# บทที่ 3
# การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารให้กลิ่นรส
# (Flavor Analysis)

**วัตถุประสงค์**

เมื่อนักศึกษาได้ศึกษาบทเรียนบทนี้แล้วนักศึกษาควรมีความรู้และเข้าใจในเนื้อหาต่อไปนี้

1. ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรส
2. เทคนิคการสกัด (isolation) การแยก (separation)และการพิสูจน์องค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรส

---

**บทนำ**

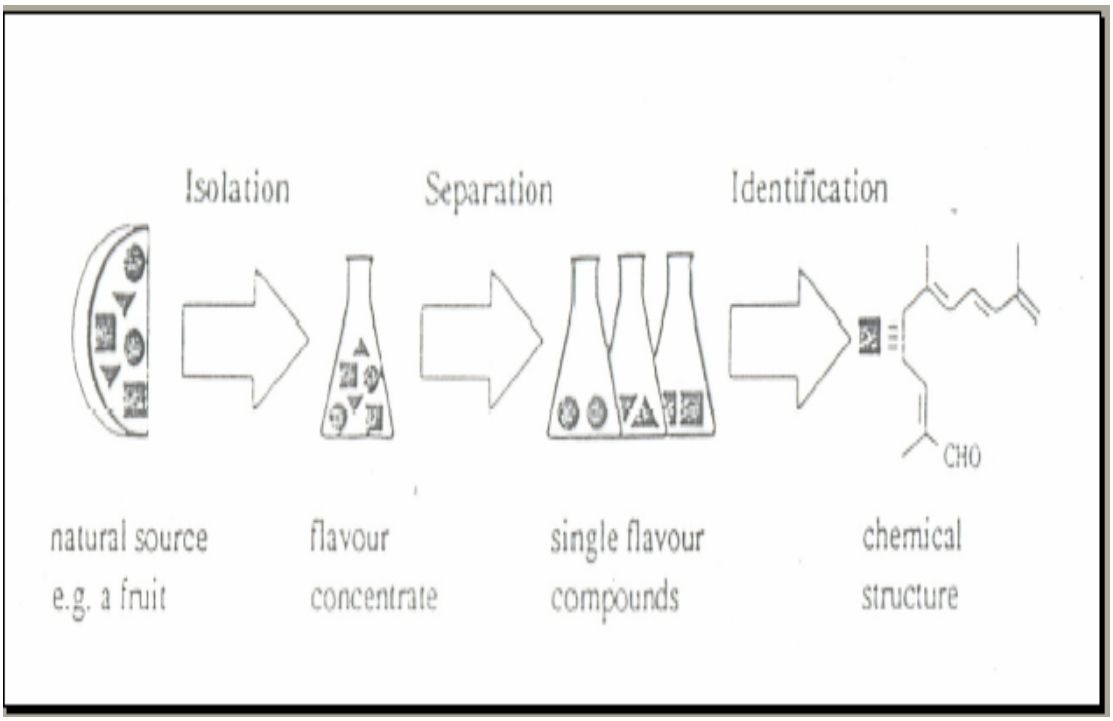
ข้อมูลเกี่ยวกับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรสธรรมชาติมีส่วนสำคัญที่ช่วยในการคิดค้นสูตรเพื่อผลิตสารให้กลิ่นรสในระดับอุตสาหกรรม การใช้เทคนิคการวิเคราะห์โดยแก๊สโครมาโตกราฟร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือชนิดอื่นๆ ทำให้ flavorist สามารถเข้าใจกระบวนการผลิตสารให้กลิ่นรสตามธรรมชาติมากขึ้น ความรู้ที่ได้ร่วมกับความชำนาญในการจำแนกความแตกต่างของสารให้กลิ่นรสชนิดต่างๆทำให้ ปัจจุบันflavorist สามารถคิดค้นสูตรสารให้กลิ่นรสได้มากกว่า 4,000 ชนิด

## 3.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรส

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรสแบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่

1. การสกัดแยก (isolation) องค์ประกอบทางเคมีที่ระเหยได้ ออกจากเมทริกซ์ที่ไม่ระเหย (non volatile matrix)
2. การแยก (separation) องค์ประกอบทางเคมีที่ระเหยได้ออกเป็นสารแต่ละชนิดหรือกลุ่มของสาร

3. การพิสูจน์ (identification) ชนิดขององค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรส




**ภาพที่ 3.1** ขั้นตอนการวิเคราะห์ เพื่อหาข้อมูลโครงสร้างทางเคมีของสารให้กลิ่นรสธรรมชาติ

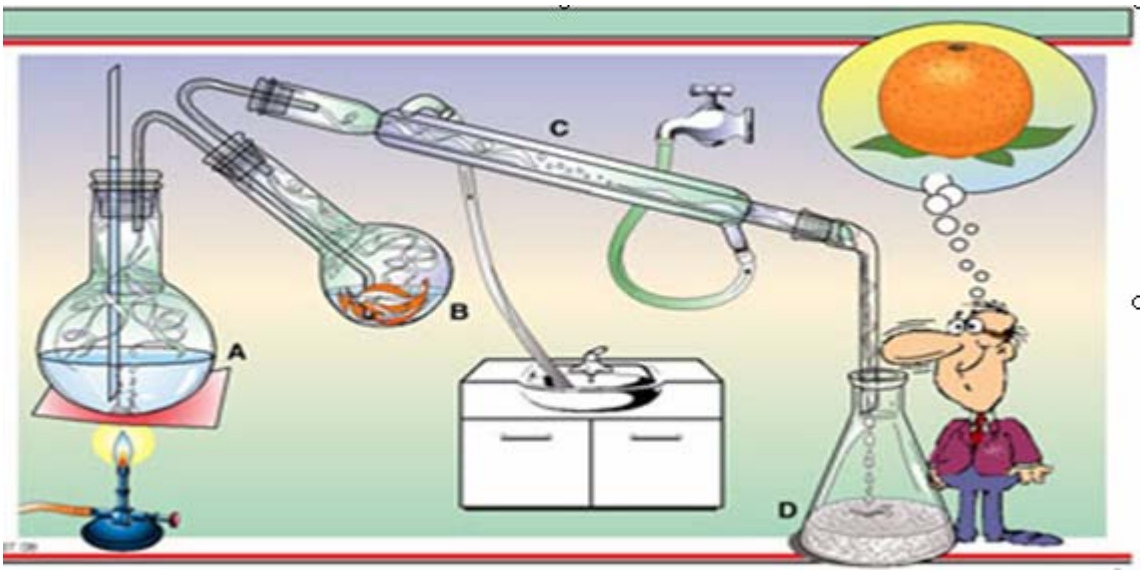
ที่มา : Ashurst (1995)

