนวณการคัดแยกการฝังตัวของหนอนโดยรวม

นำสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในแต่ละส่วนของกระเจี๊ยบมาคำนวณรวมกันเพื่อสร้างสมการการคัดแยกโดยรวม โดยแบ่งออกเป็นสมการรวมจากการวัดสเปกตรัมบริเวณส่วนหัวรวมกับส่วนกลางของผักกระเจี๊ยบ และสมการคัดแยกรวมจากการวัดแสงจากทุกส่วน โดยพบว่าการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี

MSC ให้ผลการตัดแยกที่ถูกต้องในการวิเคราะห์การตัดแยก แสดงดังตารางที่ 6 และ 7 และ score plot แสดงผลการตัดแยกดังรูปที่ 9 และ 10 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการตัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงรวม บริเวณ**ส่วนหัวรวมกับส่วนกลาง**ได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

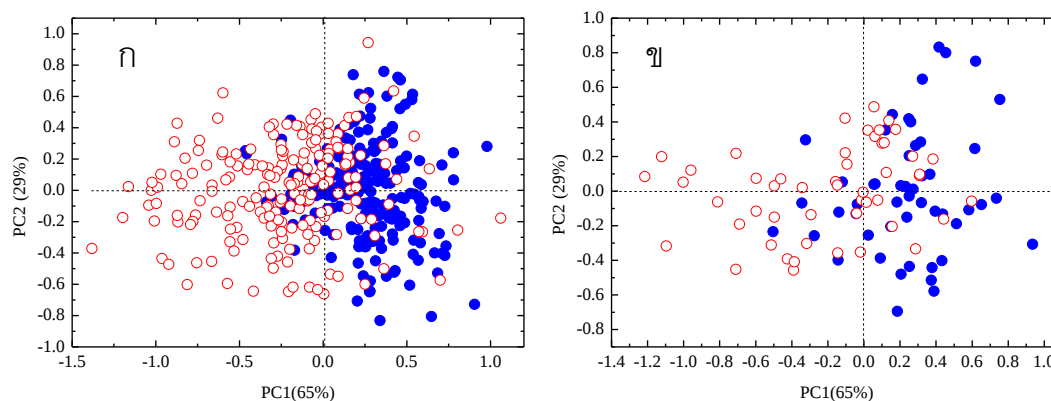
Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	23/40	30/40	53/80 (66.25%)
Second derivative	20/40	26/40	46/80 (57.5%)
MSC	24/40	33/40	57/80 (77.25%)
MSC+Second derivative	18/40	27/40	45/80 (56.25%)



รูปที่ 9 แสดง score plot ของสมการการตัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม MSC จากการวัดแสงส่วนหัวและส่วนกลางของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) (● กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจียบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนผักกระเจียวเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงรวมทุกส่วน ได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	30/50	38/50	68/100 (68%)
Second derivative	35/50	38/50	61/100 (61%)
MSC	31/50	41/50	72/100 (72%)
MSC + Second derivative	23/50	34/50	57/100 (57%)



รูปที่ 10 แสดง score plot ของสมการการคัดแยกด้วยวิธี PCA(PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม MSC จากการวัดแสงรวมทุกส่วนของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) (● กระเจียวเขียวที่ไม่มีหนอน
○ กระเจียวเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายถูกต้องเมื่อคัดแยกด้วยสมการ PCA เทียบกับการผ่าตรวจสอบในการสังเกต

Parts	Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
		Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Head	Second derivative	13/20	13/20	26/40 (65%)
	MSC	10/20	16/20	26/40 (65%)
Middle	MSC	12/20	17/20	29/40 (72.5%)
Bottom	Original	9/10	10/10	19/20 (95%)
Head+Middle	MSC	24/40	33/40	57/80 (71.25%)
Head+Middle+Bottom	MSC	31/50	41/50	72/100 (72%)

จากการคำนวณคัดแยกสเปกตรัมด้วยวิธี PCA สมการการคัดแยกโดยการวัดแสงส่วนปลายให้ค่าความถูกต้องในการคำนวณมากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนกลางและส่วนหัว ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากจำนวนหนอนที่ฝังตัวบริเวณส่วนท้ายมีปริมาณน้อยทำให้จำนวนสเปกตรัมที่นำมาทดสอบทำนายมีปริมาณน้อย หรืออาจเป็นเพราะขนาดของผักกระเจียบเขียวบริเวณปลายผักมีขนาดเล็กทำให้แสงที่สามารถส่องผ่านถึงหนอนที่อยู่ภายในผักกระเจียบได้ง่ายกว่าทำให้ทำนายได้แม่นยำกว่า เมื่อนำมาคำนวณคัดแยกกลุ่มจากความแตกต่างของสเปกตรัมรวมถึงผักกระเจียบเขียวที่มีหนอนฝังตัวอยู่จะมีลักษณะโค้งและไม่ตรงมากกว่ากระเจียบเขียวที่สมบูรณ์ ส่วนในสมการการคัดแยกรวมทุกส่วนให้ผลดีกว่าสมการรวมเฉพาะบริเวณส่วนหัวและส่วนกลาง

3.2 การคำนวณคัดแยกสเปกตรัมของกระเจียบเขียวด้วยวิธี Partial least square regression discriminant analysis (PLS-DA)

จากการนำข้อมูลสเปกตรัมมาคำนวณเพียงอย่างเดียวด้วยวิธี PCA ทำให้ไม่สามารถคัดแยกได้อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงมีการนำค่าตัวแปรตาม (Y) มาคำนวณเพื่อให้ได้สมการการคัดแยกที่มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น โดยกำหนดค่า Y เท่ากับ 0 ในกลุ่มตัวอย่างกระเจียบไม่มีหนอน และกำหนดให้เท่ากับ 1 ในกลุ่มตัวอย่างกระเจียบมีหนอนฝังตัวอยู่ นอกจากนั้นมีการคำนวณเปรียบเทียบการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ก่อนการสร้างสมการการคัดแยก

3.3.1 การคำนวณการคัดแยกการฝังตัวของหนอนในแต่ละส่วน

เมื่อทดสอบคำนวณสเปกตรัมจากที่วัดได้ในแต่ละส่วนเปรียบเทียบกับจากการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ พบว่า สเปกตรัมที่วัดได้จากส่วนหัวโดยไม่ปรับแต่ง (original) เมื่อนำมาสร้างสมการการคัดแยกให้ค่าความถูกต้องในการทำนายเท่ากับการปรับด้วยวิธี second derivative เท่ากับ 87.5% ดังนั้นจึงพิจารณาในการคัดแยกในระดับกลุ่มพบว่าสมการ second derivative สามารถทำนายกลุ่มที่ไม่มีหนอนได้ถูกต้องทั้งหมดจึงเลือกสมการนี้

เช่นเดียวกับการวัดแสงสเปกตรัมส่วนกลาง การปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี second derivative, MSC และการปรับรวมของ MSC และ second derivative ให้ผลการทำนายคัดแยกได้ถูกต้องโดยรวม 92.5% เท่ากัน แต่จากค่าการคัดแยกพบว่า การปรับสเปกตรัมด้วยวิธี MSC ให้ผลการทำนายกลุ่มตัวอย่างที่ไม่มีหนอนถูกต้องทั้งหมด ดังนั้นใช้การทำนายที่ถูกต้องอย่างน้อย 1 กลุ่มเป็นเกณฑ์ในการเลือกสมการ

การวัดสเปกตรัมส่วนปลายทำนายคัดแยกได้ถูกต้อง 90% โดยการคำนวณจากสเปกตรัม second derivative โดยใช้ 4 แฟกเตอร์ ให้ผลการทำนายกระเจียบกลุ่มที่ไม่มีหนอนถูกต้องทั้งหมด ผลการคำนวณแสดงดังตารางที่ 9, 10 และ 11

ตารางที่ 9 แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมของการวัดแสง **ส่วนหัว** และผลความถูกต้องในการทำนายด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมส่วนหัวจำนวน 200 ตัวอย่าง

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	18	0.945	0.163	0.856	0.309	16/20	19/20	35/40 (87.5%)
Second derivative	12	0.917	0.200	0.799	0.308	15/20	20/20	35/40 (87.5%)
MSC	16	0.943	0.166	0.810	0.304	11/20	20/20	31/40 (77.5%)
MSC+ Second derivative	12	0.920	0.196	0.807	0.303	13/20	20/20	33/40 (82.5%)

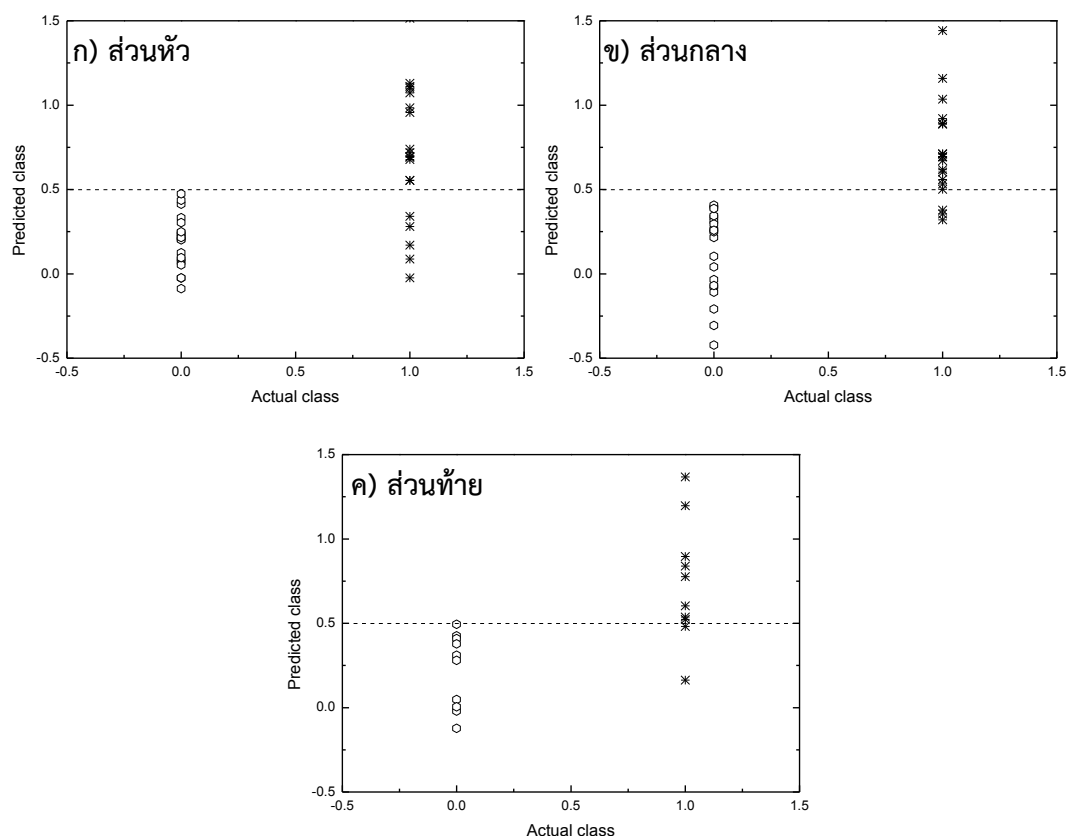
ตารางที่ 10 แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมของการวัดแสง *ส่วนกลาง* และผลความถูกต้องในการทำนายด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมส่วนหัวจำนวน 200 ตัวอย่าง

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	19	0.945	0.164	0.770	0.336	16/20	20/20	36/40 (90%)
Second derivative	15	0.932	0.180	0.794	0.314	18/20	19/20	37/40 (92.5%)
MSC	17	0.942	0.167	0.774	0.331	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
MSC+ Second derivative	15	0.935	0.178	0.795	0.312	18/20	19/20	37/40 (92.5%)

ตารางที่ 11 แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมของการวัดแสง *ส่วนปลาย* และผลความถูกต้องในการทำนายด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมส่วนหัวจำนวน 108 ตัวอย่าง

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	2	0.725	0.344	0.702	0.356	9/10	9/10	18/20 (90%)
Second derivative	4	0.750	0.331	0.705	0.356	8/10	10/10	18/20 (90%)
MSC	4	0.741	0.336	0.698	0.359	7/10	9/10	16/20 (80%)
MSC+ Second derivative	4	0.726	0.344	0.665	0.375	8/10	9/10	17/20 (85%)

จากการเลือกสมการการวัดแสงในส่วนหัว ส่วนกลาง และส่วนปลาย จากตารางที่ 8, 9 และ 10 สามารถนำมาคำนวณความถูกต้องจากค่าที่ทำนายได้และค่าจริงจากการตรวจสอบด้วยสายตาดังรูปที่ 11



รูปที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกำหนดขึ้นโดยให้กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1 และค่าที่ได้จากการทำนายในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ที่วัดได้จากบริเวณส่วนหัว (ก), ส่วนกลาง (ข), และส่วนปลาย (ค)

