

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ดิบที่นำศึกษามาจากแหล่งเดียวกันคือจังหวัดเชียงใหม่ เพื่อลดผลของปัจจัยอื่นๆ เช่นคุณภาพของดิน สภาพภูมิอากาศ และการให้ปุ๋ย เป็นต้น และคัดที่เขียว แก่จัด ขนาดสม่ำเสมอ ปราศจากโรค ที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า จะคัดความแก่ด้วยการจมน้ำ โดยเลือกมะม่วงที่จุ่ม ซึ่งมีค่าความถ่วงจำเพาะมากกว่า 1 วิธีที่ใช้นี้เป็นวิธีที่ปฏิบัติกันโดยทั่วไปในโรงงานอุตสาหกรรมในการคัดเลือกวัตถุดิบ โดยมะม่วงดิบจะถูกบรรจุในกล่องกระดาษหรือตะกร้าพลาสติกและขนส่งมาทางรถไฟจากจังหวัดเชียงใหม่ถึงกรุงเทพและทางรถยนต์จากกรุงเทพฯ ถึงห้องปฏิบัติการที่จังหวัดนครปฐม ใช้ระยะเวลาโดยประมาณในการขนส่ง 10 ชั่วโมง จากนั้นนำมะม่วงดิบมาล้างและล้างแห้งแล้วมานำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง (33-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3-4 วัน หรือจนกระทั่งมีระดับความสุกที่ต้องการ โดยพิจารณาจากปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเนื้อมะม่วงที่เหมาะสมสำหรับการอบแห้งมะม่วงแบบธรรมชาติอ้างอิงจาก Mahayothee, 2005 มะม่วงสุกถูกนำไปวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบและทำการทดลองอบแห้ง

3.2 สารเคมี

1. โซเดียมคลอไรด์ (Merck)
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck)
3. เมทานอลสัมบูรณ์ (Absolute Methanol) (max. 0.005% H₂O) (Merck)
4. Karl Fischer reagent (Hydranal composite 5) (Riedel)
5. น้ำกลั่น
6. Deionized water
7. สารมาตรฐานของสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรส สำหรับการวิเคราะห์กลิ่น (ROTICHROM® GC)

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) (Agilent 19091s-433, USA)
2. มาตรดัชนีหักเห (refractometer) (รุ่น 2110-W06 บริษัท Atago Co.Ltd., Japan)
3. มาตรเทียบสี (colorimeter) (Miniscan รุ่น XE Plus บริษัท Hunter Lab, USA)
4. เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทีวี่ (Thermoconstanter, TH 200 Novasina, Switzerland)
5. ตู้อบลมร้อนควบคุมอุณหภูมิ (laboratory tray dryer)
6. เครื่องวัดปริมาณความชื้น Karl Fisher Titration ใช้ KF Titrino (รุ่น 787 KF Titrino, 703 Ti Stand บริษัท Metrohm, Switzerland)
7. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Radiometer รุ่น PHM 210 บริษัท Metro Lab, France)
8. Solid phase microextraction (SPME) (SPME holder และ fiber) (Supelco Co., Bellefonte, PA, USA) ใช้ไฟเบอร์ชนิด fuse-silica ที่เคลือบด้วยโพลีไดเมทิลไซโลเซน (100 μ m. polydimethyl siloxane, PDMS) หน้า 100 ไมโครเมตร ความยาว 10 มิลลิเมตร
9. ขวดเก็บตัวอย่างสำหรับ SPME (Vial ขนาด 20 มิลลิลิตร)
10. เครื่องเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น Sorvall RC 6 บริษัท N.Y.R, USA)
11. เครื่องปั่นผสม (รุ่น Ultra Turrax T25 Basic บริษัท Becthai, Malaysia)
12. เครื่องชั่งน้ำหนักหยาบ 2 ตำแหน่ง (บริษัท Sartorius, Germany)
13. เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียด 4 ตำแหน่ง (รุ่น BP 221S, บริษัท Sartorius, Germany)

3.4 วิธีการทดลอง

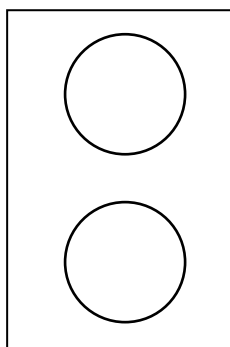
3.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีของวัตถุดิบ

วิเคราะห์คุณภาพเริ่มต้นของมะม่วงสุก ก่อนการอบแห้งโดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี โดยทำการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

