

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากร/กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้วิจัย ได้แก่ ผักพื้นบ้านและพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคเบาหวาน ตามท้องถิ่นในเขตจังหวัดพิษณุโลก

สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย

สารเคมีที่ใช้ในการหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต มีดังนี้

1. 0.05 M Tris – HCL
2. 2.9 M โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
3. แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2)
4. อะซิติกแอซิด (CH_3COOH)
5. Starch azure
6. โพแทสเซียม ฟอสเฟต (K_2HPO_4)
7. โพแทสเซียม เพอร์ฟอสเฟต (KH_2PO_4)
8. p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside
9. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) "Riedel", 1L No.60153
10. Ethanal absolute "Merck", 2.5L
11. Sodium Hydroxide

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีกายภาพ คือ สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณไขมัน โปรตีน เยื่อใย และเถ้า ดังนี้

1. Petroleum ether ยี่ห้อ LAB-SCAN ANALYTICAL SCIENCE
2. Sodium hydroxide ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
3. Boric acid ยี่ห้อ Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
4. Copper sulfate ยี่ห้อ APS Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
5. Sulfuric acid ยี่ห้อ BAKER ANALYZED ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. Potassium hydroxide ยี่ห้อ APS Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย

7. N-octanol ยี่ห้อ APS Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
8. Acetone ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต มีดังนี้

1. ตู้บลดมร้อน หจก.กิตติภูมิอีคิวเมนท์ รุ่น KPO-700 ประเทศไทย
2. เครื่องปั่น ยี่ห้อ Moulinex รุ่น A0241 4B
3. เครื่อง ระเหยแห้ง (Evaporators) ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-200
4. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Mettler-Toledo รุ่น AC 2105)
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Visible Spectrophotometer) ยี่ห้อ HACH รุ่น

DR 4000

6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
7. ไมโครปิเปต
8. อ่างน้ำร้อน (water bathe)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. ตู้บลดมร้อน (Hot air oven รุ่น 1375 FX)
2. เตาเผา (Fisher scientific รุ่น center 10-650-126)
3. ชุดอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ไขมัน (Buchi รุ่น B – 810 S/N 0996182)
4. ชุดอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์โปรตีน (Buchi – Kjeldahl system)
5. ชุดอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์เยื่อใย (Velp science รุ่น FINE)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

1. ถ้วยพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่าง
2. ถาดใส่ถ้วยพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่าง
3. แก้วน้ำดื่ม
4. แบบรายงานผลการทดสอบ
5. กระดาษทิชชู
6. ดินสอ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสำรวจข้อมูลผักพื้นบ้านและสมุนไพรที่สามารถลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน

1.1 เก็บรวบรวมข้อมูลผักพื้นบ้านและสมุนไพรเชิงพื้นที่ในเขตจังหวัดพิษณุโลก ด้านการใช้ประโยชน์ คุณสมบัติทางพฤกษศาสตร์ คุณค่าทางโภชนาการ คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส ความเป็นพิษ และสรรพคุณจากภูมิปัญญาท้องถิ่น โดยทำการศึกษาทุกอำเภอ จำนวน 9 อำเภอ 13 เทศบาลตำบล โดยสุ่มกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 398 กลุ่มตัวอย่าง จากจำนวนประชากรของจังหวัดพิษณุโลกทั้งหมด 844,508 คน สำหรับการกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่าง ใช้สูตรยามาเน่ (Yamane, 1970) ดังแสดงในสูตรที่ 1 และนำกลุ่มตัวอย่างที่คำนวณได้มากำหนดสัดส่วน เป็นรายอำเภอและรายเทศบาลตำบล ดังแสดงในตาราง 1

$$n = \frac{N}{1 + \frac{N e^2}{2}}$$

เมื่อ n = ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

N = ขนาดของประชากร

e = ความคลาดเคลื่อนของการสุ่มตัวอย่างซึ่งกำหนดค่าความคลาดเคลื่อนเท่ากับ 0.05

ตาราง 1 จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่เป็นตัวแทนประชากรในแต่ละอำเภอและเทศบาลตำบล
ในจังหวัดพิษณุโลก

