**บทที่ 3**

**วิธีดำเนินการวิจัย**

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแผ่นอบกรอบเสริมโปรตีน โดยมีขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

**วัตถุดิบ**

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียวและจิ้งหรีดทองแดงลาย ได้จากตลาดในท้องถิ่น อ. เมือง จ. มหาสารคาม

**เครื่องมือและอุปกรณ์**

1. เครื่องปั่นแบบมือจับ (MR 430 HC model, 300 Watt, Spain)

2. เครื่องกวนสารที่ควบคุมอุณหภูมิ (Stirrer, ARE model, VELP Scientifica, Italy)

3. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance : Sartorius, CP224S, German)

4. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Digital thermometer, DTM 305 model, TECPEL, Taiwan)

5. เครื่องอบลมร้อนแบบถาด (Tray dryer)

6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance : Sartorius, CP224S, German)

7. เครื่องบดสับ (JOWSUA Meat Grinder, MGB120)

8. Spectrophotometry (Jenway 6300 and 6320D Visible and 6305 UV/Vis)

9. เครื่องขึ้นรูปแผ่น

10. เครื่องวัดสี (Hunter lab)

**สารเคมี**

 1. เฮกเซน (Hexane : Commercial grade, Etalmar, Thailand)

 2. เฮกเซน (Hexane : HPLC grade 99.5%, LAB-SCAN, Ireland)

 3. เอทานอล (Ethanol : AR grade >95%, Merck, German)

 4. เมทานอล (Methanol : AR grade >99.9%, Merck, German)

 5. L-Ascobic acid (AR grade >99.9%, Merck, German)

 6. Sodium hydrogen carbonate (Sigma-aldrich, German)

 7. 2,2-dyphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-aldrich, German)

 8. FolinCiocalteu’s phenol reagent (Sigma-aldrich, German)

 9. Aluminium chloride (AlCl3) (Sigma-aldrich, German)

 10. บีเอชที (2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol, AR grade, Sigma-aldrich, German)

 11. ไนโตรเจน (Nitrogen 99.99% : Lanna Industrial Gasses, Thailand)

**วิธีการดำเนินการวิจัย**

1. การเตรียมวัตถุดิบ

1.1 การเตรียมกระเจี๊ยบเขียว

1.1.1 นำกระเจี๊ยบเขียวที่ซื้อมากจากตลาดในท้องถิ่น อ. เมือง จ. มหาสารคาม ทำการตัดแต่งและล้างทำความสะอาด

1.1.2 ทำการลวกด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที

1.1.3 นำกระเจี๊ยบเขียวที่ผ่านการลวกแช่ในน้ำเย็นทันที ทำการแยกเมล็ดออกและทำการปั่นให้ละเอียด เพื่อเตรียมสำหรับเป็นส่วนผสมต่อไป

1.2 การเตรียมโปรตีนจากจิ้งหรีดทองแดงลาย

1.2.1 นำจิ้งหรีดทองแดงลายที่ซื้อมากจากตลาดในท้องถิ่น อ. เมือง จ. มหาสารคาม ทำการตัดแช่เย็นเพื่อให้แมลงสลบ ทำการล้างและทำความสะอาด

1.2.2 นำจิ้งหรีดทองแดงลายมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง หรือจนกว่าจิ้งหรีดทองแดงลายจะมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 20 มาตรฐานน้ำหนักแห้ง

1.2.3 ทำการบดจิ้งหรีดทองแดงลายที่ผ่านการอบให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 150 mesh เพื่อเตรียมสำหรับเป็นส่วนผสมต่อไป

1.3 การเตรียมสารยึดเกาะหรือสารช่วยให้ความคงตัว

1.3.1 สารยึดเกาะหรือสารช่วยให้ความคงตัวในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ใช้ แป้งมัน ซื้อมากจากตลาดในท้องถิ่น อ. เมือง จ. มหาสารคาม

1.3.2 ทำการละลายแป้งมันในน้ำที่อัตราส่วนแป้งมันต่อน้ำที่อัตราส่วน 1 : 3 หลังจากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที เพื่อเตรียมสำหรับเป็นส่วนผสมต่อไป

2. การศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมต่อความชอบของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแผ่นอบกรอบเสริมโปรตีน 3 ชนิด คือ ปริมาณของกระเจี๊ยบเขียวร้อยละ 60-90 ปริมาณโปรตีนจากจิ้งหรีดทองแดงลายร้อยละ 5–40 และปริมาณสารยึดเกาะหรือสารช่วยให้ความคงตัวร้อยละ 0-10 ตามลำดับ จัดกรรมวิธีการทดลองแบบ Mixture design ดังตารางที่ 3.1 หลังจากนั้นนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นขนาด 7x15 เซนติเมตร และอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.1 แผนการทดลองแบบ Mixture design ของสัดส่วนที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแผ่นอบกรอบเสริมโปรตีน

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Coded- variable levels |  | Natural-variable levels |
| Z1 | Z2 | Z3 |  | X1 (Okra, %) | X2 (Cricket, %) | X3 (Binder, %) |
| 0.00 | 0.50 | 0.50 |  | 60.00 | 20.00 | 5.00 |
| 1.00 | 0.00 | 0.00 |  | 90.00 | 0.00 | 0.00 |
| 0.00 | 0.00 | 1.00 |  | 60.00 | 0.00 | 10.00 |
| 0.67 | 0.17 | 0.17 |  | 80.10 | 6.80 | 1.70 |
| 0.50 | 0.00 | 0.50 |  | 75.00 | 0.00 | 5.00 |
| 0.17 | 0.17 | 0.67 |  | 65.10 | 6.80 | 6.70 |
| 0.33 | 0.33 | 0.33 |  | 69.90 | 13.20 | 3.30 |
| 1.00 | 0.00 | 0.00 |  | 90.00 | 0.00 | 0.00 |
| 0.00 | 0.00 | 1.00 |  | 60.00 | 0.00 | 10.00 |
| 0.50 | 0.50 | 0.00 |  | 75.00 | 20.00 | 0.00 |
| 0.00 | 1.00 | 0.00 |  | 60.00 | 40.00 | 0.00 |
| 0.00 | 0.50 | 0.50 |  | 60.00 | 20.00 | 5.00 |
| 0.17 | 0.67 | 0.17 |  | 65.10 | 26.80 | 1.70 |
| 0.00 | 1.00 | 0.00 |  | 60.00 | 40.00 | 0.00 |

3. การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้วิธี “9-point hedonic scale” การศึกษาคุณภาพด้านประสามสัมผัส โดยศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์กระเจี๊ยบแผ่นอบกรอบเสริมโปรตีนใช้ผู้บริโภคทั่วไป จำนวน 30 คน โดยใช้ 9-point Hedonic Scale วัดค่าคะแนนความชอบคุณลักษณะต่างๆ ได้แก่ กลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ค่าคะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) ดังนี้

9 หมายถึง ชอบมากที่สุด

8 หมายถึง ชอบมาก

7 หมายถึง ชอบปานกลาง

6 หมายถึง ชอบเล็กน้อย

5 หมายถึง เฉยๆ

4 หมายถึง ไม่ชอบเล็กน้อย

3 หมายถึง ไม่ชอบปานกลาง

2 หมายถึง ไม่ชอบมาก

 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด

4. วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยดูดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ 3 มิลลิลิตร ลงในสารสกัด 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืน แสง (UV-visible spectrophotometer) ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (Mokbel *et al*., 2005) การทดลองที่ได้คำนวณหา % radical scavenging จากสมการ

% radical scavenging = [1-(Asample/Acontrol)] x 100

เมื่อ Asample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

 Acontrol คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

5. วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ด้วยเครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter lab รุ่น CQXE/SAV-2 วัดในระบบ CIE L\*, a\* และ b\* ซึ่งค่า L\* คือ ค่าความสว่าง ค่า +a\* คือ ค่าสีแดง ค่า -a\* คือ ค่าสีเขียว ค่า +b\* คือ ค่าสีเหลือง ค่า -b\* คือ ค่าสีน้ำเงิน

6. วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

6.1 ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร (AOAC, 2002)

6.2 ปริมาณวิตามินเอ (วรัญญา ชูขาว และนภาพร รัตนาถ, 2558)