บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำมันหอมระเหย

- โรสแมรี่
- เสจ
- ทายม์
- บาล์ม
- คาร์โมมายล์
- ยูเอสเอมินต์
- เปบเปอร์มินต์
- สเปียร์มินต์
- เจแปนนีสมินต์

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

- น้ำตาลทราย
- กลูโคสไซรัป (DE 42)
- เมนทอล (Local Food Grade)
- น้ำมันหอมระเหย
- สีเขียว (บริลเลียนท์บลู เอฟซีเอฟ 0.5%)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตน้ำมันหอมระเหย

- ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย ขนาด 5 ลิตร
- เครื่องให้ความร้อน (Heating mantle , England)
- ขวดสีชาขนาด 125 มิลลิลิตร
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance, Satorius : Model A 120 S, Germany)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance, Mettler : Model BB120 , Switzerland)
- เครื่องให้ความร้อน (Hot plate, Ego : Type 14 - 12871 - 30, Germany)
- แม่พิมพ์สแตนเลส
- เขียงพลาสติก
- อะลูมิเนียมฟอยล์

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

1. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ
   - เครื่องวัดสี (Color Quest II , Hunter Associates Laboratories Inc , USA.)

2. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี
   - เครื่องวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง (Microprocessor pH meters, Hanna Instruments : Model HI 1131 ,USA.)
   - เครื่องวัดค่าน้ำอิสระ (Aw - box , Novasina : AWC200, Switzerland)
   - เตาเผาเถ้า (Muffle furnace , Gallenkamp , British.)
   - จานสำหรับหาเถ้า
   - ขวดวัดความถ่วงจำเพาะ ขนาด 25 มิลลิลิตร (Specific gravity bottle , pyknometer
   - เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณและองค์ประกอบของสารที่ระเหยได้ (GC-MS , Shimadzu : Model GCMS - QP2000,Japan)

3. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ♠ หม้อนึ่งความดัน (Autoclave , Hirayama : Model HA-300MIV , Japan)
- ♠ ตู้อบเพาะเชื้อ (Incubator , Heraeus : Model D-6450 Hanau , Germany
- ♠ เครื่องตีปั่น (Laboratory Blender Stomacher : Model 400 , Seward Chemical., England.)
- ♠ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Memmert : Model WB 14, Germany)

4. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ทางคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- ♠ ชุดอุปกรณ์สำหรับทดสอบชิม
- ♠ ชุดอุปกรณ์สำหรับทดสอบกลิ่น
- ♠ แบบสอบถาม (รายละเอียดในภาคผนวก ก)

สารเคมี

- ♠ คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate pentahydrate ; $CuSO_4.5H_2O$, Analar, England)
- ♠ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide ; NaOH, Fluka, Germany)
- ♠ โซเดียมโปแตสเซี่ยมตาร์เตรต (Sodium Potassiumtartate ;$NaKC_4O_6.4H_2O$, Merck , Germany)
- ♠ กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric; HCl,Merck, Germany)
- ♠ กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid conc; Merck, Germany)
- ♠ เมธิลีนบลู (Methylen blue ; $(CH_2)_2NC_6H_3N{:}C_6H_3[N(CH_3)_2]{:}SCl.3H_2O$,J.T.Baker , USA)
- ♠ ฟีนอฟธาร์ลีน (Phenophtalene :$C_{20}H_{10}O_4$,Fluka , Germany)
- ♠ Plate Count Agar (Becto® Plate Count Agar, Difgo Labolatory, USA.)
- ♠ Potato Dextrose Agar (Becto® Potato Dextrose Agar, Difgo

Labolatory, USA.)

- ♠ Peptone (Becto® Peptone , Difgo Laboratory, USA.)
- ♠ กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid; $C_4H_6O_6$, Merck ,Germany)
- ♠ Brilliant green lactose bile broth (Becto® Brilliant green lactose bile broth, Difco Laboratory , USA)
- ♠ แอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 70

เครื่องประมวลผลข้อมูล

- ♠ เครื่องไมโครคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- ♠ โปรแกรมสำเร็จรูป SX version4® 1985,86,87,88,89,91,92 analytical software สำหรับวิเคราะห์ผลทางสถิติ
- ♠ โปรแกรมสำเร็จรูป Mixture Design
- ♠ โปรแกรมสำเร็จรูป Sigma Plot 2000
- ♠ โปรแกรมสำเร็จรูป POM
- ♠ โปรแกรมสำเร็จรูป Mathcad 7 professional

