

การทำนายองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวโดยเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

ปฐวิมา บุตรชา^{1/} อาทิตยา สุขสะเกษ^{2/} สดุดี พงษ์เพียจันทร์^{3/}

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้นำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near infrared spectroscopy, NIRS) มาใช้ในการทำนายองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (Dry matter, DM) โปรตีน (Crude protein, CP) ไขมัน (Ether extract, EE) เถ้า (Ash) ผนังเซลล์ (Neutral detergent fiber, NDF) ลิกโนเซลลูโลส (Acid detergent fiber, ADF) และลิกนิน (Acid detergent lignin, ADL) ของฟางข้าว โดยใช้ตัวอย่างฟางข้าวทั้งหมดจำนวน 180 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIRS ที่ช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของฟางข้าวกับค่าวิเคราะห์ทางเคมี โดยใช้โปรแกรม WINISI IV และวิเคราะห์เชิงสถิติแบบ PLS (Partial least square regression) และ MPLS (Modified partial least squares regression) ที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมแบบใช้และไม่ใช้ SNV (Standard normal variate) และ Detrend ร่วมกับ Derivative, Gap, Smoothing, Second Smoothing และ Math treatment 10 รูปแบบ พบว่า สมการทำนายค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL มีค่า r^2 อยู่ในช่วง 0.76-0.99 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาความใช้ได้ของสมการทำนายค่าโปรตีน และเถ้า อยู่ในระดับที่ยอดเยี่ยม (Excellent) สมการทำนายค่าไขมัน และ NDF อยู่ในระดับดีมาก (Very good) สมการทำนายค่าวัตถุแห้ง และ ADF อยู่ในระดับดี (Good) ส่วนสมการทำนายค่า ADL อยู่ในระดับต่ำ (Poor) และเมื่อประเมินศักยภาพตามมาตรฐาน ISO12099:2017 พบว่า ค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL มีค่า Bias เท่ากับ 0.19 0.09 0.02 0.11 0.30 0.24 และ 0.14 ตามลำดับ ค่า SEP เท่ากับ 0.46 0.22 0.05 0.27 0.76 0.60 และ 0.30 ตามลำดับ และ ค่า Slope มีค่าเท่ากับ 1.0 ทุกรายการ ผ่านมาตรฐานแสดงว่า สมการเทียบมาตรฐานที่ได้มีความแม่นยำสามารถทำนายค่าได้ไม่แตกต่างกับค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และมีประสิทธิภาพเพียงพอที่ห้องปฏิบัติการสามารถนำไปใช้ทำนายองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวด้วยเทคนิค NIRS เพื่อช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ ลดการใช้สารเคมีทำให้ปลอดภัยกับทั้งผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

คำสำคัญ : เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี องค์ประกอบทางเคมี ฟางข้าว

เลขทะเบียนวิชาการ : 66(2)-0214-046

^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนามาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง อ.เมือง จ.ขอนแก่น

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์มहाสารคาม อ.เขียงยืน จ.มหาสารคาม

^{3/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์เพชรบุรี อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี

Prediction of Chemical Composition Using Near Infrared Spectroscopy in Rice straw

Patima Butcha^{1/} Atitiya Suksaket^{2/} Sadudee Pongpaechan^{3/}

Abstract

The research focused on an application of Near infrared spectroscopy (NIRS) technique in order to predict a chemical composition; dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), ash, cell wall (Neutral detergent fiber, NDF), lignocellulose (Acid detergent fiber, ADF) and acid detergent fiber (ADL) of rice straw. A total of 180 samples were analyzed for their chemical composition by standard laboratory methods and determined by NIR spectrometer in wavelength region of 1,100-2,500 nm. Determine the relationship between the absorbance of rice straw and the chemical analysis values using WINISI IV program and statistical analysis of PLS (Partial least square regression) and MPLS (Modified partial least squares regression) with SNV (Standard normal variate) and non-SNV (Standard normal variate) spectra modulated and detrend with derivative, gap, smoothing, second smoothing and math treatment 10 patterns. The result revealed that r^2 of DM CP EE Ash NDF ADF and ADL were in the range 0.76-0.99. When considering the prediction equations from the RPD value, it was found that the CP and Ash prediction equations were at excellent level. For EE and NDF equations were at very good level and DM and ADF equations were at good level, while ADL equation was showed poor level. When evaluating potential by the standards ISO12099 : 2017 result showed that the Bias values of DM CP EE Ash NDF ADF and ADL were 0.19 0.09 0.02 0.11 0.30 0.24 and 0.14, respectively. The values SEP were 0.46 0.22 0.05 0.27 0.76 0.60 and 0.30, respectively and the Slope values were 1.0 all of parameters, which passed the standard indicating that the calibration equations accuracy was not significantly different from the actual value at 95 percentage confidence level and was sufficiently effective for laboratory to predict the chemical composition of rice straw by NIRS technique to reduce analysis time and the use of chemical, which achieve operator and the environment safety.

Keywords : Near Infrared Spectroscopy, Chemical Composition, Rice straw

Registered No. : 66(2)-0214-046

^{1/}Ruminants Feeding Standard Research and Development Center, Muang, Khonkaen.

^{2/}Maharakham Animal Nutrition Research and Development Center, Chiangyuen, Maharakham.

^{3/}Phetchaburi Animal Nutrition Research and Development Center, Cha-am, Phetchaburi.

คำนำ

ฟางข้าว (Rice straw) เป็นวัสดุเหลือใช้ที่เป็นผลพลอยได้ทางการเกษตรหลังจากกระบวนการเก็บเกี่ยวข้าว จากปฏิทินวัตถุดิบอาหารโคนมในพื้นที่เขตต่างๆ พบว่า ในรอบปี 2563 การเลี้ยงโคนมมีการใช้ฟางข้าวเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ตลอดทั้งปี (จันทกานต์และคณะ, 2563) เกษตรกรจึงมีการนำฟางข้าวมาเก็บรักษาไว้และใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบหลักในช่วงฤดูแล้งที่มักขาดแคลนอาหารหยาบสด โดยฟางข้าวจะมีเยื่อใยเป็นองค์ประกอบมากที่สุดเป็นสารจำพวกเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยจะมีปริมาณแตกต่างกันไปเนื่องจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ พันธุ์ข้าว สิ่งแวดล้อมในการเจริญเติบโต รวมทั้งระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว และกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวสามารถส่งผลต่อปริมาณขององค์ประกอบต่างๆ ได้เช่นกัน (กุลนิภาและคณะ, 2558)

ในการประกอบสูตรอาหารสัตว์จำเป็นต้องทราบองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบต่างๆ ถ้าได้ผลเร็วขึ้นจะทำให้คำนวณสูตรอาหารได้รวดเร็วทันต่อการนำไปใช้งาน การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี เช่น ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF ADL โดยใช้วิธีมาตรฐานที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง มีขั้นตอนและการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากใช้เวลานาน อีกทั้งยังมีการใช้สารเคมีซึ่งส่งผลต่อสภาพแวดล้อมและตัวผู้วิเคราะห์อีกด้วย ขณะที่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NIRS นั้น มีความรวดเร็ว แม่นยำ ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่ใช้สารเคมี ไม่ทำลายสภาพแวดล้อม และลดค่าใช้จ่ายได้ในระยะยาว เนื่องจากเทคนิค NIRS คือ การใช้คลื่นแสงในช่วง NIR ส่องเข้าไปในตัวอย่าง โดยโมเลกุลของสารที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วง NIR ได้ดี คือโมเลกุลของสารที่มี H เป็นองค์ประกอบอยู่ในพันธะ ได้แก่ พันธะ O-H C-H N-H (Osborne et al., 1993) เมื่อโมเลกุลของตัวอย่างที่ดูดกลืน (Absorb) พลังงาน เกิดการสั่นสะเทือน (Vibration) กลายเป็นพลังงานที่สามารถตรวจวัดได้ ซึ่งสเปกตรัมในช่วงคลื่น NIR ที่ได้จะถูกนำมาประมวลผลในรูปของการใช้วิธีการทางคณิตศาสตร์ เพื่อหาความสัมพันธ์ทางสถิติกับข้อมูลของตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมีหรือวิธีอื่นๆ ตามมาตรฐาน จึงได้สมการเทียบมาตรฐาน (Calibration equation) เพื่อใช้ทำนายได้ทั้งเชิงปริมาณ (Quantitative) และเชิงคุณภาพ (Qualitative) สมการที่ได้นี้ต้องผ่านขั้นตอนการทวนสอบความถูกต้องของสมการ (Validation) ว่ามีความเหมาะสมหรือแม่นยำหรือไม่ จึงจะนำไปใช้ทำนายค่าทางเคมีของตัวอย่างในอนาคตได้ การสร้างสมการจึงจำเป็นต้องรวบรวมตัวอย่างที่เป็นตัวแทนที่ดีและครอบคลุมค่าตัวอย่างในอนาคต เพื่อให้ได้สมการที่สามารถนำไปใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างแม่นยำ ซึ่งตัวอย่างที่นำมาใช้ต้องมาจากการสุ่มเก็บตัวอย่างที่มีความหลากหลายและมีค่าทางเคมีที่กระจายครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคต (จันทกานต์ และคณะ, 2553)

ปัจจุบันยังไม่มีสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าว สำหรับเครื่อง NIRS มาก่อน ดังนั้น ในการศึกษาจึงทำการสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีที่มีความถูกต้อง และแม่นยำ โดยรวบรวมตัวอย่างที่มีความหลากหลายทั้งพื้นที่ปลูก พันธุ์ข้าวที่ปลูก ฤดูกาลเก็บเกี่ยว วิธีการเก็บเกี่ยว รวมถึงจากแหล่งที่มาต่างๆ เพื่อให้ได้ผลวิเคราะห์ที่ทันต่อการใช้ประกอบสูตรอาหารสัตว์ สมการที่ได้นี้สามารถถ่ายโอนไปยังเครื่อง NIRS อื่นได้ ทำให้ตอบสนองต่อการพัฒนาการผลิตโคนม โคเนื้อ กระบือ แพะ แกะ ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลองและสร้างสมการทำนายค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL ของ พางข้าว โดยใช้เทคนิค NIRS ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนามาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง จ.ขอนแก่น

ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่างพางข้าวจากเกษตรกรและตัวแทนจำหน่าย ทั้งพางข้าวเจ้าและข้าวเหนียวโดยสุ่มเก็บจากหลายพื้นที่ในประเทศ ได้แก่ จังหวัดกาฬสินธุ์ ขอนแก่น เลย อุตรดิตถ์ ร้อยเอ็ด อำนาจเจริญ อุบลราชธานี ยโสธร พิจิตร ลำปาง ลำพูน และพัทลุง จำนวน 180 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บทั้งฤดูฝนและฤดูแล้ง ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างประมาณ 2 กิโลกรัมแล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักก่อนอบและหลังอบ จากนั้นนำมาบดให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร สำหรับการวิเคราะห์ค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL ในห้องปฏิบัติการ และสแกนเก็บสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRS ต่อไป

การวัดสเปกตรัมและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. นำตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วมาวัดสเปกตรัมโดยใช้เครื่อง NIRS ยี่ห้อ FOSS รุ่น DS2500 (Foss Analytical A/S, Denmark) ที่ความยาวคลื่น 400-2,500 นาโนเมตร โดยใช้โปรแกรม ISScan NOVA เครื่องจะวัดสเปกตรัมแต่ละจุดห่างกัน 0.5 นาโนเมตร โดยบรรจุตัวอย่างในเซลล์ตัวอย่าง (Sample cell) เคลี่ยตัวอย่างให้กระจายอย่างสม่ำเสมอ ทำการวัด 2 ซ้ำต่อตัวอย่าง (Duplicates) การวัดแต่ละครั้งจะแสดงรายการองค์ประกอบทางเคมี จำนวน 7 รายการ ได้แก่ ค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL นำค่าแต่ละรายการที่ได้จากการวัดมาเฉลี่ยเพื่อแสดงผลออกมาเป็นเส้นสเปกตรัม 1 เส้นต่อรอบ ซึ่งค่าที่ได้เรียกว่า ค่าการดูดกลืน (Absorbance)

2. นำตัวอย่างพางข้าวที่ผ่านการวัดสเปกตรัม มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ โดยวิธีทางเคมี (Wet Chemical Analysis) ได้แก่ ค่าความชื้น ตามวิธีที่ 930.15 (AOAC, 2016) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง โปรตีน โดยหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl แล้วคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 ตามวิธีที่ 2011.11 (AOAC, 2016) ไขมัน ตามวิธี ISO11085:2015 (ISO, 2015) และเถ้า ตามวิธี ISO5982:2002 (ISO, 2002) NDF ตามวิธีที่ 2002.04 (AOAC, 2016) ADF และ ADL ตามวิธีที่ 973.18 (AOAC, 2016) ค่าที่ได้เรียกว่า ค่าจริง (Actual value)

3. ทำการวิเคราะห์หาค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการหรือ SEL (Standard error of laboratory) ด้วยวิธี Duplicate blind test เพื่อจะนำค่าไปประเมินสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างได้ โดยสองเท่าของค่า SEL ต้องมากกว่าค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนาย (Standard error of prediction, SEP) (SA, 2017) ทำการวิเคราะห์โดยใช้ตัวอย่างพางข้าว จำนวน 10 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างแบ่งออกเป็นตัวอย่างย่อยที่ 1 และตัวอย่างย่อยที่ 2 กำหนดหมายเลขตัวอย่างไม่ให้ซ้ำกัน แล้วส่งวิเคราะห์เป็น 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างย่อยที่ 1 ของตัวอย่างที่ 1 ถึง 10 และชุดที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่าง

ย่อยที่ 2 ของตัวอย่างที่ 1 ถึง 10 แต่ละชุดวิเคราะห์ตัวอย่างละ 1 ซ้ำ จากนั้นนำผลวิเคราะห์ของแต่ละองค์ประกอบทางเคมี คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง และคำนวณหาค่า SEL โดยใช้สมการ

$$SEL = \sqrt{\frac{\sum(D)^2}{n}}$$

D = ผลต่างผลวิเคราะห์ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ของแต่ละตัวอย่าง

n = จำนวนตัวอย่าง (10)

