Thesis Title	Analysis of Flavour and Aroma Components in Cucumber and Transgenic Tomato Fruits
Author	Mr. Suthat Surawang
Degree	Doctor of Philosophy (Food Science and Technology)
Thesis Advisory Committee	Prof.Dr.Nithiya Rattanapanone Chairperson Prof.Dr.Andy J. Taylor Member Prof.Dr.Donald Grierson Member

ABSTRACT

A real time monitoring of the main flavour volatile compounds released from cucumber and tomato fruits was measured using a controlled maceration of fruit tissue with a simultaneous analysis by an Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry (APCI-MS). This technique showed a promising result for a simple, rapid, and artifact-free method for monitoring the rapid flavour volatile release. Cucumber was used as a model to study the biochemical pathway of volatile production from lipid oxidation. The effect of some factors involved in volatile formation, for example, anaerobic condition and some substrates were also studied. This study has led to the monitoring of the alteration flavour volatile components in both transgenic and wild-type tomato fruits. The combination of Gas Chromatography (GC) with simultaneous Mass Spectrometry (MS) and APCI-MS were also used to confirm the identification of these volatile compounds in fresh cucumber and

(E)-2-nonenal) whereas only C6 aldehydes were responsible for the predominant compounds of fresh tomato volatiles. Using an online APCI-MS, the key volatile compounds released upon disruption of tomato tissue in the headspace can be monitored continuously and quantitatively. Nine key flavour volatile compounds of two transgenic tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Ailsa Craig), transformed with either an ACC-oxidase (*ACO1*) antisense gene construct (ethylene down regulated) or a polygalacturonase (*PG*) sense suppression gene construct (polygalacturonase down regulated) were analyzed at various stages of tomato fruit ripening and were compared with the volatile levels in wild-type tomato fruit. The results showed that the *ACO1* antisense fruit contained lower amounts of most volatile compounds throughout the ripening period compared to the *PG* sense suppression and wild-type fruits. The *PG* sense suppression fruit showed some signs of anaerobic metabolism through increased acetaldehyde, but other volatile compounds seemed to be largely unaffected. The analysis of non-volatile compounds composed in tomato fruit using a Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) was also monitored. There were no significant differences in sugars (glucose and sucrose), free amino acids (glutamine, glutamic and aspartic acids) and minerals (potassium and calcium) contents between fruit types. Studying a correlation between flavour volatile analysis and genetic molecular analysis, which was focused on the expression of ripening-related lipoxygenase (LOX) genes was carried out. The expression of the five tomato LOX clones during fruit ripening indicated that the flavour biogenesis in tomato fruit may be involved with a collaborated performance of tomato LOX isoforms throughout the ripening stages. In the *ACO1* antisense fruit, ethylene probably causes a reduction in expression of tomato LOX genes, especially *TomloxC* and *TomloxE*. These results led to the reduction of flavour volatile formation in the intact of the *ACO1* antisense tomato fruit. It is possible that tomato flavour volatile formation may be directly or indirectly regulated by the plant hormone, ethylene.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์สารให้รสชาติและกลิ่นในผลแตงกวาและมะเขือเทศดัดแปลงสารพันธุกรรม
ผู้เขียน	นายสุทัศน์ สุระวัง
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศ.ดร. นิธิยา รัตนาปนนท์ ประธานกรรมการ ศ.ดร. แอนดริว เจ เทเลอร์ กรรมการ ศ.ดร. โดนัล เกรียร์สัน กรรมการ

บทคัดย่อ

การตรวจติดตามสารให้กลิ่นรสที่เกิดขึ้นในผลแตงกวาและมะเขือเทศ ถูกวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry (APCI-MS) วิธีการดังกล่าวเหมาะสำหรับการตรวจติดตามสารให้กลิ่นรสที่เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และไม่มีสารแปลกปลอมเกิดขึ้น ผลแตงกวาได้ถูกนำมาใช้เป็นต้นแบบในการศึกษาปฏิกิริยาทางชีวเคมีของการเกิดสารให้กลิ่นรสจากการออกซิเดชันของไขมัน โดยศึกษาถึงผลของปัจจัยบางอย่างที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสารให้กลิ่นรส เช่น สภาวะที่ไม่มีอากาศ และสารตั้งต้นบางชนิด การศึกษานี้นำไปสู่การตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารให้กลิ่นรส ทั้งในผลมะเขือเทศสายพันธุ์ปกติและผลมะเขือเทศดัดแปลงสารพันธุกรรม การใช้เทคนิคร่วมกันระหว่างแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรเมตรี และ APCI-MS สามารถใช้ยืนยันผลการตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารให้กลิ่นที่เกิดขึ้นในผลแตงกวาและมะเขือเทศได้ สารให้กลิ่นหลักที่พบในผลแตงกวา ได้แก่ อัลดีไฮด์ที่มีคาร์บอน 6 อะตอม (เฮกซานัล และ (*ทรานส์*)-2-เฮกซีนัล) และอัลดีไฮด์ที่มีคาร์บอน 9 อะตอม ((*ทรานส์*)-2, (*ซิส*)-6-โนนาไดอีนัล และ (*ทรานส์*)-2-โนนีนัล) ในขณะที่สาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

มะเขือเทศถูกทำลายได้ทันที รวมทั้งสามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารให้กลิ่นรสหลักจำนวน 9 ชนิด ในผลมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Ailsa Craig) ที่ดัดแปลงสารพันธุกรรมจำนวน 2 ชนิด คือ ดัดแปลงยีนที่ยับยั้งการสังเคราะห์เอทิลีน (*ACO1*-antisense) และดัดแปลงยีนที่ยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์โพลีกาแลคตูโรเนส (*PG*-sense suppression) ในแต่ละช่วงระยะเวลาของการสุก โดยเปรียบเทียบกับปริมาณสารให้กลิ่นรสหลักที่พบในมะเขือเทศสายพันธุ์ปกติ พบว่าผลมะเขือเทศ *ACO1*-antisense มีปริมาณสารให้กลิ่นรสหลักทั่วไปต่ำกว่าสารให้กลิ่นรสหลักที่พบในผลมะเขือเทศ *PG*-sense suppression และผลมะเขือเทศสายพันธุ์ปกติตลอดช่วงระยะเวลาของการสุก ผลมะเขือเทศ *PG*-sense suppression มีปริมาณของอะซีตัลดีไฮด์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดเมแทบอลิซึมในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่สารให้กลิ่นรสชนิดอื่นไม่มีผลกระทบมากนัก การวิเคราะห์สารที่ไม่ระเหยที่เป็นองค์ประกอบในผลมะเขือเทศโดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโตรกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS) พบว่าปริมาณน้ำตาล (กลูโคสและซูโครส) กรดอะมิโนอิสระ (กลูตามีน กรดกลูตามิคและแอสปาร์ติค) และแร่ธาตุ (โพแทสเซียมและแคลเซียม) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผลมะเขือเทศสายพันธุ์ปกติและผลมะเขือเทศดัดแปลงสารพันธุกรรม การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลการวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสและการวิเคราะห์ทางอณูพันธุศาสตร์ โดยดูผลการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสุก โดยเฉพาะยีนไลพอกซีจีเนส (LOX) พบว่าการแสดงออกของยีน LOX ทั้ง 5 รูปแบบ มีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารให้กลิ่นรสที่เกิดขึ้นในผลมะเขือเทศตลอดช่วงระยะเวลาของการสุก ส่วนในผลมะเขือเทศ *ACO1*-antisense ซึ่งมีการสังเคราะห์เอทิลีนลดลง อาจเป็นสาเหตุทำให้การแสดงออกของยีน LOX โดยเฉพาะยีน *TomloxC* และ *TomloxE* ลดลง จึงมีผลทำให้การสังเคราะห์สารให้กลิ่นรสในผลมะเขือเทศ *ACO1*-antisense มีปริมาณลดลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการควบคุมทั้งทางตรงหรือทางอ้อมโดยฮอร์โมนพืชเอทิลีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved