

การทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

รัตติกาล ปวงแก้ว^{1/} สรายุทธ์ ไทยเกื้อ^{1/} แพรวพรรณ ชูช่วย^{1/} ปฎิมา บุตรชา^{2/} เยาวลักษณ์ แหม่งปิง^{2/}

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (NIRS) มาใช้ในการทำนายองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ค่าวัตถุแห้ง (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) ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก โดยตัวอย่างทั้งหมดนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer (NIR Spectrometer) ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-2,500 นาโนเมตร หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักกับค่าวิเคราะห์ทางเคมี โดยใช้โปรแกรม WINISI IV และวิเคราะห์เชิงสถิติแบบ PLS (Partial least squares 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

จากการศึกษาพบว่า สมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักมีค่า R^2 SEP และ RPD อยู่ในช่วง 0.81-0.97 0.09-0.95 และ 2.36-5.80 ตามลำดับ โดยสมการที่ใช้ได้ในระดับพอใช้ คือ สมการสำหรับทำนายค่า DM และ ADL (RPD<3.0) ส่วนสมการที่ใช้ได้ระดับดี (Good) ได้แก่ NDF (RPD 3.0-3.4) และระดับยอดเยี่ยม (Excellent) ได้แก่ CP EE Ash และ ADF (RPD>4.1) ส่วนสมการเทียบมาตรฐานสำหรับทำนายค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL ของต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักมีค่า R^2 SEP และ RPD อยู่ในช่วง 0.76-0.98 0.16-0.88 และ 2.06-7.51 ตามลำดับ โดยสมการที่ใช้ได้ในระดับพอใช้ คือ สมการสำหรับทำนายค่า DM (RPD<3.0) ส่วนสมการที่ใช้ได้ระดับดีมาก (Very good) ได้แก่ EE และ Ash (RPD 3.5-4.0) และระดับยอดเยี่ยม ได้แก่ CP NDF ADF และ ADL (RPD>4.1) เมื่อประเมินศักยภาพตามมาตรฐาน ISO12099:2017 พบว่า ค่า Bias SEP และ slope ผ่านมาตรฐานดังกล่าว แสดงว่า สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำ สามารถทำนายค่าได้ไม่แตกต่างกับค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) และมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะนำไปวิเคราะห์ประจำวันเพื่อทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก

คำสำคัญ : เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี ต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก

เลขทะเบียนวิชาการ : 66(2)-0214-005

^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์นครราชสีมา ต.ปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนามาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น

Prediction of Chemical Composition Using Near Infrared Spectroscopy in Corn stalk (before ensiling) and Corn silage.

Rattikan Pongkaew^{1/} Sarayut Thaikua^{1/} Phrawpan Chuchua^{1/} Patima Butcha^{2/} Yaowalak Mangpung^{2/}

Abstract

The purpose of this research was to apply the Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) to predict the chemical composition of Dry matter (DM) Crude protein (CP) Ether extract (EE) Ash Neutral detergent fiber (NDF) Acid detergent fiber (ADF) and Acid detergent lignin (ADL) of corn stalk (before ensiling) and corn silage. All samples were analyzed for chemical composition by standard method in the laboratory. The absorbance was measured with Near Infrared Spectrometer (NIR Spectrometer) at a wavelength of 400-2,500 nm. Correlation was obtained between the absorbance values of corn stalk and corn silage and the chemical analysis values using the WINISI IV program and statistical analysis of PLS (Partial least squares regression) and MPLS (Modified Partial least squares regression) with SNV (Standard normal variate) and without SNV spectra modulated and Detrend with Derivative Gap Smoothing Second smoothing and Math treatment 10 patterns.

The result showed that NIRS equations of corn stalk could be used to predict DM CP EE Ash NDF ADF and ADL with R^2 SEP and RPD between 0.81-0.97 0.09-0.95 and 2.36-5.80, respectively. Equations to predict DM and ADL were showed fair level (RPD < 3.0). NDF was showed good level (RPD 3.0-3.4) and CP EE Ash and ADF were show excellent level (RPD > 4.1). NIRS equations of corn silage could be used to predict DM CP EE Ash NDF ADF and ADL with R^2 SEP and RPD between 0.76-0.96 0.16-0.88 and 2.06-7.51, respectively. Equation to predict DM was showed fair level (RPD < 3.0). EE and Ash were showed very good level (RPD 3.5-4.0) and CP NDF ADF and ADL were showed excellent level (RPD > 4.1). When evaluating the potential according to the standard ISO12099:2017 found that the Bias SEP and slope values passed the standard, indicating to the calibration equations accuracy was not significantly different from the actual value at 95 percentage confidence level ($P>0.05$) and enough performance for using in routine analysis of chemical composition of corn stalk and corn silage.

Keywords : Near Infrared Spectroscopy corn stalk (before ensiling) corn silage

Registered No. : 66(2)-0214-005

^{1/}Nakhon Ratchasima Animal Nutrition Research and Development Center, Pakchong, Nakhon Ratchasima.

^{2/}Ruminant Feed Standard Research and Development Center, Muang, Khonkaen.

คำนำ

ข้าวโพด (*Zea mays* Linn.) เป็นพืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกับหญ้า คือ Poaceae หรือ Gramineae มีลำต้นสูง เฉลี่ย 2.2 เมตร ลำต้นมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-2.0 นิ้ว เป็นพืชที่ให้ผลผลิตต่อไร่สูง การตัดต้นข้าวโพดพร้อมฝักในระยะเมล็ดนํ้านม 50 เปอร์เซ็นต์ มาเลี้ยงโคนมจะทำให้โคนมได้อาหารหยาบที่มีความน่ากิน ย่อยได้ง่าย อุดมด้วยพลังงาน โปรตีน และวิตามิน สามารถใช้ทดแทนอาหารชั้นได้บางส่วน ทั้งนี้เพราะมีส่วนของต้นและใบที่จัดเป็นอาหารหยาบและส่วนของเมล็ด ที่เป็นอาหารชั้นรวมอยู่ด้วยกัน นอกจากนี้ยังสามารถเก็บถนอมไว้ในรูปของพืชหมักได้ดีเพราะมีส่วนของแป้ง-น้ำตาลในพืชอย่างเพียงพอต่อการหมัก และมีจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติกที่ติดมากับพืช (Epiphytic lactic acid bacteria) เพียงพอที่ทำให้ปฏิกิริยาการหมักดำเนินไปได้ด้วยดี จากคุณสมบัติดังกล่าว ทำให้ภาครัฐให้ความสนใจและส่งเสริมให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมปลูกข้าวโพดเพื่อใช้เลี้ยงโคนมของตนเอง ซึ่งยังไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ในฟาร์ม เนื่องจากมีพื้นที่จำกัด ประกอบกับปัญหาพืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าว ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มันสำปะหลัง อ้อย มีราคาตกต่ำ ภาครัฐจึงได้ส่งเสริมให้เกษตรกรผู้ปลูกพืชเศรษฐกิจดังกล่าวรวมทั้งภาคเอกชนปลูกต้นข้าวโพดพร้อมฝักเพื่อจำหน่ายเป็นอาหารหยาบสำหรับโคนม ในรูปสัด หมัก ซึ่งสามารถใช้เป็นอาหารโคนมได้โดยตรงหรือใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ผสมครบส่วน (Total mixed ration; TMR)

ในการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการต่างๆ เช่น ค่าวัตถุแห้ง (Dry matter; DM) โปรตีน (Crude protein; CP) ไขมัน (Ether extract; EE) เถ้า (Ash) ผนังเซลล์ (Neutral detergent fiber; NDF) ลิกนิน เซลลูโลส (Acid detergent fiber; ADF) ลิกนิน (Acid detergent lignin; ADL) แร่ธาตุ และค่าการย่อยได้ต่างๆ ของวัตถุดิบที่นำมาผสมเป็นอาหารสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์ทั้งที่เป็นอาหารหยาบและอาหารชั้นนั้น จะดำเนินการในห้องปฏิบัติการโดยใช้วิธีมาตรฐานที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง แต่มีขั้นตอนและการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากใช้เวลานาน เนื่องจากต้องมีการอบแห้งและบดตัวอย่างก่อนนำไปวิเคราะห์ซึ่งใช้เวลาอย่างน้อย 5-7 วัน อีกทั้งยังมีการใช้สารเคมีซึ่งส่งผลต่อสภาพแวดล้อมและตัวผู้วิเคราะห์อีกด้วย ขณะที่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Near Infrared Spectroscopy; NIRS) เป็นเทคนิคที่สามารถวัดและวิเคราะห์หีสลายเนียร์อินฟราเรด (800-2,500 นาโนเมตร) ที่สารประกอบอินทรีย์และมีพันธะ -C-H -N-H -O-H -S-H และ -C=O ภายในโมเลกุลสะท้อนออกมา (Reflect) (ศุมาพร, 2548) สามารถประเมินคุณค่าโภชนาการในอาหารสัตว์ได้อย่างรวดเร็ว คือ ใช้เวลาในการเตรียมเครื่องมือประมาณ 2 ชั่วโมง และใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 2 นาที มีความแม่นยำ ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่ใช้สารเคมี ไม่ทำลายสภาพแวดล้อม และลดค่าใช้จ่ายได้ในระยะยาว แต่เนื่องจากข้อมูลที่ได้จาก NIRS จะอยู่ในรูปของสเปกตรัมที่มีรายละเอียดของข้อมูลมาก ไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อทำนายคุณลักษณะต่างๆ ของตัวอย่างที่นำมาศึกษาว่ามีปริมาณเท่าไรได้ทันที จำเป็นต้องใช้วิธีการทางคณิตศาสตร์ คือ เคมีเมทริกซ์ (Chemometrics) เพื่อสังเคราะห์ข้อมูล รวมทั้งหาความสัมพันธ์ของสเปกตรัมกับส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ แล้วสร้างเป็นสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration equation) ซึ่งสมการที่ได้นี้จะต้องผ่านขั้นตอนการทวนสอบความใช้ได้ของสมการ (Validation) เพื่อให้มีความแม่นยำในการทำนายเสียก่อน จึงจะนำไปใช้ทำนายค่าทางเคมีของตัวอย่างในอนาคตได้ นอกจากนี้ ในการสร้างสมการนั้น ตัวอย่างที่นำมาใช้สร้างสมการจะต้องมาจากการสุ่มเก็บอย่างดี มีความหลากหลายในด้านพื้นที่การผลิต ฤดูกาล อายุพืช มีค่าทางเคมีที่กระจายครอบคลุมค่าของตัวอย่างในอนาคต และมีค่าวิเคราะห์ทางเคมีที่ถูกต้องแม่นยำอีกด้วย ส่วนสเปกตรัมที่ได้จากการสแกนตัวอย่างเพื่อนำไปสร้างสมการนั้นยังต้องมีการปรับแต่งให้เหมาะสม เพื่อลดการกระเจิงแสงรวมทั้งใช้วิธีทางคณิตศาสตร์ (Mathematics treatment) แบบต่างๆ เช่น การเลือกใช้ Derivative Gap และ Smooth ที่เหมาะสม ปรับแต่งเพื่อให้ได้สเปกตรัมที่ดีที่สุด สำหรับนำไปสร้างสมการ (รณฤทธิ์, 2565)