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและทวนสอบความใช้ได้ของสมการ

1. การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน

นำข้อมูลสเปกตรัมและค่าองค์ประกอบทางเคมี มาหาความสัมพันธ์ด้วยวิธี Partial least square regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม WIN ISI IV แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน คือกลุ่มที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration set) ทำนายค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL และกลุ่มทวนสอบความใช้ได้ของสมการ (Validation set) ในสัดส่วนกลุ่มสมการเทียบมาตรฐานต่อกลุ่มทวนสอบความใช้ได้ของสมการ เท่ากับ 80 ต่อ 20 เปอร์เซ็นต์ การสร้างสมการเป็นการสร้างแบบเต็มช่วงความยาวคลื่น (Full spectrum method) ด้วยวิธี Partial least squares (PLS) และ Modified partial least squares (MPLS) ร่วมกับการไม่มีการปรับแต่งสเปกตรัม และปรับแต่งสเปกตรัมแบบ SNV-Detrend เพื่อลดความแปรปรวนและสิ่งรบกวนอื่นๆที่อาจทำให้ข้อมูลสเปกตรัมมีการเปลี่ยนแปลง และใช้ Derivative mathematics หรือ Math treatment ที่ใช้ค่า Derivative number, Gap, Smoothing and Second smoothing จำนวน 10 แบบ ดังนี้ (1,4,4,1) (2,4,4,1) (1,8,4,1) (2,8,4,1) (1,8,8,1) (2,8,8,1) (1,5,5,1) (2,5,5,1) (1,10,10,1) (2,10,10,1) โดยใช้ตามคำแนะนำในคู่มือ การใช้เครื่อง NIRS (Infrasoft International, 2005) จะได้สมการเทียบมาตรฐานของแต่ละรายการจำนวน 40 สมการ

หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกับค่าทำนาย (Coefficient of determination, r^2) ซึ่งควรมีค่าเข้าใกล้ 1 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการสร้างสมการ (Standard error of calibration, SEC) และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการพิสูจน์แบบไขว้ (Standard error of cross validation, SECV) ซึ่งควรมีค่าต่ำ (Infrasoft International, 2005)

ในการพิจารณาการเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุด จะพิจารณาจากค่า r^2 ที่มีค่าสูง และค่าผลต่างของ SEC และ SECV ที่มีค่าต่ำ จากสมการเทียบมาตรฐาน 40 สมการ จะเลือกสมการที่ดีที่สุดมา 3 สมการ เพื่อนำมาทวนสอบความใช้ได้ของสมการต่อไป

2. การทวนสอบความใช้ได้ของสมการ

นำสมการที่คัดเลือกจำนวน 3 สมการมาทวนสอบความใช้ได้ของสมการเพื่อวัดประสิทธิภาพของสมการว่าสามารถใช้ในการประเมินค่าได้แม่นยำมากน้อยเพียงใด โดยนำสเปกตรัมของตัวอย่างกลุ่มทวนสอบมาประเมินความถูกต้องแม่นยำโดยใช้ค่าสถิติต่างๆ ได้แก่ ค่า SEP ควรมีค่าน้อยกว่าสองเท่าของ SEL

(SEP < 2 SEL) ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยระหว่างค่าที่ได้จากวิธีทางเคมีและค่าที่ได้จากวิธี NIRS (Bias) ควรมีค่าน้อยกว่า 0.55 เท่าของ SEC (Bias<0.55 SEC) ค่า Standard error of prediction correction (SEP(C)) น้อยกว่า 1.29 เท่าของ SEC (SEP(C) <1.29SEC) ค่าความชันใกล้เคียง 1 (Slope ~ 1) ตามวิธีการของ SA (2017) นอกจากนี้ ได้พิจารณาระดับชั้นคุณภาพของสมการด้วยค่า RPD (Ratio of performance to deviation) ตามวิธีการของ Williams et al. (2019) ดังแสดงใน Table 1 เกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกสมการตามที่ได้กล่าวถึง จะเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดเพียง 1 สมการ สำหรับนำไปใช้ในการทำนายองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง NIRS ต่อไป

Table 1 Criteria of prediction efficiency : Williams et al. (2019)

RPD Value	Classification	Application
0.0 - 1.9	Very poor	Not recommended
2.0 - 2.4	Poor	Rough screening
2.5 - 2.9	Fair	Screening
3.0 - 3.4	Good	Quality control
3.5 - 4.0	Very good	Process control
> 4.1	Excellent	Any application

RPD = ratio of performance to deviation

3. สมการเทียบมาตรฐานที่คัดเลือกมา 1 สมการ (ข้อที่ 2) นำมาประเมินประสิทธิภาพตามมาตรฐาน ISO 12099:2017 (ISO, 2017) ดังนี้

3.1 การตรวจสอบค่า Bias โดยการคำนวณค่า Bias confidence limit (T_b) ตามสมการ ถ้าค่า Bias มีค่าน้อยกว่า T_b แสดงว่า ค่า Bias ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่า T_b คำนวณได้ ดังนี้

$$T_b = \pm \frac{t_{(1-\alpha/2)} * SEP}{\sqrt{n}}$$

T_b	คือ	ค่า Bias confidence limit
$t_{(1-\alpha/2)}$	คือ	ค่า t value ของการทดสอบ 2 ทาง ด้วย Degree of freedom ที่สอดคล้องกับ SEP ที่มีค่าเท่ากับ n-1
SEP	คือ	Standard Error of Prediction (ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มทดสอบ)
n	คือ	จำนวนตัวอย่างในกลุ่มทดสอบ

3.2 การตรวจสอบค่า SEP เป็นการคำนวณค่า T_{UE} (The unexplained error confidence limit) หากค่า SEP น้อยกว่า T_{UE} แสดงว่า ค่า SEP ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่า T_{UE} คำนวณได้ ดังนี้

$$T_{UE} = SEC \sqrt{F_{(\alpha, v, M)}}$$

T_{UE} คือ The unexplained error confidence limit

$F_{(\alpha, v, M)}$ คือ ค่า F Value

SEC คือ Standard Error of calibration (ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการสร้างสมการของกลุ่มสร้างสมการ)

α คือ ระดับความน่าจะเป็นของการเกิดความผิดพลาดชนิดที่ 1 (type I error) โดยทั่วไป คือ 5%

v คือ $n_{\text{validation set}} - 1$ (degree of freedom ที่สอดคล้องกับ SEP)

M คือ $n_{\text{validation set}} - p - 1$ (degree of freedom ที่สอดคล้องกับ SEC) โดย p คือ number of terms หรือ PLS factors of the model)

3.3 การตรวจสอบ Slope เป็นความชันของกราฟการกระจาย (Scatter plots) ระหว่างค่าองค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จริงเป็นค่าอ้างอิง (แกน y) กับค่าที่ทำนายที่ได้จากสมการเทียบมาตรฐานด้วยเครื่อง NIRS (แกน x) ซึ่งจะสอดคล้องกับสมการเส้นตรงโดยมีค่า Slope b และ Intercept a คำนวณได้ตามสมการ

$$y = a + b\hat{y}$$

$$b = \frac{S_{\bar{y}\bar{y}}}{S_{\bar{y}}^2}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{\hat{y}}$$

$S_{\bar{y}\bar{y}}$ คือ ความแปรปรวนร่วมระหว่างค่าทำนายกับค่าจริง (Covariance)

$S_{\bar{y}}^2$ คือ ความแปรปรวนของค่าทำนายในกลุ่มทดสอบ

$\bar{\hat{y}}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าที่ทำนายจากสมการเทียบมาตรฐาน

$\bar{y}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าอ้างอิงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

จากนั้นทดสอบค่า Slope ที่คำนวณได้โดยใช้ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ดังสมการ

$$S_{res} = \sqrt{\frac{\sum [y_i - (a + b\hat{y}_i)]^2}{n-1}}$$

$$t_{obs} = |b-1| \sqrt{\frac{S_{\bar{y}}^2(n-1)}{S_{res}^2}}$$

S_{res}	คือ	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Residual
t_{obs}	คือ	The observed value
n	คือ	จำนวนตัวอย่างในกลุ่มทดสอบ
y_i	คือ	ค่าอ้างอิงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน
$\hat{y}_i$	คือ	ค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐาน

หากค่า t_{obs} น้อยกว่า $t_{(1-\alpha/2)}$ แสดงว่า ความชันของกราฟการกระจายระหว่างค่าทางเคมีกับค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐานไม่แตกต่างจาก 1 แสดงว่า ค่า Slope ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองและวิจารณ์

องค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าว

ตัวอย่างฟางข้าวได้จากการรวบรวมตัวอย่างจากเกษตรกรและตัวแทนจำหน่ายหลายพื้นที่ในประเทศไทย ซึ่งประกอบด้วยพันธุ์ กข6 กข18 กข22 กข41 กข49 กข61 ขาวดอกมะลิ105 หอมปทุม สังข์หยดพัทลุง เล็บนกปัตตานี ดอกพะยอม ไรซ์เบอร์รี่ และอื่นๆ โดยมีวิธีการเก็บเกี่ยวทั้งแบบใช้มือเกี่ยวและรถเกี่ยว ซึ่งเก็บทั้งฤดูฝนและฤดูแล้ง เพื่อให้ครอบคลุมและมีความหลากหลายของตัวอย่างโดยตัวอย่างทั้งหมดถูกนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ตามวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ สำหรับสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL พบว่ามีค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด ค่าเฉลี่ย ค่า SD และ ค่า SEL ดังแสดงใน Table 2 โดยจะเห็นว่าช่วงข้อมูลของแต่ละองค์ประกอบครอบคลุมค่าวิเคราะห์ของฟางข้าวที่รายงานในตารางคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารโคนม (คณะกรรมการความต้องการโภชนาการโคนมในประเทศไทย, 2563) ซึ่งรวบรวมได้จากรายงานผลงานวิจัยของหน่วยงาน มหาวิทยาลัยต่างๆ บริษัทอาหารสัตว์ และเกษตรกร โดยมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL เท่ากับ 91.88 4.14 0.94 14.20 68.49 43.34 และ 3.92 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Guo et al. (2021) ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวสาลี พบว่ามีค่าความชื้น โปรตีน NDF ADF และ ADL เท่ากับ 4.62 3.36 77.27 46.79 และ 6.92 ตามลำดับ ซึ่งงานวิจัยของสินีนานู และคณะ (2560) ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของฟางข้าวพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 12 สายพันธุ์ พบว่าความหลากหลายของสายพันธุ์ข้าวมีผลต่อความแตกต่างของคุณค่าทางโภชนาการของฟางข้าว โดยมีค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน NDF ADF และ ADL เท่ากับ 90.0-96.7 2.2-5.8 0.7-1.0 70.0-84.9 49.2-61.3 และ 3.9-12.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อทดสอบเพื่อหาค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Standard error of laboratory; SEL) จะเห็นว่าค่า SEL มีค่าต่ำ แสดงว่าค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีค่าความคลาดเคลื่อนน้อย โดยเมื่อนำค่า SEL ไปประเมินความใช้ได้ของสมการในขั้นตอนการทดสอบสมการพบว่า ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนาย (SEP) มีค่าน้อยกว่าสองเท่าของ SEL (SA, 2017)

Table 2 Total sample, nutritive value, standard deviation and standard error of laboratory of rice straw.

Parameter	N	Minimum	Maximum	Average	±SD	SEL
Dry matter, %	162	90.99	96.81	94.42	1.38	0.48
Crude protein, %	155	2.12	5.56	3.88	0.79	0.13
Ether extract, %	128	0.38	1.62	0.91	0.22	0.20
Ash, %	169	5.58	19.14	12.35	2.68	0.39
NDF, %	162	62.56	78.17	70.20	2.59	1.59
ADF, %	166	39.32	49.58	43.62	1.75	1.43
ADL, %	126	3.18	7.27	4.90	0.63	0.30

N, Number of samples; SD, Standard deviation; SEL, Standard error of laboratory; NDF, Neutral detergent fiber; ADF, Acid detergent fiber; ADL, Acid detergent lignin.

การสร้างและทวนสอบความใช้ได้ของสมการเทียบมาตรฐาน

วัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 1,100 - 2,500 นาโนเมตร โดยใช้วิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ (Reflectance) เพื่อเก็บสเปกตรัม จากนั้นทำการแบ่งตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 2 กลุ่ม เพื่อใช้เป็นตัวอย่างกลุ่มสำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐาน และกลุ่มที่ใช้ทวนสอบความใช้ได้ของสมการ โดยใช้สัดส่วนการเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วงตามที่กำหนดคือ กำหนดตำแหน่งเริ่มต้นและจำนวนตัวอย่างที่ต้องการเว้นช่วงเพื่อแบ่งกลุ่ม โดยเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วง 2, 4 สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐานค่าไขมัน แบบ 3, 4 สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐานค่า ADL แบบ 1, 5 สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐานค่าโปรตีน ถ้า NDF ADF และแบบ 2,5 สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐานค่าวัตถุแห้ง จากนั้นนำตัวอย่างในกลุ่มสำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐานจะถูกนำมาจัดกลุ่มโดยใช้หลักการ Principal component analysis (PCA) ที่ใช้หลักการคำนวณค่ามหาโนบิส (Mahalanobis distance) เพื่อตัดตัวอย่างที่มีค่าอยู่นอกกลุ่มออกซึ่งค่าที่ผิดปกตินี้อาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น การสแกนที่ผิดพลาดหรือความผิดปกติของ สเปกโตรมิเตอร์ เช่น มีความชื้นสูง หรืออุณหภูมิสูง (ปานมนัส, 2564) ทำให้เหลือจำนวนตัวอย่างเพื่อใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานและกลุ่มที่ใช้ทวนสอบความใช้ได้ของสมการ และค่าองค์ประกอบทางเคมี ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด ค่าเฉลี่ย และค่า SD ดังแสดงใน Table 3 โดยจะเห็นว่าช่วงข้อมูลของแต่ละค่าในกลุ่มสำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐานครอบคลุมค่าของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทวนสอบความใช้ได้ของสมการ โดยตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน

Table 3 Number of sample and nutritive value of calibration and validation sets of rice straw.

Parameter	Calibration set					Validation set				
	N	Min.	Max.	Mean	SD	N	Min.	Max.	Mean	SD
Dry matter, %	125	90.99	96.81	94.42	1.37	25	91.77	96.68	94.41	1.46
Crude protein, %	123	2.12	5.56	3.88	0.79	22	2.59	5.35	3.81	0.77
Ether extract, %	94	0.38	1.62	0.90	0.22	21	0.57	1.30	0.90	0.20
Ash, %	133	5.58	19.14	12.34	2.68	26	8.21	17.30	12.54	2.27
NDF, %	127	62.56	78.17	70.21	2.54	28	63.42	77.75	69.98	2.90
ADF, %	126	39.61	49.58	43.61	1.69	26	41.11	47.97	43.88	1.79
ADL, %	92	3.18	7.27	4.94	0.61	21	3.41	6.46	4.87	0.63

N, Number of sample; Min, Minimum; Max, Maximum; SD, Standard deviation; NDF, Neutral detergent fiber, ADF; Acid detergent fiber, ADL; Acid detergent lignin.

เมื่อนำกลุ่มตัวอย่างสำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐานมาสร้างสมการ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป WINISI IV ร่วมกับการใช้หลักสถิติ PLS regression แบบ Full cross validation และ MPLS แบบปรับแต่งและไม่ปรับแต่ง พบว่า ข้อมูลสเปกตรัมก่อนการปรับแต่งของฟางข้าว (Figure 1(A)) ลักษณะสเปกตรัมที่ได้มีพีกกว้างและมีจุดยอดที่เหลื่อมซ้อนกัน เพราะความแตกต่างของขนาดอนุภาคตัวอย่าง รวมทั้งระดับของเยื่อใยชนิดต่างๆที่สะสมอยู่ และผลจากการกระเจิงแสงที่มักมีขนาดที่มากกว่าความแตกต่างที่เป็นผลจากความเข้มข้นขององค์ประกอบที่ต้องการวัด ทั้งนี้การปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์สามารถช่วยลดอิทธิพลของปัจจัยดังกล่าวได้โดยการใช้วิธี SNV และ Detrend ร่วมกับวิธีอนุพันธ์ (Derivative treatment) อันดับที่ 1 และ 2 ทำให้สามารถแยกจุดยอดที่เหลื่อมซ้อนกันในสเปกตรัมออกจากกัน และลดผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมมีขนาดเพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่น (จันทกานต์ และคณะ, 2553) เมื่อพิจารณาลักษณะของสเปกตรัมที่ผ่านการปรับแต่งด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์ (Figure 1(B) และ 1(C)) จะเห็นว่าการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิคข้างต้นจะช่วยขยายสัญญาณให้ชัดเจนมากขึ้นและลดความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้นจากการกระเจิงแสงของตัวอย่าง (Kasemsunran et al., 2004) โดย SNV ช่วยลดสัญญาณรบกวนขณะที่ detrend จะช่วยลดความโค้งของแต่ละสเปกตรัม ส่วน derivative ที่อยู่ในรูปของ derivative, gap, smoothing, second smoothing นั้น จะช่วยแก้ปัญหาการซ้อนทับกันของจุดยอดในสเปกตรัมและการเลื่อนขึ้นของสเปกตรัม โดยการสร้าง 2nd derivative ของสเปกตรัม จะทำให้เกิดการแยกของจุดยอดที่เหลื่อมซ้อนกันอยู่ ขณะที่ 1st derivative ของสเปกตรัมจะช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่น ตามแกน Y อันเกิดจากขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่แตกต่างกัน อนุภาคขนาดใหญ่จะเปลี่ยนทิศทางการเดินทางของแสงลงไปในตัวอย่างไม่บ่อยครั้งเท่ากับอนุภาคขนาดเล็ก ทำให้แสงเดินทางเข้าไปในตัวอย่างได้ระยะทางมากกว่าก่อนที่จะสะท้อนกลับออกมาทำให้ถูกดูดกลืนมากกว่า ส่วน gap และ smoothing จะช่วยปรับสเปกตรัมที่มีลักษณะเป็นยอดแหลมเล็กกระจายให้เรียบขึ้น (อนุพันธ์, 2548)

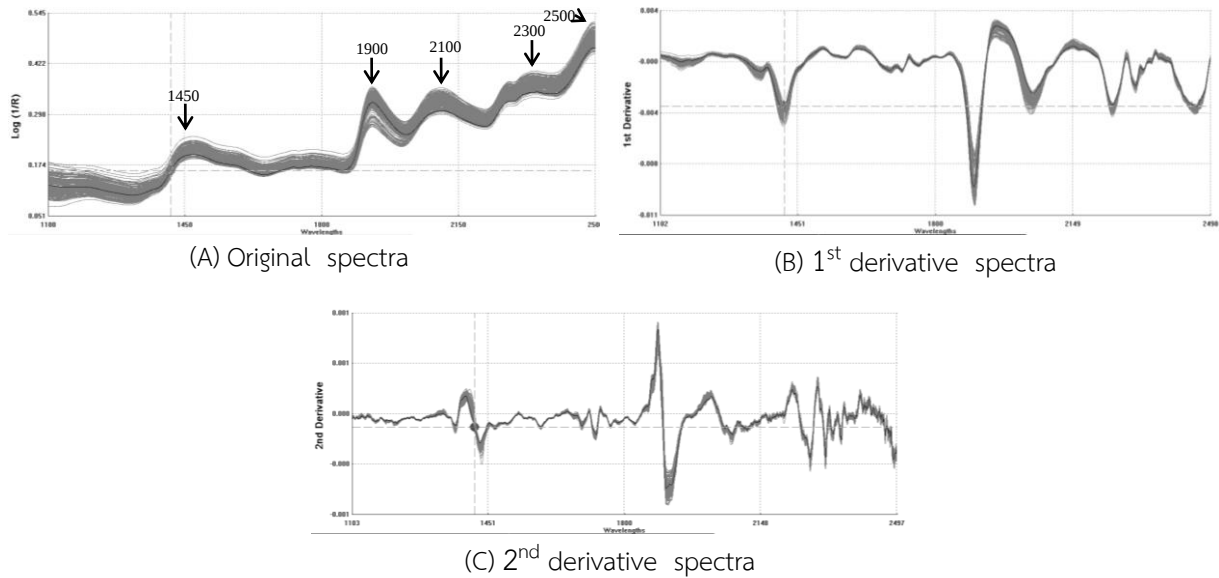


Figure 1 Original spectra (A) and 1st derivative spectra (B) and 2nd derivative spectra (C)

เมื่อพิจารณาที่พีกของสเปกตรัมพบว่า ที่ความยาวคลื่น 1,450 1,900 2,100 2,300 และ 2,500 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างน้ำและคาร์โบไฮเดรต คือ พันธะ O-H และโครงสร้างของโปรตีน กรดอะมิโน และเซลลูโลส ที่มีพันธะ C-H และ N-H (Guo et al., 2021) นอกจากนี้ Nousiainen et al. (2004) ยังรายงานช่วงความยาวคลื่น 1,600 2,100 และ 2,300 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับการวัดค่าปริมาณลิกนินและองค์ประกอบของผนังเซลล์ในหญ้า ดังนั้น สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างขึ้นในช่วงความยาวคลื่นนี้จะครอบคลุมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ในฟางข้าว

Table 4 Statistical analysis of Calibration and Validation sets.

Parameter	Treatment			Calibration set				Validation set				
				N	r ²	SEC	SECV	N	r ²	SEP	Bias	RPD
Dry matter, %	MPLS	SNV+DETREND	1,4,4,1	125	0.82	0.57	0.77	25	0.90	0.46	0.00	3.23
Crude protein,%	MPLS	SNV+DETREND	2,8,8,1	123	0.93	0.21	0.27	22	0.98	0.10	0.00	7.45
Ether extract, %	MPLS	SNV+DETREND	2,8,8,1	94	0.90	0.07	0.11	21	0.92	0.05	0.00	3.75
Ash, %	PLS	None	2,10,10,1	133	0.98	0.36	0.41	26	0.99	0.27	-0.01	8.31
NDF, %	PLS	None	1,5,5,1	127	0.91	0.74	0.93	28	0.93	0.76	-0.01	3.81
ADF, %	PLS	SNV+DETREND	1,4,4,1	126	0.83	0.68	0.81	26	0.89	0.60	0.03	3.00
ADL, %	MPLS	SNV+DETREND	2,4,4,1	92	0.85	0.24	0.36	21	0.76	0.30	0.01	2.09

N, Number of sample; r², coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross validation; SEP, Standard Error Prediction; RPD, ratio of performance to deviation, NDF, Neutral detergent fiber, ADF; Acid detergent fiber, ADL; Acid detergent lignin.

หลังจากการปรับแต่งสเปกตรัมของสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวทั้ง 7 รายการๆ ละ 40 รูปแบบ รวมทั้งหมด 280 สมการ จากนั้นทำการคัดเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่เป็นไปตามเกณฑ์มาทำการทวนสอบความถูกต้องของสมการรายการละ 3 สมการ เพื่อหาสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุด พบว่าค่าสถิติของสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวได้แก่ ค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL ดังแสดงใน Table 4 มีค่า r^2 เท่ากับ 0.82 0.93 0.90 0.98 0.91 0.83 และ 0.85 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 และเป็นสมการที่มีค่า SECV ต่ำ และมีค่าผลต่างของ SEC และ SECV ต่ำตามเกณฑ์การประเมินที่กำหนดไว้ และเมื่อทวนสอบความใช้ได้ของสมการพบว่า ค่า r^2 เท่ากับ 0.90 0.98 0.92 0.99 0.93 0.89 และ 0.76 ตามลำดับ ในส่วนของค่า Bias พบว่า มีค่าต่ำหรือเท่ากับ 0 ซึ่งค่า Bias ควรมีค่าไม่แตกต่างจาก 0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ บ่งบอกว่าค่าที่ทำนายด้วยเทคนิค NIRS ไม่แตกต่างจากค่าจริงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี

เมื่อพิจารณาความใช้ได้ของสมการจากค่า RPD พบว่า สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าโปรตีนและเถ้า มีค่า RPD มากกว่า 4.1 ขึ้นไปอยู่ในระดับที่ยอดเยียมสามารถใช้ทำนายได้กับทุกงาน (Any application) สมการทำนายค่าไขมัน และ NDF มีค่า RPD ระหว่าง 3.5-4.0 อยู่ในระดับดีมากสามารถใช้ในการควบคุมคุณภาพกระบวนการงาน (Process control) และสมการทำนายค่าวัตถุแห้ง และ ADF เป็นสมการที่อยู่ในระดับดี โดยมีค่า RPD ระหว่าง 3.0-3.4 ซึ่งสามารถนำไปใช้ทำนายในงานควบคุมตรวจคุณภาพ (Quality control) ส่วนสมการทำนายค่า ADL สามารถใช้ได้ในงานคัดเลือกเบื้องต้น โดยมีค่า RPD เท่ากับ 2.1 ซึ่งรายงานของ Nielsen et al. (2019) ที่ใช้เทคนิค NIRS ในการหาองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวสาลี พบว่ามีค่า RPD ของ NDF ADF ADL เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสเท่ากับ 2.7 2.8 1.7 3.2 และ 1.3 ตามลำดับ และการศึกษาของ Guo et al. (2021) ที่พบว่าค่า RPD ของค่าความชื้น โปรตีน NDF ADF และ ADL เท่ากับ 3.0 3.7 2.1 1.7 และ 1.2 ตามลำดับ ซึ่งมีค่า RPD ของ ADL ค่อนข้างน้อย ทั้งนี้เนื่องจาก ADL มีความสัมพันธ์กับสเปกตรัมขององค์ประกอบอื่น เช่น โปรตีน และ NDF เมื่อองค์ประกอบอื่นมีการเปลี่ยนแปลงจะส่งผลให้สเปกตรัมที่บ่งบอกถึงค่า ADL เปลี่ยนแปลงไปด้วย อีกทั้งในกระบวนการวิเคราะห์ทางเคมีมีหลายขั้นตอนและมีการใช้กรดเข้มข้นอาจทำลายลิกนินบางส่วนทำให้หาปริมาณที่แท้จริงได้ยาก จึงส่งผลต่อความแม่นยำของสมการทำให้ค่า RPD ที่ได้มีค่าน้อย และเมื่อพิจารณาค่า SEP ของค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL เท่ากับ 0.46 0.10 0.05 0.27 0.76 0.60 และ 0.30 ตามลำดับ ซึ่งค่า SEP ควรมีค่าต่ำ จะเห็นว่าค่า SEP ที่ได้มีค่าต่ำ แสดงว่าค่าที่ทำนายมีค่าใกล้เคียงกับค่าจริง เพราะมีค่าความคลาดเคลื่อนต่ำ

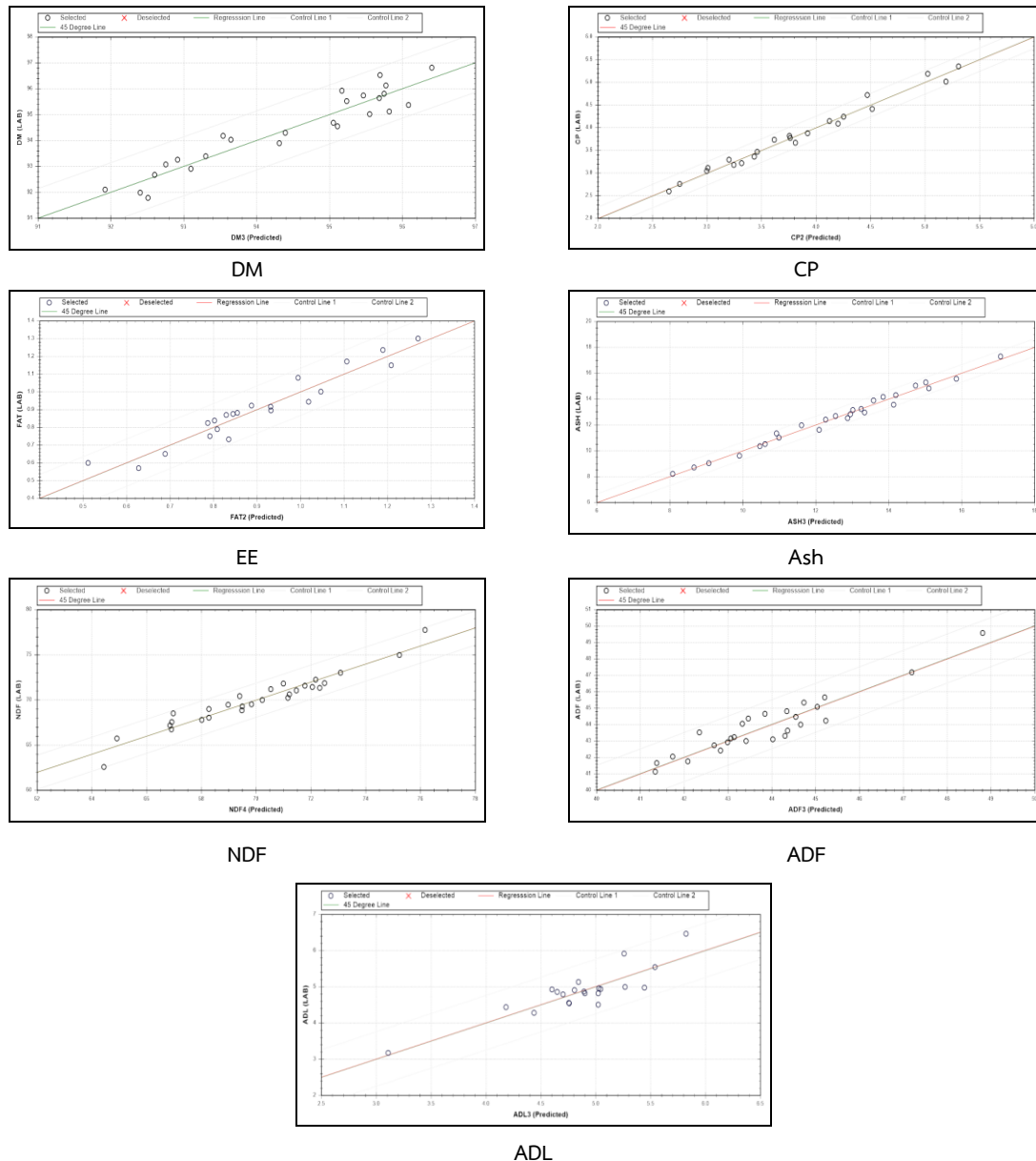


Figure 2 Relationship between NIRS predicted and actual values of chemical composition of rice straw in validation sets.

จาก Figure 2 คือกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (แกน Y) และค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐาน (แกน X) พบว่าค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐานของค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า NDF ADF และ ADL มีค่าใกล้เคียงกับค่าจริง โดยมีค่า r^2 เท่ากับ 0.90 0.97 0.92 0.99 0.93 0.89 และ 0.76 ตามลำดับ ค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน NDF ADF และ ADL มีค่าการกระจายตัวที่ครอบคลุมค่าต่ำสุดถึงสูงสุดของข้อมูลตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน ยกเว้น ค่า ADL มีค่าการกระจายตัวอยู่ในช่วง 4.5-5.5 เปอร์เซ็นต์เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งอาจจะต้องมีการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมต่อไปเพื่อให้ได้ค่าครอบคลุมมากขึ้น

Table 5 Statistics performance measurement of developed calibration equation for chemical composition according to ISO 12099:2017

Parameter	Bias			SEP			Slope			
	Calculated value	Criterion (T_b)	Result	Calculated value	Criterion (T_{UE})	Result	Observed value (t_{obs})	Calculated value	Criterion ($t_{(1-\alpha/2)}$)	Result
Dry matter, %	0.00	0.19	Pass	0.46	0.73	Pass	-0.01	1.00	2.06	Pass
Crude protein,%	0.00	0.04	Pass	0.10	0.27	Pass	0.06	1.00	2.08	Pass
Ether extract, %	0.00	0.02	Pass	0.05	0.09	Pass	-0.02	1.00	2.09	Pass
Ash, %	-0.01	0.11	Pass	0.27	0.45	Pass	-0.04	1.00	2.06	Pass
NDF, %	-0.01	0.30	Pass	0.76	0.93	Pass	-0.03	1.00	2.05	Pass
ADF, %	0.03	0.24	Pass	0.60	0.86	Pass	0.01	1.00	2.06	Pass
ADL, %	0.01	0.14	Pass	0.30	0.31	Pass	-0.00	1.00	2.09	Pass

T_b , The calculation of the bias confidence limits; SEP, standard error of prediction; T_{UE} , The unexplained error confidence

limits; t_{obs} , The observed t value; $t_{(1-\alpha/2)}$, : The t-value obtained from table t-distribution for a probability of $\alpha = 0.05$,

NDF, Neutral detergent fiber, ADF; Acid detergent fiber, ADL; Acid detergent lignin.

ประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017

จากสมการเทียบมาตรฐานที่ได้และผ่านการทวนสอบความถูกต้องของสมการ จัดว่าเป็นสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุด จะนำมาประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 (ISO, 2017) อีกครั้ง ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ในตัวอย่าง โดยจะทำการประเมินค่าทางสถิติ คือ ค่า Bias SEP และ Slope ดังแสดงใน Table 5 พบว่าทุกองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าว มีค่า Bias ของทุกรายการน้อยกว่าค่า T_b ซึ่งแสดงว่าค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ กล่าวคือ ค่าจากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ได้จากการทำนายไม่แตกต่างกัน มีค่า SEP น้อยกว่าหรือเท่ากับค่า T_{UE} กล่าวคือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายต่ำเพียงพอที่จะยอมรับได้ และจากการตรวจสอบค่า Slope หรือค่าความสัมพันธ์ของค่าจากการวิเคราะห์ทางเคมีกับค่าที่ได้จากการทำนาย ซึ่งจะใช้ค่า t_{obs} ในการตรวจสอบ Slope พบว่า ค่า t_{obs} มีค่าน้อยกว่าค่า $t_{(1-\alpha/2)}$ กล่าวคือ Slope มีค่าไม่แตกต่างจาก 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

สรุปผลการทดลอง

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวด้วยเครื่อง NIRS โดยวัดที่ความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร ได้สมการเทียบมาตรฐานดังนี้

- สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าได้ในระดับยอดเยี่ยม ได้แก่ ค่าโปรตีน และ เถ้า

- สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าได้ในระดับดีมาก ได้แก่ ค่าไขมัน และ NDF
- สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าได้ในระดับดี ได้แก่ ค่าวัตถุแห้ง และ ADF
- สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าได้ในระดับต่ำ ได้แก่ ค่า ADL

และสมการเทียบมาตรฐานที่ได้มีค่า Bias SEP และ Slope ผ่านเกณฑ์การประเมินศักยภาพตามมาตรฐาน ISO 12099:2017 แสดงว่า สมการเทียบมาตรฐานที่ได้มีความแม่นยำสามารถทำนายค่าได้ไม่แตกต่างกับค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) หรือ สวก.

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคุณคุณจันทกานต์ อรณนันท ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์อาหารสัตว์ ที่ให้คำแนะนำตลอดมา คุณวรรณ อ่างทอง และคณะกรรมการวิชาการสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ที่ให้คำแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของกลุ่มวิจัยและพัฒนาการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์มหาสารคาม ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์นครราชสีมา ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ลำปาง และศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์เพชรบุรี สำหรับตัวอย่างในการวิเคราะห์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนามาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีและความช่วยเหลือเป็นอย่างดีที่ช่วยให้งานครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายค่า ADL มีค่า RPD ต่ำ หากจะพัฒนาสมการให้มีค่าความแม่นยำเพิ่มขึ้น สามารถทำได้โดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีความหลากหลายให้มากขึ้น เพื่อให้ตัวอย่างมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้สมการทำนายที่สร้างจากเทคนิค NIRS จะให้ค่าทางสถิติดีขึ้นเมื่อมีการสร้างจากฐานข้อมูลที่กว้างและหลากหลายมากขึ้น และควรมีค่าครอบคลุมค่าต่ำสุด-สูงสุดของตัวอย่างในอนาคต ดังนั้นในองค์ประกอบอื่นๆ จึงควรมีการพัฒนาสมการต่อเนื่องเป็นประจำทุกปีตามการเปลี่ยนแปลงไปของปัจจัยต่างๆ เพื่อปรับสมการเทียบมาตรฐานให้เป็นปัจจุบัน และมีความถูกต้องแม่นยำในการทำนายตัวอย่างที่จะเกิดขึ้นในอนาคตต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กุลนิภา ธารรุ่งรังสี ญัฐฐา เลหากุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. 2558. สมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของกากใยอาหารจากฟางข้าวสากัดด้วยอัลคาไลน์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ปีที่ 46 ฉบับที่ 3 หน้า 461-464.
- คณะกรรมการความต้องการโภชนาโคมนในประเทศไทย. 2563. ความต้องการโภชนาของโคมนในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

- จันทกานต์ อรณนันทน์ เฉลา พัทธ์สินสุข และสุรนนท์ น้อยอุทัย. 2553. การทำนายส่วนประกอบทางเคมีของ
หญ้าแพงโกล่าด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์ประจำปี
พ.ศ.2553 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 309-327.
- จันทกานต์ อรณนันทน์ วรรณ อ่างทอง ปฎิมา บุตรชา สดุดี พงษ์เพียจันทร์ แพรวพรรณ ชูช่วย เยาวลักษณ์
แหล่มปัง รัตติกาล ปวงแก้ว ศศิพร ช่อลำไย เฉลา พัทธ์สินสุข สุวรรณ เกศกมลასน์จริยา บุญจรัสชะ
และศิริรัตน์ บัวผัน. 2563. การจัดทำฐานข้อมูลคุณค่าทางโภชนาของวัตถุดิบอาหารโคนมในประเทศไทย
(ปีที่2). รายงานฉบับสมบูรณ์เสนอต่อสำนักงานการพัฒนากิจการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน).
- ปานมนัส ศิริสมบุญ, 2564. พื้นฐานเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. ภาควิชาวิศวกรรมกรรมการเกษตร
คณะวิศวกรรมศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง. แหล่งที่มา
<https://nirsresearch.com/sites/6731/files/u/พื้นฐานเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี.pdf>. ตุลาคม 30, 2565.
- สินีนากุล พลโยราช อรอนงค์ พวงชมภู เมธา วรรณพัฒน์ สมศักดิ์ ระยัน วีรยุทธ สีหาม อนุสรณ์ เชิดทอง
พงศธร กุณัน และนิราวรรณ กุณัน. 2560. ความหลากหลายของสายพันธุ์ข้าวต่อคุณค่าทางโภชนาของ
ฟางข้าวเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง. วารสารแก่นเกษตร. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ปีที่ 45
ฉบับพิเศษ 1 หน้า 602-608.
- อนุพันธ์ เทิดวงศ์วรกุล. 2548. การปรับแต่ง NIR Spectrum ก่อนการวิเคราะห์. เอกสารประกอบการ
ฝึกอบรม “การตรวจคุณภาพอาหารสัตว์ด้วยเทคนิค NIR Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้า
โลก” ระหว่างวันที่19-23 ธันวาคม 2548 จัดโดย หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดย
ไม่ทำลาย, สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรม,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 62 – 81.
- AOAC. 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International 20th ed. Maryland.
- Guo, T., L. Dai, B. Yan, G. Lan, F. Li, F. Pan, and F. Wang. 2021. Measurements of Chemical
Compositions in Corn Stover and Wheat Straw by Near-Infrared Reflectance
Spectroscopy. Animals. 3328.
- Infrasoft International. 2005. WinISI III Manual. FOSS Tecator AB. Hillerod. 192p.
- ISO. 2002. International Standard (ISO 5984:2002 (E)). 2nd Edit. Animal feeding stuffs –
Determination of crude ash.
- ISO. 2015. International Standard (ISO 11085:2015). 2nd Edit. Cereals, cereals-based products
and animal feeding stuffs - Determination of crude fat and total fat content by the
Randall extraction method.

- ISO. 2017. International Standard (ISO 12099:2017(E)) 2nd Edit. Animal feeding stuffs, Cereals and milled cereal products-Guidelines for the application of near infrared spectrometry. International Organization for Standardization. All rights reserved. Geneva.
- Kasemsumran, S., Y. P. Du, K. Maruo, and Y. Ozaki. 2004. Selective removal of interference signals for near-infrared spectra of biomedical samples by using region orthogonal signal correction. *Analytical Chemical Acta*. 82:97-103.
- Nielsen, N.S., T.L. Stubbs, K.A. Garland-Campbell, and A.H. Carter. 2019. Rapid Estimation of Wheat Straw Decomposition Constituents Using Near-Infrared Spectroscopy. *Agronomy*. 462.
- Nousiainen, J., S. Ahvenjarvi, M. Rinne, M. Hellamaki, and P. Huhtanen. 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*. 115:295-311.
- Osborn, B.G., T. Fearn, and P.H. Hindle. 1993. *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*, 2nd ed., Longman Scientific & Technical, Weinheim.
- SA. 2017. Sithiporn Associates Company. WIN ISI 4, Training Manual. 80 p.
- Williams, P., J. Antoniszyn, and M. Manley. 2019. *Near Infrared Technology: Getting the best out of light*. 1st edition. African Sun Media under the Sun Press imprint, Las Vegas. 301p.