

การทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก

โดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

จริยา บุญจรัสชะ^{1/}

เฉลา พิทักษ์สินสุข^{2/}

ณัทนาถ โคตรพรหม^{1/}

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสร้างสมการโดยใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy (NIRS) ในการทำนายองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ค่าวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เถ้า ผนังเซลล์ ลิกโนเซลลูโลส และลิกนิน ของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก ใช้ตัวอย่างจำนวน 242 ตัวอย่าง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1,100-2,500 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrophotometer (NIRS) หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักกับค่าวิเคราะห์ทางเคมี โดยใช้โปรแกรม WinISI IV วิเคราะห์ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติแบบถดถอย (regression) แบบ partial least square (PLS) จากการศึกษาพบว่าสมการค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL มีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.88-0.98 และเมื่อทำการทดสอบสมการพบว่า มีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.95-0.99 มีค่า RPD เท่ากับ 8.24 7.38 4.33 6.12 6.16 7.25 และ 5.05 ตามลำดับ เป็นสมการที่อยู่ในชั้นคุณภาพยอดเยี่ยม (excellent) เมื่อประเมินศักยภาพตามมาตรฐาน ISO 12099:2017 พบว่าค่า DM CP EE Ash NDF ADF และ ADL มีค่า bias 0.00 -0.01 0.00 0.00 -0.07 -0.01 และ -0.01 ตามลำดับ มีค่า SEP 0.21 0.37 0.07 0.20 0.65 0.44 และ 0.14 ตามลำดับ มีค่า slope -0.06 -0.02 0.02 0.01 0.00 0.01 และ 0.03 ตามลำดับ ซึ่งผ่านมาตรฐานดังกล่าว ค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) แสดงว่าสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำและมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะนำไปวิเคราะห์ประจำวันเพื่อทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักได้ การทดลองนี้จึงแสดงให้เห็นว่าเทคนิค NIRS สามารถนำมาใช้ทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ในระยะเวลาสั้น และลดการใช้สารเคมี

คำสำคัญ: NIRS สมการทำนาย ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก

เลขทะเบียนวิชาการ : 66(2)-0214-014

^{1/} กลุ่มวิจัยและพัฒนาการวิเคราะห์อาหารสัตว์ สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ ต.บางกะดี อ.เมืองปทุมธานี จ.ปทุมธานี

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ลำปาง ต.เวียงตาล อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง

Prediction of Chemical Composition Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy in Sweet Corn Stover.

Jariya Booncharatcha^{1/}

Chalao Pitaksinsuk^{2/}

Nuttanart Khotprom^{1/}

Abstract

The objective of this study to apply near infrared spectroscopy (NIRS) for predicting chemical composition such as DM CP EE ash NDF ADF and ADL in sweet corn stover 242 samples. All samples were determined by NIRS in the wavelength region of 1,100-2,500 nm. Calibration model were developed utilizing partial least square regression (PLS) with WinISI IV program. It was found that DM CP EE ash NDF ADF and ADL with R^2 in the range of 0.88-0.98. And when prediction equation, R^2 in the range of 0.95-0.99, the ratio of prediction to deviation (RPD) with 8.24 7.38 4.33 6.12 6.16 7.25 and 5.05, respectively. For sweet corn stover, most of calibration models had prediction abilities with acceptable accuracy, were useful for excellent purposes. All NIRS equations were used to the potential evaluation following to ISO12099: 2017. Result showed that DM CP EE ash NDF ADF and ADL with bias 0.00 -0.01 0.00 0.00 -0.07 -0.01 and -0.01, SEP 0.21 0.37 0.07 0.20 0.65 0.44 and 0.14, and slope -0.06 -0.02 0.02 0.01 0.00 0.01 and 0.03, respectively and these equations pass to the standard. The result value predicted by NIRS were not significantly different from actual value at 95% confidence level ($P>0.05$), indicating to these equations are accurate and enough performance for analysis of chemical composition. It was concluded that NIRS is a suitable technique for predicting chemical composition of sweet corn stover.

Keywords: NIRS, prediction equation, sweet corn stover

Registered No : 66(2)-0214-014

^{1/} Feed and Forage Analysis Section, Bureau Of Animal Nutrition Development. Bang-Kadi, Mueang Pathum Thani, Pathumthani.

^{2/} Lampang Animal Nutrition Research and Development Center, Wiang Tan, Hang Chat, Lampang.

คำนำ

ในการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องของเกษตรกรในประเทศไทย มักประสบกับปัญหาการขาดแคลนอาหารหยาบ ซึ่งไม่สามารถหามาเลี้ยงสัตว์ได้อย่างเพียงพอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูแล้ง การนำเศษวัสดุเหลือทางการเกษตรบางอย่างที่มีมากในฤดูกาลเพาะปลูกหรือมีตลอดทั้งปี เช่น ฟางข้าว เปลือกสับปะรด เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนและต้นข้าวโพดหลังเก็บฝักอ่อน ต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก มาใช้เป็นอาหารสัตว์ จึงเป็นการช่วยลดการขาดแคลนอาหารหยาบลงได้

ข้าวโพดหวานเป็นพืชล้มลุก ใบเลี้ยงเดี่ยว ปลูกฤดูเดียว จัดอยู่ในวงศ์ Gramineae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays* var. *saccharata* เป็นพืชวงศ์เดียวกันกับหญ้า ข้าวโพดหวานเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยที่ปลูกได้ตลอดทั้งปี ปลูกได้ทั่วไปทุกภาคของประเทศ เกษตรกรจะปลูกข้าวโพดหวานในฤดูฝนช่วงประมาณเดือนพฤษภาคม เก็บเกี่ยวเดือนกรกฎาคม และปลูกในเดือนสิงหาคม เก็บเกี่ยวในเดือนตุลาคม สำหรับฤดูแล้งส่วนใหญ่จะปลูกหลังนาในเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน และเก็บเกี่ยวในเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคมของทุกปี การปลูกข้าวโพดหวานในปี 2563 มีพื้นที่ปลูก 234,402 ไร่ มีแหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือ โดยมีพื้นที่ปลูก 121,591 ไร่ รองลงมาเป็นภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563)

ในการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการต่างๆ เช่น ค่าวัตถุแห้ง (dry matter, DM) โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) ไขมัน (ether extract, EE) เถ้า (ash) ผนังเซลล์ (neutral detergent fiber, NDF) ลิกโนเซลลูโลส (acid detergent fiber, ADF) ลิกนิน (acid detergent lignin, ADL) แร่ธาตุ และค่าการย่อยได้ต่างๆ ของวัตถุดิบที่นำมาผสมเป็นอาหารสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์ทั้งที่เป็นอาหารหยาบและอาหารข้นนั้น จะดำเนินการวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการโดยใช้วิธีมาตรฐานที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง แต่มีขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน อีกทั้งยังมีการใช้สารเคมีในการวิเคราะห์ ซึ่งส่งผลเสียต่อสภาพแวดล้อมและสุขภาพของผู้วิเคราะห์อีกด้วย ขณะที่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (near infrared spectroscopy, NIRS) นั้น สามารถทำนายคุณค่าทางโภชนาการในอาหารสัตว์ได้อย่างรวดเร็ว เพียง 1-2 นาที ให้ผลเที่ยงตรงและแม่นยำ วิเคราะห์ได้หลายค่าในการสแกนเพียงครั้งเดียว ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่ใช้สารเคมี เป็นการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ปลอดภัยต่อผู้ใช้งานและสภาพแวดล้อม และลดค่าใช้จ่ายได้ในระยะยาว หลักการวิเคราะห์ด้วย NIRS คือ การใช้คลื่นแสงในช่วงย่านใกล้อินฟราเรด (near infrared, NIR) คือ 800-2,500 nm ส่องเข้าไปในตัวอย่าง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับพลังงานของพันธะของโมเลกุลที่เป็นตัวดูดกลืนคลื่น NIR (NIR absorber) เกิดอิเล็กตรอนิกแทรนซิชันและการสั่นสะเทือน (vibration) จากนั้นตรวจวัดปริมาณแสงที่ตัวอย่างดูดกลืนไว้ด้วยอุปกรณ์สำหรับตรวจวัด แล้วแปลงเป็นสัญญาณเข้าสู่ส่วนประมวลผล เทคนิคนี้ต้องอาศัยการสร้างแบบจำลองด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์ (chemometrics) แบบต่างๆ เพื่อหาความสัมพันธ์ทางสถิติกับข้อมูลของตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมี หรือวิธีอื่นๆ ที่ได้ค่ามาตรฐาน ได้สมการเทียบมาตรฐาน (calibration equation) เพื่อใช้ทำนายค่าปัจจัยคุณภาพของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดได้ทั้งเชิงปริมาณ (quantitative) และเชิงคุณภาพ (qualitative) ซึ่งสมการที่ได้นี้จะต้องผ่านขั้นตอนการทวนสอบความใช้ได้ของสมการ (validation) เพื่อทดสอบความน่าเชื่อถือของสมการว่ามีความเหมาะสมหรือแม่นยำหรือไม่จึงจะนำไปใช้ทำนายค่าทางเคมีของตัวอย่างได้ การรวบรวมตัวอย่างที่เป็นตัวแทนที่ดีควรครอบคลุมค่า

องค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการทำนาย กล่าวคือ มีค่าการกระจายอย่างสม่ำเสมอตั้งแต่ระดับต่ำสุดสูงสุด ดังนั้น ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการสร้างสมการจะต้องมาจากการสุ่มเก็บอย่างที่มีความหลากหลายเพื่อให้เป็นตัวแทนของพื้นที่การผลิต ฤดูกาล และกระบวนการที่ได้มา เพื่อให้มีค่าทางเคมีที่กระจายครอบคลุมค่าของตัวอย่างนั้นๆ สำหรับนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการ และใช้ในการสแกนด้วยเครื่อง NIR Spectrometer เพื่อเก็บสเปกตรัม และนำไปใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐานต่อไป (จินทกานต์ และคณะ, 2553)

ปัจจุบันยังไม่มีสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก โดยใช้เทคนิค NIRS ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้ จึงทำการศึกษาเพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก โดยใช้เทคนิค NIRS ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว ประหยัดเวลา และลดการใช้สารเคมีในการวิเคราะห์ ซึ่งจะทำให้เกษตรกรได้รับผลวิเคราะห์ที่ทันต่อความต้องการในการนำไปใช้ในการประกอบสูตรอาหารสัตว์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลองและสร้างสมการทำนายค่าวัตถุแห้ง (dry matter; DM) โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) ไขมัน (ether extract, EE) เถ้า (ash) ผนังเซลล์ (neutral detergent fiber, NDF) ลิกโนเซลลูโลส (acid detergent fiber, ADF) และลิกนิน (acid detergent lignin, ADL) ของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก โดยใช้เทคนิค NIRS ที่กลุ่มวิจัยและพัฒนาการวิเคราะห์อาหารสัตว์ สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ และศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ลำปาง ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ 2565 ถึง มกราคม 2566

ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่ที่มีการปลูกกันมากในภาคเหนือและภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร ชลบุรี และกาญจนบุรี จำนวน 242 ตัวอย่าง โดยจะสุ่มเก็บตัวอย่างจากทั้งฤดูฝนและฤดูแล้ง เพื่อให้ได้ความหลากหลายของตัวอย่างในด้านฤดูกาล สำหรับนำมาสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมี โดยสุ่มเก็บตัวอย่างประมาณ 2 กิโลกรัม นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ให้มีขนาดประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร แล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักก่อนอบและหลังอบ แล้วนำไปบดให้มีขนาด 1 มิลลิเมตรสำหรับการวิเคราะห์ค่าความชื้น (moisture) EE ash NDF ADF และ ADL และบดให้มีขนาด 0.5 มิลลิเมตร สำหรับการวิเคราะห์ค่า CP และเก็บตัวอย่างที่บดแล้วไว้ในถุงพลาสติกแบบซิปล็อคเพื่อป้องกันความชื้น แล้วนำไปสแกนเพื่อเก็บสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIR Spectrometer และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

การวัดสเปกตรัม

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาสแกนเพื่อเก็บสเปกตรัมโดยใช้เครื่อง NIR Spectrometer ยี่ห้อ FOSS รุ่น DS2500 (Foss Analytical A/S, Denmark) ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-2,500 นาโนเมตร โดยใช้โปรแกรม ISiScan NOVA และกำหนดให้สเปกตรัมแต่ละจุดห่างกัน 0.5 นาโนเมตร สแกนตัวอย่างโดยใส่ตัวอย่างที่บดแล้วในเซลล์ใส่ตัวอย่าง (sample cell) โดยใส่ตัวอย่างให้กระจายอย่างสม่ำเสมอ ทำ 2 ซ้ำ (duplicates) การวัดแต่ละครั้งจะแสดงรายการองค์ประกอบทางเคมี จำนวน 7 รายการ ได้แก่ DM CP EE

ash NDF ADF และ ADL นำค่าแต่ละรายการที่ได้จากการวัดมาเฉลี่ยเพื่อแสดงผลออกมาเป็นเส้นสเปกตรัม 1 เส้นต่อรอบ ซึ่งค่าที่ได้เรียกว่า ค่าการดูดกลืน (absorbance)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. นำตัวอย่างต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักที่ทำการวัดสเปกตรัมแล้วไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ โดยวิธีมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (wet chemical analysis) ได้แก่ ความชื้น (moisture) ตามวิธีที่ 930.15 (AOAC, 2019) เพื่อนำไปคำนวณหาตัววัตถุแห้ง (dry matter, DM) โดย %DM = 100-moisture วิเคราะห์ CP ด้วยเครื่อง combustion ตามวิธีที่ 990.03 (AOAC, 2019) EE ตามวิธีที่ 11085 (ISO, 2015) ash ตามวิธีที่ 942.05 (AOAC, 2019) NDF ตามวิธีที่ 2002.04 (AOAC, 2019) ADF และ ADL ตามวิธีที่ 973.18 (AOAC, 2019) โดยวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ค่าที่ได้เรียกว่าค่าจริง (actual value)

2. หาค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (standard error of laboratory, SEL) ด้วยวิธี duplicate blind test เพื่อนำค่าไปประเมินสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างได้ โดยค่า SEL ต้องมากกว่าค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนาย (standard error of prediction, SEP) 2 เท่า (Sithiporn associates company, 2017) โดยใช้ตัวอย่างต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก จำนวน 10 ตัวอย่าง แบ่งแต่ละตัวอย่างออกเป็นตัวอย่างย่อยที่ 1 และตัวอย่างย่อยที่ 2 กำหนดหมายเลขตัวอย่างไม่ให้ซ้ำกัน เพื่อให้ผู้วิเคราะห์ทราบรายละเอียดของตัวอย่าง แล้วส่งวิเคราะห์เป็น 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างย่อยที่ 1 ของตัวอย่างที่ 1 - 10 และชุดที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างย่อยที่ 2 ของตัวอย่างที่ 1 - 10 แต่ละชุด วิเคราะห์ตัวอย่างละ 1 ซ้ำ จากนั้นนำผลวิเคราะห์ของแต่ละองค์ประกอบทางเคมีไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง และคำนวณหาค่า SEL โดยใช้สมการ

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

D = ผลต่างของผลวิเคราะห์ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ของแต่ละตัวอย่าง

n = จำนวนตัวอย่าง (10)

การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration equation)

1. นำข้อมูลสเปกตรัมและข้อมูลองค์ประกอบทางเคมี มาหาความสัมพันธ์กันด้วยวิธี partial least square regression (PLS) โดยใช้โปรแกรม WinISI IV แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม ที่เป็นอิสระต่อกัน คือกลุ่มที่ใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน (calibration set) ทำนายค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL และกลุ่มที่ใช้ทดสอบความใช้ได้ของสมการ (validation set) ในอัตราส่วน 80 ต่อ 20 การสร้างสมการเป็นการสร้างแบบเต็มช่วงความยาวคลื่น (full spectrum method) ด้วยวิธี PLS และ modified partial least squares (MPLS) ร่วมกับการไม่มีการปรับแต่งสเปกตรัม และมีการปรับแต่งสเปกตรัมด้วย standard normal variate (SNV) และ 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) และ (2,10,10,1) โดยใช้

ตามคำแนะนำในคู่มือการใช้โปรแกรม WinISI (Infrasoft international LLC, 2005) และจากการตรวจเอกสารงานวิจัย (Alomar et al., 2009; Woolnough and Foley, 2002) ซึ่งในการสร้างสมการเทียบมาตรฐานนี้จะทำการตัดตัวอย่างที่ผลการวิเคราะห์แตกต่างไปจากกลุ่ม (outlier) ของแต่ละองค์ประกอบทางเคมีออกไป จะได้สมการเทียบมาตรฐานของแต่ละรายการจำนวน 40 สมการ

2. ประเมินเพื่อคัดเลือกสมการที่ดีที่สุดสำหรับเครื่อง NIRS ในการทำนายค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL โดยใช้ค่าสถิติต่างๆ ดังนี้

2.1 ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) แสดงสัดส่วนของความแปรปรวนในข้อมูล X ซึ่งเป็นข้อมูลสเปกตรัม NIR ที่สามารถอธิบายความแปรปรวนในข้อมูล Y (ตัวแปรตามที่ต้องการวัด) เป็นค่าที่พิสูจน์ว่าสมการที่ได้นั้นเหมาะสมหรือไม่ มีค่าตั้งแต่ 0-1 ถ้าเข้าใกล้ 1 แสดงว่าสมการนั้นยังดี

2.2 ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการสร้างสมการ (standard error of calibration, SEC) คือค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความแตกต่างระหว่างค่าจากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ทำนายโดยเทคนิค NIRS ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าต่ำ

2.3 ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการพิสูจน์แบบไขว้ (standard error of cross validation, SECV) เป็นค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างระหว่างค่าที่ทำนายโดยเทคนิค NIRS และค่าจากการวิเคราะห์ทางเคมีของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าต่ำ

ในการพิจารณาเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุด จะพิจารณาจากสมการที่มีค่า R^2 สูง และมีค่า SEC, SECV ที่มีค่าต่ำ จากสมการเทียบมาตรฐานของแต่ละรายการจำนวน 40 สมการ คัดเลือกสมการที่ดีที่สุด 3 สมการเพื่อนำไปทวนสอบความใช้ได้ของสมการต่อไป

การทวนสอบความใช้ได้ของสมการ (validation test)

นำสมการเทียบมาตรฐานที่คัดเลือกไว้จำนวน 3 สมการ นำมาทวนสอบเพื่อวัดประสิทธิภาพของสมการว่าสามารถใช้ในการประเมินค่าได้แม่นยำมากน้อยเพียงใด โดยนำสเปกตรัมของตัวอย่างกลุ่มทวนสอบ (validation set) ที่ทราบค่าทางเคมีแล้วมาทำนายด้วยสมการเทียบมาตรฐาน แล้วประเมินความใช้ได้ของสมการโดยใช้ค่าสถิติต่างๆ ได้แก่ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนาย (standard error of prediction, SEP) ควรมีค่าน้อยกว่าสองเท่าของ SEL ($SEP < 2 SEL$) ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีมาตรฐานและค่าที่ได้จากวิธี NIRS (bias) ควรมีค่าน้อยกว่า 0.55 เท่า SEC ($bias < 0.55 SEC$) ค่า standard errors of prediction corrected for bias (SEP(C)) ควรมีค่าน้อยกว่า 1.29 SEC ($SEP(C) < 1.29 SEC$) ค่าความชัน (slope) มีค่าเข้าใกล้ 1 ($slope \sim 1$) ตามวิธีการของ Sithiporn associates company (2017) และพิจารณาระดับชั้นคุณภาพของสมการด้วยค่า RPD (ratio of prediction to deviation) ซึ่งคำนวณจากอัตราส่วนของค่า SD ของข้อมูลค่าทางเคมีของตัวอย่างในกลุ่มทดสอบสมการกับค่า SEP ($RPD = SD/SEP$) ดังแสดงใน Table 1 แล้วเลือกสมการเทียบมาตรฐานที่ดีที่สุดเพียง 1 สมการสำหรับนำไปใช้ในการทำนายองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง NIR spectrometer ต่อไป

Table 1 The RPD statistics. Forages, feeds, soils, functionality factors etc.: 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 to this type of material

RPD, ratio of the standard error of prediction to the standard deviation

ประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017

โดยนำสมการเทียบมาตรฐานที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีที่สุดมาประเมินศักยภาพด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 (รณฤทธิ์, 2560) โดยจะทำการประเมินด้วยค่าสถิติ คือ ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (bias) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนาย (standard error of prediction, SEP) และ ค่าความชัน (slope) ที่มีการคำนวณ ดังนี้

1. การตรวจสอบ bias โดยการคำนวณค่า bias confidence limit (T_b) ตามสมการ ถ้าค่า bias มีค่าน้อยกว่า T_b แสดงว่า bias หรือ ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยในการทำนายไม่นับสำคัญ

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

T_b คือ ค่า bias confidence limit

$t_{(1-\alpha/2)}$ คือ ค่า t value ของการทดสอบ 2 ทาง ด้วย degree of freedom ที่สอดคล้องกับ SEP ซึ่งมีค่าเท่ากับ n-1

SEP คือ standard error of prediction (ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายของกลุ่ม validation set)

n คือ จำนวนตัวอย่างในกลุ่ม validation set

2. การตรวจสอบค่า SEP โดยการคำนวณค่า The unexplained error confidence limit (T_{UE}) ตามสมการ หากค่า SEP น้อยกว่า T_{UE} แสดงว่าค่า SEP หรือค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบไม่นับสำคัญ

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

T_{UE} คือ The unexplained error confidence limit

SEC คือ standard error of calibration (ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการสร้างสมการของกลุ่ม calibration set)

$F_{(\alpha, v, M)}$ คือ ค่า F value

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

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

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

3. การตรวจสอบความชัน (slope) เป็นความชันของกราฟการกระจาย (scatter plots) ระหว่างค่าทางเคมีจริงที่เป็นค่าอ้างอิง (แกน y) กับค่าทำนายที่ได้จากสมการเทียบมาตรฐาน (แกน x) ซึ่งจะสอดคล้องกับสมการเส้นตรง $y = a + by$ โดยมีค่า slope b และ intercept a คำนวณได้ตามสมการ

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

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

$S_{\bar{y}y}$ คือ ค่าความแปรปรวนร่วม (covariance) ระหว่างค่าทางเคมีและค่าทำนาย

S_y^2 คือ ค่าความแปรปรวน (variance) ของค่าทำนายในกลุ่ม validation set

$\bar{y}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าอ้างอิงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

$\bar{y}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าที่ทำนายจากสมการเทียบมาตรฐาน

จากนั้นทดสอบค่า slope ที่คำนวณได้โดยใช้ t-test ดังสมการ

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

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

S_{res} คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าผลต่างระหว่างค่าทางเคมีและค่าทำนาย

y_i คือ ค่าอ้างอิงที่วิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

$\hat{y}_i$ คือ ค่าที่ทำนายได้จากสมการเทียบมาตรฐาน

n คือ จำนวนตัวอย่างในกลุ่ม validation set

T_{obs} คือ The observed value

หากค่า t_{obs} น้อยกว่า $t_{(1-\alpha/2)}$ แสดงว่าความชันของกราฟการกระจายระหว่างค่าทางเคมีจริงที่เป็นค่าอ้างอิงและค่าที่ทำนายจากสมการเทียบมาตรฐานไม่แตกต่างจาก 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P > 0.05$)

ผลการทดลองและวิจารณ์

องค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก

ตัวอย่างต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่ที่มีการปลูกกันมากในภาคเหนือและภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร ชลบุรีและกาญจนบุรี รวมทั้งสิ้นจำนวน 242 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวโพดหวานที่เกษตรกรนิยมปลูก ได้แก่ พันธุ์แปซิฟิกไฮบริด 59 พันธุ์ชูการ์สตาร์พลัส และ พันธุ์ Honey king โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากทั้งฤดูฝนและฤดูแล้ง เพื่อให้ได้ความหลากหลายของตัวอย่างในด้านฤดูกาล สำหรับนำมาสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมี

เมื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ตามวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL พบว่า มีค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด เท่ากับ 87.15-94.35 3.17-3.17 0.35-3.25 4.96-12.20 49.87-74.94 24.62-47.66 และ 1.93-5.82 % ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 91.33 11.82 0.85 7.04 65.22 36.42 และ 4.13 % ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 2 โดยพบว่า CP ash NDF และ ADL มีค่าใกล้เคียงกับที่รายงานไว้โดย เฉลี่ยและคณะ (2553) คือมีค่าเท่ากับ 9.40 8.30 60.0 และ 4.60 % เมื่อทดสอบเพื่อหาค่า SEL ของการวิเคราะห์ค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.23 0.46 0.08 0.06 0.22 0.25 0.20 ตามลำดับ ค่า SEL ที่ได้มีค่าต่ำ แสดงว่าค่าความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีค่าความคลาดเคลื่อนน้อย ซึ่งค่า SEL ที่มีค่าต่ำ จะทำให้เพิ่มความแม่นยำได้ที่จะประสบความสำเร็จในการสร้างสมการเทียบมาตรฐาน (Nie et al., 2009)

การสร้างสมการเทียบมาตรฐาน

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก ใช้ความยาวคลื่นในช่วง 1,100-2,500 นาโนเมตร จะได้ข้อมูลเชิงแสง (optical data) ในรูปของสเปกตรัมของแต่ละตัวอย่าง จากนั้นนำข้อมูลเชิงแสงและค่าการวิเคราะห์ทางเคมีมาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม WinISI IV โดยสร้างแบบจำลองด้วยวิธีการทางเคโมเมตริกแบบต่างๆ เรียงลำดับข้อมูล แบ่งข้อมูลออกเป็น 2 กลุ่ม คือ calibration set และ validation set โดยใช้สัดส่วนการเลือกตัวอย่างแบบเว้นช่วงตัวอย่างตามที่กำหนด คือกำหนดตำแหน่งเริ่มต้นและจำนวนตัวอย่างที่ต้องการเว้นช่วงเพื่อแบ่งกลุ่ม ซึ่งใช้แบบเว้นช่วง 3,5 สำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐานค่า DM CP ash ADF และ ADL และใช้แบบเว้นช่วง 1,5 สำหรับสร้างสมการเทียบมาตรฐานค่า NDF และ EE เมื่อนำข้อมูล calibration set มาทำสมการเทียบมาตรฐานโดยใช้หลักการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis, PCA) และใช้หลักการคำนวณระยะทางมาฮาลานอบิส (mahalanobis distance) เพื่อตัดตัวอย่างที่มีค่าอยู่นอกกลุ่ม (outlier) ออก ซึ่งค่าที่ผิดปกตินี้อาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น ค่าวิเคราะห์ที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี ความผิดปกติของสเปกตรัม เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง ขนาดของอนุภาค รูปร่างและลักษณะทางกายภาพของตัวอย่าง อุณหภูมิของตัวอย่าง (Williams and Norris, 2004) ดังนั้น ทำให้เหลือกลุ่มตัวอย่างสำหรับ calibration set ของค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL จำนวน 165 173 171 178 171 173 และ 185 ตัวอย่าง ตามลำดับ มีค่าองค์ประกอบทางเคมี อยู่ในช่วงค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด เท่ากับ 86.38-96.50 4.46-19.60 0.43-1.73 3.66 10.32 54.88-76.40 27.50-45.91 และ 2.12-6.23 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และ validation set มีจำนวนตัวอย่าง 37 38 37 38 39 38 และ 38 ตัวอย่าง ตามลำดับ และมีค่าองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในช่วงค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด เท่ากับ 88.09-93.54 5.64-16.66 0.51-2.01 4.96-10.43 54.06-72.97 29.74-43.28 และ 2.17-5.41 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 2 ซึ่งปานมนัส (2564) กล่าวว่าควรให้ค่าน้อยสุดและมากที่สุดของ validation set อยู่ใน calibration set เนื่องจากสมการทำนายต้องครอบคลุมช่วงของข้อมูลทั้งหมด แต่จากการทดลองนี้พบว่าค่าต่ำสุดของ validation set ค่า DM และ NDF มีค่าน้อยกว่าค่าต่ำสุดของ calibration set ส่วนค่าสูงสุดของ validation set ค่า EE และ ash มีค่ามากกว่าค่าสูงสุดของ calibration set ซึ่งจากผลการทวนสอบความใช้ได้ของสมการให้ค่า R^2 เข้าใกล้ 1 แสดงว่าสมการดังกล่าวสามารถใช้ทำนายองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างที่มีค่าเกินค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุดของตัวอย่างที่ใช้สร้างสมการได้ (จันทกานต์ และคณะ, 2553)

Table 2 Descriptive statistic for constituents of sweet corn stover used for the development of NIRS calibration and validation model.

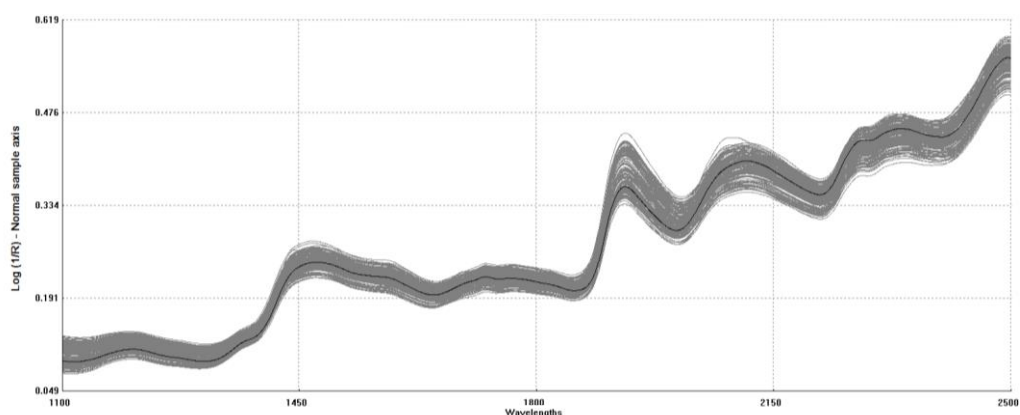
Constituent	Description	n	Min	Max	Mean	±SD	SEL
DM, %	Total sample	242	87.15	94.35	91.38	1.70	0.23
	Sample of calibration set	165	86.38	96.50	91.44	1.69	
	Sample of validation set	37	88.09	93.54	91.49	1.70	
CP, %	Total sample	232	3.17	17.37	11.82	2.54	0.46
	Sample of calibration set	173	4.46	19.60	12.03	2.52	
	Sample of validation set	38	5.64	16.66	11.96	2.75	
EE, %	Total sample	242	0.35	3.25	0.85	0.33	0.08
	Sample of calibration set	171	0.43	1.73	0.84	0.29	
	Sample of validation set	37	0.51	2.01	0.84	0.30	
Ash, %	Total sample	242	4.96	12.20	7.04	1.19	0.06
	Sample of calibration set	178	3.66	10.32	6.99	1.11	
	Sample of validation set	38	4.96	10.43	7.10	1.25	
NDF, %	Total sample	242	49.87	74.94	65.22	4.33	0.22
	Sample of calibration set	171	54.88	76.40	65.64	3.59	
	Sample of validation set	39	54.60	72.97	65.39	3.98	
ADF, %	Total sample	242	24.62	47.66	36.42	3.68	0.25
	Sample of calibration set	173	27.50	45.91	36.71	3.07	
	Sample of validation set	38	29.74	43.28	36.68	3.18	
ADL, %	Total sample	242	1.93	5.82	4.13	0.70	0.20
	Sample of calibration set	185	2.12	6.23	4.18	0.68	
	Sample of validation set	38	2.17	5.41	4.09	0.70	

n, number of sample; Min, minimum; Max, maximum; SD, standard deviation; SEL, standard error of laboratory

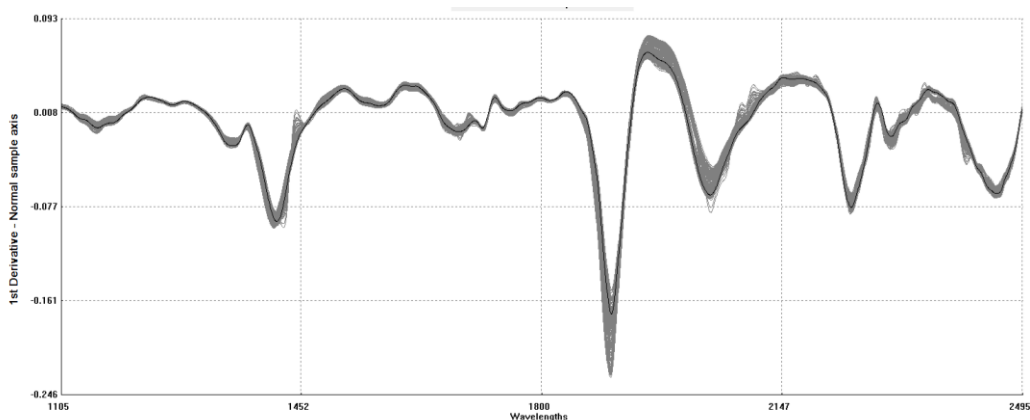
เมื่อนำชุดข้อมูล calibration set มาสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ทางสถิติแบบถดถอย (regression) แบบ PLS และ MPLS สร้างแบบเต็มช่วงความยาวคลื่น ทั้งแบบไม่ปรับแต่ง และปรับแต่งสเปกตรัม เพื่อให้ได้สมการที่ดีที่สุดขององค์ประกอบทางเคมีแต่ละค่า ซึ่งแต่ละองค์ประกอบทางเคมีทำการสร้างสมการจำนวน 40 สมการ แล้วเลือกสมการที่มีประสิทธิภาพในการทำนายที่ดีที่สุดมา 1 สมการ ซึ่งในการพิจารณาตัดสินใจเลือกสมการที่มีประสิทธิภาพในการทำนายจะพิจารณาจากสมการที่มีค่า R^2 และ 1-VR สูง มีค่า SEC และ SECV ที่มีค่าต่ำ (Guo et al.,

2021) แล้วนำสมการที่ได้ไปใช้ทำนายข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักของตัวอย่างใน validation set