3.2.2 การคำนวณการคัดแยกการฝังตัวของหนอนรวมแต่ละส่วน

จากการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 12) พบว่า สมการการคัดแยกซึ่งได้จากสเปกตรัมส่วนหัวและส่วนกลางรวมกัน สเปกตรัมทั้งที่เป็นแบบ (original) และเมื่อปรับแต่งแล้วให้ค่าความถูกต้องในการทำนายถูกต้องโดยรวม 88.75% เท่ากันหมดแต่เมื่อพิจารณาถึงความถูกต้องในการทำนายแต่ละกลุ่ม สเปกตรัม original ให้ค่าการทำนายกลุ่มที่ไม่มีหนอนถูกต้องทั้งหมด ดังนั้นจึงใช้สมการนี้ในการทำนายต่อไปในอนาคต

สมการการคัดแยกจากสเปกตรัมรวมทุกส่วน (ตารางที่ 13) สเปกตรัม original และการปรับด้วยวิธี MSC ทำนายพบว่าคัดแยกได้ถูกต้อง 93% เท่ากัน แต่สเปกตรัม MSC ให้ค่า RMSECV ที่ต่ำกว่าและใช้แฟกเตอร์ในการสร้างสมการน้อยกว่า จึงเลือกสมการที่ปรับสเปกตรัมด้วย MSC ในการทำนายคัดแยกต่อไป

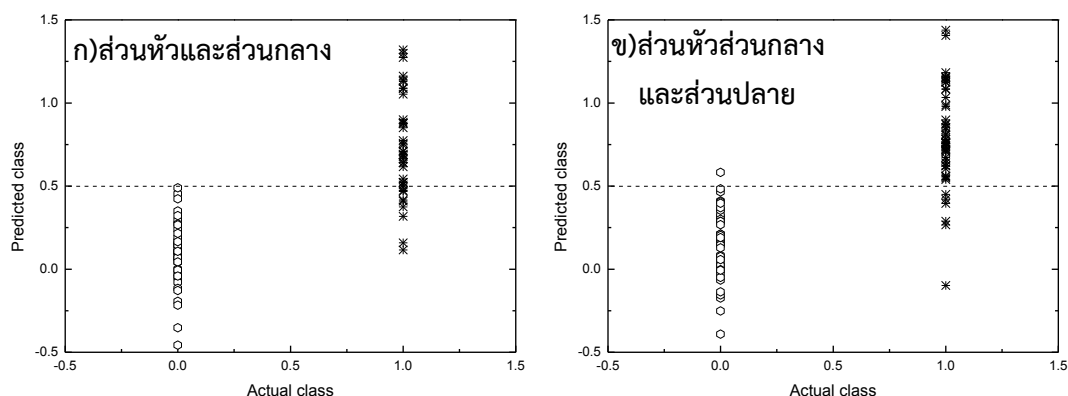
ตารางที่ 12 แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมรวมส่วนหัวและส่วนกลาง

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	18	0.908	0.209	0.825	0.287	31/40	40/40	71/80 (88.75%)
Second derivative	14	0.880	0.237	0.794	0.308	33/40	38/40	71/80 (88.75%)
MSC	17	0.916	0.201	0.836	0.279	32/40	39/40	71/80 (88.75%)
MSC+Second derivative	13	0.887	0.230	0.814	0.294	32/40	39/40	71/80 (88.75%)

ตารางที่ 13 แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกเมื่อปรับปรุงสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ของสเปกตรัมรวมส่วนหัวส่วนกลางและส่วนปลาย

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	17	0.865	0.250	0.772	0.321	44/50	49/50	93/100 (93%)
Second derivative	14	0.848	0.265	0.768	0.324	44/50	48/50	92/100 (92%)
MSC	16	0.878	0.240	0.793	0.308	44/50	49/50	93/100 (93%)
MSC+ Second derivative	14	0.853	0.260	0.777	0.318	44/50	47/50	91/100 (91%)

จากการเลือกสมการการวัดแสงในส่วนหัว ส่วนกลาง รวมกัน และรวมทุกส่วน จากตารางที่ 12, 13 สามารถนำมา plot เปรียบเทียบค่าที่ทำนายได้และค่าจริงจากการดูด้วยสายตาตั้งรูปที่ 12



รูปที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกำหนดขึ้นโดยให้กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1 และค่าที่ได้จากการทำนายในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ที่วัดได้จากบริเวณส่วนหัวรวมกับส่วนปลาย (ก) และทุกส่วนรวมกัน(ข)

ตารางที่ 14 แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกคำนวณด้วยวิธี PLS-DA ของการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงส่วนต่างๆ

Part	Pretreated spectra	PC	Calibration		Correct classification (Prediction)		
			R	RMSEC	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Head	Second derivative	12	0.917	0.200	15/20	20/20	35/40 (87.5%)
Middle	MSC	17	0.942	0.167	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
Bottom	Second derivative	4	0.750	0.331	8/10	10/10	18/20 (90%)
Head + Middle	Original	18	0.908	0.209	31/40	40/40	71/80 (88.75%)
Head+ iddle+ Bottom	MSC	16	0.878	0.240	44/50	49/50	93/100 (93%)

จากสมการการคัดแยกด้วยวิธี PLS-DA สมการการคัดแยกส่วนกลางให้ผลการทำนายที่แม่นยำที่สุด ซึ่งแตกต่างจากการคำนวณด้วยวิธี PCA แต่จะเห็นได้ว่า สมการ PLS-DA ใช้จำนวนแฟกเตอร์ในการคำนวณมากกว่าส่งผลให้สมการสามารถทำนายได้ถูกต้องมากกว่า ยกเว้นในกรณีที่สเปกตรัมมี

ความแตกต่างกันอย่างเด่นชัดอยู่แล้วเช่น สเปกตรัมการวัดแสงส่วนปลายของกระเจี๊ยบที่มีหนอน จึงใช้
4 แฟกเตอร์ในการคำนวณ ส่วนในสมการการตัดแยกรวมทุกส่วนให้ผลดีกว่าสมการรวมเฉพาะส่วนหัว
และส่วนกลางนอกจากนั้นการคำนวณด้วยวิธี PLS-DA ให้ผลการทำนายที่ถูกต้องมากกว่าวิธี PCA

กิจกรรมที่ 4 : ศึกษาการคัดแยกด้วยระบบ interactance ในกระเจี๊ยบเขียว

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 ตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวจำนวน 520 ตัวอย่าง

1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1.2.1 งานเตรียมตัวอย่าง

- ถูชุปใส่ตัวอย่าง
- ตูเย็น
- เครื่องชั่งวิเคราะห์อย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (TB214 ของ Denver instrument, USA)
- ฟรอยด์อะลูมิเนียม
- มีด เขียง
- ตู้อบลมร้อน
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Thomas Kagaku Co. Ltd., Japan)

1.2.2 งานเก็บข้อมูลสเปกตรัมเนียร์อินฟราเรด

- เครื่อง Near Infrared ในช่วงคลื่นสั้นในช่วงความยาวคลื่น 665-955 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง NIRs วัดด้วยระบบ interactance (Purespect, Saika, Japan)

1.2.3 เครื่องมือที่ใช้คำนวณและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- The Unscrambler version 9.8 (CAMO, Norway)

2. วิธีการวิจัย

2.1 นำตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวทั้งหมด 520 ตัวอย่าง โดยการวัดแต่ละครั้งมาควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส การวัดแบ่งกระเจี๊ยบเขียวโดยทำการแบ่งตัวอย่างและวัดเช่นเดียวกับการวัดด้วยระบบ transmittance mode โดยออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว (Head) กำหนดให้อยู่ในระยาระหว่าง 2-3 เซนติเมตร เมื่อวัดจากขั้ว, ส่วนกลาง (Middle) ระยาระหว่าง 4-5 เซนติเมตร, ส่วนปลาย (Bottom) ระยาระหว่าง 6-7 เซนติเมตร ในแต่ละส่วนวัดสเปกตรัมทั้ง 5 ด้านของดอกกระเจี๊ยบเขียว

2.2 ศึกษาการวัดแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer PureSpect

นำตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียววัดแบบ interactance mode โดยวัดในช่วง ความยาวคลื่น 665-955 nm และทำการปรับตำแหน่ง detector กับ light source ในการทดลองนี้จะวัดแสงโดยให้แสงออกจากไฟเบอร์ออปติกด้านบนส่องผ่านผลกระเจี๊ยบเขียวให้ detector อยู่ด้านล่างเพื่อรับแสงให้ light source และ detector ทำมุมต่อกัน 60 องศา วัดในลักษณะ interactance mode โดยวัดทั้งห้าด้านของกระเจี๊ยบเขียวแต่ละส่วน แล้วนำมาเฉลี่ยเป็น 1 สเปกตรัม จากนั้นนำกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการวัดแสงแล้วมาผ่าเพื่อตรวจสอบหนอนที่มีอยู่ในกระเจี๊ยบเขียวแต่ละจุด

2.3 ทำการวัดขนาด ชั่งน้ำหนัก และถ่ายรูปตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียว หลังจากนั้นมาผ่าออกเพื่อตรวจสอบหนอนที่ฝังตัวอยู่ในกระเจี๊ยบเขียว และจำแนกว่ามีหนอนอยู่ในส่วนใดของฝักกระเจี๊ยบเขียว

2.4 การคำนวณและสร้างสมการ

การคำนวณและสร้างสมการใช้วิธีเดียวกับการวัดด้วยวิธี temistance ได้แก่

2.4.1 การปรับแต่งสเปกตรัม (spectral pretreatment)

เนื่องจากผักกระเจียบมีลักษณะที่โค้งงอไม่เหมือนกันรวมถึงมีเหลี่ยมและมุมซึ่งอาจส่งผลต่อการวัดแสง ดังนั้นจึงต้องมีการคำนวณเพื่อปรับ spectra ก่อนนำมาคำนวณสมการเปรียบเทียบ

1) original spectra : เป็นการนำ intensity ของแสงมาคำนวณเป็น absorbance แล้วนำมาคำนวณโดยตรง

2) second derivative spectra : เป็นการนำ spectral absorbance ที่ได้มีคำนวณโดยใช้วิธี second derive ative แบบ savitzky golay

3) multiplicative scattering correction (MSC) : เป็นการนำ absorbance มาคำนวณ MSC เพื่อลดผลกระทบของการกระเจิงแสง

4) การใช้วิธี multiplicative scattering correction (MSC) ร่วมกับ second derivative spectra โดยนำค่า absorbance มาคำนวณค่าโดย MSC เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นจึงนำมาคำนวณด้วย second derivative spectra อีกครั้ง

2.4.2 นำมาคำนวณการตัดแยกด้วยวิธี principal component analysis (PCA)

และวิธี partial least square discriminant analysis (PLS-DA) เพื่อทดสอบความเป็นไปได้ในการตัดแยก โดยกำหนดให้สเปกตรัมของกระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และสเปกตรัมของกระเจียบเขียวที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1 โดยการประเมินสมการจะใช้แบบ full-cross validation method

3. ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ตัวอย่างกระเจียบเขียวทั้งหมด ได้รับจากบริษัทส่งออกกระเจียบเขียว โดยเบื้องต้นได้ทำการตัดแยกโดยผู้ชำนาญในการตัดแยกด้วยตาเปล่า แต่พบว่ายังคลาดเคลื่อนค่อนข้างมากจากลักษณะทางกายภาพ พบว่า กระเจียบเขียวไม่มีหนอนมีรูปร่างค่อนข้างตรงกว่ากระเจียบเขียวที่มีหนอน ในกิจกรรมนี้ใช้กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนจำนวน 260 ฟัก และมีหนอน จำนวน 260 ฟัก รวมทั้งหมด 520 ฟัก โดยมีน้ำหนักของผักกระเจียบเขียวอยู่ประมาณ 5.28-17.56 กรัมความยาวประมาณ 10 cm โดยแบ่งกระเจียบเขียวออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่

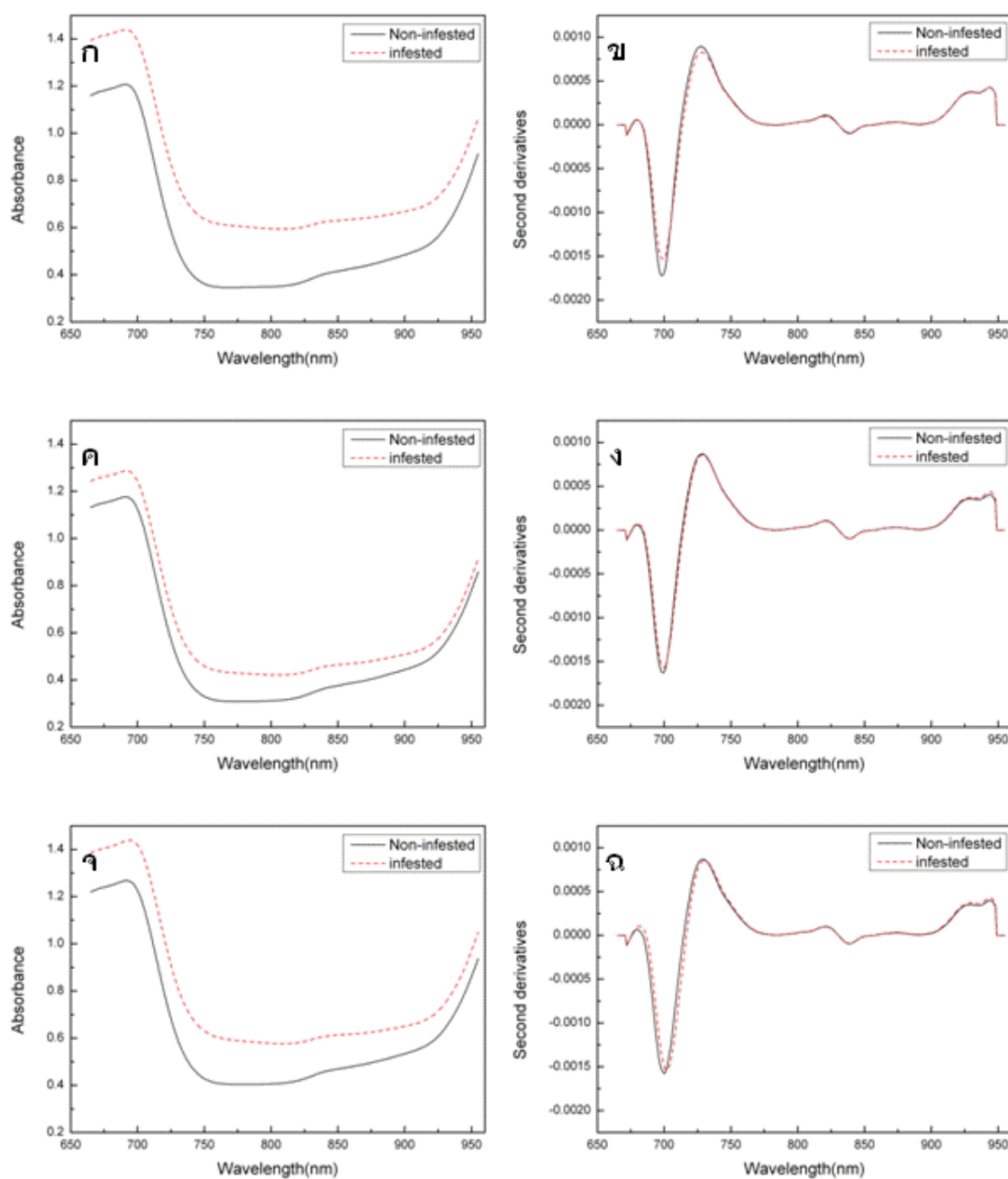
1) กลุ่มสร้างสมการ (calibration set) จำนวน 420 ฟัก โดยแบ่งการวิเคราะห์ตามบริเวณที่พบหนอน โดยแบ่งออกเป็น 3 ส่วน

- ส่วนหัวจำนวน 160 ฟัก : ไม่มีหนอน 80 ฟัก และมีหนอน 80 ฟัก
- ส่วนกลาง จำนวน 160 ฟัก : ไม่มีหนอน 80 ฟัก และมีหนอน 80 ฟัก
- ส่วนปลาย จำนวน 100 ฟัก : ไม่มีหนอน 50 ฟัก และมีหนอน 50 ฟัก

2) กลุ่มทำนาย (prediction set) จำนวน 100 ผัก

- ส่วนหัว จำนวน 40 ผัก : ไม่มีหนอน 20 ผัก และมีหนอน 20 ผัก
- ส่วนกลาง จำนวน 40 ผัก : ไม่มีหนอน 20 ผัก และมีหนอน 20 ผัก
- ส่วนปลาย จำนวน 20 ผัก : ไม่มีหนอน 10 ผัก และมีหนอน 10 ผัก

จากสเปกตรัมเฉลี่ยของแสงที่วัดได้ในแต่ละจุดของกระเจี๊ยบเขียวที่มาเปรียบเทียบ จะเห็นได้ว่าลักษณะ baseline ของกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนฝังตัวอยู่ มีลักษณะสูงกว่ากระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน และจากสเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative spectra) มีความแตกต่างกันเล็กน้อยเท่านั้น แสดงดังรูปที่ 13 จากการผ่าตรวจสอบพบว่า กระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนฝังตัวอยู่ส่วนปลายมีจำนวนน้อยกว่าการฝังตัวในส่วนอื่น



รูปที่ 13 แสดงสเปกตรัมเฉลี่ย absorbance และ second derivative Spectra ของตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนและไม่มีหนอนจากที่วัดได้ในแต่ละส่วน ส่วนหัว (ก,ข),(ค,ง) และส่วนปลาย (จ,ฉ) ตามลำดับ

3.1 การคำนวณคัดแยกสเปกตรัมของกระเจี๊ยบเขียวด้วยวิธี Principal component analysis (PCA)

3.1.1 การคำนวณการคัดแยกการฝังตัวของหนอนในแต่ละส่วน

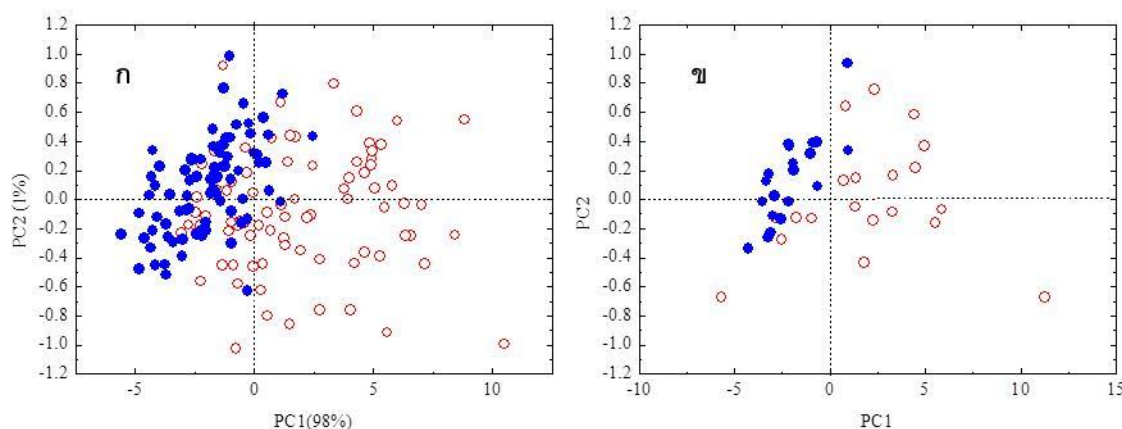
ส่วนหัว

นำสเปกตรัมมาคำนวณด้วยวิธี PCA เพื่อคัดแยกความแตกต่างของสเปกตรัมของกระเจี๊ยบเขียวเบื้องต้น โดยแบ่งการวัดแสงเป็นส่วนๆ จากการวัดแสงบริเวณส่วนหัวของกระเจี๊ยบเขียว การแยกกลุ่มของสเปกตรัมค่อนข้างชัดเจน และเมื่อนำมาทดสอบทำนายค่าการคัดแยกแสดงผลดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการคัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนหัวได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Spectral Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	15/20	18/20	33/40 (82.5%)
Second derivative	13/20	16/20	29/40 (72.5%)
MSC	11/20	20/20	31/40 (80%)
MSC+Second derivative	10/20	18/20	28/40 (70%)

สเปกตรัมที่ไม่ปรับแต่ง ก่อนคำนวณสมการ PCA ให้ค่าการทำนายที่ถูกต้องที่สุดเท่ากับ 82.5% score plot ของสมการและของกลุ่มทำนาย แสดงดังรูปที่ 14 ในการคำนวณความถูกต้องในการทำนาย กำหนดให้ PC1 เป็นแฟกเตอร์สำคัญในการคัดแยก กำหนดให้ค่า PC1 จากที่ทำนายได้มีค่ามากกว่า 0 เป็นกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนฝังตัวอยู่ และกรณี PC1 น้อยกว่า 0 เป็นกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน และสามารถคำนวณความถูกต้องการทำนายเทียบกับค่าจริงจากการผ่าตรวจสอบได้



รูปที่ 14 แสดง score plot ของสมการการตัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของ Original Spectra จากการวัดแสงส่วนหัว ของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) เปรียบเทียบกับการสังเกตด้วยตา (● กระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

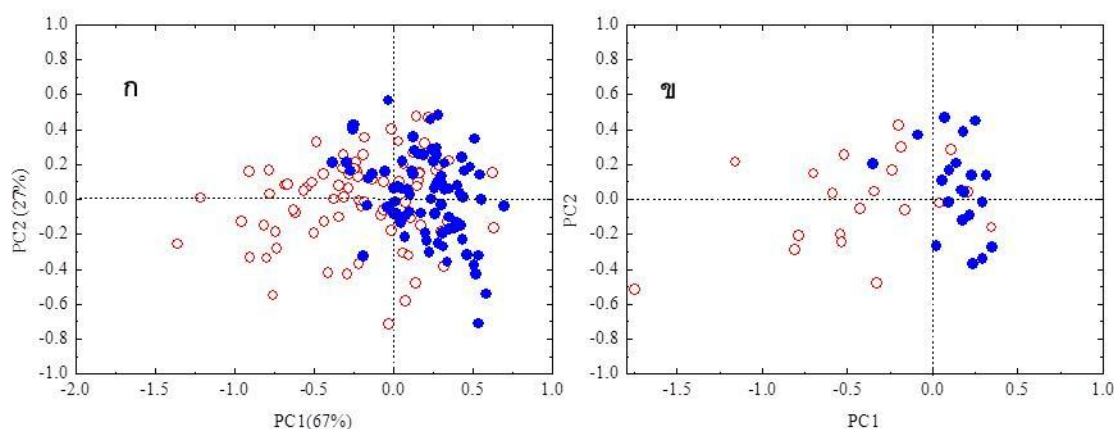
ส่วนกลาง

เมื่อนำสเปกตรัมที่วัดได้จากการดูดกลืนแสงส่วนกลางของกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนมาคำนวณเปรียบเทียบกับกระเจี๊ยบที่มีหนอนฝั่งตัวอยู่บริเวณกลางฝักของกระเจี๊ยบโดยการคำนวณด้วยวิธี PCA พบว่า การปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี MSC การแยกกลุ่มของสเปกตรัมค่อนข้างชัดเจน และตัดแยกได้ถูกต้องเท่ากับ 85 % กราฟเมื่อนำมาปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการคำนวณตัดแยกให้ค่าความถูกต้องดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงจำนวนฝักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายการตัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณส่วนกลางได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Spectral Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	12/20	20/20	32/40 (80%)
Second derivative	13/20	18/20	31/40 (77.5%)
MSC	16/20	18/20	34/40 (85%)
MSC+Second derivative	17/20	16/20	33/40 (82.5%)

สเปกตรัมที่ผ่านการปรับด้วยวิธี MSC ก่อนคำนวณสมการ PCA ใช้ PC1 ในการคำนวณค่า ผลจากค่าทำนายได้มีค่ามากกว่า 0 เป็นกระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนฝังตัวอยู่ และกรณี PC1 น้อยกว่า 0 เป็นกระเจียบเขียวที่มีหนอน และเมื่อนำมาตรวจสอบให้ค่าการทำนายที่ถูกต้องเท่ากับ 85% score plot ของสมการและของกลุ่มทำนาย แสดงดังรูปที่ 15



รูปที่ 15 แสดง score plot ของสมการการตัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธี MSC จากการวัดแสงส่วนกลาง ของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) (● กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจียบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

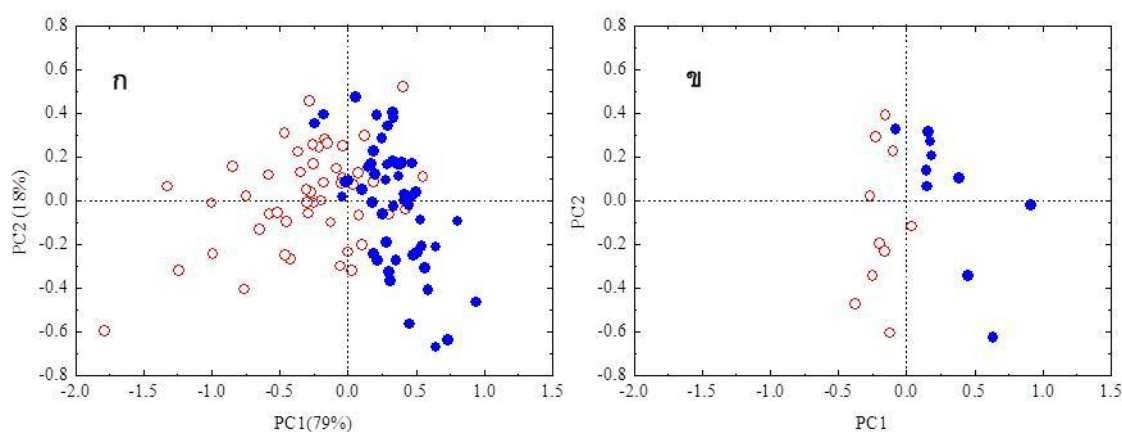
ส่วนปลาย

จากการทดสอบพบกระเจียบที่มีหนอนฝังตัวอยู่ด้านปลายเป็นจำนวนน้อย ดังนั้นในการวิเคราะห์ในส่วนนี้จึงมีสเปกตรัมที่นำมาสร้างสมการน้อยกว่าส่วนอื่น จากการคำนวณด้วยวิธี PCA เพื่อตัดแยกกลุ่มสเปกตรัมพบว่า การคำนวณจากสเปกตรัมด้วยวิธี MSC ให้ผลการตัดแยกที่ถูกต้อง 90% ดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการตัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณ ส่วนปลาย ได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Spectral Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	6/10	7/10	13/20 (65%)
Second derivative	6/10	7/10	13/20 (65%)
MSC	9/10	9/10	18/20 (90%)
MSC+Second derivative	7/10	7/10	14/20 (70%)

score plot ของสมการและของกลุ่มทำนาย แสดงดังรูปที่ 16 โดยใช้ PC1 ในการตัดแยก ผลจากค่าทำนายได้มีค่ามากกว่า 0 เป็นกระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนฝังตัวอยู่ และกรณี PC1 น้อยกว่า 0 เป็นกระเจียบเขียวที่มีหนอน



รูปที่ 16 แสดง score plot ของสมการการตัดแยกด้วยวิธี PCA(PC1 และ PC2) ของสเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธี MSC จากการวัดแสงส่วนปลาย ของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) (● กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจียบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

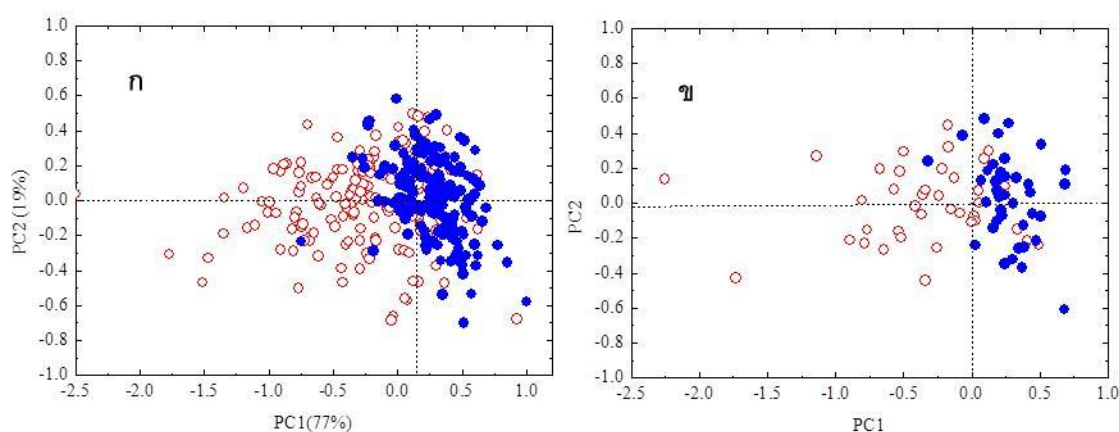
3.1.2 การคำนวณการตัดแยกการฝังตัวของหนอนโดยรวม

นำสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในแต่ละส่วนของกระเจียบมาคำนวณรวมกันเพื่อสร้างสมการการตัดแยกโดยรวม โดยแบ่งออกเป็นสมการรวมจากการวัดสเปกตรัมบริเวณส่วนหัวรวมกับส่วนกลางของผักกระเจียบเขียว และสมการตัดแยกรวมจากการวัดแสงจากทุกส่วน โดยพบว่าการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี MSC ให้ผลการตัดแยกที่ถูกต้องในการวิเคราะห์การตัดแยก แสดงดังตารางที่ 18 และ 19

ตารางที่ 18 แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการตัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงบริเวณ **ส่วนหัวและส่วนกลาง** ได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Spectral Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	22/40	32/40	54/80 (67.5%)
Second derivative	28/40	28/40	56/80 (70%)
MSC	28/40	32/40	60/80 (75%)
MSC+Second derivative	26/40	30/40	56/40 (70%)

score plot ของสมการและของกลุ่มทำนาย แสดงดังรูปที่ 17 โดยใช้ PC1 ในการตัดแยก ผลจากค่าทำนายได้มีค่ามากกว่า 0 เป็นกระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนฝังตัวอยู่ และกรณี PC1 น้อยกว่า 0 เป็นกระเจียบเขียวที่มีหนอน จากการทำนายตัดแยกมีความถูกต้อง 75%

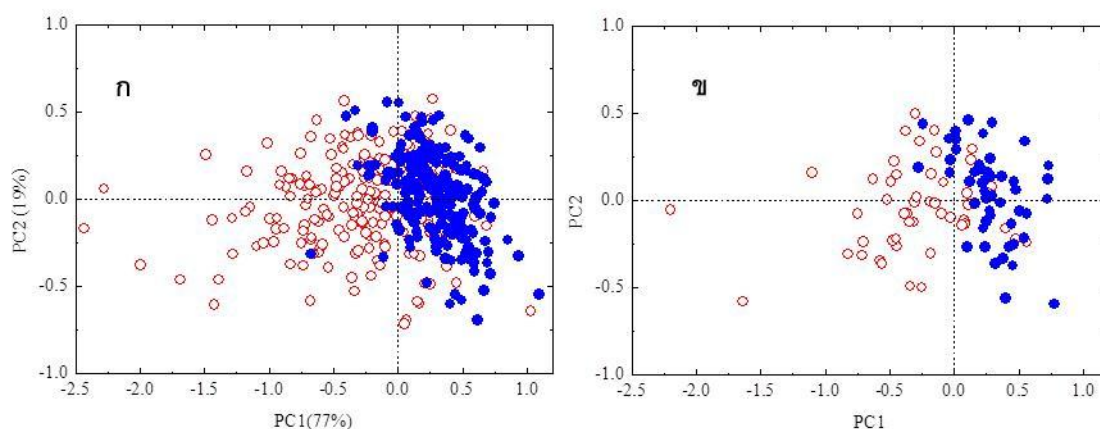


รูปที่ 17 แสดง score plot ของสมการการตัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม MSC จากการวัดแสงส่วนหัวและส่วนกลางของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) (● กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจียบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

จากนั้นนำสเปกตรัมที่วัดได้จากทุกส่วนมาคำนวณรวมกันเพื่อสร้างสมการทำนายการตัดแยกแบบรวม พบว่าสเปกตรัมที่ผ่านการคำนวณด้วยวิธี MSC ให้ผลการทำนายตัดแยกที่แม่นยำที่สุดได้ถูกต้อง 82% แสดงผลดังตารางที่ 19 และ score plot รูปที่ 18

ตารางที่ 19 แสดงจำนวนผักกระเจียบเขียวที่ทำนายการตัดแยกด้วยสมการ PCA จากการวัดแสงรวมทุกส่วน ได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับการผ่าตรวจสอบภายใน

Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	30/50	39/50	69/100 (69%)
Second derivative	35/50	38/50	73/100 (73%)
MSC	37/50	45/50	82/100 (82%)
MSC+Second derivative	34/50	36/50	70/100 (70%)



รูปที่ 18 แสดง score plot ของสมการการตัดแยกด้วยวิธี PCA (PC1 และ PC2) ของสเปกตรัม MSC จากการวัดแสงรวมทุกส่วนของกลุ่มสมการ (ก) และกลุ่มทำนาย (ข) (● กระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอน ○ กระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอน ที่ตรวจสอบจากการผ่าพิสูจน์)

จากการคำนวณด้วยการวัดแสงแบบ interactance mode การวัดส่วนทำให้สมการการตัดแยกที่แม่นยำที่สุดเช่นเดียวกับการวัดแสงแบบ transmittance mode รองมาเป็นส่วนกลางและส่วนหัวตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 แสดงจำนวนผักกระเจี๊ยบเขียวที่ทำนายถูกต้องเมื่อตัดแยกด้วยสมการ PCA เทียบกับการผ่าตรวจสอบในการสังเกต

Parts	Pretreatment	Correct classification (Prediction)		
		Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Head	Original	15/20	18/20	33/40 (82.5%)
Middle	MSC	16/20	18/20	34/40 (85%)
Bottom	MSC	9/10	9/10	18/20 (90%)
Head+Middle	MSC	28/40	32/40	60/80 (75%)
Head+Middle+Bottom	MSC	37/50	45/50	82/100 (82%)

จากการคำนวณตัดแยกสเปกตรัมด้วยวิธี PCA สมการการตัดแยกโดยการวัดแสงส่วนปลายให้ค่าความถูกต้องในการคำนวณมากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนกลางและส่วนหัวตามลำดับ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการคำนวณด้วยวิธี PCA วัดแสงแบบ transmittance

3.2 การคำนวณคัดแยกสเปกตรัมของกระเจี๊ยบเขียวด้วยวิธี Partial least square regression discriminant analysis (PLS-DA)

จากการนำข้อมูลสเปกตรัมมาคำนวณเพียงอย่างเดียวด้วยวิธี PCA ทำให้ไม่สามารถคัดแยกได้อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงมีการนำค่าตัวแปรตาม (Y) มาคำนวณเพื่อให้ได้สมการการคัดแยกที่มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น โดยกำหนดค่า Y เท่ากับ 0 ในกลุ่มตัวอย่างกระเจี๊ยบไม่มีหนอน และกำหนดให้เท่ากับ 1 ในกลุ่มตัวอย่างกระเจี๊ยบมีหนอนฝังตัวอยู่ นอกจากนั้นมีการคำนวณเปรียบเทียบการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ ก่อนการสร้างสมการการคัดแยก

3.2.1 การคำนวณการคัดแยกการฝังตัวของหนอนในแต่ละส่วน

เมื่อทดสอบคำนวณสเปกตรัมจากที่วัดได้ในแต่ละส่วนเปรียบเทียบกับจากการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ พบว่า สเปกตรัมที่วัดได้จากส่วนหัวการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี MSC ให้ผลการทำนายคัดแยกได้ถูกต้องโดยรวม 92.5% ผลการคำนวณแสดงดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอนโดยคำนวณจากสเปกตรัม *ส่วนหัว* ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-955 nm

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	4	0.705	0.355	0.669	0.371	14/20	20/20	34/40 (85%)
Second derivative	10	0.841	0.270	0.652	0.396	16/20	19/20	35/40 (87.5%)
MSC	3	0.665	0.373	0.628	0.398	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
MSC+Second derivative	7	0.753	0.329	0.642	0.390	15/20	19/20	34/40 (85%)

สเปกตรัมที่วัดได้จากส่วนกลางเมื่อนำมาคำนวณเปรียบเทียบพบว่าสร้างสมการการคัดแยกให้ค่าความถูกต้องในการทำนายเท่ากันทั้ง 4 แบบ เท่ากับ 92.5% ทั้งนี้เลือกใช้วิธี MSC เนื่องจากมีค่าความคลาดเคลื่อนในประเมินต่ำกว่าเล็กน้อย (0.375) และสมการมีค่า R สูงกว่า (0.695) ผลการคำนวณแสดงดังตารางที่ 22

