สารระเหยอิสระและสารระเหยที่ถูกยึดจับในตะไคร้สด

Free and Bound Volatile Compounds in Fresh Lemongrass (*Cymbopogon citratus*)

พิชามญชุ์ สว่างสุข[1] และ วรรณี จิรภาคย์กุล[1]

Pichamon Sawangsuk[1] and Wannee Jirapakkul[1]

บทคัดย่อ

สารระเหยอิสระ (free volatile compounds) และ สารระเหยที่ถูกยึดจับ (bound volatile compounds) ในตะไคร้สด (*Cymbopogon citratus*) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย โดยสารระเหยที่ถูกยึดจับอยู่ถูกทำให้อยู่ในรูปสารระเหยอิสระโดยการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด (acid hydrolysis) ก่อนการวิเคราะห์ด้วย GC-FID และ GC-MS พบว่าสารระเหยอิสระในตะไคร้สดเป็นกลุ่ม monoterpenes และ sesquiterpenes สารที่พบมากคือ geranial (68.4%) และneral (15.8%) ส่วนสารอื่นที่สำคัญ ได้แก่ *trans*-geraniol (2.7%), β-myrcene (3.7%), *trans*-β-caryophyllene (1.6%), *cis*-β-ocimene (1.7%), *trans*-β-ocimene (0.8%), linalool (0.6%) และ citronellal (0.2%) การไฮโดร์ไลซ์ด้วยกรดโดยใช้ pH (2.5 และ 3.5) และอุณหภูมิ (50, 70 และ 90°C) มีผลต่อสารระเหยอิสระที่สำคัญแตกต่างกัน โดยที่ pH 2.5 เมื่อใช้อุณหภูมิ 70 และ 90°C ปริมาณของ citral (geranial และ neral) ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์น้อยกว่าที่ใช้อุณหภูมิ 50°C แต่ที่ pH 3.5 ความร้อนที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อ citral อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ABSTRACT

Free and bound volatile compounds were extracted from fresh lemongrass (*Cymbopogon citratus*) using solvent. The volatile compounds from bound fraction were hydrolysed by acid hydrolysis. Volatile components of both free and bound fractions were determined by GC-FID and GC-MS. The free volatile compounds of fresh lemongrass were monoterpenes and sesquiterpenes. The major compounds were geranial (68.4%) and neral (15.8%). Other important compounds were geraniol (2.7%), β-myrcene (3.7%), *trans*-β-caryophyllene (1.6%), *cis*-β-ocimene (1.7%), *trans*-β-ocimene (0.8%), linalool (0.6%) and citronellal (0.2%). For bound volatile compounds, the pH values (2.5 and 3.5) and temperatures (50, 70 and 90°C) of acid hydrolysis were differently affected to the content of major free volatile compounds. Citral (geranial and neral) contents were decreased at the condition of pH 2.5 with high temperature (70 and 90°C). On the other hand, the citral content did not change at pH 3.5 with high temperatures. ($p>0.05$)

Keywords : lemongrass; *Cymbopogon citratus*; acid hydrolysis; bound volatile compounds; GC-FID; GC-MS; citral

e-mail address : g4870039@ku.ac.th.

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ 10900

[1] Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

บทนำ

Cymbopogon citratus (DC.) หรือตะไคร้ (lemongrass) พบมากทางแถบเอเชีย นิยมใช้เป็นเครื่องเทศในอาหาร เพราะมีสารระเหยให้กลิ่นหลายชนิด ในอุตสาหกรรมมีการนำตะไคร้ไปกลั่นเป็นน้ำมันตะไคร้ (lemongrass oil) เพื่อใช้แต่งกลิ่นอาหาร เช่น อาหารกระป๋อง เครื่องดื่ม เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ขนมหวาน และลูกกวาด เป็นต้น น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีสารระเหยที่สำคัญ ได้แก่ geranial, neral, myrcene, geraniol, citronellal, caryophyllene, 6-methyl hept-5-en-3-one, linalool, *cis*-β-ocimene, *trans*-β-ocimene และ limonene (Ashurst, 1999; Kasali *et al.,* 2001) คุณภาพของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ขึ้นอยู่กับปริมาณ citral (65-80%) ซึ่งเป็นสารผสมของอัลดีไฮด์ 2 ตัว ที่เป็นสเตอริโอไอโซเมอร์ (stereoisomer) คือ geranial และ neral สารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารที่ให้ลักษณะกลิ่นที่สำคัญของเลมอน (lemon) (Leffingwell, 2004) ตามธรรมชาติจะพบอยู่ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันตามชนิดของพืช (Shaneberg and Khan, 2002) ซึ่งในตะไคร้จะมีอัตราส่วนของ geranial และ neral ในช่วง 40-62% และ 25-38% ตามลำดับ (Ashurst, 1999; Kasali *et al*., 2001)

สารที่ถูกยึดจับส่วนใหญ่เป็นสารพวก flavonols, anthocyanins, monoterpenes, norisoprenoidic และฮอร์โมนพืช ที่ยึดจับกับน้ำตาล หรือโปรตีนในพืช สารที่ยึดจับกับน้ำตาลหรือที่เรียกว่าไกลโคไซด์ (glycoside) เป็นรูปที่พบมากในพืช พันธะที่สารไปยึดจับอยู่คือ พันธะไกลโคซิดิก (glycosidic) สารไกลโคไซด์สามารถละลายน้ำได้ดี มีความเสถียร และมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีค่อนข้างต่ำ จึงคาดว่าเป็นรูปที่ใช้สะสมในพืช เพื่อการขนย้าย หรือ เป็นการกำจัดสารพิษ สารไกลโคไซด์ที่พบในพืชเกิดจากผลผลิตของเมตาบอไลซ์ระดับทุติยภูมิ (secondary metabolite) (Sarry and Günata, 2004) สารระเหยที่ถูกยึดจับจะไม่ให้กลิ่น จึงจัดเป็นสารตั้งต้นในการสร้างสารให้กลิ่นในพืช และสามารถทำให้ปลดปล่อยกลิ่นออกมาได้ด้วยการใช้เอนไซม์ หรือ ความเป็นกรดไปไฮโดรไลซ์พันธะที่สารให้กลิ่นยึดจับอยู่ โดยทั่วไปจะพบสารไกลโคไซด์ในผัก และผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว เช่น มะเขือเทศ องุ่น ราสเบอรี เป็นต้น แต่ก็มีรายงานการพบสารระเหยที่ยึดจับด้วยพันธะไกลโคซิดิกในเครื่องเทศ เช่น ใน ขิง (Wu *et al*., 1990), ออริกาโน (Milos *et al*., 2000) และลูกจันทน์ (Ananthakumar *et al*., 2006) การศึกษาด้านปริมาณของสารระเหยที่ถูกยึดจับจะสัมพันธ์กับสภาวะการไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดิก เช่น อัตราการไฮโดรไลซ์ของกรดขึ้นอยู่กับค่า pH อุณหภูมิ และโครงสร้างของสารให้กลิ่นที่ทำพันธะอยู่กับน้ำตาล (Sarry and Günata, 2004)

สารระเหยที่สามารถให้คุณสมบัติด้านกลิ่นคือสารระเหยอิสระ และพบว่ามีสารระเหยบางส่วนอยู่ในรูปที่ยึดจับกับน้ำตาลด้วยพันธะไกลโคซิดิกและไม่มีคุณสมบัติในการให้กลิ่น จึงเป็นที่น่าสนใจในเรื่องกระบวนการที่ทำให้เกิดการสลายพันธะและให้สารระเหยอิสระออกมามากขึ้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาสารระเหยอิสระและสารระเหยที่ถูกยึดจับในตะไคร้สด โดยศึกษาสภาวะการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดที่มีผลต่อพันธะที่ยึดจับสารระเหยไว้ และทำให้สารที่ปลดปล่อยออกมานั้นเปลี่ยนแปลงจากการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดน้อยที่สุดเพื่อเป็นข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในการทำให้สารระเหยที่ถูกยึดจับอยู่กลายเป็นสารระเหยอิสระเพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่าง

นำตะไคร้สด มาคัดเลือกโดยพิจารณาจากลักษณะภายนอกเพื่อคัดส่วนที่มีตำหนิทิ้ง ล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด แล้วเช็ดให้แห้ง นำมาตัดแต่ง โดยใช้ส่วนโคนยาวประมาณ 15 เซนติเมตร หั่นตะไคร้เฉียงหนาประมาณ 0.3 เซนติเมตร

การสกัดสารระเหยอิสระและสารระเหยที่ถูกยึดจับในตะไคร้สด

ชั่งตะไคร้จำนวน 20 กรัมผสมกับโซเดียมคลอไรด์ 20 กรัม เติมสารมาตรฐาน internal standard (10 mg/mL ของ 2-undecanol และ *tert*-butylbenzene ในไดคลอโรมีเทน) 50 ไมโครลิตร เติมไนโตรเจนเหลวประมาณ 200 มิลลิลิตรลงไปในตัวอย่าง จากนั้นบดด้วยเครื่องบดผสม แล้วสกัดสารระเหยอิสระโดยเติมตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนที่เย็นจัด 80 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ 5 นาที สกัดตัวอย่างด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก เป็นเวลา 30 นาที แยกส่วนตัวทำละลายเก็บไว้ในขวดแก้วฝาเกลียว สกัดกากซ้ำด้วยไดคลอโรมีเทน 80 มิลลิลิตร และเพนเทน 80 มิลลิลิตร อีก 2 ครั้ง รวมตัวทำละลายที่สกัดสารระเหยอิสระทั้ง 4 ครั้งไว้ด้วยกันในขวดแก้วฝาเกลียว ต่อจากนั้นสกัดสารระเหยที่ถูกยึดจับจากตะไคร้ที่สกัดสารระเหยอิสระแล้วด้วยเมทานอล 80 มิลลิลิตร 3 ครั้ง รวมสารละลายเมทานอลที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้ง เพื่อนำไปไฮโดรไลซ์ในขั้นตอนต่อไป

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดของสารระเหยที่ถูกยึดจับ (ดัดแปลงจาก Cai *et al*., 2002)

นำสารละลายของสารระเหยที่ถูกยึดจับในเมทานอลมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ละลายสารที่เหลืออยู่ด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionised water) 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นไฮโดรไลซ์ด้วยฟอสเฟทบัฟเฟอร์ 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่ pH 2 ระดับ คือ 2.5 และ 3.5 และนำไปให้ความร้อนที่ 3 ระดับ คือ 50, 70 และ 90°C ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง จากนั้นสกัดสารระเหยที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยสารละลายผสมของเพนเทนและไดคลอโรมีเทนอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร จำนวน 50 มิลลิลิตร 3 ครั้ง ด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก รวมตัวทำละลายที่สกัดได้ไว้ด้วยกันในขวดแก้วฝาเกลียว

การกลั่นสุญญากาศ

นำตัวอย่างสารระเหยอิสระ และสารระเหยที่ถูกยึดจับมาระเหยตัวทำละลายด้วยก๊าซไนโตรเจน จนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร ถ่ายตัวอย่างใส่ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นต่อขวดก้นกลมเข้ากับเครื่องกลั่นระบบสุญญากาศ (high vacuum distillation) รุ่น B62426952 (Edwards, อังกฤษ) กลั่นตัวอย่างที่สภาวะสุญญากาศ 10^{-5} ทอร์ ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นหล่อขวดใส่ตัวอย่างด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส กลั่นต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารที่กลั่นได้ไปทำให้เข้มข้นโดยระเหยตัวทำละลายด้วยก๊าซไนโตรเจนจนเหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร กรองตัวอย่างผ่านโซเดียมซัลเฟทปราศจากน้ำและใยแก้ว จากนั้นเป่าด้วยก๊าซไนโตรเจนจนเหลือปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างในขวดแก้วสีชาเพื่อนำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารระเหยต่อไป

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารระเหย

วิเคราะห์ตัวอย่างที่สกัดได้ ปริมาตร 1 ไมโครลิตรด้วยเครื่อง GC-FID (Hewlett-Packard รุ่น HP 6890, สหรัฐอเมริกา) โดยใช้สภาวะของเครื่องแบบ split mode แยกสารระเหยด้วยแคปิลารีคอลัมน์ชนิด HP-5 ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ชั้นเคลือบหนา 0.25 ไมโครเมตร โดยตั้งอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 35 องศาเซลเซียส เพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียส/นาที จนอุณหภูมิถึง 200 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 10 นาที ระบุชนิดของสารระเหยในแต่ละพีคโดยคำนวณค่า Retention index (RI) ของสารแต่ละชนิดจาก Retention time (RT) ของสารระเหยกับค่า RT ของสารมาตรฐาน n-alkanes (C6-C26) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์และสภาวะเดียวกันกับตัวอย่าง เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับ RI ของสารที่วิเคราะห์ในสภาวะเดียวกันด้วย GC-MS (Hewlett-Packard รุ่น HP 6890 ต่อกับ mass selective detector (mass spectrometer; MS) รุ่น HP 5973, สหรัฐอเมริกา) ระบุชนิดสารโดยการเปรียบเทียบข้อมูล mass spectrum ของสารแต่ละพีคกับฐานข้อมูล Wiley 275 library ส่วนปริมาณสารระเหยคำนวณจากการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของสารแต่ละชนิดกับพื้นที่ใต้พีคของสาร internal standard (*tert*-butylbenzene สำหรับ monoterpene และ 2-undecanol สำหรับ linalool และ borneol) แล้วรายงานเป็นความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารชนิดนั้น ๆ ในตัวอย่างตะไคร้สด (ไมโครกรัม/กรัม; ppm)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการทดลองเปรียบเทียบการไฮโดรไลซ์ที่อุณภูมิ และ pH ต่างๆ ด้วยโปรแกรม SPSS version 12.0 ถ้าพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จึงนำมาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีของ Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การวิเคราะห์สารระเหยอิสระในตะไคร้สด

จากตารางที่ 1 แสดงสารระเหยอิสระ โดยระบุชนิดสารด้วยการเปรียบเทียบจากค่า retention index (RI) ของสารแต่ละชนิดที่วิเคราะห์ด้วย GC-MS กับ RI ของสารที่วิเคราะห์ด้วย GC-FID หาปริมาณสารระเหยในรูปความเข้มข้นสัมพัทธ์ พบว่าในตะไคร้สดประกอบด้วยสารระเหยหลักในกลุ่ม monoterpene และ sesquiterpene สารระเหยกลุ่ม monoterpene ที่พบมาก คือ กลุ่มอัลดีไฮด์ ซึ่งพบอยู่ร้อยละ 84.4 ได้แก่ สาร geranial, neral และ citronellal รองลงมา คือ สารกลุ่มอัลกอฮอล์ พบอยู่ร้อยละ 4.0 ได้แก่ *trans*-geraniol, linalool, citronellol, endo-borneol และ nerol สารกลุ่มไฮโดรคาร์บอน ร้อยละ 6.2 ได้แก่ β-myrcene, *cis*-β-ocimene และ *trans*-β-ocimene และสารกลุ่มเอสเทอร์ ร้อยละ 0.7 ได้แก่ geranyl acetate,และ citronellyl acetate ส่วนสารกลุ่ม sesquiterpene ที่พบในตะไคร้สด ได้แก่ dodecanol, *trans*-β-caryophyllene, *trans*-α-bergamotene, α-guaiene, trans-β-farnesene, β-selinene, germacrene D, α-selinene, valencene, β-bisabolene, amorphene, δ-cadinene, *trans*-γ-bisabolene และ *trans*-β-caryophyllene ซึ่งพบร้อยละ 4.5 สารระเหยหลักที่วิเคราะห์ได้ในตะไคร้สดใกล้เคียงกับสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ (Ashurst, 1999; Kasali *et al*., 2001)

Table 1 Free volatile compounds in fresh lemongrass

No.	compounds	RI	threshold[a] (ppb)	fresh lemongrass		
				ppm[b]	%	OAV
	MONOTERPENES and derivatives					
1	α-pinene	935	6.0	1.1	0.0	180.6
2	*β*-myrcene	995	13.0	86.3	3.7	6,636.4
3	*cis*-*β*-ocimene	1047	n.a.	40.1	1.7	n.a.
4	*trans*-*β*-ocimene	1056	n.a.	19.1	0.8	n.a.
5	linalool	1114	6.0	15.1	0.6	2,518.9
6	citronallal	1166	25.0	4.8	0.2	192.1
7	endo-borneol	1181	n.a.	5.6	0.2	n.a.
8	citronellol	1236	40.0	12.9	0.5	321.9
9	nerol	1241	300.0	1.1	0.0	3.6
10	neral	1250	30.0	373.0	15.8	12,433.9
11	*trans*-geraniol	1261	40.0	63.2	2.7	1,581.2
12	geranial	1276	32.0	1615.4	68.4	50,482.3
13	citronellyl acetate	1348	250.0	0.5	0.0	2.0
14	geranyl acetate	1370	9.0	15.8	0.7	1,752.2
	SESQUITERPENES and derivertives					
15	dodecanol	1415	n.a.	1.0	0.0	n.a.
16	*trans*-*β* -caryophyllene	1440	64.0	36.7	1.6	573.0
17	*trans*-α-bergamotene	1447	n.a.	5.7	0.2	n.a.
18	α-guaiene	1451	n.a.	5.9	0.2	n.a.
19	*trans*-*β*-farnesene	1455	n.a.	2.1	0.1	n.a.
20	*β*-selinene	1463	n.a.	7.8	0.3	n.a.
21	germacrene D	1513	n.a.	21.0	0.9	n.a.
22	α-selinene	1523	n.a.	6.2	0.3	n.a.
23	valencene	1528	n.a.	1.9	0.1	n.a.
24	*β*-bisabolene	1534	n.a.	5.3	0.2	n.a.
25	amorphene	1540	n.a.	1.8	0.1	n.a.
26	δ-cadinene	1545	n.a.	0.8	0.0	n.a.
27	*trans*-γ-bisabolene	1550	n.a.	2.4	0.1	n.a.
28	(-)-caryophyllene oxide	1611	n.a.	6.2	0.3	n.a.
	OTHERS					
29	6-methyl-5-hepten-2-one	990	50.0	1.5	0.1	29.3

[a] threshold in water from Flavor-Base'04 of Leffingwell (2004)

[b] relative concentration (μg/g); n.a.= not available

การศึกษาสภาวะการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดของสารระเหยที่ถูกยึดจับ

สารระเหยที่ถูกยึดจับสามารถทำให้กลายเป็นสารระเหยอิสระได้ด้วยการสลายพันธะที่ยึดจับสารระเหยเหล่านั้นไว้กับองค์ประกอบอื่นในพืช โดยการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด หรือการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อพันธะไปสลายที่พันธะนั้นโดยตรง การไฮโดรไลซ์ด้วยกรดเป็นการสลายพันธะแบบสุ่มซึ่งมีความจำเพาะต่อพันธะต่ำ และยังอาจทำให้เกิดสารชนิดใหม่ไปรบกวนผลการวิเคราะห์จากการจัดเรียงตัวใหม่ของสารประกอบหลังทำลายพันธะโดยมีกรดเป็นตัวเร่งเนื่องจากอัตราการย่อยของกรดขึ้นอยู่กับ pH, อุณหภูมิ และโครงสร้างของสารที่ทำพันธะอยู่กับน้ำตาล (Sarry and Günata, 2004)

การศึกษาว่าสารใดเป็นสารที่มีความสำคัญต่อกลิ่นของอาหารพิจารณาได้จากหลายปัจจัย ได้แก่ ลักษณะกลิ่น ปริมาณสาร และค่า odor threshold ที่เมื่อนำมาคำนวณเป็นค่า Odor Activity Value (OAV) แล้วได้ค่ามากกว่า 1 อาจสามารถคาดคะเนได้ว่าสารนั้นสามารถให้กลิ่นได้ (Grosch, 1993) จากการวิเคราะห์สารระเหยอิสระ พบว่าสารระเหยที่มากที่สุดคือ geranial และ neral ซึ่งให้กลิ่นคล้ายเลมอน (lemon-like) สารที่มีปริมาณรองลงมา คือ β-myrcene และ *trans*-geraniol นอกจากนี้สารที่พบปริมาณน้อยแต่มีความสำคัญ ได้แก่ *trans*-caryophyllene, linalool, *cis*-β-ocimene, *trans*-β-ocimene และ citronellal เนื่องจากมีค่า OAV มากกว่า 1 และสอดคล้องกับที่ Ashurst (1999) และ Kasali *et al*. (2001) รายงานว่าสารกลุ่มนี้เป็นสารระเหยที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ จึงเลือกสารเหล่านี้มาพิจารณาในการเปรียบเทียบการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดต่อการสลายพันธะที่สารระเหยที่ถูกยึดจับอยู่

ในการทดลองนี้ได้ทำการสลายพันธะด้วยการใช้กรดร่วมกับความร้อน โดยใช้สารละลายฟอสเฟทบัฟเฟอร์ ความเป็นกรดที่ pH 2.5 และ 3.5 และเร่งการสลายพันธะโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 70 และ 90°C พบว่าเมื่อไฮโดรไลซ์ที่ pH 2.5 พบว่า geranial และ neral ซึ่งเป็นสารระเหยที่สำคัญที่สุดในตะไคร้ พบว่าเมื่อได้รับความร้อนสูง geranial และ neral มีปริมาณลดลง อาจเนื่องมาจาก pH ต่ำ และความร้อนสูงเป็นปัจจัยที่เร่งการเกิดปฏิกิริยา acid-catalysis ของ geranial และ neral กลายเป็น α-*p*-dimethylstyrene และ *p*-cymen-8-ol เกิดเป็นกลิ่นที่ผิดปกติ (off odor) ขึ้นมา (Peacock and Kuneman, 1985) แต่ที่อุณหภูมิ 50°C การลดลงของ geranial และ neral จะเกิดขึ้นน้อยกว่า สำหรับสารให้กลิ่นชนิดอื่นมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณแตกต่างกันไป สารที่มีปริมาณมากที่สุดเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C ได้แก่ *trans*-geraniol, *trans*-β-caryophyllene และ citronellal ส่วนสารที่มีปริมาณมากขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อน ได้แก่ *cis*-β-ocimene, *trans*-β-ocimene และ linalool ดังแสดงในตารางที่ 2 และพบว่า *trans*-geraniol ที่มีปริมาณลดลง สัมพันธ์กับปริมาณของ linalool ที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากเกิดปฏิกิริยา acid-catalysis ของ *trans*-geraniol ได้เป็น linalool จะเกิดได้ดีในสภาวะที่ความเป็นกรดสูง และ อุณหภูมิสูง (Ohta *et al*., 1991)

Table 2 Bound volatile compounds of fresh lemongrass extract obtained from acid hydrolysis at different temperatures and pH values.

No	compound	RI	relative concentration[a] (ppm)					
			pH 2.5			pH 3.5		
			50°C	70°C	90°C	50°C	70°C	90°C
1	*β*-myrcene	995	n.d.	0.06 b	0.08 a	n.d.	n.d.	0.04 c
2	*cis*-*β*-ocimene	1047	0.24 c	3.90 b	6.54 a	0.36 b	0.10 b	0.05 b
3	*trans*-*β*-ocimene	1056	n.d.	0.20 b	0.38 a	n.d.	n.d.	n.d.
4	linolool	1114	1.97 c	17.31 b	19.62 a	1.09 c	1.77 c	1.59 c
5	citronellal	1158	0.87 a	0.15 b	0.35 b	0.32 b	n.d.	0.10 b
6	neral	1250	20.93 b	5.83 c	0.39 c	24.92 ab	27.61 a	24.21 ab
7	geranial	1276	41.15 b	10.42 c	0.74 c	52.87 a	59.13 a	57.00 a
8	*trans*-geraniol	1261	3.37 b	0.52 d	0.15 d	4.02 b	2.13 c	6.23 a
9	*trans*-*β*-caryophyllene	1440	0.05 a	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

[a] In each case, according to the result of DMRT test, values that do not share a common superscript are significantly different ($p \leq 0.05$); n.d. = not detected

สำหรับที่ pH 3.5 การเร่งด้วยความร้อนไม่มีผลต่อปริมาณของ geranial, neral, cis-*β*-ocimene, linolool และ citronellal อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่มีผลต่อปริมาณของ *trans*-geraniol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่ามีปริมาณของ *trans*-geraniol มากที่สุดที่อุณหภูมิ 90°C สารระเหยที่พบมากที่สุดในการไฮโดรไลซ์ที่ pH 3.5 คือ geranial และ neral ที่พบมากที่สุดเช่นเดียวกับที่พบในสารระเหยอิสระแต่สารระเหยที่ถูกยึดจับพบปริมาณน้อยกว่า แต่ในลิ้นจี่พบ geranial และ neral ในรูปสารระเหยที่ถูกยึดจับในปริมาณมากกว่าในรูปอิสระ (Chyau *et al*., 2003)

สรุป

การศึกษาสารระเหยอิสระ และสารระเหยที่ถูกยึดจับในตะไคร้สด (*Cymbopogon citratus*) โดยใช้การสกัดด้วยตัวทำละลายเพนเทน ไดคลอโรมีเทนสำหรับสารระเหยอิสระ และเมทานอลสำหรับสกัดสารระเหยที่ถูกยึดจับ พบว่าสารระเหยอิสระที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองนี้เป็นกลุ่มเดียวกับที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ส่วนสารระเหยที่ถูกยึดจับที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด ร่วมกับการใช้ความร้อน พบว่าที่ pH 2.5 ความร้อนสูงเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ geranial และ neral แต่ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ pH 3.5 และถึงแม้ว่าที่ pH 3.5 อุณหภูมิ 90°C จะพบ *trans*-geraniol มากที่สุด แต่ความร้อนที่สูงขึ้นอาจจะเร่งการเกิดปฏิกิริยาของสารตัวอื่นได้ เช่น ปฏิกิริยาการ cyclization ของ geranial และ neral ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการไฮโดรไลซ์สารระเหยที่ถูกยึด

จับในตะไคร้ในการทดลองนี้จึงได้แก่ ที่ pH 3.5 อุณหภูมิ 50°C

คำนิยม

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.)

เอกสารอ้างอิง

Ananthakumar, A., P.S. Variyar and S. Arun. 2006. Estimation of aroma glycosides of nutmeg and their changes during radiation processing. **Chromatography A.** 1108: 252-257.

Ashurst, P.R. 1999. Essential oils, pp. 23-24. In John Wright, eds. **Food flavorings**. 3rd ed. Aspen Publishers, Inc., Maryland.

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. Chromatrography 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.

Grosch, W. 1993. Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. **Trends Food Sci. Technol.** 4(3): 68-73.

Kasali, A.A., A.O. Oyedeji and A.O. Ashilokun. 2001. Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citrates* (DC) Stapt. **Flavour Fragr. J.** 16: 377-378.

Leffingwell, J.C. 2004. Flavor-Base'04. **Flavor-Base Database**, Version Date July 01, 2004.

Milos, M., 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.

Ohta, T., Y.Morimitsu, Y.Sameshima, T.Samuta and T. Ohbo. 1991. Transformation from geraniol, neral and their glucosides into linalool and terpineol suring *Shochu* distillation. **J. Fermentation and Bioengineering.** 72(5): 347-351.

Peacock, V.E. and D.W. Kuneman 1985. Inhibition of the formation of alpha-*p*-Dimethylstyrene and *p*-Cymen-8-ol in a carbonated citral-containing beverage system. **J. Agric. Food Chem.** 33: 330-335.

Sarry, J.E. and Z. Günata. 2004. Plant and microbial glycoside hydrolases: Volatile release from glycosidic aroma precursors. **Food Chem.** 87: 509-521.

Shaneberg , B.T. and I.A. Khan. 2002. Comparison of extraction methods for marker compounds in the essential oil of lemon grass by GC. **J. Agric. Food Chem.** 50:1345-1349.

Wu, P., M.C. Kuo and C.T. Ho. l990. Glycosidically bound aroma compounds in ginger (*Zingiber offcinale Roscoe*). **J. Agric. Food Chem.** 38: 1553-1555.