บทที่ 2
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. การสำรวจและรวบรวมพืชอาหารและไหมป่าทาซาร์(A*ntheraea* spp.)

โดยการสำรวจ รวบรวม บันทึกข้อมูลและภาพของพืชอาหารและไหมป่า *Antheraea* spp. ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น เขตพื้นที่จังหวัดขอนแก่น ชัยภูมิ อุบลราชธานี และศรีษะเกษ เป็นต้น โดยเก็บตัวอย่างไหมป่าทาซาร์ ทุกระยะการเจริญเติบโต คือ ไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย

2. การเพาะเลี้ยงสต๊อกและเพิ่มปริมาณไหมป่าทาซาร์(A*ntheraea* spp.)

นำไหมป่าทาซาร์ที่ได้จากการสำรวจในระยะตัวเต็มวัย มาจับคู่ผสมพันธุ์ ไข่ที่ได้นำมามาเก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง เพื่อรอการฟักออก หนอนแรกฟักที่ฟักออกจากไข่ 3-5 ชั่วโมงนำมาเพาะเลี้ยง ด้วยพืชอาหารหลัก คือ ใบเต็ง (จิก, *Shorea obtusa*) โดยการนำกิ่งของต้นเต็งมามัดรวมกันเป็นช่อ จากนั้นจุ่มก้านที่มัดรวมกัน ลงในขวดที่บรรจุน้ำ ใช้ตาข่ายสีฟ้าหรือตาข่ายผ้าคลุมช่อใบไว้ หลังจากที่เขี่ยหนอนไหมลงในช่อของพืชอาหารที่ได้เตรียมไว้แล้ว

3. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของดักแด้ไหมป่าทาซาร์(*Antheraea* spp.)

ไหมป่าทาซาร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยพืชอาหารหลัก(ใบเต็ง) เมื่อเข้าสู่ระยะดักแด้อายุได้ 7 วัน นำดักแด้ที่ได้มาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (proximate analysis) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมันเถ้า และคาร์โบไฮเดรต โดยวิธีในการวิเคราะห์ดัดแปลงจาก AOAC (1999) ดังนี้

3.1 การหาความชื้น มีวิธีการทดลองดังนี้

- อบถ้วยที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง ในเตาอบ (เตาที่มีลมช่วยในการพาความร้อน) ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักถ้วย บันทึกน้ำหนักเป็น (A)
- บรรจุตัวอย่างดักแด้สดที่บดละเอียดจำนวน 5 กรัม เกลี่ยให้ทั่วในถ้วยหาความชื้น(B) นำถ้วยหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักถ้วยและตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ทำการอบตัวอย่างจนมีน้ำหนักคงที่
- นำตัวอย่างออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที บันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้ (C) นำตัวอย่างเข้าอบอีกครั้ง (ประมาณ 30 นาที) นำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักตัวอย่าง ทำซ้ำจนตัวอย่างแห้งและมีน้ำหนักคงที่ ±0.002 กรัม
- ทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง ละ 3 ซ้ำๆ ละ 5 กรัม

การคำนวณ

ความชื้นเป็นร้อยละ = (A - B)×100 / B

A = น้ำหนักตัวอย่างสด (กรัม)

B = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

3.2 การวิเคราะห์โปรตีน (crude protein) มีวิธีการทดลองดังนี้

- ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.5 กรัม ลงบนกระดาษกรองที่ปราศจากไนโตรเจน (เช่น Whatman 541) พับและใส่ในหลอดย่อยขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่หินกันเดือด 2-3 ชิ้น, Kjeltab 2 เม็ด, กรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตรเขย่าเบาๆ และนำหลอดย่อยไปย่อยบน Stand ปิด Heat shield สวม EXHAUST Manifold ลงบนส่วนบนของหลอดย่อย เปิด power ของ EXHAUST ตั้ง Stand หลอดและ EXHAUST ลงในเครื่องย่อยที่มีอุณหภูมิ เริ่มต้น 420 องศาเซลเซียส (การย่อยต้องย่อยในตู้ดูดควัน ซึ่งติดตั้งระบบดูดไอเสีย เมื่อกรดเข้มข้นเดือดจะมีการแพร่กระจายของควัน ซึ่งมีฤทธิ์กัดกร่อนเช่นกัน) ย่อยจนกระทั่งใส ใช้เวลาประมาณ 30-45 นาที นำหลอดออกและทิ้งไว้ให้เย็น 10 นาที ห้ามให้มีการตกตะกอน หากมีตะกอนเกิดขึ้นให้ทำการให้ความร้อนอีกครั้ง และใส่น้ำ 50-75 มิลลิลิตร
- เปิดเครื่องกลั่น (kjeltec) อุ่นเครื่องโดยใช้ Flask เปล่ารองรับ และหลอดที่มีน้ำกลั่นอยู่ครึ่งหลอด เปิด steam กลั่นเป็นเวลา 5 นาที แล้วปิด steam แล้วนำหลอดและ flask ออก จากนั้นนำ flask บรรจุกรดบอร์ริก 4% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ไปตั้งไว้ที่ตำแหน่งรองรับของเครื่องกลั่น และเลื่อนฐานขึ้นให้ปลายแท่งแก้วอยู่ใต้สารละลาย นำหลอดย่อยที่เตรียมไว้ใส่เครื่องกลั่น ปิดหน้าต่างป้องกันลงมา เปิด steam ตั้งเวลาในการกลั่นประมาณ 4 นาที หรือกลั่นจนมีปริมาตร 150 มิลลิลิตร เมื่อกลั่นเสร็จแล้ว เลื่อนหน้าต่างป้องกันขึ้น แล้วนำ flask ออก ไทเทรทด้วย HCl 0.1 M จนกลายเป็นสีเทา จึงจะถึงจุดยุติและจดบันทึกกรดที่ใช้ไทเทรท และBlank ด้วยวิธีการเดียวกัน

การคำนวณ

$\%N = 1.401 \times (A-B) \times C/W$

$\%Protein = \%N \times 6.25$(conversion factor)

A คือ ปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรทกับตัวอย่าง (มล.)

B คือ ปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรทกับ Blank (มล.)

C คือ ความเข้มข้นของ HCl (M)

3.3 การวิเคราะห์ไขมัน(crude fat) มีวิธีการทดลองดังนี้

ชั่งตัวอย่างแห้ง 1 กรัม ลงในกระดาษกรอง พับกระดาษกรองแล้วนำใส่ Thimbles นำ Thimbles เข้าเครื่องสกัด ชั่งน้ำหนักถ้วยสกัดซึ่งถ้วยสกัดบรรจุปิโตรเลียมอีเทอร์ ทำการสกัดตัวอย่างด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ 40 มิลลิลิตร ในตำแหน่ง Boiling 30 นาที และในตำแหน่ง Rinsing 60 นาที เมื่อการสกัดเสร็จสมบูรณ์ให้เปิดวาล์วควบแน่น และ เปิดสวิทซ์อากาศ เพื่อระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์กลับคืนมา อบถ้วยสกัดในเตาอบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และ ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$\%ไขมัน = ((B-C) \times 100)/A$

A = น้ำหนักตัวอย่าง

B = น้ำหนักถ้วยสกัดหลังอบ

C = น้ำหนักถ้วยสกัดก่อนการสกัด

3.4 การวิเคราะห์เถ้า (total Ash) มีวิธีการทดลองดังนี้

-ชั่งตัวอย่างแห้ง 1 กรัม ลงใน Crucible จากนั้นนำเข้า muffle furnace ที่มีอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 550 องศาเซลเซียส เผา 3-4 ชั่วโมง หรือจนกว่าตัวอย่างจะเป็นผงสีขาว ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และ ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

(B – A)/ A×100

A = น้ำหนักก่อนเผา

B = น้ำหนักหลังเผา

3.5 วิธีวิเคราะห์หาคาร์โบไฮเดรต (%crude fiber)

%crude fiber = 100-(%crude protein+%crude fat+%total Ash)

4. การผลิตอาหารจากดักแด้ไหมป่าทาซาร์(*Antheraea* spp.)

การผลิตและแปรรูปอาหารจากดักแด้ของไหมป่าทาซาร์ ในเบื้องต้นได้นำดักแด้ไหมป่ามาทำการแปรรูปเป็นอาหารโดยอาศัยภูมิปัญญาท้องถิ่น อาศัยหลักการประกอบอาหารที่ถูกสุขลักษณะและปลอดภัยต่อผู้บริโภค เน้นการปฏิบัติที่ง่ายและสะอาด

5. การออกแบบสอบถามและประเมินความชอบผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปจากไหมป่าทาซาร์ (*Antheraea* spp.)

การประเมินความชอบผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปจากไหมทาซาร์ โดยการนำอาหารแปรรูปที่ได้มาประเมินกับผู้บริโภคที่มีลักษณะนิสัยในการกินแมลง โดยทำการประเมินคุณลักษณะต่างๆ คือ ลักษณะภายนอก สีที่ปรากฏ กลิ่น เนื้อสัมผัส และรสชาติ ตามแบบประเมินที่ 1 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แบบประเมินที่ 1 เพื่อประเมินผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปจากไหมอีรี่

รายการอาหาร	เกณฑ์ประเมิน [1/] (คะแนน)						รวม
	ลักษณะภายนอก	สีที่ปรากฏ	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ภาพรวม	

หมายเหตุ เกณฑ์ประเมิน [1/] 5 = มากที่สุด, 4 = มาก, 3 = ปานกลาง, 2 = น้อย, 1 = น้อยมาก

6. การประเมินการเก็บรักษาวัตถุดิบดักแด้ไหมป่าทาซาร์ (*Antheraea* spp.)

โดยการนำรังสด(ดักแด้)ไหมป่าทาซาร์ที่เก็บรวบรวมได้และจากการเพาะเลี้ยงมาเก็บรักษาที่ตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์แรกทำการประเมินทุกวัน โดยการนำดักแด้ไหมป่าทาซาร์ออกมาต้มในน้ำเดือดนาน 20 นาที แล้วประเมินคุณลักษณะต่างๆโดยใช้เกณฑ์การประเมินเช่นเดียวกับข้อ 5 หลังจากนั้นทำการประเมินทุกเดือน

7. การออกแบบบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์ไหมป่าทาซาร์(A*ntheraea* spp.)

โดยการศึกษาและออกแบบบรรจุภัณฑ์สำหรับบรรจุอาหารแปรรูปจากไหมป่าทาซาร์ ซึ่งในเบื้องต้นได้ออกแบบโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ และนำมาใช้ทดสอบบรรจุอาหารแปรรูป