



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการวิเคราะห์ชนิด และปริมาณของสารใหม่ที่ให้ลักษณะเฉพาะของกลิ่นหอมในข้าวหอมดอกมะลิ 105 โดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี-โอแฟคโตมิเตอร์ ก๊าซโครมาโตกราฟี-พีเอฟพีดี และก๊าซโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรมิเตอร์

โดย นางสาวกาญจนา มัทธนทวี และคณะ

พฤษภาคม 2554

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการวิเคราะห์ชนิด และปริมาณของสารใหม่ที่ทำให้ลักษณะเฉพาะของกลิ่นหอมในข้าวหอมดอกมะลิ 105 โดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี-โอแฟคโตมิเตอร์ ก๊าซโครมาโตกราฟี-พีเอฟพีดี และก๊าซโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรมิเตอร์

คณะผู้วิจัย

1. นางสาวกาญจนา มหัทธโนวิ ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม
2. Prof. Russell L. Rouseff Food Science and Human Nutrition Department, University of Florida
3. รศ.ดร. วรพจน์ สุนทรสุข ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รหัสโครงการ : MRG5180098

ชื่อโครงการ : การวิเคราะห์ชนิด และปริมาณของสารใหม่ที่ให้ลักษณะเฉพาะของกลิ่นหอม
ในข้าวหอมดอกมะลิ 105 โดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี-โอแฟกโตมิเตอร์
ก๊าซโครมาโตกราฟี-พีเอฟพีดี และ ก๊าซโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรมิเตอร์
ชื่อนักวิจัย และสถาบัน :

1. นางสาวกาญจนา มหัทธนนท์ ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสยาม
2. Prof. Russell L. Rouseff Food Science and Human Nutrition Department,
University of Florida, USA
3. รศ. ดร. วรพจน์ สุนทรสุข ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

E-mail : kanjana@siam.edu

ระยะเวลาโครงการ : 15 พฤษภาคม 2551 - 14 พฤษภาคม 2553

บทคัดย่อ

การสกัดสารระเหยให้กลิ่นในข้าวหุงสุกได้เลือกวิธีการสกัดกลิ่นโดยเทคนิค headspace SPME ชนิดของ SPME fibers ที่เหมาะสมคือชนิดสามเฟส DVB/CAR/PDMS ซึ่งครอบคลุมการสกัดสารระเหยที่มีจุดเดือดต่ำถึงสูงปานกลางได้ดีกว่าชนิดเฟสเดียวและสองเฟส สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม เวลาที่ใช้ในการบ่ม และเวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30°C, 15 นาที และ 30 นาที ตามลำดับ ซึ่งทำให้ได้สารสกัดที่เป็นตัวแทนที่ดี (most representative) ของกลิ่นข้าวหุงสุก

การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นจากข้าวหอมหุงสุกสายพันธุ์ ข้าวหอมมะลิไทย 105 ข้าวหอมอินเดีย Basmati และข้าวหอมอเมริกัน Jasmati ด้วยเทคนิค Headspace-SPME, GC-FID, GC-O, GC-PFPD และ GC-MS พบว่าสารระเหยที่ให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ 105 Basmati และ Jasmati มีจำนวนใกล้เคียงกันคือ 23 และ 22 ตามลำดับ โดยพบว่าสารที่ให้กลิ่นหอมที่แสดงถึงเอกลักษณ์ (character impact volatile) ของข้าวหอมทั้งสามชนิดคือ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ซึ่งเคยถูกรายงานมาก่อนว่าเป็นสารให้กลิ่นหอมสำคัญของข้าวหอมสำหรับข้าวหอมมะลิ 105 พบว่ามีอีกหนึ่งสารที่ให้กลิ่น “cooked jasmine rice” ที่เป็นเอกลักษณ์เช่นเดียวกับ 2AP คือ 2-acetyl-2-thiazoline (2AT) ซึ่งถูกรายงานเป็นครั้งแรกในการศึกษาครั้งนี้ สาร 2AT เป็นสารให้กลิ่นหอมที่ตรวจพบในข้าวหอมมะลิไทย แต่ไม่พบในข้าวหอมจากอินเดีย Basmati และข้าวหอมจากอเมริกา Jasmati

สารให้กลิ่นที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างข้าวทั้งสามชนิดมีรวมทั้งหมด 36 ชนิดและพิสูจน์ได้ 31 ชนิด ที่มีบทบาทในการส่งเสริม (contribution) กลิ่นของข้าวนอกเหนือจากสาร 2AP สารทั้ง 31 ชนิดได้ถูกจัดแบ่งเป็นกลุ่มสารเคมี (chemical classes) ได้ 6 กลุ่ม ได้แก่ aldehydes, alcohols, sulfurs, ketones, esters, และ nitrogens พบว่ากลุ่ม aldehydes มีความสำคัญต่อกลิ่นของข้าวหอมทั้งสามชนิด มากถึง 48-52% (ของจำนวนสารระเหยทั้งหมด) ส่วนสารระเหยกลุ่มอื่นๆ จะมีความแตกต่างกันไปในข้าวแต่ละชนิดซึ่งเป็นการแสดงถึงความแตกต่างของข้าวหอมทั้งสามชนิดได้โดยที่สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ คือ aldehydes (48%) รองลงมาได้แก่ alcohols (24%) ketones (9%) และ sulfurs (9%) สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอม Basmati คือ aldehydes (52%) รองลงมาได้แก่ ketones (19%) และ sulfurs (14%) สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอม Jasmati คือ aldehydes (50%) รองลงมาได้แก่ sulfurs (20%) และ ketones (15%) นอกจากนี้สารระเหยแต่ละชนิดถูกจัดแบ่งเป็นกลุ่มของกลิ่น (odor groups) ได้ 9 กลุ่ม ได้แก่ green, sweet fruity/floral, minty/citrusy, cooked/mushroom/musty, sweet/roasty/nutty, fatty/metallic, spices, sulfury/meaty และ medicine จากค่ารวมความเข้มข้นของกลิ่น (odor intensity) ของแต่ละกลุ่ม ทำให้ได้รูปแบบของกลิ่น (odor profile) ที่แสดงในรูปแบบของ spider web diagrams ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน กลุ่มของกลิ่นที่โดดเด่นที่เหมือนกันของข้าวหอมทั้งสามชนิดคือกลุ่ม fatty/metallic ข้าวหอมมะลิไม่มีกลุ่มของ sulfury/meaty ขณะที่ข้าว Basmati และ Jasmati มีกลุ่มของกลิ่นดังกล่าว และข้าว Basmati มีกลิ่นของกลุ่ม sweet fruity/floral มากกว่าข้าว Jasmati จากรูปแบบของกลิ่นดังกล่าวทำให้สามารถบอกความแตกต่างของกลิ่นของข้าวทั้งสามชนิดได้อย่างชัดเจน

ปริมาณของ 2AT ที่พบในข้าวหอมมะลิ 105 ได้ถูกวิเคราะห์ โดยเทคนิค headspace standard addition SPME พร้อมกับเทคนิค GC-MS SIM mode ที่ m/z 129 และ 60 พบว่ามีปริมาณของสาร 2AT เท่ากับ 0.45 µg/kg การประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่าข้าวขาว (non-fragrant rice) ที่ถูกเติมด้วยสาร 2AT ปริมาณ 0.6 - 0.9 mg/kg ก่อนการหุงสามารถเลียนแบบกลิ่นหอมของข้าวหอมมะลิหุงสุก การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่ตรวจพบพิสูจน์และวิเคราะห์ปริมาณของสาร 2AT ที่เป็นเอกลักษณ์ของกลิ่นข้าวหอมมะลิหุงสุกตัวใหม่

คำหลัก : ข้าวหอมมะลิ, 2-acetyl-2-thiazoline, headspace SPME, GC-O

Project code : MRG5180098

Project Title : Identification and quantification of new aroma character impact compound of Thai fragrance rice (Khao Dawk Mali 105) using GC-Olfactometry, GC-PFPD and GC-MS

Investigator :

1. Miss Kanjana Mahattanatawee, Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University
2. Prof. Russell L. Rouseff Food Science and Human Nutrition Department, University of Florida, USA
3. Assoc. Prof. Worapot Suntornsuk, Department of Microbiology, Faculty of Science, King Mongkut's University of Technology Thonburi

E-mail address : kanjana@siam.edu

Project Period : 15 May 2008 - 14 May 2010

Abstract

Volatiles of cooked rice were extracted using static headspace solid phase microextraction (HS-SPME). A three phase SPME fiber DVB/CAR/PDMS was selected due to the wide range of volatiles (low to medium boiling point) were extracted more efficiently than one or two phase SPME fibers. Optimum equilibrium temperature, equilibrium time and exposure time were 30°C, 15 min. and 30 min. respectively. The selected SPME fiber and optimum conditions proved to be the method that provided the most representative cooked rice aroma.

Collected volatiles of cooked fragrant rice, Thai Jasmine rice 105, Indian Basmati rice and American Jasmati rice were separated and characterized using GC-O, GC-PFPD and GC-MS. A total of 23, 23, and 22 aroma active volatiles were detected in Thai Jasmine rice 105, Indian Basmati rice and American Jasmati rice respectively. 2-Acetyl-1-pyrroline (2AP), the cooked rice character impact volatile was detected in all three fragrant rice samples. This volatile has been previously reported as character impact volatile in fragrant rice. The new character impact volatile was also described the same as 2AP "cooked jasmine rice". This new aroma active volatile was detected in Thai Jasmine rice 105 and was identified as 2-acetyl-2-thiazoline (2AT). The 2AT was only detected in Thai Jasmine rice 105 but not in Indian Basmati rice and American Jasmati

rice. This is the first new character impact volatile reported in cooked Thai Jasmine rice 105.

A total of 36 aroma active volatiles were detected in all three fragrant rice samples and 31 volatiles were identified. These volatiles contributed to the overall rice aroma. The 31 identified volatiles were grouped into six chemical classes: aldehydes, alcohols, sulfurs, ketones, esters, and nitrogens. The aldehyde group contains the largest number of volatiles in all three fragrant rice types contributing as much as 48-52% of total number of volatiles. The other volatile groups contribute differently to the aroma of each type of rice. The relative number of volatiles in Thai Jasmine rice 105 were: aldehydes (48%) alcohols (24%) ketones (9%) and sulfurs (9%) respectively. The relative number of volatiles in Indian Basmati rice were: aldehydes (52%) ketones (19%) and sulfurs (14%) respectively. Similarly, American Jasmati rice had: aldehydes (50%) sulfurs (20%) and ketones (15%) respectively.

The 36 volatiles were grouped to 9 odor groups: green, sweet fruity/floral, minty/citrusy, cooked/mushroom/ musty, sweet/roasty/nutty, fatty/metallic, spices, sulfury/meaty and medicine. The sum of the odor intensities of each odor group were displayed in spider web diagrams for each fragrant rice. The differences of the odor profiles were profoundly different. The odor intensity of odor group "fatty/metallic" were similar in all three fragrant rice samples. The odor "sulfury/meaty" was observed in Indian Basmati rice and American Jasmati rice but not in Thai Jasmine rice. Indian Basmati rice contained greater sweet fruity/floral total intensity than American Jasmati rice. The odor profiles all three fragrant rice samples were noticeably different.

The 2AT was detected in cooked Thai Jasmine rice and was quantified using headspace standard addition SPME with selected ion GC-MS at m/z 129 and 60. The concentration of 2AT was determined to be 0.45 $\mu\text{g/kg}$ in cooked rice. Sensory studies indicated that non-fragrant rice fortified with 2AT at 0.6 - 0.9 mg/kg closely duplicated the aroma of freshly cooked jasmine rice. This is the first time 2AT has been identified and quantified as a new character impact volatile in cooked Thai jasmine rice.

Keywords: Jasmine rice, 2-acetyl-2-thiazoline, headspace SPME, GC-O

บทสรุปผู้บริหาร

การวิเคราะห์ชนิด และปริมาณของสารใหม่ที่ให้ลักษณะเฉพาะของกลิ่นหอมในข้าวหอมดอกมะลิ 105 โดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี-โอแฟกโตมิเตอร์ ก๊าซโครมาโตกราฟี-พีเอฟพีดี และ ก๊าซโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์

Identification and quantification of new aroma character impact compound of Thai fragrance rice (Khao Dawk Mali 105) using GC-Olfactometry, GC-PFPD and GC-MS

1. ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

ข้าวหอมมะลิไทยได้รับความนิยมสืบเนื่องมาจากความหอมของข้าว และเมล็ดอ่อนนุ่มเมื่อนำมาหุงต้ม สารเคมีสำคัญที่ให้ความหอมที่เป็นเอกลักษณ์ (character impact compound) ในข้าวหอมพันธุ์ต่างๆ รวมทั้ง ข้าวหอมมะลิไทย คือ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ซึ่งมีกลิ่นคล้ายใบเตย หรือต่างชาติเรียกว่า กลิ่นคล้ายข้าวโพดคั่ว (popcorn) กลิ่นหอมของข้าวมีความสำคัญต่อคุณภาพของข้าวหอมในการยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่ทำการ ศึกษาหาปริมาณสารให้กลิ่นหอม และผลของอายุการเก็บรักษาที่มีผลต่อกลิ่นหอมของข้าว ข้าวหอมมะลิไทย หรือในชื่อ Jasmine rice เป็นที่นิยมบริโภคกันมากและมีการเลียนแบบใช้ชื่อที่ใกล้เคียงกันนี้ในทางการค้าคือ Jasmati โดยระบุว่าเป็นข้าวหอมมะลิที่ปลูกในประเทศอเมริกา (long grain American Jasmine rice, identity preserved, grown in the USA) มีราคาค่อนข้างสูง (ประมาณ 7.5 ดอลลาร์ต่อหนึ่งกิโลกรัม) ข้าวหอมอินเดีย Basmati ได้รับความนิยมอย่างสูงเช่นเดียวกับข้าวหอมมะลิ ในการศึกษาเรื่องกลิ่นหอมของข้าวหอมมะลิเบื้องต้นพบว่ามีสารอื่นที่มีกลิ่นเหมือนสาร 2AP ในข้าวหอมมะลิและยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อน ผู้วิจัยจึงสนใจที่พิสูจน์กลิ่นดังกล่าวซึ่งอาจเป็นเอกลักษณ์ของกลิ่นข้าวหอมมะลิไทยที่แตกต่างจากข้าวหอมพันธุ์ต่างประเทศ ดังนั้นจึงทำงานวิจัยพิสูจน์และวิเคราะห์หาปริมาณของสารกลิ่นหอมใหม่ในข้าวหอมมะลิไทย และทำการศึกษาสารให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิไทยตัวอื่นๆ เปรียบเทียบกับข้าวหอมพันธุ์ต่างประเทศสองชนิดคือข้าวหอมอินเดีย Basmati และข้าวหอมอเมริกัน Jasmati เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารบอกความแตกต่างทางด้านกลิ่นระหว่างข้าวหอมแต่ละสายพันธุ์

2. วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อพิสูจน์ (identify) สารให้ความหอมชนิดใหม่ ที่ให้กลิ่นคล้ายข้าวหอมมะลิ 105
- 2) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ (quantification) ของสารให้ความหอมชนิดใหม่ที่ให้กลิ่นคล้ายข้าวหอมมะลิ 105
- 3) เพื่อศึกษาความเป็นเอกลักษณ์ (character impact compounds) ของความหอมของข้าวหอมมะลิ 105 โดยพิสูจน์สารระเหยตัวอื่นๆที่ส่งเสริม (aroma contribution) เอกลักษณ์ของกลิ่นข้าวหอมไทย เปรียบเทียบกับข้าวหอมพันธุ์ต่างประเทศอื่นๆ ได้แก่ Basmati (ข้าวหอมจากอินเดีย) และ Jasmati (ข้าวหอมจากอเมริกา)

3. ระเบียบวิธีวิจัย

- 1) รวบรวมข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวหอมพันธุ์ต่างประเทศ ได้แก่ Basmati (ข้าวหอมจากอินเดีย) และ Jasmati (ข้าวหอมจากอเมริกา)
- 2) วิเคราะห์สารระเหย (volatiles) ในตัวอย่างข้าวหุงสุก โดยทำการหุงข้าวในหลอดทดลอง (vial) ที่มีฝาเกลียวปิดพร้อมกับ PFPT/Silicon septum และทำการสกัดสารระเหย ในตัวอย่างข้าวที่อยู่ในหลอดทดลอง โดยเทคนิค Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME)
- 3) ทำการหาสภาวะที่เหมาะสม (optimize conditions) สำหรับ Headspace SPME โดยแปรผันอุณหภูมิการบ่ม (equilibrium temperature) เวลาในการบ่ม (equilibrium time) เวลาในการสกัด (exposure time) และทำการเปรียบเทียบชนิดของ SPME fibers ชนิดต่างๆ ได้แก่ PDMS (polydimethylsiloxane), CAR/DVB (Carboxen/divinylbenzene), PDMS/DVB (polydimethylsiloxane/divinylbenzene), CAR/PDMS (Carboxen/polydimethylsiloxane), และ DVB/CAR/PDMS (divinylbenzene/Carboxen/ polydimethylsiloxane)
- 4) วิเคราะห์และพิสูจน์สารระเหยที่สกัดได้ด้วย Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID), Gas Chromatography-Pulsed Flame Photometric Detector (GC-PFPD), Gas Chromatography-Olfactometer (GC-O) และ Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) โดยใช้ GC column ชนิด DB-5 และ DB-wax, อุณหภูมิเริ่มต้น 40 ถึง 250 °C โดยอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 7 °C/นาที flow rate เท่ากับ 1.5 มิลลิลิตร/นาที
- 5) ใช้วิธี GC-O แบบ Time intensity olfactometry เพื่อระบุว่าสารระเหยใดเป็นสารที่มีกลิ่นหอมและมี aroma intensity เท่าใด โดยใช้ผู้ที่ได้รับการฝึกอบรมและมีประสบการณ์ (trained and experienced sniffers) อย่างน้อย 2 คน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- 6) วิเคราะห์ปริมาณสารใหม่ที่ทำให้ความหอมด้วยวิธี Headspace SPME ร่วมกับเทคนิค Standard addition และ GC-MS ที่ SIM mode(selected ion monitoring mass spectrometer)

4. ผลการศึกษา

4.1 การคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยจากข้าวหอมสุก

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เทคนิคการสกัดสารระเหยให้กลิ่นที่อยู่เหนือข้าวหอมสุกที่บรรจุอยู่ในขวดแก้วปิดขนาด 40 มิลลิลิตร การสกัดสารระเหยด้วยเทคนิคนี้จะทำให้ได้กลิ่นของข้าวหอมสุกที่ใกล้เคียงกับกลิ่นที่ผู้บริโภคได้รับขณะบริโภคข้าว เทคนิคการศึกษาในครั้งนี้ประกอบด้วย headspace SPME ชนิดของ SPME fibers ที่เหมาะสมคือชนิดสามเฟส DVB/CAR/PDMS ซึ่งครอบคลุมการสกัดสารระเหยที่มีจุดเดือดต่ำถึงสูงปานกลางได้ดีกว่าชนิดเฟสเดียวและสองเฟส สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม เวลาที่ใช้ในการบ่ม และเวลาที่ใช้ในการสกัด เท่ากับ 30°C, 15 นาที และ 30 นาที

4.2 การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยจากข้าวหอมสุก

การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นจากข้าวหอมสุกสายพันธุ์ ข้าวหอมมะลิไทย 105 ข้าวหอมอินเดีย Basmati และข้าวหอมอเมริกัน Jasmati ด้วยเทคนิค Headspace-SPME, GC-FID, GC-O, GC-PFPD และ GC-MS พบว่าสารระเหยที่ให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิไทย 105 Basmati และ Jasmati มีจำนวนใกล้เคียงกันคือ 23 และ 22 ตามลำดับ โดยพบว่าสารที่ให้กลิ่นหอมที่แสดงถึงเอกลักษณ์ (character impact volatile) ของข้าวหอมทั้งสามชนิดคือ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ซึ่งเคยถูกรายงานมาก่อนว่าเป็นสารให้กลิ่นหอมสำคัญของข้าวหอมสำหรับข้าวหอมมะลิ 105 พบว่ามีอีกหนึ่งสารที่ให้กลิ่นเหมือน 2AP คือ 2-acetyl-2-thiazoline (2AT) ซึ่งถูกรายงานเป็นครั้งแรกในการศึกษาครั้งนี้ สาร 2AT เป็นสารให้กลิ่นหอมที่ตรวจพบในข้าวหอมมะลิไทย แต่ไม่พบในข้าวหอมจากอินเดีย Basmati และข้าวหอมจากอเมริกา Jasmati

สารให้กลิ่นที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างข้าวทั้งสามชนิดมีรวมทั้งหมด 36 ชนิดและพิสูจน์ได้ 31 ชนิด ที่มีบทบาทในการส่งเสริม (contribution) กลิ่นของข้าว นอกเหนือจากสาร 2AP สารทั้ง 31 ชนิดได้ถูกจัดแบ่งเป็นกลุ่มสารเคมี (chemical classes) ได้ 6 กลุ่ม ได้แก่ aldehydes, alcohols, sulfurs, ketones, esters, และ nitrogens พบว่ากลุ่ม aldehydes มีความสำคัญต่อกลิ่นของข้าวหอมทั้งสามชนิด มากถึง 48-52% (ของจำนวนสารระเหยทั้งหมด) ส่วนสารระเหยกลุ่มอื่นๆ จะมีความแตกต่างกันไปในข้าวแต่ละชนิดซึ่งเป็นการแสดงถึงความแตกต่างของข้าวหอมทั้งสามชนิดได้โดยที่สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ คือ aldehydes (48%) รองลงมาได้แก่ alcohols (24%) ketones (9%) และ sulfurs (9%) สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอม Basmati คือ aldehydes (52%) รองลงมาได้แก่ ketones (19%) และ sulfurs (14%) สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอม Jasmati คือ aldehydes (50%) รองลงมาได้แก่ sulfurs (20%) และ ketones (15%) นอกจากนี้สารระเหยแต่ละชนิดถูกจัดแบ่งเป็นกลุ่มของกลิ่น (odor groups) ได้ 9 กลุ่ม ได้แก่ green, sweet fruity/floral, minty/citrusy, cooked/mushroom/musty, sweet/roasty/nutty, fatty/metallic, spices, sulfury/meaty และ medicine จากค่ารวมความเข้มของกลิ่น (odor intensity) ของแต่ละกลุ่ม ทำให้ได้รูปแบบของกลิ่น (odor profile) ที่แสดงใน

รูปแบบของ spider web diagrams ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน กลุ่มของกลิ่นที่โดดเด่นที่เหมือนกันของข้าวหอมทั้งสามชนิด คือกลุ่ม fatty/ metallic ข้าวหอมมะลิไม่มีกลุ่มของ sulfury/meaty ขณะที่ข้าว Basmati และ Jasmati มีกลุ่มของกลิ่นดังกล่าว และข้าว Basmati มีกลิ่นของกลุ่ม sweet fruity/floral มากกว่าข้าว Jasmati จากรูปแบบของกลิ่นดังกล่าวทำให้สามารถบอกความแตกต่างของกลิ่นของข้าวทั้งสามชนิดได้อย่างชัดเจน

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยจากข้าวหุงสุก

ปริมาณของ 2AT ที่พบในข้าวหอมมะลิ 105 ได้ถูกวิเคราะห์ โดยเทคนิค headspace standard addition SPME พร้อมกับเทคนิค GC-MS SIM mode ที่ m/z 129 และ 60 พบว่ามีปริมาณของสาร 2AT เท่ากับ 0.45 $\mu\text{g/kg}$ ค่าความเข้มข้นอย่างต่ำของการรับรู้กลิ่น (odor threshold) ของสาร 2AT เท่ากับ 0.2-0.8 ng/L in air ซึ่งเป็นค่าการรับรู้ที่ต่ำมากๆ ดังนั้น 2AT จึงมีความสำคัญและมีผลต่อกลิ่นหอมของข้าว

4.4 การประเมินทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นของข้าวขาวที่เติมสาร 2AT

การประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่าข้าวขาวชัยนาท (ซึ่งเป็นข้าวไม่มีกลิ่นหอม) ที่ถูกเติมด้วยสาร 2AT ปริมาณ 0.6 - 0.9 mg/kg ก่อนการหุงสามารถเลียนแบบกลิ่นหอมของข้าวหอมมะลิหุงสุกได้

การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่ตรวจพบพิสูจน์และวิเคราะห์ปริมาณของสาร 2AT ที่เป็นเอกลักษณ์ของกลิ่นข้าวหอมมะลิหุงสุกตัวใหม่ และได้ข้อมูลของสารให้กลิ่นตัวอื่นๆ ที่ถูกจัดเป็นกลุ่มของสารเคมี (chemical classes) และกลุ่มของกลิ่น (odor groups) ทำให้สามารถชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างข้าวหอมมะลิไทย กับข้าวหอมอินเดีย Basmati และข้าวหอมอเมริกัน Jasmati

5. ข้อเสนอแนะ

1. จากวิธีการวิจัยและผลการวิจัยครั้งนี้ทำให้สามารถบอกถึงความแตกต่างของข้าวหอมทั้งสามชนิดได้อย่างชัดเจน ดังนั้นควรมีการวิจัยต่อเนื่องโดยศึกษาความเป็นเอกลักษณ์ของความหอมของข้าวไทยชนิดต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถชี้ให้เห็นความแตกต่างในด้านกลิ่นของข้าวหอมที่มาจากต่างสายพันธุ์หรือต่างแหล่งเพาะปลูก ทั้งนี้ควรมีการศึกษาทั้งทางด้านประสาทสัมผัสของมนุษย์และทางเครื่องมือวิเคราะห์ (human assessment และ instrument assessment) เพื่อนำมาเปรียบเทียบและส่งเสริมผลงานวิจัยที่ได้

2. เนื่องจากกลิ่นของสาร 2AP และ 2AT เหมือนกัน และสาร 2AT นั้นหาซื้อได้จากบริษัทขายสารให้กลิ่นรส ขณะที่ 2AP ยังต้องมีการสังเคราะห์ขึ้นตามห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการใช้สาร 2AT เพื่อการปรับปรุงกลิ่น เพิ่มกลิ่นในข้าวพันธุ์ไม่หอม หรือในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของข้าว เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์ โดยที่สาร 2AT นั้นมีค่า odor threshold ต่ำ ปริมาณการใช้น้อย ทำให้ต้นทุนการใช้อาจจะคุ้มค่าต่อมูลค่าผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยงานและบุคคล ที่ได้ให้ความสนับสนุนและช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ดังมีรายนามต่อไปนี้

1. สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัย
2. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในด้านสถานที่ อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ในการทำวิจัย
3. รองศาสตราจารย์ ดร. วรพจน์ สุนทรสุข ที่ได้ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัย
4. Prof. Dr. Russell L. Rouseff ที่ได้ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัย

นางสาว กาญจนา มัทธนทวี
(หัวหน้าโครงการวิจัย)

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....	i
Abstract.....	iii
บทสรุปผู้บริหาร.....	v
กิตติกรรมประกาศ.....	ix
สารบัญ.....	x
สารบัญตาราง.....	xii
สารบัญรูป.....	xiii
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2. วัตถุประสงค์.....	2
1.3. ระเบียบวิธีวิจัย.....	2
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	
2.1 การคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร ระเหยจากข้าวหุงสุก.....	3
2.2 การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยจากข้าวหุงสุก.....	4
2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยจากข้าวหุงสุก.....	6
2.4 การประเมินผลทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นของข้าวขาวที่เติมด้วย สาร 2AT.....	7
บทที่ 3 ผลการทดลอง	
3.1 การคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร ระเหยจากข้าวหุงสุก.....	8
3.2 การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยจากข้าวหุงสุก.....	11
3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยจากข้าวหุงสุก.....	22
3.4 การประเมินผลทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นของข้าวขาวที่เติมด้วย สาร 2AT.....	22

บทที่ 4 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาร ระเหยจากข้าวहुงสุก.....	23
4.2 การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยจากข้าวहुงสุก.....	24
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยจากข้าวहुงสุก.....	25
4.4 การประเมินผลทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นของข้าวขาวที่เติมด้วย สาร 2AT.....	26
ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต.....	26
บรรณานุกรม.....	27
ภาคผนวก.....	29

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สารให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ 105 หุงสุก.....	12
ตารางที่ 2 สารให้กลิ่นในข้าวหอม Basmati หุงสุก.....	16
ตารางที่ 3 สารให้กลิ่นในข้าวหอม Jasmati หุงสุก.....	17
ตารางที่ 4 สารให้กลิ่นในข้าวหุงสุก หอมมะลิ 105 Basmati และ Jasmati จำแนกตามกลุ่มสารเคมี (chemical classes).....	18
ตารางที่ 5 สารให้กลิ่นในข้าวหุงสุก หอมมะลิ 105 Basmati และ Jasmati จำแนกตามกลุ่มของกลิ่น (odor groups).....	20

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 ตัวอย่างข้าวหอมทางการค้า Basmati (ประเทศอินเดีย) และ Jasmati (long grain American Jasmine rice,ประเทศอเมริกา)	5
รูปที่ 2 โครมาโตแกรมเปรียบเทียบการสกัดสารระเหยจากข้าวหอมมะลิ โดย SPME fibers 5 ชนิด 1. PDMS 2. CAR/DVB 3. PDMS/DVB 4. CAR/PDMS 5. DVB/CAR/PDMS.....	9
รูปที่ 3 เปรียบเทียบ total peak area ของสารระเหยที่สกัดได้ เมื่อแปรผัน อุณหภูมิต่างๆ ที่ใช้ในการบ่มตัวอย่างข้าวหุงสุก.....	10
รูปที่ 4 เปรียบเทียบ total peak area ของสารระเหยที่สกัดได้ เมื่อแปรผัน เวลาต่างๆ ที่ใช้ในการบ่มตัวอย่างข้าวหุงสุก.....	10
รูปที่ 5 เปรียบเทียบ total peak area ของสารระเหยที่สกัดได้ เมื่อแปรผัน เวลาของการสกัดสารระเหย.....	10
รูปที่ 6 สารให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ 105 หุงสุก จากการตรวจสอบโดย GC-FID (ภาพบน) และ GC-O (ภาพล่าง) ลำดับตัวเลขของสารให้กลิ่นสอดคล้อง กับตารางที่ 1.....	13
รูปที่ 7 โครมาโตแกรมของสารระเหยในข้าวหอมมะลิหุงสุก วิเคราะห์ด้วย GC-PFPD A peak ของ 2 AT ในข้าวหอมมะลิหุงสุก ที่ RT เท่ากับ 12.5 B peak ของ 2 AT ในข้าวหอมมะลิหุงสุกที่ถูกเติม (spiked) ด้วยสารมาตรฐาน 2AT.....	14
รูปที่ 8 โครมาโตแกรมของสารระเหยจากข้าวหอมมะลิหุงสุก วิเคราะห์โดย GC-MS.....	15
รูปที่ 9 การเปรียบเทียบ mass spectrum ระหว่างสารมาตรฐาน 2AT (ภาพล่าง) และ 2AT ในข้าวหอมมะลิหุงสุก (ภาพบน).....	15

รูปที่ 10	สารระเหยให้กลิ่น แยกตามกลุ่มของสารเคมี และเปอร์เซ็นต์ของจำนวน	
	สารระเหยทั้งหมด ที่มีบทบาท (contribution) ต่อกลิ่นในข้าว	
	หอมมะลิหุงสุก.....	19
รูปที่ 11	สารระเหยให้กลิ่น แยกตามกลุ่มของสารเคมี และเปอร์เซ็นต์ของจำนวน	
	สารระเหยทั้งหมด ที่มีบทบาท(contribution) ต่อกลิ่นในข้าว	
	หอม Basmati หุงสุก.....	19
รูปที่ 12	สารระเหยให้กลิ่น แยกตามกลุ่มของสารเคมี และเปอร์เซ็นต์ของจำนวน	
	สารระเหยทั้งหมด ที่มีบทบาท (contribution) ต่อกลิ่นในข้าว	
	หอม Jasmati หุงสุก.....	19
รูปที่ 13	รูปแบบกลิ่น (odor profile) ของข้าวหอมมะลิ 105 หุงสุก.....	21
รูปที่ 14	รูปแบบกลิ่น (odor profile) ของข้าวหอม Basmati.....	21
รูปที่ 15	รูปแบบกลิ่น (odor profile) ของข้าวหอม Jasmati.....	21
รูปที่ 16	ความสัมพันธ์ของ relative peak area กับความเข้มข้นของ standard addition	
	2 AT ในข้าวหอมมะลิหุงสุกที่ความเข้มข้น 0.001 - 0.005 mg/kg วิเคราะห์	
	โดย GC-MS SIM mode ที่ m/z 129 และ 60.....	22

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

ข้าวหอมมะลิไทยได้รับความนิยมสืบเนื่องมาจากความหอมของข้าว และเมล็ดอ่อนนุ่ม เมื่อนำมาหุงต้ม ได้มีงานวิจัยมากมายที่ทำการศึกษากลิ่นหอมของข้าวชนิดต่างๆ สารระเหย (volatile compounds) ในข้าวเท่าที่มีรายงานมีมากกว่า 155 ชนิด (1-4) แต่สารเคมีสำคัญที่ทำให้ความหอมที่เป็นเอกลักษณ์ (character impact compound) ในข้าวหอมพันธุ์ต่างๆ รวมทั้ง ข้าวหอมมะลิไทย คือ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) (5) ซึ่งมีกลิ่นคล้ายใบเตย หรือต่างชาติเรียกว่า กลิ่นคล้ายข้าวโพดคั่ว (popcorn) เป็นสารระเหยที่มีค่า odor threshold ต่ำ เท่ากับ 0.1 ppb ในน้ำ (6) เนื่องจากความสำคัญของสาร 2AP จึงมีงานวิจัยมากมายที่เน้นเทคนิคการหาปริมาณสาร 2AP (7-9) และผลของอายุการเก็บรักษาข้าวต่อปริมาณสาร 2AP (10, 11) การวิเคราะห์มีทั้งเทคนิคการใช้ตัวทำละลายในการสกัด (9, 10) หรือการใช้เทคนิค headspace SPME (12, 13) มีรายงานปริมาณสาร 2AP ในข้าวหอมมะลิและพันธุ์ข้าวหอมชนิดอื่นๆ ในช่วง 0.04 – 0.34 ppm (1, 8, 9)

นอกจากนี้ยังมีรายงานสารระเหยสำคัญอื่นๆ ในข้าวที่มีบทบาทในการส่งเสริม (contribution) กลิ่นของข้าว โดยเปรียบเทียบค่า odor units (concentration/odor threshold) (6) หรือการใช้เทคนิค Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O) และ Aroma Extract Dilution Analyses (AEDA) เพื่อหาค่า dilution factor (FD) (14) ซึ่งพบว่าสารระเหยที่มีความสำคัญตัวอื่นนอกจาก 2AP คือ (E,E)-2,4-decadienal, nonanal, hexanal, (E)-2-nonenal, octanal, decanal, 4-vinylguaiacol และ 4-vinylphenol (6), bis-(2-methyl-3-furyl)-disulfide, และ 2-amino acetophenone (14) ถึงแม้ว่าสารเหล่านี้จะมีความสำคัญต่อกลิ่นของข้าวแต่ไม่มีสารใดในสารระเหยดังกล่าวนี้ที่มีกลิ่นคล้ายข้าวหอมมีเพียงแค่สาร 2AP เท่านั้นที่ให้เอกลักษณ์ของข้าวหอม ในการทำงานวิจัยเบื้องต้นเรื่องกลิ่นของข้าวหอมมะลิโดยเทคนิค GC-O พบว่ามีสารระเหยที่ให้กลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ของข้าวหอมมะลิไทยนอกเหนือจาก 2AP และยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อน ดังนั้นจึงเห็นความสำคัญในการพิสูจน์สารระเหยตัวใหม่ที่ให้กลิ่นหอมคล้ายกลิ่นของข้าวหอมมะลิไทยซึ่งอาจเป็นสารที่เป็นเอกลักษณ์ (aroma characteristic) ของข้าวหอมไทยที่มีความแตกต่างจากข้าวหอมพันธุ์ของต่างประเทศ รวมทั้งการศึกษาสารระเหยตัวอื่นๆ ที่ส่งเสริม (contribution) เอกลักษณ์ของกลิ่นข้าวหอมไทย เปรียบเทียบกับข้าวหอมพันธุ์ต่างประเทศอื่นๆ เช่น Basmati (ข้าวหอมจากอินเดีย) และ Jasmati (ข้าวหอมจากอเมริกา) เป็นต้น

1.2 วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อพิสูจน์ (identify) สารให้ความหอมชนิดใหม่ ที่ให้กลิ่นคล้ายข้าวหอมมะลิ 105
- 2) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ (quantification) ของสารให้ความหอมชนิดใหม่ที่ให้กลิ่นคล้ายข้าวหอมมะลิ 105
- 3) เพื่อศึกษาความเป็นเอกลักษณ์ (character impact compounds) ของความหอมของข้าวหอมมะลิ 105 โดยพิสูจน์สารระเหยตัวอื่นๆที่ส่งเสริม (aroma contribution) เอกลักษณ์ของกลิ่นข้าวหอมไทย เปรียบเทียบกับข้าวหอมพันธุ์ต่างประเทศอื่นๆ ได้แก่ Basmati (ข้าวหอมจากอินเดีย) และ Jasmati (ข้าวหอมจากอเมริกา)

1.3 ระเบียบวิธีวิจัย

- 1) รวบรวมข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวหอมพันธุ์ต่างประเทศ ได้แก่ Basmati (ข้าวหอมจากอินเดีย) และ Jasmati (ข้าวหอมจากอเมริกา)
- 2) วิเคราะห์สารระเหย (volatiles) ในตัวอย่างข้าวหุงสุก โดยทำการหุงข้าวในหลอดทดลอง (vial) ที่มีฝาเกลียวปิดพร้อมกับ PFPT/Silicon septum และทำการสกัดสารระเหย ในตัวอย่างข้าวที่อยู่ในหลอดทดลอง โดยเทคนิค Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME)
- 3) ทำการหาสภาวะที่เหมาะสม (optimize conditions) สำหรับ Headspace SPME โดยแปรผันอุณหภูมิการบ่ม (equilibrium temperature) เวลาในการบ่ม (equilibrium time) เวลาในการสกัด (exposure time) และทำการเปรียบเทียบชนิดของ SPME fibers ชนิดต่างๆ ได้แก่ PDMS (polydimethylsiloxane), CAR/DVB (Carboxen/divinylbenzene), PDMS/DVB (polydimethylsiloxane/divinylbenzene), CAR/PDMS (Carboxen/polydimethylsiloxane), และ DVB/CAR/PDMS (divinylbenzene/Carboxen/ polydimethylsiloxane)
- 4) วิเคราะห์และพิสูจน์สารระเหยที่สกัดได้ด้วย Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID), Gas Chromatography-Pulsed Flame Photometric Detector (GC-PFPD), Gas Chromatography-Olfactometer (GC-O) และ Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) โดยใช้ GC column ชนิด DB-5 และ DB-wax, อุณหภูมิเริ่มต้น 40 ถึง 250 °C โดยอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 7 °C/นาที flow rate เท่ากับ 1.5 มิลลิลิตร/นาที
- 5) ใช้วิธี GC-O แบบ Time intensity olfactometry เพื่อระบุว่าสารระเหยใดเป็นสารที่มีกลิ่นหอมและมี aroma intensity เท่าใด โดยใช้ผู้ที่ได้รับการฝึกอบรมและมีประสบการณ์ (trained and experienced sniffers) อย่างน้อย 2 คน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- 6) วิเคราะห์ปริมาณสารใหม่ที่ให้ความหอมด้วยวิธี Headspace SPME ร่วมกับเทคนิค Standard addition และ GC-MS ที่ SIM mode (selected ion monitoring mass spectrometer)

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 การคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุก

2.1.1 การเตรียมตัวอย่างข้าวหุงสุก

ข้าวหอมมะลิ 105 จากจังหวัดสุรินทร์ ได้นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ การเตรียมข้าวหุงสุกโดยใช้ข้าวปริมาณ 5 กรัม และน้ำกลั่น 5 กรัม เติมน้ำลงในหลอดแก้วขนาด 40 มล. เติมหาก๊าซไนโตรเจนก่อนปิดด้วยฝาเกลียวปลายเปิดที่มีแผ่น Teflon-coated septum อยู่ด้านในของฝาเกลียว นำไปหุงสุกในหม้อหุงข้าวไฟฟ้า เติมน้ำลงในหม้อให้มีระดับความสูงเท่ากับครึ่งหนึ่งของหลอดแก้วใช้เวลาหุงสุก ประมาณ 18 นาที

2.1.2 การศึกษาชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุก

การสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุกในการศึกษานี้ใช้วิธี Static Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) โดยเริ่มจากการศึกษาชนิดของ SPME fibers ที่เหมาะสมและสภาวะในการสกัดสารระเหยที่เหมาะสม โดยทำการศึกษา

2.1.2.1 การคัดเลือกชนิดของ SPME fibers (Supelco, Bellefonte, PA) ที่เหมาะสมในการศึกษานี้ชนิดของ SPME fibers ที่ทำการศึกษา ได้แก่

1. PDMS (polydimethylsiloxane)
2. CAR/DVB (Carboxen/divinylbenzene)
3. PDMS/DVB (polydimethylsiloxane/divinylbenzene)
4. CAR/PDMS (Carboxen/polydimethylsiloxane)
5. DVB/CAR/PDMS (divinylbenzene/Carboxen/polydimethylsiloxane)

ข้าวหอมมะลิที่เตรียมได้ตามวิธีในข้อที่ 2.1.1 ถูกนำมาใช้เป็นตัวอย่างเพื่อการคัดเลือกชนิด SPME fibers ที่เหมาะสมโดยใช้สภาวะเบื้องต้นเพื่อการคัดเลือกชนิดของ SPME fibers ได้แก่ อุณหภูมิการบ่ม (equilibrium temperature) 40 °C ระยะเวลาการบ่ม (equilibrium time) 15 นาที และระยะเวลาที่ใช้สกัดด้วย SPME fibers (exposure time) 30 นาที ตัวอย่างข้าวที่เตรียมได้จากข้อที่ 2.1.1 ถูกนำมาบ่มใน water bath อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นสารระเหยที่อยู่เหนือตัวอย่างข้าวในหลอดทดลอง (headspace volatiles) จะถูกสกัดด้วย SPME fibers โดยการฉีด SPME fibers (ที่ผ่านการ conditioned แล้ว) ผ่าน septum และให้ SPME fibers อยู่เหนือตัวอย่างข้าวเพื่อสกัดสารระเหยเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นจึงดึง SPME fiber ออกมาและนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC โดยฉีดเข้าทาง injection port (ที่ตั้งเป็น

แบบ splitless injector) ที่อุณหภูมิ 220 °C และให้ SPME fibers ค้างอยู่ภายใน glass liner เป็นเวลา 5 นาที เพื่อชะสารระเหยออกมาจาก fiber ก่อนดึงออก

2.1.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยด้วย SPME fibers

หลังจากการคัดเลือกชนิด SPME fibers ที่เหมาะสมแล้ว สภาวะที่ศึกษาในลำดับต่อไป ได้แก่

1. อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม (equilibrium temperature) ตัวอย่างข้าว ได้แก่ 30 40 50 และ 60 °C
2. เวลาที่ใช้ในการบ่ม (equilibrium time) ตัวอย่างข้าว ได้แก่ 15 30 45 และ 75 นาที
3. เวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหย (exposure time) ด้วย SPME fibers ได้แก่ 5 15 30 45 และ 60 นาที

ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ SPME fiber ที่ได้ถูกคัดเลือกจากข้อที่ 2.1.2.1 ทำการแปรผันอุณหภูมิที่ใช้บ่มตัวอย่าง 30 40 50 และ 60 °C โดยให้ค่าเวลาในการบ่มคงที่ที่ 15 นาที และเวลาสกัด 30 นาที นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID เปรียบเทียบผลที่ได้ที่ให้ค่า total peak area ดีที่สุด เพื่อใช้สภาวะดังกล่าวสำหรับการศึกษาลำดับต่อไปได้แก่ เวลาที่ใช้ในการบ่ม โดยแปรผันเวลาในการบ่มเป็น 15 30 45 และ 75 นาที โดยให้ค่าอุณหภูมิที่ดีที่สุดจากการทดลองก่อนหน้านี้คงที่ และใช้เวลาในการสกัดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID เปรียบเทียบผลที่ได้ที่ให้ค่า total peak area ดีที่สุด เพื่อใช้สภาวะดังกล่าวสำหรับการศึกษาลำดับต่อไปได้แก่ เวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหย โดยแปรผันค่าเวลาเป็น 5 15 30 45 และ 60 นาที โดยให้ค่าอุณหภูมิการบ่ม และเวลาการบ่มที่ดีที่สุดจากการทดลองก่อนหน้านี้คงที่ นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID เปรียบเทียบผลที่ได้ที่ให้ค่า total peak area ดีที่สุด

2.2 การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยจากข้าวหอมสุก

หลังการคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะการสกัดแยกสารระเหยที่เหมาะสมจากการศึกษาในข้อที่ 2.1 แล้ว จะนำมาใช้สำหรับการศึกษาการสกัดและการแยกสารระเหยจากข้าวหอมสุก จากข้าวสายพันธุ์ ข้าวหอมมะลิ 105 (จากจังหวัดสุรินทร์) ข้าว Basmati (ข้าวหอมจากอินเดีย) และ ข้าว Jasmati (ข้าวหอมจากอเมริกา, long grain American Jasmine rice) การแยกสารระเหยและการวิเคราะห์ชนิดของสารระเหยจะประกอบด้วยเทคนิค HS-SPME, GC-FID, GC-O, GC-PFPD และ GC-MS



รูปที่ 1 ตัวอย่างข้าวหอมทางการค้า Basmati (ประเทศอินเดีย) และ Jasmati (long grain American Jasmine rice, ประเทศอเมริกา)

2.2.1 GC-FID และ GC-O

การวิเคราะห์สารระเหยโดยเครื่อง Agilent 6890N GC (Agilent Technologies, USA) ที่ประกอบด้วย detector ชนิด FID และ sniffing port (olfactometry, Gerstel Inc. USA) สารระเหยที่ถูกสกัดโดย SPME fiber จะถูกนำมาฉีดเข้าทาง injection port (ที่ตั้งเป็นแบบ splitless injector) ของเครื่อง GC และผ่านการแยกโดย GC-column ชนิด polar (DB-wax, J&W Scientific, Folsom, CA; 30 m x 0.32 mm. i.d. x 0.5 μ m film thickness) และ nonpolar column, 5% phenyl, 95% dimethyl-polysiloxane (Zebron ZB-5, Phenomenex, Torrance, CA) อุณหภูมิ oven ที่ใช้เริ่มต้นที่ 40 เพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 7 $^{\circ}$ C/min จนถึง 240 $^{\circ}$ C ก๊าซฮีเลียมใช้เป็น carrier gas ที่อัตราการไหล 2.0 mL/min อุณหภูมิของ injector และ detector เท่ากับ 220 $^{\circ}$ C และ 275 $^{\circ}$ C ตามลำดับ ผู้ประเมินกลิ่นสองคนที่มีประสบการณ์จะทำการประเมินสารระเหยที่ให้กลิ่นและความเข้มข้น (odor intensity) ของกลิ่นที่ sniffing port (olfactometry) โดยวิธี GC-O time intensity โดยทำซ้ำสองครั้งและนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยโดยความเข้มข้นของกลิ่นสูงสุดที่ระดับ 10 การพิสูจน์ชนิด (identify) ของสารระเหยโดยใช้ค่า Linear Retention Index (LRI) และการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (15)

2.2.2 GC-PFPD

สารระเหยที่เป็นชนิดสารประกอบซัลเฟอร์จะถูกวิเคราะห์โดย GC-PFPD (Model 5380, OI Analytical Co., College Station, TX) ใน square root mode สภาพของเครื่อง GC เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 การพิสูจน์ชนิด (identify) ของสารระเหยโดยใช้ค่า Linear Retention Index (LRI) และการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

2.2.3 GC-MS

การพิสูจน์ชนิดของสารระเหยโดยใช้ค่า LRI จะถูกยืนยันด้วย GC-MS โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Perkin-Elmer Clarus 500 quadrupole mass spectrometer และ Turbo Mass software, v 5.4, (Perkin-Elmer, Shelton, CT) RTX-5 capillary column (Restek; column length = 60 m, inner diameter = 0.25 mm, film thickness = 0.50 μ m) ก๊าซฮีเลียมใช้เป็น carrier gas ที่อัตราการไหล 2.0 mL/min อุณหภูมิของ source เท่ากับ 200 °C อุณหภูมิของ transfer line และ injector คงที่ที่ 260 °C อุณหภูมิของ oven ที่ใช้เริ่มต้นที่ 40 °C เพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 7 °C/min ถึง 260 °C ใช้ Electron impact ionization ใน positive ion mode (70 eV) Mass spectra ที่ได้ถูกเปรียบเทียบกับ NIST 2005 v 2.0 standard spectra (NIST, Gaithersburg, MD) เฉพาะค่าความเหมือนของ spectral ≥ 800 ถูกพิจารณาว่าเป็น positive identifications และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเพื่อเป็นการยืนยันอีกครั้ง

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยจากข้าวหุงสุก

การวิเคราะห์ปริมาณสาร 2-acetyl-2-thiazoline (2AT) ในข้าวหอมมะลิใช้วิธี Headspace standard addition SPME (HS-SPME) โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Boa et al. 1999 (16) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ที่ตั้งเป็น SIM mode ที่ m/z 129 และ 60 โดยเตรียมข้าวหุงสุกเช่นเดียวกับข้อที่ 2.1.1 และเติมสารมาตรฐาน 2AT ลงในข้าวก่อนที่จะนำไปหุงสุกโดยให้มีปริมาณ 2AT เท่ากับ 0 0.001 0.003 และ 0.005 mg/kg นำตัวอย่างข้าวที่เตรียมได้ไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นสารระเหยที่อยู่เหนือตัวอย่างข้าวในหลอดทดลอง (headspace volatiles) จะถูกสกัดด้วย SPME fiber ชนิด DVB/CAR/PDMS โดยการฉีด SPME fibers (ที่ผ่านการ conditioned แล้ว) ผ่าน septum และให้ SPME fiber อยู่เหนือตัวอย่างข้าวเพื่อสกัดสารระเหยเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นจึงดึง SPME fiber ออกมาและนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ทำซ้ำ 3 ตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น เพื่อได้ข้อมูลในการทำ regression equation ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 2AT (ค่า X) กับพื้นที่ใต้กราฟ (peak area, ค่า Y) ความเข้มข้นของสาร 2AT ถูกประเมินโดยการแก้ไขสมการสำหรับค่า X เมื่อค่า Y เท่ากับศูนย์ (17)

2.4 การประเมินผลทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นของข้าวขาวที่เติมด้วยสาร 2AT

เปรียบเทียบความเหมือนหรือความแตกต่างด้านกลิ่นของข้าวหอมมะลิกับข้าวขาว (สายพันธุ์ชัยนาท) ที่เติมกลิ่นของสาร 2-acetyl-2-thiazoline (2AT) ก่อนนำไปหุงสุก ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 0.6 0.9 และ 1.2 mg/kg เปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธีทดสอบความแตกต่างอย่างง่าย (simple different test) เพื่อหาความสามารถของผู้ชิมในการแยกแยะความแตกต่าง โดยใช้ผู้ชิมที่ผ่านการฝึกฝนสัญชาติไทยที่คุ้นเคยกับการบริโภคข้าวหอมมะลิ จำนวน 16 คน เป็นเพศชาย 3 คนและเพศหญิง 13 คน นำข้อมูลวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ chi-square (χ^2 test) แบบ binomial, two tail ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 0.05 ($p \leq 0.05$)

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุก

จากการศึกษาการคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุกโดยวิธี Static Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) โดยทำการศึกษาลำดับต่างๆ ได้ผลดังนี้

3.1.1 ชนิดของ SPME fibers ที่เหมาะสม

จากการเปรียบเทียบชนิดของ SPME fibers (PDMS, CAR/DVB, PDMS/DVB, CAR/PDMS, และ DVB/CAR/PDMS) ดังรูปที่ 2 พบว่า DVB/CAR/PDMS สามารถสกัดสารระเหยได้มากกว่า SPME fibers ชนิดอื่นๆ ทั้งจำนวน peak number และ peak area ครอบคลุมทั้งสารระเหยที่มีจุดเดือดต่ำ จนถึงสูงปานกลาง

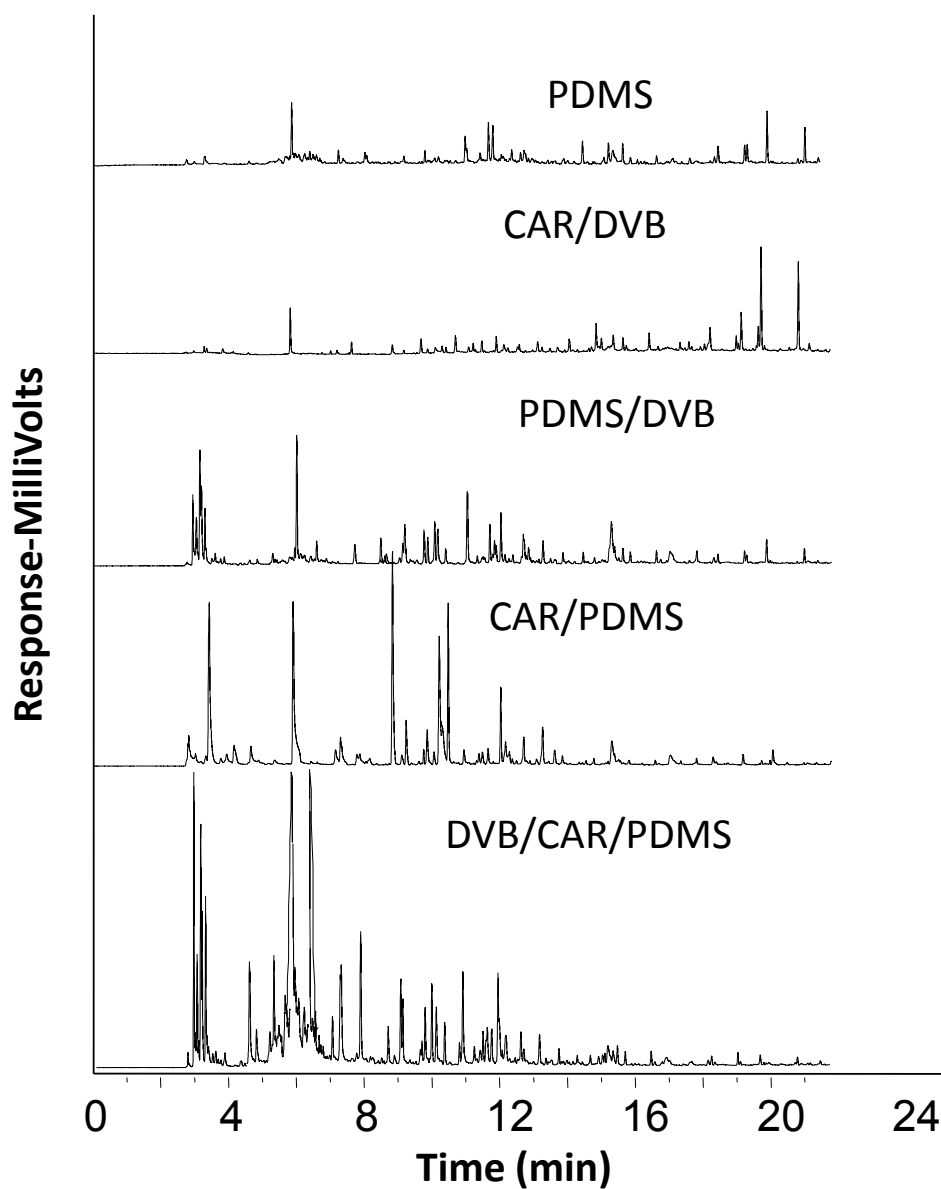
3.1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุกด้วย SPME fibers

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุกด้วย SPME fibers (ชนิดที่ได้คัดเลือกแล้วคือ DVB/CAR/PDMS) ประกอบด้วย อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม เวลาที่ใช้ในการบ่ม และเวลาที่ใช้ในการสกัด

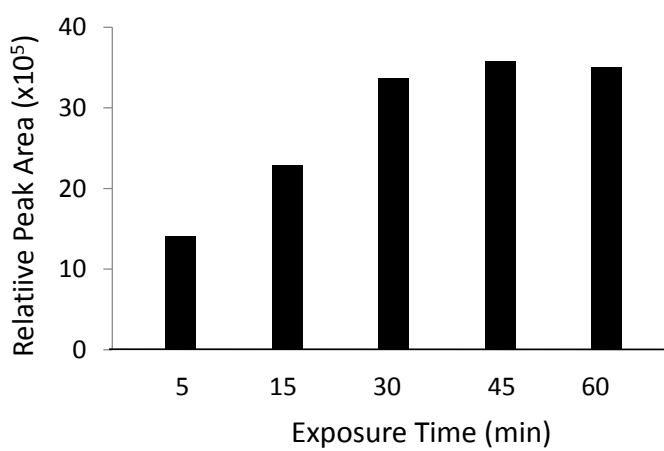
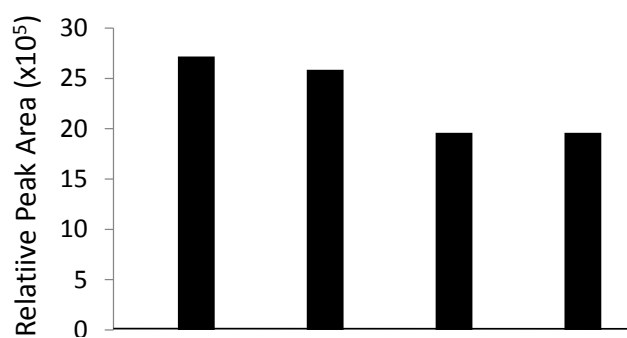
3.1.2.1 อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม ได้แก่ 30 40 50 และ 60 °C จากการเปรียบเทียบ total peak area ของสารระเหยที่สกัดได้ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ ที่ใช้ในการบ่มตัวอย่างข้าวหุงสุก ผลการทดลองดังรูปที่ 3 พบว่าที่อุณหภูมิ 30 °C ให้ค่า total peak area สูงสุด ตามมาด้วยอุณหภูมิที่ 40 50 และ 60 °C ตามลำดับ

3.1.2.2 เวลาที่ใช้ในการบ่ม ได้แก่ 15 30 45 และ 75 นาที จากการเปรียบเทียบ total peak area ของสารระเหยที่สกัดได้ที่เวลาต่างๆ ที่ใช้ในการบ่มตัวอย่างข้าวหุงสุก ดังรูปที่ 4 พบว่าการบ่มที่เวลา 15 และ 30 นาที ให้ผลดีใกล้เคียงกัน ส่วนการบ่มที่เวลาเกินกว่า 30 นาที มีผลให้ total peak area ลดลง

3.1.2.3 เวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหย ได้แก่ 5 15 30 45 และ 60 นาที จากการเปรียบเทียบ total peak area ของสารระเหยที่สกัดได้ที่เวลาต่างๆ ดังรูปที่ 5 พบว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ 30 45 และ 60 นาที ให้ผลดีใกล้เคียงกัน



รูปที่ 2 โครมาโตแกรมเปรียบเทียบการสกัดสารระเหยจากข้าวหอมมะลิ โดย SPME fibers 5 ชนิด 1. PDMS 2. CAR/DVB 3. PDMS/DVB 4. CAR/PDMS 5. DVB/CAR/PDMS



รูปที่ 5 เปรียบเทียบ total peak area ของสารระเหยที่สกัดได้ เมื่อแปรผันเวลาของการสกัดสารระเหย

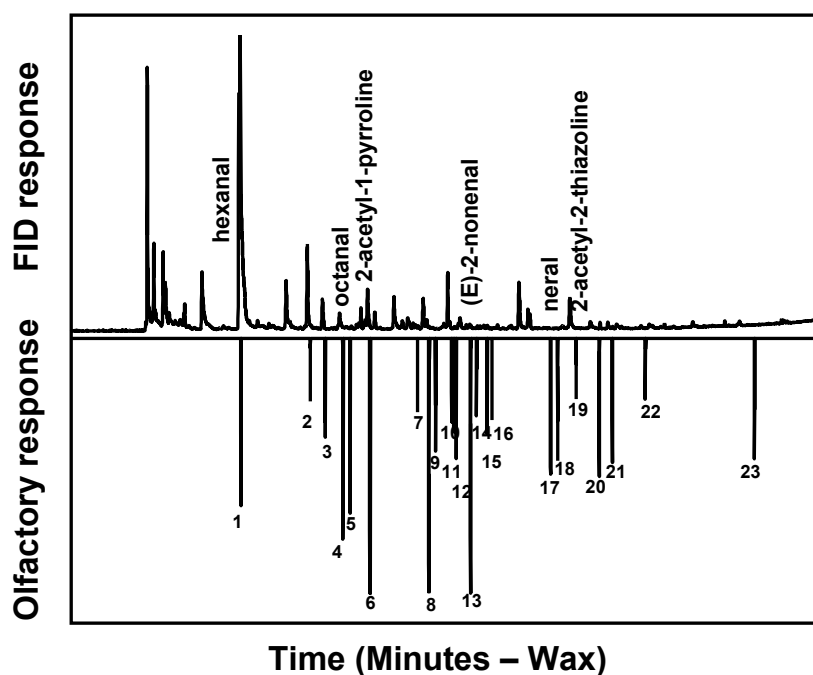
จากผลการศึกษาชนิดของ SPME fibers ที่เหมาะสมคือ DVB/CAR/PDMS และสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุกโดยเทคนิค headspace SPME ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม 30 °C เวลาที่ใช้ในการบ่ม 15 นาที และเวลาที่ใช้ในการสกัด 30 นาที ในการศึกษาการสกัดสารระเหยที่ให้กลิ่น สิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างอาหารนั้นจะต้องสามารถเป็นตัวแทนที่ดี (representative) ของกลิ่นอาหารชนิดนั้นๆ โดยทั่วไปเมื่อมีการสกัดกลิ่นด้วยตัวทำละลาย (organic solvent) สิ่งที่สกัดได้นั้นจะต้องถูกประเมินทางประสาทสัมผัสโดยการดมเพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าสารสกัดที่ได้นั้นเป็นตัวแทนที่ดีที่ให้กลิ่นในอาหารชนิดนั้นๆ ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ใช้ตัวทำละลาย แต่ใช้เทคนิค headspace SPME ในการสกัดกลิ่น ตามสภาวะที่เหมาะสมดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น และเพื่อเป็นการพิสูจน์สารที่สกัดได้นั้นเป็นตัวแทนที่ดีของกลิ่นข้าวหุงสุกหรือไม่ จึงทำการฉีดสารระเหยเหนือตัวอย่างข้าวหอมมะลิหุงสุกที่สกัดได้ด้วย SPME เข้าเครื่อง GC-O โดยเปลี่ยนการใช้ analytical GC column เป็น fused silica capillary column ความยาว 1 เมตร ต่อเข้าระหว่าง injection port กับ sniffing port เพื่อให้สารที่สกัดได้ไม่ผ่านการแยกโดย column และสารระเหยทั้งหมดออกมาพร้อมกันที่ sniffing port ดังนั้นผู้ประเมินกลิ่นที่ sniffing port จะทำการประเมินว่ากลิ่นที่ได้รับนั้นเป็นกลิ่นข้าวหอมมะลิหุงสุกหรือไม่ ผลการประเมินยืนยันได้ว่าชนิดของ SPME fibers ชนิด DVB/CAR/PDMS และสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้สกัดสารระเหยจากข้าวหอมมะลิหุงสุกนั้นสามารถสกัดสารระเหยที่เป็นตัวแทนที่ดีของกลิ่นข้าวหอมมะลิหุงสุกได้ วิธีการนี้ใช้ได้ดีและได้มีรายงานมาแล้วจากการศึกษาของ Rega et al. 2003 (18) ที่ทำการศึกษากลิ่นของน้ำส้มด้วย SPME

3.2 การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยจากข้าวหุงสุก

จากการศึกษาการสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นจากข้าวหุงสุกสายพันธุ์ ข้าวหอมมะลิ 105 ข้าว Basmati (ข้าวหอมจากอินเดีย) และข้าว Jasmati (ข้าวหอมจากอเมริกา) ด้วยเทคนิค HS-SPME, GC-FID, GC-O, GC-PFPD และ GC-MS ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 6 พบว่าสารระเหยที่ให้กลิ่นของข้าวหอมมะลิ 105 มีอยู่ 23 ชนิด ซึ่งมีสารสองชนิดที่ให้กลิ่นที่บรรยายว่าเป็น “cooked jasmine rice” (peak no. 6 และ 19) ที่เป็นเอกลักษณ์ (character impact compound) ของกลิ่นข้าวหอมมะลิ คือ 2-acetyl-1-pyrroline และ 2-acetyl-2-thiazoline โดยที่ 2-acetyl-1-pyrroline ได้เคยถูกรายงานมาแล้วว่าเป็นสารระเหยให้กลิ่นที่สำคัญของข้าวหอม (5) ส่วน 2-acetyl-2-thiazoline (2AT) ยังไม่เคยถูกรายงานมาก่อนว่าเป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นในข้าวหอม สาร 2 AT ถูกยืนยันด้วยการวิเคราะห์โดย GC-PFPD ของตัวอย่างข้าวหอมมะลิหุงสุกที่มีการเติมสารมาตรฐาน 2AT (spiked 2AT) และไม่มีการเติมสารมาตรฐาน 2AT (ดังแสดงในรูปที่ 7) และยืนยันการวิเคราะห์โดย GC-MS (ดังแสดงในรูปที่ 8 และ 9) สารระเหยที่วิเคราะห์ได้ในข้าวหอม Basmati และข้าวหอม Jasmati มี

ตารางที่ 1 สารให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ 105 หุงสุก

Peak no.	Identification	Odor Descriptor	LRI		Odor Intensity	Confirmation
			DB-wax	DB-5		
1	hexanal	green	1073	798	6.8	LRI, OD, MS
2	unknown	minty	1221	ND	2.6	LRI, OD
3	ethyl hexanoate	sweet fruity	1252	998	3.9	LRI, OD
4	octanal	citrusy	1286	999	7.7	LRI, OD, MS
5	1-octen-3-one	mushroom	1300	980	6.7	LRI, OD, MS
6	2-acetyl-1-pyrroline	cooked jasmine rice	1338	924	10.0	LRI, OD, MS
7	(E)-2-octenal	fatty	1430	1062	2.9	LRI, OD, MS
8	methional	cooked potato	1451	912	9.7	LRI, OD, PFPD
9	1-octen-3-ol	mushroom	1464	980	4.4	LRI, OD, MS
10	unknown	musty, moldy	1495	ND	3.2	LRI, OD
11	decanal	fatty metallic	1500	1202	3.7	LRI, OD, MS
12	(Z)-2-nonenal	metallic	1504	1149	4.6	LRI, OD
13	(E)-2-nonenal	metallic	1533	1161	10.0	LRI, OD, MS
14	linalool	sweet, floral	1545	1100	2.9	LRI, OD
15	1-octanol	fatty, metallic	1567	1062	3.7	LRI, OD, MS
16	(E,Z)-2,6-nonadienal	soapy, fatty	1576	1157	3.4	LRI, OD
17	(E,E)-2,4 nonadienal	soapy, fatty	1700	1218	5.4	LRI, OD
18	neral	minty, citrusy	1715	1245	4.7	LRI, OD, MS
19	2-acetyl-2-thiazoline	cooked jasmine rice	1756	1109	2.3	LRI, OD, PFPD
20	(E,E)-2,4-decadienal	fatty	1808	1318	5.3	LRI, OD
21	β -damascenone	sweet honey	1838	1395	4.9	LRI, OD
22	2-phenylethanol	sweet floral	1913	1106	2.4	LRI, OD
23	4-vinyl guaiacol	clove-like	2187	1327	4.7	LRI, OD



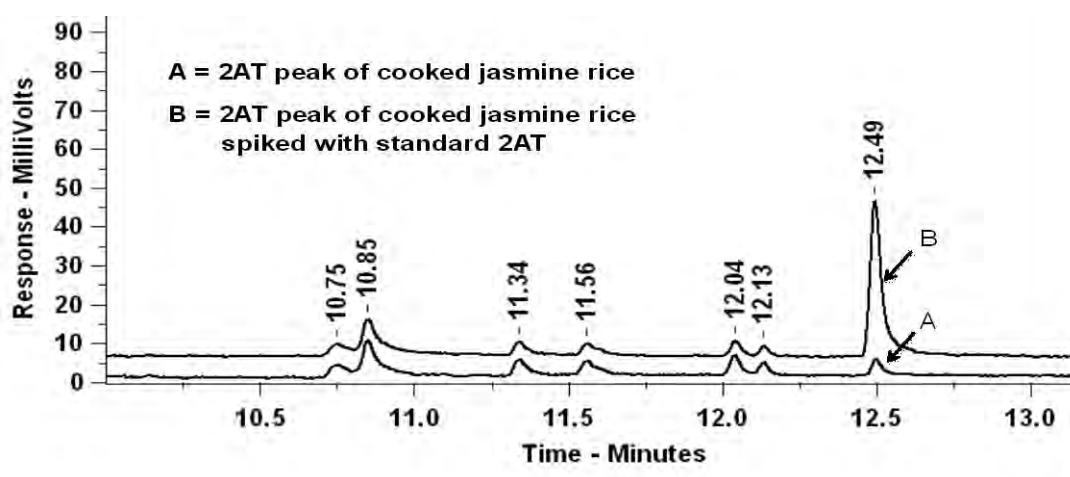
รูปที่ 6 สารให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ 105 หุงสุก จากการตรวจสอบโดย GC-FID (ภาพบน) และ GC-O (ภาพล่าง) ลำดับตัวเลขของสารให้กลิ่นสอดคล้องกับตารางที่ 1

จำนวน 23 และ 22 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3 สาร 2AT ไม่ถูกตรวจพบในตัวอย่างข้าวหอม Basmati และข้าว Jasmati

จากตารางที่ 4 สารระเหยที่ให้กลิ่นที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างข้าวทั้งสามชนิด มีรวมทั้งหมด 36 ชนิด ที่มีบทบาทในการส่งเสริมกลิ่นของข้าว นอกเหนือจากสาร 2AP ซึ่งสามารถพิสูจน์ (identify) ได้ 31 ชนิด และถูกแบ่งเป็นกลุ่มสารเคมี (chemical classes) ได้ 6 กลุ่ม ได้แก่ aldehydes, alcohols, sulfurs, ketones, esters, nitrogens ซึ่งมีจำนวน 13 6 5 4 2 และ 1 ชนิดตามลำดับ จะเห็นได้ว่า สารระเหยกลุ่ม aldehydes มีความสำคัญต่อกลิ่นของข้าวหุงสุกมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ในจำนวนสารระเหยให้กลิ่นนี้มีอยู่ 11 ชนิดที่พบได้ในข้าวทั้งสามชนิด ได้แก่ hexanal, octanal, 1-octen-3-on, 2-acetyl-1-pyrroline, (E)-2-octenal, methional, decanal, (E)-2-nonenal, (E,E) 2,4-nonadienal, (E,E) 2,4-decadienal และ β -damascenone และมีความเข้มของกลิ่น (odor intensity) แตกต่างกันไป จากรูปที่ 10 -12 แสดงการเปรียบเทียบกลุ่มของสารระเหยที่มีบทบาทต่อกลิ่นของข้าวหอมทั้งสามชนิด ได้แก่ ข้าวหอมมะลิ ข้าวหอม Basmati และข้าวหอม Jasmati พบว่า กลุ่ม aldehyde มีความสำคัญต่อกลิ่นของข้าวหอมทั้งสามชนิด มากถึง 48-52% (เปอร์เซ็นต์ของจำนวนสารระเหยทั้งหมด) ส่วนสารระเหยกลุ่มอื่นๆ จะมีความแตกต่างกันไปในข้าวแต่ละชนิดซึ่งเป็นการแสดงถึงความแตกต่าง

ของข้าวหอมทั้งสามชนิดได้ สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ คือ aldehydes (48%) รองลงมาได้แก่ alcohols (24%) ketones (9%) และ sulfurs (9%) สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอม Basmati คือ aldehydes (52%) รองลงมาได้แก่ ketones (19%) และ sulfurs (14%) สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอม Jasmati คือ aldehydes (50%) รองลงมาได้แก่ sulfurs (20%) และ ketones (15%)

จากตารางที่ 5 สารระเหยแต่ละชนิดถูกจำแนกตามกลุ่มของกลิ่น (odor groups) ได้ 9 กลุ่ม ได้แก่ green, sweet fruity/floral, minty/citrusy, cooked/mushroom/musty, sweet/roasty/ nutty, fatty/metallic, spices, sulfury/meaty และ medicine จากค่ารวมความเข้มของกลิ่น (odor intensity) ของแต่ละกลุ่ม ทำให้ได้รูปแบบของกลิ่น (odor profile) ที่แสดงในรูปของ spider web diagrams ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน (รูปที่ 13-15) จะเห็นว่ากลุ่มของกลิ่นที่โดดเด่นที่เหมือนกันของข้าวหอมทั้งสามชนิดคือ กลุ่ม fatty/metallic ข้าวหอมมะลิไม่มีกลุ่มของ sulfury/meaty ขณะที่ข้าว Basmati และ Jasmati มีกลุ่มของกลิ่นดังกล่าว และข้าว Basmati มีกลิ่นของกลุ่ม sweet fruity/floral มากกว่าข้าว Jasmati



รูปที่ 7 โครมาโตแกรมของสารระเหยในข้าวหอมมะลิหุงสุก วิเคราะห์ด้วย GC-PFPD

A peak ของ 2 AT ในข้าวหอมมะลิหุงสุก ที่ RT เท่ากับ 12.5

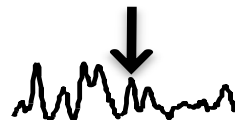
B peak ของ 2 AT ในข้าวหอมมะลิหุงสุกที่ถูกเติม (spiked) ด้วยสารมาตรฐาน 2AT

19.64

21.54

2-acetyl-2-thiazoline

23.77



20.16

20.73

19.58

20.58

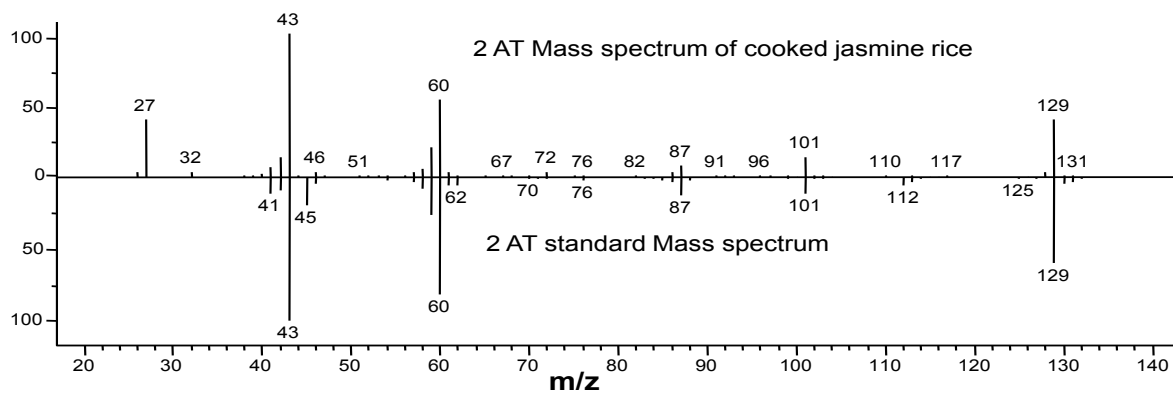
21.58

22.58

23.58

24.58

ime



รูปที่ 9 การเปรียบเทียบ mass spectrum ระหว่างสารมาตรฐาน 2AT (ภาพล่าง) และ 2AT ในข้าวหอมมะลิหุงสุก (ภาพบน)

ตารางที่ 2 สารให้กลิ่นในข้าวหอม Basmati หุงสุก

Peak no.	Identification	Odor Descriptor	LRI		Odor Intensity	confirmation
			DB-wax	DB5		
1	hexanal	green	1080	798	9.96	LRI, OD, MS
2	octanal	citrusy	1290	998	9.38	LRI, OD, MS
3	1-octen-3-one	mushroom	1306	980	7.05	LRI, OD, MS
4	2-methyl-3-furanthiol	meaty	1316	873	5.57	LRI, OD, PFPD
5	2-acetyl-1-pyrroline	cooked jasmine rice	1340	924	9.88	LRI, OD, MS
6	hexanol	green	1379	869	5.87	LRI, OD, MS
7	dimethyl trisulfide	sulfury cabbage-like	1385	978	10.00	LRI, OD, PFPD
8	nonanal	green, citrusy, soapy	1398	1106	3.53	LRI, OD, MS
9	(E)-2-octenal	fatty	1437	1062	7.31	LRI, OD, MS
10	methional	cooked potato	1455	912	9.98	LRI, OD, PFPD
11	decanal	fatty, metallic	1506	1202	3.44	LRI, OD, MS
12	(E)-2-nonenal	metallic	1540	1161	9.96	LRI, OD, MS
13	(E,Z)-2,6-nonadienal	soapy, fatty	1580	1157	5.10	LRI, OD
14	unknown	roasted nutty	1635		4.57	LRI, OD
15	(E)-2-decenal	green geranium	1659	1275	7.72	LRI, OD, MS
16	(E,E)-2,4 nonadienal	soapy, fatty	1714	1218	4.18	LRI, OD
17	dodecanal	minty, soapy	1734	1420	4.34	LRI, OD, MS
18	geranyl acetate	floral	1780	1382	7.04	LRI, OD
19	(E,E)-2,4-decadienal	fatty	1822	1317	5.45	LRI, OD
20	β -damascenone	sweet honey	1832	1395	4.64	LRI, OD
21	α -ionone	floral	1864	1458	8.11	LRI, OD
22	unknown	medicine	1867		4.60	LRI, OD
23	β -ionone	floral raspberry	1955	1496	6.23	LRI, OD

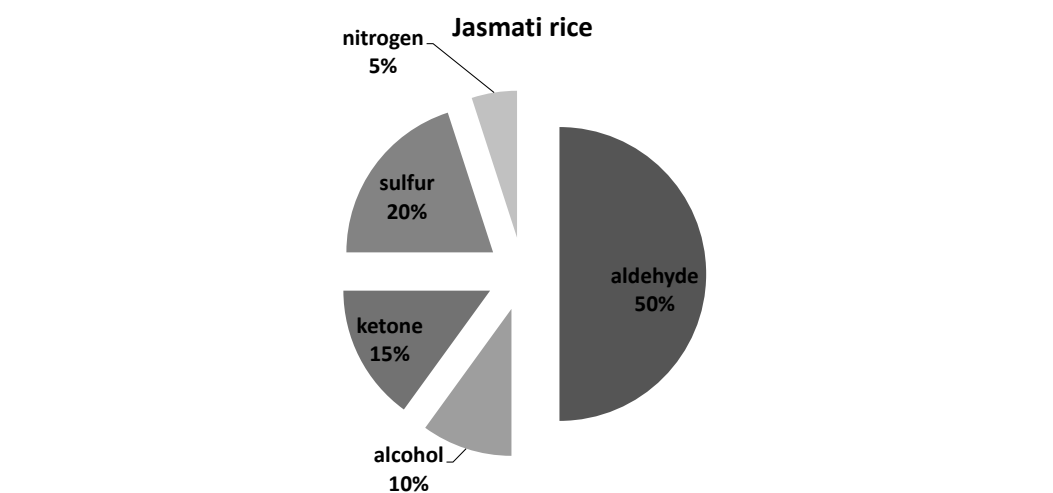
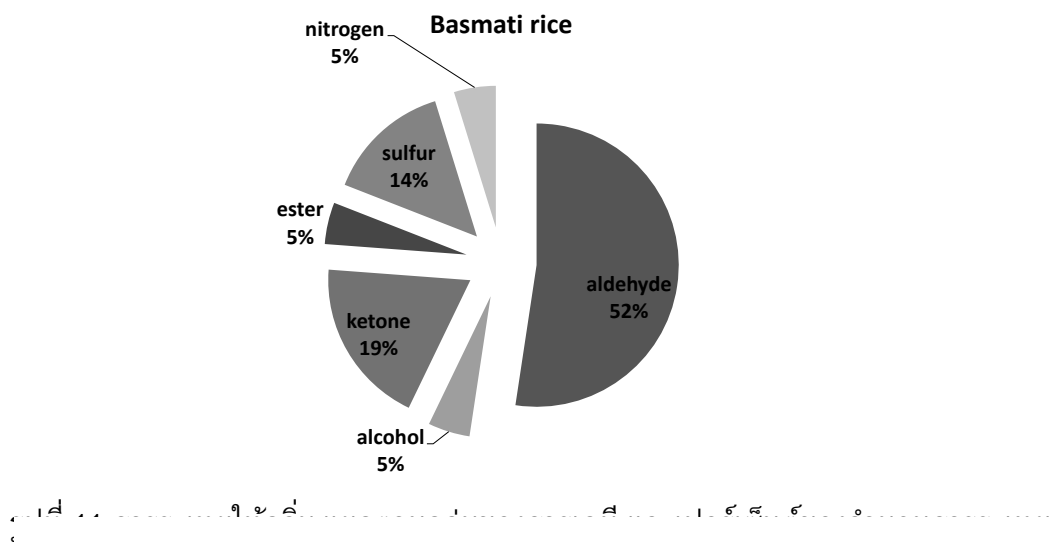
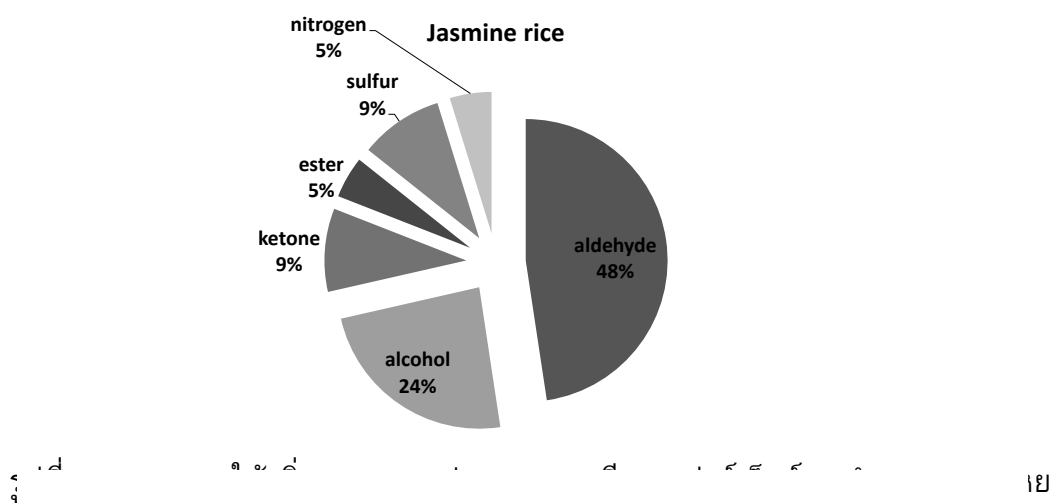
ตารางที่ 3 สารให้กลิ่นในข้าวหอม Jasmati หุงสุก

Peak no.	Identification	Odor Descriptor	LRI		Odor Intensity	confirmation
			DB-wax	DB-5		
1	dimethyl sulfide	cooked sulfury	760	690	2.15	LRI, OD, PFPD
2	hexanal	green	1087	798	9.85	LRI, OD, MS
3	octanal	citrusy	1294	997	9.98	LRI, OD, MS
4	1-octen-3-one	mushroom	1306	980	7.51	LRI, OD, MS
5	2-methyl-3-furanthiol	meaty	1317	873	4.40	LRI, OD, PFPD
6	2-acetyl-1-pyrroline	cooked jasmine rice	1343	924	9.50	LRI, OD, MS
7	hexanol	green	1379	869	5.53	LRI, OD, MS
8	dimethyl trisulfide	sulfury cabbage-like	1386	978	9.82	LRI, OD, PFPD
9	nonanal	green, citrusy, soapy	1398	1106	3.57	LRI, OD, MS
10	(E)-2-octenal	fatty	1436	1063	3.07	LRI, OD, MS
11	unknown	musty	1439		2.95	LRI, OD
12	methional	cooked potato	1458	912	8.82	LRI, OD, PFPD
13	decanal	fatty, metallic	1512	1202	4.47	LRI, OD, MS
14	(E)-2-Nonenal	metallic	1542	1161	10.00	LRI, OD, MS
15	1-octanol	fatty, metallic	1575	1062	3.75	LRI, OD, MS
16	(E)-2-decenal	green, geranium	1660	1275	4.54	LRI, OD, MS
17	(E,E)-2,4 nonadienal	soapy, fatty	1712	1218	4.30	LRI, OD
18	dodecanal	minty, soapy	1730	1420	4.52	LRI, OD, MS
19	(E,E)-2,4-decadienal	fatty	1822	1318	3.69	LRI, OD
20	β -damascenone	sweet honey	1832	1395	5.44	LRI, OD
21	unknown	medicine	1866		4.65	LRI, OD
22	β -ionone	floral raspberry	1954	1496	3.06	LRI, OD

ตารางที่ 4 สารให้กลิ่นในข้าวหุงสุก หอมมะลิ 105 Basmati และ Jasmati

จำแนกตามกลุ่มสารเคมี (chemical classes)

Compounds		LRI		Odor intensity			Chemical Classes
		DB-wax	DB-5	Jasmine	Basmati	Jasmati	
1	dimethyl sulfide	760	690			2.15	sulfur
2	hexanal	1073	798	6.8	9.96	9.85	aldehyde
3	unknown	1221	ND	2.6			
4	ethyl hexanoate	1252	998	3.9			ester
5	octanal	1286	999	7.7	9.38	9.98	aldehyde
6	1-octen-3-one	1300	980	6.7	7.05	7.51	ketone
7	2-methyl-3-furanthiol	1317	873		5.57	4.40	sulfur
8	2-acetyl-1-pyrroline	1338	924	10.0	9.88	9.50	nitrogen
9	hexanol	1379	869		5.87	5.53	alcohol
10	dimethyl trisulfide	1385	978		10.00	9.82	sulfur
11	nonanal	1398	1106		3.53	3.57	aldehyde
12	(E)-2-octenal	1430	1062	2.9	7.31	3.07	aldehyde
13	unknown	1439	ND			2.95	
14	methional	1451	912	9.7	9.98	8.82	sulfur
15	1-octen-3-ol	1464	980	4.4			alcohol
16	unknown	1495	ND	3.2			
17	decanal	1500	1202	3.7	3.44	4.47	aldehyde
18	(Z)-2-nonenal	1504	1149	4.6			aldehyde
19	(E)-2-nonenal	1533	1161	10.0	9.96	10.00	aldehyde
20	linalool	1545	1100	2.9			alcohol
21	1-octanol	1567	1062	3.7		3.75	alcohol
22	(E,Z)-2,6-nonadienal	1576	1157	3.4	5.10		aldehyde
23	unknown	1635	ND		4.57		
24	(E)-2-decenal	1660	1275		7.72	4.54	aldehyde
25	(E,E)-2,4 nonadienal	1700	1218	5.4	4.18	4.30	aldehyde
26	neral	1715	1245	4.7			aldehyde
27	dodecanal	1734	1420		4.34	4.52	aldehyde
28	2-acetyl-2-thiazoline	1756	1109	2.3			sulfur
29	geranyl acetate	1780	1382		7.04		ester
30	(E,E)-2,4-decadienal	1808	1318	5.3	5.45	3.69	aldehyde
31	β -damascenone	1838	1395	4.9	4.64	5.44	ketone
32	α -ionone	1864	1458		8.11		ketone
33	unknown	1867	ND		4.60	4.65	
34	2-phenylethanol	1913	1106	2.4			alcohol
35	β -ionone	1955	1496		6.23	3.06	ketone
36	4-vinyl guaiacol	2187	1327	4.7			alcohol

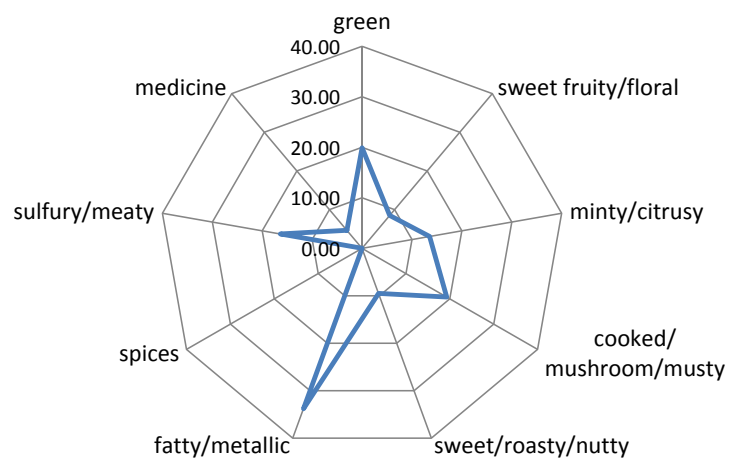
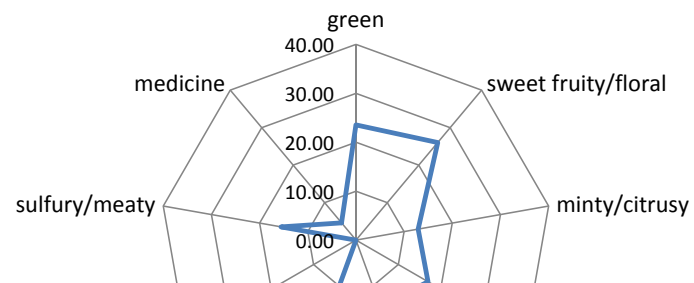
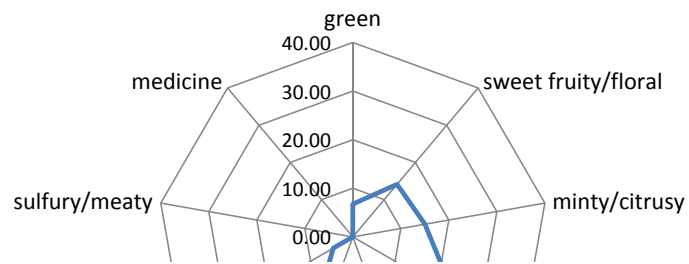


รูปที่ 12 สารระเหยให้กลิ่น แยกตามกลุ่มของสารเคมี และเปอร์เซ็นต์ของจำนวนสารระเหยทั้งหมด ที่มีบทบาท (contribution) ต่อกลิ่นในข้าวหอม Jasmati หุงสุก

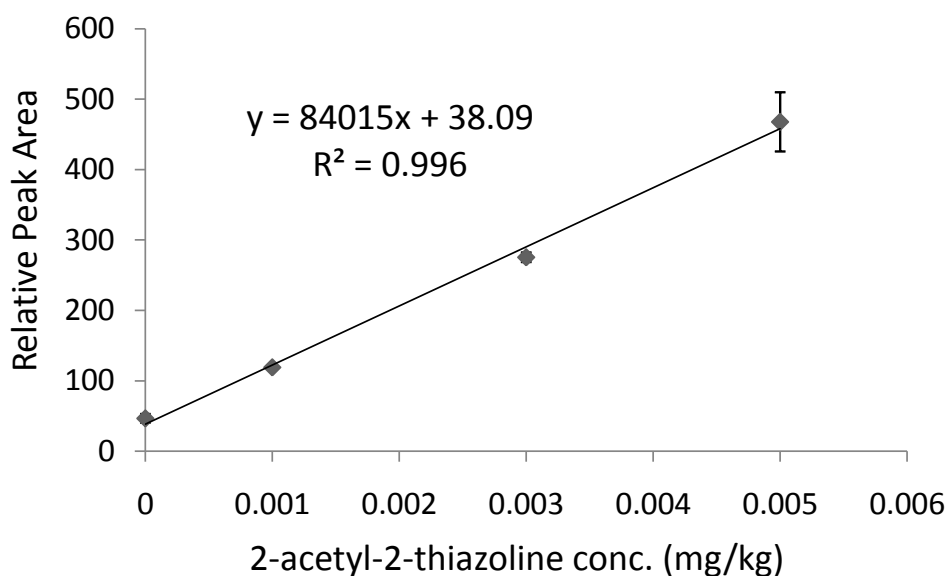
ตารางที่ 5 สารให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ 105 Basmati และ Jasmati

จำแนกตามกลุ่มของกลิ่น (odor groups)

	Compounds	Odor description	Odor intensity			Odor group
			Jasmine	Basmati	Jasmati	
1	dimethyl sulfide	cooked sulfury			2.15	sulfury/meaty
2	hexanal	green	6.8	9.96	9.85	green
3	unknown	minty	2.6			minty/citrusy
4	ethyl hexanoate	sweet fruity	3.9			sweet fruity/floral
5	octanal	citrusy	7.7	9.38	9.98	minty/citrusy
6	1-octen-3-one	mushroom	6.7	7.05	7.51	cooked/ mushroom/musty
7	2-methyl-3-furanthiol	meaty		5.57	4.40	sulfury/meaty
8	2-acetyl-1-pyrroline	cooked jasmine rice	10.0	9.88	9.50	sweet/roasty/nutty
9	hexanol	green		5.87	5.53	green
10	dimethyl trisulfide	sulfury cabbage-like		10.00	9.82	sulfury/meaty
11	nonanal	green, citrusy, soapy		3.53	3.57	minty/citrusy
12	(E)-2-octenal	fatty	2.9	7.31	3.07	fatty/metallic
13	unknown	musty			2.95	cooked/ mushroom/musty
14	methional	cooked potato	9.7	9.98	8.82	cooked/ mushroom/musty
15	1-octen-3-ol	mushroom	4.4			cooked/ mushroom/musty
16	unknown	musty, moldy	3.2			cooked/ mushroom/musty
17	decanal	fatty metallic	3.7	3.44	4.47	fatty/metallic
18	(Z)-2-nonenal	metallic	4.6			fatty/metallic
19	(E)-2-nonenal	metallic	10.0	9.96	10.00	fatty/metallic
20	linalool	sweet, floral	2.9			sweet fruity/floral
21	1-octanol	fatty, metallic	3.7		3.75	fatty/metallic
22	(E,Z)-2,6-nonadienal	soapy, fatty	3.4	5.10		fatty/metallic
23	unknown	roasted nutty		4.57		sweet/roasty/nutty
24	(E)-2-decenal	green geranium		7.72	4.54	green
25	(E,E)-2,4 nonadienal	soapy, fatty	5.4	4.18	4.30	fatty/metallic
26	neral	minty, citrusy	4.7			minty/citrusy
27	dodecanal	minty, soapy		4.34	4.52	fatty/metallic
28	2-acetyl-2-thiazoline	cooked jasmine rice	2.3			sweet/roasty/nutty
29	geranyl acetate	floral		7.04		sweet fruity/floral
30	(E,E)-2,4-decadienal	fatty	5.3	5.45	3.69	fatty/metallic
31	β -damascenone	sweet honey	4.9	4.64	5.44	sweet fruity/floral
32	α -ionone	floral		8.11		sweet fruity/floral
33	unknown	medicine		4.60	4.65	medicine
34	2-phenylethanol	sweet floral	2.4			sweet fruity/floral
35	β -ionone	floral raspberry		6.23	3.06	sweet fruity/floral
36	4-vinyl guaiacol	clove-like	4.7			spices



รูปที่ 15 รูปแบบกลิ่น (odor profile) ของข้าวหอม Jasmati



รูปที่ 16 ความสัมพันธ์ของ relative peak area กับความเข้มข้นของ standard addition 2 AT ในข้าวหอมมะลิหุงสุกที่ความเข้มข้น 0.001 - 0.005 mg/kg วิเคราะห์โดย GC-MS SIM mode ที่ m/z 129 และ 60

3.4 การประเมินผลทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นของข้าวขาวที่เติมด้วยสาร 2AT

จากการทดลองเปรียบเทียบความแตกต่างตัวอย่างข้าวขาวที่เติมสารมาตรฐาน 2AT ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 0.6 0.9 และ 1.2 mg/kg กับตัวอย่างข้าวหอมมะลิ พบว่าผู้ชิมไม่สามารถแยกความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของกลิ่นข้าวหอมมะลิที่เตรียมจากการเติมสารมาตรฐาน 2AT ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.6 และ 0.9 mg/kg เมื่อเปรียบเทียบกับกลิ่นข้าวหอมมะลิที่เป็นตัวอย่างควบคุม แต่ขณะเดียวกันก็พบความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.4 และ 1.2 mg/kg ได้อย่างชัดเจน

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกชนิด SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุก

การสกัดและการวิเคราะห์กลิ่นของข้าวหุงสุกด้วยวิธี headspace analysis จะได้กลิ่นที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด (most representative) เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการรับกลิ่นของผู้บริโภคผ่านทางจมูก (orthonasal) ขณะที่บริโภคข้าว ดังนั้นในการศึกษาสารระเหยให้กลิ่นในข้าวได้เลือกวิธีการสกัดกลิ่นโดยเทคนิค headspace SPME ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันในการวิเคราะห์สารระเหยในข้าว (12) (13) (19) (20) (21) เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่มีการใช้ตัวทำละลาย (organic solvent) สามารถทำการสกัดสารระเหย และเพิ่มความเข้มข้นได้ในขณะเดียวกัน และพร้อมที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ด้วยวิธีนี้สารระเหยที่ถูกแยกออกจาก GC จะไม่ถูกรบกวนด้วย solvent peak จึงไม่มีผลต่อสารระเหยให้กลิ่นชนิดที่มีจุดเดือดต่ำ ทำให้การวิเคราะห์กลิ่นเป็นไปได้อย่างสมบูรณ์ การคัดเลือกชนิดของ SPME fibers และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเป็นปัจจัยที่สำคัญของการใช้วิธีนี้ จากผลการศึกษานิตของ SPME fibers ที่เหมาะสมคือ DVB/CAR/PDMS และสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารระเหยจากข้าวหุงสุกโดยเทคนิค headspace SPME ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม 30 °C เวลาที่ใช้ในการบ่ม 15 นาที และเวลาที่ใช้ในการสกัด 30 นาที Grimm et al. 2001 (12) ได้ทำการศึกษาการสกัดสารให้กลิ่นในข้าวด้วยเทคนิค headspace SPME โดยใช้ SPME fiber ชนิด DVB/CAR/PDMS และสภาวะในการสกัดได้แก่อุณหภูมิในการบ่ม เวลาการบ่ม และเวลาที่ใช้สกัดเท่ากับ 80°C 25 นาที และ 15 นาที ตามลำดับ โดยคำนึงถึงการสกัดสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ให้ได้มากที่สุด แต่ในการศึกษาดังนี้เน้นภาพรวมของการสกัดให้ได้ทั้งจำนวน (peak numbers) และปริมาณ (peak area) ของสารระเหยของข้าวหุงสุก SPME fibers ที่ใช้ในการศึกษาดังนี้ มีทั้งที่เป็น polar (CAR/DVB) non-polar (PDMS) และ bi-polar (PDMS/DVB, CAR/PDMS และ DVB/CAR/PDMS) ชนิด bi-polar สามารถสกัดสารระเหยในข้าวได้ดีกว่าพวก polar และ non-polar fiber และพบว่า bipolar fibers ที่เป็นชนิดสามเฟส (DVB/CAR/DPMS) สามารถสกัดสารระเหยจากข้าวได้ดีกว่าพวกสองเฟส (PDMS/DVB และ CAR/PDMS) ซึ่งครอบคลุมการสกัดสารระเหยที่มีจุดเดือดต่ำถึงสูงปานกลาง ในการศึกษาการสกัดสารระเหยที่ให้กลิ่น สิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างอาหารนั้นจะต้องเป็นตัวแทนที่ดี ของกลิ่นอาหารที่ถูกสกัดชนิดนั้นๆ (representative) ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC กลิ่นข้าวหอมที่สกัดได้ในครั้งนี้ถูกยืนยันถึงการสกัดที่เป็นตัวแทนที่ดีของกลิ่นข้าวหอมจากการใช้ fused silica column แทนการใช้ analytical column และถูกประเมินกลิ่นที่ sniffing port เพื่อยืนยันว่า SPME fibers ชนิด DVB/CAR/PDMS อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม 30°C เวลาที่ใช้ในการบ่ม 15

นาที่ และเวลาที่ใช้ในการสกัด 30 นาที เหมาะสมและถูกต้อง วิธีการนี้ใช้ได้ดีและได้มีรายงานมาแล้วจากการศึกษาของ Rega et al. 2003 (18) ที่ใช้ SPME ในการสกัดสารระเหยให้กลิ่นในน้ำส้ม

4.2 การสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยจากข้าวหุงสุก

จากการศึกษาการสกัดและการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นจากข้าวหุงสุกสายพันธุ์ ข้าวหอมมะลิ 105 ข้าว Basmati (ข้าวหอมจากอินเดีย) และข้าว Jasmati (ข้าวหอมจากอเมริกา) ด้วยเทคนิค HS-SPME, GC-FID, GC-O, GC-PFPD และ GC-MS พบว่าสารระเหยที่ให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ 105 Basmati และ Jasmati มีจำนวนใกล้เคียงกันคือ 23 23 และ 22 ตามลำดับ โดยพบว่าสารที่ให้กลิ่นหอมที่แสดงถึงเอกลักษณ์ (character impact compound) ของข้าวหอมทั้งสามชนิดคือ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ซึ่งเคยถูกรายงานมาก่อนว่าเป็นสารให้กลิ่นหอมสำคัญของข้าวหอม (5) และมีค่า aroma threshold ในน้ำเท่ากับ 0.1 ppb (6) สำหรับข้าวหอมมะลิ 105 พบว่ามีอีกหนึ่งสารที่ให้กลิ่น “cooked jasmine rice” เช่นเดียวกับ 2AP คือ 2-acetyl-2-thiazoline (2AT) ซึ่งยังไม่เคยถูกรายงานมาก่อนว่าเป็นสารให้กลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ของข้าวหอม 2AT เป็นสารให้กลิ่นหอมที่ตรวจพบในข้าวหอมมะลิไทย แต่ไม่พบในข้าวหอมจากอินเดีย Basmati และข้าวหอมจากอเมริกา Jasmati สาร 2AT ถูกรายงานเป็นครั้งแรกที่พบในข้าวหอมมะลิจากการศึกษาครั้งนี้ ก่อนหน้านั้นสาร 2AT ถูกรายงานว่าพบในผลิตภัณฑ์เนื้อ (processed meat products) ที่ให้กลิ่น “roasty, popcorn like odor” เช่น ชุปไก่ (22) ชุปเนื้อ (23) เนื้อย่าง (24) และ งาคั่ว (25)

สารให้กลิ่นที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างข้าวทั้งสามชนิด (ตารางที่ 4) มีรวมทั้งหมด 36 ชนิดที่มีบทบาทในการส่งเสริมกลิ่นของข้าวนอกเหนือจากสาร 2AP ซึ่งสามารถพิสูจน์ (identify) ได้ 31 ชนิด และถูกแบ่งเป็นกลุ่มสารเคมี (chemical classes) ได้ 6 กลุ่ม ได้แก่ aldehydes, alcohols, sulfurs, ketones, esters, nitrogens ซึ่งมีจำนวน 13 6 5 4 2 และ 1 ชนิดตามลำดับ โดยสารเคมีกลุ่ม aldehydes มีบทบาทต่อกลิ่นข้าวมากที่สุด ในจำนวนสารระเหยให้กลิ่นนี้มีอยู่ 11 ชนิดที่พบได้ในข้าวทั้งสามชนิด ได้แก่ hexanal, octanal, 1-octen-3-on, 2-acetyl-1-pyrroline, (E)-2-octenal, methional, decanal, (E)-2-nonenal, (E,E) 2,4-nonadienal, (E,E) 2,4-decadienal และ β -damascenone และมีความเข้มของกลิ่น (odor intensity) แตกต่างกันไป สารระเหยที่มีความสำคัญต่อกลิ่นข้าวตัวอื่นนอกจาก 2AP ที่มีการรายงานมาก่อนหน้านี้ด้วยเทคนิค odor units (concentration/odor threshold) (6) หรือการใช้เทคนิค Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O) และ Aroma Extract Dilution Analyses (AEDA) เพื่อหาค่า dilution factor (FD) (14) ได้แก่ (E,E)-2,4-decadienal, nonanal, hexanal, (E)-2-nonenal, octanal, decanal, 4-vinylguaiacol และ 4-vinylphenol (6), bis-(2-methyl-3-furyl)-disulfide, และ 2-amino acetophenone (14)

จากรูปที่ 10-12 แสดงการเปรียบเทียบกลุ่มของสารระเหยที่มีบทบาทต่อกลิ่นของข้าวหอมทั้งสามชนิด ได้แก่ ข้าวหอมมะลิ ข้าวหอม Basmati และข้าวหอม Jasmati พบว่า กลุ่ม aldehydes มีความสำคัญต่อกลิ่นของข้าวหอมทั้งสามชนิด มากถึง 48-52% (ของจำนวนสารระเหยทั้งหมด) ส่วนสารระเหยกลุ่มอื่นๆ จะมีความแตกต่างกันไปในข้าวแต่ละชนิดซึ่งเป็นการแสดงถึงความแตกต่าง(differentiate) ของข้าวหอมทั้งสามชนิดได้โดยที่สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอมมะลิ คือ aldehydes (48%) รองลงมาได้แก่ alcohols (24%) ketones (9%) และ sulfurs (9%) สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอม Basmati คือ aldehydes (52%) รองลงมาได้แก่ ketones (19%) และ sulfurs (14%) สารระเหยหลักที่ให้กลิ่นในข้าวหอม Jasmati คือ aldehydes (50%) รองลงมาได้แก่ sulfurs (20%) และ ketones (15%) สารระเหยซัลเฟอร์ที่พบเฉพาะในข้าว Basmati และ Jasmati ได้แก่ dimethyl trisulfide (cabbage like odor) และ 2-methyl-3-furanthiol (meaty odor) แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างจากข้าวหอมมะลิอย่างชัดเจน

จากตารางที่ 5 สารระเหยแต่ละชนิดถูกจำแนกตามกลุ่มของกลิ่น (odor groups) ได้ 9 กลุ่ม ได้แก่ green, sweet fruity/floral, minty/citrusy, cooked/mushroom/musty, sweet/roasty/nutty, fatty/metallic, spices, sulfury/meaty และ medicine จากค่ารวมความเข้มข้นของกลิ่น (odor intensity) ของแต่ละกลุ่ม ทำให้ได้รูปแบบของกลิ่น (odor profile) ที่แสดงในรูปแบบของ spider web diagrams ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 13-15 จะเห็นว่ากลุ่มของกลิ่นที่โดดเด่นที่เหมือนกันของข้าวหอมทั้งสามชนิดคือ กลุ่ม fatty/metallic ข้าวหอมมะลิไม่มีกลุ่มของ sulfury/meaty ขณะที่ข้าว Basmati และ Jasmati มีกลุ่มของกลิ่นดังกล่าว และข้าว Basmati มีกลิ่นของกลุ่ม sweet fruity/floral มากกว่าข้าว Jasmati จากรูปแบบดังกล่าวทำให้สามารถบอกความแตกต่างของกลิ่นของข้าวทั้งสามชนิดได้อย่างชัดเจน

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยจากข้าวหุงสุก

การวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยจากข้าวหุงสุก โดยวิธี headspace standard addition SPME โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Boa et al. 1999 (16) เพื่อเป็นการลดปัญหาของ matrix effect ที่จะมีผลต่อวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยเทคนิค Headspace SPME การวิเคราะห์ปริมาณสาร 2-acetyl-2-thiazoline (2AT) ในข้าวหอมมะลิใช้วิธี headspace standard addition SPME ควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS SIM mode ที่ m/z 129 และ 60 เพื่อเป็นการเพิ่ม sensitivity และ selectivity ของเครื่องในการวิเคราะห์สาร 2AT การเตรียมตัวอย่างข้าวที่มีการเติมสารมาตรฐาน 2AT ในปริมาณต่างๆ เพื่อใช้ในการสร้าง regression equation ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 2AT (ค่า X) กับพื้นที่ใต้กราฟ (peak area, ค่า Y) ดังนั้นความเข้มข้นของสาร 2AT ที่มีอยู่ในตัวอย่างข้าวจะถูกประเมินโดยการแก้ไขสมการสำหรับค่า X เมื่อค่า Y เท่ากับศูนย์ (17) ดังนั้นปริมาณของสาร 2AT ที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.45 µg/kg สาร 2AT เป็นสารระเหยประเภทสารประกอบซัลเฟอร์ที่มีค่า odor threshold ต่ำ (0.2-0.8 ng/L in

air) (26) จึงนับว่าเป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นในข้าว มีงานวิจัยมากมายที่เน้นเทคนิคการหาปริมาณ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ในข้าวหอม (7-9) และผลของอายุการเก็บรักษาข้าวต่อปริมาณสาร 2AP (10, 11) การวิเคราะห์มีทั้งเทคนิคการใช้ตัวทำละลายในการสกัด (9, 10) หรือการใช้เทคนิค headspace SPME (12, 13) มีรายงานปริมาณสาร 2AP ในข้าวหอมมะลิและพันธุ์ข้าวหอมชนิดอื่นๆ อยู่ในช่วง 0.04 – 0.34 ppm (1, 8, 9) การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่ตรวจพบฟิสจันและวิเคราะห์ปริมาณของสาร 2AT ที่เป็นเอกลักษณ์ของกลิ่นข้าวหอมมะลิหุงสุกตัวใหม่

4.4 การประเมินผลทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นของข้าวขาวที่เติมด้วยสาร 2AT

สาร 2AT ที่ตรวจพบในข้าวหอมมะลิ 105 เป็นสารที่ให้กลิ่น “cooked jasmine rice” เช่นเดียวกับสาร 2AP และเป็นสารให้ความหอมตัวใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน เพื่อการพิสูจน์ความหอมของสาร 2AT ที่มีบทบาทต่อความหอมของข้าว จึงทำการทดลองเติมสาร 2AT ลงในข้าวขาวสายพันธุ์ชัยนาท เพื่อปรับปรุงให้ข้าวขาวมีกลิ่นหอมเหมือนข้าวหอมมะลิ จากการทดลองเปรียบเทียบความแตกต่างตัวอย่างข้าวขาวที่เติมสาร 2AT ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 0.6 0.9 และ 1.2 mg/kg กับตัวอย่างข้าวหอมมะลิ พบว่าผู้ชิมไม่สามารถแยกความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของกลิ่นข้าวหอมมะลิที่เตรียมจาก 2AT ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.6 และ 0.9 mg/kg เมื่อเปรียบเทียบกับกลิ่นข้าวหอมมะลิที่เป็นตัวอย่างควบคุมจะสามารถระบุถึงกลิ่นข้าวหอมมะลิที่เหมือนกัน แต่ขณะเดียวกันก็พบความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.4 และ 1.2 mg/kg ได้อย่างชัดเจน จึงนับว่าการปรับปรุงกลิ่นข้าวขาวให้มีกลิ่นหอมเหมือนข้าวหอมมะลิทำได้เมื่อมีการเติมสาร 2AT ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 0.6 ถึง 0.9 mg/kg

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

1. จากวิธีการวิจัยและผลการวิจัยครั้งนี้ทำให้สามารถบอกถึงความแตกต่างของข้าวหอมทั้งสามชนิดได้อย่างชัดเจน ดังนั้นควรมีการวิจัยต่อเนื่องโดยศึกษาความเป็นเอกลักษณ์ของความหอมของข้าวไทยชนิดต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถชี้ให้เห็นความแตกต่างในด้านกลิ่นของข้าวหอมที่มาจากต่างสายพันธุ์หรือต่างแหล่งเพาะปลูก ทั้งนี้ควรมีการศึกษาทั้งทางด้านประสาทสัมผัสของมนุษย์และทางเครื่องมือวิเคราะห์ (human assessment และ instrument assessment) เพื่อนำมาเปรียบเทียบและส่งเสริมผลงานวิจัยที่ได้

2. เนื่องจากกลิ่นของสาร 2AP และ 2AT เหมือนกัน และสาร 2AT นั้นหาซื้อได้จากบริษัทขายสารให้กลิ่นรส ขณะที่ 2AP ยังต้องมีการสังเคราะห์ขึ้นตามห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการใช้สาร 2AT เพื่อการปรับปรุงกลิ่น เพิ่มกลิ่นในข้าวพันธุ์ไม่หอม หรือในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของข้าว เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์ โดยที่สาร 2AT นั้นมีค่า odor threshold ต่ำ ปริมาณการใช้น้อย ทำให้ต้นทุนการใช้อาจจะคุ้มค่าต่อมูลค่าผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้น

บรรณานุกรม

1. Buttery, R. G.; Ling, L. C.; Juliano, B. O.; Turnbaugh, J. G., Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. *J. Agric. Food. Chem.* **1983**, *31*, 823-6.
2. Maga, J. A., Rice product volatiles: a review. *J. Agric. Food. Chem.* **1984**, *32*, 964-70.
3. Paule, C. M.; Powers, J. J., Sensory and chemical examination of aromatic and nonaromatic rices. *J. Food Sci.* **1989**, *54*, 343-6.
4. Tanchotikul, U.; Hsieh, T. C. Y., An improved method for quantification of 2-acetyl-1-pyrroline, a \"popcorn\"-like aroma, in aromatic rice by high-resolution gas chromatography/mass spectrometry/selected ion monitoring. *J. Agric. Food. Chem.* **1991**, *39*, 944-7.
5. Buttery, R. G.; Ling, L. C.; Juliano, B., 2-Acetyl-1-pyrroline: an important aroma component of cooked rice. *Chemistry & Industry (London, United Kingdom)* **1982**, 958-9.
6. Buttery, R. G.; Turnbaugh, J. G.; Ling, L. C., Contribution of volatiles to rice aroma. *J. Agric. Food. Chem.* **1988**, *36*, 1006-9.
7. Bergman, C. J.; Delgado, J. T.; Bryant, R.; Grimm, C.; Cadwallader, K. R.; Webb, B. D., Rapid gas chromatographic technique for quantifying 2-acetyl-1-pyrroline and hexanal in rice (*Oryza sativa*, L.). *Cereal Chem.* **2000**, *77*, 454-458.
8. Mahatheeranont, S.; Keawsa-ard, S.; Dumri, K., Quantification of the Rice Aroma Compound, 2-Acetyl-1-pyrroline, in Uncooked Khao Dawk Mali 105 Brown Rice. *J. Agric. Food. Chem.* **2001**, *49*, 773-779.
9. Yoshihashi, T., Quantitative analysis on 2-acetyl-1-pyrroline of an aromatic rice by stable isotope dilution method and model studies on its formation during cooking. *J. Food Sci.* **2002**, *67*, 619-622.
10. Wongpornchai, S.; Dumri, K.; Jongkaewwattana, S.; Siri, B., Effects of drying methods and storage time on the aroma and milling quality of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Khao Dawk Mali 105. *Food Chem.* **2004**, *87*, 407-414.
11. Yoshihashi, T.; Huong, N. T. T.; Surojanametakul, V.; Tungtrakul, P.; Varayanond, W., Effect of storage conditions on 2-acetyl-1-pyrroline content in aromatic rice variety, Khao Dawk Mali 105. *J. Food Sci.* **2005**, *70*, S34-S37.
12. Grimm, C. C.; Bergman, C.; Delgado, J. T.; Bryant, R., Screening for 2-Acetyl-1-pyrroline in the Headspace of Rice Using SPME/GC-MS. *J. Agric. Food. Chem.* **2001**, *49*, 245-249.
13. Laguerre, M.; Mestres, C.; Davrieux, F.; Ringuet, J.; Boulanger, R., Rapid Discrimination of Scented Rice by Solid-Phase Microextraction, Mass Spectrometry, and Multivariate Analysis Used as a Mass Sensor. *J. Agric. Food. Chem.* **2007**, *55*, 1077-1083.
14. Jezussek, M.; Juliano, B. O.; Schieberle, P., Comparison of Key Aroma Compounds in Cooked Brown Rice Varieties Based on Aroma Extract Dilution Analyses. *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, *50*, 1101-1105.
15. Mahattanatawee, K.; Ruiz Perez-Cacho, P.; Davenport, T.; Rouseff, R., Comparison of Three Lychee Cultivar Odor Profiles Using Gas Chromatography-Olfactometry and Gas Chromatography-Sulfur Detection. *J. Agric. Food. Chem.* **2007**, *55*, 1939-1944.

16. Bao, M.; Mascini, M.; Griffini, O.; Burrini, D.; Santianni, D.; Barbieri, K., Headspace solid-phase microextraction for the determination of trace levels of taste and odor compounds in water samples. *Analyst (Cambridge, United Kingdom)* **1999**, *124*, 459-466.
17. Harris, D. C., Quantitative Chemical Analysis. *W.H. Freeman and Co. New York* **1987**, 585-586.
18. Rega, B.; Fournier, N.; Guichard, E., Solid Phase Microextraction (SPME) of Orange Juice Flavor: Odor Representativeness by Direct Gas Chromatography Olfactometry (D-GC-O). *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7092-7099.
19. Ghiasvand, A. R.; Setkova, L.; Pawliszyn, J., Determination of flavor profile in Iranian fragrant rice samples using cold-fiber SPME-GC-TOF-MS. *Flavour Frag. J.* **2007**, *22*, 377-391.
20. Wakte, K. V.; Thengane, R. J.; Jawali, N.; Nadaf, A. B., Optimization of HS-SPME conditions for quantification of 2-acetyl-1-pyrroline and study of other volatiles in Pandanus amaryllifolius Roxb. *Food Chem.* *121*, 595-600.
21. Wongpornchai, S.; Sriseadka, T.; Choonvisase, S., Identification and Quantitation of the Rice Aroma Compound, 2-Acetyl-1-pyrroline, in Bread Flowers (*Vallaris glabra* Ktze). *J. Agric. Food. Chem.* **2003**, *51*, 457-462.
22. Gasser, U.; Grosch, W., Primary odorants of chicken broth. A comparative study with meat broths from cow and ox. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1990**, *190*, 3-8.
23. Christiaan H. Th. Tonsbeek; Harald Copier; Plancken, A. J., Components Contributing to Beef Flavor Isolation of 2-Acetyl-2-thiazoline from Beef Broth *J. Agric. Food Chem.* **1971**, *19*, 1014-1016.
24. Cerny, C.; Grosch, W., Quantification of character-impact odor compounds of roasted beef. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1993**, *196*, 417-22.
25. Schieberle, P., Studies on the flavor of roasted white sesame seeds. *Prog. Flavour Precursor Stud. Proc. Int. Conf.* **1993**, 343-60.
26. Hofmann, T.; Schieberle, P., Evaluation of the Key Odorants in a Thermally Treated Solution of Ribose and Cysteine by Aroma Extract Dilution Techniques. *J. Agric. Food. Chem.* **1995**, *43*, 2187-94.

ภาคผนวก ผลงานที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย

1. Proceedings ของการนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุม 12th Weurman Symposium, Interlaken, Switzerland, 2008

Kanjana Mahattanatawee and Russell L. Rouseff. 2-Acetyl-2-thiazoline, a new character impact volatile in Jasmine rice. Proceeding of The 12th International Weurman Flavour Research Symposium, Interlaken, Switzerland July 1 to 4, 2008, 475-478 p.

2. บทคัดย่อ ของการนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุม American Chemical Society (ACS) Fall 2009, Washington DC, USA, August 16-20, 2009

Kanjana Mahattanatawee and Russell L. Rouseff. Identification characterization and quantitation of a new aroma character compound in Thai Jasmine rice. Abstract of the Award Symposium: The Secret Life of Trace Volatiles. Division of Agricultural and Food Chemistry. The 238th National Meeting, Washington, DC, August 16-20, 2009.

Edited by
Imre Blank, Matthias Wüst, Chahan Yeretdzian

Expression of Multidisciplinary Flavour Science

Proceedings of the 12th Weurman Symposium
Interlaken, Switzerland, 2008



Institut of Chemistry and Biological Chemistry
Zürich University of Applied Sciences
Wädenswil, Switzerland

University of Applied Sciences
zhaw Life Sciences and
Facility Management
Institute of Chemistry and
Biological Chemistry

2-ACETYL-2-THIAZOLINE, A NEW CHARACTER IMPACT VOLATILE IN JASMINE RICE

K. MAHATTANATAWEE¹ and R. L. Rouseff²

¹ Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok 10163, Thailand

² University of Florida, IFAS, Citrus Research and Education Center, Lake Alfred, FL USA

Abstract

The fragrant Thai Jasmine rice or Khao Dawk Mali 105 (KDML) is one of the most popular fragrant rice cultivars. Thai jasmine rice volatiles were investigated using headspace SPME, GC-O, GC-PFPD (pulsed flame photometric detection) and GC-MS. Two GC-O peaks were described as cooked jasmine rice among the 23 aroma peaks observed. One of them was the previously reported 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP). The primary objective of this study was to identify the second character impact volatile. This second aroma peak was examined using GC-O, PFPD using both polar and non-polar GC columns. GC-O and PFPD retention characteristics from the rice matched that of authentic 2-acetyl-2-thiazoline (2-AT). The identification was confirmed using GC-MS by comparing both mass spectra and retention values of 2-AT standards and sample. This is the first time 2-AT has been identified as character impact volatile in cooked jasmine rice. However, the aroma intensity of 2-AT was always less than that of 2-AP.

Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) is a major dietary component of people in many countries. Fragrant rice cultivars are considered more desirable and of higher quality primarily due to their pleasing aroma compared to many cultivars with little aroma. There are at least three major scented cultivars, Basmati, Thai, and Azucena. 2-Acetyl-1-pyrroline (2-AP) was the first reported character impact volatile in fragrant rice (1). Thai Jasmine rice such as Khao Dawk Mali 105 (KDML) is one of the more popular fragrant rice cultivars because its pleasant aroma and soft texture after cooking. More than 155 volatile compounds have been reported in rice (2,3). 2-AP has been reported as the sole character impact volatile in fragrance rice (4). 2-AP is also responsible for the characteristic aroma of white bread, pandan (*Pandanus amaryllifolius*) leaves and bread flowers (*Vallais glabra*) (5). The purpose of this study was to determine if there were additional character impact volatiles in Jasmine rice.

Experimental

Headspace sampling. Static headspace solid phase micro extraction, HS SPME, was used to collect and concentrate rice volatiles. The cooked rice was prepared by adding 5 g of rice and 5 g of water into a 40 mL glass vial, loosely sealing with a Teflon-coated septum and cooked in rice cooker for 18 minutes. The cooked rice sample was equilibrated at 40°C for 15 min in a water bath and a 2 cm 50/30 µm

divinylbenzene/Carboxen/-polydimethylsiloxane (DVB/Carboxen/PDMS) Stable Flex fibre (Supelco, Bellefonte, PA) was exposed to the cooked rice volatiles for 30 min. The sorbed rice volatiles were introduced into the GC injector where they were thermally desorbed.

Gas Chromatography-FID/Olfactometry. Chromatography was performed using an Agilent 6890N GC (Agilent Technologies, USA) equipped with a sniffing port. Samples were run separately on DB-Wax and ZB-5 columns. Oven temperature was programmed from 40 to 240°C at 7°C/min. Helium was the carrier gas at flow rate of 2.0 mL/min. Injector and detector temperature were 220 °C and 275 °C, respectively. Injections were splitless. Two trained assessors evaluated each sample in duplicate on both ZB-5 and DB-Wax columns. Intensities of all odour-active compounds of each GC-O run were normalized and averaged.

Gas Chromatography-PFPD. Sulphur-compounds were detected using a Pulsed Flame Photometric Detector (PFPD) in the square root mode (Model 5380, OI Analytical Co., College Station, TX) coupled to a HP-5890 Series II GC. Separation was accomplished using two different capillary columns as described above. GC conditions were the same as in the GC-O studies. Identification of sulphur volatiles was confirmed by matching LRI values from authentic standards on both columns.

Gas Chromatography-Mass spectrum. Identities of odour-active compounds were confirmed using gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). Analyses were performed using a Perkin-Elmer Clarus 500 quadrupole mass spectrometer equipped with Turbo Mass software, v5.4, (Perkin-Elmer, Shelton, CT) and an RTX-5 capillary column (Restek; column length = 60 m, inner diameter = 0.25 mm, film thickness = 0.50 µm). Mass spectra matches were made by comparison of NIST 2005 v2.0 standard spectra (NIST, Gaithersburg, MD). Only those compounds with spectral fit values ≥ 800 were considered positive identifications. Authentic standards were used to confirm GC-MS identifications.

Results

There have been at least three studies in which rice volatiles were examined for aroma activity (68). Over 50 volatiles were reported to have aroma activity between these three studies. Interestingly, there were only seven volatiles which were common to all three studies and only nine volatiles which were common to at least two of the studies. Twenty three aroma active peaks were detected (Figure 1, Table 1) and 21 have been identified. Seven of these 21 had been previously identified by Buttery (6) and included 2-acetyl-1-pyrroline, (E,E)-2,4-decadienal, hexanal, (E)-2-nonenal, octanal, decanal and 4-vinylguaiacol. The other previously identified aroma volatiles are denoted by superscripts in Table 1. Two volatiles in Table 1 were described as "cooked jasmine rice". One was the previously reported 2-acetyl-1-pyrroline (1). The second character impact volatile was also observed by GC-PFPD (Figure 2). Retention characteristics matched that of authentic 2-acetyl-2-thiazoline (2-AT). The identification was conclusively confirmed using GC-MS and comparing the mass spectrum between 2-AT standard and sample.

As seen from the aroma intensity values in Table 1, the aroma intensity of 2-AT in cooked jasmine rice was only about ¼ as intense as the major character impact compound 2-AP. 2-AT was first identified in beef broth (9) and has been reported in other foods, but this is the first time 2-AT is reported in cooked jasmine rice.

Expression of Multidisciplinary Flavour Science

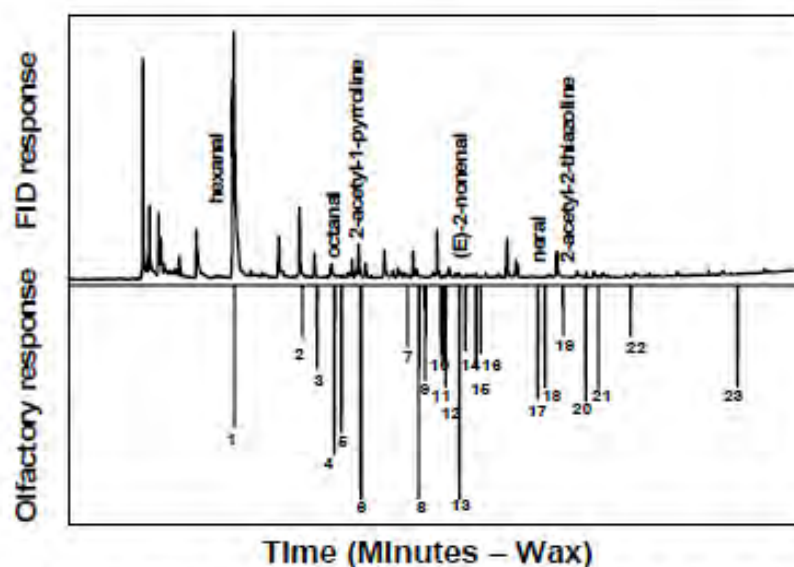


Figure 1. Aroma active volatiles in cooked jasmine rice detected by olfactometry (numbers in figure correspond to those in Table 1)

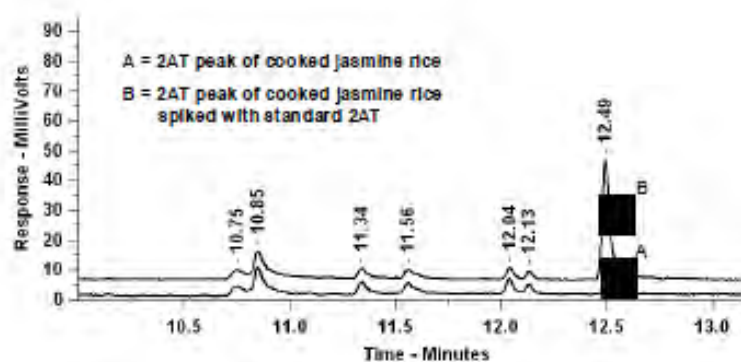


Figure 2. 2-AT detected in cooked jasmine rice volatiles by GC-PFPD (A) and rice sample spiked with standard 2-AT (B).

Table 1. Tentative identification of aroma active volatiles in cooked jasmine rice.

Peak no.	Identification	Descriptors	LRI-GC-O		Aroma intensity
			DBwax	DB5	
1	Hexanal ^{a,b,c}	green	1073	798	6.8
2	Unknown	minty	1221	ND	2.6
3	Ethyl hexanoate	sweet fruity	1252	ND	3.9
4	Octanal ^{a,b,c}	citrus-like	1286	999	7.7
5	1-Octen-3-one ^b	mushroom	1300	980	6.7
6	2-Acetyl-1-pyrroline ^{a,b,c}	cooked jasmine rice	1338	924	10.0
7	(E)-2-Octenal ^c	fatty	1430	1062	2.9
8	Methional ^b	cooked potato	1451	912	9.7
9	1-Octen-3-ol ^c	mushroom	1484	980	4.4
10	Unknown	musty, moldy	1495	ND	3.2
11	Decanal ^{a,b,c}	fatty metallic	1500	1202	3.7
12	(Z)-2-Nonenal ^b	metallic	1504	1149	4.6
13	(E)-2-Nonenal ^{a,b,c}	metallic	1533	1161	10.0
14	Linalool	sweet, floral	1545	1100	2.9
15	1-Octanol ^c	fatty, metallic	1567	1062	3.7
16	(E,Z)-2,6-Nonadienal ^b	soapy, fatty	1576	1157	3.4
17	(E,E)-2,4-Nonadienal ^b	soapy, fatty	1700	1218	5.4
18	Neral	minty, citrus-like	1715	1245	4.7
19	2-Acetyl-2-thiazoline	cooked jasmine rice	1756	1109	2.3
20	(E,E)-2,4-Decadienal ^{a,b,c}	fatty	1808	1318	5.3
21	β -Damascenone	sweet honey	1838	1395	4.9
22	2-Phenylethanol ^b	sweet floral	1913	1106	2.4
23	4-Vinyl guaiacol ^{a,b,c}	clove-like	2187	1327	4.7

a= reported by (6). b= reported by (7). c= reported by (8).

Acknowledgement

This study was supported in part by the Thailand Research Fund (TRF) Thailand, and the University of Florida, USA.

References

- Buttery R.G., Ling L.C., Juliano B. (1982) *Chem. Ind. (London)* 23: 958-959.
- Maga J.A. (1984) *J. Agric. Food Chem.* 32: 964-970.
- Tsugita T. (1986) *Food Rev. Inter.* 1: 497-520.
- Widjaja R., Craske J. D., Wootton M. (1996) *J. Sci. Food Agric.* 70: 151-161.
- Wongpormchai S., Sriseadka T., Choonvisase S. (2003) *J. Agric. Food Chem.* 51: 457-462.
- Buttery R.G., Turnbaugh J.G., Ling L. C. (1988) *J. Agric. Food Chem.* 36: 1006-1009.
- Jezussek M., Juliano B.O., Schieberle P. (2002) *J. Agric. Food Chem.* 50: 1101-1105.
- Yang D.S., Shewfelt R.L., Lee K.-S., Kays S.J. (2008) *J. Agric. Food Chem.* 56: 2780-2787.
- Tonsbeek C.H., Copier H., Plancken A.J. (1971) *J. Agric. Food Chem.* 19: 1014-1016.

การนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุม American Chemical Society (ACS) Fall 2009

Washington DC, USA, August 16-20, 2009

American Chemical Society



Fall 2009 National Meeting & Exposition August 16-20, 2009, Washington, DC, USA

Abstract

Identification characterization and quantitation of a new aroma character compound in Thai Jasmine rice

Kanjana Mahattanatawee, kanjana@siam.edu, Department of Food Technology, Siam University, 235 Petkasem Rd. Phasicharoen, Bangkok, 10163, Thailand and Russell L. Rouseff, rrouseff@ufl.edu, Citrus Research and Education Center, University of Florida, IFAS, 700 Experiment Station Rd., Lake Alfred, FL 33850.

More than 155 volatile compounds have been reported in rice but only 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) has been reported as a character impact volatile in fragrance rice. The volatiles of Thai jasmine rice were investigated using headspace SPME GC-O. Two aroma peaks were described as cooked jasmine rice. One of them, 2-AP, was previously reported. The second character impact volatile was identified using GC-PFPD (pulsed flame photometric detection). Retention characteristics and aroma description matched that of authentic 2-acetyl-2-thiazoline, 2-AT and confirmed by GC-MS using columns of different polarity. Concentrations of 2-AT in cooked jasmine rice were quantified using headspace standard addition SPME with selected ion GC-MS at m/z 129 and 60. Concentrations as high as 0.45 $\mu\text{g/kg}$ were observed. Sensory studies indicated that non-fragrant rice fortified with 2-AT at 0.6 – 0.9 mg/kg closely duplicated the aroma of freshly cooked jasmine rice. This is the first time 2-AT has been identified and quantified as character impact volatile in cooked jasmine rice.

[AgFd Division Award Symposium: The Secret Life of Trace Volatiles](#)

1:30 PM-4:45 PM, Sunday, August 16, 2009 Renaissance Washington -- Congressional Hall A, Oral

[Division of Agricultural & Food Chemistry](#)

The 238th ACS National Meeting, Washington, DC, August 16-20, 2009