การทำนายส่วนประกอบทางเคมีและการย่อยได้ของหญ้าเนเปียร์ปากช่องโดย เนียร์อินฟราเรดรีเฟลกแตนซ์สเปกโทรสโกปี (NIRS)

ภัทรภร ทัศพงษ์* เปรมกมล ทองดอนเสียง และกาญจนา โพธิ์เนียม

Prediction of Chemical Composition and *in vitro* Digestibility of Napier Phakchong Grass by Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS)

Pattaraporn Tatsapong*, Premkamol Thongdonsieng and Kanchana Ponium

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก 65000

Department of Agricultural science, Faculty of Agriculture, Natural Resource and Environment, Naresuan University, Phitsanulok, 65000

*Corresponding author. E-mail address: puana57@hotmail.com

Received: 2 March 2016; Accepted: 12 July 2016

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพและความเป็นได้ของการใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดรีแฟลกแตนซ์สเปกโทรสโกปีในการทำนายค่าองค์ประกอบทางเคมีและการย่อยได้ด้วยวิธีการผลิตแก๊สของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง โดยใช้ตัวอย่างหญ้าเนเปียร์ปากช่องที่เก็บจากสถานที่ต่างๆ จำนวน 112 ตัวอย่าง นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง เถ้า โปรตีนหยาบ และอินทรียวัตถุเพื่อไว้เป็นข้อมูลอ้างอิง และทำการหาการย่อยได้ด้วยวิธีการผลิตแก๊ส นำตัวอย่างไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) ที่ช่วงความยาวคลื่น 800 ถึง 2,500 นาโนเมตร นำสเปกตรัมมาสร้างสมการและใช้ในการทดสอบสมการ โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลและสร้างสมการด้วยวิธี modified partial least squares (MPLS) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป OPUS การทำนายค่าองค์ประกอบทางเคมี โดยเฉพาะวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ เถ้า อินทรียวัตถุ การผลิตจุลินทรีย์โปรตีน และการย่อยได้ของวัตถุแห้งของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง พบว่า NIRS สามารถทำนายได้อย่างแม่นยำ มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจสูง (R^2>0.83) และความผิดพลาดมาตรฐานในการทำนายต่ำ ส่วนการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (OMD) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ การผลิตกรดไขมันสายสั้น และจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สสามารถทำนายได้แม่นยำปานกลาง (R^2 =0.62- 0.76) สรุปได้ว่า NIRS สามารถทำนายค่าส่วนประกอบทางเคมี และคุณค่าทางโภชนะ (การย่อยได้ของวัตถุแห้ง และการผลิตจุลินทรีย์โปรตีน) ของหญ้าเนเปียร์ปากช่องได้อย่างแม่นยำและสามารถนำใช้ในการวิจัยด้านโภชนะศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้องได้

คำสำคัญ: หญ้าเนเปียร์, การย่อยได้สิ่งแห้ง, การผลิตแก๊ส, NIRS

Abstract

The objective of this study was to evaluate the potential of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict chemical components and *in vitro* gas production parameters of Napier Phakchong grass. A total 112 grass samples harvested from different locations were analyzed to determine their chemical composition such as dry matter (DM), ash, crude protein (CP), organic matter (OM) as reference data. All samples were incubated *in vitro* in buffered rumen fluid to determine fermentation kinetics and nutrient digestibility using a gas production method and scanned using NIRS in the wavelength 800 to 2500 nm; spectra were retained with NIRS calibration and cross-validation. Predictive equations were developed using modified partial least squares (MPLS) in OPUS program. The chemical composition (DM, CP, ash and OM), microbial crude protein production (MCP) and dry matter digestibility (DMD) of Napier Phakchong grass were predicted by NIRS with a good degrees (R^2>0.83) of accuracy with low standard errors of cross validation. *In vitro* digestible organic matter (OMD), metabolizable energy (ME), short chain fatty acids (SCFA) and gas production kinetics were moderately (R^2 = 0.62-0.76) predicted by NIRS. It was concluded that NIR spectroscopy can be used to accurately predict chemical composition and nutritive value (DMD and MCP) of Napier Phakchong grass and application including ruminant nutrition research.

