

Thesis Title	Development of Analytical Method Employing Headspace-Gas Chromatography for Determination of Aroma Compound in Rice Leaves
Author	Miss. Pittayaporn Boontakham
Degree	Master of Science (Chemistry)
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Sugunya Wongpornchai

ABSTRACT

Analysis of the aroma impact compound, 2-acetyl-1-pyrroline (2AP), in rice leaves was simplified by utilizing a headspace (SHS) – gas chromatography (GC) employing a nitrogen-phosphorus detector (NPD) with a capillary column phase HP-5 having dimension of 30 m x 0.53 mm I.D. and 1.5 μm film thickness. This method allowed direct analysis of 2AP from headspace of the rice leaves samples. The total analysis time was 15 min per sample. The optimum condition of headspace autosampler comprised the following parameters, oven temperature 120 $^{\circ}\text{C}$, vial equilibration time 5.0 min, pressurizing time 0.05 min, loop fill time 0.10 min, loop equilibration time 0.40 min and injection time 0.40 min. Quantitative analysis of 2AP in rice leaves by SHS-GC/NPD was performed based on the internal standardization method. Standard calibration curve was constructed using 2,6-dimethylpyridine (DMP) as an internal standard. A linear calibration curve was obtained with a regression coefficient of 0.9998 over the concentration range of 0.5–50.0 ppm. The limit of detection (LOD) of 2AP and limit of quantitation (LOQ) in terms of the least

amount of rice leaves were 0.01 μg and 0.10 g, respectively. The relative standard deviation of repeatability of 10 times on 1 day obtained by analyzing Khao Dawk Mali 105 (KDML105) rice leaves was 1.93 % and the relative standard deviation of reproducibility of five times on each day was 2.40 %. The percentage of extraction obtained by analyzing KDML105 rice cultivar was 65.84%.

The developed SHS-GC/NPD method was applied for quantitative analysis of 2AP in rice grains and leaves of KDML105 (organic), KDML105, RD15, RD33 and RD6 rice varieties. The concentrations of 2AP in all rice leaf samples were higher than those in rice grains.

This developed SHS-GC/NPD method can be another choice for determination of the rice aroma compound, 2AP, in rice leaves which was found to be more convenient, rapid and requires less amount of sample, compared with that applied to the rice grain. The method is also more attractive for analysis of 2AP in various hybrid rice samples, which are normally obtained from the rice breeding programs.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟีเพื่อหาปริมาณสารหอมในใบข้าว
ผู้เขียน	นางสาวพิทยาพร บุญทาคำ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.สุกัญญา วงศ์พรชัย

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์สารที่มีบทบาทสำคัญต่อความหอม คือ สาร 2-อะเซทิล-1-พิโรลีน (2AP) ในใบข้าว สามารถทำได้ง่ายขึ้นโดยการประยุกต์เทคนิคเฮดสเปซ (HS)-แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) ที่มีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน-ฟอสฟอรัส (NPD) และคอลัมน์แบบแคปิลลารีชนิด HP-5 ขนาดความยาว 30 เมตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.53 มิลลิเมตรและความหนาของลิควิดเฟส 1.5 ไมโครเมตร โดยวิธีนี้สามารถวิเคราะห์ 2AP ในไอระเหยของตัวอย่างข้าวได้โดยตรง โดยใช้เวลาการวิเคราะห์ทั้งหมด 15 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง สภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรต่าง ๆ ของเครื่องเฮดสเปซของโตซามเพลอร์ ได้แก่ อุณหภูมิของตู้อบ 120 °C เวลาสมดุลของขวดตัวอย่าง 5.0 นาที เวลาการเพิ่มความดัน 0.05 นาที เวลาการเติมลูฟ 0.10 นาที เวลาสมดุลของลูฟตัวอย่าง 0.40 นาที และเวลาการฉีดตัวอย่าง 0.40 นาที การวิเคราะห์ปริมาณ 2AP ด้วยเทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟี ใช้วิธีสารมาตรฐานภายในสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ 2,6-ไดเมทิลพิโรลีน (DMP) เป็นสารมาตรฐานภายใน กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงโดยมีค่าสัมประสิทธิ์เชิงเส้นตรง 0.9998 ในช่วงความเข้มข้น 0.5 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนัก 2AP ต่อ DMP ปริมาณน้อยที่สุดของใบข้าวที่สามารถตรวจวัด 2AP ได้ (LOD) และปริมาณน้อยที่สุดของเมล็ดข้าวที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณของ 2AP ได้ (LOQ) คือ 0.01 ไมโครกรัม และ 0.1 กรัม ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของผลการวิเคราะห์ปริมาณ 2AP ในตัวอย่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 10 ซ้ำ ภายในหนึ่งวัน คือ ร้อยละ 1.93 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของผลการวิเคราะห์ปริมาณ 2AP ในตัวอย่าง

ข้าวกล้องพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 จำนวน 5 ซ้ำ ในการวิเคราะห์แต่ละวัน คือ ร้อยละ 2.40 โดยมีค่าร้อยละของการสกัดสำหรับการวิเคราะห์ 2AP ในใบข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 คือ ร้อยละ 65.84

วิธีของเทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟีที่พัฒนาขึ้นนี้ได้ถูกนำมาประยุกต์กับการหาปริมาณ 2AP ในใบข้าวพันธุ์ต่างๆ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารหอมในใบข้าวกับเมล็ดข้าวของข้าวพันธุ์ต่างๆ คือ ข้าวขาวดอกมะลิ105ในดินอินทรีย์ ข้าวขาวดอกมะลิ105 กข15 กข33 และ กข6 ซึ่งพบว่าปริมาณสารหอมในใบข้าวมีปริมาณสูงกว่าในเมล็ดข้าว

ดังนั้นเทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟี ที่มีตัวตรวจวัดชนิดไนโตรเจน-ฟอสฟอรัส (NPD) ที่พัฒนาขึ้นนี้ สามารถใช้เป็นวิธีประเมินคุณภาพความหอมของข้าว นอกเหนือจากการวิเคราะห์โดยตรงจากเมล็ดข้าว ดังนั้นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้จึงสะดวก รวดเร็วและใช้ปริมาณตัวอย่างน้อย เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารหอม 2AP ในข้าวลูกผสมจำนวนมากที่ได้จากกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ข้าวหอม