

**Thesis Title** Quantification of Aroma Compound 2-Acetyl-1-Pyrroline  
Released from Scented Rice Seed by Headspace Gas  
Chromatography

**Author** Miss Wantanee Srisuwan

**M.S.** Chemistry

**Examining Committee**

Asst. Prof. Dr. Sugunya Wongpornchai Chairman

Dr. Sunanta Wangkarn Member

Dr. Winai Oungpipat Member

**Abstract**

Headspace gas chromatography (HS-GC) was utilized for quantification of 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) in fragrant rice seeds. This technique reduced sample preparation steps and analysis time. Thus, number of samples to be analyzed could be increased compared with the conventional methods.

The procedure was begun by extracting 2-AP from rice seed using acidic solvent extraction. The rice seed extract was made alkaline using NaOH. Then, the headspace of the rice seed extract was subjected to analysis by HS-GC. DB-1701 capillary column with

15 m x 0.32 mm i.d. dimension and 0.15  $\mu\text{m}$  film thickness was used for optimization of extraction and automated headspace sampler conditions. The optimum extraction conditions were extracting time 30.0 min, volume of NaOH 0.5 ml and equilibrium time 15 min. The optimum conditions of automated headspace sampler were oven temperature 120  $^{\circ}\text{C}$ , loop temperature 140  $^{\circ}\text{C}$ , transfer line temperature 160  $^{\circ}\text{C}$ , vial equilibration time 3 min, pressurization time 0.3 min, loop fill time 2.0 min, loop equilibration time 0.04 min and injection time 0.4 min. Recovery assay of 2-AP in rice extraction and standard 2-AP solution extraction were 77.4% and 74.1%, respectively. Quantification of 2-AP in rice seed extract was performed on DB-17MS capillary column with 30 m x 0.32 mm i.d. dimension and 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness. A standard calibration curve was constructed based on internal standard method using 2,4,6-trimethylpyridine (TMP) as internal standard. Linearity ranges were in the range 0.37-5.93 ppm with a correlation coefficient of 0.9991. Detection limit in term of the least amount of analyte, 2-AP, was 0.23 ppm. Detection limit in term of the lowest amount of rice seed sample required was 4.00 g. The relative standard deviation of reproducibility was 7.5%. Four of brown rice samples were analyzed by this procedure. 2-AP was detected in KDML105 Chiang mai, KDML105 Tungkularonghai and Howm Supanburi at concentrations of 1.18, 2.41 and 0.41 ppm, respectively. No 2-AP was detected in Howm Patumtani rice.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การตรวจวัดปริมาณสารหอม 2-อะเซทิล-1-พิโรลีน ที่ออกมาจาก เมล็ดข้าวหอมด้วยเทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟี	
ชื่อผู้เขียน	นางสาววันทนี ศรีสุวรรณ	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาเคมี	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. สุกัญญา วงศ์พรชัย	ประธานกรรมการ
	อ. ดร. สุนันทา ว่างานต์	กรรมการ
	อ. ดร. วินัย อวงพิพัฒน์	กรรมการ

### บทคัดย่อ

เทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟีถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดปริมาณ 2-อะเซทิล-1-พิโรลีน (2-AP) ในเมล็ดข้าวหอม เทคนิคนี้ลดขั้นตอนและเวลาในการเตรียมตัวอย่าง ดังนั้นจึงสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้จำนวนมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม

เริ่มต้นวิธีการทดลองโดยสกัด 2-AP จากเมล็ดข้าวด้วยสารละลายกรด สารสกัดเมล็ดข้าวถูกทำให้เป็นเบสด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นไอรอะเหยเหนือสารสกัดถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟี คอลัมน์แบบแคปิลลารีเฟส DB-1701 ยาว 15 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร และเคลือบด้วยเฟสคงที่หนา 0.15 ไมโครเมตร ถูกนำมาใช้สำหรับหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดและระบบนำไอรอะเหยเข้าวิเคราะห์ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดได้แก่ เวลาที่ใช้ในการสกัด 30 นาที ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 มิลลิลิตร และเวลาที่สมดุล 15 นาที สภาวะที่เหมาะสมของระบบนำไอรอะเหยเข้าวิเคราะห์ ได้แก่ อุณหภูมิของเตาอบ 120 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของรูบ 140 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของท่อนำสาร 160 องศาเซลเซียส เวลาเพื่อการเกิดสภาวะสมดุลของตัวอย่าง 3 นาที เวลาในการให้ความดัน 3 นาที เวลาใส่สารตัวอย่าง

ในรูป 2 นาที่ เวลาเพื่อการเกิดสภาวะสมดุลของรูป 0.04 นาที่ และเวลานิโคตตินตัวอย่าง 0.4 นาที่ ร้อยละ การกลับคืนของการสกัด 2-AP จากเมล็ดข้าว และจากสารละลายมาตรฐาน 2-AP มีค่าเท่ากับ 77.4 และ 74.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทำการตรวจวัดปริมาณ 2-AP ในสารสกัดเมล็ดข้าว ใช้คอลัมน์แบบแคพิลลารี เฟสDB-17MS ยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร และเคลือบด้วยเฟสคงที่หนา 0.25 ไมโครเมตร สร้างกราฟมาตรฐานด้วยวิธีสารมาตรฐานภายในใช้ 2,4,6-ไตรเมทิลพิริดีนเป็นสารมาตรฐาน ภายใน กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.37-5.93 พีพีเอ็ม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์เชิงเส้น 0.9991 จีตต่ำสุดของปริมาณ 2-AP ที่วัดได้คือ 0.23 พีพีเอ็ม และจีตต่ำสุดของปริมาณเมล็ดข้าวตัวอย่างที่วัดได้ คือ 4.00 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความแม่นยำมีค่า 7.5 เปอร์เซ็นต์ ทำการวิเคราะห์ข้าว กล้อง 4 ตัวอย่างด้วยเทคนิคเฮคสเปกแกส โครมาโทกราฟีพบว่า ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เชียงใหม่, ข้าวขาว ดอกมะลิ 105 ทุ่งกุลาร้องไห้ และข้าวหอมสุพรรณบุรี มีความเข้มข้นของ 2-AP 1.18, 2.41 และ 0.41 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ส่วนข้าวหอมปทุมธานีตรวจไม่พบ 2-AP