



## การจำแนกเมล็ดถั่วเขียวสำหรับการเพาะงอกด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีและการวิเคราะห์ภาพสเปกตรัมอินฟราเรดย่านใกล้

### Classification of mung bean seeds for sprout production using near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging

แก้วกานต์ พวงสมบัติ<sup>1</sup>, อนุปันท์ เทอดวงศ์วรกุล<sup>1\*</sup>, ณัฐภรณ์ สุทธิวิจิตรภักดี<sup>2</sup>, อาทิตย์ พวงสมบัติ<sup>1</sup>, Satoru Tsuchikawa<sup>3</sup>, Tetsuya Inagaki<sup>3</sup>, Te Ma<sup>3</sup>

Kaewkarn Phuangsombut<sup>1</sup>, Anupun Terdwongworakul<sup>1\*</sup>, Nattaporn Suttiwijitpukdee<sup>2</sup>, Arthit Phuangsombut<sup>1</sup>, Satoru Tsuchikawa<sup>3</sup>, Tetsuya Inagaki<sup>3</sup>, Te Ma<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร, คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม, 73140

<sup>2</sup>สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร, 10900

<sup>3</sup>Department of Agricultural Engineering, Faculty of Engineering at Kamphaengsaen, Kasetsart University - Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom, 73140

<sup>2</sup>Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute Kasetsart University, Bangkok, 10900

<sup>3</sup>Lab of System Engineering for Biological Resources, Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Japan, 464-8601.

\*Corresponding author: Tel: +66-34-351-896, Fax: +66-34-351-896, E-mail: fengant@ku.ac.th

#### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการประยุกต์ใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS) และการวิเคราะห์ภาพสเปกตรัมอินฟราเรดย่านใกล้ (NIR-HSI) สำหรับการคัดแยกเมล็ดถั่วเขียว (เมล็ดที่เพาะงอก) ออกจากเมล็ดแข็ง (เพาะไม่งอก) ตัวอย่างเมล็ดถั่วเขียวที่ใช้ในการศึกษาได้รับการเก็บเกี่ยวสองฤดูการ นำมาวัดการดูดกลืนแสงโดยวางเมล็ดแบบ Hilum face-up ด้วยเทคนิค NIRS ที่มีการศึกษาการวัดแบบส่องผ่านร่วมกับการวัดแบบสะท้อนและเปรียบเทียบกับวิธีวัดด้วยเทคนิค NIR-HSI โดยสมการ calibration ที่เหมาะสมใช้การวิเคราะห์แบบ partial least squares discriminant analysis (PLSDA) สำหรับเทคนิค NIRS มีการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธี smoothing, second derivative และ multiplicative scatter correction (MSC) จากการจำแนกเมล็ดงอก สมการที่ได้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r) และ root mean square error of prediction (RMSEP) พบว่า Hilum face-up โมเดล ให้ค่า r เท่ากับ 0.711 และ 0.395 ตามลำดับ (ความแม่นยำ 84.85%) และสามารถเพิ่มความแม่นยำของสมการด้วยวิธี normalization ด้วยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1150 nm โมเดล ให้ค่า r เท่ากับ 0.965 และค่า RMSEP เท่ากับ 0.132 สามารถคัดแยกเมล็ดงอกและไม่งอกได้ถูกต้อง 100 % จากการวิจัยด้วยเทคนิค NIR-HSI ให้ผลที่ดีกว่าเทคนิค NIRS โดยโมเดลที่สร้างจากสเปกตรัมที่มีการปรับแต่งด้วยวิธี SNV ให้ค่า r สูงสุดเท่ากับ 0.990 และ RMSEP เท่ากับ 0.070 (ความถูกต้อง 100%) ข้อได้เปรียบของเทคนิค NIR-HIS คือ สามารถแสดงภาพความแตกต่างระหว่างเมล็ดปกติและเมล็ดแข็ง

คำสำคัญ: ถั่วเขียว, อินฟราเรดย่านใกล้, การคัดแยก, การวิเคราะห์ภาพสเปกตรัม

#### Abstract

This research studied application of near infrared spectroscopy (NIRS) technique and Near-infrared Hyperspectral Imaging: (NIR-HSI) for classification between normal (germinatable) and hard mung bean seed (un-germinatable). The mung bean samples used in the study were harvested from two crops. The samples with hilum face-up were taken for absorbance measurement with NIRS based on combination of reflectance and transmittance in comparison with NIR-HSI technique. The optimum NIRS calibration equation using partial least squares discriminant analysis (PLSDA) was based on the spectra pretreated with smoothing, second derivative and multiplicative scatter correction. Upon predicting whether the seed was germinatable, the equation obtained the correlation coefficient and root mean square error of prediction (RMSEP) were 0.711 and 0.395 respectively (classification accuracy of 84.85%). The improvement of the equation predictability was achieved by

normalization with absorbance at 1150 nm. The normalized model gave classification result with  $r$  and RMSEP equal to 0.965 and 0.132 respectively equal to 100 % accuracy. The results from NIR-HSI gave better classification result with  $r$  and RMSEP equal to 0.990 and 0.070 respectively (100% accuracy for classification). The advantage of NIR-HIS over NIRS was the ability to show the images for difference between normal seed and hard seed.

