

การใช้เทคนิค NIR ตรวจสอบและประเมินการปนเปื้อนของศัตรูพืช

จากรุวรรณ บางแวก

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Whiteflies in Fresh vegetables are a most serious strictly problem for Thai exporters to Europe. Due to the ability of whiteflies to carry and spread disease is the widest impact they have had on global food production. Only zero insect exactly was accepted. White flies comprise the family Aleyrodidae are small hemipterans that typically feed on the undersides of plant leaves. It's hard to remove if they attacked. Inspection for all stages of white fly such as egg, pupa, larva and adult was hard because its size is too small. It was seen clearly under microscope. That's why it becomes serious problem. NIRS was used to evaluate whiteflies in fresh vegetables such as in parsley leaves. The aim of this study NIRS was effective to evaluate white fly on vegetables. One hundred fifty five vegetable samples with all stages of white fly and none were scanned by NIR spectrometer. NIR Spectroscopy is one of the nondestructive, rapid, accuracy and precise methods. It is effective to analyze in many characteristics of crops such as moisture and protein in wheat, sweetness in apple, orange etc. This study was to determine the efficacy of NIR Spectroscopy using as an analytical technology for NIR region 400-2500 nm in reflectance mode of 84 samples was used. The effective model was established with $R = 0.94$ $SEC = 0.17$ $SEP=0.23$ $Bias = -0.0006$. NIRS technique will be introduced to exporter and office inspectors.

Key words: white fly, wavelength, fresh vegetables, NIR Spectroscopy

บทคัดย่อ

แมลงหิวขาวยาสูบเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกผักสดไปสหภาพยุโรป เนื่องจากสหภาพยุโรปเห็นว่าแมลงหิวขาวยาสูบสามารถเป็นพาหะนำโรคกระจายไปสู่พืชอาหารได้อย่างกว้างขวาง จึงไม่อนุญาตให้มีการนำเข้าผักที่มีแมลงหิวขาวยาสูบแม้จะมีเพียงตัวเดียวก็ตาม แมลงหิวขาวยาสูบเป็นแมลงอยู่ในแฟมิลี อลิวโรติดี ซึ่งมีขนาดเล็กมาก ลักษณะการทำลาย โดยแมลงใช้ปากเจาะเข้าไปในเนื้อพืชเพื่อดูดกินอาหาร ยากที่จะทำลาย จะสามารถพบชิ้นส่วนของแมลงหิวขาวยาสูบได้ในทุกระยะ คือ ไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย การตรวจสอบจะยากเพราะแมลงทุกระยะจะมีขนาดเล็กมากต้องส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทำให้มักพบว่าชิ้นส่วนของแมลงติดไปกับผักสดเพื่อส่งออก จึงนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรด สเปคโตรสโคปี (NIR) มาทดลองใช้ในการ

บอกว่าตัวอย่างมีหรือไม่มีขึ้นส่วนของแมลง เนื่องจากเทคนิคนี้จะใช้หลักการดูดซับแสงในย่าน NIR (800-2500 นาโนเมตร) ของสารที่เป็นอินทรีย์วัตถุ และสร้างสมการจากค่าความสัมพันธ์ระหว่างสารอินทรีย์ที่มีในตัวอย่างที่จะวัดและค่าการดูดซับแสง ซึ่งคาดว่าแมลงจะมีส่วนประกอบของโปรตีน ที่แตกต่างจากส่วนของผัก ทั้งเทคนิคนี้จะให้ค่าที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ให้ค่าที่ถูกต้อง แม่นยำ ในเวลาสั้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจะใช้เทคนิค NIR มาประเมินว่าผักสดจะมีแมลงหวี่หรือไม่ ถ้าได้สมการที่มีประสิทธิภาพก็จะนำมาใช้ทดแทนการตรวจหาแมลงหวี่ขาวด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการ ทำการทดลองที่ ห้องปฏิบัติการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กทม. ในปี 2556-57 โดยใช้ตัวอย่างผักซีฝรั่ง โหระพาและกระเพรา ที่มีแมลงและไม่มีแมลงนำมาวัดค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง NIR spectrometer จำนวน 155 ตัวอย่าง สร้างสมการจากค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ในย่าน 400-2500 นาโนเมตร และการมีและไม่มีแมลง 2 กลุ่ม ได้สมการ ที่มีค่า ความสัมพันธ์ (R) = 0.94 ค่าความคลาดเคลื่อนในการคำนวณ = 0.17 ค่าความคลาดเคลื่อนในการ = 0.23 ค่า bias = -0.006 การทดลองนี้จึงแสดงให้เห็นว่า เทคนิค NIR สามารถนำมาใช้และพัฒนาเพื่อนำไปประเมินการปนเปื้อนแมลงหวี่ขาวยาสูบในผักสดได้อย่างถูกต้อง แม่นยำในเวลาสั้น และไม่ทำลายตัวอย่าง

คำสำคัญ: ผักสด เทคนิคเนียร์อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี แมลงหวี่ขาวยาสูบ ความยาวคลื่น

คำนำ

แมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นปัญหาที่พบในการส่งออกผักสดไปสหภาพยุโรป เช่น ผักซีฝรั่ง โหระพา กระเพรา สะระแหน่ เป็นต้น ซึ่งไม่ยอมให้มีการปนเปื้อนแมลงหวี่ขาวเลยแม้แต่นิดเดียว การกำจัดแมลงหวี่ขาวเป็นวิธีที่ยาก เพราะแมลงหวี่ขาวเป็นแมลงที่มีขนาดเล็กมาก ลักษณะการทำลาย โดยลักษณะปากเจาะลงไปบนเนื้อผัก เมื่อแมลงยังมีชีวิตจะไม่ปล่อยปาก ดังนั้นถ้าผักมีแมลงก็จะยากที่จะกำจัดให้แมลงหวี่หลุดออกได้ การตรวจว่ามีการปนเปื้อนแมลงหวี่ขาวก็ยาก เนื่องจากแมลงหวี่ขาวเป็นแมลงที่มีขนาดเล็กมากต้องส่องดูด้วยกล้องสเตอริโอไมโครสโคป โดยทั่วไป ก่อนการส่งออกผัก ต้องมีการตรวจหาแมลงหวี่ขาวในผักก่อน ซึ่งวิธีการตรวจสอบค่อนข้างยาก ใช้เวลานานเพราะต้องตรวจดูทุกใบผักและตามซอกใบ และต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญ และมีความรู้เรื่องลักษณะของแมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นอย่างดี ทำให้สูญเสียทั้งเวลา และค่าใช้จ่าย ทำให้การตรวจสอบอาจจะผิดพลาดได้ ทำให้เป็นสาเหตุให้สหภาพยุโรปแจ้งเตือนการปนเปื้อนและอาจมีการห้ามการนำเข้าผักสดจากประเทศไทยได้ จึงควรหาวิธีการตรวจประเมินแมลงหวี่ขาวยาสูบ ที่ง่าย ใช้เวลาสั้น ไม่ทำลายตัวอย่าง ตรวจสอบได้ถูกต้อง แม่นยำ

เทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIR Spectroscopy) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในสหรัฐอเมริกา ยุโรป ญี่ปุ่น เกาหลี และจีน เทคนิคนี้เป็นวิธีที่ให้ความถูกต้อง แม่นยำ ใช้เวลาสั้น ไม่ใช้สารเคมี ตัวอย่างไม่ถูกทำลาย แต่สามารถใช้ประเมินได้เฉพาะองค์ประกอบที่เป็นอินทรีย์สารเท่านั้น เช่น น้ำหนักแห้งในหัวหอม (Birth *et al.*, 1985), soluble solids ในแคนตาลูป (Dull *et al.*, 1989) ค่า °Brix ในพีช (Kawano *et al.* 1992) ปริมาณแป้ง ปริมาณโปรตีนในข้าวสาลี ความชื้นเมล็ด เป็นต้น การทดลองนี้มี

วัตถุประสงค์ที่จะใช้เทคนิค NIR Spectroscopy ในการหาแมลงหิวข้าวยาสูบในผักสด แทนการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

เทคนิค NIR Spectroscopy เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ใช้หลักการหาความสัมพันธ์การดูดซับแสงในช่วง Near Infrared คือ 800-2500 nm ของสารที่ต้องการประเมิน และการวิเคราะห์สารที่ต้องการจากห้องปฏิบัติการ เพราะสารแต่ละชนิดเมื่อได้รับแสงจะมีคุณสมบัติในการดูดซับแสงได้ไม่เท่ากันในช่วงความยาวคลื่นแสงต่างๆ เมื่อตัวอย่างดูดซับแสง NIR จะทำให้โมเลกุลของสารเกิดการสั่นและดูดซับพลังงานที่แตกต่างกัน ทำให้ผลที่แสดงออกมาบอกถึงความแตกต่างได้ จึงนำค่าการดูดซับแสงมาวิเคราะห์ผล ก็จะสามารถประเมินลักษณะที่ต้องการได้ ทั้งวิธีการนี้เป็นวิธีประเมินที่ไม่ทำลายตัวอย่าง และใช้เวลาสั้นกว่าการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ ทราบผลภายใน 2-3 นาที ได้ค่าความถูกต้องแม่นยำ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ การนำเทคนิค NIR Spectroscopy มาใช้ตรวจประเมินหาการปนเปื้อนของแมลงหิวข้าวยาสูบในตัวอย่างผักสด โดยมีความถูกต้องแม่นยำ สามารถใช้แทนการตรวจในห้องปฏิบัติการ และนำไปใช้แก้ปัญหการส่งออกผักสดไปสหภาพยุโรป

