

การจำแนกสายพันธุ์อ้อยด้วยการตรวจวัดลำอ้อยโดยใช้เครื่องอินฟราเรดย่าน ใกล้สเปกโตรมิเตอร์แบบพกพา

Classification of sugarcane varieties based on stalk scanning by using portable near infrared spectrometer

รัชดาภรณ์ หนูทัศน^{1,2}, รณฤทธิ ฤทธิธรณ³, วิรัตน์ วาณิชศรีรัตนา^{2*}

Rutchadaporn Nootas^{1,2}, Ronnarit Rittiron³, Wirat Vanichsriratana^{2*}

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและทดสอบความเป็นไปได้ที่จะประยุกต์ใช้เครื่องอินฟราเรดย่านใกล้สเปกโตรมิเตอร์ (Near infrared spectrometer; NIRs) แบบพกพา สำหรับนำมาจำแนกกลุ่มพันธุ์อ้อยที่นิยมปลูกในประเทศไทยระหว่างอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 (KK3) และ สุพรรณบุรี 50 (SP50) โดยอาศัยหลักการเคมิเมทริกซ์ (Chemometrics) ด้วยวิธีการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มด้วยการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least square-discriminant analysis, PLS-DA) ซึ่งมีเก็บข้อมูลสเปกตรัมอินฟราเรดย่านใกล้ของตัวอย่างอ้อยในช่วงความยาวคลื่นช่วง 634 - 1124 นาโนเมตรผ่านการสแกนบนลำอ้อยโดยตรงโดยใช้เครื่อง NIRs แบบพกพา ผลการทดสอบพบว่าแบบจำลอง PLS-DA สามารถจำแนกคัดแยกกลุ่มของอ้อยทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ โดยมีค่าความถูกต้องของการจำแนกกลุ่ม (Correctly classified) เท่ากับ 100% โดยที่ในขั้นตอนของการสร้างและการทดสอบความถูกต้องของการจำลองนี้มีการจัดกลุ่มของตัวแปรเดิมเป็นตัวแปรใหม่ได้ 14 แฟกเตอร์ โดยให้ค่าสัมประสิทธิ์การพิจารณาของการจำลอง (Coefficient of determination of calibration, R_c^2) ค่าเฉลี่ยกำลังสองของความผิดพลาดมาตรฐานของการจำลอง (Root mean square of standard error of calibration, RMSEC) ค่าสัมประสิทธิ์การพิจารณาของการทดสอบ (Coefficient of determination of validation, R_v^2) และค่าเฉลี่ยกำลังสองของความผิดพลาดมาตรฐานของการทดสอบ (Root mean square of standard error of cross-validation, RMSECV) เท่ากับ 0.99, 0.05, 0.98 และ 0.07 ตามลำดับ ซึ่งการศึกษาดังกล่าวเป็นการพิสูจน์เทคโนโลยี NIR ถึงความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการจำแนกสายพันธุ์ที่มีความหลากหลายโดยเฉพาะในงานพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์อ้อย

คำสำคัญ: เคมิเมทริกซ์, พีแอลเอส-ดีเอ, อินฟราเรดย่านใกล้, การวิเคราะห์แบบไม่ทำลาย, อ้อย

Received November 21, 2019

Accepted March 29, 2020

¹ บริษัท มิตรผลวิจัยพัฒนาอ้อยและน้ำตาล จำกัด จ.ชัยภูมิ 36110

Mitr Phol Sugarcane Research Center, Chaiyaphum 36110

² ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

Department of Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Bangkhen Campus, Kasetsart University, Bangkok 10900

³ ภาควิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จ.นครปฐม 73140

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Kamphaeng Saen Campus, Kasetsart University, Nakhonpratom 73140

* Corresponding author: fagiwiv@ku.ac.th

ABSTRACT: The objective of this research was to study and test the possibility of using the portable near infrared spectrometer (NIRs) for classification of sugarcane varieties between Khonkean3 (KK3) and Suphanburi 50 (SP50), the most important sugarcane varieties in Thailand that the near infrared spectral were collected in the wavelength cover ranges of 634-1124 nm from the direct sugarcane stalks. The classification of sugarcane varieties was developed by using Chemometrics analysis based on the partial least square discriminant analysis (PLS-DA). The results showed that, PLS-DA model could be discriminate the both of sugarcane groups which the correctly classification was 100%. This calibration and validation represented the 14 factors which the coefficient of determination of calibration (R_C^2), root mean square of standard error of calibration (RMSEC), coefficient of determination of validation (R_V^2) and root mean square of standard error of cross-validation (RMSECV) were 0.99, 0.05, 0.98 and 0.07, respectively. This study proves the NIR technology fore identification of sugarcane varieties, especially in the development of sugarcane breeding.

