โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การเปรียบเทียบสารระเหยให้กลิ่นของฝักวานิลลาที่ปลูกและผลิตในประเทศไทยกับผลิตภัณฑ์ที่วางขายเชิงพาณิชย์ในตลาดโลก

ชื่อนิสิต นางสาว กัญญาพัชร์ ธนาพัชรพงศ์
นางสาว วรรษมน พรรณรัตนพงศ์

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเปรียบเทียบสารระเหยให้กลิ่นของฝักวานิลลาที่ปลูกและผลิตในประเทศไทย กับผลิตภัณฑ์ที่วางขายเชิงพาณิชย์ในตลาดโลก

โดย

นางสาว กัญญาพัชร์ ธนาพัชรพงศ์
นางสาว วรรษมน พรรณรัตนพงศ์

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พนิตา งามเชื้อชิต

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ประจำปีการศึกษา 2562

COMPARISON OFAROMA VOLATILE COMPOUNDS IN VANILLA POD FROM THAI GROWN AND PRODUCED TO THE WORLD COMMERCIAL PRODUCTS

Kanyaphat Tanapatcharapong
Watsamon Panrattanapong

Project Advisor

Assistant Professor Dr. Panita Ngamchuachit

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree of Bachelor of Science
Program in Food Technology, Department of Food Technology
Faculty of Science, Chulalongkorn University
Academic Year 2019

หัวข้องานวิจัย	การเปรียบเทียบสารระเหยให้กลิ่นของฝักวานิลลาที่ปลูกและผลิตในประเทศไทย กับผลิตภัณฑ์ที่วางขายเชิงพาณิชย์ในตลาดโลก
โดย	นางสาว กัญญาพัชร์ ธนาพัชรพงศ์
	นางสาว วรรษมน พรรณรัตนพงศ์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พนิตา งามเชื้อชิต
ปีการศึกษา	2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ประจำปีการศึกษา 2562

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ขนิษฐา ธนานุวงศ์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พนิตา งามเชื้อชิต)
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย การเปรียบเทียบสารระเหยให้กลิ่นของฝักวานิลลาที่ปลูกและผลิตในประเทศไทย กับผลิตภัณฑ์ที่วางขายเชิงพาณิชย์ในตลาดโลก

โดย นางสาว กัญญาพัชร์ ธนาพัชรพงศ์

นางสาว วรรษมน พรรณรัตนพงศ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พนิตา งามเชื้อชิต

ปีการศึกษา 2562

บทคัดย่อ

วานิลลาเป็นพืชเศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมอย่างมากในตลาดโลก ปัจจุบันอุตสาหกรรมต่าง ๆ ในประเทศไทยมีความต้องการใช้วานิลลามากขึ้น จึงได้มีการส่งเสริมการเพาะปลูกและผลิตภายในประเทศ การผลิตวานิลลาต้องผ่านกระบวนการบ่มหลายขั้นตอน ได้แก่ 1) การทำให้เหี่ยว (killing) 2) การทำให้เกิดเหงื่อ (sweating) 3) การทำแห้ง (drying) 4) การปรับสภาพ (conditioning) ฝักวานิลลาเมื่อผ่านการบ่มแล้วจะผลิตสารระเหยให้กลิ่นหลายชนิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพและลักษณะเฉพาะของสารระเหยให้กลิ่นที่ผลิตขึ้นระหว่างกระบวนการบ่มฝักวานิลลาด้วยวิธีการบ่มแบบเบอร์เบิน (Bourbon) ของวานิลลา 2 พันธุ์ ได้แก่ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis* และศึกษาเปรียบเทียบชนิดและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นและลักษณะเฉพาะด้านกลิ่นของฝักวานิลลาพันธุ์ที่ปลูกและบ่มในประเทศไทยเทียบกับที่วางขายเชิงพาณิชย์โลกด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี- โอแฟคโทเมทรี/แมสสเปกโทรเมทรี (GC-O/MS) จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางการภาพระหว่างกระบวนการบ่ม 4 ขั้นตอน พบว่าฝักวานิลลาจะเปลี่ยนจากฝักสีเขียวสดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ และเริ่มมีการพัฒนากลิ่นขึ้นภายหลังกระบวนการทำแห้ง วานิลลา *Vanilla tahitensis* จะเกิดผลึกสีขาวของวานิลลินมากกว่า *Vanilla planifolia* โดย *Vanilla planifolia* จะมีความเข้มของกลิ่นโดยรวมสูงกว่า *Vanilla tahitensis* อย่างไรก็ตามจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาพบว่าวานิลลา *Vanilla tahitensis* ที่บ่มเองให้กลิ่นเฉพาะตัวที่ดี ได้แก่ กลิ่นมาร์ชแมลโลว์, กลิ่นช็อคโกแลตสังเคราะห์ และ กลิ่นช็อคโกแลตนม สูงกว่าตัวอย่างวานิลลา *Vanilla planifolia* ที่บ่มเองและที่วางขายเชิงพาณิชย์อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การศึกษาชนิดและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่นสำคัญของวานิลลาในขั้นต่อไปจะทำให้สามารถทราบถึงขั้นตอนการบ่มที่สำคัญต่อการผลิตกลิ่นของวานิลลาและสามารถระบุสารระเหยให้กลิ่นสำคัญที่สอดคล้องกับลักษณะกลิ่นเฉพาะตัวของ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis* ที่ปลูกและผลิตในประเทศไทยต่อไป

Project Title Comparison of aroma volatile compounds in vanilla pod from Thai grown and produced to the world commercial products

Student Kanyaphat Tanapatcharapong

Watsamon Panrattanapong

Study Program Bachelor of Science in Food Technology

Advisor Assistant Professor Dr. Panita Ngamchuachit

Academic Year 2019

Abstract

Vanilla is a commercial crop which has high demand in the global market. Nowadays, many industries commonly use vanilla in production process. Then it has been promoted more cultivation in Thailand. Production of vanilla consists of 4 main curing steps including, 1) killing, 2) sweating, 3) drying, and 4) conditioning. Cured vanilla pods could produce various odor-active compounds. The objectives of this study are to characterize the aroma volatile compounds produces during curing vanilla beans of 2 species, *Vanilla planifolia* and *Vanilla tahitensis*, by Bourbon method and to compare the aroma volatile compounds between cured vanilla pods that cultivated and cured in Thailand and from worldwide market by Gas Chromatography – Olfactometer/Mass Spectrometry (GC-O/MS). From the physical change during curing method, vanilla pods turn from bright green into dark brown pods. The development of odor initiates after the drying process. *Vanilla tahitensis* forms white crystals of vanillin more than *Vanilla planifolia,* However, *Vanilla planifolia* has a higher odor concentration than *Vanilla tahitensis.* Descriptive analysis showed that *Vanilla tahitensis* has a unique positive characteristic, with the smell of marshmallow, synthetic chocolate and milk chocolate, significantly higher than *Vanilla planifolia* which was cured by Bourbon method and was sold in commercial market *(P <0.05)*. For the analysis of odor-active compounds and its quantity in the next part will reveal the crucial steps and will characterize the odor-active compounds of the unique aroma in *Vanilla planifolia* and *Vanilla tahitensis* cultivated and cured in Thailand.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาลักษณะเฉพาะของสารระเหยให้กลิ่นที่ผลิตขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตฝักวานิลลานี้เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนในระดับปริญญาตรี ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากงบประมาณของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2562 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พนิตา งามเชื้อชิต เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

คณะวิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พนิตา งามเชื้อชิต ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัยอย่างสูง ตลอดจนตรวจแก้ไขโครงการนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณเหล่าคณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และความช่วยเหลือต่าง ๆ ในการดำเนินงานโครงการนี้

ขอกราบขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีวเคมี ที่ได้อำนวยความสะดวกเป็นอย่างดีในการใช้ห้องปฏิบัติการ และให้คำชี้แนะในการใช้เครื่องมือปฏิบัติการตลอดการดำเนินโครงการ

ขอกราบขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยและพัฒนา เครือเบทาโกร ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ความร่วมมือในการทำวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณรุ่นพี่ เพื่อน และรุ่นน้อง นิสิตปริญญาตรี นิสิตปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้กำลังใจ ให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการทำวิจัย

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวของคณะผู้วิจัยทั้งสองครอบครัวที่ได้สนับสนุนในทุก ๆ ด้าน จนโครงการนี้สามารถลุล่วงไปได้ด้วยดี ตลอดจนส่งเสริมคณะผู้วิจัยด้านโอกาสการศึกษาแก่คณะผู้วิจัยตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

วรรษมน พรรณรัตนพงศ์

กัญญาพัชร์ ธนาพัชรพงศ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตแนวคิดของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	
2.1 วานิลลา	3
2.2 *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis*	4
2.3 กระบวนการบ่ม	5
2.3.1 วิธีบ่มเม็กซิกัน (Mexican method)	6
2.3.2 วิธีการบ่มแบบตาฮิเตียน (Tahitian method)	6
2.3.3 วิธีการบ่มเบอร์เบิน (Bourbon)	6
2.3.3.1 กระบวนการทำให้เหี่ยว (Killing)	6
2.3.3.2 กระบวนการทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating)	7
2.3.3.3 กระบวนการทำแห้ง (Drying)	8
2.3.3.4 กระบวนการปรับสภาพ (Conditioning)	8
2.4 สารระเหยให้กลิ่น	9
2.5 วานิลลา (Vanillin)	10
2.6 การวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นด้วย GC-O/MS	11
2.6.1 การสกัดสารระเหย (Extraction)	11

2.6.2 Gas Chromatograph (GC) 11
2.6.2.1 ส่วนฉีดสาร (injector) 12
2.6.2.2 ตู้อบคอลัมน์ (Column oven) 12
2.6.2.3 ส่วนตรวจวัด (Detector) 12
2.6.3 Mass Spectrometer (MS) 13
2.6.3.1 ส่วนที่ทำให้สารเกิดเป็นไอออน (Ionization source) 13
2.6.3.2 ส่วนที่ทำการคัดแยกมวลต่อประจุ (Mass analyzer) 13
2.6.3.3 ส่วนที่ทำการตรวจวัดสัญญาณ (Detector) 13
2.6.4 Olfactometer 13
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 14
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย 15
3.2.1 การเตรียมตัวอย่างฝักวานิลลาสด 15
3.2.2 การวัดสี 15
3.2.3 การวัดความชื้น 16
3.2.4 กระบวนการบ่มฝักวานิลาด้วยวิธี Bourbon 16
3.2.4.1 การทำให้เหี่ยว (Killing) 16
3.2.4.2 การทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating) 16
3.2.4.3 การทำแห้ง (Drying) 17
3.2.4.4 การปรับสภาพ (Conditioning) 17
3.2.5 การวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่น 18
3.2.5.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่น 18
3.2.5.2 การวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่น 18
3.2.5.3 การระบุชนิดและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่น 20
3.2.5.4 ค่า odor activity values 21
3.2.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา (Descriptive analysis) 21
3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 21

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล
4.1 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางการภาพของฝักนิลลาระหว่างการบ่ม 22
4.2 ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของฝัก *Vanilla Tahitensis* และ *Vanilla Planifolia* ที่ผ่านกระบวนการบ่ม 25
4.3 สารระเหยให้กลิ่นในฝักวานิลลา 26
บทที่ 5 สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ
5.1 สรุปผลการวิจัย 27
5.2 ข้อเสนอแนะ 27
เอกสารอ้างอิง 28

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก 31

ภาคผนวก ข 32

ประวัติผู้วิจัย 61

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 สารประกอบให้กลิ่นสำคัญในฝักวานิลลาที่ผ่านกระบวนการบ่ม 10

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla tahitensis* ระหว่างกระบวนการบ่ม 23

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* ระหว่างกระบวนการบ่ม 24

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและตัวอย่างอ้างอิงของฝักวานิลลา 25

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 2.1	ลักษณะดอก ใบ และฝักวานิลลา (A) และ เม็ดวานิลลิน (B)	3
ภาพที่ 2.2	ใบ ดอก และฝัก ของ *Vanilla planifolia* (A) และ *Vanilla tahitensis* (B)	5
ภาพที่ 2.3	การทำให้เหี่ยว (Killing) แบบลวกด้วยน้ำร้อน	7
ภาพที่ 2.4	การทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating)	7
ภาพที่ 2.5	การทำแห้ง (Drying)	8
ภาพที่ 2.6	การปรับสภาพ (Conditioning)	9
ภาพที่ 2.7	โครงสร้างของวานิลลิน	11
ภาพที่ 2.8	Gas Chromatography-Olfactometry/Mass Spectrometer (GC-O/MS)	12
ภาพที่ 3.1	การล้างทำความสะอาดฝักวานิลลาสด	15
ภาพที่ 3.2	การวัดสีฝักวานิลลา	15
ภาพที่ 3.3	การเตรียมตัวอย่างเพื่อวัดความชื้น	16
ภาพที่ 3.4	การทำให้เหี่ยว (Killing)	16
ภาพที่ 3.5	การทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating)	17
ภาพที่ 3.6	การทำให้แห้ง (Drying)	17
ภาพที่ 3.7	การปรับสภาพ (Conditioning)	18
ภาพที่ 3.8	การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่น	18
ภาพที่ 3.9	การสกัดแบบไม่ใช้ตัวทำละลายด้วย DHS, การดูดซับ, และปลดปล่อยสารระเหย	19
ภาพที่ 4.1	ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นจากฝักวานิลลา	26

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

วานิลลาเป็นกล้วยไม้ชนิดหนึ่งในสกุล Orchidaceae ซึ่งเมื่อนำฝักวานิลลาสดมาผ่านกระบวนการบ่มจะมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว แม้จะพบกล้วยไม้วานิลลากว่า 110 สปีชีส์แต่มีเพียง 3 สปีชีส์เท่านั้นที่ได้รับความนิยมในการนำมาบ่ม ได้แก่ Vanil*la planifolia*, *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla pompana* โดยฝักวานิลลาแห้งถูกนำมาแต่งกลิ่นในอาหาร เครื่องดื่มเครื่องสำอาง ยาสูบ และผลิตภัณฑ์อื่นๆอย่างแพร่หลาย วานิลลามีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกากลางเป็นพืชพื้นเมืองของประเทศเม็กซิโก ซึ่งต่อมาได้มีการนำไปปลูกจนกลายเป็นพืชเศรษฐกิจของหลายประเทศ และเป็นพืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูงเป็นอันดับสองของตลาดโลก ปัจจุบันมีแหล่งผลิตวานิลลาที่สำคัญ ได้แก่ ประเทศมาดากัสการ์ อินโดนีเซีย เม็กซิโก และฮาวาย อย่างไรก็ตามผลผลิตที่ได้ยังไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาด ปัจจุบันมีหน่วยงานในประเทศไทย อาทิ มูลนิธิโครงการหลวง ได้ทำการศึกษาวิจัยและปลูกทดสอบตามสถานีวิจัยต่างๆ เพื่อจะพัฒนาและส่งเสริมการปลูกให้เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศ

กลิ่นเฉพาะตัวของฝักวานิลลานั้นประกอบขึ้นจากสารให้กลิ่นสำคัญหลายชนิด ได้แก่ Guaiacol, 4-Methylguaiacol, 4-Vinylphenol, Vanillin, Acetovanillone, Vanillyl alcohol, p-Hydroxybenzaldehyde, p-Hydroxybenzyl alcohol ฯลฯ (Pérez-Silva, A., Brat, P., Odoux, E., & Ribeyre, F., 2006) โดยสารสำคัญที่มีปริมาณมากที่สุดคือวานิลลิน (vanillin หรือ 4-hydroxy-3-methoxy benzaldahyde) ซึ่งในฝักวานิลลาสดจะพบปริมาณของวานิลลินต่ำ และจะมีปริมาณวานิลลินสูงขึ้นในระหว่างกระบวนการบ่ม การบ่มฝักวานิลลาทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพ, ชีวเคมี และเคมี เพื่อให้ได้คุณสมบัติของฝักวานิลลาตามที่ต้องการ (Ranadive, 1994) เทคนิคการบ่มวานิลลามีหลายวิธี เป็นวิธีเฉพาะตามแหล่งเพาะปลูก เช่น Mexican process, Bourbon process, Peruvian process และ Guyana process เป็นต้น โดยวิธี Bourbon เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด ขั้นตอนการบ่มฝักวานิลลาจะแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่ การทำให้เหี่ยว (Killing), การทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating), การทำให้แห้ง (Drying) และ การปรับสภาพ (Conditioning)

เนื่องด้วยปัจจุบันในประเทศไทยมีการส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis* มากขึ้นแต่ยังไม่มีงานวิจัยเกี่ยวกับลักษณะเฉพาะของฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis*ที่ปลูกและบ่มในประเทศไทยเทียบกับฝักวานิลลาที่วางขายเชิงพาณิชย์ในตลาดโลก และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นที่สำคัญตลอดการบ่มฝักวานิลลา

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะเฉพาะของสารระเหยให้กลิ่นที่ผลิตขึ้นระหว่างกระบวนการบ่มฝักวานิลลา
2. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบชนิดของสารระเหยให้กลิ่นที่มีอยู่ในฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis* ที่ปลูกและบ่มในประเทศไทย และที่วางขายเชิงพาณิชย์ในตลาดโลก

1.3 ขอบเขตแนวคิดของการวิจัย

1. บ่มฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis* ที่ปลูกในประเทศไทยด้วยวิธี Bourbon
2. ศึกษาลักษณะเฉพาะของสารให้กลิ่นที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการบ่มฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis* ที่ปลูกและบ่มในประเทศไทยจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี- โอแฟคโทเมทรี/แมสสเปกโทรเมทรี (GC-O/MS)

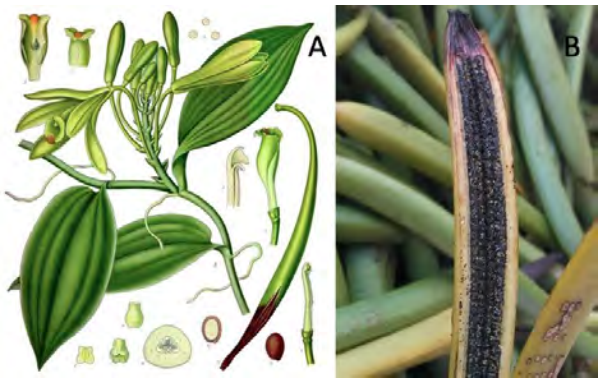
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. สามารถพัฒนาวิธีการบ่มฝักวานิลลาได้
2. สามารถพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารระเหยในฝักวานิลลาได้
3. สามารถเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นของฝักวานิลลาที่ปลูกและผลิตในประเทศไทย กับฝักวานิลลาที่วางขายเชิงพาณิชย์ในตลาดโลกได้
4. สามารถนำข้อมูลองค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นของฝักวานิลลาที่ผลิตและในประเทศไทยไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ได้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 วานิลลา

วานิลลา เป็นพืชวงศ์กล้วยไม้ (ภาพที่ 2.1A) วานิลลาจะออกดอกเมื่ออายุครบ 3 ปี หลังการปลูก และจะให้ดอกเต็มที่เมื่ออายุครบ 7-8 ปี หลังการปลูก ดอกวานิลลาจะออกเป็นช่อหลังซองใบช่อละ 6-15 ดอก ดอกวานิลลาจะบานจากโคนถึงปลายช่อครั้งละ 1-3 ดอก ออกดอกปีละ 1 ครั้ง ในเดือนพฤศจิกายน และจะบานในเดือนกุมภาพันธ์ จะเกิดการผสมเกสรเมื่อดอกบานเต็มที่โดยปกติหลังจากผสมเกสร 7-9 เดือน จะสามารถเก็บฝักได้หรือถ้าหากอากาศอาจจะต้องระถึง 12 เดือน เนื่องจากวานิลลาเป็นพืชชอบอากาศร้อนชื้น (หนังสือวารสารเคหะเกษตร, 2562) ซึ่งฝักเมื่อโตเต็มที่มีลักษณะยาวแบน มีความยาวระหว่าง 12 ถึง 35 เซนติเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 5 ถึง 9 มิลลิเมตร ส่วนปลายฝักมีรูปทรงกรวยมีลักษณะเหี่ยวย่น ภายในฝักประกอบด้วยเม็ดของวานิลลินขนาดเล็กจำนวนมากถึง 100,000 เม็ดต่อฝัก ซึ่งแต่ละเม็ดมีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 0.25 ถึง 0.32 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2.1B) (Bagchi and Srivastava, 2003). แม้กล้วยไม้วานิลลาจะมีมากกว่า 110 สปีชีส์ (Pursegloveet al., 1981) แต่สปีชีส์หลักของวานิลลาที่นิยมมาบ่มเพื่อให้ได้วานิลลาที่ให้กลิ่นทางการค้าคือวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia*, *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla pompana* ซึ่งสามารถเพาะปลูกได้ในแถบประเทศเม็กซิโก, อเมริกาตอนกลาง และตอนเหนือของอเมริกาใต้ ปัจจุบันวานิลลามีแหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ที่ประเทศมาดากัสการ์ อินโดนีเซีย เม็กซิโก อินเดีย ปาปัวนิวกินี อูกันดา (Food Business News, 2016)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะดอก ใบ และฝักวานิลลา (A) และ เม็ดวานิลลิน (B)
(ที่มา : https://www.wikiwand.com/en/Vanilla_planifolia และ
https://in.reuters.com/article/mccormick-vanilla/spice-maker-mccormicks-quest-to-make-your-vanilla-milkshake-cheaper-idINKCN1T4192)

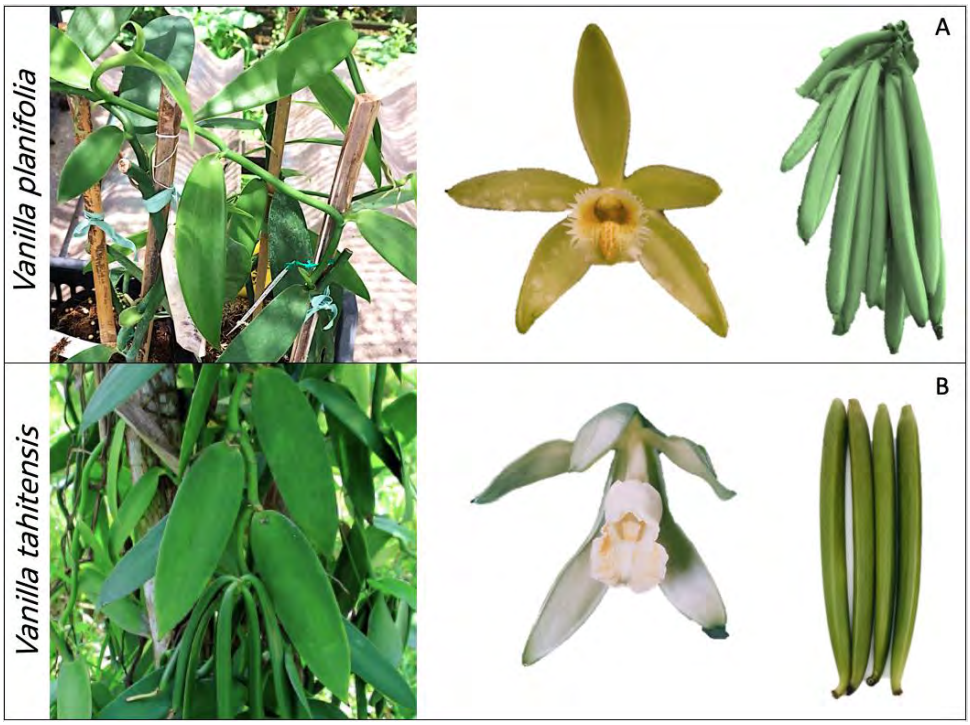
วานิลลา เป็นพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นสารให้กลิ่นทั้ง ในผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องปรุงรสต่าง เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และยา (Bory et al.,2008) ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม มีการนำกลิ่นใช้วานิลลามาใช้อย่างกว้างขวางมาอย่างยาวนาน เริ่มจากชาวเม็กซิโกนำวานิลลามาใช้เป็นสารแต่งกลิ่นในช็อคโกแลตหรือนำไปใช้ร่วมกับการปรุงอาหารเม็กซิกัน ต่อมาชาวยุโรปนำไปใช้ในการแต่งกลิ่นในขนมหวาน บิสกิต เค้ก เครื่องดื่ม ซอส ลูกกวาด และไอศกรีม รวมไปถึงเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น วิสกี้ (Machet, 1821, Renard, 2003)

ในทางการแพทย์และเภสัชกรรม สารสกัดจากวานิลลาถูกใช้ในรูปแบบของสารระเหยให้กลิ่นเพื่อช่วยบรรเทา เพิ่มความอยากอาหาร และลดอาการคลื่นไส้และอาเจียนในผู้ป่วยที่ได้รับเคมีบำบัด อีกทั้งยังสามารถใช้ในการวิเคราะห์ผู้ป่วยอัลไซเมอร์ และ ผู้ป่วยมะเร็งตับและปอด (Okigbo et al., 2009, Bulpitt, 2005). นอกจากนี้ยังมีการใช้กลิ่นวานิลลาเพื่อลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์จากตัวยา โดยเฉพาะในยาสำหรับเด็ก (Reilly, 2003)

ในอุตสาหกรรมเครื่องหอม สารสกัดวานิลลาเริ่มเป็นที่รู้จักในช่วงกลางของศตวรรษที่ 19 ในประเทศฝรั่งเศสซึ่งถูกผสมร่วมลงไปในผลิตภัณฑ์ประเภทสบู่ ครีมอาบน้ำ โคโลญจ์ และน้ำหอม ในช่วงปลายศตวรรษวานิลลินสังเคราะห์จาก guaiacol และ cellulose ได้ถูกสังเคราะห์เนื่องจากวานิลลินจากธรรมชาตินั้นมีราคาที่สูง ทำให้มีราคาถูกกว่าถึง 200 เท่า แต่อย่างไรก็ตาม แม้ว่าความต่างของราคาจะมีอยู่มาก แต่ในอุตสาหกรรมน้ำหอมของประเทศฝรั่งเศสยังเลือกใช้วานิลลินจากธรรมชาติ เนื่องจากมีกลิ่นที่นุ่มนวลและเป็นเอกลักษณ์ (Savart, 2003).

2.2 *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis*

Vanilla planifolia (ภาพที่ 2.2A) หรือเรียกว่าวานิลลาใบแบน มีแหล่งกำเนิดมาจากเม็กซิโก เป็นพันธุ์ที่สามารถเพาะปลูกได้ในหลากหลายประเทศตามเขตอบอุ่น โดยส่วนใหญ่มักปลูกในประเทศ มาดากัสการ์ ยูกันดา อินโดนีเซีย และ อินเดีย เป็นที่ทราบกันดีว่า *Vanilla planifolia* เป็นพันธุ์ที่ให้กลิ่นรสที่นุ่มนวล และให้กลิ่นรสที่เข้มข้น (Tahitian gold, 2019)



ภาพที่ 2.2 ใบ ดอก และฝัก ของ *Vanilla planifolia* (A) และ *Vanilla tahitensis* (B)

(ที่มา : ภาพจากคุณสมบัติ ด้วงวงศ์ศรี และ https://tahitiangoldco.com/vanilla-flavor-profiles/)

Vanilla tahitensis (ภาพที่ 2.2B) เป็นวานิลลาที่ปลูกมากในแถบ French Polynesia โดย *Vanilla tahitensis* เป็นชื่อที่ชาว Tahitian ท้องถิ่นใช้เรียกวานิลลาพันธุ์นี้ และยังพบในแถบประเทศอินโดนีเซีย หมู่เกาะฮาวาย และหมู่เกาะในแปซิฟิก วานิลลาพันธุ์นี้เมื่อนำไปขายจะมีราคาที่ไม่สูงมากนัก ฝักวานิลลาจะมีลักษณะโดดเด่นในด้านให้กลิ่นหอมมากกว่าให้กลิ่นรส จึงนิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องหอมและเครื่องสำอางมากกว่าใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร จุดสำคัญที่ทำให้แตกต่างจาก *Vanilla planifolia* คือ ฝักของวานิลลาจะเรียว ใบแคบ และมีเมล็ดเป็นสีน้ำตาลแดง และส่วนกลางฝักวานิลลามีช่องว่างที่กว้างจนถึงปลายฝัก

2.3 กระบวนการบ่ม

จุดประสงค์หลักของกระบวนการบ่มคือ การทำแห้งฝักวานิลลา และ การสร้างกลิ่นที่เฉพาะตัวของฝักวานิลลา ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลัก คือ การทำให้เหี่ยว (Killing) การทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating) การทำให้แห้ง (Drying) และ การปรับสภาพ (Conditioning) (Krishnakumar et al., 2007) กระบวนการบ่มวานิลลามีหลายวิธีตามแหล่งเพาะปลูก วิธีที่ได้รับความนิยม ได้แก่ วิธีบ่มแบบเม็กซิกัน (Mexican method) วิธีบ่มแบบตาฮิเตียน (Tahitian method) และ วิธีบ่มแบบเบอร์เบิน (Bourbon method)

2.3.1 วิธีบ่มแบบเม็กซิกัน (Mexican method)

การบ่มแบบเม็กซิกันมีด้วยกันหลายแบบ ไม่ว่าจะเป็นขั้นตอนการทำให้เหี่ยว (Killing) ด้วยการตาก (Sun-killing) หรือ การใช้ตู้อบ (Oven-killing) ขั้นตอนการทำให้เหี่ยว (Killing) นี้ทำให้กระบวนการบ่มแบบเม็กซิกันมีเอกลักษณ์แตกต่างจากกระบวนการอื่น จากนั้นฝักวานิลลาจะถูกห่อด้วยผ้าและเก็บลงในกล่องปิดสนิทเป็นเวลา 2 วัน และเก็บในกล่องปิดสนิทสลับกับตากแดด 2-4 ชั่วโมงต่อวันเป็นเวลา 60 วัน ในขั้นตอนสุดท้ายฝักวานิลลาจะถูกเก็บในกล่องเพื่อปรับสภาพเป็นเวลา 30 วัน (Pérez-Silva et al., 2011) แล้วจึงได้ฝักวานิลลาที่ผ่านการบ่มแบบเม็กซิกัน

2.3.2 วิธีการบ่มแบบตาฮิเตียน (Tahitian method)

กระบวนการบ่มนี้มีหนึ่งขั้นตอนที่แตกต่างจากวิธีการอื่น จะไม่มีขั้นตอนการทำให้เหี่ยว (Killing) แบบกระบวนการอื่น แต่กระบวนการนี้จะปล่อยฝักสดอยู่บนต้น จนกว่าตัวฝักวานิลลาจะสุกเป็นสีเหลือง และส่วนปลายฝักวานิลลาเป็นสีน้ำตาล จึงเก็บเกี่ยวเพื่อเข้าสู่กระบวนการบ่ม เก็บฝักวานิลลาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 2-3 วันเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลอย่างสมบูรณ์ ในขั้นตอนต่อไปคือกระบวนการทำให้แห้ง (Drying) ในช่วงเช้า นำมากองรวมกันแล้วคลุมด้วยผ้าทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating) ทำทั้ง 2 ขั้นตอนสลับกันเป็นเวลา 15-20 วัน ในขั้นตอนสุดท้ายคือการปรับสภาพโดยเก็บในกล่องปิดสนิทเป็นเวลา 60-90 วัน (Daphna Havkin-Frenkel and Faith C. Belanger, 2018) แล้วจึงได้ฝักวานิลลาที่ผ่านการบ่มแบบตาฮิเตียน

2.3.3 วิธีการบ่มแบบเบอร์เบิน (Bourbon method)

กระบวนการนี้นิยมใช้ในแถบคาบสมุทรอินเดีย หรือบางครั้งอาจถูกเรียกว่ากระบวนการ scalding เนื่องจากการวิจัยของ (ปริฏา จันทะบาน และสันธิลา ไทยเจริญ, 2561) รายงานว่า ผลการทดสอบเชิงพรรณนาเปรียบเทียบวิธีการบ่มแบบเม็กซิกัน และ เบอร์เบิน การบ่มแบบเม็กซิกันจะให้กลิ่นใบชาแห้งและกานพลูสูงกว่าวิธีบ่มแบบเบอร์เบินอย่างมีนัยสำคัญ *(P<0.05)* ซึ่งในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยเลือกใช้กระบวนการบ่มแบบเบอร์เบิน

2.3.3.1 กระบวนการทำให้เหี่ยว (Killing)

ฝักวานิลลาสดจะถูกนำไปคัดและทำความสะอาด และลวกที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-3 นาที (ภาพที่ 2.3) นำมาซับให้แห้ง ห่อด้วยผ้าสีดำเก็บลงในกล่องปิดสนิททิ้งไว้ข้ามคืน เพื่อให้เซลล์แตกเพิ่มโอกาสให้สารตั้งต้นในการสร้างกลิ่นเจอกัน และเป็นการเริ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์สำหรับการสร้างสารระเหยให้กลิ่น ซึ่งขั้นตอนนี้การเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของฝักวานิลลาจะเป็นตัวบ่งชี้การเสร็จสิ้นของขั้นตอน

ภาพที่ 2.3 การทำให้เหี่ยว (Killing) แบบลวกด้วยน้ำร้อน

(ที่มา : https://www.cooksvanilla.com/the-art-of-curing-vanilla-beans/)

2.3.3.2 กระบวนการทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating)

นำฝักวานิลลามาตากแดดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง (ภาพที่ 2.4) สลับกับเก็บในกล่องปิดสนิทเป็นเวลา 21 ชั่วโมง ทำทั้ง 2 ขั้นตอนนี้สลับกันเป็นเวลา 10 วัน ขั้นตอนนี้เป็นการเพิ่มอุณหภูมิของฝักวานิลลาเพื่อส่งเสริมกระบวนการทางเอนไซม์ที่ต้องการ และเป็นการกระตุ้นให้เกิดการแห้งอย่างรวดเร็ว ขั้นตอนนี้ทำต่อจากขั้นตอน Killing เพื่อเป็นการลดความชื้นอย่างรวดเร็ว จึงช่วยป้องกันการเน่าเสียของฝักวานิลลาแต่ยังเพียงพอสำหรับการทำงานของเอนไซม์ ภายหลังการทำให้เกิดเหงื่อฝักวานิลลาจะยังคงมีความชื้นอยู่ประมาณร้อยละ 60-70

ภาพที่ 2.4 การทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating)

(ที่มา : https://www.cooksvanilla.com/the-art-of-curing-vanilla-beans/)

2.3.3.3 กระบวนการการทำให้แห้ง (Drying)

ฝักวานิลลาจะถูกนำไปตากแห้งทิ้งไว้ในห้องที่อุณหภูมิคงที่เป็นเวลา 2-3 เดือน กระบวนการนี้เป็นการลดความชื้นอย่างช้า ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (ภาพที่ 2.5) จนกระทั่งน้ำหนักเหลือเพียง 1 ใน 3 ของน้ำหนักเริ่มต้น (ความชื้นร้อยละ 25-32) เพื่อลดกิจกรรมของเอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่ไม่พึงประสงค์ ฝักวานิลลาที่ผ่านการทำแห้งแล้วจะมีสีน้ำตาลเข้ม และมีสารระเหยให้กลิ่นในฝักวานิลลา

ภาพที่ 2.5 การทำแห้ง (Drying)

(ที่มา : https://www.cooksvanilla.com/the-art-of-curing-vanilla-beans/)

2.3.3.4 กระบวนการปรับสภาพ (Conditioning)

ฝักวานิลลาจะถูกเก็บในกล่องปิดสนิทที่ไม่มีการถ่ายเทของอากาศเป็นเวลา 3 เดือน (ภาพที่ 2.6) ขั้นตอนนี้จะมีปฏิกิริยาทางเคมีและชีวเคมี เช่น esterification, etherification, oxidative degradation ฯลฯ จะเกิดขึ้น ซึ่งสำคัญต่อการผลิตกลิ่นหอมของฝักวานิลลา และมีการผลิตสารวานิลลินซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นหอมหลักที่สำคัญของฝักวานิลลา (Thitima W. and Pongphen J., 2013)

ภาพที่ 2.6 การปรับสภาพ (Conditioning)

(ที่มา https://www.cooksvanilla.com/the-art-of-curing-vanilla-beans/)

2.4 สารระเหยให้กลิ่น

แม้สารระเหยจากฝักวานิลลาที่ผ่านกระบวนการบ่มจะมีมากกว่า 100 ชนิด (Pérez-Silva et al., 2011) แต่สารระเหยให้กลิ่นมีจำนวนเพียง 26 ชนิดเท่านั้น (ตารางที่ 2.1) ได้แก่ สารประกอบฟีนอล (10 ชนิด) กรดaliphatic (5 ชนิด) สารประกอบกลุ่มแอลกอฮอล์ (2 ชนิด) สารประกอบกลุ่มแอลดีไฮด์ (4 ชนิด) สารประกอบกลุ่มเอสเทอร์ (3 ชนิด) และ สารประกอบกลุ่มคีโตน (2 ชนิด) (Pérez-Silva et al., 2006) โดยสารระเหยให้กลิ่นที่พบดังกล่าวส่วนใหญ่มักให้กลิ่นที่ดีของฝักวานิลลา เช่น vanillin และ *p*-hydroxybenzaldehyde อย่างไรก็สารระเหยให้กลิ่นบางตัวให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของฝักวานิลลา เช่น acitic acid และ guaiacol (Hoffman et al., 2005) จากการวิจัยพบว่าสารให้กลิ่นที่สำคัญบางตัวอาจพบในปริมาณต่ำ แต่ให้ความเข้มข้นของกลิ่นสูงเทียบเท่ากับวานิลลินซึ่งเป็นสารระเหยที่พบในปริมาณมากที่สุด (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 สารประกอบให้กลิ่นสำคัญในฝักวานิลลาที่ผ่านกระบวนการบ่ม

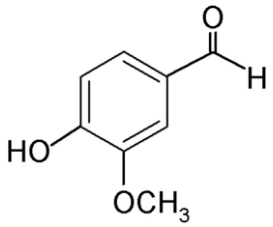
Compounds	ppm	Odor quality	Intensity[a]
Phenols			
Guaiacol	9.3	Chemical, sweet spicy	+++
4-Methylguaiacol	3.8	Sweet, woody	+++
p-Cresol	2.6	Balsamic, woody, spicy	++
4-Vinylguaiacol	1.2	Chemical, phenolic	+
4-Vinylphenol	1.8	Sweet, woody	++
Vanillin	19118	Vanilla, sweet	+++
Acetovanillone	13.7	Vanilla, sweet, honey	+++
Vanillyl alcohol	83.8	Vanilla-like	+++
p-Hydroxybenzaldehyde	873	Vanilla-like, biscuit	++
p-Hydroxybenzyl alcohol	65.1	Vanilla-like, sweet	++
Aliphatic acids			
Acetic acid	124	Sour, vinegar	++
Isobutyric acid	1.7	Buttery	++
Butyric acid	<1	Buttery, oily	+
Isovaleric acid	3.8	Buttery, oily	++
Valeric acid	1.5	Cheese	+++
Alcohols			
2,3-Butanediol (isomer 2)	8.0	Floral, oily	+
Anisyl alcohol	2.4	Herbal	++
Aldehydes			
2-Heptenal	2.1	Green, oily	+
(*E*)-2-decenal	1.8	Herb-like, floral	++
(*E*,*Z*)-2,4-decadienal	1.4	Herb-like, fresh	++
(*E*,*E*)-2,4-decadienal	1.2	Fatty, wood	++
Esters			
Methyl salicylate	<1	Chalk	+++
Methyl cinnamate	1.1	Sweet	++
Ethyl linolenate	13.5	Sweet	++
Ketone			
3-Hydroxy-2-butanone	14.6	Buttery	+
Unknown[b]	6.2	vanilla-like, chemical	+++

[a] (+) Weak, (++) Medium, (+++) Strong.
[b] Mass fragmentation (91(90), 74(37), 69(34), 89(25), 57(24)) and RI (2528).

ที่มา (Pérez-Silva et al., 2006)

2.5 วานิลลิน (Vanillin)

Vanillin หรือ 3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde vanillin เป็นสารที่ประกอบที่มีวงแหวนแอโรมาติก และประกอบด้วยหลายหมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ หมู่แอลดีไฮด์, หมู่ไฮดรอกซิล และ หมู่เมทอกซิล (JoaquínIsac-García, 2016) เป็นพบปริมาณมากที่สุด และเป็นสารให้กลิ่นที่สำคัญของฝักวานิลลาที่ผ่านกระบวนการบ่ม ซึ่งวานิลลินมีลักษณะเป็นผลึกสีขาวที่เกิดขึ้นระหว่างการบ่มของฝักวานิลลา ซึ่งวานิลลินถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอาง ถูกใช้และเป็นที่ต้องการอย่างสูง และเนื่องจากเป็นที่ต้องการสูง ปัจจุบันจึงมีการสังเคราะห์วานิลลินจากกระบวนการทางเคมี ซึ่งยังช่วยในการลดต้นทุนการผลิตได้อีกด้วย



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของวานิลลิน

(ที่มา https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-vanillin)

2.6 การวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นด้วย GC-O/MS (ภาพที่ 2.7)

2.6.1 การสกัดสารระเหย (Extraction)

กระบวนการสกัดสารระเหยมี 2 รูปแบบคือ แบบที่ไม่ใช้ตัวทำละลาย และ แบบที่ใช้ตัวทำละลาย ซึ่งการสกัดแบบที่ไม่ใช้ตัวทำละลายคือการสกัดสารโดยให้ความร้อนกับตัวอย่างโดยตรง เพื่อให้สารเหยจากตัวอย่างออกมาสู่ช่องว่างเหนือตัวอย่าง (headspace) และใช้ตัวดูดซับ (absorber) รูปแบบต่างๆ เช่น dynamic headspace extraction (DHS), stir bar sorptive extraction (SBSE) และ solid phase micro extraction (SPME) เพื่อเก็บสารระเหยดังกล่าวสำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารระเหย ซึ่งทำได้โดยการใช้ความร้อนแก่ตัวดูซับเพื่อปลดปล่อยสารระเหยออกมา ข้อจำกัดการสกัดแบบที่ไม่ใช้ตัวทำละลายคือ อาจสูญเสียไวต่อสลายด้วยความร้อน หรือทำให้เกิดสารระเหยอื่นปลอมปน (Amandine Erb, 2019)

2.6.2 Gas Chromatograph (GC)

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ เป็นเครื่องมือสำหรับแยกองค์ประกอบของสารระเหยที่สกัดจากตัวอย่าง โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊ส และเฟสอยู่กับที่เป็นคอลัมน์ สมบัติที่สำคัญของตัวอย่างคือสามารถระเหยกลายเป็นไอได้ ผลจากการวิเคราะห์เรียกว่าโครมาโทแกรม (Chromatogram) โดยจะแสดงพีค (Peak) ของสารระเหยแต่ละชนิดที่ถูกชะออกมาที่เวลาต่างๆ สามารถระบุชนิด (qualitative) ของสารได้จากการเทียบค่า retention index (RI) ของแต่ละพีคกับค่า RI มาตรฐานของสารแต่ละชนิดซึ่งจะมีค่าเฉพาะตามชนิดคอลัมน์ สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative) ได้หากพื้นที่ใต้กราฟกับ standard curve ของสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ injector, oven และ detector

ภาพที่ 2.8 gas chromatography-olfactometry/mass spectrometer (GC-O/MS)
(ที่มา : http://www.gerstel.com/en/GSW12_Wine-flavor-analysis.htm)

2.6.2.1 ส่วนฉีดสาร (Injector)

เป็นส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ตัวเครื่อง สารตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนให้กลายเป็นไอก่อน สำหรับตัวอย่างจากการสกัดแบบใช้ตัวทำละลายจะต้องระเหยตัวทำละลายออกจากสารระเหยก่อนการวิเคราะห์ ส่วนตัวอย่างที่สกัดแบบไม่ใช้ตัวทำละลายต้องให้ความร้อนเพื่อระเหยสารออกมาจากตัวดูดซับก่อนจะเข้าสู่คอลัมน์ภายในส่วนเตาอบต่อไป

2.6.2.2 ตู้อบคอลัมน์ (Column oven)

เป็นส่วนที่บรรจุและควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ (column) สารระเหยจากส่วนฉีดสารจะถูกพาเข้าคอลัมน์โดยแก๊สพา (carrier gas) ซึ่งเป็นแก๊สเฉื่อย โดยคอลัมน์จะแยกสารระเหยแต่ละชนิดออกจากกัน ภายในตู้อบที่สามารถควบคุมความร้อนได้เพื่อป้องกันการควบแน่นของสารระเหย และการควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อให้การแยกเกิดได้ดียิ่งขึ้น

ทำหน้าที่ในการตรวจวัดตัวอย่างที่ถูกแยกเรียบร้อยแล้วให้สามารถแปรผลได้ด้วยระบบไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์ ตัวตรวจวัดมีหลายชนิด ควรศึกษาคุณสมบัติของตัวตรวจวัดว่าเหมาะสมกับตัวอย่างหรือไม่ก่อนเริ่มทำการวิเคราะห์

2.6.2.3 ส่วนตรวจวัด (Detector)

ทำหน้าที่ตรวจวัดสารระเหยแต่ละชนิดที่ถูกแยกโดยคอลัมน์ และแปรผลจากกระแสไฟฟ้าเป็นข้อมูลในรูปแบบโคมาโทรแกรม เพื่อประมวลผลต่อด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

2.6.3 Mass Spectrometer (MS)

เป็นเทคนิคการตรวจวัดที่ใช้หลักการคัดแยกมวลต่อประจุ (m/z) ซึ่งเกิดจากสารระเหยแต่ละชนิดถูกไอออไนซ์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยจะแสดงผลวิเคราะห์ในรูปของ mass spectrum ซึ่งกราฟที่ระหว่าง response ที่ตรวจวัดได้กับ m/z โดยค่า response ที่ตรวจวัดได้จะแสดงออกมาในรูปของ relative abundance ส่วนประกอบสำคัญของแมสสเปกโทรเมทรีมี 3 ส่วนคือ Ionization Source, Mass Analyzer และ Detector

2.6.3.1 ส่วนที่ทำให้สารเกิดเป็นไอออน (Ionization source)

เป็นส่วนทำให้สารระเหยเกิดไอออนในสภาวะแก๊ส เรียกว่า การเกิดไอออไนเซชั่น ซึ่งสามารถแยกตามประเภทของสภาวะตัวอย่างจากแหล่งกำเนิด ได้แก่ Electron Impact (EI) และ Chemical Impact (CI)

2.6.3.2 ส่วนที่ทำการคัดแยกมวลต่อประจุ (Mass Analyzer)

เป็นส่วนวิเคราะห์ทำหน้าที่คัดแยกมวลต่อประจุ ใช้หลักการสนามแม่เหล็กภายใต้สภาวะสุญญากาศ ไอออนทั้งหมดจะได้รับอิทธิพลจากสนามแม่เหล็กในสภาวะเดียวกัน และถูกตรวจวัดด้วยเครื่อง detector

2.6.3.3 ส่วนที่ทำการตรวจวัดสัญญาณ (Detector)

ใช้สำหรับตรวจจับไอออน และบันทึกความสัมพันธ์แต่ละชนิดไอออน (Douglas A. Skoog, F. James Holler and Stanley R. Crouch, 2016)

2.6.4 Olfactometer

เป็นเครื่องตรวจวิเคราะห์กลิ่นด้วยการดม โดยต่อเข้ากับเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยในเวลาเดียวกันสารระเหยแต่ละชนิดจะถูกแยกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเพื่อไปตรวจวัดยังแมสสเปกโทเมทรี (MS) และ ส่วนที่ 2 เพื่อไปส่วนวิเคราะห์กลิ่น (Olfactormetry) เพื่อดมกลิ่นและบันทึกกลิ่นที่รับรู้ได้โดยมนุษย์

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 ฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis*

3.1.2 เครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR400

3.1.3 เครื่องวัดความชื้น Metler Toledo รุ่น Metler Toledo รุ่น HB43-S Halogen

3.1.4 เครื่องบดตัวอย่าง Mixer Mill รุ่น MM 400

3.1.5 Gas Chromatography-Olfactometry/Mass Spectrometer (GC-O/MS)

3.1.6 เตาไฟฟ้า

3.1.7 เทอร์โมมิเตอร์

3.1.8 เทอร์โมมิเตอร์แบบกระเปาะเปียก กระเปาะแห้ง

3.1.9 หลอดเซนทริฟิวจ์

3.1.10 ผ้าห่อฝักวานิลลา

3.1.11 หม้อสแตนเลส

3.1.12 ถาดอลูมิเนียม

3.1.13 กล่องโฟมพร้อมฝาปิด

3.1.14 ภาชนะบรรจุพลาสติกปิดสนิท

3.1.15 ถุงZiplock

3.1.16 ถุงซีล vacuum

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างฝักวานิลลาสด

รับวัตถุดิบฝักวนิลลาสดพันธุ์ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis* จากตำบลดอยตุง อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย และ vanilla orchid farm (VOF) อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ตามลำดับ และนำฝักวานิลลาสดแต่ละพันธุ์มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า ซับให้แห้งด้วยกระดาษชำระแบบหนา

ภาพที่ 3.1 การล้างทำความสะอาดฝักวานิลลาสด

3.2.2 การวัดสี

สุ่มตัวอย่างฝักวานิลลาสด และตัวอย่างภายหลังกระบวนการบ่มทุกขั้นตอนประมาณ 3 ฝัก เพื่อวัดความชื้นด้วยเครื่องวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR400) ได้แก่ ค่าความสว่าง (L*), ค่า a* (เขียว/แดง, -/+), ค่า b* (น้ำเงิน/เหลือง, -/+)

ภาพที่ 3.2 การวัดสีฝักวานิลลา

3.2.3 การวัดความชื้น

สุ่มตัวอย่างฝักวานิลลาสด และตัวอย่างภายหลังกระบวนการบ่มทุกขั้นตอนประมาณ 5 กรัม เพื่อวัดความชื้นด้วยเครื่องวัดความชื้น (Metler Toledo รุ่น HB43-S Halogen)

ภาพที่ 3.3 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวัดความชื้น

3.2.4 กระบวนการบ่มฝักวานิลลาด้วยวิธี Bourbon

(ดัดแปลงจากวิธีของ Sutila T. and Parita C., 2018)

3.2.4.1 การทำให้เหี่ยว (Killing)

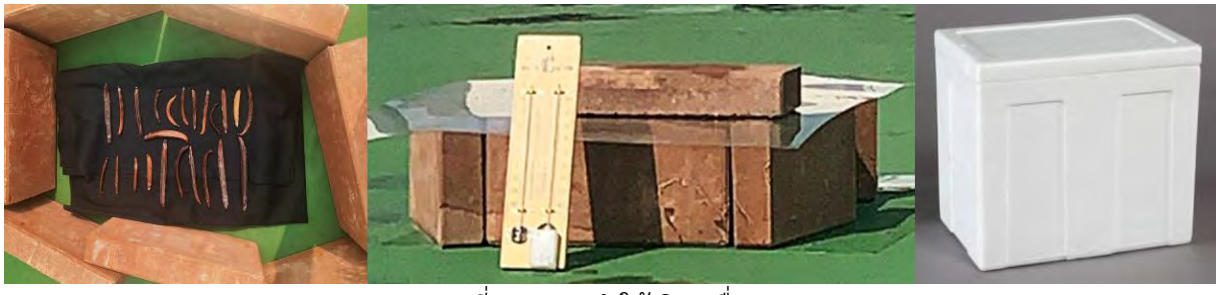
ลวกฝักวานิลลาแต่ละพันธุ์ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 นาที (ภาพที่ 3.4) แล้วนำไปห่อด้วยผ้าสีดำ และเก็บใส่กล่องทึบแสงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำตัวอย่างฝักวานิลลาเพื่อไปวัดความชื้น และเก็บตัวอย่างฝักวานิลลาเพื่อตรวจสอบลักษณะเฉพาะของสารระเหยให้กลิ่นที่เกิดขึ้น

ภาพที่ 3.4 การทำให้เหี่ยว (Killing)

3.2.4.2 การทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating)

นำฝักวานิลลาแต่ละพันธุ์ไปตากแดดเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง (ในช่วงเวลา 10.00น.-13.00น.) หลังจากนั้นห่อด้วยผ้าสีดำแล้วนำมาเก็บลงภาชนะปิดสนิท ทำสลับเช่นนี้เป็นเวลา

10 วัน ติดตามค่าความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศด้วยเทอร์โมมิเตอร์แบบกระเปาะเปียก-กระเปาะแห้ง หลังจากเสร็จสิ้นการทำให้เกิดเหงื่อ นำตัวอย่างฝักวานิลลาไปวัดความชื้น และเก็บตัวอย่างฝักวานิลลาเพื่อตรวจสอบลักษณะเฉพาะของสารระเหยให้กลิ่นที่เกิดขึ้น



ภาพที่ 3.5 การทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating)

3.2.4.3 การทำให้แห้ง (Drying)

นำฝักวานิลลาแต่ละพันธุ์มาตากแห้งในห้องที่มีการถ่ายเทของอากาศ เป็นเวลา 1 เดือน หลังจากเสร็จสิ้นการทำให้เกิดแห้ง นำตัวอย่างฝักวานิลลาไปวัดความชื้น และเก็บตัวอย่างฝักวานิลลาเพื่อตรวจสอบลักษณะเฉพาะของสารระเหยให้กลิ่นที่เกิดขึ้น

ภาพที่ 3.6 การทำให้แห้ง (Drying)

3.2.4.4 การปรับสภาพ (Conditioning)

นำฝักวานิลลาแต่ละพันธุ์มาเก็บในภาชนะปิดสนิทที่ไม่มีการถ่ายเทของอากาศเป็นเวลา 1 เดือน หลังจากเสร็จสิ้นปรับสภาพ นำตัวอย่างฝักวานิลลาไปวัดความชื้น และเก็บตัวอย่างฝักวานิลลาเพื่อตรวจสอบลักษณะเฉพาะของสารระเหยให้กลิ่นที่เกิดขึ้น

ภาพที่ 3.7 การปรับสภาพ (Conditioning)

3.2.5 การวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่น

3.2.5.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่น

เก็บตัวอย่างฝักวานิลลาสดและตัวอย่างภายหลังกระบวนการบ่มทุกขั้นตอน เพื่อตรวจสอบสารระเหยให้กลิ่นโดยสุ่มตัวอย่างฝักวานิลลา 30 กรัม แล้วหั่นตัวอย่างฝักวานิลลาความขวางความหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร นำไปบรรจุในแคปซูลสแตนเลส แช่แคปซูลลงไนโตรเจนเหลว และบดตัวอย่างด้วยเครื่อง Mixer Mill เก็บตัวอย่างใส่หลอดเซนทริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะวิเคราะห์

ภาพที่ 3.8 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่น

3.2.5.2 การวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่น

การวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นสำหรับวานิลลาแต่ละพันธุ์ ตัวอย่างฝักวานิลลาสด (1 ตัวอย่าง) และตัวอย่างภายหลังกระบวนการบ่มทุกขั้นตอน (4 ตัวอย่าง) แต่ละตัวอย่างอย่างจะถูกวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำของการวิเคราะห์ วานิลลา 3 กรัมลงในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร และเติม 2-methyl-3-heptanone (internal standard) ความเข้มข้น 6.53 มิลลิโมลาร์ (ในเอทานอล) ปริมาณ 20 ไมโครลิตร วิเคราะห์สารระเหยด้วย GC-O/MS (7890A and 5975 inert mass single quadrupole detector; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) dynamic headspace (DHS) (Gerstel, Mülheim an der Ruhr,

Germany) เพื่อสกัดสารระเหยภายใต้สภาวะ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีและไล่สารระเหยไปยังตัวดูดซับ Tenax TA ด้วยแก๊สไนโตรเจน อัตราการไหล 20 มิลลิลิตรต่อนาที 10 นาที หลังจากนั้นตัวดูดซับถูกไล่ความชื้นด้วยแก๊สไนโตรเจน อัตราการไหล 50 มิลลิลิตรต่อนาที 10 นาที และสารระเหยจะถูกปลดปล่อยออกจากตัวดูดซับเพื่อทำการแยกองค์ประกอบภายใต้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนมีอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียสด้วยอัตรา 200 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาทีภายใน thermal desorption unit (TDU) (ภาพที่ 3.9)

ภาพที่ 3.9 การสกัดแบบไม่ใช้ตัวทำละลายด้วย DHS, การดูดซับ, และปลดปล่อยสารระเหย (ที่มา : ดัดแปลงจาก www.gerstel.com)

หลังจากนั้นสารระเหยที่ถูกปลดปล่อยออกจากตัวดูดซับจะถูกส่งไปยังคอลัมน์ DB5-MS ยาว 30 เมตร มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร และความหนาฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร ส่วนฉีดสาร (injector) ตั้งเป็น split mode (5:1) อุณหภูมิตู้อบเริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียส เพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 5, 2, และ 25 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนมีอุณหภูมิ 105, 185, และ 260 องศาเซลเซียส ตามลำดับและคงอุณหภูมิที่ 260 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที สารระเหยที่ถูกแยกออกแต่ละสารจะเคลื่อนเข้าสู่ sniffing port (ODP3, Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Germany) และ(MS (5975 inert mass selective detector, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) สามารถวิเคราะห์ได้ที่ช่วงมวล 15 ถึง 400 การบ่งชี้ชนิดของสารระเหยใช้ส่วนวิเคราะห์มวล (mass analyzer) แบบ electron impact โดยมีพลังงานไอออไนเซชั่น 70 eV

3.2.5.3 การระบุชนิดและปริมาณของสารระเหยให้กลิ่น

การระบุชนิดของสารระเหยให้กลิ่นทำได้โดย

(1) เปรียบเทียบ mass spectrum กับฐานข้อมูล NIST MS 14.0 library (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA) โดยเลือกพิจารณาสารที่มี MS score มากกว่าร้อยละ 80

(2) เปรียบเทียบ retention index (RI) ที่ได้จากการคำนวณกับฐานข้อมูล NIST library โดยความแตกต่างของ RI ของที่คำนวณจากตัวอย่างและจากฐานข้อมูลต้องต่างกันไม่เกิน ± 15

$$LRI = 100\left(\frac{t - t_n}{t_{n+1} - t_n} + n\right) \quad \text{.....(3.2)}$$

LRI = linear retention index ของสารประกอบที่สนใจ

t = retention time ของสารประกอบที่สนใจ (นาที)

t_n = retention time ของสารมาตรฐานอัลเคนที่ถูกชะออกมาก่อนสารประกอบที่สนใจ (นาที) และมีจำนวนอะตอมคาร์บอนเท่ากับ n

t_{n+1} = retention time ของสารมาตรฐานอัลเคนที่ถูกชะออกมาหลังสารประกอบที่สนใจ (นาที) และมีจำนวนอะตอมคาร์บอนเท่ากับ n+1

n = จำนวนอะตอมคาร์บอนของสารมาตรฐานอัลเคนที่ถูกชะออกมาก่อนสารประกอบที่สนใจ

(3) เปรียบเทียบกลิ่นที่รับรู้ได้จากการดมที่ sniffing port กับฐานข้อมูล (Pherobase, the Good Scents Company, and Flavornet) การหาปริมาณของสารระเหยแต่ละชนิดทำได้โดยวิธี semi-quantificationโดยสามารถคำนวณปริมาณสารระเหยง่ายได้จากการเติม internal standard (IS, 2-methyl-3-heptanone) จากสมการที่ 3.1

$$Concentration(ppm) = \frac{(0.00837g\ IS)(0.1\ mlIS)(Compound\ Peak\ Area)}{(10\ ml\ MeOH)(IS\ Peak\ Area)(ml\ Sample)} \times 1000$$

.....(3.1)

Concentration = ความเข้มข้นของสารที่สนใจ (ppm)

Compound Peak Area = พื้นที่ใต้กราฟของสารที่สนใจ

IS Peak Area = พื้นที่ใต้กราฟของ Internal Standard

mg Sample = ปริมาณตัวอย่างที่ใส่ใน glass vial (mg)

3.2.5.4 ค่า odor activity values

สามารถหาได้จากอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารระเหยให้กลิ่นที่วิเคราะห์ได้ต่อความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ทำให้เกิดการรับกลิ่นของสารนั้น (odor threshold หรือ detection ratio) สารระเหยที่มีค่า OAV สูง (OAV ≥1) มีแนวโน้มว่าสารนั้นเป็นสาระเหยให้กลิ่นสำคัญของตัวอย่างที่สนใจ (Averbeck & Schieberle, 2009)

3.2.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา (Descriptive analysis)

การทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของตัวอย่างของฝักวานิลลาที่ผ่านกระบวนการบ่มทั้ง 2 พันธุ์ ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 12 คน เป็นนิสิตคณะวิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร อายุ 21-23 ปี เพื่อทดสอบตัวอย่างฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia* ที่ผ่านกระบวนการบ่มด้วยวิธีเบอร์เบิน (Bourbon) รวม 6 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างที่บ่มเอง 2 ตัวอย่าง (*Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia*) จากอำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และตัวอย่างจากท้องตลาด 4 ตัวอย่าง (*Vanilla planifolia*) จากประเทศมาดากัสการ์ (เกรดA และเกรดA+), ประเทศอินโดนีเซียและ จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำตัวอย่างใส่ภาชนะบรรจุพลาสติกปิดสนิท ตัวอย่างละ 0.3 กรัม โดยแต่ละตัวอย่างถูกวิเคราะห์ลักษณะกลิ่นจากผู้เข้าร่วมทดสอบทั้ง 12 คน เพื่อหาคำนิยามของกลิ่นที่พบในตัวอย่าง โดยลักษณะของกลิ่นที่พบในตัวอย่างมีดังต่อไปนี้ sweet, sour, spices และ woody หลังจากนั้นให้ผู้ทดสอบดมสารอ้างอิงของกลิ่นนั้นๆ ซึ่งสารอ้างอิงที่ใช้ marshmallow, สารสกัดกลิ่นช็อคโกแลต และ milk chocolate (sweet), บ๊วยเค็ม, บ๊วยแผ่นเชียงจา และบ๊วยเปลือกส้ม (sour), กานพลู (spices) และ ใบชาแห้ง (woody) จากนั้นดมตัวอย่างฝักวานิลลาเพื่อให้คะแนนกลิ่นที่กล่าวไว้ข้างต้น โดยมีสเกล 0-15 โดย 0 คือ ไม่ได้กลิ่นเลย และ 15 คือ ได้กลิ่นมากที่สุด

3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองการศึกษาองค์ประกอบสารระเหยง่ายในวานิลลาแต่ละพันธุ์ และลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของตัวอย่างวานิลลา ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (α = 0.05) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) รวมถึงวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสารระเหยให้กลิ่น พันธุ์และผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาด้วยวิธี Multivariate Statistics ได้แก่ Hierarchical Cluster Analysis (HCA) ด้วยวิธี ward's method และ Principal component analysis (PCA) และการแสดงผลในรูป Heat map ร่วมกับ HCA ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Pearson's correlation โดยใช้โปรแกรม MetaboAnalyst 4.0 (https://www.metaboanalyst.ca)

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของฝักวานิลลาระหว่างการบ่ม

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia* ระหว่างกระบวนการบ่ม แสดงในตารางที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ จากการวิจัยพบว่าลักษณะปรากฏของฝักวานิลลาทั้ง 2 พันธุ์

ลักษณะด้านสี ฝักวานิลลาเริ่มเปลี่ยนสีจากสีเขียวสดเป็นน้ำตาลภายหลังการทำให้เหี่ยว (killing) และมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นและเริ่มมีเกล็ดสีขาวบนผิวเปลือกภายหลังการทำให้เกิดเหงื่อ (sweating) Daphna และ Faith (2011) รายงานว่าเกล็ดสีขาวดังกล่าวคือผลึกวานิลลิน (vanillin) ที่เกิดขึ้นบนผิวฝักวานิลลา เป็นที่น่าสนใจว่าฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla tahitensis* มีผลึกสีขาวบนผิวฝักมากกว่า *Vanilla planifolia* และฝักมีสีดำภายหลังการทำให้แห้ง (drying) และการปรับสภาพ (conditioning) Waliszewski และคณะ (2009) รายงานว่าสีน้ำาตาลของฝักวานิลลาที่เกิดขึ้น เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลด้วยเอนไซม์ polyphenol oxidase และ peroxidase เมื่อพิจารณาจากค่า L* (แสดงถึงค่าความสว่าง) และ a* (แสดงความเขียว/แดง,-/+) แล้ว พบว่าค่า L* มีแนวโน้มลดซึ่งสอดคล้องกับสีของฝักวานิลลาที่มีการเปลี่ยนแปลงในทางที่เข้มขึ้น สำหรับค่า a* ค่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นคือฝักมีสีเขียวลดลง ค่า L* ของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla tahitensis* มีค่าแตกต่างกันมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ทุกขั้นตอนของกระบวนการบ่ม ค่า L* ของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* ในขั้นตอนก่อนเข้ากระบวนการบ่มมีค่าแตกต่างกันมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และค่า a* ของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla tahitensis* ที่ขณะเป็นฝักสด และขั้นตอนการทำให้เหี่ยว (Killing) มีค่าแตกต่างกันมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ค่า a* ของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* ในขั้นตอนก่อนเข้ากระบวนการบ่มมีค่าแตกต่างกันมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ลักษณะด้านเนื้อสัมผัสและความชื้นของฝักวานิลลา *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia* ฝักวานิลลาสดมีความชื้นเริ่มต้นประมาณร้อยละ 78-80 เนื้อสัมผัสของฝักวานิลลามีลักษณะแข็ง ภายหลังการทำให้เหี่ยว (Killing) ในน้ำอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-3 นาที ฝักวานิลลาจะมีความชื้นสูงขึ้นเป็นร้อยละ 82-84 ซึ่งการลวกนอกจากทำให้ความชื้นในฝักสูงขึ้นแล้วยังส่งผลให้เนื้อสัมผัสของฝักนิ่ม ฝักวานิลลาจะมีลักษณะนิ่มและเหนียวขึ้นภายหลังการทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating) ซึ่งเป็นผลมาจากเอนไซม์ polygalacturonase หรือเอนไซม์ pectate lyase และการสูญเสียน้ำภายในเซลล์ (Jose A. M.,2019) โดยความชื้นจะลดลงเหลือร้อยละ 73-74 และจะมีเนื้อสัมผัสที่แห้งและแข็ง ภายหลังการทำให้แห้ง (Drying) จนมี

ความชื้นประมาณร้อยละ 17 ฝักวานิลลามีขนาดเล็กลง ความชื้นสุดท้ายหลังการปรับสภาพของฝักวานิลลาเหลือประมาณร้อยละ 12

ลักษณะด้านกลิ่น ฝักวานิลลาสดมีกลิ่นเหม็นเขียวคล้ายกลิ่นผักสด ภายการลวกในน้ำร้อนฝักวานิลลามีกลิ่นคล้ายถั่วฝักยาวลวกใน *Vanilla tahitensis* และมีกลิ่นเหม็นเขียวในและกลิ่นวานิลลาอ่อนๆใน *Vanilla planifolia* เป็นที่น่าสนใจว่า *Vanilla planifolia* มีกลิ่นวานิลลาตั้งแต่เป็นฝักสดและภายหลังการลวกด้วยน้ำร้อน (Killing) แต่อย่างไรก็ตามกลิ่นวานิลลาหายไปภายหลังการทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating) ในขณะที่ *Vanilla tahitensis* ไม่มีกลิ่นวานิลลาในช่วงต้นของกระบวนการบ่ม และมีกลิ่นบ๊วยและเริ่มมีผลึกวานิลลาเกิดขึ้นบนผิวฝักภายหลังการทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating) และทั้ง 2 พันธ์เริ่มมีการพัฒนากลิ่นวานิลลาภายหลังกระบวนการทำให้แห้ง (Drying) ซึ่งวานิลลา *Vanilla planifolia* จะให้ความเข้มของกลิ่นที่มากกว่าวานิลลา *Vanilla tahitensis*

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla tahitensis* ระหว่างกระบวนการบ่ม

ลักษณะทางกายภาพ	**ฝักวานิลลาสด**	**ฝักวานิลลา ภายหลังการทำให้เหี่ยว (After killing)**	**ฝักวานิลลา ภายหลังการทำให้เกิดเหงื่อ (After sweating)**	**ฝักวานิลลา ภายหลังการทำให้แห้ง (After drying)**	**ฝักวานิลลา ภายหลังการปรับสภาพ (After conditioning)**
ลักษณะปรากฏและเนื้อสัมผัส					
	สีเขียวสด	สีน้ำตาล ฝักนิ่ม	สีน้ำตาลเข้ม ฝักนิ่ม (มีเกล็ดสีขาวขึ้นบนผิวเล็กน้อย)	สีน้ำตาลเข้ม ฝักแห้งและแข็ง (มีเกล็ดสีขาวบนผิว)	สีน้ำตาลดำ ฝักแห้งและแข็ง (มีเกล็ดสีขาวบนผิว)
สี	L*:47.20 a*:-17.46 b*:15.41	L*:30.23 a*:-3.43 b*:21.26	L*:18.92 a*:9.87 b*:11.76	L*:12.65 a*:9.98 b*:12.19	L*:10.08 a*:10.46 b*:8.54
ความชื้น (ร้อยละ)	81.21	84.14	73.14	17.72	12.29
ความเข้มของกลิ่น (+++++)	กลิ่นเหม็นเขียว (++)	กลิ่นถั่วฝักยาวลวก (++)	กลิ่นบ๊วย (+++)	กลิ่นวานิลลา (+)	กลิ่นวานิลลา (++)

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพของวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* ระหว่างกระบวนการบ่ม

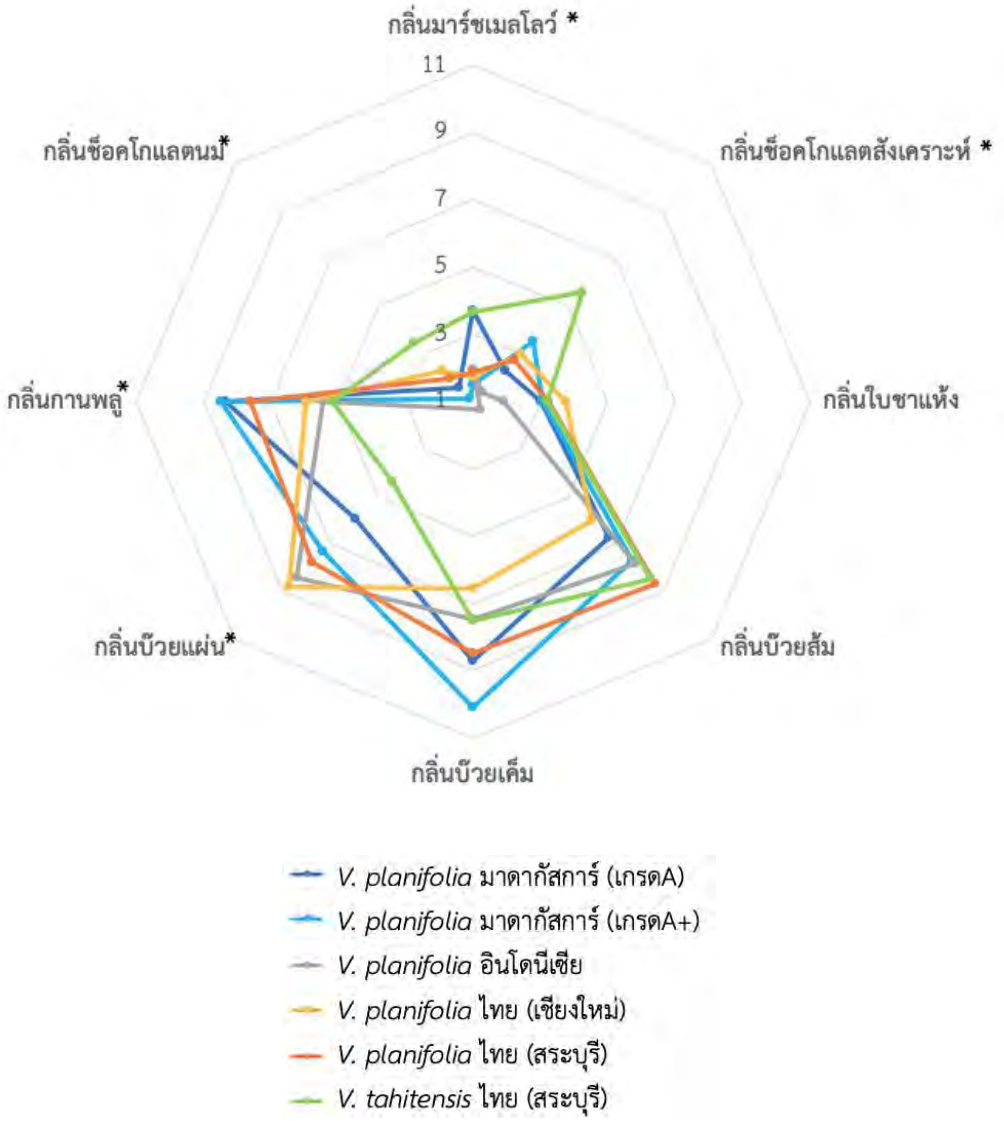
ลักษณะทางกายภาพ	**ฝักวานิลลาสด**	**ฝักวานิลลา ภายหลังการทำให้เหี่ยว (After killing)**	**ฝักวานิลลา ภายหลังการทำให้เกิดเหงื่อ (After sweating)**	**ฝักวานิลลา ภายหลังการทำให้แห้ง (After drying)**	**ฝักวานิลลา ภายหลังการปรับสภาพ (After conditioning)**
ลักษณะปรากฏและเนื้อสัมผัส					
	สีเขียวสด	สีเขียวอมน้ำตาล ฝักนิ่ม	สีน้ำตาล ฝักนิ่มและเหนียว	สีน้ำตาลเข้ม ฝักแห้งและแข็ง	สีน้ำตาลดำ ฝักแห้งและแข็ง
สี	L*:38.35 a*:-5.56 b*:18.84	L*:24.40 a*:4.56 b*:11.26	L*:21.30 a*:3.04 b*:3.65	L*:22.55 a*:2.75 b*:3.27	L*:24.47 a*:3.91 b*:4.36
ความชื้น	78.60	82.23	74.12	14.38	10.41
ความเข้มของกลิ่น (+++++)	กลิ่นเหม็นเขียว (++) กลิ่นวานิลลา (+)	กลิ่นเหม็นเขียว (++) กลิ่นวานิลลา (+)	กลิ่นเหม็นเขียว (++)	กลิ่นวานิลลา (++)	กลิ่นวานิลลา (+++)

4.2 ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของฝัก *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia* ที่ผ่านกระบวนการบ่ม

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของตัวอย่างฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia* ที่ผ่านกระบวนการบ่มด้วยวิธีเบอร์เบิน (Bourbon) ทั้งตัวอย่างที่บ่มเอง 2 ตัวอย่าง (*Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia*) จากอำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และตัวอย่างจากท้องตลาด 4 ตัวอย่าง (*Vanilla planifolia*) จากประเทศมาดากัสการ์ (เกรดA และเกรดA+), ประเทศอินโดนีเซียและ จังหวัดเชียงใหม่ โดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน พบว่า ผู้ทดสอบสามารถจำแนกลักษณะกลิ่นของฝักวานิลลาได้ทั้งหมด 8 กลิ่น ได้แก่ กลิ่นมาร์ชแมลโลว์, กลิ่นช็อคโกแลตสังเคราะห์, กลิ่นช็อคโกแลตนม, กลิ่นใบชาแห้ง, กลิ่นบ๊วยเปลือกส้ม, กลิ่นบ๊วยเค็ม, กลิ่นบ๊วยแผ่น และกลิ่นกานพลู (ตารางที่ 4.3) โดยกลิ่นมาร์ชแมลโลว์, กลิ่นช็อคโกแลตสังเคราะห์, กลิ่นบ๊วยแผ่น, กลิ่นกานพลู และ กลิ่นช็อคโกแลตนม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) จากภาพที่ 4.1 พบว่าตัวอย่าง *Vanilla tahitensis* มีลักษณะของกลิ่นเฉพาะตัวสูงกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ได้แก่ กลิ่นมาร์ชแมลโลว์, กลิ่นช็อคโกแลตสังเคราะห์ และ กลิ่นช็อคโกแลตนม ซึ่งเป็นกลิ่นที่ดี นอกจากนี้ยังมีกลิ่นกานพลู และกลิ่นบ๊วยแผ่น ซึ่งเป็นกลิ่นที่ไม่ดีต่ำกว่าตัวอย่างอื่น

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและตัวอย่างอ้างอิงของฝักวานิลลา

ลำดับ	ลักษณะของกลิ่น	ชนิดของตัวอย่างอ้างอิง
1	มาร์ชเมลโลว	Mini Rocky Mountain Marshmallow
2	ช็อกโกแลตสังเคราะห์	กลิ่นช็อกโกแลต ตราวินเนอร์
3	ช็อกโกแลตนม	ช็อคโกแลตเหรียญ
4	ใบชาแห้ง	ใบชา เบอร์ 2 ตราสามม้า
5	บ๊วยส้ม	บ๊วยเปลือกส้ม ตราผึ้งทอง
6	บ๊วยเค็ม	บ๊วยเค็ม ตรา Furi Plum
7	บ๊วยแผ่น	บ๊วยแผ่น เซียงจา
8	กานพลู	กานพลู ตรา McGarret



ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นจากฝักวานิลลา

4.3 สารระเหยให้กลิ่นในฝักวานิลลา

(N/A)

บทที่ 5
สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองในขณะนี้พบว่าวานิลลา *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia* มีความแตกต่างกันทางกายภาพในแต่ละขั้นของการบ่มด้วยวิธีแบบ Bourbon วานิลลา *Vanilla tahitensis* จะพบเกล็ดสีขาวของวานิลลินตั้งแต่หลังขั้นทำให้เกิดเหงื่อ (Sweating) เป็นต้นไป ซึ่งวานิลลา *Vanilla planifolia* จะไม่พบเกล็ดสีขาวในระหว่างการบ่ม ความเข้มข้นของกลิ่นที่เกิดขึ้นพบว่าวานิลลา *Vanilla planifolia* จะให้กลิ่นวานิลลาตั้งแต่เป็นฝักสดในขณะวานิลลา *Vanilla tahitensis* จะให้กลิ่นวานิลลาภายหลังจากขั้นการทำแห้ง (Drying) ซึ่งหลังจากกระบวนการบ่ม *Vanilla planifolia* จะให้ความเข้มของกลิ่นที่มากกว่า *Vanilla tahitensis*

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาพบว่าวานิลลา *Vanilla tahitensis* ให้กลิ่นเฉพาะตัวที่ดี ได้แก่ กลิ่นมาร์ชแมลโลว์, กลิ่นช็อคโกแลตสังเคราะห์ และ กลิ่นช็อคโกแลตนม สูงกว่าตัวอย่างวานิลลา *Vanilla planifolia* ที่บ่มด้วยวิธี Bourbon และที่วางขายเชิงพาณิชย์อย่างมีนัยสำคัญ *(P<0.05)*

ในด้านการวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นในฝักวานิลลา *Vanilla tahitensis* และ *Vanilla planifolia* ไม่สามารถทราบค่าได้เนื่องจากยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์ในส่วนนี้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาและพัฒนากระบวนการบ่มให้มีระยะเวลาที่สั้นลง
2. ควรศึกษาวิธีการบ่มที่เหมาะสมของวานิลลาในแต่ละพันธุ์
3. ควรศึกษาลักษณะของกลิ่นของวานิลลาที่ผ่านกระบวนการบ่ม ภายหลังการนำไปทดสอบปรุงอาหาร (เช่น ในผลิตภัณฑ์ขนมอบ) เพื่อศึกษาว่าวานิลลาพันธุ์ใดให้กลิ่นที่ดีที่สุด

เอกสารอ้างอิง

Amandine E., Philippe M., Manuella B., Aurelie R., Anne-Marie L., Fanny J., Ogier H. & Alain R. (2019). **Simultaneous determination of aromatic and chlorinated compounds in urine of exposed workers by dynamic headspace and gas chromatography coupled to mass spectrometry (dHS-GC–MS)**. Journal of Chromatography B, 1125, 121724

Attokaran M. (2017). **Natural Food Flavors and Colorants**. Second edition. Chichester: John Wiley & Sons Ltd,.

Averbeck M., & Schieberle P. H. (2009). **Characterisation of the key aroma compounds in a freshly reconstituted orange juice from concentrate**. European Food Research and Technology, 229(4), 611-622

Bagchi G. D. & Srivastava G. N. (2003). **Spices and flavouring crops-leaf and floral structures; fruits and seeds**. Food Technology and Nutrition, 5465-5477

Bory S., Da Silva D., Risterucci A.-M., Grisoni M., Besse P. & Duval M.-F. (2008). **Biodiversity and preservation of vanilla**: present state, 55, 551-571

Bory S., Da Silva D., Risterucci A.-M., Grisoni M., Besse P. & Duval M.-F. (2008). **Develop of microsatellite markers cultivated vanilla: Polymorphism and transferability to other vanilla species**. Scientia Horticulturae, 115, 420-425

Bulpitt C. J. (2005). **The uses and misuses of orchids in medicine**. Quarterly Journal of Medicine, 98, 625-631

Christel B., Francois-Xavier C., Sandra L. & Phila R. (2017). **Tahitian Vanilla *(Vanilla tahitensis)*: A Vanilla Species with Unique Features**. (Accessed 7 April 2020). https://www.intechopen.com/books/active-ingredients-from-aromatic-and-medicinal-plants/tahitian-vanilla-vanilla-tahitensis-a-vanilla-species-with-unique-features

Daphna H. & Faith C. B. (2011). **Handbook of Vanilla Science and Techology Second Edition**. 242-246

Douglas A. S., F. James Holler & Stanley R. C. (2016). **Applications of Molecular Mass Spectrometry**. Principles of Instrumental Analysis, 20, 501-533

Hafsa A., Rasheed A. K., Muhammad Asif H., Muhammad Adnan A. & Muhammad Idrees J., (2020). **Medicinal Plants of South Asia**, 48, 657-669

Itzamna B.-P. & Jose A. G.-B. (2017). **Vanilla (*Vanilla planifolia Andr.*) its residues and other industrial by-products for recovering high value flavor molecules**: A review. Journal of Applies Research on Medical and Aromatic Plants, 6, 1-9

Joaquin I.-G., Jose A. D., Francisco G. C.-F. & Henar M.-G. (2016). **Microscale Experiments**. Experimental Organic Chemistry, 11, 371-408

Jose A. M., Antonio J. M. & Sara P. (2019). **Fruit and Vegetable Texture: Role of Their Cell Walls**. Encyclopedia of Food Chemistry, 1-7

Kohan J. (2007). **Versatile vanilla**. Food in Canada, 67(8), 34-35

Krysztof N., Waliszewski, Ofelia M. & Violeta T. P. (2009). **Quantification and characterization of polyphenol oxidase from vanilla bean**. Food Chemistry, 117, 196-203

Machet J. J. (1821). **Le Confiseur Modern**. Libraire Rue des Marains

Margaret S. K. (2017). **The Art of Curing Vanilla Beans**. (Accessed 7 April 2020). https://www.cooksvanilla.com/the-art-of-curing-vanilla-beans/

Okigbo R. N., Anuagasi C. L. & Amadi E. (2009) **Advances in selected medicinal and aromatic plants indigenous to Africa**. Journal of Medicinal Plants Research, 3(2), 86-95

Orchidsasia. (2014). **Vanilla beans curing system**. (Accessed 7 April 2020). http://www.orchidsasia.com/vanillacuring.htm

Parita C. & Suntila T. (2018). **Comparison of microorganisms and activities of enzymes related to vanillin production from different methods of vanilla pod curing**, 14-22

Pérez-Silva A., Brat P., Odoux E. & Ribeyre F. (2006). **GC–MS and GC-olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia G. Jackson*) beans**. Food Chemistry, 99, 728-735

Pérez-Silva A., Gunata Z., Lepoutre J.P. & Odoux E. (2011). **New insight on the genesis and fate of odor- active compounds in vanilla beans (*Vanilla planifolia G. Jackson*) during Traditional curing**. Food Research International, 44, 2930-2937

Peter K. V. (2012). **Handbook of Herbs and Spices**. Volume 1. Second edition. India:

Woodhead

Ranadive A.-S. (1 9 9 4). **Vanilla-cultivation, curing, chemistry, technology and commercial produtcs**, In: Spices, Herbs and Edible Fungi, pp. 517-577

Reilly W. (2003). **Excipientes y otros productos para la elaboración farmacéutica**. 12th Edition. Volume 1

Renard P. (2003). **La cuisine au chocolat**. La renaissance du libre

Thitima W. & Pongphen J. (2013). **Vanilla Cultivation and Curing in Thailand**. (Accessed 7 April 2020). https://www.researchgate.net/publication/234059799_Vanilla_Cultivation_and_Curing_in_Thailand

Savart J. M. (2003). **Vanille et parfums**. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux, 142, 163-170

ภาคผนวก ก

ตัวอย่างแบบประเมินสำหรับการทดสอบเชิงพรรณนา

แบบทดสอบประสาทสัมผัสแบบพรรณนาเชิงปริมาณ

คำชี้แจง กรุณาทดสอบตัวอย่าต่อไปนี้ทีละตัวอย่าง เปรียบเทียบความเข้มของแต่ละคุณลักษณะกับตัวอย่างอ้างอิง แล้วทำเครื่องหมายเส้นตรงตามขวางตั้งฉากกับสเกลแนวนอนที่ให้ไว้ พร้อมเขียนรหัสตัวอย่างกำกับเพื่อแสดงความเข้มที่ปรากฏในแต่ลคุณลักษณะ

ชื่อ ..... อายุ .....

ชุดตัวอย่างที่ ..... (รหัส .....)

1. กลิ่นมาร์ชเมลโลว์

2. กลิ่นช็อคโกแลตสังเคราะห์

3. กลิ่นใบชาแห้ง

4. กลิ่นบิวยส้ม

5. กลิ่นบิวยเค็ม

6. กลิ่นบิวยแผ่น

7. กลิ่นกานพลู

8. กลิ่นช็อคโกแลตนม

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ตาราง ข.1 ผลทางสถิติของลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของฝักวานิลลาพันธุ์ *Vanilla planifolia* และ *Vanilla tahitensis*

กลิ่นมาร์ชเมลโลว์

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
type	1.00	mada A	12
	2.00	mada Ap	12
	3.00	bali indo	12
	4.00	chiang mai	12
	5.00	saraburi	12
	6.00	tahitian BB	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: marshmallow

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	56.398[a]	5	11.280	7.001	.000
Intercept	406.553	1	406.553	252.324	.000
type	56.398	5	11.280	7.001	.000
Error	106.342	66	1.611		
Total	569.292	72			
Corrected Total	162.739	71			

a. R Squared = .347 (Adjusted R Squared = .297)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: marshmallow

	(I) type	(J) type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	mada A	mada Ap	2.1750*	.51821	.000	1.1404	3.2096
		bali indo	1.7417*	.51821	.001	.7070	2.7763
		chiang mai	1.9750*	.51821	.000	.9404	3.0096
		saraburi	1.8417*	.51821	.001	.8070	2.8763
		tahitian BB	.1592	.51821	.760	-.8755	1.1938
	mada Ap	mada A	-2.1750*	.51821	.000	-3.2096	-1.1404
		bali indo	-.4333	.51821	.406	-1.4680	.6013
		chiang mai	-.2000	.51821	.701	-1.2346	.8346
		saraburi	-.3333	.51821	.522	-1.3680	.7013
		tahitian BB	-2.0158*	.51821	.000	-3.0505	-.9812
	bali indo	mada A	-1.7417*	.51821	.001	-2.7763	-.7070
		mada Ap	.4333	.51821	.406	-.6013	1.4680
		chiang mai	.2333	.51821	.654	-.8013	1.2680
		saraburi	.1000	.51821	.848	-.9346	1.1346
		tahitian BB	-1.5825*	.51821	.003	-2.6171	-.5479
	chiang mai	mada A	-1.9750*	.51821	.000	-3.0096	-.9404
		mada Ap	.2000	.51821	.701	-.8346	1.2346
		bali indo	-.2333	.51821	.654	-1.2680	.8013
		saraburi	-.1333	.51821	.798	-1.1680	.9013
		tahitian BB	-1.8158*	.51821	.001	-2.8505	-.7812
	saraburi	mada A	-1.8417*	.51821	.001	-2.8763	-.8070
		mada Ap	.3333	.51821	.522	-.7013	1.3680
		bali indo	-.1000	.51821	.848	-1.1346	.9346
		chiang mai	.1333	.51821	.798	-.9013	1.1680
		tahitian BB	-1.6825*	.51821	.002	-2.7171	-.6479
	tahitian BB	mada A	-.1592	.51821	.760	-1.1938	.8755
		mada Ap	2.0158*	.51821	.000	.9812	3.0505
		bali indo	1.5825*	.51821	.003	.5479	2.6171
		chiang mai	1.8158*	.51821	.001	.7812	2.8505
		saraburi	1.6825*	.51821	.002	.6479	2.7171

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.611.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

marshmallow

	type	N	Subset 1	Subset 2
Duncan[a,b]	mada Ap	12	1.5167	
	chiang mai	12	1.7167	
	saraburi	12	1.8500	
	bali indo	12	1.9500	
	tahitian BB	12		3.5325
	mada A	12		3.6917
	Sig.		.454	.760

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.611.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

กลิ่นช็อคโกแลตสังเคราะห์

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
type	1.00	mada A	12
	2.00	mada Ap	12
	3.00	bali indo	12
	4.00	chiang mai	12
	5.00	saraburi	12
	6.00	tahitian BB	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: chocoextract

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	90.083[a]	5	18.017	5.247	.000
Intercept	653.472	1	653.472	190.296	.000
type	90.083	5	18.017	5.247	.000
Error	226.643	66	3.434		
Total	970.197	72			
Corrected Total	316.726	71			

a. R Squared = .284 (Adjusted R Squared = .230)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: chocoextract

			Mean Difference			95% Confidence Interval	
	(I) type	(J) type	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
LSD	mada A	mada Ap	-1.2250	.75652	.110	-2.7355	.2855
		bali indo	.9333	.75652	.222	-.5771	2.4438
		chiang mai	-.7000	.75652	.358	-2.2105	.8105
		saraburi	-.4333	.75652	.569	-1.9438	1.0771
		tahitian BB	-2.7008*	.75652	.001	-4.2113	-1.1904
	mada Ap	mada A	1.2250	.75652	.110	-.2855	2.7355
		bali indo	2.1583*	.75652	.006	.6479	3.6688
		chiang mai	.5250	.75652	.490	-.9855	2.0355
		saraburi	.7917	.75652	.299	-.7188	2.3021
		tahitian BB	-1.4758	.75652	.055	-2.9863	.0346
	bali indo	mada A	-.9333	.75652	.222	-2.4438	.5771
		mada Ap	-2.1583*	.75652	.006	-3.6688	-.6479
		chiang mai	-1.6333*	.75652	.034	-3.1438	-.1229
		saraburi	-1.3667	.75652	.075	-2.8771	.1438
		tahitian BB	-3.6342*	.75652	.000	-5.1446	-2.1237
	chiang mai	mada A	.7000	.75652	.358	-.8105	2.2105
		mada Ap	-.5250	.75652	.490	-2.0355	.9855
		bali indo	1.6333*	.75652	.034	.1229	3.1438
		saraburi	.2667	.75652	.726	-1.2438	1.7771
		tahitian BB	-2.0008*	.75652	.010	-3.5113	-.4904
	saraburi	mada A	.4333	.75652	.569	-1.0771	1.9438
		mada Ap	-.7917	.75652	.299	-2.3021	.7188
		bali indo	1.3667	.75652	.075	-.1438	2.8771
		chiang mai	-.2667	.75652	.726	-1.7771	1.2438
		tahitian BB	-2.2675*	.75652	.004	-3.7780	-.7570
	tahitian BB	mada A	2.7008*	.75652	.001	1.1904	4.2113
		mada Ap	1.4758	.75652	.055	-.0346	2.9863
		bali indo	3.6342*	.75652	.000	2.1237	5.1446
		chiang mai	2.0008*	.75652	.010	.4904	3.5113
		saraburi	2.2675*	.75652	.004	.7570	3.7780

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3.434.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

chocoextract

	type	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
Duncan[a,b]	bali indo	12	1.3917		
	mada A	12	2.3250	2.3250	
	saraburi	12	2.7583	2.7583	
	chiang mai	12	3.0250	3.0250	
	mada Ap	12		3.5500	3.5500
	tahitian BB	12			5.0258
	Sig.		.051	.145	.055

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3.434.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

กลิ่นช็อกโกแลตนม

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
type	1.00	mada A	12
	2.00	mada Ap	12
	3.00	bali indo	12
	4.00	chiang mai	12
	5.00	saraburi	12
	6.00	tahitian BB	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: milkchoco

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	41.024[a]	5	8.205	6.236	.000
Intercept	232.309	1	232.309	176.559	.000
type	41.024	5	8.205	6.236	.000
Error	86.840	66	1.316		
Total	360.173	72			
Corrected Total	127.864	71			

a. R Squared = .321 (Adjusted R Squared = .269)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: milkchoco

	(I) type	(J) type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	mada A	mada Ap	.4458	.46829	.345	-.4891	1.3808
		bali indo	.9000	.46829	.059	-.0350	1.8350
		chiang mai	-.7250	.46829	.126	-1.6600	.2100
		saraburi	-.4000	.46829	.396	-1.3350	.5350
		tahitian BB	-1.3983*	.46829	.004	-2.3333	-.4634
	mada Ap	mada A	-.4458	.46829	.345	-1.3808	.4891
		bali indo	.4542	.46829	.336	-.4808	1.3891
		chiang mai	-1.1708*	.46829	.015	-2.1058	-.2359
		saraburi	-.8458	.46829	.075	-1.7808	.0891
		tahitian BB	-1.8442*	.46829	.000	-2.7791	-.9092
	bali indo	mada A	-.9000	.46829	.059	-1.8350	.0350
		mada Ap	-.4542	.46829	.336	-1.3891	.4808
		chiang mai	-1.6250*	.46829	.001	-2.5600	-.6900
		saraburi	-1.3000*	.46829	.007	-2.2350	-.3650
		tahitian BB	-2.2983*	.46829	.000	-3.2333	-1.3634
	chiang mai	mada A	.7250	.46829	.126	-.2100	1.6600
		mada Ap	1.1708*	.46829	.015	.2359	2.1058
		bali indo	1.6250*	.46829	.001	.6900	2.5600
		saraburi	.3250	.46829	.490	-.6100	1.2600
		tahitian BB	-.6733	.46829	.155	-1.6083	.2616
	saraburi	mada A	.4000	.46829	.396	-.5350	1.3350
		mada Ap	.8458	.46829	.075	-.0891	1.7808
		bali indo	1.3000*	.46829	.007	.3650	2.2350
		chiang mai	-.3250	.46829	.490	-1.2600	.6100
		tahitian BB	-.9983*	.46829	.037	-1.9333	-.0634
	tahitian BB	mada A	1.3983*	.46829	.004	.4634	2.3333
		mada Ap	1.8442*	.46829	.000	.9092	2.7791
		bali indo	2.2983*	.46829	.000	1.3634	3.2333
		chiang mai	.6733	.46829	.155	-.2616	1.6083
		saraburi	.9983*	.46829	.037	.0634	1.9333

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.316.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

milkchoco

	type	N	Subset 1	2	3	4
Duncan[a,b]	bali indo	12	.7000			
	mada Ap	12	1.1542	1.1542		
	mada A	12	1.6000	1.6000	1.6000	
	saraburi	12		2.0000	2.0000	
	chiang mai	12			2.3250	2.3250
	tahitian BB	12				2.9983
	Sig.		.073	.092	.149	.155

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.316.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

กลิ่นใบชาแห้ง

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
type	1.00	mada A	12
	2.00	mada Ap	12
	3.00	bali indo	12
	4.00	chiang mai	12
	5.00	saraburi	12
	6.00	tahitian BB	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: tea

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	23.062[a]	5	4.612	1.247	.298
Intercept	625.636	1	625.636	169.078	.000
type	23.062	5	4.612	1.247	.298
Error	244.219	66	3.700		
Total	892.917	72			
Corrected Total	267.281	71			

a. R Squared = .086 (Adjusted R Squared = .017)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: tea

	(I) type	(J) type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	mada A	mada Ap	-.0083	.78531	.992	-1.5763	1.5596
		bali indo	1.1333	.78531	.154	-.4346	2.7013
		chiang mai	-.7333	.78531	.354	-2.3013	.8346
		saraburi	-.2000	.78531	.800	-1.7679	1.3679
		tahitian BB	.3217	.78531	.683	-1.2463	1.8896
	mada Ap	mada A	.0083	.78531	.992	-1.5596	1.5763
		bali indo	1.1417	.78531	.151	-.4263	2.7096
		chiang mai	-.7250	.78531	.359	-2.2929	.8429
		saraburi	-.1917	.78531	.808	-1.7596	1.3763
		tahitian BB	.3300	.78531	.676	-1.2379	1.8979
	bali indo	mada A	-1.1333	.78531	.154	-2.7013	.4346
		mada Ap	-1.1417	.78531	.151	-2.7096	.4263
		chiang mai	-1.8667*	.78531	.020	-3.4346	-.2987
		saraburi	-1.3333	.78531	.094	-2.9013	.2346
		tahitian BB	-.8117	.78531	.305	-2.3796	.7563
	chiang mai	mada A	.7333	.78531	.354	-.8346	2.3013
		mada Ap	.7250	.78531	.359	-.8429	2.2929
		bali indo	1.8667*	.78531	.020	.2987	3.4346
		saraburi	.5333	.78531	.499	-1.0346	2.1013
		tahitian BB	1.0550	.78531	.184	-.5129	2.6229
	saraburi	mada A	.2000	.78531	.800	-1.3679	1.7679
		mada Ap	.1917	.78531	.808	-1.3763	1.7596
		bali indo	1.3333	.78531	.094	-.2346	2.9013
		chiang mai	-.5333	.78531	.499	-2.1013	1.0346
		tahitian BB	.5217	.78531	.509	-1.0463	2.0896
	tahitian BB	mada A	-.3217	.78531	.683	-1.8896	1.2463
		mada Ap	-.3300	.78531	.676	-1.8979	1.2379
		bali indo	.8117	.78531	.305	-.7563	2.3796
		chiang mai	-1.0550	.78531	.184	-2.6229	.5129
		saraburi	-.5217	.78531	.509	-2.0896	1.0463

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3.700.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

tea

			Subset	
	type	N	1	2
Duncan[a,b]	bali indo	12	1.9000	
	tahitian BB	12	2.7117	2.7117
	mada A	12	3.0333	3.0333
	mada Ap	12	3.0417	3.0417
	saraburi	12	3.2333	3.2333
	chiang mai	12		3.7667
	Sig.		.136	.239

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3.700.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

กลิ่นบ๊วยเปลือกส้ม

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
type	1.00	mada A	12
	2.00	mada Ap	12
	3.00	bali indo	12
	4.00	chiang mai	12
	5.00	saraburi	12
	6.00	tahitian BB	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: orange

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	55.852[a]	5	11.170	1.004	.422
Intercept	4037.410	1	4037.410	363.033	.000
type	55.852	5	11.170	1.004	.422
Error	734.008	66	11.121		
Total	4827.269	72			
Corrected Total	789.860	71			

a. R Squared = .071 (Adjusted R Squared = .000)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: orange

	(I) type	(J) type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	mada A	mada Ap	-.9750	1.36145	.476	-3.6932	1.7432
		bali indo	-1.1000	1.36145	.422	-3.8182	1.6182
		chiang mai	.6917	1.36145	.613	-2.0266	3.4099
		saraburi	-1.9417	1.36145	.159	-4.6599	.7766
		tahitian BB	-1.4050	1.36145	.306	-4.1232	1.3132
	mada Ap	mada A	.9750	1.36145	.476	-1.7432	3.6932
		bali indo	-.1250	1.36145	.927	-2.8432	2.5932
		chiang mai	1.6667	1.36145	.225	-1.0516	4.3849
		saraburi	-.9667	1.36145	.480	-3.6849	1.7516
		tahitian BB	-.4300	1.36145	.753	-3.1482	2.2882
	bali indo	mada A	1.1000	1.36145	.422	-1.6182	3.8182
		mada Ap	.1250	1.36145	.927	-2.5932	2.8432
		chiang mai	1.7917	1.36145	.193	-.9266	4.5099
		saraburi	-.8417	1.36145	.539	-3.5599	1.8766
		tahitian BB	-.3050	1.36145	.823	-3.0232	2.4132
	chiang mai	mada A	-.6917	1.36145	.613	-3.4099	2.0266
		mada Ap	-1.6667	1.36145	.225	-4.3849	1.0516
		bali indo	-1.7917	1.36145	.193	-4.5099	.9266
		saraburi	-2.6333	1.36145	.057	-5.3516	.0849
		tahitian BB	-2.0967	1.36145	.128	-4.8149	.6216
	saraburi	mada A	1.9417	1.36145	.159	-.7766	4.6599
		mada Ap	.9667	1.36145	.480	-1.7516	3.6849
		bali indo	.8417	1.36145	.539	-1.8766	3.5599
		chiang mai	2.6333	1.36145	.057	-.0849	5.3516
		tahitian BB	.5367	1.36145	.695	-2.1816	3.2549
	tahitian BB	mada A	1.4050	1.36145	.306	-1.3132	4.1232
		mada Ap	.4300	1.36145	.753	-2.2882	3.1482
		bali indo	.3050	1.36145	.823	-2.4132	3.0232
		chiang mai	2.0967	1.36145	.128	-.6216	4.8149
		saraburi	-.5367	1.36145	.695	-3.2549	2.1816

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 11.121.

orange

	type	N	Subset 1
Duncan[a,b]	chiang mai	12	6.0083
	mada A	12	6.7000
	mada Ap	12	7.6750
	bali indo	12	7.8000
	tahitian BB	12	8.1050
	saraburi	12	8.6417
	Sig.		.094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 11.121.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

กลิ่นบ๊วยเค็ม

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
type	1.00	mada A	12
	2.00	mada Ap	12
	3.00	bali indo	12
	4.00	chiang mai	12
	5.00	saraburi	12
	6.00	tahitian BB	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: salted

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	216.075[a]	5	43.215	.602	.699
Intercept	5817.249	1	5817.249	80.980	.000
type	216.075	5	43.215	.602	.699
Error	4741.149	66	71.836		
Total	10774.473	72			
Corrected Total	4957.224	71			

a. R Squared = .044 (Adjusted R Squared = -.029)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: salted

	(I) type	(J) type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	mada A	mada Ap	-1.3750	3.46014	.692	-8.2834	5.5334
		bali indo	1.2583	3.46014	.717	-5.6501	8.1667
		chiang mai	-3.4667	3.46014	.320	-10.3751	3.4417
		saraburi	.2500	3.46014	.943	-6.6584	7.1584
		tahitian BB	1.7017	3.46014	.624	-5.2067	8.6101
	mada Ap	mada A	1.3750	3.46014	.692	-5.5334	8.2834
		bali indo	2.6333	3.46014	.449	-4.2751	9.5417
		chiang mai	-2.0917	3.46014	.548	-9.0001	4.8167
		saraburi	1.6250	3.46014	.640	-5.2834	8.5334
		tahitian BB	3.0767	3.46014	.377	-3.8317	9.9851
	bali indo	mada A	-1.2583	3.46014	.717	-8.1667	5.6501
		mada Ap	-2.6333	3.46014	.449	-9.5417	4.2751
		chiang mai	-4.7250	3.46014	.177	-11.6334	2.1834
		saraburi	-1.0083	3.46014	.772	-7.9167	5.9001
		tahitian BB	.4433	3.46014	.898	-6.4651	7.3517
	chiang mai	mada A	3.4667	3.46014	.320	-3.4417	10.3751
		mada Ap	2.0917	3.46014	.548	-4.8167	9.0001
		bali indo	4.7250	3.46014	.177	-2.1834	11.6334
		saraburi	3.7167	3.46014	.287	-3.1917	10.6251
		tahitian BB	5.1683	3.46014	.140	-1.7401	12.0767
	saraburi	mada A	-.2500	3.46014	.943	-7.1584	6.6584
		mada Ap	-1.6250	3.46014	.640	-8.5334	5.2834
		bali indo	1.0083	3.46014	.772	-5.9001	7.9167
		chiang mai	-3.7167	3.46014	.287	-10.6251	3.1917
		tahitian BB	1.4517	3.46014	.676	-5.4567	8.3601
	tahitian BB	mada A	-1.7017	3.46014	.624	-8.6101	5.2067
		mada Ap	-3.0767	3.46014	.377	-9.9851	3.8317
		bali indo	-.4433	3.46014	.898	-7.3517	6.4651
		chiang mai	-5.1683	3.46014	.140	-12.0767	1.7401
		saraburi	-1.4517	3.46014	.676	-8.3601	5.4567

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 71.836.

salted

	type	N	Subset 1
Duncan[a,b]	tahitian BB	12	7.0150
	bali indo	12	7.4583
	saraburi	12	8.4667
	mada A	12	8.7167
	mada Ap	12	10.0917
	chiang mai	12	12.1833
	Sig.		.199

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 71.836.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

กลิ่นบ๊วยแผ่น

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
type	1.00	mada A	12
	2.00	mada Ap	12
	3.00	bali indo	12
	4.00	chiang mai	12
	5.00	saraburi	12
	6.00	tahitian BB	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sheet

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	202.498[a]	5	40.500	6.282	.000
Intercept	3527.580	1	3527.580	547.178	.000
type	202.498	5	40.500	6.282	.000
Error	425.493	66	6.447		
Total	4155.571	72			
Corrected Total	627.991	71			

a. R Squared = .322 (Adjusted R Squared = .271)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sheet

	(I) type	(J) type	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	mada A	mada Ap	-1.3667	1.03657	.192	-3.4362	.7029
		bali indo	-2.4667*	1.03657	.020	-4.5362	-.3971
		chiang mai	-2.8333*	1.03657	.008	-4.9029	-.7638
		saraburi	-1.8250	1.03657	.083	-3.8946	.2446
		tahitian BB	2.0942*	1.03657	.047	.0246	4.1637
	mada Ap	mada A	1.3667	1.03657	.192	-.7029	3.4362
		bali indo	-1.1000	1.03657	.292	-3.1696	.9696
		chiang mai	-1.4667	1.03657	.162	-3.5362	.6029
		saraburi	-.4583	1.03657	.660	-2.5279	1.6112
		tahitian BB	3.4608*	1.03657	.001	1.3913	5.5304
	bali indo	mada A	2.4667*	1.03657	.020	.3971	4.5362
		mada Ap	1.1000	1.03657	.292	-.9696	3.1696
		chiang mai	-.3667	1.03657	.725	-2.4362	1.7029
		saraburi	.6417	1.03657	.538	-1.4279	2.7112
		tahitian BB	4.5608*	1.03657	.000	2.4913	6.6304
	chiang mai	mada A	2.8333*	1.03657	.008	.7638	4.9029
		mada Ap	1.4667	1.03657	.162	-.6029	3.5362
		bali indo	.3667	1.03657	.725	-1.7029	2.4362
		saraburi	1.0083	1.03657	.334	-1.0612	3.0779
		tahitian BB	4.9275*	1.03657	.000	2.8579	6.9971
	saraburi	mada A	1.8250	1.03657	.083	-.2446	3.8946
		mada Ap	.4583	1.03657	.660	-1.6112	2.5279
		bali indo	-.6417	1.03657	.538	-2.7112	1.4279
		chiang mai	-1.0083	1.03657	.334	-3.0779	1.0612
		tahitian BB	3.9192*	1.03657	.000	1.8496	5.9887
	tahitian BB	mada A	-2.0942*	1.03657	.047	-4.1637	-.0246
		mada Ap	-3.4608*	1.03657	.001	-5.5304	-1.3913
		bali indo	-4.5608*	1.03657	.000	-6.6304	-2.4913
		chiang mai	-4.9275*	1.03657	.000	-6.9971	-2.8579
		saraburi	-3.9192*	1.03657	.000	-5.9887	-1.8496

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6.447.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

sheet

	type	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
Duncan[a,b]	tahitian BB	12	3.8392		
	mada A	12		5.9333	
	mada Ap	12		7.3000	7.3000
	saraburi	12		7.7583	7.7583
	bali indo	12			8.4000
	chiang mai	12			8.7667
	Sig.		1.000	.100	.203

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6.447.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

กลิ่นกานพลู

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
type	1.00	mada A	12
	2.00	mada Ap	12
	3.00	bali indo	12
	4.00	chiang mai	12
	5.00	saraburi	12
	6.00	tahitian BB	12

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: clove

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	150.497[a]	5	30.099	4.949	.001
Intercept	3313.658	1	3313.658	544.791	.000
type	150.497	5	30.099	4.949	.001
Error	401.441	66	6.082		
Total	3865.596	72			
Corrected Total	551.938	71			

a. R Squared = .273 (Adjusted R Squared = .218)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: clove

			Mean Difference			95% Confidence Interval	
	(I) type	(J) type	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
LSD	mada A	mada Ap	-.1000	1.00685	.921	-2.1102	1.9102
		bali indo	2.9083*	1.00685	.005	.8981	4.9186
		chiang mai	2.3917*	1.00685	.020	.3814	4.4019
		saraburi	.7417	1.00685	.464	-1.2686	2.7519
		tahitian BB	3.6042*	1.00685	.001	1.5939	5.6144
	mada Ap	mada A	.1000	1.00685	.921	-1.9102	2.1102
		bali indo	3.0083*	1.00685	.004	.9981	5.0186
		chiang mai	2.4917*	1.00685	.016	.4814	4.5019
		saraburi	.8417	1.00685	.406	-1.1686	2.8519
		tahitian BB	3.7042*	1.00685	.000	1.6939	5.7144
	bali indo	mada A	-2.9083*	1.00685	.005	-4.9186	-.8981
		mada Ap	-3.0083*	1.00685	.004	-5.0186	-.9981
		chiang mai	-.5167	1.00685	.610	-2.5269	1.4936
		saraburi	-2.1667*	1.00685	.035	-4.1769	-.1564
		tahitian BB	.6958	1.00685	.492	-1.3144	2.7061
	chiang mai	mada A	-2.3917*	1.00685	.020	-4.4019	-.3814
		mada Ap	-2.4917*	1.00685	.016	-4.5019	-.4814
		bali indo	.5167	1.00685	.610	-1.4936	2.5269
		saraburi	-1.6500	1.00685	.106	-3.6602	.3602
		tahitian BB	1.2125	1.00685	.233	-.7977	3.2227
	saraburi	mada A	-.7417	1.00685	.464	-2.7519	1.2686
		mada Ap	-.8417	1.00685	.406	-2.8519	1.1686
		bali indo	2.1667*	1.00685	.035	.1564	4.1769
		chiang mai	1.6500	1.00685	.106	-.3602	3.6602
		tahitian BB	2.8625*	1.00685	.006	.8523	4.8727
	tahitian BB	mada A	-3.6042*	1.00685	.001	-5.6144	-1.5939
		mada Ap	-3.7042*	1.00685	.000	-5.7144	-1.6939
		bali indo	-.6958	1.00685	.492	-2.7061	1.3144
		chiang mai	-1.2125	1.00685	.233	-3.2227	.7977
		saraburi	-2.8625*	1.00685	.006	-4.8727	-.8523

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6.082.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

clove

	type	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
Duncan[a,b]	tahitian BB	12	4.7708		
	bali indo	12	5.4667		
	chiang mai	12	5.9833	5.9833	
	saraburi	12		7.6333	7.6333
	mada A	12			8.3750
	mada Ap	12			8.4750
	Sig.		.262	.106	.436

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6.082.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) stages	(J) stages	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
L	LSD	fresh beans	after killing	16.96778*	.57753	.000	15.8005	18.1350
			after sweating	28.28000*	.57753	.000	27.1128	29.4472
			after drying	34.55000*	.57753	.000	33.3828	35.7172
			after conditioning	37.11778*	.57753	.000	35.9505	38.2850
		after killing	fresh beans	-16.96778*	.57753	.000	-18.1350	-15.8005
			after sweating	11.31222*	.57753	.000	10.1450	12.4795
			after drying	17.58222*	.57753	.000	16.4150	18.7495
			after conditioning	20.15000*	.57753	.000	18.9828	21.3172
		after sweating	fresh beans	-28.28000*	.57753	.000	-29.4472	-27.1128
			after killing	-11.31222*	.57753	.000	-12.4795	-10.1450
			after drying	6.27000*	.57753	.000	5.1028	7.4372
			after conditioning	8.83778*	.57753	.000	7.6705	10.0050
		after drying	fresh beans	-34.55000*	.57753	.000	-35.7172	-33.3828
			after killing	-17.58222*	.57753	.000	-18.7495	-16.4150
			after sweating	-6.27000*	.57753	.000	-7.4372	-5.1028
			after conditioning	2.56778*	.57753	.000	1.4005	3.7350
		after conditioning	fresh beans	-37.11778*	.57753	.000	-38.2850	-35.9505
			after killing	-20.15000*	.57753	.000	-21.3172	-18.9828
			after sweating	-8.83778*	.57753	.000	-10.0050	-7.6705
			after drying	-2.56778*	.57753	.000	-3.7350	-1.4005
a	LSD	fresh beans	after killing	-14.03667*	.28569	.000	-14.6141	-13.4593
			after sweating	-27.32889*	.28569	.000	-27.9063	-26.7515
			after drying	-27.44667*	.28569	.000	-28.0241	-26.8693
			after conditioning	-27.92444*	.28569	.000	-28.5018	-27.3470
		after killing	fresh beans	14.03667*	.28569	.000	13.4593	14.6141
			after sweating	-13.29222*	.28569	.000	-13.8696	-12.7148
			after drying	-13.41000*	.28569	.000	-13.9874	-12.8326
			after conditioning	-13.88778*	.28569	.000	-14.4652	-13.3104
		after sweating	fresh beans	27.32889*	.28569	.000	26.7515	27.9063
			after killing	13.29222*	.28569	.000	12.7148	13.8696
			after drying	-.11778	.28569	.682	-.6952	.4596
			after conditioning	-.59556*	.28569	.044	-1.1730	-.0182
		after drying	fresh beans	27.44667*	.28569	.000	26.8693	28.0241
			after killing	13.41000*	.28569	.000	12.8326	13.9874
			after sweating	.11778	.28569	.682	-.4596	.6952
			after conditioning	-.47778	.28569	.102	-1.0552	.0996
		after conditioning	fresh beans	27.92444*	.28569	.000	27.3470	28.5018
			after killing	13.88778*	.28569	.000	13.3104	14.4652
			after sweating	.59556*	.28569	.044	.0182	1.1730
			after drying	.47778	.28569	.102	-.0996	1.0552

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

L

	stages	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan[a]	after conditioning	9	10.0800				
	after drying	9		12.6478			
	after sweating	9			18.9178		
	after killing	9				30.2300	
	fresh beans	9					47.1978
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

a

	stages	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan[a]	fresh beans	9	-17.4633		
	after killing	9		-3.4267	
	after sweating	9			9.8656
	after drying	9			9.9833
	after conditioning	9			10.4611
	Sig.		1.000	1.000	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

Oneway

[DataSet1]

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
L	fresh beans	9	38.3489	2.04278	.68093	36.7787	39.9191	35.25	41.61
	killing	9	24.3967	1.45108	.48369	23.2813	25.5121	22.34	27.28
	sweating	9	21.3000	4.76241	1.58747	17.6393	24.9607	16.45	32.80
	drying	9	22.5522	4.06644	1.35548	19.4265	25.6780	19.08	31.84
	conditioning	9	24.4689	4.20076	1.40025	21.2399	27.6979	20.22	32.47
	Total	45	26.2133	7.11204	1.06020	24.0766	28.3500	16.45	41.61
a	fresh beans	9	-5.5567	.34033	.11344	-5.8183	-5.2951	-5.99	-5.11
	killing	9	4.5644	.60326	.20109	4.1007	5.0282	3.98	5.78
	sweating	9	3.0411	2.16338	.72113	1.3782	4.7040	1.45	8.52
	drying	9	2.7533	1.20048	.40016	1.8306	3.6761	1.36	4.82
	conditioning	9	3.9133	1.00946	.33649	3.1374	4.6893	2.02	5.79
	Total	45	1.7431	3.92810	.58557	.5630	2.9232	-5.99	8.52

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
L	Between Groups	1720.437	4	430.109	34.059	.000
	Within Groups	505.131	40	12.628		
	Total	2225.568	44			
a	Between Groups	617.957	4	154.489	101.369	.000
	Within Groups	60.961	40	1.524		
	Total	678.918	44			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) stages	(J) stages	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
L	LSD	fresh beans	killing	13.95222*	1.67520	.000	10.5665	17.3379
			sweating	17.04889*	1.67520	.000	13.6632	20.4346
			drying	15.79667*	1.67520	.000	12.4110	19.1824
			conditioning	13.88000*	1.67520	.000	10.4943	17.2657
		killing	fresh beans	-13.95222*	1.67520	.000	-17.3379	-10.5665
			sweating	3.09667	1.67520	.072	-.2890	6.4824
			drying	1.84444	1.67520	.277	-1.5413	5.2301
			conditioning	-.07222	1.67520	.966	-3.4579	3.3135
		sweating	fresh beans	-17.04889*	1.67520	.000	-20.4346	-13.6632
			killing	-3.09667	1.67520	.072	-6.4824	.2890
			drying	-1.25222	1.67520	.459	-4.6379	2.1335
			conditioning	-3.16889	1.67520	.066	-6.5546	.2168
		drying	fresh beans	-15.79667*	1.67520	.000	-19.1824	-12.4110
			killing	-1.84444	1.67520	.277	-5.2301	1.5413
			sweating	1.25222	1.67520	.459	-2.1335	4.6379
			conditioning	-1.91667	1.67520	.259	-5.3024	1.4690
		conditioning	fresh beans	-13.88000*	1.67520	.000	-17.2657	-10.4943
			killing	.07222	1.67520	.966	-3.3135	3.4579
			sweating	3.16889	1.67520	.066	-.2168	6.5546
			drying	1.91667	1.67520	.259	-1.4690	5.3024
a	LSD	fresh beans	killing	-10.12111*	.58196	.000	-11.2973	-8.9449
			sweating	-8.59778*	.58196	.000	-9.7740	-7.4216
			drying	-8.31000*	.58196	.000	-9.4862	-7.1338
			conditioning	-9.47000*	.58196	.000	-10.6462	-8.2938
		killing	fresh beans	10.12111*	.58196	.000	8.9449	11.2973
			sweating	1.52333*	.58196	.012	.3472	2.6995
			drying	1.81111*	.58196	.003	.6349	2.9873
			conditioning	.65111	.58196	.270	-.5251	1.8273
		sweating	fresh beans	8.59778*	.58196	.000	7.4216	9.7740
			killing	-1.52333*	.58196	.012	-2.6995	-.3472
			drying	.28778	.58196	.624	-.8884	1.4640
			conditioning	-.87222	.58196	.142	-2.0484	.3040
		drying	fresh beans	8.31000*	.58196	.000	7.1338	9.4862
			killing	-1.81111*	.58196	.003	-2.9873	-.6349
			sweating	-.28778	.58196	.624	-1.4640	.8884
			conditioning	-1.16000	.58196	.053	-2.3362	.0162
		conditioning	fresh beans	9.47000*	.58196	.000	8.2938	10.6462
			killing	-.65111	.58196	.270	-1.8273	.5251
			sweating	.87222	.58196	.142	-.3040	2.0484
			drying	1.16000	.58196	.053	-.0162	2.3362

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

L

	stages	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan[a]	sweating	9	21.3000	
	drying	9	22.5522	
	killing	9	24.3967	
	conditioning	9	24.4689	
	fresh beans	9		38.3489
	Sig.		.091	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

a

	stages	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan[a]	fresh beans	9	-5.5567		
	drying	9		2.7533	
	sweating	9		3.0411	
	conditioning	9		3.9133	3.9133
	killing	9			4.5644
	Sig.		1.000	.066	.270

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาววรรษมน พรรณรัตนพงศ์
ตำแหน่ง	หัวหน้าโครงการ
วุฒิการศึกษา	วท. บ. (เทคโนโลยีทางอาหาร)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2562
โทรศัพท์	086-3758525
E-mail	bambam8_88@hotmail.com

ชื่อ-สกุล	นางสาวกัญญาพัชร์ ธนาพัชรพงศ์
ตำแหน่ง	ผู้วิจัยร่วม
วุฒิการศึกษา	วท. บ. (เทคโนโลยีทางอาหาร)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2562
โทรศัพท์	090-9845883
E-mail	benzhunhun@gmail.com