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ผักชนิดต่างๆ เช่น ผักชีฝรั่ง โหระพา กระเพรา เป็นต้น
- เครื่อง NIR Spectroscopy (FOSSsystem 6500)
- กล้องจุลทรรศน์
- กล้องสเตอริโอไมโครสโคป
- คอมพิวเตอร์
- โปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler

วิธีการ

1.นำตัวอย่างผักสด เช่น ผักชีฝรั่ง โหระพา กระเพรา เป็นต้น นำมาตรวจหาระยะการเจริญเติบโต คือ ไข่ หนอน ดักแด้ ตัวเต็มวัย (Figure 1) และจำนวนแมลงหิวข้าวยาสูบ รายละเอียดของตัวอย่างผักดังใน Table 1 ใส่ในเซลล์ของเครื่อง NIR Spectrometer (Figure 1)

2.นำไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIR Spectrometer (FOSSsystem6500) ที่ความยาวคลื่นต่างๆ ในย่าน 400-2500 นาโนเมตร โดยใช้หลักการสะท้อนกลับของแสง (reflectance) ในรูป spectra (Figure 2)

3.พัฒนาสมการ โดยหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสง และ ค่าการมีแมลงและไม่มีแมลง (คือ 1 และ 0 ตามลำดับ) จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ นำไปวิเคราะห์ทางสถิติแบบถดถอย (regression) แบบ Partial Least Square (PLS) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler (Camo,

Oslo, Norway) เพื่อหาความสัมพันธ์ (correlation: R) ระหว่างค่าการดูดซับแสงและการมีและไม่มีแมลง ค่า regression coefficient

4.ปรับปรุงสมการจนได้สมการที่มีประสิทธิภาพในการประเมินว่ามีการปนเปื้อนแมลงหิวขาวยาสูบ โดยดูจากค่าค่าสหสัมพันธ์ (R) ที่มีค่าสูงใกล้เคียง 1 ค่าความคลาดเคลื่อนจากการคำนวณ (Standard Error of Calibration: SEC) ความคลาดเคลื่อนจากการประเมิน (Standard Error of Prediction: SEP) ต่ำ โดยเทียบกับค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Standard deviation: sd)

ระยะเวลา ปีงบประมาณ 2556-57

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

คุณสมบัติของตัวอย่างผักสด

ผักสดที่ใช้ นำมาตรวจหาแมลงหวี่ขาวยาสูบ แยกเป็น 2 กลุ่ม คือ ผักที่มีแมลงหวี่ขาว จำนวน 100 ตัวอย่าง และผักที่ไม่มีแมลงหวี่ขาว จำนวน 55 ตัวอย่าง ทั้งหมด 155 ตัวอย่าง แทนค่า ตัวอย่างผักที่มีแมลงด้วย 1 ตัวอย่างผักที่ไม่มีแมลง ด้วย 0 วิเคราะห์ค่า SD ได้เท่ากับ 0.48 (Table 1)

Table1. The characteristics of fresh vegetable for constructing model from NIR Technique to evaluate the contamination of whitefly

Items	Value
No. of sample	155
No insect	0 (n= 55)
With Insect	1(n=100)
Sd.	0.48
Unit used	-

NIR spectra ของผักสด

ค่าการดูดซับแสง ($\log 1/R$) ของผักที่ไม่มีและมีแมลงหวี่ขาวในปริมาณต่างๆ แสดงใน Figure 2 ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดซับแสงมากของ original spectra อยู่ที่ 970 1170 1460 1784 และ 1940 นาโนเมตร ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีในผักสดจะดูดซับแสงสูงที่ความยาวคลื่นดังกล่าว คือ น้ำ $\text{CH}=\text{CH}$ CHNH เซลลูโลส และ น้ำ ตามลำดับ (Osborne *et al.*, 1993)เห็นได้ว่าส่วนประกอบเหล่านี้เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของผัก ยกเว้น CHNH ที่เป็นส่วนประกอบของโปรตีน อาจเป็นส่วนประกอบในแมลงหวี่ขาวยาสูบ

การทำ Calibration ด้วย PLS regression

จากการทำ calibration ด้วยวิธี PLS regression แบบ Full Cross Validation โดยการใช้ spectra เริ่มต้น (original) พบว่า สมการ ที่ความยาวคลื่น 400-2500 nm จะมีค่าความสัมพันธ์ (correlation :R) สูงที่ 0.94 มีค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration, SEC) ต่ำ คือ 0.17 และค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนาย (Standard Error in Cross validation, SECV) ต่ำ = 0.23 มีปัจจัย (F) ที่เกี่ยวข้อง 17 ปัจจัย (Table 2) สมการนี้มีประสิทธิภาพในการประเมินว่าผักสดมีการปนเปื้อนของแมลงหวี่ขาวยาสูบหรือไม่ คือถ้ามีค่าที่ประเมินได้อยู่ระหว่าง -0.27-0.45 แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนแมลง ถ้ามีค่าที่ได้ อยู่ระหว่าง 0.59 -1.4 แสดงว่ามีการปนเปื้อนแมลง

Table 2 The PLS analysis of the whitefly in fresh vegetable at 400-2500 nm of near infrared wavelength

Math methods	Wavelength region (nm)	R	SEC	SECV ^y	Bias	F ^x	N
original	400-2500	0.94	0.17	0.23	-0.0006	17	155

^xF is the number of factors used in the calibration equation

R: Multiple correlation coefficients

SEC: Standard error of calibration

^ySECV: Standard error in cross validation

Bias: The average of difference between actual value and NIR value

Figure 3 แสดงถึงค่า Regression coefficient ของการปนเปื้อนด้วยแมลงหวี่ขาวยาสูบในผักสด ที่มีค่า regression coefficient สูง ที่ความยาวคลื่นเกี่ยวข้องกับโปรตีน คือ 1460 1510 2050 และ 2150 นาโนเมตร (Osborne *et al.*, 1993) แสดงว่าสมการมีความสัมพันธ์กับโปรตีนค่อนข้างสูง ทำให้สมการนี้สามารถจำแนกโปรตีนในแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ค่อนข้างแม่นยำ

Figure 4 เป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการประเมินจากสมการที่ดีที่สุดว่า ผักสดมีแมลงหวี่ขาวยาสูบ ถ้าได้ค่าประเมินตั้งแต่ -0.3 -0.5 จัดอยู่ในกลุ่ม 0 แปลว่าไม่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบปนเปื้อนไม่ว่าระยะใด แต่ถ้าได้ค่าตั้งแต่ 0.6 -1.4 จัดอยู่ในกลุ่ม 1 แปลว่ามีแมลงหวี่ขาวยาสูบปนเปื้อนแต่ไม่รู้ว่าจะอยู่ในระยะใด

ในการทดลองนี้ เทคนิค NIR Spectroscopy ยังไม่สามารถบอกให้แน่ชัดถึงปริมาณของแมลงในแต่ละระยะการเจริญเติบโตได้ เพราะจากค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดซับแสงของจำนวนแมลงหวี่ขาวและค่าการนับในห้องปฏิบัติการจะต่ำมาก ถือว่าไม่มีความสัมพันธ์ เพียงแต่สามารถบอกได้ว่าในตัวอย่างผักมีแมลงหวี่ขาวหรือไม่เท่านั้น ซึ่งต้องทำการทดลองต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์ เทคนิคนี้สามารถทำการประเมินในเบื้องต้นได้ว่าผักนี้มีแมลงหวี่ขาวยาสูบปนเปื้อนหรือไม่ ถ้าประเมินว่ามีก็นำตัวอย่างผักไปตรวจแมลงด้วยกล้องจุลทรรศน์ให้ละเอียดอีกที เท่ากับเป็นการประหยัดเวลาได้มาก

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เทคนิค NIR Spectroscopy สามารถใช้ในการประเมินการปนเปื้อนของแมลงหวี่ขาวยาสูบในผักสดได้ อย่างถูกต้องแม่นยำ ในระยะเวลาสั้น ไม่ทำลายตัวอย่าง

ช่วงคลื่นแสงที่เหมาะสมที่จะใช้ประเมิน ประเมินการปนเปื้อนของแมลงหวี่ขาวยาสูบในผักสด คือ 400-2500 นาโนเมตร

การทำ calibration โดยใช้ PLS ในการ calibration เพื่อพัฒนาสมการ ที่มีค่า regression coefficient ที่มีความหนาแน่น (density) ของแสงที่ความยาวคลื่น 1460 1510 2050 และ 2150 นาโนเมตร ซึ่งเกี่ยวข้องกับโปรตีนของแมลงหิวขาวยาสูบ

เอกสารอ้างอิง

- Birth, G.S., G.G. Dull, W.T. Renfore and S.J. Kays. 1985. Nondestructive spectrophotometric determination of dry matter in onions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110: 297-303.
- Dull, G.G., G.S. Birth, D.A. Smittle and R.G. Leffler. 1989. Near infrared analysis of soluble solids in intact cantaloupe. *J. Food Sci.* 54: 393-395.
- Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 61 (2): 445-451.
- Osborne, B.G., T. Fearn and P.H. Hindle. 1993. *Practical NIR Spectroscopy: with Applications in Food and Beverage Analysis*, 2nd ed. Essex: Longman Scientific & Technical.



Figure 1 a. the vegetable leaves with whiteflies b. cell placing vegetable sample for measuring light absorption in NIR spectrometer c. the NIR spectrometer



Figure 2. The NIR absorbance of vegetables with and without whitefly at different wavelengths by NIR spectrometer

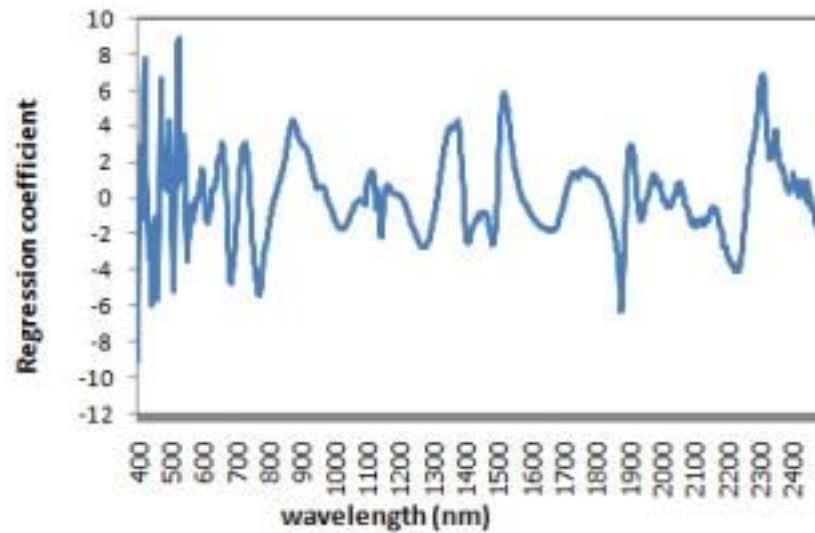


Figure 3. Regression coefficient at different wavelengths of effective equation to predict the contamination of whitefly, calculated by using the unscramble software

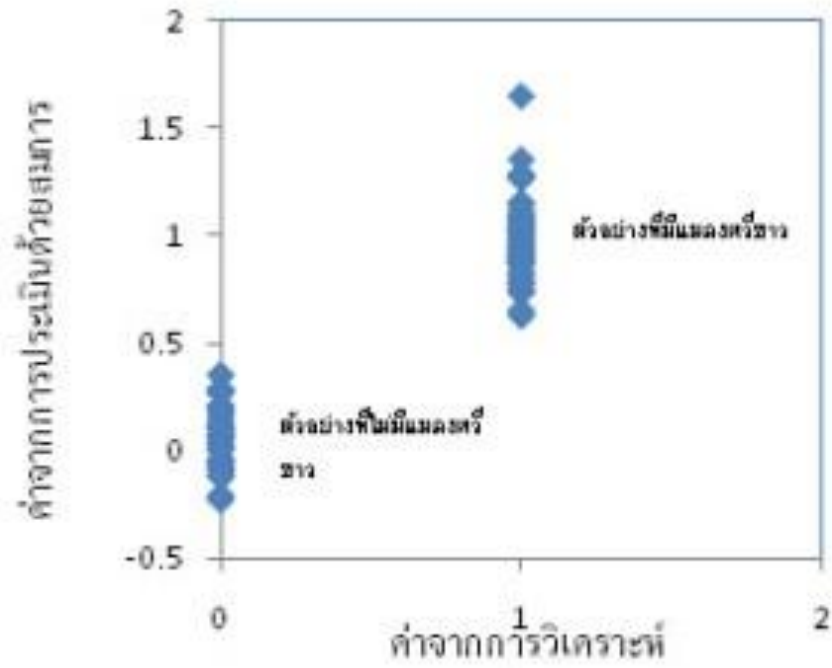


Figure 4. Comparison between laboratory values of the contamination of whitefly and the predicted values from NIR model