

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และวิธีการ

3.1.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1. หนอนนกวัยแรก มาจากการเพาะเลี้ยงฟอ แม่พันธุ์
 2. รำข้าวสาลี
 3. อาหารไก่เล็ก ยี่ห้อ เบทาโกร 215
 4. กากถั่วเหลืองป่น ยี่ห้อ ทีวีโอ ไฮโปรมิล
 5. ถั่วเหลืองป่น
 6. ผัก (แครอท)
 7. เครื่องสกัดไขมันแบบ Soxtherm ยี่ห้อ Foss รุ่น M6
 8. เครื่องย่อยเชื้อใย (Fibertec System) ยี่ห้อ Foss รุ่น M6
 - ชุดสกัดร้อน (Hot extraction)
 - ชุดสกัดเย็น (Cold extraction)
 9. เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Protein analyzer) ยี่ห้อ Foss รุ่น Kjeltac 8420, 8460
 - เครื่องย่อยสาร (Digestion system)
 - เครื่องดูดกำจัดไอน้ำ (Scrubber unit)
 - เครื่องกลั่นโปรตีน/ไนโตรเจน (Distilling unit)
 10. Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV1601
 11. Automatic bomb calorimeter ยี่ห้อ Leco รุ่น AC-350
- 3.1.2 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อหนอนนก
1. หนอนนกทดสอบกรอบกับสมุนไพร
 2. แบบสอบถามการยอมรับของผู้บริโภคต่อหนอนนก

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของหนอนนก แผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) 5 กรรมวิธี 10 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 รำข้าวสาลี

กรรมวิธีที่ 2 อาหารไก่เล็ก + กากถั่วเหลืองป่น อัตรา 3:1

กรรมวิธีที่ 3 อาหารไก่เล็ก + กากถั่วเหลืองป่น อัตรา 1:3

กรรมวิธีที่ 4 อาหารไก่เล็ก + กากถั่วเหลืองป่น อัตรา 1:1

กรรมวิธีที่ 5 อาหารไก่เล็ก + ถั่วเหลืองป่น อัตรา 1:1

โดยเตรียมอาหารตามที่กำหนดในสูตรและใส่หนอนนกวัยแรกที่พักจากไข่และมีอายุประมาณ 1 สัปดาห์ จำนวน 850 ตัว/กล่อง และหนอนได้รับอาหารเสริมและน้ำผ่านทางวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร คือ แครอท ทำการบันทึกการเจริญเติบโตของหนอน น้ำหนัก และอัตราการตายทุกสัปดาห์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยการสุ่มเลือกหนอนนกเพื่อทำการชั่งน้ำหนัก วัดขนาดตัว จำนวน 100 ตัว และตรวจนับจำนวนหนอนที่ตาย บันทึกผลที่ได้ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และทำการวิเคราะห์ต้นทุนที่เกิดจากการเลี้ยงหนอนแต่ละสูตร ตามราคาวัตถุดิบในวันที่ 9 เมษายน 2558 ดังนี้

รำข้าวสาลี ราคา กิโลกรัมละ 10.40 บาท

อาหารไก่เล็ก ราคา กิโลกรัมละ 15.70 บาท

กากถั่วเหลืองป่น ราคา กิโลกรัมละ 17.50 บาท

ถั่วเหลือง ราคา กิโลกรัมละ 17.35 บาท

ต้นทุนของอาหารในการเลี้ยงหนอนแต่ละสูตร/สัปดาห์

สูตรที่ 1 รำข้าวสาลี กิโลกรัมละ 10.40 บาท

สูตรที่ 2 อาหารไก่เล็ก + กากถั่วเหลืองป่น อัตรา 3:1 กิโลกรัมละ 16.14 บาท

สูตรที่ 3 อาหารไก่เล็ก + กากถั่วเหลืองป่น อัตรา 1:3 กิโลกรัมละ 17.04 บาท

สูตรที่ 4 อาหารไก่เล็ก + กากถั่วเหลืองป่น อัตรา 1:1 กิโลกรัมละ 16.6 บาท

สูตรที่ 5 อาหารไก่เล็ก + ถั่วเหลืองป่น อัตรา 1:1 กิโลกรัมละ 16.52 บาท

3.2.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบของสูตรอาหาร และหนอนนกที่เลี้ยงด้วย

อาหารแต่ละสูตรตามวิธีของ AOAC (2000) และ ศรีสกุล วรจันทรา และคณะ (2551)

3.2.2.1 การวิเคราะห์ความชื้น

นำจานอวลูมิเนียมพร้อมฝาเข้าอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำออกใส่โหลดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก ชั่งตัวอย่างหนอนนกที่ต้องการวิเคราะห์ ประมาณ 2-3 กรัมใส่ในจานอวลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนัก นำจานอวลูมิเนียมพร้อมฝาที่มีตัวอย่างอาหารไปอบในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำจานอวลูมิเนียมพร้อมฝาออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้นเมื่อเย็นชั่งน้ำหนัก นำจานอวลูมิเนียมพร้อมฝาที่มีตัวอย่างหนอนไปอบในตู้อบแห้งอีกครั้งทำตามขั้นตอนเดิม จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

3.2.2.2 การวิเคราะห์เถ้าทั้งหมด (Ash) เผาด้วยกระบี่อิงในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำด้วยกระบี่อิงออกจากเตาเผาไปไว้ในโหลดูดความชื้นทิ้งให้เย็นแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ชั่งตัวอย่างหนัก 2-3 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระบี่อิง นำไปเผาให้หมดควันแล้วนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เผาจนได้เถ้าเป็นสีขาวหรือสีเทาใช้เวลา

ประมาณ 3-4 ชั่วโมง ลดอุณหภูมิเตาเป็น 120 องศาเซลเซียส รอจนอุณหภูมิเตาเป็น 120 องศาเซลเซียส ทิ้งด้วยกระบือเนื่องจากเตาเผาใส่โหลดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักของถ้วยกระบือที่มีถั่วอยู่

3.2.2.3 การวิเคราะห์ไขมัน (Crude fat)

การวิเคราะห์ไขมันโดยเครื่อง Soxtherm นำตัวอย่างอาหารห่อด้วยกระดาษกรอง 2-3 กรัม เข้าอบในถ้วยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำบีกเกอร์ใส่หินเข้าอบในถ้วยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำออกใส่โหลดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก เปิดเครื่องสกัดไขมันและเครื่องหมุนเวียนทาความเย็น 30 นาที นำตัวอย่างอาหารห่อด้วยกระดาษกรองที่อบแล้วใส่ขวดแก้วกันแบน เติม Petroleum ether 150 ml แล้วใส่ในเครื่องสกัดไขมันตั้งโปรแกรมที่ตัวเครื่อง เมื่อเครื่องทำงานเสร็จ นำออกจากเครื่องไปอบในถ้วยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปใส่ในโหลดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนัก

3.2.2.4 การวิเคราะห์เยื่อใยทั้งหมด (Crude fiber)

เตรียม glass crucible ที่ใช้สำหรับการย่อยอาหารและกรองกาก ซึ่งซีไลท์ประมาณ 0.1 กรัม ใส่ลงไปใน glass crucible ซึ่งตัวอย่างอาหารใส่ลงใน glass crucible 2 กรัม นำ glass crucible ที่เตรียมใส่ลงในชุดจับ crucible แล้วนำไปวางในชุดสกัด นำตัวอย่างอาหารไปสกัดไขมันออกก่อนโดยใช้ชุดสกัดเย็น นำชุด glass crucible ออกจากชุดสกัดเย็น แล้วนำไปเข้าชุดสกัดร้อน เติม กรดกำมะถันที่ต้มจนร้อนทางด้านบนของ column 200 ml หยด antifoaming ลงไป 1 หยด ปิดฝาด้านบน column และนำแผ่นกันความร้อน มาปิดด้านหน้าของที่วาง glass crucible เปิดปั๊มน้ำเย็นให้ไหลผ่าน condenser ต้มให้เดือด 30 นาที เมื่อครบเวลา เปิดก๊อกน้ำประปาของเครื่องสกัดร้อน เพื่อทำการตรวจสอบการครูดอก ล้างกากที่อยู่ใน glass crucible ด้วยน้ำกลั่นร้อน 6-7 ครั้ง โดยใช้สเปรย์น้ำ ลงไปด้านบนของ column แล้วดูน้ำออกจนแห้ง เติม สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ต้มจนร้อน เปิดปั๊มน้ำเย็นให้น้ำไหลผ่าน condenser ทำการกรองสารละลายกรดให้ทั้งหมด ล้างกากที่อยู่ใน glass crucible ด้วยน้ำกลั่นร้อน 6-7 ครั้ง โดยใช้สเปรย์น้ำ นำ glass crucible ออกจากชุดสกัดร้อน ไปอบที่ถ้วยที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเข้าโหลดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักของ glass crucible ที่มีซีไลท์และกากที่เหลือจากการย่อย จากนั้นนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำ glass crucible ออกจากเตาเผา นำไปใส่โหลดูดความชื้น เมื่อเย็นจึงชั่งน้ำหนัก

3.2.2.5 การวิเคราะห์โปรตีนหยาบ (Crude protein)

แบบการไทเตรตโดยตรง (direct titratation) ซึ่งตัวอย่างประมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยขนาด 250 ml เติม catalyst mixture 7 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 ml นำหลอดย่อยไปต้มบนเครื่องย่อย 1 ชั่วโมงอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา ตั้งเวลาเป็น 45 นาที อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เมื่อทำการย่อยเสร็จ เตรียมหลอดย่อยเพื่อเข้าเครื่องกลั่นโปรตีน เติมกรดบอริก 4% หยด อินดิเคเตอร์ เติม NaOH 45% และน้ำกลั่น ใส่ถึงที่ต่อเข้ากับเครื่องกลั่นโปรตีน นำหลอดย่อยเปล่าใส่

เครื่องเพื่อทำการล้างเครื่องเมื่อเสร็จแล้วนำหลอดย่อยที่ไม่มีอาหารเป็น blank นำหลอดย่อยที่ย่อยเสร็จแล้วมาใส่ในเครื่องกลั่นทำการกลั่นนำฟลาสมาทักเก็บแอมโมเนียเพื่อทำการไตเตรตนำสารละลายสีเขียวในฟลาสไปไตเตรตกับกรดซัลฟูริก 0.1N จนได้ end point สีชมพู

3.2.2.6 การวิเคราะห์แคลเซียม

วิเคราะห์แคลเซียมด้วยวิธีไตเตรตโดยตรง นำตัวอย่างหนอนนก 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องนำไปเผาบนเตาไฟฟ้าจนแห้ง และเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3-4 ชั่วโมง นำออกจากเตาเผาทิ้งให้เย็นและทำให้ชื้นด้วยกรดไนตริก ตั้งบนเตาไฟฟ้าจนแห้ง นำกลับไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 1.5 ชั่วโมง เเผาจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว เติมกรดเกลือ 50 % จำนวน 10 ml นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าต้มให้เถ้าละลายให้หมด ไข่แท่งแก้วคน ถ่ายสารละลายที่ได้ลงวัดปริมาตร ขนาด 250 ml ชะล้างเถ้าในถ้วยกระเบื้องหรือบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นแล้วเทใส่ในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 ml ไปเปิดดูสารละลายมา 50 ml ลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 ml แล้วหยด methyl red ลงไป 1-2 หยด ทำให้เป็นกลางด้วยแอมโมเนียเข้มข้น 25-28 % หรือจนสารละลายมีสีเหลืองอ่อนๆของ methyl red เติมกรดเกลือ 6N ลงไป 1.5 ml ยูเรีย 5 กรัม และ แอมโมเนียมออกซาลेट 4% 5 ml ลงในบีกเกอร์ ปิดด้วยกระจกนาฬิกา นำไปต้มให้เดือดน้อยๆจนกระทั่งสารละลายในบีกเกอร์เปลี่ยนเป็นสีส้มหรือขาว กรองตะกอนด้วยกระดาษกรองเบอร์ 40 ล้างตะกอนด้วยแอมโมเนียเจือจาง จนออกซาลेटหมด ส่วนที่เหลือบนกระดาษกรองคือ ตะกอนของแคลเซียมออกซาลेट (CaC_2O_4) เาะกระดาษกรองและล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดตะกอน แล้วเติมกรดกำมะถันเข้มข้น 2.5 ml แล้วนำไปอุ่นบนเตาไฟฟ้า จากนั้นนำมาไตเตรตกับสารละลายโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.05 N จนได้สารละลายที่มีสีชมพูจางๆ

3.2.2.7 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

วิเคราะห์หาฟอสฟอรัสโดยวิธี Spectrophotometry ชั่งตัวอย่างหนอนนก 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้อง เผาให้หมดควันบนเตาไฟฟ้าและนำไปเผาในเตาเผาที่ 600 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ถ่ายจากถ้วยกระเบื้องลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 ml ล้างถ้วยกระเบื้องด้วยกรดเกลือเจือจาง 10 ml และใช้น้ำกลั่นร้อนช่วยในการล้างถ้วยกระเบื้องอีกครั้ง เทน้ำล้างลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นร้อนลงในบีกเกอร์ประมาณ 75 ml ระเหยน้ำให้เหลือประมาณ 50 ml 1-2 ชั่วโมง เทสารละลายในบีกเกอร์ใส่ขวดวัดปริมาตรและปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml จากนั้นใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 กรองสารละลาย เขย่าขวดวัดปริมาตรให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อให้เกิดสีเหลืองแล้วนำไปอ่านค่าดูดกลืนแสง จากเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร

3.2.2.8 การวิเคราะห์หาพลังงาน (gross energy)

การวิเคราะห์หาพลังงาน (gross energy) ด้วยเครื่อง Automatic bomb calorimeter รุ่น AC-350

3.2.3 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อหนอนนก

นำหนอนนกที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร III แทนรหัสผลิตภัณฑ์ A มีโปรตีนสูงที่สุด และสูตร I แทนรหัสผลิตภัณฑ์ B มาทำการทอดกรอบ และทดสอบความชอบเรื่องสี กลิ่นรสชาติ และความชอบโดยรวมด้วยวิธี 9 point hedonic test (ไม่ชอบมากที่สุด-ชอบมากที่สุด) โดยใช้ผู้ทดสอบ 100 คน จากที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร พระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี และจังหวัดใกล้เคียง โดยเลือกจากกลุ่มคนที่เคยรับประทานแมลง และสำรวจพฤติกรรมทั่วไป ความคิดเห็น การยอมรับ และความต้องการของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์จากแมลงหนอนนกทอดกรอบสมุนไพร

โดยใช้แบบสอบถามแบ่งออกเป็น 3 ส่วน มีรายละเอียดดังนี้

ส่วนที่ 1 สอบถามข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม เพศ อายุ ระดับการศึกษา อาชีพ รายได้ต่อเดือน สถานะภาพการสมรส

ส่วนที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับทัศนคติ และพฤติกรรมผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์จากแมลง ประเภทแมลงที่เลือกรับประทาน รับประทานบ่อยหรือไม่ เลือกซื้อจากที่ใด ผู้บริโภคซื้อเองหรือไม่ มูลค่าที่ซื้อต่อครั้ง ลักษณะผลิตภัณฑ์จากแมลงที่เลือกรับประทาน ปัจจัยในการเลือกซื้อ ความสนใจในการเลือกซื้อ การบรรจุภัณฑ์

ส่วนที่ 3 ข้อมูลเกี่ยวกับความชอบและการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์หนอนนกทอดกรอบสมุนไพร ความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ ลักษณะโดยรวม สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์