Keywords: mung bean, near-infrared spectroscopy, classification, Hyperspectral Imaging

## 1 บทนำ

ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีคุณสมบัติที่สำคัญ เช่น ขจัดสารพิษ ด้านการอักเสบ ลดคอเลสเตอรอลและมีคุณสมบัติขับปัสสาวะ นอกจากนี้มีปริมาณโปรตีนสูง (20-33%) (Guan-Hong et al., 2006; Adsule et al., 1986) และเป็นหนึ่งในพืชสำคัญที่ใช้เป็นส่วนผสม (ในรูปของถั่วงอก) ในอาหารต่าง ๆ เพื่อการบริโภค การงอกของถั่วเขียวเกิดจากการพัฒนาอาหารและคุณสมบัติทางยาของถั่วเขียวผ่านการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี และการย่อยสลายสารอาหารที่เกิดขึ้นระหว่างการงอก อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการคัดแยกเมล็ดถั่วเขียวจะมีเมล็ดแข็ง (hard seed) ปนมากับเมล็ดปกติที่ก่อให้เกิดปัญหาที่สำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระหว่างกระบวนการงอก ในกระบวนการผลิตเมล็ดพันธุ์มีความจำเป็นต้องคัดแยกเมล็ดแข็งออกจากเมล็ดปกติ เมล็ดแข็งจะไม่เติบโตไม่ยอมให้น้ำซึมผ่าน และจะไม่งอกในกระบวนการเพาะ เมล็ดแข็งขึ้นที่ไม่งอกก็จะขึ้นราและติดไปกับเมล็ดที่งอกในกระบวนการ ดังนั้นการคัดแยกเมล็ดแข็งออกจากเมล็ดปกติเป็นสิ่งสำคัญ ปัจจุบันการคัดแยกเมล็ดถั่วเขียวจะใช้ตะแกรงสั่น หลักการทำงานของวิธีการนี้จะขึ้นอยู่กับความแตกต่างในความหนาแน่นของเมล็ดแข็งและเมล็ดปกติ แต่เทคนิคนี้ไม่มีประสิทธิภาพ (Phuangsombut et al., 2016)

ในปัจจุบันมีเทคนิคการตรวจสอบผลผลิตทางการเกษตรแบบไม่ทำลายตัวอย่างด้วยวิธีสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย NIRS เป็นวิธีที่รวดเร็ว มีความแม่นยำในการวัดองค์ประกอบภายในของผลผลิตเกษตรและอาหารโดยไม่ทำลายตัวอย่าง (Fu et al., 2007; Terdwongworakul et al., 2012) ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว สเปกตรัมแบบสะท้อนจาก NIRS ที่ได้จากเมล็ดสมบูรณ์และกรดปาลมิติค กรดลิโนเลอิกและกรดไขมันทั้งหมดได้รับการทำนายด้วยความแม่นยำที่น่าเชื่อถือ (Kaliramesh et al., 2013) นักวิจัยรายงานว่า NIRS เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำ ไม่ทำลายคุณภาพและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ NIRS ยังถูกนำมาใช้ในการประเมินคุณภาพภายในของถั่วและเมล็ดอื่น ๆ ตัวอย่างเช่นโมเดลที่พัฒนาจากเทคนิค partial least squares regression (PLSR) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของเมล็ดถั่ว Chinese Faba พบว่าโมเดลจากแป้งถั่วโดยทั่วไปได้ผลดี ในการประมาณ

ค่าของโปรตีน, แป้ง, ไขมันและโพลีฟีนอลทั้งหมด (Wang et al., 2013)

การวิเคราะห์ภาพสเปกตรัมอินฟราเรดย่านใกล้ (Near-infrared Hyperspectral Imaging: NIR-HSI) เป็นเทคโนโลยีการวิเคราะห์ที่มีความน่าสนใจมากสำหรับการกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารได้อย่างรวดเร็วและไม่ทำลาย โดยเป็นเทคนิคที่ให้ข้อมูลเพิ่มเติมในด้านการกระจายตัวขององค์ประกอบบนผิวหน้าของตัวอย่างซึ่งแสดงออกมาเป็นภาพ HSI เป็นการรวมสเปกโทรสโกปีแบบปกติและระบบการถ่ายภาพดิจิทัล ที่ทำให้ได้สเปกตรัมและข้อมูลเฉพาะของวัตถุพร้อมกัน (Zheng et al., 2006; Sun and Brosnan, 2003; Du and Sun, 2005)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้เทคนิค NIRS เปรียบเทียบกับ NIR-HIS ในการจำแนกเมล็ดถั่วเขียวเมล็ดแข็งออกจากเมล็ดปกติซึ่งยังไม่มีรายงานการประยุกต์ใช้เทคนิค NIR-HIS กับถั่วเขียว