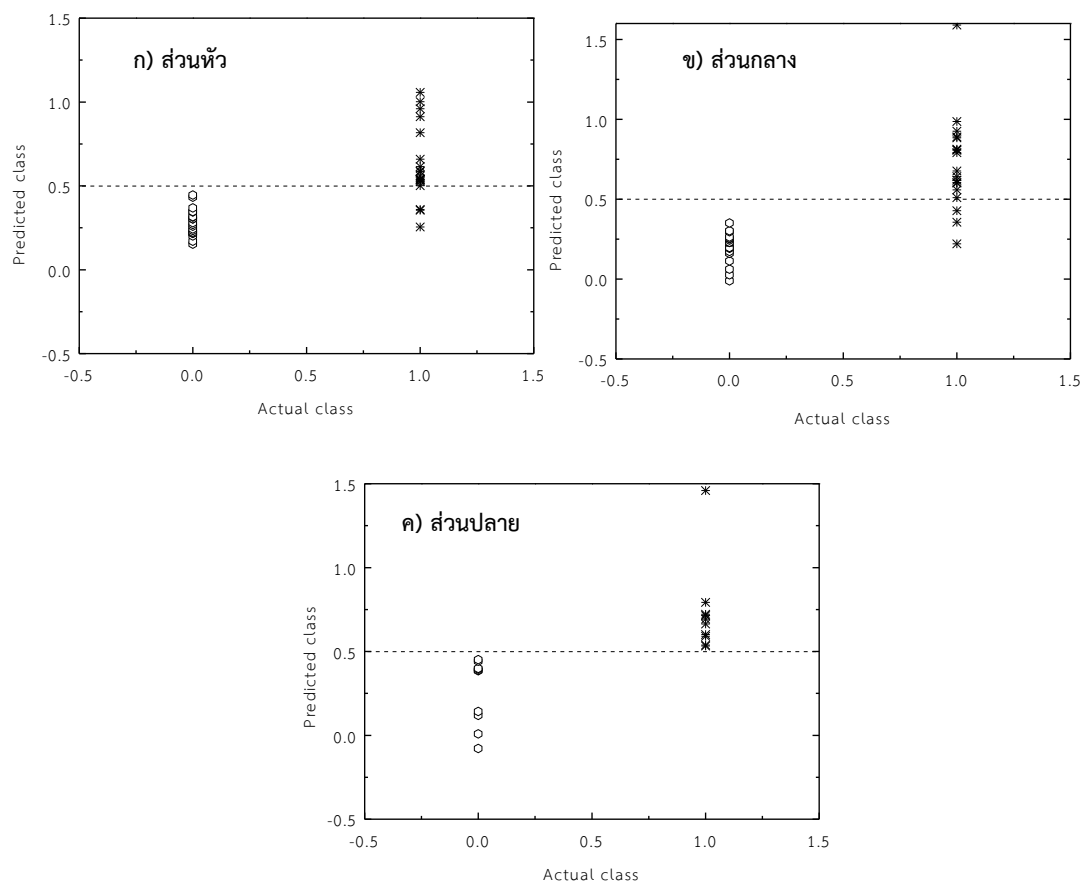
ตารางที่ 22 แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอน ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-955 nm โดยคำนวณจากสเปกตรัม *ส่วนกลาง*

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	3	0.687	0.364	0.661	0.376	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
Second derivative	6	0.668	0.372	0.615	0.397	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
MSC	4	0.695	0.360	0.664	0.375	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
MSC+Second derivative	6	0.708	0.353	0.634	0.389	17/20	20/20	37/40 (92.5%)

การวัดสเปกตรัมส่วนปลายทำนายคัดแยกได้ถูกต้อง 100% โดยการคำนวณจากสเปกตรัม MSC โดยใช้ 6 แฟกเตอร์ ให้ผลการทำนายกระเจี๊ยบกลุ่มที่ไม่มีหนอนถูกต้องทั้งหมด ผลการคำนวณแสดงดังตารางที่ 23 และผลการทำนายการคัดแยกของแต่ละส่วนแสดงดังรูปที่ 19

ตารางที่ 23 แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอน ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-955 nm โดยคำนวณจากสเปกตรัม*ส่วนปลาย*

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	9	0.747	0.332	0.650	0.387	10/10	10/10	20/20 (100%)
Second derivative	3	0.640	0.384	0.569	0.415	8/10	7/10	15/20 (75%)
MSC	6	0.725	0.344	0.649	0.385	10/10	10/10	20/20 (100%)
MSC+Second derivative	8	0.840	0.271	0.654	0.394	10/10	8/10	18/20 (90%)



รูปที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกำหนดขึ้นโดยให้กระเจียบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1 และค่าที่ได้จากการทำนายในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ที่วัดได้จากบริเวณส่วนหัว (ก), ส่วนกลาง (ข), และส่วนปลาย (ค)

3.2.2 การคำนวณการคัดแยกการฝังตัวของหนอนรวมแต่ละส่วน

จากการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 24) พบว่า สมการการคัดแยกซึ่งได้จากสเปกตรัมส่วนหัวและส่วนกลางรวมกัน สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี MSC ทำนายพบว่าคัดแยกได้ถูกต้อง 92.5 %

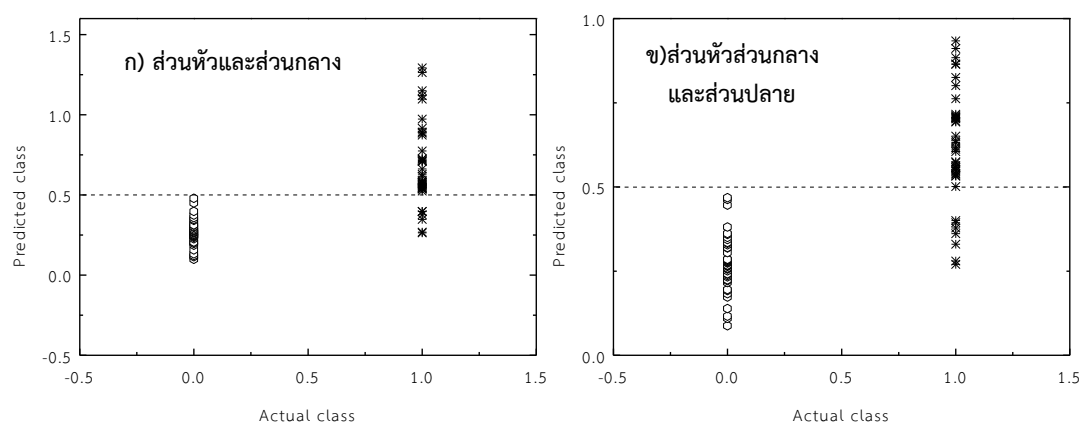
สมการการคัดแยกจากสเปกตรัมรวมทุกส่วน (ตารางที่ 25) สเปกตรัมที่ปรับด้วยวิธี MSC ทำนายพบว่าคัดแยกได้ถูกต้อง 93 % ผลการทำนายแสดงดังรูปที่ 20

ตารางที่ 24 แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอน ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-960 nm โดยคำนวณจากสเปกตรัม **ส่วนหัวและส่วนกลาง**

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	4	0.679	0.367	0.660	0.375	40/40	31/40	71/80 (88.75%)
Second derivative	6	0.650	0.380	0.605	0.399	31/40	38/40	69/80 (86.25%)
MSC	3	0.657	0.377	0.639	0.385	34/40	40/40	74/80 (92.5%)
MSC+ Second derivative	6	0.686	0.364	0.641	0.385	32/40	40/40	72/80 (90%)

ตารางที่ 25 แสดงผลทางสถิติของสมการการคัดแยกกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนและกระเจี๊ยบที่มีหนอน ใช้การคำนวณแบบ PLS-DA ในช่วงความยาวคลื่น 665-955 nm โดยคำนวณจากสเปกตรัม **รวมทุกส่วน**

Pretreatments	PC	Calibration		Full Cross Validation		Correct classification (Prediction)		
		R	RMSEC	R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Original	4	0.673	0.370	0.660	0.376	39/50	50/50	89/100 (89%)
Second derivative	9	0.716	0.349	0.628	0.392	40/50	46/50	86/100 (86%)
MSC	3	0.654	0.378	0.641	0.384	43/50	50/50	93/100 (93%)
MSC+Second derivative	6	0.681	0.366	0.644	0.383	42/50	48/50	90/100 (90%)



รูปที่ 20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกำหนดขึ้นโดยให้กระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1 และค่าที่ได้จากการทำนายในสเปกตรัมการดูดกลืนแสง NIR ที่วัดได้จากบริเวณส่วนหัวและส่วนกลาง (ก) และ ทั้งสามส่วนรวมกัน (ข)

จากสมการการคัดแยกด้วยวิธี PLS-DA สมการการคัดแยกให้ผลการทำนายที่แม่นยำกว่าการคำนวณด้วยวิธี PCA ในกลุ่มตัวอย่างเดียวกันทุกกลุ่ม การวัดแสงในส่วนปลายซึ่งให้ความถูกต้องที่สุด 100% รองลงมาคือการวัดแสงในส่วนกลางและส่วนหัวให้ความถูกต้อง 92.5% ส่วนการคำนวณรวมกันทั้งหมดให้ผลการคัดแยกเท่ากับ 93% ดังตารางที่ 26

ตารางที่ 26 แสดงผลทางสถิติของสมการการแยกคำนวณด้วยวิธี PLS-DA ของการวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงส่วนต่างๆ

Part	Pretreated spectra	PC	Calibration		Correct classification (Prediction)		
			R	RMSECV	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy
Head	MSC	3	0.665	0.373	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
Middle	MSC	4	0.695	0.360	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
Bottom	MSC	6	0.725	0.344	10/10	10/10	20/20 (100%)
Head + Middle	MSC	3	0.657	0.377	34/40	40/40	74/80 (92.5%)
Head+ Middle+ Bottom	MSC	3	0.654	0.378	43/50	50/50	93/100 (93%)

3.3 การเปรียบเทียบการคัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนอยู่ภายในจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงเหนืออินฟราเรดระบบ transmittance และ interactance

เมื่อเปรียบเทียบการคำนวณด้วยวิธี PCA โดยการวัดแสงในทั้งสองระบบ จะเห็นได้ว่า สมการที่คำนวณจากสเปกตรัมแสงที่วัดได้จากระบบ interactance ให้ผลการทำนายที่แม่นยำกว่าระบบ transmittance ยกเว้นในการวัดแสงจากส่วนปลายซึ่งแตกต่างกันเพียง 5% ดังตารางที่ 27 และเมื่อคำนวณด้วยวิธี PLS-DA พบว่าสมการรวมทุกส่วนให้ผลการทำนายการคัดแยกเท่ากัน 93% แต่เมื่อคำนวณคัดแยกแต่ละส่วน การวัดแสงจากระบบ interactance ให้สมการที่แม่นยำกว่า ดังตารางที่ 28 มีความเป็นไปได้ว่าระยะระหว่าง light source และ detector ในระบบ interactance ใกล้กันมากกว่าระบบ transmittance ทำให้ข้อมูลสเปกตรัมที่ได้มีผลกระทบจากปัจจัยอื่นๆ น้อยกว่า เช่น ขนาดของกระเจี๊ยบเขียว เป็นต้น จึงให้สมการที่มีความแม่นยำในการทำนายมากกว่า

ตารางที่ 27 เปรียบเทียบความแม่นยำในการทำนายเมื่อคำนวณด้วยวิธี PCA

Part	Transmittance mode				Interactance mode			
	Spectral pretreatment	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy of prediction	Spectral pretreatment	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy of prediction
Head	Second derivative	13/20	13/20	26/40 (65%)	Original	15/20	18/20	33/40 (82.5%)
	MSC	10/20	16/20	26/40 (65%)				
Middle	MSC	12/20	17/20	29/40 (72.5%)	MSC	16/20	18/20	34/40 (85%)
Bottom	Original	9/10	10/10	19/20 (95%)	MSC	9/10	9/10	18/20 (90%)
Head + Middle	MSC	24/40	33/40	57/80 (71.25%)	MSC	28/40	32/40	60/80 (75%)
Head+ Middle+ Bottom	MSC	31/50	41/50	72/100 (72%)	MSC	37/50	45/50	82/100 (82%)

ตารางที่ 28 เปรียบเทียบความแม่นยำในการทำนายเมื่อคำนวณด้วยวิธี PLS-DA

Part	Transmittance mode				Interactance mode			
	Spectral pretreatment	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy of prediction	Spectral pretreatment	Infested okras	Non-infested okras	Accuracy of prediction
Head	Second derivative	15/20	20/20	35/40 (87.5%)	MSC	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
Middle	MSC	17/20	20/20	37/40 (92.5%)	MSC	17/20	20/20	37/40 (92.5%)
Bottom	Second derivative	8/10	10/10	18/20 (90%)	MSC	10/10	10/10	20/20 (100%)
Head + Middle	Original	31/40	40/40	71/80 (88.75%)	MSC	34/40	40/40	74/80 (92.5%)
Head+ Middle+ Bottom	MSC	44/50	49/50	93/100 (93%)	MSC	43/50	50/50	93/100 (93%)

สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้ มาใช้ในการคัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนแมลงเข้าทำลายอยู่ภายในโดยการศึกษาชนิดของหนอนหนามสะไปนี้ (*Erias vittella*) เป็นหนอนที่พบและฝังตัวอยู่ภายในกระเจี๊ยบเขียว สายพันธุ์ของหนอนที่มีปัญหาต่อระบบการส่งออกอย่างแท้จริง พบว่าเป็นหนอนหนามสะไปนี้ (*Erias vittella*) เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนและไม่มีหนอน เฉพาะส่วน พบปริมาณโปรตีนของกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนและไม่มีหนอนมี ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของหนอนฝังตัวและไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 25.985 และ 19.797 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณไขมันของกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนและไม่มีหนอน มีปริมาณน้ำมันที่สกัดได้แตกต่างกัน แต่ชนิดของกรดไขมันที่พบไม่แตกต่างกัน

การคัดแยกโดยวัดแสงในระบบ transmittance เมื่อคำนวณการคัดแยกด้วยวิธี PCA สมการที่คำนวณจากสเปกตรัมที่วัดได้จากส่วนหัว มีความแม่นยำในการทำนายต่ำที่สุด สามารถคัดแยกได้ถูกต้อง 65% และสมการที่คำนวณจากสเปกตรัมส่วนปลายมีความแม่นยำในการทำนายถูกต้องมากที่สุด 95% การคำนวณวิธี PLS-DA สเปกตรัมที่วัดแสงหัวให้สมการการทำนายแม่นยำน้อยที่สุด 87.5% และจากทุกส่วนรวมกันให้ความแม่นยำมากที่สุดถูกต้อง 93%