Keywords: chemometrics, PLS-DA, Near Infrared, non-destructive analysis, sugarcane

บทนำ

สำหรับประเทศไทยนั้นอ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากอ้อยเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตน้ำตาลทรายเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก ซึ่งไทยเป็นผู้ส่งออกน้ำตาลทรายเป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากบราซิล สร้างรายได้จากการส่งออกมูลค่าปีละหลายหมื่นล้านบาท ในปี พ.ศ. 2562 การส่งออกน้ำตาลทรายมีมูลค่าสูงถึงประมาณ 94,015 ล้านบาท (สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์, 2562) นอกจากนั้นการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติของคนในยุคปัจจุบันมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ทำให้อุตสาหกรรมน้ำอ้อยพร้อมดื่มมีการขยายตัวอย่างรวดเร็วเพิ่มมากขึ้น ด้วยเหตุนี้ทำให้หน่วยงานภาครัฐ สถาบันการศึกษา และผู้ประกอบการโรงงานน้ำตาลจึงมีความพยายามที่จะศึกษาวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการเพิ่มปริมาณผลผลิตและคุณภาพทั้งอ้อยเพื่อการอุตสาหกรรมและการบริโภคสดภายในประเทศให้สูงขึ้น โดยให้ความสำคัญกับการศึกษาและวิจัยพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์อ้อย เนื่องจากพันธุ์อ้อยเป็นพื้นฐานขั้นต้นของการปลูกอ้อย หากเกษตรกรชาวไร่อ้อยสามารถคัดเลือกพันธุ์อ้อยที่ให้ผลผลิตและคุณภาพดีตั้งแต่เริ่มต้น จะสามารถรักษารากฐานความมั่นคงให้กับอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลต่อไปได้ ซึ่งในขั้นตอนของการคัดเลือกอ้อยพันธุ์ที่มีความหวานสูงให้ตรงตามความต้องการของเกษตรกรชาวไร่อ้อย นิยมใช้วิธีการประเมินลักษณะทาง

กายภาพอ้อยด้วยสายตาจากนักวิจัย นักวิชาการร่วมกับชาวไร่ ซึ่งต้องอาศัยบุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญและประสบการณ์สูงเป็นผู้ประเมิน และอีกหนึ่งวิธีการที่ให้ผลการตรวจสอบพิสูจน์จำแนกสายพันธุ์อ้อยอย่างถูกต้องแม่นยำสูงคือวิธีการตรวจสอบทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล (DAN Marker) เป็นวิธีที่ต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญ ใช้สารเคมี ใช้เวลานาน และมีค่าใช้จ่ายสูง นอกจากนี้ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบต้องถูกทำลายไประหว่างขั้นตอนตรวจสอบ ปัจจุบันมีงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เทคนิคสเปกโตรสโกปีช่วงอินฟราเรดย่านใกล้ (Near infrared spectroscopy, NIRS) ซึ่งเป็นวิธีการตรวจวัดคุณภาพตัวอย่างที่รวดเร็ว ราคาถูก ลดการใช้สารเคมี และไม่ก่อให้เกิดความเสียหายหรือทำลายชิ้นตัวอย่าง (Non-destructive) ในการนำมาประยุกต์ใช้งานเพื่อควบคุมคุณภาพในอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทั้งในส่วนของกระบวนการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบอ้อย (Taira et al., 2010) และใช้ติดตามค่าปริมาณผลผลิตน้ำตาล (Wagih et al., 2004) รวมไปถึงการหาปริมาณน้ำตาลที่สูญเสียออกไปกับขานอ้อย (Tewari and Malik, 2007) และการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ในรูปไซแลนและลิกนินในขานอ้อยด้วย (Sabatier et al., 2012) ตั้งแต่ในปี ค.ศ. 2012 Nawi และคณะ ได้ทำการศึกษาวิจัยและประยุกต์ใช้ NIRs แบบพกพาตรวจวัดปริมาณน้ำตาลผ่านลำอ้อยโดยตรง โดยมีจุดมุ่งหมายที่จะนำเทคโนโลยีการตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในอ้อยด้วยแสง NIR ไปใช้ในไร่อ้อยได้จริง

โดยในปี ค.ศ.2013 มีการใช้ช่วงคลื่น Visible ร่วมกับ NIR ช่วงสั้นในการตรวจวัดค่า Brix แล้วนำมาใช้แบ่งเกรดคุณภาพข้าวตามค่า Brix ที่วัดได้ ต่อมาในปี ค.ศ. 2014 ได้ใช้สมการ PLS-NIR ตรวจวัดคุณภาพข้าวด้วยค่า Brix, Fiber และ Moisture ตามลำดับ ซึ่งในปีเดียวกันนี้ได้มีการรวบรวมข้อมูลการศึกษาและโอกาสความเป็นไปได้ที่จะนำ NIR ไปประยุกต์ใช้ตรวจคุณภาพข้าวในไร่ เพื่อจะนำไปใช้สนับสนุนเป็นข้อมูลสำหรับการประเมินผลผลิตข้าวด้วยเทคนิค Precision agricultural sensor (Nawi et al., 2012, 2013, 2014a, 2014b) นอกจากการใช้ NIR portable ตรวจวัดน้ำตาลด้วยค่า Brix และ Pol แล้ว ยังมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดแร่ธาตุในลำข้าวได้ เช่น ค่าโพแทสเซียม, และค่าแคลเซียม (Taira et al., 2015) และยังมีเครื่อง Vis/NIR portable ในการตรวจวัดค่า K^+ , Na^+ , Mg^{2+} และ Na^+/K^+ ratio ในลำข้าวด้วย (Neto et al., 2017) สำหรับในงานวิจัยประยุกต์ใช้ NIRs แบบพกพาเพื่อการคัดแยกสายพันธุ์ข้าวถือว่าเป็นความท้าทายในการศึกษาเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากงานวิจัยส่วนใหญ่ที่ผ่านมามักจะให้ผลดีกับการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างผลไม้สดที่มีเปลือกบาง เช่น ท้อ มะม่วง แอปเปิ้ล สาลี่ เป็นต้น (Fu et al., 2007) ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้เครื่อง NIRs แบบพกพานำมาคัดแยกจำแนกกลุ่มพันธุ์ข้าว โดยเครื่อง NIRs แบบพกพาที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นเครื่องต้นแบบอยู่ระหว่างการพัฒนาโดยคณะวิศวกรรมศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เป็นเครื่อง NIRs แบบพกพาใช้วิธีการตรวจวัดตัวอย่างแบบ interactance ด้วย Fiber optic probe มีช่วงความยาวคลื่นอยู่ระหว่าง 634 – 1124 นาโนเมตร มีระยะทะลุทะลวงเข้าสู่เนื้อตัวอย่างในระยะเวลาประมาณ 4-7 มิลลิเมตร ซึ่งระยะที่แสงทะลุผ่านเนื้อตัวอย่างจะแปรผันตามคุณสมบัติของเนื้อตัวอย่าง หากตัวอย่างมีเปลือกหนาหรือบางแตกต่างกันจะทำให้เกิดผลกระทบต่อการดูดกลืนและสะท้อนกลับของแสงในตัวอย่างที่ตรวจวัดได้ (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, 2555) สำหรับตัวอย่างข้าวในแต่ละสายพันธุ์มีความหนาของเปลือกแตกต่างกันออกไป สายพันธุ์ข้าวที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลจะเป็นอ้อยประเภทเปลือกแข็งและสายพันธุ์ที่เข้คั้นน้ำอ้อยสดหรือเคี้ยวเพื่อบริโภคจะ

เป็นอ้อยประเภทเปลือกอ่อน ความแตกต่างของเปลือกอ้อยที่ไม่เท่ากันอาจส่งผลกระทบต่อสเปกตรัมของเครื่อง NIRs แบบพกพาที่ใช้ในการศึกษานี้ ดังนั้นเพื่อเป็นการทดสอบศักยภาพของเครื่อง NIRs ที่ถูกพัฒนาขึ้นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการคัดแยกสายพันธุ์อ้อยได้หรือไม่ ทางคณะผู้วิจัยจึงเลือกที่จะเริ่มทำการศึกษาทดสอบเครื่อง NIRs แบบพกพากับตัวอย่างอ้อยที่มีความหนาของเปลือกแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 (KK3) ที่เป็นอ้อยสำหรับโรงงานน้ำตาล และอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 (SP50) ที่เป็นอ้อยคั้นน้ำ ซึ่งเป็นที่นิยมปลูกในประเทศไทย หากลักษณะปรากฏของสเปกตรัม NIR จากทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน ปัจจัยเรื่องความหนาของเปลือกที่แตกต่างกันอาจจะไม่มีผลกระทบต่อการใช้สเปกตรัม NIR ในการจำแนกสายพันธุ์อ้อย เมื่อนำเครื่อง NIRs แบบพกพาไปใช้ทดสอบกับอ้อยสายพันธุ์อื่นๆ ที่มีความหนาของเปลือกใกล้เคียงหรือเป็นอ้อยประเภทเดียวกันน่าจะมีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น โดยหลังจากงานวิจัยนี้แล้วจะต้องมีการตรวจวัดสเปกตรัมพันธุ์อ้อยอื่นๆ เพิ่มเติม โดยเฉพาะพันธุ์อ้อยที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ อ้อยพันธุ์ทอง พันธุ์กำแพงแสน พันธุ์ลำปาง พันธุ์ชัยนาท พันธุ์สิงคโปร์ พันธุ์อ้อยตระกูลเค (K, LK, NK, CK) เป็นต้น (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2560) รวมถึงพันธุ์ลูกผสมต่างๆ ที่อยู่ระหว่างขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ด้วย ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นในการประยุกต์ใช้เครื่อง NIRs แบบพกพาในการจำแนกคัดแยกสายพันธุ์อ้อยเบื้องต้นอย่างรวดเร็วได้ทันที ให้สามารถเป็นที่ยอมรับใช้ทดแทนวิธีการตรวจวัดที่มีความยุ่งยากซับซ้อนและค่าใช้จ่ายสูงอย่างวิธีการตรวจทางชีวโมเลกุลได้ในที่สุด

วิธีการศึกษา

ในงานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างอ้อยที่นิยมปลูกในประเทศไทย 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น 3 และสุพรรณบุรี 50 ที่มีอายุ 12 เดือน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างพันธุ์ละ 150 ลำอ้อย (ตัวอย่าง) จากพื้นที่แปลงทดสอบของบริษัทมิตรผลวิจัยพัฒนาอ้อยและน้ำตาลจำกัด อำเภอกัญชีหว จังหวัดชัยภูมิ ในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม ปีพ.ศ. 2561 รวมเป็นจำนวนทั้งสิ้น 300 ตัวอย่าง

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างด้วยเครื่อง NIRs ต้นแบบที่พัฒนาโดยคณะวิศวกรรมศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยเป็นเครื่อง NIRs ชนิดแบบพกพา (รุ่น Gun portable) ที่มีช่วงความยาวคลื่นสั้นอยู่ระหว่าง 634 - 1124 นาโนเมตร ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างด้วยแต่ละลำ จำนวน 3 ปล้อง (โคน กลาง ปลายของลำ) ที่บริเวณตำแหน่งกลางปล้อง แต่ละปล้องทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง 5 ครั้ง จะได้จำนวน 15 สเปกตรัม นำสเปกตรัมที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยเพื่อเป็นตัวแทนค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างด้วยแต่ละลำ ในการสร้างสมการสำหรับจำแนกกลุ่มทำได้โดยนำข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างด้วย 300 ตัวอย่าง (พันธุ์ละ 150 ตัวอย่าง) มาแบ่งข้อมูลออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ใช้สร้างแบบจำลอง (Calibration set) จำนวน 225 ตัวอย่าง (ข้อมูลพันธุ์ขอนแก่น 3 จำนวน 113 ตัวอย่าง และสุพรรณบุรี 50 จำนวน 112 ตัวอย่าง) และอีกกลุ่มที่ใช้ทดสอบความแม่นยำของแบบจำลอง (Prediction set) จำนวน 75 ตัวอย่าง (ข้อมูลพันธุ์ขอนแก่น 3 จำนวน 37 ตัวอย่าง และสุพรรณบุรี 50 จำนวน 38 ตัวอย่าง) ทำการสร้างสมการจำแนกกลุ่มโดยใช้วิธีการถดถอยกำลังสองน้อยที่สุด (Partial least squares regression-Discriminant analysis, PLS-DA) ร่วมกับการทดสอบความถูกต้องของสมการด้วยเทคนิค Full cross-validation กำหนดให้ตัวแปรต้น คือ ค่าการดูดกลืนแสง และ ตัวแปรตาม คือ กลุ่มของตัวอย่างโดยกำหนดเป็นตัวแปรหุ่น (Dummy variable) ดังนี้ 1 คือ ข้อมูลพันธุ์ขอนแก่น 3 และ 0 คือ ข้อมูลพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ขั้นตอนการสร้างสมการแสดงในภาพที่ 1

ทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อใช้พิจารณาความถูกต้องของสมการ PLS-DA โดยใช้ชุดข้อมูล Calibration set คำนวณค่าดังนี้ ค่าสัมประสิทธิ์การพิจารณาของแบบจำลอง (Coefficient of determination: R_c^2), ค่าเฉลี่ยกำลังสองของการทำนาย (Root mean square error of calibration: RMSEC), ค่าสัมประสิทธิ์การพิจารณาของการทดสอบ (Coefficient of determination: R_v^2) ค่าเฉลี่ยกำลังสองของการทำนาย (Root mean square error of cross validation: RMSECV) โดยใช้สมการที่ 1- 4 ตามลำดับ โดยสมการที่ดีต้องมีค่า R_c^2 และ R_v^2 สูงใกล้เคียง 1, มีค่า RMSEC และ RMSECV ต่ำ และนำชุดข้อมูล Prediction set ซึ่งเป็นกลุ่มตัวอย่างคนละชุดกับตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการมา

คำนวณค่าร้อยละความถูกต้องในการจำแนกกลุ่ม (%Correct classification rate) โดยประเมินความถูกต้องจากค่าอ้างอิงที่กำหนดไว้ ดังนี้ ตัวอย่างด้วยพันธุ์ขอนแก่น 3 ต้องมีค่าทำนายอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 1.5 และตัวอย่างด้วยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ต้องมีค่าทำนายอยู่ในช่วง -0.5 ถึง 0.5 ทั้งนี้สมการการจำแนกกลุ่มที่ดีควรมีค่า Correct classification rate ใกล้เคียง 100

$$R_c^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y}_i)^2} \quad (1)$$

เมื่อ

R_c^2 คือ Coefficient of determination ของการสร้างสมการ

\hat{y}_i คือ ค่าที่ได้จากการทำนาย

y_i คือ ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

\bar{y}_i คือ ค่าเฉลี่ยของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n - f - 1}} \quad (2)$$

เมื่อ

RMSEC คือ Root mean square error of calibration

\hat{y}_i คือ ค่าที่ได้จากการทำนาย

y_i คือ ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

n คือ จำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ

f คือ จำนวนตัวแปร (Factor) ที่ใช้ในการสร้างสมการ

$$R_v^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y}_i)^2} \quad (3)$$

เมื่อ

R_v^2 คือ Coefficient of determination ของการทดสอบสมการ

\hat{y}_i คือ ค่าที่ได้จากการทำนาย

y_i คือ ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

\bar{y}_i คือ ค่าเฉลี่ยของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}} \quad (4)$$

RMSECV คือ Root mean square error of cross validation

\hat{y}_i คือ ค่าที่ได้จากการทำนาย

y_i คือ ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

n คือ จำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการ

ไม่ขอ

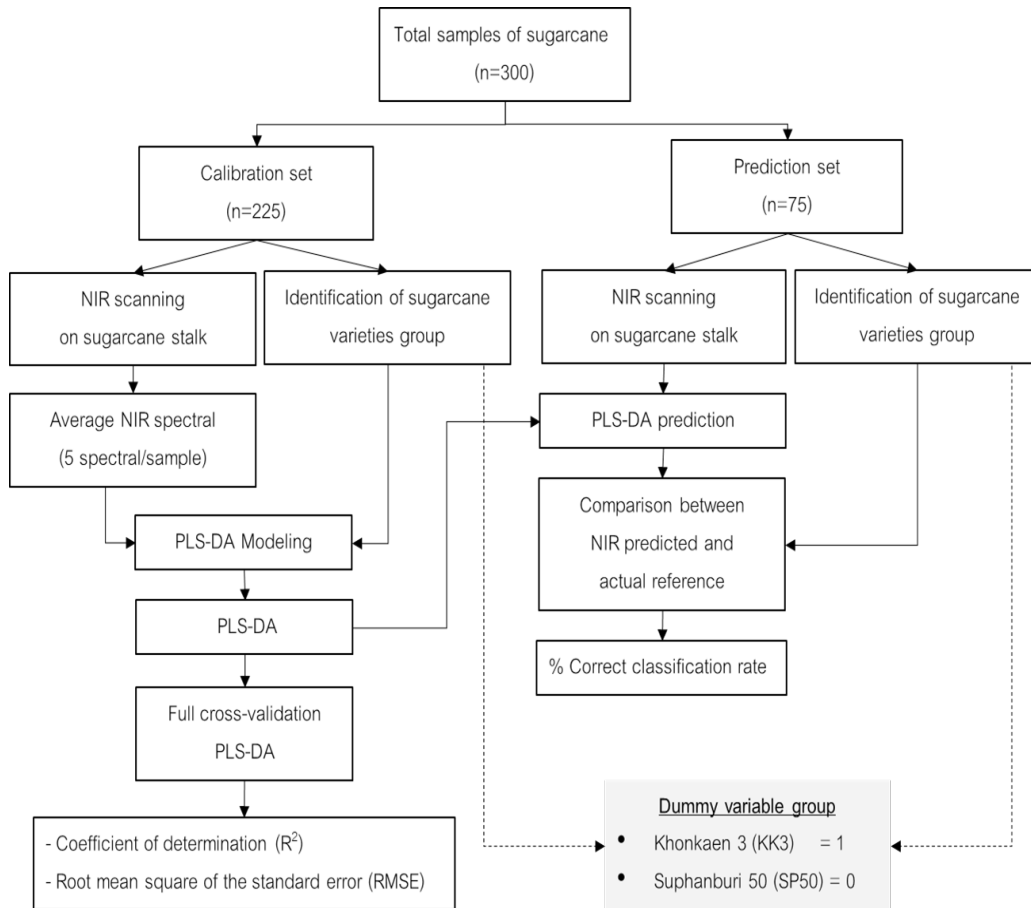


Figure 1 PSL-DA calibration and prediction process

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และสุพรรณบุรี 50 ด้วยเครื่อง NIRs แบบพกพาแสดงดังภาพที่ 2 เมื่อพิจารณาพบว่าลักษณะของสเปกตรัม NIR โดยเฉลี่ยของตัวอย่างอ้อย 300 ตัวอย่าง (พันธุ์ละ 150 ตัวอย่าง) ในแต่ละพันธุ์ มีรูปแบบลักษณะคล้ายคลึงกันโดยค่าการดูดกลืนแสงปรากฏพีค (peak) อย่างชัดเจนที่ตำแหน่งความยาวคลื่น 680 nm ซึ่งมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับการสันของโมเลกุลรงควัตถุคลอโรฟิลล์ (chlorophyll pigment) (Tamburini et al. 2015) โดยสเปกตรัมที่มีการดูดกลืนแสงสูงกว่า คือพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ซึ่ง

สอดคล้องกับลักษณะเฉพาะทางกายภาพของอ้อยพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ที่สีของลำอ้อยเป็นสีเขียวเข้มมากกว่าอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่เป็นสีเขียวอมเหลือง Figure 3 ซึ่งลักษณะการความแตกต่างของสเปกตรัม NIR ที่แยกกันดังกล่าว สามารถบ่งชี้ถึงความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์อ้อยทั้งสองได้อย่างถูกต้องแม่นยำจากการตรวจวัดตัวอย่างซ้ำๆ และให้ผลสเปกตรัมในลักษณะเดิมสามารถคำนวณหาค่าความน่าเชื่อถือได้ (Reliability) ซึ่งการใช้เครื่อง NIR เพื่อเป็นเครื่องมือคัดแยกความแตกต่างของพันธุ์อ้อยจึงดีกว่าการแยกโดยใช้การประเมินสีด้วยสายตาซึ่งมีโอกาสเกิดความ error แปรปรวนเกิดขึ้นได้ไม่เท่ากันในแต่ละบุคคล

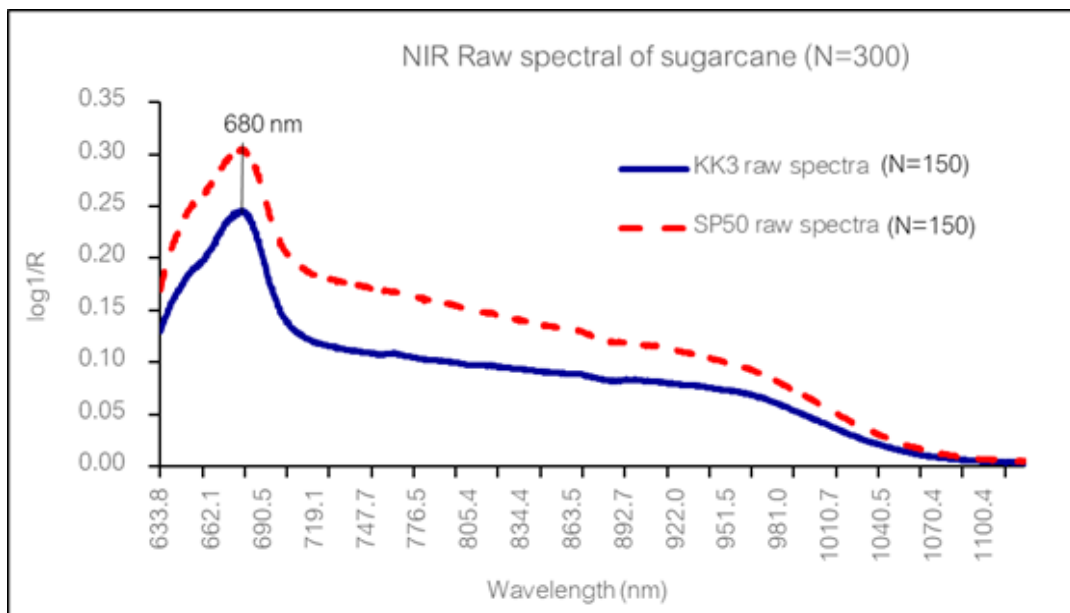


Figure 2 NIR raw spectral of sugarcane by NIR portable scanning



Figure 3 Colors of sugarcane stalks according to varieties characteristics (a) Khonkaen 3 (b) Suphunburi 50

Figure 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าตัวแปรกำหนด (Actual reference value) กับค่าการทำนายจากสมการ (NIR predicted value) ของสมการ PLS-DA ที่ใช้ในการจำแนกพันธุ์อ้อยในกลุ่มพันธุ์ขอนแก่น 3 และสุพรรณบุรี 50 จากสเปกตรัมกลุ่มตัวอย่าง calibration set ทั้งหมด 225 ตัวอย่าง ในขั้นตอนสร้าง calibration และการทวนสอบ validation ของสมการ PLS-DA ซึ่งพบว่า สมการที่สร้างขึ้นนี้มี

การจัดกลุ่มตัวแปรเดิมเป็นตัวแปรใหม่ได้ 14 แพกเตอร์ มีค่า R_c^2 และ RMSEC ของ calibration เท่ากับ 0.99 และ 0.05 และมีค่า R_v^2 และ RMSECV ของ Validation เท่ากับ 0.98 และ 0.07 เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติดังกล่าวพบว่าค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างอ้อยสามารถใช้ในการทำนายกลุ่มได้เป็นอย่างดีเนื่องจากมีค่า R^2 ใกล้เคียง 1 และ RMSEC และ RMSECV มีค่าต่ำใกล้เคียงกัน

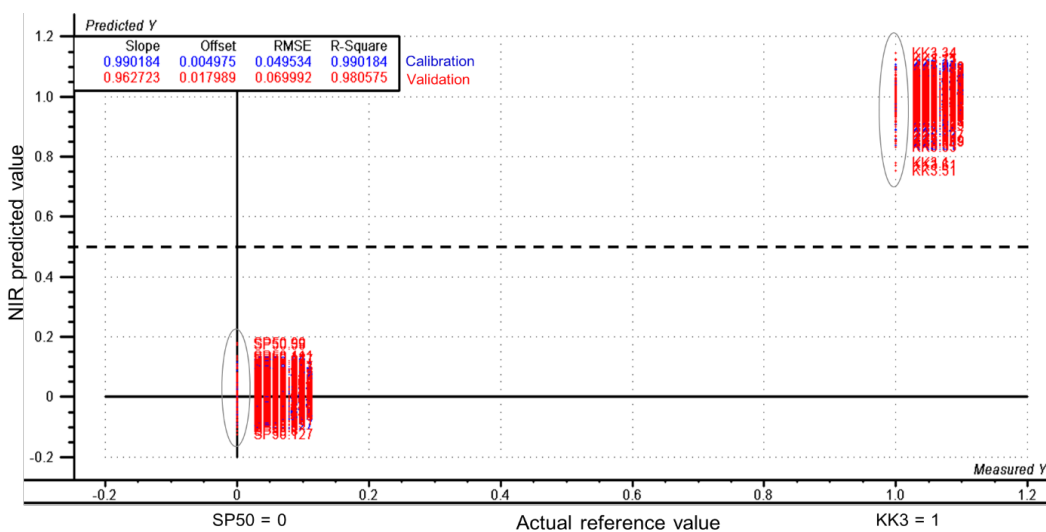


Figure 4 Scattering plot of PLS-DA calibration and validation

เมื่อนำสมการ PLS-DA ที่ได้ไปทดสอบความถูกต้องในการจำแนกกลุ่มโดยใช้ชุดข้อมูลตัวอย่าง Prediction set จำนวน 75 ตัวอย่าง พบว่า สมการ PLS-DA ที่สร้างขึ้นสามารถจำแนกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และพันธุ์สุพรรณบุรี 50 ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ 100% Figure 5

ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยที่พิสูจน์ว่า PLS-DA model สามารถใช้จำแนกกลุ่มอ้อยตามค่าปริมาณไฟเบอร์และน้ำตาลด้วยการใช้ NIRs สแกนผ่านลำอ้อยโดยตรงได้ (Petemelli et al., 2019)

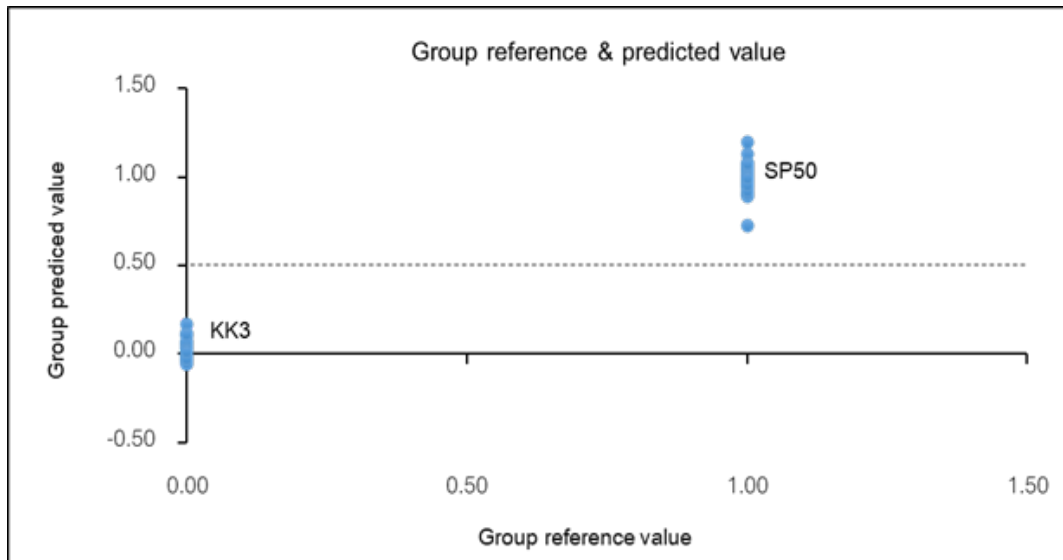


Figure 5 Scattering plot of PLS-DA Prediction

ดังนั้นจากผลการศึกษาคัดจำแนกกลุ่มตัวอย่างอ้อยด้วยแบบจำลอง PLS-DA ดังกล่าว สามารถพิสูจน์ได้ว่าเครื่อง NIRs แบบพกพานี้ สามารถนำไปประยุกต์เพื่อจำแนกคัดแยกกลุ่มอ้อยพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันระหว่างอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และสุพรรณบุรี 50 ได้ ด้วยการใช้น้ำตาลเพียงอย่างเดียว ผ่านการตรวจวัดสแกนตัวอย่างอ้อยผ่านลำอ้อยโดยตรงโดยไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อลำอ้อยที่ทำการตรวจวัด ทั้งนี้เนื่องจากวิธีการตรวจวัดดังกล่าวด้วยเทคนิค NIR ให้ผลการคัดแยกได้อย่างถูกต้องแม่นยำและรวดเร็ว ไม่ต้องรอผลการวิเคราะห์ทางเคมีหรือทางกายภาพจากห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังเป็นวิธีตรวจวัดที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อตัวอย่างลำอ้อยทำให้ไม่ต้องตัดลำอ้อยจึงสามารถรักษาพันธุเพื่อนำไปใช้งานต่อไปได้ แต่อย่างไรก็ตามความหลากหลายทางชีวภาพของอ้อยในแต่ละสายพันธุ์ส่งผลให้ลักษณะเด่นประจำพันธุ์แสดงออกมาแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เช่น สีของลำขนาดลำ ความแข็งแรงของลำ ความหนาของเปลือก ปริมาณและประเภทของไข่อ้อย ปริมาณเส้นใย ความ

หนาแน่น และปริมาณน้ำตาล เป็นต้น ซึ่งด้วยความแตกต่างเหล่านี้เป็นปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการส่งผ่านทะลุทะลวง ดูดกลืน สะท้อนและหักเหของคลื่นแสงในช่วง NIR ทำให้ส่งผลกระทบต่อความถูกต้องแม่นยำในการตรวจวัดองค์ประกอบอ้อยผ่านลำอ้อยโดยตรงด้วยเครื่อง NIRs แบบพกพา ดังนั้นเพื่อเพิ่มศักยภาพของเครื่อง NIRs แบบพกพาในการนำไปใช้คัดแยกพันธุ์อ้อยที่มีความหลากหลายอย่างมากจึงจำเป็นต้องมีการเก็บข้อมูลสเปกตรัมในอ้อยพันธุ์อื่นๆเพิ่มเติม โดยในการศึกษาต่อไปจะได้ทำการศึกษาคัดแยกสายพันธุ์อ้อยในกลุ่มอ้อยปรับปรุงพันธุ์ของบริษัทมิตรผลวิจัยฯ ซึ่งอยู่ระหว่างขั้นตอนการปลูกขยายพันธุ์จำนวนมากกว่า 100 clone โดยจะต้องมีการเก็บสเปกตรัม NIR ตัวอย่างอ้อยในแปลงเพิ่มเติมเพื่อนำข้อมูลไปใช้สร้างแบบจำลองจำแนกพันธุ์อ้อยต่างๆเหล่านั้นต่อไป ซึ่งจะป็นประโยชน์ต่อการคัดเลือก stage หรือ clone หรือสายพันธุ์อ้อยในงานปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

สรุป

การใช้ข้อมูลสเปกตรัม NIR เพียงอย่างเดียวสามารถนำมาใช้แบ่งกลุ่มพันธุ์อ้อยได้ให้ระดับความถูกต้องในการทำนายแบ่งแยกพันธุ์อ้อยชอนแก่น 3 และสุพรรณบุรี 50 โดยมีค่าความถูกต้องของการจำแนกกลุ่ม (Correctly classified) เท่ากับ 100% ในชุดตัวอย่าง calibration set จำนวน 225 ตัวอย่าง และในตัวอย่างทดสอบ validation set จำนวน 75 ตัวอย่าง ด้วยแบบจำลอง PLS-DA และด้วยความหลากหลายทางชีวภาพของอ้อยในแต่ละสายพันธุ์ทำให้ส่งผลกระทบต่อความถูกต้องแม่นยำในการตรวจวัดสเปกตรัมอ้อยผ่านลำอ้อยโดยตรงด้วยเครื่อง NIRs แบบพกพาได้ ดังนั้นการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน NIR จึงควรเพิ่มตัวอย่างใหม่ในจำนวนที่มากพอ และมีค่าครอบคลุมค่าต่ำสุด-สูงสุดที่มีโอกาสเกิดขึ้นในอนาคต ตลอดจนสแกนเก็บสเปกตรัมของอ้อยแต่ละพันธุ์ที่มีลักษณะประจำพันธุ์ที่แตกต่างให้มากที่สุดให้ครอบคลุมทุกพันธุ์อ้อยที่นำมาใช้เป็นพันธุ์การค้าในปัจจุบัน ซึ่งจะทำได้สมการ NIR ที่มีประสิทธิภาพความถูกต้องแม่นยำมากขึ้นจนอยู่ในเกณฑ์การยอมรับได้ของชาวไร่อ้อยและโรงงานน้ำตาลต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนทุนวิจัยภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัย และบริษัท มิตรผลวิจัยพัฒนาอ้อยและน้ำตาล จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างอ้อยและเชื้อเพลิงสถานที่ ตลอดจนสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์ โดยความร่วมมือจากกรมศุลกากร. 2562. โครงสร้างการส่งออกสินค้าของไทย. แหล่งข้อมูล: [http://](http://www2.ops3.moc.go.th/)

www2.ops3.moc.go.th/. ค้นเมื่อ 2 มีนาคม 2563.

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร. 2555. เทคโนโลยีอินฟราเรดย่านใกล้และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2560. คนรักรัษอ้อย. แหล่งข้อมูล: <http://www.ocsb.go.th/>. ค้นเมื่อ 2 มีนาคม 2563.

Cadet, F. and B. Offmann. 1997. Direct spectroscopic sucrose determination of raw sugarcane juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 166-171.

Fu, X., Y. Zhou, Y. Ying, H. Lu, and H. Xu. 2007. Discrimination of pear varieties using three classification methods based on near-infrared spectroscopy. *Transactions of the ASABE*. 50: 1355-1361.

Nawi, N. M., T. Jensen, and G. Chen. 2012. The application of spectroscopic methods to predict sugarcane quality based on stalk cross-sectional scanning. *Journal of American Society of Sugar Cane Technologists*. 32: 16-27

Nawi, N. M., T. Jensen, and G. Chen. 2014a. In-field measurement and sampling technologies for monitoring quality in the sugarcane industry: a review. *Precision agriculture*. 15: 684-703.

Nawi, N. M., T. Jensen, G. Chen, and C. Baillie. 2012. July. Prediction of sugar content along the height of sugarcane internodes using VisNIR. In *Proceedings of the 2012 International Conference of Agricultural Engineering (CIGR-AgEng 2012)*. International Commission of Agricultural Engineering (CIGR).

Nawi, N. M., T. Jensen, G. Chen, and S. A. Mehdizadeh. 2013. Prediction and classification of sugar content of sugarcane based on skin scanning using visible

- and shortwave near infrared. *Biosystems Engineering*. 115: 154-161.
- Nawi, N. M., K. M. Rowshon, C. Guangnan, and J. Troy. 2014b. Prediction of sugarcane quality parameters using visible-shortwave near infrared spectroradiometer. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2: 136-143.
- Neto, A. J. S., J. V. Toledo, S. Zolnier, D. D. C. Lopes, C. V. Pires and T. G. F. da Silva. 2017. Prediction of mineral contents in sugarcane cultivated under saline conditions based on stalk scanning by Vis/NIR spectral reflectance. *Biosystems Engineering*. 156: 17-26.
- Paternelli, L.A., M. H. P. Barbosa, J. V. Roque, and R. F. Teofilo. 2019. June. Phenotypic classification of sugarcane from near infrared spectra obtained directly from stalk using ordered predictors selection and partial least squares-discriminant analysis. In *Proceedings of the 18th International Conference on Near Infrared Spectroscopy*. IM Publications Open.
- Rambla, F.J., S. Garrigues, and M. De La Guardia. 1997. PLS-NIR determination of total sugar, glucose, fructose and sucrose in aqueous solutions of fruit juices. *Analytica Chimica Acta*. 344: 41-53.
- Sabatier, D., L. Thuriès, D. Bastianelli, and P. Dardenne. 2012. Rapid prediction of the lignocellulosic compounds of sugarcane biomass by near infrared reflectance spectroscopy: comparing classical and independent cross-validation. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 20: 371-385.
- Taira, E., M. Ueno, S. Takashi, K. Kikuchi, and Y. Kawamitsu. 2015. Non-destructive quality measurement system for cane stalks using a portable NIR instrument. *International Sugar Journal*. 117: 430-433.
- Tamburini, E., G. Ferrari, M. Marchetti, P. Pedrini, and S. Ferro. 2015. Development of FT-NIR models for the simultaneous estimation of chlorophyll and nitrogen content in fresh apple (*Malus domestica*) leaves. *Sensors*. 15: 2662-2679.
- Tewari, J. C., and K. Malik. 2007. In situ laboratory analysis of sucrose in sugarcane bagasse using attenuated total reflectance spectroscopy and chemometrics. *International Journal of Food Science and Technology*. 42: 200-207.
- Wagih, M. E., A. Ala, and Y. Musa. 2004. Evaluation of sugarcane varieties for maturity earliness and selection for efficient sugar accumulation. *Sugar Tech*. 6: 297-304.