รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กัลยา วานิชย์บัญชา. การวิเคราะห์สถิติ: สถิติเพื่อการตัดสินใจ. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542. 550 หน้า.

ซิลเวอร์แมน, ฮาโรลด์ เอ็ม; โรมาโน, โจเซฟ; และ เอลเมอร์, เกรย์. วิตามิน. แปลโดย พิสิฐ วงศ์วัฒนะ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์หมอชาวบ้าน, 2547. 608 หน้า.

นพมาศ มนัสวรากุล. การสำรวจปริมาณแกมมา-โอไรซานอลและวิตามินอีในข้าวไทยสายพันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 2545. 140 หน้า.

นิธิยา รัตนาปนนท์. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2545. 504 หน้า.

นิธิยา รัตนาปนนท์. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2548. 244 หน้า.

นัยนา บุญทวียุวัฒน์. ชีวเคมีทางโภชนาการ. กรุงเทพฯ: ซิกมา ดีไซน์กราฟฟิก, 2546. 410 หน้า.

ปราณี อ่านเปรื่อง. หลักการวิเคราะห์อาหารด้วยประสาทสัมผัส. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2547. 323 หน้า.

ภานุวัฒน์ ยีหวังเจริญ. การเพิ่มโทโคเฟอรอลในผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมน้ำมันถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2544. 107 หน้า

เมอร์วิน, ลีโอนาร์ด. มารู้จักและเข้าใจวิตามิน. แปลโดย ปัทมา ทองสม. นนทบุรี: สำนักพิมพ์เจริญวิทย์การพิมพ์, 2537. 160 หน้า.

วราพร พงศธรกุลพานิช. การวิเคราะห์เอกลักษณ์และปริมาณโทโคฟีรอลและโอไรซานอลในกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 2543. 102 หน้า

วราพร ลักษณลม้าย และ เบญจรัก วายุภาพ. Trans Fats อันตรายที่คาดไม่ถึง. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 19,2 (เมษายน-มิถุนายน 2547): 31-34.

ภาษาอังกฤษ

AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 5 th ed. Illinois: AOCS press, 1998.

Aro, A., J. V. Amelsvoort, W. Becker, M. A. V. Erp-Baart, A. Kafatos, T. Leth and G. V. Poppel. Trans fatty acids in dietary fats and oils from 14 European countries: The TRANSFAIR study. Journal of Food Composition and Analysis 11 (1998): 137-149.

Choe, E., J. Lee and D. B. Min. Chemistry for oxidative stability of edible oils. In C. C. Akoh, and O. Lai (eds.), Healthful Lipids. pp. 558-590. Illinois: AOCS press, 2005.

CODEX Stan 210. Codex standard for named vegetable oils. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission, 1999. 13 pp.

De Greyt, W. and M. Kellens. Deodorization. In F. Shahidi (ed.), Bailey's Industrial Oil and Fat Products. 6 th ed. vol.5. pp. 341-383. New York: John Wiley & Sons, 2005.

Eitenmiller, R., and J. Lee. Vitamin E: Food Chemistry, Composition, and Analysis. New York: Marcel Dekker, 2004. 530 pp.

Ferrari, R. A., E. Schulte, W. Esteves, L. Bruhl, and K. D. Mukherjee. Minor constituents of vegetable oils during industrial processing. Journal of the American Oil Chemists' Society 73, 5 (1996): 587-592.

Frandsen, S. S. Distillate information. Supplier Brochure Henkel Corporation. USA: (n.p.), (n.d.). 26 pp. (Unpublished Manuscript)

Goburdhun, D., P. Seebun, and A. Ruggoo. Effect of deep-fat frying of potato chips and chicken on the quality of soybean oil. Journal of Consumer Studies & Home Economics 24, 4 (December 2000): 223-233.

Gupta, M. K. Procedures for oil handling in a frying operation. In M. K. Gupta, K. Warner and P. J. White (eds.), Frying Technology and Practices. pp. 50-75. Illinois: AOCS press, 2004.

Hunter, J. E. Nutritional considerations of trans fatty acids. In D. R. Kodali, and G. R. List (eds.), Trans Fats Alternatives, pp. 34-46. Illinois: AOCS press, 2005.

Jung, M. Y., S. H. Yoon, and D. B. Min. Effects of processing steps on the content of minor compounds and oxidation of soybean oil. Journal of the American Oil Chemists' Society 66, 1 (1989): 118-120.

Kellens, M. Current Developments in Oil Refining Technology. Technical Report De Smet-Belgium. Belgium: (n.p.),1997. 63 pp. (Unpublished Manuscript)

Kellens, M., and W. De Greyt. Deodorization. In R. D. O'Brien, W. E. Farr, and P. J. Wan (eds.), Introduction to Fats and Oils Technology, pp. 235-268. Illinois: AOCS press, 2000.

Kodali, D. R. Trans fats-chemistry, occurrence, functional need in foods and potential solutions. In D. R. Kodali, and G. R. List (eds.), Trans Fats Alternatives, pp. 1-25. Illinois: AOCS press, 2005.

Mcsavage, J., and S. Trevisan. The use and abuse of frying oil. Food Service Technology (2001): 85-92.

Medina-Juarez, L. A., N. Gamez-Meza, J. Ortega-Garcia, J.A. Noriega-Rodriguez, and O. Angulo-Guerrero. Trans fatty acid composition and tocopherol content in vegetable oils produced in Mexico. Journal of the American Oil Chemists' Society 77, 7 (2000): 721-724.

Montgomery, D. C. Design and Analysis of Experiments. 6 th ed. New York: John Wiley & Sons, 2005. 643 pp.

Moreira, R. G., M. E. Castell-Perez, and M. A. Barrufet. Deep-fat Frying: Fundamentals and Applications. Gaithersburg: Aspen, 1999. 350 pp.

Mossoba, M., J. K. G. Kramer, P. Delmonte, M.P. Yurawecz, and J. I. Rader. Determination of trans fats by gas chromatography and infared methods. In D. R. Kodali, and G. R. List (eds.), Trans Fats Alternatives, pp. 47-70. Illinois: AOCS press, 2005.

Normand, L., N. A. M. Eskin, and R. Przybylski. Effects of tocopherols on the frying stability of regular and modified canola oils. Journal of the American Oil Chemists' Society 78, 4 (2001): 369-373.

Pinkaew, S. Trans fatty acids content in selected foods available in Thailand. Master's Thesis, Food and Nutrition for Development, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, 2002. 103 pp.

Pokorny, J., and J. Parkanyiova. Lipids with antioxidant properties. In C. C. Akoh, and O. Lai (eds.), Healthful Lipids. pp. 273-300. Illinois: AOCS press, 2005.

Prayanoi, R. Effect of heat on fatty acid composition of some selected fried foods. Master's Thesis, Nutrition, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, 1995. 112 pp.

Ratnayake, W. M. N., and C. Zehaluk. Trans fatty acids in foods and their labeling. In C. C. Akoh, and O. Lai (eds.), Healthful Lipids. pp. 1-32. Illinois: AOCS press, 2005.

Schrimpf-Moss, J., and V. Wilkening. Trans fat-new FDA regulations. In D. R. Kodali, and G. R. List (eds.), Trans Fats Alternatives. pp. 26-33. Illinois: AOCS press, 2005.

Taylor, D. R. Bleaching. In F. Shahidi (ed.), Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6 th ed. vol.5. pp. 285-340. New York: John Wiley & Sons, 2005.

Tyagi, V. K., and A. K. Vasishtha. Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying. Journal of the American Oil Chemists' Society 73, 4 (1996): 499-506.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

ก.1 การวัดสีของน้ำมัน (color)

วิธีของ AOCS Cc 13e-92 (1998)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

1. เครื่องวัดสีของน้ำมันพืช (Lovibond tintometer) รุ่น PFX 990 จากสหราชอาณาจักร
2. cell ใส่ตัวอย่างขนาด 5 ¼ นิ้ว

วิธีวิเคราะห์

1. กดปุ่ม on บนเครื่องเพื่อเปิดเครื่องวัดสี
2. กดปุ่ม cell path length บนเครื่อง เลื่อนเคอร์เซอร์ที่หน้าจอไปที่ fix path length เลือก cell ขนาด 5 ¼ นิ้ว กด shift home เพื่อกลับไปสู่หน้าจอปกติ
3. เทตัวอย่างน้ำมันที่ต้องการวัดสีลงใน cell ขนาด 5 ¼ นิ้ว ให้ระดับน้ำมันต่ำกว่าขอบบนของ cell ลงมาประมาณ 3 mm
4. นำ cell ที่ใส่ตัวอย่างน้ำมันแล้วไปวางในช่องใส่ cell ของเครื่องวัดสี
5. กดปุ่ม read บนเครื่อง หน้าจอจะแสดงผลการวัดสีเป็นค่าค่าสีแดง (R) และสีเหลือง (Y) บันทึกค่าที่อ่านได้
6. เมื่อต้องการเปลี่ยนตัวอย่างที่ต้องการวัดใหม่ นำ cell ที่ใสตัวอย่างเก่าออกจากเครื่องวัดสี เทน้ำมันออกจาก cell ล้าง cell ด้วยสารละลายเฮกเซนให้สะอาดและทิ้งไว้ให้แห้ง ใส่ตัวอย่างน้ำมันใหม่ลงใน cell กดปุ่ม read บนเครื่อง หน้าจอจะแสดงผลการวัดสีเป็นค่า R และ Y บันทึกค่าที่อ่านได้

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระ (free fatty acids)

วิธีของ AOCS Ca 5a-40 (1998)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

1. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 mL

2. Ethyl alcohol 95 % (จะต้องสะเทินกับสารละลาย sodium hydroxide (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 N โดยใช้สารละลาย phenolphthalein เป็น indicator สารละลาย ethyl alcohol 95 % จะต้องมีสีชมพูถาวรก่อนนำไปใช้ เหตุผลที่ต้องสะเทินเพื่อป้องกันไม่ให้ผลวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันได้สูงกว่าความเป็นจริงเนื่องมาจากความเป็นกรดที่อาจมีอยู่ใน ethyl alcohol 95 %)

3. สารละลาย phenolphthalein indicator 1 % ใน ethyl alcohol 95 %

4. สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 N

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักน้ำมันตามตารางที่ ก.1 ลงในขวดรูปชมพู่

2. เติม ethyl alcohol 95 % ตามปริมาณที่กำหนดในตารางที่ ก.1 ลงในขวดรูปชมพู่

3. เติมสารละลาย phenolphthalein indicator ลงในขวดรูปชมพู่ 2 mL

4. ไทเทรตด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 N เขย่าขวดอย่างแรงจนกระทั่งสังเกตเห็นสีชมพูถาวรเป็นเวลา 30 วินาที

การคำนวณ

$$\text{Free fatty acids as oleic acid, \%} = \frac{(\text{ปริมาตรของ NaOH, mL}) \times N \times 28.2}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}}$$

ตารางที่ ก.1 น้ำหนักของสารตัวอย่าง ปริมาตรของแอลกอฮอล์ และค่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ในการตรวจสอบปริมาณกรดไขมันอิสระ

ช่วงของปริมาณกรดไขมันอิสระ (%)	น้ำหนักของสารตัวอย่าง (g)	ปริมาตรของเอธิลแอลกอฮอล์ (mL)	ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ (N)
0-0.2	56.4 ± 0.2	50	0.1
0.2-1.0	28.2 ± 0.2	50	0.1
1.0-30.0	7.05 ± 0.05	75	0.25
30.0-50.0	7.05 ± 0.05	100	0.25 หรือ 1.0

ลงหมู่ วพ. 2549
เลขทะเบียน 6354
วันเดือนปี 13 ส.ค. 2557

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันชนิดทรานส์ (trans fatty acids)

วิธีของ AOCS Ce 1f-96 และ AOCS Ce 2-66 (1998)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

1. Gas Chromatography (GC)
   1.1 เครื่อง GC ยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น HP 6890 ประเทศสหรัฐอเมริกา
   1.2 คอลัมน์ : SP2340 (60m x 0.2 mm x 0.25 μm) ยาว 60 m.
   1.3 Detector : flame ionization detector (FID)
2. GC syringe
3. ขวดรูปชมพู่แบบมีข้อต่อ ขนาด 125 mL
4. ชุด condenser
5. Hot plate
6. Syringe ขนาด 10 mL
7. Carrier gas (He, H_2, Air)
8. สารละลาย NaOH 0.5 N ใน methanol (99.9 %) HPLC/spectroscopy grade
9. 14 % boron trifluoride-methanol complex (synthesis grade) ผสมมาสำเร็จรูป
10. สารละลายอิ่มตัว NaCl
11. n-heptane (99.0 %) HPLC grade
12. Sodium sulfate anhydrous (Na_2SO_4) (99.0 %) analysis grade
13. สำลี

วิธีวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.2 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในขวดรูปชมพู่แบบมีข้อต่อ ขนาด 125 mL

2. เติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 0.5 N ใน methanol (99.9 %) 4 mL และต่อขวดรูปชมพู่เข้ากับชุด condenser จากนั้นนำไปให้ความร้อนบน hot plate จนเดือด (ประมาณ 5-10 นาที หรือจนกว่าสารละลายจะรวมเป็นเนื้อเดียวกัน)

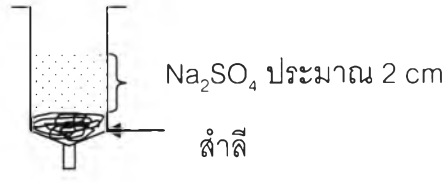
3. เติมสารละลาย 14 % boron trifluoride-methanol complex 5 mL ลงในขวดรูปชมพู่ โดยผ่านด้านบนของcondenser ทิ้งไว้ให้เดือดนาน 2 นาที จากนั้นปิด hot plate

4. เติม heptane (99.0%) 10 mL ลงในขวดรูปชมพู่โดยผ่านด้านบนของ condenser ทิ้งไว้ 1 นาที

5. นำขวดรูปชมพู่ออกจาก condenser และ hot plate จากนั้นเติมสารละลายอิ่มตัว NaCl 5 ml ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น

6. ค่อยๆ รินสารละลายใสส่วนบนลงในบีกเกอร์ ขนาด 10 mL ให้ได้ปริมาตร 2-5 mL

7. เตรียมกระบอกฉีดยาที่ใส่สำลี และ sodium sulfate anhydrous สูงประมาณ 2 cm. (รูปที่ ก.1)



รูปที่ ก.1 กระบอกฉีดยาที่ใส่สำลี และ sodium sulfate anhydrous สูงประมาณ 2 cm.

8. เทสารละลายในข้อ 6 ผ่านกระบอกฉีดยาที่เตรียมไว้ โดยใช้ vial รองรับสารละลายที่ได้

9. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC

การฉีดสารตัวอย่าง

1. ใช้ GC syringe ดูดตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ 1 μL (ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ)

2. กดปุ่ม prep run ที่เครื่อง GC และรอจนกระทั่งเครื่องพร้อม โดยสังเกตจากคำว่า ready จะขึ้นบนหน้าจอ

3. ฉีดตัวอย่าง 1 μL เข้าทาง Inlet พร้อมกับกดปุ่ม start ที่เครื่อง GC

4. ถ้าต้องการ run ตัวอย่างใหม่ให้รอจน ready และเริ่มทำตามขั้นตอนข้อ 1-3

ภาวะของเครื่อง GC

1. อุณหภูมิ inlet สารตัวอย่าง 200 °C

2. อุณหภูมิของคอลัมน์ 192 °C

3. อุณหภูมิของ detector 200 °C

4. Split ratio 1:1

การแปรผลจากโครมาโตแกรม

โปรแกรมของเครื่อง GC จะคำนวณและรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ (%) ของปริมาณกรดไขมันชนิดทรานส์แต่ละชนิดในน้ำมันถั่วเหลือง โดยแสดงผลในคอลัมน์ area % ในโครมาโตรแกรมขององค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันถั่วเหลือง ดังแสดงในภาคผนวก รูปที่ ง.1

ซึ่งการคำนวณโดยโปรแกรมของเครื่อง GC จะต้องฉีดสารมาตรฐานของกรดไขมันชนิดซิสและกรดไขมันชนิดทรานส์ที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนระหว่าง 8-22 อะตอม เข้าไปในเครื่อง GC ก่อน เพื่อหาค่า retention time ของกราฟของกรดไขมันแต่ละชนิดและเก็บข้อมูลไว้ในโปรแกรมของเครื่อง GC หลังจากนั้นจึงฉีดตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลืองที่เตรียมให้อยู่ในรูป methyl ester ของกรดไขมันแล้วเข้าไป โปรแกรมของเครื่อง GC จะคำนวณ % ของกรดไขมันแต่ละชนิดจากพื้นที่ใต้กราฟ (area) ของกรดไขมันแต่ละชนิดต่อพื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันทั้งหมด โดยทั่วไปจะคำนวณตามสมการ

$$X = \frac{A_x}{A_t} \times 100$$

X = % ของกรดไขมันแต่ละชนิด

A_x = พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันแต่ละชนิด

A_t = พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันทุกชนิดในโครมาโตแกรมรวมกัน

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณโทโคฟีรอลทั้งหมด (total tocopherol)

วิธีของ AOCS Ce 8-89 (1998)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

1. เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Series 200 ประเทศสหรัฐอเมริกา ประกอบด้วย

1.1 High pressure pump

1.2 Sample Injector

1.3 Fluorescence detector รุ่น LC 240

1.4 Column: silica ยาว 25 cm. ชนิด normal phase (stationary phase มีขั้ว)

2. Mobile phase: สารละลาย hexane (95 %) HPLC grade 99.5 % v/v ผสมกับสารละลาย isopropanol (99.8 %) HPLC grade 0.5 % v/v

3. Syringe ขนาด 30 μL

4. ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL 25 mL และ 100 mL

5. Vial ขนาด 2 mL

6. ปิเปตขนาด 1 mL

7. n-hexane (95 %) HPLC grade

วิธีวิเคราะห์

การสร้าง standard curve ของสารละลายมาตรฐานโทโคฟีรอล

- วิธีการเตรียมสารละลาย stock solution ของสารมาตรฐานโทโคฟีรอล

1. สำหรับสารมาตรฐานผสมระหว่าง แอลฟา-โทโคฟีรอล (A-Toco) แกมมา-โทโคฟีรอล (G-Toco) และ เดลตา-โทโคฟีรอล (D-Toco) เป็นของเหลวหนืดสีเหลือง สามารถเตรียมสารละลายมาตรฐาน stock solution ได้ดังต่อไปนี้

1.1 ชั่งสารมาตรฐานของโทโคฟีรอลผสม 10 mg ใส่ลงในขวด vial ขนาด 2 mL

1.2 เติม n-hexane (95 %) เพื่อละลายสารมาตรฐานผสมให้ละลายทั้งหมด

1.3 ถ่ายสารละลายในข้อ 1.2 ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL โดยใช้ n-hexane (95 %) ล้างใน vial เพื่อถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรหลายๆ ครั้ง เพื่อให้มั่นใจว่าไม่มีสารมาตรฐานของโทโคฟีรอลผสมเหลืออยู่ใน vial

1.4 เติม n-hexane (95 %) ลงในขวดวัดปริมาตรจนถึงขีดวัดปริมาตร

สารละลาย stock solution ของสารมาตรฐานโทโคฟีรอลผสมของ แอลฟา-โทโคฟีรอล แกมมา-โทโคฟีรอล และ เดลตา-โทโคฟีรอล มีความเข้มข้นอยู่ที่ 100 μg/mL

2. สำหรับสารมาตรฐาน บีตา-โทโคฟีรอล (B-Toco) เป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น 50 mg/mL ใน n-hexane (95 %) สามารถเตรียมสารละลายมาตรฐาน stock solution ได้ดังต่อไปนี้

2.1 ปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน บีตา-โทโคฟีรอล 50 μl ลงใน vial ขนาด 50 ml

2.2 เติม n-hexane (95 %) ลงในขวดวัดปริมาตรจนถึงขีดวัดปริมาตร

สารละลาย stock solution ของสารมาตรฐานบีตา-โทโคฟีรอล มีความเข้มข้นอยู่ที่ 50 μg/mL

- วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐานของโทโคฟีรอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

1. ใช้ไมโครปิเปตต์ดูดสารละลาย stock solution ของสารมาตรฐานโทโคฟีรอล ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL โดยใช้ปริมาตรของสารละลาย stock solution ของสารมาตรฐานโทโคฟีรอลแต่ละชนิด ตามตารางที่ ก.2

2. เติม n-hexane (95 %) ลงในขวดวัดปริมาตรจนถึงขีดวัดปริมาตร

3. นำสารละลายมาตรฐานของโทโคฟีรอลชุดที่ 1-4 ที่เตรียมได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อหาพื้นที่ใต้กราฟ

4. นำข้อมูลที่ได้มาสร้าง standard curve ระหว่างความเข้มข้น (ppm) ของโทโคฟีรอลแต่ละชนิด (แกน x) กับพื้นที่ใต้กราฟ (แกน y)

ตารางที่ ก.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานของโทโคฟีรอล

ชนิดของโทโคฟีรอล	สารละลายมาตรฐานชุดที่ 1 (μl)	สารละลายมาตรฐานชุดที่ 2 (μl)	สารละลายมาตรฐานชุดที่ 3 (μl)	สารละลายมาตรฐานชุดที่ 4 (μl)
A-Toco	500	400	300	200
B-Toco	1,000	800	600	400
G-Toco	500	400	300	200
D-Toco	500	400	300	200
ความเข้มข้นของโทโคฟีรอลแต่ละชนิดในสารละลายมาตรฐาน (ppm)	5	4	3	2

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างน้ำมันที่แน่นอนประมาณ 2.5 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 mL

2. เติม hexane (95 %) ลงครึ่งหนึ่งของขวดวัดปริมาตร เขย่าให้ตัวอย่างน้ำมันและ hexane (95 %) เข้ากัน เติม hexane (95 %) จนถึงขีดวัดปริมาตรและเขย่าอีกครั้ง

3. ดูดสารละลายในข้อ 2 ด้วยปิเปต ปริมาตร 1 mL ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml เติม hexane (95 %) จนถึงขีดบอกระดับ เขย่าให้เข้ากัน

การฉีดสารตัวอย่าง

1. ใช้ syringe ดูดสารตัวอย่างที่เตรียมไว้ 20 μL (ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ)

2. ฉีดตัวอย่าง 20 μL เข้าทาง sample ejector หลังจากนั้นหมุนปุ่ม ejector ที่เครื่อง HPLC เพื่อให้เครื่องเริ่มทำการวิเคราะห์

ภาวะของเครื่อง HPLC

1. อัตราการไหลของสารละลาย mobile phase 1.0 mL/min.

2. อุณหภูมิของคอลัมน์ 30 °C

3. Fluorescence detector

   3.1 Excitation wavelength 299 nm

   3.2 Emission wavelength 330 nm

การแปรผลจากโครมาโตแกรม

โปรแกรมของเครื่อง HPLC จะคำนวณและรายงานผลปริมาณโทโคฟีรอลแต่ละชนิดในน้ำมันถั่วเหลืองเป็นเปอร์เซ็นต์ (%) และ part per million (ppm) โดยแสดงผลในในคอลัมน์ Toco-Content % และคอลัมน์ Toco-Content (ppm) ในโครมาโตรแกรมของโทโคฟีรอลแต่ละชนิดในน้ำมันถั่วเหลือง ดังแสดงในภาคผนวก รูปที่ ง.2

ซึ่งการคำนวณโดยโปรแกรมของเครื่อง HPLC จะคำนวณปริมาณของโทโคฟีรอลแต่ละชนิดเป็น % และ ppm โดยทั่วไปจะคำนวณจาก standard curve ระหว่างความเข้มข้น (ppm) ของสารมาตรฐานโทโคฟีรอลแต่ละชนิดกับพื้นที่ใต้กราฟของโทโคฟีรอลแต่ละชนิด

ก.5 การวิเคราะห์ความชื้นและสารที่ระเหยได้ (moisture and volatile matter)

วิธีของ AOCS Ca 2c-25 (1998)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

1. ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ Binder รุ่น FD115 ประเทศเยอรมัน
2. Aluminum moisture dishes ขนาดประมาณ 50x20 mm. มีฝาปิดแน่นหนา
3. Desiccator บรรจุด้วยเม็ด silica gel

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 5 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงใน moisture dish ที่ถูกทำให้แห้งและเย็นใน desiccator แล้ว

2. นำเข้า air oven ที่อุณหภูมิ 130±1 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องใน desiccator แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{Moisture and volatile matter, \%} = \frac{\text{น้ำหนักที่สูญหายไป (g)} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (g)}}$$

ก.6 การวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์ (peroxide value)

วิธีของ AOCS Cd 8–53 (1998)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

1. ปิเปตต์ ขนาด 0.5 mL หรือเครื่องมืออื่นๆ ที่เหมาะสมที่สามารถปิเปตต์ 0.5 mL ของสารละลาย potassium iodide (KI) อิ่มตัวได้อย่างละเอียด
2. ขวดรูปชมพู่ซึ่งมีฝาจุกแก้วปิด ขนาด 250 mL
3. บิวเรตต์ ขนาด 10 mL หรือขนาดอื่นๆ ซึ่งควรมีขีดบอกปริมาตรอย่างละเอียดได้ถึงขีดละ 0.02 ml
4. บีกเกอร์ขนาด 250 mL
5. นาฬิกาจับเวลา
6. แท่งแก้วสำหรับคน

7. สารละลาย acetic acid-chloroform 3:2 volume/volume เตรียมได้โดยผสม glacial acetic acid ชนิด reagent grade 3 ส่วนโดยปริมาตร (3 volume เช่น 300 mL) กับ chloroform ชนิด reagent grade 2 ส่วนโดยปริมาตร (2 volume เช่น 200 mL)

8. สารละลาย saturated potassium iodide (KI) อิ่มตัว จัดเก็บในขวดสีชา

9. สารละลาย sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) 0.1 N ที่ standardized แล้วเพื่อหาความเข้มข้นอย่างละเอียดด้วย potassium dichromate primary standard

9.1 ละลาย sodium thiosulfate จำนวน 24.9 g ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร

9.2 เตรียมสาร potassium dichromate primary standard โดยนำ potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่เป็นผงละเอียดไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก potassium dichromate ให้ได้ 0.16-0.22 g ใส่ลงใน flask ขนาด 500 mL จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25 mL และเติม concentrated hydrochloric acid 5 ml เติมสารละลาย potassium iodide อิ่มตัว 20 mL และกวนผสมเพื่อให้เข้ากัน เมื่อละลายเข้ากันดีแล้วให้ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 mL แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลาย sodium thiosulfate (ใส่ไว้ในบิวเรตต์) โดยการเขย่าตลอดเวลา จนกระทั่งสีเหลืองจางหายไปเกือบหมด เติมน้ำแป้งเป็น indicator ลงไป 1 ถึง 2 mL และไทเทรตต่อไปโดยเติมสารละลาย sodium thiosulfate อย่างช้าๆ จนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไป และค่าความเข้มข้นสารละลาย sodium thiosulfate จะแสดงในรูปของค่า normality ดังนี้

$$\text{Normality of } Na_2S_2O_3 \text{ solution} = \frac{20.394 \times \text{น้ำหนักของ } K_2Cr_2O_7 \text{ ที่ชั่งได้ (g)}}{\text{mL ของสารละลาย sodium thiosulfate}}$$

10. สารละลาย sodium thiosulfate 0.01 N (ใช้ในกรณีที่น้ำมันมีค่า PV ต่ำ ไม่เกิน 2.0 meq/kg) เตรียมได้โดยปิเปตสารละลาย sodium thiosulfate 0.1 N ที่ standardized จนทราบความเข้มข้นที่แน่นอนแล้ว ปริมาณ 100 mL ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 1,000 mL และทำให้เจือจางโดยน้ำกลั่นที่ผ่านการต้ม (เพื่อไล่ออกซิเจนออก) และทำให้เย็นแล้วจนได้ปริมาตร 1,000 mL

11. สารละลายน้ำแป้ง (starch indicator 1 %)

เตรียมโดยชั่งแป้ง potato starch iodometry 1 g ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 mL และเติมน้ำกลั่นเย็นปริมาณเล็กน้อยผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นที่ต้มเดือด 100 mL และต้มต่อนาน 2-3 วินาที จากนั้นนำลงจากเตาทันทีและทำให้เย็น

วิธีวิเคราะห์

สำหรับไขมันและน้ำมัน

1. ชั่งน้ำหนักของตัวอย่าง 5.00 $\pm$ 0.05 g (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในขวดรูปชมพู่ชนิดมีฝาจุกแก้วปิดสนิท ขนาด 250 ml

2. เติมสารละลาย acetic acid-chloroform 3:2 ปริมาณ 30 mL ปิดฝาจุกแก้วแล้วเขย่าเพื่อละลายตัวอย่าง

3. ปิเปตสารละลาย KI อิ่มตัว ปริมาณ 0.5 mL เติมลงไปในขวดรูปชมพู่ ปิดฝาจุกแก้วเขย่าสารละลายในขวดรูปชมพู่อย่างแรง (ฝาจุกปิดอยู่) เป็นเวลา 1 นาที เมื่อเขย่าครบ 1 นาทีให้เติมน้ำกลั่น 30 mL ลงไปในขวดทันที

4. เติมสารละลายน้ำแป้งประมาณ 2.0 mL (ถ้าใช้หลอดหยดประมาณ 3-5 หยด) ลงในสารละลายในขวดรูปชมพู่ สารละลายในขวดจะมีสีน้ำเงินหรือสีดำเกิดขึ้น (ในกรณีที่น้ำมันมีค่า PV เท่ากับ 0 จะพบว่าสารละลายที่ได้จะมีสีขาว ในกรณีที่น้ำมันมีค่า PV มากกว่า 0 สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินหรือสีดำเกิดขึ้น) นำไปไทเทรตกับสารละลาย sodium thiosulfate 0.01 N (ซึ่งใส่ไว้ในบิวเรตต์ที่มีขีดบอกปริมาตรละเอียดถึงขีดละ 0.02 mL) โดยค่อยๆ เติมสารละลาย sodium thiosulfate ทีละน้อยอย่างคงที่ และเขย่าขวดรูปชมพู่แรงอย่างคงที่ จนกระทั่งสีน้ำเงินหรือสีดำใกล้จะหายไปสารละลายเกือบจะเป็นสีขาว (เข้าใกล้จุด end point) ให้เติมสารละลาย sodium thiosulfate ทีละหยดและเขย่าจนกระทั่งสีน้ำเงินหรือสีดำหายไปเปลี่ยนเป็นสีขาวทันที บันทึกปริมาตรสารละลาย sodium thiosulfate ที่ใช้ในการไทเทรตไว้

5 ทดลองหา blank ของสารที่ใช้ในการทดลอง (โดยทำเหมือนข้อ 1-4 ทุกอย่างยกเว้นไม่ต้องเติมตัวอย่างน้ำมัน) ซึ่งต้องทำ blank ใหม่ทุกวัน โดยการไทเทรต blank จะต้องใช้สารละลาย sodium thiosulfate 0.01 N ในการไทเทรตไม่เกิน 1.0 mL

การคำนวณ

$$\text{Peroxide value (milliequivalents peroxide/1000 g sample)} = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (g)}}$$

S = ปริมาตร (mL) ของสารละลาย sodium thiosulfate 0.01 N ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่างน้ำมัน

B = ปริมาตร (mL) ของสารละลาย sodium thiosulfate 0.01 N ที่ใช้ในการไทเทรต blank

N = ค่า normality ของสารละลาย sodium thiosulfate (ถ้าใช้ 0.01 N ในการไทเทรต ค่า N จะมีค่าเท่ากับ 0.01)

ก.7 การตรวจสอบค่าดัชนีความเสถียรของน้ำมันต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oil Stability Index; OSI)

วิธีของ AOCS Cd 12b–92 (1998)

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

1. เครื่อง rancimat model 679 (supplier : Metrohm) ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
2. ท่อ connector และท่อ transfer
3. Air distributing manifold และ flow meter, ท่อ air inlet และ ring seal
4. Reaction vessel และ measuring vessel
5. Distilled water (conductivity น้อยกว่า 5 μ S–cm^{-1})
6. Double platinum conductivity cell

วิธีวิเคราะห์

1. กดปุ่มเปิดเครื่อง rancimat
2. กดปุ่ม user method เลือก method 1 แล้วกดปุ่ม yes
3. กดปุ่มเปิด heater
4. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน 2.5 g (ความละเอียด 4 ตำแหน่ง) ลงใน reaction vessel
5. ป้อนข้อมูลน้ำหนักตัวอย่างน้ำมันในแต่ละ reaction vessel (มีสูงสุด 6 vessel) ลงในเครื่อง rancimat
6. ประกอบ reaction vessel โดยนำท่อ air inlet ที่ทำด้วยแก้วสอดลงบนฝาของ reaction vessel ที่รูด้านขวามือให้ปลายท่อจมอยู่ในน้ำมัน จากนั้นใส่ ring seal ที่ท่อด้านบน air inlet
7. ใส่ connector ลงบนรูของฝา rancimat vessel อีกด้าน
8. ประกอบ measuring vessel โดยนำท่อพลาสติกใส่ลงบนฝาของ measuring vessel จากนั้นใส่ connector ที่รูด้านบนของท่อพลาสติก
9. เติมน้ำกลั่น 80 mL ลงใน measuring vessel และปิดฝา measuring vessel
10. นำ reaction vessel และ measuring vessel มาประกอบเข้ากับเครื่อง rancimat

11. ประกอบท่อ connecting เชื่อมระหว่าง flow meter และ reaction vessel

12. ประกอบท่อ transfer เชื่อมระหว่าง reaction vessel และ measuring vessel ที่ตำแหน่งด้าน connector

13. ประกอบท่อ transfer เชื่อมระหว่าง measuring vessel และ waste air outlet ที่ตำแหน่งด้าน connector

14. นำ double platinum conductivity cell ใส่ลงใน measuring vessel นำ connector ของ double platinum conductivity cell เสียบลงที่เครื่อง rancimat

15. เมื่อประกอบส่วนต่างๆ ครบ รอให้ pre-heat ตัวอย่างน้ำมันใน reaction vessel ที่อุณหภูมิ 120 °C ครบ 10 นาที สัญญาณไฟที่ตำแหน่ง temp reached จะขึ้นสีแดง

16. กดปุ่ม go เพื่อเริ่มการวิเคราะห์

17. ปรับ flow meter ที่ air regulating screw ให้ได้ 20 L/hr เพื่อเป่าอากาศลงในน้ำมัน

18. เครื่องจะรายงานค่าเป็นจำนวนชั่วโมง (h) ที่น้ำมันมีความเสถียรต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ภาคผนวก ข

รูปที่ ข.1 ลักษณะเตาทอดที่ใช้ทอดมันฝรั่งเส้น

ตารางที่ ข.1 การคำนวณเวลาในการกำจัดกลิ่นจากกำลังการผลิตน้ำมันของหอกำจัดกลิ่น

กำลังการผลิตของหอกำจัดกลิ่น (ตันต่อวัน)	อัตราการไหลของน้ำมัน (ตันต่อชั่วโมง)	เวลาในการกำจัดกลิ่น (นาที) (คำนวณจากปริมาณน้ำมันที่อยู่ในถาดกำจัดกลิ่นเท่ากับ 21.56 ตัน)
200	8.33	155
250	10.42	124
300	12.50	103

ภาคผนวก ค

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของ กรดไขมันอิสระ ค่าเพอร์ออกไซด์ ความชื้นและสารที่ระเหยได้ สีเหลือง และสีแดงของน้ำมัน DSO

Source	df	MS[ns]				
		กรดไขมัน-อิสระ	ค่าเพอร์-ออกไซด์	ความชื้นและสารที่ระเหยได้	สีเหลือง (Y)	สีแดง (R)
เวลาในการกำจัดกลิ่น (A)	2	1.111×10^{-5}	0	0	0.778	4.444×10^{-3}
อุณหภูมิในการกำจัดกลิ่น (B)	2	4.444×10^{-5}	0	0	0.111	0
A*B	4	5.556×10^{-6}	0	0	5.556×10^{-2}	1.111×10^{-3}
ERROR	18	1.852×10^{-5}	0	3.333×10^{-5}	0.222	1.481×10^{-3}

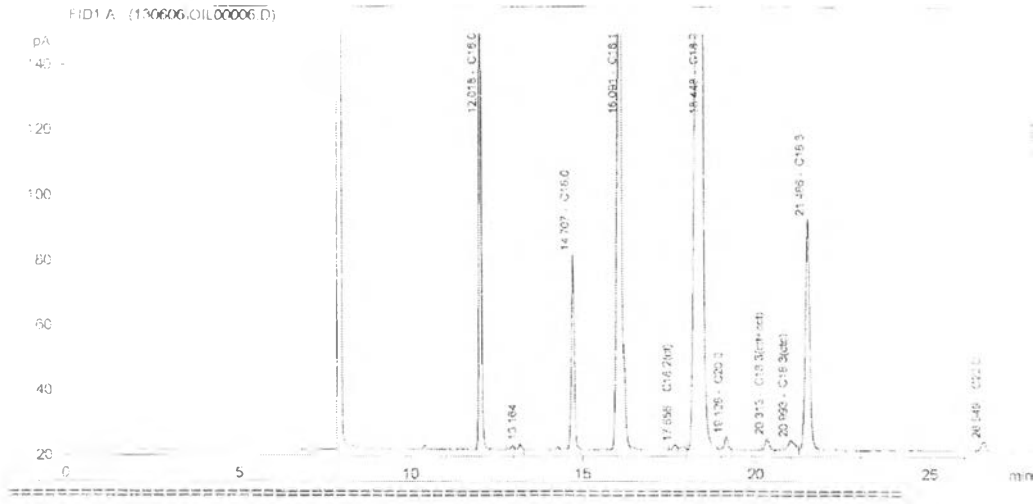
ns ค่าในตารางทุกค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกลิ่นและรสชาติ กรดไขมันชนิดทรานส์ โทโคฟีรอลทั้งหมด และดัชนีความเสถียรของน้ำมัน DSO

Source	df	MS			
		กลิ่นและรสชาติ	กรดไขมันชนิดทรานส์	โทโคฟีรอลทั้งหมด	ดัชนีความเสถียรของน้ำมัน (OSI)
เวลาในการกำจัดกลิ่น (A)	2	0	0.659*	24,187.309*	0.086*
อุณหภูมิในการกำจัดกลิ่น (B)	2	0	1.826*	61,653.193*	0.071*
A*B	4	0	1.078×10^{-2}*	576.428	0.004
ERROR	18	0	1.852×10^{-4}	292.381	0.003

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ง



Area Precent Report

Signal Description : FID1 A.

Peak #	RT [min]	Type	Width	Area	Area %	Name
1	0.00		0.00	0.00	0.00	C8:0
2	0.00		0.00	0.00	0.00	C10:0
3	0.00		0.00	0.00	0.00	C12:0
4	0.00		0.00	0.00	0.00	C14:0
5	12.02	BB	0.07	809.90	10.47	C16:0
6	0.00		0.00	0.00	0.00	C16:1(t)
7	12.94	BV	0.08	7.20	0.09	C16:1
8	13.16	VB	0.08	9.51	0.12	
9	14.71	BB	0.09	350.19	4.53	C18:0
10	0.00		0.00	0.00	0.00	C18:1(t)
11	16.09	BV	0.12	1755.74	22.69	C18:1
12	0.00		0.00	0.00	0.00	C18:1
13	0.00		0.00	0.00	0.00	C18:2(tt)
14	17.66	PV	0.11	11.96	0.15	C18:2(ct)
15	17.87	VV	0.11	9.23	0.12	C18:2(tc)
16	18.45	VB	0.15	4049.45	52.34	C18:2
17	19.13	BB	0.10	26.12	0.34	C20:0
18	0.00		0.00	0.00	0.00	C18:3(ttt+ttc+tct)
19	20.31	BB	0.11	27.47	0.36	C18:3(ctt+cct)
20	20.99	BV	0.16	37.02	0.48	C18:3(ctc)
21	0.00		0.00	0.00	0.00	C18:3(tcc)
22	21.49	VB	0.12	614.79	7.95	C18:3
23	26.55	BB	0.12	28.45	0.37	C22:0

รูปที่ ง.1 โครมาโตรแกรมขององค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันถั่วเหลืองที่ใช้เวลาในการกำจัดกลิ่น นาน 103 นาที และใช้อุณหภูมิในการกำจัดกลิ่นที่ 235 °C

รูปที่ ง.2 โครมาโตรแกรมของโทโคฟีรอลแต่ละชนิดในน้ำมันถั่วเหลืองที่ใช้เวลาในการกำจัดกลิ่นนาน 103 นาที และใช้อุณหภูมิในการกำจัดกลิ่นที่ 235 °C

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววรรธณี สีลม เกิดเมื่อวันที่ 7 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2514 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2536 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2547 โดยขณะศึกษาต่อในระดับปริญญาโทนี้ได้ทำงานอยู่ที่บริษัทธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด ในตำแหน่งผู้ช่วยผู้จัดการแผนกกลั่นน้ำมันพืช ฝ่ายผลิต

ห้องสมุดคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ
FACULTY OF SCIENCE LIBRARY
CHULALONGKORN UNIVERSITY