

การทำนายค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักและต้นข้าวโพดหลังเก็บเกี่ยว โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

เยาวลักษณ์ แหม่งปิง^{1/} ปฐิมา บุตรชา^{1/} สุภัญญา คำพะแย^{1/} วรธนา อ่างทอง^{2/}
 เนลา พิทักษ์สินสุข^{3/} รัตติกาล ปวงแก้ว^{4/}

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการสร้างสมการทำนายค่าการย่อยได้จริงของวัตถุแห้ง (*In vitro* true dry matter digestibility, IVTDM) และค่าการย่อยได้ของผนังเซลล์ (Neutral detergent fiber digestibility, NDFD) ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near infrared spectroscopy, NIRS) โดยใช้ตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝัก จำนวน 152 ตัวอย่าง ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก จำนวน 132 ตัวอย่าง ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก จำนวน 231 ตัวอย่าง และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน จำนวน 167 ตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์หาค่า IVTDM และ NDFD ด้วยเครื่อง Daisy[®] และวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง NIR หาคความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าวิเคราะห์การย่อยได้โดยใช้โปรแกรม WINISI IV และวิเคราะห์เชิงสถิติแบบ Partial least square regression และ Modified partial least squares regression ที่มีการปรับแต่งสเปกตรัมแบบใช้และไม่ใช้ Standard normal variate และ Detrend ร่วมกับ Derivative, Gap, Smoothing, Second smoothing และ Math treatment จำนวน 10 รูปแบบ

ผลการศึกษาพบว่าสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDM และ NDFD ของตัวอย่างต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด มีค่า R^2 อยู่ระหว่าง 0.83-0.97 โดยสมการทำนายค่า IVTDM ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน มีค่า RPD อยู่ในระดับดี พอใช้ ยอดเยี่ยม และยอดเยี่ยม ตามลำดับ และสมการทำนายค่า NDFD มีค่า RPD อยู่ในระดับพอใช้ แย่ ต่ำมาก และดี ตามลำดับ การรวมข้อมูลของต้นข้าวโพดพร้อมฝักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักช่วยให้สมการทำนายค่า IVTDM และ NDFD มีค่า RPD เพิ่มขึ้นเป็นดีมากและดี ตามลำดับ เมื่อประเมินประสิทธิภาพตามมาตรฐาน ISO12099:2017 พบว่า ค่า Bias SEP และ Slope ผ่านมาตรฐานดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าสมการเทียบมาตรฐานที่ได้มีความแม่นยำ สามารถทำนายค่าได้ไม่แตกต่างกับค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ซึ่งสมการทำนายค่า IVTDM และ NDFD จากการศึกษาในครั้งนี้ มีประสิทธิภาพเพียงพอที่ห้องปฏิบัติการจะนำไปใช้ทำนายค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด ด้วยเทคนิค NIRS ได้

คำสำคัญ : เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี ค่าการย่อยได้จริงของวัตถุแห้ง ค่าการย่อยได้ของผนังเซลล์ ต้นข้าวโพดพร้อมฝัก ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก ต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน

เลขทะเบียนวิชาการ : 68(2)-0214-009

^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนามาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง อำเภอมือง จังหวัดขอนแก่น 40260

^{2/} สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ อำเภอมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

^{3/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ลำปาง อำเภอลำปาง จังหวัดลำปาง 52190

^{4/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์นครราชสีมา อำเภอปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

Prediction the digestibility of corn green forage, corn silage and corn stover after harvesting using near infrared spectroscopy

Yaowalak Mangpung^{1/} Patima Butcha^{1/} Sukanya Kamphayae^{1/} Wanna Angthong^{2/}
Chalao Pitaksinsuk^{3/} Rattikan Pongkaew^{4/}

Abstract

This study was purpose on the creation an equation to predict of *in vitro* true dry matter digestibility (IVTDMD) and neutral detergent fiber digestibility (NDFD) of corn green forage, corn silage, sweet corn stover and baby corn stover, by near infrared spectroscopy (NIRS). Total of 152 samples of corn green forage, 132 samples of corn silage, 231 samples of sweet corn stover and 167 samples of baby corn stover, were analyzed for their digestibility by Daisy^{II} and were measured absorbance at a wavelength of 1,100-2,500 nm. The relationship between absorbance and digestibility values was determine using WINISI IV program and statistical analysis of partial least square regression (PLS) and modified partial least squares regression (MPLS) with standard normal variate (SNV) and non-SNV spectra modulated and detrend with derivative, gap, smoothing, second smoothing and math treatment 10 patterns.

The result showed that R^2 of IVTDMD and NDFD equations of all 4 types of corn stover were in range of 0.83-0.97. RPD value of IVTDMD of corn green forage, corn silage, sweet corn stover and baby corn stover, was classified in level of good, fair, excellent and excellent, respectively. RPD value of NDFD of corn green forage, corn silage, sweet corn stover and baby corn stover, was classified in level of fair, pool, very good and good, respectively. In addition, combining data of corn green silage and corn silage lead to increase RPD value of IVTDMD and NDFD equation to very good and good level, respectively. When the evaluating potential by standards ISO12099:2017 found that Bias, SEP and Slope passed this standard, indicating to these calibration equations were accurate. The predicted values were not significantly different from the actual values at 95 percentage confidence level, and also these calibration equations were effective enough for the laboratory to use in predicting the digestibility of all 4 types of corn stover by NIRS.

Keywords: Near Infrared Spectroscopy, *In vitro* true dry matter digestibility, Neutral detergent fiber digestibility, Corn green forage, Corn silage, Sweet corn stover, Baby corn stover

Registered No. : 68(2)-0214-009

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

^{2/} Bureau of Animal Nutrition Development, Muang, Phathumthani.

^{3/} Lampang Animal Nutrition Research and Development Center, Hang Chat, Lampang.

^{4/} Nakhon Ratchasima Animal Nutrition Research and Development Center, Pakchong, Nakhon Ratchasima.

คำนำ

ข้าวโพด (*Zea Mays* L.) ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องมาอย่างยาวนาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก (Corn silage) ซึ่งนับว่าเป็นอาหารหยาบคุณภาพดีในอุตสาหกรรมเลี้ยงโคนม โดยต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่เก็บเกี่ยวระยะน้ำนม 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าวัตถุแห้ง (Dry matter, DM) เท่ากับ 26.09 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน (Crude protein, CP) เท่ากับ 8.43 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน (Ether extract, EE) เท่ากับ 1.76 เปอร์เซ็นต์ ผนังเซลล์ (Neutral detergent fiber, NDF) เท่ากับ 61.83 เปอร์เซ็นต์ ลิกโนเซลลูโลส (Acid detergent fiber, ADF) เท่ากับ 34.31 เปอร์เซ็นต์ ลิกนิน (Acid detergent lignin, ADL) เท่ากับ 4.86 เปอร์เซ็นต์ และค่า NDFD เท่ากับ 53.85 เปอร์เซ็นต์ของ NDF (คณะกรรมการความต้องการโภชนาการโคนมในประเทศไทย, 2563) นอกจากนี้ยังมีต้นข้าวโพดหลังเก็บเกี่ยวฝักที่ได้จากแปลงปลูกข้าวโพดหวานและข้าวโพดฝักอ่อน ที่สามารถนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ในช่วงที่ขาดแคลนอาหารหยาบได้ โดยต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักที่อายุ 70-75 วัน มีค่า CP เท่ากับ 7.80 เปอร์เซ็นต์ และ NDF เท่ากับ 68.75 เปอร์เซ็นต์ (วลัยกานต์, 2542) และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อนที่อายุ 45-60 วัน มีค่า CP เท่ากับ 8.40 เปอร์เซ็นต์ NDF เท่ากับ 62.25 เปอร์เซ็นต์ และ NDFD เท่ากับ 40.17 เปอร์เซ็นต์ (คณะกรรมการความต้องการโภชนาการโคนมในประเทศไทย, 2563) ข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารสัตว์ ประกอบด้วย ส่วนประกอบทางเคมี ค่าการย่อยได้ วิตามินและแร่ธาตุ เป็นข้อมูลสำคัญสำหรับนำไปใช้คำนวณสูตรอาหารเพื่อประกอบอาหารให้ตรงกับความต้องการโภชนาการของสัตว์ โดยข้อมูลเหล่านั้นจะต้องดำเนินการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการตามวิธีมาตรฐานสากล มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการวิเคราะห์หาค่า IVTDMD และ NDFD ที่จำเป็นต้องมีสัตว์เคี้ยวเอื้องสำหรับใช้เก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมน เพื่อนำไปบ่มย่อยกับวัตถุดิบอาหารสัตว์โดยใช้เครื่อง Daisy[®] ซึ่งวิธีการนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์ครั้งละไม่น้อยกว่า 5 วัน ดังนั้นหากสามารถทำนายค่า IVTDMD และ NDFD ด้วยเทคนิค NIRS ได้ จะช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ ลดการใช้สารเคมี และลดความเสี่ยงในการเลี้ยงสัตว์ทดลองได้

