



วิทยานิพนธ์

ผลของวิธีการทำแห้งต่อสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและ
ไกลโคไซด์ในใบมะกรูด (*Citrus hystrix* (DC.))

**EFFECT OF DRYING METHODS ON FREE AND
GLYCOSIDICALLY-BOUND AROMA IMPACT COMPOUNDS
OF KAFFIR LIME LEAVES (*Citrus hystrix* (DC.))**

นางสาวพัชราภรณ์ ถิ่นจันทร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)
ปริญญา

วิทยาศาสตรการอาหาร
สาขา

วิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการอาหาร
ภาควิชา

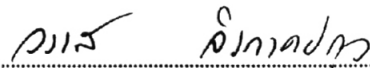
เรื่อง ผลของวิธีการทำแห้งต่อสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูด
(*Citrus hystrix* (DC.))

Effect of Drying Methods on Free and Glycosidically-Bound Aroma Impact Compounds
of Kaffir Lime Leaves (*Citrus hystrix* (DC.))

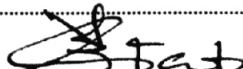
นามผู้วิจัย นางสาวพัชราภรณ์ ถิ่นจันทร์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

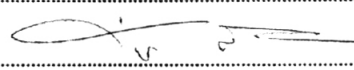
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก


(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณี จิรภาคย์กุล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม


(รองศาสตราจารย์สิริ ชัยเสรี, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา


(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนະบุลย์ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว


(รองศาสตราจารย์วันัย ออคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 17 เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2550

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของวิธีการทำแห้งต่อสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ใน
ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* (DC.))

Effect of Drying Methods on Free and Glycosidically-Bound Aroma Impact Compounds of
Kaffir Lime Leaves (*Citrus hystrix* (DC.))

โดย

นางสาวพัชราภรณ์ ถิ่นจันทร์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2550

พัชรภรณ์ ถิ่นจันทร์ 2550: ผลของวิธีการทำแห้งต่อสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ ในใบมะกรูด (*Citrus hystrix* (DC.)) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขา วิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณ จิรภาคย์กุล, Ph.D. 87 หน้า

ใบมะกรูดเป็นเครื่องเทศที่นิยมใช้ปรุงอาหารไทยหลายชนิด กลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ของใบมะกรูดส่วนใหญ่เกิดจากสารระเหยอิสระ นอกจากนี้ยังมีสารระเหยที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์ซึ่งไม่ให้กลิ่นแต่สามารถเปลี่ยนเป็นรูปอิสระได้ด้วยปัจจัยหลายประการ เช่น เอนไซม์ และความร้อนในระหว่างการแปรรูป การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูด การศึกษาชนิดและปริมาณสารระเหยอิสระและสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสดใช้วิธีสกัด 2 วิธี ได้แก่ วิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย และ วิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งโดยใช้เรซิน Amberlite XAD-2 พบว่า วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถสกัดสารระเหยอิสระ 54 ชนิด และสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ 39 ชนิด ซึ่งสารระเหยเหล่านี้มีลักษณะกลิ่นที่สอดคล้องกับลักษณะกลิ่นของใบมะกรูด สำหรับวิธีการสกัดด้วยเรซิน Amberlite XAD-2 ตรวจพบสารระเหยอิสระ 50 ชนิด และสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ 11 ชนิด แต่สารส่วนมากเป็นสารที่ไม่สอดคล้องกับชนิดของสารระเหยในใบมะกรูด

การศึกษาศารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระในใบมะกรูดสดด้วยวิธี aroma extract dilution analysis (AEDA) พบว่าสารที่มีค่า log₃ FD factor สูงที่สุดคือ citronellal และ *l*-linalool มีค่า log₃ FD factor เท่ากับ 4 และสารที่มีค่า log₃ FD factor สูงรองลงมา ได้แก่ α -pinene, sabinene, β -myrcene, *trans*-sabinene hydrate, β -citronellol, *trans*-geraniol, *trans*- β -caryophyllene, bicyclogermacrene และ nerolidol ซึ่งมีค่า log₃ FD factor เท่ากับ 3 และเมื่อศึกษาผลของการทำแห้ง 4 วิธี ได้แก่ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน และการตากแห้งในที่ร่ม พบว่า ใบมะกรูดทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศมีปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระใกล้เคียงกับใบมะกรูดสดมากกว่าการทำแห้งวิธีอื่น แต่มีปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์น้อยกว่าตัวอย่างสด ใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณของสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ส่วนใหญ่กว่าตัวอย่างสดและตัวอย่างที่ทำแห้งด้วยวิธีอื่น ใบมะกรูดทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนมีปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระน้อยกว่าใบมะกรูดสด แต่มีปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระส่วนใหญ่กว่าใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ส่วนสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ส่วนใหญ่พบในปริมาณน้อยกว่าใบมะกรูดสด การตากแห้งในที่ร่มสามารถรักษาสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและในรูปไกลโคไซด์ส่วนใหญ่ได้ใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด ยกเว้น citronellal ที่พบในรูปอิสระในปริมาณน้อยกว่าใบมะกรูดสดและใบมะกรูดทำแห้งวิธีอื่น

พัชรภรณ์ ถิ่นจันทร์

ลายมือชื่อนิติติ

วรรณ จิรภาคย์กุล

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

12 / 10 / 50

Patcharaporn Tinjan 2007: Effect of Drying Methods on Free and Glycosidically-Bound Aroma Impact Compounds of Kaffir Lime Leaves (*Citrus hystrix* (DC.)). Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Wannee Jirapakkul, Ph.D. 87 pages.

Kaffir lime leaf is a spice used in many Thai recipes. Unique odor of kaffir lime leaves are from free volatile compounds. They also have odorless glycoside form that could be changed into free form by many factors, such as, enzyme and heating processes. The purpose of this study was to study the effect of drying on aroma impact compounds in both free and glycosidically-bound forms of kaffir lime leaves. Two extraction methods, solvent extraction and solid phase extraction using Amberlite XAD-2 resin, were used to extract free and glycosidically-bound volatile compounds of fresh kaffir lime leaves. For solvent extraction method, 54 free and 39 glycosidically-bound volatile compounds were obtained and their odor descriptives related to kaffir lime leaf odors. For Amberlite XAD-2 resin, 50 free and 11 glycosidically-bound volatile compounds were obtained but most of them did not relate to volatile compounds in kaffir lime leaves.

For the study of aroma impact compound of fresh kaffir lime leaves by aroma extract dilution analysis (AEDA), citronellal and *l*-linalool had the highest log₃ FD factor values (4). The other compounds with high log₃ FD factor were α -pinene, sabinene, β -myrcene, *trans*-sabinene hydrate, β -citronellol, *trans*-geraniol, *trans*- β -caryophyllene, bicyclogermacrene and nerolidol with the values of 3. Effect of four drying methods, freeze drying, microwave assisted vacuum drying, oven drying and shade drying, were studied. Microwave assisted vacuum dried kaffir lime leaves had free aroma impact compounds similarly to fresh kaffir lime leaves but their glycosidically-bound aroma impact compounds were less than those of fresh sample. Freeze dried kaffir lime leaves had most of free and glycosidically-bound aroma impact compounds less than fresh and other dried samples. Oven dried kaffir lime leaves had less free aroma impact compounds than fresh sample but majority of free aroma impact compounds were higher than freeze dried sample. Most of glycosidically-bound aroma impact compounds of oven dried sample were less than fresh sample. Free and glycosidically-bound aroma impact compounds of shade dried kaffir lime leaves were comparable to those of fresh kaffir lime leaves, except citronellal that found in lesser amount than fresh and other dried samples.

Patcharaporn Tinjan
Student's signature

Wannee Jirapakkul
Thesis Advisor's signature

12 / 10 / 07

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรณี จิรภาคย์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษา อบรมสั่งสอนแนวทางการเรียน และสนับสนุนทั้งทางด้านการเรียนและการทำวิจัย ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ และยังให้อีกโอกาสแก่ข้าพเจ้าได้สมัครรับทุนเพื่อศึกษาต่อ กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สิริ ชัยเสรี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่อบรมสั่งสอนให้ความรู้แก่ข้าพเจ้า แนะนำแนวทางในการทำวิจัย และกรุณาให้อีกโอกาสแก่ข้าพเจ้าในการสมัครรับทุนเพื่อศึกษาต่อ กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุดสาย ศรีวานิช ประธานการสอบ และ รองศาสตราจารย์ ดร. สุนทรี สุวรรณสิขณัน อาจารย์ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและสมบูรณ์

พร้อมกันนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณครูและคณาจารย์ทุกท่านที่อบรมสั่งสอน ขอบขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย รวมถึงพี่ ๆ น้อง ๆ และ เพื่อน ๆ นิสิตปริญญาโทสาขาวิทยาศาสตร์การอาหารทุกท่านที่ให้คำแนะนำและคอยช่วยเหลืออย่างมากตลอดช่วงระยะเวลาของการศึกษาและทำวิจัย

ท้ายสุดขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ น้องชายและสมาชิกทุกคนในครอบครัวที่คอยให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน ส่งเสริม และเป็นกำลังใจที่ดีที่สุดแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

พัชราภรณ์ ถิ่นจันทร์

สิงหาคม 2550

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
ใบมะกรูด	3
สารระเหยในอาหาร	5
การทำแห้ง	14
อุปกรณ์และวิธีการ	23
อุปกรณ์	23
วิธีการ	25
ผลและวิจารณ์	32
สรุปและข้อเสนอแนะ	68
สรุป	68
ข้อเสนอแนะ	70
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	71
ภาคผนวก	80
ประวัติการศึกษา	87

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ร้อยละของสารระเหยที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากการกลั่นด้วยไอน้ำของใบและผิวมะกรูดสด	4
2	สารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย	33
3	สารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยวิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งซึ่งใช้เรซิน Amberlite XAD-2	42
4	ค่า Log_3 FD factor ของสารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ที่ให้กลิ่นในใบมะกรูดสด	52
5	สารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูดสด	57
6	ปริมาณความชื้นและน้ำหนักที่ใช้ในการวิเคราะห์ของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง	59
7	ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง	61
8	ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง	64
9	ค่า L^* a^* b^* ด้านหน้าใบและหลังใบของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง	67

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปฏิกิริยาการรวมตัวของ methanol (aglycone) และน้ำตาล α -D-glucopyranose (glycone) เพื่อสร้าง methyl glucoside (methyl- α -D-glucopyranose)	10
2	โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลและสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่พบมากในพืช	11
3	โครงสร้างและการดูดซับของเรซินชนิด Amberlite XAD-2	14
4	สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่สกัดได้โดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายและวิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งที่ใช้เรซิน XAD-2	51

ภาพผนวกที่

1	chromatogram ของสารระเหยอิสระของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย	82
2	chromatogram ของสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย	83
3	chromatogram ของสารระเหยอิสระของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งชนิด Amberlite XAD-2	84
4	chromatogram ของสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งชนิด Amberlite XAD-2	85
5	ลักษณะปรากฏของใบมะกรูดสด (a) ใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (b) ใบมะกรูดทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ (c) ใบมะกรูดทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (d) และใบมะกรูดตากแห้งในที่ร่ม (e)	86

ผลของวิธีการทำแห้งต่อสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ใน ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* (DC.))

Effect of Drying Methods on Free and Glycosidically-Bound Aroma Impact Compounds of Kaffir Lime Leaves (*Citrus hystrix* (DC.))

คำนำ

ใบมะกรูดเป็นเครื่องเทศและสมุนไพรที่นิยมใช้ปรุงอาหารไทยหลายชนิด เช่น คัมข่า คัมข่า และเครื่องแกง เนื่องด้วยการมีลักษณะกลิ่นเฉพาะของสารให้กลิ่นในใบมะกรูด กลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์จากใบมะกรูดส่วนใหญ่เกิดจากสารให้กลิ่นประเภทเทอร์ปีน (terpene) ที่อยู่ในรูปสารประกอบอิสระ นอกจากนี้ยังอยู่ในรูปที่เป็นอนุพันธ์ของไกลโคไซด์ซึ่งไม่ให้กลิ่นโดยตรง อย่างไรก็ตามสารให้กลิ่นในรูปไกลโคไซด์สามารถเปลี่ยนเป็นรูปอิสระได้ด้วยปัจจัยหลายประการ เช่น เอนไซม์ในพืช กระบวนการสุก และ ปัจจัยจากความร้อน เป็นต้น ดังนั้นในการแปรรูปเครื่องเทศและสมุนไพรให้อยู่ในรูปเครื่องปรุงพร้อมใช้จึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกลิ่นของอาหาร การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการทำแห้ง ได้แก่ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ (microwave assisted vacuum drying) การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (oven drying) และการตากแห้งในที่ร่ม (shade drying) ต่อชนิดและปริมาณของสารให้กลิ่นสำคัญทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้การป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นที่สำคัญในระหว่างกระบวนการทำแห้งได้ ซึ่งในการทดลองนี้ทำการสกัดสารระเหยด้วยวิธีการ 2 วิธี ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) และ การสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็ง (solid phase extraction) ที่ใช้เรซิน Amberlite XAD-2 วิเคราะห์ชนิดสารด้วยเครื่อง gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) เพื่อการศึกษาชนิดและปริมาณสารระเหยของใบมะกรูดสด จากนั้นศึกษาสารให้กลิ่นด้วยเครื่อง gas chromatography-olfactometry (GC-O) เพื่อคัดเลือกสารระเหยที่มีความสำคัญในมะกรูดสด และศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์ด้วยเครื่อง gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณสารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูด
2. เพื่อศึกษาสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูด
3. เพื่อศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูด

การตรวจเอกสาร

1. ใบมะกรูด

มะกรูดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Citrus hystrix* (DC.) เป็นพืชในวงศ์ Rutaceae ตระกูลเดียวกับส้ม (Citrus family) มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษ คือ kaffir lime, porcupine orange, leech lime หรือ mauritrus papeda และมีชื่อสามัญภาษาไทยตามท้องถิ่น คือ ส้มกรูด ส้มมั่วผี (ภาคใต้) มะขุน มะขูด (ภาคเหนือ) มะหูด (หนองคาย) (นิจศิริ และ พยอม, 2534) จัดเป็นพืชพื้นเมืองของเอเชียแถบอบอุ่นและแถบร้อน มีลักษณะเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีหนามเล็ก ๆ อยู่ตามกิ่ง ก้านใบมีลักษณะเป็นครีบลายแผ่นใบ ใบมีสีเขียวแก่ มีรอยคอดตรงกลางคล้ายใบสองใบต่อกัน พื้นใบเรียบ มีต่อมน้ำมันและมีกลิ่นหอม นิยมนำมาใช้ปรุงอาหารเพื่อดับกลิ่นคาวและปรุงแต่งกลิ่นของอาหาร (นิจศิริ, 2534; สมสุข, 2542; สุพจน์, 2543) และใบมะกรูดยังมีสรรพคุณในการช่วยรักษาอาการจุกเสียดและขับลมในลำไส้ (สุพจน์, 2543)

ใบมะกรูดเมื่อนำมากลั่นด้วยไอน้ำให้น้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 0.08-1.00 (ธีระพล, 2524; นิจศิริ, 2534; คมสัน, 2549) โดยมี citronellal เป็นสารระเหยหลัก (นิจศิริ, 2534; รุ่งรัตน์, 2540; สุพจน์, 2543) ซึ่งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกำหนดให้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 70 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2544) citronellal ที่พบในมะกรูดอยู่ในรูป (-)-(S)-citronellal เท่านั้น ส่วน (+)-(R)-citronellal พบใน lemon balm และตะไคร้ในปริมาณต่ำ (Katzner *et al.*, 2007) น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากผิวของผลมะกรูดมีประมาณร้อยละ 4 (นิจศิริ, 2534) โดยพบ β -pinene ในปริมาณมากที่สุด คือ ประมาณร้อยละ 30 (Lawrence *et al.*, 1971; นิจศิริ, 2534; สุพจน์, 2543) และยังพบสารระเหยชนิดอื่นในปริมาณรองลงมา ดังแสดงในตารางที่ 1 สารระเหยที่พบเฉพาะในน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดสด คือ *trans*-ocimene และ isopulegol (Lawrence *et al.*, 1971)

Pudil *et al.* (1998) ทดลองวิเคราะห์สารระเหยในน้ำมันใบมะกรูดจากอินโดนีเซียที่กลั่นด้วยไอน้ำ แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นสภาวะเร่งในการเก็บรักษา พบว่าน้ำมันหอมระเหยเกิด autooxidation ทำให้ปริมาณ citronellal ลดลงอย่างรวดเร็ว แต่มี linalool oxide เกิดขึ้นและยังเกิด *p*-mentha-1,4-(8)-diene และ *p*-menth-8-en-3-ol เป็นสารมัธยันต์ (intermediate) อย่างรวดเร็ว แต่ก็สลายไปขณะเกิด autooxidation นอกจากนี้ยังพบสารระเหยอื่น ๆ คือ α -phellandrene,

β -phellandrene, α -terpinene, *cis*-ocimene, 3-hydroxycyclopentanone, 4-methyl-(2-methyl-1-propenyl)-tetrahydropyran, 2,2,6-trimethylcyclohexanone, octahydro-3A-methyl-*cis*-2*H*-inden-2-one, *cis*-linalool oxide และ citronellyl formate

ตารางที่ 1 ร้อยละของสารระเหยที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากการกลั่นด้วยไอน้ำของใบและผิวมะกรูดสด

สารระเหย	ใบมะกรูด (%)	ผิวมะกรูด (%)
α -pinene	0.2	2.5
camphene	Trace	0.2
β -pinene	}	30.6
sabinene		22.6
myrcene		1.4
limonene		29.2
1,8-cineole	-	1.3
<i>trans</i> -ocimene	0.3	-
γ -terpinene	0.2	0.1
<i>p</i> -cymene	0.1	0.1
terpinolene	0.2	0.1
<i>trans</i> -sabinene hydrate	-	0.6
citronellal	65.4	4.2
copaene	0.1	0.6
linalool	2.9	0.5
β -cubebene	0.1	0.5
isopulegol	4.9	-
4-terpineol	-	}
β -elemene	-	
caryophyllene	0.4	
citronelly acetate	5.1	0.2
α -terpineol	-	0.7
geranial	-	0.1
citronellol	}	}
geranyl acetate		
δ -cadinene		
geraniol		
nerolidol	-	0.1
elemol	-	0.3

ที่มา: ดัดแปลงจาก Lawrence *et al.* (1971)

2. สารระเหยในอาหาร

กลิ่นเป็นสมบัติที่สำคัญทางด้านประสาทสัมผัสของอาหาร โดยกลิ่นของอาหารชนิดหนึ่งอาจประกอบด้วยสารให้กลิ่นเพียงชนิดเดียว แต่โดยมากแล้วจะประกอบด้วยสารให้กลิ่นหลายชนิด สารให้กลิ่นมีลักษณะเป็นสารที่สามารถระเหยสู่อากาศได้ง่าย แต่สารระเหย (volatile compounds) ที่มีอยู่ในอาหารมีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่เป็นสารให้กลิ่น (aroma compounds) และในบรรดาสารให้กลิ่นจะมีบางชนิดเท่านั้นที่เป็นสารให้กลิ่นสำคัญ (aroma active compounds หรือ character impact compounds) ซึ่งหากขาดสารให้กลิ่นชนิดนี้กลิ่นของอาหารชนิดนั้นจะเปลี่ยนไปจนไม่สามารถระบุว่าเป็นอาหารชนิดใด

2.1 ประเภทของสารระเหยในอาหาร

การแบ่งประเภทของสารระเหยมีหลักการในการแบ่งประเภทหลายรูปแบบ เช่น การแบ่งประเภทสารระเหยตามที่มา และการแบ่งประเภทของสารระเหยตามลักษณะโครงสร้างของโมเลกุล เป็นต้น

2.1.1 การแบ่งประเภทสารระเหยตามที่มา ซึ่งแบ่งสารระเหยออกได้เป็น 3 ประเภท (Fisher and Scott, 1997) ได้แก่

2.1.1.1 สารระเหยธรรมชาติ (natural)

เป็นสารระเหยที่แยกได้จากธรรมชาติโดยตรง ได้แก่ น้ำมันหอมระเหย oleoresin และ cinnamondehyde เป็นต้น

2.1.1.2 สารระเหยเลียนแบบธรรมชาติ (nature identical)

เป็นสารระเหยที่สร้างขึ้นเพื่อเลียนแบบสารระเหยจากธรรมชาติ และมีโครงสร้างโมเลกุลเหมือนสารระเหยธรรมชาติ สังเคราะห์ขึ้นเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติบางประการของสารระเหยธรรมชาติ เช่น เพื่อเพิ่มความคงตัว และเพื่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมขนาด

ใหญ่ที่ต้องใช้สารระเหยในปริมาณมาก ซึ่งสารระเหยกลุ่มนี้ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) เอสเทอร์ (ester) และ แอลกอฮอล์ (alcohol) เป็นต้น

2.1.1.3 สารระเหยสังเคราะห์ (synthetic/artificial)

เป็นสารระเหยที่สังเคราะห์ขึ้นและมีโครงสร้างโมเลกุลแบบที่ไม่พบในธรรมชาติ เช่น ally butyrate, citral dimethyl acetal และ phenyl disulfide เป็นต้น

2.1.2 การแบ่งสารระเหยตามลักษณะ โครงสร้างของโมเลกุล สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ (Shaikh, 2002) ได้แก่

2.1.2.1 สารประกอบออกซิเจน (oxygenated compound)

เป็นสารประกอบที่มีออกซิเจนในโครงสร้างของโมเลกุล ได้แก่ แอลกอฮอล์ (alcohol) อัลดีไฮด์ (aldehyde) คีโตน (ketone) ไดคีโตน (diketone) อะซีทัล (acetal) กรด (acid) เอสเทอร์ (ester) และแล็กโตน (lactone)

2.1.2.2 สารประกอบเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic compound)

เป็นสารให้กลิ่นที่ลักษณะ โครงสร้างของโมเลกุลเป็นวงแหวน สารให้กลิ่นกลุ่มนี้พบมากในอาหารที่ผ่านความร้อน เช่น กาแฟ โกโก้ และเนื้อสัตว์ ที่พบไพราซีน (pyrazine) ไทอะโซล (thiazole) และฟูแรน (furan) นอกจากนี้สารในกลุ่มนี้ยังได้แก่ ไทอะโซลีน (thiazoline) ไทอะโซลิดีน (thiazolidine) ออกซาโซล (oxazole) ออกซาโซลีน (oxazoline) ไทโอฟิน (thiophene) ไทโอฟีโนน (thiophenone) และไพร์โรล (pyrole)

2.1.2.3 สารประกอบซัลเฟอร์ (sulfur compound)

เป็นสารประกอบกลุ่มที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ เมอร์แคปแทน (mercaptane) หรือ ไทออล (thiol) ไทโออัลดีไฮด์ (thioaldehyde) ไทโอคีโตน (thioketone) ไทโอเอสเทอร์ (thioester) ไทโอแอซิด (thioacid) ซัลไฟด์ (sulfide) ไทโอไซยานาต

(thiocyanate) ไทอะโซล (thiazole) ไทโอฟิน (thiophene) และ สารประกอบซัลเฟอร์ชนิดที่เป็นเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic sulfur compounds)

2.2 รูปแบบของสารระเหยในอาหาร

สารระเหยในอาหารพบทั้งในรูปสารระเหยอิสระ (free volatile compounds) และ สารระเหยที่เกิดพันธะกับองค์ประกอบอื่นในอาหาร (bound-volatile compounds) ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรต โดยเฉพาะสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ (glycosidically-bound volatile compounds) ซึ่งเป็นรูปแบบที่พบมากในผักและผลไม้

2.2.1 สารระเหยอิสระ (free volatile compound)

สารระเหยอิสระเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดการรับรู้กลิ่นของอาหาร เป็นรูปแบบสารให้กลิ่นที่จมูกของมนุษย์สามารถตรวจจับได้ทันที โดยลักษณะกลิ่นของอาหารจะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารให้กลิ่น โดยสารระเหยบางชนิดแม้มีปริมาณน้อยแต่ก็ยังสามารถรับรู้ถึงกลิ่นของสารชนิดนั้นได้ เนื่องจากเป็นสารที่มี threshold ต่ำ ในผักและผลไม้ส่วนมากพบว่าสารให้กลิ่นอิสระมักมีความเข้มข้นมากกว่าสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ (Chyau *et al.*, 2003) และสารระเหยอิสระมักเกิดจากกระบวนการหลัก 3 กระบวนการ (Fisher and Scott, 1997) ได้แก่

2.2.1.1 กระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (biogenesis)

สารระเหยอิสระส่วนมากมักเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะในผักและผลไม้ สารให้กลิ่นจะถูกสร้างขึ้นผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ที่เปลี่ยนสารตั้งต้นปฐมภูมิ (primary metabolites) ซึ่งได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ซึ่งก็คือสารระเหยและสารอื่นที่สร้างขึ้นเพื่อการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ เช่น สร้างขึ้นเพื่อเป็นกลไกในการป้องกันตนเองของพืช หรือ สร้างขึ้นเพื่อดึงดูดแมลงให้มาผสมเกสร เป็นต้น ซึ่งสารผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิ เช่น alkaloid, flavonoid และ phenol เป็นต้น ตัวอย่างกลไกการสังเคราะห์ทางชีวภาพที่ทำให้

เกิดสารระเหยอิสระ ได้แก่ β -oxidation pathway ซึ่งเป็นกระบวนการสังเคราะห์สารให้กลิ่น เช่น aliphatic ester, alcohol, acid และ carbonyl จากกรดไขมันอิสระ เป็นต้น

2.2.1.2 กระบวนการแปรรูปอาหาร (food processing)

กระบวนการแปรรูปอาหารโดยเฉพาะการให้ความร้อนแก่อาหารทำให้เกิดสารระเหยอิสระที่ให้กลิ่นหลายชนิด โดยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และลิกนิน จะเกิดการสลายตัวเป็นสารระเหยหลายชนิด เช่น ปฏิกิริยา sugar thermal breakdown ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อให้ความร้อนแก่น้ำตาลในสถานะที่มีความชื้นต่ำในช่วงอุณหภูมิ 150 ถึง 180 องศาเซลเซียส ในสภาวะนี้โมเลกุลของน้ำตาลจะสูญเสียน้ำเกิดเป็น anhydro sugar และส่งผลให้เกิด furfural จากน้ำตาลเพนโทส หรือการเกิด 5-hydroxymethylfurfural จากน้ำตาลเฮกโซส หรือปฏิกิริยา caramelization ซึ่งใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกกวาด โดยน้ำตาลจะถูกให้ความร้อนเพื่อให้เกิดสารระเหยให้กลิ่น เช่น การต้มน้ำหวานเมเปิล (maple sap) เพื่อให้เกิดสารระเหยให้กลิ่น เช่น malton, furaneol, isomaltol, cyclotene และ maple lactone เป็นต้น

2.2.1.3 การใช้จุลินทรีย์ในการหมักหรือเทคโนโลยีทางชีวภาพ

(fermentation /biotechnology)

กระบวนการหมักถูกนำมาใช้ในการผลิตอาหารหลายชนิดมาเป็นเวลานาน เช่น การใช้ยีสต์ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และขนมปัง ซึ่งสามารถสร้างสารระเหยชนิด aromatic alcohol, fatty acid ester, carbonyl, lactone และสารประกอบฟีนอลิกบางชนิด นอกจากเซลล์ของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารให้กลิ่นได้เองแล้ว เอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ก็มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดสารระเหย เช่น เอนไซม์จากจุลินทรีย์ในนมที่มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดสารระเหยที่ให้กลิ่นเฉพาะของชีส เป็นต้น

2.2.2 สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ (glycosidically-bound volatile compound)

สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1913 โดย Bourquelot และ Bridel ซึ่งพบ geranyl- β -D-glucoside ใน *Pelargonium odoratissimum* และต่อมาในปี 1969 พบ terpenyl glycoside ในกลีบดอกกุหลาบ (Crouzet and Chassagne, 1999) ปัจจุบันมี

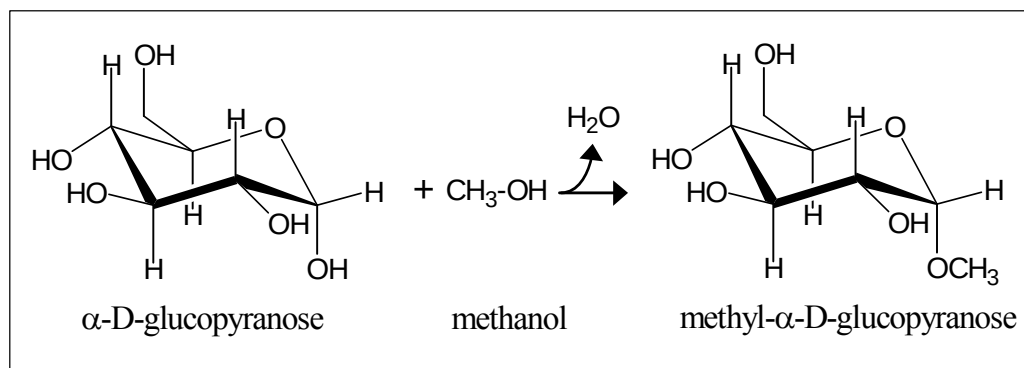
การศึกษาเกี่ยวกับสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ในพืชกว่า 170 ชนิดใน 50 สายพันธุ์ โดยพบสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ในส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ ดอก ผล ใบ ราก และเปลือกไม้ การปลดปล่อยสารระเหยจากสารตั้งต้นเกิดจากเอนไซม์และปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งอาจเกิดในระหว่างกระบวนการสุก การเตรียมวัตถุดิบก่อนการแปรรูป และในระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหาร ซึ่งการปลดปล่อยสารระเหยจากสารตั้งต้นดังกล่าวอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการส่งกลิ่นหอมของดอกไม้ กลิ่นของผลไม้ และกลิ่นเผ็ดร้อนของเครื่องเทศ และนอกจากนั้นยังเกี่ยวข้องการป้องกันตัวเองจากจุลินทรีย์ แมลง และ สัตว์รบกวนต่าง ๆ (นิจศิริ, 2534) ตัวอย่างปฏิกิริยาการปลดปล่อยสารระเหยจากสารตั้งต้นด้วยเอนไซม์หรือกรด เช่น สาร vanillin ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นหลักของวานิลลาถูกปลดปล่อยจาก vanillin glucoside ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่ไม่มีกลิ่นและมีรสขมด้วยเอนไซม์ endogenous- β -glucosidase ในระหว่างการหมักฝักวานิลลา (vanilla pods) หรือ การเพิ่มขึ้นของน้ำมันหอมระเหยของเปปเปอร์มินต์ (peppermint) ในระหว่างการเก็บรักษา หรือ การเพิ่มขึ้นของน้ำมันหอมระเหยของดอกกุหลาบหลังกระบวนการ acidification ในระหว่างการกลั่นด้วยไอน้ำ ซึ่งเกิดจากการย่อยสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ด้วยเอนไซม์หรือกรด (Ferrier, 1988) สารระเหยในรูปไกลโคไซด์เป็นสารที่ช่วยสะสมสารให้กลิ่น ซึ่งปฏิกิริยาการเกิดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์เรียกว่า glycosylation เป็นกลไกที่พัฒนาขึ้นเพื่อต่อสู้กับความเป็นพิษของสารกลุ่มที่ชอบจับกับไขมัน (lipophilic compound) และนอกจากนั้นยังอาจเกี่ยวข้องกับการขนส่งสารกลุ่มเทอร์ปีน (terpene compound) รวมถึงสารกลุ่มอื่นที่สังเคราะห์บริเวณใบไปยังดอก และเมื่อสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ถูกย่อยจะเกิดกลิ่นหอมเนื่องจากสารให้กลิ่นถูกปลดปล่อยในช่วงระหว่างที่ดอกบาน (Crouzet and Chassagne, 1999)

2.2.2.1 โครงสร้างทางเคมีของสารระเหยในรูปไกลโคไซด์

สารระเหยในรูปไกลโคไซด์เกิดจากการรวมตัวของส่วนที่เป็นสารระเหยหรือที่เรียกว่า aglycone และ anomeric hydroxyl (OH) ของน้ำตาลที่เรียกว่า glycone ด้วยพันธะไกลโคไซด์และมีการปลดปล่อยน้ำออกจากโครงสร้างของโมเลกุล (Remsselare, n.d.; Ferrier, 1988) ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างของการเกิดสาร methyl glucoside (methyl- α -D-glucopyranose) จากปฏิกิริยาการรวมตัวของ methanol (aglycone) และน้ำตาล α -D-glucopyranose (glycone) ในสภาวะปกติสารระเหยในรูปไกลโคไซด์จะเสถียร ไม่สามารถเปิดโครงสร้างวงแหวนออกเหมือนน้ำตาลปกติได้ และมีคุณสมบัติ non-reducing (Ferrier, 1988) พันธะไกลโคไซด์ระหว่างน้ำตาลและสารระเหยที่พบในผักและผลไม้มักเป็นพันธะ β -glycosidic มากกว่าพันธะ α -

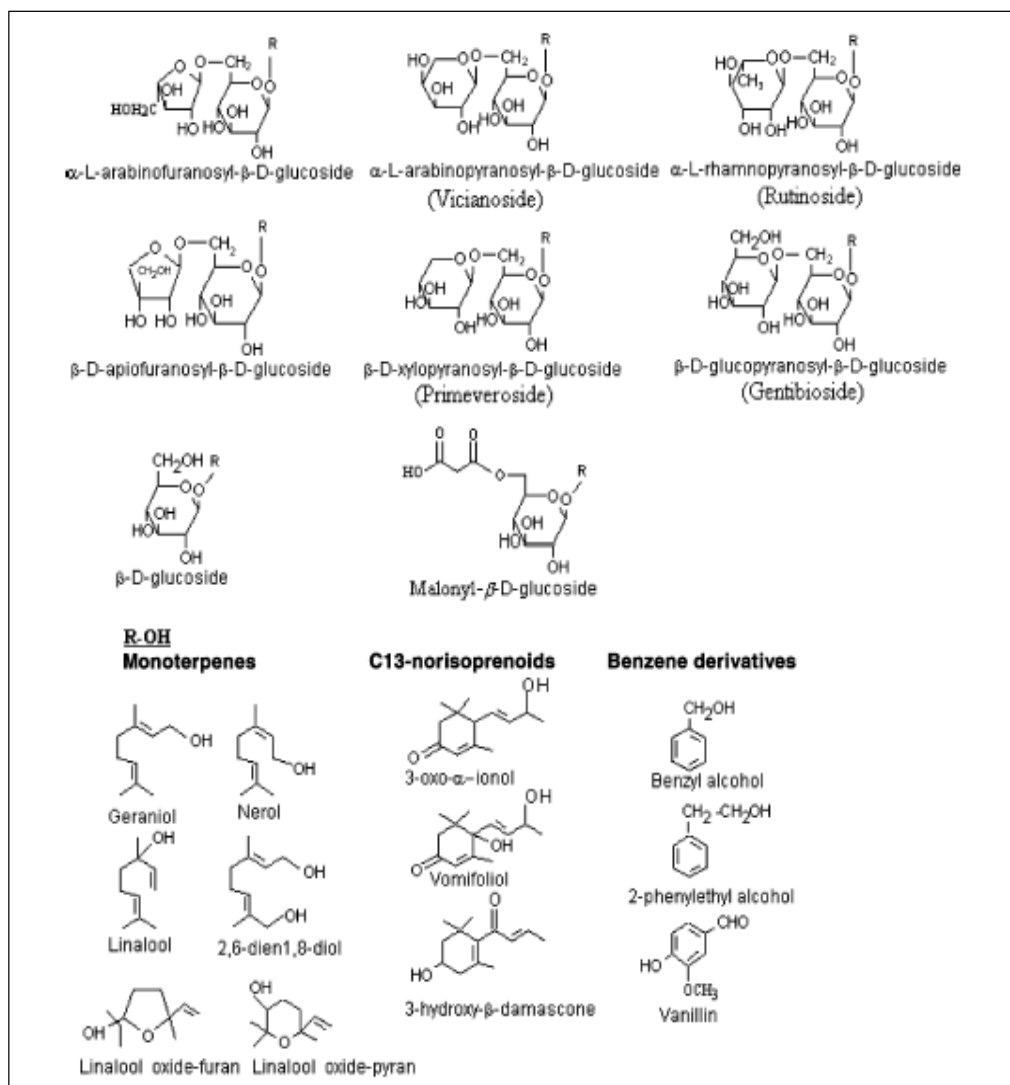
glycosidic (Chyau *et al.*, 2003) และสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ไม่สามารถระเหยเพื่อให้กลิ่นได้ จนกว่าพันธะระหว่างสารระเหยและน้ำตาลจะถูกทำลาย

สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่พบในผักและส่วนมากจะอยู่ในรูป *O*- β -D-glucosides หรือ *O*-diglycosides ชนิดของน้ำตาลที่ทำพันธะกับสารระเหยส่วนมากจะเป็น ไดแซ็กคาไรด์ (disaccharide) แต่ในบางกรณีจะพบในรูปของโมโนแซ็กคาไรด์ (monosaccharide) และไตรแซ็กคาไรด์ (trisaccharide) และสารระเหยจะทำพันธะไกลโคไซด์กับโมเลกุลของ β -D-glucopyranose ในกรณีของไดแซ็กคาไรด์นั้นกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลชนิดหลักที่สารระเหยทำพันธะอยู่ด้วยจะทำพันธะกับน้ำตาลอีกโมเลกุลหนึ่งซึ่งน้ำตาลชนิดที่พบมาก ได้แก่ α -L-arabinofuranose, α -L-arabinopyranose, α -L-rhamnopyranose, β -D-glucopyranose, β -D-apiofuranose และ β -D-xylopyranose ดังแสดงในภาพที่ 2 (Sarry and Günata, 2004)



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาการรวมตัวของ methanol (aglycone) และ α -D-glucopyranose (glycone) เพื่อสร้าง methyl glucoside (methyl- α -D-glucopyranose)

ที่มา: Rennsselare (n.d.)



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลและสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่พบมากในพืช

ที่มา: Sarry and Günata (2004)

2.3 การสกัดสารให้กลิ่น

ขั้นตอนการวิเคราะห์สารให้กลิ่นมีหลายขั้นตอน ได้แก่ การคัดเลือกและเตรียมตัวอย่าง การสกัดสารให้กลิ่น และการวิเคราะห์ด้วย gas chromatography (GC) แต่ขั้นตอนที่มีความสำคัญและต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมคือ ขั้นตอนการสกัดสารให้กลิ่น เนื่องจากสารให้กลิ่นเป็นสารที่มีปริมาณต่ำ และกระจายตัวในเมทริกซ์อาหารซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน

และน้ำอย่างซับซ้อน ดังนั้นการสกัดสารให้กลิ่นจึงเป็นเรื่องยาก ซึ่งวิธีที่จะสกัดสารให้กลิ่นจากตัวอย่างอาหารเพื่อนำมาวิเคราะห์มีหลายวิธี แต่โดยทั่วไปแล้ววิธีการสกัดสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามหลักการที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ วิธีการสกัดโดยอาศัยความแตกต่างของความสามารถในการระเหย (volatility) และวิธีการสกัดโดยอาศัยความแตกต่างของความสามารถในการละลาย (solubility) (Reineccius, 2006) การพิจารณาเลือกใช้วิธีการใดนั้นขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของงานวิจัย สำหรับงานวิจัยที่ต้องการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารให้กลิ่นทั้งหมดในตัวอย่างอาหาร วิธีการหนึ่งที่เหมาะสมคือการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction method) และวิธีการอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการสกัดสารให้กลิ่นในรูปโกลโคไซด์คือ การสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็ง (solid phase extraction) ที่ใช้เรซินชนิด Amberlite XAD-2 resin (Crouzet and Chassagne, 1999)

2.3.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีการที่ง่ายที่สุดและมีประสิทธิภาพวิธีหนึ่ง สามารถสกัดตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นของเหลวและของแข็ง (Pomeranz and Meloan, 1978) วิธีนี้เหมาะสำหรับงานวิจัยที่มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารระเหยทั้งหมดในตัวอย่าง เนื่องจากวิธีนี้ตัวทำละลายจะสัมผัสกับตัวอย่างโดยตรง จึงทำให้สามารถสกัดสารได้หลายกลุ่มมากกว่าวิธีสกัดวิธีอื่น (Pomeranz and Meloan, 1978; Reineccius, 2006) สำหรับตัวอย่างอาหารที่ใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำชา (Huaifu and Xiaoqing, 1996) ออริกาน (Milos *et al.*, 2000) ขนมะปราง (Sides *et al.*, 2000) และ ยาสูบ (Zhu *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตามวิธีการนี้มีข้อจำกัดคือเหมาะสำหรับอาหารที่ไม่มีไขมัน เพราะหากตัวอย่างอาหารมีไขมัน ตัวทำละลายก็จะสกัดไขมันออกมาด้วย เพราะสารให้กลิ่นส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มที่ชอบจับกับไขมัน (lipophilic compound) จึงจำเป็นต้องมีวิธีอื่นเพื่อแยกเอาไขมันออกก่อนการวิเคราะห์ เช่น การกลั่นระดับโมเลกุล (molecular distillation) การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) เทคนิคแบบ dynamic headspace หรือ การใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับการกลั่นในระบบสุญญากาศ เพื่อกำจัดไขมันในตัวอย่างอาหาร เป็นต้น (Reineccius, 2006) ปัจจัยอีกประการหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงในการเลือกใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย คือ ความบริสุทธิ์ของตัวทำละลาย (solvent purity) ซึ่งต้องเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีความบริสุทธิ์สูง ในบางครั้งควรมีการกลั่นก่อนนำไปสกัดตัวอย่าง จึงควรเลือกใช้ตัวทำละลายที่ระบุไว้ใช้กับ gas chromatography (GC grade) หรือ high performance liquid chromatography (HPLC grade) และนอกจากนั้นยังต้องคำนึงถึงชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ซึ่งต้องมีความสามารถในการละลายสัมพัทธ์ (relative solubility) ที่เหมาะสมกับตัวอย่างแต่ละชนิด

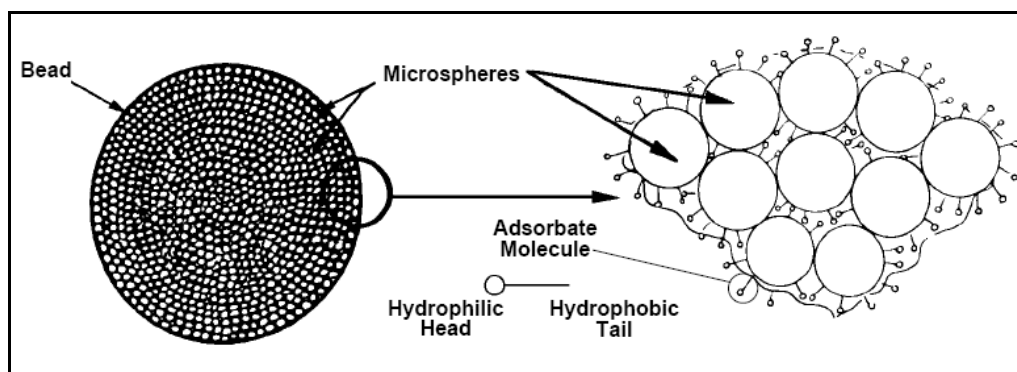
การสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งวิธีการที่ง่ายที่สุดคือการสกัดตัวอย่างในกรวยแยก (separating funnel) ซึ่งสกัดด้วยการเขย่าตัวอย่างผสมกับตัวทำละลาย (Reineccius, 2006) และนอกจากนี้ยังมีการนำแท่งแม่เหล็ก (magnetic bar) มาประยุกต์ใช้ให้เกิดการเคลื่อนที่ของตัวอย่างเพื่อให้สามารถสกัดสารระเหยออกมาได้มากขึ้น โดยพบว่าเมื่อนำแท่งแม่เหล็กมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการสกัดสารระเหยจากตัวอย่างที่เป็นของแข็งพบว่า สามารถสกัดสารระเหยได้ในปริมาณเพิ่มขึ้น (App and Tock, 2005)

2.3.2 การสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็ง (solid phase extraction)

วิธีการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งเป็นวิธีการที่ใช้ในการสกัดและทำความสะอาดตัวอย่างที่สกัดออกมาด้วยวิธีการอื่น ซึ่งใช้สารดูดซับที่เป็นของแข็งเป็นเฟสคงที่และใช้ตัวทำละลายเป็นเฟสเคลื่อนที่เพื่อแยกสารที่ต่างชนิดกันออกมา ปัจจุบันมีการพัฒนาสารดูดซับที่เป็นของแข็งให้มีความจำเพาะต่อชนิดของสารระเหยมากขึ้น และลดสิ่งรบกวนการวิเคราะห์ได้มากขึ้น วิธีการนี้จึงเหมาะกับสารให้กลิ่นแบบกึ่งระเหย (semi-volatile aroma compound) (Sides *et al.*, 2000) นอกจากนี้วิธีการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งเป็นวิธีการที่นำมาประยุกต์ใช้เพื่อลดข้อจำกัดบางประการของวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย (Ballesteros *et al.*, 2000) เนื่องจากการสกัดด้วยตัวทำละลายไม่สามารถสกัดสารที่จำเพาะได้ แต่สกัดสารออกมาหลายกลุ่ม ได้แก่ น้ำ สารสี น้ำตาล กรดอินทรีย์ หรือสารกลุ่มเพกติก แต่การใช้เฟสดูดซับแบบไฮโดรโฟบิกที่เป็นของแข็ง (hydrophobic solid phase) จะช่วยกำจัดสารมีขั้วเหล่านี้ได้ เฟสดูดซับที่นิยมใช้ได้แก่ C18-reversed phase adsorbent และ Amberlite XAD-2 resin (Crouzet and Chassagne, 1999)

เรซินชนิด Amberlite XAD-2 เป็นโคโพลิเมอร์แบบ crosslinked polystyrene มีคุณสมบัติเป็นโมเลกุลไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) มีโครงสร้างแบบ nonionic มีลักษณะเป็นเม็ดสีขาว ไม่ละลายน้ำ ขนาด 20-40 mesh นิยมใช้ในงานวิจัยสารหลายประเภท เช่น สาร antibiotic สารอินทรีย์ในสภาวะแวดล้อม รวมไปถึงสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ ลักษณะโครงสร้างและกระบวนการดูดซับของเรซินชนิด Amberlite XAD-2 แสดงในภาพที่ 3 โดยภายในเม็ด bead 1 เม็ดนั้นจะประกอบไปด้วย microsphere ขนาดเล็กจำนวนมาก ทำให้เกิดเป็นเฟสของเจลและเฟสของรูพรุนที่ต่อเนื่อง โครงสร้างแบบรูพรุนนี้จะทำให้น้ำหรือของเหลวสามารถเคลื่อนที่ผ่านได้ ในกระบวนการดูดซับ สารส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกของตัวอย่างจะถูกดูดซับไว้ที่ผิวที่เป็น

โพลีสไตรีนแบบเป็นไฮโดรโฟบิกของเรซิน Amberlite XAD-2 ด้วยแรงยึดจับแวนเดอร์วาลส์ (London-van der Waals dispersion force) ในขณะที่ส่วนที่เป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophilic part) จะยังคงจัดเรียงตัวอยู่ที่เฟสที่เป็นของเหลว ซึ่งจะเห็นได้ว่าโมเลกุลของสารตัวอย่างจะถูกดูดซับไว้ที่บริเวณผิวนอกของเรซิน แต่ไม่ได้ถูกดูดซับในโครงสร้างของ microsphere ดังนั้นหากมีการเลือกใช้ตัวทำละลายและเทคนิคการชะแยกสารที่เหมาะสมก็จะทำให้สามารถแยกสารประเภทต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sigma-Aldrich Co., 1997)



ภาพที่ 3 โครงสร้างและการดูดซับของเรซินชนิด Amberlite XAD-2

ที่มา: Sigma-Aldrich Co., 1997

3. การทำแห้ง

การทำแห้งเป็นวิธีการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารที่ทำได้ง่ายและเก่าแก่ที่สุดวิธีหนึ่ง โดยเป็นกระบวนการกำจัดน้ำในอาหาร เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร โดยปริมาณความชื้นที่จะป้องกันการเน่าเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ได้โดยทั่วไป คือ ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของอาหารเป็นสำคัญ (สมบัติ, 2526) และการทำแห้งยังช่วยลดปริมาณน้ำที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเสื่อมเสียของอาหาร และนอกจากนี้การทำแห้งยังเป็นวิธีการที่ช่วยลดต้นทุนในการขนส่งอาหารโดยการลดน้ำหนักและขนาดของภาชนะบรรจุที่ใช้ การทำแห้งเป็นวิธีการที่ใช้ความร้อนเพื่อระเหยน้ำออกจากอาหาร โดยตัวกลางที่นิยมใช้ในการระเหยน้ำออกจากอาหารคืออากาศ ขั้นตอนหลักที่เกี่ยวข้องกับการระเหยน้ำออกจากอาหารคือการเคลื่อนย้ายน้ำจากภายในอาหารออกสู่ผิวนอกของอาหาร และการเคลื่อนย้ายไอน้ำออกจากพื้นผิวนอกของอาหาร การทำแห้งเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีควรทำโดยใช้เวลาน้อยที่สุด โดยปัจจัย

ที่ส่งผลต่อการทำแห้ง ได้แก่ ขนาดและโครงสร้างทางชีวภาพของวัตถุดิบ คุณสมบัติของตัวกลางที่ใช้ในการเคลื่อนย้ายน้ำออกจากอาหาร และลักษณะของเครื่องมือที่ใช้ในการทำแห้ง (Bassey, 1981)

3.1 หลักการพื้นฐานของการทำแห้ง

น้ำที่อยู่ในอาหารมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการทำแห้งของอาหาร น้ำในอาหารแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ (1) โมเลกุลน้ำที่ยึดกับโมเลกุลกลุ่มอีนิก ได้แก่ กลุ่มคาร์บอกซิลและ แอมิโน (2) โมเลกุลน้ำที่ยึดกับโมเลกุลกลุ่มไฮดรอกซิลและเอไมด์ (amide) ด้วยพันธะไฮโดรเจน และ (3) โมเลกุลน้ำอิสระที่พบในช่องว่างอินเตอร์ทีเชียล (interstitial pore) ระดับความยากง่ายของการกำจัดน้ำออกจากอาหารจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับว่าน้ำนั้นอยู่ในกลุ่มใด โดยน้ำอิสระจะระเหยและถูกกำจัดไปในตอนแรก จากนั้นจะเป็นโมเลกุลน้ำที่ยึดด้วยพันธะไฮโดรเจน และสุดท้ายจะเป็นน้ำที่ยึดด้วยพันธะอีนิก นอกจากนี้กลไกที่แตกต่างกันของน้ำที่ยึดกับของแข็งยังมีผลต่อลักษณะเฉพาะของคุณภาพอาหารระหว่างการเก็บรักษา (รุ่งนภา, 2535) โดยการยึดกันระหว่างน้ำและองค์ประกอบภายในอาหารมีหลายประเภท ได้แก่ แรงยึดจับแวนเดอร์วาลส์ (London-van der Waals dispersion force) พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bound) แรงคูลอมป์ (Coulomb force) ระหว่างน้ำ อีออน และกลุ่มโมเลกุลที่แยกตัวออกจากกัน ผลจากการละลาย (dissolution effect) การเปลี่ยนแปลงการเคลื่อนที่ของส่วนที่เป็นโพลิเมอร์ (change in mobility of polymer segments) และ แรงคาปิลารี (capillary force) (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996)

การทำแห้งอาหารโดยทั่ว ๆ ไป ทำได้ 2 วิธี (สมบัติ, 2526) คือ

3.1.1 การทำให้อาหารแห้งโดยธรรมชาติ

การทำแห้งวิธีนี้อาศัยความร้อนจากแสงอาทิตย์ หรือลม โดยแสงอาทิตย์และลมจะช่วยพัดพาเอาไอน้ำที่ระเหยออกจากอาหาร วิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้เวลาในการทำแห้งนานเนื่องจากอัตราการแห้งต่ำ และยังขึ้นกับสภาวะอากาศ แต่วิธีนี้ยังใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศกำลังพัฒนาและมีแสงพอเพียง แต่ปัจจุบันการทำแห้งด้วยแสงอาทิตย์ได้มีการพัฒนาขึ้นเป็นตู้อบพลังงานแสงอาทิตย์ขึ้นเพื่อทำให้สามารถควบคุมอัตราเร็วในการทำแห้งอาหารได้

3.1.2 การทำให้อาหารแห้งด้วยวิธีเชิงกล

การทำแห้งด้วยวิธีนี้เป็นการทำแห้งที่ใช้เทคนิคและหลักวิชาการทางวิทยาศาสตร์เข้ามาเกี่ยวข้องเป็นอย่างมาก ทำให้สามารถควบคุมอัตราการทำแห้งได้ ทำให้ผลิตอาหารได้เร็ว คุณภาพดีขึ้น และมีปริมาณความชื้นตามที่ต้องการ วิธีการนี้อาศัยหลักของการส่งผ่านความร้อนเข้าไปในชิ้นอาหารทำให้น้ำกลายเป็นไอ และระเหยออกไปจากผิวหน้าของอาหาร ความร้อนที่ส่งเข้าไปอาจจะมีกลไกที่แตกต่างกัน ได้แก่ (1) การนำความร้อน (conduction) เช่น เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งทรงกระบอก (drum dryer) และเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) เป็นต้น (2) การพาความร้อน (convection) เช่น เครื่องทำแห้งแบบตู้หรือแบบห้อง (cabinet dryer) เครื่องทำแห้งแบบอุโมงค์ (tunnel dryer) และเครื่องทำแห้งแบบสเปรย์ (spray dryer) เป็นต้น หรือ (3) การแผ่รังสี (radiation) เช่น เครื่องทำแห้งแบบรังสีอินฟราเรด (infrared dryer) และเครื่องทำแห้งแบบไมโครเวฟ (microwave dryer) เป็นต้น

3.2 การทำแห้งสมุนไพร

การทำแห้งเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยรักษากลิ่นรสของสมุนไพรให้คงอยู่ได้ในช่วงฤดูที่สมุนไพรไม่มีผลผลิตที่จะนำมาใช้ปรุงอาหารได้ และแม้ว่าการใช้สมุนไพรสดจะให้กลิ่นรสแก่อาหารได้ดีกว่า แต่ในฤดูที่ขาดแคลนสมุนไพรทำแห้งก็สามารถนำมาใช้ทดแทนได้ และนอกจากนั้นยังมีพืชบางชนิดที่ใช้ประกอบอาหารในลักษณะสมุนไพรทำแห้ง เช่น เครื่องเทศ หรือชา เป็นต้น การทำแห้งส่งผลต่อคุณภาพของสมุนไพร เช่น การเปลี่ยนแปลงทางด้านลักษณะปรากฏ และกลิ่นรสของสมุนไพร ซึ่งมีสาเหตุมาจากการสูญเสียสารระเหยไปในระหว่างการทำแห้ง หรือการเกิดสารระเหยชนิดใหม่จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) หรือ ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (esterification reaction) เป็นต้น

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของสารระเหยในสมุนไพรแห้งได้รับความสนใจมากขึ้น ปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงและคุณภาพด้านกลิ่นรสของสมุนไพร คือ วิธีการทำแห้ง ดังการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของสารระเหยในผักชีฝรั่ง (Parsley: *Petroselinum crispum* L.) พบว่าการทำแห้งด้วยอากาศ (air drying) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน มีการสูญเสียสารให้กลิ่นสำคัญน้อยกว่าวิธีการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมงและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) ที่อุณหภูมิ -53.2

องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสด (Diaaz-Maroto *et al.*, 2002b) และนอกจากนั้นในการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อสารระเหยใน thyme (*Thymus vulgaris* L.) และ sage (*Salvia officinalis* L.) ซึ่งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 30 และ 60 องศาเซลเซียสและการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งกับตัวอย่างสด พบว่า การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสทำให้เกิดการสูญเสียของสารระเหยมากที่สุด โดยเฉพาะสารระเหยในกลุ่ม non-oxygenated monoterpenes ส่วนตัวอย่างที่ทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณสารระเหยไม่แตกต่างจากตัวอย่างสด (Venskutonis, 1997)

วิธีการที่มีการศึกษาและนิยมใช้ทำแห้งสมุนไพร ได้แก่ การตากแห้งในที่ร่ม (shade drying) การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (oven drying) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying หรือ lyophilization) และ การทำแห้งด้วยไมโครเวฟในสถานะสุญญากาศ (microwave assisted vacuum drying)

3.2.1 การตากแห้งในที่ร่ม (shade drying)

การตากแห้งในที่ร่มเป็นวิธีการทำแห้งสมุนไพรแทนการทำแห้งด้วยแสงอาทิตย์ เนื่องจากการทำแห้งด้วยแสงอาทิตย์ทำให้เกิดการสูญเสียกลิ่นรสและทำให้สีเปลี่ยนแปลงจนไม่เป็นที่ยอมรับ โดยแสงอัลตราไวโอเลตทำให้สีของสมุนไพรซีดจางและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Hirasa and Takamasa, 1998) การตากแห้งในที่ร่มเป็นวิธีการที่มีต้นทุนต่ำที่สุดในการถนอมและยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้พลังงานความร้อนตามธรรมชาติ การตากแห้งในที่ร่มนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ในประเทศเขตร้อนที่มีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำและไม่มีฝนในช่วงหลังการเก็บเกี่ยว วัตถุดิบที่เหมาะสมกับการตากแห้งในที่ร่มควรมีพื้นผิวสัมผัสกับอากาศสูง เพื่อให้ไอน้ำระเหยออกไปได้เร็ว เนื่องจากวิธีการนี้เป็นวิธีที่ใช้อุณหภูมิต่ำ หากการเคลื่อนที่ของน้ำออกจากอาหารเป็นไปได้ช้าอาจเกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ หรืออาจเกิดความเสียหายจากแมลงหรือสัตว์รบกวนอื่น ๆ ดังนั้นจึงอาจมีการประยุกต์เครื่องมือเพื่อช่วยให้การทำแห้งมีประสิทธิภาพและทำให้อาหารมีความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้น เช่น การใช้ระบบหมุนเวียนอากาศเพื่อให้ตัวอย่างสัมผัสอากาศแห้งมากขึ้น (Bassey, 1981; Andress and Harrison, 2006)

3.2.2 การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (oven drying)

การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนเป็นการใช้อากาศร้อนในการทำแห้งอาหาร โดยเป็นวิธีที่พัฒนาปรับปรุงเพื่อลดข้อจำกัดบางอย่างของการทำแห้งด้วยวิธีธรรมชาติ วิธีการนี้สามารถควบคุมตัวแปรในการทำแห้งได้หลายอย่างมากขึ้น ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศที่ใช้ในการทำแห้ง ความเร็วลม เวลาที่ใช้ในการทำแห้ง และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเหนือตัวอย่าง (Prabhu and Balachandran, 1981) ความชื้นในอาหารจะถูกเคลื่อนย้ายออกจากผิวหนังอาหารและตู้อบลมร้อนระบบการทำงานในขั้นตอนเดียว ดังนั้นอากาศร้อนที่ใช้ในการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนต้องมีการควบคุมระบบหมุนเวียน เพื่อให้อากาศร้อนสัมผัสอาหารอย่างทั่วถึง และต้องมีระบบระบายอากาศร้อนขึ้นออกอย่างพอเหมาะ เพื่อทำให้การระเหยไอน้ำที่ระเหยออกจากอาหารเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง และทำให้อุณหภูมิในตู้อบไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก (สมบัติ, 2526; Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996)

การทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนเป็นวิธีการที่มีต้นทุนในการผลิตต่ำ จึงนิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเคมีแบบเก่า (Krokida and Philippopoulos, 2006) และนอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการทำแห้งผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบสูง (Zhang *et al.*, 2006) อาหารที่ทำแห้งด้วยลมร้อนจะผ่านช่วงการเวลาการทำแห้ง 3 ช่วงหลัก ๆ ได้แก่ (1) ช่วงที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น (2) ช่วงอัตราการทำแห้งคงที่ และ (3) ช่วงอัตราการทำแห้งลดลง ซึ่งเป็นช่วงที่อาจเกิดขึ้น 1 ครั้งหรือมากกว่า 1 ครั้งก็ได้ การทำแห้งด้วยลมร้อนเป็นวิธีการที่ใช้เวลานาน และประสิทธิภาพของพลังงานต่ำโดยเฉพาะในช่วงอัตราการทำแห้งลดลง ซึ่งมีสาเหตุมาจากการลดลงอย่างรวดเร็วของความชื้นบริเวณผิวหนังอาหาร ทำให้ผิวหนังอาหารเกิดการหดตัวและการถ่ายเทความร้อนลดลง ในบางกรณีการถ่ายเทความร้อนก็ลดลงด้วย และเมื่อต้องใช้เวลาในช่วงเพิ่มอุณหภูมิมากขึ้นส่งผลให้คุณภาพบางประการลดลง ได้แก่ สี คุณค่าทางอาหาร เนื้อสัมผัส และ กลิ่นรส (Zhang *et al.*, 2005; Bondaruk *et al.*, 2007)

3.2.3 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying)

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) หรือที่เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า lyophilization มีการเริ่มใช้ในระดับอุตสาหกรรมครั้งแรกในปี 1940 เพื่อการผลิตพลาสมาแห้ง (dry plasma) และผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเลือด (blood products) (Vega-Mercado *et al.*, 2001) หลักการของ

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง คือ การทำให้ตัวทำละลายหรือตัวกลางซึ่งมักเป็นน้ำกลายเป็นผลึกน้ำแข็งที่อุณหภูมิต่ำ และกำจัดผลึกน้ำแข็งโดยการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งให้กลายเป็นไอทันที จึงเป็นวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับสมุนไพรซึ่งเป็นอาหารที่ไวต่อความร้อน และยังช่วยป้องกันการสูญเสียสารให้กลิ่นรสได้ดีกว่าการทำแห้งแบบเดิม (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996; Vega-Mercado *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2006) และนอกจากนี้ยังสามารถป้องกันการสูญเสียลักษณะโครงสร้างภายนอกของอาหารจากการทำแห้งได้อีกด้วย (Vega-Mercado *et al.*, 2001) แต่อย่างไรก็ตามการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นวิธีการที่ใช้เวลานานและมีต้นทุนในการผลิตสูง (Yousif *et al.*, 2000)

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลักคือ การแช่แข็ง (freezing) และการทำแห้ง (drying) โดยการแช่แข็งเป็นการทำให้ตัวอย่างเย็นจัดที่อุณหภูมิต่ำที่ทำให้ให้น้ำและของแข็งในตัวอย่างเป็นผลึกโดยสมบูรณ์ หรือทำให้น้ำและของแข็งในตัวอย่างเป็นของแข็งเข้มข้นแบบ amorphous ที่ยังคงมีลักษณะเป็นของแข็งทางกล (mechanical solid) ส่วนการทำแห้งนั้นประกอบด้วยกลไกการถ่ายเทของสาร 2 กลไก ได้แก่ การถ่ายเทพลังงานเพื่อเปลี่ยนน้ำแข็งให้กลายเป็นไอ หรือที่เรียกว่าการระเหิดน้ำแข็งภายใต้สภาวะความดันต่ำ (Vega-Mercado *et al.*, 2001) (ส่วนใหญ่ใช้พลังงานประมาณ 2,805 kJ/kg ที่อุณหภูมิ -21 ถึง -30 องศาเซลเซียส) และการถ่ายเทหรือเคลื่อนย้ายไอน้ำที่ระเหิดจากผิวหน้าของอาหารเพื่อทำให้อาหารแห้ง (Oetjen, 1999) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถรักษาลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างไว้ได้ดี ไม่ว่าจะเป็นสี รูปร่างของผลิตภัณฑ์อาหาร รวมทั้งปริมาณของสารระเหย โดยมีการรายงานว่าตัวอย่างสมุนไพรทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณสารระเหยใกล้เคียงกับตัวอย่างสด (Venskutonis, 1997) แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งทำให้เกิดการสูญเสียสารให้กลิ่นรสในปริมาณสูง จึงมักเรียกผลิตภัณฑ์ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีรสชาติ (tasteless) (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996) ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณสารระเหยที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ภายหลังการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ได้แก่ ความดันไอของสารแต่ละชนิด ความสามารถในการระเหยสัมพัทธ์ (relative volatility) อุณหภูมิที่ใช้ในช่วงการทำแห้ง องค์ประกอบของอาหารแต่ละชนิด (Krokida and Philippopoulos, 2006) ปริมาณของแข็งในอาหาร ชนิดของของแข็ง ความหนาของอาหาร เมทริกซ์ของอาหาร ความเข้มข้นของสารระเหยเริ่มต้น และอัตราการทำแห้ง (Nijhuis *et al.*, 1998) ทฤษฎีที่อธิบายการคงอยู่ของสารระเหยในผลิตภัณฑ์ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมี 2 ทฤษฎีหลัก ได้แก่ (1) ทฤษฎีความแตกต่างของการแพร่ของ Thijssen และ Rulkens (1968) ซึ่งอธิบายไว้ว่าเมื่อปริมาณน้ำลดลง ทำให้สัมประสิทธิ์การแพร่ของน้ำน้อยกว่าสัมประสิทธิ์การแพร่

ของสารอื่น และ (2) ทฤษฎีพื้นที่ว่างขนาดเล็ก (microregion) ของ Flink และ Karel (1970) (Nijhuis *et al.*, 1998) โดยสารระเหยในผลิตภัณฑ์อาหารทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะคงอยู่ได้ด้วยการยึดจับกับอนุภาคภายในเมทริกซ์ของอาหารแห้งภายใต้หลักการของ microregion โดยสารระเหยที่ถูกดูดซับไว้ภายในชั้นของอาหารแห้งจะเป็นสารระเหยส่วนที่ไม่เกี่ยวข้องกับการได้กลิ่น แต่สำหรับสารระเหยภายใน microregion จะสร้างพันธะที่แข็งแรงกับเมทริกซ์ของอาหารแห้ง การดูดน้ำของอาหารแห้งเป็นสาเหตุให้เกิดการซึมผ่านของสารภายใน microregion ทำให้เกิดการสูญเสียสารระเหย โดยพันธะระหว่างคาร์โบไฮเดรตกับคาร์โบไฮเดรตจะถูกแทนที่ด้วยพันธะระหว่างน้ำกับคาร์โบไฮเดรต ทำให้เพิ่มการซึมผ่านออกของสารระเหย แต่อย่างไรก็ตามที่ปริมาณความชื้นวิกฤต (critical moisture content, X_c) ซึ่งเป็นปริมาณความชื้นที่เหลืออยู่ในวัสดุทำแห้งตรงจุดสุดท้ายของช่วงอัตราการทำแห้งคงที่ (สมบัติ, 2526) microregion จะถูกปิดและไม่เกิดการสูญเสียสารระเหย (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996)

3.2.4 การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ (microwave assisted vacuum drying)

ในปี ค.ศ. 1945 บริษัทเรย์เธอร์น ประเทศสหรัฐอเมริกาได้นำหลักการของคลื่นไมโครเวฟจากเรดาร์ในสงครามโลกครั้งที่สองมาใช้ในการปรุงอาหาร เตาไมโครเวฟจึงเริ่มเกิดขึ้น และได้มีการพัฒนาการเทคโนโลยีใหม่ ๆ จนถึงปัจจุบัน (ชวน, 2545)

คลื่นไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่อยู่ระหว่างคลื่นวิทยุและคลื่นอินฟราเรดมีความถี่ 300 เมกะเฮิรตซ์ (MHz) ถึง 300 กิกะเฮิรตซ์ (GHz) ความยาวคลื่นประมาณ 0.25 ถึง 0.75 เมตร เนื่องจากความถี่ของคลื่นไมโครเวฟมีค่าใกล้เคียงกับคลื่นวิทยุและซ้อนทับกับคลื่นเรดาร์ ซึ่งอาจรบกวนระบบสื่อสารได้ จึงมีการจำกัดการใช้ความถี่ของคลื่นไมโครเวฟ สำหรับใช้ในอาหารความถี่ที่อนุญาตให้ใช้ได้ คือ 915 MHz และ 2,450 MHz (Potter and Hotchkiss, 1995; Nijhuis *et al.*, 1998) ความร้อนที่เกิดขึ้นจากการใช้ไมโครเวฟเป็นผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสนามแม่เหล็กไฟฟ้าและอาหาร เมื่อคลื่นไมโครเวฟผ่านเข้าไปในอาหาร โมเลกุลของน้ำ ไขมัน และ น้ำตาล ที่อยู่ในอาหารจะดูดซับพลังงานของคลื่นที่ผ่านเข้าไปและเกิดเป็นความร้อนขึ้น ด้วยกระบวนการที่เรียกว่า การเกิดความร้อนในสารไดอิเล็กทริก (dielectric heating) โครงสร้างโมเลกุลของน้ำประกอบด้วยอะตอมของออกซิเจนที่มีประจุลบ ซึ่งแยกออกจากอะตอมของไฮโดรเจนที่มีประจุบวก ลักษณะเช่นนี้ เรียกว่า ไดโพลทางไฟฟ้า (electrical dipole)

ลักษณะ ไคโพลของปริมาณน้ำในอาหารมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดความร้อนด้วยไมโครเวฟ เนื่องจากประจุของไฟฟ้าบวกและลบของโมเลกุลน้ำวางอยู่ในตำแหน่งที่ไม่สมมาตรกัน เมื่อให้รังสีไมโครเวฟหรือสนามแม่เหล็กอย่างรวดเร็วแก่อาหาร ไคโพลในน้ำจะพยายามจัดเรียงตัวตามการเปลี่ยนทิศของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าซึ่งมีการเปลี่ยนทิศหลายล้านครั้งต่อวินาที (Nijhuis *et al.*, 1998; Vega-Mercado *et al.*, 2001) ทำให้น้ำหรือโมเลกุลที่มีขั้วต่าง ๆ หมุนเพื่อรักษาการจัดเรียงตัวด้วยการเปลี่ยนขั้วอย่างรวดเร็ว การหมุนของโมเลกุลเหล่านี้ทำให้เกิดแรงเสียดทานระหว่างโมเลกุลที่อยู่รอบ ๆ และเกิดความร้อนขึ้น (Nijhuis *et al.*, 1998) นอกจากนี้ไมโครเวฟทำให้เกิดความร้อนขึ้นเมื่อทำปฏิกิริยากับวัตถุ โดยไอออนหรืออนุภาคที่มีประจุจะถูกดูดหรือผลักออกจากในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งถูกเร่งหรือชนกับโมเลกุลอื่น ๆ ทำให้เกิดความร้อนขึ้น การให้ความร้อนแบบไดอิเล็กทริกเป็นการทำให้เกิดความร้อนภายในวัตถุโดยตรง ทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมากกว่าวิธีการทำแห้งวิธีอื่น (นิรนาม, 2539) ปัจจุบันมีการใช้พลังงานไมโครเวฟในการถนอมอาหารหลายประเภท เช่น ใช้พาสเจอร์ไรซ์เบียร์ สเตอริไลซ์ไวน์ ใช้เพื่อป้องกันการงอกของมันฝรั่ง และใช้ในการทำแห้งสมุนไพร เป็นต้น

การทำแห้งด้วยไมโครเวฟยังมีข้อเสียหลายประการ ได้แก่ การให้ความร้อนที่ไม่สม่ำเสมอ ต้นทุนในการผลิตสูง การสูญเสียลักษณะเนื้อสัมผัส (Zhang *et al.*, 2006) และอาจทำให้ผลิตภัณฑ์คุณภาพต่ำเมื่อนำไปประยุกต์ใช้อย่างไม่เหมาะสม (Bondaruk *et al.*, 2007) ดังนั้นจึงมีการนำระบบสุญญากาศมาใช้ร่วมกับการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์หลัก 4 ประการ ได้แก่ ความรวดเร็วในการทำงาน เพิ่มประสิทธิภาพของพลังงาน ลดต้นทุนในการผลิตและรักษาคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์

การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบแบบสุญญากาศ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารทำแห้ง ซึ่งมีข้อดี คือ การใช้อุณหภูมิในการทำแห้งต่ำ และมีการถ่ายเทมวลสารสูงด้วยระบบสุญญากาศร่วมกับการถ่ายเทพลังงานอย่างรวดเร็วด้วยการให้ความร้อนแบบไมโครเวฟทำให้เกิดการทำแห้งที่รวดเร็วที่อุณหภูมิต่ำ (Lin *et al.*, 1998) ระบบสุญญากาศช่วยให้โมเลกุลน้ำที่มีพลังงานสูงจะแพร่อย่างรวดเร็วสู่ผิวหน้าอาหารและระเหยเข้าสู่ห้องสุญญากาศ ซึ่งช่วยลดความเข้มข้นไอน้ำบริเวณผิวหน้าของอาหาร และนอกจากนั้นยังช่วยลดจุดเดือดของน้ำภายในอาหาร ทำให้เกิดความแตกต่างของความดันไอระหว่างภายในและผิวหน้าอาหาร ส่งผลให้อัตราการทำแห้งสูง (Zhang *et al.*, 2006) การไม่มีอากาศในห้องทำแห้งช่วยลดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งส่งผลดีต่อสี เนื้อสัมผัส และกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหารทำแห้ง ปัจจุบัน

การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศได้ถูกประยุกต์ใช้ในการทำแห้งอาหารหลายชนิด ได้แก่ แครอทสไลด์ (Lin *et al.*, 1998) ออริกาน (Lippia *berdieri* Schauer) (Yousif *et al.*, 2000) มันฝรั่ง (Bondaruk *et al.*, 2007) และ พริกแห้ง (จิรวัดน์ และคณะ, ม.ป.ป.) เป็นต้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

- 1.1 ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* (DC.))

2. สารเคมี

- 2.1 ไดคลอโรมีเทน, HPLC grade (Lab-Scan, ไอร์แลนด์)
- 2.2 เพนเทน, HPLC grade (Lab-Scan, ไอร์แลนด์)
- 2.3 เมทานอล, HPLC grade (Lab-Scan, ไอร์แลนด์)
- 2.4 โซเดียมคลอไรด์ (BDH, อังกฤษ)
- 2.5 โซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ (Ajax Finechem, นิวซีแลนด์)
- 2.6 โซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (Ajax Finechem, นิวซีแลนด์)
- 2.7 กรดฟอสฟอริก (Merck, เยอรมันนี)
- 2.8 สารมาตรฐาน internal standard
 - 2.8.1 *tert*-butyl benzene (Aldrich, สหรัฐอเมริกา)
 - 2.8.2 2-undecanol (Aldrich, สหรัฐอเมริกา)
- 2.9 สารมาตรฐาน n-Alkanes (C₄-C₂₂) (Aldrich, สหรัฐอเมริกา)
- 2.10 สารมาตรฐาน external standard
 - 2.10.1 citronellal (Fluka, สวิตซ์เซอร์แลนด์)
 - 2.10.2 citronellol (Fluka, สวิตซ์เซอร์แลนด์)
 - 2.10.3 *l*-linalool (Aldrich, เยอรมันนี)
 - 2.10.4 geraniol (Aldrich, เยอรมันนี)
 - 2.10.5 *trans*- β -caryophyllene (Aldrich, เยอรมันนี)
 - 2.10.6 nerolidol (Aldrich, เยอรมันนี)

3. เครื่องมือ

- 3.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น AC 211S (Sartorius, เยอรมันนี)
- 3.2 เครื่องปั่นผสม (blender) รุ่น 32BL80 (8011) (Waring, สหรัฐอเมริกา)

- 3.3 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (homogenizer) พร้อมหัวปั่นขนาดกลาง รุ่น T2 (Ika, เยอรมันนี)
- 3.4 เครื่องกวนแบบแม่เหล็ก (magnetic stirrer) รุ่น RCT Basic (Ika Werke, มาเลเซีย)
- 3.5 เครื่องกลั่นระบบสุญญากาศ (high vacuum distillator) รุ่น B62426952 (Edwards, อังกฤษ)
- 3.6 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบอุณหภูมิต่ำ (refrigerator centrifuge) รุ่น Himac CR 20B2 (Hitachi, ญี่ปุ่น)
- 3.7 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) รุ่น WP-7 (Mettler, เยอรมันนี)
- 3.8 ตู้อบลมร้อน (oven-dryer) รุ่น UM 400 (Mettler, เยอรมันนี)
- 3.9 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง รุ่น Dura-Top™ UP (FTS Systems, สหรัฐอเมริกา)
- 3.10 เครื่องทำแห้งแบบไมโครเวฟสุญญากาศ (Marchcool, ประเทศไทย)
- 3.11 rotary evaporator รุ่น R-114 (BÜCHI Labortechnik AG, สหรัฐอเมริกา)
- 3.12 เครื่องวัดสี รุ่น Minolta CM 3500d (Minolta, ญี่ปุ่น)
- 3.13 เครื่องวัด pH (pH meter) รุ่น 210A (Orion Research, สหรัฐอเมริกา)
- 3.14 ตู้แช่แข็ง (freezer -40°C) รุ่น MDF-435 (Hewlett Packard, สหรัฐอเมริกา)
- 3.15 gas chromatography (GC) รุ่น HP 6890 (Hewlett Packard, สหรัฐอเมริกา)
ต่อกับ mass selective detector (mass spectrometer; MS) รุ่น HP 5973 (Hewlett Packard, สหรัฐอเมริกา)
- 3.16 gas chromatography (GC) รุ่น HP 6890 Series II Plus (Hewlett Packard, สหรัฐอเมริกา) ต่อกับ olfactory detector รุ่น 093500 (SGE, ออสเตรเลีย)
- 3.17 gas chromatography (GC) รุ่น 6890N (Agilent technology, สหรัฐอเมริกา) ต่อกับ flame ionization detector รุ่น G 1530N (Agilent Technology, สหรัฐอเมริกา)

วิธีการ

1. การศึกษาสารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสด

1.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำใบมะกรูดสด (จากตลาดสด กรุงเทพฯ) มาคัดเลือกโดยพิจารณาจากลักษณะภายนอกเพื่อคัดส่วนที่มีตำหนิต่าง ๆ ล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด แล้วเช็ดให้แห้ง แยกเส้นกลางใบออกด้วยกรรไกร

1.2 การสกัดสารระเหย

1.2.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

ชั่งใบมะกรูดจากข้อ 1.1 จำนวน 20 กรัม ผสมกับโซเดียมคลอไรด์ 20 กรัม และสารมาตรฐาน internal standard (*tert*-butylbenzene และ 2-undecanol) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตรในเครื่องบดผสม เทไนโตรเจนเหลวจำนวน 200 มิลลิลิตรลงไปพร้อมบดจนละเอียด ถ่ายตัวอย่างลงในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร

สกัดสารระเหยในรูปอิสระจากตัวอย่างโดยเติมไดคลอโรมีเทน 80 มิลลิลิตร และปั่นด้วยเครื่องไฮโมจิโนเซอร์เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นสกัดตัวอย่างด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ใช้หลอดหยดดูดส่วนตัวทำละลายเก็บไว้ในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร สกัดกากซ้ำด้วยไดคลอโรมีเทน 1 ครั้ง และเพนเทนอีก 2 ครั้ง ปริมาตร 80 มิลลิลิตรต่อครั้ง โดยสกัดที่อุณหภูมิห้องนานครั้งละ 30 นาที จากนั้นรวมส่วนตัวทำละลายที่สกัดได้ทั้ง 4 ครั้งในขวดแก้วฝาเกลียวเพื่อรอการกลั่นด้วยสุญญากาศต่อไป (เยาวภา, 2547)

สกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ โดยนำกากที่เหลือมาสกัดซ้ำด้วยเมทานอล 80 มิลลิลิตร 3 ครั้ง รวมส่วนตัวทำละลายเมทานอลที่สกัดได้ทั้ง 3 ครั้งเพื่อรอการไฮโดรไลซ์ (hydrolyze) ต่อไป (ดัดแปลงจาก Milos and Radonic, 2000)

1.2.2 การสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็ง (solid phase extraction)

ซังใบมะกรูดจากข้อ 1.1 จำนวน 20 กรัม เทในโตรเจนเหลวจำนวน 200 มิลลิลิตรลงบนใบมะกรูดและบดผสมในเครื่องบดผสมจนละเอียด ผสมตัวอย่างกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (โซเดียมคลอไรด์ 50 กรัมในน้ำ 500 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และสารมาตรฐาน internal standard (*tert*-butylbenzene และ 2-undecanol) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และปั่นด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบอุณหภูมิต่ำด้วยความเร็วรอบ 6,430 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำสารละลายส่วนใสจะผ่านคอลัมน์ Amberlite XAD-2 ที่ผ่านการ pre-condition ด้วยเมทานอลและน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออน (deionized water) ด้วยอัตราเร็ว 2.2 มิลลิลิตร/นาที จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนเพื่อกำจัดน้ำตาล กรด หรือ สารประกอบที่ละลายน้ำได้ออกจากคอลัมน์

สกัดสารระเหยในรูปอิสระจากตัวอย่างโดยใช้สารผสมของเพนเทนและไดคลอโรมีเทน (อัตราส่วน 1:1) ปริมาตร 100 มิลลิลิตรชะผ่านคอลัมน์ และสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์โดยใช้เมทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตรชะผ่านคอลัมน์

1.3 การไฮโดรไลซ์สารระเหยในรูปไกลโคไซด์โดยใช้กรด (Acid hydrolysis)

นำส่วนสารละลายเมทานอลที่ใช้สกัดแยกสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ มาทำให้เข้มข้นโดยถ่ายใส่ขวดก้นกลมขนาด 1,000 มิลลิลิตร และต่อเข้ากับ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และลดความดันจนเหลือ 337 มิลลิบาร์จนกระทั่งสารละลายแห้ง ละลายสารในขวดก้นกลมด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนปริมาตร 100 มิลลิลิตร ถ่ายสารละลายลงในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) pH 3.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง เพื่อไฮโดรไลซ์สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ให้อยู่ในรูปสารอะไกลโคน (aglycone) และแยกสารสารอะไกลโคนด้วยสารละลายผสมของเพนเทน/ไดคลอโรมีเทนอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร 3 ครั้ง แล้วนำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นระบบสุญญากาศต่อไป (ดัดแปลงจาก Cai *et al.*, 2002)

1.4 การกลั่นสุญญากาศ (high vacuum distillation)

นำตัวอย่างจากข้อ 1.2 และ 1.3 มาทำให้เข้มข้นด้วยการเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจนเบา ๆ จนเหลือปริมาตร 50 มิลลิลิตร ต่อจากนั้นถ่ายตัวอย่างใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตรแล้วแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว ต่อขวดก้นกลมเข้ากับเครื่องกลั่นระบบสุญญากาศ และกลั่นตัวอย่างที่สุญญากาศ 10^{-5} ทอร์รี่ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นหล่อน้ำอุ่นอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสที่ขวดตัวอย่าง และกลั่นต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารที่กลั่นได้ในขวดกักเก็บแรก (first trap) ไปทำให้เข้มข้นโดยการเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจนเบา ๆ จนเหลือปริมาตร 5 มิลลิลิตร เทตัวอย่างผ่านโซเดียมซัลเฟต ปราศจากน้ำ 2 กรัม เพื่อกำจัดความชื้น เป่าก๊าซไนโตรเจนเบา ๆ จนเหลือปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างในขวดแก้วสีชาเพื่อรอการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารระเหยต่อไป

1.5 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารระเหยด้วย GC-MS และ GC-FID

วิเคราะห์ตัวอย่างจากข้อ 1.4 จำนวน 1 ไมโครลิตรด้วยเครื่อง gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) เพื่อระบุชนิดของสารระเหยโดยการเปรียบเทียบข้อมูล mass spectrum ของสารแต่ละชนิดกับฐานข้อมูล Wiley 275 library ใช้สภาวะของเครื่องแบบ split mode ตั้งอุณหภูมิของ inlet ที่ 200 องศาเซลเซียส ก๊าซฮีเลียม เป็น carrier gas ที่อัตราการไหลคงที่ที่ 2.2 มิลลิลิตร/นาที แยกสารระเหยด้วยแคปิลารีคอลัมน์ชนิด HP-5 ยาว 60 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ชั้นเคลือบหนา 0.25 ไมโครเมตร โดยตั้งอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 35 องศาเซลเซียส เพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียส/นาที จนอุณหภูมิถึง 200 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 10 นาที บ่งชี้ชนิดของสารด้วยเครื่อง MS ที่ใช้แหล่งกำเนิดไอออนแบบอิเล็กตรอนอิมแพคต์ (electron-impact ionization, EI) และมีค่าพลังงานไอออนไนเซชัน 70 อิเล็กตรอนโวลต์ ช่วงในการสแกน 30-300 m/z ที่ความเร็ว 2.74 scan/sec

วิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละตัวอย่างจากข้อ 1.4 จำนวน 1 ไมโครลิตรด้วยเครื่อง gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID) เพื่อคำนวณปริมาณของสารระเหยในตัวอย่าง โดยใช้สภาวะของเครื่องเช่นเดียวกับ GC-MS ด้วยแคปิลารีคอลัมน์ HP-5 ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ชั้นเคลือบหนา 0.25 ไมโครเมตร ระบุชนิดของสารระเหยในแต่ละพีคโดยเปรียบเทียบค่า retention index (RI) จากการวิเคราะห์ด้วย GC-FID กับค่า RI ที่ได้จากการ

วิเคราะห์ด้วย GC-MS คำนวณค่า RI ของสารแต่ละชนิดจาก retention time (RT) ของสารระเหยกับค่า RT ของสารมาตรฐาน n-alkanes (C₄-C₂₂) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยสภาวะและคอลัมน์เดียวกับตัวอย่าง และเทียบ RT ของสารให้กลิ่นสำคัญบางชนิดกับสารมาตรฐานเพื่อยืนยันชนิดของสาร ซึ่งสารมาตรฐานที่ใช้ ได้แก่ citronellal, citronellol, linalool, geraniol, nerolidol และ *trans*-caryophyllene คำนวณหาปริมาณสารโดยการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของสารแต่ละชนิดกับพื้นที่ใต้พีคของสาร internal standard (*tert*-butylbenzene สำหรับ monoterpene และ 2-undecanol สำหรับ *l*-linalool) รายงานเป็นความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารในตัวอย่างใบมะกรูดสด (ไมโครกรัม/กรัม; ppm) ดังสมการ

$$C_s = \frac{C_i \times A_s \times V_i \times R}{A_r \times W_s}$$

C _s	ความเข้มข้นสัมพัทธ์ของตัวอย่าง (ไมโครกรัม/กรัมตัวอย่าง)
C _i	ความเข้มข้นของสาร internal standard
A _s	พื้นที่ใต้พีคของตัวอย่าง
A _r	พื้นที่ใต้พีคของสาร internal standard
V _i	ปริมาตรของสาร internal standard ที่ใช้ (ไมโครลิตร)
W _s	น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
R	response factor

2. การศึกษาสารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูดสด

วิเคราะห์สารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูดสดด้วยวิธี Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) โดยนำสารสกัดของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยวิธีที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองในข้อ 1. ทั้งในรูปอีเทอร์และสารอะโรมาติกที่ได้จากการไฮโดรไลซ์และกลั่นด้วยระบบสุญญากาศ ที่ผ่านการทำให้เข้มข้นด้วยการเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจนเบา ๆ จนเหลือปริมาตร 1 มิลลิลิตรมาเจือจางด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเพนเทน (1:1) โดยใช้ตัวอย่าง 60 มิลลิลิตรผสมกับตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเพนเทน (1:1) 120 มิลลิลิตรซึ่งตัวอย่างมีอัตราส่วนการเจือจางเท่ากับ 1:3 จากนั้นนำตัวอย่างที่มีอัตราส่วนการเจือจาง 1:3 ปริมาตร 60 มิลลิลิตรผสมกับตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเพนเทน (1:1) 120 มิลลิลิตรเพื่อให้ตัวอย่างมีอัตราส่วน

การเจือจางเท่ากับ 1:9 ทำการเจือจางไปเรื่อย ๆ เพื่อให้มีอัตราส่วนการเจือจาง 1:27, 1:81 ไปเรื่อย ๆ เป็นลำดับ แล้วให้ผู้ทดสอบ (นิสิตปริญญาโท ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) ที่ผ่านการคัดเลือกและฝึกฝนจำนวน 2 คน โดยพิจารณาคัดเลือกผู้ทดสอบที่มีคุณสมบัติ คือ มีความสนใจและสามารถเข้าร่วมการฝึกฝนและทดสอบ มีสุขภาพดี มีความสามารถในการอธิบายและจดจำคุณลักษณะของสารให้กลิ่นในใบมะกรูดได้ดี และเป็นผู้ที่มีประสบการณ์ด้านการประเมินทางประสาทสัมผัส โดยให้ผู้ทดสอบดมกลิ่นของสารระเหยในรูปอิสระและสารอะไคโคลนในใบมะกรูดสดด้วยเครื่อง gas chromatography-olfactory (GC-O) รุ่น HP 6890 series II ที่ต่อกับ flame ionization detector และ sniffing port เพื่อศึกษาสารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูดสดโดยใช้สภาวะของเครื่องเช่นเดียวกับ GC-MS และ GC-FID แต่กำหนดเป็น splitless mode และแยกสารระเหยโดยใช้แคปิลารีคอลัมน์ HP-5 ขนาด 30 เมตร x 320 เมตร x 0.25 ไมโครเมตร

ผู้ทดสอบจะดมกลิ่นของสารระเหยที่ sniffing port โดยสุ่มลำดับการดม (ไม่เรียงลำดับการเจือจาง) เพื่อป้องกันอคติ แล้วเปรียบเทียบค่า RI ของสารให้กลิ่นกับค่า RI ที่ได้จากข้อ 1.5 เพื่อระบุชนิดของสารให้กลิ่น แล้วรายงานเป็นค่า $\log_3$ FD factor ของแต่ละสาร ซึ่งค่านี้เป็นระดับที่เจือจางมากที่สุดที่ผู้ทดสอบยังคงได้กลิ่น คัดเลือกสารให้กลิ่นสำคัญโดยพิจารณาจากค่า $\log_3$ FD factor ซึ่งสารที่มีค่าสารระเหยที่มีค่า $\log_3$ FD factor สูงมักเป็นสารระเหยที่ให้กลิ่นสำคัญ ร่วมกับการพิจารณาจากปริมาณที่พบมากในใบมะกรูดสด และมีค่า Odor Active Value (OAV) มากกว่า 1 ซึ่งมักเป็นสารที่ให้กลิ่นสำคัญในอาหาร โดยค่า OAV คำนวณจากค่าความเข้มข้นของสาร/threshold ของสาร

3. การศึกษาผลของการทำแห้งต่อสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไคโคลไคตในใบมะกรูด

3.1 การทำแห้ง

นำใบมะกรูดมาคัดเลือกโดยพิจารณาจากลักษณะภายนอกเพื่อคัดส่วนที่มีตำหนิต่างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด แล้วซัดให้แห้ง นำไปทำแห้งด้วยวิธีทำแห้ง 4 วิธี โดยกำหนดสภาวะในการทำแห้งให้ตัวอย่างแห้งมีปริมาณความชื้นต่ำกว่า 12% ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2547) และมีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกัน โดยวิธีการทำแห้งทั้ง 4 วิธี ได้แก่ (1) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) ซึ่งใช้อุณหภูมิในการแช่แข็ง -40 องศาเซลเซียส และใช้อุณหภูมิในการทำแห้ง 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการทำแห้งนาน 8 ชั่วโมง (2) การทำแห้งด้วยไมโครเวฟสุญญากาศ (microwave assisted vacuum drying) ซึ่งใช้กำลังไฟฟ้า 1,120 วัตต์

โดยใช้เวลาในการทำแห้ง 8 นาที่ (3) การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (oven drying) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง และ (4) การตากแห้งในที่ร่ม (shade drying) นาน 20 วัน หลังจากนั้นนำใบมะกรูดแห้งมาตัดแต่งโดยตัดแยกใบและเส้นกลางใบออกด้วยกรรไกรก่อนการสกัด

แบ่งตัวอย่างใบมะกรูดแห้งส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้น เพื่อกำหนดค่าเปอร์เซ็นต์ของแข็งในตัวอย่าง ใบมะกรูดส่วนที่เหลือเก็บในถุงพลาสติกชนิด Laminated film (aluminum foil/PE) เพื่อป้องกันแสงและความชื้น แทนที่อากาศเหนือตัวอย่างด้วยก๊าซไนโตรเจน และเก็บที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียสก่อนนำไปสกัดสารระเหยตามวิธีข้อ 3.2 ต่อไป

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญด้วย GC-FID

ซึ่งใบมะกรูดจากข้อ 3.1 ให้มีปริมาณของแข็งเท่ากับตัวอย่างสด แล้วนำไปสกัดสารระเหยในรูปอีเธอร์และไกลโคไซด์ด้วยวิธีการสกัดที่คัดเลือกจากการทดลองในข้อ 1.2 นำสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลมาไฮโดรไลซ์ตามวิธีการข้อ 1.3 จากนั้นจึงนำสารสกัดของสารระเหยอีเธอร์จากข้อ 1.2 และสารสกัดของสารระเหยรูปไกลโคไซด์ไกลที่อยู่ในรูปสารอะไกลโคนจากข้อ 1.3 มากั่นด้วยระบบสุญญากาศตามวิธีการข้อ 1.4 จากนั้นจึงวิเคราะห์สารระเหยด้วยเครื่อง GC-FID ตามวิธีในข้อ 1.5 กำหนดความเข้มข้นของสารให้กลิ่นสำคัญที่คัดเลือกจากการทดลองวิเคราะห์สารให้กลิ่นสำคัญในข้อ 2. โดยการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของสารแต่ละชนิดกับพื้นที่ใต้พีคของสาร internal standard (*tert*-butylbenzene สำหรับ monoterpene และ 2-undecanol สำหรับ *l*-linalool) แล้วรายงานเป็นความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารชนิดนั้น ๆ ในตัวอย่างใบมะกรูดสด (ไมโครกรัม/กรัม; ppm) ดังสมการข้อ 1.5

4. การวัดค่าสีของใบมะกรูด

วัดค่าสีของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดอบแห้งด้วยเครื่องวัดสีรุ่น Minolta CM 3500d วัดค่าสีโดยใช้ค่า L* (ความสว่าง/ความมืด) a* (สีแดง/สีเขียว) และ b* (สีเหลือง/สีน้ำเงิน) ก่อนวัดค่าสีของตัวอย่างทำการปรับค่ามาตรฐานสีขาวและสีดำโดยใช้ zero box และ white box (CM-A122) และในการวัดค่าสีของตัวอย่างใช้แผ่นวางตัวอย่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการทดลองวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการวัดค่าสีทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำวัดสีตัวอย่าง 6 ตำแหน่ง โดยทุกการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

ทุกการทดลองวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for the Social Science, version 12) ถ้ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จะนำมาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละการทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

6. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2550

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาสารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสด

ในการศึกษาสารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสดได้ทำการทดลองสกัดสารระเหยด้วยวิธีการสกัด 2 วิธี คือ การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของสารระเหยทั้งหมดในตัวอย่าง ซึ่งวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเหมาะสำหรับสกัดตัวอย่างที่เป็นของแข็ง (Pomeranz and Meloan, 1978) และสามารถสกัดสารระเหยได้หลายกลุ่ม (Pomeranz and Meloan, 1978; Reineccius, 2006) และนอกจากนี้ยังศึกษาวิธีการสกัดอีกวิธีหนึ่งคือการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็ง (solid phase extraction) ซึ่งใช้เรซินชนิด Amberlite XAD-2 เป็นสารดูดซับ เนื่องจากวิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ (Crouzet and Chassagne, 1999)

1.1 สารระเหยในรูปอิสระ

วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายใช้เพนเทนและไดคลอโรมีเทนซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีความมีขั้วต่ำในการสกัด และตัวทำละลายสัมผัสกับใบมะกรูดโดยตรง ทำให้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถสกัดสารระเหยอิสระในใบมะกรูดชนิดที่เป็นสารมีขั้วต่ำออกมาได้ดี โดยสามารถสกัดสารระเหยอิสระได้ 54 ชนิด ดังแสดงผลในตารางที่ 2 ประกอบด้วยสารกลุ่มหลัก ได้แก่ อัลดีไฮด์ (77.8%) ไฮโดรคาร์บอน (12.2%) แอลกอฮอล์ (6.4%) และเอสเทอร์ (2.7%) โดยสารระเหยที่มีปริมาณมากที่สุดคือ citronellal (74.8%) สอดคล้องกับการทดลองในน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดสดที่กลั่นด้วยไอน้ำ (Lawrence *et al.*, 1971) สารระเหยที่พบในปริมาณรองลงมา ได้แก่ *l*-linalool (3.6%), *trans*- β -caryophyllene (3.4%), hexanal (3.2%), sabinene (2.1%) และ β -citronellol (2.1%) นอกจากนี้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายยังสามารถสกัดสารระเหยที่มีลักษณะกลั่นสอดคล้องกับกลิ่นใบมะกรูด เช่น *l*-limonene, *l*-linalool และ β -citronellol ซึ่งให้กลิ่นส้มและมะนาว

วิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งที่ใช้เรซินชนิด Amberlite XAD-2 ใช้น้ำซึ่งเป็นสารที่มีขั้วสูงในการสกัดตัวอย่าง สามารถสกัดสารระเหยอิสระได้ 50 ชนิด ประกอบด้วยสารกลุ่มหลัก ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอน (90.4%) อัลดีไฮด์ (8.2%) แอลกอฮอล์ (1.3%) และเอสเทอร์ (0.1%) โดยสาร

ตารางที่ 2 สารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
ACYCLIC MONOTERPENES and derivatives								
Alcohols								
21	<i>l</i> -linalool	floral-woody with faint citrus note, floral	1204	6.0	197.1	3.6	35.4	15.6
29	<i>β</i> -citronellol	rose-like, orange, green, fresh, burnt	1332	40.0	108.8	2.0	18.2	8.0
31	<i>trans</i> -geraniol	sweet, floral, fresh rose	1359	40.0	14.2	0.3	1.1	0.5
Aldehydes								
23	citronellal	fresh, oily, green, citrus-lemon, woody	1264	25.0	4,047.4	74.8	75.6	33.2
30	neral	strong, lemon-like, sweeter than geranial, floral	1351	30.0	0.6	0.0	0.1	0.0
32	geranial	strong, lemon-like, floral	1378	32.0	3.1	0.1	0.2	0.1
Esters								
35	citronellyl acetate	fresh, rosy, fruity	1455	250.0	103.2	1.9	11.4	5.0
36	geranyl acetate	sweet, fruity, floral, rosy, apple-like	1467	9.0	5.4	0.1	-	-

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm	%	ppm ^e	%
37	neryl acetate	very sweet fruity-floral	1486	0.002	28.9	0.5	5.2	2.3
Hydrocarbons								
11	β -myrcene	metallic, flower, resious terpene	1094	13.0	49.2	0.9	-	-
16	<i>cis</i> - β -ocimene	sweet, herbaceous terpene	1144	0.0034	1.1	0.0	-	-
17	<i>trans</i> - β -ocimene	sweet, herbaceous terpene	1152	0.0034	30.5	0.6	1.6	0.7
subtotal					4589.5	84.8	148.8	65.2
CYCLIC MONOTERPENES and derivatives								
Ester								
19	<i>trans</i> -sabinene hydrate	sweet, reminiscent of terpineol	1178	55.0	7.0	0.1	0.9	0.4
Alcohols								
24	(-)-isopulegol	minty, herbaceous, bitter-sweet	1275	1.0	3.0	0.1	6.0	2.6
25	neoiso(iso)pulegol	-	1279	n.a.	2.5	0.0	0.7	0.3
26	α -terpinen-4-ol	sweet, peppery, herbaceous, terpeny, spicy	1291	1.19	-	-	0.7	0.3

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
27	α -terpineol	sweet, floral, lime, peach-like, flower	1304	330.0	0.9	0.0	0.4	0.2
Hydrocarbons								
7	α -thujene	-	1034	0.98	0.6	0.0	-	-
8	α -pinene	resinous, pine, terpeny, nutty, dry, flower	1043	6.0	5.3	0.1	-	-
9	sabinene	woody terpene citrus pine with spicy nuance	1082	0.98	114.0	2.1	trace	trace
10	β -pinene	dry, woody, resious-piney, sweet drops, dirty	1088	140.0	6.4	0.1	trace	trace
13	α -phellandrene	fresh, spicy, citrus, peppery, woody-minty, dill-like, terpeny	1113	0.036	0.7	0.0	-	-
14	δ -3-carene	sweet and pungent	1120	0.77	1.6	0.0	trace	trace
15	<i>l</i> -limonene	pleasant lemon-like, orange, flower, fresh, sweet, hydrocarbon and citrus	1138	10.0	9.7	0.2	-	-
18	γ -terpinene	refreshing herbaceous-citrus like terpene	1161	0.26	10.0	0.2	0.2	0.1

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
20	α -terpinolene	sweet, piney, slightly-anisic, citrus	1190	200.0	2.3	0.0	0.4	0.2
	subtotal				164	2.9	9.3	4.1
ACYCLIC SESQUITERPENES and derivatives								
<u>Alcohols</u>								
53	nerolidol	faint, woody-floral, slight green	1672	10.0	11.7	0.2	1.6	0.7
<u>Hydrocarbons</u>								
44	<i>trans</i> - β -farnesene	pleasant, very weakly floral	1563	n.a.	1.5	0.0	-	-
49	<i>trans,trans</i> - α -farnesene	-	1614	n.a.	28.6	0.5	2.3	1.0
	subtotal				41.8	0.7	3.9	1.7
CYCLIC SESQUITERPENES and derivatives								
<u>Hydrocarbons</u>								
38	(+)-cyclosativene	-	1492	n.a.	1.8	0.0	-	-
39	α -copaene	-	1497	n.a.	38.5	0.7	0.9	0.4

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
40	β -cubenene	-	1510	n.a.	32.3	0.6	0.8	0.3
41	<i>trans</i> - β -caryophyllene	woody, dry, spicy, terpene	1548	64.0	181.1	3.4	7.2	3.2
42	epi- bicyclosesquiphellandrene	-	1555	n.a.	3.1	0.1	0.1	0.1
43	α -guaiene	sweet, woody, fruity, balsamic	1560	n.a.	1.5	0.0	-	-
45	α -humulene	woody	1583	n.a.	21.7	0.4	1.3	0.6
46	(+)-aromadendrene	-	1591	n.a.	0.7	0.0	-	-
47	γ -cadinene	dry, woody, slight burnt, spice character	1600	n.a.	4.5	0.1	0.2	0.1
48	germacrene D	-	1608	n.a.	19.3	0.4	1.3	0.6
50	bicyclogermacrene	-	1624	n.a.	52.6	1.0	3.8	1.7
51	δ -guaiene	very little odor, woody	1629	n.a.	0.7	0.0	-	-
52	δ -cadinene	woody, dry, slight burnt, spice character	1644	n.a.	32.6	0.6	3.7	1.6
subtotal					390.4	7.3	19.3	8.6

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
OTHERS								
<u>Alcohols</u>								
1	1-penten-3-ol	pungent, grassy, alliaceous-like	782	400.0	2.6	0.0	-	-
4	<i>cis</i> -2-pentenol	-	869	n.a.	4.5	0.1	0.2	0.1
34	2-(2-hydroxyl-2propyl)-5-m-cyclohexanol	-	1452	n.a.	-	-	44.1	19.4
<u>Aldehydes</u>								
3	4-pentenal	-	845	0.4	1.7	0.0	-	-
5	hexanal	strong, fatty-green, glassy unripe fruit odor,	900	n.a.	172.1	3.2	0.5	0.2
6	<i>trans</i> -2-hexanal	strong, leafy-green, fruity, pungent, vegetable-like odor, apple-like	955	17.0	25.1	0.5	0.6	0.3
12	octanal	fatty-fruity, citrus, lemon, orange, flower	1106	0.7	1.1	0.0	trace	trace
28	decanal	strong, sweet, orang peel, flowery	1310	0.1	1.0	0.0	trace	trace

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
<u>Bases</u>								
33	1 <i>H</i> -indole	floral, sweet, burnt	1409	140.0	6.6	0.1	0.3	0.1
<u>Esters</u>								
54	diethylphthalate	-	1717	n.a.	1.2	0.0	0.1	0.1
<u>Hydrocarbons</u>								
22	<i>trans</i> -4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene	-	1220	n.a.	3.4	0.1	0.1	0.1
<u>Ketones</u>								
2	1-penten-3-one	strong, penetrating pungent (alliaceous-like), fish-like	788	1.0	3.7	0.1	-	-
subtotal					223	4.1	45.9	20.3
TOTAL					5408.7		227.2	

ตารางที่ 2 (ต่อ)

หมายเหตุ	a	ลำดับที่ตรงกับโครมาโตแกรมในภาพผนวกที่ 1-2
	b	จากฐานข้อมูล Flavor-Base'04 ของ Leffingwell (2004)
	c	retention index จากคอลัมน์ HP-5 คำนวณโดยใช้สารมาตรฐาน n-alkane (C ₄ -C ₂₂)
	d	ค่า threshold ในน้ำ จากฐานข้อมูล Flavor-Base'04 ของ Leffingwell (2004) และ Gemert (2003)
	e	ความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสาร (ไมโครกรัม/กรัมตัวอย่าง)
n.a. = not available, trace หมายถึง พบในปริมาณต่ำ, – หมายถึง ไม่พบสารชนิดนั้น		

ระเหยหลักคือ 1-methyl-2-phenylcyclopropane (48.6%) และ 4-ethenyl-1,2-dimethylbenzene (22.4%) สารระเหยที่พบในปริมาณรองลงมา ได้แก่ styrene (5.7%), *trans*-2-hexanal (3.7%), citronellal (3.4%), 2-methylindene (2.6%), divinylbenzene (2.0%) ดังแสดงในตารางที่ 3 ลักษณะกลิ่นของสารระเหยอิสระที่สกัดด้วยวิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งส่วนใหญ่ไม่สอดคล้องกับกลิ่นใบมะกรูด โดยสารส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มเบนซีน ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการสกัดสารกลุ่มเบนซีนของเรซินชนิด Amberlite XAD-2 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการสกัดสารระเหยในองุ่นด้วยเรซิน Amberlite XAD-2 (Ibarz *et al.*, 2006) และนอกจากนี้วิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งด้วยเรซินชนิด Amberlite XAD-2 ไม่สามารถสกัดสารระเหยอิสระหลายชนิดที่พบในการสกัดใบมะกรูดสดด้วยตัวทำละลาย เช่น α -pinene, β -pinene, sabinene, β -myrcene, limonene, *l*-linalool และ citronellyl acetate เป็นต้น นอกจากนี้การสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งยังสกัด citronellal ซึ่งเป็นสารระเหยชนิดที่พบมากที่สุดในน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด (Lawrence *et al.*, 1971) ได้น้อย อาจเนื่องจากการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งในการทดลองนี้ใช้น้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วมากในการสกัดสารระเหยจากตัวอย่างใบมะกรูด อาจทำให้ไม่สามารถสกัดสารระเหยอิสระชนิดไม่มีขั้วออกมาได้ แต่อย่างไรก็ตามวิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งที่ใช้เรซินชนิด Amberlite XAD-2 เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ (Crouzet and Chassagne, 1999)

1.2 สารระเหยในรูปไกลโคไซด์

วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ซึ่งวิเคราะห์ในรูปสารอะไกลโคนได้ 50 ชนิด โดยสารกลุ่มหลัก ได้แก่ แอลกอฮอล์ (45.3%) อัลดีไฮด์ (33.9%) ไฮโดรคาร์บอน (10.5%) และเอสเทอร์ (7.8%) โดย citronellal เป็นสารที่พบมากที่สุดเช่นเดียวกับในรูปอิสระ นอกจากนี้ยังมีสารบางชนิดที่พบเฉพาะในรูปไกลโคไซด์ คือ 2-(2-hydroxyl-2-propyl)-5-m-cyclohexanol และ α -terpinene-4-ol ซึ่งเป็นสารที่พบในวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเท่านั้น ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าสารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารระเหยที่พบเฉพาะในรูปไกลโคไซด์เท่านั้น และการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งอาจไม่สามารถสกัดสารดังกล่าวออกมาได้

วิธีการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งด้วยเรซิน Amberlite XAD-2 ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ (Crouzet and Chassagne, 1999) เนื่องจากเรซิน Amberlite XAD-2 มีลักษณะเป็นสารไฮโดรโฟบิก ที่จะดูดซับส่วนที่ไม่มีขั้วของสารไกลโคไซด์ไว้

ตารางที่ 3 สารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยวิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งซึ่งใช้เรซิน Amberlite XAD-2

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
ACYCLIC MONOTERPENES and derivatives								
<u>Alcohols</u>								
44	<i>β</i> -citronellol	rose-like, orange, green, fresh, burnt	1332	40.0	37.5	0.6	4.1	16.0
46	<i>trans</i> -geraniol	sweet, floral, fresh rose	1359	40.0	5.4	0.1	0.5	1.9
<u>Aldehydes</u>								
36	citronellal	fresh, oily, green, citrus-lemon, woody	1264	25.0	205.5	3.4	0.5	1.9
47	geranial	strong, lemon-like, floral	1378	32.0	12.1	0.2	0.2	0.8
		subtotal			254.5		5.3	
CYCLIC MONOTERPENES and derivatives								
<u>Ester</u>								
26	<i>trans</i> -sabinene hydrate	sweet, reminiscent of terpineol	1178	55.0	3.5	0.1	-	-
<u>Hydrocarbons</u>								
5	toluene	-	870	n.a.	8.1	0.1	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
10	<i>p</i> -xylene	-	981	n.a.	4.6	0.1	-	-
11	styrene	characteristic resinous-balsamic, pungent, hydrocarbon odor	1004	n.a.	348.4	5.7	-	-
13	cumene	-	1032	n.a.	1.5	0.0	-	-
15	n-propylbenzene	-	1061	n.a.	6.7	0.1	-	-
16	1,2,4-trimethylbenzene	-	1070	n.a.	5.0	0.1	-	-
18	1,2,3-trimethylbenzene	-	1076	n.a.	7.5	0.1	-	-
19	1-ethyl-3-methylbenzene	-	1089	n.a.	1.8	0.0	-	-
20	1,3,5-trimethylbenzene	-	1131	n.a.	0.8	0.0	-	-
23	1,3-diethylbenzene	-	1159	n.a.	25.9	0.4	0.7	2.7
24	1,4-diethylbenzene	-	1165	n.a.	38.3	0.6	-	-
25	1,2-diethylbenzene	-	1172	n.a.	21.3	0.4	-	-
27	2-methyl-1- propenylbenzene	-	1195	n.a.	26.3	0.4	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
28	1-methyl-2-phenylcyclopropane	-	1197	n.a.	2,954.7	48.6	0.5	1.8
29	4-ethenyl-1,2-dimethylbenzene	-	1205	n.a.	1,358.6	22.4	-	-
30	1-ethyl-4-(1-methylethyl)benzene	-	1213	n.a.	13.8	0.2	-	-
31	divinylbenzene	-	1225	n.a.	121.5	2.0	-	-
33	2-ethyl-2,3-dihydro 1 <i>H</i> -indrene	-	1241	n.a.	15.8	0.3	-	-
34	1-methyl-4-(1-methylpropyl)benzene	-	1247	n.a.	19.3	0.3	-	-
35	1,3-diethyl-5-methylbenzene	-	1252	n.a.	13.9	0.2	-	-
37	2-methylindene	-	1266	n.a.	155.7	2.6	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
38	1-methyl-1H-indrene	-	1272	n.a.	21.8	0.4	-	-
39	1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	-	1280	n.a.	51.6	0.8	-	-
40	1,2-dihydronaphthalene	-	1283	n.a.	25.8	0.4	-	-
42	1,4-dimethyl-2- (2-methylpropyl)benzene	-	1294	n.a.	30.1	0.5	-	-
43	naphthalene	characteristic dry tarry hydrocarbon odor, camphoraceous note	1305	0.006	77.7	1.3	-	-
subtotal					5876.4		0.7	
CYCLIC SESQUITERPENES and derivatives								
<u>Hydrocarbons</u>								
50	<i>trans</i> - β -caryophyllene	woody, dry, spicy, terpene, midway between cloves and turpentine	1548	64.0	2.2	0.0	-	-
subtotal					2.2			

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
OTHERS								
<u>Alcohols</u>								
1	1-penten-3-ol	pungent, grassy, alliaceous-like	782	400.0	3.5	0.1	-	-
14	1-hexadecanol	-	1050	n.a.	0.9	0.0	-	-
21	2-hexyl-1-octanol	-	1141	n.a.	4.8	0.1	-	-
49	α -4-hydroxy-cyclohexanemethanol	-	1449	n.a.	27.2	0.4	14.0	70.4
<u>Aldehydes</u>								
6	hexanal	strong, fatty-green, glassy unripe fruit odor,	900	n.a.	49.1	0.8	0.4	1.6
8	<i>trans</i> -2-hexanal	strong, leafy-green, fruity, pungent, vegetable-like odor, apple-like	955	17.0	225.8	3.7	0.6	2.3
28	decanal	strong, sweet, orange peel, flowery	1310	0.1	1.0	0.0	-	-
<u>Bases</u>								
48	1 <i>H</i> -indole	floral, sweet, burnt	1409	140.0	3.9	0.1	0.7	2.7

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%	ppm ^e	%
Ketones								
2	1-penten-3-one	strong, penetrating pungent (alliaceous-like), fish-like	788	1.0	4.2	0.1	-	-
3	3-methy-2-pentanone	-	840	n.a.	4.9	0.1	-	-
4	4-methy-2-pentanone	-	857	n.a.	13.9	0.2	-	-
17	2,2,4,4-tetramethyl-3-pentanone	-	1073	n.a.	7.5	0.1	-	-
Oxide								
22	styrene oxide	-	1154	n.a.	2.9	0.0	4.0	15.6
Others								
7	7-oxybicycloheptane	-	953	n.a.	3.5	0.1	-	-
9	2,6-dimethyl-2-heptane	-	971	n.a.	2.8	0.0	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	threshold ^d (ppb)	สารระเหยอิสระ		สารระเหยรูป ไกลโคไซด์	
					ppm ^e	%		
12	1-ethyl-3-methylcyclohexane	-	1014	n.a.	1.9	0.0	-	-
32	1,3-diethyladamantane	-	1235	n.a.	85.7	1.4	-	-
41	2-ethylindan	-	1287	n.a.	9.9	0.2	-	-
45	1-ethyl-1-(1-cyclobutylindenethyl)cyclobutane	-	1350	n.a.	1.1	0.0	-	-
subtotal					1078.2		20.2	
TOTAL					6,076.2		25.7	

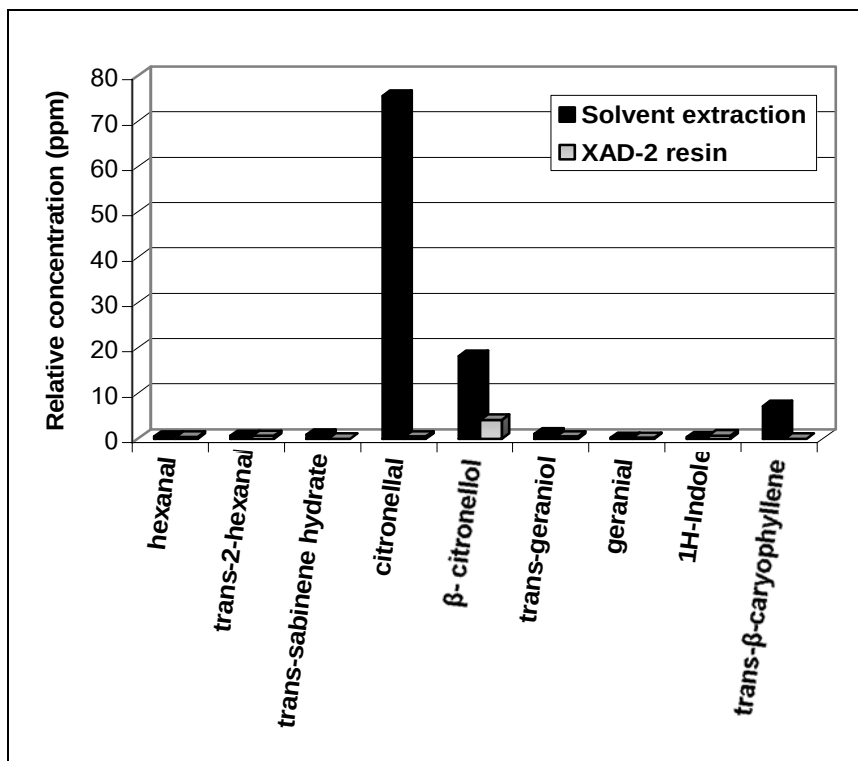
ตารางที่ 3 (ต่อ)

หมายเหตุ	a	ลำดับที่ตรงกับโครมาโตแกรมในภาพผนวกที่ 3-4
	b	จากฐานข้อมูล Flavor-Base'04 ของ Leffingwell (2004)
	c	retention index จากคอลัมน์ HP-5 คำนวณโดยใช้สารมาตรฐาน n-alkane (C ₄ -C ₂₂)
	d	ค่า threshold ในน้ำ จากฐานข้อมูล Flavor-Base'04 ของ Leffingwell (2004) และ Gemert (2003)
	e	ความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสาร (ไมโครกรัม/กรัมตัวอย่าง)
n.a. = not available, trace หมายถึง พบในปริมาณต่ำ, – หมายถึง ไม่พบสารชนิดนั้น		

บริเวณพื้นผิว ทำให้ส่วนที่เป็นน้ำตาลหรือส่วนไกลโคโคน (glycone) ที่เป็นส่วนที่มีขั้วอยู่ในบริเวณที่ว่างระหว่างเม็ด bead อย่างอิสระ ทำให้สามารถสกัดแยกออกด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วได้ง่าย (Sigma-Aldrich Co., 1997; Ananthakumar *et al.*, 2006) จากการทดลองพบว่าวิธีการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งด้วยเรซิน Amberlite XAD-2 สามารถสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ได้ 11 ชนิด โดยสารทั้งหมดเป็นสารที่พบทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์ แต่ปริมาณสารระเหยในรูปไกลโคไซด์นั้นมีปริมาณน้อยกว่าสารระเหยอิสระมาก อย่างไรก็ตามวิธีการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งสามารถสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่มีลักษณะกลั่นสอดคล้องกับกลั่นในมะกรูด ซึ่งมีงานวิจัยเกี่ยวกับสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ในพืชหลายชนิดที่นิยมใช้เรซินชนิด Amberlite XAD-2 ในการศึกษาสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ ซึ่งตัวอย่างพืชที่ใช้เรซิน Amberlite XAD-2 ในการสกัด ได้แก่ capuacu (Boulanger and Crouzet, 2000), เปลือกของ Melon de Olor (Parade *et al.*, 2000), cape gooseberry (*Physalis peruviana*) (Mayorga *et al.*, 2001), mammee apple (*Mammea Americana*) (Morales and Duque, 2002), ใบของ Lulo (*Solanum quitoense*) (Osorio *et al.*, 2003), savory (*Satureja Montana* L.) (Mastelic and Jerkovic, 2003) และ องุ่นสายพันธุ์ Tempranillo และ Grenache (Lopez *et al.*, 2004) เป็นต้น

เนื่องจากวิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งเป็นวิธีที่มีรายงานว่าเหมาะสำหรับการสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเปรียบเทียบปริมาณสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ ที่พบในการสกัดทั้งสองวิธี ได้แก่ hexanal, *trans*-2-hexenal, *trans*-sabinene hydrate, citronellal, β -citronellol, *trans*-geraniol, geranial, 1*H*-indole และ *trans*- β -caryophyllene ดังแสดงในภาพที่ 4 สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ส่วนใหญ่ที่สกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งที่ใช้เรซิน Amberlite XAD-2 มีปริมาณน้อยกว่าวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยเฉพาะ citronellal ที่เป็นสารระเหยที่พบมากที่สุดทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีที่ตัวทำละลาย คือ เมทานอล สัมผัสกับตัวอย่างโดยตรง แต่วิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งใช้น้ำในการสกัดตัวอย่าง และนำสารละลายที่สกัดได้เติมลงในคอลัมน์ ก่อนสกัดแยกสารระเหยในรูปไกลโคไซด์โดยใช้เมทานอลชะผ่านคอลัมน์ ความแตกต่างของความมีขั้วระหว่างน้ำและเมทานอลที่ใช้ในการสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์จากตัวอย่างอาจส่งผลต่อชนิดของสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่สกัดได้ โดยเมทานอลที่มีความมีขั้วต่ำกว่าสามารถสกัดสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ในมะกรูดสดได้ดีกว่า และมีรายงานว่าเรซินชนิด Amberlite XAD-2 ไม่สามารถสกัดแยกสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่มีความมีขั้วสูงใน nutmeg ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับ

การสกัดที่ตัวทำละลายสัมผัสกับตัวอย่างโดยตรง (Ananthakumar *et al.*, 2006) ดังนั้นในการทดลอง
ขั้นต่อไปจึงเลือกใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายในการสกัดตัวอย่างใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง



ภาพที่ 4 สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่สกัดได้โดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายและวิธีสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งที่ใช้เรซิน XAD-2

2. การศึกษาสารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูดสด

ค่า $\log_3$ FD factor เป็นค่าที่บอกระดับการเจือจางตัวอย่างสารระเหยที่สกัดด้วยตัวทำละลาย สารที่มีค่า $\log_3$ FD factor สูง คือสารที่ยังคงให้กลิ่นแม้ผ่านการเจือจางหลายระดับ ค่า $\log_3$ FD factor ของสารระเหยที่ให้กลิ่นในใบมะกรูดสดทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์แสดงในตารางที่ 4 โดยพบว่าสารระเหยในรูปอิสระที่ให้กลิ่นมีทั้งหมด 42 ชนิด และเป็นสารที่ไม่สามารถระบุชนิดเนื่องจากไม่ปรากฏพิกในโครมาโตแกรมจำนวน 12 ชนิด สารระเหยอิสระที่มีค่า $\log_3$ FD factor สูงสุดคือ citronellal และ *l*-linalool โดยมีค่า $\log_3$ FD factor เท่ากับ 4 ส่วนสารอื่นที่มีค่า $\log_3$ FD factor สูงรองลงมา โดยมีค่า $\log_3$ FD factor เท่ากับ 3 ได้แก่ α -pinene, sabinene, β -myrcene,

ตารางที่ 4 ค่า Log₃ FD factor ของสารระเหยในรูปอิสระและไกลโคไซด์ที่ให้กลิ่นในใบมะกรูดสด

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	Log ₃ FD factor ^d	
				สารระเหยอิสระ	สารระเหยในรูปไกลโคไซด์
5	hexanal	green, grassy	900	<1	-
6	<i>trans</i> -2-hexenal	strong, green, grassy	955	2	-
7	α -thujene	fresh leaf, spice	1034	2	<1
8	α -pinene	lemon, wood, dry	1043	3	-
9	sabinene	green, citrus	1082	3	<1
10	β -pinene	dry, lemon, wood	1088	2	-
11	β -myrcene	dry, kaffir lime leaves	1094	3	-
17	<i>trans</i> - β -ocimene	spice, sweet, green	1152	2	-
18	γ -terpinene	floral, sweet, fresh	1161	2	1
19	<i>trans</i> -sabinene hydrate	spice, dry, sweet	1178	3	-
21	<i>l</i> -linalool	strong, floral, sweet, fresh	1204	4	2
23	citronellal	strong, citrus, green, kaffir lime leaves	1264	4	2
27	α -terpineol	kaffir lime leaves	1304	2	<1
28	decanal	kaffir lime leaves, citrus	1310	2	<1

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	Log ₃ FD factor ^d	
				สารระเหยอิสระ	สารระเหยในรูปไกลโคไซด์
29	β -citronellol	fresh kaffir lime leaves	1332	3	<1
31	<i>trans</i> -geraniol	lemon, kaffir lime leaves	1361	3	1
32	geranial	lemon, kaffir lime leaves	1378	2	1
33	1 <i>H</i> -Indole	dried kaffir lime leaves	1409	2	1
35	citronellyl acetate	lemon, kaffir lime leaves	1455	2	<1
37	neryl acetate	kaffir lime leaves	1486	2	1
39	α -copaene	very little kaffir lime leaves	1497	2	-
40	β -cubebene	kaffir lime leaves	1510	1	-
41	<i>trans</i> - β -caryophyllene	kaffir lime leaves, spice	1548	3	<1
45	α -humulene	dried kaffir lime leaves	1583	1	-
46	(+)-aromadendrene	dry, kaffir lime leaves	1591	2	<1
49	<i>trans,trans</i> - α -farnesene	dry, kaffir lime leaves	1614	2	<1
50	bicyclogermacrene	very little lemon-like	1624	3	-
51	δ -guaiene	lemon, wood, kaffir lime leaves	1629	2	-
52	γ -cadinene	dry, kaffir lime leaves	1644	2	-

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ลำดับที่ ^a	สารระเหย	ลักษณะกลิ่น ^b	RI ^c	Log ₃ FD factor ^d	
				สารระเหยอิสระ	สารระเหยในรูปไกลโคไซด์
53	nerolidol	dry, kaffir lime leaves	1672	3	<1
-	unknown	green, fresh leaf	<900	1	-
-	unknown	camphoraceous, green	959	3	-
-	unknown	dry, wood	972	3	-
-	unknown	lemon, kaffir lime leaves	1151	<1	-
-	unknown	lemon, dry, kaffir lime leaves	1472	1	-
-	unknown	kaffir lime leaves	1542	<1	-
-	unknown	kaffir lime leaves	1551	1	<1
-	unknown	kaffir lime leaves	1573	3	-
-	unknown	lemon-like	1684	2	-
-	unknown	dried kaffir lime leaves	1725	<1	-
-	unknown	kaffir lime leaves	1735	1	-
-	unknown	kaffir lime leaves, spice, mint, fresh herb	1748	<1	-

ตารางที่ 4 (ต่อ)

หมายเหตุ	a	ลำดับที่ของสารตรงกับโครมาโตแกรมในภาพผนวกที่ 1-2 และ – หมายถึง ไม่ได้ระบุในโครมาโตแกรม
	b	ระบุลักษณะกลิ่น โดยอธิบายจากการดมผ่าน sniffing port ที่ต่อจาก GC-O
	c	retention index จากคอลัมน์ HP-5 คำนวณโดยใช้สารมาตรฐาน n-alkane (C ₄ -C ₂₂)
	d	ค่า Log ₃ FD factor <1 หมายถึง สารสกัดก่อนเจือจางเพื่อทำ AEDA และ – หมายถึง ไม่ได้กลิ่น

trans-sabinene hydrat, β -citronellol, *trans*-geraniol, *trans*- β -caryophyllene, bicyclogermacrene และ nerolidol สารระเหยเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารระเหยที่มีค่า threshold ต่ำ จึงยังคงให้กลิ่นแม้ระดับการเจือจางสูง

citronellal เป็นสารระเหยที่พบในปริมาณมากที่สุดในใบมะกรูดสด และมีค่า threshold ก่อนข้างต่ำ คือ 25.0 จึงเป็นสารที่ให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูดสด *l*-linalool มีค่า threshold เท่ากับ 6.0 จึงเป็นสารให้กลิ่นสำคัญอีกชนิดหนึ่ง ซึ่ง *l*-linalool ให้กลิ่นหอมหวาน คล้ายดอกไม้ และกลิ่นสด สารระเหยที่ไม่สามารถระบุชนิดมีทั้งหมด 12 ชนิด ส่วนใหญ่ให้กลิ่นใบมะกรูด กลิ่นแห้ง และกลิ่นเครื่องเทศ

สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่วิเคราะห์ในรูปสารอะไกลโคน ที่ให้กลิ่นมีทั้งหมด 19 ชนิด เป็นสารที่ไม่สามารถระบุชนิดเนื่องจากไม่ปรากฏพิกในโครมาโตแกรมจำนวน 1 ชนิด โดยสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่ให้กลิ่นทั้งหมดเป็นสารที่พบในรูปอิสระด้วย แต่เนื่องจากพบในปริมาณต่ำกว่ารูปอิสระมาก จึงมีค่า $\log_3$ FD factor ต่ำกว่า สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่มีค่า $\log_3$ FD factor สูงสุด ซึ่งมีค่า $\log_3$ FD factor เท่ากับ 2 คือ citronellal และ *l*-linalool เช่นเดียวกับสารระเหยในรูปอิสระ และสารระเหยที่มีค่า $\log_3$ FD factor เท่ากับ 3 และ 4 ในรูปสารระเหยอิสระส่วนใหญ่ยังคงสามารถให้กลิ่นเมื่ออยู่ในรูปอะไกลโคน

จากการศึกษาสารระเหยที่ให้กลิ่นในใบมะกรูดสดด้วยวิธี Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) สามารถคัดเลือกสารให้กลิ่นสำคัญเพื่อนำไปศึกษาในการทดลองผลของวิธีการอบแห้งต่อสารให้กลิ่นสำคัญ โดยพิจารณาคัดเลือกสารที่มีค่า $\log_3$ FD factor สูง คือ $\log_3$ FD factor เท่ากับ 3 และ 4 จากค่า $\log_3$ FD factor ของสารระเหยอิสระ และสารเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารที่มีค่า threshold ต่ำและมีค่า Odor Active Value (OAV) มากกว่า 1 โดยค่า OAV คำนวณจาก ค่าความเข้มข้นของสาร/threshold ของสาร ซึ่งสารที่มีค่า OAV มากกว่า 1 มักเป็นสารที่มีบทบาทในการให้กลิ่นสำคัญในตัวอย่าง ตารางที่ 5 แสดงสารให้กลิ่นสำคัญจำนวน 11 ชนิดที่ถูกเลือกเพื่อวิเคราะห์ในการทดลองผลของวิธีทำแห้ง

ตารางที่ 5 สารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูดสด

RI ^a	สาร	ลักษณะกลิ่น ^b	Log ₃ FD Factor	ความเข้มข้น ^c (ppm)	threshold ^d (ppb)	OAV ^e
1043	α -pinene	lemon, wood, dry, resinous, pine, terpinyl, nutty, flower	3	5.3	6.0	883.3
1082	sabinene	green, citrus, woody, terpene citrus pine with spicy nuance	3	114.0	0.98	116,326.5
1094	β -myrcene	dry, kaffir lime leaves, waxy, citrus, green, aldehydic, fruity	3	52.6	1.3	40.5
1178	<i>trans</i> -sabinene hydrate	spice, dry, sweet, reminiscent of terpineol	3	7.0	55.0	127.3
1204	<i>l</i> -linalool	sweet, fresh, floral-woody with faint citrus note, floral	4	220.3	6.0	36,716.7
1264	citronellal	kaffir lime leaves, green, sweet, floral rosy waxy and citrus	4	4,467.4	25.0	178,696.0
1332	β -citronellol	kaffir lime leaves, floral, rosy, sweet, citrus with green	3	72.9	40.0	2,916.0
1359	<i>trans</i> -geraniol	lemon, kaffir lime leaves, sweet, floral, fresh rose	3	14.2	40.0	35.5
1548	<i>trans</i> - β - caryophyllene	spicy, kaffir lime leaves, spice, woody and terpenic	3	171.5	64.0	2,679.7
1624	bicyclogermacrene	very little lemon-like	3	52.6	n.a.	n.a.
1672	nerolidol	faint, woody-floral, slight green odor, weak green floral	3	11.7	10.0	1,170.0

ตารางที่ 5 (ต่อ)

หมายเหตุ	^a	retention index จากคอลัมน์ HP-5 คำนวณโดยใช้สารมาตรฐาน n-alkane (C ₄ -C ₂₂)
	^b	จากการวิเคราะห์สารให้กลิ่นสำคัญด้วยวิธี AEDA ร่วมกับฐานข้อมูล Flavor-Base' 04 ของ Leffingwell
	^c	ความเข้มข้นของสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระในใบมะกรูดสด (ไมโครกรัม/กรัมตัวอย่าง) ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลาย
	^d	ค่า threshold ในน้ำ จากฐานข้อมูล Flavor-Base'04 ของ Leffingwell (2004) และ Gemert (2003)
	^e	OAV (Odor Activity Value) = ความเข้มข้นของสาร / ค่า threshold ของสาร
n.a. = not available		

3. การศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูด

ในการศึกษาผลของวิธีการทำแห้งต่อปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูด กำหนดให้ตัวอย่างใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งทุกวิธีมีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกัน เพื่อให้น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองใกล้เคียงกัน โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างเทียบจากน้ำหนักแห้ง (dry basis) และกำหนดให้มีปริมาณความชื้นต่ำกว่า 12% ตามมาตรฐานสมุนไพรอบแห้ง (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2547) ซึ่งปริมาณความชื้นและน้ำหนักที่ใช้ในการทดลองของใบมะกรูดแสดงในตารางที่ 6

การทำแห้งที่ศึกษาเปรียบเทียบในการทดลองนี้มี 4 วิธี ได้แก่ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) ที่ใช้อุณหภูมิในการแช่แข็ง -40 องศาเซลเซียส และใช้อุณหภูมิในการทำแห้งประมาณ 40 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการทำแห้งนาน 8 ชั่วโมง การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ (microwave assisted vacuum drying) ที่ใช้พลังงาน 1,120 วัตต์ นาน 8 นาที การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (oven drying) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง และการตากแห้งในที่ร่ม (shade drying) นาน 20 วัน

ตารางที่ 6 ปริมาณความชื้นและน้ำหนักที่ใช้ในการวิเคราะห์ของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง

ตัวอย่าง	ปริมาณความชื้น (%)	เวลาในการทำแห้ง	น้ำหนักที่ใช้ในการวิเคราะห์ (กรัม)
Fresh	64.39	-	20.0000
Freeze drying	5.51	8 ชั่วโมง	7.7144
Microwave assisted vacuum drying	5.35	8 นาที	7.7018
Oven drying	5.80	12 ชั่วโมง	7.7380
Shade drying	5.95	20 วัน	7.8570

3.1 สารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระ

การศึกษาผลของวิธีการอบแห้งต่อสารให้กลิ่นสำคัญในใบมะกรูดเป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นสำคัญ 11 ชนิด ซึ่งคัดเลือกจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี AEDA ร่วมกับ

ค่า OAV เมื่อผ่านการทำแห้งทั้ง 4 วิธี ตารางที่ 7 แสดงปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระในใบมะกรูดแห้ง พบว่าสัดส่วนของสารให้กลิ่นสำคัญมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับใบมะกรูดสด โดยการตากแห้งในที่ร่มมีส่วนการลดลงมากที่สุด โดยลดลงถึง 46.99% ส่วนการทำแห้งที่มีสัดส่วนการลดลงรองลงมา คือ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน และ การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ ซึ่งมีสัดส่วนการลดลง 34.24%, 26.20% และ 13.54% ตามลำดับ การลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญดังกล่าวมีสาเหตุมาจากอุณหภูมิ เวลา และสภาวะที่ใช้ในการทำแห้งด้วยวิธีการต่าง ๆ (Diaaz-Maroto *et al.*, 2002b) ซึ่งการลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญดังกล่าวส่งผลให้กลิ่นของใบมะกรูดแห้งแตกต่างจากใบมะกรูดสด เช่น การลดลงของ citronellal ทำให้กลิ่นเขียวลดลง และนอกจากสารให้กลิ่นสำคัญที่แสดงผลในตารางที่ 7 แล้ว ยังมีสารระเหยอิสระที่ไม่พบเมื่อผ่านการทำแห้ง เช่น hexanal และ *trans*-2-hexenal ซึ่งทำให้กลิ่นเขียวและกลิ่นสด ซึ่งเกิดจากสารระเหยทั้งสองชนิดหายไป และการทำแห้งยังทำให้เกิดสารให้กลิ่นที่ให้กลิ่นแห้งซึ่งเป็นสารที่ไม่พบในใบมะกรูดสดอีกด้วย

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นวิธีการที่ทำให้ตัวทำละลายหรือตัวกลางซึ่งมักเป็นน้ำในตัวอย่างกลายเป็นผลึกน้ำแข็งที่อุณหภูมิต่ำ และกำจัดผลึกน้ำแข็งโดยการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งให้กลายเป็นไอทันที (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996) ดังนั้นจึงอาจทำให้สารให้กลิ่นสำคัญระเหยออกไปได้ง่ายพร้อมกับน้ำ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งทำให้ *trans*-sabinene hydrate, *l*-linalool, *trans*- β -caryophyllene, bicyclogermacrene และ nerolidol ลดลงและมีปริมาณต่ำที่สุด ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากน้ำแข็งทำให้เกิดการเสียโครงสร้างของผนังเซลล์ที่กักเก็บสารชนิดดังกล่าวในระหว่างการทำแห้ง (Diaaz-Maroto *et al.*, 2002a) และสารให้กลิ่นสำคัญดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มโมโนเทอร์ปีนที่มีขนาดเล็กจึงทำให้ระเหยออกไปได้ง่ายเมื่อใช้ปั๊มสุญญากาศที่ดูดไอน้ำเหนือตัวอย่างออกตลอดเวลา สอดคล้องกับการทดลองในดัมยาคิงสำเร็จรูป ซึ่งสารระเหยโมเลกุลเล็กมีปริมาณลดลงเมื่อทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (เขาวภา, 2547) และเมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งด้วยไมโครเวฟที่แม้จะใช้ระบบสุญญากาศเช่นเดียวกันแต่การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศใช้เวลาในการทำแห้งน้อยกว่า จึงทำให้การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเกิดการสูญเสียสารให้กลิ่นสำคัญหลายชนิดมากกว่าวิธีการอื่น

การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศเป็นวิธีการที่ทำให้สารให้กลิ่นสำคัญหลายชนิดมีปริมาณใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด ซึ่งได้แก่ α -pinene, sabinene, β -myrcene, citronellal และ bicyclogermacrene ซึ่งอาจมีสาเหตุเนื่องมาจาก การใช้ไมโครเวฟแบบสุญญากาศ เป็นวิธีที่มี

ตารางที่ 7 ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง

RI ¹	สาร	ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญ (ppm)				
		F	FD	MVD	OD	SD
1043	α -pinene	4.82 ^a	3.37 ^b	4.50 ^a	2.98 ^b	2.98 ^b
1082	sabinene	116.19 ^b	91.09 ^{bc}	104.68 ^b	85.79 ^c	177.02 ^a
1094	β -myrcene	62.37 ^{ab}	60.51 ^{ab}	54.49 ^b	49.40 ^b	71.83 ^a
1178	<i>trans</i> -sabinene hydrate	11.95 ^a	4.89 ^c	5.87 ^c	6.53 ^c	8.64 ^b
1204	<i>l</i> -linalool	215.33 ^a	157.24 ^b	171.38 ^b	177.67 ^{ab}	213.24 ^a
1264	citronellal	4,668.32 ^a	3,048.24 ^b	4,127.91 ^a	3,445.87 ^b	2,142.47 ^c
1332	β -citronellol	122.09 ^a	96.63 ^a	58.23 ^b	92.91 ^a	62.90 ^b
1359	<i>trans</i> -geraniol	5.39 ^a	3.86 ^b	3.75 ^b	4.42 ^{ab}	1.00 ^c
1548	<i>trans</i> - β -caryophyllene	181.70 ^a	93.08 ^c	127.70 ^b	113.83 ^b	164.20 ^{ab}
1624	bicyclogermacrene	49.32 ^a	22.92 ^c	48.99 ^a	37.09 ^b	38.78 ^b
1672	nerolidol	14.46 ^a	3.43 ^c	6.48 ^b	6.96 ^b	7.16 ^b
% การลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญ ²			34.24	13.54	26.20	46.99

หมายเหตุ ¹ retention index จากคอลัมน์ HP-5 คำนวณโดยใช้สารมาตรฐาน n-alkane (C₄-C₂₂)

² % การลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญอิสระในใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 4 วิธีเทียบจากตัวอย่างสด

^{a-c} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

F, FD, MVD, OD และ SD หมายถึง ใบมะกรูดสด และใบมะกรูดทำแห้งด้วยวิธี freeze drying, microwave assisted vacuum drying, oven drying และ shade drying ตามลำดับ

อัตราการทำแห้งสูง (Lin *et al.*, 1998) เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทำแห้งแบบอื่น คือ ใช้เวลาทำแห้งเพียง 8 นาทีที่สามารถลดปริมาณความชื้นลงถึง 91.69% จึงทำให้สามารถรักษาสารให้กลิ่นสำคัญไว้ได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองในพืชหลายชนิด ได้แก่ โหระพา (*Ocimum basilicum* L.)

(Yousif *et al.*, 1999) และ ออริกาน (Lippia berlandieri Schauer) (Yousif *et al.*, 2000) ที่วิธีการทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศสามารถรักษาสารให้กลิ่นสำคัญไว้ได้ดี ทำให้กลิ่นของใบมะกรูดทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศมีลักษณะใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด

การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนใช้อุณหภูมิในการทำแห้ง 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ไม่สูงมากนัก จึงสามารถรักษาสารให้กลิ่นสำคัญบางชนิดได้ดีกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ซึ่งสารที่พบในปริมาณมากกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ได้แก่ sabinene, *trans*- β -caryophyllene, bicyclogermacrene และ nerolidol ส่วนสารชนิดอื่น ๆ นั้น มีปริมาณใกล้เคียงกับใบมะกรูดทำแห้งแบบเยือกแข็ง ซึ่งสาเหตุของการสูญเสียสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระดังกล่าวอาจเนื่องมาจากการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแม้ว่าจะใช้อุณหภูมิไม่สูงมาก แต่ตัวอย่างสัมผัสกับความร้อนเป็นเวลานาน และการทำแห้งด้วยวิธีนี้จะมีลมร้อนพัดผ่านผิวหน้าอาหารที่มีความชื้นสูง ความร้อนจะถูกถ่ายเทไปยังผิวของอาหารทำให้น้ำในอาหารระเหยออกมา ซึ่งความร้อนและลมร้อนนี้ทำให้สารให้กลิ่นสำคัญที่มีโมเลกุลขนาดเล็กระเหยออกไปพร้อมกับไอน้ำ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทำแห้งด้วยที่เกิดการสูญเสียสารให้กลิ่นไปพร้อมกับการระเหยของไอน้ำสูงในช่วง 2 ชั่วโมงแรกของการทำแห้ง (Boundhrioua *et al.*, 2003) อย่างไรก็ตามสารให้กลิ่นสำคัญในกลุ่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ *l*-linalool, β -citronellol และ *trans*-geraniol ในใบมะกรูดทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนมีปริมาณใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารกลุ่มดังกล่าวมีจุดเดือดสูง โดย β -citronellol มีจุดเดือดเท่ากับ 222 องศาเซลเซียส และ *trans*-geraniol มีจุดเดือดเท่ากับ 229 องศาเซลเซียส (Leffingwell, 2004) จึงระเหยออกไปได้ยากกว่าสารชนิดอื่น แต่อย่างไรก็ตามจากการสังเกตจากผู้ทดลอง พบว่าใบมะกรูดทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนมีลักษณะกลิ่นแห้งชัดเจนกว่าใบมะกรูดสดและใบมะกรูดทำแห้งด้วยวิธีอื่น และสารให้กลิ่นที่มีลักษณะกลิ่นแห้งคล้ายไม้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี AEDA เช่น (+)-aromadendrene และ γ -cadinene มีค่า $\log_3$ FD factor มากกว่าใบมะกรูดสดและใบมะกรูดทำแห้งด้วยวิธีอื่น ซึ่งอาจส่งผลทำให้ลักษณะกลิ่นของใบมะกรูดทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนมีกลิ่นแห้งมากกว่าวิธีการทำแห้งวิธีอื่น

การตากแห้งในที่ร่มเป็นวิธีการที่มีอัตราการทำแห้งต่ำที่สุด คือใช้เวลานานถึง 20 วันในการทำแห้ง แต่เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ใช้อุณหภูมิสูงหรือระบบสุญญากาศในการทำแห้งจึงทำให้สามารถรักษาสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระได้ใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด โดยสารที่พบในปริมาณใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด ได้แก่ sabinene, β -myrcene, *l*-linalool และ *trans*- β -caryophyllene แต่อย่างไรก็ตามการตากแห้งในที่ร่มทำให้ citronellal ลดลงมาก ซึ่งการลดลงนี้อาจ

ส่งผลต่อลักษณะกลิ่นโดยรวมของใบมะกรูดทำแห้ง เนื่องจาก citronellal เป็นสารที่ให้กลิ่นเขียวและสด แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสารให้กลิ่นสำคัญบางชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้น ได้แก่ sabinene และ β -myrcene ซึ่งอาจมีสาเหตุเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีอากาศเป็นตัวเร่ง (Diaaz-Maroto *et al.*, 2002a) โดย β -pinene สามารถเปลี่ยนเป็น β -myrcene ได้ในสภาวะที่มีอากาศเป็นตัวเร่ง (Hawkins and Vogh, 1953) จึงทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของสารดังกล่าว

3.2 สารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์

การทำแห้งทั้ง 4 วิธีทำให้สัดส่วนของปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับใบมะกรูดสดดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสภาวะการทำแห้งทั้ง 4 วิธีอาจสามารถทำลายพันธะของสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ ให้อยู่ในรูปสารอะไกลโคนที่ให้กลิ่นได้ โดยสัดส่วนของปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ในใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลดลง 63.97% ใบมะกรูดทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ ตู้อบลมร้อน และการตากแห้งในที่ร่มมีสัดส่วนของปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ลดลง 46.42%, 35.61% และ 0.30% ตามลำดับ

สารให้กลิ่นสำคัญที่เลือกมาวิเคราะห์ในส่วนสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์มีทั้งหมด 9 ชนิด เนื่องจาก α -pinene และ β -myrcene เป็นสารให้กลิ่นสำคัญที่ไม่พบในรูปไกลโคไซด์ เมื่อผ่านการทำแห้งทั้ง 4 วิธี พบว่า sabinene เป็นสารที่ไม่พบในรูปไกลโคไซด์ จึงอาจเป็นไปได้ว่าการทำแห้งทำให้ sabinene ในรูปไกลโคไซด์เปลี่ยนรูปเป็นสารอะไกลโคนมากขึ้น เนื่องจากพันธะไกลโคซิดิกระหว่างสารให้กลิ่นสำคัญและน้ำตาลสามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่ใช้ในการแปรรูป (Boulanger and Crouzet, 2000)

citronellal ซึ่งเป็นสารที่พบมากที่สุดที่สุดในรูปไกลโคไซด์เช่นเดียวกับในรูปอิสระในใบมะกรูดสด แต่เมื่อผ่านการทำแห้งทั้ง 4 วิธี citronellal มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก citronellal เป็นสารกลุ่มโมโนเทอร์ปีนที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก และเกิด autooxidation ได้ง่าย (Pudil *et al.*, 1998) รวมถึงยังเป็นสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่พบมากที่สุด จึงทำให้มีโอกาสที่พันธะระหว่างน้ำตาลและสารให้กลิ่นสำคัญสามารถถูกทำลายด้วยเอนไซม์ได้มากกว่าสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ชนิดอื่น

ตารางที่ 8 ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง

RI ¹	สาร	ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญ (ppm)				
		F	FD	MVD	OD	SD
1082	sabinene	0.69 ^a	- ^b	- ^b	- ^b	- ^b
1178	<i>trans</i> -sabinene hydrate	3.28 ^a	0.76 ^b	- ^b	0.70 ^b	3.24 ^a
1204	<i>l</i> -linalool	29.86 ^c	21.10 ^c	42.97 ^b	40.42 ^b	72.02 ^a
1264	citronellal	67.82 ^a	11.31 ^c	27.12 ^b	12.35 ^c	33.58 ^b
1332	β -citronellol	47.49 ^a	18.23 ^c	9.26 ^d	50.84 ^a	29.84 ^b
1359	<i>trans</i> -geraniol	6.54 ^a	4.91 ^b	0.77 ^c	1.25 ^d	2.48 ^c
1548	<i>trans</i> - β -caryophyllene	5.41 ^b	3.80 ^c	5.96 ^b	2.96 ^c	22.39 ^a
1624	bicyclogermacrene	3.41 ^a	- ^c	2.97 ^b	- ^c	3.54 ^a
1672	nerolidol	5.02 ^a	0.96 ^c	0.77 ^d	0.62 ^c	1.91 ^b
% การลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญ ²			63.97	46.42	35.61	0.30

หมายเหตุ ¹ retention index จากคอลัมน์ HP-5 คำนวณโดยใช้สารมาตรฐาน n-alkane (C₄-C₂₂)

² % การลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ในใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 4 วิธีเทียบกับตัวอย่างสด

^{a-c} ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

- หมายถึง ไม่พบสารให้กลิ่นสำคัญ

F, FD, MVD, OD และ SD หมายถึง ใบมะกรูดสด และใบมะกรูดทำแห้งด้วยวิธี freeze drying, microwave assisted vacuum drying, oven drying และ shade drying ตามลำดับ

ใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ส่วนใหญ่น้อยกว่าตัวอย่างสดและใบมะกรูดทำแห้งด้วยวิธีอื่น ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการทำแห้งวิธีนี้ใช้อุณหภูมิต่ำ และน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในช่วงการแช่แข็งส่งผลให้เกิดการแตกของผนังเซลล์ ทำให้เอนไซม์ในใบมะกรูดสามารถทำลายพันธะระหว่างสารให้กลิ่นและน้ำตาล แต่เมื่อพิจารณาปริมาณ

ของสารให้กลิ่นสำคัญอิสระในใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง กลับพบว่าปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญอิสระส่วนใหญ่มีปริมาณน้อยกว่าวิธีทำแห้งแบบอื่น จึงอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์เปลี่ยนเป็นสารให้กลิ่นอิสระแล้ว อาจเกิดการระเหยออกไปมากกว่าวิธีการอื่นเนื่องจากผนังเซลล์ถูกทำลายและมีการใช้ปั๊มสุญญากาศดูดไอน้ำเหนือตัวอย่างตลอดเวลา แต่อย่างไรก็ตามวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งก็ยังเป็นที่นิยมใช้ในการทำแห้งเนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถรักษาโครงสร้างภายนอกและลักษณะปรากฏของตัวอย่างได้ดี โดยใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีลักษณะของใบที่ไม่ม้วนงอเหมือนใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วยวิธีการอื่น ดังแสดงในภาพผนวกที่ 5

การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ทำให้สารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์น้อยกว่าตัวอย่างสดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการให้ความร้อนแบบไดอิเล็กตริกด้วยไมโครเวฟเป็นการทำให้เกิดความร้อนภายในวัตถุโดยตรง อุณหภูมิในการทำแห้งจึงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมากกว่าวิธีการทำแห้งวิธีอื่น (นิรนาม, 2539) ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นอาจทำลายพันธะระหว่างสารให้กลิ่นและน้ำตาล ทำให้สารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์เปลี่ยนรูปเป็นสารให้กลิ่นอิสระ และเนื่องจากเป็นวิธีการทำแห้งที่ใช้เวลาน้อยจึงทำให้ไม่สูญเสียสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระ จึงพบสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระในปริมาณใกล้เคียงกับตัวอย่างสด แต่อย่างไรก็ตามระบบสุญญากาศช่วยให้โมเลกุลน้ำแพร่อย่างรวดเร็วสู่ผิวหน้าอาหารและระเหยเข้าสู่ห้องสุญญากาศ (Zhang *et al.*, 2006) อาจส่งผลต่อการลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ ซึ่งวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและการทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศมีปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์น้อยกว่าวิธีการอื่น

การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนทำให้สารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ส่วนใหญ่มีปริมาณน้อยกว่าใบมะกรูด ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากอุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้งสามารถทำลายพันธะระหว่างสารให้กลิ่นสำคัญและน้ำตาลได้ (Diaaz-Maroto *et al.*, 2002a) ซึ่งต่างจากการตากแห้งในที่ร่มซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ใช้ความร้อนสูง จึงทำให้สารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์หลายชนิดมีปริมาณใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด และพบว่า *l*-linalool และ *trans*- β -caryophyllene มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากระยะเวลาที่ใช้ในการทำแห้งนาน ตัวอย่างจึงมีโอกาสสัมผัสกับอากาศมากกว่าวิธีการอื่น จึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่า สอดคล้องกับรายงานการเพิ่มขึ้นของสาร *l*-linalool และ *trans*- β -caryophyllene ในน้ำมันหอมระเหยจาก summer savory ในตัวอย่างที่ตากแห้งในที่ร่ม (Sefidkon *et al.*, 2006)

4. ค่าสีของใบมะกรูด

ลักษณะทางกายภาพเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์ ในการทดลองนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลของการทำแห้งต่อสีของใบมะกรูดเทียบกับตัวอย่างสด ดังแสดงในตารางที่ 9 โดยแสดงค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ โดยค่า L^* แสดงค่าความสว่างของสี ค่า $+ a^*$ หมายถึงอยู่ในทิศของสีแดง ค่า $- a^*$ หมายถึงอยู่ในทิศของสีเขียว ค่า $+ b^*$ หมายถึงอยู่ในทิศของสีเหลือง ค่า $- b^*$ หมายถึงอยู่ในทิศของสีน้ำเงิน (อรุณ, ม.ป.ป.)

สปีบริเวณหน้าใบมะกรูดที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 4 วิธีมีค่า L^* เพิ่มขึ้น ซึ่งหมายถึงมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นหรือสีซีดกว่าสปีบริเวณหน้าใบของใบมะกรูดสด และนอกจากนี้ค่า b^* ของใบมะกรูดแห้งมีค่ามากกว่าใบมะกรูดสด คือ มีค่าความของสีเหลืองสูงกว่าใบมะกรูดสด เมื่อพิจารณาค่า a^* พบว่าใบมะกรูดทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนมีค่าใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด และเมื่อพิจารณาร่วมกับค่า b^* พบว่ามะกรูดทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนมีลักษณะสีที่เข้มและมีค่าน้อยกว่าใบมะกรูดสด ใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศมีค่า a^* น้อยกว่า แต่ค่า b^* มากกว่าใบมะกรูดสด จึงทำให้มีสีที่อ่อนกว่าใบมะกรูดสด แต่ยังมีสีสดมากกว่าใบมะกรูดอบแห้งด้วยวิธีการอื่น ใบมะกรูดตากแห้งในที่ร่มมีค่า b^* ต่ำกว่าใบมะกรูดสดและใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วยวิธีอื่นจึงมีสีเข้มและมีค่าน้อยกว่า

เมื่อพิจารณาค่า $L^* a^* b^*$ ด้านหลังใบของใบมะกรูดแห้งพบว่ามีความใกล้เคียงกันกับใบมะกรูดสด แต่ใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ และ ใบมะกรูดที่ตากแห้งในที่ร่มมีค่าความสว่างของสีสูงกว่า หรือมีสีซีดกว่าใบมะกรูดสด ส่วนค่า a^* ที่แสดงค่าของสีเขียวพบว่ามีค่าความสว่างของสีสูงกว่า หรือมีสีซีดกว่าใบมะกรูดสด โดยเฉพาะใบมะกรูดที่ตากแห้งในที่ร่มที่มีค่าต่ำกว่ามาก ค่า b^* ของใบมะกรูดแห้งส่วนใหญ่มีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่างสด ยกเว้นใบมะกรูดทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ ที่มีค่าความเป็นสีเหลืองสูงกว่า และเมื่อพิจารณาร่วมกันทั้งค่า $L^* a^* b^*$ พบว่า ใบมะกรูดทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศจะมีสีด้านหลังใบอ่อนกว่าใบมะกรูดสด ส่วนใบมะกรูดที่ทำแห้งด้วยวิธีอื่นจะมีค่าของสีเขียวน้อยกว่าตัวอย่างสด

ตารางที่ 9 ค่า L* a* b* ด้านหน้าใบและหลังใบของใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง

ตัวอย่าง	หน้าใบ			หลังใบ		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
F	29.14±0.14 ^c	-7.34±0.39 ^c	11.28±0.19 ^d	45.78±0.12 ^d	-10.54±0.11 ^d	27.76±0.22 ^b
FD	40.30±0.37 ^a	-6.79±0.26 ^c	17.89±0.17 ^b	49.18±0.33 ^c	-7.32±0.19 ^b	24.54±0.25 ^c
MVD	37.31±0.20 ^d	-5.53±0.22 ^b	24.42±0.11 ^a	53.20±0.35 ^a	-7.50±0.24 ^b	37.96±0.10 ^a
OD	38.31±0.16 ^c	-7.16±0.10 ^c	17.76±0.20 ^{bc}	45.44±0.28 ^d	-9.48±0.20 ^c	25.40±0.20 ^d
SD	39.17±0.25 ^b	-4.32±0.09 ^a	17.50±0.30 ^c	52.40±0.08 ^b	-4.90±0.09 ^a	26.11±0.24 ^c

หมายเหตุ a,b,c,d,e ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

F, FD, MVD, OD และ SD หมายถึง ใบมะกรูดสด และใบมะกรูดทำแห้งด้วยวิธี freeze drying, microwave assisted vacuum drying, oven drying และ shade drying ตามลำดับ

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การสกัดสารระเหยอิสระและสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสดด้วยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถสกัดสารระเหยอิสระ 54 ชนิด และสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ 39 ชนิด ซึ่งสารระเหยเหล่านี้มีลักษณะกลิ่นที่สอดคล้องกับลักษณะกลิ่นของใบมะกรูด วิธีการสกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งที่ใช้เรซิน XAD-2 ตรวจพบสารระเหยอิสระ 50 ชนิด และสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ 11 ชนิด แต่สารส่วนมากเป็นสารที่ไม่สอดคล้องกับชนิดของสารระเหยในใบมะกรูด
2. สารระเหยอิสระที่พบมากที่สุด ใบมะกรูดสดจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย คือ citronellal และสารระเหยที่พบในปริมาณรองลงมา ได้แก่ *l*-linalool, *trans*- β -caryophyllene, hexanal, sabinene และ β -citronellol สารระเหยในรูปไกลโคไซด์ที่มีปริมาณมากที่สุด ใบมะกรูดสด คือ citronellal เช่นเดียวกับในรูปอิสระ นอกจากนี้ยังมีสารบางชนิดที่พบเฉพาะในรูปไกลโคไซด์ คือ 2-(2-hydroxyl-2-propyl)-5-m-cyclohexanol และ α -terpinene-4-ol
3. การวิเคราะห์สารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระในใบมะกรูดสดด้วยวิธี Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) พบว่าสารที่มีค่า $\log_3$ FD factor สูงที่สุดคือ citronellal และ *l*-linalool ที่มีค่า $\log_3$ FD factor เท่ากับ 4 และสารที่มีค่า $\log_3$ FD factor สูงรองลงมา ได้แก่ α -pinene, sabinene, β -myrcene, *trans*-sabinene hydrate, β -citronellol, *trans*-geraniol, *trans*- β -caryophyllene, bicyclogermacrene และ nerolidol ซึ่งมีค่า $\log_3$ FD factor เท่ากับ 3
4. การทำแห้งทำให้ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระลดลง โดยการตากแห้งในที่ร่มมีส่วนการลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระมากที่สุด คือลดลงถึง 46.99% ส่วนการทำแห้งที่มีสัดส่วนการลดลงของสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระรองลงมา คือ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ด้วยการทำให้แห้งด้วยอุณหภูมิอื่น และการทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ ซึ่งมีสัดส่วนการลดลง 34.24%, 26.20% และ 13.54% ตามลำดับ
5. การทำแห้งทำให้สารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ลดลง อาจเนื่องจากการทำแห้งสามารถทำลายพันธะไกลโคซิดิกระหว่างน้ำตาลและสารให้กลิ่นสำคัญ โดยพบว่าสัดส่วนของปริมาณสาร

ให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ของใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลดลงมากที่สุด โดยมีค่าลดลง 63.97% ใบมะกรูดทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ ตู้อบลมร้อน และการตากแห้งในที่ร่มมีสัดส่วนของปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญลดลง 46.42%, 35.61% และ 0.30% ตามลำดับ

6. การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งทำให้สารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและไกลโคไซด์ส่วนใหญ่้น้อยกว่าตัวอย่างสดและตัวอย่างที่ทำแห้งด้วยวิธีการอื่น เช่น *trans*-sabinene hydrate, *l*-linalool, *trans*- β -caryophyllene, bicyclogermacrene และ nerolidol ในรูปสารระเหยอิสระ และ citronellal, *trans*- β -caryophyllene และ bicyclogermacrene ในรูปไกลโคไซด์

7. การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศนาน 8 นาที เป็นวิธีการที่ทำให้ปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระส่วนใหญ่ใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด ซึ่งได้แก่ α -pinene, sabinene, β -myrcene, citronellal และ bicyclogermacrene แต่การทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศทำให้มีปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์น้อยกว่าตัวอย่างสดอย่างมีนัยสำคัญ

8. การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนซึ่งใช้อุณหภูมิในการทำแห้ง 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมงมีปริมาณสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระน้อยกว่าใบมะกรูดสด แต่สามารถรักษาสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระบางชนิดได้ดีกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ส่วนสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระชนิดอื่นๆ นั้น มีปริมาณใกล้เคียงกับใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ส่วนสารให้กลิ่นสำคัญในรูปไกลโคไซด์ส่วนใหญ่พบในปริมาณน้อยกว่าใบมะกรูดสด

9. การตากแห้งในที่ร่มเป็นวิธีการที่มีอัตราการแห้งต่ำที่สุด โดยใช้เวลานานถึง 20 วันในการทำแห้ง แต่สามารถรักษาสารให้กลิ่นสำคัญในรูปอิสระและในรูปไกลโคไซด์ได้ใกล้เคียงกับใบมะกรูดสด ยกเว้นสาร citronellal ที่พบในรูปอิสระในปริมาณน้อยกว่าใบมะกรูดสดและใบมะกรูดทำแห้งวิธีอื่น

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากในงานวิจัยนี้ศึกษาชนิดและปริมาณสารระเหยอิสระและไกลโคไซด์ในใบมะกรูดสดและใบมะกรูดแห้ง ซึ่งเป็นการศึกษาคุณสมบัติด้านเคมี ดังนั้นจึงควรศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของลักษณะทางกายภาพ อายุการเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภค เป็นต้น ตลอดจนการศึกษาถึงลักษณะกลิ่นที่เกิดขึ้นเมื่อนำไปใช้ในการประกอบอาหาร

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

คมสัน หุตะแพทย. 2549. การสกัดน้ำมันหอมระเหย การใช้ประโยชน์และการทำผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย. บริษัท ออฟเซ็ท ครีเอชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ.

จิรวัดน์ กันต์เกรียงวงศ์, วรพจน์ สุนทรสุข และ ประเวทย์ ดุ้ยเต็มวงศ์. ม.ป.ป. การผลิตพริกแห้งแบบใหม่โดยเครื่องไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน. การผลิตพริกแห้งแบบใหม่โดยเครื่องไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน. แหล่งที่มา: <http://www.phtnet.org/download/FullPaper/pdf/3rdSeminarKu/44.pdf>, 20 กรกฎาคม 2550.

ชวน คล้ายปาน. 2545. เตาอบไมโครเวฟ. เตาอบไมโครเวฟ. แหล่งที่มา: http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/pep_2_2546_microwave.pdf, 20 พฤษภาคม 2550.

ธีระพล ประมวลกิจจา. 2524. น้ำมันหอมระเหย, ตอนที่ 2. อุตสาหกรรมสาร 24(2): 16-36.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2534. เครื่องเทศ. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

_____ และ พยอม ดันติวัฒน์. 2534. พิษสมุนไพร. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 2539. เอกสารการสอนชุดวิชาถนอมอาหารและการแปรรูป สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. โรงพิมพ์ชวนพิมพ์, กรุงเทพฯ.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2547. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนสมุนไพรแห้ง. มพช.430/2547.

เขวากา หล่อเจริญผล. 2547. ผลของกระบวนการแปรรูปต่อสารให้กลิ่นจากตัวยากึ่งสำเร็จรูป. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2535. วิศวกรรมแปรรูปอาหาร: การถนอมอาหาร. โอ.เอส.พรินติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ.

- รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. **พืชเครื่องเทศและสมุนไพร**. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ.
- สมบัติ ขอทวีวัฒนา. 2526. **หลักการทำแห้ง**. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สมสุข มัจฉาชีพ. 2542. **พืชสมุนไพร**. ครั้งที่ 2. บริษัทรุ่งศิลป์การพิมพ์ (1997) จำกัด, กรุงเทพฯ.
- สุพจน์ คิลานเกสซ์. 2543. **สมุนไพรเครื่องเทศและพืชปรุงแต่งกลิ่นรส**. สำนักพิมพ์ประพันธ์สาส์น จำกัด, กรุงเทพฯ.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2544. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันใบมะกรูด**. มอก. 2079-2541.
- อรัญ หาญสืบสาย. ม.ป.ป.. **การสื่อสารสื่ออย่างแม่นยำ การควบคุมสื่อจากการรับรู้ไปสู่อุปกรณ์วัดสี**. Trinity Publishing Co., Ltd., กรุงเทพฯ.
- Ananthakumar, A., P.S. Varriyar and A. Sharma. 2006. Estimation of aroma glycosides of nutmeg and their changes during radiation processing. **J. Chromatogr. A**: 252-257.
- Andress, E.L. and J.A. Harrison. 2006. **Drying Herbs**. National Center for home food preservation. Available Source: <http://www.uga.edu/nchfp/how/dry/herbs.html>, August 13, 2007.
- App, P. and M.L.A. Tock. 2005. Enhanced flavour extraction in continuous liquid-liquid extractors. **J. Chromatogr. A** 1083: 215-218.
- Ballesteros, E., M. Gallego and M. Valcárcel. 2000. Analytical potential of fullerene as adsorbent for organic and organometalluc compounds from aqueous solutions. **J. Chromatogr. A** 869: 101-110.

- Barbosa-Cánovas, G. and H. Vega-Mercado. 1996. **Dehydration of Foods**. International Thomsom Publishing, New York.
- Bassey, M.W. 1981. Solar energy as a heat source in crop drying in Sierra Leone. pp. 73-80. In G. Yaciuk, ed. **Food Drying**. International Development Research Centre, Ottawa, Canada.
- Bondaruk, J., M. Markowski and W. Blaszcak. 2007. Effect of drying on the quality of vacuum-microwave dried potato cubes. **J. Food Eng.** 81: 306-312.
- Boulanger, J. and J. Crouzet. 2000. Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 3-glycosidically bound components of capuacu. **Food Chem.** 8: 463-470.
- Boundhrioua, N., P. Giampaoli and C. Bonazzi. 2003. Changes in aromatic components of banana during ripening and air-drying. **J. Lebensm.-Wiss. u.-Technol.** 36: 633-642.
- Cai, J., B. Liu, P. Ling and Q. Su. 2002. Analysis of free and bound volatiles by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry in uncased and cased tobaccos. **J. Chromatogr. A** 947: 267-275.
- Chyau, C.C., P.T. Ko, C.H. Chang and J. L. Mau. 2003. Free and glycosidically bound aroma compounds in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). **Food Chem.** 6: 387-392.
- Crouzet, J and D. Chassagne. 1999. Glycosidically bound volatiles in plants, pp. 225-273. In R. Ikan, ed. **Naturally Occuring Glycosides**. John Wiley & Sons Ltd., Canada.
- Delwiche, J. 2004. The impact of perceptual interactions on perceived flavor. **Food Quality and Preference** 15 (2): 137-146.

- Diaaz-Maroto M.C., M.S. Pearez-Coello and M.D. Cabezudo. 2002a. Effect of drying method on the volatiles in bay leaf (*Laurus nobilis* L.). **J. Agric. Food Chem.** 5: 4520-4524.
- _____, ____ and _____. 2002b. Effect of different drying methods on the volatile components of parsley (*Petroselinum crispum* L.). **Eur. Food Res. Technol.** 215: 227-230.
- Ferrier, R.J. 1988. The synthesis and reaction of monosaccharide derivatives, pp. 443-499. *In* J.F. Kennedy, ed. **Carbohydrate Chemistry**. Oxford University Press, New York.
- Fisher, C. and T.R. Scott. 1997. **Food Flavours Biology and Chemistry**. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham, Cambridge.
- Gemert, L.J. van. 2003. **Odour Thresholds Complications of Odour Thresold Values in Air, Water and Other Media**. Van Setten Kwadraat, Houten, The Netherlands.
- Gernot, K. 2002. **Kaffir Lime (*Citrus hystrix* DC.)**. Spice pages: Kaffir Lime (*Citrus hystrix*, jerut purat, makrut). Available Source: http://www.uni-graz.at/~katzner/engl/Citr_hys.html, July 14, 2007.
- Hawkins, J.E. and J.W. Vogh. 1953. The rate of the thermal isomerization of pinene in the vapor phase. **Food Chem.** 57: 902.
- Hirasa, K. and M. Takamasa. 1998. **Spice Science and Technology**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Huafu, W. and Y. Xiaoqing. 1996. Free and glycosidially bound monoterpene alcohol in Qimen black tea. **Food Chem.** 56 (4): 395-398.

- Ibarz, M.J., V. Ferreira, P. Hernandez-Orte, N. Loscos and J. Cacho. 2006. Optimization and evaluation of a procedure for the gas chromatographic–mass spectrometric analysis of the aromas generated by fast acid hydrolysis of flavor precursors extracted from grapes. **J. Chromatogr.** 13: 217-229.
- Krokida, M.K. and C. Philippopoulos. 2006. Volatility of apples during air and freeze drying. **J. Food Eng.** 73: 135-141.
- Lawrence, B.M., J.W. Hogg, S.J. Terhune and V. Podimuang. 1971. Constituents of the leaf and peel oil of *Citrus Hystrix*, D.C. **PhytoChem.** 2: 1404-1405.
- Leffingwell, J.C. 2004. **Flavor-Base Database**, Version Date July 1, 2004.
- Lin, T.M., T.D. Durance and C.H. Scaman. 1998. Characterization of vacuum microwave, air and freeze dried carrot slices. **Food Research International** 31: 111-117.
- Lopez, R., E. Ezpeleta, I. Sanchez, J. Cacho and V. Ferrera. 2004. Analysis of the aroma intensities of volatile compounds released from mild acid hydrolysates of odourless precursors extracted from Tempranillo and Grenache grapes using gas chromatography-olfactometry. **Food Chem.** 88: 95-103.
- Mastelic, J. and I. Jerkovic. 2003. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of free and glycoconjugated aroma compounds of seasonally collected *Satureja montana* L.. **Food Chem.** 80: 135-140.
- Mayorga, H., H. Knapp, P. Winterhalter and C. Duque. 2001. Glycosidically bound flavor compounds of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). **J. Agric. Food Chem.** 49: 1904-1908.

- Milos, M. and A. Radonic. 2000. Gas chromatography mass spectral analysis of free and glycosidically bound volatile compounds from *Juniperus oxycedrus* L. growing wild in Croatia. **Food Chem.** 68: 333-338.
- _____, J. Mastelic and I. Jerkovic. 2000. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*). **Food Chem.** 71: 79-83.
- Morales, A.L. and C. Duque. 2002. Free and glycosidically bound volatiles in mammee apple (*Mammea americana*) fruit. **Eur. Food Res. Technol.** 6:221-226.
- Nijhuis, H.H., H.M. Torringa, S. Muresan, D. Yuksel, C. Leguijt and W. Kloek. 1998a. Approches to improving the quality of dried fruit and vegetables. **Trends in Food Sci. and Technol.** 9: 13-20. Cited H.A.C. Thijssen and W.H. Rulkens. 1968. Retention of aromas in drying food liquids. **Ingenieur** 80: chapter 45.
- _____, _____, _____, _____, _____ and _____. 1998b. Approches to improving the quality of dried fruit and vegetables. **Trends in Food Sci. and Technol.** 9: 13-20. Cited J.M. Flink and M. Karel. 1970. Retention of organic volatiles in freeze-dried solution of carbohydrate. **J. Agric. FoodChem.** 18: 295-297.
- Oetjen, G.W. 1999. **Freeze-Drying**. Wiley-VCH Verlag GmbH, Germany.
- Osorio, C., C. Duque and F. Batista-Viera. 2003. Studies on aroma gneration in lulo (*Solanum quitoense*): enzymatic hydrolysis of glycosides from leaves. **Food Chem.** 81: 333-340.
- Parada, F., C. Duque and Y. Fujimoto. 2000. Free and bound volatile composition and characterization of some glucoconjugates as aroma precursors in melon de olor fruit pulp (*Sicana odorifera*). **J. Agric. Food Chem.** 48: 6200-6204.

- Piggott, J.R. 2000. Dynamism in flavour science and sensory methodology. **Food Research International** 33 (3-4): 191-197.
- Pomeranz, Y. and C.E. Meloan. 1978. **Food Analysis: Theory and Practice**. AVI publishing company, Inc, U.S.A.
- Potter, N.N. and J.H. Hotchkiss. 1995. **Food Science**. 5 ed. Chapman & Hall, New York.
- Prabhu, P.V. and K.K. Balachandran. 1981. Drying of fish in India. pp. 11-14. In G. Yaciuk, ed. **Food Drying**. International Development Research Centre, Ottawa, Canada.
- Pudil, F., H. Wijaya, V. Janda, J. Volfova, H. Valentava and J. Pokorny. 1998. Change in *Citrus hystrix* oil during autooxidation, pp. 707-718. In E.T. Contis, C.T. Ho, C.J. Mussinan, T.H. Parliament, F. Shahidi and A.M. Spanier, eds. **Food Flavors: Formation, Analysis and Packaging Influences**. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Reineccius, G. 2006. **Flavor Chemistry and Technology**. 2nd ed. CRC press. Boca Raton
- Rennselaer. n.d. Carbohydrates Molecular Biochemistry I. **Carbohydrates**. Available source: <http://72.14.207.104/search?q=cache:SMlbyp8am8UJ:www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/part2/1-o.ppt+Molecular+Biochemistry+I+carbohydrate+ppt&hl=th&gl=th&ct=clnk&cd=2>, February 5, 2006.
- Ruth, S.M. 2001. Methods for gas chromatography-olfactometry: a review. **Biomolecular Eng.** 17 (4-5): 121-128.
- Sarry, J.E. and Z Günata. 2004. Plant and microbial glycoside hydrolases: Volatile release from glycosidic aroma Precursors. **Food Chem.** 13: 509-521.

- Scarpellino, R. and R.J. Soukup. 1993. Key flavor from heat reactions of food ingredients, pp. 309-335. *In* T.E. Acree and R. Teranishi, eds. **Flavor Science: Sensible Principles and Techniques**. ACS Professional Reference Book, Washington, DC.
- Sefidkon, F., K. Abbasi and G.B. Khaniki. 2006. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. **Food Chem.** 99: 19-23.
- Shaikh, Y. 2002. **Specialty Aroma Chemicals in Flavors and Fragrances**. Allured Publishing Corporation, Illinois.
- Sides, A., K. Robards and S. Hrlliwel. 2000. Developments in extraction techniques and their application to analysis of volatiles in foods. **Trends Analytical Chem.** 19 (5): 322-329.
- Sigma-Aldrich Co. 1997. **Amberlite XAD-2 polymeric adsorbent product specification**. Amberlite XAD-2 polymeric adsorbent specification. Available Source: <http://www.sigma-aldrich.com/AmberliteXAD-2/productspecification.pdf>, August 12, 2006.
- Vega-Mercado, H., M.M. Góngora-Nieto and G. V. Barbosa-Cánovas. 2001. Advance in dehydration of foods. **J. Food Eng.:** 271-289.
- Venskutonis, P.R. 1997. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). **J. Food Chem.** 59 (2): 219-227.
- Yousif, A.N., T.D Durance, C.H. Scaman and B. Girard. 1999. Flavor Volatiles and Physical Properties of Vacuum-Microwave- and Air-Dried Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) **J. Agric. Food Chem.** 47 (11): 4777 -4781.

- Yousif, A.N., T.D Durance, C.H. Scaman and B. Girard. 2000. Headspace volatiles and physical characteristics Of vacuum-microwave, air, and freeze-dried oregano (*Lippia barlandieri* Schauer). **J. Food Sci.: Food Chem. and Toxicology**: 926-930.
- Zhang, M., C.L. Li and X.L. Ding. 2005. Effect of heating conditions on thermal denatuation of white mushroom suitable for dehydration. **Drying Technol.** 21 (3): 1119-1125.
- _____, J. Tang, A.S. Mujumda and S. Wang. 2006. Trends in mirowave-related drying of fruits and vegetables. **Trends Food Sci. Technol.** 17: 524-534.
- Zhu, X., Q. Su, J. Cai and J. Yang. 2006. Optimization of microwaved-assisted solvent extraction for volatile organic acid in tobacco and its comparison with conventional extraction methods. **Analytica Chemica Acta**: 88-94.

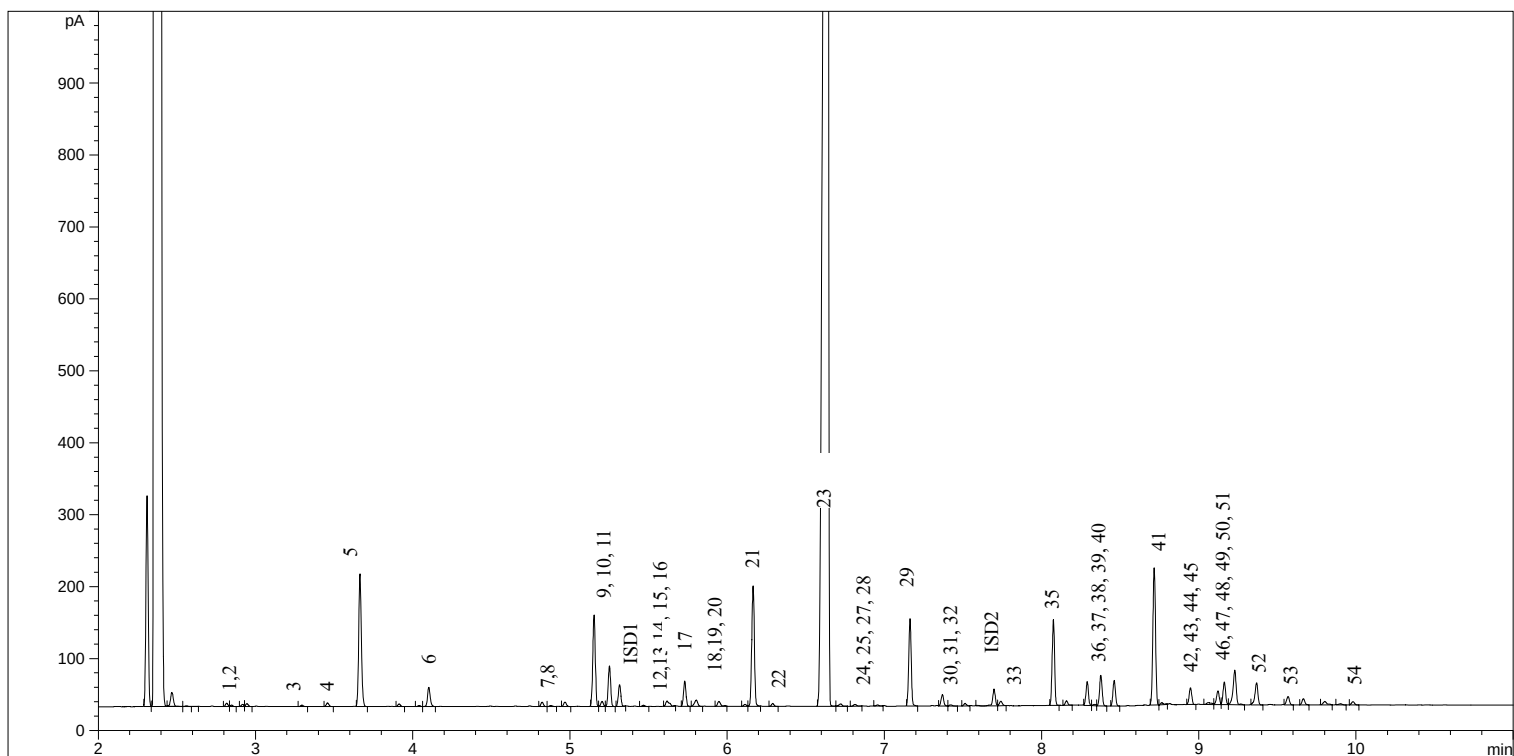
ภาคผนวก

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การคำนวณค่า Retention Index (RI)

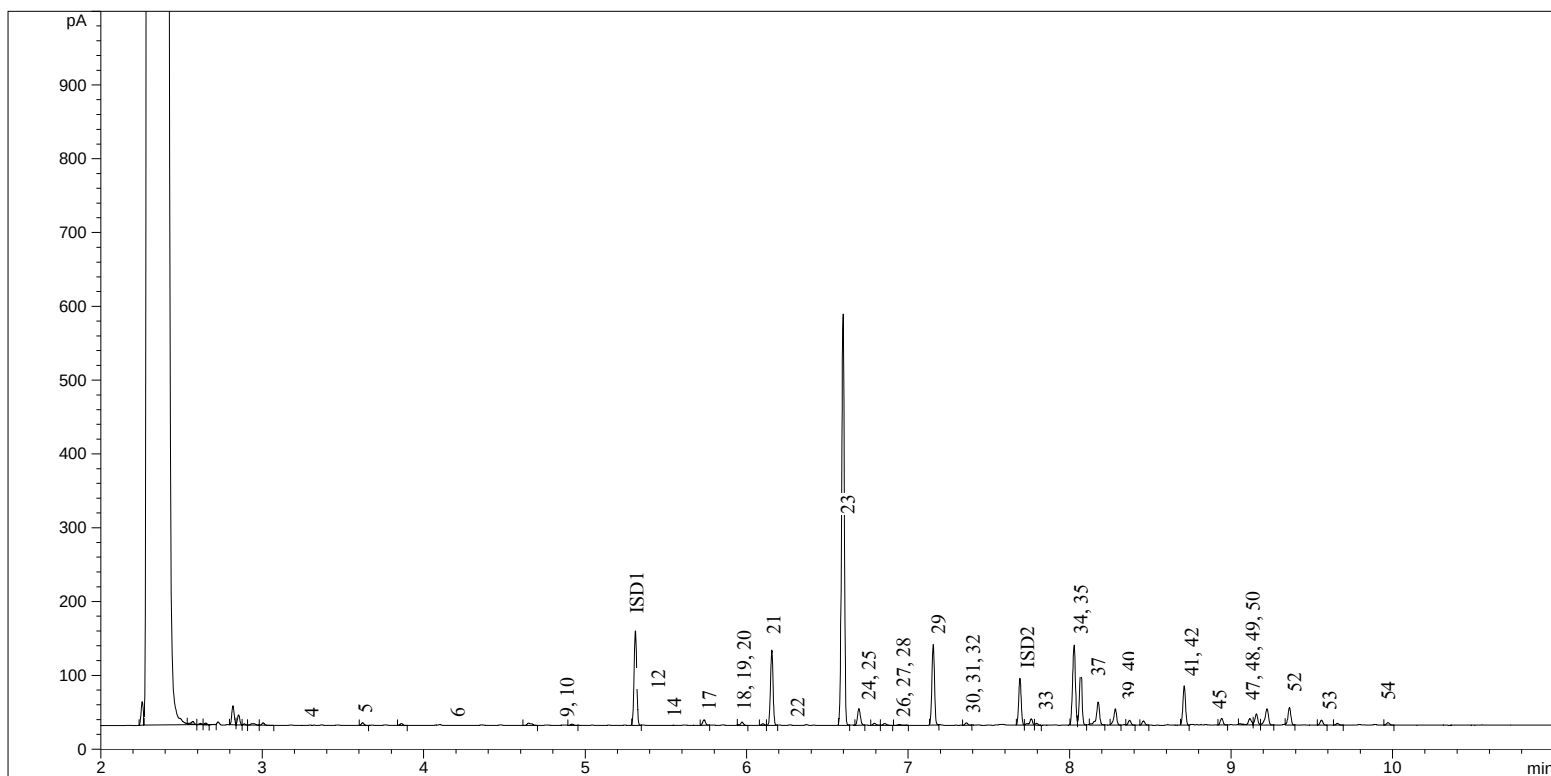
$$RI = 100 N + 100 n \frac{t_{Ra} - t_{RN}}{t_{R(N+n)} - t_{RN}}$$

- เมื่อ
- N = จำนวนอะตอมของคาร์บอนในสารมาตรฐานอัลเคนที่มีคาร์บอนน้อยกว่า
 - n = ความแตกต่างระหว่างจำนวนอะตอมของคาร์บอนในสารมาตรฐานอัลเคน 2 ตัวที่ค่า retention time (RT) ของตัวอย่างอยู่ระหว่างกลาง
 - t_{Ra} = RT ของตัวอย่างสารระเหยที่ต้องการวิเคราะห์ค่า RI
 - t_{RN} = RT ของสารมาตรฐานอัลเคนที่มีคาร์บอนน้อยกว่า
 - $t_{R(N+n)}$ = RT ของสารมาตรฐานอัลเคนที่มีคาร์บอนมากกว่า



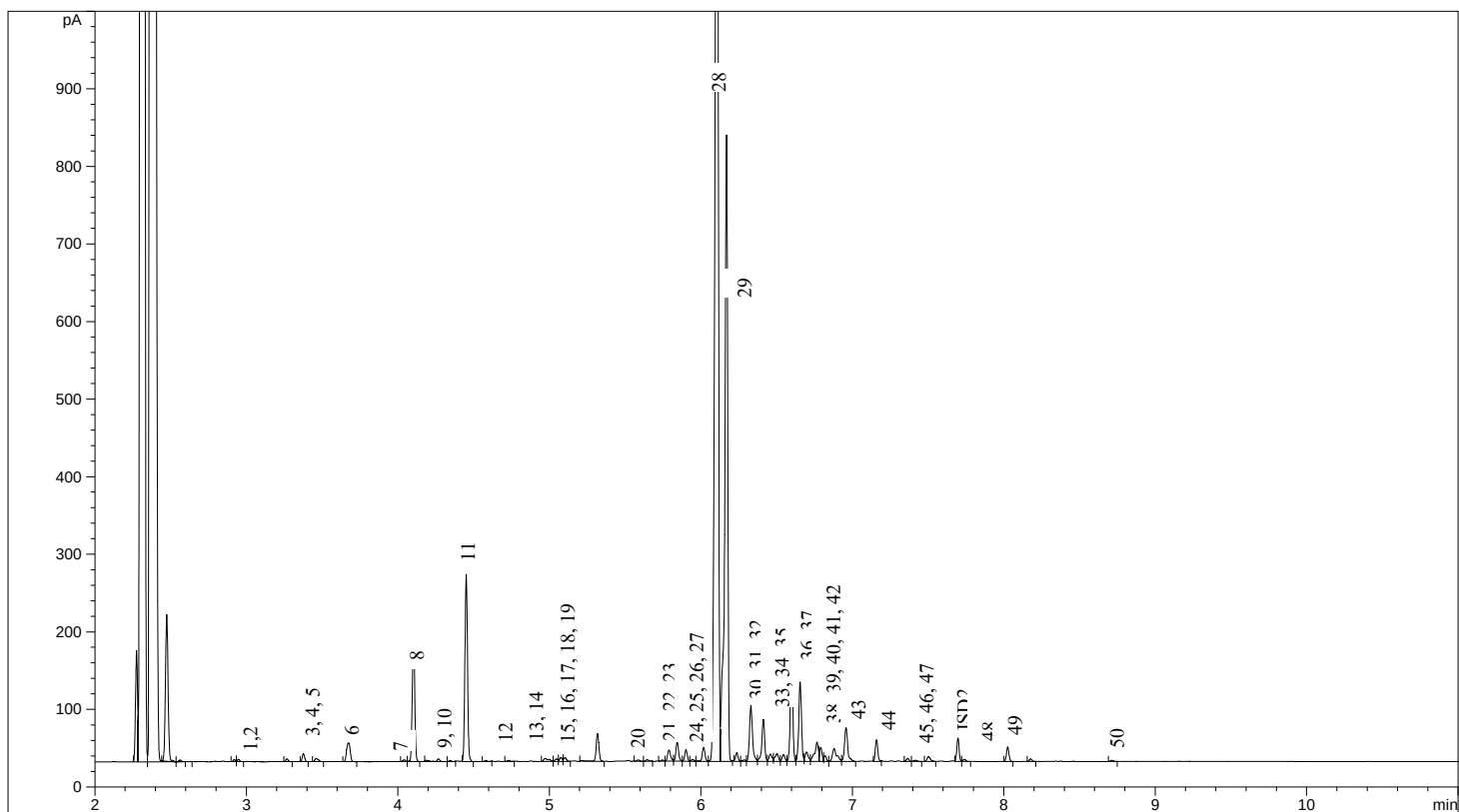
ภาพผนวกที่ 1 chromatogram ของสารระเหยอิสระของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

หมายเหตุ ISD1 คือ tert-butylbenzene และ ISD2 คือ 2-undecanol



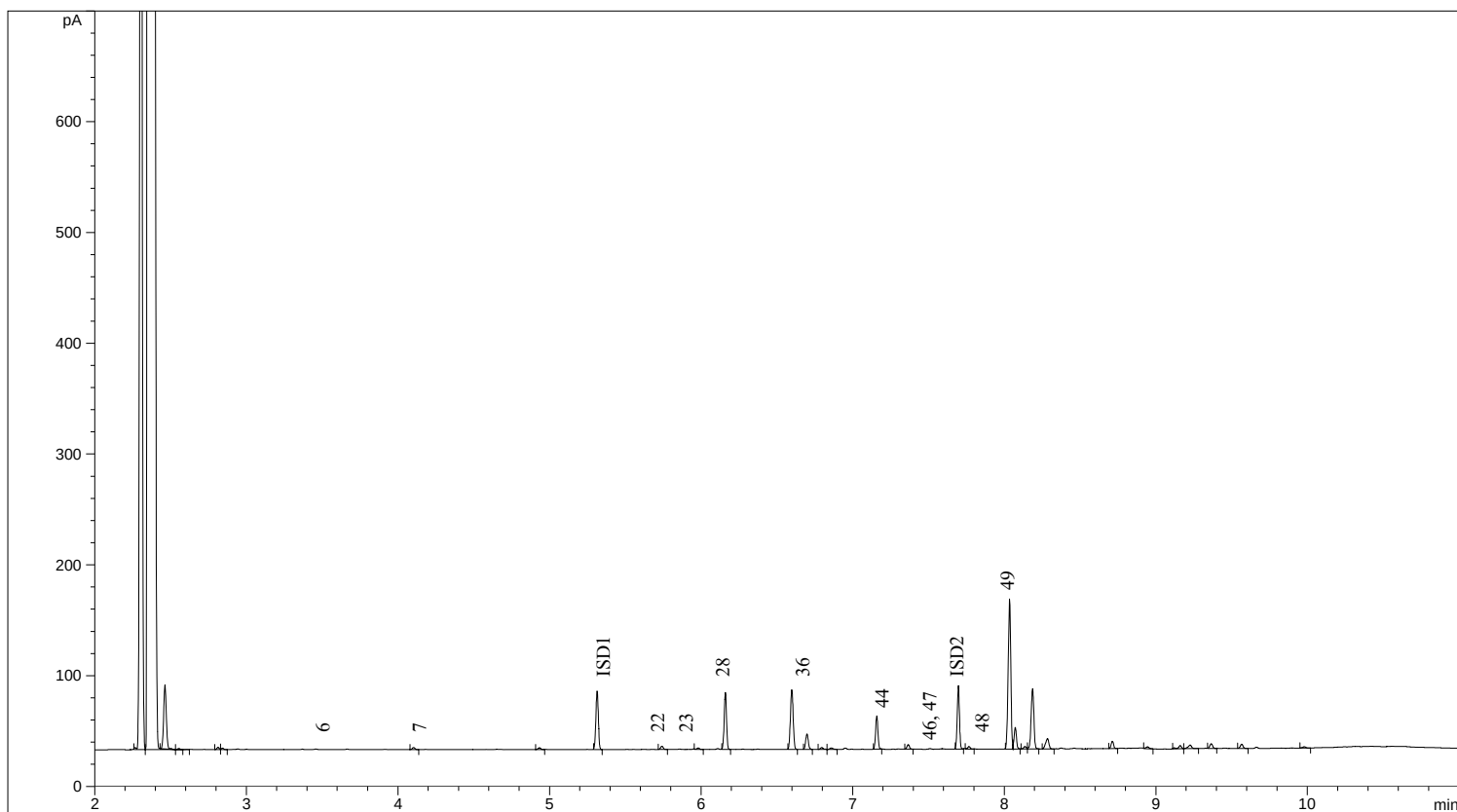
ภาพผนวกที่ 2 chromatogram ของสารระเหยในรูปโกลโคไซด์ของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

หมายเหตุ ISD1 คือ tert-butylbenzene และ ISD2 คือ 2-undecanol



ภาพผนวกที่ 3 chromatogram ของสารระเหยอิสระของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งชนิด XAD-2

หมายเหตุ ISD1 คือ tert-butylbenzene และ ISD2 คือ 2-undecanol



ภาพผนวกที่ 4 chromatogram ของสารระเหยในรูปไกลโคไซด์ของใบมะกรูดสดที่สกัดด้วยสารที่เป็นของแข็งชนิด XAD-2

หมายเหตุ ISD1 คือ tert-butylbenzene และ ISD2 คือ 2-undecanol



ภาพผนวกที่ 5 ลักษณะปรากฏของใบมะกรูดสด (a) ใบมะกรูดทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (b) ใบมะกรูดทำแห้งด้วยไมโครเวฟแบบสุญญากาศ (c) ใบมะกรูดทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (d) ใบมะกรูดตากแห้งในที่ร่ม (e)

ประวัติการศึกษา

ชื่อ –นามสกุล

นางสาวพัชรภรณ์ ถิ่นจันทร์

วัน เดือน ปี ที่เกิด

วันที่ 7 ธันวาคม 2525

สถานที่เกิด

แพร่

ประวัติการศึกษา

วท.บ. (เทคโนโลยีการอาหาร) เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ
จ.สกลนคร (พ.ศ. 2547)

ทุนการศึกษาที่ได้รับ

ทุนพัฒนาอาจารย์สาขาขาดแคลน สาขาวิชาเทคโนโลยี
การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระ
เกียรติ จ.สกลนคร (พ.ศ. 2547)