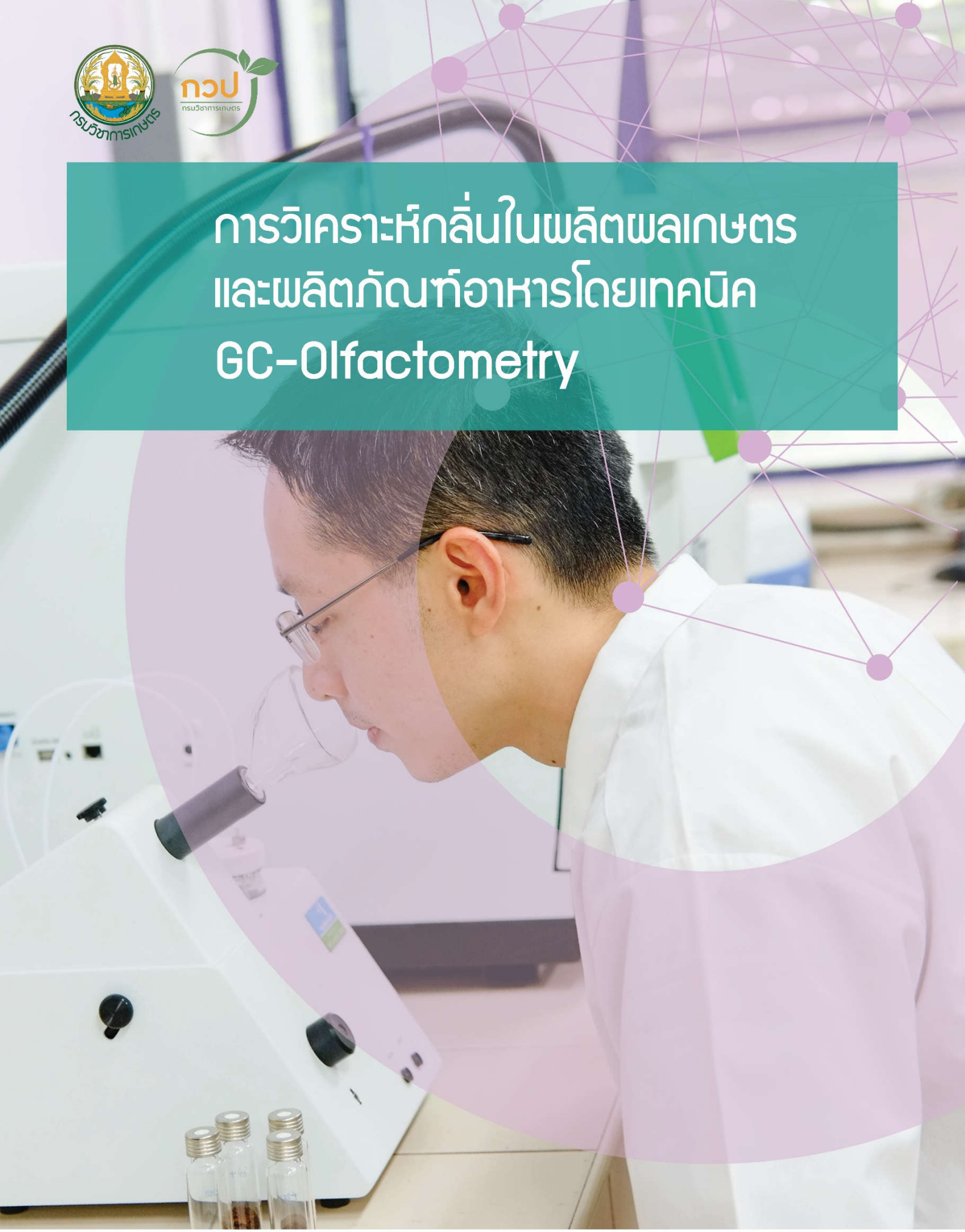
การวิเคราะห์กลิ่นในผลิตผลเกษตร และผลิตภัณฑ์อาหารโดยเทคนิค GC-Olfactometry



จัดทำโดย | กลุ่มวิจัยและพัฒนาการแปรรูปผลิตผลเกษตร
กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
กรมวิชาการเกษตร

การวิเคราะห์กลิ่นในผลิตผลเกษตร และผลิตภัณฑ์อาหารโดยเทคนิค GC-Olfactometry

จัดทำโดย | กลุ่มวิจัยและพัฒนาการแปรรูปผลิตผลเกษตร
กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
กรมวิชาการเกษตร

การวิเคราะห์กลิ่นในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเทคนิค GC-Olfactometry

ที่ปรึกษา

ศุภมาศ กลิ่นขจร

คณะทำงาน

ศิริพร เต็งรัง
วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร
โกเมศ สัตยาวุธ
จารุวรรณ์ รัตนสกุลธรรม
อกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์
กนกศักดิ์ ลอยเลิศ
นภัสสร เลียบวัน
ปาริชาติ อยู่แพทย์
สุรีย์รัตน์ รักเหลือ
สุกัญญา นิติยนต์
นราทร สุขวิเสส
ศิวัช พลายเสน

คำนำ

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูผลิตผลเกษตร ได้จัดทำคู่มือ เรื่อง การวิเคราะห์กลิ่นในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเทคนิค GC-Olfactometry สำหรับนักวิชาการ เจ้าหน้าที่ผู้ประกอบการ เกษตรกร นักศึกษา และผู้ที่สนใจ เป็นคู่มือที่อธิบายถึงเทคนิคของ GC-O วิธีการเตรียมตัวอย่าง วิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง การวิเคราะห์และประเมินผล และการประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ โดยจัดทำเนื้อหาให้กระชับและเข้าใจง่าย

ขอขอบคุณคณะทำงานจัดการความรู้ ที่ได้รวบรวมข้อมูล ปรับปรุง แก้ไข และจัดทำคูมือ รวมทั้งผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ข้อคิดเห็นเพื่อปรับปรุงเพื่อให้ได้คู่มือ การวิเคราะห์กลิ่นในผลิตผลเกษตรและผลิตภัณฑ์อาหารโดยเทคนิค GC-Olfactometry ฉบับสมบูรณ์ หวังว่าคู่มือฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจทุกท่าน ในการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

(นางสาวธิดากุญ แสนอุดม)
ผู้อำนวยการกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการ
หลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

สารบัญ

01 - บทนำ 1

02 - หลักการทั่วไป 3

หลักการทั่วไปของ GC 4

หลักการทั่วไปของ GC-O 8

03 - ขั้นตอนการปฏิบัติการวิเคราะห์ตัวอย่าง 10

การคัดเลือกตัวอย่าง 11

การเตรียมตัวอย่าง 11

การสกัดสารให้กลิ่น 13

04 - การฝึกฝนผู้ประเมินกลิ่นรส 31

การคัดเลือกผู้ทดสอบ 32

การฝึกหัดผู้ทดสอบ 33

วิธีการทำโปรไฟล์กลิ่นรสด้วยวิธีทดสอบเชิงพรรณนา 34

05 - การวิเคราะห์และประมวลผล 37

การวิเคราะห์ผลการทดสอบด้วย GC 38

การประเมินผลการทดสอบด้วย GC-O 39

การประเมินผลตามหลักการประเมิน/ identification 42

06 - การประยุกต์ใช้ Gas Chromatography Olfactometry 44

การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยกาแฟ 45

การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยแอลกอฮอล์ 49

การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยโกโก้ 55

การประยุกต์ใช้ GC-O วิเคราะห์กลิ่นในผลไม้ 60

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อสารบัญ

คำย่อ	คำอธิบาย
GC	Gas Chromatography
GC-O	Gas Chromatography-Olfactometry
FID	Flame Ionization Detector
MS	Mass Spectrometry
SPME	Solid Phase Micro Extraction
HS	Headspace
SFE	Supercritical Fluid Extraction
SPE	Solid Phase Extraction
AAF techniques	Accelerated Arabica Fermentation techniques
RT	Retention time
LRI	Linear Retention Indices
PT	Perception threshold
FD	Flavour dilution factor
OAV	Odor activity values

01 บทนำ

กลิ่นรส (Flavor) เป็นคุณลักษณะที่สำคัญในอาหารและผลิตภัณฑ์อาหาร โดยสามารถใช้เป็นปัจจัยในการตัดสินคุณภาพของอาหารได้ ส่งผลต่อการยอมรับหรือไม่ยอมรับและการตัดสินใจซื้ออาหารและผลิตภัณฑ์อาหารของผู้บริโภค ปัจจุบันการศึกษาเรื่องกลิ่นรสในอาหารจะมุ่งเน้นการระบุองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการรับรู้กลิ่นรสในอาหาร เรียกศาสตร์นี้ว่า **“วิทยาศาสตร์ประสาทสัมผัสเชิงโมเลกุล (Molecular Sensory Science)”** ซึ่งความสามารถในการระบุสารสำคัญที่ให้กลิ่นในอาหารสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพด้านกลิ่นของวัตถุดิบ การเปลี่ยนแปลงของกลิ่นหลังการเก็บเกี่ยว ระหว่างกระบวนการผลิตและการจัดเก็บอาหารในแง่ของการรักษาหรือเพิ่มกลิ่นที่ต้องการ และป้องกันไม่ให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ได้ เคมีอาหารด้านกลิ่นรส ถือเป็นองค์ความรู้ที่ต้องมีการศึกษาให้มากขึ้นในประเทศไทย เพื่อให้สามารถนำความรู้ทางด้านนี้มาเพิ่มมูลค่าและความสามารถในการแข่งขันของสินค้าไทยให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภคในตลาด

กลิ่น (Odor) หมายถึง กลิ่นที่เรารับรู้ผ่านทางการสูดดมผ่านจมูก เมื่อโมเลกุลของสารระเหยได้ผ่านเข้าทางจมูกและสัมผัสกับสมองส่วนหน้าบริเวณที่เรียกว่า ออลแฟกทอรี่บัลบ์ (Olfactory bulb) แล้วก็จะเกิดการส่งสัญญาณต่อไปยังสมองและกระจายไปยังบริเวณต่าง ๆ ของสมองเพื่อรับรู้ แปลความหมายว่าคือกลิ่นอะไร และควบคุมการแสดงออกทางอารมณ์ต่อกลิ่นที่มากระตุ้น (สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2554) ความสามารถในการรับกลิ่นอาหารของมนุษย์ทำให้มนุษย์สามารถแยกความแตกต่างของอาหารแต่ละชนิดได้ เช่น ผลไม้สุก ผลไม้ดิบ เป็นต้น มีการประมาณว่ามนุษย์สามารถตอบสนองต่อสารให้กลิ่นได้ประมาณ 5,000-10,000 ชนิด (Rijkens, 1975 และ Ohloff, 1978) ปัจจุบันพบว่าสารเคมีมากกว่า 2,600 ชนิดเป็นสารให้กลิ่นที่มีคุณสมบัติเป็นสารที่ระเหยได้ ละลายได้ในไขมันบางส่วน และมีขนาดโมเลกุลต่ำกว่า 300 (Ohloff, 1978 และ Weurman, 1976) สารเคมีที่ระเหยได้ในอาหารถูกแยกและจำแนกชนิดโดยเครื่อง Gas Chromatography (GC) แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าสารระเหยที่แยกได้นั้นสารใดเป็นสารให้กลิ่นหรือไม่ จากเดิมนักเคมีเคยเข้าใจว่าสารระเหยที่ถูกตรวจวัดได้จาก GC ที่มีพีค (Peak) ขนาดใหญ่มีความสำคัญต่อการให้กลิ่นของอาหาร แต่ปัจจุบันความเข้าใจนี้ได้ถูกแก้ไขโดยเทคนิค Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O) ซึ่งพบว่าพีคที่มีขนาดใหญ่ที่ตรวจวัดได้นั้นอาจมีความสำคัญน้อยหรือไม่มีความสำคัญกับกลิ่นของอาหารเลย

เทคนิค GC-O นับได้ว่าเป็นเทคนิคที่ทันสมัยเพราะเป็นการวิเคราะห์ร่วมกันระหว่างเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ คือ GC และใช้ประสาทสัมผัสทางด้านการดมกลิ่นของมนุษย์เป็นตัวตรวจสอบเฉพาะสารให้กลิ่น โดยมีการดมกลิ่นของสารระเหยโดยจมูกมนุษย์ขณะที่ถูกแยกจาก GC นักปรับปรุงพันธุ์หรือนักพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสามารถแยกและตรวจสอบได้ว่าสารเคมีตัวใดเป็นสารให้กลิ่นในอาหารนั้น ทำให้เกิดการพัฒนาทางด้านกลิ่นรสของผลิตผลทางการเกษตรและผลิตภัณฑ์อาหารในภาคเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร เกิดความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ เช่น การพัฒนาสมุนไพร การสกัดน้ำหอม ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ขนมขบเคี้ยว เป็นต้น เพื่อเพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคที่มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ตลอดจนขยายกลุ่มผู้บริโภคให้กว้างขึ้น เพิ่มยอดการจำหน่ายของผู้ประกอบการได้

02

หลักการทั่วไป

หลักการทั่วไปของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี..... 4

หลักการทั่วไปของเครื่อง GC-O 8

การวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสด้วยเทคนิค GC-O เป็นการผสมผสานเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือวิทยาศาสตร์ได้แก่ GC และการวิเคราะห์โดยใช้ประสาทสัมผัสด้านการดมกลิ่นของมนุษย์เข้าด้วยกัน ใช้เป็นเครื่องมือสำหรับตรวจสอบเฉพาะสารให้กลิ่น โดยการดมกลิ่นของสารระเหยขณะที่สารระเหยถูกแยกด้วยเครื่อง GC ผู้ทดสอบจะต้องประเมินว่าสารนั้นมีกลิ่นหรือไม่ (odor activity) บรรยายลักษณะของกลิ่นนั้น และประเมินความเข้มหรือความแรงของกลิ่นนั้น (odor intensity) ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วย GC-O จึงต้องอาศัยหลักการของ แก๊สโครมาโทกราฟี ร่วมกับการประเมินทางประสาทสัมผัส

2.1 หลักการทั่วไปของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography, GC) เป็นเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสม โดยการแยกสารแต่ละชนิดออกจากกันแล้วตรวจวัดสัญญาณที่ได้นั้นไปพร้อมกัน ทำให้สามารถแยกหาสารต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบในตัวอย่างนั้นๆ หรือสารกลุ่มเป้าหมายที่สนใจได้ โดยสารตัวอย่างจะถูกทำให้อยู่ในสภาวะแก๊สโดยไม่สลายตัว แล้วเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) ซึ่งอยู่ภายในคอลัมน์ มีแก๊สเฉื่อยเป็นตัวพา จากนั้นโมเลกุลสารตัวอย่างจะเกิดอันตรกิริยาบนเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ด้วยอัตราที่แตกต่างกัน ทำให้สารแต่ละชนิดถูกรั้งอยู่ในคอลัมน์ได้นานไม่เท่ากันและจะแยกออกจากกันได้ก่อนถึงหัวตรวจวัดสัญญาณ ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จะเรียกว่า โครมาโทแกรม (Chromatogram) ที่ประกอบด้วยสัญญาณการตอบสนองสูงสุดของสารแต่ละชนิด (พีค; Peak) โดยปรากฏตามเวลาที่สารถูกหน่วงอยู่ในคอลัมน์ (Retention time; RT) ซึ่งนับตั้งแต่เวลาที่เริ่มฉีดสารผ่านเข้าไปในคอลัมน์จนกระทั่งสารถูกชะออกจากคอลัมน์ พีคที่ได้จะบอกถึงจำนวนการแยกของสารผสมจากตัวอย่างที่ผ่านระบบนี้ การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative) ทำได้โดยเปรียบเทียบ RT ที่ตรงกันของสารมาตรฐานแต่ละชนิดกับ RT ของสารที่พบในตัวอย่าง และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative) ได้จากขนาดของสัญญาณซึ่งเป็นพื้นที่ใต้พีคหรือความสูงของพีคที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างไปเทียบกับสัญญาณของสารมาตรฐาน และขนาดของสัญญาณจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารที่ฉีด
ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่สำคัญ (ภาพที่ 1) มีดังนี้

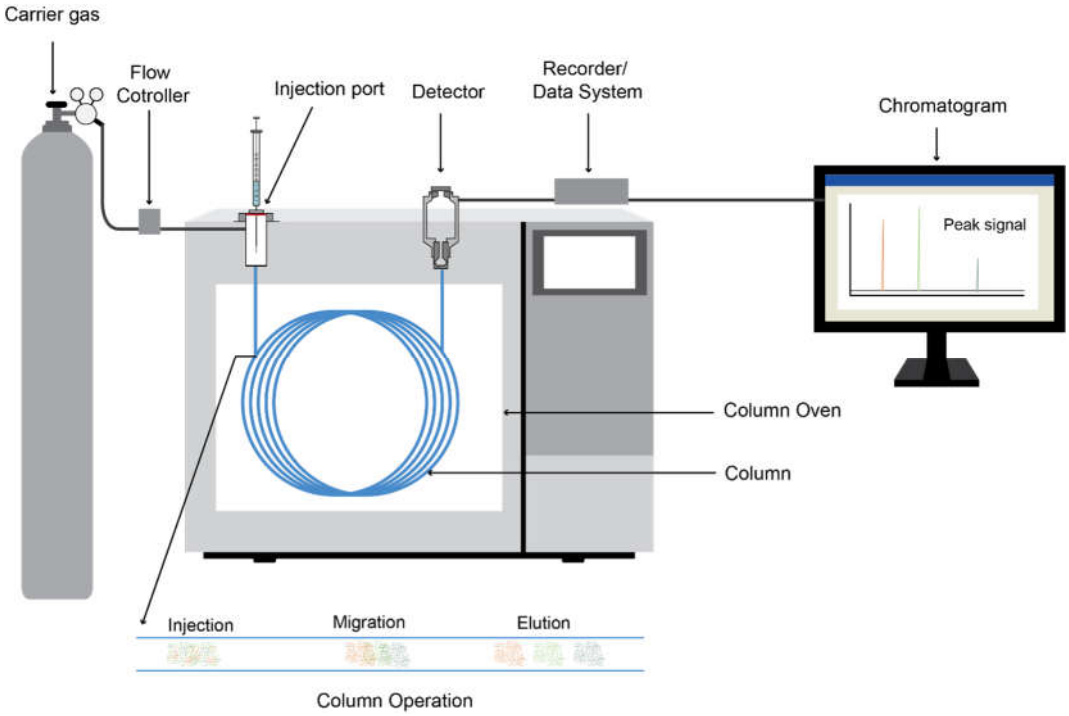
- ท่อแก๊สที่บรรจุแก๊สตัวพา (carrier gas tank) ทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยจะต้องไหลผ่านตัวควบคุมการไหลเพื่อทำให้แก๊สมีอัตราการไหลที่เหมาะสมตามรอบโปรแกรมการตรวจวิเคราะห์ เพื่อพาสารตัวอย่างจากหัวฉีดเข้าสู่คอลัมน์และดีเทคเตอร์ต่อไป แก๊สตัวพานี้จะต้องเป็นแก๊สเฉื่อย ไม่ทำปฏิกิริยากับเฟสอยู่กับที่และสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ อีกทั้งต้องมีความบริสุทธิ์สูง แก๊สที่นิยมใช้ได้แก่ ฮีเลียม ไนโตรเจน และไฮโดรเจน

- หัวฉีดสารหรืออินเจคเตอร์ (injector หรือ inlet) เป็นจุดที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ โดยภายในส่วนนี้จะเป็นระบบปิดและสารตัวอย่างจะถูกทำให้กลายเป็นไอทั้งหมดที่อุณหภูมิหนึ่ง ซึ่งมีแก๊สเฉื่อยเป็นตัวพาสารต่างๆ เหล่านั้นเข้าสู่คอลัมน์

- คอลัมน์ (column) เป็นส่วนสำคัญที่สุดของเทคนิคนี้ ทำหน้าที่ในการแยกสารผสมออกจากกัน โดยปลายด้านหนึ่งของคอลัมน์ต่ออยู่กับหัวฉีดและปลายอีกด้านหนึ่งต่อเข้ากับดีเทคเตอร์ เมื่อสารผสมเดินทางจากหัวฉีดเข้าสู่คอลัมน์จะทำให้เกิดการแยกออกจากกันด้วยกลไกการดูดซับ (adsorption) หรือการแบ่งการละลาย (partition) บนเฟสอยู่กับที่ ซึ่งสารแต่ละชนิดจะถูกดูดซับไว้บนผิวของบนเฟสอยู่กับที่ได้ไม่เท่ากัน โดยสารที่ถูกดูดซับไว้ได้ดีกว่าจะใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์นานกว่าสารที่ถูกดูดซับได้แย่หรือน้อยกว่า ทำให้สารที่ถูกดูดซับได้น้อยกว่าออกจากคอลัมน์ได้เร็วและถึงหัวตรวจวัดก่อนสารชนิดที่ถูกรั้งอยู่ในคอลัมน์นานกว่า

- ตัวตรวจวัดหรือดีเทคเตอร์ (detector) เป็นอุปกรณ์ส่วนปลายคอลัมน์ที่ทำหน้าที่วัดสัญญาณของสารแต่ละชนิดที่ไหลออกจากคอลัมน์ แล้วส่งผลการตรวจวัดไปยังส่วนของการประมวลผล (data processing) เพื่อแสดงผลออกมาในรูปแบบของโครมาโทแกรมและข้อมูลอื่นๆ ดีเทคเตอร์ควรมีความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) สูง มีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดสารที่ต้องการวิเคราะห์ (specificity) เพื่อให้ตรวจจับสัญญาณให้แม่นยำ ให้ความเข้มของสัญญาณเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ดี

หัวฉีด คอลัมน์ และดีเทคเตอร์ จะอยู่ภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (oven) ซึ่งส่งผลต่อแรงดันและสภาวะของอุณหภูมิในการวิเคราะห์



ภาพที่ 1 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟที่สำคัญ และการแยกสารผสมจนได้เป็นโครมาโทแกรม

ดีเทคเตอร์ที่ใช้สำหรับเครื่อง GC นั้นมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด (ตารางที่ 1) ซึ่งจะมีความเลือกจำเพาะกับชนิดสารที่ต่างกันออกไป รวมทั้งความสามารถในการตรวจวัด (limit of detection) ที่แตกต่างไปตามชนิดดีเทคเตอร์ ชนิดสารเป้าหมาย และสภาวะของเครื่องมือรุ่นนั้น ๆ ด้วย

ตารางที่ 1 ดีเทคเตอร์หรือตัวตรวจวัดที่ใช้กับ GC

ชนิดดีเทคเตอร์	การเลือกจำเพาะ	ความสามารถในการตรวจวัด
Flame Ionization Detector (FID)	สารอินทรีย์ทุกชนิด	100-10,000 pg
Thermal Conductivity Detector (TCD)	สารทุกชนิดที่มีค่าการนำความร้อนแตกต่างจากแก๊สพา	5000-20,000 pg
Electron Capture Detector (ECD)	สาร Halogens Nitrates conjugated carbonyls หรือ สารที่มีค่า electronegativity สูง	0.1-10 pg (Halogens) 1-100 pg (Nitrates) 100-10,000 pg (Carbonyls)
Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)	สารที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ	1-10 pg
Flame Photometric Detector (FPD)	สารที่มีฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ	10-100 pg (sulfur) 1-10 pg (phosphorous)
Electrolytic Conductivity Detector (ELCD)	สารประกอบพวกแฮโลเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์	5-10 pg (halogens) 10-20 pg (sulfur) 10-20 pg (Nitrogen)
Photoionization Detector (PID)	สารประกอบที่แตกตัวเป็นไอออนได้ด้วยแสงยูวี เช่น aromatic	25-50 pg (aromatics) 50-200 pg (olefins)
Mass Spectrometer (MS)	สารทุกชนิด	1-10 pg
Infrared Detector (IRD)	สารที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วง IR ได้	1000 pg
Atomic Emission Detector (AED)	ธาตุชนิดใด ๆ ก็ได้	1-100 pg

หมายเหตุ: pg; picogram = 10^{-12} g

ที่มา : Delloyd (2000) และ www.sepscience.com

โดยดีเทคเตอร์ที่มีความเหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารอินทรีย์ได้อย่างกว้างขวาง ซึ่งจะกล่าวถึงมี 3 ชนิด คือ

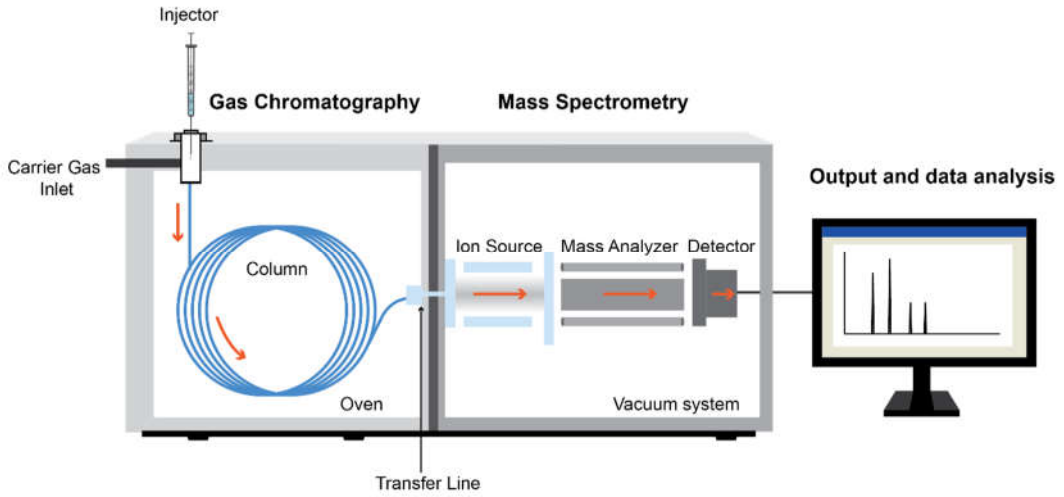
1. ดีเทคเตอร์ชนิด Flame ionization detector (FID) ใช้สำหรับตรวจวัดสารอินทรีย์ซึ่งมีพันธะ C-C และ C-H โดยดีเทคเตอร์นี้ใช้เปลวไฟในกระบวนเผาให้โมเลกุลสารอินทรีย์เกิดเป็นไอออน (ionization)

มีแก๊สไฮโดรเจนและอากาศทำหน้าที่เป็นเชื้อเพลิงและเป็นตัวออกซิแดนซ์ตามลำดับ เพื่อช่วยให้ไฟติดและเปลวไฟนี้มีผลต่อประสิทธิภาพในการไอออไนซ์ของสารอินทรีย์ ซึ่งจะได้เป็นอิเล็กตรอนและไอออนบวก สัญญาณที่ได้จะเป็นไปตามปริมาณไอออนที่เกิดขึ้นซึ่งถูกตรวจวัดด้วย electrometer ความสามารถในการตรวจวัดสารอินทรีย์ของดีเทคเตอร์ชนิดนี้จะอยู่ที่ระดับ 10^{-11} g มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารอินทรีย์ได้ดี มีความไววิเคราะห์สูง มีค่าการตอบสนองเชิงเส้น (linearity) ได้ในช่วงกว้าง แต่ไม่สามารถใช้ตรวจวัดสารบางชนิดจำพวกแก๊สที่ไม่ลุกติดไฟหรือลุกติดไฟได้แต่ไม่ทำให้เกิดเป็นไอออน เช่น He CS_2 NH_3 HCOH HCOOH CO CO_2 SO_2 H_2S NO_2 เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีการตอบสนองที่ต่ำมากหรือไม่มีสัญญาณการตอบสนองเลย

2. ดีเทคเตอร์ชนิด Mass spectrometer (MS) ถือเป็นดีเทคเตอร์ชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูงและมีกลไกการทำงานที่ซับซ้อนกว่าดีเทคเตอร์ชนิดอื่นๆ ทำให้มีขนาดค่อนข้างใหญ่จึงมักเห็นดีเทคเตอร์ชนิดแยกออกเป็นเครื่องมืออีกชิ้นหนึ่งและเชื่อมต่อกับเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีด้วย transfer line เทคนิคแมสสเปกโทรเมทรีนี้ใช้หลักตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลไอออนของสารชนิดนั้นในรูปมวลต่อประจุ (m/z) โดยทำให้สารหรือโมเลกุลเกิดเป็นไอออนในสภาวะแก๊ส จากนั้นไอออนเข้าสู่ระบบสุญญากาศและความดันต่ำกว่า 10^{-5} Torr แล้วถูกคัดแยกภายใต้อิโทรโวลเทจที่กำหนดขึ้นแบบจำเพาะสำหรับโมเลกุลนั้น เรียกไอออนขั้นนี้ว่า ไอออนตั้งต้น (Precursor ion) เมื่อไอออนตั้งต้นได้รับพลังงานค่าหนึ่งจะทำให้โครงสร้างแตกออกเป็นส่วนโมเลกุลย่อยๆ เรียกไอออนขั้นนี้ว่า ไอออนผลิตภัณฑ์ (product ion) ซึ่งจะตรวจวัดเป็นค่ามวลต่อประจุเช่นกัน จะได้ผลของไอออนทั้งหมดของสารนั้นเป็นแมสสเปกตรัม (mass spectrum) ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตอบสนองที่ตรวจวัดได้กับ m/z ข้อมูลแมสสเปกตรัมสามารถใช้หาน้ำหนักโมเลกุลของสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง อีกทั้งรูปแบบของแมสสเปกตรัมจะถือเป็นอัตลักษณ์ของสารชนิดนั้นทำให้นำไปศึกษาโครงสร้างทางเคมี หรือการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลเพื่อยืนยันชนิดของสารนั้นได้ ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณจะได้สัญญาณของแมสสเปกตรัมแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้น เทคนิคแมสสเปกโทรเมตรีจึงเหมาะกับการตรวจวัดสารแถบทุกชนิดและถูกนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยรวมถึงงานเคมีวิเคราะห์อย่างกว้างขวาง แสดงดังภาพที่ 2

3. ดีเทคเตอร์ชนิด Photoionization Detector (PID) ซึ่งเป็นดีเทคเตอร์ที่มีความไววิเคราะห์กับสารประกอบกลุ่มที่เป็นอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หรือออร์กาโนเฮเทอโรอะตอม เนื่องจากใช้แสงอัลตราไวโอเลตในการกระตุ้นให้สารที่ออกจากคอลัมน์ GC เกิดการแตกตัวเป็นไอออน จึงจำเพาะและมีความไววิเคราะห์กลับกลุ่มสารที่สามารถดูดซับพลังงานโฟตอนจนเกินเป็นไอออนได้ ซึ่งไอออนที่จะถูกตรวจจับโดยอิเล็กโทรดเกิดเป็นกระแสไฟฟ้าที่แปรผันตามปริมาณความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ ดีเทคเตอร์ที่ใช้กับ GC มีอยู่หลายชนิด (ตารางที่ 1) ซึ่งขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อชนิดสารที่ต้องการวิเคราะห์ ความคุ้มค่า และความไวในการวิเคราะห์

เทคนิค GC เหล่านี้เหมาะสำหรับวิเคราะห์กลุ่มสารอินทรีย์ที่ระเหยง่ายและกลุ่มสารอินทรีย์ที่กึ่งระเหย ซึ่งรวมไปถึงสารกลุ่มที่เป็น odors และ flavors



ภาพที่ 2 ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟีและเครื่องแมสสเปกโทรเมทรี (GC-MS)