Keywords: Napier grass, dry matter digestibility, gas production, NIRS

บทนำ

การเจริญเติบและการสร้างผลผลิตของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ไม่ว่าจะเป็นการผลิตเนื้อหรือผลิตน้ำนมนั้นสัตว์จะต้องได้รับโภชนะตามความต้องการและเพียงพอต่อการสร้างผลผลิต ซึ่งสัตว์จะต้องไดรับอาหารคุณภาพดีและอย่างเต็มที่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณภาพหรือคุณค่าทางโภชนะของพืชอาหารสัตว์ด้วย โดยการประเมินคุณภาพและคุณค่าทางโภชนะของพืชอาหารสัตว์จึงมีความจำเป็นเพื่อนำไปใช้ในการประเมินความต้องการโภชนะของสัตว์ได้ การประเมินคุณภาพพืชอาหารสัตว์มีการประเมินได้จากองค์ประกอบทางเคมีและการย่อยได้หรือพลังงานใช้ประโยชน์ได้ มีทั้งศึกษาในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และศึกษาในตัวสัตว์ (*in vivo*) อย่างไรก็ตาม การศึกษาทั้งสองวิธีดังกล่าวนั้นมีวิธีการที่ยุ่งยาก สลับซับซ้อน จำเป็นต้องใช้สัตว์ทดลอง และผู้ที่มีความเชี่ยวชาญใช้สารเคมี ใช้เครื่องมือและอุปรณ์ที่จำเพาะ ใช้เวลานาน และมีค่าใช้จ่ายสูง (Starks, Coleman, & Phillips, 2004; Park, Agnew, Gordon, & Steen, 1998) เนียร์อินฟราเรดสเปคโตรสโกปี (Near-infrared Reflectance Spectroscopy: NIRS) เป็นเทคนิคที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ทั้งด้านคุณภาพและปริมาณ โดยใช้หลักการวัดและวิเคราะห์รังสีอินฟราเรด (800-2,500 นาโนเมตร) ที่สารประกอบอินทรีย์และมีพันธะ-CH; -N-H; -O-H และ -C=O ภายในโมเลกุลสะท้อน (reflect) ออกมา ซึ่งมีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งอุตสาหกรรม และการเกษตร เนื่องจาก NIRS สามารถประเมินค่าได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ประหยัดเวลา ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่ใช้สารเคมี ไม่ทำลายสภาพแวดล้อม และสามารถลดค่าใช้จ่ายได้ในระยะยาว ด้านอาหารสัตว์ได้มีการใช้ NIRS ทำนายองค์ประกอบทางเคมีและการย่อยได้ของอาหารสัตว์ (Mentink, Hoffman, & Bauman, 2006; Xiccato et al., 2003) การทำนายองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าสด (Alomar, Fuchslocher, Cuevas, Madrones, & Cuevas, 2009) การย่อยได้ในพืชอาหารสัตว์ การย่อยได้วิธีการผลิตแก๊ส (Andres et al., 2005) การย่อยสลายได้ในกระเพาะหมัก (in situ rumen degradability) ของต้นข้าวสาลี (Adesogan, Owen, & Givens, 1998) การย่อยได้ของหญ้า kikuyu (Herrero, Jessop, Fawcett, Murray, & Dent, 1997) และในข้าวโพดหมัก (Cozzolino, Fassio, Fernandez, Restaino, & Manna, 2006) ในขณะที่ Decruyenaere et al. (2009) ทำนายการกินได้และย่อยได้ (in vivo digestibility) ของสัตว์ที่ปล่อยแทะเล็มในแปลง อย่างไรก็ตาม ข้อมูลการวิเคราะห์การย่อยได้ของอาหารและพืชอาหารสัตว์ด้วย NIRS ยังจำกัดอยู่มาก เนื่องจากเป็นการยากในการที่จะนำพืชอาหารสัตว์ปริมาณมาก มาใช้ในการศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในตัวสัตว์ (Park et al., 1998) และการย่อยได้ แบบ gas production method (Andres et al., 2005) โดยปกติแล้วการศึกษาการย่อยได้ในตัวสัตว์ และการใช้สัตว์ในการทดลองมักจะมีข้อผิดพลาดมาก ซึ่งอาจจะเกิดร่วมกันหลายขั้นตอน เช่น ความแปรปรวนของสัตว์เองร่วมกับการผิดพลาดขณะวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการสร้างสมการ NIRS จากผลของ NIRS ที่ได้จากตัวอย่างจำนวนมากและอาศัยผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธีมาตรฐานมาสร้างสมการ ยังต้องการข้อมูลอีกมากจากการรวบรวมผลวิเคราะห์ทางเคมีเกี่ยวกับการวัดคุณค่าทางโภชนะศึกษาในตัวสัตว์ หรือใช้สัตว์ทดลอง ดังนั้น การทดลองนี้จึงศึกษาการใช้ NIRS สำหรับใช้ทำนายองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง แล้วนำใช้ประโยชน์ในการตรวจสอบหรือคัดกรองหญ้าเนเปียร์ที่มีคุณภาพที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ และเพื่อสร้างสมการไว้นำใช้ทำนายได้อย่างรวดเร็วในอนาคตต่อไป

วิธีการศึกษาและวัสดุอุปกรณ์

สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าเนเปียร์ปากช่อง (*Pennisetum purpureum x P. americanum*) จากหลากหลายสถานที่และมีอายุการตัดที่แตกต่างกัน ดังนี้ สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าเนเปียร์ปากช่องจากแปลงวิจัยของศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์เพชรบูรณ์ จำนวน 42 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บหญ้าที่อายุ ต่ำกว่า 30 วัน อายุ 30 45 60 90 120 และอายุสูงกว่า 120 วัน อย่างละ 6 ตัวอย่าง สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าจากแปลงเกษตรกรอำเภอเมืองจังหวัดเพรชบูรณ์จำนวน 10 ตัวอย่าง และที่จังหวัดพิษณุโลก สุ่มเก็บต้อย่างหญ้าที่แปลงเกษตรกรอำเภอวัดโบสถ์ จำนวน 2 แปลง ๆละ 10 ตัวอย่าง แปลงเกษตรกรอำเภอบางระกำ จำนวน 10 ตัวอย่าง และแปลงพืช

อาหารสัตว์ที่คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จำนวน 2 แปลง ๆละ 15 ตัวอย่าง รวมตัวอย่างในการทดลองนี้ทั้งหมด 112 ตัวอย่าง นำตัวอย่างหญ้ามาสับย่อยให้มีขนาดเล็ก 3-5 เซ็นติเมตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมงหรือจนกว่าจะแห้ง บันทึกน้ำหนักคำนวณหาน้ำหนักแห้งสภาพปกติ (air dry) นำตัวอย่างหลังอบแห้งแล้วไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Proximate analysis เพื่อวิเคราะห์หาวัตถุแห้ง (dry matter, DM) โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) เถ้า (ash) ตามวิธีของ AOAC (1991) และหาอินทรียวัตถุ (organic matter, OM) โดยการนำวัตถุแห้งลบด้วยเถ้า

การวัดสเปกตรัมและการสร้างสมการ นำตัวอย่างไปวัดสเปกตรัม (spectrum) ใช้เครื่อง NIRS รุ่น MPA system ยี่ห้อ Bruker ใช้ช่วงความยาวคลื่นที่ 800 ถึง 2500 นาโนเมตร วิธีการวัดเป็นแบบ Reflectance โดยใช้ sample cell เป็นแก้ว Quartz ทรงกระบอก วัดตัวอย่างละ 2 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมและการสร้างสมการทำนาย (Calibration equation) ด้วยวิธี modified partial least squares (MPLS) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป OPUS 7.2 spectroscopy software และมีการตรวจสอบสมการแบบ Full cross validation มีการปรับแต่งสมการด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์ (Math treatment) โดยใช้ Derivative, Gap, smooth และ Standard normal variate (SNV) เพื่อลดการกระเจิงแสง โดยโปรแกรมสำเร็จรูป OPUS software และโปรแกรมสำเร็จรูปจะเลือกวิธีปรับแต่งสมการอัตโนมัติ โดยเลือกตามสมการที่มีค่าความผิดพลาด (root mean square error cross validation, RMSECV) ต่ำที่สุด

ค่าทางสถิติที่จะใช้ในการตัดสินใจในการนำใช้สมการที่ได้จาก NIRS พิจารณาจากค่าดังต่อไปนี้

1. ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) คือ ค่าที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระ (X) และตัวแปรตาม (Y) จะมีค่าอยู่ระหว่าง -1 ถึง +1 ถ้าค่าสมบูรณ์ของ R มีค่าเข้าใกล้ 1 หรือเท่ากับ 1 หมายถึง สมการที่สร้างขึ้นสามารถนำมาใช้ในการอธิบายค่าทำนายที่เกิดจากอิทธิพลของตัวแปรอิสระ (X) กับค่าตัวแปรตาม (Y) ที่มีความสัมพันธ์กันมาก

2. สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) คือค่าที่แสดงสัดส่วนความแปรปรวนระหว่างตัวแปรอิสระ (X) และตัวแปรตาม (Y) ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 หากค่าที่คำนวณได้มีค่าเข้าใกล้ 1 หรือเท่ากับ 1 หมายถึง สมการที่สร้างขึ้นมีความน่าเชื่อถือมากในการทำนายถึงค่าตัวแปรตาม (y) หรือสมการที่สร้างขึ้นสามารถนำมาใช้อธิบายความใกล้เคียงกันระหว่างค่าที่ทำนายที่เกิดจากอิทธิพลของ X กับการกระจายตัวของ y ที่เก็บข้อมูลมาได้

3. ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration, SEC) คือ ค่าที่ บอกถึงสมการที่สร้างขึ้นสามารถนำไปใช้ในการทำนายต่อไปได้ดีหรือไม่ ค่าที่คำนวณได้ควรมีค่าน้อย

4. ค่าผิดพลาดมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction, SEP) คือ ค่าที่บ่งบอกถึงการนำเอาสมการที่สร้างขึ้นมาทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากเครื่อง NIRS มีความแม่นยำสูงหรือต่ำ ถ้าค่าที่คำนวณได้มีค่าน้อย หมายความว่าสมการที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำสูง

5. ค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบค่าจริงกับค่าที่ได้จาก NIRS (average of difference between actual value and NIRS value, bias) คือค่าเฉลี่ยของการทำนายข้อมูลของตัวแปรตาม (Y) และ ค่าเฉลี่ยของข้อมูลตัวแปรอิสระ (X) มีความแตกต่างกันหรือไม่ ค่าที่คำนวณได้ควรมี ค่าน้อย

6. อัตราส่วนของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่ม validation set ต่อค่า SEP (ratio of standard deviation of reference data in validation set to SEP, RPD) ค่าจากที่คำนวณได้มีค่าสูง หมายถึง ค่าผิดพลาดมาตรฐานที่ทำนายได้จาก NIR มีค่าน้อยกว่าค่าผิดพลาดมาตรฐานที่ได้จากวิเคราะห์จริง

การวัดค่าการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (Organic matter digestibility, OMD) การย่อยได้สิ่งแห้ง (Dry matter digestibility, DMD) และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (Metabolizable energy, ME) ทำการประเมินโดยวิธีการวัดแก๊ส (Gas Production Method) ดัดแปลงจากวิธีของ Menke and Steingass (1988) โดยวัดปริมาณแก๊สซึ่งเกิดขึ้นจากการนำตัวอย่างหญ้ามาบ่มใน mineral solution media และของเหลวในกระเพาะหมัก (rumen fluid) จากโคเจาะกระเพาะเพศผู้พันธุ์ลูกผสมอเมริกัน

บาร์มัน อายุประมาณ 3.5 ปี โดยการชั่งตัวอย่างหญ้าที่เตรียมไว้ 500 มิลลิกรัม ใส่หลอดฉีดยาขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลาย mineral solution media และของเหลวจากกระเพาะหมักในอัตราส่วน 2:1 (30 มิลลิลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 39 °C นาน 72 ชั่วโมง และทำการบันทึกแก๊สที่ถูกผลิตขึ้นในแต่ละหลอดที่เวลาต่างๆ คือ 12 ชั่วโมงแรก ทำการบันทึกปริมาณแก๊สทุกๆ 2 ชั่วโมง จากชั่วโมงที่ 12-24 ทำการบันทึกปริมาณแก๊สทุกๆ 4 ชั่วโมง และจากชั่วโมงที่ 24- 72 ชั่วโมงหลังหมักบ่ม จะทำการบันทึกปริมาณแก๊สทุก 6 ชั่วโมง โดยการนำแก๊สที่ผลิตขึ้นในแต่ละเวลานำมาประเมินจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สในหน่วยมิลลิลิตรต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mL/g DM) โดยใช้โปรแกรม Non linear regression

(NLIN) ของ SPSS ตามสมการ $P = b\,(1-\exp(^{-c\,(t-lag)}))$ (Krishnamoorthy et al., 1991)

เมื่อ p = ปริมาณของแก๊สที่ถูกผลิตขึ้นที่เวลา t
b = ปริมาณแก๊สที่ผลิตได้จากการหมักย่อยอาหาร (mL/0.5g DM)
c = อัตราการผลิตแก๊สต่อชั่วโมง (เปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง)
lag = ช่วงเวลาก่อนแก๊สถูกผลิตหลังการหมักบ่ม

นำค่าการผลิตแก๊สที่เวลาต่างๆ มาคำนวณหาการย่อยสลายได้ของอินทรียวัตถุ (OMD) และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) ในอาหารตามสมการของ Menke et al. (1979) คำนวณหาการผลิตกรดไขมันสายสั้น (Short chain fatty acids, SCFA) ตามสมการของ Getachew et al. (2002) และคำนวณการผลิตจุลินทรีย์โปรตีน (Microbial crude protein, MCP) ตามสมการของ Blummel, Makkar, & Becker (1997)

ME (MJ/kg DM) = 2.20 + 0.136GP (mL/0.5g DM) + 0.057CP (%DM)
OMD (g/kg OM) = 148.8 + 8.89GP (mL/0.2g DM) + 0.0445CP (g/kg DM) + 0.651 ash (g/kg DM)
OMD (%) = 14.88 + 0.889GP (mL/0.2g DM) + 0.45CP (%DM) + 0.651 ash (%DM) (Menke & Steingass, 1988)
SCFA (mmol/ 0.2g DM) = 0.0222GP (mL/0.2g DM) -0.00425
MCP (mg/g DM) = mg DMD-(mL gas *2.2 mg/mL)

เมื่อ GP คือ ปริมาณแก๊สที่ถูกผลิตขึ้นหลังการหมักย่อยอาหารแล้ว 24 ชั่วโมง
2.2 mg/mL คือ ค่าคงที่ของธาตุ C H O ในหน่วย mg ที่ต้องการใช้ในการสร้าง SCFA ที่เกี่ยวกับการผลิตแก๊ส 1 มิลลิลิตร

สถานที่ทำการทดลองคือ หน่วยทดสอบอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง แปลงฝึกงานนิสิต และห้องปฏิบัติการทางสัตว์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

ตารางที่ 1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ที่ใช้ในการประเมินความแม่นยำของสมการ

R	R^2	การตีความหมาย
Up to ± 0.5	Up to 0.25	สมการยังใช้ไม่ได้ (not usable in NIRS calibration)
± 0.51-0.70	0.26-0.49	ไม่ควรใช้เพราะมีความสัมพันธ์กันต่ำ (poor correlation)
± 0.71-0.80	0.5-0.64	ใช้ได้สำหรับการคัดแยกแบบหยาบๆ (rough screening)
± 0.81-0.90	0.66-0.81	ใช้ได้สำหรับการคัดแยก หรือจำแนกกลุ่ม (screening and approximate calibration)
± 0.91-0.95	0.83-0.90	ใช้สมการอย่างระมัดระวัง (caution for most application, including research)
± 0.96-0.98	0.92-0.96	สามารถใช้กับการประกันคุณภาพได้ (quality assurance)
± 0.99>	0.98>	สามารถประยุกต์ใช้ได้กับงานทุกประเภท (any application)

ที่มา: Williams (2007)

ผลและอภิปรายผลการศึกษา

หญ้าเนเปียร์ที่นำมาทำการวัดคุณค่าท่างโภชนะมีอายุการตัดที่แตกต่างกันจึงพบว่าน้ำหนักแห้ง (air dry) แตกต่างกัน โดยมีค่าตั้งแต่ 9 ถึง 29 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.6 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนหยาบของหญ้าเนเปียร์มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 78 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง และมีค่าอยู่ระหว่าง 30 ถึง 150 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนเถ้ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 121 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 52 ถึง 184 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยพบว่าค่าโปรตีนหยาบและเถ้ามีค่าอยู่ในช่วงที่รายงานไว้โดย Narmsilee, Thaikua & Pholsen (2008)

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของหญ้าเนเปียร์ปากช่องด้วยวิธีการผลิตแก๊ส (gas production technique) นั้นพบว่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolisable energy, ME) มีค่าอยู่ระหว่าง 7.38 – 17.42 เมกะจูลต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.93 เมกะจูลต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง การย่อยได้วัตถุแห้งมีค่าระหว่าง 449.31 – 814.15 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนการย่อยได้ของอินทรียวัตถุมีค่าอยู่ระหว่าง 315.86 – 626.48 กรัมต่อกิโลกรัมอินทรียวัตถุ และการย่อยได้ของอินทรียวัตถุของหญ้าพืชอาหารสัตว์ ที่ศึกษารายงานไว้โดย Narmsilee, Thaikua & Pholsen (2008) พบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 32 ถึง 57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับผลในการทดลองนี้ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 33 ถึง 66 เปอร์เซ็นต์ การผลิตแก๊สของหญ้าเนเปียร์ปากช่องหลังการหมักบ่มที่ชั่วโมง 12, 24 ,48, 72 และ 96 พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 52, 76, 91, 96 และ 97 มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าศักยภาพการผลิตแก๊สมีค่าอยู่ระหว่าง 68 ถึง 124 มิลลิลิตร และอัตราการผลิตแก๊สเท่ากับ 0.065 เปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนะของหญ้าเนเปียร์ปากช่องที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐาน (112 ตัวอย่าง)

ตัวแปร	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
องค์ประกอบทางเคมี (g kg^{-1} DM)				
วัตถุแห้งสภาพปกติ (air dry;%)	17.61	4.53	9.58	28.95
วัตถุแห้ง	948.27	7.17	932.09	964.93
โปรตีนหยาบ	78.57	23.91	29.94	150.80
อินทรียวัตถุ	878.68	33.71	815.54	947.56
เถ้า	121.31	33.71	52.44	184.45
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME, MJ kg^{-1} DM)	12.93	2.22	7.38	17.42
การย่อยได้วัตถุแห้ง (DMD, g kg^{-1} DM)	646.78	74.99	449.16	814.15
การย่อยได้อินทรียวัตถุ (OMD, g kg^{-1} OM)	499.98	69.87	315.86	626.48
การย่อยได้อินทรียวัตถุ (%)	53.76	6.85	33.28	66.08
กรดไขมันสายสั้น (SCFA, mmol/ 0.2g DM)	0.67	0.14	0.32	0.96
การผลิตจุลินทรีย์โปรตีน (MCP, mg/g DM)	257.80	36.54	190.92	370.06

[1]ME=Metabolizable energy; DMD = dry matter digestibility; OMD= organic matter digestibility; SCFA= Short chain fatty acids; MCP= Microbial protein production

ตารางที่ 3 การผลิตแก๊ส ศักยภาพการผลิตแก๊สและอัตราการผลิตแก๊สของหญ้าเนเปียร์ปากช่องที่ได้จากวิธีมาตรฐาน (112 ตัวอย่าง)

เวลาหมักบ่ม (h)	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
12	52.21	13.85	21.02	79.91
24	75.65	16.37	36.79	109.07
48	91.98	15.37	57.47	123.60
72	96.10	14.37	67.13	125.54
96	97.26	14.00	67.82	125.88
b (ml)	98.04	14.38	68.04	124.97
c (%/h)	0.065	0.018	0.024	0.114

b = potential gas production (ml); c= rate of gas production (%/h)

การทำนายองค์ประกอบทางเคมีและการย่อยได้ของหญ้าเนเปียร์ด้วยวิธี NIRS แสดงในตารางที่ 4 สมการที่ได้จากการคำนวณด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป OPUS ของวัตถุแห้งสภาพปกติ (air dry), วัตถุแห้ง, โปรตีนหยาบ อินทรียวัตถุ และเถ้ามีความแม่นยำสูง โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.93, 0.84, 0.88, 0.96 และ 0.96 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีค่า RPD สูงกว่า 2.5 ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Baloyi, Hamudikuw, Berardo, Ordoardi, & Ngongoni (2013) ที่กล่าวว่าการทำนายองค์ประกอบทางเคมี (โปรตีนหยาบ เถ้า และส่วนประกอบของผนังเซลล์) ของถั่วอาหารสัตว์เขตร้อนด้วย NIRS มีความแม่นยำสูงมาก (R^2, 0.8-0.9) และจากรายงานของ Park et al. (1998) พบว่า NIRS ทำนายค่าไนโตรเจนได้แม่นยำสูง (R^2 = 0.94) ขณะที่ Khandaker & Khaleduzzaman (2011) รายงายไว้ว่าการทำนายองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าจัมโบ้ ด้วย NIRS พบว่ามีความแม่นยำไม่สูงนัก (R^2 = 0.7) ซึ่งความถูกต้องของสมการจาก NIRS ขึ้นอยู่กับขบวนการเตรียมตัวอย่าง เทคนิคการเลือกสมการ regression และความถูกต้องของตัวอย่างอ้างอิง Lovett, Deaville, Givens, Finlay, & Owen. (2005) รายงานว่าการลดขนาดอนุภาคตัวอย่างให้เล็กลงและการลดอุณหภูมิในการอบตัวอย่างจาก 100 ลงเป็น 60 °C จะสามารถเพิ่มความเที่ยงของค่าทางสถิติของสมการ NIRS calibration ในการศึกษาแบบ *in vitro*

ส่วนการทำนายพลังงานใช้ประโยชน์ได้ การย่อยได้ของอินทรียวัตถุและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของหญ้าเนเปียร์โดย NIRS จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่ายังมีค่าความแม่นยำไม่สูงนัก (R^2, 0.65-0.76) ดังแสดงในตารางที่ 4 ดังนั้นยังไม่สามารถนำสมการที่ได้จากการทดลองนี้ไปใช้ทำนายได้ ในขณะที่การย่อยได้วัตถุแห้งของหญ้าเนเปียร์และการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนที่ประเมินได้จากวิธีการผลิตแก๊สพบว่ามีความแม่นยำสูง (R^2, 0.83- 0.86) และเมื่อพิจารณาค่า RPD พบว่ามีค่าสูง (2.45-2.64) (ตารางที่ 4) ดังนั้นสมการที่ได้จากการทำนายการย่อยได้วัตถุแห้งและการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนด้วยวิธี NIRS สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านโภชนะศาสตร์เคี้ยวเอื้องได้เป็นอย่างดี

ตารางที่ 4 ค่าทางสถิติที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี NIRS ในการทำนายองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนะของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง

		สมการ (Calibration)		การทดสอบสมการ (Full Cross- validation)		
ตัวแปร	n	R^2	S.E.C.	R^2_{cv}	S.E.C.V.	RPD
วัตถุแห้งสภาพปกติ (%)	112	0.96	0.923	0.93	1.19	3.70
วัตถุแห้ง	91	0.88	2.25	0.84	2.39	2.54
โปรตีนหยาบ	111	0.91	6.58	0.88	7.43	2.87
อินทรียวัตถุ	112	0.97	5.37	0.96	6.19	5.19
เถ้า	112	0.97	5.47	0.96	6.22	5.24
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (MJ kg^{-1}DM)	90	0.73	1.02	0.65	1.12	1.69
การย่อยได้อินทรียวัตถุ (%)	99	0.81	2.88	0.76	3.11	2.04
การย่อยได้อินทรียวัตถุ (g kg^{-1} OM)	92	0.81	27.50	0.76	29.50	2.04
การย่อยได้วัตถุแห้ง (g kg^{-1} DM)	101	0.90	23.20	0.86	26.70	2.64
กรดไขมันสายสั้น (mmol/ 0.2g DM)	94	0.77	0.065	0.69	0.072	1.80
การผลิตจุลินทรีย์โปรตีน (mg/g DM)	94	0.86	12.00	0.83	12.62	2.45

R^2= R-square of calibration; R^2_{cv}= R-square of cross-validation; SEC= standard error of calibration; SECV= standard error of cross- validation; RPD= ratio of performance to deviation.

การประเมินจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สของหญ้าเนเปียร์ จากการหมักบ่มด้วยน้ำในกระเพาะหมักโค แสดงในตารางที่ 5 ค่าทางสถิติของสมการที่คำนวณได้จาก NIRS พบว่าค่าการผลิตแก๊สที่ชั่วโมงต่าง ๆ อัตราการผลิตแก๊สและศักยภาพการผลิตแก๊สมีค่าความแม่นยำปานกลาง (R^2, 0.60 - 0.75) ซึ่งสอดคล้องกับการทำนายจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สในหญ้า kikuyu grass (Herrero et al., 1997) ประสิทธิภาพของ NIRS ในการทำนายค่าการย่อยได้จากการศึกษาแบบ *in vitro* digestibility จะมีค่าความแม่นยำปานกลาง (R^2,

0.6-0.8) จากการใช้ NIRS ทำนายจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สและการสลายของวัตถุแห้งของข้าวโพดหมักในกระเพาะหมัก (Lovett, Deaville, Mould, Givens, & Owen, 2004) ซึ่งผลจากการทดลองนี้มีผลขัดแย้งกับผลการศึกษาของ Andres et al. (2005) ที่รายงานว่าลักษณะการผลิตแก๊ส เช่น อัตราการหมักบ่ม (c) และประสิทธิภาพการย่อยสลาย (extent of degradation in the rumen at different passage rates, ED_{03} and ED_{06}) ของพืชอาหารสัตว์ ค่อนข้างมีความแม่นยำสูง (R^2>0.82) Herrero et al. (1997) พบว่าจำนวนประชากรตัวอย่างที่มากจะทำให้การทำนายปริมาณการผลิตแก๊สได้ดีกว่าประชากรน้อย จากผลการทดลองนี้ ค่าทางสถิติของสมการที่ได้ของค่าการผลิตแก๊ส และการประเมินการย่อยได้อินทรียวัตถุ ค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ และการผลิตกรดไขมันสายสั้น จากการศึกษาแบบวิธีการผลิตแก๊ส (gas production method) จะยังไม่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการทำนายคุณค่าของหญ้าเนเปียร์ปากช่องด้วยวิธี NIRS แต่สามารถใช้คัดแยกคุณภาพหญ้าเนเปียร์ปากช่องได้ เมื่อพิจารณาการย่อยได้วัตถุแห้ง การผลิตจุลินทรีย์โปรตีน พบว่า NIRS สามารถทำนายการย่อยได้วัตถุแห้งและการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนของหญ้าเนเปียร์ปากช่องได้แม่นยำสูง อย่างไรก็ตามการใช้สมการจาก NIRS ทำนายค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ก็ไม่ได้ถูกคาดหวังว่าจะถูกต้องเท่ากับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Park et al., 1998)

ตารางที่ 5 ค่าทางสถิติที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี NIRS ในการทำนายการผลิตและอัตราการผลิตแก๊สของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง

เวลาหมักบ่ม (h)		สมการ (Calibration)		การทดสอบสมการ (Full Cross – validation)		
	n	R^2	S.E.C.	R^2_{CV}	S.E.C.V.	RPD
12	94	0.77	6.14	0.68	7.01	1.77
24	95	0.77	7.50	0.67	8.50	1.74
48	94	0.67	7.58	0.62	7.97	1.63
72	92	0.77	6.14	0.73	6.47	1.95
96	94	0.81	5.55	0.75	6.01	2.03
b (ml)	89	0.78	5.95	0.71	6.55	1.84
c	89	0.73	0.008	0.60	0.009	1.58

R^2: R-square of calibration, R^2_{CV}: R-square of cross-validation, SEC: standard error of calibration, SECV: standard error of cross- validation, RPD: ratio of performance to deviation.

สรุปผลการศึกษา

NIRS สามารถทำนายค่าน้ำหนักแห้ง โปรตีนหยาบ เถ้า อินทรียวัตถุ การผลิตจุลินทรีย์โปรตีน และการย่อยได้ของวัตถุแห้งของหญ้าเนเปียร์ปากช่องได้อย่างแม่นยำ (R^2>0.83) และสามารถนำใช้ในการวิจัยด้านโภชนะศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้องได้ ส่วนการทำนายการประเมินการย่อยได้อินทรียวัตถุ ค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ การผลิตกรดไขมันสายสั้นและจลนพลศาสตร์การผลิตแก๊สที่ได้จากการศึกษาแบบวิธีการผลิตแก๊ส พบว่าสมการที่ได้จาก NIRS ใช้ทำนายได้ไม่แม่นยำนัก (R^2=0.6-0.76)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ กองบริหารการวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Adesogan, A. T., Owen, E., & Givens, D. I. (1998). Prediction of the in vivo digestibility of whole crop wheat from in vitro digestibility, chemical composition, in situ rumen degradability, in vitro gas production and near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, *74*(3), 259-272.

Alomar, D. D., Fuchslocher, R. R., Cuevas, J. J., Madrones, R. R., & Cuevas, E. E. (2009). Prediction of the composition of fresh pastures by near infrared reflectance or interactance-reflectance spectroscopy. Chilean Journal of Agricultural Research, *69*, 198-206.

Andres, S., Calleja, A., Lopez, S., Gonzalez, J. S., Rodriguez, P. L., & Giraldez, F. J. (2005). Prediction of gas production kinetic parameters of forages by chemical composition and near infrared reflectance spectroscopy. *Animal feed science and technology*, *123*, 487-499.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1990. Official Methods of Analysis of Association of Analytical Chemistry. 15th ed. Arlington, Virginia, pp 1298.

Baloyi, J. J., Hamudikuw, H., Berardo, N., Ordoardi, M., & Ngongoni, N. T. (2013). Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) prediction of herbage quality from forage and browse legumes, and natural pasture grass grown in Zimbabwe. *African Journal of Agricultural Research*, *8*(10), 868-871.

Blummel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1997). In vitro gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77(1-5), 24-34.

Cozzolino, D., Fassio, A., Fernández, E., Restaino, E., & La Manna, A. (2006). Measurement of chemical composition in wet whole maize silage by visible and near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, *129*(3), 329-336.

Decruyenaere, V., Lecomte, P., Demarquilly, C., Aufrere, J., Dardenne, P., Stilmant, D., & Buldgen, A. (2009). Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. *Animal Feed Science and Technology*, *148*(2), 138-156.

Getachew, G., Crovetto, G. M., Fondevila, M., Krishnamoorthy, U., Singh, B., Spanghero, M., Steingass. H., & Kailas, M. M. (2002). Laboratory variation of 24 h in vitro gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, *102*(1), 169-180.

Herrero, M., Jessop, N. S., Fawcett, R. H., Murray, I., & Dent, J. B. (1997). Prediction of the in vitro gas production dynamics of kikuyu grass by near-infrared reflectance spectroscopy using spectrally-structured sample populations. *Animal Feed Science and Technology*, *69*(1), 281-287.

Khandaker, Z. H., & Khaleduzzaman, A. B. M. (2011). Nutritional evaluation of Jambo forage using near infrared reflectance spectroscopy and comparison with wet chemistry analysis. *Bangladesh Journal of Animal Science*, *40*(1-2), 46-50.

Lovett, D. K., Deaville, E. R., Givens, D. I., Finlay, M., & Owen, E. (2005). Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict biological parameters of maize silage: effects of particle comminution, oven drying temperature and the presence of residual moisture. *Animal feed science and technology*, *120*(3), 323-332.

Lovett, D. K., Deaville, E. R., Mould, F., Givens, D. I., & Owen, E. (2004). Using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the

biological parameters of maize silage. *Animal feed science and technology*, *115*(1), 179-187.

Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev*, *28*(1), 7-55.

Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *The Journal of Agricultural Science*, *93*(1), 217-222.

Mentink, R. L., Hoffman, P. C., & Bauman, L. M. (2006). Utility of near-infrared reflectance spectroscopy to predict nutrient composition and in vitro digestibility of total mixed rations. *Journal of dairy science*, *89*(6), 2320-2326.

Narmsilee, R., Thaikua, S., & Pholsen, P. (2008). Prediction of nutritive value in forage by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technique. Research Annual. Bureau of Animal Nutrition Development, Department of Livestock Development, Thailand. 304-316.

Park, R. S., Agnew, R. E., Gordon, F. J., & Steen, R. W. J. (1998). The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) on undried samples of grass silage to predict chemical composition and digestibility parameters. *Animal Feed Science and Technology*, *72*(1), 155-167.

Starks, P. J., Coleman, S. W., & Phillips, W. A. (2004). Determination of forage chemical composition using remote sensing. *Journal of range management*, *57*(6), 635-640.

Xiccato, G., Trocino, A., De Boever, J. L., Maertens, L., Carabaño, R., Pascual, J. J., ... & Falcao-E-Cunha, L. (2003). Prediction of chemical composition, nutritive value and ingredient composition of European compound feeds for rabbits by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Animal Feed Science and Technology*, *104*(1), 153-168.