## 3.2 การสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารที่ระเหยได้

1. การใช้เทคนิคการกลั่น (distillation)

- การกลั่นโดยใช้ไอน้ำ ซึ่งอุณหภูมิในการสกัดจะไม่สูงกว่า $100^{0}$ซ
- การกลั่นภายใต้สุญญากาศซึ่งสามารถใช้อุณหภูมิในการกลั่นที่ต่ำกว่าการกลั่นโดยใช้ไอน้ำ

2. การสกัด (extraction) โดยการใช้ตัวทำละลาย หรือ
3. การใช้ทั้งสองเทคนิคประกอบกัน

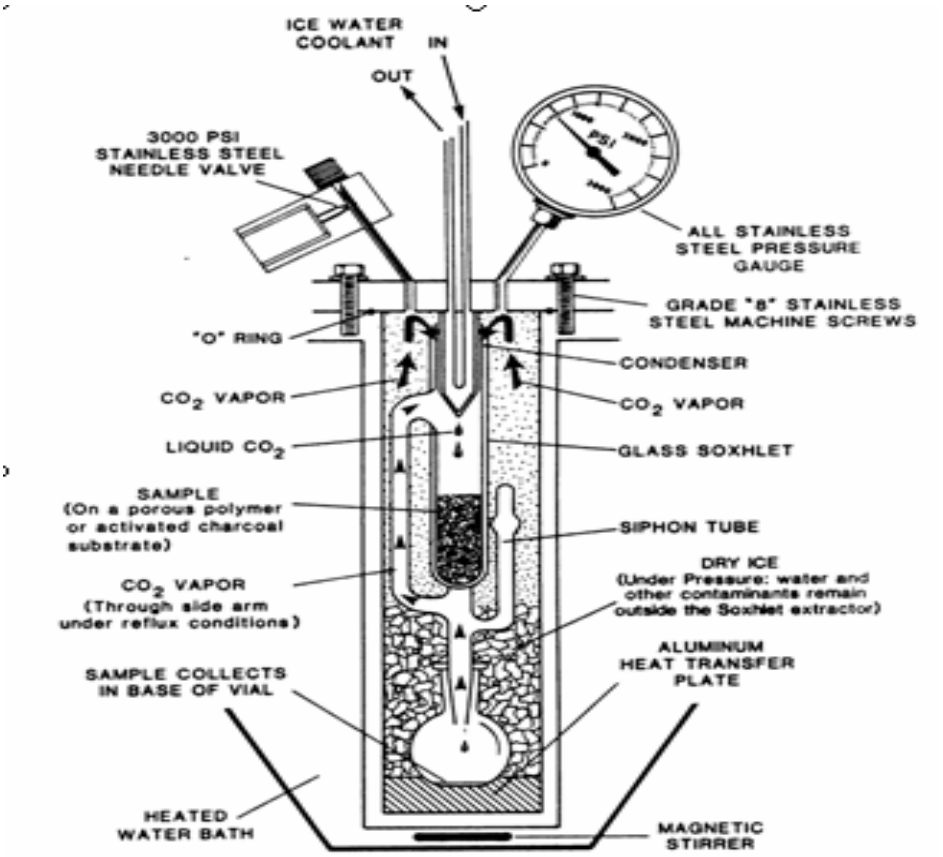



**ภาพที่ 3.2** การกลั่นโดยใช้ไอน้ำ

เทคนิคการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤติ (supercritical $CO_2$ extraction) เป็นตัวทำละลาย การสกัดโดยใช้เทคนิคนี้ตัวอย่างจะถูกบรรจุอยู่ใน modified soxhlet extractor ภายในระบบมีการตั้งอุณหภูมิและความดันภายในระบบให้อยู่ในสภาวะเหนือจุดวิกฤติของคาร์บอนไดออกไซด์ และทำการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลว (liquid carbondioxide)

## 3.3 การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดออกเป็นสารแต่ละชนิดหรือกลุ่มของสาร

การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดออกเป็นสารแต่ละชนิดหรือกลุ่มของสารสามารถทำได้โดยการใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทรกราฟี, thin layer chromatography และ gas chromatography (GC)




**ภาพที่ 3.3** การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤติ
ที่มา : Ashurst (1995)

### 3.3.1 เทคนิคคอลัมน์โครมาโทรกราฟี

คอลัมน์โครมาโทรกราฟีเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้สำหรับแยก อิออน หรือโมเลกุลที่ละลายในตัวทำละลาย โดยอาศัยหลักการของความสามารถในการกระจายตัวที่แตกต่างกันขององค์ประกอบแต่ละชนิดระหว่างเฟสที่อยู่กับที่ (stationary phase) และเฟสที่เคลื่อนที่ (mobile phase)