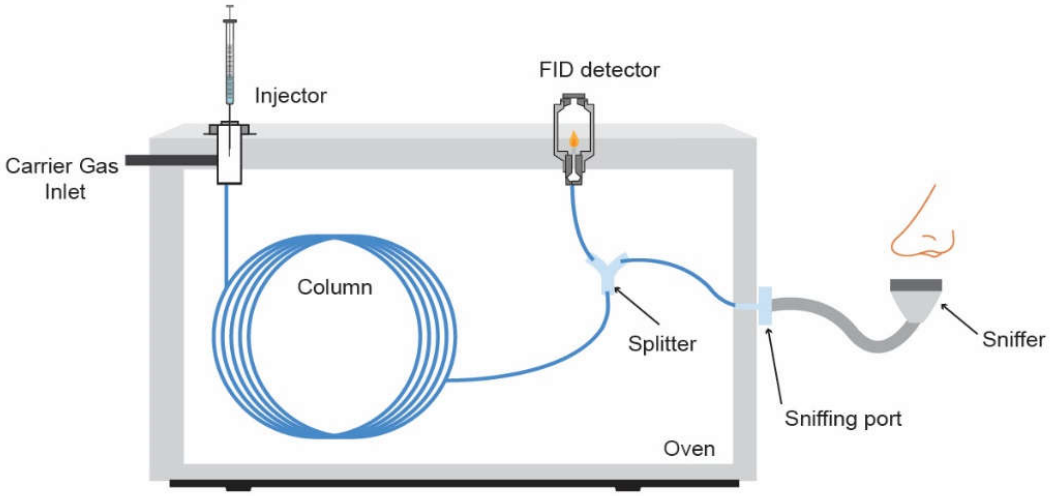
2.2 หลักการวิเคราะห์ด้วย GC-O

GC-O เป็นเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสม โดยการแยกสารแต่ละชนิดออกจากกันแล้วตรวจวัดสัญญาณที่ได้นั้นไปพร้อมกับการประเมินโดยประสาทสัมผัสของมนุษย์ ทำให้สามารถแยกหาสารต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบในตัวอย่างนั้นๆ หรือสารกลุ่มเป้าหมายที่สนใจได้ และสามารถประเมินได้ว่า สารประกอบนั้นมีกลิ่นหรือไม่ มีลักษณะของกลิ่นเป็นอย่างไร และประเมินความแรงของกลิ่น ความสามารถในการดมกลิ่นของมนุษย์จัดได้ว่ามีความสามารถในการตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าเครื่องมือ หรือมี sensitivity สูงกว่าเครื่องมือและมีความจำเพาะเจาะจงสูง โดยความสามารถให้การดมกลิ่นของมนุษย์ในทางทฤษฎี (theoretical odor detection limit) ประมาณ 10^{-19} mole ต่ำกว่า threshold ของเครื่องมือวิเคราะห์ส่วนใหญ่ซึ่งจำเป็นต้องเพิ่มความเข้มข้นเพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ สารระเหยที่ตรวจวัดได้ด้วย GC-FID หรือ GC-MS จะมีเพียงบางพีคเท่านั้นที่มีกลิ่น ดังนั้นจึงไม่จำเป็นในการจำแนกชนิดของสารระเหยที่ไม่ให้กลิ่นนั้น เนื่องจากไม่มีผลต่อกลิ่นของผลิตภัณฑ์ การวิเคราะห์ด้วย GC-O จึงเป็นการวิเคราะห์โดยเน้นเฉพาะสารระเหยที่ให้กลิ่นและมีความสำคัญต่อกลิ่นของผลิตภัณฑ์เท่านั้น

การคัดเลือกผู้ทดสอบจัดได้ว่ามีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากความสามารถในการจำแนกการบรรยายลักษณะของกลิ่นและประเมินกลิ่นนั้นมีความแตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องเป็นผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนการดมกลิ่นสารมาตรฐานที่ให้กลิ่นและต้องไม่เป็น หรือผู้ที่ไม่สามารถดมกลิ่นนั้นได้ (anosmia) เนื่องจากความสามารถในการรับกลิ่นของสารบางชนิดขึ้นกับพันธุกรรม เช่น β-damascenone ให้กลิ่นคล้ายน้ำผึ้ง ผู้เป็น anosmia จะไม่สามารถรับกลิ่นได้

องค์ประกอบของเครื่อง GC-O จะประกอบไปด้วยส่วนของแก๊สโครมาโทรกราฟี ได้แก่ อินเจคเตอร์ คอลัมน์ และระบบแยกสารที่ออกจากคอลัมน์ให้เป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกจะส่งไปยังดีเทคเตอร์ของเครื่อง GC

และอีกส่วนหนึ่งจะส่งไปให้ความร้อนทำให้สารที่ได้ระเหย ให้ผู้ทดสอบสามารถตรวจวัดกลิ่นได้ ทาง สนิฟเฟอร์ (sniffer) ที่ต่อผ่าน สนิฟฟิ่ง พอร์ท (sniffing port) แสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 องค์ประกอบของเครื่อง GC-O/FID

ที่มา: Steinhaus (2020)

03

ขั้นตอนการปฏิบัติการวิเคราะห์ตัวอย่าง

การคัดเลือกตัวอย่าง 11

การเตรียมตัวอย่าง 11

การสกัดสารให้กลิ่น 13

ขั้นตอนการวิเคราะห์สารให้กลิ่นที่สำคัญ ได้แก่

1. การคัดเลือกตัวอย่าง
2. การเตรียมตัวอย่าง
3. การสกัดสารให้กลิ่น
4. การวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณสารระเหย
5. การวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ร่วมกับการใช้ประสาทสัมผัสเพื่อศึกษาชนิดของสารระเหยที่เป็นสารให้กลิ่น

โดยในบทนี้ จะกล่าวถึงวิธีดำเนินการก่อนที่จะนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งประกอบด้วย การคัดเลือกตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่าง และการสกัดสารให้กลิ่น

3.1 การคัดเลือกตัวอย่าง

การเลือกตัวอย่างและการเก็บตัวอย่างมีผลต่อชนิดและปริมาณสารให้กลิ่น โดยเฉพาะในผักและผลไม้ ซึ่งสารให้กลิ่นที่สำคัญเป็นสารที่เกิดขึ้นในกระบวนการเมแทบอลิซึมที่เปลี่ยนแปลงไปตามปัจจัยต่างๆ ได้แก่

1) พันธุ์ โดยพืชชนิดเดียวกันแต่สายพันธุ์ต่างกัน ก็อาจมีชนิดและปริมาณสารให้กลิ่นที่ต่างกัน
2) อายุ จะเห็นได้ชัดในผลไม้สุกซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น เช่น กล้วยสุกจะมีกลิ่นหอม ดังนั้นในการวิเคราะห์สารให้กลิ่นจึงควรกำหนดอายุที่แน่นอนของผลไม้โดยนับจากวันที่มีการผสมเกสร
3) ช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างมีผลต่อสารให้กลิ่นเนื่องจากช่วงเวลาของวันมีผลต่อการเมแทบอลิซึมของพืช จึงควรกำหนดช่วงเวลาที่แน่นอนในการเก็บตัวอย่าง
4) ความไม่สม่ำเสมอของตัวอย่าง จะทำให้วิเคราะห์ได้ชนิดและปริมาณสารระเหยที่แตกต่างกัน

3.2 การเตรียมตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์เป็นสิ่งที่มีความสำคัญยิ่ง เนื่องจากสารในตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ส่วนใหญ่มีองค์ประกอบหลายชนิด เช่น การวิเคราะห์สารที่สนใจในตัวอย่างประเภท อาหาร เครื่องดื่ม เป็นต้น ซึ่งพบว่าความผิดพลาดของผลการวิเคราะห์ที่เกิดขึ้นนั้น เกิดในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างถึง 30% เมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี พบว่าในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างจะใช้เวลามากที่สุด แสดงว่าการเตรียมตัวอย่างมีความสำคัญอย่างมากที่จะทำให้ได้มาซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำ ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างที่ดีและเหมาะสมจึงมีความสำคัญ ทำให้ได้ผลวิเคราะห์ที่ดีและส่งผลต่ออายุการใช้งานของเครื่องมือวิเคราะห์ด้วย

ในการเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบที่เป็นของแข็งจะแตกต่างกันไป ซึ่งต้องทำการสุ่มตัวอย่างให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพเพื่อเป็นตัวแทนของตัวอย่างทั้งหมด หากการสุ่มตัวอย่างไม่มีประสิทธิภาพจะทำให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้มีค่าไม่ตรงตามความเป็นจริง เช่น วัตถุดิบที่มีขนาดใหญ่และไม่สม่ำเสมอ มีวิธีการเตรียมสองวิธีคือ

1) ทำให้ตัวอย่างขนาดเล็กและขนาดใหญ่กระจายตัวผสมกันทั้งหมด

2) สุ่มวัตถุดิบในปริมาณที่มากพอ ทำการลดขนาดให้เป็นผงละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน

โดยทั่วไปนิยมใช้วิธีที่ 2 เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่เป็นตัวแทน ซึ่งเทคนิคสำหรับการลดขนาดวัตถุดิบที่เป็นของแข็งมีหลายวิธี เช่น

- Blending การผสมโดยใช้เครื่องปั่นแบบเครื่องกล ใช้สำหรับวัตถุดิบกึ่งนุ่มที่มีขนาดเล็ก การผสมตัวอย่างทำให้ได้ตัวอย่างที่มีขนาดเล็กลงและมีความสม่ำเสมอมากขึ้น
- Chopping เป็นการใช้เครื่องจักรในการสับและตัดตัวอย่างเป็นชิ้นส่วนที่มีขนาดเล็กลง
- Crushing การบดโดยใช้หัวกดที่มีความแข็งแรงสามารถลดตัวอย่างขนาดใหญ่ที่แข็งเป็นอนุภาคที่เล็กกว่าได้
- Cutting สามารถลดขนาดของวัตถุตัวอย่างที่มีความแข็งระดับอ่อนถึงปานกลาง (เส้นผ่านศูนย์กลาง <100 μm) ได้
- Milling เป็นกระบวนการบดวัตถุตัวอย่างด้วยใบมีด เป็นเครื่องจักรกลที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตที่หลากหลาย มีความแม่นยำเที่ยงตรงสูง ด้วยการเคลื่อนที่ของใบมีดในทิศทางที่กำหนด โดยสามารถตัดชิ้นส่วนของวัตถุตัวอย่างตั้งแต่ขนาดเล็กไปจนถึงขนาดใหญ่ ให้มีรูปทรงเป็นไปตามความต้องการ
- Mincing การสับละเอียด เช่น กระบวนการแบ่งผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์หรือผักเป็นชิ้นเล็ก ๆ โดยการฉีก สับ หั่น หั่นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า เป็นต้น
- Pressing การกด การบีบวัสดุกึ่งแข็ง (เช่น พืช ผลไม้ เนื้อ)
- Pulverizing การบดเป็นผงด้วยแกนที่ขับเคลื่อนด้วยระบบไฟฟ้า ใช้เพื่อลดขนาดอนุภาคของตัวอย่างเปียกหรือแห้ง สามารถบดตัวอย่างในอุณหภูมิแช่แข็งได้ โดยใช้ไนโตรเจนเหลว เพื่อรักษาตัวอย่างที่หลอมได้หรือตัวอย่างที่มีอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วต่ำ (glass transition temperature; Tg) ต่ำ
- Sieving เป็นการร่อนตัวอย่างผ่านตาข่ายโลหะหรือพลาสติกที่มีพื้นที่หน้าตัดสม่ำเสมอ (ช่องสี่เหลี่ยมตั้งแต่ 3-123 μm) เพื่อแยกอนุภาคที่ใหญ่กว่าออกและได้วัตถุดิบตัวอย่างที่มีขนาดสม่ำเสมอ

การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์สารให้กลิ่น โดยเฉพาะตัวอย่างของแข็งที่ต้องทำการบดลดขนาดเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการปลอดปล่อยสารให้กลิ่น ต้องทำด้วยความระมัดระวังเนื่องจากอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นที่ไม่ต้องการ ข้อควรระวังในการบดตัวอย่างได้แก่

1. การเกิดความร้อนระหว่างทำการบด ความร้อนที่เกิดจากแรงเสียดทานส่งผลให้อุณหภูมิของตัวอย่างสูงขึ้น และทำให้เกิดสารให้กลิ่นเนื่องจากความร้อน ในตัวอย่างที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงจำเป็นต้องแช่แข็งตัวอย่างในไนโตรเจนเหลวก่อนบดตัวอย่าง
2. การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากเอนไซม์ในตัวอย่างหรือจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน การบดทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อตัวอย่างฉีกขาด ทำให้เอนไซม์สัมผัสกับสารตั้งต้น ก่อให้เกิดเป็นสารให้กลิ่น เช่น การบดพืชบางชนิดเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase) จะทำให้เกิดสารเฮกซานาล (hexanal) ซึ่งให้กลิ่นเหม็นเขียว แต่ในพืชบางชนิด เช่น พืชตระกูลหอมและกระเทียม จำเป็นต้องบดตัวอย่างเพื่อให้เกิดกลิ่น

ดังนั้นในการเตรียมตัวอย่าง จึงมีกระบวนการที่ช่วยลดการเปลี่ยนแปลงขณะเตรียมตัวอย่าง คือ

1) การแช่แข็งตัวอย่างให้เย็นจัด นิยมแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีจุดเดือดที่อุณหภูมิ -196 ℃

2) การเติมเกลือหรือแอลกอฮอล์เพื่อทำให้เอนไซม์เสียสภาพ การเติมเกลือนอกจากเพื่อยับยั้งเอนไซม์แล้วยังช่วยลดการเกิดอิมัลชั่นระหว่างเฟสของไขมันและตัวทำละลายกับน้ำ แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้ได้แก่ เอทานอล และเมทานอล แต่ในงานวิจัยมีการใช้แอลกอฮอล์น้อยกว่าการใช้เกลือ เนื่องจากแอลกอฮอล์เป็นสารระเหยอาจทำปฏิกิริยากับสารอื่นในตัวอย่างเกิดเป็นสารให้กลิ่นได้

3) การเติมวัตถุเจือปนอาหาร เช่น สารกันหืน สารป้องกันการเกิดฟอง เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นและช่วยในการสกัด

4) การปรับความชื้น และความเป็นกรดด่าง (pH) สำหรับตัวอย่างที่มีการปลดปล่อยกลิ่นได้ไม่ดี เช่น ตัวอย่างที่แห้งเกินไปต้องทำการปรับตัวอย่างให้มีความชื้นเพิ่มขึ้น หรือตัวอย่างที่สารให้กลิ่นเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับองค์ประกอบของตัวอย่าง เช่น เกิด inclusion complex กับอะไมโลส ต้องทำการปรับ pH ของตัวอย่างที่มีแป้งมากให้มีสภาพเป็นเบส\

3.3 การสกัดสารให้กลิ่น

การเลือกวิธีการสกัดสารให้กลิ่นพิจารณาจาก

1) วัตถุประสงค์ของงานวิจัย เช่น การศึกษาสารให้กลิ่นของผลไม้สด ควรเลือกวิธีการสกัดที่ไม่ใช้ความร้อน หรือการศึกษาสารให้กลิ่นขณะอบขนม ควรเลือกใช้วิธีที่ใช้อุณหภูมิใกล้เคียงกับการอบขนม

2) ส่วนประกอบของอาหาร สารให้กลิ่นส่วนใหญ่จะละลายในไขมันได้ดีกว่าน้ำ ดังนั้นการสกัดสารให้กลิ่นจึงควรเลือกวิธีที่สามารถแยกสารให้กลิ่นออกจากเฟสของไขมันได้

การมีพอลิแซ็กคาไรด์ในตัวอย่างปริมาณมากอาจทำให้เกิดฟองซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการสกัดได้ หรือการมีฟอสโฟลิพิดปริมาณสูงในเฟสของไขมันอาจเกิดอิมัลชั่นทำให้ไม่สามารถแยกสารระเหยที่อยู่ในเฟสน้ำมันได้ จึงต้องมีการ

3) ความเข้มข้นของสารให้กลิ่นในตัวอย่าง ถ้าสารให้กลิ่นมีความเข้มข้นต่ำมาก วิธีการสกัดแยกสารให้กลิ่นจะต้องเหมาะสมต่อการใช้ตัวอย่างปริมาณมาก หรือต้องเป็นวิธีที่ทำให้สารให้กลิ่นสะสมอยู่ในตัวดักจับเพื่อทำให้เข้มข้น

4) ความเสถียรของสารให้กลิ่น สารให้กลิ่นหลายชนิดเปลี่ยนแปลงในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงหรือในสภาวะที่มีออกซิเจน การศึกษาสารที่มีเสถียรภาพต่ำจึงต้องเลือกวิธีที่มีสภาวะการสกัดสอดคล้องกับสมบัติของสารให้กลิ่น

ดังนั้นหลักในการเลือกวิธีการสกัดสารให้กลิ่น คือ

1) ทำให้สารให้กลิ่นอยู่ในสภาพใกล้เคียงกับสภาพความเป็นจริงมากที่สุด ทั้งชนิดและปริมาณ
2) อัตราส่วนของสารให้กลิ่นแต่ละชนิดที่สกัดได้ มีอัตราส่วนคงเดิมเท่าที่มีอยู่ในตัวอย่างเริ่มต้น
3) ไม่ทำให้สารให้กลิ่นที่เปลี่ยนแปลงได้ง่าย เกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างการสกัด
4) ไม่ทำให้เกิดสารให้กลิ่นชนิดใหม่ขึ้น เนื่องจากกระบวนการสกัด

วิธีการสกัดสารให้กลิ่นอาศัยหลัก 2 ประการ คือ

1. ความแตกต่างของสภาพขั้ว (polarity) สารให้กลิ่นส่วนใหญ่จะมีสภาพความเป็นขั้วต่ำ ในขณะที่ส่วนประกอบของอาหารจะเป็นสารประกอบที่มีขั้ว วิธีการแยกโดยอาศัยความแตกต่างของสภาพขั้ว ได้แก่

- การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย เช่น เฮกเซน เพนเทน ไดคลอโรมีเทน และไดเอทิลอีเทอร์
- Solid-phase extraction (SPE)
- Solid-phase microextraction (SPME)

2. ความแตกต่างของความสามารถในการระเหย (volatility) ของสารแต่ละชนิด กล่าวคือสารแต่ละชนิดมีความสามารถในการระเหยที่อุณหภูมิต่างๆ ไม่เท่ากัน การสกัดจะใช้การปรับอุณหภูมิ ความดันร่วมกับการใช้แก๊สช่วยพา วิธีการสกัดโดยอาศัยความแตกต่างของความสามารถในการระเหย มีดังนี้

- Distillation
- High Vacuum Distillation หรือ Molecular Distillation
- Static Headspace Sampling (SHS)
- Dynamic Headspace Sampling (DHS) หรือ Purge and Trap (P&T)
- Direct Thermal Desorption (DTD)

วิธีการสกัดที่ใช้ทั้งสองหลักการ ได้แก่

- การใช้ dynamic headspace sampling หรือ Purge and Trap ร่วมกับการใช้ตัวดูดซับ (adsorbent)
- การใช้ solid-phase microextraction (SPME) ร่วมกับ static headspace sampling
- Simultaneous Distillation Extraction (SDE)
- การสกัดด้วยตัวทำละลายก่อนที่จะนำมาผ่าน high vacuum distillation

3.3.1 วิธีการสกัดสารให้กลิ่น

3.3.1.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) และการทำให้เข้มข้น

การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นวิธีการสกัดที่ง่ายเหมาะสำหรับการศึกษาสารให้กลิ่นในเครื่องดื่มและอาหารที่มีไขมันน้อย หากเป็นตัวอย่างที่มีไขมันมากจะสกัดด้วยตัวทำละลายแล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยภายใต้สุญญากาศเพื่อแยกสารระเหยออกจากเฟสของไขมัน โดยการเลือกตัวทำละลายที่จะใช้ในการสกัดพิจารณาจาก

1. สภาพขั้ว (polarity) ควรเลือกตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วใกล้เคียงกับกลุ่มสารที่ต้องการศึกษามากที่สุด เพื่อสกัดสารเหล่านั้นให้ได้มากที่สุด

2. ตัวทำละลายต้องมีจุดเดือดต่ำกว่าสารที่ต้องการศึกษา เนื่องจากจะทำให้สูญเสียสารให้กลิ่นไปพร้อมกับตัวทำละลายในขั้นตอนทำให้เข้มข้น

3. ตัวทำละลายควรมีความบริสุทธิ์สูง เนื่องจากการสกัดต้องใช้ตัวทำละลายปริมาณมาก หากตัวทำละลายมีสารเจือปนเมื่อนำสารสกัดไปทำให้เข้มข้น สารเจือปนที่ตกค้างจะมีความเข้มข้นสูงและรบกวนการวิเคราะห์สารให้กลิ่น

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อ %recovery

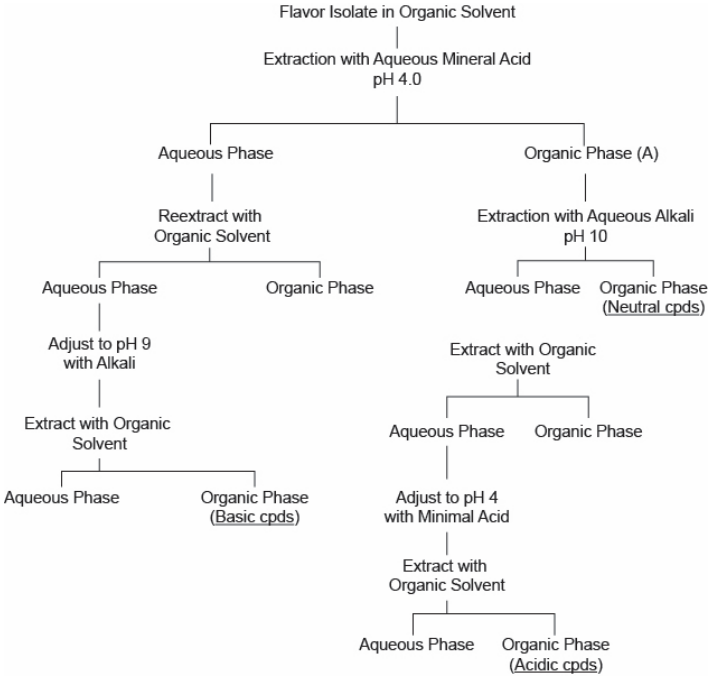
1. สภาพขั้วของตัวทำละลายและสารให้กลิ่น หากมีความแตกต่างกันมากจะมีค่า %recovery ต่ำ

2. ค่า pH ควรปรับตัวทำละลายให้มีสภาพใกล้เคียงกับสารให้กลิ่นที่ต้องการศึกษา เช่น ในกรณีที่สารให้กลิ่นเป็นกรด ควรปรับตัวทำละลายให้มีสภาพเป็นกรดเล็กน้อยเพื่อทำให้การสกัดดีขึ้น นอกจากนี้การสกัดสารระเหยโดยไม่มีการปรับ pH อาจทำให้สกัดสารออกมาได้ไม่สมบูรณ์ทั้งหมดและหากสารสกัดมีจำนวนชนิดของสารระเหยมาก การวิเคราะห์ด้วย GC จะมีพีคติดกันหรือซ้อนทับกันได้ ทำให้ยากแก่การระบุชนิดและปริมาณ จึงจำเป็นจะต้องปรับ pH และสกัดสารแยกส่วนที่เป็นกรด เบส และกลางกระบวนการปรับ pH เพื่อแยกส่วนสารระเหย แสดงดังภาพที่ 4

3. การเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารให้กลิ่นกับส่วนประกอบในอาหาร เกิดเป็นสารที่สกัดได้ยาก เช่น การเกิด inclusion complex

4. อุณหภูมิสูงจะสกัดสารให้กลิ่นได้ดี แต่อาจส่งผลให้สารให้กลิ่นเกิดการเปลี่ยนแปลงได้

5. เวลาที่ใช้ในการสกัดต้องนานพอที่จะทำให้ตัวทำละลายซึมผ่านตัวอย่าง เพื่อชะสารให้กลิ่นได้สมบูรณ์ โดยการแช่ตัวอย่างในสารละลายมักใช้เวลา 1 ชั่วโมงขึ้นไป หรือบางครั้งอาจต้องทิ้งไว้นานถึง 3 ชั่วโมง หรือข้ามคืน แต่หากต้องการลดระยะเวลาการแช่อาจใช้การคนร่วมกับการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างตัวอย่างและสารละลาย



ภาพที่ 4 กระบวนการแยกส่วนสารระเหยด้วยการปรับ pH

ที่มา: Reineccius (1994)

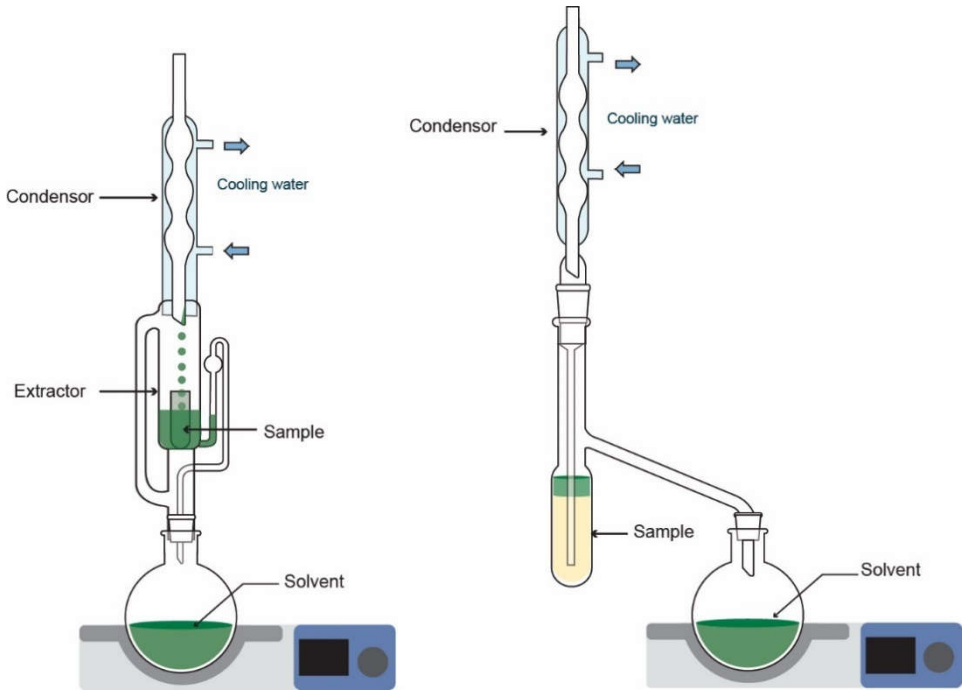
6. ปริมาตรตัวทำละลายและจำนวนครั้งที่สกัดซ้ำ ในการสกัดควรใช้ตัวทำละลายน้อยที่สุดและสกัดซ้ำน้อยครั้งที่สุด อย่างไรก็ตาม การสกัดเพียงครั้งเดียวไม่สามารถสกัดสารให้กลิ่นได้หมด การสกัดซ้ำไม่ควรทำเกิน 3 ครั้ง ตัวอย่างเช่น ถ้ากำหนดให้มีสารให้กลิ่นเข้มข้น 100 ppm ในตัวอย่าง ถ้าตัวทำละลายที่ใช้ สกัดสารให้กลิ่นได้ 85% ทุกครั้งที่สกัด จะได้ผลดังนี้

ครั้งที่ 1 จะสกัดสารได้	100 ppm x 0.85	=	85	ppm
ครั้งที่ 2 จะสกัดสารได้	15 ppm x 0.85	=	12.75	ppm
ครั้งที่ 3 จะสกัดสารได้	2.25 ppm x 0.85	=	1.91	ppm
รวมสกัดสารได้		=	99.66	ppm

ในทำนองเดียวกัน หากตัวทำละลายที่ใช้มีประสิทธิภาพการสกัดสารได้เพียง 70% ทุกครั้งที่สกัด จะได้ผลดังนี้

ครั้งที่ 1 จะสกัดสารได้	100 ppm x 0.70	=	70	ppm
ครั้งที่ 2 จะสกัดสารได้	30 ppm x 0.70	=	21	ppm
ครั้งที่ 3 จะสกัดสารได้	9 ppm x 0.70	=	6.3	ppm
รวมสกัดสารได้		=	97.3	ppm

ดังนั้น การสกัดแบบกะ (batch) จะทำไม่เกิน 3 ครั้ง แต่ก็ยังพบปัญหาว่าเป็นการใช้ตัวทำละลายปริมาณมาก จึงมีการปรับปรุงวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้การสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous solvent extraction) (ภาพที่ 5) เพื่อใช้ตัวทำละลายให้น้อยลง ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ศึกษาสารให้กลิ่นในเครื่องดื่ม เช่น น้ำผลไม้ ไวน์ และสุราชนิดต่างๆ



ภาพที่ 5 การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบต่อเนื่อง Solid-Liquid extraction (ซ้าย) Liquid-Liquid Extraction (ขวา)

การทำให้เข้มข้น

การสกัดด้วยตัวทำละลายจะต้องมีขั้นตอนทำให้สารระเหยมีความเข้มข้นโดยการระเหยตัวทำละลาย ส่วนมากจะใช้การเป่าด้วยไนโตรเจน การใช้ไนโตรเจนเป่าควรเป่าเบาๆ ให้ผิวหน้าของเหลวมีการเคลื่อนไหวเล็กน้อยเท่านั้น การเป่าแรงๆ เพื่อเร่งให้ตัวทำละลายระเหยเร็วขึ้นจะทำให้สูญเสียสารระเหยได้ โดยเฉพาะสารที่มีมวลโมเลกุลต่ำ การระเหยจะต้องระวังไม่ทิ้งให้ตัวทำละลายระเหยไปจนหมด เมื่อได้สารระเหยที่อยู่ในตัวทำละลายที่เข้มข้นแล้ว จะผ่านคอลัมน์ที่บรรจุ anhydrous sodium sulfate เพื่อดูดน้ำที่ตกค้าง เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ที่ค่อนข้างมีขั้ว จะเสื่อมสภาพได้ง่ายหากตัวอย่างมีน้ำปนอยู่

ข้อดีข้อเสียของการใช้ตัวทำละลายสกัดสารให้กลิ่น คือ

ข้อดี 1. เป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก

2. มีสารระเหยที่เกิดจากความร้อนน้อย

ข้อเสีย 1. ถ้าตัวอย่างมีฟอสโฟลิปิดหรืออิมัลซิไฟเออร์ จะทำให้แยกสารระเหยได้ยาก

2. มีการปนเปื้อนของไขมัน

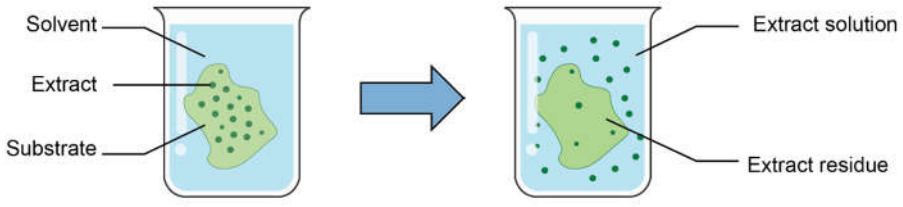
3. ความแตกต่างของค่าความมีขั้วจะส่งผลให้เกิดความลำเอียงในการเลือกสกัดสารกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง

4. มีสารปนเปื้อนจากตัวทำละลาย

1.1 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายสำหรับวัตถุดิบของแข็ง (Solvent Extraction of solid samples)

- Solid-Liquid Extraction

เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการ ออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของแข็ง โดยใส่ตัวอย่างในภาชนะปิดและเติมตัวทำละลายเพื่อละลาย แยก หรือชะล้างสารที่สนใจ ตัวทำละลายบางครั้งถูกให้ความร้อนให้ระเหยไหลย้อนกลับเพื่อปรับปรุงความสามารถในการละลาย ตัวอย่างสามารถเขย่าได้ด้วยตนเองหรือใช้เครื่องเขย่าแบบอัตโนมัติ จากนั้นตัวอย่างจะถูกกรอง เทออก หรือหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกของแข็งที่ไม่ละลายในสารละลายออก แสดงดังภาพที่ 6

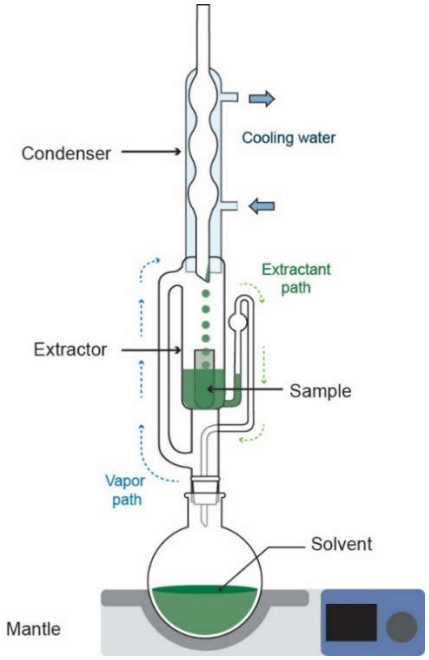


ภาพที่ 6 กระบวนการตัวอย่างของแข็งโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นของเหลว

- Soxhlet Extraction

ตัวอย่างจะถูกบรรจุใส่ในถ้วยกระดาษที่มีรูพรุน (thimble) การสกัดทำโดยอาศัยหลักการการทำให้ตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอ จากนั้นกลั่นตัวเป็นของเหลวผ่านลงไปในตัวอย่าง ตัวทำละลายที่ได้สัมผัสกับสารสกัดในตัวอย่างจะไหลลงสู่ขวดรองรับ และตัวทำละลายที่พาสารสกัดลงมาในขวดนี้จะถูก

