

# การตรวจสอบโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง ด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

## Detection of Anthracnose Disease in 'Namdokmai Sithong' Mango Using Near Infrared Spectroscopy

แคทรีเยา สนธิยา<sup>1</sup> พิมพีใจ สีหะนาม<sup>1,2,3\*</sup> ปาริชาติ เทียนจุมพล<sup>2,3</sup> และ พลกฤษณ์ มณีวระ<sup>2,3</sup>  
Katthareeya Sonthiya<sup>1</sup>, Pimjai Seehanam<sup>1,2,3\*</sup>, Parichat Theanjumpol<sup>2,3</sup> and Phonkrit Maniwara<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup>Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>2</sup>ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10400

<sup>2</sup>Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of Higher Education, Science,  
Research and Innovation, Bangkok 10400, Thailand

<sup>3</sup>ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

<sup>3</sup>Postharvest Technology Research Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

\*Corresponding author: Email: pimjai193@gmail.com

(Received: 1 December 2021; Accepted: 25 April 2022)

**Abstract:** The aim of this research was to detect anthracnose disease in 'Namdokmai Sithong' mango fruit using near infrared spectroscopy (NIRS). Inoculation using 20  $\mu$ L of  $10^6$  spores/mL *Colletotrichum gloeosporioides* spore suspension was done onto mango fruit's peel (one cheek; accounted as infected) while another cheek was left intact (accounted as control). The inoculation was conducted using 102 mango fruits prior to incubating the samples in moist chambers (100 % relative humidity). The chambers were thereafter stored at 28 °C for 24 h before acquiring NIR spectra from both fruit cheeks using FT-NIR apparatus. The spectra were divided into training and testing sets (each set consisted of 102 spectra: 51 intact and 51 infected) before performing a partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). The results indicated that spectra preprocessed by standard normal variate (SNV) method could discriminate anthracnose-infected against intact mango fruit with an overall classification accuracy of 95.1 %. Wavelengths of 1152, 1725, and 1880 nm were important to the classification model. In summary, NIRS with PLS-DA could be a possible tool for detecting anthracnose disease in mango.

**Keywords:** Nondestructive detection, fungi, discriminant analysis

**บทคัดย่อ:** งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองโดยใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี โดยปลูกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ด้วยสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น  $10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนผิวด้านหนึ่งของมะม่วง กำหนดให้เป็นด้านที่เกิดโรคแอนแทรกโนสสำหรับอีกด้านหนึ่งกำหนดให้เป็นชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) ในการทดลองใช้มะม่วงทั้งหมด 102 ผล หลังจากนั้นบรรจุผลมะม่วงในกล่องที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาวัดสเปกตรัมมะม่วงทั้งสองด้านด้วยเครื่อง FT-NIR แบ่งสเปกตรัมเป็นชุดสร้างสมการและชุดทดสอบสมการ (ชุดละ 102 สเปกตรัม ได้แก่ ชุดควบคุม (ด้านที่ไม่ปลูกเชื้อรา) 51 สเปกตรัม และด้านที่ได้รับการปลูกเชื้อรา 51 สเปกตรัม) วิเคราะห์สเปกตรัมด้วยวิธี partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) ผลการทดลองพบว่า สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี standard normal variate (SNV) สามารถแยกมะม่วงที่ได้รับการปลูกเชื้อรากับโรคแอนแทรกโนสและมะม่วงชุดควบคุมได้ โดยมีความแม่นยำที่ 95.1 เปอร์เซ็นต์ และความยาวคลื่นที่สำคัญในการจำแนกประเภท คือ 1152, 1725 และ 1880 นาโนเมตร ดังนั้น การใช้ NIRS ร่วมกับการสร้างแบบจำลองวิเคราะห์แยกด้วยวิธี PLS-DA จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ตรวจสอบโรคแอนแทรกโนสในผลมะม่วง

**คำสำคัญ:** การตรวจสอบโดยไม่ทำลาย เชื้อรา การวิเคราะห์จำแนกประเภท

### คำนำ

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นไม้ผลเขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก พื้นที่การผลิตหลักของมะม่วง คือ ทวีปเอเชีย ซึ่งประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศที่ผลิตมะม่วงในเชิงอุตสาหกรรมระดับโลก (Tharanathan *et al.*, 2006) ในปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยส่งออกมะม่วงสดสูงเป็นอันดับ 1 ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และเป็นอันดับ 7 ของโลก คิดเป็นมูลค่า 1,770 ล้านบาท โดยตลาดส่งออกหลัก ได้แก่ มาเลเซีย เวียดนาม ลาว จีน และฮ่องกง (Ministry of Commerce, 2020)

มะม่วงเป็นไม้ผลในกลุ่ม climacteric fruit ซึ่งสามารถสุกต่อหลังจากการเก็บเกี่ยว และเกิดการเน่าเสียง่าย (perishable) ในระหว่างกระบวนการสุกเนื่องมาจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ ส่งผลกระทบต่อความเสียหายในอุตสาหกรรมส่งออกมะม่วงเป็นอย่างมาก (Jenny *et al.*, 2019; Jongsri *et al.*, 2017) อีกทั้งประเทศไทยมีสภาพอากาศที่ร้อนชื้น ซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคแอนแทรกโนส เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสอยู่ในสกุล *Colletotrichum* มีพืชอาศัยหลายชนิด ทั้งพืชวงศ์ถั่ว กล้วย้า ผัก ไม้ผล และไม้ประดับ

โดยโรคแอนแทรกโนสที่พบในมะม่วงเป็นผลมาจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สามารถพบอาการของโรคแอนแทรกโนสได้ที่บริเวณใบ กิ่ง ก้านใบ ลำต้น ดอก และผล บนผลอ่อนมักปรากฏจุดแผลสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็กหลายจุด และขยายตัวมาติดกัน ทำให้เกิดแผลกว้างและมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ อีกทั้งเมื่อแผลขยายขนาดปกคลุมผิวส่วนใหญ่ของผล เชื้อราอาจเข้าทำลายเนื้อผลทำให้เนื้อผลมีลักษณะขำ เละ และยุบตัวลง (Jenny *et al.*, 2019; Nelson, 2008) ทั้งนี้ในการเข้าทำลายของเชื้อระยะแรก เชื้อราสามารถพักตัวภายในผลิตผล (latent infection) จึงไม่สามารถมองเห็นอาการของโรคได้ จนกระทั่งผลมะม่วงสุกแก่จึงแสดงอาการของโรคแอนแทรกโนสให้เห็นชัดเจน (Nelson, 2008) ดังนั้น ถ้าหากสามารถประเมินคุณภาพของผลผลิตก่อนการส่งออก โดยเฉพาะการตรวจพบเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสในระยะแรก ๆ จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการบริหารจัดการหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อลดความเสียหายในอุตสาหกรรมส่งออกมะม่วง

ปัจจุบันเทคนิคด้านเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (near infrared spectroscopy: NIRS) ได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการประเมินคุณภาพโดยไม่ทำลายผลผลิต โดยใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าช่วงความยาวคลื่น 800 - 2500 นาโนเมตร สามารถแบ่งความยาวคลื่น

ออกเป็น 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงคลื่นสั้นระหว่าง 800 - 1100 นาโนเมตร และช่วงคลื่นยาวระหว่าง 1100 - 2500 นาโนเมตร เทคนิค NIRS อาศัยหลักการสั่น (vibration) ของพันธะภายในโมเลกุลของอินทรีย์สารในผลิตภัณฑ์ หากการสั่นของพันธะ O-H, C-H และ N-H ที่ทำให้เกิดพลังงานตรงกับพลังงานของคลื่นแสง NIR ที่ถูกฉายไปบนตัวอย่างผลิตภัณฑ์จะเกิดการดูดกลืน (absorption) พลังงานของคลื่นแสง NIR ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ จากนั้นสามารถนำค่าการดูดกลืนพลังงานของคลื่นแสงไปหาความสัมพันธ์กับข้อมูลเชิงปริมาณหรือข้อมูลเชิงคุณภาพต่อไปได้ด้วยเคมีเมตริกซ์ (chemometrics) (Boonyakiat, 2020; Osborne *et al.*, 1993) มีรายงานว่าเทคนิค NIRS ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของผลมะม่วงหลายด้าน เช่น การตรวจสอบอาการระคายเคืองผิวหนังในมะม่วง (Suwapanich and Theanjumpol, 2011) การตรวจสอบไซและหนอนแมลงวันผลไม้ในมะม่วงส่งออก (Thanapase *et al.*, 2008) และการตรวจสอบความเสียหายทางกลของผลมะม่วง (Velez Rivera *et al.*, 2014) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคโนโลยี NIRS ในการตรวจสอบการเกิดโรคและการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น การตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อ *Aspergillus flavus* ในเมล็ดข้าว (Klaithin, 2012) การคัดแยกผลอินทผลัมที่มีการเข้าทำลายของเชื้อรา (Teena *et al.*, 2014) เป็นต้น มากไปกว่านั้นยังมีรายงานการใช้เทคนิค NIRS ในการตรวจสอบอาการของโรคแอนแทรกโนสในผลมะม่วง โดยการปลูกเชื้อราด้วยวิธีการที่ทำให้เกิดบาดแผล Wongsheree *et al.* (2010) และ Chaiareekitwat (2012) ซึ่งพบว่า NIRS สามารถตรวจสอบเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยเทคนิค PLS-DA ได้ที่ระดับความแม่นยำ 89 และ 90.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ งานวิจัยของ Wongsheree *et al.* (2010) และ Chaiareekitwat (2012) ได้ชักนำให้เกิดโรคแอนแทรกโนสโดยการทำให้เกิดบาดแผลที่บริเวณผิวของผลมะม่วงร่วมกับการปลูกเชื้อรา ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาความเป็นไปได้ของการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี NIRS ในการตรวจสอบโรคแอนแทรกโนสในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง ซึ่งเป็นการตรวจสอบ

เชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ปลูกลงบนผิวของผลมะม่วงโดยตรงและไม่ทำให้เกิดบาดแผลที่ผิวผลเพื่อให้ใกล้เคียงกับวิธีการเข้าทำลายของเชื้อราในธรรมชาติ

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การเตรียมตัวอย่าง

เก็บเกี่ยวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองระยะสุกแก่ทางการค้า (100 - 105 วันหลังดอกบาน) คัดเลือกผลขนาดสม่ำเสมอ น้ำหนัก 350 - 400 กรัม ไม่มีตำหนิจากการเข้าทำลายของโรคและแมลง จำนวน 102 ผลจากพื้นที่เพาะปลูกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองของเกษตรกร ตำบลวังทับไทร อำเภอสาทเหล็ก จังหวัดพิจิตร ทำความสะอาดผลมะม่วงโดยการล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นผึ่งให้ผลแห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วกำหนดตำแหน่งบริเวณกึ่งกลางผลเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 2 เซนติเมตรสำหรับวัดสเปกตรัม ซึ่งระบุตำแหน่งบนผิวผลมะม่วงทั้ง 2 ด้าน ด้านละ 1 ตำแหน่ง โดยด้านแรกสำหรับชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) อีกด้านหนึ่งสำหรับปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ความเข้มข้น  $10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร โดยหยดลงบนผิวของผลมะม่วงโดยตรงเพื่อกระตุ้นการเกิดโรคแอนแทรกโนส (ไม่ทำบาดแผลที่บริเวณของผิวผลมะม่วง) บรรจุผลมะม่วงในกล่องแบบปิดที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งภายในกล่องบรรจุทิชชูและสำลีเปียกน้ำเพื่อรักษาระดับความชื้น แล้วเก็บรักษาผลมะม่วงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (28 องศาเซลเซียส) นาน 24 ชั่วโมง

### การบันทึกสเปกตรัมและสร้างแบบจำลอง

วัดสเปกตรัมตัวอย่างมะม่วงด้านชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) และด้านที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยเครื่อง FT - NIR spectrometer (รุ่น multi - purpose analyzer (MPA) บริษัท BRUKER OPTIK GmbH ประเทศเยอรมนี) ในช่วงความยาวคลื่นยาวระหว่าง 1100 - 2500 นาโนเมตร ด้วยหัววัดใยแก้วนำแสง (fiber optic probe) ในระบบการวัดแบบ interactance นำสเปกตรัมดั้งเดิม (original spectra)

ที่ได้มาปรับแต่ง (transform) โดยวิธีทางคณิตศาสตร์ ด้วยวิธี standard normal variate (SNV), multiplicative scatter correction (MSC) และอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (first derivative) แบ่งตัวอย่างมะม่วงออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration set) จำนวน 51 ผล (102 สเปกตรัม) ประกอบด้วย สเปกตรัมมะม่วงชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) จำนวน 51 สเปกตรัม และสเปกตรัมมะม่วงด้านที่ได้รับการปลูกเชื้อราจำนวน 51 สเปกตรัม และ 2) กลุ่มทดสอบสมการ (validation set หรือ prediction set) จำนวน 51 ผล (102 สเปกตรัม) ประกอบด้วยสเปกตรัมมะม่วงชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) จำนวน 51 สเปกตรัม และสเปกตรัมมะม่วงด้านที่ได้รับการปลูกเชื้อราจำนวน 51 สเปกตรัม จากนั้นวิเคราะห์ สเปกตรัมด้วยโปรแกรม The Unscrambler (version 9.7 บริษัท CAMO Software AS ประเทศนอร์เวย์) ด้วยวิธี principle component analysis (PCA) และ partial least square discriminant analysis (PLS-DA) ซึ่งวิธี PLS-DA กำหนดให้กลุ่ม "0" คือ มะม่วงด้านที่ไม่ปลูกเชื้อรา (ชุดควบคุม) และกลุ่ม "1" คือ มะม่วงด้านที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *C. Gloeosporioides*

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

### ลักษณะ NIR สเปกตรัม

ค่าการดูดกลืนพลังงานของคลื่นแสง NIR ในช่วงความยาวคลื่นยาวระหว่าง 1100 - 2500 นาโนเมตร ของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองจำนวน 204 สเปกตรัม แบ่งเป็นมะม่วงชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) จำนวน 102 สเปกตรัม และมะม่วงด้านที่ได้รับการปลูกเชื้อรา จำนวน 102 สเปกตรัม โดย Figure 1A, 1B, 1C และ 1D คือ สเปกตรัมดั้งเดิม (original spectra) สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี SNV, MSC และอนุพันธ์อันดับหนึ่ง ตามลำดับ ซึ่งการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีต่าง ๆ ทำให้การกระจายตัวของสเปกตรัมแคบลง สเปกตรัมเรียบและอยู่ในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกันมากกว่าสเปกตรัมดั้งเดิม อีกทั้งการปรับแต่งด้วยวิธี SNV และวิธี MSC สามารถลดความแปรปรวนและความคลาดเคลื่อนระหว่างตัวอย่างได้ เนื่องจากวิธีดังกล่าวช่วยลดการกระเจิงของแสง

(light scattering) ที่อาจเกิดจากการวัดสเปกตรัมของตัวอย่างที่เป็นของแข็ง เช่น กรณีของมะม่วง เป็นต้น (Kittiwachana, 2020)

สเปกตรัมเฉลี่ยของสเปกตรัมดั้งเดิม (Figure 2A) สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี SNV (Figure 2B) และวิธี MSC (Figure 2C) เกิด peak การดูดกลืนแสงชัดเจน ที่ความยาวคลื่น 1450 และ 1950 นาโนเมตร ส่วนสเปกตรัมเฉลี่ยที่ปรับแต่งด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับหนึ่ง ความยาวคลื่นที่ 1380 และ 1880 นาโนเมตร เป็น peak ที่ชัดเจนที่สุด (Figure 2D) โดยความยาวคลื่นที่ 1380, 1450, 1880 และ 1950 นาโนเมตร คือค่าการดูดกลืนพลังงานของคลื่นแสงที่สัมพันธ์กับพันธะ O - H ในโมเลกุลของน้ำ อีกทั้งยังพบว่า ที่ความยาวคลื่น 1450 และ 1950 นาโนเมตร เป็น peak ที่ชัดเจนที่สุดของน้ำ (Toth *et al.*, 1976; Williams and Norris, 2001) ซึ่งน้ำเป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อมะม่วง (Tharanathan *et al.*, 2006)

### การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก

การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก หรือ principle component analysis (PCA) เป็นเทคนิคการจำแนกข้อมูลโดยอาศัยหลักความเหมือนหรือความต่างกันของข้อมูล สามารถลดจำนวนข้อมูล (ตัวแปรอิสระ) หรือรวมข้อมูลที่สัมพันธ์กันไว้ในองค์ประกอบเดียวกัน (Smith, 2002) จากการทดลอง พบว่า การใช้เพียง PC1 และ PC2 สามารถแสดงความแปรปรวนของข้อมูลสเปกตรัมดั้งเดิม สเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธี SNV, MSC และอนุพันธ์อันดับหนึ่งได้เท่ากับ 98, 88, 88 และ 64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Figure 3A, 3B, 3C และ 3D ตามลำดับ) และผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสเปกตรัมดั้งเดิมยังไม่สามารถจำแนกมะม่วงชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) และมะม่วงที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ เนื่องจากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของสเปกตรัมดั้งเดิม (Figure 3A) เกิดการซ้อนทับกัน (overlap) ของข้อมูลสเปกตรัมมากที่สุด ทั้งนี้ อาจเป็นผลจากความคลาดเคลื่อนของหลายปัจจัย เช่น การกระเจิงของแสง ความไม่สม่ำเสมอของตัวอย่าง และปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ ความชื้น อุณหภูมิ

การตรวจสอบโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง  
ด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

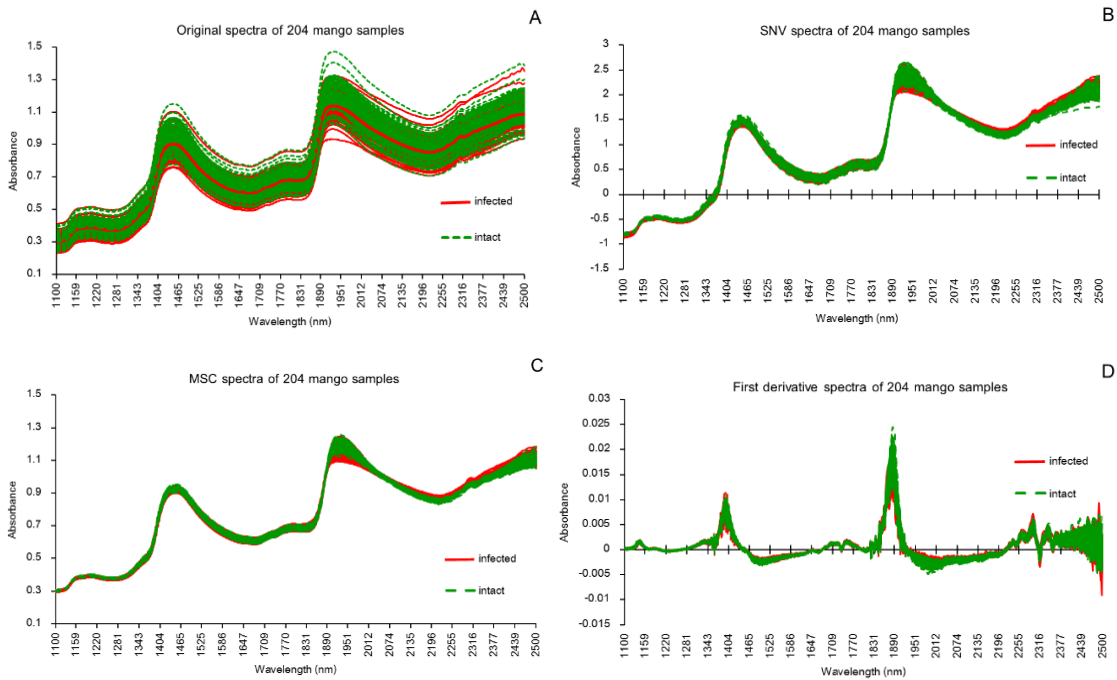


Figure 1. All NIR spectral data of (A) original spectra, (B) SNV spectra, (C) MSC spectra, and (D) first derivative spectra obtained from 102 *Colletotrichum gloeosporioides*-infected areas and 102 intact area

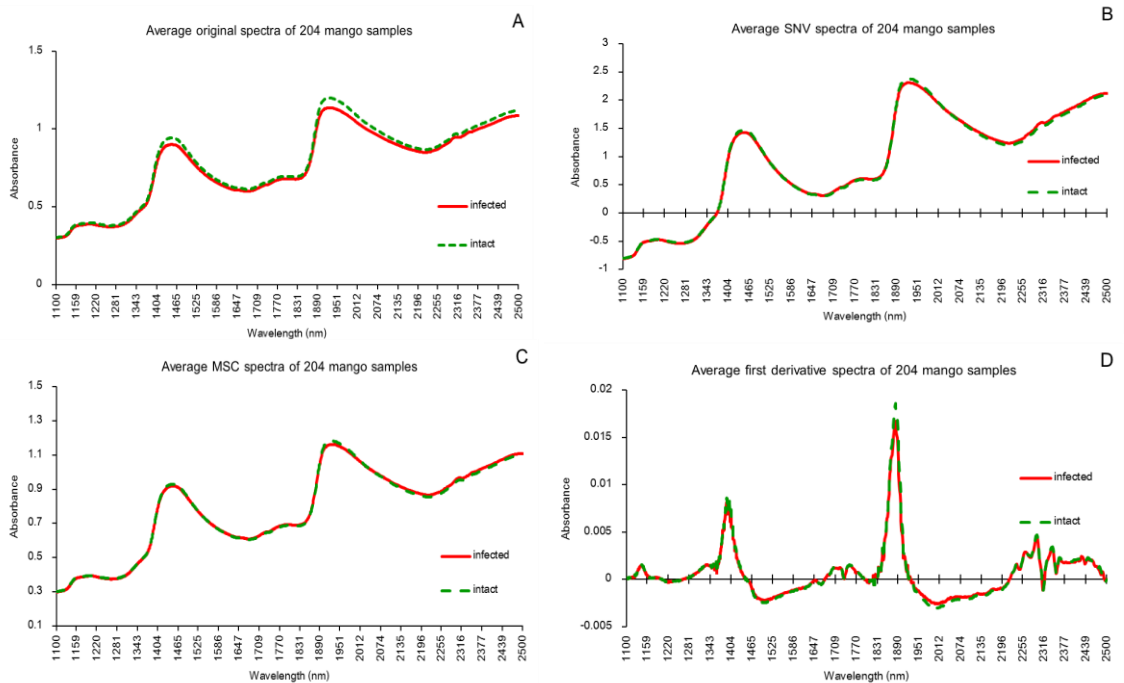


Figure 2. Average NIR spectral data of (A) original spectra, (B) SNV spectra, (C) MSC spectra, and (D) first derivative spectra obtained from 102 *Colletotrichum gloeosporioides*-infected areas and 102 intact areas

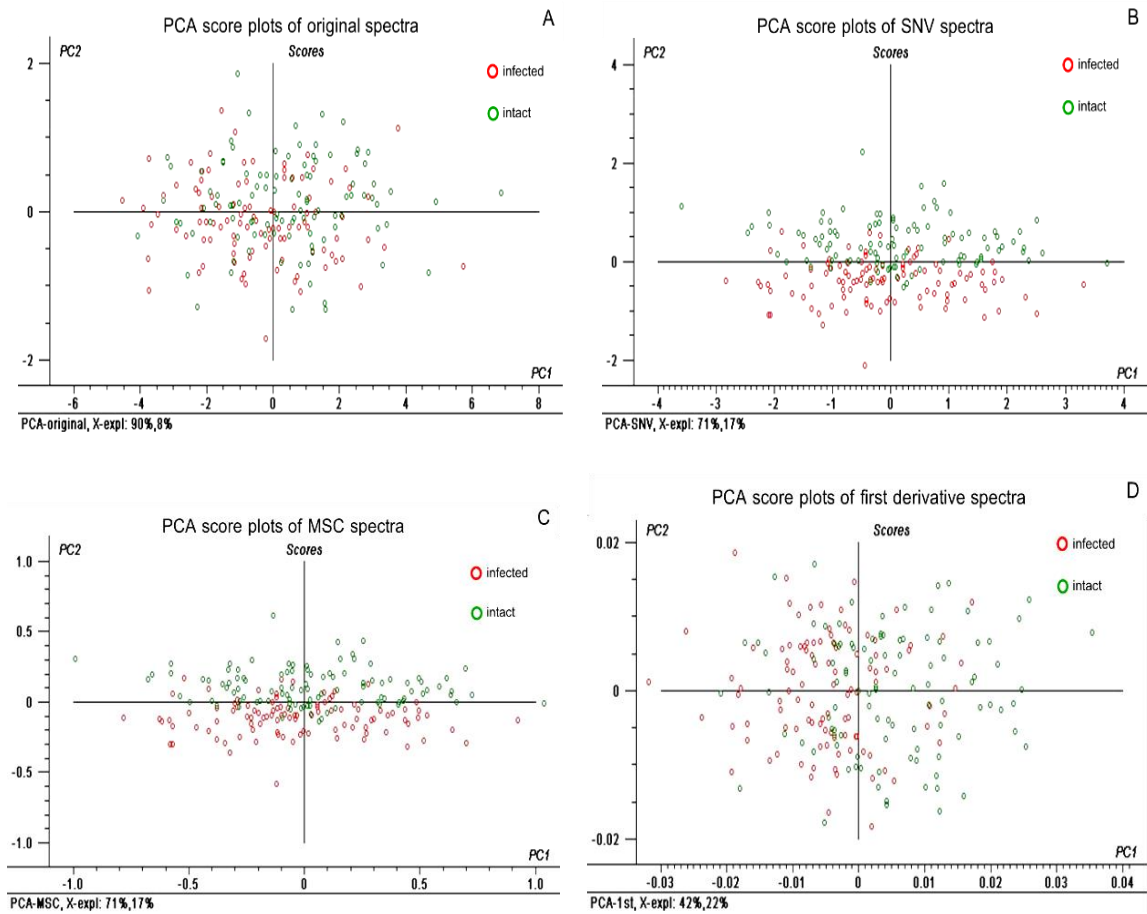


Figure 3. PCA score plots of (A) original spectra, (B) SNV spectra, (C) MSC spectra, and (D) first derivative spectra obtained from 102 *Colletotrichum gloeosporioides*-infected areas and 102 intact areas

และแสง ในขณะวัด (Thanapase *et al.*, 2012) สำหรับสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแก้ด้วยวิธีต่าง ๆ นั้น ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก พบว่า เกิดการซ้อนทับกันเพียงเล็กน้อย เนื่องจากการปรับแก้สเปกตรัมสามารถลดความคลาดเคลื่อนจากปัจจัยต่าง ๆ ลงได้ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักยังไม่สามารถแยกสเปกตรัมระหว่างมะม่วงชูดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) และมะม่วงที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ออกจากกันได้ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์จำแนกสเปกตรัมด้วยวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน หรือ partial least square discriminant analysis (PLS-DA)

### การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี partial least squares (PLS) regression เป็นวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลในเชิงปริมาณ อีกทั้งขั้นตอนในการสร้างแบบจำลองด้วยวิธี partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) ต้องผ่านกระบวนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี PLS regression ก่อน เนื่องจากเทคนิค PLS-DA เป็นวิธีการที่ประยุกต์จากเทคนิค PLS regression (Kittiwachana, 2020) ทั้งนี้ การเลือกใช้โมเดลจากเทคนิค PLS regression ยังมีผลต่อความแม่นยำในการตรวจสอบคุณภาพของเทคนิค PLS-DA ด้วย

ผลการสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยวิธี PLS regression พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination,  $R^2$ ) ของชุดสร้างสมการ (calibration set) อยู่ในช่วง 0.79 - 0.85 โดยสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี SNV และวิธี MSC มีค่า  $R^2$  สูงที่สุด คือ 0.8521 (Table 1) นอกจากนี้ยังมีค่า root mean square error of calibration (RMSEC) ต่ำที่สุด คือ 0.1923 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) เมื่อนำสมการที่ได้ไปตรวจสอบกับข้อมูลชุดทดสอบสมการ (prediction set) พบว่า สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี SNV มีค่า  $R^2$  มากที่สุด และค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของตัวอย่างในชุดทดสอบสมการ (standard error of prediction, SEP) และค่า root mean square error of prediction (RMSEP) ต่ำที่สุด เท่ากับ 0.6693, 0.2874 และ 0.2889 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) โดยสมการที่ดีควรมีค่า  $R^2$  เข้าใกล้หรือเท่ากับ 1 ร่วมกับการมีค่า SEC และ SEP ต่ำ อีกทั้ง SEC และ SEP ควรมีค่าแตกต่างกันน้อย รวมทั้งผลการทำนายควรให้ค่า RMSEP ต่ำ เนื่องจากค่า RMSEP ที่ต่ำสามารถบ่งชี้ว่าสมการเทียบมาตรฐานนั้นไม่เกิดปรากฏการณ์ over fitting และ under fitting (Shao and He, 2007)

### การสร้างแบบจำลอง

ผลการสร้างแบบจำลองด้วยวิธี partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) เพื่อตรวจสอบโรคแอนแทรกโนสในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง พบว่า การสร้างแบบจำลองด้วยวิธี PLS-DA สามารถจำแนกมะม่วงที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ออกจากมะม่วงที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อราได้ ซึ่งสเปกตรัมดั้งเดิมและสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี standard normal variate (SNV) มีค่าความแม่นยำในการตรวจสอบมากที่สุด โดยชุดสร้างสมการ (calibration set) มีค่าความแม่นยำในการตรวจสอบเท่ากับ 98.04 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) กล่าวคือ มะม่วงกลุ่มที่ได้รับการปลูกเชื้อราก่อโรคแอนแทรกโนส มีค่า response ใกล้เคียงกับค่าที่กำหนด (ค่าที่กำหนด คือ 1) 49 ผล จากทั้งหมด 51 ผล และมะม่วงที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีค่า response ใกล้เคียงกับค่าที่กำหนดทุกผล (ค่าที่กำหนด คือ 0) (Table 2) กรณีของชุดทดสอบสมการ (prediction set) สเปกตรัมดั้งเดิมของมะม่วงที่ได้รับการปลูกเชื้อราและไม่ได้รับการปลูกเชื้อรามีค่า response ใกล้เคียงกับค่าที่กำหนด 48 และ 49 ผล ตามลำดับ แต่สเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี SNV ที่ค่า

Table 1. Calibration and prediction statistics of PLS regression for anthracnose evaluation in mango

Preprocessing method	Calibration set (n = 102)			Prediction set (n = 102)		
	$R^2$	SEC	RMSEC	$R^2$	SEP	RMSEP
None (original data)	0.8132	0.2172	0.2191	0.6274	0.3044	0.3067
SNV	0.8521	0.1933	0.1923	0.6693	0.2874	0.2889
MSC	0.8521	0.1932	0.1923	0.6414	0.2981	0.3009
First derivative	0.7928	0.2283	0.2276	0.5155	0.3484	0.3498

Remarks: SNV: standard normal variate; MSC: multiplicative scatter correction; n: number of samples;  $R^2$ : coefficient of determination; SEC: standard error of calibration; SEP: standard error of prediction; RMSEC: root mean square error of calibration; RMSEP: root mean square error of prediction

response ใกล้เคียงค่าที่กำหนด 47 ผล และ 50 ผล ตามลำดับ (ค่าที่กำหนด คือ 0 และ 1 ตามลำดับ) (Table 2) โดยสเปกตรัมดั้งเดิมและสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี SNV สามารถแยกมะม่วงที่ได้รับการปลูกเชื้อราก่อโรคแอนแทรกโนสและมะม่วงชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อรา) ได้ที่ระดับความแม่นยำเท่ากับ 95.1 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) โดยหลักการในการจำแนกกลุ่มของมะม่วงด้วยวิธีทางเคโมเมทริกซ์ เป็นวิธี PLS-DA เช่นเดียวกันกับการทดลองของ Wongsheree *et al.* (2010) และ Chaiareekitwat (2012) อย่างไรก็ตามจากการทดลองในครั้งนี้สามารถตรวจสอบเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยเทคนิค PLS-DA ได้ที่ระดับความแม่นยำ 95.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การทดลองของ Wongsheree *et al.*

(2010) และ Chaiareekitwat (2012) สามารถตรวจสอบเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยเทคนิค PLS-DA ที่ความแม่นยำ 89 และ 90.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ค่า residual predictive deviation (RPD) ของสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี SNV มีค่ามากกว่าสเปกตรัมดั้งเดิมเล็กน้อย คือ 1.7484 และ 1.6506 ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งการที่จะนำแบบจำลองไปประยุกต์ใช้ในการทำนายผลผลิตได้นั้น ค่า RPD ควรมีค่ามากกว่า 3 (Gaitán-Jurado *et al.*, 2008) ดังนั้น ถ้าหากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำนายให้สูงขึ้น จำเป็นต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มากขึ้น เพื่อให้แบบจำลองทำนายค่าได้แม่นยำ (robust) และมีค่า SEP ลดลง (Seehanam *et al.*, 2016)

Table 2. Discrimination results of anthracnose infected and intact mango by partial least squares discriminant analysis (PLS-DA)

Preprocess method	Confusion matrix	Calibration set (n=102)		Prediction set (n=102)	
		Infected (predicted)	Intact (predicted)	Infected (predicted)	Intact (predicted)
None (original data)	Infected (actual)	49	2	48	3
	Intact (actual)	0	51	2	49
	accuracy (%)	98.04		95.10	
	RPD	-		1.6506	
SNV	Infected (actual)	49	2	47	4
	Intact (actual)	0	51	1	50
	accuracy (%)	98.04		95.10	
	RPD	-		1.7484	
MSC	Infected (actual)	48	3	46	5
	Intact (actual)	0	51	1	50
	accuracy (%)	97.06		94.12	
	RPD	-		1.6850	
First derivative	Infected (actual)	50	1	47	4
	Intact (actual)	2	49	6	45
	accuracy (%)	97.06		90.20	
	RPD	-		1.4421	

Remarks: SNV: standard normal variate; MSC: multiplicative scatter correction; n: number of samples; RPD: residual predictive deviation



### สัมประสิทธิ์การถดถอย

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของสมการเทียบมาตรฐาน (regression coefficients) ของสเปกตรัมที่ปรับแต่งด้วยวิธี SNV พบว่า ความยาวคลื่นที่สำคัญใน PLS regression สำหรับการจำแนกประเภทคือ 1152, 1725, 1880 และ 1900 - 2100 นาโนเมตร (Figure 4) โดยความยาวคลื่นที่ 1152 นาโนเมตร คือ second overtone ของ C-H ( $\text{CH}_2$ ) และความยาวคลื่นที่ 1725 นาโนเมตร คือ first overtone ของ C-H ( $\text{CH}_2$ ) ในโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรต (Osborne *et al.*, 1993) โดยความยาวคลื่นทั้ง 2 ตำแหน่ง อาจเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของไคตินซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของเชื้อรา (Rinaudo, 2006) สำหรับความยาวคลื่นที่ 1880 นาโนเมตร คือ combination และ first overtone ของ O-H ในโมเลกุลของน้ำ (Fernández-Espinosa, 2016) ซึ่งเชื้อราเข้าทำลายเฉพาะบริเวณผิวของผลมะม่วงเท่านั้น (Jenny *et al.*, 2019) ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำของเซลล์รอบบริเวณที่ปลูกเชื้อรา สำหรับช่วงความคลื่นระหว่าง 1900 - 2100 นาโนเมตรพบว่า สัมพันธ์กับการสั่นสะเทือนของพันธะ N - H

ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของสารประกอบเมลานินซึ่งเมลานินถูกสร้างขึ้นโดยเชื้อราก่อโรคแอนแทรกโนสในระหว่างการก่อตัวของ appressoria ของเชื้อราสกุล *Colletotrichum* (Kubo *et al.*, 1985)

### สรุป

ผลการศึกษาการตรวจสอบโรคแอนแทรกโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทองด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี พบว่า เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีร่วมกับการสร้างแบบจำลองด้วยวิธี partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) สามารถจำแนกมะม่วงที่ไม่ปลูกเชื้อราและมะม่วงที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *C. Gloeosporioides* ได้ที่ความแม่นยำ 95.1 เปอร์เซ็นต์ และความยาวคลื่นที่สำคัญซึ่งสามารถบ่งบอกอาการของโรคแอนแทรกโนส คือ 1152, 1725 และ 1880 นาโนเมตร ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีตรวจสอบโรคแอนแทรกโนสในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สีทอง เพื่อลดการสูญเสียระหว่างการส่งออกมะม่วงต่อไป

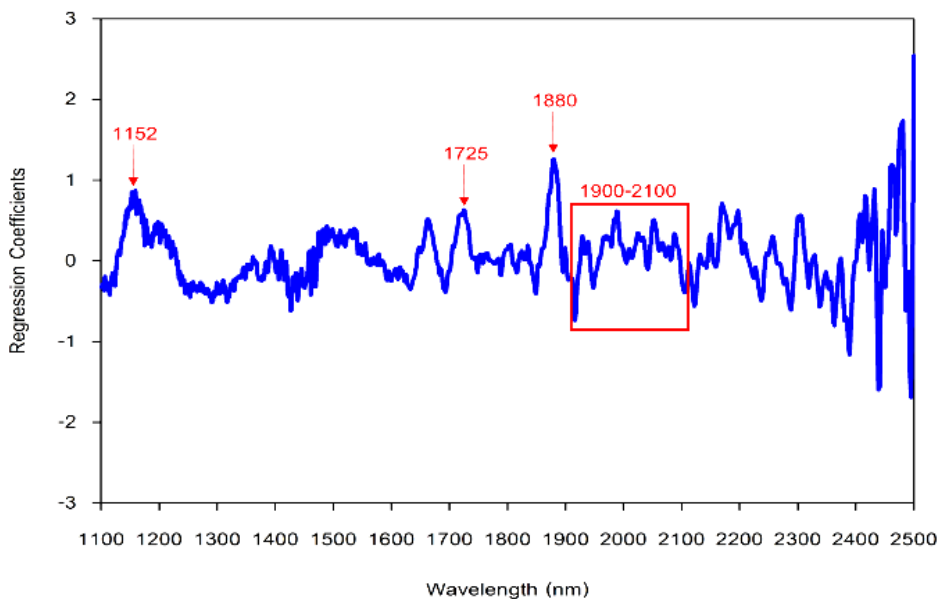


Figure 4. Regression coefficient plots of partial least squares (PLS) regression using NIR spectra preprocessed by SNV for developing discriminant model

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม ที่สนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณศูนย์วิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว และสาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนวัสดุอุปกรณ์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนผู้ช่วยสอนและผู้ช่วยวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

- Boonyakiat, D. 2020. Evaluation of product quality by non-destructive with NIR spectroscopy. pp. 1-12. *In*: D. Boonyakiat and P. Theanjumpol (eds.). Using NIR Spectroscopy to Evaluate the Quality of Agricultural Produce. Postharvest Technology Innovation Center, Bangkok. (in Thai)
- Chaiareekitwat, S. 2012. Application of NIR spectroscopy and hyperspectral imaging for classification of anthracnose on mango. M.S. Thesis. Silpakorn University, Nakhon Pathom. 105 p. (in Thai)
- Fernández-Espinosa, A.J. 2016. Combining PLS regression with portable NIR spectroscopy to on-line monitor quality parameters in intact olives for determining optimal harvesting time. *Talanta* 148: 216-228.
- Gaitán-Jurado, A.J., V. Ortiz-Somovilla, F. España-España, J. Pérez-Aparicio and E.J. de Pedro-Sanz. 2008. Quantitative analysis of pork dry-cured sausages to quality control by NIR spectroscopy. *Meat Science* 78(4): 391-399.
- Jenny, F., N. Sultana, M.M. Islam, M.M. Khandaker and M.A.B. Bhuiyan. 2019. A review on anthracnose of mango caused *Colletotrichum gloeosporioides*. *Bangladesh Journal of Plant Pathology* 35(1&2): 65-74.
- Jongsri, P., P. Rojsitthisak, T. Wangsomboondee and K. Seraypheap. 2017. Influence of chitosan coating combined with spermidine on anthracnose disease and qualities of 'Nam Dok Mai' mango after harvest. *Scientia Horticulturae* 224: 180-187.
- Kittiwachana, S. 2020. Chemometrics for NIR spectroscopy. pp. 48-100. *In*: D. Boonyakiat and P. Theanjumpol (eds.). Using NIR Spectroscopy to Evaluate the Quality of Agricultural Produce. Postharvest Technology Innovation Center, Bangkok. (in Thai)
- Klaithin, R. 2012. Detection of *Aspergillus flavus* contamination in milled rice cv. Khao Dawk Mali 105 using near infrared spectroscopy. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 95 p. (in Thai)
- Kubo, Y., K. Suzuki, I. Furusawa and M. Yamamoto. 1985. Melanin biosynthesis as a prerequisite for penetration by appressoria of *Colletotrichum lagenarium*: site of inhibition by melanin-inhibiting fungicides and their action on appressoria. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 23(1): 47-55.
- Ministry of Commerce. 2020. Export market for important products of fresh mango. (Online) Available: <http://www.ops3.moc.go.th> (November 10, 2021) (in Thai)
- Nelson, S.C. 2008. Mango anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). Plant Disease, PD-48. College of Tropical

- Agriculture and Human Resources (CTAHR), University of Hawaii, Honolulu. 9 p.
- Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hindle. 1993. Practice NIR Spectrometer with Applications in Food and Beverage Analysis. 2<sup>nd</sup> ed. Longman Scientific and Technical, Harlow. 217 p.
- Rinaudo, M. 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. Progress in Polymer Science 31(7): 603-632.
- Seehanam, P., P. Maniwaru, K. Nakano and D. Boonyakiat. 2016. Evaluation of total soluble solids in passion fruit by near infrared spectroscopy. Songklanakarin Journal of Plant Science 3(Suppl. 1): 94-101. (in Thai)
- Shao, Y. and Y. He. 2007. Nondestructive measurement of the internal quality of bayberry juice using Vis/NIR spectroscopy. Journal of Food Engineering 79(3): 1015-1019.
- Smith, L.I. 2002. A tutorial on principal components analysis. Technical report. Department of Computer Science, University of Otago, Otago, Dunedin. 26 p.
- Suwapanich, R. and P. Theanjumpol. 2011. Detection of chilling injury in mango fruits by near infrared spectroscopy. Agricultural Science Journal 42(1)(Suppl.): 59-62. (in Thai)
- Teena, M.A., A. Manickavasagan, L. Ravikanth and D.S. Jayas. 2014. Near infrared (NIR) hyperspectral imaging to classify fungal infected date fruits. Journal of Stored Products Research 59: 306-313.
- Thanapase, W., S. Kasemsumran, S. Saranwong and S. Kasano. 2008. Nondestructive detection of fruit fly egg and larvae in exported mangoes by near infrared spectroscopy. Agricultural Science Journal 39(3)(Suppl.): 54-57. (in Thai)
- Thanapase, W., S. Kasemsumran, S. Pathaveerat, A. Terdwongworakul, P. Ritthiruangdej, T. Suwonsichon and R. Rittiron. 2012. Near-Infrared Technology and Applications in Industries. Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Bangkok. 270 p. (in Thai)
- Tharanathan, R.N., H.M. Yashoda and T.N. Prabha. 2006. Mango (*Mangifera indica* L.), "The King of Fruits" - an overview. Food Reviews International 22(2): 95-123.
- Toth, L.M., J.T. Bell, D.W. Fuller, S.R. Buxton, H.A. Friedman and M.R. Billings. 1976. Chemistry off the KALC process. The CO<sub>2</sub>-I<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>I-H<sub>2</sub>O System. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee. 27 p.
- Velez Rivera, N., J. Gomez-Sanchis, J. Chanona-Perez, J. Jose Carrasco, M. Millan-Giraldo, D. Lorente, S. Cubero and J. Blasco. 2014. Early detection of mechanical damage in mango using NIR hyperspectral images and machine learning. Biosystems Engineering 122: 91-98.
- Williams, P. and K. Norris. 2001. Near-Infrared Technology in the Agriculture and Food Industries. 2<sup>nd</sup> ed. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota. 296 p.
- Wongsheree, T., R. Rittiron, P. Jitareerat, C. Wongs-Aree and T. Phiasai. 2010. Near infrared spectroscopic analysis for latent infection of *Colletotrichum gloeosporioides*, a

causal agent of anthracnose disease  
in mature-green mango fruit. pp. 341-  
343. *In*: Proceedings of GMSTEC 2010:  
International Conference for a Sustainable  
Greater Mekong Subregion. Bangkok. (in  
Thai)

---