การสร้างสมการทำนายคุณค่าทางโภชนาการแต่ละรายการของวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิด เป็นขั้นตอนสำคัญขั้นตอนแรกก่อนการนำสมการไปใช้งาน โดยมีหลักการสร้างสมการ คือ การใช้คลื่นแสงช่วงอินฟราเรดช่วงใกล้ (Near infrared, NIR) ส่องเข้าไปในตัวอย่าง ทำให้โมเลกุลของตัวอย่างที่ดูดกลืน (Absorb) พลังงานเกิดการสั่นสะเทือน (Vibration) จากนั้นตรวจวัดพลังงานที่ปล่อยออกมาแล้วเก็บค่าพลังงานในรูปของสเปกตรัม ซึ่งสเปกตรัมในช่วงคลื่น NIR ที่ได้จะถูกนำมาประมวลผลด้วยวิธีเคโมเมตริกซ์ (Chemometrics) เพื่อหาความสัมพันธ์ทางสถิติกับข้อมูลของตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางห้องปฏิบัติการหรือวิธีอื่นๆ ที่ได้ค่ามาตรฐาน ซึ่งจะทำได้สมการเทียบมาตรฐาน (Calibration equation) เพื่อใช้ทำนายค่าปัจจัยคุณภาพของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดได้ทั้งเชิงปริมาณ (Quantitative) และเชิงคุณภาพ (Qualitative) โดยสมการที่ได้นี้จะต้องผ่านขั้นตอนการตรวจสอบความถูกต้องของสมการ (Validation) เพื่อหาความน่าเชื่อถือของสมการว่ามีความแม่นยำหรือไม่ ก่อนจะนำไปใช้ทำนายคุณค่าทางโภชนาการของตัวอย่างในอนาคต (จันทกานต์ และคณะ, 2553) มีรายงานการสร้างสมการทำนายส่วนประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น (Moisture), DM, CP, EE, ADF, NDF และ ADL ในต้นข้าวโพดพร้อมฝัก ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน เป็นที่เรียบร้อยแล้ว (จันทกานต์ และคณะ, 2563) แต่ยังไม่มีการสร้างสมการทำนายค่า IVTDMD และ NDFD โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDMD และ NDFD ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน ด้วยเทคนิค NIRS โดยสมการทำนายที่ได้นี้จะทำให้

สามารถทราบผลข้อมูลค่าการย่อยได้ในเวลาอันรวดเร็ว เพื่อนำไปใช้ประกอบสูตรอาหารได้ทันทั่วทั้งที่ และยังช่วยประหยัดเวลาในการวิเคราะห์ ลดการใช้สารเคมี และลดความเสี่ยงในการเลี้ยงสัตว์ทดลองได้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลองและสร้างสมการทำนายค่า IVTDMD และ NDFD ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนามาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ระหว่างเดือนเมษายน 2565 ถึงเดือนกันยายน 2567

ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน ที่เหลือจากโครงการวิจัยเรื่อง การทำนายคุณค่าทางโภชนาการของพืชอาหารสัตว์วัสดุเหลือใช้และผลพลอยได้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมด้วยเทคนิค Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) ซึ่งได้รับงบประมาณสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร องค์การมหาชน (สวก.) โดยคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มีการเก็บรักษาไว้ในตู้แช่เย็นควบคุมอุณหภูมิและมีปริมาณเพียงพอสำหรับการวิจัยครั้งนี้ โดยมีรายละเอียดของตัวอย่าง ดังนี้

1) ต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) จำนวน 152 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงเกษตรกรผู้ผลิตต้นข้าวโพดพร้อมฝักจำหน่ายในพื้นที่จังหวัดลพบุรี นครราชสีมา และสระบุรี โดยเก็บตัวอย่างที่อายุ 85-90 วัน หรือระยะเส้นน้ำนม 50 เปอร์เซ็นต์

2) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก จำนวน 132 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงเกษตรกรผู้ผลิตต้นข้าวโพดพร้อมฝักจำหน่ายในพื้นที่จังหวัดลพบุรี นครราชสีมา และสระบุรี โดยเก็บตัวอย่างที่อายุ 85-90 วัน หรือระยะเส้นน้ำนม 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาหมัก 21 วัน

3) ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก จำนวน 231 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างสุ่มเก็บจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ภาคเหนือและภาคกลาง ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร ชลบุรี และกาญจนบุรี

4) ต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน จำนวน 167 ตัวอย่าง สุ่มเก็บจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ กำแพงเพชร กาญจนบุรี ราชบุรี และนครราชสีมา

นำตัวอย่างที่บดให้มีขนาด 1 มิลลิเมตรแล้ว ออกจากตู้เย็นและปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดสเปกตรัม หาค่าความชื้นตามวิธีการของ AOAC 930.15 (2016) เพื่อคำนวณหาค่า DM วิเคราะห์และนำไปวิเคราะห์ค่าการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ

การวัดและเก็บข้อมูลสเปกตรัม

นำตัวอย่างมาวัดสเปกตรัมโดยใช้เครื่อง NIRS ยี่ห้อ FOSS รุ่น DS2500 (Foss Analytical A/S, Denmark) ที่ความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร โดยใช้โปรแกรม ISIScan NOVA เครื่องจะวัดสเปกตรัมแต่ละจุดห่างกัน 0.5 นาโนเมตร โดยบรรจุตัวอย่างในเซลล์ตัวอย่าง (Sample cell) เคลี่ยตัวอย่างให้กระจายอย่างสม่ำเสมอ ทำการวัด 2 ซ้ำต่อตัวอย่าง (Duplicates) การวัดแต่ละครั้งจะแสดงรายการ ค่า IVTDMD และ NDFD

การวิเคราะห์ค่าการย่อยได้

นำตัวอย่างต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด มาวิเคราะห์หาค่าการย่อยได้ด้วยเครื่อง Daisy[®] วิเคราะห์ 2 ซ้ำต่อตัวอย่าง ซึ่งค่าที่ได้จากการวิเคราะห์นี้ เรียกว่า ค่าจริง (Actual value) โดยดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีการของ วรรณ (2567) โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนี้

1) เตรียมโค จำนวน 2 ตัว สำหรับไว้เก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมน โดยก่อนเก็บของเหลวมาใช้ในการวิเคราะห์ จะดำเนินการปรับอาหารให้โคเป็นเวลาอย่างน้อย 10 วัน เพื่อควบคุมความสมดุลของประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักให้คงที่ โดยเลี้ยงโคด้วยอาหารที่มีสัดส่วนอาหารชั้น (โปรตีน 18%) 40 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับต้นข้าวโพดหมัก 60 เปอร์เซ็นต์ แบ่งการให้อาหาร 2 มื้อๆ ละเท่าๆ กัน โดยให้อาหารมื้อเช้าและมื้อบ่ายห่างกัน 8 ชั่วโมง

2) เตรียมถุงไนลอนเบอร์ 57 (Filter bag F-57) นำมาล้างด้วยอะซิโตน 2-3 นาที เพื่อชะล้างเอาสารลดแรงตึงผิวที่มีผลยับยั้งการย่อยสารอาหารของจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักของสัตว์ ปล่อยให้ถุงแห้งสนิทแล้วนำมาชั่งน้ำหนักถุงเปล่า (W_1) จากนั้นชั่งตัวอย่างบดขนาด 1 มิลลิเมตร น้ำหนัก 0.5 กรัม (W_2) ลงในถุงไนลอนและปิดปากถุงให้สนิทด้วยความเคร่งครัดที่ใช้ความร้อนปานกลาง

3) เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ A ประกอบด้วย KH_2PO_4 10 กรัม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 กรัม $NaCl$ 0.5 กรัม $CaCl_2 \cdot H_2O$ 0.1 กรัม และยูเรีย 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ B ประกอบด้วย Na_2CO_3 15 กรัม และ $Na_2S \cdot 9H_2O$ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

4) ตวงสารละลายบัฟเฟอร์ A ปริมาตร 1,330 มิลลิลิตร และบัฟเฟอร์ B ปริมาตร 266 มิลลิลิตร ลงในโถหมักย่อย (Digestible jar) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เพื่อให้สารละลายบัฟเฟอร์มีอุณหภูมิคงที่ 39 องศาเซลเซียส

5) เก็บของเหลวจากกระเพาะหมักของโค ในเวลา 8.00 น. (ก่อนให้อาหารมื้อเช้า) โดยกรองของเหลวผ่านผ้ากรอง 2 ชั้น แบ่งเก็บจากโคทั้ง 2 ตัวๆ ละประมาณ 1 ลิตร และเก็บให้ล้นปากภาชนะเพื่อเป็นการไล่อากาศปิดฝาให้สนิทแช่ในถังน้ำที่มีอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส

6) นำถุงไนลอนที่ใส่ตัวอย่างแล้วและถุงไนลอนเปล่า (Blank) ลงในโถย่อยและตวงของเหลวจากกระเพาะหมัก ปริมาตร 400 มิลลิลิตร จากนั้นไล่อากาศออกจากโถย่อยด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นเวลา 30 วินาที ปิดฝาให้สนิทและนำเข้าเครื่อง Daisy[®] บ่มต่อที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

7) หลังจากบ่มครบ 48 ชั่วโมงให้นำถุงไนลอนมาล้างด้วยการเปิดน้ำไหลผ่านจนสะอาด สังเกตจากน้ำที่ไหลผ่านมีสีใสเป็นปกติ และผึ่งถุงไนลอนให้หมาด ก่อนนำถุงตัวอย่างไปย่อยผนังเซลล์ต่อด้วยสารละลายที่เป็นกลาง (Neutral detergent solution, NDS) โดยใช้เครื่อง Fiber analyzer รุ่น ANKOM200/220 (ยี่ห้อ Ankom, USA) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามวิธีการของ Osborne (2004) จากนั้นนำถุงไนลอนออกมาล้างทำความสะอาดอีกครั้ง แล้วนำไปอบแห้งและชั่งน้ำหนัก (W_3)

8) การคำนวณค่า IVTDM และ NDFD มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

$$- \text{IVTDM (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง)} = (100 - (W_3 - (W_1 \times C))) \times 100 / (W_2 \times \text{DM})$$

เมื่อ C คือ ค่า Blank bag correction ใช้สำหรับปรับน้ำหนักของถุงไนลอนหลังการย่อย ซึ่งคำนวณได้ ดังนี้ = น้ำหนักถุงไนลอนเปล่าหลังอบ / น้ำหนักถุงเปล่าเริ่มต้น

W_1 คือ น้ำหนักถุงไนลอน (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

W_3 คือ น้ำหนักถุงไนลอนและตัวอย่างหลังการย่อยด้วย NDS (กรัม)

- NDFD (เปอร์เซ็นต์ผนังเซลล์) = $dNDF \times 100 / NDF_0$

เมื่อ iNDF (Indigestible neutral detergent fiber) (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง)
คือ 100 – IVTDMD (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง)

dNDF (Digestible neutral detergent fiber) (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง)
คือ NDF_0 (NDF ของตัวอย่างเริ่มต้น) (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง) – iNDF

การหาค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

วิเคราะห์ค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ หรือ SEL (Standard error of laboratory) ด้วยวิธี Duplicate blind test เพื่อจะนำค่าไปประเมินสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างได้ โดยสองเท่าของค่า SEL ต้องมากกว่าค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนาย (Standard error of prediction, SEP) (SA, 2017) ทำการวิเคราะห์ค่าการย่อยได้ของตัวอย่างต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิดๆ ละ จำนวน 10 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างแบ่งออกเป็นตัวอย่างย่อยที่ 1 และตัวอย่างย่อยที่ 2 กำหนดหมายเลขตัวอย่างไม่ให้ซ้ำกัน แล้วส่งวิเคราะห์เป็น 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างย่อยที่ 1 ของตัวอย่างที่ 1 ถึง 10 และชุดที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างย่อยที่ 2 ของตัวอย่างที่ 1 ถึง 10 แต่ละชุดวิเคราะห์ตัวอย่างละ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำผลวิเคราะห์ค่าการย่อยได้ไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง และคำนวณหาค่า SEL โดยใช้สมการ

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

D = ผลต่างผลวิเคราะห์ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ของแต่ละตัวอย่าง

n = จำนวนตัวอย่าง (10)

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและทวนสอบความใช้ได้ของสมการ

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและทวนสอบความใช้ได้ของสมการในครั้งนี้ จะดำเนินการใน 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 สร้างสมการเทียบมาตรฐานของต้นข้าวโพดแยกรายชนิด ได้แก่ ต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดเก็บฝักอ่อน และส่วนที่ 2 สร้างสมการเทียบมาตรฐานของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม ด้วยการนำข้อมูลสเปกตรัมของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก มารวมกันเพื่อเพิ่มความสะดวกและรวดเร็วในการนำสมการไปใช้ในการทำนาย เนื่องจากเป็นตัวอย่างที่มีส่วนประกอบของลำต้น ใบ เปลือกฝัก และชัง เหมือนกัน และมีองค์ประกอบทางเคมีที่ไม่แตกต่างกันมากนัก (รัตติกาล และคณะ, 2566) โดยมีขั้นตอนการสร้างสมการเทียบมาตรฐานและทวนสอบความใช้ได้ของสมการ ดังนี้

1) นำข้อมูลสเปกตรัมและค่าการย่อยได้มาหาความสัมพันธ์ด้วยวิธี Partial least square regression (PLSR) โดยใช้โปรแกรม WIN ISI IV แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน คือ กลุ่มที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration set) ทำนายค่า IVTDMD และ NDFD 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 เพื่อลดความแปรปรวนและสิ่งรบกวนอื่นๆ ที่อาจทำให้ข้อมูลสเปกตรัมมีการเปลี่ยนแปลงไป 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) โดยใช้ตามคำแนะนำในคู่มือการใช้เครื่อง NIRS (Infrasoft International, 2005) จะได้สมการเทียบมาตรฐานของแต่ละรายการ จำนวน 40 สมการ

2) 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)

3) เลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดมา 3 สมการ จากทั้งหมด 40 สมการ โดยใช้เกณฑ์การคัดเลือกที่ดัดแปลงจากวิธีการของ SA (2017) ด้วยการพิจารณาค่า R^2 ที่มีค่าสูง และค่าผลต่างของ SEC และ SECV ที่มีค่าต่ำ เพื่อนำมาทวนสอบความใช้ได้ของสมการ เป็นการวัดประสิทธิภาพของสมการว่าสามารถใช้ในการประเมินค่าได้แม่นยำมากน้อยเพียงใด โดยนำสเปกตรัมของตัวอย่างกลุ่มทวนสอบ มาประเมินความถูกต้องแม่นยำโดยใช้ค่าสถิติต่างๆ 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 ($SEP(C) < 1.29 SEC$) ค่าความชันใกล้ 1 (Slope ~ 1) ตามวิธีการของ SA (2017)

4) เลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดเพียง 1 สมการ โดยใช้เกณฑ์ระดับชั้นคุณภาพของสมการด้วยค่า RPD (Ratio of performance to deviation) ตามวิธีการของ Williams *et al.* (2019) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เกณฑ์วัดประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐาน

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

5) นำสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดที่คัดเลือกมา 1 สมการ มาประเมินประสิทธิภาพตามมาตรฐาน ISO 12099:2017 (ISO, 2017) ดังนี้

5.1) ตรวจสอบค่า 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

5.2) ตรวจสอบค่า 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)

5.3) ตรวจสอบ Slope เป็นความชันของกราฟการกระจาย (Scatter plots) ระหว่างค่าการย่อยได้ที่วิเคราะห์ได้จริงเป็นค่าอ้างอิง (แกน y) กับค่าที่ทำนายที่ได้จากสมการเทียบมาตรฐาน ด้วยเครื่อง NIRS (แกน x) ซึ่งจะสอดคล้องกับสมการเส้นตรงโดยมีค่า Slope b และ Intercept a คำนวณได้ตามสมการ

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

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

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

$S_{\hat{y}y}$	คือ	ความแปรปรวนร่วมระหว่างค่าทำนายกับค่าจริง (Covariance)
$S_{\hat{y}}^2$	คือ	ความแปรปรวนของค่าทำนายในกลุ่มทดสอบ
$\bar{\hat{y}}$	คือ	ค่าเฉลี่ยของค่าที่ทำนายจากสมการเทียบมาตรฐาน
$\bar{y}$	คือ	ค่าเฉลี่ยของค่าอ้างอิงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

จากนั้นทดสอบค่า Slope ที่คำนวณได้โดยใช้ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ดังสมการ

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

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

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 ความชันของกราฟการกระจายระหว่างค่าการย่อยได้กับค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐานไม่แตกต่างจาก 1 แสดงว่า ค่า Slope ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองและวิจารณ์

