



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สารให้กลิ่นในข้าวไรซ์เบอร์รี่และผลของกระบวนการให้ความร้อน
ต่อกลิ่นของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เยวภา หล่อเจริญผล

ตุลาคม 2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สารให้กลิ่นในข้าวไรซ์เบอร์รี่และผลของกระบวนการให้ความร้อน
ต่อกลิ่นของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เยวภา หล่อเจริญผล

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	i
บทคัดย่อ.....	ii
Abstract	iii
Executive Summary	iv
บทนำ.....	1
วัตถุประสงค์	3
อุปกรณ์และวิธีการ	4
ตัวอย่างและสารเคมี.....	4
กลืนข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ ข้าวหอมนิลหุงสุก	4
กลืนเครื่องต้มไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบต่าง ๆ.....	6
การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	7
ผลและวิจารณ์	8
ข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุก	8
เครื่องต้มไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ.....	10
สรุปและข้อเสนอแนะ	17
สรุปผลการทดลอง	17
ข้อเสนอแนะ	17
เอกสารอ้างอิง.....	18
Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.	24
ภาคผนวก	25
ภาคผนวกที่ 1	26
ภาคผนวกที่ 2	61

บทคัดย่อ

จากการวิเคราะห์กลิ่นด้วยเทคนิค aroma extract dilution analysis (AEDA) การคำนวณค่า odor activity value (OAV) และการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา พบว่า vanillin, guaiacol, 4-vinylguaiacol และ raspberry ketone (hydroxyphenylbutan-2-one) คือสารให้กลิ่นสำคัญของข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุก ซึ่งผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA) ของสารให้กลิ่นและลักษณะกลิ่น ยังพบความสัมพันธ์กับข้าวหอมดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิลที่เป็นพันธุ์แม่และพ่อ นอกจากนี้เครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์แบบ high temperature-short time (HTST), พาสเจอร์ไรซ์แบบ ultrapasteurization (UP) และสเตอริไลซ์แบบ ultra-high temperature (UHT) มี vanillin, guaiacol และ raspberry ketone เป็นสารให้กลิ่นสำคัญเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามแม้ว่าเค้าโครงด่างกลิ่นของตัวอย่าง UP จะแตกต่างจากตัวอย่าง HTST และ UHT แต่ไม่พบความแตกต่างของโครมาโตแกรมค่า flavor dilution ระหว่าง UP และ HTST ซึ่งผลการวิเคราะห์แบบจัดกลุ่มและผลการประเมินทางประสาทสัมผัสวิธี R-index ranking test ก็ยืนยันคุณภาพด้านกลิ่นที่คล้ายกันของตัวอย่างพาสเจอร์ไรซ์ทั้งสองวิธีระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่เครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ UHT มีสารให้กลิ่นไม่พึงประสงค์ ได้แก่ acetic acid, propanoic acid, butanoic acid และ indole เพิ่มขึ้น รวมถึงมีสีจางลงและมีปริมาณ cyaniding-3-glucoside และ peonidin-3-glucoside ต่ำลง ผลการวิจัยนี้จึงช่วยสนับสนุนคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธี UP

คำสำคัญ: กลิ่นรส; สารให้กลิ่น; ข้าวไรซ์เบอร์รี่; ultrapasteurization; raspberry ketone (hydroxyphenylbutan-2-one)

Abstract

Aroma extract dilution analysis (AEDA), odor activity values (OAV), and descriptive sensory analysis were employed to qualify and quantify Riceberry aroma. Vanillin, guaiacol, 4-vinylguaiacol, and raspberry ketone (hydroxyphenylbutan-2-one) were found to be the main contributors in cooked Riceberry. Principal component analysis (PCA) supported the conveyance of aroma-active compounds and characteristics of Riceberry parental lines (Khao Dawk Mali 105 and Hom Nin). Vanillin, guaiacol, and raspberry ketone were also the potent odorants in Riceberry beverages treated by high temperature-short time (HTST) pasteurization, ultrapasteurization (UP), and ultra-high temperature (UHT) commercial sterilization. Although the sensory aroma profile of the UP sample differed slightly from that of HTST and UHT beverages, the flavor dilution chromatograms of UP and HTST samples were identical. Hierarchical cluster analysis and sensory R-index ranking further confirmed the similarities of these two pasteurized samples during storage. Certain off-aroma increases, particularly those of acetic acid, propanoic acid, butanoic acid, and indole, set apart UHT Riceberry beverages from others. UHT samples were also light in color and lower in cyanidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside content. The entirety of this research supported the commercialization of high quality UP products.

Keywords: flavor; odorant; Riceberry; ultrapasteurization; raspberry ketone (hydroxy phenylbutan-2-one)

Executive Summary

Ultrapasteurization (UP) เป็นกระบวนการใช้ความร้อนเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารเหลวที่มีความเป็นกรดต่ำ โดยสภาวะที่ใช้ในการฆ่าเชื้อของ UP คล้ายกับการสเตอริไลซ์วิธี ultra high temperature (UHT) แต่ไม่ต้องอาศัยการบรรจุและภาชนะบรรจุแบบปลอดเชื้อ อย่างไรก็ตามแม้ว่าอุณหภูมิการฆ่าเชื้อที่สูงจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุมากกว่าการพาสเจอร์ไรซ์แบบดั้งเดิม แต่เป็นที่ทราบดีว่าความร้อนจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางเคมีและกายภาพ ตลอดจนสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้งานวิจัยด้านผลของ UP ต่อคุณภาพของอาหารมีจำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณภาพด้านกลิ่นรส ดังนั้นการเปรียบเทียบการพาสเจอร์ไรซ์แบบ high temperature short time (HTST), UHT และ UP จะช่วยเพิ่มความเข้าใจเรื่องความคงตัวของสารให้กลิ่น รวมถึงการเกิดสารให้กลิ่นจากความร้อนในระบบอาหารจริง ซึ่งสามารถนำไปใช้พัฒนาและทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น โดยในงานวิจัยนี้ใช้เครื่องต้มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นตัวอย่างในการศึกษาเนื่องจากปัจจุบันน้ำมันข้าวหรือน้ำข้าวกล้องกำลังเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ที่แพ้นมวัวและถั่วเหลือง นอกจากนี้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ซึ่งเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิล ยังเป็นข้าวที่มีคุณค่าทางอาหารสูง สีสวย เนื้อสัมผัสนุ่ม และมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ โดยผู้ผลิตเครื่องต้มและอาหารหลายรายต้องการซื้อวัตถุดิบแต่งกลิ่นข้าวไรซ์เบอร์รี่ แต่จนถึงปัจจุบันยังไม่มีจำหน่ายทางการค้า อีกทั้งยังขาดข้อมูลด้านกลิ่นของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องมือหรือการทดสอบทางประสาทสัมผัส ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสารให้กลิ่นในข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิลร่วมด้วย เพื่อเป็นข้อมูลในการสร้างมูลค่าของข้าวไทย จากผลการวิเคราะห์กลิ่นด้วยเครื่องมือและการประเมินทางประสาทสัมผัส ตลอดจนการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพเคมี และจุลินทรีย์ พบว่า UP สามารถฆ่าเชื้อและยืดอายุการเก็บรักษาเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพด้านกลิ่นเทียบเท่ากับการใช้วิธี HTST ในขณะที่ตัวอย่าง UHT มีปริมาณสารให้กลิ่นไม่พึงประสงค์สูงขึ้น สีจางลง และปริมาณแอนโทไซยานินต่ำลง ดังนั้นวิธี UP ซึ่งมีการปรับกระบวนการผลิตจากวิธี HTST เล็กน้อย จึงเป็นเทคโนโลยีที่มีต้นทุนเหมาะสมกับผู้ประกอบการขนาดเล็กและขนาดกลาง ส่วนการใช้ UHT ในอุตสาหกรรมก็ต้องระวังการเกิดกลิ่นผิดปกติที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์สารให้กลิ่นสำคัญในข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุกโดยเฉพาะอย่างยิ่งการค้นพบ raspberry ketone (hydroxyphenylbutan-2-one) ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับการสร้างสรรค์กลิ่น (flavor creation) เพื่อผลิตเป็นวัตถุดิบแต่งกลิ่นรสอาหารสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ตลอดจนช่วยในการชี้วัดคุณภาพ หรือนำไปพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีคุณภาพสูงและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น

รหัสโครงการ: MRG6080187

ชื่อโครงการ: สารให้กลิ่นในข้าวไรซ์เบอร์รี่และผลของกระบวนการให้ความร้อนต่อกลิ่นของเครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่
Odorants in Riceberry and effect of thermal processing on aroma of its beverage

ชื่อนักวิจัย: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เยวภา หล่อเจริญผล

Email address: yaowapa.l@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 3 เมษายน 2560 ถึง 2 เมษายน 2562

บทนำ

Ultrapasteurization (UP) คือกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนที่มีการใช้ในหลายประเทศเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารเหลวที่มีความเป็นกรดต่ำ โดยมีสภาวะการใช้ความร้อนใกล้เคียงกับกระบวนการ ultra-high temperature (UHT) แต่ไม่จำเป็นต้องบรรจุผลิตภัณฑ์ในสภาวะปลอดเชื้อ (Cornell University, 2007) ซึ่งการใช้ความร้อนสูงในการฆ่าเชื้อ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาที่นานกว่าการพาสเจอร์ไรซ์แบบดั้งเดิม แต่ก็อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ด้านต่าง ๆ ทั้งกายภาพ เคมี และคุณภาพทางประสาทสัมผัส เช่น Solano-Lopez, Ji, & Alvarez (2005) พบว่านมไขมัน 2% ที่ผ่าน UP และเก็บไว้เป็นเวลา 60 วัน มีสารระเหยให้กลิ่นที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิปิด ได้แก่ hexanal, octanal และ nonanal เพิ่มขึ้น แต่ผู้ทดสอบยังไม่ได้กลิ่นหืนจากตัวอย่างซึ่งนม UP เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับจากผู้ใหญ่ แต่มีคะแนนการยอมรับจากเด็กต่ำกว่านมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แบบ high temperature-short time (HTST) และ UHT (Chapman & Boor, 2001) อย่างไรก็ตามนม UP ที่ปราศจากแลคโตสมีความเข้มจากการประเมินทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น cooked สูงกว่าตัวอย่างนมพาสเจอร์ไรซ์ (Adhikari, Dooley, Chambers IV, & Bhumiratana, 2010) นอกจากนี้นม UP ยังมีความหนืดสูงกว่านม HTST (Chapman, Boor, & Boor, 2001) ทั้งนี้การที่ต้องเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ในตู้เย็นก็เป็นข้อจำกัดของผลิตภัณฑ์ UP เมื่อเทียบกับ UHT แต่การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่ำอาจช่วยป้องกันการเกิดลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ได้ เช่นอาหารเด็กทารก UP ที่ไม่มีรสชาติผิดปกติอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาของวิตามิน (Kamarei, 2001) นอกจากนี้ UP ยังช่วยรักษาสสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในผลิตภัณฑ์ไข่เหลว (liquid whole egg) อีกด้วย (Monfort, Sagarzazu, Condón, Raso, & Álvarez, 2013) และแม้ว่าคุณภาพด้านกลิ่นจะส่งผลต่อความชอบและการยอมรับของผู้บริโภค แต่มีงานวิจัยที่ศึกษาเปรียบเทียบกลิ่นระหว่าง UP, HTST และ UHT ไม่มาก

ในการทดลองนี้เลือกศึกษาผลของการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ เนื่องจากเครื่องต้มข้าวจัดเป็นเครื่องต้มทางเลือกของนํ้านม ซึ่งมีไขมันต่ำ ปราศจากคอเลสเตอรอลและน้ำตาลแลคโตส จึงเป็นที่สนใจของผู้บริโภคที่ไม่สามารถรับประทานแลคโตสหรือแพ้ถั่วเหลือง จากการศึกษาของบริษัทวิจัยตลาดพบว่าผลิตภัณฑ์นมจากวัตถุดิบอื่น (non-dairy milk product) มีจำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ตทั่วโลก (The Nielsen Company, 2016) และมีอัตราการจำหน่ายสูงขึ้นอย่างมาก (Mintel, 2018) เครื่องต้มข้าวสามารถเตรียมได้จากข้าวระยะนํ้านมหรือเรียกว่าข้าวยาคุซึ่งเป็นแหล่งของวิตามินและแร่ธาตุ หรืออาจทำจากข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอกที่อุดมไปด้วย gamma-aminobutyric acid (GABA) ข้าวขัดสี หรือแป้งข้าว และอาจมีการใช้เอนไซม์หลายชนิดรวมด้วย เช่นการใช้ alpha-amylase ตามด้วย glucosidase และ/หรือ beta-amylase เพื่อช่วยป้องกันการเกิดกลิ่นรสผิดปกติ (Mitchell, Mitchell, & Nissenbaum, 1988) อย่างไรก็ตามเครื่องต้มข้าวมีแคลเซียมและโปรตีนต่ำกว่านํ้านมโค

ข้าวไรซ์เบอร์รี่ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่นำมาศึกษาในการวิจัยนี้เป็นข้าวสีม่วงเข้ม ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ระหว่างข้าวขาวดอกมะลิ 105 (ข้าวหอมมะลิ) (พันธุ์แม่) กับข้าวหอมนิลที่มีสีดำ (พันธุ์พ่อ) เพื่อให้มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีเนื้อสัมผัสที่ดี ข้าวไรซ์เบอร์รี่อุดมไปด้วยแอนโทไซยานินซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ดี และมีคุณสมบัติ chemopreventive (Leardkamolkarn et al., 2011) จึงเป็นข้าวที่ได้รับความนิยมในหมู่ผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพ มีราคาส่งออกแพงกว่าข้าวหอมมะลิ และราคาขายปลีกของข้าวไรซ์เบอร์รี่ยังสูงกว่าข้าวขาวทั่วไปถึงสองเท่า (The Board of Investment of Thailand, 2017) ซึ่งความต้องการที่เพิ่มสูงขึ้นของข้าวไรซ์เบอร์รี่ไม่เพียงเป็นเพราะประโยชน์ด้านสุขภาพเท่านั้น แต่รวมถึงคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสที่ดี นั่นคือข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุกสีสวยงามและเนื้อสัมผัสนุ่ม ยิ่งไปกว่านั้นกลิ่นรสที่ดีและเป็นเอกลักษณ์ของข้าวไรซ์เบอร์รี่ยังเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค โดยผู้ผลิตอาหารหลายประเภทต้องการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสข้าวไรซ์เบอร์รี่ แต่ยังไม่มีการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสข้าวไรซ์เบอร์รี่ออกจำหน่ายทางการค้า นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาด้านกลิ่นของข้าวไรซ์เบอร์รี่ทั้งการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือและการประเมินทางประสาทสัมผัส

มีงานวิจัยด้านสารให้กลิ่นในข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ โดย Bryant & McClung (2011) พบว่าข้าวที่เพิ่งเก็บเกี่ยวจะมีสารระเหยมากกว่าข้าวเก่า ซึ่งสารให้กลิ่นที่สำคัญจากการคำนวณค่า OAV ของข้าวเมล็ดยาวสายพันธุ์แคลิฟอร์เนียที่หุงสุก ได้แก่ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP), (*E,E*)-2,4-decadienal, nonanal, hexanal, (*E*)-2-nonenal, octanal, decanal, 4-vinylguaiacol และ 4-vinylphenol (Buttery, Turnbaugh, & Ling, 1988) และนอกจาก 2AP แล้ว 2-aminoacetophenone ยังเป็นสารให้กลิ่นสำคัญในข้าวกล้องพันธุ์ Malagkit Sungsong, Basmati 370 และ Khaskhani (Jezussek, Juliano, & Schieberle, 2002) ในขณะที่ข้าวหอมสีดำของเกาหลีก็มี 2AP และ guaiacol เป็นสารให้กลิ่นสำคัญ (Yang, Lee, Jeong, Kim, & Kays, 2008) อย่างไรก็ตามข้าวหอมมีสารระเหยในกลุ่ม aliphatic aldehyde ต่ำกว่าข้าวที่ไม่มีกลิ่นหอม (Widjaja, Craske, & Wootton, 1996) ซึ่งสารประกอบกลุ่มนี้มีโครงสร้างเป็นพันธะเดี่ยวทั้งหมด (saturated aliphatic aldehyde) มีปริมาณลดลงระหว่างการหุงสุก ในขณะที่สาร (*E*)-2-nonenal, (*E,E*)-2,4-decadienal, 4-vinylguaiacol, indole และ vanillin จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้หุง (Zeng, Zhang, Zhang, Tamogami, & Chen, 2009) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงวิเคราะห์สารให้กลิ่นร่วมกับการประเมินคุณลักษณะ

ด้านกลิ่นของข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิลหุงสุก ตลอดจนศึกษาผลของ UP ต่อกลิ่นของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเทียบกับการฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการ HTST และ UHT ทั้งภายหลังจากแปรรูปและระหว่างการเก็บรักษา

วัตถุประสงค์

1. เพื่อวิเคราะห์สารให้กลิ่นในข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิล
2. เพื่อวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของสารให้กลิ่นในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เป็นผลจากกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์แบบ HTST, UP และการสเตอริไลซ์แบบ UHT
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารระเหยและลักษณะทางประสาทสัมผัสของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ในระหว่างการเก็บรักษา

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างและสารเคมี

ซื้อข้าวกล้องของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เก็บเกี่ยวในปีพ.ศ. 2560 และบรรจุในถุงสุญญากาศจาก ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน (นครปฐม) ส่วนข้าวกล้องของข้าวหอมนิล และข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์พ่อและแม่ตามลำดับ เป็นของบริษัท แคปปิตอลไรซ์ จำกัด (สมุทรปราการ) ที่เก็บเกี่ยวในปีเดียวกันและบรรจุในถุงสุญญากาศ สำหรับตัวอย่างอ้างอิงที่ใช้ในการประเมินทางประสาทสัมผัสซื้อจากซูเปอร์มาร์เก็ตในกรุงเทพฯ

สาร 2-methyl-3-heptanone สำหรับใช้เป็น internal standard และสารมาตรฐาน *n*-alkane ตลอดจนสารมาตรฐานสำหรับระบุชนิดของสารให้กลิ่น (ยกเว้น 2-acethyl-1-pyrroline) ได้จาก Sigma-Aldrich (MO, US) และ Fluka (Steinheim, Switzerland) ตัวทำละลายชนิด HPLC grade ได้แก่ diethyl ether, acetonitrile และ methanol ซื้อจาก RCI Labscan (Dublin, Ireland) และ Brightchem (Selangor, Malaysia) สารเคมีอื่น ได้แก่ sodium chloride (NaCl), anhydrous sodium sulfate (Na_2SO_4) และ formic acid ได้จาก Ajax Finechem (Auckland, New Zealand) และ Merck KGaA (Darmstadt, Germany)

กลิ่นข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ ข้าวหอมนิลหุงสุก

การวิเคราะห์สารให้กลิ่นสำคัญ

หุงข้าวกล้อง 40 กรัม กับน้ำกลั่นปราศจากกลิ่น 65 มิลลิลิตร ด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า แล้ววิเคราะห์สารให้กลิ่นสำคัญตามวิธีของ Lorjaroenphon and Cadwallader (2015) โดยเริ่มจาก แช่แข็งข้าวหุงสุก 100 กรัม ที่เติมสารละลายสารมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ 10 ไมโครลิตร (2-methyl-3-heptanone เข้มข้น 0.0106 กรัม/10 มิลลิลิตร ของ methanol) ในไนโตรเจนเหลว ก่อนนำไปบดเพื่อป้องกันการสูญเสียสารระเหย เตรียมตัวอย่างใส่ขวดเทฟลอนสำหรับหมุนเหวี่ยง ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติม NaCl ปริมาณ 10 กรัม สกัดตัวอย่าง 3 ครั้งด้วย diethyl ether ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำสารสกัดให้เข้มข้นขึ้นด้วยคอลัมน์ vigreux ที่อุณหภูมิ 43 °C แล้วแยกสารไม่ระเหยออก โดยการกลั่นแบบสุญญากาศสูงที่ 10^{-5} torr ตามวิธีของ Engel, Bahr, and Schieberle (1999) ที่อุณหภูมิห้องและ 43 °C เป็นระยะเวลาอย่างละ 1 ชั่วโมง กำจัดน้ำออกด้วย Na_2SO_4 ที่ปราศจากน้ำ แล้วทำให้เข้มข้นจนได้ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

ฉีดสารสกัด 2 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง gas chromatography (GC) (Agilent Technologies, Inc.; MA, USA) ที่ต่อกับ olfactometer (O) (DATU, Inc.; NY, USA) ด้วยเทคนิค cool on-column ที่ตั้งค่า +3 °C จากอุณหภูมิห้อง สารระเหยจะถูกแยกด้วยคอลัมน์ 2 ชนิด ที่มีความมีขั้วต่างกัน ได้แก่ Stabilwax® (Restek Ltd.; PA, USA) และ Rxi®-5ms (Restek Ltd.; PA, USA) ขนาดยาว 30 เมตร

× เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร × ความหนาชั้นฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร โดยใช้ฮีเลียมเป็น carrier gas ที่อัตราการไหล 2 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิห้องที่ 35 °C เป็นเวลา 5 นาที แล้วเพิ่มขึ้นถึง 225 °C ด้วยอัตรา 10 °C/นาที สำหรับคอลัมน์ Stabilwax[®] หรือเพิ่มด้วยอัตรา 6 °C/นาที ถึง 250 °C สำหรับคอลัมน์ Rxi[®]-5ms และตั้งเวลาที่อุณหภูมิสุดท้ายของห้อง 10 นาที โดยให้ผู้ทดสอบจำนวน 3 คน ดมและบรรยายลักษณะกลิ่นที่ได้ นอกจากนี้ยังวิเคราะห์สารสกัด 1 ไมโครลิตร ด้วยเครื่อง GC ที่ต่อกับ time-of-flight mass spectrometer (ToFMS) (LECO[®]; MI, USA) ซึ่งใช้ electron impact energy ที่ 70 eV และมีช่วงสแกน 30-300 m/z โดยมีสถานะในการวิเคราะห์เช่นเดียวกับ GCO ยกเว้นใช้ฮีเลียมที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที และมีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิของห้อง 4 °C/นาที

ระบุชนิดของสารให้กลิ่นโดยพิจารณาจากค่า retention index (RI) ลักษณะกลิ่น mass spectra (MS) และ สารมาตรฐานของสารให้กลิ่นต่าง ๆ ซึ่งค่า RI ที่ได้จากการวิเคราะห์สารด้วย คอลัมน์ 2 ชนิดที่มีความมีความยาวต่างกัน คำนวณได้จากค่า retention time (RT) ของสารให้กลิ่นเทียบกับ RT ของสารมาตรฐาน *n*-alkanes แล้วนำค่า RI ที่ได้ไปพิจารณาเทียบกับข้อมูลจากงานวิจัยที่มีมาก่อน ส่วน MS ของสารให้กลิ่นก็เทียบกับฐานข้อมูล National Institute of Standards and Technology (NIST) Mass Spectral Library (version 2.0, 2011) และคำนวณค่าความเข้มข้นสัมพัทธ์ (relative concentration) ของสารให้กลิ่นจากพื้นที่ใต้ peak ที่ได้จากการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม LECO ChromaTOF[®] version 4.50.8.0 เทียบกับพื้นที่ใต้ peak ของสารมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ และค่า response factor จากกราฟมาตรฐานของสารให้กลิ่นนั้น ๆ จากนั้นวิเคราะห์สารให้กลิ่นสำคัญ โดยการคำนวณค่า odor activity value (OAV) ตามวิธีของ Grosch (2001) ร่วมกับเทคนิคการทำ aroma extract dilution analysis (AEDA) ตามวิธีของ Schieberle (1995) ซึ่งค่า OAV คือสัดส่วนระหว่างค่าความเข้มข้นของสารให้กลิ่นกับค่า odor detection threshold ของสารนั้น ในน้ำ โดยสารระเหยที่มีค่า OAV มากกว่า 1 จะถูกจัดเป็นสารให้กลิ่นในตัวอย่าง ส่วนการทำ AEDA เริ่มจากนำสารสกัดมาเจือจางด้วย diethyl ether เป็นลำดับในอัตราส่วน 1:3 แล้วนำแต่ละระดับ ความเจือจางไปวิเคราะห์ด้วย GCO ที่ต่อกับคอลัมน์ Stabilwax[®] เพื่อรายงานเป็น flavor dilution (FD) factor ซึ่งมีค่าเท่ากับระดับความเจือจางสูงสุดที่ยังคงได้กลิ่นสารนั้น

การประเมินคุณลักษณะด้านกลิ่น

ประเมินเค้าโครงด้านกลิ่นของข้าวหุงสุกด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาตาม วิธีของ Meilgaard, Civille, and Carr (2007) โดยเริ่มจากคัดเลือกและฝึกฝนผู้ทดสอบ (ชาย 1 คน หญิง 9 คน ซึ่งมีอายุระหว่าง 23-28 ปี) เป็นเวลาอย่างน้อย 40 ชั่วโมง แล้วสุ่มตัวอย่างที่บรรจุในขวดเพปลอนสำหรับใช้ดมขนาด 125 มิลลิลิตร (Thermo Scientific; MA, USA) และห่อด้วย อลูมิเนียมฟอยล์ที่มีการระบุรหัสเลขสามหลักแทนชื่อตัวอย่าง แก่ผู้ทดสอบทีละตัวอย่างตามลำดับ ที่ได้รับการสลับอย่างสมดุล เพื่อให้ผู้ทดสอบประเมินกลิ่นและให้คะแนนความเข้มของคุณลักษณะต่าง ๆ ด้านกลิ่นบนสเกลเส้นตรงยาว 15 เซนติเมตร แล้วรายงานผลเป็นกราฟไยแมงมุม

กลั่นเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบต่าง ๆ

การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์คุณภาพ

เตรียมเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Deeseenthum and Pejovic (2010) โดยต้มข้าวกล้องของข้าวไรซ์เบอร์รี่ 7 กิโลกรัม กับน้ำกรอง 70 ลิตร ให้เดือดเป็นเวลา 30 min กรองด้วยผ้าขาวบางสองชั้น แล้วทำให้เย็นลงทันทีในอ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เพื่อเก็บเป็นตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ส่วนตัวอย่าง HTST, UP และ UHT เตรียมโดยการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง UHT/HTST system (MicroThermics; NC, USA) ตามอุณหภูมิและเวลาที่กำหนด โดยให้ความร้อนตัวอย่างแบบ HTST ที่ 70 °C เป็นเวลา 15 วินาที และแบบ UP ที่ 138 °C เป็นเวลา 2 วินาที (FDA, 2015) ก่อนบรรจุร้อนในขวดแก้วที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว จากนั้นทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วถึงอุณหภูมิ 4 °C หรือต่ำกว่า แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 ± 2 °C) เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ตามลำดับ สำหรับตัวอย่าง UHT จะให้ความร้อนที่ 140 °C เป็นเวลา 4 วินาที ตามวิธีการของ Cornell University (2007) แล้วทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วก่อนบรรจุในสภาวะปลอดเชื้อในขวดแก้วที่ผ่านการสเตอริไลซ์แล้ว จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 °C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

วิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ตามมาตรฐานของ FDA's Bacteriological Analytical Manual (FDA-BAM) ดังนี้ *Bacillus cereus* ตามวิธีของ Tallent, Rhodehamel, Harmon, & Bennett (2012) แบคทีเรียโคลิฟอร์มตามวิธีของ Feng, Weagant, Grant, & Burkhardt (2002) จุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ Maturin & Peeler (2001) และ ยีสต์และราตามวิธีของ Tournas, Stack, Mislivec, Koch, & Bandler (2001) แล้วสังเกตลักษณะปรากฏของตัวอย่างตลอดจนวัดค่าสีในระบบ CIE L*, a*, b* สำหรับปริมาณแอนโทไซยานินวิเคราะห์ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Pothinuch, Miyamoto, Nguyen, and Tongchitpakdee (2017) คือกรองตัวอย่างเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ 150 มิลลิลิตรผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 (GH Healthcare Bio-Science; Uppsala, Sweden) แล้วทำให้เข้มข้นจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยการกลั่นแบบสุญญากาศสูง ก่อนนำไปกรองผ่าน Nylon membrane filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร (Sartorius; Hannover, Germany) จากนั้นวิเคราะห์ตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ด้วยเครื่อง HPLC ที่ต่อกับ photodiode array (PDA) detector (Waters; MA, USA) โดยแยกสารด้วยคอลัมน์ Symmetry® C18 (Waters; MA, USA) ขนาด 5 ไมโครเมตร × 4.6 มิลลิเมตร × 250 มิลลิเมตร และมี mobile phase ของ 100% acetonitrile (A) และ 1% (v/v) formic acid ในน้ำ (B) แบบ gradient ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที โดยเริ่มจาก 5-10% A เป็นเวลา 5 นาที 10-15% A เป็นเวลา 5 นาที 15-25% A เป็นเวลา 20 นาที 25-50% A เป็นเวลา 10 นาที 50-5% A เป็นเวลา 5 นาที และคง 5% A เป็นเวลา 5 นาที ใช้ความยาวคลื่น 200-500 นาโนเมตร เพื่อระบุชนิดของแอนโทไซยานินโดยเทียบค่า RT และ ultraviolet (UV) spectrum กับสารมาตรฐาน ก่อนวิเคราะห์ปริมาณด้วยเทคนิค external standard

การวิเคราะห์สารให้กลิ่นและคุณลักษณะด้านกลิ่น

วิเคราะห์กลิ่นของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีการคำนวณค่า OAV เทคนิค AEDA และการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาตามวิธีข้างต้น โดยเริ่มจากการสกัดสารให้กลิ่นจากตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ด้วย diethyl ether แล้วกลั่นแบบสุญญากาศสูง จากนั้นทำให้เข้มข้นก่อนฉีดเข้า GCO และ GC-ToFMS และประเมินคุณลักษณะด้านกลิ่นของตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร ด้วยผู้ทดสอบที่ผ่านการคัดเลือกและฝึกฝนจำนวน 12 คน (ชาย 4 คน หญิง 8 คน อายุระหว่าง 23-28 ปี)

ประเมินคุณลักษณะด้านกลิ่นโดยรวมของตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ด้วยวิธี R-index ranking test ตามขั้นตอนของ Lorjaroenphon and Cadwallader (2015) โดยติดรหัสเลขสามหลักที่ตัวอย่าง HTST (เป็นตัวอย่าง blind control), UP และ UHT แล้วติดฉลากตัวอย่าง HTST อีกขวดเป็นตัวอย่างควบคุม จากนั้นสุ่มตัวอย่างทั้งหมดโดยสุบลำดับการนำเสนอตัวอย่างที่ติดเลขรหัสแบบสุ่มให้ผู้ทดสอบจำนวน 38 คน (ชาย 5 คน หญิง 33 คน อายุระหว่าง 23-34 ปี) เพื่อเรียงลำดับความแตกต่างด้านกลิ่นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม คำนวณค่า R-index ตามวิธีของ John Brown (O'Mahony, 1992) ซึ่งเท่ากับร้อยละของตัวอย่างทดสอบที่ผู้ทดสอบเรียงลำดับว่าเหมือนกับตัวอย่างควบคุม น้อยกว่าตัวอย่าง blind control

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าคุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีซึ่งวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) จากการทำซ้ำ 3 ครั้ง ยกเว้นการวิเคราะห์ค่าแอนโทไซยานินที่ทำ 2 ซ้ำ หากพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จะเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรม SPSS (IBM; NY, USA) ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างสารให้กลิ่นและคุณลักษณะด้านกลิ่นจะอธิบายโดยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA) ด้วยโปรแกรม XLSTAT (Addinsoft SARL; NY, USA) และวิเคราะห์การจัดกลุ่มของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ตัวอย่างต่าง ๆ โดย agglomerative hierarchical clustering (AHC) ด้วยโปรแกรม XLSTAT

สำหรับการประเมินทางประสาทสัมผัสที่ได้รับการรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ เลขที่ COE59/005 จากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) โดยมีผู้ทดสอบเป็นบล็อก วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีข้างต้น ส่วน R-index คำนวณจาก 50% สำหรับการทดสอบสองทาง (two-tailed test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลและวิจารณ์

ข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุก

จากการวิเคราะห์คุณภาพด้านกลิ่นของข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวดอกมะลิ และข้าวหอมนิล หุงสุกด้วยการประหมื่นทางประสาทสัมผัสและการใช้เครื่องมือ พบสารให้กลิ่นในกลุ่ม acid, alcohol, aldehyde, ketone, lactone, phenol, terpene และสารประกอบที่มีไนโตรเจนและซัลเฟอร์ เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล โดยสารประกอบที่พบมากที่สุดคือ aldehyde ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง linoleic และ oleic acid มีรายงานว่ากรดไขมันทั้งสองชนิดนี้มีปริมาณมากกว่า 70% ของกรดไขมันทั้งหมดที่พบในข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Luang-In, Yotchaisarn, Somboonwatthanakul, & Deeseenthum, 2018) ข้าวหอมนิล และข้าวขาวดอกมะลิ 105 (Mingyai, Kettawan, Srikaeo, & Singanusong, 2017) ซึ่ง Shin, Yoon, Rhee, and Kwon (1986) พบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างปริมาณ *n*-hexanal และ linoleic acid ในข้าวกล้อง Indica/Japonica ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันอิสระในข้าวสามารถเกิดขึ้นได้ตลอดทุกช่วงตั้งแต่การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา และการหุงสุก จึงส่งผลให้มีสารประกอบ aldehyde สูง โดย hexanal ซึ่งจัดเป็นดัชนีชี้วัดการเกิดออกซิเดชันของลิปิดในข้าว เป็นสารให้กลิ่นที่มีปริมาณมากที่สุดของสารประกอบกลุ่มนี้ในข้าวหุงสุกทั้งสามพันธุ์ และเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างข้าวทั้งสามพันธุ์ พบว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณ hexanal ต่ำที่สุด ตามด้วย ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิลตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นผลจากสารเร่งปฏิกิริยา (catalyst) และสารต้านออกซิเดชันที่มีตามธรรมชาติในข้าวทั้งสามชนิด โดยเหล็กที่พบได้ในส่วนของรำข้าวจะ ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันอิสระ ในขณะที่แอนโทไซยานินในข้าวสี (colored rice) จะช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว และแม้ว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณเหล็กสูงกว่าข้าวหอมนิล ถึงสองเท่า (Ariyatanakatawong & Boonsirichai, 2016) แต่ก็มี total phenolic และสมบัติต้านออกซิเดชันสูงกว่าด้วยเช่นกัน (Daiponmak, Senakun, & Siriamornpun, 2014)

เมื่อพิจารณาค่า OAV และ FD factor ของสารให้กลิ่นต่าง ๆ ในข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวพันธุ์ พ่อแม่ พบว่า vanillin (vanilla note), guaiacol (smoky note), 4-vinylguaiacol (clove, spicy, smoky note) และ raspberry ketone (*p*-hydroxyphenylbutan-2-one) (sweet, candy, fruity, berry note) คือสารให้กลิ่นสำคัญที่ส่งผลต่อกลิ่นโดยรวมของข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหอมนิล (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตาม 2AP (pandan, sweet note) ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นที่สำคัญของข้าวขาวดอกมะลิ 105 กลับไม่เป็นสารให้กลิ่นสำคัญในข้าวไรซ์เบอร์รี่ นอกจากนี้เป็นที่น่าสนใจว่า vanillin ถูกจัดเป็น สารให้กลิ่นสำคัญของข้าวขาวดอกมะลิ 105 หุงสุกในการทดลองนี้ ซึ่งจากที่ผ่านมาไม่ค่อยมีงานวิจัย ที่กล่าวถึงความสำคัญของ vanillin ในข้าวหอมมะลิ ส่วนความสำคัญของ guaiacol และ 4-vinylguaiacol มักพบในข้าวพันธุ์สีเข้ม เช่น ข้าวเหนียวดำ (Ajarayasiri & Chaiseri, 2008) และข้าวสีดำของเกาหลี (Yang et al., 2008) ซึ่งสารให้กลิ่นสำคัญกลุ่ม phenol ทั้งสามชนิดนี้ (vanillin, guaiacol และ 4-vinylguaiacol) ในข้าวไรซ์เบอร์รี่ อาจเกิดจากการสลายของ ferulic acid ที่มีรายงานว่า เป็นสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่มีมากเป็นอันดับสองรองจาก cyanidin-3-glucoside ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Prangthip et al., 2013) โดย Fiddler, Parker, Wasserman,

ตารางที่ 1 สารให้กลิ่นสำคัญ (OAV >1) ในข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ ข้าวหอมนิลหุงสุก

Odorant	Retention index		Odor description	Threshold ^a (ng/g)	OAV			FD factor		
	Stabilwax [®]	Rxi [®] -5ms			RB	HN	KM	RB	HN	KM
hexanal	1062	801	green	5 ^b	27	70	41	3	81	3
2-acetyl-1-pyrroline	1324	932	pandan, sweet	0.1 ^b	<1	<1	494	3	3	2,187
(E)-2-octenal	1406	1062	green, fatty	3 ^b	3	3	-	1	1	-
1-octen-3-ol	1421	986	mushroom	1 ^b	15	13	11	3	3	1
linalool	1541	1109	floral	6 ^c	4	6	<1	1	1	1
butanoic acid	1581	812	rancid, sweaty	240 ^d	2	7	1	3	27	3
2-acetylthiazole	1634	1024	nutty	10 ^e	<1	2	1	3	27	3
(E)-2-undecenal	1782	1357	green	1.4 ^f	27	25	65	243	243	729
hexanoic acid	1841	1053	sweaty	3,000 ^b	3	1	2	1	-	-
guaiacol	1843	1091	smoky	3 ^b	34	74	0	6,561	6,561	27
γ -nonalactone	2029	1371	coconut, sweet	9.7 ^g	7	7	7	81	81	243
3-ethylphenol	2178	1164	musty, barny	1.4 ^f	4	<1	<1	729	81	1
4-vinylguaiacol	2185	1312	clove, spicy, smoky	3 ^h	57	273	127	81	729	243
vanillin	2542	1404	vanilla	20 ^h	130	590	192	6,561	19,683	6,561
p-hydroxyphenylbutan-2-one (raspberry ketone)	2978	1516	sweet, candy, fruity, berry	10 ⁱ	<1	2	-	2,187	19,683	-

^aค่า odor threshold ในน้ำที่ได้จากเอกสารอ้างอิงดังต่อไปนี้: ^bButtery et al. (1988); ^cButtery, Ling, and Light (1987); ^dButtery and Ling (1998); ^eButtery, Stern, and Ling (1994); ^fCzerny *et al.* (2008); ^gGrosshauser and Schieberle (2013); ^hButtery, Orts, Takeoka, and Nam (1999); ⁱLarsen and Poll (1990)

and Doerr (2010) ได้ศึกษาปฏิกิริยาของสาร phenolic acid ชนิดนี้ว่าเริ่มจากการเกิด decarboxylation ของ ferulic acid ไปเป็น 4-vinylguaiacol แล้วเกิด oxidation เป็น vanillin จากนั้น guaiacol จะถูกสร้างขึ้นจากหลายปฏิกิริยาต่อเนื่องของ vanillin

ในงานวิจัยนี้ยังพบสาร raspberry ketone ซึ่งไม่เคยมีผู้รายงานในตัวอย่างข้าวมาก่อน สารให้กลิ่นชนิดนี้เป็นสารที่ทำให้เกิดลักษณะกลิ่นเฉพาะของผลราสเบอร์รี่ (Larsen & Poll, 1990) ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ผ่าน phenylpropanoid pathway (Borejsza-Wysocki & Hrazdina, 1994; Lee, Lloyd, Pretorius, & Borneman, 2016) โดยเริ่มจากปฏิกิริยาการเปลี่ยน phenylalanine หรือ tyrosine เป็น *p*-coumaric acid แล้วเปลี่ยนเป็น *p*-coumaroyl-CoA โดยเอนไซม์ coumarate-CoA ligase และเกิดปฏิกิริยา enzyme-catalyzed condensation ระหว่าง *p*-coumaroyl-CoA กับ malonyl-CoA จำนวน 1 โมเลกุล ได้เป็น *p*-hydroxyphenylbut-3-ene-2-one (benzalacetone) จากนั้นสาร ketone นี้จะถูกเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ benzalacetone reductase ได้ raspberry ketone เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย ซึ่งการค้นพบ raspberry ketone ในข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหอมนิลมีความสัมพันธ์กับปริมาณแอนโทไซยานินที่พบมากในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ เนื่องจากรงควัตถุนี้นี้ถูกสร้างผ่าน phenylpropanoid pathway (Beekwilder et al., 2007) เช่นเดียวกัน โดยเริ่มจากการเกิด enzymatic condensation ของ *p*-coumaroyl-CoA กับ malonyl-CoA จำนวน 3 โมเลกุล ได้ naringenin chalcone ซึ่งเป็น intermediate ที่จะเปลี่ยนเป็น สารแอนโทไซยานิน

ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสข้าวทั้งสามชนิดด้วยผู้ทดสอบที่ผ่านการคัดเลือกและฝึกฝน พบคุณลักษณะด้านกลิ่น 6 ด้าน (ตารางที่ 2) ที่สามารถอธิบายเค้าโครงด้านกลิ่นของข้าวแต่ละตัวอย่าง และเมื่อนำลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นไปวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principle component analysis; PCA) ร่วมกับสารให้กลิ่นสำคัญ สามารถแสดง PCA biplot ได้ดังภาพที่ 1 โดยผลที่อธิบายด้วย PC1 (54.07%) และ PC2 (45.93%) ยืนยันว่าคุณภาพด้านกลิ่นของ ข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นผลมาจากข้าวหอมนิลและข้าวขาวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ อีกทั้งยังแสดงความสัมพันธ์อย่างยิ่งระหว่างการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือและการทดสอบทางประสาทสัมผัส ตัวอย่างเช่น 2AP สัมพันธ์กับกลิ่น cereal ($r = 0.959$) ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่สำคัญของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยที่มีมาก่อนที่รายงานไว้ว่า 2AP คือสารให้กลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะของข้าวขาวดอกมะลิ 105 (Buttery, Ling, Juliano, & Turnbaugh, 1983) นอกจากนี้ raspberry ketone ยังสัมพันธ์กับกลิ่น dark grain ($r = 0.833$) ซึ่งเป็นคุณลักษณะด้านกลิ่นที่สำคัญของข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหอมนิล จึงอาจกล่าวได้ว่า raspberry ketone เป็นสารให้กลิ่นที่เป็นลักษณะเฉพาะ (character impact odorant) ของข้าวทั้งสองสายพันธุ์

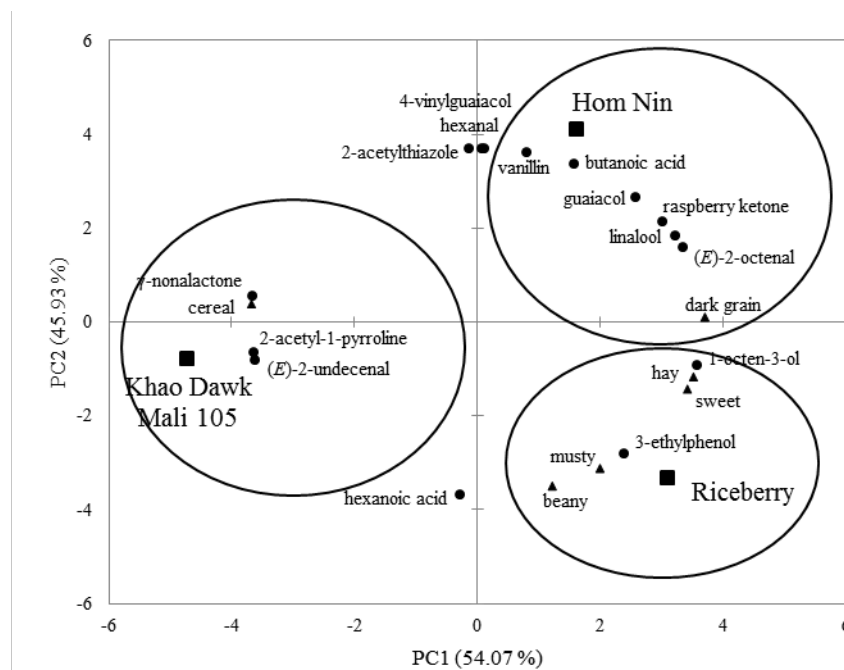
เครื่องต้มไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ในงานศึกษาวิจัยนี้พบว่าวิธี UP สามารถใช้ในการผลิตเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ได้อย่างปลอดภัย จากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคซึ่งพบในวัตถุดิบ และเป็นไปตามมาตรฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์นม

ตารางที่ 2 คุณลักษณะด้านกลิ่นของข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุกและเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่

Attribute	Definition (reference standard used)
sweet	Aromatic associated with syrup (genmai flavored Japanese green tea)
hay	Aromatic associated with dried grass or rice husk (rice husk)
musty	Aromatic associated with closed air space or raw potato (fresh potato)
cereal	Aromatic associated with cooked new crop cereal (instant congee)
dark grain	Aromatic associated with dark grain or black rice (black sticky rice)
beany	Aromatic associated with soybean or pea (soy milk)
prune ^a	Aromatic associated with dried plum (prune essence concentrate)
toasted ^a	Aromatic associated with outside crust of bread (ground roasted rice)
cooked ^a	Aromatic associated with sterilized milk (sterilized milk)

^a พบในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่เท่านั้น



ภาพที่ 1 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principle component analysis; PCA) ของสารให้กลิ่นสำคัญและคุณลักษณะด้านกลิ่นในข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ ข้าวหอมนิลหุงสุก

(Cornell University, 2008) เช่นเดียวกับการฆ่าเชื้อวิธี HTST และ UHT โดยทุกตัวอย่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนมีปริมาณ *Bacillus cereus* น้อยกว่า 1 cfu/มิลลิลิตร ซึ่งสาเหตุที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นดัชนีชี้วัดความปลอดภัยของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่มักพบในข้าว (Ankolekar, Rahmati, & Labbé, 2009) นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรีย coliform น้อยกว่า 1.1 MPN/100 มิลลิลิตรในตัวอย่าง ซึ่งแสดงว่าในกระบวนการแปรรูปมีการจัดการด้านสุขลักษณะที่ดี อีกทั้งไม่พบยีสต์และรา (<1 cfu/mL est.) ส่วนจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ของตัวอย่าง HTST มีค่าเท่ากับ 2 cfu/มิลลิลิตร ในขณะที่ตัวอย่าง UP และ

UHT มีค่าน้อยกว่า 1 cfu/มิลลิลิตร ทั้งนี้เนื่องจาก UP ใช้สภาวะเกือบเทียบเท่าการสเตอริไรซ์ (Cornell University, 2007) นอกจากนี้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids) pH และความหนืดของทุกตัวอย่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อยังไม่แตกต่างจากเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ ก่อนการฆ่าเชื้อที่ใช้เป็นตัวอย่างควบคุม

จากการสังเกตลักษณะปรากฏของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่เมื่อผ่านการแปรรูป พบว่าตัวอย่าง UHT มีสีอ่อนกว่าตัวอย่างอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการวัดสีที่มีค่า L^* สูงกว่า (ตารางที่ 3) และมีปริมาณแอนโทไซยานินต่ำกว่าตัวอย่างอื่น โดย cyanidin-3-glucoside และ peonidin-3-glucoside คือแอนโทไซยานินแบบ monomeric ที่พบมากที่สุดในการต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ แต่จะมีปริมาณลดลงเมื่อผ่านกระบวนการ UHT (ตารางที่ 3) การสูญเสียแอนโทไซยานินแบบ monomeric จากการใช้ความร้อนสูงนี้ อาจเพราะเปลี่ยนรูปเป็น polymeric form ซึ่งเคยมีรายงานการเกิด polymerization ของแอนโทไซยานินในสารสกัดกระเจี๊ยบแดง (roselle extract) ที่ได้รับความร้อนสูง (Sinela et al., 2017) อย่างไรก็ตามตัวอย่าง HTST กลับมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนรูปของสารเมื่อใช้ความร้อนปานกลาง ได้เป็น co-pigment ที่ไม่มีสี ตัวอย่างเช่นรายงานของ Vegara, Mena, Martí, Saura, and Valero (2013) ที่พบว่าแอนโทไซยานินอิสระแบบ monomeric ในน้ำทับทิมที่ใช้ความร้อนต่ำจะเปลี่ยนเป็น co-pigment ที่ไม่มีสี นอกจากนี้อาจเกิดจากแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูป bound form ถูก hydrolysis เป็นรูปอิสระ โดย Fernandes, Brás, Mateus, & de Freitas (2014) พบว่าแอนโทไซยานินส่วนใหญ่ที่พบในข้าวไรซ์เบอร์รี่อยู่ในรูปที่จับกับคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นการใช้ความร้อนปานกลางแบบ HTST จึงอาจช่วยปลดปล่อยแอนโทไซยานินให้อยู่ในรูปอิสระมากขึ้น และเมื่อพิจารณาจากปริมาณของ cyanidin-3-glucoside และ peonidin-3-glucoside ในข้าวไรซ์เบอร์รี่ หุงสุก (Leardkamolkarn et al., 2011) ก็ใกล้เคียงกับที่พบในตัวอย่างเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ จากการทดลองนี้

ตารางที่ 3 ค่าสีและปริมาณ anthocyanin ในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อและผ่านการฆ่าเชื้อแบบต่าง ๆ

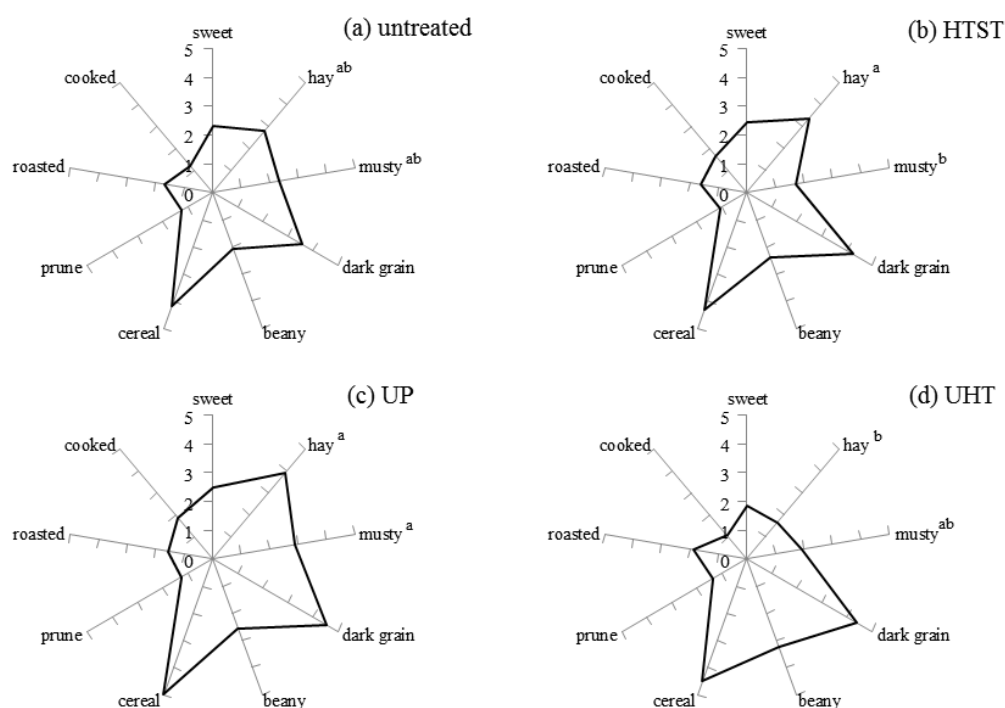
Property	untreated	HTST	UP	UHT
<i>Color</i>				
L^*	6.77 ± 0.55 b	6.56 ± 0.57 b	6.85 ± 1.48 b	9.08 ± 0.39 a
a^{*ns}	3.45 ± 0.87	3.54 ± 0.91	3.57 ± 0.24	4.69 ± 0.20
b^{*ns}	0.98 ± 0.47	1.51 ± 0.89	1.15 ± 0.73	1.23 ± 0.31
<i>Anthocyanin ($\mu\text{g/mL}$)</i>				
cyanidin-3-glucoside	2.62 ± 0.08 b	3.79 ± 0.06 a	0.89 ± 0.12 c	0.58 ± 0.05 d
peonidin-3-glucoside	1.48 ± 0.14 b	1.94 ± 0.05 a	0.48 ± 0.07 c	0.37 ± 0.00 c

ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแถวแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

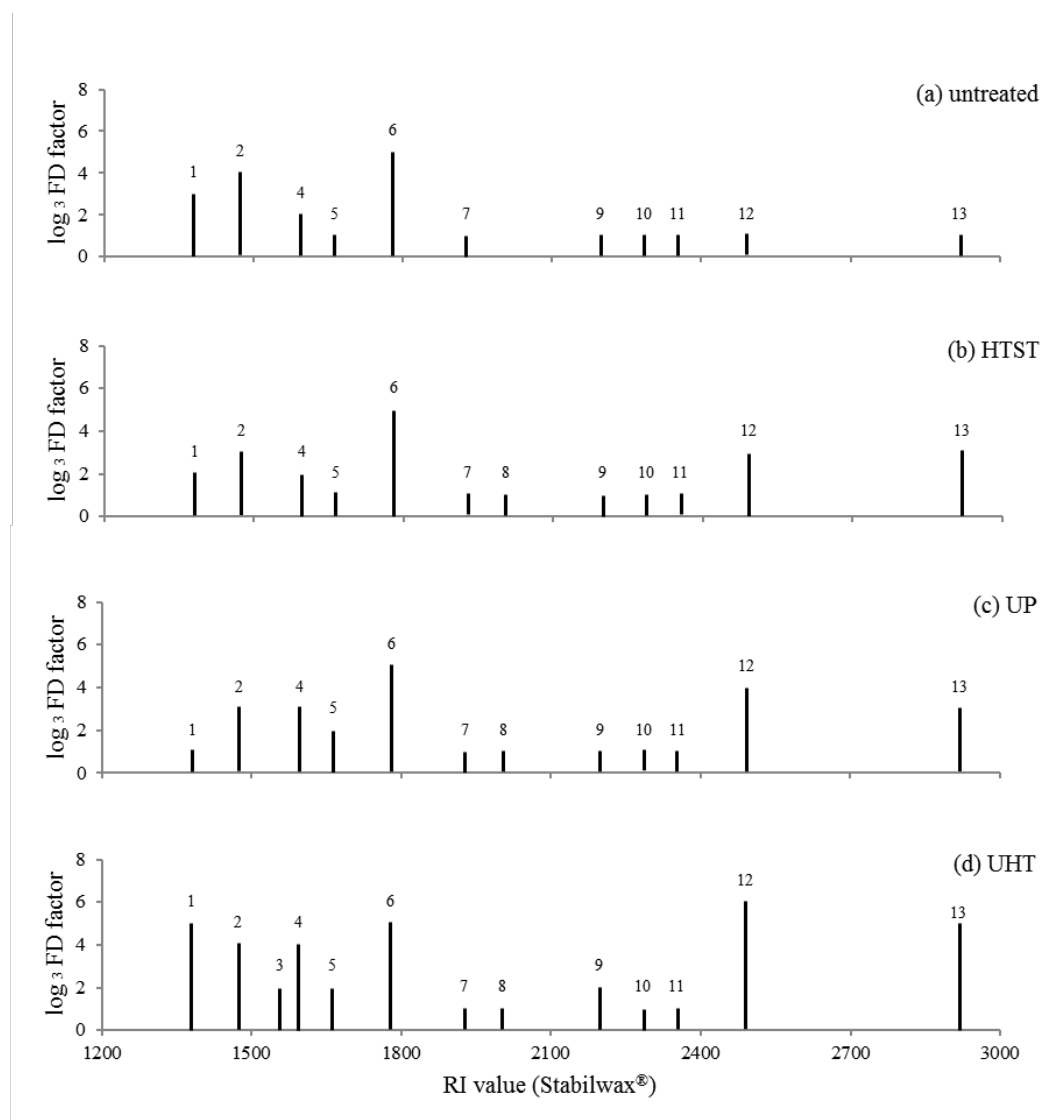
คุณลักษณะด้านกลิ่นของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ประเมินโดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน มีลักษณะกลิ่นต่าง ๆ คล้ายกับข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุก และพบลักษณะกลิ่นเพิ่มสามด้าน ได้แก่ prune, toasted และ cooked (ตารางที่ 2) ซึ่งเป็นลักษณะกลิ่นที่จัดเป็นกลิ่นรสจากกระบวนการแปรรูป (process flavor) โดยตัวอย่างเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อมีลักษณะเคี้ยวโคร่งด้านกลิ่น คล้ายกับตัวอย่างควบคุม (ภาพที่ 2) นอกจากนี้กลิ่น cereal และ dark grain ยังเป็นลักษณะกลิ่นที่เด่นในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่เช่นเดียวกับในข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุก ส่วนกลิ่น musty และ hay ในตัวอย่าง HTST และ UHT จะอ่อนกว่าตัวอย่าง UP ดังนั้นจึงทำการศึกษาสารให้กลิ่นสำคัญในตัวอย่างเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงลึกมากขึ้น



ภาพที่ 2 เคี้ยวโคร่งด้านกลิ่นของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อและผ่านการฆ่าเชื้อแบบต่าง ๆ คุณลักษณะด้านกลิ่นตามด้วยอักษรกรรขีบนที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

โครมาโตแกรมค่า flavor dilution (FD) factor ของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่จากการทดสอบ ด้วยเทคนิค AEDA แสดงดังภาพที่ 3 โดยทุกตัวอย่างมีชนิดของสารให้กลิ่นเหมือนกัน แต่มีค่า FD factor แตกต่างกัน ซึ่ง guaiacol, vanillin และ raspberry ketone คือสารให้กลิ่นสำคัญที่พบในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่เช่นเดียวกับที่พบในข้าวไรซ์เบอร์รี่หุงสุก guaiacol ยังเป็นสารให้กลิ่นที่มี FD factor สูงสุดในตัวอย่างควบคุม นั้นแสดงว่า guaiacol เป็นสารให้กลิ่นที่มีความคงตัวต่อความร้อนในการแปรรูป เช่นเดียวกับรายงานของ Czégény et al. (2016) ที่พบว่าปริมาณ guaiacol ไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการให้ความร้อนที่ 300 °C ซึ่งเป็นสภาวะจำลองของการสุบหรืออย่างใดก็ตามปริมาณของ vanillin ในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิการแปรรูปที่สูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากอัตราการเกิดปฏิกิริยา Maillard เพิ่มขึ้น โดย Feather & Mossine (1997) พบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้น 10 °C ทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยา Maillard เพิ่มขึ้น 2-3 เท่า และเมื่อ

เปรียบเทียบระหว่างตัวอย่าง พบว่าเครื่องต้ม UP มีโครมาโตแกรมค่า FD factor คล้ายกับตัวอย่างควบคุมและตัวอย่าง HTST ในขณะที่ตัวอย่าง UHT มีค่า FD factor ของสารให้กลิ่น acetic acid (sour, vinegar note), butanoic acid (rancid, sweaty note) และ 3-methylbutanoic acid (rancid, sweaty note) สูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการเสื่อมสลายด้วยความร้อนของสาร primary metabolite โดยกรดคาร์บอกซิลิกสามารถเกิดจากโมโนแซ็กคาไรด์ กรดไขมัน หรือกรดแอมิโน เช่น Davidek, Gouézec, Devaud, & Blank (2008) พบ acetic acid เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา Maillard ของ pentose หรือ Zhang et al. (2011) รายงานการเกิด butanoic acid จากออกซิเดชันของลิปิด ส่วน 3-methylbutanoic acid ก็เป็นสารให้กลิ่นที่เกิดจาก leucine (Siegmund, 2015) เป็นต้น

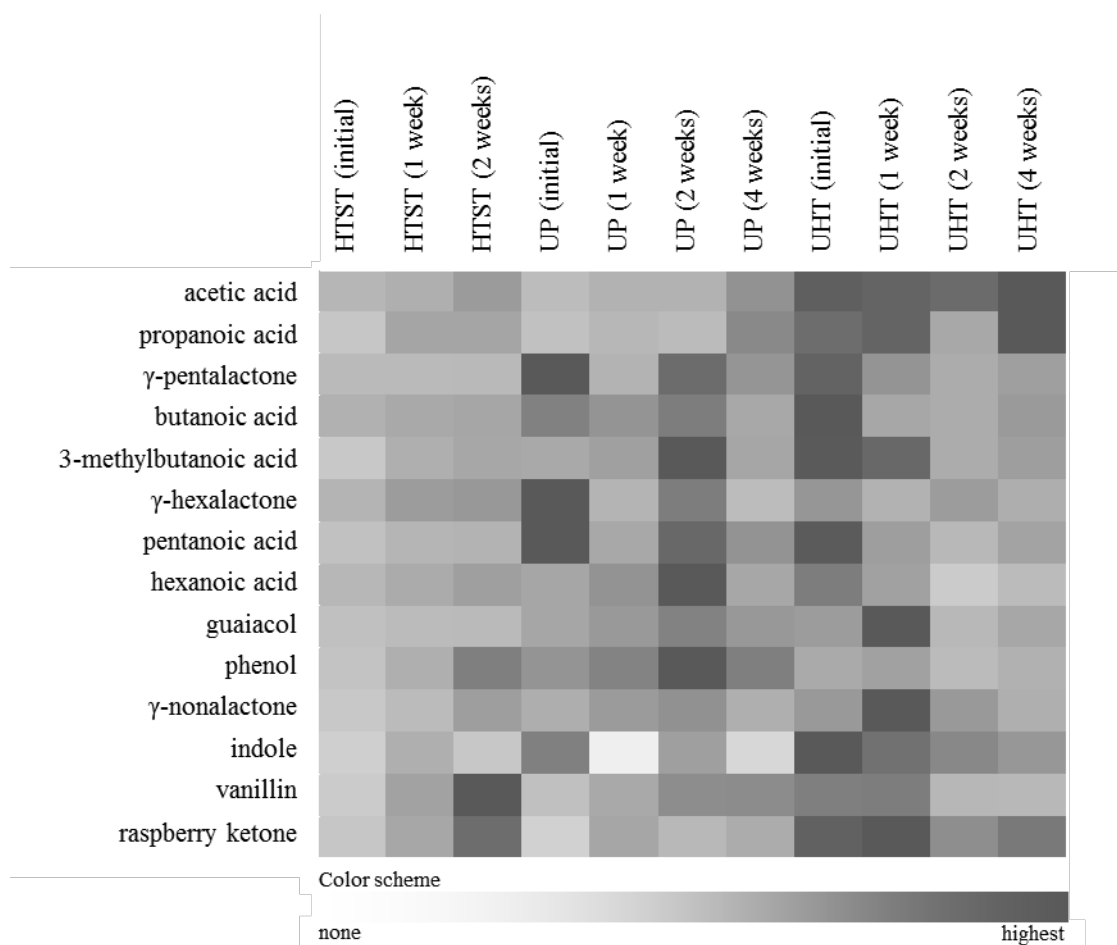


ภาพที่ 3 โครมาโตแกรมค่า flavor dilution (FD) factor ของสารให้กลิ่นสำคัญในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อและผ่านการฆ่าเชื้อแบบต่าง ๆ

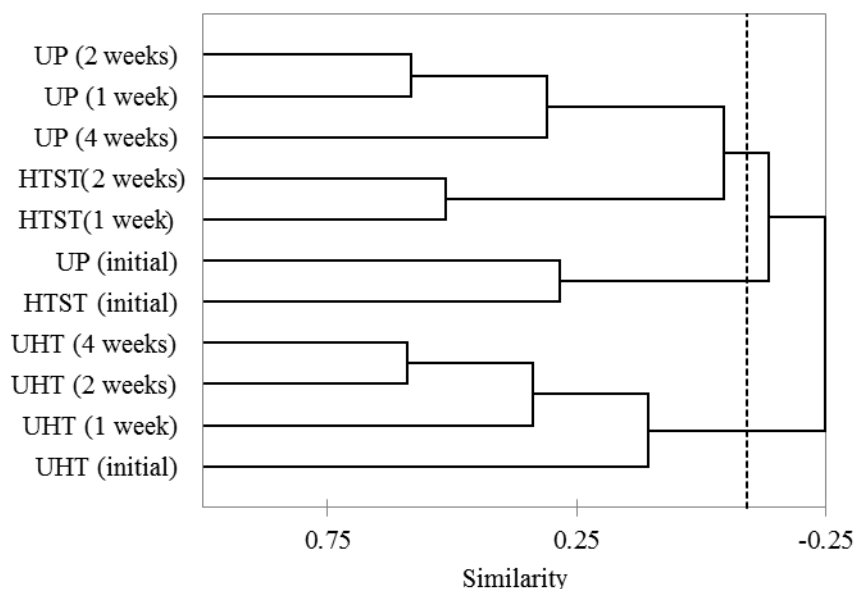
¹ acetic acid, ² propanoic acid, ³ butanoic acid, ⁴ 3-methylbutanoic acid, ⁵ pentanoic acid, ⁶ guaiacol, ⁷ phenol, ⁸ *p*-cresol, ⁹ 4-vinylguaiacol, ¹⁰ syringol, ¹¹ indole, ¹² vanillin, and ¹³ raspberry ketone

เป็นที่ทราบดีว่ากลิ่นอาหารมีลักษณะพลวัต (dynamic) ดังนั้นจึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ UP จะมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 30-90 วัน ในขณะที่ HTST มีอายุประมาณ 12-21 วัน (Cornell University, 2007) และเพื่อความปลอดภัย ตัวอย่างเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่แบบ HTST และแบบ UP จึงเก็บรักษาเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบทางจุลินทรีย์ก็ยืนยันความปลอดภัยของตัวอย่างดังกล่าว

การเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ระหว่างการเก็บรักษาแสดงด้วย heat map (ภาพที่ 4) และสามารถจัดกลุ่มตัวอย่างตามองค์ประกอบของสารให้กลิ่นได้ดังภาพที่ 5 โดยตัวอย่าง UP ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับตัวอย่าง HTST ในขณะที่เครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ UHT ถูกแยกอยู่อีกกลุ่มหนึ่ง และเมื่อนำตัวอย่างไปประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี R-index ranking test ก็ได้ผลเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์สารให้กลิ่นด้วยเครื่อง GC นั่นคือตัวอย่าง UP ที่ผ่านการเก็บรักษามีคุณลักษณะด้านกลิ่นโดยรวมคล้ายกับตัวอย่าง HTST แต่แตกต่างกันเล็กน้อยจากตัวอย่าง UHT (ตารางที่ 4) ซึ่งในการทดสอบทางประสาทสัมผัสนี้เลือกใช้เครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ HTST เป็นตัวอย่างควบคุม เนื่องจากผู้บริโภคโดยทั่วไปชื่นชอบกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์พาสเจอร์ไรซ์มากกว่าผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์



ภาพที่ 4 ความเข้มข้นของสารให้กลิ่นในเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 5 การจัดกลุ่มเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ตามองค์ประกอบของสารให้กลิ่น

ตารางที่ 4 ค่า John Brown's R-index (%) ของเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบ UP และ UHT เมื่อเปรียบเทียบกับ การฆ่าเชื้อแบบ HTST ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 และ 2 สัปดาห์

Treatment	1-week	2-week
UP	39.47	62.50
UHT	76.32*	81.25*

ค่าวิกฤตที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แบบ two-tailed และ $n = 38$ เท่ากับ 15.33

*ค่า R-index ที่สูงกว่า 65.33 แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของสารให้กลิ่นชนิดต่าง ๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงลึกว่าเหตุใดเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่แบบ UHT จึงแตกต่างจากตัวอย่างอื่นเมื่อเก็บรักษา ก็พบว่าตัวอย่างดังกล่าวมีปริมาณ acetic acid สูงตั้งแต่เริ่มต้นจนถึง 4 สัปดาห์ ของการเก็บรักษา (ภาพที่ 4) แม้ว่าจะมีปริมาณ raspberry ketone สูงก็ตาม นอกจากนี้ propanoic acid (rancid note) ซึ่งเกิดจากการสลายด้วยความร้อนจากน้ำตาลซูโครส (Shaw, Tatum, & Berry, 1969) ยังมีปริมาณสูงเช่นกัน เช่นเดียวกับการเพิ่มปริมาณของ indole (stinky, barny note) จากกระบวนการฆ่าเชื้อด้วย UHT ดังนั้นการมีสารให้กลิ่นไม่พึงประสงค์เหล่านี้สูง จึงเป็นข้อจำกัดของการใช้วิธี UHT สำหรับเครื่องต้มข้าวไรซ์เบอร์รี่

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

คุณภาพด้านเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัส ของเครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นผลจากสภาวะที่ใช้ในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ซึ่งวิธี UP สามารถลดการเสื่อมเสียและช่วยยืดอายุของเครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่โดยมีคุณภาพด้านกลิ่นไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่ผ่านการแปรรูปด้วยวิธี HTST ดังนั้น UP จึงเป็นวิธีการแปรรูปที่มีประโยชน์ต่อการผลิตเครื่องดื่มในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ การเก็บอาหารที่มีคุณภาพดีได้ยาวนานขึ้นยังเป็นการช่วยแก้ปัญหาด้านความมั่นคงทางอาหารอีกด้วย อีกทั้งวิธี UP สามารถใช้อุปกรณ์ร่วมกับวิธี HTST โดยมีการปรับสภาวะในกระบวนการผลิตเพียงเล็กน้อย จึงมีต้นทุนและเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับผู้ประกอบการขนาดเล็กและขนาดกลาง ส่วนการเกิดสารให้กลิ่นไม่พึงประสงค์จากกระบวนการ UHT ก็เป็นสิ่งที่อุตสาหกรรมควรให้ความสำคัญ

สำหรับข้อมูลด้านสารให้กลิ่นสำคัญในข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง vanillin, guaiacol, 4-vinylguaiacol และ raspberry ketone สามารถใช้เป็นข้อมูล fingerprint ของข้าวสายพันธุ์นี้ และสามารถนำไปใช้ในการรังสรรค์กลิ่นรส (flavor creation) ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ นอกจากนี้การค้นพบสาร raspberry ketone ในข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหอมนิล ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานสารให้กลิ่นชนิดนี้ในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ มาก่อน ยังเป็นข้อมูลที่สำคัญในการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพข้าวไทย รวมถึงใช้เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพเพื่อเป็นมาตรฐานสำหรับกำหนดระดับคุณภาพและราคา หรือนำไปพัฒนาเป็นตัวชี้วัดการปลอมปนข้าวในขั้นตอนการซื้อขายต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการทดสอบ omission test ของสารให้กลิ่นสำคัญในข้าวไรซ์เบอร์รี่ เพื่อยืนยันผลการวิเคราะห์ ซึ่งจะได้ข้อมูลที่มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และมีประโยชน์ต่อการรังสรรค์กลิ่นข้าวไรซ์เบอร์รี่
2. ปัจจุบันมีวิธีการแปรรูปแบบไม่ใช้ความร้อน เช่น high pressure process หรือ pulse-electric field เพื่อรักษาคุณภาพด้านกลิ่นรสที่ดีของน้ำผลไม้ จึงควรมีการศึกษาผลของ UP เทียบกับการแปรรูปแบบไม่ใช้ความร้อนนี้ เพื่อเป็นข้อมูลด้านข้อดีและข้อจำกัดของ UP สำหรับใช้ประกอบการพิจารณาเลือกวิธีการแปรรูปสำหรับเครื่องดื่มประเภทต่าง ๆ
3. เนื่องจากมีงานวิจัยพบว่า raspberry ketone มีคุณสมบัติช่วยลดน้ำหนัก ป้องกันโรคอ้วน และลดการสะสมของไขมันในตับ (Morimoto, Satoh, Hara, Inoue, Tsujita, & Okuda, 2005) จึงควรศึกษาคุณสมบัติดังกล่าวของข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวหอมนิลเพิ่มเติม ซึ่งหากพบประโยชน์เหล่านี้ก็จะยิ่งช่วยเพิ่มคุณค่าและมูลค่าให้กับข้าวไทย

เอกสารอ้างอิง

- Adhikari, K., Dooley, L. M., Chambers IV, E., & Bhumiratana, N. (2010). Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the United States. *LWT- Food Science and Technology*, 43, 113-118.
- Ajarayasiri, J., & Chaiseri, S. (2008). Comparative study on aroma-active compounds in Thai, black and white glutinous rice varieties. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 42, 715-722.
- Ankolekar, C., Rahmati, T., & Labbé, R. G. (2009). Detection of toxigenic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* spores in US rice. *International Journal of Food Microbiology*, 128, 460-466.
- Ariyatanakatawong, P., & Boonsirichai, K. (2016). The iron content of traditional and purple Thai rice varieties under acid-soil condition. *International Journal of Management and Applied Science*, 2(3), 135-138.
- Beekwilder, J., van der Meer, I. M., Sibbesen, O., Broekgaarden, M., Qvist, I., Mikkelsen, J. D., & Hall, R. D. (2007). Microbial production of natural raspberry ketone. *Biotechnology Journal*, 2(10), 1270-1279.
- Borejsza-Wysocki, W., & Hrazdina, G. (1994). Biosynthesis of *p*-hydroxyphenylbutan-2-one in raspberry fruits and tissue cultures. *Phytochemistry*, 35, 623-628.
- Bryant, R. J., & McClung, A. M. (2011). Volatile profiles of aromatic and non-aromatic rice cultivars using SPME/GC-MS. *Food Chemistry*, 124, 501-503.
- Buttery, R. G., & Ling, L. C. (1998). Additional studies on flavor components of corn tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2764-2769.
- Buttery, R. G., Ling, L. C., Juliano, B. O., & Turnbaugh, J. G. (1983). Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(4), 823-826.
- Buttery, R. G., Ling, L. C., & Light, D. M. (1987). Tomato leaf volatile aroma components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 1039-1042.
- Buttery, R. G., Orts, W. J., Takeoka, G. R., & Nam, Y. (1999). Volatile flavor components of rice cakes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4353-4356.
- Buttery, R. G., Stern, D. J., & Ling, L. C. (1994). Studies on flavor volatiles of some sweet corn products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 791-795.
- Buttery, R. G., Turnbaugh, J. G., & Ling, L. C. (1988). Contribution of volatiles to rice aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 1006-1009.
- Chapman, K. W., & Boor, H. T. (2001). Acceptance of 2% ultra-pasteurized milk by consumers, 6 to 11 years old. *Journal of Dairy Science*, 84, 951-954.

- Chapman, K. W., Boor, H. T., & Boor, K. J. (2001). Quantitative descriptive analysis and principal component analysis for sensory characterization of ultrapasteurized milk. *Journal of Dairy Science*, 84(1), 12-20.
- Cornell University. (2007). Pasteurized versus Ultra-pasteurized milk-Why such long sell-by dates? Retrieved June 5, 2019, from <https://foodsafety.foodscience.cornell.edu/sites/foodsafety.foodscience.cornell.edu/files/shared/documents/CU-DFScience-Notes-Milk-Pasteurization-UltraP-10-10.pdf>
- Cornell University. (2008). Raw milk bacteria tests & sources and causes of high bacteria counts. Retrieved June 5, 2019, from <https://foodsafety.foodscience.cornell.edu/sites/foodsafety.foodscience.cornell.edu/files/shared/documents/CU-DFScience-Notes-Bacteria-Raw-Milk-Review-09-08.pdf>
- Czégény, Z., Bozi, J., Sebestyén, Z., Blazsó, M., Jakab, E., Barta-Rajnai, E., . . . Liu, C. (2016). Thermal behaviour of selected flavour ingredients and additives under simulated cigarette combustion and tobacco heating conditions. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 121, 190-204.
- Czerny, M., Christlbauer, M., Christlbauer, M., Fischer, A., Granvogl, M., Hammer, M., . . . Schieberle, P. (2008). Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. *European Food Research and Technology*, 228, 265-273.
- Daiponmak, W., Senakun, C., & Siriamornpun, S. (2014). Antiglycation capacity and antioxidant activities of different pigmented Thai rice. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 1805-1810.
- Davidek, T., Gouézec, E., Devaud, S., & Blank, I. (2008). Origin and yields of acetic acid in pentose-based Maillard reaction systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1126, 241-243.
- Deeseenthum, S., & Pejovic, J. (2010). Bacterial inhibition and antioxidant activity of kefir produced from Thai jasmine rice milk. *Biotechnology*, 9(3), 332-337.
- Engel, W., Bahr, W., & Schieberle, P. (1999). Solvent assisted flavour evaporation-a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *European Food Research and Technology*, 209, 237-241.
- Feather, M. S., & Mossine, V. V. (1997). The Maillard Reaction: Consequences for the Chemical and Life Sciences. *Journal of the American Chemical Society*, 119(45), 11136.

- Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A., & Burkhardt, W. (2002). BAM 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Retrieved June 5, 2019, from <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm064948.htm>
- Fernandes, A., Brás, N. F., Mateus, N., & de Freitas, V. (2014). Understanding the molecular mechanism of anthocyanin binding to pectin. *Langmuir*, 30, 8516-8527.
- Fiddler, W., Parker, W. E., Wasserman, A. E., & Doerr, R. C. (2010). Thermal decomposition of ferulic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 15(5), 757-761.
- Grosch, W. (2001). Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chemical Senses*, 26, 533-545.
- Grosshauser, S., & Schieberle, P. (2013). Characterization of the key aroma compounds in pan-fried white mushrooms (*Agaricus bisporus* L.) by means of molecular sensory science: comparison with the raw mushroom tissue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 3804-3813.
- Jezussek, M., Juliano, B. O., & Schieberle, P. (2002). Comparison of key aroma compounds in cooked brown rice varieties based on aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1101-1105.
- Kamarei, A. R. (2001). *US Patent No. US 6194009 B1*. Retrieved from <https://app.dimensions.ai/details/patent/US-6194009-B1>
- Larsen, M., & Poll, L. (1990). Odour thresholds of some important aroma compounds in raspberries. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung*, 191, 129-131.
- Leardkamolkarn, V., Thongthep, W., Suttiarporn, P., Kongkachuichai, R., Wongpornchai, S., & Wanavijitr, A. (2011). Chemopreventive properties of the bran extracted from a newly-developed Thai rice: the Riceberry. *Food Chemistry*, 125, 978-985.
- Lee, D., Lloyd, N. D. R., Pretorius, I. S., & Borneman, A. R. (2016). Heterologous production of raspberry ketone in the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* via pathway engineering and synthetic enzyme fusion. *Microbial Cell Factories*, 15, 49-55.
- Lorjaroenphon, Y., & Cadwallader, K. R. (2015). Characterization of typical aroma compounds in cola-flavored carbonated beverages by aroma extract dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 769-775.
- Luang-In, V., Yotchaisarn, M., Somboonwatthanakul, I., & Deeseenthum, S. (2018). Bioactivities of organic riceberry broken rice and crude riceberry rice oil. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(3), 161-168.

- Maturin, L., & Peeler, J. T. (2001). BAM: Aerobic Plate Count. Retrieved June 5, 2019, from <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063346.htm>
- Meilgaard, M. C., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2007). *Sensory Evaluation Techniques* (4th ed). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Mingyai, S., Kettawan, A., Srikaeo, K., & Singanusong, R. (2017). Physicochemical and antioxidant properties of rice bran oils produced from colored rice using different extraction methods. *Journal of Oleo Science*, 66(6), 565-572.
- Mintel. (2018). US non-dairy milk sales grow 61% over the last five years. Retrieved June 5, 2019, from <https://www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/us-non-dairy-milk-sales-grow-61-over-the-last-five-years>
- Mitchell, C. R., Mitchell, P. R., & Nissenbaum, R. (1988). *US Patent No. US 4744992 A*. Retrieved from <https://patents.google.com/patent/US4744992A/en>
- Monfort, S., Sagarzazu, N., Condón, S., Raso, J., & Álvarez, I. (2013). Liquid whole egg ultrapasteurization by combination of PEF, heat, and additives. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 2070-2080.
- Morimoto, C., Satoh, Y., Hara, M., Inoue, S., Tsujita, T., & Okuda, H. (2005). Anti-obese action of raspberry ketone. *Life Sciences*, 77(2), 194-204.
- O'Mahony, M. (1992). Understanding discrimination tests: a user-friendly treatment of response bias, rating and ranking R-index tests and their relationship to signal detection. *Journal of Sensory Studies*, 7, 1-47.
- Pothinuch, P., Miyamoto, A., Nguyen, H. T. T., & Tongchitpakdee, S. (2017). Vasodilatory effects of mulberry (*Morus* spp.) leaf extract on porcine cerebral arteries in vitro: Possible underlying mechanisms. *Journal of Functional Foods*, 38, 151-159.
- Prangthip, P., Surasiang, R., Charoensiri, R., Leardkamolkarn, V., Komindr, S., Yamborisut, U., . . . Kongkachuichai, R. (2013). Amelioration of hyperglycemia, hyperlipidemia, oxidative stress and inflammation in streptozotocin-induced diabetic rats fed a high fat diet by riceberry supplement. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 195-203.
- Schieberle, P. (1995). New developments in methods for analysis of volatile flavor compounds and their precursors. In A. G. Gaonkar (Ed.), *Characterization of Food: Emerging Methods* (pp. 403-431). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science.
- Shaw, P. E., Tatum, J. H., & Berry, R. E. (1969). Base-catalyzed sucrose degradation studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(4), 907-908.

- Shin, M. G., Yoon, S. H., Rhee, J. S., & Kwon, T. W. (1986). Correlation between oxidative deterioration of unsaturated lipid and n-hexanal during storage of brown rice. *Journal of Food Science*, 51(2), 460-463.
- Siegmund, B. (2015). 7-Biogenesis of aroma compounds: Flavour formation in fruits and vegetables. In J. K. Parker, J. S. Elmore, & L. Methven (Eds.), *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages* (pp. 127-149). Cambridge, England: Woodhead Publishing.
- Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., & Dornier, M. (2017). Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. *Food Chemistry*, 214, 234-241.
- Solano-Lopez, C. E., Ji, T., & Alvarez, V. B. (2005). Volatile compounds and chemical changes in ultrapasteurized milk packaged in polyethylene terephthalate containers. *Journal of Food Science*, 70, 407-412.
- Tallent, S. M., Rhodehamel, E. J., Harmon, S. M., & Bennett, R. W. (2012). BAM: *Bacillus cereus*. Retrieved June 5, 2019, from <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm070875.htm>
- The Board of Investment of Thailand. (2017). Riceberry rice-a nutritious gift from Thailand to the world. Retrieved June 5, 2019, from http://www.boi.go.th/upload/content/TIR-SEP2017_81650.pdf
- The Nielsen Company. (2016). Milking it: Surge in lactose-free dairy milk sales. Retrieved June 5, 2019, from <http://www.nielsen.com/au/en/insights/news/2016/milking-it.print.html>
- Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Koch, H. A., & Bandler, R. (2001). BAM: Yeasts, molds and mycotoxins. Retrieved June 5, 2019, from <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm071435.htm>
- FDA. (2015). 21 CFR 131.3. Retrieved June 5, 2019, from https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=7e8aaa2ec336d46bf7dd0665814e130f&mc=true&node=se21.2.131_13&rgn=div8
- Vegara, S., Mena, P., Martí, N., Saura, D., & Valero, M. (2013). Approaches to understanding the contribution of anthocyanins to the antioxidant capacity of pasteurized pomegranate juices. *Food Chemistry*, 141, 1630-1636.
- Widjaja, R., Craske, J. D., & Wootton, M. (1996). Comparative studies on volatile components of non-fragrant and fragrant rices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70(2), 151-161.

- Yang, D. K., Lee, K. S., Jeong, O. Y., Kim, K. J., & Kays, S. J. (2008). Characterization of volatile aroma compounds in cooked black rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(1), 235-240.
- Zeng, Z., Zhang, H., Zhang, T., Tamogami, S., & Chen, J. Y. (2009). Analysis of flavor volatiles of glutinous rice during cooking by combined gas chromatography-mass spectrometry with modified headspace solid-phase microextraction method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 347-353.
- Zhang, S., Yang, R., Zhao, W., Hua, X., Zhang, W., & Zhang, Z. (2011). Influence of pulsed electric field treatments on the volatile compounds of milk in comparison with pasteurized processing. *Journal of Food Science*, 76(1), C127-C132.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ
อยู่ระหว่างพิจารณาผลงานเพื่อการตีพิมพ์ (under review) ในวารสารวิชาการ Food Chemistry (ภาคผนวกที่ 1)
2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
การใช้ประโยชน์เชิงวิชาการคือสร้างนักวิจัยใหม่ระดับปริญญาโทจำนวน 1 คน ได้แก่ นางสาวณัฐนิชา กุลนันทน์
3. อื่น ๆ
ผลงานวิจัยที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ (ภาคผนวกที่ 2):
Kullananant, N. & Lorjaroenphon, Y. Characterization of Riceberry aroma by gas chromatography-olfactometry and descriptive sensory analysis. *In* Proceedings of the 2016 International Conference on Engineering and Natural Science – Summer Session (ICENS-Summer 2016); Kyoto, Japan, 2016; pp 612-619.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1

บทความวิจัยที่อยู่ระหว่างพิจารณาผลงานเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

ชื่อวารสาร: Food Chemistry

(impact factor 5.399)

ชื่อเรื่อง: Riceberry odorant potency and ultrapasteurization effects on Riceberry beverage aroma

ชื่อผู้แต่ง: Natnicha Kullananant, Siree Chaiseri, and Yaowapa Lorjaroenphon*
(*Corresponding author)

สถานะ: ระหว่างการพิจารณาผลงานเพื่อการตีพิมพ์

Manuscript Number:

Title: Riceberry Odorant Potency and Ultrapasteurization Effects on Riceberry Beverage Aroma

Article Type: Research Article (max 7,500 words)

Keywords: flavor; aroma; Riceberry; ultrapasteurization; p-hydroxyphenylbutan-2-one (raspberry ketone)

Corresponding Author: Dr. Yaowapa Lorjaroenphon,

Corresponding Author's Institution: Kasetsart University

First Author: Natnicha Kullananant

Order of Authors: Natnicha Kullananant; Siree Chaiseri; Yaowapa Lorjaroenphon

Abstract: AEDA, OAV, and descriptive analysis were employed to qualify and quantify Riceberry aroma. Vanillin, guaiacol, 4-vinylguaiacol, and p-hydroxyphenylbutan-2-one were the main contributors in cooked Riceberry. Principal component analysis supported the conveyance of aroma-active compounds and characteristics of Riceberry parental lines. Vanillin, guaiacol, and p-hydroxyphenylbutan-2-one were also the potent odorants in Riceberry beverages treated by HTST pasteurization, ultrapasteurization (UP), and UHT commercial sterilization. Although the aroma profile of the UP sample differed slightly from that of HTST and UHT beverages, the FD chromatograms of UP and HTST samples were identical. Cluster analysis and R-index ranking further confirmed the similarities of these two pasteurized samples during storage. Certain off-aroma increases, particularly those of acetic acid, propanoic acid, butanoic acid, and indole, set apart UHT sample from others. UHT samples were also light in color and lower in anthocyanin content. The entirety of this research supported the commercialization of high quality UP products.

1 **Highlights**

- 2 • Riceberry aromas, especially raspberry ketone, are valuable for flavor creation.
- 3 • Riceberry aroma characteristics remain in ultrapasteurized (UP) beverage.
- 4 • UP surpasses UHT by extending shelf life with no noticeable off-odors.
- 5 • UP requires minimum modification beyond the commercial pasteurization process.

Riceberry Odorant Potency and Ultrapasteurization Effects on Riceberry Beverage

Aroma

Natnicha KULLANANANT^a, Siree CHAISERI^a, and Yaowapa LORJAROENPHON^a, *

Affiliations:

*^aDepartment of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart
University, 50 Ngamwongwan Road, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand*

****Corresponding author***

Yaowapa Lorjaroenphon
Phone: +66 2562 5020 ext. 5215
Fax: +66 2562 5021
Email: fagiyp1@ku.ac.th

Co-authors' email addresses

Natnicha Kullananant	Email: n.kullananant@gmail.com
Siree Chaiseri	Email: siree.c@ku.ac.th

Word count

4019

Abbreviated running title

Potent Odorants of Riceberry and Ultrapasteurized Riceberry Beverage

Abstract

AEDA, OAV, and descriptive analysis were employed to qualify and quantify Riceberry aroma. Vanillin, guaiacol, 4-vinylguaiacol, and *p*-hydroxyphenylbutan-2-one were the main contributors in cooked Riceberry. Principal component analysis supported the conveyance of aroma-active compounds and characteristics of Riceberry parental lines. Vanillin, guaiacol, and *p*-hydroxyphenylbutan-2-one were also the potent odorants in Riceberry beverages treated by HTST pasteurization, ultrapasteurization (UP), and UHT commercial sterilization. Although the aroma profile of the UP sample differed slightly from that of HTST and UHT beverages, the FD chromatograms of UP and HTST samples were identical. Cluster analysis and R-index ranking further confirmed the similarities of these two pasteurized samples during storage. Certain off-aroma increases, particularly those of acetic acid, propanoic acid, butanoic acid, and indole, set apart UHT sample from others. UHT samples were also light in color and lower in anthocyanin content. The entirety of this research supported the commercialization of high quality UP products.

Keywords: flavor; aroma; Riceberry; ultrapasteurization; *p*-hydroxyphenylbutan-2-one (raspberry ketone)

1. Introduction

Ultrapasteurization (UP) is a thermal process used worldwide which extends the refrigerated shelf life of non-acid liquid food. Heating conditions are similar to those of ultra-high temperature (UHT) but packing under the sterile condition is not required (Cornell University, 2007). Higher treatment temperatures extend storage times beyond that of conventional pasteurization but potentially alters certain physical, chemical and organoleptic product properties. Although 60-day UP 2% milk contained lipid oxidation volatiles (such as hexanal, octanal, and nonanal), panelists were unable to detect rancidity within samples (Solano-Lopez, Ji & Alvarez, 2005). Adults found UP milk acceptable, however children found it less appealing when compared to high temperature-short time (HTST) and UHT milk (Chapman & Boor, 2001). Panelists scored the cooked aroma of UP lactose-free milk higher than that of pasteurized regular milk (Adhikari, Dooley, Chambers IV & Bhumiratana, 2010). The viscosity of UP milk was also perceived to be higher than that of HTST milk (Chapman, Boor & Boor, 2001). A limitation of UP products is the requirement for refrigerated storage conditions compared to UHT samples. However, a lower temperature may prevent undesirable qualities. For example, vitamin degradation in refrigerated UP infant formula did not create off-taste compounds (Kamarei, 2001). Furthermore, the higher functional properties of proteins found in liquid whole eggs was maintained by UP but not UHT (Monfort, Sagarzazu, Condón, Raso & Álvarez, 2013). Despite aroma influencing consumer acceptability, limited research and published literature exists on the correlation between aroma component assessment and sensorial approach when comparing UP product samples with those of HTST and UHT.

Riceberry beverage was selected for study since rice beverages are becoming popular non-dairy alternatives for consumers who are lactose intolerant or allergic to soy. Non-dairy milk is available in supermarkets throughout the world currently enjoying dramatic sales

growth (Intel, 2018). Rice beverages are prepared from rice paddy (young rice or rice at milky stage), brown rice, germinated brown rice, milled rice, or rice flour. Flavor can be preserved by treating whole rice grain with a series of enzymes, including alpha-amylase and glucosidase and/or beta-amylase. Rice beverages from rice paddy are a good source of vitamins and minerals. Germinated brown rice is rich in gamma-aminobutyric acid (GABA). Although rice beverages are low fat, cholesterol-, and lactose-free, they provide less calcium and protein than dairy milk.

Riceberry is a dark purple cross-breed between Khao Dawk Mali 105 (Thai Hom Mali rice as maternal line) and Hom Nin (black rice as paternal line) offering high nutrition, tenderness, and palatability. Cooked Riceberry offers a unique color and pleasing aroma. Riceberry has become increasingly popular to health-conscious consumers. It is rich in anthocyanin, has powerful antioxidant activity, and even possesses chemopreventive properties (Leardkamolkarn, Thongthep, Suttiarporn, Kongkachuichai, Wongpornchai & Wanavijitr, 2011).

Despite Riceberry being more expensive than Jasmine rice and conventional white rice, consumer demand is increasing dramatically because of its health benefits and especially its unique organoleptic properties. Regarding the latter, flavor houses have been requested Riceberry flavoring for food manufacturing, however it is not yet commercially available. Moreover, no instrumental nor sensorial analysis studies exist regarding Riceberry aroma.

Various rice volatile aroma compounds studies have found, among other things, that freshly harvested rice contain substantially more volatiles than stored (Bryant & McClung, 2011). 2-Acetyl-1-pyrroline (2AP), (*E,E*)-2,4-decadienal, nonanal, hexanal, (*E*)-2-nonenal, octanal, decanal, 4-vinylguaiacol, and 4-vinylphenol had the greatest impact in Californian long-grain cooked rice (Buttery, Turnbaugh & Ling, 1988). 2-Amino acetophenone and 2AP were the most potent odorants in Malagkit Sungsong, Basmati 370, and Khaskhani brown

rice (Jezussek, Juliano & Schieberle, 2002), while 2AP and guaiacol had the greatest impact in cooked black aromatic rice (Yang, Lee, Jeong, Kim & Kays, 2008).

Therefore, this research used Riceberry, Khao Dawk Mali 105, and Hom Nin cooked rice for aroma compound analysis and sensory evaluation. This study also compared the impact of UP to that of HTST and UHT treatments on Riceberry beverage aroma.

2. Materials and Methods

2.1 Rice samples and sensory references

Rice Science Center, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus (Nakhon Pathom, Thailand) provided the unpolished Riceberry and Capital Rice Co., Ltd. (Samut Prakan, Thailand) supplied the parental lines (Khao Dawk Mali 105 and Hom Nin). Samples had been harvested and vacuum packed in 2017. Reference samples for sensory evaluation were purchased from a local supermarket.

2.2 Chemicals

Sigma-Aldrich (MO, USA) and Fluka (Steinheim, Switzerland) provided internal standard (2-methyl-3-heptanone), C₆-C₃₀ alkane standards, authentic standards (except 2AP) for positive identification, and reference anthocyanins. RCI Labscan (Dublin, Ireland) and Brightchem (Selangor, Malaysia) supplied high performance liquid chromatography (HPLC) grade solvents including diethyl ether, acetonitrile, and methanol. Ajax Finechem (Auckland, New Zealand) and Merck KGaA (Darmstadt, Germany) supplied sodium chloride (NaCl), anhydrous sodium sulfate (Na₂SO₄), and formic acid.

2.3 Cooked Riceberry in comparison with Khao Dawk Mali 105 and Hom Nin rice

2.3.1 Analysis of aroma-active compound

Rice samples (40 g) plus odorless-distilled water (65 mL) was cooked in a conventional rice cooker. The extraction process and gas chromatography (GC) method were modified from Lorjaroenphon and Cadwallader (2015). One hundred grams of cooked rice and 10 μ L of 2-methyl-3-heptanone (0.0106 g/10 mL in methanol) were ground in liquid nitrogen to prevent loss of volatiles. The sample with 10 g of NaCl was prepared in a 250-mL Teflon™ centrifuge bottle and extracted with 50 mL of diethyl ether. Extraction was repeated three times at 200 rpm for 30 min via automatic shaker. The combined extract was concentrated to 50 mL using a vigreux column at 43 °C followed by high-vacuum distillation at 10^{-5} torr as per Engel, Bahr and Schieberle (1999). Distillation occurred at room temperature (25 ± 2 °C) for 1 h and at 43 °C for another 1 h. Distillate was concentrated to 10 mL via vigreux column and dried over 1 g of anhydrous Na₂SO₄ before concentrating to 200 μ L.

Two microliters of aroma extract were injected via cool on-column technique (+3 °C oven tracking mode) into GC (Agilent Technologies, Inc., MA, USA) coupled with olfactometer (O) (DATU, Inc., NY, USA). The sample was separated on two capillary columns of different polarity including Stabilwax® (30 m \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μ m film thickness) (Restek Ltd., PA, USA) and Rxi®-5ms (30 m \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μ m film thickness) (Restek Ltd.) columns. Helium was used as a carrier gas at 2 mL/min. The initial oven temperature was 35 °C and held for 5 min. Temperature was increased at 10 °C/min to 225 °C for Stabilwax® column and at 6 °C/min to 250 °C for Rxi®-5ms column. The holding time of final temperature was 10 min. The aroma characteristics of the component was described by three trained assessors.

One microliter of extract was injected into GC coupled with a time-of-flight mass spectrometer (ToFMS) (LECO[®], MI, USA). The GC condition was similar to the GCO, except 1 mL/min helium flow and 4 °C/min increasing oven temperature. The electron impact energy was 70 eV and the range of scan was 30-300 m/Z.

Retention indices (RIs) from two different polarity columns, odor description, mass spectra (MS), and authentic standards were used to positively identify odorants. RI value was calculated from odorant retention time (RT) to RTs of alkane standards. Odorant RIs from two columns were compared to literature. Odorant MS was compared to the National Institute of Standards and Technology (NIST) Mass Spectral Library (version 2.0, 2011). Relative concentrations were calculated from the peak areas and response factors. The peak areas were integrated by LECO ChromaTOF[®] version 4.50.8.0 and the response factors were obtained from calibration curves.

The key odorant in cooked rice was determined via odor activity values (OAV) and aroma extract dilution analysis (AEDA). OAV followed Grosch (2001) by calculating the ratio between compound concentrations to its odor threshold in water obtained from literature. Odorants with an OAV greater than one was considered as aroma-active compound. AEDA was revealed using the same procedure as Schieberle (1995). Extract was diluted stepwise with diethyl ether in a series of 1:3. Each dilution was evaluated using GCO coupled with a Stabilwax[®] column as previously described. The highest dilution from three assessors of each odorant was expressed as a flavor dilution (FD) factor.

2.3.2 Evaluation of aroma characteristic

Sensory aroma profile of cooked rice was examined by descriptive analysis following the procedure of Meilgaard, Civille and Carr (2007). Ten graduate students (ages 23 to 28 years, 9 females and 1 male) comprised the test panel and underwent panel training for 40 h.

Panelists were asked to sniff various cooked rice samples, characterize aroma attributes, choose references, and rate intensity scores on 15-cm line scale (none to strong).

Twenty-five grams of warm cooked rice and references were prepared in 125-mL Teflon™ sniffing bottles (Thermo Scientific, MA, USA) and covered with aluminum foil. The rice samples were labeled with a three-digit random number code and served in a monadic sequential and balance order. The panelists evaluated samples in individual booths. Scores were expressed as average values and illustrated via radar chart.

2.4 UP Riceberry beverage in comparison with HTST and UHT treatments

2.4.1 Preparation and determination of quality property

Riceberry beverage preparation was adapted from Deeseenthum and Pejovic (2010). Seven kilograms of Riceberry with 70 L of water was boiled for 30 min. The supernatant was filtered through two layers of muslin cloth and rapidly cooled to 25 ± 2 °C in an ice bath to obtain the untreated sample. HTST, UP, and UHT were performed by UHT/HTST system (MicroThermics, NC, USA) at the certain temperature for a specific holding time. The conditions of HTST and UP treatments were 72°C for 15 s and 138°C for 2 s, respectively (FDA, 2015). The pasteurized samples were immediately hot-filled into previously pasteurized glass bottles under sanitized environment and rapidly cooled to 4 °C or below. HTST and UP samples were kept refrigerated (4 ± 2 °C) for two and four weeks, respectively. In terms of UHT commercial sterilization, the process temperature of 140°C for 4 s was suggested by Cornell University (2007). After heating and fast cooling, the sample was aseptically filled in pre-sterilized bottles and hermetically sealed. The UHT beverage was stored at room temperature (25 ± 2 °C) for four weeks.

FDA Bacteriological Analytical Manual (FDA-BAM) regulations were referenced to examine *Bacillus cereus* (Tallent, Rhodehamel, Harmon & Bennett, 2012), coliform bacteria

(Feng, Weagant, Grant & Burkhardt, 2002), total microbial (Maturin & Peeler, 2001), yeast, and mold (Tournas, Stack, Mislivec, Koch & Bandler, 2001) in all samples. Sample appearance was observed and CIE L*, a*, b* values were determined. Anthocyanins were identified in Riceberry beverages using the method employed by Pothinuch, Miyamoto, Nguyen and Tongchitpakdee (2017) with modifications. One hundred fifty milliliters of sample were filtered through Whatman No. 4 filter paper (GH Healthcare Bio-Science, Uppsala, Sweden) and concentrated to 10 mL by high-vacuum distillation. Residual particles were eliminated from the supernatant via micro refrigerated centrifuge and then filtered through a 0.45 µm-pore size nylon membrane filter (Sartorius, Hannover, Germany). The analysis was performed on HPLC equipped with a photodiode array (PDA) detector (Waters, MA, USA). The sample injection volume was 20 mL and the mobile phase flow rate on a Symmetry[®] C18 column (Waters) (5 µm, 4.6 mm × 250 mm) was 1.0 mL/min. The mobile phases were 100% acetonitrile (A) and 1% formic acid in water (v/v) (B) with the following gradient: 5-10% A for 5 min, 10-15% A for 5 min, 15-25% A for 20 min, 25-50% A for 10 min, 50-5% A for 5 min, and held 5% A for 5 min. Anthocyanin was scanned at 200-500 nm wavelength and identification was based on RT, ultraviolet (UV) spectrum, and reference standard. The content of anthocyanin was quantified with the external standard.

2.4.2 Investigation of aroma component and characteristic

Riceberry beverage aroma based on OAV calculation, AEDA technique, and sensory evaluation was performed as previously described. One hundred milliliters of beverage sample was solvent-extracted directly, distilled, and concentrated before injection into the GCO and GC-ToFMS. Descriptive aroma analysis of 25-mL Riceberry beverage was evaluated by 12 trained panelists (23 to 28 years, 8 females and 4 males).

Stored samples underwent additional sensory analysis. The R-index ranking test followed the method from Lorjaroenphon and Cadwallader (2015). HTST, UP, and UHT sniffing bottles were labeled with a three-digit code while another bottle of HTST Riceberry beverage acted as control. The control and three test samples were presented to panelists ($n = 38$) (23 to 34 years, 33 females and 5 males). Panelists evaluated the control and followed by the test samples in a randomized and balanced serving order. They were asked to rank test samples based on the degree of difference from the control. R-index values were estimated as the percentage of times in which test samples were ranked less similar to the blind control via the John Brown computation (O'Mahony, 1992).

2.5 Statistical analysis

Physical and chemical properties were subjected to analysis of variance (ANOVA) testing using a completely randomized design (CRD) with three independent replications, except for the duplication of anthocyanin. Significant differences among mean values were applied using Duncan's new multiple range test at 95% confidence interval by SPSS program (IBM, NY, USA). Relationships between aroma-active compounds and aroma attributes in cooked rice cultivars were explained by principal component analysis (PCA) using XLSTAT software (Addinsoft SARL, NY, USA). Grouping untreated, HTST, UP, and UHT sample sets during storage were expressed by agglomerative hierarchical clustering (AHC) using XLSTAT software.

The experimental design of sensory evaluation [approved by the Kasetsart University Research Ethics Committees (code no. COE59/005)] was a randomized complete block design (RCBD) with panelists serving as a block. The mean comparison was performed in the same manner. The R-index 50% for the two-tailed test was analyzed at $\alpha = 0.05$.

3. Results and Discussion

3.1 Cooked Riceberry rice

Aroma characteristics of Riceberry, Khao Dawk Mali 105, and Hom Nin were specified by sensorial and instrumental analyses. Forty two odorants, comprised of acids, alcohols, aldehydes, ketones, lactones, phenols, terpenes, and nitrogen- and sulfur-containing compounds, were found in cooked rice. Among them, aldehydes provide the dominant aroma. These aldehydes were lipid oxidation products derived from unsaturated fatty acids, especially linoleic and oleic acids. These two fatty acids represented more than 70% of the total Riceberry fatty acids (Luang-In, Yotchaisarn, Somboonwatthanakul & Deeseenthum, 2018), Hom Nin, and Khao Dawk Mali 105 (Mingyai, Kettawan, Srikaeo & Singanusong, 2017). Shin, Yoon, Rhee and Kwon (1986) revealed the linear proportional relationship between *n*-hexanal and linoleic acid contents in Indica/Japonica brown rice. Free fatty acid oxidation in rice is possible throughout any of the various stages (including harvesting, storage, and cooking) possibly resulting in an abundance of aldehydes. Hexanal, a lipid oxidation marker in rice, was the primary aldehyde in all three types of cooked rice. Among the rice cultivars, Riceberry had the lowest hexanal content, followed by Khao Dawk Mali 105 and lastly Hom Nin, possibly due to the presence of antioxidants. Free fatty acid oxidation can be accelerated by iron found in rice bran. This reaction, however, is prevented by anthocyanin in colored rice. Although Riceberry contained twice the iron of Hom Nin (Ariyatanakatawong & Boonsirichai, 2016), total phenolic content and antioxidant activity remained higher (Daiponmak, Senakun & Siriamornpun, 2014).

Aroma-active compounds in cooked Riceberry along with Riceberry parental lines were examined based on OAV calculation and FD factor. Vanillin (vanilla note), guaiacol (smoky note), 4-vinylguaiacol (clove, spicy, smoky note), and the *p*-hydroxyphenylbutan-2-one (raspberry ketone) (sweet, candy, fruity, berry note) were the main aroma contributors in

Riceberry and Hom Nin (Table 1). However, 2AP (pandan, sweet note), one of the key odorants in Khao Dawk Mali 105, was not classified as a potent in Riceberry. Interestingly, the high odor potency of vanillin in Khao Dawk Mali 105 was stated in this experiment.

Guaiacol and 4-vinylguaiacol were also mentioned for their impact in other dark colored rice varieties, such as black glutinous rice (Ajarayasiri & Chaiseri, 2008) and Korean black rice (Yang et al., 2008). The three phenol aroma contributors (vanillin, guaiacol, and 4-vinylguaiacol) in Riceberry might be generated from ferulic acid degradation. Fiddler, Parker, Wasserman and Doerr (2010) studied the chemical reaction of this phenolic acid. Ferulic acid was decarboxylated to form 4-vinylguaiacol and then oxidized to form vanillin. Guaiacol was further generated from vanillin via a series of reactions including oxidation and decarboxylation.

Most importantly, this was the first time raspberry ketone was reported in rice samples. It was considered the prominent aroma of raspberry fruit (Larsen & Poll, 1990) and was derived from the phenylpropanoid pathway (Beekwilder et al., 2007). The conversion of phenylalanine or tyrosine to *p*-coumaric acid was initiation step which then transformed to *p*-coumaroyl-CoA by coumarate-CoA ligase. The enzyme-catalyzed condensation reaction between *p*-coumaroyl-CoA and one molecule of malonyl-CoA formed *p*-hydroxyphenylbut-3-ene-2-one (benzalacetone). This ketone was further catalyzed by benzalacetone reductase to yield raspberry ketone. The existence of raspberry ketone in Riceberry and Hom Nin was confirmed by the high anthocyanin content. This anthocyanin pigment was also generated through the phenylpropanoid pathway (Beekwilder et al., 2007) starting with *p*-coumaroyl-CoA enzymatic condensation with three malonyl-CoA molecules. The intermediate, naringenin chalcone, was then converted to anthocyanin.

Beyond chemical analysis, trained descriptive panelists detected six rice aroma attributes. The relationship between aroma-active compounds and odor attributes were

elucidated via PCA biplot (Figure 1). The result of PC1 (54.07%) and PC2 (45.93%) supported the genealogy of Riceberry from Hom Nin and Khao Dawk Mali 105. It also revealed a high correlation between instrumental and sensory analyses. For example, 2AP was associated with the major aroma attribute of Khao Dawk Mali 105, namely cereal note ($r = 0.959$). This agreed with literature which showed 2AP as a character note of Khao Dawk Mali 105 (Buttery, Ling, Juliano & Turnbaugh, 1983). Furthermore, raspberry ketone correlated with dark grain note ($r = 0.833$) which was the main aroma of Riceberry and Hom Nin. This correlation indicated that raspberry ketone was one of the character impact odorants of these two colored rice species.

3.2 UP Riceberry beverage

Based on the most common pathogen and spoilage microorganism, UP condition rendered adequate microbiological safety as did HTST and UHT treatments in this study. The *Bacillus cereus* count in treated samples was less than 1 cfu/mL. *B. cereus* was chosen as a microbiological safety indicator in Riceberry beverage for its propensity for rice contamination. Coliform bacteria levels (<1.1 MPN/100 mL) guaranteed hygienic conditions during processing and post-processing handling. Yeast and mold were also undetectable (<1 cfu/mL est.) in treated samples. The total plate count of HTST Riceberry beverage was 2 cfu/mL, while the values for the UP and UHT samples were less than 1 cfu/mL. It should be noted that UP is very near but not completely sterile (Cornell University, 2007). Additionally, total soluble solids, pH, and viscosity for all heat treatments were similar to untreated Riceberry beverage (data not shown).

Notably, the paler color of UHT Riceberry beverage was distinguishable from the other beverages with the naked eye. The higher L^* value and the least anthocyanin (Table 2) confirmed this appearance. Cyanidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside were the major

monomeric anthocyanins in Riceberry beverage and decreased dramatically after UHT processing (Table 2). Excess heat caused monomeric anthocyanin loss which then changed into polymeric form. Anthocyanin polymerization was reported in Roselle extract when heated to high temperatures (Sinela, Rawat, Mertz, Achir, Fulcrand & Dornier, 2017). However, an increase in monomeric anthocyanin was observed in HTST samples compared to the untreated samples possibly due to the conversion from a colorless co-pigment during mild heat treatments. Vegara, Mena, Martí, Saura and Valero (2013) reported a change in low heat treated pomegranate juice from having a colorless co-pigment to a free monomeric anthocyanin. Hydrolysis of the bound form to free form might also be a reason for this change. Anthocyanin in Riceberry is mostly bound to carbohydrates and moderate temperatures may accelerate the release of free anthocyanin. Nonetheless, the proportion of cyanidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside in cooked Riceberry (Leardkamolkarn et al., 2011) and in Riceberry beverage were the same.

The aroma of Riceberry beverage was further evaluated by descriptive trained panelists. The character notes were similar to that of cooked Riceberry with three additional attributes including prune, toasted, and cooked. These extra terms were considered as process flavors. Treated and untreated samples had similar aroma profiles (Figure 2). Cereal and dark grain, the leading notes in Riceberry, were the major aspects for all beverages. In comparison with UP treatment, musty and hay were less intense in HTST and UHT samples, respectively. Therefore, the contribution of aroma-active compounds to aroma perception was investigated in-depth.

Riceberry beverage flavor dilution (FD) chromatograms obtained from the AEDA technique are presented in Figure 2. Samples had the same aroma-active compounds at different FD factors. Guaiacol, vanillin, and raspberry ketone were the most potent odorants in treated Riceberry beverages. This was in consistency with the high potency in cooked

Riceberry. Untreated Riceberry beverage had the greatest guaiacol potency as well. Results revealed that guaiacol stability could be maintained under heat treatment. Czégény et al. (2016) reported steady guaiacol content during tobacco heating simulations at 300 °C. On the other hand, vanillin concentrations increased with processing temperature due to the high development rate of the Maillard reaction. Increasing the temperature 10 °C doubled or tripled the Maillard reaction rate (Feather & Mossine, 1997).

Considering the FD factors, UP sample aromagrams were similar to that of untreated and HTST treatments. However, acetic (sour, vinegar note), butanoic (rancid, sweaty note), and 3-methylbutanoic (rancid, sweaty note) acids became more potent in UHT samples due to primary metabolite thermal degradation. Carboxylic acid can be formed from monosaccharides, fatty acids, or amino acids. Acetic acid was one product of the Maillard reaction from pentose. Butanoic acid was a lipid oxidation product while 3-methylbutanoic acid was generated from amino acid.

Changes in the Riceberry beverage aroma during storage were also investigated. UP liquid food generally has a 30-90 day refrigerated shelf life, while that of HTST food is around 12-21 days (Cornell University, 2007). Regarding food safety concern, microbiological result for 2-week HTST and 4-week UP Riceberry beverages proved harmless for human consumption (data not shown). Odorant alterations during storage is illustrated by heat map along with cluster analysis (Figure 3) based on variation of contents. The results indicated that UP beverage was together with HTST sample. Unfortunately, UHT Riceberry beverage was in the other group. Overall aroma of Riceberry beverage, as indicated by R-index ranking, also confirmed GC analysis results. Stored UP and HTST samples were ranked similarly, while the UHT Riceberry beverage differed significantly (Table 3). The HTST treatment was chosen as the benchmark due to consumer preference of pasteurization to sterilization.

Insights into differences of UHT Riceberry beverage from other treatments were gained through considering temporal fluctuations in individual aroma compounds. Although UHT samples showed high raspberry ketone content, acetic acid concentrations in UHT samples were the dominant odorant from initial storage until four weeks (Figure 3). Propanoic acid (rancid note) as a result of sucrose thermal degradation was also present in high amounts. Moreover, the UHT process could induce indole (stinky, barny note) formation. A high abundance of these undesirable aromas underscored the limitations of using UHT treatment in Riceberry beverage.

4. Conclusions

Riceberry beverage quality is a function of thermal conditions. The UP process successfully extends shelf life without additional off-odor from HTST treatment. These advantages foster commercial exploitation and may help global food security. UP production with minimal modification of HTST process can improve economic interests of small-scale food producer as well. In contrast, the UHT process causes some off-aroma, an important consequence of which the food industry should be aware. Additionally, the information on aroma-active compounds, especially high potency of vanillin, guaiacol, 4-vinylguaiacol, and raspberry ketone in Riceberry could be considered as its fingerprint. It is essential for flavor creation which is highly on-demand in many products. Moreover, raspberry ketone is the new scientific finding in Riceberry which is necessary for breeding approach to improve rice quality. It may also provide the biomarker for grading/pricing standard and it is the first step for further identification of adulteration indicator. Aroma characteristic of Riceberry and its origin could crucial drive an impact on consumer's purchase intent.

389 **Acknowledgements**

390 This research was financially supported by the Thailand Research Fund (TRF) under
391 grant number MRG6080187. The authors thank Assoc. Prof. Parichat Hongsprabhas, Ph.D.
392 and Asst. Prof. Sasitorn Tongchitpakdee, Ph.D. for their assistance of UP processing.

393

394 **Conflict of interest**

395 The authors declare no conflict of interest.

396

References

- Adhikari, K., Dooley, L. M., Chambers IV, E., & Bhumiratana, N. (2010). Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the United States. *LWT- Food Science and Technology*, *43*, 113-118.
- Ajarayasiri, J., & Chaiseri, S. (2008). Comparative study on aroma-active compounds in Thai, black and white glutinous rice varieties. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, *42*, 715-722.
- Ariyatanakatawong, P., & Boonsirichai, K. (2016). The iron content of traditional and purple Thai rice varieties under acid-soil condition. *International Journal of Management and Applied Science*, *2*(3), 135-138.
- Beekwilder, J., van der Meer, I. M., Sibbesen, O., Broekgaarden, M., Qvist, I., Mikkelsen, J. D., & Hall, R. D. (2007). Microbial production of natural raspberry ketone. *Biotechnology Journal*, *2*(10), 1270-1279.
- Bryant, R. J., & McClung, A. M. (2011). Volatile profiles of aromatic and non-aromatic rice cultivars using SPME/GC-MS. *Food Chemistry*, *124*, 501-503.
- Buttery, R. G., Ling, L. C., Juliano, B. O., & Turnbaugh, J. G. (1983). Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *31*(4), 823-826.
- Buttery, R. G., Turnbaugh, J. G., & Ling, L. C. (1988). Contribution of volatiles to rice aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *36*, 1006-1009.
- Chapman, K. W., & Boor, H. T. (2001). Acceptance of 2% ultra-pasteurized milk by consumers, 6 to 11 years old. *Journal of Dairy Science*, *84*, 951-954.
- Chapman, K. W., Boor, H. T., & Boor, K. J. (2001). Quantitative descriptive analysis and principal component analysis for sensory characterization of ultrapasteurized milk. *Journal of Dairy Science*, *84*(1), 12-20.

- 421 Cornell University. Pasteurized versus ultra-pasteurized milk-Why such long sell-by dates?
 422 (2007).
 423 <https://foodsafety.foodscience.cornell.edu/sites/foodsafety.foodscience.cornell.edu/files/shared/documents/CU-DFSscience-Notes-Milk-Pasteurization-UltraP-10-10.pdf>.
 424
 425 Accessed 15 July 2019.
- 426 Czégény, Z., Bozi, J., Sebestyén, Z., Blazsó, M., Jakab, E., Barta-Rajnai, E., Forster, M.,
 427 Nicol, J., McAdam, K. G., & Liu, C. (2016). Thermal behaviour of selected flavour
 428 ingredients and additives under simulated cigarette combustion and tobacco heating
 429 conditions. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 121, 190-204.
- 430 Daiponmak, W., Senakun, C., & Siriamornpun, S. (2014). Antiglycation capacity and
 431 antioxidant activities of different pigmented Thai rice. *International Journal of Food*
 432 *Science and Technology*, 49, 1805-1810.
- 433 Deeseenthum, S., & Pejovic, J. (2010). Bacterial inhibition and antioxidant activity of kefir
 434 produced from Thai jasmine rice milk. *Biotechnology*, 9(3), 332-337.
- 435 Engel, W., Bahr, W., & Schieberle, P. (1999). Solvent assisted flavour evaporation-a new and
 436 versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from
 437 complex food matrices. *European Food Research and Technology*, 209, 237-241.
- 438 FDA. 21 CFR 131.3. (2015). https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=7e8aaa2ec336d46bf7dd0665814e130f&mc=true&node=se21.2.131_13&rgn=div8.
 439
 440 Accessed 15 July 2019.
- 441 Feather, M. S., & Mossine, V. V. (1997). The Maillard reaction: Consequences for the
 442 chemical and life sciences. *Journal of the American Chemical Society*, 119(45),
 443 11134-11136.
- 444 Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A., & Burkhardt, W. BAM 4: Enumeration of
 445 *Escherichia coli* and the coliform bacteria. (2002).

<https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm064948.htm>.

Accessed 15 July 2019.

Fiddler, W., Parker, W. E., Wasserman, A. E., & Doerr, R. C. (2010). Thermal decomposition of ferulic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 15(5), 757-761.

Grosch, W. (2001). Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chemical Senses*, 26, 533-545.

Jezussek, M., Juliano, B. O., & Schieberle, P. (2002). Comparison of key aroma compounds in cooked brown rice varieties based on aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1101-1105.

Kamarei, A. R. US Patent No. US 6194009 B1. (2001).

<https://app.dimensions.ai/details/patent/US-6194009-B1>. Accessed 15 July 2019.

Larsen, M., & Poll, L. (1990). Odour thresholds of some important aroma compounds in raspberries. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung*, 191, 129-131.

Leardkamolkarn, V., Thongthep, W., Suttiarporn, P., Kongkachuichai, R., Wongpornchai, S., & Wanavijitr, A. (2011). Chemopreventive properties of the bran extracted from a newly-developed Thai rice: the Riceberry. *Food Chemistry*, 125, 978-985.

Lorjaroenphon, Y., & Cadwallader, K. R. (2015). Characterization of typical aroma compounds in cola-flavored carbonated beverages by aroma extract dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 769-775.

Luang-In, V., Yotchaisarn, M., Somboonwatthanakul, I., & Deeseenthum, S. (2018). Bioactivities of organic riceberry broken rice and crude riceberry rice oil. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(3), 161-168.

- 470 Maturin, L., & Peeler, J. T. BAM: Aerobic Plate Count. (2001).
471 <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063346.htm>.
472 Accessed 15 July 2019.
- 473 Meilgaard, M. C., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2007). *Sensory evaluation techniques* (4th
474 ed.). Boca Raton, FL: CRC Press.
- 475 Mingyai, S., Kettawan, A., Srikaeo, K., & Singanusong, R. (2017). Physicochemical and
476 antioxidant properties of rice bran oils produced from colored rice using different
477 extraction methods. *Journal of Oleo Science*, 66(6), 565-572.
- 478 Mintel. US non-dairy milk sales grow 61% over the last five years. (2018).
479 [https://www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/us-non-dairy-milk-sales-grow-](https://www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/us-non-dairy-milk-sales-grow-61-over-the-last-five-years)
480 [61-over-the-last-five-years](https://www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/us-non-dairy-milk-sales-grow-61-over-the-last-five-years). Accessed 15 July 2019.
- 481 Monfort, S., Sagarzazu, N., Condón, S., Raso, J., & Álvarez, I. (2013). Liquid whole egg
482 ultrapasteurization by combination of PEF, heat, and additives. *Food and Bioprocess*
483 *Technology*, 6, 2070-2080.
- 484 O'Mahony, M. (1992). Understanding discrimination tests: a user-friendly treatment of
485 response bias, rating and ranking R-index tests and their relationship to signal
486 detection. *Journal of Sensory Studies*, 7, 1-47.
- 487 Pothinuch, P., Miyamoto, A., Nguyen, H. T. T., & Tongchitpakdee, S. (2017). Vasodilatory
488 effects of mulberry (*Morus* spp.) leaf extract on porcine cerebral arteries in vitro:
489 Possible underlying mechanisms. *Journal of Functional Foods*, 38, 151-159.
- 490 Schieberle, P. (1995). New developments in methods for analysis of volatile flavor
491 compounds and their precursors. In A. G. Gaonkar (Ed.), *Characterization of food:*
492 *emerging methods* (pp. 403-431). Amsterdam, the Netherlands: Elsevier Science.

- 493 Shin, M. G., Yoon, S. H., Rhee, J. S., & Kwon, T. W. (1986). Correlation between oxidative
494 deterioration of unsaturated lipid and n-hexanal during storage of brown rice. *Journal*
495 *of Food Science*, 51(2), 460-463.
- 496 Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., & Dornier, M. (2017).
497 Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and
498 evolution of its degradation products. *Food Chemistry*, 214, 234-241.
- 499 Solano-Lopez, C. E., Ji, T., & Alvarez, V. B. (2005). Volatile compounds and chemical
500 changes in ultrapasteurized milk packaged in polyethylene terephthalate containers.
501 *Journal of Food Science*, 70, 407-412.
- 502 Tallent, S. M., Rhodehamel, E. J., Harmon, S. M., & Bennett, R. W. BAM: *Bacillus cereus*.
503 (2012).
504 <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm070875.htm>.
505 Accessed 15 July 2019.
- 506 Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Koch, H. A., & Bandler, R. BAM: Yeasts, molds
507 and mycotoxins. (2001).
508 <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm071435.htm>.
509 Accessed 15 July 2019.
- 510 Vegara, S., Mena, P., Martí, N., Saura, D., & Valero, M. (2013). Approaches to
511 understanding the contribution of anthocyanins to the antioxidant capacity of
512 pasteurized pomegranate juices. *Food Chemistry*, 141, 1630-1636.
- 513 Yang, D. K., Lee, K. S., Jeong, O. Y., Kim, K. J., & Kays, S. J. (2008). Characterization of
514 volatile aroma compounds in cooked black rice. *Journal of Agricultural and Food*
515 *Chemistry*, 56(1), 235-240.
- 516

517 **Figure captions**

518 **Figure 1.** Principle component analysis (PCA) biplot of aroma-active compounds and aroma
519 attributes in cooked Riceberry, Khao Dawk Mali 105, and Hom Nin rice

520

521 **Figure 2.** Aroma profiles and flavor dilution (FD) chromatograms of (a) untreated, (b)
522 HTST, (c) UP, and (d) UHT Riceberry beverages

523

524 **Figure 3.** Cluster heat map of odorant concentrations in Riceberry beverages during storage

525

526 **List of tables**

527 **Table 1.** Aroma-active compounds which OAV >1 in cooked Riceberry (RB), Hom Nin
528 (HN), and Khao Dawk Mali 105 (KM) rice

529

530 **Table 2.** Color and anthocyanin contents in Riceberry beverages

531

532 **Table 3.** John Brown's R-index values (%) of UP and UHT Riceberry beverages compared
533 to HTST Riceberry beverage during storage for 1 and 2 weeks

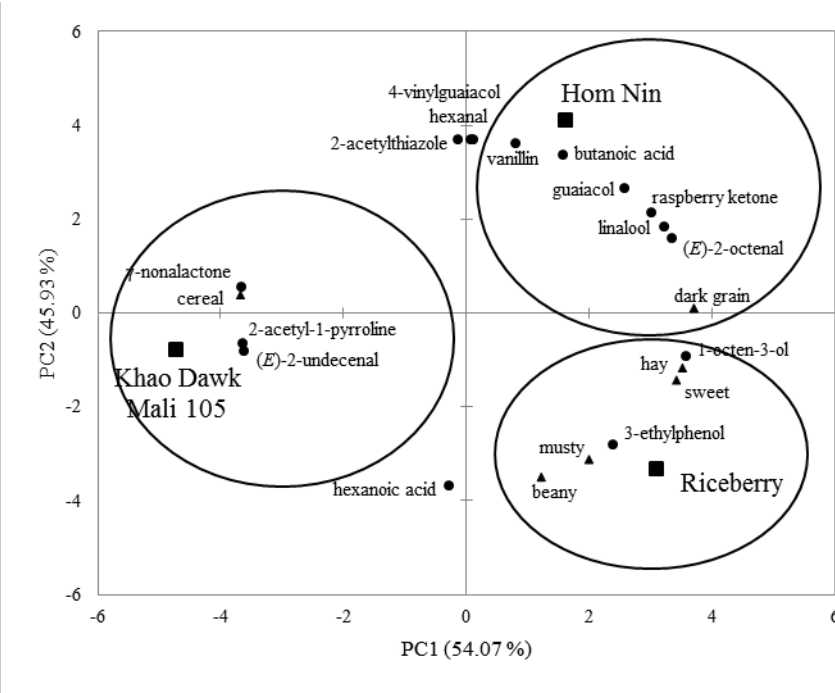


Figure 1. Principle component analysis (PCA) biplot of aroma-active compounds and aroma attributes in cooked Riceberry, Khao Dawk Mali 105, and Hom Nin rice

The aroma lexicon (definition; reference) included sweet (aromatic associated with syrup; genmai flavored Japanese green tea), hay (aromatic associated with dried grass or rice husk; rice husk), musty (aromatic associated with closed air space or raw potato; fresh potato), cereal (aromatic associated with cooked new crop cereal; instant congee), dark grain (aromatic associated with dark grain or black rice; black sticky rice), and beany (aromatic associated with soybean or pea; soy milk).

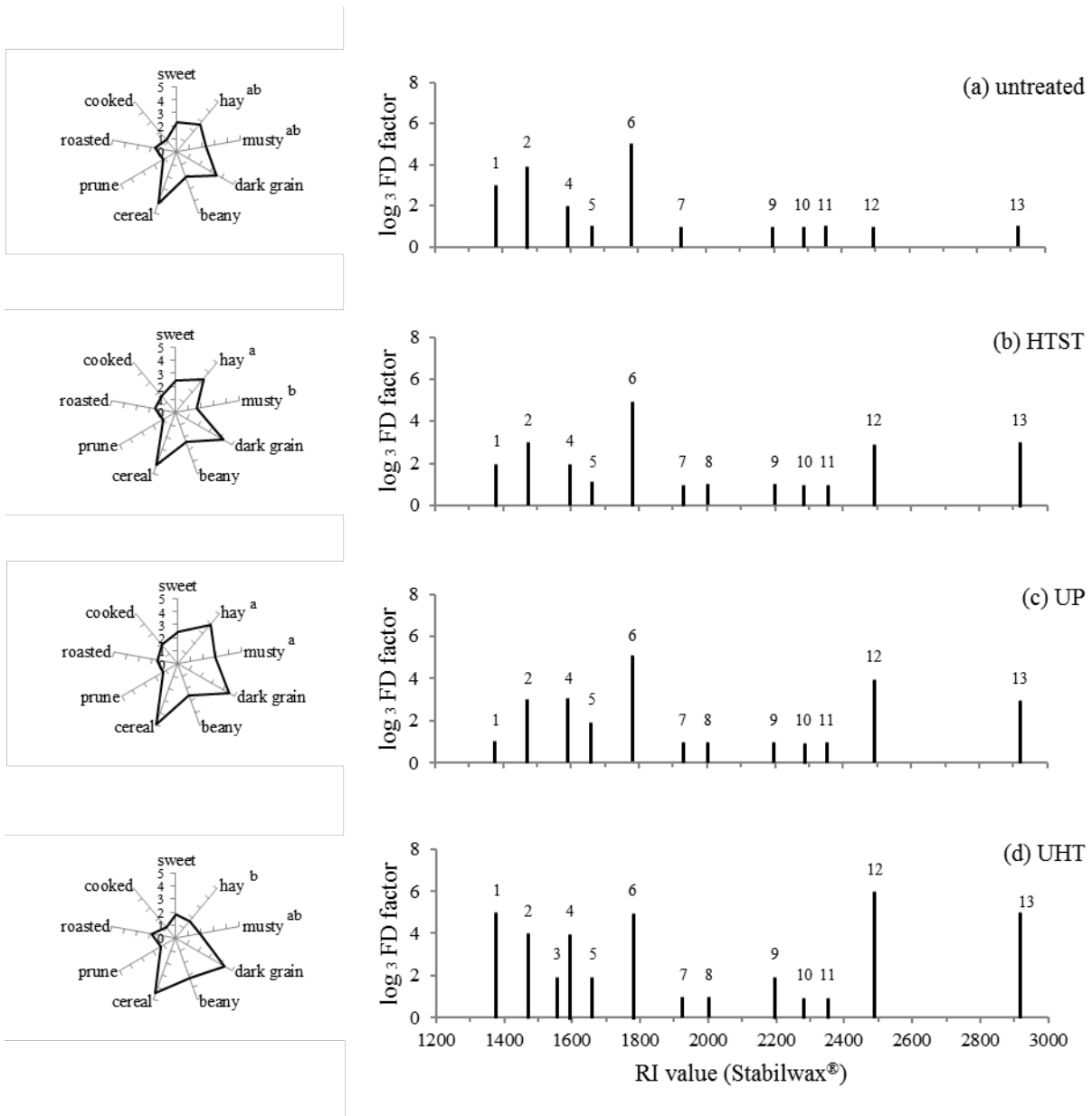
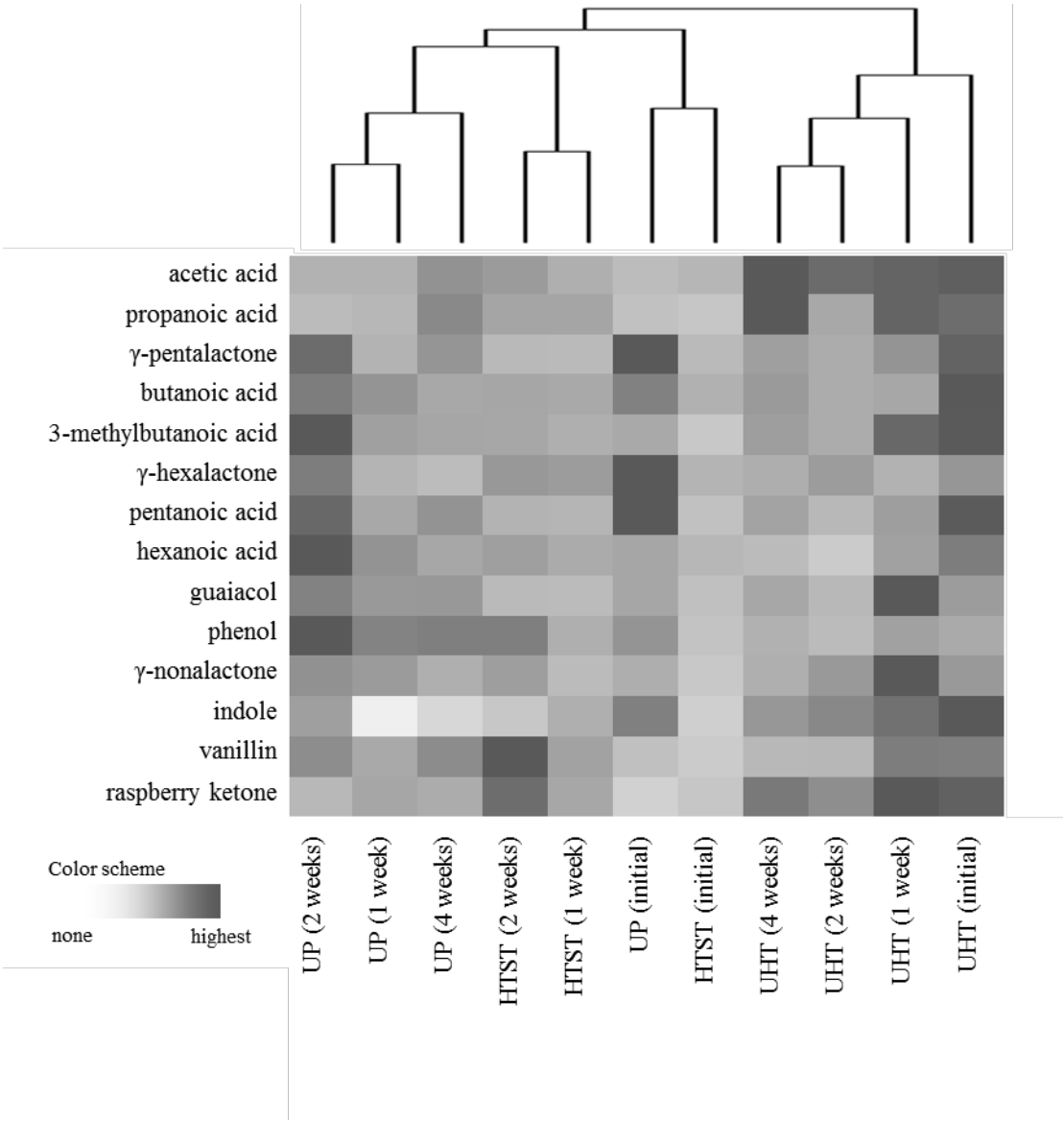


Figure 2. Aroma profiles and flavor dilution (FD) chromatograms of (a) untreated, (b) HTST, (c) UP, and (d) UHT Riceberry beverages

Apart from Figure 1, the additional aroma terms (definition; reference) were prune (aromatic associated with dried plum; prune essence concentrate), toasted (aromatic associated with outside crust of bread; ground roasted rice), and cooked (aromatic associated with sterilized milk; sterilized milk).

Terms followed by different superscripts are significantly different ($p \leq 0.05$).

- 10 *Key odorants were ¹acetic acid, ²propanoic acid, ³butanoic acid, ⁴3-methylbutanoic acid,*
- 11 *⁵pentanoic acid, ⁶guaiacol, ⁷phenol, ⁸p-cresol, ⁹4-vinylguaiacol, ¹⁰syringol, ¹¹indole,*
- 12 *¹²vanillin, and ¹³raspberry ketone.*



1

2 **Figure 3.** Cluster heat map of odorant concentrations in Riceberry beverages during storage

1 **Table 1.** Aroma-active compounds which OAV >1 in cooked Riceberry (RB), Hom Nin (HN), and Khao Dawk Mali 105 (KM) rice

Odorant	Retention index		Odor description	Odor threshold ^a (ng/g)	OAV			FD factor		
	Stabilwax [®]	Rxi [®] -5ms			RB	HN	KM	RB	HN	KM
hexanal	1062	801	green	5 ^b	27	70	41	3	81	3
2-acetyl-1-pyrroline	1324	932	pandan, sweet	0.1 ^b	<1	<1	494	3	3	2,187
(<i>E</i>)-2-octenal	1406	1062	green, fatty	3 ^b	3	3	-	1	1	-
1-octen-3-ol	1421	986	mushroom	1 ^b	15	13	11	3	3	1
linalool	1541	1109	floral	6 ^c	4	6	<1	1	1	1
butanoic acid	1581	812	rancid, sweaty	240 ^d	2	7	1	3	27	3
2-acetylthiazole	1634	1024	nutty	10 ^e	<1	2	1	3	27	3
(<i>E</i>)-2-undecenal	1782	1357	green	1.4 ^f	27	25	65	243	243	729
hexanoic acid	1841	1053	sweaty	3,000 ^b	3	1	2	1	-	-
guaiacol	1843	1091	smoky	3 ^b	34	74	0	6,561	6,561	27
γ-nonalactone	2029	1371	coconut, sweet	9.7 ^g	7	7	7	81	81	243
3-ethylphenol	2178	1164	musty, barny	1.4 ^f	4	<1	<1	729	81	1
4-vinylguaiacol	2185	1312	clove, spicy,	3 ^h	57	273	127	81	729	243

			smoky							
vanillin	2542	1404	vanilla	20 ^h	130	590	192	6,561	19,683	6,561
<i>p</i> -	2978	1516	sweet, candy,	10 ⁱ	<1	2	-	2,187	19,683	-
hydroxyphenylbutan-			fruity, berry							
2-one (raspberry										
ketone)										

- 2 ^aOdor threshold in water obtained from the literatures: ^bJ. Agric. Food Chem., 36, 1006-1009 (1988); ^cJ. Agric. Food Chem., 35, 1039-1042
- 3 (1987); ^dJ. Agric. Food Chem., 46, 2764-2769 (1998); ^eJ. Agric. Food Chem., 42, 791-795 (1994); ^fEur. Food Res. Technol., 228, 265-273
- 4 (2008); ^gJ. Agric. Food Chem., 61, 3804-3813 (2013); ^hJ. Agric. Food Chem., 47, 4353-4356 (1999); ⁱZ. Lebensm. Unters. Forsch., 191, 129-131
- 5 (1990).

1 **Table 2.** Color and anthocyanin contents in Riceberry beverages

Property	untreated	HTST	UP	UHT
<i>Color</i>				
L*	6.77 ± 0.55 b	6.56 ± 0.57 b	6.85 ± 1.48 b	9.08 ± 0.39 a
a* ^{NS}	3.45 ± 0.87	3.54 ± 0.91	3.57 ± 0.24	4.69 ± 0.20
b* ^{NS}	0.98 ± 0.47	1.51 ± 0.89	1.15 ± 0.73	1.23 ± 0.31
<i>Anthocyanin (µg/mL)</i>				
cyanidin-3-glucoside	2.62 ± 0.08 b	3.79 ± 0.06 a	0.89 ± 0.12 c	0.58 ± 0.05 d
peonidin-3-glucoside	1.48 ± 0.14 b	1.94 ± 0.05 a	0.48 ± 0.07 c	0.37 ± 0.00 c

2 Means ± standard deviation within the same row followed by different letters are

3 significantly different ($p \leq 0.05$). ^{NS} means no significant difference.

1 **Table 3.** John Brown's R-index values (%) of UP and UHT Riceberry beverages compared
2 to HTST Riceberry beverage during storage for 1 and 2 weeks

Treatment	1-week	2-week
UP	39.47	62.50
UHT	76.32 ^a	81.25 ^a

3 The critical value at $\alpha = 0.05$ (two-tailed test) and $n = 38$ is 15.33. ^aValue higher than 65.33
4 shows significantly different.

1 **Declaration of interests**

2

3 ☒ The authors declare that they have no known competing financial interests or personal
4 relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

5

6 ☐ The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be
7 considered as potential competing interests:

8

ภาคผนวกที่ 2

ผลงานวิจัยที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

Kullananant, N. & Lorjaroenphon, Y. Characterization of Riceberry aroma by gas chromatography-olfactometry and descriptive sensory analysis. *In* Proceedings of the 2016 International Conference on Engineering and Natural Science – Summer Session (ICENS-Summer 2016); Kyoto, Japan, 2016; pp 612-619.

ICENS-Summer 2016

2016 International Conference on Engineering and
Natural Science – Summer Session

International Community House, Kyoto, Japan
July 12-14, 2016

Conference Program

Conference Organizers

Chiba Institute of Technology, Japan
Kwansei Gakuin University, Japan
Tamkang University, Taiwan
University of North Dakota, USA

Conference Sponsors

Kwansei Gakuin University, Japan
Kyoto City Government, Japan

Proceedings of the International Conference on Engineering and Natural Science,
ISSN 2313-7827, published by International Business Academics Consortium (iBAC).

Phetchaburi Brown Rice

Poonsiri Thipnate, Sukhonta Sukhonthara, Saovaluck Intarapong, Thitima Shauykrajang 603

Full Area Mosaic Imaging Techniques for Analysis of Microscopic Targets

Leithe Budel, Karima Djabali 609

Saikosaponin a Induces Apoptosis through Mitochondria-Dependent Pathway in Hepatic Stellate Cells

Li Yen Shiu, Ming Feng Chen, Chang Han Chen, Hao Kuang Wang, Wen Chuan Hsieh 611

Characterization of Riceberry Aroma by Gas Chromatography-Olfactometry and Descriptive Sensory Analysis

Natnicha Kullananant, Yaowapa Lorjaroenphon 612

Dust-Ion-Acoustic Shock Waves in a Multi Component Dusty Plasma with Positive and Negative Ions

Gurudas Mandal, N Y Tanisha, Sharmin Sultana, A A Mamun 620

On the 2-Fault Hamiltonicity for Graphs Satisfying Ore's Condition

Shin-Shin Kao, Hsun Su, Hsio-Chun Pan..... 631

Community Structure, Composition, Species Richness and Diversity Analyses of Ectomycorrhizae from Chashma and Army Barracks Stand, Khanspur, KPK, PAKISTAN

Muhammad Hanif, Abdul Nassir Khalid 633

Effect of Different Varieties of Mango Peel Extracts on Enzymatic Browning Inhibition in Banana Puree

Chotika Jirasuteeruk, Chockchai Theerakulkait 634

Engineering of Transaldolase in Yeast to Improve Bioethanol Production

Yung-Ling Lee, Pi-Hui Liang 645

A Seismic Refraction Study for a Horizontal Transverse Isotropic Medium

Young-Fo Chang, Cheng-Wei Tseng, Jai-Wei Liu, Chao-Ming Lin..... 646

GIS Mapping of Forest Fires as Climate Change Indicator on North Russia: Case Study of the Republic of Sakha (Yakutia)

Kiunnei Kirillina, Elham Goumehei, Wanglin Yan 647

Overexpression System of Gamma-polyglutamic Acid in Bacillus Subtilis

Yi-Huang Hsueh, De-Yu Wen 663

Tropical Almond Bottom Ash for Stoneware Pottery Glaze

Sekporn Tansripraparsiri 664

Characterization of Riceberry Aroma by Gas Chromatography-Olfactometry and Descriptive Sensory Analysis

Natnicha Kullananant^a and Yaowapa Lorjaroenphon^{a*}

^aDepartment of Food Science and Technology, Kasetsart University,
Ngamwongwan Road, Bangkok, Thailand

*Corresponding Author: fagiyp1@ku.ac.th

ABSTRACT

Riceberry, a cross-bred strain of rice, is well-known for its nutritional benefit as a source of antioxidant. The objectives of this research were to characterize aroma compounds in cooked Riceberry and describe the aroma attributes by using descriptive sensory analysis. Aroma compounds of cooked Riceberry were analyzed by gas chromatography-olfactometry (GCO) and GC-time of flight mass spectrometry (GC-TOFMS). Forty-six aroma compounds were identified, and hexanoic acid (sweaty) had the highest concentration. 2-Methoxyphenol (guaiacol) (smoky, sweet) and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vanillin) (vanilla) were the major contributors to the aroma characteristics of Riceberry based on odor activity values (OAVs) and perceived odor intensities. Nonanal (fruity), 2-methoxy-4-vinylphenol (clove, spicy), hexanal (green), 1-octen-3-ol (mushroom), (*E*)-2-octenal (green, fatty), and 3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol (linalool) (floral) had high OAVs, while 3-methylbutanoic acid (rancid, sweaty), benzyl alcohol (sweet, fruity), 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone (caramel, sweet), *p*-cresol (medicinal, smoky), and indole (stinky, barny) were described to have a very strong odor intensity. In addition, black sticky rice note evaluated by 10 sensory panelists was remarked at the highest score, followed by sweet note.

Keywords: Riceberry, Aroma, Gas Chromatography-Olfactometry, Descriptive Sensory Analysis.

1. Introduction

Rice is full of nutritional and sensory values that have taken the interest of worldwide consumer. Riceberry, Thai dark purple rice, has been proven to have high anthocyanin, which has antioxidant and chemopreventive properties (Leardkamolkarn *et al.*, 2011; Jiapong and Jiamyangyuen, 2012; Suttiarporn *et al.*, 2015; Suttiarporn *et al.*, 2016). Riceberry is a hybrid of Hom-Nin and Khao Dawk Mali 105 (KDML 105) rice. Hom-nin rice is a black rice and well-known to have high antioxidant properties (Nakornriab *et al.*, 2008; Pitija *et al.*, 2013), while KDML 105 rice has a remarkable aroma and texture qualities. Therefore, Riceberry flavor is currently on demand. Previously, there are a number of researches carried out on aroma compounds in both fragrant and non-fragrant rice (Bullard and Holguin, 1977; Buttery *et al.*, 1988; Widjaja *et al.*, 1996; Jezussek *et al.*, 2002; Ajarayasiri and Chaiseri, 2008; Yang *et al.*, 2008; Bryant and McClung, 2011; Mahattanatawee and Rouseff, 2014). However, there has been no report on aroma compounds of Riceberry neither instrumental identification nor sensory analysis. The objectives of this research were: i) to characterize aroma compounds in cooked Riceberry using gas chromatography-olfactometry (GCO) and GC-time of flight mass spectrometry (GC-TOFMS), ii) to

identify the key odor-active compounds according to odor activity values (OAVs), and iii) to define the aroma attributes by using descriptive sensory test.

2. Methods

2.1 Materials

Unpolished Riceberry, cropped in 2015, was obtained from Rice Science Center, Kasetsart University (Kamphaeng Saen Campus), Nakhon Pathom, Thailand. References used in sensory evaluation (Table 1) were obtained from local markets (Bangkok, Thailand).

2.2 Chemicals

All authentic standards were used for positive identification. Linalool, pentanoic acid, 1-octen-3-ol, and γ -hexalactone were supplied from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, US). Phenol was purchased from Merck KGaA (Darmstadt, Germany). Hexanal and methional were obtained from Givaudan Co., Ltd. (Switzerland).

2.3 Analysis of aroma compounds in cooked Riceberry

Riceberry (40 g) was prepared with odorless-distilled water (65 mL) in 600 mL beaker and steam-cooked for 30 min. The extraction and identification methods were modified from Kabir and Lorjaroenphon (2014). Ten μ L of 2-methyl-3-heptanone (0.0011 g/10 mL in methanol), as internal standard, was spiked in warm rice. Liquid nitrogen was used to prevent any lose volatile compound during grinding. Riceberry sample was prepared in 250-mL Teflon™ centrifuge bottle (Nalgene™) with 10 g of NaCl and 50 mL of diethyl ether. Extraction was performed 3 times. The solvent layer was combined together into a round bottom flask and concentrated to 50 mL using a Vigreux column. The concentrated extract was subjected to a high-vacuum distillation. After the mixture was dried over anhydrous Na_2SO_4 , it was further concentrated to 200 μ L and kept at -40°C until analysis.

Aroma compounds were evaluated by GC (7890A; Agilent Technologies, US) with a flame ionization detector (FID) and sniffing port (DATU, Inc., US). Cool on-column injection technique with $+3^\circ\text{C}$ oven tracking mode was used. Helium blew as carrier gas at a constant flow rate of 2 mL/min and two capillary columns of different polarity were used. Initial oven temperature was 35°C , and held for 5 min. Temperature was increased at $6^\circ\text{C}/\text{min}$ to 225°C for DB-wax column (Agilent Technologies, US; $15\text{ m} \times 0.32\text{ mm i.d.} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ film thickness) and 250°C for Rxi®-5ms column (Restek, US; $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm i.d.} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ film thickness). The holding time of final temperature was 10 min. The aroma of the individual component was described by three trained evaluators. The odor intensity was also scored using 5-point scale: 1 = very weak; 2 = weak; 3 = moderate; 4 = strong; 5 = very strong and expressed as mean \pm standard deviation ($n = 3$). The extract was also injected into GC (7890A; Agilent Technologies, US) coupled with TOFMS (Pegasus 4D; LECO®; US). The GC condition was similar to that of GCO except $4^\circ\text{C}/\text{min}$ increasing oven temperature, Stabilwax® column (Restek, US; $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm i.d.} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ film thickness), and 1 mL/min helium flow. The identification of aroma compound was based on mass spectra (MS), retention indices (RIs) of 2 different polarity columns, odor description, and authentic standards. Relative concentration was expressed as the average from three replications. OAV was also calculated as the ratio between the concentration and the odor threshold in water obtained from the literatures.

2.4 Sensory evaluation of cooked Riceberry

The sensory evaluation was performed by descriptive sensory analysis. Ten trained panelists (1 male and 9 females, age range 23 to 27 years old) were chosen from graduate students in the Department of Food Science and Technology, Kasetsart University, based on ability and availability. The panelists were trained for at least 40 hours (Meilgaard *et al.*, 2007). Warm cooked Riceberry (25 g) was prepared in 125-mL Teflon™ sniffing bottle (Nalgene™) (Lorjaroenphon and Cadwallader, 2015). Sample and reference bottles were covered with aluminium foil. Six aroma attributes, definitions, and references were generated (Table 1). The panelists scored each attribute on a 15-cm line scale (none to extreme). Intensity score was expressed as average value ($n = 10$) and illustrated by a radar chart.

Table 1: Aroma attributes, definitions, and corresponding reference standards used for descriptive sensory evaluation of cooked Riceberry

Aroma attribute	Definition	Reference	Reference intensity
Sweet	The aromatic associated with pasteurized green tea	20 mL of Japanese green tea Genmai flavor (Oishi Trading Co., Ltd.; Pathumthani, Thailand)	8
Hay	The aromatic associated with dried hay	3 g of dried rice husk	8
Musty	The aromatic associated with closed air space such as attic or closet	15 g of fresh potato (peeled and cut into cubes of 0.5 cm)	10
Black sticky rice	The aromatic associated with cooked black sticky rice	25 g of cooked black sticky rice (steamed 30 g of black sticky rice (Thanya Farm Co., Ltd.; Nonthaburi, Thailand) with 30 mL of water for 30 min)	8
Soy milk	The aromatic associated with beany, green	20 mL of soymilk (Homesoy original; University Food Public Co., Ltd.; Nakorn Pathom, Thailand)	12
Congee	The aromatic associated with brown rice congee	6 g of Congee (mixed 8 g of instant congee (Chiensiri Nutritious Food Co., Ltd.; Bangkok, Thailand) with 100 mL of hot water)	9

3. Results and Discussion

3.1 Aroma compounds in cooked Riceberry

Forty-six aroma compounds were identified in Riceberry (Table 2). Thirty-six compounds have been reported in rice varieties from the literatures (Bullard and Holguin, 1977; Buttery *et al.*, 1988; Widjaja *et al.*, 1996; Jezussek *et al.*, 2002; Ajarayasiri and Chaiseri, 2008; Yang *et al.*, 2008; Bryant and McClung, 2011; Mahattanatawee and Rouseff, 2014). 4-Methyl-3-penten-2-one, δ -terpinene, 5-methylfurfural, 2-acetylthiazole, α -terpineol, ethyl dihydrocinnamate, 2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol (eugenol), 2,6-dimethoxyphenol (syringol), acetovanillone, and 4-(*p*-hydroxyphenyl)-2-butanone (raspberry ketone) were identified for the first time as aroma compound in cooked Riceberry. Most aroma compounds in cooked Riceberry were aldehydes and phenols. Aldehyde is a degradation product of lipid oxidation. Yang *et al.* (2008) reported hexanal as the most abundant compound in cooked Korean black rice. Hexanal is generated from oxidation of linoleic acid (Shin and Yoon, 1986; Wang and Ha, 2013), which is a common fatty acid in rice (Zhou *et al.*, 2002). Hexanal can be oxidized into hexanoic acid (Lee *et al.*, 2000), which had the highest concentration among all aroma compounds in Riceberry. Another major group, phenols, are generated from the thermal degradation of hemicellulose (Sung *et al.*, 2007) which is commonly found in rice (Mod *et al.*, 1979).

Table 2: Relative concentrations of aroma compounds in cooked Riceberry

No. ^a	Odorant	Odor description	RI ^b		Concentration ^c (μg/g)
			Rxi®-5ms	DB-wax	
1	hexanal	green	801	1062	75.7 ± 26.6
2	4-methyl-3-penten-2-one	sweet	-	1152	-
3	2-heptanone	soapy	-	1176	27.6 ± 5.5
4	1-pentanol	balsamic	751	1263	123 ± 41.0
5	2-octanone	soapy, gasoline	1007	1279	2.6 ± 0.7
6	δ-terpinene	plastic	1081	1290	-
7	2-acetyl-1-pyrroline	pandan, sweet	932	1324	-
8	1-hexanol	mushroom	837	-	189 ± 72.8
9	nonanal	fruity	1105	1359	64.3 ± 20.5
10	(E)-2-octenal	green, fatty	1062	1406	7.0 ± 5.0
11	1-octen-3-ol	mushroom	-	1421	11.7 ± 9.7
12	methional	cooked potato	909	1436	-
13	benzaldehyde	sweet, plastic	-	1481	42.5 ± 15.9
14	(E)-2-nonenal	fatty, chemical	1153	1514	-
15	3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol (linalool)	floral	1109	1541	37.6 ± 14.9
16	5-methylfurfural	sweet	-	1548	7.82 ± 3.9
17	butanoic acid	rancid, sweaty	812	1614	95.0 ± 46.2
18	2-acetylthiazole	nutty	-	1634	6.5 ± 2.1
19	acetophenone	musty, floral	1024	1645	2.3 ± 1.3
20	3-methylbutanoic acid	rancid, sweaty	875	1657	194 ± 81.8
21	γ-hexalactone	coumarin, sweet	-	1673	45.5 ± 18.8
22	α-terpineol	pine	1187	1685	2.7 ± 1.3
23	pentanoic acid	sweaty	949	1727	460 ± 197.6
24	(E)-2-undecenal	green	-	1782	28.3 ± 16.4
25	β-damascenone	sweet, honey	1392	1796	-
26	geranyl acetone	green, musty, hay	1415	1801	-
27	hexanoic acid	sweaty	1053	1841	1,890 ± 749.7
28	2-methoxyphenol (guaiacol)	smoky	1091	1843	126 ± 49.2
29	benzyl alcohol	sweet, fruity	-	1867	54.4 ± 40.3
30	benzothiazole	rubber	1251	1896	-
31	ethyl dihydrocinnamate	floral, rose	1354	1921	-
32	phenylethyl alcohol	floral	1117	1951	-
33	phenol	chemical	982	-	65.6 ± 28.3
34	γ-nonolactone	coconut, sweet	1371	2029	46.9 ± 23.5
35	2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	caramel, sweet	-	2058	-
36	octanoic acid	sweaty	-	2074	215 ± 120
37	p-cresol	medicinal, smoky	1090	2085	11.7 ± 6.4
38	2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol (eugenol)	rubber, herbaceous	1374	2155	-
39	3-ethylphenol	musty, barny	-	2178	4.0 ± 0.8
40	2-methoxy-4-vinylphenol	clove, spicy	1312	2185	50.3 ± 23.3
41	2,6-dimethoxyphenol (syringol)	medicinal	-	2258	1.8 ± 0.8
42	indole	stinky, barny	-	2462	8.1 ± 4.5
43	4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vanillin)	vanilla	1404	2542	582 ± 321
44	phenylacetic acid	floral	1274	2547	60.8 ± 37.5
45	acetovanillone	sweet	-	2602	27.7 ± 15.4
46	4-(p-hydroxyphenyl)-2-butanone (raspberry ketone)	sweet, candy, fruity, berry	1516	2978	3.8 ± 1.9

^aCorresponding to Table 3^bRetention index^cMean ± standard deviation (*n* = 3)

For identification of key aroma compounds in cooked Riceberry, OAV concept was used. OAV estimates contribution of aroma to the overall aroma of food. Compounds with OAVs greater than one are considered as aroma active compounds. The potency of aroma compounds in cooked Riceberry (Table 3) was classified according to the OAVs into three groups. Nonanal (fruity), 2-methoxyphenol (guaiacol), and 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vanillin) were the most potent aromas in cooked Riceberry. Nonanal is a marker compound indicating the degree of lipid oxidation (Gökmen *et al.*, 2011). It was reported as the major aroma compound in cooked Korean black rice (Yang *et al.*, 2008). Guaiacol was also concluded as the main contributor to its aroma based on odor threshold, relative concentration, and olfactometry in cooked Korean black rice. Vanillin was found in brown rice varieties

(Jezussek *et al.*, 2002) and it is possibly converted from ferulic acid in hemicellulose (Mod *et al.*, 1979; Negishi *et al.*, 2009).

2-Methoxy-4-vinylphenol, hexanal, and 1-octen-3-ol were classified as moderate potent aromas. 2-Methoxy-4-vinylphenol, which is generated from ferulic acid decomposition (Fiddler *et al.*, 1967), has been reported to have the highest OAV in Thai black glutinous rice (Ajarayasiri and Chaiseri, 2008). 1-Octen-3-ol is normally found in rice varieties (Buttery *et al.*, 1988; Widjaja *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 2008) and it can be formed from linoleic acid through biosynthetic pathway (Matsui *et al.*, 2003).

(*E*)-2-Octenal and 3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol (linalool) were grouped as low potent aromas. (*E*)-2-Octenal is formed by lipid oxidation and generally found in various rice (Buttery *et al.*, 1988; Widjaja *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 2008; Mahattanatawee and Rouseff, 2014), while linalool is found only in KDML 105 rice (Mahattanatawee and Rouseff, 2008).

Furthermore, Guaiacol, vanillin, 1-octen-3-ol, 3-methylbutanoic acid (rancid, sweaty), benzyl alcohol (sweet, fruity), 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone (caramel, sweet), *p*-cresol (medicinal, smoky), and indole (stinky, barny), were rated at very strong intensity that may contribute to Riceberry aroma (Table 3). Thus, guaiacol and vanillin were expressed as major contributors of cooked Riceberry based on their OAVs and perceived odor intensities.

Table 3: Key aroma compounds in cooked Riceberry which high odor activity values (OAVs) and/or very strong intensity evaluated by GCO panelists

No. ^a	Odorant	Odor threshold in water (ng/g)	OAV	Intensity ^b
9	nonanal	1 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	64	1.5
28	2-methoxyphenol (guaiacol)	3 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	42	5.0
43	4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vanillin)	20 (Buttery <i>et al.</i> , 1999)	29	5.0
40	2-methoxy-4-vinylphenol	3 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	17	3.5
1	hexanal	5 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	15	3.5
11	1-octen-3-ol	1 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	12	5.0
10	(<i>E</i>)-2-octenal	3 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	2	2.5
15	3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol (linalool)	37 (Frauendorfer and Schieberle, 2006)	1	4.5
20	3-methylbutanoic acid	250 (Buttery and Ling, 1998)	<1	5.0
29	benzyl alcohol	10,000 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	<1	5.0
35	2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2 <i>H</i>)-furanone	60 (Buttery and Ling, 1998)	- ^c	5.0
37	<i>p</i> -cresol	55 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	<1	5.0
42	indole	140 (Buttery <i>et al.</i> , 1988)	<1	5.0

^aCorresponding to Table 2

^bAveraged from 3 assessors (1 = very weak; 2 = weak; 3 = moderate; 4 = strong; 5 = very strong)

^cCannot be calculated because their concentrations were below the detection limit of GC-TOFMS

3.2 Sensory evaluation of cooked Riceberry

The panelists generated 6 aroma attributes including sweet, hay, musty, black sticky rice, soy milk and congee (Figure 1). Black sticky rice note was given the highest intensity, followed by sweet note. The results of sensory evaluation were associated with key aroma compounds in Table 3 and aroma characteristics in Table 2. Sweet attribute may generate from vanillin, linalool, benzyl alcohol, and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone. Soy milk note, which is associated with green and beany aroma characteristics, may be contributed from hexanal and (*E*)-2-octenal, while musty note may be attributed to 1-octen-3-ol.

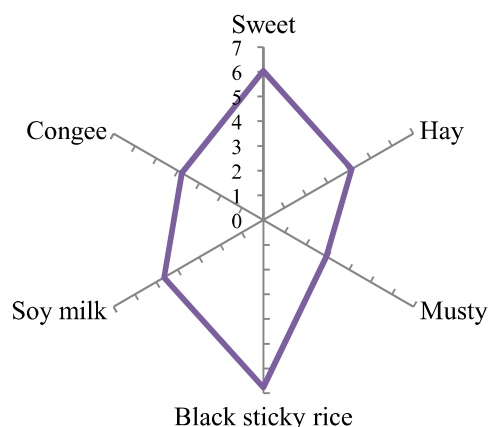


Figure 1: The aroma profile of cooked Riceberry from descriptive sensory analysis ($n = 10$) (mean scores from 15-cm line scale)

4. Conclusion

Hexanoic acid (sweaty) was identified as the most abundant compound in cooked Riceberry. Guaiacol (smoky) and vanillin (vanilla) were considered as key aroma compound according to their OAVs and perceived odor intensities. In addition, sensory analysis agrees with the analytical data from GCO and GC-TOFMS.

REFERENCES

- Ajarayasiri, J. and Chaiseri, S. 2008. Comparative Study on Aroma-Active Compounds in Thai, Black and White Glutinous Rice Varieties, *Kasetsart Journal (Nat. Sci.)*, 42, 715-722.
- Bryant, R. J. and McClung, A. M. 2011. Volatile Profiles of Aromatic and Non-Aromatic Rice Cultivars using SPME/GC-MS, *Food Chemistry*, 124, 501-503.
- Bullard, R. W. and Holguin, G. 1977. Volatile Components of Unprocessed Rice (*Oryza sativa* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(1), 99-103.
- Buttery, G. R. and Ling, L. C. 1998. Additional Studies on Flavor Components of Corn Tortilla Chips, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2764-2769.
- Buttery, G. R., Orts, W. J., Takeoka, G. R. and Nam, Y. 1999. Volatile Flavor Components of Rice Cakes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4353-4356.
- Buttery, G. R., Turnbaugh, J. G. and Ling, L. C. 1988. Contribution of Volatiles to Rice Aroma, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 1006-1009.
- Gökmen, V., Mogol, B. A., Lumaga, R. B., Fogliano, V., Kaplun, Z. and Shimoni, E. 2011. Development of Functional Bread Containing Nanoencapsulated Omega-3 Fatty Acids, *Journal of Food Engineering*, 105, 585-591.
- Fraudendorfer, F. and Schieberle, P. 2006. Identification of the Key Aroma Compounds in Cocoa Powder Based on Molecular Sensory Correlations, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5521-5529.
- Jezussek, M., Juliano, B. O. and Schieberle, P. 2002. Comparison of Key Aroma Compounds in Cooked Brown Rice Varieties Based on Aroma Extract Dilution Analyses, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1101-1105.

- Jiapong, S. and Jiamyangyuen, S. 2012. Total Anthocyanin Content and Antioxidant Activity of Germinated Colored Rice, *International Food Research Journal*, 19(1), 215-221.
- Kabir, A. and Lorjaroenphon, Y. Identification of Aroma Compounds in Coconut Sugar, *Proceedings of 52nd Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry*, p. 239-246, Kasetsart University, Thailand, February 4-7, 2014.
- Leardkamolkarn, V., Thongthep, W., Suttiarporn, P., Kongkachuichai, R., Wongpornchai, S. and Wanavijitr, A. 2011. Chemopreventive Properties of the Bran Extracted from A Newly-Developed Thai Rice: The Riceberry, *Food Chemistry*, 125, 978-985.
- Lee, K.G., Mitchell, A. and Shibamoto, T. 2000. Antioxidative activities of aroma extracts isolated from natural plants, *Biofactors*, 13, 173-178.
- Lorjaroenphon, Y. and Cadwallader, K. R. 2015. Characterization of Typical Potent Odorants in Cola-Flavored Carbonated Beverages by Aroma Extract Dilution Analysis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 769-775.
- Mahattanatawee, K. and Rouseff, R. L. 2008. 2-Acetyl-2-thiazoline, A New Character Impact Volatile in Jasmine Rice, In: *In Expression of Multidisciplinary Flavour Science*, p. 475-478, Amado, R., Blank, I., Escher, F., Eds., Interlaken, Switzerland.
- Mahattanatawee, K. and Rouseff, R. L. 2014. Comparison of Aroma Active and Sulfur Volatiles in Three Fragrant Rice Cultivars using GC-Olfactometry and GC-PFPD, *Food Chemistry*, 154, 1-6.
- Matsui, K., Sasahara, S., Akakabe, Y. and Kajiwar, T. 2003. Linoleic Acid 10-Hydroperoxide as an Intermediate during Formation of 1-Octen-3-ol from Linoleic Acid in *Lentinus decedetes*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(10), 2280-2282.
- Meilgaard, M. C., Civille, G. V. and Carr, B.T. 2007. *Sensory Evaluation Techniques* 4th ed., NW: CRC Press.
- Mod, R. R., Conkerton, E. J., Ory, R. L. and Normand, F. L. 1979. Composition of Water-Soluble Hemicelluloses in Rice Bran from Four Growing Areas, *Cereal Chemistry*, 56(4), 356-358.
- Nakornriab, M., Sriseadka, T. and Wongpornchai, S. 2008. Quantification of Carotenoid and Flavonoid Components in Brans of Some Thai Black Rice Cultivars using Supercritical Fluid Extraction and High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, *Journal of Food Lipids*, 15, 488-503.
- Negishi, O., Sugiura, K. and Negishi, Y. 2009. Biosynthesis of Vanillin via Ferulic Acid in *Vanilla planifolia*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 9956-9961.
- Pitija, K., Nakornriab, M., Sriseadka, T., Vanavichit, A. and Wongpornchai, S. 2013. Anthocyanin Content and Antioxidant Capacity in Bran Extracts of Some Thai Black Rice Varieties, *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 300-308.
- Shin, M. G. and Yoon, S. H. 1986. Correlation Between Oxidative Deterioration of Unsaturated Lipid and *n*-Hexanal during Storage of Brown Rice, *Journal of Food Science*, 51(2), 460-463.
- Sung, W. C., Stone, M. and Sun, F. M. 2007. Analysis of Volatile Constituents of Different Temperature Rice Hulls Liquid Smoke, *Chia-Nan Annual Bulletin*, 33, 1-12.
- Suttiarporn, P., Chumpolsri, W., Mahatheeranont, S., Luangkamin, S., Teepsawang, S. and Leardkamolkarn, V. 2015. Structures of Phytosterols and Triterpenoids

- with Potential Anti-Cancer Activity in Bran of Black Non-Glutinous Rice, *Nutrients*, 7, 1672-1687.
- Suttiarporn, P., Sookwong, P. and Mahatheeranont, S. 2016. Fractionation and Identification of Antioxidant Compounds from Bran of Thai Black Rice cv. Riceberry, *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 7(2), 109-114.
- Wang, Y. and Ha, J. 2013. Determination of Hexanal in Rice Using an Automated Dynamic Headspace Sampler Coupled to a Gas Chromatograph–Mass Spectrometer, *Journal of Chromatographic Science*, 51, 446-452.
- Widjaja, R., Craske, J. D. and Wootton, M. 1996. Comparative Studies on Volatile Components of Non-Fragrant and Fragrant Rices, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70, 151-161.
- Yang, D. K., Lee, K. S., Jeong, O. Y., Kim, K. J. and Kays, S. J. 2008. Characterization of Volatile Aroma Compounds in Cooked Black Rice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (1), 235-240.
- Zhou, Z., Blanchard, C., Helliwell, S. and Robardsa, K. 2002. Fatty Acid Composition of Three Rice Varieties Following Storage, *Journal of Cereal Science*, 00(3), 1-9.