การคัดแยกโดยวัดแสงในระบบ interactance คำนวณการคัดแยกสองวิธี ได้แก่ วิธี PCA สมการที่คำนวณจากสเปกตรัมที่วัดได้จากส่วนหัวและส่วนกลาง มีความแม่นยำในการทำนายต่ำที่สุด 75% และสมการที่คำนวณจากสเปกตรัมส่วนปลายมีความแม่นยำในการทำนายถูกต้องมากที่สุด 90% การคำนวณวิธี PLS-DA สเปกตรัมที่วัดแสงหัวและส่วนกลางให้สมการการทำนายถูกต้องเท่ากัน 92.5% และจากส่วนปลายให้ความแม่นยำมากที่สุดถูกต้อง 100%

เมื่อเปรียบเทียบจากระบบการวัดแบบ transmittance และแบบ interactance พบว่าเมื่อนำสเปกตรัมมาคำนวณสมการทำนายการคัดแยกทั้งวิธี PCA การวัดสเปกตรัมแบบวิธี interactance ให้ผลการทำนายการคัดแยกที่ถูกต้องกว่า ส่วนการคำนวณด้วยวิธี และ PLS-DA ให้ผลการคำนวณสเปกตรัมรวมทุกส่วนไม่แตกต่างกันที่ 93% แต่ในการวิเคราะห์แยกส่วนต่างๆ การวัดแบบ interactance ให้สมการที่ใช้ทำนายได้ถูกต้องมากกว่าการวัดด้วยวิธี transmittance และในการวัดทั้งสองแบบการคำนวณด้วยวิธี PLS-DA ให้ผลการทำนายที่ถูกต้องกว่าการคำนวณด้วยวิธี PCA

เอกสารอ้างอิง

- เกศรา จีระจรรยา, สุเทพ สหยา, ลักษณะ บำรุงศรี, และสุพจน์ กิตติบุญญา. 2545. แผลงศัตรูฝ้ายที่สำคัญและการบริหาร เอกสารวิชาการ. กลุ่มงานวิจัยแผลงศัตรูฝ้าย และพืชเส้นใย กองกฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 51 หน้า.
- ฐานข้อมูลพืชผัก บทความเกษตร. 2008-2014. กระเจี๊ยบเขียว. ฐานข้อมูลพืชผัก. แหล่งที่มา: <http://www.vegetweb.com>, 19 พฤษภาคม 2557
- ธงชัย สุวรรณสิขณณ์, ปิติพร ฤทธิเรืองเดช. 2555. การวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพ. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. หน้า 6-21 - 6-22. สถาบันคั่นควาและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พริ้นต์คอม. 2014. กระเจี๊ยบเขียว. แหล่งที่มา: <http://frynn.com>, 19 พฤษภาคม 2557
- นุชจรี วัชรวงษ์ไพบูลย์, จิราภา จอมไธสง, นุภาพ สันตยานนท์. 2551. กระเจี๊ยบเขียว: คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร. หน้า 131 – 151. กรมส่งเสริมการเกษตร สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร, กรุงเทพฯ
- ศุมาพร เกษมสำราญ. 2545. ขั้นตอนการสร้างสมการประเมินค่าทางเคมีและทดสอบสมการในเทคนิคสเปกโตรสโกปีย่านใกล้อินฟราเรด. หน้า 131 – 151. การอบรมเชิงปฏิบัติการควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. 27 – 28 พฤศจิกายน 2545. สถาบันคั่นควาและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อนุพันธ์ เทอดวงศ์สกุล. 2545. การปรับแต่งสเปกตรัมก่อนการวิเคราะห์. หน้า 67 – 98. ใน วารุณี ธนะแพสย์, อนุพันธ์ เทอดวงศ์สกุล และธงชัย สุวรรณสิขณณ์, ผู้รวบรวม. การอบรมเชิงปฏิบัติการควบคุมคุณภาพสินค้าด้วยเทคนิค Near Infrared Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก. พิมพ์ครั้งที่ 1. สถาบันคั่นควาและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Clark, C.J., McGlone, V.A., De Silva, H.N., Manning, M.A., Burdon, J., Mowat, A.D.,. Prediction of storage disorders of kiwifruit (*Actinidiachinensis*) based on visible–NIR spectral characteristics at harvest. *Postharvest Biol. Technol.* 2004, 32, 147–158.
- Dowell, F.E.; J. E. Throne, and J. E. Baker. Automated nondestructive detection of internal insect infestation of wheat kernels using near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Econ. Entomol.* 1998, 91: 899 – 904
- Dull, G. G.; Birth, G. S.; Smittle, D. A.; Leffler, R. G., (1989), NIR analysis of soluble solids in intact cantaloupe. *J. Food Science* 54 (2), 393-395.

- Greensill, C. V.; Newman, D. S., (1999), An investigation into the determination of the maturity of pawpaws (*Carica papaya*) from NIR transmission spectra. *J. Near Infrared Spectrosc.* 7(2):109–116.
- Guthrie, J.A.; Liebenschberg, C. J.; Walsh, K.B., (2006), NIR model development and robustness in prediction of melon fruit total soluble solids. *Aust. J. Agric. Res.*, 57, 411–418.
- Kawano, S.; Watanabe, H.; Iwamoto, M., (1992). Determination of sugar content in intact peaches by NIR spectroscopy with fiber optics in interactance mode. *J. the Japanese Society for Horticultural Science* 61(2), 445-451.
- Kawano, S.; Fujiwara, T.; Iwamoto. M., (1993), Nondestructive determination of sugar content in satsuma mandarin using NIR transmittance. *J. the Japanese Society for Horticultural Science* 62: 465–470.
- Lammertyn, J.; Peirs, A.; Baerdemaeker, J.D.; Nicolai, B., (2000), Light penetration properties of NIR radiation in fruit with respect to non-destructive quality assessment. *Postharvest Biol. Technol.* 18, 121-132
- Liu, Y.; Ying, Y.; Yu H.; Fu. X., (2006). Comparison of the HPLC method and FT-NIR analysis for quantification of glucose, fructose and sucrose in intact apple fruits. *J. Agricultural and Food Chemistry* 54: 2810–2815.
- Lu, R. (2001). Predicting firmness and sugar content of sweet cherries using near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Transactions of the ASAE* 44(5), 1265–1271
- Mireei, S.A.; Sadeghi, M., (2013), Detecting bunch withering disorder in date fruit by near infrared spectroscopy. *J. Food Engineering* 114 (3), 397–403.
- Moscetti, R.; Haff, R.P.; Aernouts, B.; Saeys, W.; Monarca, D.; Cecchini, M.; Massantini, R., (2013). Feasibility of Vis/NIR spectroscopy for detection of flaws in hazelnutkernels. *J. Food Eng.* 118, 1–7.
- Osborne, B.G.; T. Fearn and P.H. Hindle. (1993). *Practical NIR Spectroscopy with Application on Food and Beverage Analysis.* Longman Scientific & Technical. 217.
- Pazdernik, L.D.; Killam, A.S.; Orf, J.H., (1997), Analysis of Amino and Fatty Acid Composition in Soybean Seed, Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Agronomy Journal* , 89(4), 679-685.
- Saranwong, S.; Haff, R.P.; Thanapase, W.; Janhiran, A.; Kasemsumran, S.; Kawano, S., (2011). Feasibility study using simplified near infrared imaging to detect fruitfly larvae in intact fruit. *J. Near Infrared Spectrosc.* 19, 55–60.
- Saranwong, S.; Thanapase W.; Sutthiwijitpukdee N.; Ritthiron R.; Kasemsumran S.; Kawano S.,

- (2010). Applying near infrared spectroscopy to the detection of fruit fly eggs and larvae in intact fruit. *J. Near Infrared Spectroscopy* 18, 271-280.
- Slaughter, D. (1995). Non-destructive determination of internal quality in peaches and nectarines. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* 38: 617–623.
- Takizawa, K.; Nakano, K.; Ohashi, S.; Yoshizawa, H.; Wang, J.; Sasaki, Y., (2014) Development of nondestructive technique for detecting internal defects in Japanese radishes. *J. Food Eng.* 126, 43–47.
- Tigabu, M.; Oden, P.C., (2002), Multivariate classification of sound and insect-infested seeds of a tropical multipurpose tree, *Cordiaa fricana*, with near infrared reflectance spectroscopy. *J. Near Infrared spectrosc.* 10. 45–51.
- Tigabu, M.; Odén, P.C., (2004), Simultaneous detection of filled, empty and insect-infested seeds of three *Larix* species with single seed near-infrared transmittance spectroscopy. *New Forests.* 27, 39–53.
- Vanoli, M.; Rizzolo, A.; Grassi, M.; Spinelli, L.; Verlinden, B. E.; Torricelli, A., (2004), Studies on classification models to discriminate 'Braeburn' apples affected by internal browning using the optical properties measured by time-resolved reflectance spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 91, 112–121.
- Wang, J.; Nakano, K.; Ohashi, S., (2011), Nondestructive detection of internal insect infestation in jujubes using visible and near-infrared spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 272-279.
- Xing, J.; Guyer, D., (2008). Comparison of transmittance and reflectance to detect insect infestation in Montmorency tart cherry. *Comput. Electron. Agric.* 64, 194–201.

ภาคผนวก

Output จากโครงการ วิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่
 - 1) ธีรภรณ์ สุทธิวิจิตรภักดี, ศุมาพร เกษมสาราน, ทศพล อุมะมานิต, วารุณี ฐนะแพสย์, 2558. การคัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีแมลงเข้าทำลายอยู่ภายในด้วยการวิเคราะห์หลายตัวแปรด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทสโกปี. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 33(1). 864-868.
 - 2) Suttiwijitpukdee, N.; S. Kasemsumran; W. Thanapase. T. Umamanit. 2014. Discrimination of the internal infestation in green okra by transmittance NIR spectroscopy. Proceeding book of The Fourth Asian NIR Symposium, June 17-20, 2014, 77-78.
 - 3) กำลังอยู่ในขั้นตอนการเขียนบทความเพื่อส่งตีพิมพ์ในวารสารต่อไป



วารสาร

เกษตรพระจอมเกล้า

KING MONGKUT'S AGRICULTURAL JOURNAL

พฤศจิกายน 2558
ปีที่ 33 ฉบับพิเศษ 1

ISSN 0857-0108

November 2015
SPECIAL ISSUE NUMBER 1



การประชุมวิชาการ

พืชสวนแห่งชาติ

ครั้งที่ 14

14th National Horticultural Congress 2015

พืชสวนไทย ไร้พรมแดน

18-20 พฤศจิกายน 2558

ณ สวนหงษ์ พัทธยา

จัดประชุมโดย

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ร่วมกับ กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์



การคัดแยกกระเจี๊ยบเขียวที่มีแมลงเข้าทำลายอยู่ภายในด้วยการวิเคราะห์หลายตัวแปร ด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

Separation of Damaged Green Okra Pods Infested by Internal Insects
Using Multivariate Analysis of Near Infrared Spectroscopy

ณัฏฐพงศ์ สทวิจิตรศักดิ์¹, สมภาพ เกษมสำราญ¹, ทศพล อมรรัตน์¹, วารุณี ธนธนะชัย¹
Nattaporn Suttawijitpukdee¹, Sumaporn Kasemsamran¹, Thatsaphon Umamanit¹ and Warunee Thanapasee¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการคัดแยกกระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) ที่มีแมลงทำลายอยู่ภายในโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (near-infrared spectroscopy, NIRs) ในการทดลองนี้ใช้ตัวอย่างผักกระเจี๊ยบเขียว จำนวน 508 ตัวอย่าง วัดค่าการดูดกลืนแสงในระบบการส่องผ่าน (transmittance mode) ช่วงความยาวคลื่น 665-955 นาโนเมตร สมการการคัดแยกได้คำนวณจากข้อมูลสเปกตรัมโดยใช้วิธีการคำนวณหลายตัวแปร 2 วิธี ได้แก่ วิธี principal component analysis (PCA) และวิธี partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) เพื่อคัดแยกผักกระเจี๊ยบเขียว ผลการศึกษาพบว่าการคัดแยกด้วยวิธี principal component analysis (PCA) มีความถูกต้องมากกว่า 65% และการคำนวณการคัดแยกด้วยวิธี partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) มีความถูกต้องมากกว่า 87.5% ดังนั้นในการคัดแยกผักกระเจี๊ยบเขียวด้วยเทคนิค NIRs โดยวิธีการคำนวณแบบ PLS-DA จึงมีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีการคำนวณแบบ PCA

คำสำคัญ : เนียร์อินฟราเรด, กระเจี๊ยบเขียว, การวิเคราะห์หลายตัวแปร

Abstract

This research attempted to develop the method for separating the green okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) pods infested by internal insects using near-infrared spectroscopy (NIRs). The spectra of 508 samples were collected in the region of 665-955 nm with the transmittance mode. The classification models were calculated by two types of multivariate analysis methods from spectral data namely principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). For PCA classification models, the accuracies of all equations were higher than 65%, while the comparative results that were calculated from PLS-DA method presented higher than 87.5% accuracy. From the calculated value of discrimination model, it possibly indicated that the PLS-DA calculated method is more efficient than that of PCA calculation in case of the separation of internal insect infestation classification in green okra.

Keywords : NIRs, okra, multivariate analysis

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียว ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench เป็นพืชล้มลุกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรได้รายงานการส่งออกกระเจี๊ยบไปยังตลาดต่างประเทศ ในปี พ.ศ. 2554 มีมูลค่ามากกว่า 320 ล้านบาท ซึ่งส่งออกในรูปแบบของกระเจี๊ยบฝักสด รวมทั้งการแช่แข็งและบรรจุกระป๋อง ประเทศที่มีการส่งออกมากที่สุด คือ ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งปัญหาของการส่งออกฝักและผลไม่ไปยังต่างประเทศคือหนอนและแมลงที่มีตัวอยู่ภายใน ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมากต่อผลผลิตทางการเกษตรและระบบการส่งออก การนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรด สเปกโทรสโกปี (near-infrared spectroscopy, NIRs) มาใช้ในการตรวจสอบผลผลิตทางการเกษตร จึงเป็นอีก

¹ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

ทางเลือกหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง และมีความเป็นไปได้ในการจำแนกและทำนายคุณภาพภายในของผลผลิตทางการเกษตรแบบไม่ทำลาย ได้อย่างรวดเร็ว ประหยัดเวลา และมีประสิทธิภาพ

แสงอินฟราเรดย่านใกล้ในช่วงความยาวคลื่นสั้น (short wave near-infrared region, SWNIR) มีความยาวคลื่น 800 ถึง 1100 นาโนเมตร เป็นคลื่นแสงที่มีพลังงานสูงสามารถทะลุทะลวงเข้าไปในตัวอย่างได้ดี โดยทั่วไปสามารถทะลุเข้าไปได้ถึงประมาณ 1 เซนติเมตร จึงมักนิยมใช้ช่วงคลื่นสั้นในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ต้องการข้อมูลลึกเข้าไปภายใน (สุรพาส, 2555) การใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย NIRs จึงมีความสำคัญที่สามารถนำไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลผลิตทางการเกษตร เช่น สามารถจำแนกเมล็ดคลอเลียมที่มีความผิดปกติภายในและเมล็ดที่ปกติได้ (Tigabu and Odén, 2002) ใช้วิเคราะห์ความผิดปกติภายในผลกีวี่ฟูต (Clark et al., 2004) การฝังตัวของหนอนในเมล็ด *Picea abies*, เชอร์รี่ และพุทรา (Tigabu et al., 2004; Xing and Guyer, 2008, Wang et al., 2011) รวมทั้ง Saranwong et al., (2010) นำเทคนิค NIRs มาประยุกต์ใช้กับการตรวจสอบไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง เป็นต้น

อุปกรณ์และวิธีการ

รับตัวอย่างผักกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการคัดแยกเบื้องต้นโดยการสังเกตลักษณะความผิดปกติจากภายนอกผักกระเจี๊ยบจากบริษัทผู้ส่งออกกระเจี๊ยบในจังหวัดสมุทรสาคร ตำบลห้วย 1 ครั้ง ทุกสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน จากนั้นนำมาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วจึงนำมาผ่าเพื่อคัดแยกผลการฝังตัวของหนอนภายในผัก โดยแต่ละครั้งทำการวิเคราะห์ภายใน 3 วัน นับตั้งแต่รับตัวอย่าง

ใช้ตัวอย่างผักกระเจี๊ยบเขียวสำหรับใช้ในการวิเคราะห์จำนวน 508 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็นผักกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนจำนวน 254 ผัก และผักที่มีหนอน จำนวน 254 ผักมาควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยระบบ transmittance ในช่วงคลื่นสั้นความยาวคลื่น 665-955 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง near-infrared spectrometer (Purespect, Saika, Japan) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของผักกระเจี๊ยบ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว (head) กำหนดให้อยู่ในระบะหว่าง 2-3 เซนติเมตร เมื่อวัดจากหัว ส่วนกลาง (middle) ระบะระหว่าง 4-5 เซนติเมตร และส่วนปลาย (bottom) ระบะระหว่าง 5-6 เซนติเมตร ในแต่ละส่วนวัดสเปกตรัมทั้ง 5 ด้านของผักกระเจี๊ยบเขียว ในการทดลองครั้งนี้ระหว่างการวัดสเปกตรัมแสงจากแหล่งกำเนิดแสง (light source) เดินทางผ่านไฟเบอร์ออฟติก (fiber optic) ด้านบนส่องมายังผักกระเจี๊ยบเขียว และผ่านเข้าตัวตรวจวัด (detector) อยู่ด้านล่างโดยให้แหล่งกำเนิดแสง และตัวตรวจวัด ทำมุมต่อกัน 180 องศา (Figure 1) จากนั้นนำผักกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการวัดสเปกตรัมแล้วมาผ่าเพื่อตรวจหาหนอนในผักกระเจี๊ยบเขียวแต่ละจุด

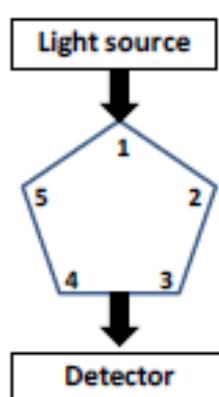


Figure 1 Setting light source and detector for the spectral acquisition in transmittance mode

นำสเปกตรัมของฝักกระเจี๊ยบทั้งหมดจำนวน 508 ฝัก แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มสร้างสมการ (calibration set) จำนวน 408 ฝัก และกลุ่มทำนาย (prediction set) จำนวน 100 ฝัก นำคำนวณสมการคัดแยกโดยวิธี principal component analysis (PCA) และวิธี partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) เพื่อตรวจสอบความเป็นไปได้ในการคัดแยก โดยกำหนดให้สเปกตรัมของกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 0 และสเปกตรัมของกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนมีค่าเท่ากับ 1

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของฝักกระเจี๊ยบเขียวปกติและฝักกระเจี๊ยบที่มีหนอนฝังตัวอยู่ใน (Figure 2) พบว่ามีความคล้ายคลึงกันมาก แยกต่างหากเพียงฐาน (base line) และความชันของสเปกตรัม ในช่วงความยาวคลื่นในช่วง 660-850 นาโนเมตร และเมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของลำหนอนพบว่าสามารถสังเกตเห็นทิศการดูดกลืนแสงอย่างชัดเจน จากสเปกตรัมที่ปรับแต่ง (transform) ด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับสอง (second derivative) ที่ความยาวคลื่นประมาณ 740 นาโนเมตร ดังนั้นการที่สเปกตรัมเฉลี่ยของกระเจี๊ยบที่มีหนอนแมลงอยู่ภายในมีค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่ากระเจี๊ยบเขียวปกติอาจเป็นผลมาจากการซ้อนทับกันของทิศการดูดกลืนแสงของหนอนที่อยู่ภายในฝักกระเจี๊ยบ จากรายงานของ Saranwong et al. (2010) ในการวิเคราะห์ห้วงเวลาที่หนอนและแมลงวันปล่อยความยาวคลื่นในช่วงเนียร์อินฟราเรด สามารถสังเกตเห็นทิศการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 740 นาโนเมตรเช่นเดียวกัน และอาจสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสงของพืชน้ำ (Saranwong et al., 2010))

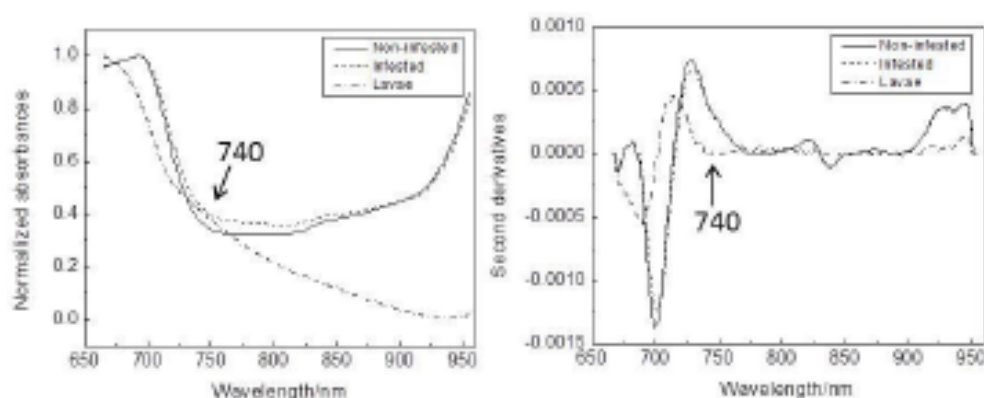


Figure 2 The spectra of normalized absorbance (A) and second derivative (B) of the infested and non-infested okra pods and the pure fresh larva

การคำนวณการคัดแยก

ในการคำนวณคัดแยกใช้การคำนวณหลายตัวแปรโดยเปรียบเทียบการคำนวณ 2 วิธี ได้แก่ วิธี principal component analysis (PCA) และ partial least squares regression discriminant analysis (PLS-DA) โดยแต่ละวิธีจะแยกคำนวณกระเจี๊ยบเขียวในแต่ละส่วนออกจากกัน

การคำนวณด้วยวิธี principal component analysis (PCA) พบว่าสมการการคัดแยกโดยการวัดสเปกตรัมจากส่วนปลายฝักที่คำนวณจากสเปกตรัมดั้งเดิม ให้ผลการคัดแยกที่ถูกต้องมากที่สุด 95 % รองลงมาคือ การวัดสเปกตรัมจากส่วนกลางฝักที่คำนวณการคัดแยกจากสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี multiplicative scatter correction (MSC) ให้ผลการคัดแยกถูกต้อง 72.5 % และคำนวณการคัดแยกจากการวัดสเปกตรัมส่วนหัวฝักที่ปรับแต่งด้วยวิธี second derivative ร่วมกับวิธี MSC ให้ความถูกต้องในการคัดแยก 65 % และเมื่อนำสเปกตรัมที่วัดได้จากทุกส่วนมารวมกันและคำนวณคัดแยก สเปกตรัมของตัวอย่างกลุ่มทำนายเมื่อคำนวณผ่านสมการคัดแยกแล้ว พบว่าไม่สามารถแยกกันได้อย่างชัดเจน แสดงถึงใช้ plot

(Figure 3) ซึ่งสมการสามารถคัดแยกได้ถูกต้อง 72 % จากผลการคำนวณทั้งหมดดังนั้นจะเห็นได้ว่า สมการการคัดแยกที่คำนวณด้วยวิธี PCA นี้ให้ความถูกต้องในการคัดแยกมากกว่า 65%.

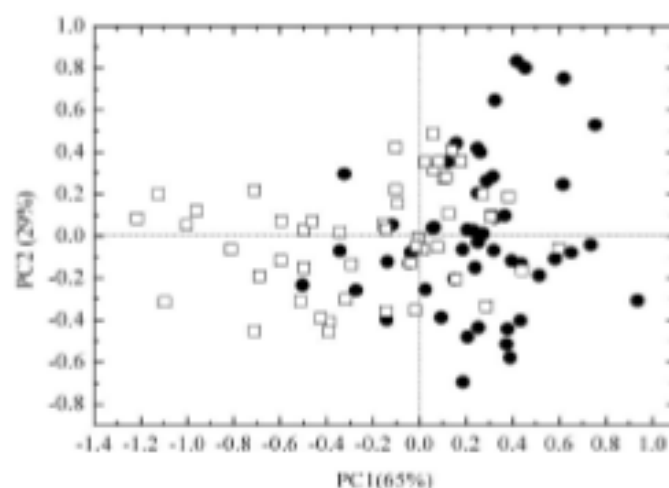


Figure 3 Scatter plot of the first two principal components (PC1 and PC2) for 100 okra samples; non-infested okras (●); infested okras (□).

การคำนวณคัดแยกสเปกตรัมของผักกระเจี๊ยบเขียวด้วยวิธี partial least squares regression discriminant analysis (PLS-DA) โดยกำหนดค่าตัวแปรตามในการคำนวณ (Y) ในกลุ่มตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวที่ไม่มีหนอนและมีหนอนอยู่ภายใน ให้มีค่าเท่ากับ 0 และ เท่ากับ 1 ตามลำดับ ค่าทำนายการคัดแยกของกระเจี๊ยบที่ไม่มีหนอนที่มีค่าน้อยกว่า 0.5 กระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนมีค่ามากกว่า 0.5 เป็นค่าการทำนายที่ถูกต้อง และส่วนที่อยู่นอกกลุ่มเป็นค่าการทำนายที่คลาดเคลื่อน (Figure 4) จากการคำนวณสเปกตรัมส่วนกลางผักปรับแสงด้วยวิธี MSC ให้ผลการคัดแยกที่ถูกต้องมากที่สุด 92.5 % รองลงมาคือ สเปกตรัมส่วนกลางผักที่ปรับแสงด้วยวิธี second derivative ให้ผลการคัดแยกถูกต้อง 90% และในส่วนหัวผัก เมื่อนำสเปกตรัมมาปรับแสงด้วยวิธี second derivative สามารถคัดแยกได้ถูกต้อง 87.5% ส่วนสมการการคัดแยกโดยใช้สเปกตรัมจากทุกส่วนของผัก ปรับแสงสเปกตรัมด้วยวิธี MSC ให้ผลการทำนายการคัดแยกได้ถูกต้อง 93%.

เมื่อเปรียบเทียบการคำนวณทั้งสองวิธีจะเห็นว่า การคำนวณด้วยวิธี PLS-DA เป็นวิธีคัดแยกที่มีประสิทธิภาพมากกว่าการคำนวณด้วยวิธี PCA ซึ่งสอดคล้องกับการคำนวณเปรียบเทียบจากรายงานอื่น (Lucio-Gutierrez *et al.*, 2011) อาจเนื่องมาจากการคำนวณแบบ PLS-DA นำค่าตัวแปร Y มาใช้คำนวณร่วมกับค่าการดูดกลืนแสงด้วย ส่วนการคำนวณด้วยวิธี PCA เป็นการคำนวณจากค่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเพียงอย่างเดียว

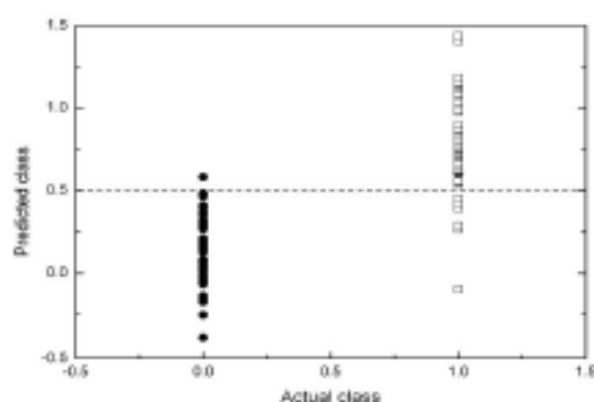


Figure 4 Actual versus predicted values obtained by partial least square discriminant analysis on data for the entire spectra, 665-955 nm, in the predicted set. The infested okras are indicated by a value of 1 and the non-infested okras are indicated by a value of 0.

สรุปผล

จากผลการศึกษากการสร้างสมการเพื่อใช้ในการคัดแยกผักกระเจี๊ยบเขียวที่มีหนอนฝังตัวอยู่ภายในโดยวัดสเปกตรัมในระบบ transmittance ซึ่งคำนวณการคัดแยกสองวิธี ได้แก่ วิธี PCA สามารถคัดแยกได้ถูกต้องมากกว่า 65% โดยสมการการวัดสเปกตรัมที่ส่วนปลายผักให้ค่าความถูกต้องมากที่สุด และวิธี PLS-DA สามารถคัดแยกได้ถูกต้องมากกว่า 87.5% โดยสมการคัดแยกที่ส่วนกลางผักให้ผลการทำนายที่แม่นยำที่สุด ในส่วนของสมการคัดแยกทุกส่วนของผัก การคำนวณการคัดแยกด้วยวิธี PLS-DA ให้ผลการทำนายถูกต้องมากกว่าวิธี PCA

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ขอขอบคุณ บริษัทฯ ขวาลอว์คิด จำกัด ที่อนุญาตให้ตัวอย่างผักกระเจี๊ยบเขียวสำหรับใช้ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- สุภาพร เกษนสำราญ. 2555. หลักการพื้นฐานของสเปกโตรโกปีอินฟราเรดย่านใกล้. 2-17. ใน เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- Clark, C.J., V.A. McGlone, H.N. De Silva, M.A. Manning, J. Burdon and A.D. Mowat. 2004. Prediction of storage disorders of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) based on visible-NIR spectral characteristics at harvest. *Postharvest Biol. Technol.* 32: 147-158.
- Lucio-Gutiérrez, J. R., J. Cocello, and S. MasPOCH. 2011. Application of near infrared spectral fingerprinting and pattern recognition techniques for fast identification of *Eleutherococcus scoticus*. *Food Res. Int.* 44(2): 557-565.
- Saranwong, S., R.P. Hall, W. Thanapase, A. Jankiran, S. Kaszmaumran and S. Kawano. 2011. A feasibility study using simplified near infrared imaging to detect fruit fly larvae in intact fruit. *J. Near Infrared Spectrosc.* 19: 55-60.
- Tigabu, M. and P.O. Odén. 2002. Multivariate classification of sound and insectinfested seeds of a tropical multipurpose tree, *Cordia africana*, with near infrared reflectance spectroscopy. *J. Near Infrared spectrosc.* 10: 45-51.
- Tigabu, M. and P.O. Odén. 2004. Simultaneous detection of filled, empty and insectinfested seeds of three *Larix* species with single seed nearinfrared transmittance spectroscopy. *New Forests.* 27: 39-53.
- Wang, J., K. Nakano and S. Ohashi. 2011. Nondestructive detection of internal insect infestation in jujubes using visible and near-infrared spectroscopy. *Postharvest. Biol. Technol.* 59: 272-279.
- Xing, J. and D. Guyer. 2008. Comparison of transmittance and reflectance to detect insect infestation in Montmorency tart cherry. *Comput. Electron. Agric.* 64:194-201.



Proceedings of the 4th
Asian Near Infrared Symposium
 June 17-20, 2014
 Daegu, KOREA

Edited by
 R. K. CHO, H. CHUNG and S. KAWANO

Kyungpook National University
 (Institute of Evaluation for Safety & Quality of Agricultural Products)
Hanyang University
Korea Advanced Food Research Institute
and Asian Near-Infrared Consortium



Discrimination of the internal infestation in green okra by transmittance NIR spectroscopy

**Nattaporn Suttiwijitpukdee, Sumaporn Kasemsumran,
Warunee Thanapase, and Thotsapon Umamanit**

Non-destructive Quality Evaluation Special Research Center, Kasetsart Agricultural and
Agro-Industrial Product Improvement Institute,
Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand
E-mail: aapntp@ku.ac.th

Abstract

Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) belongs to the Malvaceae family, which is an important commercially flowering plant cultivated in tropical area. In commercial, marketable fruit yield of okra is major harmful by insect pests under tropical conditions, especially *Earias vittella* worm. Therefore, we establish the system for determination of the internal quality of okra using the near-infrared (NIR) technique. In this research, the NIR spectra of okra in the region of 665-955 nm were measured in the transmittance mode and the data were used to classify the internal infested and the intact okras. The spectra were separately scanned in each part of okra as the top and body parts. The classification models were developed and compared by using three types of calculation methods, namely principle component analysis (PCA), partial least-square discriminant analysis (PLS-DA) and soft independent modelling by class analogy (SIMCA). The results show that the PLS-DA method provides the higher effective models than the others. The optimal predictive model for classification of combination spectra presents 82.5% of accuracy. The predictive model calculated from the top part yields performance with the accuracy of 82.5%, which is less than the accuracy of 87.5% of those obtained from the model calculated from the body part.

Keywords: NIRS, okra, infestation, *Earias vittella* worm

Introduction

Near-infrared spectroscopy (NIRS) is a powerful method for analyzing the chemical composition of agricultural products. It is valuable for internal and external quality detection in fruit. Particularly for the internal detection, the NIR technique is capable of classifying intact and infested products. Various kinds of abnormal internal qualities in vegetable and fruit were successfully detected, for example, the internal disorder in kiwifruit (Clark *et al.* 2004) and internal infestation in *Picea abies* seed, cherry and jujube (Tigabu *et al.* 2004; Xing and Guyer, 2008a; Wang *et al.* 2011). Saranwong *et al.* (2010) also reported the eggs and larvae of fruit fly in mangoes could be monitored by NIRS. The classification infestation of okra before international export is very important for controlling and preventing the pest and insect spread to the other regions of the world.

Materials and methods

NIR spectral measurements

A total of 280 okra samples was provided by the exporter company. The samples were classified into two sets: 200 samples for calibration and 80 samples for prediction. Then, each sample was separately scanned at the top and body parts. The NIR spectra were measured in the transmittance mode in the region of 665-955 nm at 1 nm interval by using a NIR spectrometer (SAIKA, Japan). After the spectral measurements, all okra samples are opened to check the larva inside for certain classification. Subsequently, the samples are observed and separated by eye into two groups, namely infested and pest-free okras, and the infested okras will be recorded as well as the position of the larva inside them.

Discrimination analysis

Spectra of all samples are subjected to treat with the pretreatment methods. Then, the calculation of principle component analysis (PCA), partial least-square discriminant analysis (PLS-DA) and soft independent modelling by class analogy (SIMCA) are performed by using The Unscrambler 9.8 (CAMO, Norway) for the development of the discrimination calibration.

Results and discussion

The classification models were separately calculated in each part of okra (top and body parts) and a combination of all parts was conducted. All optimal classification models were calculated from the second derivative spectra. By using the PLS-DA analysis, the top, body and combination models provide the predicted

results of accuracy: 82.5%, 87.5% and 82.5%, respectively, while the results obtained from the other methods (PCA and SIMCA) do not indicate a clear classification.

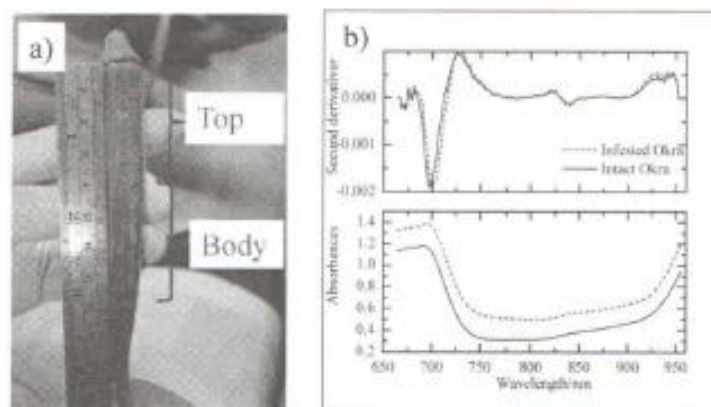


Figure 1. Measuring parts of okra (the top and the body) were separately scanned (a), and the average absorbance and second derivative spectra of the internal infested okra and intact okra (b).

Table 1. The PLS-DA classification results of infested and pest-free okras.

Part	Calibration				Correct classification		
	Pretreatment	F	R	RMSEC	Infested okra	Pest-free okra	Total
Top	Second derivative	6	0.72	0.348	13/20	20/20	33/40 (82.5%)
Body	Second derivative	7	0.79	0.306	17/20	18/20	35/40 (87.5%)
Top+Body	Second derivative	6	0.70	0.357	27/40	39/40	66/80 (82.5%)

Conclusion

The PLS-DA calculation exhibits clear advantages over the other calculations methods. The accuracy of prediction which was calculated from the body part model is higher than those from the top and the combination parts models. Furthermore, this transmittance NIR analysis demonstrates a marked potential as a means to classify okra as fresh food with the accuracy higher than 82%.

Acknowledgement

We would like to thank Prof. Sumio Kawano (Kagoshima University) for valuable discussion and the Chatchawal Orchid Co., Ltd. for providing okra samples. This work was also supported by the Thailand Research Fund (TRF) and Kasetsart University.

References

1. C.J. Clark, V.A. McGlone, H.N. De Silva, M.A. Manning, J. Burdon, A.D. Mowat, "Prediction of storage disorders of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) based on visible-NIR spectral characteristics at harvest". *Postharvest Biol. Technol.* 32 (2004), 147–158.
2. M. Tigabu, P. C. Oden, T. Y. Shen, "Application of near-infrared spectroscopy for the detection of internal insect infestation in *Picea abies* seed lots". *Can. J. Forest Res.* 34 (2004), 76–84.
3. J. Xing, D. Guyer, "Detecting internal insect infestation in tart cherry using transmittance spectroscopy". *Postharvest Biol. Technol.* 49 (2008), 411–416.
4. J. Wang, K. Nakano, S. Ohashi, "Nondestructive detection of internal insect infestation in jujubes using visible and near-infrared spectroscopy". *Postharvest Biol. Technol.* 59 (2011), 272–279.
5. S. Saranwong, W. Thanapase, N. Suttiwittitukdee, R. Rittiron, S. Kasemsunran, S. Kawano, "Applying near infrared spectroscopy to the detection of fruit fly eggs and larvae in intact fruit". *J. Near Infrared Spectrosc.* 18 (2010), 271–280.