ส่วนที่ 1 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดแฉกรายชนิด

ค่าการย่อยได้จริงของวัตถุดิบแห้งและผนังเซลล์ของต้นข้าวโพด 4 ชนิด

ตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน เป็นตัวอย่างที่รวบรวมมาจากหลากหลายพื้นที่ พันธุ์ และฤดูกาล เพื่อให้ครอบคลุมตัวอย่างที่นำมาใช้เป็นอาหารสัตว์จริงให้ได้มากที่สุดสำหรับนำมาใช้สร้างสมการทำนายค่าการย่อยได้ จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี Daisy^{ll} พบว่าค่า IVTDMD และ NDFD ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน มีค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด ค่าเฉลี่ย และค่า SD ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างทั้งหมด ค่าการย่อยได้ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ของต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด

Parameter	Sample types	N	Minimum	Maximum	Average	±SD	SEL
IVTDMD, %	Corn green forage	121	63.34	78.67	71.32	3.36	1.62
	Corn silage	116	60.73	78.85	71.22	3.33	1.66
	Sweet corn stover	215	54.17	81.33	64.06	4.57	1.10
	Baby corn stover	139	58.69	76.98	67.98	3.87	1.12
NDFD, %	Corn green forage	122	44.38	65.53	54.60	4.71	2.46
	Corn silage	116	35.05	61.49	48.81	5.50	2.56
	Sweet corn stover	208	33.79	62.71	44.99	4.69	1.64
	Baby corn stover	135	40.81	66.07	51.04	5.92	1.79

N, Number of samples; SD, Standard deviation; SEL, Standard error of laboratory; IVTDMD, *In vitro* dry mater digestibility; NDFD, Neutral detergent fiber digestibility

ค่า IVTDMD และ NDFD ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก มีช่วงค่าต่ำสุด-สูงสุด เท่ากับ 60.73-78.85 เปอร์เซ็นต์ และ 35.05-65.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ครอบคลุมกับค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักพันธุ์สุวรรณ 4452 ที่ตัดเก็บเกี่ยวผลผลิตที่ระยะเส้นน้ำนม 50 เปอร์เซ็นต์ โดยก่อนหมักและหลังหมักมีค่า IVTDMD เท่ากับ 66.76 และ 66.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่า NDFD เท่ากับ 41.23 เปอร์เซ็นต์ และ 41.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (วรรณ และคณะ, 2564) ขณะเดียวกันในส่วน of ค่า IVTDMD และ NDFD ของตัวอย่างต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน มีค่าต่ำสุด-สูงสุดเท่ากับ 58.69-76.98

เปอร์เซ็นต์ และ 40.81-66.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ครอบคลุมค่าที่แสดงในตารางคุณค่าทางโภชนาของวัตถุดิบอาหารโคนม ซึ่งมีค่า IVTDMD และ NDFD เท่ากับ 54.59 เปอร์เซ็นต์ และ 40.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (คณะกรรมการความต้องการโภชนาโคนมในประเทศไทย, 2563) เมื่อพิจารณาค่า SEL ซึ่งเป็นค่าความคลาดเคลื่อนจากการวิเคราะห์การย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ผลวิเคราะห์ค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก มีค่า SEL สูงกว่าต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักและต้นข้าวโพดเก็บฝักอ่อน อาจเพราะต้นข้าวโพดพร้อมฝักมีทั้งส่วนลำต้น ใบ เปลือกฝัก ฝัก ไหม และเมล็ด ซึ่งมีโครงสร้างของเซลล์ที่หลากหลายและซับซ้อน จึงส่งผลให้การย่อยได้มีความแปรปรวนสูงมากกว่าต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักและต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อนที่มีเพียงส่วนของลำต้นและใบ

การสร้างและทวนความใช้ได้ของสมการเทียบมาตรฐานของต้นข้าวโพด 4 ชนิด

วัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร โดยใช้วิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ (Reflectance) เพื่อเก็บสเปกตรัม จากนั้นทำการแบ่งตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 2 กลุ่ม เพื่อใช้เป็นตัวอย่างกลุ่มสำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐานและกลุ่มที่ใช้ทวนสอบความใช้ได้ของสมการ โดยใช้สัดส่วนการเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วงตามที่กำหนด คือ กำหนดตำแหน่งเริ่มต้นและจำนวนตัวอย่างที่ต้องการเว้นช่วงเพื่อแบ่งกลุ่ม โดยเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วง 2, 4 สำหรับการสร้างสมการเทียบมาตรฐานค่า IVTDMD และ NDFD ตัวอย่างในกลุ่มสำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐานจะถูกนำมาจัดกลุ่มโดยใช้หลักการ Principal component analysis (PCA) ด้วยหลักการคำนวณค่ามหาโนบิส (Mahalanobis distance) เพื่อตัดตัวอย่างที่มีค่าอยู่นอกกลุ่มออกไป ซึ่งค่าที่ผิดปกตินี้อาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น ค่าวิเคราะห์การย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ ความผิดปกติของสเปกตรัม เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง ขนาดอนุภาค รูปร่างและลักษณะทางกายภาพของตัวอย่าง อุณหภูมิของตัวอย่าง (Williams and Norris, 2004) จึงทำให้เหลือจำนวนตัวอย่าง (N) เพื่อใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานและกลุ่มที่ใช้ทวนสอบความใช้ได้ของสมการดังแสดงในตารางที่ 3 โดยจะเห็นว่าช่วงข้อมูลค่าต่ำสุด-สูงสุดของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานครอบคลุมค่าของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทวนสอบความใช้ได้ของสมการและมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน

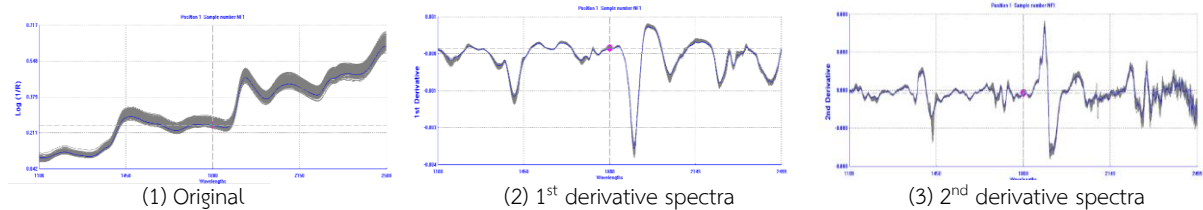
ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่าง ค่าการย่อยได้ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของชุดสร้างสมการเทียบมาตรฐานและชุดทวนสอบความใช้ได้ของสมการ ของต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด

Parameter	Sample types	Calibration set					Validation set				
		N	Min.	Max.	Mean	SD	N	Min.	Max.	Mean	SD
IVTDMD, %	Corn green forage	91	63.34	78.67	71.36	3.39	22	64.29	78.07	71.44	3.53
	Corn silage	87	60.73	78.85	71.23	3.37	20	65.08	77.86	71.59	3.53
	Sweet corn stover	161	54.17	81.33	64.07	4.57	32	54.98	74.44	63.45	4.50
	Baby corn stover	104	58.69	76.98	67.99	3.85	22	60.73	75.89	68.80	3.80
NDFD, %	Corn green forage	91	44.38	65.53	54.59	4.72	20	44.41	63.24	53.91	5.14
	Corn silage	87	35.05	61.49	48.87	5.51	20	40.58	56.62	49.04	4.04
	Sweet corn stover	156	33.79	62.71	45.02	4.73	36	35.64	58.24	45.09	5.03
	Baby corn stover	101	40.81	66.07	50.83	6.12	20	43.58	60.35	51.13	5.55

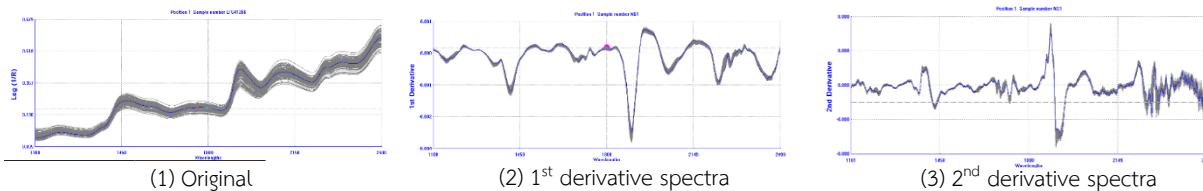
N, Number of samples; SD, Standard deviation; IVTDMD, *In vitro* dry mater digestibility; NDFD, Neutral detergent fiber digestibility