ระเหยกลับขึ้นไป (ทิ้งสารที่สกัดออกมาไว้ในขวดรองรับ) แล้วกลั่นตัวลงบนตัวอย่างซ้ำแล้วซ้ำอีกดังนี้ไปเรื่อยๆ การกระทำเช่นนี้จะทำให้ได้สารที่ต้องการสกัดในขวดรองรับในที่สุด การสกัดเกิดขึ้นในตัวทำละลายบริสุทธิ์ ซึ่งสารสกัดที่ต้องการต้องมีความเสถียรที่จุดเดือดของตัวทำละลาย ข้อดีคือการสกัดจะดำเนินการต่อเนื่องได้เองโดยไม่ต้องคอยควบคุมตลอดเวลา มีราคาถูก ซึ่งตัวทำละลายสามารถระเหยและควบแน่นกลับมาวนใช้ในการสกัดต่อได้ ซึ่งวิธีนี้นิยมใช้เป็นมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดของแข็งอื่น ๆ แสดงดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 การสกัดด้วยอุปกรณ์ซ็อกเล็ท

- Homogenization

ตัวอย่างถูกใส่ในเครื่องปั่นหรือโฮโมจีไนเซอร์เชิงกล จากนั้นเติมตัวทำละลาย ตัวอย่างถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันกับตัวทำละลาย จากนั้นกรองตัวทำละลายออก เหมาะสำหรับเนื้อเยื่อพืชและสัตว์ อาหาร ตัวอย่างสิ่งแวดล้อม สามารถใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำได้ ตัวอย่างที่กระจายตัวมีขนาดเล็กจะทำให้การสกัดที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น

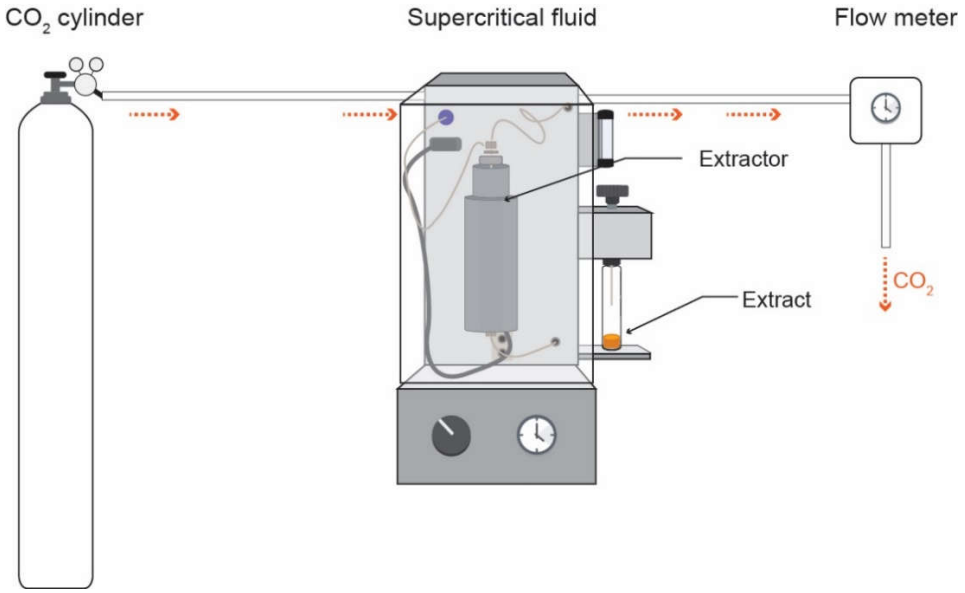
- Sonication

การใช้อัลตราซาวนด์เป็นการสร้างความปั่นป่วนรุนแรงที่พื้นผิวของวัสดุที่เป็นของแข็ง ทำได้โดยนำตัวอย่างใส่ในบีกเกอร์สารละลาย และแช่ภาชนะตัวอย่างในอ่างอัลตราโซนิก กระบวนการอัลตราโซนิกสามารถเพิ่มความร้อนเพื่อเพิ่มอัตราการสกัด ซึ่งปลอดภัยและรวดเร็วเหมาะกับวัสดุที่หยาบและเป็นเม็ด ซึ่งสามารถทำได้หลายตัวอย่างพร้อมกัน

- Supercritical Fluid Extraction (SFE)

ตัวอย่างของแข็งที่มีขนาดหยาบจะถูกบรรจุในคอลัมน์ โดยมีตัวทำละลายในสภาวะของไหลวิกฤตยิ่งยวดไหลผ่าน และนำพาสารสกัดไปเก็บในขวดเก็บตัวอย่าง วิธีการนี้สามารถกำหนดอุณหภูมิ ความดัน

ในการสกัด ตลอดจนอัตราการไหลของตัวทำละลายได้ โดยตัวอย่างสารสกัดที่สกัดได้จะมีความเข้มข้นและปราศจากสารปนเปื้อน โดยทั่วไปนิยมใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย สำหรับข้อเสียของวิธีการนี้คือ ใช้เวลาในการสกัดค่อนข้างนาน แสดงดังภาพที่ 8

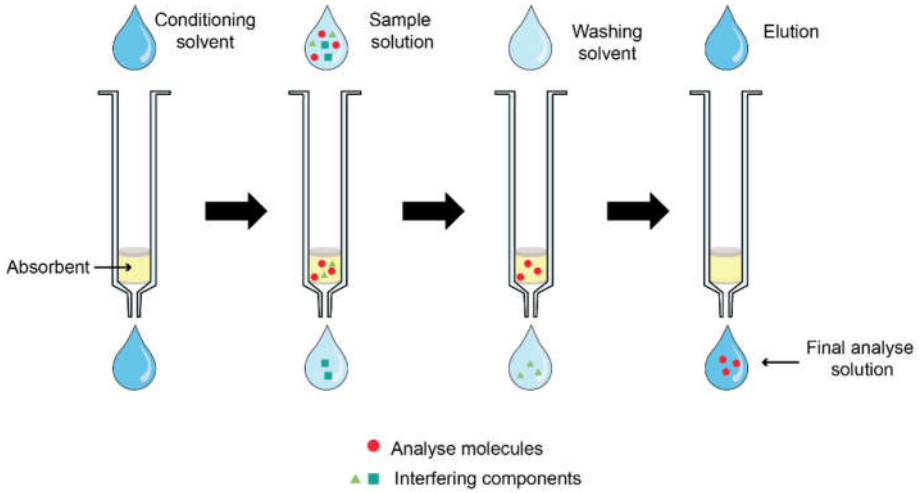


ภาพที่ 8 กระบวนการสกัดด้วยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะของไหลวิกฤตยิ่งยวด

1.2 การสกัดสารด้วยตัวทำละลายสำหรับวัตถุดิบของเหลว (Solvent Extraction of liquid samples)

- Solid Phase Extraction (SPE)

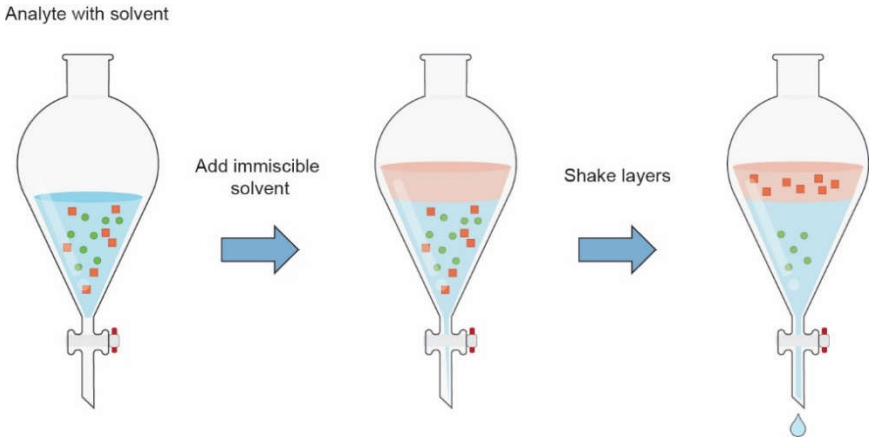
จะมีลักษณะคล้ายกับ Solid-Liquid Extraction แต่วิธีการนี้ตัวอย่างของเหลวจะถูกเก็บอยู่ในตัวกลางซึ่งเป็นเฟสของแข็ง (packed column) จากนั้นจะปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่าน packed column เพื่อละลาย แยก หรือชะล้างสารที่สนใจออกมา บางกรณีอาจมีการนำสารที่สกัดแล้วในตัวทำสะลายวนกลับไปไหลผ่าน packed column อีกครั้ง แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 การสกัดด้วยวิธี Solid Phase Extraction

- Liquid-Liquid Extraction

เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของเหลว ซึ่งนิยมให้ของผสมละลายหรือแขวนลอยในน้ำ เรียกว่า ชั้นน้ำ (aqueous layer) และสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ที่ไม่ละลายน้ำ แยกชั้นอยู่เรียกว่าชั้นสารอินทรีย์ (organic layer) ตัวทำละลายนี้ ได้แก่ อีเทอร์ (ether) เมทิลลีนคลอไรด์ (methylene chloride) คลอโรฟอร์ม (chloroform) คาร์บอนเตตราคลอไรด์ (carbon tetrachloride) เบนซีน (benzene) และเอ็นเฮกเซน (n–hexane) ในการสกัดวิธีนี้นิยมทำในกรวยแยก (Separatory funnel) โดยของผสมจะแยกชั้นอยู่ตามความสามารถในการละลายคือสารอนินทรีย์หรือเกลือที่ละลายน้ำจะแตกตัวเป็นไอออนอยู่ในชั้นน้ำ ในขณะที่สารอินทรีย์จะละลายอยู่ในชั้นสารอินทรีย์ โดยวิธีนี้สารจะถูกถ่ายเทจากตัวทำละลายหนึ่งไปยังอีกตัวทำละลายหนึ่ง โดยทั่วไปสารหนึ่งๆ จะละลายในตัวทำละลาย 2 ชนิด ในอัตราส่วนที่คงที่ที่อุณหภูมิหนึ่ง แสดงดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 การสกัดตัวอย่างของเหลวโดยใช้ตัวทำละลายของเหลว

- Acid/Base Extraction

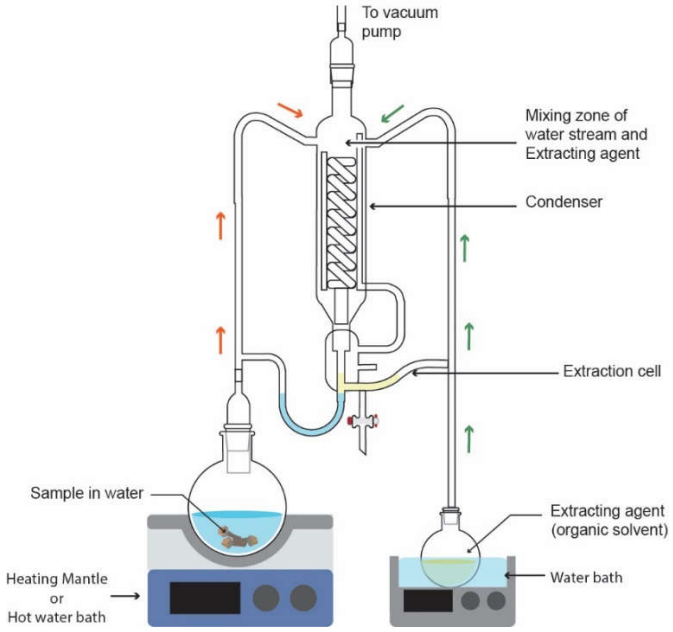
เป็นการใช้ปฏิกิริยากรดเบสเพื่อแยกสารอินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นกรดแก่ กรดอ่อน กลาง และเบสในการเตรียมตัวอย่างอาจมีการเติมสารละลายในตัวอย่าง จากนั้นปรับค่า pH ให้ตัวอย่างตกตะกอนออกมา เช่น การสกัดโปรตีน เป็นต้น และในบางครั้งวิธีนี้อาจจะต้องเสียเวลาในการเตรียมตัวอย่างนานก่อนการวิเคราะห์เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ดี

3.3.1.2 การกลั่น (Distillation)

วิธีนี้จะเป็นการให้ความร้อนแก่ตัวอย่างในน้ำ และให้ความร้อนตัวทำละลาย เมื่อไอของน้ำกับสารระเหยพบกับไอของตัวทำละลาย จะเกิดการผสมกันและเมื่อผ่านตัวควบแน่น สารระเหยจะกลั่นตัวรวมอยู่ในเฟสของตัวทำละลาย สารระเหยและตัวทำละลายจะไหลกลับไปอยู่ในฟลาสค์ เมื่อได้รับความร้อนทำให้ตัวทำละลายระเหยกลับขึ้นไปอีกครั้งหนึ่งเป็นการสกัดอย่างต่อเนื่อง

การกลั่นนี้จะใช้ตัวทำละลายปริมาณน้อยกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย ในปัจจุบันไม่ค่อยนิยมใช้วิธีการกลั่นโดยตรง ที่พบบ้างคือการใช้ SDE (Simultaneous Distillation Solvent Extraction) โดยใช้เครื่องแก้ว Likens-Nickerson (ภาพที่ 11) หลักการเลือกใช้ตัวทำละลายจะพิจารณาจากจุดเดือด ตัวทำ

ละลายควรมีจุดเดือดต่ำกว่าสารระเหย นอกจากนี้พิจารณาความหนาแน่นของตัวทำละลาย เนื่องจากเกี่ยวข้องกับแบบของเครื่องแก้วว่าเฟสของน้ำหรือเฟสของตัวทำละลายอยู่ข้างบนหรือข้างล่าง ตัวทำละลายที่นิยมได้แก่ ไดคลอโรมีเทน เพนเทน และไดเอทิลอีเทอร์ ซึ่งการใช้ SDE สามารถทำที่ความดันบรรยากาศ โดยใช้อุณหภูมิ 80-100 °C ถ้าทำการสกัดในสภาวะที่เป็นสุญญากาศจะใช้อุณหภูมิต่ำประมาณ 60 °C แต่การใช้สุญญากาศไม่สามารถใช้ไดเอทิลอีเทอร์ได้เนื่องจากสามารถระเหยได้ง่าย ระยะเวลาการสกัดโดย SDE จะใช้เวลา 2-3 ชั่วโมง จะได้ %recovery เท่ากับ 90-95% ปัจจุบันการใช้ SDE ลดลงเนื่องจากพบว่าผลของการใช้ความร้อนในการสกัดทำให้เกิดสารระเหยที่ไม่ต้องการ และมีค่า reproducibility ต่ำเมื่อเทียบกับวิธีอื่น



ภาพที่ 11 เครื่องแก้วแบบLikens-Nickerson ที่ใช้สำหรับการสกัดสารให้กลิ่นด้วยวิธี SDE
ที่มา: ดัดแปลงจาก Kilcast (2013)

ข้อดีของ SDE คือ

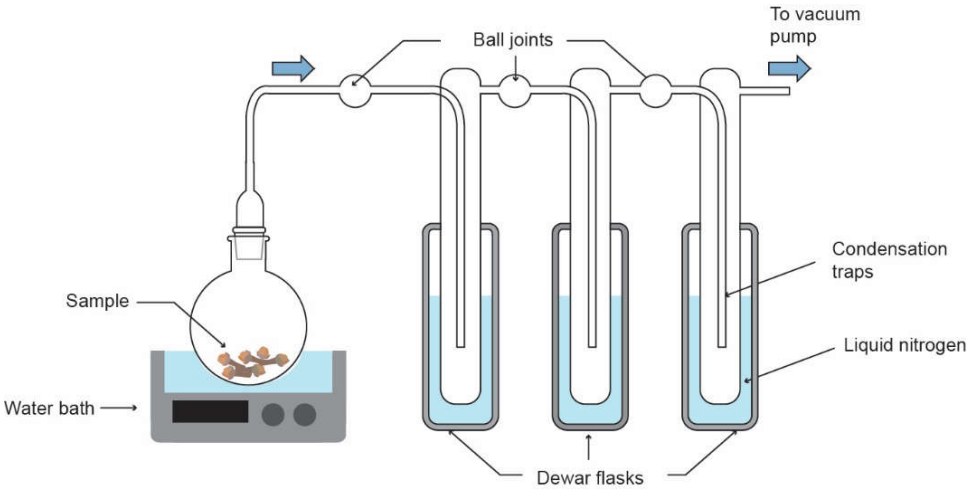
1. เป็นวิธีที่เหมาะสำหรับสกัดสารระเหยที่มีจุดเดือดปานกลางและจุดเดือดสูง
2. มีค่าเปอร์เซ็นต์ในการสกัดสารระเหยได้สูง

ข้อเสียของ SDE คือ

1. มีการปนเปื้อนจากการใช้ตัวทำละลาย grease และสารป้องกันการเกิดฟอง
2. มีสารเกิดใหม่ เนื่องจากใช้ความร้อนเป็นระยะเวลา 2-3 ชั่วโมง
3. มีค่า reproducibility ต่ำ
4. มีความลำเอียงจากการที่สารมีจุดเดือดและความมีขั้วต่างกัน

3.3.1.3 High Vacuum Distillation (Molecular Distillation)

วิธีนี้นิยมใช้ในการสกัดสารให้กลิ่น เนื่องจากไม่มีผลกระทบจากความร้อน วิธีการคือนำตัวอย่างอาหารหรือสารสกัดที่ผ่านการแช่แข็งในไนโตรเจนเหลวต่อเข้ากับชุดเครื่องแก้ว และทำการระเหยที่อุณหภูมิห้อง หรือ 40 °C ความดันสุญญากาศที่ใช้ควรต่ำกว่า 10^{-5} Torr สารระเหยและตัวทำละลายจะระเหยและควบแน่นในชุดเครื่องแก้วซึ่งแช่ในไนโตรเจนเหลว แสดงดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 High Vacuum Distillation
ที่มา: ดัดแปลงจาก Kilcast (2013)

ข้อดี 1. เป็นวิธีสารสกัดที่เหมาะกับตัวอย่างที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากสารให้กลิ่นมักจะละลายอยู่ในเฟสของไขมัน การใช้ตัวทำละลายสกัดหรือการระเหยที่อุณหภูมิปกติเพื่อแยกสารให้กลิ่นจากไขมันจึงเป็นไปได้ยาก

2. ไม่มีสารที่เกิดขึ้นเนื่องจากความร้อน

3. ถ้าระยะห่างระหว่างผิวตัวอย่างและท่อสำหรับดูดอากาศมีระยะสั้น จะทำให้มี %recovery ดี

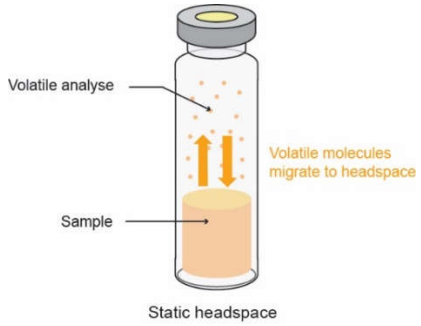
ข้อเสีย มีสารปนเปื้อนจากการใช้ตัวทำละลายและ grease

3.3.1.4 Headspace Sampling

Headspace หมายถึงไอระเหยที่เกิดขึ้นเหนือของเหลวและของแข็ง โดยตัวอย่างของเหลวหรือของแข็งนั้นต้องมีสารที่ต้องการวิเคราะห์เป็นสารอินทรีย์ที่ระเหยง่าย (VOCs) หากตัวอย่างอยู่ในสภาวะสมดุลทางอุณหพลศาสตร์กับเฟสของแก๊สในภาชนะควบคุมอุณหภูมิแบบปิดสนิท จะเรียกวิธีการสกัดนี้ว่าการสุ่มตัวอย่างแบบ static headspace แต่หากมีแก๊สเฉื่อยไหลผ่านหรืออยู่เหนือตัวอย่าง และพาไอระเหยของตัวอย่างไปเก็บสะสมไว้ที่ตัวดูดซับ (adsorbent traps) จะเรียกวิธีการนี้ว่า dynamic headspace เนื่องจากมีเพียงสารระเหยเท่านั้นที่จะถูกสุ่มตัวอย่างไปวิเคราะห์ การใช้เทคนิค headspace จึงเหมาะอย่างยิ่งสำหรับตัวอย่างที่สกปรก (เช่น เลือด พลาสติก เครื่องสำอาง) วัสดุที่เป็นของแข็ง

ตัวอย่างที่มีจุดเดือดสูง ตัวอย่างที่มีปริมาณน้ำสูง หรือตัวอย่างที่ยากต่อการจัดการโดยโครมาโตกราฟีแบบทั่วไป เนื่องจากมีเพียงส่วนที่ระเหยได้ของตัวอย่างเท่านั้นที่อยู่ใน headspace

Static Headspace Sampling เป็นเทคนิคที่ง่าย มีความซับซ้อนน้อย วิธีการตรวจสอบสารระเหยจากตัวอย่างโดยนำตัวอย่างใส่ภาชนะที่ปิดสนิท ปล่อยให้เกิดสภาวะสมดุลระหว่าง 2 เฟส คือ เฟสที่เป็นของแข็งหรือของเหลวซึ่งคือตัวอย่าง กับเฟสที่เป็นแก๊สหรือสารระเหยตามอุณหภูมิที่กำหนด จากนั้นดูดแก๊สเหนือตัวอย่าง (ภาพที่ 13) ฉีดเข้าเครื่อง GC วิธีนี้เหมาะกับสารระเหยที่มีจำนวนคาร์บอน 1-10 และมีปริมาณมากในตัวอย่าง สำหรับการฉีดเข้าเครื่อง GC มี 2 วิธี คือแบบ manual เป็นการฉีดด้วยมือโดยใช้ gastight syringe ดูดแก๊สเหนือตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง GC โดยการฉีดแต่ละครั้งเราสามารถแน่ใจได้ว่าได้ทิ้งตัวอย่างนานพอให้เกิดสภาวะสมดุล ส่วนการฉีดอีกวิธีคือ แบบใช้เครื่องฉีดสารอัตโนมัติ (autosampler) มักจะเกิดปัญหาการฉีดสารโดยที่การระเหยของสารยังไม่เข้าสู่สภาวะสมดุล ทั้งนี้เนื่องจากการใช้เครื่องฉีดสารอัตโนมัติใช้การตั้งเวลาฉีดที่แน่นอน



ภาพที่ 13 Static Headspace Sampling
ที่มา : ดัดแปลงจาก Worsfold *et al*. (2005)

การวิเคราะห์หาปริมาณที่ครบถ้วนสมบูรณ์จำเป็นต้องสุ่มตัวอย่างจากขวดตัวอย่างเดิมและฉีดซ้ำหลายครั้ง จนได้ชนิดและปริมาณสารระเหยที่ครบถ้วนสมบูรณ์ การสุ่มตัวอย่างเพียงครั้งเดียวอาจไม่ใช่ตัวแทนของสารทุกชนิดที่มีอยู่ในตัวอย่างได้ เนื่องจากความสามารถในการระเหย ณ สภาวะนั้นไม่เท่ากัน สารที่ระเหยได้ดีกว่า อาจพบอยู่เป็นปริมาณมากกว่าในการสุ่มครั้งแรกๆ ส่วนสารอื่นๆ จะระเหยออกมาได้มากขึ้นเมื่อปริมาณสารที่ระเหยง่ายลดลง

ข้อดี
1. เป็นวิธีที่ง่ายและไม่ทำลายตัวอย่าง
2. สารให้กลิ่นที่วิเคราะห์ได้ มีความใกล้เคียงกับสภาพการดมกลิ่นอาหาร
3. เหมาะสำหรับใช้ร่วมกับ GC-O เพื่อระบุลักษณะกลิ่น

ข้อเสีย
1. Static Headspace เป็นระบบปิด เมื่อสารระเหย ระเหยจนถึงจุดสมดุลแล้วจะระเหยมากกว่านี้ไม่ได้ จึงทำให้พบปัญหาความเข้มข้นของสารที่ต้องการศึกษาต่ำเกินกว่าที่จะตรวจวัดได้ด้วย detector

2. การทดลองต้องควบคุมสภาวะให้เหมือนเดิมทุกประการ มิฉะนั้นผลการทดลองจะมีความแปรปรวนสูง โดยสภาวะที่ต้องควบคุม เช่น น้ำหนักตัวอย่าง ขนาดของขวดบรรจุตัวอย่าง อุณหภูมิและเวลาการปล่อยให้เกิดสภาวะสมดุล รวมทั้งสภาวะอื่นๆ

ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค static headspace sampling ต้องควบคุมพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำให้สารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์กลายเป็นไอ คือ

- ปริมาณของตัวอย่างที่บรรจุใน vial
- ความเป็นกรดด่างของสารละลายตัวอย่าง ซึ่งจะทำให้อุณหภูมิสมดุลเปลี่ยนแปลงไป
- อุณหภูมิต้องสูงพอที่จะทำให้ตัวอย่างกลายเป็นไอได้
- เวลาที่ใช้ต้องให้ไอของสารตัวอย่างฟุ้งกระจายจนถึงสมดุล
- ปริมาณเกลือที่เติมเพื่อเพิ่มความดันไอของสารที่วิเคราะห์และลดความสามารถในการละลายของสารอินทรีย์ในน้ำ
- สำหรับตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ต้องทำการเพิ่มพื้นที่ผิวโดยการบดละเอียดซึ่งจะช่วยเพิ่มการกระจายของไอระเหยออกมามากขึ้น

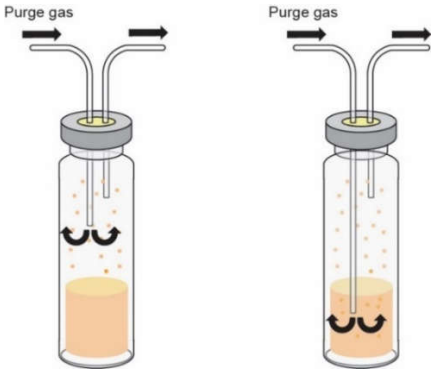
ในบางกรณีการเพิ่มน้ำอาจทำให้เกิดการแข่งขันกันในการเข้าจับกับ active site ของสารอินทรีย์บางชนิดจากพื้นที่ผิวของของแข็ง จะทำให้ไอระเหยในเฮดสเปซมีความเข้มข้นมากขึ้น

สำหรับตัวอย่างของเหลวที่เตรียมจากการละลายสารที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่ใช้ต้องคำนึงถึง คือ

- ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์และมีเฟสอยู่กับที่
- ต้องละลายสารที่ต้องการวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์และเป็นเนื้อเดียวกัน
- พีคที่ได้ต้องแยกออกจากพีคของสารที่ต้องการวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์
- ต้องไม่ติดค้างอยู่ในคอลัมน์
- ปริมาณตัวละลายที่ใช้ต้องไม่ overload คอลัมน์

Dynamic Headspace Sampling (DHS) หรือ Purge and Trap (P&T) เนื่องจาก static headspace sampling มีข้อเสีย คือ เป็นระบบปิดทำให้สารที่ระเหยได้มีปริมาณจำกัด จึงไม่เหมาะกับตัวอย่างที่มีสารให้กลิ่นปริมาณน้อย ด้วยเหตุผลนี้ static headspace sampling จึงไม่ค่อยได้รับความนิยมเท่าที่ควร จึงมีการพัฒนาวิธีเพื่อแก้ไขจุดด้อยของ static headspace sampling นั่นคือ Dynamic headspace sampling โดยทำการผ่านแก๊สลงไปในภาชนะที่บรรจุตัวอย่างตลอดเวลาทำให้ระบบไม่เข้าสู่ภาวะสมดุล สารระเหยจึงสามารถระเหยออกมาได้อย่างต่อเนื่อง เมื่อแก๊สพาสารระเหยออกมาจะผ่านตัวดูดซับ หรือผ่าน cryofocusing unit เพื่อควบแน่นสารระเหย ก่อนฉีดเข้าเครื่อง GC

Dynamic headspace เป็นชื่อที่ใช้เรียกวิธีการที่ผ่านแก๊สลงไปเหนืออาหาร ในกรณีที่ทำการผ่านแก๊สลงไปในตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยตรง จะเรียกว่า Purge and Trap (P&T) (ภาพที่ 14) เรียกทั้งสองวิธีโดยรวมว่า dynamic headspace



ภาพที่ 14 Dynamic Headspace Sampling (ซ้าย) Purge and Trap (ขวา)
ที่มา: ดัดแปลงจาก Worsfold *et al*. (2005)

วิธีสุ่มตัวอย่างแบบ dynamic headspace เหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีสารระเหยความเข้มข้นต่ำ ในกรณีที่ของเหลวเกิดฟองได้ง่ายไม่ควรใช้ Purge & Trap เพราะฟองจะล้นภาชนะและไหลเข้าตัวเครื่องได้ หากจำเป็นต้องใช้จะต้องเติม antifoaming agent ซึ่งจะปนเปื้อนไปกับสารที่สกัดได้

ชนิดของตัวดักจับ (trap) สารที่ระเหยจาก dynamic headspace นิยมใช้

1. Adsorbent trap
2. Cryogenic trap

Adsorbent trap ที่ใช้มี 3 ชนิด คือ

1. ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) มีข้อดี คือ ถ่านกัมมันต์มี affinity กับน้ำน้อยจึงไม่มีปัญหาในการดูดจับความชื้น ถ้าตัวดูดจับสามารถจับน้ำได้ดี เมื่อทำการ desorp น้ำจะระเหยออกมาพร้อมกับสารระเหยอื่นๆ และเข้าสู่คอลัมน์ซึ่งจะทำให้คอลัมน์เสื่อมสภาพได้ง่าย นอกจากนี้ถ่านกัมมันต์มีความเสถียรที่อุณหภูมิสูงถึง 300-350 ºC จึงสามารถ desorp ที่อุณหภูมิสูงได้
2. Alumina silica gel มีข้อเสีย คือ ดูดความชื้นได้ดี จึงไม่ค่อยนิยมใช้
3. โพลิเมอร์ที่มีรูพรุน เช่น Porapak, Chromosorb และ Tenax ซึ่งในงานวิจัยทางด้านสารให้กลิ่นในอาหารนิยมใช้ Tenax TA ซึ่งมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้
   - ทนอุณหภูมิได้สูงถึง 200-220 ºC
   - เป็นสารประกอบไม่ชอบน้ำ (hydrophobic)
   - มี affinity กับน้ำและสารที่มีมวลโมเลกุลต่ำน้อย ดังนั้นถ้าต้องการศึกษาสารที่มีมวลโมเลกุลต่ำควรจะเลือกใช้ตัวดักจับชนิดอื่น
   - มีค่าปริมาตร breakthrough ต่ำ ทำให้ประหยัดแก๊สและเวลาการ desorp สั้นตามที่ต้องการ

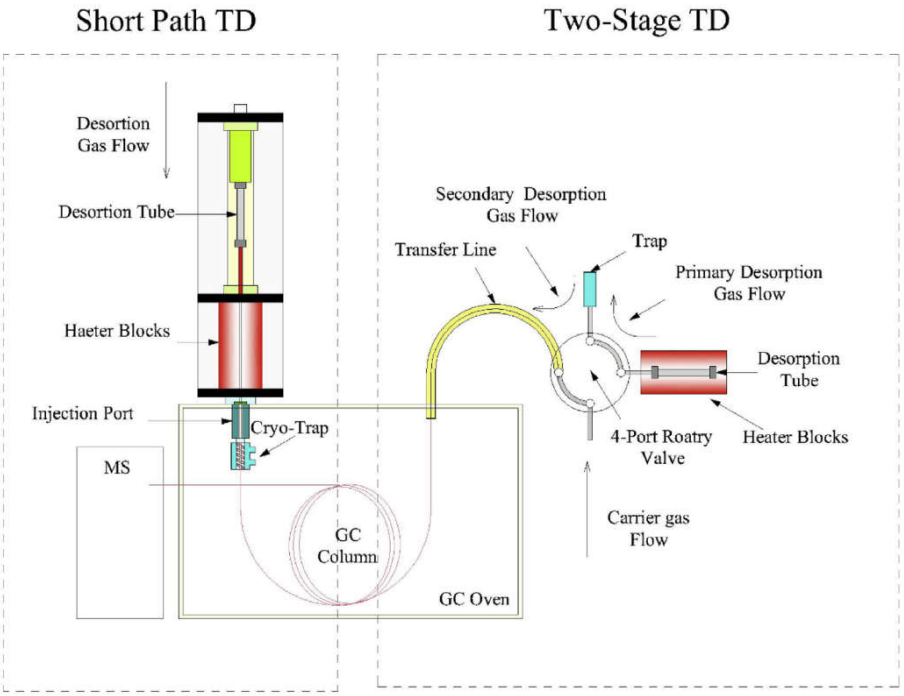
ปริมาตร breakthrough คือ ปริมาตรของแก๊สที่ใช้สำหรับทำให้สารชนิดใดชนิดหนึ่งหลุดผ่านตัวดักจับที่บรรจุสารดูดซับหนัก 1 กรัม ซึ่งค่าปริมาตร breakthrough ขึ้นกับชนิดของสารดูดซับ อุณหภูมิของตัวดักจับ ชนิดของสารระเหยและสภาวะการสุ่มตัวอย่าง เช่น อัตราการไหลของแก๊ส และแรงดันย้อนกลับ (back pressure)

