

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### 3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

###### วัตถุดิบที่ใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา

- เทียนอบแบบแท่ง ตรากล้วยไม้ (A)
- เทียนอบแบบแท่ง ตรากุหลาบ (B)
- เทียนอบแบบแท่ง (C,D) (ไม่ทราบตราชื่อ หือ จากร้านหยกอินเตอร์เทรด อ.เมือง จ. เชียงใหม่)
- แป้งเอนกประสงค์ ตราวัว (บมจ.ยูไนเต็ดฟลาวมิลล์ จ.สมุทรปราการ)
- ไข่เทียน (จากตลาดวโรรส อ.เมือง จ.เชียงใหม่)
- ก้านไม้ขีด ตราม้าขีดเอราวัณ
- กระดาษกรอง Whatman No.4
- เทียนไข ตรา Candles Lucky (ป.ศรีอุตสาหกรรม จำกัด จ.สมุทรสาคร)
- ระบุชุน้ำหอมกลิ่นแก่นจันทร์ชนิดควันน้อย (หจก.รูปหอมนพมาศ กรุงเทพฯ)
- กลิ่นนมแมว ตราวินเนอร์ (หจก. เกรทฮิลล์ กรุงเทพฯ)
- เมล็ดกาแฟ

###### อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา

- ขวดสีขาขนาดความจุ 150 cm<sup>3</sup> พร้อมฝาปิด

###### วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบ

- กลิ่นรสเทียนอบ (ตรา ซี เอ็ม ซี เวิลด์เพอร์ฟิวเมอรี)
- มอลโทเดกซ์ทริน (จากบริษัท โอวี เคมีเคิล จำกัด)
- กัมอะราบิก (จากบริษัท โอวี เคมีเคิล จำกัด)
- เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (จากบริษัท อคินพ จำกัด )
- สตาร์ชคัดแปร Hicap-100® (จากบริษัท National Starch จำกัด)

### อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลกลีนาทรสเทียนอบ

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยมสองตำแหน่ง (Precisa, Model XB 2200C, Switzerland)
- เครื่องผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer, Silverson: L4RT, England)
- เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (บริษัท เจซีเอ็ม เอ็นจีเนียร์ริงคอนเซพท์ จำกัด)

### อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

#### อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยมสี่ตำแหน่ง (Oertling: Model VA304, UK)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert: Model UNB 400, USA)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Circulator bath, HAAKE: Model DC3, Germany)
- Separating funnel
- โถดูดความชื้น (Dessicator)

#### อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสี (Konica Minolta: CR-400 series, Japan)
- เครื่องวัดความชื้น (Moisture analyzer balance, Precisa: XM 60, Switzerland)
- เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี (AquaLab LITE: DECAGON Devices Inc., USA)
- เครื่องเขย่าตะแกรงร่อนแยกขนาด (Sieve shaker, Retsch AS200-Digit, Germany)

#### อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- ชุดอุปกรณ์ทดสอบชิม
- แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส (รายละเอียดดังภาคผนวก ก)

#### อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารให้กลิ่น

- แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatography – Mass Spectrometer; GC-MS) (รุ่น GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu, Japan)
- แก๊สโครมาโทกราฟี-เฟรมไอออนไนเซชันดีเทกเตอร์ (Gas Chromatography - Flame Ionization Detector; GC-FID) (รุ่น GC-2010, Shimadzu, Japan)
- SPME fiber holder (รุ่น 57330-U, Supelco, USA)

- SPME fiber assembly Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) (รุ่น 57328-U, Supelco, USA)
- ขวดบรรจุตัวอย่าง (vial) และฝาขวดที่เป็นเซปต์ยาง (20 mm. Tan PTFE/White silicone septa) (รุ่น 9301-0719, Agilent, USA)
- แหน่วางและที่หนีบ (clamp)

#### สารเคมี

- ไดเอทิลอีเธอร์ (Diethyl ether, Labscan Asia Co., Ltd, Thailand)
- เอทานอล (Ethanol, Merch, Germany)
- โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride Crystal, J.T.Baker, Mexico)

#### การประมวลผลทางสถิติ

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft office
- โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS10.0
- โปรแกรมสำเร็จรูป Statistix 8.1
- โปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert Version 6.0.10 (Stat-Ease Inc., 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved

### 3.2 แผนการทดลอง

ในการทดลองนี้ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน ได้แก่ การศึกษาเค้าโครงกลิ่นและองค์ประกอบสารให้กลิ่นควันเทียนอบชนิดแห้ง การพัฒนาไมโครแคปซูลจากกลิ่นรสเทียนอบสังเคราะห์ และการประยุกต์ใช้ไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบในผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวน

#### ตอนที่ 1 การศึกษาเค้าโครงกลิ่นและองค์ประกอบสารให้กลิ่นควันเทียนอบชนิดแห้ง

##### การทดลองที่ 1.1 การศึกษาเค้าโครงกลิ่นเทียนอบชนิดแห้ง โดยการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา (Descriptive Sensory Analysis)

ทำการคัดเลือกผู้ทดสอบขั้นต้น โดยใช้แบบสอบถามคัดกรองเบื้องต้น (prescreening questionnaire) และแบบทดสอบการอ่านสเกล ดังภาคผนวก ก-1 เพื่อสอบถามความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับเทียนอบขนมไทย ปัญหาและอุปสรรคในการทดสอบทั้งด้านสุขภาพที่อาจส่งผลกระทบต่อประสาทสัมผัสในการรับรู้ด้านกลิ่น รวมถึงช่วงเวลาที่สะดวกในการทดสอบ เพื่อจะคัดกรองผู้ทดสอบไว้ให้เหลือ 20 คน จะต้องเกณฑ์บุคลากรอย่างน้อย 40 คน มาทำแบบทดสอบ โดยผู้ทดสอบต้องสามารถตอบคำถามได้ชัดเจนถูกต้องไม่ต่ำกว่าร้อยละ 80 และข้อสอบชุดการอ่านสเกลต้องอ่านได้ถูกต้องและผิดพลาดได้ไม่เกินร้อยละ 10 จึงจะผ่านเข้าสู่การทดสอบด้านความเฉียบแหลม (acuity test) เพียง 20 คน เพื่อพิจารณาความสามารถด้านการตรวจสอบ (detect) และการพรรณนา (describe) ของลักษณะเฉพาะทั้งในเชิงคุณภาพ (qualitative sense) และในเชิงปริมาณ (quantitative sense) โดยให้ผู้ทดสอบทำแบบทดสอบ Triangle test, Duo-trio test และ Ranking test โดยกำหนดเกณฑ์ผู้ที่เข้าสู่รอบต่อไป คือ มีความสามารถแยกความแตกต่างในแบบทดสอบ Triangle test ถูกต้อง 50-60% Duo-trio test ถูกต้อง 70-80% และผู้ที่ผ่านการทดสอบการจัดอันดับสามารถจัดอันดับได้ถูกต้องมากกว่าร้อยละ 80 จากนั้นคัดกรองให้ได้ผู้ทดสอบที่มีความเหมาะสมที่สุด ผ่านเข้าสู่ขั้นตอนการฝึกหัดจำนวน 10 คน แล้วทำการฝึกฝนผู้ทดสอบ (ดัดแปลงวิธีการของ Stone, 1992) โดยใช้เวลาในการฝึกฝนรวมทั้งสิ้น 8 ชั่วโมง (2 ชั่วโมง/การประชุม) ดังนี้

##### การประชุมครั้งที่ 1

เตรียมตัวอย่างกลิ่นเทียนอบจำนวน 2 ชนิด โดยตัดแต่งเทียนให้มีเนื้อเทียนยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร และมีไส้เทียนยาว 1 เซนติเมตร ติดเทียนอบบนฝาขวด ซึ่งภายในขวดบรรจุแป้งอเนกประสงค์สำหรับดูดซับกลิ่นควันเทียนอบ ทำการรมควันทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบ

จากนั้น ทำการเปิดอภิปรายกลุ่มเพื่อหาคุณลักษณะที่สำคัญของกลิ่นเทียนอบ โดยให้ผู้ทดสอบระบุคุณลักษณะ/คำศัพท์ที่สำคัญที่พบในกลิ่นเทียนอบตามลำดับการรับรู้ก่อน-หลัง และอธิบายถึงลักษณะกลิ่นของคุณลักษณะที่พบนั้นเพื่อให้เข้าใจตรงกัน รวมทั้งให้ระบุถึงตัวอย่างอ้างอิงที่มีกลิ่นใกล้เคียงกับคุณลักษณะต่างๆ ของกลิ่นเทียนอบ

### การประชุมครั้งที่ 2

จากการประชุมครั้งที่ 1 สามารถระบุคุณลักษณะที่สำคัญได้ 6 คุณลักษณะ ได้แก่ กลิ่นไหม้ฉุน (acrid) กลิ่นไหม้ (burnt) กลิ่นเขม่า (ashy) กลิ่นพาราฟิน (paraffin) กลิ่นน้ำหอม (perfumey) และกลิ่นหอมหวาน (sweet aromatic) แล้วคัดเลือกตัวอย่างอ้างอิงที่เหมาะสมในแต่ละคุณลักษณะเพียงตัวอย่างเดียว โดยตัวอย่างอ้างอิงที่เหมาะสม ควรเป็นตัวแทนที่ให้กลิ่นเด่นชัดสำหรับคุณลักษณะนั้น โดยใช้ความเห็นคิดเห็นร่วมกัน (consensus)

### การประชุมครั้งที่ 3

ฝึกฝนผู้ทดสอบเพื่อประเมินตัวอย่างอ้างอิงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละคุณลักษณะ เป็นการปรับระดับการรับรู้ด้านกลิ่นของแต่ละบุคคลให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน เตรียมตัวอย่างอ้างอิงในแต่ละคุณลักษณะที่ 3 ระดับความเข้มข้น สเกลที่ใช้เป็นแบบเส้นตรงยาว 15 เซนติเมตร และขีดเส้นกั้นหัว-ท้ายที่ระยะ 1.25 เซนติเมตรจากปลายทั้งสองด้าน (Meilgard *et al.*, 2007) (ปลายด้านซ้ายระบุคำศัพท์ “อ่อน” และปลายด้านขวาระบุคำศัพท์ “แรง”) โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความเข้มในแต่ละตัวอย่าง โดยทำเครื่องหมายขีด (†) ลงบนเส้นตรงตามระดับรู้สึกของแต่ละคน แล้วจึงสรุประดับความเข้มข้นของตัวอย่างอ้างอิงโดยใช้ความเห็นคิดเห็นร่วมกัน

### การประชุมครั้งที่ 4

ฝึกการประเมินตัวอย่างกลิ่นเทียนอบ โดยเสนอตัวอย่างกลิ่นเทียนอบที่รมในขวดสีชา ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เสนอให้ผู้ทดสอบก่อนการประเมินตัวอย่างจริง (warm-up sample) โดยให้ผู้ทดสอบให้คะแนนความเข้มของตัวอย่างสำหรับ 6 คุณลักษณะ โดยทำเครื่องหมายขีด (†) ลงบนเส้นตรงตามระดับรู้สึกของแต่ละคน แล้วจึงสรุประดับความเข้มข้นโดยใช้ความเห็นคิดเห็นร่วมกัน การประเมินตัวอย่างก่อนทดสอบตัวอย่างจริงโดยใช้ความคิดเห็นร่วมกัน ทำให้ผลการทดลองที่ได้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น (Plemmons and Resurreccion, 1997) เนื่องจาก ผู้ทดสอบสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เพื่อปรับมาตรฐานของตนเอง โดยการเปรียบเทียบผลการทดลองกับค่าที่ได้จากความคิดเห็นร่วมกัน



## การประเมินตัวอย่าง

### การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างโดยการตัดแท่งเทียนให้มีเนื้อเทียนยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร และมีไส้เทียนยาว 1 เซนติเมตร จากนั้นตัดเทียนอบบนฝาขวดสีชา ซึ่งภายในขวดสีชาบรรจุแป้งเอนกประสงค์น้ำหนัก 10.0 กรัม เพื่อใช้เป็นตัวดูดซับกลิ่นจากควันเทียนอบ จุดไฟที่ไส้เทียนจนไฟลามไปที่เนื้อเทียนแล้วปิดฝาขวดทันที ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบดมกลิ่น

### การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

เตรียมตัวอย่างเทียนอบจำนวน 4 ชนิด เสนอตัวอย่างโดยใช้รหัสเลขสามตัว และสุ่มลำดับการนำเสนอ โดยให้ผู้ทดสอบทำการประเมินกลิ่นเทียนอบภายในคูหา (booth) ในห้องทดสอบที่มีเครื่องปรับอากาศและมีแสงสว่างเพียงพอ แบบประเมินประกอบด้วยสเกลเส้นตรงความยาว 15 เซนติเมตร จีดเส้นกั้นหัว-ท้ายที่ระยะ 1.25 เซนติเมตรจากปลายทั้ง 2 ข้าง โดยปลายด้านขวาระบุ “แรง” ปลายด้านซ้ายระบุ “อ่อน” ทำการประเมินทั้งสิ้น 6 คุณลักษณะ ได้แก่ กลิ่นไหม้จุน กลิ่นไหม้ กลิ่นเข้ม่า กลิ่นพาราฟิน กลิ่นน้ำหอม และกลิ่นหอมหวาน นอกจากนี้ยังเสนอตัวอย่างอ้างอิงของแต่ละคุณลักษณะที่ระดับความเข้มข้น เพื่อเป็นกรอบในการประเมิน และยังเสนอตัวอย่างกลิ่นเทียนอบ (warm-up sample) เพื่อเป็นแนวทางในการประเมิน อีกทั้งเตรียมเมล็ดกาแฟที่บรรจุในขวดสีชาให้ผู้ทดสอบใช้ดมกลิ่นระหว่างตัวอย่าง เพื่อลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการประเมินตัวอย่าง (Moon and Li-Chan, 2007)

### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple comparison tests โดยใช้โปรแกรม SPSS10.0
- วิเคราะห์ตัวประกอบด้วยวิธี Principle Component Analysis (PCA) โดยใช้โปรแกรม SPSS 10.0

นอกจากนี้ ยังทำการประเมินทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการทดสอบการยอมรับ ด้วยการให้คะแนนความชอบด้านกลิ่นของควันตัวอย่างเทียนอบจำนวน 4 ชนิด โดยใช้สเกลความชอบ 9 คะแนน กำหนดให้ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด ไปถึง 9 = ชอบมากที่สุด โดยใช้ผู้ทดสอบทั่วไปจำนวน 100 คน นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD-Test (Least Significant Difference) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistix 8.1

## การทดลองที่ 1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารให้กลิ่นของควั่นเทียนอบชนิดแห้ง

จากการประเมินความชอบด้านกลิ่นควั่นเทียนอบโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 100 คน พบว่า เทียนอบตรากุหลาบ มีคะแนนความชอบสูงสุดและแตกต่างจากเทียนอบ 3 ชนิดที่ใช้ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยมีคะแนนความชอบในระดับปานกลาง (7.10) จึงนำเทียนอบตรากุหลาบ มาวิเคราะห์องค์ประกอบของสารให้กลิ่นด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสส์สเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) ทำการเตรียมตัวอย่างโดยตัดแท่งเทียนให้มีเนื้อเทียนยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร และมีไส้เทียนยาว 1 เซนติเมตร แล้วตัดเทียนอบบนฝาขวดสีชา ซึ่งภายในขวดสีชาบรรจุแป้งเอนกประสงค์หนัก 10.0 กรัม เพื่อใช้เป็นตัวดูดซับกลิ่นจากควั่นเทียนอบ จุดไฟที่ไส้เทียนจนไฟลามไปที่เนื้อเทียนแล้วปิดฝาขวดทันทีทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ SPME fiber สุ่มโอระเหยของตัวอย่างที่อุณหภูมิ 25°C โดยใช้เวลาคูดซับสารที่ระเหยได้ 35 นาที ก่อนฉีดเข้าเครื่อง GC-MS (อุปกรณ์แสดงดังภาคผนวก ข-1) สำหรับวัฏภาคคงที่ (stationary phase) ในระบบโครมาโทกราฟีที่ใช้วิเคราะห์ ได้แก่ capillary column (HP-MS, 30 m. x 0.25 mm. I.D., 0.25  $\mu$ m. film thickness; Agilent, USA) ใช้ helium เป็นแก๊สพา (carrier gas) โดยกำหนดให้อุณหภูมิเริ่มต้นเท่ากับ 40°C นาน 1.5 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 200°C ด้วยอัตราเร็ว 6 °C/นาที แล้วคงที่ที่อุณหภูมิ 200°C นาน 5 นาที รวมเวลาที่ใช้วิเคราะห์ทั้งหมดเท่ากับ 32 นาที

แมสส์สเปกโตรมิเตอร์ สามารถสแกนหาองค์ประกอบของสารระเหยที่มีค่า  $m/z$  อยู่ในช่วง 20-300 อุณหภูมิของแหล่งกำเนิดไอออนเท่ากับ 230°C ใช้ระบบกระทบด้วยอิเล็กตรอน (electron impact; EI) มีพลังงานเท่ากับ 70 eV. แปลผลเบื้องต้นของโครมาโทแกรมโดยการเปรียบเทียบกับแมสส์สเปกตรัมของสารมาตรฐานภายในเครื่อง Enhanced chemstation version D00.00.38 (Agilent Technology, Paolo Alto, USA)

## ตอนที่ 2 การพัฒนาไมโครแคปซูลจากกลี้นรสเทียนอบสังเคราะห์

### การทดลองที่ 2.1 การศึกษาวัสดุห่อหุ้มที่เหมาะสมสำหรับเก็บกักกลี้นรสเทียนอบ

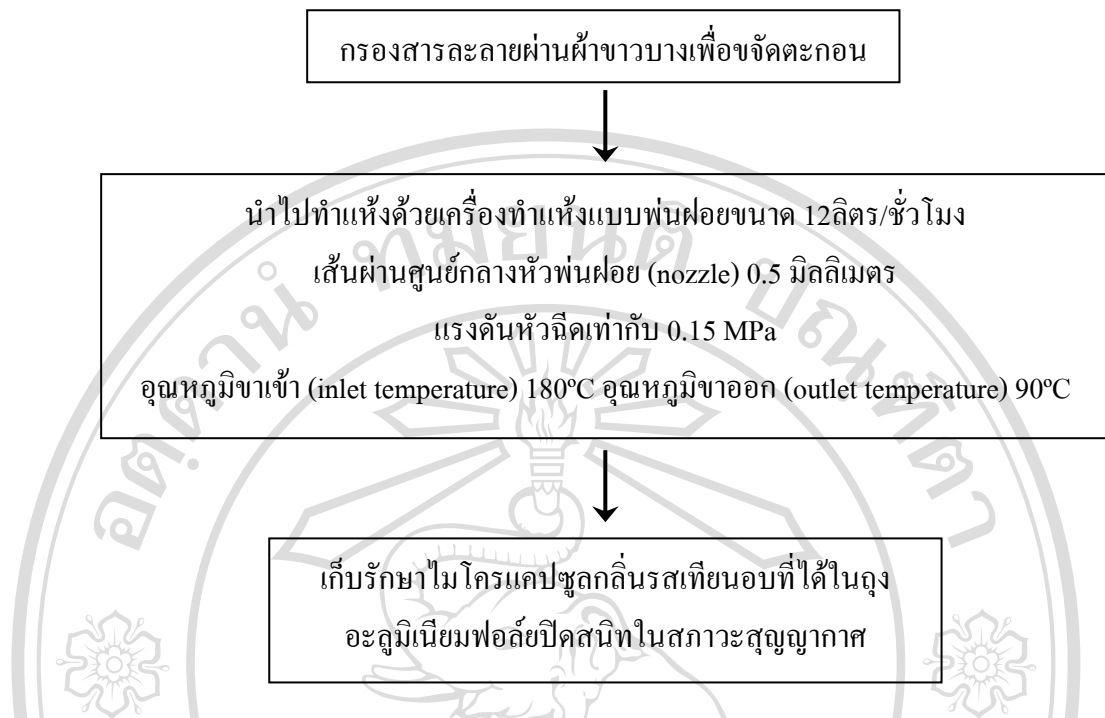
ทำการศึกษานชนิดของวัสดุห่อหุ้มกลี้นรสเทียนอบที่เหมาะสม จำนวน 4 ชนิด ได้แก่

- มอลโทเดกซ์ทริน (DE 10)
- เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน
- กัมอะราบิก
- สตาร์ชคัดแปร์ Hicap-100®

โดยกำหนดปริมาณของวัสดุห่อหุ้มที่ใช้เท่ากับ 30%w/v ละลายในน้ำอุณหภูมิ 60°C และเติมกลี้นรสเทียนอบสังเคราะห์ 5% โดยน้ำหนักของวัสดุห่อหุ้ม (1.5 กรัมต่อสารละลาย 100 กรัม) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลองซ้ำ 2 ครั้ง รูปที่ 3.1 แสดงกระบวนการผลิตไมโครแคปซูลกลี้นรสเทียนอบ







รูปที่ 3.1 กระบวนการผลิตไมโครแคปซูลกลั่นรสเทียนอบ (ดัดแปลงวิธีของ Krishnan *et al.*, 2005)

#### การวิเคราะห์คุณภาพ

##### การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินการยอมรับโดยวิธีการให้คะแนนความชอบ (Hedonic scaling) โดยใช้สเกลความชอบ 9 คะแนน กำหนดให้ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด ไปถึง 9 = ชอบมากที่สุด และวิธีการวัดความพอดี (Just About Right Scale - JAR) เพื่อจะได้ทราบว่าผู้ประเมินชอบตัวอย่างแค่ไหนและมีความรู้สึกอย่างไรต่อลักษณะที่ประเมิน เช่น น้อยไป พอดี หรือมากเกินไป (เพ็ญขวัญ, 2550) เติรียมตัวอย่างโดยละลายไมโครแคปซูลในน้ำอุณหภูมิ 80°C ด้วยอัตราส่วนระหว่างไมโครแคปซูลต่อน้ำเท่ากับ 3:10 ทำการประเมินคุณลักษณะด้านกลิ่น โดยใช้ผู้ประเมินจำนวน 60 คน ทดสอบซ้ำ 2 ครั้ง

##### การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ร้อยละผลผลิตที่ได้ (% yield) โดยคำนวณจากปริมาณไมโครแคปซูลกลั่นรสเทียนอบที่ได้ต่อปริมาณสารละลายผสมระหว่างกลั่นรสเทียนอบและวัสดุห่อหุ้ม ที่ป้อนเข้าสู่เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย แล้วคำนวณในรูปร้อยละผลผลิต

หาปริมาณความชื้น (moisture content) ด้วยเครื่อง Moisture analyzer balance โดยชั่งตัวอย่างหนักประมาณ 1 กรัม ลงบนถาดอะลูมิเนียมฟอล์ย เกลี่ยให้ทั่ว แล้วทำการวัดค่าความชื้น

หาความสามารถในการดูดความชื้น (hygroscopicity) โดยชั่งตัวอย่างหนักประมาณ 0.2500 กรัม ในภาชนะบรรจุปิดสนิทที่มีไอของสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว (74% relative humidity) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น คำนวณในรูปร้อยละความสามารถในการดูดความชื้น (ดัดแปลงวิธีของ Tonon *et al.*, 2008)

วัดค่าแอมเพอร์แอกติวิตี ด้วยเครื่อง AquaLab LITE โดยนำตัวอย่างใส่ตลับพลาสติกให้มีความสูงของตัวอย่างไม่เกินครึ่งหนึ่งของความสูงตลับพลาสติก ปิดฝาเครื่องให้สนิท แล้วทำการวัดค่าแอมเพอร์แอกติวิตี

ขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยมวล โดยใช้ตะแกรงคัดขนาดเบอร์ 8, 16, 30, 50, 100 และ 200 เรียงซ้อนกัน ทำการร่อนคัดขนาดโดยใช้เครื่องร่อน (sieve shaker) อนุภาคที่ค้างอยู่ที่ตะแกรงชั้นใดๆ จะมีขนาดเล็กกว่ารูเปิดของชั้นบน และมีขนาดใหญ่กว่ารูเปิดของชั้นนั้นๆ ซึ่งจะทำให้ทราบขนาดคร่าวๆ ของอนุภาคที่ค้างอยู่ในแต่ละชั้นนั้นได้ (กนกอร, 2551) โดยคำนวณจาก

ค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาคโดยมวล ( $\bar{D}_m$ )

$$\bar{D}_m = \sum_{i=1}^n x_i \bar{D}_{pi}$$

กำหนดให้  $x_i$  คือ อัตราส่วนโดยมวลอนุภาคที่ค้างอยู่

$\bar{D}_{pi}$  คือ ขนาดเฉลี่ยของอนุภาคที่ค้างอยู่บนตะแกรง

โดย  $\bar{D}_{pi} = (\text{ขนาดรูเปิดของตะแกรงชั้นบน} + \text{ขนาดรูเปิดของตะแกรงที่อนุภาคค้างอยู่}) / 2$

วัดค่าสี  $L^* a^* b^*$  ด้วยเครื่อง Konica Minolta ในระบบ CIE  $L^* a^* b^*$  ก่อนการวัดสีทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานโดยการสอบเทียบ (calibration) โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (white blank) แล้วจึงทำการวัดสีตัวอย่าง โดย

ค่าสี L* หมายถึง	ค่าความสว่าง (ค่า L* มากแสดงความสว่างมาก ค่า L* น้อยแสดงค่าความสว่างน้อย)
ค่าสี a* หมายถึง	สีแดง (ถ้าค่าเป็น+) สีเขียว (ถ้าค่าเป็น -)
ค่าสี b* หมายถึง	สีเหลือง (ถ้าค่าเป็น+) สีน้ำเงิน (ถ้าค่าเป็น -)

#### การวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติ

- วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD - Test (Least Significant Difference) โดยใช้โปรแกรม Statistix 8.1

#### การทดลองที่ 2.2 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างกลิ่นรสเทียนอบและวัสดุห่อหุ้ม

จากการทดลองที่ 2.1 ทำให้ทราบถึงชนิดของวัสดุห่อหุ้มที่เหมาะสมในการเก็บกักกลิ่นรสเทียนอบ ซึ่งได้แก่ มอลโทเดกซ์ทรีนและกัมอะราบิก อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีวัสดุห่อหุ้มชนิดใดเพียงชนิดเดียวที่มีคุณสมบัติครบทุกประการ ดังนั้น ในการทดลองนี้ จึงผสมวัสดุห่อหุ้มระหว่างมอลโทเดกซ์ทรีนและกัมอะราบิกเข้าด้วยกัน ทั้งนี้ เนื่องจากมอลโทเดกซ์ทรีนมีราคาถูกแต่ไม่มีคุณสมบัติของตัวทำอิมัลชัน ส่วนกัมอะราบิกเป็นไฮโดรคอลลอยด์จากธรรมชาติ มีสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) และสมบัติการเกิดฟิล์ม ซึ่งจะห่อหุ้มกลิ่นรสและป้องกันการเกิดปฏิกิริยาจากสภาวะแวดล้อม ดังนั้น สำหรับการทดลองนี้ จึงทำการผันแปรปริมาณส่วนผสมที่ใช้ เพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมในการผลิตไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบที่มีคุณภาพโดยรวมดีที่สุด (optimum formulation) โดยวางแผนแบบส่วนผสม (Mixture design) แบบ Extreme Vertices ซึ่งเป็นการออกแบบการทดลองเพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมของปัจจัยเชิงปริมาณตั้งแต่ 2 ปัจจัยขึ้นไป และมีข้อจำกัดเป็นสัดส่วน (design with constraints on proportion) คือ ระดับในแต่ละปัจจัยไม่จำเป็นต้องเป็น 0-100% (สุจินดา, 2548) ในการทดลองครั้งนี้ทำการควบคุมปริมาณวัสดุห่อหุ้มและกลิ่นรสเทียนอบ ดังนี้

ปริมาณมอลโทเดกซ์ทริน	5 – 24%
ปริมาณกัมอะราบิก	5 – 24%
กลีเซอรอลเทียบนอปลิงเคราะห์	1 – 5%

กำหนดให้ปริมาณส่วนผสมข้างต้นรวมเท่ากับ 30%w/v (ควบคุมปริมาณน้ำให้เท่ากับทุกสิ่งทดลอง คือ เท่ากับ 70%) เนื่องจากหากใช้วัสดุห่อหุ้มในปริมาณที่มากเกินไป ทำให้สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นสูง ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการอุดตันบริเวณหัวฉีดในขณะทำแห้งแบบพ่นฝอย

สมการรูปแบบพหุนที่ใช้ทำนายเป็นดังนี้

$$Y = \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

กำหนดให้ Y คือ ตัวแปรตามหรือค่าตอบสนอง (response)  $\beta_i$  และ  $\beta_{ij}$  เป็นค่าสัมประสิทธิ์หรือพารามิเตอร์ของเส้นตรง (linear model) และแบบพหุนกำลังสอง (quadratic model) ตามลำดับ ส่วน  $X_i$  และ  $X_j$  เป็นค่าตัวแปรอิสระ (independent variable) ตารางที่ 3.1 แสดงระดับของปัจจัยในแต่ละสิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนแบบส่วนผสม โดยใช้โปรแกรม Design-Expert Version 6.0.2 (Stat-Ease Inc., 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

ตารางที่ 3.1 ระดับของปัจจัยในแต่ละสิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนแบบส่วนผสม (Mixture design) สำหรับผลิตไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบ

สิ่งทดลอง	มอลโทเดกซ์ทรีน (%)	กัมอะราบิก (%)	กลิ่นรสเทียนอบ (%)	น้ำ (%)
1	5.00	22.00	3.00	70.00
2	14.50	14.50	1.00	70.00
3	5.00	20.00	5.00	70.00
4	20.00	5.00	5.00	70.00
5	5.00	24.00	1.00	70.00
6	5.00	20.00	5.00	70.00
7	24.00	5.00	1.00	70.00
8	13.50	13.50	3.00	70.00
9	22.00	5.00	3.00	70.00
10	12.50	12.50	5.00	70.00
11	24.00	5.00	1.00	70.00
12	5.00	24.00	1.00	70.00

ทำการผลิตไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบทั้ง 12 สูตรข้างต้น โดยเก็บรักษาไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบที่ได้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่ปิดสนิทในสภาวะสุญญากาศ แล้ววิเคราะห์คุณภาพทางเคมี-กายภาพ คล้ายกับการทดลองที่ 3.3 ดังนี้

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

การวิเคราะห์หาปริมาณสารที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile; TV) โดยการสกัดตัวอย่างหนักประมาณ 0.2500 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ไดเอทิลอีเทอร์ และเอธานอลความเข้มข้น 95% ตั้งทิ้งไว้ให้สารผสมแยกชั้นในกรวยแยก (separating funnel) แล้วแยกส่วนที่ละลายได้ในน้ำและส่วนที่สกัดได้จากตัวทำละลายออกจากกัน จากนั้นระเหยน้ำและตัวทำละลายออกบางส่วนบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ แล้วจึงนำไประเหยให้แห้งโดยใช้เตาอบร้อนที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง คำนวณหาร้อยละของปริมาณสารที่สกัดได้ทั้งหมดด้วยไดเอทิลอีเทอร์ (ether extract; EE)

และร้อยละของสารไม่ระเหย (ดัดแปลงวิธีของ Shaikh *et al.*, 2006) ส่วนร้อยละของสารที่ระเหยได้ทั้งหมดสามารถคำนวณได้จาก

$$\%TV = \%EE - \%NV$$

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ร้อยละผลผลิตที่ได้ (% yield)
- ปริมาณความชื้น
- ความสามารถในการดูดความชื้น
- ค่าวอเตอร์แอกติวิตี
- ขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยมวล
- ค่าสี L\* a\* b\*

#### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- วิเคราะห์หาสมการถดถอย (regression equation) และหาสูตรที่เหมาะสมโดยวิธีการหาพื้นที่ตอบสนอง โดยใช้โปรแกรม Design-Expert Version 6.0.2
- วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Turkey HSD-test โดยใช้โปรแกรม Statistix 8.1

### การทดลองที่ 2.3 การศึกษาคุณภาพและการคงอยู่ของสารที่ระเหยได้ทั้งหมดของไมโครแคปซูลกลั่นเทียนอบ

จากการทดลองที่ 2.2 ทำให้ทราบสัดส่วนระหว่างกลิ่นรสเทียนอบและวัสดุห่อหุ้มที่เหมาะสมโดยวิธีการหาพื้นที่ตอบสนอง ซึ่งสามารถทำนายคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้านปริมาณความชื้น ความสามารถในการดูดความชื้น และค่าวอเตอร์แอกติวิตี ของผลิตภัณฑ์ไมโครแคปซูลกลั่นรสเทียนอบได้ ดังนั้น ในการทดลองนี้ จึงผลิตไมโครแคปซูลกลั่นรสเทียนอบจากสูตรที่เหมาะสม แล้วตรวจสอบคุณภาพทางเคมี-กายภาพ แล้วทำการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองจริงกับค่าที่ได้จากการทำนาย เพื่อทดสอบความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้น



### 2.3.1 คุณภาพทางเคมี-กายภาพของไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบ

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ปริมาณสารที่ระเหยได้ทั้งหมด

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ร้อยละผลผลิตที่ได้ (% yield)
- ปริมาณความชื้น
- ความสามารถในการดูดความชื้น
- ค่าวอเตอร์แอกติวิตี
- ขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยมวล
- ค่าสี  $L^* a^* b^*$
- Bulk density โดยการชั่งตัวอย่างหนัก 20.0 กรัม ลงกระบอกตวงขนาด 100 ml. นำไปวางบนเครื่องเขย่า (Retsch AS200 Digit, Germany) ทำการเขย่าที่ amplitude ระดับ 100 เป็นเวลา 5 นาที คำนวณความหนาแน่น จาก น้ำหนักต่อปริมาตรในหน่วย g/ml (ดัดแปลงจากวิธีของ Al-Kahtani and Hassan,1990)

### 2.3.2 การประเมินระยะเวลาครึ่งชีวิตจากการคงอยู่ของสารที่ระเหยได้ทั้งหมด

ทำการประเมินอายุการเก็บรักษาของสารที่ระเหยได้ทั้งหมดที่คงอยู่ โดยพิจารณาจากระยะเวลาครึ่งชีวิต ( $t_{1/2}$ ) ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ทำให้สารตั้งต้นที่พิจารณาตกลงไปครึ่งหนึ่ง (Cai and Corke, 2000) โดยเก็บรักษาผงไมโครแคปซูลในบรรจุภัณฑ์ชนิดโพลีเอทิลีน (zip lock, polyethylene, PE) ในโถดูดความชื้นซึ่งภายในบรรจุซิลิกาเจล จากนั้นสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณสารที่ระเหยได้ทั้งหมด ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ทำการพล็อตกราฟระหว่าง semi-log ของร้อยละปริมาณสารที่ระเหยได้ทั้งหมดกับระยะเวลาที่ผ่านไป

### ตอนที่ 3 การศึกษาการประยุกต์ใช้ไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบในผลิตภัณฑ์อาหาร

ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านการยอมรับ (Affective test/Acceptance test) และการทดสอบความแตกต่าง (Difference test) ของคุณลักษณะด้านกลิ่น และกลิ่นรส สำหรับขนมกลีบลำควนที่เติมสารละลายกลิ่นรสเทียนอบ กับขนมกลีบลำควนที่เติมไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ โดยมีสูตรพื้นฐานและกระบวนการผลิต ดังนี้

#### สูตรพื้นฐาน

แป้งสาลีอเนกประสงค์	500	กรัม
น้ำตาลไอซิ่ง	250	กรัม
เกลือ	5	กรัม
ผงฟู	3	กรัม
น้ำมัน	225	กรัม
รวมส่วนผสมทั้งหมด	<b>983</b>	กรัม

#### กระบวนการผลิต

1. ผสมแป้งสาลีอเนกประสงค์ น้ำตาลไอซิ่ง เกลือ และผงฟูเข้าด้วยกัน
2. ร่อนส่วนผสมทั้งหมดรวมกัน 3 ครั้ง
3. ค่อยๆ เติมน้ำมัน และตะล่อมแป้งให้จับตัวกัน
4. ปั้นเป็นก้อนกลม แล้วผ่าให้ขาดออกจากกันสี่ส่วน
5. จับกลีบลำควน 3 กลีบมาต่อกันเป็นดอก โดยหงายส่วนที่เป็นเหลี่ยมสั้นขึ้น
6. นำเข้าเตาอบที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 8-10 นาที
7. ทิ้งให้เย็น แล้วบรรจุในกล่องพลาสติกโพลีโพรพิลีน (polypropylene, PP)

ทั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบผลของเทคโนโลยีไมโครแคปซูลกลิ่นรส ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นและกลิ่นรสที่ระยะเวลาต่างๆ จึงจำเป็นต้องคำนวณหาปริมาณกลิ่นรสเทียนอบที่ถูกห่อหุ้มให้เท่ากับปริมาณกลิ่นรสในรูปสารละลาย (กลิ่นรสเทียนอบที่ไม่ถูกเก็บกัก) ให้มีปริมาณ 0.5% ของส่วนผสม โดยการอนุมานว่า

หากเก็บกักกลิ่นรสเทียนอบทั้งหมดได้ 100%

ไมโครแคปซูลกลิ่นรสที่เก็บกักได้ 30 กรัม (สารละลายที่ป้อนเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย 100 กรัม มีปริมาณกลิ่นรสเทียนอบและวัสดุห่อหุ้มรวม 30 กรัม) ประกอบด้วยกลิ่นรสเทียนอบเป็น 3.1 กรัม (สูตรที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 3.4) เพราะฉะนั้น หากต้องการกลิ่นรสเทียนอบ 0.5 กรัม (ต่อส่วนผสมที่ใช้ผลิตขนมกลีบลำดวน 100 กรัม) ต้องใช้ไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบเท่ากับ 4.84 กรัม

ดังนั้น ในผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวน 100 กรัม หากเติมสารละลายกลิ่นรสเทียนอบ 0.5 กรัม จะเท่ากับการใช้ไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบ 4.84 กรัม

### การทดลองที่ 3.1 การประเมินทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและกลิ่นรสที่เปลี่ยนแปลงไปของผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวน โดยเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวิธีการทดสอบการยอมรับ

ทำการประเมินทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวม ความชอบด้านกลิ่น และความชอบด้านกลิ่นรส ในผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวน 3 สิ่งทดลอง ดังนี้

- **สิ่งทดลองที่ 1** ได้แก่ ตัวอย่างขนมกลีบลำดวนที่รมด้วยควันเทียนอบ ปรากฏผล นาน 24 ชั่วโมง
- **สิ่งทดลองที่ 2** ได้แก่ ตัวอย่างขนมกลีบลำดวนที่เติมสารละลายกลิ่นรสเทียนอบ ปริมาณ 0.5% ของส่วนผสมทั้งหมด หรือคิดเป็น 4.92 กรัมต่อส่วนผสมที่ใช้ผลิต 983 กรัม
- **สิ่งทดลองที่ 3** ได้แก่ ตัวอย่างขนมกลีบลำดวนที่เติมไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบ ปริมาณ 4.84% ของส่วนผสมทั้งหมด หรือคิดเป็น 47.58 กรัมต่อส่วนผสมที่ใช้ผลิต 983 กรัม

เก็บผลิตภัณฑ์ที่ได้ในบรรจุภัณฑ์ชนิดพอลิโพรพิลีน ที่อุณหภูมิ 25°C แล้วสุ่มตัวอย่างมาทดสอบทางประสาทสัมผัสในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 โดยวิธีการให้คะแนนความชอบ (hedonic scaling) โดยใช้สเกลความชอบ 9 คะแนน กำหนดให้ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด ไปถึง 9 = ชอบมากที่สุด คุณลักษณะที่ทำการประเมิน ได้แก่ ความชอบโดยรวม ความชอบด้านกลิ่น และความชอบด้านกลิ่นรส โดยใช้ผู้ประเมินจำนวน 60 คน ทดสอบซ้ำ 2 ครั้ง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์

ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD-Test (Least Significant Difference) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistix 8.1

**การทดลองที่ 3.2** การประเมินทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและกลิ่นรสที่เปลี่ยนแปลงไปของผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวน เมื่อเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวิธีการทดสอบความแตกต่าง

ทำการประเมินทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและกลิ่นรส ในผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวน ทั้ง 3 สิ่งทดลอง ดังนี้

- **สิ่งทดลองที่ 1 (C, Control)** ได้แก่ ตัวอย่างขนมกลีบลำดวนที่เติมสารละลายกลิ่นรสเทียนอบ ปริมาณ 0.5% ของส่วนผสมทั้งหมด โดยผลิตใหม่ในทุกสัปดาห์ที่ทำการสุ่มทดสอบ
- **สิ่งทดลองที่ 2 (F, Flavor)** ได้แก่ ตัวอย่างขนมกลีบลำดวนที่เติมสารละลายกลิ่นรสเทียนอบ ปริมาณ 0.5% ของส่วนผสมทั้งหมด หรือคิดเป็น 4.92 กรัมต่อส่วนผสมที่ใช้ผลิตทั้งหมด 983 กรัม แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C ที่ระยะเวลาต่างๆ
- **สิ่งทดลองที่ 3 (M, Microcapsule)** ได้แก่ ตัวอย่างขนมกลีบลำดวนที่เติมไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบ ปริมาณ 4.84% ของส่วนผสมทั้งหมด หรือคิดเป็น 47.58 กรัมต่อส่วนผสมที่ใช้ผลิตทั้งหมด 983 กรัม แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C ที่ระยะเวลาต่างๆ

สุ่มตัวอย่างขนมกลีบลำดวนทั้ง 3 สิ่งทดลองข้างต้น ที่เก็บในบรรจุภัณฑ์ชนิดพอลิโพรพิลีน ที่อุณหภูมิ 25°C มาทดสอบทางประสาทสัมผัสในสัปดาห์ที่ 0, 1, 3, 4, 6, 8 และ 10 ตามลำดับ โดยใช้วิธีการเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม กำหนดให้สิ่งทดลองที่ 1 เป็นตัวอย่างควบคุม (C) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ผลิตใหม่ในทุกสัปดาห์ที่ทำการสุ่มทดสอบ แล้วให้ผู้ทดสอบเลือกว่าตัวอย่างใดที่เหมือนกับตัวอย่างควบคุม (ระหว่างตัวอย่าง F คือ การใช้สารละลายกลิ่นรสเทียนอบ หรือตัวอย่าง M คือ การใช้ไมโครแคปซูลกลิ่นรสเทียนอบ ซึ่งเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ) โดยติด

ชื่อ “C” ไว้สำหรับตัวอย่างควบคุม ส่วนอีกสองตัวอย่างใช้รหัสเลขสามตัว ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 24 คน ทำการประเมินคุณลักษณะด้านกลิ่นและกลิ่นรส นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์โดยใช้ค่าไคว์สแควร์ ( $\chi^2$ ) โดยมีสมมติฐานการวิจัย คือ

$H_0$ : จำนวนผู้เลือกตัวอย่าง F เหมือนกับตัวอย่าง C = จำนวนผู้เลือกตัวอย่าง M เหมือนกับตัวอย่าง C

$H_1$ : จำนวนผู้เลือกตัวอย่าง F เหมือนกับตัวอย่าง C  $\neq$  จำนวนผู้เลือกตัวอย่าง M เหมือนกับตัวอย่าง C

หาก  $\chi^2$  ที่คำนวณได้มากกว่า  $\chi^2$  ที่ได้จากตาราง (ดังภาคผนวก ก-6) จะทำการปฏิเสธสมมติฐานหลักซึ่งแสดงว่า จำนวนผู้เลือกตัวอย่าง F เหมือนกับตัวอย่าง C ไม่เท่ากับ จำนวนผู้เลือกตัวอย่าง M เหมือนกับตัวอย่าง C

### การทดลองที่ 3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารให้กลิ่นที่เปลี่ยนแปลงไปที่ระยะเวลาต่างๆ โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี-เฟรมไอออนเซชันดีเทกเตอร์ (GC-FID)

ทำการตรวจติดตามปริมาณสารให้กลิ่นหลักที่เปลี่ยนแปลงไปโดยใช้ GC-FID ในผลิตภัณฑ์ขนมกลีบดำหวานที่ประกอบด้วย 3 สิ่งทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.2 โดยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ชนิดพอลิโพรพิลีน ที่อุณหภูมิ 25°C แล้วสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 3, 4, 6, 8, 10 และ 16 ตามลำดับ ด้วยเทคนิคการดูดซับสารระเหยจากตัวอย่างที่เป็นของแข็ง (SPME: Solid Phase Microextraction) ทำการสุ่มไอระเหยของตัวอย่างที่อุณหภูมิ 25°C และ 37°C มีวิธีการเตรียมตัวอย่างเป็นดังนี้

#### การชัก/สุ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 25°C

1. บดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยา
2. ชั่งตัวอย่างให้มีน้ำหนักแน่นอน 4.00 กรัม ลงในขวด (vial) ใช้ฝาขวดที่เป็นเซปตัมยาง (rubber septum) ปิดผนึกให้สนิท
3. ตั้งขวดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สารที่ระเหยได้แพร่ออกจากตัวอย่างจนถึงจุดสมดุล (equilibrium)
4. ชักหรือสุ่มไอของสารตัวอย่างที่อุณหภูมิ 25°C โดยใช้ SPME fiber ดูดซับไอสารระเหยที่อยู่บริเวณเหนือผิวหน้าของตัวอย่าง (headspace) เป็นเวลา 15 นาที แล้วฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

### การชัก/สู่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 37°C

โดยการจำลองสภาวะการปลดปล่อยสารที่ระเหยได้ ขณะรับประทานขนมกลีบคำควน  
ภายในปาก

1. บดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยา
2. ชั่งตัวอย่างให้มีน้ำหนักแน่นอน 4.00 กรัม ลงในขวด
3. เติมน้ำที่อุณหภูมิ 37°C ในปริมาณ 2.0 มิลลิลิตร ใช้ฝาขวดที่เป็นเซบตัมยาง ปิด  
ผนึกให้สนิท
4. จากนั้นนำขวดที่ใส่สารไปไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) 37°C เพื่อให้  
ความร้อน เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สารที่ระเหยได้แพร่ออกจากตัวอย่างจนถึงจุด  
สมดุล
5. ชักหรือสู่มไอของสารตัวอย่างที่อุณหภูมิ 37°C โดยใช้ SPME fiber ดูดซับไอสาร  
ระเหยที่อยู่บริเวณเหนือผิวหน้าของตัวอย่างเป็นเวลา 15 นาที แล้วฉีดเข้าเครื่อง  
แก๊สโครมาโทกราฟี เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

สำหรับวัฏภาคคงที่ (stationary phase) ในระบบ GC-FID ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ ได้แก่  
capillary column (DB-1, 30 m. x 0.25 mm. I.D., 0.25  $\mu$ m. film thickness; J&W Scientific, USA)  
ใช้ helium เป็นแก๊สพา (carrier gas) โดยกำหนดให้อุณหภูมิเริ่มต้นเท่ากับ 50°C นาน 2 นาที แล้ว  
เพิ่มอุณหภูมิเป็น 200°C ด้วยอัตราเร็ว 6 °C/นาที แล้วคงที่ที่อุณหภูมิ 200°C นาน 5 นาที รวมเวลาที่  
ใช้วิเคราะห์ทั้งหมดเท่ากับ 32 นาที