Figure 1(a) เป็นสเปกตรัมของตัวอย่างต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักที่ยังไม่มีการปรับแต่ง ลักษณะสเปกตรัมที่ได้มีพีก (peak) กว้าง และมีการกระจายตัวของสเปกตรัม มีจุดยอดพีกที่เหลื่อมซ้อนกัน เนื่องจากความแตกต่างของอนุภาคตัวอย่าง รวมทั้งระดับเยื่อใยชนิดต่างๆ ส่งผลให้การกระเจิงแสงแตกต่างกัน ทั้งนี้เมื่อทำการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ โดยการใช้วิธี SNV และ detrend ร่วมกับการใช้ 1st derivative และ 2nd derivative ของสเปกตรัมที่อยู่ในรูปของ derivative, gap, smoothing, second smoothing ดัง Figure 1(b) และ 1(c) ตามลำดับ การใช้ 1st derivative สามารถช่วยแก้ปัญหาที่สเปกตรัมมีค่าเพิ่มขึ้นคงที่ตลอดช่วงความยาวคลื่น (การเลื่อนตัวของสเปกตรัมตามแกน Y) และการใช้ 2nd derivative สามารถช่วยลดสัญญาณรบกวน ลดการกระเจิงของแสงและลดความโค้งของแต่ละสเปกตรัม ทำให้สามารถแยกจุดยอดที่เหลื่อมซ้อนกันในสเปกตรัมออกจากกันได้ชัดเจน (อนุพันธ์, 2548) ซึ่งจะเห็นว่าการปรับแต่งสเปกตรัมด้วยเทคนิคข้างต้นจะช่วยขยายสัญญาณให้ชัดเจนมากขึ้นและลดความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้นจากการกระเจิงแสงของตัวอย่าง (Kasemsumran et al., 2004)



(a) original spectra



(b) 1st derivative spectra

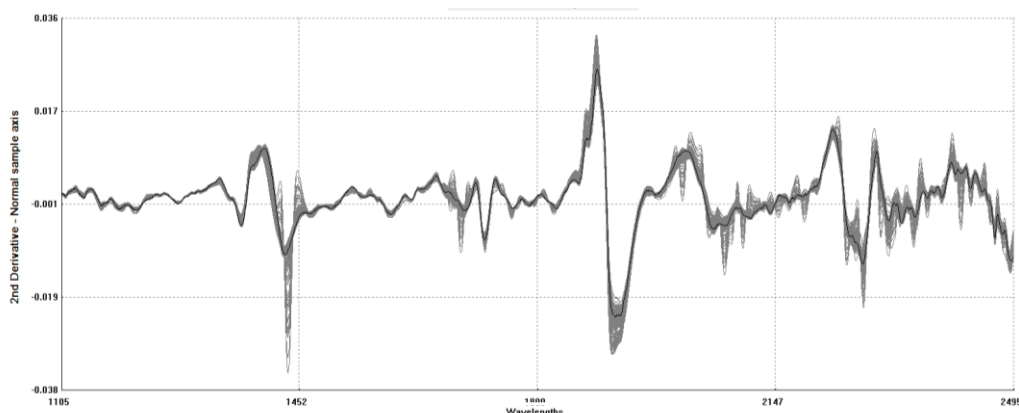
(c) 2nd derivative spectra

Figure 1 NIRS spectra of sweet corn stover: (a) original spectra (b) 1st derivative spectra (c) 2nd derivative spectra

เมื่อพิจารณาข้อมูลของการสร้างสมการเทียบมาตรฐานทำนายองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก ใน Table 3 พบว่า ค่า DM สมการที่ดีที่สุดเมื่อใช้ MPLS SNV+detrend ร่วมกับ math treatment 1,10,10,1 ค่า CP และ ash สมการที่ดีที่สุดเมื่อใช้ MPLS SNV+detrend ร่วมกับ math treatment 2,10,10,1 ค่า EE และ ADF สมการที่ดีที่สุดเมื่อใช้ SNV+detrend ร่วมกับ math treatment 1,5,5,1 และ 2,8,4,1 ตามลำดับ ค่า NDF สมการที่ดีที่สุดเมื่อใช้ PLS ร่วมกับ math treatment 1,4,4,1 โดยไม่ปรับแต่งสมการ ซึ่งสอดคล้องกับ Guo et al. (2021) ที่ศึกษาในต้นข้าวโพดและต้นข้าวสาลี พบว่าค่า NDF ของสมการรวมได้สมการที่ดีที่สุดเมื่อใช้ PLS ร่วมกับ math treatment 1,4,4,1 โดยไม่ปรับแต่งสมการ สมการค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL ที่เหมาะสมที่สุดที่คัดเลือกมีค่า R^2 เท่ากับ 0.98 0.98 0.88 0.98 0.97 0.98 และ 0.95 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 และใกล้เคียงกับ Guo et al. (2021) ที่ศึกษาในต้นข้าวโพดพบว่า DM CP ได้ค่า R^2 0.87 และ 0.96 ตามลำดับ มีค่า SEC 0.23 0.35 0.10 0.17 0.63 0.39 และ 0.15 ตามลำดับ มีค่า SECV ต่ำ คือมีค่า 0.13 – 0.75 ซึ่งค่า SEC SECV และ SEL มีค่าใกล้เคียงกัน

Table 3 Statistical result of calibration equation of sweet corn stover.

Constituent	n	Spectrum		Mathematical	PLS	R^2	SEC	SECV
		treatment		treatment	factors			
DM, %	165	MPLS	SNV+detrend	1,10,10,1	10	0.98	0.23	0.29
CP, %	173	MPLS	SNV+detrend	2,10,10,1	11	0.98	0.35	0.66
EE, %	171	PLS	SNV+detrend	1,5,5,1	11	0.88	0.10	0.13
Ash, %	178	MPLS	SNV+detrend	2,10,10,1	11	0.98	0.17	0.29
NDF, %	171	PLS	none	1,4,4,1	11	0.97	0.63	0.75
ADF, %	173	MPLS	SNV+detrend	2,8,4,1	7	0.98	0.39	0.50
ADL, %	185	MPLS	none	2,8,8,1	8	0.95	0.15	0.20

n, number of sample; R^2 , coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross validation; 1-VR, coefficient of determination for the cross-validation

Figure 2(a) - 2(g) เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการขององค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ได้แก่ ค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL ของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก พบว่าข้อมูลส่วนใหญ่ของแต่ละองค์ประกอบทางเคมีกระจายอยู่รอบเส้นทะแยงมุม ซึ่งเป็นเส้นที่บ่งบอกว่าค่าที่ได้จากการทำนายเทียบกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีมีค่าเท่ากัน จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าค่าที่ทำนายได้จากสมการมีค่าใกล้เคียงกับจริง