ปัจจุบันยังไม่มีสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่ผลิตในประเทศไทยสำหรับเครื่อง NIR spectrometer มาก่อน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างสมการสำหรับเครื่อง NIR spectrometer เพื่อทำนายองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่มีความถูกต้องแม่นยำและรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้เกษตรกร นักวิจัย และนักโภชนาการได้รับผลวิเคราะห์ที่ทันต่อความต้องการใช้ในการประกอบสูตรอาหารสัตว์ ขณะเดียวกันสมการที่ได้นี้สามารถถ่ายโอนไปยังเครื่อง NIR spectrometer อื่นได้อีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมี สุ่มเก็บจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดสระบุรี ลพบุรี และนครราชสีมา จำนวน 236 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างประมาณ 2 กิโลกรัม แล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1.5 - 2.0 เซนติเมตร ส่วนตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่ใช้ในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมี ประกอบด้วยตัวอย่าง 2 ส่วน คือ ตัวอย่างจากโครงการการศึกษาข้อมูลคุณภาพการหมักและคุณค่าทางโภชนาการของข้าวโพดพร้อมฝักหมักสำหรับเป็นอาหารสัตว์เพื่อใช้ในการกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร ซึ่งได้รับงบประมาณสนับสนุนจากสำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) จำนวน 140 ตัวอย่าง และออกสุ่มเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมจากฟาร์มเกษตรกรและแหล่งผลิตในพื้นที่ต่างๆ ได้แก่ อำเภอลำลูกเกด และอำเภอนาโพธิ์ จังหวัดลพบุรี กลุ่มเกษตรกรทั่วไปในจังหวัดนครราชสีมา สระบุรี และสกลนคร จำนวน 136 ตัวอย่าง ดังนั้น ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่ใช้ในการสร้างสมการ มีจำนวนทั้งหมด 276 ตัวอย่าง นำตัวอย่างมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นบดให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องบดตัวอย่างชนิดตัด และเก็บตัวอย่างที่บดแล้วในถุงพลาสติกปิดสนิท เพื่อป้องกันความชื้น แล้วนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR spectrometer และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

การวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR Spectrometer

สเปกตรัมของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักจะถูกวัดโดยเครื่อง NIR Spectrometer ยี่ห้อ FOSS รุ่น DS2500 (Foss Analytical A/S, Denmark) ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-2,500 นาโนเมตร ซึ่งมีความละเอียดข้อมูล (Data interval) เท่ากับ 0.5 นาโนเมตร โดยใช้วิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ (Reflectance) ตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่บดแล้วจะถูกนำไปใส่ในถ้วยบรรจุตัวอย่างขนาดเล็ก (Small cup) เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายอย่างสม่ำเสมอ ทำการวัด 2 ซ้ำต่อตัวอย่าง (Duplicates) การวัดแต่ละครั้งจะแสดงรายการองค์ประกอบทางเคมี จำนวน 7 รายการได้แก่ ค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL นำค่าแต่ละรายการที่ได้จากการวัดมาเฉลี่ยเพื่อแสดงผลออกมาเป็นเส้นสเปกตรัม 1 เส้นต่อรอบ ซึ่งค่าที่ได้เรียกว่า ค่าการดูดกลืน (Absorbance)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่ผ่านการวัดสเปกตรัมแล้วมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ โดยวิธีทางเคมี (Wet chemical analysis) ได้แก่ ค่าความชื้น ตามวิธีที่ 930.15 (AOAC, 2016) แล้วคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ DM การวิเคราะห์หา CP เป็นการหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl แล้วคูณด้วยแฟกเตอร์ 6.25 ตามวิธี ISO 5983-2:2009 วิเคราะห์หา EE ตามวิธีที่ 11085 (ISO, 2015) และ Ash ตามวิธีที่ 942.05 (AOAC, 2016) การวิเคราะห์หาเยื่อใยชนิด ADF และ ADL ตามวิธีที่ 973.18

(AOAC, 2016) วิเคราะห์หาเยื่อใยชนิด NDF โดยใช้ Sodium sulfite และ Alpha amylase ตามวิธีที่ 2002:04 (AOAC, 2016) โดยวิเคราะห์ 2 ซ้ำต่อตัวอย่าง ค่าที่ได้เรียกว่าค่าจริง (Actual value)

การวิเคราะห์หาค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Standard error of laboratory; SEL)

ทำการวิเคราะห์หาค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Duplicate blind test เพื่อจะนำค่าที่ได้ไปประเมินสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างขึ้น โดยค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนาย (Standard Error of Prediction; SEP) ต้องน้อยกว่าสองเท่าของ SEL (Sithiporn Associates Company, (2017) ทำการวิเคราะห์โดยใช้ตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ชนิดละ 10 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างแบ่งออกเป็นตัวอย่างย่อยที่ 1 และตัวอย่างย่อยที่ 2 กำหนดหมายเลขตัวอย่างไม่ให้ซ้ำกัน แล้วส่งวิเคราะห์เป็น 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างย่อย ที่ 1 ของตัวอย่างที่ 1 ถึง 10 และชุดที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างย่อยที่ 2 ของตัวอย่างที่ 1 ถึง 10 แต่ละชุดวิเคราะห์ตัวอย่างละ 1 ซ้ำ จากนั้นนำผลวิเคราะห์ของแต่ละองค์ประกอบทางเคมี คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบ และคำนวณหาค่า SEL โดยใช้สมการ

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

D = ผลต่างผลวิเคราะห์ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ของแต่ละตัวอย่าง

n = จำนวนตัวอย่าง (10)

การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน และการทดสอบความใช้ได้ของสมการ

1. นำข้อมูลสเปกตรัมและค่าองค์ประกอบทางเคมีมาหาความสัมพันธ์ด้วยวิธี Partial least square regression (PLS) โดยใช้โปรแกรม WIN ISI IV แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน คือ กลุ่มที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Calibration set) ทำนายค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL และกลุ่มทดสอบความใช้ได้ของสมการ (Validation set) ในสัดส่วนกลุ่ม Calibration set ต่อกลุ่ม Validation set เท่ากับ 80 ต่อ 20 เปอร์เซ็นต์ นำสเปกตรัมของกลุ่ม Calibration set มาจัดกลุ่มโดยใช้ Principal component analysis (PCA) ที่ใช้ Mahalanobis distance เพื่อคัดสเปกตรัมที่อยู่นอกกลุ่ม (Outlier) ออก โดยกำหนดค่า Global H เท่ากับ 3 และ Neighborhood H เท่ากับ 0.6 การสร้างสมการเป็นการสร้างแบบเต็มช่วงความยาวคลื่น (Full spectrum method) ด้วยวิธี PLS และ Modified partial least squares (MPLS) ร่วมกับการไม่ปรับแต่งสเปกตรัม 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 NIR spectrometer (Infrasoft International, 2005) และจากการตรวจเอกสารงานวิจัย (Alomar et al. (2009) : Woolnough and Foley, 2002) จะได้สมการเทียบมาตรฐานของแต่ละรายการจำนวน 40 สมการ

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

ในการพิจารณาเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุด จะพิจารณาจากค่า R^2 ที่มีค่าสูง และค่าผลต่างของ SEC และ SECV ที่มีค่าต่ำ จากสมการเทียบมาตรฐาน 40 สมการ จะเลือกสมการที่ดีที่สุด 3 สมการ เพื่อนำมาทวนสอบความใช้ได้ของสมการต่อไป

2. การทวนสอบความใช้ได้ของสมการ

นำสมการที่คัดเลือกจำนวน 3 สมการ มาทวนสอบความใช้ได้ของสมการ เพื่อวัดประสิทธิภาพของสมการว่าสามารถใช้ในการประเมินค่าได้แม่นยำมากน้อยเพียงใด โดยนำสเปกตรัมของตัวอย่างกลุ่ม Validation set มาทวนสอบ แล้วประเมินความถูกต้องแม่นยำโดยใช้ค่าสถิติต่างๆ ได้แก่ ค่า SEP ควรมีค่าน้อยกว่าสองเท่าของ SEL ($SEP < 2 SEL$) ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีมาตรฐานและค่าที่ได้จากวิธี NIR ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย (Bias) ควรมีค่าน้อยกว่า 0.55 เท่า SEC ($Bias < 0.55 SEC$) ค่า Standard error of prediction correction (SEP(C)) น้อยกว่า 1.29 SEC ($SEP(C) < 1.29 SEC$) ค่าความชันเข้าใกล้ 1 (Slope ~ 1) ตามวิธีการของ Sithiporn Associates Company (2017) นอกจากนี้ ได้พิจารณาระดับชั้นคุณภาพของสมการด้วยค่า RPD (Ratio of standard deviation of prediction to standard deviation) ตามวิธีการของ Williams (2014) ดังแสดงใน table 1 ซึ่งเกณฑ์ที่กล่าวถึง จะใช้ในการคัดเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดเพียง 1 สมการ สำหรับนำไปใช้ในการทำนายองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง NIR Spectrometer ต่อไป

Table 1 Criteria of prediction efficiency (Williams, 2014)

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 standard deviation of prediction to standard deviation

3. นำสมการเทียบมาตรฐาน จำนวน 1 สมการ ที่คัดเลือกได้จากข้อที่ 2 มาประเมินประสิทธิภาพตามมาตรฐาน 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 หรือ ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ 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 หรือค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มทดสอบไม่มีนัยสำคัญ

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 (ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการสร้างสมการ ของ กลุ่มสร้างสมการ)

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

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) กับค่าที่ทำนายที่ได้จากสมการเทียบมาตรฐาน ด้วยเครื่อง NIRS (แกน x) ซึ่งจะสอดคล้องกับสมการเส้นตรงโดยมีค่า slope b และ intercept a คำนวณได้ตามสมการ

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

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

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

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

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

$\bar{y}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าที่ทำนายจากสมการเทียบมาตรฐาน

$\bar{\bar{y}}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าอ้างอิงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