วิธีการทดลอง

การสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่ทำการพัฒนาขึ้นมาใหม่นี้มีความจำเป็นที่จะต้องกำหนดแนวความคิดผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภคขึ้นมา เพื่อเป็นการสร้างแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้สอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภค การสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์เพื่อหาลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ตามความคิดของผู้บริโภคเป็นวิธีการหนึ่งในการกำหนดแนวความคิดผลิตภัณฑ์ โดยการนำหลักการของ Ideal Ratio Profile มาใช้

วิธีการของ Ideal Ratio Profile เป็นวิธีการทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์ เพื่อดูลักษณะผลิตภัณฑ์ด้วยค่าสัดส่วน เป็นวิธีการที่ใช้ผู้บริโภคแสดงความเข้มหรือความมากน้อยของลักษณะคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์ ผู้บริโภคจะเป็นผู้กำหนดลักษณะของผลิตภัณฑ์

ด้วยตัวเอง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่กำลังพัฒนามีเค้าโครงลักษณะที่เหมือนหรือคล้ายกับที่ผู้บริโภคต้องการ เค้าโครงลักษณะที่ผู้บริโภคชอบหรือต้องการ (Ideal Ratio Profile) ควรได้รับการสร้างขึ้นมาเพื่อนำมาใช้เป็นแนวทางในการเปรียบเทียบกับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่กำลังพัฒนาได้ ในการทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์จำเป็นต้องมีตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อเป็นแนวทางในการสร้างเค้าโครงตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวอาจจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีในท้องตลาดหรือผลิตภัณฑ์จากการทดลอง ผู้บริโภคอาจจะให้ Ideal Ratio Profile ที่ต่างกัน แต่ Ratio profile ที่ได้จาก ค่าเฉลี่ยของสัดส่วน (Ratio) ของแต่ละคนนั้นสามารถนำมาใช้เป็นค่าความคิดผลิตภัณฑ์คงที่ (Fixed ideal) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์หรือทิศทางในการเปรียบเทียบต่อไป

ค่าคะแนนที่ผู้บริโภคแต่ละคนให้กับลักษณะแต่ละอย่างของผลิตภัณฑ์จะถูกนำมาหารด้วยค่าคะแนนที่ถูกกำหนดว่า ดีที่สุดหรือดีเลิศ หรือ คะแนนที่เหมาะสมกับความต้องการของผู้บริโภค(Ideal) ซึ่งจะได้สัดส่วน (Ratio) ของแต่ละคน นำค่าดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ย ค่าสัดส่วนเฉลี่ย (Ratio mean score) ที่ได้ของแต่ละลักษณะจะสามารถนำมาพิจารณาเปรียบเทียบได้ง่ายกับเค้าโครงลักษณะที่ต้องการ ซึ่งเป็นค่าสัดส่วนเท่ากับ 1.00 ภาพรวมจากค่าสัดส่วนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะนี้เรียกว่า Numeric product profile ค่าสัดส่วนเฉลี่ยดังกล่าวสามารถจะแสดงเป็นรูปเค้าโครงลักษณะรูปวงกลมใยแมงมุม (Cyclic profile)

ในการทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งนี้ ใช้ผู้บริโภคจำนวน 10 คน เป็นผู้กำหนดลักษณะคุณภาพที่ผู้บริโภคคิดว่าสำคัญสำหรับผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ และใช้ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งตราริโคล่าที่มีอยู่ในท้องตลาดเป็นตัวอย่างในการทดสอบ จากนั้นจึงทำการสร้างกราฟเค้าโครงผลิตภัณฑ์ลักษณะรูปวงกลมใยแมงมุมเพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาต่อไป

การสกัดน้ำมันหอมระเหย

นำพืชสมุนไพรมาล้างด้วยน้ำสะอาด คัดเลือกส่วนที่เน่าเสียหรือสิ่งปนเปื้อนออก หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อเสริมประสิทธิภาพในการกลั่นแล้วนำไปทำการกลั่นโดยเร็วเพื่อลดการสูญเสียน้ำมันหอมระเหย เวลาที่ใช้ในการกลั่นจะใช้เวลาโดยประมาณ 3 – 5 ชั่วโมง น้ำมันหอมระเหยและไอน้ำจะกลั่นตัวลงใน Condensing chamber เก็บนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ใส่ในขวดสีชาเพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพเนื่องจากแสงแดด ความร้อน และออกซิเจน จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำ

การผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

ในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งนั้นจะทำการผลิตในห้องที่มีการควบคุมความชื้น เพราะหากบริเวณที่ทำการผลิตมีปริมาณความชื้นที่สูงเกินไปจะส่งผลเสียต่อผลิตภัณฑ์โดยจะทำให้ผลิตภัณฑ์สามารถดูดความชื้นได้ง่ายและเร็วขึ้น การผลิตผลิตภัณฑ์ในแต่ละครั้งจะทำการผลิตในปริมาณ 300 กรัม เท่าๆ กันในทุกสิ่งทดลอง โดยเริ่มจากนำน้ำตาลทรายละลายในน้ำอัตราส่วน (3 : 1) เติมกลูโคสไซรัป ให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิ เท่ากับ 140 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการลดอุณหภูมิลงเหลือประมาณ 110 - 120 องศาเซลเซียส เติมสี เมนทอลและน้ำมันหอมระเหย คนจนเข้ากันแล้วเทลงพิมพ์ ทิ้งไว้ให้แข็งตัว นำออกจากพิมพ์ ห่อด้วยกระดาษฟอยล์

การวางแผนการทดลอง

ในการวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็นขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

ตอนที่ 1. ศึกษาปริมาณร้อยละของผลผลิตและการวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้

1.1 การศึกษาหาปริมาณร้อยละของผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรแต่ละชนิด

พืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยมีทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ โรสแมรี่ บาล์ม เสจ ทายม์ คาร์โมมายล์ เจแปนนีสมินต์ ยูเอสเอมินต์ สเปียร์มินต์ และเปบเปอร์มินต์ ทำการสกัดโดยใช้วิธีการกลั่น ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันกว้างขวางที่สุด จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มาหาปริมาณร้อยละของผลผลิต (% yield) โดยเทียบกับน้ำหนักสมุนไพรสดที่ใช้ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)

1.2 การศึกษาหาปริมาณและองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้

นำน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิด ที่สกัดได้ตามข้อ 1.1 มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณโดยใช้เทคนิคทาง GC-MS

โดยน้ำมันหอมระเหยของ บาล์ม โรสแมรี่ สเปียร์มินต์ เปบเปอร์มินต์และทาย์มจะวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS (Shimadzu : Model GCMS -QP2000 , Japan) โดยกำหนดให้อุณหภูมิของเครื่องกำเนิดอิเล็กตรอนเท่ากับ 250 องศาเซลเซียส และใช้คอลัมน์ชนิด DB - 1 (ขนาด 30 x 0.2 มิลลิเมตร) ซึ่งฉาบด้วย เมททิลซิลิกอน (Methylsilicon) และใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพา

<u>สภาวะขณะปฏิบัติงาน</u> โดยการฉีดสารตัวอย่างที่ระดับอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์จะตั้งโปรแกรมอยู่ที่ระหว่างระดับอุณหภูมิ 90 - 225 องศาเซลเซียส โดยในช่วงแรกจะทำการคงระดับของอุณหภูมิอยู่ที่ระดับ 90 องศาเซลเซียส นานเป็นเวลา 3 นาที ในช่วงที่สองระดับของอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นเป็น 110 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 10 องศาเซลเซียสต่อนาที นานเป็นเวลา 1 นาที และในช่วงสุดท้ายจะเพิ่มอุณหภูมิอยู่ที่ระดับ 225 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 20 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

สำหรับน้ำมันหอมระเหยของ เสจ คาร์โมมายล์ ยูเอสเอมินต์ เจแปนนีสมินต์ และน้ำมันหอมระเหยผสมของสมุนไพรทั้ง 9 ชนิดที่เหมาะสมต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งก่อนเติมและหลังเติมลงในผลิตภัณฑ์จะวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS โดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟีใช้ของบริษัท Hewlett packgard รุ่น 5973 และเครื่องแมสสเปกโตรเมทรีใช้ของบริษัท Agilent รุ่น Agilent 6890 Series GC system โดยกำหนดให้อุณหภูมิของเครื่องกำเนิดอิเล็กตรอนเท่ากับ 250 องศาเซลเซียส และใช้คอลัมน์รุ่น HP 19091S - 433 (ขนาด 30 x 0.25 มิลลิเมตร) ซึ่งฉาบด้วย ฟีนิลเมททิลซิโลแซน ร้อยละ 5 (5% Phenyl Methyl Siloxane) และใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพา

<u>สภาวะขณะปฏิบัติงาน</u> โดยการฉีดสารตัวอย่างที่ระดับอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์จะตั้งโปรแกรมอยู่ที่ระหว่างระดับอุณหภูมิ 80 - 240 องศาเซลเซียส โดยในช่วงแรกจะทำการคงระดับของอุณหภูมิอยู่ที่ระดับ 80 องศาเซลเซียส นานเป็นเวลา 1 นาที ในช่วงที่สองระดับของอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นเป็น 120 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และในช่วงสุดท้ายจะเพิ่มอุณหภูมิอยู่ที่ระดับ 240 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 25 องศา - เซลเซียสต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที

ตอนที่ 2. การหาอัตราส่วนผสมที่เหมาะสมของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิด ต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาอัตราส่วนผสมที่เหมาะสมของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิด ต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง ซึ่งจะเป็นอัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยที่เป็นที่ยอมรับและพึงพอใจของผู้บริโภคมากที่สุดและแบ่งการทดลองเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

2.1 การทดสอบความชอบของผู้บริโภคต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากสมุนไพรทั้ง 9 ชนิด

นำน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิด ที่สกัดได้มาทำการทดสอบด้านประสาทสัมผัสโดยวิธีการดมกลิ่นแล้วจัดเรียงลำดับความชอบทางด้านกลิ่นของผู้บริโภคที่มีต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการกำหนดทิศทางกำหนดปริมาณการใช้น้ำมันหอมระเหยในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งในขั้นตอนต่อไป

ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสในแบบ Hedonic scale scoring test (ภาคผนวก ก) และในการทดสอบการดมกลิ่นจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 -15 คน ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ทดสอบจะบรรจุอยู่ในขวดแก้วใสมีฝาปิดขนาด 3 มิลลิลิตร ที่มีรหัสเป็นตัวเลข 3 ตัว ซึ่งได้จากตารางสุ่มตัวอย่าง และแจกกระดาษสำหรับทดสอบกลิ่น (Paper taster) ขนาด 0.5 * 5 เซนติเมตร แก่ผู้ทดสอบทุกคน นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistix version 4

2.2 การหาอัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิดที่เหมาะสมต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

การทดลองในข้อ 2.1 ทำให้สามารถทราบถึงความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิด จากนั้นจะกำหนดช่วงของปริมาณการใช้น้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสมโดยอาศัยความพึงพอใจและการยอมรับของผู้บริโภคต่อกลิ่นน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้เป็นเกณฑ์ โดยน้ำมันหอมระเหยที่ผู้บริโภคให้การยอมรับน้อยที่สุดจะถูกกำหนดให้ใช้ในระดับต่ำ (Low level) และน้ำมันหอมระเหยที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุดจะถูกกำหนดให้ใช้ในระดับสูง(High level)

นำช่วงที่กำหนดได้นั้นมาหาอัตราส่วนน้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสมต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง โดยวางแผนการทดลองแบบ Mixture design ซึ่งแผนการทดลองแบบนี้จะอาศัยหลักการที่ว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของส่วนประกอบใดส่วนประกอบที่เหลือในสูตรจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงด้วย และผลรวมของส่วนประกอบทั้งหมดต้องเท่ากับ 1.0 หรือร้อยละ 100 (ไพโรจน์ , 2536) และใช้โปรแกรม XVERT เพื่อช่วยในการกำหนดสิ่งทดลอง ซึ่งในขั้นตอนนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

2.2.1 การหาอัตราส่วนของส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลมินต์ที่เหมาะสม