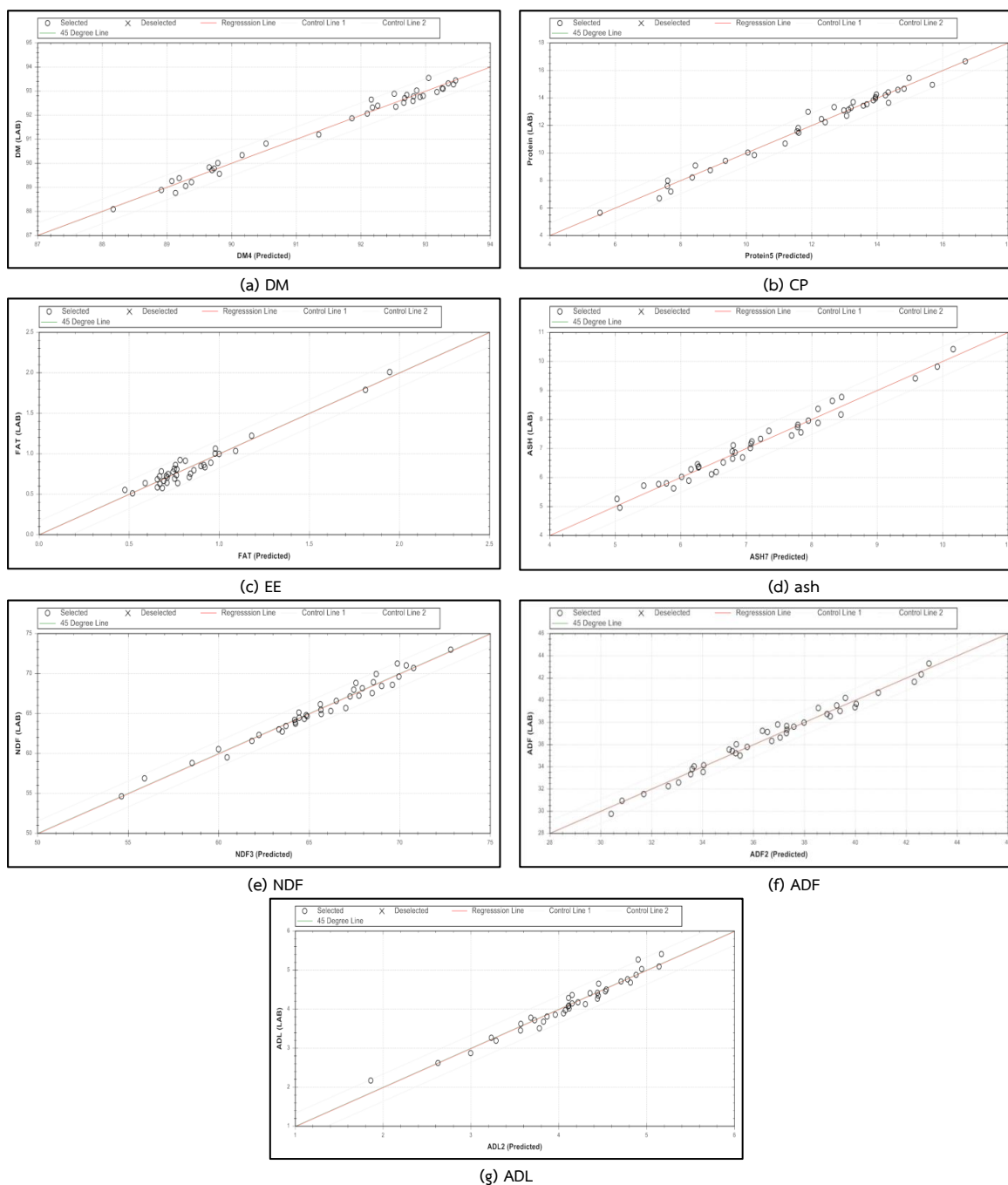


Figure 2 Relationship between actual and predicted of chemical composition of sweet corn stover.

การทวนสอบความใช้ได้ของสมการ

เมื่อทำการทวนสอบความใช้ได้ของสมการ ซึ่งจะพิจารณาค่าสถิติที่ใช้ในการประเมินสมการทำนาย โดยสมการที่เหมาะสมควรมีค่า $SEP < 2 SEL$, $bias < 0.55 SEC$, $SEP(C) < 1.29 SEC$ และ $slope \sim 1$ (Sithiporn associates company, 2017) จากการทดลองนี้ดังแสดงใน Table 4 พบว่าค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL มีค่า R^2 เท่ากับ 0.99 0.98 0.95 0.97 0.97 0.98 และ 0.96 ตามลำดับ มีค่า SEP เท่ากับ 0.21 0.37 0.07 0.20 0.65 0.44 และ 0.14% ตามลำดับ มีค่า bias เท่ากับ 0 -0.01 -0.01 0 -0.07 -0.02 และ -0.01% ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาความใช้ได้ของสมการจากค่า RPD พบว่า สมการทำนายค่า DM มีค่า RPD สูงที่สุดเท่ากับ 8.24 รองลงมาได้แก่ CP ADF NDF ash ADL และ EE มีค่า RPD เท่ากับ 7.38 7.25 6.16 6.12 5.05 และ 4.33 ตามลำดับ ซึ่งทุกองค์ประกอบทางเคมีเป็นสมการที่อยู่ในชั้นคุณภาพยอดเยี่ยม (excellent) สามารถใช้ทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักได้ทุกองค์ประกอบ ซึ่งสอดคล้องกับ Malley et al. (2005) รายงานไว้ว่าสมการที่จัดอยู่ในชั้นคุณภาพยอดเยี่ยม มีค่า $R^2 > 0.95$ และมีค่า $RPD > 4$ ขึ้นไป และสอดคล้องกับ Williams (2014) รายงานไว้ว่าสมการที่มีค่า $RPD 4.1+$ ขึ้นไป เป็นสมการที่อยู่ในชั้นคุณภาพยอดเยี่ยม สามารถนำไปใช้ทำนายได้กับทุกการประยุกต์ใช้ (any application)

Table 4 Statistical result of validation equation of sweet corn stover.

Constituent	n	R^2	SEP	SEP(C)	Bias	Slope	RPD
DM, %	37	0.99	0.21	0.21	0.00	1.00	8.24
CP, %	38	0.98	0.37	0.38	-0.01	1.00	7.38
EE, %	37	0.95	0.07	0.07	-0.01	1.00	4.33
Ash, %	38	0.97	0.20	0.21	0.00	1.00	6.12
NDF, %	39	0.97	0.65	0.65	-0.07	1.00	6.16
ADF, %	38	0.98	0.44	0.45	-0.02	1.00	7.25
ADL, %	38	0.96	0.14	0.14	-0.01	1.00	5.05

n, number of sample; R^2 , coefficient of determination; SEP, standard error of prediction; SEP(C), standard error of prediction for the bias; RPD, ratio of prediction to deviation

ประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017

นำสมการเทียบมาตรฐานที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีที่สุดมาประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 (รณฤทธิ์, 2560) ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้เทคนิค NIRS ในการหาปริมาณองค์ประกอบต่างๆ ในตัวอย่าง โดยจะทำการประเมินค่าทางสถิติ คือ ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (bias) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนาย (standard error of prediction, SEP) และค่าความชัน (slope) ดังแสดงใน Table 5 พบว่าทุกองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝัก มีค่า bias หรือค่าความคลาดเคลื่อนของทุกตัวอย่างน้อยกว่าค่า T_b ซึ่งแสดงว่าค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยในการทำนายไม่นับสำคัญ กล่าวคือ ค่าจากการวิเคราะห์ทางเคมีและค่าที่ได้จาก

การทำนายไม่แตกต่างกัน มีค่า SEP หรือค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนาย มีค่าน้อยกว่าค่า T_{UE} กล่าวคือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในการทำนายมีค่าต่ำเพียงพอที่จะยอมรับได้ 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 5 Statistics performance measurement of developed calibration equation for chemical composition according to ISO 12099:2017

Items	Bias			SEP			Slope		
	Calculated	Criterion	Result	Calculated	Criterion	Result	Calculated	Criterion	Result
	value	($\pm T_b$)		value	(T_{UE})		Value (t_{obs})	($t_{(1-\alpha/2)}$)	
DM, %	0.00	0.07	Pass	0.21	0.28	Pass	-0.06	2.03	Pass
CP, %	-0.01	0.12	Pass	0.37	0.43	Pass	-0.02	2.03	Pass
EE, %	0.00	0.02	Pass	0.07	0.12	Pass	0.02	2.03	Pass
Ash, %	0.00	0.07	Pass	0.20	0.21	Pass	0.01	2.03	Pass
NDF, %	-0.07	0.21	Pass	0.65	0.77	Pass	0.00	2.02	Pass
ADF, %	-0.01	0.14	Pass	0.44	0.47	Pass	0.01	2.03	Pass
ADL, %	-0.01	0.05	Pass	0.14	0.19	Pass	0.03	2.03	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

การสร้างสมการทำนายองค์ประกอบทางเคมีของต้นข้าวโพดหวานหลังเก็บฝักโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี โดยใช้ความยาวคลื่นที่ 1,100-2,500 นาโนเมตร สรุปได้ดังนี้

1. สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างขึ้นสามารถนำไปใช้ทำนายค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ
2. เทคนิค NIRS สามารถใช้ทำนายค่า DM CP EE ash NDF ADF และ ADL ได้ทุกองค์ประกอบสมการที่ได้อยู่ในชั้นคุณภาพยอดเยี่ยม (excellent)
3. เมื่อประเมินศักยภาพของสมการเทียบมาตรฐานด้วยมาตรฐาน ISO 12099:2017 พบว่า ค่า bias SEP และ slope ผ่านมาตรฐานดังกล่าว ค่าที่ได้จากการทำนายกับค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P>0.05$)

ข้อเสนอแนะ

เทคนิค NIRS เป็นเทคนิคที่วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ และลดการใช้สารเคมีลงได้ สามารถนำสมการที่ได้ไปใช้ทำนายค่าของตัวอย่างแทนการวิเคราะห์ทางเคมีได้ และสามารถใช้เป็นข้อเสนอแนะให้ห้องปฏิบัติการหน่วยงานอื่นสามารถนำไปใช้บริการวิเคราะห์ตัวอย่างได้ พร้อมทั้งควรมีการพัฒนาสมการอย่างต่อเนื่องโดยเก็บข้อมูลเพิ่มเติมจากสถานที่หรือภูมิภาคที่ต่างกัน ฤดูกาลที่ต่างกัน เพื่อให้ได้ค่าครอบคลุมค่าสูงสุด-ต่ำสุด เพื่อเป็นการปรับสมการให้เป็นปัจจุบันเพื่อจะใช้งานายได้ครอบคลุมกว้างขึ้น เพิ่มความแม่นยำและความเที่ยงมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) หรือ สวก. คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาวจันทกานต์ อรณนันท ผู้เชี่ยวชาญด้านวิเคราะห์อาหารสัตว์ ที่กรุณาตรวจสอบและแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ กลุ่มวิจัยและพัฒนาการวิเคราะห์อาหารสัตว์ และศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ลำปางทุกท่าน ที่ช่วยวิเคราะห์ตัวอย่างในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- จันทกานต์ อรณนันท เฉลา พัทธสินสุข และ สุรนนท์ น้อยอุทัย. 2553. การทำนายส่วนประกอบทางเคมีของหญ้าแพงโกเล่ด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. น. 309-327. ใน รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์ ประจำปี พ.ศ. 2553 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- เฉลา พัทธสินสุข จริญญา บุญจรัส และ จีรพัฒน์ วงศ์พิพัฒน์. 2553. การรวบรวมและจัดทำข้อมูลด้านคุณค่าทางโภชนาของพืชอาหารสัตว์. น. 1-78. ใน รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์ ประจำปี พ.ศ. 2553 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- ปานมนัส ศิริสมบุญ. 2564. พื้นฐานเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. ภาควิชาวิศวกรรมศาสตร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. แหล่งที่มา: <https://www.nirsresearch.com>, วันที่ 9 ตุลาคม 2564.
- รณฤทธิ์ ฤทธิธ. 2560. การสร้างระบบสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ตามมาตรฐานสากล. ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563. ข้อมูลเศรษฐกิจการเกษตร. พื้นที่เพาะปลูก ผลผลิตและผลผลิตต่อไร่ แหล่งที่มา <https://www.oae.go.th>, วันที่ 9 ตุลาคม 2564.
- อนุพันธ์ เทิดวงศวรกุล. 2548. การปรับแต่ง NIR Spectra ก่อนการวิเคราะห์. หน้า 62 – 81. ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรม การตรวจคุณภาพอาหารสัตว์ด้วยเทคนิค NIR Spectroscopy เพื่อการแข่งขันในเวทีการค้าโลก วันที่ 19-23 ธันวาคม 2548. หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีการตรวจสอบสินค้าโดยไม่ทำลาย สถาบันคั้นควาและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- Alomar, D., R. Fuchslocher, J. Cuevas, R. Mardones and E. Cuevas. 2009. Prediction of the composition of fresh pastures by infrared reflectance or interactance reflectance spectroscopy. *Chilean J. of Agric Research*. 69(2): 198 – 206.
- AOAC. 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International 21st ed. Maryland.
- Guo, T., L. Dai, B. Yan, G. Lan, F. Li, F. Li, F. Pan and F. Wang. 2021. Measurements of Chemical Compositions in Corn Stover and Wheat Straw by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. Available source: <https://doi.org/10.3390/ani11113328>, January 21, 2022.
- Infrasoft International LLC. 2005. WinISI III Manual.FOSSTecator AB. Sweden. 192p.
- 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.
- 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.
- Malley, D.F., C. McClure, P.D. Martin, K. Buckley and W.P. McCaughey. 2005. Compositional analysis of cattle manure during composting using a field-portable near-infrared spectrometer. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* 36, 455-475.
- Nie, Z., G.F. Tremblay, G. Belanger, R. Berthiaume, Y. Castonguay, A. Bertrand, R. Michaud, G. Allard and J. Han. 2009. Near-infrared reflectance spectroscopy prediction of neutral detergent-soluble carbohydrates in timothy and alfalfa. *J. Dairy Sci.* 92:1702-1711.
- Sithiporn Associates Company. 2017. WinISI 4, Training Manual. 80 p.
- Williams, P.C. and K. Norris. 2004. Variables Affecting Near-Infrared Spectroscopic Analysis, pp. 171-185. In P. Williams and K. Norris, ed. *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota.
- Williams, P. 2014. The RPD statistic: a tutorial note. *NIR News*, 25(1):5- February 2014. Available source: <https://www.deepdyve.com/lp/sage/the-rpd-statistic-a-tutorial-note-0ryN4Klv70?key=sage>. January 20, 2023.
- Woolnough, A.P. and W.J. Foley. 2002. Rapid evaluation of pasture quality for a critically endangered mammal, the northern hairy-nosed wombat (*Lasiorhinus krefftii*). *Jour. Wildlife Research*, 29: 91-100.