จากนั้นทดสอบค่า Slope ที่คำนวณได้โดยใช้ t-test ดังสมการ

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

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

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 ความชันของกราฟการกระจายระหว่างค่าทางเคมีจริงที่เป็นค่าอ้างอิงกับค่าที่ทำนายจากสมการเทียบมาตรฐานไม่แตกต่างจาก 1 อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองและวิจารณ์

ต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก

องค์ประกอบทางเคมี และค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักทั้งหมดถูกนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีทางเคมี ได้แก่ ค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL ซึ่งมีค่าต่ำสุด-สูงสุด ค่าเฉลี่ย และค่า SD ดังแสดงใน Table 2 เมื่อแบ่งสเปกตรัมของตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 2 กลุ่ม เพื่อใช้เป็นตัวอย่างกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set โดยใช้สัดส่วนการเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วงตัวอย่างตามที่กำหนดคือ กำหนดตำแหน่งเริ่มต้นและจำนวนตัวอย่างที่ต้องการเว้นช่วง ซึ่งใช้แบบเว้นช่วง 5 2 โดยกลุ่ม Calibration set ถูกนำมาจัดกลุ่มโดยใช้ PCA ที่ใช้ Mahalanobis distance เพื่อตัดตัวอย่างที่มีค่าอยู่นอกกลุ่มออก พบว่าช่วงข้อมูลของแต่ละค่าในกลุ่ม Calibration set ครอบคลุมค่าของกลุ่ม Validation set โดยตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มมีการกระจายตัวของค่าวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกัน เมื่อทดสอบเพื่อหาค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Standard error of laboratory; SEL) ของค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL ในต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก พบว่า มีค่า SEL เท่ากับ 0.34 0.30 0.18 0.20 0.65 0.48 และ 0.43 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าค่า SEL มีค่าต่ำ แสดงว่าค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีความคลาดเคลื่อนน้อย

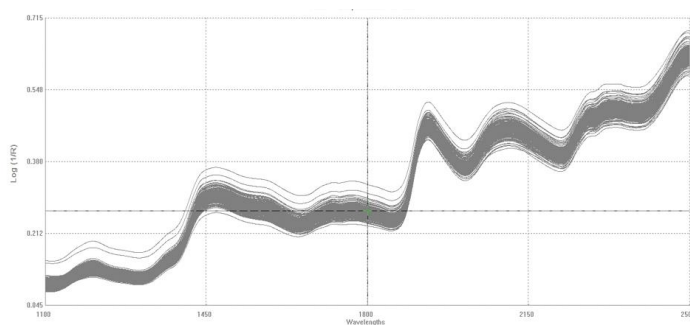
Table 2 Statistical value of chemical composition in corn stalk samples.

Parameter	Evaluation groups	Number of samples	Minimum	Maximum	Average	±SD
DM, %	Total sample	236	88.89	92.45	90.81	0.66
	Calibration set	184	89.12	92.22	90.82	0.64
	Validation set	35	89.84	91.82	90.83	0.64
CP, %	Total sample	236	6.30	11.42	8.42	0.93
	Calibration set	177	6.56	10.55	8.41	0.89
	Validation set	35	7.13	10.47	8.53	0.89
EE, %	Total sample	236	0.66	3.17	1.91	0.39
	Calibration set	181	0.66	3.17	1.91	0.39
	Validation set	36	0.70	2.65	1.82	0.38
Ash, %	Total sample	236	3.33	6.65	4.74	0.52
	Calibration set	186	3.33	5.96	4.73	0.51
	Validation set	32	3.79	5.56	4.72	0.46
NDF, %	Total sample	236	53.66	69.73	60.67	3.20
	Calibration set	184	53.66	69.73	60.71	3.21
	Validation set	34	54.60	68.60	60.08	3.08

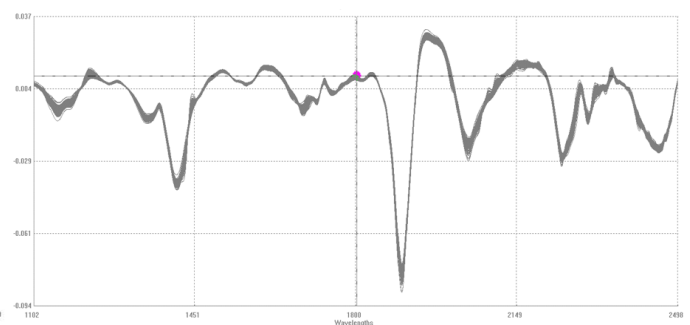
ADF, %	Total sample	236	23.90	47.29	34.74	4.04
	Calibration set	182	25.42	43.97	34.76	3.92
	Validation set	39	27.00	42.90	34.66	4.08
ADL, %	Total sample	236	5.58	8.95	7.46	0.69
	Calibration set	185	5.58	8.95	7.46	0.69
	Validation set	28	6.46	8.59	7.41	0.59

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและการทวนสอบความใช้ได้ของสมการเทียบมาตรฐาน

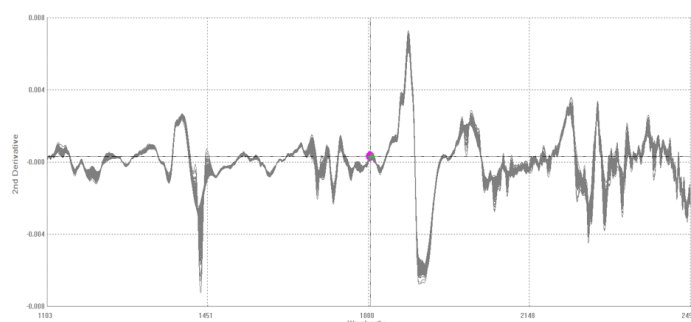
จากการวัดและเก็บสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 400-2,500 นาโนเมตร โดยใช้วิธีการวัดแบบสะท้อนกลับ (Reflectance) พบว่า รูปร่างของสเปกตรัมในช่วง 400-1099 นาโนเมตรของแต่ละตัวอย่างแตกต่างกัน เนื่องจากตัวอย่างที่นำมาสแกนเพื่อเก็บสเปกตรัมมีสีต่างกัน ส่งผลให้การประมวลผลของค่า NH GH ผิดพลาด จึงได้มีตัดสเปกตรัมในช่วง 400-1099 นาโนเมตรออกก่อนการสร้างสมการ ซึ่งจากข้อมูลสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร ของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักที่ยังไม่มีการปรับแต่ง (Figure 1A) ลักษณะสเปกตรัมที่ได้มีพีก (Peak) กว้างและมีการเลื่อนตัวของสเปกตรัม ที่เกิดจากความแตกต่างของขนาดอนุภาคตัวอย่าง อันเนื่องมาจากอัตราส่วนของใบและลำต้น รวมทั้งระดับของเยื่อใยชนิดต่างๆ ที่สะสมในต้นพืช ทั้งนี้การปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ (Figure 1B และ 1C) สามารถช่วยลดอิทธิพลของปัจจัยดังกล่าวได้ โดยการใช้ Derivative ที่อยู่ในรูปของ Derivative Gap Smoothing Second smoothing ซึ่ง First derivative ของสเปกตรัมจะช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่น (การเลื่อนตัวของสเปกตรัมตามแนวแกน Y) ผลกระทบแบบคูณ (Multiplicative effect) อันเกิดจากขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่แตกต่างกัน อนุภาคขนาดใหญ่จะเปลี่ยนทิศทางการเดินทางของแสงลงไปในตัวอย่างไม่บ่อยครั้งเท่ากับอนุภาค ขนาดเล็ก ทำให้แสงเดินทางเข้าไปในตัวอย่งได้ระยะทางมากกว่าก่อนที่จะสะท้อนกลับออกมา ทำให้ถูกดูดกลืนมากกว่า ขณะที่ Second derivative ของสเปกตรัม จะทำให้เกิดการแยกของจุดยอดที่เหลื่อมซ้อนกันอยู่ ส่วน Gap และ Smoothing จะช่วยปรับสเปกตรัมที่มีลักษณะเป็นยอดแหลมเล็กกระจายให้เรียบขึ้น (อนุพันธ์, 2548)



(A) Original spectra



(B) First derivative spectra



(C) Second derivative spectra

Figure 1 Spectrum of corn stalk at 1,100-2,500 nm.

Table 3 Statistical analysis of Calibration set and Validation set for corn stalk.

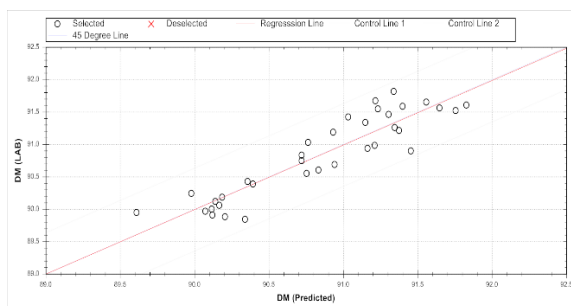
Parameter	Treatment			Calibration set				Validation set				
				N	R ²	SEC	SECV	N	R ²	SEP	Bias	RPD
DM, %	MPLS	None	2,4,4,1	184	0.61	0.40	0.42	35	0.84	0.26	-0.01	2.50
CP, %	MPLS	SNV-detrend	2,5,5,1	177	0.94	0.22	0.27	35	0.95	0.19	-0.01	4.70
EE, %	PLS	None	2,5,5,1	181	0.92	0.11	0.12	36	0.94	0.09	-0.01	4.20
Ash, %	PLS	SNV-detrend	1,4,4,1	186	0.80	0.23	0.24	32	0.94	0.11	0.00	4.20
NDF, %	MPLS	None	2,4,4,1	184	0.92	0.93	1.00	34	0.90	0.95	0.01	3.25
ADF, %	MPLS	None	1,10,10,1	182	0.95	0.86	0.96	39	0.97	0.70	-0.03	5.80
ADL, %	PLS	SNV-detrend	1,4,4,1	185	0.50	0.48	0.56	28	0.81	0.25	-0.02	2.36

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดของแต่ละรายการสำหรับทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก แสดงใน Table 3 พบว่ามีการใช้ MPLS จำนวน 4 รายการ ได้แก่ DM CP NDF และ ADF และมีการใช้ PLS จำนวน 3 รายการ ได้แก่ EE Ash และ ADL ซึ่ง Shenk and Westerhaus (1991) รายงานว่า MPLS ให้ผลในการพัฒนาค่า SEP ของสมการเทียบมาตรฐานทำนายให้ดีขึ้นได้มากกว่า 18 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับวิธี MSR (Modified stepwise regression) โดยการที่ MPLS สร้างสมการได้ดีนั้น Westerhaus (2014) ได้นำเสนอว่า MPLS จะสร้างสมการเทียบมาตรฐานที่ทำนายได้แม่นยำกว่าสมการที่สร้างโดย PLS เพราะ PLS จะให้ผลดีกับสเปกตรัมที่มีความแปรปรวนจากองค์ประกอบในการสร้างสมการ (Calibration constituent) ส่วน MPLS จะให้ผลดีเมื่อต้องการตัดแหล่งที่มาของความแปรปรวนหลักของสเปกตรัมออก เพื่อจะทำให้สเปกตรัมที่มีช่วงคลื่นขนาดเล็กแต่มีความสัมพันธ์สูงปรากฏได้ชัดเจนขึ้น

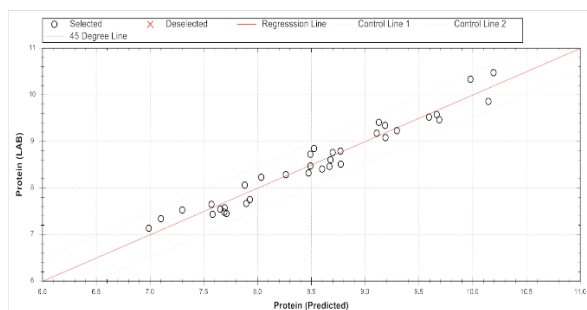
เมื่อพิจารณาค่า R² ของสมการเทียบมาตรฐานแต่ละรายการ พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 0.50-0.95 ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Andrighetto et al. (2018) ที่สร้างสมการในการทำนายข้าวโพดก่อนหมัก พบว่าค่า R² ของค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL มีค่าเท่ากับ 0.93 0.82 0.77 0.80 0.93 0.92 และ 0.48 ตามลำดับ การที่ค่า R² ของ DM มีค่าต่ำ อาจเกิดจากช่วงข้อมูลที่ทำมาสร้างสมการมีพิสัยแคบ เนื่องจากต้นข้าวโพดพร้อมฝักที่แนะนำให้เกษตรกรตัดคือ ช่วงอายุ 85-90 วัน ซึ่งค่า DM ในช่วงนั้นอาจใกล้เคียงกัน ส่วนค่า R² ของ ADL หรือลิกนินมีค่าต่ำ อาจมีสาเหตุจากการที่เทคนิค NIRS จะใช้ได้ดีกับสารประกอบอินทรีย์ที่มีพันธะ -C-H -N-H -O-H -S-H และ -C=O ขณะที่ลิกนิน คือ Aromatic polymer ของ P-coumaryl alcohol และ Coniferyl alcohol ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ Ether (C-O-C) และ -C-C นอกจากนี้ลิกนินยังจับกับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นเกิดเป็นสารประกอบที่ซับซ้อน โดยในพืชตระกูลหญ้า ลิกนินจะจับกับ Pantosans ด้วยพันธะ Alkali-labile ซึ่งพันธะ Labile คือ Ester linkage (C-C-O และ O-C-O) (Jeffries, 1994) การปรับปรุงสมการเทียบมาตรฐานของค่า DM และ ADL ให้มีความถูกต้องแม่นยำเพิ่มขึ้น ทำได้โดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่มีค่าครอบคลุมค่าต่ำสุด-สูงสุด ส่วนค่า SEC SECV และ SEL ของแต่ละรายการมีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อทวนสอบความใช้ได้ของสมการของแต่ละรายการ พบว่า มีค่า R² อยู่ในช่วง 0.81-0.97 และมีค่า Bias ต่ำหรือเท่ากับ 0 ซึ่งบ่งบอกว่าค่าที่ทำนายด้วย NIRS ไม่แตกต่างจากค่าจริงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี

เมื่อพิจารณาความใช้ได้ของสมการเทียบมาตรฐานจากค่า RPD พบว่า สมการที่อยู่ในระดับยอดเยี่ยม (Excellent) สามารถใช้ทำนายได้กับทุกงาน (RPD > 4.1) คือ สมการทำนายค่า CP EE Ash และ ADF สมการที่อยู่ในระดับดี (Good) สามารถนำไปใช้ทำนายในงานควบคุมตรวจคุณภาพ (RPD 3.0-3.4) คือ สมการทำนายค่า NDF ส่วนสมการที่อยู่ในระดับพอใช้ (Fair) สามารถนำไปใช้ทำนายในงานคัดเลือก (RPD 2.5-2.9) คือ สมการทำนายค่า DM และสมการที่อยู่ในระดับต่ำ (Poor)

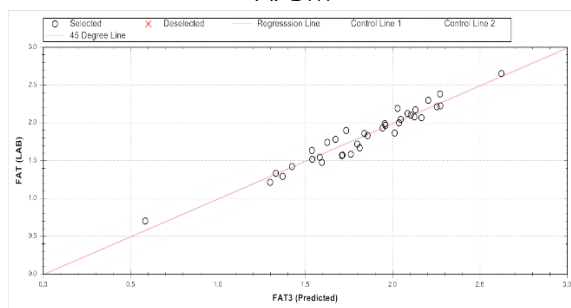
สามารถนำไปใช้ทำนายในงานคัดเลือกเบื้องต้น (RPD 2.0-2.4) คือ สมการทำนายค่า ADL การที่ค่า RPD ของ DM และ ADL มีค่าต่ำ อาจเกิดจากข้อจำกัดในเรื่องอายุการเก็บเกี่ยวของต้นข้าวโพดพร้อมฝัก ทำให้ช่วงข้อมูลของ DM และ ADL มีพิสัยแคบ ส่งผลให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทางเคมี (SD) ต่ำ และทำให้ค่า RPD ต่ำไปด้วย เนื่องจาก RPD เป็นสัดส่วนระหว่าง SD ต่อค่า SEP ของตัวอย่างในกลุ่มที่ใช้ในการตรวจสอบความแม่นยำของสมการ ดังนั้น จึงควรมีการสร้างช่วงข้อมูลที่กว้างโดยการเพิ่มตัวอย่างที่มีความหลากหลายทั้งในด้านอายุและฤดูกาล เพื่อเพิ่มเสถียรภาพและความแม่นยำในการทำนายตัวอย่างในอนาคต



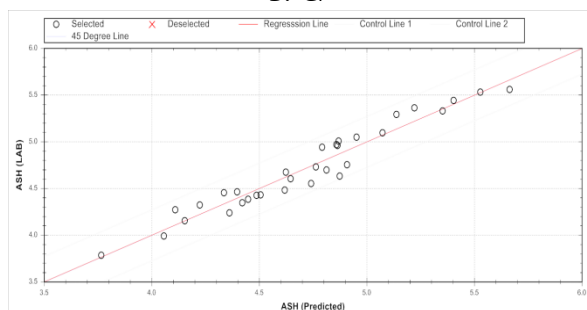
A. DM



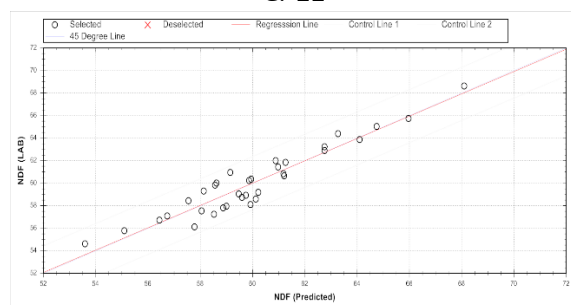
B. CP



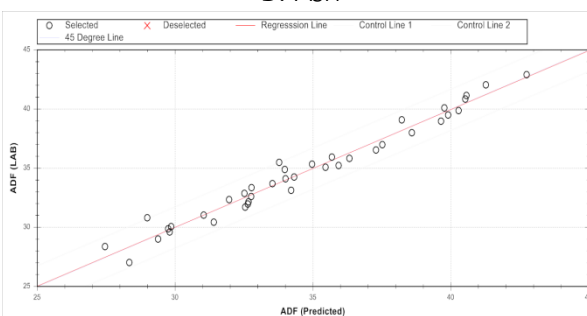
C. EE



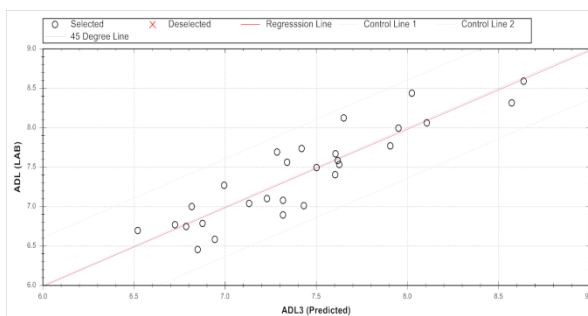
D. Ash



E. NDF



F. ADF



G. ADL

Figure 2 Relationship between NIR predicted and actual values of chemical composition of corn stalk in Validation set.

เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (แกน Y) และค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐาน (แกน X) ของกลุ่ม Validation set (Figure 2) พบว่า ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายอยู่รอบเส้นทแยงมุม (Target line) ซึ่งเป็นเส้นที่บ่งบอกว่าค่าที่ได้จากการทำนายเทียบกับค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีมีค่าเท่ากัน แสดงให้เห็นว่า สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างมีประสิทธิภาพสามารถใช้ทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักได้

การประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐาน ISO 12099:2017

สมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดที่ผ่านการทวนสอบความใช้ได้ของสมการ จะถูกนำมาประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 (ISO, 2017) ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้เทคนิค NIR ในการหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ในตัวอย่าง โดยจะทำการประเมินค่าทางสถิติ คือ ค่า Bias SEP และ Slope ดังแสดงใน Table 4 พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักทุกรายการ มีค่า Bias น้อยกว่าค่า T_b ซึ่งแสดงว่าค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P > 0.05$) 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 ($P > 0.05$)

Table 4 Statistics performance measurement of developed calibration equation for chemical composition of corn stalk 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
DM, %	-0.01	0.09	pass	0.26	0.49	pass	-0.03	0.997	2.03	pass
CP, %	-0.01	0.07	pass	0.19	0.27	pass	-0.02	0.999	2.03	pass
EE, %	-0.01	0.03	pass	0.09	0.13	pass	-0.04	0.998	2.03	pass
Ash, %	0.00	0.04	pass	0.11	0.28	pass	-0.05	0.998	2.04	pass
NDF, %	0.01	0.33	pass	0.95	1.14	pass	-0.17	0.990	2.03	pass
ADF, %	-0.03	0.23	pass	0.70	1.05	pass	-0.17	0.995	2.02	pass
ADL, %	-0.20	0.10	pass	0.25	0.60	pass	-0.04	0.996	2.05	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

ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก

องค์ประกอบทางเคมี และค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักทั้งหมดถูกนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ตามวิธีมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ค่า DM CP EE FAT Ash NDF ADF และ ADL ซึ่งมีค่าต่ำสุด-สูงสุด ค่าเฉลี่ย และค่า SD ดังแสดงใน Table 5 เมื่อแบ่งสเปกตรัมของตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 2 กลุ่ม เพื่อใช้เป็นตัวอย่างกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set โดยใช้สัดส่วนการเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วงตัวอย่างตามที่กำหนดคือ กำหนดตำแหน่งเริ่มต้นและจำนวนตัวอย่างที่ต้องการเว้นช่วง ซึ่งใช้แบบเว้นช่วง 5 2 โดยกลุ่ม Calibration set ถูกนำมาจัดกลุ่มโดยใช้ PCA ที่ใช้ Mahalanobis distance เพื่อตัดตัวอย่างที่มีค่าอยู่นอกกลุ่มออก พบว่าช่วงข้อมูลของแต่ละค่าในกลุ่ม Calibration set ครอบคลุมค่าของกลุ่ม Validation set โดยตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มมีการกระจายตัวของค่าวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกัน โดยค่าวิเคราะห์ที่นำไปใช้สร้างสมการทำนายยังครอบคลุมค่าวิเคราะห์ของข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ในช่วงอายุการตัดที่ 85-90 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่แนะนำเกษตรกร ซึ่งมีค่าต่ำสุด-สูงสุดของค่า CP NDF ADF และ ADL เท่ากับ 8.36-10.28 53.78-57.86 31.45-34.08 และ 3.55-5.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (จันทกานต์และคณะ, 2564) และคุณค่าทางโภชนาการของต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักในตารางฐานข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารโคนม (จันทกานต์และคณะ, 2563) ที่รายงานไว้คือ ค่า CP EE Ash NDF ADF และ ADL มีค่าเฉลี่ย ($\pm$ SD) เท่ากับ 8.43($\pm$ 1.87) 1.76($\pm$ 0.68) 6.47($\pm$ 1.90) 61.83($\pm$ 8.60) 34.31($\pm$ 6.81) และ 4.86($\pm$ 2.89) เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบเพื่อหาความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Standard error of laboratory; SEL) ของค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL ในต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก พบว่า มีค่า SEL เท่ากับ 0.33 0.22 0.21 0.19 0.59 0.48 และ 0.29 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าค่า SEL มีค่าต่ำ แสดงว่าค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีความคลาดเคลื่อนน้อย

Table 5 Statistical value of chemical composition in corn silage samples.

Parameter	Evaluation groups	Number of samples	Minimum	Maximum	Average	$\pm$ SD
DM, %	Total sample	276	87.73	91.65	90.15	0.74

CP, %	Calibration set	211	88.32	91.65	90.18	0.72
	Validation set	41	88.41	91.15	90.08	0.63
	Total sample	276	5.67	11.66	9.08	0.96
EE, %	Calibration set	217	5.67	11.66	9.09	0.92
	Validation set	44	6.55	11.65	9.08	1.04
	Total sample	276	0.81	3.73	2.68	0.55
Ash, %	Calibration set	210	1.23	3.73	2.71	0.53
	Validation set	38	1.52	3.61	2.65	0.55
	Total sample	276	3.20	7.28	5.09	0.71
NDF, %	Calibration set	214	3.20	7.28	5.08	0.71
	Validation set	47	3.43	7.09	5.04	0.80
	Total sample	276	39.09	72.24	56.49	6.23
ADF, %	Calibration set	214	41.08	71.50	56.47	6.05
	Validation set	44	42.80	70.27	55.82	6.14
	Total sample	276	21.77	41.14	32.23	3.48
ADL, %	Calibration set	202	24.87	40.50	32.10	3.28
	Validation set	47	26.05	40.21	32.23	3.32
	Total sample	276	3.50	7.20	5.11	0.71
	Calibration set	208	3.50	7.20	5.09	0.67
	Validation set	42	3.53	7.08	5.15	0.77

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและการทวนสอบความใช้ได้ของสมการเทียบมาตรฐาน

จากข้อมูลสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตรของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่ยังไม่มีการปรับแต่ง (Figure 3A) พบว่า ลักษณะสเปกตรัมที่ได้มีฟีกกว้างและมีการเลือนตัวของสเปกตรัม จึงปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ (Figure 3B และ 3C) โดยใช้ MPLS ร่วมกับการใช้และไม่ใช้ SNV และ Detrend ร่วมกับการใช้ First derivative และ Second derivative ที่อยู่ในรูปของ Derivative Gap Smoothing Second smoothing ทำให้สามารถแยกจุดที่เหลื่อมซ้อนกันในสเปกตรัมออกจากกัน และลดผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมมีขนาดเพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่น (อนุพันธ์, 2548) ซึ่งจะเห็นว่าจากการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิคข้างต้นจะช่วยขยายสัญญาณให้ชัดเจนมากขึ้นและลดความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้นจากการกระเจิงแสงของตัวอย่าง (Kasemsumran *et al*, 2004)

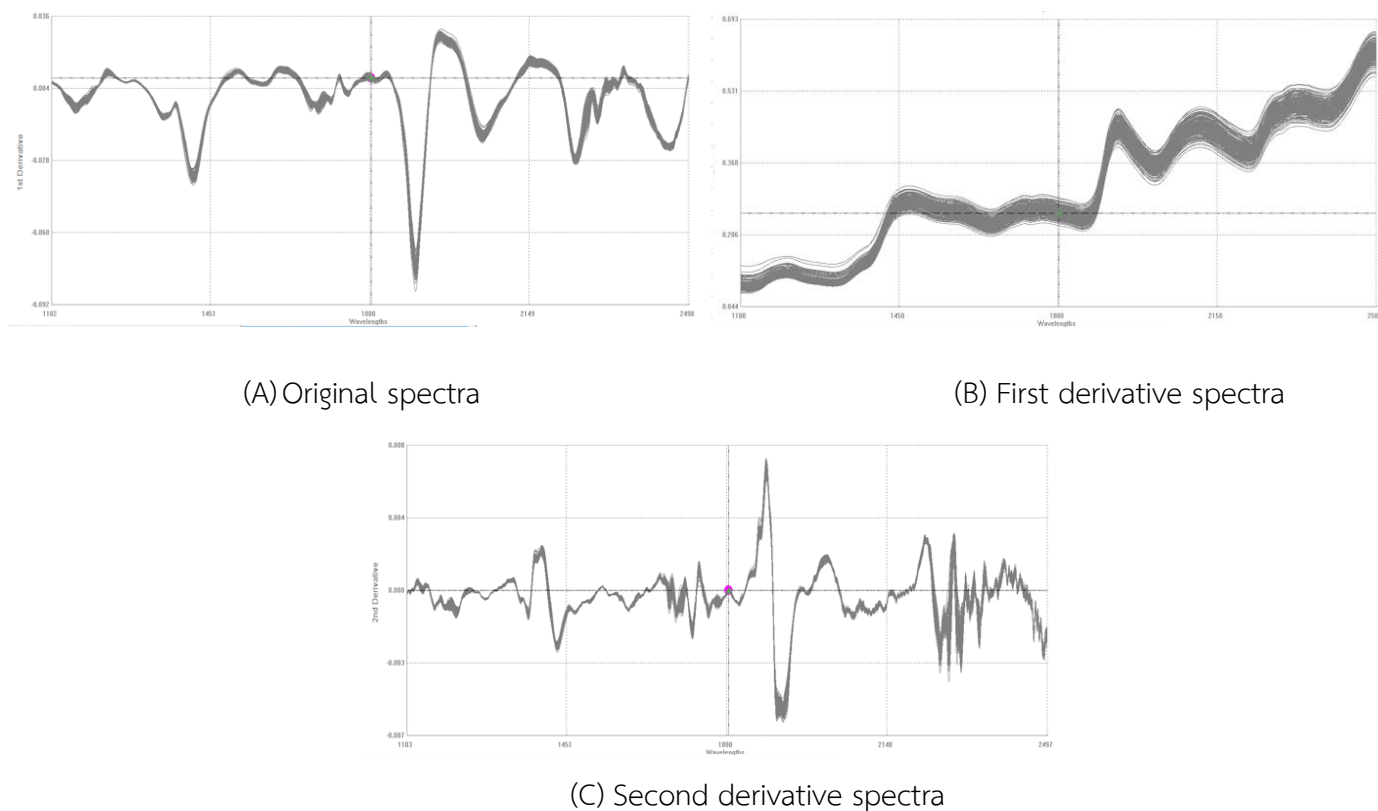
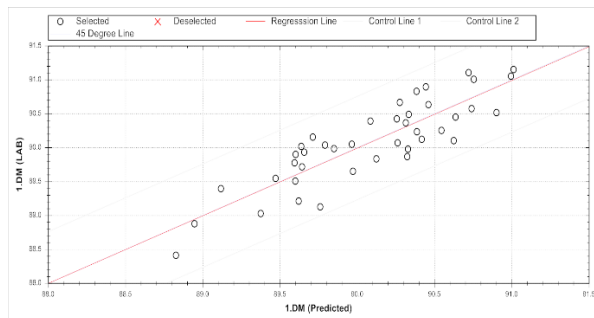


Figure 3 Spectrum of corn silage at 1,100-2,500 nm.

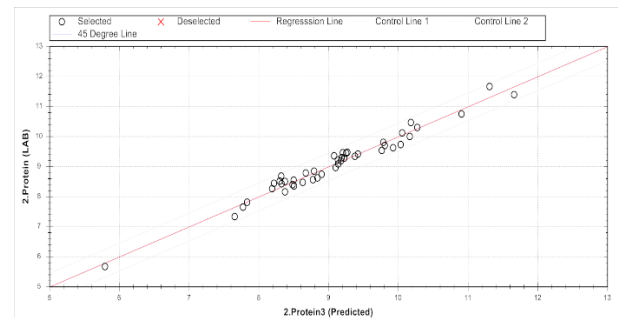
Table 6 Statistical analysis of Calibration set and Validation set for corn silage.

				Calibration set				Validation set				
Parameter		Treatment		N	R ²	SEC	SECV	N	R ²	SEP	Bias	RPD
DM, %	MPLS	SNV-detrend	1,8,8,1	211	0.67	0.41	0.45	41	0.76	0.30	-0.01	2.06
CP, %	MPLS	SNV-detrend	2,5,5,1	217	0.93	0.24	0.26	44	0.97	0.18	-0.01	5.66
EE, %	MPLS	SNV-detrend	2,5,5,1	210	0.94	0.13	0.14	38	0.92	0.15	0.00	3.62
Ash, %	MPLS	SNV-detrend	2,8,4,1	214	0.93	0.19	0.24	47	0.94	0.20	-0.02	4.00
NDF, %	MPLS	SNV-detrend	2,4,4,1	214	0.98	0.82	0.99	44	0.98	0.88	0.09	7.00
ADF, %	MPLS	SNV-detrend	2,5,5,1	202	0.96	0.66	0.72	47	0.98	0.44	-0.03	7.51
ADL, %	MPLS	None	2,8,4,1	208	0.91	0.20	0.25	42	0.96	0.16	-0.01	4.95

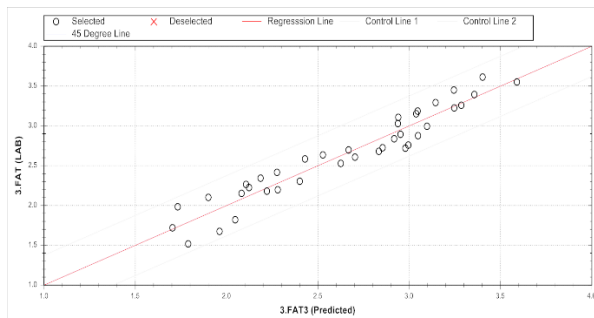
การสร้างสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดของแต่ละรายการสำหรับทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก แสดงใน Table 6 พบว่า สมการเทียบมาตรฐานของแต่ละรายการมีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.67-0.98 และเมื่อทวนสอบความใช้ได้ของสมการ พบว่ามีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.76-0.98 และมีค่า Bias ต่ำหรือเท่ากับ 0 ซึ่งบ่งบอกว่าค่าที่ทำนายด้วย NIRS ไม่แตกต่างจากค่าจริงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี เมื่อพิจารณาความใช้ได้ของสมการจากค่า RPD พบว่า สมการที่อยู่ในระดับยอดเยี่ยม สามารถนำไปใช้ทำนายได้กับทุกงาน ($RPD > 4.1$) คือ สมการทำนายค่า CP NDF ADF และ ADL สมการที่อยู่ในระดับดีมาก (Very good) สามารถนำไปใช้ทำนายในการควบคุมคุณภาพกระบวนการงาน ($RPD 3.5-4.0$) คือ สมการทำนายค่า EE และ Ash ส่วนสมการที่อยู่ในระดับต่ำ สามารถนำไปใช้ทำนายในงานคัดเลือกเบื้องต้น ($RPD 2.0-2.4$) คือ สมการทำนายค่า DM



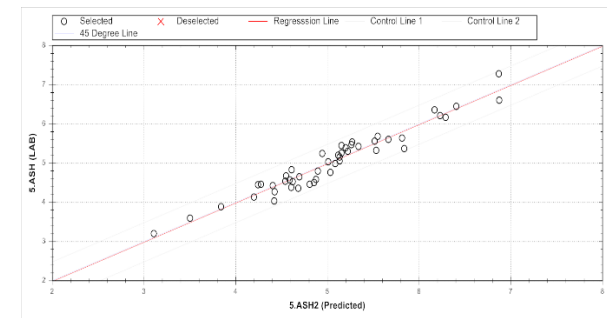
A. DM



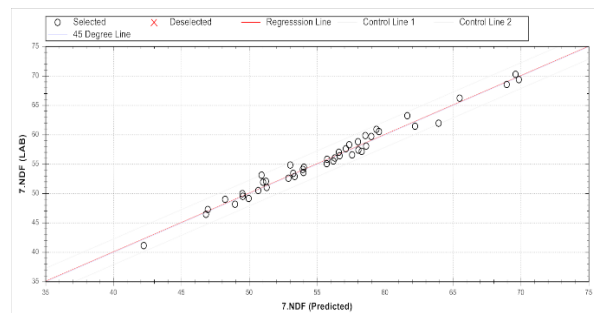
B. CP



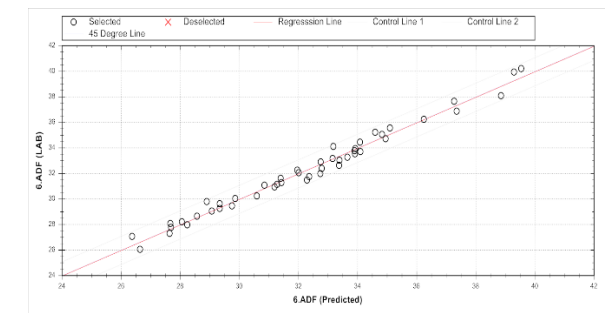
C. EE



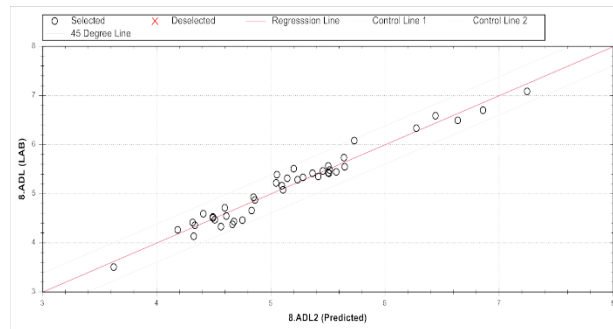
D. Ash



E. NDF



F. ADF



G. ADL

Figure 4 Relationship between NIR predicted and actual values of chemical composition of corn silage in Validation set.

เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (แกน Y) และค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐาน (แกน X) ของกลุ่ม Validation set (Figure 4) พบว่า ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายอยู่รอบเส้นทแยงมุม (Target line) ซึ่งเป็นเส้นที่บ่งบอกว่าค่าที่ได้จากการทำนายเทียบกับค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีมีค่าเท่ากัน แสดงให้เห็นว่า สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างมีประสิทธิภาพสามารถใช้ทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักได้

การประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐาน ISO 12099:2017

สมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดที่ผ่านการทวนสอบความใช้ได้ของสมการ จะถูกนำมาประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 (ISO, 2017) ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์โดยใช้เทคนิค NIR ในการหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ในตัวอย่าง โดยจะทำการประเมินค่าทางสถิติ คือ ค่า Bias SEP และ Slope ดังแสดงใน Table 7 พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักทุกรายการ มีค่า Bias น้อยกว่าค่า T_b ซึ่งแสดงว่าค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) 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 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$)

Table 7 Statistics performance measurement of developed calibration equation for chemical composition of corn silage 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-α/2))	Result
DM, %	-0.01	0.10	pass	0.30	0.49	pass	-0.02	0.998	2.02	pass
CP, %	-0.01	0.06	pass	0.18	0.29	pass	-0.02	0.999	2.02	pass
EE, %	0.00	0.05	pass	0.15	0.16	pass	-0.02	0.999	2.03	pass
Ash, %	-0.02	0.06	pass	0.20	0.23	pass	0.01	1.000	2.01	pass
NDF, %	-0.09	0.27	pass	0.88	0.99	pass	-0.03	0.999	2.02	pass
ADF, %	-0.03	0.13	pass	0.44	0.79	pass	-0.01	1.000	2.01	pass
ADL, %	-0.01	0.05	pass	0.16	0.24	pass	-0.06	0.998	2.02	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-α/2), The t value

ต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก

เพื่อความสะดวก และความรวดเร็วในการใช้สมการที่สามารถทำนายได้ทั้งต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก เนื่องจากเป็นตัวอย่างที่มีส่วนประกอบทางเคมีที่ไม่แตกต่างกันมากนัก และมีรูปแบบของเส้นสเปกตรัมที่คล้ายกัน จึงน่าจะสมารถนำสเปกตรัมของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักมารวมกันเพื่อสร้างสมการสำหรับทำนายด้วย NIRS ทำให้มีจำนวนตัวอย่างในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า DM CP EE Ash NDF และ ADF จำนวน 512 ตัวอย่าง และ ADL จำนวน 503 ตัวอย่าง มีค่าต่ำสุด-สูงสุด ค่าเฉลี่ย และค่า SD ดังแสดงใน Table 8 เมื่อแบ่งสเปกตรัมของตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 2 กลุ่ม เพื่อใช้เป็นตัวอย่างกลุ่ม Calibration set และกลุ่ม Validation set โดยใช้สัดส่วนการเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วงตัวอย่างตามที่กำหนดคือ กำหนดตำแหน่งเริ่มต้นและจำนวนตัวอย่างที่ต้องการเว้นช่วง ซึ่งใช้แบบเว้นช่วง 5 2 โดยกลุ่ม Calibration set จะนำมาจัดกลุ่มโดยใช้ PCA ที่ใช้ Mahalanobis distance เพื่อตัดตัวอย่างที่มีค่านอกกลุ่มออก พบว่าช่วงข้อมูลของแต่ละค่าในกลุ่ม Calibration set ครอบคลุมค่าของกลุ่ม Validation set โดยตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มมีการกระจายตัวของค่าวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกัน

Table 8 Statistical value of chemical composition in corn stalk and corn silage samples.

Parameter	Evaluation groups	Number of samples	Minimum	Maximum	Average	±SD
DM, %	Total sample	512	87.73	92.45	90.46	0.78
	Calibration set	385	88.32	92.45	90.50	0.74

	Validation set	80	88.86	92.16	90.46	0.70
CP, %	Total sample	512	5.67	11.66	8.78	1.00
	Calibration set	390	6.30	11.66	8.78	0.97
	Validation set	86	6.56	11.65	8.86	1.00
EE, %	Total sample	512	0.66	3.73	2.32	0.62
	Calibration set	390	0.70	3.73	2.33	0.61
	Validation set	83	0.72	3.72	2.30	0.61
Ash, %	Total sample	512	3.20	7.28	4.93	0.66
	Calibration set	391	3.20	7.23	4.91	0.64
	Validation set	82	3.33	7.09	4.96	0.72
NDF, %	Total sample	512	39.09	72.24	58.42	5.47
	Calibration set	388	42.86	71.50	58.43	5.28
	Validation set	90	46.91	70.27	57.99	5.05
ADF, %	Total sample	512	21.77	47.29	33.39	3.95
	Calibration set	385	24.68	43.97	33.41	3.81
	Validation set	82	24.87	42.90	33.68	3.67
ADL, %	Total sample	503	3.50	8.95	6.21	1.36
	Calibration set	387	3.50	8.95	6.22	1.37
	Validation set	93	3.53	8.94	6.12	1.36

การสร้างสมการเทียบมาตรฐานและการทวนสอบความใช้ได้ของสมการเทียบมาตรฐาน

สเปกตรัมของตัวอย่างต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักที่ยังไม่มีการปรับแต่ง แสดงดัง Figure 5A ส่วน Figure 5B เป็นภาพสเปกตรัมที่มีการปรับแต่งข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ โดยใช้ MPLS และ PLS ร่วมกับการใช้และไม่ใช้ SNV และ Detrend ร่วมกับการใช้ Second derivative ที่อยู่ในรูปของ Derivative Gap Smoothing Second smoothing ซึ่ง Second derivative ช่วยแยกจุดที่เหลื่อมซ้อนกันในสเปกตรัมออกจากกัน และลดผลกระทบที่ทำให้สเปกตรัมมีขนาดเพิ่มขึ้นตลอดช่วงความยาวคลื่น

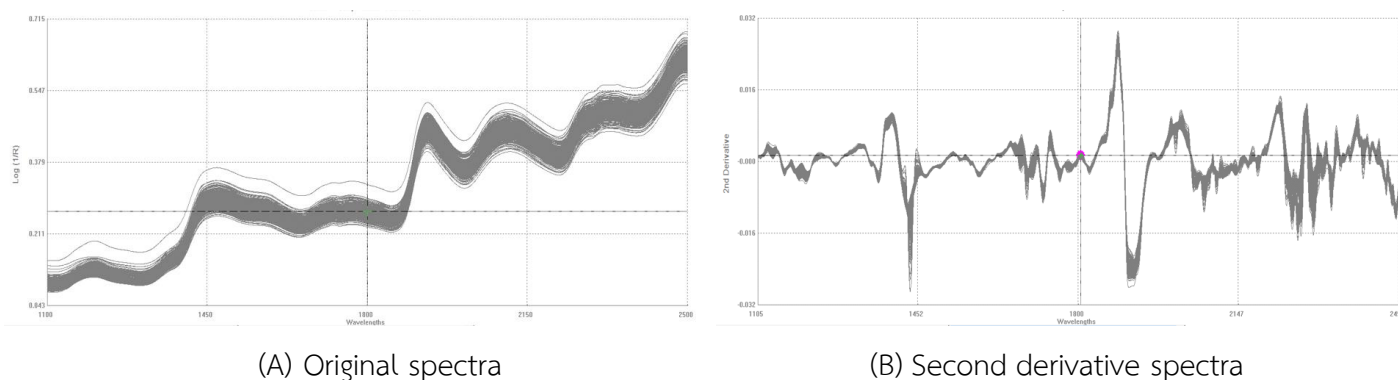


Figure 5 Spectrum of corn stalk and corn silage at 1,100-2,500 nm.

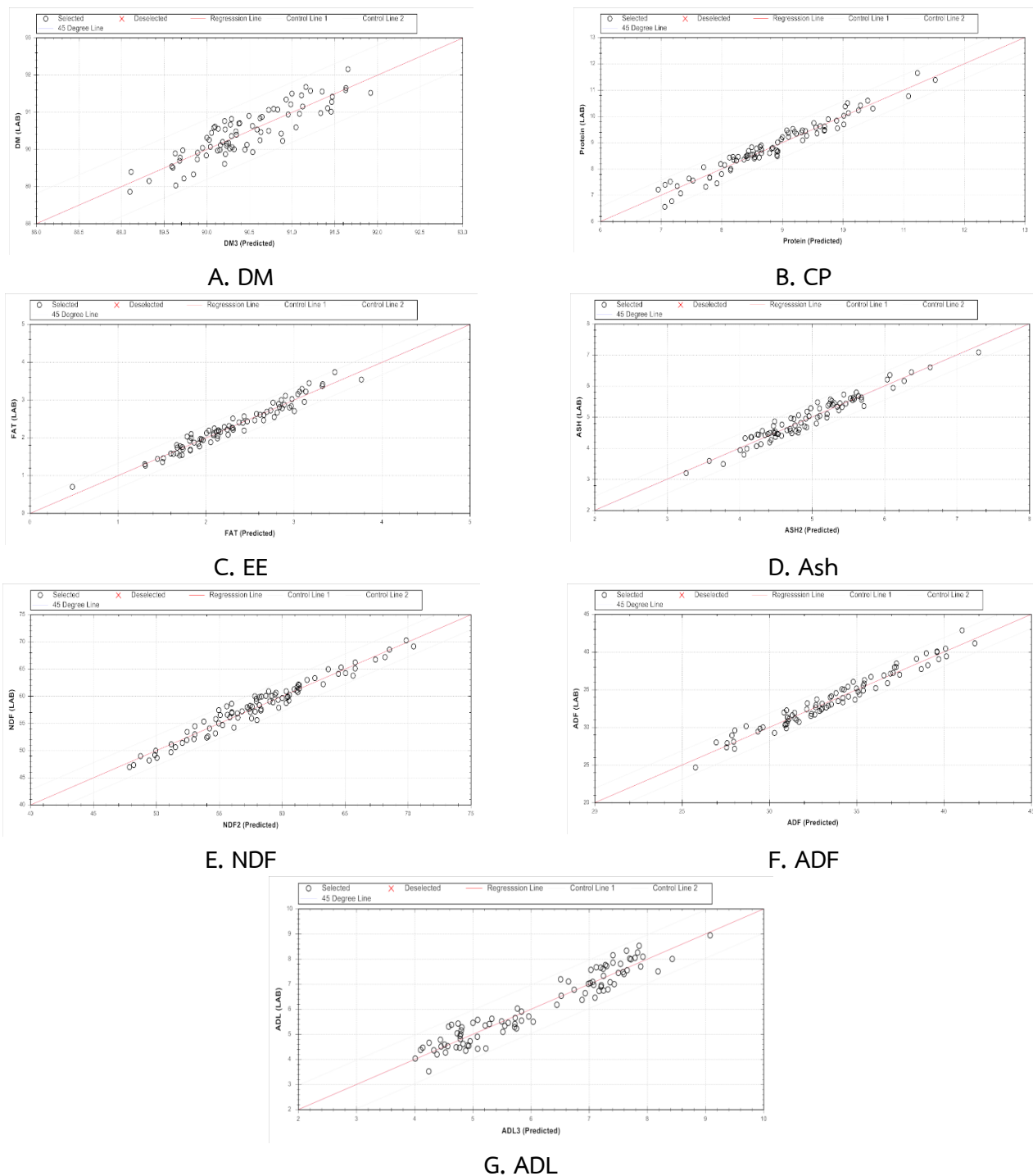
Table 9 Statistical analysis of Calibration set and Validation for corn stalk and corn silage.

Parameter	Treatment			Calibration set				Validation set				
				N	R ²	SEC	SECV	N	R ²	SEP	Bias	RPD
DM, %	MPLS	SNV-detrend	2,10,10,1	385	0.71	0.40	0.44	80	0.78	0.32	0.00	2.15
CP, %	MPLS	SNV-detrend	2,8,4,1	390	0.91	0.30	0.33	86	0.95	0.23	0.01	4.38
EE, %	MPLS	SNV-detrend	2,8,8,1	390	0.95	0.14	0.15	83	0.95	0.13	0.00	4.65
Ash, %	PLS	SNV-detrend	2,8,4,1	391	0.85	0.24	0.25	82	0.94	0.18	0.01	3.96
NDF, %	PLS	None	2,8,8,1	388	0.96	1.00	1.13	90	0.95	1.11	0.01	4.54
ADF, %	PLS	None	2,8,4,1	385	0.93	0.98	1.05	82	0.96	0.75	0.04	4.88
ADL, %	MPLS	SNV-detrend	2,8,4,1	387	0.90	0.44	0.49	93	0.92	0.39	0.01	3.51

เมื่อพิจารณาข้อมูลจาก Table 9 พบว่า สมการเทียบมาตรฐานของแต่ละรายการมีค่า R² อยู่ในช่วง 0.71-0.96 และเมื่อทวนสอบความใช้ได้ของสมการของแต่ละรายการ พบว่า มีค่า R² อยู่ในช่วง 0.78-0.96 และ 0.92 และมีค่า Bias ต่ำหรือเท่ากับ 0 ซึ่งบ่งบอกว่าค่าที่ทำนายด้วย NIRS ไม่แตกต่างจากค่าจริงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี เมื่อพิจารณาความใช้ได้ของสมการจากค่า RPD พบว่า สมการที่อยู่ในระดับยอดเยี่ยม สามารถใช้ทำนายได้กับทุกงาน (RPD > 4.1) คือ สมการทำนายค่า CP EE NDF และ ADF สมการที่อยู่ในระดับดีมาก สามารถใช้ทำนายในการควบคุมคุณภาพกระบวนการงาน (RPD 3.5-4.0) คือ สมการทำนายค่า Ash และ ADL ส่วนสมการที่อยู่ในระดับต่ำ สามารถนำไปใช้ทำนายในงานคัดเลือกเบื้องต้น (RPD 2.0-2.4) คือ สมการทำนายค่า DM

จากการนำข้อมูลของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักมารวมกันสร้างสมการเทียบมาตรฐาน ทวนสอบความใช้ได้ของสมการและประเมินการใช้งานด้วย RPD พบว่า มีค่า SEP ในบางรายการเพิ่มขึ้น ขณะที่ค่า SD ไม่ได้แตกต่างจากเดิม ส่งผลทำให้ค่า RPD ลดลง ดังนั้น ในการนำสมการเทียบมาตรฐานไปใช้กับ NIR spectrometer เพื่อใช้ทำนายคุณค่าทางโภชนาของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักหรือต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก จึงต้องพิจารณาเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ให้ค่า R² และ RPD ที่ดีที่สุดจากสมการเฉพาะชนิดและสมการรวม โดยต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักควรใช้สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า DM CP Ash และ ADF จากสมการเทียบมาตรฐานเฉพาะที่สร้างขึ้น ส่วนสมการทำนายค่า EE NDF และ ADL ควรใช้สมการเทียบมาตรฐานที่ได้จากการนำข้อมูลต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักมารวมกัน เนื่องจากค่า RPD เพิ่มขึ้นจากเดิม ขณะที่ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ควรใช้สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า CP Ash

NDF ADF และ ADL จากสมการเทียบมาตรฐานเฉพาะที่สร้างขึ้น ส่วนสมการทำนายค่า DM และ EE ควรใช้สมการเทียบมาตรฐานที่ได้จากการนำข้อมูลต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักมารวมกัน



เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (แกน Y) และค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐาน (แกน X) ของกลุ่ม Validation set (Figure 6) พบว่า ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายอยู่รอบเส้น 45 องศา

Figure 6 Relationship between NIR predicted and actual values of chemical composition of corn stalk and corn silage in Validation set.

ค่าเท่ากัน แสดงให้เห็นว่า สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างมีประสิทธิภาพสามารถใช้ทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักได้

การประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐาน ISO 12099:2017

สมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดที่ผ่านการทวนสอบความใช้ได้ของสมการ จะถูกนำมาประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 (ISO, 2017) ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้เทคนิค NIR ในการหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ในตัวอย่าง โดยจะทำการประเมินค่าทางสถิติ คือ ค่า Bias SEP และ Slope ดังแสดงใน Table 10 พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักทุกรายการ มีค่า Bias น้อยกว่าค่า T_b ซึ่งแสดงว่าค่าความผิดพลาดเฉลี่ยในการทำนายไม่นับสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) กล่าวคือ ค่าจากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ได้จากการทำนายไม่แตกต่างกัน มีค่า SEP น้อยกว่าหรือเท่ากับค่า T_{UE} กล่าวคือ ค่าความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายต่ำเพียงพอที่จะยอมรับได้ และจากการตรวจสอบค่า Slope หรือค่าความสัมพันธ์ของค่าจากการวิเคราะห์ทางเคมีกับค่าที่ได้จากการทำนาย ซึ่งจะใช้ค่า t_{obs} ในการตรวจสอบ Slope พบว่าค่า t_{obs} มีค่าน้อยกว่าค่า $t_{(1-\alpha/2)}$ กล่าวคือ Slope มีค่าไม่แตกต่างจาก 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$)

Table 10 Statistics performance measurement of developed calibration equation for chemical composition of corn stalk and corn silage 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
DM, %	0.00	0.07	pass	0.32	0.46	pass	-0.05	0.997	1.99	pass
CP, %	0.01	0.05	pass	0.23	0.34	pass	0.01	1.000	1.99	pass
EE, %	0.00	0.03	pass	0.13	0.16	pass	-0.03	0.999	1.99	pass
Ash, %	0.01	0.04	pass	0.18	0.28	pass	-0.02	0.999	1.99	pass
NDF, %	0.01	0.23	pass	1.11	1.13	pass	0.00	1.000	1.99	pass
ADF, %	0.04	0.17	pass	0.75	1.12	pass	0.02	1.000	1.99	pass
ADL, %	0.01	0.08	pass	0.39	0.50	pass	-0.01	1.000	1.99	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

สรุปผลการทดลอง

จากการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์โดยการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก และต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี โดยใช้ข้อมูลของสเปกตรัมช่วงความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร ในการสร้างสมการทำนายค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL พบว่า สมการต่างๆ มีระดับการนำไปใช้งานของสมการ ดังนี้

1. ต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมัก ใช้สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า DM CP Ash และ ADF จากสมการเทียบมาตรฐานเฉพาะที่สร้างขึ้น ส่วนสมการทำนาย ค่า EE NDF และ ADL ใช้สมการเทียบมาตรฐานที่ได้จากการนำข้อมูลต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักมารวมกัน

- การใช้งานของสมการอยู่ในระดับพอใช้ (Fair) ได้แก่ ค่า DM
- การใช้งานของสมการอยู่ในระดับดีมาก (Very good) ได้แก่ ค่า ADL
- การใช้งานของสมการอยู่ในระดับยอดเยี่ยม (Excellent) ได้แก่ ค่า CP EE Ash NDF และ ADF

2. ต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมัก ใช้สมการเทียบมาตรฐานทำนายค่า CP Ash NDF ADF และ ADL จากสมการเทียบมาตรฐานเฉพาะที่สร้างขึ้น ส่วนสมการทำนายค่า DM และ EE ใช้สมการเทียบมาตรฐานที่ได้จากการนำข้อมูลต้นข้าวโพดพร้อมฝักก่อนหมักและต้นข้าวโพดพร้อมฝักหมักมารวมกัน

- การใช้งานของสมการอยู่ในระดับต่ำมาก (Very poor) ได้แก่ ค่า DM
- การใช้งานของสมการอยู่ในระดับดีมาก (Very good) ได้แก่ ค่า Ash
- การใช้งานของสมการอยู่ในระดับยอดเยี่ยม (Excellent) ได้แก่ ค่า CP EE NDF ADF และ ADL

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก) ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ คุณจันทกานต์ อรณนันทน์ ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์อาหารสัตว์ และคณะกรรมการวิชาการสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ ที่ให้คำแนะนำ ตรวจสอบและแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น รวมทั้งเจ้าหน้าที่ของกลุ่มวิจัยและพัฒนาการวิเคราะห์พืชอาหารสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์มหาสารคาม ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ลำปาง ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์เพชรบุรี และศูนย์วิจัยและพัฒนามาตรฐานอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องสำหรับตัวอย่างในการวิเคราะห์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์นครราชสีมา สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีและความช่วยเหลือเป็นอย่างดีที่ช่วยให้งานครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ข้อเสนอแนะ

สมการเทียบมาตรฐานที่ค่า RPD ต่ำกว่า 3 ซึ่งเกิดจากมีค่าพิสัยแคบ สามารถปรับปรุงดีขึ้นได้ด้วยการสุ่มเก็บตัวอย่างใหม่เพื่อเพิ่มจำนวนและความหลากหลายที่มากพอ และมีค่าครอบคลุม ค่าต่ำสุด-สูงสุดของตัวอย่างในอนาคตด้วย แล้วจึงนำไปพัฒนาเพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานใหม่

เอกสารอ้างอิง

จันทกานต์ อรณนันทน์ วรรณ อ่างทอง ปฐิมา บุตรชา สดุดิพงษ์ เพี้ยจันทร์ แพรวพรรณ ชูช่วย เยาวลักษณ์ แหม่งปิง รัตติกาล ปวงแก้ว ศศิพร ช่อลำไย เฉลา พัทธกษิณสุข สุวรรณิ เกศกมลลาสน์ จริยา บุญจรัสชชะ และศิริรัตน์

- บัวผัน. 2563. การจัดทำฐานข้อมูลคุณค่าทางโภชนาของวัตถุดิบอาหารโคนมในประเทศไทย (ปีที่2). รายงานฉบับสมบูรณ์เสนอต่อสำนักงานการพัฒนากิจการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). 142 หน้า.
- จันทกานต์ อรณันท์ อุดร ศรีแสง ณุทธนาถ โคตรพรหม จริญญา บุญจรัสชะ สุวรรณิ เกศกมลასน์ สุรนนท์ น้อยอุทัย ฌนณณ บวรณภังค์ปฎิมา บุตรชา เฉลา พิทักษ์สินสุข เจษฎา ศักดิ์แพรวพรรณ ชูช่วย และรัตติกาล ปวงแก้ว. 2564. การศึกษาข้อมูลคุณภาพการหมักและคุณค่าทางโภชนาของข้าวโพดพร้อมฝักหมักสำหรับเป็นอาหารสัตว์เพื่อใช้ในการกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร. รายงานฉบับสมบูรณ์เสนอ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 91 หน้า.
- ศุมาพร เกษมสำราญ. 2548. หลักการพื้นฐานของเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. เอกสารประกอบการฝึกอบรม “การตรวจคุณภาพอาหารสัตว์ด้วยเทคนิค NIR Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก” ระหว่างวันที่19-23 ธันวาคม 2548 จัดโดย หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดยไม่ทำลาย, สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรม, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 8-22.
- รณฤทธิ์ ฤทธิธิน. 2565. การสร้างระบบ Near Infrared Spectroscopy (NIR) สำหรับการวิเคราะห์ประจำวัน. (โปรแกรมคอมพิวเตอร์). คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อนุพันธ์ เทิดวงศ์วรกุล. 2548. การปรับแต่ง NIR Spectrum ก่อนการวิเคราะห์. เอกสารประกอบการฝึกอบรม “การตรวจคุณภาพอาหารสัตว์ด้วยเทคนิค NIR Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก” ระหว่างวันที่ 19-23 ธันวาคม 2548 จัดโดย หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดยไม่ทำลาย, สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรม, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 62 – 81.
- Alomar, D., R. Fuchslocher, J. Cuevas, R. Mardones, and E. Cuevas. 2009. Prediction of the composition of fresh pastures by near infrared reflectance or interactancereflectance spectroscopy. Chilean J. of Agric. Research. 69(2):198 – 206.
- Andrighetto I., L. Serva, M. Gazziero, S. Tenti, M. Mirisola, E. Garbin, B. Contiero, D. Grandis, and G. Marchesini. 2018. Proposal and validation of new indexes to evaluate maize silage fermentative quality in lab-scale ensiling conditions through the use of a receiver operating characteristic analysis. Anim Feed Sci Technol. 242:31–40
- AOAC. 2016. Amylase-Treated Neutral Detergent Fiber in Feeds. 2002.04. Official Methods of Analysis. Inc. Washington, D.C, USA.
- Infrasoft International, LLC. 2005. WinISI III Manual. FOSS Tecator AB, Sweden. 192 p.
- ISO. 2015. International Standard (ISO 11085: 2015(E)). Cereals, cereals-based products and animal feeding stuffs – Determination of crude fat and total fat content by the Randall extraction method. International Organization for Standardization. All rights reserved. Geneva.
- 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.
- Jeffries, T.W. 1994. 8. Biodegradation of lignin and hemicellulose. Available Source: www.128.104.77.882/documents/pdf1994/jeffr94b.pdf. June 15, 2022.
- Kasemsumran, S., Y.P. Du, K. Maruo, and Y. Ozaki. 2004. Selective removal of interference singles for near-infrared spectra of biomedical by using region orthogonal signal correlation. Analytical Chemical Acta 82;97-103.
- Shenk, J.S. and Westerhaus, M.O. (1991) Population Definition, Sample Selection and Calibration

Procedures for Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Crop Science*, 31, 469-474. Available source: <https://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100020049x>. April 12, 2022.

Sithiporn Associates Company. 2017. WIN ISI 4, Training Manual. 80 p.

Westerhaus, M. 2014. Eastern Analytical Symposium Award for outstanding achievements in near infrared spectroscopy: my contributions to near infrared spectroscopy. FOSS. Available source: https://www.fossanalytics.com/-/media/files/documents/papers/software/winisi/2014_nirnews_eas_markwesterhaus.pdf. June 16, 2022.

William, P. 2014. The RPD statistic: a tutorial note. *NIRS news*. 25(1). Available source: <https://www.deepdyve.com/lp/sage/the-rpd-statistic-a-tutorial-note-0ryN4Klv70>. June 15, 2022.

Woolnough, A.P. and W.J. Foley. 2002. Rapid evaluation of pasture quality for a critically endangered mammal, the northern hairy-nosed wombat (*Lasiorninus krefftii*). *Wildlife Research*. 29:91 – 100.