การวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยได้ในตัวอย่างข้าวด้วยเทคนิค GC-IMS

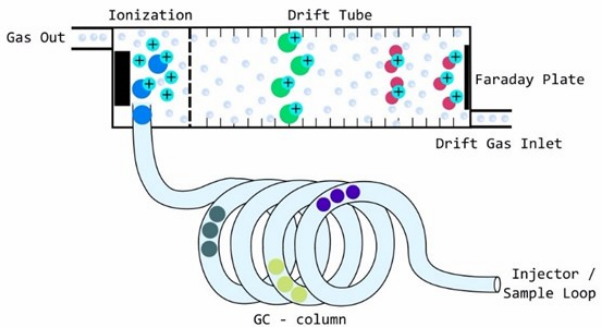
ผู้เรียบเรียง : รติมาศ บุญล้อม

บทนำ

ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันทั้งรูปร่าง ลักษณะตลอดจนรสสัมผัส ซึ่งวิธีการคัดแยกสายพันธุ์ของข้าวด้วยลักษณะดังกล่าว จำเป็นต้องเป็นผู้เชี่ยวชาญที่ได้รับการฝึกฝนเพื่อให้สามารถแยกสายพันธุ์ได้อย่างชัดเจน แต่สิ่งหนึ่งที่ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะเฉพาะคือ "กลิ่น" ซึ่งเป็นกลุ่มสารอินทรีย์ระเหยได้ (Volatile Organics Compounds; VOCs) ที่มีอยู่ในข้าวแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นจึงสามารถใช้การวิเคราะห์สาร VOCs มาช่วยในการคัดแยกสายพันธุ์ของข้าวได้

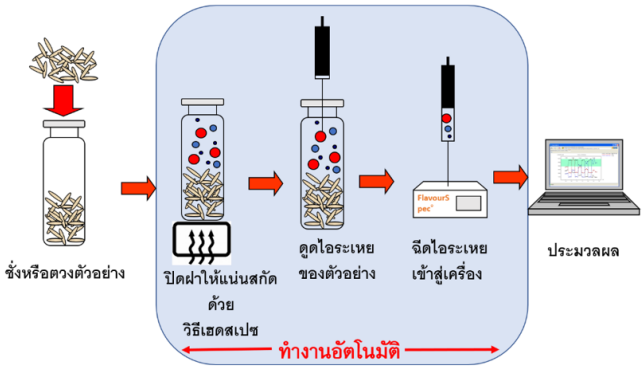
สำหรับวิธีการวิเคราะห์สาร VOCs ที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันคือเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (GC) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมออกจากกันแล้วตรวจวัด เหมาะสำหรับวิเคราะห์สารที่มีคุณสมบัติระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย จึงสามารถวิเคราะห์สาร VOCs ในข้าวได้เป็นอย่างดี แต่บางครั้งหากในตัวอย่างมีสารผสมหลากหลายชนิด อาจจะทำให้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC จำเป็นจะต้องใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์นานขึ้น เพื่อให้สามารถแยกสารผสมได้ก่อนทำการตรวจวัด จึงได้มีการพัฒนาให้เกิดการแยกแบบสองมิติ (2D) โดยการแยกสารผสมครั้งที่สองเกิดขึ้นที่ตัวตรวจวัดที่เรียกว่า Ion Mobility Spectrometry (IMS) โดยทำหน้าที่แยกไอออนของสารตัวอย่างก่อนตรวจวัด ทำให้เทคนิค GC-IMS สามารถวิเคราะห์สาร VOCs ได้ในระยะเวลาที่สั้นกว่าเมื่อเทียบกับเทคนิค GC เพียงอย่างเดียว

GC-IMS มีขั้นตอนการทำงานโดยเริ่มจากนำตัวอย่างที่อยู่ในรูปสารระเหยเข้าสู่ระบบที่ส่วนฉีดสาร จากนั้นสารตัวอย่างจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ เพื่อทำการแยกสารผสมออกจากกันและเข้าสู่ IMS เพื่อแยกไอออนของสารผสม (ที่อาจจะไม่แยกที่คอลัมน์) ทำให้เกิดการแยกสารแบบสองมิติ ช่วยให้การวิเคราะห์สารผสมทำได้ง่ายมากยิ่งขึ้น



รูปที่ 1 แสดงการทำงานของเครื่อง GC-IMS

เฮดสเปซ (Headspace) เป็นเทคนิคนิยมใช้สำหรับการสกัดสาร VOCs โดยขั้นตอนการทำงานเริ่มการให้ความร้อนกับตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในขวดที่ปิดสนิท เพื่อให้สาร VOCs ระเหยจากนั้นจึงนำไอระเหยของสารที่สนใจเข้าสู่เครื่อง GC-IMS เพื่อแยกและวิเคราะห์ถัดไป วิธีการนี้ช่วยลดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้สามารถทำได้รวดเร็ว ไม่ยุ่งยากลดการใช้สารละลายในการสกัดรวมไปถึงลดสารละลายของเสียอีกด้วย



รูปที่2 แสดงการขั้นตอนวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-GC-IMS

เครื่องมือและวิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างข้าวหอมมะลิ 5 กรัมลงในขวดตัวอย่างขนาด 20 มล. ปิดฝาให้แน่นแล้วนำไปวางบนเครื่องเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติ

2. การตั้งค่าเครื่องมือ

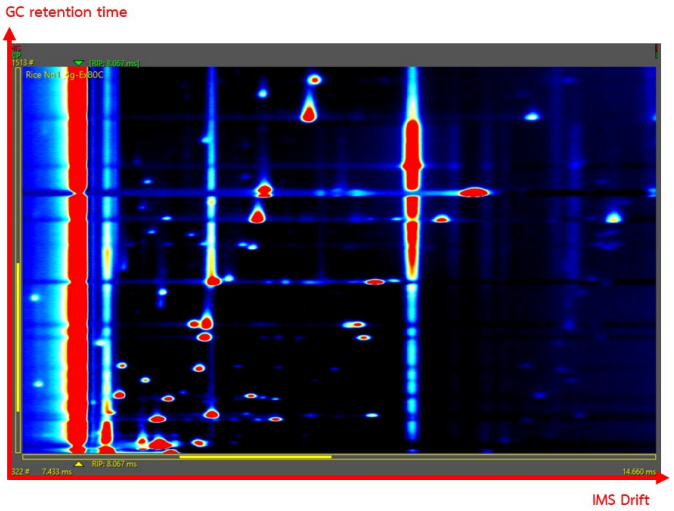
2.1 เครื่องฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติ

Incubation Temp (°C)	80
Incubation Time (min)	5
Syringe Temp (°C)	100
Injection volume (µl)	300

2.2 เครื่อง GC-IMS

Injector Temp (°C)	80
Column Flow (ml/min)	2
Oven Temp (°C)	40
IMS Temp (°C)	45
Drift Gas Flow (ml/min)	150

ผลการวิเคราะห์



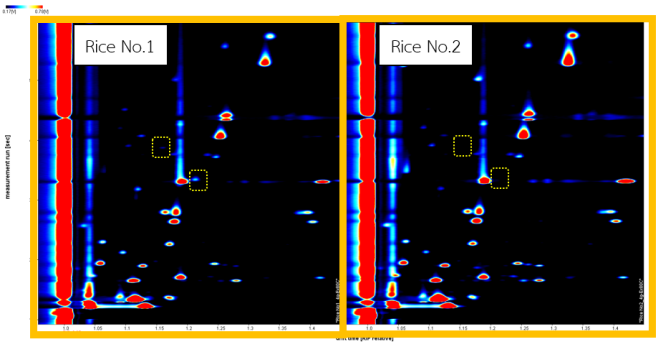
รูปแสดง Topographic plots (GC-IMS-Chromatogram)

จุดสีในโครมาโตแกรม เรียกว่า Contour Plot แต่ละจุดแสดงถึงสารที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่าง และระดับความเข้มของสีจะแสดงถึงความสูงของพีกที่มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้น หรือปริมาณสารแต่ละชนิด โดย สีเข้มหมายถึงความเข้มข้นสูง สีอ่อนหมายถึงความเข้มข้นต่ำ

2. Parallel Plotting: Reporter

เป็นการเปรียบเทียบโครมาโตแกรมของตัวอย่างเพื่อหาความเหมือนหรือแตกต่างกันในตัวอย่างแต่ละกลุ่ม

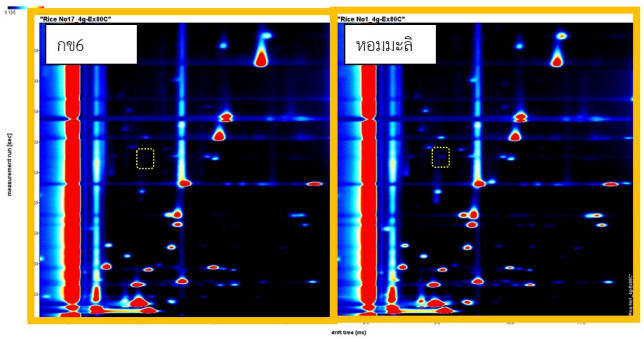
2.1 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของตัวอย่างข้าวหอมมะลิ ปีเก่ากับปีใหม่ (ทุกตัวอย่าง) เพื่อหาความแตกต่างของสารที่ตรวจวัดได้



รูปแสดงการเปรียบเทียบ Rice No.1 และ Rice No.2

จากการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างข้าวหอมมะลิใหม่ (ระยะหลังเก็บเกี่ยวไม่เกิน 3 เดือน) กับข้าวหอมมะลิเก่า (ระยะหลังการเก็บเกี่ยวเกิน 12 เดือน) พบว่ามีสารบางชนิดที่มีความเข้มสูงขึ้นเมื่อผ่านระยะเวลาการเก็บรักษา ทำให้สามารถนำสารดังกล่าวมาเป็นสารบ่งชี้ (Marker compounds) ชนิดของข้าวใหม่และข้าวเก่าได้

2.2 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของตัวอย่างข้าวหอมมะลิ กับข้าวกข6 เพื่อหาความแตกต่างของสารที่ตรวจวัดได้

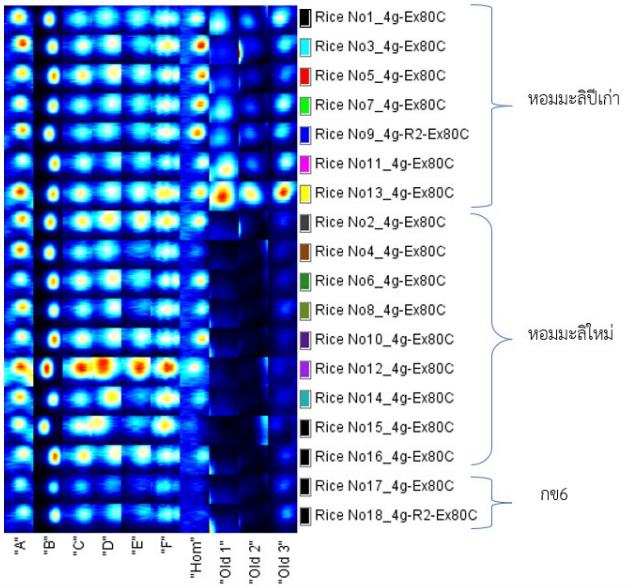


รูปแสดงการเปรียบเทียบตัวอย่างข้าวกข6 และ ข้าวหอมมะลิ

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างตัวอย่างข้าวหอมมะลิและข้าวกข6 ซึ่งเป็นคนละสายพันธ์ พบว่ามีสารบางชนิดที่มีความแตกต่างกัน ซึ่งเป็นสารที่พบในข้าวหอมมะลิมากกว่าข้าวกข 6 จึงสามารถนำสารดังกล่าวมาเป็นสารบ่งชี้สายพันธุ์ของข้าวได้

3. Gallery Plot

เลือกจุด Contour Plot ที่สามารถนำมาแยกชนิดของตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบความเข้มที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่าง

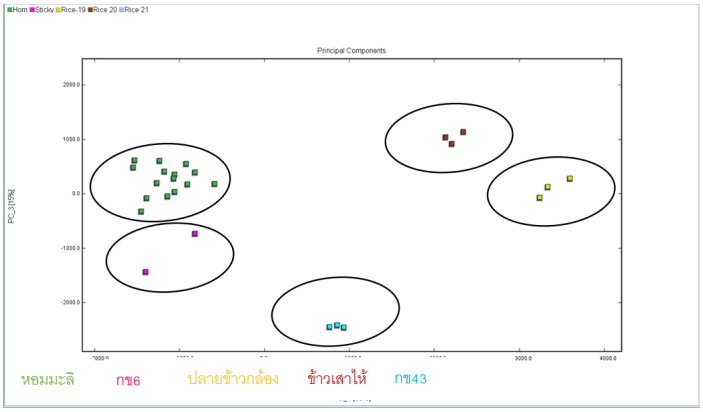


จากการเปรียบเทียบจุด Contour Plot พบว่าสามารถแยกตัวอย่างที่เป็นข้าวใหม่และข้าวเก่า ออกจากกันได้ด้วยการใช้จุด Old1 Old2 และ Old3 (แกน x) โดยดูจากรูปจะเห็นได้ว่าตัวอย่าง 1,3,5,7,9,11 และ 13 ซึ่งเป็นตัวอย่างข้าวหอมมะลิปีเก่า (ปี 2564/2565) โดยมีแสดงสีที่ตำแหน่งของจุด Old1 Old2 และ Old3 อย่างชัดเจน ส่วนตัวอย่าง 2,4,6,8,10,12,14,15-18 ซึ่งเป็นตัวอย่างข้าวหอมมะลิใหม่ จะไม่ปรากฏสี หรือมีเพียงเล็กน้อยที่ตำแหน่งดังกล่าว

และการใช้จุด Contour Plot เพื่อแยกข้าวหอมมะลิและข้าวกข6 ออกจากกันสามารถใช้จุด Hom ในการแยกได้โดยในตัวอย่าง 17 และ 18 ซึ่งเป็นข้าวกข6 ไม่แสดงสีในจุดดังกล่าว

4. Principal Component Analysis (PCA)

การนำส่งข้อมูลเพื่อประมวลผลต่อในรูปแบบของ PCA เพื่อหาความสัมพันธ์ของข้อมูลในการแบ่งกลุ่มตัวอย่างสามารถทำได้ง่ายในโปรแกรมเดียวกัน การวิเคราะห์ซ้ำของตัวอย่างแต่ละชุดให้ผลการวิเคราะห์ใกล้เคียงกันดังแสดงในรูป



จากการวิเคราะห์ตัวอย่างข้าวโดยการใช้ FlavourSpec™ ซึ่งใช้เทคนิค GC-IMS เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่างให้ผลดี โดยเมื่อมีกลุ่มตัวอย่างมากขึ้นจะส่งผลทำให้ให้การวิเคราะห์เพื่อแยกชนิดหรือกลุ่มตัวอย่างได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น อีกทั้งการวิธีการนี้ยังมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ยุ่งยากและใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นเพียง 15 นาทีเท่านั้น

นอกจากการวิเคราะห์ตัวอย่างข้าวแล้ว FlavourSpec™ ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์กลิ่นในอาหารและเครื่องดื่มได้อีกด้วย

ติดตามแอพพลิเคชั่นอื่น ๆ ได้ที่ https://www.scispec.co.th

บริษัท ซายน์ สเปค จำกัด
10 ซอยกาญจนาภิเษก ซอย 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02 454 8533
scispec @scispec

ISSUED: 23070701