เนื่องจากสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองนี้มีจำนวนมากถึง 9 ชนิด และมี 4 ชนิด ที่เป็นพืชตระกูลมินต์ ดังนั้นเพื่อความเหมาะสมของการทดลองและเป็นการลดจำนวนปัจจัยเพื่อกำหนดระบบให้มีขนาดเล็กลง จึงจำเป็นที่จะต้องทำการกำหนดปริมาณการใช้น้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลมินต์เสียก่อน โดยวางแผนการทดลองแบบ Mixture design (ไพโรจน์ , 2536) และใช้โปรแกรม XVERT เพื่อช่วยในการกำหนดสิ่งทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สิ่งทดลอง Mixture Design ที่ประกอบด้วยพืชตระกูลมินต์ทั้ง 4 ชนิด

ระดับ	สเปียร์มินต์	เจแปนนีสมินต์	ยูเอสเอมินต์	เปบเปอร์มินต์
ระดับต่ำ (ร้อยละ)	20	10	30	10
ระดับสูง (ร้อยละ)	40	30	50	40
สิ่งทดลองที่				
1	20	10	50	20
2	20	30	30	20
3	40	10	30	20
4	20	20	50	10
5	20	30	40	10
6	30	10	50	10
7	40	10	40	10
8	30	30	30	10
9	40	20	30	10

2.2.2 การหาอัตราส่วนของส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรทั้ง 9 ชนิด

เมื่อได้อัตราส่วนของส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลมินต์ที่เหมาะสมจากข้อ 2.2.1 จากนั้นทำการหาอัตราส่วนของส่วนของน้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรทั้ง 9 ชนิดที่เหมาะสมต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งต่อไป โดยอัตราส่วนของส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 9 ชนิด ที่เหมาะสมนั้นจะประกอบไปด้วยน้ำมันหอมระเหยของ โรสแมรี่ เสจ ทาย์ม บาล์ม คาร์โมมายล์ และน้ำมันหอมระเหยผสมของพืชตระกูลมินต์ที่ได้จากการทดลองที่ 2.2.1 โดยวางแผนการทดลองแบบ Mixture design(ไพโรจน์ , 2536) และใช้โปรแกรม XVERT เพื่อช่วยในการกำหนดสิ่งทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สิ่งทดลอง Mixture Design ที่ประกอบด้วยพืชสมุนไพรทั้ง 9 ชนิด

ระดับ	โรสแมรี่	เสจ	บาล์ม	ทาย์ม	คาร์โมมายด์	มินต์ทั้ง 4 ชนิด
ระดับต่ำ (ร้อยละ)	10	10	10	10	10	10
ระดับสูง(ร้อยละ)	20	30	30	40	40	50
สิ่งทดลองที่						
1	10	10	10	10	40	20
2	10	10	10	40	10	20
3	10	10	30	10	10	30
4	10	30	10	10	10	30
5	10	30	30	10	10	10
6	20	10	10	10	10	40
7	20	10	10	10	40	10
8	20	10	10	40	10	10
9	20	10	30	10	10	20
10	20	30	10	10	10	20
11	10	10	30	10	30	10
12	20	20	30	10	10	10

นำผลจากการทดลองที่ 2.2.1 และ 2.2.2 โดยทำการผสมน้ำมันหอมระเหยตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ในแต่ละสิ่งทดลอง ทำการทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยในแต่ละสิ่งทดลองนั้นๆ โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic scale scoring test (ไพโรจน์,2536)

ในการทดสอบการดมกลิ่นนี้จะใช้ผู้ทดสอบจำนวน10 - 15 คน ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทดสอบจะบรรจุอยู่ในขวดแก้วใสมีฝาปิดขนาด 3 มิลลิลิตร ที่มีรหัสเป็นตัวเลข 3 ตัว ซึ่งได้จากตารางสุ่มตัวอย่าง และแจกกระดาษสำหรับทดสอบกลิ่น (Paper taster) ขนาด 0.5 * 5 เซนติเมตร แก่ผู้ทดสอบทุกคน

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistix version 4 และโปรแกรมเชิงเส้น POM ซึ่งทำให้ได้อัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง จากนั้นจึงนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไปทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคทาง GC-MS เพื่อทราบปริมาณและองค์ประกอบของสารที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยนั้น

3. ศึกษาแนวทางในการพัฒนาสูตรที่เหมาะสมของลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