อำเภอ/เทศบาลตำบล	จำนวนประชากร	ร้อยละของ	ขนาดกลุ่มตัวอย่าง
	ในแต่ละอำเภอและ เทศบาลตำบล	จำนวนประชากร ทั้งหมด	ประชากรในอำเภอ และเทศบาลตำบล
อำเภอเมืองพิษณุโลก	189,115	22.39	89
อำเภอนครไทย	75,949	8.99	36
อำเภอชาติตระการ	33,517	3.97	16
อำเภอบางระกำ	85,448	10.12	40
อำเภอบางกระทุ่ม	33,864	4.01	16
อำเภอพรหมพิราม	83,593	9.90	39
อำเภอวัดโบสถ์	28,807	3.41	14
อำเภอลำตะพาน	115,558	13.68	54
อำเภอเนินมะปราง	54,930	6.50	26
เทศบาลตำบลเนินมะปราง	3,592	0.43	2
เทศบาลตำบลลำตะพาน	4,861	0.58	2
เทศบาลตำบลวัดโบสถ์	8,318	0.98	4
เทศบาลตำบลวังทอง	3,841	0.45	2
เทศบาลตำบลพรหมพิราม	1,312	0.16	1
เทศบาลตำบลบางกระทุ่ม	1,523	0.18	1
เทศบาลตำบลเนินกุ่ม	14,005	1.66	7
เทศบาลตำบลปลักแรด	3,989	0.47	2
เทศบาลตำบลบางระกำ	5,150	0.61	2
เทศบาลตำบลป่าแดง	5,550	0.66	3
เทศบาลตำบลนครไทย	10,050	1.19	5
เทศบาลตำบลบ้านใหม่	2,001	0.24	1
เทศบาลนครพิษณุโลก	79,535	9.42	37
ประชากรทั้งหมด	844,508	100.00	398

1.2 สํารวจข้อมูลเชิงพื้นที่ด้านการนำมาใช้ประโยชน์ คุณสมบัติทางพฤกษศาสตร์ คุณค่าทางโภชนาการ คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส ความเป็นพิษ และสรรพคุณจากภูมิปัญญาท้องถิ่น ของผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยที่สามารถลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน โดยการ ใช้แบบ สอบถามและการสัมภาษณ์ประชากรกลุ่มตัวอย่างในแต่ละพื้นที่ตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์ข้อมูล

2.1 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการที่สามารถลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน

2.1.1 นำตัวอย่างผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทยที่สามารถลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานมาอบแห้งที่ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.1.2 การสกัดแยกตัวอย่าง

1) นำตัวอย่างผักพื้นบ้าน และพืชสมุนไพรไทยที่สามารถลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน มาสกัดโดยใช้ 50% MeOH (10 ml/g น้ำหนักอบแห้ง) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2) กรองและละลายตัวอย่างที่สกัดได้ด้วย 50% Dimethyl sulfoxide (DMSO) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ α - amylase และ α -glucosidases enzymes ต่อไป

2.2 การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยคาร์โบไฮเดรต

2.2.1 การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ α -amylase โดยคำนวณจากปริมาณของ สารตั้งต้น (Starch azure) ที่ไม่ถูกทำการย่อยโดย porcine pancreatic α -amylase inhibitory activity ตามวิธีของ Hansawasdi, 2000 และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm โดยใช้ UV spectrophotometer คำนวณเปอร์เซ็นต์ porcine pancreatic α -amylase inhibitory activity ตามสมการ

$$PPA \text{ inhibition activity (\%)} = \frac{\Delta C - \Delta S}{\Delta C \times 100}$$

โดย ΔC = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 100% enzyme activity - 0% enzyme activity

ΔS = test sample - blank

2.2.2 การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase ตามวิธีของ Sang, et. al., 2000

โดยใช้ yeast α -glucosidase (sigma) และใช้สารละลาย p-nitrophenyl- α - D - glucopyranoside (sigma) ใน 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) เป็นสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยากับตัวอย่างที่สกัดได้ วัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 405 nm คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase ได้ตามสมการ

$$\alpha - glu cosidase inhibition activity (\%) = \frac{\Delta C - \Delta S}{\Delta C \times 100}$$

โดย ΔC = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 100% enzyme activity - 0% enzyme activity

ΔS = test sample - blank

3. การศึกษาการสร้างแบบจำลองที่ใช้ในระบบสนับสนุนการตัดสินใจ

การสร้างแบบจำลองเป็นการสร้างสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อให้ทำนายความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ของผลิตภัณฑ์กับการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการผลิตของวัตถุดิบได้แก่ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ของผลิตภัณฑ์กับการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการผลิตโดยให้ความร้อนที่เวลานานแตกต่างกันของวัตถุดิบ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ของผลิตภัณฑ์กับการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการผลิตโดยปริมาณของวัตถุดิบแตกต่างกันโดยทำการทดลองหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ของผลิตภัณฑ์กับการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการผลิตของวัตถุดิบแล้วนำมาเขียนกราฟ ซึ่งจะให้ได้สมการทางคณิตศาสตร์ออกมา และสามารถนำไปใช้เป็นแบบจำลองในระบบสนับสนุนการตัดสินใจได้ ซึ่งการตรวจสอบความถูกต้องและความแม่นยำของแบบจำลองนั้นสามารถทำได้จากค่า Correlation จะต้องมามีค่าที่เข้าใกล้ 1 มากที่สุด

4. การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารไทยที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานร่วมกับระบบสนับสนุนการตัดสินใจ

4.1 การคัดเลือกผลิตภัณฑ์อาหารที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน

4.1.1 คัดเลือกชนิดวัตถุดิบ กระบวนการผลิตที่เหมาะสมและรูปแบบของผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานผลิตภัณฑ์ละ 1 ชนิด จากอาหาร 3 ประเภทคือ อาหารคาว อาหารหวานและขนมขบเคี้ยว และเครื่องดื่ม โดยใช้ข้อมูลจากฐานข้อมูลในระบบสนับสนุนการตัดสินใจ

4.1.2 สํารวจข้อมูลด้านการเลือกผลิตภัณฑ์อาหารที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานจากผู้บริโภคทั่วไปจำนวน 50 คน โดยการใช้แบบสอบถามและการสัมภาษณ์

4.2 หาสูตรพื้นฐานผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน

4.2.1 พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพต้นแบบที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน 3 ประเภทคือ อาหารคาว อาหารหวานและขนมขบเคี้ยว และเครื่องดื่ม ประเภทละ 1 ผลิตภัณฑ์

4.2.2 นำผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานสูตรพื้นฐานที่ผลิตมาทำทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ 9-point hedonic scale ในเรื่องของความชอบต่อลักษณะสัมผัสทางด้านสี, กลิ่น, รสชาติ, เนื้อสัมผัสและความชอบรวม ผู้ทดสอบ คือผู้บริโภคทั่วไปจำนวน 30 คน ทำการทดสอบ ณ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

4.2.3 นำข้อมูลที่ได้จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ

4.3 การหาสูตรผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน

4.3.1 คัดเลือกชนิดวัตถุดิบ กระบวนการผลิตที่เหมาะสมและรูปแบบของผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานโดยใช้วัตถุดิบผักพื้นบ้านและพืชสมุนไพรที่ใช้ในการผลิตอาหารท้องถิ่นทั่วไปและหาได้ง่ายตามท้องถิ่นและครัวเรือน เช่น ตำลึง มะระขี้นก กระเจี๊ยบ เป็นต้น ซึ่งใช้ระบบสนับสนุนการตัดสินใจในการคัดเลือกวัตถุดิบและกระบวนการผลิตที่เหมาะสม

4.3.2 พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพต้นแบบที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน

4.3.3 นำผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานสูตรพื้นฐานที่ผลิตมาทำทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ 9-point hedonic scale ในเรื่องของความชอบต่อลักษณะสัมผัสทางด้านสี, กลิ่น, รสชาติ, เนื้อสัมผัสและความชอบรวม ผู้ทดสอบ คือผู้บริโภคทั่วไปจำนวน 30 คน ทำการทดสอบ ณ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

4.3.4 นำข้อมูลที่ได้จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ระยะเวลาในการทำวิจัย คือ 18 เดือน เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 - เดือนมีนาคม 2552
สถานที่ทำการทดลอง คือ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

สถานที่เก็บข้อมูล อำเภอและเทศบาลตำบล ในจังหวัดพิษณุโลก

