

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHIẾT XUẤT VÀ SỬ DỤNG 2-ACETYL-1-PYRROLINE (2-AP) TRONG LÁ DỨA LÀM CHẤT CHUẨN ĐỂ PHÂN TÍCH 2-AP TRONG GẠO THƠM

Phan Phước Hiền*, Trương Thị Bích Liễu

Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

Email*: pphien@gmail.com; phuochien@hcmuaf.edu.vn

Ngày gửi bài : 25.05.2012

Ngày chấp nhận : 05.09.2012

TÓM TẮT

Cho đến nay người ta thường xác định chất lượng gạo thơm chủ yếu bằng phương pháp cảm quan truyền thống. Phương pháp này nhanh nhưng không chính xác vì hoàn toàn phụ thuộc vào đánh giá chủ quan khứu giác của con người. Để góp phần tích cực khắc phục tình trạng đó, chúng tôi đã nghiên cứu triển khai các phương pháp SDE-GCFID, SDE-GCMS. Trong quy trình phân tích này, trước hết tiến hành phân tích định lượng 2-AP trong lá dứa để so sánh với hàm lượng 2-AP trong gạo thơm. Bằng phương pháp này, từ năm 2005, 2-AP và một số cấu tử thơm khác trong lúa gạo lần đầu tiên đã được xác định tại Phòng thí nghiệm Hoá Lý, Trung tâm phân tích thí nghiệm Hoá Sinh, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh. Đến năm 2010, 2-AP trong 3 loại lá dứa già, non, bánh tẻ đã được chiết xuất và phân tích định lượng bằng SDE-GCFID và GCMS. Trên cơ sở đó, 2-AP trong lá dứa đã được sử dụng như là chất chuẩn để phân tích định lượng 2-AP trong gạo thơm. Trong công trình này, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp cũng đã được xác định.

Từ khoá: SDE-GCFID, SDE-GCMS, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ), lá dứa.

Research on Extraction and Utilization of 2-AP from *Pandanus*' Leaf as a Standard for Identification and Quantification of 2-AP in Aromatic Rice

ABSTRACT

So far fragrance of rice has mainly been determined by the traditional sensory method. This evaluation is fast but does not define precisely because it depends entirely on subjective assessment of the evaluator's olfaction. To overcome this shortcoming, the modern physico-chemical methods, SDE-GCFID and SDE-GCMS were employed. In these analytical processes, quantitative analysis of 2-AP content in pandanus leaf was performed to serve as basis for comparison with that in aromatic rice. By these methods, since 2005, 2-AP and some other aromatic compounds in aromatic rice have been identified and quantified in the Physicochemical Laboratory, Center for Biological and Chemical analysis and experiment, University of Agriculture and Forestry Ho Chi Minh City. In this laboratory from 2010, the content of 2-AP in the old, mature and young leaves of Pandanus were accurately quantified and used as a standard for quantification of 2-AP in fragrant rice using SDE (or SPME) extraction method combined with GC-FID and GC-MS. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the method were also determined.

Keywords: Fragrant rice, SDE-GCFID, SDE-GCMS, the limit of detection (LOD), the limit of quantification (LOQ), *Pandanus amaryllifolius* leaves.

1. MỞ ĐẦU

Ngày nay, đời sống của người dân Việt Nam ngày càng được nâng cao và nhu cầu ăn uống cũng thay đổi đáng kể. Lương thực chính là gạo và hầu như có mặt trong mọi bữa ăn trong gia đình. Nói riêng về gạo có rất nhiều loại khác nhau nhưng được người dân ưa chuộng nhất vẫn

là gạo thơm. Gạo thơm có nhiều giống khác nhau, trong cấu tử có vai trò quyết định tạo ra mùi thơm của gạo thơm là 2 - Acetyl - 1 - pyrroline (2-AP). Theo các nghiên cứu trước đây, điều mà chúng ta ít nghĩ đến là 2-AP lại được tìm thấy với nồng độ rất cao trong lá dứa (*Pandanus amaryllifolius*). Lá dứa được sử dụng trong chế biến thực phẩm có thể là lá tươi hoặc

khô, và được thương mại hóa trong các cửa hàng thực phẩm đông lạnh tại các quốc gia Châu Á. Ở Việt Nam, từ xa xưa lá dứa thường được sử dụng lúc nấu cơm và chế biến nhiều món ăn và đồ uống khác. Hương thơm đặc trưng của lá dứa được tạo ra bởi hợp chất thơm 2 - Acetyl - 1 - Pyrroline cũng chính là mùi thơm chủ yếu trong gạo thơm (Phan Phước Hiền & cs., 2009, 2011).

Từ cơ sở đó chúng tôi đã nghiên cứu chiết xuất và sử dụng 2-AP trong lá dứa làm chất chuẩn để phân tích định tính và định lượng 2-AP trong các loại gạo thơm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

- Lá dứa được thu tại ấp Tân Quý, xã Đông Hòa, huyện Dĩ An, tỉnh Bình Dương

- Gạo thơm: sử dụng giống Nanh Chồn 1 và nanh Chồn 3 của Bà Rịa Vũng Tàu do Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp miền Nam cung cấp.

2.2. Hóa chất dụng cụ

- Dichloromethan (Merck - Đức), collidine (2,4,6 - trimethyl pyridine) (Alrich), nước cất, nước khử ion, chất chống tạo bọt ($MgSO_4$ 10%), NaCl (Trung Quốc), Na_2SO_4 (Trung Quốc).
- KOH (Merck), nước cất.
- Máy bóc vỏ lúa Philips, Rego design No. 170851
- Thiết bị gia nhiệt Jakie, JK - 579 (Mỹ)
- Máy làm lạnh Fisher model 10201, serial G52434 (Mỹ)
- Máy khuấy từ gia nhiệt Bibby, serial 10449 (Mỹ)
- Máy sắc khí khối phổ 6890 N, serial G1530N (Mỹ)
- Bình thổi N_2

2.3. Phương pháp chiết xuất và phân tích

2.3.1. Phương pháp chiết xuất SDE (*Simultaneous Distillation Extraction*)

Sơ đồ thiết bị trích ly 2-AP trong lá dứa bằng phương pháp SDE:

Mẫu lá dứa được phân thành 3 loại già, non và bánh tẻ, rửa sạch bằng nước máy, để khô.

Sau đó cắt nhỏ thành thành từng đoạn khoảng 1cm rồi đem cân 20g mỗi loại. Hòa tan muối NaCl vào 350ml nước khử ion, rồi đun cho đến khi thấy xuất hiện các hạt muối kết tinh. Lúc này lượng nước muối còn khoảng 300ml. Lấy 20g lá dứa cho vào 250ml dung dịch nước muối này đi xay nhuyễn, cho toàn bộ vào bình cầu, thêm 10ml $MgSO_4$ 10% để chống tạo bọt. Chất nội chuẩn sử dụng trong phương pháp này là 2ml collidine 2 $\mu g/ml$.

Đối với mẫu lúa, sau khi loại bỏ tạp chất (vỏ trấu, cát, sỏi...), được đưa vào máy bóc vỏ trấu (Phillips, Rego design No. 170851), cân 45g gạo đã bóc vỏ. Cho toàn bộ vào bình cầu cùng với chất chống tạo bọt như trên rồi tiến hành các bước tiếp theo như đối với lá dứa.

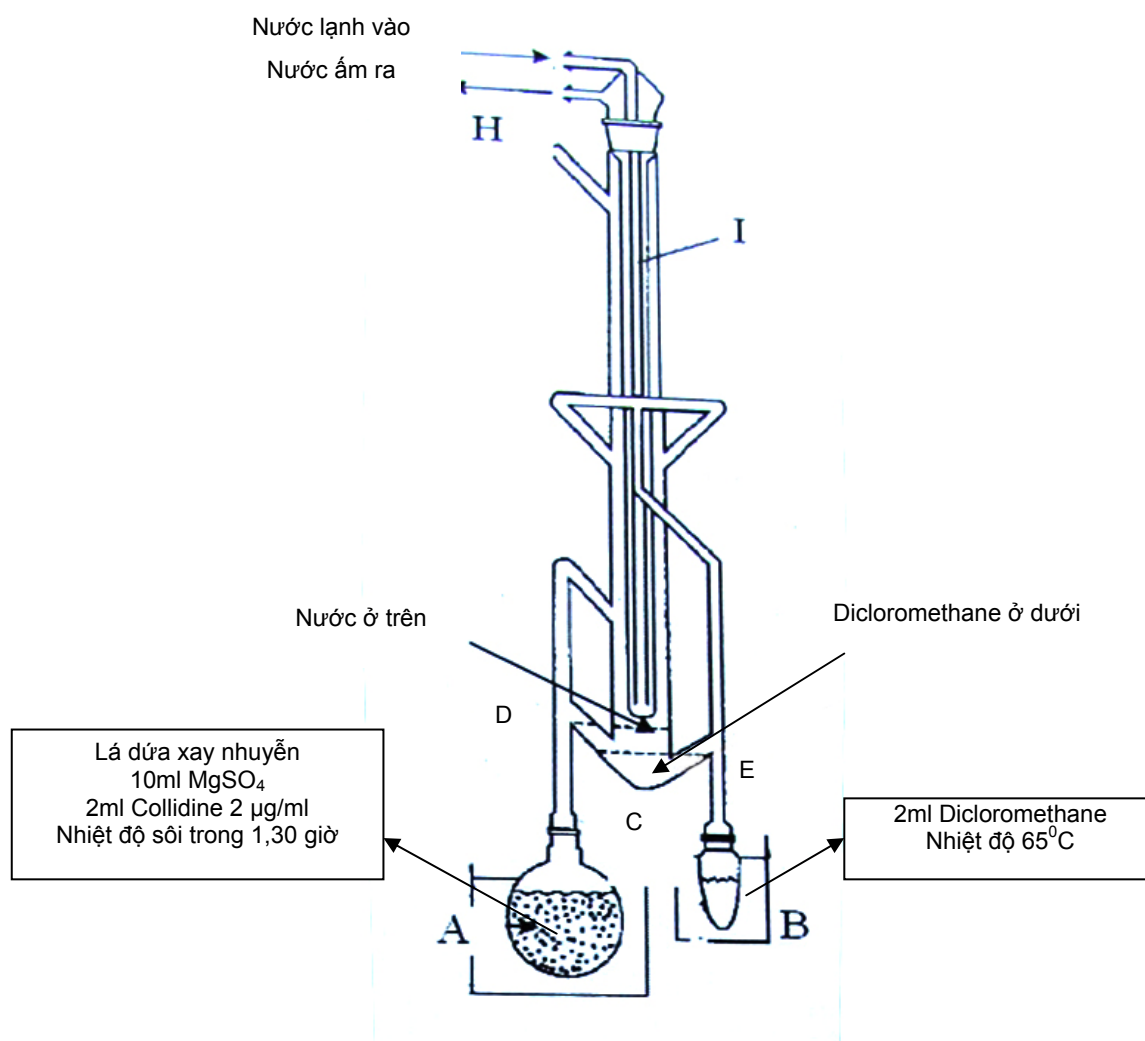
Tiến hành trích bằng SDE (Isolation and Concentration of Aroma Compounds, Deborah Roberts and Hugues Brevard, Current Protocols in Food Analytical G1.2.1 - G1.2.9) (Phan Phước Hiền & cs., 2009, 2010, 2011) (Hình 1).

Đối với dung môi chiết xuất: Dùng pipet cho một lượng dung môi Dichloromethane vào C đến mép vừa chảy tràn qua E. Cho nước cất vào C đến mép chảy tràn qua ống D (Hình 1)

Vì Dichloromethane không hòa tan trong nước và có tỷ trọng nặng hơn nước nên tách lớp và nằm ở dưới đáy của C. Ta đun bình cầu chứa dung môi B trước cho hơi dung môi bão hòa ở ống ngưng tụ C, sau đó bắt đầu đun bình cầu A đến nhiệt độ sôi. Từ bình cầu A, hơi nước bay lên kéo theo các cấu tử bay hơi của gạo thơm, cùng lúc với hơi dung môi bay lên sẽ trích các cấu tử có độ phân cực phù hợp, dưới tác dụng nhiệt độ thấp của thiết bị làm lạnh, phức hơi dung môi - cấu tử bay hơi và hơi nước sẽ ngưng tụ xuống và tách lớp tại đáy C. Thời gian trích li tùy thuộc vào từng loại mẫu đặc biệt đối với các mẫu có chứa chất béo, thời gian này thường ít hơn 1 giờ.

Sau khi tắt nguồn nhiệt, để nguội khoảng 10 phút, thu hồi cả phần dung môi ở B. Còn phần dung môi và nước ở C cho vào bình chiết, cho thêm 5ml Dichloromethane. Lắc mạnh, chiết và thu phần dung môi, làm khan bằng Na_2SO_4 . Dung môi thu hồi được thổi bằng khí N_2 cho đến khi thể tích giảm xuống khoảng 1ml. Lấy 0,1ml dung môi pha loãng trong bình định mức 5ml. Bơm 1 μ l Collidine vào máy GC - MS.

Nghiên cứu quy trình kỹ thuật chiết xuất và sử dụng 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) trong lá dứa làm chất chuẩn để phân tích 2-AP trong gạo thơm



Hình 1. Dụng cụ trích ly SDE

2.3.2 Phân tích dịch chiết thu được bằng GC-FID và GC-MS

Điều kiện phân tích trên thiết bị sắc ký khối phổ HP 6890 N (G1530N) - Agilent Technologies (Mỹ):

Inlet: bơm mẫu ở chế độ không chia dòng

Cột: ZB - 5ms 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm

Nhiệt độ lò: 40°C

Đầu dò MS: 250°C

Chương trình nhiệt sắc kí:

Giữ ở điều kiện đẳng nhiệt 40°C trong 5 phút

Tăng nhiệt độ 3°C/phút trong 25 phút đến 115°C

Tăng nhiệt độ 30°C/phút đến 220°C

Giữ ở điều kiện 220°C trong 5 phút.

Thời gian tổng cộng: 38 phút 30 giây

2.3.3. Công thức xác định hàm lượng 2-AP trong lá dứa và mẫu gạo

Đối với phương pháp SDE

Hàm lượng 2-AP được xác định theo công thức:

$$[2-AP]_{SDE} (\mu\text{g/kg}) = \frac{A}{RF} \times \frac{d}{m}$$

A: diện tích peak của 2-AP

RF: Response factor: hệ số phản hồi

d: số lần pha loãng

m: khối lượng mẫu đem phân tích (kg)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định peak của collidine trên GC

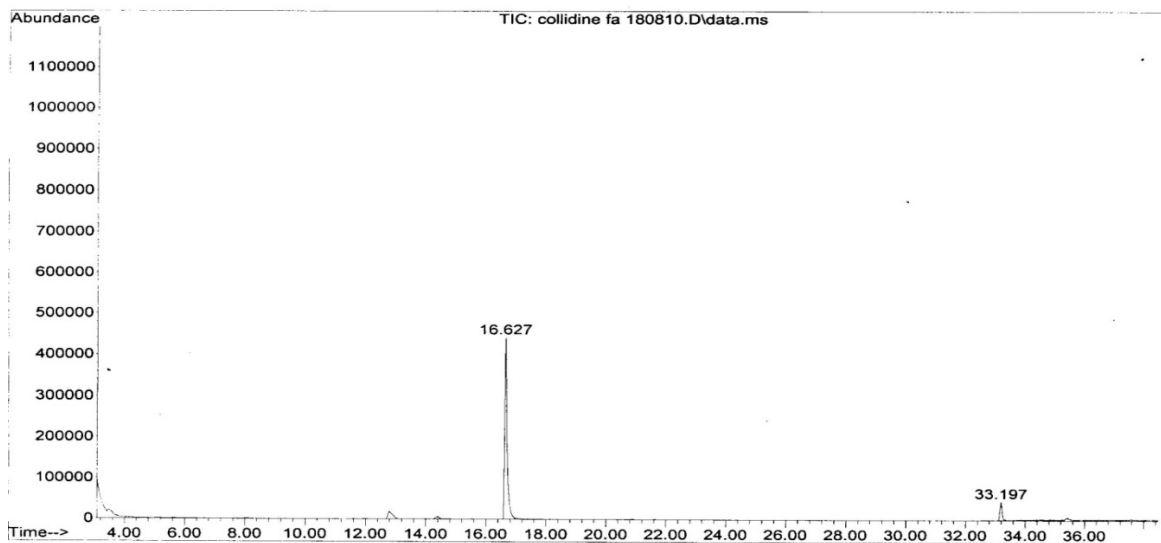
Áp dụng phương pháp phân tích 2-AP của Phan Phước Hiền (2009, 2010), chúng tôi đã sử dụng chất ngoại chuẩn là collidine vì collidine có tính chất vật lý hóa học tương tự như 2-AP có nghĩa là chúng có hệ số phản hồi gần bằng nhau. Theo phương pháp này, collidine được pha loãng ở nồng độ 10 ppm. Bơm 1 μ l vào máy GC

ta có sắc ký đồ ở hình 2.

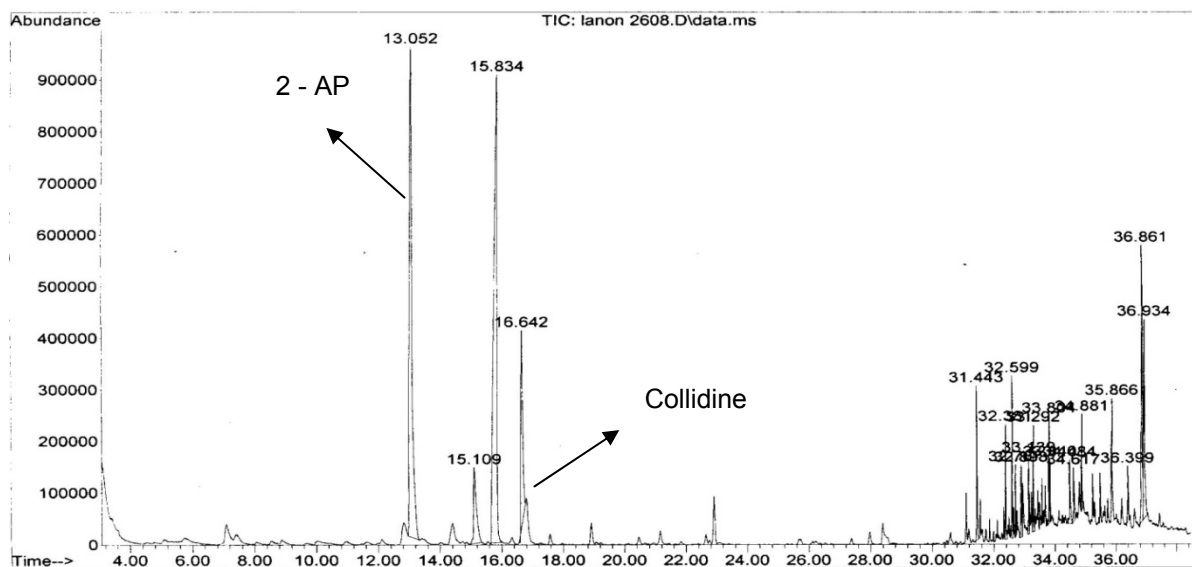
Dựa vào sắc ký đồ ta xác định được thời gian lưu của collidine là 16,627 phút.

3.2. Định tính 2-AP trong lá dứa bằng phương pháp SDE kết hợp với GC - MS

Sau khi tiến hành trích ly mẫu lá dứa bằng phương pháp SDE, dịch trích ly được xử lý và phân tích các hợp chất bay hơi có trong đó trên thiết bị GC -MS ta được sắc ký đồ ở hình 3.



Hình 2. Sắc ký đồ phân tích chuẩn collidine 10 ppm



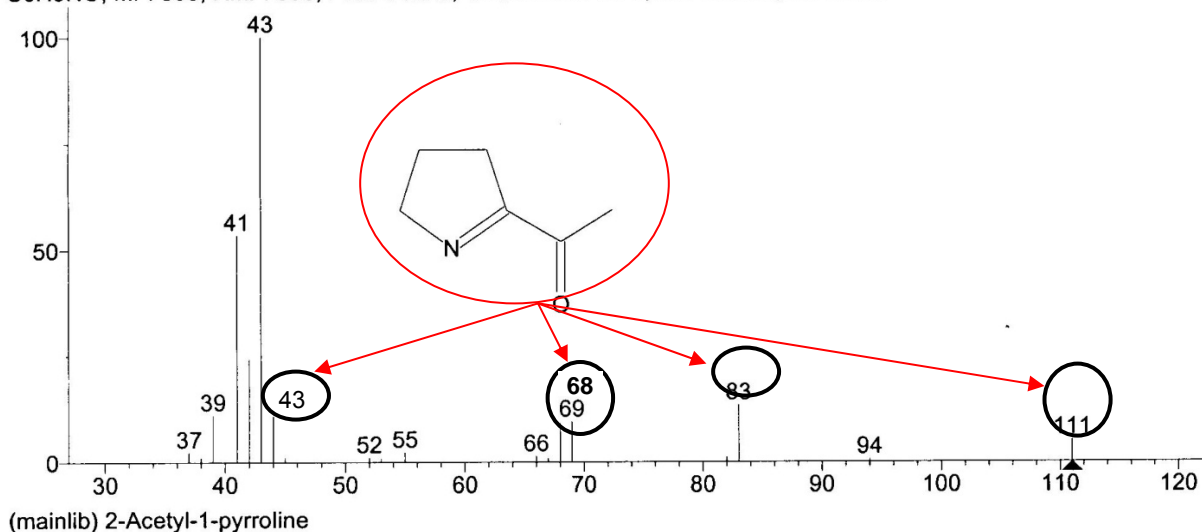
Hình 3. Sắc ký đồ phân tích các hợp chất bay hơi có trong mẫu lá dứa non

Nghiên cứu quy trình kỹ thuật chiết xuất và sử dụng 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) trong lá dứa làm chất chuẩn để phân tích 2-AP trong gạo thơm

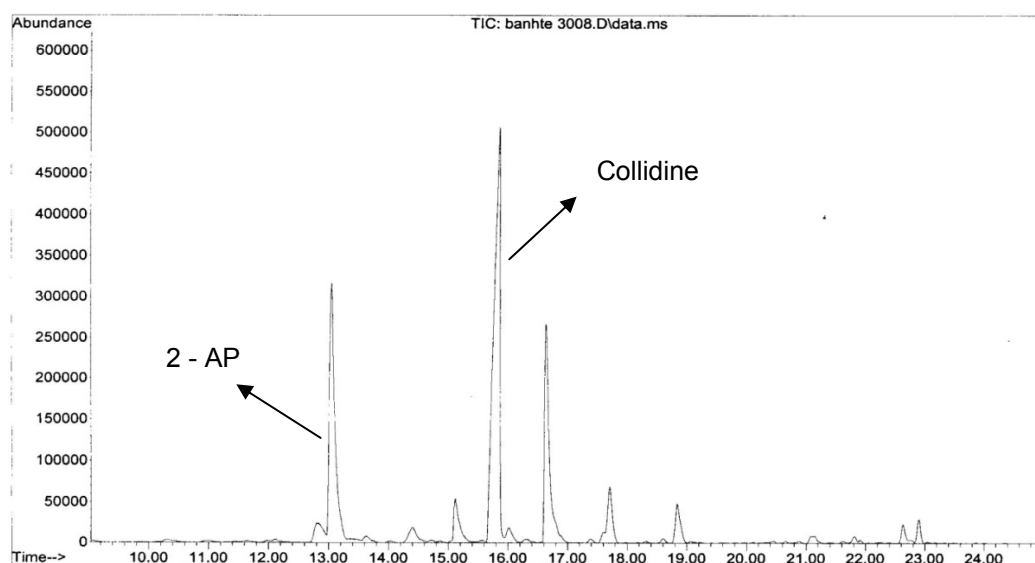
Theo phương pháp này, 2- AP được nhận biết như sau: dựa vào kết quả nghiên cứu của Bergman (2000), Casey và cs. (2000), hợp chất 2-AP sẽ xuất hiện trước peak của chuẩn collidine từ 2 - 3 phút; và đặc biệt theo kết quả của 3 nhóm nghiên cứu: (1) Uraivan Tanchotikul và cs (1991), (2) Sugunya Wongponchai và cs. (2003), (3) Varaporn và Sarath (1993) thì hợp chất 2-AP khi được phân tích qua buồng MS sẽ bị bắn phá thành các mảnh chính

có khối lượng 43, 68, 83, 111. Kiểm tra kết quả nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích mẫu nghiên cứu trên thiết bị GCMS, thư viện phổ NIST của thiết bị cho thấy peak có thời gian lưu Rt 13,052 phút chính là cấu tử 2-AP vì từ peak của cấu tử này sau khi qua buồng MS đã bị bắn phá thành bốn mảnh có khối lượng lần lượt là 43,68, 83, và 111 đúng theo các nghiên cứu trên (Hình 4).

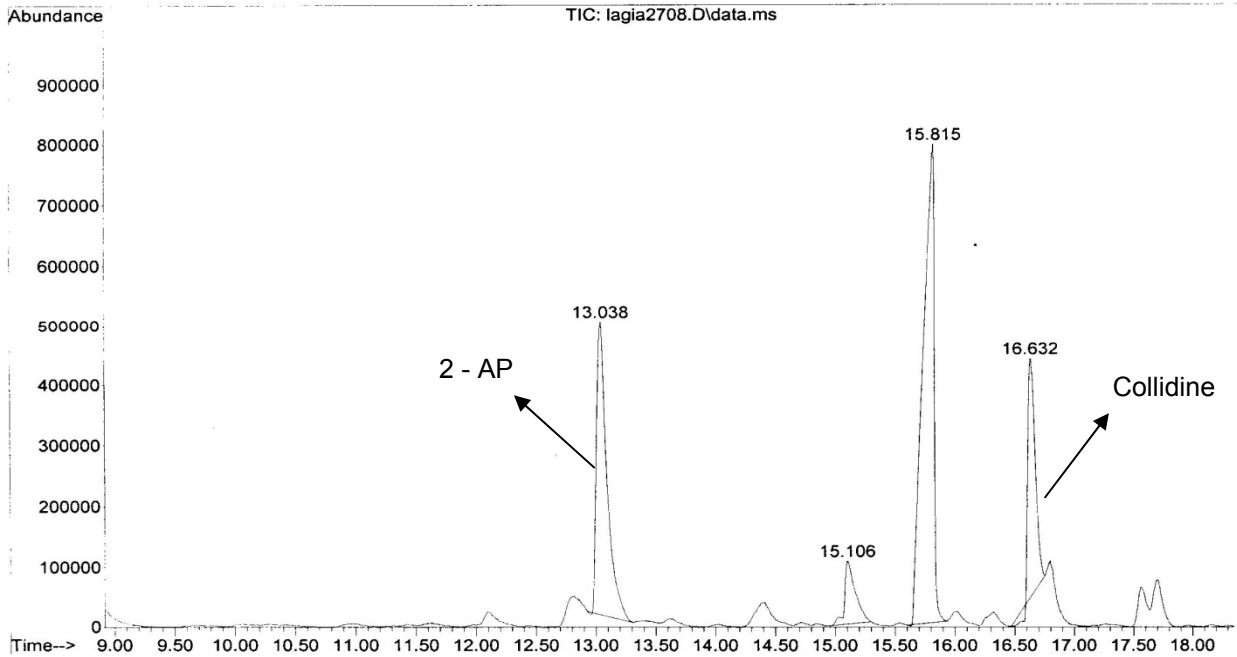
Hit 1 : 2-Acetyl-1-pyrroline
C₆H₉NO; MF: 803; RMF: 890; Prob 64.3%; CAS: 85213-22-5; Lib: mainlib; ID: 5466.



Hình 4. Phổ MS của hợp chất tại thời gian lưu 13.052 trong lá dứa non chính là 2-AP



Hình 5. Sắc kí đồ phân tích hợp chất bay hơi có trong mẫu lá dứa bánh tẻ



Hình 6. Sắc kí đồ phân tích hợp chất bay hơi có trong mẫu lá dứa già

Như vậy, bằng phương này hợp chất 2-AP đã được xác định tại $R_t = 13,052$ phút, xuất hiện trước peak của collidine 3,57 phút cũng rất phù hợp với nghiên cứu của Bergman (2000), Casey và cs. (2000).

Từ kết quả này, các mẫu lá dứa và gạo thơm khác đã được phân tích định tính và định lượng (Hình 6)

3.3. Định lượng 2-AP

2-AP được định lượng dựa vào hệ số phản hồi tương đương của nó đối với chất chuẩn collidine.

Hệ số phản hồi của 2-AP ta tính theo chất ngoại chuẩn collidine được tính theo công thức sau:

$$\text{Hệ số phản hồi RF} = \frac{\text{Diện tích peak}}{\text{Khối lượng}}$$

Diện tích peak của collidine: 14009069 pA*s

Khối lượng collidine bơm vào máy: 0,01µg

Suy ra hệ số phản hồi của collidine

$$\text{RF} = \frac{14009069}{0,01} = 1400906900 \text{ (pA*s/}\mu\text{g)}$$

Đối với lá dứa non, diện tích peak 2-AP là 58157862 pA*s

Từ đó, suy ra khối lượng 2-AP trong lá dứa non đã được bơm vào máy là:

$$m = \frac{\text{Diện tích peak}}{\text{RF}} = \frac{58157862}{14009069} = 0,041514 \mu\text{g}$$

Suy ra, hàm lượng 2-AP trong lá dứa non (ng/g):

$$\frac{0,041514 \cdot 1000}{20} = 2,07572 \text{ ppb}$$

(khối lượng mẫu lá dứa đưa vào trích ly là 20g)

Tương tự: Hàm lượng 2-AP trong lá dứa bánh tẻ (ng/g):

$$\frac{20672313 \cdot 1000}{14009069 \cdot 20} = 0,737818 \text{ ppb}$$

Hàm lượng 2-AP trong lá dứa già (ng/g):

$$\frac{31776315 \cdot 1000}{14009069 \cdot 20} = 1,134134 \text{ ppb}$$

Nghiên cứu quy trình kỹ thuật chiết xuất và sử dụng 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) trong lá dứa làm chất chuẩn để phân tích 2-AP trong gạo thơm

Bảng 1. Hàm lượng 2-AP (ng/kg) trong 3 loại lá dứa già, bánh tẻ và non

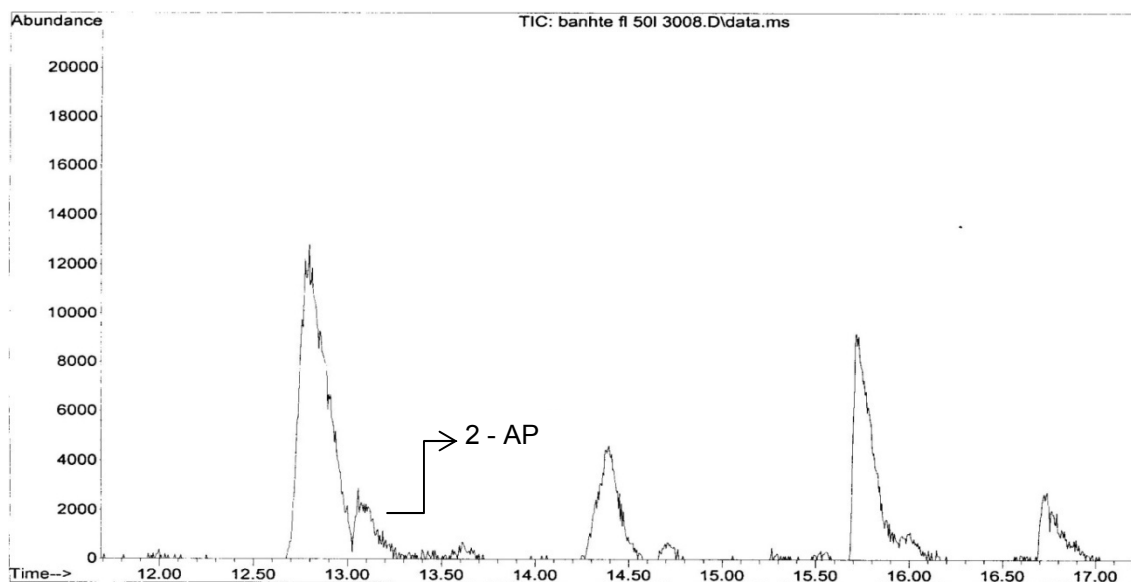
Lá dứa	Diện tích peak (pA*s)	Hàm lượng 2-AP (ng/kg)
Lá dứa non	58157862	2,07572
Lá dứa bánh tẻ	20672313	737,818
Lá dứa già	31776315	1,134134

3.4. Xác định LOD và LOQ

3.4.1. Phương pháp 1: Dựa trên sự ước lượng bằng thị giác

Dung dịch chiết lá bánh tẻ được pha loãng 5 lần, 10 lần, 50 lần, 80 lần lần lượt được phân

tích và ghi nhận được các kết quả tương ứng trên sắc ký đồ. Dựa vào sắc ký đồ của mẫu pha loãng 50 lần, ta xác định được bằng thị giác nồng độ 2-AP là 5,87 ng/kg, có nghĩa là 2-AP phát hiện tin cậy được. Nếu pha loãng 80 lần thì bằng thị giác không phát hiện được.



Hình 7. Sắc ký đồ trên GC của mẫu lá dứa bánh tẻ pha loãng 50 lần

3.4.2. Phương pháp 2: Dựa trên Signal to Noise (tín hiệu trên nhiễu nền)

Xác định tỉ lệ S/N bằng cách so sánh tín hiệu đo được từ mẫu với hàm lượng thấp chất phân tích với mẫu trắng và thiết lập nồng độ thấp nhất mà tại đó chất phân tích có thể phát hiện tin cậy được. Thông thường tỉ lệ S/N = 3 được sử dụng để tính toán giới hạn phát hiện.

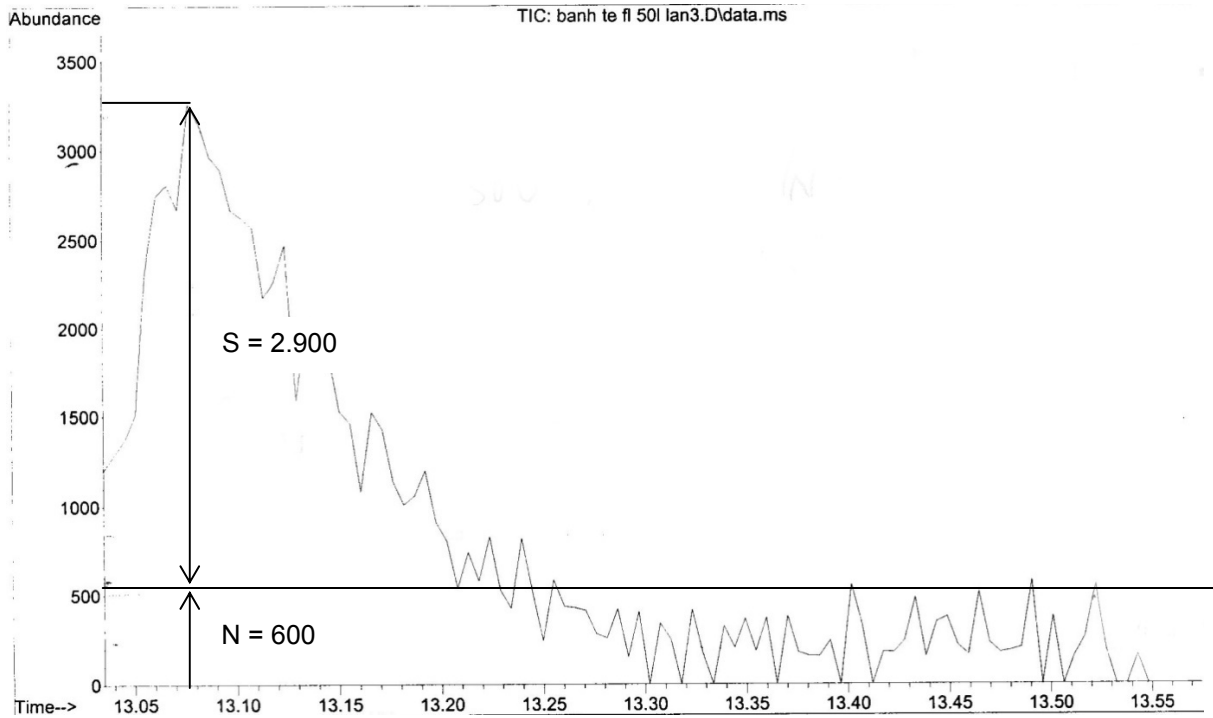
Dựa vào sắc ký đồ (Hình 8) của mẫu pha loãng 50 lần, ta tính được tỉ lệ S/N:

$$S/N = \frac{2900}{600} = 4,83333 \geq 3$$

Ta chấp nhận tỷ lệ này vì hình dạng peak của 2-AP ở nồng độ thấp có hiện tượng doãn chân peak. Nếu hạ thấp nồng độ hơn nữa sẽ rất khó xác định peak của hợp chất 2-AP.

3.4.3. Phương pháp 3: Dựa trên độ lệch chuẩn của tín hiệu và hệ số góc

Để xác định độ lệch chuẩn và hệ số góc, đầu tiên ta dựng đồ thị hiệu chỉnh gồm ít nhất 3 điểm có diện tích peak và nồng độ tương ứng. Sau khi pha loãng 5 lần, 10 lần, 50 lần, tiến hành phân tích trên GC và xác định được các diện tích peak tương ứng với các sắc ký đồ (Bảng 2).



Hình 8. Sắc ký đồ trên GC của mẫu lá dứa bánh tẻ pha loãng 50 lần (phóng to)

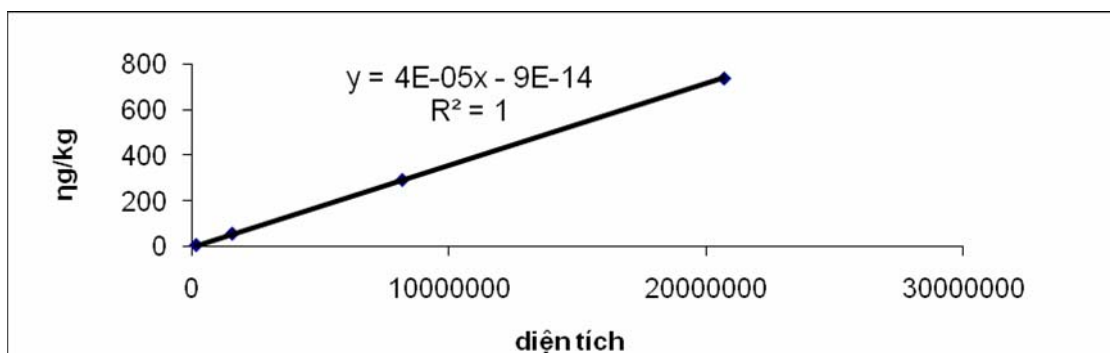
Tương tự, theo công thức của Butery & cs. (1986) ở trên, ta tính được nồng độ 2-AP trong các mẫu đã pha loãng (Bảng 3).

Bảng 2. Diện tích peak 2-AP của mẫu được pha loãng 5 lần, 10 lần, 50 lần

Lá dứa bánh tẻ	Diện tích peak (pA*s)
Không pha loãng	20672313
Pha loãng 5 lần	8173790
Pha loãng 10 lần	1563679
Pha loãng 50 lần	164385

Bảng 3. Nồng độ 2-AP (ng/kg) của các mẫu đã pha loãng

Lá dứa bánh tẻ	Diện tích peak (pA*s)	Nồng độ 2-AP (ng/kg)
Không pha loãng	20672313	737,8198
Pha loãng 5 lần	8173790	291,7321
Pha loãng 10 lần	1563679	55,80953
Pha loãng 50 lần	164385	5,867092



Hình 9. Đồ thị hiệu chỉnh dựa vào diện tích và nồng độ 2-AP của mẫu bánh tẻ được pha loãng 5, 10, 50 lần

Nghiên cứu quy trình kỹ thuật chiết xuất và sử dụng 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) trong lá dứa làm chất chuẩn để phân tích 2-AP trong gạo thơm

Đồ thị được xem như đường chuẩn khảo sát dựa trên các mẫu có nồng độ chất phân tích khác nhau, giá trị y-intercept của đường tuyến tính có thể sử dụng như độ lệch chuẩn.

Công thức tính LOD và LOQ cho phương pháp này:

$$\text{LOD} = 3,3 \cdot \sigma / S$$

$$\text{LOQ} = 10 \cdot \sigma / S$$

Với σ = độ lệch chuẩn của tín hiệu

S = hệ số của đường hiệu chỉnh

Dựa vào đường hiệu chỉnh và phương trình ta có thể xác định ngay hệ số của đường hiệu chỉnh $S = 4 \cdot 10^{-5}$.

Để tính độ lệch chuẩn, ta có thể sử dụng phương pháp hồi qui trên phần mềm MS Excel. Có 2 cách tính và đều cho kết quả tương tự.

Cách thứ nhất, dùng tính năng hồi qui (Regression) có sẵn trong MS Excel. Ta chỉ cần làm theo các bước (wizard) với bảng thống kê sau:

Từ đó xác định được độ lệch chuẩn $\sigma = 4,78 \cdot 10^{-5}$

Cách thứ hai, dùng hàm Steyx (known_y's, known_x's) với known_y's là cột giá trị của y tương ứng với cột diện tích peak, known_x's là

cột giá trị của x tương ứng với cột nồng độ 2-AP. Và kết quả độ lệch chuẩn $\sigma = 4,76456 \cdot 10^{-5}$.

Như vậy, ta có thể tính được LOD và LOQ theo phương pháp này là:

$$\text{LOD} = 3,3 \cdot \frac{4,76456 \cdot 10^{-5}}{4 \cdot 10^{-5}} = 3,93 \text{ ng/kg}$$

$$\text{LOQ} = 10,0 \cdot \frac{4,76456 \cdot 10^{-5}}{4 \cdot 10^{-5}} = 11,911388 \text{ ng/kg}$$

3.5. Khảo sát hàm lượng 2-AP trong 2 mẫu gạo Nanh Chồn 1 và 3

Việc chuẩn bị mẫu gạo cũng giống như lá dứa. Sau khi chuẩn bị mẫu, bơm vào máy sắc ký khí. Đối với mẫu Nanh chồn 1 (50 g) thì peak của 2-AP xuất hiện dạng vết, còn đối với mẫu Nanh chồn 3 (45 g) thì hàm lượng 2-AP nhiều hơn:

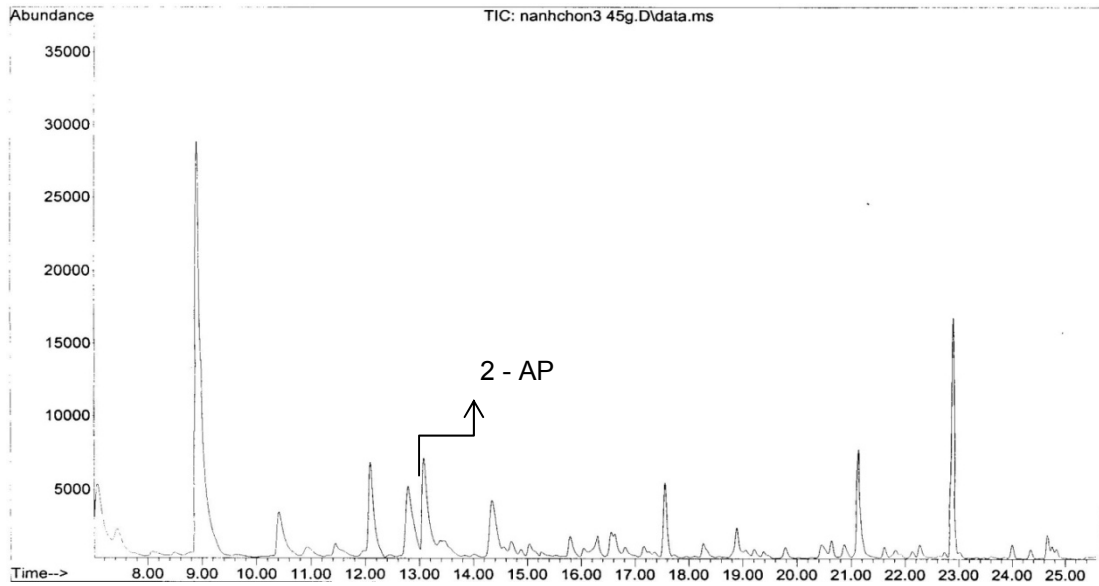
Dựa vào sắc ký đồ, ta xác định được diện tích peak của 2-AP trong mẫu gạo nanh chồn 3 là 263182 pA*s

Ta sử dụng đồ thị hiệu chỉnh trên (hình 10) như là đường chuẩn của hợp chất 2-AP với các diện tích và nồng độ tương ứng để xác định hàm lượng 2-AP trong gạo. Như vậy, đối chiếu diện tích peak 2-AP của mẫu gạo lên đường chuẩn ta có nồng độ 2-AP trong mẫu gạo nanh chồn 3 tương ứng là:

$$[2\text{-AP}]_{\text{nanh chồn 3}} = 4 \cdot 10^{-5} \cdot 263182 - 6 \cdot 10^{-14} = 10,52728 \text{ ng/kg}$$

Bảng 4. Bảng phân tích hồi qui đồ thị hiệu chỉnh (MS Excel)

SUMMARY OUTPUT					
Regression Statistics					
Multiple R	1				
R Square	1				
Adjusted R Square	1				
Standard Error	4.76E-05				
Observations	4				
ANOVA					
	df	SS	MS	F	Significance F
Regression	1	334939.1348	334939.1	1.47E+14	6.82E-15
Residual	2	4.57094E-09	2.29E-09		
Total	3	334939.1348			
	Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%
Intercept	-4.3E-05	3.28512E-05	-1.31241	0.319767	-0.00018
X Variable 1	3.57E-05	2.94826E-12	12105850	6.82E-15	3.57E-05



Hình 10. Sắc ký đồ phân tích các hợp chất thơm trong mẫu gạo nanh chôn 3

Bảng 5. Hàm lượng 2-AP được khảo sát trong 2 mẫu gạo nanh chôn 1 và 3

Mẫu gạo	Hàm lượng 2-AP (ng/kg)
Nanh chôn 1	Dạng vết
Nanh chôn 3	10,52728

- Hàm lượng 2-AP trong mẫu gạo nanh chôn 3 là 10,52728 ng/kg và mẫu nanh chôn 1 rất ít.

Xác định LOD và LOQ

Đối với phương pháp phân tích bằng SDE kết hợp GC sử dụng 2-AP trong lá dứa làm chất chuẩn, LOD và LOQ được xác định bằng 3 phương pháp như sau:

Phương pháp tính	LOD (ng/kg)	LOQ (ng/kg)
Dựa trên sự ước lượng bằng thị giác	5,87	-
Dựa trên tín hiệu trên nhiều nền	4,833	-
Dựa trên độ lệch chuẩn của tín hiệu và hệ số góc	3,93	11,91

4. KẾT LUẬN

Về phân tích định tính 2-AP trong lá dứa

Thời gian lưu Rt của hợp chất 2-AP được xác định bằng phương pháp SDE kết hợp GCFID và GC - MS tại điều kiện phòng thí nghiệm là 13,052 phút.

Hệ số phản hồi của 2-AP theo chất ngoại chuẩn collidine là 1400906900 pA*s/μg.

Về phân tích định lượng 2-AP trong lá dứa và gạo thơm

- Hàm lượng 2-AP trong lá dứa thơm ở Dĩ An, Bình Dương có hàm lượng thấp cụ thể là 3 loại lá dứa non, bánh tẻ, già lần lượt là 2,0757218; 0,7378189; 1,134134 ppb. Như vậy, lượng 2-AP hiện diện nhiều nhất trong lá dứa non, kế đến là lá dứa già và ít nhất là lá dứa bánh tẻ.

Trên đây chỉ là những kết quả bước đầu ứng dụng phương pháp SDE-GCFID và GCMS để chiết xuất và sử dụng 2-AP trong lá dứa như là chất chuẩn để phân tích định tính và định lượng 2-AP cũng như các hợp chất thơm khác trong gạo thơm. Do vậy rất cần được khuyến khích tiếp tục nghiên cứu xây dựng thành phương pháp tiêu chuẩn áp dụng rộng rãi trong việc phân tích đánh giá chất lượng lúa gạo ở nước ta.

Nghiên cứu quy trình kỹ thuật chiết xuất và sử dụng 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) trong lá dứa làm chất chuẩn để phân tích 2-AP trong gạo thơm

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Casey C. Crimm, Christine Bergman, Janis T. Delgado and Rolfe Bryant (2001). Screening for 2 - Acetyl - 1 - Pyrroline in the Headspace of Rice Using SPME/GC - MS, J. Agric. Food Chem., 2001, 49(1), tr 245 - 249.
- David Armbruster, Margaret D. Tillman (1994). Limit of detection (LOD)/ Limit of quantitation (LOQ): Comparison of the Empirical and of the statistical Methods Exemplified with GCMS Assay for Abuse drugs, Clinical, Chemistry. Vol 4/ No 7 pp: 1233-1238 (1994) Laboratory Management and Utilization.
- Phan Phuoc Hien (2010). Méthodes d'analyse des arômes du riz, Agricultural publishing House Vietnam, 26 international references.
- Phan Phước Hiền, Trương Thị Bích Liễu, Huỳnh Vĩnh Khang, Đỗ Khắc Thịnh (2009). Phân tích so sánh hàm lượng mùi thơm 2-AP trong lá dứa (*Pandanus amaryllifolius*) với gạo thơm bằng SPME-GC/GCMS và DES-GC/GCMS. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm Lâm nghiệp số 02/2009, tr 6 - 13.
- Phan Phuoc Hien, Trương Thị Bích Liễu, Nguyễn Thị Thu Hương, Huỳnh Vĩnh Khang (2009). Analysis and comparison of 2 - Acetyl - 1 - pyrroline content in Pandanus' leaf with aromatic rice by SPME and SDE coupling with GC and GCMS. The Analytica Conference 2009, Organized by Vietnam Analytical Science Society (VASS), tr 149 - 156.
- Paramita Bhattacharjee, Amol Kshirsagar and Rekha S. Singhal (2004). Supercritical carbon dioxide extraction of 2 - acetyl - 1 - pyrroline from Pandanus amaryllifolius Roxb, Food Chemistry, 91 (2), June 2005, tr 255 - 259.
- T. Yoshihashi (2002). Quantitative Analysis on 2 - Acetyl - 1 - pyrroline of an Aromatic Rice by Stable Isotope Dilution Method and Model Studies on its Formation during Cooking, Journal of Food Science, 67 (2), March 2002, tr 619 - 622.