โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การเปรียบเทียบสารให้กลิ่นจากกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ
Comparison of aroma-active compounds from different cultivars of bananas

ชื่อนิสิต นางสาวภาสวัณ คูหา

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเปรียบเทียบสารให้กลิ่นจากกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ

Comparison of aroma-active compounds from different cultivars of bananas

โดย

นางสาวภาสวัณ คูหา

รายงานนี้เป็นสวนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

โครงการ การเปรียบเทียบสารให้กลิ่นจากกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ

โดย นางสาวภาสวัณ คูหา

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนิษฐ์ ปราณีนรารัตน์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. มนพิชา ศรีสะอาด)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ ..... เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ☑ ดีมาก ☐ ดี ☐ พอใช้

ชื่อโครงการ การเปรียบเทียบสารให้กลิ่นจากกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวภาสวัณ คูหา เลขประจำตัว 5733139123
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนิษฐ์ ปราณีนรารัตน์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

กล้วยเป็นพืชที่นิยมบริโภคในประเทศไทยเป็นอย่างมาก จากงานวิจัยในประเทศไทยที่ผ่านมามีเพียง 1 กลุ่มงานวิจัยที่ศึกษาองค์ประกอบของสารให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง ซึ่งกลิ่นของกล้วยเป็นปัจจัยสำคัญในการบอกคุณลักษณะและคุณภาพของกล้วย งานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะระบุสารสำคัญที่มีผลต่อกลิ่นของกล้วย โดยศึกษาองค์ประกอบของสารระเหยและสารให้กลิ่นของกล้วยที่แตกต่างกัน 3 สายพันธุ์ พบว่าการศึกษาองค์ประกอบของสารระเหยในผลกล้วย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า โดยใช้เทคนิค Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) และเทคนิค Gas-chromatography- Mass-spectrometry (GC-MS) ในการวิเคราะห์ พบสารระเหยทั้งหมด 41, 39, และ 14 สาร (สารส่วนใหญ่เป็นสารประกอบในกลุ่ม ester) รวมทั้งใช้เทคนิค Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O) ในการวิเคราะห์สารให้กลิ่น พบสารให้กลิ่นทั้งหมด 23, 11, และ 5 สาร จากการระบุสารให้กลิ่นจะพบว่ากล้วยหอมทองพบสารให้กลิ่นมากที่สุด จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่ศึกษาสารระเหยให้กลิ่นในกล้วยหอมทองในเชิงลึกขึ้น นั่นคือ การศึกษาผลความแรงของกลิ่นแต่ละชนิดที่รับรู้ได้ พบว่า สารระเหยให้กลิ่นหลักในกล้วยหอมทองมีทั้งหมด 10 สาร ได้แก่ 3-methylbutan-1-ol, isobutyl acetate, ethyl butanoate, isopentyl acetate, isobutyl butanoate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, (E)-hex-4-en-1-yl-butyrate, hexyl butanoate, และ 4-allyl-2-methoxyphenol นอกจากนี้สามารถจัดกลุ่มสารให้กลิ่นในกล้วยหอมทองได้ทั้งหมด 7 กลุ่ม โดยกลิ่นหลักเป็นกลุ่มของ กลิ่นผลไม้ และกลุ่มอื่น ๆ ได้แก่ กลิ่นจากการปรุง, กลิ่นหญ้า, กลิ่นเครื่องเทศ, กลิ่นสมุนไพร, กลิ่นเห็ดหอม และกลิ่นดอกไม้

คำสำคัญ: กล้วยหอมทอง, กล้วยไข่, กล้วยน้ำว้า, HS-SPME, GC-MS, GC-O, สารระเหยให้กลิ่น

Project Title Comparison of aroma-active compounds from different cultivars of bananas

Student Name Miss Passawan Koohar Student ID 5733139123

Advisor Name Assistant Professor Dr. Thanit Praneenararat

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

Banana is a widely consumed fruit in Thailand. However, there is only one research group in Thailand that studied the composition of volatile compounds from Hom Thong banana. The aroma is one of the most important factors determining the character and the quality of bananas. In this project, the researcher would like to identify aroma compounds in bananas from different cultivars: including Hom Thong banana, Khai banana, and Namwa banana. Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas-chromatography – mass-spectrometry (GC-MS) were used for the analysis. 41, 39, and 14 volatile compounds were found in each type of Hom Thong banana, Khai banana, and Namwa banana, respectively. Most of these compounds are esters. Additionally, gas chromatography-olfactometry (GC-O) was used to analyze aroma-active compounds and 23, 11, and 5 aroma-active compounds were identified, respectively. Hom Thong banana was selected for further studies as it contains the greatest number of odor compounds, one of which is the effect of the intensity of each odor on the perception. The results showed that 10 principal aroma-active compounds in Hom Thong banana were identified, including, 3-methylbutan-1-ol, isobutyl acetate, ethyl butanoate, isopentyl acetate, isobutyl butanoate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, (E)-hex-4-en-1-yl-butyrate, hexyl butanoate, and 4-allyl-2-methoxyphenol. Finally, the aroma profile can be organized into 7 groups in which aroma profiling indicated that the most intense aroma category was fruity, followed by ethereal, green, spices, herbal, mushroom, and floral.

Keywords: Hom Thong banana, Khai banana, Namwa banana, HS-SPME, GC-MS, GC-O, aroma-active compound.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนิษฐ์ ปราณีนรารัตน์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา ให้ความรู้ และให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนปรับปรุงข้อบกพร่องต่าง ๆ ในงานวิจัย และรายงานฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร และอาจารย์ ดร. มนพิชา ศรีสะอาด ที่ยินดีเสียสละเวลาอันมีค่า และกรุณาให้เกียรติเป็นประธาน และกรรมการสอบงานวิจัยครั้งนี้ รวมถึงให้คำแนะนำ และข้อสงสัย ตลอดจนตรวจสอบแก้ไขให้รายงานฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณพี่ ๆ ในห้องปฏิบัติการ TP lab ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำสำหรับการทำงานในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนคอยสนับสนุนและช่วยแก้ไขปัญหาต่าง ๆ จนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง พี่มนรวัส รวยธนพานิช พี่จุฑามาศ ปราบพาล และพี่สุรเศรษฐ์ สุรฤทธิ์เดชาชัย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ ครอบครัว และเพื่อน ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ และเป็นกำลังใจให้ผู้วิจัยอยู่เสมอ จึงทำให้ผู้วิจัยมีแรงผลักดันในการทำวิจัยและประสบความสำเร็จในที่สุด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฌ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	3
1.2.1 เทคนิค Gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS)	3
1.2.1.1 หลักการของ Gas chromatography	3
1.2.1.2 หลักการของ Mass spectrometry	4
1.2.2 เทคนิค Headspace Solid-phase microextraction (HS-SPME)	6
1.2.3 เทคนิค GC-Olfactometry	8
1.2.4 การรับรู้กลิ่นของมนุษย์	8
บทที่ 2 การทดลอง	10
2.1 สารเคมี	10
2.2 กล้วย	10
2.3 วัสดุ เครื่องมือ และวิธีการทดลอง	11
2.3.1 การเตรียมตัวอย่างกล้วย	11
2.3.2 การวิเคราะห์และระบุสารระเหยของกล้วย (Volatile compound) โดยใช้เทคนิค Solid-phase microextraction ร่วมกับ Gas chromatography (SPME-GC-MS)	11
2.3.3 การระบุสารระเหยที่ให้กลิ่นของกล้วย (aroma-active compound) โดยใช้เทคนิค Gas chromatography-Mass spectrometry/Olfactometry (GC-MS/O)	12
2.4 การสังเคราะห์สารประกอบที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง	13
2.4.1 การสังเคราะห์ isobutyl butanoate, ethyl butanoate, และ hexyl butanoate	13

2.4.2 การสังเคราะห์ Isobutyl acetate และ Isopentyl acetate 14
2.5 วิเคราะห์สารที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิค Proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) 14
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 17
3.1 วิเคราะห์และเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารระเหยในกล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า โดยใช้เทคนิค HS-SPME ร่วมกับ GC-MS ในการวิเคราะห์ 17
3.2 การระบุสารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า โดยใช้เทคนิค HS-SPME ร่วมกับ GC-MS/O ในการวิเคราะห์ 29
3.3 การอธิบายกลิ่นของสารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมและการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นที่น้ำหนักแตกต่างกันของกล้วย ผ่านผู้วิเคราะห์กลิ่นจำนวน 3 คน โดยใช้เทคนิค HS-SPME ร่วมกับ GC-MS/O ในการวิเคราะห์ 32
3.4 การสังเคราะห์สารประกอบที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง 36
3.4.1 สังเคราะห์ isobutyl butanoate, ethyl butanoate, และ hexyl butanoate 36
3.4.2 สังเคราะห์ isobutyl acetate และ isopentyl acetate 37
3.5 การระบุวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) 38
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 44
เอกสารอ้างอิง 45
ประวัติผู้วิจัย 47

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 3.1 Retention time (นาที) ของสารมาตรฐาน C_6-C_{16} 18

ตาราง 3.2 แสดง retention time (นาที) สารระเหยในกล้วยหอมทอง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS 18

ตาราง 3.3 แสดง retention time (นาที) สารระเหยในกล้วยไข่ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS 21

ตาราง 3.4 แสดง retention time (นาที) สารระเหยในกล้วยน้ำว้า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS 23

ตาราง 3.5 เปรียบเทียบองค์ประกอบของสารระเหยในกล้วย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ 25

ตาราง 3.6 เปรียบเทียบสารระเหยที่ให้กลิ่นของกล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS/O 31

ตาราง 3.6 เปรียบเทียบสารระเหยที่ให้กลิ่นของกล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS/O 32

ตาราง 3.7 แสดงจำนวนของผู้ดมกลิ่น จากสารระเหยที่ให้กลิ่นของกล้วยหอมทองที่น้ำหนักที่แตกต่างกันของกล้วย ผ่านผู้วิเคราะห์กลิ่นจำนวน 3 คน 34

สารบัญรูป

หน้า

รูป 1.1 แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง gas chromatography 3
รูป 1.2 ตัวอย่าง chromatogram ของสารที่ถูกแยก ด้วยเทคนิค GC 4
รูป 1.3 แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง mass spectrometer 5
รูป 1.4 ตัวอย่าง mass spectrum ของสารที่วิเคราะห์ ด้วยเทคนิค MS 5
รูป 1.5 องค์ประกอบของเครื่องมือ Gas chromatography-Mass spectrometry 6
รูป 1.6 แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค SPME 7
รูป 1.7 แสดงภาพขยายองค์ประกอบพื้นฐานของเครื่องมือ SPME 7
รูป 1.8 หลักการวิเคราะห์ด้วย GC-Olfactometry ร่วมกับ GC-MS 8
รูป 1.9 แสดงกลไกการรับรู้กลิ่นของมนุษย์ 9
รูป 2.1 ลักษณะรูปร่างของกล้วยแต่ละสายพันธุ์ (จากซ้ายไปขวา: กล้วยหอมทอง, กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่) 11
รูป 2.2 ลักษณะกล้วยบดละเอียดที่บรรจุลง vial 11
รูป 3.1 GC-MS Chromatogram ของกล้วยหอมทอง 15
รูป 3.2 GC-MS Chromatogram ของกล้วยไข่ 16
รูป 3.3 GC-MS Chromatogram ของกล้วยน้ำว้า 16
รูป 3.4 GC-MS Chromatogram ของสารมาตรฐาน C_6-C_{16} 17
รูป 3.5 แผนภาพจำนวนสารระเหยที่พบในกล้วยแต่ละสายพันธุ์ 24
รูป 3.6 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา Acylation of alcohols with acid anhydrides 36
รูป 3.7 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา Fischer esterification 37
รูป 3.8 ^{1}H NMR spectrum ของ isobutyl butanoate 39
รูป 3.9 ^{1}H NMR spectrum ของ ethyl butanoate 40
รูป 3.10 ^{1}H NMR spectrum ของ hexyl butanoate 41
รูป 3.11 ^{1}H NMR spectrum ของ isobutyl acetate 42
รูป 3.12 ^{1}H NMR spectrum ของ isopentyl acetate 43

สัญลักษณ์และคำย่อ

^{1}H NMR	Proton nuclear magnetic resonance
$CDCl_3$	Deuterated chloroform
CH_2Cl_2	Dichloromethane
CI	Chemical ionization
D.I.	Deionized
DMAP	4-Dimethylaminopyridine
EI	Electron ionization
GC	Gas chromatography
GC-O	GC-Olfactometry
HS-SPME	Headspace solid-phase microextraction
LRI	Linear retention index
MS	Mass spectrometry
m/z	Mass-to-charge ratio
Na_2SO_4	Sodium sulfate
NaOH	Sodium hydroxide
OAV	Odor activity value
R_t	Retention time
RTL	Retention Time Locked

บทที่ 1
การทดลอง

1.1 ความเป็นมาและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กล้วยเป็นผลไม้เขตร้อน เป็นพืชที่ปลูกง่าย โตเร็ว และให้ผลตลอดปี กล้วยจึงเป็นหนึ่งในพืชอาหารชั้นนำของโลกรองจากข้าว ข้าวสาลี และข้าวโพด[1] ซึ่งทางด้านเศรษฐกิจกล้วยจัดเป็นพืชอาหารอันดับที่ 5 ของโลกรองจาก กาแฟ ธัญพืช น้ำตาล และโกโก้ ปัจจุบันมีการปลูกกล้วยอย่างกว้างขวางมากกว่า 130 ประเทศทั่วโลก โดยมีศูนย์กลางของการกำเนิดในแถบทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้[2]

ประเทศไทยเป็นแหล่งพันธุกรรมกล้วยหลากหลายชนิดจึงมีกล้วยป่าและกล้วยปลูกอยู่ทั่วไป โดยเฉพาะกล้วยที่สามารถรับประทานได้ (ไม่รวมกล้วยป่า) อาจมีมากกว่า 50 ชนิด ที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย เช่น กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม กล้วยไข่ กล้วยหักมุก กล้วยเล็บมือนาง ส่วนกล้วยชนิดอื่น ๆ อาจเป็นที่รู้จักเฉพาะในท้องถิ่นเท่านั้น เช่น ทางภาคใต้ ได้แก่ กล้วยนางพญา กล้วยหิน กล้วยสา กล้วยไล ทางภาคตะวันตก ได้แก่ กล้วยนมสาว กล้วยหอมกะเหรี่ยง ทางภาคอีสาน ได้แก่ กล้วยหอมทองสั้น กล้วยนวล และทางภาคเหนือ ได้แก่ กล้วยน้ำนม และ กล้วยหอมจันทร์ เป็นต้น[3] ทั้งยังมีความผูกพันกับคนไทยตั้งแต่ช่วงวัยแรกของชีวิตจนถึงวาระสุดท้ายของชีวิต เนื่องจากสามารถใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน ตั้งแต่ใช้เป็นอาหาร ใช้ทำเครื่องมือเครื่องใช้ เป็นเส้นใยสิ่งทอ เป็นสมุนไพร และอุปกรณ์ทางการแพทย์ และยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปอาหาร สร้างรายได้ให้กับคนไทยและประเทศไทย

กล้วยอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ สารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน ใยอาหารและแร่ธาตุ มีประโยชน์ในการรักษาโรคระบบทางเดินอาหารและลำไส้ รวมทั้งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย การรับประทานกล้วยจะช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดและระดับคลอเลสเตอรอลและยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายในด้านต่าง ๆ อีกมากมาย[2]

กล้วยเป็นพืชที่ได้รับความนิยมในการบริโภคเนื่องจากมีรสชาติและกลิ่นที่หอมหวาน กลิ่นหอมของกล้วยเป็นปัจจัยสำคัญในการบอกคุณลักษณะและคุณภาพของกล้วย[4] ซึ่งปัจจุบันมีกลุ่มวิจัยหลายกลุ่มให้ความสนใจเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารให้กลิ่นในกล้วย โดยเทคนิคที่นิยมใช้ คือ Gas chromatography – Olfactometry[5] เนื่องจากเป็นเทคนิคที่เหมาะสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสมที่ให้กลิ่น ซึ่งการศึกษาพบว่ากล้วยแต่ละสายพันธุ์จะให้กลิ่นที่แตกต่างกันออกไป เช่น กล้วยจาก Florida (พันธุ์ *Musa sapientum* L. var. *Cavendish*) พบว่ามีสารประกอบที่ให้กลิ่นทั้งหมด 26 ชนิด[6] ได้แก่ 16 esters, 5 alcohols, 2 aldehydes, 2 ketones, และ 1 terpenic hydrocarbon ซึ่งสารประกอบ aldehyde ที่เป็นสารที่สำคัญและมีค่า odor activity value (OAV) มากที่สุด คือ (*E*)-hex-2-enal และ hexanal, กล้วยจาก Rio de Janeiro (พันธุ์ *Musa cavendishii* cv. *Nanica*) พบว่ามีสารประกอบที่ให้กลิ่นทั้งหมด 10 ชนิด[7] สารที่ให้กลิ่นมากที่สุดคือ 4-hydroxy-2,5-dimethylfuran-3-one และสารประกอบกลิ่นอื่น ๆ อีก 9 ชนิด ได้แก่

1 carboxylic acid, 2 esters, 1 phenol และ 5 alcohols และ กล้วยจาก Cuba (พันธุ์ *Musa* spp. AAA group, cv. Giant Cavendish) พบว่ามีสารประกอบที่ให้กลิ่นทั้งหมด 116 ชนิด[8] ซึ่งมี 19 สารประกอบสำคัญที่ให้กลิ่นในกล้วย โดยมีสารที่ให้กลิ่นมากที่สุดคือ 3-methylbutyl acetate, 3-methylbutyl butanoate, 3-methylbutyl 3-methylbutanoate, (*E*)-2-hexenal, และ 2-methoxy-4-prop-2-enylphenol เป็นต้น และพบว่ามี 1 กลุ่มงานวิจัยที่ทำการศึกษาสารระเหยในกล้วยสกุล *Musa spp.* ที่สายพันธุ์ต่างกัน ทั้งหมด 17 สายพันธุ์[9] โดยใช้เทคนิค Headspace solid-phase microextraction และ Gas chromatography-Mass spectrometry (SPME-GC-MS) ซึ่งพบสารระเหยทั้งหมด 41 สาร โดยสารสำคัญที่ให้กลิ่นมีทั้งหมด 5 ชนิด[9] ได้แก่ 2-methylpropyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, hexyl 3-methybutanoate, 2-heptanone, และ 3-methyl butanol และยังพบว่า 3-methylbutyl acetate เป็นกลุ่มสารประกอบที่พบมากที่สุดในกล้วย 4 สายพันธุ์จาก 17 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ Cirad918, Yangambi Km5, Indonesia110, และสายพันธุ์ Pisang Lilin

ในประเทศไทยได้มีกลุ่มงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง (พันธุ์ *Musa acuminate* AAA group Gros Michel) พบว่ามีสารประกอบที่ให้กลิ่นทั้งหมด 24 ชนิด[10] โดยมีเอสเทอร์เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ 2-methylpropyl acetate, butyl acetate, pentan-2-yl acetate, 3-methylbutyl acetate, butyl butanoate, 2-methylpropyl 3-methylbutanoate, hexyl acetate และ 3-methylbutyl hexanoate ซึ่งจะเห็นว่ากล้วยที่ปลูกจากแหล่งกำเนิดแตกต่างกัน จะให้องค์ประกอบของสารสำคัญที่ให้กลิ่นแตกต่างกัน

จากข้อมูลการศึกษาวิจัยดังกล่าวจะพบว่า มีเพียง 1 กลุ่มงานวิจัยที่ศึกษาองค์ประกอบของสารให้กลิ่นในกล้วยที่นิยมปลูกและบริโภคในไทย[10] ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงสนใจที่จะระบุองค์ประกอบและเปรียบเทียบสารระเหยในกล้วยในประเทศไทย เช่น กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และ กล้วยไข่ เป็นต้น โดยใช้เทคนิค Headspace solid-phase microextraction และ Gas chromatography - Mass spectrometry/ Olfactometry (SPME-GC-MS/O) ในการวิเคราะห์และศึกษาองค์ประกอบของสารให้กลิ่นในกล้วยแต่ละสายพันธุ์ เทคนิคดังกล่าวเป็นการวิเคราะห์ร่วมกันระหว่างเทคนิค GC-MS และใช้ประสาทสัมผัสทางด้านการดมกลิ่นของมนุษย์เป็นตัวตรวจสอบเฉพาะของสารที่ให้กลิ่น[11] โดยมีเป้าหมายเพื่อระบุสารสำคัญที่มีผลต่อกลิ่นกล้วย (เนื่องจากสารที่ระเหยและตรวจวัดได้ อาจไม่มีกลิ่นเสมอไป) เพื่อค้นหาความสัมพันธ์ของโครงสร้างของสารให้กลิ่นในกล้วยแต่ละสายพันธุ์ รวมทั้งการทำการเตรียมสารให้กลิ่นแบบสังเคราะห์ (aroma re-engineering) เพื่อทดสอบอีกขั้นตอนหนึ่งว่ากลุ่มสารที่ค้นพบให้กลิ่นในลักษณะเดียวกับกล้วยที่ทดลองจริงหรือไม่

การศึกษาและวิเคราะห์องค์ประกอบของสารที่ให้กลิ่นในกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร ตัวอย่างเช่น ด้านของการเติมกลิ่นอาหารให้มีกลิ่นของผลไม้ โดยการเติมสารเคมีที่ให้กลิ่นแล้วประกอบกันเป็นกลิ่นกล้วย หรือ ประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตยา โดยการ

ใส่กลิ่นในยาให้มีกลิ่นของผลไม้ ทำให้ตัวยาบริโภคง่าย โดยเฉพาะสำหรับเด็กเล็กที่มีปัญหาในการรับประทานยา เป็นต้น

1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

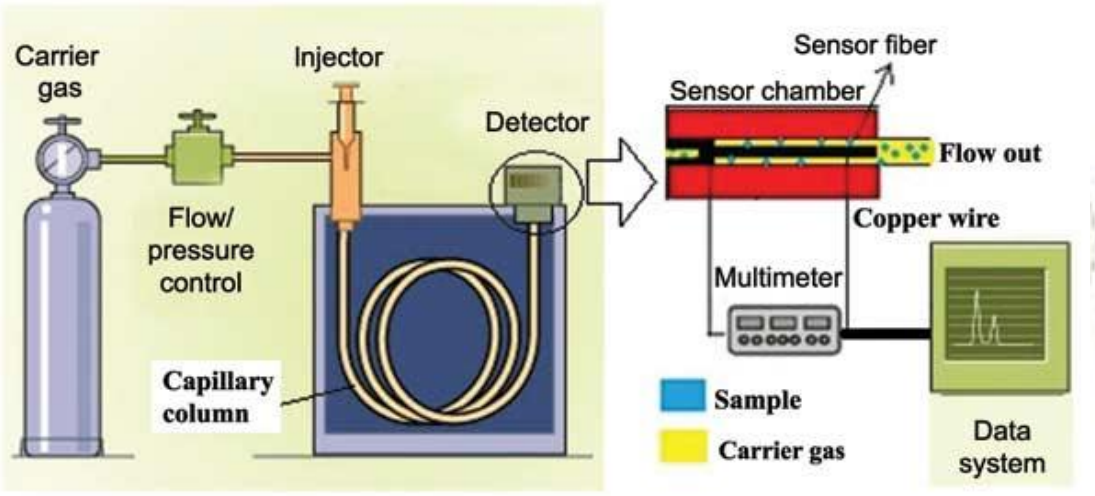
1.2.1 เทคนิค Gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS)

Gas chromatography/Mass spectrometry หรือเรียกว่า GC/MS เป็นเทคนิคในการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความสามารถในการแยกสารผสมซึ่งกลายเป็นไอได้ง่ายให้ออกจากกันด้วยหลักการทาง chromatography ซึ่งมีความสามารถในการแยกสูง และเมื่อองค์ประกอบแต่ละชนิดผ่านการแยกแล้ว จะถูกตรวจวัดด้วย mass spectrometry ที่มีความจำเพาะ (specific) ต่อการตรวจวัด มีสภาพไว (sensitivity) ในการตรวจวัดสูง และให้ข้อมูล mass spectrum ของสารที่สามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.2.1.1 หลักการของ Gas chromatography

Chromatography เป็นเทคนิคการแยกสารที่เกี่ยวข้องกับสมดุลการกระจายตัวขององค์ประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่างระหว่างวัฏภาค (phase) 2 ชนิดด้วยกัน คือ วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ทำหน้าที่พาองค์ประกอบตัวอย่างให้เคลื่อนที่ผ่านวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) ซึ่งจะสร้างอันตรกิริยา (interaction) กับสารที่ผ่านมา เพื่อหน่วง (retain) ให้การเคลื่อนที่ช้าลง โดยอาศัยความแตกต่างของอันตรกิริยาระหว่างองค์ประกอบตัวอย่างแต่ละชนิดกับวัฏภาคนิ่ง ทำให้สารแต่ละชนิดมีการเคลื่อนที่ผ่านวัฏภาคนิ่งด้วยอัตราการเคลื่อนย้าย (migration rate) ที่แตกต่างกัน ทำให้เกิดการแยกสารผสมเกิดขึ้น

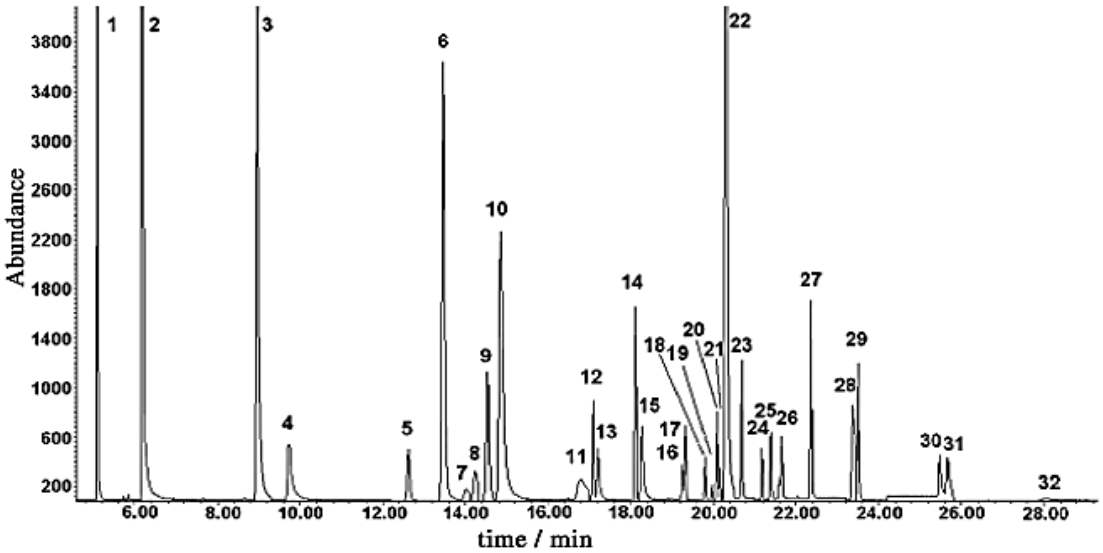
Gas chromatography หรือเรียกว่า GC เป็นเทคนิคที่ใช้แก๊สเฉื่อยทำหน้าที่เป็นแก๊สพา (carrier gas) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ เหมาะสำหรับวิเคราะห์สารที่ระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย (volatile) และมีความเสถียรต่อความร้อน (thermal stability) โดยมีหลักการทำงานดังนี้



รูป 1.1 แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง gas chromatography

(ที่มา : http://www.eurekaselect.com/images/graphical-abstract/nanoasia/6/2/003.jpg)

จาก**รูป 1.1** สารตัวอย่างเมื่อถูกนำเข้าระบบ จะถูกทำให้ระเหยกลายเป็นไอที่จุดฉีดสาร (injector) จากนั้นจะเคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์ โดยแก๊สพาซึ่งเป็นแก๊สเฉื่อยที่มีความบริสุทธิ์สูง สารตัวอย่างจะถูกแยกภายในคอลัมน์ โดยส่วนใหญ่จะแยกออกตามลำดับของจุดเดือด ความมีขั้วของสาร และยังขึ้นอยู่กับชนิดของคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ และถูกตรวจวัดโดย detector ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างนั้น ๆ ผลที่ได้จะแสดงเป็น chromatogram ดังเช่นใน **รูป 1.2** ซึ่งจะให้ข้อมูลสำคัญ คือ เวลาที่สารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ในคอลัมน์ (retention time) ซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของสาร จึงเป็นข้อมูลที่ใช้วิเคราะห์เชิงคุณภาพ และความสูงหรือพื้นที่ใต้พีค (peak area) ซึ่งเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ

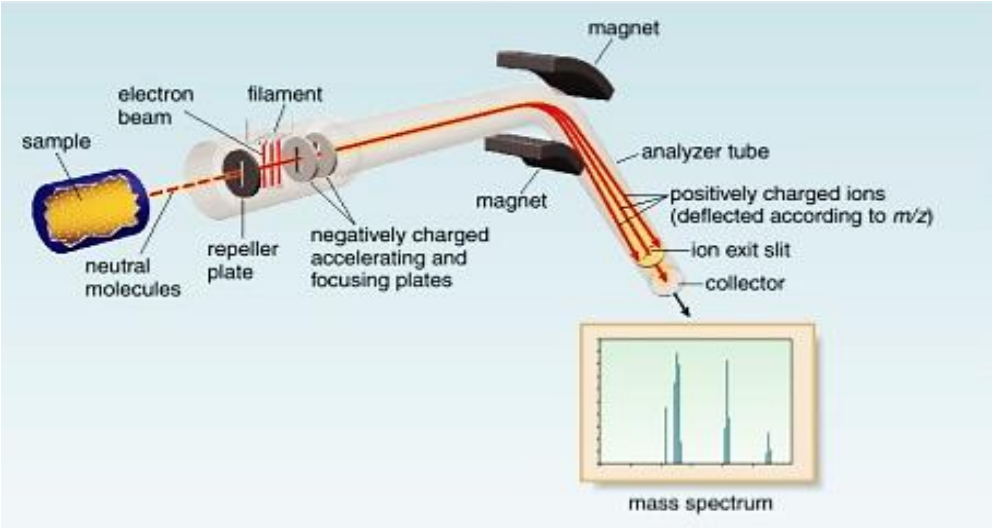


รูป 1.2 ตัวอย่าง chromatogram ของสารที่ถูกแยก ด้วยเทคนิค GC

(ที่มา : http://www.scielo.br/img/revistas/jbchs/v20n5/a17fig02.gif)

1.2.1.2 หลักการของ Mass spectrometry

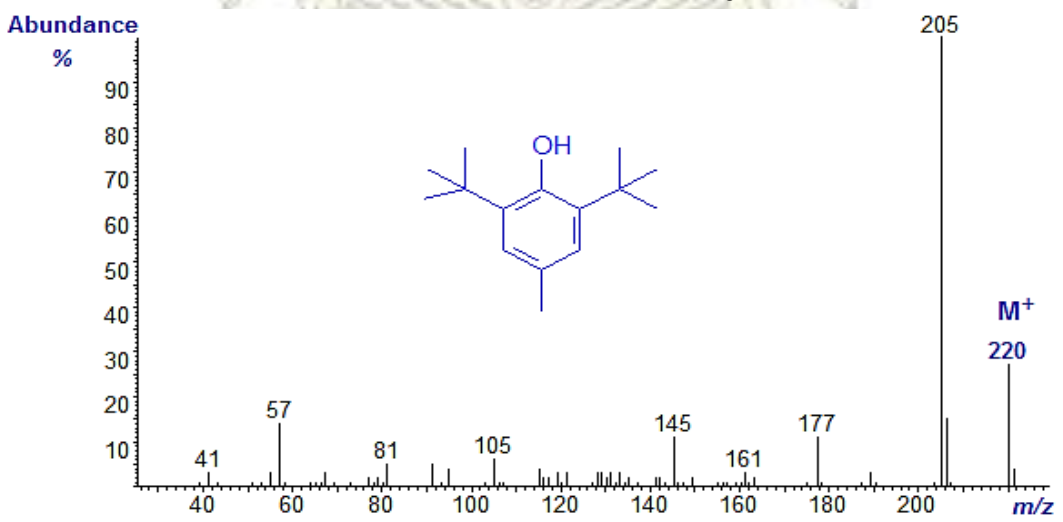
Mass spectrometry เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบที่ไม่ทราบชนิด และใช้ในการศึกษาโครงสร้างของโมเลกุลได้อย่างดี โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของมวลที่มีประจุ (charged particle) คือ ไอออน ในสนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็ก โดยการเคลื่อนที่ขึ้นอยู่กับค่าประจุต่อมวล (mass to charge ratio) ของไอออน ซึ่งการทราบค่าประจุของไอออนจะทำให้สามารถทราบค่ามวลของไอออนนั้น ๆ ได้



รูป 1.3 แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง mass spectrometer

(ที่มา : https://image.slidesharecdn.com/massspectrometry-141106101525-conversion-gate02/95/mass-spectrometry-5-638.jpg?cb=1471442395)

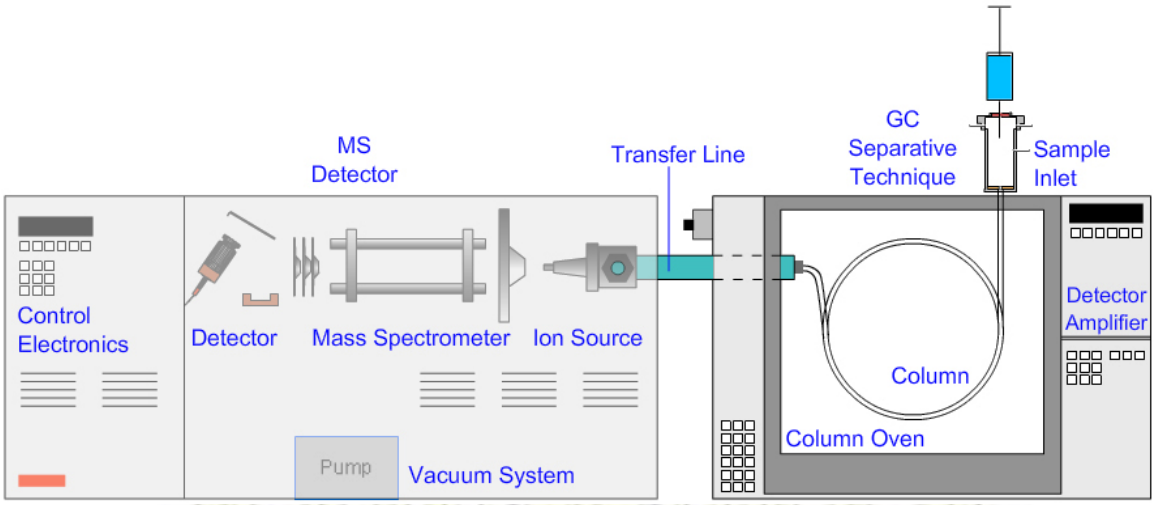
จาก **รูป 1.3** กระบวนการที่เกิดขึ้นเริ่มจาก ไอออนถูกผลิตขึ้นจากโมเลกุลของสารที่ถูกนำเข้ามาที่แหล่งกำเนิดไอออน ไอออนที่เกิดขึ้นถูกแยกโดยหน่วยวิเคราะห์มวล และถูกนับจำนวนโดย detector ซึ่งวิธีการแตกตัวเป็นไอออนที่สำคัญได้แก่ การแตกตัวของโมเลกุลเป็นไอออนโดยอิเล็กตรอน (electron ionization, EI) และการแตกตัวของโมเลกุลเป็นไอออนโดยวิธีทางเคมี (chemical ionization, CI) ซึ่งรูปแบบการแตกตัวเป็นตัวกำหนดชนิดและปริมาณของไอออนที่เกิดขึ้น ไอออนเหล่านี้สามารถอยู่ได้ 2 รูปแบบหลัก ได้แก่ 1. ไอออนโมเลกุล (molecular ion) เป็นไอออนที่มีมวลเท่ากับโมเลกุลของสารเริ่มต้น ทำให้ทราบมวลโมเลกุลสาร และ 2. ไอออนย่อย (fragment ion) ที่เกิดจากการแตกออกของโครงสร้างหรือเป็นไอออนที่มีมวลมากขึ้นซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของสารเริ่มต้นกับแก๊สที่ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออนทางเคมี ผลจากการวิเคราะห์มวลสารโดยเทคนิคนี้จะแสดงผลในรูปแบบ mass spectrum เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ามวลต่อประจุ (m/z) กับ ปริมาณของไอออน (ion abundance)[12] ดัง **รูป 1.4**



รูป 1.4 ตัวอย่าง mass spectrum ของสารที่วิเคราะห์ ด้วยเทคนิค MS

(ที่มา : http://www.lipidhome.co.uk/ms/others/msartefacts/Figure01.png)

ดังนั้นเมื่อรวม Gas chromatography เข้ากับ Mass spectrometry จะได้เทคนิคใหม่เกิดขึ้น เรียกว่า Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) (**รูป 1.5**) ซึ่งสามารถแยกและบอกเอกลักษณ์ (identity) ของสารประกอบหลายชนิด จากการฉีดสารตัวอย่างเพียงครั้งเดียวได้ แม้ว่าสารที่วิเคราะห์เหล่านั้นจะมีปริมาณน้อยมากในระดับเพียง 10^{-12} กรัมก็ตาม[13]



รูป 1.5 องค์ประกอบของเครื่องมือ Gas chromatography-Mass spectrometry

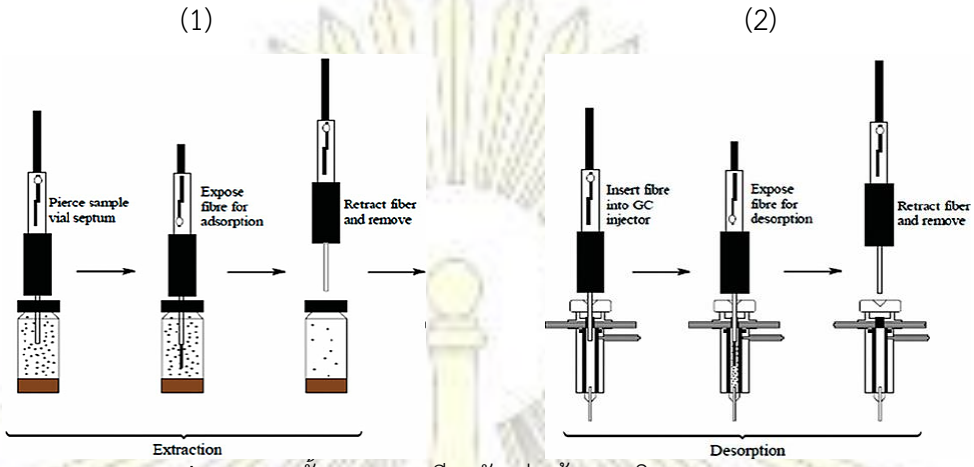
(ที่มา : https://www.chromacademy.com/essential-guide/april2011/fig-1.jpg)

1.2.2 เทคนิค Headspace Solid-phase microextraction (HS-SPME)

เทคนิค Solid-phase microextraction (SPME) เป็นเทคนิคในการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่ระเหยได้ เหมาะสำหรับการเตรียมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างในปริมาณที่น้อย (trace analysis) โดยวิเคราะห์ร่วมกับ GC/MS ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมาก ถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1989 และถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย โดย HS-SPME นั้นจะเป็นการให้สารระเหยขึ้นมาบริเวณ space ด้านบนหรือเหนือสารตัวอย่างที่วิเคราะห์

หลักการของการเตรียมตัวอย่างโดยเทคนิค HS-SPME ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือ

1. ขั้นตอน การสกัดสาร (Extraction step) สารที่ระเหยขึ้นมาจะถูกดูดซับที่เส้นใยขนาดเล็ก (microfiber) ของ SPME ซึ่งมักทำด้วย fused silica และเคลือบด้วยวัฏภาคนิ่งที่คล้ายคลึงกับวัฏภาคนิ่งใน GC ลักษณะเป็นฟิล์มบางประมาณ 7-100 μm ซึ่งจาก **รูป 1.6 (1)** จะเสียบเส้นใยอยู่เหนือสารละลายตัวอย่างหรือตัวอย่างของแข็งที่บรรจุอยู่ในขวดตัวอย่างปิดสนิท เพื่อให้ไอที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ ค่อย ๆ เกิดการถูกดูดซับบนเส้นใยที่ลอยเหนือสารละลายหรือของแข็งเหล่านี้
2. ขั้นตอน การปลดปล่อยสาร (Desorption) เป็นขั้นตอนการนำเส้นใย SPME ที่ผ่านขั้นตอนการสกัดสารเข้าสู่จุดฉีด (injection port) ของเครื่อง GC เพื่อนำสารที่ถูกดูดซับบนเส้นใยเข้าสู่ระบบ GC/MS โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเป็นตัวไล่สารออกจากเส้นใย **รูป 1.6 (2)**



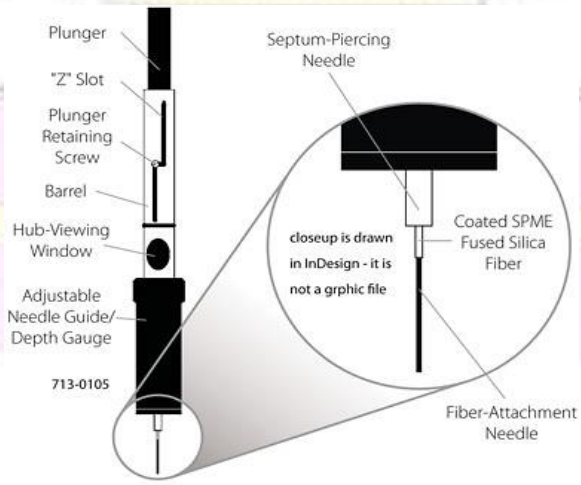
รูป 1.6 แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค SPME

(ที่มา : https://www.researchgate.net/profile/Iftikhar_Ahmed28/publication/283544137/figure/fig1/AS:299264388419588@1448361598871/Stepwise-method-of-operation-for-headspace-SPME-Original-image-reproduced-and-adapted.png)

สารที่มีแนวโน้มที่จะดูดซับบนวัฏภาคนิ่งที่เคลือบอยู่บนผิวของไฟเบอร์ SPME ได้ดีกว่า จะถูกดูดซับหรือสกัดมาที่ไฟเบอร์ได้ปริมาณมากกว่า ปริมาณของสารยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาของการปล่อยให้ตัวอย่างสารที่วิเคราะห์ลอยมาดูดซับบนเส้นใย โดยทั่วไปจะใช้เวลาประมาณ 20-30 นาที สำหรับการให้สารเข้ามาถูกดูดซับบนพื้นผิวเส้นใย[12]

ข้อดี ของการเตรียมสารโดยเทคนิค HS-SPME คือ เป็นเทคนิคการสกัดที่ง่าย รวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูง เส้นใยสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ เหมาะสำหรับใช้ร่วมกับเทคนิค GC/MS ได้เป็นอย่างดี ใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อย และไม่มีผลจากการรบกวนของสารอินทรีย์อื่น ๆ ในการสกัด[14]

ข้อด้อย ของการเตรียมสารโดยเทคนิค HS-SPME คือ เป็นอุปกรณ์ที่มีราคาสูง การใช้งานต้องระมัดระวัง เนื่องจากเส้นใยค่อนข้างเปราะหักง่าย และ ในตัวอย่างที่เป็นของแข็งผลของสารรบกวน (matrix effect) จะส่งผลต่อการวิเคราะห์ค่อนข้างมาก นอกจากนี้ ยังอาจมีการเลือกดูดซับเฉพาะสารบางประเภทได้ ทำให้ผลการวิเคราะห์อาจผิดเพี้ยนไป

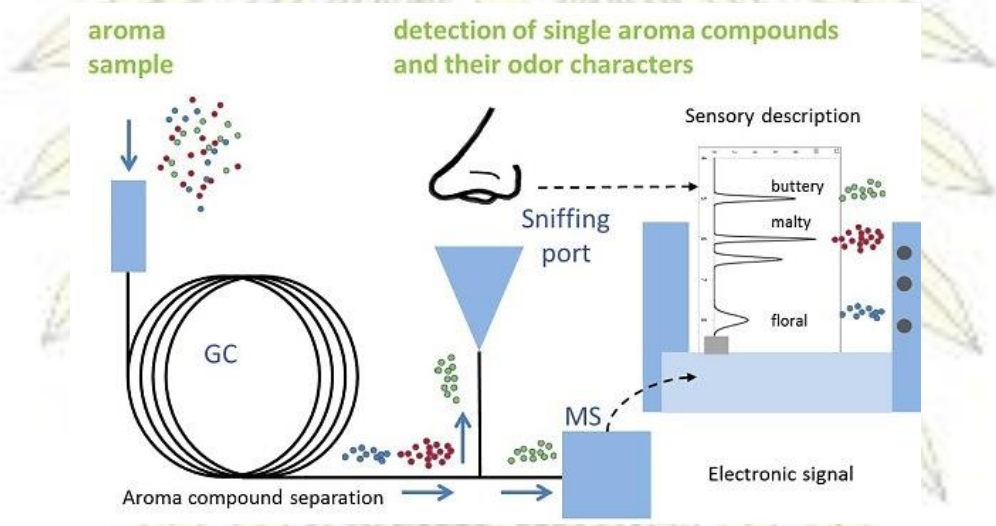


รูป 1.7 แสดงภาพขยายองค์ประกอบพื้นฐานของเครื่องมือ SPME

(ที่มา : https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/articles/reporter-us/volume-29-2/commercial-spme-device.jpg)

1.2.3 เทคนิค GC- Olfactometry

เทคนิค GC-O เป็นการวิเคราะห์ร่วมกันระหว่าง เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ GC และการใช้ประสาทสัมผัสทางด้านการดมกลิ่นของมนุษย์ในการตรวจสอบองค์ประกอบของสารระเหยที่ให้กลิ่นจากสารที่ถูกแยกออกมาจากเครื่อง GC[15] เทคนิคนี้เริ่มใช้ตั้งแต่ปี ค.ศ.1964 โดย Fuller และคณะ ซึ่งที่เครื่องมือ GC ได้มีการติดตั้ง olfactometry port (เครื่องมือสำหรับดมกลิ่น) เพิ่มเข้าไป ต่อมาในปี ค.ศ. 1971 เครื่องมือถูกพัฒนาให้มีความซับซ้อนมากขึ้น โดยการเพิ่มอากาศชื้นเข้าไป เพื่อลดอุณหภูมิของสารระเหยและเพื่อลดความระคายเคืองของจมูกที่แห้งจากการดม ซึ่งขณะมนุษย์ได้กลิ่นของสารนั้นจะมีความสัมพันธ์กับพีคของสารที่ถูกแยกออกมาจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS จึงทำให้สามารถระบุได้ว่าพีคของสารที่เวลาดังกล่าวเป็นสารให้กลิ่น ตัวอย่างของแผนภาพเครื่อง GC-MS/O แสดงใน**รูป 1.8**



รูป 1.8 หลักการวิเคราะห์ด้วย GC-Olfactometry ร่วมกับ GC-MS

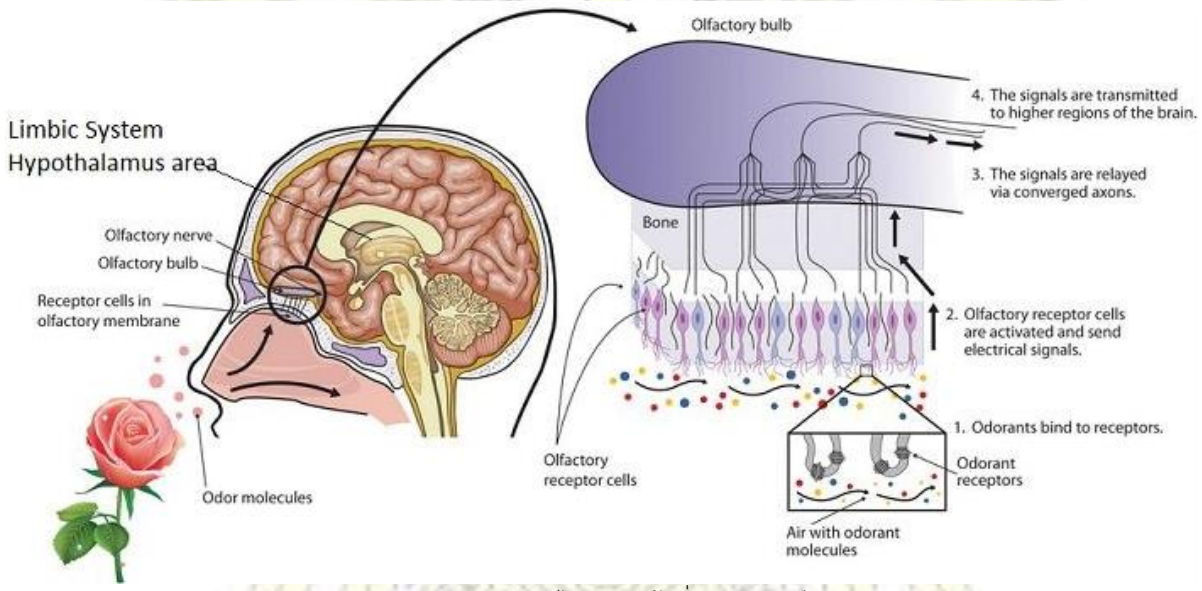
(ที่มา : https://i2.wp.com/genetris.com/wp-content/uploads/2016/01/gas-chromatography-2.jpg?resize=600%2C367)

จะเห็นได้ว่าการตรวจสอบด้วยเทคนิคนี้มีความสัมพันธ์กับการรับรู้กลิ่นของมนุษย์ ผ่านการดมกลิ่นสารระเหยที่ olfactometry detection port ดังนั้นผู้ที่จะดมกลิ่น จะต้องผ่านการฝึกฝนในการดมกลิ่นสารมาตรฐานที่ให้กลิ่น และฝึกการบรรยายกลิ่นที่ได้ให้มีความชำนาญ โดยคำบรรยายกลิ่นเหล่านั้นมักจะขึ้นกับประสบการณ์และความสามารถในการรับกลิ่นของแต่ละบุคคลที่แตกต่างกันออกไป และยังต้องเลือกผู้ดมกลิ่นที่มีความสามารถในการรับรู้กลิ่นของสารที่จะวิเคราะห์ได้อีกด้วย

1.2.4 การรับรู้กลิ่นของมนุษย์

กลิ่นมีความสำคัญต่อวิวัฒนาการของมนุษย์ มีผลต่อความคิด ความรู้สึกของมนุษย์ และยังเหนี่ยวนำให้รู้สึกอยากอาหาร หรือมีความรู้สึกและอารมณ์ที่แตกต่างกันออกไปตามกลิ่นที่ได้รับ โดยการรับรู้กลิ่นของมนุษย์เริ่มจากเมื่อมีการสูดดมกลิ่นผ่านเข้าไปในโพรงจมูก (**รูป 1.9**) โมเลกุลของสารจะสัมผัสที่เนื้อเยื่อบุผิวรับกลิ่น (olfactory epithelium) ที่มีเซลล์ประสาทรับกลิ่น (olfactory receptor) จำนวนมาก เป็นเซลล์ที่มีขน ที่ส่วนของขนจะมีความไวต่อการกระตุ้น ตัวของเซลล์ประสาทเป็นเซลล์ประสาทสองขั้ว (bipolar neuron) แทรกอยู่

ระหว่างเซลล์ค้ำจุน (supporting cell) ปลายล่างของเซลล์จะเปิดออกทางช่องจมูกจะมีขนซึ่งเป็นส่วนของ dendrites อยู่จำนวน 6-8 เส้น เรียกว่า ออลแฟคทอรี่แฮร์ (olfactory hair) ส่วนนี้เมื่อได้รับการกระตุ้นจากสารเคมี เช่นเมื่อได้กลิ่นอาหารจากอากาศที่หายใจเข้าไป จะส่งกระแสประสาทไปตาม axon เมื่อเกิดการรวมกันของหลาย ๆ เซลล์จะกลายเป็น olfactory nerves และเข้าสู่ olfactory bulb ซึ่งการกระตุ้นการตอบสนองทางไฟฟ้าของเส้นประสาทดังกล่าว สัญญาณจะถูกส่งไปยังสมองเพื่อทำการแปลผลของกลิ่น และตรวจทานกับระบบประมวลผลของกลิ่นเพื่อตรวจสอบว่าเป็นกลิ่นอะไร มีความคุ้นเคยหรือมีความจำเกี่ยวกับกลิ่นนั้นหรือไม่[16]



รูป 1.9 แสดงกลไกการรับรู้กลิ่นของมนุษย์

(ที่มา : http://drsera.com/wp-content/uploads/2015/10/limbic-system.jpg)

บทที่ 2
การทดลอง

2.1 สารเคมี

1. n-Butyric anhydride (Acros organic)
2. Isobutanol (Carlo Erba)
3. Iso-Amyl alcohol (Fisher Chemical)
4. 4-(Dimethyllamino)pyridine (DPAM) (Sigma-Aldrich)
5. Dichloromethane (CH_2Cl_2) (ACI Labscan)
6. Diethyl ether (ACI Labscan)
7. Sodium hydroxide (NaOH) (Merck)
8. Sodium sulfate (Na_2SO_4) (Riedel-Dehaenag See)
9. Bromocresol green (M&B lab chem)
10. Acetone (ACI Labscan)
11. Acetic acid
12. Ethyl alcohol
13. Hexyl alcohol
14. Chloroform-d ($CDCl_3$)

2.2 กล้วย

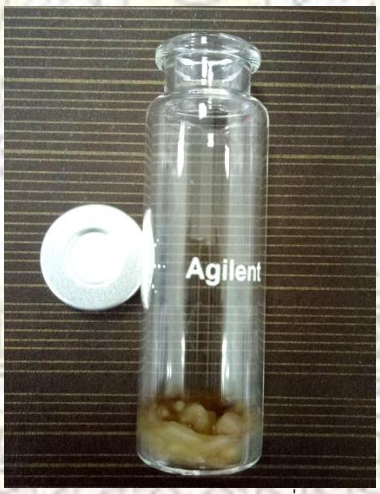
กล้วยสุกที่ปลูกในประเทศไทย 3 สายพันธุ์ โดยซื้อจากร้านสะดวกซื้อ (Tops market) สาขาห้างมาบุญครอง ได้แก่ 1. กล้วยหอมทอง ตรามายช้อยส์ ผลิตโดย สหกรณ์การเกษตรท่ายาง จำกัด จังหวัดเพชรบุรี 2. กล้วยน้ำว้า ตรา โดล ผลิตโดย บริษัท โดล เฟรช โพรดิวซ์ (ไทยแลนด์) จำกัด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และ 3. กล้วยไข่ ผลิตโดย สหกรณ์การเกษตรท่ายาง จำกัด จังหวัดเพชรบุรี

รูป 2.1 ลักษณะรูปร่างของกล้วยแต่ละสายพันธุ์ (จากซ้ายไปขวา: กล้วยหอมทอง, กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่)

2.3 วัสดุ เครื่องมือ และวิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมตัวอย่างกล้วย

1. นำกล้วยสดระยะสุกแต่ละสายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 5 ผล ใช้ส่วนของผลกล้วยด้านใน โดยหั่นกล้วยให้มีขนาดเล็กลงเป็นทรงเหลี่ยม 4 ด้าน ใช้ช้อนสแตนเลสผสมกล้วยตัวอย่างให้เข้ากัน
2. บรรจุกล้วยแต่ละสายพันธุ์ ประมาณ 2 กรัม ใส่ลง vial ขนาด 20 มิลลิลิตร และบดกล้วยให้ละเอียดด้วยช้อนสแตนเลส จากนั้นปิดฝาขวดให้สนิท



รูป 2.2 ลักษณะกล้วยบดละเอียดที่บรรจุลง vial

2.3.2 การวิเคราะห์และระบุสารระเหยของกล้วย (Volatile compound) โดยใช้เทคนิค Solid-phase microextraction ร่วมกับ Gas chromatography (SPME-GC-MS)

1. นำกล้วยที่เตรียมไว้ equilibrate ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 40 °C ที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ โดยเสียบเข็ม SPME (Fiber ชนิด DVB/CAR/PDMS, 50/30 μm) ลงไป เพื่อทำการสกัดสารระเหย (Extraction) เป็นระยะเวลา 30 นาที

2. ครบกำหนดเวลา นำเข็ม SPME ออกจาก vial และ inject ลงสู่เครื่อง GC โดย inject เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้สารที่ถูกดูดซับอยู่ผิวของเส้นใยระเหยออก (Desorption) จากนั้นนำเข็มออก สารที่ระเหยออกจะเคลื่อนที่เข้าสู่เครื่อง GC-MS ด้วยแก๊สพาและวิเคราะห์แยกสารในลำดับถัดไป
3. ทำการวิเคราะห์และระบุสารระเหยในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ ตามขั้นตอนในหัวข้อ 2.3.1-2.3.2

2.3.3 การระบุสารระเหยที่ให้กลิ่นของกล้วย (aroma-active compound) โดยใช้เทคนิค Gas chromatography-Mass spectrometry/Olfactometry (GC-MS/O)

ในการรับรู้สารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยใช้ผู้ดมกลิ่นเป็นเพศชาย 1 คน และเพศหญิง จำนวน 2 คน โดยวิธีการจะทำการดมกลิ่นสารระเหยที่ออกมาจาก olfactometry detection port ที่ได้อธิบายหลักการไว้ในหัวข้อ 1.2.3 (ในการทดลองจะเป็นการระบุเพียงสารที่ให้กลิ่น ไม่รวมถึงระดับความแรงของสารนั้นๆ) ซึ่งการทดลองจะแบ่งเป็น 2 ส่วนได้แก่

1. การเปรียบเทียบสารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์ (กล้วยตัวอย่างหนักประมาณ 2 กรัม) โดยใช้ผู้ดมกลิ่นเป็นเพศหญิงจำนวน 2 คน ตรวจวัดกลิ่น คนละ 1 ครั้ง
2. การเปรียบเทียบสารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง โดยใช้น้ำหนักของกล้วยตัวอย่างแตกต่างกัน (4.0, 2.0, 1.0, 0.5, และ 0.25 กรัม) โดยใช้ผู้ดมกลิ่น จำนวน 3 คน ตรวจวัดกลิ่นแต่ละน้ำหนักกล้วยตัวอย่าง คนละ 1 ครั้ง

2.3.4 การตั้งค่าเครื่องมือ GC-MS/O

1. เครื่องมือ GC-MS ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ยี่ห้อ Agilent Technologies รุ่น 7000 และมี mass analyzer เป็น triple quadrupole และ ion source เป็นประเภท electron ionization (EI) carrier gas คือ ฮีเลียม (He) โดยมีสภาวะที่ใช้ต่อไปนี้

   Ionization temperature = 230 °C ด้วย ion voltage = -70 eV, run time = 1 min, solvent delay = 2.5 min, peak width = 0.7 sec ตรวจวัดที่ mass = 35-300, scan time 100 ms และวิเคราะห์สารโดยการเปรียบเทียบข้อมูลของ mass spectral จาก NIST MS Spectral Library หรือ Agilent's Retention Time Locked (RTL) Databases for specific applications ของซอฟต์แวร์ GC/MSD และใช้เครื่อง Olfactometry detection port ยี่ห้อ GERSTEL รุ่น ODP 3
2. การตั้งค่า Inlets: heater = 260 °C, ระบบคำนวณ pressure = 16.086 psi มาให้, total flow = 15 mL/min, septum purge flow = 3 mL/min, split ratio = 5:1 (10 mL/min)

3. คอลัมน์ที่ใช้คือ Agilent 19091S-433 (HP-5ms, 325°C, 30 m x 250 μm x 0.25 μm) ตั้งค่าภายในคอลัมน์: flow rate = 2 mL/min และระบบจะคำนวณค่าของ pressure = 16.086 psi, average velocity = 51.282 cm/sec, และ holdup time = 0.975 min มาให้อัตโนมัติ
4. การตั้งค่าอุณหภูมิ oven: initial temperature = 40 °C (hold time = 0) จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นเป็น 160 °C โดยมีอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิเท่ากับ 3 °C/min (hold time = 0) และสุดท้ายเพิ่มอุณหภูมิเป็น 250 °C โดยมีอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิเท่ากับ 45 °C/min (hold time = 5)

2.4 การสังเคราะห์สารประกอบที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง

2.4.1 การสังเคราะห์ isobutyl butanoate, ethyl butanoate, และ hexyl butanoate

สังเคราะห์สารทั้ง 3 ผ่านปฏิกิริยา acylation of alcohols with acid anhydrides ภายใต้สภาวะที่เป็นเบสโดยมี DMAP เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการด้านล่าง

$$R'\text{-}OH + (RCO)_2O \underset{+\ H_2O}{\overset{DMAP}{\rightleftharpoons}} R\text{-}COO\text{-}R' + R\text{-}COOH$$

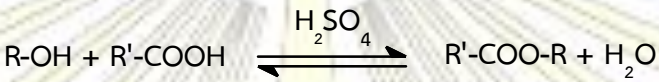
ผสม alcohol 10 mmol และ DMAP 0.05 mmol ลงในขวดก้นกลม จนของแข็งละลาย เติม butyric anhydride (จำนวนเท่ากันทุกปฏิกิริยา) ปริมาตร 1.80 mL (11 mmol) จากนั้น stir ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 ชั่วโมง เติมน้ำ D.I. ปริมาตร 18 μL และ stir ต่อที่อุณหภูมิห้องจนครบ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายมาสกัดด้วยเบส 0.5 M sodium hydroxide โดยดูดสารด้วยหลอดหยดจากขวดก้นกลมลงกรวยแยกขนาด 125 mL ชะสารด้วย dichloromethane ปริมาณเล็กน้อย จากนั้นสกัดสารละลายโดยเติมสารละลาย sodium hydroxide ความเข้มข้น 0.5 M ปริมาตร 5.0 mL เก็บสารละลายชั้น organic มาสกัดสารละลาย sodium hydroxide อีกจำนวน 3 ครั้ง ส่วนสารละลายในชั้นน้ำให้นำมาสกัดด้วย dichloromethane อีกครั้ง และเก็บชั้น organic มาผสมรวมกับชั้น organic ตอนแรก (ในขวดรูปชมพู่) จากนั้นกำจัดน้ำด้วย sodium sulfate ดูดสารละลายด้วยหลอดหยดลงสู่ขวดก้นกลมเพื่อนำไประเหยตัวทำละลายออก

เพิ่มความบริสุทธิ์ของสารละลายที่สังเคราะห์ได้ด้วยการกลั่นแยกสารผสมออกจากกัน เก็บสารละลายที่แยกได้มาทำการระบุวิเคราะห์สารด้วยเทคนิค proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) spectroscopy

สารที่สังเคราะห์	สารตั้งต้น (alcohol)	% yield ที่ได้
Isobutyl butanoate	Isobutyl alcohol (0.92 mL, 10 mmol)	87
Ethyl butanoate	Ethyl alcohol (0.58 mL, 10 mmol)	94
Hexyl butanoate	Hexyl alcohol (12.46 mL, 10 mmol)	107

2.4.2 การสังเคราะห์ Isobutyl acetate และ Isopentyl acetate

สังเคราะห์สารทั้ง 2 ผ่านปฏิกิริยา Fischer esterification ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ดังสมการด้านล่าง



ผสม alcohol กับ acetic acid 0.02 mmol ลงในขวดก้นกลม ใส่ boiling chip จากนั้นเติม sulfuric acid ปริมาตร 0.4 mL นำไป reflux ด้วยความร้อนบน hot plate เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นรอให้สารละลายเย็นตัวลง นำสารละลายมาสกัดด้วยเบส sodium hydroxide โดยผสมสารละลายที่สังเคราะห์ได้ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำแข็งบรรจุอยู่ปริมาณ 5 กรัม stir จนน้ำแข็งละลาย เทสารลงกรวยแยกขนาด 125 mL ชะสารด้วย diethyl ether ปริมาณเล็กน้อย จากนั้นสกัดสารละลายโดยเติม diethyl ether ปริมาตร 10.0 mL เก็บสารละลายชั้น organic (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) แยกจากชั้นน้ำ นำสารละลายชั้น organic มาสกัดด้วยสารละลาย sodium hydroxide ความเข้มข้น 0.5 M ปริมาตร 5.0 mL (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) เก็บชั้น organic จากนั้นกำจัดน้ำด้วย sodium sulfate ดูดสารละลายด้วยหลอดหยดลงสู่ขวดก้นกลมเพื่อนำไประเหยตัวทำละลายออก

เพิ่มความบริสุทธิ์ของสารละลายที่สังเคราะห์ได้ด้วยการกลั่นแยกสารผสมออกจากกัน เก็บสารละลายที่แยกได้มาทำการระบุวิเคราะห์สารด้วยเทคนิค Proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) spectroscopy

สารที่สังเคราะห์	สารตั้งต้น (alcohol)	% yield ที่ได้
Isobutyl acetate	Isobutyl alcohol (2.00 mL, 0.022 mmol)	71
Isopentyl acetate	Isopentyl alcohol (2.12 mL, 0.019 mmol)	88

2.5 วิเคราะห์สารที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิค Proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR)

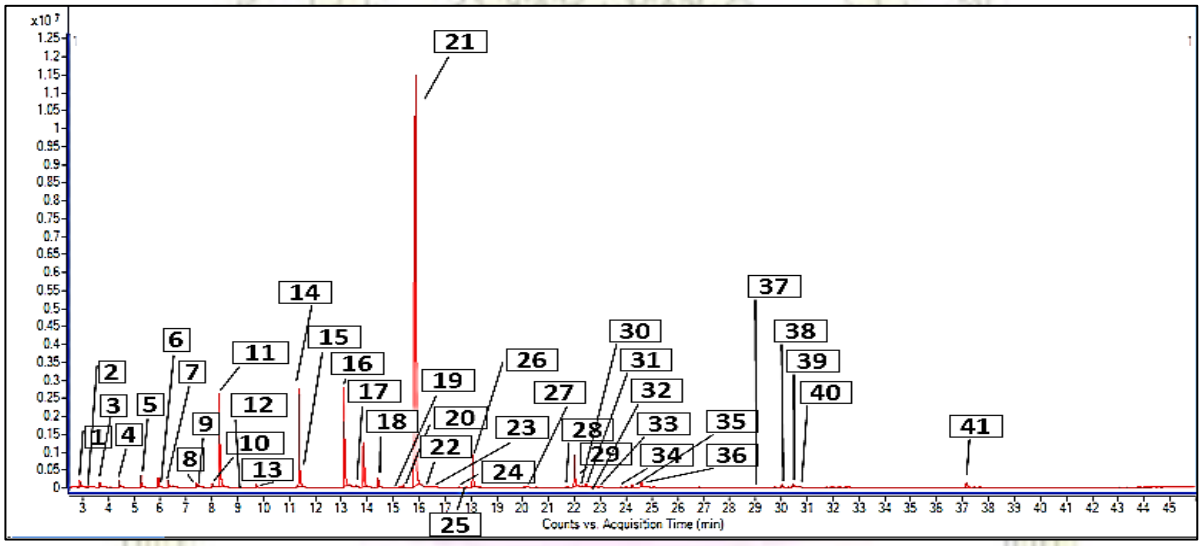
นำสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมด 5 สาร ในหัวข้อ 2.4 มาทำการพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสาร ด้วยเทคนิค proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) ผ่านเครื่อง NMR Spectrometer (Varian Mercury +400) ที่อุณหภูมิห้อง ความถี่ 400 MHz ใช้ Chloroform-d ($CDCl_3$) เป็นตัวทำละลายเหมือนกันทุกสาร ซึ่ง hexyl butanoate และ isobutyl butanoate ทั้งหมด 16 สแกน ส่วน isobutyl acetate, isopentyl acetate, และ ethyl butanoate ทั้งหมด 32 สแกน

บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

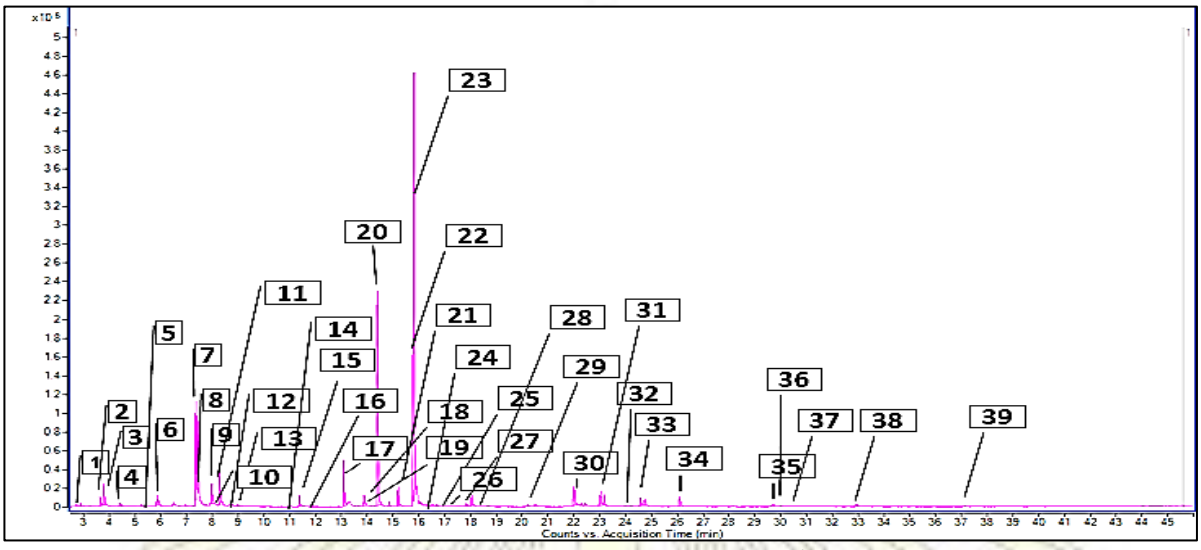
การทดลองประกอบด้วยการศึกษาองค์ประกอบของสารระเหยของกล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า เปรียบเทียบสารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์ และศึกษาองค์ประกอบของสารให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง รวมทั้งสังเคราะห์สารให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง จำนวน 5 สาร ผลการทดลองดังต่อไปนี้

3.1 วิเคราะห์และเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารระเหยในกล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า โดยใช้เทคนิค HS-SPME ร่วมกับ GC-MS ในการวิเคราะห์

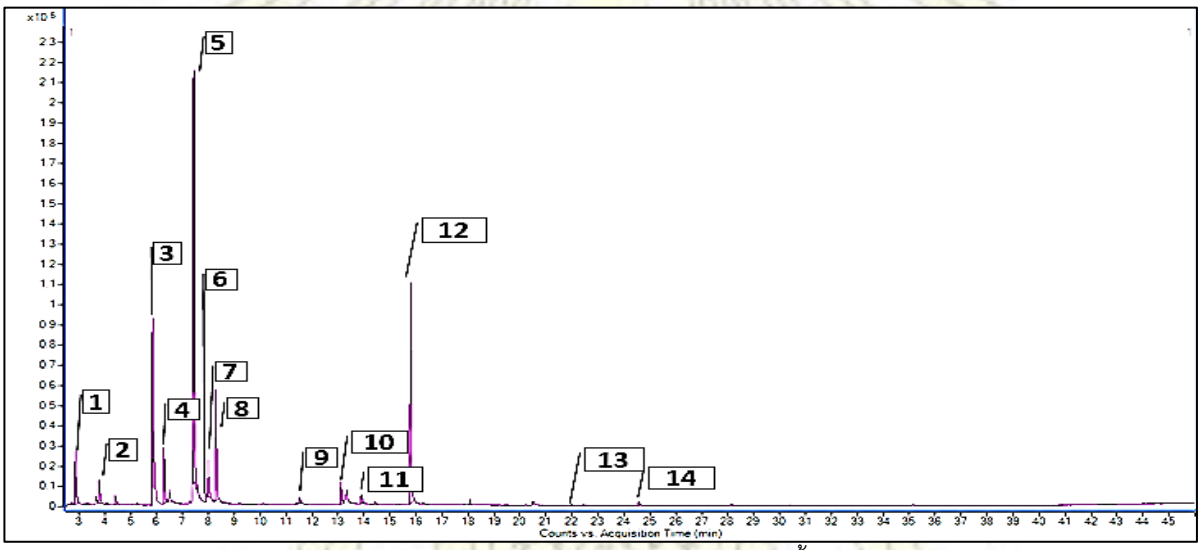
วิเคราะห์องค์ประกอบของสารระเหยในผลกล้วยสดของกล้วย 3 สายพันธุ์ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และ กล้วยน้ำว้า โดยเตรียมตัวอย่างกล้วยตามการทดลองที่ 2.3 ให้ความร้อนเพื่อสกัดสารระเหย (extraction) โดยใช้เทคนิค Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) เป็นเวลา 30 นาที วิเคราะห์ร่วมกับ เทคนิค Gas-chromatography-Mass-spectrometry (GC-MS) โดย inject เข็ม SPME ลงสู่เครื่อง GC เป็นเวลา 5 นาที เพื่อปลดปล่อยสารระเหย (desorption) วิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารระเหยเป็นเวลาทั้งสิ้น 46 นาที โดยเปลี่ยนอัตราส่วนของสารที่เข้าคอลัมน์ด้วยสภาวะ splitless และ split ratio อัตราส่วน 5:1 (ถ้าฉีดสารเข้าเครื่อง GC-MS 5 ส่วน จะมีสารเข้าคอลัมน์ 1 ส่วน) วิเคราะห์ตัวอย่างกล้วยสายพันธุ์ละ 3 ครั้ง ผลที่ได้แสดงออกมาเป็นตัวอย่างของ chromatogram ของกล้วยแต่ละสายพันธุ์ ดังแสดง **รูป 3.1-3.3**



รูป 3.1 GC-MS chromatogram ของกล้วยหอมทอง



รูป 3.2 GC-MS chromatogram ของกล้วยไข่



รูป 3.3 GC-MS chromatogram ของกล้วยน้ำว้า

จาก chromatogram ของกล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า แสดงให้เห็นว่า chromatogram ของกล้วยแต่ละสายพันธุ์ปรากฏพีคของสารระเหยมีลักษณะที่แตกต่างกัน จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารระเหยของกล้วยแต่ละสายพันธุ์ จะพบชนิดของสารระเหยมากที่สุดในกล้วยหอมทอง ลำดับถัดมาคือกล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้าตามลำดับ โดยสารประกอบกลุ่ม ester เป็นสารระเหยกลุ่มสำคัญที่พบมาในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์

โดยในการเปรียบเทียบสารประกอบที่พบกับการศึกษาที่มีผู้รายงานมาก่อนนั้น จำเป็นจะต้องอาศัยข้อมูลที่เปรียบเทียบกันได้โดยไม่ขึ้นกับสภาวะที่ทำการทดลอง เช่น เครื่องมือหรืออุณหภูมิที่แตกต่างกัน จึงได้มีการคิดค้นวิธีคำนวณค่า Linear retention index (LRI) ขึ้นมา ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบค่า retention time ของสารมาตรฐาน *n*-alkanes (ในที่นี้ใช้ความยาวตั้งแต่ C_6-C_{16}) กับสารแต่ละชนิดที่สนใจ ทำให้ได้ค่าตัวแปร

ใหม่ที่ไม่ขึ้นกับสภาวะการทดลอง โดยสมการหา LRI เป็นดังแสดงด้านล่าง และมี chromatogram ดังแสดงในรูป 3.4 และค่า retention time ได้แสดงใน**ตาราง 3.1**

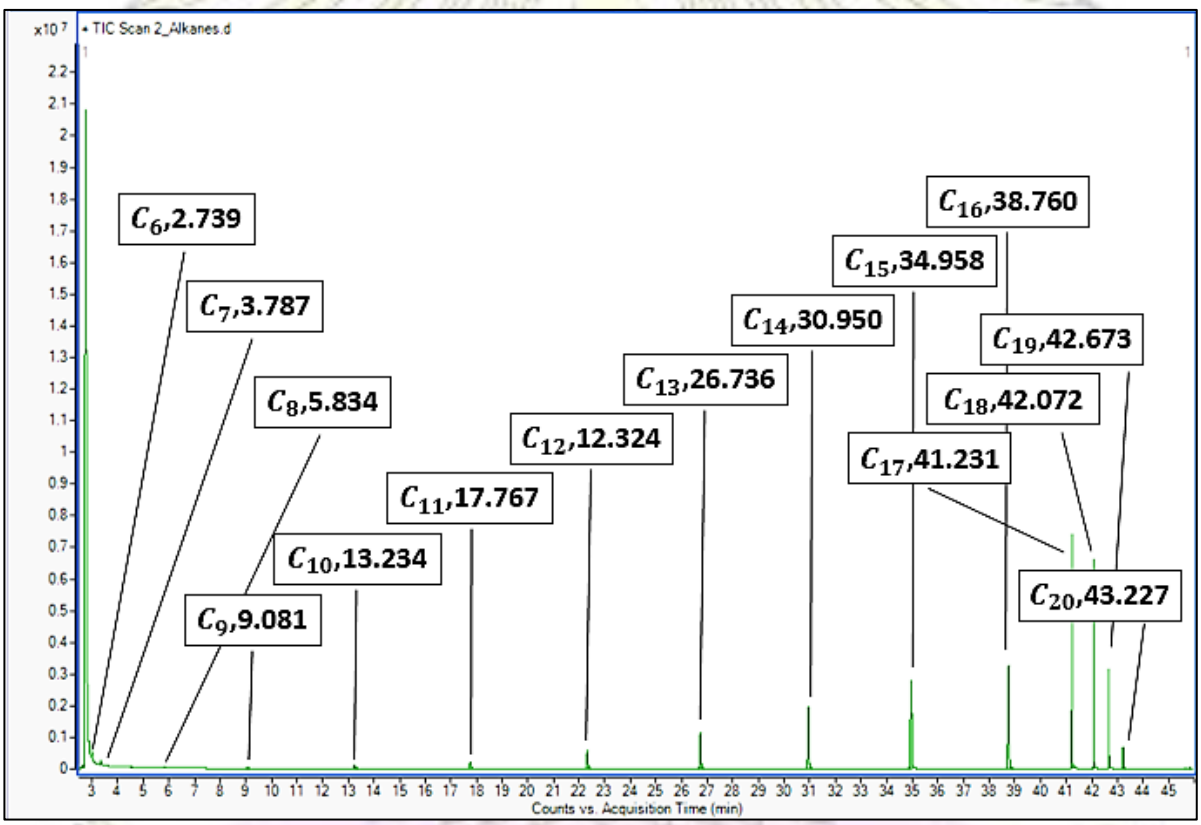
$$LRI = \left(\frac{R_t(x) - R_t(n)}{R_t(n+1) - R_t(n)} + n \right) \text{x } 100$$

X = สารที่สนใจ

n = สารมาตรฐาน n-alkane C_nH_{2n} ที่แยก ออกมาก่อนสารที่สนใจ

n+1 = สารมาตรฐาน n-alkane $C_{n+1}H_{2(n+1)}$ ที่แยกออกมาหลังสารที่สนใจ

R_t = เวลาที่สารแยกออกมา (ในหน่วยนาที หรือวินาที)



รูป 3.4 GC-MS chromatogram ของสารมาตรฐาน C_6-C_{16}

ตาราง 3.1 Retention time (นาที) ของสารมาตรฐาน C_6-C_{16}

N	n-alkanes	RT(1)	RT(2)	RT.Avg
6	n-Hexane	2.740	2.737	2.739
7	n-Heptane	3.796	3.787	3.787
8	n-Octane	5.834	5.834	5.834
9	n-Nonane	9.083	9.079	9.081
10	n-Decane	13.233	13.235	13.234
11	n-Undecane	17.768	17.766	17.767
12	n-Dodecane	22.324	22.324	22.324
13	n-Tridecane	26.738	26.734	26.736
14	n-Tetradecane	30.953	30.947	30.950
15	n-Pentadecane	34.961	34.955	34.958
16	n-Hexadecane	38.764	38.756	38.760

กล้วยหอมทองพบสารระเหยทั้งหมด 41 สาร ประกอบไปด้วยสารระเหยในกลุ่มของสารประกอบ ester มีจำนวน 31 สาร ดังแสดงใน **ตาราง 3.2** (แสดงชื่อของสารระเหยที่พบที่ retention time (นาที) เฉลี่ยของการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ครั้ง) และพบกลุ่มของสารประกอบอื่น ๆ อีก 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม aldehyde พบ 2 สาร คือ 3-methylbutanal และ (E)-hex-2-enal กลุ่ม alcohol พบ 5 สาร คือ 3-methylbutan-1-ol, hexan-1-ol, oct-2-en-1-ol, cis-3-methylcyclohexanol, และ (Z)-oct-5-en-1-ol กลุ่ม phenol, ketone และ aromatic กลุ่มละ 1 สาร คือ 4-allyl-2-methoxyphenol, pentan-2-one และ 5-allyl-1,2,3-trimethoxy-benzene ตามลำดับ

ตาราง 3.2 แสดง retention time (นาที) สารระเหยในกล้วยหอมทอง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS

Peak	Compounds	RT(1)	RT(2)	RT(3)	RT.Avg	LRI.
1	Ethyl acetate	2.750	2.882	2.882	2.838	609.447
2	3-Methylbutanal	3.269	3.256	3.263	3.263	649.968
3	Pentan-2-one	3.661	3.654	3.663	3.659	687.818
4	3-Methylbutan-1-ol	4.412	4.401	4.406	4.406	730.256

ตาราง 3.2 (ต่อ)

Peak	Compounds	RT(1)	RT(2)	RT(3)	RT.Avg	LRI.
5	Isobutyl acetate	5.244	5.235	5.232	5.237	770.835
6	Ethyl butanoate	5.927	5.914	5.920	5.920	802.661
7	Butyl acetate	6.304	6.293	6.286	6.294	814.186
8	Pentan-2-yl acetate	7.369	7.378	7.380	7.376	847.509
9	(E)-hex-2-enal	7.449	7.468	7.447	7.455	849.944
10	Hexan-1-ol	7.991	8.006	8.002	8.000	866.739
11	Isopentyl acetate	8.285	8.276	8.285	8.282	875.439
12	Propyl butanoate	9.103	9.092	9.092	9.096	900.353
13	Isobutyl 2-methylpropanoate	9.705	9.704	9.702	9.704	914.993
14	Butyl 2-methylpropanoate	11.286	11.277	11.279	11.281	952.966
15	Isobutyl butanoate	11.359	11.358	11.360	11.359	954.852
16	Butyl butanoate	13.096	13.099	13.098	13.098	996.717
17	Isobutyl 3-methylbutanoate	13.580	13.569	13.571	13.573	1007.486
18	Pentan-2-yl 2-methylpropanoate	14.404	14.409	14.409	14.407	1025.884
19	1,4 Dimethyl-4-pentenyl acetate	15.220	15.229	15.232	15.227	1043.966
20	Butyl 3-methylbutanoate	15.381	15.374	15.378	15.378	1047.290
21	3-Methylbutyl butanoate	15.834	15.869	15.850	15.851	1057.732
22	Pent-4-enyl butanoate	16.266	16.269	16.266	16.267	1066.909
23	Oct-2-en-1-ol	16.526	16.499	16.498	16.508	1072.219
24	Pentyl 3-methylbutanoate	17.532	17.541	17.546	17.540	1094.985
25	Isopentyl 2-methylbutanoate	17.845	17.840	17.827	17.837	1101.543
26	Isopentyl 3-methylbutanoate	18.065	18.062	18.057	18.061	1106.459
27	2-Methylpropyl hexanoate	20.147	20.154	20.145	20.149	1152.264
28	(E)-Hex-4-en-1-yl- butyrate	21.753	21.695	21.754	21.734	1187.053

ตาราง 3.2 (ต่อ)						
Peak	**Compounds**	**RT(1)**	**RT(2)**	**RT(3)**	**RT.Avg**	**LRI.**
29	Hexyl butanoate	22.009	22.012	22.006	22.009	1193.088
30	Hex-5-en-1-yl butanoate	22.152	22.144	22.150	22.149	1196.152
31	[(Z)-Oct-3-enyl] acetate	22.320	22.307	22.303	22.310	1199.693
32	[(Z)-Hex-4-enyl] butanoate	-	22.449	22.445	22.447	1202.788
33	Cis-3-Methylcyclohexanol	23.047	23.050	23.026	23.041	1216.251
34	2-Ethoxyethyl butyrate	23.796	23.806	23.810	23.804	1233.545
35	Hexyl 3-methylbutanoate	24.216	24.222	24.217	24.218	1242.936
36	Isopentyl hexanoate	24.588	24.583	24.579	24.583	1251.209
37	4-Allyl-2-methoxyphenol	-	29.153	29.133	29.143	1357.12
38	1-Vinylhexyl butanoate	30.000	30.015	30.002	30.006	1377.591
39	(Z)-oct-5-en-1-ol	30.432	30.444	30.440	30.439	1387.866
40	Dihydrocarvyl acetate	30.708	30.704	30.701	30.704	1394.170
41	5-Allyl-1,2,3-trimethoxy-benzene	37.136	37.162	37.142	37.147	1557.566

ในกล้วยไข่พบว่ามีสารระเหยทั้งหมด 39 สาร ดังแสดงใน **ตาราง 3.3** โดยสารระเหยในกลุ่มของสารประกอบ ester มีจำนวน 24 สาร สารประกอบในกลุ่มอื่นได้แก่ กลุ่ม aldehyde พบ 2 สาร คือ 3-methylbutanal และ hexanal กลุ่ม alcohol พบ 7 สาร คือ pentan-2-ol, pentan-1-ol, (Z)-hex-2-en-1-ol, hexan-1-ol, 3,4-dimethylcyclohexanol, 6-methylhept-2-en-4-ol, และ (Z)-oct-3-en-2-ol กลุ่ม ketone พบ 4 สาร คือpentan-2-one, 2-methylcyclopentan-1-one, heptan-2-one, และ hept-5-en-2-one และสุดท้ายในกลุ่มของสารประกอบ aromatic พบ 2 สาร คือ benzaldehyde และ 5-allyl-1,2,3-trimethoxy-benzene

ตาราง 3.3 แสดง retention time (นาที) สารระเหยในกล้วยไข่ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS						
Peak	**Compounds**	**RT(1)**	**RT(2)**	**RT(3)**	**RT.Avg**	**LRI.**
1	3-Methylbutanal	3.257	3.245	3.254	3.252	648.950
2	Pentan-2-one	3.655	3.635	3.649	3.646	686.578
3	Pentan-2-ol	3.802	3.784	3.791	3.792	700.261
4	Pentan-1-ol	4.426	4.406	4.407	4.413	730.595
5	Isobutyl acetate	5.270	5.258	5.251	5.260	771.974
6	Hexanal	5.864	5.858	5.854	5.859	800.760
7	Pentan-2-yl acetate	7.372	7.354	7.351	7.359	846.966
8	2-Methylcyclopentan-1-one	7.439	7.431	7.425	7.432	849.204
9	(Z)-Hex-2-en-1-ol	7.924	7.922	7.924	7.923	864.347
10	Hexan-1-ol	7.989	7.986	7.980	7.985	866.246
11	Isopentyl acetate	8.319	8.295	8.277	8.297	875.855
12	Heptan-2-one	8.800	8.790	8.788	8.793	891.120
13	Hept-5-en-2-one	8.986	8.964	8.968	8.973	896.664
14	2-Hexan-2-yl acetate	11.008	10.989	10.985	10.994	946.063
15	Isobutyl butanoate	11.371	11.363	11.358	11.364	954.972
16	Benzaldehyde	11.514	11.508	11.518	11.513	958.568
17	Butyl butanoate	13.110	13.092	13.087	13.096	996.685
18	Hexyl acetate	13.877	13.869	13.874	13.873	1014.104
19	[(E)-Hex-4-enyl] acetate	14.170	14.176	14.256	14.201	1021.325
20	Pentan-2-yl 2-methylpropanoate	14.430	14.446	14.393	14.423	1026.230
21	1,4 Dimethyl-4-pentenyl acetate	15.208	15.198	15.193	15.200	1043.363
22	3-Methylbutyl butanoate	15.802	15.822	15.809	15.811	1056.850
23	(E)-Oct-2-en-1-ol	16.080	16.070	16.067	16.072	1062.615
24	Pent-4-enyl butanoate	16.268	16.258	16.255	16.260	1066.762
25	Pentyl 3-methylbutanoate	16.702	16.702	16.695	16.700	1076.454

ตาราง 3.3 แสดง (ต่อ)

Peak	Compounds	RT(1)	RT(2)	RT(3)	RT.Avg	LRI.
26	Butyl pentanoate	17.518	17.526	17.519	17.521	1094.573
27	2-Methylbutyl 3-methylbutanoate	17.851	17.833	17.836	17.840	1101.602
28	3-Methylbutyl 3-methylbutanoate	18.067	18.055	18.052	18.058	1106.386
29	Pentyl pentanoate	20.230	20.226	20.226	20.227	1153.990
30	Hexyl butanoate	22.007	22.011	21.999	22.006	1193.014
31	2-Methylcyclohexyl butanoate	23.045	23.065	23.035	23.048	1216.417
32	Hexyl 3-methylbutanoate	24.222	24.220	24.212	24.218	1242.928
33	Isopentyl hexanoate	24.574	24.574	24.569	24.572	1250.960
34	6-Methylhept-2-en-4-ol	26.104	26.100	26.090	26.098	1285.539
35	(2-Methylphenyl)methyl acetate	29.643	29.636	29.619	29.633	1368.739
36	(Z)-Oct-3-en-2-ol	30.002	30.006	29.995	30.001	1377.480
37	Hexyl hexanoate	30.408	30.410	30.403	30.407	1387.114
38	Cyclopentyl butanoate	32.940	32.944	32.931	32.938	1449.609
39	5-Allyl-1,2,3-trimethoxy-benzene	37.142	37.140	37.132	37.138	1557.338

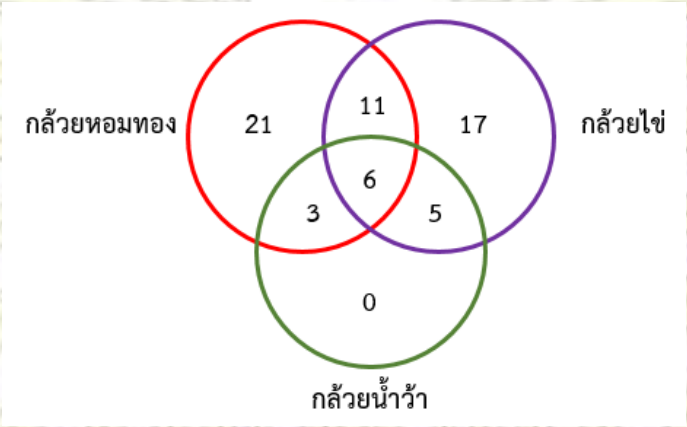
สุดท้ายวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารระเหยในกล้วยน้ำว้าพบว่ามีสารระเหยทั้งหมด 14 สาร ดังแสดงใน **ตาราง 3.4** โดยสารระเหยกลุ่มของสารประกอบ ester มีจำนวน 8 สาร ดังต่อไปนี้ ethyl acetate, butyl acetate, isopentyl acetate, butyl butanoate, hexyl acetate, isopentyl 2-methylbutanoate, hexyl butanoate, และ isopentyl hexanoate และสารประกอบในกลุ่มอื่นดังรายละเอียดต่อไปนี้ กลุ่ม aldehyde และ กลุ่ม alcohol พบกลุ่มละ 2 สาร คือ 3-methylbutanal, hexanal และ (Z)-hex-2-en-1-ol, hexan-1-ol ตามลำดับ กลุ่ม ketone พบ 1 สาร คือ 2-methylcyclopentan-1-one และสุดท้ายในกลุ่มของสารประกอบ aromatic พบ 1 สาร คือ benzaldehyde

ตาราง 3.4 แสดง retention time (นาที) สารระเหยในกล้วยน้ำว้า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS

Peak	Compounds	RT(1)	RT(2)	RT(3)	RT.Avg	LRI.
1	Ethyl Acetate	2.890	2.867	2.878	2.878	613.295
2	3-Methylbutanal	3.263	3.241	3.255	3.253	649.046
3	Hexanal	5.856	5.838	5.850	5.848	800.431
4	Butyl acetate	6.319	6.319	6.292	6.310	814.660
5	2-Methylcyclopentan-1-one	7.435	7.423	7.435	7.431	849.184
6	(Z)-Hex-2-en-1-ol	7.916	7.908	7.916	7.913	864.039
7	Hexan-1-ol	7.984	7.978	7.989	7.984	866.205
8	Isopentyl acetate	8.300	8.287	8.287	8.291	875.680
9	Benzaldehyde	11.490	11.494	11.494	11.493	956.829
10	Butyl butanoate	13.124	13.120	13.116	13.120	995.183
11	Hexyl acetate	13.907	13.900	13.907	13.905	1013.069
12	3-Methylbutyl butanoate	15.797	15.797	15.797	15.797	1055.661
13	Hexyl butanoate	22.007	22.007	22.013	22.009	1193.088
14	Isopentyl hexanoate	24.576	24.592	24.582	24.583	1251.209

จาก **ตาราง 3.5** ซึ่งแสดงการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารระเหยในกล้วย 3 สายพันธุ์ จะพบว่ามีสารระเหยทั้งหมด 6 สาร ที่พบในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ 3-methylbutanal, hexan-1-ol, isopentyl acetate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, และ hexyl butanoate ซึ่งสารทั้ง 6 สารนี้ ส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบในกลุ่มของสารประกอบ ester และจะเห็นได้ว่ามีเพียงกล้วยน้ำว้าเท่านั้นที่สารระเหยทั้ง 14 สาร ไม่ได้พบสารระเหยแค่เพียงในกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์เดียวแต่สามารถพบได้ในกล้วยหอมทองและกล้วยไข่อีกด้วย แตกต่างจากกล้วยหอมทองและกล้วยไข่ที่สารระเหยบางชนิดจะสามารถพบได้ในกล้วยเพียงสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่งเท่านั้น (เนื่องจากสายพันธุ์ของกล้วยที่ต่างกัน ส่งผลให้พบองค์ประกอบของสารระเหยที่แตกต่างกัน ตามแผนภาพ **รูป 3.5**) กล่าวคือสารระเหยที่พบในกล้วยหอมทองเพียงสายพันธุ์เดียวมีทั้งหมด 21 สาร และสารระเหยที่พบในกล้วยไข่เพียงสายพันธุ์เดียวมีทั้งหมด 17 สาร โดยสารดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นนั้นสามารถคำนวณค่า LRI ของสารได้ใกล้เคียงกับค่า LRI ที่ใช้อ้างอิงจากฐานข้อมูล NIST MS Spectral Library หรือ Agilent's Retention Time Locked (RTL) Databases for specific applications ของซอฟต์แวร์ GC/MSD โดยเลือกค่า LRI ของคอลัมน์ HP-5MS ซึ่งเป็นคอลัมน์ใน class

semi-standard non-polar เนื่องจากเป็นคอลัมน์ชนิดเดียวกันกับการวิเคราะห์ในการทดลองนี้ และเมื่อเปรียบเทียบ LRI ของกล้วยแต่ละสายพันธุ์จะให้ค่า LRI ที่ใกล้เคียงกัน เนื่องมาจากค่า LRI เป็นค่าเฉพาะตัวของสารแต่ละตัว เมื่อระบุได้ว่าสารที่ได้จากแต่ละการทดลองเป็นสารชนิดเดียวกัน ค่า LRI ที่คำนวณได้ จึงควรได้ค่าที่ใกล้เคียงกัน ดังแสดงใน **ตาราง 3.5**



รูป 3.5 แผนภาพจำนวนสารระเหยที่พบในกล้วยแต่ละสายพันธุ์

ตาราง 3.5 เปรียบเทียบองค์ประกอบของสารระเหยในกล้วย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่					
Order	Compounds	LRI.Ref	LRI.Avg		
			กล้วยหอมทอง	กล้วยน้ำว้า	กล้วยไข่
1	Ethyl acetate	612±5	609.447±5	613.295±5	-
2	3-Methylbutanal	649±N/A	649.968±N/A	649.046±N/A	648.950±N/A
3	Pentan-2-one	685±7	687.818±7	-	686.578±7
4	Pentan-2-ol	703±9	-	-	700.261±9
5	3-Methylbutan-1-ol	736±5	730.256±5	-	-
6	1-Pentanol	765±4	-	-	730.595±4
7	Isobutyl acetate	771±6	770.835±6	-	711.974±6
8	Hexanal	800±2	-	800.431±2	800.760±2
9	Ethyl butanoate	802±2	802.661±2	-	-
10	Butyl acetate	812±4	814.186±4	814.660±4	-
11	Pentan-2-yl acetate	849±10	847.509±10	-	846.966±10
12	2-Methylcyclopentan-1-one	846±N/A	-	849.184±N/A	849.204±N/A
13	(E)-Hex-2-enal	854±3	849.944±3	-	-
14	(Z)-Hex-2-en-1-ol	868±4	-	864.039±4	864.347±4
15	Hexan-1-ol	868±4	866.739±4	866.205±4	866.246±4
16	Isopentyl acetate	876±2	875.439±2	875.68±2	875.855±2

ตาราง 3.5 (ต่อ)					
Order	Compounds	LRI.Ref	LRI.Avg		
			กล้วยหอมทอง	กล้วยน้ำว้า	กล้วยไข่
17	Heptan-2-one	891±2	-	-	891.12±2
18	Hept-5-en-2-one	-	-	-	896.664
19	Propyl butanoate	896±3	900.353±3	-	-
20	Isobutyl 2-methylpropanoate	910±4	914.993±4	-	-
21	2-Hexan-2-yl acetate	937±N/A	-	-	946.063±N/A
22	Butyl 2-methylpropanoate	-	952.966	-	-
23	Isobutyl butanoate	955±6	954.852±6	-	954.972±6
24	Benzaldehyde	962±3	-	956.829±3	958.568±3
25	Butyl butanoate	995±2	996.717±2	995.183±2	996.685±2
26	Isobutyl 3-methylbutanoate	1005±2	1007.486±2	-	-
27	Hexyl acetate	1011±4	-	1013.069±4	1014.104±4
28	4-Hexen-1-ol, acetate	1013±N/A	-	-	1021.325±N/A
29	Pentan-2-yl 2-methylpropanoate	1028±N/A	1025.884±N/A	-	1026.230±N/A
30	Butanoic acid, 4-pentenyl ester	-	-	-	1035.392
31	1,4 Dimethyl-4-pentenyl acetate	-	1043.966	-	1043.363
32	Butyl 3-methylbutanoate	1047±1	1047.290±1	-	-

ตาราง 3.5 (ต่อ)					
Order	Compounds	LRI.Ref	LRI.Avg		
			กล้วยหอมทอง	กล้วยน้ำว้า	กล้วยไข่
33	Pentyl pentanoate	1150±N/A	-	-	1153.990±N/A
34	3-Methylbutyl butanoate	1056±4	1057.732±4	1055.661±4	1056.850±4
35	(E)-Oct-2-en-1-ol	1067±N/A	-	-	1062.615±N/A
36	Pent-4-enyl butanoate	-	1066.909	-	1066.762
37	Oct-2-en-1-ol	1066±6	1072.219±6	-	-
38	Butyl pentanoate	-	-	-	1094.573
49	Pentyl 3-methylbutanoate	-	1094.985	-	1076.454
40	Isopentyl 2-methylbutanoate	1101±1	1101.543±1	-	-
41	2-Methylbutyl 3-methylbutanoate	1107±2	-	-	1101.602±2
42	Isopentyl 3-methylbutanoate	1104±1	1106.459±1	-	1103.386
43	2-Methylpropyl hexanoate	1149±4	1152.264±4	-	-
44	(E)-Hex-4-en-1-yl-butyrate	1197±N/A	1187.053±N/A	-	-
45	Hexyl butanoate	1192±2	1193.088±2	1193.088±2	1193.014±2
46	Hex-5-en-1-yl butanoate	1183±N/A	1196.152±N/A	-	-
47	[(Z)-Oct-3-enyl] acetate	1195±3	1199.693±3	-	-
48	[(Z)-Hex-4-enyl] butanoate	1203±N/A	1202.788±N/A	-	-

ตาราง 3.5 (ต่อ)					
Order	Compounds	LRI.Ref	LRI.Avg		
			กล้วยหอมทอง	กล้วยน้ำว้า	กล้วยไข่
49	Cis-3-Methylcyclohexanol	-	1216.251	-	-
50	2-Methylcyclohexyl butanoate	-	-	-	1216.417
51	2-Ethoxyethyl butyrate	-	1233.545	-	-
52	Hexyl 3-methylbutanoate	1244±1	1242.936±1	-	1242.928
53	Isopentyl hexanoate	1252±2	1251.209±2	1251.209±2	-
54	6-Methylhept-2-en-4-ol	-	-	-	1285.539
55	(2-Methylphenyl)methyl acetate	1287±N/A	-	-	1368.739±N/A
56	4-Allyl-2-methoxyphenol	1357±3	1357.120±3	-	-
57	(Z)-Oct-3-en-2-ol	-	-	-	1377.48
58	1-Vinylhexyl butanoate	-	1377.591	-	-
59	Hexyl hexanoate	1384±2	-	-	1387.114±2
60	(Z)-oct-5-en-1-ol	-	1387.866	-	-
61	Dihydrocarvyl acetate	-	1394.127	-	-
62	Cyclopentyl butanoate	-	-	-	1449.609
63	5-Allyl-1,2,3-trimethoxy-benzene	1554±4	1557.566±4	-	1557.338±4

จากการวิเคราะห์ผลการทดลองที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของสายพันธุ์ของกล้วยจะมีผลต่อองค์ประกอบของสารระเหย ในภาพรวมของการวิเคราะห์เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่อันดับระหว่าง กล้วยหอมทองกับกล้วยน้ำว้า กล้วยหอมทองกับกล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้ากับกล้วยไข่ สามารถสรุปได้ว่า กล้วยหอมทองและกล้วยไข่ ทั้ง 2 สายพันธุ์นี้จะพบสารระเหยที่เหมือนกันมากที่สุด อาจเนื่องมาจากทั้ง 2 สายพันธุ์มีความแตกต่างขององค์ประกอบสารเคมีที่ระเหยง่ายมากกว่าในกล้วยน้ำว้า

3.2 การระบุสารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า โดยใช้เทคนิค HS-SPME ร่วมกับ GC-MS/O ในการวิเคราะห์

ในส่วนการทดลองนี้ จะเป็นการทดลองที่ทำการระบุสารระเหยที่ให้กลิ่นในผลกล้วยสดของกล้วย 3 สายพันธุ์ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และ กล้วยน้ำว้า ด้วยการดมกลิ่นจากมนุษย์นอกเหนือจากการวิเคราะห์ด้วย detector อย่างเดียว โดยเตรียมตัวอย่างกล้วยเช่นเดียวกับขั้นตอนของการวิเคราะห์สารระเหยในกล้วย วิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารระเหยรวมระยะเวลาทั้งสิ้น 46 นาที ซึ่งตั้งแต่นาทีที่ 2.5 เป็นต้นไป ผู้วิเคราะห์กลิ่นเพศหญิงจำนวน 1 คน จะทำการดมกลิ่นเพื่อระบุสารระเหยที่ให้กลิ่นผ่านเครื่องมือ olfactometry detection port ที่ต่อออกมาจากเครื่อง GC-MS เรียกว่า เทคนิค chromatography-Olfactometry (GC-O) โดยวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นจากตัวอย่างกล้วยสายพันธุ์ละ 1 ครั้ง และบันทึกเวลาขณะได้กลิ่นสาร (ทำซ้ำโดยเปลี่ยนผู้วิเคราะห์กลิ่นเพศหญิงอีก 1 คน)

จากผลการทดลอง **ตาราง 3.6** เป็นการจัดลำดับสารเรียงจากค่า retention time (เป็นค่าเฉลี่ยจาก **ตาราง 3.2-3.4**) และเปรียบเทียบพร้อมระบุสารที่ให้กลิ่น โดยการระบุกลิ่นจะทำการบันทึกเวลาที่สารออกจาก Olfactometer มายังจมูกของผู้ดม และทำการบันทึกเวลาขณะได้กลิ่นสารระเหยโดยยังไม่คำนึงถึงลักษณะ (description) ของกลิ่นหรือความแรงของกลิ่น จากนั้นจะนำเวลาที่บันทึกได้มาเทียบกับค่า retention time ของสารจากการวิเคราะห์ผ่านเทคนิค GC-MS ซึ่งพบว่าในทุกกรณีจะสามารถระบุสารที่มี retention time ใกล้เคียงกับเวลาที่ผู้ดมได้กลิ่นสารระเหยทั้งหมด จึงสามารถจับคู่ชื่อสารและกลิ่นที่รับได้ในทุกกรณี

ในกล้วยหอมทองพบสารระเหยที่ให้กลิ่นทั้งหมด 23 สาร จากสารที่ระบุวิเคราะห์ได้ 41 สาร สารส่วนใหญ่เป็นสารประกอบในกลุ่ม ester จำนวน 18 สาร ได้แก่ ethyl acetate, 2-methylpropyl acetate, ethyl butanoate, butyl acetate, pentan-2-yl acetate, 3-methylbutyl acetate, 2-methylpropyl 2-methylpropanoate, 2-methylpropyl butanoate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, isopentyl 3-methylbutanoate, 2-methylpropyl hexanoate, (E)-hex-4-en-1-yl-butyrate, hexyl butanoate, 2-ethoxyethyl butyrate, isopentyl hexanoate, 1-vinylhexyl butanoate, และ dihydrocarvyl acetate สารให้กลิ่นในกลุ่มของสารประกอบอื่น ๆ ดังนี้ กลุ่ม aldehyde พบ 2 สาร คือ 3-methylbutanal และ E-2-hexenal กลุ่ม alcohol พบ 1 สาร คือ 3-methyl-1-butanol กลุ่ม phenol พบ 1 สาร คือ 4-allyl-2-methoxyphenol และกลุ่มสุดท้ายคือกลุ่มของสารประกอบ aromatic พบ 1 สาร คือ 1,2,3-trimethoxy-5-prop-2-enylbenzene ซึ่ง ethyl acetate, 3-methyl-1-butanol, 2-methylpropyl

acetate, ethyl butanoate, butyl acetate, pentan-2-yl acetate, E-2-hexenal, 3-methylbutyl acetate, 2-methylpropyl butanoate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, isopentyl 3-methylbutanoate, hexyl butanoate, isopentyl hexanoate, 4-allyl-2-methoxyphenol, และ 1,2,3-trimethoxy-5-prop-2-enylbenzene เป็นสารระเหยให้กลิ่นที่พบในงานวิจัยของ สรศักดิ์ งามสง่า และคณะ [14] มาก่อนหน้านี้

การวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นในกล้วยไข่ พบสารระเหยให้กลิ่นทั้งหมด 11 สาร สารส่วนใหญ่เป็นสารประกอบในกลุ่ม ester จำนวน 7 สาร ได้แก่ 2-methylpropyl acetate, pentan-2-yl acetate, 3-methylbutyl butanoate, pentyl 3-methylbutanoate, pentyl pentanoate, hexyl 3-methylbutanoate, และ (2-methylphenyl)methyl acetate สารให้กลิ่นในกลุ่มของสารประกอบ aldehyde และ alcohol พบกลุ่มละ 2 สาร คือ 3-methylbutanal กับ hexanal และ (Z)-hex-2-en-1-ol กับ (Z)-oct-3-en-2-ol ตามลำดับ

ในทางกลับกันกล้วยน้ำว้าจะพบสารระเหยที่ให้กลิ่นในกลุ่มของสารประกอบ aldehyde เป็นหลัก แตกต่างจากกล้วยหอมทองและกล้วยไข่ที่จะเป็นกลุ่มของสารประกอบ ester เนื่องจากกล้วยน้ำว้ามีกลิ่นที่แตกต่างไปจากกล้วยหอมทองและกล้วยไข่ จึงเป็นผลทำให้เกิดความแตกต่างของสารระเหยที่ให้กลิ่น โดยพบสารให้กลิ่นเพียง 5 สาร ได้แก่ 3-methylbutanal, hexanal, butyl acetate, 2-methylcyclopentan-1-one, และ (Z)-hex-2-en-1-ol

จากในหัวข้อ **3.1** จะเห็นได้ว่าในกล้วยแต่ละสายพันธุ์สามารถค้นพบสารประกอบที่ระเหยได้มากกว่าจำนวนสารประกอบที่ให้กลิ่นตามที่จมูกมนุษย์ตรวจพบ เนื่องมาจากสารแต่ละชนิดจะมีค่า odor threshold (ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารให้กลิ่นที่ทำให้มนุษย์สามารถรับรู้กลิ่นได้) แตกต่างกันออกไป ในกรณีของสารระเหยที่ค้นพบบางตัวมีปริมาณมากในตัวอย่างที่วิเคราะห์ แต่มีค่า odor threshold สูงเกินความสามารถที่มนุษย์จะรับรู้กลิ่นได้ ก็จะส่งผลทำให้สารดังกล่าวเป็นสารที่ไม่ให้กลิ่น และในกรณีของสารระเหยบางตัวที่มีปริมาณของสารในองค์ประกอบน้อย แต่มีค่า odor threshold ต่ำมาก ก็จะส่งผลทำให้สารดังกล่าวเป็นสารที่ให้กลิ่น โดยค่า odor threshold สามารถนำไปคำนวณเป็นค่า odor activity value (OAV) ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดในตัวอย่างและค่า odor threshold ของสารนั้นๆ สารระเหยใดที่มีค่า OAV สูง (OAV ≥ 1) มีแนวโน้มว่าสารนั้นเป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่น[17]

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้น กลิ่นของกล้วยที่มนุษย์ได้กลิ่นเป็นเพียงกลิ่นของสารระเหยเพียงบางสารเท่านั้นที่ประกอบกันเป็นองค์ประกอบของกลิ่นของกล้วยสายพันธุ์นั้น ๆ และจากผลการทดลองการเปรียบเทียบสารระเหยให้กลิ่นจะเห็นได้ว่ากล้วยหอมทองพบสารระเหยให้กลิ่นมากที่สุด จึงเลือกกล้วยหอมทองเป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์สารให้กลิ่นที่น้ำหนักที่แตกต่างกัน เพื่อวิเคราะห์ว่าความแตกต่างของปริมาณของกล้วยตัวอย่างจะส่งผลต่อกลิ่นที่มนุษย์ได้รับหรือไม่ และจะนำไปสู่การประมาณค่า OAV อย่างคร่าว ๆ ได้

ตาราง 3.6 เปรียบเทียบสารระเหยที่ให้กลิ่นของกล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS/O

Order	Compounds	RT.Avg	Volatile compounds		
			กล้วยหอมทอง	กล้วยน้ำว้า	กล้วยไข่
1	Ethyl acetate	2.838	X		
2	3-Methylbutanal	3.263	X	X	X
3	3-Methyl-1-butanol	4.406	X		
4	2-Methylpropyl acetate	5.237	X		X
5	Hexanal	5.848		X	X
6	Ethyl butanoate	5.920	X		
7	Butyl acetate	6.294	X	X	
8	Pentan-2-yl acetate	7.376	X		X
9	2-Methylcyclopentan-1-one	7.431		X	
10	E-2-hexenal	7.455	X		
11	(Z)-Hex-2-en-1-ol	7.913		X	X
12	3-Methylbutyl acetate	8.282	X		
13	2-Methylpropyl 2-methylpropanoate	9.704	X		
14	2-Methylpropyl butanoate	11.359	X		
15	Butyl butanoate	13.098	X		
16	3-Methylbutyl butanoate	15.851	X		X
17	Pentyl 3-methylbutanoate	16.700			X
18	Isopentyl 3-methylbutanoate	18.061	X		
19	2-Methylpropyl hexanoate	20.149	X		
20	Pentyl pentanoate	20.227			X
21	(E)-Hex-4-en-1-yl-butyrate	21.734	X		
22	Hexyl butanoate	22.009	X		
23	2-Ethoxyethyl butyrate	23.804	X		

ตาราง 3.6 (ต่อ)

Order	Compounds	RT.Avg	Volatile compounds		
			กล้วยหอมทอง	กล้วยน้ำว้า	กล้วยไข่
24	Hexyl 3-methylbutanoate	24.218			X
25	Isopentyl hexanoate	24.583	X		
26	4-Allyl-2-methoxyphenol	29.143	X		
27	(2-Methylphenyl)methyl acetate	29.633			X
28	(Z)-Oct-3-en-2-ol	30.001			X
29	1-Vinylhexyl butanoate	30.006	X		
30	Dihydrocarvyl acetate	30.704	X		
31	1,2,3-Trimethoxy-5-prop-2-enylbenzene	37.147	X		

เครื่องหมาย X แสดงว่าเป็นสารระเหยให้กลิ่น

3.3 การอธิบายกลิ่นของสารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมและการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นที่น้ำหนักแตกต่างกันของกล้วย ผ่านผู้วิเคราะห์กลิ่นจำนวน 3 คน โดยใช้เทคนิค HS-SPME ร่วมกับ GC-MS/O ในการวิเคราะห์

ระบุสารระเหยให้กลิ่นในกล้วยหอมทองที่น้ำหนักที่แตกต่างกัน ดังนี้ 4.0, 2.0, 1.0, 0.5, และ 0.25 กรัม โดยเตรียมตัวอย่างกล้วยตามการทดลองที่ **2.3** และทำการวิเคราะห์เหมือนกับข้อ **3.2** โดยใช้ผู้วิเคราะห์กลิ่นจำนวน 3 คน (เพศชาย 1 คน เพศหญิง 2 คน) วิเคราะห์กลิ่นที่น้ำหนักละ 1 ครั้งและทำการบันทึกเวลาขณะได้กลิ่นของสาร ผลการทดลองแสดงดัง**ตาราง 3.7** โดยแต่ละน้ำหนักของตัวอย่างจะเป็นการระบุว่าที่น้ำหนักนั้น ๆ ของตัวอย่างแต่ละชนิด มีผู้วิเคราะห์สามารถรับรู้กลิ่นได้กี่คน โดยยังไม่สนใจลักษณะของกลิ่น (aroma descriptor) ที่รับรู้ได้ พบว่าสารระเหยที่ให้กลิ่นหลักของกล้วยหอมทองจากสารระเหยให้กลิ่นทั้งหมด 23 สาร มี 10 สาร ได้แก่ 3-methylbutan-1-ol, isobutyl acetate, ethyl butanoate, isopentyl acetate, isobutyl butanoate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, (E)-hex-4-en-1-yl- butyrate, hexyl butanoate, และ 4-allyl-2-methoxyphenol เป็นสารที่สามารถรับรู้กลิ่นได้ ในทุก ๆ น้ำหนักของกล้วยหอมทอง จากการระบุของผู้วิเคราะห์กลิ่นอย่างน้อย 1 คน แสดงว่าสารระเหยชนิดนั้นเป็นสารระเหยที่ให้กลิ่นหลักในกล้วยหอมทอง และผลการวิเคราะห์กลิ่นจาก**ตาราง 3.7** สารบางชนิดจะมีแนวโน้มของการรับรู้

กลิ่นของสารลดลงเมื่อน้ำหนักของกล้วยตัวอย่างลดลง บ่งบอกได้ว่าปริมาณของกล้วยตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นจะมีผลต่อความแรงของกลิ่นหรือการได้กลิ่น ถ้าลดปริมาณของกล้วยตัวอย่างลงน้อยกว่า 0.25 กรัม ส่งผลให้สารระเหยที่ให้กลิ่นบางตัวกลายเป็นสารที่ผู้วิเคราะห์ไม่สามารถรับรู้กลิ่นได้ อาจเนื่องมาจากปริมาณของสารหรือความเข้มข้นของสารในองค์ประกอบลดลงส่งผลให้ค่า odor activity value (OAV) ต่ำลง ทำให้กลิ่นที่ได้รับมีความแรงของกลิ่นลดลงหรืออยู่ในระดับที่มนุษย์ไม่สามารถรับรู้ถึงกลิ่นได้

การอธิบายกลิ่นของสารแต่ละชนิด อ้างอิงจากฐานข้อมูลบนเว็บไซต์ The Good Scents Company Information System (http://www.thegoodscentscompany.com) จาก**ตาราง 3.7** พบว่าสารระเหยให้กลิ่นในกล้วยหอมทองส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่ม กลิ่นผลไม้ (fruity) คิดเป็น 48% ของสารให้กลิ่นทั้งหมด ได้แก่ 3-methylbutan-1-ol, isobutyl acetate, ethyl butanoate, isopentyl acetate, isobutyl 2-methylpropanoate, isobutyl butanoate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, isopentyl 3-methylbutanoate, 2-methylpropyl hexanoate, และ isopentyl hexanoate ลำดับที่ 2 คิดเป็น 13% ของสาให้กลิ่นทั้งหมด มี 1 กลุ่ม คือ กลิ่นจากการปรุง (ethereal) ได้แก่ 3-methylbutanal, ethyl acetate และ butyl acetate กลุ่มกลิ่นลำดับที่ 3 คิดเป็น 9% ของสารให้กลิ่นทั้งหมด มี 2 กลุ่ม คือ กลิ่นหญ้า (green) ได้แก่ (E)-hex-2-enal และ hexyl butanoate, และ กลิ่นเครื่องเทศ (spices) ได้แก่ 4-allyl-2-methoxyphenol และ 5-allyl-1,2,3-trimethoxy-benzene กลุ่มกลิ่นลำดับสุดท้ายคิดเป็น 4% ของสารให้กลิ่นทั้งหมด มี 3 กลุ่ม คือ กลิ่นสมุนไพร (herbal) ได้แก่ pentan-2-yl acetate กลิ่นเห็ดหอม (mushroom) ได้แก่ 1-vinylhexyl butanoate และกลิ่นดอกไม้ (floral) ได้แก่ dihydrocarvyl acetate

ตาราง 3.7 แสดงจำนวนของผู้ดมกลิ่น จากสารระเหยที่ให้กลิ่นของกล้วยหอมทองที่น้ำหนักที่แตกต่างกันของกล้วย ผ่านผู้วิเคราะห์กลิ่นจำนวน 3 คน							
Order	Compounds	Aroma Descriptors	No. of panelists detecting aroma-active compounds				
			4 g	2 g	1 g	0.5 g	0.25 g
1	Ethyl acetate	ethereal, fruity, sweet, grape, rum-like	2	1	3	0	2
2	3-Methylbutanal	ethereal, aldehydic, chocolate, peach, fatty	2	2	2	0	0
3	3-Methylbutan-1-ol	fusel, alcoholic, pungent, ethereal, cognac, fruity, banana, molasses	1	3	3	2	2
4	Isobutyl acetate	sweet, fruity, apple, banana	3	3	3	2	3
5	Ethyl butanoate	sweet, fruity, tutti frutti, lifting	3	3	2	3	3
6	Butyl acetate	sharp, ethereal, diffusive, fruity banana	3	1	2	1	0
7	Pentan-2-yl acetate	herbal tropical	3	1	2	1	0
8	(E)-hex-2-enal	green, banana aldehydic, fatty, cheesy	0	2	1	2	2
9	Isopentyl acetate	sweet, banana, fruity with a ripe estry nuance	3	2	2	3	3
10	Isobutyl 2-methylpropanoate	pineapple, grape, skin, tropical	2	0	1	0	1
11	Isobutyl butanoate	sweet, fruity, candy, berry, cherry, tutti frutti, over ripe, bubble gum-like	2	2	2	2	1
12	Butyl butanoate	sweet, fruity, fresh, diffusive, ripe	3	3	3	3	3
13	3-Methylbutyl butanoate	fruity, green, apricot, pear, banana	2	3	3	1	3

ตาราง 3.7 (ต่อ)

Order	Compounds	Aroma Descriptors	No. of panelists detecting aroma-active compounds				
			4 g	2 g	1 g	0.5 g	0.25 g
14	Isopentyl 3-methylbutanoate	sweet, fruity, green, ripe, apple, jammy	3	2	3	2	0
15	2-Methylpropyl hexanoate	sweet, fruity, pineapple, green, peach	0	2	2	2	3
16	(E)-Hex-4-en-1-yl- butyrate	-	2	3	1	2	3
17	Hexyl butanoate	green, sweet, fruity, apple, waxy, soapy	3	3	2	3	1
18	2-Ethoxyethyl butyrate	-	1	0	2	1	1
19	Isopentyl hexanoate	fruity, banana, apple, pineapple, green	2	3	2	2	0
20	4-Allyl-2-methoxyphenol	sweet, spicy, clove, woody	2	3	3	3	3
21	1-Vinylhexyl butanoate	fruity, mushroom, butter	3	0	0	1	2
22	Dihydrocarvyl acetate	floral, rose, cuminseed, sweet, minty	1	2	1	0	0
23	5-Allyl-1,2,3-trimethoxy-benzene	spice, flower	3	3	2	1	0

เครื่องหมาย – หมายความว่า ไม่พบการอธิบายของกลิ่นจากฐานข้อมูล

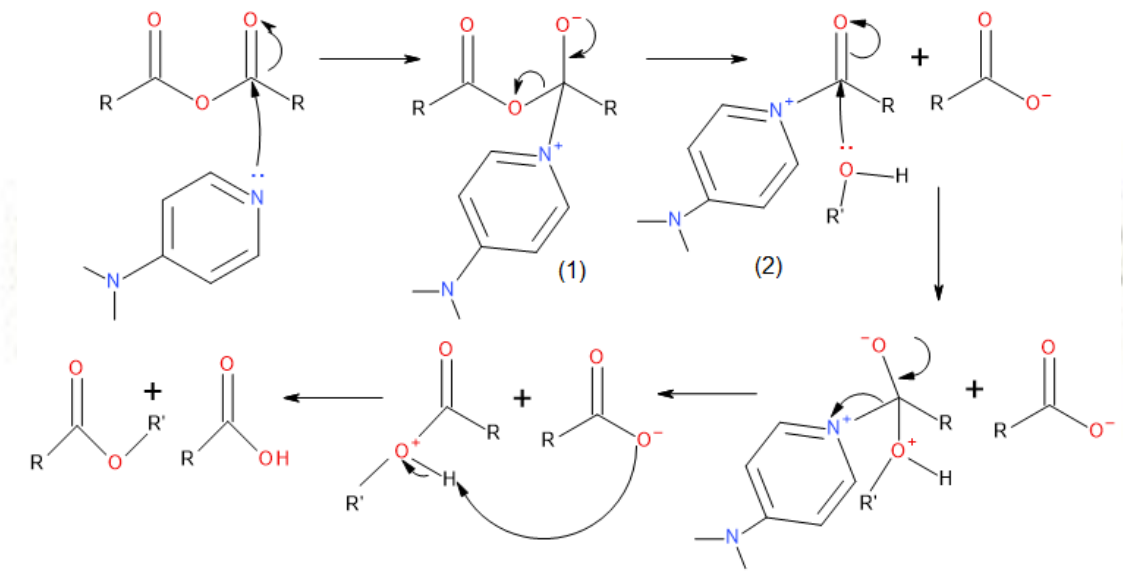
3.4 การสังเคราะห์สารประกอบที่ให้กลิ่นในกล้วยหอมทอง

สังเคราะห์สารระเหยให้กลิ่นทั้งหมด 5 สาร ผ่านปฏิกิริยาหลัก 2 ปฏิกิริยา โดยสาร isobutyl butanoate, ethyl butanoate, และ hexyl butanoate ได้สังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่ของ acid anhydride ด้วย alcohol โดยมี 4-dimethylaminopyridine (DMAP) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา[18] ส่วนสาร isobutyl acetate และ isopentyl acetate สังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยา Fischer esterification ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด เพื่อนำสารที่สังเคราะห์ได้ผสมรวมกันเป็นกลิ่นของกล้วยหอมทอง โดยระบุวิเคราะห์สารด้วยเทคนิค Proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) ผลการทดลองเป็นดังต่อไปนี้

3.4.1 สังเคราะห์ isobutyl butanoate, ethyl butanoate, และ hexyl butanoate

การสังเคราะห์ isobutyl butanoate, ethyl butanoate, และ hexyl butanoate ผ่านขั้นตอนในการสังเคราะห์ที่เหมือนกัน เริ่มจากการเติม alcohol ของแต่ละปฏิกิริยา ได้แก่ isobutyl alcohol, ethyl alcohol, และ hexyl alcohol จำนวนโมลเท่ากันคือ 10 mmol ผสมกับ DMAP 0.05 mmol เพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เติม butyric anhydride ปริมาตร 11 mmol จากนั้น stir ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 ชั่วโมง เติมน้ำ D.I. ปริมาตร 1 mmol และ stir ต่อที่อุณหภูมิห้องจนครบ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำของผสมไปสกัดด้วยเบส sodium hydroxide เพื่อกำจัดกรด carboxylic และทำการกลั่นเพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์ของสาร

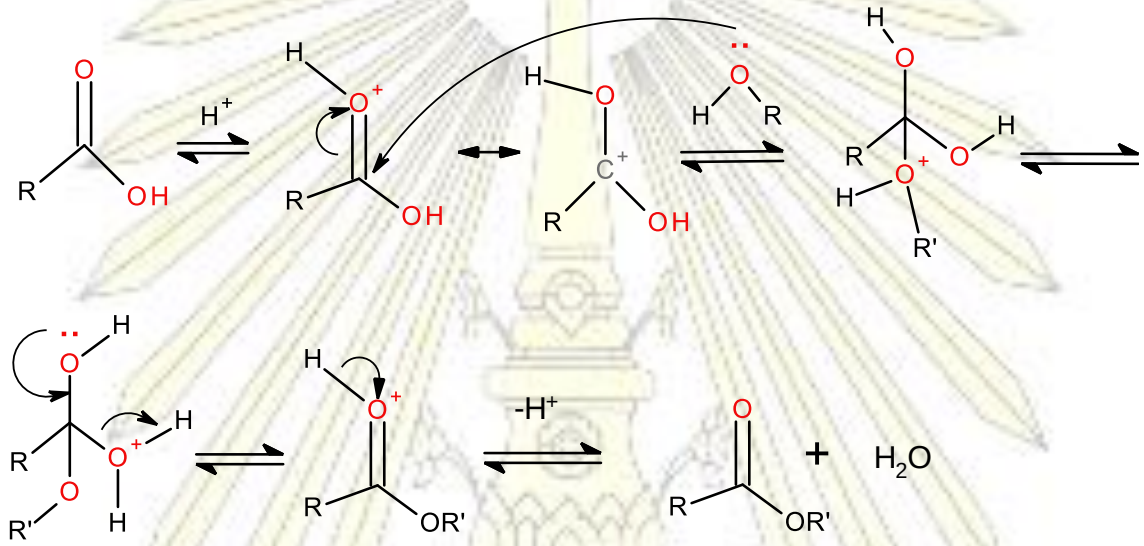
ปฏิกิริยาขั้นแรกเกิดจาก nucleophilic attack ของ ไนโตรเจนที่วงไพริดีนของ DMAP ที่หมู่คาร์บอนิลของ butyric anhydride จากนั้นหมู่ carboxylate หลุดออก เกิดเป็น intermediate (2) จากนั้น alcohol เข้าทำปฏิกิริยาที่หมู่คาร์บอนิลของ intermediate (2) ตามด้วยการหลุดออกของโมเลกุล DMAP ซึ่งโมเลกุล DMAP ที่หลุดออกนี้สามารถทำปฏิกิริยากับ acid anhydride โมเลกุลอื่นได้อีก ในขั้นสุดท้ายไอออน carboxylate รับโปรตอนจากหมู่ไฮดรอกซิล เกิดเป็นกรด carboxylic และได้ผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ที่ต้องการ กลไกปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังแสดง**รูป 3.6**



รูป 3.6 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา Acylation of alcohols with acid anhydrides

3.4.2 สังเคราะห์ isobutyl acetate และ isopentyl acetate

การสังเคราะห์ isobutyl acetate และ isopentyl acetate ผ่านขั้นตอนในการสังเคราะห์ที่เหมือนกัน เริ่มจากการเติม alcohol ของแต่ละปฏิกิริยา ได้แก่ isobutyl alcohol 0.022 mmol ผสมกับ acetic acid 0.022 mmol และ isoamyl alcohol 0.019 mmol ผสมกับ acetic acid 0.020 mmol ตามลำดับ เติม sulfuric acid 7.50 mmol นำไป reflux ด้วยความร้อนบน hot plate เป็นเวลา 90 นาที สามารถสังเคราะห์สารได้ จากนั้นนำไปสกัดด้วยเบส sodium hydroxide เพื่อกำจัดกรดและทำการกลั่นเพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์ของสาร โดยกลไกปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังแสดง**รูป 3.7**



รูป 3.7 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา Fischer esterification

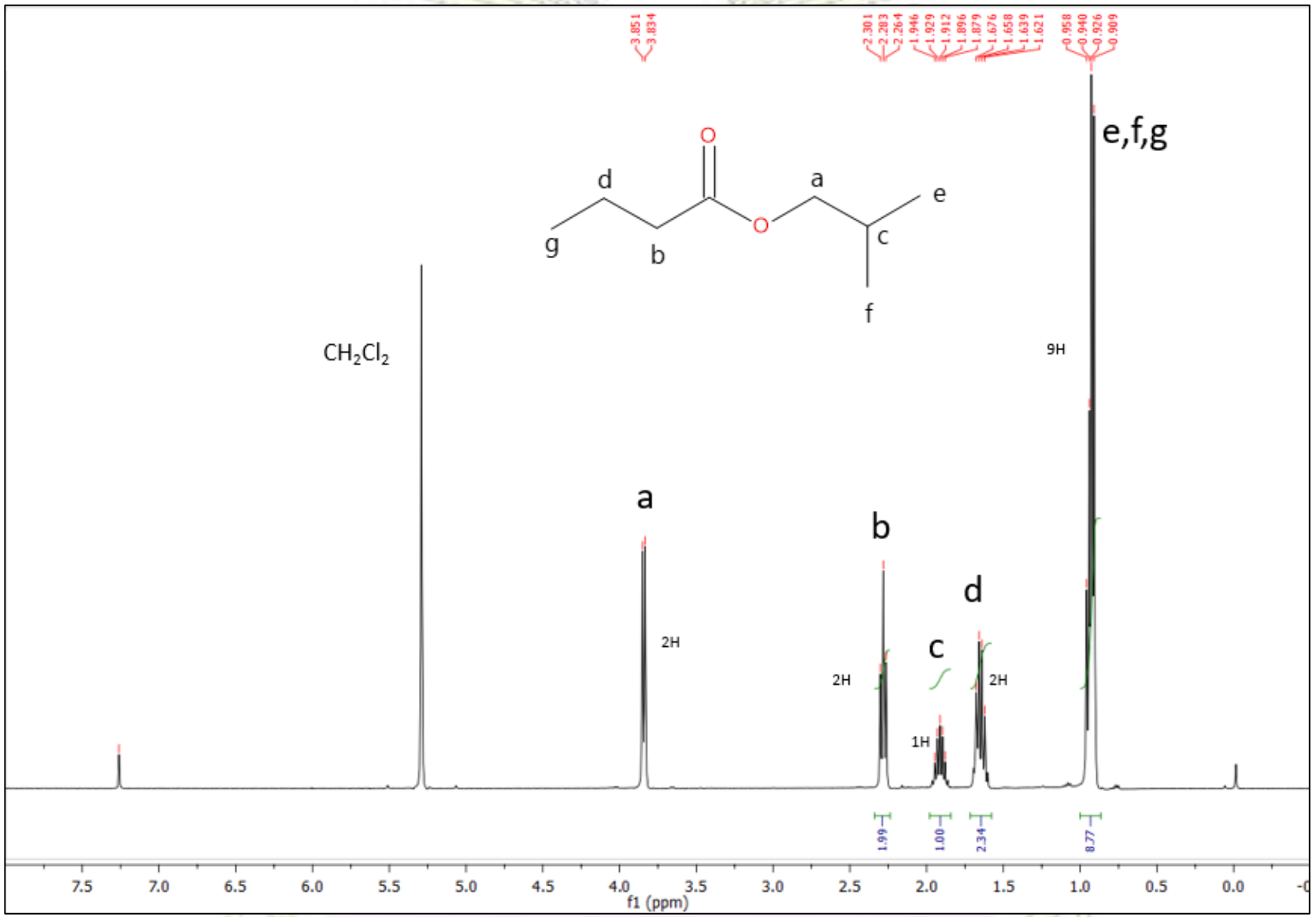
โดยขั้นแรก acetic acid รับโปรตอนจาก sulfuric acid ที่เติมลงไปเกิดเป็นสารที่มีความเป็น electrophile เพิ่มขึ้น จากนั้นเกิด nucleophilic attack ของ alcohol ที่หมู่คาร์บอนิลของ acetic acid เกิดเป็น tetrahedral intermediate ขั้นถัดไปเกิดการเปลี่ยนตำแหน่งของโปรตอนทำให้โมเลกุลของน้ำหลุดออกได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำและเอสเทอร์

3.5 การระบุวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR)

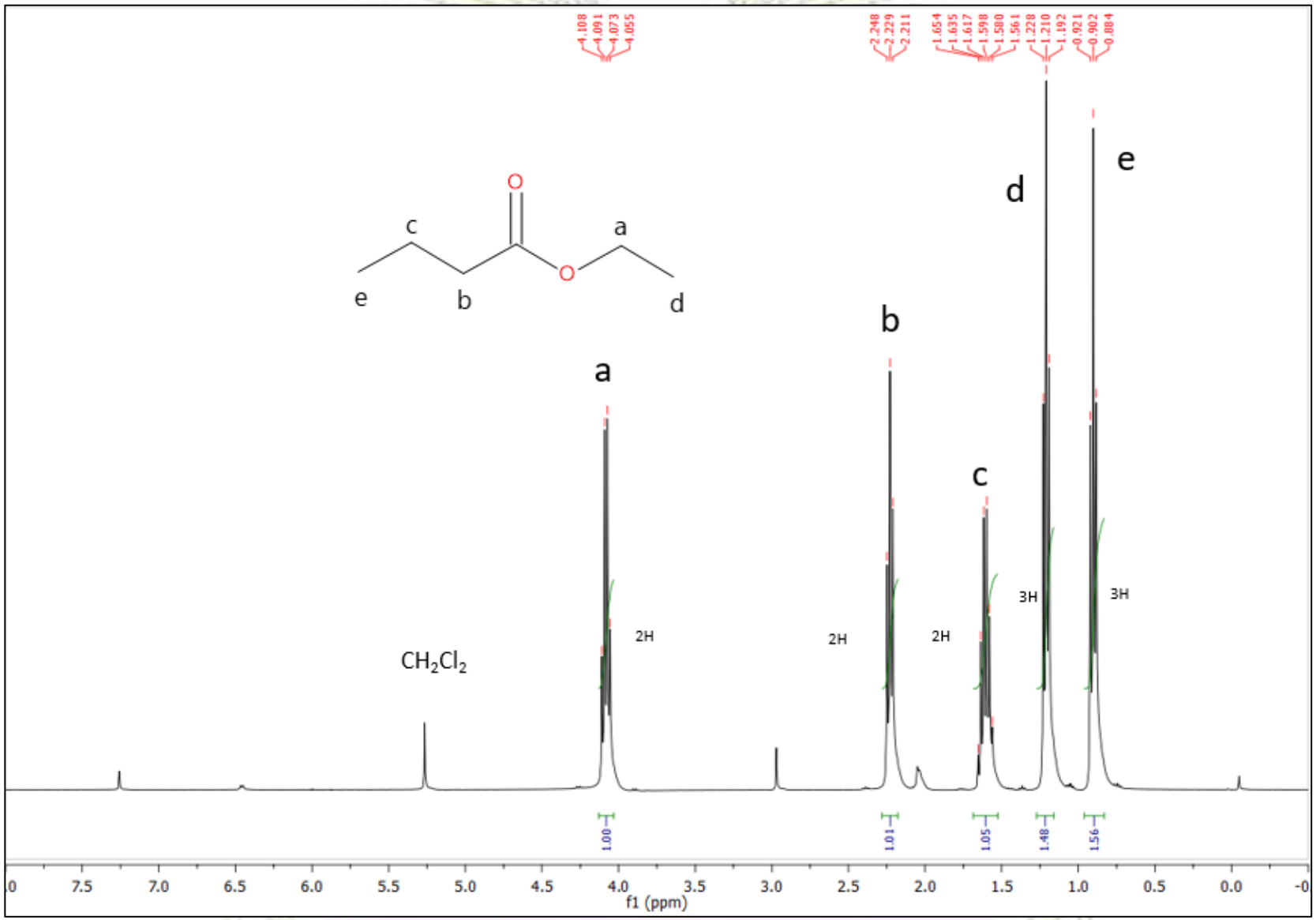
สารประกอบให้กลิ่นทั้ง 5 สาร ที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาทั้ง 2 ปฏิกิริยาในหัวข้อ 3.4 นำมาพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารด้วยเทคนิค ^{1}H NMR โดยจะแสดงผลออกมาในรูปแบบของสเปกตรัม ซึ่งสามารถใช้ยืนยันโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้ ดังตัวอย่างด้านล่างนี้

สเปกตรัม ^{1}H NMR ของสารที่สังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่ของ acid anhydrides ด้วย alcohol โดยมี 4-dimethylaminopyridine (DMAP) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในที่นี้จะอธิบายสเปกตรัมของ isobutyl butanoate ดัง**รูป 3.8** พบพีค doublet จำนวน 2 โปรตอน ที่ δ 3.84 ppm ค่า J= 6.7 Hz เป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง a ให้ค่าสัญญาณ downfield มากที่สุดเนื่องจากเป็นโปรตอนบนคาร์บอนที่ติดกับออกซิเจน พีค triplet จำนวน 2 โปรตอน ที่ δ 2.28 ppm ค่า J= 7.4 Hz เป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง b เป็นคาร์บอนที่ติดกับหมู่คาร์บอนิล พีค multiplet จำนวน 1 และ 2 โปรตอน ที่ δ 1.91 และ 1.65 ppm ค่า J= 6.7 Hz ตามลำดับเป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง c และ d พีค multiplet จำนวน 6 โปรตอน ที่ δ 0.95 ppm ค่า J= 7.4 Hz เป็นสัญญาณรวมของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง e,f และพีค multiplet จำนวน 3 โปรตอน ที่ δ 0.92 ppm ค่า J= 6.7 Hz เป็นสัญญาณรวมของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง g โปรตอนรวมมีค่าเท่ากับ 16 ตัว ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของสาร ส่วนการอธิบายสเปกตรัม ^{1}H NMR ของ ethyl butanoate (**รูป 3.9**) และ hexyl butanoate (**รูป 3.10**) เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับโครงสร้างของ isobutyl butanoate

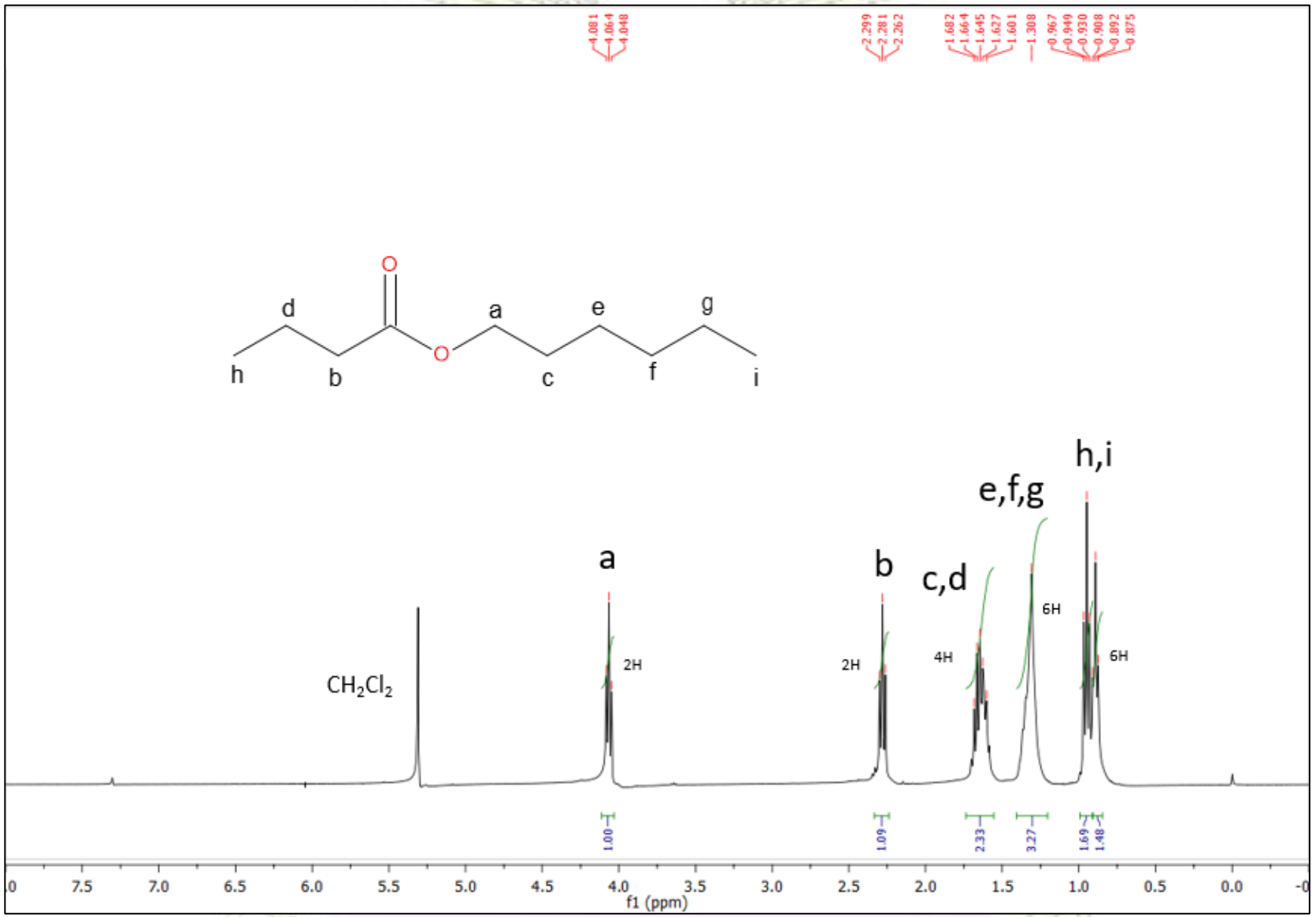
ส่วนสเปกตรัม ^{1}H NMR ของสารที่สังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยา Fischer esterification ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ในที่นี้จะอธิบายโครงสร้างของ isobutyl acetate ดัง**รูป 3.11** พบพีค doublet จำนวน 2 โปรตอนที่ δ 3.81 ppm ค่า J= 6.7 Hz เป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง a ให้ค่าสัญญาณ downfield มากที่สุดเนื่องจากเป็นโปรตอนบนคาร์บอนที่ติดกับอะตอมของออกซิเจน พีค singlet ที่ δ 2.02 ppm จำนวน 3 โปรตอน เป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง b พีค multiplet จำนวน 1 โปรตอน ที่ δ 1.88 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง c และพีค doublet ที่ δ 0.89 ppm จำนวน 6 โปรตอน ค่า J= 6.8 Hz เป็นสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่ง d,e เพราะเป็นโปรตอนที่อยู่บนคาร์บอนตำแหน่งเดียวกัน จำนวนโปรตอนรวมมีค่าเท่ากับ 12 ตัว ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของสาร และสเปกตรัมของ isopentyl acetate จะอธิบายในลักษณะเดียวกันกับ โครงสร้างของ isobutyl acetate (**รูป 3.12**)



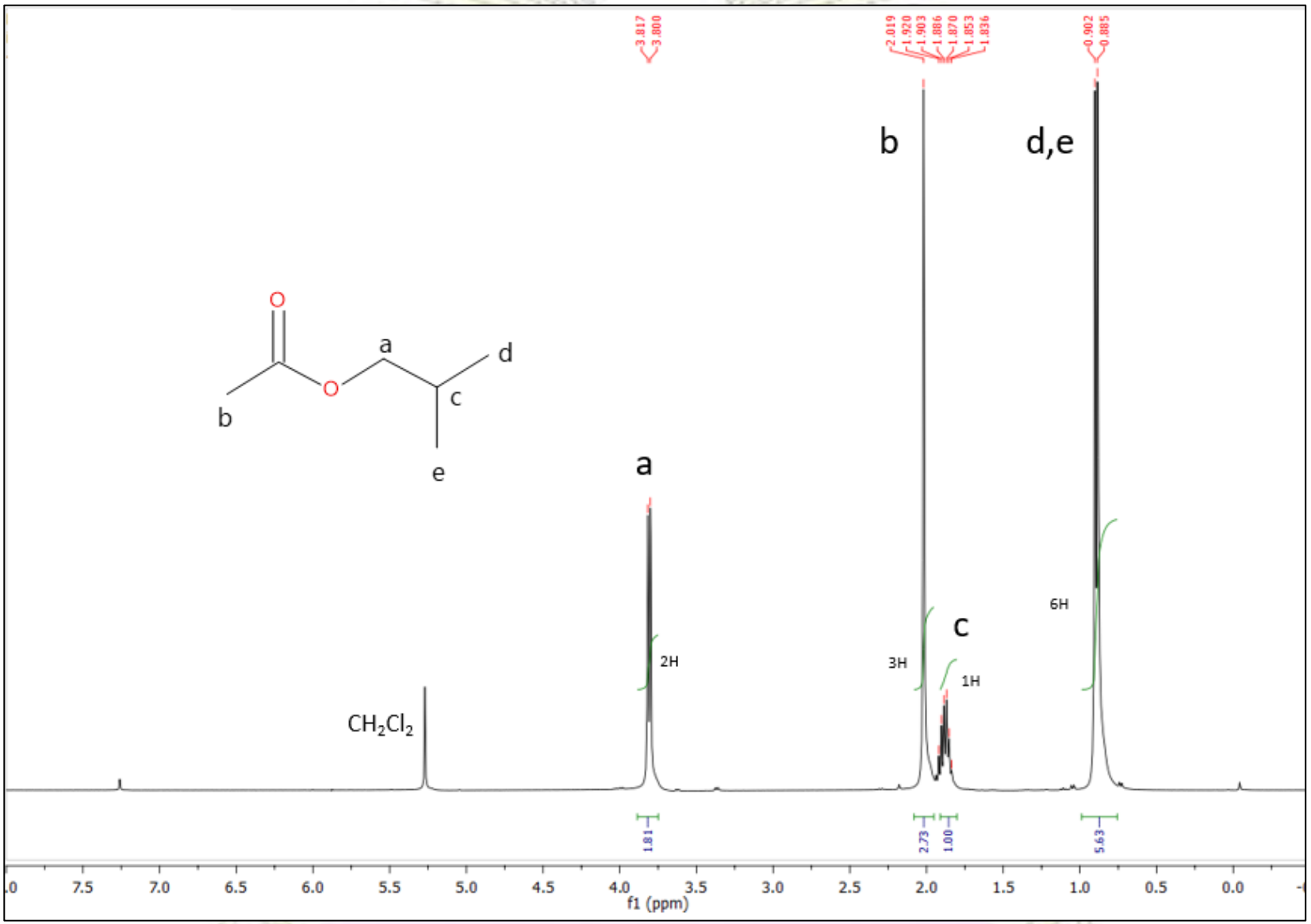
รูป 3.8 ^{1}H NMR spectrum ของ isobutyl butanoate



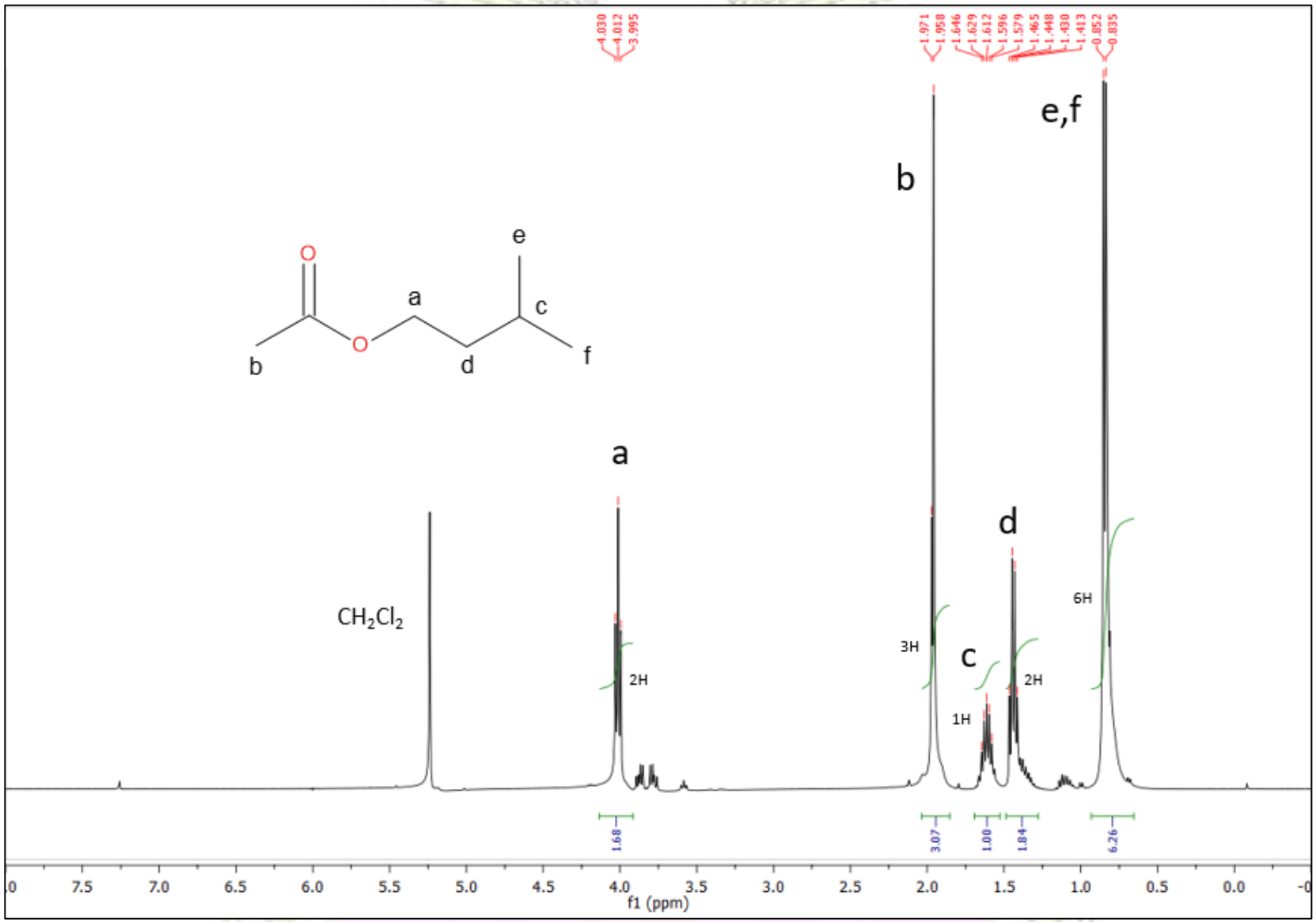
รูป 3.9 ^{1}H NMR spectrum ของ ethyl butanoate



รูป 3.10 ^{1}H NMR spectrum ของ hexyl butanoate



รูป 3.11 ^{1}H NMR spectrum ของ isobutyl acetate



รูป 3.12 ^{1}H NMR spectrum ของ isopentyl acetate

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาองค์ประกอบของสารระเหยในกล้วย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้า โดยใช้เทคนิค Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) ร่วมกับเทคนิค Gas-chromatography-Mass-spectrometry (GC-MS) ในการวิเคราะห์ พบว่ากล้วยหอมทองพบสารระเหยทั้งหมด 41 สาร กล้วยไข่พบทั้งหมด 39 สาร และกล้วยน้ำว้าพบทั้งหมด 14 สาร ซึ่งสารระเหยที่พบตรงกันในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์ มีทั้งหมด 6 สาร ได้แก่ 3-methylbutanal, hexan-1-ol, isopentyl acetate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, และ hexyl butanoate และพบว่าสารประกอบกลุ่ม ester เป็นสารระเหยกลุ่มสำคัญที่พบมากในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์

การระบุสารระเหยที่ให้กลิ่นในกล้วยทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิค HS-SPME-GC-MS ร่วมกับ Chromatography-Olfactometry (GC-O) ในการวิเคราะห์กลิ่นของสารระเหย พบว่ากล้วยแต่ละสายพันธุ์จะมีองค์ประกอบของสารระเหยให้กลิ่นที่แตกต่างกัน ในกล้วยหอมทองพบสารระเหยที่ให้กลิ่นทั้งหมด 23 สาร กล้วยไข่พบทั้งหมด 11 สาร ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบในกลุ่ม ester และกล้วยน้ำว้าพบทั้งหมด 5 สาร ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่ม aldehyde เป็นหลัก

การระบุสารระเหยให้กลิ่นในกล้วยหอมทองที่น้ำหนักที่แตกต่างกัน ดังนี้ 4.0, 2.0, 1.0, 0.5, และ 0.25 กรัม พบว่าน้ำหนักที่ลดลงของกล้วยหอมทองมีผลต่อการได้กลิ่นของสารระเหย โดยแนวโน้มส่วนใหญ่ สารระเหยจะมีความแรงของกลิ่นที่เจือจางหรือเบาลงตามน้ำหนักที่ลดลงของกล้วยหอมทอง สารระเหยให้กลิ่นหลักในกล้วยหอมทองมี 10 สาร ได้แก่ 3-methylbutan-1-ol, isobutyl acetate, ethyl butanoate, isopentyl acetate, isobutyl butanoate, butyl butanoate, 3-methylbutyl butanoate, (E)-hex-4-en-1-yl- butyrate, hexyl butanoate, และ 4-allyl-2-methoxyphenol จากทั้งหมด 23 สาร และการอธิบายกลิ่นของสารแต่ละชนิด อ้างอิงจากฐานข้อมูลบนเว็บไซต์ The Good Scents Company Information System และจัดกลุ่มกลิ่นของสารระเหยที่ให้กลิ่นตามคำอธิบายกลิ่นได้ทั้งหมด 7 กลุ่ม ได้แก่ กลิ่นผลไม้ (fruity), กลิ่นจากการปรุง (ethereal), กลิ่นหญ้า (green), กลิ่นเครื่องเทศ (spices), กลิ่นสมุนไพร (herbal), กลิ่นเห็ดหอม (mushroom) และกลิ่นดอกไม้ (floral) คิดเป็นร้อยละ 48, 13, 9, 9, 4, 4, และ 4 จากสารระเหยให้กลิ่นทั้งหมดตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

1. Aurore**,** G.; Parfait, B.; Fahrasmane, L. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends Food Sci. Tech.* **2009**, *20*, 78-91.
2. Singh, B.; Singh, J. P.; Kaur, A.; Singh, N. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – A review. *Food Chem*. **2016**, *206*, 1-11.
3. Suthanukool, P. Research and development of banana production for improvement of quality production and high value-added products. *Thai Agric. Research J.* **2015**, *45*, 1-45.
4. Selli, S.; Gubbuk, H.; Kafkas, E.; Gunes, E. Comparison of aroma compounds in Dwarf Cavendish banana (Musa spp. AAA) grown from open-field and protected cultivation area. *Sci. Hortic.* **2012**, *141*, 76-82.
5. Zellner, B. A.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L. Gas chromatography–olfactometry in food flavour analysis. *J. Chromatogr. A*. **2008**, *1186*, 123–143.
6. Jordan, M. J.; Tandon, K.; Shaw, P. E.; Goodner, K. L. Aromatic profile of aqueous banana essence and banana fruit by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography-olfactometry (GC-O). *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4813-4817.
7. Miranda, E. J. F.; Nogueira, R. I.; Pontes, S. M.; Rezende, C. M. Odour-active compounds of banana passa identified by aroma extract dilution analysis. *Flavour Frag. J*. **2001**, *16*, 281–285.
8. Pino, J. A.; Febles, Y. Odour-active compounds in banana fruit cv. Giant Cavendish. *Food Chem.* **2013**, *141*, 795–801.
9. Bugaud, C.; Alter, P. Volatile and non-volatile compounds as odour and aroma predictors in dessert banana (Musa spp.). *Postharvest Biol. Technol.* **2016**, *112*, 14-23.
10. Ngamsanga, S.; Laohakunjit, N.; Kerdchoechuen, O. Extraction and characterization of volatile flavor from banana (*Musa acuminate* AAA group Gros Michel). *Agric. Sci. J.* **2014**, *45*, 49-52.
11. Mahattanatawee, K. Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O). *J. Food Technol.* **2009**, *1*, 13-17.
12. แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ. Principles and Techniques of Instrumental Analysis Part II. กรุงเทพฯ, **2012**, 243-389.

13. มงคล รายะนาคร. Gas chromatography-Mass spectrometry. เชียงใหม่, **1994**, 1-10.
14. Eisert, R.; Levsen, K. Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water. *J. Chromatogr. A.* **1996**, *733*, 143-157.
15. Zellner, B.D.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L. Gas chromatography–olfactometry in food flavour analysis. *J. Chromatogr. A.* **2008**, *1186*, 123-143.
16. ณัฐยา เหล่าฤทธิ์. Fragrance Chemistry. กรุงเทพฯ, **2016**, 14-36.
17. สุธาสินี ชิ้นทอง และ วรรณี จิรภาคย์กุล. W. Proceedings of 48th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry. กรุงเทพฯ, **2010**, 50-58.
18. Sakakura, A.; Kawajiri, K.; Ohkubo, T.; Kosugi, Y.; Ishihara, K. Widely Useful DMAP-Catalyzed Esterification under Auxiliary Base- and Solvent-Free Conditions. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14775-14779.

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวภาสวัณ คูหา เกิดเมื่อวันที่ 6 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2538 ที่จังหวัดกาญจนบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทร์ กาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี เมื่อปีการศึกษา 2557 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 65/3 ถนนแสงชูโต ตำบลบ้านใต้ อำเภอเมือง กาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี รหัสไปรษณีย์ 71000 อีเมล nukpas@gmail.com