เมื่อนำกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานมาสร้างสมการ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป WINISI IV ร่วมกับการใช้หลักสถิติ PLS regression แบบ Full cross validation และ MPLS แบบปรับแต่งและไม่ปรับแต่ง พบว่าข้อมูลสเปกตรัมที่ยังไม่ปรับแต่งของต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด (ภาพที่ 1 ก-ง(1)) มีลักษณะจุดยอด (Peak) กว้าง และเหลื่อมซ้อนกัน มีการกระจายตัวของสเปกตรัม เนื่องจากความแตกต่างของขนาดอนุภาคและระดับของเยื่อใย ชนิดต่างๆ ในตัวอย่างส่งผลให้การกระเจิงแสงแตกต่างกัน ดังนั้น การปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์สามารถช่วยลดอิทธิพลของปัจจัยดังกล่าวได้ โดยการใช้วิธี SNV และ Detrend ร่วมกับวิธีอนุพันธ์ (Derivative treatment) อันดับที่ 1 และ 2 จากผลการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์ โดยการใช้วิธี SNV และ detrend ร่วมกับการใช้ 1st derivative และ 2nd derivative ของสเปกตรัมที่อยู่ในรูปของ derivative, gap, smoothing, second smoothing พบว่า Peak ของสเปกตรัมที่เหลื่อมซ้อนกันสามารถแยกออกจากกันและมองเห็นได้ชัดเจนขึ้น ((ภาพที่ 1 ก-ง(2) และ (ภาพที่ 1 ก-ง(3)) เนื่องจากการใช้ 1st derivative ช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่นตามแกน Y และ 2nd derivative ช่วยลดสัญญาณรบกวน ลดการกระเจิงแสง และลดความโค้งของแต่ละสเปกตรัม จึงทำให้จุด Peak ที่เหลื่อมซ้อนกันในสเปกตรัมแยกออกจากกันได้ชัดเจน (อนุพันธ์, 2548) และการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิคนี้ช่วยขยายสัญญาณให้ชัดเจนมากขึ้น และลดความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้นจากการกระเจิงแสงของตัวอย่าง (Kasemsumran *et al.*, 2004)

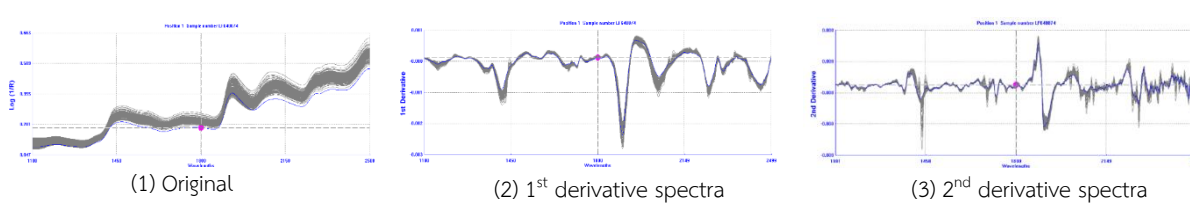
(ก)



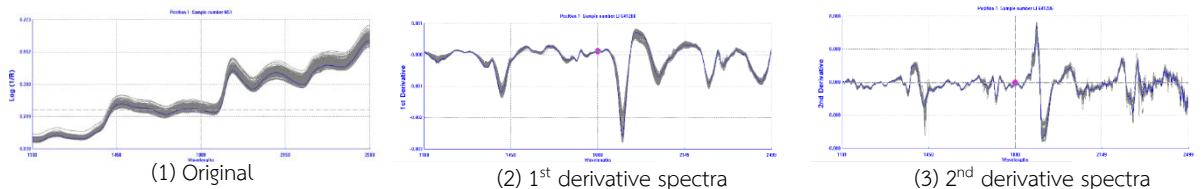
(ข)



(ค)



(ง)



ภาพที่ 1 กราฟแสดงสเปกตรัมของสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าการย่อยได้ของ (ก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก), (ข) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก, (ค) ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก, (ง) ต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน ในรูปแบบ (1) original spectra, (2) 1st derivative spectra และ (3) 2nd derivative spectra

หลังจากการปรับแต่งสเปกตรัมของสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDM และ NDFD ของต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด จนกระทั่งได้สมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดของแต่ละรายการดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งพบว่าสมการเทียบมาตรฐานมีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.73-0.91 และเมื่อทวนสอบความใช้ได้ของสมการมีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.83-0.97 ซึ่งบ่งบอกว่าสมการที่ได้อยู่ในเกณฑ์ที่สามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกเบื้องต้น ใช้ในงานวิจัย และงานประกันคุณภาพได้ (Williams, 2019) มีค่า Bias อยู่ระหว่าง -0.08 ถึง 0.27 ซึ่งไม่แตกต่างจาก 0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งบ่งบอกว่าค่า IVTDM และ NDFD ที่ได้จากการใช้สมการทำนายด้วย NIRS ไม่แตกต่างจากค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

เมื่อพิจารณาความใช้ได้ของสมการจากค่า RPD (ตารางที่ 4) พบว่าสมการที่อยู่ในระดับยอดเยี่ยม (Excellent) สามารถใช้ทำนายได้อย่างแม่นยำ คือ สมการทำนายค่า IVTDM ของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักและต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน โดยมีค่า RPD เท่ากับ 4.64 และ 5.49 ตามลำดับ สมการที่อยู่ในระดับดีมาก (Very good) สามารถใช้ทำนายได้ในงานควบคุมคุณภาพกระบวนการ คือ สมการทำนายค่า NDFD ของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก โดยมีค่า RPD เท่ากับ 3.52 และสมการที่อยู่ในระดับดี (Good) สามารถทำนายได้ในงานควบคุมตรวจคุณภาพ คือ สมการทำนายค่า IVTDM ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก มีค่า RPD เท่ากับ 3.11 และสมการทำนายค่า NDFD ของต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน มีค่า RPD เท่ากับ 3.17 ในขณะที่สมการทำนายค่า IVTDM และค่า NDFD ที่เหลือ ซึ่งเป็นต้นอย่างจากต้นข้าวโพดพร้อมฝักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก มีค่าต่ำกว่า 3.00 เป็นสมการที่มีความแม่นยำในการทำนายต่ำและเหมาะสมสำหรับใช้ในการคัดกรองเบื้องต้นเท่านั้น ที่เป็นเช่นนี้อาจมาจากตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักมีข้อจำกัดเรื่องความหลากหลายของอายุการเก็บเกี่ยว เนื่องจากข้อแนะนำการเก็บเกี่ยวต้นข้าวโพดพร้อมฝักที่ให้คุณค่าทางโภชนาการสูงสุด คือ ที่ระยะสุกนํ้านม 50 เปอร์เซ็นต์ หรือช่วงอายุ 85-90 วัน ด้วยเหตุนี้ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีช่วงอายุการเก็บเกี่ยวที่ใกล้เคียงกัน ส่งผลให้ข้อมูลค่า IVTDM และ NDFD มีพิสัยแคบ ดังนั้น การสร้างช่วงข้อมูลใหม่โดยการเพิ่มตัวอย่างที่มีความหลากหลายทั้งด้านอายุและฤดูกาล จะเป็นการช่วยปรับปรุงความแม่นยำของสมการทำนายให้มีความแม่นยำเพิ่มมากยิ่งขึ้น

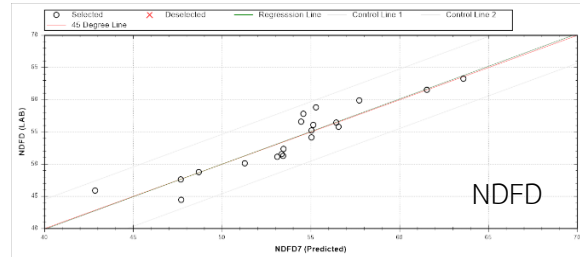
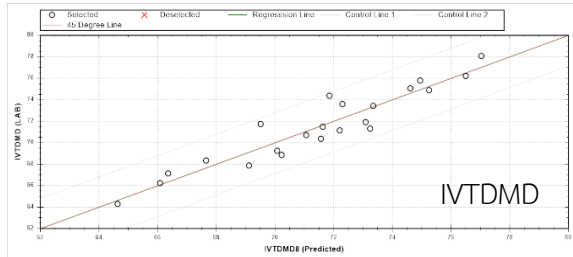
จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (แกน Y) และค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐาน (แกน X) (ภาพที่ 2) พบว่าค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐานของค่า IVTDM และ NDFD มีค่าการกระจายตัวที่ครอบคลุมค่าต่ำสุด-สูงสุดของข้อมูลตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน โดยข้อมูลส่วนใหญ่กระจายอยู่รอบเส้นทแยงมุม แสดงให้เห็นว่าค่าที่ทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐานมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่วัดได้จริงจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4 รูปแบบทรีตเมนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล จำนวนตัวอย่าง และประสิทธิภาพของสมการทำนายค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด

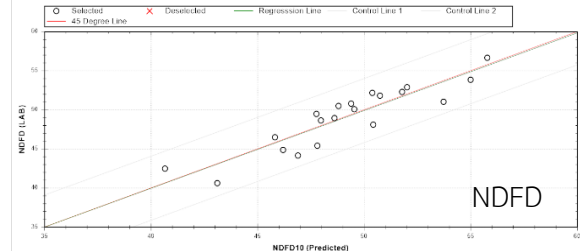
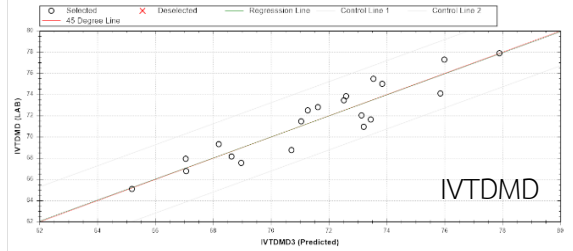
Parameter	Sample types	<-----Treatment----->			Calibration set				Validation set				
					N	R ²	SEC	SECV	N	R ²	SEP	Bias	RPD
IVTDMD, %	Corn green forage	PLS	SNV+ Detrend	1,4,4,1	88	0.77	1.63	2.16	22	0.89	1.13	-0.04	3.11
	Corn silage	MPLS	SNV+ Detrend	1,4,4,1	85	0.87	1.22	1.67	20	0.86	1.26	0.21	2.72
	Sweet corn stover	MPLS	SNV+ Detrend	2,8,4,1	158	0.91	1.35	1.57	32	0.96	0.97	0.27	4.64
	Baby corn stover	MPLS	SNV+ Detrend	1,10,10,1	101	0.87	1.40	1.89	22	0.97	0.69	0.01	5.49
NDFD, %	Corn green forage	MPLS	SNV+ Detrend	2,10,10,1	88	0.85	1.74	3.28	20	0.86	1.85	0.06	2.78
	Corn silage	PLS	SNV+ Detrend	1,8,8,1	84	0.73	2.77	3.50	20	0.83	1.64	-0.08	2.46
	Sweet corn stover	PLS	SNV+ Detrend	1,4,4,1	151	0.81	1.98	2.37	36	0.92	1.43	-0.01	3.52
	Baby corn stover	PLS	None	1,8,4,1	97	0.80	2.78	3.16	20	0.90	1.75	-0.02	3.17

N, Number of samples; 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

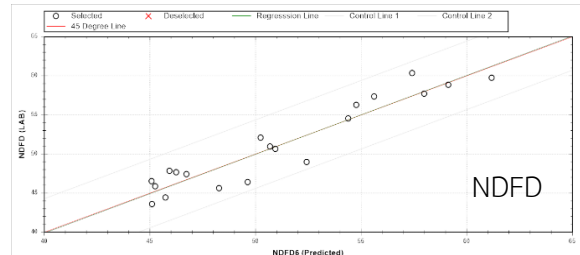
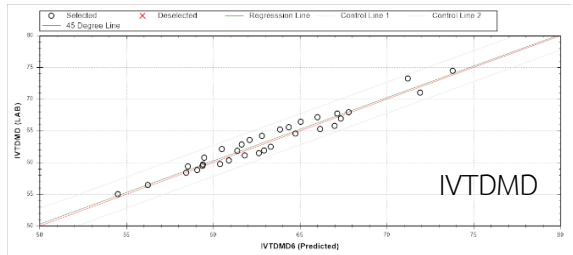
(ก)



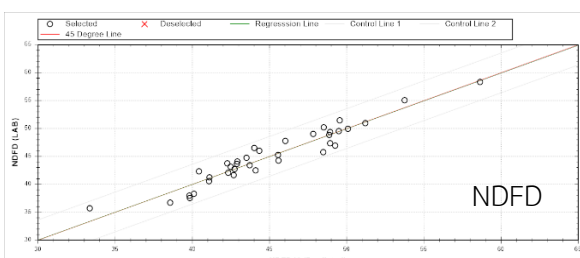
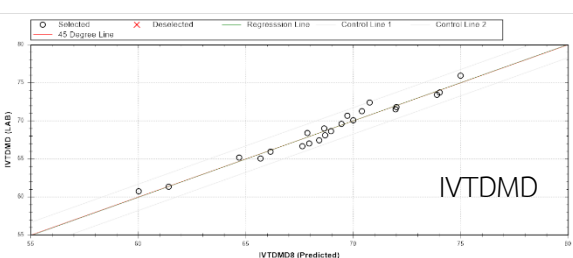
(ข)



(ค)



(ง)



ภาพที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลการเทียบมาตรฐานและค่าการย่อยได้ (ค่า IVTDM และ NDFD) จากห้องปฏิบัติการของ (ก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก), (ข) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก, (ค) ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และ (ง) ต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน

การประเมินประสิทธิภาพของผลการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 ของต้นข้าวโพด 4 ชนิด

จากผลการเทียบมาตรฐานที่ได้และผ่านการทวนสอบความถูกต้องของผลการ จัดว่าเป็นผลการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุด จะนำมาประเมินประสิทธิภาพของผลการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 (ISO, 2017) อีกครั้ง ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์โดยใช้เทคนิค NIRS ในการหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและค่าต่างๆ ที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยจะทำการประเมินค่าทางสถิติ คือ ค่า Bias SEP และ Slope ดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่าค่า IVTDM และ NDFD ของตัวอย่างต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด มีค่า Bias ของทุกรายการน้อยกว่าค่า T_b ซึ่งแสดงว่าค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ กล่าวคือ ค่าจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการและ

ค่าที่ได้จากการทำนายไม่แตกต่างกัน มีค่า SEP น้อยกว่าหรือเท่ากับค่า T_{UE} กล่าวคือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายต่ำเพียงพอที่จะยอมรับได้ และจากการตรวจสอบค่า Slope หรือค่าความสัมพันธ์ของค่าจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกับค่าที่ได้จากการทำนาย ซึ่งจะใช้ค่า t_{obs} ในการตรวจสอบ Slope พบว่า ค่า t_{obs} มีค่าน้อยกว่าค่า $t_{(1-\alpha/2)}$ กล่าวคือ Slope มีค่าไม่แตกต่างจาก 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 5 ค่า Bias SEP และ Slope จากการประเมินประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าการย่อยได้ด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 ของต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด

Parameter	Sample types	Bias			SEP			Slope		
		Calculated value	Criterion (T_b)	Result	Calculated value	Criterion (T_{UE})	Result	Observed Value (t_{obs})	Criterion ($t_{(1-\alpha/2)}$)	Result
IVTDM, %	Corn green forage	-0.04	0.50	Pass	1.13	2.11	Pass	0.00	2.08	Pass
	Corn silage	0.00	0.59	Pass	1.26	1.60	Pass	-0.09	2.09	Pass
	Sweet corn stover	0.27	0.35	Pass	0.97	1.67	Pass	-0.09	2.04	Pass
	Baby corn stover	0.00	0.31	Pass	0.69	1.80	Pass	0.11	2.08	Pass
NDFD, %	Corn green forage	0.06	0.86	Pass	1.85	2.28	Pass	0.13	2.09	Pass
	Corn silage	-0.08	0.77	Pass	1.64	4.59	Pass	-0.05	2.09	Pass
	Sweet corn stover	0.00	0.48	Pass	1.43	1.8	Pass	-0.11	2.03	Pass
	Baby corn stover	0.00	0.82	Pass	1.75	3.63	Pass	0.10	2.08	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 $\alpha = 0.05$

ส่วนที่ 2 การสร้างสมการเทียบมาตรฐานของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม

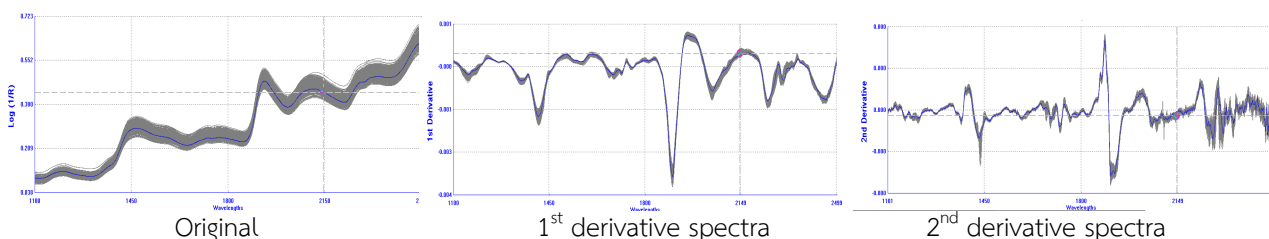
เนื่องจากต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก มีส่วนประกอบของทั้งต้นเหมือนกันและมีองค์ประกอบทางเคมีที่ไม่แตกต่างกันมากนัก (รัตติกาล และคณะ, 2566) ดังนั้น การสร้างสมการเทียบมาตรฐานที่สามารถทำนายค่า IVTDM และ NDFD ในตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักทั้ง 2 ชนิดในเวลาเดียวกันได้ จะช่วยให้สามารถนำสมการไปใช้งานได้สะดวกและรวดเร็วมากยิ่งขึ้น การทดลองนี้ได้นำข้อมูลสเปกตรัมของตัวอย่างของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักมารวมกันเพื่อสร้างให้เป็นสมการทำนายค่า IVTDM และ NDFD ของตัวอย่างข้าวโพดพร้อมฝักรวม

ผลการทดลองพบว่า จำนวนข้อมูลสเปกตรัมของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวมที่นำมาใช้สร้างสมการทำนายค่า IVTDM มีจำนวน 200 ตัวอย่าง และค่า NDFD มีจำนวน 208 ตัวอย่าง โดยมีค่าต่ำสุด-สูงสุดค่าเฉลี่ย และค่า SD ดังแสดงในตารางที่ 6 เมื่อแบ่งสเปกตรัมของตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 2 กลุ่ม เพื่อใช้เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานและกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ โดยเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วง 2, 4 พบว่าช่วงข้อมูลค่าต่ำสุด-สูงสุดของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานครอบคลุมค่าของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบความใช้ได้ของสมการและมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน ในขณะที่สเปกตรัมของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวมที่ปรับแต่งข้อมูลด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ โดยใช้ PLS ร่วมกับการใช้ Second derivative พบว่าการปรับแต่ง Second derivative ช่วยแยกจุด Peak ออกจากการชัดเจนขึ้น (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 6 จำนวนตัวอย่างทั้งหมด ค่าการย่อยได้ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม

Parameter	N	Minimum	Maximum	Average	±SD
IVTDMD, %	200	60.73	78.67	71.23	3.22
NDFD, %	208	37.81	63.24	52.22	5.18

N, Number of samples; SD, Standard deviation; SEL, Standard error of laboratory; IVTDMD, *In vitro* dry mater digestibility; NDFD, Neutral detergent fiber digestibility



ภาพที่ 3 กราฟแสดงสเปกตรัมของสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม ในรูปแบบ original spectra, 1st derivative spectra และ 2nd derivative spectra

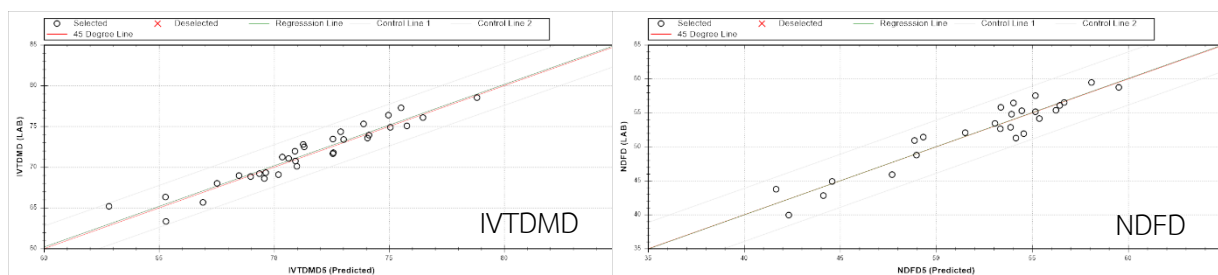
หลังจากการปรับแต่งสเปกตรัมของสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDMD และ NDFD ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม จนกระทั่งได้สมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดของแต่ละรายการดังแสดงในตารางที่ 7 ซึ่งพบว่าสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDMD และ NDFD มีค่า R^2 เท่ากับ 0.90 และ 0.76 ตามลำดับ และมีค่า Bias ต่ำ ซึ่งบ่งบอกว่าค่า IVTDMD และ NDFD ที่ได้จากการใช้สมการทำนายด้วย NIRS ไม่แตกต่างจากค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เมื่อพิจารณาความใช้ได้ของสมการ พบว่าสมการทำนายค่า IVTDMD และ NDFD มีค่า RPD เท่ากับ 3.56 (ระดับดีมาก) และ 3.24 (ระดับดี) ตามลำดับ ซึ่งมีค่า RPD เพิ่มขึ้นจากสมการทำนายที่เฉพาะเจาะจงกับชนิดต้นข้าวโพดพร้อมฝัก เนื่องจากการรวมสเปกตรัมเป็นการเพิ่มจำนวนตัวอย่างจึงทำให้ข้อมูลมีความหลากหลายของข้อมูลมากยิ่งขึ้น ดังรายงานของ รัตติกาลและคณะ (2566) ที่พบว่า การนำสเปกตรัมของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักรวมกันเพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมี ทำให้ค่า RPD ของสมการทำนายค่า EE NDF และ ADL ของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักเพิ่มสูงขึ้น โดยค่า RPD ของสมการทำนายค่า EE จากระดับดีมากเพิ่มเป็นระดับยอดเยี่ยม สมการทำนายค่า NDF จากระดับดีเพิ่มเป็นระดับยอดเยี่ยม และสมการทำนายค่า ADL จากระดับแย่มากเพิ่มเป็นระดับดีมาก

ตารางที่ 7 รูปแบบทรีตเมนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล จำนวนตัวอย่าง และประสิทธิภาพของสมการทำนายค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม

Parameter	<-----Treatment----->			Calibration set				Validation set				
				N	R^2	SEC	SECV	N	R^2	SEP	Bias	RPD
IVTDMD, %	PLS	None	2,5,5,1	148	0.90	1.02	1.39	32	0.92	1.03	0.18	3.56
NDFD, %	PLS	None	2,10,10,1	156	0.76	2.53	2.70	26	0.90	1.57	0.05	3.24

N, Number of samples; R^2 , coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross validation; SEP, Standard Error Prediction; RPD, ratio of performance to deviation

เมื่อพิจารณาจากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (แกน Y) และค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐาน (แกน X) (ภาพที่ 4) พบว่าค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐานของค่า IVTDM และ NDFD มีการกระจายตัวที่ครอบคลุมค่าต่ำสุด-สูงสุดของข้อมูลตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน โดยข้อมูลส่วนใหญ่กระจายอยู่รอบเส้นทแยงมุม แสดงให้เห็นว่าค่าที่ทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐานมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่วัดได้จริงจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสมการเทียบมาตรฐานและค่าการย่อยได้ (ค่า IVTDM และ NDFD) จากห้องปฏิบัติการของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม

เมื่อประเมินประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 (ISO, 2017) พบว่าค่า IVTDM และ NDFD ของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม (ตารางที่ 8) มีค่า Bias ของทุกรายการน้อยกว่าค่า T_b ซึ่งแสดงว่าค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือ ค่าจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการและค่าที่ได้จากการทำนายไม่แตกต่างกัน มีค่า SEP น้อยกว่าหรือเท่ากับค่า T_{UE} กล่าวคือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายต่ำเพียงพอที่จะยอมรับได้ และจากการตรวจสอบค่า Slope หรือค่าความสัมพันธ์ของค่าจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกับค่าที่ได้จากการทำนาย ซึ่งจะใช้ค่า t_{obs} ในการตรวจสอบ Slope พบว่า ค่า t_{obs} มีค่าน้อยกว่าค่า $t_{(1-\alpha/2)}$ กล่าวคือ Slope มีค่าไม่แตกต่างจาก 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 8 ค่า Bias SEP และ Slope จากการประเมินประสิทธิภาพของสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าการย่อยได้ด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักรวม

Parameter	Bias			SEP			Slope		
	Calculated value	Criterion (T_b)	Result	Calculated value	Criterion (T_{UE})	Result	Observed Value (t_{obs})	Criterion ($t_{(1-\alpha/2)}$)	Result
IVTDM, %	0.18	0.37	Pass	1.03	1.57	Pass	-0.04	2.04	Pass
NDFD, %	0.05	0.63	Pass	1.26	3.18	Pass	0.07	2.06	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 $\alpha = 0.05$

อย่างไรก็ตาม สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDM และ NDFD ของต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิด มีค่า SEP และ SEL สูงกว่าสมการเทียบมาตรฐานทำนายส่วนประกอบทางเคมี จึงส่งผลให้ค่า RPD ของสมการทำนายค่า IVTDM และ NDFD น้อยกว่าสมการทำนายส่วนประกอบทางเคมีตามไปด้วย โดยสมการทำนายค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวาน หลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดเก็บฝักอ่อน ส่วนใหญ่มีค่า RPD อยู่ในระดับดีมากถึงยอดเยี่ยม ยกเว้นสมการทำนาย