เมื่อได้อัตราส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสมต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งแล้ว ในการพัฒนาขั้นตอนนี้จึงเป็นการพัฒนาสูตรหรือสัดส่วนของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด โดยจะอาศัยแผนการทดลองแบบ Factorial experiment with 3 center points (ไพโรจน์, 2539) ในการกำหนดสูตรมีรายละเอียดดังนี้

สูตรลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

น้ำตาลซูโครส	ร้อยละ 50 – 70
กลูโคสไซรัป	ร้อยละ 30 – 50
น้ำมันหอมระเหย	ร้อยละ 0.1 – 0.3
เมนทอล	ร้อยละ 0.1 – 0.3
สีเขียว(บริลเลียนท์บลู เอฟซีเอฟ 0.5%)	ร้อยละ 0.1 - 0.3

โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ

3.1.1 การหาสัดส่วนของส่วนผสมที่เป็นปัจจัยหลักที่เหมาะสมต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง ได้แก่ น้ำตาลทราย กลูโคสไซรัป และน้ำมันหอมระเหย โดยการวางแผนการทดลองแบบ 2^3 Factorial experiment with 3 center points จะมีทั้งหมด 11 สิ่งทดลอง ดังนี้

กำหนดให้ ปัจจัย A คือ น้ำตาลทราย (กรัม) โดย

-1 แทน ระดับต่ำ

0 แทน จุดกึ่งกลาง

1 แทน ระดับสูง

ปัจจัย B คือ กลูโคสไซรัป (กรัม) โดย

-1 แทน ระดับต่ำ

0 แทน จุดกึ่งกลาง

1 แทน ระดับสูง

ปัจจัย C คือ น้ำมันหอมระเหย (มิลลิลิตร) โดย

-1 แทน ระดับต่ำ

0 แทน จุดกึ่งกลาง

1 แทน ระดับสูง

สิ่งทดลองทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 3.3

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ 3.3 สิ่งทดลองของแผนการทดลอง 2^3 Factorial experiment with 3 center point

สิ่งทดลองที่	ปัจจัย A	ปัจจัย B	ปัจจัย C
1 (1)	-1	-1	-1
2 (a)	1	-1	-1
3 (b)	-1	1	-1
4 (ab)	1	1	-1
5 (c)	-1	-1	1
6 (ac)	1	-1	1
7 (bc)	-1	1	1
8 (abc)	1	1	1
9 (Cp1)	0	0	0
10 (Cp2)	0	0	0
11 (Cp3)	0	0	0

หมายเหตุ ปัจจัย A คือ ปริมาณน้ำตาลทรายที่ใช้ในการผลิต

ระดับต่ำ ร้อยละ 50 กรัม

ระดับกลาง ร้อยละ 60 กรัม

ระดับสูง ร้อยละ 70 กรัม

ปัจจัย B คือ ปริมาณกลูโคสไซรัปที่ใช้ในการผลิต

ระดับต่ำ ร้อยละ 30 กรัม

ระดับกลาง ร้อยละ 40 กรัม

ระดับสูง ร้อยละ 50 กรัม

ปัจจัย C คือ ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการผลิต

ระดับต่ำ ร้อยละ 0.1 มิลลิลิตร

ระดับกลาง ร้อยละ 0.2 มิลลิลิตร

ระดับสูง ร้อยละ 0.3 มิลลิลิตร

นำสิ่งทดลองที่ได้ไปทำการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งตามวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยกำหนดให้ส่วนผสมอื่นๆ ที่เหลือในสูตรคงที่ ซึ่งก็คือ สีเขียว(บริลเลียนท์บลู เอฟซีเอฟ 0.5%) ร้อยละ 0.1 และเมนทอล ร้อยละ 0.1 นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านประสาทสัมผัส ดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical analysis)

- ค่าสีโดยใช้ Color Quest II , Hunter Associates Laboratories Inc , USA.

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical analysis)

- ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ โดยใช้ Aw - box, Novasina : AWC 200 , Switzerland
- ค่าความเป็นกรด - ด่าง ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugars) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณเถ้าซัลเฟต ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ตามวิธีของ Pearson , 1981

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

- โดยใช้ Ideal ratio profile (ไพโรจน์, 2536)

ในการทดสอบชิมจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 - 15 คน ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทดสอบจะบรรจุในถุงพลาสติกใสที่มีรหัสเป็นตัวเลข 3 ตัว ซึ่งสุ่มได้จากตารางสุ่มตัวอย่าง ลักษณะของผลิตภัณฑ์ (Attributes) ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สี ความใส ความหวาน รสเย็น กลิ่นสมุนไพร ความแข็ง การละลาย และการยอมรับรวม

การวิเคราะห์และประเมินผลทางด้านสถิติ (Statistic analysis)

- โดยใช้โปรแกรม Statistix version 4 , Sigmaplot 2000 และ Microsoft Excel 97

3.1.2 การหาสัดส่วนของส่วนผสมที่เป็นปัจจัยรองที่เหมาะสมต่อการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

วัตถุดิบรองที่ใช้ในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง ได้แก่ สีเขียว และเมนทอล โดยการวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment with 3 center points จะมีทั้งหมด 7 สิ่งทดลอง ดังนี้

กำหนดให้

ปัจจัย A คือ สีเขียว (มิลลิลิตร)

-1 แทน ระดับต่ำ

0 แทน จุดกึ่งกลาง

1 แทน ระดับสูง

ปัจจัย B คือ เมนทอล (กรัม)

-1 แทน ระดับต่ำ

0 แทน จุดกึ่งกลาง

1 แทน ระดับสูง

สิ่งทดลองทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 3.4

<u>ตารางที่ 3.4</u> สิ่งทดลองของแผนการทดลอง 2^2 Factorial experiment with 3 center points

สิ่งทดลอง	ปัจจัย A	ปัจจัย B
(1)	-1	-1
a	+1	-1
b	-1	+1
ab	+1	+1
Cp1	0	0
Cp2	0	0
Cp3	0	0

หมายเหตุ ปัจจัย A คือ ปริมาณสีเขียวที่ใช้ในการผลิต

ระดับต่ำ	ร้อยละ 0.1 มิลลิลิตร
ระดับกลาง	ร้อยละ 0.2 มิลลิลิตร
ระดับสูง	ร้อยละ 0.3 มิลลิลิตร

ปัจจัย B คือ ปริมาณเมนทอลที่ใช้ในการผลิต

ระดับต่ำ	ร้อยละ 0.1 กรัม
ระดับกลาง	ร้อยละ 0.2 กรัม
ระดับสูง	ร้อยละ 0.3 กรัม

นำสิ่งทดลองที่ได้ไปทำการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งตามวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยกำหนดให้ใช้ส่วนผสมอื่นๆ ซึ่งก็คือ น้ำตาลทราย กลูโคสไซรัป และน้ำมันหอมระเหยตามอัตราส่วนที่ได้ทำการพัฒนาแล้วตามการทดลองที่3.1.1นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส ดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical analysis)

- ค่าสีโดยใช้ Color Quest II , Hunter Associates Laboratories Inc , USA.

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical analysis)

- ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ โดยใช้ Aw - box, Novasina : AWC 200 , Switzerland
- ค่าความเป็นกรด - ด่าง ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugars) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณเถ้าซัลเฟต ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ตามวิธีของ Pearson , 1981

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

- โดยใช้ Ideal ratio profile (ไพโรจน์, 2536)

ในการทดสอบชิมจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 - 15 คน ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทดสอบจะบรรจุในถุงพลาสติกใสที่มีรหัสเป็นตัวเลข 3 ตัว ซึ่งสุ่มได้จากตารางสุ่มตัวอย่าง ลักษณะของผลิตภัณฑ์ (Attributes) ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สี ความใส ความหวาน รสเย็น กลิ่นสมุนไพร ความแข็ง การละลาย และการยอมรับรวม

การวิเคราะห์และประเมินผลทางด้านสถิติ (Statistic analysis)

- โดยใช้โปรแกรม Statistix version 4 , Sigmaplot 2000 และ Microsoft Excel 97

ตอนที่ 4 การศึกษากรรมวิธีการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

เมื่อได้สูตรการผลิตลูกกวาดสมุนไพรที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับแก่ผู้บริโภคแล้ว การทดลองในขั้นนี้จะทำการทดลองเพื่อหากระบวนการผลิตที่เหมาะสม ซึ่งในขั้นตอนการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งนั้นมีปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต

โดยการวางแผนการทดลอง แบบ Completely Randomized Design (สุรพล, 2536) ซึ่งจะมีทั้งหมด 3 สิ่งทดลองดังนี้

สิ่งทดลอง	อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง (องศาเซลเซียส)
1	140
2	150
3	160

หมายเหตุ : ทุกสิ่งทดลองจะทำการทดลองซ้ำอย่างละ 3 ซ้ำ

นำสิ่งทดลองที่ได้ไปทำการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งตามวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยส่วนผสมที่ใช้ ได้แก่ น้ำตาลทราย กลูโคสไซรัป น้ำมันหอมระเหย สีเขียว และเมนทอล ตามอัตราส่วนที่ได้ทำการพัฒนาแล้วในการทดลองที่ 3.1.1 และ การทดลองที่ 3.1.2 นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส ดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical analysis)

- ค่าสีโดยใช้ Color Quest II , Hunter Associates Laboratories Inc , USA.

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical analysis)

- ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ โดยใช้ Aw - box, Novasina : AWC 200 , Switzerland
- ค่าความเป็นกรด - ด่าง ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugars) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณเถ้าซัลเฟต ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ตามวิธีของ Pearson , 1981

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

- โดยใช้ Ideal ratio profile (ไพโรจน์, 2536)

ในการทดสอบชิมจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 - 15 คน ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทดสอบจะบรรจุในถุงพลาสติกใสที่มีรหัสเป็นตัวเลข 3 ตัว ซึ่งสุ่มได้จากตารางสุ่มตัวอย่าง ลักษณะของผลิตภัณฑ์ (Attributes) ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สี ความใส ความหวาน รสเย็น กลิ่นสมุนไพร ความแข็ง การละลาย และการยอมรับรวม

การวิเคราะห์และประเมินผลทางด้านสถิติ (Statistic analysis)

- โดยใช้โปรแกรม Statistix version 4

ตอนที่ 5 การผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งในสูตรและกรรมวิธีที่เหมาะสมที่ผ่านกระบวนการพัฒนามาแล้วในขั้นตอนที่ 1 2 3 และ4

5.1 ทำการสรุปสูตรที่ใช้ผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่เหมาะสมจากตอนที่ 2 และ 3

5.2 ทำการสรุปกรรมวิธีการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่เหมาะสมจากตอนที่ 4

5.3 ทำการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งโดยใช้สูตรและกรรมวิธีการผลิต จากข้อ 5.1 และ 5.2 และทำการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ ทั้งด้านกายภาพ เคมี และด้านจุลินทรีย์ ตลอดจนทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ผลปรากฏ ดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical analysis)

- ค่าสีโดยใช้ Color Quest II , Hunter Associates Laboratories Inc , USA.

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical analysis)

- ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ โดยใช้ Aw - box, Novasina : AWC 200 , Switzerland
- ค่าความเป็นกรด - ด่าง ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugars) ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณเถ้าซัลเฟต ตามวิธีของ AOAC , 1995
- ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ตามวิธีของ Pearson , 1981
- ปริมาณและองค์ประกอบของสารที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยหลังจากเติมลงในผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง โดยการนำผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรมาละลายน้ำแล้วนำไปกลั่น โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับการสกัดน้ำมันหอมระเหยแล้วนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไปทดสอบหาปริมาณและองค์ประกอบ โดยเทคนิคทาง GC-MS , Shimazu : Model GCMS QP2000 , Japan

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

- โดยใช้ Ideal Ratio Profile (ไพโรจน์, 2536)

ในการทดสอบชิมจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 - 15 คน ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทดสอบจะบรรจุในถุงพลาสติกใส ลักษณะของผลิตภัณฑ์ (Attributes) ที่ทำการทดสอบได้แก่ สี ความใส ความหวาน รสเย็น กลิ่นสมุนไพร ความแข็ง การละลาย และการยอมรับรวม

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุชีววิทยา (Microbial analysis)

- เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) โดยวิธี Pour plate (เรณู , 2537)
- เชื้อยีสต์และรา (Yeast and Mold) โดยวิธีการ Pour plate (เรณู, 2537)
- *E. coli* และ Coliform (เรณู, 2537)

การวิเคราะห์และประเมินผลทางด้านสถิติ (Statistic analysis)

- โดยใช้โปรแกรม Statistix version 4

5.4 สรุปผลการทดลอง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University