-ความแน่นเนื้อของมะม่วงสุกทั้งผล โดยใช้ texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro Systems, UK) โดยการนำมะม่วง 5 ผล มาวัดค่าแรงกดสูงสุด (กรัม) ด้วยหัววัดทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ที่ระยะทางกดตัวอย่าง 8 มิลลิเมตร ความเร็วก่อนวัด 5 มิลลิเมตร/วินาที ความเร็วขณะวัด 5 มิลลิเมตร/วินาที ความเร็วหลังวัด 10 มิลลิเมตร/วินาที ทำการวัดบริเวณกลางผลทั้ง 2 ด้าน

-สีของเปลือก ในระบบ CIELAB วัดค่า L^* a^* b^* (โดยที่ในระบบสี $L^*a^*b^*$ นี้ L^* แสดงค่าความสว่าง a^* และ b^* บอกทิศทางของสี เช่น $+a^*$ หมายถึงอยู่ในทิศของสีแดง $-a^*$ หมายถึงอยู่ในทิศของสีเขียว, $+b^*$ หมายถึงอยู่ในทิศของสีเหลือง และ $-b^*$ หมายถึงอยู่ในทิศของสีน้ำเงิน) ด้วยมาตรเทียบสี โดยวัดสีเปลือกของมะม่วง 5 ผล โดยมะม่วง 1 ผล จะวัดค่าสี 3 ตำแหน่ง คือ หัว กลาง และท้าย ทั้ง 2 ด้าน (แสดงรายละเอียดคัมภีร์วัดสีดังกล่าวในภาคผนวก ก ข้อ 1)

-สีของเนื้อ ในระบบ CIELAB วัดค่า $L^*a^*b^*$ ด้วยมาตรเทียบสี โดยนำชิ้นมะม่วง จำนวน 5 ชิ้น ทำการวัดค่าสี 2 ด้าน ในแต่ละด้านวัด 2 ตำแหน่ง (บนและล่าง) ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ตำแหน่งการวัดค่าสีของชิ้นมะม่วงสุกก่อนนำไปอบแห้ง

-ปริมาณความชื้นด้วยวิธี Karl Fischer ใช้ KF Titrino (Metrohm, Switzerland) (แสดงรายละเอียดคัมภีร์ดังกล่าวในภาคผนวก ก ข้อ 2)

-ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solids, TSS) โดยใช้ มาตรฐาน
หัทเท (Atago Co.Ltd., Japan) (แสดงรายละเอียดดังภาคผนวก ก ข้อ 4)

-ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity, TA) โดยการไทเทรตกับ
สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (แสดงรายละเอียดดังภาคผนวก ก ข้อ
5)

- คำนวณค่า TSS/TA เพื่อประมาณค่า sugar – acid ratio

3.4.2 การเตรียมผลไม้ก่อนอบแห้ง

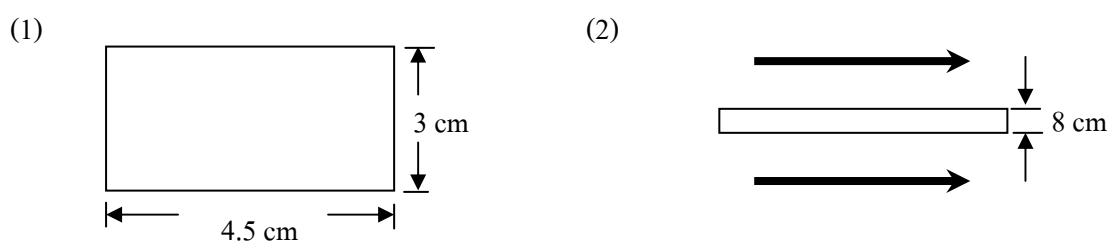
มะม่วงสุกที่ใช้ในการศึกษากราฟการทำแห้งของมะม่วงและการศึกษาผลของอุณหภูมิและ
เวลาที่ใช้ในการอบแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรส กำหนดระดับความ
สุกของมะม่วงที่นำมาทำการศึกษา โดยพิจารณาจากค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดคือ 16.5-
18.5 องศาบริกซ์ ซึ่ง Mahayothee (2005) รายงานไว้ว่าเป็นช่วงระดับความสุกที่เหมาะสมในการ
อบแห้งมะม่วงที่ไม่ผ่านการพรีทรีทเมนต์ใดๆ ก่อนการอบแห้ง