ค่า DM ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักที่อยู่ในระดับพอใช้ (รัตติกาล และคณะ, 2566; จริยา และคณะ, 2566; เฉลา และคณะ, 2566) ที่เป็นเช่นนี้อาจมีสาเหตุมาจากวิธีการวิเคราะห์ค่าการย่อยได้เป็นกระบวนการวิเคราะห์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์จึงทำให้มีความแปรปรวนสูงกว่าวิธีการวิเคราะห์ทางเคมี (Zahera *et al.*, 2022)

สรุปผลการทดลอง

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่าการย่อยได้ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักและต้นข้าวโพดหลังเก็บเกี่ยว ด้วยเทคนิค NIRS สามารถสรุปได้ดังนี้

1. สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDMD ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน มีค่า RPD อยู่ในระดับดี พอใช้ ยอดเยี่ยม และยอดเยี่ยม ตามลำดับ สามารถให้บริการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR กับตัวอย่างต้นข้าวโพดทั้ง 4 ชนิดได้ ส่วนสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า NDFD มีค่า RPD อยู่ในระดับพอใช้ แย่ ดีมาก และดี ตามลำดับ สามารถให้บริการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR ได้ในตัวอย่างต้นข้าวโพด 3 ชนิด ยกเว้นตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่ยังต้องมีการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงสมการเทียบมาตรฐานให้มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น

2. สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDMD และ NDFD ที่สร้างขึ้นจากการรวมสเปกตรัมของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก มีค่า RPD อยู่ในระดับดีมากและดี ตามลำดับ สามารถให้บริการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NIR กับตัวอย่างข้าวโพดพร้อมฝักรวมทั้งไม่หมักและที่หมักแล้วได้

3. สมการเทียบมาตรฐานทุกสมการ มีค่า Bias SEP และ Slope ผ่านเกณฑ์การประเมินประสิทธิภาพตามมาตรฐาน ISO 12099:2017 สามารถทำนายค่าได้ไม่แตกต่างกับค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า IVTDMD และ NDFD ของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก (ไม่หมัก) ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก และต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน ที่ยังไม่อยู่ในระดับชั้นคุณภาพยอดเยี่ยม หรือที่อยู่ในชั้นคุณภาพยอดเยี่ยมแล้ว ควรมีการพัฒนาต่อเนื่องเพื่อเพิ่มช่วงการทำนายให้เกิดความแม่นยำมากยิ่งขึ้น เนื่องจากส่วนประกอบทางเคมีและค่าเอ็โยของตัวอย่างมีค่าแปรเปลี่ยนไปตามสภาพการปลูก พื้นที่ และการดูแลที่แตกต่างกันไป อาจทำให้ค่าต่ำสุดและสูงสุดมีการเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลา ดังนั้น ในทุกปีควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างจากหลากหลายสถานที่ ภูมิภาค หรือฤดูกาล เพื่อนำมาปรับเทียบสมการให้เป็นปัจจุบันให้มากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างจากโครงการวิจัยเรื่อง การทำนายคุณค่าทางโภชนาของพืชอาหารสัตว์วัสดุเหลือใช้และผลพลอยได้ทางการเกษตร และอุตสาหกรรมด้วยเทคนิค Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) ขอขอบคุณวิทยุวิจัยและพัฒนามาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องที่สนับสนุนงบประมาณสำหรับการวิจัยและอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการสำหรับการทดลอง และขอบคุณคณะกรรมการวิชาการสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ที่ให้คำปรึกษาจนผลงานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- คณะกรรมการความต้องการโภชนาการในประเทศไทย. 2563. ความต้องการโภชนาการของโคมนในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 240 หน้า.
- จันทกานต์ อรณันท์ เฉลา พัทธ์สินสุข แพรวพรรณ ชูช่วย รัตติกาล ปวงแก้ว อาทิตยา สุขสะเกษ ปฏิมา บุตรชา จุริรัตน์ เงินแดง สดุดี พงษ์เพียรจันทร์ ฤทธนาถ โคตรพรหม จรียา บุญจรัสชะ สุรนนท์ น้อยอุทัย สุวรรณิ เกศกมลลาสน์ วรรณา อ่างทอง เยาวลักษณ์ แหม่งปิง อุดร ศรีแสง รำไพโร นามสาลี สัมพันธ์ มาศโอสธ ศศิพร ช่อลำไย สมศักดิ์ กังเอี่ยม และชนิดดา วงษ์สวัสดิ์. 2563. การทำนายคุณค่าทางโภชนาการของพืชอาหารสัตว์ วัสดุเหลือใช้และผลพลอยได้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรม. รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตรฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). 165 หน้า.
- จันทกานต์ อรณันท์ เฉลา พัทธ์สินสุข และสุรนนท์ น้อยอุทัย. 2553. การทำนายส่วนประกอบทางเคมีของหญ้าแพงโกล่าด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์ประจำปี พ.ศ.2553 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 309-327.
- จรียา บุญจรัสชะ เฉลา พัทธ์สินสุข และฤทธนาถ โคตรพรหม. 2566. การทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. รายงานผลงานวิจัยสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ประจำปี พ.ศ. 2563-ปัจจุบัน. แหล่งที่มา <https://nutrition.dld.go.th/nutrition/index.php/e-journals/2941-2020-11-13-07-12-69>. มกราคม 15, 2568.
- เฉลา พัทธ์สินสุข สุรนนท์ น้อยอุทัย และจรียา บุญจรัสชะ. 2566. การทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อนโดยใช้เทคนิค Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS). รายงานผลงานวิจัยสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ประจำปี พ.ศ. 2563-ปัจจุบัน. แหล่งที่มา <https://nutrition.dld.go.th/nutrition/index.php/e-journals/2962-2020-11-13-07-12-71>. มกราคม 15, 2568.
- รัตติกาล ปวงแก้ว สรายุทธ์ ไทยเกื้อ แพรวพรรณ ชูช่วย และเยาวลักษณ์ แหม่งปิง. 2566. การทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักอ่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. รายงานผลงานวิจัยสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ประจำปี พ.ศ. 2563-ปัจจุบัน. แหล่งที่มา <https://nutrition.dld.go.th/nutrition/images/research/66%282%29%20-0214-005.pdf>. มกราคม 15, 2568.
- วรรณา อ่างทอง. 2567. การประเมินค่าการย่อยได้และค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง. สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. พิมพ์ครั้งที่ 1 ปี 2567. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. นนทบุรี. 71 หน้า.
- วรรณา อ่างทอง ปฏิมา บุตรชา รำไพโร นามสาลี และศุภกิจ สุนาโท. 2564. ค่าโภชนาการที่น้อยได้และค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ของข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 4452 หมักที่ระยะเสั่นน้ำนมต่างกัน. รายงานผลงานวิจัยสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ประจำปี พ.ศ. 2563-ปัจจุบัน.แหล่งที่มา <https://nutrition.dld.go.th/nutrition/images/research/12.64.pdf>. ธันวาคม 3, 2567.
- วลัยกานต์ เจียมเจตจรรณ. 2542. การใช้วัสดุเศษเหลือใช้จากข้าวโพดฝักอ่อนและข้าวโพดหวานเป็นอาหารสัตว์. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. แหล่งที่มา https://nutrition.dld.go.th/nutrition/images/knowledge/old_knowledge/article2542/a2542_5.pdf. มกราคม 15, 2568.

- อนุพันธ์ เทิดวงศ์วรกุล. 2548. การปรับแต่ง NIR Spectrum ก่อนการวิเคราะห์. เอกสารประกอบการฝึกอบรม “การตรวจคุณภาพอาหารสัตว์ด้วยเทคนิค NIR Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้า โลก” ระหว่างวันที่19-23 ธันวาคม 2548 จัดโดย หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดย ไม่นทำลาย, สถาบันค้นคว้าและพัฒนา ผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรม , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 62-81.
- AOAC. 2016. Official Methods of Analysis. Association of Official Analysis Chemist, Inc. Washington, D.C., USA.
- 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.
- Osborne, V.R. 2004. Improving environmental sustainability of beef farms in Ontario by measuring neutral detergent fiber digestibility. Final report, ICAR Registration No. 33331681.
- SA. 2017. Sithiporn Associates Company. WIN ISI 4, Training Manual. 80 p.
- Williams, P.C. and K. Norris. 2004. Variables affecting near-infrared spectroscopic analysis, pp. 171185. In P. Williams and K. Norris, eds. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota.
- 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.
- Zahera, R., L.A., Sari, I.G., Permana, and D. Despal. 2022. The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict dairy fibre feeds in vitro digestibility. Conference: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Available source: <https://www.researchgate.net/publication/361663351>. January 15, 2025.