เทคนิคนี้จะประกอบไปด้วยคอลัมน์ภายในบรรจุเฟสที่อยู่กับที่ซึ่งอยู่ในสภาวะสมดุลกับตัวทำละลาย โดยเฟสที่อยู่กับที่ได้แก่ ของแข็ง (adsorption chromatography), ion group บนผิวของ resin (ion exchange chromatography), ของเหลวที่เคลือบอยู่บน inert solid support (partition chromatography) หรือ อนุภาคที่มีรูพรุน (size exclusion

### 3.3.2 เทคนิค thin layer chromatography

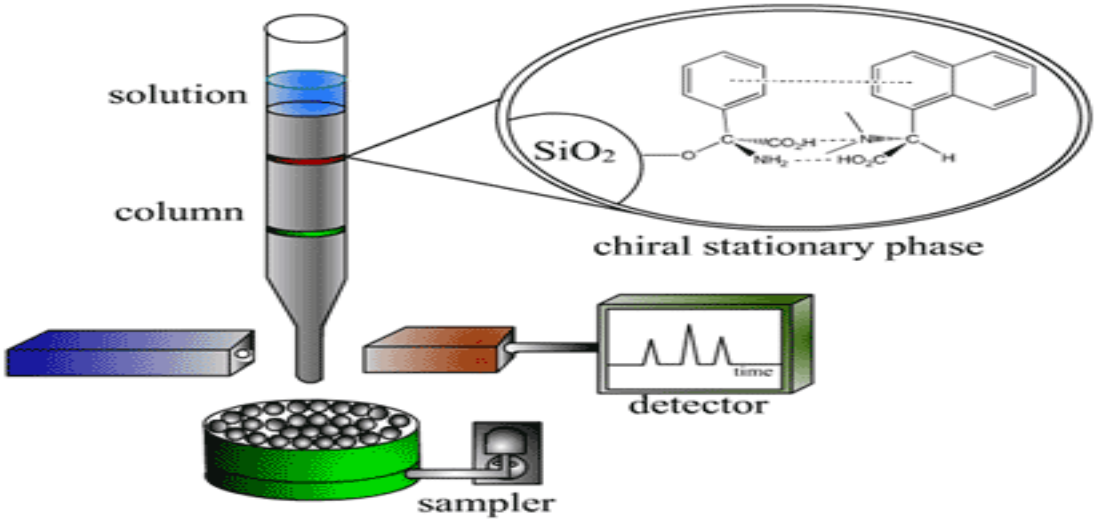
Thin layer chromatography เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารประกอบอินทรีย์ (organic compounds) โดยเทคนิคนี้เฟสที่อยู่กับที่จะถูกเคลือบอยู่บน glass หรือ plastic plate เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้จะเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) เทคนิคการแยกทำได้โดยการ spot ตัวอย่าง และ สารมาตรฐานลงบนเฟสที่อยู่กับที่ จากนั้นนำไปใส่ใน tank ที่บรรจุตัวทำละลาย ตัวทำละลายและองค์ประกอบของสารแต่ละชนิดที่อยู่ในของผสม รวมทั้งสารมาตรฐานจะเคลื่อนที่ผ่านเฟสที่อยู่กับที่ด้วย capillary action ด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความสามารถในการกระจายตัวระหว่างเฟสที่อยู่กับที่และเฟสที่เคลื่อนที่ (ภาพที่ 3.5-3.7)

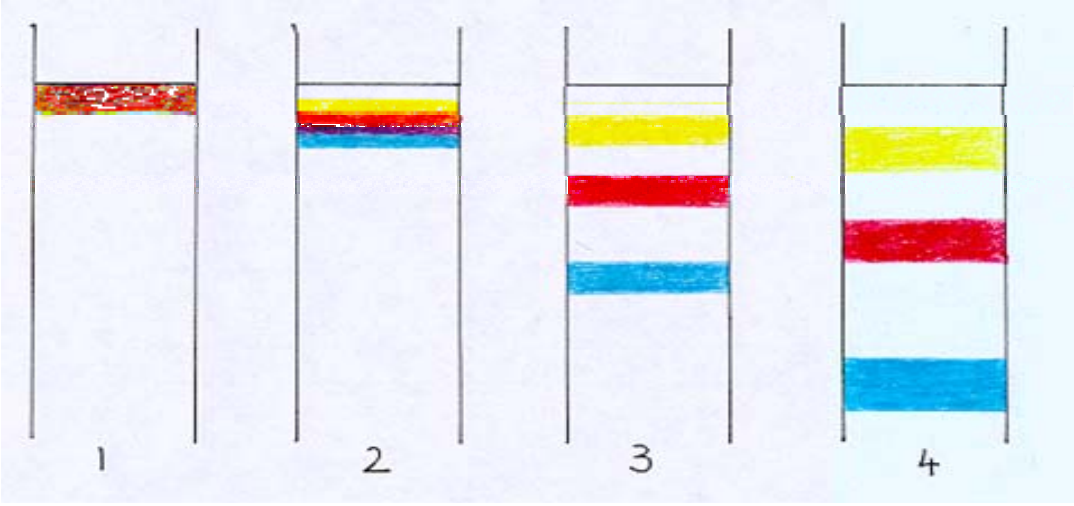
### 3.3.3 เทคนิค Gas Chromatography (GC)

Gas chromatography เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบของสารที่ระเหยได้ (volatile compounds) โดยอาศัยความสามารถในการกระจายตัวที่แตกต่างกันระหว่างเฟสที่อยู่กับที่และเฟสที่เคลื่อนที่ที่อยู่ในสถานะก๊าซ

ส่วนประกอบของเครื่อง Gas chromatograph (ภาพที่ 3.8) ประกอบไปด้วย

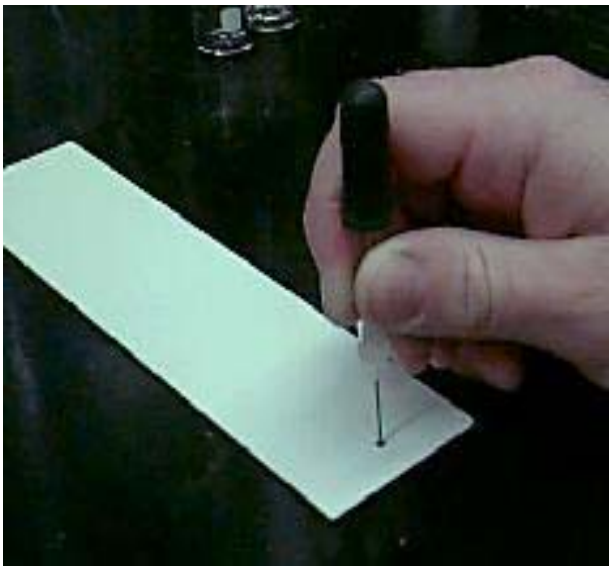
1. เฟสที่เคลื่อนที่ที่อยู่ในสถานะก๊าซ ได้แก่ helium, argon หรือ nitrogen
2. injection port เป็นบริเวณที่สอดเข็มฉีดซึ่งบรรจุตัวอย่างเพื่อฉีดเข้าไปในเครื่อง ซึ่งต้องควบคุมอุณหภูมิของ injection port ให้สูงกว่าอุณหภูมิของจุดเดือดต่ำสุดขององค์ประกอบในสารตัวอย่างที่ระเหยได้



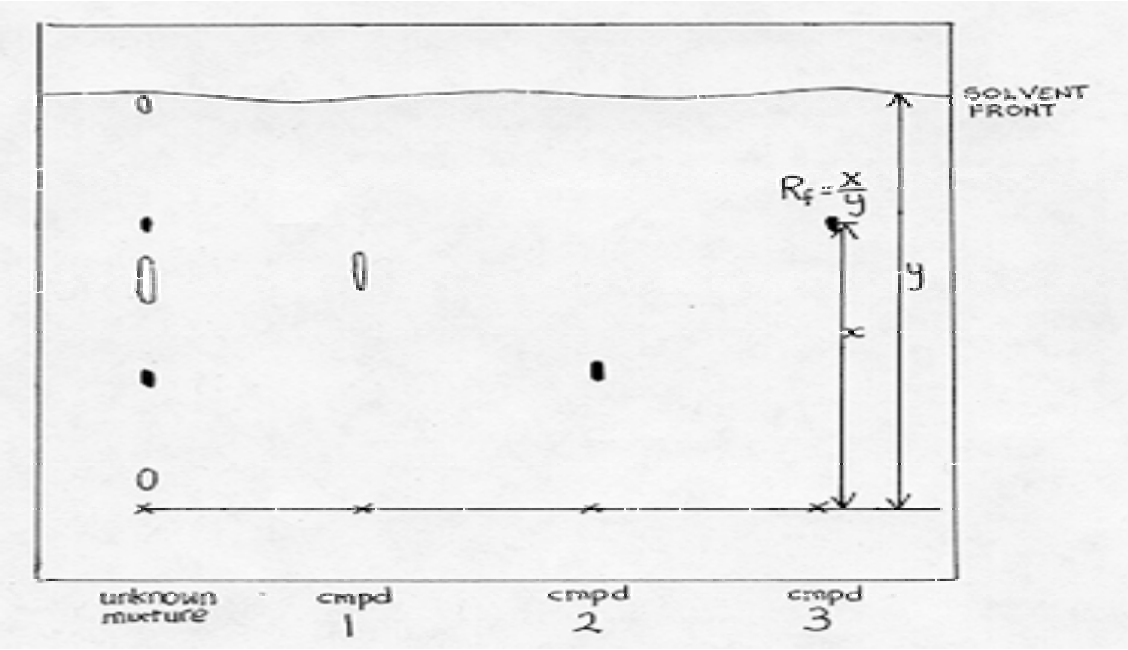

**ภาพที่ 3.4** การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

ที่มา : Ashurst (1995)