นำมะม่วงสุกมาปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีขนาดกว้าง 3 เซนติเมตร ยาว
4.5 เซนติเมตรหนา 8 มิลลิเมตร (ดังภาพผนวกที่ 2) จากนั้นนำไปผ่านการอบแห้งโดยรายละเอียด
ของสภาวะที่ใช้ออบแห้งดังข้อ 3.4.3 ทั้งนี้ชิ้นมะม่วงก่อนนำไปอบแห้งจะไม่ผ่านพรีทรีทเมนต์ใดๆ
ตัวอย่างของมะม่วงสดก่อนการอบแห้งแต่ละสภาวะจะถูกแช่ในไนโตรเจนเหลวและนำไปแช่ที่ตู้แช่
เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรส ดัง
รายละเอียดข้อ 3.4.6

3.4.3 การศึกษากราฟการทำแห้งของมะม่วง

ศึกษากราฟการทำแห้ง (drying curve) ของมะม่วงที่ผ่านการเตรียมตามข้อ 3.4.2 แปรค่า
อุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้ง 3 ระดับคือ 50 60 และ 70 องศาเซลเซียส โดยอากาศร้อนไหลเวียนผ่าน
ผิวหน้าชิ้นผลไม้แบบ overflow mode ดังภาพที่ 4 โดยขนาดของชิ้นมะม่วงและทิศทางของลมร้อน
แสดงไว้ดังภาพที่ 3 กำหนดความเร็วลมของอากาศร้อนคงที่ที่ 1.0 เมตรต่อวินาที ซึ่งน้ำหนักของ
มะม่วงทั้งถาดก่อนอบแห้งและชั่งน้ำหนักของมะม่วงทั้งถาดเมื่อทำการอบแห้งแล้วทุกๆ 1 ชั่วโมง
โดย 1 ถาดใส่มะม่วง 18 ชิ้น เป็นน้ำหนักประมาณ 260-300 กรัม และวัดอุณหภูมิภายในตรงกลาง
และบริเวณผิวหน้าของชิ้นมะม่วงด้วยเทอร์โมคอปเปิล อบแห้งโดยใช้ตู้อบแห้งระดับห้องปฏิบัติการ

(laboratory tray drying) (ดังภาพผนวกที่ 3) โดยสามารถบรรจุถาดที่ใช้ในการอบแห้งได้ทั้งหมด 2 ถาด และนำมะม่วงที่ผ่านการอบแห้งที่เวลาต่างๆ ไปวัดปริมาณความชื้น เพื่อนำไปคำนวณอัตราการอบแห้ง



ภาพที่ 4 ขนาดของชิ้นมะม่วงก่อนการอบแห้ง (1) และทิศทางของลมร้อนผ่านชิ้นมะม่วงแบบ overflow mode (2)

3.4.4 การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยง่ายที่

ให้กลิ่นรส

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ในการทดลองนี้มะม่วงสุกที่ผ่านการเตรียมดังแสดงรายละเอียดในข้อ 3.4.2 แล้วจึงนำมาทำการอบแห้ง การอบแห้งมะม่วงโดยอากาศร้อนไหลเวียนผ่านผิวหน้าชิ้นผลไม้ เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และการทดลองจะใช้เวลา 1 เมตรต่อวินาที อบจนกระทั่งเนื้อมะม่วงมีค่าวอเตอร์แอคทิวิตีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (รายละเอียดดังภาพผนวก ก ข้อ 3) อยู่ในช่วง 0.55-0.60 ซึ่งเป็นค่าที่ปลอดภัยต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ น้ำหนักตัวอย่างที่ซึ่งจะมีความถูกต้องที่ ± 0.1 มิลลิกรัม และแต่ละสภาวะการอบแห้งทำการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นนำมะม่วงที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ เก็บในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสด้วย HS-SPME-GC-MS ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มะม่วงอบแห้งแสดงดังภาพผนวกที่ 4

การศึกษาผลของเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรส จะเลือกศึกษาที่อุณหภูมิการอบแห้งผู้บริโภคชอบมากที่สุดและชอบน้อยที่สุด ซึ่งได้จากการทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสมะม่วงที่ผ่านการอบแห้งจากข้อ 3.4.4 ซึ่งพบว่าเป็นอุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส โดยในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสที่เกิดจากการอบที่เวลาต่างๆ จะศึกษาที่เวลาการอบแห้งที่ 1.5, 3, 5, 8 และ 13 ชั่วโมง ทำการอบแห้งเช่นดังการศึกษา

