บทที่ 4
สรุปและวิจารณ์

ในการสังเคราะห์สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการบอกชนิดและปริมาณของสารหอมในเมล็ดข้าว ดัดแปลงมาจากวิธีของ Buchi และ Wuest[10] และ Buttery และคณะ[10] โดยปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ ปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชันและปฏิกิริยาออกซิเดชัน เริ่มต้นนำสารตั้งต้น 2-acetyl-1-pyrrole มาทำปฏิกิริยาไฮโดรจิชัน มี 5% rhodium on alumina เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ 2-(1-hydroxyethyl)pyrroline เป็นผลผลิต ยืนยันได้จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปคโตสโคปีและเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/ แมสสเปคโทรเมตรี เมื่อนำผลผลิตนี้ไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อ โดยมี silver carbonate on celite เป็นตัวออกซิไดซ์ ในตัวทำละลาย benzene จะได้สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline เป็นผลผลิตหลัก ยืนยันได้จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปคโตสโคปี และเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/แมสสเปคโทรเมตรี ในการสังเคราะห์สารหอมนี้มีข้อเสีย คือตัวทำละลาย benzene มีความเป็นพิษสูง เนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็ง ทำให้ไม่สะดวกในการนำสารสังเคราะห์นี้ไปใช้งาน และยากต่อการกำจัดเพราะมีจุดเดือดสูง ในการทดลองนี้จึงปรับปรุงขั้นตอนการสังเคราะห์ โดยสกัดสารหอมที่สังเคราะห์ได้จากตัวทำละลาย benzene ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก โดยอาศัยสมบัติที่สารหอมมีความเป็นเบสเล็กน้อย น่าจะละลายได้ดีในสารละลายกรด แล้วสกัดต่อทันทีด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ dichloromethane ซึ่งมีจุดเดือดต่ำและกำจัดได้ง่าย เมื่อนำสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ที่สังเคราะห์ในตัวทำละลาย benzene และในตัวทำละลาย dichloromethane มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี พบว่าในชั้นตัวทำละลาย benzene มีเปอร์เซ็นต์ของสาร 2-acetyl-1-pyrroline ต่อผลผลิตทั้งหมดเท่ากับ 55 และในตัวทำละลาย dichloromethane มีเปอร์เซ็นต์ของสาร 2-acetyl-1-pyrroline ต่อผลผลิตทั้งหมดเท่ากับ 66 อาจสรุปได้ว่าการสกัดสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline จากตัวทำละลาย benzene มาอยู่ในตัวทำละลาย dichloromethane ทำให้มีเปอร์เซ็นของ 2-acetyl-1-pyrroline ต่อผลผลิตทั้งหมดสูงขึ้น ทำให้ง่ายต่อการทำให้บริสุทธิ์เพื่อนำมาทดสอบกลิ่น และเมื่อคำนวณหาปริมาณสารสังเคราะห์ 2-acetyl-1-pyrroline ในตัวทำละลาย benzene เพื่อนำมาใช้เป็นสารละลายมาตรฐานนั้น พบว่าเมื่อนำสาร 2-(1-hydroxyethyl) pyrrolidine 0.9724 กรัม มาทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะได้สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline เป็นผลผลิตหลัก คำนวณหาปริมาณ 2-acetyl-1-pyrroline ได้เท่ากับ 516 มิลลิกรัม ในสารละลาย benzene 23.0 มิลลิลิตร หรือ 22.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการทดลองนี้ได้ทำการยืนยันกลิ่นของสารหอมที่สังเคราะห์ได้ การทดสอบกลิ่นสารหอมที่สังเคราะห์ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พบว่าผู้ทดสอบส่วนใหญ่ไม่สามารถจะบอกกลิ่นได้ว่าเหมือนหรือคล้ายกับกลิ่นอะไร และการทดสอบพบว่าสารหอมที่สังเคราะห์ได้ในสารละลายเบส พบว่าผู้ทดสอบส่วนใหญ่บอกว่ามีกลิ่นหอมเหมือนใบเตย ซึ่งอธิบายได้ว่าเมื่อสกัดสารสังเคราะห์ 2-acetyl-1-pyrroline มาอยู่ในชั้นสารละลายกรดไฮโดรคลอริก จะทำให้สารรับโปรตอนและอยู่ในสภาพที่เป็นอิออน ละลายอยู่ในสารละลายได้ดีกว่า ทำให้สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ไม่สามารถระเหยหรือระเหยออกมาได้น้อยมากเป็นผลให้ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ไม่สามารถบอกได้ว่ามีกลิ่นเหมือนหรือคล้ายกับสารใด และเมื่อทำการปรับพีเอชของสารละลายให้เป็นเบสด้วยสารละลาย sodium hydroxide นั้นหมู่ hydroxyl จะไปดึงโปรตอนในสารหอมในสภาพไอออนออกทำให้อยู่ในสภาพที่เป็นกลาง สารหอมนี้จึงระเหยให้กลิ่นหอมออกมา จึงเป็นสาเหตุให้ผู้ทดสอบกลิ่นบอกว่ามีกลิ่นหอมเหมือนใบเตย ซึ่งได้มีการวิจัย[22,23] แล้วว่าสารที่ให้กลิ่นหอมในข้าวและใบเตยเป็นสารตัวเดียวกัน คือสาร 2-acetyl-1-pyrroline แต่จะมีในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยในใบเตยจะมีปริมาณมากกว่าในข้าวทั่วไปถึง 100 เท่า เมื่อทำการปรับพีเอชของสารละลายให้เป็นเบสแล้ว ควรทำการสกัดต่อทันทีด้วยตัวทำละลาย dichloromethane เพื่อป้องกันไม่ให้สารหอมนี้ระเหยไปหมด นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบกลิ่นของผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชัน คือ 2-(1-hydroxyethyl)pyrrolidine ละลายในน้ำกลั่น พบว่ามีผู้ทดสอบบอกว่า มีกลิ่นหอมเหมือนใบเตย ดังนั้นกลิ่นของ 2-(1-hydroxyethyl)pyrrolidine อาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้แทนกลิ่นของใบเตยหรือข้าวหุงสุก

การทดลองหาสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในข้าว ในการวิจัยที่ผ่านๆ มาส่วนใหญ่ใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่อง เพราะสารหอมนี้ระเหยได้ง่าย แต่ในการทดลองนี้ได้พัฒนาวิธีการสกัดสารหอมเพื่อให้ได้วิธีที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว โดยใช้วิธีการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก และในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพขององค์ประกอบในสารสกัดจากข้าวด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/ แมสสเปคโทรเมตรีนั้น ได้ทำการสกัดข้าวสองพันธุ์ คือขาวดอกมะลิ 105 และหอมคลองหลวง พบว่าการสกัดด้วยวิธีไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่องของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ให้องค์ประกอบส่วนใหญ่ที่คล้ายกัน และการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ให้องค์ประกอบส่วนใหญ่ที่คล้ายกัน อาจสรุปได้ว่าข้าวทั้งสองพันธุ์จะมีองค์ประกอบที่คล้ายกัน และในการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่องพบว่ามีองค์ประกอบในสารสกัดมากกว่าการสกัดด้วยสารละลายกรด อาจเนื่องมาจากการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่อง อาศัยการให้ความร้อนเพื่อให้สารกลายเป็นไอ ซึ่งความร้อน

นี้อาจทำให้สารบางตัวเกิดการสลายตัว เปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง วิธีนี้ทำให้ได้สารระเหยและสารที่มีโมเลกุลเล็กๆ เป็นส่วนใหญ่ แต่ในการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกจะอาศัยคุณสมบัติการละลาย สารที่มีความเป็นเบสน่าจะละลายได้ในสารละลายกรด ทำให้ได้สารระเหยบางตัว สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบและสารที่มีโมเลกุลใหญ่ขึ้น จึงเป็นผลให้องค์ประกอบในสารสกัดที่สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมีน้อยกว่าการสกัดด้วยด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่อง ดังนั้นการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกจะเป็นวิธีสกัดที่ดีกว่าการสกัดด้วยวิธีไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่องเพราะเป็นวิธีที่ไม่ทำให้สารสูญเสียสภาพ และเมื่อนำสารสกัดจากข้าวที่สกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่องมาวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ DB-1 พบว่าองค์ประกอบที่ได้ในสารสกัดมีมากกว่าเมื่อวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ CP-WAX 51 และการวิเคราะห์องค์ประกอบในสารสกัดที่สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกของทั้งสองคอลัมน์ก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน อธิบายได้ว่าคอลัมน์ DB-1 มีเฟสคงที่เป็นสารไม่มีขั้วและเหมาะกับการวิเคราะห์สารที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วอ่อนๆ แต่คอลัมน์ CP-WAX 51 มีเฟสคงที่เป็นสารพวกไนโตรเจน เหมาะกับการวิเคราะห์สารประกอบพวกไนโตรเจน ในข้าวส่วนใหญ่เป็นสารไม่มีขั้วจึงทำให้การวิเคราะห์โดยคอลัมน์ DB-1 พบองค์ประกอบในสารสกัดมากกว่าคอลัมน์ CP-WAX 51 ดังนั้นในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารสกัดจากข้าวจึงควรใช้ทั้งสองคอลัมน์ร่วมกัน เพื่อให้ได้ทั้งสารประกอบที่มีขั้ว, ไม่มีขั้ว และสารประกอบพวกไนโตรเจน

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในสารสกัดจากข้าวโดยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี ใช้วิธี internal standardization และใช้สามาตรฐานภายใน คือ 2,4,6-trimethylpyridine ซึ่งมีคุณสมบัติที่เหมาะสม คือ มีโครงสร้างคล้ายกับสารหอม ไม่ทำปฏิกิริยากับสารหอม และให้ค่าเวลารีเทนชันที่ใกล้เคียงกับสารหอม โดยจะอยู่ในช่วงเวลาที่ห่างกันประมาณ 2 นาที และในการวิเคราะห์โดยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟีนี้ ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารหอมโดยใช้คอลัมน์ CP-WAX 51 พบว่าในการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก สามารถทำโดยใช้ตัวอย่างข้าวน้อยเพียง 0.5 กรัม ก็สามารถตรวจวัดสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในสารสกัดได้[34] แต่ถ้าใช้ข้าวปริมาณ 10 กรัม สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เมื่อวิเคราะห์สารสกัดด้วยคอลัมน์ DB-1 นั้น ไม่สามารถที่จะตรวจวัดสารหอมได้ ดังนั้นคอลัมน์ CP-WAX 51 จึงเหมาะที่จะนำมาวิเคราะห์สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline

ในการศึกษาเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการสกัดสารหอมจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ใช้ตัวอย่างข้าวประมาณ 10 กรัม สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ใช้เวลาในการสกัด 5, 15, 30 และ 45 นาที พบว่า เวลาในการสกัด 5 นาที จะมีปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline

เท่ากับ 0.157 พีพีเอ็ม และเวลาในการสกัด 15, 30 และ 45 นาที จะมีปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline เท่ากับ 0.212, 0.286 และ 0.383 พีพีเอ็ม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดน้อยก็ให้ปริมาณสารหอมน้อย แต่ในการทดลองนี้จะถือว่าเวลาที่ใช้ในการสกัด 45 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสม เนื่องจากให้ปริมาณสารหอมมากที่สุดเพราะถ้าใช้เวลาในการสกัดมากกว่านี้ จะทำให้สารละลายหลังการสกัดมีลักษณะขุ่นมาก ซึ่งอาจจะมาจากการละลายของสารประกอบของแป้งในเมล็ดข้าวมีมากขึ้น ทำให้เกิดอนุภาคเล็กๆ ที่กำจัดได้ยาก และเมื่อสกัดสารหอมออกจากสารละลายกรดด้วยตัวทำละลาย dichloromethane จะทำให้เกิดอิมัลชันและไม่สามารถที่จะทำให้อิมัลชันนั้นหายไปได้ ดังนั้นเวลา 45 นาที จึงเป็นเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

ส่วนการหาปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในสารสกัดจากเมล็ดข้าวพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ พันธุ์หอมมะลิ 105 (จากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่), พันธุ์หอมคลองหลวง (จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก), พันธุ์หอมพม่าและพันธุ์หอมมะลิ 105 (จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน) ใช้ปริมาณข้าวตัวอย่างประมาณ 10 กรัม สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและใช้เวลาในการสกัด 45 นาที พบว่าพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันก็ให้ปริมาณสารหอมที่แตกต่างกัน คือพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะมีปริมาณสารหอม 0.352 พีพีเอ็ม, ส่วนพันธุ์หอมคลองหลวง, พันธุ์หอมพม่า และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ก.พ.ส.) จะมีปริมาณสารหอม 0.022, 0.288 และ 0.443 พีพีเอ็ม ตามลำดับ จากการวิจัยของ Buttery และคณะ[20,21] ที่ทำการสกัดข้าว 200 กรัม ด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่อง พบปริมาณสารหอมในข้าวหอมอยู่ในช่วง 0.1-0.2 พีพีเอ็ม แต่การทดลองนี้ได้ทำการสกัดข้าวเพียง 10 กรัม ด้วยสารละลายกรด พบว่าให้ปริมาณสารหอมมากกว่า และใช้ตัวอย่างข้าวน้อยกว่า อาจจะสรุปได้ว่าการสกัดสารหอม 2-acetyl-1pyrroline ในข้าวด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกจะมีประสิทธิภาพดีกว่าการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่อง

การหาปริมาณข้าวน้อยที่สุดในการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟีสามารถตรวจวัดได้ การทดลองจะใช้ข้าว 0.5, 1 และ 3 กรัม สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกใช้เวลาสกัด 45 นาที พบว่าปริมาณข้าวน้อยเพียง 0.5 กรัม ก็สามารถตรวจวัดสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ได้ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี ใช้คอลัมน์ CP-WAX 51 และการหาปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline พบว่าข้าว 0.5 กรัม จะให้ปริมาณสารหอมต่อกรัมของน้ำหนักข้าวตัวอย่างสูงสุด คือ 2.310 และในข้าว 1 และ 3 กรัม จะมีปริมาณสารหอมต่อกรัมของน้ำหนักข้าวเท่ากับ 1.363 และ 0.769 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า ปริมาณข้าวที่ใช้ 0.5 กรัม จะให้ปริมาณสารหอมสูงที่สุด ดังนั้นประสิทธิภาพของการสกัดจะสูงเมื่อสัดส่วนของปริมาณตัวอย่างข้าวต่อสารละลายที่ใช้สกัดมีค่าน้อย