

การใช้ SPME ในการตรวจสอบองค์ประกอบของสารหอมระเหยในแตงเมล่อนพันธุ์ลูกผสม Applications of SPME for detection of aroma volatile compositions in hybrid netted melon

ภูวนาท พักเกต¹, เฉลิมชัย วงษ์อารี¹, สมโภชน์ น้อยจินดา² และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์¹
Puwanart Fuggate¹, Chalermchai Wongs-Aree¹, Sompoch Noichinda² and Sirichai Kanlayanarat¹

Abstract

Aroma volatiles compositions are major criteria used to determine quality of melon various. Headspace solid phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME/GC-MS) techniques were investigated for the analysis of volatile compounds of hybrid netted melon (*Cucumis melo* L. cv. Kuylin). Different conditions affecting aroma profiles, such as types of coated fibers, extraction temperature, extraction time, salt addition, stirring speed and solution volume were studied. Five different SPME fibers, polydimethylsiloxane (PDMS), polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB), polyacrylate (PA), divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) and carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS), were chosen in this work. The most abundant groups of volatile compounds were esters, alcohols, aldehydes and fatty acids. The result showed that the most optimum condition in terms of quantitative and qualitative extractions for the melon volatiles was to operate SPME procedures with the 65 μ m PDMS/DVB coating fiber while incubated at 60°C with stirring for 30 min. In addition, the optimized methodology was then applied to investigate the aroma volatiles composition in the other produce.

Key word: aroma volatiles, hybrid netted melon, headspace solid-phase microextraction

บทคัดย่อ

องค์ประกอบของสารหอมระเหยเป็นคุณลักษณะสำคัญที่ใช้ในการพิจารณาคุณภาพของแตงเมล่อน การทดลองนี้ใช้การวิเคราะห์แบบเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กซ์แทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (เฮดสเปซ-เอสพีเอ็มอี/จีซี-เอ็มเอส) แบบต่างๆ มาตรวจสอบสารระเหยจากแตงเมล่อนลูกผสมพันธุ์ก๊วยหลิน ได้ศึกษาตัวแปรหลักที่มีผลต่อการสกัดแบบโซลิดเฟสไมโครเอ็กซ์แทรกชัน เช่น ชนิดของสารเคลือบ, อุณหภูมิของการสกัด, เวลาของการสกัด, การเติมเกลือ, ความเร็วในการกวน และปริมาตรสารละลาย โดยเลือกใช้เอสพีเอ็มอีไฟเบอร์จำนวน 5 ชนิด คือ โพลีไดเมทิลไซลอกเซน (พีดีเอ็มเอส), โพลีไดเมทิลไซลอกเซน/ไดไวนิลเบนซีน (พีดีเอ็มเอส/ดีวีบี), โพลีอะครีเลท (พีเอ), ไดไวนิลเบนซีน/คาร์บอกซีน/โพลีไดเมทิลไซลอกเซน (ดีวีบี/ซีเออาร์/พีดีเอ็มเอส) และคาร์บอกซีน/โพลีไดเมทิลไซลอกเซน (ซีเออาร์/พีดีเอ็มเอส) สารระเหยจากแตงเมล่อนที่พบมากที่สุดได้แก่ เอสเทอร์, แอลกอฮอล์ และแอลดีไฮด์ และกรดไขมัน พบว่าสภาวะของการวิเคราะห์แบบเอสพีเอ็มอีด้วยไฟเบอร์ชนิดโพลีไดเมทิลไซลอกเซน/ไดไวนิลเบนซีน (พีดีเอ็มเอส/ดีวีบี) ความหนา 65 ไมโครเมตร สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ร่วมกับการกวนเป็นเวลา 30 นาที เป็นสภาวะเหมาะสมที่สุดที่ได้รับทั้งชนิดและปริมาณของสารหอมระเหย นอกจากนี้วิธีการดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารหอมระเหยในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้อีกด้วย

คำสำคัญ สารหอมระเหย, เมล่อนพันธุ์ลูกผสม, เฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กซ์แทรกชัน

คำนำ

แตงเมล่อนหรือแตงเทศ (*Cucumis melo* L.) ที่มีคุณภาพดีนั้น เมื่อสุกจะต้องมีกลิ่นหอม ซึ่งประกอบไปด้วยองค์ประกอบของสารระเหยหลายชนิด ผลแคนตาลูปและแตงฮันนี่คิวเมื่อสุกจะมีองค์ประกอบของสารระเหยคล้ายกันมาก ยกเว้น ethyl butyrate ซึ่งจะมีมากในแคนตาลูป (Yabumoto and Jennings, 1977) ส่วนองค์ประกอบของกลิ่นในแตงเทศประกอบด้วย ethyl-2-methyl, butyrate, ethyl butyrate, ethyl hexanoate, hexyl acetate, 3-methyl butyl acetate, benzyl acetate, (Z)-6-nonenyl acetate, (E)-6-nonenol, (Z,Z)-3,6-nonadienol และ (Z)-6-nonenal (Kemp et al., 1972; Buttery et al., 1982; Horvat and Senter, 1987) องค์ประกอบของกลิ่นในผลไม้เป็นสารอินทรีย์ที่ผลิตขึ้น โดยส่วนใหญ่มีโมเลกุลขนาดเล็กและมีปริมาณน้อย เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี

¹ หลักสูตรเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150

² Postharvest Technology Program, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkoktein Campus, Bangkok 10150

³ ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพฯ 10800

⁴ Department of Agro-Industrial Technology Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok 10800

ราฟิถือว่าเป็นเทคนิคที่ได้รับการยอมรับว่ามีความถูกต้องน่าเชื่อถือและเหมาะสมกับการวิเคราะห์สารประกอบที่มีคุณสมบัติระเหยได้เป็นอย่างดี (Kanavouras and Hernandez, 2005) สำหรับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่เรียกว่า "โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน" หรือ SPME (solid phase microextraction) เป็นนวัตกรรมที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ โดยมีข้อได้เปรียบเหนือกว่าวิธีดั้งเดิมที่ใช้การสกัดด้วยตัวทำละลายตรงที่สะดวกรวดเร็วกว่า ไม่ต้องใช้ตัวทำละลาย หลักการของเทคนิค SPME คือ มี fiber ที่เคลือบสารดูดซับ (adsorbent) ที่มีคุณสมบัติดูดซับสารให้กลั่น สารให้กลั่นแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการถูกดูดซับบนสารดูดซับที่แตกต่างกัน ซึ่งในการดูดซับ (adsorption) ต้องควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาให้เหมาะสม (Cai et al., 2001) ดังนั้นก่อนการใช้ต้องพิจารณาเลือกชนิดของ fiber ให้เหมาะสมกับสารให้กลั่นที่ต้องการวิเคราะห์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการสกัดด้วยวิธี SPME และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารระเหยในแตงเมล่อนลูกผสมพันธุ์กัญหลิน

อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลแตงเมล่อนแก่ประมาณ 45 วันหลังการผสมเกสร มาล้างด้วยน้ำประปาออกเอาเปลือกและเมล็ดออก แล้วหั่นเนื้อเป็นชิ้น นำเนื้อในส่วน mesocarp 5 กรัม มาวิเคราะห์สารระเหยด้วยวิธี headspace solid phase microextraction (HS-SPME) โดยบดเนื้อให้ละเอียดและเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ลงไป 1 กรัม แล้วใส่ขวด headspace vial ขนาด 20 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วนำไปให้ความร้อน อุณหภูมิ 25, 30, 40, 50, 60 และ 80 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิร่วมกับการกวน เป็นระยะเวลา 1, 5, 10, 20, 30, 45 และ 60 นาที พร้อมทั้งดูดซับสารระเหยด้วยไฟเบอร์ชนิดต่างๆ 5 ชนิด ได้แก่ 100 μm polydimethylsiloxane (PDMS), 65 μm (StableFlex) polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB), 85 μm polyacrylate (PA), 50/30 μm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) และ 75 μm carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) หลังจากนั้นวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารระเหยง่ายโดยใช้เครื่อง GC (Model 6850, Agilent Technologies) ซึ่งต่อกับ mass selective detector (MSD, 5973, Agilent Technologies) โดยใช้คอลัมน์แคปิลลารีชนิด HP-5MS, 5% Phenylmethylsiloxane เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.248 มิลลิเมตร ยาว 30 เมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร โดยปรับสภาวะของเครื่อง GC ให้ injection port มีอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ในระบบ split mode อุณหภูมิ oven เริ่มต้น 50 องศาเซลเซียส คงที่นาน 1 นาที และเพิ่มขึ้นเป็น 120 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นเป็น 250 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ใช้ก๊าซฮีเลียมความบริสุทธิ์ 99.99% เป็นตัวพา (carrier gas) โดยมีอัตราการไหล 2 มิลลิเมตรต่อนาที ความดัน 15.9 psi สำหรับชนิดของสารระเหยเปรียบเทียบกับ mass spectrum กับฐานข้อมูล NIST98 Library และเปรียบเทียบค่า retention index (RI) ส่วนปริมาณสารระเหยคำนวณโดยใช้ ChemStation software version D.02.00 (Agilent Technologies) โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผล

สารหอมระเหยที่พบจากเนื้อ mesocarp ของแตงเมล่อนที่ได้จากการสกัดแบบ SPME ด้วยไฟเบอร์ทั้ง 5 ชนิด แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS แสดงโครมาโตแกรมในภาพที่ 1 จากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่าการใช้ไฟเบอร์ต่างชนิดกันมีผลต่อจำนวนชนิดและค่าพื้นที่ใต้พีคของสารระเหยในแตงเมล่อน เนื่องจากสามารถสกัดสารกลุ่มเอสเทอร์ ซึ่งมีจำนวนมากที่สุดในตัวอย่าง สารระเหยที่พบทั้งหมด 46 ชนิด ได้แก่สารในกลุ่มเอสเทอร์ 29 ชนิด, แอลกอฮอล์ 2 ชนิด, แอลดีไฮด์ 2 ชนิด, ไฮโดรคาร์บอน 12 ชนิด และกรดอินทรีย์ 1 ชนิด ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของการสกัดดังกล่าว ได้แก่ ชนิดของไฟเบอร์ที่ใช้ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัด เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ความมีขี้ขี้ ขนาดของโมเลกุลและปริมาณสารระเหยในตัวอย่าง (Kanavouras and Hernandez, 2005) อัตราการเข้าสู่สมดุลส่งผลกระทบต่อเวลาที่ใช้ในการสกัด สำหรับการสกัดสารด้วยวิธี SPME อัตราการเข้าสู่สมดุลขึ้นอยู่กับอัตราการส่งผ่านมวลของสารประกอบระเหย ค่าคงที่การกระจายตัวของโพลีเมอร์บนไฟเบอร์ ชนิดและความหนาของโพลีเมอร์ (Cai et al., 2001) พื้นที่ของสารระเหยที่ตรวจพบที่เวลาในการสกัด 30 นาที มีพื้นที่มากที่สุด (ภาพที่ 2A) ส่วนที่เวลาในการสกัด 1 นาที มีพื้นที่น้อยที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าที่เวลา 45 และ 60 นาที พื้นที่ของสารระเหยมีแนวโน้มคงที่ไม่ต่างจากที่ 30 นาที การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิส่งผลกระทบต่อปริมาณจุดสมดุล จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัด 60 องศาเซลเซียส ร่วมกับการกวน (ภาพที่ 2B) จะให้พื้นที่ทั้งหมดของสารประกอบมากที่สุด และที่อุณหภูมิในการสกัด 80 องศาเซลเซียส พื้นที่ของสารประกอบมีแนวโน้มคงที่ระดับเดียวกับที่ 60 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารระเหยต่อชนิด ทั้งนี้เนื่องมาจากมีการสลายตัวของสารประกอบบางชนิด

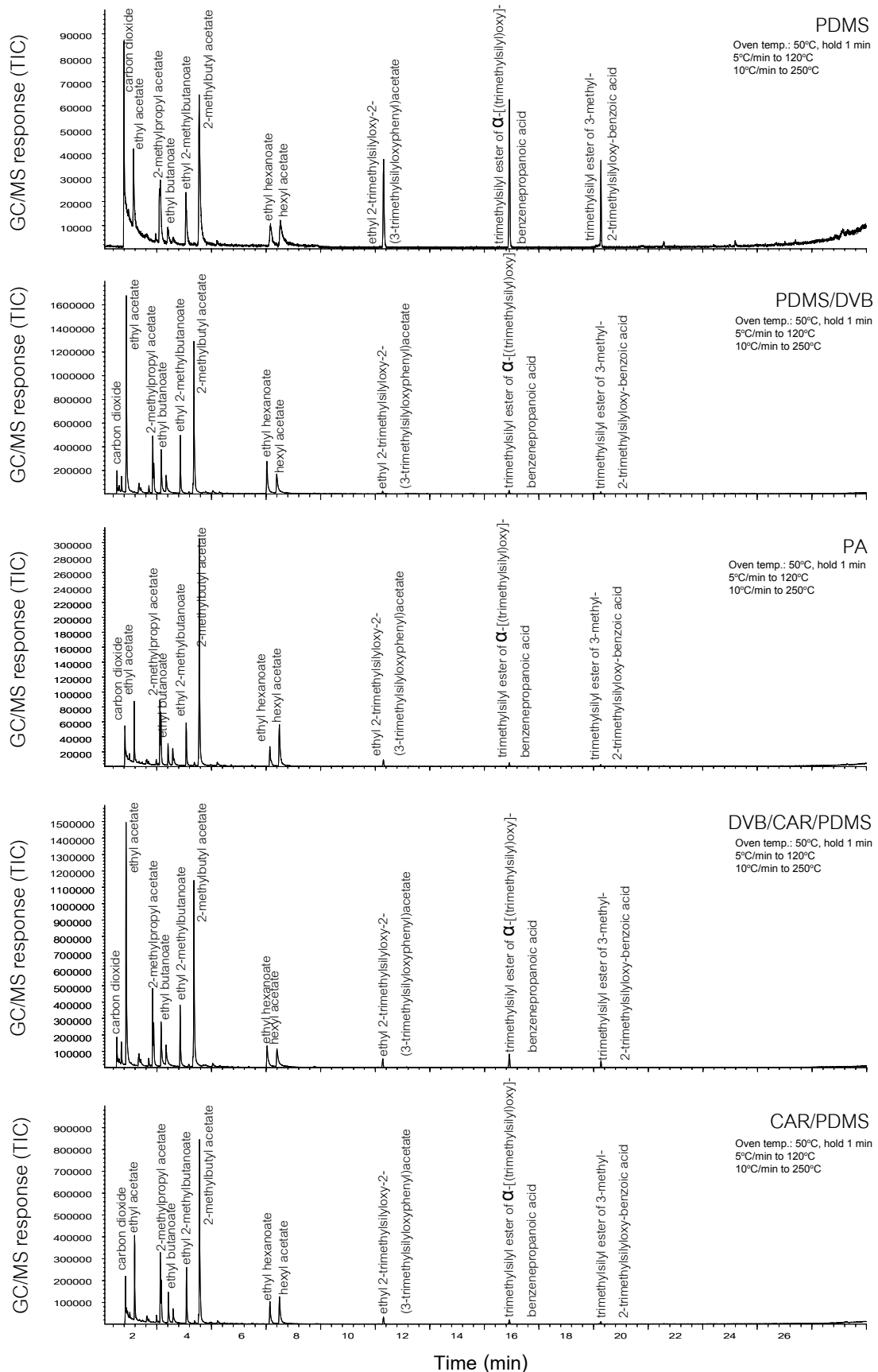


Figure 1 Total ion spectra (SPME/GC/MS) of hybrid netted melon with various types of SPME fiber; polydimethylsiloxane (PDMS), polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB), polyacrylate (PA), divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS), and carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) using an extraction temperature of 60°C and stirred for 30 min.

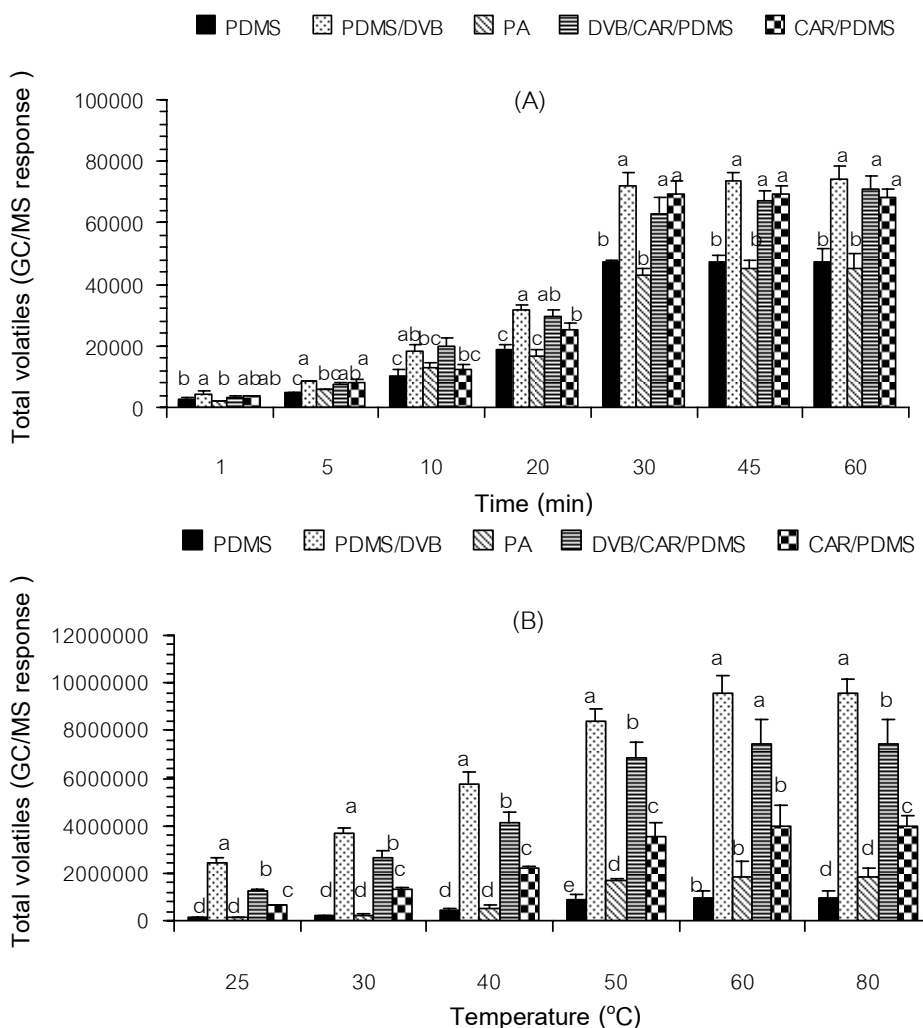


Figure 2 Influence of SPME fiber on the total relative area of hybrid netted melon at different times (A; extraction temperature of 25°C) and temperatures (B; extraction and stirred for 30 min). Each data point is the average of 4 replications \pm SE. Different letters in the same time and temperature indicate difference between means using DMRT test ($p < 0.05$).

สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์สารระเหยจากเนื้อแตงเมล่อนแบบ SPME ควรใช้ไฟเบอร์ชนิด PDMS/DVB ความหนา 65 ไมโครเมตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ร่วมกับการกวนเป็นเวลา 30 นาที ซึ่งเป็นสภาวะเหมาะสมที่สุด สิ่งสำคัญของการสกัดด้วยวิธี HS-SPME/GC-MS คือ ต้องทราบคุณสมบัติความมีขั้วของสารประกอบที่ต้องการศึกษา, ไฟเบอร์, สภาวะของเครื่อง และชนิดคอลัมน์ของ GC

เอกสารอ้างอิง

Buttery, R.G., Seifert, R.M., Ling, L.C., Soderstrom, E.L., Ogawa, J.M. and Tumbaugh, J.G. 1982. Additional aroma components of honeydew melon. *J. Agric. Food Chem.* 30: 1208-1211.

Cai, J.B., Liu, B.H. and Su, Q.D. 2001. Comparison of simultaneous distillation extraction and solid-phase microextraction for the determination of volatile flavor components *J. Chromatogr. A.* 930: 1-7.

Horvat, R.J. and Senter, S.D. 1987. Identification of additional volatile compounds from cantaloupe. *J. Food Sci.* 52: 1097-1098.

Kanavouras, A.K. and Hernandez, R.J. 2005. Comparative study on volatile analysis of extra virgin olive oil by dynamic headspace and solid phase micro-extraction. *Food Chem.* 90: 69-79.

Kemp, T.R., Stolz, L.P. and Knavel, D.E. 1972. Volatile component of muskmelon fruits. *J. Agric. Food Chem.* 20: 196-198.

Yabumoto, K. and Jennings, W.G. 1977. Volatile constituents of cantaloupe, *Cucumis melo*, and their biogenesis. *J. Food Sci.* 42: 32-37.