ข้อ 3.4.4 เก็บตัวอย่างในตู้แช่เยือกแข็งที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยที่ให้กลิ่นรสโดยใช้วิธีเตรียมตัวอย่างดังข้อ 3.4.5 และทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อไป

วิเคราะห์คุณภาพของมะม่วงที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆดังอธิบายข้างต้น โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์ด้วยแอคติวี่ (วิธีการศึกษาเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1) การวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสด้วย HS-SPME-GC-MS (ดังรายละเอียดข้อ 3.4.6) และการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคด้านกลิ่น (ดังรายละเอียดข้อ 3.4.7)

การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรส ได้วางแผนการทดลองแบบ completely randomize design (CRD) วิเคราะห์ผลสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SAS Version 8 สำหรับ Windows เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's Range Procedure (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.4.5 การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการสกัดสารประกอบ

ระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสด้วย HS-SPME-GC-MS

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้เทคนิค HS-SPME ในอาหารกันอย่างกว้างขวาง รวมถึงการนำมาประยุกต์ใช้ในวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสในผลไม้ด้วย แต่การศึกษาสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสในมะม่วงที่ผ่านมาส่วใหญ่ได้ศึกษา HS-SPME ในมะม่วงสด (MacLeod และ Snyder, 1985; Lalel, Singh และ Tan, 2003d) ยังไม่มีการศึกษาในมะม่วงอบแห้ง ในการทดลองนี้จึงทำการศึกษาวิธีการที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการเตรียมตัวอย่างด้วย HS-SPME โดยใช้ไฟเบอร์ชนิดที่เคลือบด้วย 100 ไมโครเมตร โพลีไดเมทิลไซโลเซน (PDMS) วิธีที่ใช้ในการสกัดมี 4 วิธีโดยทุกวิธีจะดูดซับสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสที่อุณหภูมิคงที่ที่ 36 องศาเซลเซียส เนื่องจากต้องการศึกษาถึงสารประกอบระเหยง่ายที่สามารถปลดปล่อย (release) ที่อุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่บริโภคมะม่วงอบแห้ง แต่จะมีการแปรค่าเวลาในการดูดซับเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการดูดซับด้วยเทคนิค HS-SPME สำหรับการเตรียมตัวอย่างลงใน vial ก่อนการสกัดด้วย HS-SPME นั้น จะแปรค่า 4 วิธีคือ 1. หั่นชิ้นมะม่วงขนาด 3×3 มิลลิเมตรเปรียบกับการรับรสทางกลิ่น (odor) 2. หั่นชิ้นมะม่วงขนาด 3×3 มิลลิเมตรและบดตัวอย่างเพื่อให้อนุภาคตัวอย่างเล็กลง ซึ่งคาดว่าสารประกอบระเหยจะระเหยได้มากขึ้น 3. สกัดกลิ่นที่สามารถละลายได้ในน้ำเปรียบกับการรับรสทางปากและ 4. สกัดกลิ่นที่สามารถสกัดได้ในสารละลายเกลืออิ่มตัว ซึ่งจะสามารถไล่สารประกอบระเหยมาอยู่ในระบบ Headspace ได้ดีขึ้น (salting out) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. หั่นมะม่วงเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 3×3 มิลลิเมตร เทไนโตรเจนเหลว และชั่งตัวอย่างใส่ขวดเก็บตัวอย่าง (vial) (มะม่วงอบแห้งใช้ 5 กรัมและมะม่วงสดใช้ 14 กรัม เนื่องจากปริมาณความชื้นของมะม่วงสดและมะม่วงที่ผ่านการอบแห้งแล้วแตกต่างกัน จึงใช้ปริมาณน้ำหนักตัวอย่างฐานแห้งเป็นเกณฑ์คือประมาณ 3 กรัม โดยคำนวณน้ำหนักของตัวอย่างจากปริมาณความชื้น เพื่อให้น้ำหนักตัวอย่างฐานแห้งของมะม่วงสดและมะม่วงที่ผ่านการอบแห้งแล้วใกล้เคียงกัน) จากนั้นปิดฝาและนำไปดูดซับสารตัวอย่างด้วยไฟเบอร์ของ SPME ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 45, 60 และ 75 นาที

2. หั่นมะม่วงเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 3×3 มิลลิเมตร เทไนโตรเจนเหลว จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยา และจับเวลานาน 5 นาที ชั่งตัวอย่างใส่ขวดเก็บตัวอย่าง (มะม่วงอบแห้งใช้ 5 กรัมและมะม่วงสดใช้ 14 กรัม) ปิดฝาและนำไปดูดซับสารตัวอย่างด้วยไฟเบอร์ของ SPME ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 45, 60 และ 75 นาที

3. หั่นมะม่วงเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 3×3 มิลลิเมตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำ deionized water (DI) ในหลอดทดลอง สำหรับมะม่วงแห้งใช้น้ำ DI 20 กรัม และมะม่วงสดใช้น้ำ DI 40 กรัม จากนั้น นำไปโฮโมจีไนส์ 5 ครั้งครั้งละ 10 วินาที ควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างโดยการแช่ไนโตรเจนเหลว 10 วินาทีต่อการทำโฮโมจีไนส์ในแต่ละครั้ง แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm เป็นเวลา 35 นาที ดูดเฉพาะส่วนสารละลายใส (supernatant) ลงในขวดเก็บตัวอย่าง 12 กรัม ซึ่งมีโซเดียมคลอไรด์อยู่ 4 กรัม ปิดฝาและนำไปดูดซับสารตัวอย่างด้วยไฟเบอร์ของ SPME ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 45, 60 และ 75 นาที

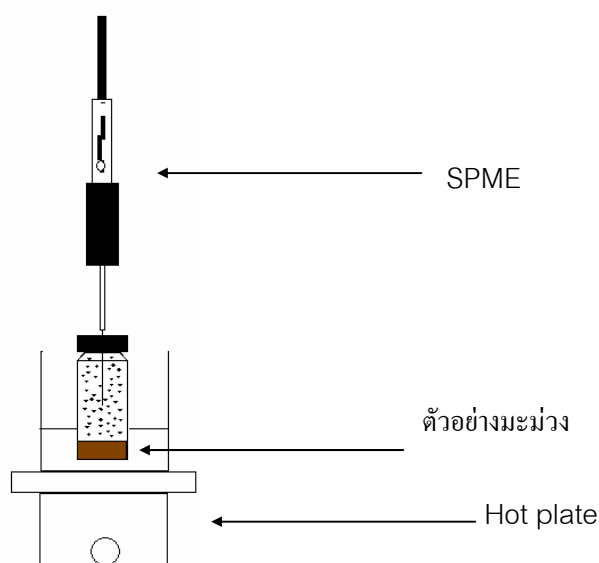
4. หั่นมะม่วงเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 3×3 มิลลิเมตร เทไนโตรเจนเหลว จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยา และจับเวลา และชั่งตัวอย่างใส่ในหลอดทดลอง (มะม่วงอบแห้งใช้ 5 กรัมและมะม่วงสดใช้ 14 กรัม) จากนั้นเติมสารละลายอิ่มตัวโซเดียมคลอไรด์ (saturated sodium chloride) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 40 ลงในหลอดทดลอง สำหรับตัวอย่างแห้งใช้สารละลายอิ่มตัวโซเดียมคลอไรด์ 10 กรัม และตัวอย่างสดใช้สารละลายอิ่มตัวโซเดียมคลอไรด์ 20 กรัม นำไปโฮโมจีไนส์ 5 ครั้งครั้งละ 10 วินาที ควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างโดยการแช่ไนโตรเจนเหลว 10 วินาทีต่อการทำโฮโมจีไนส์ในแต่ละครั้ง แล้วจึงตักสารละลายใส่ขวดเก็บตัวอย่าง 16 กรัม ปิดฝาและนำไปดูดซับสารตัวอย่างด้วยไฟเบอร์ของ SPME ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 45, 60 และ 75 นาที

สภาวะที่เหมาะสมจะคัดเลือกจากสามารถวิเคราะห์สารได้ในปริมาณมากและในการทำซ้ำ ปริมาณสารที่ได้มีความสม่ำเสมอหรือปริมาณสารที่ได้นั้นมีความคงที่

3.4.6 การวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสด้วยเครื่อง GC-MS

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) ของ Hewlett-Packard (HP) รุ่น 5890 Gas chromatography มีคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ยาว 30 เมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร (HP-5MS, 0.25mm*30m*0.25 μ m, Agilent Technology Inc.) สำหรับเครื่องแมสสเปกโตรเมทรี (MS) ใช้สภาวะ electronic impact (EI) ที่ 70 eV ช่วงโมเลกุล 30-400

โดยทำการดูดซับสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสด้วยวิธี HS-HPMEที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 3.4.5 โดยลักษณะการดูดซับตัวอย่างแสดงดังภาพที่ 5 จากนั้นทำการปล่อยสาร (desorbed) ที่ช่องปล่อยสาร (injection port) ของเครื่อง GC ที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส ในระบบ splitless mode อุณหภูมิที่เตาอบเริ่มต้นจะคงที่ที่ 38 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที และจะเพิ่มขึ้นเป็น 180 องศาเซลเซียสด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 41.4 นาที ใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นตัวพา (carrier gas) ที่อัตราการไหล 2 มิลลิเมตรต่อนาที ความดัน 15.9 psi การชี้เฉพาะสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสทำโดยเปรียบเทียบกับ spectra ในฐานข้อมูล (NIST98 Library) และยืนยัน retention time โดยใช้สารมาตรฐาน (standard solutions) คือ α -terpinolene, 3-carene, α -pinene และ limonene (ยี่ห้อ ROTICHROM@GC) จากนั้นทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อติดตามผลเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ทางด้านแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี



ภาพที่ 5 การดูดซับสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสด้วยเทคนิค HS – SPME

ที่มา คัดแปลงจาก SISC ศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์, 2007

การคำนวณค่า Retention index ตามรูปแบบของ Kovat's indices โดยการนําค่าสารมาตรฐาน n-alkane ตั้งแต่ C6 – C17 และนําค่านานวดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Retention index (RI)} = \left[\frac{\text{RT(s)} - \text{RT (n, alkane)}}{\text{RT(n-1, alkane)} - \text{RT (n, alkane)}} + C_{(n)} \right] \times 100$$

เมื่อ RT(s) = Retention time ของตัวอย่าง, RT (n+1) = Retention time ของคาร์บอน n, RT (n-1) = Retention time ของคาร์บอน n-1 และ $C_{(n)}$ = คาร์บอน n

3.4.7 การทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคด้านกลิ่น

มะม่วงสดก่อนการอบแห้งและมะม่วงที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ จากข้อ 3.4.4 นอกจากการติดตามผลการทดลองด้วยการวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายให้กลิ่นรสในสภาวะการอบแห้งโดยใช้ GC-MS แล้ว การติดตามผลอีกอย่างคือ การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคด้านกลิ่น โดยใช้แบบทดสอบแบบ 9-points Hedonic scale (ภาคผนวก ข) ผู้ทดสอบชิมเป็นนักศึกษาของภาควิชาเทคโนโลยีอาหารซึ่งมีอายุอยู่ในช่วง 20 – 27 ปี ไม่ผ่าน

การฝึกฝน จำนวน 30 คน ทั้งหมด 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Randomize completely block design (RCBD) วิเคราะห์ผลสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SAS Version 8 สำหรับ Windows เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's Range Procedure (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสด้วย GC-MS กับผลการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส เพื่อหาการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสที่เกิดขึ้นและหาอุณหภูมิและระยะเวลาในการอบแห้งที่ทำให้ผู้บริโภคชอบผลิตภัณฑ์มากที่สุด

3.4.8 การวิเคราะห์คุณลักษณะของสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสในมะม่วงด้วย gas chromatography-olfactory (GC -O)

วิเคราะห์คุณลักษณะของสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นในมะม่วงด้วย gas chromatography-olfactory (GC-O) โดยใช้เครื่อง GC ของ Hewlett-Packard (HP) รุ่น 5890 series II plus ใช้คอลัมน์ HP-5 (ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร) (Agilent, Palo Alto, USA) ต่อกับ sniff port ที่ปลายคอลัมน์ด้านหนึ่ง อีกด้านหนึ่งต่อกับ FID ทำการปล่อยสาร (desorbed) ที่ช่องปล่อยสาร (injection port) ด้วยอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส ระบบ splitless mode อุณหภูมิที่เตาอบเริ่มต้นจะคงที่ที่ 38 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที และจะเพิ่มขึ้นเป็น 180 องศาเซลเซียสด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นตัวพา (carrier gas) ที่อัตราการไหล 2 มิลลิเมตรต่อนาที ความดัน 9.2 psi วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้ผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝน 1 คน โดยอธิบายลักษณะของกลิ่นและความเข้มของกลิ่นที่พบขณะทำการทดสอบตัวอย่าง