การแยกสารระเหยจากสารดูดซับสามารถทำได้โดย

1. การสกัดด้วยตัวทำละลาย ข้อดีของวิธีนี้คือ ไม่ใช้ความร้อน แต่มีข้อจำกัดคือ ตัวทำละลายอาจมีผลต่อสารดูดซับ เช่น ในกรณีของ Tenax ไม่สามารถใช้ methylene chloride หรือ เบนซีนในการสกัดสารให้กลิ่นได้ และนอกจากนี้ยังต้องนำไปทำให้เข้มข้นก่อนฉีดเข้า GC ด้วย
2. การใช้ความร้อน วิธีนี้ใช้กันมากเนื่องจากไม่ยุ่งยาก แต่อาจมีผลจากการใช้ความร้อนเป็นเวลานาน คือความร้อนอาจทำให้สารให้กลิ่นทำปฏิกิริยากันเองได้

3.3.1.5 Direct Thermal Desorption (DTD)

วิธีนี้จะบรรจุตัวอย่างในหลอด และให้ความร้อนเพื่อ desorp สารให้กลิ่นระเหยเข้าสู่คอลัมน์โดยตรง (ภาพที่ 15) โดยใช้แก๊สเฉื่อยพาเข้าสู่ Cryofocusing Unit ก่อนจะให้ความร้อนเพื่อพาเข้าสู่คอลัมน์



ภาพที่ 15 Thermal Desorption

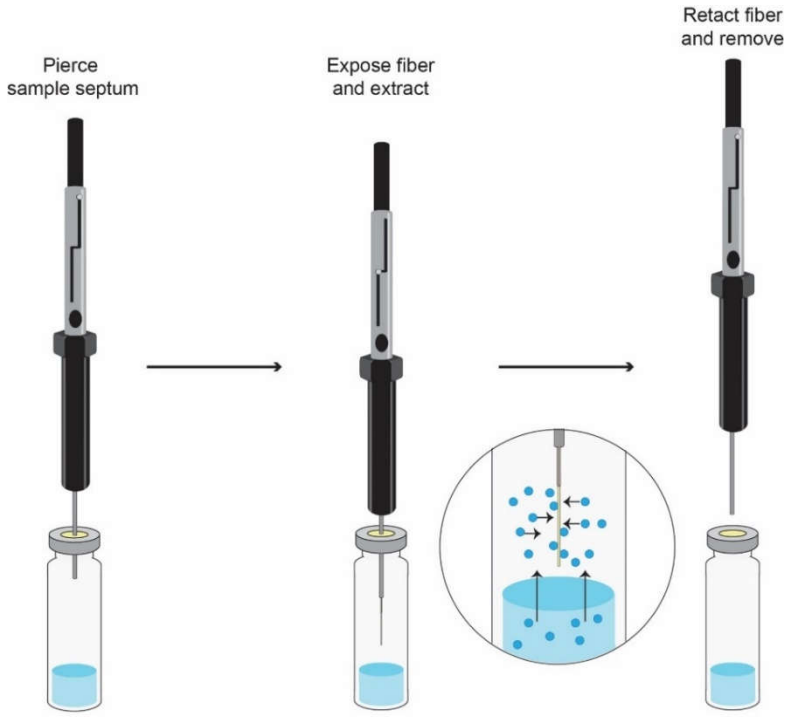
ที่มา : Liu *et al*. (2019)

วิธีนี้จะใช้ตัวอย่างน้อย คือ 1-5 มิลลิกรัม อุณหภูมิที่ให้ความร้อนตัวอย่างอยู่ในช่วง 100-250 °C ข้อเสียของวิธีนี้ คือ ความชื้นจากตัวอย่างจะถูกพาไปพร้อมกับสารระเหย เมื่อใกล้บริเวณของ cryofocusing unit น้ำอาจกลั่นตัวกลายเป็นน้ำแข็งอุดตันท่อได้ จึงจำเป็นต้องมีสารดูดจับน้ำ เช่น โซเดียมซัลเฟต

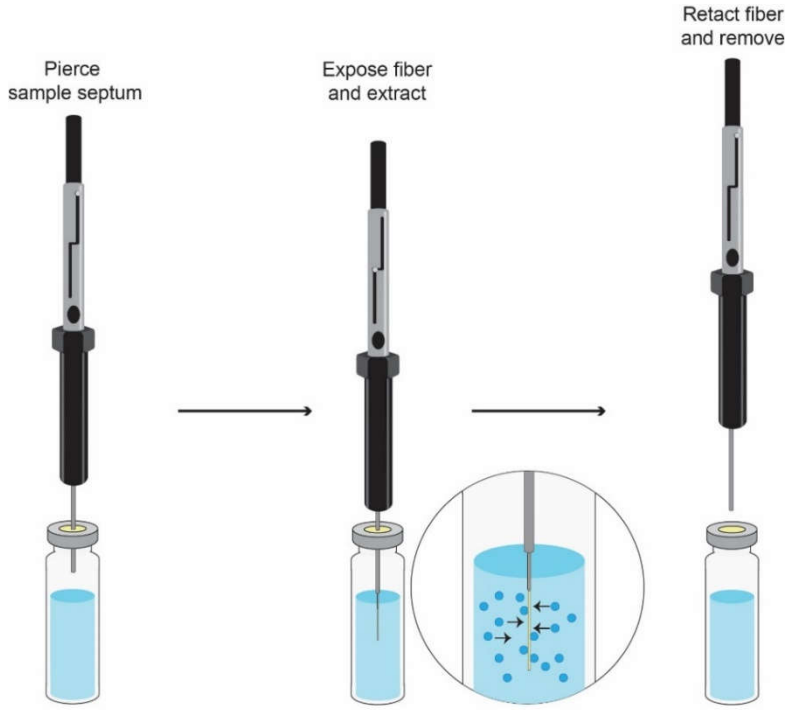
3.3.1.6 Solid Phase Microextraction (SPME)

วิธี solid phase microextraction (SPME) เป็นเทคนิคที่ง่ายในการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สารในปริมาณน้อย (trace analysis) เป็นการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (solventless) ในการสกัดสารตัวอย่าง เทคนิค SPME ถูกพัฒนาขึ้นมาครั้งแรกในปี ค.ศ.1989 ที่ University of Waterloo (Ontario, Canada) โดย Professor Pawliszyn และคณะ จากนั้นบริษัท Supelco (Bellefonte, PA) ได้นำไปผลิตและจำหน่ายในปี ค.ศ.1993 ทำให้เทคนิค SPME ได้รับความนิยมและถูกนำมาใช้แพร่หลายในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทางเคมี

เทคนิค SPME เป็นการเตรียมตัวอย่างโดยใช้ไฟเบอร์ (Fiber) ในการดูดซับสารที่สนใจ ไฟเบอร์ทำจาก fused silica เคลือบด้วยฟิล์มบางๆ ประมาณ 7-100 ไมครอน เป็นชนิดเดียวกับวัฏภาคคงที่ในคอมลัมน์ของ GC โดยไฟเบอร์จะมีความจำเพาะเจาะจงกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ สามารถจับสารให้กลิ่นจาก headspace หรือจุ่มไฟเบอร์ลงในตัวอย่างโดยตรง โดยการสกัดสารเริ่มด้วยการเสียบเข็มลงในขวดตัวอย่าง จากนั้นกดด้ามของ SPME ให้ไฟเบอร์ซึ่งอยู่ภายในเข็มโผล่ออกมา ตั้งไว้ให้สารระเหยในตัวอย่างถูกดูดซับที่ผิวของไฟเบอร์ เมื่อครบเวลาการสกัดให้ดึงด้ามของอุปกรณ์ขึ้นเพื่อเก็บไฟเบอร์เข้าภายในกระบอกเข็มและดึง SPME holder ออกจากขวดสารตัวอย่าง (ภาพที่ 16) เมื่อไฟเบอร์จับสารให้กลิ่นแล้ว จะทำการ desorp ที่ injection port โดยเสียบเข็มลงบนจุดฉีดของเครื่อง GC จากนั้นกดเข็มเพื่อเลื่อนตำแหน่งของไฟเบอร์ให้โผล่ออกมา สารที่ถูกดูดซับอยู่ที่ผิวของไฟเบอร์จะระเหยออกมาด้วยอุณหภูมิของจุดฉีด เมื่อครบเวลาการ desorp ให้ดึงด้ามของอุปกรณ์ขึ้นเพื่อเก็บไฟเบอร์กลับเข้าสู่ภายในกระบอกเข็ม (ภาพที่ 17) ขั้นตอนการสกัดสารด้วย SPME และนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC แสดงดังภาพที่ 18 ซึ่งเทคนิคนี้จะช่วยลดเวลาในการเตรียมตัวอย่าง ช่วยลดของเสีย (waste) ที่เกิดจากสารสารละลายในห้องปฏิบัติการ



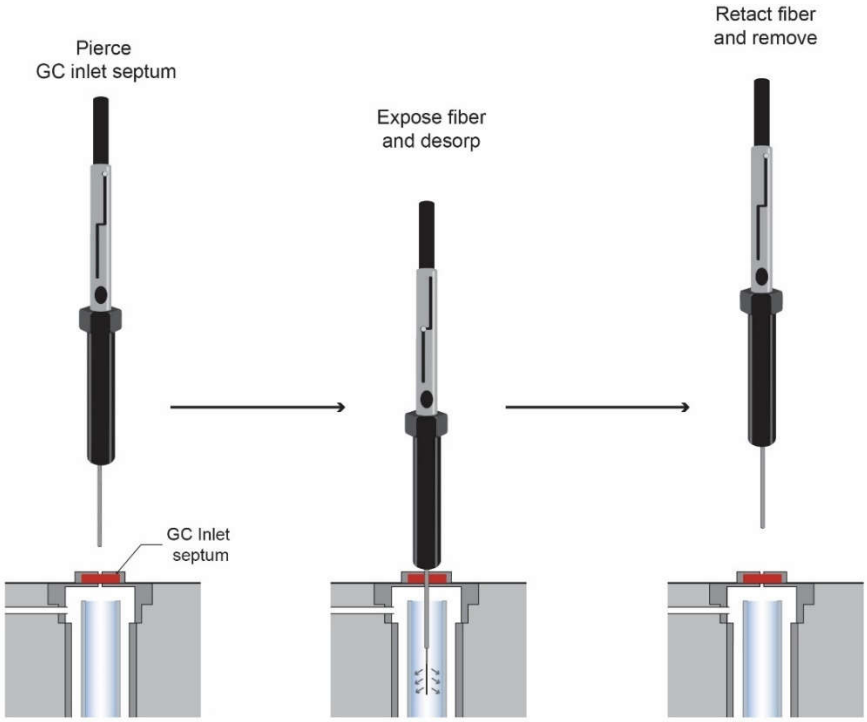
ก) การจับสารให้กลิ่นจาก headspace ของตัวอย่าง



ข) การจับสารให้กลิ่นโดยการจุ่มไฟเบอร์ลงในตัวอย่างโดยตรง

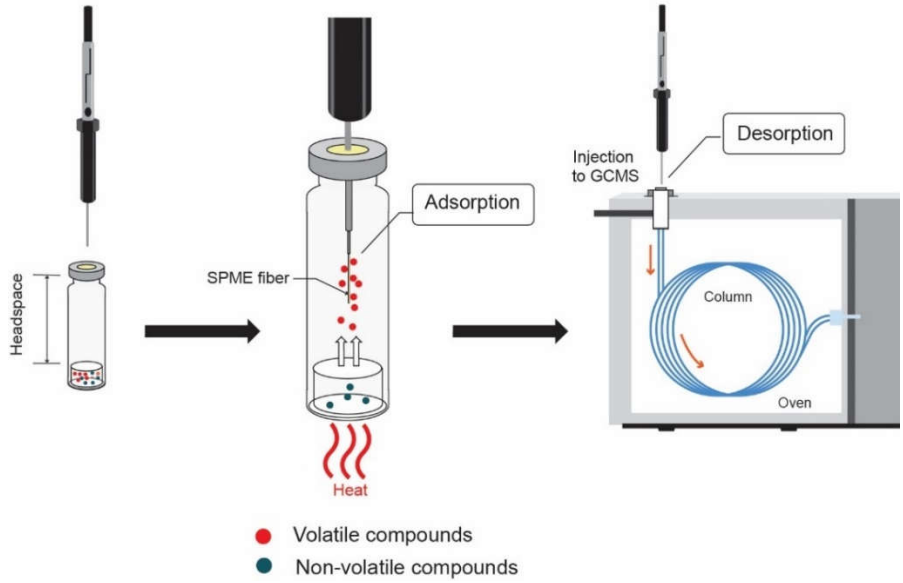
ภาพที่ 16 การใช้ SPME ในการจับสารให้กลิ่น

ที่มา : ดัดแปลงจาก Pawliszyn (2012)



ภาพที่ 17 การ desorp สารให้กลิ่นจากไฟเบอร์

ที่มา : ดัดแปลงจาก Pawliszyn (2012)



ภาพที่ 18 การสกัดสารด้วยเทคนิค SPME

ที่มา: ดัดแปลงจาก Ronald E. Majors and Wilmington (2013)

ไฟเบอร์หรือตัวดูดซับมีหลากหลายชนิดให้เลือกใช้ตามความเหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ ทั้งแบบมีขั้ว ขั้วปานกลาง ขั้วสูง ความหนาของฟิล์มแตกต่างกัน เช่น PDMS หนา 7, 30, 85 และ 100 ไมโครเมตร สำหรับสารที่ระเหยง่าย ไม่มีขั้ว แต่ถ้าสารนั้นระเหยง่ายมากจะเลือกใช้ฟิล์มหนามากขึ้น กรณีที่ใช้กับสารมีขั้วและไม่มีขั้ว เช่น PDMS/DVB และ carboxen/PDMS กรณีที่ใช้กับสารมีขั้วสูงควรเลือกใช้ carboxen /DVB และ PDMS/DVB เป็นต้น (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 กลุ่มสารที่ต้องการศึกษาและชนิดของไฟเบอร์ที่เหมาะสม

Target Analytes	Molecular Weight	Recommended Fiber	Hub Color
Nonpolar	125-600	7 µm polydimethylsiloxane (PDMS)	Green
Nonpolar, semivolatile	80-500	30 µm polydimethylsiloxane (PDMS)	Golden
Volatile	60-275	100 µm polydimethylsiloxane (PDMS)	Red
Polar, semivolatile	80-300	85 µm Polyacrylate	Gray
Highly volatile	30-225	95 µm Carbon wide range (WR)/PDMS	Dark blue
Aromatic, semivolatile	50-300	65 µm Divinylbenzene (DVB)/PDMS	Violet
Volatile and semivolatile	40-275	80 µm DVB/Carbon WR/PDMS	Dark Gray

ที่มา: Boonlorm (2021)

ข้อดีของ SPME คือความง่ายในการวิเคราะห์และมีความจำเพาะต่อสารระเหย (ตารางที่ 3) ส่วนข้อเสียคือ มีค่า reproducibility ต่ำ เนื่องจากต้องควบคุมปัจจัยต่อไปนี้อย่างแม่นยำทุกครั้งที่ทำการทดลอง ได้แก่

1. เวลาและอุณหภูมิในการดูดจับสาร
2. เวลาและอุณหภูมิในการ desorp

ไฟเบอร์อาจอิ่มตัวได้ เนื่องจากการจับสารของไฟเบอร์มีความจำเพาะ ไฟเบอร์จึงมีความลำเอียงในการจับสารบางชนิดเท่านั้น ถ้าไฟเบอร์อิ่มตัวสารที่ถูกไฟเบอร์จับไว้เดิมจะถูกแทนที่ด้วยโมเลกุลใหม่ที่ไฟเบอร์มีความจำเพาะมากกว่า ทำให้ได้อัตราส่วนของสารระเหยไม่ถูกต้อง

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบวิธีการสกัดสารระเหยด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการ	ชนิดของสารที่วิเคราะห์ , เมทริกซ์ของตัวอย่าง	ช่วงความเข้มข้น	ความหลากหลายของสารระเหย	ความยากง่ายในการวิเคราะห์
Static headspace	ก๊าซสารระเหยและสาร , ระเหยยาก ในตัวอย่างทั้งของแข็งและของเหลว	กว้าง	หลากหลาย	ปานกลาง
Dynamic Headspace (P&T)	ก๊าซสารระเหยใน , ของเหลว	แคบ	หลากหลาย	ง่าย
Solid Phase Extraction (SPE)	สารระเหยยากในของเหลว	กว้าง	จำเพาะ	ยาก
SPME	ก๊าซสารระเหย และสาร , ระเหยในตัวอย่างที่เป็นของแข็งและของเหลว	กว้าง	จำเพาะ	ง่าย

ที่มา: สิรี (2546)

การประยุกต์ใช้งานเทคนิค SPME ได้รับความนิยมในการนำไปประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม นิติวิทยาศาสตร์ เภสัชกรรม อาหาร เครื่องดื่ม และสารให้กลิ่น สารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ใช้วิเคราะห์ได้ทั้งเชิงปริมาณ (มีสารมากน้อยเพียงใด บอกเป็นตัวเลข) เชิงคุณภาพ (มีสารที่เราสนใจหรือไม่ อาจจะเทียบกับสารมาตรฐาน หรือถ้าวิเคราะห์กับ GC-MS สามารถเทียบกับฐานข้อมูลหรือ library ในเครื่องได้

04

การฝึกฝนผู้ประเมินกลิ่นรส

การคัดเลือกผู้ทดสอบ..... 32

การฝึกหัดผู้ทดสอบ 33

วิธีการทำโปรไฟล์กลิ่นรสด้วยวิธีทดสอบเชิงพรรณนา 34

4.1 การฝึกฝนผู้ทดสอบสำหรับการทดสอบเชิงพรรณนาด้านกลิ่นรส

การทดสอบเชิงพรรณนา หมายถึง การวิเคราะห์หารายละเอียดที่เป็นลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์หรือลักษณะที่แสดงคุณภาพ (quality characteristic) พร้อมกับบอกระดับความเข้มของลักษณะดังกล่าวในสเกลทางประสาทสัมผัส (sensory scale) เช่น ลักษณะเฉพาะของกาแฟ ลักษณะเฉพาะของไวน์ เป็นต้น ดังนั้น การวิเคราะห์รายละเอียดลักษณะคุณภาพทั้งชนิดและปริมาณจะต้องใช้วิธีการรับรู้ที่แม่นยำ เชื่อถือได้ และทำซ้ำได้เหมือนเดิม (reproducible) การทดสอบเชิงพรรณนามีการพัฒนาขึ้นอย่างมากเพื่อนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์อย่างเหมาะสม เป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับว่าสามารถให้ความเข้าใจมากที่สุด มีความแม่นยำและถูกต้องสูง อีกทั้งยังเป็นวิธีที่จะจำแนกความแตกต่างระหว่างผลิตภัณฑ์ได้ชัดเจน จึงได้มีรูปแบบการประยุกต์ใช้การทดสอบในเชิงพรรณนาหลายลักษณะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์หรือเป้าหมายของการทดสอบ

การประเมินกลิ่นรสด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนาถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกโดย Arthur D. Little, Inc. ในปี 1940 (Keane, 1992) เป็นวิธีที่นำมาใช้เพื่อวิเคราะห์กลิ่นหอม (aroma) และกลิ่นรส (flavor) ของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังประเมินระดับความเข้มของกลิ่น (intensity) ลำดับของการให้กลิ่นและกลิ่นตกค้างในผลิตภัณฑ์ (order of appearance and aftertaste) โดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 4-6 คน ผู้ทดสอบที่จะสามารถประเมินคุณลักษณะทางด้านกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ได้ต้องเป็นผู้ที่ได้รับการฝึกฝนมาอย่างดียิ่ง เพื่อให้สามารถจำแนกกลิ่นรสได้อย่างแม่นยำ เนื่องจากในการดำเนินการทดสอบผู้ทดสอบจะต้องทำการประเมินระดับ (degree) ของกลิ่นในผลิตภัณฑ์จำนวนมากและมีความซับซ้อน ดังนั้นหากผู้ทดสอบไม่ได้รับการฝึกฝนมาเป็นอย่างดีจะส่งผลต่อผลการประเมินได้

ผู้ประเมินหรือผู้ทดสอบสำหรับการประเมินทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสต้องผ่านกระบวนการคัดเลือกโดยต้องมีคุณสมบัติผ่านเกณฑ์ความสามารถในการใช้ประสาทสัมผัสหลังจากนั้นต้องผ่านกระบวนการฝึกฝนจนเกิดความรู้และมีทักษะสูงพอที่จะควบคุมและใช้ประสาทสัมผัสเป็นเครื่องมือในการประเมินกลิ่นรสได้อย่างแม่นยำและทำซ้ำได้อย่างต่อเนื่อง โดยมีขั้นตอนการคัดเลือกและฝึกฝนดังนี้

1. การคัดเลือกผู้ทดสอบ

ลักษณะเฉพาะของผู้ทดสอบที่จะผ่านการคัดเลือก มีลักษณะสำคัญคือ

1) ลักษณะพื้นฐาน ได้แก่ ลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- มีความสนใจในงานการทดสอบเชิงพรรณนา
- มีเวลาเกินร้อยละ 80 ให้กับกิจกรรมด้านนี้
- สุขภาพพื้นฐานแข็งแรง ไม่เป็นโรคใด ๆ ที่จะเป็นอุปสรรคต่อการใช้ประสาทสัมผัสในการทำการทดสอบเชิงพรรณนาโดยเฉพาะด้านกลิ่นรส ได้แก่ โรคหวัดเรื้อรัง โรคภูมิแพ้ โรคฟัน โรคเบาหวาน โรคระบบประสาท เช่น ความจำสั้น มีแผลเรื้อรังเฉพาะบริเวณ เช่น นิ้วแตก ผิวแห้งแตก บวม

2) ลักษณะเฉพาะหรือความสามารถพิเศษ ได้แก่ ความสามารถในการใช้อวัยวะอย่างมีประสิทธิภาพ สามารถปฏิบัติงานได้ในระยะเวลาต่อเนื่องได้ดี รวดเร็ว รวมทั้งลักษณะเฉพาะทั้ง 3 ประการ คือ

- มีความสามารถด้านความไวในการรับรู้ จำแนกความแตกต่างได้โดยการรับรู้ การสังเกต และความจำที่ดีประกอบกัน กลุ่มบุคคลเหล่านี้มักจะถือว่ามีพรสวรรค์พิเศษ ซึ่งสะสมมาเป็นเวลานานแม้จะมาฝึกหัดอีกก็ทำได้ง่ายและรวดเร็ว
- มีความสามารถด้านการใช้ภาษาเชิงพรรณนา สำหรับการถ่ายทอดความรู้สึกได้ดีโดยเชื่อมโยงกับความสามารถด้านความไวในการรับรู้และจำแนกความแตกต่าง ประสบการณ์ในข้อนี้อาจได้มาจากการได้รู้จักชนิดอาหารหลากหลายและจำนวนมาก รู้สูตรอาหาร รู้วิธีการผลิตและเข้าใจลักษณะผลิตภัณฑ์ บุคคลากรที่เรียนมาทางด้านอาหารอาจได้เปรียบเพราะสามารถใช้ภาษาทางวิทยาศาสตร์และปรากฏการณ์มาอธิบายร่วมได้ เช่น การเกิดตะกอน การสุกของอาหาร จะช่วยเสริมทักษะเหล่านี้ได้ ความสามารถด้านนี้สามารถทำให้เกิดขึ้นได้โดยการรับความรู้และเพิ่มระยะเวลาการฝึกหัดทดสอบ
- มีความสามารถในการใช้เวลาสั้นในการสรุปโดยเด็ดขาด มีข้อมูลเพียงพอที่จะรายงานผลและประเมินในแบบทดสอบ

การคัดเลือกเพื่อให้ได้บุคคลที่มีคุณสมบัติตามข้อ 1) และ2) นั้น ต้องปฏิบัติโดยใช้แบบการทดสอบเฉพาะ

2. การฝึกหัดผู้ทดสอบ

ขั้นตอนการฝึกหัดผู้ทดสอบที่ผ่านการคัดเลือกตามข้อ 1 จะต้องเข้าคอร์สฝึกหัดประมาณ 40-120 ชั่วโมง โดยระยะเวลาแตกต่างไปตามความต้องการของผู้เข้าฝึกหัด ถ้าต้องการฝึกหัดวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่มีความซับซ้อนด้านลักษณะเฉพาะ เช่น เบียร์ ไวน์ กาแฟ จะใช้เวลาฝึกหัดนานกว่าการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ของพวกของแห้ง เช่น เครื่องดื่มธัญชาติผง และในการฝึกหัดต้องเน้นให้เหมาะสมกับประเภทของงานด้วย เช่น งานประกันคุณภาพ งานการศึกษาการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังต้องฝึกหัดให้ผู้ทดสอบมีความสามารถจริง (validity) และมีความเชื่อมั่นที่จะปฏิบัติงานได้ดี (reliability) เพราะถือว่า ยิ่งผู้ทดสอบมีประสบการณ์ยิ่งมาก จะยิ่งสามารถให้ผลวิเคราะห์ที่มีรายละเอียดมากและปฏิบัติซ้ำได้เหมือนเดิมอย่างถูกต้อง มั่นใจ การฝึกหัดสำหรับการทดสอบเชิงพรรณนาด้านกลิ่นรสมีขั้นตอนดังนี้

ขั้นที่ 1 การฝึกหัดด้านการใช้คำศัพท์ด้านกลิ่นรสและการรู้จักสเกล (20 ชั่วโมง)

การฝึกหัดการรู้จักคำศัพท์และสเกลใช้เวลาประมาณ 20 ชั่วโมง โดยฝึกหัดให้ผู้ทดสอบรู้จักชนิดของกลิ่นรสและให้รับรู้ความเข้มของกลิ่นรส โดยแบ่งตามกลุ่มของกลิ่นรส ดังนี้

- กลิ่นหอม (Aromatics) เช่น กลิ่นใบเตย กลิ่นไหม้ กลิ่นอับ เป็นต้น
- รสชาติ (Tastes) ได้แก่ หวาน เปรี้ยว เค็ม ขม อูมามิ
- ความรู้สึกในปาก (Chemical feeling) เช่น ความรู้สึกฝาด เผ็ด ร้อน เย็น ซ่า เป็นต้น

ซึ่งในการฝึกหัดให้รู้จักคำศัพท์ด้านกลิ่นรสต้องใช้ตัวอย่างประกอบและให้ผู้ทดสอบพยายามใช้ภาษาตัวเองบ้างเพื่อให้ได้ใช้ความคิด จากนั้นก็ให้หัดให้จำได้ในแต่ละคำศัพท์

ขั้นที่ 2 การฝึกหัดด้านการปฏิบัติ ครั้งที่ 1 (15-40 ชั่วโมง)

การฝึกหัดด้านการปฏิบัติการ หมายถึง การให้ผู้ทดสอบวิเคราะห์กลิ่นรสของอาหารในเชิงพรรณนา วิธีการเสนอรูปแบบการปฏิบัติอาจจะมีได้หลายรูปแบบไม่จำกัด แต่ในการฝึกหัดให้เน้นในส่วนของการแยกความแตกต่างและให้พรรณนาลักษณะและระดับของความแตกต่าง ตั้งแต่ตัวอย่างที่มีความแตกต่างของลักษณะเฉพาะจากมากไปหาน้อย (ง่ายไปยาก) เช่น ปฏิบัติการครั้งที่ 1 ให้ใช้ตัวอย่างที่มีลักษณะแตกต่างหลายอย่าง เช่น สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัส ที่มีความแตกต่างระดับสูงแล้วฝึกแยกความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ 2 ตัวอย่าง ตามลักษณะแตกต่าง แล้วค่อยเพิ่มจำนวนตัวอย่างไปเรื่อย ๆ เพื่อจะได้ให้ผู้ฝึกจำลักษณะเฉพาะนั้น ๆ ได้

ขั้นที่ 3 การฝึกหัดด้านการปฏิบัติ ครั้งที่ 2 (15-40 ชั่วโมง)

ในการฝึกหัดด้านปฏิบัติการครั้งที่ 2 นี้ให้ลดระดับความแตกต่างของลักษณะเฉพาะของตัวอย่างลง จึงเรียกวิธีการฝึกนี้ว่า การทดสอบความแตกต่างระดับต่ำและให้ทำเหมือนกับการปฏิบัติการครั้งที่ 1 เพียงแต่ใช้ตัวอย่างที่มีระดับความเข้มข้นของสารให้รสและกลิ่นไม่แตกต่างกันมากนัก การฝึกหัดในขั้นตอนนี้นอกจากจะช่วยเพิ่มความจำแล้ว ยังช่วยเพิ่มความเฉียบแหลมในการรับรู้หรือเพิ่มความไวของผู้ฝึกหัดต่อการรับรู้เฉพาะลักษณะ (attribute sensitivity)

ในการฝึกหัดผู้ทดสอบต้องใช้ทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย ดังนั้น ในการฝึกหัดควรเลือกตัวอย่างให้เจาะจงกับการใช้จริง เช่น บริษัทมีผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการแต่งกลิ่นวนิลา ก็ให้เลือกกลิ่นวนิลาเป็นตัวอย่างปฏิบัติการและควรรักษาบุคคลากรชุดนี้ไว้สำหรับเรื่องนี้

ขั้นที่ 4 การฝึกหัดด้านปฏิบัติการครั้งสุดท้าย (15-40 ชั่วโมง)

ในการฝึกฝนครั้งนี้ให้ใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการค้าซึ่งทั้งผู้ฝึกหัดและหัวหน้าผู้ฝึกหัดไม่มีข้อมูลเบื้องหลังของตัวอย่าง การใช้เวลาของปฏิบัติการเท่ากับครั้งที่ผ่านมา การปฏิบัติครั้งนี้จะเน้นไปที่ความถูกต้องและการทำซ้ำได้ โดยผู้ฝึกหัดจะได้รับตัวอย่างเดิมเพียงแต่เปลี่ยนรูปแบบทดสอบ เช่น แบบจัดลำดับ (ranking test) แบบให้แต้ม (scoring test/ratio scaling) เพื่อดูความมั่นคงของประสาทสัมผัสในการรับรู้ต่อกลิ่นรสของอาหาร

ข้อแนะนำ ในการฝึกหัดตลอดทั้ง 4 ขั้นตอน ควรให้มีการอภิปรายผลและสรุปผลของทุกกลุ่มหรือทุกคน รวมทั้งรับฟังปัญหาเพื่อจะได้แก้ไขในระหว่างการฝึกหัด

3. วิธีการทำโปรไฟล์กลิ่นรสด้วยวิธีทดสอบเชิงพรรณนา

1) วัตถุประสงค์ การทำโปรไฟล์กลิ่นรส (flavor) ของผลิตภัณฑ์มีจุดมุ่งหมายเพื่อหาเอกลักษณ์ของกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ในข้อมูลต่อไปนี้

- รายละเอียดของลักษณะกลิ่นรส (aroma and taste characteristics) ตามที่มนุษย์จะรับรู้ได้ในผลิตภัณฑ์
- ระดับความเข้มและลำดับของการปรากฏหรือการรับรู้และความรู้สึกหลังการทดสอบหรือความรู้สึกตกค้าง

ข้อมูลทั้งหมดจะนำมาบันทึกแบบโปรไฟล์

2) คุณสมบัติของผู้ทดสอบ

- ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 4-6 คน ที่ผ่านการฝึกฝนเฉพาะ
- มีศักยภาพพื้นฐานด้านการจำแนกรส (taste discrimination) ด้านการจำแนกปริมาณความเข้มของรส (taste intensity discrimination) และด้านการวิเคราะห์กลิ่น
- มีทัศนคติที่ดีในการทำงานเชิงอภิปรายกลุ่ม เช่น เป็นผู้ที่เปิดรับและให้ความคิดเห็นในทางที่ให้ประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานแบบเป็นทีม

3) เทคนิคการทดสอบ มีองค์ประกอบต่อไปนี้

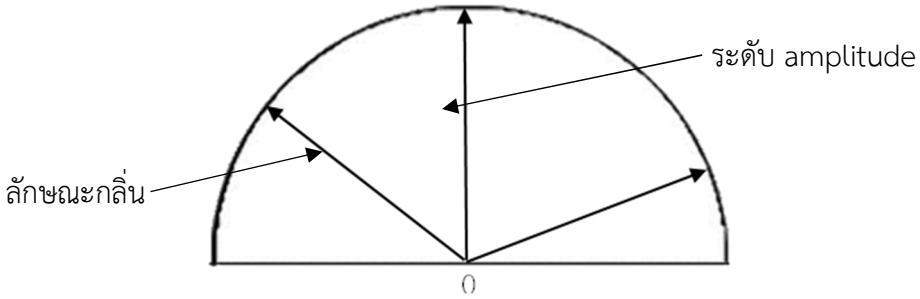
- รูปแบบสถานที่ จัดสถานที่แบบโต๊ะกลมให้ผู้ทดสอบได้เห็นกันรอบตัว แต่ยังคงบรรยากาศของความสงบไม่ทำลายสมาธิและสร้างความรบกวนใด ๆ ระหว่างการทำงาน
- ผู้ทดสอบ จัดให้มีหัวหน้าผู้ทดสอบ (panel's leader) 1 คน ควบคุมเรื่องการเสนอตัวอย่าง การอภิปราย การเก็บรวบรวมผลการทดลอง
- แบบทดสอบและสเกลการวัด ให้ใบแบบทดสอบในลักษณะของแผ่นบันทึกคะแนน (scoresheet) พร้อมสเกลวัด ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สเกลวัดแบบ 7 จุด (0-7)

สเกลตัวเลข				คำอธิบายสเกล	
0 - 7 :	0	0	0	None	None
	1	0.25	1	Threshold	Just detectable
	2	0.5	2.5	Very slight	Very mild
	3	1	5	Slight	Mild
	4	1.5	7.5	Slight-moderate	Mild-distinct
	5	2	10	Moderate	Distinct
	6	2.5	12.5	Moderate-Strong	Distinct-strong
	7	3	15	Strong	Strong

รายละเอียดของแผ่นบันทึกคะแนน ผู้ทดสอบที่เป็นหัวหน้าต้องอธิบายให้เข้าใจในทิศทางเดียวกันเรื่องการกำหนดระดับคะแนนบนสเกล (scale value) อย่างไรก็ตาม ถ้าเป็นผู้ทดสอบที่ชำนาญและทำงานด้านนี้บ่อยอาจคุ้นเคย สามารถให้น้ำหนักคะแนนได้โดยไม่ลำเอียง แต่อย่างไรก็ตามผู้เป็นหัวหน้าทีมก็ไม่ควรมองข้ามไป มิฉะนั้นจะทำให้ผู้ทดสอบไม่เห็นความสำคัญ

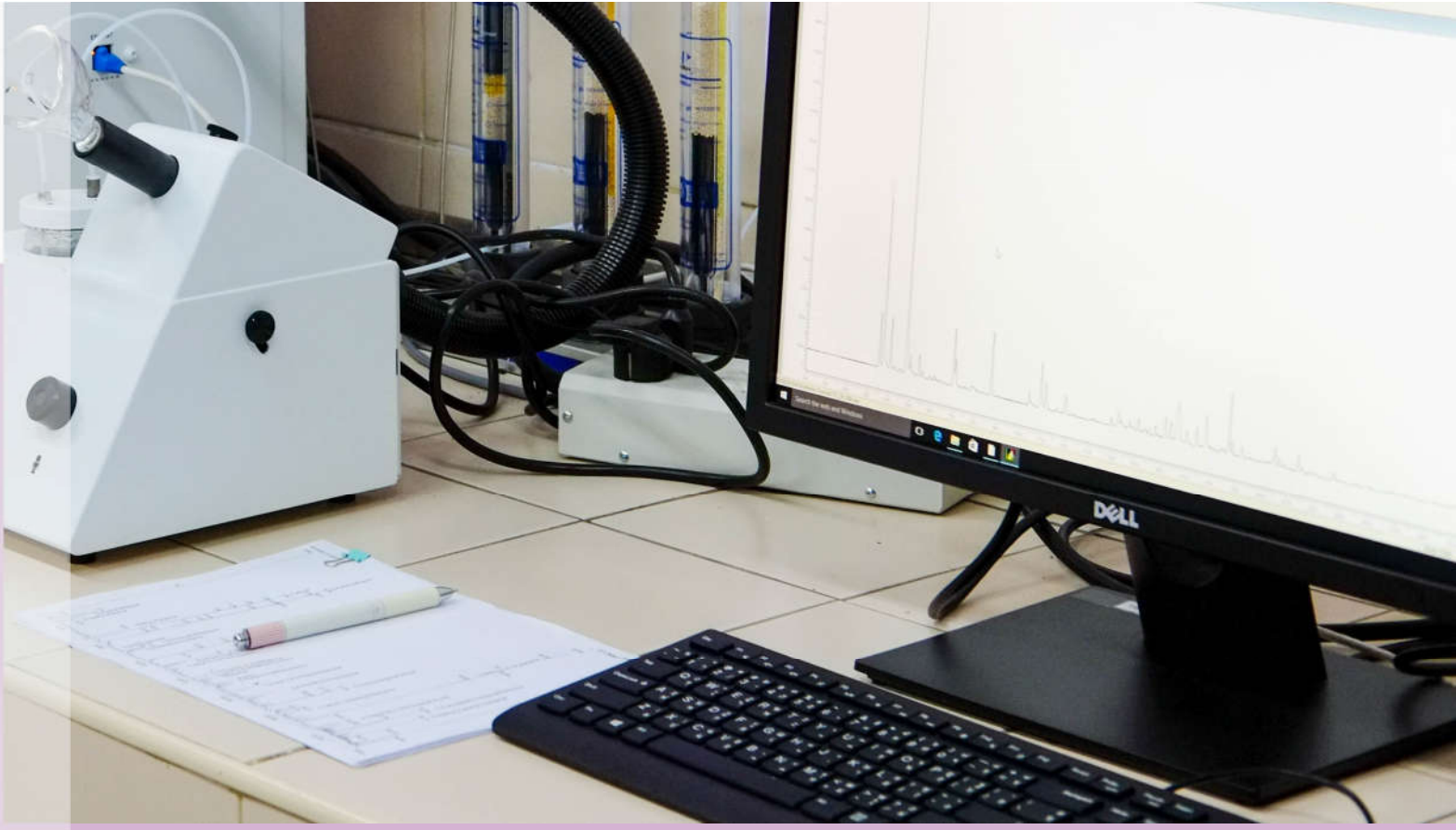
การรวบรวมข้อมูลแบบโปรไฟล์ นำข้อมูลจากผู้ทดสอบทั้ง 4-6 คน มาบันทึกตามภาพที่ 19 โดยการบันทึกตามแนวรัศมีให้จุดเริ่มต้นเป็นศูนย์ (จุดศูนย์กลางของวงกลม) ความยาวลูกศรแทนความเข้มของลักษณะเฉพาะที่รู้สึก บันทึก amplitude เป็นเส้นรอบครึ่งวงกลม รัศมีทางด้านซ้ายมือสุด คือกลิ่นหรือรสที่ผู้ชิมได้รับเป็นอันดับแรก ส่วนรัศมีที่อยู่ถัดไปทางขวามือแสดงกลิ่นหรือกลิ่นรสที่ได้รับในลำดับต่อๆ ไป โดยแต่ละรูปต้องแสดงไว้ด้วยว่ารัศมีใดแทนกลิ่นหรือกลิ่นรสใด



ภาพที่ 19 การแสดงข้อมูลโปรไฟล์
ที่มา: ดัดแปลงจาก Keane (1992)

สารประกอบให้กลิ่นที่ทำการวิเคราะห์ในแอลกอฮอล์นั้นจะถือเป็นสารประกอบให้กลิ่นที่มีปริมาณในระดับมิลลิกรัมต่อลิตรหรือนาโนกรัมต่อลิตร และส่งผลต่อระดับการรับกลิ่นของผู้บริโภคในแต่ละกลิ่นนั้นๆ และโดยการศึกษาเพื่อระบุลักษณะของกลิ่นดังกล่าวนั้นมีการจัด “ระดับ” (Threshold) ของการรับกลิ่น 3 ระดับ ได้แก่

- ระดับความเข้มข้นของกลิ่นต่ำสุดที่ผู้ทดสอบรับรู้ได้ (Perception threshold)
- ระดับความเข้มข้นของกลิ่นต่ำสุดที่ผู้ทดสอบแยกระดับความแตกต่างได้ (Detection threshold)
- ระดับความเข้มข้นของกลิ่นต่ำสุดที่ผู้ทดสอบสามารถระบุความชอบ/ปฏิเสธได้ (Default threshold)



05

การวิเคราะห์และประมวลผล

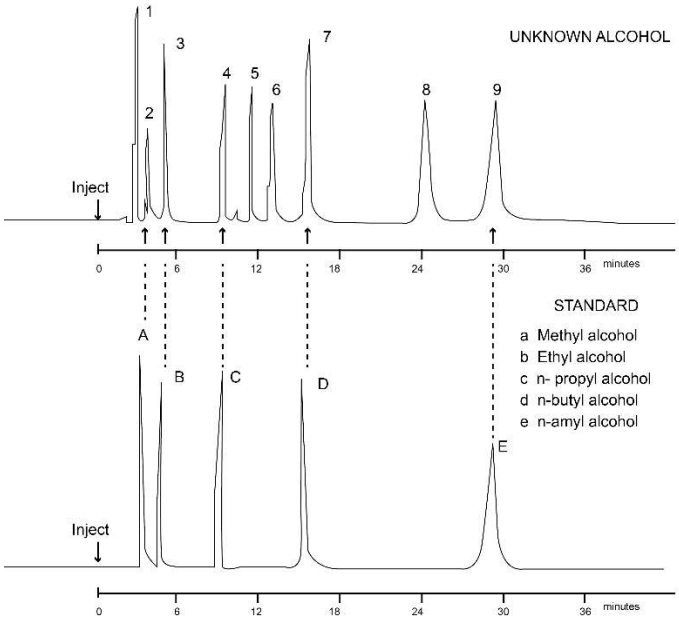
การวิเคราะห์ผลการทดสอบด้วย GC 38
การประเมินผลการทดสอบด้วย GC-O 39
การประเมินผลตามหลักการประเมิน/ identification ... 42

5.1 การวิเคราะห์ผลการทดสอบด้วย GC

การวิเคราะห์ผลการทดสอบแบ่งได้เป็น 2 ลักษณะคือ การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

5.1.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

หลักการวิเคราะห์เชิงคุณภาพที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ทดสอบโดยทั่วไป คือการเทียบพีคของสารมาตรฐานกับสารในตัวอย่างที่ถูกหน่วงอยู่ในคอลัมน์และออกมาที่เวลาเท่ากัน (retention time เท่ากัน) โดยเป็นค่าเฉพาะของสารแต่ละชนิดภายใต้สภาวะที่ใช้ในการทดลองเดียวกัน เช่น คอลัมน์ อัตราไหลของเฟสเคลื่อนที่ และโปรแกรมอุณหภูมิ (Temperature program) ดีเทคเตอร์ เป็นต้น ดังนั้นการทดสอบว่าสารตัวอย่างที่สนใจเป็นสารชนิดไหนจะต้องมีการวิเคราะห์สารนั้น ในตัวอย่างพร้อมกับการวิเคราะห์สารมาตรฐานนั้นเช่นกัน ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์ทดสอบหาแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ ที่อยู่ในสารผสมโดยการเปรียบเทียบ retention time (RT) ในโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานของแอลกอฮอล์ชนิดนั้นกับในตัวอย่างสารผสม แสดงภาพที่ 20

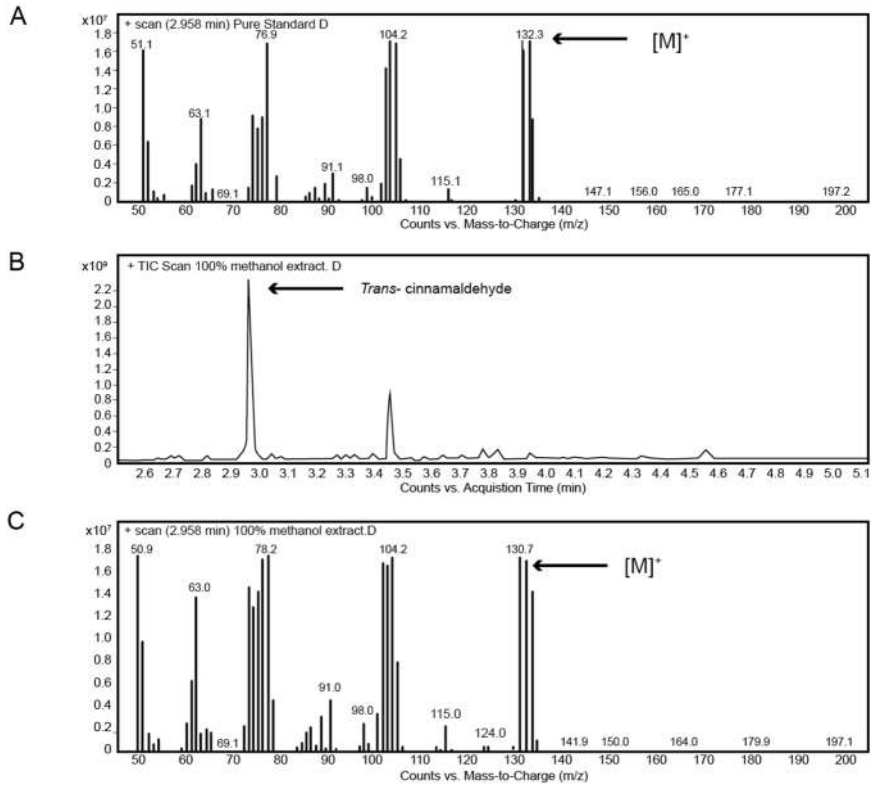


ภาพที่ 20 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยจากการเปรียบเทียบโครมาโทแกรมของสารตัวอย่าง (A) กับโครมาโทแกรมของสารมาตฐาน

ที่มา: ดัดแปลงจาก McNair and Bonelli (1969)

เมื่อดีเทคเตอร์เป็นแมสสเปกโทรมีเตอร์ การวิเคราะห์เชิงคุณภาพสามารถทำโดยตรวจสอบว่าพีคจากการแยกสารผสมที่ออกมา ณ เวลานั้นเป็นสารชนิดใดได้จากการเปรียบเทียบข้อมูลแมสสเปกตรัมของสารที่พีคนั้นกับฐานข้อมูล (data base) แมสสเปกตรัมของสารต่างๆ ซึ่งหากมีรูปแบบของแมสสเปกตรัมใกล้เคียงกันมาก (% matching) ก็พอที่จะสามารถยืนยันได้ว่าจะเป็นสารชนิดนั้นจริง อย่างไรก็ตามผลที่ได้อาจมีสารมากกว่าหนึ่งชนิดที่มี % matching เป็นไปตามที่กำหนด จึงจำเป็นต้องอาศัยการทดสอบสาร

มาตรฐานไปพร้อมกันเพื่อให้ผลการทดสอบถูกต้องที่สุด เช่น การทดสอบหาสาร trans-cinnamaldehyde โดยเปรียบเทียบแมสสเปกตรัมของสารที่ RT เท่ากับ 2.95 กับฐานข้อมูลสเปกตรัมของของ trans-cinnamaldehyde แสดงภาพที่ 21



ภาพที่ 21 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยจากการเปรียบเทียบแมสสเปกตรัมของ trans-innamaldehyde จากฐานข้อมูล (A) กับพีคในโครมาโทแกรมของตัวอย่าง (B) และแมสสเปกตรัมที่ได้จากสารตัวอย่าง (C)

ที่มา: Daker et al (2013)

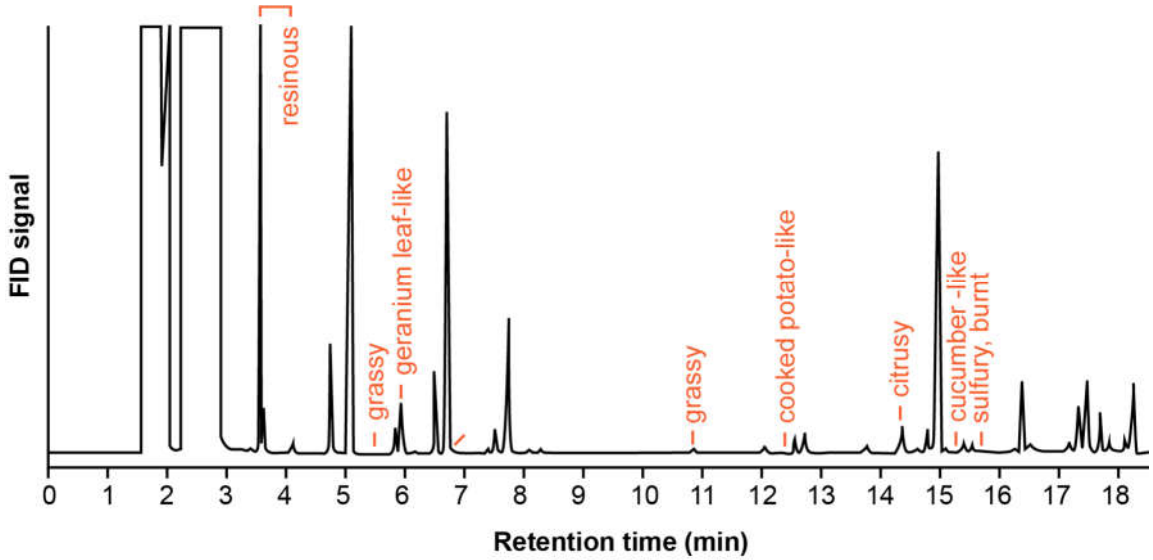
5.1.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

นิยมใช้วิธีการสร้างกราฟมาตรฐานจากสัญญาณการตอบสนองที่ได้สารละลายมาตรฐาน (external standard) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งจะต้องครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่คาดว่าจะพบในตัวอย่าง และวิเคราะห์ทดสอบภายใต้สภาวะต่างๆ ของเครื่องโครมาโทกราฟที่ใช้ในการวิเคราะห์เหมือนกัน

5.2 การประเมินผลการทดสอบด้วย GC-O

ในการวิเคราะห์ด้วย GC-O ส่วนของสารระเหยที่แยกออกมาจากตัวอย่างอาหารจะนำเข้าสู่ระบบของเครื่อง GC ผ่านทาง injector แล้วเข้าสู่การแยกด้วยคอลัมน์โดยการโปรแกรมอุณหภูมิของคอลัมน์ ในระหว่างการวิเคราะห์ผู้ทดสอบจะใช้จมูกรับกลิ่นผ่านทาง สนิฟเฟอร์ ที่ต่อผ่าน สนิฟฟิ่ง พอร์ท เมื่อผู้ทดสอบได้รับกลิ่นก็จะบันทึกคุณลักษณะของกลิ่นที่ RT ต่าง ๆ ร่วมกับโครมาโทแกรมที่ได้จากดีแทคเตอร์

ของเครื่อง GC การบันทึกผลของ GC-O สามารถบันทึกเป็นโครมาโทรแกรม โดยผู้ทดสอบสามารถจดบันทึกลักษณะของกลิ่นที่ได้เอง หรือใช้ซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์ในการบันทึก ดังตัวอย่างโครมาโทรแกรมใน (ภาพที่ 22) ซึ่งเป็นโครมาโทรแกรมจากการวิเคราะห์ใบหอมแขก (curry leaves) จะเห็นได้ว่าสารระเหยที่ตรวจได้จาก FID จะมีหลายพีค ซึ่งบางพีค มีขนาดใหญ่ แต่ไม่ให้กลิ่น เช่น ที่ RT = 5.1 และ 14.9 นาที บางพีคมีความสอดคล้องทั้งขนาดของพีคและความแรงของกลิ่นที่ได้ เช่น ที่ RT = 3.5 นาที นอกจากนี้ผู้ทดสอบอาจตรวจรับกลิ่นได้ในบริเวณที่ไม่มีพีคมีสัญญาณเพียงเล็กน้อย เช่น RT = 5.5 และ 15.7 นาที ทำให้เห็นได้ว่าการวิเคราะห์ด้วยการดมกลิ่นของมนุษย์กับเครื่องมือนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมาก



ภาพที่ 22 GC-O chromatogram จากการวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นของใบใบหอมแขก
ที่มา: Steinhaus (2020)

หลังจากที่ได้ข้อมูลสารให้กลิ่นเบื้องต้นแล้ว การจำแนกชนิดของสารให้กลิ่นในเบื้องต้นสามารถทำได้โดยเปรียบเทียบ Linear retention index (LRI) ของสารระเหยที่ถูกแยกออกมาในเวลาต่าง ๆ และบรรยายกลิ่นที่รับได้ เทียบกับ n-alkanes โดยค่า LRI จะเป็นค่าคงที่ที่ไม่ขึ้นอยู่กับสภาวะในการวิเคราะห์ด้วย GC แต่จะขึ้นอยู่กับชนิดของคอลัมน์ที่ใช้ โดยสามารถคำนวณได้จากสมการ

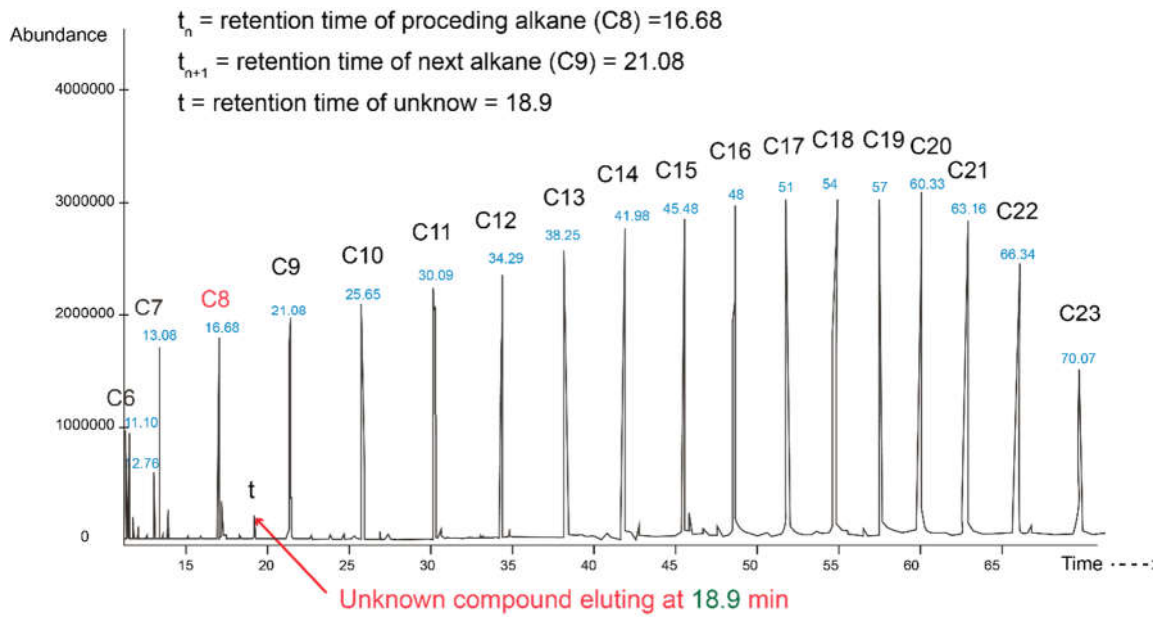
$$\mathrm{LRI} = 100\left(\frac{t - t_n}{t_{n+1} - t_n}\right) + n$$

โดย t คือ retention time ของสารประกอบที่สนใจ

n คือ จำนวนคาร์บอนอะตอมของ n-alkane พีคก่อนพีคของสารประกอบที่สนใจ

n+1 คือ จำนวนคาร์บอนอะตอมของ n-alkane พีคถัดจากสารประกอบที่สนใจ

เช่นตัวอย่าง unknown ในภาพที่ 23



ภาพที่ 23 โครมาโทแกรมของสารตัวอย่าง (unknown) เทียบกับสารมาตรฐาน Alkane บนคอลัมน์ Carbowax

มีค่า $\mathbf{t}$ = retention time ของสารที่สนใจ = 18.9

$\mathbf{t_n}$ = retention time ของ n-alkane พีคก่อนหน้า (C8) = 16.68

$\mathbf{t_{n+1}}$ = retention time ของ n-alkane พีคถัดไป (C9) = 21.08

คำนวณค่า LRI = 850

ค่า LRI ของสารระเหยได้นั้นสามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานหรือ data base ที่มีในปัจจุบัน ซึ่งสามารถยืนยันสารที่ได้โดยการวิเคราะห์ด้วย GC-MS ฐานข้อมูลค่า LRI มีอยู่ในหลายเว็ปไซต์และเอกสารวิชาการ เช่น

เอกสารวิชาการ Adams, R.P. (2007) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th Edition มีข้อมูล Alluredmass spectra และ LRI บนคอลัมน์ DB-5

เว็ปไซต์ www.odour.org.uk มีข้อมูลสารให้กลิ่นมากกว่า 5,000 สารประกอบ และข้อมูลลักษณะของสารให้กลิ่น

www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php มีข้อมูลสารให้กลิ่นประมาณ 13,000 สารประกอบ

ตัวอย่าง LRI เช่น

LRI ของ toluene บนคอลัมน์ non-polar (CPSil8) = 769

LRI ของ toluene บนคอลัมน์ polar (Carbowax) = 1048

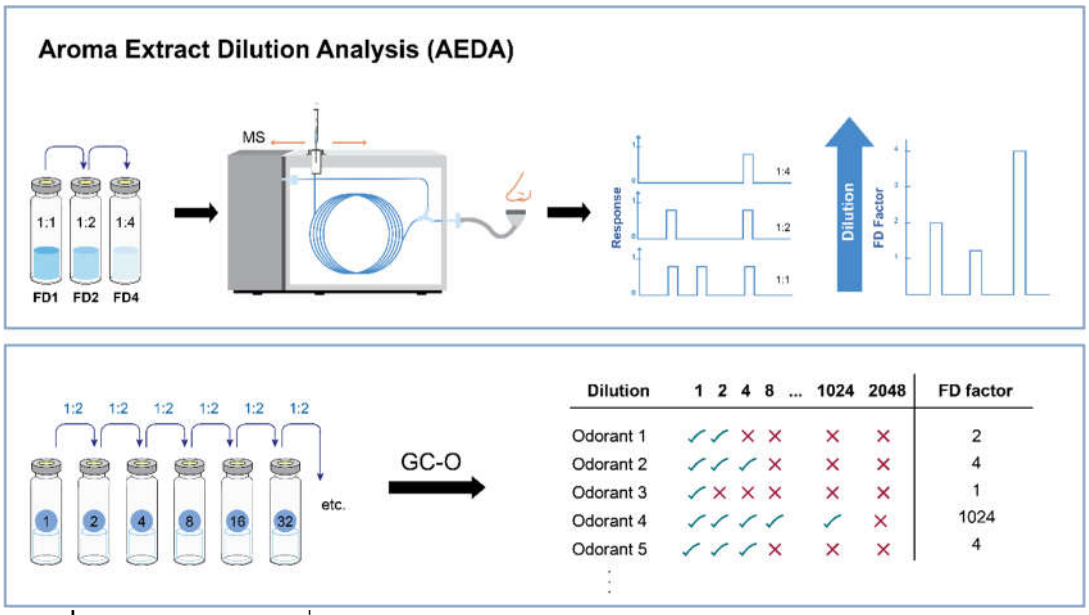
5.3 การประเมินผลตามหลักการประเมิน/ identification

ในการวิเคราะห์กลิ่นนั้นจะแตกต่างจากการวิเคราะห์สารระเหยโดยทั่วไป เช่น ในโครมาโทแกรมหนึ่งๆ พีคที่มีขนาดใหญ่หรือสูงมักจะเป็นสารที่มีปริมาณมากหรือเป็นองค์ประกอบสำคัญในตัวอย่างที่วิเคราะห์ แต่พีคดังกล่าวอาจไม่สำคัญเสมอไป หากพีคนั้นเป็นสารทีไม่ให้กลิ่น โดยการวิเคราะห์กลิ่นนี้แต่ละพีคที่ออกมาจะเป็นผลการรับรู้โดยจมูกมนุษย์ โดยอาจรับรู้กลิ่นได้แม้สารชนิดนั้นจะมีความเข้มข้นในระดับหนึ่งในล้านส่วนหรือต่ำกว่านั้น ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์กลิ่นประกอบด้วย ผลการประเมินว่าสารนั้นมีกลิ่นหรือไม่ ผลการบรรยายการรับรู้ว่าเป็นกลิ่นแบบใด และผลการประเมินระดับความเข้มของกลิ่น เช่น กลิ่นแรงมาก กลิ่นแรง ได้รับกลิ่น กลิ่นอ่อน และกลิ่นจาง หรือการระบุเป็นระดับคะแนน

กลยุทธ์ในการตรวจวิเคราะห์กลิ่น (Olfactometric method) แบ่งได้ตามลักษณะที่สำคัญ ดังนี้

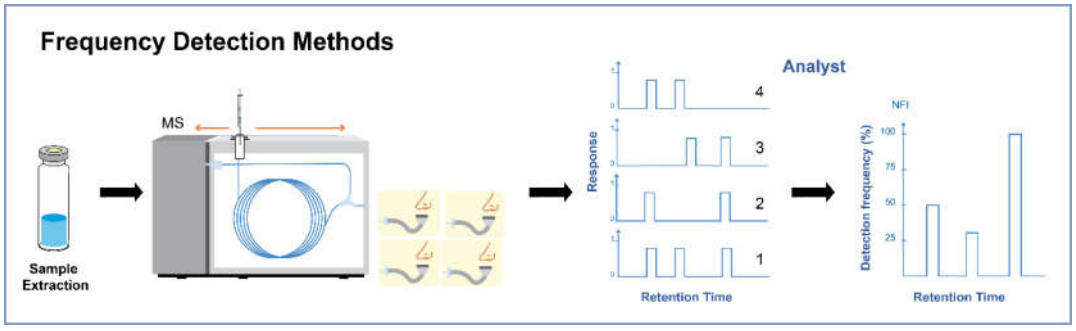
1. การประเมินความเข้มกลิ่นโดยตรง (Direction intensity) โดยผู้ทดสอบซึ่งผ่านการฝึกจนสามารถให้คะแนนระดับความเข้มกลิ่นได้จะดมสารที่ถูกชะออกมาจาก GC นั้น แล้วระบุว่าได้กลิ่นที่เวลาเท่าไหร่ มีความแรงหรือความเข้มระดับไหน และเป็นกลิ่นอะไร ไปพร้อมๆ กัน โดยมีอุปกรณ์ช่วยในการบันทึก อาจเรียกวิธีการนี้ว่าวิธี OSME หรือ Time intensity method นอกจากนี้อาจใช้วิธีการบันทึกระดับความเข้มกลิ่นหลังจากสารถูกชะออกมาหมด (Posterior intensity method) ได้เช่นกัน แต่การประเมินเหล่านี้อาจเป็นการประเมินกลิ่นที่ระดับความเข้มแบบอิ่มตัว ทำให้ความเข้มที่รับรู้ได้ไม่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารให้กลิ่นนั้นๆ ซึ่งอาจทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างเชิงลึกของตัวอย่างต่างๆ ได้

2. การประเมินความเข้มจากการเจือจางกลิ่น โดยนำสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์มาเจือจางลง ก่อนนำไปทดสอบผ่าน GC-O จนถึงระดับความเข้มข้นที่ผู้ทดสอบดมไม่ได้กลิ่น จะได้เป็น thresholds คือความเข้มข้นต่ำสุดที่ยังรับรู้ได้ของสารให้กลิ่นนั้นๆ กล่าวคือสารที่ยังสามารถได้กลิ่นแม้จะเจือจางลงไปมากแล้วจะมี thresholds สูง ในขณะที่สารบางชนิดเมื่อเจือจางลงเล็กน้อยก็ไม่ได้กลิ่นแล้วแสดงว่ามี thresholds ต่ำ โดยวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้คือ Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) เป็นการเจือจางตัวอย่างลงอย่างเป็นลำดับ นำไปทดสอบจนกระทั้งถึงระดับความเข้มข้นที่ผู้ทดสอบดมไม่ได้กลิ่น จะได้ผลการประเมินเป็นค่าของการเจือจางที่ยังคงได้กลิ่น Flavor dilution (FD) ซึ่งจะบ่งบอก profile ความเข้มของกลิ่นผสมในตัวอย่างได้ (ภาพที่ 24) หรือวิธี combined hedonic aroma response measurement (CHARM) ซึ่งจะคล้ายกับ AEDA แต่จะมีการบันทึกเวลาช่วงเวลาหรือความต่อเนื่องของการได้รับกลิ่นนั้นๆ มาคำนวณร่วมด้วยซึ่งค่าของ CHARM จะดีกว่าค่า FD คือสามารถระบุความสูงของพีคหรือความกว้างของฐานพีคที่เป็นสารให้กลิ่นได้ นอกจากนี้ค่าการเจือจางของสารแต่ละชนิดจะเป็นสัดส่วนกับค่ากิจกรรมของกลิ่น (Odor Activity Values; OAV) ซึ่งเป็นอัตราส่วนของความเข้มข้นสารต่อความแรงกลิ่นของสารนั้น ในอากาศ



ภาพที่ 24 การวิเคราะห์กลิ่นแบบ Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA)

3. การประเมินแบบวัดความถี่ โดยการใช้ผู้ทดสอบดมมากกว่า 2 คนขึ้นไปมาทดสอบดมสารสกัดจากตัวอย่างเดียวกันที่ถูกชะออกมาจาก GC แล้วบันทึกกลิ่นที่รับรู้ได้ในเวลานั้นๆ ซึ่งผู้ทดสอบอาจจะได้จำนวนผลลัพธ์ของกลิ่นที่ไม่เท่ากัน ซึ่งเกิดจากความสามารถในการรับรู้หรือตรวจจับกลิ่นได้ไม่เท่ากัน โดยวิธีการนี้จะได้ข้อมูลระดับความเข้มของสารให้กลิ่นเป็นเปอร์เซ็นต์ความถี่ของจำนวนคนที่สามารถดมกลิ่นนั้นได้ (ภาพที่ 25) ซึ่งจำนวนผู้รับรู้กลิ่นจะบ่งบอกความเข้มข้นของสารให้กลิ่นนั้นได้ดีระดับหนึ่ง แต่ก็ไม่สามารถระบุความเข้มกลิ่นที่มีอยู่จริงได้



ภาพที่ 25 การวิเคราะห์กลิ่นแบบการประเมินความถี่

06

การประยุกต์ใช้ Gas Chromatography Olfactometry

การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยกาแฟ 45

การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยแอลกอฮอล์ 49

การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยโกโก้ 55

การประยุกต์ใช้ GC-O วิเคราะห์กลิ่นในผลไม้ 60

6.1 การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยกาแฟ

กาแฟ เป็นเครื่องดื่มที่มีความนิยมอย่างสูงของผู้บริโภคทั่วโลก–จัดเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมและการส่งออกของประเทศไทย สายพันธุ์ที่มีการนิยมปลูกในประเทศไทยคือ พันธุ์อะราบิกาที่ปลูกในภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ และพันธุ์โรบัสตาที่ปลูกในภาคใต้ ซึ่งความแตกต่างของทั้งสองสายพันธุ์ในด้านกลิ่นรส จึงทำให้กาแฟพันธุ์อะราบิกามีกลิ่นหอมและรสชาติที่ดีกว่าพันธุ์กาแฟโรบัสตา และได้รับความนิยมนำมาใช้ผลิตเป็นกาแฟคั่วบดมีคุณภาพและราคาสูงในท้องตลาดปัจจุบัน ในกระบวนการหมักและคั่วกาแฟจะเป็นส่วนหนึ่งที่ส่งผลต่อคุณภาพของกลิ่นและรสชาติของกาแฟ ทั้งนี้กระบวนการประเมินคุณภาพมักใช้บุคลากรที่ได้รับการฝึกฝน (Panelist) และใช้กระบวนการทดสอบตามหลักการของสมาพันธ์กาแฟโลก (International Coffee Organization) จำนวน 2 กระบวนการ ได้แก่ กระบวนการของ Specialty Coffee Association (SCA) และ กระบวนการของ Cup of Excellence (COE) ทั้งนี้แม้จะมีการควบคุมผู้ประเมินที่ต้องมีการรับรองและฝึกฝน หรือขั้นตอนที่มีการบังคับการทำซ้ำอย่างน้อย 3 ถึง 5 ครั้งแล้วยังพบข้อผิดพลาดได้บ่อยครั้ง ทำให้เกิดข้อโต้แย้งและมีคำถามเกิดขึ้น

การประเมินคุณภาพโดยใช้เครื่อง GC-O จึงเข้ามาเป็นทางออกในการรับรองผลการประเมินคุณภาพทั้งในงานวิจัยหรือการตัดสินคุณภาพกาแฟเพื่อการซื้อขาย ทั้งนี้โดยหลักการใช้แก๊สตัวพาของสารประกอบให้กลิ่นชนิดต่างๆ ในกาแฟทำให้สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบคุณภาพได้ โดยกรมวิชาการเกษตรได้ประยุกต์ใช้หลักการของเครื่องมือดังกล่าวในงานวิจัยตั้งแต่ปี 2558 โดยใช้หลักการของแก๊สตัวพา ได้แก่ แก๊สฮีเลียม (Helium) เพื่อจำแนกคุณภาพกลิ่นรสของกาแฟคั่วที่เกิดจากกระบวนการวิจัยที่หลากหลาย ได้แก่ การทดสอบการหมักกาแฟในหลากหลายกระบวนการ การทดสอบการเก็บรักษากาแฟในบรรจุภัณฑ์ต่างชนิด หรือการคั่วกาแฟเพื่อพัฒนารูปแบบการคั่วที่เหมาะสมในการพัฒนากาแฟเฉพาะถิ่น

หลักการเบื้องต้นของการประยุกต์ใช้เครื่อง Gas Chromatography Olfactometry นั้นจะมีการตรวจสอบรับรองกับตัวรับสัญญาณรับรองระดับมวลสารชนิด Mass Spectrometry อีกครั้งโดยจะเตรียมตัวอย่างกาแฟในหลอดขนาด 10 มิลลิลิตร และอุ่นในน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 15 นาที ก่อนจะใช้หัวฉีดชนิด Manual injection ที่แบ่งปริมาณฉีดที่ 20 ไมโครลิตร สกัดสารให้กลิ่นโดยใช้ Solid Phase Microextraction ชนิด PDMS โดยใช้คอลัมน์ชนิด elite-5ms capillary column (30 m. X0.25 mm I.D. X 0.25um) ก่อนผ่านตัวตรวจจับสัญญาณชนิด Olfactometry ที่จะใช้ผู้ที่ได้รับการฝึกฝนแปรผล, Flame Ion Detection (FID) และ Mass Spectrometry (MS) ที่จะใช้เครื่องแปรผลรุ่น SPD-SAV และโปรแกรมแปรผล (MS analyzer) ยืนยันผลการตรวจสอบโดยใช้ อัตราการไหลของ Mobile Phase ที่ 0.8 $mL.min^{-1}$ และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที

ผลการตรวจสอบสารให้กลิ่นในเมล็ดกาแฟนั้นจะมุ่งทดสอบในกลุ่มสารให้กลิ่นหลายกลุ่มได้แก่ กลุ่มกรดอินทรีย์ (Acidity) กลุ่ม Alkanes, Carbonyls, Esters, Furans, Phenols, Pyrazines, Pyridines, Pyrroles, Sulfur Containing Compounds และสารให้กลิ่นเฉพาะ โดยกาแฟในประเทศไทยจะพบสารให้กลิ่นเฉพาะได้แก่ Neophytadiene, Maltol และ Indole ทั้งนี้การกำหนดจุดอ้างอิงระหว่างตัวจับสัญญาณทั้งสามชนิดจำเป็นจะต้องทดสอบในตัวอย่างปริมาณมาก เพื่อให้เกิดข้อสรุปที่ถูกต้องรวมทั้งการยืนยันผลการทดสอบ

จากเอกสารอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์ที่เชื่อถือได้อีกด้วย ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ผลการทดสอบในงานวิจัย โดยอ้างอิงจากงานวิจัยการพัฒนาต้นแบบถังหมักกาแฟ (โกเมศ, 2563) ตาม ตารางที่ 5 โดยใช้ผลจากการจับสัญญาณโดยตัวจับสัญญาณ FID และการยืนยันผ่านทาง Olfactometry สามารถใช้จำแนกความแตกต่างจากการใช้ถังหมักและการใช้เชื้อจุลินทรีย์หมักได้อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้มีการกำหนดกราฟมาตรฐานของสารสำคัญเพื่อใช้ในการวิจัยเพื่อเป็นมาตรฐานในการดำเนินการวิจัยแสดงดังภาพที่ 26

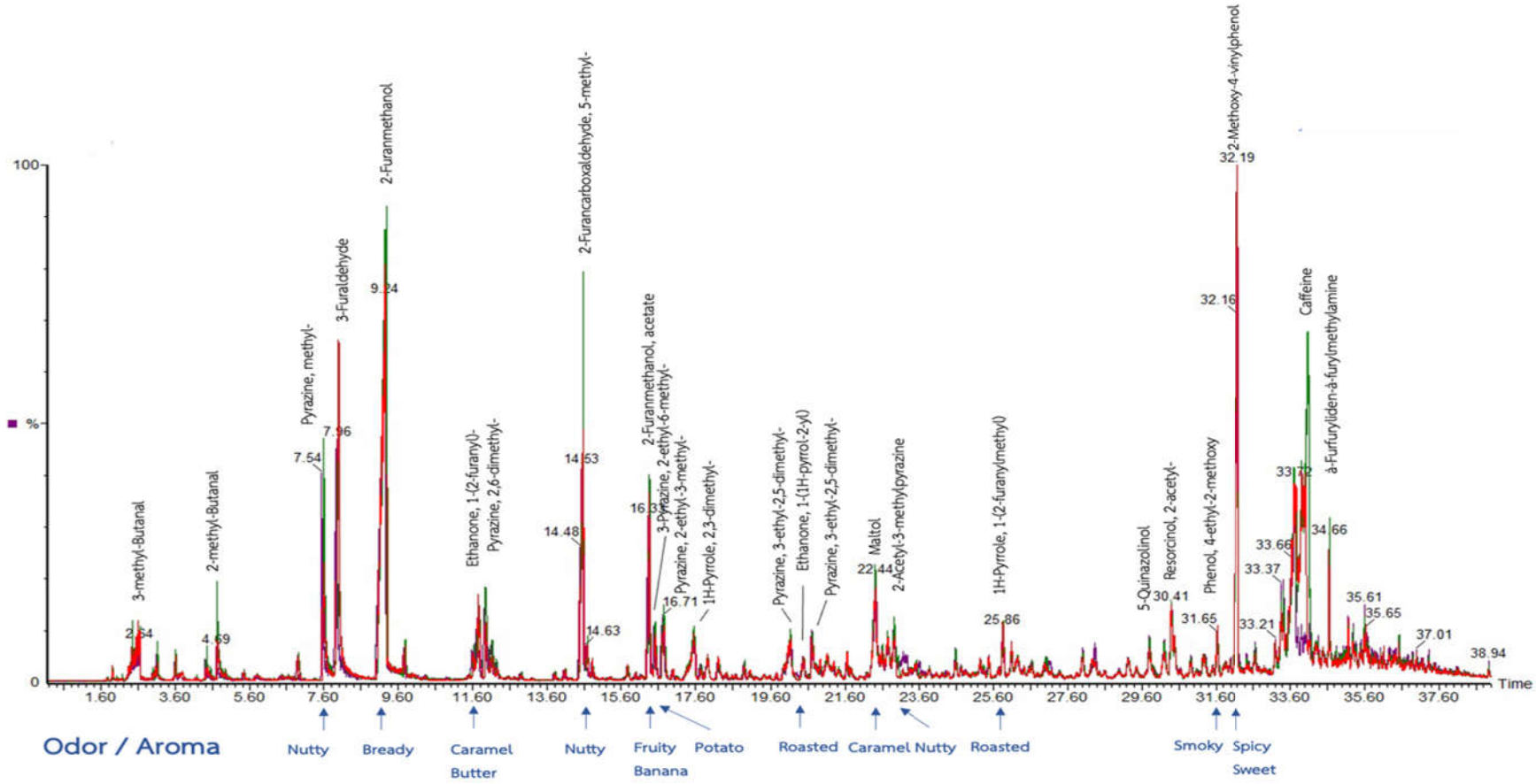
ตารางที่ 5 ข้อมูลทางด้านเคมีและกลิ่นของเมล็ดกาแฟโดยใช้เทคนิค AAF ใน Demo Coffee Fermenter เปรียบเทียบกับการใช้วิธีตามมาตรฐาน

Compounds	*LRI*		*FID peak area (10^4)*		*Identification*	*Changing percentage*
	FFAP	Ref	Control	CFerm-AAF		
			Acids			
Acetic acid[1]	1452	1468	8,112 ± 146	3,409 ± 520	MS,LRI	- 57.97%
3-Methyl-2-butanoic acid[1]	1804	1819	340 ± 245	317 ± 16	MS,LRI	- 6.76%
			Carbonyls			
2,3-butanedione[1]	1025		350 ± 33	446 ± 12	MS	27.43%
2,3-pentadione[1]	1063	1067	510 ± 6	541 ± 70	MS, LRI	6.08%
Hexanal[1]	1084	1079	36 ± 3	42 ± 4	MS, LRI	16.67%
∂-butyrolactone[1]	1653	1637	453 ± 130	1,377 ± 384	MS, LRI	203.97%***
β-damascenone[1]	1833	1828	25 ± 17	77 ± 7	MS,LRI	208%***
Ethanone	1846		615 ± 3	2,722 ± 3	MS	343%***
			Furans			
Furfural[1]	1478	1473	39,439 ± 536	24,761 ± 406	MS,LRI	-25.30%
5-methylfurfural[1]	1591	1582	6,274 ± 441	4,660 ± 260	MS,LRI	-25.73%
			Phenols			
Guaiacol[1]	1876	1871	360 ± 45	277 ± 20	MS, LRI	-23.05%
Phenol[1]	2019	2030	244 ± 123	357 ± 47	MS, LRI	46.31%***
4-vinylphenol[1]	2413		50 ± 1	82 ± 12	MS	64%
			Pyrazines			
Pyrazine[1]	1220	1215	29,999 ± 17	16,777 ± 59	MS, LRI	-44.07%
2-methylpyrazine[1]	1274	1267	4,972 ± 520	7,188 ± 391	MS, LRI	44.57%
			Pyrroles			
2-acetylpyrrole[1]	1989	1983	1,140 ± 67	1,204 ± 99	MS, LRI	5.61%
1H-pyrrole-2-carboxyaldehyde[1]	2047	2038	15,674 ± 35	11,098 ± 97	MS, LRI	29.20%

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Compounds	*LRI*		*FID peak area (10^4)*		*Identification*	*Changing percentage*
	FFAP	Ref	Control	CFerm-AAF		
			Miscellaneous			
Maltol[1]	1989	2004	6,350 ± 157	6,372 ± 163	MS, LRI	0.35%
Caffeine	3052		4,876 ± 47	2,983 ± 17	MS, LRI	-38.82%

หมายเหตุ: [1]Compounds reported in Flament (2002); Control = unfermented coffee; CFerm-AAF = Full-city roasted AAF fermented coffee; Identification method : MS = Mass spectrum; LRI = Linear Retention Indices obtained from references or literature values (LRI referred to the value in Mondello et al. (2005); Moon and Shibamoto (2009); Nebesny, Budryn, Kula and Majda(2007); Gonzalez-Rios et al.(2007); Lopez-Gaililea et al.(2006)); "-" = undetected.



ภาพที่ 26 โครมาโทแกรมของกลิ่นกาแฟอ้างอิงจาก Coffee fermentation control Chart โดยใช้ SPME-GC-FID-O-MS เพื่อแสดงข้อมูลกลิ่นกาแฟ

6.2 การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยแอลกอฮอล์

การวิจัยและพัฒนาแอลกอฮอล์ในรูปแบบเครื่องดื่มและพลังงาน จำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพและผลผลิต โดยเฉพาะการพิสูจน์กลิ่นรส ด้วยอุตสาหกรรมนี้การรับรองความสม่ำเสมอของกลิ่นรสและความหลากหลายของรสชาติคือจุดขายสำคัญ Gas Chromatography จึงเป็นเครื่องมือสำคัญในการใช้ตรวจสอบคุณภาพ ซึ่งปัจจัยสำคัญในการใช้กระบวนการวิเคราะห์นี้ คือ แอลกอฮอล์ต้องมีปริมาณน้ำตาลน้อยกว่า 20 กรัมต่อลิตร ซึ่งหากผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์มีปริมาณน้ำตาลมากกว่าข้อกำหนดนี้จำเป็นต้องมีการกลั่นเพื่อกำจัดน้ำตาลส่วนเกินก่อนนำมาวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และสารให้กลิ่นนั้นจะใช้กระบวนการวิเคราะห์มาตรฐานตาม Codex Alimentarius และ resolution OIV-OENO 553-2016 เป็นหลักเพื่อทดสอบคุณภาพ โดยล้วนเป็นการฉีดตัวอย่างตรงเข้าเครื่องวิเคราะห์และใช้การเติมสารมาตรฐานเพื่อการประเมินการทดสอบ (Direct injection and internal standard) ทั้งนี้การเตรียมตัวอย่างโดยน้ำนั้นจำเป็นต้องสอดคล้องตามมาตรฐาน ISO 3696 type II และเอทานอลต้องมีความบริสุทธิ์มากกว่า 96 %

การเกิดกลิ่นในแอลกอฮอล์นั้นมีความซับซ้อนมาก เนื่องมาจากหลายปัจจัยไม่ว่าจะเป็นผลของปฏิกิริยาภายในผลไม้ กระบวนการบ่ม กระบวนการหมักจากจุลินทรีย์หรือแม้แต่ปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ภายหลังการหมัก โดยแบ่งกลุ่มกลิ่นที่ศึกษาได้เป็น 4 ประเภท ได้แก่

1. <u>สารประกอบเทอพีน</u> (Terpene compound) เป็นกลุ่มที่ได้รับการศึกษามากที่สุด มีมากกว่า 4,000 ชนิดแบ่งออกเป็น monoterpene (C10) และ sesquiterpene (C15) ยังเกิดจากการรวมตัวของสารประกอบต่างๆ ในไวน์ โดยในไวน์องุ่นพบสารให้กลิ่นสำคัญ ได้แก่

สารประกอบ	คำบรรยาย	PT (µg/l)	Muscat	Sauvignon
Linalol	กุหลาบ	50	455	17
α-terpineol	ดอกลิลลี่	400	78	9
Citronellol	มะนาว	18	-	2
Nerol	กุหลาบ	400	94	5
Geraniol	กุหลาบ	130	506	5
Ho-trienol	ดอกมะนาว	110	-	-

สารประกอบเหล่านี้เป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นที่เรียกว่า “Muscate” (มูส-กา-เต้) ในองุ่นสายพันธุ์ต่างๆ เช่น Viognier, Albarino หรือ Muscadelle

2. C13-โนริสโสเพรนอย (C13-norisprenoid) เป็นสารประกอบที่เกิดจากการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ (C40) เป็น C13 ที่พบมากในยาสูบ โดยจะอยู่ในรูปของ megastigmane ซึ่งมีวงเบนซีน และออกซิเจน เป็นส่วนประกอบ) โดยสารประกอบ 2 ชนิดที่รู้จักกันดี ได้แก่

สารประกอบ	คำอธิบาย	PT (ng/l) ในน้ำ	PT (ng/l) ในไวน์	ไวน์ VDN muscat
β-damascenone	ดอกไม้, แอปเปิ้ล	3 – 4	120	11,900
β-ionone	ดอกไวโอเลต	40 – 60	800	72

นอกจากนี้ยังมี non-megastigmane ได้แก่

สารประกอบ	คำอธิบาย	PT (µg/l) ในน้ำ	ไวน์ Riesling เก่า
TDN	น้ำมันแก๊ส	20	200
Actinidols	การบูร	4	30

3. เมทอกซีไพราซีน (Methoxypyrazine) คือสารประกอบไนโตรเจนที่เกิดมาจากกรดอะมิโน เป็นสารให้กลิ่นพืชผักที่มีแนวโน้มไปทางดินโคลน โดยสารในกลุ่มนี้ได้แก่

สารประกอบ	คำอธิบาย	PT (ng/l) ในน้ำ
2-methoxy-3-isobutyl	พริกหยวกเขียว	2
2-methoxy-3-isopropyl	พริกหยวกเขียว, ดิน	2
2-methoxy-3-secbutyl	พริกหยวกเขียว	1
2-methoxy-3-ethyl	พริกหยวกเขียว, ดิน	400

4. ไทออล (Thiol) คือสารประกอบกำมะถันที่ให้กลิ่นในทางลบของไวน์ โดยจะเป็นสารให้กลิ่นหลักในผลไม้กลุ่มส้มโอ เสาวรส ฝรั่ง โดยเราพบสาระสำคัญต่างๆได้แก่

สารประกอบ	คำอธิบาย	PT (ng/l) ในน้ำ	ไวน์ Sauvignon
4-mercapto-4,2-methylpentanone	ดอกพุด	0.8	0 – 120
3-mercaptohyxyl acetate	เสาวรส	4	0 – 500
3-mercaotihexanol	ส้มโอ	60	150 – 3,500
4-mercapto-4,2-methylpentanol	เนื้อส้ม	55	15 – 150
4-mercapto-3,1-methylbutanol	ลูกแพร์	1,500	20 – 150
Benzenemethanethiol	ควัน, ดินปืน	0.3	5 – 20

แม้การศึกษาด้านอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จะก้าวไปไกลเพียงใด แต่ความต้องการของผู้บริโภคที่เพิ่มขึ้นไม่สิ้นสุดส่งผลให้มีการศึกษาอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับกลิ่น รส ของไวน์ โดยเฉพาะการหลีกเลี่ยงความเสียหายของผลิตภัณฑ์ที่สามารถเกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัยที่คาดไม่ถึง หรือ

แม้แต่สิ่งที่เกิดขึ้นจากเทคโนโลยีใหม่ๆ ในบทนี้จะกล่าวถึงปัญหาต่างๆที่เกิดในไวน์ระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา

1. ปัญหาจากแก๊สออกซิเจน (Oxidative default)

ไวน์ที่ได้รับความเสียหายจากแก๊สออกซิเจนเรียกว่า Rancio (แรง-โช) ซึ่งถือเป็นลักษณะพิเศษของไวน์บางกลุ่ม ได้แก่ ไวน์เหลือง หรือ Xeres และเป็นข้อเสียใหญ่ของไวน์บางกลุ่ม ทั้งนี้ปัญหานี้เกี่ยวเนื่องโดยตรงกับเอนไซม์ที่จะมีผลทันทีกับสีของไวน์ (สีแดงกลายเป็นสีน้ำตาลม, สีเหลืองกลายเป็นแกมแดง) ดังนั้นจึงควรกำจัดเอนไซม์ดังกล่าวระหว่างการผลิตไวน์ให้หมด โดยสารประกอบกำมะถันในไวน์ถือเป็นส่วนหนึ่งในการป้องกันปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามในกระบวนการบางอย่างอาจทำให้เกิดการแทรกซึมของแก๊สออกซิเจนเกิดความสามารถของสารประกอบกำมะถันได้ เช่น การบรรจุขวดไวน์ที่อาจทำให้เกิด Bottle malady ได้เช่นกัน เป็นต้น

ผลกระทบ การระเหยของกลิ่นและรสอย่างรวดเร็ว ไม่มีความคงตัวของรสชาติที่เหมาะสม ทำให้เกิดกลิ่นขี้ผึ้ง หรือกลิ่นลูกเหม็น

2. ปัญหาจากเชื้อแบคทีเรีย (Bacteria Alteration) ที่เกิดจากการผลิต VA มากเกินไปจากเชื้อแบคทีเรีย

ตารางวิเคราะห์ผลระหว่างการหมักกรดแลคติก อภิปรายหน่วย มิลลิอิควิวาเลนท์ต่อลิตร (meq/l)

	ก่อนการติดเชื้อแบคทีเรีย	**หลังการติดเชื้อแบคทีเรีย**
กลีเซอรอล (mmol/l)	70	60
น้ำตาล (g/l)	1.5	0.5
pH	3.93	3.96
TA	54	74
VA	11.2	33.8
กรดทาทาริก	40	26.9
กรดมาลิก	0	0
กรดซิทริก	0.9	0.7
กรดแลคติก	16.2	25.2

3. ปัญหาการเกิดกลิ่นจากสารกลุ่มฟีนอล (Volatile phenol)

เกิดจากเอนไซม์ cinnamate decarboxylase ของยีสต์และรา (*Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus niger* และ *Brettanomyces bruxellensis*)โดยจะเกิดเป็นสารประกอบเหล่านี้

สารประกอบ	**คำบรรยาย**	**ไวน์ขาว (µg/l)**	**ไวน์แดง (µg/l)**
Vinyl-4-phenol	ยา, ยาง	73 – 1,150	111 – 35
Vinyl-4-gaiacol	เม็ดพริกไทย	15 – 496	0 – 57
Ethyl-4-phenol	เหงื่อม้า, กลิ่นหมัก	0 – 28	1 – 6047
Ethyl-4-gaiacol	ควัน, เครื่องเทศ	0 – 7	0 – 1561

4. ปัญหาจากจุกค็อก (Cork taste)

เกิดจากไม้โอ๊คที่ใช้ทำจุกค็อกเพื่อบรรจุไวน์โดยปัจจัยสำคัญอาจเกิดจากปฏิกิริยาเคมีของเชื้อรา ภายในไม้โอ๊ค และคลอรีนที่ใช้ทำความสะอาดโดยสารประกอบตั้งต้นที่เรารู้จักได้แก่ Chlorophenol ที่ทำให้เกิดกลิ่นเหล่านี้ในไวน์

สารประกอบ	คำบรรยาย	PT (ng/l) ในน้ำ
1,3-octenone	เห็ด, โลหะ	20
1,3-octenol	เห็ด, โลหะ	20,000
2-methylisoborneol	ดินโคลน, เชื้อรา	30
2,4,6-trichloroanisol	เชื้อรา, กล่องเปียก	4
Geosmine	ดินโคลน, เชื้อรา	25
Gaiacol	ควัน, ยา	20,000

5. ปัญหาจากกำมะถันและกลิ่นลดลง (Reduction and Sulfur Volatile)

เกิดจากกระบวนการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐานและไม่มีการควบคุม การใช้กำมะถันที่มากเกินไปทำให้เกิดปัญหาโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสารประกอบดังกล่าวทำปฏิกิริยากับกลิ่นในน้ำผลไม้ทำให้เกิดสารประกอบที่ชื่อว่า 4-methyl-4-mercaptopentanone หรือที่เรียกไวน์จำพวกนี้ว่า “Mercaptan” (เมอ-แคป-แทน) นอกจากนี้ สารตกค้างประเภทกำมะถันจากยาฆ่าแมลงหรือยากันเชื้อรามีปฏิกิริยารวดเร็วกับปัจจัยภายนอกทำให้เกิดปัญหาที่เราเรียกว่า “Light taste” ซึ่งผลจากทั้งหมดทำให้เกิดภาวะการลดลงของกลิ่นนั่นเอง โดยสารประกอบที่พบในไวน์ ได้แก่

สารประกอบ	คำบรรยาย	PT (µg/l) ในน้ำ
สารประกอบกำมะถันที่มีผล “น้อย”		
Hydrogen sulfide	ไข่เน่า	0.8
Methanethiol	เห็ดรา	0.3
Ethanethiol	หัวหอมใหญ่	0.1
Dimethyl sulfate	เห็ดทรัฟเฟอร์	5
สารประกอบกำมะถันที่มีผล “มาก”		
Dimethyl disulfate	หน่อไม้ฝรั่ง	2.5
2-Mercaptoethanol	ยางไหม้	130
2-Methylthioethanol	กะหล่ำปลี	250
Methionyl acetate	เห็ด	50
Methionol	กะหล่ำปลีต้ม	1,200
Benzothiazol	ยาง	50

6. ปัญหาการเร่งเกิดกลิ่นในไวน์ขาว (Prematurated aging aroma)

ส่งผลต่อการเสียกลิ่นรสผลไม้ไปอย่างรวดเร็วทำให้เกิดรสชาติที่ให้ความรู้สึกหนักในรูปแบบ ยาง การบูรหรือน้ำผึ้งดิบ หรือเรียกได้อีกอย่างว่า “Reduction Bouquet” (รี-ดัก-ชั่น บุ-เก่) โดยการเกิดกลิ่นจากสารประกอบ 2-aminoacetophenone ซึ่งอาจเกิดจากกรดอะมิโน tryptophane และเอนไซม์เฉพาะ อย่างไรก็ตามในไวน์บางชนิดที่มี Glutathion สูงจะสามารถป้องกันการเกิดปัญหาดังกล่าวได้

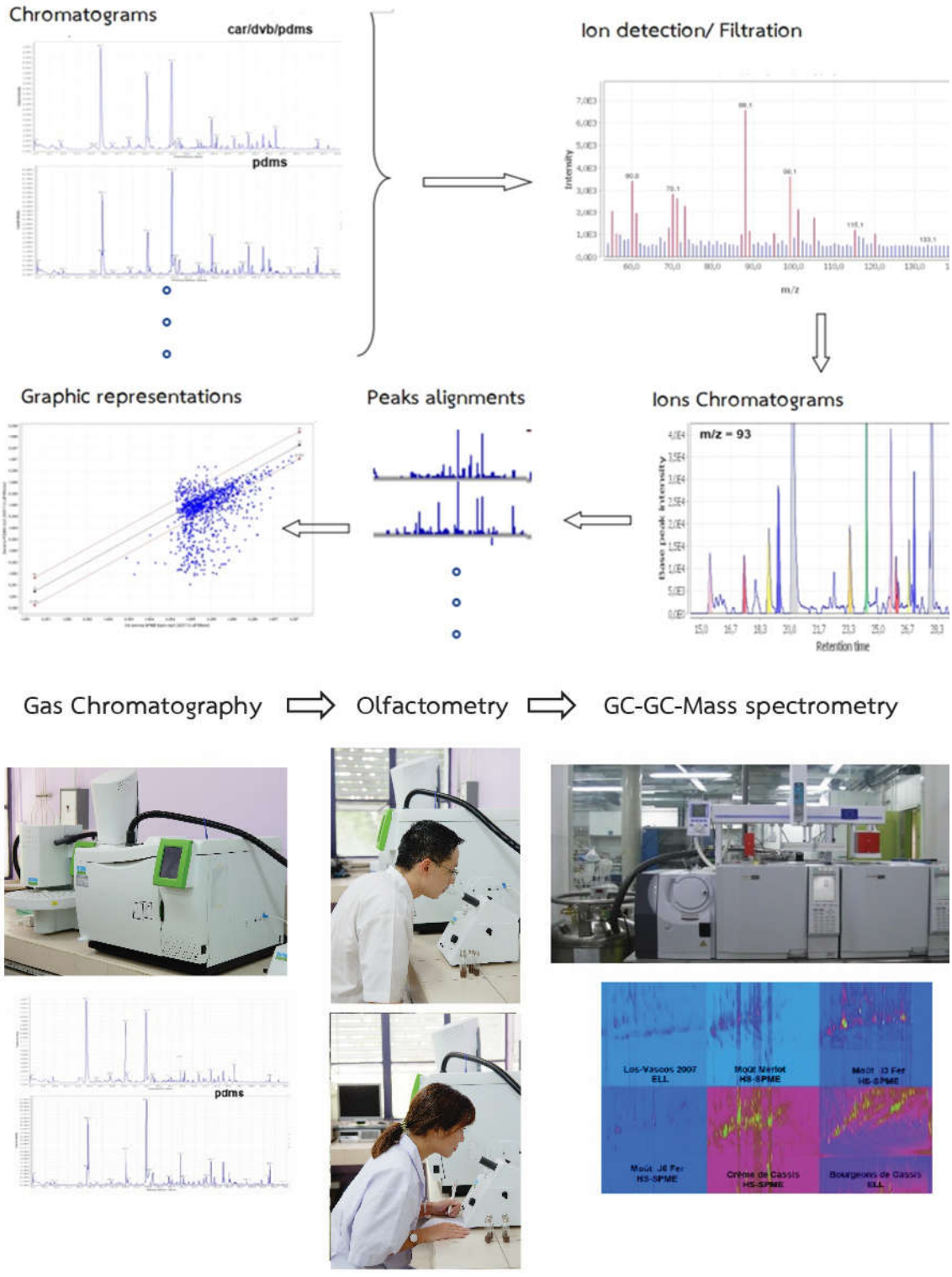
สารประกอบ	คำบรรยาย	PT (ng/l) ในน้ำ	ในไวน์
2-aminoacetophenone	ลูกเหม็น	800	5,000
Sotolon	ถั่ว, rancio	8,000	8,000,000

7. ปัญหาการเกิดกลิ่นรสจากเชื้อรา (Fungus affected taste)

เป็นปัญหาใหญ่ในการผลิตไวน์จากเชื้อราจากผลไม้ที่ใช้ผลิต โดยปกติกลิ่น รส ดังกล่าวจะหายไประหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากการกระทำของยีสต์อย่างไรก็ตามในภาวะที่ไม่พึงประสงค์บางประการมักเกิดจากการเก็บเกี่ยวและการขนส่ง ทำให้ส่งผลโดยตรงต่อการเกิดกลิ่นรสจากเชื้อรานั้นๆ โดยสารประกอบที่ส่งผลดังกล่าวได้แก่

สารประกอบ	คำบรรยาย	PT (µg/l) ในน้ำ
1,3-octenone	เห็ด, โลหะ	0.002
2,1-octenol	เห็ด	20
2-heptanol	เห็ดรา	70
2-methylisoborneol	ดินโคลน	0.012
Geosmine	ดินโคลน, เชื้อรา	0.01

ตัวอย่างวิธีการวิเคราะห์ไวน์โดยใช้ Gas chromatography-Olfactometry แสดงภาพที่ 27



ภาพที่ 27 การสาธิตวิธีการวิเคราะห์ไวน์โดยใช้ chromatography-Olfactometry เพื่อระบุสารประกอบอะโรมาติกและองค์ประกอบไอออน

6.3 การประยุกต์ใช้ GC-O ในงานวิจัยโกโก้

โกโก้ (Theobroma cacao) เป็นพืชเศรษฐกิจของโลกที่มีความสำคัญมายาวนาน เมล็ดโกโก้แห้งสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ 3 ชนิด ได้แก่ 1) เนื้อโกโก้บด (Cocoa mass) หรือ โกโก้ข้นเหลว (Cocoa liquor) ซึ่งได้จากการบดเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการคั่วแล้ว ให้ได้เป็นของเหลวที่มีเนื้อเนียนละเอียด 2) โกโก้ผง (Cocoa powder) คือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำโกโก้ข้นเหลว (Cocoa liquor) ไปผ่านกระบวนการสกัดไขมันโดยวิธีบีบอัดมีลักษณะเป็นก้อน (Cocoa press cake) แล้วนำไปบดเป็นโกโก้ผง และ 3) ไขมันโกโก้ (cocoa butter) คือ ไขมันที่ได้จากเมล็ดโกโก้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรรูปดังกล่าวถูกใช้เป็นวัตถุดิบหลักในอุตสาหกรรมช็อกโกแลต อาหาร เครื่องดื่ม และเครื่องสำอาง อย่างแพร่หลาย เนื่องจากโกโก้มีคุณค่าทางโภชนาการและมีสารที่ส่งเสริมสุขภาพ นอกจากนี้กลิ่นของโกโก้และช็อกโกแลตเป็นสิ่งที่คนทั่วโลกนิยม จึงทำให้กลิ่นของเมล็ดโกโก้เป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดคุณภาพ ที่ส่งผลต่อราคาในการซื้อขายอีกด้วย นอกจากนี้การรวบข้อมูลของกลิ่นในโกโก้และช็อกโกแลตยังอาจช่วยในการระบุต้นกำเนิดของผลิตภัณฑ์ได้ เนื่องจากการเกิดกลิ่นในโกโก้และช็อกโกแลตนั้นเป็นผลจากการผลิตและแปรรูปโกโก้ ตั้งแต่การปลูก การหมัก การคั่ว การบดผสม (Conching) นักวิจัยได้มีการศึกษามามากกว่า 30 ปี เกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่ทำเกิดกลิ่นรสในโกโก้ และพบว่ามีสารประกอบระเหย (volatile compounds) 500 ชนิด ในโกโก้และช็อกโกแลต แต่มีสารเพียงไม่กี่เปอร์เซ็นต์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกลิ่นในโกโก้ ซึ่งการศึกษาโดยใช้ gas chromatography – olfactometry ทำให้จัดจำแนกได้ว่าสารใดเป็นสารระเหยที่ทำให้เกิดกลิ่น และสารใดไม่ทำให้เกิดกลิ่น

การทดสอบกลิ่นในโกโก้โดยใช้ Gas Chromatography – Olfactometry มีขั้นตอนหลัก ดังนี้

1. การสกัดกลิ่นจากตัวอย่างโกโก้และช็อกโกแลต สามารถเลือกใช้วิธีการสกัดได้หลายวิธี เช่น

1.1. สกัดโดยใช้เทคนิค Purge and trap (P&T) เป็นเทคนิคที่ปราศจากตัวทำละลาย เพื่อการสกัดส่วนประกอบที่ให้กลิ่นจากตัวอย่างโกโก้และช็อคโกแลต สารที่วิเคราะห์จะถูกกำจัดออกจากเก็บตัวอย่างและดักจับบนท่อ Tenax โดยการไหลของแก๊ส (ไนโตรเจนหรือฮีเลียม) ที่อุณหภูมิห้อง สารที่ถูกดักจับจะถูกปล่อยออกที่อุณหภูมิ 250°C และถ่ายโอนไปยังแก๊ส GC-O-MS

<u>ตัวอย่างการสกัด</u>

ใส่โกโก้ข้นเหลว (Cocoa liquor) 3.0 กรัม ในขวดขนาด 40 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 2-methyl-3-heptanone ที่ละลายใน n-hexane (163.2 นาโนกรัม/ไมโครลิตร) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เพื่อเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (Internal standard) นำขวดไปแช่ในอ่างที่ควบคุม อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นไล่สารระเหยในขวดด้วยไนโตรเจนที่มีความบริสุทธิ์สูงแก๊ส (>99.9992%) ด้วยอัตราการไหล 50 มิลลิลิตร/นาที

1.2. สกัดโดยใช้เทคนิค Solid Phase Microextraction (SPME)

ตัวอย่างการสกัด

ใส่โกโก้ข้นเหลว (Cocoa liquor) 3.0 กรัม ในขวด สกัดกลิ่นโดยใช้ SPME ชนิด Polydimethylsyloxane – Divinylbenzene (PDMS-DVB) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 ºC เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำ SPME ที่ดูดซับกลิ่นแล้ว ไปฉีดเข้าเครื่อง GC-O เพื่อทำการแยกสารต่อไป

1.3 สกัดโดยใช้เทคนิค Direct solvent extraction-solvent assisted flavor evaporation (DSE-SAFE) เป็นเทคนิคการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายและทำให้สารมีความเข้มข้นขึ้น

ตัวอย่างการสกัด

ใส่โกโก้ข้นเหลว (Cocoa liquor) 50.0 กรัม ในขวดเทฟลอนแล้วสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน 150 มิลลิลิตร ซ้ำ 2 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้รวมกันคือประมาณ 270 มิลลิลิตร และทำให้เข้มข้นโดยการกลั่นโดยใช้ Vigreux คอลัมน์จนเหลือประมาณ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารเข้มข้นไปใช้กับเครื่องมือ Solvent assisted flavor evaporation (SAFE) สำหรับการสกัดด้วยตัวทำละลาย ในสภาวะสุญญากาศ (10^{-4} ถึง 10^{-5} Torr) ที่อุณหภูมิต่ำ (–196ºC) เพื่อดักจับสารระเหยและเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดสารปนเปื้อน ทำการกลั่นเป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เข้มข้นจนเหลือปริมาตร 30 มิลลิลิตร โดยกลั่นด้วย Vigreux คอลัมน์ จากนั้นกำจัดน้ำที่อาจเหลืออยู่ด้วย Na_2SO_4 (anhydrous) และทำให้เข้มข้นอีกครั้งโดยการเป่าด้วยไนโตรเจนเบา ๆ จนมีปริมาตรเหลือ 200 ไมโครลิตร เพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ต่อไป

1.4 สกัดโดยใช้เทคนิค Direct solvent extraction-solvent assisted flavor evaporation (DSE-SAFE) เป็นเทคนิคการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายและทำให้สารมีความเข้มข้นขึ้น

ตัวอย่างการสกัด

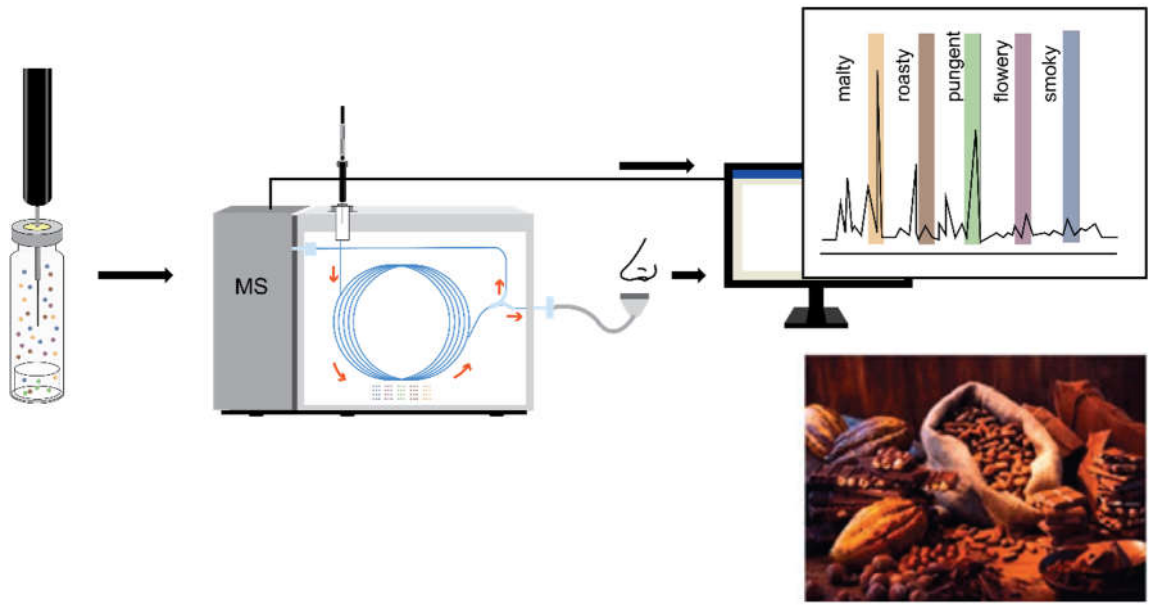
ใส่โกโก้ข้นเหลว (Cocoa liquor) 50.0 กรัม ในขวดเทฟลอนแล้วสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน 150 มล. ซ้ำ 2 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้รวมกันคือประมาณ 270 มล. และทำให้เข้มข้นโดยการกลั่นโดยใช้ Vigreux คอลัมน์จนเหลือประมาณ 100 มล. จากนั้นนำสารเข้มข้นไปใช้กับเครื่องมือ Solvent assisted flavor evaporation (SAFE) สำหรับการสกัดด้วยตัวทำละลาย ในสภาวะสุญญากาศ (10^{-4} ถึง 10^{-5} Torr) ที่อุณหภูมิต่ำ (–196ºC) เพื่อดักจับสารระเหยและเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดสารปนเปื้อน ทำการกลั่นเป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เข้มข้นจนเหลือปริมาตร 30 มล. โดยกลั่นด้วย Vigreux คอลัมน์ จากนั้นกำจัดน้ำที่อาจเหลืออยู่ด้วย Na_2SO_4 (anhydrous) และทำให้เข้มข้นอีกครั้งโดยการเป่าด้วยไนโตรเจนเบาๆ จนมีปริมาตรเหลือ 200 ไมโครลิตร เพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ต่อไป

2. การเจือจางสารสกัดโดยวิธี aroma extract dilution analysis (AEDA) คือ การเจือจางแบบขั้นตอน (1:2n เช่น 1:2, 1:4, 1:8, . . . หรือ 1:3n เช่น 1:3, 1:9, 1:27, . . .) ของสารสกัดดั้งเดิม หลังจากนั้นสารสกัดเจือจางจะได้รับการประเมินโดย GC-O เพื่อให้ได้ flavor dilution (FD) factors (FD = ระดับการเจือจางสูงสุดของสารสกัดที่ผู้ทดสอบสามารถได้กลิ่นที่ช่องสูดดม (sniffing port) การเจือจางนี้สามารถจัดอันดับสารประกอบที่มีผลต่อการเกิดกลิ่นโดยรวมของตัวอย่างได้

3. แยกสารด้วยเครื่อง GC-O หรือ GC-O-MS โดยใช้เลือกใช้คอลัมน์ให้เหมาะสมและตั้งค่าสภาวะให้เหมาะสมต่อการแยกสารของคอลัมน์ชนิดที่เลือกใช้

4. วิเคราะห์และจัดจำแนกสารที่มีผลต่อการเกิดกลิ่นในโกโก้

การศึกษาความแตกต่างของกลิ่นในผลิตโกโก้และช็อกโกแลตได้มีศึกษากันมาอย่างต่อเนื่องเพื่อที่จะพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ และดังที่กล่าวมาข้างต้น เนื่องจากโกโก้เป็นพืชที่ต้องมีการแปรรูปก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ การเกิดสารตั้งต้นของกลิ่นในโกโก้จึงเกิดได้ในทุกขั้นตอนของการผลิตและแปรรูป โดยสารเคมีให้กลิ่นที่พบในเมล็ดโกโก้ดิบและเมล็ดโกโก้ไม่ผ่านการหมัก ประกอบด้วย 2-isobutyl-3-methoxypyrazine และ linalool และเมื่อผ่านกระบวนการหมักสารเคมีในโกโก้มีความซับซ้อนมากขึ้นโดยประกอบด้วย ethyl-2-methylbutanoate, 2-phenylethyl acetate, 2-phenylethanol, 3-methylbutanoic acid, acetic acid, guaiacol, δ-decenolactone หลังจากการคั่วเมล็ดโกโก้พบว่าสารให้กลิ่นมีเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของน้ำตาลและโปรตีนซึ่งเป็นสารตั้งต้นกลิ่นรสในโกโก้ โดยจะพบสารหลัก คือ 3-methylbutanal, furaneol, 2,3,5-trimethylpyrazine, 2-ethyl-3,5 dimethylpyrazine, 2-acetyl-1-pyrroline, dimethyl trisulfide (Chetschik, 2021) แสดงภาพที่ 28



ภาพที่ 28 การวิเคราะห์สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นโดยใช้เทคนิค GC-O ในโกโก้
ที่มา: Chetschik (2021)

ตารางที่ 6 สารประกอบระเหยที่มีผลต่อกลิ่นในโกโก้และช็อกโกแลต

Compound	Odour description	Compound	Odour description
methanethiol	cheese, cabbage, sulfur	2-isobutyl-3,5-dimethylpyrazine	vegetal, pepper
2-methylpropanal	chocolate, cocoa, roasted	ethyl nonanoate	vegetal, cardboard, flowery
2-methylbutanal	cocoa, chocolate	(*E*)-non-2-enal	vegetal, cardboard, flowery
3-methylbutanal	cocoa	butane-2,3-diol	flowery
ethanol	fruity, solvent	2-isobutyl-3,5,6-trimethylpyrazine	vegetal, cucumber
ethyl propanoate	fruity, floral	3-hydroxybutanoic acid	vegetal, earthy
butane-2,3-dione	butter	acetylpyrazine	roasted
butan-2-ol	rubber	butanoic acid	cheese
2-methylbut-3-en-2-ol	fruity, floral	phenylacetaldehyde	flowery
ethyl 2-methylbutanoate	fruity	acetophenone	floral, fruity
ethyl 3-methylbutanoate	fruity, floral	2-methylbutanoic acid	melted cheese
(*E*)-2-methylbut-2-enal	hot plastic	3-methylbutanoic acid	melted cheese
isoamyl acetate	fruity, candy	1-phenylethyl acetate	vegetal, roasted, fruity
pentyl acetate	fruity	methyl 2-methylpentanoate	vegetal, roasted, fruity
heptanal	fruity, floral	3-hydroxypropyl acetate	unpleasant
3-methylbutan-1-ol	cheesy	*trans*-linalool-3,7-oxide	fruity, roasted, vegetal
styrene	fruity, flowery	ethyl phenylacetate	floral
hept-2-yl acetate	fruity, flowery	δ-pentalactone	roasted, vegetal
3-hydroxybutan-2-one	butter	1-phenylethanol	floral, rose, fruity
oct-1-en-3-one	mushroom	2-phenylethyl acetate	earthy, moldy
heptan-2-ol	fruity, mushroom, vegetal	pentan-2-yl benzoate	roasted, nut, spicy
2,5-dimethylpyrazine	roasted, chocolate	ethyl dodecanoate	roasted, nut, spicy
ethylpyrazine	roasted cereals, peanut	dihydromaltol	roasted, caramel, fruity

ตารางที่ 6 (ต่อ)

Compound	Odour description	Compound	Odour description
allo-ocimene	metallic, musty	guaiacol	roasted, smoked, sweet
3-ethoxypropan-1-ol	metallic, musty	phenylmethanol	sweet, fruity, floral
dimethyltrisulfide	sulfur, cabbage	2-phenylethanol	floral, rose
nonane-2-one	fruity, floral, vegetal	2-phenylbut-2-enal	floral
trimethylpyrazine	roasted, vegetal, earthy	δ-octalactone	fruity, sweet
octan-2-ol	fruity, floral, candy	maltol	fruity, sweet
(*E*)-oct-2-enal	vegetal, earthy	2-acetylpyrrole	hot plastic
2,6-diethylpyrazine	vegetal	methyl tetradecanoate	vegetal, metallic
3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine	vegetal, roasted	δ-octenolactone	sweet, vegetal
2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	vegetal, roasted	phenol	floral, fruity
acetic acid	vinegar	γ-nonalactone	fruity, sweet
5-ethyl-2,3-dimethylpyrazine	roasted, then potato	1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde	sweet, fruity
3-methylthiopropanal	roasted, then potato	furaneol	caramel, strawberry
2-ethenyl-6-methylpyrazine	vegetal, earthy, roasted	octanoic acid	unpleasant
2-ethenyl-5-methylpyrazine	vegetal, earthy, roasted	4-methylphenol	animal, unpleasant, urine
3-ethyl-4-methylpentan-1-ol	flowery, vegetal	5-methyl-1*H*-pyrrole-2-carbaldehyde	floral, spicy, fruity
3-isobutyl-2,5-dimethylpyrazine	vegetal, pepper	(*E*)-ethyl cinnamate	fruity, vegetal
γ-decalactone	sweet, fruity, peach	dihydroactinidiolide	dust
nonanoic acid	animal, unpleasant	farnesol	floral
δ-decalactone	fruity, floral, woody	γ-dodecalactone	fruity, peach
4-vinylguaiacol	curry, licorice, clove, spicy	4-vinylphenol	rubber, medicinal
heptadecan-2-one	floral, fruity, vegetal	1*H*-indole	unpleasant, floral

ตารางที่ 6 (ต่อ)

Compound	Odour description	Compound	Odour description
isopropyl palmitate	floral, fruity	dodecanoic acid	unpleasant, animal, leather
δ-decenolactone	fruity, sweet, coconut	vanillin	vanilla, sweet, cocoa
3-hydroxy-4-phenylbutan-2-one	unpleasant, dust	phenylacetic acid	floral, unpleasant
3-hydroxy-2,3-dihydromaltol	roasted, chicory coffee	octadecan-1-ol	floral
2-phenylethyl lactate	woody, vegetal		

ที่มา: Deuscher *et al*. (2020)

6.4 การประยุกต์ใช้ GC-Olfactometry วิเคราะห์กลิ่นในผลไม้

กลิ่นในผลไม้เกิดจากส่วนผสมของสารเคมีที่มีกลิ่น เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของสารประกอบที่มีปริมาณและความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยสารประกอบเคมีที่สร้างกลิ่นของผลไม้ได้มาจากคาร์โบไฮเดรต ลิพิด สารประกอบฟีนอลิก โมโนและซีสควิเทอร์ปีน เป็นต้น โดยการระบุสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นผลไม้มักจะใช้แก๊สโครมาโตกราฟี (GC) ควบคู่ไปกับการวัดกลิ่น (GC-O) ซึ่งเทคนิคนี้จะแยกสารประกอบทางเคมีออกจากกลิ่นหอมของผลไม้โดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี และให้สารเคมีบางส่วนไหลผ่านส่วนตรวจจับทางกายภาพและช่องทดสอบ (sniffing port) ไปยังผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝน เพื่ออธิบายกลิ่นที่รับรู้ในแง่ของความเข้มของโซนกลิ่นที่รับรู้ ตามวิธีที่ได้รับการฝึกฝน นอกจากนี้การใช้ GC-O ร่วมกับเครื่องตรวจจับมวล (GC-O-MS) ช่วยให้สามารถดึงข้อมูลทางเคมี เช่น การระบุและการหาปริมาณของสารประกอบซึ่งจะสัมพันธ์กับข้อมูลทางประสาทสัมผัสได้

กลิ่นรสของผลไม้เป็นส่วนผสมของสารประกอบระเหยง่ายของคาร์โบไฮเดรตที่รวมกับน้ำตาลในรูปของกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส กรดอินทรีย์ (กรดซิตริกและกรดมาลิก) และเอสเทอร์ระเหยได้ ผลไม้แต่ละผลมีสารระเหยได้มากกว่า 100 ชนิด แต่สารระเหยของผลไม้ที่มีความเข้มข้นสูงมากกว่า 30 ppm จะทำให้การวิเคราะห์ง่ายขึ้น โดยสารระเหยแตกต่างกันไปตามพันธุ์ รูปแบบของการเพาะปลูก ระยะการเจริญเติบโต การสุกของผลไม้ องค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน เป็นต้น) อีกทั้งขึ้นอยู่กับตัวอย่างของผลไม้ด้วย เช่น ผลไม้มีรอยช้ำ ถูกหั่นเป็นชิ้น หรืออยู่ในรูปของน้ำเข้มข้น (puree) โดยส่วนผสมของสารระเหย ความเข้มข้น และขีดจำกัดของการรับรู้ในส่วนผสมที่ซับซ้อนทำให้เกิดกลิ่นหอมแก่

ผลไม้แต่ละชนิดจะมีลักษณะกลิ่นหอมเหมือนกัน แต่สารประกอบอะโรมาติกของผลไม้ที่มีกลิ่นหอมจะได้มาจากคาร์โบไฮเดรต ลิปิด สารประกอบฟีนอล โมโนและเซสควิเทอร์ปีน เป็นต้น ซึ่งสามารถจำแนกเป็นสารประกอบระเหยง่ายหลักหรือรองตามแหล่งกำเนิด ซึ่งมีอยู่ในเนื้อเยื่อของผลที่ยังไม่เสียหาย

หรือเกิดจากการแตกของเนื้อเยื่อถูกทำลาย ตามลำดับ ซึ่งส่งผลต่อการระบุกลิ่นหอมของผลไม้ในขั้นสุดท้าย แม้ว่าสารประกอบจำนวนมากจะถูกระบุว่าเป็นสารประกอบระเหยง่ายในผลไม้สด แต่ก็ไม่ใช่ทุกสารประกอบที่ส่งผลโดยตรงต่อกลิ่นหอมของผลไม้ ปริมาณและเกณฑ์การรับรู้ต้องได้รับการประเมินเพื่อกำหนดความสำคัญของสารตั้งต้นแต่ละชนิดในกลิ่นผลไม้ จึงมีการศึกษาจำนวนมากเพื่อทำนายสารประกอบให้กลิ่นโดยใช้ GC-MS ซึ่งข้อมูลที่ได้จาก GC-MS มีความน่าสนใจ แต่ยังไม่สมบูรณ์ เนื่องจากจำเป็นต้องระบุสารประกอบที่มีความสำคัญต่อกลิ่นหอม ดังนั้น การใช้ GC-MS-O จะเพิ่มข้อมูลให้กับวิธีการวิเคราะห์กลิ่นได้ ข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัดกลิ่น ได้แก่ ความเข้ม ความถี่ และรายละเอียดของสารประกอบที่แยกจากกันโดยแก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งในการวิเคราะห์กลิ่นในผลไม้แต่ละชนิด มีวิธีการเตรียมสารระเหยจากผลไม้ วิธีการตรวจวัด และวิธีการแยกกลิ่นที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 เทคนิคในการจำแนกลักษณะและการประเมินกลิ่นสารประกอบในผลไม้

Fruit	Volatile Extraction Technique	Chromatographic Detection
Yellow tamarillo	SAFE distillation	GC-MS-O
Hardy kiwi	SAFE distillation	GC-MS-O
Cherimoya	SPME	GC-MS/GC-FID-O
Sour guava	SAFE distillation	GC-FID-O
Ningxia goji berries	SPME	GC-MS-O
“Honeycrisp” apple	Liquid extraction	GC-MS-O
Mango	SAFE distillation	GC-MS
Orange	HS-SPME	GC-MS
Mulberry	SPME	GC-MS/GC-FID-O
Peach	SPME	GC-MS/GC-FID-O
Passion fruit	HS	GC-MS-O

หมายเหตุ: * SAFE คือ Solvent-Assisted Flavor Evaporation, SPME คือ Solid-Phase Microextraction, HS คือ Headspace, AEDA คือ Aroma Extraction Dilution Analysis OAV คือ odor activity value

ที่มา: Egea *et al.* (2021)

นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาสารประกอบหลักที่ให้กลิ่นในผลไม้ และลักษณะของกลิ่นเมื่อตรวจวัดด้วยวิธี GC-O ดังตารางที่ 8

ตัวอย่างผลการวิเคราะห์สารให้กลิ่นในผักและผลไม้โดย GC-O

สารประกอบที่มีกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากผลไม้รสเปรี้ยว (*Citrus sp.)* เช่น ส้ม เลมอน และมะนาว เป็นสารประกอบที่ส่งผลต่อลักษณะเฉพาะ โดยพบว่าส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารโมโนและซีสควิเทอร์พีน (mono- and Sesquiterpenes) และอนุพันธ์ของออกซิเจน ในขณะที่กลิ่นที่พบในผลไม้ที่ไม่ใช่ซิตรัสส่วนใหญ่จะมีลักษณะเฉพาะเป็นเอสเทอร์และอัลดีไฮด์ เช่นเดียวกับ สตรอว์เบอร์รี กล้วย แครนเบอร์รี่ และแอปเปิ้ล ฯลฯ

เนื้อผลไม้ที่มีการนำมาศึกษาด้วย GC-O อย่างแพร่หลาย คือ สตรอว์เบอร์รี (*Fragraria sp.*) เป็นกลิ่นที่ผสมผสานกันระหว่างกลิ่นหอมต่างๆ เช่น กลิ่นผลไม้ (fruity) กลิ่นหวาน (sweet) กลิ่นคล้ายคาราเมล ดอกไม้ (floral) และเนย (buttery) และมีสารประกอบระเหยง่ายอีกมากกว่า 360 ชนิด ที่มีความเกี่ยวข้องกับรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะ นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ GC–O และ AEDA เพื่อตรวจสอบลักษณะเฉพาะของสารประกอบที่ส่งผลต่อน้ำสตรอว์เบอร์รีสด โดยมีสารประกอบจำนวนมากในกลิ่นหอมของสตรอว์เบอร์รี แต่มีเพียง 15 ชนิด ที่มีส่วนให้กลิ่นสตรอว์เบอร์รี โดยสาร DMHF หรือที่เรียกว่า Furaneol และสารประกอบ methoxy เป็นสารระเหยที่กระตุ้นกลิ่นคล้ายคาราเมล กลิ่นหวาน กลิ่นคล้ายสายไหม ซึ่งเป็นกลิ่นผลไม้ที่สำคัญที่สุดในกลิ่นสตรอว์เบอร์รี โดยความเข้มข้นของสารประกอบเหล่านี้เปลี่ยนแปลงไปตามพันธุ์สตรอว์เบอร์รี หรือตามระยะการเจริญเติบโต ซึ่งในบางพันธุ์ไม่พบสารเหล่านี้เลย

ตารางที่ 8 สารประกอบหลักที่ให้กลิ่นและคำอธิบายเกี่ยวกับกลิ่นในผลไม้เมื่อตรวจวัดโดยวิธี GC-O

Compound	Odour description
2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(*2H*)-furanon (DMHF)	Sweet, caramel, fruity, strawberry-like
γ-Decalactone	Green, fruity, peach-like
γ-Dodecalactone	Green, fruity, peach-like
Ethyl butyrate	Fruity, juicy, pineapple-like
iso-Amyl acetate	Sweet, fruity, banana-like
β-Damascenone	Sweet, fruity, rose
4-(*p*-Hydroxyphenyl)-2-butanone	Sweet, raspberry-like
Sotolone	Cotton candy, spice, maple
Linalool	Floral, lavender-like, citric, sweet
Dodecanal	Citric, lemon-like, green
(*Z*)-3-Hexenal	Green
Ethyl cinnamate	Sweet, spicy, basamic
Ethyl 3-methyl butyrate	Fruity
Benzaldehyde	Sweet, almond-like
Methyl anthranilate	Floral, sweet
4-Mercapto-4-methyl-2-pentanone	Grapefruit-like
Nootkatone	Citric, grapefruit-like, orange-like
Methyl N-methylanthranilate	Floral, sweet
3-Methylthio-1-hexanol	Green, vegetable-like
1-Octen-3-one	Mushroom-like, metallic
(*E*)-2-Hexenal	Green

ที่มา: Zellner *et al.* (2008)

การกำหนดโปรไฟล์กลิ่นของสตรอว์เบอร์รี ที่ใช้ GC–O รายงานว่า γ-dodecalactone มีกลิ่นคล้ายสตรอว์เบอร์รีเข้มข้น โดยเตรียมตัวอย่างได้สองวิธี ได้แก่ การแยกส่วนด้วยโครมาโทกราฟีแบบ purge-and-trap และการจำแนกกลุ่มสารให้กลิ่น สารสกัดที่แยกออกมาจะถูกฉีดเข้าไปในระบบ GC ที่ติดตั้งวาล์วเข็มเพื่อแยกการไหลของสารไปยังคอลัมน์ effluent split 1:1 เข้าระบบ FID และช่องดมกลิ่น ประเมินโดยผู้ประเมินสามคน ผลจากการวิเคราะห์ GC พบสารประกอบ 119 ชนิด โดย 40 ชนิด เป็นโครมาโทแกรมของสารให้กลิ่น สามารถจำแนกสารให้กลิ่นออกเป็นสาร 3 กลุ่ม ได้แก่ เอสเทอร์ ทำให้มีกลิ่นของดอกไม้และผลไม้ อัลดีไฮด์ทำให้เกิดกลิ่นเขียวฉุน และแลคโตน ซึ่งส่วนใหญ่เป็น -γ-decalactone และ γ-dodecalactone ทำให้มีกลิ่นคล้ายลูกพีช ผลการวิเคราะห์สตรอว์เบอร์รี 5 สายพันธุ์โดย GC–O โดยใช้คอลัมน์ที่แตกต่างกันสองคอลัมน์ และ effluent split 1:2 ไปยังระบบ FID และพอร์ทดมกลิ่น ตามลำดับ พบสารประกอบ 17 ชนิด สารประกอบให้กลิ่นที่สำคัญที่สุดคือ ethyl butyrate, β-damascenone, linalool, 1-octen-3-one, (E)-2-hexenal, and γ-dodecalactone สารประกอบกลิ่นสำคัญอื่นๆ เช่น hexanal, DMHF และ γ-decalactone

ราสเบอร์รี่ (*Rubus idaeus L.*) ได้รับการวิจัยอย่างกว้างขวาง โดยมีสารระเหยที่ตรวจวัดมากกว่า 200 ชนิด โดยมี 10 ชนิดที่เป็นสารให้กลิ่นหลัก คือ α-ionone, β-ionone, (Z)-3-hexenol, geraniol, linalool, benzyl alcohol, acetoin, acetic and hexanoic acids, and 4-(p-hydroxyphenyl)-2-butanone (raspberry ketone) การไม่มีไอโอโนนทั้งสอง (α-ionone และβ-ionone) ซึ่งเป็นที่รู้จักในฐานะกลิ่นราสเบอร์รี่อาจขึ้นอยู่กับความหลากหลายและเวลาในการเก็บเกี่ยว กระบวนการให้ความร้อนทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ β-damascenone, sotolone, 1-nonen-3-one, 1-octen-3-one, vanillin และ raspberry ketone ทำให้มีลักษณะเฉพาะเป็นกลิ่นราสเบอร์รี่แบบคลาสสิก

ทุเรียน มีรายงานการวิเคราะห์กลิ่นของทุเรียนพันธุ์หมอนทองของประเทศไทย เตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย และแยกสารที่ระเหยได้ พบว่ามีสารประกอบให้กลิ่น (odor-active) 44 ชนิด โดย 41 ชนิดสามารถระบุได้ และมีสารอื่นๆ อีก 24 ชนิดที่ไม่เคยมีรายงานในทุเรียนมาก่อน โดยสารประกอบที่ให้กลิ่นและกลิ่นที่พบสูง คือ ethyl(2S)-2-methylbutanoate (ผลไม้) ethyl cinnamate (น้ำผึ้ง) และ 1-(ethylsulfanyl)ethanethiol (หัวหอมอบ) ตามด้วย 1-(ethyldisulfanyl)-1-(ethylsulfanyl)ethane (กำมะถัน, หัวหอม), 2(5)-ethyl-4-hydroxy-5(2)-methylfuran-3(2H)-one (คาราเมล), 3-hydroxy-4,5-dimethylfuran-2(5H)-one (เครื่องปรุงซุป), ethyl 2-methylpropanoate (ผลไม้), ethyl butanoate (ผลไม้), 3-methylbut-2-ene-1-thiol (สกัง), ethane-1,1-dithiol (กำมะถัน, ทุเรียน), 1-(methylsulfanyl)-ethanethiol (หัวหอมอบ), 1-(ethylsulfanyl)propane-1-thiol (หัวหอมอบ) และ 4-hydroxy-2,5-dimethylfuran-3(2H)-one (คาราเมล)

นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์สารประกอบระเหยได้ด้วยเทคนิค GC-O พบว่า มีสารประกอบออกฤทธิ์ที่ให้กลิ่นแรง ดังนี้ hydrogen sulfide (ไข่เน่า), acetaldehyde (fresh, ผลไม้), methanethiol (เน่าเสีย, กะหล่ำปลี), ethanethiol (เน่าเสีย, หัวหอม) และpropane-1-thiol (เน่าเสีย, ทุเรียน) โดยกลิ่นทุเรียนที่

มีลักษณะเฉพาะ 14 ชนิดจากทั้งหมด 41 ชนิด มีโครงสร้างของ alkane-1, 1-dithiol, 1- (alkylsulfanyl) alkane-1-thiol หรือ 1,1 -bis (alkylsulfanyl) alkane ซึ่งเป็นโครงสร้างอนุพันธุ์ของอัลดีไฮด์, โพรพานัล, ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และอัลเคน -1-ไทออลส์ (alkane-1-thiols)

สำหรับการแปรรูปอาหาร การปรับปรุงกลิ่นของอาหารไม่จำเป็นต้องลดสารประกอบที่ไม่ต้องการออก แต่สามารถเพิ่มสารประกอบอื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์กับคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้ เช่น การประยุกต์ใช้ cAEDA กับแอปเปิ้ลพันธุ์ Golden Delicious และน้ำแอปเปิ้ลเข้มข้น พบว่า ตรวจพบสารให้กลิ่น hexanal, (E)- β- damascenone, (3Z)- hex- 3- enal, (2E)- hex- 2- enal, butan- 1- ol, 3- (methylsulfanyl) propanal and dimethyl sulfide ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ในวัตถุดิบและ/หรือในผลิตภัณฑ์ โดยปริมาณของสารประกอบในแอปเปิ้ลจะเกิดขึ้นในขั้นตอนการบดผลไม้และการพาสเจอร์ไรส์ขั้นสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ โดยในขั้นตอนการบด เกิดสารประกอบที่ให้กลิ่นสำคัญ ได้แก่ hexanal, (3Z)- hex- 3- enal and (2E)- hex- 2- enal ซึ่งอยู่ในฟอร์มของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวและออกซิเจนผ่านทาง lipoxygenase pathway ซึ่งในระหว่างการพาสเจอร์ไรส์ทำให้เกิดการสูญเสียของอัลดีไฮด์และการเสียรูปของ (E)- β- damascenone, 3-(methylsulfanyl) propanal จากความร้อน และไดเมทิล ซัลไฟด์ ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบให้กลิ่นที่สำคัญระหว่างกระบวนการแปรรูปแอปเปิ้ลพันธุ์ Golden Delicieous เป็นน้ำแอปเปิ้ลเข้มข้น

Odorant	Odor quality	OAV apple fruit	OAV fresh juice	OAV final juice
Hexanal	Grassy	100	1700	1200
(*E*)-β-Damascenone	Cooked apple-like	2.5	5.2	1100
(3*Z*)-Hex-3-enal	Grassy	130	2000	70
(2*Z*)-Hex-3-enal	Green apple-like	0.1	60	38
Butan-1-ol	Malty	11	29	25
3-(Methylsulfanyl) propanal	Cooked potato-like	0.9	22	22
Dimethyl sulfide	Cooked asparagus-like	0.4	4.5	16

ที่มา: Tranchida (2019)

6.5 การวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสของพริก

การวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสของพริก ได้แก่ พริกแดงสด (fresh) พริกแดงที่ทำแห้งโดยการตากแดด (sun-dried) และพริกแดงที่ทำแห้งโดยตู้อบลมร้อน (oven-dried) โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี-ออลแฟกโทเมทรี (GC-O) พบว่าพริกแดงสดและพริกแดงที่ทำแห้งโดยวิธีที่แตกต่างกันให้กลิ่นที่มีลักษณะเฉพาะแตกต่างกัน ดังนี้

1. สารให้กลิ่นหลักที่มีความเข้มของกลิ่นสูงที่พบในพริกแดงสดและพริกแดงที่ทำแห้งโดยการตากแดด คือ 3-methyl-2-butenal ให้ลักษณะกลิ่น strong almond-like

2. สารให้กลิ่นที่พบในพริกทั้ง 3 ชนิด คือ (E)-β-ocimene ให้ลักษณะกลิ่น mushroom-like โดยให้ความเข้มของกลิ่นเท่ากันในพริกทั้ง 3 ชนิด

3. สารให้กลิ่นที่พบในพริกสดเท่านั้นคือ สารให้กลิ่นกลุ่ม aldehydes ได้แก่ 2-methyl butanal ให้ลักษณะกลิ่น penetrating, ethereal, 3-penten-2-ol ให้ลักษณะกลิ่น buttery, 2-methyl-2-butenal ให้ลักษณะกลิ่น penetrating, ethereal และไฮโดรคาร์บอนบางชนิด เช่น เทอร์พีน เทอร์ปีนีน และอะโรมาเดนเดรน

4. สารให้กลิ่นหลักที่พบเฉพาะในพริกแดงที่ทำแห้งโดยการตากแดดและพริกแดงที่ทำแห้งโดยตู้อบลมร้อน คือ สารให้กลิ่น ethyl acetate ให้ลักษณะกลิ่น sour, spicy และ hexanal ให้ลักษณะกลิ่น green โดยให้ความเข้มของกลิ่นเท่ากันในพริกทั้งสองชนิด

5. สารให้กลิ่นที่พบเฉพาะในพริกแดงที่ทำแห้งโดยการตากแดด คือ 2-pentyl furan ให้ลักษณะกลิ่น metallic, vegetable-like, naphthalene ให้ลักษณะกลิ่น strong mothball-like, unpleasant, hexyl hexanoate ให้ลักษณะกลิ่น fresh green และ α-ionone ให้ลักษณะกลิ่น woody

6. สารให้กลิ่นที่พบเฉพาะในพริกแดงที่ทำแห้งโดยตู้อบลมร้อน คือ 3-methyl-2-butenal ให้ลักษณะกลิ่น Malty, benzeneethanol ให้ลักษณะกลิ่น sweet, 2-furancarboxaldehyde ให้ลักษณะกลิ่น strong caramel-like และ 4-vinyl-2-methoxy phenol ให้ลักษณะกลิ่น clove-like, spicy

ลักษณะเฉพาะของกลิ่นในพริกสดอาจเกิดจากสารให้กลิ่น 3-penten-2-ol, 2-methyl-2-butenal, 2-methoxy phenol, 2-hydroxy-methyl-benzoate และ 2-phenoxy ethanol ลักษณะเฉพาะของกลิ่นในพริกแดงที่ตากแห้งโดยแสงแดดเกิดจากสารให้กลิ่น 2 -pentyl furan, naphthalene, hexyl hexanoate และ α-ionone และกลิ่นที่ให้ลักษณะเฉพาะในพริกแดงที่ทำแห้งโดยตู้อบลมร้อน คือ 2-Furancarboxaldehyde, benzeneethanol และ 4-vinyl-2-methoxy phenol แสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ชนิดของสารประกอบระเหยง่ายที่พบในพริกแดงสด (fresh) พริกแดงที่ทำแห้งโดนการตากแดด (sun-dried) และพริกแดงที่ทำแห้งโดยตู้อบลมร้อน (oven-dried)

No	RI	Possible Compounds	Odor Description	Odor Intensity		
				Fresh	Sun-dried	Oven-dried
19	<700	Ethyl acetate	sour, spicy		***	***
1	654	3-methyl butanal	malty			**
8	690	3-penten-2-ol	buttery	**		
3	740	2-methyl-2-butenal	penetrating, ethereal	**		
10	780	3-methyl-2-buten-l-ol	herbaceous	**		**
4	790	3-methyl-2-butenal	strong almond-like	***	***	
5	805	hexanal	green		**	**
6	833	2-furancarboxaldehyde	strong caramel-like			***
90	887	stylene (ethenyl benzene)	sweet	**	**	**
91	889	*0*-xylene	Geranium	*		*
101	913	2-Acethyl furan	roasted, beany		***	***

ตารางที่ 10 (ต่อ)

No	RI	Possible Compounds	Odor Description	Odor Intensity		
				Fresh	Sun-dried	Oven-dried
A	916	unknown	nutty		**	
B	956	unknown	plastic, unpleasant	***		
7	960	benzaldehyde	almond-like		***	***
102	991	2-pentyl furan	metallic, vegetable-like		**	
C	1035	unknown	fermented soy sauce-like		**	**
73	1047	(E)-β-ocimene	mushroom-like	**	**	**
74	1057	α-terpinene	herbaceous, citrus	*		
95	1086	2-methoxy phenol	plastic, unpleasant	**		
11	1124	benzeneethanol	sweet			**
D	1141	unknown	herbaceous, ginseng		**	**
75	1180	naphthalene	strong mothball-like, unpleasant		***	
20	1194	2-hydroxy-methyl-benzoate	fresh, spicy	**		
12	1219	2-phenoxy ethanol	peach-like, sweet	**		
E	1234	unknown	strong pungent, spicy			***
21	1314	hexyl hexanoate	fresh green		**	
96	1317	4-vinyl-2-methoxy phenol	clove-like, spicy			**
F	1329	unknown	ginseng-like, herbaceous	**		
G	1347	unknown	strong spicy		***	***
H	1391	unknown	herb medicinal		**	**
24	1420	α-ionone	woody		**	
25	1490	β-ionone	violet-like		*	*
14	1565	d-N-Nerolidol	Froral			*
I	1669	unknown	weak spicy			*
J	1764	unknown	spicy, fermented			**

หมายเหตุ: ระดับความเข้มของกลิ่น *** strong, ** medium, * weak

6.6 การวิเคราะห์สารให้กลิ่นในกล้วยไข่

การวิเคราะห์สารให้กลิ่นในกล้วยไข่ ด้วยเครื่อง GC–Olfactometry headspace solid-phase microextraction (HS-SPME-GC–O) พบสารให้กลิ่นจำนวน 18 ชนิด (ตารางที่ 11) โดยสารให้กลิ่นที่โดดเด่นสำคัญที่ให้ลักษณะกลิ่นของกล้วยไข่ คือ 2-pentyl acetate, hexanal, (E)-2-hexenal และ 2-pentyl 3-methylbutanoate และสารประกอบเอสเทอร์ 3 ชนิดที่มีปริมาณสูงและมีความถี่ในการตรวจจับสูง คือ

3-methylbutyl acetate ให้ลักษณะกลิ่นกล้วยสุก, 3-methylbutyl butanoate ให้ลักษณะกลิ่นผลไม้และกล้วย และ 3-methylbutyl 3-methylbutanoate ให้ลักษณะกลิ่นผลไม้และเปลือกกล้วย

สารประกอบให้กลิ่นในกล้วยที่วิเคราะห์ได้จากวิธี SPME ร่วมกับ GC–O เป็นสารประกอบกลุ่มที่ระเหยได้ดีและระเหยง่ายปานกลาง แต่ยังมีสารระเหยบางชนิดที่ไม่สามารถตรวจพบโดยเทคนิค SPME ได้ จึงได้ใช้เทคนิค SAFE ที่มีการเติมเกลือเพื่อทำลายปฏิกิริยาของเอนไซม์และการใช้อุณหภูมิที่ต่ำทำให้สารประกอบที่ให้กลิ่นเกิดการเสื่อมสภาพน้อย ส่งผลให้กลิ่นของสารสกัดที่ใช้วิธี SAFE ยังคงลักษณะกลิ่นเดิมของกล้วยได้อย่างชัดเจน ซึ่งสามารถวิเคราะห์สารประกอบที่ให้กลิ่นได้มากถึง 26 ชนิด (ตารางที่ 12) โดยสารให้กลิ่นที่ให้ค่า Flavour dilution factor (FD values) สูง คือ สารประกอบเอสเทอร์ ได้แก่ 2-pentyl acetate, 3-methylbutyl acetate และ 3-methylbutyl butanoate ซึ่งสารเอสเทอร์เหล่านี้มีรายงานวิจัยว่าเป็นกลิ่นที่สำคัญในกล้วยหลายสายพันธุ์ สารให้กลิ่นอื่นๆ ที่สำคัญ ได้แก่ สารกลุ่มอัลดีไฮด์ ได้แก่ hexanal, (E)-2-hexenal), 2-pentyl 3-methylbutanoate และ 3-methylbutyl 3-methylbutanoate ที่ให้ลักษณะกลิ่นฉุนในกล้วยพันธุ์นี้

ตารางที่ 11 สารประกอบให้กลิ่นในกล้วยไข่ที่วิเคราะห์โดย SPME-GC–O

Compounds	RI_a	RI_p	Odor Description
Ethyl acetate	615	884	Ethereal-fruity, sweet
2-Pentanone	688	983	Banana
2-Methylpropyl acetate	770	1018	Ethereal, rum-like
Hexanal	803	1080	Green greasy
2-Pentyl acetate	854	1075	Banana
(E)-2-Hexenal	858	1220	Intense green-fruity
3-Methylbutyl acetate	881	1125	Ripe banana
2-Methylpropyl butanoate	958	1161	Fruity
3-Methylbutyl butanoate	974	1256	Fruity, banana-like
2-Pentyl 3-methylbutanoate	1088	1274	Banana
3-Methylbutyl 3-methylbutanote	1106	1294	Fruity, banana peel
2-Heptyl butanoate	1207	1401	Fruity green
Hexyl (E)-3-hexenoate	1218	1414	Fruity green
Hexyl 3-methylbutanoate	1244	1425	Sweet banana
3-Methylbutyl hexanoate	1254	1465	Fruity
(Z)-4-Hepten-2-yl 3-methylbutanoatea	1274	-	Banana-like
Eugenol	1366	2146	Spicy
Elemicin	1560	2239	Spicy

หมายเหตุ: RI_a and RI_p = retention index in DB-5 ms and DB-Wax columns. b

Tentative identification (only by matching LRI and mass spectra from libraries)

ที่มา: Jorge *et al.* (2017)

ตารางที่ 12 สารประกอบให้กลิ่นในกล้วยไข่ที่วิเคราะห์โดย SAFE-GC–O

Compounds	Odour threshold ($\mu g\ kg^{-1}$)	Conc ± SD ($\mu g\ kg^{-1}$)	Odour Description	Fd	OAV
Ethyl acetate	5000	2800±140	Ethereal-fruity, sweet	8	<1
2-Pentanone	50	4000±176	Banana, sweety	128	80
3-Methylbutan-1-ol	220	5940±292	Fruity-winey	32	27
2-Methylpropyl acetate	66	396±16	Ethereal	16	6
Hexanal	2.4	698±35	Green greasy	512	291
2-Pentyl acetate	4	3000±179	Banana	1024	750
(E)-2-Hexenal	17	2990±161	Green-intense fruity	512	176
(Z)-3-Hexen-1-ol	70	210±11	Fresh grass	8	3
3-Methylbutyl acetate	2	2000±74	Ripe banana	1024	1000
2-Heptanone	140	978±32	Fruity-spicy	16	7
2-Heptanol	400	235±9	Fruity, pungent	8	<1
2-Methylpropyl 2-methylpropanoate	30	58±2	Sweet-fruity	8	2
2-Methylpropyl butanoate	30	689±27	Fruity	64	23
Butyl butanoate	100	300±13	Sweet-fruity	32	3
Butyl 3-methylbutanoate	17	103±5	Ethereal-fruity	32	6
3-Methylbutyl butanoate	0.1	894±36	Banana	1024	9000
2-Pentyl 3-methylbutanoate	3	695±24	Banana	512	233
3-Methylbutyl 3-methylbutanoate	65	974±41	Banana peel	512	15
2-Heptyl butanoate	23	295±14	Fruity green	256	13
Hexyl (E)-3-hexenoate	60	776±27	Fruity green	256	13
Hexyl 2-methylbutanoate	22	197±9	Fruity, pungent	32	9
Hexyl 3-methylbutanoate	20	1000±441	Sweet banana	128	50
3-Methylbutyl hexanoate	51	964±32	Fruity	64	19

ตารางที่ 12 (ต่อ)

Compounds	Odour threshold ($\mu g\ kg^{-1}$)	Conc ± SD ($\mu g\ kg^{-1}$)	Odour Description	Fd	OAV
(Z)-4-Hepten-2-yl 3-methylbutanoatea	nd	1400±602	Banana-like	64	nd
Eugenol	6	194±9	Spicy	128	33
Elemicin	100	213±14	Spicy	32	2

หมายเหตุ: Fd คือ Flavour dilution factor; OAV คือ odour activity values

ที่มา: Jorge *et al.* (2017)

ภาคผนวก

ภาคผนวก

ปทานุกรมกลิ่นและรสชาติ (Sensory Lexicon)

การเตรียมตัวอย่างเพื่อการทดสอบรสชาติทางประสาทสัมผัส

1. รสชาติมาตรฐาน (standard taste) : เปรี้ยว/หวาน/เค็ม/ขม/เผื่อน

อุปกรณ์: ขวดใส่สารละลาย จำนวน 18 ขวด ขวดละ 1 ลิตร

สารเคมี: เตรียมสารละลายรสชาติพื้นฐาน 4 รสชาติ ดังนี้

1)	รสหวาน:	เตรียมสารละลายซูโครส	10 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร
2)	รสเปรี้ยว:	เตรียมสารละลายกรดซิตริก	0.5 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร
3)	รสเค็ม:	เตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์	1 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร
4)	รสขม:	เตรียมสารละลายคาเฟอีน	0.8 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร
5)	รสเปรี้ยว:	กรดมาลิก	0.5 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร
		กรดซิตริก	0.5 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร
		กรดทาร์ทาลิก	0.5 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร
		กรดแอสคอร์บิก	0.5 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร
		กรดแลคติก	0.5 กรัม/ลิตร	จำนวน 2 ลิตร

เตรียมเสร็จ แช่ตู้เย็น 5°C ไว้จนกว่าจะถึงวันทดสอบ

การทดสอบ Sensory Evaluation

1. แบ่งผู้ทดลองเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ ไม่ต่ำกว่า 3 คน

อุปกรณ์: แก้วกระดาษ จำนวน 110 ใบ

กระดาษอลูมิเนียมฟอยด์ จำนวน 1 ม้วน

สำลี จำนวน 1 ม้วน

2. แจกกระดาษเปล่าให้ผู้ทดสอบคนละ 1 ใบ และตัวอย่างตามลำดับดังนี้

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	กลิ่นมะนาว	/	/	Fruity/Citrus
2	น้ำส้มสายชู	/	/	Sour/ Acetic
3	หญ้าสด	/	/	Greeny
4	ถั่วลิสงคั่ว	/	/	Roasted
5	อบเชย	/	/	Spice
6	แอลม่อน	/	/	Nutty
7	วนิลลา	/	/	Sweet/ Vanilla
8	กลิ่นมะลิ	/	/	Floral
9	สตอเบอรี่	/	/	Fruity/Berry
10	โกโก้	/	/	Sweet/ Cocoa
11	นม	/	/	Buttery/ Milky

3. นำสำลีใส่แก้ว 1 ก้อน หยดกลิ่นลงในสำลี จำนวน 10 หยด ปิดปากแก้วด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยด์

4. เตรียมทั้งหมด 10 ชุด ชุดละ 11 แก้ว

2. รสชาติกลุ่มผลไม้ (Fruity series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	น้ำกีวี	/	/	Fruity
2	Jelly	/	/	Berry
3	น้ำสตรอว์เบอร์รี	/	/	Strawberry
4	น้ำราสเบอร์รี่	/	/	Raspberry
5	น้ำบลูเบอร์รี่	/	/	Blueberry
6	น้ำแบล็กเบอร์รี่	/	/	Blackberry
7	Dry 1(พรุน)	/	/	Dried fruit
	Dry 2(พรุน+ลูกเกด)	/	/	
8	ลูกเกด	/	/	Raisin
9	พรุน	/	/	Prune
10	น้ำแอปเปิ้ล	/	/	Apple
11	น้ำลูกแพร์	/	/	Pear
12	น้ำพีช	/	/	Peach
13	น้ำองุ่น	/	/	Grape
14	น้ำเชอร์รี่	/	/	Cherry
15	น้ำทับทิม	/	/	Pomegranate
16	น้ำมะพร้าว	/	/	Coconut
17	น้ำสัปปะรด	/	/	Pineapple
18	น้ำมะนาว	/	-	Citrus
	น้ำส้มโอ	/	/	
19	น้ำส้ม	/	/	Orange
20	เปลือก/น้ำมะนาว	/	/	Lime

3. รสชาติกลุ่มแอลกอฮอล์หรือ หมัก (Alcohol/Ferment series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	ว้อดก้า	/	/	Alcohol
2	วิสกี้	/	/	Whiskey
3	ไวน์แดง	/	/	Winey
4	เบียร์	/	/	Fermented
	หญ้าหมัก	/	-	
5	กล้วยสุก	/	/	Near fermented

4. รสชาติกลุ่มพืชผัก (Green/veggy series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	น้ำมันมะกอก	/	-	Olive oil
2	อัลมอน	/	-	Raw
3	เปลือกส้มโอ	/	-	Under-ripe
4	ถั่วเขียว	/	-	Peapod
5	น้ำผักชี	/	/	Parsley water
6	หญ้าสด	/	-	Fresh
7	ถั่วลันเตา	/	/	Dark Green
8	หน่อไม้ฝรั่ง	-	/	Vegetative
9	Thyme+Basil+Bay (สด)	/	/	Herb-like
10	ถั่วบินโต	/	/	Beany

5. รสชาติกลุ่มกระดาษ (Stale/papery series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	แป้งพิซซ่า	/	/	Stale
2	กระดาษกรอง	-	/	Papery
3	กระดาษลัง	/	-	Cardboard

6. รสชาติกลุ่มดิน (Earthy series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	ไม้โอศกรีม	/	-	Woody
2	ดิน	/	-	Musty/earthy
3	ถั่วเพาะงอก	/	-	Musty/dusty
4	เจลาติน	/	-	Animalic
5	เนื้อ	-	/	Meaty/Brothy

7. รสชาติกลุ่มสารเคมี (Chemical series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	ไอโอดีน	/	-	Medicinal
	แอลกอฮอล์	/	-	
2	จุกยาง	/	-	Rubber
3	Vaseline	/	-	Petroleum
4	ลูกโป่ง	/	-	Skunky

8. รสชาติกลุ่มเครื่องเทศ (Spice series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	โมลาส	/	/	Molasses
2	น้ำหวานสน	/	/	Maple Syrup
3	น้ำตาลทรายแดง	/	/	Brown sugar
4	น้ำตาลทรายแดงไหม้	-	/	Caramelized
5	น้ำผึ้ง	/	/	Honey
6	รสวานิลลา	-	/	Vanilla
7	ผงวานิลิน	/	-	Sweet Aromatics
	ผงวานิลิน	/	-	
	คุ้กกี้	/	/	
8	Mill Wheat	/	-	Overall sweet
	Cookie น้ำตาล	/	-	

9. รสชาติกลุ่มหอมหวาน (Sweet series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	โมลาส	/	/	Molasses
2	น้ำหวานสน	/	/	Maple Syrup
3	น้ำตาลทรายแดง	/	/	Brown sugar
4	น้ำตาลทรายแดงไหม้	-	/	Caramelized
5	น้ำผึ้ง	/	/	Honey
6	รสวานิลลา	-	/	Vanilla
7	ผงวานิลิน	/	-	Sweet Aromatics
	ผงวานิลิน	/	-	
	คุ้กกี้	/	/	
8.	Mill Wheat	/	-	Overall sweet
	Cookie น้ำตาล	/	-	

10. รสชาติกลุ่มโกโก้ (Cocoa series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	ชอคโกแลตชิป	/	/	Chocolate
2	ผงโกโก้	/	/	Cocoa
3	Lindt 90% choco	/	/	Dark Chocolate

11. รสชาติกลุ่มดอกไม้ (Floral serie)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	น้ำอุ่น	/	/	Floral
2	น้ำมันกุหลาบ	/	-	Rose
3	ชาคาโมมาย	/	/	Chamomile
4	ชาลิปตัน	/	/	Black tea

12. รสชาติกลุ่มคั่ว ทอด อบ(Roasted series)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	Aroma	Flavor	Descriptor
1	Cigar	/	-	Tabaco
2	Wheat Cereal	/	/	Acrid
	Smoke mesquite	/	/	
3	ผงโกโก้ไหม้	/	/	Ashy
	กระดาษไหม้	/	-	
4	ถั่วลิสงแห้ง	/	/	Burnt
	Wheat burnt	/	/	
5	Smoke almond	/	/	Smoky
	ถ่านไม้	/	-	
6	ถั่วลิสงคั่วอ่อน	/	-	Roasted
	ถั่วลิสงคั่วกลาง	/	-	
	ถั่งลิสงคั่วเข้ม	/	-	
	ถั่วลิสงไหม้	/	-	
7	น้ำตาลทรายแดงไหม้	/	/	Brown Roast

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา มหัทธนทวี. 2553. ความสำคัญของกลิ่นรสอาหารกับการตรวจวิเคราะห์กลิ่นอาหารโดยเทคนิค Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O). วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม 5(1): 13-17.

โกเมศ สัตยาวุธ สุกัญญา นิติยนต์ ฉัตรนภา ข่มอาวุธ และ สุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ. 2563. การพัฒนาต้นแบบถังหมักกาแฟ. รายงานเรื่องเต็มประจำปี 2563 กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 115 หน้า.

จงดี บูรณชัย. เอกสารประกอบการสอนรายวิชา 324-341 การวิเคราะห์ทางเคมีโดยใช้เครื่องมือ 1, ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา

ชุติมา ศรีวิบูลย์. 2546. การวิเคราะห์โดยเครื่องมือโครมาโทรกราฟี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง. 572 หน้า

น้ำฝน สิงห์รัมย์ และ อภันตรี พุกพัด. 2546. การหาสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิคโซลิดเฟสไมโครเอกแทรคชั่นสำหรับวิเคราะห์แอลกอฮอล์บางชนิดในไวน์. โครงงานวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีวิเคราะห์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพ. 61 หน้า

แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ. 2553. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principle and Techniques of Instrumental Analysis PART II Chromatography and others, กรุงเทพมหานคร

สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2554. กลไกการรับกลิ่น. แหล่งที่มา: https://www.scimath.org/article-science/item/2097-mechanism-of-smell. 11 สิงหาคม 2565

สิรี ชัยเสรี. 2546. เคมีและการวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสอาหาร. เอกสารคำสอน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาพร แสงศรีจันทร์. 2565.การเตรียมสารตัวอย่าง โดยวิธี solid phase microextraction (SPME). กลุ่มงานสายวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. แหล่งที่มา: https://erp.mju.ac.th/acticleDetail.aspx?qid=867, 15 กุมภาพันธ์ 2565.

Analysis and Headspace Gas Chromatography–Olfactometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60: 11253-11262.

Abdul-Hamid M. E., Zeyad A. A., Yang, Y. and Najeh, M. K. Chapter 8: Gas Chromatography–Mass Spectrometry of Biofluids and Extracts. Metabonomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1277

Andrew, T. 2014. An Introduction to Headspace Sampling in Gas Chromatography. Chromatography Research and Technology Manager PerkinElmer, Inc: 33.

Boonlorm, R. 2021. Solid Phase Micro Extraction (SPME หรือ SPME Arrow). แหล่งที่มา: https://www.scispec.co.th/learning/index.php/blog/chromatography/solid-phase-micro- extraction-spme-spme-arrow, 9 มีนาคม 2565.

Chetschik, I. 2021. Key Odorants of Cocoa: Highlights of Analytical Sciences in Switzerland. CHIMIA. 75(11): 981.

Daker, M., Lin, V., Akowuah, G., Yam, M. and Ahmad, M. 2013. Inhibitory effects of Cinnamomum burmannii Blume stem bark extract and trans-cinnamaldehyde on nasopharyngeal carcinoma cells; synergism with cisplatin. EXPERIMENTAL AND THERAPEUTIC MEDICINE. 5(6): 1701-1709.

De Lloyd. D. Gas chromatography detectors. The University of The West Indies, St. Augustine campus. Available Source: http://delloyd.50megs.com/moreinfo/detectors.html , May 30, 2022.

Deuscher, Z., Gourrat, K., Repoux, M., Boulanger, R., Labouré, H. and Le, Q. J-L. 2020. Key Aroma Compounds of Dark Chocolates Differing in Organoleptic Properties: A GC-O Comparative Study. *Molecules* 25(8): 1809.

Egea, M. B., Bertolo, M. R. V., Filho, J. G. and Lemes, A. C., 2021. A Narrative Review of the Current Knowledge on Fruit Active Aroma UsingGas Chromatography-Olfactometry (GC-O) Analysis. Molecules. 26: 5181.

Hajslova, J. and Cajka, T. 2008. Gas chromatography in food analysis. Separation Science. Available Source: https://blog.sepscience.com/gaschromatography/gc-solutions-4-the-power-of-gc-detectors, April 25, 2022.

Jorge A. Pino, Peter Winterhalter & Marcela Castro-Benítez. 2017. Odour-active compounds in baby banana Fruit (*Musa acuminata* AA Simmonds cv. Bocadillo). INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD PROPERTIES. 20(2) :1448–1455.

Jun, H.R., Cho, I.H., Choi, H.K. and Kim, Y.S. 2005. Comparison of Volatile Components in Fresh and Dried Red Peppers (Capsicum annuum L.). Food Science and Biotechnology. 14(3): 392-398.

Keane, P. 1992. The flavor profile. In ASTM Manual on Descriptive Analysis Testing for Sensory Evaluation (R.C. Hootman, ed), pp. 2-15, ASTM, Philadelphia, PA.

Kilcast, D. 2013. Instrumental assessment of food sensory quality: A practical guide. Woodhead Publishing Limited. New Delhi.

Li, J., Schieberle, P. and Steinhaus, M. 2012. Characterization of the Major Odor-Active Compounds in Thai Durian (*Durio zibethinus* L. 'Monthong') by Aroma Extract Dilution.

Liu, H., S. Ma, X. Zhang and Y. Yu. 2019. Application of thermal desorption methods for airborne polycyclic aromatic hydrocarbon measurement: a critical review. Environmental Pollution. 254: 113018.

LC/GC Magazine. 2015. Solution for separation scientist: Chromatography online.com, Overview of Sample Preparation, Nov 01, (Special Issues) 33(11): 46-51.

McNair, H.M. and Bonelli, E.J. 1969. Basic Gas Chromatography, Varian Aerograph, California, U.S.A.

Mengya, L., Jianbin, L., Congcong, H., Huanlu, S., Ye, L., Yu, Z., Ye, W., Jia, G., Haiying, Y. and Xiaoxia, S. 2017. Characterization and comparison of key aroma-active compounds of cocoa liquors from five different areas, International Journal of Food Properties 20(10): 2396-2408.

NUREG-1576 (MARLAP). 2004. "Multi-Agency Radiological Laboratory Analytical Protocols Manual", Volumes II: Chapter 12 laboratory sample preparation, Environmental Protection Agency, Department of Energy, Department of Defense, Department of Homeland Security, National Institute of Standards and Technology, U.S. Geological Survey, and Food and Drug Administration, Washington, DC.

Ohloff, G., in Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, eds. W. Herz, H. Grisebachand G.W. Kirby, Springer-Verlag, New York, 1978, vol. 35, p. 431.

Pawliszyn, J. 2012. Handbook of solid phase microextraction. Elsevier Inc. USA.

Rijkens, F.; Boelens, H., Proceedings of the International Symposium Aroma Research, Zeist, Pudoc, Wageningen, 1975, p. 203.

Ronald, E. M and Wilmington, DE. 2013. Sample preparation fundamentals for chromatography. Agilent Technologies, Inc. Canada November 13, 2013: 356.

Steinhaus, M. (2020). Chapter 9 Gas Chromatography–Olfactometry: Principles, Practical Aspects and Applications in Food Analysis. In Advanced Gas Chromatography in Food Analysis :337–399. Available Source: https://doi.org/10.1039/9781788015752-00337

Saskia M. van Ruth. 2001. Methods for gas chromatography-olfactometry: a review, Biomolecular Engineering 17: 121–128.

Separation Science. The Power of GC Detectors. Available Source: https://blog.sepscience.com/gaschromatography/gc-solutions-4-the-power-of-gc-detectors, April 25, 2022.

Supasiri, S. 2007. Aroma active compounds of rice cooked with coconut milk. Kasetsart University, Bangkok (Thailand). Graduate School.

Tranchida, P.Q. 2019. Advanced Gas Chromatography in Food Analysis, Royal Society of Chemistry.

Tranchida. P.Q. 2019. Advanced Gas Chromatography in Food Analysis. Food Chemistry, Function and Analysis. www.rsc.org/books.

Weurman, G.; Straten, S. van, Vrijer, F. de. Lists of Volatile Compounds in Food, Central Institute for Nutrition and Food Research, Zeist, Holland, 3rd edn., 1973, with suppl. 1 to 7, 1976

Worsfold, P., A. Townshend and C. Poole. 2005. Encyclopedia of analytical science second edition. Elsevier Ltd. UK.

Zellner, B. A., Dugo, P., Dugo, G. and Mondello, L. 2008. Gas chromatography–olfactometry in food flavour analysis. Journal of Chromatography A, 1186: 123–143.

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร