

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการ



ภาพผนวกที่ ก-1 นำกระถินสดที่ซื้อได้จาก
เกษตรกรมาทำการสับด้วยเครื่องสับฟืชก่อน
นำไปหมักร่วมกับสารเสริม



ภาพผนวกที่ ก-2 กระถินสดที่ผ่านการสับจะ
มีขนาด 3-4 เซนติเมตร



ภาพผนวกที่ ก-3 ลักษณะถุงพลาสติกที่
บรรจุตัวอย่าง 5 กิโลกรัม



ภาพผนวกที่ ก-4 ลักษณะพืชอาหารหมักที่
ไม่ได้หมักร่วมกับสารเสริม



ภาพผนวกที่ ก-5 ลักษณะพืชอาหารหมัก
จากกระถินที่หมักร่วมกับกากน้ำตาล



ภาพผนวกที่ ก-6 ลักษณะพืชอาหารหมัก
จากกระถินที่หมักร่วมกับวินัส

ภาคผนวกที่ ก-1 แบบประเมินคุณภาพพืชอาหารหมักโดยประสาทสัมผัส (Organoleptic)

เป็นวิธีการที่นิยมเนื่องจากสะดวกและให้ผลเร็วอีกทั้งไม่เสียค่าใช้จ่าย และสามารถบอกถึงคุณภาพได้แม้จะให้ผลไม่ดีเท่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการโดยข้อมูลที่ควรทราบต่อไปนี้

1. ข้อมูลทั่วไปของพืชอาหารที่นำมาหมัก เช่น อายุการตัด ความอ่อนหรือแก่ และ ฤดูกาล เป็นต้น เพราะปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อคุณภาพของพืชอาหารหมักตลอดจนปริมาณเยื่อใยและการย่อยได้

2. การให้คะแนนทางประสาทสัมผัสดังนี้

ลักษณะทางกายภาพ	คะแนน
1.1.1 กลิ่น	
- ปราศจากกลิ่นเน่าเสียมีกลิ่นหอมของกรด	14
- มีกลิ่นเน่าเจือปนบาง ๆ หรือมีกลิ่นกรดจัด หรือมีกลิ่นไหม้จาง ๆ ของพืชที่ผึ่งก่อนหมัก	10
- มีกลิ่นเน่าแรงหรือมีกลิ่นคล้ายน้ำตาลไหม้ชัด	4
- กลิ่นเน่าแรงหรือมีกลิ่นแอมโมเนียมีกลิ่นกรดจางมาก	2
- กลิ่นเน่าเสีย	0
1.1.2 โครงสร้าง	
- มีใบและก้านครบ	4
- ใบ	2
- เมื่อกลิ้นมีสิ่งเจือปน	1
- ใบและก้านเปื่อยยุ่ยหรือปนเปื้อนมาก	0
1.1.3 สี	
- มีสีของพืชหมักปกติคือสีเขียวอมเหลือง	2
- มีสีเปลี่ยนไปมากคือ สีเหลืองค่อนข้างน้ำตาล	1
- สีผิดปกติมากคือเขียวคล้ำออกดำหรือเหลืองซีดหรือมีเชื้อรา	0

ที่มา: Gross (1982) อ้างจากบุญล้อมและคณะ (2543)

จากนั้นนำคะแนนทั้ง 3 หัวข้อมารวมกันแล้วอ่านผลตามเกณฑ์ดังนี้

คะแนน	ลำดับชั้นของพืชหมัก	การสูญเสียโภชนะ
20-16	ดีมาก-ดี	น้อย
15-10	เกือบดี	ปานกลาง
9-5	ปานกลาง	สูง
4-0	น่าเสีย	สูงมาก

ภาคผนวกที่ ก-2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก (Acetic acid), กรดบิวทีริก (Butyric acid) และ กรดแลคติก (Lactic acid)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์โดยใช้เครื่องมือ High performance liquid chromatography (HPLC) รุ่น Serial 1110 (Canale et al, 1984 อ้างจากพิพัฒน์, 2544)

1. การเตรียมตัวอย่าง โดยการนำตัวอย่างที่ได้จากการทดลองแบบสดตัวอย่างละ 60-120 กรัมมาทำการสกัดด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.05 M ปริมาณ 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าเป็นเวลา 4 นาทีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสแล้วนำตัวอย่างมาทำการกรองเอาส่วนของเหลวใสนำไปวิเคราะห์

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ อะซิเตท, บิวทีเรท และ แลคเตท ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 0.3 และ 0.6 โมล โดยใช้สารละลายมาตรฐานนี้ในการเตรียม calibration curve และเปอร์เซ็นต์ recovery ของกรดอินทรีย์

3. วิธีการตรวจวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC รุ่น Serial 1110 นำตัวอย่างที่สกัดได้มากรองผ่าน Filter membrane ขนาด 0.4 ไมโครเมตร (μm) แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยที่สภาวะของเครื่อง HPLC ตั้งไว้ดังนี้ Column: Aminex HPX-87H, Guard column, Detector: UV ตั้งที่ 210 nm., Flow rate: 0.6 ml/min, ปริมาณที่ฉีด 10 μl , column temperature: 41 องศาเซลเซียส, Mobile phase: สารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.0025 M

ภาคผนวกที่ ก-3 การวิเคราะห์หาแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) ตามวิธีการของ (Chen et al., 1994)

วิเคราะห์หาแอมโมเนียโดยนำพืชอาหารหมักสด 10 กรัมไปปั่นร่วมกับสารละลายกรดกำมะถัน (H_2SO_4) เข้มข้น 0.1 นอร์มอลในโถปั่นนาน 30 วินาทีแล้วกรองผ้าขาวบาง 2 ชั้น จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกลั่นด้วยเครื่อง Tecator Auto-Kjeldahl analyze โดยเลือกเติมเฉพาะ NaOH และ receiver หลังจากการกลั่นแล้วนำไปไตเตรทกับ HCL 0.01 นอร์มอลแล้วเข้าสมการดังนี้

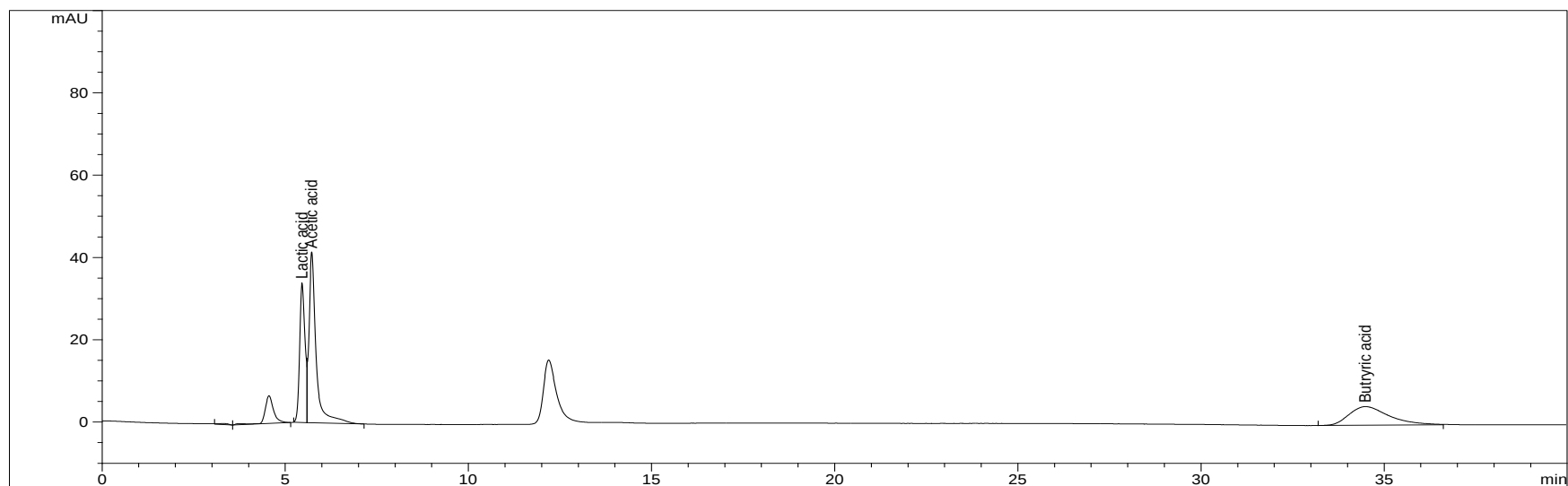
$$\% \text{NH}_3\text{-N} = ((V-B) \times 14.007 \times 0.1 \times 100) / (1000 \times \text{weight})$$

วิเคราะห์หา Total Nitrogen โดยนำพืชอาหารหมักสด 3 กรัมนำไปย่อยและกลั่นด้วยเครื่อง Tecator Auto-Kjeldahl analyzer โดยใช้คำสั่งอัตโนมัติหลังจากการกลั่นแล้วนำมาไทเตรทกับ HCL 0.1 N แล้วเข้าสมการดังนี้

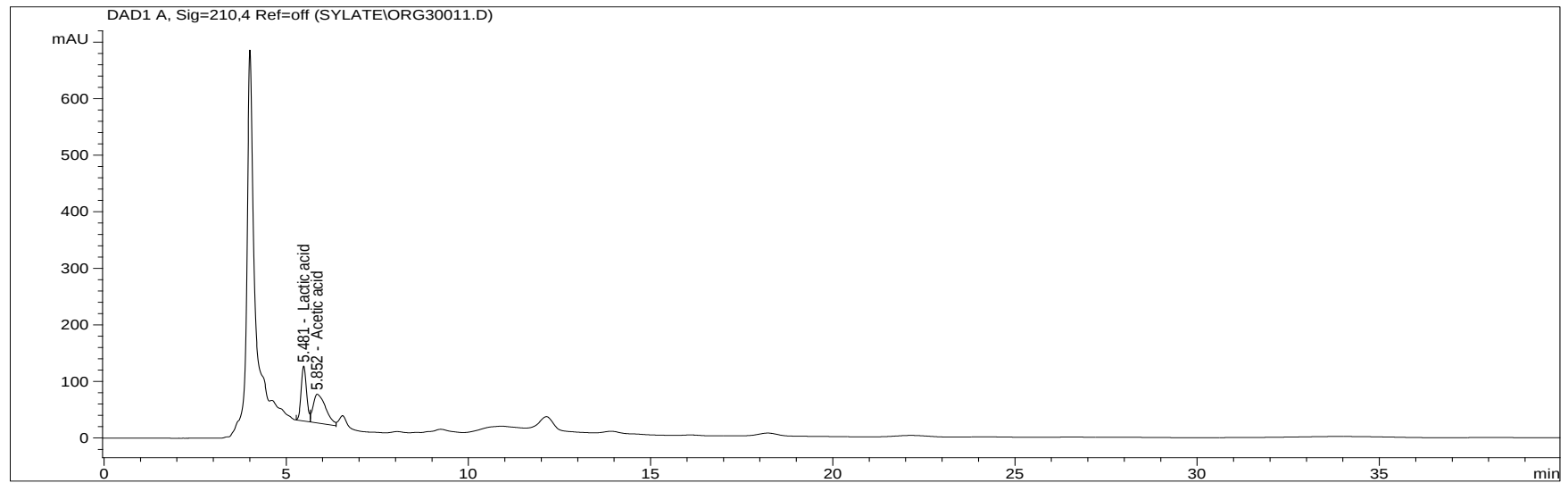
$$\text{Total N} = \{(V-B) \times 14.007 \times 0.1 \times 100\} / (1000 \times \text{weight})$$

ภาคผนวกที่ ก-4 สมการการคำนวณปริมาณเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส อินทรียวัตถุ และ NDS ตามวิธีการของวรรณและคณะ (2547) และบุญล้อม (2541) โดยมีรายละเอียดดังนี้

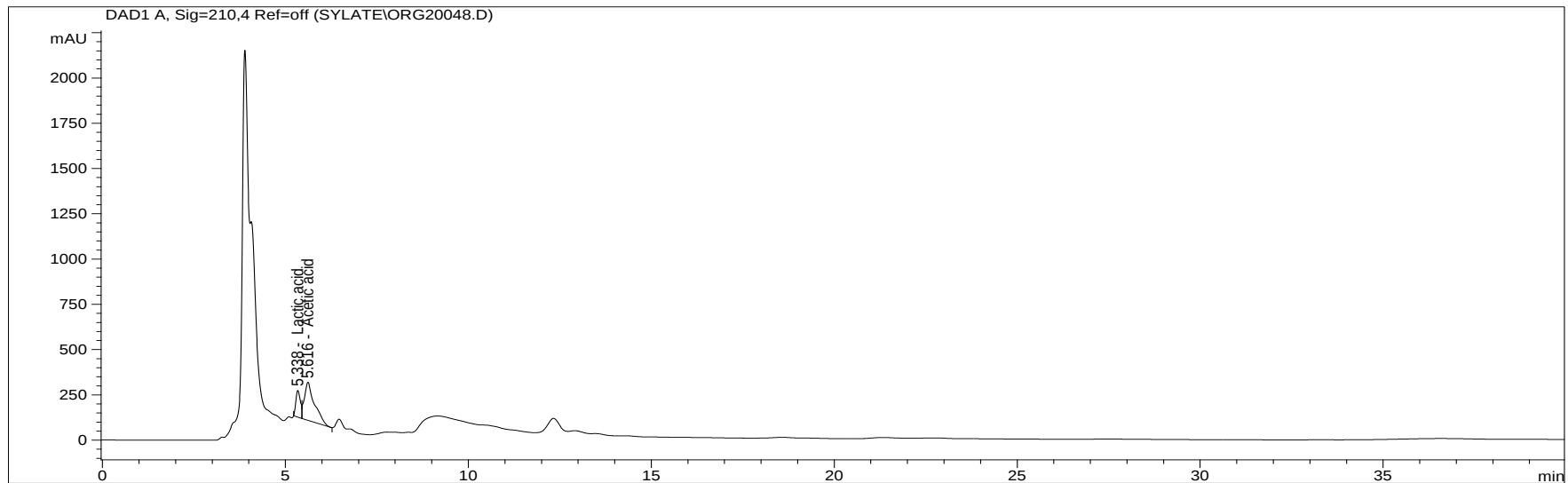
- 4.1 ปริมาณเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) = เปอร์เซ็นต์ NDF-เปอร์เซ็นต์ ADF
- 4.2 ปริมาณเซลลูโลส (Cellulose) = เปอร์เซ็นต์ ADF-เปอร์เซ็นต์ ADL
- 4.3 ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter, OM) = 100-เปอร์เซ็นต์ เถ้า
- 4.4 ปริมาณ Neutral Detergent Soluble (NDS) = 100-เปอร์เซ็นต์ NDF



ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ 1 สารมาตรฐานของกรดแลคติก กรดอะซิติกและกรดบิวทีริก



ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ 2 ปริมาณกรดแลคติกและกรดอะซิติกของพืชอาหารหมักจากกระถินที่เสริมกากน้ำตาลในปริมาณ 8 เปอร์เซ็นต์
ของน้ำหนักรากพืชสดที่อายุการหมัก 30 วัน



ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ 3 ปริมาณกรดแลคติกและกรดอะซิติกพืชอาหารหมักจากกระถินที่เสริมวินัสในปริมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักพืชสดที่อายุการหมัก 30 วัน