## 2 อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ในงานวิจัยนี้ใช้เมล็ดถั่วเขียวผิวมันพันธุ์กำแพงแสน 2 จากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ใช้เมล็ดถั่วเขียวจำนวน 200 เมล็ด เมล็ดถั่วเขียวที่ใช้ศึกษาได้จากการเก็บเกี่ยว 2 ครั้งๆ ละ 100 เมล็ด โดยเมล็ดถั่วเขียวที่เก็บเกี่ยวมีอายุ 60 วัน จาก 2 ฤดูกาล หลังจากเก็บเกี่ยวตัวอย่างทั้งหมดจะถูกนำมาเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25°C เป็นเวลา 24 h ก่อนนำไปวัดเก็บข้อมูล

### 2.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของเมล็ดถั่วเขียว

เมล็ดถั่วเขียวถูกนำมาวัดการดูดกลืนแสงแบบ NIRS ในที่ว่างแบบเมล็ดเดี่ยว ในรูปแบบการส่องผ่านร่วมกับการวัดแบบสะท้อนของผิว (transmittance and reflectance mode) มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้เทคนิคการวัดที่ดีที่สุดในการที่จะใช้สำหรับการพัฒนาโมเดล ทำการวัดค่าสเปกตรัมของเมล็ดถั่วเขียวโดยวางเมล็ดถั่วเขียวเมล็ดเดี่ยวบนที่วางเมล็ดเดี่ยว (single kernel sample holder) ที่สร้างขึ้นสำหรับการวัดถั่วเขียวโดยเฉพาะที่สามารถขจัดเสียงการกระเจิงแสง และทำให้สามารถวัดแสงที่ได้รับมาจากการวัดแบบการส่องผ่าน (transmittance) ร่วมกับการวัดแสงจากการสะท้อนของผิว (reflectance surface) จาก 2 ตำแหน่ง ที่มุมในการรับแสงสะท้อน 45° ใน

แนวตั้งฉากกัน ได้แก่ ทางด้านข้างของเมล็ดถั่วเขียว (side surface) และด้านท้ายของเมล็ดถั่วเขียว (end surface) ดังแสดงใน figure 1 โดยแสงสะท้อนจากทางด้านข้าง (Reflected light from the side surface) และแสงสะท้อนจากทางด้านปลาย (Reflected light from the end surface) ถูกเลือกมาใช้เพื่อชดเชยการกระเจิงแสง ตามสมการที่ 1 โดยฉายแสงจากแหล่งกำเนิดแสงผ่านสายไฟเบอร์ออฟติกที่ตำแหน่งห่างจากเมล็ด 10 cm (Figure 2) วัดแสงที่ส่องผ่านเมล็ดถั่วเขียวด้วยเครื่อง NIR Spectrometer (NIRQuest, Ocean Optics, FL, USA) โดยระบบการวัดแบบการส่องผ่าน ในช่วงความยาวคลื่น 900 – 1400 nm เก็บความยาวคลื่นทุกๆ 3 nm ด้วยโปรแกรม Spectra Suite (Ocean Optics, FL, USA) โดยใช้ค่า Integration time เท่ากับ 250 ms และค่าเฉลี่ยต่อการวัดหนึ่งครั้งเท่ากับ 6 โดยเป็นการวัดที่ตำแหน่งส่วนเว้าของเมล็ดถั่วเขียวหงายขึ้น (Hilum face-up orientation) ซึ่งเป็นตำแหน่งการวัดที่ให้ผลดีที่สุด (Phuangsombut et al., 2016) (Figure 1)

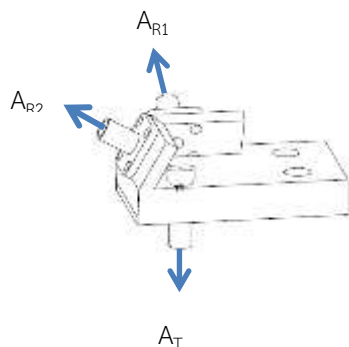


Figure 1 Isometric view of mung bean sample holder uniquely designed to collect both reflected and transmitted light.

$$A_{\text{comp}} = A_T + A_{R1} + A_{R2} \quad (1)$$

$A_{\text{comp}}$  = compensate absorbance

$A_T$  = Transmitted absorbance

$A_{R1}$ ,  $A_{R2}$  = Reflected absorbance from the side surface and from the end surface respectively

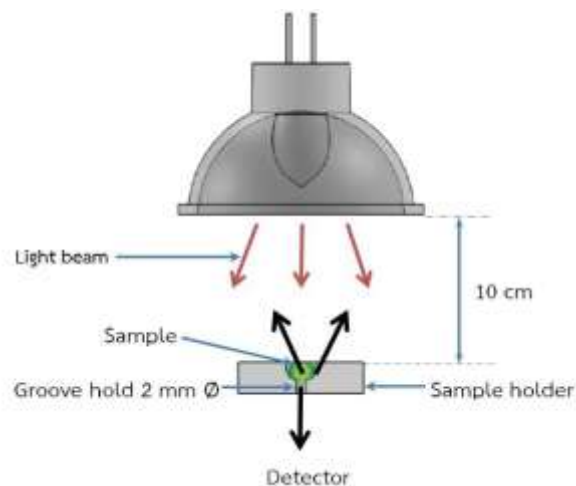


Figure 2 Setup for NIR spectral acquisition of a single mung bean kernel in transmittance mode, NIR spectrophotometer, “NIRQuest, Ocean Optics, FL, USA” equipped with the in-house designed sample holder.

สำหรับการวัดแบบ HSI ทำการวัดตัวอย่างเมล็ดถั่วเขียว ด้วยกล้องถ่ายภาพ (VLNIR-CL-100-N17E, SPECIM SisuCHEMA, Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finland) และกล้องสเปกโตรม (VLNIR spectral Camera, Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finland) ที่ช่วงความยาวคลื่น 900 – 1700 nm ในโหมดการวัดแบบ reflectance และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม Matlab (Figure 3)

เมล็ดถั่วเขียวถูกวางแบบ Hilum face-up (การวางให้ส่วนเว้าหงายขึ้น) เหมือนกับการวัดแบบ NIRS โดยนำสเปกตรานี้ของทั้งเมล็ดมาทำการวิเคราะห์เพื่อทำนายการคัดแยกเมล็ดงอกและเมล็ดไม่งอก จากนั้นทำการทำนายประเภทของเมล็ดถั่วเขียวที่ตำแหน่งต่างๆ โดยการทำ mapping.

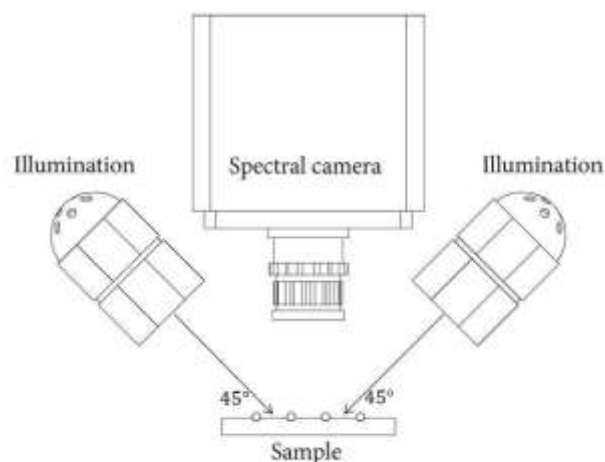


Figure 3 The sample presentation for imaging and NIR spectral acquisition of mungbean from hyperspectral imaging system.

### 2.3 การประเมินคุณภาพของเมล็ดถั่วเขียวสำหรับเพาะถั่วงอก

ในการประเมินคุณภาพทางกายภาพของเมล็ดถั่วเขียวสำหรับเพาะถั่วงอก ทำโดยการทดสอบหาความงอกตามวิธีการมาตรฐาน โดยเฉพาะเมล็ดบนกระดาษเพาะ (top of paper) ตามกฎการทดสอบความงอก ของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์ระหว่างประเทศ (The International Seed Testing Association:ISTA (2006) เก็บรักษาไว้ในสภาพควบคุมอุณหภูมิ 25°C ตรวจนับความงอกครั้งแรกในวันที่ 3 โดยค่าที่ได้จะใช้เป็นค่าอ้างอิงในการจัดกลุ่มคุณภาพของเมล็ดถั่วเขียวเป็นกลุ่มคุณภาพดี (เมล็ดที่งอก) และกลุ่มคุณภาพเสีย (เมล็ดแข็งหรือไม่งอก) สำหรับใช้เป็นตัวแปรตามระบุกลุ่มในการสร้างสมการจำแนกกลุ่มหรือสมการเชิงคุณภาพต่อไป

### 2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลการดูดกลืนแสงมาตรวจสอบตัดข้อมูลที่เกิดผิดปกติด้วยวิธี mahalanobis distance และลดผลกระทบจากปัจจัยทางกายภาพ เช่น การกระเจิงแสง และการลดจำนวนตัวแปรที่ใช้ในการสร้างสมการเพื่อลดสัญญาณรบกวน (noise) การกระเจิงแสงกำจัด baseline shift และแยกแถบสเปกตรัมที่ซ้อนทับออกจากกัน ด้วยวิธี Smoothing แบบ Savitzky Golay, วิธี First Derivative, วิธี Second Derivative แบบ Savitzky Golay, วิธี Multiplicative Scatter Correction (MSC) และวิธี Standard normal variate (SNV) นอกจากนั้นยังได้นำแต่ละวิธีมาปรับแต่งร่วมกัน โดยก่อนการวิเคราะห์สร้างโมเดลจะแบ่งตัวอย่างในแต่ละกลุ่มออกเป็นกลุ่มแคลิเบรชัน (calibration) (140 เมล็ด) และ กลุ่มแวลิดเอชัน (validation) (60 เมล็ด) โดยในที่นี้จะกำหนดให้ ตัวอย่างคุณภาพดีมีค่าเป็น 1 และตัวอย่างคุณภาพเสียมีค่าเป็น 0 ซึ่งในกลุ่มทั้งสองก็จะมีตัวอย่างที่มีคุณภาพดีและคุณภาพเสียรวมอยู่ด้วยกัน ต่อจากนั้นนำตัวอย่างในกลุ่มแคลิเบรชัน มาสร้างสมการแคลิเบรชันแบบจำแนกกลุ่ม โดยใช้เทคนิค Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLSDA) ซึ่งมีขั้นตอนเหมือนกับวิธี PLSR ทุกประการ ต่างกันที่ในวิธี PLSDA เป็นการทำนายค่ากลุ่ม 2 กลุ่ม แทนค่าทางเคมี โดยในที่นี้จะกำหนดให้ตัวอย่างคุณภาพดีมีค่าเป็น 1 และตัวอย่างคุณภาพเสียมีค่าเป็น 0 ความแม่นยำของสมการแคลิเบรชัน พิจารณาจากจำนวนตัวอย่างที่ทำนายกลุ่มคุณภาพได้ถูกต้องเปรียบเทียบกับตัวอย่างทั้งหมด โดยพิจารณาจากค่าตัวแปรทางสถิติที่ได้จากสมการ คือ Correlation of coefficient of prediction (r), Root mean square error of prediction (RMSEP) ข้อมูลการดูดกลืนแสงจากเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Unscrambler version 9.8 (Camo, Oslo, Norway) ส่วนข้อมูลจาก HIS วิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม Matlab R2016a. (MathWorks; Co., US).

## 3 ผลและวิจารณ์

### ผลการสร้างโมเดลด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ (NIRS)

ในการสร้างโมเดลทำนายประเภทของเมล็ดถั่วเขียว จากการวัดแบบส่องผ่านและแบบสะท้อนผิว โมเดลที่ดีที่สุดในเบื้องต้นเกิดจากการนำข้อมูลสเปกตรัมเริ่มต้น (original spectrum) (Figure 4) มาทำการปรับแต่งทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Smoothing แบบ Savitzky Golay ร่วมกับวิธี Second Derivative แบบ Savitzky Golay และ วิธี Multiplicative Scatter Correction (MSC) แล้ววิเคราะห์สร้างโมเดลในการทำนาย โดยวิธี PLSDA พบว่า Hilum face-up โมเดลให้ค่า r สูงสุดเท่ากับ 0.711 และค่า RMSEP เท่ากับ 0.395 โดยสามารถคัดแยกเมล็ดปกติและเมล็ดแข็งได้ถูกต้อง 84.85 %

จากนั้นทำการปรับปรุงโมเดลให้มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น โดยการเลือกความยาวคลื่นที่มีค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยค่าสูงมาหาค่าการดูดกลืนแสงตลอดช่วงความยาวคลื่น โดยพิจารณาจากกราฟ regression coefficient ที่ได้จากวิธีการวิเคราะห์แบบ Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLSDA) ดังแสดงใน Figure 5 ที่ความยาวคลื่น 976 และ 1150 nm มีค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยมากที่สุด ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ (Osborne et al., 1993) ได้รายงานไว้ว่าความยาวคลื่น 990 nm มีโครงสร้างเป็นโปรตีน และ 1152 nm มีโครงสร้างเป็น CH<sub>3</sub> จากนั้นจึงนำสเปกตรัมเริ่มต้นทั้งหมดมาทำ normalization โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 990 nm มาหาค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นทั้งหมด ก่อนนำมาวิเคราะห์ PLSDA โดยเปรียบเทียบกับการทำ normalization ด้วยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1150 nm ซึ่งผลที่ได้พบว่า โมเดลที่สร้างจากสเปกตรัมที่นำมาทำ normalization ด้วยความยาวคลื่น 1150 nm ทำให้โมเดลมีความแม่นยำเพิ่มขึ้นดีที่สุด โดยให้ค่า r เพิ่มขึ้นเป็น 0.943 และค่า RMSEP เท่ากับ 0.173 และสามารถคัดแยกเมล็ดงอก (เมล็ดปกติ) และไม่งอก (เมล็ดแข็ง) ได้ถูกต้อง 100 % เหตุผลที่สามารถใช้อธิบายความแม่นยำที่เพิ่มขึ้นอันเนื่องมาจากการทำ normalization ส่วนหนึ่งเกิดจาก ตัวอย่างทุกตัวอย่างน่าจะมีปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1150 nm ใกล้เคียงกัน ซึ่งการทำ normalization เป็นการทำให้การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1150 nm ของทุกตัวอย่างเท่ากันเท่ากันหนึ่งหน่วย ซึ่งจะช่วยให้ความแตกต่างการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นอื่นๆ ระหว่างตัวอย่างเด่นชัดขึ้น จึงส่งผลให้การวิเคราะห์ PLSDA มีความแม่นยำมากขึ้น และใช้จำนวนแฟกเตอร์ในโมเดลน้อยลงเหลือ 5 แฟกเตอร์จาก 6 แฟกเตอร์

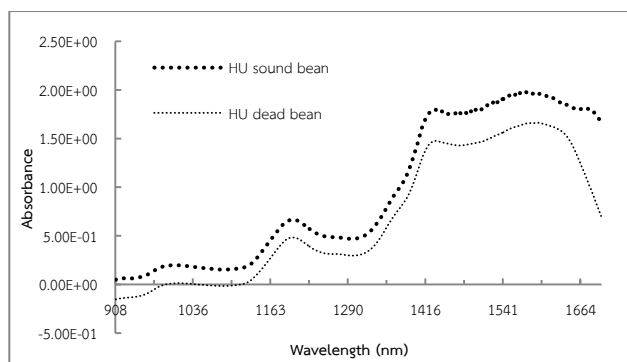


Figure 4 Average absorbance of mung beans (HU: Hilum face-up).

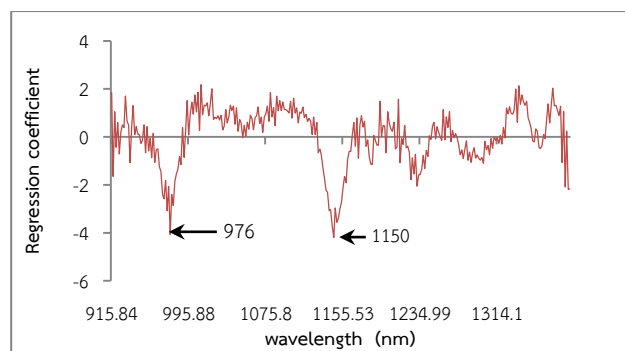


Figure 5 Regression coefficient of model from PLS-DA for prediction the orientation

Table 1 Results of classification performance of calibration models based on absorbance of single kernel of mung bean

| Measurement | Positions                                        | Factors | Calibration |        | Prediction |        |         |       |
|-------------|--------------------------------------------------|---------|-------------|--------|------------|--------|---------|-------|
|             |                                                  |         | r           | RMSECV | r          | RMSEP  | Bias    | %     |
| T+R         | Hilum face-up                                    | 6       | 0.654       | 0.383  | 0.7119     | 0.395  | -0.1444 | 84.85 |
| T+R         | Hilum face-up<br>(normalization with<br>976 nm)  | 6       | 0.8396      | 0.2726 | 0.7947     | 0.3208 | 0.0089  | 92.42 |
| T+R         | Hilum face-up<br>(normalization with<br>1150 nm) | 5       | 0.970       | 0.122  | 0.965      | 0.132  | -0.0118 | 100   |
| HSI         | Hilum face-up                                    | 20      | 0.993       | 0.059  | 0.990      | 0.070  | -0.0003 | 100   |

\*All models from T+R were developed based on spectra pretreated combination with smoothing points equal to 11, Savitzky-Golay second derivative number of smoothing points equal to 15 and multiplicative scatter correction (MSC)”

\*HIS was developed based on spectra pretreated with Standard Normal Variate.

T = Transmittance, R = Reflectance

r = Correlation of coefficient of prediction

RMSECV = Root mean square error of cross-validation

RMSEP = Root mean square error of prediction

% = Total accuracy in classification

HIS = Hyperspectral Imaging System

<sup>1</sup> Table 2 Results of classification performance of mung bean base on hyperspectral imaging system

| Model         | Pre-treatments | Number of factors | Calibration |        | Prediction |       |         |       |
|---------------|----------------|-------------------|-------------|--------|------------|-------|---------|-------|
|               |                |                   | r           | RMSECV | r          | RMSEP | Bias    | %     |
| Hilum face-up | 2D             | 20                | 0.916       | 0.201  | 0.912      | 0.205 | -0.0013 | 98.28 |
|               | SNV            | 20                | 0.993       | 0.059  | 0.990      | 0.070 | -0.0003 | 100   |
|               | 2D+SNV         | 20                | 0.967       | 0.128  | 0.965      | 0.132 | -0.0002 | 100   |

<sup>2</sup> 2D = second derivative

<sup>3</sup> SNV = standard normal variate

ผลการสร้างโมเดลด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ภาพสเปกตรัมอินฟราเรดย่านใกล้ (HSI) จากการวิเคราะห์ข้อมูลเมล็ดถั่วเขียวด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ภาพสเปกตรัมอินฟราเรดย่านใกล้ (HSI) พบว่าเส้นสเปกตรัมเฉลี่ยแสดงใน Figure 6 และมีการดูดกลืนแสงที่เห็นได้ในช่วงความยาวคลื่น 1196 nm จากค่าสัมประสิทธิ์ถดถอย (Figure 7) ที่ความยาวคลื่นนี้อาจจะเกิดจาก second overtone, combination และ first overtone ของกลุ่ม -CH ของโครงสร้างและส่วนประกอบการเก็บสำรองอาหารของเมล็ดพืช เช่น แป้งและคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ไขมันและโปรตีน (Phuangsombut et al., 2016; Workman and Weyer, 2008)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ภาพสเปกตรัมอินฟราเรดย่านใกล้ และใช้วิธีปรับแต่งสเปกตรัมแบบวิธี Second Derivative, SNV และ Second Derivative ร่วมกับ SNV พบว่า Hilum face-up โมเดล ที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมแบบวิธี SNV มีค่า  $r$  และ RMSEP เท่ากับ 0.990 และ 0.070 ตามลำดับ (Table 2) โดยสามารถคัดแยกเมล็ดปกติและเมล็ดแข็งได้ถูกต้อง 100 %

เมื่อนำโมเดลที่ดีที่สุดจาก Table 2 มาทำนายประเภทของเมล็ดถั่วเขียวที่ตำแหน่งต่างๆ บนถั่วเขียว (mapping) จะได้ภาพเปรียบเทียบระหว่างเมล็ดปกติและเมล็ดแข็งดังแสดงใน Figure 8 ซึ่งจะพบว่ามีความแตกต่างกันชัดเจน ความแตกต่างที่เกิดขึ้นส่วนหนึ่งมาจากการดูดกลืนแสงขององค์ประกอบทางเคมีที่มีความยาวคลื่น 1196 nm ที่มีความแตกต่างกันระหว่างเมล็ดปกติและเมล็ดแข็ง ซึ่งค่าความยาวคลื่นที่ 1196 nm นี้ใกล้เคียงกับค่า 1215 nm ที่ (Osborne et al., 1993) ได้รายงานไว้ ในช่วงความยาวคลื่น 1215 nm จะมี Bond vibration เป็น C-H str. second overtone และมี structure เป็น  $\text{CH}_2$

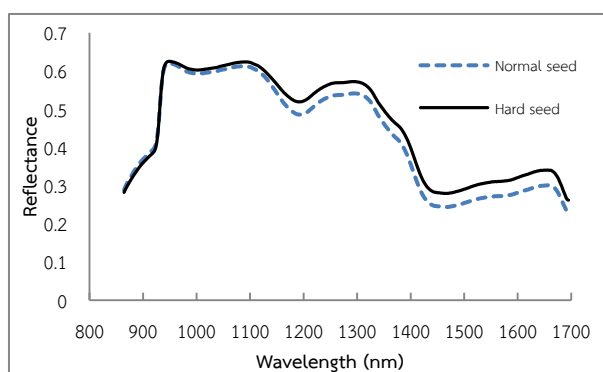


Figure 6 The averaged reflectance of mung beans.

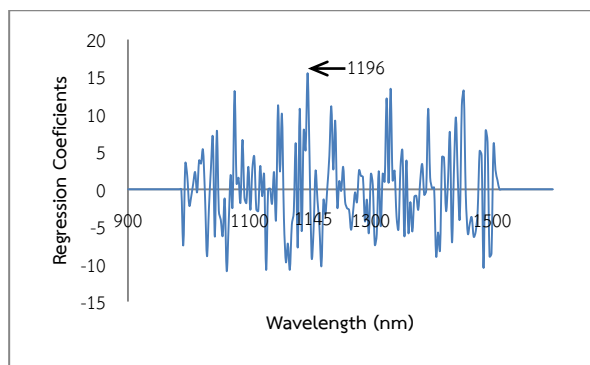


Figure 7 Regression coefficients PLS-DA model based on spectra from HSI related to classification performance of mung bean.

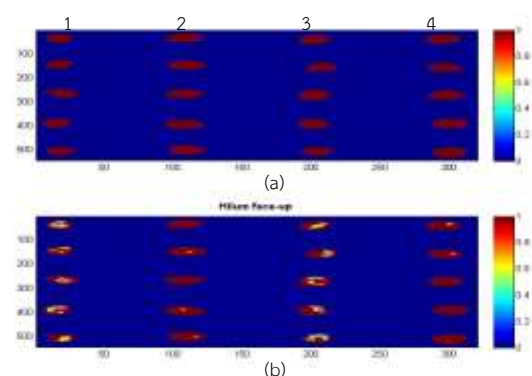


Figure 8 Classification map in mung bean seeds. The first and third columns represent defect group and the second and forth columns represent good group. The value on the right of figure represents the classification value. (a) Before mapping (b) After mapping

#### 4 สรุป

จากการวิจัยด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ พบว่าการคัดแยกเมล็ดถั่วเขียวแบบเมล็ดเดี่ยว ที่มีการวัดแบบทะลุผ่านร่วมกับการวัดแบบสะท้อน โดยการใช้วิธีปรับแต่งสเปกตรัมแบบวิธี Smoothing แบบ Savitzky Golay ร่วมกับวิธี Second Derivative แบบ Savitzky Golay และ วิธี Multiplicative Scatter Correction (MSC) พบว่า Hilum face-up โมเดล ให้ค่า  $r$  เท่ากับ 0.711 และค่า RMSEP เท่ากับ 0.395 และสามารถทำให้สมการมีความแม่นยำมากขึ้นด้วยวิธี normalization พบว่า Hilum face-up (normalization with 1150 nm) โมเดล ให้ค่า  $r$  เท่ากับ 0.965 และค่า RMSEP เท่ากับ 0.132 สามารถคัดแยกเมล็ดงอก (เมล็ดปกติ) และไม่งอก (เมล็ดแข็ง) ได้ถูกต้อง 100 %.

สำหรับเทคนิคการวิเคราะห์ภาพสเปกตรัมอินฟราเรดย่านใกล้ พบว่า Hilum face-up โมเดล ที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมแบบวิธี SNV มีค่า  $r$  สูงสุดเท่ากับ 0.990 และ RMSEP เท่ากับ

0.070 ซึ่งดีกว่าโมเดล NIRS ที่ความถูกต้องในการคัดแยก 100%.

## 5 กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สัญญาเลขที่ PHD/0173/2554 สำนักวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รหัสโครงการ วท.ด.36.58 ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท คณะวิศวกรรมศาสตร์กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่กรุณาสับสนุนงบประมาณการวิจัย และ Graduate School of Bioagricultural Sciences Nagoya University, Japan.

## 6 เอกสารอ้างอิง

Adsual R.N, Kadam S.S, Salunkhe D.K. 1986. Chemistry and technology of green gram (*Vigna radiata* [L.] Wilczek). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 25, 73–105.

Du, C.J., and Sun, D.W. 2005. Comparison of three methods for classification of pizza topping using different colour space transformations. *Journal of Food Engineering*, 68(3), 277–287.

Fu, X., Ying, Y., Lu, H., Xu, H. 2007. Comparison of diffuse reflectance and transmission mode of visible-near infrared spectroscopy for detecting brown heart of pear. *Journal of Food Engineering* 83(3), 317-323.

Guan-Hong, L., Yong-Hui, S., Huan, L. 2006. Antihypertensive effect of alkalase generated mung bean protein hydrolysates in spontaneously hypertensive rats. *European Food Research and Technology*, 222, 733–736.

ISTA. 2006. International rule for seed testing. *Handbook on Seeding Evaluation*. (3<sup>rd</sup> ed.). Zurich, Switzerland.

Kaliramesh, S., Chelladurai, V., Jayas, D.S., Alagusundaram, K., White, N. D.G., Fields, P.G. 2013. Detection of infestation by *callosobruchus maculatus* in mung bean using near-infrared hyperspectral imaging. *Journal of Stored Products Research*, 52, 107-111.

Osborne B., Fearn T., Hindle P.H. 1993. *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*, Longman Scientific and Technical, Harlow, UK.

Phuangsombut K., Suttiwijitpukdee N., Terdwongworakul A. 2016. Nondestructive

classification of mung bean seeds by single kernel near-infrared spectroscopy. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 10(6).

Sun, D.W., Brosnan, T. 2003. Pizza quality evaluation using computer vision - part 1 - Pizza base and sauce spread. *Journal of Food Engineering*, 57(1), 81–89.

Terdwongworakul, A., Nakawajana, N., Teerachaichayut, S., Janhiran, A. 2012. Determination of translucent content in mangosteen by means of near infrared transmission. *Journal of Food Engineering* 109(1), 114-119.

Wang L.J., Liu S.C., Yao Y., Ren G.X., Cheng X.Z. 2013. The development of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) prediction model for the quality components of sour and intact seed in mungbean, *Journal of Plant Genetic Resources*. 14(5), 833–838.

Workman J. and Weyer L. 2008. *Practical Guide to Interpretive Near Infrared Spectroscopy*. CRC Press, Boca Raton. FL, USA.

Zheng, C.X., Sun, D.W., Zheng, L.Y. 2006. Recent developments and applications of image features for food quality evaluation and inspection - a review. *Trends in Food Science & Technology*, 17(12), 642–655.