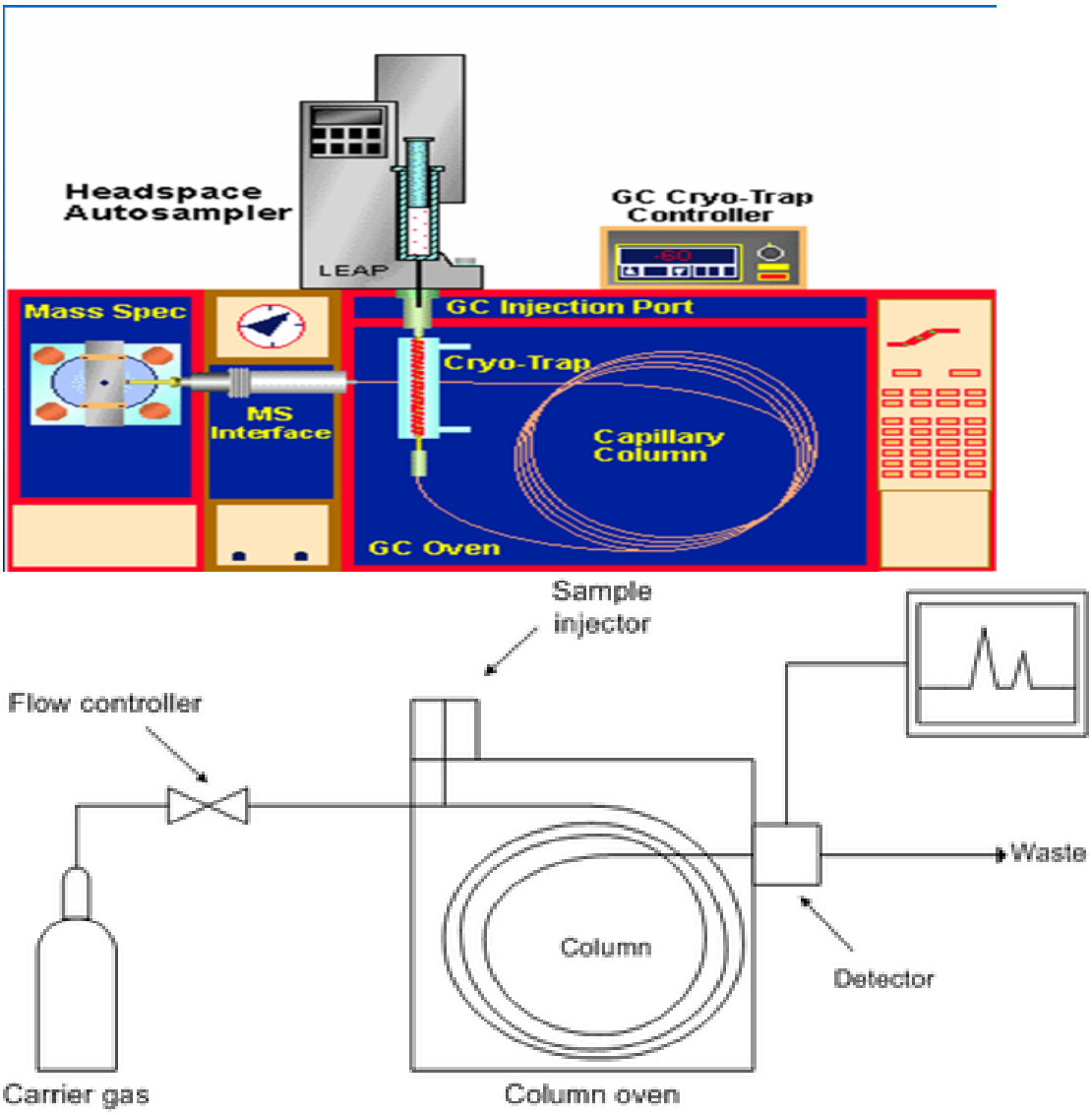
**ภาพที่ 3.5** การ spot ตัวอย่างลงบนเฟสที่อยู่กับที่

**ภาพที่ 3.6** การแยกโดยเทคนิค thin layer chromatography

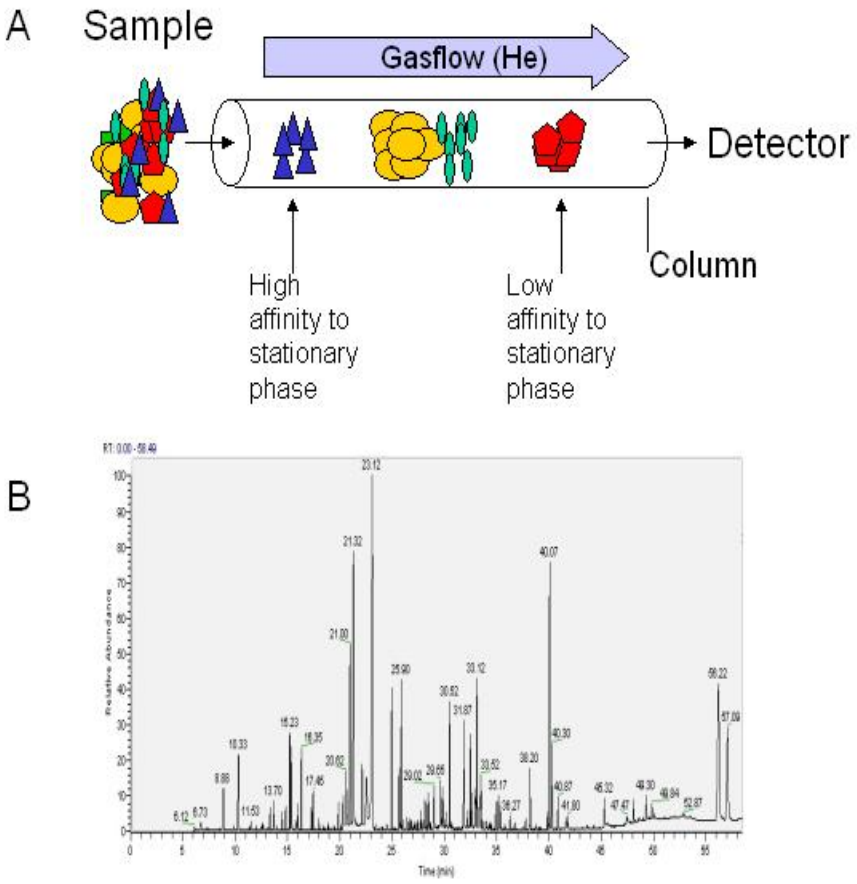



**ภาพที่ 3.7** การพิสูจน์ชนิดของสารโดยใช้เทคนิค thin layer chromatography

3. คอลัมน์ที่บรรจุด้วยเฟสที่อยู่กับที่ซึ่งเป็นของเหลวที่เคลือบอยู่บน solid support เนื่องจากคุณสมบัติในการกระจายตัวขององค์ประกอบของสารขึ้นอยู่กับอุณหภูมิดังนั้นคอลัมน์ที่ใช้ในการแยกจะบรรจุอยู่ใน thermostat-controlled oven การแยกองค์ประกอบของสารที่มีจุดเดือดที่แตกต่างกันมากทำได้โดยค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิของ oven จากต่ำไปสูงเพื่อชะองค์ประกอบที่มีจุดเดือดในช่วงอุณหภูมิต่ำและสูงออกมาได้ทั้งหมด
4. ดีเทคเตอร์ ทำหน้าที่ในการตรวจจับองค์ประกอบของสารแต่ละชนิดที่ถูกชะออกมาจากคอลัมน์
5. recorder ทำหน้าที่ในการบันทึกผลการแยกออกมาให้อยู่ในรูปโครมาโตแกรม (ภาพที่ 3.8)




**ภาพที่ 3.8** เครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟ



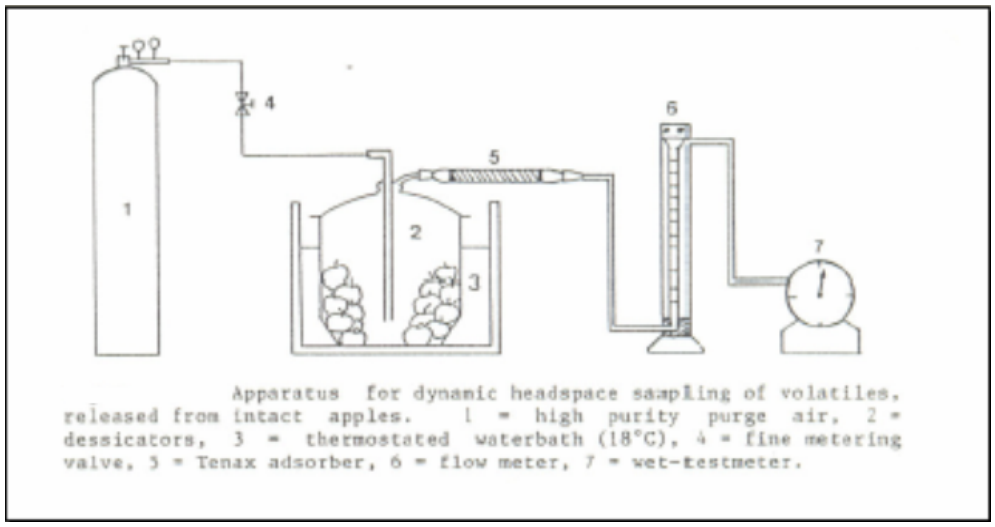

**ภาพที่ 3.9** ตัวอย่างการแยกองค์ประกอบของสารให้กลิ่นรสโดยใช้เทคนิค GC

## 3.4 เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้ head space (Head space analysis)

เทคนิคนี้จะใช้ร่วมกับ GC โดยนำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ไปใส่ในเครื่อง head space จากนั้นเก็บไอระเหยที่ระเหยออกมาจากตัวอย่างโดยใช้เข็มสำหรับเก็บตัวอย่างก๊าซ (gas tight syringe) แล้วนำไปฉีดในเครื่อง GC เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบที่ระเหยได้ เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้ head space นี้สามารถทำได้ทั้งแบบ dynamic และ static

### 3.4.1 Dynamic head space analysis

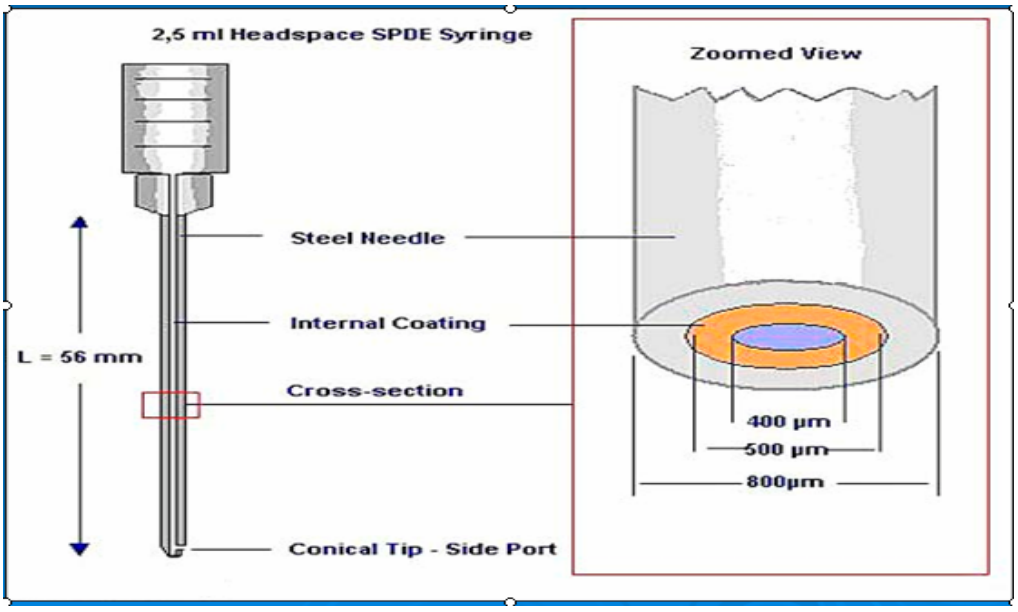
Dynamic head space analysis ทำได้โดยนำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์บรรจุในอุปกรณ์สำหรับการเก็บตัวอย่างโดยใช้เทคนิค dynamic head space (ภาพที่ 3.10)




**ภาพที่ 3.10** อุปกรณ์สำหรับการเก็บตัวอย่างโดยใช้ dynamic head space
ที่มา : Ashurst (1995)

### 3.4.2 Static head space analysis

Static head space analysis ทำได้โดยบรรจุตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ลงไปในภาชนะที่ปิดสนิท (seal containner) ซึ่งอาจมีการให้ความร้อนหรือไม่ก็ได้ เมื่อความดันไอของตัวอย่างและบรรยากาศรอบ ๆตัวอย่างถึงจุดสมดุล ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซโดยใช้เข็มสำหรับเก็บตัวอย่างก๊าซ (ภาพที่ 3.11) นำตัวอย่างก๊าซที่ได้ไปฉีดในเครื่อง GC เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในไอระเหย



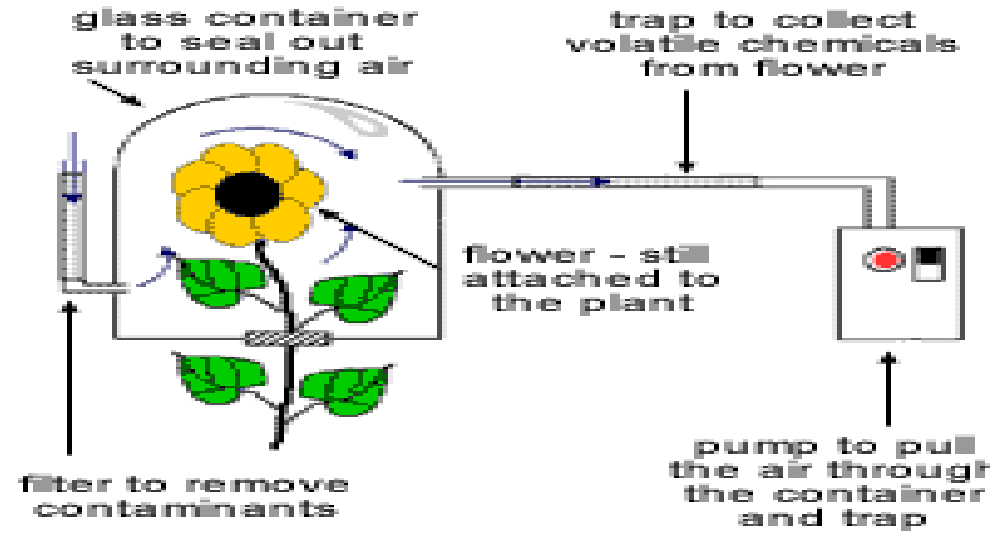

**ภาพที่ 3.11** โครงสร้างภายในของ gas tight syringe

## 3.5 การพิสูจน์ชนิดและหาปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรส

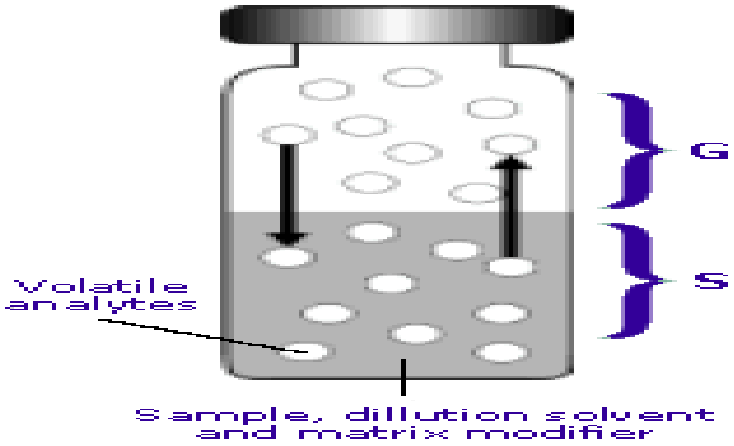
โครมาโตแกรม (chromatogram) เป็น chart ที่ได้จากการบันทึกข้อมูลของสารที่ถูกแยกออกมาในลักษณะของพีก (peak) ซึ่งการวิเคราะห์ ทั้งคุณภาพและปริมาณจะใช้ข้อมูลจาก โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC

ข้อมูลที่ได้จากโครมาโตแกรมได้แก่ retention time ( $t_R$ ) ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่วัดตั้งแต่การเริ่มฉีดตัวอย่างเข้าไปยัง injection port จนกระทั่งสารเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์และถูกตรวจวัดโดย detector

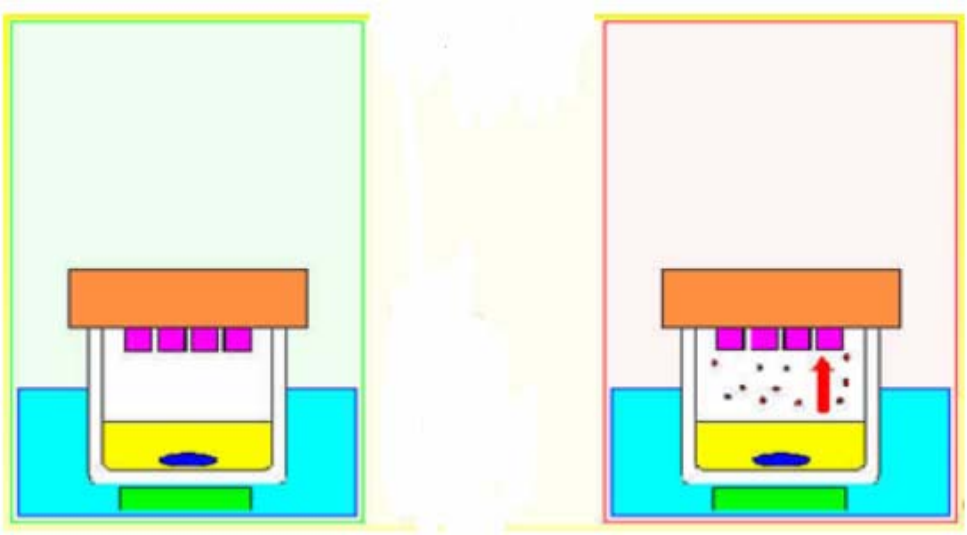
retention time ขององค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรสแต่ละชนิดในแต่ละตัวอย่างจะถูกนำมาเปรียบเทียบกับ retention time ของสารมาตรฐานเพื่อพิสูจน์ว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารให้กลิ่นรสประกอบด้วยสารชนิดใดบ้าง



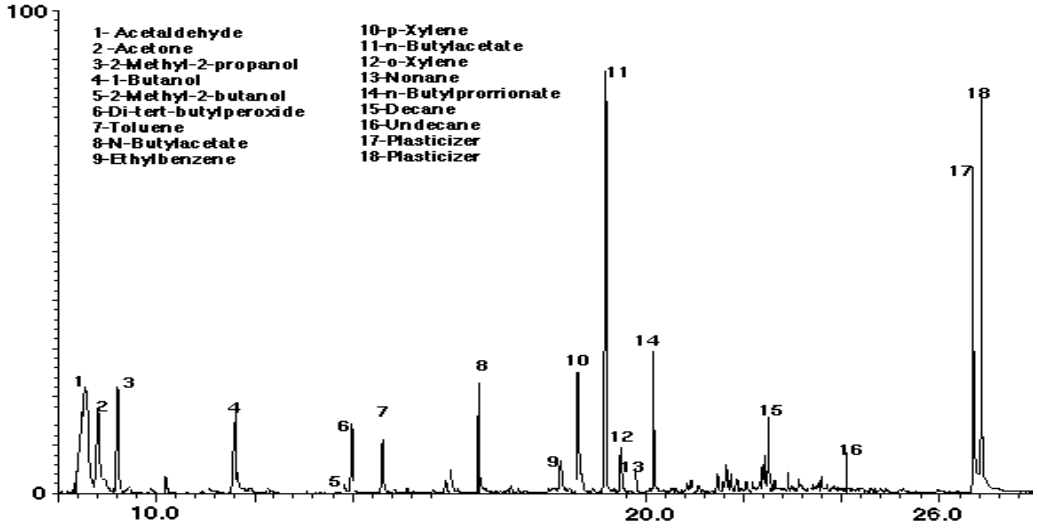
**ภาพที่ 3.12** การเก็บไอระเหยรอบๆตัวอย่างโดยเทคนิค static head space



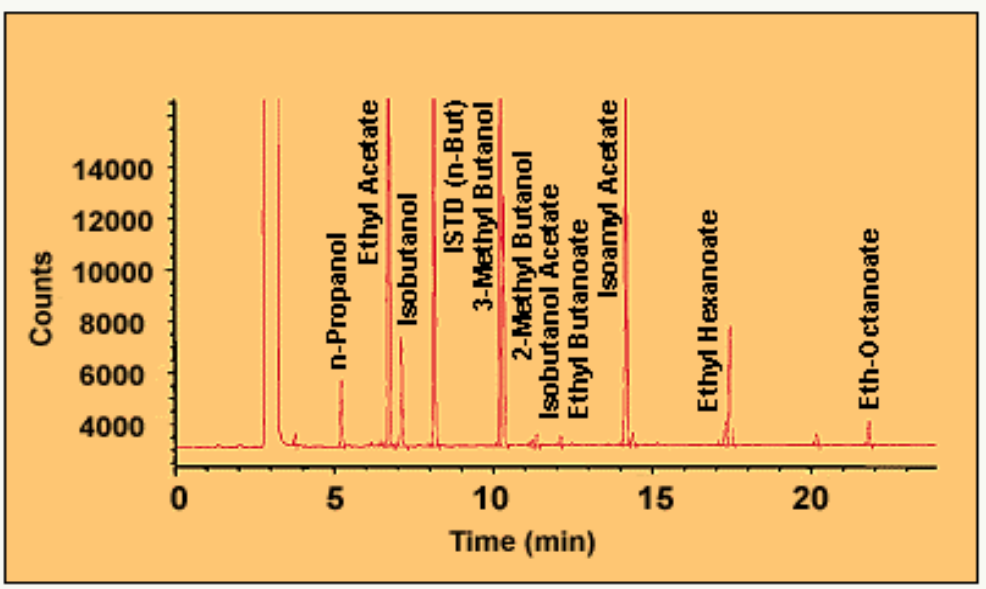
**ภาพที่ 3.13** การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์โดยใช้ Auto-sample headspace analysis



**ภาพที่ 3.14** ไอระเหยที่เกิดบริเวณช่องว่างโดยใช้เทคนิค static head space




**ภาพที่ 3.15** ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค GC




**ภาพที่ 3.16** ตัวอย่างโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสในเบียร์โดยใช้เทคนิค GC

การหาปริมาณขององค์ประกอบของสารแต่ละชนิดทำได้โดยการเปรียบเทียบความสูงของพีกหรือพื้นที่ใต้พีกที่ได้กับพีกของสารมาตรฐานโดยใช้ calibration curve ซึ่งเป็นกราฟที่พล๊อตระหว่างพื้นที่พีกหรือความสูงของพีกกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน